

フェブリック錠 10mg

フェブリック錠 20mg

フェブリック錠 40mg

第2部（モジュール2）：CTDの概要（サマリー）

2.4 非臨床試験の概括評価

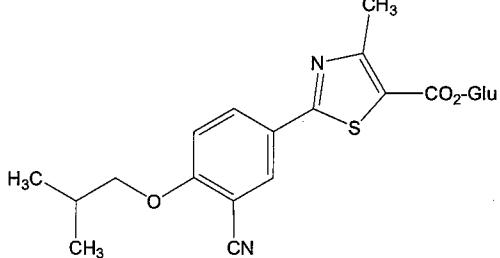
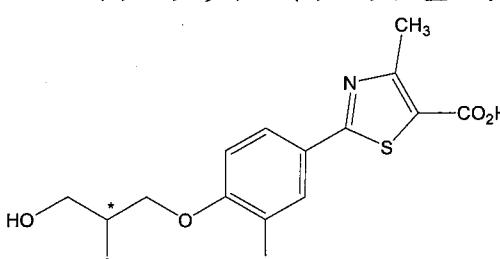
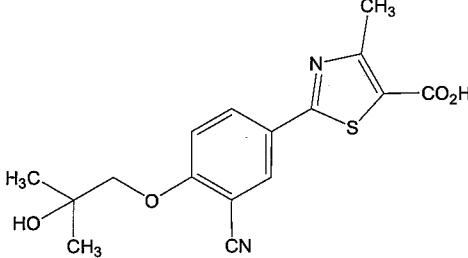
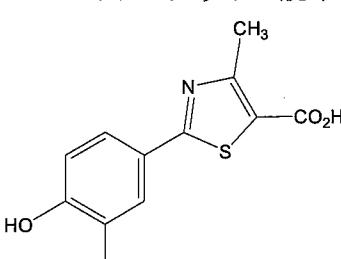
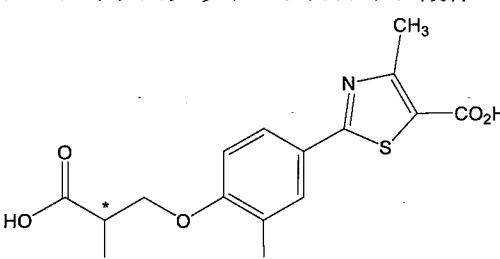
帝人ファーマ株式会社

目 次

2.4.1 非臨床試験計画概略	1
2.4.2 薬理試験	4
2.4.2.1 キサンチン酸化還元酵素（XOR）について	4
2.4.2.2 効力を裏付ける試験	5
2.4.2.3 副次的薬理試験	12
2.4.2.4 安全性薬理試験（一般薬理試験）	12
2.4.2.5 薬力学的薬物相互作用試験	13
2.4.3 薬物動態試験	14
2.4.3.1 分析法	14
2.4.3.2 吸収	14
2.4.3.3 分布	14
2.4.3.4 代謝	15
2.4.3.5 排泄	18
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用	18
2.4.3.7 その他の薬物動態試験	19
2.4.4 毒性試験	20
2.4.4.1 単回投与毒性試験	20
2.4.4.2 反復投与毒性試験	20
2.4.4.3 遺伝毒性試験	26
2.4.4.4 がん原性試験	27
2.4.4.5 生殖発生毒性試験	28
2.4.4.6 局所刺激性試験	30
2.4.4.7 その他の毒性試験	30
2.4.5 総括及び結論	31
2.4.6 参考文献	35

2.4 非臨床試験の概括評価

略語一覧表

略語	説明
67-G	フェブキソスタットのグルクロノ酸抱合体 
67M-1	フェブキソスタットのイソブチル基の水酸化体  <p>*不斉中心</p>
67M-2	フェブキソスタットのイソブチル基の水酸化体 
67M-3	フェブキソスタットの脱イソブチル体 
67M-4	フェブキソスタットのジカルボン酸体  <p>*不斉中心</p>

2.4 非臨床試験の概括評価

略語一覧表(続き)

略 語	説 明
67M-1-G	フェブキソスタットの酸化代謝物のグルクロン酸抱合体
67M-2-G	
67M-3-G	
67M-1-S	フェブキソスタットの酸化代謝物の硫酸抱合体
67M-3-S	
ALT (GPT)	アラニンアミノトランスフェラーゼ (グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ)
APD	活動電位持続時間。60%及び90%再分極におけるAPDはそれぞれAPD ₆₀ 及びAPD ₉₀ と表記。
ASA	能動的全身性アナフィラキシー
AST (GOT)	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ)
AUC	濃度一時間曲線下面積
AUC _{0,24hr}	投与後24時間までの濃度一時間曲線下面積
AUC _{inf}	無限大時間まで外挿した濃度一時間曲線下面積
Ccr	クレアチニンクリアランス
CHL 細胞	チャイニーズハムスター肺由来細胞
CHO 細胞	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞
CL	全身クリアランス
CL/F	経口投与時の全身クリアランス
C _{max}	最高濃度
CYP	チトクロームP450
ED ₅₀ 値	50%有効用量
FAD	フラビンアデニンジヌクレオチド (flavin adenine dinucleotide)
FT ₃	遊離型トリヨードチロニン
FT ₄	遊離型サイロキシン
γ-GTP	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
HEK293 細胞	ヒト胎児腎臓細胞
hERG	ヒトether-a-go-go関連遺伝子 (human ether-a-go-go-related gene)
HPRT	ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
IC ₅₀ 値	50%阻害濃度
IUBMB	国際生化学・分子生物学連合 (International Union of Biochemistry and Molecular Biology)

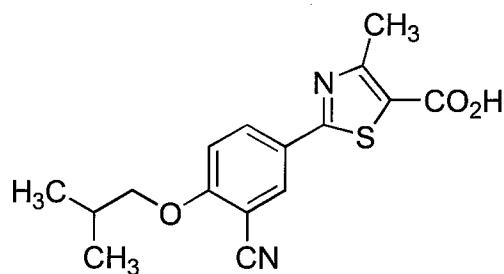
2.4 非臨床試験の概括評価

略語一覧表(続き)

略語	説明
Kd	解離定数
Ki	酸化型 XOR に対する阻害剤定数 CYP に対する阻害定数
Ki'	還元型 XOR に対する阻害剤定数
LAP	ロイシンアミノペプチダーゼ
LC-MS/MS	高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析計
NAD ⁺	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (nicotinamide adenine dinucleotide)
OMPDC	オロチジル酸デカルボキシラーゼ
OPRT	オロト酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ
PCA	受身皮膚アナフィラキシー
PNP	プリンヌクレオシドホスホリラーゼ
SHR	自然発症高血圧ラット
T ₃	トリヨードチロニン
T ₄	サイロキシン
t _{1/2}	見かけの消失相半減期
t _{max}	最高濃度到達時間
TMX-67	フェブキソstattの開発コード名
UDS	不定期 DNA 合成
UGT	UDP - グルクロノシリトランスフェラーゼ
XDH	キサンチンデヒドロゲナーゼ (詳細は CTD2.4.2.1 参照)
XOD	キサンチンオキシダーゼ (詳細は CTD2.4.2.1 参照)
XOR	キサンチン酸化還元酵素。酸化還元反応の際に電子受容体として NAD ⁺ を利用するものを XDH、酸素を利用するものを XOD と称しているが、いずれも同一の酵素であり、キサンチン酸化還元酵素と総称されている。

2.4.1 非臨床試験計画概略

フェブキソスタット（図 2.4.1-1）は、高尿酸血症・痛風治療薬としてプリン体骨格を持たないキサンチン酸化還元酵素（XOR）阻害剤の探索研究を重ねた結果、帝人ファーマ株式会社において 19[]年に見出された新規 XOR 阻害剤である。本化合物は効力を裏付ける試験により、酸化型及び還元型 XOR のいずれも阻害することが確認された。本薬の臨床試験を進めるにあたり、必要な薬理試験、薬物動態及び毒性試験の各試験項目について非臨床試験計画を立案し、実施した。



一般名：フェブキソスタット

化学名：2-[3-cyano-4-(2-methylpropoxy)phenyl]-4-methylthiazole-5-carboxylic acid

図 2.4.1-1 フェブキソスタットの構造式

フェブキソスタットの非臨床に関する開発の経緯図を図 1.5.2(1.5.2 開発の経緯 参照)に、非臨床試験の項目、実施施設及び GLP 適合性について一覧表を表 2.6.3.1、表 2.6.5.1、表 2.6.5.2 及び表 2.6.7.1 (2.6.3 薬理試験の概要表、2.6.5 薬物動態試験の概要表、2.6.7 毒性試験の概要表 参照) に示した。

薬理試験：フェブキソスタットの効力を裏付ける試験として、ウシミルク由来キサンチンオキシダーゼ（XOD）を用いた *in vitro* 試験を実施し、XOD 阻害活性及び阻害様式を検討した。これらの阻害様式の検討結果、及び文献報告の結果から、フェブキソスタットの酸化型 XOR 及び還元型 XOR に対する阻害効果を考察した。また、XOR 阻害の選択性を検討する目的で、他の核酸代謝酵素に及ぼす影響を調べた。*In vivo* 試験としてウリカーゼ阻害剤で処置した高尿酸血症ラットを用い、唯一既存の XOR 阻害剤であるアロプリノールと尿酸低下作用を比較した。また、正常ラットにフェブキソスタットを 28 日間反復投与し、キサンチン結石の認められる用量をアロプリノールと比較し、キサンチン結石発現のリスクを考察した。更に、5/6 腎摘ラットにおけるフェブキソスタットの尿酸低下作用を偽手術ラットと比較し、フェブキソスタットの薬効発現に対する腎機能低下の影響を検討した。マウス、ラット、イヌ及びヒトで検出された 4 種の酸化代謝物について、ウシミルク由来 XOD を用いて阻害活性及び阻害様式を *in vitro* 試験で検討した。

安全性薬理に該当する試験は、「安全性薬理試験ガイドライン」（平成 13 年 6 月 21 日付、医薬審査第 902 号）の発出前の 19[]年 [] 月より「一般薬理試験ガイドライン」（平成 3 年 1 月 29 日付、薬新薬発第 4 号）に準拠し、一般症状（マウス）、中枢神経系（マウス）、呼吸・循環器系（イ

2.4 非臨床試験の概括評価

ヌ)、消化器系(マウス)、摘出平滑筋(モルモット摘出回腸)、水・電解質代謝(ラット)及び血液凝固系・血小板凝集能(ヒト血液)の項目について非GLP試験として評価した。また、米国のTAP Pharmaceutical Products Inc. (現在の Takeda Pharmaceutical North America 社、TPNA 社)において、心室再分極遅延(QT間隔延長)の潜在的可能性を評価する目的で、「安全性薬理試験ガイドライン」及び2005年5月12日にStep4に到達した「ヒト用医薬品の心室再分極遅延(QT間隔延長)の潜在的可能性に関する非臨床的評価(ICH S7B)」の動向を勘案し、ICHガイドライン制定以前にイヌを用いたテレメトリー試験及びin vitro電気生理学的試験を一部GLP試験として実施した。

薬力学的相互作用試験として、ラットを用いてニフェジピンあるいはグリベンクラミドの薬理作用に対するフェブキソスタットの影響を検討した。

薬物動態試験：フェブキソスタットの非臨床薬物動態試験は「薬物動態試験ガイドライン」(平成3年1月29日付薬新薬発第6号)、「非臨床薬物動態試験ガイドライン」(平成10年6月26日付医薬審発第496号)及び「薬物相互作用の検討方法について」(平成13年6月4日付医薬審発第813号)に準拠して実施した。

フェブキソスタットの経口又は静脈内投与での血中濃度(ラット、イヌ及びマウス)、分布(ラット)、代謝(ラット、イヌ及びマウス)及び排泄(ラット及びイヌ)について検討した。フェブキソスタット及びアロプリノールの薬物動態に対する腎機能低下の影響を、5/6腎摘ラットを用いて比較した。更に、ヒト試料を用いたin vitro蛋白結合試験及び代謝試験を実施し、蛋白結合又は肝チトクロームP450(CYP)阻害に基づく薬物相互作用及びヒト初代肝細胞を用いた酵素誘導に関する検討を加えた。

毒性試験：フェブキソスタットの毒性試験は「医薬品毒性試験法ガイドライン」(平成元年9月11日付薬審1発第24号)に準拠し、健康成人男子を対象とした国内第I相単回経口投与試験(TMX-67-■試験)の開始時(19■年■月)までに、単回投与毒性試験(ラット及びイヌ)、5週間経口反復投与毒性試験(ラット)、26週間経口反復投与毒性試験(ラット)、13週間経口反復投与毒性試験(イヌ)、遺伝毒性試験〔復帰突然変異試験(バクテリア)、チャイニーズハムスター培養細胞(CHL細胞)を用いた染色体異常試験、マウス小核試験及びラット肝不定期DNA合成(UDS)試験〕、生殖発生毒性試験〔妊娠前及び妊娠初期投与試験(ラット)〕及び抗原性試験(マウス及びモルモット)を実施した。その後、パイロット臨床試験(TMX-67-■試験)、初期第II相臨床試験(TMX-67-■試験)と並行して52週間経口反復投与毒性試験(イヌ)、生殖発生毒性試験〔胚・胎児発生に関する試験(ラット及びウサギ)、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(ラット)〕、遺伝毒性試験〔ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験、突然変異試験(マウスリンフォーマ細胞)、ラット骨髄染色体異常試験(in vivo)〕及びがん原性試験(マウス、ラット)を実施し、20■年■月の第III相比較試験開始までに終了した。

その他、毒性発現機序解析試験として、マウスに尿pH調整飼料を与えた1ヵ月間反復投与毒性試験及びラットの甲状腺ホルモン変動解析試験を実施した。

上記全ての毒性試験は、GLP規定(「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準」(昭和

2.4 非臨床試験の概括評価

57年3月31日薬発第313号及び平成9年3月26日厚生省令第21号)又は「GLP Regulations 21 CFR、Part 58」)に準拠し、GLP適用試験として実施した。

トキシコキネティクスはラット単回投与による血中濃度経時測定試験、イヌ単回投与毒性試験、ラット及びイヌ反復投与毒性試験、マウス及びラットがん原性試験のための予備試験、マウス及びラットがん原性試験、ラット骨髄染色体異常試験、妊娠ウサギ血中濃度プロファイリング試験、尿pH調整飼料を与えたマウス14日間反復投与時のトキシコキネティクス試験、ラット甲状腺ホルモン変動解析試験において実施した。これらのトキシコキネティクスは「トキシコキネティクスに関するガイダンス」(平成8年7月2日付薬審発第433号)に準拠して実施した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 キサンチン酸化還元酵素(XOR)について

核酸やATP及びGTPなどの核酸誘導体の構成要素であるプリン体の排泄経路の最終産物は、動物種により差があり、ヒトを含む類人猿では尿酸として尿中に排泄されることが知られている。尿酸はヒポキサンチンからキサンチン、更にキサンチンから尿酸へと進む一連の代謝により生成される。ヒポキサンチンから尿酸生成までのステップは、いずれもキサンチン酸化還元酵素(XOR)により触媒される。

XORは分子量15万のサブユニット2つからなる2量体であり、1つのサブユニットは3個のドメインから構成される。それぞれのドメインには電子の授受を担う酸化還元中心として鉄一硫黄中心、フラビンアデニンジヌクレオチド(FAD)、モリブドプテリン(モリブデンとプテリン結合体)が存在している。

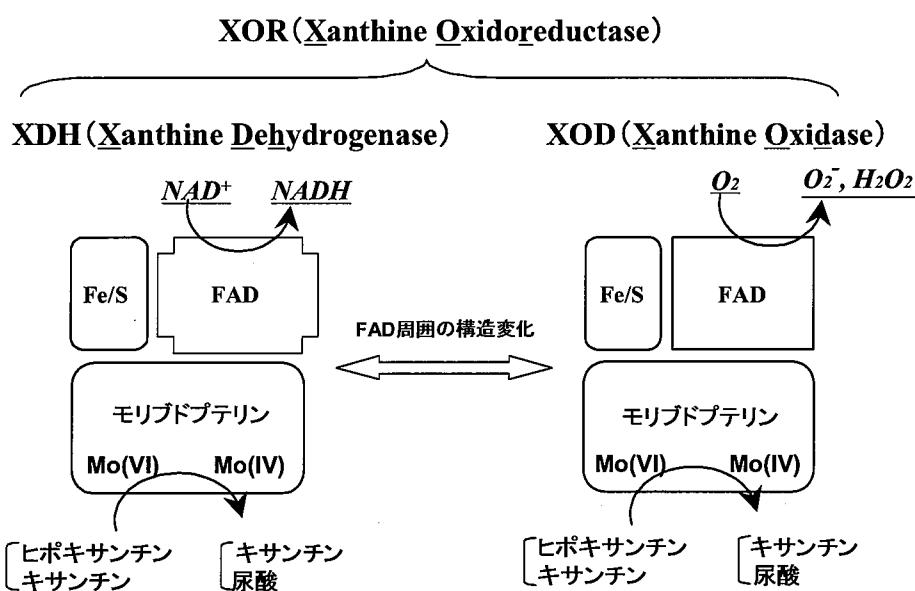


図2.4.2.1-1 XDH及びXODの構造の模式図(2量体のうち1つのサブユニットを示す)と基質反応部位(参考文献2、3より引用、一部改変)

