

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4 非臨床試験の概括評価の略語表

略号	名称
FCT	フィルムコーティング錠
CT	チュアブル錠
LT	ロイコトリエン
Cys LT ₁	システイニルロイコトリエンサブタイプ 1
LTs	ロイコトリエン類
DMSO	ジメチルスルホキシド
IC ₅₀	50%阻害濃度
THP-1	白血球単球細胞
PG	プロスタグランジン
ED ₅₀	50%有効量
t _{1/2}	半減期
CLp	血漿クリアランス
Tmax	最高血漿中濃度到達時間
AUC	血漿中濃度時間曲線下面積
Cmax	最高血漿中濃度
Vd, ss	定常状態分布容積
M1	モンテルカストの代謝物 グルクロン酸抱合体
M2	モンテルカストの代謝物 スルホキシド体
M3	モンテルカストの代謝物 25 位水酸化体
M4	モンテルカストの代謝物 ジカルボン酸体
M5	モンテルカストの代謝物 21 位水酸化体
M6	モンテルカストの代謝物 36 位水酸化体
EFCOD	エトキシトリフルオロメチルクマリン <i>O</i> -脱エチル化

2.4 非臨床試験の概括評価 目次

2.4.1	非臨床試験計画概略.....	2.4-1
2.4.2	薬理試験.....	2.4-2
2.4.3	薬物動態試験	2.4-5
2.4.4	毒性試験.....	2.4-7
2.4.5	総括及び結論	2.4-8
2.4.6	参考文献一覧	2.4-8

2.4.1 非臨床試験計画概略

モンテルカストナトリウム（以下、モンテルカスト）は、気管支喘息の治療を主目的として米国メルク社により外国で先行して開発された。外国における用法・用量は、成人で10 mg 1日1回、6歳以上の小児で5 mg 1日1回、6ヵ月以上6歳未満の小児で4 mg 1日1回の経口投与である。本邦でも、成人に対して10 mg フィルムコーティング錠（FCT）を、また6歳以上小児に対して5 mg チュアブル錠（CT）を1日1回就寝前経口投与する用法・用量で平成12年1月31日に承認申請（以下、初回申請）し、平成13年6月20日に製造承認を取得している。本薬の非臨床試験は初回申請時までには実施し、薬理、薬物動態及び毒性試験成績は既に得られている。

今回、1歳以上6歳未満の小児を対象とした新剤型・新用量（4 mg 細粒剤）の開発にあたり、新たな非臨床試験の実施の必要性を検討した。その結果、小児に対する本薬の有効性及び安全性を担保するための非臨床試験成績は既に得られていると判断した。また、新剤型である4 mg 細粒剤の製造工程中及び保存中に、安全性の確認が必要な閾値以上の量の新たな不純物は検出されず、原薬由来の不純物も増加しなかった。以上のことから、既承認のモンテルカスト製剤と同様、細粒剤中の不純物の安全性も確認されていると考えた。したがって、今回の申請のための新たな非臨床試験は実施しなかった。

2.4.2 薬理試験

モンテルカストは、ロイコトリエン D₄ (以下、LTD₄) の受容体 (システイニルロイコトリエンサブタイプ 1 受容体; 以下 Cys LT₁ 受容体) に特異的な拮抗薬であり、喘息の治療を主目的として開発された化合物である。本薬の非臨床薬理試験は初回新薬承認申請 (10 mg FCT 及び 5 mg CT) 時までには実施し、本薬の薬理に関する主要成績は既に得られて評価されている [4.3.1]。それ以降、本薬に関する新たな非臨床薬理試験は実施していない。

以下に、喘息におけるロイコトリエン類 (以下、LTs) の病態生理学的意義について概括し、次に、これまでに得られたモンテルカストの非臨床薬理試験成績に関して概括する。

LTs の病態生理学的意義

LTs の病態生理学的意義については、気管支収縮、粘液分泌、粘液線毛クリアランス低下、血管透過性の亢進等を惹起することから呼吸器の病態形成に重要な役割を果たすと考えられており、LTs の喘息への関与が予想されてきたが、現在これを支持する臨床上の知見が得られている。また、*in vivo* で抗原誘発後にアレルギー患者の気道における LT の産生が亢進することが示されている。先に、Cys LT₁ 受容体に選択的な拮抗薬 (SKF-104353、ICI-204,219、MK-571) の臨床試験が実施され、喘息患者において LTD₄ 又は抗原誘発性の気管支収縮を阻害することが示された。これらの知見から、喘息患者において LTs が持続的に放出され、LTD₄ や LTE₄ のようなメディエーターが喘息の進展と発症に重要な役割を果たしていることが示された [4.3.1]。

