2.4 非臨床試験の概括評価

目次

2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.2 薬理試験 5
2.4.3 薬物動態試験 9
2.4.4 毒性試験 12
2.4.5 考察及び結論 15
2.4.6 参考文献 17

表の目次

表 2.4- 1 薬理試験プログラム 7
表 2.4- 2 薬物動態試験プログラム 10
表 2.4- 3 毒性試験プログラム 13

略号

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
$AUC_{0\text{-}24h}$	Area under the curve from time 0 to 24 h	0 時間から 24 時間までの濃度時間曲線下面積
AUC_{inf}	Area under the curve from time up to infinity	無限大時間までの濃度時間曲線下面積
CIR	Controlled ileal release	回腸持続放出
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P450	チトクローム P450
DEREK	−	*in silico* 構造活性分析
IBD	Inflammatory bowel disease	炎症性腸疾患
IL	Interleukin	インターロイキン
LD_{50}	50% lethal dose	半数致死量
MMX	Multi matrix system	マルチマトリックスシステム
MPO	Myeloperoxidase	ミエロペルオキシダーゼ
NF-κB	Nuclear factor-κB	核内因子-κB
NOAEL	No-observed adverse effect level	無毒性量
PXR	Pregnane X receptor	プレグナン X 受容体
T_{max}	Time to maximum observed concentration	最高濃度到達時間
$t_{1/2}$	Terminal elimination half-life	終末相の消失半減期
TNBS	2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid	2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸
TNF	Tumor necrosis factor	腫瘍壊死因子

2.4.1 非臨床試験計画概略

ブデソニドは局所活性が高いが全身バイオアベイラビリティが低い副腎皮質ステロイドであり、他の副腎皮質ステロイドと比較して有害な全身作用が少ない (1)。ブデソニドは、構造的に 16-ヒドロキシプレドニゾロンに属する強力な非ハロゲン化副腎皮質ステロイドである。ブデソニドは 16α,17α-ブチリデンジオキシプレグナ-1,4-ジエン-11β,21-ジオール-3,20-ジオンの 22R（R エピマー）と 22S（S エピマー）の 1:1 の混合物である。

FE 999315（以下、本剤）は、有効成分としてブデソニドを含有し、マルチマトリックスシステム（MMX）と呼ばれる持続放出型薬物送達技術により標的臓器である大腸に薬剤を送達させるように設計された pH 依存型の徐放性経口製剤である。主に pH 依存性フィルムコーティングと放出制御ポリマーであるマルチマトリックスから構成されており、pH 耐性アクリル共重合体によるフィルムコーティングにより、錠剤が pH 7 以上の環境に達するまで薬剤の放出を遅延させ、標的臓器である大腸内において腸溶性製剤である MMX が溶解し、本剤の有効成分であるブデソニドを放出させる。また、マルチマトリックスの親水性ポリマーは、腸液に触れることにより膨張し高粘着ゲルを生成するが、これによりブデソニドの溶出を遅延させ、有効成分を大腸全体に持続的に緩徐に分布させる (2) (3) ［1.5.1.2.3 本剤の開発意義・目的］。

ブデソニドは、局所活性と全身活性の比が他のほとんどの副腎皮質ステロイドよりも高いことから、当初喘息治療用の吸入剤のような局所適用のために開発され、副腎皮質ステロイド受容体に高い親和性で結合し、末梢組織で同化・異化作用を有する。ブデソニドが炎症性腸疾患（IBD）の治療に適すると考えられる重要な特長の 1 つは、初回通過効果が強く、全身曝露量が低いことである。経口投与後全身吸収されると、ブデソニドは速やかに肝で代謝され不活化される。したがって、低濃度のブデソニドが全身的に分布する可能性があるが、他の副腎皮質ステロイドと比較して、その高い局所活性及び低い全身曝露量により、クローン病及び潰瘍性大腸炎のような IBD の局所治療に適していると考えられる。また、徐放製剤でないブデソニド原薬の経口製剤は、小腸及び右側上行結腸からの吸収が大きいため、特に病変が遠位結腸の左側潰瘍性大腸炎及び直腸 S 状結腸炎の治療には不向きであると思われる。そのため、国内では IBD 患者に対してブデソニドは回腸放出制御製剤の経口投与 (4) 又は注腸剤を直腸内投与 (5) で使用されている。

ブデソニドは適応症に応じて各種製剤が国内で使用されている。気管支喘息治療薬として吸入剤のパルミコート®タービュヘイラーが 1999 年に (6)、パルミコート®吸入液が 2006 年に (7) 製造販売承認され、その再審査期間は終了している。また、クローン病治療経口剤の腸溶性顆粒充填カプセルのゼンタコート®カプセルが 2016 年 9 月に (4)、潰瘍性大腸炎治療注腸剤のレクタブル®注腸フォームが 2017 年 9 月に (5) 製造販売承認されている。本剤の有効成分であるブデソニドは、上記製剤の開発過程で広範囲及び多くの非臨床試験が実施され、薬理作用及び薬物動態プロファイルが検討され、安全性プロファイルは十分に確立されていると考えられる。本申請の非臨床パッケージは、公表論文の非臨床成績を参考に構築している。その中で、経口投与による試験が入手できない場合には、十分な全身曝露をもたらす代替法、すなわち静脈内投与、皮下投与、及び髄腔内投与などの試験も利用している。

本剤の臨床試験開始にあたり、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（以下、機構）と医薬品[redacted]相談[redacted]（[redacted]、平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日実施）を行った。[redacted]について、つまり[redacted]

[redacted]を相談したところ、現時点で特に異論はないとの助言を得た。

本申請の非臨床データパッケージは、本剤の導入元である[redacted]が実施したカニクイザルの本剤及び Entocort 3 mg カプセルの 1 ヵ月間経口反復投与毒性及びトキシコキネティクス試験［添付資料 4.2.3.2-1］並びに不純物 17-カルボキシブデソニドのイヌ 90 日間経口反復投与毒性試験［添付資料 4.2.3.7.6-1］及び遺伝毒性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験［添付資料 4.2.3.7.6-3］、ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験［添付資料 4.2.3.7.6-4］、*in silico* 構造活性分析（DEREK）［添付資料 4.2.3.7.6-2］）に加えて、公表論文を参照して構成した。本剤と Entocort カプセルとの 28 日間反復投与ブリッジング試験では、カニクイザルがヒトの曝露評価に最も適切な動物モデルであることが試験開始前に確認されていたため、カニクイザルを選択した。

ブデソニドの非臨床開発は安全性薬理試験の ICH ガイドラインが最終化する前に完了したことから、「コアバッテリー試験」は実施されていない。しかし、ブデソニドの一般薬理試験が実施されているため、マウスの中枢神経系試験並びに呼吸及び循環器系に対する試験としてビーグル犬のテレメトリー試験を報告した。本剤の予定臨床投与期間は最大 8 週間であることから、ラット及びカニクイザルの反復投与毒性は 26 週間まで投与した。[redacted]が実施した本剤と Entocort のカニクイザル 28 日間経口反復投与毒性試験及び 17-カルボキシブデソニドのイヌ 90 日間経口反復投与毒性試験及び 2 つの *in vitro* 遺伝毒性試験は GLP に準拠して実施された。これ以外に引用した公表論文の毒性試験の多くは GLP 準拠状況が不明であった。17-カルボキシブデソニドは、ある特定の条件下の安定性試験で品質閾値を超えた分解生成物であるため、ICH Q3B (R2)ガイドラインに従って遺伝毒性試験 2 試験及びイヌ 90 日間反復投与試験で安全性を、製剤と単離された不純物との比較で確認した。毒性の可能性を評価するために、DEREK も実施した。

