

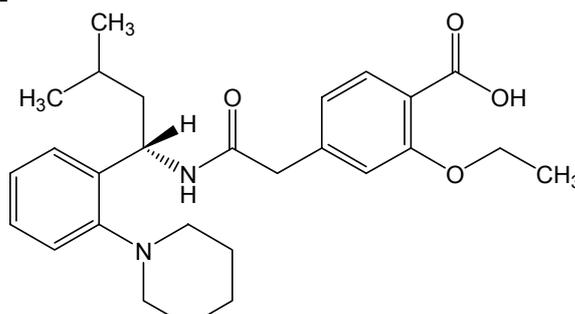
レパグリニド
製造販売承認申請
CTD 第2部

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

大日本住友製薬株式会社

【本項における用語の説明】

用語	定義、読み替えなど
レパグリニド	<p>化学名： (+)-(S)-2-Ethoxy-4-[2-[3-methyl-1-(2-piperidinophenyl)butylamino]-2-oxoethyl]benzoic acid</p> <p>化学式 (分子量)： $C_{27}H_{36}N_2O_4$ (452.59)</p> <p>構造式：</p> 

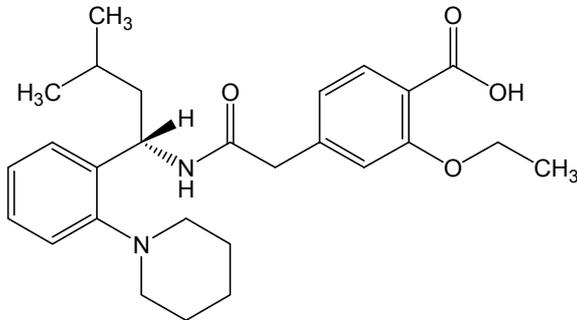
【一般的略号】

略号	省略しない表現	日本語
ATP	Adenosine triphosphate	アデノシン 3 リン酸
GK ラット	Goto-Kakizaki ラット	—
SUR	Sulfonylurea receptor	スルホニルウレア受容体

2.6.1 緒言

(1) 構造

レパグリニドは下記の化学構造を有する速効型インスリン分泌促進剤である。



(2) 薬理学的特性

レパグリニドは膵β細胞からのインスリン分泌を促進することにより、血糖降下作用を示す。そのメカニズムは、スルホニルウレア受容体1 (SUR1) に結合することによりATP感受性カリウムチャネルを閉鎖し、電位依存性カルシウムチャネルを開口することにより、インスリン分泌を促すものである。これは、スルホニルウレア剤や他の速効型インスリン分泌促進剤と同様であるが、SUR1上の結合部位はグリベンクラミドやナテグリニドとは異なることが示唆されている。

正常動物や糖尿病モデル動物を用いた薬効評価により、レパグリニドは速やかに吸収され、インスリン分泌を促進することにより、血糖降下作用を示したことから、食後血糖推移の改善に有効であると考えられる。血糖降下作用発現までの時間は、グリベンクラミドに比べ早く、その持続性は、ボグリボースに比べ長かった。グルコース負荷 GK ラットにおいて、同じ速効型インスリン分泌促進剤であるナテグリニドと血糖降下作用を比較したところ、レパグリニドの方が低用量で同程度の作用を示した。また、ボグリボースとの併用効果を検討したところ、レパグリニドのインスリン分泌促進作用とボグリボースの糖吸収抑制作用が相加的に働き、血糖上昇抑制作用に対する両剤の併用効果が確認されたことから、臨床においてもレパグリニドとα-グルコシダーゼ阻害剤との併用効果が期待される。

(3) 適応症及び用量に関する情報

適応症 (効能・効果)	2型糖尿病における食後血糖推移の改善 ただし、下記のいずれかの治療で十分な効果が得られない場合に限る。 (1) 食事療法・運動療法のみ (2) 食事療法・運動療法に加えてα-グルコシダーゼ阻害剤を使用
用法・用量	通常、成人にはレパグリニドとして1回0.25 mgより開始し、1日3回毎食直前に経口投与する。維持用量は通常1日0.25~0.5 mgで、必要に応じて適宜増減する。なお、1回量を1 mgまで増量することができる。

レパグリニド
製造販売承認申請
CTD 第2部

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

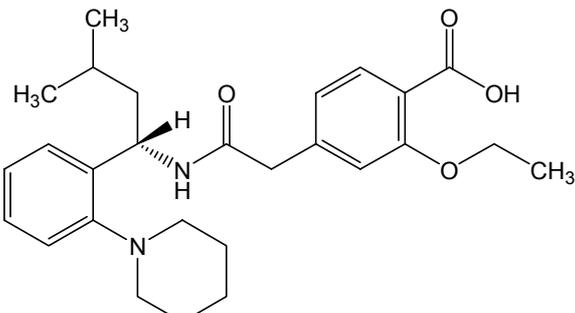
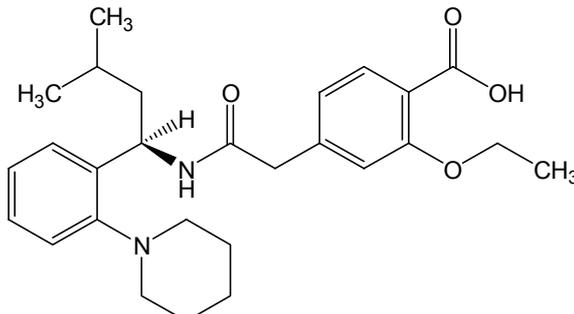
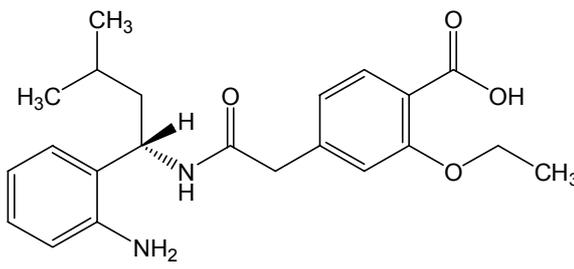
2.6.2 薬理試験の概要文

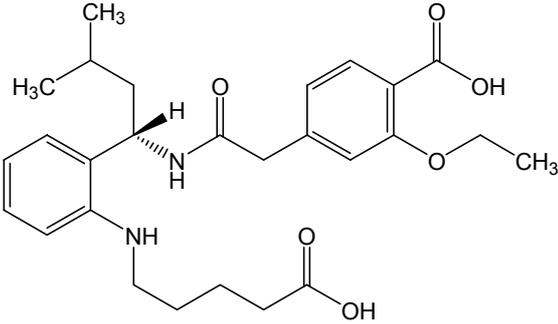
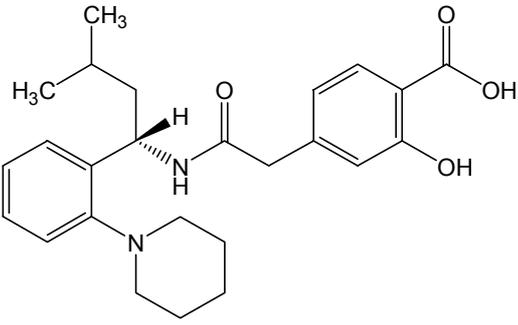
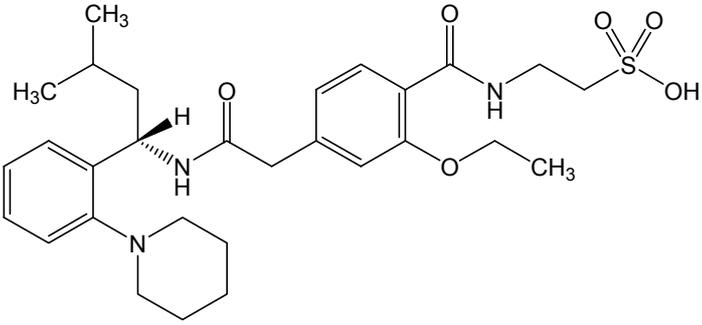
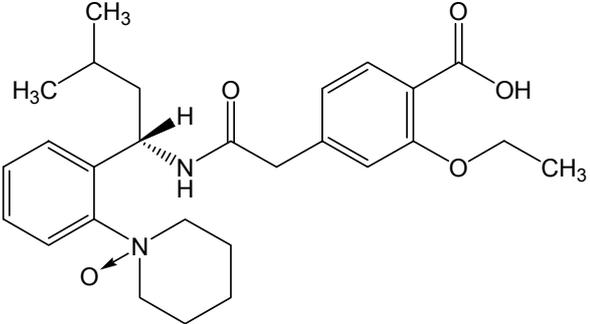
大日本住友製薬株式会社

目次

2.6.2 薬理試験の概要文	
2.6.2.1 まとめ.....	6
2.6.2.2 効力を裏付ける試験.....	10
2.6.2.3 副次的薬理試験.....	36
2.6.2.4 安全性薬理試験.....	37
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験.....	41
2.6.2.6 考察及び結論.....	42
2.6.2.7 図表.....	44
2.6.2.8 参考文献.....	44

【本項における用語の説明】

用語	定義、読み替えなど
レパグリニド	<p>化学名： (+)-(S)-2-Ethoxy-4-[2-[3-methyl-1-(2-piperidinophenyl)butylamino]-2-oxoethyl]benzoic acid</p> <p>化学式 (分子量)： $C_{27}H_{36}N_2O_4$ (452.59)</p> <p>構造式： </p>
AGEE 624 ZW ：レパグリニドの光学異性体	<p>化学名： (R)-2-Ethoxy-4-[2-[3-methyl-1-(2-piperidinophenyl)butylamino]-2-oxoethyl]benzoic acid</p> <p>化学式 (分子量)： $C_{27}H_{36}N_2O_4$ (452.59)</p> <p>構造式： </p>
M1 (代謝物：芳香族アミン体)	<p>構造式： </p>

<p>M2 (代謝物：ジカルボン酸体)</p>	<p>構造式：</p> 
<p>M5 (代謝物：フェノール体)</p>	<p>構造式：</p> 
<p>M6 : (代謝物：未変化体のタウリン抱合体)</p>	<p>構造式：</p> 
<p>M12 (代謝物：N-オキシド体)</p>	<p>構造式：</p> 

【一般的略号】

略号	省略しない表現	日本語
α -GI 剤	α -Glucosidase inhibitor	α -グルコシダーゼ阻害剤
ADP	Adenosine diphosphate	アデノシン 2 リン酸
ATP	Adenosine triphosphate	アデノシン 3 リン酸
AUC	Area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
ED ₅₀	50% Effective dose	50%有効投与量
EGTA	Ethylene glycol bis(β -aminoethylether)- <i>N,N,N',N'</i> -tetraacetic acid	エチレングリコールビス (β -アミノエチルエーテル) -N, N, N', N' -四酢酸
Fura-2/AM	Fura-2 acetoxymethyl ester	—
GDP	Guanosine diphosphate	グアノシン 2 リン酸
GK ラット	Goto-Kakizaki ラット	—
GLUT	Glucose transporter	グルコーストランスポーター
hERG	human ether-a-go-go related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
IC ₅₀	50% Inhibitory concentration	50%阻害濃度
K _{ATP} チャンネル	ATP sensitive potassium channel	ATP 感受性カリウムチャンネル
Kir	K ⁺ inward rectifier	内向き整流性カリウムチャンネル
MC	Methyl cellulose	メチルセルロース
QTc	corrected QT interval	補正 QT 間隔
SD	Sprague Dawley	—
STZ	Streptozotocin	ストレプトゾトシン
SU 剤	Sulfonylureas	スルホニルウレア剤
SUR	Sulfonylurea receptor	スルホニルウレア受容体
T _{max}	Time to maximum concentration	最高血漿中濃度到達時間
VDCC	Voltage-dependent calcium channel	電位依存性カルシウムチャンネル
ラ氏島	ランゲルハンス氏島	—

2.6.2.1 まとめ

2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験

レパグリニドの国内における第1相臨床試験の開始(1999年)前に、ラット及びイヌを用いてインスリン分泌促進作用及び血糖降下作用を評価した。その後、他剤との薬効比較、糖尿病モデルラットを用いた血糖上昇抑制作用の検討、薬効と血中薬物濃度の検討、 α -グルコシダーゼ阻害剤(α -GI剤)との併用効果検討、代謝物の血糖降下作用の検討、及び作用メカニズムの解析を実施した。レパグリニドの国内での申請に際しては、FDAに提出されたレパグリニドの承認申請資料の一部とそれ以降に実施した追加試験成績を評価資料とした。

(1) *In vivo* 薬効評価

正常ラットにレパグリニドを0.0003~0.1 mg/kgの用量にて単回静脈内投与したとき、0.003 mg/kg以上の用量において有意な血糖降下作用が確認された。正常ラットにレパグリニドを0.003~0.3 mg/kgの用量にて単回経口投与したとき、0.1 mg/kg以上の用量において有意な血糖降下作用及びインスリン分泌促進作用が確認された。また正常イヌにレパグリニドを0.01~1.0 mg/kgの用量にて単回経口投与したとき、0.03 mg/kg以上の用量において有意な血糖降下作用が、0.1 mg/kg以上の用量において有意なインスリン分泌促進作用が確認された。更にグルコース負荷正常ラットにレパグリニドを0.01~0.3 mg/kgの用量にて単回経口投与したとき、すべての用量において有意な血糖上昇抑制作用が確認され、それに先立つインスリン分泌促進作用がみられた。

ショ糖負荷正常ラット及びショ糖負荷ストレプトゾトシン(STZ)誘発糖尿病ラットを用いてレパグリニド(1 mg/kg)、スルホニルウレア剤(SU剤)であるグリベンクラミド(10 mg/kg)、 α -GI剤であるボグリボース(0.4 mg/kg)のショ糖負荷後の血糖上昇抑制作用を比較した。レパグリニドは正常ラット及び糖尿病モデルラットを用いたショ糖負荷試験において、血糖上昇抑制作用を示した。レパグリニドの作用発現までの時間は、グリベンクラミドに比べ早く、ボグリボースとほぼ同じであった。また、作用の持続時間は、ボグリボースに比べレパグリニドの方が長かった。

非肥満糖尿病モデル動物であるGoto-Kakizakiラット(GKラット)にグルコース負荷直前にレパグリニドを0.3~3 mg/kgの用量にて経口投与したところ、すべての用量において有意な血糖上昇抑制作用を示した。このとき、レパグリニドと同じ速効型インスリン分泌促進剤であるナテグリニドと血糖上昇抑制作用を比較したところ、両剤とも投与30分後の血漿中インスリン濃度を増加させ、投与60~180分後に血糖降下作用を示した。また、0.3 mg/kgのレパグリニドは50 mg/kgのナテグリニドと同等の血糖上昇抑制作用を示し、レパグリニドの方が低用量で作用することが示された。

レパグリニドと α -GI剤の併用効果を確認するため、ショ糖負荷正常ラットに0.1 mg/kgのレパグリニドと0.1 mg/kgのボグリボースを併用したところ、血糖上昇抑制作用に対する両剤の併用効果が確認された。レパグリニドのインスリン分泌促進作用とボグリボース

の糖吸収抑制作用が相加的に働いたことによるものと考えられた。

レパグリニドは、各種動物モデルにおいて速やかにインスリン分泌を促進し、血糖降下作用を示すことから、食後血糖推移の改善に有効であることが示された。

(2) 作用メカニズム

作用機序について検討した結果、レパグリニドは SU 剤や他の速効型インスリン分泌促進剤と同様に以下の過程により血糖降下作用を示すものと考えられた (図 2.6.2.1-1)。

膵 β 細胞上のスルホニルウレア受容体 (SUR) 1 へのレパグリニドの結合 \rightarrow ATP 感受性カリウムチャネル (K_{ATP} チャネル) の閉鎖 \rightarrow 細胞膜の脱分極 \rightarrow 電位依存性カルシウムチャネルの開口 \rightarrow 細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇 \rightarrow インスリン分泌促進 \rightarrow 血糖値の低下

レパグリニドはマウス膵臓より単離したランゲルハンス氏島 (ラ氏島) に対してインスリン分泌促進作用を示すこと、ラット新生児より単離した β 細胞の K_{ATP} チャネルを阻害すること、及び $\beta TC3$ 細胞 (マウスインスリンノーマ) に対して細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇作用を示すことが確認された。また、レパグリニドは SUR の一つである SUR1 と結合することが示されているが、その SUR1 上の結合部位はグリベンクラミドやナテグリニドとは異なることが示唆されている。

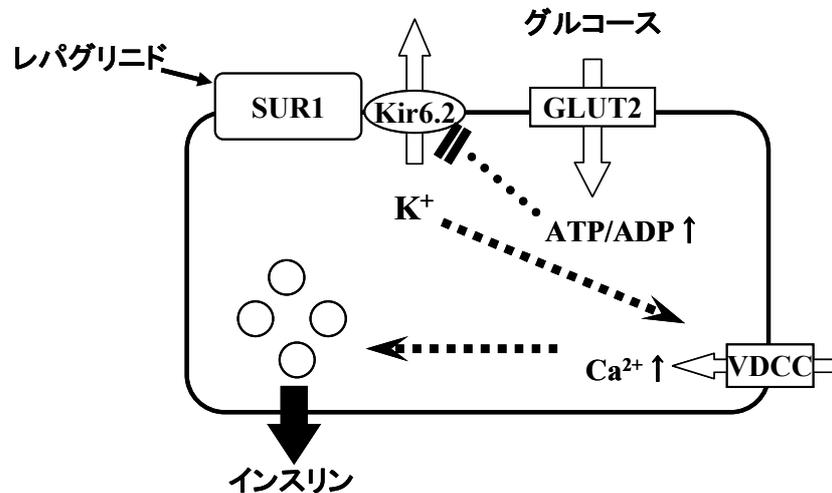


図 2.6.2.1-1 レパグリニドの膵 β 細胞におけるインスリン分泌誘導機序

SUR1 : スルホニルウレア受容体 1、Kir6.2 : 内向き整流性カリウムチャネル 6.2、
VDCC : 電位依存性カルシウムチャネル、GLUT2 : グルコーストランスポーター 2

(3) 光学異性体及び代謝物の血糖降下作用

レパグリニドの光学異性体である AGEE624ZW を正常ラットに 0.1 及び 1.0 mg/kg で単回静脈内投与すると、1.0 mg/kg でのみ血糖降下作用が認められた。しかし、その作用は

0.01 mg/kg のレパグリニドの作用と比較しても小さいものであったことから、AGEE624ZW の血糖降下作用は、レパグリニドと比べ非常に弱いと考えられた。また、レパグリニドから AGEE624ZW への生体内異性体変換は認められなかった。

ラット及びブイヌにおけるレパグリニドの主要代謝物である M1 (芳香族アミン体)、M2 (ジカルボン酸体)、M5 (フェノール体)、M6 (未変化体のタウリン抱合体) 及び M12 (N-オキシド体) を正常ラットに静脈内投与し、血糖降下作用を調べた。M1、M2 及び M6 は 1.0 mg/kg の投与でも血糖降下作用を示さなかった。M5 を 1.0 mg/kg 投与することにより弱い血糖降下作用が認められたが、0.1 mg/kg の投与量では作用が認められなかった。また、M12 は 0.03 mg/kg 以上の投与量において血糖降下作用が認められたが、0.01 mg/kg では血糖降下作用は認められなかった。よって、これら代謝物の血糖降下作用はレパグリニドよりも弱いと考えられた。更に血中の代謝物の存在量が未変化体に比べて少ないことより、レパグリニドを投与した時の血糖降下作用に与える代謝物の影響は小さいと考えられた。なお、ヒト血中においては、M12 は検出されず、M5 は検出されないか、検出されてもわずかであった。

2.6.2.1.2 副次的薬理試験

K_{ATP} チャンネルは、チャンネルのポアを形成する内向き整流性カリウムチャンネルと調整性サブユニットであるスルホニルウレア受容体 (SUR) から構成されており、SUR は分子構造の違いから膵 β 細胞型、心筋細胞型及び血管平滑筋細胞型に分類されている^{文献¹⁾}。生理的条件下、 K_{ATP} チャンネルは細胞内 ATP の増加により阻害され、細胞内 MgADP ないし MgGDP 濃度の増加により活性化されるといった特徴を持つ^{文献^{2),3)}}。レパグリニドに関する副次的薬理試験は実施していないが、公表文献から、膵 β 細胞型、心筋細胞型及び血管平滑筋細胞型 K_{ATP} チャンネル活性に対するレパグリニドの作用について考察した。なお、公表文献はすべて参考資料として添付した。

細胞内液中に MgGDP を含む条件下で、レパグリニドは HEK293 細胞に発現させた心筋細胞型及び血管平滑筋細胞型 K_{ATP} チャンネルに比べ、膵 β 細胞型 K_{ATP} チャンネルを選択的に阻害すること、膵 β 細胞型 K_{ATP} チャンネルを完全に阻害したのに対し、心筋細胞型 K_{ATP} チャンネルを完全には阻害しないことが報告されている。一方、細胞内液中にヌクレオチド二リン酸を含まない条件下、アフリカツメガエル卵母細胞膜画分に発現させた膵 β 細胞及び心筋細胞型 K_{ATP} チャンネルをレパグリニドが同程度阻害することが報告されている。しかしながら、細胞内液中に MgADP を含む条件下、レパグリニドによる膵 β 細胞型 K_{ATP} チャンネル阻害作用は増強されたが、心筋細胞型 K_{ATP} チャンネル阻害作用に影響を及ぼさなかった。

以上より、細胞内に MgADP ないし MgGDP が存在する生理的条件下でレパグリニドは膵 β 細胞型 K_{ATP} チャンネルを選択的に阻害することが示唆される。これらのことから、レパグリニドが臨床有効用量で心筋細胞型若しくは血管平滑筋細胞型 K_{ATP} チャンネルの阻害に基づく副作用を発現する可能性は低いと考えられる。

2.6.2.1.3 安全性薬理試験

一般薬理試験として、マウス及びラットの中樞神経系、ラット、ウサギ及びモルモットの呼吸・循環器系、自律神経系（モルモット摘出回腸）、ラットの消化器系と水及び電解質代謝に及ぼす影響を検討した。以下にそれらを要約する。