哺乳類のXORは国際生化学・分子生物学連合(IUBMB)の酵素命名法に従い、FADにおける電子受容体としてNAD⁺を利用するものをキサンチンデヒドロゲナーゼ(XDH)、酸素分子を利用するものをキサンチンオキシダーゼ(XOD)と命名されている(図2.4.2.1-1)。通常、XORは肝、腎、血管内皮をはじめとする臓器にXDHの状態で存在するが、FAD周囲の構造変化によりXODに変換する。組織中にXDHの状態で存在するXORは、虚血性疾患などの組織障害時には、XODに変換することが知られている^{1), 2), 3)}。また、分泌された乳汁中では他の組織と異なり既にXODとして存在する。上記のように、XORはFADにおける電子受容体が異なることからIUBMBの酵素命名法によりXDHとXODに分類されているものの、酵素の活性中心であるモリブドプテリンを含むドメインにおける基質の結合と触媒作用に大きな違いがなく⁴⁾、両酵素のモリブドプテリンを含む活性中心は構造的に等しいこと⁵⁾が報告されている。

2.4 非臨床試験の概括評価

また、XOR の基質結合部位であるモリブドプテリンに含まれるモリブデンは、触媒反応に伴い酸化還元状態が変化する。図 2.4.2.1-1 に示したように、基質が酵素の活性中心である酸化型モリブデン (VI) と結合して水酸化を受ける際に、酸化型モリブデン (VI) から還元型モリブデン (IV) となる。その後、生成したキサンチンあるいは尿酸が酵素から離れる際、還元型モリブデン (IV) が再酸化され、酸化型モリブデン (VI) に戻り、新たな基質と結合することが知られている⁶⁾。以下本 CTD におけるフェブキソスタットの薬理試験に関する本文中において、モリブデンが酸化型 (VI) の場合には酸化型 XOR (XDH/XOD)、モリブデンが還元型 (IV) の場合には還元型 XOR (XDH/XOD) と称することとする。

XOR、XDH 及び XOD に関する上記記載について、表 2.4.2.1-1 にまとめた。

表 2.4.2.1-1 本 CTD に記載した XOR の特徴

	基質	基質結合部位	最終代謝産物	電子受容体		分布状態
				XDH 型	XOD 型	
XOR	ヒポキサンチン、 キサンチン	モリブドプテリン 酸化型 Mo (VI) 還元型 Mo (IV)	尿酸	NAD ⁺	O ₂	通常は XDH 型として組織中に分布。乳汁中のみ XOD 型として存在。 虚血性疾患などの組織障害時に XDH 型より XOD 型に変換される。

市販されている唯一の XOR 阻害剤であるアロプリノールは酸化型 XOR に対して弱い競合型拮抗作用を示すが、XOR に代謝されて生じたオキシプリノール（アロプリノールの活性代謝物）は還元型 XOR のモリブデン (IV) と強固な共有結合で結合することにより、阻害作用を発揮することが知られている⁷⁾。

2.4.2.2 効力を裏付ける試験

2.4.2.2.1 In vitro における XOR 阻害活性・阻害様式 (2.6.2.2.1.1 XOR 阻害活性及び阻害様式 参照)

ウシミルク由来 XOD を用いてフェブキソスタットの XOR 阻害活性並びに阻害様式を検討した。その結果、フェブキソスタットは濃度依存的に XOD を阻害することが明らかになった。また、Line weaver-Burk plot 解析の結果、フェブキソスタットの阻害様式は混合型阻害であることが示された。更に、Dixon plot 及び 1/V-axis intercept replot からフェブキソスタットは酸化型 XOD 及び還元型 XOD のいずれも阻害することがわかり、酸化型 XOD に対する阻害剤定数、Ki 値及び還元型 XOD に対する阻害剤定数、Ki' 値は、それぞれ 0.6 及び 3.1 nmol/L と算出された（試験番号：18-P-[REDACTED]013）。

また、岡本らの報告⁸⁾では、精製したウシミルク由来 XOD を用いてフェブキソスタットの酵素阻害機序を詳細に検討した結果、フェブキソスタットは上記と同様に混合型阻害を示し、更に酸

2.4 非臨床試験の概括評価

化型及び還元型のいずれに対しても阻害することが示唆されている (K_i 値: 0.12 ± 0.005 nmol/L, K_i^* 値: 0.9 ± 0.005 nmol/L)。

上記試験結果及び論文報告より、フェブキソスタットはアロプリノールと異なり、酸化型及び還元型 XOD のいずれに対しても阻害作用を有すると結論された。

更に、岡本らは酵素-阻害剤複合体の結晶構造解析の結果から、フェブキソスタットが XDН の活性中心に向かう狭いチャネル内の空間を埋めるように結合（図 2.4.2.2.1-1）すること、フェブキソスタットと酵素タンパク質はイオン結合、複数の水素結合、疎水相互作用等の多重相互作用により強固に結合することを報告している⁸⁾。上記 2.4.2.1 に示したように、XOD と XDН のモリブドピテリンを含む活性中心は構造的に等しいことから、フェブキソスタットは酵素の活性中心への基質の接近を妨げることにより、XOD あるいは XDН のいずれに対しても阻害作用 (XOR 阻害作用) を示すと考えられる。

以上、フェブキソスタットは XOD あるいは XDН のいずれに対しても阻害作用 (XOR 阻害作用) を示すと考えられること、及び酸化型及び還元型 XOD のいずれに対しても阻害作用を有することから、フェブキソスタットは酸化型及び還元型 XOR のいずれも阻害すると考えられた。

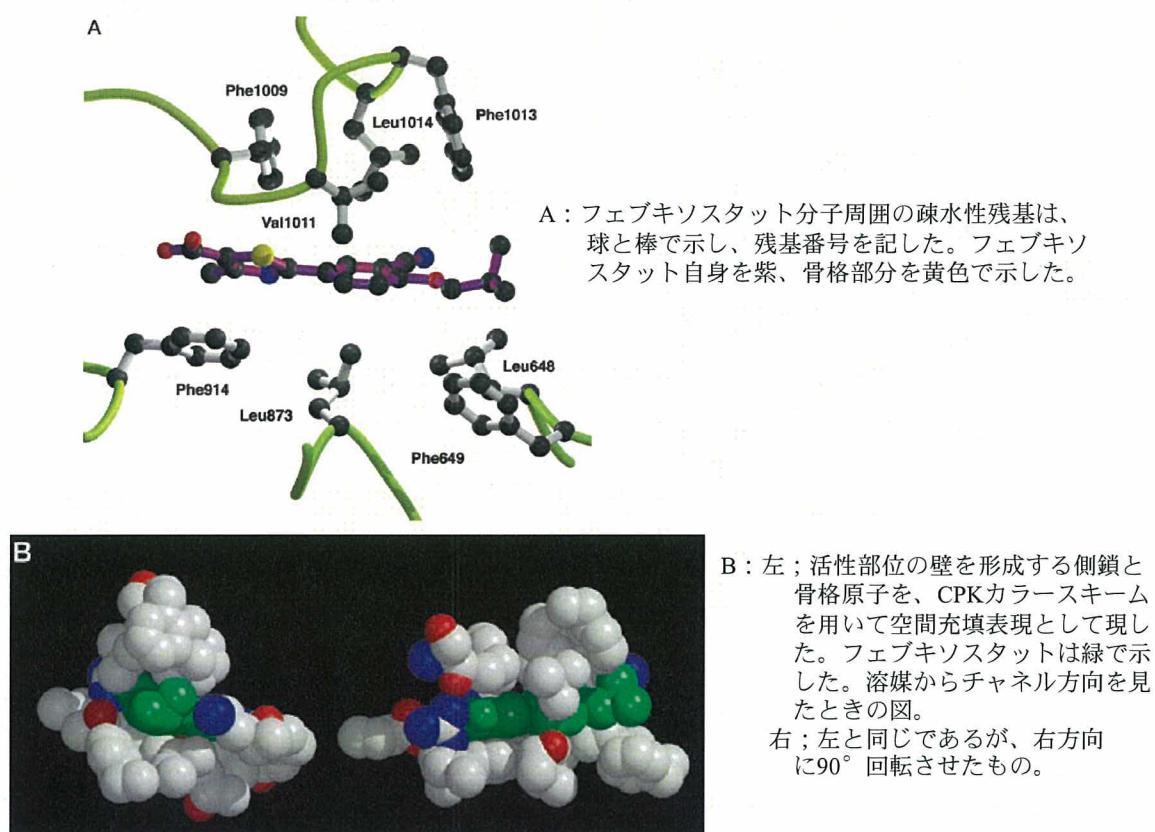


図 2.4.2.2.1-1 フェブキソスタットと XDН の活性中心へ続くチャネルのアミノ酸残基との相互作用（参考文献 8 より引用）

2.4.2.2.2 他の核酸代謝酵素に対する作用 (2.6.2.2.1.2 他の核酸代謝酵素に対する作用 参照)

ヒトにおいて尿酸を最終代謝産物とするプリン代謝やプリン体と同様の核酸の構成成分であるピリミジン体の代謝には図 2.4.2.2.2-1 に示すように種々の核酸代謝酵素が関与していることから、フェブキソスタットの XOR 以外の核酸代謝酵素に対する阻害活性の有無を検討した。プリン代謝酵素であるグアニンデアミナーゼ、ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (HPRT) 及びプリンヌクレオシドホスホリラーゼ (PNP)、ピリミジン代謝酵素であるオロト酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ (OPRT) 及びオロチジル酸デカルボキシラーゼ (OMPDC) の酵素活性に対する作用を検討した結果、フェブキソスタットはいずれの酵素に対しても 100 μmol/L まで阻害作用を示さなかった (試験番号 : 18-G-[]007、18-P-[]001、18-P-[]005、18-P-[]002、18-P-[]003)。

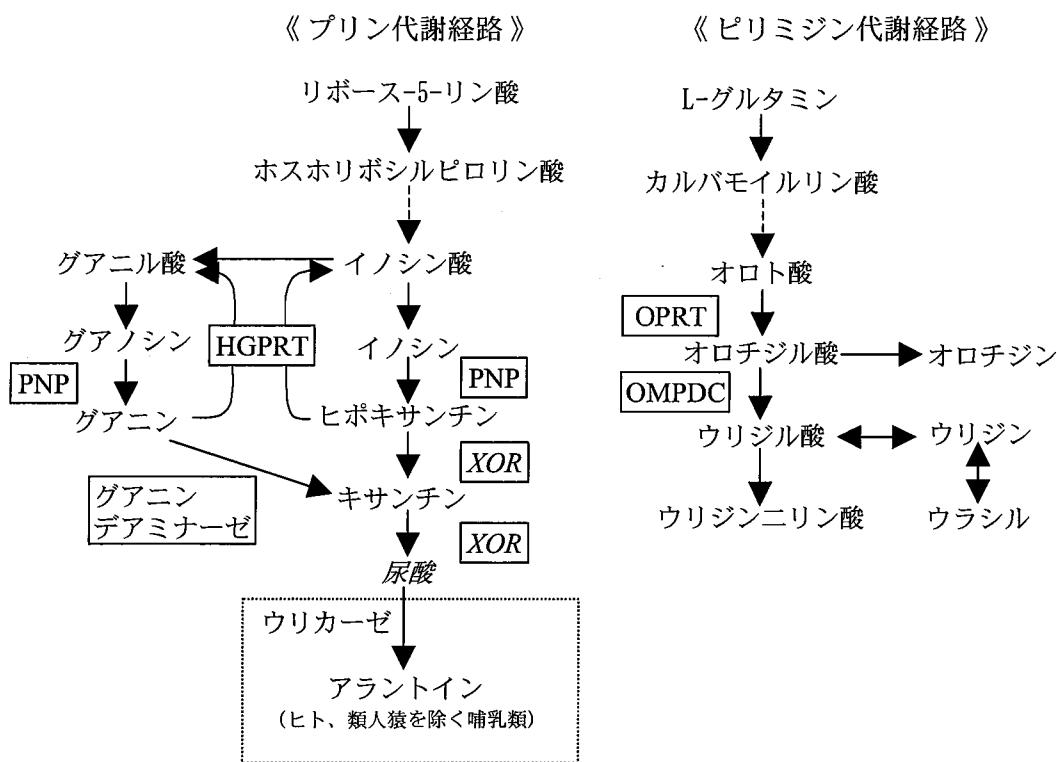


図 2.4.2.2.2-1 プリン・ピリミジン代謝経路

HGPRT : ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ、PNP : プリンヌクレオシドホスホリラーゼ
OPRT : オロト酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ、OMPDC : オロチジル酸デカルボキシラーゼ

ヒト肺胞 II 型上皮細胞株である A549 細胞を用いた山本らの報告⁹⁾において、グアニンデアミナーゼ、HGPRT 及び PNP に関しては、フェブキソスタットは 16 μmol/L まで阻害作用のないことが示されている。加えて、山本らはプリン代謝酵素であるアデノシンデアミナーゼ及びアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ、ピリミジン代謝酵素であるピリミジンヌクレオシドホスホ

2.4 非臨床試験の概括評価

リラーゼに対しても、フェブキソstattは 16 $\mu\text{mol/L}$ まで阻害作用を示さないことを報告している⁹⁾。

以上の試験結果及び論文報告から、フェブキソstattは、複数の核酸代謝酵素の中でも XOR に選択性的な阻害剤であると考えられた。

2.4.2.2.3 In vivo における尿酸低下作用 (2.6.2.2.1 ウリカーゼ阻害剤処置ラットにおける尿酸低下作用 参照)

ヒトやチンパンジー等の類人猿は尿酸を酸化する酵素、ウリカーゼを持たず、最終プリン代謝産物として尿酸を排泄する¹⁰⁾。これに対し、ラットやマウス等のげっ歯類を始めとするほとんどの哺乳類には、ウリカーゼが存在する。これらの動物では、尿酸はウリカーゼの働きにより水溶性の高いアラントインに代謝され、尿中に排泄される（図 2.4.2.2-1）。このような種差があるため、ウリカーゼ阻害剤（オキソネートカリウム）を前処置した高尿酸血症モデルラットを用いてフェブキソstattの血中尿酸低下作用を類薬であるアロプリノールと比較検討した。その結果、フェブキソstattとアロプリノールは、用量依存的で有意な血中尿酸低下作用を示した。フェブキソstattとアロプリノールの ED₅₀ 値 (95% 信頼区間) はそれぞれ、1.6 mg/kg (1.0~2.2 mg/kg) 及び 9.1 mg/kg (5.3~14.9 mg/kg) であった。すなわち、ウリカーゼ阻害による高尿酸血症ラットにおける血中尿酸低下作用のフェブキソstattとアロプリノールの用量比は 5.7 倍であった。このことから、フェブキソstattはアロプリノールよりも低用量で同程度の血中尿酸低下作用を示すことが明らかとなった（試験番号：18-P-[REDACTED]006）。

更に、ヒトに近い尿酸代謝経路を有するチンパンジーにおいても、フェブキソstattによる血中及び尿中尿酸低下作用が認められている¹¹⁾。

2.4.2.2.4 キサンチン結石形成に関する評価 (2.6.2.2.2 正常ラットにおける尿酸、アラントイン、キサンチン値及びキサンチン結石形成に対する作用 参照)

図 2.4.2.2-1 に示したプリン・ピリミジン代謝系路からも明らかなように、XOR を阻害することによって、ヒポキサンチンからキサンチン、キサンチンから尿酸への代謝が阻害される。ヒポキサンチンは、HGPRT によりイノシン酸に代謝されるサルベージ経路によって再利用される。一方、キサンチンは XOR 以外にもグアニンからグアニンデアミナーゼを介して生成されるが、これをヌクレオチドに代謝するサルベージ経路がないため、XOR の阻害により増加する。

キサンチンは水溶性が低いため、げっ歯類に高用量のアロプリノールを投与すると、生成したキサンチンが腎臓において結石を生じ、動物は腎不全で死亡することが知られている¹²⁾。これはげっ歯類ではヒトに比べプリン代謝回転が速い^{13), 14)}ことから、XOR を阻害した場合に増加するキサンチン量が非常に多く、排泄経路である腎で結石を形成しやすくなるためと考えられる。そこで正常ラットにフェブキソstattを 28 日間反復投与し、キサンチン結石が認められる投与量をアロプリノールと比較し、ヒトにおけるキサンチン結石の発現リスクを検討した。

