

目次

2.4	非臨床試験の概括評価	2
2.4.1	非臨床試験の計画概略	3
2.4.2	薬理試験	3
2.4.3	薬物動態試験	5
2.4.4	毒性試験	6
2.4.5	総括及び結論	7
2.4.6	参考文献	9

2.4 非臨床試験の概括評価

本項で使用した略号及び用語の定義一覧を表 2.4-1 に示す。

表 2.4- 1 略号及び用語の定義一覧

略号及び用語	定義
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
BA	絶対バイオアベイラビリティ
C_{max}	最高血漿中濃度
hERG	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
$t_{1/2\alpha}$	骨内濃度推移を 2-コンパートメントモデルにあてはめて算出した α 相の半減期
$t_{1/2\beta}$	骨内濃度推移を 2-コンパートメントモデルにあてはめて算出した β 相の半減期
x mg/kg/4W	x mg/kg を 4 週間隔で投与

2.4.1 非臨床試験の計画概略

ミノドロン酸水和物は、ビスホスホン酸骨格の側鎖にイミダゾピリジン基を有する第3世代のビスホスホネートである。小野薬品工業株式会社とアステラス製薬株式会社は、ミノドロン酸水和物を1mg含有する1日1回経口剤を骨粗鬆症治療剤として本邦で開発し、2009年1月に製造販売承認を取得し、販売を開始した（販売名：「リカルボン錠1mg」及び「ボノテオ錠1mg」）。

ミノドロン酸水和物を含めた経口ビスホスホネート製剤は、薬物の吸収過程において食事の影響を受けやすく、また消化管障害を引き起こすことがあるため、服薬方法に多くの制限があり、これが服薬率の低下を招いている。ビスホスホネートは骨吸収能を抑制する薬物であるが、骨に高い親和性を示すため体内では骨に集積し、その後、骨から徐々に放出される特性を有している。ビスホスホネートの有するこの性質を利用し、1回投与量を増量して投与頻度を減らすことにより服薬コンプライアンスを改善しうる薬剤の開発を目指した。

そこで今回、ミノドロン酸水和物を50mg含有する月1回経口剤を製造販売承認申請するにあたり、新たな用法・用量を考慮した薬理試験及び毒性試験を追加計画した。薬物動態試験については前回の製造販売承認申請時にデータ削除の経緯があったラット反復投与分布試験のみをあらためて実施した。安全性薬理試験については本製造販売承認申請にあたり新たな試験を実施せず、既報の試験結果から、当該用量での生理機能に対する影響を考察した。以下に、その試験結果の概略と包括的評価結果を示す。

2.4.2 薬理試験

ミノドロン酸水和物の間歇投与による骨吸収抑制作用

ラット卵巣摘出骨粗鬆症モデルにミノドロン酸水和物を治療的に4週に1回52週間計13回間歇経口投与し、骨密度、骨強度、骨代謝マーカー及び骨形態に及ぼす影響を検討した。本試験では間歇投与群（0.2, 1及び5mg/kg/4W）と総投与量がほぼ等しくなるように投与量を設定し、1日1回52週間反復経口投与した連日投与群（0.006, 0.03及び0.15mg/kg/day）も併せて検討した。

その結果、本薬は間歇投与により、大腿骨及び腰椎の骨密度の低下、大腿骨強度及び腰椎椎体圧迫強度の低下を用量に応じて回復させ、大腿骨及び腰椎の骨密度と骨強度には正の相関がみられた。本薬はいずれの用量においても、骨吸収マーカーである尿中デオキシピリジノリン濃度の増加を抑制し、骨形成マーカーである血清中オステオカルシン濃度を低下させた。また、腰椎椎体海綿骨の骨形態計測の結果、本薬は用量に応じて、骨量、骨梁幅及び骨梁数の減少、並びに破骨細胞面、破骨細胞数、骨形成速度、骨石灰化速度及び類骨量の増加を改善し、骨代謝回転の亢進を抑制した。

