

レボカバスチン塩酸塩点眼液 0.025%「三和」の  
生物学的同等性に関する資料

(株)三和化学研究所

## はじめに

レボカバステチン塩酸塩点眼液 0.025%「三和」(以下、「試験製剤」という)とリボスチン<sup>®</sup>点眼液 0.025% (以下、「標準製剤」という、販売元：参天製薬株式会社)との生物学的同等性を検証するにあたっては、本製剤は眼局所適用製剤であり、バイオアベイラビリティの測定が治療効果の指標とはならない医薬品であるため、薬理効果を指標とした比較試験により生物学的同等性を実施することが妥当であると考え、レボカバステチン塩酸塩点眼液の効能・効果が「アレルギー性結膜炎」であることから、アレルギー性結膜炎に対する効果を指標として試験を実施することとした。

そこで、ラット及びモルモットに対してアレルギー性結膜炎を発症させ、両製剤点眼後の結膜炎症状のスコア変化及び結膜浮腫を指標として試験を実施した。

## 1. ラットにおける抗原誘発結膜炎モデルに対する作用

### 1.1. 試験方法

SD系雄性ラットを1群8匹用いた。DNP-Ascaris+不活性化百日咳菌含有生理食塩液を投与した(初回感作)。初回感作の5日後DNP-Ascaris含有生理食塩液を投与し、感作させた。初回感作の7日後、動物の両眼にDNP-Ascaris含有生理食塩液を点眼投与した。被験物質である試験製剤、標準製剤とも、初回感作の翌日から、両眼に25・Lずつ1日2回(午前と午後)の7日間、計14回投与し、惹起日は惹起の20分前に投与した。なお、非惹起群及び対照群は生理食塩液を同様に投与した。

### 1.2 薬効評価

#### ①結膜炎症状の観察

惹起前、惹起後5、10、20、30、60および90分に動物の結膜の充血ならびに浮腫の状態を確認し、以下のように、スコア化した。

- 0；症状なし
- 1；軽度の充血
- 2；強度の充血
- 3；強度の充血および浮腫

#### ②結膜浮腫の測定(色素血管漏出)

惹起5分前にエバンスブルー含有生理食塩液を尾静脈より投与した。惹起20分後に麻酔下で脱血致死させ、両眼の上下結膜を採取した。採取した結膜は重量を測定し、細断後溶液に浸漬して、完全に溶解させ、その重量を測定した。溶解液より色素を抽出し、遠心分離後の上清の吸光度を測定した。予め作成した検量線より結膜1g当たりの色素量を算出した。

### 1.3 統計解析

結膜炎症状については各測定時点の結膜炎スコアを、結膜浮腫については血管漏出（結膜 1g 当たりの色素量）を評価した。

結膜炎症状については、2 群の検定を実施し、対照群と試験製剤群、対照群と標準製剤群間および試験製剤群と標準製剤群間で等分散性の検定を行い、等分散であった場合は対応のない Student の t 検定、不等分散であった場合は Aspin-Welch の検定を行った。色素血管漏出については、2 群の検定を実施し、非惹起群と対照群、対照群と被験物質群間および各被験物質間で等分散性の検定を行い、等分散であった場合は対応のない Student の t 検定、不等分散であった場合は Aspin-Welch の検定を行った。いずれの検定も有意水準は 5%未満とし、1 および 5%に分けて表示した。

### 1.4 試験結果

#### ①結膜炎症状の観察

結果を図 1 に示した。

試験製剤群では、対照群と比較して惹起 20～90 分後の観察点において有意な差が認められた。

標準製剤群では、対照群と比較して惹起 20～90 分後の観察点において有意な差が認められた。さらに、試験製剤および標準製剤を比較するとすべての観察点について有意な差は認められなかった。

#### ②結膜浮腫の測定

結果を図 2 に示した。

対照群では、抗原惹起 20 分後の結膜 1g 当たりの色素量は、非惹起群と比較して有意な差が認められた。

試験製剤群では、結膜 1g 当たりの色素量は対照群と比較して有意な差が認められた。また、標準製剤群では、結膜 1g 当たりの色素量は対照群と比較して有意な差が認められた。さらに、試験製剤および標準製剤を比較すると有意な差は認められなかった。