本剤には新規の添加剤は含まれない。

2.4.2 薬理試験

ブデソニドは合成副腎皮質ステロイドで、局所抗炎症活性が高く、有害な全身活性はほとんどない。ブデソニドは、気管支喘息の治療で気管内投与された場合、気管支で強力な抗炎症作用を示す。また、ブデソニドは、クローン病及び腸炎の治療において、下部消化管で有意な抗炎症活性を示す。本申請ではブデソニドに関する入手可能な薬理学的情報を公表論文を中心に纏めた。薬理試験プログラムを表 2.4- 1 に示す。

ラット骨格筋の副腎皮質ステロイド受容体への親和性を比較すると、ブデソニドはデキサメサゾンの約 8 倍、他の副腎皮質ステロイドの約 2～200 倍の親和性を示した。一方、ブデソニドの 2 つの主要代謝物 6β-ヒドロキシブデソニド及び 16α-ヒドロキシプレドニゾロンの副腎皮質ステロイド受容体への親和性は非常に低かった［2.6.2.2.1 副腎皮質ステロイド受容体への親和性］。

消化管由来の組織又は細胞を用いた *in vitro* 試験では、ブデソニドの抗炎症作用が示された。リポ多糖刺激マクロファージ又は Caco-2 細胞のインターロイキン（IL）-8 及び ENA-78 の mRNA 発現が、ブデソニドによって減少した［2.6.2.2.2.1 消化管上皮細胞 Caco-2 細胞での抗炎症作用］。ブデソニドは

ラット腸上皮由来 IEC-6 細胞の核内因子（NF）-κB の活性及び発現を阻害した。また、ブデソニドは IEC-6 細胞のアポトーシスを誘導した［2.6.2.2.2.2 核内因子-κB 発現及び機能並びに腸上皮細胞増殖に対する作用］。ブデソニドはヒト腸粘膜固有層単核細胞及び末梢血単球からの炎症誘発性サイトカイン IL-1β、IL-6、IL-8、及び IL-1ra の遊離を用量依存的に阻害した。この作用はデキサメサゾンに比べて約 10 倍強かった［2.6.2.2.2.3 ヒト腸粘膜固有層単核食細胞及び末梢血単球による炎症誘発性サイトカイン分泌抑制］。

消化管由来以外の組織又は細胞を用いた *in vitro* 試験でもブデソニドは抗炎症作用を示した。ブデソニドはホルボール 12-ミリステート 13-アセテート及びイオノマイシン（A23187）刺激によるヒト肥満細胞株 HMC-1 細胞からの顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、IL-8、腫瘍壊死因子（TNF）α、IL-4、及び IL-6 の生成を阻害し、その作用はデキサメサゾン及びデスロラタジンより強かった［2.6.2.2.3.1 ヒト肥満細胞株 HMC-1 細胞からのサイトカイン遊離への影響］。また、ブデソニドは T リンパ球増殖を阻害し、IL-2 受容体発現を阻害した［2.6.2.2.3.2 アレルゲンによる T リンパ球増殖活性への影響］。

腸組織での *in vivo* 薬理作用として、ブデソニドは各種ラット結腸炎モデルで抗炎症作用を示した。ラットオキサゾロン誘発結腸炎で他の抗炎症薬と比較すると、ブデソニド、シクロスポリン A、及びプレドニゾロン投与により結腸重量及びミエロペルオキシダーゼ（MPO）活性が減少したが、5-アミノサリチル酸は無効だった［2.6.2.2.4.1 ラットのオキサゾロン誘発結腸炎へのブデソニド、シクロスポリン A、及び 5-アミノサリチル酸の作用］。オキサゾロン感作動物では、血漿の血管外漏出、充血、及び上皮透過性の亢進を伴った結腸粘膜の炎症が惹起された。この動物モデルに対して、直腸内投与のブデソニド 25.8 µg/kg は結腸の透過性を軽減しなかったが、129 µg/kg では抑制した。ブデソニド 129 µg/kg は、オキサゾロン感作動物の血漿の血管外漏出を有意に軽減し、充血を抑制した［2.6.2.2.4.2 ラットのオキサゾロン誘発結腸炎でのブデソニドの調節作用］。ラット直腸内への酢酸投与より惹起した急性結腸炎に対するブデソニドの作用を検討した。酢酸の直腸内投与により、組織学的スコア、組織 MPO 活性、及び血漿漏出が有意に増加し、これらは直腸内投与のブデソニドにより顕著に抑制された。ブデソニドの皮下投与でも、組織学的スコア及び血漿漏出が有意に改善した［2.6.2.2.4.3 ラットの酢酸誘発急性結腸炎への作用］。ラットに 2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸（TNBS）の結腸内投与で誘発した急性結腸炎及び 5 週後に腹腔内投与して惹起した再発性結腸炎に対して、経直腸内投与のブデソニドは病理組織学的損傷を軽減し、結腸のマクロファージ及び好中球を減少させた。一方、デキサメサゾンと違い、胸腺の T リンパ球数を減少させなかった［2.6.2.2.4.4 ラットのトリニトロベンゼンスルホン酸誘発急性及び再発性結腸炎の細胞性免疫応答に対するブデソニドの影響］。ハムスターの TNBS 誘発回腸炎に対する抗炎症作用をブデソニドの原薬と CIR 製剤で比較した。TNBS 投与後 2 週間後、回腸では組織学的に明らかな炎症がみられ、組織中 MPO 活性が増加した。ブデソニド原薬の 200 µg/kg/day は無効であったが、ブデソニド原薬の 800 µg/kg/day 及び CIR 製剤の 200 µg/kg/day では組織学的に炎症が抑制され、肥満細胞数が減少し、MPO 活性が低下した。これにより、CIR 製剤の有用性が示された［2.6.2.2.4.5 ハムスターのトリニトロベンゼンスルホン酸誘発回腸炎への影響］。

腸以外の組織での *in vivo* 試験でもブデソニドの抗炎症作用が示された。ラット耳介浮腫反応に対する局所投与での抗炎症作用と全身投与後の胸腺重量の相対活性を比較すると、ブデソニドはデキサメサゾンに比較して局所抗炎症作用は約 9 倍強かったが、全身投与による胸腺萎縮は皮下投与では 0.847 倍、経口投与では 0.138 倍と弱かった。ブデソニドの主代謝物 6β-ヒドロキシブデソニド及び 16α-ヒド

ロキシプレドニゾロンの活性はブデソニドの 1/100 以下であった［2.6.2.2.5.1 ラット局所投与での耳介浮腫及び全身投与による胸腺萎縮に対するブデソニド及びその代謝物の相対活性］。