本薬の間歇投与による骨吸収抑制作用は、1mg/kg/4W以上の用量では総投与量がおおむね同じとなる連日投与と同程度であった。

安全性薬理試験

既報の試験結果（リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.2.4 安全性薬理試験）を引用して以下に記載する。

コアバッテリー試験

ミノドロン酸水和物（0.3, 3 及び 30 mg/kg）は、単回経口投与によりラットの中樞神経系に対して影響を及ぼさなかった。ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）チャンネルを介するカリウム電流に対して、本薬（0.3, 3 及び 30 µmol/L）は 30 µmol/L で 15.8%抑制したが、モルモット摘出乳頭筋の活動電位に対し、本薬（0.3, 3 及び 30 µmol/L）は影響を及ぼさなかった。また、本薬（0.3, 3 及び 30 mg/kg）は無麻酔イヌの心血管系及び呼吸器系に対して影響を及ぼさなかった。

胃粘膜及び消化管機能に対する作用

正常ラットの胃粘膜に対し、本薬（3, 10, 30, 100 及び 300 mg/kg）は 300 mg/kg の単回経口投与において、投与後 3 日に胃粘膜障害スコアを増加させた。また、本薬（30 及び 100 mg/kg）は 100 mg/kg の単回経口投与において投与後 4 時間で胃粘膜の出血性損傷面積を増加させた。ラットのインドメタシン胃損傷に対しては、本薬（3, 10 及び 30 mg/kg）の 30 mg/kg の単回経口投与では影響を及ぼさなかった。ラットの酢酸胃潰瘍に対して、1 日 1 回 1 週間の反復経口投与により本薬（1, 3 及び 10 mg/kg/day）は 3 mg/kg/day 以上で治癒を遅延させた。チャンバーにラットの胃を固定した *ex vivo* 試験において、胃内に本薬を投与した結果、本薬（10, 30 及び 100 mg/kg）は 30 mg/kg 以上で胃粘膜電位差を低下させるとともに胃管腔内からの酸の消失（酸の逆拡散）を亢進させた。100 mg/kg では胃粘膜血流量を増加させ、投与後 90 分に出血性損傷面積を増加させた。また、消化管機能として実施した腸管内水分量及び胃排泄能に対して、本薬（20, 50 及び 100 mg/kg）はラットへの単回経口投与で、100 mg/kg で腸管内水分量増加作用及び胃排泄能抑制作用を示した。また、アレンドロネートについて検討した結果、本薬と同様の作用を示した。

泌尿器系に対する作用

ラットの尿量、尿中電解質排泄量及び尿 pH に対し、本薬（1, 10 及び 30 mg/kg）は 30 mg/kg の単回経口投与で影響を及ぼさなかった。一方、一般薬理試験において、本薬（1, 10 及び 30 mg/kg）をラットへ単回経口投与した結果、10 mg/kg 以上の用量で尿 pH の上昇又は低下、尿中カリウム排泄量の増加又は減少、尿量、尿中ナトリウム排泄量及び尿中クロライド排泄量の減少が認められた。また、ラットに本薬（0.01, 0.1 及び 1 mg/kg）を単回静脈内投与した結果、0.1 mg/kg で尿 pH の低下、1 mg/kg で尿中クロライド排泄量の減少が認められた。

一般薬理試験

モルモット摘出回腸において、本薬（0.01, 0.1, 1 及び 10 µmol/L）は、アセチルコリンによる収縮に対し 1 µmol/L 以上で、塩化バリウムによる収縮に対し 0.1 µmol/L でそれぞれ増強作用が認

められた。マウスに本薬（0.01, 0.1 及び 1 mg/kg）を単回静脈内投与した結果、0.1 mg/kg でマウスの体温を一過性に低下させた。そのほかの中樞神経系，呼吸循環器系，自律神経系及び血液凝固系に対して本薬は影響を及ぼさなかった。

