

エカード配合錠 4

エカード配合錠 8

2.4 非臨床試験に関する概括評価

武田薬品工業株式会社

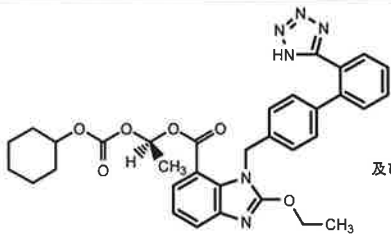
目 次

2.4 非臨床に関する概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略	1
2.4.2 薬理試験	2
2.4.3 薬物動態試験	3
2.4.4 毒性試験	4
2.4.5 総括及び結論	13
2.4.6 参考文献一覧	14

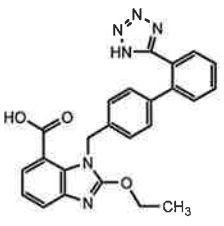
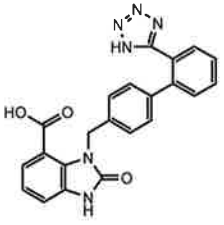
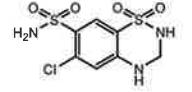
2.4 非臨床に関する概括評価

略号一覧表

略号 (略称)	化学名	化学構造式	由来
C. C. (TCV-116)	(<i>RS</i>)-1-[(Cyclohexyloxy)carbonyloxy]ethyl 2-ethoxy-1-{[2'-(1 <i>H</i> -tetrazol-5-yl) biphenyl-4-yl]methyl}-1 <i>H</i> -benzimidazole- 7-carboxylate JAN: カンデサルタン シレキセチル r-INNM: candesartan cilexetil		原 薬
類縁物質－Ⅰ			原薬製造工程由来
類縁物質－Ⅱ			原薬製造工程由来 熱分解生成物 酸分解生成物
類縁物質－Ⅲ			熱分解生成物
類縁物質－Ⅳ			熱分解生成物
類縁物質－Ⅴ			熱分解生成物

2.4 非臨床に関する概括評価

略号一覧表 (つづき)

類縁物質－VI			熱分解生成物 原薬製造工程由来
代謝物－I M－I (CV－11974)	2-Ethoxy-1-{{[2'-(1 <i>H</i> -tetrazol-5-yl)biphenyl-4-yl]methyl}-1 <i>H</i> -benzimidazole-7-carboxylic acid		代謝物 アルカリ分解生成物
代謝物－II M－II	2-Oxo-3-{{[2'-(1 <i>H</i> -tetrazol-5-yl)biphenyl-4-yl]methyl}-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzimidazole-4-carboxylic acid		代謝物
HCTZ	6-Chloro-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -1,2,4-benzothiadiazine-7-sulfonamide 1,1-dioxide JAN: ヒドロクロロチアジド r-INN: hydrochlorothiazide		原薬
CTZ			原薬製造工程由来
ACB			熱分解生成物 原薬製造工程由来
HU-1			熱分解生成物 原薬製造工程由来

2.4 非臨床に関する概括評価

略号一覧表（つづき）

略号及び使用している表現	説 明
TCV-116C	カンデサルタン シレキセチル/ヒドロクロチアジド配合剤（開発コード）
AII	angiotensin II（アンジオテンシン II）
ACE	angiotensin converting enzyme（アンジオテンシン変換酵素）

2.4 非臨床に関する概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

レニン・アンジオテンシン系(RA系)は、アンジオテンシンⅡ(AII)を産生し、血圧の調節や体液量及び電解質のホメオスタシスに極めて重要な役割を果たすとともに、高血圧症の進展と維持における最も重要な調節系の1つと考えられている。AIIの産生を阻害するアンジオテンシンⅠ変換酵素(ACE)阻害薬は、高血圧症治療薬として広く用いられているが、ACEによらないAIIの産生経路の存在及びブラジキニンの分解を阻害することに起因する空咳の発生などの問題点も指摘されている。AII受容体拮抗薬(ARB)は、産生される全てのAIIの作用に対し受容体レベルで拮抗し、キニン系の代謝に影響しないことから、RA系に特異的で副作用の少ない高血圧治療薬として期待される。そこで我々は経口投与により強力かつ持続的なAII拮抗作用を有する非ペプチド性拮抗薬の創製に取り組み、カンデサルタン シレキセチル(C.C.)を見出した。C.C.は本邦において既に承認されており、臨床において安全性の高い薬剤として広く用いられている。一方、ヒドロクロチアジド(HCTZ)も臨床において広く用いられているチアジド系利尿薬で、循環血液量を減少させることにより降圧効果を示すが、利尿作用に伴うRA系の活性化が知られており、そのために降圧作用が減弱すると考えられている。

TCV-116Cはこれら異なる降圧メカニズムを有するC.C.とHCTZを組み合わせることにより、相加効果を超えた相乗効果が期待される。すなわち、HCTZにはRA系賦活による血漿レニン活性上昇の結果、長期間使用すると降圧効果が減弱することがあるとされているが、ここにRA系を抑制するC.C.が加わることにより、C.C.は本来の降圧効果に加えてHCTZのRA系への賦活作用による降圧効果の減弱を補い相乗的な降圧効果をもたらす、長期間持続する強力な降圧効果を示すと考えられる。したがってC.C.とHCTZの併用は、その薬理学的作用からも適した組み合わせであると考えられる。また、安全性の面からもC.C.とHCTZの併用は合理的と考える。すなわち、HCTZの副作用の一つとして知られる低カリウム血症はHCTZの尿細管におけるナトリウム再吸収抑制に伴い尿中カリウム排泄が促進される結果引き起こされることが考えられるが、C.C.にはアルドステロン分泌低下によるカリウム上昇作用が知られていることから、C.C.とHCTZを併用することによりHCTZによる低カリウム血症の軽減が期待できる。