ブデソニドの抗炎症作用以外の副次的薬理作用として、ブデソニドを皮下投与するとラット胆汁中重炭酸塩の濃度と分泌が有意に増加し、この作用は副腎皮質ステロイド受容体発現の特異的アンタゴニストのミフェプリストンで阻害された。また、分離胆管の Na^+/H^+交換及び Cl^-/HCO_3^-交換の活性もブデソニドにより増加し、ミフェプリストンで阻害された。これにより、ブデソニドは胆管上皮の重炭酸塩を分泌するトランスポータの活性及びタンパク質発現を亢進することが示唆された［2.6.2.3.1 肝内胆管上皮の副腎皮質ステロイド受容体及び分泌作用に対するブデソニドの調節作用］。

ブデソニドの安全性薬理試験は実施しなかったが、一般薬理試験が実施されている。その中で、マウスの中枢神経系試験並びに呼吸及び循環器系に対する試験としてビーグル犬のテレメトリー試験が実施されている。マウス中枢神経系試験では 1.0 mg/kg まで、またイヌテレメトリー試験でも 10 mg/kg まで、いずれも静脈内投与でのブデソニドの影響は認められなかった［2.6.2.4 安全性薬理試験］。

薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

表 2.4- 1　　薬理試験プログラム

Type of Study	Study System	Route	Test Item	Reference
Primary Pharmacology				
(*In vitro* study in receptor binding)				
Affinity for glucocorticoid receptor	Glucocorticoid receptor from rat skeletal muscle	*In vitro*	Budesonide, dexamethason, epimers of budesonide, triamcinolone 16α,17α-acetonide, prednisolone 16α,17α-acetonide, hydrocortisone, 6β-hydroxybudesonide, 16α-hydroxyprednisolene	Dahlberg et al., 1984 (9)
(*In vitro* study in the intestine tissue/cell)				
Anti-inflammatory effects	Caco-2 cell	*In vitro*	Budesonide	Fredin et al., 2005 (10)
Expression and function of NF-κB and growth	IEC-6 cell	*In vitro*	Budesonide, prednisolone	Göke et al., 2002 (11)
Inhibition of pro-inflammatory cytokine secretion	Human intestinal lumina propria mononuclear phagocyte, peripheral monocyte	*In vitro*	Budesonide, dexamethasone	Schreiber et al., 1996 (12)

Type of Study	Study System	Route	Test Item	Reference
(*In vitro* study in the other tissue/cell than intestine)				
GM-CSF, IL-8, TNFα, IL-4, and IL-6 release	Human mast cell line HMC-1	*In vitro*	Budesonide, desloratadine, dexamethasone	Zhao et al., 2004 (13)
T lymphocytes proliferation	T lymphocyte	*In vitro*	Budesonide	Oddera et al., 1995 (14)
(*In vivo* study on the intestine)				
Oxazolone-induced colitis	Rat	Intrarectal, oral, intraperitoneal	Budesonide, 5-aminosalicylic acid, cyclosporine-A, prednisolone	Ekström 1998 (15)
Oxazolone-induced colitis	Rat	Intrarectal	Budesonide	Ekström and Anderson, 2000 (16)
Acetic acid-induced acute colitis	Rat	Local instillation into the colonic segment, subcutaneous	Budesonide	Fabia et al., 1994 (17)
TNBS-induced acute and relapsing colitis	Rat	Intrarectal	Budesonide, dexamethasone	Palmen et al., 1998 (18)
TNBS-induced intestinal inflammation	Hamster	Oral (API, CIR formulation)	Budesonide	Boyd et al., 1995 (19)
(*In vivo* effect on other tissue than the intestine)				
Ear edema test, thymus involution	Rat	Local (ear), subcutaneous, oral	Budesonide, dexamethason, epimers of budesonide, triamcinolone 16α,17α-acetonide, prednisolone 16α,17α-acetonide, hydrocortisone, 6β-hydroxybudesonide, 16α-hydroxyprednisolene	Dahlberg et al., 1984 (9)
Secondary Pharmacodynamics				
Effects on biliary epithelium	Rat	Intravenous, subcutaneous	Budesonide, dexamethasone, mifepristone	Alvaro et al., 2002 (20)
Safety Pharmacology				

Type of Study	Study System	Route	Test Item	Reference
Central nervous system	Mouse	Intravenous	Budesonide	西村ら, 1985 (21)
Respiratory and cardiovascular system	Dog	Intravenous	Budesonide	西村ら, 1985 (21)

API = active pharmaceutical ingredient, CIR = controlled ileal release, GM-CSF = granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, IL = interleukin, NF-κB = nuclear factor-κB, TNBS = 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid, TNF = tumor necrosis factor

2.4.3 薬物動態試験

ブデソニドの薬物動態は動物で十分に検討されており、また広範な臨床研究により、ヒトの経口バイオアベイラビリティが低いこと及び代謝経路が確認されている(4)。本剤の反復投与後の吸収試験として、カニクイザルの本剤及び CIR 製剤である Entocort カプセルの 28 日間経口反復投与毒性及びトキシコキネティクス試験を実施した。これに加えて、本申請では公表論文を中心に纏めた。薬物動態試験プログラムを表 2.4- 2 に示す。

分析法として、ラット及びイヌの薬物動態試験の血漿[^{3}H]ブデソニド濃度は高速液体クロマトグラフィー法及び放射活性により測定した［2.6.4.2 分析法］。カニクイザルの本剤及び Entocort カプセルの 28 日間経口反復投与毒性及びトキシコキネティクス試験［2.6.4.3.3 カニクイザルの FE 999315 及び Entocort カプセル 28 日間経口反復投与後の薬物動態］のブデソニド濃度は液体クロマトグラフィータンデム質量分析法で測定した。

吸収試験として、ラットに[^{3}H]ブデソニド約 7 μg/kg を静脈内単回投与後の血漿中終末相の消失半減期（$t_{1/2}$）は 4.7 時間、無限大時間までに濃度時間曲線下面積（AUC_{inf}）は 1.59 μg･h/L、血漿クリアランスは 4.4 L/h/kg であった。また、肺、気管、及び筋組織中の曝露は血漿より高く、AUC_{inf}はそれぞれ 14.7、10.1、及び 6.07 μg･h/L であった［2.6.4.3.1 ラットへの[^{3}H]ブデソニド静脈内単回投与後の薬物動態］。イヌの経口投与時の生物学的利用率は 20%未満で、強い初回通過効果が示唆された。［2.6.4.3.2 イヌへのブデソニド静脈内及び経口単回投与後の薬物動態］。カニクイザルに本剤又は Entocort カプセルのブデソニド 18 mg を 28 日間経口反復投与後の本剤の血漿中ブデソニドの最高血漿中濃度（C_{max}）、0 時間から 24 時間までの濃度時間曲線下面積（AUC_{0-24h}）は、Entocort カプセルより約 2～5 倍低く、最高濃度到達時間（T_{max}）は約 2～5 倍長かった。反復投与による蓄積性は認められなかった［2.6.4.3.3 カニクイザルの FE 999315 及び Entocort カプセル 28 日間経口反復投与後の薬物動態］。本剤と Entocort カプセルの薬物動態プロファイルの違いはヒト第I相臨床試験［CRO-PK-06-178 試験：添付資料 5.3.1.1-1］と同様の成績であった。