2.4.3 薬物動態試験

ミノドロン酸水和物 1 日 1 回経口剤（リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mg）の CTD 2.4.3 薬物動態試験，及びあらためて実施した ^{14}C -ミノドロン酸水和物のラット反復経口投与分布試験の成績から，本薬の非臨床薬物動態の概略を以下にまとめた。

吸収

雄ラットに ^{14}C -ミノドロン酸水和物を静脈内投与したときの血漿中放射能濃度の推移は 0.01～0.3 mg/kg の用量範囲でほぼ線形であった。また，0.3 mg/kg において性差はみられなかった。ラットにミノドロン酸水和物を水溶液として 1, 3 及び 10 mg/kg 経口投与したときの最高血漿中濃度（ C_{\max} ）及び血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）は投与量にほぼ比例して増大した。絶対バイオアベイラビリティ（BA）はそれぞれ 0.60%，0.52%及び 0.64%であり，この用量範囲での薬物動態はほぼ線形と考えられた。一方，イヌにミノドロン酸水和物を原薬カプセルとして 0.3, 1 及び 3 mg/kg 経口投与したときの BA はそれぞれ 0.77%，0.65%及び 0.26%であり，最高用量では BA が低下した。この BA 低下の原因は明らかでないが，本薬が水に極めて溶けにくいために高用量で原薬の溶解性が低下したこと，主たる吸収部位が小腸上部であること，及び細胞間隙を介した吸収経路の寄与等の要因が複合した結果であろうと推察される。本薬はラット消化管において十二指腸で最も良く吸収され，胃及び回腸では吸収されにくかった。本薬のラットでの吸収は食餌により著しく低下し，その主たる原因として，本薬が食物中のカルシウムなどの多価陽イオンと難溶性又は難吸収性のキレートを形成する機構が考えられた。

分布

ラットに ^{14}C -ミノドロン酸水和物を静脈内投与したときの放射能は，標的器官である骨に速やかにかつ高濃度に移行し，長期間骨内に滞留した。また，大部分の組織が最高値を示す投与後 5 分においては，肋骨，上腕骨及び腎臓の濃度が血漿中濃度の 1.2～1.6 倍を，血液が 0.59 倍を示したが，その他の組織の濃度はいずれも血漿中濃度の 0.28 倍以下であった。ラットに ^{14}C -ミノドロン酸水和物を経口投与したときの放射能は，静脈内投与時と同様に骨内に長期間滞留した。また，組織内放射能濃度は，小腸，胃，骨，次いでリンパ節，腎臓，大腸及び肝臓で高かった。非絶食のラットに ^{14}C -ミノドロン酸水和物を 1 日 1 回 21 日間反復経口投与したときの組織内放射能濃度は，ほとんどの組織で投与回数に応じて増加した。その程度は気管，肋骨及び上腕骨で最も高く，初回投与時の 17～23 倍であった。その他の組織（初回投与時に検出限界未満であった組織を除く）における増加は，8 倍以内であった。ラットにミノドロン酸水和物を静脈内投与したときの骨内未変化体濃度は 2 相性を示して減少し，2-コンパートメントモデルにあてはめて算出した $t_{1/2\alpha}$ は

16.4 日、 $t_{1/2\beta}$ は 471 日であった。ラットにミノドロン酸水和物を 1, 3 及び 10 mg/kg 経口投与したときの投与後 24 時間における骨内未変化体濃度は投与量に依存して増加した。また、ラットにミノドロン酸水和物を 28 日間反復静脈内投与したときの骨内濃度は、初回投与後の 22~25 倍であり、投与回数に依存して増加した。

代謝

^{14}C -ミノドロン酸水和物をラット、イヌ及びヒトの肝並びに小腸マイクロソーム中でインキュベートした際、いずれの場合も代謝物の生成は認められなかった。ラット及びイヌに ^{14}C -ミノドロン酸水和物を静脈内投与したときの尿中には未変化体のみが検出され、本薬は体内でほとんど代謝を受けないと考えられた。ラットに ^{14}C -ミノドロン酸水和物を経口投与したときの骨内放射能濃度は、非標識ミノドロン酸水和物を経口投与したときの骨内未変化体濃度とほぼ等しい値を示し、骨に移行する放射能のほとんどは未変化体であると考えられた。