非臨床薬理試験成績

モンテルカストは、モルモット肺細胞膜標本、DMSO 分化ヒト U937 (dU937) 細胞膜標本において、[³H]LTD₄ の特異的結合を競合的に阻害し、その IC₅₀ はそれぞれ 0.61±0.09 nM、0.78±0.2 nM であった。また、モンテルカストは 0.05% (w/v) ヒト血清アルブミン存在下で [³H]LTD₄ のモルモット肺細胞膜標本への特異的結合を競合的に阻害し、その IC₅₀ は 0.42±0.08 nM であった。更に、モンテルカストの IC₅₀ は、それぞれ 1% (v/v) ヒト血漿存在下で 1.2±0.36 nM、2% (v/v) ヒト血漿存在下で 1.3 nM、4% (v/v) ヒト血漿存在下で 2.3 nM、1% (v/v) リスザル血漿存在下で 0.9 nM、2% (v/v) リスザル血漿存在下で 2.4 nM、4% (v/v) リスザル血漿存在下で 2.5 nM であった。モンテルカストは [³H]LTC₄ の dU937 細胞膜標本への結合又は [³H]LTB₄ のヒト THP-1 細胞膜標本への結合に対し、いずれもほとんど阻害しなかった。モンテルカストは、モルモット気管の非緊張性 (non-tonal) 標本の LTD₄ による収縮に対する強力かつ競合的な拮抗薬であることが示された (pA₂: 9.3、傾き: 0.8)。また、LTC₄ (45 mM ホウ酸セリン存在下)、セロトニン、アセチルコリン、ヒスタミン、プロスタグランジン (PG) D₂、U-44069、PGF_{2α} のモルモット気管収縮における用量反応曲線をシフトさせなかったことから、モンテルカストは Cys LT₁ 受容体に対して選択的であることが示された。更に、モンテルカストはモルモット摘出環状気管軟骨標本の電気刺激 (electrical field stimulation) によるコリン作動性収縮を阻害しなかった。麻酔モルモットにモンテルカストを静脈内投与すると、LTD₄ 静脈内投与により惹起される気管支収縮は強力に阻害された (静注による ED₅₀: 0.001 mg/kg)。モンテルカストは、麻酔モルモット

2.4 非臨床試験の概括評価

トへの静脈内投与 (10 $\mu\text{g/kg}$) により、 LTD_4 の ED_{50} が約 70 倍上昇し、強力な拮抗作用が示された。また、麻酔モルモットに静脈内投与したモンテルカストは、ヒスタミン、アラキドン酸、セロトニン及びアセチルコリンの静脈内投与により惹起した気管支収縮に対しては有意な阻害を示さなかったことから、モンテルカストは LTD_4 の作用に対して選択的であることが示された。無麻酔リスザルにおけるモンテルカスト (0.01 及び 0.03 mg/kg , po) により、 LTD_4 のエアロゾル投与により惹起される気道抵抗上昇及び動的コンプライアンス低下が有意に減弱した。モンテルカストは、感作近交系喘息ラットにおいて抗原誘発による呼吸困難の持続を有意に阻害 (ED_{50} : 0.032 mg/kg) し、更に無麻酔リスザルにおいて抗原誘発による気管支収縮並びに抗原誘発による即時型及び遅発型の特異的気道抵抗の上昇を阻害した。また、モンテルカストの静脈内投与 (10 mg/kg) で抗原 (卵アルブミン) 誘発によるモルモット気管支収縮が阻害された。モンテルカスト (0.01 及び 0.1%, 10 μL 量を点眼投与) は、麻酔モルモットにおいて LTD_4 誘発により発現する眼結膜血管透過性亢進を有意に抑制した [4. 3. 1]。

モンテルカストのいずれの代謝物も、モルモット肺細胞膜 LTD_4 受容体 (IC_{50} : 0.33~2.94 nM) 及び dU937 細胞膜に存在する LTD_4 受容体 (IC_{50} : 1.07~37.13 nM) に対して、モンテルカストと比較して同程度又はそれ以下の親和性を示した。モルモット肺細胞膜の LTD_4 受容体へのこれらの代謝物の親和性は、0.05% (w/v) ヒト血清アルブミンの存在により変化せず、 IC_{50} の差は 5 倍未満であった。モンテルカストの代謝物の効果は、モンテルカストと比較して同等あるいはそれ以下であり、血漿中蛋白が活性に影響しないという性質において同様であり、薬効への影響を考慮する必要はないものと考えられた [4. 3. 1]。

