
第2部 CTDの概要

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

版番号：■

2.6.1 緒言

フォシーガ[®]

本書は、ブリストル・マイヤーズ株式会社及びアストラゼネカ株式会社の機密文書です。機密保持を求める条件で本書を公開する場合があることを除いては、本書の受領により、本書に記載された非公開の情報は、ブリストル・マイヤーズ株式会社又はアストラゼネカ株式会社の書面による事前の承認なく公開又は開示しないことに同意したものとします。

ブリストル・マイヤーズ株式会社及び アストラゼネカ株式会社は本書の公 開・開示に同意しております
--

2.6.1 緒言

一般名：ダバグリフロジンプロピレングリコール水和物

目次	頁
目次	2
略語及び専門用語一覧表	3
2.6.1.1 緒言	4

2.6.1 緒言

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
BMS-512148	ダパグリフロジン
K_i	inhibition constant：阻害定数
SGLT	sodium-glucose co-transporter：ナトリウム・グルコース共輸送体

2.6.1 緒言

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

2.6.1.1 緒言

ダパグリフロジン（BMS-512148）は、腎でのグルコース再吸収の大部分を担う主要なナトリウム・グルコース共輸送体である sodium-glucose co-transporter (SGLT) 2 に対する、安定で、高選択的、可逆的かつ競合的な阻害剤である。

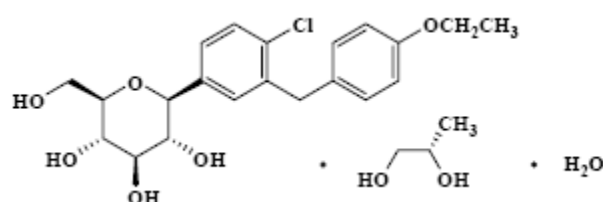
一般名：

rINN： dapagliflozin

JAN： (英名) dapagliflozin propylene glycolate hydrate

(日本語名) ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

化学構造：



分子式： $C_{21}H_{25}ClO_6 \cdot C_3H_8O_2 \cdot H_2O$

分子量： 502.98 (ダパグリフロジンとして 408.87)

In vitro で、ダパグリフロジンは、ヒト SGLT2 に対して、選択的、可逆的かつ競合的な阻害活性を示した。ダパグリフロジンのヒト SGLT2 に対する K_i 値は 0.55 nmol/L であり、その選択性はヒト SGLT1 (K_i 値：810 nmol/L) との比較で約 1400 倍高かった。また、促進拡散型グルコース輸送体のクラス 1 ファミリーのアイソフォーム及び SGLT ファミリーの他のアイソフォームに比べて SGLT2 に高い選択性を示した。

ダパグリフロジンは、単回経口投与により、糖尿病モデル動物と同様に非糖尿病動物でも尿中グルコース排泄促進作用を示した。マウスにダパグリフロジン 10 mg/kg (遊離型ダパグリフロジンに基づく投与量) を単回経口投与したとき、軽度のナトリウム利尿が認められたが、カルシウム及びカリウムの尿中排泄量の増加は認められず、ダパグリフロジンは、薬理作用を示す用量でカルシウム及びカリウムの排泄促進作用は示さないと考えられた。また、尿量の増加が認められたが、これは試験動物における尿中グルコース排泄量増加によるものと考えられた。ダパグリフロジンの単回経口投与により、非糖尿病ラットでは尿中グルコース排泄量は増加したが、血漿中グルコース濃度が低血糖の目安とした 70 mg/dL を下回った例は認められなかった。一方、糖尿病モデルラットでは、血漿中グルコース濃度が低血糖の目安とした 70 mg/dL を下回ることなく用量依存的に低下した。さらに、ダパグリフロジンの約 5 週間反復経口投与により、前糖尿病ラットで、高血糖症への進展の抑制、グルコース耐性の改善に加えて、膵インスリン量が維持され、糖尿病モデルラットで膵島形態及び膵 β 細胞機能の改善が認められた。

ダパグリフロジンの単回経口投与により、非糖尿病及び糖尿病モデルラットのいずれでも内因性グルコース産生の増加が認められ、尿中グルコース排泄の促進により引き起こされる血漿中グルコース濃度変化に対する生理的応答を阻害しないことが示唆された。糖尿病モデルラットで、

2.6.1 緒言

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

ダパグリフロジン単回経口投与により内因性グルコース産生率の上昇が認められたが、ダパグリフロジンを 15 日間反復経口投与後に内因性グルコース産生率は低下したことから、反復投与により 2 型糖尿病の主症状の一つが改善される可能性が示された。また、ストレプトゾトシン誘発糖尿病モデルラットで、ダパグリフロジンの反復経口投与により、糖尿病初期にみられる単一ネフロン糸球体濾過量の増加が減少した。さらに、食餌誘導性肥満ラットを用いたダパグリフロジンの 27 日間反復経口投与試験で、摂餌量の増加にも関わらず体重に減少が認められ、身体組成の分析から、ダパグリフロジンの長期治療には除脂肪量を維持しつつ脂肪量を減少させる効果があることが示唆された。

現在、ダパグリフロジンは、2 型糖尿病患者における血糖コントロールの改善を目的として食事療法及び運動療法の補助治療に用いる治療薬として開発されている。

今回申請するダパグリフロジンプロピレングリコール水和物製剤の効能・効果及び用法・用量を以下に示した。

効能・効果： 2 型糖尿病

用法・用量： 通常、成人にはダパグリフロジンとして 5 mg を 1 日 1 回経口投与する。なお、効果不十分な場合には、経過を十分に観察しながら 10 mg 1 日 1 回に増量することができる。

第2部 CTDの概要

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

版番号：■

2.6.2 薬理試験の概要文

フォシーガ[®]

本書は、ブリストル・マイヤーズ株式会社及びアストラゼネカ株式会社の機密文書です。機密保持を求める条件で本書を公開する場合があることを除いては、本書の受領により、本書に記載された非公開の情報は、ブリストル・マイヤーズ株式会社又はアストラゼネカ株式会社の書面による事前の承認なく公開又は開示しないことに同意したものとします。

ブリストル・マイヤーズ株式会社及び
アストラゼネカ株式会社は本書の公
開・開示に同意しております

目次	頁
目次	2
略語及び専門用語一覧表	7
2.6.2.1 まとめ.....	10
2.6.2.2 効力を裏付ける試験.....	12
2.6.2.2.1 <i>In vitro</i> 試験	12
2.6.2.2.1.1 ヒトの SGLT2 及び SGLT1 に対するダパグリフロジンの阻害活性及び選択性	12
2.6.2.2.1.2 各動物種の SGLT2 及び SGLT1 に対するダパグリフロジンの阻害活性	13
2.6.2.2.1.3 ヒト及びラットの SGLT2 及び SGLT1 に対するダパグリフロジン代謝物の阻害活性	14
2.6.2.2.2 <i>In vivo</i> 試験	15
2.6.2.2.2.1 非糖尿病動物における単回投与試験	16
2.6.2.2.2.1.1 非糖尿病マウスにおける単回投与試験.....	16
2.6.2.2.2.1.2 正常ラットにおける単回投与試験	19
2.6.2.2.2.1.3 正常ラットにおける薬力学的作用の持続性	20
2.6.2.2.2.2 糖尿病モデル動物における単回投与試験	21
2.6.2.2.2.2.1 ストレプトゾトシン誘発糖尿病モデルラットにおける単回投与試験	21
2.6.2.2.2.2.2 遺伝的糖尿病モデル ZDF ラットにおける単回投与試験	24
2.6.2.2.2.2.3 ZDF ラットにおける追加の単回投与試験	27
2.6.2.2.2.3 糖尿病モデル ZDF ラットにおける反復投与試験	29
2.6.2.2.2.4 クランプ試験.....	32
2.6.2.2.2.4.1 高インスリン正常血糖クランプ法によるグルコース処理能に対するダパグリフロジンの作用の評価	32
2.6.2.2.2.4.2 高血糖クランプ法による膵 β 細胞の機能及び形態に対するダパグリフロジンの作用（予防作用）	34
2.6.2.2.2.4.3 高血糖クランプ法による膵 β 細胞の機能及び形態に対するダパグリフロジンの作用（介入試験）	36
2.6.2.2.2.5 その他の反復投与試験	39
2.6.2.2.2.5.1 高血糖症への進展及びグルコース耐性に対するダパグリフロジンの作用（OGTT）	39
2.6.2.2.2.5.2 高血糖症への進展及びグルコース耐性に対するダパグリフロジンの作用（高インスリン正常血糖クランプ法）	42
2.6.2.2.2.5.3 反復投与中及び反復投与後の糖尿病関連エンドポイントに対するダパグリフロジンの作用	43
2.6.2.3 副次的薬理試験	51
2.6.2.3.1 <i>In vitro</i> 試験	51
2.6.2.3.2 <i>In vivo</i> 試験	55

2.6.2.3.2.1	単回投与試験における内因性グルコース産生に対するダパグリフロジンの作用	55
2.6.2.3.2.2	反復投与試験	59
2.6.2.3.2.2.1	腎に対するダパグリフロジンの作用	59
2.6.2.3.2.2.2	体重及び身体組成に対するダパグリフロジンの作用	60
2.6.2.3.3	膀胱癌との潜在的関連性に関する検討試験	62
2.6.2.3.3.1	遺伝子発現に及ぼすダパグリフロジン反復投与の影響	62
2.6.2.3.3.2	膀胱癌細胞株の増殖に及ぼすグルコースの影響	63
2.6.2.4	安全性薬理試験	63
2.6.2.4.1	心血管系に及ぼす影響	64
2.6.2.4.1.1	<i>In vitro</i> 試験	64
2.6.2.4.1.2	イヌにおけるテレメトリー試験（単回投与試験）	64
2.6.2.4.1.3	イヌにおける反復投与試験	65
2.6.2.4.2	中枢神経系に及ぼす影響	66
2.6.2.4.3	呼吸系に及ぼす影響	67
2.6.2.5	薬力学的薬物相互作用試験	68
2.6.2.6	考察及び結論	68
2.6.2.7	図表	69
2.6.2.8	参考文献一覧	69

表目次

表 1	ダパグリフロジンのヒト SGLT2 及び SGLT1 に対する阻害活性	13
表 2	ダパグリフロジンのラット、マウス及びイヌの SGLT1 及び SGLT2 に対する阻害活性及び選択性	14
表 3	脱エチル化体のヒト及びラットの SGLT2 及び SGLT1 に対する阻害活性	15
表 4	ダパグリフロジンの代謝物、3-O-グルクロン酸抱合体及び 2-O-グルクロン酸抱合体のヒト SGLT2 及び SGLT1 に対する阻害活性	15
表 5	ラット及びマウスにおけるダパグリフロジンの投与量を 1 mg/kg に換算した曝露量の臨床的曝露量（2 型糖尿病患者に 10 mg を反復経口投与）に対する割合（倍数）	16
表 6	ダパグリフロジン投与前 18 時間（ベースライン値）及び投与後 24 時間における正常 SD 系ラットの UGLR 及び尿量	20
表 7	正常 SD 系ラットにダパグリフロジンを単回経口投与後の薬力学的作用（UGLR 及び尿量に対する作用）の持続時間	21

表 8	ZDF ラットにダパグリフロジン 1 及び 10 mg/kg を単回経口投与後の ダパグリフロジンの血漿中曝露量 (AUC, C _{max} , T _{max})	26
表 9	ZDF ラットにダパグリフロジン 1 及び 10 mg/kg を 1 日 1 回 15 日間 反復経口投与後のダパグリフロジンの血漿中曝露量	32
表 10	ZDF ラットにおいて高インスリン正常血糖クランプ法により評価し たダパグリフロジンのグルコース処理能に対する作用	34
表 11	高脂肪食負荷 ZDF ラットにダパグリフロジン 1 mg/kg を 1 日 1 回 34 日間反復経口投与後の膵島形態及び膵 β 細胞に対する作用 (予防作 用)	36
表 12	高脂肪食負荷 ZDF ラットにダパグリフロジン 1 mg/kg を 1 日 1 回 34 日間反復経口投与後の膵島形態及び膵 β 細胞に対する作用 (介入試 験)	39
表 13	<i>In vitro</i> における各種副次的薬理試験	51
表 13-1	SGLT ファミリーのアイソフォームに対するダパグリフロジンの活性 及び SGLT2 選択性	51
表 13-2	ヒト GLUT1、GLUT2 及び GLUT4 に対するダパグリフロジンの阻害活性	53
表 14	イヌの単回投与テレメトリー試験における平均血漿中濃度	65

図目次

図 1	WT 及び SGLT2 ノックアウトマウスにダパグリフロジン単回経口投 与後の時間・体重当たりの UGLR	18
図 2	WT 及び SGLT2 ノックアウトマウスにダパグリフロジン単回経口投 与後の時間・体重当たりの尿量 (左) 及び時間・体重当たりの尿中ナ トリウム排泄量 (右)	18
図 3	STZ 誘発糖尿病モデル SD 系ラットにダパグリフロジンを単回経口投 与後の血中グルコース濃度の経時的変化	23
図 4	ZDF ラットにダパグリフロジン単回経口投与後 0~6 時間の総 UGLR	25
図 5	ZDF ラットにダパグリフロジン単回経口投与後 0~6 時間の総尿量	25
図 6	ZDF ラットにダパグリフロジン単回経口投与 6 時間後における血漿 中グルコース濃度	26
図 7	ZDF ラットにダパグリフロジンを単回経口投与した 24 時間後までの 血漿中グルコース濃度の経時的変化	28
図 8	ZDF ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回 15 日間反復経口投与した ときの絶食下及び摂餌下の血漿中グルコース濃度	30

図 9	ダパグリフロジンを 1 日 1 回 15 日間反復経口投与した ZDF ラット における 24 時間尿量の変化.....	31
図 10	ダパグリフロジンを 1 日 1 回 15 日間反復経口投与した ZDF ラット における 24 時間 UGLR の変化.....	31
図 11	高脂肪食負荷 ZDF ラットにダパグリフロジン 1 mg/kg を 1 日 1 回 34 日間反復投与後の膵機能 (disposition index) に対する作用 (予防作 用)	35
図 12	高脂肪食負荷 ZDF ラットにダパグリフロジン 1 mg/kg を 1 日 1 回 34 日間反復経口投与後の膵島形態に対する作用 (予防作用)	36
図 13	高脂肪食負荷 ZDF ラットにダパグリフロジン 1 mg/kg を 1 日 1 回 34 日間反復経口投与後の膵機能に対する作用 (介入試験)	38
図 14	高脂肪食負荷 ZDF ラットにダパグリフロジン 1 mg/kg を 1 日 1 回 34 日間反復経口投与後の膵島形態に対する作用 (介入試験)	38
図 15	ZDF ラットにダパグリフロジン 1 mg/kg を 5 週間反復経口投与後の HbA1c 値に対する作用	40
図 16	ダパグリフロジン 1 mg/kg を 5 週間反復経口投与後に OGTT を実施 した ZDF ラットにおける血漿中グルコース濃度の変化量.....	41
図 17	ダパグリフロジン 1 mg/kg を 5 週間反復経口投与後に OGTT を実施 した ZDF ラットにおける血漿中インスリン濃度の変化量.....	41
図 18	ZDF ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回 5 週間反復経口投与時の 体重 (上図) 及び摂餌量 (下図) の経時的変化	46
図 19	ZDF ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回 5 週間反復経口投与時の 摂餌下での血漿中グルコース濃度 (A)、血漿中インスリン濃度 (B) 及び HbA1c 値 (C) の経時的変化	47
図 20	ZDF ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回反復経口投与の 1 週目及 び 5 週目における血漿中ダパグリフロジン濃度.....	48
図 21	ZDF ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回 5 週間反復経口投与後の 尿量 (上図) 及び UGLR (下図)	49
図 22	ZDF ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回反復経口投与の 1 週目及 び 5 週目における絶食下 (上図) 及び摂餌下 (下図) の膵インスリン 量	50
図 23	ZDF 及び非肥満ラットにダパグリフロジンを単回経口投与前及び投 与後の UGLR の経時的変化.....	56
図 24	ZDF 及び非肥満ラットにダパグリフロジンを単回経口投与前及び投 与後の血漿中グルコース濃度 (上図) 及び血漿中インスリン濃度 (下 図) の経時的変化	57
図 25	ZDF 及び非肥満ラットにダパグリフロジンを単回経口投与前及び投 与後の R_a (上図) 及び GUR (下図)	58

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

図 26	DIO ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回 22 日間反復経口投与後の 身体組成に対する作用	61
------	---	----

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
148	BMS-512148：ダパグリフロジン
ALT	alanine transaminase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
AMG	α -methyl-D-glucopyranoside： α -メチルグルコピラノシド
APD90	action potential duration at 90% repolarization：90%再分極時の活動電位持続時間
AST	aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the curve：血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC _{0-t}	Area under curve from 0 to last measurable time：最終定量時間 t までの AUC
AUC _{τ}	Area under curve at dose interval：定常状態における投与間隔間の AUC
BMS	Bristol-Myers Squibb：ブリストル・マイヤーズ スクイブ社（米国）
BMS-512148	Dapagliflozin：ダパグリフロジン
BSA	bovine serum albumin：ウシ血清アルブミン
	France
CHO	Chinese hamster ovary
C _{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
DAPA	Dapagliflozin：ダパグリフロジン
Δ AUC	delta (change in) area under the curve：濃度-時間曲線下面積変化量
Δ インスリン-30 min	delta (change in) insulin level 30 minutes post glucose challenge：グルコース負荷から 30 分間のインスリン変化量
DIO	diet-induced obese：食餌誘導性肥満
DI	disposition index：膵 β 細胞機能の指標
DMSO	Dimethylsulfoxide：ジメチルスルホキシド
ECG	electrocardiogram：心電図
fa/fa	homozygous fatty mutation：fatty 遺伝子ホモ接合体
fa/+	heterozygous fatty mutation：fatty 遺伝子ヘテロ接合体
FPG	fasting plasma glucose：絶食下血漿中グルコース濃度
GFR	glomerular filtration rate：糸球体濾過量
GIR	glucose infusion rate：グルコース注入速度
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準

略語及び専門用語	用語の説明
GLUT	facilitative glucose transporter：促進拡散型グルコース輸送体
GLUT1	facilitative glucose transporter 1：促進拡散型グルコース輸送体 1
GLUT2	facilitative glucose transporter 2：促進拡散型グルコース輸送体 2
GLUT4	facilitative glucose transporter 4：促進拡散型グルコース輸送体 4
GUR	glucose utilization rate：全身グルコース利用率
h	hour (hours)：時間
³ H	Tritium：トリチウム
HbA1c	hemoglobin A1c：ヘモグロビン A1c
HBA	beta-hydroxybutyric acid：β-ヒドロキシ酪酸
HepG2	Hepatocyte-derived human cell line：ヒト幹細胞誘導細胞株
hERG	human ether a-go-go related gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HGPR	hepatic glucose production rate：肝グルコース産生率（内因性グルコース産生率）
IC ₅₀	concentration required for 50% inhibition：50%阻害濃度
I _{Kr}	delayed inward rectifier potassium channel：遅延内向き整流カリウムチャネル
K _i	inhibition constant：阻害定数
K _m	Michaelis constant：ミカエリス定数
LLOQ	lower limit of quantitation：定量下限
min	minute (minutes)：分
MRI	magnetic resonance imaging：磁気共鳴映像法
NEFA	non-esterified fatty acids：非エステル化脂肪酸
NMP	N-methy-2-pyrrolidone：N-メチル-2-ピロリドン、1-methyl-2-pyrrolidinone、m-ピロール
OGTT	oral glucose tolerance test：経口グルコース負荷試験
PEG	polyethylene glycol：ポリエチレングリコール
PF	pair-fed：ペアフィードの、同量に給餌の
PR	beginning of P wave to beginning of Q wave in the electrocardiogram：心電図で P 波の開始から Q 波の終了までの時間
QD	quaque die, once daily：1 日 1 回
QRS	beginning of Q wave to end of S wave in the electrocardiogram：心電図で Q 波の開始から S 波の終了までの時間
QT	beginning of the QRS complex to end of T wave in the electrocardiogram：QRS complex の開始から T 波終了までの時間
QT ₈₀	QT interval normalized for individual animals to a heart rate of 80 beats/minute：各動物の心拍数を 80 回/分に標準化したときの QT 間隔
QT _c	QT interval corrected for heart rate：補正 QT 間隔

略語及び専門用語	用語の説明
R _a	endogenous glucose production : グルコース生成率
R _d	endogenous glucose utilization : グルコース消失率
Rosi	rosiglitazone
RT-PCR	reverse transcriptase-polymerase chain reaction : 逆転写ポリメラーゼ連鎖反応
SD	Sprague-Dawley : スプレーグドローリー
SGLT1	sodium-glucose co-transporter 1 (gene name SLC5A1) : ナトリウム・グルコース共輸送体 1 (遺伝子名 SLC5A1)
SGLT2	sodium-glucose co-transporter 2 (gene name SLC5A2) : ナトリウム・グルコース共輸送体 2 (遺伝子名 SLC5A2)
SGLT2 ^{-/-}	homozygous loss of function of the SGLT2 gene : ホモ接合型 SGLT2 遺伝子機能欠損、SGLT2 ノックアウト
SGLT4	sodium-glucose co-transporter 4 (gene name SLC5A9) : ナトリウム・グルコース共輸送体 4 (遺伝子名 SLC5A9)
SGLT5	sodium-glucose co-transporter 5 (gene name SLC5A10) : ナトリウム・グルコース共輸送体 5 (遺伝子名 SLC5A10)
SGLT6	sodium-glucose co-transporter 6 (gene name SLC5A11) : ナトリウム・グルコース共輸送体 6 (遺伝子名 SLC5A11)
SMIT	sodium-myoinositol co-transporter (gene name SLC5A3) : ナトリウム・ミオイノシトール共輸送体
SNGFR	single-nephron glomerular-filtration rate : 単一ネフロン糸球体濾過量
SNGFR _d	single-nephron glomerular-filtration rate estimated by distal tubule collection : 遠位尿細管起始部にて測定した単一ネフロン糸球体濾過量
STZ	streptozotocin : ストレプトゾトシン
TG	triglyceride : トリグリセリド
TGF	tubular-glomerular feedback : 尿細管糸球体フィードバック
T _{max}	time to reach maximum plasma concentration : 最高血漿中濃度到達時間
UGLR	urinary glucose loss rate : 尿中グルコース排泄量
WT	wild-type : 野生型
ZDF	Zucker diabetic fatty : Zucker 糖尿病性肥満

各薬理試験において、ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物は非晶形（遊離型）として用いられ、プロピレングリコール水和物として用いられた試験はない。また、CTD 2.6.2 項に記載されている濃度及び投与量は遊離型に基づく数値である。

2.6.2.1 まとめ

ダパグリフロジン (BMS-512148) は 2 型糖尿病治療薬として開発されている。ヒトで、ナトリウム・グルコース共輸送体 (SGLT) 2 は腎臓に選択的に発現しており、腎においてグルコース再吸収を担う主要なナトリウム・グルコース共輸送体である。ダパグリフロジンは、*in vitro* で、ヒト SGLT2 に対して、選択的、可逆的かつ競合的な阻害活性を示した。ダパグリフロジンのヒト SGLT2 に対する K_i 値は 0.55 nmol/L であり、その選択性はヒト SGLT1 (K_i 値：810 nmol/L) との比較で約 1400 倍高かった。ダパグリフロジンのヒトにおける主代謝物である 3-*O*-グルクロン酸抱合体のヒト SGLT2 に対する阻害活性は、ダパグリフロジンに比べて 1/2400 であるため、ダパグリフロジンの最高推奨臨床用量である 10 mg を投与後の臨床的曝露では 3-*O*-グルクロン酸抱合体は不活性であると推測された。動物モデルで、ダパグリフロジン投与により尿中グルコース排泄量 (以下、UGLR) 及び尿量の増加が認められた。野生型 (WT) 及び SGLT2 遺伝子欠損 (以下、SGLT2 ノックアウト) マウスにダパグリフロジン 10 mg/kg を単回経口投与した後、軽度のナトリウム利尿が認められたが、カルシウム及びカリウムの尿中排泄の増加は認められなかったことから、本モデルでは、ダパグリフロジンはカルシウム及びカリウムの排泄促進作用を示さないことが示唆された。非糖尿病ラットで、ダパグリフロジン 0.1、1 及び 10 mg/kg の単回経口投与により尿中グルコース排泄促進作用が認められたが、血漿中グルコース濃度が低血糖の目安とした 70 mg/dL を下回った例は認められなかった。なお、低血糖の目安は、米国糖尿病学会による「ヒトにおいて血糖値が 70 mg/dL を下回った場合を低血糖とする定義」 (American Diabetes Association 2013) を参考にした。一方、インスリン欠乏性又はインスリン抵抗性を呈する糖尿病モデルラットで、ダパグリフロジン 0.01~10 mg/kg の単回経口投与により、血漿中グルコース濃度が低血糖の目安とした 70 mg/dL を下回ることなく用量依存的に低下することが示された。また、正常ラットで、ダパグリフロジンの薬力学的プロファイルは薬物動態学的プロファイルと一致することが示された。ダパグリフロジン 1 mg/kg を約 5 週間反復経口投与したとき、前糖尿病モデルラットで、高血糖症への進展が抑制され、グルコース耐性が改善されたことに加えて膵インスリン量が維持され、糖尿病モデルラットで膵島形態及び膵β細胞機能の改善が認められた。

ダパグリフロジンは、*in vitro* で、促進拡散型グルコース輸送体 (GLUT) のクラス 1 ファミリーのアイソフォーム及び SGLT ファミリーの他のアイソフォームに比べて SGLT2 に高い選択性を示した。また、正常及び糖尿病モデルラットのいずれでも、ダパグリフロジン 1 mg/kg の単回経口投与により内因性グルコース産生の増加が認められ、ダパグリフロジンは血漿中グルコース濃度の変化に対する動物本来の反応を妨げないことが示唆された。糖尿病モデルラットにダパグリフロジン 0.5 mg/kg を 1 日 1 回 15 日間反復経口投与後に内因性グルコース産生の増加は 1/4 に減少した。食餌誘導性肥満モデルの非糖尿病肥満ラットにダパグリフロジン 0.5~5 mg/kg を 1 日 1 回 27 日間反復経口投与した試験で、摂餌量の増加にも関わらず 4~6%の体重減少が認められ、身体組成の分析から、ダパグリフロジンには除脂肪量を維持しつつ脂肪量を減少させる効果があることが示唆された。ダパグリフロジンの臨床試験で、ダパグリフロジン投与群における膀胱癌の発現率がプラセボ群よりも高い傾向を示したため、ダパグリフロジンを 5 週間反復経口投与した Zucker diabetic fatty (ZDF) ラットから採取した細胞で遺伝子発現に及ぼす影響を評価したところ、細胞増殖又は発癌促進に関連した転写の変化は引き起こされることが示唆された。また、尿中グルコースが癌細胞の増殖に及ぼす影響を評価するため、*in vitro* でヒト膀胱癌細胞株の増殖

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

に及ぼすグルコースの影響について検討したところ、いずれの細胞株でも高濃度グルコース添加による細胞増殖率の増加は認められなかった。

独立した安全性薬理試験又は反復投与毒性試験の一部において、*in vitro* 及び *in vivo* で心血管系に及ぼす影響、並びに、*in vivo* で中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響の評価を行った結果、日本人 2 型糖尿病患者にダパグリフロジンの最高推奨臨床用量 10 mg を 1 日 1 回 14 日間反復経口投与したときの定常状態における最高血漿中濃度 ($C_{\max}$) の 220 倍の曝露量まで、ダパグリフロジンの臨床使用に問題のある可能性を示す所見は認められなかった。

以上、非臨床薬理試験成績から、ダパグリフロジンは腎におけるグルコース再吸収の抑制により、血糖パラメータの低下及び体重減少を示し、2 型糖尿病に関連した主な要因を改善する可能性があることが示された。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 *In vitro* 試験

SGLT2 は、腎でのグルコース再吸収に関与する主要なナトリウム・グルコース共輸送体である (Kanai et al 1994, Santer et al 2003, Calado et al 2008)。また、SGLT2 は、腎以外の組織にも発現していることを示唆する社外の研究報告もあるが (Zhou et al 2003, Wright et al 2007, Wright et al 2011)、社内の定量的 RT-PCR、ノーザンブロット分析及び *in situ* ハイブリッド形成法試験に加えて、社外の研究報告でも腎に選択的に発現していることが示されている (報告書 930005304, 報告書 920008658, 報告書 930005302, Wells et al 1992, You et al 1995)。遺伝子組換え SGLT2 又は SGLT1 を発現させた Chinese hamster ovary (CHO) 細胞を用いた *in vitro* 試験で、ダバグリフロジン及びダバグリフロジン代謝物の薬理的活性を評価した。これらの試験では、陽性対照薬として、元来リンゴ樹皮から精製された代表的な非選択的 SGLT 阻害薬である phlorizin (Ehrenkranz et al 2005) を用いた。また、ダバグリフロジンはジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解後、ナトリウム含又は不含緩衝液で希釈した (DMSO 最終濃度は 0.1%又は 0.5%とした)。得られた結果は、ナトリウムに依存しないグルコース取込み量を除去するため、ナトリウム含緩衝液で調製して得られた結果からナトリウム不含緩衝液で調製して得られた結果を減じて補正した。

2.6.2.2.1.1 ヒトの SGLT2 及び SGLT1 に対するダバグリフロジンの阻害活性及び選択性

報告書 930005313 及び報告書 930052283

[目的]

ヒト SGLT2 及び SGLT1 に対するダバグリフロジンの阻害活性を求め、選択性を評価した。また、SGLT2 に対する結合の競合性及び可逆性も評価した。

[方法]

ヒトの SGLT2 又は SGLT1 を安定発現した CHO 細胞株を用いて、各 SGLT に対するダバグリフロジンの阻害活性を求めた。ダバグリフロジン存在下、SGLT 選択的グルコースアナログである単一放射性基質 ^{14}C 標識 α -メチルグルコピラノシド (^{14}C 標識 AMG) (10 $\mu\text{mol/L}$) と共に 120 分間インキュベートし、細胞内 ^{14}C 標識 AMG 取込み量を測定した。そして、4 パラメータモデルソフトウェアを用いて、各 SGLT の活性を 50%阻害する濃度 (IC_{50} 値) を算出した (報告書 930005313)。また、ヒトの SGLT2 又は SGLT1 に対するダバグリフロジンの K_i 値を算出するため、ダバグリフロジン存在下 (SGLT2 : 0.003~100 nmol/L、SGLT1 : 0.003~100 $\mu\text{mol/L}$)、細胞内の AMG 取込み量を定量した (報告書 930052283)。さらに、ヒト SGLT2 に対するダバグリフロジンの可逆性を評価するため、ヒト SGLT2 発現 CHO 細胞株をダバグリフロジン (0~10 nmol/L) と共に 60 分間プレインキュベートし、AMG を添加して (終濃度 3 mmol/L) 30~180 分間インキュベートした。その後、LC-MS3 分析法を用いて AMG 取込み量を測定した。

[結果及び結論]

ヒト SGLT2 及び SGLT1 に対するダバグリフロジンの阻害活性 (K_i 値及び IC_{50} 値) を表 1 に示した。

ヒト SGLT2 及び SGLT1 に対するダパグリフロジンの阻害率 (%) は、使用する基質濃度に逆比例して変化したので、ダパグリフロジンはヒト SGLT2 及び SGLT1 に対する競合的阻害薬であることが示された（報告書 930052283）。ヒト SGLT2 発現細胞をダパグリフロジンと共に 60 分間プレインキュベートした後にダパグリフロジンを除去し、分析緩衝液でさらにインキュベートした試験では、ダパグリフロジンによるヒト SGLT2 阻害は可逆的であることが明らかになった（報告書 930052283）。0.1、1 及び 10 nmol/L のダパグリフロジンでプレインキュベートした細胞に取込んだ基質は、使用した試験条件下、180 分以内ではほぼ完全に対照のレベルまで回復した。上記の試験で、哺乳類細胞において SGLT2 タンパク質が発現に関する転写、翻訳、タンパク質折り畳み及び膜内挿入に必要な時間を考慮すると、3 時間の試験時間は細胞表面における SGLT2 タンパク質のターンオーバーよりも短いため、SGLT2 活性の回復は可逆性を反映していると推測した。しかしながら、新たに合成されたタンパク質が SGLT2 活性の回復の原因になる可能性を制御する処置（タンパク質合成阻害薬による前処理）は行わなかった（報告書 930052283）。

ダパグリフロジンはヒト SGLT2 に対して、競合的かつ可逆的な阻害作用を示し、 K_i 値から算出したヒト SGLT1 に対するヒト SGLT2 選択性は 1400 倍以上であった。

表 1 ダパグリフロジンのヒト SGLT2 及び SGLT1 に対する阻害活性

被験薬	K_i 値 (nmol/L) ¹⁾		SGLT1 に対する SGLT2 選択性 (K_i 値の比較)	IC ₅₀ 値 (nmol/L) ^{2), 3)}		SGLT1 に対する SGLT2 選択性 (IC ₅₀ 値の比較)
	ヒト SGLT2	ヒト SGLT1		ヒト SGLT2	ヒト SGLT1	
ダパグリフロジン	0.55±0.16	810±200	1473	1.12±0.065	1391±7	1242
Phlorizin	—	—	—	35.6±4.2	330±50	9

平均値±標準誤差 (K_i 値: n=3、IC₅₀ 値: n=10~18)。

引用元: 1) 報告書 930052283、2) 報告書 930005313、3) Han et al 2008。

2.6.2.2.1.2 各動物種の SGLT2 及び SGLT1 に対するダパグリフロジンの阻害活性

報告書 930005313、報告書 930041858 及び報告書 930052019

[目的]

ラット、マウス及びイヌの SGLT2 及び SGLT1 に対するダパグリフロジンの阻害活性を評価した。

[方法]

ラット、マウス及びイヌの SGLT2 又は SGLT1 を安定発現した CHO 細胞株を用いて、グルコース最大輸送活性を示す条件で ¹⁴C 標識 AMG (10 µmol/L) の取込みを定量した。Graph Pad Prism[®] シグモイド用量反応曲線用ソフトウェアを用いて、各動物種の SGLT2 及び SGLT1 に対するダパグリフロジン及び phlorizin の IC₅₀ 値を算出した。

[結果及び結論]

ラット、マウス及びイヌの SGLT2 及び SGLT1 に対するダパグリフロジンの IC₅₀ 値を表 2 に示した。

ダパグリフロジンのヒト SGLT2 及び SGLT1 に対する IC₅₀ 値は、それぞれ 1.12 及び 1391 nmol/L であった（表 1）。ダパグリフロジンは、ラット、マウス及びイヌの SGLT2 に対してヒト SGLT2 と同程度の阻害活性を示した。しかし、対 SGLT1 とした場合の SGLT2 選択性は、ヒトでのそれと比べてラット、マウス及びイヌでは低かった。

表 2 ダパグリフロジンのラット、マウス及びイヌの SGLT1 及び SGLT2 に対する阻害活性及び選択性

被験薬	ラット ¹⁾			マウス ²⁾			イヌ ³⁾		
	IC ₅₀ 値 (nmol/L)		選択性 ⁴⁾	IC ₅₀ 値 (nmol/L)		選択性 ⁴⁾	IC ₅₀ 値 (nmol/L)		選択性 ⁴⁾
	SGLT2	SGLT1		SGLT2	SGLT1		SGLT2	SGLT1	
ダパグリフロジン	3.0±0.5	620±70	207	2.3±0.6	299±166	130	1.6±1.0	698±203	436
Phlorizin	75±8	302±30	4	60±22	364±239	6	51±19	357±95	7

平均値±標準誤差（ラット：n=4～6、マウス：n=7～8、イヌ：n=8～11）。

引用元：1) 報告書 930005313、2) 報告書 930041858 及び 3) 報告書 930052019。

4) 各動物種の SGLT1 に対する SGLT2 選択性。

2.6.2.2.1.3 ヒト及びラットの SGLT2 及び SGLT1 に対するダパグリフロジン代謝物の阻害活性

報告書 930005313 及び報告書 930018488

[目的]

健康男性被験者 6 例に ¹⁴C 標識ダパグリフロジン 50 mg を単回経口投与した代謝の検討で、ダパグリフロジンの代謝物として、BMS-511926（脱エチル化体）、BMS-801576（3-*O*-グルクロン酸抱合体）及び BMS-805525（2-*O*-グルクロン酸抱合体）が検出された（薬物動態試験の概要文 2.6.4.5.2.4 項参照）。これらの代謝物についてヒト及びラットの SGLT2 及び SGLT1 に対する阻害活性を評価した。

[方法]

