アバレプト懸濁性点眼液 0.3%

CTD 第 2 部 CTD の概要（サマリー）

2.4 非臨床に関する概括評価

千寿製薬株式会社

目 次

2.4 非臨床に関する概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 5
2.4.1.1 薬理試験 5
2.4.1.2 薬物動態試験 5
2.4.1.3 毒性試験 5
2.4.2 薬理試験 5
2.4.2.1 薬理活性 5
2.4.2.2 ドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加の抑制作用 5
2.4.2.3 他覚所見改善作用 6
2.4.2.4 三叉神経節細胞に対する作用 6
2.4.2.5 角膜上皮細胞に対する作用 6
2.4.2.6 活性化 T 細胞に対する作用 6
2.4.2.7 角膜知覚閾値に対する影響 6
2.4.2.8 主要なイオンチャネル、受容体及びトランスポーターに対する影響 6
2.4.2.9 中枢神経系への影響 6
2.4.2.10 心血管系への影響 6
2.4.2.11 呼吸系への影響 7
2.4.2.12 体温への影響 7
2.4.2.13 協調運動機能への影響 7
2.4.3 薬物動態試験 7
2.4.3.1 分析法 7
2.4.3.2 吸収 7
2.4.3.3 分布 8
2.4.3.4 代謝 8
2.4.3.5 排泄 8
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用 8
2.4.4 毒性試験 9
2.4.4.1 単回投与毒性試験 9
2.4.4.2 反復投与毒性試験 9
2.4.4.2.1 ウサギ及びイヌを用いた反復点眼投与毒性試験 9
2.4.4.2.2 ラットを用いた反復経口投与毒性試験 9
2.4.4.2.3 イヌを用いた反復経口投与毒性試験 10
2.4.4.3 遺伝毒性試験 10
2.4.4.4 がん原性試験 10
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 10
2.4.4.6 局所刺激性試験 11
2.4.4.7 その他の毒性試験 11
2.4.4.7.1 皮膚感作性試験 11

2.4.4.7.2 光毒性試験 11
2.4.4.7.3 皮膚光感作性試験 11
2.4.4.7.4 ビリルビン測定法干渉への影響 11
2.4.4.7.5 不純物の毒性試験 11
2.4.4.7.6 新添加剤の安全性評価 11
2.4.5 総括及び結論 12

2.4 非臨床に関する概括評価

本項で使用した略語及び用語の定義を表 2.4-1 に示した。

表 2.4-1　略語及び用語の定義一覧

略語及び用語	内容
AUC_{0-16}	Area Under the Concentration-Time Curve from Time 0 to 16 Hours（時間 0 から 16 時間までの薬物濃度－時間曲線下面積）
$AUC_{0-\infty}$	Area Under the Concentration-Time Curve from Time 0 Extrapolated to Infinity（時間 0 から無限大時間まで外挿した薬物濃度－時間曲線下面積）
AUC_{0-t}	Area Under the Concentration-Time Curve from Time 0 to the Last Time Point with Measurable Concentration［時間 0 から最終測定可能時間（t）までの薬物濃度－時間曲線下面積］
BA	Bioavailability（バイオアベイラビリティ）
BCRP	Breast Cancer Resistance Protein（乳がん耐性タンパク質）
BrdU	Bromodeoxyuridine（ブロモデオキシウリジン）
BSEP	Bile Salt Export Pump（胆汁排泄ポンプ）
Caco-2 細胞	Human Colorectal Adenocarcinoma Cell（ヒト結腸癌由来細胞）
CCL5	C-C motif Chemokine Ligand 5
C_{max}	Maximum Concentration（最高濃度）
C_{trough}	Minimum (predose) plasma concentration during repeat dosing（反復投与時の投与前血漿中濃度）
CYP	Cytochrome P450（シトクロム P450）
DPD	Diethyl-p-phenylenediamine
HEK293 細胞	Human Embryonic Kidney 293 cells（ヒト胎児腎細胞 293）
hERG	Human *ether-a-go-go* Related Gene（ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子）
HPLC	High Performance Liquid Chromatography（高速液体クロマトグラフィー）
IC_{50}	Concentration Required for 50% Target Inhibition（50%阻害濃度）
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use（医薬品規制調和国際会議）
IFNγ	Interferon gamma
LC/MS/MS	Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry（液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法）
MATE	Multidrug and Toxin Extrusion（多剤排出輸送体）
MTD	Maximum Tolerated Dose（最大耐量）
MVT	モツギバトレプ懸濁液
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level（無毒性量）
OAT	Organic Anion Transporter（有機アニオントランスポーター）
OATP	Organic Anion Transporting Polypeptide（有機アニオン輸送ポリペプチド）
OCT	Organic Cation Transporter（有機カチオントランスポーター）
P-gp	P-Glycoprotein（P-糖蛋白質）
QTcF	Corrected QT Interval by Fridericia（Fridericia の式で補正した QT 間隔)
QTcQ	Corrected QT interval by animal-specific formula（動物種固有の補正式で補正した QT 間隔)
RAD	Radioactivity Detector（放射能検出装置）
SPK	Superficial Punctate Keratopathy（点状表層角膜症）
$T_{1/2}$	Elimination Half-Life（消失半減期）
Tg rasH2 マウス	Transgenic mice carrying human prototype c-Ha-ras transgenes（ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入マウス）
TK	Toxicokinetics（トキシコキネティクス）
T_{max}	Time to Reach Maximum Concentration（最高濃度到達時間）
TRPV1	Transient Receptor Potential cation channel subfamily V member 1
UGT	Uridine 5'-Diphospho-Glucuronosyltransferase（ウリジン二リン酸-グルクロン酸転移酵素）
5HT2a	5-Hydroxytryptamine receptor 2A（5-ヒドロキシトリプタミン 2A 受容体）
5HT2b	5-Hydroxytryptamine receptor 2B（5-ヒドロキシトリプタミン 2B 受容体）