[^{3}H]ブデソニドはマウスに静脈内投与後、急速に、組織や臓器に広範囲に分布した。全身オートラジオグラフィーでは、肝臓、腎臓、肺、及びリンパ組織に大量の放射活性が認められた。放射活性は、血液胎盤関門を通過し、血液脳関門をある程度は通過した［2.6.4.4.1 マウスの[^{3}H]ブデソニド静脈内投与後の分布］。ヒト血漿タンパク結合は 88.3%であった［2.6.4.4.2 ヒトの血漿タンパク質結合性］。

In vitro 代謝試験として、ラット肝ホモジネート上清でのブデソニドの *in vitro* 代謝には性差があり、雌より雄の方がより早く代謝した［2.6.4.5.1 雌雄ラットの肝ホモジネートでの[^{3}H]ブデソニドの *In Vitro* 代謝］。ラット、マウス、及びヒトの肝ホモジネートでブデソニドの 2 つのエピマーを反応させると、異なる代謝物を生成した。酸化的代謝が優勢で、他の合成糖質コルチコステロイドの代謝と類似していた［2.6.4.5.2 ヒト、ラット、及びマウスでのブデソニドの *In Vitro* 肝代謝］。ヒト肝ミクロソームによる代謝とチトクローム P450（CYP）3A 活性との間に相関がみられ、CYP3A に対する抗体で阻害された。これより、ブデソニドの代謝には CYP3A が関与していることが示唆された。しかし、CYP2C 阻害剤や CYP1A サブファミリーに対する抗体では阻害されなかった［2.6.4.5.3 ヒト肝 CYP3A による代謝］。[^{3}H]ブデソニドをコエンザイム A 及びアデノシン三リン酸存在下でヒト肺及び肝ミクロソームと反応させると、脂肪酸抱合体が生成された［2.6.4.5.4 ヒト肺及び肝のミクロソームによるブデソニドの脂肪酸抱合体生成］。

イヌに[^{3}H]ブデソニドを静脈内及び経口投与後に、放射活性の大部分（約 80%）は糞中に排泄され、ブデソニド及び／又は生成された代謝物は主に胆汁中に排泄されることが示唆された［2.6.4.6.1 雌イヌへ[^{3}H]ブデソニド静脈内及び経口投与後の排泄］。

薬物相互作用試験として、ヒト遺伝子組換え CYP3A4 を用いた阻害実験において、ブデソニドは 25 µmol/L（10.8 µg/mL）まで代謝を阻害しなかった。ヒト大腸上皮癌由来 LS180 細胞を用いた誘導試験ではブデソニド 10 µmol/L（4.31 µg/mL）以上で CYP3A4 mRNA 発現を増加させた。トランス活性化アッセイでは、ブデソニドはプレグナン X 受容体（PXR）を介して CYP3A4 プロモータを活性化した。ブデソニド 25 mg/kg/day をマウスに 4 日間経口投与すると、マウスのホモログ Cyp3a11 が小腸で 3 倍増加したが、肝での発現への影響は小さかった。PXR 欠損ノックアウトマウスでは野生型に比べてブデソニドによる誘導は抑制された［2.6.4.7.1 ヒト CYP3A4 及びマウス CYP3A11 の誘導］。ラットの腸及び肝の組織切片にブデソニドを作用させると CYP3A9 が誘導されたが、CYP3A1 及び 3A2 は誘導されなかった。また、ヒト肝組織では CYP3A4 は誘導されなかった。一方、1α,25- ジヒドロキシビタミン D_3 はラット腸組織で CYP3A1 及びヒト肝組織で CYP3A4 が誘導されたが、ラット CYP3A2 及び 3A9 は誘導されなかった［2.6.4.7.2 ラット及びヒトの腸及び肝での CYP3A 分子種の調整］。

表 2.4- 2　　薬物動態試験プログラム

Type of Study	Study System	Route	Test Item	Reference
Method of analysis	Rat plasma	NA	Budesonide	Edsbäcker & Andersson, 2004 (22)
	Cynomolgus monkey	NA	Budesonide	Report No. 1006-1893 [添付資料 4.2.3.2-1]
Absorption				
Pharmacokinetics, single dose	Rat	Intravenous	[^{3}H]budesonide	Jendbro et al. 2001 (23)

Type of Study	Study System	Route	Test Item	Reference
Pharmacokinetics, single dose	Beagle dog	Intravenous	Budesonide	Ryrfeldt et al., 1979 (24)
Toxicokinetics on Days 1 and 28	Cynomolgus monkey	Oral	FE 999315, CIR Capsules	Report No. 1006-1893［添付資料 4.2.3.2-1］
Distribution				
Tissue distribution	Mouse	Intravenous	[^{3}H]budesonide	Andersson et al., 1986 (25)
Plasma protein binding	Plasma from human, rat, mouse, dog, rabbit	*In vitro*	[^{3}H]budesonide	Ryrfeldt et al., 1982 (26)
Metabolism				
Sex difference in metabolism between male and female rats	Rat liver homogenate	*In vitro*	[^{3}H]budesonide	Andersson et al., 1982 (27)
Metabolism in liver from human, rat, and mouse	Liver homogenate from human, rat, mouse	*In vitro*	Budesonide	Edsbäcker et al., 1987 (28)
Metabolism by human CYP3A	Human liver microsomes	*In vitro*	Budesonide	Jönsson et al. 1995 (29)
Fatty acid conjugates in human lung and liver microsomes	Human lung and liver microsomes	*In vitro*	[^{3}H]budesonide	Tunek et al., 1997 (30)
Excretion				
In vivo excretion	Dog	Intravenous, oral	[^{3}H]budesonide	Ryrfeldt et al., 1979 (24)
Pharmacokinetic Drug Interactions				
Induction of human CYP3A and mouse CYP3A11	Human LS180 colon carcinoma cells, mouse	*In vitro*, oral	Budesonide	Zimmermann 2009 (31)

Type of Study	Study System	Route	Test Item	Reference
Regulation of CYP3A isozymes	Slice from human and rat intestine and liver	*In vitro*	Budesonide, dexamethasone, pregnenolone-16carbonitrile, chenodeoxycholic acid	Khan AA 2009 (32)

CIR = controlled ileal release, CYP = cytochrome P450, NA = not aplicable

2.4.4 毒性試験

ブデソニドの毒性試験として、本剤と Entocort カプセルとの 28 日間反復投与毒性及びトキシコキネティクス試験及び 17-カルボキシブデソニドの毒性試験を実施した。毒性試験プログラムを表 2.4- 3 に示す。

単回投与毒性試験では、マウス及びラットでの半数致死量（LD_{50}）値は静脈内投与では約 100 mg/kg、腹腔内投与では約 150～300 mg/kg、皮下投与では約 50～100 mg/kg、経口投与では 3200 mg/kg より大であった。イヌの皮下投与の LD_{50} 値は 173 mg/kg であった。認められた毒性は、免疫抑制や消化管潰瘍など、他の副腎皮質ステロイドと同様であった。［2.6.6.2.1 マウス、ラット、及びイヌの単回投与毒性］。