排泄

^{14}C -ミノドロン酸水和物を静脈内投与後 168 時間までの尿及び糞中への放射能の排泄率は、ラットでそれぞれ 50.9%及び 0.3%、イヌで 53.3%及び 1.9%であり、主排泄経路は腎排泄であった。 ^{14}C -ミノドロン酸水和物を経口投与後 168 時間までの尿及び糞中への放射能の排泄率は、ラットでそれぞれ 1.2%及び 97.6%、イヌで 1.8%及び 98.2%であり、大部分は未吸収のまま糞中に排泄された。

2.4.4 毒性試験

ミノドロン酸水和物の間歇投与による反復経口投与毒性試験

ラット及びイヌを用いて 4 週に 1 回投与する間歇反復経口投与毒性試験を実施した。投与はラットでは 4 週に 1 回、計 8 回 (26 週試験に相当)、イヌでは 4 週に 1 回、計 13 回 (52 週試験に相当)とした。いずれの試験においても、骨幹端部に一次海綿骨領域の増幅が認められ、クレアチンキナーゼ活性の増加、血漿カルシウム、血漿無機リンの減少が認められた。これらの所見は、本薬の薬理作用である骨吸収抑制作用に関連した変化であると考えられたことから、以下のまとめより除いて記載した。

ラットにおける間歇反復経口投与毒性試験 (投与量 : 0, 2, 10/20, 30 及び 100 mg/kg/4W, 4 週に 1 回、計 8 回投与。なお、10/20 mg/kg/4W 群は 1 回目の投与は 10 mg/kg で 2 回目以降は 20 mg/kg) では、2 mg/kg/4W 以上の投与群では、腺胃粘膜上皮の単細胞壊死が認められた。10/20 mg/kg/4W 以上の投与群では、AST 及び ALT 活性の増加、胃で境界縁の肥厚、幽門部粘膜上皮の腸上皮化生、幽門部粘膜上皮の肥大/過形成及び腺胃の炎症細胞浸潤、前胃境界縁扁平上皮の過形成/角化亢進、腸間膜リンパ節のマクロファージの集簇の頻度及び程度の増強が認められた。30 mg/kg/4W 以上の投与群では、体重の増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。100 mg/kg/4W 投与群では、白血球数及び尿素窒素の増加、腺胃の線維化が認められた。以上の結果、最低用量とした 2 mg/kg/4W

投与群の雌雄に胃に対する影響が認められたことから、本試験における無毒性量は、雌雄ともに 2 mg/kg/4W を下回るものであった。

イヌにおける間歇反復経口投与毒性試験（投与量：0, 5, 10, 20 及び 40 mg/kg/4W, 4 週に 1 回, 計 13 回投与）では、20 mg/kg/4W 以下の投与群では投与に起因した変化は認められなかった。40 mg/kg/4W 投与群では、雌 1 例を 3 回目投与後 27 日に投与継続が困難であると判断したため途中剖検した。本例では、剖検時に AST, ALT, ALP 活性及び総ビリルビンの増加, 総コレステロール, リン脂質及びクレアチニンの減少が認められ、病理組織学検査において、大脳, 小脳及び延髄の海綿状態（空胞化）が認められた。また、雄 1 例で途中剖検例と同様の変化（大脳及び小脳の海綿状態）が認められた。以上の結果より、無毒性量は雌雄とも 20 mg/kg/4W と判断した。

2.4.5 総括及び結論

有効性に関する非臨床データからの考察

今回、月 1 回経口剤の製造販売承認申請にあたり、ミノドロン酸水和物のラット骨粗鬆症モデルにおける薬効を間歇投与及び連日投与により検討した。その結果、本薬は 1 mg/kg/4W の間歇投与で、骨密度及び骨強度の低下を回復させた。その際、骨石灰化の抑制を伴わず骨代謝回転の亢進が抑制され、骨梁構造の劣化を抑制した。この作用は、総投与量がおおむね同じとなる連日投与における有効用量（0.03 mg/kg/day）の作用と同程度であった。