2.4.1 非臨床試験計画概略

モツギバトレプはTRPV1の強力かつ選択的な拮抗薬である。モツギバトレプをドライアイの治療薬として開発するにあたり、以下の薬理試験、薬物動態試験、及び毒性試験を行った。

2.4.1.1 薬理試験

モツギバトレプの効力を裏付ける試験として、薬理活性、ドライアイモデルラットでの瞬目回数増加の抑制及び他覚所見改善作用、三叉神経節細胞に対する作用、角膜上皮細胞に対する作用、活性化T細胞に対する作用について評価を行った。また、副次的薬理試験として角膜知覚閾値に対する影響及び主要なイオンチャネル、受容体及びトランスポーターに対する影響について評価を行った。モツギバトレプの安全性薬理試験として中枢神経系、心血管系、呼吸器系、体温、及び協調運動機能に対する影響について評価を行った。

2.4.1.2 薬物動態試験

モツギバトレプの薬物動態を明らかにするため、薬理試験及び毒性試験で使用したラット及びイヌを用いて静脈内及び経口投与での *in vivo* 試験及び *in vitro* 試験を行った。また、トキシコキネティクス（TK）として、ウサギ及びイヌにおける反復点眼投与時の薬物動態を評価した。*In vitro* 試験においては、薬理試験及び毒性試験で用いた各種動物生体試料及びヒト生体試料を用いて薬物動態試験を行った。

2.4.1.3 毒性試験

モツギバトレプの非臨床における安全性を評価する目的で、マウス及びラットを用いた単回経口あるいは静脈内投与毒性試験、ウサギ及びイヌを用いた反復点眼投与毒性試験、ラット及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験、細菌、哺乳類培養細胞及びラットを用いた遺伝毒性試験、Tg rasH2マウス及びラットを用いたがん原性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験、ウサギを用いた眼局所刺激性試験、マウスを用いた皮膚感作性試験、モルモットを用いた皮膚光感作性試験及び哺乳類培養細胞を用いた光毒性試験を行った。また、反復経口投与毒性試験でみられたビリルビンの高値の原因究明のため、ビリルビン測定法への干渉作用の検討を行った。原薬中の不純物はモツギバトレプの反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験で評価した。

なお、主要な試験はGLPを遵守して行った。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 薬理活性

カプサイシンによって活性化されたヒトTRPV1又はラットTRPV1に対するモツギバトレプのIC_{50}値はそれぞれ0.6635 nM又は0.4588 nMであり、モツギバトレプはヒト及びラットTRPV1に対して強いアンタゴニスト活性を示した。また、モツギバトレプの作用はTRPV1に選択的であった（2.6.2.2.1）。