マウスにレパグリニドを単回経口投与し、中枢神経系に及ぼす影響を検討した結果、50ないし100 mg/kgで把握反射及びlanding反射の減弱、200 mg/kgで直腸温の低下が認められた。ラットでは12.5 mg/kgの経口投与で自発運動量の低下が認められた。

循環器系に及ぼす影響では、麻酔ラットで、レパグリニドの1 mg/kg静脈内投与により血圧上昇が認められ、更に3 mg/kgでは心拍数増加が認められた。麻酔ウサギにおいては、3 mg/kgの単回静脈内投与で3/6例で著明な血圧低下に伴う死亡が認められ、残る3/6例では血圧及び心拍数の変動が認められた。モルモット単離心室筋細胞において、1及び10 µmol/LでAPD₉₀の短縮が認められた。

自律神経系に及ぼす影響では、10 µmol/Lでモルモット摘出回腸のセロトニン誘発収縮の抑制が認められた。

ラット消化器系に及ぼす影響を検討した結果、2.5 mg/kgの単回経口投与で腸管内輸送能の亢進、200 mg/kgの単回経口投与で胃内容物排出能の抑制、200 mg/kgの単回十二指腸内投与で胃液分泌量及び胃酸分泌量の減少が認められた。

水負荷ラットでは、12.5 mg/kgの単回経口投与で尿量を増加させ、尿中Na⁺、K⁺、Cl⁻量を増加ないし減少させた。

今回の申請に際して安全性薬理試験ガイドラインに準拠したコアバッテリー試験を実施した。

レパグリニドは0.3 mg/kgの単回経口投与で無麻酔無拘束イヌにおいて血圧変動を示したが、偶発的变化と判断され、3 mg/kgの単回経口投与で血圧を上昇させた。なお、イヌの心拍数と心電図に対して、レパグリニドは3 mg/kgの単回経口投与で影響を及ぼさなかった。0.3 mg/kg経口投与時、未変化体のイヌC_{max}は809 ng/mLであり、ヒト1日最大臨床用量（1 mg/回、1日3回）における未変化体ヒト最高血漿中濃度（C_{max}: 53.0 ng/mL、試験番号：D4101005、5.3.4.2.1参照）の約15倍であった。レパグリニドは0.1 mg/kgの単回経口投与で投与後360分に無麻酔無拘束ラットで一回換気量の減少が認められたが、1及び10 mg/kgの単回経口投与では、無麻酔無拘束ラットの呼吸数と一回換気量に影響を及ぼさなかった。また、ラット一般症状・行動、hERG電流、ウサギ摘出プルキンエ線維の活動電位に影響を及ぼさなかった。ラット一般症状への無影響量（9.32 mg/kg）投与時の平均C_{max}は1980 ng/mLであり、ヒト1日最大臨床用量における未変化体ヒトC_{max}の約37倍であった。これらの結果から、レパグリニドが臨床有効用量で、重篤な中枢神経系、呼吸系及び心血管系副作用を発現する可能性は低いと考えられる。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 *In vivo* 薬効評価

(1) 正常ラットに対するレパグリニド単回静脈内及び経口投与の血糖降下作用（資料 4.2.1.1.1）

正常ラットを用いてレパグリニドの血糖降下作用を検討した。24 時間絶食した雌性 Wistar ラットにレパグリニド (0.0003~0.1 mg/kg) を単回静脈内投与し、投与前、投与後 30、60、120 及び 180 分の血糖値を測定した (図 2.6.2.2-1)。投与 60 分後の血糖値変化量は、0.003 mg/kg 以上の用量において対照群と比較して有意に低値であった (図 2.6.2.2-2)。

臨床の投与経路である経口投与により同様な検討を行った。24 時間絶食した雌性 Wistar ラットにレパグリニド (0.003~0.3 mg/kg) を単回経口投与し、投与前、投与後 30、60、120 及び 180 分の血糖値を測定した (図 2.6.2.2-3)。また、投与 30 分後の血漿中インスリン濃度を測定した (図 2.6.2.2-5)。対照群にはレパグリニドの懸濁媒体である 1.5% Tylose KN 2000 を投与した。投与 30 分後の血糖値変化量は、0.1 mg/kg 以上の用量において対照群と比較して有意に低値であった (図 2.6.2.2-4)。投与 30 分後の血漿中インスリン濃度は、0.1 mg/kg 以上の用量において対照群と比較して有意に増加した (図 2.6.2.2-5)。よってレパグリニドの正常ラットに対する血糖降下作用及びインスリン分泌促進作用が確認された。

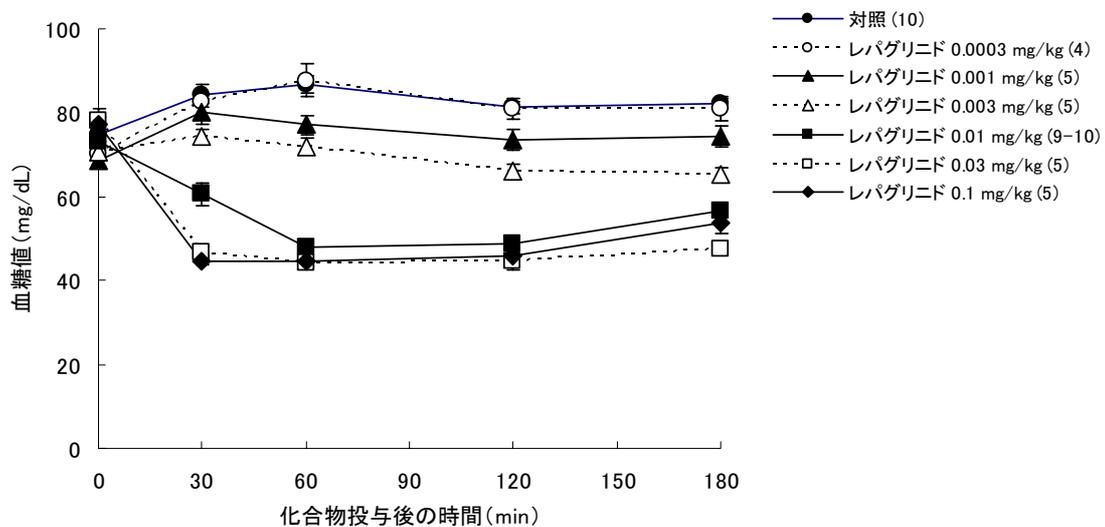


図 2.6.2.2-1 レパグリニドを単回静脈内投与した正常ラットの血糖値推移

24 時間絶食した正常ラットにレパグリニドを単回静脈内投与した。図中の値は Mean±SE を示す。凡例の () 内の数字は例数を示す。検定は実施していない。

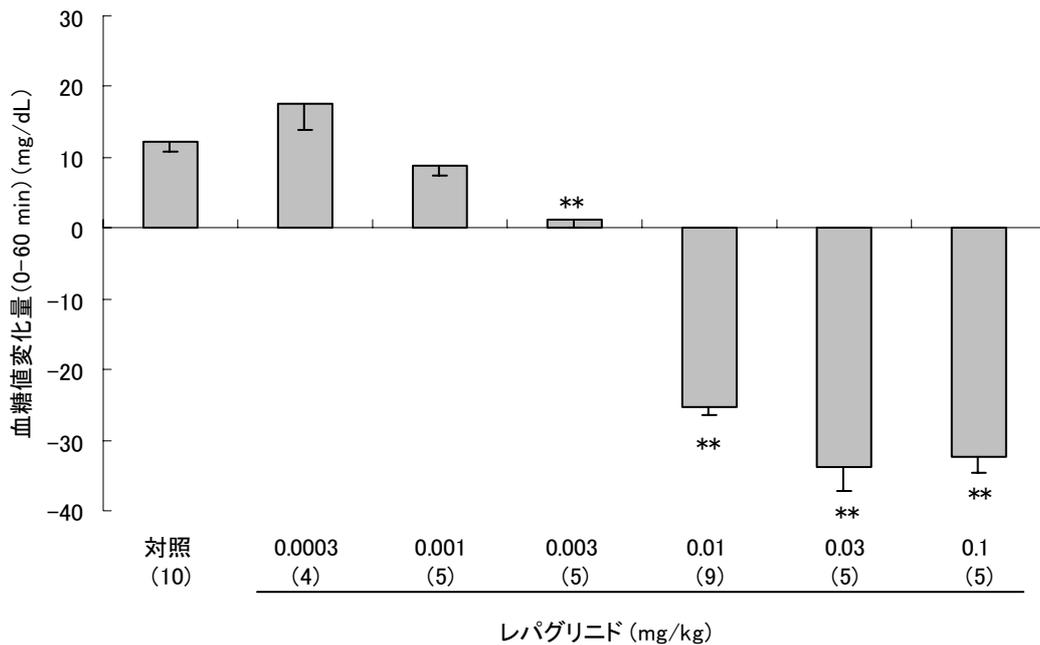


図 2.6.2.2-2 レパグリニドを単回静脈内投与した正常ラットの血糖値変化量 (0-60 min)
24 時間絶食した正常ラットにレパグリニドを単回静脈内投与した。投与前から投与 60 分後の血糖値変化量を Mean±SE で示した。各群の () 内の数字は例数を示す。**: p<0.01 vs 対照群 (Dunnett の多重比較)

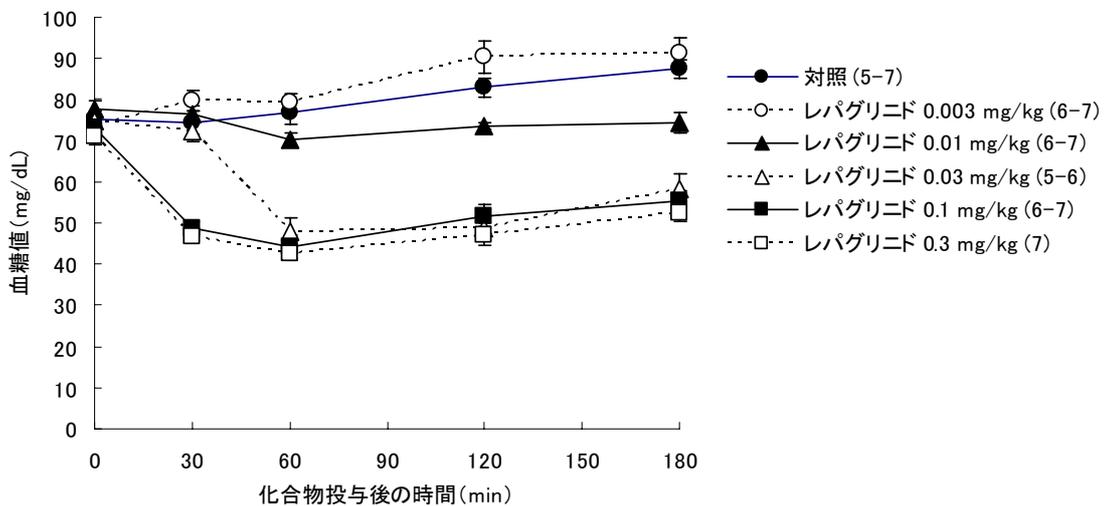


図 2.6.2.2-3 レパグリニドを単回経口投与した正常ラットの血糖値推移
24 時間絶食した正常ラットにレパグリニドを単回経口投与した。図中の値は Mean±SE を示す。凡例の () 内の数字は例数を示す。検定は実施していない。

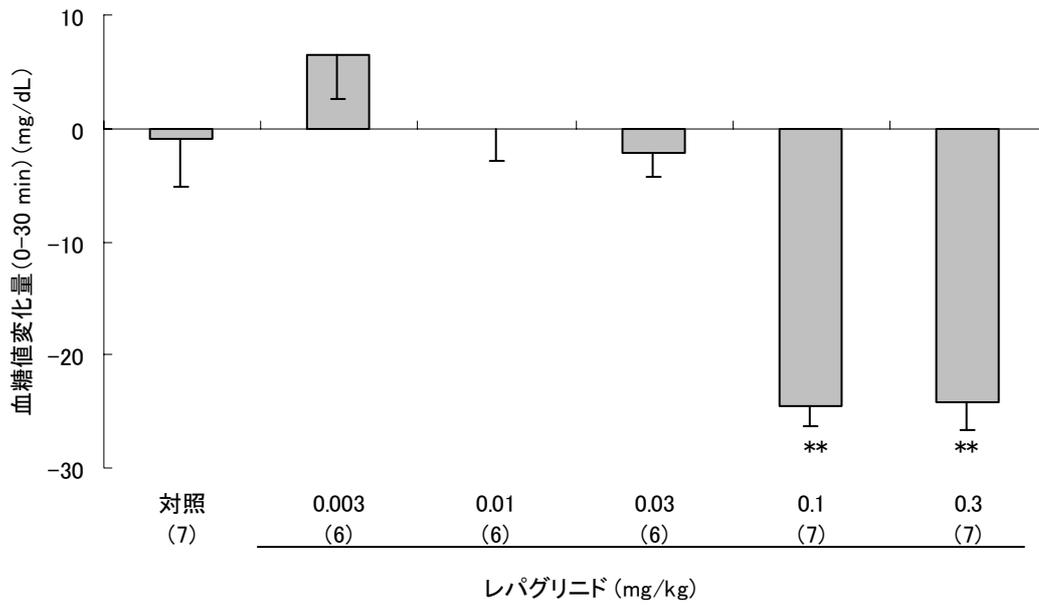


図 2.6.2.2-4 レパグリニドを単回経口投与した正常ラットの血糖値変化量 (0-30 min)

24 時間絶食した正常ラットにレパグリニドを単回経口投与した。投与前から投与 30 分後の血糖値変化量を Mean±SE で示した。各群の () 内の数字は例数を示す。**: p<0.01 vs 対照群 (Dunnett の多重比較)

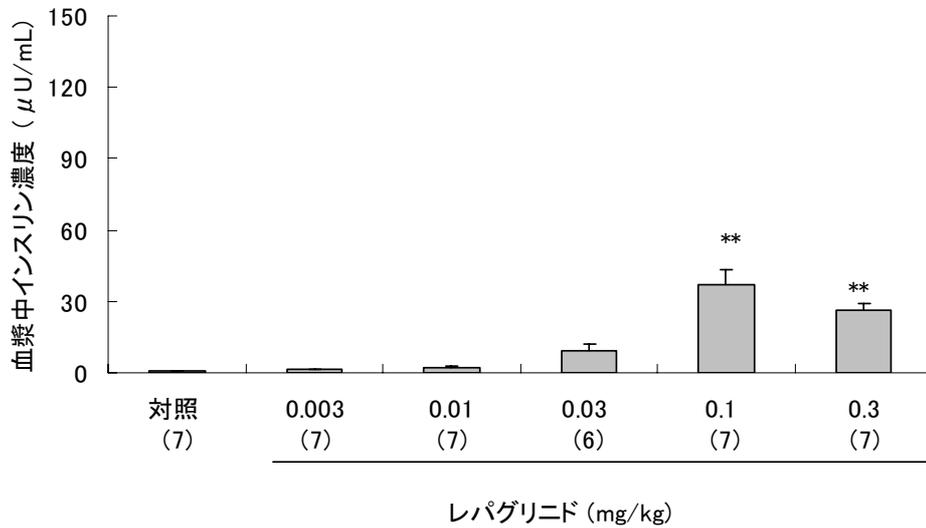


図 2.6.2.2-5 レパグリニドを単回経口投与した正常ラットの投与 30 分後の

血漿中インスリン濃度

24 時間絶食した正常ラットにレパグリニドを単回経口投与した。投与 30 分後の血漿中インスリン濃度を Mean±SE で示した。() 内の数字は例数を示す。**: p<0.01 vs 対照群 (Dunnett の多重比較)

(2) 正常イヌに対するレパグリニド単回経口投与による血糖降下作用 (資料 4.2.1.1.1)

正常イヌを用いてレパグリニドの血糖降下作用を検討した。20 時間絶食した雌性ビーグル犬にレパグリニド (0.01~1.0 mg/kg) を単回経口投与し、投与前、投与後 0.5、1、1.5、2、3、4、6、10 及び 24 時間の血糖値及び血漿中インスリン濃度を測定した (図 2.6.2.2-6、図 2.6.2.2-8)。対照群にはレパグリニドの懸濁媒体である 1.5% Tylose KN 2000 を投与した。投与 2 時間後の血糖値変化量は、0.03 mg/kg 以上の用量において、対照群と比較して有意に低値であった (図 2.6.2.2-7)。投与 1 時間後の血漿中インスリン濃度変化量は、0.1 mg/kg 以上の用量で対照群と比較して有意に高値であった (図 2.6.2.2-9)。よってレパグリニドの正常イヌに対する血糖降下作用及びインスリン分泌促進作用が確認された。

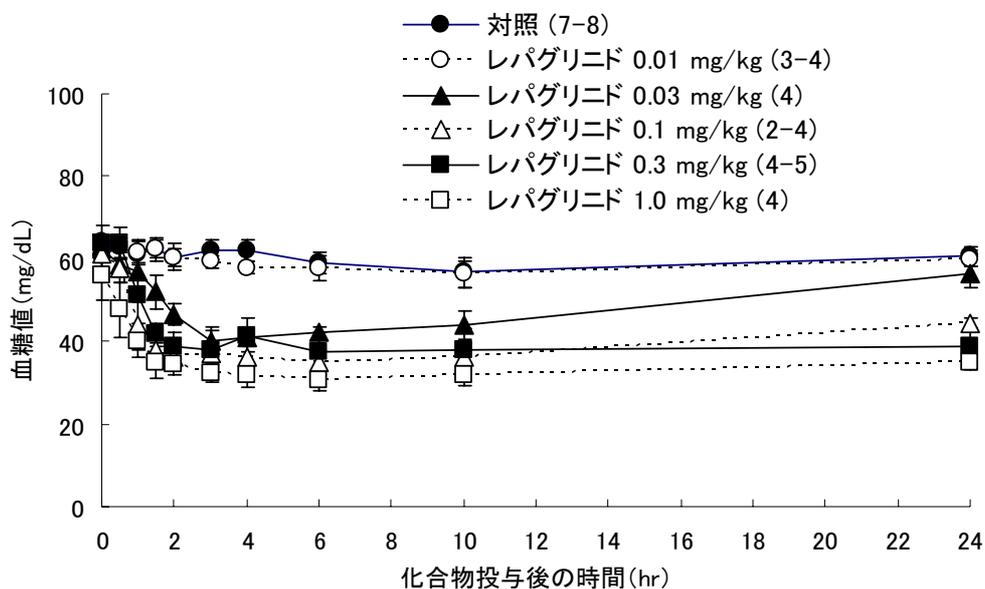


図 2.6.2.2-6 レパグリニドを単回経口投与した正常イヌの血糖値推移

20 時間絶食した正常イヌにレパグリニドを単回経口投与した。図中の値は Mean±SE を示す。凡例の () 内の数字は例数を示す。検定は実施していない。

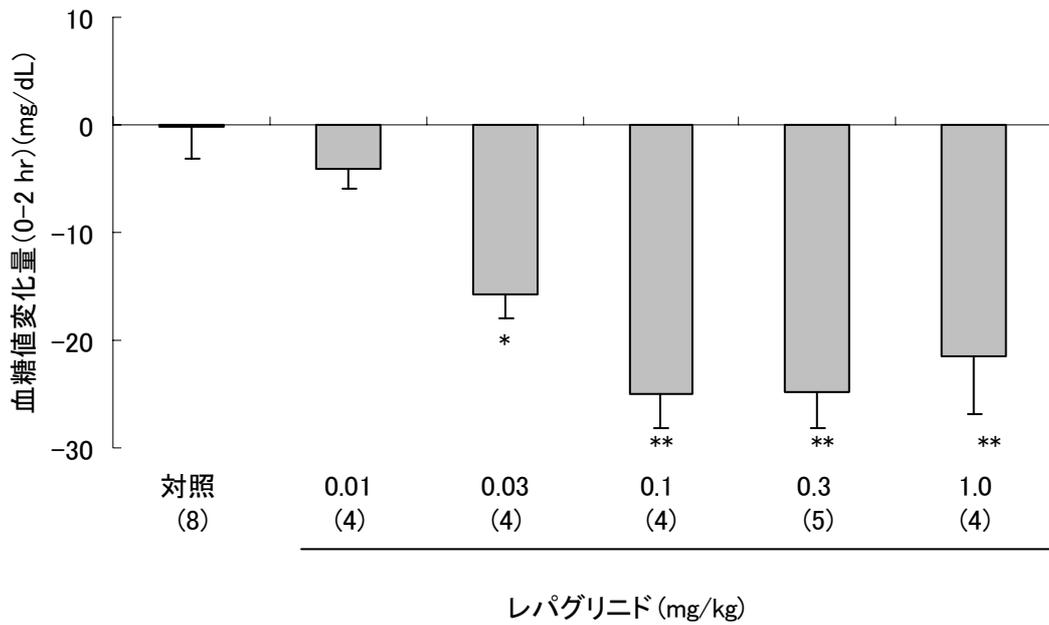


図 2.6.2.2-7 レパグリニドを単回経口投与した正常イヌの血糖値変化量 (0-2 hr)

20 時間絶食した正常イヌにレパグリニドを単回経口投与した。投与前から投与 2 時間後の血糖値変化量を Mean±SE で示した。各群の () 内の数字は例数を示す。*, **: p<0.05, p<0.01 vs 対照群 (Dunnett の多重比較)

