

ルセフィ錠 2.5 mg
ルセフィ錠 5 mg

CTD 第 2 部

2.6.1 緒言

大正製薬株式会社

目次

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表	4
2.6.1 緒言	4
2.6.1.1 名称および化学構造式	4
2.6.1.2 薬理学的特性	4
2.6.1.3 予定する効能・効果	4
2.6.1.4 予定する用法・用量	4

略号一覧

略号	略していない表現または説明（英語）	略していない表現または説明（日本語）
INN	International Nonproprietary Name	国際一般名称
JAN	Japanese Accepted Name	日本医薬品一般的名称
SGLT2	sodium glucose cotransporter 2	ナトリウム-グルコース共輸送体 2

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

2.6.1.1 名称および化学構造式

ルセオグリフロジン水和物の名称および化学構造式は以下のとおりである。

一般名：INN luseogliflozin

JAN (日本名) ルセオグリフロジン水和物 (英名) Luseogliflozin Hydrate

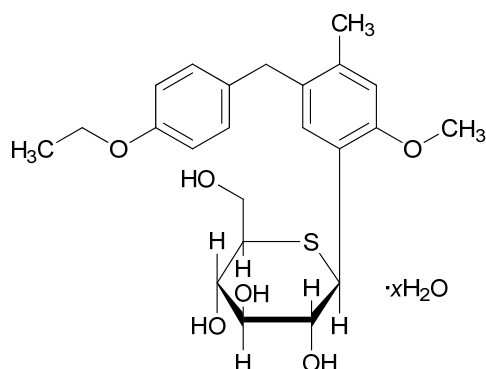
化学名：(日本名)

(1*S*)-1,5-アンヒドロ-1-[5-(4-エトキシベンジル)-2-メトキシ-4-メチルフェニル]-1-チオ-D-グルシトール 水和物

(英名)

(1*S*)-1,5-Anhydro-1-[5-(4-ethoxybenzyl)-2-methoxy-4-methylphenyl]-1-thio-D-glucitol hydrate

化学構造式：



分子式：C₂₃H₃₀O₆S·xH₂O

分子量：434.55 (無水物として)

2.6.1.2 薬理学的特性

ルセオグリフロジン水和物は、腎臓の近位尿細管に存在する SGLT2 を介したグルコースの再吸収機構を阻害し、尿糖排泄を増加させてインスリン分泌を伴わずに高血糖を是正することから、低血糖および体重増加の懸念が少なく、膵β細胞に負担をかけずに長期的に良好な血糖コントロールが期待できる薬剤である。

2.6.1.3 予定する効能・効果

2型糖尿病

2.6.1.4 予定する用法・用量

通常、成人にはルセオグリフロジンとして 2.5 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 5 mg 1 日 1 回に増量することができる。

ルセフィ錠 2.5mg

ルセフィ錠 5mg

CTD 第 2 部

2.6.2 薬理試験の概要文

大正製薬株式会社

目次

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表	8
2.6.2 薬理試験の概要文	8
2.6.2.1 まとめ	8
2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験	8
2.6.2.1.2 副次的薬理試験	10
2.6.2.1.3 安全性薬理試験	10
2.6.2.1.4 薬力学的薬物相互作用試験	11
2.6.2.2 効力を裏付ける試験	11
2.6.2.2.1 SGLT 阻害作用	11
2.6.2.2.2 尿糖排泄に対する作用	14
2.6.2.2.3 血糖低下作用	21
2.6.2.2.4 代謝物の薬理作用	36
2.6.2.3 副次的薬理試験	37
2.6.2.3.1 その他のグルコース輸送体に対する作用	37
2.6.2.3.2 各種トランスポーター・イオンチャンネルおよび受容体に対する作用	39
2.6.2.3.3 食餌性肥満モデルラットにおける体重増加抑制作用	40
2.6.2.4 安全性薬理試験	43
2.6.2.4.1 中枢神経系に対する影響	43
2.6.2.4.2 心血管系に対する影響	44
2.6.2.4.3 呼吸系に対する影響	45
2.6.2.4.4 胃腸管系に対する影響	45
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験	45
2.6.2.5.1 グリメピリドとの併用効果	45
2.6.2.5.2 メトホルミンとの併用効果	49
2.6.2.5.3 ピオグリタゾンとの併用効果	51
2.6.2.6 考察及び結論	52
2.6.2.7 図表	56
2.6.2.8 参考文献	56