2.4.2.2 ドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加の抑制作用

スコポラミンを充填した浸透圧ポンプをラットの皮下に埋植し、ドライアイモデルラットを作製した。作製したドライアイモデルラットを低湿度環境で飼育し、0.1%、0.3%、1.0%モツギバトレプ懸濁性点眼液の検討用製剤（検討用製剤）、又はその基剤を単回点眼投与し、投与30分後から瞬目回数を5分間測定した。瞬目回数は、眼の乾燥及び不快感に対する動物の行動的指標とさ

れており、薬効評価の指標として用いられている。検討用製剤は 0.1%～1.0%の濃度範囲で用量依存的にドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加を抑制する傾向を示し、0.3%及び 1.0%検討用製剤投与群は基剤投与群に対し有意に瞬目回数増加を抑制した（2.6.2.2.2.1）。また、1.0%検討用製剤点眼投与によるドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加を抑制効果は 4 時間持続することが示された（2.6.2.2.2.2）。

2.4.2.3 他覚所見改善作用

スコポラミンを充填した浸透圧ポンプをラットの皮下に埋植し、ドライアイモデルラットを作製した。作製したドライアイモデルラットに 0.3%モツギバトレプ懸濁液（MVT）、基剤、又はムコスタ®点眼液 UD2%（2%レバミピド）を 1 日 4 回 14 日間点眼投与し、点状表層角膜症（SPK）の改善効果を検討した。ドライアイモデルラットの SPK スコアは、基剤投与群と比較して 0.3% MVT 投与群及び 2%レバミピド投与群で有意に改善し、0.3% MVT 投与群の方が 2%レバミピド投与群より SPK スコアが早期に改善した（2.6.2.2.3）。

2.4.2.4 三叉神経節細胞に対する作用

モツギバトレプはカプサイシン刺激により誘発される三叉神経節細胞からの Substance P の放出を濃度依存的に抑制し、その作用は 1 nM 以上の濃度において有意であった（2.6.2.2.4）。

2.4.2.5 角膜上皮細胞に対する作用

モツギバトレプはヒト角膜上皮細胞（HCE-T）への高浸透圧刺激に伴う CCL5 の発現上昇を濃度依存的に抑制し、その作用は 0.1 μM 以上の濃度で有意であった（2.6.2.2.5）。

2.4.2.6 活性化 T 細胞に対する作用

モツギバトレプは T 細胞の活性化を抑制し、1 nM 以上の濃度で IFNγ の産生を抑制することが示された（2.6.2.2.6）。

2.4.2.7 角膜知覚閾値に対する影響

スコポラミンを充填した浸透圧ポンプをラットの皮下に埋植し、ドライアイモデルラットを作製した。作製したドライアイモデルラットに、0.3% MVT、基剤、又は 2%レバミピドを 1 日 4 回 14 日間点眼投与し角膜知覚閾値を測定した。偽処置群と基剤投与群の 2 群間並びに基剤投与群と 0.3% MVT 投与群及び 2%レバミピド投与群の群間に有意な差を認めず、モツギバトレプは角膜知覚閾値に影響を及ぼさないことが示された（2.6.2.3.1）。

2.4.2.8 主要なイオンチャネル、受容体及びトランスポーターに対する影響

モツギバトレプは 5HT2a 及び 5HT2b をわずかに阻害したものの、TRPV1 に対して高い選択性を示した（2.6.2.3.2）。

2.4.2.9 中枢神経系への影響

雄性ラットにモツギバトレプを単回経口投与し中枢神経系に及ぼす影響を評価した（2.6.2.4.1.1）。その結果、接触反応の増加、ハンドリング時の発声の増加及びケージ内の離散行動及び体温上昇がみられた。いずれも一過性かつ軽度な変化であったことから、臨床的に意義のある変化ではないと判断した。

2.4.2.10 心血管系への影響

hERG 導入 HEK-293 細胞を用い、モツギバトレプの遅延整流性カリウムチャネル電流への作用

を検討した結果（2.6.2.4.2.1、2.6.2.4.2.2）、モツギバトレプの hERG 電流に対する IC_{50} は 1 μg/mL を上回った。

雄性イヌにモツギバトレプを単回経口投与し、覚醒下でテレメトリー測定を行った結果（2.6.2.4.2.3）、4 mg/kg から QTcF 及び QTcQ の短縮及び体温上昇がみられた。QTcF 及び QTcQ の短縮は体温上昇の二次的変化であり、モツギバトレプに催不整脈の懸念はないと判断した。