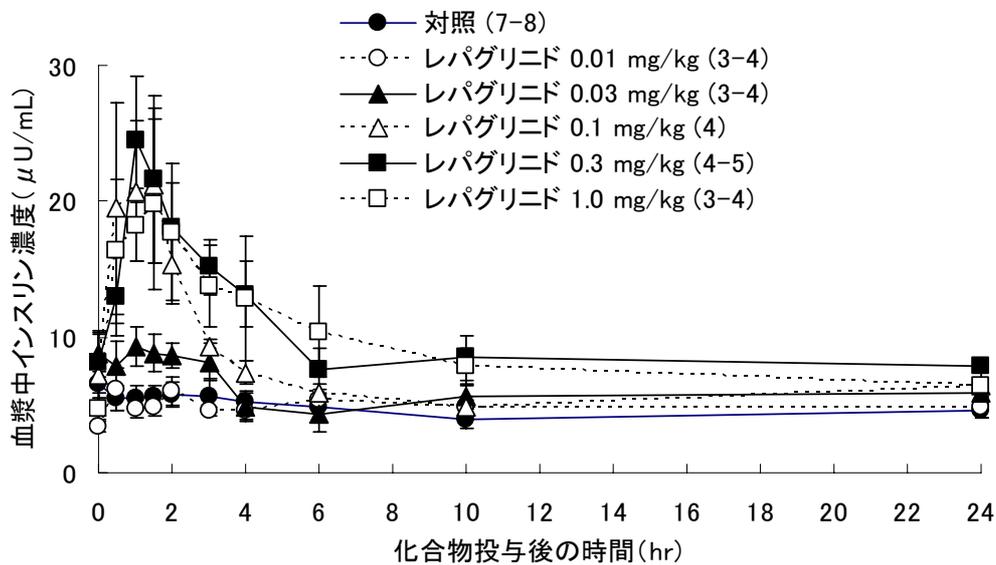


図 2.6.2.2-8 レパグリニドを単回経口投与した正常イヌの血漿中インスリン濃度推移

20 時間絶食した正常イヌにレパグリニドを単回経口投与した。図中の値は Mean±SE を示す。凡例の () 内の数字は例数を示す。検定は実施していない。

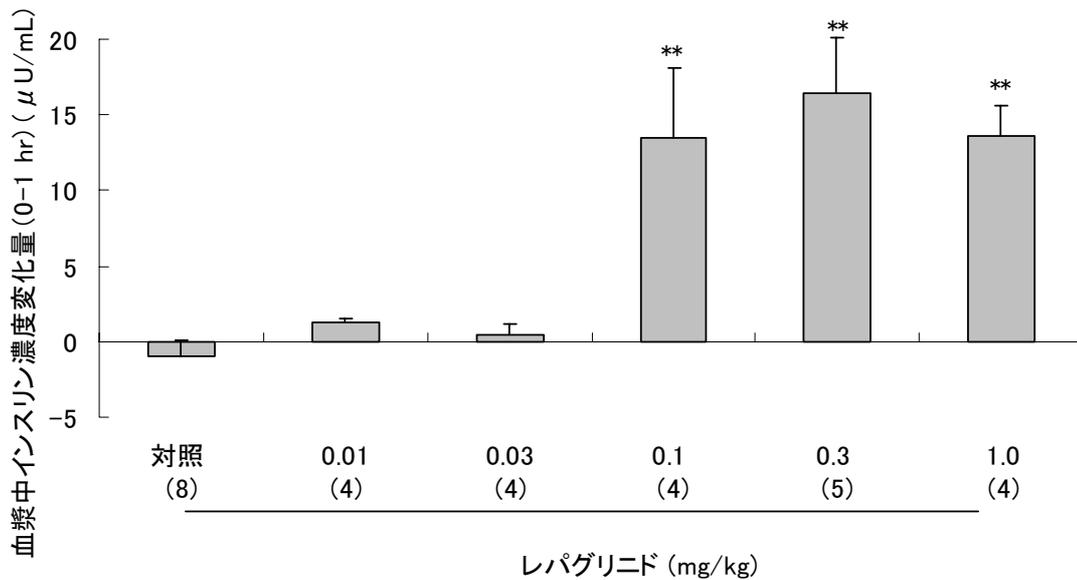


図 2.6.2.2-9 レパグリニドを単回経口投与した正常イヌの血漿中インスリン濃度変化量 (0-1 hr)

20 時間絶食した正常イヌにレパグリニドを単回経口投与した。投与前から投与 1 時間後の血漿中インスリン濃度変化量を Mean±SE で示した。各群の () 内の数字は例数を示す。**: p<0.01 vs 対照群 (Dunnett の多重比較)

(3) グルコース負荷正常ラットに対するレパグリニド単回経口投与による血糖上昇抑制作用 (資料 4.2.1.1.2)

正常ラットを用いた経口糖負荷試験において、レパグリニドのグルコース負荷後の血糖上昇抑制作用を検証するとともに、薬効と血漿中レパグリニド濃度の関係を検討した。

一晚絶食した雄性 SD ラットにグルコース (2.0 g/kg) を経口投与する直前にレパグリニド (0.01~0.3 mg/kg) を単回経口投与し、投与前、投与後 10、30、60、120 及び 180 分の血糖値を、また、投与前、投与後 10、30 及び 60 分の血漿中インスリン濃度を測定した (図 2.6.2.2-10、図 2.6.2.2-12)。更に、投与後 10、30、60、120 及び 180 分の血漿中レパグリニド濃度を測定した (図 2.6.2.2-14)。対照群にはレパグリニドの懸濁媒体である 0.5%メチルセルロース (MC) を投与した。すべてのレパグリニド群において、血糖値曲線下面積は、対照群と比べて有意に低下し、レパグリニドのグルコース負荷後の血糖上昇抑制作用が検証された (図 2.6.2.2-11)。更に、0.3 mg/kg レパグリニド群で血漿中インスリン濃度曲線下面積の有意な増加がみられたこと (図 2.6.2.2-13)、すべてのレパグリニド群において投与 30 分後にインスリン分泌が促進される傾向がみられたことから、レパグリニドのインスリン分泌促進作用が確認された。血漿中レパグリニド濃度の推移及び薬物動態パラメータをそれぞれ図 2.6.2.2-14、表 2.6.2.2-1 に示す。投与 10 分後には血漿中にレパグリニドが検出され、最高血漿中濃度 (C_{max}) は線形を示した。以上よりレパグリニドは、投与後速やかに吸収され、投与 30 分後にはインスリン分泌を促進し、その作用を介して投与 30~60

分以降の血糖上昇抑制作用を示したと考えられた。また、レパグリニドの投与用量が増加するに従いレパグリニドの C_{max} は増加し、血糖値曲線下面積は低下したことから、血漿中レパグリニド濃度の増加に伴い、血糖上昇抑制作用が増すことが確認された。

臨床においては、本剤 0.25 mg/回、0.5 mg/回、1 mg/回の 3 用量を 1 日 3 回、2 型糖尿病患者に 12 週間投与した際の有効性が確認されている (2.7.3.2.1 参照)。また、その用量の本剤を健康成人に食直前単回投与したときの C_{max} は 6.8~27.7 ng/mL であった (2.7.2.2.2.1 参照)。今回有効性の確認できた 0.01~0.3 mg/kg のレパグリニドを投与したときのラットにおける C_{max} は、1.551~46.37 ng/mL であり (表 2.6.2.2-1)、ヒトで有効性を示す C_{max} と大きな違いはなかった。

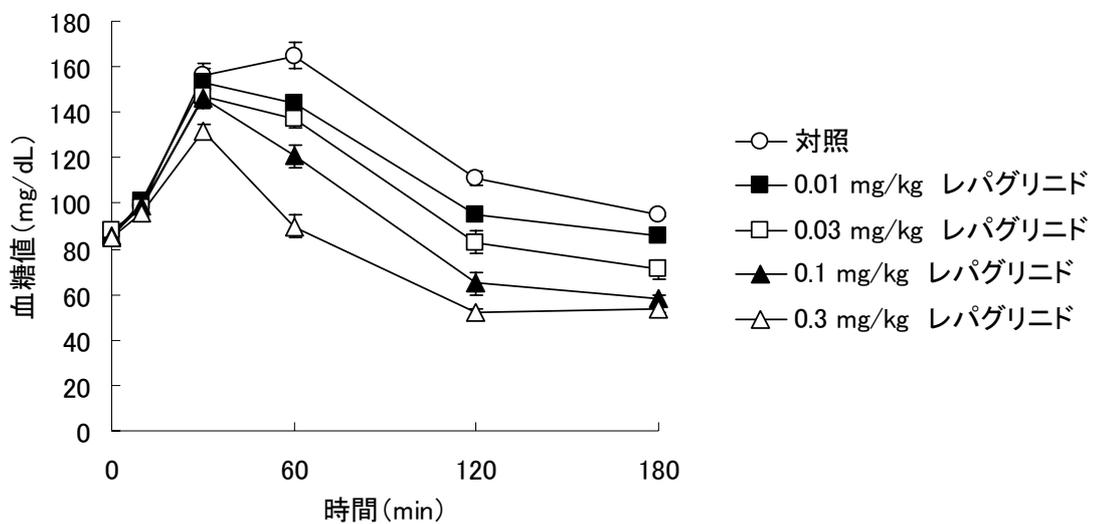


図 2.6.2.2-10 正常ラットを用いたグルコース負荷試験における血糖値推移

正常ラットを用いたグルコース負荷試験における血糖値推移を示す。各群 n=8 で、Mean±SE を図示した。検定は実施していない。

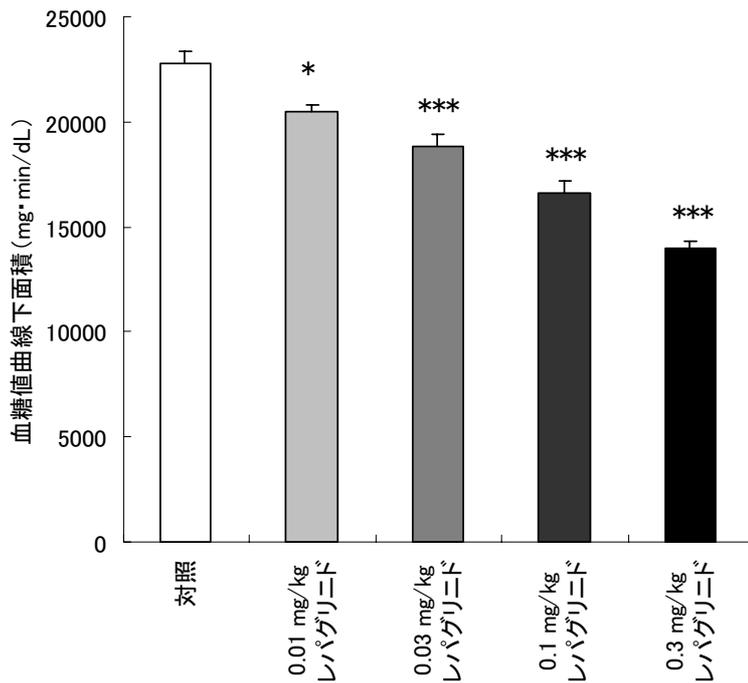


図 2.6.2.2-11 正常ラットを用いたグルコース負荷試験における血糖値曲線下面積

正常ラットを用いたグルコース負荷試験における血糖値曲線下面積を示す (n=8、Mean±SE)。

*, ***: 対照群と比較してパラメトリック Dunnett 型多重比較により、それぞれ $p < 0.05$ 、 $p < 0.001$ を示す。

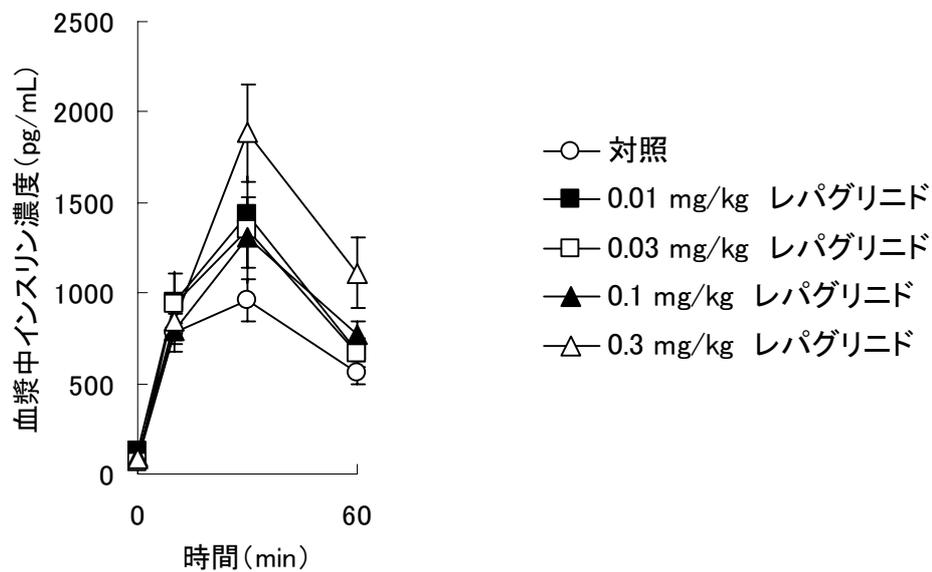


図 2.6.2.2-12 正常ラットを用いたグルコース負荷試験における血漿中インスリン濃度推移

正常ラットを用いたグルコース負荷試験における血漿中インスリン濃度推移を示す。各群 n=8 で、Mean±SE を図示した。検定は実施していない。

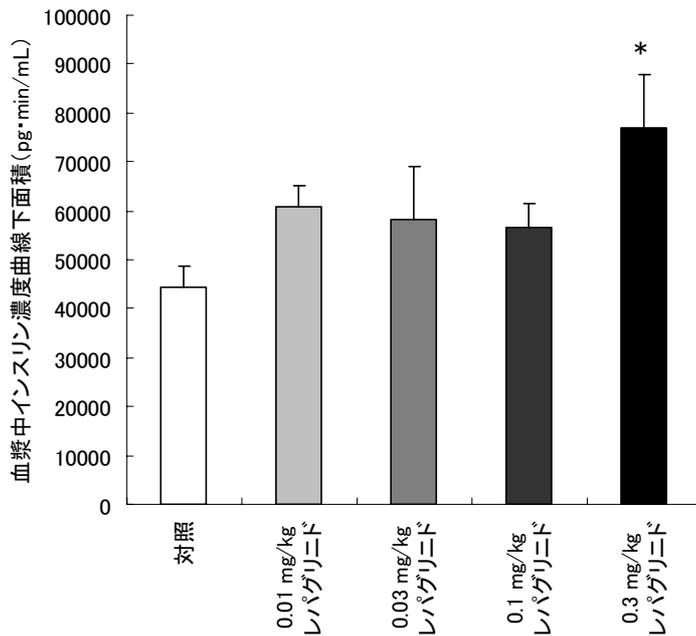


図 2.6.2.2-13 正常ラットを用いたグルコース負荷試験における血漿中インスリン濃度曲線下面積

正常ラットを用いたグルコース負荷試験における血漿中インスリン濃度曲線下面積を示す (n=8、Mean±SE)。*：対照群と比較してパラメトリック Dunnett 型多重比較により、 $p<0.05$ を示す。

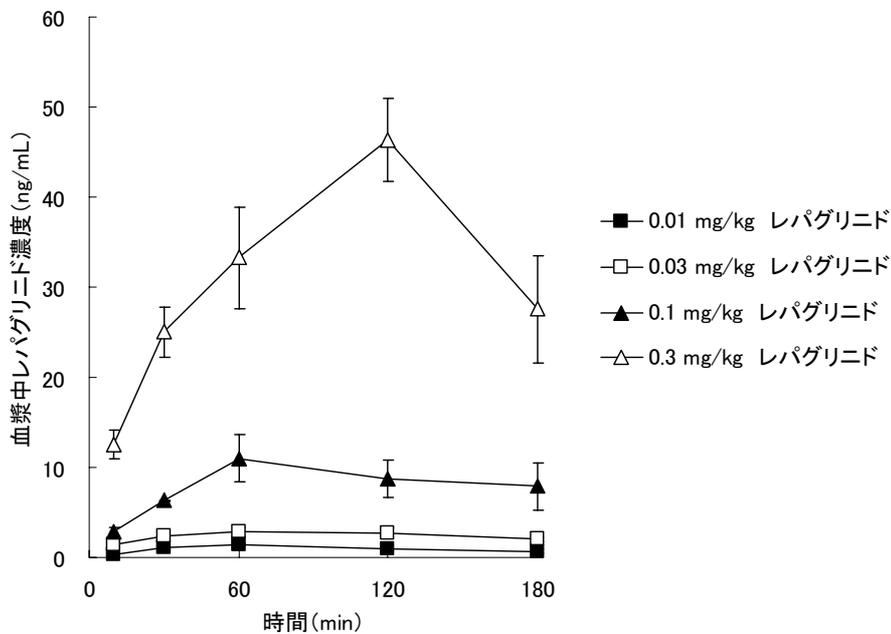


図 2.6.2.2-14 正常ラットを用いたグルコース負荷試験における血漿中レパグリニド濃度推移

血漿中レパグリニド濃度の推移を示す。各群 n=4 で、Mean±SE を図示した。

表 2.6.2.2-1 薬物動態パラメータ

レパグリニド 投与量(mg/kg)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (min)	AUC _{0-t} (ng·min/mL)
0.01	1.551 ± 0.117	68 ± 19	175.7 ± 15.3
0.03	3.142 ± 0.374	90 ± 17	438.6 ± 57.6
0.1	13.71 ± 1.88	135 ± 29	1452 ± 164
0.3	46.37 ± 4.59	120 ± 0	5918 ± 695

Mean±SE(n=4)

(4) ショ糖負荷正常ラット及びショ糖負荷 STZ 誘発糖尿病ラットに対するレパグリニドの血糖上昇抑制作用（グリベンクラミド、ボグリボースとの比較）（資料 4.2.1.1.3）

正常ラット及び STZ 誘発糖尿病ラットを用いて、ショ糖負荷時のレパグリニドの血糖上昇抑制作用を SU 剤であるグリベンクラミド及び α -GI 剤であるボグリボースと比較した。

一晩絶食した雄性 SD ラットにショ糖 (2.5 g/kg) 負荷の 15 分前にレパグリニド (1 mg/kg)、グリベンクラミド (10 mg/kg)、ボグリボース (0.4 mg/kg) を経口投与し、ショ糖負荷前 15 及び 0 分、ショ糖負荷後 15、30、45、60、90、120、180、240、300、360 及び 420 分の血糖値を測定した (図 2.6.2.2-15)。対照群には懸濁媒体である 0.5% カルボキシメチルセルロースナトリウム塩を投与した。なお、グリベンクラミドについてはラットを用いた各種糖負荷試験において 1~4 mg/kg で効果を示すこと^{文献⁴⁾}が、また、ボグリボースについては正常ラットを用いたショ糖負荷試験における ED₅₀ が 0.1 mg/kg であること^{文献⁵⁾}が報告されており、今回の用量は薬効が十分期待できる投与量と考えられた。血糖値曲線下面積は、すべての群において対照群と比較して有意な低値を示したが、レパグリニド群の作用が大きかった (図 2.6.2.2-16)。ショ糖負荷前 0 分からの血糖値変化量は、レパグリニドの投与により、ショ糖負荷 15 分後以降すべての測定時点において、対照群と比較して有意に低値を示したが、ボグリボースでは 15 分後から 360 分後まで、グリベンクラミドでは 45、60 分後及び 180 分後以降に有意に低値を示した (図 2.6.2.2-17)。

雄性 SD ラットに 30 mg/kg の STZ を静脈内投与し、耐糖能異常を示す糖尿病モデルを作製した。STZ 投与 2 日後に一晩絶食し、ショ糖負荷試験を実施した。ショ糖 (2.5 g/kg) 負荷の 15 分前にレパグリニド (1 mg/kg)、グリベンクラミド (10 mg/kg)、ボグリボース (0.4 mg/kg) を経口投与し、ショ糖負荷前 15 及び 0 分、ショ糖負荷後 15、30、45、60、90、120、180、240、300、360 及び 420 分の血糖値を測定した (図 2.6.2.2-18)。対照群には懸濁媒体である 0.5% カルボキシメチルセルロースナトリウム塩を投与した。血糖値曲線下面積はグリベンクラミド及びボグリボース群では対照群と比較して有意な低値を示さなかったのに対して、レパグリニド群では有意な低値を示したことから、レパグリニドの血糖上昇抑制作用が確認された (図 2.6.2.2-19)。ショ糖負荷前 0 分からの血糖値変化量で

は、レパグリニドはショ糖負荷 15 分後から対照群と比較して有意な低値を示し、その後も作用が持続したのに対して、ボグリボースはショ糖負荷 15 分後から 60 分後までは有意な低値を示したが、その後は作用が持続しなかった (図 2.6.2.2-20)。一方、グリベンクラミドはいずれの測定時点においても有意な低値を示さなかった (図 2.6.2.2-20)。

これらの結果から、レパグリニドは正常ラット及び糖尿病モデルラットを用いたショ糖負荷試験において、血糖上昇抑制作用を示した。レパグリニドの作用発現までの時間は、グリベンクラミドに比べ早く、ボグリボースとほぼ同じであると考えられた。また、作用の持続時間は、ボグリボースに比べレパグリニドの方が長いと考えられた。