モンテルカストと同様の作用機序及び薬効を有する化合物で、既に市販されているプラニルカスト水和物 (以下、プラニルカスト) を用い、モンテルカストで実施した試験と同様の試験を行って薬理作用を検討し、モンテルカストと比較した。プラニルカストはモルモット肺及び dU937 細胞膜への [^3H]- LTD_4 の特異的結合を競合的に阻害し、 IC_{50} はそれぞれ 0.64 nM 及び 2.3 nM で、モンテルカストと同程度の効果があった。このモルモット肺細胞膜でのプラニルカストの競合的阻害作用は 0.05% (w/v) ヒト血清アルブミン存在下で減弱し、 IC_{50} は 17 nM であった。プラニルカストは、モルモット気管の非緊張性標本の LTD_4 誘発収縮を強力かつ競合的に阻害し ($-\log K_B$: 9.1~9.8)、モンテルカスト (pA_2 : 9.3) と同等の効果があった。プラニルカストは、麻酔モルモットへの LTD_4 静脈内投与により誘発される気管支収縮を阻害した (ED_{50} < 0.0001 mg/kg)。しかし、麻酔モルモットへのアラキドン酸静脈内投与による気管支収縮反応は、プラニルカストを 10 mg/kg 静脈内投与まで増量しても有意に阻害されなかった。また、麻酔したモルモットへのプラニルカスト (10 $\mu\text{g/kg}$) の静脈内投与により、 LTD_4 静脈内投与後の気管支収縮の用量反応曲線は約 30 倍右方へシフトした (モンテルカストは約 70 倍)。無麻酔のリスザルに対する LTD_4 のエアロゾル曝露において、プラニルカストの経口投与の前処置 (0.1 mg/kg ; 4 時間前投与) した場合、曝露による気道抵抗の上昇及び動的コンプライアンスの低下がそれぞれ 38% 及び 40% 阻害された (モンテルカストはそれぞれ 52% 及び 78%)。プラニルカスト (10 mg/kg , iv) は、麻酔したモルモットへの抗原の静脈内投与による気管支収縮反応を 50% 阻害した (モンテルカストは 75%)。以上のように、プラニルカストのモルモット肺細胞膜及び dU937 細胞膜における

2. 4 非臨床試験の概括評価

LTD₄ 結合に対する阻害作用は、モンテルカストとほぼ同程度の効果があった。プラニルカストはモンテルカストと異なりアルブミン存在下でその効果が減弱したことから、モンテルカストはプラニルカストの *in vivo* での効果を上回る可能性が示唆された。実際に、*in vivo* 試験では、モンテルカストはプラニルカストの効力を上回った [4.3.1]。

以上より、モンテルカストは、Cys LT₁ 受容体の強力かつ選択的な拮抗薬であることが示された。本化合物は、LT の関与が示唆されている気管支喘息の治療に有用であると考えられた。

2.4.3 薬物動態試験

モンテルカストの非臨床薬物動態試験は初回新薬承認申請（10 mg FCT 及び 5 mg CT）時まで実施し、本薬の薬物動態成績は既に得られている [4.3.1]。それ以降、本薬に関する新たな非臨床薬物動態試験は実施していない。

本項では、これまでに得られたマウス、ラット及びサルの非臨床薬物動態試験成績を概括する。なお、動物は特に断らない限り雄を用い、単回経口投与の場合、絶食下で投与した。

吸収

モンテルカストを 2～10 mg/kg でマウス、ラット及びサルに単回静脈内投与したとき、マウスでは 64～82 min、ラットでは 69～98 min、サルでは 123～135 min の半減期 ($t_{1/2}$) で消失した。血漿クリアランス (CLp) は、マウスで 10.4～12.7 mL/min/kg、ラットで 12.3～17.6 mL/min/kg、サルで 2.09～2.79 mL/min/kg であった。静脈内投与時の血漿中濃度推移はいずれの動物種においても、10 mg/kg まで用量に比例して増加した。また、雌雄ラットにおけるモンテルカストの静脈内投与後の血漿中薬物動態は、投与量 0.25～8 mg/kg の範囲で雌雄ともに線形性を示し、性差はなかった。また、モンテルカストを 5 mg/kg でマウス、ラット及びサルに単回経口投与したとき、モンテルカストの最高血漿中濃度到達時間 (Tmax) はそれぞれ 30、23 及び 79 min であり、生物学的利用率は、マウス、ラット及びサルでそれぞれ 46、30 及び 36% であった。マウス及びラットで 200 mg/kg、サルで 150 mg/kg まで投与量を 5 mg から増量して経口投与したところ、いずれの動物種においても血漿中濃度時間曲線下面積 ($AUC_{0-\infty}$) 及び最高血漿中濃度 (Cmax) は、検討した用量の範囲でほぼ比例して増加した [4.3.1]。