表

表 2.6.2-1 ヒト SGLT および SMIT 発現細胞における糖または <i>myo</i> -イノシトール取り込み活性 およびナトリウム電流に対するルセオグリフロジン水和物の阻害作用	13
表 2.6.2-2 ヒト SGLT2 発現細胞におけるグルコース取り込み活性に対する ルセオグリフロジン水和物の K_i 値 (Dixon Plot 法)	14
表 2.6.2-3 db/db マウスにおける尿糖排泄に対するルセオグリフロジン水和物の作用	17
表 2.6.2-4 Zucker fatty ラットにおける経口糖負荷後の尿糖排泄に対する ルセオグリフロジン水和物の作用	18

表 2.6.2-5 正常イヌにおける経口糖負荷後の尿糖排泄に対するルセオグリフロジン水和物の作用.....	20
表 2.6.2-6 正常イヌにおけるルセオグリフロジン水和物単回経口投与後の薬物動態パラメータ.....	21
表 2.6.2-7 db/db マウスにおけるルセオグリフロジン水和物単回経口投与後の薬物動態パラメータ.....	22
表 2.6.2-8 db/db マウスにおけるルセオグリフロジン水和物 4 週間反復経口投与前後の GHb 値.....	23
表 2.6.2-9 Zucker fatty ラットにおけるルセオグリフロジン水和物単回経口投与後の 薬物動態パラメータ (経口糖負荷時)	26
表 2.6.2-10 GK ラットにおける尿糖排泄に対するルセオグリフロジン水和物の作用.....	28
表 2.6.2-11 ヒト SGLT2 発現細胞におけるグルコース取り込み活性に対する ルセオグリフロジン代謝物の阻害作用.....	36
表 2.6.2-12 ヒト SGLT1 発現細胞におけるグルコース取り込み活性に対する ルセオグリフロジン代謝物の阻害作用.....	36
表 2.6.2-13 脂肪細胞様 3T3-L1 細胞におけるグルコース取り込み活性に対する ルセオグリフロジン水和物の作用.....	37
表 2.6.2-14 膵β細胞株 MIN6 細胞におけるグルコース取り込み活性に対する ルセオグリフロジン水和物の作用.....	38
表 2.6.2-15 各種トランスポーター、イオンチャネルおよび受容体のリガンド結合に対する ルセオグリフロジン水和物の作用.....	40
表 2.6.2-16 DIO ラットにおける尿糖排泄に対するルセオグリフロジン水和物の作用.....	41
表 2.6.2-17 DIO ラットにおけるルセオグリフロジン水和物反復経口投与前後の体重.....	41
表 2.6.2-18 db/db マウスにおけるルセオグリフロジン水和物とメトホルミン併用における 8 週間反復経口投与前後の GHb 値.....	50
表 2.6.2-19 ラット安全性薬理試験とヒト臨床試験における血漿中薬物濃度の比.....	55
表 2.6.2-20 <i>in vitro</i> 安全性薬理試験とヒト臨床試験における血漿中薬物濃度の比.....	55
表 2.6.2-21 イヌ安全性薬理試験とヒト臨床試験における血漿中薬物濃度の比.....	56

☒

図 2.6.2-1 ヒト SGLT2 発現細胞におけるグルコース取り込み活性に対する ルセオグリフロジン水和物の阻害様式 (Lineweaver-Burk Plot 法)	14
図 2.6.2-2 麻酔下ビーグル犬に対するルセオグリフロジン水和物投与における TmG 低下率の推移.....	15
図 2.6.2-3 麻酔下ビーグル犬における TmG に対するルセオグリフロジン水和物の作用.....	16
図 2.6.2-4 Zucker fatty ラットにおける経口糖負荷後の尿糖排泄に対する ルセオグリフロジン水和物の作用.....	18
図 2.6.2-5 正常イヌにおける経口糖負荷後の尿糖排泄に対するルセオグリフロジン水和物の作用.....	20