以上の結果から、試験製剤 レボカバスチン塩酸塩点眼液 0.025%「三和」と標準製剤 リボスチン<sup>®</sup>点眼液 0.025%はラットにおけるアレルギー性結膜炎に対する作用において同等であり、両製剤は生物学的に同等であると推察された。

## 2. モルモットにおける抗原誘発結膜炎モデルに対する作用

### 2.1 試験方法

Hartley系雄性モルモット10匹を用い、OVA+不活性化百日咳菌含有生理食塩液を投与し感作させた。感作の2週間後、動物の両眼にOVA含有生理食塩液を点眼投与し惹起した。試験製剤と標準製剤とも、動物の両眼に25・Lずつ惹起15分前に単回投与した。なお、非惹起群及び対照群は生理食塩液を投与した。

### 2.2 薬効評価

#### ①結膜炎症状の観察

惹起前、惹起後5、10、20、30、60および90分に動物の結膜の充血ならびに浮腫の状態を確認し、以下のように、スコア化した。

- 0；症状なし
- 1；軽度の充血
- 2；強度の充血
- 3；強度の充血および軽度の浮腫
- 4；強度の浮腫

#### ②結膜浮腫の測定（色素血管漏出）

惹起5分前にエバンスブルー含有生理食塩液を下肢末梢静脈より投与した。惹起20分後に麻酔下で脱血致死させ、両眼の上下結膜を採取した。採取した結膜は重量を測定し、細断後、溶液中に浸漬し、完全に溶解したことを確認後、その重量を測定した。溶解液より色素を抽出し、遠心分離後、上清の吸光度を測定した。予め作成した検量線より結膜1g当たりの色素量を算出した。

### 2.3 統計解析

結膜炎症状については各測定時点の結膜炎スコアを、結膜浮腫については血管漏出（結膜1g当たりの色素量）を評価した。

結膜炎症状については、2群の検定を実施し、対照群と試験製剤群、対照群と標準製剤群間および試験製剤群と標準製剤群間で等分散性の検定を行い、等分散であった場合は対応のないStudentのt検定、不等分散であった場合はAspin-Welchの検定を行った。色素血管漏出については、2群の検定を実施し、非惹起群と対照群、対照群と被験物質群間および各被験物質間で等分散性の検定を行い、等分散であった場合は対応のないStudentのt検定、不等分散であった場合はAspin-Welchの検定を行った。いずれの検定も有意水準は5%未満とし、1および5%に分けて表示した。

## 2.4 試験結果

### ①結膜炎症状の観察

結果を図3に示した。

試験製剤群では、対照群と比較してすべての観察点において有意な差が認められた。

標準製剤群では、対照群と比較してすべての観察点において有意な差が認められた。さらに、試験製剤および標準製剤を比較するとすべての観察点について有意な差は認められなかった。

### ②結膜浮腫の測定

結果を図4に示した。

対照群は、すべてのパラメータについて非惹起群と比較して有意な差が認められた。

試験製剤群では、すべてのパラメータについて対照群と比較して有意な差が認められた。

また、標準製剤群では、すべてのパラメータについて対照群と比較して有意な差が認められた。さらに、試験製剤および標準製剤を比較するとすべてのパラメータについて有意な差は認められなかった。

以上の結果から、試験製剤 レボカバステチン塩酸塩点眼液 0.025%「三和」と標準製剤 リボスチン<sup>®</sup>点眼液 0.025%はモルモットにおけるアレルギー性結膜炎に対する作用において同等であり、両製剤は生物学的に同等であることが明らかとなった。