ブデソニド原薬の反復投与毒性試験として、ラット 26 週間皮下投与毒性試験を実施した。この試験では副腎皮質ステロイドのクラスエフェクト（体重減少、リンパ組織萎縮、リンパ球減少など）が観察された。無毒性量（NOAEL）は 5 µg/kg/day であった［2.6.6.3.1 ラット 26 週間皮下反復投与毒性試験］。ブデソニド製剤の反復投与毒性試験として、カニクイザルの本剤と Entocort カプセルの反復投与毒性及びトキシコキネティクス試験では両製剤とも 18 mg/animal（雄 4.29～5.14 mg/kg、雌 5.45～7.2 mg/kg）の 1 用量を経口投与したが、明確な毒性反応はみられなかった。本剤のバイオアベイラビリティ、C_{max}、及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は Entocort カプセルより低値で、T_{max} は長かった［2.6.6.3.2 カニクイザルの FE 999315 及び Entocort カプセル 28 日間経口反復投与毒性試験］。

ブデソニドの遺伝毒性は細菌を用いる復帰突然変異試験［2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験］及びマウス骨髄小核試験［2.6.6.4.2 マウス骨髄小核試験］で検討した。ブデソニドはこれらの試験の条件下で、遺伝毒性を示さなかった。

ブデソニドの発がん性試験は雄 Sprague-Dawley 系ラットで実施された。以前実施した試験で認められた雄ラットの肝細胞腫瘍の発生率増加を確認するために、ブデソニド（50 µg/kg/day）、プレドニゾロン（400 µg/kg/day）、及びトリアムシノロンアセトニド（15 µg/kg/day）の雄ラット 104 週間飲水投与がん原性試験を追加実施した。その結果、肝細胞腺腫及び肝細胞癌の合計発生頻度は、全てのステロイド投与群で有意に増加した［2.6.6.5.1 ブデソニド、プレドニゾロン、及びトリアムシノロンアセトニドの雄ラット 104 週間飲水投与がん原性試験］。

生殖発生毒性試験はブデソニドの皮下投与で実施した。ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、4 及び 20 µg/kg 投与群の雄で投与部位に局所刺激性、20 µg/kg 群では雌雄の摂餌量の減少、体重増加抑制、及び雄の摂水量の増加が認められた。胎児では催奇形性は認められなかった。

20 µg/kg 群では死胚児数の増加、胎児生存率の減少、第 5 胸骨骨核の化骨遅延が認められた。NOAEL は 4 µg/kg/day と判断された［2.6.6.6.1 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する皮下投与試験］。ラット胚・胎児発生に関する試験では、20 µg/kg 群で摂餌量の減少、体重増加抑制、胸腺退縮、並びに胸腺及び脾臓の重量減少が認められ、100 µg/kg 群ではこれらに加えて体重減少、妊娠日数延長、副腎萎縮、並びに副腎及び子宮の重量減少が認められた。F_1 動物では催奇形性は認められなかった。20 µg/kg 群では胎児体重減少、胎児の胸骨骨核、中手骨、及び尾椎骨の化骨遅延、並びに F_1 動物の体重増加抑制が認められ、100 µg/kg 群ではこれらの他に生存胎児数の減少、胎盤重量の減少、胎児の頸椎椎体、中足骨の化骨遅延、雄出産生児体量の減少、及び離乳児の胸椎椎弓の化骨遅延が認められた。F_1 動物の分化、機能、行動、学習能、生殖能、及び F_2 胎児に投薬の影響は認められなかった。NOAEL は 4 µg/kg/day と判断された［2.6.6.6.2 ラット胚・胎児発生に関する皮下投与試験］。ウサギ胚・胎児発生に関する試験では、5 及び 25 µg/kg/day 群で、摂餌量の減少及び体重増加量の抑制が認められた。投与後の剖検では 5 µg/kg/day 群の 1 例の胎児及び 25 µg/kg/day 群の 2 例の胎児に内臓異常が観察された。骨格異常の頻度は、対照群に比べて 25 µg/kg/day 群で高かった。最も多い異常は頭蓋骨及び椎骨にみられ、化骨遅延が示唆された。125 µg/kg/day 群では妊娠終了時に全例流産した。腹児数及び胎児死亡は、対照群、5 及び 25 µg/kg/day 群間で差はなかった。ブデソニド 5 µg/kg/day 群では胎児に対する影響はなく、25 µg/kg/day 群の作用は化骨遅延と考えられる骨格異常の発現増加のみであった［2.6.6.6.3 ウサギ胚・胎児発生に関する皮下投与試験］。ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では、母動物に投与部位の局所刺激性が認められた。4 µg/kg 群では摂餌量の減少、体重増加抑制、及び減少が認められ、20 µg/kg 群ではこれらの他に胸腺の退縮及び重量減少が認められた。F_1 動物では、催奇形性は認められなかった。出産時所見、機能、行動、及び学習能に投薬の影響は認められなかった。20 µg/kg 群では眼瞼開裂日齢の促進が認められた。生殖能及び F_2 胎児に投薬の影響は認められなかった。NOAEL は母動物では 0.8 µg/kg/day、F_1 動物では 4 µg/kg/day と判断された［2.6.6.6.4 ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する皮下投与試験］。

不純物 17-カルボキシブデソニドの毒性試験として、イヌ 90 日間経口反復投与毒性試験を実施した。その結果、最高用量 0.054 mg/animal でも毒性反応は認められず、NOAEL と考えられた［2.6.6.8.1.1 17-カルボキシブデソニドのイヌ 90 日間経口反復投与毒性及び 28 日間回復性試験］。毒性予測プログラムの DEREK で解析した結果、ブデソニドには遺伝毒性、皮膚感作性、及び眼毒性が‘Plausible’と判定されたが、ほとんどの患者への標準的な投与条件では重要な懸念ではないと考えられる。17-カルボキシブデソニドに追加の警告はなかった［2.6.6.8.1.2 17-カルボキシブデソニドの DEREK 分析］。17-カルボキシブデソニドの細菌を用いる復帰突然変異試験［2.6.6.8.1.3 17-カルボキシブデソニドの細菌を用いる遺伝子突然変異試験］及びヒトリンパ球を用いる染色体異常試験［2.6.6.8.1.4 17-カルボキシブデソニドのヒトリンパ球を用いる染色体異常試験］は共に陰性であった。

表 2.4- 3　　毒性試験プログラム

Type of Study	Study System	Route	Treatment Duration	GLP	Reference
Single dose	Mouse, rat	Intravenous, intraperitoneal, subcutaneous, oral	Single	NR	伊藤ら, 1985 (33)
	dog	subcutaneous			

Type of Study	Study System	Route	Treatment Duration	GLP	Reference
Repeated dose	Rat	Subcutaneous	26 weeks	NR	Ekman et al., 1987 (34)
	Cynomolgus monkey	Oral, FE 999315, Entocort capsule	One month	Yes	Report No. 1006-1893［添付資料 4.2.3.2-1］
Genotoxicity					
Bacterial reverse mutation	*S. typhimurium, E. coli*	*In vitro*	NA	NR	藤井ら, 1985 (35)
Bone marrow micronucleus	Mouse	Intraperitoneal	2 days	NR	藤井ら, 1985 (35)
Carcinogenesis	Rat	Oral, drinking water	104 weeks	NR	Ryrfeldt et al., 1992 (36)
Reproductive development					
Fertility and early embryonic development	Rat	Subcutaneous	Male; 9 weeks premating and though mating, Female; 2 weeks premating and up to 7 days post mating	NR	迚野ら, 1985 (37)
Embryo-fetal development	Rat	Subcutaneous	Gestation days 7 to 17	NR	迚野ら, 1985 (37)
Embryo-fetal development	Rabbit	Subcutaneous	Gestation days 6 to 18	NR	Kihlström et al., 1987 (38)
Pre- and postnatal development	Rat	Subcutaneous	Gestation day 17 to day 21 postpartum	NR	迚野ら, 1985 (37)
Studies on impurities, 17-carboxybudesonide					

