2.6.6 毒性試験の概要文

目次

2.6.6.1 まとめ....4

2.6.6.2 単回投与毒性試験....6

2.6.6.2.1 マウス、ラット、及びイヌの単回投与毒性〔伊藤 他, 1985 (1)〕....6

2.6.6.3 反復投与毒性試験....7

2.6.6.3.1 ラット26週間皮下反復投与毒性試験〔Ekman et al., 1987 (2)〕....7

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（試験番号1006-1893）［添付資料4.2.3.2-1］....8

2.6.6.4 遺伝毒性試験....10

2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験〔藤井 他, 1985 (3)〕....10

2.6.6.4.2 マウス骨髄小核試験〔藤井 他, 1985 (3)〕....10

2.6.6.5 がん原性試験....10

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〔Ryrfeldt et al., 1992 (4)〕....10

2.6.6.6 生殖発生毒性試験....11

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〔迚野 他, 1985 (5)〕....11

2.6.6.6.2 ラット胚・胎児発生に関する皮下投与試験〔迚野 他, 1985 (5)〕....11

2.6.6.6.3 ウサギ胚・胎児発生に関する皮下投与試験〔Kihlström et al., 1987 (6)〕....12

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〔迚野 他, 1985 (5)〕....12

2.6.6.7 局所刺激性試験....14

2.6.6.8 その他の毒性試験....14

2.6.6.8.1 分解生成物17-カルボキシブデソニドの毒性試験....14

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（試験番号 22/10/L）［添付資料4.2.3.7.6-1］....14

2.6.6.8.1.2 17-カルボキシブデソニドのDEREK分析（試験番号 10/178/405ET）［添付資料4.2.3.7.6-2］....15

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（試験番号10-209）［添付資料4.2.3.7.6-3］....15

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（試験番号12/10/L）［添付資料4.2.3.7.6-4］....16

2.6.6.9 考察及び結論....16

2.6.6.10 図表....17

2.6.6.11 参考文献....17

表の目次

表 2.6.6- 1　FE 999315 の毒性試験一覧 4
表 2.6.6- 2　毒性試験プログラム 5
表 2.6.6- 3　ブデソニドのマウス、ラット、及びビーグル犬での LD_{50} 値 7
表 2.6.6- 4　カニクイザルに FE 999315 及び Entocort カプセル経口投与後の薬物動態パラメータ 9
表 2.6.6- 5　反復投与毒性試験のまとめ 9
表 2.6.6- 6　遺伝毒性試験のまとめ 10
表 2.6.6- 7　104 週間飲水投与がん原性試験での腫瘍性肝病変のある雄ラットの数 11
表 2.6.6- 8　生殖発生毒性試験のまとめ 13
表 2.6.6- 9　17-カルボキシブデソニドのイヌ反復投与毒性試験のまとめ 15
表 2.6.6- 10　17-カルボキシブデソニドの *In Vitro* 遺伝毒性のまとめ 16

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
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
DEREK	–	*in silico* 構造活性分析
LD_{50}	50% lethal dose	半数致死量
LOD	Limit of detection	検出限界
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development	経済協力開発機構
MMX	Multi matrix system	マルチマトリックスシステム
NOAEL	No-observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	No-observed effect level	無影響量

2.6.6.1 まとめ

FE 999315（以下、本剤）は、有効成分としてブデソニド 9 mg 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。本剤の毒性試験としてカニクイザルを用いた本剤及び回腸持続放出製剤の 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、並びに分解生成物 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〔細菌を用いる復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験、*in silico* 構造活性分析（DEREK 分析）〕を実施した（表 2.6.6- 1）。

表 2.6.6- 1　FE 999315 の毒性試験一覧

Type of Study	Study System	Route	Treatment Duration	GLP	Reference
Repeated dose	Cynomolgus monkey	Oral, FE 999315, Entocort capsule	28 days + 14 days recovery	Yes	Report No. 1006-1893 ［添付資料 4.2.3.2-1］
Studies on degradation product, 17-carboxybudesonide					
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］

NA = not available

これらに加えて、本製造販売承認申請の毒性試験パッケージは公表論文を参照して構成した。毒性試験プログラムを表 2.6.6- 2 に示す。

表 2.6.6- 2　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 他, 1985 (1)
	dog	subcutaneous			
Repeated dose	Rat	Subcutaneous	26 weeks	NR	Ekman et al., 1987 (2)
	Cynomolgus monkey	Oral, FE 999315, Entocort Capsules	28 days + 14 days recovery	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 他, 1985 (3)
Bone marrow micronucleus	Mouse	Intraperitoneal	2 days	NR	藤井 他, 1985 (3)
Carcinogenesis	Rat	Oral, drinking water	104 weeks	NR	Ryrfeldt et al., 1992 (4)
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 他, 1985 (5)
Embryo-fetal development	Rat	Subcutaneous	Gestation days 7 to 17	NR	迚野 他, 1985 (5)
Embryo-fetal development	Rabbit	Subcutaneous	Gestation days 6 - 18	NR	Kihlström et al., 1987 (6)
Pre- and postnatal development	Rat	Subcutaneous	Gestation day 17 to day 21 postpartum	NR	迚野 他, 1985 (5)
Studies on degradation product, 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］

NA = not available, NR = not reported

ブデソニド原薬の急性毒性は低く、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。また、反復投与試験の結果から、ブデソニドの全身作用は、体重増加の減少並びにリンパ組織及び副腎皮質の萎縮など、他の副腎皮質ステロイドで観察される作用と同程度又はそれほど重度ではなかった。ブデソニドの遺伝毒性はいずれの試験でも陰性であった。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。これは、以前実施されたラット 104 週間飲水投与がん原性試験で認められた雄ラットの原発性肝細胞腫瘍の発生率が有意に高かったことを確認するために追加実施した。その結果、肝細胞腺腫及び肝細胞癌の合計発生頻度は、ブデソニド、トリアムシノロンアセトニド、及びプレドニゾロン投与群で有意に増加した。ブデソニドの皮下投与で行った生殖発生毒性では、高用量で胎児死亡、胎児重量減少、及び骨格異常がみられた。

