

2020 年 9 月作成（第 1 版、資料の仕様変更に伴う改訂（データ等変更なし））

トラニラスト点眼液 0.5%「FFP」の 生物学的同等性試験について

共創未来ファーマ株式会社

<概要>

抗卵白アルブミンラット血清により受動感作させたラット実験的アレルギー性結膜炎モデルを用い、結膜部位の漏出色素量を比較した。トラニラスト点眼液 0.5%「FFP」あるいは標準製剤はアレルギー反応惹起 20 分前および 10 分前に点眼し、惹起 30 分後につき、結膜中漏出色素量について比較検討を行ったところ両製剤は有意な抑制を示し、また 90%信頼区間法にて統計解析を行った結果、両製剤の生物学的同等性が確認された。

卵白アルブミンにより能動感作させたモルモットに対しアレルギー反応惹起 15 分前にトラニラスト点眼液 0.5%「FFP」あるいは標準製剤を点眼し結膜炎をスコア化し評価した。反応惹起後 30 分におけるスコア値を用い統計解析を行った結果、両製剤は基剤群と比較して有意な結膜症状抑制作用を示し、また 90%信頼区間法により生物学的同等性が確認された。

<試験方法>

ラット受動感作アレルギー性結膜炎モデルを用いた検証：Mota¹⁾の方法を参考に抗血清を作製した。ラットにジエチルエーテル麻酔を施し、予め生理食塩液で抗体価が 4 になるように希釈した抗血清を両上眼瞼結膜下に 30 μ L 注射することにより受動感作した。その 72 時間後に、1%卵白アルブミン生理食塩液及び 1%エバンスブルー生理食塩液の等量混合液 1mL を静脈内投与し、結膜局所にアレルギー反応を惹起した。反応惹起 30 分後に放血致死させ、上眼瞼結膜を結膜円蓋部に沿って摘出、細切し 4mL のホルムアミド（抽出液）に入れ、45℃で一晩抽出した。検体点眼投与は、炎症惹起 20 分及び 10 分前に各 10 μ L 点眼した。各動物の左眼に標準製剤あるいは対照を、右眼に試験製剤あるいは基剤を各 10 μ L 点眼し、1 群 10 例で検討を行った。評価は、一晩抽出した液を遠心分離し、上清の 625nm の吸光度を測定し、予め作成した検量線を用いて、結膜中色素量 (μ g/site) を算出した。アレルギー性結膜炎の抑制効果は、各群から抽出して算出した色素量を指標に、群間の有意差検定については Dunnett の多重比較検定を用いて検討した。標準製剤及び試験製剤における色素量の対数の平均値の差の 90%信頼区間を算出し得られた値が $\log(0.8) \sim \log(1.25)$ の範囲内にある場合に同等と判定した。

モルモット能動感作アレルギー性結膜炎モデルを用いた検証：Mota¹⁾の方法を参考に実施した。すなわち、モルモットに 1mg の卵白アルブミンを 100 億個/mL に調製した不活性化百日咳菌懸濁液に溶解させた混液 1mL を腹腔内投与し能動感作した。感作期間は 14 日間とした。感作 14 日後に 2%卵白アルブミン溶液 25 μ L を点眼することによりアレルギー性結膜炎を惹起させた。炎症惹起 15 分前に左眼に標準製剤あるいは試験製剤、右眼に基剤を 25 μ L 投与した。評価は、スコア基準（表 1）に従い結膜炎の程度を肉眼観察にて点数評価し、各評価時間においてマンホイットニーの U 検定による有意差検定を行った。試験製剤及び標準製剤の中央値の差の 90%信頼区間が標準製剤の中央値 \pm 20%の範囲内にある場合、生物学的に同等と判定した。更に標準製剤と試験製剤投与群のスコア総和を指標に抑制作用の時間的変化における同等性を上記と同様な方法により確認した。

表 1. スコア基準

スコア 0	－	症状なし
スコア 1	－	軽度の充血を示したもの
スコア 2	－	強度の充血を示したもの
スコア 3	－	充血に軽度～中等度の浮腫が加わったもの
スコア 4	－	著明な浮腫が生じたもの