薬物動態学的性質としてミノドロン酸水和物は、他のビスホスホネート系薬剤と同様、動物及びヒトにおいて、1) 経口投与した際の BA 若しくは吸収率が低い、2) 標的組織である骨へ高濃度に移行し、かつ骨内に長期滞留する、3) 体内でほとんど代謝を受けない、等の特徴を有する。ミノドロン酸水和物を単回経口投与したとき、ラットでは 10 mg/kg まで、イヌでは 1 mg/kg まで薬物動態はほぼ線形と考えられた。ラットにおいて標的器官である骨に分布したミノドロン酸の半減期 ($t_{1/2\beta}$: 471 日) は、1 日 1 回若しくは月 1 回の投与間隔に比し著しく長いことから、これらの投与間隔の違いが定常状態における骨内ミノドロン酸濃度に影響を及ぼすことはないと考えられた。また、ラットにミノドロン酸を 28 日間反復静脈内投与したときの骨内未変化体濃度及び ^{14}C -ミノドロン酸水和物を 21 日間反復経口投与したときの骨内放射能濃度の結果から、このような反復投与では、骨内濃度は投与回数にほぼ比例して増加することが示された。したがって、線形性を示す範囲内の投与量を本薬の骨内濃度の半減期に比して十分短い間隔で反復投与した場合、その投与期間中の骨内濃度レベルは、投与間隔にかかわらず、おおむね投与した薬物の総投与量に比例して推移するものと考えられた。

以上のとおり、ミノドロン酸水和物は、ヒトに月 1 回の間歇投与を行った場合にも、総投与量を連日投与と同等に設定することで、連日投与と同等の骨密度の増加に基づいた骨強度改善作用を発揮しうることが非臨床薬理試験及び薬物動態試験から示唆された。

安全性に関する総合考察

安全性薬理試験では、コアバッテリー試験において、ミノドロン酸水和物は hERG チャネルを介するカリウム電流を 30 $\mu\text{mol/L}$ (約 10200 ng/mL) で 15.8%抑制したが、この濃度は臨床試験で得られた C_{max} である 16.759 ng/mL (2.7.1.2.2.2 臨床薬理試験 (最終製剤食事の影響試験) [529-CL-027]:閉経後女性に本剤 50 mg を空腹時投与した 24 例の平均値)の 600 倍以上であった。また、モルモット摘出乳頭筋の活動電位に対しては 30 $\mu\text{mol/L}$ で影響を及ぼさず、無麻酔イヌの心電図に対しても 30 mg/kg の経口投与 (C_{max} : 28.38~261.90 ng/mL) で影響を及ぼさなかった。これらのことから、本薬の月 1 回経口剤が臨床において心電図の QT 間隔を延長する可能性は低いと考えられた。更に、胃粘膜及び消化管機能に対する作用を検討した結果、本薬は胃粘膜障害を生じさせるなど、消化管機能に対し影響を及ぼしたが、ラットの胃粘膜障害作用に対して 30 mg/kg で、酢酸胃潰瘍の治癒遅延作用に対して 1 mg/kg/day で、胃粘膜電位差に対して 10 mg/kg で、胃管腔内からの酸の消失 (酸の逆拡散) に対して 10 mg/kg で、腸管水分量増加作用及び胃排泄抑制作用に対して 50 mg/kg でそれぞれ影響は認められなかった。これらの胃粘膜及び消化管機能に対するの無影響量は 1~50 mg/kg であり、臨床用量である 50 mg との投与量の比較 (骨粗鬆症患者が 50 mg の用量を服用した際の体重を 50 kg として換算した場合、1 mg/kg/month に相当) において安全域は 1~50 倍であった。なお、胃腸管障害は、既存のビスホスホネート共通に認められている作用^{1,2}であり、アレンドロネートもラットにおいて同様の作用を示した。その他、中枢神経系、呼吸器系、泌尿器系及び一般薬理試験では、大きな問題となる作用は認められなかった。