17-カルボキシブデソニドはある条件下で本剤を保存すると規定閾値を超えた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分離された 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、*in silico* 構造活性分析（DEREK）も実施した。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では、最高用量 0.054 mg/animal でも毒性反応は認められなかった。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及びヒトリンパ球を用いる染色体異常試験の結果は共に陰性であった。その結果、17-カルボキシブデソニドは毒性を示さず、ブデソニドを超える毒性リスクはないと考えられた。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 マウス、ラット、及びイヌの単回投与毒性〔伊藤 他, 1985 (1)〕

ブデソニドの単回投与毒性をマウス、ラット、及びイヌを用いて検討した。マウス及びラットに静脈内投与すると投与後、自発運動低下、又は伏臥位がみられ、死亡例の多くは投与 24 時間以内に死亡

した。腹腔内投与すると上記症状に加え、一過性の writhing がみられた。腹腔内、皮下、及び経口投与とも削痩がみられた。死亡例の多くは投与後 2 週目にみられ、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。いずれの投与経路も種差及び性差は明らかでなかった（表 2.6.6- 3）。

各動物とも死亡例及び生存例の病理組織学検査で副腎皮質の萎縮、リンパ系組織の萎縮、及び消化管の潰瘍が認められ、投与後 1 週間以降の死亡例では肝臓、腎臓などに細菌コロニーを伴った壊死巣が認められた。

表 2.6.6- 3　ブデソニドのマウス、ラット、及びビーグル犬での LD_{50} 値

Species (Strain)	Route	Sex	No. of Animal	LD_{50} (mg/kg)
Mouse (Jcl:ICR)	Intravenous	Male	10	131
		Female	10	124
	Intraperitoneal	Male	10	179
		Female	10	300
	Subcutaneous	Male	10	53.6
		Female	10	57.7
	Oral	Male	10	> 10 000
		Female	10	4750
Rat (Jcl:SD)	Intravenous	Male	10	98.9
		Female	10	105
	Intraperitoneal	Male	10	284
		Female	10	138
	Subcutaneous	Male	10	58.4
		Female	10	94.1
	Oral	Male	10	> 3200
		Female	10	> 3200
Beagle dog	Subcutaneous	Male + Female	3 (male 1, female 2)	173

2.6.6.3　反復投与毒性試験

2.6.6.3.1　ラット 26 週間皮下反復投与毒性試験〔Ekman et al., 1987 (2)〕

ブデソニドを雌雄 Wistar 系ラット（投与時週齢不明）に 2 つの別の試験で 0.01、0.1、及び 5.0 µg/kg/day（10/sex/group）及び 5、20、及び 80 µg/kg/day（15/sex/group）の用量で 1 日 1 回 26 週間皮下投与した。

雌雄の 20 µg/kg 以上で体重増加量が用量増加に伴って減少した。雄の 20 µg/kg/day 以上では用量に関連した摂餌量の減少が認められた。雌の 20 µg/kg/day 以上及び雄の 80 µg/kg/day でリンパ球が有意に減少した。病理組織学検査では、20 及び 80 µg/kg/day 群でリンパ組織に萎縮が観察された。さらに、雌雄の 20 及び 80 µg/kg/day 群の乳腺の腺房過形成及び分泌、雌の 80 µg/kg/day 群で汎腺房性肝細胞空

胞化がみられた。子宮拡張が対照群、5、20、及び 80 µg/kg/day 群でそれぞれ 0/15、1/15、3/15、及び 5/15 例に観察された。

0.01、0.1、及び 5.0 µg/kg/day を投与した試験において、5.0 µg/kg/day 群では、過剰な薬理作用以外にブデソニド投与の影響はなかった。無毒性量（NOAEL）は 5 µg/kg/day、無影響量（NOEL）は 0.1 µg/kg/day であった。

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（試験番号 1006-1893）［添付資料 4.2.3.2-1］

雌雄カニクイザル（3/sex/group、3～5 年齢）に FE 999315 9 mg 錠（2 錠）及び Entocort 3 mg カプセル（6 カプセル）を 18 mg/animal の用量（Week 1 の体重からの換算；雄 4.29～5.14 mg/kg、雌 5.45～7.2 mg/kg）で 1 日 1 回 1 ヵ月間経口投与した。さらに各群 1 例の追加の雌雄カニクイザルは投与後 14 日間休薬した。投与開始時の体重は雄で 3.5～4.2 kg、雌で 2.5～3.3 kg であった。トキシコキネティクス評価用に血液試料を Day 1 及び 28 の投与後に採取した。トキシコキネティクスの結果は［2.6.4.3.3 カニクイザルへのブデソニド 28 日間経口反復投与後の薬物動態］にも記載する。

試験中に死亡及び投与に関連する症状は観察されなかった。また、試験中に評価された個別のパラメータに本剤及び Entocort カプセルによる明確な毒性反応はみられなかった。投与期間の最後でいずれの投与群のコルチゾール濃度も事前値とほぼ同程度であった。しかし、FE 999315 群の雄 1 例及び Entocort カプセル群の雌 1 例でコルチゾール濃度が高値を示し、対照群は設定されていなかったことから、両薬剤との関連性を否定することはできなかった。Day 1 及び 28 の FE 999315 群のバイオアベイラビリティは、Entocort カプセル群よりも低かった。FE 999315 群の最高血漿中濃度（C_{max}）及び 0 時間から 24 時間までの濃度時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24h}$）は Entocort カプセル群に比べて半分、又は半分以下であった。さらに、FE 999315 群の吸収速度は、Day 1 及び 28 共に Entocort カプセル群よりも遅かった。FE 999315 群の最高濃度到達時間中央値は Entocort カプセル群より長かった（表 2.6.6- 4）。両群の数例では軽度から中等度の胸腺リンパ球減少／萎縮が観察された。これは剖検で観察された胸腺の小型／胸腺重量減少と相関していた。これら所見の発生率は低く、両群に差はなかった。このような胸腺の所見は、ストレス又は性的成熟度が原因となる可能性があり、投与手技によるストレス及び比較的広い年齢幅に起因した可能性がある。さらに、他のリンパ組織に関連所見がないことから、胸腺の所見は薬物の作用に関連しないと考えられる。しかし、両薬剤の免疫抑制作用及びこの試験では対照群がないことから、両薬剤との関連性は完全には否定できない。14 日間の休薬後に胸腺重量減少はみられず、胸腺萎縮を示す動物数は相対的に減少していたことから、回復傾向が認められた。

