

---

## 第2部 CTDの概要

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

版番号：■

---

---

### 2.4 非臨床試験の概括評価

#### フォシーガ<sup>®</sup>

---

本書は、ブリストル・マイヤーズ株式会社及びアストラゼネカ株式会社の機密文書です。機密保持を求める条件で本書を公開する場合があることを除いては、本書の受領により、本書に記載された非公開の情報は、ブリストル・マイヤーズ株式会社又はアストラゼネカ株式会社の書面による事前の承認なく公開又は開示しないことに同意したものとします。

ブリストル・マイヤーズ株式会社及び  
アストラゼネカ株式会社は本書の公  
開・開示に同意しております

目次	頁
目次 .....	2
略語及び専門用語一覧表 .....	4
2.4.1 非臨床試験計画概略 .....	6
2.4.2 薬理試験 .....	8
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 .....	9
2.4.2.1.1 <i>In vitro</i> 試験系における SGLT2 に対する阻害活性及び選択性 .....	10
2.4.2.1.2 単回投与後の薬力学的作用 .....	12
2.4.2.1.3 反復投与後の薬力学的作用 .....	13
2.4.2.2 副次的薬理試験 .....	14
2.4.2.2.1 <i>In vitro</i> 試験 .....	15
2.4.2.2.2 <i>In vivo</i> 試験 .....	15
2.4.2.2.2.1 単回投与試験 .....	15
2.4.2.2.2.2 反復投与試験 .....	16
2.4.2.2.3 膀胱癌との潜在的関連性に関する試験 .....	16
2.4.2.3 安全性薬理試験 .....	17
2.4.2.3.1 心血管系に及ぼす影響 .....	17
2.4.2.3.2 中枢神経系に及ぼす影響 .....	17
2.4.2.3.3 呼吸系に及ぼす影響 .....	18
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 .....	18
2.4.3 薬物動態試験 .....	18
2.4.3.1 吸収及びバイオアベイラビリティ .....	19
2.4.3.2 分布 .....	19
2.4.3.3 代謝 .....	20
2.4.3.4 排泄 .....	21
2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用 .....	22
2.4.4 毒性試験 .....	23
2.4.4.1 単回投与毒性 .....	25
2.4.4.2 反復投与毒性 .....	25
2.4.4.2.1 マウス .....	25
2.4.4.2.2 ラット .....	26
2.4.4.2.3 イヌ .....	27
2.4.4.3 遺伝毒性 .....	27
2.4.4.4 がん原性 .....	27

## 2.4 非臨床試験の概括評価

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

2.4.4.5	生殖発生毒性.....	28
2.4.4.6	局所刺激性試験.....	29
2.4.4.7	その他の毒性試験.....	29
2.4.4.7.1	代謝物のトキシコキネティクス試験.....	29
2.4.4.7.2	幼若動物の毒性試験.....	30
2.4.5	総括及び結論.....	31
2.4.6	参考文献一覧.....	34
2.4.6.1	薬理試験.....	34
2.4.6.2	薬物動態試験.....	37
2.4.6.3	毒性試験.....	38

## 表目次

表 1	毒性試験におけるダパグリフロジンの AUC とヒト曝露量との比.....	24
表 2	主要な反復経口投与毒性試験における 3-O-グルクロン酸抱合体の曝露量とヒト曝露量との比.....	30

## 略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
APCI	atmospheric pressure chemical ionization：大気圧化学イオン化
AUC	area under the concentration vs. time curve：血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC <sub>0-t</sub>	Area under curve from 0 to last measurable time：最終定量時間 t までの AUC
AUC <sub>τ</sub>	Area under curve at dose interval：定常状態における投与間隔間の AUC
AZ	AstraZeneca：アストラゼネカ社
BMS	Bristol-Myers Squibb：ブリストル・マイヤーズ スクイブ社
CHO	Chinese hamster ovary：チャイニーズハムスター卵巣
CL <sub>p</sub>	total plasma clearance：全身血漿クリアランス
C <sub>max</sub>	maximum concentration：最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450：チトクローム P450
DNA	deoxyribonucleic acid：デオキシリボ核酸
ECG	electrocardiogram：心電図
ESI	electrospray ionization：エレクトロスプレーイオン化
F <sub>1</sub>	first generation：第 1 世代
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
g	gram：グラム
GFR	glomerular filtration rate：糸球体濾過量
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GLUT	Facilitative glucose transporters：促進拡散型グルコース輸送体
h	hour：時間
hERG	human ether-a-go-go related gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
hOAT	human organic anion transporter：ヒト有機アニオントランスポーター
hOATP	human organic anion transporting polypeptide：ヒト有機アニオントランスポーターポリペプチド
hOCT	human organic cation transporter：ヒト有機カチオントランスポーター
IC <sub>50</sub>	concentration that causes 50% inhibition：50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonization：日米欧医薬品規制調和国際会議
inf	infinity：無限大時間
kg	kilogram：キログラム
Ki	inhibition constraint：阻害定数

2.4 非臨床試験の概括評価

一般名：ダバグリフロジンプロピレングリコール水和物

略語及び専門用語	用語の説明
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry detection : 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
µg	microgram : マイクログラム
µM	micromolar : マイクロモル
mg	milligram : ミリグラム
mL	milliliter : ミリリットル
mRNA	messenger ribonucleic acid : メッセンジャーリボ核酸
nM	nanomolar : ナノモル
NOAEL	no-observed-adverse-effect-level : 無毒性量
P-gp	P-glycoprotein : P-糖蛋白
PPAR	peroxisome proliferator-activated receptor : ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体
QT	beginning of the QRS complex to end of T wave in the electrocardiogram : QRS complex の開始から T 波終了までの時間
QTc	QT interval corrected for heart rate : 補正 QT 間隔
QTcV	Van de Water's correction for QT interval : Van de Water の補正式による QTc 間隔
RNA	ribonucleic acid : リボ核酸
RT-PCR	reverse transcriptase polymerase chain reaction : 逆転写ポリメラーゼ連鎖反応
SD	Sprague Dawley : スプラグドローリー
SGLT	sodium-glucose co-transporter : ナトリウム・グルコース共輸送体
SGLT2	sodium-glucose co-transporter 2 (gene name SLC5A2) : ナトリウム・グルコース共輸送体 2 (遺伝子名 SLC5A2)
SGLT2-/-	homozygous loss of function of the SGLT2 gene : ホモ接合型 SGLT2 遺伝子機能欠損、SGLT2 ノックアウト
SMIT	sodium-myoinositol co-transporter : ナトリウム・ミオイノシトール共輸送体
SNGFR	single nephron glomerular filtration rate : 単一ネフロン糸球体濾過量
STZ	streptozotocin : ストレプトゾトシン
TGF	tubular glomerular feedback : 尿細管糸球体フィードバック
$t_{1/2}$	apparent terminal elimination half-life : みかけの終末相消失半減期
TK	toxicokinetic : トキシコキネティクス
$t_{max}$	time to $C_{max}$ : 最高血漿中濃度到達時間
UGT	UDP-glucuronosyltransferase : UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ
$V_{ss}$	volume of distribution at steady state : 定常状態における分布容積
WT	Wild type : 野生型
ZDF	zucker diabetic fatty : Zucker 糖尿病性肥満

### 2.4.1 非臨床試験計画概略

ダパグリフロジン (BMS-512148) は、ナトリウム・グルコース共輸送体 (SGLT) 2 の阻害薬であり、現在 2 型糖尿病の治療薬として開発されている。SGLT2 は、糸球体濾過を受けたグルコースを再吸収する主要なグルコース輸送体であり (Santer et al 2003, Kanai et al 1994)、腎に特異的に発現している (報告書 930005304, 報告書 920008658, 報告書 930005302, Wells et al 1992, You et al 1995)。非選択的 SGLT 阻害薬である phlorizin の非経口投与により、正常 (非糖尿病) 及び糖尿病動物モデルを用いた試験で尿中グルコース排泄が認められ、また、糖尿病動物モデルのみで、低血糖を引き起こすことなく、インスリン分泌又はインスリン作用に非依存的な血糖低下が認められた (Ehrenkranz et al 2005)。また、SGLT1 は小腸で食事からグルコースを吸収する主要なナトリウム・グルコース共輸送体であり、SGLT1 遺伝子変異がある場合、グルコース及びガラクトースを含んだ食事では生命に関わる下痢や脱水の症状に陥る可能性がある。それ故、SGLT1 阻害による安全性及び耐性の懸念を回避するために SGLT1 に対して SGLT2 を選択的に阻害することが求められた (Wright et al 2007)。このような種々の理由から、SGLT2 の阻害は、2 型糖尿病の新規治療薬の開発において有力な標的対象となった。SGLT2 は腎近位尿細管に特異的に発現しており、また、SGLT2 変異を有する家族性腎性糖尿病患者は、持続的なグルコース尿中排泄を示すが、SGLT2 の遺伝子異常による健康上の有害な影響はないと考えられていることから (Santer et al 2003)、ダパグリフロジンの作用機序は比較的安全であることが期待される。ダパグリフロジンの作用機序はインスリン非依存的であり、グルコース逆調節機序に影響を及ぼさないため、低血糖を引き起こすリスクは低いと予想され、さらに、インスリン分泌及びインスリン作用のいずれにも障害を有する 2 型糖尿病患者にも使用できる可能性があることから、ダパグリフロジンに関して 2 型糖尿病の治療薬としての期待が高まった。さらに、SGLT2 を阻害する作用機序は新規であるため、既存薬との併用投与により既存薬の作用と相互に補完的に有効性を示すことが期待される。また、ダパグリフロジンの尿中グルコース排泄促進作用及びそれに付随した利尿作用により、それぞれ体重減少及び血圧低下の効果が期待され、これらは 2 型糖尿病患者にも有益である可能性が示唆された。選択的かつ可逆的な SGLT2 阻害薬は、SGLT1 を介する小腸でのグルコース吸収に影響を及ぼさず、腎グルコース再吸収の機能をある程度維持できる点で望ましいと考えられ、また、その特徴により安全で、忍容性が高く、有効性を示す可能性がさらに高まることが期待される。

Phlorizin 自体は SGLT2 に対する選択性を持たないので、SGLT2 以外の SGLT が発現している消化管、心臓、骨格筋及び他の組織で、SGLT2 以外の SGLT を阻害する可能性があるため、治療薬として開発されるに至らなかった。また、phlorizin は、経口投与により体内に吸収されて利用されることなく、生体内で小腸ラクターゼ・phlorizin 水解酵素に加えてグルコシダーゼ酵素によっても容易に不活性化される (Isaji 2007)。臨床開発まで進んだ phlorizin アナログは、プロドラッグ化され、経口による生物学的利用が可能になったが、プロドラッグ部分が切断されるとグルコシダーゼ酵素による速やかな分解を受けやすかった。その後、2 型糖尿病の可能性のある治療薬として、安定で経口投与により生物学的に利用可能であり、選択的、可逆的かつ競合的な SGLT2 阻害薬を同定して特性を明らかにする取り組みの中で、ダパグリフロジンが創製された (Washburn 2009)。

ダパグリフロジンの最高推奨臨床用量は 10 mg である。ダパグリフロジン 10 mg を日本人 2 型糖尿病患者に 14 日間反復経口投与したときの定常状態における最高血漿中濃度 ( $C_{max}$ ) は 191 ng/mL であり、投与間隔間の血漿中濃度-時間曲線下面積 ( $AUC_{\tau}$ ) は 727 ng·h/mL であった

(MB102025 試験)。動物及びヒトで多数の代謝物が検出されたが、ダパグリフロジンのヒトにおける循環血中主代謝物は 3-O-グルクロン酸抱合体 (BMS-801576) であった。最高推奨臨床用量で、3-O-グルクロン酸抱合体の  $C_{max}$  及び AUC は、それぞれ 316 ng/mL 及び 1581 ng·h/mL であり、3-O-グルクロン酸抱合体のヒト SGLT2 に対する阻害活性は、ダパグリフロジンに比して 1/2400 の低値であるため、最高推奨臨床用量を投与した後の臨床的曝露量では本代謝物は SGLT2 に対する活性を示さないと考えられた。ダパグリフロジン及び主代謝物 3-O-グルクロン酸抱合体のヒトにおける曝露量は、日本人 2 型糖尿病患者を対象とした臨床薬理試験の結果を引用した (MB102025 試験)。ダパグリフロジンは、ヒト及び動物のいずれでも高い蛋白結合率を示したため (91~95%) (薬物動態試験の概要文 2.6.4.4.2 項参照)、ダパグリフロジン及び 3-O-グルクロン酸抱合体の曝露量は、遊離型分画の補正を行わず、特に明記しない限り全て、それぞれの総血漿中 AUC を用いて、最高推奨臨床用量におけるヒト曝露量比 (動物の曝露量÷ヒトの曝露量) を示した。

*In vitro* 及び *in vivo* の薬力学的試験、安全性薬理試験、薬物動態試験並びに毒性及びトキシコキネティクス (TK) 試験を含めた包括的試験計画で、ダパグリフロジンの非臨床的特性について検討を行った。ヒトにおける主代謝物である 3-O-グルクロン酸抱合体には毒性が懸念される特異的構造を有さない。また、反応性がなく、副次的薬理試験で 300 を超える標的外酵素及び受容体にも活性を示さず、最高推奨臨床用量で得られた血漿中濃度で SGLT2 に対する阻害活性はないと推定されたことから (薬理試験の概要文 2.6.2.3.1 項参照)、毒性学的懸念はないと考えられる。また、特定の *in vitro* 試験でも評価され (薬物動態試験の概要文 2.6.4.5.1 項参照)、ラット及びイヌの反復投与毒性試験の無毒性量における 3-O-グルクロン酸抱合体の曝露量は最高推奨臨床用量における曝露量と同等あるいは上回ると推定された (毒性試験の概要文 2.6.6.8.4 項参照)。

*In vitro* 及び *in vivo* 試験でダパグリフロジンの薬理作用を評価した。これらは探索的試験であり、US Food and Drug Administration (FDA) の Good Laboratory Practices (GLP) に適合していないが、標準業務手順書を遵守して実施した。ダパグリフロジンについて以下の薬理試験を行った。1) *in vitro* 試験系で、ヒト及びげっ歯類の SGLT 及び促進拡散型グルコース輸送体 (GLUT) に対する活性を評価する細胞分析、2) *in vivo* の薬力学的試験で、げっ歯類に単回経口投与し、尿中グルコース排泄及び血漿中グルコース濃度に対する SGLT2 阻害作用を評価する試験、及び、速やかに消失しない活性代謝物の存在を確認する試験、内因性グルコース産生に対するダパグリフロジン単回経口投与の作用を評価する試験、並びに、3) *in vivo* でラットにダパグリフロジンを反復経口投与し、血漿中グルコース濃度、インスリン感受性、内因性グルコース産生、腎機能、糖尿病の進行、インスリン分泌、膵島の形態、並びに、耐糖能及び体重に対する作用を評価する試験。また、社外の研究報告で SGLT2 は腎臓以外にも発現していることが示唆されたため (Zhou et al 2003, Wright et al 2007, Wright et al 2011)、追加の研究を行ってヒトにおける SGLT2 の組織発現パターンをさらに明確にした (報告書 930005302, 報告書 930005304)。さらに、ダパグリフロジンによる治療効果の分子的機序、並びに、細胞増殖及び発癌促進機構に及ぼす潜在的関連性に関する理解を深めるため、ダパグリフロジンを 5 週間反復経口投与した ZDF ラットから採取した細胞で、遺伝子発現に及ぼすダパグリフロジンの影響を評価した。*In vitro* でヒト膀胱癌細胞株の増殖に及ぼす高濃度グルコースの影響を評価する試験も行った。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサルを用いた一連の *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験を実施し、ダパグリフロジンの非臨床薬物動態を検討した。すべての試験は適切に計画され、日米欧医薬品規制調和国際会議 (ICH) ガイドラインに則って実施した。TK 試験においてマウス、ラット、ウサギ及びイヌから採取した血漿試料は、エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 又は大気圧化学イオン化 (APCI) を用いたバリデートされた高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析 (LC-MS/MS) 法により分析し、ダパグリフロジン (BMS-512148) 及びその 2 種類の代謝物 [ダ

ダパグリフロジンの脱エチル化体（BMS-511926）及びヒトにおける主代謝物である 3-O-グルクロン酸抱合体（BMS-801576）の濃度を測定した。定量に用いたバリデートされた分析法は、これらの分析対象物質の測定に関して高感度で、真度及び精度に優れた方法であった。

ダパグリフロジンの毒性評価に関しては、マウス、ラット及びイヌを用いた毒性試験を実施した。ラット（げっ歯類）及びイヌ（非げっ歯類）は毒性試験の標準的な動物種で背景データが豊富であり、ダパグリフロジンの薬効に対し感受性を有し、ダパグリフロジン及びその主要な代謝物である 3-O-グルクロン酸抱合体の安全性評価が可能な曝露量が得られている。また、ラットとイヌの試験ではダパグリフロジンによる影響の回復性についても検討した。

遺伝毒性及びがん原性について、*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験、マウス及びラットのがん原性試験を実施した。

生殖発生毒性について、ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験、ラットの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を実施した。