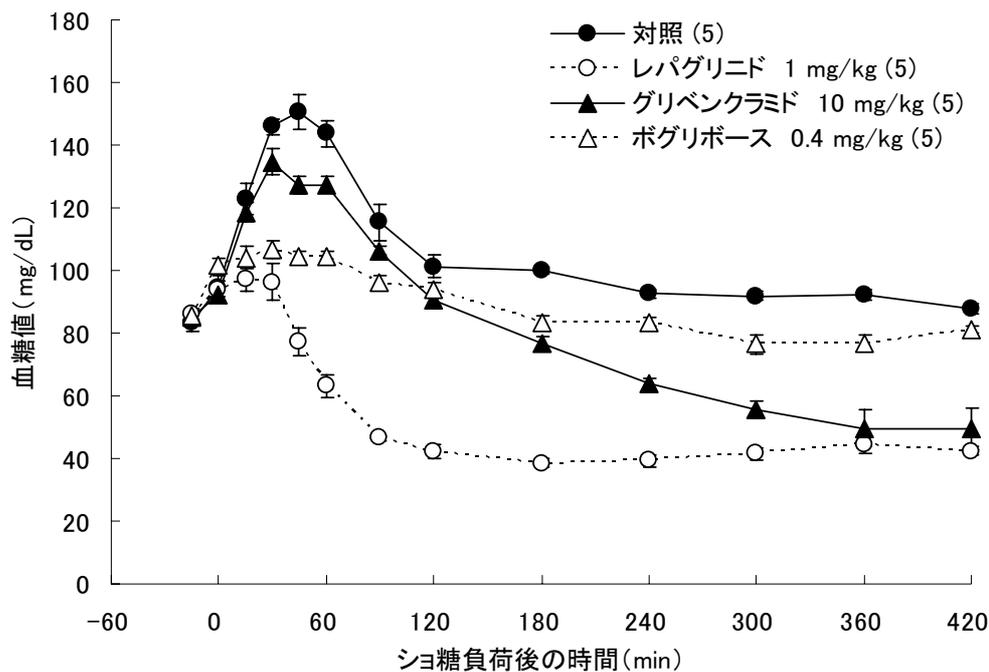


図 2.6.2.2-15 レパグリニド、グリベンクラミド又はボグリボースを経口投与した
ショ糖負荷正常ラットの血糖値推移

一晩絶食した正常ラットにショ糖負荷 15 分前に各被験物質を経口投与した。図中の値は Mean±SE を示す。凡例の () 内の数字は例数を示す。検定は実施していない。

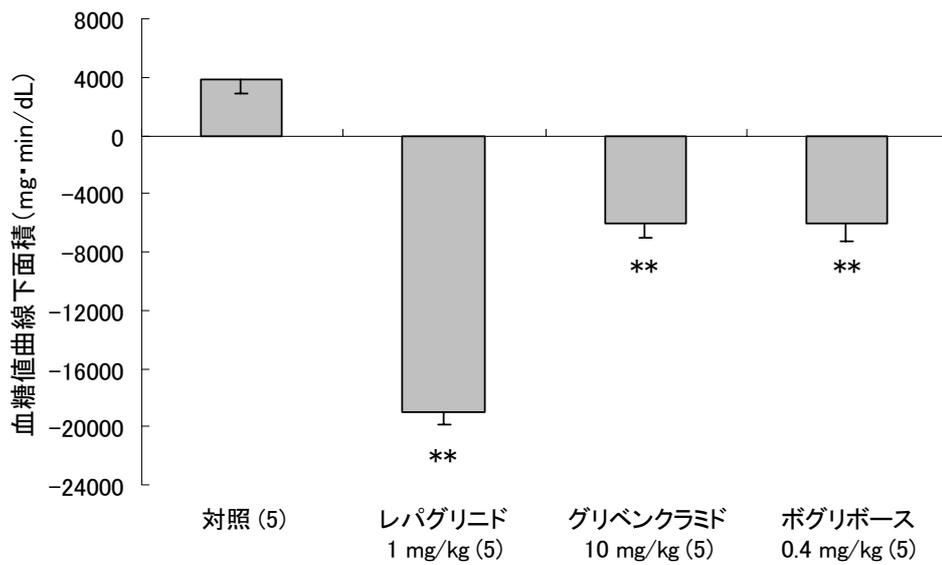


図 2.6.2.2-16 レパグリニド、グリベンクラミド又はボグリボースを経口投与した
シヨ糖負荷正常ラットの血糖値曲線下面積

一晩絶食した正常ラットにシヨ糖負荷 15 分前に各被験物質を経口投与した。図中の値は Mean±SE を示す。各群の () 内の数字は例数を示す。**: p<0.01 vs 対照群 (Dunnett の多重比較)

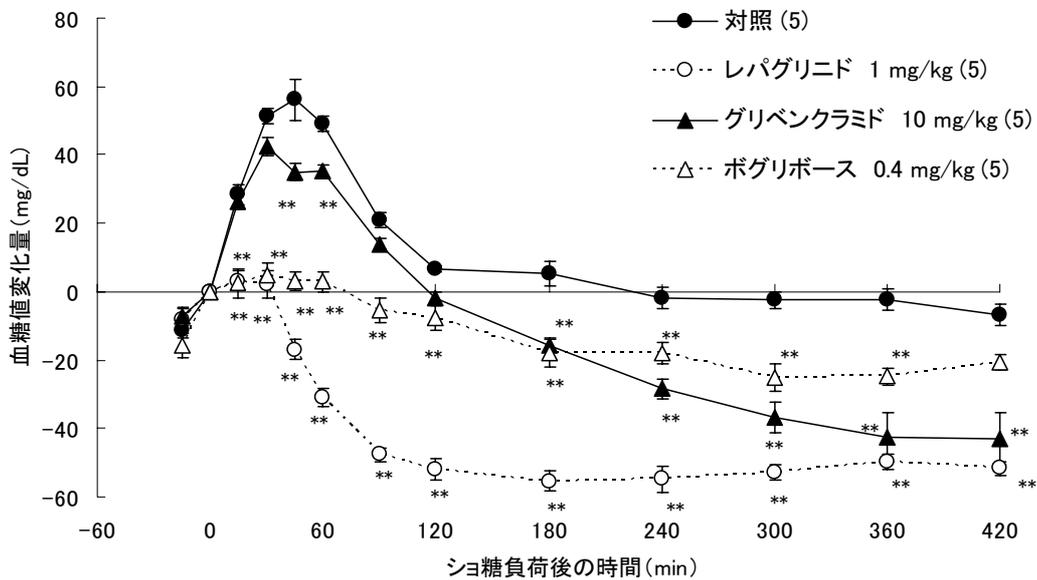


図 2.6.2.2-17 レパグリニド、グリベンクラミド又はボグリボースを経口投与した
シヨ糖負荷正常ラットの血糖値変化量

一晩絶食した正常ラットにシヨ糖負荷 15 分前に各被験物質を経口投与した。シヨ糖負荷前 0 分からの血糖値変化量を Mean±SE で示した。凡例の () 内の数字は例数を示す。**: p<0.01 vs 対照群 (Dunnett の多重比較)

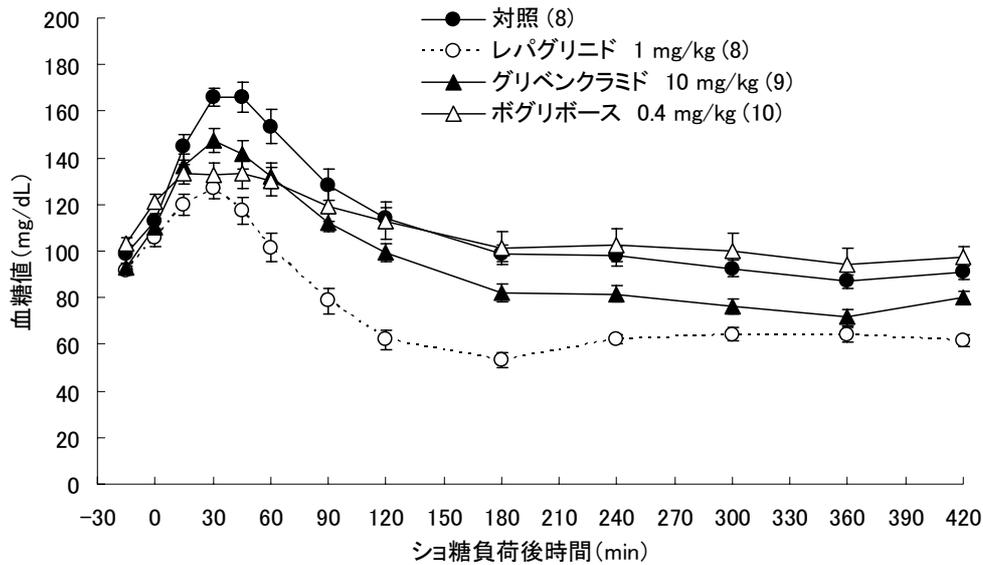


図 2.6.2.2-18 レパグリニド、グリベンクラミド又はボグリボースを経口投与した
シヨ糖負荷 STZ 誘発糖尿病ラットの血糖値推移

一晩絶食した STZ 誘発糖尿病ラットにシヨ糖負荷 15 分前に各被験物質を経口投与した。図中の値は Mean±SE を示す。凡例の () 内の数字は例数を示す。検定は実施していない。

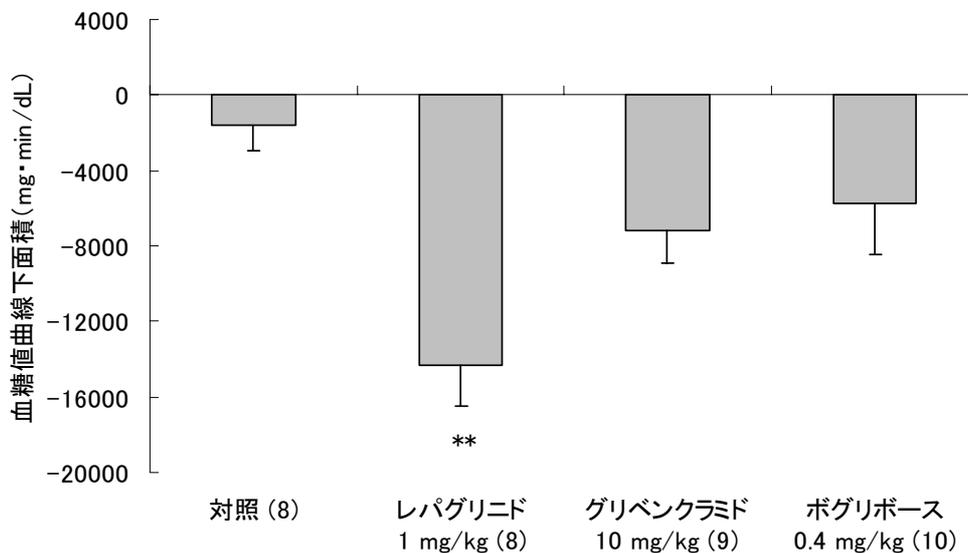


図 2.6.2.2-19 レパグリニド、グリベンクラミド又はボグリボースを経口投与した
シヨ糖負荷 STZ 誘発糖尿病ラットの血糖値曲線下面積

一晩絶食した STZ 誘発糖尿病ラットにシヨ糖負荷 15 分前に各被験物質を経口投与した。図中の値は Mean±SE を示す。各群の () 内の数字は例数を示す。**: p<0.01 vs 対照群 (Dunnnett の多重比較)

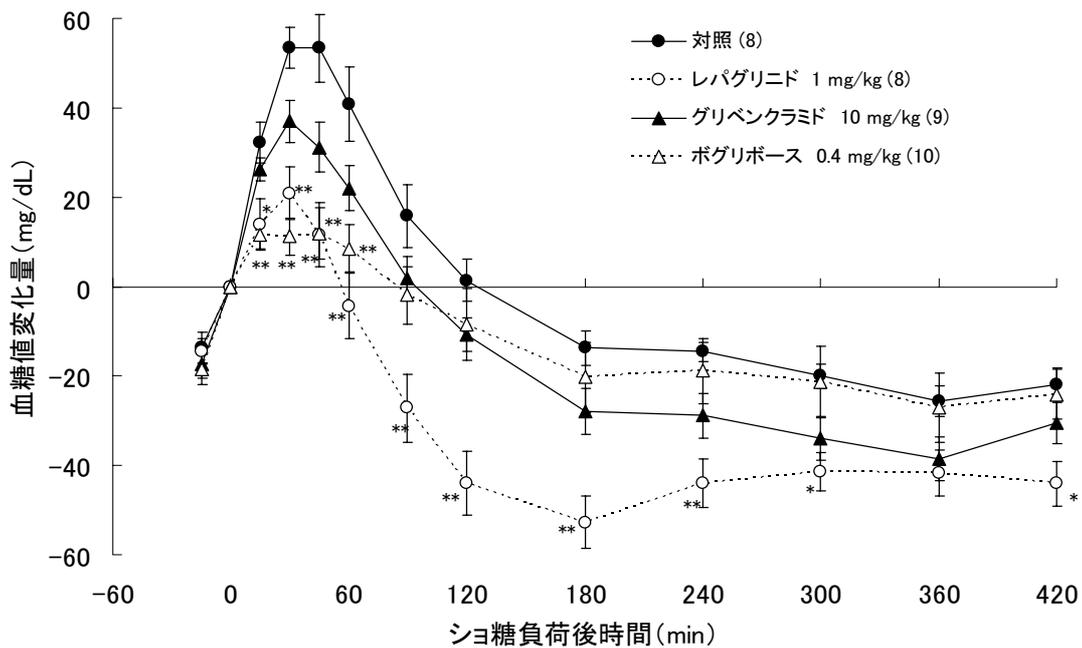


図 2.6.2.2-20 レパグリニド、グリベンクラミド又はボグリボースを経口投与した
シヨ糖負荷 STZ 誘発糖尿病ラットの血糖値変化量

一晩絶食した STZ 誘発糖尿病ラットにシヨ糖負荷 15 分前に各被験物質を経口投与した。シヨ糖負荷前 0 分から血糖値変化量を Mean±SE で示した。凡例の () 内の数字は例数を示す。*, **: $p < 0.05$, $p < 0.01$ vs 対照群 (Dunnett の多重比較)

(5) グルコース負荷 GK ラットに対するレパグリニド単回経口投与による血糖上昇抑制作用 (ナテグリニドとの比較) (資料 4.2.1.1.4)

インスリン分泌不全非肥満 2 型糖尿病モデル動物である GK ラットを用いて、レパグリニドの食後高血糖改善作用を経口糖負荷試験により評価した。またレパグリニドの作用を、同じ速効型インスリン分泌促進剤であるナテグリニドと比較した。

一晩絶食した雄性 GK ラットにグルコース (2.0 g/kg) を経口投与する直前にレパグリニド (0.3~3 mg/kg) 又はナテグリニド (50 mg/kg) を単回経口投与し、投与前、投与後 10、30、60、120 及び 180 分の血糖値を、また、投与前、投与後 10、30 及び 60 分の血漿中インスリン濃度を測定した (図 2.6.2.2-21、図 2.6.2.2-23)。対照群にはレパグリニドの懸濁媒体である 0.5%MC を投与し、正常群には雄性 Wistar ラットに 0.5%MC を投与した。すべてのレパグリニド群において、血糖値曲線下面積は、対照群と比べて有意に低下し、レパグリニドの食後高血糖改善作用が検証された (図 2.6.2.2-22)。0.3 mg/kg レパグリニド群と 50 mg/kg ナテグリニド群は、同程度の薬効を示したことから、レパグリニドは、ナテグリニドの約 1/170 の低用量で有効性を示すと考えられた。またレパグリニド、ナテグリニドともに投与 60~180 分後の血糖値を低下させた。

レパグリニド及びナテグリニドは、GK ラットにおける糖負荷時のインスリン分泌の低下を改善し、投与 30 分後のインスリン分泌を促進する傾向がみられた (図 2.6.2.2-23)。

両剤による血糖値の低下は、それに先立つインスリン分泌促進作用によるものであると考えられた。

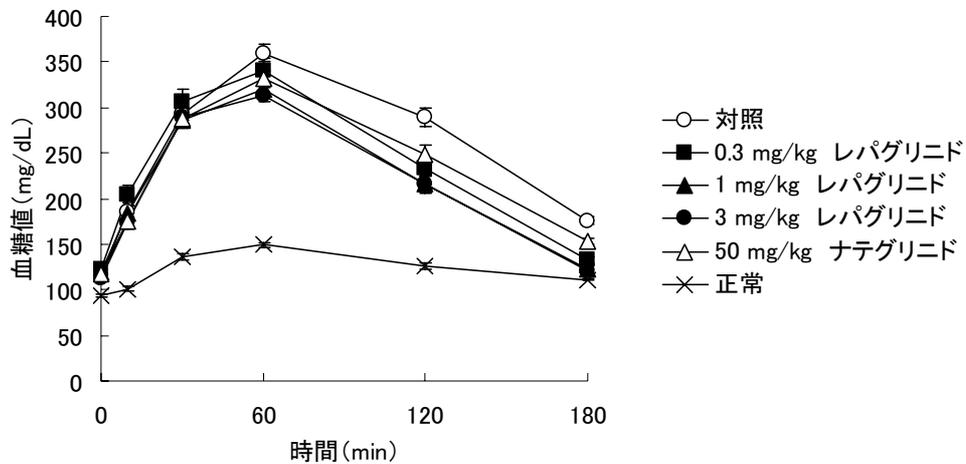


図 2.6.2.2-21 GK ラットを用いたグルコース負荷試験における血糖値推移

GK ラットを用いたグルコース負荷試験における血糖値推移を示す。各群 n=8 で、Mean±SE を図示した。検定は実施していない。

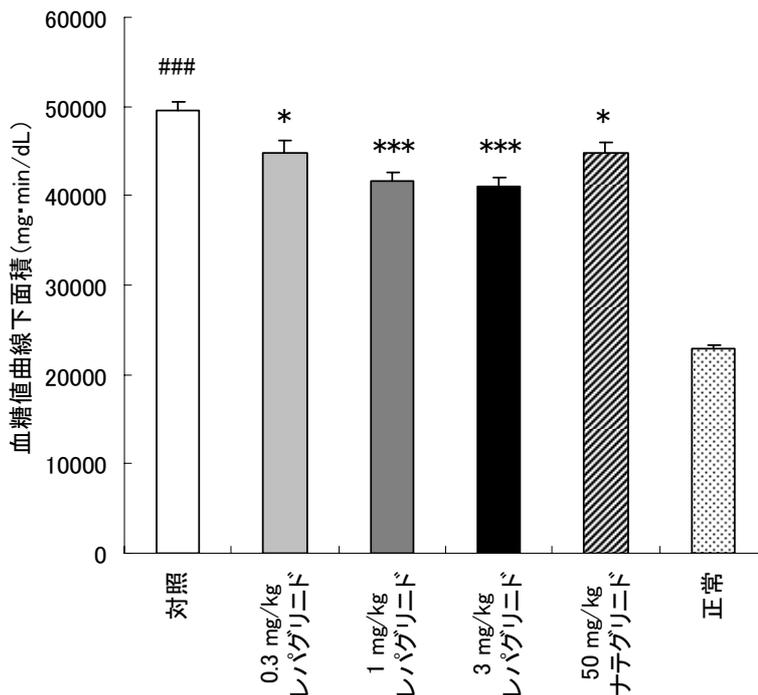


図 2.6.2.2-22 GK ラットを用いたグルコース負荷試験における血糖値曲線下面積

GK ラットを用いたグルコース負荷試験における血糖値曲線下面積を示す (n=8, Mean±SE)。###: 正常群と比較して Student の t 検定により $p < 0.001$ を示す。*, ***: 対照群と比較してパラメトリック Dunnett 型多重比較により、それぞれ $p < 0.05$ 、 $p < 0.001$ を示す。

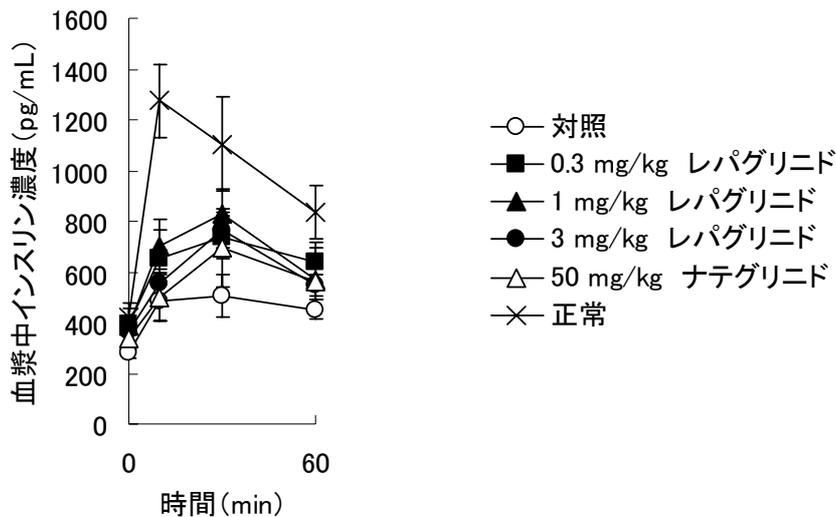


図 2.6.2.2-23 GK ラットを用いたグルコース負荷試験における血漿中インスリン濃度推移

GK ラットを用いたグルコース負荷試験における血漿中インスリン濃度推移を示す (Mean±SE)。各群の例数は、対照群：8、0.3 mg/kg レパグリニド群：7、1 mg/kg レパグリニド群：6、3 mg/kg レパグリニド群：8、50 mg/kg ナテグリニド群：5、正常群：6 である。検定は実施していない。

(6) ショ糖負荷正常ラットにおけるレパグリニドとボグリボースの併用効果 (資料 4.2.1.1.5)

正常ラットを用いて、ショ糖負荷後の血糖上昇抑制作用に対するレパグリニドとボグリボースの併用効果を検討した。

一晩絶食した雄性 SD ラットに、ショ糖 (2.5 g/kg) 負荷直前に 0.1 mg/kg レパグリニド、0.1 mg/kg ボグリボース、0.1 mg/kg レパグリニド及び 0.1 mg/kg ボグリボースを単回経口投与し、投与前、投与後 10、30、60 及び 120 分の血糖値を、また投与前、投与後 10、30 及び 60 分の血漿中インスリン濃度を測定した (図 2.6.2.2-24、図 2.6.2.2-26)。対照群には懸濁媒体である 0.5%MC を投与した。対照群に比べすべての群において有意な血糖値曲線下面積の低下が見られた (図 2.6.2.2-25)。更に併用群においては、レパグリニド群及びボグリボース群の両群に比べ、血糖値曲線下面積の有意な低下が見られた (図 2.6.2.2-25) ことから、レパグリニドとボグリボースの併用効果が検証された。対照群と比較して、レパグリニド群では投与 60 及び 120 分後に血糖値の低下が、ボグリボース群では投与 30 及び 60 分後に血糖値の低下が見られたのに対して、併用群では投与 30、60、120 分後に血糖値の低下が見られた (図 2.6.2.2-24)。併用群における血糖値の低下は、レパグリニドのインスリン分泌促進作用とボグリボースの糖吸収抑制作用が相加的に働いたことによるものと思われた。