本非臨床試験では薬効薬理、薬物動態及び毒性試験を行い、両薬の併用による有効性と安全性を評価した。なお、安全性及び一般薬理試験は実施しなかったが、その点に関する考察を行った。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

C.C.と HCTZ との併用投与による降圧効果について、カンデサルタン シレキセチル及びブロプレス錠の製造承認申請時に提出した試験結果を記載した。

(1) 高血圧自然発症ラット（SHR）における C.C.及び HCTZ の併用による降圧作用

SHR を用いて C.C.と HCTZ を併用した場合に生じる有効性の変化について、単剤使用との比較により検証を行った。実験の結果、C.C.は 1mg/kg の反復経口投与により単独で降圧作用を示し、HCTZ の 10mg/kg 反復経口投与においては単独で利尿作用を示すことが明らかとなった。更に、C.C.の降圧作用は HCTZ との併用により増強するという成績が得られた。一方、HCTZ の利尿効果に対して、C.C.はほとんど影響を与えなかった。また、脈拍数に関して、C.C.+HCTZ 群と C.C.群の間にほとんど差は認められなかった。

2.4.2.2 安全性・一般薬理試験

「医薬品の承認申請について」(平成 17 年 3 月 31 日 薬食発第 0331015 号 厚生労働省医薬食品局長通知) の別表 2-(1)において、新医療用配合剤の一般薬理試験の実施要否については「個々の医薬品により判断される」となっているが、以下の理由により TCV-116C では安全性・一般薬理試験を実施しなかった。

C.C.は既に承認済みの医薬品であり、一般薬理試験の結果より循環器系以外への作用はほとんどないことが知られている。また、HCTZ は広く医療現場で使用されている医薬品であり、ACE 阻害薬や他の AII 受容体拮抗薬との併用療法も行われているが、それらの薬効用量において各単剤の実績から予想し得ない有害な急性作用は報告されていない。したがって、本配合剤投与により临床上危惧すべき新規の作用はないものと考えた。

毒性試験及び薬物動態試験においては、ラット及びイヌに C.C.と HCTZ を併用しても両剤の薬物動態における相互作用はほとんどないことが確認されており、更に国内及び海外で実施された臨床試験においても両剤の薬物動態における相互作用はほとんどないことが確認されている。

ラットの単回投与毒性試験において、C.C.の 2000 mg/kg と HCTZ の 1000 mg/kg を併用投与しても異常は見られず、中枢作用を示唆する所見は認められなかった。ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験においても C.C.と HCTZ を併用投与した場合に、C.C.の薬理作用に関連する変化を増強させたが、新たな毒性の発現は見られていない。

また、今回の申請にあたり実施した臨床試験においても、各単剤で見られる薬理作用以外、临床上問題となるような特異的な作用は認められなかった。

以上のことから、C.C.と HCTZ を併用投与しても新たな薬理作用が発現する可能性は極めて低いと考えられ、TCV-116C の安全性・一般薬理試験は不要であると判断した。

2.4.3 薬物動態試験：資料番号 4.2.2.4-1（評価）

C.C.と HCTZ は既に本邦で承認済みのため、本概括評価では C.C.と HCTZ 併用投与時の薬物相互作用の観点からカンデサルタン シレキセチル及びプロプレス錠の製造承認申請時に実施した試験結果を記載した。

また、新たに各種ヒトチトクローム P450(CYP)分子種の代謝反応に与える M-I や HCTZ の影響を調べたので、この結果についても記載した。

なお、ヒトでの薬物動態試験成績においても、本剤投与時の各成分の薬物動態特性は各単剤投与時と大きく異なることはなかったことから、非臨床試験成績及び海外・国内臨床試験成績に基づき、本剤の承認申請に当たり新たな非臨床試験を実施する必要はないと考えた。

ラット及びイヌに C.C.と HCTZ を併用経口投与及びそれぞれの薬物を単独投与したときの薬物動態を調べた。その結果、ラットに C.C.と HCTZ を併用投与してもそれらの薬物の体内動態はほとんど変化しなかったが、イヌでは C.C.の活性代謝物 M-I の半減期の延長と AUC の増加傾向が、また、HCTZ の半減期の短縮と AUC の減少傾向がみられた。

C.C.の代謝物 M-I、M-II と HCTZ のヒト血清アルブミン結合を介した相互作用を *in vitro* で調べたところ、いずれの化合物もたん白結合の競合作用を示さなかった。

M-I の肝薬物代謝酵素系に対する作用を検討するために、C.C.を反復経口投与したラットの肝ミクロソームを用いてミクロソームのたん白量、酵素活性及び含量を測定した結果、いずれの投与量においても全く影響はみられず、肝酵素誘導及び低下作用はないことが確認された。

M-I 及び HCTZ、さらに M-I と HCTZ の混液は、ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験でいずれのヒト CYP 分子種に対しても代謝反応を阻害する作用は認められなかった。