2.4.2.11 呼吸系への影響

雄性ラットにモツギバトレプを単回経口投与し呼吸系への影響を評価した結果（2.6.2.4.3.1）、いずれの用量でも呼吸数及び一回換気量に変化はみられなかった。

2.4.2.12 体温への影響

雄性ラットにモツギバトレプを 4 日間反復経口投与した結果（2.6.2.4.4.1）、最大で約 1°C の体温上昇がみられ、反復投与により体温上昇作用は減弱傾向を示した。

雄性イヌにモツギバトレプを単回経口投与した結果（2.6.2.4.4.2）、媒体投与後に比べて統計学的に有意な体温の上昇がみられた。

雄性サルにモツギバトレプを単回経口投与した結果（2.6.2.4.4.3）、媒体投与後に比べてモツギバトレプ投与後の平均体温は上昇した。

2.4.2.13 協調運動機能への影響

雄性ラットにモツギバトレプを単回経口投与し協調運動機能への影響を評価した結果（2.6.2.4.5.1）、モツギバトレプ投与による変化はみられなかった。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法

^{14}C で標識したモツギバトレプ（^{14}C-モツギバトレプ）投与時の生体試料中放射能濃度は、試料に直接液体シンチレーターを添加あるいはサンプルオキシダイザーで燃焼後、液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。また、モツギバトレプ及び代謝物由来の放射能は高速液体クロマトグラフィー–放射能検出装置（HPLC-RAD）を用いて分析した。代謝物の構造推定には液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法（LC/MS/MS）を用いた（2.6.4.2.1）。

血漿中モツギバトレプ濃度は、LC/MS/MS により測定した（2.6.4.2.2）。

2.4.3.2 吸収

モツギバトレプをラット又はイヌに単回経口投与したとき、最高濃度到達時間（T_{max}）はそれぞれ 8 時間又は 2～4 時間であり、消失半減期（$T_{1/2}$）はいずれも約 8 時間であった。経口バイオアベイラビリティ（BA）はラットの雄で 80.5%、雌で 85.5%、イヌの雄で 69.1%、雌で 48.0%と良好な吸収性を示した（2.6.4.3.1）。

TK として、ウサギの両眼に 0.3%、1%、及び 3%モツギバトレプ懸濁性点眼液の検討用製剤を 4 週間反復点眼投与したとき、血漿中モツギバトレプの最高濃度（C_{max}）及び時間 0 から 16 時間までの薬物濃度–時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}16}$）は投与量の増加に伴って上昇し、反復投与により増加傾向を示した（2.6.4.3.2.1）。イヌの両眼に 0.3%、1%、及び 3%モツギバトレプ懸濁性点眼液を 39 週間反復点眼投与したとき、血漿中モツギバトレプの C_{max} 及び時間 0 から最終測定可能時間（t）までの薬物濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}t}$）は投与量の増加に伴って上昇した。反復投与により、3%

投与群の C_{max} 及び AUC_{0-t} は増加する傾向が認められたが、血液学的検査及び血液生化学的検査において、全例でモツギバトレプ投与に起因した変化はみられなかった（2.6.6.3.3）。他の投与群（0.3%及び 1%）では、増加傾向は認められず、反復投与による薬物動態の変化はないものと考えられた（2.6.4.3.2.2）。

2.4.3.3 分布

モツギバトレプの血漿タンパク結合率はラット、イヌ、及びヒト血漿においてそれぞれ 99.85%、99.53%、及び 99.33%と高く、ヒト血漿中タンパク結合率は、モツギバトレプ濃度 1～100 µmol/L の範囲でほぼ同程度であり、種差は認められなかった。ラット、イヌ、及びヒト血液において、モツギバトレプの血液/血漿分配比は低く、種差は認められなかった（2.6.4.4.1）。

白色ラット及び有色ラットに ^{14}C-モツギバトレプを 3 mg/kg の用量で単回経口投与したとき、放射性物質はほぼすべての組織に広く分布し、ほとんどの組織中放射能濃度がいずれの系統でも同程度であったことから、メラニン含有組織に対して強い親和性を有さないことが示唆された。白色ラットにおいて、消化管内容物、消化管粘膜、副腎、及び肝臓で高濃度の放射能が検出され、ほとんどの組織で投与後 6 時間に C_{max} を示した。また、投与後 7 日までにほとんどの組織で放射能濃度が定量下限値付近まで消失した。有色ラットの投与後 3 日において、被毛中放射能濃度が 1.74 µg eq./g で最も高く、ぶどう膜中放射能濃度は 0.048 µg eq./g であった。一方で投与後 28 日では被毛において放射能は認められず、褐色脂肪及びぶどう膜においてのみわずかに放射能が認められたものの、定量下限値付近であった。このように、モツギバトレプ及びその代謝物は組織中に長期間にわたって残留せず、またメラニン含有組織に対して強い親和性を有さないことが示唆された（2.6.4.4.2）。