フェブキソstattとアロプリノールの投与により、正常ラットにおいていずれも用量依存的な尿中尿酸・アラントイン総排泄量の低下とキサンチン排泄量の増加、血中尿酸低下及びキサン

2.4 非臨床試験の概括評価

チン增加が認められた。正常ラットにおいて、血中尿酸低下及びキサンチン増加におけるフェブキソスタットのアロプリノールに対する用量比、並びに尿中尿酸・アラントイン低下及びキサンチン増加におけるフェブキソスタットのアロプリノールに対する用量比は、いずれも 1/30 から 1/10 であった。これらの用量反応曲線は両薬物とも同様なパターンであり、用量の差以外には薬理学的特性に違いは認められなかった。また、両薬物とも反復投与により高用量で腎臓に結石を生じさせたが、両薬物において同程度のキサンチン排泄量を示す投与量で比較した場合、フェブキソスタットがアロプリノールより結石を生じやすいということはなかった。更に、24 時間の尿中プリン代謝産物総排泄量（尿酸、アラントイン及びキサンチン）について、コントロール群の投与初日における値をヒトにおける文献値¹⁵⁾と比較したところ、体重あたりの 1 日排泄量はヒトに比べラットで約 20 倍多かった（試験番号：18-P-[REDACTED]008）。

以上より、①正常ラットにおいて、フェブキソスタットとアロプリノールは、用量の差はあるものの尿中尿酸及びアラントイン低下作用、血中尿酸低下作用、血中及び尿中キサンチン増加作用の用量反応曲線が同様なパターンであり、薬理学的特性に違いが認められないこと、②同程度のキサンチン増加を示す投与量ではアロプリノールに比べフェブキソスタットが結石を生じやすくはないことが確認された。更に当該試験において、③ラットではヒトに比べプリン代謝産物排泄が顕著に多いことが確認された。これらの実験結果に加えて、プリン代謝異常亢進を特徴とする Lesch-Nyhan 症候群等の特殊な患者^{16)、17)、18)、19)}を除き、長年臨床使用されているアロプリノールがヒトでキサンチン結石を発生させるという報告がないこと、ヒトの尿量はラットやイヌよりも多いことから考察すると、フェブキソスタットはアロプリノールと同様に、ヒトでは動物と異なりキサンチン結石を生じる可能性は極めて低いと考えられた（2.4.4.2.1.1 キサンチン結晶沈着・結石生成について 参照）。

2.4.2.2.5 腎機能低下状態における尿酸低下作用（2.6.2.2.3 腎機能低下ラットにおける血中尿酸低下作用 参照）

痛風を含む高尿酸血症患者においては腎機能低下状態がしばしば認められる²⁰⁾。アロプリノールやその活性代謝物であるオキシプリノールは主に腎により尿中排泄される²¹⁾ため、腎機能低下はアロプリノールの薬物動態に大きな影響を与えることが知られており²²⁾、日本痛風・核酸代謝学会の「高尿酸血症・痛風の治療ガイドライン」において腎障害を有する患者への投与量調節が推奨されている²³⁾。これらを踏まえ、5/6 腎摘により腎機能を低下させたラットを用いて、腎機能低下状態におけるフェブキソスタットの薬効の変動について検討した。その結果、フェブキソスタットは 5/6 腎摘ラットにおいても偽手術ラットと同様な血中尿酸低下作用を示し、腎機能低下による薬効の顕著な変動は認められなかった（試験番号：18-P-[REDACTED]012）。

2.4.2.2.6 酸化代謝物の XOR 阻害活性（2.6.2.2.3 酸化代謝物の XOR 阻害活性及び阻害様式 参照）

ラット、イヌ及びヒトで酸化代謝物（67M-1、67M-2、67M-3、67M-4）が検出されている（2.6.4.5.1.1 In vitro 代謝、2.7.2.2.1.2 4. 代謝物の同定と代謝経路の推定 参照）こと

から、ウシミルク由来 XOD に対するこれら代謝物の阻害活性を検討した。その結果、いずれの代謝物も未変化体と同程度の XOD 阻害活性を示し (K_i 値: 0.6~2.0 nmol/L, K_i' 値: 3.7~10.5 nmol/L)、阻害様式も未変化体と同様の混合型であった（試験番号：18-P-[]013）。

2.4.2.2.7 類薬（アロプリノール）とフェブキソスタットとの相違点

市販されている唯一の XOR 阻害剤であるアロプリノールは、XOR 阻害を介した尿酸生成阻害に基づく尿酸降下薬として 40 年以上にわたり臨床使用されている。アロプリノールは基質類似体としてドラッグデザインされ、開発された初期の化合物の一つである²⁴⁾。XOR の基質の一つであるヒポキサンチン、アロプリノール及びその代謝物であるオキシプリノールの構造を図 2.4.2.2.7-1 に示す。

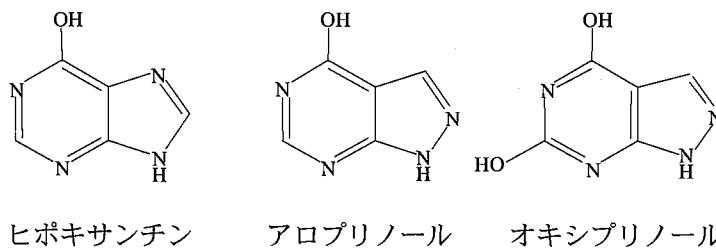


図 2.4.2.2.7-1 ヒポキサンチン、アロプリノール及びオキシプリノールの構造式

アロプリノールとフェブキソスタットの XOR に対する阻害機構の模式図²⁵⁾を図 2.4.2.2.7-2 に示す。アロプリノールはプリン体骨格を有する基質アナログであることから、XOR の基質であるキサンチンと競合し、酸化型 XOR に対して拮抗型阻害作用を示すが、その作用は弱い (K_i 値: 700 nmol/L；ウシミルク由来 XOD)²⁶⁾。XOR に代謝されて生じる活性本体、オキシプリノールは還元型 XOR のモリブデン (IV) と強固な共有結合で結合することにより、阻害作用を発揮する (K_d 値: 0.54 nmol/L)²⁷⁾。しかし、還元型 XOR (モリブデン (IV)) は時間とともに再酸化されて酸化型 XOR (モリブデン (VI)) に戻るため (半減期は 25°C で 300 分)、共有結合が消失してオキシプリノールが解離し、酵素活性が回復する⁷⁾。すなわち、アロプリノールの XOR 阻害作用は、その活性代謝物であるオキシプリノールが還元型 XOR と強い共有結合を形成し、触媒作用を有する酸化型 XOR への回復を阻害することで発揮される。またこの阻害作用は、時間経過に従い還元型 XOR が自動酸化し共有結合が解離することで失われる。このように、アロプリノールの酵素阻害活性は、XOR の酸化・還元状態に強く依存している。

一方、フェブキソスタットは XOR の基質であるキサンチンとは異なる分子構造を有しており（非プリン体骨格）、オキシプリノールがモリブデン (IV) と共有結合を形成するのに対して、XOR の基質結合部位のチャネル内に空間を埋めるようにして XOR と強固に結合する、いわゆる酵素蛋白の活性中心の構造に基づく阻害剤である^{8), 28)}。したがってフェブキソスタットは、XOR の酸化・還元状態に依存せず、酸化型及び還元型 XOR のどちらにも常に強く結合し、阻害作用を示す（混合型阻害）。

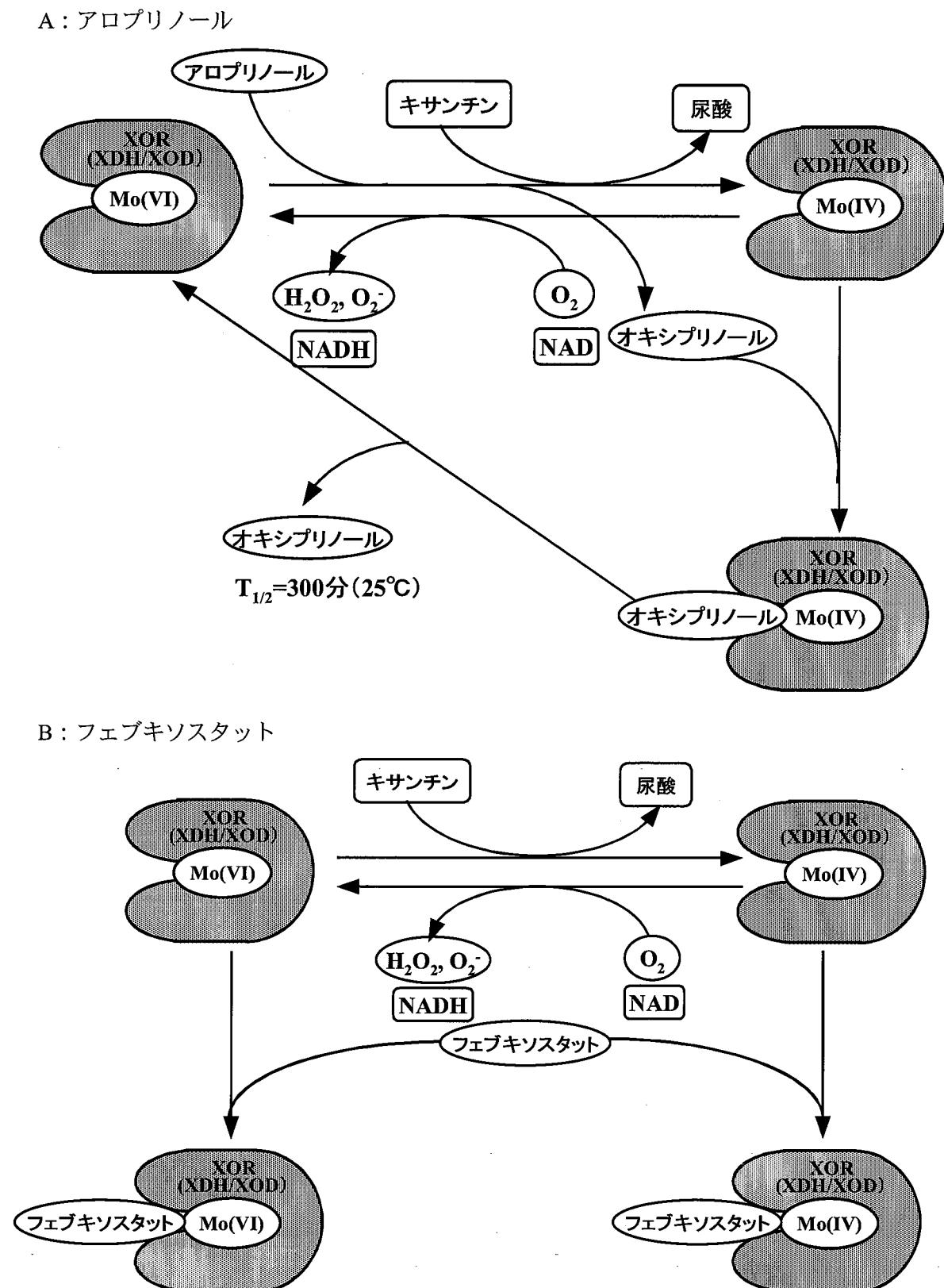


図 2.4.2.2.7-2 アロプリノール及びフェブキソstattによる XOR の阻害機構の模式図
(参考文献 25 より引用、一部改変)

2.4 非臨床試験の概括評価

アロプリノールとフェブキソスタットの酵素阻害活性及び阻害様式の比較については、長田ら²⁹⁾が表 2.4.2.2.7-1 のように報告しており、フェブキソスタットはアロプリノールに比べ約 200 ~ 1200 倍強い XOR 阻害活性を示している。

表 2.4.2.2.7-1 フェブキソスタットとアロプリノールの酵素阻害活性及び阻害様式の比較
(参考文献 29 より引用、一部改変)

XOR の由来	フェブキソスタット	アロプリノール
ウシミルク	IC ₅₀ (nM)	1.4
マウス肝臓	IC ₅₀ (nM)	1.8
ラット肝臓	IC ₅₀ (nM)	2.2
ウシミルク	K _i (nM)	0.7
	阻害様式	混合型
		拮抗型

また、アロプリノール及びオキシプリノールはプリン体骨格を有することから、XOR 以外の核酸代謝酵素により代謝され、リボシド体やリボチド体等が生じること、及びこれらの代謝物も含めて種々の核酸代謝を阻害することが報告されている (PNP^{30)、31)}、OPRT・OMPDC^{32)、33)、34)})。これに対し非プリン体骨格であるフェブキソスタットは、上述 (2.4.2.2.2 他の核酸代謝酵素に対する作用 参照) したように XOR 以外の他の核酸代謝酵素を阻害せず、XOR に選択性的な阻害剤である。

2.4.2.3 副次的薬理試験

該当する試験は実施しなかった。

2.4.2.4 安全性薬理試験（一般薬理試験）〔2.6.2.4 安全性薬理試験（一般薬理試験） 参照〕

フェブキソスタットの安全性評価の一環として一般薬理試験を実施し、一般症状、中枢神経系、呼吸・循環器系、消化器系、摘出平滑筋、水・電解質代謝及び血液凝固系・血小板凝集能に対する作用を評価した。また、心室再分極遅延 (QT 間隔延長) の潜在的可能性を評価する目的で、安全性薬理試験として *in vitro* 電気生理学的試験及びイヌテレメトリー試験を実施した。

マウスにおいて、フェブキソスタット (10、30、100、300 mg/kg、経口投与) 投与後的一般症状観察を行った結果、100 及び 300 mg/kg の投与量で運動能の低下が認められた (試験番号 : 18-G-[REDACTED]007)。しかし、マウスを用いて自発運動量に及ぼす影響を検討した結果、フェブキソスタット (10、30、100 mg/kg、経口投与) は 30 mg/kg の投与 1 時間後に自発運動量を有意に低下させたが、100 mg/kg では影響が認められなかった (試験番号 : 18-G-[REDACTED]022)。またマウスにおいて 100 mg/kg まで、麻酔、痙攣、痛覚及び体温に影響を及ぼさなかった (試験番号 : 18-G-[REDACTED]017, 18-G-[REDACTED]012, 18-G-[REDACTED]001, 18-G-[REDACTED]009)。以上のことから、フェブキソスタットが中枢神経系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

呼吸・循環器系に及ぼす影響を *in vitro* 電気生理学的試験及び *in vivo* 試験にて検討した。hERG

2.4 非臨床試験の概括評価

発現 HEK293 細胞及び CHO 細胞を用いて hERG 電流に対する作用を検討した結果、hERG 電流の抑制作用は認められなかった（試験番号：[REDACTED]、[REDACTED]）。次いでイヌのプルキンエ線維を用いて活動電位に及ぼす影響を検討した結果、50 $\mu\text{mol}/\text{L}$ で 60% 及び 90% 再分極における活動電位持続時間 (APD₆₀ 及び APD₉₀) の有意な短縮が、500 $\mu\text{mol}/\text{L}$ で活動電位における静止膜電位の脱分極が認められた（試験番号：DETE1013）。なお、APD 短縮等の作用機序として、内向き Na^+ 電流（ヒト心 Na^+ チャネル発現 HEK293 細胞）の阻害作用 (IC_{50} 値：75 $\mu\text{mol}/\text{L}$)（試験番号：[REDACTED]）と、 Ca^{2+} 電流（モルモット心室筋細胞）の阻害作用（500 $\mu\text{mol}/\text{L}$ で 37% 程度の阻害）（試験番号：[REDACTED]）が考えられた。更に、麻酔下（10、100 mg/kg、十二指腸内投与）及び無麻酔下（5、50 mg/kg/日、14 日間反復経口投与）のイヌにおける呼吸数、血圧、心拍数、血流量、心電図に及ぼす影響を検討したが、フェブキソスタットはこれらに対して影響を及ぼさなかった（試験番号：18-G-[REDACTED]021、N004049A）。これらの *in vitro* 電気生理学的試験及び *in vivo* 試験の結果、フェブキソスタットが呼吸・循環器系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。フェブキソスタットは 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ （経口投与）までマウスの小腸炭末輸送能に対して影響を及ぼさず（試験番号：18-G-[REDACTED]025）、30 $\mu\text{mol}/\text{L}$ までモルモット摘出回腸の収縮に影響を及ぼさなかったこと（試験番号：18-G-[REDACTED]028、18-G-[REDACTED]006）から、消化管の運動能及び平滑筋の収縮機能に対して作用を持たないと考えられた。

フェブキソスタットは 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ までヒト血液凝固系・血小板凝集能に対し影響を及ぼさなかった（試験番号：18-G-[REDACTED]010）。

水・電解質代謝に及ぼす影響をラットにおいて検討した結果、100 mg/kg（経口投与）で尿量、尿中 K、Cl⁻排泄量の増加が認められた。また、いずれの投与量でも XOR 阻害作用に基づく尿中キサンチン排泄量の顕著な増大が認められた（試験番号：18-G-[REDACTED]030）。ラットを用いたフェブキソスタットの毒性試験の高用量群において、腎臓にキサンチン結晶沈着・結石が認められている。また、ラットを用いた実験的シュウ酸カルシウム腎結石発症モデルでは結石に先立つ尿量増加などが報告されている³⁵⁾ことから、今回認められた尿量の増加は結石形成に起因する現象である可能性が考えられた。