表 2.6.6- 4　カニクイザルに FE 999315 及び Entocort カプセル経口投与後の薬物動態パラメータ

Day	Sex	Compound	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	AUC_{inf} (ng·h/mL)
1	M	FE 999315 [a]	0.93	12.5	NC	9.79	NC
	M	Entocort [b]	4.86	6.0	3.5	40.28	41.01
	F	FE 999315 [a]	3.32	14.5	4.3	25.66	46.03
	F	Entocort[b]	7.38	3.0	3.1	48.13	48.48
28	M	FE 999315 [a]	0.90	10.0	9.9	11.79	19.40
	M	Entocort[b]	4.00	5.3	5.2	28.81	30.26
	F	FE 999315 [a]	3.07	15.8	NC	21.88	NC
	F	Entocort[b]	6.27	4.5	3.2	40.47	40.73

Values are mean from 4 animals of each sex.
a = Budesonide MMX 9 mg x 2 tables/day, b = Entocort 3 mg Capsule x 6 capsules/day
$AUC_{0\ 24h}$ = area under the curve from time 0 to time 24 hours, AUC_{inf} = area under the curve from time 0 to infinity,
C_{max} = maximum plasma concentration, F = female, M = male, NC = insufficient data to calculate means,
T_{max} = time to maximum observed plasma concentration,. $t_{1/2}$ = terminal elimination half-life

表 2.6.6- 5　反復投与毒性試験のまとめ

Species (Strain)	Route (Vehicle)	Dose (µg/kg)	Sex: Animal Number	Treatment Duration	Noteworthy Findings
Rat (Wistar)	Subcutaneous	0, 5, 20, 80	M:15 F:15	26 weeks	No morality reported ≥ 5 µg/kg/day; reduced body weight gain, dilatation of the uterus, relative adrenal weights and panacinar hepatocytic fine vacuolation ≥ 20 µg/kg/day; atrophy of lymphoid organs, acinar hyperplasia and secretion in mammary gland 80 µg/kg/day; decreased white blood cells and lymphocytes, panacinar hepatocytic fine vacuolation[1] NOEL < 5 µg/kg/day
Rat (Wistar)	Subcutaneous	0, 0.01, 0.1, 5.0	M:10 F:10	26 weeks	NOAEL 5 µg/kg/day NOEL 0.1 µg/kg/day
Monkey	Oral gavage	18 mg/animal of FE 999315 and Entocort capsule	M:3 (+1) F:3 (+1) (14-day recovery)	28 days	18 mg; reduced thymus weights, lymphoid hypocellularity/atrophy No treatment-related difference between 2 formulations.

F = female, M = male, NOEL = no-observed effect level, NOAEL = no-observed adverse effect level, 1 = female only

2.6.6.4 遺伝毒性試験

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及び *in vivo* マウス小核試験で検討した。ブデソニドはこれらの試験条件下で、遺伝子突然変異誘発性及び染色体異常誘発性を示さなかった（表 2.6.6- 6）。

2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験〔藤井 他, 1985 (3)〕

ブデソニドは *Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験において、0.5～5000 µg/plate の濃度で代謝活性化の有無にかかわらず、陰性であった。

2.6.6.4.2 マウス骨髄小核試験〔藤井 他, 1985 (3)〕

ブデソニドはマウス小核試験において、33～320 mg/kg の用量を腹腔内に 2 回投与しても染色体異常誘発性を示さなかった。

表 2.6.6- 6 遺伝毒性試験のまとめ

Test type	Species / Cell / Strain	Concentration / Dose	Metabolic Activation	Noteworthy Findings
Bacterial reverse mutation	*S. typhimurium* / TA1535, TA1537, TA100, TA98 *E.coli* / WP2 uvr A$^-$	0.5 to 5000 µg/plate	± S9	Negative
Bone marrow micronucleus	Mouse / Jcl:ICR	33, 100, 320 mg/kg, 2 times	NA	Negative

NA = not applicable

2.6.6.5 がん原性試験

ブデソニドの毒性試験プログラムの一環として、ブデソニドの発がん性試験が CD-1 系マウスと Sprague-Dawley 系ラットで実施された。マウスでは陽性所見は見られなかったが、雄 Sprague-Dawley 系ラットでは肝腫瘍発生率の増加が見られた (4)。したがって、1 群の動物数を増やして 2 回目の 2 年間のがん原性試験が、潜在的な肝発癌性を評価するために雄ラットで実施された。プレドニゾロンとトリアムシノロンアセトニドも参照副腎皮質ステロイドとして試験された。

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〔Ryrfeldt et al., 1992 (4)〕

この試験は、肝細胞腫瘍及び神経膠腫の発生率増加が雄ラットに特異的に観察された以前の試験結果を確認する目的で行った。対照として 2 つの合成副腎皮質ステロイド（プレドニゾロン及びトリアムシノロンアセトニド）も併せて検討した。雄 Sprague-Dawley 系ラット（100/group）に 2 つの陰性対照群、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（Week 10 に 10 µg/kg/day、Week 21 に 5 µg/kg/day に減少）を飲料水に混ぜて 104 週間経口

投与した。各被験物質の投与液は、直近の入手可能な体重及び摂水量データに基づいて、必要に応じて原液を水道水で希釈することによって調製された。この試験では肝のみを組織学的に検査した。