2.4.3.4 代謝

ラット、イヌ、及びヒト肝細胞を用いた *in vitro* 代謝反応において、モツギバトレプの主要代謝物は一水酸化体及び一水酸化ケトン体であると推定され、ヒト特異的な代謝物は認められなかった（2.6.4.5.1）。また *in vivo* の代謝物検索として、ラット及びイヌに経口投与後の血漿、尿、及び糞中の代謝物プロファイルを分析した。未変化体が血漿中の主成分であり、ラット血漿に認められた代謝物はすべて *in vitro* 代謝のラット肝細胞中に検出された（2.6.4.5.2）。1%モツギバトレプ懸濁性点眼液をヒトに反復点眼投与したときの血漿中にモツギバトレプの代謝物は存在しないか、存在してもごく少量であることが示唆され（2.7.2.2.2.2）、安全性上の懸念となる代謝物はないと考えられた。

2.4.3.5 排泄

^{14}C-モツギバトレプをラットに単回経口投与及びイヌに単回経口又は静脈内投与したとき、放射性物質は主に糞中へと排泄された。単回経口投与後 168 時間までの放射性物質の平均総回収率は、ラットで 91.16%及びイヌで 88.89%であり、放射性物質の 83%以上が糞中に、数%が尿中に排泄された。イヌに静脈内投与後およそ 48 時間までの放射性物質の平均総回収率は 80.94%であり、75.33%が糞中に、4.09%が尿中に排泄された。このことから、大部分が胆汁を介して糞中に排泄されると考えられた（2.6.4.6）。

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

ヒト肝ミクロソームを用いたシトクロム P450（CYP）阻害試験において、CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1、又は CYP3A4 の代謝に対するモツ

ギバトレプの IC_{50} 値は、いずれも 5 μmol/L を上回り、モツギバトレプが CYP の活性に与える影響は低いと考えられた（2.6.4.7.1）。また、ヒト肝ミクロソームを用いたウリジン二リン酸-グルクロン酸転移酵素（UGT）阻害試験において、0.25 μmol/L のモツギバトレプは UGT1A1 及び UGT2B7 の活性を阻害しなかった（2.6.4.7.2）。モツギバトレプ懸濁性点眼液（以下、本剤）投与後の血漿中濃度及びヒト血漿タンパク結合率から、本剤と併用投与された薬剤に対して代謝酵素阻害に基づく薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

ヒト結腸癌由来（Caco-2）細胞、各種ヒトトランスポーター発現細胞、及び発現ベシクルを用いたトランスポーター阻害試験において、モツギバトレプが有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1、OATP1B3、有機アニオントランスポーター（OAT）1、OAT3、有機カチオントランスポーター（OCT）2、多剤排出輸送体（MATE）1、MATE2-K、及び胆汁排泄ポンプ（BSEP）の基質の輸送に与える影響は低かった。一方、P–糖蛋白質（P-gp）及び乳がん耐性タンパク質（BCRP）の基質の輸送を阻害する可能性が考えられた（2.6.4.7.3）。しかしながら、本剤をヒトに点眼したときの曝露は低いことから、P-gp あるいは BCRP の基質となる薬剤との併用による薬物動態学的薬物相互作用に基づく副作用が生じる可能性は低いと考えられた。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

雌雄マウス及びラットにモツギバトレプを経口投与（2.6.6.2.1 及び 2.6.6.2.2）あるいは静脈内投与した（2.6.6.2.4 及び 2.6.6.2.5）。経口投与では死亡例はみられず、MTD は 2000 mg/kg を上回ると判断した。静脈内投与ではラットで 50 mg/kg 群から死亡例がみられ、MTD は 50 mg/kg 未満であると判断した。マウスでは 100 mg/kg でも死亡例はみられなかった。

非げっ歯類を用いた単回投与試験は実施していないが、雌性イヌにモツギバトレプを 14 日間反復経口投与した試験では、死亡例はなく、非げっ歯類における MTD は 400 mg/kg を上回ると判断した（2.6.6.2.3）。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