2.4.4 毒性試験

TCV-116C の毒性評価に際しては、C.C.と HCTZ の毒性学的な相互作用の評価を主眼とし、ラット単回投与毒性試験、ラット及びイヌ反復投与毒性試験（4 及び 13 週試験）、遺伝毒性試験（培養細胞遺伝子突然変異試験、培養細胞染色体異常試験、細菌復帰突然変異試験、マウス小核試験、ラット骨髓染色体異常試験及びラット肝細胞 *in vivo/in vitro* UDS 試験）並びにマウス、ラット及びウサギ生殖発生毒性試験（胚・胎児発生に関する試験）を実施した。ラット及びイヌの 4 週間反復投与毒性試験については、カンデサルタン シレキセチル及びプロプレス錠の製造承認申請時に提出した試験結果を記載した。

ラットにおける単回経口投与毒性試験では C.C./HCTZ の概略の致死量は 2000mg/1000 mg/kg 以上と判断した。

ラット及びイヌにおける反復経口投与毒性試験では、4 及び 13 週間経口投与毒性試験において C.C.の薬理作用に関連する変化である尿量及び飲水量の高値、赤血球数の低値、尿素窒素の高値、心臓重量の低値、腎臓の旁糸球体細胞の肥大、腎小葉間動脈内膜増殖及び副腎球状帯の萎縮などに加え、C.C.の薬理作用の過度の発現による毒性変化と考えられる好塩基性尿細管又は尿細管再生若しくは拡張並びに尿毒症から派生した二次的変化である胃のびらんや潰瘍などが C.C.単独投与群及び C.C./HCTZ 併用投与群で見られた。イヌにおいては尿毒症による死亡も認められた。これら C.C.の薬理作用に関連する変化は、HCTZ の併用によって増強されたが、質的に異なる新たな毒性変化の発現はなかった¹。4 週間経口投与毒性試験の無毒性量はラットで 30 mg/10 mg/kg、イヌで 4 mg/10 mg/kg であり、13 週間経口投与毒性試験の無毒性量はラットで 1 mg/10 mg/kg、イヌで 4 mg/30 mg/kg であった。

遺伝毒性試験では、培養細胞（L5178Y/TK）を用いる遺伝子突然変異試験において、M-I/HCTZ 併用による変異誘発作用の増強は認められなかった。培養細胞（CHL）を用いる染色体異常試験においては、M-I/HCTZ 併用により S9 mix 存在下で HCTZ の最高用量（10 mmol/L をわずかに上回る 3000 mg/mL）のみで染色体異常誘発作用が増強された。C.C./HCTZ については、細菌を用いる復帰突然変異試験、マウス小核試験、ラット骨髓染色体異常試験及びラット肝細胞を用いる *in vivo/in vitro* UDS 試験のいずれにおいても遺伝毒性は認められなかった。

マウス、ラット及びウサギにおける生殖発生毒性試験では、マウスではいずれの投薬群においても投薬による影響は見られず、無毒性量は母動物及び胎児とも 1000 mg/10 mg/kg/日以上であった。ラットでも 100 mg/10 mg/kg/日まで投与しても胚・胎児致死作用及び催奇形性作用を示さなかった。ウサギでは母動物に対する毒性が強く、母動物に対する無毒性量は 0.3 mg/10 mg/kg/日であったが、投薬による胎児への影響はいずれの C.C./HCTZ 投薬群においても見られなかった。

2.4.4.1 単回投与毒性試験：資料番号 4.2.3.1-1（評価）

C.C.の毒性に対する HCTZ の修飾を明らかにする目的で、C.C.の用量は投与可能な最大用量である 2000 mg/kg を最高用量とし、公比 2 で 1000 mg/kg も設定した。一方、HCTZ の用量は、

¹ カンデサルタン シレキセチル及びプロプレス錠製造承認申請書添付資料概要（特別部会用）216～223 頁

ラットで最大の薬理作用が期待できる用量である 10 mg/kg¹の 100 倍であり、急性毒性を調べることにも可能な用量として 1000 mg/kg を選択した。その結果、C.C./HCTZ の 2000 mg/1000mg/kg を単回経口投与したラットでは異常症状や死亡はなかった。C.C./HCTZ の概略の致死量は 2000mg/1000mg/kg 以上と判断した。

2.4.4.2 反復投与毒性試験：資料番号 4.2.3.2-1 (評価), 4.2.3.2-2 (評価), 4.2.3.2-3 (評価), 4.2.3.2-4 (評価)

(1) ラット

4 週間経口投与毒性試験においては、C.C.単剤の毒性試験結果を参考に、無毒性量 (300 mg/kg/日) の C.C. に対して HCTZ の最大の薬理作用が期待できる用量である 10 mg/kg/日¹を組み合わせたものを高用量 (300 mg/10mg/kg/日) とし、以下 HCTZ の用量を 10 mg/kg/日に固定し、C.C. の用量を段階的に下げる形で用量設定を行った。その結果、C.C. の薬理作用に関連する尿量及び飲水量の高値、赤血球数の低値、尿素窒素の高値、心臓重量の低値、腎臓の旁糸球体細胞の肥大及び副腎球状帯の萎縮などが C.C. 単独群及び併用群で見られた。C.C. の薬理作用は HCTZ の併用投与によって増強されることから、上記の C.C. の薬理作用に関連する変化についても HCTZ の併用によって増強されたが、新たな毒性変化の発現はなかった。HCTZ の 10 mg/kg/日 を 4 週間併用した場合の C.C. の無毒性量は 30 mg/kg/日 と判断した。