また、その他の毒性試験として、1) ラットにおける血清及び尿中カルシウムの増加に関する試験、2) ラットにおける骨の構造及び骨のバイオマーカーに対する影響に関する試験、3) ラットにおける ALT 活性及び尿中蛋白の増加に関する試験、4) 生涯グルコース濃度が高い尿に曝露される SGLT2 遺伝子欠損（以下 SGLT2 ノックアウトと略）マウスにおける尿路の形態及び腎機能の影響を野生型マウスと比較する試験、5) 主要な反復投与毒性試験における 3-O-グルクロン酸抱合体の全身曝露量を推定するためのラット及びイヌを用いた単回投与トキシコキネティクス試験、さらに、6) SGLT2 阻害薬先行化合物に末梢及び中枢神経の軸索変性がみられたことからラット及びマウスを用いた神経毒性に関する試験、も実施した。

主要な毒性試験は、ICH ガイドライン及び GLP 基準に従い実施した。用量設定は、用量設定試験あるいは先行する試験の結果に基づいて行った。動物でのダパグリフロジンの全身曝露量（AUC<sub>0-t</sub> 及び C<sub>max</sub>）は最高推奨臨床用量の最大で約 3000 倍であった（イヌにおける反復投与毒性試験、毒性試験の概要文 2.6.6.3.3 項表 5 参照、各動物種の AUC とヒトの曝露量との比については 2.4.4 項の表 1 に示す）。ヒトにおける主代謝物であるが薬理学的活性を示さない 3-O-グルクロン酸抱合体と、薬理学的活性を有する O-脱エチル化体の濃度を検討した結果、反復投与毒性試験の無毒性量におけるこれらの代謝物の曝露量は、ヒトにおける曝露量と同等以上であった。

非臨床試験で用いたダパグリフロジンの化学形態は、薬理試験ではダパグリフロジンフリー体、薬物動態試験及び主要毒性試験ではダパグリフロジンプロピレングリコール水和物であった。また、非臨床試験で記載されている濃度及び投与量はフリー体（ダパグリフロジン）に基づく数値である。

## 2.4.2 薬理試験

ダパグリフロジンは、*in vitro* で、ヒト SGLT2 に対して、選択的、可逆的かつ競合的な阻害活性を示した。ダパグリフロジンのヒト SGLT2 に対する K<sub>i</sub> 値は 0.55 nmol/L であり、その選択性はヒト SGLT1（K<sub>i</sub> 値：810 nmol/L）との比較で約 1400 倍高かった。ダパグリフロジンのヒトにおける主代謝物である 3-O-グルクロン酸抱合体のヒト SGLT2 に対する阻害活性は、ダパグリフロジンに比べて 1/2400 であるため、ダパグリフロジンの最高推奨臨床用量 10 mg をヒトに反復投与後の臨床的曝露量では 3-O-グルクロン酸抱合体は不活性であると推測された。動物モデルで、ダ

パグリフロジン投与により尿中グルコース排泄促進作用が認められた。マウスにダパグリフロジン 10 mg/kg を単回経口投与したとき、軽度のナトリウム利尿が認められたが、カルシウム及びカリウムの尿中排泄の増加は認められなかったことから、ダパグリフロジンは、薬理作用を示す用量でカルシウム及びカリウムの排泄促進作用を示さないと考えられた。また、尿量の増加が認められたが、これは試験動物における尿中グルコース排泄量が増加した結果であると考えられた。ダパグリフロジンの単回経口投与により、非糖尿病ラットでは尿中グルコース排泄量は増加したが、血漿中グルコース濃度が低血糖の目安とした 70 mg/dL を下回った例は認められなかった（低血糖の目安は、米国糖尿病学会による「ヒトにおいて血糖値が 70 mg/dL を下回った場合を低血糖とする定義」（American Diabetes Association 2013）を参考にした）。一方、糖尿病モデルラットでは、血漿中グルコース濃度が低血糖の目安とした 70 mg/dL を下回ることなく用量依存的に低下した。正常ラットで、ダパグリフロジンの薬力学的プロファイルは薬物動態学的プロファイルと一致することが示された。ダパグリフロジンの約 5 週間反復経口投与により、前糖尿病モデルラットで、高血糖症への進展の抑制、グルコース耐性の改善に加えて膵インスリン量が維持され、糖尿病モデルラットで、膵島形態及び膵β細胞機能の改善が認められた。

ダパグリフロジンは、*in vitro* で GLUT のクラス 1 ファミリーのアイソフォーム及び SGLT ファミリーの SGLT1 及び SGLT2 以外のアイソフォームに比べて SGLT2 に高い選択性を示した。また、ダパグリフロジンの単回経口投与により、正常及び糖尿病モデルラットのいずれでも内因性グルコース産生の増加が認められ、ダパグリフロジンは、尿中グルコース排泄の促進により引き起こされる血漿中グルコース濃度変化に対する生理的応答を阻害しないことが示唆された。糖尿病モデルラットで、ダパグリフロジンの単回投与に反応した内因性グルコース産生の増加が認められたが、同モデルにダパグリフロジンを 15 日間反復経口投与したとき、内因性グルコース産生の増加が減少したことから、ダパグリフロジンの反復投与により、2 型糖尿病の主症状の一つである、グルコース産生を抑制するインスリンに対する肝臓の抵抗性が改善される可能性が示された。食餌誘導性肥満ラットにダパグリフロジンを 27 日間反復経口投与した試験で、摂餌量の増加にも関わらず体重に減少が認められ、身体組成の分析から、ダパグリフロジンの長期治療には除脂肪量を維持しつつ脂肪量を減少させる効果があることが示唆された。ダパグリフロジンの臨床試験で、ダパグリフロジン投与群における膀胱癌の発現がプラセボ投与群よりも高い傾向が示されたため、ダパグリフロジンを 5 週間反復経口投与した ZDF ラットから採取した細胞で遺伝子発現に及ぼす影響を評価したところ、細胞増殖又は発癌促進に関連した転写の変化は引き起こされないことが示された。さらに、*in vitro* のヒト膀胱癌細胞株において高濃度グルコース添加による細胞増殖率の増加は認められなかった。

独立した安全性薬理試験又は反復経口投与毒性試験の一部で、心血管系、中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響の評価を行った結果、日本人 2 型糖尿病患者に最高推奨臨床用量 10 mg を 1 日 1 回 14 日間反復経口投与したときの定常状態における  $C_{max}$  (191 ng/mL) の 220 倍の曝露量まで、ダパグリフロジンの臨床使用に問題のある可能性を示す所見は認められなかった。

なお、以下の 2.4.2 項において、ダパグリフロジン 10 mg を日本人 2 型糖尿病患者に 1 日 1 回 14 日間反復経口投与したときの定常状態における  $C_{max}$  (191 ng/mL) 及び  $AUC_{\tau}$  (727 ng·h/mL) をそれぞれ臨床的曝露量  $C_{max}$  及び臨床的曝露量  $AUC_{\tau}$  と記載した (MB102025 試験)。

### 2.4.2.1 効力を裏付ける試験

*In vitro* で、ヒト及び各種動物（ラット、マウス及びイヌ）の SGLT1 及び SGLT2 に対するダパグリフロジンの阻害活性を求め、SGLT1 に対する SGLT2 選択性を評価した。ダパグリフロジン

は、ラット、マウス及びイヌの SGLT2 に対してヒト SGLT2 と同程度の活性を示したことから、ラット及びマウスを用いて *in vivo* におけるダバグリフロジンの薬理学的特性を検討した。正常及び SGLT2 ノックアウトマウスを用いて、グルコース、ナトリウム、カリウム及びカルシウムの尿中排泄、並びに、尿量に及ぼすダバグリフロジンの単回投与による影響及び SGLT2 に対する特異性を評価した。ストレプトゾトシン投与 (STZ) Sprague-Dawley (SD) 系ラットの非肥満、インスリン欠乏性又はインスリン抵抗性ラットで、ダバグリフロジン単回投与後の血中グルコースに対する作用を評価し、腎微小穿刺の影響を受けやすい STZ 投与 Wistar 系ラットで、腎の重量 (サイズ) 及び機能に及ぼすダバグリフロジンの反復投与による影響を評価した。雌雄 Zucker diabetic fatty (ZDF) ラットは、過食、肥満かつインスリン抵抗性を示し、膵β細胞の疲弊が進行するにつれ経時的に糖尿病を発現し、2 型糖尿病を発症するモデルである。ZDF ラットを用いて、絶食下及び摂食下の血漿中グルコース濃度、インスリン分泌及び膵島形態、インスリン感受性、並びに、内因性グルコース産生に対するダバグリフロジンの作用を評価した。

### SGLT2 及び SGLT タンパク質ファミリーの他のアイソフォームの組織発現パターン

SGLT2 遺伝子長を横断する複数のプローブ及び3名のドナーから採取した組織を用いた定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) 法の試験により、SGLT2 メッセンジャーRNA (mRNA) は、試験に用いた72種の正常ヒト組織のうち腎臓に選択的に発現していることが明らかになった (報告書 930005304)。公表論文で (Zhou et al 2003, Wright et al 2007, Wright et al 2011)、社内における測定よりも広範囲の組織で SGLT2 が発現していると報告されているが、方法論的な相違が mRNA 検出の特異性を低下させている可能性があり、さらに、上記の公表論文では市販の mRNA を用いているため、公表論文の結果と社内の試験結果が一致しなかったと考えられた。ラットにおける定量的 RT-PCR 法による検出で、SGLT2 遺伝子の mRNA の発現量は、脳及び小腸では低レベルであったが、腎臓では脳及び小腸に比べて顕著に多かった (報告書 930005302)。また、ヒト SGLT1、SGLT3、SGLT4、SGLT5 及び SGLT6 の組織発現パターンも明らかになり、これら遺伝子のほとんど全てが腎以外のヒト組織でも発現していた (報告書 930005304)。

定量的 RT-PCR 法により、均質化組織検体から高感度で mRNA 転写物を検出できるが、組織内の一部の細胞集団由来の少量の転写物を検出できない可能性があることを考慮しなければならない。したがって、試験に用いた組織内の一部の細胞集団に SGLT2 が発現していた可能性は否定できない。*In situ* ハイブリダイゼーション法は mRNA 転写物の細胞部位を検出することが可能であり、本法を用いて、ラット及びヒトの限定した組織で SGLT2 及び SGLT1 の発現を調べた (報告書 930005302, 報告書 920008658)。*In situ* ハイブリダイゼーション法で得られたデータから、ヒト及びラットの腎臓に SGLT2 が高発現していることが確認され、ラットの脳幹、小脳、大脳及び脊髄の細胞で極微から軽度のシグナルが検出された。

概して、ヒト及びげっ歯類の組織における SGLT2 の発現プロファイルから、ダバグリフロジンの SGLT2 を介した薬理作用が腎臓以外の組織に及ぶリスクは低いことが示唆された。

#### 2.4.2.1.1 *In vitro* 試験系における SGLT2 に対する阻害活性及び選択性

ヒト SGLT2 及び SGLT1 活性に関する細胞分析で、ダバグリフロジンはヒト SGLT2 に阻害活性を示し、その 50%阻害濃度 (IC<sub>50</sub> 値) は 1.12±0.065 nmol/L (以下、特記しない限り平均値±標準誤差で表す) であったのに対して、ヒト SGLT1 に対する IC<sub>50</sub> 値は 1391±7 nmol/L であり、SGLT1 に比較して SGLT2 に対する選択性は 1200 倍と推定された (報告書 930005313)。ヒトに

## 2.4 非臨床試験の概括評価

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

おけるダパグリフロジンの主代謝物である 3-*O*-グルクロン酸抱合体のヒト SGLT2 に対する IC<sub>50</sub> 値は 2900±252 nmol/L であり、ヒト SGLT1 に対しては 80 μmol/L まで阻害活性を示さなかったことから（報告書 930018488）、3-*O*-グルクロン酸抱合体のヒト SGLT2 及び SGLT1 に対する阻害活性はダパグリフロジンよりも極めて低いことが示された。

ラット、マウス及びイヌの SGLT2 の細胞分析で、ダパグリフロジンのラット、マウス及びイヌの SGLT2 に対する IC<sub>50</sub> 値は、それぞれ 3.0±0.5 nmol/L、2.3±0.6 nmol/L 及び 1.6±1.0 nmol/L であり、ダパグリフロジンは、ラット、マウス及びイヌの SGLT2 に対してヒトの SGLT2 と同程度の阻害活性を有することが示された（報告書 930005313, 報告書 930041858, 報告書 930052019）。しかし、上述の試験で、ラット、マウス及びイヌの SGLT1 と比較した SGLT2 に対する選択性は、ヒトにおける同選択性よりも低いことが示された（ラット、マウス及びイヌの SGLT1 に対する IC<sub>50</sub> 値は、それぞれ 620±70 nmol/L、299±166 nmol/L 及び 698±203 nmol/L であった）。

さらに広範囲で、より生理学的に適切な基質濃度範囲（0.1~10 mmol/L）にわたって SGLT 阻害活性を評価できる分析法で、ヒト SGLT2 及び SGLT1 に対するダパグリフロジンの阻害定数（K<sub>i</sub> 値）を算定した。本試験で、ダパグリフロジンは SGLT2 及び SGLT1 に対する競合的阻害薬であることが示された。ヒト SGLT2 及びヒト SGLT1 に対する K<sub>i</sub> 値は、それぞれ 0.55±0.16 nmol/L 及び 810±200 nmol/L であり、SGLT1 と比較した SGLT2 に対する選択性は 1400 倍以上であることが示された（報告書 930052283）。

同様の *in vitro* 試験で、ダパグリフロジンは可逆的な SGLT2 阻害薬であることも示された（報告書 930052283）。哺乳類細胞において、SGLT2 タンパク質発現に必要な転写、翻訳、タンパク質の折り畳み及び膜内挿入の時間を考慮すると、分析の 3 時間というタイムフレームは細胞表面での SGLT2 タンパク質のターンオーバーよりも短いと推測されるので、SGLT2 活性の回復は可逆性を反映している。しかし、新たに合成されたタンパク質によって SGLT2 活性が回復したという可能性を確認する処置（タンパク質合成阻害薬による前処置等）は施さなかった。

*In vitro* における活性の評価、ダパグリフロジン及び循環血中主代謝物のヒトにおける曝露量及び血漿中蛋白結合率を用いて、SGLT2 及び SGLT1 の阻害がヒトで観察される薬理作用に対して寄与する程度を推定することが可能である。中性溶質の濃度は血漿中と糸球体濾過液中とではほぼ等しいことが示されているため（Maddox et al 1992）、糸球体濾過液中での遊離型ダパグリフロジン濃度は、遊離型血漿中ダパグリフロジン濃度と等しいと仮定して近位尿細管でのダパグリフロジン濃度を推定した（報告書 930042484）。臨床的曝露量 C<sub>max</sub> に基づき、近位尿細管中の遊離型ダパグリフロジン最高濃度は 42 nmol/L と推定され、ヒト SGLT2 に対するダパグリフロジンの K<sub>i</sub> 値 0.55 nmol/L の 76 倍であり（報告書 930052283）（IC<sub>50</sub> 値 1.12 nmol/L の 38 倍（報告書 930005313））、ヒト SGLT1 に対する K<sub>i</sub> 値 810 nmol/L の 1/19（報告書 930052283）（IC<sub>50</sub> 値 1319 nmol/L の 1/31（報告書 930005313））に相当すると考えられた。したがって、ヒトで認められるダパグリフロジンの薬理作用は、近位尿細管に存在する SGLT1 及び SGLT2 のうち主に SGLT2 阻害によるものであることが示唆された。ダパグリフロジンの循環血中主代謝物である 3-*O*-グルクロン酸抱合体の場合、最高推奨臨床用量での近位尿細管における遊離型最高濃度は 59 nmol/L（MB102025 試験, 報告書 930042484）と推定され、ヒトの SGLT2 及び SGLT1 に対する 3-*O*-グルクロン酸抱合体の IC<sub>50</sub> 値（各々 2900 nmol/L 及び >80000 nmol/L）のそれぞれ 1/49 及び 1/1356 未満に相当し（報告書 930005313）、3-*O*-グルクロン酸抱合体は、最高推奨臨床用量でヒトの SGLT2 及び SGLT1 を阻害せず、ヒトにおけるダパグリフロジンの薬理作用に寄与しないと考えられた。

### 2.4.2.1.2 単回投与後の薬力学的作用

正常及び糖尿病モデルラットに 0.01~10 mg/kg のダパグリフロジンを単回経口投与後、正常ラットでは 0.1 mg/kg 以上の投与群で、糖尿病ラットでは 0.01 mg/kg 以上の投与群で、尿量増加と共に尿中グルコース排泄量の増加が認められ（それぞれ報告書 930005311 及び報告書 930005327）、これらの作用はヒトに単回経口投与後に認められた作用と同様であった（MB102001 試験, Komoroski et al 2009a）。正常ラットに 0.1 mg/kg より高用量のダパグリフロジンを投与後、24 時間尿中グルコース排泄量でベースライン値を超える増加が認められた（報告書 930005311）。本試験でダパグリフロジンの曝露量を測定しなかったが、0.1 mg/kg 投与後の曝露量は、臨床的曝露量  $AUC_t$  の 0.4 倍に相当すると推定された（薬理試験の概要文 2.6.2.2.2 項参照）。正常ラットにダパグリフロジン 1 mg/kg を単回経口投与後の薬力学的作用は 24 時間を超えて持続し、このときの薬力学的半減期は  $7.7 \pm 0.7$  時間と推定された（報告書 930008042）。この半減期はラットにおける薬物動態学的半減期  $4.6 \pm 0.8$  時間とほぼ一致していた（薬物動態試験の概要文 2.6.4.3.2.1 項参照）（半減期は共に平均値 $\pm$ 標準偏差）。尿中グルコース排泄量は投与 6 時間と 24 時間で同程度であり、上記の結果はヒトに単回経口投与後にみられた長時間作用持続性と一致していた。