<試験結果>

ラット受動感作アレルギー性結膜炎モデルを用いた検証：アレルギー性結膜炎に対する抑制作用の結果を表 2 に示した。試験製剤、標準製剤、生理食塩液及び基剤における色素量はそれぞれ 14.77 ± 0.90 、 16.08 ± 1.13 、 21.28 ± 1.57 、 $20.95 \pm 1.33 \mu\text{g}/\text{site}$ であり、基剤に対して試験製剤及び標準製剤は有意な抑制作用が認められた（Dunnett の多重比較検定）。

表 2. ラット受動感作アレルギー性結膜炎に対する抑制作用

検体	例数	色素量
基剤	10	20.95 ± 1.33
生理食塩液	10	21.28 ± 1.57
標準製剤	10	16.08 ± 1.13 *
試験製剤	10	14.77 ± 0.90 **

（平均±標準誤差、Dunnett 多重比較検定、*: $p < 0.05$ 、**: $p < 0.01$ 、対基剤）

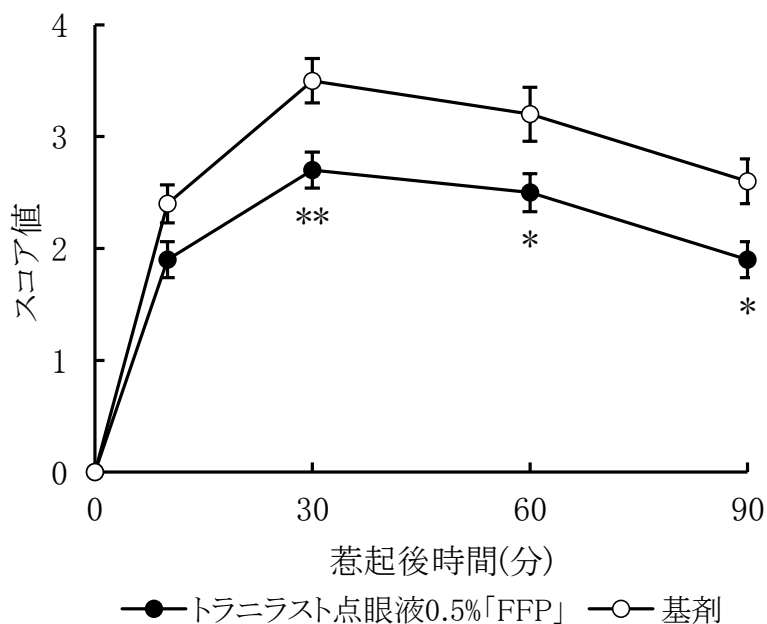
試験製剤及び標準製剤の色素量の対数の平均値の差の 90%信頼区間は、 $-0.013799 \sim 0.082199$ と算出された（表 3）。

表 3. 両製剤の生物学的同等性解析

色素量の対数の平均値の差の 90%信頼区間	$-0.013799 \sim 0.082199$
生物学的同等性の判定基準	$-0.09691 \sim 0.09691$

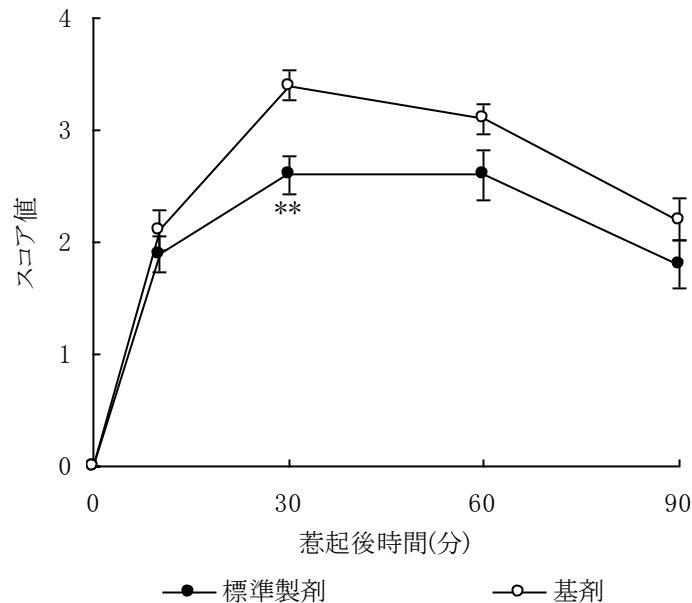
モルモット能動感作アレルギー性結膜炎モデルを用いた検証：試験製剤及び標準製剤のアレルギー性結膜炎に対する経時的な抑制効果を図 1 及び図 2 に示した。