ヒト及びラットの SGLT2 又は SGLT1 を発現している CHO 細胞を用いて、前項（2.6.2.2.1.2 項参照）と同様の方法で、ダパグリフロジンの代謝物である脱エチル化体、3-*O*-グルクロン酸抱合体及び 2-*O*-グルクロン酸抱合体、並びに、ダパグリフロジン及び phlorizin のヒト及びラットの SGLT2 及び SGLT1 に対する IC₅₀ 値を算出した。

[結果及び結論]

脱エチル化体、3-*O*-グルクロン酸抱合体及び 2-*O*-グルクロン酸抱合体、並びにダパグリフロジン及び phlorizin のヒト及びラットの SGLT1 及び SGLT2 に対する IC₅₀ 値を表 3 及び表 4 に示した。

脱エチル化体は、IC₅₀ 値で比較したとき、ヒト及びラットの SGLT2 及び SGLT1 に対して、ダパグリフロジンとほぼ同程度の阻害活性を有することが示された（表 1 及び表 3）。脱エチル化体について、ラットで測定したダパグリフロジンの濃度-時間曲線下面積（AUC）で占める割合は 2.5%であり（報告書 930005141）、また、ヒトにダパグリフロジン 50 mg を単回経口投与し

たとき、尿中で検出されたのは投与量の 0.1%未満であり、血漿中では検出されなかった（臨床薬理試験 2.7.2.2.1.3.2 項参照）。これらの結果から、脱エチル化体は、ラット及びヒトで、ダパグリフロジンの薬理作用に実質的に寄与しないことが示唆された。また、3-*O*-グルクロン酸抱合体及び 2-*O*-グルクロン酸抱合体は、50 mg 投与後のヒトにおける主代謝物である（それぞれ投与量の 60.7%及び 5.4%）（薬物動態試験の概要文 2.6.4.5.2.4 項参照）。しかしながら、3-*O*-グルクロン酸抱合体及び 2-*O*-グルクロン酸抱合体は、ダパグリフロジンに比して、ヒト SGLT2 及び SGLT1 のいずれに対しても活性が非常に低いため（表 4）、最高推奨臨床用量 10 mg でダパグリフロジンの薬理作用に寄与しないと考えられた。

表 3 脱エチル化体のヒト及びラットの SGLT2 及び SGLT1 に対する阻害活性

被験薬	IC ₅₀ 値 (nmol/L)			
	ヒト SGLT2	ヒト SGLT1	ラット SGLT2	ラット SGLT1
脱エチル化体	1.0±0.1	1500±100	2.4±0.4	260±30
Phlorizin	34±6	270±22	75±8	302±30

平均値±標準誤差 (n=3~12)。引用元：報告書 930005313。

表 4 ダパグリフロジンの代謝物、3-*O*-グルクロン酸抱合体及び 2-*O*-グルクロン酸抱合体のヒト SGLT2 及び SGLT1 に対する阻害活性

被験薬	IC ₅₀ 値 (nmol/L)	
	ヒト SGLT2	ヒト SGLT1
3- <i>O</i> -グルクロン酸抱合体	2900±252	> 80000
2- <i>O</i> -グルクロン酸抱合体	4400±356	> 80000
ダパグリフロジン	1.2±0.1	1100±90
Phlorizin	37±69	572±169

平均値±標準誤差 (n=3~11)。本表中のダパグリフロジンの IC₅₀ 値は、表 1 で報告した値と同程度であった。引用元：報告書 930018488。

2.6.2.2.2 *In vivo* 試験

非糖尿病及び糖尿病のラット又はマウスモデルを用いて、ダパグリフロジンの *in vivo* における効力を裏付ける試験を単回経口投与で行い、尿中グルコース排泄促進の効力、SGLT2 特異性及び作用持続時間を評価し、尿量、血中又は血漿中グルコース濃度の変化等の尿中グルコース排泄促進作用による二次的影響について検討した。また、反復経口投与試験で、糖尿病モデルラットに 15 日間反復経口投与した後、UGLR、尿量及び絶食下の血漿中グルコース濃度に対するダパグリフロジンの持続的作用を評価した。上記の効力を裏付ける試験におけるダパグリフロジンの投与量は、その曝露量がエンドポイントに対する作用を評価できるように用量に応じて反応性が変化する範囲で設定した。

ダパグリフロジンの薬理作用を評価した *in vivo* 試験は探索的なものであったため、必ずしも全ての試験でダパグリフロジンの血漿中濃度（曝露量）を測定していない。血漿中濃度を測定した

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

試験では、日本人 2 型糖尿病患者にダパグリフロジンの最高推奨臨床用量である 10 mg を 1 日 1 回 14 日間反復経口投与したときの定常状態における最高血漿中濃度 C_{max} 及び投与間隔間の血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC_{τ}) (以下、それぞれ臨床的曝露量 C_{max} 及び臨床的曝露量 AUC_{τ} と示す) を用いて比較した (表 5)。血漿中濃度を測定しなかった試験では、同種の動物で行われた薬物動態学的試験又は毒性学的試験で得られた結果から曝露量を推定した (表 5)。このとき、同じ動物種の系統間で曝露量は等しく、試験用量範囲で曝露量は線形性を示すと仮定した。中性溶質の濃度は血漿中と糸球体濾過液中とでほぼ等しいと報告されているため (Maddox et al 1992)、遊離型ダパグリフロジンの糸球体濾過液中濃度は遊離型ダパグリフロジンの血漿中濃度に等しいと仮定して、近位尿細管でのダパグリフロジン濃度を推定した (表 5)。本項で報告したいずれの試験でもダパグリフロジンの近位尿細管における濃度は測定しておらず、上記のとおり仮定に基づいて推定した。

なお、ダパグリフロジンはヒト及び動物のいずれでも高い蛋白結合率を示したため (91～95%) (薬物動態試験の概要文 2.6.4.4.2 項参照)、ダパグリフロジンの曝露量は遊離型分画の補正を行わず、特に明記しない限り全て、総血漿中濃度-時間曲線下面積を用いて、最高推奨臨床用量におけるヒト曝露量に対する比 (動物の曝露量÷ヒトの曝露量) を示した。

表 5 ラット及びマウスにおけるダパグリフロジンの投与量を 1 mg/kg に換算した曝露量の臨床的曝露量 (2 型糖尿病患者に 10 mg を反復経口投与) に対する割合 (倍数)

動物種	経口 投与量 (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	遊離型 C_{max} (nmol/L) ⁴⁾	AUC (ng·h/mL)	臨床的曝露量 AUC_{τ} に 対する割合
ヒト ¹⁾	10 mg	191 (= 臨床的 曝露量 C_{max})	42	727 (= 臨床的曝露 量 AUC_{τ})	—
雄性 Sprague-Dawley 系ラット ²⁾	1	600	71.9	ACU_{0-t} : 2960	4.1
雄性 CD-1 系マウス ³⁾	4.1	2200	—	ACU_{0-t} : 2100	—
(投与量 1mg/kg に 換算した値)	1	536.6	94.5	512.2	0.70

ヒト、ラット及びマウスの引用した結果は平均値を示す (それぞれ n=6、3 及び 18)。

AUC_{τ} : 定常状態における投与間隔間の血漿中濃度-時間曲線下面積。

ACU_{0-t} : 時間 0 から最終定量時間 t までの血漿中濃度-時間曲線下面積。t = 8 又は 24 時間。

引用元: 1) MB102025 試験、2) 報告書 930005141、3) 報告書 930018050、4) 報告書 930042484

2.6.2.2.1 非糖尿病動物における単回投与試験

2.6.2.2.1.1 非糖尿病マウスにおける単回投与試験

報告書 930044592

[目的]

WT 及び SGLT2 ノックアウト C57BL/6 系マウスにダパグリフロジンを単回経口投与し、UGLR に対する作用を評価した (報告書 930044592, Vallon et al 2011)。

〔方法〕

摂餌下の WT 及び SGLT2 ノックアウトマウス（雄性、6～9 匹/群、3～5 カ月齢（試験開始時、以下同様）、体重 23.6～32.6 g）に溶媒（1%エタノール水溶液）又はダパグリフロジン（0.1、1 及び 10 mg/kg）を単回経口投与した。このとき、尿の定量採取を容易にするため経口水負荷（30 μ L/g 体重）を行った。マウスに溶媒又はダパグリフロジンを単回経口投与し、代謝ケージに収容した。その後、絶食・絶水下で投与 3 時間後まで蓄尿を行い、時間・体重当たりの UGLR、尿中ナトリウム、カリウム及びカルシウム排泄量、並びに、尿量を測定した。グルコースはヘキシナーゼ-グルコース-6-リン酸脱水素酵素法により測定した。本試験ではダパグリフロジンの血漿中濃度を測定しなかった。統計解析は、対応のない両側 Student's t 検定を使用した。

〔結果及び結論〕

WT マウスに 0.1、1 及び 10 mg/kg のダパグリフロジンを単回経口投与したところ、時間・体重当たりの UGLR は用量依存的に増加した（ $p<0.05$ 、全投与量の溶媒群との比較；図 1）。SGLT2 ノックアウトマウスの時間・体重当たりの UGLR は、溶媒投与では 2000 nmol/(h·g 体重)（0.36 mg/(h·g 体重)）であり、0.1 及び 1 mg/kg の投与群では有意な増加は認められなかった。このときの各投与群のダパグリフロジンの曝露量は臨床的曝露量 AUC_t のそれぞれ 0.07 倍及び 0.7 倍と推定された（表 5）。しかし、ダパグリフロジン 10 mg/kg（臨床的曝露量 AUC_t の 7 倍）を投与したとき、溶媒投与群に比較して時間・体重当たりの UGLR の有意な増加が認められた（ $p<0.05$ ）（図 1）。

WT マウスでは、溶媒投与群に比して、ダパグリフロジン投与群で時間・体重当たりの尿量の増加が認められ、さらに 10 mg/kg 投与群では時間・体重当たりの尿中ナトリウム排泄量の増加も認められた（図 2）。また、SGLT2 ノックアウトマウスのダパグリフロジン 10 mg/kg 投与群で、時間・体重当たりの尿中ナトリウム排泄量にも増加の傾向が示されたが、溶媒投与群に比して有意差は認められなかった。SGLT2 ノックアウトマウスの全ての投与群で、時間・体重当たりの尿中ナトリウム排泄量は、WT マウス溶媒投与群に比して有意ではないが、増加の傾向を示した（図 2）。一方、WT 及び SGLT2 ノックアウトマウスのダパグリフロジン投与群で、尿中カリウム排泄量及び尿中カルシウム排泄量のいずれにも有意な影響は認められなかった。

以上の結果から、マウスにダパグリフロジン 10 mg/kg を単回経口投与すると、SGLT2 非依存的に UGLR を増加させ得ることが示唆された。

SGLT1 を含めて、SGLT プロテインファミリーの他のアイソフォームも腎に発現しているため（報告書 930005304）、これらも腎におけるグルコース再吸収に影響を及ぼす可能性を考慮する必要がある。マウスにおいて、SGLT1 に対するダパグリフロジンの IC_{50} 値は 299 nmol/L であり（表 2）、ダパグリフロジン 10 mg/kg を単回経口投与したときの糸球体濾過液中濃度は 945 nmol/L と算出され¹⁾、 IC_{50} 値の約 3 倍に相当すると考えられる。したがって、本試験条件下でダパグリフロジン 10 mg/kg をマウスに単回経口投与したとき、SGLT1 に対して阻害作用を示すことが示唆された。

1) 腎近位尿細管における糸球体濾過液中のダパグリフロジン濃度は、遊離型ダパグリフロジンの血漿中濃度（血漿中濃度は線形性であると仮定し、血漿蛋白結合率が 92.8%（報告書 930042484）を用いて算出）と等しいと仮定して算出した。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

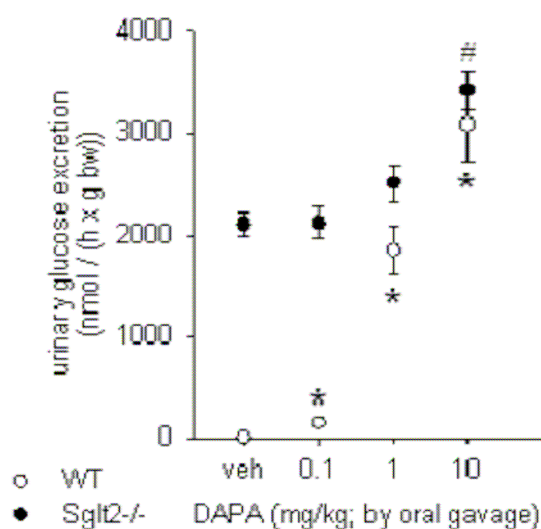


図 1 WT 及び SGLT2 ノックアウトマウスにダパグリフロジン単回経口投与後の時間・体重当たりの UGLR

平均値±標準誤差 (n=6~9)。WT：正常マウス、SGLT2^{-/-}：SGLT2 ノックアウトマウス、DAPA：ダパグリフロジン、UGLR：尿中グルコース排泄量。*：P<0.05（対応のない両側 Student's t 検定、溶媒対照群との比較）、#：P<0.05（対応のない両側 Student's t 検定、溶媒対照群との比較）。引用元：報告書 930044592。

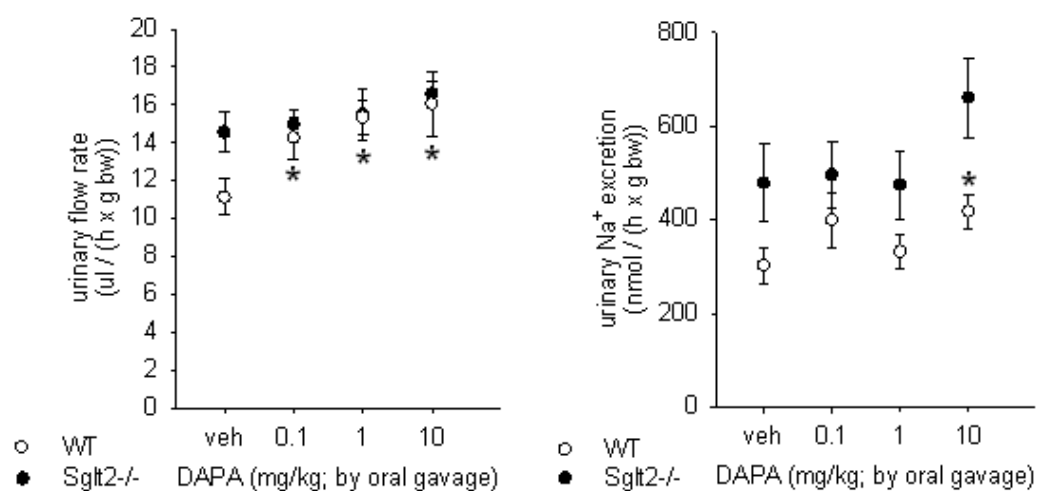


図 2 WT 及び SGLT2 ノックアウトマウスにダパグリフロジン単回経口投与後の時間・体重当たりの尿量（左）及び時間・体重当たりの尿中ナトリウム排泄量（右）

平均値±標準誤差 (n=6~9)。WT：正常マウス、SGLT2^{-/-}：SGLT2 ノックアウトマウス、DAPA：ダパグリフロジン。*：P<0.05（対応のない両側 Student's t 検定、溶媒投与群との比較）。引用元：報告書 930044592。

2.6.2.2.1.2 正常ラットにおける単回投与試験

報告書 930005311

[目的]

正常 Sprague-Dawley (SD) 系ラットにダパグリフロジンを単回経口投与し、UGLR 及び血漿中グルコース濃度に対する作用を評価した。

[方法]

尿中グルコース排泄：正常 SD 系ラット（雄性、週齢の記録なし、平均体重 250 g）を代謝ケージにて自由摂餌下で飼育し、一晚絶食して採尿ベースライン値を測定した。翌日、体重を測定し、各投与群で体重に統計学的差異がないように無作為に分けた（3 匹/群）。ラットに溶媒（5% N-メチル-2-ピロリドン（NMP）、20%ポリエチレングリコール（PEG）400 及び 75% 20 mmol/L ニリン酸ナトリウム）又はダパグリフロジン（0.01、0.1、1 及び 10 mg/kg）を単回経口投与した後、50%グルコース水溶液（2 g/kg）を経口負荷（OGTT）した。投与終了直後、ラットを代謝ケージに収容してグルコース負荷 1 時間後に再給餌し、摂餌下で投与 24 時間後まで蓄尿を行った。尿検体は全て容量を測定し、尿中グルコース濃度の測定に供した。統計解析は対応のある Student's t 検定を使用した。

血漿中グルコース：別のラット 15 匹を一晚（18 時間）絶食させた翌日、体重測定及び採血により、体重及び血漿中グルコース濃度に統計学的な差がないように無作為に各投与群に分けた（3 匹/群）。ラットに溶媒又はダパグリフロジン（0.01～10 mg/kg）を単回経口投与した後、OGTT を行った。経時的（投与 15、30、60 分及び 24 時間後）に採血して血漿中グルコース濃度を測定し、グルコース負荷後 1 時間の血漿中グルコース AUC を算出した。統計解析は、血漿中グルコース AUC について分散分析を実施し、Fisher's LSD 法により比較した。

[結果及び結論]

尿中グルコース排泄：ダパグリフロジン 0.01 mg/kg（推定曝露量：臨床的曝露量 AUC_t の 0.04 倍）では、UGLR の増加は認められなかったが、投与量 0.1、1 及び 10 mg/kg（推定曝露量：それぞれ臨床的曝露量 AUC_t の 0.4 倍、4.1 倍及び 41 倍（表 5））では、UGLR の増加が認められた（投与前（ベースライン値）の排泄量に比してそれぞれ 1000 倍超、2200 倍超及び 5400 倍超、表 6）。投与量 0.1 mg/kg での UGLR の増加はベースライン値に比して有意ではなかったが、投与量 1 及び 10 mg/kg では UGLR の増加は有意であった（両投与群で $p<0.01$ ）。同様に、ダパグリフロジン投与後に尿量の増加も認められ、その増加は、投与量 0.1 及び 10 mg/kg で有意であった（それぞれ $p<0.05$ （2 倍超の増加）及び $p<0.001$ （3 倍超の増加）、表 6）。

血漿中グルコース：ダパグリフロジン 1 及び 10 mg/kg を経口投与し、グルコース負荷後 1 時間の血漿中グルコース AUC は、溶媒投与群（ 69.11 ± 2.17 mg·h/dL（平均値±標準誤差、以下、特に明記しない限り全て平均値±標準誤差を示す））に比較して有意に減少し、各々 48.00 ± 5.25 mg·h/dL（ $p<0.05$ ）及び 34.98 ± 0.75 mg·h/dL（ $p<0.05$ ）であった。投与量 0.01 及び 0.1 mg/kg では、血漿中グルコース AUC に有意な影響は認められなかった（それぞれ 75.80 ± 3.55 及び 60.78 ± 7.93 mg·h/dL）。

薬物動態試験においてラットへの単回経口投与により測定した C_{max} 及び *in vitro* 血漿蛋白結合率に基づいて（それぞれ報告書 930005141 及び報告書 930042484）、SD 系ラットにダパグリフロジン 0.1、1 及び 10 mg/kg を投与後の腎近位尿細管における遊離型ダパグリフロジン濃度を推定したところ（表 5）、7.2、72 及び 720 nmol/L であった。これらの濃度は、ラット SGLT2 に対するダパグリフロジンの IC_{50} 値（3.0 nmol/L）の 2.4 倍、24 倍及び 240 倍に相当し、ラット SGLT1

に対するダパグリフロジンの IC_{50} 値 (620 nmol/L) の 0.01、0.12 及び 1.2 倍であった。これらの推定値から、SD 系ラットに 0.1 及び 1 mg/kg の用量で単回投与したときのダパグリフロジンの血糖降下作用は、その大部分は SGLT2 の阻害によるものであるが、10 mg/kg の用量で単回投与したときのダパグリフロジンの血糖降下作用の一部は、近位尿細管に存在する SGLT1 の阻害によるものと考えられる。

なお、本試験で、血漿中グルコース濃度が低血糖の目安とした 70 mg/dL (American Diabetes Association 2013) を下回った例は認められなかった。

表 6 ダパグリフロジン投与前 18 時間（ベースライン値）及び投与後 24 時間における正常 SD 系ラットの UGLR 及び尿量

投与量 (mg/kg)	投与前 18 時間 UGLR ベースライン値 (mg)	投与前 18 時間尿 量ベースライン値 (mL)	投与後 24 時間 UGLR (mg)	投与後 24 時間 尿量 (mL)
0 (溶媒)	0.72±0.1	8±2	3±0.4	5±0.6
0.01	0.6±0.1	6±1	5±1	7±0.1
0.1	0.7±0.1	5±1	707±165 [#]	12±1
1	0.6±0.3	7±3	1369±74 ^{**}	16±0.4
10	0.44±0.14	7±1	2417±205 ^{**}	27±0.8 ^{***}

平均値±標準誤差 (n=3)。#: P=0.05、**: P<0.01、***: P<0.001 (対応のある Student's t 検定、ベースライン値との比較)。引用元：報告書 930005311。

2.6.2.2.1.3 正常ラットにおける薬力学的作用の持続性

報告書 930008042

[目的]

正常ラットにダパグリフロジンを単回経口投与した後 7 日間の薬力学的作用（尿量及び UGLR に対する作用）の持続性を検討した。

[方法]

正常 SD 系ラットの体重を測定し、群間で体重に統計学的差異のないように無作為に各投与群に分けた（雄性、6 匹/群、週齢の記録なし、平均体重 346 g）。ラットに溶媒（5% NMP、20% PEG400 及び 75% 20 mmol/L ニリン酸ナトリウム）又はダパグリフロジン（1 mg/kg）を単回経口投与した。投与直後からラットを代謝ケージに収容して、自由摂餌下で投与 168 時間後まで蓄尿し、各採取時間（投与 6、24、48、72、96 及び 168 時間後）における尿量及びグルコース濃度の測定を行った。

各動物について尿採取期間中の時間当たりの UGLR (mg/h) 及び尿量 (mL/h) を算出し、各投与群の平均値を比較した。統計解析は、分散分析を実施し、Fisher's LSD 法により比較した。

[結果及び結論]

溶媒投与群に比して、ダパグリフロジン投与群では、投与後 0～6 時間及び 0～24 時間の時間当たりの UGLR はいずれも有意に増加し、その差は投与後 0～6 時間で 800 倍超 ($p<0.0001$) であり、投与後 0～24 時間で 300 倍超 ($p<0.0001$) であった。また、時間当たりの UGLR の増加は、

各測定期間の時間当たりの尿量の増加と一致していた（溶媒投与群に比して、投与後 0～6 時間で 5 倍超であり、投与後 0～24 時間で約 3 倍であった）（表 7）。

時間当たりの UGLR は、投与後 0～24 時間に比して、投与後 24～48 時間及び投与後 48～72 時間には低下し、時間当たりの尿量も同様の変化を示した。さらに、1 mg/kg を正常 SD 系ラットに投与したとき、UGLR を増加させるダパグリフロジンの薬力学的半減期は 7.7 ± 0.7 時間（平均値 $\pm$ 標準偏差）と推定された。以上の結果は、同用量でダパグリフロジンを SD 系ラットに投与した他の試験で測定した薬物動態学的消失半減期の 4.6 ± 0.8 時間（平均値 $\pm$ 標準偏差）と同程度であった（薬物動態試験の概要文 2.6.4.3.2.1 項参照）。

表 7 正常 SD 系ラットにダパグリフロジンを単回経口投与後の薬力学的作用（UGLR 及び尿量に対する作用）の持続時間

測定間隔（時間）	0～6	0～24	24～48	48～72	72～96	96～168
時間当たりの UGLR (mg/h)						
溶媒	0.09 ± 0.02	0.23 ± 0.02	0.28 ± 0.06	0.12 ± 0.08	0.02 ± 0.02	0.04 ± 0.02
ダパグリフロジン	$73 \pm 6^{**}$	$74 \pm 5^{**}$	$12 \pm 3^{**}$	0.89 ± 0.5	0.22 ± 0.12	0.14 ± 0.12
時間当たりの尿量 (mL/h)						
溶媒	0.22 ± 0.05	0.32 ± 0.03	0.29 ± 0.03	0.26 ± 0.03	0.14 ± 0.02	0.10 ± 0.03
ダパグリフロジン	$1.19 \pm 0.07^{**}$	$0.98 \pm 0.04^{**}$	0.36 ± 0.05	0.22 ± 0.05	0.13 ± 0.03	0.09 ± 0.02

平均値 $\pm$ 標準誤差（n=6）。**：P<0.0001（分散分析を実施し、Fisher's LSD 法により比較した。溶媒投与群との比較）。引用元：報告書 930008042。

2.6.2.2.2 糖尿病モデル動物における単回投与試験

2.6.2.2.2.1 ストレプトゾトシン誘発糖尿病モデルラットにおける単回投与試験

報告書 930005305

[目的]

ストレプトゾトシン（STZ）誘発糖尿病モデル SD 系ラットにダパグリフロジンを単回経口投与し、高レベルの血中グルコース濃度に対する作用を評価した。

[方法]

自由摂餌・摂水下で SD 系ラット（雄性、週齢の記録なし、体重 240～258 g）に 0.01 mol/L クエン酸塩緩衝液で調製した STZ 65 mg/kg を単回腹腔内投与し、糖尿病モデルラット（STZ ラット）を作成した。STZ 投与 4 日後の被験薬投与前に採血を行い、グルコース酸化法により血中グルコース濃度を測定した。このときの血中グルコース濃度は 450～550 mg/dL の範囲にあった。STZ ラットの体重を測定した後、無作為に 4 群（5～6 匹/群）に分け、溶媒（5% NMP、20% PEG400 及び 75% 20 mmol/L ニリン酸ナトリウム）又はダパグリフロジン（0.01、0.03 及び 0.1 mg/kg）を単回経口投与した。投与後の試験期間中は絶食・摂水下で飼育した。投与直後、30、60、120、180、240 及び 300 分後に採血し、上記と同じ方法で血中グルコース濃度を測定した。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダバグリフロジンプロピレングリコール水和物

なお、本試験ではダバグリフロジンの血漿中濃度を測定しなかった。統計解析は、対応のある Student's t 検定を使用した。

〔結果及び結論〕

STZ ラットに 0.03 及び 0.1 mg/kg（推定曝露量：臨床的曝露量 AUC_t のそれぞれ 0.12 倍及び 0.41 倍）のダバグリフロジンを単回経口投与したところ、両投与群で投与 2、3、4 及び 5 時間後の血中グルコース濃度は有意に低下した（図 3）。また、投与 5 時間後でも、0.03 及び 0.1 mg/kg でダバグリフロジンを投与した STZ ラットにおける血中グルコース濃度は、溶媒投与群に比してそれぞれ 45%及び 55%低下していた。一方、本試験の 0.01 mg/kg（推定曝露量：臨床的曝露量 AUC_t の 0.04 倍）投与群では血中グルコース濃度に有意な作用は認められなかった。

以上の結果から、糖尿病モデルである STZ ラットにダバグリフロジンを単回経口投与すると、用量反応性のある血中グルコース低下作用が示された。また、この血中グルコース低下作用は投与 5 時間後でも持続していた。なお、本試験で、血中グルコース濃度が低血糖の目安とした 70 mg/dL（American Diabetes Association 2013）を下回った例は認められなかった。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

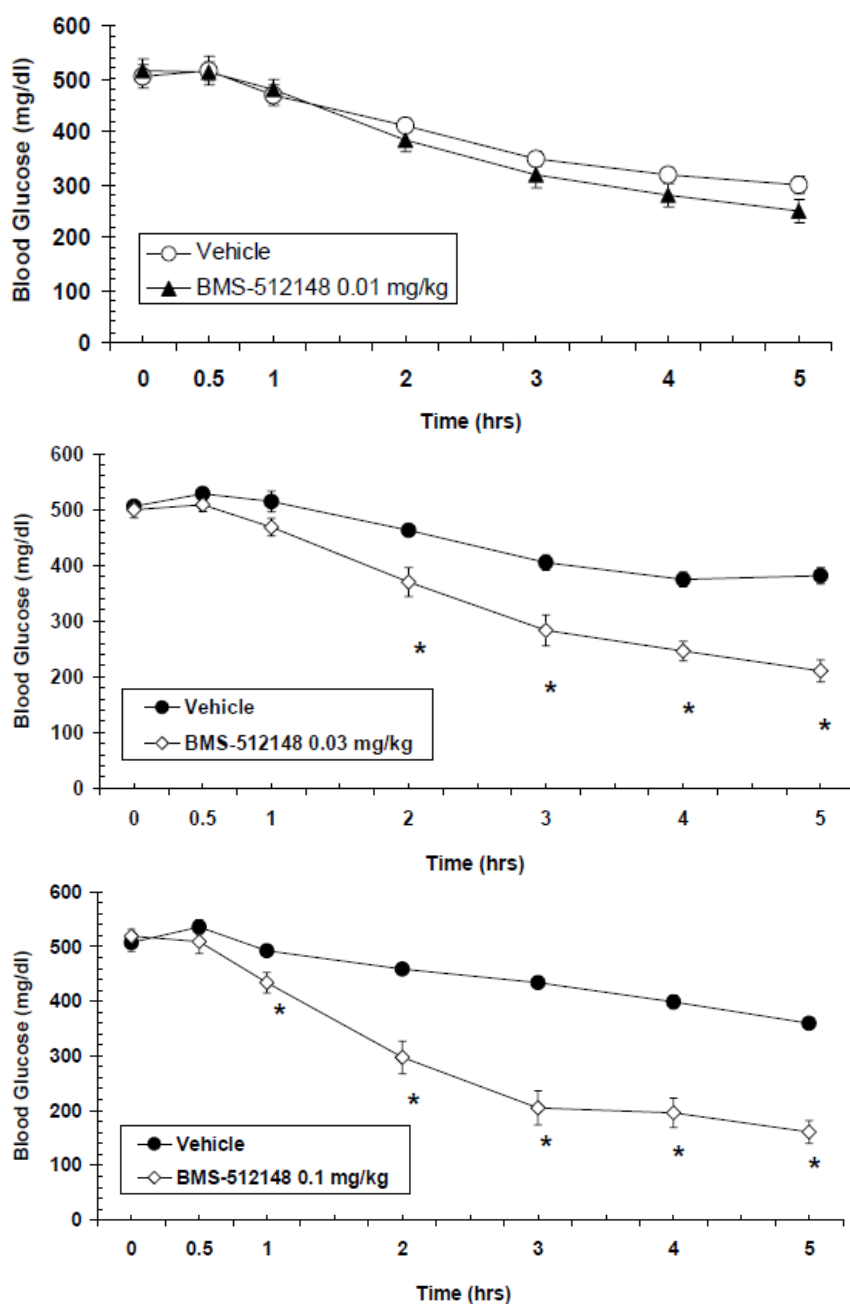


図 3 STZ 誘発糖尿病モデル SD 系ラットにダパグリフロジンを単回経口投与後の血中グルコース濃度の経時的変化

平均値±標準誤差 (n=6)。BMS-512148：ダパグリフロジン。*：P<0.05（対応のある Student's t 検定、溶媒投与群との比較）。引用元：報告書 930005305。

2.6.2.2.2.2 遺伝的糖尿病モデル ZDF ラットにおける単回投与試験

報告書 930005327

[目的]

遺伝的糖尿病モデル ZDF ラットはレプチン情報伝達系に遺伝的欠損があり、過食、肥満及びインスリン抵抗性を示す。ZDF ラットは膵 β 細胞障害を自然発症し、約 8~10 週齢までに明らかな高血糖症を示すようになる 2 型糖尿病のモデルである (Finegood et al 2001)。本試験では雄性 ZDF ラットを用いて、単回経口投与後のダパグリフロジンの UGLR 及び血漿中グルコース濃度に対する作用を評価した。

[方法]

試験当日、自由摂餌・摂水下で飼育した ZDF ラット（雄性、19 週齢、平均体重 422 g）の体重及び血漿中グルコース濃度が群間で統計学的差異がないように無作為に各投与群に分けた（6 匹/群）。ZDF ラットに溶媒（5% NMP、20% PEG400 及び 75% 20 mmol/L ニリン酸ナトリウム）又はダパグリフロジン（0.01、0.1、1 及び 10 mg/kg）を単回経口投与し、代謝ケージに収容した。投与直前に採血し、投与 24 時間後まで経時的採血（投与 2、4、6 及び 24 時間後）及び蓄尿を行って UGLR 及び血漿中グルコース濃度を測定した。投与後 0~6 時間は絶食・摂水下、投与後 6~24 時間は自由摂餌・摂水下で飼育した。また、本試験では全投与群で各採血時点におけるダパグリフロジンの血漿中濃度を測定した。統計解析は、分散分析を実施し、Fisher's LSD 法により比較した。

[結果及び結論]

ZDF ラットに 0.01、0.1、1 及び 10 mg/kg のダパグリフロジンを投与後 6 時間の UGLR は、溶媒投与群と比較して有意に増加した（それぞれ 9.6 倍、17 倍、18 倍及び 18 倍）（図 4）。正常ラットを用いた試験結果（2.6.2.2.1.2 項参照）と同様、UGLR の増加と共に、尿量も溶媒投与群と比較して有意に増加した（それぞれ溶媒投与群の 5 倍、9 倍、10 倍及び 10 倍）（図 5）。また、UGLR 及び尿量の増加と一致して、ダパグリフロジン投与後 6 時間の時点で、血漿中グルコース濃度は溶媒投与群と比較して有意に低下した（0.01、0.1、1 及び 10 mg/kg 投与群で、それぞれ溶媒投与群の 17%、54%、64%及び 73%の低下）（図 6）。

本試験でダパグリフロジンの血漿中曝露量は投与量 1 及び 10 mg/kg に比例していたが（表 8）、投与量 0.01 及び 0.1 mg/kg では、定量下限（LLOQ）である 150 nmol/L を超える曝露量ではなかった。雄性 ZDF ラットに 1 及び 10 mg/kg のダパグリフロジンを投与したときの曝露量 AUC_{0-6h} は、それぞれ臨床的曝露量 AUC_T の 2.9 倍及び 30 倍に相当することが示された（表 8）。ここで低用量でも曝露量が線形性を示すと仮定すると、用量 0.01 及び 0.1 mg/kg における AUC_{0-6h} 曝露量は、それぞれ AUC_T の 0.03 倍及び 0.3 倍に相当すると推定された。

以上の結果から、2.6.2.2.1.2 項の正常 SD 系ラットを用いた試験（報告書 930005311）と ZDF ラットを用いた本試験（報告書 930005327）で曝露量はほぼ同程度であると推定された。但し、報告書 930005311 の試験では、正常 SD 系ラットにおいて一晩絶食後に OGTT を実施して血漿中グルコース濃度の変化を検討したのに対して、報告書 930005327 の本試験では、非絶食下の雄性 ZDF ラットに投与してグルコース負荷をせずに投与後 24 時間にわたる血漿中グルコース濃度、UGLR 及び尿量を測定している。このように試験デザインが異なることから、厳密に言えば、試験成績を直接比較することはできないと考えられる。しかしながら、投与量 0.01 mg/kg では、正常 SD 系ラットで UGLR の増加を示さなかったことから、ダパグリフロジンの尿中グルコース排泄の促進作用は、正常 SD 系ラットよりも ZDF ラットに対して強力であると推測することは可能

と考えられる。これは、血糖値が正常な場合にはグルコース腎再吸収能の一部しか利用されていないため（Deetjen et al 1992）、単位曝露量で比較したとき、正常ラットではダパグリフロジンによる尿中グルコース排泄の促進作用が低下することが原因であると考えられる。しかしながら、高血糖状態では腎臓におけるグルコース濾過負荷が正常血糖状態に比較して高く、グルコース腎再吸収能が十分に利用されているため、単位曝露量で比較すると、ダパグリフロジンの尿中グルコース排泄の促進作用は正常血糖状態より強力であると考えられる。

ダパグリフロジン 10 mg/kg 投与群で、投与後 6～24 時間に 6 匹中 3 匹のラットは飼料及び水を摂取しなかった。その後、投与後 6～24 時間に、これら 3 匹のラットの死亡が認められたが、1 mg/kg 以下の投与群では同様の所見は認められなかった。