Type of Study	Study System	Route	Treatment Duration	GLP	Reference
Repeated dose toxicity	Dog	Oral gavage	90 days + 28 days recovery	Yes	Report No. 22/10/L［添付資料 4.2.3.7.6-1］
DEREK Analysis	*In silico*	NA	NA	No	Report No. 10/178/405ET［添付資料 4.2.3.7.6-2］
Bacterial reverse mutation	*S. typhimurium*, *E. coli* WP2 *uvr*A	*In vitro*	NA	Yes	Report No. 10-209［添付資料 4.2.3.7.6-3］
Chromosome aberration	human lymphocytes	*In vitro*	NA	Yes	Report No. 12/10/L［添付資料 4.2.3.7.6-4］

NR = not reported, NA = not available

2.4.5 考察及び結論

ブデソニドはもともと喘息治療用吸入剤のような局所適用のために開発されたもので、局所活性と全身活性の比は他のほとんどの副腎皮質ステロイドよりも高い。副腎皮質ステロイド受容体に高い親和性で結合し、末梢組織で同化・異化作用を有する。本剤は MMX 技術によって、回腸・大腸の pH に近い pH 7 以上で溶解し、有効成分を病変部位に持続的に放出させる。本申請の非臨床データパッケージは[redacted]が実施したカニクイザルの本剤及び Entocort カプセルの 1 ヵ月間経口反復投与毒性及びトキシコキネティクス試験（試験番号 1006-1893）並びに不純物 17-カルボキシブデソニドのイヌ 90 日間経口反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験に加えて、公表論文を参照して構成した。

In vitro 薬理試験では、ブデソニドは副腎皮質ステロイド受容体に対して高い親和性を示した。しかし、その代謝物 6β-ヒドロキシブデソニド及び 16α-ヒドロキシプレドニゾロンははるかに低い活性しか示さなかった。他の副腎皮質ステロイドと同様に、培養細胞からの各種炎症性メディエーター及び炎症誘発性サイトカインの遊離を阻害した。*In vivo* 薬理試験では、クローン病又は潰瘍性大腸炎の動物モデルであるラットオキサゾロン誘発結腸炎、酢酸誘発急性結腸炎、及び TNBS 誘発結腸炎に対して、ブデソニドを皮下又は直腸内に投与すると組織学的に炎症が抑制され、組織 MPO 活性が低下した。一方、胸腺萎縮などの全身作用は抑えられた。一般薬理試験では、中枢神経系、心循環器系、及び呼吸系の機能に、静脈内投与で 1.0 mg/kg まで影響は認められなかった。

ブデソニドは経口投与後、吸収は速いが、肝で速やかに代謝され、その後不活性化される。ブデソニドの経口投与時の生物学的利用率はイヌで 20%未満であった。カニクイザルに本剤と Entocort カプ

セルを経口投与した時の血漿中濃度を比較すると、本剤の C_{max} 及び曝露は Entocort カプセルより小さく、T_{max} は延長傾向にあった。反復投与による蓄積性はみられなかった。本剤の薬物動態は原薬又は Entocort カプセルよりもブデソニドの全身曝露が抑えられ、これが良好な安全性プロファイルに寄与していると考えられる。

マウスに[^{3}H]ブデソニドを静脈内投与するとブデソニドは組織に広く分布し、肝臓、腎臓、肺、及びリンパ組織に高い放射活性が認められた。放射活性は、血液胎盤関門を通過し、血液脳関門をある程度は通過した。ヒト血漿タンパク質結合は 88.3%であった。

In vitro 代謝試験から、ブデソニドは肝の CYP3A で代謝され、16α-ヒドロキシプレドニゾロン及び 6β-ヒドロキシブデソニドとなった。これらの代謝物はいずれも薬理学的には不活性である。ラットでは雌に比べて雄の肝ホモジネートで速く分解された。ヒト肺及び肝ミクロソームと反応させると脂肪酸抱合体が形成された。

[^{3}H]ブデソニドをイヌに静脈内又は経口投与すると、放射活性の大部分（約 80%）は糞中に排泄され、ブデソニド及び／又は生成された代謝物は主に胆汁中に排泄されることが示唆された。ヒト組換え CYP3A4 に対してブデソニドは 25 µmol/L（10.8 µg/mL）まで代謝を阻害しなかった。ブデソニドは PXR を介して CYP3A4 プロモータを活性化した。ラット肝組織に *in vitro* で反応させると CYP3A が誘導されたが、ラットに反復投与しても血漿中ブデソニド濃度に明らかな変化はなかった。これより、*in vivo* での CYP3A 誘導の影響は小さいと考えられる。ヒト肝組織では CYP3A は誘導されなかった。

ブデソニドの安全性は、単回投与毒性、反復投与毒性、遺伝毒性、がん原性、及び生殖発生毒性を検討した。単回投与毒性試験でのマウス及びラットの LD_{50} 値は、静脈内投与では約 100 mg/kg、腹腔内投与では約 150～300 mg/kg、皮下投与では約 50～100 mg/kg、経口投与では 3200 mg/kg より大であった。イヌの皮下投与の LD_{50} 値は 173 mg/kg であった。これらの用量は、それぞれ予定臨床用量 9 mg（体重 60 kg で 0.15 mg/kg）の 333 倍以上で、安全域が大きいことが示された。さらに、ブデソニド投与に関連する毒性は、いずれの毒性試験でも他の副腎皮質ステロイドの薬物から予想される毒性と一致し、本薬に特異的な毒性は認められなかった。高用量のブデソニドを長期間投与した場合、体重減少、副腎皮質抑制をもたらす。これらの作用は投与を中止すると可逆的であり、ブデソニドは毒性がよく理解され、管理可能と考えられる。

遺伝毒性試験では、ブデソニドは遺伝毒性を示さなかった。ブデソニドはマウスを用いた 91 週間の生涯経口投与試験で発がん性を示さなかったと報告されている(8)。しかし、ブデソニドのラット 104 週間飲水投与がん原性試験では雄ラットの原発性肝細胞腫瘍の発生率が高かったと報告されている(8)。雄ラットを用いた追加の 104 週間飲水投与がん原性試験では、ブデソニド並びに対照薬のプレドニゾロン及びトリアムシノロンアセトニドのいずれの群でも肝細胞腺腫及び肝細胞癌の合計発生率が有意に増加したことから、副腎皮質ステロイドのクラスエフェクトで、おそらく副腎皮質ステロイド受容体が関与していると考えられる。しかし、臨床経験からは、ブデソニドや他の副腎皮質ステロイドがヒトで原発性肝細胞腫瘍を誘発することは報告されていない(39)。