陰性対照群と比較して、全てのステロイド投与群で平均体重が 10%以上減少した。生存率も低下した（104 週目：陰性対照群 68%及び 70%、トリアムシノロンアセトニド 59%、プレドニゾロン 53%、ブデソニド 47%）。肝細胞腺腫及び肝細胞癌の合計発生頻度は、ステロイド投与群で有意に増加した。好酸性細胞増殖巣及び好塩基性細胞増殖巣の悪性度及び発生率は、ステロイド投与群でわずかに高い及び／又はわずかに増加した（表 2.6.6- 7）。

表 2.6.6- 7　104 週間飲水投与がん原性試験での腫瘍性肝病変のある雄ラットの数

Group	Control 1	Control 2	Budesonide	Prednisolone	Triamcinolone acetonide
Number animals examined	100	100	100	100	100
Hepatocellular adenoma	4.0	3.0	10.0*	15.0**	8.0
Grade 3 + or higher	2.0	1.0	3.0	6.0	3.0
Mean grade	2.2	2.7	2.2	2.1	2.2
Hepatocellular carcinoma	3.0	1.0	6.0	6.0	5.0
Grade 3 + or higher	3.0	0.0	2.0	2.0	2.0
Mean grade	3.0	2.0	2.3	2.3	2.4
Total animals with tumors	7.0	4.0	16.0**	21.0**	13.0*

* p = 0.05, ** p = 0.01 vs. combined control 1 + 2, one-sided Fisher extract tests

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

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〔辿野 他, 1985 (5)〕

雌雄 Sprague-Dawley 系ラット（25 sex/group）にブデソニド 0、0.8、4、及び 20 µg/kg/day を、雄には交配前 9 週間及び交尾成立まで、雌には交配 2 週間前から妊娠 7 日目まで、1 日 1 回皮下投与した。

雄で投与部位に腫脹、潰瘍、及び痂皮形成がみられ、剖検で腫脹、皮下織の肥厚、及び潰瘍が認められた。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。

2.6.6.6.2　ラット胚・胎児発生に関する皮下投与試験〔辿野 他, 1985 (5)〕

雌 Sprague-Dawley 系ラット（40 pregnant/group）にブデソニド 0、4、20、及び 100 µg/kg/day を 1 日 1 回妊娠 7 日から 17 日まで皮下投与した。各群 25 例は妊娠 20 日目に帝王切開により胎児を観察した。各群 15 例は分娩後 22 日の離乳まで観察した。

母動物では一般状態、摂水量、妊娠経過、及び哺育に投薬の影響は認められなかった。20 µg/kg 群では摂餌量の減少、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。

2.6.6.6.3 ウサギ胚・胎児発生に関する皮下投与試験〔Kihlström et al., 1987 (6)〕

雌ニュージーランドホワイト系ウサギにブデソニド 0、5、25、及び 125 µg/kg/day 並びにフルオシノロンアセトニド 125 µg/kg/day を 1 日 1 回妊娠 6 日から 18 日まで皮下投与した。使用した動物数及び年齢は報告されていない。

5 及び 25 µg/kg/day 群では、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 群でより高かった。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。ブデソニド 125 µg/kg/day 群及びフルオシノロンアセトニド投与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。

2.6.6.6.4 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〔辿野 他, 1985 (5)〕

雌 Sprague-Dawley 系ラット（25 pregnant/group）にブデソニド 0、0.8、4、及び 20 µg/kg/day を 1 日 1 回、妊娠 17 日から分娩後 21 日まで皮下投与した。

母動物では、投与部位に腫脹がみられ、剖検で腫脹、皮下織の肥厚、及び膿瘍が認められた。その他の一般状態、妊娠経過、分娩、及び哺育に異常は認められなかった。4 µg/kg 群では摂餌量の減少、体重増加抑制、又は減少が認められ、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。

表 2.6.6- 8　生殖発生毒性試験のまとめ

Test type	Species/ Strain	Route (vehicle)	Dose (µg/kg)	Sex: Animal Number	Treatment Duration	Noteworthy Findings
Fertility and early embryonic development	Rat/ Jcl:SD	Sub-cutaneous	0, 0.8, 4, 20	M:25 F:25	Male 9 weeks premating and though mating, Female: 2 weeks premating and up to 7 days post mating	20 µg/kg/day; (male) local irritation at injection site, increased water intake, (male and female) decreases in food intake and body weight gain, (fetus) increased dead embryos, decreased fetal survival rate, delay in ossification NOAEL: 4 µg/kg/day
Embryo-fetal development	Rat/ Jcl:SD	Sub-cutaneous	0, 4, 20, 100	F: 40	Gestation days 7 to 17	≥ 20 µg/kg/day; (dam) decreases in food consumption and body weight gain, thymic atrophy, and decreased weight of the thymus and spleen, (fetus) fetal weight loss, delayed sternum nucleus, metacarpal bone, and caudal vertebrae 100 µg/kg/day; (dam) body weight loss, prolongation of gestational days, adrenal atrophy, and weight loss of the adrenal gland and uterus, (fetus) decreased surviving fetuses and placenta weight, delayed fetal cervical vertebral body, metatarsal bone formation, decreased male birth weight, delayed bone formation of thoracic vertebral arch of weaned infants NOAEL: 4 µg/kg/day
Embryo-fetal development	Rabbit (NZW)	Sub-cutaneous	0, 5, 25, 125	F:14 to 15	Gestation days 6 to 18	5 and 25 µg/kg/day; decreases in food consumption and body weight gains, visceral abnormalities 125 µg/kg/day; abortion NOAEL: < 5 µg/kg/day

Test type	Species/ Strain	Route (vehicle)	Dose (µg/kg)	Sex: Animal Number	Treatment Duration	Noteworthy Findings
Pre- and postnatal development	Rat/ Jcl:SD	Sub-cutaneous	0, 0.8, 4, 20	F:25	Gestation day 17 to day 21 post partum	≥ 0.8 µg/kg/day; local irritation at injection site ≥ 4 µg/kg/day; (dam) decreased food intake and body weight gain 20 µg/kg/day; (dam) involution and weight loss of the thymus, (pup) promoted palpebral rupture NOAEL: 0.8 µg/kg/day for dams, 4 µg/kg/day for F1 animals