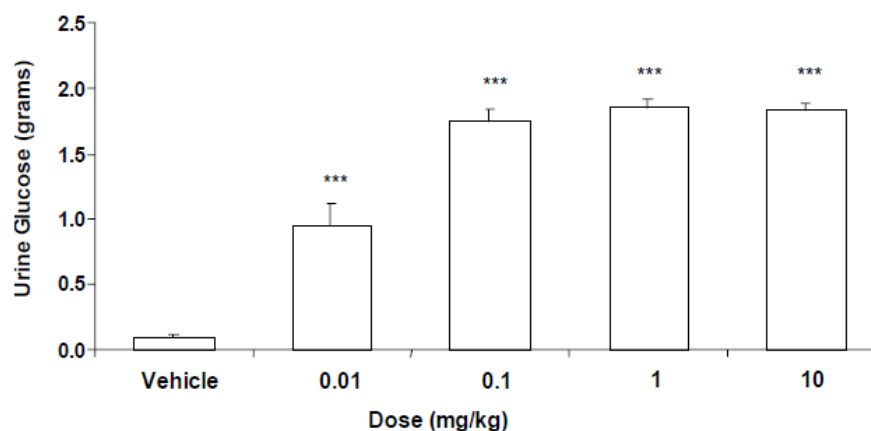


図 4 ZDF ラットにダパグリフロジン単回経口投与後 0～6 時間の総 UGLR

平均値±標準誤差 (n=6)。***: P<0.001 (分散分析を実施し、Fisher's LSD 法により比較した。溶媒投与群との比較)。引用元：報告書 930005327。

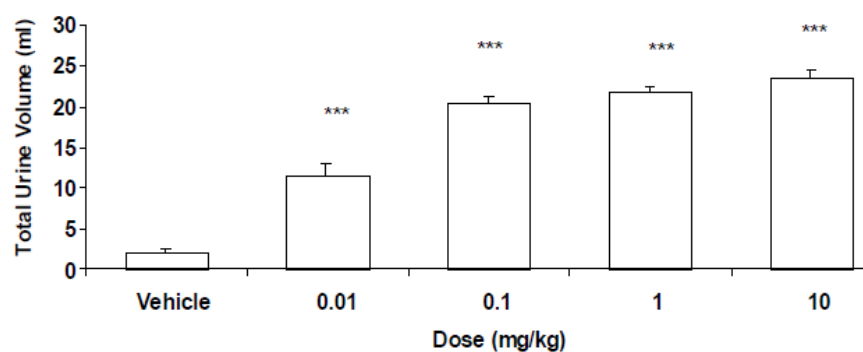


図 5 ZDF ラットにダパグリフロジン単回経口投与後 0～6 時間の総尿量

平均値±標準誤差 (n=6)。***: P<0.001 (分散分析を実施し、Fisher's LSD 法により比較した。溶媒投与群との比較)。引用元：報告書 930005327。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

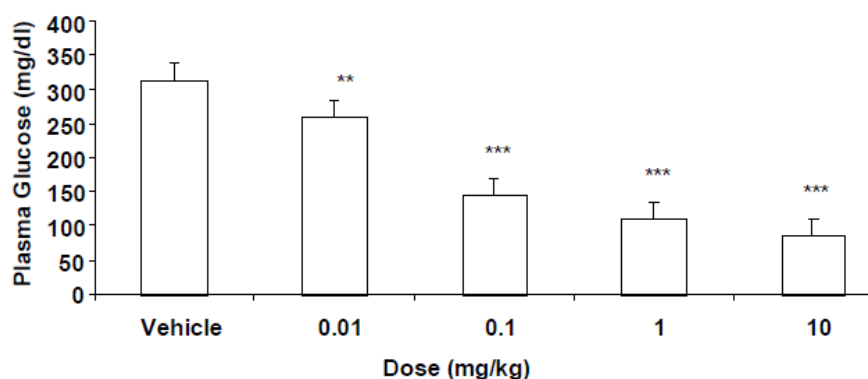


図 6 ZDF ラットにダパグリフロジン単回経口投与 6 時間後における血漿中グルコース濃度

平均値±標準誤差 (n=6)。** : P<0.01、*** : P<0.001 (分散分析を実施し、Fisher's LSD 法により比較した。溶媒投与群との比較)。引用元：報告書 930005327。

表 8 ZDF ラットにダパグリフロジン 1 及び 10 mg/kg を単回経口投与後のダパグリフロジンの血漿中曝露量 (AUC, C_{max}, T_{max})

投与量 ^a (mg/kg)	AUC _{0-6h}		臨床的曝露量 AUC _t に対する割合 ^b	C _{max}		臨床的曝露量 C _{max} に対する割合 ^b	T _{max} (投与後時間)
	実測値 (nmol·h/L)	換算値 (ng·h/mL)		実測値 (nmol/L)	換算値 (ng/mL)		
1	5229±880	2139±360	2.9	1240±254	507±104	2.7	5±1.7
10	52457±22101	21455±9039	30	12800±5367	5235±2195	27	4±2

平均値±標準偏差 (n=6)。a) ダパグリフロジン 0、0.01 及び 0.1 mg/kg を投与した後、ダパグリフロジンの血漿中濃度は LLOQ (150 nmol/L) より低かった。b) 臨床的曝露量 AUC_t = 727 ng·h/mL、臨床的曝露量 C_{max} = 191 ng/mL (MB102025 試験)。引用元：報告書 930005327。

〔考察：死亡の原因を検討したフォローアップ試験〕

本項の既述の単回投与試験において、ダパグリフロジン 10 mg/kg を経口投与した雄性 ZDF ラットに死亡例が認められたため、ZDF ラット (雄性、6 匹/群、17~19 週齢、体重 445~446 g) を用いて、以下の 2 つのフォローアップ試験を行った (報告書 930005310)。

第一の試験では、代謝ケージへの収容に加えて、ストレスを与える他の試験条件として、投与後 6 時間の絶食又は反復的血液採取、あるいはその両方のいずれの条件が、ダパグリフロジン (10 mg/kg) を単回経口投与した雄性 ZDF ラットにおける死亡の原因になっているかを特定するデザインとした。以下の臨床的及び臨床病理学的パラメータについて、試験期間中及び剖検で、あるいはそのどちらかで測定した：身体状態 (定性的評価)、体重、摂水量・摂餌量、尿量、尿生化学、血清生化学、臓器重量及び組織病理 (膵臓、脾臓、副腎、腎臓、肝臓、肺、心臓及び脳)。

本フォローアップ試験の結果から、代謝ケージへの収容は大きなストレス因子で、ダパグリフロジンを投与した雄性 ZDF ラットの死亡の一因になっていることが示唆された。この結論は、絶食、反復的採血又はその両方の条件下にあったかどうかに関わらず、代謝ケージに収容された

ダパグリフロジンを投与した雄性 ZDF ラットが死亡した所見に基づいている。しかしながら、別の試験において、雄性 ZDF ラットは、標準ケージに収容下、10 mg/kg のダパグリフロジンを 1 日 1 回 14 日間反復投与することに忍容性を示した（後述、2.6.2.2.2.3 項参照）。ダパグリフロジン投与群の雄性 ZDF ラットで、死亡動物にみられ非死亡動物にみられない共通の所見は、投与後 24 時間に認められた摂餌量の減少及び体液喪失量の増加、並びに、投与後 48 時間に認められた腎前性高窒素血症（症）及び代謝性アシドーシスであった。ダパグリフロジン投与群の数匹で、血漿中グルコース濃度が 90 mg/dL 未満を示したが、血漿中グルコース濃度は死亡と関連がなかったと考えられる。以上の結果から、高用量ダパグリフロジン投与群の雄性 ZDF ラットのうち数匹で、代謝ケージに収容されたストレスのため、ダパグリフロジン投与後の絶食、及び、薬理作用で促進された尿中グルコース排泄に伴う尿量増加を、十分な摂餌量及び摂水量の確保により代償することができずに脱水症になり、最終的に死亡に至ったと考えられた。

上記の第一試験で、代謝ケージ収容下、絶食又は採血、あるいは、その両方が直接的な有害作用を及ぼすと考えられたため、第二の試験では、6 時間後及び 24 時間後における臨床病理学的変化を明らかにすることを目的とした。なお、代謝ケージに収容した雄性 ZDF ラットにダパグリフロジン（10 mg/kg）を単回経口投与した後 6 時間絶食させた試験（2.6.2.2.2.2 項参照）では、投与後 24 時間以降に死亡例が認められたため、この測定時間を設定した。本フォローアップ試験の結果から、本試験手順のストレス条件下にあったダパグリフロジン投与群の雄性 ZDF ラットの数匹は、薬理作用による尿量増加を十分な摂水量の確保により代償することができず、最終的に脱水に至ったことが裏付けられた。この脱水症状と一致した血清生化学検査値の変化は、ダパグリフロジン投与 6 時間後までに明らかになり、血中尿素窒素、無機リン、ナトリウム、塩素及びアルブミンの増加が認められた。血清中 β -ヒドロキシ酪酸（HBA）の増加を伴う代謝性アシドーシスはダパグリフロジン投与 6 時間後の時点で明らかになった。ダパグリフロジン投与後 24 時間のうち、脱水症状と一致した血清生化学検査値の変化及び代謝性アシドーシスの悪化がみられたが、高窒素血症（血中尿素窒素 > 80 mg/dL）や血清中 HBA が 90 mg/dL を超えるような顕著な代謝性アシドーシス（血清中重炭酸塩は 5 mmol/L 未満）は、摂餌量が最少で体液喪失量が最大を示したダパグリフロジン投与群 ZDF ラットの 2 匹のみで観察された。HBA 産生の増加は脂肪異化の指標であり、薬理作用による尿中グルコース排泄促進作用からグルコース喪失の増加と摂餌量減少の両者によるものと考えられた。薬理作用による UGLR の増加は、血漿中グルコース濃度の顕著な低下をもたらしたが、血漿中グルコース濃度が低いことは脱水と関連がないと考えられ、ダパグリフロジンを投与した全ての ZDF ラットで 230 mg/dL 以上を維持しており、これらのラットにおいて低血糖は死亡の原因ではなかったことが示唆された。

以上のフォローアップ試験の結果から、本試験手順に従って投与された ZDF ラットでは、薬理作用による尿量の増加を十分な摂水量の確保により代償することができなかったことが示された。一方、非糖尿病又は糖尿病ラットに単回投与及び反復投与を行った他の薬理試験、並びに、非糖尿病ラット、マウス及びイヌを用いた毒性試験では（毒性試験の概要文 2.6.6 項参照）、代償的な摂水の障害は認められなかった。

2.6.2.2.2.3 ZDF ラットにおける追加の単回投与試験

報告書 930008043

[目的]

糖尿病モデル ZDF ラットを用いた追加の単回投与試験で、ダパグリフロジンを経口投与後 24 時間までの血漿中グルコース濃度の低下作用を評価した。

〔方法〕

ZDF ラット（雄性、17 週齢、平均体重 395 g）を使用した。試験当日、採血を行い、体重及び血漿中グルコース濃度に統計学的差異のないように各投与群に無作為に分けた（6 匹/群）。ラットに溶媒（5% NMP、20% PEG400 及び 75% 20 mmol/L ニリン酸ナトリウム）又はダパグリフロジン（0.01、0.1 及び 1 mg/kg）を単回経口投与した。ダパグリフロジン投与直前と、投与 2、4、6 及び 24 時間後に採血を行い、血漿中グルコース濃度を測定した。なお、投与 0～6 時間は絶食・摂水下、投与 6～24 時間は自由摂餌・摂水下で検討した。また、別途設けたサテライト群（3 匹/群）にダパグリフロジン（0.1 及び 1 mg/kg）を単回経口投与した。投与 2、4、6 及び 24 時間後に採血を行い、ダパグリフロジンの血漿中濃度を測定した。統計解析は分散分析を実施し、Fisher's LSD 法により比較した。

〔結果及び結論〕

ダパグリフロジンの全投与群（0.01、0.1 及び 1 mg/kg）において、投与 6 時間後の時点で血漿中グルコース濃度は有意に低下した（それぞれ 12%（ $p<0.05$ ）、60%（ $p<0.001$ ）及び 66%（ $p<0.001$ ）の低下、溶媒投与群との比較、図 7）。投与 24 時間後の時点でも全投与群で、溶媒投与群に比較して血漿中グルコース濃度の有意な低下が認められた（それぞれ 17%（ $p<0.001$ ）、15%（ $p<0.001$ ）及び 40%（ $p<0.001$ ）の低下、溶媒投与群との比較）。ダパグリフロジンの C_{max} は、0.1 mg/kg 投与群で 1147 ± 171 nmol/L（ AUC_{0-6h} は 469 ± 70 ng·h/mL）、1 mg/kg 投与群で 18541 ± 3102 nmol/L（ AUC_{0-24h} は 7583 ± 1269 ng·h/mL）であり、臨床的曝露量 AUC_t のそれぞれ 0.6 倍及び 10.4 倍であった。本試験での死亡例は観察されなかった。

2 型糖尿病モデルである ZDF ラットで、ダパグリフロジン（0.01、0.1 及び 1 mg/kg）の単回経口投与により投与 24 時間後まで血漿中グルコース濃度の有意な低下が認められた。

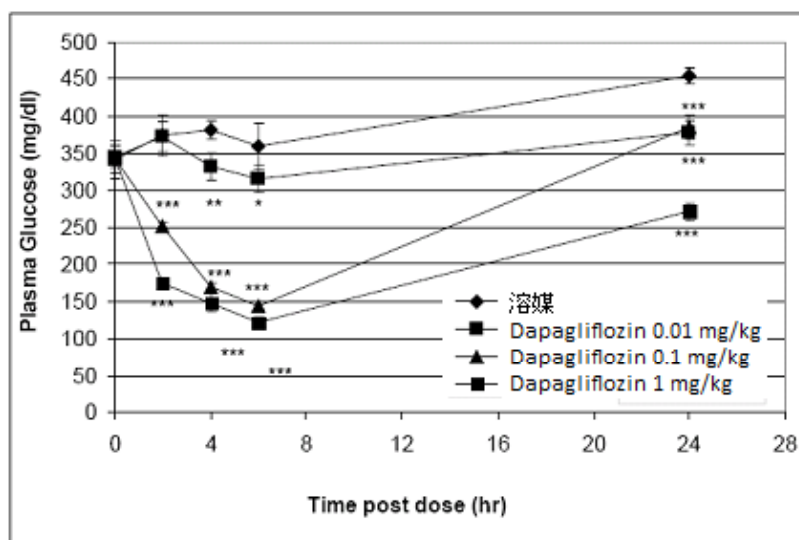


図 7 ZDF ラットにダパグリフロジンを単回経口投与した 24 時間後までの血漿中グルコース濃度の経時的変化

平均値±標準誤差（ $n=6$ ）。*： $P<0.05$ 、**： $P<0.01$ 、***： $P<0.001$ （分散分析を実施し、Fisher's LSD 法により比較した。溶媒投与群との比較）。引用元：報告書 930008043。

2.6.2.2.3 糖尿病モデル ZDF ラットにおける反復投与試験

報告書 930005329

[目的]

ダパグリフロジンを糖尿病モデル ZDF ラットに 15 日間反復経口投与（14 日間反復経口投与し、15 日目に絶食下で最終投与）したときの尿中グルコース排泄に対する作用に加えて、絶食下及び摂餌下の血漿中グルコース濃度に対する作用を評価した。

[方法]

ダパグリフロジン投与開始の 2 日前に、ZDF ラット（雄性、17 週齢、平均体重 399 g）を自由摂餌・摂水下で代謝ケージに収容し、24 時間尿量のベースライン値を測定した。翌日、ZDF ラットを一晩絶食させ、体重及び血漿中グルコース濃度に統計学的差異のないように各投与群に無作為に分けた（6 匹/群）。ZDF ラットに溶媒（5% NMP、20% PEG400 及び 75% 20 mmol/L ニリン酸ナトリウム）又はダパグリフロジン（0.01、0.1、1 及び 10 mg/kg）を 1 日 1 回 14 日間反復経口投与した。投与 15 日目に各群ラットにダパグリフロジンの最終投与を行い、ダパグリフロジンの血漿中濃度を測定した。投与 8 日目及び 15 日目に絶食下で体重の測定及び採血を行い、投与 14 日目に摂餌下で採血し、血漿中グルコース濃度の測定に供した。また、投与 14 日目に絶食・摂水下で 24 時間蓄尿を行い、尿量及び UGLR を測定した。統計解析は、分散分析を実施し、Fisher's LSD 法により比較した。

[結果及び結論]

ダパグリフロジンの投与 8 日目及び 15 日目（絶食下）、並びに 14 日目（摂餌下）の血漿中グルコース濃度は用量依存的な低下を示し、投与 15 日目の 0.01 mg/kg 投与群を除き、いずれのダパグリフロジン投与群においても溶媒投与群に比較して有意に低下した（図 8）。投与 8 日目で絶食下の血漿中グルコース濃度は、投与量 0.01、0.1、1 及び 10 mg/kg のダパグリフロジン投与群で、溶媒投与群に比してそれぞれ 27%、46%、66%及び 72%の有意な低下を示し（全投与群 $p<0.001$ ）、投与 14 日目で摂餌下の血漿中グルコース濃度は、各用量投与群でそれぞれ 16%（ $p<0.05$ ）、30%（ $p<0.001$ ）、44%（ $p<0.001$ ）及び 47%（ $p<0.001$ ）の有意な低下を示した。本投与スケジュールでは、絶食下の血漿中インスリン濃度及び体重に変化は認められず、いずれの投与群でも 14 日間の投与期間中に有害作用は認められなかった。

摂餌下の試験期間中に、ダパグリフロジン投与群の尿量及び UGLR で、溶媒投与群に比較して軽微な変化が認められた（図 9 及び図 10）。投与 15 日目の絶食下における尿量及び UGLR は、摂餌下に比べて減少したが、ダパグリフロジン投与群では、UGLR の用量依存的な増加が認められた（図 10）。2.6.2.2.2.2 項に記載したとおり、ダパグリフロジンを単回経口投与した ZDF ラットの尿量及び UGLR は、絶食状態にある投与 6 時間以内に溶媒投与群に比して明らかな増加を示した。溶媒投与群とダパグリフロジン投与群との間にみられた UGLR と尿量の差は、摂餌下では 24 時間で消失した（報告書 930005327, Han et al 2008）。これは、高血糖症モデルの ZDF ラットでは、摂餌下では溶媒投与群とダパグリフロジン投与群との間にみられた UGLR と尿量の差の程度が、経時的に減少することを示している。ダパグリフロジンの薬理作用である UGLR の増加と尿量への影響は、摂餌下に比較して絶食下で顕著であった。

1 及び 10 mg/kg のダパグリフロジンを 15 日目に投与した後のダパグリフロジンの血漿中濃度は用量比例的であり、単回経口投与後の血漿中濃度との間に有意差は認められなかった（表 8 及び表 9）。1 mg/kg の用量で投与したときの AUC_{0-6h} の測定値を、0.01 及び 0.1 mg/kg の用量でダパグリフロジンを経口投与後の AUC_{0-6h} に外挿したとき、臨床的曝露量 AUC_{τ} のそれぞれ 0.03 倍

及び 0.3 倍に相当し、1 及び 10 mg/kg の用量でダパグリフロジンを経口投与後の AUC_{0-6h} は、臨床的曝露量 AUC_t のそれぞれ 2.9 倍及び 34 倍に相当する。なお、最終投与の 24 時間後に、10 mg/kg 投与群の 1/6 匹に死亡が確認された。死亡の原因に関する調査は行わなかった（報告書 930005329）。

以上の結果から、ZDF ラットにダパグリフロジン（0.01～10 mg/kg）を 1 日 1 回 15 日間反復経口投与したとき、投与 15 日目の絶食下の UGLR は用量依存的な増加を示し、投与 8 日目（絶食下）及び投与 14 日目（摂餌下）の血漿中グルコース濃度は用量依存的な低下を示した。

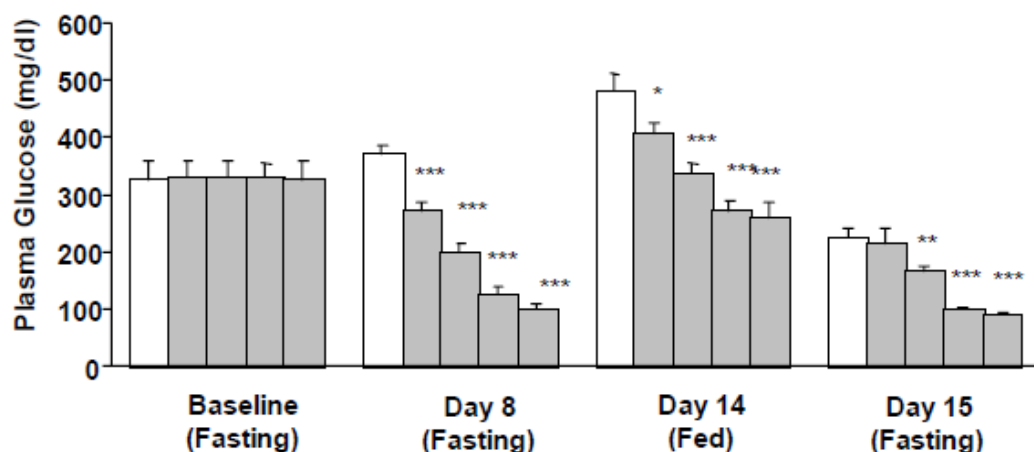


図 8 ZDF ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回 15 日間反復経口投与したときの絶食下及び摂餌下の血漿中グルコース濃度

上図で白色棒グラフは溶媒投与群、灰色棒グラフはダパグリフロジン投与群を示す。ダパグリフロジンの投与量は、左から右へそれぞれ 0.01、0.1、1.0 及び 10 mg/kg であった。投与前及び投与 8 日目の反応は、18 時間絶食後に測定し、投与 15 日目の反応は 24 時間絶食後に測定した。全ての血漿中グルコース濃度はその前の投与から 24 時間後に測定した。

平均値±標準誤差 (n=6) 。* : $P < 0.05$ 、** : $P < 0.01$ 、*** : $P < 0.001$ （分散分析を実施し、Fisher's LSD 法により比較した。溶媒投与群との比較）。引用元：報告書 930005329。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

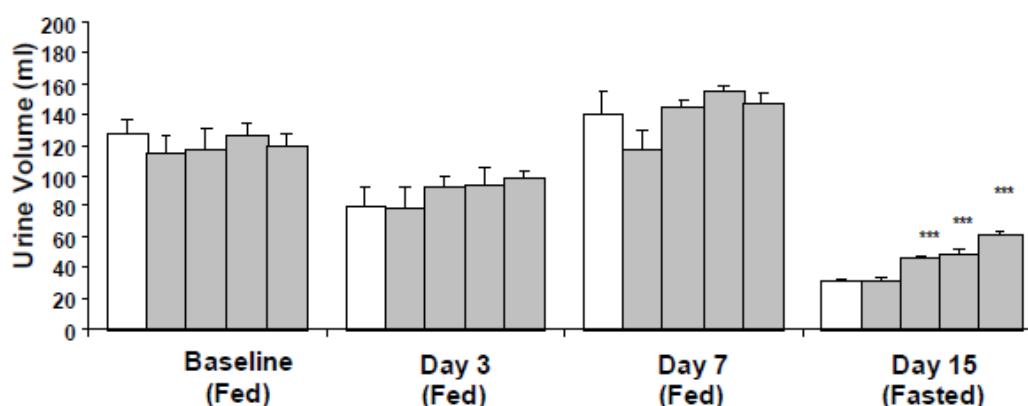


図 9 ダパグリフロジンを 1 日 1 回 15 日間反復経口投与した ZDF ラットにおける 24 時間尿量の変化

溶媒投与群及びダパグリフロジン投与群の結果は、各々白色及び灰色棒グラフで示した。ダパグリフロジンの投与量は、棒グラフの左から右へ 0.01、0.1、1.0 及び 10 mg/kg であった。投与開始前、試験 3 日目及び 7 日目の結果は、摂餌下での測定であり、試験 15 日目の結果は 24 時間絶食下での測定であった。平均値±標準誤差 (n=6)。***: $P < 0.001$ (分散分析を実施し、Fisher's LSD 法により比較した。溶媒投与群との比較)。引用元：報告書 930005329。

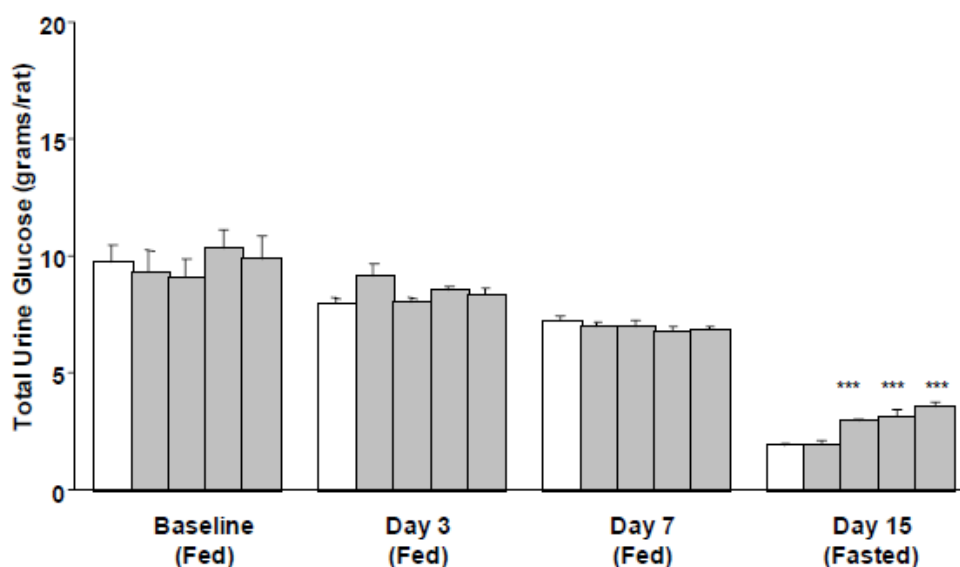


図 10 ダパグリフロジンを 1 日 1 回 15 日間反復経口投与した ZDF ラットにおける 24 時間 UGLR の変化

溶媒投与群及びダパグリフロジン投与群の結果は、各々白色及び灰色棒グラフで示した。ダパグリフロジンの投与量は、棒グラフの左から右へ 0.01、0.1、1.0 及び 10 mg/kg であった。投与開始前、試験 3 日目及び 7 日目の結果は、摂餌下での測定であり、試験 15 日目の結果は 24 時間絶食下での測定であった。平均値±標準誤差 (n=6)。***: $P < 0.001$ (分散分析を実施し、Fisher's LSD 法により比較した。溶媒投与群との比較)。引用元：報告書 930005329。

表 9 ZDF ラットにダパグリフロジン 1 及び 10 mg/kg を 1 日 1 回 15 日間反復経口投与後のダパグリフロジンの血漿中曝露量

投与量 ^a (mg/kg)	平均 AUC _{0-6h}		臨床的曝露量 AUC _t に対する 割合 ^b	C _{max}		臨床的曝露量 C _{max} に対する 割合 ^b	T _{max} (投与後時間)
	実測値 (nmol・h/L)	換算値 (ng・h/mL)		実測値 (nmol/L)	換算値 (ng/mL)		
1	5218±1253	2134±512	2.9	1725±213	706±87	3.7	2±0
10	60148±12660	24601±5178	34	16033±5474	6557±2239	34	2±1

平均値±標準偏差 (n=6)。a) 投与量 0、0.01 及び 0.1 mg/kg ではダパグリフロジン血漿中濃度は検出限度 150 nmol/L 以下であった。b) 臨床的曝露量 AUC_t及び C_{max} は各々 727 ng・h/mL 及び 191 ng/mL であった (MB102025 試験)。引用元：報告書 930005329。

2.6.2.2.2.4 クランプ試験

グルコースクランプ法は DeFronzo らが 1979 年に詳細を発表した方法 (DeFronzo et al 1979) で、2 種類あり、主にインスリン分泌を観察する高血糖クランプ法 (血糖値を固定) 及び、主にインスリン作用を観察する高インスリン正常血糖クランプ法 (インスリン値と血糖値を固定) がある。本項では、高インスリン正常血糖クランプ法を用いてグルコース処理能、並びに、高血糖クランプ法を用いて膵β細胞機能及び形態に対するダパグリフロジンの作用を評価した。

2.6.2.2.2.4.1 高インスリン正常血糖クランプ法によるグルコース処理能に対するダパグリフロジンの作用の評価

報告書 930005312

[目的]

高インスリン正常血糖クランプ法を用いて、ZDF ラットに反復経口投与後のダパグリフロジンのグルコース処理能に対する作用を評価した (報告書 930005312, Han et al 2008)。

[方法]

ZDF/Gmi-fa/fa 糖尿病モデルラット (雄性、6 匹/群、15 週齢、平均体重 397 g) に、溶媒 (5% NMP、20% PEG400 及び 75% 20 mmol/L ニリン酸ナトリウム) 又はダパグリフロジン (0.5 mg/kg) を 1 日 1 回 15 日間反復経口投与した。最終投与日に絶食下で採血し、絶食下血漿中グルコース濃度 (FPG) の測定に供した。被験薬が完全にウォッシュアウトされた最終投与 48 時間後に 120 分間の高インスリン正常血糖クランプ法を実施した。

クランプ試験の基礎ステージ：インスリン静注 (試験 0 分) の 60 分前に ³H 標識 D-グルコース (6 µCi) を初期注入 (227 µL/min、1.5 分間)、続いて 0.09 µCi/min (5.6 µL/min) でクランプ試験終了時まで 180 分間持続注入した。³H 標識 D-グルコース注入の開始から 40、50 及び 60 分後 (インスリン静注の 20、10 及び 0 分前) に採血し、血漿中 ³H 標識 D-グルコース特異活性及び血漿中グルコース濃度を測定し、グルコース消失率 (mg/kg/min) (R_d) を算出した。R_d は、³H 標識 D-グルコース注入率を血漿中グルコース濃度中の ³H 標識 D-グルコース特異活性で除して算出した。また、インスリン静注の直前に代謝ケージで採取した尿検体の尿中グルコース濃度及び尿量を測定した。

クランプ試験のインスリン注入ステージ：試験 0 分にインスリンを 30 µL/min で 10 分間初期注入

を開始した後、15.5 $\mu\text{L}/\text{min}$ (20 $\text{mU}/\text{kg}/\text{min}$) でクランプ試験終了時まで持続注入した。試験 10、20 及び 30 分、並びに 30 分以降は 5 分毎に採血して、血漿中グルコース濃度を測定した。インスリン注入 10 分後に血漿中グルコース濃度が 120 mg/dL になるように非標識 10%グルコースの注入を開始し、正常血糖値を維持するように注入速度を調節した。試験 40 及び 90 分に採血して血漿中インスリン濃度を測定した。また、試験 70、80 及び 90 分に採血し、血漿中 ^3H 標識 D-グルコース特異活性を測定した。基礎ステージと同様に、試験 90 分に採尿して尿量を測定し、尿中グルコース濃度を測定した。

試験 90 分に採血後、 ^{14}C 標識グルコースの組織への取込みを検討するため ^{14}C 標識グルコース (20 μCi) を動脈経路にボラス投与した。その直後、5、10、15、20 及び 30 分後に採血し、血漿中 ^{14}C 標識グルコース特異活性を測定した。最終の採血を行った後、腓腹筋及びヒラメ筋、精巢上体脂肪体、並びに肝臓を速やかに摘出し、骨格筋、脂肪組織及び肝臓の組織内グルコース取込み率を評価した。

各測定値は、以下の計算式により算出した。

尿中グルコース排泄量 [UGLR] ($\text{mg}/\text{kg}/\text{min}$) = 尿中グルコース濃度 ($\text{mg}/100\text{ mL}$) $\times$ 尿量 ($\text{mL}/60\text{ 分}$) $\div$ 体重 (kg)

全身グルコース利用率 [GUR] ($\text{mg}/\text{kg}/\text{min}$) = グルコース消失率 [R_d] - UGLR

非標識グルコース注入速度 [GIR] ($\text{mg}/\text{kg}/\text{min}$) = ポンプ注入速度 (mL/min) $\times$ グルコース濃度 (100 mg/mL) $\div$ 体重 (kg)

肝グルコース産生率 (内因性グルコース産生率) [HGPR] ($\text{mg}/\text{kg}/\text{min}$) = R_d - GIR

統計解析には Student's t 検定を使用した。

[結果及び結論]

ZDF ラットにダパグリフロジン 0.5 mg/kg を 1 日 1 回 15 日間反復経口投与したとき、明らかな血糖降下作用を示し、ダパグリフロジン投与群における絶食下の血漿中グルコース濃度は 138 mg/dL であり、溶媒投与群 (295 mg/dL) に比較して有意な低下を示した ($p<0.005$) (表 10)。本試験ではダパグリフロジンの血漿中濃度を測定しなかったが、ラットにおけるダパグリフロジンの消失半減期が 4.6 ± 0.8 時間であること (薬物動態試験の概要文 2.6.4.3.2.1 項参照)、及び、ダパグリフロジン 1 mg/kg を投与後 48 時間以降の UGLR は有意に増加しないという既述の試験結果 (2.6.2.2.1.3 項参照) から、ダパグリフロジン最終投与 48 時間後の血漿中ダパグリフロジン濃度は、薬力学的活性を示すレベルよりも低いと推測された。クランプ法のインスリン注入期に、正常血糖を維持するための GIR は、ダパグリフロジン投与群で溶媒投与群と比較して有意に上昇した (131%, $p<0.01$) (表 10)。また、GUR 及び HGPR は、ダパグリフロジン投与群で溶媒投与群と比較して、それぞれ有意に上昇及び低下した (共に $p<0.005$) (表 10)。さらに、組織内グルコース取込み率は、肝臓ではダパグリフロジン投与群で溶媒投与群と比較して有意に上昇したが ($p<0.005$, Han et al 2008)、骨格筋及び脂肪組織では影響は認められなかった。

以上の結果から、ダパグリフロジンを 15 日間反復経口投与することで、グルコース再吸収の抑制により速やかな血漿中グルコース濃度の低下作用がみられ、これに関連して糖尿病ラットの肝インスリン感受性も改善されることが示唆された。肝インスリン感受性改善の正確な機序は明らかではないが、肝臓への影響は、本試験で血漿中グルコース濃度の低下により達成された代謝改善によるものと考えられる (Rossetti et al 1990)。また、ダパグリフロジン投与群の骨格筋及び脂肪組織へのグルコース取込みは溶媒投与群に比して増加を示さず (Han et al 2008)、ダパグリフロジンは、本試験条件下で、骨格筋及び脂肪組織へのインスリンを介するグルコース取込みには明らかな影響を及ぼさないことが示唆された。

本試験で、溶媒投与群に比較して、ダパグリフロジン投与群における FPG は低く、基礎ステージの UGLR は減少を示したことから（それぞれ $p<0.005$ 及び $p<0.05$ ）、ダパグリフロジンによる血漿中グルコース濃度の低下作用はダパグリフロジン投与終了後も維持されていたため、UGLR が減少したと考えられる。

表 10 ZDF ラットにおいて高インスリン正常血糖クランプ法により評価したダパグリフロジンのグルコース処理能に対する作用

被験薬	15 日目	基礎ステージ			インスリン注入ステージ				
	FPG (mg/dL)	血漿中グル コース濃度 (mg/dL)	UGLR (mg/kg/ min)	GUR (mg/kg/ min)	血漿中グル コース濃度 (mg/dL)	UGLR (mg/kg/ min)	GIR (mg/kg/ min)	GUR (mg/kg/ min)	HGPR (mg/kg/ min)
溶媒	295.2± 19.5	402± 30	0.35± 0.15	3.3± 0.3	122.8± 0.4	0.1± 0.05	2.6± 0.4	5.3± 0.15	3.0± 0.32
ダパグリ フロジン	138.2± 7.4 ‡	307± 19	0.014± 0.01*	3.9± 0.27	121.7± 0.6	0.02± 0.01	6.0± 0.6†	6.6± 0.32‡	0.7± 0.4‡

平均値±標準誤差（n=6）。*： $P<0.05$ 、†： $P<0.01$ 、‡： $P<0.005$ （Student's t 検定、溶媒投与群との比較）。

FPG：空腹時血漿中グルコース濃度、GIR：グルコース注入速度、GUR：全身グルコース利用率、HGPR：内因性グルコース産生率、UGLR：尿中グルコース排泄量。引用元：Han et al 2008。

2.6.2.2.2.4.2 高血糖クランプ法による膵 β 細胞の機能及び形態に対するダパグリフロジンの作用（予防作用）

報告書 930044494

[目的]

90%膵臓切除により高血糖にしたラットに非選択的 SGLT2 阻害薬 phlorizin を投与したとき、血中グルコース濃度が低下するだけでなく、グルコース負荷後の初期及び後期のインスリン分泌も改善することが示されている（Rossetti et al 1987a, Rossetti et al 1987b）。そのため、メタボリックシンドローム動物モデルを用いて、予防作用を検討する試験デザインで、膵機能及び膵島形態に対するダパグリフロジンの保護作用について検討した。

[方法]