図 1. 試験製剤のアレルギー性結膜炎抑制作用



*: $p < 0.05$ 、**: $p < 0.01$ （Mann-Whitney の U 検定、対基剤）

図 2. 標準製剤のアレルギー性結膜炎抑制作用



**: $p < 0.01$ (Mann-Whitney の U 検定、対基剤)

結膜炎症状が最大に発現するアレルギー惹起後 30 分における結膜炎抑制効果について標準製剤と試験製剤の生物学的同等性を検証した(表 4)。惹起後 30 分におけるスコア値 (平均値 \pm 標準誤差) は、試験製剤が 2.7 ± 0.16 、標準製剤が 2.6 ± 0.17 であった。有意差検定を行った結果、基剤に対して両製剤に有意な抑制作用が認められたが、試験製剤及び標準製剤の間に有意な差は認められなかった^{*}。標準製剤の中央値 $\pm 20\%$ の範囲は-1.9 \sim 1.9 であった。両製剤の中央値の差の 90%信頼区間は、0 \sim 0 (下限値 \sim 上限値) となり、スコア総和の中央値の差の 90%信頼区間は-1 \sim 1 (下限値 \sim 上限値) であった(表 5)。

※統計手法に懸念がある内容が含まれていますが、本剤の申請時点では製造販売承認が認められた経緯を踏まえてそのまま記載しております。

表 4. 惹起 30 分後のスコア評点における生物学的同等性の検証

検体	中央値	総数	K*	小から 62 番目の値	大から 62 番目の値	差の中央値 (N/2、N/2+1)
試験製剤	3	196	62	0	0	0
標準製剤	3			(62 位)	(135 位)	(98 位、99 位)

K* : 対応のない 2 標本における母集団中央値間の差の 90%信頼限界を算出するための値

表 5. スコア評点総和における生物学的同等性の検証

検体	中央値	総数	K*	小から 62 番目の値	大から 62 番目の値	差の中央値 (N/2、N/2+1)
試験製剤	10	196	62	-1	1	0
標準製剤	9.5			(62 位)	(135 位)	(98 位、99 位)

K* : 対応のない 2 標本における母集団中央値間の差の 90%信頼限界を算出するための値

<結論>

今回、ラット受動感作アレルギー性結膜炎モデル及びモルモット能動感作アレルギー性結膜炎モデルを用いて、トラニラスト点眼液 0.5%「FFP」と標準製剤との生物学的同等性について薬力学的検証を行った。


ラット受動感作アレルギー性結膜炎モデルを用いた検証では、両製剤ともに基剤に対して統計学的有意に炎症を抑制した。両製剤の色素量の対数の平均値の差の 90%信頼区間は $-0.013799 \sim 0.082199$ と算出され、 $\log(0.8) \sim \log(1.25)$ ($= -0.09691 \sim 0.09691$) の範囲内にあることから生物学的に同等であると判断した。また、モルモット能動感作アレルギー性結膜炎モデルを用いた検証では、両製剤の中央値の差の 90%信頼区間は、 $0 \sim 0$ となり、標準製剤の中央値 $\pm 20\%$ ($= -0.6 \sim 0.6$) の範囲内にあることから試験製剤と標準製剤は生物学的に同等であると判断した。スコア総和の中央値の差の 90%信頼区間は $-1 \sim 1$ となり、標準製剤の中央値 $\pm 20\%$ ($= -1.9 \sim 1.9$) の範囲内であった※。

以上の結果より、両製剤は生物学的に同等である事が確認され、両製剤は臨床的にも同等に有用な製剤であると推測された。

※統計手法に懸念がある内容が含まれていますが、本剤の申請時点では製造販売承認が認められた経緯を踏まえてそのまま記載しております。

<参考文献>

- 1) Mota I. : Immunology 7,681-699,1964

製造販売元
 共創未来ファーマ株式会社
東京都品川区広町 1-4-4

A000000308