13 週間経口投与毒性試験に関しては、1 回目の試験 (試験 I) において、HCTZ を 10 mg/kg/日 と固定した場合の 4 週間経口投与毒性試験の C.C. の無毒性量 (30 mg/kg/日) よりも高い用量の C.C. (100 mg/kg/日) に対して、HCTZ の最大の薬理作用が期待できる用量である 10 mg/kg/日 を組み合わせたものを高用量とし、以下 HCTZ の用量を固定し、C.C. の用量を段階的に下げる形で C.C. の用量反応性を検討した。2 回目の試験 (試験 II) では、試験 I における C.C. の高用量 (100 mg/kg/日) と試験 I よりも高い用量の HCTZ を併用投与し、その結果を試験 I (HCTZ 用量：10 mg/kg/日) と比較することで HCTZ の用量反応性を確認することを意図し、HCTZ の用量を 30 mg/kg/日 とした。以上の試験設定により、同一試験内では HCTZ の用量を 10 又は 30 mg/kg のいずれかに固定し、C.C. の用量のみを変動させた条件下における C.C. の用量変動効果を評価すると共に、試験 I 及び II で共通する C.C. 用量 (100 mg/kg) を用い、それぞれの試験で異なる HCTZ の用量での反応を比較することによって、HCTZ の用量変動効果を評価した。その結果、試験 I 及び II では C.C. の薬理作用に関連する尿量及び飲水量の高値、赤血球数の低値、尿素窒素の高値、心臓重量の低値、腎臓の旁糸球体細胞の肥大及び副腎球状帯の萎縮などが併用群で見られ、また、腎臓の好塩基性尿細管が 10 mg/10 mg 及び 100 mg/10 mg/kg 群で見られた。HCTZ の 10 mg/kg/日 を 13 週間併用した場合の C.C. の無毒性量は 1 mg/kg/日 と判断した。HCTZ を 30 mg/kg/日に増量した試験 (試験 II) の成績を HCTZ の用量が 10 mg/kg の場合と比べると、体重増加抑制、尿素窒素やクレアチニンの高値、腎臓の旁糸球体細胞の肥大、腎小葉間動脈内膜増殖などの変化が HCTZ の増量によって強くなる傾向が見られたが、好塩基性尿細管と胃のびらん

¹ Inada Y, Shibouta Y, Shimakawa H, Nishikawa K, Kikuchi S. 1,4-Dimorpholino-7-phenylpyrido [3,4-d] pyridazine (DS-511) as a new type of diuretic agent. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* 1978; 28: 1105-11.

又は粘膜の再生といった毒性変化には顕著な増強は見られなかった。

(2) イヌ

4 週間経口投与毒性試験においては、C.C.単剤の毒性試験結果を参考に、無毒性量（20 mg/kg/日）よりも一段高い用量（100 mg/kg/日）のC.C.に対して、HCTZの最大の薬理作用が期待できる用量である 10 mg/kg/日^{1,2}を組み合わせたものを高用量（100 mg/10mg/kg/日）とし、以下HCTZの用量を 10 mg/kg/日に固定し、C.C.の用量を段階的に下げる形で用量設定を行った。その結果、100 mg/10 mg/kg群の雌雄計 6 例中 5 例の全身状態が悪化し、切迫屠殺した。これらの例では、尿素窒素やクレアチニンの高値及び腎臓や胃の病理変化などがあり、尿毒症が全身状態悪化の原因と判断した。生存例では、赤血球数の低値、尿素窒素の高値、腎臓の旁糸球体細胞の肥大などがC.C.単独群及び併用群で見られた。これらC.C.の薬理作用に関連する変化はHCTZの併用によって増強したが、新たな毒性変化の発現はなかった。HCTZの 10 mg/kg/日を 4 週間併用した場合のC.C.の無毒性量は 4 mg/kg/日と判断した。

13 週間経口投与毒性試験に関しては、1 回目の試験（試験Ⅰ）において、HCTZを 10 mg/kg/日と固定した場合の 4 週間経口投与毒性試験の C.C.の無毒性量（4 mg/kg/日）よりも高い用量の C.C.（20 mg/kg/日）に対して、HCTZ の最大の薬理作用が期待できる用量である 10 mg/kg/日を組み合わせたものを高用量とし、以下 HCTZ の用量を固定し、C.C.の用量を段階的に下げる形で C.C.の用量反応性を検討した。2 回目の試験（試験Ⅱ）では、試験Ⅰよりも高い用量の HCTZ を併用投与し、その結果を試験Ⅰ（HCTZ 用量：10 mg/kg/日）と比較することで HCTZ の用量反応性を確認することを意図し、HCTZ の用量を 30 mg/kg/日とした。ただし、試験Ⅰの高用量の併用投与（C.C./HCTZ：20 mg/10 mg/kg/日）で死亡が発現したため、20 mg/30 mg/kg/日という組み合わせは実施せず、その一段下の用量（4 mg/kg/日）の C.C.に HCTZ 30 mg/kg/日を併用投与した。以上の試験設定により、同一試験内では HCTZ の用量を 10 又は 30 mg/kg のいずれかに固定し、C.C.の用量のみを変動させた条件下における C.C.の用量変動効果を評価すると共に、試験Ⅰ及びⅡで共通する C.C.用量（4 mg/kg）を用い、それぞれの試験で異なる HCTZ の用量での反応を比較することによって、HCTZ の用量変動効果を評価した。試験Ⅰの結果、20 mg/10 mg/kg 群の雌 3 例中 2 例の全身状態が悪化し切迫屠殺した。尿素窒素やクレアチニンの高値及び腎臓や胃の病理変化などがあり、尿毒症が全身状態悪化の原因と判断した。生存例では、C.C.及び HCTZ の薬理作用による尿浸透圧の低値やC.C.の薬理作用に関連する腎臓旁糸球体細胞の肥大が併用群で見られた。HCTZ の 10 mg/kg/日を 13 週間併用した場合の C.C.の無毒性量は 4 mg/kg/日と判断した。HCTZ を 30 mg/kg/日に増量した試験Ⅱでは、新たな毒性変化の発現や毒性の増強は見られず、HCTZ の 30 mg/kg/日を 13 週間併用した場合でも C.C.の無毒性量は 4 mg/kg/日と判断した。したがって、両試験の結果を総合すると、13 週間経口投与毒性試験における無毒性量は 4 mg/30 mg/kg/日であった。