肥満 ZDF (fa/fa) ラット（雌性、14 匹/群、7 週齢、体重 166～169 g）に高脂肪食を負荷し、高脂肪食の負荷を開始した日から 34 日間、溶媒（蒸留水）又はダパグリフロジン（1 mg/kg/日）を反復経口投与した。また、非肥満 ZDF (fa/+) ラット（雌性、14 匹/群、7 週齢、平均体重 116 g）に溶媒を標準食給餌開始日から 1 日 1 回 34 日間反復経口投与した。投与開始 24 日後に採血を行い、血中グルコース濃度及びヘモグロビン A1c (HbA1c) 値の測定に供した。24 日後の血中グルコース濃度に基づいて、高血糖クランプ試験の投与群と、膵機能及び膵島形態を評価する投与群に割付けた。

ダパグリフロジン最終投与から 48 時間後に麻酔動物で高血糖クランプ法を用いてインスリン感受性及び膵機能を評価した。定常状態における GIR を血漿中インスリン濃度で除した値をインスリン感受性指標 (M/I index) と定義した。また、インスリン抵抗性に対する膵 β 細胞の代償能を明らかにするため、disposition index (DI) を用いて膵 β 細胞機能を定量化した（Kahn et al 1993）。DI は、血漿中 C-ペプチド濃度と M/I index の積として定義した。

ダパグリフロジン最終投与から 48 時間後（一晚絶食後）、膵島形態及び膵 β 細胞の割合を評価するため、ラットを安楽死させた。安楽死の直前に採血を行い、血漿中インスリン濃度及び血漿中トリグリセリド（TG）濃度の測定に供した。摘出した膵臓を固定し、組織病理学的及び免疫組織化学的方法を用いて β 細胞の割合及び膵島形態を評価した。膵島形態は、同一膵切片内における β 細胞面積を β 細胞クラスター数で除した値を指標として評価した。

統計解析は、分散分析により対比較をした。

[結果及び結論]

肥満ラットの溶媒投与群及びダパグリフロジン投与群における投与開始前の血中グルコース濃度は、それぞれ 6.01 ± 0.23 mmol/L (108 ± 4 mg/dL) 及び 5.99 ± 0.28 mmol/L (108 ± 5 mg/dL) であり、非肥満溶媒投与群の血中グルコース濃度は 5.44 ± 0.12 mmol/L (98 ± 2 mg/dL) であった。ダパグリフロジンは高血糖の進展を抑制し、投与開始 24 日後の血中グルコース濃度は、ダパグリフロジン投与群及び肥満溶媒投与群で、それぞれ 8.6 ± 0.5 mmol/L (155 ± 9 mg/dL) ($p \leq 0.05$) 及び 13.4 ± 1.3 mmol/L (241 ± 23 mg/dL) であった。HbA1c 値も低下し、ダパグリフロジン投与群及び肥満溶媒投与群で、それぞれ $3.6 \pm 0.1\%$ ($p \leq 0.05$) 及び $4.8 \pm 0.3\%$ であった。また、インスリン感受性指標 M/I index ($\mu\text{mol/kg/min/pmol/L}$) は、肥満溶媒投与群 (0.02 ± 0.00) では非肥満溶媒投与群 (0.23 ± 0.04) と比較して有意に低下し、ダパグリフロジン投与群 (0.08 ± 0.02 , $p \leq 0.01$) で肥満溶媒投与群に比較して有意に上昇した (図 12)。同様に、膵 β 細胞機能指標 DI も、肥満溶媒投与群 (0.15 ± 0.01) では非肥満溶媒投与群 (0.28 ± 0.01) と比較して有意に低下し、ダパグリフロジン投与群 (0.29 ± 0.04 , $p \leq 0.05$) で肥満溶媒投与群に比較して有意に上昇した (図 11)。さらに、最終投与 48 時間後に膵臓切片を作製した結果、膵 β 細胞面積の割合は、肥満溶媒投与群に比較して、ダパグリフロジン投与による影響は認められなかったが、膵島形態は有意に改善し ($p \leq 0.05$)、インスリン染色陽性 β 細胞（明るく染色された島細胞）数は有意に増加した ($p \leq 0.01$) (図 12 及び表 11)。

以上の結果から、ダパグリフロジン投与後の血糖コントロールの改善により、膵島形態及び膵機能の喪失をもたらす基礎的障害から膵組織が保護されることが示唆された。

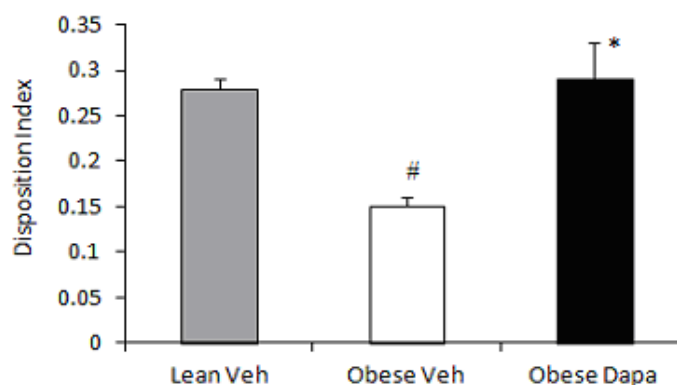


図 11 高脂肪食負荷 ZDF ラットにダパグリフロジン 1 mg/kg を 1 日 1 回 34 日間反復投与後の膵機能 (disposition index) に対する作用 (予防作用)

平均値 $\pm$ 標準誤差 (n=4~6)。Lean Veh：非肥満溶媒投与、Obese Veh：肥満溶媒投与、Obese Dapa：肥満ダパグリフロジン投与。*： $P \leq 0.05$ (分散分析により対比較をした。Obese Veh との比較)、#： $P \leq 0.001$ (分散分析により対比較をした。Lean Veh との比較)。引用元：報告書 930044494。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

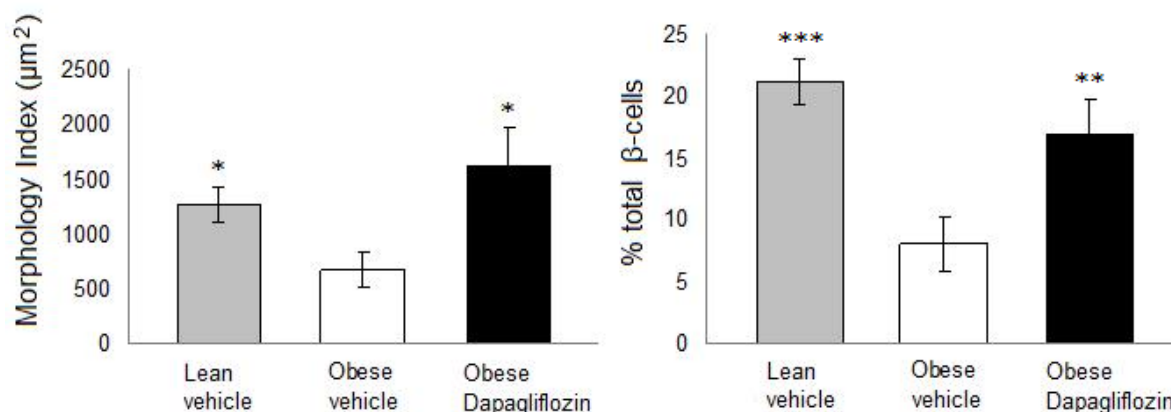


図 12 高脂肪食負荷 ZDF ラットにダパグリフロジン 1 mg/kg を 1 日 1 回 34 日間反復経口投与後の膵島形態に対する作用（予防作用）

平均値±標準誤差（n=7～8）。Lean vehicle：非肥満溶媒投与、Obese vehicle：肥満溶媒投与、Obese Dapagliflozin：肥満ダパグリフロジン投与。*：P≤0.05、**：P≤0.01、***：P≤0.001（分散分析により対比較をした。いずれも Obese vehicle との比較）。引用元：報告書 930044494。

表 11 高脂肪食負荷 ZDF ラットにダパグリフロジン 1 mg/kg を 1 日 1 回 34 日間反復経口投与後の膵島形態及び膵 β 細胞に対する作用（予防作用）

投与群	n	血漿中インスリン濃度 (pmol/L)	血漿中 TG 濃度 (mmol/L)	β 細胞面積 (%) ²⁾	β 細胞数 (%) ³⁾	染色陽性 β 細胞 (%) ⁴⁾	β 細胞の 大きさ（ピクセル）	膵島 形態 (μm ²)
非肥満 溶媒 ¹⁾	7	46± 9 ^c	0.75± 0.05 ^c	0.49± 0.08	0.69± 0.12	21.36± 1.87 ^c	194.8± 18.7	1239± 56 ^a
肥満 溶媒	8	1114± 144	10.79± 1.18	1.02± 0.34	1.15± 0.36	7.90± 1.85	222.0± 15.6	687± 66
肥満ダパグリ フロジン	7	488± 88 ^b	7.06± 0.23 ^b	1.18± 0.17	1.49± 0.18	17.17± 2.88 ^b	210.6± 14.2	1576± 126 ^a

平均値±標準誤差。a：P≤0.05、b：P≤0.01、c：P≤0.001（分散分析により対比較をした。肥満溶媒投与群との比較）。1) 高脂肪食は肥満ラット群に負荷したが、非肥満ラット群には負荷しなかった。2) 膵臓一定面積に対する割合（%）。3) 膵細胞総数に対する割合（%）。4) 全 β 細胞に対する割合（%）。引用元：報告書 930044494。

2.6.2.2.2.4.3 高血糖クランプ法による膵 β 細胞の機能及び形態に対するダパグリフロジンの作用（介入試験）

報告書 930044498

[目的]

高脂肪食負荷雌性 ZDF ラットで、高脂肪食を負荷した 10～19 日の期間、膵機能及び血糖コントロールの喪失に対する回復能が消失することが認められている（Teague et al 2011）。本項では、

既に中等度の高血糖を発症しているラットにおいて、膵β細胞の機能及び形態に対するダパグリフロジンの保護作用について検討した。

〔方法〕

肥満 ZDF (fa/fa) ラット（雌性、7 週齢、14 匹/群、平均体重 242 g）に、溶媒（蒸留水）又はダパグリフロジン（1 mg/kg）を高脂肪食の負荷開始 10 日後から 1 日 1 回 34 日間反復経口投与した。一方、非肥満 ZDF (fa/+) ラット（雌性、7 週齢、14 匹/群、平均体重 148 g）には、標準食の給餌開始 10 日後から 1 日 1 回 34 日間溶媒（蒸留水）を反復経口投与した。投与開始 24 日後に採血を行い、血中グルコース濃度及び HbA1c 値の測定に供した。投与 24 日後の血中グルコース濃度に基づいて、高血糖クランプ試験の投与群と、膵機能及び膵島形態を評価する投与群に割付けた。以下、2.6.2.2.4.2 項と同様の方法で膵β細胞の機能及び膵島形態を評価した。

〔結果及び結論〕

ダパグリフロジン投与開始時、肥満ラットの溶媒投与群及びダパグリフロジン投与群の血中グルコース濃度はそれぞれ 7.49 ± 0.37 mmol/L（ 135 ± 7 mg/dL）及び 7.38 ± 0.39 mmol/L（ 133 ± 7 mg/dL）であり、非肥満溶媒投与群の血中グルコース濃度は 5.62 ± 0.11 mmol/L（ 101 ± 2 mg/dL）であった。ダパグリフロジンの投与により高血糖の進展は抑制され、ダパグリフロジン投与開始から 24 日後の血中グルコース濃度は、ダパグリフロジン投与群及び肥満溶媒投与群で、それぞれ 8.29 ± 0.47 mmol/L（ 149 ± 8 mg/dL）（ $p \leq 0.01$ 、肥満溶媒投与群との比較）及び 13.43 ± 1.55 mmol/L（ 242 ± 28 mg/dL）であった。HbA1c 値は、ダパグリフロジン投与群及び肥満溶媒投与群で、それぞれ $4.0 \pm 0.1\%$ （ $p \leq 0.001$ 、肥満溶媒投与群との比較）及び $5.1 \pm 0.2\%$ であった。また、M/I index（ $\mu\text{mol/kg/min/pmol/L}$ ）は、肥満溶媒投与群（ 0.02 ± 0.01 ）で非肥満溶媒投与群（ 0.26 ± 0.06 ）に比較して有意に低下し、ダパグリフロジン投与群（ 0.05 ± 0.01 、 $p \leq 0.05$ ）で肥満溶媒投与群と比較して有意に上昇した（図 14）。DI も同様に、肥満溶媒投与群（ 0.18 ± 0.04 ）で非肥満溶媒投与群（ 0.45 ± 0.05 ）に比較して有意に低下し、ダパグリフロジン投与群（ 0.33 ± 0.04 、 $p \leq 0.05$ ）で肥満溶媒投与群と比較して有意に上昇した（図 13）。さらに、最終投与 48 時間後に膵臓切片を作製した結果、前項で観察されたように（2.6.2.2.4.2 項参照）、β細胞面積の割合は、肥満溶媒投与群に比較してダパグリフロジン投与による影響は認められなかったが、膵島形態は有意に改善し（ $p \leq 0.05$ ）、インスリン染色陽性β細胞数は有意に増加した（ $p \leq 0.01$ ）（表 12 及び図 14）。

以上の結果から、既に中等度の高血糖が発症している場合でも、ダパグリフロジン投与により血糖コントロールは改善され、膵島形態及び膵機能の喪失をもたらす基礎的障害から膵組織を保護できることが示唆された。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

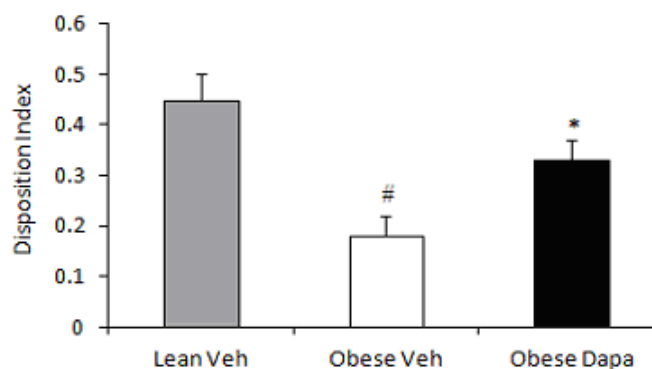


図 13 高脂肪食負荷 ZDF ラットにダパグリフロジン 1 mg/kg を 1 日 1 回 34 日間反復経口投与後の膵機能に対する作用（介入試験）

平均値±標準誤差（n=6）。Lean Veh：非肥満溶媒投与、Obese Veh：肥満溶媒投与、Obese Dapa：肥満ダパグリフロジン投与。*：P≤0.05、#：P≤0.01（分散分析により対比較をした。それぞれ Obese Veh 及び Lean Veh との比較）。引用元：報告書 930044498。

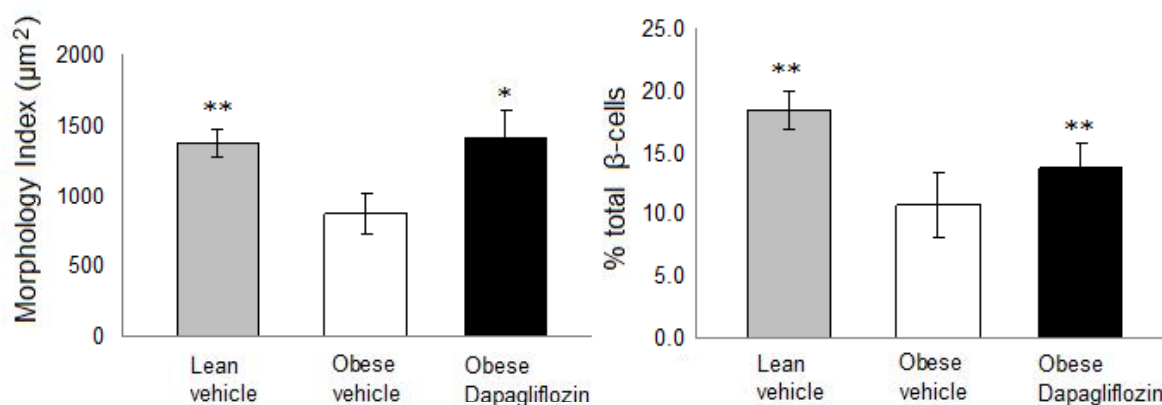


図 14 高脂肪食負荷 ZDF ラットにダパグリフロジン 1 mg/kg を 1 日 1 回 34 日間反復経口投与後の膵島形態に対する作用（介入試験）

平均値±標準誤差（n=7~8）。Lean vehicle：非肥満溶媒投与、Obese vehicle：肥満溶媒投与、Obese Dapagliflozin：肥満ダパグリフロジン投与。*：P≤0.05、**：P≤0.01（分散分析により対比較をした。いずれも Obese vehicle との比較）。引用元：報告書 930044498。

表 12 高脂肪食負荷 ZDF ラットにダパグリフロジン 1 mg/kg を 1 日 1 回 34 日間反復経口投与後の膵島形態及び膵 β 細胞に対する作用（介入試験）

投与群	n	血漿中インスリン濃度 (pmol/L)	血漿中 TG 濃度 (mmol/L)	β 細胞面積 (%) ²⁾	β 細胞数 (%) ³⁾	染色陽性 β 細胞 (%) ⁴⁾	β 細胞の 大きさ (ピクセル)	膵島 形態 (μm^2)
非肥満 溶媒 ¹⁾	8	141± 62 ^c	0.86± 0.14 ^c	0.44± 0.03 ^b	0.59± 0.03 ^a	18.93± 1.56 ^b	213.1± 14.0	1375± 34 ^b
肥満 溶媒	8	1907± 384	11.28± 1.0	1.03± 0.18	1.23± 0.25	9.81± 2.59	211.3± 9.9	825± 49
肥満ダパグリフロジン	7	828± 146 ^a	7.86± 0.8 ^b	1.17± 0.15	1.47± 0.22	14.53± 2.06 ^b	231.6± 21.2	1410± 72 ^a

平均値±標準誤差。a : $P \leq 0.05$ 、b : $P \leq 0.01$ 、c : $P \leq 0.001$ （分散分析により対比較をした。それぞれ肥満ダパグリフロジン投与群と肥満溶媒投与群、肥満ダパグリフロジン投与群と肥満溶媒投与群、及び、非肥満溶媒投与群と肥満溶媒投与群との比較）。1) 高脂肪食は肥満ラット群に負荷したが、非肥満ラット群に負荷しなかった。2) 膵臓総量に対する割合 (%)。3) 膵細一定面積に対する割合 (%)。4) 全 β 細胞に対する割合 (%)。引用元：報告書 930044498。

2.6.2.2.2.5 その他の反復投与試験

さらに 3 試験の反復投与試験を行い、糖尿病発症前ラットの高血糖症への進展に対するダパグリフロジンの予防作用、グルコース耐性及び高インスリン血状態におけるグルコース注入速度に対するダパグリフロジンの作用、並びに反復投与後に発現した血漿、肝及び膵の特異的生化学パラメータの変化を評価した。

2.6.2.2.2.5.1 高血糖症への進展及びグルコース耐性に対するダパグリフロジンの作用（OGTT）

報告書 930037783

〔目的〕

前糖尿病 ZDF ラットにダパグリフロジンを 5 週間反復経口投与したとき、高血糖症への進展及びグルコース耐性に対する作用を検討した。

〔方法〕

肥満（雄性、6 週齢、体重 162～166 g）又は同腹仔非肥満（雄性、6 週齢、平均体重 132 g）ZDF ラットを以下に示す 4 つの投与群に分け（5～8 匹/群）、溶媒（5% NMP、20% PEG400 及び 75% 20 mmol/L ニリン酸ナトリウム）、ダパグリフロジン 1 mg/kg 又はインスリン抵抗性改善薬である rosiglitazone ²⁾ 10 mg/kg を 1 日 1 回 5 週間反復経口投与した：1) 同腹仔非肥満ラット+溶媒（6 匹/群）、2) ZDF ラット+溶媒（8 匹/群）、3) ZDF ラット+ダパグリフロジン 1 mg/kg（8 匹/群）及び 4) ZDF ラット+ rosiglitazone 10 mg/kg（8 匹/群）。5 週間反復投与の最終投与後、一晚絶食させ、最終投与の 24 時間後に FPG 及び血漿中インスリン濃度を測定する採血を行った後、OGTT（2 g/kg）を実施した。その後 180 分まで経時的に採血してグルコース及びインスリンの血

2) Rosiglitazone は遊離型を使用し、用量は遊離型に基づく表記である。

漿中濃度を測定した。同一条件で投与した別の投与群（5 匹/群）で、HbA1c 値を測定して血糖コントロールの評価を行い、エコーMRI を用いて身体組成を評価した。

本試験及び以下に記載した試験では、rosiglitazone を陽性対照薬として使用し、血漿中グルコース濃度に及ぼす顕著な影響を確認できる投与量を設定した（Smith et al 2000）。統計解析は、一元配置の分散分析に基づいて Dunnett 又は Tukey-Kramer の検定を実施した。

〔結果及び結論〕

5 週間の反復経口投与後、ダパグリフロジン投与群と rosiglitazone 投与群のいずれでも肥満溶媒投与群に比較して FPG は有意に低かった（共に $p<0.01$ ）。また、両投与群とも、HbA1c 値は肥満溶媒投与群に比較して有意に低く（共に $p<0.001$ ）、その値は非肥満溶媒投与群で示された値と同程度であった（図 15）。

5 週間の投与終了時に実施した OGTT で、ダパグリフロジン投与群及び rosiglitazone 投与群で、180 分間の血漿中グルコース濃度-時間曲線下面積（ $\Delta AUC_{\text{Glucose}}$ (mg・min/dL)）に肥満溶媒投与群に比較して有意な減少が認められた（共に $p<0.001$ ）。一方、ダパグリフロジン投与群の $\Delta AUC_{\text{Glucose}}$ は非肥満溶媒投与群に比較して有意な差を示さなかった（図 16）。また、ダパグリフロジン投与群における OGTT 実施前の絶食下血漿中インスリン濃度は、rosiglitazone 投与群に比較して有意に低く（ $p<0.05$ ）、肥満溶媒投与群と同程度であった。しかし、グルコース負荷から 30 分間の血漿中インスリン濃度の変化量（ $\Delta \text{Plasma Insulin}$ (ng/mL)）は、ダパグリフロジン投与群で、肥満溶媒投与群及び rosiglitazone 投与群に比較して有意に上昇した（それぞれ $p<0.001$ 及び $p<0.05$ 、図 17）。肥満溶媒投与群に比較して、ダパグリフロジン投与群では体重及び脂肪量に変化は認められなかったが、rosiglitazone 投与群では体重及び脂肪量の増加が認められた（共に $p<0.001$ ）。

以上の結果から、前糖尿病 ZDF ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回 5 週間反復経口投与したとき、体重及び脂肪量に変化を及ぼさずに高血糖症への進展が抑制されることが示唆された。

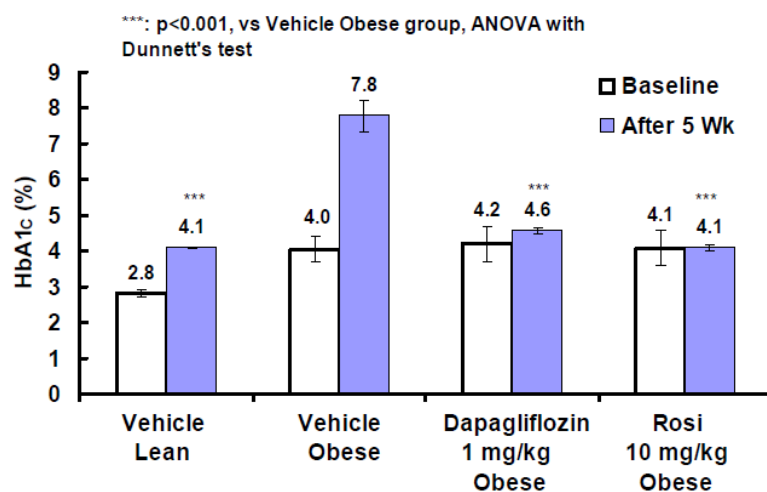


図 15 ZDF ラットにダパグリフロジン 1 mg/kg を 5 週間反復経口投与後の HbA1c 値に対する作用

平均値±標準誤差 (n=5)。Vehicle Lean：非肥満溶媒投与、Vehicle Obese：肥満溶媒投与、Rosi：rosiglitazone。

***： $P<0.001$ （分散分析に基づく Dunnett の検定、肥満溶媒投与群との比較）。引用元：報告書 930037783。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

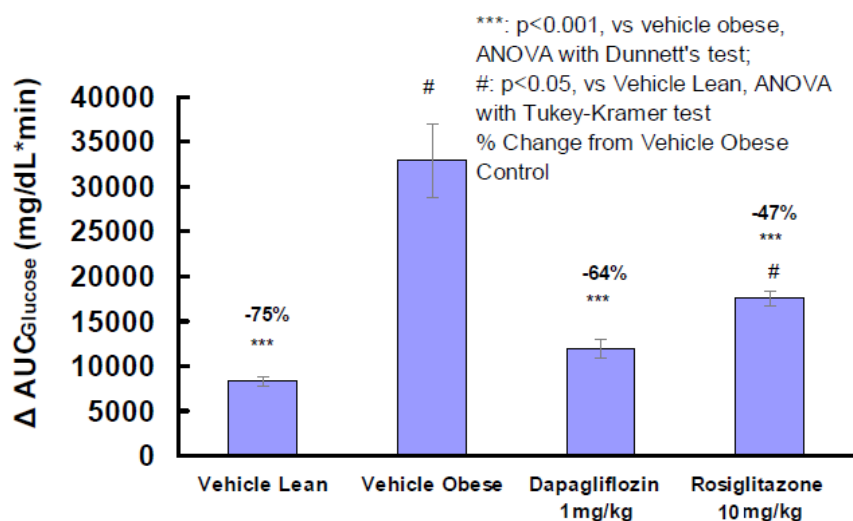


図 16 ダパグリフロジン 1 mg/kg を 5 週間反復経口投与後に OGTT を実施した ZDF ラットにおける血漿中グルコース濃度の変化量

平均値±標準誤差 (n=6~8)。Vehicle Lean：非肥満溶媒投与、Vehicle Obese：肥満溶媒投与。***： $P < 0.001$ （分散分析に基づく Dunnett の検定、肥満溶媒投与群との比較）、#： $P < 0.05$ （分散分析に基づく Tukey-Kramer の検定、非肥満溶媒投与群との比較）。変化率（%）は肥満溶媒投与群との比較。引用元：報告書 930037783。

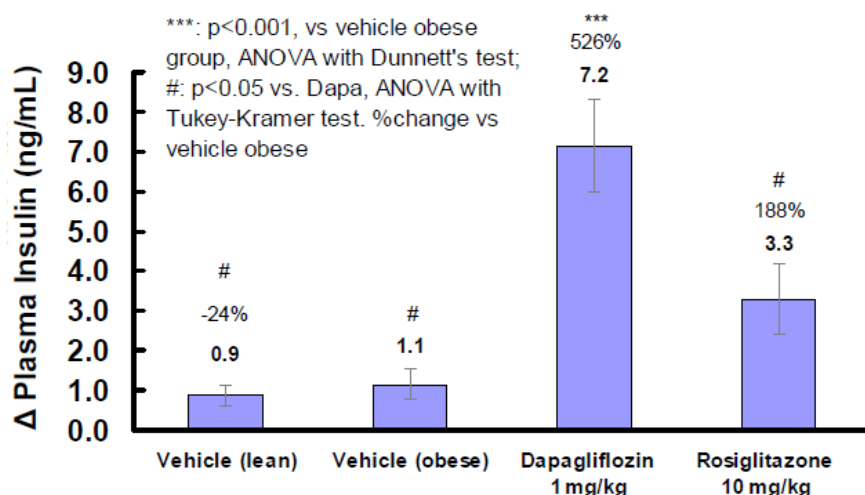


図 17 ダパグリフロジン 1 mg/kg を 5 週間反復経口投与後に OGTT を実施した ZDF ラットにおける血漿中インスリン濃度の変化量

平均値±標準誤差 (n=6~8)。Vehicle (lean)：非肥満溶媒投与、Vehicle (obese)：肥満溶媒投与。***： $P < 0.001$ （分散分析に基づく Dunnett の検定、肥満溶媒投与群との比較）、#： $P < 0.05$ （分散分析に基づく Tukey-Kramer の検定、ダパグリフロジン投与群との比較）。変化率（%）は肥満溶媒投与群との比較。引用元：報告書 930037783。

2.6.2.2.5.2 高血糖症への進展及びグルコース耐性に対するダパグリフロジンの作用（高インスリン正常血糖クランプ法）

報告書 930041958

〔目的〕

前項（2.6.2.2.5.1 項参照）と同様、前糖尿病 ZDF ラットで、ダパグリフロジン 5 週間反復経口投与による高血糖症への進展及びグルコース耐性に対する作用を検討した。本項では、高インスリン正常血糖クランプ法を用いて ZDF ラットでインスリン注入に対する GIR を測定し、ダパグリフロジンの反復経口投与による影響を評価した。

〔方法〕

肥満（雄性、6～7 週齢、体重 192～211 g）又は同腹仔非肥満（雄性、6～7 週齢、平均体重 156 g）ZDF ラットを一晩絶食させた後、グルコメーターで FPG を測定した。FPG 及び体重により、1) 非肥満溶媒投与群（7 匹/群）、2) 肥満溶媒投与群（10 匹/群）、3) ダパグリフロジン 1 mg/kg 投与群（9 匹/群）又は 4) rosiglitazone²⁾ 10 mg/kg 投与群（7 匹/群）の 4 群に割り当て、溶媒又は被験薬を 1 日 1 回 5 週間反復経口投与した。溶媒は 5% NMP、20% PEG400 及び 75% 20 mmol/L ニリン酸ナトリウムを用いた。5 週間反復投与の最終投与の 24 時間後（一晩絶食後）に FPG を測定した後、90 分間の高インスリン正常血糖クランプ試験を実施した。

クランプ試験の基礎ステージで、インスリン注入開始前に採血し、血漿中グルコース濃度を測定した。また、60 分間蓄尿を行った。インスリン注入開始時に採尿を行い、尿中グルコース濃度の測定に供し、UGLR を算出した。インスリン注入ステージで、試験 0 分に 30 μ L/min の注入速度でインスリンの 10 分間初期注入を行い、その後、15.5 μ L/min（20 mU/kg/min）の注入速度でクランプ試験終了時（試験 90 分）までインスリンの持続注入を行った。5 分間隔で血漿中グルコース濃度をモニターした。インスリン注入開始 10 分後、20%グルコース注入を開始し、血漿中グルコース濃度を 130 mg/dL に設定した（実際には約 133 mg/dL で維持した）。なお、GIR は連続的に測定した血漿中グルコース濃度に基づいて正常血糖を維持するように調節した。

統計解析は、一元配置の分散分析に基づいて Dunnett の検定を実施した。

〔結果及び結論〕

5 週間の反復経口投与後、非肥満溶媒投与群及び肥満溶媒投与群における FPG は、それぞれ 84 ± 3 mg/dL 及び 169 ± 10 mg/dL であった。ダパグリフロジン投与群の FPG（ 73 ± 4 mg/dL、 $p < 0.001$ ）は、肥満溶媒投与群に比較して有意に低下した。Rosiglitazone 投与群の FPG（ 101 ± 4 mg/dL、 $p < 0.001$ ）も、肥満溶媒投与群に比べて有意に低かった。目標とする正常血糖値 130 mg/dL を達成するために必要な GIR は、ダパグリフロジン投与群（ 28 ± 1 mg/kg/min、 $p < 0.001$ ）で肥満溶媒投与群（ 21 ± 2 mg/kg/min）に比較して有意に上昇した。非肥満溶媒投与群及び rosiglitazone 投与群の GIR は、それぞれ 50 ± 3 及び 30 ± 1 mg/kg/min であった。

クランプ試験の基礎ステージで、非肥満溶媒投与群及び rosiglitazone 投与群の UGLR は少量で、それぞれ 0.01 ± 0.001 mg/kg/min 及び 0.02 ± 0.02 mg/kg/min であった。ダパグリフロジン投与群の UGLR（ 0.6 ± 0.2 mg/kg/min、 $p < 0.05$ ）は、肥満溶媒投与群の UGLR（ 0.09 ± 0.04 mg/kg/min）に比較して有意に多かった。本試験で血漿中ダパグリフロジン濃度を測定していないが、これらの結果から、最終投与から 24 時間後の時点でも、血漿中ダパグリフロジン濃度は尿中グルコース排泄を促進するに十分な濃度であったと考えられる。インスリン注入ステージでは、基礎ステージと同様に、非肥満溶媒投与群の UGLR（ 0.06 ± 0.003 mg/kg/min）は全ての肥満ラット群よりも少なく、

ダパグリフロジン投与群の UGLR (1.0 ± 0.2 mg/kg/min、 $p < 0.001$) は、肥満溶媒投与群の UGLR (0.1 ± 0.01 mg/kg/min) に比較して有意に多かった。

以上の結果、高インスリン正常血糖クランプ試験で、ダパグリフロジン投与群の尿中グルコース濃度が上昇していたことから、ダパグリフロジンの SGLT2 に対する阻害作用は、5 週間反復投与の最終投与から 24 時間後でも持続していることが示唆された。また、ダパグリフロジン投与群で認められた GIR 上昇は、少なくとも部分的には尿中グルコース排泄の促進によるものと考えられた。

2.6.2.2.5.3 反復投与中及び反復投与後の糖尿病関連エンドポイントに対するダパグリフロジンの作用

報告書 930041921

[目的]

前糖尿病 ZDF ラットにダパグリフロジンを 5 週間反復経口投与し、糖尿病関連エンドポイント（体重、摂餌量、臨床化学パラメータ、肝 TG 量、肝グリコーゲン及び膵インスリン量）に対する作用を評価した。

[方法]

前糖尿病 ZDF ラット（雄性、4～17 匹/群（各パラメータにより異なる）、7 週齢、肥満ラット：平均体重 240 g、非肥満ラット：平均体重 188 g）に溶媒（蒸留水）、ダパグリフロジン 0.5 mg/kg（溶媒：蒸留水）又は rosiglitazone²⁾ 10 mg/kg（陽性対照薬、溶媒：0.5%カルボキシメチルセルロース）を 1 日 1 回 5 週間反復経口投与した。肥満 ZDF ラットの同腹仔非肥満ラットに溶媒（蒸留水）を 1 日 1 回 5 週間反復経口投与し、正常血糖インスリン感受性対照群とした。本試験では、以下に示した各パラメータについて測定を行った。また、非肥満溶媒、肥満溶媒、肥満ダパグリフロジン及び肥満 rosiglitazone の各投与群を、LV、ZV、Da 及び Ro として使用動物数を示した。

- 1) 5 週間の投与期間を通じて体重を週 2 回測定し、摂餌量を週 1 回算出した。摂餌量は、ケージ毎に摂餌前及び 24 時間後の餌量を測定し、ラット 1 匹当たりの平均値を算出した。投与群 LV、ZV、Da 及び Ro における動物数は、それぞれ 12、16、17 及び 13 匹であった。
- 2) 5 週間の投与期間を通じて週 1 回採血し、摂餌後のグルコース及びインスリンの血漿中濃度、並びに HbA1c 値の測定を行った。採血は、1～4 週目は投与 24 時間後、5 週目は最終投与の 48 時間後に行い、採血後に安楽死させた。投与群 LV、ZV、Da 及び Ro の動物数は、それぞれ 12、16、17 及び 13 匹で、用いた動物は上記測定 1) と同一個体であった。
- 3) 試験動物は、投与前、1 週間反復投与した後の 48 時間後及び 5 週間反復投与した後の 48 時間後に安楽死させた。摂餌下又は一晚絶食の状態に安楽死させる直前に採血し、血液学的検査（非エステル化脂肪酸（NEFA）、TG、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）及びヘマトリット値、並びに血中 HbA1c 値の測定）を行った。採血後、肝 TG、肝グリコーゲン、並びに膵インスリン量を測定した。投与群 LV、ZV、Da 及び Ro で用いた動物は、いずれも上記測定 1) と別個体であった（5 匹/群）。
- 4) 5 週間反復投与の最終投与から 48 時間後に試験動物を代謝ケージに 24 時間収容し、尿量及び UGLR を測定した。投与群 LV、ZV、Da 及び Ro で用いた動物（6 匹/群）のうち、それぞれ 6、2、2 及び 3 匹は上記測定 1) と別個体であった。

- 5) 反復投与 1 週目の投与 1 及び 48 時間後、並びに、5 週目の投与 1 及び 48 時間後に、血漿中ダパグリフロジン濃度を測定した。1 週目の投与 1 時間後及び 48 時間後の検討に用いた動物（4 匹/群）は、いずれも同一個体であった。また 5 週目の投与 1 時間後及び 48 時間後の検討に用いた動物数は、それぞれ 8 匹及び 10 匹で、そのうち同一個体は 6 匹であり、それぞれ追加した 2 匹及び 4 匹のラットは曝露量測定に 1 回のみ使用した。本測定に用いた動物は上記測定 1) 及び 3) にも使用した。