生殖発生毒性では、胎児の死亡又は異常が増加し、骨格異常がみられた。副腎皮質ステロイドは動物の催奇形物質として知られており、子宮内発育遅延、口蓋裂、及び脳の発育・発達への影響を伴う(40) (41) (42) (43)。ブデソニドを含む副腎皮質ステロイドは妊娠カテゴリーC である(44)。副腎皮質ス

テロイドが先天異常の発生率を上昇させるという一貫したエビデンスはないが、長期間又は妊娠中に反復投与すると子宮内発育遅延のリスクを増大させる可能性がある。また、[^{3}H]ブデソニドをマウスに投与すると、血液胎盤関門を通過した。したがって、ブデソニドは、他の副腎皮質ステロイドと同様に、投薬による有効性が胎児への潜在的リスクを上回る場合にのみ、妊娠中に使用すべきである。

17-カルボキシブデソニドはある条件下で保存すると規定閾値を超えて量が同定される分解生成物で、ICH Q3B(R2)ガイドラインに従い、イヌ 90 日間経口反復投与毒性試験及び 2 つの遺伝毒性試験でブデソニドと 17-カルボキシブデソニドの毒性を比較した。また、遺伝毒性活性を評価するために、DEREK も実施した。イヌ 90 日間経口反復投与毒性試験では毒性反応は認められなかった。細菌を用いる復帰突然変異試験及びヒトリンパ球を用いる染色体異常試験は共に陰性であった。また、DEREK による毒性予測でもブデソニドで同定された警告以上の毒性反応のリスクはないと考えられた。

ブデソニドの毒性は、全身曝露をもたらす経路での毒性試験で十分に検討されたと考えられる。毒性試験で認められた反応は、他の副腎皮質ステロイドと共通しており、このクラスの他の化合物よりも重篤ではなかった。トキシコキネティクスのデータはばらつきが大きかったが、本剤と Entocort カプセルのカニクイザル 1 ヵ月間経口反復投与毒性試験のトキシコキネティクスで示されているように、本剤の曝露は Entocort カプセルと同程度かより低く、本剤の安全域は Entocort カプセルで設定された安全域より下回らないことが示唆される。

結論として、今回提出した非臨床データから、本剤は軽症から中等症の活動期潰瘍性大腸炎患者を対象として開発・上市するための安全かつ有効な使用が支持された。ブデソニドは、投与局所で副腎皮質ステロイドの他の薬物と同様の高い効力及び治療効果を示した。一方、肝で迅速に代謝され不活性化されるために、全身作用は限定される。ブデソニドは、IBD 又は大腸炎の多くの動物モデルで、顕著な全身性副作用を伴わない有効性が実証されている。

2.4.6 参考文献

(1) Miller-Larsson A, Gustafsson B, Persson CGA, Brattsand R. Gut mucosal uptake and retention characteristics contribute to the high intestinal selectivity of budesonide compared with prednisolone in the rat. Aliment Pharmacol Ther. 2001;15(12):2019-25.［添付資料 4.3-1］

(2) Lichtenstein GR, Kamm MA, Sandborn WJ, Lyne A, Joseph RE. MMX mesalazine for the induction of remission of mild-to-moderately active ulcerative colitis: Efficacy and tolerability in specific patient subpopulations. Aliment Pharmacol Ther. 2008;27(11):1094-102.［添付資料 4.3-2］

(3) Fiorino G, Fries W, De La Rue SA, Malesci AC, Repici1 A, Danese S. New drug delivery systems in inflammatory bowel disease: MMX^{TM} and tailored delivery to the gut. Curr Med Chem. 2010;17(17):1851-7.［添付資料 4.3-3］

(4) ゼンタコート®カプセル 3 mg[医薬品インタビューフォーム]. ゼリア新薬工業株式会社; 2020 Sep.［添付資料 4.3-4］

(5) レクタブル®2 mg 注腸フォーム 14 回[医薬品インタビューフォーム]. EA ファーマ株式会社; 2021 Mar.［添付資料 4.3-5］

(6) パルミコート®100 µg タービュヘイラー112 吸入／パルミコート®200 µg タービュヘイラー56 吸入／パルミコート®200 µg タービュヘイラー112 吸入[医薬品インタビューフォーム]. アストラゼネカ株式会社; 2020 Aug.［添付資料 4.3-6］

(7) パルミコート®吸入液 0.25 mg／パルミコート®吸入液 0.5 mg[医薬品インタビューフォーム]. アストラゼネカ株式会社; 2020 Aug.［添付資料 4.3-7］

(8) Center for Drug Evaluation and Research. NDA 21-324. Summary Basis of Approval of Entocort™ Capsules, Pharmacology Review. 2001.［添付資料 4.3-8］

(9) Dahlberg E, Thalén A, Brattsand R, Gustafsson JA, Johansson U, Roempke K, et al. Correlation between chemical structure, receptor binding, and biological activity of some novel, highly active, 16 alpha, 17 alpha-acetal-substituted glucocorticoids. Mol Pharmacol. 1984;25(1):70-8.［添付資料 4.3-9］

(10) Fredin MF, Ulfhammer E, Rhedin M, Melgar S, Mellgård B, Peterson A. Anti-inflammatory effects of budesonide in intestinal epithelial cells. Pharmacol Res. 2005;52(5):422-8.［添付資料 4.3-10］

(11) Göke MN, Schneider M, Beil W, Manns MP. Differential glucocorticoid effects on repair mechanisms and NF-κB activity in the intestinal epithelium. Regul Pept. 2002;105(3):203-14.［添付資料 4.3-11］

(12) Schreiber S, Shottelius A, Baumann J. Helwig U, Rückert Y, Koop I, et al. Immunopharmacology of budesonide induced inhibition of pro-inflammatory cytokine secretion by IBD mononuclear phagocytes. Gastroenterology. 1996;110:A1011.［添付資料 4.3-12］

(13) Zhao Y, Leung PC, Woo KS, Chen GG, Wong YO, Liu SX, et al. Inhibitory effects of budesonide, desloratadine and dexamethasone on cytokine release from human mast cell line (HMC-1). Inflamm Res. 2004;53(12):664-9.［添付資料 4.3-13］

(14) Oddera S, Silvestri M, Sacco O, Lantero S, Morelli MC, Rossi GA. Effects of "systemic" budesonide concentrations on *in vitro* allergen-induced activation of blood mononuclear cells isolated from asthmatic patients. Allergy. 1995;50(5):397-404.［添付資料 4.3-14］

(15) Ekström GM. Oxazolone-induced colitis in rats: Effects of budesonide, cyclosporin A, and 5-aminosalicylic acid. Scand J Gastroenterol. 1998;33(2):174-9.［添付資料 4.3-15］

(16) Ekström GM and Andersson SE. Plasma exudation, hyperaemia, and epithelial permeability in rats with oxazolone-induced colitis: Modulatory effects of budesonide. Scand J Gastroenterol. 2000;35(2):190-7.［添付資料 4.3-16］

(17) Fabia R, Ar'Rajab A, Willén R, Brattsand R, Erlansson M, Svensjö E. Topical anticolitic efficacy and selectivity of the glucocorticoid budesonide in a new model of acetic acid-induced acute colitis in the rat. Aliment Pharmacol Ther. 1994;8(4):433-41.［添付資料 4.3-17］