¹ Inada Y, Shibouta Y, Shimakawa H, Nishikawa K, Kikuchi S. 1,4-Dimorpholino-7- phenylpyrido [3.4-d] pyridazine (DS-511) as a new type of diuretic agent. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* 1978; 28: 1105-11.

² Kau ST, Howe BB, Johnston PA, Li JHY, Halterman TJ, Zuzack JS, et al. Renal and antihypertensive effects of a novel eukalemic diuretic, ICI 207,828. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1991; 260: 450-7.

2.4.4.3 遺伝毒性試験：資料番号 4.2.3.3.1-1 (評価), 4.2.3.3.1-2 (評価), 4.2.3.3.1-3 (評価), 4.2.3.3.2-1 (評価), 4.2.3.3.2-2 (評価), 4.2.3.3.2-3 (評価)

C.C.又はその活性代謝物 M-I 並びに HCTZ を使用し、細菌を用いる復帰突然変異試験、培養細胞 (L5178Y/TK) を用いる遺伝子突然変異試験、培養細胞 (CHL) を用いる染色体異常試験、マウス小核試験、ラット骨髓染色体異常試験及びラット肝細胞を用いる in vivo/in vitro UDS 試験を実施した。

細菌を用いる復帰変異試験においては、試験計画立案時の臨床推定用量 (C.C. 8 mg/HCTZ 12.5 mg 又は C.C. 4 mg/HCTZ 12.5 mg) を考慮して、C.C.及び HCTZ の混合比を 1 : 2 及び 1 : 4 とし、混合物の最高用量は医薬品毒性試験法ガイドライン (平成元年 9 月 11 日) で定められている 5000 μ g/プレート若しくは細菌の生育阻害が見られる用量とした。その結果、C.C./HCTZ は S9 mix の有無にかかわらず細菌に対して遺伝毒性を示さなかった。

培養細胞 L5178Y (TK +/-) (マウスリンフォーマ細胞) を用いる遺伝子突然変異試験においては、C.C.の活性代謝物である M-I の用量は HCTZ の 2500 μ g/mL を併用した予備試験で過度の細胞毒性が見られなかった 25 μ g/mL とし、HCTZ については単独処理では 125~3483 μ g/mL とし、M-I との併用では 250~3000 μ g/mL とした。この際の HCTZ の最高用量は OECD のガイドライン [OECD Test Guideline 476 (1984)] で定められている“生存率が低レベルに抑えられる用量”を満足する用量とした。その結果、HCTZ と M-I との併用による変異誘発作用の増強は認められなかった。培養細胞 CHL (チャイニーズハムスター由来肺細胞) を用いる染色体異常試験においては、C.C.の活性代謝物である M-I の用量は染色体異常が誘発されないと考えられる濃度である 200 μ g/mL [M-I 単独での染色体異常試験における最大無影響量 : 0.625 mmol/L (約 277 μ g/mL)] とし、HCTZ については 25~3000 μ g/mL とした。この際の HCTZ の最高用量は医薬品毒性試験法ガイドライン (平成元年 9 月 11 日) で定められている“10 mmol/L (約 3000 μ g/mL) 若しくは分裂細胞の観察が可能な用量”を満足する用量とした。その結果、M-I は S9 mix 非存在下では HCTZ の染色体異常誘発作用に影響を及ぼさず、一方 S9 mix 存在下では HCTZ の最高用量 (10 mmol/L をわずかに上回る 3000 μ g/mL) のみでその作用を増強すると結論された。

In vivo の遺伝毒性試験であるマウス小核試験、ラット骨髓染色体異常試験及びラット肝細胞を用いる in vivo/in vitro UDS 試験においては、試験計画立案時の臨床推定用量 (C.C. 8 mg/HCTZ 12.5 mg 又は C.C. 4mg/HCTZ 12.5 mg) を考慮し、C.C.及び HCTZ の混合比を 1 : 2 とした。なお、高用量群では C.C.の 1000 mg/kg/日と HCTZ の 2000 mg/kg/日とを併用し、医薬品毒性試験法ガイドライン (平成元年 9 月 11 日) で定められている“最大耐量又は限度用量 (2000 mg/kg)”を満足する用量とした。その結果、いずれの試験においても C.C./HCTZ は遺伝毒性を示さなかった。