統計解析は、一元配置の分散分析に基づいて Dunnett の検定を実施した。

[結果及び結論]

前糖尿病 ZDF ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回 5 週間反復経口投与すると、肥満溶媒投与群に比較して軽度であるが、有意な体重増加が認められた ($p<0.001$; 図 18)。一方、rosiglitazone 投与群でも肥満溶媒投与群に比較して有意な体重増加が認められた ($p<0.001$)。試験期間を通じて、ダパグリフロジン投与群と肥満溶媒投与群との間で摂餌量に有意差は認められなかった (図 18)。

ダパグリフロジン投与 24 時間後の摂餌下血漿中グルコース濃度は、5 週間の試験期間を通じて、肥満溶媒投与群のそれよりも低値を示した (図 19A)。予想どおり、rosiglitazone 投与群でも、血漿中グルコース濃度は肥満溶媒投与群に比較して低値を示した。肥満ラットの血漿中インスリン濃度は、末梢組織のインスリン抵抗性を代償するために膵 β 細胞がインスリン分泌を増加させるので、同腹仔非肥満ラットの血漿中インスリン濃度に比較して、最初から高値であり、高血糖症の進展に呼応して低下する (図 19B)。最初に高インスリン血症を呈し、その後にみられる血漿中インスリン濃度の低下は、本モデルのよく知られた特徴である (Finegood et al 2001)。特に、ダパグリフロジン投与期間中、血漿中インスリン濃度は投与 2 週目までベースライン値を維持したが、投与 3 週以降は、肥満溶媒投与群よりも高値を示した (投与 3、4 及び 5 週目、 $p<0.001$) (図 19B)。

一方、rosiglitazone 投与群の血漿中インスリン濃度は、肥満溶媒投与群に比較して、投与 1 及び 2 週目は低かったが (それぞれ $p<0.001$ 及び $p<0.01$)、5 週目には高値を示した ($p<0.001$)。以上の結果、ダパグリフロジン投与群で試験期間を通じて摂餌後の血漿中インスリン濃度が上昇したことから、持続的末梢インスリン抵抗性の状態において、ダパグリフロジン投与により膵 β 細胞機能は維持されることが示唆された。また、rosiglitazone 投与群でも、投与 5 週目の血漿中インスリン濃度が肥満溶媒投与群よりも上昇したことから、膵 β 細胞機能が維持されることが示唆された。

HbA1c 値を測定し、血糖コントロールに対する作用についても検討したところ、rosiglitazone と同様に、ダパグリフロジンは、投与 1 週目には肥満溶媒投与群に比較して HbA1c 値の進行性上昇を抑制した ($p<0.001$) (図 19C)。

ダパグリフロジンの 5 週間反復経口投与により、投与 24 時間後に測定した NEFA、TG、AST、ALT 及びヘマトクリット値のうち、ALT 値のみが肥満溶媒投与群に比較して有意な減少を示した ($p<0.05$)。一方、rosiglitazone を 5 週間反復経口投与したとき、NEFA 及び TG 値が肥満溶媒投与群に比較して有意な減少を示した (両測定項目について $p<0.001$)。また、同様に測定した HbA1c 値の上昇に対して、ダパグリフロジン投与群で、rosiglitazone 投与群と同様に、投与 1 週目から肥満溶媒投与群に比して有意な抑制が認められた ($p<0.001$)。

ダパグリフロジンを 5 週間反復経口投与した期間中、投与 1 週目及び 5 週目の投与 1 及び 48 時間後に、血漿中ダパグリフロジン濃度を測定した (図 20)。これらの結果から、測定時点における血漿中濃度に一貫性があり、5 週間の投与期間中に薬物蓄積やクリアランス促進は生じないことが示された。ダパグリフロジン投与の 1 週目及び 5 週目の各投与 48 時間後における血漿

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

中及び腎近位尿細管中の遊離型ダパグリフロジン濃度は、それぞれ 1.08 nmol/L 及び 0.44 nmol/L（それぞれ 22 nmol/L 及び 9 nmol/L の 4.9%（報告書 930042484））であった。これらの濃度は、ラット SGLT2 に対するダパグリフロジンの IC₅₀ 値である 3 nmol/L のそれぞれ 1/3 及び 1/7 に相当し（報告書 930005313）、投与 48 時間後には、その薬力学的活性は弱いことが示唆された。

ダパグリフロジンは尿中グルコース排泄を促進することにより、血漿中グルコース濃度を低下させた。ダパグリフロジンを 5 週間反復経口投与した 48 時間後には、その薬力学的活性は弱いものとなっていたが、ダパグリフロジン投与群における尿量及び UGLR は、rosiglitazone 投与群と同様に、肥満溶媒投与群に比較して有意な減少を示した（両被験薬の両測定項目とも $p < 0.001$ ；図 21）。これら両被験薬による作用は予想されたものであり、血漿中グルコース濃度の低下と一貫性を示した（投与 48 時間後の血漿中グルコース濃度は、肥満溶媒投与群：356±51 mg/dL、ダパグリフロジン投与群：158±9 mg/dL、rosiglitazone 投与群：140±6 mg/dL）。

ダパグリフロジンを反復経口投与した 1 週目及び 5 週目に、摂餌下と絶食下で測定した肝グリコーゲン及び肝 TG のいずれにも、肥満溶媒投与群に比較して変化は認められなかった。しかしながら、ダパグリフロジン又は rosiglitazone を 5 週間反復経口投与後、両投与群の絶食下の膵インスリン量は、肥満溶媒投与群に比較して有意に増加したが（共に $p < 0.001$ ）（図 22）、ダパグリフロジン投与群の摂餌下の膵インスリン量に影響は認められなかった。

以上の結果から、経時的に膵インスリン量が減少する状態でも、ダパグリフロジンの 1 日 1 回反復経口投与により、高血糖症の進展が抑制され、血漿中インスリン濃度及び膵インスリン量が維持されることが示唆された。また、正常な体重増加が維持され、HbA1c 値で示される血漿中グルコース濃度の低下が促進されることが示唆された。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

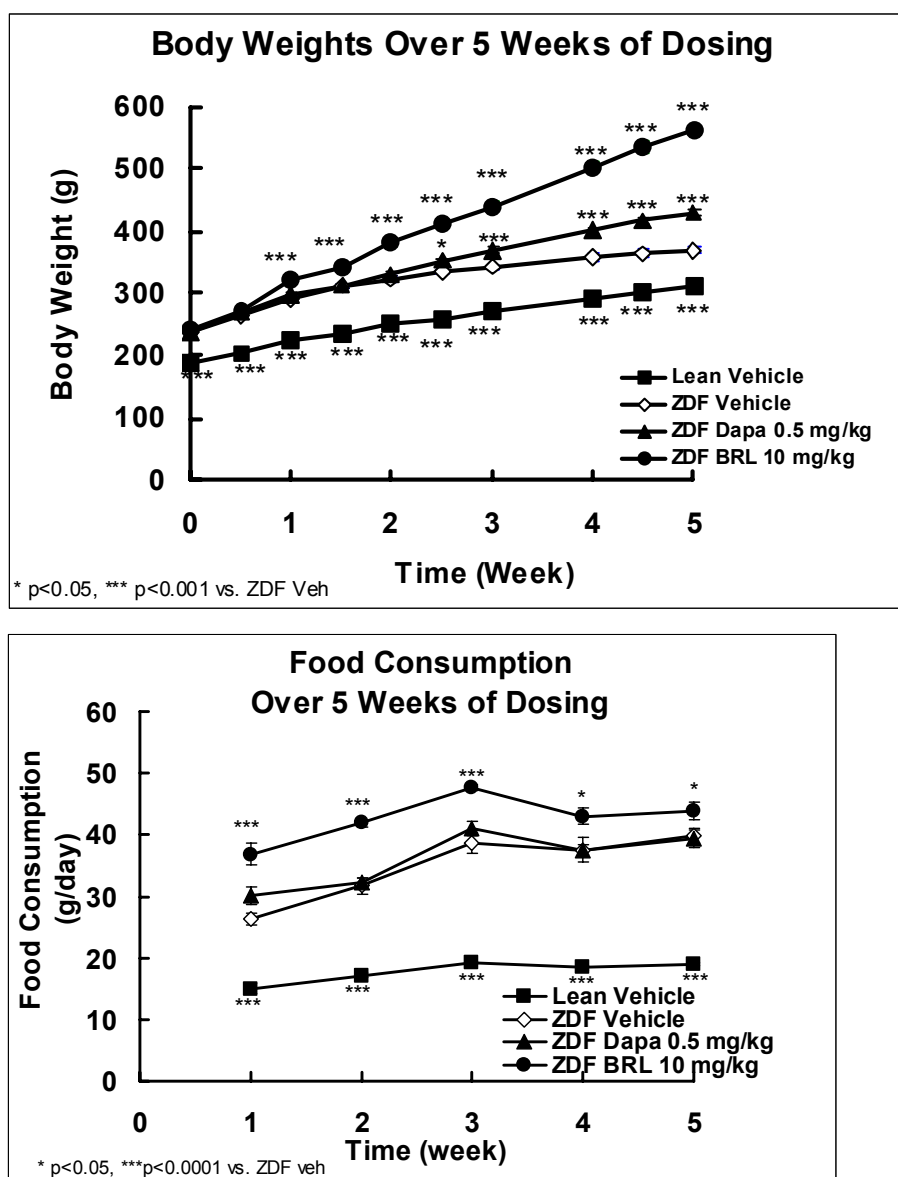


図 18 ZDF ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回 5 週間反復経口投与時の体重（上図）及び摂餌量（下図）の経時的変化

ZDF ラットに溶媒、ダパグリフロジン (Dapa) 0.5 mg/kg 又は rosiglitazone (BRL) 10 mg/kg、あるいは非肥満ラット (Lean) に溶媒を 1 日 1 回 5 週間反復経口投与時の体重（上図）及び摂餌量（下図）の経時的変化を示した。測定は体重のベースライン値 (T=0) を除いて、各時点における最終投与 24 時間後に行った。平均値±標準誤差 (n=12~17)。(上図) * : P<0.05、*** : P<0.001、(下図) * : P<0.05、*** : P<0.0001 (上図及び下図とも一元配置の分散分析に基づいて Dunnett の検定を実施した。肥満溶媒投与群との比較)。引用元：報告書 930041921。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

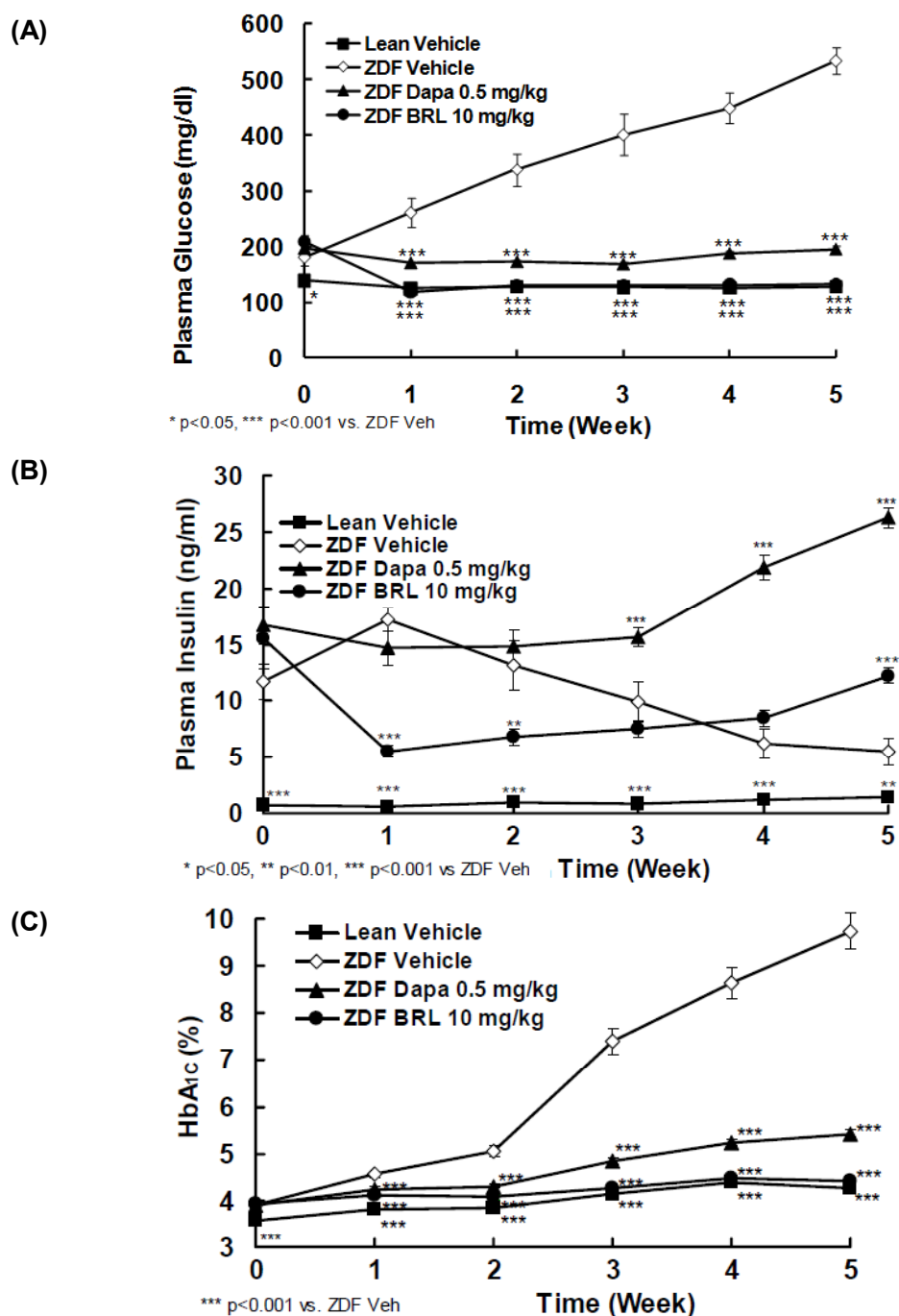


図 19 ZDF ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回 5 週間反復経口投与時の摂餌下での血漿中グルコース濃度 (A)、血漿中インスリン濃度 (B) 及び HbA1c 値 (C) の経時的変化

ZDF ラットに溶媒 (n=16)、ダパグリフロジン (Dapa) 0.5 mg/kg (n=17) 又は rosiglitazone (BRL) 10 mg/kg (n=13)、あるいは非肥満ラット (Lean) (n=12) に溶媒を 1 日 1 回 5 週間反復経口投与時の摂餌下での血漿中グルコース濃度 (A)、血漿中インスリン濃度 (B) 及び HbA1c 値 (C) の経時的変化を示した。測定はベースライン値を除いて各週の投与 24 時間後に行った。

平均値±標準誤差 (n=12~17)。*: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001 (一元配置の分散分析に基づいて Dunnett の検定を実施した。肥満溶媒投与群との比較)。引用元: 報告書 930041921。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

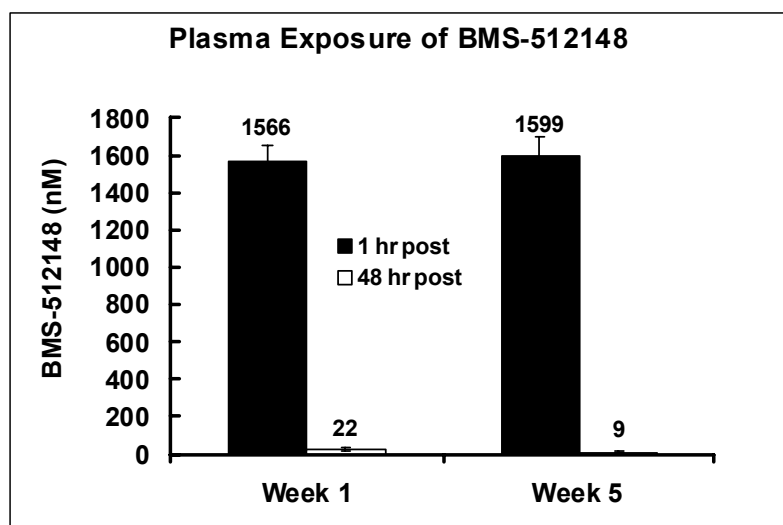


図 20 ZDF ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回反復経口投与の 1 週目及び 5 週目における血漿中ダパグリフロジン濃度

ZDF ラットにダパグリフロジン (0.5 mg/kg) を 1 日 1 回反復経口投与した 1 週目及び 5 週目における投与 1 及び 48 時間後の血漿中ダパグリフロジン濃度を示した。BMS-512148：ダパグリフロジン。

平均値±標準誤差 (n=4~10)。引用元：報告書 930041921。

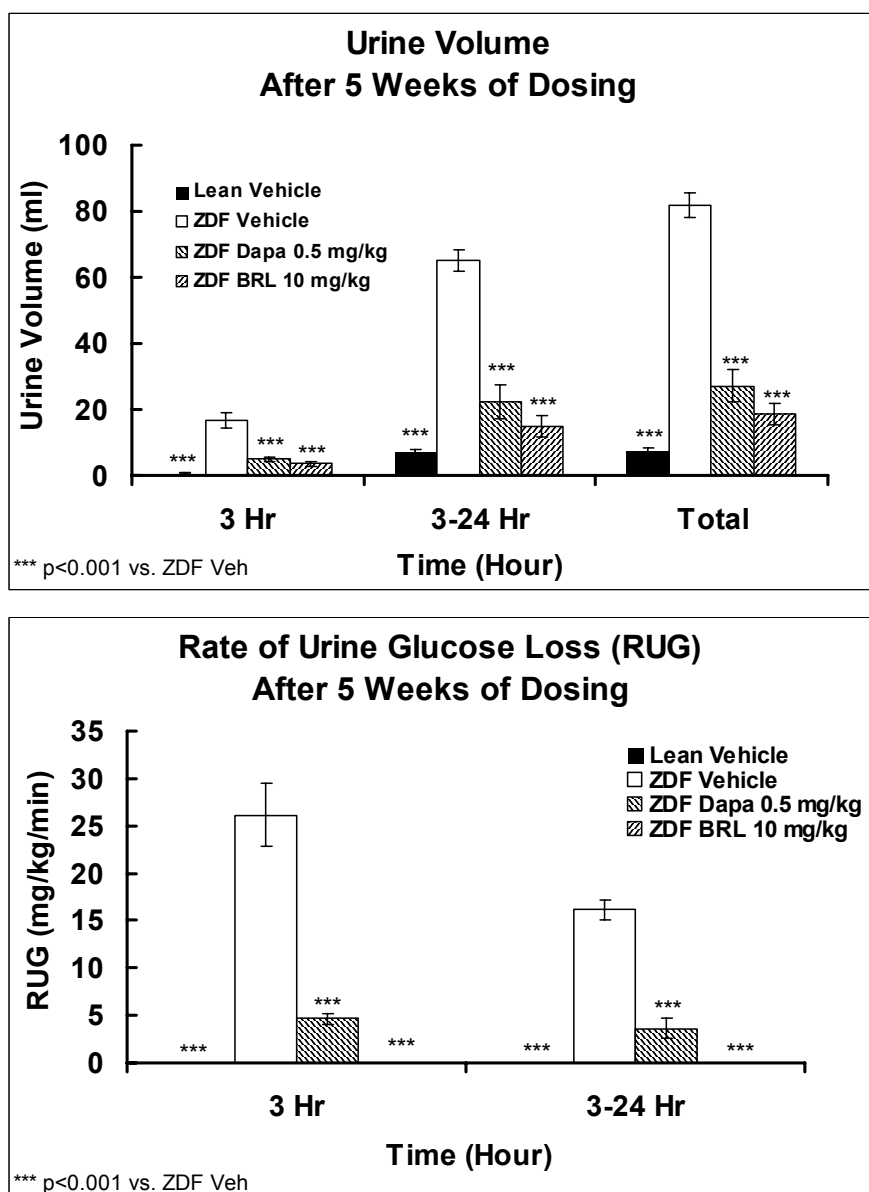


図 21 ZDF ラットにダバグリフロジンを 1 日 1 回 5 週間反復経口投与後の尿量（上図）及び UGLR（下図）

ZDF ラットに溶媒 (n=6)、ダバグリフロジン (Dapa) 0.5 mg/kg (n=6) 又は rosiglitazone (BRL) 10 mg/kg (n=6)、あるいは非肥満ラット (Lean) (n=6) に溶媒を 1 日 1 回 5 週間反復経口投与の最終投与の 48 時間後から 24 時間採取した尿の 0～3 時間及び 3～24 時間における尿量及び UGLR を示した。尿量は 24 時間の総量も示した。

平均値±標準誤差 (n=6)。***: P<0.001 (一元配置の分散分析に基づいて Dunnett の検定を実施した。肥満溶媒投与群との比較)。引用元：報告書 930041921。

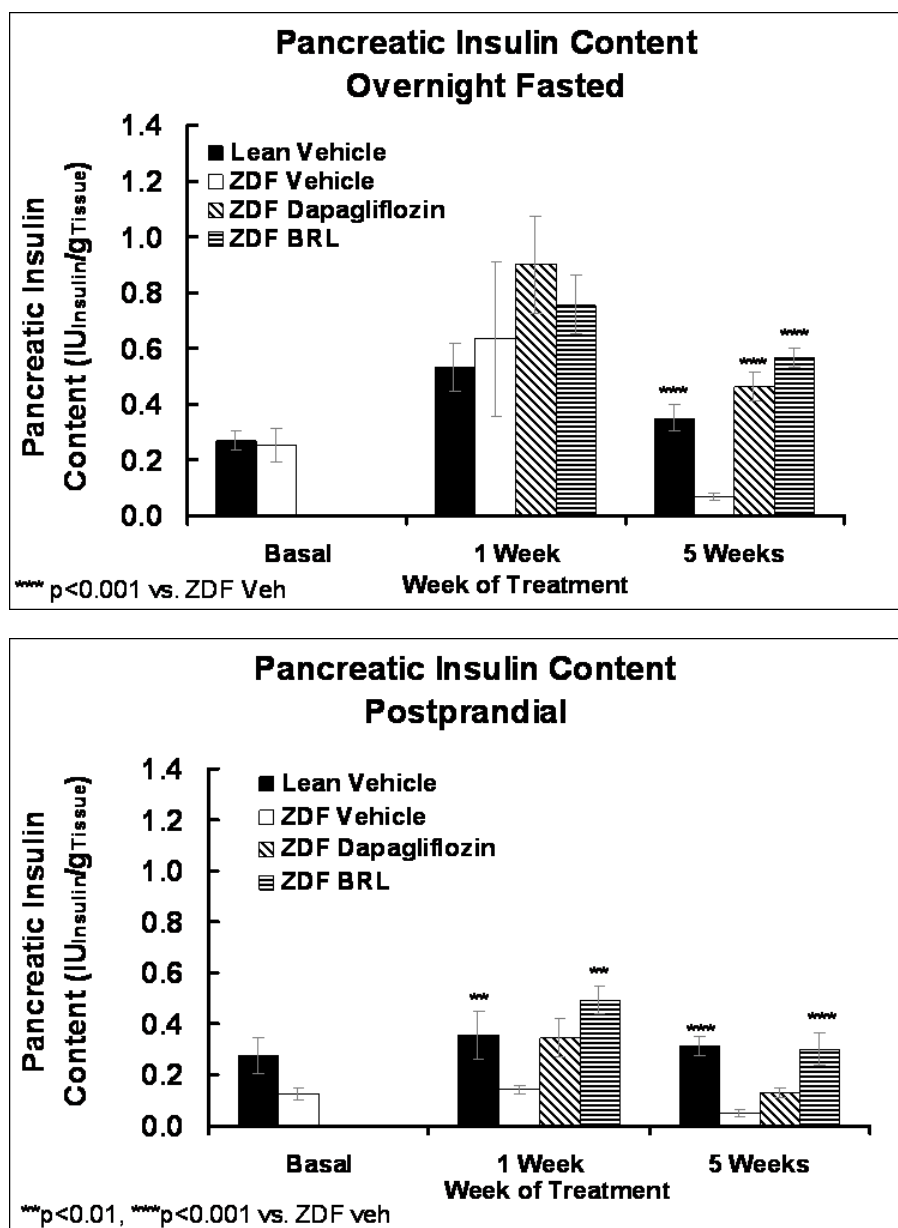


図 22 ZDF ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回反復経口投与の 1 週目及び 5 週目における絶食下（上図）及び摂餌下（下図）の膵インスリン量

雄性 ZDF ラットに溶媒 (n=5)、ダパグリフロジン (Dapa) 0.5 mg/kg (n=5) 又は rosiglitazone (BRL) 10 mg/kg (n=5)、あるいは非肥満ラット (Lean) (n=5) に溶媒を 1 日 1 回反復経口投与し、投与 1 及び 5 週目の絶食下及び摂餌下の膵インスリン量を示した。なお、図中「Basal」は投与前値を示す。それぞれの測定は投与前値を除いて投与 48 時間後に行った。

平均値±標準誤差 (n=5)。** : P<0.01、*** : P<0.001 (一元配置の分散分析に基づいて Dunnett の検定を実施した。肥満溶媒投与群との比較)。引用元：報告書 930041921。

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 *In vitro* 試験

各種 *in vitro* 試験の方法及び結果について以下の表 13 に要約した。

表 13 *In vitro* における各種副次的薬理試験

試験項目	試験方法	結果及び結論			
SGLT ファミリーのアイソフォームに対するダパグリフロジンの選択性 (報告書 930052026)	ナトリウム依存性グルコース輸送活性を有するヒトナトリウム依存性ミオイノシトール共輸送体 (SMIT) 1、SGLT4 及び SGLT6 をそれぞれ安定発現した CHO 細胞を用いて、ヒト SMIT1、SGLT4 及び SGLT6 の各基質の取込みに対するダパグリフロジン (0.5～500 μmol/L) の作用を検討した。	SGLT ファミリーのアイソフォーム (SMIT1、SGLT4 及び SGLT6) に対するダパグリフロジンの活性及び選択性を表 13-1 に示した。 各アイソフォームに対する基質特異性、基質ミカエリス定数 (K _m 値) は、これまでに報告されている値の範囲内にあり、また、ダパグリフロジンは SGLT ファミリーの他のアイソフォームに比べて SGLT2 に高い選択性を示した。			
表 13-1 SGLT ファミリーのアイソフォームに対するダパグリフロジンの活性及び SGLT2 選択性					
常用名	SGLT2	SGLT1	SMIT1	SGLT4	SGLT6
系統名	SLC5A2	SLC5A1	SLC5A3	SLC5A9	SLC5A11
基質	AMG	AMG	ミオイノシトール	AMG	ミオイノシトール
基質の K _m 値 (mmol/L)	2.6±0.5	6.4±1.3	0.08±0.01	2 試験の結果 1.2±0.2 1.6±0.2	0.09±0.01
ダパグリフロジンの K _i 値 (μmol/L)	0.00055±0.00016 ¹⁾	0.81±0.2 ¹⁾	14±2	3.3±0.7	0.80±0.1
ダパグリフロジンの各アイソフォームに対する SGLT2 選択性	1	1473	25455	6000	1455
1) 引用元：報告書 930052283					

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

試験項目	試験方法	結果及び結論
SGLT ファミリーの他のアイソフォームに対するダパグリフロジンの選択性 (報告書 930005313)	ラット SMIT を安定発現した CHO 細胞を用いて、 ^3H 標識ミオイノシトール ($100\ \mu\text{mol/L}$) 存在下、ラット SMIT に対するダパグリフロジン ($1\sim 160\ \mu\text{mol/L}$) の作用を検討した。	ダパグリフロジンはラット SMIT を介した ^3H 標識ミオイノシトールの取込みを阻害し、その IC_{50} 値は $5.2\pm 0.26\ \mu\text{mol/L}$ であった。ラット SGLT2 (IC_{50} 値 $3.0\ \text{nmol/L}$、表 2) に対する選択性は、ラット SMIT との比較で約 1700 倍高かった。 ダパグリフロジン $5.2\ \mu\text{mol/L}$ は、ダパグリフロジンの臨床的曝露量 C_{max} の遊離型濃度 $42\ \text{nmol/L}$ (表 5) の約 124 倍の濃度であったことから、ダパグリフロジンは臨床的曝露量で SMIT 活性を顕著に阻害しないと考えられた。
ヒト及びマウスの GLUT1 及び GLUT4 に対するダパグリフロジンの作用 (報告書 930005313)	ヒト初代培養脂肪細胞及びマウス脂肪細胞 (3T3-L1) を用いて、主要な GLUT である GLUT1 及び GLUT4 (Kaestner et al 1989, Olson and Pessin 1996) に対するダパグリフロジン ($20\ \mu\text{mol/L}$) の作用を検討した。インスリン添加又は非添加条件下、4% ウシ血清アルブミン (BSA) 非添加又は添加 (血漿中アルブミン濃度のシミュレート) で、 37°C で 20 分間インキュベートし、グルコースアナログである ^{14}C 標識デオキシ-D-グルコースの細胞内取込み量を定量した。	ダパグリフロジンは、4%BSA 非添加で、インスリン添加及び非添加条件下、ヒト脂肪細胞への ^{14}C 標識デオキシ-D-グルコース取込みを各々 $9\pm 1\%$ 及び $8\pm 3\%$ 抑制したが、4%BSA 添加条件では抑制作用を示さなかった。また、4%BSA 非添加で、インスリン添加及び非添加条件下、3T3-L1 脂肪細胞への ^{14}C 標識デオキシ-D-グルコース取込みを各々 $20\pm 4\%$ 及び $19\pm 7\%$ 抑制し、4%BSA 添加条件では各々 0% 及び 3% 抑制した。 ダパグリフロジン $20\ \mu\text{mol/L}$ は、ダパグリフロジンの臨床的曝露量 C_{max} の遊離型濃度 $42\ \text{nmol/L}$ (表 5) の約 476 倍の濃度であったことから、ダパグリフロジンは臨床的曝露量で脂肪細胞のグルコース輸送活性を顕著に阻害しないと考えられた。

試験項目	試験方法	結果及び結論
他のグルコース輸送体に対するダパグリフロジンの作用 (報告書 930044475)	GLUT1（ヒト赤血球）、GLUT2（ヒト肝癌由来 HepG2 細胞）及び GLUT4（ヒト分化脂肪細胞）について、放射性標識グルコースアナログの取込みに対するダパグリフロジン（20、50 及び 100 μmol/L）の作用を検討した。対照薬としてフロレチン（20 μmol/L）及び GLUT 活性阻害薬である（Li and McNeil 1997）サイトカラシン B（20 μmol/L）を用いた。	ダパグリフロジンは、20 μmol/L で GLUT4 に 8±2%の阻害活性を示した。また、100 μmol/L で GLUT1、GLUT2 及び GLUT4 に軽度の阻害を示した（表 13-2）。 SGLT2 に対する K _i 値が 0.55 nmol/L（表 1）であることから、ヒト SGLT2 に対する選択性はヒト GLUT1、2 及び 4 に比較して 36000 倍以上であった。 ダパグリフロジン 20 μmol/L 及び 100 μmol/L は、ダパグリフロジンの臨床的曝露量 C _{max} の遊離型濃度 42 nmol/L（表 5）のそれぞれ約 476 倍及び約 2381 倍の濃度であったことから、ダパグリフロジンは、臨床的曝露量で、GLUT1、GLUT2 及び GLUT4 を介するグルコース輸送活性を顕著に阻害しないと考えられた。
	表 13-2 ヒト GLUT1、GLUT2 及び GLUT4 に対するダパグリフロジンの阻害活性	

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

試験項目	試験方法	結果及び結論
他の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対するダパグリフロジンの作用 (報告書 1032SY)	286 種の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対するダパグリフロジン (10 µmol/L) の作用を検討した。また、ダパグリフロジン (1 nmol/L～10 µmol/L) のレチノイン酸受容体 α サブタイプに対する作用を検討した。	ダパグリフロジンは、10 µmol/L で、いずれの受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対しても明らかな作用を示さなかった (50%以下の阻害作用)。
ヒト GLUT に対するヒト主代謝物 (3-O-グルクロン酸抱合体) の作用 (報告書 930018488)	ヒト脂肪細胞を用いて、タンパク質非添加、インスリン添加又は非添加の条件下、ダパグリフロジンのヒト血中主代謝物である 3-O-グルクロン酸抱合体 (20、100、250 及び 500 µmol/L) の ¹⁴ C 標識デオキシ-D-グルコース取込みに対する作用を検討した。	ダパグリフロジンの 3-O-グルクロン酸抱合体は、500 µmol/L までの濃度で、インスリン添加及び非添加の条件下で、グルコースアナログ取込みに対して、ダパグリフロジンに比較して弱い阻害作用を示した (20 µmol/L で 2～3%の抑制)。 ダパグリフロジンの 3-O-グルクロン酸抱合体 20 µmol/L は、その臨床的曝露量 C _{max} の遊離型濃度 59 nmol/L ³⁾ の約 339 倍の濃度であったことから、ダパグリフロジンの 3-O-グルクロン酸抱合体は、臨床的曝露量で、脂肪細胞のグルコース輸送 (GLUT1 及び GLUT4) 活性を顕著に阻害しないと考えられた。
受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対するヒト主代謝物 (3-O-グルクロン酸抱合体) の作用 (報告書 1033SY)	329 種の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対するダパグリフロジンのヒト血中主代謝物である 3-O-グルクロン酸抱合体 (10 µmol/L) の作用を検討した。また、3-O-グルクロン酸抱合体 (1 nmol/L～10 µmol/L) のレチノイン酸受容体 α サブタイプに対する作用を検討した。	ダパグリフロジンの 3-O-グルクロン酸抱合体 10 µmol/L は、その臨床的曝露量 C _{max} の遊離型濃度 59 nmol/L ³⁾ の約 169 倍の濃度で、いずれの受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対しても明らかな作用を示さなかった (50%以下の阻害作用)。
受容体、イオンチャネル及び酵素に対する活性代謝物 (脱エチル化体) の作用 (報告書 930005149)	40 種の受容体、イオンチャネル及び酵素において、適切な放射性リガンドの結合に対するダパグリフロジンの尿中活性代謝物である脱エチル化体 (30 µmol/L) の作用を検討した。	ダパグリフロジンの脱エチル化体は、30 µmol/L で、いずれの受容体、イオンチャネル及び酵素にも明らかな作用を示さなかった (33%以下の阻害作用)。

- 3) 日本人 2 型糖尿病患者に本薬 10 mg を 1 日 1 回 14 日間反復経口投与したときの 3-O-グルクロン酸抱合体の C_{max} は 316 ng/mL (臨床薬理試験 2.7.2.2.1.2.2 項、表 6 参照)、分子量は 584.99 (臨床薬理試験 2.7.2.2.1.1.3 項参照) 及び血漿蛋白結合率は 89.1% (報告書 930042484) であることから、血漿中 3-O-グルクロン酸抱合体の最高非結合型濃度を 59 nmol/L と算出した。

2.6.2.3.2 *In vivo* 試験

非糖尿病及び糖尿病モデルラットへの単回及び反復経口投与によりダパグリフロジンの *in vivo* の薬理学的試験を行い、ダパグリフロジンの尿中グルコース排泄促進作用及び血糖降下作用による二次的作用を評価した。これらの試験は、血中グルコース濃度、腎機能、体重及び身体組成、並びに、2 型糖尿病の発症及び進展に関連した生理的欠陥における変化に対する逆調節反応を評価する上で重要である。今回、複数の試験を実施し、一般にダパグリフロジンの臨床的曝露量に近似するような投与量を選択したが、一部の試験では、体重及び身体組成に関する特定のエンドポイントに影響を与える用量範囲を探索するべく投与量を選択した。

2.6.2.3.2.1 単回投与試験における内因性グルコース産生に対するダパグリフロジンの作用

報告書 930041923

[目的]

非糖尿病及び糖尿病モデルラットにおいて、ダパグリフロジン単回経口投与による内因性グルコース産生に対する作用を評価した。

[方法]

肥満（雄性、6～8 匹/群、11 週齢、平均体重 358 g）又は同週齢の同腹仔非肥満 ZDF ラット（雄性、6～8 匹/群、11 週齢、平均体重 293 g）に、溶媒（蒸留水）又はダパグリフロジン（0.5 及び 1.0 mg/kg）を単回経口投与した。経時的（投与前 10、5 及び 0 分、並びに、投与後 30、60、90、100、110 及び 120 分）に採血して血漿中グルコース濃度及び血漿中インスリン濃度を測定し、投与前 60～0 分、投与後 0～60 分及び 60～120 分間に蓄尿を行い、尿中グルコース濃度及び尿量を測定した。