糖尿病モデルラットに 0.01 mg/kg のダパグリフロジンを投与したとき、溶媒投与群に比して統計学的に有意な尿中グルコース排泄量の増加が認められた ( $p < 0.001$ )（報告書 930005327）。本投与量 0.01 mg/kg は、非糖尿病ラットにおける有効用量の 1/10 であり、このときの曝露量は、本試験の測定値に基づき臨床的曝露量  $AUC_t$  の 0.03 倍に相当すると推定された。この感受性の違いについては、正常血糖状態では、腎におけるグルコース再吸収能の一部しか利用されていないと仮定すると説明可能と考えられる（Deetjen et al 1992）。したがって、正常ラットでは、ダパグリフロジンの単位曝露量当たりの尿中グルコース排泄促進作用は、糖尿病ラットよりも弱かった。一方、高血糖状態では、正常血糖状態よりも腎におけるグルコースの濾過負荷が高いため、腎でのグルコース再吸収能の利用率が高く、ダパグリフロジンの単位曝露量当たりの尿中グルコース排泄促進作用は、正常血糖状態よりも強力であると考えられる。試験デザインの違いがあるため試験成績を直接比較することは困難であるが、ダパグリフロジン 0.01 mg/kg を投与後の 24 時間尿中グルコース排泄のプロファイルを正常 SD ラットと糖尿病モデル ZDF ラットとで比較すると（それぞれ報告書 930005311 及び報告書 930005327）、正常 SD 系ラットでは尿中グルコース排泄量の増加が認められなかったことから、ダパグリフロジンの尿中グルコース排泄の促進作用は、正常 SD 系ラットよりも ZDF ラットに対して強力であると推測することは可能であると考えられる。本結果から、*in vivo* におけるダパグリフロジンの尿中グルコース排泄の促進作用は、正常血糖状態よりも高血糖状態で強力であるという推察が裏付けられたと考えられる。以上の結果は臨床試験で観察された結果と一致していた（Komoroski et al 2009b）。

野生型 (WT) マウスに 0.1、1 及び 10 mg/kg のダパグリフロジンを単回経口投与後にも、尿中グルコース排泄量及び時間・体重当たりの尿量の増加が認められた（報告書 930044592）。マウスに 1 mg/kg のダパグリフロジンを投与したときの曝露量は、臨床的曝露量  $AUC_t$  の 0.7 倍に相当すると推定された（薬理試験の概要文 2.6.2.2.2 項参照）。WT マウスで、10 mg/kg のダパグリフロジンを投与後にグルコースの排泄量と共にナトリウム排泄量の増加が認められたが、10 mg/kg より低い用量でそのような作用はみられず、また、いずれの投与量でもカルシウム及びカリウムの排泄量の増加は認められなかった（報告書 930044592）。SGLT2 ノックアウトマウス溶媒投与群で、尿中グルコース排泄量は WT マウス溶媒投与群に比して増加したが、0.1 mg/kg 及び 1 mg/kg のダパグリフロジン投与群で尿中グルコース排泄量のさらなる増加はみられなかった。SGLT2 ノックアウトマウス 10 mg/kg 投与群で、溶媒投与群に比して統計学的に有意な尿中グル

## 2.4 非臨床試験の概括評価

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

コース排泄量の増加が認められ ( $p < 0.05$ )、10 mg/kg で他の腎グルコーストランスポーターに作用したことが示唆された (報告書 930044592)。SGLT1 は、げっ歯類において近位尿細管 S3 セグメントに発現していることが知られており (Kanai et al 1994)、10 mg/kg 投与後の推定曝露量で、ダパグリフロジンが本部位にて SGLT1 阻害作用を及ぼしたと考えられる (薬理試験の概要文 2.6.2.2.2 項参照)。

2 型糖尿病モデル ZDF ラットにダパグリフロジンを単回経口投与したとき、尿中グルコース排泄の促進と一致して血漿中グルコース濃度の低下が認められ、その作用は投与 24 時間後まで持続した (報告書 930005327, 報告書 930008043)。また、1 型糖尿病モデルと考えられている STZ 誘発糖尿病モデルラットにおいても、血中グルコース低下作用が示された (報告書 930005305)。2 型糖尿病 ZDF ラットに 10 mg/kg のダパグリフロジンを投与したとき、投与 48 時間後に半数が死亡した (報告書 930005327)。このときの曝露量  $AUC_{0-6h}$  は、本試験の測定値に基づき臨床的曝露量  $AUC_T$  の 30 倍に相当すると推定された。これらのラットの死亡の原因を調査しなかったが、同様のモデル及び投与量を使用したフォローアップ試験で、試験方法が致死率に及ぼす影響を評価し、測定項目である種々の生化学的パラメータへの影響を明らかにした (報告書 930005310)。その結果、試験計画で規定した投与後の絶食や薬理作用により亢進した浸透圧性利尿に対して飼料及び水分を補充する必要があるが、特殊な試験条件や代謝ケージで供給される飼料及び水分の変化によるストレスで、飼料及び水分を十分に摂取できない場合に脱水や死亡に至る可能性が示された。以上の結果から、代謝ケージでの飼育はストレスが多く、ダパグリフロジンを投与した ZDF ラットの致死率を増加させる主要な因子であると考えられた。上記の試験 (報告書 930005310) と対照的に、自由摂水・摂餌下、同様のモデルラットにダパグリフロジン 10 mg/kg を 2 週間投与した試験では死亡は認められなかった (報告書 930005329)。

### 2.4.2.1.3 反復投与後の薬力学的作用

糖尿病モデルラットを用いた用量範囲試験で、ダパグリフロジンを 1 日 1 回 14 日間反復経口投与し、15 日目に絶食後に最終投与したとき、絶食下血漿中グルコース濃度の用量依存的な低下が示され (報告書 930005329)、ヒトに種々の用量のダパグリフロジンを投与したときに認められた所見と一致していた (Komoroski et al 2009b, List et al 2009)。本試験の最低用量 (0.01 mg/kg) では、試験の 8 日目 (絶食下) 及び 14 日目 (摂餌下) に、溶媒投与群に比して有意な血漿中グルコース濃度の低下が認められた (8 日目:  $p < 0.001$ 、14 日目:  $p < 0.05$ )。この用量ではダパグリフロジンの血漿中濃度を検出できなかったが、ダパグリフロジン 1 mg/kg を投与したときの  $AUC_{0-6h}$  の測定値から外挿した場合の曝露量は、臨床的曝露量  $AUC_T$  の 0.03 倍に相当すると推定された。

一連の試験で、体重、インスリン感受性及び膵  $\beta$  細胞機能等の血糖コントロール以外の糖尿病関連エンドポイントに対するダパグリフロジン反復投与の影響を検討した。これらの因子は高血糖の進行に影響を与える可能性があるため、2 型糖尿病進行の主要な要因であると考えられる (Surampudi et al 2009)。各種試験で膵  $\beta$  細胞の機能及び膵島形態に及ぼすベネフィットが明らかになった。

既に高血糖を示している糖尿病雄性 ZDF ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回 15 日間反復経口投与し、最終投与 48 時間後に高インスリン正常血糖クランプ法を実施し、糖処理に対する作用を検討した (報告書 930005312, Han et al 2008)。その結果、正常血糖を維持するために必要なグルコース注入速度は、ダパグリフロジン投与群で溶媒投与群よりも 131% 高く、ダパグリフロジン投与群のインスリン感受性は溶媒投与群よりも改善されたことが示唆された。上昇した肝グルコース産生率は、ダパグリフロジン投与によって溶媒投与群の 1/4 に低下したことから、内因

性グルコース産生を抑制するインスリン作用に対する肝臓の反応が改善されたことが示唆された。また、食餌誘導性インスリン抵抗性及び膵  $\beta$  細胞障害のある肥満 ZDF ラットモデルで、高脂肪食の給餌開始と同時にダパグリフロジン 1 mg/kg の 1 日 1 回 34 日間反復経口投与により（報告書 930044494）、インスリン感受性は 4 倍に上昇し、インスリン抵抗性を補正したインスリン分泌（disposition index）（Kahn et al 1993）は非肥満対照ラットのレベルまで回復し、膵島形態指標及び膵島のインスリン染色度が回復した。さらに、ダパグリフロジンの投与開始前に、既にある程度の高血糖が発症していたモデルにおいても同様の作用が認められた（報告書 930044498）。

前糖尿病 ZDF ラットにダパグリフロジンを反復経口投与後の経口グルコース負荷試験で、ダパグリフロジン投与群におけるグルコース負荷に対するインスリン反応の漸増的变化は、溶媒投与群よりも増大したことから（報告書 930037783）、膵  $\beta$  細胞によるグルコース刺激インスリン分泌能が改善されたことが示唆された。また、前糖尿病性 ZDF ラットに 1 mg/kg のダパグリフロジンを 5 週間反復経口投与した同様の試験でも、最終投与 24 時間後の評価で、正常血糖を維持するために必要なグルコース注入速度は、溶媒投与群に比してダパグリフロジン投与群で 33%高いことが示された（報告書 930041958）。特に後半のクランプ試験については、ダパグリフロジンの薬理作用（尿中グルコース排泄）がグルコース注入速度に影響を及ぼした可能性を除外できないが、ダパグリフロジン投与群でインスリン感受性が改善されたことが示唆される。このようなダパグリフロジンの作用は、高血糖自体がインスリン抵抗性及び膵  $\beta$  細胞機能に対して有害な作用を及ぼし、その有害作用は 4~5 週間の phlorizin 皮下投与により軽減されたことから（Rossetti et al 1987a, Rossetti et al 1987b）、高血糖値の低下によるものと推定される。また、経時的にインスリン分泌能が消失するインスリン抵抗性前糖尿病 ZDF ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回 5 週間反復経口投与したとき、摂食後の血漿中インスリン濃度のベースライン値が維持される結果が得られた（報告書 930041921）。本試験で、絶食下膵インスリン量は溶媒投与群よりも有意な増加を示したことから（ $p < 0.001$ ）、膵  $\beta$  細胞数と膵インスリン量のいずれか、あるいは、その両方が改善されたことが示唆された。

以上の結果から、持続的末梢性インスリン抵抗性の病態で、ダパグリフロジンは、高血糖をインスリン非依存的に低下させることにより膵  $\beta$  細胞機能等を維持して 2 型糖尿病の進行を遅延させる可能性があると考えられた。

### 2.4.2.2 副次的薬理試験

GLUT は末梢組織でのグルコース取込みにおいて重要な役割をしているので（Olson and Pessin 1996）、末梢組織でのグルコース輸送抑制による有害な作用を回避するためには、GLUT に対する SGLT2 選択性を有することが必要となる。ヒトの生理機能における役割は明確ではないが、SGLT ファミリーの他のアイソフォームに対するダパグリフロジンの作用についても評価を行った。STZ 誘発糖尿病モデルラットで、ダパグリフロジンの反復投与による腎の大きさ及び機能に対する作用を評価した。また、非過食性、非糖尿病かつ食餌誘発性肥満ラットモデルを用いて、体重及び身体組成に対するダパグリフロジンの影響を評価した。さらに、ダパグリフロジンの臨床試験で、ダパグリフロジン投与群における膀胱癌の発現がプラセボ投与群よりも高い傾向が得られたため、ダパグリフロジンを 1 日 1 回 5 週間反復経口投与した糖尿病 ZDF ラットから採取した細胞で遺伝子発現に及ぼす影響を評価した。In vitro でヒト膀胱癌細胞株の増殖に及ぼす高濃度グルコースの影響を評価する試験も行った。

なお、ダパグリフロジンの主代謝物である 3-O-グルクロン酸抱合体はダパグリフロジンの SGLT2 阻害活性の 1/2400 であることから、最高推奨臨床用量で SGLT2 に対して in vivo 薬理活性

に寄与しないと推定されるため、本代謝物の SGLT2 に対する薬力学的活性の評価を行わなかった。

#### 2.4.2.2.1 *In vitro* 試験

ダパグリフロジンは、SGLT2タンパク質と高い相同性を示したヒトSGLTファミリーの他のアイソフォーム（SGLT1、ナトリウム・ミオイノシトール共輸送体（SMIT）1、SGLT4及びSGLT6）に比べてSGLT2に高い選択性を示した（報告書930052026）。ダパグリフロジンは、phlorizinと同様に（Ehrenkranz et al 2005）、マウス及びヒトのGLUTファミリーのアイソフォームに比べてSGLT2に対する選択性が高いことが示された（報告書930005313, 報告書930044475）。これらの試験で、GLUTのクラス1ファミリーに属するGLUT1、GLUT4及びGLUT2を用いた（Manolescu et al 2007）。GLUT1は全組織に遍在的に発現している。GLUT4は骨格筋及び脂肪組織の主要なグルコース輸送体であり、GLUT2は、消化管、腎臓、肝臓及び膵β細胞の主要なグルコース輸送体である（Manolescu et al 2007）。Phlorizin及びダパグリフロジンはいずれも、上記のGLUTに比べてSGLT2に高選択性を有するため、SGLT阻害薬がGLUTに対して阻害活性を示す可能性は低く、他のGLUTアイソフォームについては評価しなかった。別の分析で、ダパグリフロジンは、濃度10 µmol/Lで、ヒトカルシトニン及びヒトビタミンD3受容体に結合する高親和性リガンドと顕著な競合を示さず（報告書930041980）、ダパグリフロジンはカルシウム恒常性に関する受容体に直接結合しないことが示唆された。ダパグリフロジンは、評価した40種の受容体、酵素及びイオンチャネルのいずれに対しても明らかな結合及び相互作用を示さなかった（濃度10及び30 µmol/Lでそれぞれ33%以下及び28%以下の阻害率）（報告書930005143）。また、濃度10 µmol/L又は濃度反応試験で、ダパグリフロジン及びダパグリフロジンのヒト主代謝物3-O-グルクロン酸抱合体は、それぞれ287種及び330種の受容体、酵素、イオンチャネル及びトランスポーターに対して、いずれも明らかな標的外活性を示さなかった（報告書1032SY, 報告書1033SY）。3-O-グルクロン酸抱合体のGLUT1及びGLUT4に対する活性は、ダパグリフロジンよりも弱かった（20 µmol/Lで2～3%の抑制）（報告書930018488）。ダパグリフロジンの活性代謝物の脱エチル化体（BMS-511926）は、ダパグリフロジンと同様、濃度30 µmol/Lで40種の受容体、酵素及びイオンチャネルのいずれにも明らかな結合及び相互作用を示さなかった（33%以下の阻害率）（報告書930005149）。

#### 2.4.2.2.2 *In vivo* 試験

##### 2.4.2.2.2.1 単回投与試験

非臨床モデルにおけるダパグリフロジンの薬理学的特性として、糖尿病及び非糖尿病成熟動物のいずれでも、血中/血漿中グルコース濃度が低血糖の目安とした 70 mg/dL（American Diabetes Association 2013）を下回った例は認められなかったことが挙げられる（薬理試験の概要文 2.6.2 項）。慢性的にカテーテルを挿入した非糖尿病及び糖尿病ラットで、アイソトープ法を用いて単回投与後の内因性グルコース産生の評価を行い、ダパグリフロジン投与が、尿中グルコース排泄に対する内因性グルコース産生反応に影響を及ぼす可能性を検討した（報告書 930041923）。本試験で、ダパグリフロジン投与により、尿中グルコース排泄量は非糖尿病及び糖尿病ラットの両方で増加し、血漿中グルコース濃度は、糖尿病ラットで低下し、非糖尿病ラットでは低下しなかった。一方、内因性グルコース産生は、非糖尿病及び糖尿病ラット共にダパグリフロジン 1 mg/kg の単回投与により増加を示した。概して、以上の結果から、ダパグリフロジン単回投与に対する逆調節反応は、低血糖が起こるリスクを抑制することに寄与する可能性が示された。また、ダパグリフロジン反復投与後に短期間のウォッシュアウト期間を設けて評価した結果から