2.4.4.4 がん原性試験

実施しなかった (2.4.4.11 考察参照)。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

2.4.4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

実施しなかった (2.4.4.11 考察参照)。

2.4.4.5.2 胚・胎児発生に関する試験：資料番号 4.2.3.5.2-1 (評価), 4.2.3.5.2-2 (評価), 4.2.3.5.2-3 (評価)

C.C.単剤の生殖発生毒性試験結果を参考に、主要な生殖発生毒性試験である胚・胎児発生に関する試験をマウス、ラット及びウサギを用いて実施した。ラット及びウサギでは毒性量 (ラット：100 mg/kg/日, ウサギ：3 mg/kg/日) の、マウスでは生殖発生毒性試験の投与限界量とされている 1000 mg/kg/日のC.C.に対して、HCTZの最大の薬理作用が期待できる用量である 10 mg/kg/日^{1,2}を組み合わせたものを高用量とした。以下HCTZの用量を固定し、C.C.の用量を段階的に下げる形で中及び低用量を設定した。

(1) マウス

母動物及び胎児のいずれの投薬群においても、投薬の影響は見られなかったため、無毒性量は母動物及び胎児とも 1000 mg/10 mg/kg/日以上と判断した。

(2) ラット

すべてのC.C./HCTZ投薬群で母動物の体重増加が抑制され、摂餌量が低値を示したため、母動物に対する無毒性量は 10 mg/10 mg/kg/日未満と判断した。胎児については 30 mg/10 mg/kg 以上の群で骨化仙尾椎数の低値が見られ、100 mg/10 mg/kg 群で胎児体重が低下したため、無毒性量は 10 mg/10 mg/kg/日と判断した。ただし、いずれのC.C./HCTZ投薬群においても着床数、胎児死亡率及び性比に投薬の影響は認められず、外表、内臓及び骨格観察においても投薬に起因したと考えられる異常及び変異が見られなかったため、100 mg/10 mg/kg/日まで投与しても胚・胎児致死作用及び催奇形性作用を示さないと判断した。

(3) ウサギ

1 mg/10 mg/kg 群の 18 例中 5 例及び 3 mg/10 mg/kg 群の 18 例中 14 例の母動物が死亡し、これらの死亡例において糞便量の減少、下痢、体重減少、摂餌量低値、尿素窒素及びクレアチニンの高値、腎臓の退色及び胃粘膜のうっ血が見られた。したがって、母動物に対する無毒性量は 0.3 mg/10 mg/kg/日であると判断した。投薬による胎児への影響は、いずれのC.C./HCTZ投薬群においても見られなかったが、ウサギにおいては母動物毒性が強く 3 mg/10 mg/kg 群では 18 母動物中 4 母動物の胎児しか評価できなかったことを考慮し、胎児に対する無毒性量は 1 mg/10 mg/kg/日と判断した。

2.4.4.5.3 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

実施しなかった (2.4.4.11 考察参照)。

¹ Inada Y, Shibouta Y, Shimakawa H, Nishikawa K, Kikuchi S. 1,4-Dimorpholino-7-phenylpyrido [3.4-d] pyridazine (DS-511) as a new type of diuretic agent. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* 1978; 28: 1105-11.

² Kau ST, Howe BB, Johnston PA, Li JHY, Halterman TJ, Zuzack JS, et al. Renal and antihypertensive effects of a novel eukalemic diuretic, ICI 207,828. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1991; 260: 450-7.

2.4.4.6 局所刺激性試験

本配合剤の臨床適用経路は経口であり、反復投与試験において C.C.単独又は C.C./HCTZ 併用経口投与時に口腔、舌、消化器などにおける局所刺激性が確認されなかったことから、局所刺激性試験を実施しなかった。

2.4.4.7 依存性試験

C.C.又は HCTZ の単独投与及び C.C./HCTZ 併用投与による各種毒性試験並びに C.C.又は HCTZ の臨床使用において、依存性が危惧されるような中枢作用が認められていないため、依存性試験を実施しなかった。

2.4.4.8 代謝物の毒性試験

C.C.の活性代謝物 M-I 及び主要代謝物 M-II の安全性については、C.C.単剤の申請時に実施した各種毒性試験において評価済みであり、C.C.及び HCTZ との間には薬物動態における相互作用はないと考えられたため、代謝物の安全性評価は新たに実施しなかった。

2.4.4.9 不純物の毒性試験

C.C.の類縁物質に関しては、配合剤での類縁物質の限度値が C.C.単剤のそれと同じであること、C.C.単剤の申請時に実施した類縁物質-I～VIの毒性試験において遺伝毒性が認められず、新たな毒性の発現や C.C.の毒性の増強もなかったこと、並びに単剤が既に医療現場で広く用いられていることから、類縁物質の安全性については問題がないことがすでに評価済みであると判断した。

HCTZ の類縁物質に関しては、ACB 及び HU-1 の合剤での限度値（各 1.0%）が HCTZ 原薬の欧州薬局方の規格値（個々の類縁物質について 0.5%）の 2 倍になっているが、欧米又は日本での HCTZ 単剤の承認用量と今回の配合剤における HCTZ の用量にも 2 倍以上の開きがあるため、HCTZ の医療現場における長年にわたる広範な使用実績も考慮すると、いずれの類縁物質の安全性にも問題がないことが評価されているものと判断した。