(18) Palmen MJHJ, Dieleman LA, Soesatyo M, Peña AS, Meuwissen SGM, van Rees EP. Effects of local budesonide treatment on the cell-mediated immune response in acute and relapsing colitis in rats. Dig Dis Sci. 1998;43(11):2518-25.［添付資料 4.3-18］

(19) Boyd AJ, Sherman IA, Saibil FG. Effects of plain and controlled-ileal-release budesonide formulations in experimental ileitis. Scand J Gastroenterol. 1995;30(10):974-81. ［添付資料 4.3-19］

(20) Alvaro D, Gigliozzi A, Marucci L, Alpini G, Barbaro B, Monterubbianesi R, et al. Corticosteroids modulate the secretory processes of the rat intrahepatic biliary epithelium. Gastroenterology. 2002;122(4):1058-69. ［添付資料 4.3-20］

(21) 西村敬治, 小林文夫, 西森司雄, 森襄, 冨家弘子. Budesonide の一般薬理試験. 基礎と臨床. 1985;19(9):4479-507. ［添付資料 4.3-21］

(22) Edsbäcker S, Andersson T. Pharmacokinetics of budesonide (Entocort EC) capsules for Crohn's disease. Clin Pharmacokinet. 2004;43(12):803-21.［添付資料 4.3-22］

(23) Jendbro M, Johansson C-J, Strandberg P, Falk-Nilsson H, Edsbäcker S. Pharmacokinetics of budesonide and its major ester metabolite after inhalation and intravenous administration of budesonide in the rat. Drug Metab and Disp. 2001;29:769-76.［添付資料 4.3-23］

(24) Ryrfeldt A, Tönnesson M, Nilsson E, Wikby A. Pharmacokinetic studies of a potent glucocorticoid (budesonide) in dogs by high-performance liquid chromatography. J Steroid Biochem. 1979;10(3):317-24. ［添付資料 4.3-24］

(25) Andersson P, Appelgren LE, Ryrfeldt A. Tissue distribution and fate of budesonide in the mouse. Acta Pharmacol Toxicol (Copenh). 1986;59(5):392-402. ［添付資料 4.3-25］

(26) Ryrfeldt A, Andersson P, Edsbäcker S, Tönnesson M, Davies D, Pauwels R. Pharmacokinetics and metabolism of budesonide, a selective glucocorticoid. Eur J Respir Dis Suppl. 1982;122:86-95. ［添付資料 4.3-26］

(27) Andersson P, Brattsand R, Edsbäcker S, Källström L, Ryrfeldt A. Biotransformation rate (*in vitro*) and systemic potency (*in vivo*) of the topical glucocorticoid budesonide in male and female rats. J Steroid Biochem. 1982;17(6):703-6. ［添付資料 4.3-27］

(28) Edsbäcker S, Andersson P, Lindberg C, Paulson J, Ryrfeldt A, Thalén A. Liver metabolism of budesonide in rat, mouse, and man. Comparative aspects. Drug Metab Dispos. 1987;15(3):403-11. ［添付資料 4.3-28］

(29) Jönsson G, Äström A, Andersson P. Budesonide is metabolized by cytochrome P450 3A (CYP3A) enzymes in human liver. Drug Metab Dispos. 1995;23(1):137-42. ［添付資料 4.3-29］

(30) Tunek A, Sjödin K, Hallström G. Reversible formation of fatty acid esters of budesonide, an antiasthma glucocorticoid, in human lung and liver microsomes. Drug Metab Dispos. 1997;25(11):1311-7. ［添付資料 4.3-30］

(31) Zimmermann C, van Waterschoot RAB, Harmsen S, Maier A, Gutmann H, Schinkel AH. PXR-mediated induction of human CYP3A4 and mouse Cyp3a11 by the glucocorticoid budesonide. Eur J Pharm Sci. 2009;36(4-5):565-71. ［添付資料 4.3-31］

(32) Khan AA, Chow ECY, van Loenen-Weemaes AMA, Porte RJ, Pang KS, Groothuis GMM. Comparison of effects of VDR versus PXR, FXR and GR ligands on the regulation of CYP3A isozymes in rat and human intestine and liver. Eur J Pharm Sci. 2009;37(2):115-25. ［添付資料 4.3-32］

(33) 伊藤位一, 中岡農, 岩波黄葵, 本村昌次, 小原要, 藤井登志之 他, Budesonide の毒性試験（第 1 報）―急性毒性試験―. 基礎と臨床. 1985;19(9):4377-87. ［添付資料 4.3-33］

(34) Ekman L, Kihlström I, Ryrfeldt A. Toxicity study of the new glucocorticosteroid budesonide in rats. Arzneimittelforschung. 1987;37(1):37-42. ［添付資料 4.3-34］

(35) 藤井登志之, 山下達雄, 宮前陽一, 天正明. Budesonide の毒性試験（第 4 報）－変異原性試験－. 基礎と臨床. 1985;19(9):4465-9. ［添付資料 4.3-35］

(36) Ryrfeldt A, Squire RA, Ekman L. Liver tumors in male rats following treatment with glucocorticosteroids. Toxicol Pathol. 1992;20(1):115-7. ［添付資料 4.3-36］

(37) 迚野勲, 古川茂典, 守永太賀彦, 歯黒重樹, 藤井登志之, 冨家弘子. Budesonide の毒性試験（第 6 報）－生殖試験－. 基礎と臨床. 1985(10);19:5093-118. ［添付資料 4.3-37］

(38) Kihlström I, Lundberg C. Teratogenicity study of the new glucocorticosteroid budesonide in rabbits. Arzneimittelforschung. 1987;37(1):43-6. ［添付資料 4.3-38］

(39) Entocort® CR Summary of Product Characteristics. Tillotts Pharma GmbH 2017.［添付資料 4.3-39］

(40) Watanabe C, Ishizuka Y, Nagao T. Palatal slit and cleft palate in rats treated with glucocorticoids II. Comparative teratogenicity of prednisolone, triamcinolone acetonide and hydrocortisone. Cong Anom. 1995;35(1):133-40.［添付資料 4.3-40］

(41) Johnson JWC, Mitzner W, Beck JC, London WT, Sly DL, Lee PA, et al. Long-term effects of betamethasone on fetal development. Am J Obstet Gynecol. 1981; 141(8):1053-64.［添付資料 4.3-41］

(42) Uno H, Lohmiller L, Thieme C, Kemnitz JW, Engle MJ, Roecker EB, et al. Brain damage induced by prenatal exposure to dexamethasone in fetal rhesus macaques. I. Hippocampus. Dev Brain Res. 1990;53(2):157-67.［添付資料 4.3-42］

(43) Slotkin TA, Lappi SE, McCook EC, Tayyeb MI, Eylers JP, Seidler FJ. Glucocorticoids and the development of neuronal function: Effects of prenatal dexamethasone exposure on central noradrenergic activity. Biol Neonate. 1992;61(5):326-36.［添付資料 4.3-43］

(44) Entocort EC™ Capsules. Label. Astra Zeneca 2001.［添付資料 4.3-44］