2.4.4.2.1 ウサギ及びイヌを用いた反復点眼投与毒性試験

雌雄ウサギあるいは雌雄イヌの両眼にモツギバトレプ懸濁性点眼液の検討用製剤（以下、検討用製剤）を 1 日 8 回、4 週間反復点眼投与した結果（2.6.6.3.1 及び 2.6.6.3.2）、死亡例はみられず、モツギバトレプ投与に関連する変化もみられなかったため、NOAEL は 3%と判断した。

雌雄イヌの両眼に本剤を 1 日 6 回、39 週間反復点眼投与した結果（2.6.6.3.3）、死亡例はみられず、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかったため、NOAEL は 3%と判断した。

2.4.4.2.2 ラットを用いた反復経口投与毒性試験

雌雄ラットにモツギバトレプを 10 日間反復経口投与した結果（2.6.6.3.4）、死亡例はみられず、最高用量の 500 mg/kg/day まで重篤な毒性もみられなかった。

雌雄ラットにモツギバトレプを 4 週間反復経口投与した結果（2.6.6.3.7）、死亡例はみられず、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかったため、NOAEL は 277.5 mg/kg/day と判断した。

雌雄ラットにモツギバトレプを 26 週間反復経口投与した結果（2.6.6.3.10）、モツギバトレプ投与群に死亡例はみられず、毒性学的意義のある変化も見られなかったことから、NOAEL は

50 mg/kg/day と判断した。

2.4.4.2.3 イヌを用いた反復経口投与毒性試験

雌雄イヌにモツギバトレプを漸増しながら 4 日間反復経口投与し、その後モツギバトレプを 10 日間反復経口投与した結果（2.6.6.3.5）、それぞれ 500 mg/kg/day 及び 400 mg/kg/day まで忍容性を示した。

雌性イヌにモツギバトレプを 2 週間反復経口投与した結果（2.6.6.3.6）、死亡例はみられなかった。コレステロール及びアラニンアミノトランスフェラーゼの高値並びにリパーゼ及び血中尿素窒素の低値がみられた。ビリルビンの高値がジアゾ/DPD 酸化酵素法でみられた一方、バナジン酸法では変動はみられなかった。

雌雄イヌにモツギバトレプを 4 週間反復経口投与した結果（2.6.6.3.8）、死亡例はみられず、毒性学的意義のある変化はみられなかったことから、NOAEL は 371.3 mg/kg/day と判断した。

雄性イヌにモツギバトレプを 4 週間反復経口投与した結果（2.6.6.3.9）、死亡例はみられず、毒性学的意義のある変化はみられなかったことから、NOAEL は 400 mg/kg/day と判断した。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

Salmonella Typhimurium TA98、TA100、TA1535 及び TA1537、並びに *Escherichia coli* WP2*uvr*A を用いた復帰突然変異試験（2.6.6.4.1）、マウスリンフォーマチミジンキナーゼ試験（2.6.6.4.2）、ラットを用いた骨髄小核試験（2.6.6.4.3 及び 2.6.6.4.4）はいずれも陰性で、モツギバトレプの遺伝毒性は陰性と判定した。

2.4.4.4 がん原性試験

雌雄 Tg rasH2 マウスにモツギバトレプを 26 週間反復経口投与しがん原性を検討した結果（2.6.6.5.2）、モツギバトレプ投与による腫瘍発生の増加や非腫瘍性病変の発生はみられなかった。

ラットにモツギバトレプを雄で 104 週間、雌で 99 週間反復経口投与しがん原性を検討した結果（2.6.6.5.3）、腫瘍発生の増加はみられなかった。非腫瘍性変化として、加齢性変化である大腿四頭筋の萎縮が 5 及び 50 mg/kg/day 群の雄で増強したが、0.5 mg/kg/day 群では増強しなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

雌雄ラットにモツギバトレプを雄は交配前 2 週間及び交配期間を通して剖検前日までの 42 日間、雌は交配前 2 週間及び交配期間を通して妊娠 6 日までの 22～35 日間反復経口投与し、雄及び雌親動物に対する受胎能及び初期胚発生に及ぼす影響を評価した結果（2.6.6.6.1）、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられず、NOAEL は雌雄いずれも 50 mg/kg/day と判断した。

妊娠ラットにモツギバトレプを妊娠 6 日から 17 日までの 12 日間反復経口投与し、母動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影響を検討した結果（2.6.6.6.3）、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられず、母動物及び胚・胎児発生に対する NOAEL はいずれも 50 mg/kg/day と判断した。