F = female, M = male, NOAEL = non-observed adverse effect level

2.6.6.7 局所刺激性試験

本申請では局所刺激性試験は実施していない。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 分解生成物 17-カルボキシブデソニドの毒性試験

17-カルボキシブデソニドはある条件下で本剤を保存すると規定閾値を超える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分離された 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。

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（試験番号 22/10/L）［添付資料 4.2.3.7.6-1］

この試験では、推奨された保存条件で FE 999315 製剤の保存期間中に検出された 17-カルボキシブデソニド濃度を超えるように、1%及び 2%の含量を評価した。ICH Q3B(R2)ガイダンスでは、試験期間は入手できる関連情報に基づいて決定し、分解生成物の毒性を最も検出しやすいと考えられる動物種で試験を実施することを求められている。90 日間の試験期間は、予想される臨床投与期間の 8 週間を超え、ガイダンスで最大投与期間として推奨されている。動物種は、以前実施したブデソニドのイヌ 1 ヵ月経口反復投与毒性試験で投与の影響が知られていることから、最も適切な動物種としてイヌを選択した。その試験では、NOAEL は 0.01 mg/kg/day と判断された。1.0 mg/kg/day は忍容性良好であったが、血漿コルチゾール濃度は有意に減少し、副腎及びリンパ器官は萎縮し、肝グリコーゲン、血清アルカリホスファターゼ、及びアラニンアミノトランフェラーゼは増加した(7)。

雌雄ビーグル犬（4/sex/group、5～6 ヵ月齢）に 17-カルボキシブデソニドの 0（硬ゼラチンカプセル）、0.027、及び 0.054 mg/animal 並びにブデソニド 0.054 mg/animal の用量を 1 日 1 回 90 日間経口投与した。さらに毒性の回復性を評価するために、対照群及び 17-カルボキシブデソニド 0.054 mg/animal

群各 2 例の動物は 90 日間経口投与し、その後 28 日間休薬した。ブデソニドと 17-カルボキシブデソニドの血漿中濃度をバリデートされた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。ブデソニド及び 17-カルボキシブデソニドの検出限界（LOD）はそれぞれ 010 ng/mL 及び 0.020 ng/mL であった。

体重、摂餌量、心電図、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学、及び尿検査には毒性反応はみられなかった。器官重量のいくつかの有意な差は、投与には関連しないと考えられた。剖検及び病理組織学検査の変化は自然発症変化であった。測定されたブデソニド及び 17-カルボキシブデソニドの血漿中濃度はほとんどが定量下限未満であった。ほとんどの動物では LOD より高い濃度の薬物は検出されているので、薬物には曝露されていると考えられた。17-カルボキシブデソニドの NOAEL は最高用量の 0.054 mg/animal で、17-カルボキシブデソニドとブデソニドの毒性プロファイルに明確な差はないと考えられた。

表 2.6.6- 9　17-カルボキシブデソニドのイヌ反復投与毒性試験のまとめ

Species (Strain)	Route (Vehicle)	Dose (µg/animal)	Sex Animal Number	Treatment Duration	Noteworthy Findings
Dog (Beagle)	Oral gavage (gelatin capsules)	17-carboxy-budesonide: 0, 27, 54, budesonide: 54	M:4, F:4 Recovery for 28 days in 0, 54 µg M:2, F:2	90 days	No treatment-related changes NOAEL was 54 µg/animal for 17-carboxybudesonide and budesonide.

F = female, M = male, NOAEL = no-observed adverse effect level

2.6.6.8.1.2　17-カルボキシブデソニドの DEREK 分析（試験番号 10/178/405ET）［添付資料 4.2.3.7.6-2］

17-カルボキシブデソニドを DEREK システムで分析した。DEREK はコンピュータ予測プログラムで、化学構造から毒性活性を同定する専門システムである。未変化体のブデソニドも比較データを取るために同様に分析した。

ブデソニドで‘Plausible’（定義：The weight of evidence supports the proposition; 科学的根拠の重要度が命題を支持）と判定された警告は、遺伝毒性（アルデヒド又はその前駆体）、皮膚感作性（アルキルアルデヒド前駆体並びに 1,2-ジカルボニル化合物又はその前駆体）、及び眼毒性（副腎皮質ステロイド）であった。これらの警告は、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。分解生成物 17-カルボキシブデソニドに追加の警告はなかった。化学構造が非常に類似していることから予測されたとおり、ブデソニドのアルキルアルデヒド又はその前駆体及びアルデヒド前駆体はブデソニドと同じ構造の警告が得られた。以上のことから、17-カルボキシブデソニドは未変化体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。

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（試験番号 10-209）［添付資料 4.2.3.7.6-3］

この試験は、経済協力開発機構（OECD）試験ガイドライン No. 471 に類似した EU method B.13/14 変異原性－細菌を用いる復帰突然変異試験に従って実施した。ネズミチフス菌 4 株（TA98、TA100、

TA1535、及び TA1537）並びに大腸菌 1 株 WP2 *uvr*A を使用した。被験物質はジメチルスルホキシドに溶解し、0.1 mL/plate の添加により 50～5000 µg/plate の用量とした。試験は、ラット S9 を用いた代謝活性化及び非代謝活性化の 2 条件で行った。17-カルボキシブデソニドは代謝活性化の有無にかかわらず、全ての菌株で遺伝子突然変異を誘発しなかった。

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（試験番号 12/10/L）［添付資料 4.2.3.7.6-4］