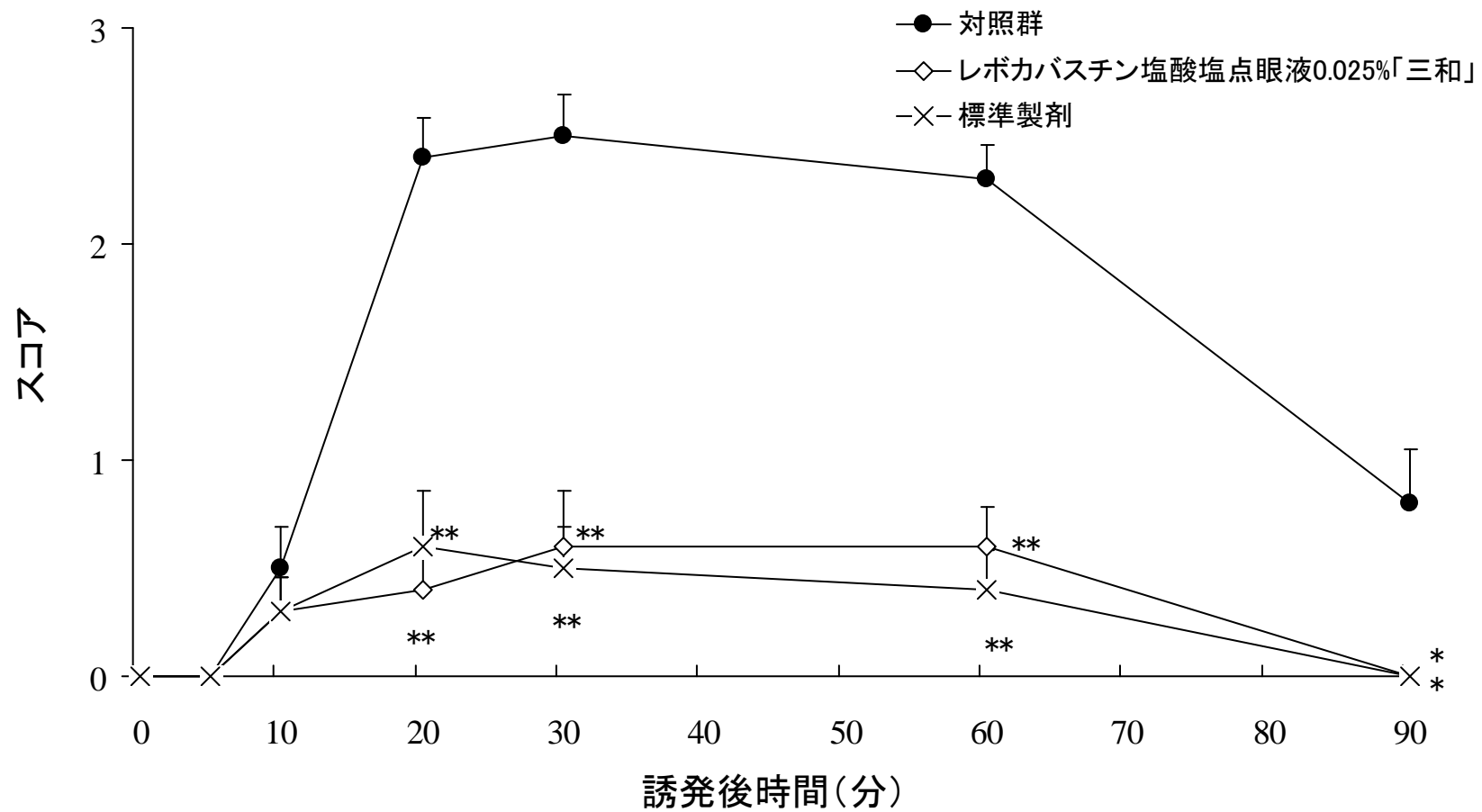


図 1 ラットの抗原誘発結膜炎モデルにおける結膜炎症状に対する作用

\*: p<0.05、\*\*: p<0.01 (vs 対照群)、Mean±S.E., n = 8  
Student の t 検定または Aspin-Welch の検定