また、海外においては配合剤が既に上市され臨床現場で広く用いられており、合剤の類縁物質の安全性について問題がないことが評価されている。したがって、本配合剤の不純物の毒性試験は新たに実施しなかった。

2.4.4.10 トキシコキネティクス

反復投与試験ではラット及びイヌについて、生殖試験ではウサギ及びマウスについて血漿中薬物濃度を評価したところ、ウサギの死亡例を除き、C.C.の活性代謝物である M-I と HCTZ の血漿中濃度には薬物動態学的な相互作用が認められず、C.C.及び HCTZ の血漿中濃度は用量に依存して上昇した。

2.4.4.11 考察

(1) 毒性試験メニューの選択に関する考察

C.C.については、急性毒性、亜急性・慢性毒性、生殖発生毒性、遺伝毒性、がん原性などの毒性評価が実施され、既に承認されている。また、HCTZは臨床での使用実績が豊富なチアジド系利尿薬であり、アメリカNIH主導で実施されているNational Toxicology Program (NTP)において非臨床における毒性評価が網羅的に行われている¹。よって、TCV-116Cの毒性評価に際しては、C.C.とHCTZの毒性学的な相互作用の評価を主眼とし、ラット単回投与毒性試験、ラット及びイヌ反復投与毒性試験（4及び13週試験）、遺伝毒性試験（培養細胞遺伝子突然変異試験、培養細胞染色体異常試験、細菌復帰突然変異試験、マウス小核試験、ラット骨髓染色体異常試験及びラット肝細胞in vivo/in vitro UDS試験）並びにマウス、ラット及びウサギ生殖発生毒性試験（胚・胎児発生に関する試験）を実施した。

「医薬品の承認申請について」（平成17年3月31日 薬食発第0331015号 厚生労働省医薬食品局長通知）の別表2-(1)において、本剤は「新医療用配合剤」に該当し、更に剤型が錠剤であることから、本剤の承認申請書に添付すべき毒性試験に関する資料の対象試験としては単回投与試験及び反復投与試験のみが必要となるが、C.C.単剤においては妊婦又は妊娠している可能性のある婦人への投与は禁忌とされていることや培養細胞（CHL）を用いたC.C.単剤の染色体異常試験における切断型染色体異常の頻度増加（ただし、他の8種類の遺伝毒性試験では陰性）を考慮して、配合剤の催奇形性試験及び遺伝毒性試験も実施した。

一方、がん原性試験、局所刺激性試験、依存性試験及び抗原性試験については本通知に従い、試験を実施しなかった。

また、C.C.単剤のイヌ単回投与では2000 mg/kgまでを投与しても全く毒性所見はなく、C.C.単剤のラットの26週試験並びにイヌの26及び52週試験の質的な毒性プロファイルはC.C.単剤の4週試験又は併用投与の4及び13週試験におけるプロファイルと本質的な差がなかったと判断されたため、イヌ単回投与毒性試験、ラット及びイヌの慢性毒性試験を実施せずとも本薬の安全性を保證できると判断した。更には、National Toxicology Program (NTP)¹で実施されたラット及びマウスの2週、13週、1年及び2年試験においては、ラットでは体重増加抑制、腎臓の石灰沈着、腎尿細管の変性・壊死が、マウスでは体重増加抑制、膀胱の炎症・上皮過形成・結石、腎尿細管の変性・壊死がそれぞれ報告されているが、これらの変化についてはHCTZの薬理作用から説明可能と解釈されており、一部の変化については、C.C.とHCTZの13週までの併用投与反復毒性試験においても確認された。したがって、本薬の安全性については、今回実施した各種毒性試験で評価しうると判断した。

生殖試験に関しては、一般的には、受胎能及び初期胚発生に及ぼす影響、出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に及ぼす影響、並びに、胚・胎児発生に及ぼす影響を調べるが、これらはいずれもC.C.単剤の生殖発生毒性試験により評価され、ACE阻害薬と同様、妊婦又は妊娠している可能性のある婦人への投与は禁忌とされている。また、授乳中の婦

¹ NIH Publication No. 89-2812, National Toxicology Program, Technical Report Series No.357 (1989)

人への投与を避け、やむを得ず投与する場合は授乳中止とされている。この警告に従い、妊娠したいという意思のある患者並びにその患者の担当医は妊娠が不明な時期からの投与に対しても注意を払うことに加え、妊娠が判明した後に投与される可能性も少ないと想定されるが、妊娠しているにもかかわらず、それが初期であるため確認できずに服用し、胎児毒性の発現に至るといふ事故が最も危惧されたため、上記の一般的な生殖発生毒性試験メニューのうち、妊娠が不明な時期からの投与を想定した試験である胚・胎児発生に関する試験をマウス、ラット及びウサギを用いて実施し、併用投与による新たな催奇形性作用の発現又はHCTZによるC.C.の作用の増強の可能性を調べた。なお、妊娠が不明な時期からの投与という観点からは、受胎から着床までの初期胚発生の時期も相当するが、C.C.単独投与、HCTZ単独投与（National Toxicology Program¹）及びC.C./HCTZ併用投与の反復毒性試験並びにC.C.単独投与の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において、雌雄の生殖器又は親動物の繁殖能に投薬に起因した変化が見られていないことから、C.C./HCTZ併用投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験を実施する必要性はないと判断した。