この試験は、OECD 試験ガイドライン No. 473 哺乳類の *in vitro* 染色体異常試験に従って実施された。17-カルボキシブデソニドの染色体異常誘発活性は、ラット S9 を用いた代謝活性化及び非代謝活性化の 2 条件で、ヒト末梢血リンパ球を用いて 2 回の *in vitro* 染色体異常試験で評価した。予備試験は 0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、2.5、及び 5.0 mg/mL の濃度で実施した。代謝活性化の有無にかかわらず 5 mg/mL で細胞毒性が観察されたことから、主試験では 0.5、1.0、及び 2.5 mg/mL の濃度を選択した。

代謝活性化の 2.5 mg/mL では異常細胞率の出現がわずかに増加したが（3.5%）、背景値範囲内と判断された。他の全ての濃度で増加は認められず、染色体異常を有する細胞数の有意な増加又は用量相関はなかった。以上の結果は遺伝毒性学的に妥当で、再現性が確認されたことから、17-カルボキシブデソニドはヒト末梢血リンパ球培養系で数的又は構造的染色体異常を誘発しなかった。

表 2.6.6- 10　17-カルボキシブデソニドの *In Vitro* 遺伝毒性のまとめ

Test type	Cell/ Strain	Concentration	Metabolic Activation	Noteworthy Findings
Bacterial reverse mutation	*S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, *E. coli* WP2 *uvr*A	50 to 5000 µg/plate	S9-, S9+	Negative
Chromosome aberration	human lymphocytes	50 to 5000 µg/mL	S9–, S9+	Negative

2.6.6.9　考察及び結論

ブデソニドの急性毒性は弱く、他の副腎皮質ステロイドと同程度である。また、反復投与試験の結果から、ブデソニドの全身作用は他の副腎皮質ステロイドで観察されるクラスエフェクトで、体重増加の抑制、リンパ組織及び副腎皮質の萎縮、並びに白血球減少がみられた。しかし、これらの作用は他の副腎皮質ステロイドと同程度又は軽度であった。

遺伝毒性試験では、ブデソニドによる突然変異誘発やマウス小核は認められなかった。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、肝細胞腺腫及び肝癌は副腎皮質ステロイドのクラスエフェクトであり、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神経膠腫及び原発性肝細胞腫瘍を誘発することは報告されていない(8)。

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・発達に影響する(9) (10) (11) (12)。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(13)。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]ブデソニドをラットに投与すると、妊娠動物の胎児や胎盤に放射活性が認められた［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］。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、潜在的な利益が胎児への潜在的リスクを上回る場合にのみ、妊婦に使用すべきである。

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 28 日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 カプセルと同程度又はより低く、FE 999315 の安全域は Entocort カプセルで設定された安全域より大きいことが示唆される。

17-カルボキシブデソニドは、ブデソニドをある条件下で保存すると規定閾値を超える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分離された 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、*in silico* DEREK も実施した。イヌ 90 日間経口反復投与毒性試験では最高用量 0.054 mg/animal でも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。

結論として、ブデソニドの非臨床安全性試験で認められた影響は、副腎皮質ステロイドのクラスエフェクトと考えられた。しかし、経口投与後の高い初回通過効果により、血漿中薬物濃度が抑えられることから、局所の抗炎症作用に比べて全身性の副作用は他の副腎皮質ステロイドより弱かった。本剤と Entocort カプセルのカニクイザルでの毒性比較試験では、ブデソニドとして同用量を投与した時の血漿中濃度は同程度か、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大きいことが示唆される。したがって、本剤が新たな安全性上の懸念を引き起こす可能性は低いと考えられる。

2.6.6.10　図表

図表は本文中の適切な場所に記載した。

2.6.6.11　参考文献

(1) 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］

(2) 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］

(3) 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］

(4) 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］

(5) 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;19(10):5093-118.［添付資料 4.3-37］

(6) 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］

(7) 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］

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

(9) 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］

(10) 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］

(11) 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］

(12) 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］

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

2.6.7 毒性試験概要表

目次

2.6.7.1 毒性試験：一覧表 3
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 4
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 5
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 7
2.6.7.5 単回投与毒性試験 9
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 9
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 10
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 13
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 13
2.6.7.10 がん原性試験 13
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 13
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 13
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 13
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：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 14
2.6.7.15 新生児を用いた試験 14
2.6.7.16 局所刺激性試験 14
2.6.7.17 その他の毒性試験：不純物 15

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: FE 999315 (Budesonide MMX 9 mg)

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/animal)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Document No.
Repeated dose	Cynomolgus monkey	Oral	28 days + 14 day recovery	18	Yes	[redacted] (Canada)	1006-1893	[4.2.3.2-1]

Test Article: 17-Carboxybudesonide

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/animal)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Document No.
Repeated dose	Dog, Beagle	Oral gavage	90 days + 28 day recovery	17-carboxybudesonide 0.027, 0.054 budesonide 0.054	Yes	[redacted] (Czech Republic)	22/10/L	[4.2.3.7.6-1]
Genotoxicity								
DEREK analysis	*In silico*	NA	NA	NA	No	[redacted] (Hungary)	10/178-405ET	[4.2.3.7.6-2]
Bacterial reverse mutation	*S. typhimurium*, *E. coli* WP2 *uvrA*	*in vitro*	NA	50 – 5000 µg/plate	Yes	[redacted] (Czech Republic)	10-209	[4.2.3.7.6-3]
Chromosome aberration	human lymphocytes	*in vitro*	NA	0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 mg/mL	Yes	[redacted] (Czech Republic)	12/10/L	[4.2.3.7.6-4]

GLP = Good Laboratories Practice, NA = not applicable

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: FE 999315 (Budesonide MMX 9 mg)

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/animal)	GLP Compliance	Study Number	Document No.
Repeated dose	Cynomolgus monkey	Oral	28 days + 14 day recovery	18	Yes	1006-1893	[4.2.3.2-1]

GLP = Good Laboratories Practice

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

Test Article: FE 999315 (Budesonide MMX 9 mg)