妊娠ウサギにモツギバトレプを妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間反復経口投与し、母動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影響を検討した結果（2.6.6.6.5）、200 mg/kg/day 群で肺副葉欠損（変異）を有する母体数及び変異胎児数の増加傾向がみられた。したがって、胚・胎児発生に対する NOAEL は 40 mg/kg/day と判断した。母動物に対してはモツギバトレプ投与に関連する変化はみられず、NOAEL は 200 mg/kg/day と判断した。

妊娠ラットにモツギバトレプを妊娠 6 日から授乳 20 日まで経口投与し、妊娠中あるいは授乳中の雌動物及び児の発生に対する影響を評価した結果（2.6.6.6.6）、モツギバトレプ投与に関連した

変化はみられず、母動物の一般毒性及び生殖機能並びに出生児に対する NOAEL はいずれも 50 mg/kg と判断した。

2.4.4.6 局所刺激性試験

雄性ウサギの両眼に本剤を 1 日 6 回、7 日間反復点眼投与した結果（2.6.6.7.1）、眼刺激性はみられなかった。

2.4.4.7 その他の毒性試験

2.4.4.7.1 皮膚感作性試験

雌性マウスを用い、検討用製剤の皮膚感作性を局所リンパ節試験により評価した結果（2.6.6.8.1）、皮膚感作性は陰性であった。

2.4.4.7.2 光毒性試験

Balb/c 3T3 細胞を用い、モツギバトレプの光毒性を評価した結果（2.6.6.8.2）、光毒性は陰性であった。

2.4.4.7.3 皮膚光感作性試験

雌性モルモットを用い、検討用製剤の皮膚光感作性を Harber 法により評価した結果（2.6.6.8.3）、皮膚光感作性は陰性であった。

2.4.4.7.4 ビリルビン測定法干渉への影響

モツギバトレプがビリルビン測定法に干渉している可能性を評価するため、ラット、イヌ及びヒトの血清又は血漿サンプルにモツギバトレプを添加し、ジアゾ/DPD 酸化酵素法及びバナジン酸法によりビリルビンを測定した結果（2.6.6.8.4）、ビリルビン濃度に変化はみられなかった。

雌性ラットにモツギバトレプを 10 日間反復経口投与し、投与 2、7 及び 10 日目に血液を採取し、血漿中の総ビリルビン濃度を modified Jendrassik-Grof 法又は化学酸化法により測定した結果（2.6.6.8.5）、いずれも定量下限値未満であった。

一連の結果から、毒性試験でみられたビリルビンの高値はモツギバトレプの代謝物によるジアゾ/DPD 酸化酵素法への干渉が原因であり、モツギバトレプがビリルビン代謝に影響したのではないと判断した。

2.4.4.7.5 不純物の毒性試験

ICH Q3A の安全性確認の閾値を超えるモツギバトレプ原薬の不純物　不純物A*　の安全性は、　不純物A*　が含まれた原薬を用いて行った反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験で十分に評価されていると判断した。

2.4.4.7.6 新添加剤の安全性評価

本剤にはチロキサポールが [redacted] mg/mL 配合されており、本剤の用法・用量（1 回 1 滴（[redacted]μL）、1 日 4 回点眼）を踏まえると、チロキサポールの一日投与量は約 [redacted] μg/body/day であり、国内の使用前例を超えるため、新添加剤に該当する。本剤を点眼投与した際のチロキサポールの安全性について以下の通り評価した。

本剤の非臨床毒性試験において、ウサギ及びイヌを用いた反復点眼投与毒性試験（2.6.6.3.1、2.6.6.3.2、2.6.6.3.3）では、すべての評価項目で投与に関連する変化はみられなかった。当該試験におけるチロキサポールの一日投与量は本剤の用法・用量におけるチロキサポールの一日投与量を上回っている。また、FDA より、チロキサポールは眼局所投与製剤の添加剤として 1 日あたり

＊新薬承認情報提供時に置換

7 mg/body の使用前例があることが公表されており、本剤の用法･用量におけるチロキサポールの一日投与量を上回っている。さらに、本邦ではチロキサポールを有効成分としたアレベール®吸入用溶解液 0.125%が承認されており、当該医薬品の 1 回使用量は本剤の用法･用量におけるチロキサポールの一日投与量を上回っている。