なお、[redacted]の妥当性について、医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構（医薬品機構）による治験相談において（平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日）[redacted]
[redacted]
[redacted]
[redacted]
[redacted]との見解が医薬品機構から示されている（医機治発第[redacted]号、平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日）。

(2) 用量設定根拠に関する考察

各試験の項で記載したような用量設定根拠に基づき各種毒性試験を実施した結果、臨床試験で用いられる治験薬のC.C.とHCTZの配合比と各種毒性試験で併用投与（併用添加）されたC.C.とHCTZの配合比とは必ずしも一致しなかった。その理由としては、非臨床での安全性を評価する時点においては臨床試験で使用する治験薬のC.C.とHCTZの配合比が未確定であったこと、また、臨床試験で使用する治験薬のC.C.とHCTZの配合比がほぼ決定された段階においても、薬物動態における種差の存在によりC.C.の活性代謝物であるM-IとHCTZの血漿中の存在比率が動物とヒトとでは一致しないため、治験薬と同じC.C.とHCTZの配合比を用い、かつ全身循環における暴露比率までも一致させた条件下で非臨床での安全性評価を行うことは難しいと考えられたことが挙げられる。したがって、一部の遺伝毒性試験を除き、配合比の決定には治験薬における両薬物の配合比やヒトにおける血漿中存在比よりも、各実験系（動物種/細胞種）の両薬物に対する感受性を優先的に考慮して用量設定を行った。

¹ NIH Publication No. 89-2812, National Toxicology Program, Technical Report Series No.357 (1989)

(3) 毒性試験で見られた諸変化の毒性学的評価

反復投与毒性試験においては、C.C.の薬理作用に関連する変化である尿量及び飲水量の高値、赤血球数の低値、尿素窒素の高値、心臓重量の低値、腎臓の旁糸球体細胞の肥大、腎小葉間動脈内膜増殖及び副腎球状帯の萎縮などに加え、薬理作用の過度の発現による毒性変化と考えられる腎臓の好塩基性尿細管又は尿細管再生若しくは拡張並びに尿毒症から派生した二次的变化である胃のびらん若しくは潰瘍又は死亡などがC.C.単独投与群及びC.C./HCTZ併用投与群で見られた。これらのC.C.による変化はHCTZの併用によって増強されたが、質的に異なる新たな毒性変化の発現はなかった。なお、C.C.単剤の毒性試験で見られた諸変化の機作、所見評価基準、薬理作用との関連及び臨床試験における血漿中薬物濃度との関連などに関する毒性学的な考察については、C.C.単剤申請時に評価済みである¹。

¹カンデサルタン シレキセチル及びプロプレス錠製造承認申請書添付資料概要（特別部会用）216～223 頁（反復投与毒性試験）、235～237 頁（生殖発生毒性試験）、247 頁（遺伝毒性試験）

2.4.5 総括及び結論

薬効薬理試験において、SHR における C.C.及び HCTZ の併用による降圧効果の増強を検討した。その結果、C.C. 1mg/kg と HCTZ 10mg/kg の 2 週間反復経口投与により、C.C.の降圧作用が明らかに増強された。以上より、降圧効果の発現に伴いレニン・アンジオテンシン系を活性化する HCTZ とレニン・アンジオテンシン系を抑制する C.C.の配合剤は降圧作用の増強の点において合理的であることが示され、TCV-116C は C.C.又は HCTZ の単独投与よりも強力な降圧作用を示す可能性が示唆された。

薬物動態試験では、C.C.と HCTZ をラットに併用経口投与しても両薬物の体内動態はほとんど変化しなかったが、イヌの場合には併用投与により M-I の半減期の延長と AUC の増加傾向が、また、HCTZ の半減期の短縮と AUC の減少傾向がみられた。M-I、M-II と HCTZ は、ヒト血清アルブミンに対して競合結合性を示さず、ヒトに C.C.と HCTZ を併用投与してもたん白結合の競合によってそれらの血中濃度が大きく変化することはないと考えられた。C.C.を反復経口投与したラットの肝ミクロソームを用いてミクロソームのたん白量、酵素活性及び含量を測定した結果、いずれの投与量においても全く影響はみられず、肝酵素誘導及び低下作用はないことが確認された。また、ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験において、M-I と HCTZ はいずれのヒト CYP 分子種に対しても代謝反応を阻害する作用は認められなかった。

毒性試験においては、ラット単回投与毒性試験、ラット及びイヌ反復投与毒性試験（4 及び 13 週試験）、遺伝毒性試験（培養細胞遺伝子突然変異試験、培養細胞染色体異常試験、細菌復帰突然変異試験、マウス小核試験、ラット骨髄染色体異常試験及びラット肝細胞 *in vivo/in vitro* UDS 試験）並びにマウス、ラット及びウサギ生殖発生毒性試験（胚・胎児発生に関する試験）を実施した結果、C.C.による既知の変化が HCTZ の併用によって増強されたケースが認められたが、いずれの試験においても併用によって質的に異なる新たな毒性変化の発現は認められず、遺伝毒性もなかった。

以上の非臨床試験成績より、TCV-116C は C.C.又は HCTZ の単独投与よりも強力な降圧作用を示し、降圧剤として開発することは妥当であると判断した。

2.4.6 参考文献一覧

該当なし。