$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)					
Study	Monkey 28 days [a]				Human Phase 1 [b,k]
Measurement day	Day 1		Day 28		Day 1
Number of animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:12
Dose (mg/kg)					
0.1 [c]					9.02433
0.15 [d]					12.66498
0.25 [e]					35.34603
4.74 [f]	9.7915				
4.86 [g]			11.7863		
6.42 [h]		25.6573			
6.67 [i]				21.8785	

a: One-Month Repeated Oral Dose Bridging Toxicity Study of Budesonide MMX™ 9 mg Tablet and Entocort 3 mg Capsule in Cynomolgus Monkeys (Report No. 1006-1893 [4.2.3.2-1]), b: A Phase I, Single-blind, Randomised, Placebo-controlled, Single-dose, Single-centre Trial assessing the Pharmacokinetic Profile, Safety and Tolerability of FE 999315 in Healthy Japanese and Caucasian Men (Study No. 000232), c: 6 mg in 60 kg, d: 9 mg in 60 kg, e: 15 mg in 60 kg, f: 18 mg/3.8 kg (mean body weight at Day 0),
g: 18 mg/3.7 kg (mean body weight at Day 28), h: 18 mg/2.8 kg (mean body weight at Day 0), i: 18 mg/2.7 kg (mean body weight at Day 28), k: AUC_t

$AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the curve from time 0 to 24 h, AUC_t = area under the curve from dosing up to time t, where t is the last time point at which the concentration is above the lower limit of quantification, M = male, F = female

Test Article: FE 999315 (Budesonide MMX 9 mg)

C_{max} (ng/mL)					
Study	Monkey 28 days [a]				Human Phase 1 [b]
Measurement day	Day 1		Day 28		Day 1
Number of animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:12
Dose (mg/kg)					
0.1 [c]					0.6749
0.15 [d]					1.1105
0.25 [e]					2.5050
4.74 [f]	0.9275				
4.86 [g]			0.8977		
6.42 [h]		3.3243			
6.67 [i]				3.0675	

a: One-Month Repeated Oral Dose Bridging Toxicity Study of Budesonide MMX™ 9 mg Tablet and Entocort 3 mg Capsule in Cynomolgus Monkeys (Report No. 1006-1893 [4.2.3.2-1]), b: A Phase I, Single-blind, Randomised, Placebo-controlled, Single-dose, Single-centre Trial assessing the Pharmacokinetic Profile, Safety and Tolerability of FE 999315 in Healthy Japanese and Caucasian Men (Study No. 000232), c: 6 mg in 60 kg, d: 9 mg in 90 kg, e: 15 mg in 60 kg, f: 18 mg/3.8 kg (mean body weight at Day 0) ,
g: 18 mg/3.7 kg (mean body weight at Day 28), h: 18 mg/2.8 kg (mean body weight at Day 0), i: 18 mg/2.7 kg (mean body weight at Day 28)

C_{max} = maximum plasma concentration, M = male, F = female

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Test Article: FE 999315 (Budesonide MMX 9 mg)

Lot No.	Purity	Specified Impurities		Document No.	Type of Study	Study No.
		Each impurity	Total impurity			
5970/2	103.3%	< 0.1%	< 0.1%	[4.2.3.2-1]	One-month repeated oral dose toxicity in cynomolgus monkeys	1006-1893

Test Article: Budesonide capsule

Batch No.	Purity	Specified Impurities		Document No.	Type of Study	Study No.
		Each impurity	Total impurity			
6279	99.6%	NA	NA	[4.2.3.7.6-1]	90-days repeated oral dose toxicity of 17-carboxtbudesonide in beagle dogs	22/10/L

NA: not available

Test Article: 17-Carboxybudesonide capsule

Batch No.	Purity	Specified Impurities		Document No.	Type of Study	Study No.
		Each impurity	Total impurity			
6280	96.3%	NA	NA	[4.2.3.7.6-1]	90-days repeated oral dose toxicity of 17-carboxtbudesonide in beagle dogs	22/10/L

NA: not available

Test Article: 17-Carboxybudesonide powder

Batch No.	Purity	Specified Impurities		Document No.	Type of Study	Study No.
		Each impurity	Total impurity			
TF06410	approx. 96.7%	NA	NA	[4.2.3.7.6-3]	Bacterial reverse mutation of 17-carboxtbudesonide	10-209
				[4.2.3.7.6-4]	Chromosome aberration of 17-carboxtbudesonide	12/10/L

NA: not available

2.6.7.5　単回投与毒性試験

該当する試験なし

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当する試験なし

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

A: Report Title: CB-01-02 Budesonide-MMX™ 9mg extended release tablets: A 28-day oral toxicity study in Cynomolgus monkeys followed by a 14-day recovery period

Test Article: Budesonide MMX 9 mg

Species/Strain:	Cynomolgus monkey	**Duration of Dosing:**	28 days	**Study No.:**	1006-1893
Initial Age:	3 to 5 years	**Duration of Postdose:**	14 days	**Location in CTD**	[4.2.3.2-1]
Date of First Dose:	11 [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral	**GLP Compliance:**	Yes
		Vehicle/Formulation:	Tablet/Capsule		

Special Features: Blood collection for toxicokinetics was done at 0, 1, 3, 6, 9, 12, 16, and 24 h post dose on Days 1 and 28.

No Observed Adverse Effect Level: 18 mg/animal

Test Article		**Budesonide MMX**		**Entocort EC**	
Daily Dose (mg/animal)		**18 (9 mg × 2 tablets)**		**18 (3 mg × 6 capsules)**	
Number of Animals		**M: 3 + 1R**	**F: 3 + 1R**	**M: 3 + 1R**	**F: 3 + 1R**
Toxicokinetics					
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	Day 1	9.7915	25.6573	40.2763	48.1300
	Day 28	11.7863	21.8785	28.8096	40.4710
C_{max} (ng/mL)	Day 1	0.9275	3.3243	4.8575	7.3800
	Day 28	0.8977	3.0675	3.9950	6.2650
T_{max} (h)	Day 1	12.50	14.50	6.00	3.00
	Day 28	10.00	15.75	5.25	4.50
Noteworthy findings					
Dead or Sacrificed Moribund		0	0	0	0
Clinical Observations		–	–	–	–
Body Weight (%) [a]		−7.9	−10.7	−10.3	−6.9
Ophthalmoscopy		–	–	–	–
Electrocardiography		–	–	–	–