対照群に比べレパグリニド群で、またボグリボース群に比べ併用群で、血漿中インスリン濃度が上昇する傾向が見られ (図 2.6.2.2-26)、これはレパグリニドのインスリン分泌促進作用によるものと考えられた。また、ボグリボース群では、対照群に比べ血漿中インス

リン濃度曲線下面積の有意な低下が見られ（図 2.6.2.2-27）、これはボグリボースの糖吸収抑制作用により血糖上昇が抑制されたため、インスリン分泌が減少した結果と考えられた。更に併用群では、レパグリニド群に比べ血漿中インスリン濃度曲線下面積の有意な低下が見られた（図 2.6.2.2-27）ことから、臨床においても両剤を併用することにより過剰なインスリン分泌を抑え、食後高血糖をより強力に改善することが期待された。

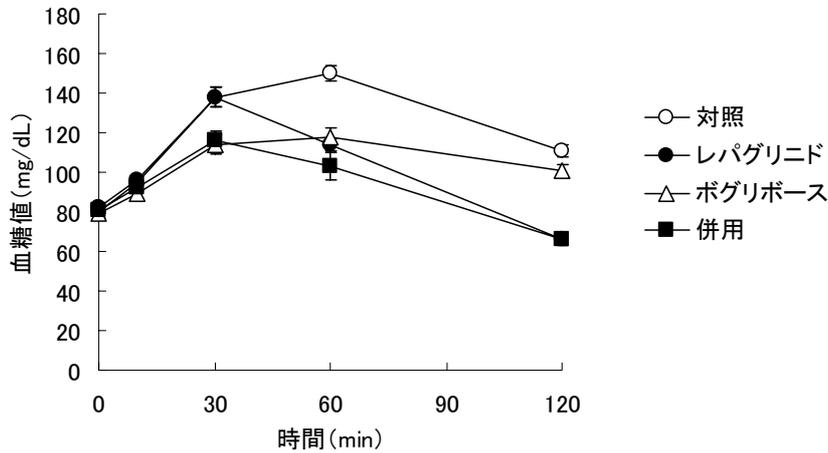


図 2.6.2.2-24 ショ糖負荷試験におけるレパグリニドとボグリボースの併用による血糖値推移

ショ糖負荷試験における血糖値の推移を示す。各群 n=8 で、Mean±SE を図示した。検定は実施していない。

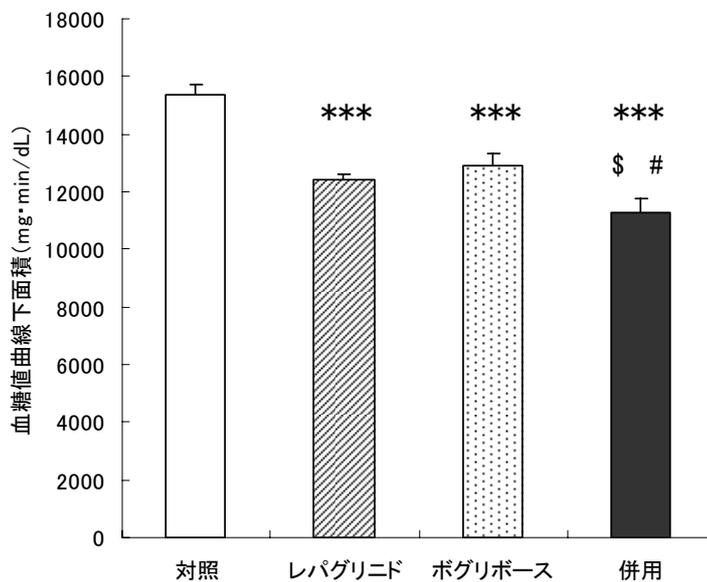


図 2.6.2.2-25 ショ糖負荷試験におけるレパグリニドとボグリボースの併用による血糖値曲線下面積

ショ糖負荷試験における血糖値曲線下面積を示す (n=8、Mean±SE)。***：対照群と比較して Student の t 検定により、 $p < 0.001$ を示す。\$、#：それぞれレパグリニド群、ボグリボース群と比較して Student の t 検定により、 $p < 0.05$ を示す。

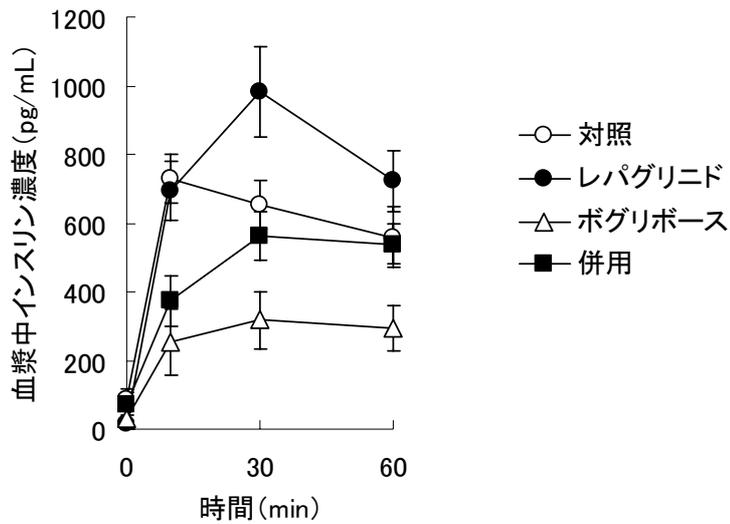


図 2.6.2.2-26 ショ糖負荷試験におけるレパグリニドとボグリボースの併用による
血漿中インスリン濃度推移

ショ糖負荷試験における血漿中インスリン濃度の推移を示す。各群 n=8 で、Mean±SE を図示した。検定は実施していない。

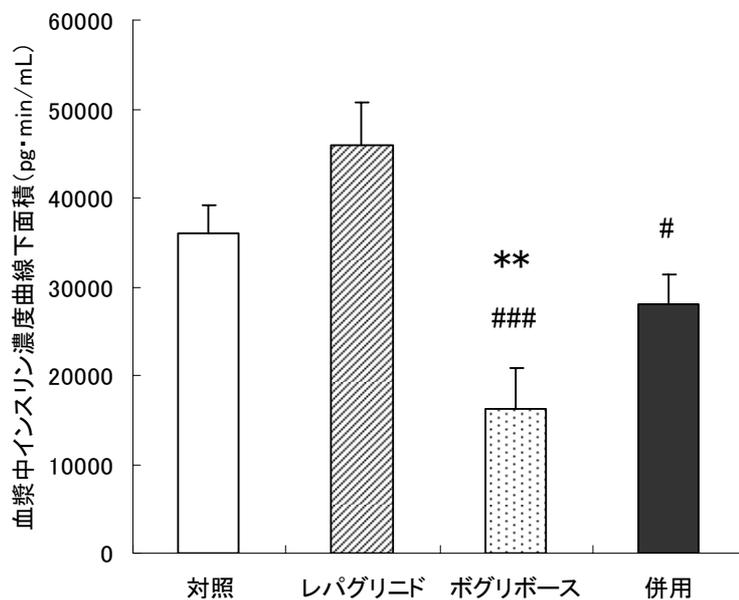


図 2.6.2.2-27 ショ糖負荷試験におけるレパグリニドとボグリボースの併用による
血漿中インスリン濃度曲線下面積

ショ糖負荷試験における血漿中インスリン濃度曲線下面積を示す (n=8、Mean±SE)。パラメトリック Tukey 型多重比較により、**：対照群と比較して $p < 0.01$ 、#、###：レパグリニド群と比較してそれぞれ $p < 0.05$ 、0.001 を示し、それ以外の群間では有意差なし。

2.6.2.2.2 作用メカニズム

(1) 単離ラ氏島に対するインスリン分泌促進作用 (資料 4.2.1.1.6)

コラゲナーゼ法により雄性 NMRI マウスの膵臓よりラ氏島を単離し、レパグリニド及びグリベンクラミドのインスリン分泌作用を検討した。5 又は 10 mmol/L グルコースを含む緩衝液で前灌流した後、レパグリニド又はグリベンクラミド 1.6~1000 nmol/L を添加して 30 分間灌流した。被験物質添加直前に 10 分間前灌流したときのインスリン分泌をベースライン値とした。その結果、5 mmol/L のグルコースを緩衝液に含む場合、レパグリニドは 40~200 nmol/L の濃度範囲で、グリベンクラミドは 200 nmol/L の濃度において、ベースライン値と比較してインスリン分泌の有意な増強作用を示した。10 mmol/L グルコースを緩衝液に含む場合、レパグリニドは 8~1000 nmol/L の濃度範囲で、グリベンクラミドは 40~1000 nmol/L の濃度範囲でベースライン値と比較して、インスリン分泌の有意な増強作用を示した (図 2.6.2.2-28)。グルコース 5、10 mmol/L 存在下のいずれにおいても、レパグリニドはグリベンクラミドよりも強力なインスリン分泌増強作用を示した。

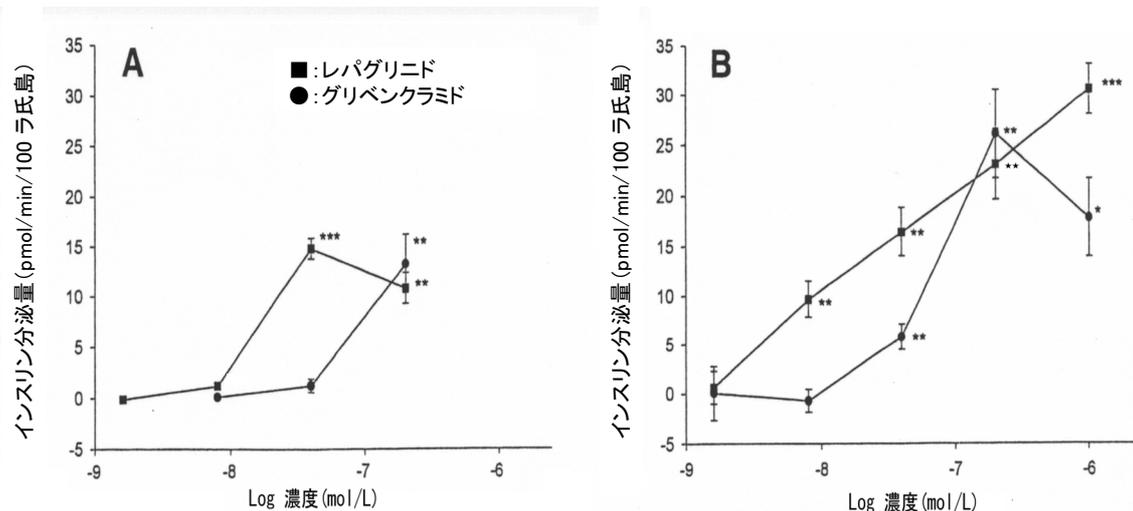


図 2.6.2.2-28 5 mmol/L (A)、及び 10 mmol/L (B) グルコース存在下におけるレパグリニド及びグリベンクラミドの単離ラ氏島に対するインスリン分泌増強作用

図中の値は Mean±SE を示す (n=4~8)。*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001 (Student の t 検定, ベースライン値 (被験物質添加直前 10 分間の値) との比較)

(2) K_{ATP} チャネル活性に対するレパグリニドの作用 (資料 4.2.1.1.7)

ラット新生児の膵臓よりラ氏島を単離し β 細胞を得た。Cell-attached patch-clamp 法を用いて、レパグリニド及びグルコースの K_{ATP} チャネル活性に対する作用を検討した。図 2.6.2.2-29 に示したように、グルコース 16.7 mmol/L (約 300 mg/dL) 処理により、約 8 分以内に K_{ATP} チャネル活性は完全に抑制された。緩衝液中のグルコースを除去すると 5~10 分以内に K_{ATP} チャネル活性が回復することから、この作用は可逆性であることが確認された。レパグリニド (10 nmol/L) の処置では 1~4 分以内に K_{ATP} チャネル活性が抑制され始め、この作用はレパグリニドの洗浄除去後も 30 分間持続した。

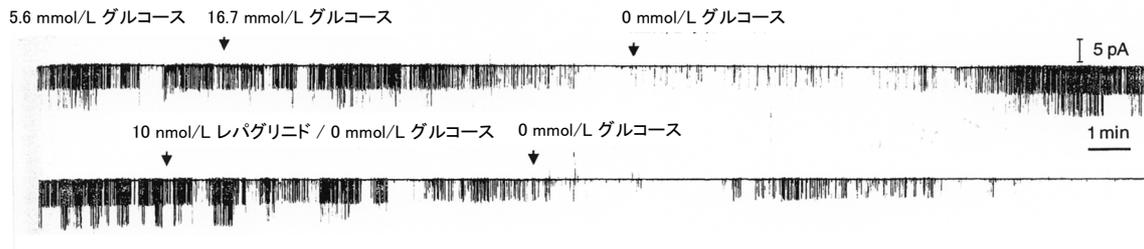


図 2.6.2.2-29 単離 β 細胞の Cell-attached patch-clamp 法におけるレパグリニドの K_{ATP} チャンネルに対する作用

単離 β 細胞を処理する緩衝液を順に変更し、 K_{ATP} チャンネル活性を記録した。

(3) Whole-cell K^+ 電流に対するレパグリニドの作用 (資料 4.2.1.1.7)

ラット新生児の膵臓よりラ氏島を単離し β 細胞を得た。Whole-cell patch-clamp 法を用いて、レパグリニド及びグリベンクラミドの K_{ATP} チャンネル活性に対する作用を検討した。Whole-cell K^+ 電流の変化を図 2.6.2.2-30 に示した。Whole-cell patch-clamp 法により、細胞内が低 ATP 緩衝液 (0.3 mmol/L) に置換されることにより、Whole-cell K^+ 電流は最大約 500 pA まで漸増した。一方、レパグリニド (1 nmol/L) を添加した場合の Whole-cell K^+ 電流の変化は最大で約 50 pA であり、レパグリニドにより K_{ATP} チャンネルが閉鎖していると考えられた。

β 細胞を異なる濃度のレパグリニド又はグリベンクラミド存在下で 30 分間インキュベーションした場合、 K_{ATP} チャンネル活性を表す最大電流振幅は、レパグリニド又はグリベンクラミドの濃度に依存して減少し、その IC_{50} 値は、レパグリニドにおいて 89 ± 13 pmol/L、グリベンクラミドでは 47 ± 4 pmol/L (Mean \pm SE) であった (図 2.6.2.2-31)。

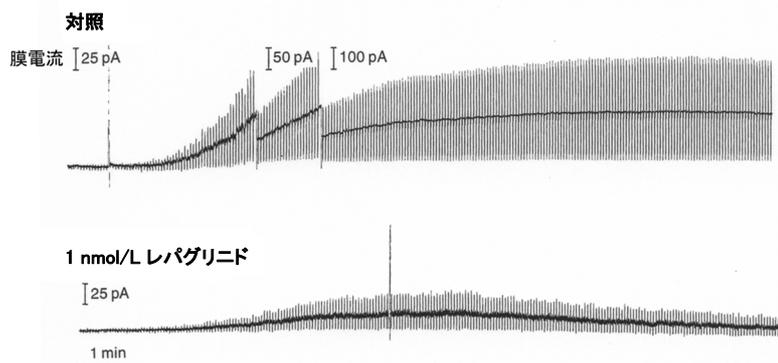


図 2.6.2.2-30 ATP 感受性 Whole-cell K^+ 電流に対するレパグリニドの作用
単離 β 細胞の Whole-cell K^+ 電流を示す。対照実験では膜電流のスケールを変化させている。

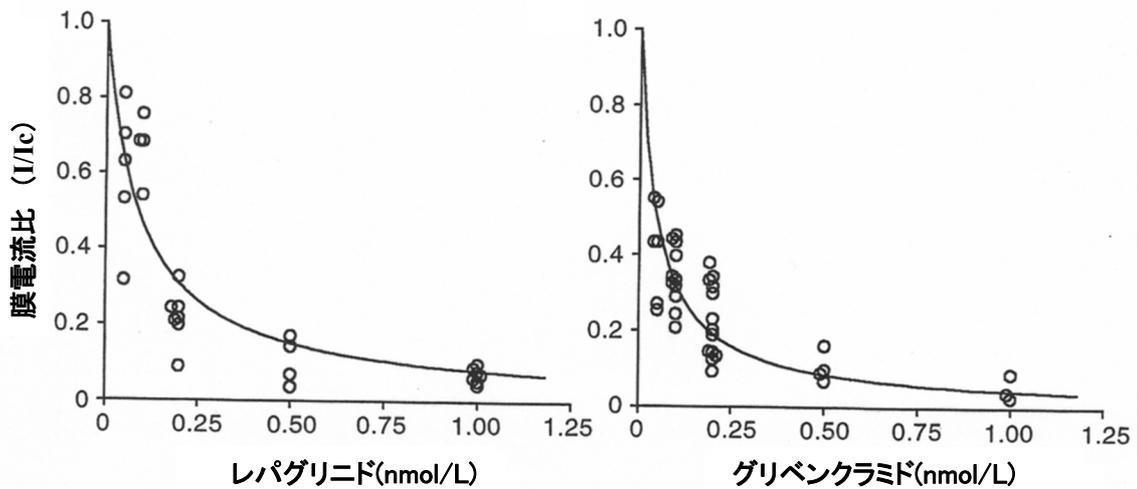


図 2.6.2.2-31 レパグリニド及びグリベンクラミドによる K_{ATP} チャンネル活性抑制作用の濃度依存性

単離 β 細胞にレパグリニド又はグリベンクラミドを添加した時の、Whole-cell K^+ 電流を I/I_c (I : 被験物質添加時の電流、 I_c : 被験物質非添加時の電流) として示した。○は実測値、曲線は非線形最小二乗法による予想曲線を示す。

(4) レパグリニドの細胞内 Ca^{2+} 濃度に対する作用 (資料 4.2.1.1.7)

マウスインスリノーマ由来の $\beta TC3$ 細胞を $3 \mu\text{mol/L}$ Fura-2/AM で処置し、レパグリニド及びグリベンクラミドの細胞内 Ca^{2+} 濃度に対する作用をデジタル Ca^{2+} 濃度画像解析により検討した。その結果、レパグリニド (100 nmol/L) 又はグリベンクラミド (100 nmol/L) を添加することにより、細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇した (図 2.6.2.2-32A, B)。また、培養液中に EGTA ($100 \mu\text{mol/L}$) を添加し、細胞外 Ca^{2+} 非存在下にした条件では、レパグリニド (100 nmol/L) を添加しても細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇は認められなかったが、その培養液中に Ca^{2+} を添加すると細胞内 Ca^{2+} 濃度は速やかに上昇した (図 2.6.2.2-32C)。更に、レパグリニド (100 nmol/L) による細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇は、L 型カルシウムチャネル遮断薬であるベラパミル ($10 \mu\text{mol/L}$) の添加によりほぼ完全に抑制された (図 2.6.2.2-32D)。これらの結果から、レパグリニドは SU 剤と同様に L 型カルシウムチャネルを介して細胞内へ Ca^{2+} を流入させることが示唆された。

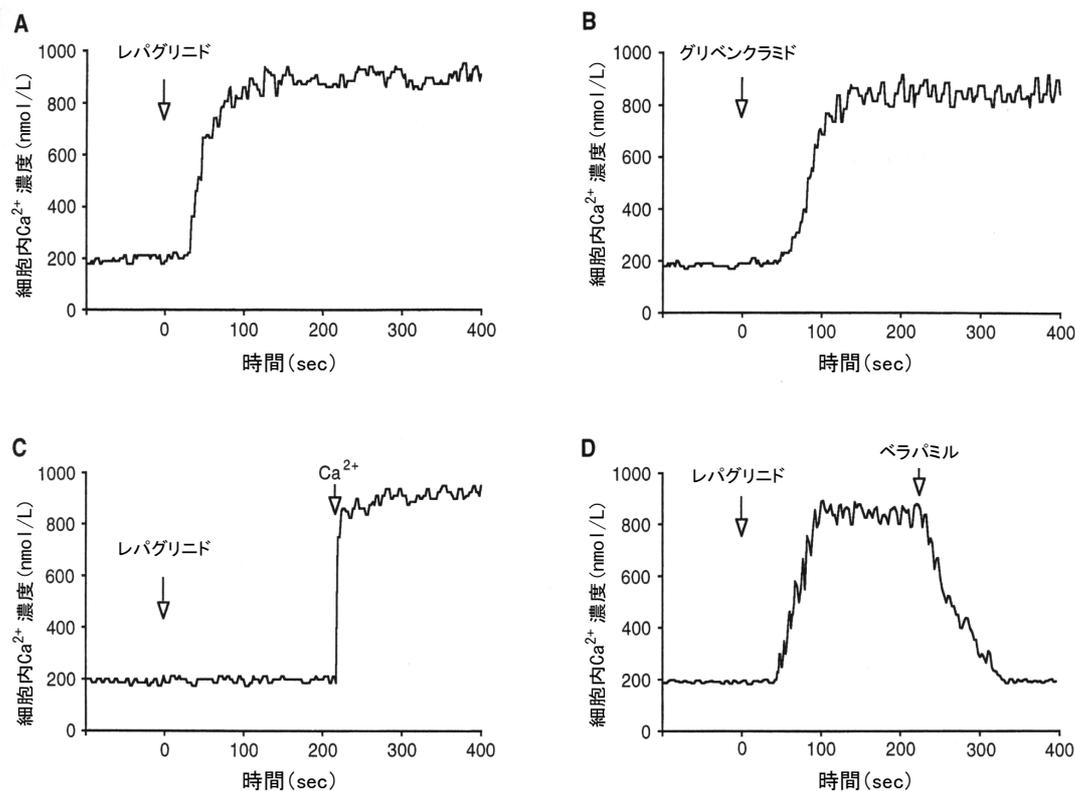


図 2.6.2.32 レパグリニド及びグリベンクラミドの細胞内 Ca^{2+} 濃度に対する作用

3 $\mu\text{mol/L}$ Fura-2/AM で処理した βTC3 細胞を用いて、細胞内 Ca^{2+} 濃度変化を画像解析により検討した。A、B：レパグリニド (100 nmol/L) 又はグリベンクラミド (100 nmol/L) 添加後の細胞内 Ca^{2+} 濃度の経時変化を示した。C：培養液中に EGTA (100 $\mu\text{mol/L}$) を添加すると、レパグリニド (100 nmol/L) の作用は消失するが、その培養液中に Ca^{2+} を添加すると細胞内 Ca^{2+} 濃度は速やかに上昇した。D：レパグリニド (100 nmol/L) による細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇は、L 型 Ca^{2+} チャンネル遮断薬であるベラパミル (10 $\mu\text{mol/L}$) の添加によりほぼ完全に抑制された。