間歇反復経口投与毒性試験の無毒性量はイヌでは雌雄ともに 20 mg/kg/4W であり、その投与量における曝露量 (AUC) と臨床用量 50 mg における曝露量 (AUC) とは 5~6 倍の乖離が認められた。ラットでは最低用量とした 2 mg/kg/4W の雌雄においても本薬の刺激性によると考えられる胃の変化 (腺胃粘膜の単細胞壊死) が認められ、無毒性量は雌雄ともに 2 mg/kg/4W を下回るものであった。しかし、本薬の 1 日 1 回投与における 26 週間反復経口投与毒性試験では、胃に対する無毒性量が 1 mg/kg/day (リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.3.2 ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験) であることから、1 回投与量である 1 mg/kg の安全性は確認されていると判断した。胃の障害は本薬の直接刺激と考えられたことから、臨床用量との安全域は投与量を基準に評価した結果、臨床用量である 50 mg (骨粗鬆症患者が 50 mg の用量を服用した際の体重を 50 kg として換算した場合、1 mg/kg/month に相当) との安全域は 1 倍であった。また、安全性薬理試験として実施された胃粘膜及び消化管機能に対するの無影響量は 1~50 mg/kg であり、ラットの毒性試験の無毒性量を下回るものではなかった。一方、イヌでは最高投与量の 40 mg/kg/4W まで胃に対する変化は認められず、本薬の第 II/III 相試験 [ONO-5920-05/529-CL-028] において間歇剤 50 mg での消化管障害に関連した有害事象の発現率及びその有害事象程度別発現例数・発現率は連日剤 1 mg と比較して大きな差は認められなかった (2.7.6.4 及び 5.3.5.1-1 第 II/III 相試験 [ONO-5920-05/529-CL-028])。これらのことから、本薬の胃粘膜や消化管に対する作用は、臨床使用上問題となる可能性は低いものと考えられた。

また、ラットでは、AST 及び ALT 活性の増加が認められ、これらに対する無毒性量は 2 mg/kg/4W であり、2 mg/kg/4W の曝露量 (AUC) は、臨床用量 50 mg における曝露量を下回った。しかしながら、10/20 mg/kg/4W 以上の投与群で認められた AST 及び ALT 活性の増加はいずれもごく軽度なものであり、肝臓あるいは心臓などのこれらの酵素の増加に関連する臓器に病理組織学的変化は認められなかったことから、AST 及び ALT 活性の増加の毒性学的意義は低いものと考えられた。また、本薬の第 II/III 相試験[ONO-5920-05/529-CL-028]において、間歇剤 50 mg での AST 及び ALT 活性の増加は連日剤 1 mg と比較して大きな差は認められなかった (2.7.4.3 臨床検査値の評価及び 5.3.5.1-1 第 II/III 相試験[ONO-5920-05/529-CL-028])。これらのことから、本薬の臨床用法・用量で肝臓あるいは心臓などに対する変化が起こる可能性は低いものと判断した。

以上、安全性薬理的検討、毒性学的検討及び臨床試験成績から、臨床において今回の製造販売承認申請用法・用量で本薬による重篤な副作用が発現する可能性は低いものと考えられた。

2.4.6 参考文献

- 1) de Groen PC, Lubbe DF, Hirsch LJ, Daifotis A, Stephenson W, Freedholm D, et al. Esophagitis associated with the use of alendronate. *N Engl J Med* 1996;335:1016-21.
- 2) Lanza F, Schwartz H, Sahba B, Malaty HM, Musliner T, Reyes R, et al. An endoscopic comparison of the effects of alendronate and risedronate on upper gastrointestinal mucosae. *Am J Gastroenterol* 2000;95:3112-7.