図 2.6.2-6 db/db マウスにおける非絶食下血糖値に対するルセオグリフロジン水和物の作用.....	22
図 2.6.2-7 db/db マウスにおける GHb 変化量に対するルセオグリフロジン水和物の作用.....	23
図 2.6.2-8 Zucker fatty ラットにおける経口糖負荷後の血糖値に対する ルセオグリフロジン水 和物の作用.....	25
図 2.6.2-9 Zucker fatty ラットにおける経口糖負荷後のインスリン分泌に対する ルセオグリフ ロジン水和物の作用.....	25
図 2.6.2-10 STZ 誘発糖尿病ラットにおける非絶食下血糖値に対する ルセオグリフロジン水 和物の作用.....	27
図 2.6.2-11 GK ラットにおける GHb 値に対するルセオグリフロジン水和物の作用.....	28
図 2.6.2-12 GK ラットにおける血漿中インスリン濃度に対するルセオグリフロジン水和物の 作用.....	29
図 2.6.2-13 STZ 誘発糖尿病ラットにおける非絶食下血糖値および血漿中インスリン濃度に対 する ルセオグリフロジン水和物の作用.....	31
図 2.6.2-14 STZ 誘発糖尿病ラットにおける GHb 値に対するルセオグリフロジン水和物の作 用.....	31
図 2.6.2-15 STZ 誘発糖尿病ラットにおけるインスリン抵抗性に対する ルセオグリフロジン 水和物の作用.....	32
図 2.6.2-16 STZ 誘発糖尿病ラットにおける膵β細胞量に対するルセオグリフロジン水和物の 作用.....	32
図 2.6.2-17 正常ラットにおける非絶食下血糖値に対するルセオグリフロジン水和物および グリベンクラミドの作用.....	33
図 2.6.2-18 正常ラットにおける絶食下血糖値に対するルセオグリフロジン水和物および グ リベンクラミドの作用.....	35
図 2.6.2-19 DIO ラットにおける体重変化率に対するルセオグリフロジン水和物の作用.....	42
図 2.6.2-20 KKAy マウスにおける非絶食下血糖値に対するルセオグリフロジン水和物と グ リメピリドの併用効果.....	47
図 2.6.2-21 KKAy マウスにおけるインスリン分泌に対するルセオグリフロジン水和物と グ リメピリドの併用効果.....	48
図 2.6.2-22 C57BL/6N マウスにおける血糖値に対するルセオグリフロジン水和物と グリメ ピリドの併用効果.....	49
図 2.6.2-23 db/db マウスにおける GHb 変化量に対するルセオグリフロジン水和物と メトホ ルミンの併用効果.....	50
図 2.6.2-24 KKAy マウスにおける非絶食下血糖値に対するルセオグリフロジン水和物と ピ オグリタゾンの併用効果.....	52
図 2.6.2-25 KKAy マウスにおけるピオグリタゾンによる体重増加に対する ルセオグリフロ ジン水和物の作用.....	52

略号一覧

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
AUC _{0-t}	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to t hours	濃度実測時間内（投与後 0 から t 時間）における血漿中濃度－時間曲線下面積
CHO-K1	chinese hamster ovary-K1	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞 K1 株
C _{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CMC-Na	carboxymethyl cellulose sodium salt	カルボキシメチルセルロースナトリウム
DIO	diet-induced obesity	食餌性肥満
DPCPX	8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine	8-シクロペンチル-1,3-ジプロピルキサンチン
GHb	glycated hemoglobin	糖化ヘモグロビン
GIR	glucose infusion rate	糖利用率
GK	Goto-Kakizaki	Goto-Kakizaki
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品安全性試験実施基準
GLUT	glucose transporter	グルコース輸送体
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓由来細胞株
hERG	human ether-a-go-go related gene	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子
IC ₅₀	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
Ki	kinetic constant for inhibitor	阻害定数
NBTI	S-(4-nitrobenzyl)-6-thioinosine	S-(4-ニトロベンジル)-6-チオイノシン
QTc	QT interval corrected	補正した QT 間隔
SD	Sprague-Dawley	－
SGL0176	－	ルセオグリフロジン
SGLT	sodium glucose cotransporter	ナトリウム-グルコース共輸送体
SGLT1	sodium glucose cotransporter 1	ナトリウム-グルコース共輸送体 1
SGLT2	sodium glucose cotransporter 2	ナトリウム-グルコース共輸送体 2
SGLT3	sodium glucose cotransporter 3	ナトリウム-グルコース共輸送体 3
SGLT5	sodium glucose cotransporter 5	ナトリウム-グルコース共輸送体 5
SMIT1	sodium <i>myo</i> -inositol cotransporter 1	ナトリウム- <i>myo</i> -イノシトール共輸送体 1
SMIT2	sodium <i>myo</i> -inositol cotransporter 2	ナトリウム- <i>myo</i> -イノシトール共輸送体 2
STZ	streptozocin	ストレプトゾシン