ラットに 5 mg/kg のモンテルカストを 1 日 1 回 14 日間反復経口投与したとき、モンテルカストの Cmax 及び $AUC_{0-6\text{ hr}}$ は 1 日目と 14 日目で有意に変化しなかった [4.3.1]。

ラットの胃、十二指腸、空腸及び回腸ループに [^{14}C]モンテルカスト 5 mg/kg を注入し、吸収部位の検討を行ったところ、十二指腸、空腸及び回腸に注入した場合、注入後 15 分での血漿中放射能濃度は 0.3～0.4 $\mu\text{g eq. to montelukast/mL}$ であった。結紮した胃に注入したときには血漿中に放射能が検出されなかったことから、モンテルカストの主要吸収部位は小腸と推定される [4.3.1]。

分布

モンテルカストと血漿蛋白との結合率は高く、マウス、ラット及びサルでいずれも 99% 以上であった。モンテルカストの血球移行性はいずれの種でも低く、赤血球／血漿中濃度比は約 0.2 であった。また、モンテルカストを 2 mg/kg で単回静脈内投与したときの定常状態分布容積 (V_d, ss) は、3 種の動物で 0.199～0.906 L/kg であった [4.3.1]。

[^{14}C]モンテルカストをラットに投与し、放射能の各組織への分布を調べた。静脈内又は経口投与後、放射能は広く全身に分布した。両投与経路で消化管の他に肝、腎、リンパ節、静脈内投与では脾臓及び脂肪、経口投与では副腎及び心臓における放射能は他の組織に比べて高かった。経口投与後の消化管を除く各組織の放射能は投与後 4 時間までに最高濃度に達し、その後、時間

の経過とともに減衰した。静脈内及び経口投与後 24 時間で残存する放射能は微量又は検出限界以下であった。また、ラット脳内では放射能が検出されたが、血液脳関門透過性は低かった。妊娠ラット及びウサギにおいて、モンテルカストは胎盤を通過し、胎児中未変化体濃度は母体血漿中濃度の 5～12%であった。また、 $[^{14}\text{C}]$ モンテルカストを経口投与したラットの全身オートラジオグラフィーでは、投与後 24 時間で放射能は胎児からほとんど検出されなかった。ラットにおいてモンテルカストは乳汁に移行し、乳汁中濃度は血漿中の約 30%であった [4.3.1]。

代謝

モンテルカストの代謝物として、カルボン酸部分のグルクロン酸抱合体 (M1)、酸化代謝によるスルホキシド体 (M2)、25 位水酸化体 (M3)、21 位水酸化体 (M5) 及び 36 位水酸化体 (M6) が検出されており、M6 は更に酸化されてジカルボン酸体 (M4) となる。また、M2、M4、M5 及び M6 には各々2種類のジアステレオマーが存在する [4.3.1]。これら、代謝物の *in vitro* における効果 (LTD_4 受容体に対する親和性) は、モンテルカストと比較して同程度又はそれ以下であった (2.4.2 薬理試験)。

ラット及びマウスを用いた *in vivo* での検討で、主代謝経路はグルクロン酸抱合 (M1) であり、主排泄経路である胆汁中に排泄された。血漿中には M1、M2、M5 及び M6 が存在した。また、サル血漿中では M1、M5 及び M6 が検出された。ラット及びサルの血漿中では未変化体が主として存在した [4.3.1]。

雌雄ラットにモンテルカスト 400 又は 800 mg/kg を 1 日 1 回 4 日間反復経口投与したところ、雌雄ともにエトキシトリフルオロメチルクマリン *O*-脱エチル化 (EFCOD) 活性は、陰性対照群に比べて有意に変化しなかった。モンテルカストにより、肝臓中のチトクローム P450 は誘導されなかった [4.3.1]。

排泄

胆管にカニューレを挿入したラットに $[^{14}\text{C}]$ モンテルカストを静脈内投与したとき、投与後 6 時間までに胆汁中に排泄された放射能は投与量の 96.0%であったが、腸肝循環は認められなかった。胆汁中に排泄された未変化体は投与した放射能の 4%未満であり、モンテルカストは主として代謝により消失した。ラット及びサルにおいて、静脈内投与後の尿中放射能排泄率は投与量の 1%未満であり、残りの大部分は糞中に排泄された [4.3.1]。

2.4.4 毒性試験

モンテルカストの単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験及びその他の毒性試験については、初回新薬承認申請（10 mg FCT 及び 5 mg CT）時まで実施し、本薬の毒性に関する成績は既に得られている。