(報告書 930005312, Han et al 2008)、ダパグリフロジン単回投与による内因性グルコース産生の増加は一過性であると考えられた。

#### 2.4.2.2.2 反復投与試験

糸球体濾過量 (GFR) の増加として定義される腎肥大及び過剰濾過は、糖尿病の初期段階の特徴であり、その後の糖尿病性腎症への進行と関連があると考えられている (Mogensen and Andersen 1975, O'Bryan and Hostetter 1997)。ネフロンにおける近位尿細管でのナトリウム及びグルコースの再吸収が緻密斑への塩輸送を減少させ、それによって GFR の尿細管糸球体フィードバック (TGF) 機構に影響を及ぼすことで、糖尿病初期の過剰濾過を調節する役割を担うと考えられている (Vallon et al 2002, Thomson et al 2004)。TGF は、糸球体流量が尿細管流量の変化により調節されるメカニズムと定義される。これまでに、腎の微小穿刺法を用いた試験で、STZ 誘発糖尿病モデルラットの近位尿細管に phlorizin を投与したとき、上昇した単一ネフロン GFR (SNGFR) が低下することが報告されている (Vallon et al 1999)。この結果を受け、腎微小穿刺の影響を受けやすい Wistar 系ラット (Van Liew et al 1970) の STZ 誘発糖尿病モデルで、ダパグリフロジンを 13 日間反復経口投与した後、腎微小穿刺法を用いた試験を行った (報告書 930045749)。腎尿細管におけるグルコース再吸収の減少、尿量の増加及び上昇した SNGFR の低下が認められたが、概して全腎 GFR 及び腎サイズに対する作用は認められなかった。これらの結果から、ダパグリフロジンは、腎全体水準で糸球体濾過に対して明らかな影響を及ぼさないことが示唆された。しかし、本試験で、ダパグリフロジン投与群における摂餌量の増加は腎サイズに独立した影響を与えると考えられるため、試験結果に影響を及ぼしている可能性がある。このように腎サイズは縮小せずに、上昇した SNGFR の低下が糖尿病の治療において有益であるかどうかは明らかではない。

食餌誘導性肥満 SD ラットにダパグリフロジン 0.5~5 mg/kg を 27 日間反復投与した試験で、尿中グルコース排泄量の増加によって喪失したカロリーを補うため摂餌量が増加したにも関わらず、最大で試験開始時の体重の 5.6% に相当する減少を示した (報告書 930017615)。ダパグリフロジンの投与により、除脂肪量を維持しつつ脂肪量は減少したため身体組成は変化した。このような体重に対するダパグリフロジンの作用は、臨床でダパグリフロジン投与により認められた体重減少の作用と一致している (List et al 2009)。

#### 2.4.2.2.3 膀胱癌との潜在的関連性に関する試験

細胞増殖及び発癌促進機構との関連性を検討するため、ダパグリフロジンを 5 週間反復経口投与した ZDF ラットから採取した細胞を用いて、遺伝子発現に及ぼすダパグリフロジンの影響を評価した。ダパグリフロジンを反復経口投与したとき、雄性 ZDF ラットの肝臓で認められた遺伝子発現の変化は、ダパグリフロジンの高血糖への進展に対する抑制作用によるものであり、また、腎に存在する他のグルコース輸送担体の大幅な代償性アップレギュレーションは誘導されず、細胞増殖又は発癌促進に関連した転写の変化は引き起こされないことが示された (報告書 930052593)。また、*in vitro* で細胞培養液のグルコースがヒト膀胱癌細胞株の増殖に影響を及ぼす可能性について検討を行ったところ、いずれの細胞株でも高濃度グルコース添加による細胞増殖率の増加は認められず、高濃度グルコースがヒト膀胱癌細胞株の増殖に影響を及ぼす可能性はないと考えられた (報告書 930053120)。

### 2.4.2.3 安全性薬理試験

ダパグリフロジンについて、独立した安全性薬理試験又は反復投与毒性試験の一部において、*in vitro* 及び *in vivo* で心血管系に及ぼす影響、並びに、*in vivo* で中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響の評価を行った。

#### 2.4.2.3.1 心血管系に及ぼす影響

ダパグリフロジンの human ether-a-go-go related gene (hERG) 電流に対する作用は弱く、濃度 10 及び 30  $\mu\text{mol/L}$  で、溶媒不含のダパグリフロジン添加前のテール電流に対する阻害率（平均値  $\pm$  標準誤差）は、それぞれ  $3.7 \pm 2.0\%$  及び  $15 \pm 5.1\%$  ( $n=3$ ) であった。濃度 3、10 及び 30  $\mu\text{mol/L}$  で、ウサギプルキンエ線維活動電位のパラメータにも顕著な作用を示さなかった（報告書 920017631）。濃度 30  $\mu\text{mol/L}$  は、ダパグリフロジンの臨床的曝露量  $C_{\text{max}}$  の遊離型分画の推定値 0.042  $\mu\text{mol/L}$  の 714 倍であることから（薬理試験の概要文 2.6.2.2.2 項参照）、この結果は臨床使用に問題のある可能性を示すものではないと判断した。ダパグリフロジンは心血管系に対して安全性に関わる明らかな所見を示さなかったため、ダパグリフロジン代謝物について hERG 及びプルキンエ線維を用いた試験を行わなかった。

テレメトリー送信器を埋め込んだ覚醒イヌに単回経口投与した試験で（報告書 930016852）、投与量 30 mg/kg では、ダパグリフロジン投与に関連した、血行力学的変化及び心電図（ECG）の変化は認められなかった。本試験及びイヌの 3 カ月間反復投与毒性試験（報告書 930009999）で、30 mg/kg を投与したとき、投与 8 時間後のダパグリフロジン血漿中濃度は同程度であった（それぞれ 17.2 及び 24.0  $\mu\text{g/mL}$ ）。上記 2 試験における曝露量が他の測定ポイントでも同程度であったと仮定すると、投与量 30 mg/kg における平均  $C_{\text{max}}$  及び  $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$  は、それぞれ 51.7  $\mu\text{g/mL}$  及び 597  $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$  と推定され、臨床的曝露量  $C_{\text{max}}$  及び  $\text{AUC}_\tau$  のそれぞれ 271 倍及び 821 倍であった。

イヌの 1 カ月間（報告書 930005365）、3 カ月間（報告書 930009999）及び 12 カ月間（報告書 930023450）の反復経口投与毒性試験で、ダパグリフロジンの心血管系に及ぼす影響を評価した。なお、12 カ月間反復投与毒性試験では 12 カ月間投与後に ECG 及び心拍数を欠測したため 6 カ月間投与後のデータを評価した。その結果、以下の 2 点の軽度の所見を除いてダパグリフロジン投与に関連した心血管系（心拍数、血圧及び ECG）の変化は認められなかった。一つは、3 カ月間反復投与試験の 13 週に 180 mg/kg/日投与群の雄イヌで認められた QTc 間隔の軽微な延長（13 週での対照群に比して 16 ミリ秒の延長）の所見であるが、本所見は他の試験のいずれの用量でも認められなかった。他方は、12 カ月間反復投与試験の 6 カ月目に 120 mg/kg/日投与群の雌イヌで認められた、軽度だが統計学的に有意な QT 及び QTc 間隔の短縮の所見である ( $p \leq 0.01$ )。QT 及び QTc 間隔の短縮は、通常毒性試験で測定されるような ECG データ固有の可変性の影響であると考えられるので、ダパグリフロジン投与に起因するものではなく、臨床での安全性に懸念を示すものではないと考えられた。12 カ月間反復投与試験にて 120 mg/kg/日で 6 カ月間反復投与した雌の曝露量  $C_{\text{max}}$  (164  $\mu\text{g/mL}$ ) 及び  $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$  (1450  $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ) は、臨床的曝露量  $C_{\text{max}}$  及び  $\text{AUC}_\tau$  のそれぞれ 859 倍及び 1994 倍であった。また、3 カ月間反復投与試験にて 180 mg/kg/日で 3 カ月間反復投与した雄の曝露量  $C_{\text{max}}$  (244  $\mu\text{g/mL}$ ) 及び  $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$  (2400  $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ) は、臨床的曝露量  $C_{\text{max}}$  及び  $\text{AUC}_\tau$  のそれぞれ 1277 倍及び 3301 倍であった。

#### 2.4.2.3.2 中枢神経系に及ぼす影響

有色 Long-Evans 系及び白色 SD 系ラットに  $^{14}\text{C}$ ダパグリフロジンを投与した試験で、ダパグリフロジンの脳への分布は低いことが示された（薬物動態試験の概要文 2.6.4.4.3 項参照）。ダパグ

## 2.4 非臨床試験の概括評価

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

リフロジンの中樞神経系に及ぼす影響を評価する特定の安全性薬理試験は行わなかったが、ラットの6カ月間（報告書 930023449）及びイヌの12カ月間（報告書 930023450）の反復経口投与毒性試験で、一般症状（行動変化）の観察及び神経電気生理学的検査により中樞神経系に及ぼす影響を評価した。神経電気生理学的検査では、ラットで、尾神経の伝導速度及び活動電位振幅、並びに、頸骨運動神経の遠位潜時及び筋活動電位振幅、イヌで、腓骨運動神経及び坐骨神経の伝導速度、体性感覚誘発電位、並びに、脳幹聴性誘発電位を測定した。その結果、ラットで、25 mg/kg/日の用量まで本薬投与に関連する行動変化の所見は認められなかった。神経電気生理学的検査のいずれの指標でも溶媒投与群に比べて有意な差は認められなかった。イヌで、行動変化の観察及び神経電気生理学的検査のいずれにおいても本薬投与に関連する神経毒性は認められなかった。また、ラットにダパグリフロジン（0（溶媒）及び150 mg/kg/日）を3カ月間反復経口投与した探索的毒性試験（報告書 930003926）で、投与11週後の脳電図に変化は認められなかった。

ダパグリフロジンは、ラットで25 mg/kg/日及びイヌで120 mg/kg/日の用量まで本薬投与に関連する中樞神経系の変化を示さなかった。このときのラットにおける曝露量は臨床的曝露量  $C_{max}$  及び  $AUC_{\tau}$  のそれぞれ220倍及び432倍（ $C_{max}$  : 42.1  $\mu\text{g/mL}$  及び  $AUC_{0-24h}$  : 314  $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ）、イヌでは臨床的曝露量  $C_{max}$  及び  $AUC_{\tau}$  のそれぞれ874倍及び2118倍（ $C_{max}$  : 167  $\mu\text{g/mL}$  及び  $AUC_{0-24h}$  : 1540  $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ）であった。

### 2.4.2.3.3 呼吸系に及ぼす影響

ダパグリフロジンの呼吸系に及ぼす影響を評価する特定の安全性薬理試験は行わなかったが、ラットの3カ月間（報告書 930014657）及び6カ月間（報告書 930023449）、並びに、イヌの3カ月間（報告書 930009999）及び12カ月間（報告書 930023450）の反復経口投与毒性試験で、一般症状の一部として呼吸状態を観察した。その結果、ダパグリフロジンは、ラットで50 mg/kg/日及びイヌで180 mg/kg/日の用量まで本薬投与に関連する呼吸状態の変化を示さなかった。また、ダパグリフロジンは、イヌに250 mg/kg/日以下の投与量を1カ月間反復投与後の動脈血酸素飽和度（パルス酸素濃度計による測定）にも影響を及ぼさなかった（報告書 930005365）。

ダパグリフロジンは、ラットで50 mg/kg/日及びイヌで250 mg/kg/日の用量まで本薬投与に関連する呼吸系の変化を示さなかった。このときのラットにおける曝露量は臨床的曝露量  $C_{max}$  及び  $AUC_{\tau}$  のそれぞれ306倍及び602倍（ $C_{max}$  : 58.4  $\mu\text{g/mL}$  及び  $AUC_{0-24h}$  : 438  $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ）、イヌでは臨床的曝露量  $C_{max}$  及び  $AUC_{\tau}$  のそれぞれ1030倍及び3669倍（ $C_{max}$  : 196.7  $\mu\text{g/mL}$  及び  $AUC_{0-24h}$  : 2667.5  $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ）であった。

### 2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

動物を用いた薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

## 2.4.3 薬物動態試験

動物にダパグリフロジンを投与したときの吸収は総じて良好で、バイオアベイラビリティは高く、組織に広範に分布した。ダパグリフロジンの消失には、代謝、胆汁中排泄、腎排泄の複数の経路が存在する。マウス、ラット及びイヌ血漿中では、ダパグリフロジン由来の主存在形態は未変化体である。一方、ヒト血漿中での主存在形態は、UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ（UGT）1A9により生成するダパグリフロジンの3-O-グルクロン酸抱合体であり、3-O-グルクロ

ン酸抱合体の生成はダパグリフロジンの消失の大部分を占めていた。しかしながら、3-O-グルクロン酸抱合体は SGLT2 に対する阻害活性を示さないと考えられた（薬理試験の概要文 2.6.2.2.1.3 項参照）。薬物の代謝、取り込み及び排出を担う薬物代謝酵素及び薬物トランスポーターに関する *in vitro* での検討、及び薬物代謝酵素及び薬物トランスポーターに対するダパグリフロジンの阻害能から、ダパグリフロジンが薬物間相互作用を起こす可能性は比較的小さいと考えられた。UGT1A9 又は P-糖蛋白 (P-gp) の活性に影響する薬物と併用投与したとき、見かけ上薬物間相互作用が起こる可能性が考えられるが、用量調節を必要とするような薬物間相互作用はヒトでは認められていない（臨床薬理試験 2.7.2.2.3 項参照）。

### 2.4.3.1 吸収及びバイオアベイラビリティ

ダパグリフロジンを経口投与したときの吸収は総じて速やかであり、投与後 0.6～1.9 時間 ( $t_{max}$ ) に  $C_{max}$  に到達した。ダパグリフロジンを経口投与したときのバイオアベイラビリティは、ラットで 84%、イヌで 83%、サルでは 25%であった（報告書 930005141）。なお、ヒトでのバイオアベイラビリティは約 78%（臨床薬理試験 2.7.2.2.1.7 項参照）であった。*In vitro* 試験データから、ダパグリフロジンは P-gp の基質であることが示されたが（報告書 930044841）、ダパグリフロジンの膜透過性は高く（報告書 930044841）、ヒトを含む大部分の動物種で経口吸収は良好であったことから（報告書 930005141、臨床薬理試験 2.7.2.2.1.7 項及び 2.7.2.2.1.8 項）、P-gp がダパグリフロジンの経口吸収に対して抑制的に作用することはないと考えられる。

ラット及びサルにダパグリフロジンを静脈内投与したとき、みかけの終末相消失半減期 ( $t_{1/2}$ ) はラットで 4.6 時間、サルでは 3.5 時間であり、全身血漿クリアランス ( $CL_p$ ) はラットで 4.8 mL/min/kg、サルでは 6.4 mL/min/kg であった（報告書 930005141）。イヌにおけるダパグリフロジンの消失はラット及びサルに比べて緩やかであり、 $t_{1/2}$  は 7.4 時間、 $CL_p$  は 1.5 mL/min/kg であった（報告書 930005141）。動物における  $t_{1/2}$  値、及び健康被験者にダパグリフロジン 10 mg を単回投与したときの  $t_{1/2}$  が 12.9 時間であったことは（臨床薬理試験 2.7.2.2.2.1 項参照）、ヒトに 1 日 1 回投与する薬剤の特性と矛盾しない。

### 2.4.3.2 分布

ラット、イヌ及びサルにダパグリフロジンを投与したときの定常状態における分布容積 ( $V_{ss}$ ) は、ラットで 1.6 L/kg、イヌで 0.8 L/kg、サルでは 0.8 L/kg であり（報告書 930005141）、一部は血管外に分布することが示唆された。Long-Evans 系有色ラットと SD 系白色ラットでは、 $[^{14}C]$ ダパグリフロジンを投与したときの放射能の組織内分布特性は類似しており、 $[^{14}C]$ ダパグリフロジン由来の放射能は体内に広範に分布した。無限大時間まで外挿した放射能濃度-時間曲線下面積 ( $AUC_{inf}$ ) の組織/血漿比は、腸管、肝臓及び腎皮質で高かった。放射能の脳移行性は低かった（報告書 930014671 及び 930036510）。

SD 系妊娠ラットに $[^{14}C]$ ダパグリフロジンを投与したとき、胎盤を含む母動物及び胎児の組織に放射能は速やかに移行した（報告書 930036510）。胎児の血液中放射能濃度の  $AUC_{inf}$  は、母動物の血液中放射能濃度の  $AUC_{inf}$  の 64%であり、胎児の組織中放射能濃度の  $AUC_{inf}$  は母動物の血液中放射能濃度の  $AUC_{inf}$  の 80～129%であった。これらの結果から、ラットでは未変化体とその代謝物が胎盤を通過し、胎児が曝露されると考えられる。授乳中のラットにダパグリフロジンを投与したとき、投与後約 2 時間の乳汁中にダパグリフロジンが検出され、乳汁中濃度は血漿中濃度の約 50%であった（毒性試験の概要文 2.6.6.6.3.1 項参照）。この結果より、ダパグリフロジン

の投与を受けている女性から授乳中の乳児は、ダパグリフロジンとその代謝物に曝露されることが示唆された。

マウス、ラット、ウサギ及びイヌ血漿中、並びにサル血清中でのダパグリフロジンの *in vitro* 蛋白結合率は 91～95%、ヒト血漿中では 91%であった（報告書 930005141 及び 930042484）。健康被験者におけるダパグリフロジンの *ex vivo* 血漿蛋白結合率は約 92%であり、腎機能が正常な 2 型糖尿病患者、腎機能障害を有する 2 型糖尿病患者、及び肝機能障害を有する被験者における *ex vivo* 血漿蛋白結合率は健康被験者での蛋白結合率と同程度であった（報告書 930036872 及び 930036777）。ヒトでの主代謝物である 3-*O*-グルクロン酸抱合体の *in vitro* 蛋白結合率は、マウス、ラット、ウサギ及びイヌ血漿中で 91～95%であり、ヒト血漿中では 89%であった（報告書 930042484）。概して、この範囲の結合率では、蛋白結合率の変動によってダパグリフロジンの体内動態が変化する可能性は低いと考えられる。