(5) レパグリニドの SUR1 への結合 (参考資料 4.2.1.1.8)

1) SUR1 への結合

ヒト Kir6.2 とヒト SUR1 を共発現させた HEK293 細胞 (ヒト胎児腎臓由来細胞) の膜画分を用いて ^3H -レパグリニドの結合実験を行ったところ、レパグリニドは SUR1 を発現していない HEK293 細胞の膜画分には結合しなかったが、SUR1 を発現させた膜画分には結合した (図 2.6.2.2-33A)。トルブタミド及び SU 構造を持たない速効型インスリン分泌促進剤であるミチグリニドは天然型 SUR1 に対しては結合するが、SUR1 の 1237 番目のセリン (S) をチロシン (Y) に変換した変異型 SUR1 (SUR1[S1237Y]) へは結合できないことが報告されている^{文献⁶⁾}ことから、レパグリニドの変異型 SUR1 に対する結合能を検討したところ、レパグリニドは天然型 SUR1 と同様に変異型 SUR1 にも結合した (図 2.6.2.2-33B)。これらの結果から、レパグリニドの SUR1 への結合には 1237 番目のセリンの変異は影響を与えないと考えられた。

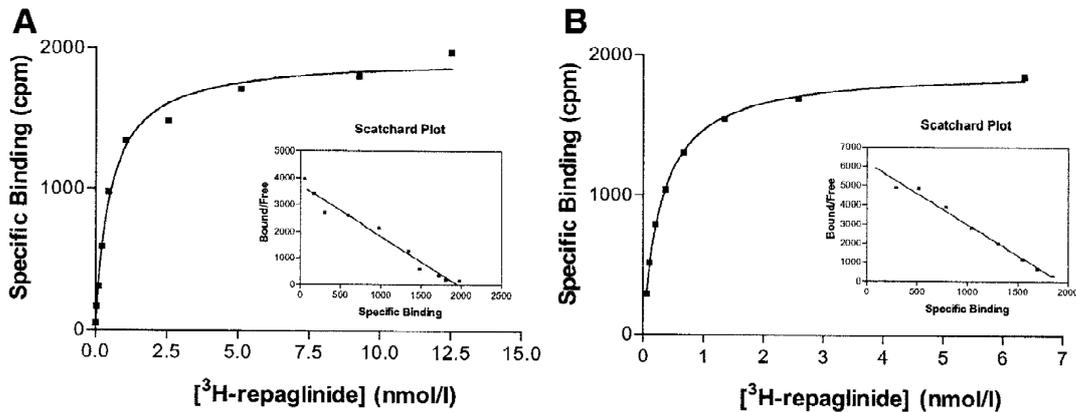


図 2.6.2.2-33 レパグリニドの SUR1 及び SUR1[S1237Y]に対する結合能

(参考資料 4.2.1.1.8 より引用)

Kir6.2 と SUR1 (A) 又は SUR1[S1237Y] (B) を共発現させた HEK293 細胞の膜画分に対する ^3H -レパグリニドの結合能を示した。Scatchard plot 解析より、レパグリニドの結合部位は 1 ヲ所と考えられる。

2) 変異型 SUR1 に対するレパグリニドとナテグリニドの作用比較

Kir6.2 と SUR1 又は SUR1[S1237Y] を共発現させた HEK293 細胞を用いて、レパグリニドとナテグリニドの K_{ATP} チャンネル阻害作用を調べたところ、レパグリニドは変異の有無にかかわらず K_{ATP} チャンネルを阻害したのに対して、ナテグリニドは変異型 SUR1 を共発現させた場合には K_{ATP} チャンネルを阻害しなかった (図 2.6.2.2-34)。これらの結果から、レパグリニドはナテグリニドと異なり、その K_{ATP} チャンネル阻害作用に 1237 番目のセリンの変異は影響を与えないと考えられた。

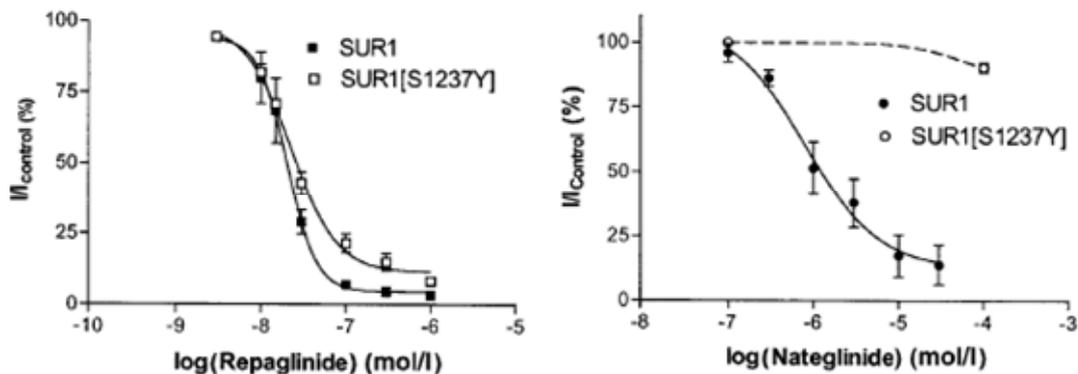


図 2.6.2.2-34 K_{ATP} チャンネル阻害作用に対する SUR1 変異の影響

(参考資料 4.2.1.1.8 より引用)

Kir6.2 と SUR1 又は SUR1[S1237Y] を共発現させた HEK293 細胞を用いて、被験物質添加前の Whole-cell 電流 (I_{control}) と被験物質存在下の Whole-cell 電流 (I) を測定した。図中の値は I/I_{control} を % 表示として示したものであり、Mean \pm SE (n=3~8) である。

3) レパグリニドと他のインスリン分泌促進剤の受容体競合実験

Kir6.2 と SUR1 又は SUR1[S1237Y]を共発現させた HEK293 細胞の膜画分を用いて、 ^3H -レパグリニドの SUR1 への結合に対する他のインスリン分泌促進剤の影響を検討した。Kir6.2/SUR1 の組合せにおいては、 ^3H -レパグリニドの結合に対してレパグリニドとグリベンクラミドはほぼ同程度の競合作用を示したが、トルブタミドとナテグリニドの競合作用は弱かった (図 2.6.2.2-35A)。一方、Kir6.2/SUR1[S1237Y]の組合せにおいては、 ^3H -レパグリニドの結合に対するグリベンクラミドの競合作用はレパグリニドよりも弱く、また、トルブタミドとナテグリニドは ^3H -レパグリニドに対する競合作用をほとんど示さなかった (図 2.6.2.2-35B)。これらの結果からレパグリニドとグリベンクラミドは SUR1 上に共通する結合部位を有し、その部位は 1237 番目のセリンを含まない領域であることが示唆された。また、グリベンクラミドは 1237 番目のセリンを含む領域にも結合するものと考えられた。一方、トルブタミドやナテグリニドの SUR1 上の結合部位は 1237 番目のセリンを含む領域であることが示唆された。

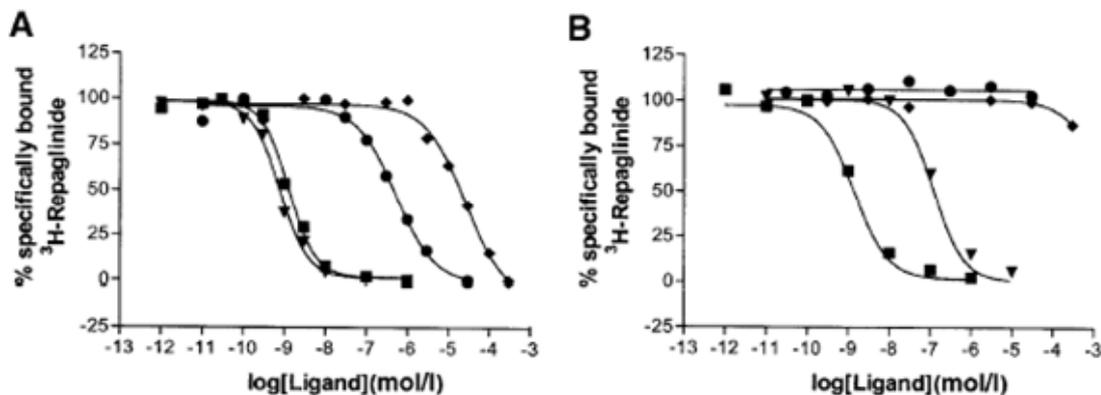


図 2.6.2.2-35 レパグリニドと他のインスリン分泌促進剤の受容体競合実験

(参考資料 4.2.1.1.8 より引用)

Kir6.2 と SUR1 (A) 又は SUR1[S1237Y] (B) を共発現させた HEK293 細胞の膜画分を用いて、受容体競合実験を行った。図中の値は競合する化合物がない場合を 100%とした ^3H -レパグリニドの結合量を示す。

■ : レパグリニド、▼ : グリベンクラミド、◆ : トルブタミド、● : ナテグリニド。

2.6.2.2.3 光学異性体及び代謝物の血糖降下作用

(1) 光学異性体の血糖降下作用 (資料 4.2.1.1.1)

レパグリニドの光学異性体である AGEE624ZW の血糖降下作用を確認した。24 時間絶食させた雌性 Wistar ラットに 0.1、0.3、1.0 mg/kg の AGEE624ZW を単回経口投与し、投与前、

投与後 30、60、120 及び 180 分の血糖値を測定した (図 2.6.2.2-36)。いずれの用量においても、血糖降下作用はみられなかった。そこで、0.1、1.0 mg/kg の AGEE624ZW を単回静脈内投与し、同様な実験を行ったところ、1.0 mg/kg で血糖降下作用が認められた (図 2.6.2.2-37) が、その作用は 0.01 mg/kg のレパグリニドの作用 (図 2.6.2.2-1) と比較しても小さいものであった。よって AGEE624ZW の血糖降下作用は、レパグリニドと比べ非常に弱いと考えられた。また、レパグリニドをラットに単回経口投与した際、血漿中に AGEE624ZW は検出されず、レパグリニドから AGEE624ZW への生体内異性体変換は認められなかった (2.6.4.5.4 参照)。

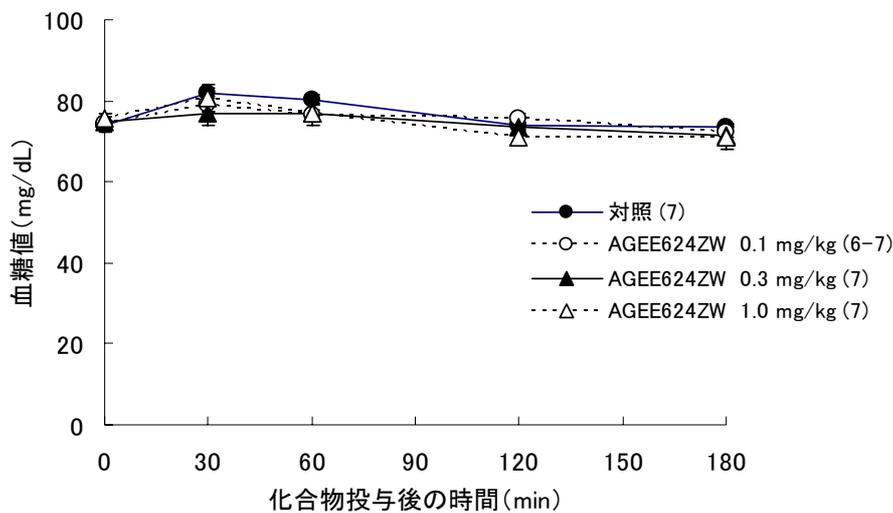


図 2.6.2.2-36 レパグリニドの光学異性体を単回経口投与した正常ラットの血糖値推移
24 時間絶食した正常ラットに AGEE624ZW を単回経口投与した。図中の値は Mean±SE を示す。凡例の () 内の数字は例数を示す。検定は実施していない。

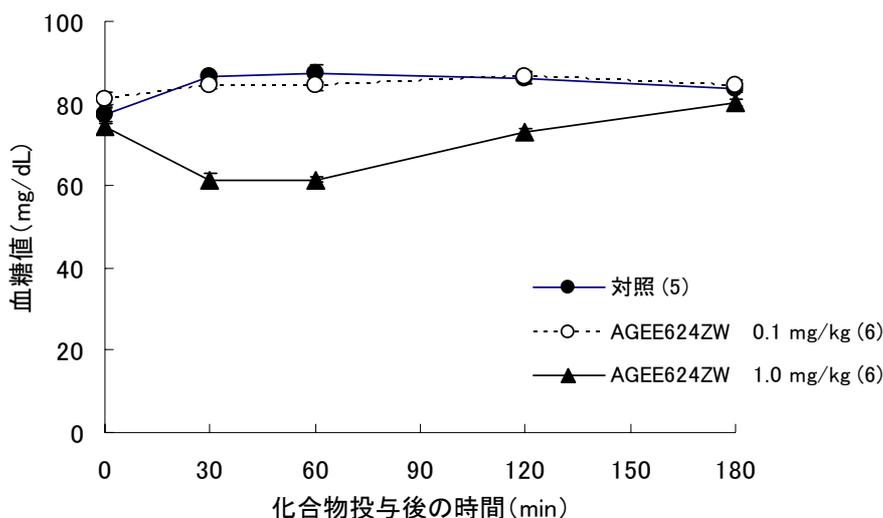


図 2.6.2.2-37 レパグリニドの光学異性体を単回静脈内投与した正常ラットの血糖値推移
24 時間絶食した正常ラットに AGEE624ZW を単回静脈内投与した。図中の値は Mean±SE を示す。凡例の () 内の数字は例数を示す。検定は実施していない。

(2) 代謝物の血糖降下作用 (資料 4.2.1.1.9)

レパグリニドをラット及びイヌに投与すると、血中では主に未変化体が検出される。また、その存在量は少ないものの、複数の代謝物が生成することが示されている (2.6.4.5.2 参照)。主要代謝物である M1、M2、M5、M6 及び M12 を雌性 Wistar ラットに静脈内投与し血糖降下作用を調べたところ、M1、M2 及び M6 は 1.0 mg/kg の投与でも血糖降下作用を示さなかった。M5 を 1.0 mg/kg 投与することにより弱い血糖降下作用が認められたが、0.1、0.01 mg/kg の投与量では作用が認められなかった。また、M12 は 0.03、0.1、1.0 mg/kg の投与量において血糖降下作用が認められたが、0.01 mg/kg を投与した場合は、血糖降下作用は認められなかった。レパグリニドは静脈内投与において、0.003 mg/kg の投与量で正常ラットの血糖値を有意に低下させる (図 2.6.2.2-2) ことから、これら代謝物の血糖降下作用はレパグリニドよりも弱いと考えられた。更に血中の代謝物の存在量が未変化体に比べて少ないことより、レパグリニドを投与した時の血糖降下作用に与える代謝物の影響は小さいと考えられた。なお、ヒト血中においては、M12 は検出されず、M5 は検出されない (2.7.2.2.2.1 参照) か、検出されてもわずか^{文献7)}であった。

2.6.2.3 副次的薬理試験

K_{ATP} チャンネルは、チャンネルのポアを形成する内向き整流性カリウムチャンネル (Kir6.1 ないし Kir6.2) と調整性サブユニットであるスルホニルウレア受容体 (SUR) から構成されている。更に SUR は、膵 β 細胞型 (SUR1)、心筋細胞型 (SUR2A) 及び平滑筋細胞型 (SUR2B) に分類される^{文献¹⁾}。生理的条件下、 K_{ATP} チャンネルは細胞内 ATP 濃度の増加により阻害され、細胞内 MgADP ないし MgGDP 濃度の増加により活性化される^{文献^{2),3)}}。近年、膵 β 細胞型、心筋細胞型及び血管平滑筋細胞型 K_{ATP} チャンネル機能に対するレパグリニドの作用を同時に検討した結果が公表されている。そこで、レパグリニドに関する副次的薬理試験は実施していないが、公表文献から、心筋細胞型及び血管平滑筋細胞型 K_{ATP} チャンネル機能に対するレパグリニドの作用について考察した。なお、公表文献はすべて参考資料として添付した。

細胞内液中に MgGDP を含む条件下、レパグリニドは HEK293 細胞に発現させた膵 β 細胞型、心筋細胞型及び血管平滑筋細胞型 K_{ATP} チャンネルを濃度依存的に阻害し、その IC_{50} は各々 0.5 nmol/L 以下、15 nmol/L 及び 29 nmol/L であった (参考資料 4.2.1.2.1)。この結果は、レパグリニドが心筋細胞型及び血管平滑筋細胞型 K_{ATP} チャンネルに比べて、膵 β 細胞型 K_{ATP} チャンネルを選択的に阻害することを示す。更に、レパグリニドは 10 nmol/L で膵 β 細胞型 K_{ATP} チャンネルを完全に阻害したのに対し、1 μ mol/L で心筋細胞型 K_{ATP} チャンネルを完全に阻害しなかった。

細胞内液中にヌクレオチド二リン酸を含まない条件下、アフリカツメガエル卵母細胞に発現させた膵 β 細胞型及び心筋細胞型 K_{ATP} チャンネルに対し、レパグリニドは阻害作用を示し、 IC_{50} は同程度 (それぞれ 5.6 nmol/L と 2.2 nmol/L) であった (参考資料 4.2.1.2.2)。細胞内液中に MgADP を存在させると、類薬トルブタミド^{文献⁸⁾}やグリベンクラミド^{文献⁹⁾}の膵 β 細胞型 K_{ATP} チャンネル阻害作用が増強する。細胞内液中に MgADP (100 μ mol/L) を含む条件下、レパグリニドによる膵 β 細胞型 K_{ATP} チャンネル阻害作用は、MgADP 非存在下に比べて増強したが、心筋細胞型 K_{ATP} チャンネル阻害作用は MgADP の影響を受けなかった。これらの結果は、細胞内に MgADP ないし MgGDP が存在する生理的条件下でレパグリニドは心筋細胞型及び血管平滑筋細胞型 K_{ATP} チャンネルに比べて、膵 β 細胞型 K_{ATP} チャンネルを選択的に阻害することを示す。

2.6.2.4 安全性薬理試験

一般薬理試験として、マウス及びラットの中樞神経系、ラット、ウサギ及びモルモットの呼吸・循環器系、自律神経系（モルモット摘出回腸）、ラットの消化器系と水及び電解質代謝に及ぼす影響を検討した。以下にそれらを要約する。

マウスにおいて、レパグリニド 50 ないし 100 mg/kg の単回経口投与で、把握反射及び landing 反射の減弱、200 mg/kg で直腸温の低下が認められた（参考資料 4.2.1.3.6）が、自発運動量（参考資料 4.2.1.3.7）、ヘキソバルビタール誘発睡眠時間（参考資料 4.2.1.3.8）、ペンチレンテトラゾール誘発痙攣及び電撃痙攣（参考資料 4.2.1.3.9）に対して影響を及ぼさず、鎮痛作用（参考資料 4.2.1.3.10）を示さなかった。ラットでは、12.5 mg/kg の単回経口投与で自発運動量の低下が認められた（参考資料 4.2.1.3.7）。

麻酔ラットで、レパグリニドの 1 mg/kg 静脈内投与により血圧上昇が認められ、更に 3 mg/kg では心拍数増加が認められた（参考資料 4.2.1.3.7）。麻酔ウサギにおいては、3 ないし 10 mg/kg 静脈内投与で死亡が認められ（参考資料 4.2.1.3.11、4.2.1.3.12）、3 mg/kg 静脈内投与での生存例では血圧及び心拍数の変動が認められた（参考資料 4.2.1.3.12）。*In vitro* 試験においては、1 及び 10 $\mu\text{mol/L}$ でモルモット単離心室筋細胞の APD₉₀ 短縮が認められた（参考資料 4.2.1.3.13）。

レパグリニドは 10 $\mu\text{mol/L}$ で、モルモット摘出回腸のセロトニン誘発収縮抑制が認められたが、ヒスタミン、アセチルコリン及び塩化バリウム誘発収縮に対して影響を及ぼさなかった（参考資料 4.2.1.3.14）。

ラットにおいて、レパグリニドは 2.5、5 及び 12.5 mg/kg の単回経口投与で腸管内輸送能の亢進、200 mg/kg の単回経口投与で胃内容物排出能の抑制を示し、200 mg/kg の単回十二指腸内投与で胃液分泌量及び胃酸分泌量の減少を示した（参考資料 4.2.1.3.15）が、200 mg/kg/日の 3 日間反復経口投与で胃粘膜刺激性を示さなかった（参考資料 4.2.1.3.7）。

水負荷ラットにおいて、レパグリニドは 12.5 mg/kg の単回経口投与で尿量を増加させ、尿中 Na⁺、K⁺、Cl⁻ 量を増加ないし減少させた（参考資料 4.2.1.3.7）。

今回の申請に際して安全性薬理試験ガイドライン（医薬審発第 902 号、平成 13 年 6 月 21 日）に準拠したコアバッテリー試験を実施した。それらの結果を以下に示す。

2.6.2.4.1 中枢神経系に及ぼす影響（GLP）（資料 4.2.1.3.1）

レパグリニドの中枢神経系に及ぼす影響を、雄性ラットを用いた Irwin の多次元観察法により検討した。

（方法）

レパグリニドの 0.0716、0.841 及び 9.32 mg/kg を各群 6 例のラットに経口投与し、投与後 30、60、120 及び 240 分に一般症状及び行動の観察を行った。媒体対照群にはポリエチ