以上より、本剤の用法･用量に従った臨床使用におけるチロキサポールの安全性に問題はないと判断した。

2.4.5 総括及び結論

モツギバトレプは TRPV1 の強力かつ選択的な拮抗薬であり、モツギバトレプをドライアイモデルラットに点眼投与すると、ドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加を抑制し、他覚所見を改善する。モツギバトレプは三叉神経細胞、角膜上皮細胞、及び T 細胞に作用することにより、ドライアイの自覚症状及び他覚所見を改善すると考えられた。また、モツギバトレプは角膜知覚には影響を及ぼさず、主要なイオンチャネル、受容体及びトランスポーターにもほとんど結合しなかった。

モツギバトレプの hERG 電流に対する IC_{50} は申請用法・用量で投与したときの定常状態における推定ヒト血漿中 C_{max}（1.92 ng/mL、探索試験にて算出）より高かったこと、イヌにおいてみられた QTcF 及び QTcQ の短縮は体温上昇の二次的変化であったことから、モツギバトレプに催不整脈の懸念はないと判断した。ラット、イヌ及びサルにモツギバトレプを経口投与した結果、TRPV1 拮抗薬のクラスエフェクトである体温上昇がみられ、反復投与により体温上昇幅は減少した。体温上昇は点眼投与時にはみられなかったことから、本剤の臨床使用上は懸念とならないと判断した。中枢神経系、呼吸系及び協調運動機能への影響を評価した試験で、臨床的に意義のある変化はみられなかった。

ラット及びイヌに単回経口投与したとき、モツギバトレプは良好な吸収性を示した。ウサギ及びイヌに反復点眼したときの全身曝露は投与量の増加に伴って上昇した。ラットに単回経口投与後に、吸収されたモツギバトレプ及びその代謝物は広く全身の組織に分布した後、長期間にわたって残留せず、メラニン含有組織に対して強い親和性を有さないことが示唆された。ラット、イヌ、及びヒトの肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験において、モツギバトレプの主要代謝物は一水酸化体及び一水酸化ケトン体であると推定され、ヒト特異的な代謝物は認められなかった。ラットを用いた *in vivo* 試験において血漿中に認められたすべての代謝物は、ラット肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験で検出された。ラット及びイヌにおける主排泄経路は糞であった。また本剤と併用投与された薬剤に対して主要な代謝酵素阻害及びトランスポーター阻害に基づく薬物動態学的薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

ウサギ及びイヌに検討用製剤又は本剤を 4 週間又は 39 週間反復点眼投与した結果、最高濃度の 3%まで毒性学的意義のある変化はみられなかった。モツギバトレプをラット及びイヌに 2～26 週間反復経口投与した結果、最高用量まで毒性学的意義のある変化はみられなかった。反復投与毒性試験の NOAEL における曝露量と申請用法・用量で投与したときの定常状態におけるヒト推定曝露量との比は C_{max} で 50 倍以上、AUC で 31 倍以上であった。Tg rasH2 マウス及びラットを用いたがん原性試験の結果、モツギバトレプ投与による腫瘍発生の増加はみられなかった。ラットでは非腫瘍性変化として大腿四頭筋の萎縮が 5 mg/kg/day 以上の群で増強した。大腿四頭筋の萎縮の増強が生じなかった 0.5 mg/kg/day における曝露量と申請用法・用量で投与したときの定常状態におけるヒト推定曝露量との比は C_{max} で 661 倍、AUC で 495 倍であり、当該病変がヒトで生じる懸

念は低いと判断した。ラットを用いた生殖発生毒性試験ではモツギバトレプ投与による影響はみられなかった。一方、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、胎児の内臓観察において200 mg/kg/day 群で肺副葉欠損（変異）を有する母体数及び変異胎児数の増加傾向がみられた。生殖発生毒性試験の NOAEL における曝露量と申請用法・用量で投与したときの定常状態におけるヒト推定曝露量との比は C_{max} で 813 倍以上、AUC で 715 倍以上であった。マウスを用いた局所リンパ節法による皮膚感作性試験、モルモットを用いた Harber 法による皮膚光感作性試験及び Balb/c 3T3 細胞を用いた光毒性試験では皮膚感作性・皮膚光感作性・光毒性を示さなかった。ICH Q3A の安全性確認の閾値を超えて含まれる不純物は　不純物A*　のみであり、その安全性は毒性試験で評価されていると判断した。

以上の結果から、本剤は新規の作用機序によりドライアイの自覚及び他覚症状を改善し、かつ十分な安全性を有するドライアイ治療薬であることが期待される。

＊新薬承認情報提供時に置換