### 2.4.3.3 代謝

ダパグリフロジンの代謝の特徴は、多くの代謝物が生成することであり、ヒトで 10 種類、マウスでは 16 種類の代謝物が構造推定されたが、ヒトに特有な代謝物は認められなかった。主要な代謝反応は、グルクロン酸抱合化、酸化的脱アルキル化、及び分子内の様々な位置での酸化であり、これらの反応の組み合わせにより、脱エチル化体のグルクロン酸抱合体及び水酸化体の *O*-グルクロン酸抱合体が生成した。肝細胞において、ダパグリフロジンのグルタチオン付加体は検出されなかったことから（報告書 930020290）、反応性代謝物が生成する可能性は低いと考えられる。

ヒトでの主代謝物であるダパグリフロジンの 3-*O*-グルクロン酸抱合体（報告書 930020366）の生成は、ヒト肝ミクロソームに比べてヒト腎ミクロソームで速やかであり（報告書 930038580）、*in vitro* において 3-*O*-グルクロン酸抱合体の生成に関与する主代謝酵素は、主としてヒトの腎臓に発現するヒト UGT1A9（Nishimura and Naito 2006）であることと一致した（報告書 930034845）。したがって、*in vivo* では 3-*O*-グルクロン酸抱合体は腎臓と肝臓の両方で生成すると考えられるが、ダパグリフロジンのグルクロン酸抱合化に対する腎臓と肝臓の寄与の程度は不明である。

*In vitro* において、ダパグリフロジンは複数のヒトチトクローム P450（CYP）酵素により代謝され、CYP1A2、CYP2C9、CYP2D6 及び CYP3A4 の代謝活性が相対的に高かった（報告書 930005141）。しかしながら、ヒトではダパグリフロジンの消失に占める酸化的代謝の寄与は投与量の 10%未満であることから（報告書 930020366）、CYP 酵素による代謝はヒトでのダパグリフロジンの体内動態において重要な要因でないと考えられる。

ヒトを含むすべての動物種において、*in vivo* における代謝物組成は質的に類似しており、ヒトに特有な代謝物は認められなかったが、ヒトにおける代謝物組成（報告書 930020366）は動物の代謝物組成と量的に異なった。ヒトではグルクロン酸抱合体が多く検出されたが、動物における代謝物の 88～98%は酸化的代謝産物（酸化代謝物のグルクロン酸抱合体を含む）であり、ダパグリフロジンが直接グルクロン酸抱合化された代謝物は全代謝物の 2～12%程度であった。<sup>[14C]</sup>ダパグリフロジンを投与したヒトでは、ダパグリフロジンは動物よりも代謝されやすく、投与量の 74%が代謝物として排泄された。更に、ヒトでは酸化的代謝産物（酸化代謝物のグルクロン酸抱合体を含む）は全代謝物の約 10%であり、ダパグリフロジンが直接グルクロン酸抱合化された代謝物が全代謝物の約 90%を占めた。ヒトにおける主代謝物は 3-*O*-グルクロン酸抱合体であり、投与量の 61%に相当したが、動物では 3-*O*-グルクロン酸抱合体は微量代謝物であった。3-*O*-グルクロン酸抱合体はヒト血漿中の放射能の主存在形態でもあり、放射能の AUC の 42%を占め、未変

化体が占める割合の 39%と同程度であった。ヒトの血漿中で検出されたその他の代謝物は、放射能の AUC に占める割合がいずれも 5%未満であった。ダパグリフロジンの代謝物に関する毒性試験は特に実施していない。しかしながら、ラット及びイヌを用いて GLP に適合した単回投与 TK 試験を実施し（毒性試験の概要文 2.6.6.8.4 項参照）、ダパグリフロジンを投与したときの血漿中 3-O-グルクロン酸抱合体濃度を測定して、当該試験結果を基に主要な反復投与毒性試験での無毒性量（NOAEL）における曝露量を推定した結果、動物での 3-O-グルクロン酸抱合体の曝露量は、最高推奨臨床用量 10 mg におけるヒトでの曝露量とほぼ等しいか、それより大きいと考えられた。

ヒト血漿中では 3-O-グルクロン酸抱合体が多く存在するが、SGLT2 に対する *in vitro* 阻害活性は未変化体の 0.05%未満であり、最高推奨臨床用量 10 mg を投与したときの最高血漿中濃度 0.54  $\mu\text{M}$ （臨床薬理試験 2.7.2.2.1.2.2 項参照）又は腎機能障害を有する糖尿病患者にダパグリフロジン 20 mg を投与したときの最高血漿中濃度 1.86  $\mu\text{M}$ （臨床薬理試験 2.7.2.2.1.4 項参照）に比べてかなり高い 20  $\mu\text{M}$  の濃度において、GLUT1 及び GLUT4 に対する 3-O-グルクロン酸抱合体の阻害作用はごくわずかであったことから（薬理試験の概要文 2.6.2.3.1 項参照）、3-O-グルクロン酸抱合体が *in vivo* 活性に寄与している可能性は低いと考えられる。一方、脱エチル化体の *in vitro* 阻害活性は未変化体と同程度であったが（薬理試験の概要文 2.6.2.2.1.3 項参照）、 $^{14}\text{C}$ ダパグリフロジンを投与したヒトの血漿中に脱エチル化体は検出されず（報告書 930020366）、ヒト初回投与試験（臨床薬理試験 2.7.2.2.1.3.2 項参照）において特異的分析法により極く低濃度の脱エチル化体が検出されたのみであり、ダパグリフロジン 500 mg 投与後の脱エチル化体の  $\text{AUC}_{\text{inf}}$  は未変化体の約 1%であった。概して、ダパグリフロジンの代謝物は *in vivo* 活性に寄与しないと考えられる。

ヒトにおけるダパグリフロジンの主消失経路は、UGT1A9 によるグルクロン酸抱合化であることから、病態、薬物相互作用、又は遺伝子多型による UGT1A9 酵素活性の変動により、ダパグリフロジンの曝露量が変動する可能性が考えられる。腎不全の状態では肝酵素レベルが低下することがあるため（Singlas et al 1989、Osborne et al 1993）、腎機能障害を有する糖尿病患者を対象とした臨床薬理試験で認められたダパグリフロジンの曝露量増加は（臨床薬理試験 2.7.2.2.2.1.3 項参照）、ヒトにおけるダパグリフロジンの消失が 3-O-グルクロン酸抱合体の生成に依存することと関連があると推察される。更に、頻度は低いが酵素機能又は酵素発現の低下につながる可能性のある UGT1A9 の対立遺伝子多型がいくつか存在することが報告されている（Girard et al 2004）。UGT1A9\*1\*1（野生型）、UGT1A9\*1\*3 及び UGT1A9\*3\*3 の遺伝子型に分類したヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験成績では、ヒト血漿中の主代謝物である 3-O-グルクロン酸抱合体の生成速度は UGT1A9\*1\*1 で 221 pmol/min/mg protein、UGT1A9\*1\*3 で 153 pmol/min/mg protein、UGT1A9\*3\*3 で 44.5 pmol/min/mg protein であったことから（報告書 930057146）、頻度の低い対立遺伝子変異型である UGT1A9\*1\*3 及び UGT1A9\*3\*3 がダパグリフロジンの代謝に関与すると、ダパグリフロジンの曝露量の患者間変動の一因となり得ると考えられた。UGT1A9 の遺伝子多型の影響については、臨床薬理試験 2.7.2.3.2.8 項で詳細に考察する。

#### 2.4.3.4 排泄

ダパグリフロジンの消失には、胆汁中排泄、腎排泄及び代謝といった複数の経路が存在する。動物にダパグリフロジンを経口投与したとき、投与量の 6~15%が未変化体として尿中に排泄されたことから（報告書 930018804、930016284 及び 930015706）、ダパグリフロジンの腎排泄は相対的に副次的な消失経路と考えられた。一方で、ヒトにおける腎クリアランスは非常に低く、投与量の 1.2%が未変化体として尿中に排泄された（報告書 930020366）。ラットでは胆汁中排泄も副次的な消失経路であり（報告書 930025874）、マウス及びヒトにおいても同様と考えると、未

変化体の糞中排泄率から投与量の 11～15%程度に相当すると推察される。イヌに経口投与したとき、未変化体の糞中排泄率は 37%と比較的高かった（報告書 930020366）。糞中排泄に対する胆汁中排泄の寄与を直接評価できなかったが、イヌに経口投与したときの吸収は良好であったことから、他の動物種に比べてイヌでは胆汁中排泄が重要であると考えられ、投与量の 20%以上に相当すると推察される。代謝はダパグリフロジンの基本的な消失経路であり、特にヒトでは代謝の寄与が大きく、投与量の 74%に相当した（報告書 930020366）。ダパグリフロジン及び 3-O-グルクロン酸抱合体は、血液から近位尿細管へと有機アニオンを輸送するヒト有機アニオントランスポーター（hOAT）3 の基質であることが示された（報告書 930045130 及び 930053412）。ヒト尿中の主代謝物である 3-O-グルクロン酸抱合体が hOAT3 の基質であることから、本代謝物の尿中排泄に尿細管分泌も寄与する可能性が示唆された。

### 2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用

*In vitro* での検討から、ダパグリフロジンは生物学的意義のある CYP 阻害能又は誘導能を有しておらず（報告書 930005141、930020296 及び 930022078）、CYP 酵素の時間依存的な阻害もみられなかったことから（報告書 930053153）、CYP の基質となる薬物を併用投与してもダパグリフロジンが併用薬の代謝に影響する可能性は低いと考えられる。ダパグリフロジンは種々の CYP 及び UGT 酵素の基質となるが（報告書 930005141 及び 930034845）、ヒトにおけるダパグリフロジンの消失は酸化的代謝にほとんど依存しないことから、CYP 酵素の阻害剤又は誘導剤を併用投与しても、ダパグリフロジンの消失に影響を受ける可能性は低いと考えられる。一方、UGT1A9 の阻害剤又は誘導剤を併用投与すると、ダパグリフロジンの消失に影響を受ける可能性はあると考えられる。

ヒトにおけるダパグリフロジンの消失は 3-O-グルクロン酸抱合体の生成に依存することから、UGT1A9 を介した薬物間相互作用が起こる可能性が考えられる。臨床薬物相互作用試験では、メフェナム酸（UGT1A9 及び UGT2B の阻害剤）と併用投与するとダパグリフロジンの曝露量が 51%増加した（臨床薬理試験 2.7.2.2.3.3.2 項参照）。多くの薬物が *in vitro* で UGT1A9 を阻害することが知られているが、UGT1A9 の阻害薬及びプローブ基質を用いて実施された試験がほとんどないため、臨床的な影響に関する情報はほとんど得られていない。更に、*in vitro* 試験ではペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 PPAR $\alpha$ 及び PPAR $\gamma$ に作用する薬物により UGT1A9 が誘導されることが報告されており、これらの薬物と併用投与するとダパグリフロジンの曝露量が低下する可能性がある。その他の核内ホルモン受容体も UGT1A9 の発現を調節している可能性はあるが、一つの特定の経路が発現を支配しているか否かは不明である（Mackenzie et al 2010）。UGT1A9 の基質となる薬物に対する誘導剤の影響について検討した臨床試験の報告例はほとんどない。しかしながら、リファンピシンとダパグリフロジンを用いた臨床薬物間相互作用試験において、UGT1A9 を誘導すると報告されているリファンピシン（Naesens et al 2006）を併用投与すると、ダパグリフロジンの曝露量が 22%低下したが（臨床薬理試験 2.7.2.2.3.3.1 項参照）、UGT1A9 の誘導あるいは CYP3A4 [リファンピシンにより UGT1A9 よりも強く誘導される（Soars et al 2004）] 等の UGT1A1 以外の酵素の誘導が曝露量低下にどの程度寄与したのかは不明である。非臨床試験では、他の UGT1A9 基質の代謝に対するダパグリフロジンの影響を検討していない。しかしながら、ヒト肝ミクロソーム、腎ミクロソーム及び遺伝子組換え型 UGT1A9 による 3-O-グルクロン酸抱合体生成の  $K_m$  値はそれぞれ 98.9  $\mu$ M、479  $\mu$ M 及び 67.4  $\mu$ M であったことから（報告書 930038580 及び 930034845）、ダパグリフロジンは UGT1A9 に対する親和性が低い基質であり、そのため有効治療濃度で UGT1A9 を競合的に阻害する可能性は低いと考えられる。

ダパグリフロジンは薬物トランスポーターの一つである P-gp の弱い基質となるが、膜透過性は高いことから（報告書 930044841）、P-gp の阻害剤によってダパグリフロジンの吸収及び排出が影響を受ける可能性はほとんどないと考えられる。ダパグリフロジン及び 3-O-グルクロン酸抱合体は P-gp、hOAT1 及び hOCT2 を阻害しなかったことから、ダパグリフロジンを併用投与してもこれらの薬物トランスポーターの基質となる薬物の吸収又は排出に影響しないことが示唆された。特に、hOCT2 の基質であるメトホルミン（Kimura et al 2005）の体内動態は影響を受けないと推察される。In vitro 試験データから、ダパグリフロジン及び 3-O-グルクロン酸抱合体は hOAT3 の阻害剤となり、IC<sub>50</sub> 値はそれぞれ 33 µM 及び 100 µM であった（報告書 930045130）。また、ダパグリフロジンは hOATP1B1 及び hOATP1B3 の阻害剤となり、IC<sub>50</sub> 値はそれぞれ 69 µM 及び 8 µM であった（報告書 930053412）。しかしながら、これらの IC<sub>50</sub> 値は、糖尿病患者にダパグリフロジン 10 mg を 1 日 1 回投与したときの定常状態におけるダパグリフロジン及び 3-O-グルクロン酸抱合体の血漿中総濃度（結合型＋非結合型濃度）の C<sub>max</sub> 値 [それぞれ約 0.47 µM 及び 0.54 µM（臨床薬理試験 2.7.2.2.1.2 項参照）]、又は腎機能障害を有する糖尿病患者にダパグリフロジン 20 mg を 1 日 1 回投与したときの C<sub>max</sub> 値 [それぞれ約 1.25 µM 及び 1.86 µM（臨床薬理試験 2.7.2.2.2.1 項参照）] よりも十分に高いことから、ダパグリフロジンを併用投与しても、hOAT3、hOATP1B1 及び hOATP1B3 の基質となる薬物の体内動態に影響を受ける可能性は低いと考えられる。

ダパグリフロジンは UGT1A1 の弱い阻害剤であるが、IC<sub>50</sub> 値は 50 µM よりも大きいことから、ダパグリフロジンの in vivo における UGT1A1 の阻害作用は小さいと考えられる（報告書 930054594）。ダパグリフロジンは UGT1A1 の基質ではなかった（報告書 930034845）。

#### 2.4.4 毒性試験

ダパグリフロジンの毒性について、単回経口投与毒性、反復経口投与毒性、遺伝毒性、がん原性及び生殖発生毒性を検討した。主要な試験は GLP 適合下で ICH ガイドラインに準拠して実施した。毒性を検討したすべての動物種で、ダパグリフロジンを経口投与したときの全身曝露量は総じて用量依存的に増加した。マウス及びラットにおける曝露量は、概して雄に比べて雌の方が高かったが、イヌでは性差は認められなかった。反復投与試験において、ダパグリフロジンの蓄積はみられなかった。

ラット及びイヌに共通した所見は、SGLT2 阻害剤の主な標的（糖尿）に対する過度の薬理作用、あるいはグルコース排泄の増加による浸透圧利尿作用の二次的な影響を反映したものと考えられた。その結果、尿量増加、ナトリウム、カルシウム及びリンの尿中増加、摂水量及び摂餌量の増加がみられた。これらの影響にもかかわらず、ダパグリフロジンの忍容性は概して良好で、毒性試験における動物の曝露量とヒト曝露量との比（動物の曝露量÷最高推奨臨床用量での曝露量）は高かった。これらの曝露量（C<sub>max</sub> 及び AUC）比はラットではそれぞれ 107 及び 402 倍以上、イヌではそれぞれ 264 及び 542 倍であった。生殖発生毒性試験では、明らかな母動物毒性がみられた用量（最高推奨臨床用量での AUC の 432 倍以上）未満では受胎能の低下はみられず、催奇形性も認められなかった。また、遺伝毒性及びがん原性もみられなかった。ダパグリフロジンは発がんのプロモーション作用や腫瘍増殖亢進作用を示さず、発がんプロモーターに関連した特性を有さない。更に、生涯にわたり糖尿がみられる SGLT2 ノックアウトマウスを用いた 15 カ月にわたる観察においても尿路に過形成及び腫瘍発生はみられなかった。

2.4 非臨床試験の概括評価

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

毒性試験において、マウス、ラット、妊娠ラット及びウサギ並びにイヌでの全身曝露量は、最高推奨臨床用量 10 mg をヒトに投与したときの曝露量に比べ高かった。最高推奨臨床用量における曝露量 (AUC) に対する毒性試験で得られた曝露量との比を表 1 に示す。