レングリコール 300 : クレモフォール RH40 : 濾過水 (50:25:25; w/w/w)の混合液を経口投与した。血漿中濃度測定群動物には、レパグリニドの 0.0716、0.841 及び 9.32 mg/kg を経口投与し、投与前、投与後 45、90、180 及び 360 分の血漿中レパグリニド濃度を測定した。

(結果)

レパグリニドは、ラット一般症状及び行動に影響を及ぼさなかった。

レパグリニド (0.0716、0.841 及び 9.32 mg/kg) 経口投与後のラット C_{max} 及び T_{max} を表 2.6.2.4-1 に示す。

レパグリニドの 0.0716 mg/kg 経口投与後、ラット血漿中に未変化体は検出されなかった。0.841 及び 9.32 mg/kg 投与後には、全例のラット血漿中に未変化体が検出され、0.841 mg/kg 投与での C_{max} 及び T_{max} はそれぞれ 181 ± 22.7 ng/mL と 1.00 ± 0.433 時間、9.32 mg/kg 投与ではそれぞれ 1980 ± 649 ng/mL と 3.26 ± 2.63 時間であり、未変化体のラット血漿中濃度は用量依存的に増加した。

表 2.6.2.4-1 レパグリニド経口投与後のラット C_{max} 及び T_{max}

用量	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (時間)
0.0716 mg/kg	検出限界未満	—
0.841 mg/kg	181 ± 22.7	1.00 ± 0.433
9.32 mg/kg	1980 ± 649	3.26 ± 2.63

検出限界は 50 ng/mL、— : 算出不可。

数値は平均値 ± 標準偏差 (3 例) を示す。

2.6.2.4.2 心血管系に及ぼす影響

2.6.2.4.2.1 無麻酔・無拘束イヌの心血管系に及ぼす影響 (GLP) (資料 4.2.1.3.2)

レパグリニドの心血管系に及ぼす影響を調べる目的で、雄性イヌを用いたテレメトリー試験を実施した。

(方法)

レパグリニドの 0.03、0.3 及び 3 mg/kg をイヌに経口投与し、投与後 24 時間にわたり血圧、心拍数及び心電図をテレメトリー法にて測定した。媒体群にはポリエチレングリコール 300 : クレモフォール RH40 : 濾過水 (50:25:25; v/w/v) の混合液を経口投与した。媒体若しくはレパグリニドの各用量は 2 ~ 3 日の休薬期間をおいて、ラテン方格に基づきイヌ 4 匹へ投与を行った。投与前 30、15、投与後 30、60、120、180、240 分及び 24 時間における血圧、心拍数及び心電図 (RR 間隔、PR 間隔、QRS 間隔、QT 間隔、QTcF 及び QTcQ) を解析した。心電図解析において QTcF は Fridericia の補正式を、QTcQ は各個体固有の補正式を用いて算出した。

上記検討終了 2 日後から同じ動物を用いて血漿中濃度を測定した。イヌ 4 匹に 2 ~ 3 日

の休薬期間において、0.03、0.3 及び 3 mg/kg の順に経口投与し、投与前、投与後 30、60、120、180 及び 240 分の血漿中レパグリニド濃度を測定した。

(結果)

レパグリニドの 0.03 mg/kg 投与では血圧（収縮期血圧、拡張期血圧及び平均血圧）に影響を及ぼさなかった。0.3 mg/kg 投与後 30 分で有意な血圧上昇が認められたが、4 例中 2 例で血圧変動はほとんど認められず（4.2.1.3.2 p.73-76、p.83-86 参照）、未変化体の血漿中濃度に個体間で大きな差は認められなかった（4.2.1.3.2 p.149 Table 2 参照）。したがって、0.3 mg/kg 投与での血圧変動は偶発的と考える。3 mg/kg の投与では投与後 30 から 240 分にかけて軽度ではあるが持続的な血圧上昇が確認された。3 mg/kg における血圧上昇は投与後 24 時間には回復した。心拍数及び各心電図パラメータにはレパグリニドの最高用量 3 mg/kg まで影響を及ぼさなかった。血漿中濃度測定結果は表 2.6.2.4-2 に示す。レパグリニド 0.03 mg/kg の投与では血漿中レパグリニド濃度は検出限界未満であったが、0.3 及び 3 mg/kg の投与では用量依存的に増加した。

表 2.6.2.4-2 レパグリニド経口投与後のイヌ C_{max} 及び T_{max}

用量	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (時間)
0.03 mg/kg	検出限界未満	—
0.3 mg/kg	809±288	0.5±0.0
3 mg/kg	6030±1690	0.625±0.250

検出限界は 100 ng/mL、—：算出不可。
数値は平均値±標準偏差（4 例）を示す。

2.6.2.4.2.2 HEK293 細胞における hERG 電流に及ぼす影響（GLP）（資料 4.2.1.3.3）

レパグリニドの心血管系に及ぼす影響を、HEK293 細胞に安定発現させた hERG チャネルを用いて検討した。

(方法)

hERG チャネルを安定発現している HEK293 細胞（n=4）を用いて Whole-cell patch-clamp 法により hERG 電流を測定した。一定の電気刺激下にて安定した hERG 電流を測定後、媒体若しくはレパグリニドの 3 $\mu\text{mol/L}$ を適用し、適用後 10 分の hERG 電流を測定した。適用前後の hERG 電流変化を算出し、レパグリニドの hERG 電流に及ぼす影響を評価した。媒体には DMSO を用い、媒体若しくはレパグリニド処置した細胞のうちそれぞれ 2 例を使用して、陽性対照薬 E-4031 の 100 nmol/L を適用し、hERG 電流抑制を確認した。

(結果)

媒体及びレパグリニド（3 $\mu\text{mol/L}$ ）による hERG 電流抑制率はそれぞれ 11.9%、14.2%で

あった。陽性対照薬 E-4031 は 100 nmol/L の濃度において hERG 電流を 95.5%抑制した。

2.6.2.4.2.3 ウサギ摘出プルキンエ線維の活動電位に及ぼす影響 (GLP) (資料 4.2.1.3.4)

レパグリニドの心血管系に及ぼす影響を、雌性ニュージーランドホホワイト種ウサギより摘出したプルキンエ線維を用いた活動電位パラメータから評価した。

(方法)

ウサギより心筋プルキンエ線維を摘出し、微小電極を用いてプルキンエ線維の活動電位を測定した。評価パラメータは 0.5 Hz 若しくは 1 Hz の電気刺激下にて 60%再分極活動電位持続時間(APD₆₀)、90%再分極活動電位持続時間(APD₉₀)、APD₉₀と APD₆₀の差(APD₆₀₋₉₀)、活動電位振幅、静止膜電位及び最大立ち上がり速度を評価した。最大立ち上がり速度については 3 Hz の高頻度電気刺激下においても測定した。安定した活動電位パラメータを測定後、媒体、レパグリニドの 0.03、0.3、3 µmol/L、若しくは陽性対照薬ソタロールの 10 µmol/L を適用した。媒体には DMSO を用い、適用後 30 分において各活動電位パラメータを測定し、媒体、レパグリニド若しくはソタロール適用前後におけるパラメータの変化を評価した。各適用群における標本数は 4 例とした。

(結果)

レパグリニドは 0.3 µmol/L で 1 Hz 電気刺激におけるプルキンエ線維活動電位の APD₆₀ を延長させたが、低頻度刺激 (0.5 Hz) では活動電位パラメータに影響を及ぼさなかった。更に、0.5 及び 1 Hz 電気刺激において、0.03 と 3 µmol/L で活動電位パラメータに影響を及ぼさなかった。ソタロールは 10 µmol/L の濃度で APD₆₀、APD₉₀ 及び APD₆₀₋₉₀ を延長させた。ソタロールによる APD₆₀、APD₉₀ 及び APD₆₀₋₉₀ 延長の程度は、1 Hz 刺激では灌流前値に比べてそれぞれ 46、44 及び 38%、0.5 Hz 刺激では灌流前値に比べて 78、76 及び 64%であり、APD₆₀、APD₉₀ 及び APD₆₀₋₉₀ 延長作用に逆頻度依存性が認められた。

2.6.2.4.3 呼吸系に及ぼす影響 (GLP) (資料 4.2.1.3.5)

レパグリニドの呼吸系に及ぼす影響を、雄性ラットを用いて無麻酔無拘束で検討した。

(方法)

ラットを無拘束チャンバーに収容し、安定した呼吸機能パラメータを測定した。各群 8 例のラットにレパグリニドの 0.1、1 及び 10 mg/kg を経口投与、若しくは陽性対照薬である塩酸モルヒネを静脈内投与し、投与前、投与後 45、90、180 及び 360 分における呼吸機能パラメータを測定、評価した。各測定時点における呼吸機能パラメータは呼吸数及び一回換気量とし、それらパラメータは測定時点の 10 から 15 分前にラットを無拘束チャンバーに戻して測定した。媒体対照群にはポリエチレングリコール 300 : クレモフォール RH40 : 濾過水 (50:25:25; w/w/w) の混合液を経口投与した。

(結果)

レパグリニドは最高用量 10 mg/kg まで呼吸数に影響を及ぼさなかった。レパグリニドの 0.1 mg/kg 投与後 360 分においてのみ一回換気量の有意な減少が認められたが、その減少は軽度であった。レパグリニドの 1 及び 10 mg/kg の投与は測定期間中の一回換気量に影響を及ぼさなかった。塩酸モルヒネの 10 mg/kg では呼吸数及び一回換気量の有意な減少が認められた。

レパグリニド 1 mg/kg 投与群及び陽性対照群で各 1/8 例に死亡が認められた。しかしながら、媒体群の 1 例で死亡が認められたこと、レパグリニドの 0.841 mg/kg 投与に比べ、9.32 mg/kg 投与時における未変化体のラット血漿中濃度が高いこと (表 2.6.2.4-1 参照) 及び 10 mg/kg 投与群で死亡や症状変化は認められなかったことから、レパグリニド 1 mg/kg 投与群で認められた死亡は、薬物投与によるものではないと考えられた。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

実施していない。

2.6.2.6 考察及び結論

2.6.2.6.1 効力を裏付ける試験

レパグリニドは、絶食した正常ラット及び正常イヌに対して単回経口投与により血糖降下作用を示した。また、グルコース負荷正常ラット及びショ糖負荷正常ラットに対しても血糖上昇抑制作用を示した。更には STZ 誘発糖尿病ラット及び自然発症糖尿病モデルである GK ラットにおいても、糖負荷後の血糖上昇抑制作用を示した。これらの作用は、レパグリニドが経口投与後速やかに吸収され、インスリン分泌を促進することによるものと考えられた。また糖負荷だけでなく、食餌負荷ラットにおけるレパグリニドの血糖上昇抑制作用も報告されている^{文献¹⁰}ことから、臨床における食後の血糖上昇に対しても、同様に作用することが期待される。

ショ糖負荷正常ラット及びショ糖負荷 STZ 誘発糖尿病ラットを用いて、レパグリニドの血糖上昇抑制作用を SU 剤であるグリベンクラミド及び α -GI 剤であるボグリボースと比較したところ、レパグリニドの作用発現までの時間は、グリベンクラミドに比べ早かったことから、レパグリニドはグリベンクラミドなどの SU 剤に比べ、より速やかな食後高血糖の改善が期待される。また、作用の持続時間が、ボグリボースに比べレパグリニドの方が長かったことから、レパグリニドはボグリボースなどの α -GI 剤に比べ、血糖コントロールできる時間が長く、結果として長期血糖コントロールの指標であるヘモグロビン A_{1c} をより改善することが期待される。

更に、グルコース負荷 GK ラットを用いて、同じ速効型インスリン分泌促進剤であるナテグリニドとレパグリニドの食後高血糖改善作用を比較したところ、両剤とも投与 30 分後の血漿中インスリン濃度を増加させ、投与 60~180 分後の血糖値を低下させたが、レパグリニドの方が低用量で同等の作用を示した。

レパグリニドと α -GI 剤の併用効果を確認するため、ショ糖負荷正常ラットにレパグリニドとボグリボースを併用したところ、血糖上昇抑制作用に対する両剤の併用効果が確認された。レパグリニドのインスリン分泌促進作用とボグリボースの糖吸収抑制作用が相加的に働いたことによるものと考えられた。臨床においても、レパグリニドと α -GI 剤の併用効果が期待される。

レパグリニドの作用メカニズムは、SU 剤や他の速効型インスリン分泌促進剤と同様に膵 β 細胞上の SUR1 に結合し、K_{ATP} チャネルを閉鎖することにより、電位依存性カルシウムチャネルの開口を促し、結果として膵 β 細胞からのインスリン分泌を促進することが確認された。

以上、レパグリニドは膵 β 細胞からのインスリン分泌を速やかに促進し、血糖降下作用を示すことから、食後血糖推移の改善に有効であることが示された。

2.6.2.6.2 副次的薬理試験

K_{ATP} チャネルは、チャネルのポアを形成する内向き整流性カリウムチャネルと調整性サブユニットであるスルホニルウレア受容体 (SUR) から構成され、更に SUR は膵 β 細胞型、

心筋細胞型及び血管平滑筋細胞型に分類される^{文献¹⁾}。生理的条件下、 K_{ATP} チャンネルは細胞内 ATP 濃度の増加により阻害され、細胞内 MgADP ないし MgGDP 濃度の増加により活性化されるといった特徴を持つ^{文献^{2),3)}}。膵 β 細胞型 K_{ATP} チャンネルの阻害により、インスリン分泌が促進し、血糖値を低下させる。心筋細胞型 K_{ATP} チャンネルは心筋虚血ないし低酸素時に開口し、活動電位を短縮させることで細胞内への Ca^{2+} の流入を抑制し、心保護作用を示すため、心筋細胞型 K_{ATP} チャンネル阻害は心筋梗塞の増悪に繋がると推測されている^{文献³⁾}。血管平滑筋細胞型 K_{ATP} チャンネルは低酸素血症や高二酸化炭素血症時に生じる血管拡張に重要な役割を果たすと考えられている^{文献¹¹⁾}ため、血管平滑筋細胞型 K_{ATP} チャンネル阻害は低酸素血症や高二酸化炭素血症時の症状増悪に繋がると推測される。

レパグリニドの SUR 選択性について、細胞内液中に MgGDP を含む条件下で HEK293 細胞に発現させた膵 β 細胞型、心筋細胞型及び血管平滑筋細胞型 K_{ATP} チャンネルへの作用が検討されている。その結果、レパグリニドは膵 β 細胞型、心筋細胞型及び血管平滑筋細胞型 K_{ATP} チャンネルを濃度依存的に阻害し、 IC_{50} は各々 0.5 nmol/L 以下、15 nmol/L 及び 29 nmol/L であり、高濃度で膵 β 細胞型 K_{ATP} チャンネルを完全に阻害する作用を有しているのに対し、心筋細胞型 K_{ATP} チャンネルに対しては高濃度でも完全に阻害しなかった。一方、細胞内液中にヌクレオチド二リン酸を含まない条件下、アフリカツメガエル卵母細胞に発現させた膵 β 細胞型及び心筋細胞型 K_{ATP} チャンネルに、レパグリニドは同程度の阻害作用を示した。細胞内液中に MgADP を含む条件下で類薬トルブタミド^{文献⁸⁾}やグリベンクラミド^{文献⁹⁾}による膵 β 細胞型 K_{ATP} チャンネル阻害活性は増強することが知られている。レパグリニドも細胞内液中に MgADP を含む条件下で、アフリカツメガエル卵母細胞に発現させた膵 β 細胞型 K_{ATP} チャンネル阻害活性は増強したが、心筋細胞型 K_{ATP} チャンネル阻害活性に影響を及ぼさなかった。

以上より、細胞内に MgADP ないし MgGDP が存在する生理的条件下でレパグリニドは心筋細胞型及び血管平滑筋細胞型 K_{ATP} チャンネルに比べて、膵 β 細胞型 K_{ATP} チャンネルを選択的に阻害することが示唆される。レパグリニドのヒト血漿たん白結合率 (2.7.2.2.1 参照) から、ヒト 1 日最大臨床用量 (1 mg/回、1 日 3 回) における非結合型未変化体の最高血漿中濃度 (C_{max}) は 2.0 nmol/L (= 53.0 ng/mL x (100-98.3)/100/452.59 x 1000) と算出され、レパグリニドが臨床有効用量で心筋細胞型若しくは血管平滑筋細胞型 K_{ATP} チャンネルの阻害に基づく副作用を発現する可能性は低いと考えられる。

2.6.2.6.3 安全性薬理試験

ラット一般症状及び行動に対して、レパグリニドは 9.32 mg/kg 経口投与で影響を及ぼさず、10 mg/kg 経口投与でラット呼吸数及び一回換気量に影響を及ぼさなかった。ラット呼吸系試験にて、レパグリニド 1 mg/kg 投与群の 1 例で死亡が認められたが、媒体群の 1 例でも死亡が認められたこと、レパグリニドの 0.841 mg/kg 投与に比べ、9.32 mg/kg 投与時における未変化体のラット血漿中濃度が高いこと及び 10 mg/kg 投与群で死亡や症状変化は認められなかったことから、ラットで認められた死亡は薬物に起因するものでないと考え

た。レパグリニドの 9.32 mg/kg 経口投与におけるラット平均 C_{max} (1980 ng/mL) は、ヒト 1 日最大臨床用量 (1 mg/回、1 日 3 回) における未変化体 C_{max} (53.0 ng/mL、試験番号: D4101005、5.3.4.2.1 参照) の約 37 倍であった。これらのことから、レパグリニドが臨床で重篤な中枢神経系及び呼吸系副作用を発現する可能性は低いと考えられる。

無麻酔無拘束イヌを用いたテレメトリー試験において、レパグリニドは 0.03 mg/kg 単回経口投与で血圧及び心拍数に影響を及ぼさず、0.3 mg/kg で認められた血圧変動は偶発的変化と判断されたが、3 mg/kg で血圧を上昇させた。レパグリニド 0.3 mg/kg 投与時のイヌ C_{max} (809 ng/mL) は、ヒト 1 日最大臨床用量における未変化体 C_{max} (53.0 ng/mL) の約 15 倍であった。

臨床で QT 延長や心室性不整脈を発現する薬剤の多くは hERG 電流を著明に抑制し、 IC_{50} は血漿たん白非結合型の臨床有効血漿中濃度の 30 倍以下であること^{文献¹²⁾}、ウサギ摘出プルキンエ線維活動電位の APD_{90} を延長させること^{文献^{13),14)}}が報告されている。QT 延長の潜在的可能性を評価するためにレパグリニドの hERG 電流及びウサギ摘出プルキンエ線維活動電位に及ぼす影響を検討した。その結果、レパグリニドは 3 μ mol/L で hERG 電流に影響を及ぼさず、0.03~3 μ mol/L でウサギ摘出プルキンエ線維の APD_{90} に影響を及ぼさなかった。レパグリニドのヒト 1 日最大臨床用量における非結合型未変化体 C_{max} は 2.0 nmol/L と考えられ、これら *in vitro* 試験の結果は、レパグリニドが心電図 QT 延長の潜在的 가능성이少ないことを示唆する。更に、テレメトリー試験において、レパグリニドは 3 mg/kg 単回経口投与で心拍数、心電図パラメータに影響を及ぼさず、その際の平均未変化体 C_{max} (6030 ng/mL) は、1 日最大臨床用量投与時におけるヒト C_{max} の約 114 倍であった。これらのことから、臨床でレパグリニド投与により血圧の異常な上昇や重篤な QT 延長及び心室性不整脈を発現する可能性は低いと考えられる。

2.6.2.7 図表

すべての図表は概要文中に掲載した。

2.6.2.8 参考文献

- 1) Yokoshiki H, Sunagawa M, Seki T, Sperelakis N. ATP-sensitive K^+ channels in pancreatic, cardiac, and vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol.* 1998; 274: C25-37. 【4.3.5】
- 2) Ashcroft FM, Gribble FM. Correlating structure and function in ATP-sensitive K^+ channels. *Trends Neurosci.* 1998; 21: 288-94. 【4.3.19】
- 3) Seino S, Miki T. Physiological and pathophysiological roles of ATP-sensitive K^+ channels. *Prog Biophys Mol Biol.* 2003; 81: 133-76. 【4.3.6】
- 4) Ikenoue T, Okazaki K, Fujitani S, Tsuchiya Y, Akiyoshi M, Maki T, et al. Effect of a new hypoglycemic agent, A-4166[(-)-*N*-(*trans*-4-isopropyl-cyclohexanecarbonyl)-D-phenylalanine], on postprandial blood glucose excursion: Comparison with voglibose and glibenclamide. *Biol Pharm Bull.* 1997; 20: 354-9. 【4.3.20】