以上、安全性薬理及び一般薬理試験として、一般症状、中枢神経系、呼吸・循環器系、消化器系、摘出平滑筋、血液凝固系・血小板凝集能及び水・電解質代謝に対する影響を検討したが、特筆すべき作用は認められなかった。

2.4.2.5 薬力学的薬物相互作用試験（2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用 参照）

高尿酸血症では、高血圧や糖尿病等の種々の循環器系疾患を合併することが多く^{36)、37)}、それらの合併症に対する治療薬が併用されていることを踏まえ、想定される併用薬のうち、降圧薬のニフェジピンと、血糖降下薬のグリベンクラミドについて、それぞれの薬理作用に対するフェブキソスタットの影響について検討した。

その結果、フェブキソスタットはニフェジピンの降圧作用及びグリベンクラミドの血糖降下作用に対し影響を示さず、これらの薬剤との薬力学的に相互作用を生じる可能性は小さいと考えられた（試験番号：18-G-[REDACTED]003、18-G-[REDACTED]002）。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法 (2.6.4.2 分析法 参照)

¹⁴C-フェブキソスタットを用いた薬物動態試験では、試料中の放射能をそのままあるいは抽出・濃縮後に高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分画し、液体シンチレーションカウンターにて測定した。遊離肝細胞及び肝ミクロソームにおける ¹⁴C-フェブキソスタットの *in vitro* 代謝試験では、各生体試料の放射能を抽出・濃縮後、HPLC に接続した放射能検出器を用いて測定した。非標識フェブキソスタットを用いた薬物動態試験及びトキシコキネティクス試験では、試料中フェブキソスタット濃度を蛍光検出器を接続した HPLC を用いて測定した。

2.4.3.2 吸収 (2.6.4.3 吸収、2.6.4.5.2 初回通過効果 参照)

マウス、ラット及びイヌに単回経口投与されたフェブキソスタットは消化管から速やかに吸収されることが確認された。バイオアベイラビリティーは、ラット及びイヌでそれぞれ 78.4% (試験番号 : C-TB-[]00-01) 及び 48.0% (試験番号 : 18-K-[]007) であり、経口吸収率はラット及びイヌでそれぞれ 71.3% (試験番号 : C-TB-[]00-01) 及び 62.3% (試験番号 : 18-K-[]007) と算出され、いずれの動物種においてもフェブキソスタットは初回通過効果を受けにくい、低クリアランス型薬物であることが示された。¹⁴C-フェブキソスタットを用いた単回経口投与試験及びトキシコキネティクスの結果から、ラットでは 0.5~450 mg/kg、マウスでは 3~48 mg/kg、ウサギでは 3~48 mg/kg の投与量範囲で、フェブキソスタットの最高濃度 (C_{max}) 及び濃度 - 時間曲線下面積 (AUC_{inf}) は線形であったが、イヌにおいては 5~80 mg/kg の投与量範囲において非線形で、投与量比を上回る AUC の増加を示した。また、いずれの動物種においても反復投与による血中濃度推移の変化はほとんど見られず、反復投与と単回投与ではほぼ同じ AUC であった。

2.4.3.3 分布

2.4.3.3.1 蛋白結合 (2.6.4.4.1 血漿蛋白結合、2.6.4.4.2 結合蛋白の同定、結合部位、2.7.2.2.1 ヒト生体試料を用いた *in vitro* 試験 参照)

In vitro においてフェブキソスタットの血漿蛋白結合率を *in vitro* 限外ろ過法で検討した結果、ラットで 99.4~99.5% (0.5~50 µg/mL、試験番号 : C-TB-[]00-01)、ヒトで 97.8~99.0% (0.4~10 µg/mL、試験番号 : 18-A-[]016、18-K-[]012) と、フェブキソスタットの血漿蛋白結合率は高く、また、ラットとヒトでは同程度であった。

In vivo における検討ではフェブキソスタットのラット血漿蛋白結合率は 98.7~99.5% (1~10 mg/kg、試験番号 : C-TB-[]00-01) であった。以上のことから、フェブキソスタットの蛋白結合率に濃度依存的な変動及び種差はないことが確認された。

ヒト精製蛋白を用いた *in vitro* 結合試験では、フェブキソスタットが主として結合する蛋白種はアルブミンであり、特異的結合部位はジアゼバムサイトであることが確認された (試験番号 : 18-K-[]004、18-A-[]013)。

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.3.3.2 組織分布 (2.6.4.4.3 全身オートラジオグラフィー、2.6.4.4.4 単回経口投与時の組織分布、2.6.4.4.5 14日間反復経口投与時の組織分布、2.6.4.4.6 胎児への移行(胎盤通過性) 参照)

ラットに¹⁴C-フェブキソスタッフを1 mg/kg 単回経口投与したときの組織中総放射能濃度を検討した結果、投与後1時間において多くの組織で最高濃度が観察され、消化管（胃、小腸及び大腸）、肝臓及び腎臓で血漿中より高濃度の放射能分布が認められた。投与後1又は8時間以降、各組織中総放射能濃度は減少したが、投与後168時間の時点においても肝臓、腎臓、小腸及び脾臓など多くの臓器・組織で検出下限以上の放射能が検出された。しかしながら、14日間反復経口投与終了後の24時間における組織中総放射能濃度は、単回経口投与後24時間の濃度と同程度であったことから、長期間の反復投与において放射能が組織に蓄積する可能性は低いと考えられた。また、血中放射能の血球成分への移行率は0.0～29.9%と低かった（試験番号：[REDACTED]）。

妊娠ラットにおける組織中総放射能濃度の検討から、フェブキソスタッフの胎児への移行性は低いことが示された（試験番号：H-TB-[REDACTED]24）。

2.4.3.4 代謝 (2.6.4.5 代謝、2.7.2.2.1 ヒト生体試料を用いた in vitro 試験 参照)

2.4.3.4.1 In vitro 代謝

マウス、ラット、イヌ及びヒト肝ミクロソーム（NADPH 添加若しくは UDPGA、NADPH共添加）若しくは遊離肝細胞に¹⁴C-フェブキソスタッフを添加したときの代謝物生成について検討した。In vitro 肝ミクロソームの反応では未変化体のグルクロン酸抱合体（67-G）、酸化代謝物としてイソブチル基が水酸化された67M-1及び67M-2、また67M-1の水酸基が酸化されたジカルボン酸体である67M-4、イソブチル基側鎖が脱落した67M-3などが検出された（試験番号：46475）。これらの酸化代謝物ではウシミルク由来 XOD に対する阻害活性が認められ、それは未変化体のKi値と同程度であった（試験番号：18-P-[REDACTED]013）。また、酸化代謝物のグルクロン酸抱合体（67M-3-G）もわずかに検出された。

ヒトCYP発現系ミクロソーム（CYP1A1、1A2、1B1、2A6、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1、3A4及び4A11）のフェブキソスタッフに対する代謝活性を算出した結果、67M-1の生成にはCYP1A1、1A2、2C8、2C9及び4A11が、67M-2の生成にはCYP1A1、1A2、1B1、2C8、2C9及び3A4が、67M-3の生成にはCYP1A1が関与することが示唆された（試験番号：18-K-[REDACTED]002）。フェブキソスタッフの酸化的代謝反応における各種CYP分子種の寄与を検討する目的でヒト肝ミクロソームを用いてCYP抗体の阻害効果を検討した。その結果、67M-2への代謝反応はCYP1A2抗体によって47.5%、CYP2C8抗体によって44.1%、CYP2C9抗体によって33.6%低下した（試験番号：18-K-[REDACTED]001）。更に、ヒトUGT発現系ミクロソームを用いてフェブキソスタッフの代謝を検討した結果、UGT1A1、1A3、1A7、1A8、1A9、1A10及び2B7がフェブキソスタッフのグルクロン酸抱合反応に関与していた（試験番号：18-K-[REDACTED]003）。

以上の結果から、フェブキソスタッフの代謝は抱合化反応と酸化的代謝からなり、酸化代謝物の生成率はヒトで最も少なく、未変化体存在率はヒトが最も高かった。また、代謝経路はいずれの動物種においてもほぼ同様であると推察された。

2.4.3.4.2 In vivo 代謝

マウス (3 mg/kg、試験番号: [REDACTED])、ラット (3 mg/kg、試験番号: 18-K-[REDACTED]001)、イヌ (1 mg/kg、試験番号: 18-K-[REDACTED]007) 及びヒト (40 mg/日、試験番号: TMX-67-[REDACTED]) に ¹⁴C-フェブキソスタットまたはフェブキソスタットを単回経口投与したときの血漿、尿等生体試料中代謝物を分析した結果、in vitro 試験と同様にフェブキソスタットの代謝物として未変化体のグルクロン酸抱合体や酸化代謝物 (67M-1, 67M-2, 67M-3 及び 67M-4) が検出された。また酸化代謝物も抱合化を受け、67M-1, 67M-2 及び 67M-3 のグルクロン酸抱合体、67M-1 及び 67M-3 では硫酸抱合体が検出されたがいずれも存在量はごくわずかであった。

表 2.4.3.4.2 に各動物種に ¹⁴C-フェブキソスタットまたはフェブキソスタットを投与したときの投与後 0.5 時間の血漿中総放射能 (ヒトは検出された未変化体及び代謝物濃度の総和) に対するフェブキソスタット及びその代謝物の存在比を示した。血漿では、いずれの動物種においても未変化体の存在率が最も高く、主代謝物はマウス及びヒトでは 67-G、ラット及びイヌでは 67M-3 であった。尿中には雄マウスを除いていずれの動物種においても未変化体はほとんど排泄されなかった。尿中の主たる代謝物はマウスでは 67-G、ラットでは 67M-1 及び 67M-3、イヌでは 67M-1 及びヒトでは 67-G であった。

以上より、マウス、ラット、イヌ及びヒトでのフェブキソスタットの代謝は抱合化反応と酸化的代謝からなり、代謝経路はいずれの動物種においてもほぼ同様であると推察された (図 2.4.3.4.2)。

表 2.4.3.4.2 ¹⁴C-フェブキソスタットまたはフェブキソスタットをマウス、ラット、イヌ及びヒトへ投与後 0.5 時間ににおけるフェブキソスタット及びその代謝物の総放射能 (ヒトは検出された未変化体及び代謝物濃度の総和) に対する存在比

	マウス	ラット	イヌ	ヒト
試験番号	[REDACTED]	18-K-[REDACTED]001	18-K-[REDACTED]007	TMX-67-[REDACTED]
被験物質	¹⁴ C-フェブキソスタット			フェブキソスタット
性別	雄			男性
投与量及び投与経路	3 mg/kg, po	3 mg/kg, po	1 mg/kg, po	40 mg, po
未変化体 (%)	94.0	80.2	74.6	85.8
67-G* (%)	5.1	n.d.	n.d.	10.3
67M-1 (%)	n.d.	1.6	3.9	1.2
67M-1-S (%)	n.d.	0.8	—	—
67M-2 (%)	n.d.	1.4	n.d.	1.5
67M-3 (%)	—	8.9	3.8	—
67M-3-G (%)	—	0.3	—	—
67M-3-S (%)	—	0.3	—	—
67M-4 (%)	n.d.	0.2	1.4	1.2

* : 全ての異性体の合算値

— : 測定せず

n.d. : 検出下限未満

2.4 非臨床試験の概括評価

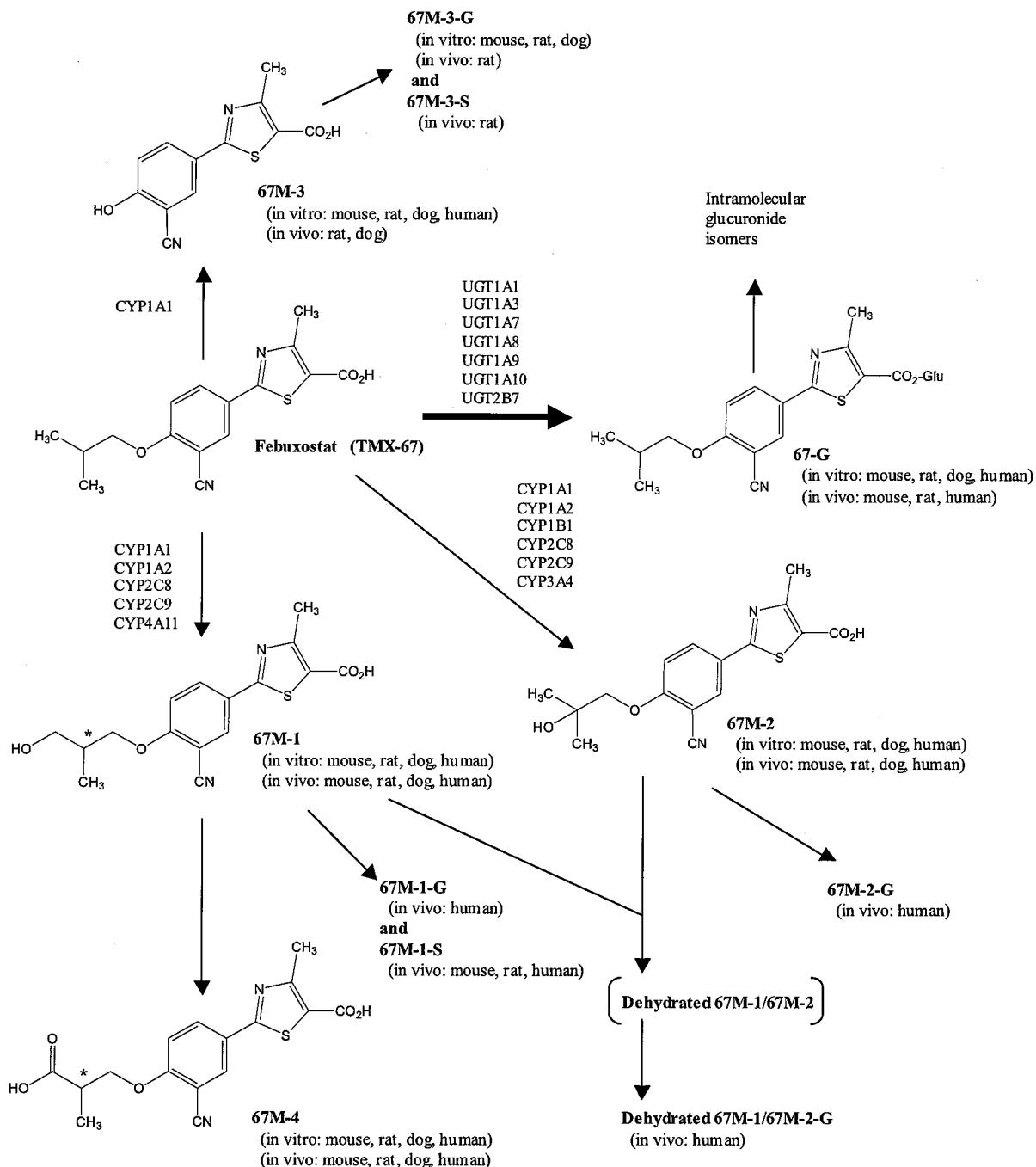


図 2.4.3.4.2 フエブキソスタットの推定代謝経路

*は不斉中心を示す。

代謝酵素はヒト発現系ミクロソームを用いた検討より得られた結果を、太矢印はヒトでの主要代謝経路を示す。

2.4.3.4.3 酵素誘導

ラットにフェブキソスタット（1又は20 mg/kg）を7日間反復経口投与して薬物代謝酵素誘導を検討した。ラット肝ミクロソーム画分におけるCYP量、NADPH-チトクロームc還元酵素活性、アミノピリンN-脱メチル化酵素活性、アニリン水酸化酵素活性及び7-エトキシクマリンO-脱エチル化酵素活性は対照群と変わらず、フェブキソスタットによるこれらの肝薬物代謝酵素系の誘導は

認められなかった（試験番号：18-A-[REDACTED]019）。

また、ヒト初代肝細胞にフェブキソスタットを300 μmol/Lまで72時間曝露させたとき、フェブキソスタットは検討した分子種（CYP1A1/2、2B6、2C9、2C19、2D6、2E1及び3A4/5）を誘導しなかった（試験番号：3210-0407-1800）。