表 1 毒性試験におけるダパグリフロジンの AUC とヒト曝露量との比

動物種	試験 (採取時点)	用量 (mg/kg/日)	AUC ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ ) <sup>a</sup>		ヒト曝露量に対する比 (倍) <sup>b</sup>	
			雄	雌	雄	雌
<b>反復投与毒性</b>						
マウス	3 カ月間反復投与 (投与 28 日)	50	44.0	121	60.5	166.4
		150 <sup>c</sup>	304	492	418.2	676.8
		250	497	1060	683.6	1458.0
		400	測定せず	測定せず	該当せず	該当せず
マウス	104 週間がん原性 (投与 26 週)	5 雄, 2 雌	2.0	5.1	2.8	7.0
		15 雄, 10 雌	6.4	24.0	8.8	33.0
		40 雄 <sup>d</sup> , 20 雌 <sup>d</sup>	33.5	48.6	46.1	66.9
ラット	6 カ月間反復投与 (投与 26 週)	5	39.5	55.4	54.3	76.2
		25 <sup>c</sup>	161	314	221.5	431.9
		150	984	1440	1353.5	1980.7
ラット	104 週間がん原性 (投与 26 週)	0.5	3.1	4.0	4.3	5.5
		2	11.8	16.0	16.2	22.0
		10 <sup>d</sup>	60.7	86.6	83.5	119.1
イヌ	12 カ月間反復投与 (投与 52 週)	5	60.4	59.3	83.1	81.6
		20	261	288	359.0	396.1
		120 <sup>c</sup>	1520	1540	2090.8	2118.3
<b>生殖発生毒性</b>						
ラット 受胎能及び 初期胚発生	投与 14 日	15 雄, 3 雌	74.4	18.10	102.3	24.9
		75 雄 <sup>c</sup> , 15 雌	314.0	87.30	431.9	120.1
		210 雄, 75 雌 <sup>c</sup>	794.0	464.0	1092.2	638.2
妊娠ラット	トキシコキネテ イクス <sup>e</sup> (妊娠 15 日)	37.5	該当せず	327	該当せず	449.8
		75 <sup>c</sup>	該当せず	670	該当せず	921.6
		150	該当せず	1090	該当せず	1499.3
授乳ラット (母動物曝 露)	出生前及び出生 後 (哺育 4 日)	1	該当せず	8.7	該当せず	12.0
		15	該当せず	116	該当せず	159.6
		75 <sup>c</sup>	該当せず	658	該当せず	905.1
授乳ラット (出生児曝 露) <sup>f</sup>	トキシコキネテ イクス (哺育 10 日)	1 <sup>c</sup>	0.80	0.78	1.1	1.1
		15	13.4	13.4	18.4	18.4
		75	64.0	65.9	88.0	90.6
妊娠ウサギ	トキシコキネテ イクス <sup>g</sup> (妊娠 19 日)	20	該当せず	29.7	該当せず	40.9
		60	該当せず	138	該当せず	189.8
		180 <sup>c</sup>	該当せず	554	該当せず	762.0
<b>幼若動物</b>						
幼若ラット	トキシコキネテ	1 <sup>h</sup>	6.97	9.63	9.6	13.2

表 1 毒性試験におけるダパグリフロジンの AUC とヒト曝露量との比

動物種	試験 (採取時点)	用量 (mg/kg/日)	AUC ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ ) <sup>a</sup>		ヒト曝露量に対する比 (倍) <sup>b</sup>	
	イクス	15	97.0	135	133.4	185.7
	(生後 83 日)	75	505	779	694.6	1071.5

a 投与後時間 0 から最終測定可能時間 (投与後 4~24 時間) までの血漿中濃度から算出

b 最高推奨臨床用量 10 mg におけるヒト AUC (0.727  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ 、MB102025 試験) との比

c 無毒性量

d 腫瘍発生に関する無作用量

e ラット胚・胎児発生に関する試験

f 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

g ウサギ胚・胎児発生に関する試験

h 無毒性量は求められず

#### 2.4.4.1 単回投与毒性

ダパグリフロジンをマウス (報告書 930003693) 及びラット (報告書 930004659) に 375~3000 mg/kg、イクス (報告書 930019585) に 200~1000 mg/kg (1 日 2 回投与) の用量で単回経口投与した。その結果、マウスでは 1500 mg/kg、ラットでは 375 mg/kg、イクスでは 1000 mg/kg まで忍容性がみられた。マウスでは 3000 mg/kg、ラットでは 750 mg/kg の用量で死亡がみられたが、イクスでは死亡はみられなかった。剖検所見には投与に関連した変化はみられず、死因は不明であった。

#### 2.4.4.2 反復投与毒性

マウス (3 カ月間まで)、ラット (6 カ月間まで) 及びイクス (12 カ月間まで) の反復経口投与試験を実施した。

##### 2.4.4.2.1 マウス

マウスにダパグリフロジンを 50、150、250 及び 400 mg/kg/日の用量で 3 カ月間反復経口投与した (報告書 930013181)。150 mg/kg/日まで忍容性がみられたが、400 mg/kg/日では死亡がみられた。すべての用量 (最高推奨臨床用量での AUC の 61 倍以上) で投与 3 日から自発運動低下、腹部膨満及び円背位がみられた。これらの症状の程度はほぼ用量に応じて増加し、腸内 SGLT1 の阻害作用による腸管からのグルコース吸収低下に関連した変化と考えられた。腸内のグルコースの増加は、腸管細菌による発酵を促進させ、下痢、腸内ガス産生亢進及び腹部膨満を誘起すると考えられた。このような影響は、ヒトにおいてグルコース・ガラクトース吸収不良症候群 (GGMS) として知られている。本症候群は、SGLT1 の機能損失型突然変異体により発現し、グルコース、ガラクトース及びグルコース又はガラクトースを成分とするオリゴ糖を含まない食料を摂取しない限り酸性の下痢が発症する (Wright 1998, Kasahara et al 2001)。これら症状は、体重や摂餌量の減少に関連しておらず、すべての用量で摂餌量が増加し (26~44%)、250 mg/kg/日以下の用量では、対照群と比較して試験終了時に体重増加がみられた。摂餌量の増加は腎臓の SGLT2 阻害による薬理反応 (尿中へのグルコース排泄) を反映していると考えられる。剖検及び

病理組織学的検査では、いずれの用量でもダパグリフロジン投与に関連した変化はみられなかった。

#### 2.4.4.2.2 ラット

50 mg/kg/日で1カ月間（最高推奨臨床用量での AUC の 402 倍、報告書 930005359）及び3カ月間（同 603 倍、報告書 930014657）、25 mg/kg/日で6カ月間（同 432 倍、報告書 930023449）投与した。いずれの試験でも忍容性は良好であった。すべての用量（5 mg/kg/日以上）で、薬理作用による尿中グルコースの排泄増加が認められた。マウスと同様、ラットでもグルコースの損失による代償性の摂餌量増加がみられたが、摂餌量増加と体重及び体重増加量の減少との間に関連性がみられた。ダパグリフロジン投与に関連する糖尿により、尿量増加、尿浸透圧低下、代償的な摂水量増加がみられた。摂水量増加は、ダパグリフロジン投与による摂餌量増加に一部関連している可能性も考えられる。150 mg/kg/日以上（最高推奨臨床用量での AUC の 1354 倍以上）の用量では、尿中へのカルシウム排出が増加したにもかかわらず、血清カルシウム増加に伴う海綿骨及び組織の鈣質沈着の増加がみられた。これはラットの腸管における標的外的ナトリウム・グルコース共輸送体 1（SGLT1）の阻害による腸におけるカルシウム吸収の増加及び正常な腎臓機能が損なわれた（ラットに特異的な加齢に伴う慢性腎症）ことによるカルシウム排出の低下による変化と考えられる。背景的な慢性腎症の高い発現率に関連した SGLT1 の標的外的阻害によるカルシウム吸収の持続した増加により、ラットは他の動物種と比べ、骨形成（海綿骨）の亢進及び組織の鈣質沈着の増加に対してより影響を受けやすくなると思われる。通常、慢性腎症は自然発生的に、加齢により見られる病態であり、血清中リン濃度の増加がしばしばみられる。したがって、ラットでは組織の鈣質沈着がみられやすくなると考えられる。この仮説に一致して、ラット反復投与毒性試験では、高用量のダパグリフロジンを投与したとき、血清中のカルシウムリン積値は増加した。

ラットに最高推奨臨床用量での AUC の 222 倍以上を3～6カ月間投与した反復投与毒性試験及びイヌに最高推奨臨床用量での AUC の 82 倍以上を12カ月間投与した反復投与毒性試験で副腎重量増加がみられたが、本影響は1～3カ月間の休薬により回復した。副腎重量増加は、尿中ナトリウム排泄増加に関連するアルドステロン産生の増加に対する代償性変化と考えられ、毒性とはみなさなかった。

ラット長期毒性試験で、腎臓の病理組織学的変化を伴わない軽度の蛋白尿がみられた。実施した検討試験結果及び文献報告より、ラットの尿蛋白増加は尿量の増加と関連していることが示唆されている。また、SGLT2 ノックアウトマウス試験において腎臓の機能不全はみられず、イヌにおいても曝露量比が極めて高い場合（最高推奨臨床用量での AUC の 2091 倍以上）を除いて、尿蛋白増加はみられなかった。したがって、ラット蛋白尿は毒性とは判断せず、臨床における安全性の懸念を示唆するものではないと考えられた。

総合的に判断して、ダパグリフロジンは、ラットと比べヒトにおいて SGLT1 よりも SGLT2 に対する選択性が高く、ラット骨形成亢進は高用量（最高推奨臨床用量での AUC の 1354 倍以上）でのみみられたことから、これらの高用量影響のリスクはヒトにおいては低いと考えられる。ダパグリフロジンの SGLT2 及び SGLT1 の IC<sub>50</sub> 値は、それぞれラットで約 3 及び 620 nM、ヒトで約 1 及び 1391 nM（SGLT2 : SGLT1 比はラットで 200、ヒトで 1200）であった。臨床試験（2.7.4 臨床的安全性の概要参照）では、ダパグリフロジン投与患者で、血清カルシウムあるいはそれと一致した尿中カルシウム増加など临床上重要な変化はみられなかった。

### 2.4.4.2.3 イヌ

12 カ月間（報告書 930023450）投与で 120 mg/kg/日（最高推奨臨床用量での AUC の 2118 倍）まで忍容性がみられた。ラットと同様、すべての用量（5 mg/kg/日以上）で、尿中グルコースの排泄増加を伴う薬理作用を示した。尿中グルコース排泄増加によるグルコースの損失のため、摂餌量の代償的增加にもかかわらず体重及び体重増加量の減少がみられた。イヌは自由摂餌でないため、ラットに比べて体重の減少はより重篤であった。高用量では、SGLT1 に関連した腸管の標的外的阻害により嘔吐及び下痢の発現頻度が増加し、その結果腸内グルコース吸収が減少したと考えられる。前述したように、同様の影響がマウスとラットの試験の高用量でもみられた。ダパグリフロジン高用量投与により、総血清コレステロールの軽度増加（対照群と比較して 1.6 倍以下）がイヌの 1 カ月（報告書 930005365）、3 カ月（報告書 930009999）及び 12 カ月（報告書 930023450）反復経口投与試験でみられた。血清コレステロール増加は、ダパグリフロジン投与による摂餌量増加に関連する変化と考えられた。副腎重量の増加が 12 カ月間投与でみられたが（最高推奨臨床用量での AUC の 82 倍）、回復性がみられた。ダパグリフロジンの反復投与試験では、極めて高い用量（2118 倍以下）でもその他の標的器官は特定されなかった。

イヌ 3 カ月間投与毒性試験で高用量群の雄（最高推奨臨床用量での  $C_{max}$  の 1278 倍、AUC の 3301 倍）のみにおいて、投与 13 週に投与前値と比較して QT 間隔及び QTcV 間隔の延長がみられたが、これ以外の反復投与毒性試験及び安全性薬理試験（薬理試験の概要文 2.6.2.4.1.2 項参照）ではみられなかった。したがって、これらの所見は臨床における安全性の懸念を示唆するものではないと考えられた。

### 2.4.4.3 遺伝毒性

細菌を用いる復帰突然変異試験（報告書 930003700）では突然変異誘発性はみられなかった。CHO 細胞を用いる *in vitro* 試験では、S9 代謝活性化系存在下で 100 µg/mL 以上の濃度でのみ染色体異常の誘発が認められた（報告書 930004066、930004603 及び 930008790）。ラット 3 日間（700 mg/kg/日までの用量、報告書 930004025）及び 2 週間（250 mg/kg/日までの用量、報告書 930005394）の経口投与による *in vivo* 小核試験では染色体異常の誘発性はみられなかった。また、ラットにダパグリフロジンを 700 mg/kg の用量まで単回投与したラット不定期 DNA 合成試験（報告書 930005368）では DNA の損傷はみられなかった。及び、ラット 1 カ月間経口投与 *in vivo/in vitro* 染色体異常試験（報告書 930016820）では、200 mg/kg/日（最高推奨臨床用量での AUC の 1664 倍以上）の用量まで、末梢血リンパ球の染色体異常誘発性はみられなかった。*In vivo* 試験における  $C_{max}$  は、1 カ月間経口投与染色体異常試験のトキシコキネティクス値で約 68 µg/mL（200 mg/kg/日、雌雄平均値）また、小核試験では 700 mg/kg/日における  $C_{max}$  は他のトキシコキネティクス試験の測定値から 100 µg/mL 以上と推測され、*in vitro* で染色体異常を誘発する濃度（100 µg/mL）付近又は越える濃度に達したと考えられた。したがって、総合的に判断してダパグリフロジンは遺伝毒性を有しないと結論した。

### 2.4.4.4 がん原性

マウス（報告書 930043549）及びラット（報告書 930044081）を用いた 24 カ月間経口投与がん原性試験を実施した。

マウスがん原性試験では、雄マウスに最高用量 40 mg/kg/日、雌マウスに最高用量 20 mg/kg/日で投与した。それぞれの用量における曝露量（AUC）は、最高推奨臨床用量における AUC の 46

## 2.4 非臨床試験の概括評価

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

倍（雄）及び 67 倍（雌）であった。ラットがん原性試験では、雌雄ともに最高用量 10 mg/kg/日で投与した。最高用量における AUC は、最高推奨臨床用量での AUC の 84 倍（雄）及び 119 倍（雌）であった。マウス及びラットのいずれの動物種においても、ダパグリフロジンの投与に関連したがん原性はみられなかった。また、がん原性試験で通常みられる腫瘍についてダパグリフロジンの投与による発生頻度の増加や発生時期の早期化はみられず、ダパグリフロジンは自然発生性腫瘍（雌ラットの乳がん等）がみられる組織において発がんプロモーター作用を示さないことが示唆された。さらに、増殖性変化（雄マウスにおける膀胱の過形成等）の亢進及びプログレッションへの進展は、マウス及びラットのいずれの試験でもみられなかった。

ラット試験では、対照群及び高用量群の雄の生存率が低下したことから、統計学的解析に必要な数のラットを確保するため、すべての群の雄を投与 89～91 週に剖検した。雌は 105～106 週に剖検した。雄ラットの一般的な死因は慢性腎症増悪による腎不全であり、ダパグリフロジンに関連した慢性腎症増悪により 10 mg/kg/日群の雄の死亡数が増加した。

ダパグリフロジンの臨床試験において、ダパグリフロジンを投与した患者に膀胱癌発生がみられたことから、ダパグリフロジンと膀胱癌との関係を検討した。

15 カ月齢まで飼育した SGLT2 ノックアウトマウスにおいて、腎機能及び腎臓形態に影響はみられず、尿路の過形成変化及び腫瘍はみられなかった（報告書 930060438）。本試験結果から、生涯にわたり尿中グルコース濃度が高い状態（糖尿）のマウスにおいても尿路腫瘍及び加齢に伴う尿路の病変の発生の亢進はないことが示唆された。また、ZDF ラットにダパグリフロジンを 5 週間投与し、腎臓、肝臓、脂肪組織及び骨格筋における遺伝子転写の変化を検討した（薬理試験の概要文 2.6.2.3.3.1 項参照）結果、ダパグリフロジンが発がんのプロモーターであることを示唆する転写の変化（Maeshima et al 2009、Maeshima et al 2010）はみられなかった。

その他の理論的な可能性として、特に膀胱癌においてはダパグリフロジンの投与によるグルコース濃度の高い尿に起因する腫瘍増殖に適した環境が考えられる。SGLT2 ノックアウトマウス及び尿中グルコース濃度が高い状態（糖尿）が通常観察されるダパグリフロジン毒性試験結果から、糖尿の状態においても尿路の腫瘍発生及び加齢に伴う尿路の病変の発生の亢進はないことが示唆されている。さらに、5 種の膀胱がん細胞株を用いた *in vitro* 試験（薬理試験の概要文 2.6.2.3.3.2 項参照）において、11 mM を超えるグルコース濃度では細胞増殖促進作用はみられず、50 mM のグルコース濃度では細胞増殖抑制がみられた。

遺伝毒性試験結果及びがん原性の評価結果から、ダパグリフロジン及びその薬理作用（SGLT2 阻害による尿中グルコース量増加）による腫瘍の形成及び増殖のリスクが増加する可能性は低いと考えられた。