略号一覧（続き）

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
TBPS	<i>tert</i> -butylbicyclo[2.2.2]phosphorothionate	<i>tert</i> -ブチルビシクロ[2.2.2]ホスホロチオナート
TmG	maximal rate of tubular reabsorption of glucose	グルコース再吸収極量
Δ 血糖 AUC _{0-120min}	—	糖負荷前の血糖値を基準とした糖負荷後 120 分までの血糖増加量－時間曲線下面積
Δ インスリン AUC _{0-120min}	—	糖負荷前の血漿中インスリン濃度を基準とした糖負荷後 120 分までの血漿中インスリン濃度増加量－時間曲線下面積
血糖 AUC _{0-t}	area under the plasma glucose-time curve from time 0 to t hours	投与後 0 から t 時間までの血糖値－時間曲線下面積

化学構造式一覧

略号	一般名	化学構造式	由来
—	ルセオグリフロジン 水和物	 <chem>CCOC1=CC=C(C=C1)CC2=CC=C(C=C2)C(C)C3=CC=C(C=C3)C(C)C4=CC=C(C=C4)CO</chem> ·xH ₂ O	原薬
M2 (O-脱エチル体)	—	 <chem>CC1=CC=C(C=C1)CC2=CC=C(C=C2)C(C)C3=CC=C(C=C3)C(C)C4=CC=C(C=C4)CO</chem>	代謝物
M17 (カルボン酸体)	—	 <chem>CC1=CC=C(C=C1)CC2=CC=C(C=C2)C(C)C3=CC=C(C=C3)C(C)C4=CC=C(C=C4)C(=O)O</chem>	代謝物

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

ナトリウム-グルコース共輸送体 2 (SGLT2 : sodium glucose cotransporter 2) は、腎臓近位尿細管の近位部に局在し、腎臓の糸球体でろ過されたグルコースの再吸収機構の主要な部分を担っている¹。ルセオグリフロジン水和物は、SGLT2 選択的な阻害剤であり、腎臓におけるグルコースの再吸収を阻害し、尿糖排泄を増加させることにより高血糖を是正する新規作用機序の 2 型糖尿病治療薬として期待される。そこで、ルセオグリフロジン水和物の効力を裏付ける試験として、一連の *in vitro* および *in vivo* 試験を実施した。*in vitro* 試験では、SGLT2 を含む相同性の高いヒト SGLT サブタイプ 6 種² に対するルセオグリフロジン水和物の阻害作用を検討した。さらにヒト SGLT2 に対する阻害様式を推定し、阻害定数 (Ki) を求めた。*in vivo* 試験では、各種モデル動物を用いてルセオグリフロジン水和物の単回経口投与における尿糖排泄に対する作用および血糖低下作用を検討した。また、反復経口投与における糖化ヘモグロビン (GHb) 低下作用、インスリン抵抗性改善作用および膵β細胞保護作用を検討した。ヒトにおける主要な代謝物については、ヒト SGLT2 および SGLT1 に対する阻害活性を *in vitro* 試験で検討した。副次的薬理作用については、促通拡散型のグルコース輸送体 (GLUT) に対する作用、その他 14 種のトランスポーター、イオンチャネルおよび受容体に対する作用を *in vitro* 試験で検討した。また、肥満モデル動物を用いて、反復経口投与における体重に対する作用を検討した。安全性薬理試験については、中枢神経系、心血管系、呼吸系および胃腸管系に対する作用を検討した。薬力学的薬物相互作用については、*in vivo* 試験で既存の経口血糖降下薬との併用時の血糖低下作用を検討した。

なお、2.6.2 項におけるルセオグリフロジン水和物の投与量および濃度はルセオグリフロジン (無水物) 換算値として表記し、水和物での表記の場合は、その旨を記載した。