- 5) 小高裕之, 三木七美, 池田衡, 松尾隆夫. 二糖類水解酵素阻害剤 AO-128 のラットにおける食後高血糖抑制作用. 日本栄養・食糧学会誌. 1992; 45: 27-31. 【4.3.21】
- 6) Reimann F, Proks P, Ashcroft FM. Effects of mitiglinide (S 21403) on Kir6.2/SUR1, Kir6.2/SUR2A and Kir6.2/SUR2B types of ATP-sensitive potassium channel. Br J Pharmacol. 2001; 132: 1542-8. 【4.3.22】
- 7) van Heiningen PNM, Hatorp V, Kramer Nielsen K, Hansen KT, van Lier JJ, van De Merbel NC, et al. Absorption, metabolism and excretion of a single oral dose of ¹⁴C-repaglinide during repaglinide multiple dosing. Eur J Clin Pharmacol. 1999; 55: 521-5. 【4.3.23】
- 8) Gribble FM, Tucker SJ, Ashcroft FM. The interaction of nucleotides with the tolbutamide block of cloned ATP-sensitive K⁺ channel currents expressed in *Xenopus* oocytes: a reinterpretation. J Physiol. 1997; 504: 35-45. 【4.3.24】
- 9) Gribble FM, Tucker SJ, Seino S, Ashcroft FM. Tissue specificity of sulfonylureas: studies on cloned cardiac and β -cell K_{ATP} channels. Diabetes. 1998; 47: 1412-8. 【4.3.25】
- 10) de Souza CJ, Russo P, Lozito R, Dunning BE. Differential effects of short and long duration insulinotropic agents on meal-related glucose excursions. Diabetes Obes Metab. 2001; 3: 73-83. 【4.3.1】
- 11) 河野崇, 大下修造 血管平滑筋細胞の ATP 感受性 K⁺チャンネルと麻酔 日臨麻会誌 2005; 25: 126-37. 【4.3.7】
- 12) Redfern WS, Carlsson L, Davis AS, Lynch WG, MacKenzie I, Palethorpe S, et al. Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development. Cardiovasc Res. 2003; 58: 32-45. 【4.3.2】
- 13) Lu HR, Vlaminckx E, Teisman A, Gallacher DJ. Choice of cardiac tissue plays an important role in the evaluation of drug-induced prolongation of the QT interval *in vitro* in rabbit. J Pharmacol Toxicol Methods. 2005; 52: 90-105. 【4.3.3】
- 14) Lu HR, Vlaminckx E, Van de Water A, Rohrbacher J, Hermans A, Gallacher DJ. *In-vitro* experimental models for the risk assessment of antibiotic-induced QT prolongation. Eur J Pharmacol. 2007; 577: 222-32. 【4.3.4】

レパグリニド
製造販売承認申請
CTD 第2部

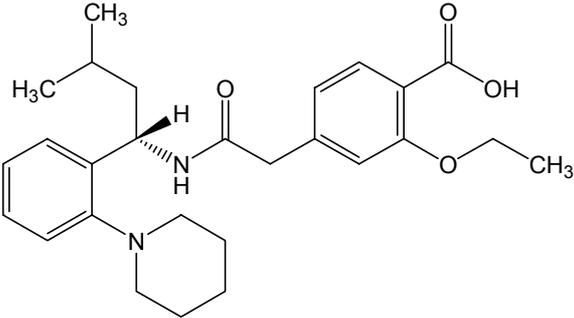
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3 薬理試験概要表

目次

2.6.3 薬理試験概要表	
2.6.3.1 薬理試験：一覧表.....	4
2.6.3.2 効力を裏付ける試験.....	11
2.6.3.3 副次的薬理試験.....	12
2.6.3.4 安全性薬理試験.....	13
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験.....	19

【本項における用語の説明】

用語	定義、読み替えなど
レパグリニド	<p>定義、読み替えなど</p> <p>化学名： (+)-(S)-2-Ethoxy-4-[2-[3-methyl-1-(2-piperidinophenyl)butylamino]-2-oxoethyl]benzoic acid</p> <p>化学式 (分子量)： C₂₇H₃₆N₂O₄ (452.59)</p> <p>構造式：</p> 

【一般的略号】

略号	省略しない表現	日本語
ADP	Adenosine diphosphate	アデノシン 2 リン酸
ATP	Adenosine triphosphate	アデノシン 3 リン酸
GDP	Guanosine diphosphate	グアノシン 2 リン酸
Kir	K ⁺ inward rectifier	内向き整流性カリウムチャネル
SD	Sprague Dawley	—
SUR	Sulfonylurea receptor	スルホニルウレア受容体

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

表 2.6.3.1-1 一覧表

被験物質：レパグリニド

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所	
					Vol.	Section
効力を裏付ける試験						
<i>In vivo</i> 薬効評価						
正常ラットにおける血糖降下作用	ラット/Wistar	経口（強制） 及び静脈内	住友製薬（株）	EXA00067	4-1	4.2.1.1.1
正常イヌにおける血糖降下作用	イヌ/ビーグル	経口（強制）	住友製薬（株）	EXA00067	4-1	4.2.1.1.1
正常ラットにおけるグルコース負荷後の血糖上昇抑制作用	ラット/SD	経口（強制）	大日本住友製薬（株）	DP1-SMP-508-002	4-1	4.2.1.1.2
正常ラットにおけるショ糖負荷後の血糖上昇抑制作用	ラット/SD	経口（強制）	住友製薬（株）	EXA00068	4-1	4.2.1.1.3
糖尿病モデルラットにおけるショ糖負荷後の血糖上昇抑制作用	ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラット	経口（強制）	住友製薬（株）	EXA00068	4-1	4.2.1.1.3
糖尿病モデルラットにおけるグルコース負荷後の血糖上昇抑制作用	Goto-Kakizaki ラット	経口（強制）	大日本住友製薬（株）	DP1-SMP-508-001	4-1	4.2.1.1.4
正常ラットにおけるショ糖負荷後の血糖上昇抑制作用（ボグリボースとの併用）	ラット/SD	経口（強制）	大日本住友製薬（株）	DP1-SMP-508-004	4-1	4.2.1.1.5

表 2.6.3.1-1 一覧表 (続き)

被験物質：レパグリニド、³H-レパグリニド

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所	
					Vol.	Section
効力を裏付ける試験						
作用メカニズム						
インスリン分泌促進作用	マウス単離ランゲルハンス氏島	<i>In vitro</i>	Novo Nordisk 社	公表文献	4-1	4.2.1.1.6
ATP 感受性カリウムチャネル活性抑制作用	新生児ラット膵β細胞	<i>In vitro</i>	Novo Nordisk 社	公表文献	4-1	4.2.1.1.7
細胞内 Ca ²⁺ 濃度上昇作用	βTC3 細胞 (マウスインスリンノーマ)	<i>In vitro</i>	Novo Nordisk 社	公表文献	4-1	4.2.1.1.7
SUR1 結合能	組換え Kir6.2、SUR1 発現 HEK293 細胞	<i>In vitro</i>	Novo Nordisk 社	公表文献	4-1	4.2.1.1.8 (参考資料)

表 2.6.3.1-1 一覧表 (続き)

被験物質：レパグリニドの光学異性体及び代謝物

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所	
					Vol.	Section
効力を裏付ける試験						
光学異性体及び代謝物の血糖降下作用 正常ラットにおける光学異性体の血糖降下作用	ラット/Wistar	経口 (強制) 及び静脈内	住友製薬 (株)	EXA00067	4-1	4.2.1.1.1
正常ラットにおける代謝物の血糖降下作用	ラット/Wistar	静脈内	■■■■■	KVP11 ■■■	4-1	4.2.1.1.9

表 2.6.3.1-1 一覧表 (続き)

被験物質：レパグリニド

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所	
					Vol.	Section
副次的薬理試験						
K _{ATP} 電流に及ぼす影響	HEK293 細胞	<i>In vitro</i>	University of Tübingen	公表文献	4-1	4.2.1.2.1 (参考資料)
K _{ATP} 電流に及ぼす影響	アフリカツメガエル 卵母細胞	<i>In vitro</i>	University Laboratory of Physiology, Oxford	公表文献	4-1	4.2.1.2.2 (参考資料)

表 2.6.3.1-1 一覧表 (続き)

被験物質：レパグリニド

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所	
					Vol.	Section
安全性薬理試験						
中枢神経系に及ぼす影響 - 一般症状・行動 -	ラット/SD	強制経口	■■■■	■■■■5020	4-1	4.2.1.3.1
中枢神経系に及ぼす影響 - 一般行動 -	マウス/NMRI	強制経口	■■■■■■■■■■ ■■■■	GP945AM	4-1	4.2.1.3.6 (参考資料)
中枢神経系に及ぼす影響 - 自発運動量 -	マウス/NMRI ラット/Wistar	強制経口	■■■■■■■■■■ ■■■■	なし(資料番号 U■■■0731)	4-1	4.2.1.3.7 (参考資料)
中枢神経系に及ぼす影響 - 麻酔作用 -	マウス/NMRI	強制経口	■■■■■■■■■■ ■■■■	GP■■■64AM	4-1	4.2.1.3.8 (参考資料)
中枢神経系に及ぼす影響 - 痙攣作用 (協力・拮抗作用) -	マウス/NMRI	強制経口	■■■■■■■■■■ ■■■■	GP■■■65AM	4-1	4.2.1.3.9 (参考資料)
中枢神経系に及ぼす影響 - 鎮痛作用 -	マウス/NMRI	強制経口	■■■■■■■■■■ ■■■■	GP■■■63AM	4-1	4.2.1.3.10 (参考資料)
心血管系に及ぼす影響 - 血圧、心拍数、心電図 -	イヌ/ビーグル	強制経口	■■■■	■■■■5022	4-1	4.2.1.3.2
心血管系に及ぼす影響 - hERG 電流 -	HEK293 細胞	<i>In vitro</i>	■■■■	■■■■5023	4-1	4.2.1.3.3

表 2.6.3.1-1 一覧表 (続き)

被験物質：レパグリニド

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所	
					Vol.	Section
安全性薬理試験						
心血管系に及ぼす影響 - 摘出プルキンエ線維活動電位 -	ウサギ/ニュージーランドホ ワイト種	<i>In vitro</i>	■■■■	■■■■5024	4-1	4.2.1.3.4
呼吸系に及ぼす影響 - 呼吸数、一回換気量 -	ラット/SD	強制経口	■■■■	■■■■5021	4-1	4.2.1.3.5
呼吸・循環器系に及ぼす影響 - 血圧、心拍数 -	ラット/Wistar	静脈内	■■■■■■■■■■ ■■■■	なし(資料番号 U■■■0731)	4-1	4.2.1.3.7 (参考資料)
呼吸・循環器系に及ぼす影響 - 呼吸、血圧、心拍数 -	ウサギ/ニュージーランドホ ワイト種	静脈内	■■■■■■■■■■ ■■■■	GP■■■HS005	4-1	4.2.1.3.11 (参考資料)
呼吸・循環器系に及ぼす影響 - 血圧、心拍数、心電図、頸動脈血流量 -	ウサギ/チンチラ種	静脈内	■■■■■■■■■■ ■■■■	GP19■■■/11/WD	4-1	4.2.1.3.12 (参考資料)
呼吸・循環器系に及ぼす影響 - 単離心室筋細胞活動電位 -	モルモット	<i>In vitro</i>	■■■■■■■■■■ ■■■■	GP19■■■/54/PH2	4-1	4.2.1.3.13 (参考資料)
自律神経系に及ぼす影響 - 摘出回腸 -	モルモット	<i>In vitro</i>	■■■■■■■■■■ ■■■■	GP946AM	4-1	4.2.1.3.14 (参考資料)

表 2.6.3.1-1 一覧表 (続き)

被験物質：レパグリニド

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所	
					Vol.	Section
安全性薬理試験						
消化器系に及ぼす影響 - 腸管内輸送能 -	ラット/Wistar	強制経口	██████████	GP-████HS004	4-1	4.2.1.3.15 (参考資料)
消化器系に及ぼす影響 - 胃内容排出能 -	ラット/Wistar	強制経口	██████████	GP-████HS004	4-1	4.2.1.3.15 (参考資料)
消化器系に及ぼす影響 - 胃酸分泌 -	ラット/Wistar	十二指腸内	██████████	GP-████HS004	4-1	4.2.1.3.15 (参考資料)
消化器系に及ぼす影響 - 胃粘膜刺激性 -	ラット/Wistar	強制経口	██████████	なし(資料番号 U-████0731)	4-1	4.2.1.3.7 (参考資料)
水及び電解質代謝に及ぼす影響	ラット/Wistar	強制経口	██████████	なし(資料番号 U-████0731)	4-1	4.2.1.3.7 (参考資料)

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

すべての図表は概要文中に掲載した。

2.6.3.3 副次的薬理試験

表 2.6.3.3-1 副次的薬理試験

被験物質：レパグリニド

試験項目	動物	投与経路	実験方法	投与量	結果	試験番号	GLP 適用	記載箇所	
								Vol	Section
K _{ATP} 電流	HEK293 細胞	<i>In vitro</i>	Whole-cell patch-clamp 法	—	IC ₅₀ (細胞内液に MgGDP 含 む) 膵β細胞型：≤0.5 nmol/L 心筋細胞型：15 nmol/L 血管平滑筋細胞型：29 nmol/L	公表文献	非	4-1	4.2.1.2.1 (参考資 料)
K _{ATP} 電流	アフリカ ツメガエル 卵母細胞	<i>In vitro</i>	Inside-out macropatch 法	0.001-100 μmol/L	IC ₅₀ 膵β細胞型：5.6 nmol/L 心筋細胞型：2.2 nmol/L 細胞内液に MgADP を含む条 件下、レパグリニド(1 μmol/L) による膵β細胞型 K _{ATP} 電流抑 制作用は増強したが、心筋細 胞型 K _{ATP} 電流抑制作用に影 響なし。	公表文献	非	4-1	4.2.1.2.2 (参考資 料)

2.6.3.4 安全性薬理試験

表 2.6.3.4-1 安全性薬理試験

被験物質：レバグリニド

試験項目	動物	投与経路	実験方法	投与量	結果	試験番号	GLP 適用	記載箇所	
								Vol	Section
中枢神経系に及ぼす影響									
一般症状 行動	ラット♂ SD 6匹/群	強制経口	Irwin 法	0.0716, 0.841, 9.32 mg/kg	影響なし	5020	適	4-1	4.2.1.3.1
心血管系に及ぼす影響									
血圧、心拍 数、心電図	イヌ♂ ビーグル 4匹/群	強制経口	テレメトリー法	0.03, 0.3, 3 mg/kg	0.03 mg/kg：影響なし 0.3 mg/kg：投与後 30 分で血圧 が上昇したが、偶発的变化と 判断。心拍数及び心電図には 影響なし 3 mg/kg：軽度ながら持続的な 血圧上昇。心拍数及び心電図 には影響なし	5022	適	4-1	4.2.1.3.2
hERG 電流	hERG チヤ ンネル発現 細胞 4細胞/群	<i>In vitro</i>	Whole-cell patch-clamp 法	3 µmol/L	影響なし	5023	適	4-1	4.2.1.3.3
摘出プルキ ンエ線維活 動電位	ウサギ♀ ニュージ ーランドホ ワイト種 4標本/群	<i>In vitro</i>	微小電極法	0.03, 0.3, 3 µmol/L	0.3 µmol/L： 刺激頻度 1 Hz で APD ₆₀ を延長 させたが、刺激頻度 0.5 Hz で 影響なし。 0.03, 3 µmol/L：影響なし	5024	適	4-1	4.2.1.3.4

表 2.6.3.4-1 (続き)

被験物質：レパグリニド

試験項目	動物	投与経路	実験方法	投与量	結果	試験番号	GLP 適用	記載箇所	
								Vol	Section
呼吸系に及ぼす影響									
呼吸数、一回換気量	ラット♂ SD 8匹/群	強制経口	プレチスモグラフィ法	0.1, 1, 10 mg/kg	0.1 mg/kg : 最終測定時点(投与後 360 分) で一回換気量減少 1, 10 mg/kg : 影響なし 症状変化や死亡のため、データは 6-8 匹/群から得た。	5021	適	4-1	4.2.1.3.5

表 2.6.3.4-1 (続き)

被験物質：レバグリニド

試験項目	動物	投与経路	実験方法	投与量	結果	試験番号	GLP 適用	記載箇所	
								Vol	Section
中枢神経系に及ぼす影響									
一般行動	マウス♂♀ NMRI ♂5匹/群 ♀5匹/群	強制経口	Irwin 法	50, 100, 200 mg/kg	50, 100 mg/kg : 把握反射及び landing 反射の減弱 200 mg/kg : 把握反射と landing 反射の減弱、直腸温の低下	GP945AM	非	4-1	4.2.1.3.6 (参考資料)
自発運動	マウス♂ NMRI 8匹/群	強制経口	自発運動量	50, 100, 200 mg/kg	影響なし	なし (資料番号 U-0731)	非	4-1	4.2.1.3.7 (参考資料)
	ラット♂ Wistar 8匹/群	強制経口	自発運動量	12.5, 50, 200 mg/kg	抑制				
麻酔作用	マウス♂♀ NMRI ♂4-5匹/群 ♀4-5匹/群	強制経口	ヘキソバルビタール 誘発睡眠	50, 100, 200 mg/kg	影響なし	GP-64AM	非	4-1	4.2.1.3.8 (参考資料)
痙攣作用	マウス♂♀ NMRI ♂8匹/群 ♀8匹/群	強制経口	電撃痙攣 (協力及び拮抗)	50, 100, 200 mg/kg	影響なし	GP-65AM	非	4-1	4.2.1.3.9 (参考資料)
	マウス♂♀ NMRI ♂5匹/群 ♀5匹/群	強制経口	ペンチレンテトラゾ ール誘発痙攣(拮抗)	50, 100, 200 mg/kg	影響なし				
鎮痛作用	マウス♂♀ NMRI ♂5匹/群 ♀5匹/群	強制経口	ホットプレート法	50, 100, 200 mg/kg	影響なし	GP-63AM	非	4-1	4.2.1.3.10 (参考資料)

表 2.6.3.4-1 (続き)

試験項目	動物	投与経路	実験方法	投与量	結果	試験番号	GLP 適用	記載箇所	
								Vol	Section
呼吸・循環器系に及ぼす影響									
血圧、心拍数	ラット♂ Wistar 7-8 匹/群	静脈内	麻酔ラット	1, 3 mg/kg	1 mg/kg : 血圧上昇 3 mg/kg : 血圧上昇及び心拍数増加	なし (資料番号 U-0731)	非	4-1	4.2.1.3.7 (参考資料)
呼吸数、呼吸 流量、一回呼 吸量、最大吸 気流量、最大 呼気流量、血 圧、心拍数	ウサギ ニュージ ーランドホ ワイト種 6 匹/群	静脈内	麻酔ウサギ	0.1, 0.3, 1, 3, 10 mg/kg	0.1 mg/kg : 投与後 120 及び 180 分に心拍 数の増加 0.3 mg/kg : 影響なし 1 mg/kg : 投与後 120 及び 180 分に一回 換気量、最大呼気流量及び最 大吸気流量の増加 3 mg/kg : 影響なし 10 mg/kg (2 匹) : 死亡	GP19- 5/HS00	非	4-1	4.2.1.3.11 (参考資料)
血圧、心拍 数、頸動脈血 流量、心電図	ウサギ♂♀ チンチラ種 6 匹/群	静脈内	麻酔ウサギ	0.1, 0.3, 1, 3 mg/kg	0.1, 0.3, 1 mg/kg : 影響なし 3 mg/kg : 血圧低下、投与後 10~20 分以 内に 3/6 例が死亡 生存例では、血圧の一過性変 動(減少及び増加)、血圧と並 行した心拍数の逆の変動、血 流量の一過性で軽度の減少、 心拍数の一過性変動後減少	GP19- 11/ WD	非	4-1	4.2.1.3.12 (参考資料)
心室筋細胞 活動電位	モルモット ♂♀ 5-6 細胞/群	<i>In vitro</i>	Whole-cell patch-clamp 法	1, 10 µmol/L	1, 10 µmol/L : 活動電位 90%持 続時間の短縮	GP19- 54/ PH2	非	4-1	4.2.1.3.13 (参考資料)

表 2.6.3.4-1 (続き)

試験項目	動物	投与経路	実験方法	投与量	結果	試験番号	GLP 適用	記載箇所	
								Vol	Section
自律神経系に及ぼす影響									
摘出回腸	モルモット ♂♀ 7-8 標本/群	In vitro	単独作用	10 ⁻⁸ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ mol/L	影響なし	GP946AM	非	4-1	4.2.1.3.14 (参考資料)
			アセチルコリン、ヒスタミン、塩化バリウム及びセロトニン誘発収縮	10 ⁻⁹ , 10 ⁻⁸ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ mol/L	10 ⁻⁹ , 10 ⁻⁸ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁶ mol/L : 影響なし 10 ⁻⁵ mol/L : セロトニン誘発収縮を抑制 アセチルコリン、ヒスタミン、 及び塩化バリウム誘発収縮に 影響なし。				
消化器系に及ぼす影響									
腸管内輸送能	ラット♂♀ Wistar ♂5匹/群 ♀5匹/群	強制経口	硫酸バリウムの腸内移動距離測定	2.5, 5, 12.5, 50, 200 mg/kg	2.5, 5, 12.5 mg/kg : 亢進 50, 200 mg/kg : 影響なし	GP■■■HS004	非	4-1	4.2.1.3.15 (参考資料)
胃内容物排出能	ラット♂♀ Wistar ♂5匹/群 ♀5匹/群	強制経口	胃重量測定	12.5, 50 200 mg/kg	12.5, 50 mg/kg : 影響なし 200 mg/kg : 低下	GP■■■HS004	非	4-1	4.2.1.3.15 (参考資料)
胃酸分泌	ラット♂♀ Wistar ♂5匹/群 ♀5匹/群	十二指腸内	幽門部結紮	1, 2.5, 5.0, 12.5, 50, 200 mg/kg	1, 2.5, 5.0, 12.5, 50 mg/kg : 影響なし 200 mg/kg : 胃液量及び胃酸分泌量減少	GP■■■HS004	非	4-1	4.2.1.3.15 (参考資料)
胃粘膜刺激性	ラット♂♀ Wistar ♂5匹/群 ♀5匹/群	3日間 反復強制 経口	胃粘膜損傷の有無	200 mg/kg/日	影響なし	なし (資料番号 U■■■-0731)	非	4-1	4.2.1.3.7 (参考資料)

表 2.6.3.4-1 (続き)

試験項目	動物	投与経路	実験方法	投与量	結果	試験番号	GLP 適用	記載箇所	
								Vol	Section
水及び電解質代謝に及ぼす影響									
水及び電解質代謝	ラット♂ Wistar 12匹/群	強制経口	尿量、尿中Na ⁺ 、K ⁺ 、Cl ⁻ 、クレアチニン	12.5, 50, 200 mg/kg	尿量増加、尿中Na ⁺ 、Cl ⁻ 量の増加後減少、尿中K ⁺ 量減少、クレアチニンの減少	なし (資料番号 U■■-0731)	非	4-1	4.2.1.3.7 (参考資料)

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当する表の掲載はない。