### 2.4.4.5 生殖発生毒性

ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（報告書 930013767）では、雌雄の交配、受胎能あるいは初期胚発生に影響はみられなかった。300/210 mg/kg/日の雄（最高推奨臨床用量での AUC の 1051 倍）では、精囊及び精巣上体重量の減少、精子形成の変化（精子運動能及び精子数の減少、形態異常）がみられた。雌雄動物の生殖能に関する無毒性量は 75 mg/kg/日（雄：最高推奨臨床用量での AUC の 432 倍、雌：同 638 倍）であった。

ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験（ラット：報告書 930008800、ウサギ：報告書 930008139）を実施した結果、ラットでは、75 mg/kg/日（最高推奨臨床用量での AUC の 922 倍）の用量まで母動物への影響は見られず、胚死亡、催奇形性のいずれもみられなかった。

150 mg/kg/日（最高推奨臨床用量での AUC の 1499 倍）以上では、母動物毒性及び胚・胎児発生への影響がみられた。母動物では死亡、一般症状の悪化、体重及び摂餌量の減少がみられた。胚・胎児発生では、死亡率の増加、胎児重量減少、奇形（大血管奇形、胸骨及び腰椎体の癒合、肋骨融合、重複胸骨柄及び重複肋骨体）がみられた。ウサギでは、いずれの用量（最高推奨臨床用量での AUC の最大 762 倍）でも母動物及び胚・胎児発生への影響はみられなかった。

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（報告書 930044500）では、75 mg/kg/日でのみ母動物毒性（一過性の体重及び摂餌量の減少）がみられた。F<sub>1</sub> 成熟ラットでは、75 mg/kg/日でのみ腎盂拡張の出現頻度及び程度の増加がみられた（母動物及び出生児の AUC は最大臨床推奨濃度での AUC のそれぞれ 905 倍及び 88 倍）。その他、出生児の体重減少が 15 mg/kg/日以上で用量依存的にみられた（最大臨床推奨濃度での AUC の 18 倍）。母動物の無毒性量は 75 mg/kg/日（最高推奨臨床用量での AUC の 905 倍）、F<sub>1</sub> 動物の一般毒性に関する無毒性量は 1 mg/kg/日（最高推奨臨床用量での AUC の 12 倍）と考えられた。

#### 2.4.4.6 局所刺激性試験

臨床投与経路が経口であるため、局所刺激性については評価しなかった。

#### 2.4.4.7 その他の毒性試験

##### 2.4.4.7.1 代謝物のトキシコキネティクス試験

主要な反復投与試験では、ダパグリフロジン及びその活性代謝物である *O*-脱エチル化代謝物（BMS-511926）の全身曝露量を測定した。しかし、マウス、ラット及びイヌでは、BMS-511926 に代謝されたのはダパグリフロジンの 2%未満（薬物動態試験の概要文 2.6.4.5.2 項参照）であり、臨床薬物動態試験においても微量であった（約 1%、MB102001 試験）。

ヒト循環血中の主代謝物は 3-*O*-グルクロン酸抱合体である。この代謝物は反応性代謝物を生成せず、遺伝毒性が懸念される構造を有さず、薬理的活性をもたないことから、主要な反復投与試験では測定しなかった。そのためラット及びイヌの GLP 適用の単回投与トキシコキネティクス試験を実施し、3-*O*-グルクロン酸抱合体を測定した。この代謝物の全身曝露量は、ラットではダパグリフロジンの約 0.36%（150 mg/kg 単回投与、報告書 930032339）、イヌでは約 4~6%（120 mg/kg を単回投与、報告書 930032019）であった。

ラット単回投与トキシコキネティクス試験結果から外挿すると、無毒性量におけるラットの 3-*O*-グルクロン酸抱合体に対する平均曝露量は、最高推奨臨床用量での曝露量の 0.51~1.0 倍（ラット 3 カ月間投与試験）及び 0.4~0.7 倍（ラット 6 カ月間投与試験）と推定された。イヌの単回投与トキシコキネティクス試験結果から外挿すると、無毒性量におけるイヌの 3-*O*-グルクロン酸抱合体に対する平均曝露量は、最高推奨臨床用量での曝露量の 16~17 倍（イヌ 3 カ月間投与試験）及び 48~49 倍（イヌ 12 カ月間投与試験）と推定された。

がん原性試験では、3-*O*-グルクロン酸抱合体を測定しなかったが、マウスの単回投与試験（放射能標識ダパグリフロジンを使用、報告書 930020366）から得られた予測値は、マウスがん原性試験における最高用量での 3-*O*-グルクロン酸抱合体濃度は、0.5~0.7 倍と推定された（表 2）。

このように *O*-脱エチル化代謝物（BMS-511926）及び 3-*O*-グルクロン酸抱合体について評価を実施した。

表 2 主要な反復経口投与毒性試験における 3-O-グルクロン酸抱合体の曝露量とヒト曝露量との比

動物種	試験 (採血時期)	用量 (mg/kg/日)	AUC ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ) <sup>a</sup>		ヒト曝露量に対する 比 (倍) <sup>b</sup>	
			雄	雌	雄	雌
マウス	104 週間 (投与 26 週)	5 雄、2 雌	0.04	0.11	0.025	0.0696
		15 雄、10 雌	0.14	0.53	0.089	0.335
		40 雄 <sup>d</sup> 、20 雌 <sup>d</sup>	0.74	1.07	0.47	0.6768
ラット	3 カ月間 (投与 12 週)	5	0.14	0.27	0.089	0.171
		50 <sup>c</sup>	0.81	1.58	0.51	0.994
		200	4.21	4.32	2.7	2.732
	6 カ月間 (投与 26 週)	5	0.00	0.20	0	0.1265
		25 <sup>c</sup>	0.58	1.13	0.37	0.715
		150	3.54	5.18	2.24	3.28
104 週間 (投与 26 週)	0.5	0.01	0.01	0.006	0.006	
	2	0.04	0.06	0.025	0.038	
	10 <sup>d</sup>	0.22	0.31	0.139	0.196	
イヌ	3 カ月間 (投与 12 週)	5	3.80	4.06	2.40	2.57
		30 <sup>c</sup>	24.75	27.45	15.65	17.36
		180	120.00	112.00	75.90	70.84
	12 カ月間 (投与 52 週)	5	3.02	2.97	1.9	1.9
20		13.05	14.40	8.3	9.1	
		120 <sup>c</sup>	76.00	77.00	48.1	48.7

a 放射能標識ダパグリフロジンを用いたマウス（非 GLP 試験、報告書 930020366）、ラット（GLP 試験、報告書 930032339）及びイヌ（GLP 試験、報告書 930032019）の試験に基づく 3-O-グルクロン酸抱合体の推定曝露量。マウス、ラット及びイヌの 3-O-グルクロン酸抱合体の曝露量（AUC）はそれぞれ、ダパグリフロジンの 0.022 倍、0.00036 倍及び 0.05 倍であると推定

b 最高推奨臨床用量 10 mg におけるヒト 3-O-グルクロン酸抱合体の AUC（1.581 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ 、MB102025 試験）との比

c 無毒性量

d 腫瘍発生に関する無作用量

#### 2.4.4.7.2 幼若動物の毒性試験

幼若動物を用いる毒性試験（報告書 930044589）では、ラットにダパグリフロジンを 0（溶媒対照）、1、15 及び 75 mg/kg/日の用量で生後 21 日～生後 90 日に反復経口投与した。認められた所見のほとんどが、薬理作用による総尿中グルコースの増加に対する二次的な変化と考えられ、成熟ラットの毒性試験で観察された所見と類似していた。その他、継続的な摂餌量の増加、体重減少及び頭腎長の減少がみられたが、これらの所見はエネルギー需要の高い時期にグルコースが尿中排泄によって損失したためエネルギー欠乏が生じたことによるものと考えられた。ダパグリフロジンを投与した幼若ラットでは、用量依存的な腎臓重量の増加及び腎臓の肥大（剖検所見）を伴う腎盂及び尿管の拡張など、腎臓に関連する所見がみられた。腎盂拡張はすべての用量でみられ、投与後約 1 カ月間の回復期間後でも完全には回復しなかった。しかし、7 週齢ラットを用いた 6 カ月間反復経口投与毒性試験（報告書 930023449、150 mg/kg/日；最高推奨臨床用量での AUC の 1981 倍）及び 6 週齢ラットを用いたがん原性試験（報告書 930044081、10 mg/kg/日；同

119 倍) では、腎盂拡張はみられなかった。生後 4~42 日齢のラットでは、腎臓形成における変化に対する感受性が高いことが示唆されている。これらの腎臓所見は、発育中のラットの腎臓ではダパグリフロジンの作用による糖尿病に関連した尿量の増加に対する適応能力が不足していることに起因すると考えられた。一方、ヒトでは、腎臓は妊娠第 2~第 3 三半期に子宮内で解剖学的に成熟し、機能的な発達・成熟は生後 2 年まで継続する (Zoetis and Hurtt 2003、Langman 1975、Gomez et al 1999)。

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 (報告書 930044500) では、ダパグリフロジンを投与した母動物の出生児にも腎盂拡張がみられた。出生児にはダパグリフロジンを直接投与していないが、子宮内あるいは授乳中にダパグリフロジンに曝露されたと考えられる。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及び幼若動物を用いた毒性試験の結果から、ダパグリフロジン投与に関連する腎盂及び尿細管の拡張は、ヒトにおいては出生前及び生後 2 年間の両時期に、腎臓成熟に対する潜在的リスクとなると考えられる。

## 2.4.5 総括及び結論

ダパグリフロジンは SGLT2 阻害薬であり、2 型糖尿病を適応症として開発されている。SGLT2 は主要な管腔側トランスポーターで、腎糸球体濾過液からグルコースを再吸収する役割を担っているため、SGLT2 阻害により実質的な尿中グルコース排泄が促進される。非臨床薬理試験の結果から、ダパグリフロジンは、選択的、可逆的かつ競合的な SGLT2 阻害薬であることが示された。*In vitro* で、ダパグリフロジンのヒト SGLT2 に対する選択性は SGLT1 に比べて約 1400 倍であった ( $K_i$  値による比較)。動物モデルで、ダパグリフロジン投与により尿中グルコース排泄量及び尿量の増加が認められた。ダパグリフロジンは、非糖尿病ラットで尿中グルコース排泄量の増加を示したものの、血中グルコース濃度が低血糖の目安とした 70 mg/dL (American Diabetes Association 2013) を下回った例は認められず、糖尿病モデルラットでは、血中グルコース濃度が 70 mg/dL を下回ることなく上昇した血漿中グルコース濃度を用量依存的に低下させた。また、前糖尿病モデルラットにダパグリフロジンを反復経口投与後、インスリン感受性及び膵  $\beta$  細胞機能が維持されたことから、ダパグリフロジンは 2 型糖尿病の進行を遅延させる可能性があると考えられた。

独立した安全性薬理試験又は反復経口投与毒性試験の一部において、*in vitro* 及び *in vivo* で心血管系に及ぼす影響、並びに、*in vivo* で中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響を評価した結果、日本人 2 型糖尿病患者にダパグリフロジンの最高推奨臨床用量 10 mg を 1 日 1 回 14 日間反復経口投与したときの定常状態における  $C_{max}$  の 220 倍の曝露量まで、ダパグリフロジンの臨床使用に問題のある可能性を示す所見は認められなかった。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサルを用いた一連の *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験を実施し、ダパグリフロジンの非臨床薬物動態を検討した。ダパグリフロジンの曝露量は概して用量依存的で、最高推奨臨床用量 10 mg をヒトに投与したときの曝露量よりも高かった。ダパグリフロジンの消失には、胆汁中排泄、腎排泄及び代謝の複数の経路が存在するが、代謝が基本的な消失経路であった。主要な代謝経路は、グルクロン酸抱合化、酸化脱アルキル化及び分子内の様々な位置での酸化であった。ヒトに特有な代謝物の生成は認められず、すべての動物種とも代謝物組成は質的に類似した。しかしながら、ヒトでは全身循環血中の主代謝物はダパグリフロジンの 3-O-グルクロン酸抱合体であったのに対して、動物では 3-O-グルクロン酸抱合体は微量代謝物であり、代謝物の大部分は酸化代謝により生成した。このことは、3-O-グルクロン酸抱合体の生成に関与する主代謝酵素が、主としてヒト腎臓に発現する UGT1A9 であったことと一致した。薬物の代

謝、取り込み及び排出を担う薬物代謝酵素及び薬物トランスポーターに関する *in vitro* での検討から、ダパグリフロジンが薬物代謝酵素及び薬物トランスポーターを阻害する可能性は低いことが示唆された。したがって、ダパグリフロジンは臨床的に重大な薬物間相互作用を起こさないと考えられる。ダパグリフロジンは P-gp の弱い基質であるが、ダパグリフロジンの膜透過性は高いことから、P-gp の阻害剤によってダパグリフロジンの吸収及び排出はほとんど影響を受けないと考えられる。また、UGT1A9 の阻害剤及び誘導剤は、ダパグリフロジンの曝露量に影響する可能性はあるが、用量調節を必要とするような薬物間相互作用は認められていない。

ラット及びイヌを用いた主要な反復投与毒性試験でみられた影響の多くは、薬理作用による尿中グルコースの増加に対する二次的な変化と考えられ、対照群の動物と比較して体重及び体重増加量の減少（摂餌量増加とは関連せず）及び浸透圧利尿による尿量増加がみられた。尿量増加は尿中電解質の増加と関連していたが、尿中電解質の増加は血清電解質の減少とは関連していなかった。ラット及びイヌの長期反復投与試験では、副腎重量の増加がみられ（最高推奨臨床用量の AUC のラットでは 222 倍以上、イヌでは 82 以上）、ラットの球状帯肥大及び空胞化と関連していた。しかし、副腎への影響は、ナトリウムの尿中への喪失によるアルドステロン産生の代償的増加による可能性が高いと考えられる。また、正常な（糖尿病の症状を有しない）動物で実施した反復投与試験では、高濃度のグルコースが尿に排泄されたにもかかわらず、低血糖の徴候はみられなかった。

ラットでは、海綿骨及び組織鈣質沈着の増加と関連した血清カルシウムの増加がみられた。これらの影響は、最高推奨臨床用量と比較して極めて高い曝露量（最高推奨臨床用量の AUC の 1354 倍以上）でのみみられた。これらの所見は、SGLT1 に対する標的外の阻害作用によりカルシウム恒常性が変化したことと一致しており、骨からのカルシウムの動員ではなく消化管からのカルシウム吸収の増加の原因と考えられる。ラット及びヒトにおける IC<sub>50</sub> 値に基づき、ヒトにおけるダパグリフロジンの SGLT1 に対する SGLT2 の選択性はラットより高い（ラットでの 200 倍に対しヒトでは 1200 倍）ことから、ラットでみられた影響が臨床で発現する可能性は低いと考えられる。その他のダパグリフロジンに関連する標的器官毒性が、高い曝露量において腎臓（最高推奨臨床用量の AUC の 1354 倍以上）及び胃（同 603 倍以上）にみられた。マウス及びイヌでは、骨形成の亢進及び組織鈣質沈着を伴う血清カルシウムの増加、並びに腎臓及び胃の病変はみられなかった。これらの所見は高い曝露量のみでみられたことから、ヒトとの関連性は低いと考えられる。イヌの 12 カ月間反復投与毒性試験では、高い曝露量（最高推奨臨床用量の AUC の 2118 倍）でも毒性の標的器官は特定されなかった。

非臨床試験結果から総合的に判断して、ダパグリフロジンはがん原性を示さないと考えられた。ダパグリフロジンの投与に関連した腫瘍のイニシエーション及びプロモーション、あるいは腫瘍の進行の促進を示唆する所見はみられていない。この結論の根拠を以下に示す。

- ダパグリフロジン及びその主代謝物（3-O-グルクロン酸抱合体）は、意義のある標的外作用を示さない（報告書 930005143、1032SY 及び 1033SY）。
- ダパグリフロジンに遺伝毒性はない（毒性試験の概要文 2.6.6.4 項参照）
- がん原性試験（報告書 930043549、930044081）では、最高推奨臨床用量における AUC の 46 倍を超える曝露量で、ダパグリフロジンによる腫瘍発生は過形成及び増殖性変化を含めて認められていない。また、ヒト膀胱癌に対する予見性が高い動物種であるイヌ（Clayson and Cooper 1970）を用いた 12 カ月間反復投与毒性試験において、最高推奨臨床用量における AUC の 2000 倍を超える曝露量で増殖性変化及び前がん病変はみられなかった。既知のヒトに対する発癌物質は、免疫抑制剤やホルモン作用剤など一部の薬剤を除き、動物においても適切な条件での試験では腫瘍の発生又はその徴候がみられる（Alden et al 2011）。し