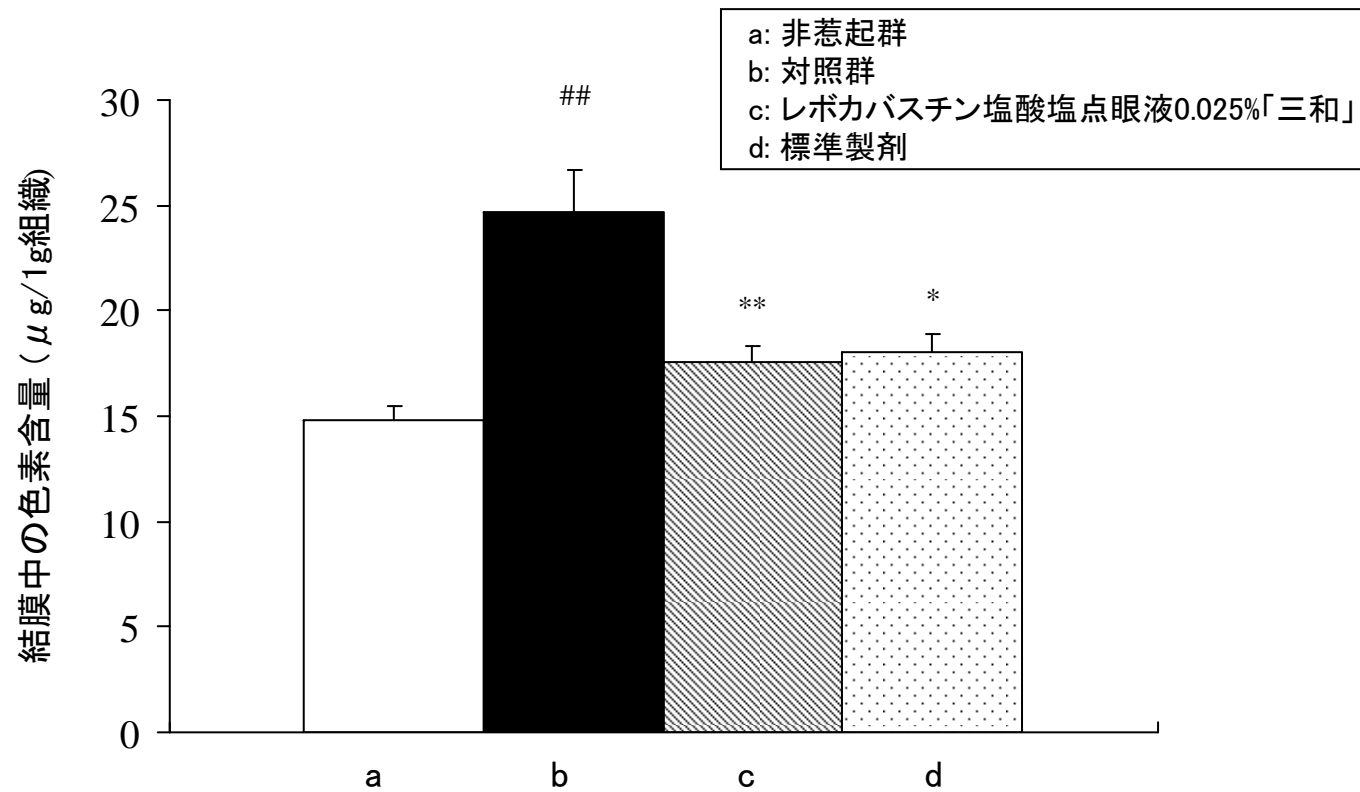


図2 ラットの抗原誘発結膜炎モデルにおける結膜の血管透過性亢進に対する作用

##:  $p < 0.01$  (a vs b), \*:  $p < 0.05$  (b vs d), \*\*:  $p < 0.01$  (b vs c), Mean  $\pm$  S.E., n=8  
Aspin-Welch の検定