−: No noteworthy findings, $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the curve from time 0 to 24 h, C_{max} = maximum plasma concentration, M = male, F = female, R = recovery

a: % differences from Day 0 to Day 29 [100 – (Day29 – Day 0)/Day 0 × 100]

Test Article	**Budesonide MMX**		**Entocort EC**	
Daily Dose (mg/animal)	**18 (9 mg × 2 tablets)**		**18 (3 mg × 6 capsules)**	
Number of Animals	**M: 3 + 1R**	**F: 3 + 1R**	**M: 3 + 1R**	**F: 3 + 1R**
Urinalysis	–	–	–	–
Hematology:				
Leukocyte parameters	–	–	↑ (Day 29)	–
Blood Chemistry:				
Cholesterol	–	–	↑ (Day 29)	–
Serum Cortisol Analysis	–	–	–	–
Organ Weight (Day 29, N = 3):				
Thymus (absolute, g)	0.976 ↓	0.824 ↓	0.997 ↓	1.037 ↓
Thymus (relative, %)	0.029 ↓	0.033 ↓	0.028 ↓	0.039 ↓
Adrenals (relative, %)	–	–	0.012 ↓	–
Spleen (absolute, g)	–	–	–	3.268 ↑
Pituitary (relative, %)	–	–	–	0.0433 ↓
Gross Pathology (Day 29, N = 3):				
Thymus small	2	1	1	1
Thymus cyst	0	1	0	0
Thymus dark focus	0	0	1	0
Spleen pale area/depressed area	0	0	2	0
Spleen adhesion to capsule of kidney	0	0	0	1
Histopathology (Day 29, N = 3):				
Thymus: cyst	1	0	0	0
Thymus: hypocellularity/atrophy lymphoid:	2	2	1	2
Spleen: Hyperplasia: capsular	0	0	0	1

Test Article	**Budesonide MMX**		**Entocort EC**	
Daily Dose (mg/animal)	**18 (9 mg × 2 tablets)**		**18 (3 mg × 6 capsules)**	
Number of Animals (Recovery Animals)	**M: 1**	**F: 1**	**M: 1**	**F: 1**
Noteworthy findings				
Gross Pathology (Recovery Day 14, N = 1):				
Thymus cyst	0	0	1	0
Spleen depressed area	0	0	1	0
Histopathology (Recovery Day 14, N = 1):				
Thymus: hypocellularity/atrophy lymphoid:	0	1	0	0

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

該当する試験なし

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

該当する試験なし

2.6.7.10 がん原性試験

該当する試験なし

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当する試験なし

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

該当する試験なし

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当する試験なし

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：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

該当する試験なし

2.6.7.15　新生児を用いた試験

該当する試験なし

2.6.7.16　局所刺激性試験

該当する試験なし

2.6.7.17 その他の毒性試験：不純物

2.6.7.17.1 Repeat-Dose Toxicity

Report Title: 17-carboxybudesonide 90-Day Repeated Dose Oral Toxicity Study with Toxicokinetics and 28-Day Recovery Period in Beagle Dogs

Test Article: 17-carboxybudesonide

Location in CTD: [4.2.3.7.6-1]

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/animal)	No. and Gender per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Dog/ Beagle	Oral gavage	90 days + 28 days untreated	Placebo capsule 0 17-carboxybudesonide 0.027 17-carboxybudesonide 0.054 Budesonide 0.054	4 + 2 [a] 4 4+2 [a] 4	0.054 mg/animal 17-carboxybudesonide (equivalent to 2% exposure, in excess of levels detected during shelf life in the product after storage under recommended conditions) identified as NOAEL No adverse effects observed at both dosages of 17-carboxybudesonide or equivalent dosage of parent product (budesonide) Toxicokinetic data revealed almost all values for treated animals were below the lower limit of quantification (0.100 and 0.050 ng/mL for budesonide and 17-carboxybudesonide, respectively) but exposure was considered to be confirmed as almost all animals showed values above the limit of detection (0.010 and 0.020 ng/mL budesonide and 17-carboxybudesonide, respectively)	22/10/L

a: Recovery animals

NOAEL = non-observed adverse effect level

2.6.7.17.2 Genotoxicity: *In Vitro*

Report Title: 17-carboxybudesonide Bacterial reverse mutation test

Test Article: 17-carboxybudesonide

Location in CTD: [4.2.3.7.6-3]

Test for Induction of: Bacterial reverse mutation

No. of Independent Assays: 2

Study No.: 10-209

Strains: *S. typhimurium* TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, *E. coli* WP2 *uvrA*

No. of Replicate Cultures: 3 (except TA 100 × 2)

Metabolizing System: Rat S9

No. of Cells Analyzed/Culture: NR

Vehicles: Dimethyl sulfoxide

GLP Compliance: Yes

Treatment: 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/plate

Date of Treatment: 26 [redacted] 20[redacted]

Cytotoxic Effects: Negative

Genotoxic: Not mutagenic, with or without metabolic activation

2.6.7.17.3 Genotoxicity: *In Vitro*

Report Title: 17-carboxybudesonide *In vitro* Chromosome Aberration Test

Test Article: 17-carboxybudesonide

Location in CTD: [4.2.3.7.6-4]

Test for Induction of: Chromosome aberrations

Strains: Human peripheral blood lymphocytes

Metabolizing System: Rat S9

Vehicles: 1% dimethyl sulfoxide

Treatment: 0.5, 1.0, 2.5 mg/mL

Cytotoxic Effects: 5 mg/mL ±S9

Genotoxic: No increase in numerical or structural aberrations

No. of Independent Assays: 2

No. of Replicate Cultures: 2

No. of Cells Analyzed/Culture: 200

Study No.: 12/10/L

GLP Compliance: Yes

Date of Treatment: 1[redacted]20[redacted]