ダパグリフロジン投与前 60～0 分までの期間（basal）及びダパグリフロジン投与 0～120 分後までの期間で、 ^3H 標識グルコースを持続投与して肝グルコース産生率（内因性グルコース産生率）（ R_a ）を検討した。 R_a は、 ^3H 標識グルコース注入率を血漿中グルコース濃度中の ^3H 標識グルコース特異活性で除して算出した。また、 R_a から UGLR を差し引いて GUR（全身グルコース利用率（糖処理））を算出した。UGLR は尿量及び尿中グルコース濃度により算出した。

統計解析は、一元配置の分散分析に基づいて Dunnett の検定を実施した。

[結果及び結論]

ダパグリフロジンを単回経口投与した ZDF 及び非肥満ラットにおける、各測定期間の UGLR、血漿中グルコース濃度及び血漿中インスリン濃度の結果をそれぞれ図 23、図 24（上図）及び図 24（下図）に示した。UGLR の増加と相関し（図 23）、ZDF ラットの 0.5 及び 1.0 mg/kg のダパグリフロジン投与群の血漿中グルコース濃度は、投与 30 分後（ $p<0.01$ ）及び投与 30 分以降の全測定時点（ $p<0.001$ ）で、ZDF ラット溶媒投与群に比較して有意な低下を示した（図 24（上図））。一方、非肥満ラットでは、0.5 mg/kg 投与群で、投与 120 分後に認められた軽度であるが有意な低下（ $p<0.01$ ）を除き、ダパグリフロジン投与による血漿中グルコース濃度の有意な変化は認められなかった（図 24（上図））。また、血漿中インスリン濃度は、ZDF 及び非肥満ラットのダパグリフロジン投与群で、それぞれの溶媒対照群に比較して有意な変化を示さなかった（図 24（下図））。なお、ZDF ラットでダパグリフロジン投与前に血漿中インスリン濃度の上昇が認められたが、原因は明らかではない。

ダパグリフロジンを単回経口投与した ZDF 及び非肥満ラットにおける、 R_a 及び GUR をそれぞれ図 25（上図）及び図 25（下図）に示した。投与前の R_a は、ZDF ラット群で非肥満ラット群に比べて有意に高かった（73%）（図 25（上図）、 $p<0.001$ ）。また、ダパグリフロジン投与後の R_a は、投与前値に比較して、0.5 mg/kg 投与 ZDF ラット群で、有意ではないわずかな上昇（8%）を示すにとどまったが、1.0 mg/kg 投与 ZDF ラット群では有意な上昇を示した（34%： $p<0.01$ ）。一方、非肥満ラット群の R_a は、0.5 mg/kg 投与群で 28%（有意差なし）上昇し、1.0 mg/kg 投与群で 69%（ $p<0.001$ ）の上昇を示した。投与前の GUR は、ZDF ラット群で非肥満ラット群に比較して高値を示した（図 25（下図））。GUR は、0.5 及び 1.0 mg/kg 投与 ZDF ラット群で各々 39% 及び 33% の低下（共に $p<0.05$ ）、また、0.5 mg/kg 投与非肥満ラット群で 24% の低下を示し（ $p<0.05$ ）、ダパグリフロジン投与量に依存しない有意な低下が認められた（図 25（下図））。これら GUR の低下は、主に尿中グルコース排泄の促進によるものと考えられる。本試験では血漿中ダパグリフロジン濃度を測定しなかったが、既述の試験結果（表 8）から、ZDF ラットにダパグリフロジン 0.5 及び 1.0 mg/kg を投与後の曝露量は、それぞれ臨床的曝露量 AUC_t の 1.5 倍及び 2.9 倍に相当すると推定される。

以上の結果から、ダパグリフロジン（0.5 及び 1.0 mg/kg）の単回経口投与により、尿中グルコース排泄の促進作用と関連した血漿中グルコース濃度の低下が糖尿病 ZDF ラット群で認められた。しかしながら、非糖尿病ラットでは認められなかったことから、正常ラットでは内因性グルコース産生の増加により、尿中グルコース排泄の促進作用による低血糖発症を予防できる可能性が示唆された。

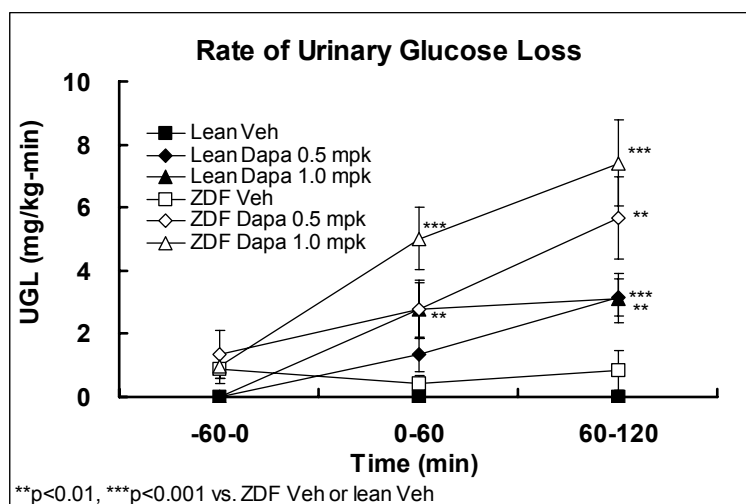


図 23 ZDF 及び非肥満ラットにダパグリフロジンを単回経口投与前及び投与後の UGLR の経時的変化

ZDF 及び非肥満（Lean）ラットに溶媒（Veh）又はダパグリフロジン（Dapa）0.5 及び 1.0 mg/kg を単回経口投与したときの投与前（-60-0 分）及び投与後（0-60 分及び 60-120 分）の尿中グルコース排泄量（UGL）。平均値±標準誤差（ $n=6\sim8$ ）。**： $P<0.01$ 、***： $P<0.001$ （一元配置の分散分析に基づいて Dunnett の検定を実施した。ZDF 及び非肥満ラットのそれぞれの溶媒投与群との比較）。引用元：報告書 930041923。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダバグリフロジンプロピレングリコール水和物

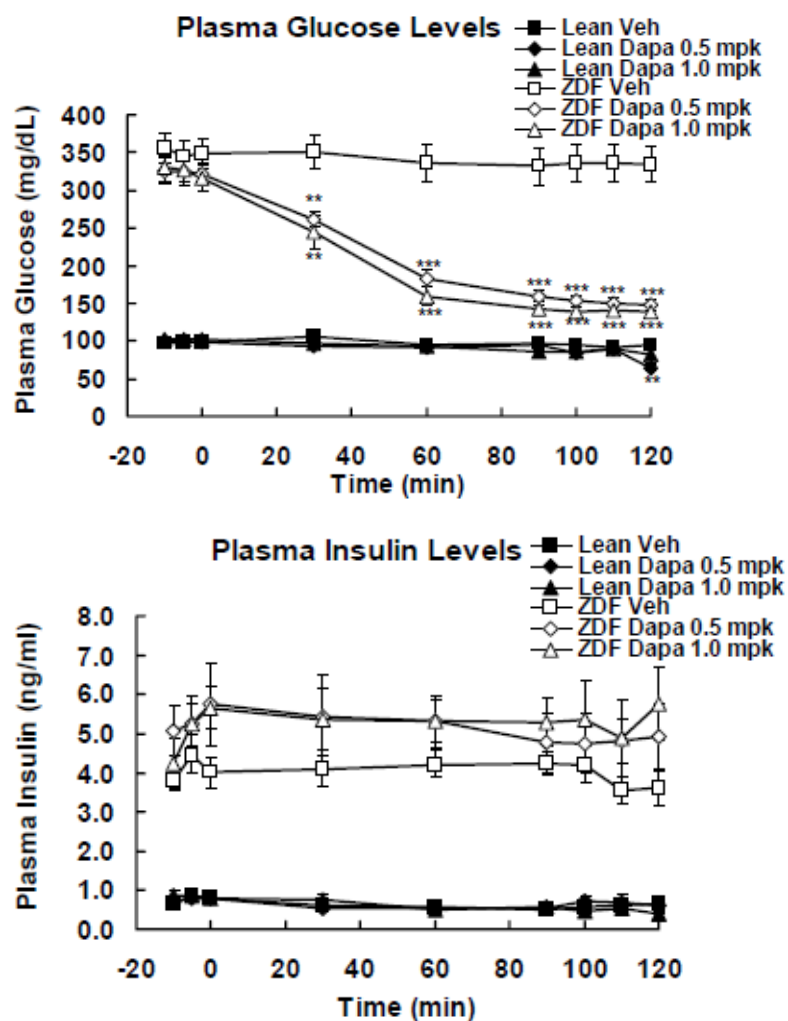


図 24 ZDF 及び非肥満ラットにダバグリフロジンを単回経口投与前及び投与後の血漿中グルコース濃度（上図）及び血漿中インスリン濃度（下図）の経時的変化

ZDF 及び非肥満 (Lean) ラットに溶媒 (Veh) 又はダバグリフロジン (Dapa) 0.5 及び 1.0 mg/kg を単回経口投与したとき、投与前及び投与後 120 分間のグルコース及びインスリンの血漿中濃度の経時的変化を示した。

平均値±標準誤差 (n=6~8)。

** : $P < 0.01$ 、*** : $P < 0.001$ (一元配置の分散分析に基づいて Dunnett の検定を実施した。ZDF 及び非肥満ラットのそれぞれの溶媒投与群との比較)。引用元：報告書 930041923。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

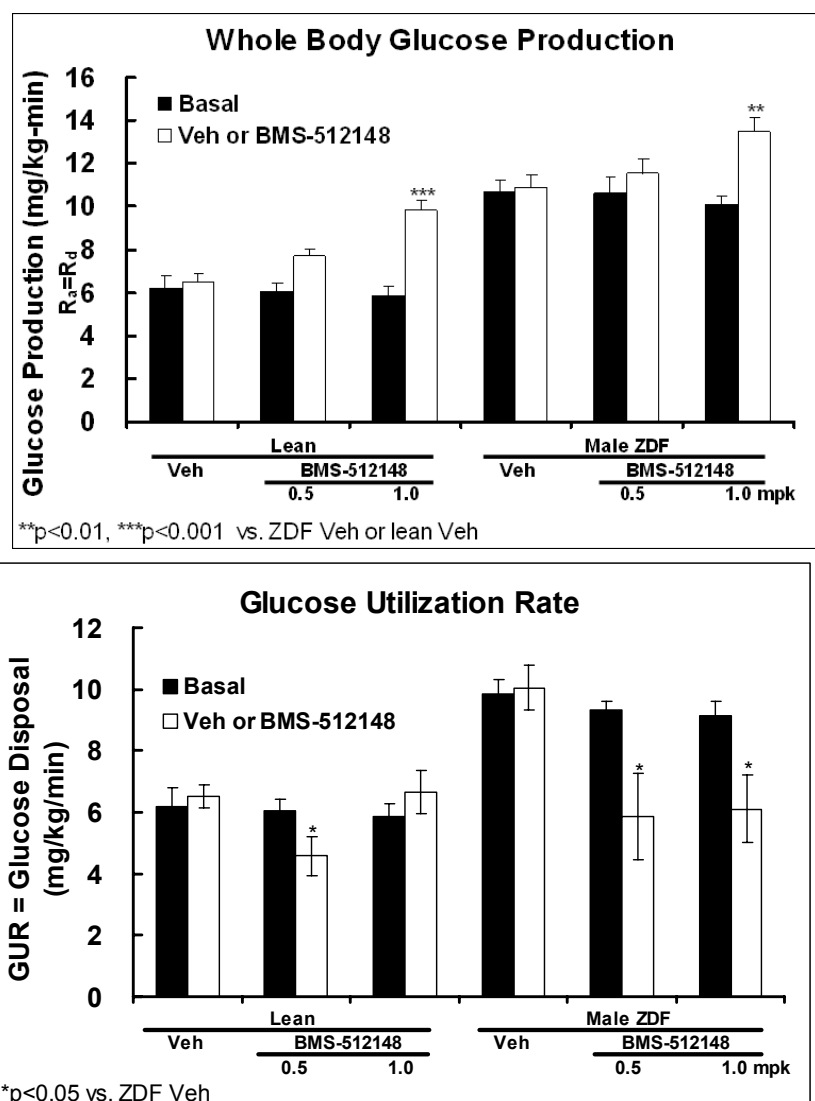


図 25 ZDF 及び非肥満ラットにダパグリフロジンを単回経口投与前及び投与後の R_a (上図) 及び GUR (下図)

ZDF 及び非肥満 (Lean) ラットに溶媒 (Veh) 又はダパグリフロジン (BMS-512148) 0.5 及び 1.0 mg/kg を単回経口投与したとき、投与 10 分前から投与時まで (黒色棒グラフ) と投与 90~120 分後 (白色棒グラフ) の内因性グルコース産生率 (R_a) 及び全身グルコース利用率 (GUR) を示した。平均値±標準誤差 (n=6~8)。*: P<0.05、*: P<0.01、***: P<0.001 (一元配置の分散分析に基づいて Dunnett の検定を実施した。非肥満及び ZDF ラットのそれぞれの溶媒投与前群との比較) 引用元: 報告書 930041923。

2.6.2.3.2.2 反復投与試験

2.6.2.3.2.2.1 腎に対するダパグリフロジンの作用

報告書 930045749

[目的]

糸球体濾過量（GFR）の増加として定義される腎肥大及び過剰濾過は、糖尿病の初期段階の特徴であり、その後の糖尿病性腎症への進行と関連があると考えられている（Mogensen and Andersen 1975, O'Bryan and Hostetter 1997）。ネフロンにおける近位尿細管でのナトリウム及びグルコースの再吸収が緻密斑への塩輸送を低下させ、それによって GFR の尿細管糸球体フィードバック（TGF）機構に影響を及ぼすことで、糖尿病初期の過剰濾過を調節する役割を担うと考えられている（Vallon et al 2002, Thomson et al 2004）。TGF は、糸球体流量が尿細管流量の変化により調節されるメカニズムと定義される。これまでに、腎の微小穿刺法を用いた試験で、STZ 誘発糖尿病モデルラットの近位尿細管に phlorizin を投与したとき、緻密斑への塩輸送の回復による TGF 系の活性化を介して、増加した単一ネフロン GFR（SNGFR）が減少することが報告されている（Vallon et al 1999）。本項では STZ 誘発糖尿病モデルラットにおいて過剰濾過に対するダパグリフロジンの作用を評価した。

[方法]

Wistar 系ラットは、腎微小穿刺の影響を受けやすい系統であることが報告されている（Van Liew et al 1970）。本試験では、Wistar 系ラット（雄性、成熟、7～8 匹/群、体重の記録なし）に STZ 腹腔内単回注入により糖尿病を誘発し、その後の糖尿病の発症日から 13 日間、3 mg/kg/日（午前 1 mg/kg 及び午後 2 mg/kg の分割投与）のダパグリフロジン（7 匹/群）又は溶媒（水）（8 匹/群）を強制経口反復投与した。この投与スケジュールを採用することにより、本モデルでダパグリフロジンの SGLT2 阻害が終日持続した。なお、インスリン注入により、溶媒投与群とダパグリフロジン投与群の血漿中グルコース濃度が 20～27 mmol/L（360～486 mg/dL）の範囲で等価となるように調節した。ダパグリフロジン最終投与の約 16 時間後に腎微小穿刺実験を行い、近位尿細管における再吸収及び糸球体尿細管均衡、並びに TGF 系活性化状態に及ぼす SGLT2 阻害の影響を評価した。ダパグリフロジン及び溶媒投与群から摘出した、それぞれ 15 及び 20 標本のネフロンを評価に用いた。単一ネフロンの TGF 系活性化は、そのネフロンにおける $\text{SNGFR}_{\text{mid}}$ と SNGFR_{d} の差を指標とした。このとき $\text{SNGFR}_{\text{mid}}$ は、人工的に調製した溶液を Henle 係蹄に 0 nL/min (SNGFR_0) 及び 50 nL/min (SNGFR_{50}) で微小灌流したときの SNGFR の平均値から算出した。SNGFR は遠位尿細管起始部より尿細管液を採取して測定し、遠位尿細管起始部にて測定した単一ネフロン糸球体濾過量を SNGFR_{d} とする。

統計解析は一元配置の分散分析を実施した。

[結果及び結論]

腎微小穿刺実験前の 7 日間で、ダパグリフロジン投与群及び溶媒投与群において、摂餌量は、それぞれ 48 ± 2 ($p=0.005$) 及び 41 ± 2 g/日、摂水量は、それぞれ 207 ± 8 ($p=0.01$) 及び 176 ± 9 mL/日であり、ダパグリフロジン投与群における摂餌量及び摂水量は、溶媒投与群に比してそれぞれ 17%及び 18%増加した。また、腎微小穿刺実験開始時、ダパグリフロジン投与群は、溶媒投与群と同程度の高血糖状態及び体重であり、ダパグリフロジン投与群における尿量 (36 ± 4 $\mu\text{L}/\text{min}$, $p=0.009$) は溶媒投与群 (19 ± 4 $\mu\text{L}/\text{min}$) の 1.9 倍に増加し、その最大腎尿細管グルコース再吸収能 (0.30 ± 0.09 , $p=0.005$) は溶媒投与群 (0.80 ± 0.11) の 38%に低下した。

溶媒投与群に比して、ダパグリフロジン投与群で TGF 系の活性化が認められ（溶媒投与群及びダパグリフロジン投与群における（ $\text{SNGFR}_d - \text{SNGFR}_{mid}$ ）の値は、それぞれ 5.2 ± 1.9 及び -1.4 ± 2.2 nL/min、 $p < 0.04$ ）、 SNGFR_d は低下を示した（溶媒及びダパグリフロジン投与群で、それぞれ 32.4 ± 2.1 及び 26.7 ± 2.4 nL/min、 $p < 0.08$ ）。しかしながら、増加した腎重量は、ダパグリフロジンを投与しても（ 1.58 ± 0.08 g）、溶媒投与群（ 1.50 ± 0.08 g）よりも減少しなかった。したがって、ダパグリフロジン投与により TGF 系の活性化は亢進したが、腎全体の GFR を実質的に減少させるに至らなかったと考えられた。

以上の結果から、ダパグリフロジンは SGLT2 阻害により近位尿細管でのナトリウム及びグルコース再吸収を減少させ、それによって TGF 系が作動し、早期糖尿病における SNGFR_d を正常に調整することが示唆された。しかしながら、腎サイズを縮小させることなく、増加した SNGFR を減少させることが、糖尿病治療に有益であるかどうかは明らかではない。また、タンパク質摂取量の増加により腎重量が増加することが報告されていることから（Henderson and Covinsky 1986）、本試験で腎全体の GFR が実質的に減少しなかったのは、摂取量増加により SNGFR の減少が相殺されたことによるものと考えられた。

2.6.2.3.2.2.2 体重及び身体組成に対するダパグリフロジンの作用

報告書 930017615

[目的]

非糖尿病の食餌誘導性肥満（DIO）ラットで体重及び身体組成に対するダパグリフロジンの作用を評価した。

[方法]

高脂肪食及び高炭水化物食を 10 週間負荷した DIO ラット（雄性、週齢の記録なし、平均体重 767 g）を以下の 7 群に割り当てた（8 匹/群）。自由摂餌下での溶媒（5% NMP、20% PEG400 及び 75% 20 mmol/L ニリン酸ナトリウム）投与群及びダパグリフロジン（0.5、1 及び 5 mg/kg）投与群、摂餌制限（pair-fed）下の 2 群、並びに、カンナビノイド I 型受容体拮抗薬（陽性対照）である BMS-725519 投与群に割り当てた。2 群の pair-fed 群の一方に溶媒を投与し、ダパグリフロジン 5 mg/kg 投与群の 1 日摂餌量に制限し、他方にダパグリフロジン 5 mg/kg を投与し、溶媒投与群の 1 日摂餌量に制限した。DIO ラットに溶媒又は 0.5、1 及び 5 mg/kg のダパグリフロジンを 1 日 1 回 27 日間反復経口投与した⁴⁾。各投与時に体重、摂水量及び摂餌量を測定し、体重の変化は投与前値に対する割合（%）として算出した。摂餌量はカロリー摂取量（kcal/日）に換算し、呼吸商（RQ）は、投与開始 2 日目及び 15 日目に OxyMax システムを用いて間接的熱量測定法により求めた。投与前及び投与 22 日目に MRI 検査を用いて脂肪量及び除脂肪量の割合（%）を測定し、身体組成を評価した。投与開始 27 日目（16 時間絶食後）に採血し、血液生化学検査を行った。

統計解析は、体重、カロリー摂取量の変化率（%）、RQ 及び血液生化学検査値には、反復測定分散分析に基づき、単純主効果の検定を実施し、摂水量、並びに、脂肪量及び除脂肪量の割合（%）には、一元配置の分散分析を実施し、Fisher's LSD 法により比較した。

4) 投与開始から 2 日間、ダパグリフロジン 0.5 mg/kg 投与群及びダパグリフロジン 5 mg/kg 投与 pair-fed 群に、投与ミスによりダパグリフロジンを 10 mg/kg 投与した。

[結果及び結論]

ダパグリフロジンのいずれの投与群でも溶媒投与群と比較して有意な摂水量、尿量及び UGLR の増加が認められた（1 mg/kg 投与群の摂水量のみ： $p<0.01$ 、5 及び 10 mg/kg 投与群のその他の測定値： $p<0.005$ ）。摂餌量は、ダパグリフロジンの全投与群で溶媒投与群に比較して増加の傾向を示したが、投与 25 日目に測定した体重は、0.5、1 及び 5 mg/kg 投与群で、それぞれ投与前値から 3.9%、4.2%及び 5.6%減少し、5 mg/kg 投与 pair-fed 群では 12.3%減少した（いずれも溶媒投与群の体重変化で補正した）。なお、陽性対照群では摂餌量の顕著な減少に伴い、体重は投与前値から 24.0%の減少を示した。また、ダパグリフロジンの全投与群で、溶媒投与群に比較して有意な RQ の低下も認められた（いずれも $p<0.001$ ）。脂肪量（投与前値からの変化量）は、摂餌下の 0.5 及び 5 mg/kg 投与群、並びに 5 mg/kg 投与 pair-fed 群で、溶媒投与群に比較して有意に減少したが（それぞれ $p<0.01$ 、 $p<0.01$ 及び $p<0.0001$ ）、除脂肪量（投与前値からの変化量）は、いずれのダパグリフロジン投与群でも溶媒投与群に比較して有意な差は認められなかった（図 26）。また、溶媒投与群に比較して、ダパグリフロジンの全投与群で 3- β -ヒドロキシ酪酸及び NEFA の有意な上昇、5 mg/kg 投与群及び 5 mg/kg 投与 pair-fed 群でグリセロールの有意な上昇が認められた。血中尿中窒素についても溶媒投与群と比較して有意な上昇が認められた。投与 27 日目の FPG は、ダパグリフロジンの全投与群で溶媒投与群に比較して有意な低下を示した（いずれも $p<0.05$ ）（5 mg/kg 投与群で 64%の低下）。

以上の結果から、血漿中グルコース濃度の低下により、エネルギー源としての脂肪の利用が亢進されたことが示唆された。また、SGLT2 阻害作用により尿中グルコース排泄を促進することで最終的に体重減少をもたらすことが裏付けられた。

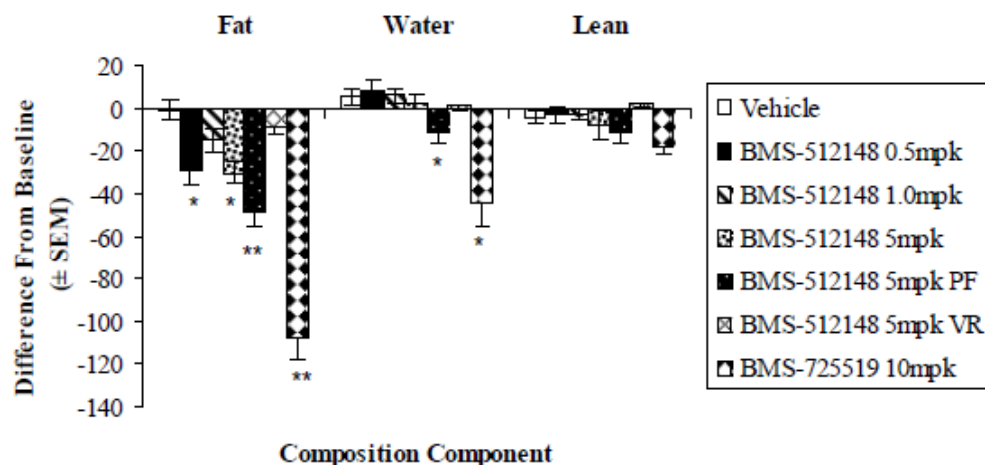


図 26 DIO ラットにダパグリフロジンを 1 日 1 回 22 日間反復経口投与後の身体組成に対する作用

平均値±標準誤差 (n=8)。グラフは溶媒、BMS-512148（ダパグリフロジン）0.5、1.0 及び 5 mg/kg、並びに BMS-725519（カンナビノイド I 型受容体拮抗薬）を 1 日 1 回 22 日間反復経口投与後の、身体組成の 3 要素である脂肪量（Fat）、水分量（Water）及び除脂肪量（Lean）の測定値の投与前値との差を示す。

BMS-512148 5mpk PF 及び BMS-512148 5mpk VR（pair-fed 群）：それぞれダパグリフロジン 5 mg/kg 及び溶媒を 1 日 1 回 22 日間反復経口投与し、1 日摂餌量を溶媒投与群及びダパグリフロジン 5 mg/kg 投与群と同量に制限した。

*： $P<0.01$ 、**： $P<0.0001$ （一元配置の分散分析を実施し、Fisher's LSD 法により比較した。溶媒投与群との比較）。引用元：報告書 930017615。

2.6.2.3.3 膀胱癌との潜在的関連性に関する検討試験

2.6.2.3.3.1 遺伝子発現に及ぼすダパグリフロジン反復投与の影響

報告書 930052593

[目的]

前糖尿病 ZDF ラットで、ダパグリフロジン投与により、高血糖症の進展が抑制され、肝臓でのグルコース代謝不全及び末梢でのインスリン抵抗性が改善されることが示唆された(2.6.2.2.2.5.3 項参照)。インスリン反応性組織や腎組織に及ぼすダパグリフロジンの影響についてさらに検討するため、ダパグリフロジンを 5 週間反復経口投与した糖尿病モデルラットの肝臓、骨格筋、腎臓及び脂肪組織から採取したリボ核酸 (RNA) 検体を用いて、転写プロファイリング解析を行った。特に、ダパグリフロジンの臨床試験で、ダパグリフロジン投与群における膀胱癌の発現率がプラセボ投与群よりも高い傾向を示したため、溶媒投与群の組織と比較して、ダパグリフロジン投与群における細胞増殖に関与する遺伝子発現及び発癌促進の機構の変化を評価した。

[方法]

糖尿病モデルの肥満 ZDF ラット (雄性、5 匹/群、7 週齢、体重の記録なし) に溶媒 (蒸留水) 又はダパグリフロジン (0.5 mg/kg) を 1 日 1 回 5 週間反復経口投与し、それぞれ最終投与の 48 時間後に肝臓、骨格筋、腎臓及び脂肪の組織を絶食下及び摂餌下で採取した。採取した細胞から RNA 検体を得てマイクロアレイを用いて遺伝子発現の変化を解析した。統計解析は、二元配置の分散分析を実施し、Tukey 法により比較した。

[結果及び結論]

ダパグリフロジン投与群と溶媒投与群を比較したとき、肝臓で最も大きな遺伝子発現の変化がみられ、絶食及び摂餌の両条件下における肝臓内グルコキナーゼ遺伝子発現の有意なアップレギュレーション (それぞれ 270%、 $p=1 \times 10^{-6}$ 及び 410%、 $p=1 \times 10^{-4}$) とヒドロキシステロイド (11 β) デヒドロゲナーゼ 1 遺伝子発現の有意なダウンレギュレーション (それぞれ 70%、 $p=1 \times 10^{-7}$ 及び 120%、 $p=1.2 \times 10^{-11}$) が認められた。これら 2 種の遺伝子はグルコース代謝に関与する主な遺伝子であり、上記の変化はクランプ試験で認められたインスリン感受性 (M/I index) の改善と矛盾しない (2.6.2.2.2.4 項参照)。また、両条件下で、肝臓内ステアロイル-CoA デサチュラーゼ 1 遺伝子の有意なアップレギュレーション (それぞれ 3000%、 $p=2.4 \times 10^{-13}$ 及び 290%、 $p=7.5 \times 10^{-23}$) が認められたが、その意義は明らかではない。さらに、ダパグリフロジン投与後に、脂肪酸合成酵素、脂肪酸伸長酵素及びアセチル CoA カルボキシラーゼの発現の増加が認められ、脂肪酸代謝に関連した遺伝子に作用を及ぼすことが示唆された。しかし、関連試験では、ダパグリフロジンは摂餌又は絶食下の肝 TG レベルに作用を示さなかった (2.6.2.2.2.5.3 項参照)。骨格筋、腎又は脂肪組織における代謝経路に関与する遺伝子に有意な影響は認められなかった。腎では、腎臓の SGLT タンパク質に関する検討で、絶食下でダパグリフロジンを 5 週間投与後に SGLT5 遺伝子発現のみに変化 (66%増加、 $p<0.03$) が認められ、SGLT2 及び SGLT1 の発現に変化は認められなかった。腎 GLUT2 遺伝子発現は、絶食下で 40%減少した ($p<0.005$)。上記 4 種の組織で、細胞増殖関連遺伝子の発現に有意な増加は認められず、発癌促進に関連した遺伝子の発現にも変化がなかった。

以上の結果から、ダパグリフロジンを 5 週間反復経口投与した雄性 ZDF ラットの肝臓で認められた遺伝子発現の変化は、高血糖症の進展に対するダパグリフロジンの抑制作用によるものであり、また、腎に存在する他のグルコース輸送体の大幅な代償性アップレギュレーションは誘導されず、細胞増殖又は発癌促進に関連した遺伝子発現の変化は引き起こされることが示された。

2.6.2.3.3.2 膀胱癌細胞株の増殖に及ぼすグルコースの影響

報告書 930053120 [参考資料]

[目的]

ダパグリフロジンの臨床試験で、ダパグリフロジン投与群における膀胱癌の発症がプラセボ投与群よりも高い傾向が認められたため、さらに、*in vitro* で細胞培養液中のグルコース濃度がヒト膀胱癌細胞株の増殖に及ぼす影響について検討を行った。

[方法]

RPMI 1640 培地で、標準グルコース濃度を 11 mmol/L として 5 種の膀胱癌細胞株 (T-24、TCCSUP、UM-UC-3、J82 及び SW780) を培養し、細胞増殖率について高濃度のグルコース (25 ~ 50 mmol/L) の場合と比較した。加熱非活性化した 10%ウシ胎仔血清添加 RPMI 1640 培地を用いて、各 12 ウェルプレートに 40000 又は 80000 細胞を播種した。グルコース濃度を 11、25、35 又は 50 mmol/L に調製し、生細胞イメージングシステム IncuCyte を用いて培養した。145 時間の試験期間中、2 時間間隔でデータ (%コンフルエント) を取得し、細胞増殖曲線を作成した。

[結果及び結論]

10%血清添加の標準 RPMI 1640 培地 (11 mmol/L グルコース) で、本試験の評価に用いた膀胱癌細胞株の全てが良好に増殖し、145 時間で約 5%コンフルエントから 70%を超えるまで増殖した。培地のグルコース濃度を 25 mmol/L としたとき、T-24 及び SW780 細胞株の増殖に有意な変化は認められなかったが、J82、TCCSUP 及び UM-UC-3 細胞株の増殖は、それぞれ 37%、42%及び 73%減少した。培地のグルコース濃度が 35 mmol/L のとき、T-24 細胞株は若干の増殖 (83%減少) を示したが、培地のグルコース濃度が 35 mmol/L 及び 50 mmol/L のとき、T-24 細胞株を除いた全細胞株の増殖は、両濃度で完全に抑制された。

以上の結果から、いずれの細胞株でも高濃度グルコース添加による細胞増殖率の増加は認められず、高濃度グルコースはヒト膀胱癌細胞株の増殖には影響を及ぼさないと考えられた。

2.6.2.4 安全性薬理試験

ダパグリフロジンについて、独立した安全性薬理試験又は反復投与毒性試験の一部において、*in vitro* 及び *in vivo* で心血管系に及ぼす影響、並びに、*in vivo* で中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響を評価した。

なお、ダパグリフロジンの有害作用は $C_{\max}$ 又は AUC のいずれに依存するか明らかでないため、本項で引用した反復投与毒性試験で測定した $C_{\max}$ 及び AUC_{0-24h} について、それぞれ臨床的曝露量と比較した。

2.6.2.4.1 心血管系に及ぼす影響

2.6.2.4.1.1 *In vitro* 試験

報告書 920017631

In vitro 試験系で、hERG 遺伝子 (human ether a-go-go related gene) を安定発現させたヒト胎児由来腎臓細胞 (HEK293 細胞) を用いて、ヒト hERG/ I_{Kr} チャンネルに及ぼすダパグリフロジンの影響を測定した。また、摘出ウサギプルキンエ線維にダパグリフロジンを曝露し、活動電位持続時間に及ぼす影響を評価した。なお、これらの試験は GLP 非適用条件下で行った。

ホールセルパッチクランプ法を用いて、濃度 10 及び 30 $\mu\text{mol/L}$ でダパグリフロジンの hERG ピークテール電流の阻害作用を評価した。また、ウサギプルキンエ線維標本を酸素化した灌流液で表面灌流し、内部に電解質溶液 (3 mol/L 塩化カリウム、10 mmol/L HEPES (4-(2-Hydroxy Ethyl)-1-Piperazine Ethane Sulfonic acid) 及び 10 mmol/L EDTA (エチレンジアミン四酢酸)) を充填したガラス管微小電極により活動電位を記録する試験系を用いて、ダパグリフロジンの濃度 3、10 及び 30 $\mu\text{mol/L}$ における阻害作用を検討した。両試験で溶媒に DMSO (終濃度 0.03%) を用いた。活動電位パラメータとして、静止膜電位、オーバーシュート、最大立ち上がり速度及び活動電位持続時間 (50%及び 90%再分極までの時間) を測定した。

濃度 10 及び 30 $\mu\text{mol/L}$ で、ダパグリフロジンは hERG 電流に軽度の阻害作用を示し、溶媒不含のダパグリフロジン添加前のテール電流に対する阻害率 (平均値 $\pm$ 標準誤差) は、それぞれ 3.7 $\pm$ 2.0% (n=3) 及び 15 $\pm$ 5.1% (n=3) であった。濃度 30 $\mu\text{mol/L}$ は、ダパグリフロジンの臨床的曝露量 C_{max} の遊離型分画の推定値 0.042 $\mu\text{mol/L}$ (表 5) の 714 倍であることから、この結果は臨床使用に問題のある可能性を示すものではないと判断した。一方、ダパグリフロジンは、濃度 3、10 及び 30 $\mu\text{mol/L}$ で、溶媒処置時と比較してプルキンエ線維活動電位のいずれのパラメータに対しても顕著な作用を示さなかった。

以上の結果から、ダパグリフロジンは臨床使用に問題となる電気生理学的作用を示さないことが明らかとなった。

2.6.2.4.1.2 イヌにおけるテレメトリー試験 (単回投与試験)

報告書 930016852

覚醒ビーグル犬 (雌雄各 3 頭/群、12 カ月齢以上、体重 6~13 kg (試験開始時の月齢及び体重を示す。以下同様。)) を用いたテレメトリー試験を実施し、ダパグリフロジン (30 mg/kg) の単回経口投与による心血管系への影響を検討した。試験に用いたイヌは溶媒対照としても使用するため、ダパグリフロジン投与の 2 日前に溶媒 (90% v/v PEG400 水溶液 (本項及び以下の項で同様の溶媒を用いた)) を投与した。溶媒又はダパグリフロジンの投与前 1 時間及び投与後約 20 時間において、心拍数、左心室圧、全身動脈圧 (収縮期圧、拡張期圧及び平均圧)、P 時間、RR、PR、QRS 及び QT 間隔を含む心電図 (ECG) パラメータ、並びに、自発運動量を継続的に遠隔測定し、評価した。臨床症状及び補正 QT 間隔 (QT_{80} : 各動物の心拍数を 80 回/min に標準化したときの QT 間隔) についても評価を行った。

ダパグリフロジン 30 mg/kg を投与した 8 及び 24 時間後、ダパグリフロジンの血漿中濃度は雌雄で同程度であった。活性代謝物である脱エチル化体の血漿中濃度は、8 時間後に雄性イヌ 1 頭の 0.052 $\mu\text{g/mL}$ を除いて他の全てのイヌでは LLOQ (0.05 $\mu\text{g/mL}$) より低値であった (表 14)。