2.4.3.5 排泄（2.6.4.5 代謝、2.6.4.6 排泄 参照）

¹⁴C-フェブキソスタットを単回経口投与したときの168時間までの尿及び糞中放射能排泄率は、ラットではそれぞれ37.7及び59.4%（試験番号：18-K-[REDACTED]002）、イヌではそれぞれ5.6及び89.7%（試験番号：18-K-[REDACTED]007）であり、それらの90%以上が投与後24時間（ラット）あるいは48時間（イヌ）までに排泄された。単回静脈内投与したときの168時間までの尿及び糞中放射能排泄率は、ラットではそれぞれ47.7及び46.6%（試験番号：C-TB-[REDACTED]00-01）とほぼ均等に排泄されたが、イヌでは9.1及び85.1%と主に糞中に排泄された（試験番号：18-K-[REDACTED]007）。また、ラットにおける単回経口投与後又は単回静脈内投与後48時間までの胆汁中放射能排泄率はそれぞれ52.2及び57.2%であった（試験番号：C-TB-[REDACTED]00-01）。ラット単回静脈内投与後24時間までに胆汁中に排泄された放射能の67.5%が67-Gであり、未変化体及びその他の代謝物存在比は10%未満であった（試験番号：18-K-[REDACTED]006）。これらのことから、フェブキソスタットの吸収は良好でかつ速やかに排泄されること、また尿糞中排泄には種差が存在することが確認された。

授乳中ラットにおける単回経口投与後の乳汁中総放射能濃度は、投与後4時間に最高濃度（血漿中総放射能濃度の7.58倍）を示し、その後も血漿中の6.45～7.89倍の濃度で推移した（試験番号：H-TB-[REDACTED]24）。また、乳汁中から回収された放射能のほとんどが未変化体として存在していた（試験番号：18-K-[REDACTED]001）。

ラット、イヌにおける未変化体の尿中排泄率は投与放射能量の2%以下であったことから、フェブキソスタットの腎排泄クリアランスは低いことが確認された。したがってフェブキソスタットの全身クリアランスは主に代謝クリアランスに依存しているものと考えられた。

また、ラット胆汁中の主代謝物はグルクロン酸抱合体であることから腸肝循環の可能性が考えられたが、ラット及びイヌにおける血漿中総放射能濃度に顕著な二峰性の推移は見られず、腸管循環は少ないことが示唆された。

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用（2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用、2.7.2.2.1 ヒト生体試料を用いた in vitro 試験 参照）

蛋白結合率の高いイブプロフェン、カプトプリル、ベザフィブレート、ワルファリン、ジゴキシン、ベラパミル又はニトレンジピンの共存あるいは非共存下におけるフェブキソスタットの蛋白結合率の変動を、in vitro限外ろ過法で検討した結果、¹⁴C-フェブキソスタットのヒト血漿蛋白結合率はこれら共存薬の影響を受けなかった（試験番号：18-A-[REDACTED]016、18-K-[REDACTED]012）。

ワルファリン、ニトレンジピン、ベラパミル及びイブプロフェンの放射性標識体（¹⁴C又は³H-標識）を用い、フェブキソスタットの共存あるいは非共存下におけるこれら薬物の血漿蛋白結合率の変動をin vitro限外ろ過法により検討した結果、イブプロフェン及びワルファリンのヒト血漿蛋白結合率は、フェブキソスタットの影響をほとんど受けなかった。ベラパミル及びニトレン

2.4 非臨床試験の概括評価

ジピン（各0.1 µg/mL）のヒト血漿蛋白結合率は、高濃度（10 µg/mL）のフェブキソstatt共存下でそれぞれ6.3及び5.1%有意に低下したが、2 µg/mL以下の濃度では影響を受けなかった。

以上より、フェブキソstatt又は併用薬による蛋白結合の置換作用によって、薬物相互作用が生じる可能性は低いことが示唆された（試験番号：18-A-[REDACTED]016、18-K-[REDACTED]012）。

ヒト肝ミクロソームを用いて、CYP活性に対するフェブキソstattの阻害作用を検討した。フェブキソstattは検討した分子種（CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6及び3A4）のうちCYP2C8及びCYP2D6のみ阻害することが示され、CYP2C8及びCYP2D6に対する阻害定数（Ki）は20.0 µmol/L（6.3 µg/mL）及び約40 µmol/L（約12.7 µg/mL）であった。（試験番号：18-K-[REDACTED]005、[REDACTED]）。しかしながら、TMX-67-[REDACTED]試験における40及び80 mg投与群のC_{max}の平均値から算出した本申請における最大用量（60 mg）投与時での予想平均C_{max}は6.2 µmol/L（2.0 µg/mL）であり（2.7.2.2.2.1 1. (5) TMX-67-[REDACTED]試験：第I相反復投与試験-3 参照）、ヒト血漿蛋白結合率も97.8～99.0%と高いことから、フェブキソstattがCYP2C8あるいはCYP2D6を阻害することによって生じる薬物相互作用の可能性は低いと推察された。

2.4.3.7 その他の薬物動態試験（2.6.4.8.1 その他の薬物動態試験 参照）

¹⁴C-フェブキソstatt又は¹⁴C-アロプリノールを0.5 mg/kgの用量で単回静脈内投与した際の血清中総放射能濃度を腎機能を低下させた5/6腎摘ラットと偽手術ラットで比較した。その結果、¹⁴C-フェブキソstatt及び¹⁴C-アロプリノール投与群の全身クリアランスは5/6腎摘ラット処置群でそれぞれ53.6%及び78.8%低下し、¹⁴C-フェブキソstatt投与群の方が全身クリアランスの低下度は軽度であった（試験番号：18-P-[REDACTED]003、18-A-[REDACTED]018）。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験 (2.6.6.2 単回投与毒性試験 参照)

フェブキソスタットの単回投与毒性試験はラット及びイヌを用い、経口投与にて実施した。その結果、ラットでは概略の致死量は雌雄とも300～600 mg/kgであったが、イヌでは2000 mg/kgを投与しても死亡例は認められなかった(表2.4.4.1-1)。

ラットの剖検において、150 mg/kg以上で腎臓表面の陥凹が、300 mg/kg以上で腎臓あるいは膀胱に黄色顆粒状物、退色等が認められた。イヌにおいては、全ての群において一過性の嘔吐とそれに引き続く一般状態の悪化が認められ、1000 mg/kg群において体重の一過性の減少が認められた。またトキシコキネティクス試験として、別途ラットを用いた単回投与血中濃度経時測定試験を実施し、投与量の増加に応じた血清中未変化体濃度のAUCの増加と消失速度の遅延が観察された(2.6.4.3.5 各動物種における血中濃度のまとめ 参照)。

表 2.4.4.1-1 単回投与毒性試験における概略の致死量

動物種	投与方法	投与量 (mg/kg)	概略の致死量	試験番号
一般毒性試験				
ラット	強制経口	0, 150, 300, 600	300～600 mg/kg	S054A0R100
イヌ	カプセル	0, 500, 1000, 2000	>2000 mg/kg	S054A0D100
トキシコキネティクス試験				
ラット	強制経口	3, 15, 75, 150		S054A0R10P

2.4.4.2 反復投与毒性試験 (2.6.6.3 反復投与毒性試験 参照)

ラット及びイヌを用いて経口投与により以下の表に示した投与量、投与期間にてフェブキソスタットの毒性を評価した(表2.4.4.2-1)。これらすべての試験についてトキシコキネティクスを実施し、投与量に応じて血清中未変化体濃度が増加し、反復投与期間中投与量に応じた未変化体の全身曝露が認められた(2.6.4.3.5 各動物種における血中濃度のまとめ 参照)。

表 2.4.4.2-1 反復投与毒性試験一覧

動物種	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg/日)	試験番号
ラット	強制経口	5 週間	0, 3, 15, 75, 150	S054S1R100
ラット	強制経口	26 週間	0, 3, 12, 48	S054C3R100
イヌ	カプセル	13 週間	0, 5, 20, 80	S054S2D100
イヌ	カプセル	52 週間	0, 5, 15, 45	S054C4D100

2.4.4.2.1 反復投与毒性試験結果

ラットの5週間反復投与毒性試験(2.6.6.3.1 フェブキソスタットのラットにおける経口投与による5週間反復投与毒性試験 参照)において、15 mg/kg以上で腎臓に黄色顆粒状変化等及びそれに伴った尿細管及び間質の炎症性の変化が認められた他、尿沈渣中に球状顆粒が認められた。

2.4 非臨床試験の概括評価

15 mg/kgで認められた尿沈渣中の球状顆粒は、薄層クロマトグラフ法及びフーリエ変換赤外吸収スペクトル分析を行った結果、成分はキサンチンであった（2.4.4.2.1.1 キサンチン結晶沈着・結石生成について 参照）。上記の変化は、15 mg/kgでは軽度の変化であったが、75 mg/kg以上では著しく、更に尿検査、血液学的検査、骨髄検査、血液生化学的検査、電子顕微鏡検査において腎臓あるいは膀胱における結晶沈着・結石に起因する変化とそれに伴う種々の二次的な変化と考えられる所見が認められた。また、75 mg/kg以上の少数例には腎孟移行上皮及び膀胱移行上皮の過形成あるいは甲状腺濾胞上皮の過形成が認められた。

ラットの26週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.2 フェブキソスタットのラットにおける経口投与による26週間反復投与毒性試験 参照）では、12 mg/kg以上で腎臓に黄色顆粒状変化等及びそれに伴った尿細管及び間質の炎症性の変化が認められた他、尿沈渣中に球状顆粒・花弁状顆粒が認められた。上記の変化は12 mg/kgでは軽度あるいは軽微であったが、48 mg/kgでは著しく、更に尿検査、血液学的検査、骨髄検査、血液生化学的検査、電子顕微鏡検査では5週間反復投与毒性試験と同様に腎臓の結晶沈着・結石とそれに伴う種々の二次的な変化と考えられる所見が認められた。また、48 mg/kgでは少数例に腎孟及び膀胱の移行上皮過形成が、48 mg/kgの回復群の少数例に甲状腺濾胞上皮の過形成が認められた。なお、5週間から26週間への投与期間の延長による毒性所見の著しい差異は認められなかった。

イヌの13週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.3 フェブキソスタットのイヌにおける経口投与による13週間反復投与毒性試験 参照）では、20 mg/kg以上の少数例に腎臓及び膀胱に黄色結石等、腎孟及び膀胱の移行上皮過形成、及び尿沈渣中に球状顆粒が認められた。上記の変化は20 mg/kgでは軽度の変化であったが、80 mg/kgでは上記の変化に加え、尿検査において結晶沈着・結石に起因する変化が認められた。

イヌの52週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.4 フェブキソスタットのイヌにおける経口投与による52週間反復投与毒性試験 参照）では、15 mg/kg以上で腎臓及び膀胱に黄色顆粒等及びそれに伴うと考えられる糸球体、尿細管あるいは間質の炎症性変化が認められた。上記の変化は15 mg/kgでは軽微であったが、45 mg/kgでは著しく、切迫解剖例の出現、膀胱移行上皮の過形成等が認められた他、尿検査、血液学的検査、骨髄検査、血液生化学的検査、病理組織学的検査、電子顕微鏡検査において結晶沈着・結石に起因すると考えられる変化が認められた。なお、13週間から52週間への投与期間の延長による毒性所見の著しい差異は認められなかった。

2.4.4.2.1.1 キサンチン結晶沈着・結石生成について

ラット5週間反復投与毒性試験で認められた尿沈渣中球状顆粒について、薄層クロマトグラフ法及びフーリエ変換赤外吸収スペクトル分析を行った結果、成分はキサンチンであった。フェブキソスタットはXOR阻害剤であることから、その薬理作用を反映して血中キサンチン濃度が増加し、腎臓において濃縮・排泄されることにより腎臓でキサンチン結晶・結石が沈着し、また尿中キサンチン濃度が増加することにより膀胱内にキサンチンが析出したものと考えられた（2.4.2.2.4 キサンチン結石形成に関する評価 参照）。その他の試験において認められた尿沈渣中の球状顆粒についても、いずれも同様な形状であったためキサンチンを成分とした結晶と判断した。

反復投与毒性試験において認められた所見はいずれも、上記のようにフェブキソスタットの薬

理作用であるXOR阻害効果が過剰発現した結果生じるキサンチン結晶沈着・結石生成、及びこれに起因する二次的な変化と考えられた。また、フェブキソスタットとアロプリノールのラットにおけるキサンチン結石形成について比較検討した結果（2.6.2.2.2 正常ラットにおける尿酸、アラントイン、キサンチン値及びキサンチン結石形成に対する作用 参照）、同程度の尿中キサンチン濃度の増加を示す投与量で比較した場合、アロプリノールに比べフェブキソスタットが結石を生じさせやすくなかった。更に、24時間の尿中プリン代謝産物の総排泄量（尿酸、アラントイン及びキサンチン）について、コントロール群の投与初日における値をヒトにおける文献値¹⁵⁾と比較したところ、体重あたりの1日排泄量はヒトに比べラットで約20倍多かった。これらの試験結果及び文献報告との比較に加えて、プリン代謝異常亢進を特徴とするLesch-Nyhan症候群等の特殊な患者^{16), 17), 18), 19)}を除き、長年臨床使用されているアロプリノールがヒトでキサンチン結石を発生させるという報告がないこと、及びヒト尿量はラットやイヌより多いことから考察すると、フェブキソスタットはアロプリノールと同様に、ヒトでキサンチン結石を生じる可能性は極めて低いと考えられた。

なお、臨床試験においては尿沈渣を慎重に観察したが、キサンチン結晶・結石を疑わせるような尿沈渣所見はなかった（2.7.4.2.1.5 器官別又は症候群別有害事象の解析 参照）。

2.4.4.2.1.2 腎、膀胱への影響

ラット及びイヌの反復投与毒性試験の高用量群において、腎臓及び膀胱に結晶沈着・結石形成が認められ、更にそれに起因すると考えられる腎孟及び膀胱の移行上皮過形成が認められた。また後述（2.4.4.4 がん原性試験 参照）のように、ラット及びマウスを用いた104週間投与によるがん原性試験（2.6.6.5 がん原性試験 参照）では、最高用量群において腎臓及び膀胱に結晶沈着・結石の生成とそれに伴う腎孟移行上皮過形成、膀胱移行上皮過形成、膀胱移行上皮乳頭腫及び膀胱移行上皮癌の発生が認められた。これらの試験の腎臓及び膀胱で認められた結晶沈着・結石形成は、ラット5週間反復投与毒性試験で認められた尿沈渣中球状顆粒の主成分を分析した結果キサンチンであったことから、フェブキソスタットの薬理作用が強く発現した結果生じたキサンチン結晶沈着・結石と推定された。

ラット等のげっ歯類では、膀胱結石等の異物の刺激による増殖性変化、腫瘍発生との関連については多くの報告があり、長期間にわたる結石等の異物による機械的刺激によって上皮の過形成から上皮性悪性腫瘍に至ると考えられている^{38), 39), 40), 41), 42), 43)}。したがって、フェブキソスタットの反復投与毒性試験あるいはがん原性試験で認められた尿路における移行上皮の増殖性の変化（腎孟移行上皮過形成、膀胱移行上皮過形成、膀胱移行上皮乳頭腫、膀胱移行上皮癌及び尿道移行上皮過形成）は、フェブキソスタットの薬理作用が強く発現した結果生成されたキサンチン結晶沈着・結石による移行上皮細胞への機械的刺激が長期間にわたって生じたことに起因する変化であると推定された。これらの移行上皮細胞の増殖性変化と、キサンチン結晶沈着・結石生成の関連については、キサンチン結晶沈着・結石を抑制・溶解するために尿pH調整剤を加えた飼料をマウスに与えた上でフェブキソスタットを4週間投与した実験を行い検討した（2.6.6.8.2.1 尿pH調整飼料を与えたマウス1カ月間反復投与毒性試験 参照）。その結果、正常飼料のみを給餌し、フェブキソスタットを投与したマウスでは膀胱で結晶沈着・結石が生じ、それとともに過形成が

認められたが、尿pH調整剤を与え、キサンチン結晶沈着・結石を抑制・溶解する条件下でフェブキソスタットを投与したマウスでは、膀胱の移行上皮過形成は認められなかった。また、フェブキソスタットと同じXOR阻害剤であるアロプリノールによるラット13週間反復投与毒性試験を実施した結果、フェブキソスタットと同様に腎臓及び膀胱で結晶沈着・結石生成及びそれに起因した変化と考えられる腎孟及び膀胱の移行上皮過形成が認められた⁴⁴⁾。

以上の結果及び文献報告、並びにヒトでキサンチン結石を生じる可能性は極めて低いと考えられた（2.4.4.2.1.1 キサンチン結晶沈着・結石生成について）ことから、ヒトではキサンチン結晶沈着・結石生成に起因した尿路の移行上皮細胞の腫瘍を含む増殖性変化を生じる可能性は極めて低いと推察された。