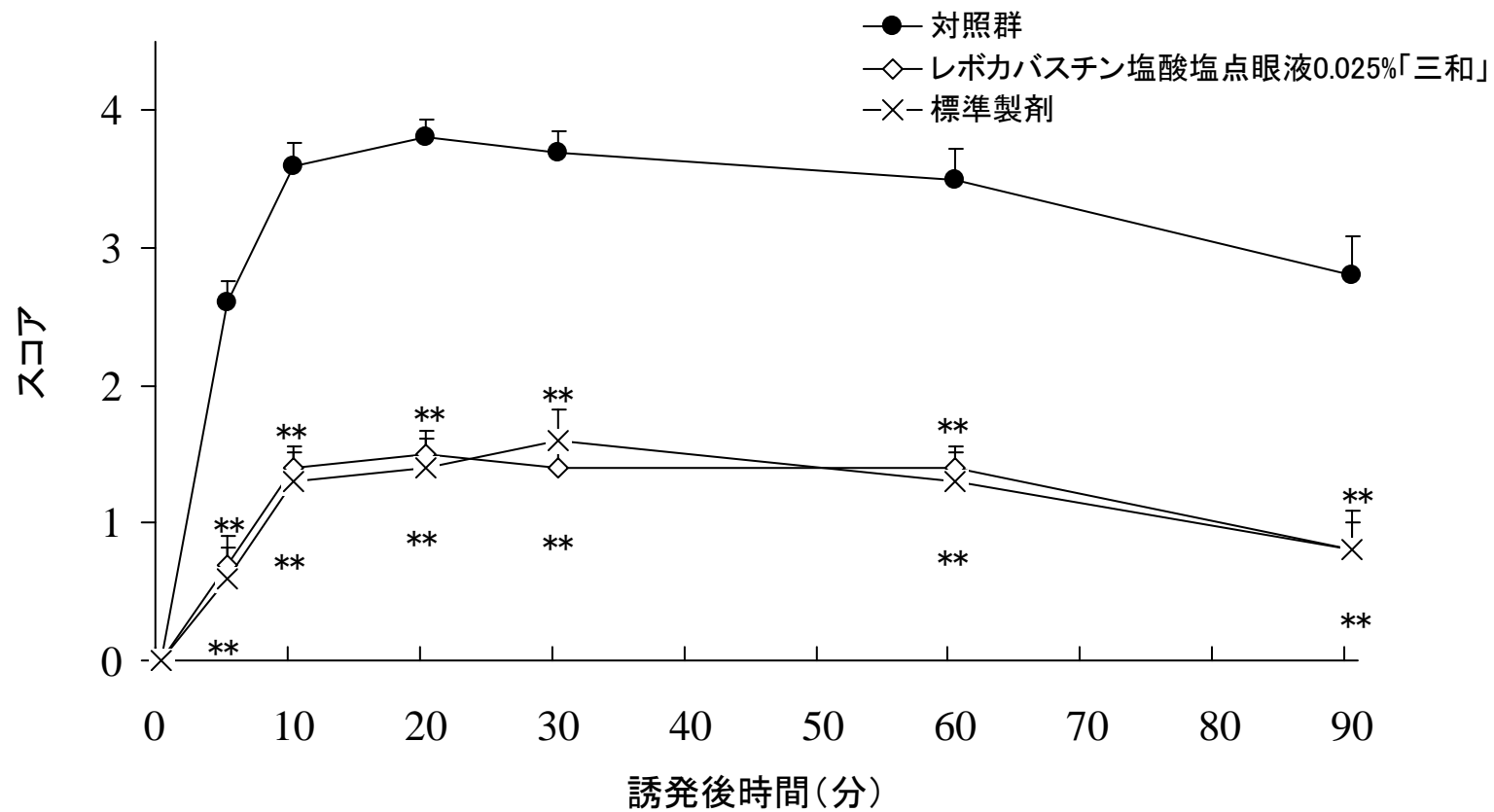


図3 モルモットの抗原誘発結膜炎モデルにおける結膜炎症状に対する作用

\*\* :  $p < 0.01$  (vs 対照群)、Mean  $\pm$  S.E.、 $n=10$   
Student のt検定



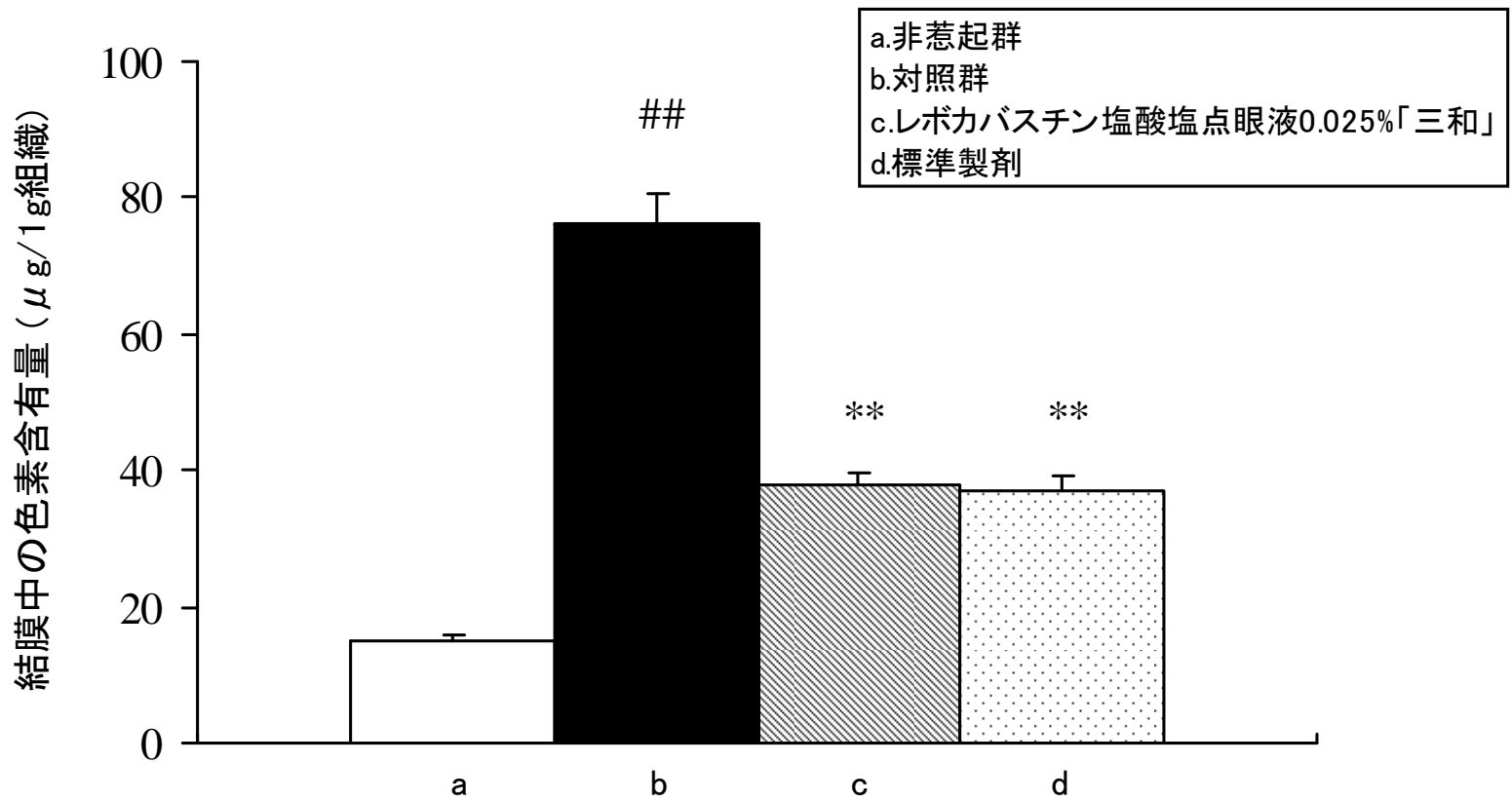


図 4 モルモットの抗原誘発結膜炎モデルにおける結膜の血管透過性亢進に対する作用

##:  $p < 0.01$  (a vs b), \*\*:  $p < 0.01$  (b vs c, d), Mean  $\pm$  S.E.,  $n = 10$   
 Student の  $t$  検定または Aspin-Welch の検定