本試験で、ダパグリフロジン投与に関連した自発運動量に対する有害作用は認められなかった。また、血行力学的及び電気生理学的パラメータに対してもダパグリフロジン投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果から、イヌにダパグリフロジン 30 mg/kg を単回経口投与後（投与 8 時間後の血漿中薬物濃度は約 17 µg/mL）、いずれの心血管系パラメータにも影響は認められなかった。

ダパグリフロジン 30 mg/kg を投与 8 時間後の血漿中ダパグリフロジン濃度は、本試験及びイヌを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験（報告書 930009999）で同程度であった（それぞれ 17.2 及び 24.0 µg/mL）。また、これらの試験でダパグリフロジン曝露量も同程度であったと仮定すると、3 カ月間反復投与毒性試験における試験 1 日目の曝露量に基づいて、本試験で投与量 30 mg/kg の平均 C_{max} 及び AUC_{0-24h} は、それぞれ 51.7 µg/mL 及び 597 µg·h/mL と推定された。臨床的曝露量の C_{max} 及び AUC_t に基づいた安全係数は、それぞれ 271 倍及び 821 倍である。

表 14 イヌの単回投与テレメトリー試験における平均血漿中濃度

投与後の時間	ダパグリフロジン (µg/mL)		脱エチル化体 (µg/mL)	
	雄性	雌性	雄性	雌性
8 時間	16.99	17.36	0.052 ^a	<LLOQ
24 時間	5.56	5.19	<LLOQ	<LLOQ

平均値（雌雄各 n=3）。

a) 投与 8 時間後のイヌ 1 頭の血漿中濃度。LLOQ（定量下限）= 0.05 µg/mL。引用元：報告書 930016852。

2.6.2.4.1.3 イヌにおける反復投与試験

報告書 930005365、報告書 930009999 及び報告書 930023450

以下に示した反復経口投与毒性試験の一部として心血管系に及ぼす影響を評価した。

- ビーグル犬（雌雄各 3 頭/群、約 9～26 カ月齢、体重 8.9～11.9 kg）にダパグリフロジン 0（溶媒）、5、25 及び 250 mg/kg/日を 1 カ月間反復経口投与した試験（報告書 930005365）。
- ビーグル犬（雌雄各 5 頭/群、約 5～8 カ月齢、体重 6.5～8.8 kg）にダパグリフロジン 0（溶媒）、5、30 及び 180 mg/kg/日を 3 カ月間反復経口投与した試験（報告書 930009999）。
- ビーグル犬（雌雄各 11 頭/群（本評価項目では、雌 120 mg/kg/日投与群のみ 10 頭）、約 4～6 カ月齢、雄：平均体重 6.6 kg、雌：平均体重 5.8 kg）にダパグリフロジン 0（溶媒）、5、20 及び 120 mg/kg/日を 12 カ月間反復経口投与した試験（報告書 930023450）。本試験で、12 カ月間投与後に ECG 及び心拍数を欠測したため 6 カ月間投与後のデータを評価した。

その結果、ダパグリフロジン投与に関連した心血管系（心拍数、血圧及び ECG）への変化は、以下の 2 点の軽度の所見を除いて認められなかった。一つは、3 カ月間反復経口投与試験で、180 mg/kg/日群の雄性イヌで投与 13 週目に QTc 間隔の軽微な延長（投与 13 週目の溶媒対照群に比べて 16 ミリ秒延長）の所見であるが、本所見は他の試験のいずれの用量でも認められなかった。他方は、12 カ月間反復経口投与試験の 6 カ月目に 120 mg/kg/日を投与した雌性イヌで、軽度だが有意な QT 及び QTc 間隔の短縮が認められた。QT 及び QTc 間隔の短縮はおそらく、所定の

毒性試験で測定された ECG データ固有の可変性の影響であり、ダパグリフロジン投与によるものではないと考えられた。

12 カ月間反復投与試験（報告書 930023450）にて 120 mg/kg/日で 6 カ月間反復投与した雌性イヌの曝露量（ $C_{\max}$ ：164 $\mu\text{g/mL}$ 及び $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$ ：1450 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ）は、臨床的曝露量 $C_{\max}$ 及び AUC_t のそれぞれ 859 倍及び 1994 倍であった。また、3 カ月間反復投与試験（報告書 930009999）にて 180 mg/kg/日で 3 カ月間反復投与した雄の曝露量（ $C_{\max}$ ：244 $\mu\text{g/mL}$ 及び $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$ ：2400 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ）は、臨床的曝露量 $C_{\max}$ 及び AUC_t のそれぞれ 1277 倍及び 3301 倍であった。

以上、ダパグリフロジンは、イヌで、臨床的曝露量 $C_{\max}$ 及び AUC_t のそれぞれ 859 倍及び 1994 倍という高い曝露量まで本薬投与に関連する心血管系の変化を示さなかったことから、本薬が臨床用量でヒトの心血管系に有害な作用を惹起する可能性は低いと考えられた。

2.6.2.4.2 中枢神経系に及ぼす影響

報告書 930023449、報告書 930023450 及び報告書 930003926

有色 Long-Evans 系雄及び白色 SD 系雌雄ラットに ^{14}C 標識ダパグリフロジンを投与した試験において、ダパグリフロジンの脳への分布は低いことが示されている（薬物動態の概要文 2.6.4.4.3 項参照）。中枢神経系に対するダパグリフロジンの潜在的作用を検討する特定の安全性薬理試験は行わなかったが、以下の反復投与毒性試験において、行動変化の観察及び神経電気生理学的検査を行った。

なお、神経電気生理学的検査は GLP 非適用条件で測定を行った。

SD 系ラット（雌雄各 30 匹/群、約 7 週齢、雄：平均体重 238 g、雌：平均体重 148 g）にダパグリフロジン 0（溶媒）、5、25 及び 150 mg/kg/日を 6 カ月間反復経口投与した試験で、一般症状の一部として行動変化を観察した（試験 930023449）。その結果、150 mg/kg/日群では、投与 32～156 日に雄 11 匹及び雌 6 匹で死亡がみられた。これらのラットにおける死因は特定されなかった。25 mg/kg/日まで本薬投与に関連する死亡又は行動変化の所見は認められなかった。行動変化の観察に用いたラットのうち、溶媒（雌雄各 6 匹/群）及びダパグリフロジン 150 mg/kg/日（雌雄各 5 匹/群）投与群で、6 カ月間反復経口投与後に神経電気生理学的検査（尾神経の伝導速度及び活動電位振幅、並びに、脛骨運動神経の遠位潜時及び筋活動電位振幅の測定）を行った。その結果、いずれの指標においてもダパグリフロジン投与群と溶媒投与群との間に有意な差は認められなかった。

ビーグル犬（雌雄各 11 頭/群、約 4～6 カ月齢、雄：平均体重 6.6 kg、雌：平均体重 5.8 kg）にダパグリフロジン 0（溶媒）、5、20 及び 120 mg/kg/日を 12 カ月間反復経口投与した試験で、最高用量 120 mg/kg/日まで本薬投与に関連する一般症状（行動）の変化は認められなかった（報告書 930023450）。また、行動変化の観察に用いたイヌのうち、溶媒及びダパグリフロジン 120 mg/kg/日投与群（いずれも雌雄各 4 頭/群）で、6 カ月間及び 12 カ月間反復投与後に神経電気生理学的検査（腓骨運動神経及び坐骨神経の伝導速度、体性感覚誘発電位、並びに、脳幹聴性誘発電位の測定）を行った。その結果、いずれの指標においてもダパグリフロジン投与群と溶媒投与群との間に有意な差は認められなかった。

SD 系ラット（雄 5 匹/群、約 5 週齢、体重 126～159 g）にダパグリフロジン 0（溶媒）及び 150 mg/kg/日を 3 カ月間反復経口投与した探索的毒性試験（報告書 930003926）で、投与 11 週後の脳電図の測定により、ダパグリフロジンの潜在的神経毒性誘発性を評価した。その結果、周波

数中央値（平均値±標準偏差（Hz））には、溶媒投与群（ 7.24 ± 1.05 ）とダパグリフロジン投与群（ 7.88 ± 0.70 ）の間に有意な差は認められなかった。

以上、ダパグリフロジンは、ラットで 25 mg/kg/日（報告書 930023449）及びイヌで 120 mg/kg/日（報告書 930023450）の用量まで本薬投与に関連する中枢神経系の変化を示さなかった。このときのラットにおける曝露量は臨床的曝露量 C_{max} 及び AUC_t のそれぞれ 220 倍及び 432 倍（ C_{max} : $42.1 \mu\text{g/mL}$ 及び AUC_{0-24h} : $314 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ ）、イヌでは臨床的曝露量 C_{max} 及び AUC_t のそれぞれ 874 倍及び 2118 倍（ C_{max} : $167 \mu\text{g/mL}$ 及び AUC_{0-24h} : $1540 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ ）という高い曝露量であった。このことから、本薬が臨床用量でヒトの中枢神経系に有害な作用を惹起する可能性は低いと考えられた。

2.6.2.4.3 呼吸系に及ぼす影響

報告書 930014657、報告書 930023449、報告書 930005365、
報告書 930009999 及び報告書 930023450

呼吸機能に対するダパグリフロジンの潜在的作用を検討する特定の安全性薬理試験は行わなかったが、以下の反復投与毒性試験において、一般症状の一部として呼吸状態の観察又は動脈血酸素飽和度の測定により呼吸系に及ぼす影響を評価した。

SD 系ラット（雌雄各 15 匹/群、約 7 週齢、雄：平均体重 221 g、雌：平均体重 154 g、用量：0（溶媒）、5、50 及び 200 mg/kg/日）の 3 カ月間反復経口投与した試験で、50 mg/kg/日まで本薬投与に関連する一般症状（呼吸状態）の変化は認められなかった（報告書 930014657）。

2.6.2.4.2 項で引用した、SD 系ラット（雌雄各 30 匹/群）の 6 カ月間反復経口投与試験（ダパグリフロジン 0（溶媒）、5、25 及び 150 mg/kg/日）で、25 mg/kg/日まで本薬投与に関連する一般症状（呼吸状態）の変化は認められなかった（報告書 930023449）。

2.6.2.4.1.3 項で引用した、ビーグル犬（雌雄各 5 頭/群）の 3 カ月間反復経口投与試験（ダパグリフロジン 0（溶媒）、5、30 及び 180 mg/kg/日）（報告書 930009999）、並びに、イヌ（雌雄各 11 頭/群）の 12 カ月間反復経口投与試験（ダパグリフロジン 0（溶媒）、5、20 及び 120 mg/kg/日）（報告書 930023450）のいずれにおいても、最高用量まで本薬投与に関連する一般症状（呼吸状態）の変化は認められなかった。

2.6.2.4.1.3 項で引用した、ビーグル犬（雌雄各 3 頭/群）の 1 カ月間反復経口投与試験（ダパグリフロジン 0（溶媒）、5、25 及び 250 mg/kg/日）で動脈血酸素飽和度（パルス酸素濃度計による測定）に及ぼす影響を評価した（報告書 930005365）。その結果、投与終了後の投与開始時に対する動脈血酸素飽和度の相対値は、いずれの用量群でも溶媒投与群との間に有意な差は認められなかった。

以上、ダパグリフロジンは、ラットで 50 mg/kg/日（報告書 930014657）及びイヌで 250 mg/kg/日群（報告書 930005365）の用量まで本薬投与に関連する呼吸系の変化を示さなかった。このときのラットにおける曝露量は臨床的曝露量 C_{max} 及び AUC_t のそれぞれ 306 倍及び 602 倍（ C_{max} : $58.4 \mu\text{g/mL}$ 及び AUC_{0-24h} : $438 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ ）であり、イヌでは臨床的曝露量 C_{max} 及び AUC_t のそれぞれ 1030 倍及び 3669 倍（ C_{max} : $196.7 \mu\text{g/mL}$ 及び AUC_{0-24h} : $2667.5 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ ）という高い曝露量であった。このことから、本薬が臨床用量でヒトの呼吸系に有害な作用を惹起する可能性は低いと考えられた。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

動物を用いた薬力学的相互作用試験は実施しなかった。

2.6.2.6 考察及び結論

In vitro 試験で、ダパグリフロジンは、腎でのグルコース再吸収に関与する主要なナトリウム・グルコース共輸送体であるヒト SGLT2 に対して、選択的、可逆的かつ競合的な阻害活性を示した。ダパグリフロジンのヒト SGLT2 に対する K_i 値は 0.55 nmol/L であり、その選択性はヒト SGLT1 (K_i 値：810 nmol/L) との比較で約 1400 倍高かった。IC₅₀ 値による比較で、ダパグリフロジンはげっ歯類及びイヌの SGLT2 に対してもヒト SGLT2 と同程度の活性を示したが、ラット、マウス及びイヌでは、それぞれの SGLT1 と比較した SGLT2 選択性は、ヒト SGLT1 と比較したヒト SGLT2 選択性よりも低かった（それぞれ 207 倍、130 倍及び 436 倍）。ダパグリフロジンのヒトにおける血中主代謝物である 3-*O*-グルクロン酸抱合体のヒト SGLT2 に対する阻害活性は、ダパグリフロジンに比べて 1/2400 であるため、臨床的曝露量 AUC_τ では 3-*O*-グルクロン酸抱合体は不活性であると推測された。

In vivo 試験で、ダパグリフロジンの単回経口投与により、糖尿病モデル動物と同様に非糖尿病動物でも尿中グルコース排泄促進作用が認められ、その最低有効用量は、糖尿病動物で 0.01 mg/kg 及び非糖尿病動物で 0.1 mg/kg であった。また、ダパグリフロジンの SGLT2 阻害による尿中グルコース排泄促進作用は、マウスで 1 mg/kg 以下の用量で達成されると考えられ、このときの曝露量は臨床的曝露量 AUC_τ 以下と推定された。SGLT2 ノックアウトマウスで、ダパグリフロジン 10 mg/kg 単回経口投与により UGLR が増加することからも明らかであるように、マウスに高用量のダパグリフロジンを単回経口投与すると、SGLT2 阻害とは異なる経路、おそらく SGLT1 阻害により UGLR は増加すると考えられた。ヒトでは、SGLT1 と比較した SGLT2 への選択性はマウスより高いため、同程度の曝露でも SGLT1 阻害が起こる可能性は低いと考えられた。マウスにダパグリフロジン 10 mg/kg を単回経口投与したとき、軽度のナトリウム利尿が認められたが、カルシウム及びカリウムの尿中排泄量の増加は認められなかったことから、ダパグリフロジンは薬理作用を示す用量でカルシウム及びカリウムの排泄促進作用は示さないと考えられた。また、尿量の増加が認められたが、これは試験動物における UGLR 増加の結果と考えられた。

糖尿病モデルラットで血漿中グルコース濃度が低下したが、正常ラットでは FPG に有意な影響は認められず、ダパグリフロジンにより低血糖が引き起こされるリスクは低いことが示唆された。糖尿病モデルラットで、ダパグリフロジン投与量が 1 mg/kg（臨床的曝露量 AUC_τ の 2.9 倍に相当）以下のとき、薬理作用の大部分は SGLT2 阻害によるものと考えられるが、さらに高用量では、近位尿細管に存在する SGLT1 にも影響を及ぼす可能性がある。2 型糖尿病では、インスリン感受性、グルコース耐性、膵 β 細胞機能及び膵島形態が悪化するが、前糖尿病モデルラットで、ダパグリフロジンの約 5 週間反復経口投与により、高血糖症の進展の抑制、グルコース耐性の改善に加えて、膵島形態、膵 β 細胞機能及び膵インスリン量が維持されることが示された。また、ダパグリフロジン 10 mg/kg（臨床的曝露量 AUC_τ の 30 倍に相当）を単回投与後に糖尿病モデル ZDF ラットの死亡が認められたため、同試験方法でフォローアップ試験を行った。代謝ケージで飼育された試験動物は自由摂餌・摂水下であったが、投与後の絶食及び薬理作用による尿量増加を、摂餌量及び摂水量を十分に増加させることによって代償できず、脱水症状を起こし、死亡に至ったと考えられる。対照的に、標準ケージで自由摂餌・摂水下の同糖尿病モデルに同用量のダパグリフロジンを 14 日間反復経口投与した試験では死亡は認められなかった。

ダパグリフロジンは、*in vitro* で、GLUT クラス 1 ファミリーのアイソフォーム及び SGLT ファミリーの他のアイソフォームに比べて SGLT2 に高い選択性を示した。ダパグリフロジンの単回経口投与により、正常及び糖尿病モデルラットのいずれでも内因性グルコース産生の増加が認められ、ダパグリフロジンは、尿中グルコース排泄の促進により引き起こされる血漿中グルコース濃度変化に対する生理的応答を阻害しないことが示唆された。糖尿病モデルラットで、ダパグリフロジンの単回経口投与に反応した内因性グルコース産生の増加が認められたが、同モデルにダパグリフロジンを 15 日間反復経口投与後に内因性グルコース産生の増加が減少したことから、ダパグリフロジンの反復経口投与により 2 型糖尿病の主症状の一つである、グルコース産生を抑制するインスリンに対する肝臓の抵抗性が改善される可能性が示された。また、STZ 誘発性糖尿病モデルラットで、ダパグリフロジンの反復経口投与により、全腎 GFR 及び腎重量に影響は認められなかったが、糖尿病初期にみられる SNGFR 増加が減少した。さらに、DIO ラットにダパグリフロジンを 27 日間反復経口投与した試験で、摂餌量が増加したにも関わらず体重減少が認められ、身体組成の分析から、ダパグリフロジンには除脂肪量を維持しつつ脂肪量を減少させる効果があることが示唆された。一方、ダパグリフロジンの臨床試験で、ダパグリフロジン投与群における膀胱癌の発現率がプラセボ群よりも高い傾向を示したため、ダパグリフロジンを 5 週間反復経口投与した ZDF ラットから採取した細胞で遺伝子発現に及ぼす影響を評価したところ、細胞増殖又は発癌促進に関連した転写の変化は引き起こされないことが示唆された。さらに、*in vitro* のヒト膀胱癌細胞株において高濃度グルコース添加による癌細胞増殖率の増加は認められなかった。

独立した安全性薬理試験又は反復投与毒性試験の一部において、*in vitro* 及び *in vivo* で心血管系に及ぼす影響、並びに、*in vivo* で中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響の評価を行った結果、臨床的曝露量 C_{max} の 220 倍の曝露量まで、ダパグリフロジンの臨床使用に問題のある可能性を示す所見は認められなかった。

以上、ダパグリフロジンは、SGLT2 阻害作用による腎でのグルコース再吸収の抑制により、血漿中グルコース濃度の低下、血糖パラメータの低下、体重減少及び 2 型糖尿病に関連する主症状の改善を示すことが示唆され、新しい作用機序を有する 2 型糖尿病治療薬として有用性を示すことが期待される。

2.6.2.7 図表

図表は本文中の適切な場所に示した。

なお、本概要文に引用した試験報告書及び主な公表文献の試験方法及び試験成績について薬理試験概要表 2.6.3 項に要約した。

2.6.2.8 参考文献一覧

社内報告書は、参考文献に分類したもののみ本項に示した。

報告書 930005304

SGLT2 genomic dossier. Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical Research Institute; [REDACTED]. Document Control No. 930005304.

報告書 920008658

Expression of type I and type II sodium-dependent glucose transporter in mammalian tissues using Northern blot analysis, quantitative PCR, and *in situ* hybridization. Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical Research Institute; [REDACTED]. Document Control No. 920008658.

報告書 930005302

RNA expression profiling of SGLT isoforms in rat tissues. Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical Research Institute; [REDACTED]. Document Control No. 930005302.

American Diabetes Association 2013

American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2013. Diabetes Care 2013;36 Suppl 1:S11-66.

Calado et al 2008

Calado J, Sznajder Y, Metzger D, Rita A, Hogan MC, Kattamis A et al. Twenty-one additional cases of familial renal glucosuria: absence of genetic heterogeneity, high prevalence of private mutations and further evidence of volume depletion. Nephrol Dial Transplant 2008; 23: 3874-9.

Deetjen et al 1992

Deetjen P, von Baeyer H, Drexel H. Chapter 82: Renal glucose transport. In The Kidney: Physiology and Pathophysiology, 2nd ed., Seldin DW and Giebisch G, eds., Raven Press, New York, 1992, pp.2873-88.

DeFronzo et al 1979

DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. Am J Physiol. 1979; 237(3): E214-23.

Ehrenkranz et al 2005

Ehrenkranz JR, Lewis NG, Kahn CR, Roth J. Phlorizin: a review. Diabetes Metab Res Rev 2005; 21: 31-8.

Finegood et al 2001

Finegood DT, McArthur MD, Kojwang D, Thomas MJ, Topp BG, Leonard T et al. Beta-cell mass dynamics in Zucker diabetic fatty rats. Rosiglitazone prevents the rise in net cell death. Diabetes 2001; 50:1021-9.

Han et al 2008

Han S, Hagan DL, Taylor JR, Xin L, Meng W, Biller SA et al. Dapagliflozin, a selective SGLT2 inhibitor, improves glucose homeostasis in normal and diabetic rats. Diabetes 2008; 57: 1723-9.

Henderson and Covinsky 1986

Henderson RP, Covinsky JO. Effect of protein on renal function and drug disposition. *Drug Intell Clin Pharm* 1986; 20: 842-4.

Kaestner et al 1989

Kaestner KH, Christy RJ, McLenithan JC, Braiterman LT, Cornelius P, Pekala PH et al. Sequence, tissue distribution, and differential expression of mRNA for a putative insulin-responsive glucose transporter in mouse 3T3-L1 adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 3150-4.

Kahn et al 1993

Kahn SE, Prigeon RL, McCulloch DK, Boyko EJ, Bergman RN, Schwartz MW et al. Quantification of the relationship between insulin sensitivity and beta-cell function in human subjects. Evidence for a hyperbolic function. *Diabetes* 1993; 42: 1663-72.

Kanai et al 1994

Kanai Y, Lee WS, You G, Brown D, Hediger MA. The human kidney low affinity Na⁺/glucose cotransporter SGLT2: delineation of the major renal reabsorptive mechanism for D-glucose. *J Clin Invest* 1994; 93: 397-404.

Li and McNeil 1997

Li WM, McNeil JH. Quantitative methods for measuring the insulin-regulatable glucose transporter (Glut4). *J Pharmacol Toxicol Methods* 1997; 38: 1-10.

Maddox et al 1992

Maddox DA, Deen WM, Brenner BM. Chapter 13: Glomerular filtration. In: *Handbook of Physiology, Section 8: Renal physiology, Vol. 1*, Windhager EE, ed. New York, NY, Oxford University Press, 1992, pp. 545-638.

Mogensen and Andersen 1975

Mogensen CE, Andersen MJ. Increased kidney size and glomerular filtration rate in untreated juvenile diabetes: normalization by insulin-treatment. *Diabetologia* 1975; 11: 221-4.

O'Bryan and Hostetter 1997

O'Bryan GT, Hostetter TH. The renal hemodynamic basis of diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 1997; 17: 93-100.

Olson and Pessin 1996

Olson AL, Pessin JE. Structure, function, and regulation of the mammalian facilitative glucose transporter gene family. *Annu Rev Nutr* 1996; 16: 235-56.

Rossetti et al 1990

Rossetti L, Giaccari A, DeFronzo R. Glucose toxicity. Diabetes Care 1990; 13: 610-30.

Rossetti et al 1987a

Rossetti L, Shulman GI, Zawulich W, DeFronzo RA. Effect of chronic hyperglycemia on *in vivo* insulin secretion in partially pancreatectomized rats. J Clin Invest 1987; 80: 1037-44.

Rossetti et al 1987b

Rossetti L, Smith D, Shulman GI, Papachristou D, DeFronzo RA. Correction of hyperglycemia with phlorizin normalizes tissue sensitivity to insulin in diabetic rats. J Clin Invest 1987; 79: 1510-5.

Santer et al 2003

Santer R, Kinner M, Lassen CL, Schneppenheim R, Eggert P, Bald M et al. Molecular analysis of the SGLT2 gene in patients with renal glucosuria. J Am Soc Nephrol 2003; 14: 2873-82.

Smith et al 2000

Smith SA, Lister CA, Toseland CD, Buckingham RE. Rosiglitazone prevents the onset of hyperglycaemia and proteinuria in the Zucker diabetic fatty rat. Diabetes Obes Metab 2000; 2: 363-72.

Teague et al 2011

Teague J, Gyte A, Peel JE, Young KC, Loxham SJ, Mayers RM et al. Reversibility of hyperglycaemia and islet abnormalities in the high fat-fed female ZDF rat model of type 2 diabetes. J Pharmacol Toxicol Methods 2011; 63:15-23.

Thomson et al 2004

Thomson SC, Vallon V, Blantz RC. Kidney function in early diabetes: the tubular hypothesis of glomerular filtration. Am J Physiol Renal Physiol 2004; 286: F8-F15.

Vallon et al 2002

Vallon V, Huang DY, Deng A, Richter K, Blantz RC, Thomson S. Salt-sensitivity of proximal reabsorption alters macula densa salt and explains the paradoxical effect of dietary salt on glomerular filtration rate in diabetes mellitus. J Am Soc Nephrol 2002; 13: 1865-71.

Vallon et al 2011

Vallon V, Platt KA, Cunard R, Schroth J, Whaley J, Thomson SC et al. SGLT2 mediates glucose reabsorption in the early proximal tubule. J Am Soc Nephrol 2011; 22(1): 104-12.

Vallon et al 1999

Vallon V, Richter K, Blantz RC, Thomson S, Osswald H. Glomerular hyperfiltration in experimental diabetes mellitus: potential role of tubular reabsorption. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 2569-76.

Van Liew et al 1970

Van Liew JB, Buentig W, Stolte H, Boylan JW. Protein excretion: micropuncture study of rat capsular and proximal tubule fluid. *Am J Physiol* 1970; 219: 299-305.

Wells et al 1992

Wells RG, Pajor AM, Kanai Y, Turk E, Wright EM, Hediger MA. Cloning of a human kidney cDNA with similarity to the sodium-glucose cotransporter. *Am J Physiol* 1992; 263: F459-F465.

Wright et al 2007

Wright EM, Hirayama BA, Loo DF. Active sugar transport in health and disease. *J Intern Med* 2007; 261: 32-43.

Wright et al 2011

Wright EM, Loo DDF, Hirayama BA. Biology of human sodium glucose transporters. *Physiol Rev* 2011; 91: 733-94.

You et al 1995

You G, Lee WS, Barros EJ, Kanai Y, Huo TL, Khawaja S et al. Molecular characteristics of Na⁺-coupled glucose transporters in adult and embryonic rat kidney. *J Biol Chem* 1995; 270: 29365-71.

Zhou et al 2003

Zhou L, Cryan EV, D'Andrea MR, Belkowski S, Conway BR, Demarest KT. Human cardiomyocytes express high level of Na⁺/glucose cotransporter 1 (SGLT1). *J Cell Biochem* 2003; 90: 339-46.

第2部 CTDの概要

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

版番号：■

2.6.3 薬理試験概要表

フォシーガ[®]

本書は、ブリストル・マイヤーズ株式会社及びアストラゼネカ株式会社の機密文書です。機密保持を求める条件で本書を公開する場合があることを除いては、本書の受領により、本書に記載された非公開の情報は、ブリストル・マイヤーズ株式会社又はアストラゼネカ株式会社の書面による事前の承認なく公開又は開示しないことに同意したものとします。

ブリストル・マイヤーズ株式会社及び アストラゼネカ株式会社は本書の公 開・開示に同意しております
--

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダバグリフロジンプロピレングリコール水和物

目次	頁
目次	2
略語及び専門用語一覧表	3
2.6.3.1 薬理試験：一覧表	5
2.6.3.2 効力を裏付ける試験.....	12
2.6.3.3 副次的薬理試験	19
2.6.3.4 安全性薬理試験	25
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験.....	28

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
3T3-L1	mouse adipocyte cell line
AUC	area under the curve : 血漿中濃度-時間曲線下面積
AZ	AstraZeneca : アストラゼネカ社 (英国)
BMS	Bristol-Myers Squibb : ブリストル・マイヤーズ スクイブ社 (米国)
BMS-512148	dapagliflozin : ダパグリフロジン
BMS-H	Bristol-Myers Squibb (Hopewell, NJ)
BMS-L	Bristol-Myers Squibb (Lawrenceville, NJ)
BMS-NB	Bristol-Myers Squibb (New Brunswick, NJ)
BMS-SYR	Bristol-Myers Squibb (Syracuse, NY)
BSA	bovine serum albumin : ウシ血清アルブミン
██████████	██████████ France
CHO	Chinese hamster ovary
DIO	diet induced obese : 食餌誘導性肥満
ECG	electrocardiogram : 心電図
FPG	fasting plasma glucose : 絶食下血漿中グルコース濃度
GFR	glomerular filtration rate : 糸球体濾過量
GIR	glucose infusion rate : グルコース注入速度
GLP	Good Laboratory Practice : 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GLUT	facilitative glucose transporter : 促進拡散型グルコース輸送体
GLUT1	facilitative glucose transporter 1 : 促進拡散型グルコース輸送体 1
GLUT2	facilitative glucose transporter 2 : 促進拡散型グルコース輸送体 2
GLUT4	facilitative glucose transporter 4 : 促進拡散型グルコース輸送体 4
³ H	tritium : トリチウム
HbA1c	hemoglobin A1c : ヘモグロビン A1c
HepG2	human hepatocyte-derived cell line : ヒト肝細胞誘導細胞株
hERG	human ether-a-go-go related gene : ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HLS	Huntingdon Life Sciences (East Millstone, NJ)
IC ₅₀	concentration required for 50% inhibition : 50%阻害濃度
K _i	inhibition constant : 阻害定数
K _m	Michaelis constant : ミカエリス定数
kg	kilogram : キログラム
██████████	██████████ Taiwan
MRI	magnetic resonance imaging : 磁気共鳴映像法

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

略語及び専門用語	用語の説明
μmol	micromole：マイクロモル
μm ²	micron squared (area)：平方マイクロメートル
mg	milligram：ミリグラム
mL	milliliter：ミリリットル
n	number：動物数
OGTT	oral glucose tolerance test：経口グルコース負荷試験
%	percent：パーセント
	Taiwan
RNA	ribonucleic acid：リボ核酸
SD	Sprague-Dawley：スプラッグドーリー
SGLT	sodium-glucose co-transporter：ナトリウム・グルコース共輸送体
SGLT1	sodium-glucose co-transporter 1 (gene name SLC5A1)：ナトリウム・グルコース共輸送体 1（遺伝子名 SLC5A1）
SGLT2	sodium-glucose co-transporter 2 (gene name SLC5A2)：ナトリウム・グルコース共輸送体 2（遺伝子名 SLC5A2）
SGLT2 ノックアウト	homozygous loss of function for the SGLT2 gene：ホモ接合型 SGLT2 遺伝子機能欠損
SGLT4	sodium-glucose co-transporter 4 (gene name SLC5A9)：ナトリウム・グルコース共輸送体 4（遺伝子名 SLC5A9）
SGLT6	sodium-glucose co-transporter 6 (gene name SLC5A11)：ナトリウム・グルコース共輸送体 6（遺伝子名 SLC5A11）
SMIT	sodium-myoinositol co-transporter (gene name SLC5A3)：ナトリウム・ミオイノシトール共輸送体（遺伝子名 SLC5A3）
STZ	streptozotocin：ストレプトゾトシン
UK	United Kingdom：英国
VA	Veterans Affairs：退役軍人省
vs.	versus：対
ZDF	Zucker diabetic fatty：Zucker 糖尿病性肥満

各薬理試験において、ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物は非晶形（遊離型）として用いられ、プロピレングリコール水和物として用いられた試験はない。また、CTD 2.6.3 項に記載されている濃度及び投与量は遊離型に基づく数値である。

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

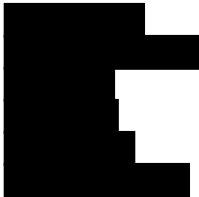
2.6.3.1 薬理試験：一覧表

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）					
試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
効力を裏付ける試験					
In vitro 試験					
ヒトの SGLT2 及び SGLT1 に対する ダパグリフロジンの阻害活性及び選 択性	ヒト SGLT1 又はヒト SGLT2 を発現 させた遺伝子組換え Chinese hamster ovary（CHO）細胞株	In vitro	BMS-H	930005313	4.2.1.1-1
		In vitro	BMS-H	930052283	4.2.1.1-2
各動物種の SGLT2 及び SGLT1 に対 するダパグリフロジンの阻害活性	ラット SGLT1 又はラット SGLT2 を 発現させた遺伝子組換え CHO 細胞 株	In vitro	BMS-H	930005313	4.2.1.1-1
	マウス SGLT1 又はマウス SGLT2 を 発現させた遺伝子組換え CHO 細胞 株	In vitro	BMS-H	930041858	4.2.1.1-3
	イヌ SGLT1 又はイヌ SGLT2 を発現 させた遺伝子組換え CHO 細胞株	In vitro	BMS-H	930052019	4.2.1.1-4
ヒト及びラットの SGLT2 及び SGLT1 に対するダパグリフロジン代 謝物の阻害活性	ヒト SGLT1、ヒト SGLT2、ラット SGLT1 又はラット SGLT2 を発現さ せた遺伝子組換え CHO 細胞株	In vitro	BMS-H	930005313	4.2.1.1-1
		In vitro	BMS-H	930018488	4.2.1.1-5
In vivo 試験					
非糖尿病動物における単回投与試験					

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
非糖尿病マウスにおける単回投与試験	雄性正常 C57BL/6 マウス及びホモ接合型 SGLT2 遺伝子機能欠損（SGLT2 ノックアウト） C57BL/6 マウス	経口		930044592	4.2.1.1-6
正常ラットにおける単回投与試験	雄性正常 Sprague-Dawley（SD）系ラット	経口	BMS-H	930005311	4.2.1.1-7
正常ラットにおける薬力学的作用の持続性	雄性正常 SD 系ラット	経口	BMS-H	930008042	4.2.1.1-8
糖尿病モデル動物における単回投与試験					
ストレプトゾトシン（STZ）誘発糖尿病モデルラットにおける単回投与試験	STZ 誘発糖尿病モデル雄性 SD 系ラット	経口	BMS-H	930005305	4.2.1.1-9
遺伝的糖尿病モデル Zucker Diabetic Fatty（ZDF）ラットにおける単回投与試験	雄性 ZDF ラット ¹⁾	経口	BMS-H	930005327	4.2.1.1-10
[考察：死亡の原因を検討したフォローアップ試験]	雄性 ZDF ラット ¹⁾	経口	BMS-H	930005310	4.2.1.1-11
ZDF ラットにおける追加の単回投与試験	雄性 ZDF ラット ¹⁾	経口	BMS-H	930008043	4.2.1.1-12
糖尿病モデル ZDF ラットにおける反復投与試験					
	雄性 ZDF ラット ¹⁾	経口	BMS-H	930005329	4.2.1.1-13
クランプ試験					

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
高インスリン正常血糖クランプ法によるグルコース処理能に対するダパグリフロジンの作用	雄性 ZDF ラット ¹⁾	経口	BMS-H	930005312	4.2.1.1-14
高血糖クランプ法による膵β細胞の機能及び形態に対するダパグリフロジンの作用（予防作用）	高脂肪食雌性 ZDF ラット及び非肥満対照ラット ¹⁾	経口	██████████ UK	930044494 (████ 社報告書番号 AZA09120 2-01)	4.2.1.1-15
高血糖クランプ法による膵β細胞の機能及び形態に対するダパグリフロジンの作用（介入試験）	高脂肪食雌性 ZDF ラット及び非肥満対照ラット ¹⁾	経口	██████████ UK	930044498 (████ 社報告書番号 AZA09120 2-02)	4.2.1.1-16
その他の反復投与試験					
高血糖症への進展及びグルコース耐性に対するダパグリフロジンの作用（OGTT）	雄性 ZDF ラット及び非肥満同腹仔ラット ¹⁾	経口	BMS-H	930037783	4.2.1.1-17
高血糖症への進展及びグルコース耐性に対するダパグリフロジンの作用（高インスリン正常血糖クランプ法）	雄性 ZDF ラット及び非肥満同腹仔ラット ¹⁾	経口	BMS-H	930041958	4.2.1.1-18
反復投与中及び反復投与後の糖尿病関連エンドポイントに対するダパグリフロジンの作用	雄性 ZDF ラット及び非肥満同腹仔ラット ¹⁾	経口	BMS-H	930041921	4.2.1.1-19