2.4.4.2.1.3 甲状腺への影響

フェブキソスタットのラット反復投与毒性試験（2.6.6.3.1 フェブキソスタットのラットにおける経口投与による5週間反復投与毒性試験及び2.6.6.3.2 フェブキソスタットのラットにおける経口投与による26週間反復投与毒性試験 参照）の高用量域（5週間：75及び150 mg/kg、26週間：48 mg/kg）において、甲状腺の肥大及び甲状腺濾胞上皮の過形成が認められた。ラット反復投与毒性試験で血清中甲状腺ホルモン濃度〔トリヨードチロニン（T₃）、サイロキシン（T₄）〕を測定した結果、フェブキソスタットの投与量に応じた減少が確認された。また、ラットにおける5週間反復経口投与による甲状腺ホルモン変動解析試験（2.6.6.8.2.2 フェブキソスタットのラットにおける5週間反復経口投与による甲状腺ホルモン変動解析試験 参照）では、フェブキソスタットの投与により、血漿中甲状腺ホルモン濃度の低下に伴って甲状腺刺激ホルモン（TSH）が増加することを確認した。更に、フェブキソスタットの投与により生じる甲状腺の肥大、甲状腺濾胞上皮の過形成及びTSHの増加は、フェブキソスタット投与と同時に甲状腺ホルモンであるT₄を補充投与することにより抑制されることを確認した。

甲状腺ホルモンの変動に伴う甲状腺の肥大及び甲状腺濾胞上皮の過形成は、げっ歯類にしばしば認められる変化として知られている。すなわち、甲状腺ホルモンはヒトではサイロキシン結合蛋白と強固に結合しているのに対し、ラットではアルブミンと弱く結合しているために遊離しやすく、そのため代謝分解を受けやすく半減期が短いことが知られている⁴⁵⁾。また、ラットでは甲状腺ホルモンの変動が生じやすく、その変動に対応したTSHの持続的な増加により甲状腺の肥大及び過形成が誘発されやすいことが示されている^{46)、47)、48)}。上記のようにフェブキソスタットの投与により生じる甲状腺の肥大、甲状腺濾胞上皮の過形成及びTSHの増加は、甲状腺ホルモンであるT₄の補充投与によって抑制されることから、ラット甲状腺の肥大及び甲状腺濾胞上皮の過形成は甲状腺ホルモンの低下に対応したTSHの持続的な増加に起因して生じたものと推定された。更に、ヒトと同様にサイロキシン結合蛋白を有するイヌを用いたフェブキソスタットの反復投与毒性試験（2.6.6.3.3 フェブキソスタットのイヌにおける経口投与による13週間反復投与毒性試験及び2.6.6.3.4 フェブキソスタットのイヌにおける経口投与による52週間反復投与毒性試験 参照）では甲状腺の変化が認められなかった。以上から、ラットの高用量投与で認められた甲状腺の肥大・甲状腺濾胞上皮過形成はヒトで生じる可能性は極めて低いと推定された。

2.4.4.2.1.4 肝臓への影響

本薬の主要な分布組織及び主たる薬理作用の標的組織である肝臓については、いずれの毒性試験においても著しい腎臓及び膀胱での結石が認められた高用量群（ラット：150 mg/kg（5週間）及び48 mg/kg（26週間）、イヌ：80 mg/kg（13週間）及び45 mg/kg（52週間））までアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（グルタミン酸オキザロ酢酸トランスクレアーゼ）〔AST (GOT)〕、アラニンアミノトランスフェラーゼ（グルタミン酸ピルビン酸トランスクレアーゼ）〔ALT (GPT)〕の変化や組織学的な異常は認められなかった。また、胆道系傷害パラメーターであるロイシンアミノペプチダーゼ（LAP）及び γ -グルタミルトランスフェラーゼ（ γ -GTP）については、ラット反復投与毒性試験の高用量群（5週間反復投与毒性試験：150 mg/kg）において全身状態の悪化に伴うと考えられる増加が認められたが、イヌ反復投与毒性試験ではこれらパラメーターに変化は認められなかった。

2.4.4.2.1.5 反復投与毒性試験における無毒性量と本申請における最大用量との曝露比

ラット及びイヌの反復投与毒性試験における無毒性量については以下に考察した。ラット及びイヌの反復投与毒性試験で生じた結晶沈着・結石形成は、ラット5週間反復投与毒性試験で認められた尿沈渣中球状顆粒の主成分を分析した結果キサンチンであったことから、フェブキソスタットの薬理作用が強く発現した結果生じたキサンチン結晶沈着・結石と推定された。また、これらのキサンチン結晶沈着・結石形成はプリン代謝産物の尿中排泄量の種差、プリン代謝異常亢進を特徴とするLesch-Nyhan症候群等の特殊な患者^{16), 17), 18), 19)}を除き、長年臨床使用されているアロプリノールがヒトでキサンチン結石を発生させるという報告がないこと、及びヒト尿量はラットやイヌより多いことから考察すると、フェブキソスタットはアロプリノールと同様に、ヒトでキサンチン結石を生じる可能性は極めて低いと考えられた（ヒトでの予測性）。これらのことから、反復毒性試験の腎臓及び膀胱におけるキサンチン結晶沈着・結石の生成及び剖検・病理組織学的検査で認められた変化がいずれも軽微あるいは軽度であり、かつそれに伴うと考えられる二次的な変化が認められなかった用量を無毒性量と推定した。すなわち、ラット5週間及び26週間反復投与毒性試験ではそれぞれ15 mg/kg及び12 mg/kg、イヌ13週間及び52週間反復投与毒性試験ではそれぞれ20 mg/kg及び15 mg/kgを無毒性量と推定した。なお、軽微あるいは軽度な結石も生じない用量はラット5週間及び26週間反復投与毒性試験ではそれぞれ3 mg/kg、イヌ13週間及び52週間反復投与毒性試験ではそれぞれ5 mg/kgであった。

反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験での投与量、無毒性量及びがん原性試験の投与量、非発がん量（腫瘍発生が認められない用量）と本申請における最大用量（60 mg）との曝露比を表2.4.4.2.1-2に示した。ラット及びイヌ反復投与毒性試験の無毒性量におけるAUC_{0,24hr}は、本申請の最大用量におけるAUC_{inf}のそれぞれ6.8～17.9倍及び1.4～5.5倍であり、軽微あるいは軽度な結石も生じない用量におけるAUC_{0,24hr}はそれぞれ1.4～2.2倍及び0.20～0.65倍であった。また、マウス及びラットがん原性試験ではAUC_{0,24hr}を算出していなかったため、マウスについてはがん原性予備試験（試験番号：3500(011-022)、3501(011-023)）のTK結果から線形性を仮定してAUC_{0,24hr}を算出し、ラットについてはラットがん原性予備試験（試験番号：S054S2R10A）のTK結果を引用した。マウス及びラットがん原性試験の非発がん量におけるAUC_{0,24hr}は、本申請の最大用量におけるAUC_{inf}のそ

2.4 非臨床試験の概括評価

それぞれ1.4～4.9倍及び8.6～10.5倍であった。ラット生殖発生毒性試験ではTK測定を実施していなかったので、ラット26週間反復投与毒性試験でのTK測定結果を引用し、各無毒性量におけるAUC_{0,24hr}と本申請の最大用量におけるAUC_{inf}の比を以下のように算出した。すなわちラットでは、「親動物あるいはF₀母動物に対する一般毒性学的無毒性量」でのAUC_{0,24hr}と本申請の最大用量でのAUC_{inf}の比は2.1～11.1倍であり、「親動物あるいはF₀母動物の生殖機能に対する無毒性量」でのAUC_{0,24hr}と本申請の最大用量でのAUC_{inf}の比は11.1～39.3倍であった。更に、「胚・胎児に対する無毒性量」でのAUC_{0,24hr}と本申請の最大用量でのAUC_{inf}の比は39.3倍であり、「F₁出生児に対する無毒性量」でのAUC_{0,24hr}と本申請の最大用量でのAUC_{inf}の比は2.1倍であった。また、ウサギの胚・胎児発生試験における「母動物に対する一般毒性学的無毒性量、母動物の生殖機能及び胚・胎児に対する無毒性量」でのAUC_{0,24hr}と本申請の最大用量におけるAUC_{inf}の比は50.8倍であった。

表 2.4.4.2.1-2 反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験での投与量、無毒性量及びがん原性試験での投与量、非発がん量*と本申請における最大用量との曝露比

動物種	試験種類	投与量 (mg/kg/日)	AUC _{0,24hr} (ng·hr/mL)		曝露比 ^{a)}		試験番号
			雄	雌	雄	雌	
ラット	5週間反復 経口投与	3	12773.0 ^{b)}	10507.8 ^{b)}	1.6	1.4	S054S1R100
		15(無毒性量)	91619.2 ^{b)}	139173.1 ^{b)}	11.8	17.9	
		75	489269.8 ^{b)}	519356.0 ^{b)}	63.0	66.9	
		150	1033865.5 ^{b)}	1097025.1 ^{b)}	133.2	141.4	
ラット	26週間反復 経口投与	3	12828.2 ^{c)}	16363.9 ^{c)}	1.7	2.1	S054C3R100
		12(無毒性量)	52895.8 ^{c)}	86190.7 ^{c)}	6.8	11.1	
		48	238483.8 ^{c)}	305194.0 ^{c)}	30.7	39.3	
イヌ	13週間反復 経口投与	5	1515.0 ^{d)}	3609.4 ^{d)}	0.20	0.47	S054S2D100
		20(無毒性量)	10544.5 ^{d)}	42950.8 ^{d)}	1.4	5.5	
		80	351842.5 ^{d)}	589145.8 ^{d)}	45.3	75.9	
イヌ	52週間反復 経口投与	5	4032.4 ^{e)}	5056.5 ^{e)}	0.52	0.65	S054C4D100
		15(無毒性量)	31875.8 ^{e)}	38659.5 ^{e)}	4.1	5.0	
		45	395440.5 ^{e)}	572724.1 ^{e)}	51.0	73.8	
マウス	104週間 がん原性試験	3	3366.6 ^{f)}	13227.8 ^{f)}	0.4	1.7	4257 (011-025) 4258 (011-026) 6421 (011-034)
		7.5(非発がん量*)	11060.1 ^{f)}	37737.5 ^{f)}	1.4	4.9	
		18.75	27806.3 ^{f)}	96496.1 ^{f)}	3.6	12.4	
ラット	104週間 がん原性試験	3	17314.7 ^{g)}	16934.2 ^{g)}	2.2	2.2	4259 (011-027) 4260 (011-028) 6422 (011-035)
		6	33769.0 ^{g)}	38326.4 ^{g)}	4.4	4.9	
		12(非発がん量*)	66677.6 ^{g)}	81110.8 ^{g)}	8.6	10.5	
		24	194449.8 ^{g)}	201770.6 ^{g)}	25.1	26.0	

2.4 非臨床試験の概括評価

表 2.4.4.2.1-2 反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験での投与量、無毒性量及びがん原性試験での投与量、非発がん量*と本申請における最大用量との曝露比（続き）

動物種	試験種類	投与量 (mg/kg/日)	AUC _{0,24hr} (ng·hr/mL)		曝露比 ^{a)}		試験番号
			雄	雌	雄	雌	
ラット	妊娠前及び妊娠初期	3	12828.2 ^{c)}	16363.9 ^{c)}	1.7	2.1	S05410R100
		12（無毒性量） ^{b)}	52895.8 ^{c)}	86190.7 ^{c)}	6.8	11.1	
		48（無毒性量） ⁱ⁾	238483.8 ^{c)}	305194.0 ^{c)}	30.7	39.3	
ラット	胚・胎児発生	3		16363.9 ^{c)}		2.1	S05420R100
		12（無毒性量） ^{j)}		86190.7 ^{c)}		11.1	
		48（無毒性量） ^{k)}		305194.0 ^{c)}		39.3	
ウサギ	胚・胎児発生	3		9315.2 ^{m)}		1.2	T-883 S05420K10P
		12		58571.6 ^{m)}		7.5	
		48（無毒性量） ^{l)}		394606.2 ^{m)}		50.8	
ラット	出生前及び出生後の発生並びに母体の機能	3（無毒性量） ⁿ⁾		16363.9 ^{c)}		2.1	S05430R100
		12（無毒性量） ^{o)}		86190.7 ^{c)}		11.1	
		48		305194.0 ^{c)}		39.3	

* : 腫瘍発生が認められない用量

a) 曝露比=AUC_{0,24hr}/本申請の最大用量(60 mg)におけるAUC_{inf} (7760.35 ng·hr/mL、TMX-67-■試験における40 及び80 mg投与群のAUC_{inf}の平均値から算出)、b) ラット単回経口投与による血中濃度経時測定試験(S054A0R10P)のデータを引用した、c) Week 26 のデータ、d) Week 13 のデータ、e) Week 52 のデータ、f) マウスがん原性予備試験(3500(011-022), 3501(011-023), Week 13)のデータを引用した。7.5 mg/kg 投与群のAUC_{0,24hr}は3 及び12 mg/kg 投与群のAUC_{0,24hr}の平均値から、18.75 mg/kg 投与群のAUC_{0,24hr}は12 及び24 mg/kg 投与群のAUC_{0,24hr}の平均値から算出した、g) ラットがん原性予備試験(S054S2R10A、Week 13)を引用した。6 mg/kg 投与群のAUC_{0,24hr}は3 及び12 mg/kg 投与群のAUC_{0,24hr}の平均値から算出した、h) 親動物に対する一般毒性学的無毒性量、i) 親動物の生殖機能及び胚・胎児に対する無毒性量、j) 母動物に対する一般毒性学的無毒性量、k) 母動物の生殖機能及び胚・胎児に対する無毒性量、l) 母動物に対する一般毒性学的無毒性量、m) 最終投与時のデータ、n) F₀母動物に対する一般毒性学的無毒性量及びF₁出生児に対する無毒性量、o) F₀母動物の生殖機能に対する無毒性量

2.4.4.3 遺伝毒性試験 (2.6.6.4 遺伝毒性試験 参照)

フェブキソスタットの遺伝毒性試験は以下の7試験を実施した(表 2.4.4.3-1)。

表 2.4.4.3-1 遺伝毒性試験一覧表

試験種類	試験系		試験番号
復帰突然変異試験	in vitro	細菌	S054M0B900
染色体異常試験	in vitro	CHL 細胞	S054W0C900
染色体異常試験	in vitro	ヒトリンパ球	TAP-T-■-826
突然変異試験	in vitro	マウスリンフォーマ細胞	TAP-T-■-827
小核試験	in vivo	マウス、骨髄	S054Z0M200
UDS 試験	in vivo	ラット、肝	5L363
染色体異常試験	in vivo	ラット、骨髄	TAP-TA-■-831

2.4 非臨床試験の概括評価

本薬の遺伝毒性試験として実施した CHL 細胞を用いた染色体異常試験（2.6.6.4.2 フェブキソスタットのチャイニーズハムスター培養細胞による染色体異常試験 参照）の短時間処理法（-S9、+S9）では陽性反応が認められたが、同じく染色体異常を指標とする 2 種の in vitro 試験〔マウスリンフォーマ細胞による突然変異試験（MLA 試験）（2.6.6.4.4 フェブキソスタットのマウスリンフォーマ細胞による突然変異試験 参照）、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験（2.6.6.4.3 フェブキソスタットのヒトリンパ球を用いる染色体異常試験 参照）〕ではいずれも陰性の結果が得られた。また、同じく染色体異常を指標とする in vivo 試験系として、マウスによる小核試験（2.6.6.4.5 フェブキソスタットの BDF₁マウスによる小核試験 参照）、及びラット骨髄における染色体異常試験（2.6.6.4.7 フェブキソスタットのラット骨髄における染色体異常試験 参照）では、いずれも陰性結果が得られた。更に、遺伝子突然変異の指標である細菌による復帰突然変異試験（2.6.6.4.1 フェブキソスタットの細菌による復帰突然変異試験 参照）、染色体異常と遺伝子突然変異を共に検出するマウスリンフォーマ細胞による突然変異試験（MLA 試験）、及び DNA 損傷を指標とするラット肝 UDS 試験（2.6.6.4.6 フェブキソスタットのラットを用いる in vivo-in vitro 肝・不定期 DNA 合成（UDS）試験 参照）ではいずれも陰性の結果が得られていることから、CHL 培養細胞を用いる染色体異常試験でみられたような反応が生体において発現することはないと判断した。

以上からフェブキソスタットには生体に影響を及ぼす遺伝毒性はないと判断した。

2.4.4.4 がん原性試験（2.6.6.5 がん原性試験 参照）

ラット及びマウスにフェブキソスタットを104週間反復経口投与し、がん原性を検討した〔試験番号：4257(011-025)、4258(011-026)、6421(011-034)、4259(011-027)、4260(011-028)、6422(011-035)〕。その結果、ラット及びマウスそれぞれの最高用量群（ラット：24 mg/kg；マウス：18.75 mg/kg）で腎臓に結晶沈着・結石及び瘢痕が、膀胱に結晶沈着・結石及び移行上皮乳頭腫、移行上皮癌の発生が認められた（表2.4.4.4-1及び-2、2.6.6.5 がん原性試験 参照）。これらの試験の腎臓及び膀胱で認められた結晶沈着・結石形成は、ラット5週間反復投与毒性試験で認められた尿沈渣中球状顆粒の主成分を分析した結果キサンチンであったことから、フェブキソスタットの薬理作用が強く発現した結果生じたキサンチン結晶沈着・結石と推定された。また、これらの試験で認められた膀胱腫瘍は、結晶沈着・結石による長期間の機械的刺激によって生じたと考えられた。前述（2.4.4.2.1.1 キサンチン結晶沈着・結石生成について及び2.4.4.2.1.2 腎、膀胱への影響 参照）のように、ヒトでキサンチン結晶沈着・結石を生じる可能性は極めて低いと考えられたことから、ヒトにおいてこれらの試験で認められたキサンチン結晶沈着・結石に起因した腫瘍性の変化を生じる可能性は極めて低いと推察された。