たがって、一連の非臨床試験の結果から、ダパグリフロジンの発がんのリスクは低いことが示唆される。

- ダパグリフロジンは、ヒト及び動物に対する発がん物質の特性である DNA への直接的な作用、細胞増殖・過形成刺激（直接的、間接的）作用、正常な免疫系及び内分泌系の攪乱作用などの作用機序を有さない。免疫毒性作用及びホルモンの変化を引き起こす作用は 2 年間がん原性試験において偽陰性の結果の原因となる（Alden et al 2011）が、ダパグリフロジンにはそのような作用を示さないことから、ヒトにおける発がんリスクが低いことを示唆する非臨床がん原性評価の結果は保証されることが考えられる。
- ダパグリフロジンは SGLT2 に高い選択性を有し、その薬理学的標的又は作用機序と、腫瘍発生のリスク増加との関連性を示唆する所見はみられていない。実際、SGLT2 は膀胱及び乳房組織のいずれにも発現しておらず、これらの組織に SGLT2 が発現しているとしても、SGLT2（及び SGLT1）の阻害によりグルコース要求性が高い癌細胞へのグルコース取り込みが阻害され、腫瘍の増殖が抑制される可能性が報告されている（Nelson and Falk 1993）。
- ZDF ラットにダパグリフロジンを 5 週間投与し、腎臓、肝臓、脂肪組織及び骨格筋（糖尿病治療の標的器官）における遺伝子転写の変化を検討した結果（薬理試験の概要文 2.6.2.3.3.1 項参照）、ダパグリフロジンが発がんのプロモーターであることを示唆する転写の変化（Maeshima et al 2009、Maeshima et al 2010）はみられなかった。
- 催奇形性と発がんプロモーションとの間に関連性がある可能性が報告されている（Bournias-wardiabasis and Flores 1986、Vainio 1989）が、ダパグリフロジンは最高推奨臨床用量での曝露量よりも高い曝露量においても催奇形性はみられないことから、ダパグリフロジンが膀胱がんのプロモーション作用を示す可能性は低い。
- ダパグリフロジンには発がんプロモーターの特性を有しておらず、尿中グルコースの増加が実際に腫瘍の増殖を促進することを示す試験結果は、膀胱がん細胞を用いた試験（薬理試験の概要文 2.6.2.3.3.2 項参照）及び乳癌細胞を用いた報告（Okumura et al 2002）では得られていない。一方、非常に高いグルコース濃度では、腫瘍細胞の増殖を阻害することが示唆されている。また、SGLT2 ノックアウトマウスでは、尿中へのグルコース排泄が増加すること以外に野生型マウスとの表現形の差はみられていない（報告書 930060438）。15 カ月齢まで飼育した SGLT2 ノックアウトマウスでは、尿路に増殖性変化はみられず、腎機能及び腎臓形態にも悪影響はみられなかった。この結果から、生涯を通じた高グルコース濃度の尿への曝露による、尿路の腫瘍発生や加齢に伴う尿路の病変の発生の亢進はないことが示唆された。

ダパグリフロジンの臨床試験において、ダパグリフロジン投与群における悪性及び詳細不明の新生物の発現率が、プラセボ投与群と同程度であったことは、非臨床試験の結果と一致している。

ダパグリフロジンは明らかな母動物毒性と関連のない用量では受胎能を低下させず、催奇形性もみられなかった。高い曝露量で実施したラットの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、いずれの用量においても、出生児の行動、性成熟及び生殖能に影響はみられなかった。15 mg/kg/日以上（最高推奨臨床用量での AUC の 160 倍以上）の用量群の出生児（F<sub>1</sub>）にみられた発生への影響は体重減少（軽度～中等度）のみであり、75 mg/kg/日群の F<sub>1</sub> では発育期に腎盂拡張の出現頻度増加（F<sub>1</sub> 雄）又は程度の亢進（F<sub>1</sub> 雌）がみられた。幼若ラット毒性試験でみられた影響の多くは、薬理作用による総尿中グルコース量の増加に対する二次的な変化と考えられ、成熟ラット毒性試験での所見と類似していた。しかし、成熟ラットと比較して、血清グルコースの減少に対する感受性が高い幼若ラットでは、尿中グルコースの損失に起因する頭腎長

の減少とこれに起因する体重減少がみられた。幼若ラットでは、すべての用量（最高推奨臨床用量での AUC の 10 倍以上）で腎盂及び尿細管の拡張がみられたが、成熟ラットでは高用量においてもみられなかった。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及び幼若動物の試験でみられた腎盂及び尿細管の拡張は、ヒトにおいては出生前及び生後 2 年間は腎臓成熟に対する潜在的なリスクとなる可能性がある。また、ダパグリフロジンはラットの乳汁中に排泄されることから、ヒトにおいても乳汁中に移行すると考えられる。したがって、ダパグリフロジンの授乳婦への投与は、乳児の腎臓の機能的な成熟に対する潜在的なリスクとなり、また、グルコースの尿中への排泄により成長を抑制する可能性がある。

以上の結果から、試験に用いた用量範囲及び認められた影響に基づき、選択された動物種でダパグリフロジンの毒性学的プロファイルが明らかになり、これらの毒性は薬理学的特性と一致していた。ダパグリフロジンの適切な患者群への投与において、安全性に懸念をもたらす非臨床的所見はみられなかった。

## 2.4.6 参考文献一覧

社内報告書は、参考文献に分類したもののみ本項に示した。

### 2.4.6.1 薬理試験

#### 報告書 930005304

SGLT2 genomic dossier. Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical Research Institute; [REDACTED]. Document Control No. 930005304.

#### 報告書 920008658

Expression of type I and type II sodium-dependent glucose transporter in mammalian tissues using Northern blot analysis, quantitative PCR, and *in situ* hybridization. Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical Research Institute; [REDACTED]. Document Control No. 920008658.

#### 報告書 930005302

RNA expression profiling of SGLT isoforms in rat tissues. Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical Research Institute; [REDACTED]. Document Control No. 930005302.

#### American Diabetes Association 2013

American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2013. *Diabetes Care* 2013; 36 Suppl 1:S11-66.

#### Deetjen et al 1992

Deetjen P, von Baeyer H, Drexel H. Chapter 82: Renal glucose transport. In *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*, 2nd ed., Seldin DW and Giebisch G, eds., Raven Press, New York, 1992, pp.2873-88.

#### Ehrenkranz et al 2005

Ehrenkranz JR, Lewis NG, Kahn CR, Roth J. Phlorizin: a review. *Diabetes Metab Res Rev* 2005; 21: 31-8.

#### Han et al 2008

Han S, Hagan DL, Taylor JR, Xin L, Meng W, Biller SA et al. Dapagliflozin, a selective SGLT2 inhibitor, improves glucose homeostasis in normal and diabetic rats. *Diabetes* 2008; 57: 1723-9.

#### Isaji 2007

Isaji M. Sodium-glucose cotransporter inhibitors for diabetes. *Curr Opin Investig Drugs* 2007; 8: 285-92.

#### Kahn et al 1993

Kahn SE, Prigeon RL, McCulloch DK, Boyko EJ, Bergman RN, Schwartz MW et al. Quantification of the relationship between insulin sensitivity and beta-cell function in human subjects. Evidence for a hyperbolic function. *Diabetes* 1993; 42: 1663-72.

#### Kanai et al 1994

Kanai Y, Lee WS, You G, Brown D, Hediger MA. The human kidney low affinity Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter SGLT2: delineation of the major renal reabsorptive mechanism for D-glucose. *J Clin Invest* 1994; 93: 397-404.

#### Komoroski et al 2009a

Komoroski B, Vachharajani N, Boulton D, Kornhauser D, Gerald M, Li L et al. Dapagliflozin, a novel SGLT2 inhibitor, induces dose-dependent glucosuria in healthy subjects. *Clin Pharmacol Ther* 2009; 85: 520-6.

#### Komoroski et al 2009b

Komoroski B, Vachharajani N, Feng Y, Li L, Kornhauser D, Pfister M. Dapagliflozin, a novel, selective SGLT2 inhibitor, improved glycemic control over 2 weeks in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Pharmacol Ther* 2009; 85: 513-9.

#### List et al 2009

List JF, Woo V, Morales E, Tang W, Fiedorek FT. Sodium-glucose cotransport inhibition with dapagliflozin in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32: 650-7.

#### Maddox et al 1992

Maddox DA, Deen WM, Brenner BM. Chapter 13: Glomerular filtration. In: *Handbook of Physiology, Section 8: Renal physiology, Vol. 1*, Windhager EE, ed. New York, NY, Oxford University Press, 1992, pp. 545-638.

#### Manolescu et al 2007

Manolescu AR, Witkowska K, Kinnaird A, Cessford T, Cheeseman C. Facilitated hexose transporters: new perspectives on form and function. *Physiology* 2007; 22: 234-40.

#### Mogensen and Andersen 1975

Mogensen CE, Andersen MJ. Increased kidney size and glomerular filtration rate in untreated juvenile diabetes: normalization by insulin-treatment. *Diabetologia* 1975; 11: 221-4.

#### O'Bryan and Hostetter 1997

O'Bryan GT, Hostetter TH. The renal hemodynamic basis of diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 1997; 17: 93-100.

#### Olson and Pessin 1996

Olson AL, Pessin JE. Structure, function, and regulation of the mammalian facilitative glucose transporter gene family. *Annu Rev Nutr* 1996; 16: 235-56.

#### Rossetti et al 1987a

Rossetti L, Shulman GI, Zawulich W, DeFronzo RA. Effect of chronic hyperglycemia on *in vivo* insulin secretion in partially pancreatectomized rats. *J Clin Invest* 1987; 80: 1037-44.

#### Rossetti et al 1987b

Rossetti L, Smith D, Shulman GI, Papachristou D, DeFronzo RA. Correction of hyperglycemia with phlorizin normalizes tissue sensitivity to insulin in diabetic rats. *J Clin Invest* 1987; 79: 1510-5.

#### Santer et al 2003

Santer R, Kinner M, Lassen CL, Schneppenheim R, Eggert P, Bald M et al. Molecular analysis of the SGLT2 gene in patients with renal glucosuria. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2873-82.

#### Surampudi et al 2009

Surampudi PN, John-Kalarickal J, Fonseca VA. Emerging concepts in the pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *Mount Sinai J Med* 2009; 76: 216-26.

#### Thomson et al 2004

Thomson SC, Vallon V, Blantz RC. Kidney function in early diabetes: the tubular hypothesis of glomerular filtration. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286: F8-F15.

#### Vallon et al 1999

Vallon V, Richter K, Blantz RC, Thomson S, Osswald H. Glomerular hyperfiltration in experimental diabetes mellitus: potential role of tubular reabsorption. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 2569-76.

#### Vallon et al 2002

Vallon V, Huang DY, Deng A, Richter K, Blantz RC, Thomson S. Salt-sensitivity of proximal reabsorption alters macula densa salt and explains the paradoxical effect of dietary salt on glomerular filtration rate in diabetes mellitus. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1865-71.

#### Van Liew et al 1970

Van Liew JB, Buentig W, Stolte H, Boylan JW. Protein excretion: micropuncture study of rat capsular and proximal tubule fluid. *Am J Physiol* 1970; 219: 299-305.

#### Washburn 2009

Washburn WN. Development of the renal glucose reabsorption inhibitors: a new mechanism for the pharmacotherapy of diabetes mellitus type 2. *J Med Chem* 2009; 52: 1785-94.

#### Wells et al 1992

Wells RG, Pajor AM, Kanai Y, Turk E, Wright EM, Hediger MA. Cloning of a human kidney cDNA with similarity to the sodium-glucose cotransporter. *Am J Physiol* 1992; 263: F459-F465.

#### Wright et al 2007

Wright EM, Hirayama BA, Loo DF. Active sugar transport in health and disease. *J Intern Med* 2007; 261: 32-43.

#### Wright et al 2011

Wright EM, Loo DDF, Hirayama BA. Biology of human sodium glucose transporters. *Physiol Rev* 2011; 91: 733-94.

#### You et al 1995

You G, Lee WS, Barros EJ, Kanai Y, Huo TL, Khawaja S et al. Molecular characteristics of Na<sup>+</sup>-coupled glucose transporters in adult and embryonic rat kidney. *J Biol Chem* 1995; 270: 29365-71.

#### Zhou et al 2003

Zhou L, Cryan EV, D'Andrea MR, Belkowski S, Conway BR, Demarest KT. Human cardiomyocytes express high level of Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter 1 (SGLT1). *J Cell Biochem* 2003; 90: 339-46.

### 2.4.6.2 薬物動態試験

#### Girard et al 2004

Girard H, Court MH, Bernard O, Fortier LC, Villeneuve L, Hao Q, et al. Identification of common polymorphisms in the promoter of the UGT1A9 gene: evidence that UGT1A9 protein and activity levels are strongly genetically controlled in the liver. *Pharmacogenetics*. 2004; 14: 501-15.

#### Kimura et al 2005

Kimura N, Masuda S, Tanihara Y, Ueo H, Okuda M, Katsura T, et al. Metformin is a superior substrate for renal organic cation transporter OCT2 rather than hepatic OCT1. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2005; 20: 379-86.

#### Mackenzie et al 2010

Mackenzie PI, Hu DG, Gardner-Stephen DA. The regulation of UDP-glucuronosyltransferase genes by tissue-specific and ligand-activated transcription factors. *Drug Metab Rev.* 2010; 42: 99-109.

#### Naesens et al 2006

Naesens M, Kuypers DR, Streit F, Armstrong VW, Oellerich M, Verbeke K, et al. Rifampin induces alterations in mycophenolic acid glucuronidation and elimination: implications for drug exposure in renal allograft recipients. *Clin Pharmacol Ther.* 2006; 80: 509-21.

#### Nishimura and Naito 2006

Nishimura M, Naito S. Tissue-specific mRNA expression profiles of human phase I metabolizing enzymes except for cytochrome P450 and phase II metabolizing enzymes. *Drug Metab Pharmacokinet* 2006; 21: 357-74.

#### Osborne et al 1993

Osborne R, Joel S, Grebenik K, Trew D, Slevin M. The pharmacokinetics of morphine and morphine glucuronides in kidney failure. *Clin Pharmacol Ther.* 1993; 54: 158-67.

#### Singlas et al 1989

Singlas E, Pioger JC, Taburet AM, Colin JN, Fillastre JP. Zidovudine disposition in patients with severe renal impairment: influence of hemodialysis. *Clin Pharmacol Ther.* 1989; 46: 190-7.

#### Soars et al 2004

Soars MG, Petullo DM, Eckstein JA, Kasper SC, Wrighton SA. An assessment of UD-glucuronosyltransferase induction using primary human hepatocytes. *Drug Metab Dispos.* 2004; 32: 140-8.

### 2.4.6.3 毒性試験

#### 報告書 930053120

Effects of glucose concentration on growth of bladder cancer cell lines in culture. Bristol-Myers Squibb Company, [REDACTED]. Document Control No. 930053120.

#### Alden et al 2011

Alden CL, Lynn A, Bourdeau A, Morton D, Sistare FD, Kadambi VJ, Silverman L. A critical review of the effectiveness of rodent pharmaceutical carcinogenesis testing in predicting for human risk. *Vet. Pathol.* 2011; 48: 772-84.

#### Bournias-wardiabasis and Flores 1986

Bournias-Vardiabasis N and Flores JC. Response of Drosophila embryonic cells to tumor promoters. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1986; 85: 196-206.

#### Clayson and Cooper 1970

Clayson DB and Cooper EH. Cancer of the urinary tract. *Adv Cancer res.* 1970; 13: 271-381.

#### Gomez et al 1999

Gomez RA, Sequeira Lopez MLS, Fernandez L, Chernavvksy DR, Norwood VF. The maturing kidney: development and susceptibility. *Ren Fail.* 1999; 21: 283-91.

#### Kasahara et al 2001

Kasahara M, Maeda M, Hayashi S, Mori Y, Abe T. A missense mutation in the Na(+)/glucose cotransporter gene SGLT1 in a patient with congenital glucose-galactose malabsorption: normal trafficking but inactivation of the mutant protein. *Biochem Biophys Acta.* 2001; 1536: 141-47.

#### Langman 1975

Langman J. Urogenital system. In: *medical embryology; human development—normal and abnormal.* Baltimore: Williams & Wilkins. 1975: 160-174.

#### Maeshima et al 2009

Maeshima H, Ohno K, Tanaka-Azuma Y, Nakano S, Yamada T. Identification of tumor promotion marker genes for predicting tumor promoting potential of chemicals in BALB/c 3T3 cells. *Toxicol In Vitro.* 2009; 23: 148-57.

#### Maeshima et al 2010

Maeshima H, Ohno K, Nakano S, Yamada T. Validation of an in vitro screening test for predicting the tumor promoting potential of chemicals based on gene expression. *Toxicol In Vitro.* 2010; 24: 995-1001.

#### Nelson and Falk 1993

Nelson JA and Falk RE. The efficacy of phloridzin and phloretin on tumor cell growth. *Anticancer Res.* 1993; 13: 2287-92.

#### Okumura et al 2002

Okumura M, Yamamoto M, Sakuma H, Kojima T, Maryyama T, Jamali M, Cooper DR, Yasuda K, Leptin and high glucose stimulate cell proliferation in MCF-7 human breast cancer cells: reciprocal involvement of PKC-alpha and PPAR expression. *Biochim Biophys Acta.* 2002; 1592: 107-16.

#### Vainio 1989

Vainio H. Carcinogenesis and teratogenesis may have common mechanisms. *Scand.J.Work Environ. Health* 1989; 15: 13-17.

#### 2.4 非臨床試験の概括評価

一般名：ダバグリフロジンプロピレングリコール水和物

##### Wright 1998

Wright EM. Genetic disorders of membrane transport I. Glucose galactose malabsorption. Am J Physiol 275 (Gastrointest Liver Physiol 38). 1998; G879-G882.

##### Zoetis and Hurtt 2003

Zoetis M and Hurtt ME. Species comparison of anatomical and functional renal development. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2003; 68: 111-120.