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
副次的薬理試験					
<i>In vitro</i> 試験					
SGLT ファミリーのアイソフォームに対するダパグリフロジンの選択性	ヒトの SMIT1、SGLT4 及び SGLT6 を安定に形質移入した CHO 細胞クローン	<i>In vitro</i>	BMS-H	930052026	4.2.1.2-1
SGLT ファミリーの他のアイソフォームに対するダパグリフロジンの選択性	ラット SMIT を発現させた遺伝子組換え CHO 細胞株	<i>In vitro</i>	BMS-H	930005313	4.2.1.1-1
ヒト及びマウスの GLUT1 及び GLUT4 に対するダパグリフロジンの作用	ヒト及びマウスの含脂肪細胞	<i>In vitro</i>	BMS-H	930005313	4.2.1.1-1
他のグルコース輸送体に対するダパグリフロジンの作用	ヒト赤血球、HepG2 細胞株及びヒト含脂肪細胞	<i>In vitro</i>	██████████ UK ██████████ Sweden	930044475 (██████ 社報告書番号 AZA090507)	4.2.1.2-2
ヒトのカルシトニン受容体及びビタミン D3 受容体に対するダパグリフロジンの作用	ヒト T-47D 細胞及びヒト組換え Sf9 昆虫細胞	<i>In vitro</i>	██████	930041980 参考資料 (██████ 社報告書番号 1069956)	4.2.1.2-3
受容体、イオンチャネル及び酵素に対するダパグリフロジンの作用	各種受容体、イオンチャネル及び酵素	<i>In vitro</i>	██████	930005143 (██████ 社報告書番号 454645 and 454681)	4.2.1.2-4

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
他の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対するダパグリフロジンの作用	各種受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素	<i>In vitro</i>	■■■■■	1032SY	4.2.1.2-5
ヒト GLUT に対するヒト主代謝物（3- <i>O</i> -グルクロン酸抱合体）の作用	ヒト含脂肪細胞	<i>In vitro</i>	BMS-H	930018488	4.2.1.1-5
受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対するヒト主代謝物（3- <i>O</i> -グルクロン酸抱合体）の作用	各種受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素	<i>In vitro</i>	■■■■■	1033SY	4.2.1.2-6
受容体、イオンチャネル及び酵素に対する活性代謝物（脱エチル化体）の作用	各種受容体、イオンチャネル及び酵素	<i>In vitro</i>	■■■■■	930005149 (■■■■■社 報告書番号 454687)	4.2.1.2-7
<i>In vivo</i> 試験					
単回投与試験における内因性グルコース産生に対するダパグリフロジンの作用	雄性 ZDF ラット ¹⁾ 及び非肥満同腹仔ラット	経口	BMS-H	930041923	4.2.1.2-8
反復投与試験					
腎に対するダパグリフロジンの作用	STZ 誘発糖尿病雄性 Wistar 系ラット	経口	■■■■■	930045749	4.2.1.2-9
体重及び身体組成に対するダパグリフロジンの作用	食餌誘導性肥満（DIO）ラット	経口	BMS-H	930017615	4.2.1.2-10

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
膀胱癌との潜在的関連性に関する検討試験					
遺伝子発現に及ぼすダパグリフロジン反復投与の影響	雄性 ZDF ラットの RNA 検体 (<i>in vitro</i> 遺伝子解析)	経口	BMS-H	930052593	4.2.1.2-11
膀胱癌細胞株の増殖に及ぼすグルコースの影響	5 種の膀胱癌細胞株 (T-24、TCCSUP、UM-UC-3、J82 及び SW780)	<i>In vitro</i>	BMS-L	930053120 参考資料	4.2.1.2-12
安全性薬理試験					
心血管系に及ぼす影響					
<i>In vitro</i> 試験	hERG 遺伝子を安定発現させたヒト胎児由来腎臓細胞、ウサギプルキンエ線維	<i>In vitro</i>	BMS-H	920017631	4.2.1.3-1
イヌにおけるテレメトリー試験（単回投与試験）	雌雄ビーグル犬	経口、単回	BMS-SYR	930016852	4.2.1.3-2
イヌにおける反復投与試験					
1 カ月間反復投与毒性試験	雌雄ビーグル犬	経口、1 カ月	BMS-NB	930005365	4.2.3.2-6
3 カ月間反復投与毒性試験	雌雄ビーグル犬	経口、3 カ月	BMS-NB	930009999	4.2.3.2-7
12 カ月間反復投与毒性試験	雌雄ビーグル犬	経口、12 カ月	■	930023450	4.2.3.2-8
中枢神経系に及ぼす影響					
6 カ月間反復投与毒性試験	雌雄 SD 系ラット	経口、6 カ月	■	930023449	4.2.3.2-5
12 カ月間反復投与毒性試験	雌雄ビーグル犬	経口、12 カ月	■	930023450	4.2.3.2-8
探索的 3 カ月間反復投与毒性試験	雄性 SD 系ラット	経口、3 カ月	BMS-NB	930003926	4.2.3.7.7-2
呼吸系に及ぼす影響					
3 カ月間反復投与毒性試験	雌雄 SD 系ラット	経口、3 カ月	■	930014657	4.2.3.2-4

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
6 カ月間反復投与毒性試験	雌雄 SD 系ラット	経口、6 カ月	■	930023449	4.2.3.2-5
1 カ月間反復投与毒性試験	雌雄ビーグル犬	経口、1 カ月	BMS-NB	930005365	4.2.3.2-6
3 カ月間反復投与毒性試験	雌雄ビーグル犬	経口、3 カ月	BMS-NB	930009999	4.2.3.2-7
12 カ月間反復投与毒性試験	雌雄ビーグル犬	経口、12 カ月	■	930023450	4.2.3.2-8
薬力学的薬物相互作用試験					
実施せず					

1) ZDF ラットについては系統を特定できなかったため、系統を記載していない。

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び動 物数/群	特記すべき所見	報告書 番号
<i>In vitro</i> 試験						
ヒトの SGLT2 及び SGLT1 に対するダパ グリフロジンの阻害 活性及び選択性	ヒト SGLT1 又 はヒト SGLT2 を発現させた遺 伝子組換え CHO 細胞株	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	ダパグリフロジンのヒトの SGLT2 及び SGLT1 に対 する阻害定数 (K_i 値) は、それぞれ 0.55 nmol/L 及 び 810 nmol/L であり、ヒト SGLT1 に対するヒト SGLT2 の選択性は 1400 倍以上であった。ダパグリ フロジンはヒト SGLT2 に対して競合的かつ可逆的 阻害作用を示した。	930052283
		<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	ダパグリフロジンのヒト SGLT2 に対する IC_{50} 値は 1.12 nmol/L であり、その選択性はヒト SGLT1 (IC_{50} 値：1391 nmol/L) との比較で 1200 倍以上であっ た。	930005313
各動物種の SGLT2 及 び SGLT1 に対するダ パグリフロジンの阻 害活性	ラット SGLT1 又はラット SGLT2 を発現 させた遺伝子組 換え CHO 細胞 株	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	ラットの SGLT2 及び SGLT1 に対するダパグリフロ ジンの IC_{50} 値は、それぞれ 3.0 ± 0.5 nmol/L 及び 620 ± 70 nmol/L (以下、全て平均値 $\pm$ 標準誤差を示 す) であった。	930005313
		<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	マウスの SGLT2 及び SGLT1 に対するダパグリフロ ジンの IC_{50} 値は、それぞれ 2.3 ± 0.6 nmol/L 及び 299 ± 166 nmol/L であった。	930041858

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	報告書 番号															
	換え CHO 細胞株																				
	イヌ SGLT1 又はイヌ SGLT2 を発現させた遺伝子組換え CHO 細胞株	In vitro	In vitro	In vitro	イヌの SGLT2 及び SGLT1 に対するダパグリフロジンの IC ₅₀ 値は、それぞれ 1.6±1.0 nmol/L 及び 698±203 nmol/L であった。	930052019															
ヒト及びラットの SGLT2 及び SGLT1 に対するダパグリフロジン代謝物の阻害活性	ヒト SGLT1、ヒト SGLT2、ラット SGLT1 又はラット SGLT2 を発現させた遺伝子組換え CHO 細胞株	In vitro	In vitro 脱エチル化体	In vitro	脱エチル化体は、ヒト及びラットの SGLT2 及び SGLT1 に対してダパグリフロジンと同程度の阻害活性を示した。 <table><tr><td></td><td colspan="4">IC₅₀ 値 (nmol/L)</td></tr><tr><td>代謝物</td><td>ヒト SGLT2</td><td>ヒト SGLT1</td><td>ラット SGLT2</td><td>ラット SGLT1</td></tr><tr><td>脱エチル化体</td><td>1.0±0.1</td><td>1500±100</td><td>2.4±0.4</td><td>260±30</td></tr></table>		IC ₅₀ 値 (nmol/L)				代謝物	ヒト SGLT2	ヒト SGLT1	ラット SGLT2	ラット SGLT1	脱エチル化体	1.0±0.1	1500±100	2.4±0.4	260±30	930005313
	IC ₅₀ 値 (nmol/L)																				
代謝物	ヒト SGLT2	ヒト SGLT1	ラット SGLT2	ラット SGLT1																	
脱エチル化体	1.0±0.1	1500±100	2.4±0.4	260±30																	
	ヒト SGLT1 又はヒト SGLT2 を発現させた遺伝子組換え CHO 細胞株	In vitro	In vitro 3-O-グルクロン酸抱合体、2-O-グルクロン酸抱合体	In vitro	3-O-グルクロン酸抱合体及び 2-O-グルクロン酸抱合体のヒトの SGLT2 及び SGLT1 に対する阻害活性はダパグリフロジンに比して顕著に低かった。 <table><tr><td></td><td colspan="2">IC₅₀ 値 (nmol/L)</td></tr><tr><td>代謝物</td><td>ヒト SGLT2</td><td>ヒト SGLT1</td></tr><tr><td>3-O-グルクロン酸抱合体</td><td>2900±252</td><td>> 80000</td></tr><tr><td>2-O-グルクロン酸抱合体</td><td>4400±356</td><td>> 80000</td></tr></table>		IC ₅₀ 値 (nmol/L)		代謝物	ヒト SGLT2	ヒト SGLT1	3-O-グルクロン酸抱合体	2900±252	> 80000	2-O-グルクロン酸抱合体	4400±356	> 80000	930018488			
	IC ₅₀ 値 (nmol/L)																				
代謝物	ヒト SGLT2	ヒト SGLT1																			
3-O-グルクロン酸抱合体	2900±252	> 80000																			
2-O-グルクロン酸抱合体	4400±356	> 80000																			

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び動 物数/群	特記すべき所見	報告書 番号
<i>In vivo</i> 試験						
非糖尿病動物における単回投与試験						
非糖尿病マウスにお ける単回投与試験	マウス/ C57BL/6（正 常及び SGLT2 ノックアウト）	経口、単回	0.1、1、 10	雄性 n=6～9	正常マウスで、時間・体重当たりの尿量の増加に伴い、時間・体重当たりの尿中グルコース排泄量は用量依存的に増加した。SGLT2 ノックアウトマウスの時間・体重当たりの尿中グルコース排泄量は、溶媒投与群に比較して、0.1 及び 1 mg/kg の投与群で有意な増加は認められず、10 mg 投与群で有意な増加が認められた。正常マウスの 10 mg/kg 投与群で、尿中ナトリウム排泄量の増加も認められた。正常及び SGLT2 ノックアウトマウスのダパグリフロジン投与群で、尿中カリウム排泄量及び尿中カルシウム排泄量のいずれにも有意な影響は認められなかった。	930044592
正常ラットにおける 単回投与試験	ラット/SD 系	経口、単回	0.01、 0.1、1、 10	雄性、n=3	尿中グルコース排泄量は用量依存的な増加を示した（0.01、0.1、1 及び 10 mg/kg 群で、それぞれ 5±1、707±165、1369±74 及び 2417±205 mg）。尿中グルコース排泄量は 1 及び 10 mg/kg 群、尿量は 0.1、1 及び 10 mg/kg 群でベースライン値に比較して有意な増加を示した。経口ブドウ糖負荷試験（OGTT）で、グルコース負荷後 1 時間の血漿中グルコース濃度-時間曲線下面積（AUC）は 1 及び 10 mg/kg 群で溶媒群に比較して有意な減少を示した。	930005311
正常ラットにおける 薬力学的作用の持続 性	ラット/SD 系	経口、単回	1	雄性、n=6	ダパグリフロジン 1 mg/kg 投与後 0～6 時間及び 0～24 時間の尿中グルコース排泄量（mg/h）は同程度であった（それぞれ 73 及び 74 mg/h）。	930008042

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び動 物数/群	特記すべき所見	報告書 番号
					24 時間ごとの各測定期間の尿中グルコース排泄量は、最初の 24 時間に比して減少し（24～48、48～72 及び 72～96 時間：それぞれ 12、0.89 及び 0.22 mg/h）、48 時間以降には溶媒投与群との有意差は認められなかった。 ダパグリフロジンの薬力学的半減期は 7.7 時間と推定された。	
糖尿病モデル動物における単回投与試験						
STZ 誘発糖尿病モデルラットにおける単回投与試験	ラット/SD 系 (STZ 誘発糖尿病モデル)	経口、単回	0.01、 0.03、0.1	雄性、n=5 ～6	ダパグリフロジン投与 5 時間後まで、0.01 mg/kg 投与群では血中グルコース濃度で有意な低下は認められなかった。0.03 及び 0.1 mg/kg の両投与群で投与 2、3、4 及び 5 時間後の血中グルコース濃度は有意な低下を示し、0.1 mg/kg 投与群では投与 1 時間後にも血中グルコース濃度は有意な低下を示した。	930005305
遺伝的糖尿病モデル ZDF ラットにおける単回投与試験	ZDF ラット	経口、単回	0.01、 0.1、1、 10	雄性、n=6	ダパグリフロジンの全投与群で、溶媒投与群に比較して、投与後 6 時間の尿中グルコース排泄量（g）及び尿量（mL）は有意な増加を示し、同期間の血漿中グルコース濃度は有意な低下を示した。1 及び 10 mg/kg 投与群で測定した薬物曝露量は用量に比例していた。	930005327
[考察：死亡の原因を検討したフォローアップ試験]	ZDF ラット	経口、単回	10	雄性、n=6	本試験条件下では、薬理作用による尿量の増加は十分な摂水量の確保により代償できなかったことが示された。	930005310
ZDF ラットにおける	ZDF ラット	経口、単回	0.01、	雄性、n=6	ダパグリフロジン 0.1 及び 1 mg/kg 投与群は、投与	930008043

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び動 物数/群	特記すべき所見	報告書 番号
追加の単回投与試験			0.1、1		2、4、6 及び 24 時間後に、0.01 mg/kg 投与群は投与 4、6 及び 24 時間後に、溶媒投与群に比して血漿中グルコース濃度の有意な減少を示した。	
糖尿病モデルラットにおける反復投与試験	ZDF ラット	経口、1 日 1 回 14 日間、15 日目 10 に絶食下で最終投与	0.01、0.1、1、10	雄性、n=6	投与 8 日後及び 15 日後の絶食下血漿中グルコース濃度（FPG）、並びに、投与 14 日後の摂餌下の血漿中グルコース濃度は、いずれも溶媒投与群に比して有意かつ用量依存的な低下を示した。	930005329
クランプ試験						
高インスリン正常血糖クランプ法によるグルコース処理能に対するダパグリフロジンの作用	ZDF ラット	経口、1 日 1 回 15 日間	0.5	雄性、n=6	ダパグリフロジン投与群で溶媒投与群に比較して FPG は低下した。最終投与の 48 時間後、正常血糖値を維持するグルコース注入速度（GIR）は上昇し、ダパグリフロジン 15 日間反復投与により全身グルコース利用率及び肝グルコース取込み率が上昇し、肝（内因性）グルコース産生率は低下した。	930005312
高血糖クランプ法による膵β細胞の機能及び形態に対するダパグリフロジンの作用（予防作用）	ZDF ラット（肥満及び非肥満）	経口、1 日 1 回 34 日間	1	雌性、n=14（但し膵機能及び膵島形態の評価にはこれらを分けて割り付けた）	ダパグリフロジン投与群（3.6±0.1%）で、投与 24 日後のヘモグロビン A1c（HbA1c）値は肥満溶媒投与群（4.8±0.3%）と比較して有意に低下した。 最終投与 48 時間後に実施したクランプ試験で、ダパグリフロジン投与群の膵β細胞機能（Disposition Index）（0.29±0.04）は、非肥満溶媒投与群（0.28±0.01）のレベルまで改善を示した。また、肥満溶媒投与群と比較して、ダパグリフロジン投与群の膵島形態指標（687±66 vs. 1576±126 μm ² ）及びインスリン染色強度とも改善を示した。	930044494

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び動 物数/群	特記すべき所見	報告書 番号
高血糖クランプ法による膵β細胞の機能及び形態に対するダパグリフロジンの作用（介入試験）	ZDF ラット （肥満及び非肥満）	経口、 1 日 1 回 34 日間	1	雌性、n=14 （但し膵機能及び膵島形態の評価にはこれらを分けて割り付けた）	ダパグリフロジン投与群（ $4.0 \pm 0.1\%$ ）で、投与 24 日後の HbA1c 値は肥満溶媒投与群（ $5.1 \pm 0.2\%$ ）に比較して低下した。 最終投与の 48 時間後に行ったクランプ試験で、ダパグリフロジン投与群の disposition index は（ 0.33 ± 0.04 ）、肥満溶媒投与群（ 0.18 ± 0.04 ）に比較して改善を示した。ダパグリフロジン投与群で、膵島形態指標（ 825 ± 49 vs. $1410 \pm 72 \mu\text{m}^2$ ）及びインスリン染色強度とも肥満溶媒投与群に比較して改善を示した。	930044498
その他の反復投与試験						
高血糖症への進展及びグルコース耐性に対するダパグリフロジンの作用（OGTT）	ZDF ラット （肥満及び非肥満同腹仔）	経口、 1 日 1 回 5 週間	1	雄性、 n=5～8	5 週間反復投与後、ダパグリフロジン投与群で、肥満溶媒投与群に比較して、FPG 及び HbA1c 値は低下を示し、OGTT で 180 分間の血漿中グルコース-時間曲線下面積 $\Delta\text{AUC}_{\text{glucose}}$ も減少を示した。 ダパグリフロジン投与群で、グルコース負荷から 30 分間の血漿中インスリン濃度の変化量（ $\Delta\text{Plasma Insulin}$ ）は、肥満溶媒投与群に比較して有意に上昇したが、体重及び脂肪量に変化は認められなかった。	930037783
高血糖症への進展及びグルコース耐性に対するダパグリフロジンの作用（高インスリン正常血糖クラ	ZDF ラット （肥満及び非肥満同腹仔）	経口、 1 日 1 回 5 週間	1	雄性、 n=7～10	5 週間反復投与後、ダパグリフロジン投与群の FPG は溶媒投与群に比較して低下した。 最終投与から 24 時間後に実施したクランプ試験で、ダパグリフロジン投与群の GIR は、肥満溶媒投与群に比較して有意に上昇した。また、インスリ	930041958

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び動 物数/群	特記すべき所見	報告書 番号
ンブ法)					ン注入前の基礎ステージ及びインスリン注入ステージの両方で、ダパグリフロジン投与群の尿中グルコース排泄量は非肥満溶媒投与群よりも多かったことから、ダパグリフロジンの SGLT2 に対する阻害作用は、最終投与から 24 時間後でも持続していることが示唆された。	
反復投与中及び反復投与後の糖尿病関連エンドポイントに対するダパグリフロジンの作用	ZDF ラット (肥満及び非肥満同腹仔)	経口、 1 日 1 回 5 週間	0.5	雄性、 n=4~17	5 週間反復投与により、ダパグリフロジン投与群の摂餌下の血漿中グルコース濃度及び HbA1c 値は肥満溶媒対照群よりも低下した。 血漿中インスリン濃度は、投与 2 週目で、肥満溶媒投与群はベースライン値よりも低下したのに対して、ダパグリフロジン投与群ではほぼベースライン値を維持した。5 週間反復投与により、ダパグリフロジン投与群の絶食下膵インスリン量は肥満溶媒投与群よりも増加した。 5 週間反復投与後、肥満溶媒投与群に比べ軽度であるが、ダパグリフロジン投与群で体重増加が認められた。ダパグリフロジン投与群と肥満溶媒投与群との間で摂食量に差はなかった。 5 週間反復投与の最終投与から 48 時間後、ダパグリフロジン投与群における尿量及び尿中グルコース排泄量は、肥満溶媒投与群よりも減少した。	930041921

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

2.6.3.3 副次的薬理試験

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び動 物数/群	特記すべき所見	報告書 番号
<i>In vitro</i> 試験						
SGLT ファミリーの アイソフォームに対 するダパグリフロジ ンの選択性	ヒトの SMIT1、 SGLT4 及び SGLT6 を安定 に形質移入した CHO 細胞クロ ーン	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	ダパグリフロジンのヒト SMIT、SGLT4 及び SGLT6 に対する K_i 値は、それぞれ 14 ± 2 $\mu\text{mol/L}$、3.3 ± 0.7 $\mu\text{mol/L}$ 及び 0.8 ± 0.1 $\mu\text{mol/L}$ であった。ヒト SMIT1、SGLT4 及び SGLT6 に対するミカエリス定数 (K_m 値) は、それぞれ 0.08 ± 0.01 mmol/L、1.2 ± 0.2 及び 1.6 ± 0.2 mmol/L、並びに 0.09 ± 0.01 mmol/L であった。 各アイソフォームに対する基質特異性、基質 K_m 値はこれまでに報告されている値の範囲内にあり、SGLT ファミリーの他のアイソフォームに対して低親和性であることが確認された。	930052026
SGLT ファミリーの 他のアイソフォーム に対するダパグリフ ロジンの選択性	ラット SMIT を 発現させた遺伝 子組換え CHO 細胞株	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	ダパグリフロジンはラット SMIT を介した ^3H 標識ミオイノシトールの取込みを阻害し、その IC_{50} 値は 5.2 ± 0.26 $\mu\text{mol/L}$ であった。ラット SGLT2 (IC_{50} 値 3.0 nmol/L) に対する選択性は、ラット SMIT との比較で約 1700 倍高かった。 ダパグリフロジン 5.2 $\mu\text{mol/L}$ は、ダパグリフロジンの臨床的曝露量 $C_{\max}$ の遊離型濃度 42 nmol/L の約 124 倍の濃度であったことから、ダパグリフロジンは臨床的曝露量で SMIT 活性を顕著に阻害しないことが示唆された。	930005313

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び動 物数/群	特記すべき所見	報告書 番号
ヒト及びマウスの GLUT1 及び GLUT4 に対するダパグリフ ロジンの作用	ヒト及びマウス の含脂肪細胞	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	ダパグリフロジンは、4%BSA 非添加で、インスリン添加及び非添加条件下、ヒト脂肪細胞への¹⁴C 標識デオキシ-D-グルコース取込みを各々9±1%及び8±3%抑制したが、4%BSA 添加条件下では抑制作用を示さなかった。また、4%BSA 非添加で、インスリン添加及び非添加条件下、3T3-L1 脂肪細胞への¹⁴C 標識デオキシ-D-グルコース取込みを各々20±4%及び19±7%抑制し、4%BSA 添加条件下では各々0%及び3%抑制した。 ダパグリフロジン 20 µmol/L は、ダパグリフロジンの臨床的曝露量 C_{max} の遊離型濃度 42 nmol/L の約 476 倍の濃度であったことから、ダパグリフロジンは臨床的曝露量で脂肪細胞のグルコース輸送活性を顕著に阻害しないと考えられた。	930005313
他のグルコース輸送 体に対するダパグリ フロジンの作用	ヒト赤血球、 HepG2 細胞株、 ヒト含脂肪細胞	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	ダパグリフロジンは、20 µmol/L で GLUT4 に8±2%の阻害活性を示した。また、100 µmol/L で GLUT1、GLUT2 及び GLUT4 に軽度の阻害を示した。SGLT2 に対する K_i 値が 0.55 nmol/L であることから、ヒト SGLT2 に対する選択性はヒト GLUT1、2 及び 4 に比較して 36000 倍以上であった。 ダパグリフロジン 20 µmol/L 及び 100 µmol/L は、ダパグリフロジンの臨床的曝露量 C_{max} の遊離型濃度 42 nmol/L のそれぞれ約 476 倍及び約 2381 倍の濃度であったことから、ダパグリフロジンは、臨床的曝露量で、GLUT1、GLUT2 及び GLUT4 を介するグルコース輸送活性を顕著に阻害しないと考えられた。	930044475

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	報告書 番号
ヒトのカルシトニン受容体及びビタミンD3受容体に対するダパグリフロジンの作用	ヒトカルシトニン及びヒトビタミンD3受容体	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	ダパグリフロジンは、これら2種の受容体のいずれにも顕著な反応を示さなかったため、これらの受容体のオルソステリック結合部位に直接結合しないことが示唆された。	930041980 参考資料
受容体、イオンチャネル及び酵素に対するダパグリフロジンの作用	受容体、イオンチャネル及び酵素	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	ダパグリフロジンは、いずれの受容体、酵素及びイオンチャネルリガンドにも明らかな作用を示さなかった。	930005143
他の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対するダパグリフロジンの作用	受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	ダパグリフロジンは、10 µmol/L で、いずれの受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対しても明らかな活性（50%より高い活性）を示さなかった。	1032SY
ヒト GLUT に対するヒト主代謝物（3-O-グルクロン酸抱合体）の作用	ヒト含脂肪細胞	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	ダパグリフロジン 3-O-グルクロン酸抱合体は、500 µmol/L までグルコースアナログ取込みに対して、インスリン添加及び非添加の条件で、ダパグリフロジンに比べて弱い抑制を示した（20 µmol/L で 2～3%の抑制）。 ダパグリフロジンの 3-O-グルクロン酸抱合体 20 µmol/L は、その臨床的曝露量 C_{max} の遊離型濃度 59 nmol/L の約 339 倍の濃度であったことから、ダパグリフロジンの 3-O-グルクロン酸抱合体は、臨床的曝露量で、脂肪細胞のグルコース輸送（GLUT1 及び GLUT4）活性を顕著に阻害しないと考えられた。	930018488

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	報告書 番号
受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対するヒト主代謝物（3-O-グルクロン酸抱合体）の作用	受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	3-O-グルクロン酸抱合体は、10 $\mu\text{mol/L}$ で、いずれの受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対しても明らかな活性を示さなかった（50%以下の阻害作用）。	1033SY
受容体、イオンチャネル及び酵素に対する活性代謝物（脱エチル化体）の作用	受容体、イオンチャネル及び酵素	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	脱エチル化体は、30 $\mu\text{mol/L}$ で、いずれの受容体、酵素及びイオンチャネルリガンドにも明らかな作用を示さなかった（33%以下の阻害作用）。	930005149

In vivo 試験

単回投与試験における内因性グルコース産生に対するダパグリフロジンの作用	ZDF ラット（肥満及び非肥満同腹仔）	経口、単回	0.5、1.0	雄性、 n=6～8	非肥満ラットのダパグリフロジン両投与群で、投与前値の FPG は維持されたが、尿中グルコース排泄量は増加した。また、内因性グルコース産生は、1.0 mg/kg 投与群で、溶媒投与群に比較して有意な増加が認められたが、0.5 mg/kg 投与群では増加は認められなかった。 糖尿病 ZDF ラットでは、ダパグリフロジン投与群で、溶媒投与群に比較して、血漿中グルコース濃度の有意な低下（両投与群で同様の作用）及び尿中グルコース排泄量の有意な増加が認められた。両投与群で尿中グルコース排泄量の増加及び血漿中グルコース濃度の同程度の低下が示されたが、内因性グルコース産生は 1.0 mg/kg 投与群のみで溶媒投与群と比較して有意に増加した。	930041923
-------------------------------------	---------------------	-------	---------	--------------	---	-----------

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び動 物数/群	特記すべき所見	報告書 番号
反復投与試験						
腎に対するダパグリ フロジンの作用	ラット/Wistar 系 (STZ 誘発糖尿 病モデル)	経口、 午前 7 時に 1 mg/kg と 午後 4 時に 2 mg/kg、 13 日間	3 mg/kg/日	雄性、 n=7~8	STZ 誘発糖尿病ラットにダパグリフロジン又は 溶媒を投与し、両群にインスリン投与して血糖値 を同程度に調整した。ダパグリフロジン投与群 で、溶媒投与群に比較して、近位尿細管における グルコース再吸収能の低下、尿細管糸球体フィー ドバックの活性化及び単一ネフロン GFR の減少 が認められた。ダパグリフロジン投与群の全腎 GFR で、溶媒投与群に比較して変化は認められ なかった。	930045749
体重及び身体組成に 対するダパグリフロ ジンの作用	ラット (食餌誘導性肥 満 (DIO))	経口、 1 日 1 回 27 日間	0.5、1、5	雄性、 n=8	ダパグリフロジンの全投与群で、摂水量、尿量及 び尿中グルコース排泄量は、溶媒投与群に比較し て有意な増加を示し、摂餌量は増加の傾向を示し た。摂餌量投与 25 日目、ダパグリフロジン 5 mg/kg 投与群で体重の 5.6%減少し、pair fed 群で は溶媒投与群に比較して体重の 12.3%減少した (それぞれの体重は溶媒投与群の体重変化で補 正)。投与 2 日目及び 15 日目にダパグリフロジ ン全投与群で呼吸商の低下が認められ、エネルギ ー源として炭水化物よりも脂肪の利用が充進され たことが示唆された。試験 22 日目の MRI 測定 で、脂肪量 (投与前値からの変化量) は、摂餌下 の 0.5 及び 5 mg/kg 投与群、並びに 5 mg/kg 投与 pair-fed 群で、溶媒投与群に比較して有意に減少 したが、除脂肪量 (投与前値からの変化量) は、 いずれのダパグリフロジン投与群でも溶媒投与群 に比較して有意な差は認められなかった。	930017615

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	報告書 番号
膀胱癌との潜在的関連性に関する検討試験						
遺伝子発現に及ぼす ダパグリフロジン反 復投与の影響	ZDF ラット (肥満)	経口、 1 日 1 回 5 週間	0.5	雄性、 n=5	ダパグリフロジンを 5 週間投与した雄性 ZDF ラットで、肝臓で認められた遺伝子発現の変化は、ダパグリフロジンの高血糖への進展に対する抑制作用によるものであり、また、腎に存在する他のグルコース輸送担体の大幅な代償性アップレギュレーションは誘導されず、細胞増殖又は発癌促進に関連した転写の変化は引き起こされないことが示唆された。	930052593
膀胱癌細胞株の増殖 に及ぼすグルコース の影響	5 種の膀胱癌細胞株 (T-24、TCCSUP、UM-UC-3、J82 及び SW780)	<i>In vitro</i>	グルコース 25～50 mmol/L	<i>In vitro</i>	高濃度のグルコース (25～50 mmol/L) を添加した場合の細胞増殖率と比較したところ、いずれの細胞株においても高濃度グルコース添加による細胞増殖率の増加は認められず、最高濃度で増殖は完全に抑制された。	930053120 参考資料

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

2.6.3.4 安全性薬理試験

被験物質：ダパグリフロジン（BMS-512148）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量又は濃度	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP 適用	報告書 番号
心血管系に及ぼす影響							
<i>In vitro</i> 試験	hERG チャネルを発現させたヒト胎児由来腎臓細胞（HEK293）及びウサギブルキンエ線維	<i>In vitro</i>	3、10、30 $\mu\text{mol/L}$	<i>In vitro</i>	ダパグリフロジンは、濃度 10 及び 30 $\mu\text{mol/L}$ で、hERG 電流にそれぞれ $3.7\pm 2.0\%$ 及び $15\pm 5.1\%$ の軽度の阻害作用を示した。一方、濃度 3、10 及び 30 $\mu\text{mol/L}$ でプルキンエ線維活動電位のパラメータにも生理学的に関連のある作用を示さなかった。	非適用	920017631
イヌにおけるテレメトリー試験（単回投与試験）	イヌ/ビーグル	経口、単回	30 mg/kg	雌雄各 n=3	いずれの心血管系パラメータにもダパグリフロジン投与に関連した影響は認められなかった（ダパグリフロジン投与 8 時間後の血漿中薬物濃度は約 17 $\mu\text{g/mL}$ であった）。	適	930016852
イヌにおける反復投与試験							
1 カ月間反復投与毒性試験	イヌ/ビーグル	経口、1 カ月間反復投与	5、25、250 mg/kg/日	雌雄各 n=3	血圧、心拍数及び ECG でダパグリフロジン投与に関連した影響は認められなかった。	適	930005365
3 カ月間反復投与毒性試験	イヌ/ビーグル	経口、3 カ月間反復投与（1 カ月間回復期間）	5、30、180 mg/kg/日	雌雄各 n=5	心拍数でダパグリフロジン投与に関連した影響は認められなかった。ECG では、180 mg/kg/日投与群の雄性イヌで投与 13 週目に QTc 間隔が軽微な延長（投与 13 週目の溶媒対照群に比べて 16 ミリ秒延長）がみられた以外に影響は認められなかった。	適	930009999

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量又は濃度	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	報告書番号
12 カ月間反復投与 毒性試験	イヌ/ビーグル	経口、12 カ月間 反復投与（3 カ 月間回復期間） 試験における 6 カ月間反復投与	5、20、120 mg/kg/日	雌雄各 n=11 （120 mg/kg/ 日投与群の 雌のみ n=10）	心拍数でダパグリフロジンの投与に関連した影響は認められなかった。ECG では、12 カ月間反復投与試験の 6 カ月目に 120 mg/kg/日を投与した雌性イヌで、軽度だが統計学的有意な QT 及び QTc 間隔の短縮が認められた。所定の毒性試験で測定された ECG データ固有の可変性が原因であると考えられ、ダパグリフロジン投与によるものではないと考えられた。	適	930023450
中枢神経系に及ぼす影響							
6 カ月間反復投与 毒性試験	ラット/SD 系	経口、6 カ月間 反復投与（回復 期間 3 カ月）	5、25、150 mg/kg/日	雌雄各 n=30	行動変化の観察で、25 mg/kg/日まで 6 カ月間反復経口投与したラットで、ダパグリフロジン投与による影響は認められなかった。	適	930023449
			150 mg/kg/日	雌雄各 n=5 （溶媒投与 群：雌雄各 n=6）	神経電気生理学的検査で、ダパグリフロジン投与による影響は認められなかった。	非適 用	
12 カ月間反復投与 毒性試験	イヌ/ビーグル	経口、12 カ月間 反復投与（回復 期間 3 カ月）	5、20、120 mg/kg/日	雌雄各 n=11	行動変化の観察で、最高用量までダパグリフロジン投与による影響は認められなかった。	適	930023450
			120 mg/kg/日	雌雄各 n=4	神経電気生理学的検査で、ダパグリフロジン投与による影響は認められなかった。	非適 用	
探索的 3 カ月間反 復投与毒性試験	ラット/SD 系	経口、3 カ月間 反復投与	150 mg/kg/日	雄 n=5	ダパグリフロジン投与による脳電図への影響は認められなかった。	非適 用	930003926

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量又は濃度	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	報告書番号
呼吸系に及ぼす影響							
3 カ月間反復投与 毒性試験	ラット/SD 系	経口、3 カ月間 反復投与（回復 期間 1 カ月）	5、50、200 mg/kg/日	雌雄各 n=15	50 mg/kg/日まで、ダパグリフロジン投与による呼吸状態の変化は認められなかった。	適	930014657
6 カ月間反復投与 毒性試験	ラット/SD 系	経口、6 カ月間 反復投与（回復 期間 3 カ月）	5、25、150 mg/kg/日	雌雄各 n=30	25 mg/kg/日まで、ダパグリフロジン投与による呼吸状態の変化は認められなかった。	適	930023449
1 カ月間反復投与 毒性試験	イヌ/ビーグル	経口、1 カ月間 反復投与	5、25、250 mg/kg/日	雌雄各 n=3	最高用量まで、ダパグリフロジン投与による動脈血酸素飽和度への影響は認められなかった。	適	930005365
3 カ月間反復投与 毒性試験	イヌ/ビーグル	経口、3 カ月間 反復投与（回復 期間 1 カ月）	5、30、180 mg/kg/日	雌雄各 n=5	最高用量まで、ダパグリフロジン投与による呼吸状態の変化は認められなかった。	適	930009999
12 カ月間反復投与 毒性試験	イヌ/ビーグル	経口、12 カ月間 反復投与（回復 期間 3 カ月）	5、20、120 mg/kg/日	雌雄各 n=11	最高用量まで、ダパグリフロジン投与による呼吸状態の変化は認められなかった。	適	930023450

2.6.3 薬理試験概要表

一般名：ダバグリフロジンプロピレングリコール水和物

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

動物を用いて薬力学的相互作用を検討する試験は行わなかった。