また、その他の器官・組織にフェブキソスタット投与によると考えられる腫瘍性の変化は認められなかった。

2.4 非臨床試験の概括評価

表 2.4.4.4-1 ラットがん原性試験結果

	溶媒対照	3 mg/kg	6 mg/kg	12 mg/kg	24 mg/kg
膀胱結石（剖検） 雄 雌	0/50 0/50	2/50 0/50	0/50 0/50	2/50 0/50	21/50** 7/50**
膀胱移行上皮乳頭腫 雄 ^{\$\$\$} 雌	0/50 1/50	0/50 0/50	0/50 0/50	0/50 1/50	10/50** 1/50
膀胱移行上皮がん 雄 ^{\$\$\$} 雌	0/50 0/50	0/50 0/50	0/50 0/50	0/50 0/50	7/50** 0/50

**:P≤0.01 (Fisher の直接確率検定法)

\$\$\$:P≤0.001 (Peto の正確傾向検定法)

表 2.4.4.4-2 マウスがん原性試験結果

	溶媒対照	3 mg/kg	7.5 mg/kg	18.75 mg/kg
膀胱結石（剖検） 雄 雌	0/50 0/50	0/50 0/50	1/50 0/50	48/50** 44/50**
膀胱移行上皮乳頭腫 雄 雌	0/50 0/50	0/50 0/50	0/50 0/50	0/50 3/50
膀胱移行上皮がん 雄 雌	0/50 0/50	0/50 0/50	0/50 0/50	0/50 1/50

**:P≤0.01 (Fisher の直接確率検定法)

Peto の正確傾向検定法では有意差は認められなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験 (2.6.6.6 生殖発生毒性試験 参照)

フェブキソスタットの生殖発生毒性試験を表2.4.4.5-1に示した。ウサギ試験に関しては別途妊娠動物によるトキシコキネティクス試験を実施し、妊娠ウサギへの全身曝露は投与量に応じて増加し、妊娠6日目から18日目までの間、ほぼ一定に保たれていたことが示唆された(2.6.4.3.5 各動物種における血中濃度のまとめ 参照)。

2.4 非臨床試験の概括評価

表 2.4.4.5-1 生殖発生毒性試験における無毒性量

試験種類	投与期間、投与量	無毒性量	試験番号
ラットにおける妊娠前及び妊娠初期投与試験	雄：交配前 64 日間～交配期間（21 日間）～剖検前日 雌：交配前 15 日間～交配期間～妊娠 7 日 0、3、12、48 mg/kg	親動物に対する一般毒性学的影響 12 mg/kg/日 親動物の生殖機能に対する影響 48 mg/kg/日 胚・胎児に対する影響 48 mg/kg/日	S05410R100
ラットにおける胚・胎児発生に関する試験	雌：妊娠 7～17 日 0、3、12、48 mg/kg	F ₀ 母動物に対する一般毒性学的影響 12 mg/kg/日 F ₀ 母動物の生殖機能に対する影響 48 mg/kg/日 F ₁ 胚・胎児に対する影響 48 mg/kg/日	S05420R100

表 2.4.4.5-1 生殖発生毒性試験における無毒性量

試験種類	投与期間、投与量	無毒性量	試験番号
ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験	雌：妊娠 6～18 日 0、3、12、48 mg/kg	F ₀ 母動物に対する一般毒性学的影響 48 mg/kg/日 F ₀ 母動物の生殖機能に対する影響 48 mg/kg/日 F ₁ 胚・胎児に対する影響 48 mg/kg/日	T-883
ラットにおけ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	雌：妊娠 7 日～授乳 20 日 0、3、12、48 mg/kg	F ₀ 母動物に対する一般毒性学的影響 3 mg/kg/日 F ₀ 母動物の生殖機能に対する影響 12 mg/kg/日 F ₁ 出生児に対する影響 3 mg/kg/日	S05430R100
トキシコキネティクス試験			
妊娠ウサギにおける血中濃度プロファイリング試験	雌：妊娠 6～18 日 0、3、12、48 mg/kg		S05420K10P

2.4 非臨床試験の概括評価

ラットにおける妊娠前及び妊娠初期投与試験（2.6.6.1 フェブキソスタットのラットにおける経口投与による妊娠前及び妊娠初期投与試験 参照）において、48 mg/kg で腎臓及び膀胱に白色～黄白色顆粒状物質等が認められたが、性周期、交尾動物率、受胎動物数、精子数及び精子運動能に影響は認められなかった。ラットにおける胚・胎児発生に関する試験（2.6.6.2 フェブキソスタットのラットにおける経口投与による胚・胎児発生に関する試験 参照）では、48 mg/kg の母動物において腎臓に黄白色顆粒状物質が認められたが、生殖機能に影響はなく、胚・胎児発生に関しても影響は認められなかった。

ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験（2.6.6.3 フェブキソスタットのウサギにおける胚・胎児発生に関する試験 参照）では、3、12及び48 mg/kgのいずれにおいても母動物の生殖機能及び胚・胎児に対して影響は認められなかった。

ラットにおけ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（2.6.6.4 フェブキソスタットのラットにおける経口投与によ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 参照）では、母動物への一般毒性学的な影響として、12 mg/kg以上の母動物で腎臓に白色又は黄白色顆粒及びそれに伴った変化が認められた。更に、48 mg/kgの母動物では、腎臓の白色又は黄白色顆粒に起因する全身状態の悪化が認められ、それに伴い死亡例及び分娩困難例が認められた。また、母動物の哺育状態への影響として、48 mg/kgで全児死亡母動物が認められた。 F_1 出生児への影響としては、12及び48 mg/kgにおいて母動物と同様に腎臓で黄白色顆粒及びそれに伴なった変化が認められた。48 mg/kg投与群では更に、生後の剖検で甲状腺の大型化及び甲状腺重量の増加傾向が認められ、ラットの一般毒性試験で認められている甲状腺ホルモンの低下が推測された。これらの変化は乳汁を介した曝露により生じたものと考えられた（2.4.3.5 排泄及び

2.6.4.6.5 ラットにおける乳汁への排泄 参照）。また、48 mg/kgでは、上記の腎臓及び甲状腺への影響に起因すると考えられる発育抑制及びこれに関連した変化が認められた。これらの結果から、授乳婦へ投与する場合は授乳を避けるべきと考えられた。

なお、ラット5週間反復投与毒性試験で認められた尿沈渣中球状顆粒の主成分を分析した結果キサンチンであったことから、上記のラットを用いた生殖発生毒性試験で認められた腎臓及び膀胱の白色～黄白色顆粒状物質等、黄白色顆粒状物質、白色又は黄白色顆粒、及び F_1 出生児で認められた腎臓での黄白色顆粒についても、フェブキソスタットの薬理作用が強く発現した結果生じたキサンチン結晶沈着・結石と推定された。

2.4.4.6 局所刺激性試験

該当する試験は実施しなかった。

2.4.4.7 その他の毒性試験（2.6.6.8 その他の毒性試験 参照）

その他の毒性試験として、マウス及びモルモットを用いた抗原性試験、及び毒性発現機序解析試験としてマウスに尿pH調整飼料を与えた1ヵ月間反復投与毒性試験及びラットの甲状腺ホルモン変動解析試験を実施した。また、ラットの甲状腺ホルモン変動解析試験においては同時に、尿

2.4 非臨床試験の概括評価

pH調整飼料を用いたマウス試験に関しては別途トキシコネティクス試験（試験番号：TAP-TD■-821）を実施し、未変化体の全身曝露が反復投与期間中保持されていることが示唆された。

マウス（PCA反応）（2.6.6.8.1.1 フェブキソstattのマウスにおける抗原性試験 参照）及びモルモット（ASA反応、PCA反応）（2.6.6.8.1.2 フェブキソstattのモルモットにおける抗原性試験 参照）を用いた抗原性試験の結果、マウス及びモルモットとともにフェブキソstattの抗原性は認められなかった（試験番号：S054H0M300、S054H0G300）。

マウスに尿pH調整飼料を与えた1ヵ月間反復投与毒性試験（2.6.6.8.2.1 尿pH調整飼料を与えたマウス1ヵ月間反復投与毒性試験 参照）では、フェブキソstatt単独投与群の雄で、剖検において膀胱結石が認められ、更に膀胱移行上皮過形成が認められた。一方、尿pH調整飼料を給餌した群では膀胱における結石生成が抑制され、更に尿pH調整飼料に加え塩化ナトリウムを添加した尿pH調整飼料を給餌した群では、結石生成は全く認められず、膀胱移行上皮過形成も全く認められなかった（試験番号：TAP-TD■-813）。

ラットの甲状腺ホルモン変動解析試験（2.6.6.8.2.2 フェブキソstattのラットにおける5週間反復経口投与による甲状腺ホルモン変動解析試験 参照）では、フェブキソstattを150mg/kgでラットに5週間反復経口投与した場合、血漿中TSHの高値、FT₃及びFT₄の低値、甲状腺重量の高値、甲状腺濾胞上皮の過形成及び肥大等の変化が認められたが、T₄を併用投与することでこれらの変化は抑制された。なお、フェブキソstatt単独投与群とフェブキソstatt+T₄投与群で、血清中未変化体濃度はほぼ同等の値を示した（試験番号：■-66）。

2.4.5 総括及び結論

フェブキソstattは高尿酸血症・痛風治療薬として、市販されている唯一のXOR阻害剤であるアロプリノールとは異なり、プリン体骨格を持たず、かつ酸化型及び還元型XORのいずれも阻害する新規XOR阻害剤として見出された。

薬理試験の結果から、フェブキソstattは以下の特徴がアロプリノールと異なり、以下の特徴を有することを確認した。

- ① 低濃度で酸化型及び還元型XORのいずれも阻害（それぞれKi値：0.6 nmol/L及びKi'値：3.1 nmol/L）する混合型阻害を示す。
- ② 非プリン体骨格であり、他の核酸代謝酵素に影響を及ぼさない選択性XOR阻害剤である。
- ③ 高尿酸血症モデルラットにおいて低用量から用量依存的に血中尿酸低下作用を示し、当該モデルにおけるフェブキソstattに対するアロプリノールの用量比は5.7倍である。
- ④ 腎機能低下状態の5/6腎摘ラットにおいても薬理作用に大きな影響を受けない。

既存のXOR阻害剤であるアロプリノールはプリン体骨格を有するために酸化型XORに対して基質との拮抗型阻害を示すが、その阻害効果は弱く、代謝生成されたオキシプリノールが還元型XORのモリブデン（IV）と共有結合することにより強い阻害作用を示す^{7)、26)、27)}。またアロプリノール、オキシプリノール共にプリン体骨格であることからXOR以外の核酸代謝酵素も阻害するという特徴を有している^{30)、31)、32)、33)、34)}。

一方、フェブキソスタットは非プリン体骨格であり、XORの基質結合部位のチャネル内空間を埋めるように結合するという分子構造の特徴から、酸化型、還元型いずれのXORに対しても阻害作用を示す、酵素の構造に基づく阻害剤である^{8), 28)}。また、他の核酸代謝酵素に対して影響を及ぼさないことを確認している。このように、フェブキソスタットはアロプリノールと異なる特徴的な酵素阻害機構を有することに加え、核酸代謝に関与する酵素の中でもXORを選択的に阻害することが明らかになった。

安全性薬理試験（一般薬理試験）として、一般症状、中枢神経系、呼吸・循環器系、消化器系、摘出平滑筋、血液凝固系・血小板凝集能及び水・電解質代謝に対する影響を検討したが、特筆すべき作用は認められなかった。

非臨床薬物動態試験において、フェブキソスタットは経口吸収性とバイオアベイラビリティーに優れることができた。

フェブキソスタットの血漿蛋白結合率には濃度依存的な変動及び種差はなく、高い結合率を示した。ラットへ¹⁴C-フェブキソスタットを投与したとき、放射能は組織に広範に分布し、投与後168時間の時点においても肝臓、腎臓、小腸及び脾臓など多くの臓器・組織で検出下限以上の放射能が検出された。しかしながら、14日間反復経口投与終了後の24時間における組織中総放射能濃度は、単回経口投与後24時間の濃度と同程度であったことから、長期間の反復投与において放射能が組織に蓄積する可能性は低いと考えられた。

血漿中存在比率はマウス、ラット、イヌ及びヒトにおいて未変化体が最も高かった。In vitro及びin vivoの検討からフェブキソスタットの代謝物として酸化代謝物（67M-1、67M-2、67M-3、67M-4）及び未変化体のグルクロン酸抱合体及び酸化代謝物のグルクロン酸抱合体などが検出され、代謝経路には種差は認められなかった。また酸化代謝物には未変化体と同程度のXOR阻害作用が認められた。フェブキソスタットの代謝、抱合反応には複数のCYP及びUGT分子種の関与が認められた。

授乳中ラットにおける単回経口投与後の結果から放射能は乳汁へ移行した。また、乳汁中から回収された放射能のほとんどが未変化体として存在していた。

¹⁴C-フェブキソスタットを単回静脈内投与したときの168時間までの尿及び糞中放射能排泄率は、ラットではほぼ均等に排泄されたが、イヌでは主に糞中に排泄され、排泄には種差がみとめられた。

また、腎機能を低下させた5/6腎摘ラットにおいて、フェブキソスタットの全身クリアランス低下の程度はアロプリノールに比べ軽度であった。

薬物相互作用の検討として、蛋白結合率が高い併用薬を用いて蛋白結合率の変動を検討した結果、フェブキソスタットが併用薬の蛋白結合率に影響を及ぼす可能性及びフェブキソスタットの蛋白結合率が併用薬により影響を受ける可能性はともに少ないと考えられた。また、ヒト肝ミクロソームを用いたin vitroでのフェブキソスタットのCYPへの阻害作用を検討した結果、フェブキソスタットはCYP2C8及びCYP2D6に対して阻害作用を示し、CYP2C8及び2D6に対するKiは20.0 μmol/L (6.3 μg/mL) 及び約40 μmol/L (約12.7 μg/mL) であった。しかしながら、本申請における最大用量 (60 mg) 投与時の予想平均C_{max}は6.2 μmol/L (2.0 μg/mL) であり、ヒト血漿蛋白結合率も97.8～99.0%と高いことから、フェブキソスタットのCYP2C8あるいはCYP2D6阻害に起因する

薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。更に、薬理学的手法を用いた薬物相互作用の検討においても、フェブキソスタットはニフェジピン及びグリベンクラミドの薬効に影響を及ぼさなかった。ヒト初代肝細胞を用いてフェブキソスタットの酵素誘導を検討した結果、フェブキソスタットは検討した分子種 (CYP1A1/2、2B6、2C9、2C19、2D6、2E1及び3A4/5) への酵素誘導は認められなかった。

以上より、フェブキソスタットによる薬物相互作用の可能性は低いと考えられた。

ラット及びイヌの経口反復投与毒性試験の高用量群ラット：[75 mg/kg以上(5週間)及び48 mg/kg(26週間)、イヌ：20 mg/kg以上(13週間)及び45 mg/kg(52週間)]において、腎臓及び膀胱にキサンチンと推定される結晶沈着・結石形成、及びそれに起因した腎孟及び膀胱の移行上皮過形成が認められ、また、ラット及びマウスを用いたがん原性試験の最高用量群(ラット：24 mg/kg；マウス：18.75 mg/kg)においても、腎臓及び膀胱にキサンチンと推定される結晶沈着・結石と一緒に伴う腎孟移行上皮過形成、膀胱移行上皮過形成、膀胱移行上皮乳頭腫及び膀胱移行上皮癌あるいは尿道の移行上皮過形成の発生が認められた。ラット等のげっ歯類では、長期間にわたる結石等の異物による機械的刺激によって上皮の過形成から上皮性悪性腫瘍に至ると考えられている^{38)、39)、40)、41)、42)、43)}ことから、反復投与毒性試験及びがん原性試験で認められた増殖性の変化は、フェブキソスタットの薬理作用が強く発現した結果生成されたキサンチン結晶沈着・結石による機械的刺激が長期間にわたったため生じたと推定された。キサンチン結晶沈着・結石を抑制・溶解するために尿pH調整剤を加えた飼料をマウスに与え、フェブキソスタットを4週間反復投与した結果、膀胱の結石生成及び移行上皮過形成は認められなかった。また、アロプリノールによるラット13週間反復投与毒性試験の結果、フェブキソスタットと同様に結晶沈着・結石生成及びそれに起因した変化と考えられる腎孟及び膀胱の移行上皮過形成が認められた⁴⁴⁾。一方、フェブキソスタットとアロプリノールのラットにおけるキサンチン結石形成について比較検討した結果、同程度の尿中キサンチン濃度の増加を示す投与量では、アロプリノールに比べフェブキソスタットが結石を生じさせやすくなかった。更に、尿中プリン代謝産物の体重あたりの1日排泄量はヒトに比べラットで約20倍多いことを確認した。これらに加えて、プリン代謝異常亢進を特徴とするLesch-Nyhan症候群等の特殊な患者^{16)、17)、18)、19)}を除き、長年臨床使用されているアロプリノールがヒトでキサンチン結石を発生させるという報告がないこと、及びヒト尿量はラットやイヌより多いことから考察すると、フェブキソスタットはアロプリノールと同様に、ヒトでキサンチン結石を生じる可能性は極めて低いと考えられた。したがって、フェブキソスタットがヒトにおいてキサンチン結晶沈着・結石生成に起因した腎及び膀胱における腫瘍を含む増殖性変化を生じる可能性は極めて低いと推察された。また、本剤の臨床試験において、キサンチン結晶を疑わせるような尿沈渣所見は認められなかった。