今回、1 歳以上 6 歳未満の小児を対象とした新剤型・新用量（4 mg 細粒剤）の申請にあたり、追加試験の必要性を検討した。幼若動物における反復投与毒性試験としては、生後 4 週の幼若サルを用いた 14 週間反復投与毒性試験成績 [4.3.1 197 頁] が初回新薬承認申請時に既に得られていた。同試験において、高用量である 150 mg/kg/day 群でモンテルカスト投与に起因した毒性は認められず、幼若サルにおける無毒性量は成熟サルの場合（150 mg/kg/day）と同様であった。したがって、成熟サルに比べて、幼若サルで毒性がより強くは発現しないと考えられた。更に、幼若サルに 150 mg/kg/day のモンテルカストを単回投与した時の全身曝露量（AUC_{0-24 hr}：雄で 933.2 µg·hr/mL、雌で 654.3 µg·hr/mL）は、1 歳以上 6 歳未満の小児に臨床推奨用量 4 mg を単回投与した時の全身曝露量（2.72～3.04 µg·hr/mL）（外国臨床試験成績：2.7.2.2.1.5 及び 2.7.2.2.1.6）の約 220～340 倍であった。以上の試験成績から、1 歳以上 6 歳未満小児での安全性は担保されているものと判断した。

また、新剤型である細粒剤の製造工程中及び保存中に安全性の確認が必要な閾値以上の量が存在する新たな不純物は検出されず、原薬由来の不純物も増加しなかった（2.3.P.5 製剤の管理）。

以上のことから、幼若動物での安全性に加え、細粒剤中の不純物及び分解物の安全性も確認されていると考え、今回の申請にあたり新たな毒性試験を実施しなかった。

2.4.5 総括及び結論

モンテルカストは、LTD₄の受容体（Cys LT₁受容体）に選択的な拮抗薬であり、成人及び6歳以上小児に対する気管支喘息治療薬として既に製造承認を取得している。今回、1歳以上6歳未満の小児を対象とした新剤型・新用量（4 mg 細粒剤）の申請にあたり、新たな非臨床試験は必要ないと考えて実施しなかったため、既承認資料で報告した非臨床薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験を概括するとともに、細粒剤の製造工程中又は保存中に検出された不純物の安全性について述べた。

各種 *in vitro* 薬理試験により、モンテルカストは Cys LT₁ 受容体の強力かつ選択的な拮抗薬であることを示した。また、モンテルカストは、各種 *in vivo* 喘息モデル動物を用いた試験においても、LTD₄ 及び抗原誘発による気管支収縮を抑制し、即時型及び遅発型の特異的気道抵抗の上昇を阻害した。

非臨床薬物動態試験において、モンテルカストの生物学的利用率は、マウス、ラット及びサルでそれぞれ 46、30 及び 36%であった。モンテルカストは、ラットにおいて広く全身に分布し、カルボキシル基のグルクロン酸抱合及び酸化が主代謝経路であった。ラット及びマウスにおいて、モンテルカストは主に胆汁中に排泄された。ヒトでのモンテルカストの吸収率は良好で、未変化体及び代謝物の主排泄経路は胆汁を介する糞中排泄であると考えられる。ヒトにおいて検出されているすべての代謝物は、毒性試験で用いたマウス、ラットあるいはサルで検出されており、それらの安全性は評価されている。

生後4週の幼若サルを用いた14週間反復投与毒性試験において、高用量である 150 mg/kg/day 群でモンテルカスト投与に起因した毒性は発現せず、幼若サルにおける無毒性量は成熟サルを用いた場合（150 mg/kg/day）と同等であった。したがって、成熟サルに比べて、幼若サルで毒性がより強く発現することはないと考えられた。更に、幼若サルに 150 mg/kg/day のモンテルカストを単回投与した時の全身曝露量（AUC_{0-24 hr}）は、1歳以上6歳未満の小児に臨床推奨用量 4 mg を単回投与した時の全身曝露量の約 220～340 倍であった。以上の試験成績から、1歳以上6歳未満小児における安全性は担保されていると判断した。また、新剤型である細粒剤の製造工程中及び保存中に安全性の確認が必要な閾値以上の量が検出された新たな不純物はなく、原薬由来の不純物も増加しなかった。

以上、初回申請時に得られた非臨床試験成績から、モンテルカストは今回の申請対象患者である1歳以上6歳未満の小児に対する気管支喘息の治療にも有用であり、安全であると考えられる。

2.4.6 参考文献一覧

- 4.3.1 シングレア錠 10／キプレス錠 10／シングレアチュアブル錠 5／キプレスチュアブル錠 5（モンテルカストナトリウム）資料概要