また、ラット反復投与毒性試験の高用量域(5週間：75及び150 mg/kg、26週間：48 mg/kg)において、甲状腺の肥大及び甲状腺濾胞上皮の過形成と血清中甲状腺ホルモン濃度の減少が確認された。また、ラットにおける5週間反復経口投与による甲状腺ホルモン変動解析試験において、フェブキソスタットの投与により、血漿中甲状腺ホルモン濃度の低下に伴ってTSHが増加すること、フェブキソスタットの投与により生じる甲状腺の肥大、甲状腺濾胞上皮の過形成及びTSHの増加が甲状腺ホルモンであるT₄の補充投与によって抑制されることを確認した。ラットではヒトと異

2.4 非臨床試験の概括評価

なり甲状腺ホルモンがアルブミンと弱く結合しているために遊離しやすいことから、代謝分解を受けやすく半減期が短いこと⁴⁵⁾、またラットでは甲状腺ホルモンの変動が生じやすく、その変動に対応したTSHの持続的な増加により甲状腺の肥大及び過形成が誘発されやすいことが示されている^{46)、47)、48)}。更に、ヒトと同様にサイロキシン結合蛋白を有するイヌの反復投与毒性試験では、甲状腺の変化は認められなかった。これらのことから、ラットの反復投与毒性試験の高用量域で認められた甲状腺の肥大・甲状腺濾胞上皮過形成は甲状腺ホルモンの低下に対応したTSHの持続的な増加に起因して生じたものと推定され、ヒトで生じる可能性は極めて低いと推定された。

本薬の主要な分布組織及び薬効の主たる標的組織である肝臓については、いずれの反復投与毒性試験においても、著しいキサンチン結石が認められた高用量群〔ラット：150 mg/kg（5週間）及び48 mg/kg（26週間）、イヌ：80 mg/kg（13週間）及び45 mg/kg（52週間）〕までAST、ALTの変化や組織学的な異常は認められなかった。ラット反復投与毒性試験の高用量群において全身状態の悪化に伴うと考えられるγ-GTP及びLAPの増加が認められたが、イヌ反復投与毒性試験ではこれらパラメーターの変化は認められなかった。

生殖発生毒性試験においては、フェブキソスタットの生殖機能への影響及び催奇形性は認められなかった。ラットにおけ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では、F₁出生児に母動物と同様のキサンチンと推定される結晶沈着・結石及びそれに伴った変化が認められた。更に甲状腺の大型化及び甲状腺重量の増加傾向が認められ、ラットの一般毒性試験で認められている甲状腺ホルモンの低下が推測された。これらの変化は乳汁を介したフェブキソスタットの新生児への曝露により生じたものと考えられた。また、最高用量群（48 mg/kg）では、上記の腎臓及び甲状腺への影響に起因すると考えられる発育抑制作用及びこれに伴う変化が認められた。これらの結果から、授乳婦へ投与する場合は授乳を避けるべきと考えられた。

以上、非臨床薬理試験結果、薬物動態試験結果及び毒性試験結果とその考察から、フェブキソスタットは血中及び尿中尿酸濃度を低下させることにより、痛風を含む高尿酸血症の治療に有用な薬剤になり得ると考えられた。

2.4.6 参考文献

- 1) Nishino T, Okamoto K, Eger BT, Pai EF, Nishino T. Mammalian xanthine oxidoreductase - mechanism of transition from xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase. FEBS J 2008 ; 275(13) : 3278-89. [4.3 -1]
- 2) Nishino T. The conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase and the role of the enzyme in reperfusion injury. J Biochem 1994 ; 116(1) : 1-6. [4.3 -2]
- 3) 岡本研、西野武士. XOR による活性酸素生成機構：レドックスシグナル発生の分子基盤. 実験医学 2006 ; 24(12) : 1724-1730. [4.3 -3]
- 4) Hille R, Nishino T. Flavoprotein structure and mechanism. 4. Xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase. FASEB J 1995 ; 9(11) : 995-1003. [4.3 -4]
- 5) Enroth C, Eger BT, Okamoto K, Nishino T, Nishino T, Pai EF. Crystal structures of bovine milk xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase: structure-based mechanism of conversion. Proc Natl Acad Sci U S A 2000 ; 97(20) : 10723-8. [4.3 -5]
- 6) Schopfer LM, Massey V, Nishino T. Rapid reaction studies on the reduction and oxidation of chicken liver xanthine dehydrogenase by the xanthine/urate and NAD/NADH couples. J Biol Chem 1988 ; 263(27) : 13528-38. [4.3 -6]
- 7) Massey V, Komai H, Palmer G, Elion GB. On the mechanism of inactivation of xanthine oxidase by allopurinol and other pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines. J Biol Chem 1970 ; 245(11) : 2837-44. [4.3 -7]
- 8) Okamoto K, Eger BT, Nishino T, Kondo S, Pai EF. An extremely potent inhibitor of xanthine oxidoreductase. Crystal structure of the enzyme-inhibitor complex and mechanism of inhibition. J Biol Chem 2003 ; 278(3) : 1848-55. [4.3 -8]
- 9) Yamamoto T, Moriwaki Y, Fujimura Y, Takahashi S, Tsutsumi Z, Tsutsui T et al. Effect of TEI-6720, a xanthine oxidase inhibitor, on the nucleoside transport in the lung cancer cell line A549. Pharmacology 2000 ; 60 : 34-40. [4.3 -9]
- 10) Fanelli GM, Jr. Bohn DL, Reilly SS. Renal urate transport in the chimpanzee. Am J Physiol 1971 ; 220 : 613-20. [4.3 -10]
- 11) Komoriya K, Osada Y, Hasegawa M, Horiuchi H, Kondo S, Couch RC, et al. Hypouricemic effect of allopurinol and the novel xanthine oxidase inhibitor TEI-6720 in chimpanzees. Eur J Pharmacol 1993 ; 250(3) : 455-60. [4.3 -11]
- 12) 伊佐真之、林五朗、甲和良夫. Xanthine Oxidase 阻害剤、4-Hydroxy-pyrazolo-(3,4-*d*)-pyrimidine (Zyloric)の核酸代謝におよぼす影響ならびに一般薬理作用について(第1報). 日薬理誌 1968 ; 64 : 108-22. [4.3 -12]
- 13) Hitchings GH. Effects of allopurinol in relation to purine biosynthesis. Ann Rheum Dis 1966 ; 25 : 601-7. [4.3 -13]
- 14) Shimo T, Ashizawa N, Moto M, Matsumoto K, Iwanaga T, Nagata O. FYX-051, a Xanthine Oxidoreductase Inhibitor, Induces Nephropathy in Rats, but not in Monkeys. Toxicol Pathol

2.4 非臨床試験の概括評価

- 2009 ; 37(4) : 438-45. [4.3 -14]
- 15) 東野一彌、山本徹也. キサンチン尿症. 日本臨牀 1987 ; 45 (春季増刊) : 810-1. [4.3 -15]
- 16) Ogawa A, Watanabe K, Minejima N. Renal xanthine stone in Lesch-Nyhan syndrome treated with allopurinol. Urology 1985 ; 26 : 56-8. [4.3 -16]
- 17) Band PR, Silverberg DS, Henderson JF, Ulan RA, Wensel RH, Banerjee TK et al. Xanthine nephropathy in a patient with lymphosarcoma treated with allopurinol. N Engl J Med 1970 ; 283(7) : 354-7. [4.3 -17]
- 18) Kranen S, Keough D, Gordon RB, Emmerson BT. Xanthine-containing calculi during allopurinol therapy. J Urol 1985 ; 133 : 658-9. [4.3 -18]
- 19) Greene ML, Fujimoto WY, Seegmiller JE. Urinary xanthine stones - a rare complication of allopurinol therapy. New Eng J Med 1969 ; 280(8) : 426-7. [4.3 -19]
- 20) Okabe H, Hosoya T, Hikita M, Saji M, Ichida K, Ohno I. Analysis of urolithiasis in patients with gout and hyperuricemia using ultrasonography. Jpn J Rheum 1999 ; 9(3) : 239-44. [4.3 -20]
- 21) Elion GB, Yü TF, Gutman AB, Hitchings GH. Renal clearance of oxipurinol, the chief metabolite of allopurinol. Am J Med 1968 ; 45 : 69-77. [4.3 -21]
- 22) Hande KR, Noone RM, Stone WJ. Severe allopurinol toxicity. Description and guidelines for prevention in patients with renal insufficiency. Am J Med 1984 ; 76 : 47-56. [4.3 -22]
- 23) 日本痛風・核酸代謝学会. 治療ガイドライン作成委員会. 高尿酸血症・痛風の治療ガイドライン. 第1版 : 32-33. [4.3 -23]
- 24) Elion GB. The purine path to chemotherapy. Science 1989 ; 244(4900) : 41-7. [4.3 -24]
- 25) 岡本研、西野武士. 酵素のかたちにあわせた痛風治療薬. Bionics 2006 ; 3 : 36-41. [4.3 -25]
- 26) Elion GB. Enzymatic and metabolic studies with allopurinol. Ann Rheum Dis 1966 ; 25 : 608-14. [4.3 -26]
- 27) Spector T, Johns DG. Stoichiometric inhibition of reduced xanthine oxidase by hydroxypyrazolo[3,4-d]pyrimidines. J Biol Chem 1970 ; 245(19) : 5079-85. [4.3 -27]
- 28) 市田公美. Febuxostat (TMX-67), Puricase (PEG-uricase)など. 日本臨牀 2008 ; 66(4) : 759-765. [4.3 -28]
- 29) Osada Y, Tsuchimoto M, Fukushima H, Takahashi K, Kondo S, Hasegawa M et al. Hypouricemic effect of the novel xanthine oxidase inhibitor, TEI-6720, in rodents. Eur J Pharmacol 1993 ; 241 : 183-8. [4.3 -29]
- 30) Krenitsky TA, Elion GB, Henderson AM, Hitchings GH. Inhibition of human purine nucleoside phosphorylase. Studies with intact erythrocytes and the purified enzyme. J Biol Chem 1968 ; 243(11) : 2876-81. [4.3 -30]
- 31) Nishida Y, Kamatani N, Tanimoto K, Akaoka I. Inhibition of purine nucleoside phosphorylase

2.4 非臨床試験の概括評価

- activity and of T-cell function with allopurinol-riboside. Agents Actions 1979 ; 9 : 549-552.
[4.3 -31]
- 32) Beardmore TD, Cashman JS, Kelley WN. Mechanism of allopurinol-mediated increase in enzyme activity in man. J Clin Invest 1972 ; 51(7) : 1823-32. [4.3 -32]
- 33) Krenitsky TA, Elion GB, Strelitz RA, Hitchings GH. Ribonucleosides of allopurinol and oxoallopurinol. Isolation from human urine, enzymatic synthesis, and characterization. J Biol Chem 1967 ; 242(11) : 2675-82. [4.3 -33]
- 34) Fox RM, Royse-Smith D, O'Sullivan WJ. Orotidinuria induced by allopurinol. Science 1970 ; 168(3) : 861-2. [4.3 -34]
- 35) 岡田裕作. ラット腎結石発生実験モデル. 腎と透析 1987;臨時増刊:509-14. [4.3 -35]
- 36) 藤森新、伊藤洋、赤岡家雄. 高尿酸血症・痛風の疫学と背景因子－高尿酸血症・痛風は増え続けているか. プリン・ピリミジン代謝 1995 ; 19(2) : 123-33. [4.3 -36]
- 37) 正田美穂. 高尿酸血症と生活習慣病, 糖代謝異常の関連に関する研究. 痛風と核酸代謝 2000 ; 24(2) : 139-51. [4.3 -37]
- 38) 伊東信行. 膀胱癌－発生の進展並びにその修飾－ 日病会誌(Tr Soc Pathol Jpn) 1986 ; 75 : 3-37. [4.3 -38]
- 39) Fukushima S, Murai T. Calculi, precipitates and microcrystalluria associated with irritation and cell proliferation as a mechanism of urinary bladder carcinogenesis in rats and mice. In: Capen CC, Dybing E, Rice JM, Wilbourn JD, editors. Species differences in thyroid, kidney and urinary bladder carcinogenesis. Lyon: IARC Scientific Publications No.147 International Agency for Research on Cancer. 1999 ; 159-74. [4.3 -39]
- 40) Fukushima S, Tanaka H, Asakawa E, Kagawa M, Yamamoto A, Shirai T. Carcinogenicity of uracil, a nongenotoxic chemical, in rats and mice and its rationale. Cancer Res 1992 ; 52 : 1675-1680. [4.3 -40]
- 41) Shirai T, Shibata M, Takahashi S, Tagawa Y, Imaida K, Hirose M. Differences in cell proliferation and apoptosis between reversible and irreversible mucosal lesions associated with uracil-induced urolithiasis in N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-pretreated rats. Carcinogenesis 1995 ; 16(3) : 501-5. [4.3 -41]
- 42) Shirai T, Ikawa E, Fukushima S, Masui T, Ito N. Uracil-induced urolithiasis and the development of reversible papillomatosis in the urinary bladder of F344 rats. Cancer Res 1986 ; 46 : 2062-7. [4.3 -42]
- 43) Okumura M, Hasegawa R, Shirai T, Ito M, Yamada S, Fukushima S. Relationship between calculus formation and carcinogenesis in the urinary bladder of rats administered the non-genotoxic agents, thymine or melamine. Carcinogenesis 1992 ; 13(6) : 1043-45. [4.3 -43]
- 44) 大和矢秀行. アロプリノールのラットにおける13週間反復経口投与による腎及び膀胱への影響検討試験. [REDACTED] 最終報告書 [REDACTED]. [4.3-44]

2.4 非臨床試験の概括評価

- 45) Larsson M, Pettersson T, Carlstrom A. Thyroid hormone binding in serum of 15 vertebrate species: Isolation of thyroxine-binding globulin and prealbumin analogs. *Gen Comp Endocrinol* 1985 ; 58(3) : 360-75. [4.3 -45]
- 46) 伊東信行. 甲状腺／上皮小体. 毒性病理組織学, 日本毒性病理学会編 2000 ; 435-6. [4.3 -46]
- 47) Hooth MJ, Deangelo AB, George MH, Gaillard ET, Travlos GS, Boorman GA et al. Subchronic sodium chlorate exposure in drinking water results in a concentration-dependent increase in rat thyroid follicular cell hyperplasia. *Toxicol Pathol* 2001 ; 29(2) : 250-9. [4.3 -47]
- 48) Thomas GA, Williams ED. Thyroid stimulating hormone (TSH)-associated follicular hypertrophy and hyperplasia as a mechanism of thyroid carcinogenesis in mice and rats. In: Capen CC, Dybing E, Rice JM, Wilbourn JD, editors. Species differences in thyroid, kidney and urinary bladder carcinogenesis. Lyon: IARC Scientific Publications No.147 International Agency for Research on Cancer 1999 ; 45-59. [4.3 -48]
- 49) Kirkland DJ. Chromosomal aberration tests in vitro: problems with protocol design and interpretation of results. *Mutagenesis* 1992 ; 7(2) : 95-106. [4.3 -49]
- 50) Kirkland DJ, Müller L. Interpretation of the biological relevance of genotoxicity test results: the importance of thresholds. *Mutat Res* 2000 ; 464(1) : 137-47. [4.3 -50]
- 51) Müller L, Kasper P. Human biological relevance and the use of threshold-arguments in regulatory genotoxicity assessment: experience with pharmaceuticals. *Mutat Res* 2000 ; 464(1) : 19-34. [4.3 -51]