2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験

(1) SGLT 阻害作用

ルセオグリフロジン水和物はヒト SGLT2 発現細胞においてナトリウム依存的グルコース取り込み活性を阻害し、その 50%阻害濃度 (IC₅₀) は 2.26 nmol/L であった。SGLT2 と相同性の高い SGLT サブタイプであるヒト SGLT1、SGLT5、ナトリウム-*myo*-イノシトール共輸送体 1 (SMIT1) および SMIT2 を発現させた細胞における糖もしくは *myo*-イノシトールのナトリウム依存的な取り込み活性に対する IC₅₀ 値は、それぞれ 2900、1310、23300 および 584 nmol/L であった。また、同様に SGLT サブタイプであるヒト SGLT3 発現細胞におけるナトリウム電流に対する抑制率は 100 μmol/L の濃度で約 47% であったが、10 μmol/L の濃度では約 5% であった。さらに、ルセオグリフロジン水和物は、ヒト SGLT2 活性に対して拮抗的に阻害することが推定され、その Ki 値は 1.10 nmol/L であった。

以上から、ルセオグリフロジン水和物は、SGLT2 を選択的に阻害することが明らかになった。

(2) 尿糖排泄に対する作用

ルセオグリフロジン水和物は、正常イヌへのグルコース静脈内持続注入下において、150 および 500 μg/kg/h の静脈内持続投与により、腎臓におけるグルコース再吸収極量 (TmG) を有意に低下させ

た。また、肥満 2 型糖尿病モデルである db/db マウスにおける単回経口投与においては、1 mg/kg 以上の投与量で尿糖排泄量を有意に増加させた。さらに、耐糖能異常肥満モデルである Zucker fatty ラットおよび正常イヌを用いた経口糖負荷試験において、ルセオグリフロジン水和物を単回経口投与した結果、Zucker fatty ラットでは 0.3 mg/kg 以上、正常イヌでは 0.03 mg/kg 以上の投与量で尿糖排泄量を有意に増加させた。

以上から、ルセオグリフロジン水和物は腎臓におけるグルコースの再吸収を阻害することにより、尿糖排泄を増加させると考えられた。

(3) 血糖低下作用

db/db マウスおよびインスリン分泌能が障害された病態モデルであるストレプトゾシン (STZ) 誘発糖尿病ラットに、ルセオグリフロジン水和物を単回経口投与したとき、0.3 mg/kg 以上の投与量で血糖値が有意に低下した。また、Zucker fatty ラットにルセオグリフロジン水和物を単回経口投与したとき、経口糖負荷後の過剰なインスリン分泌が軽減される傾向が認められ、0.3 mg/kg 以上の投与量で血糖値の上昇が有意に抑制された。さらに、db/db マウスにルセオグリフロジン水和物を 4 週間反復経口投与した結果、3 mg/kg 以上の投与量で GHb 変化量が有意に低下した。また、非肥満 2 型糖尿病モデルである Goto-Kakizaki (GK) ラットにおけるルセオグリフロジン水和物の 20 週間混餌投与により、0.002%以上の混餌濃度で有意な GHb 低下作用が認められた。なお、0.02%の混餌濃度では投与期間中の非絶食下血漿中インスリン濃度が病態対照ラットに比べ低値で推移したことから、過剰なインスリン分泌が軽減される可能性も示唆された。STZ 誘発糖尿病ラットにおいては、ルセオグリフロジン水和物の 4 週間混餌投与により 0.001%以上の混餌濃度で有意な GHb 低下作用が認められた。さらに、ルセオグリフロジン水和物は、0.01%の混餌濃度でインスリン抵抗性を改善するとともに膵β細胞量の減少を有意に抑制した。

以上から、ルセオグリフロジン水和物は、インスリン分泌に依存しない血糖低下作用を示すことが明らかになった。さらに、ルセオグリフロジン水和物の反復経口投与によりインスリン抵抗性改善作用および膵β細胞保護作用が認められたことから、糖毒性の解除を介して糖尿病病態が改善する可能性が示唆された。

非絶食下の正常ラットにルセオグリフロジン水和物を 1 および 3 mg/kg の投与量で単回経口投与したとき、投与後 2 時間の血糖値が溶媒を投与したラットに比べ有意に低かったが、この時の血糖値はいずれも正常血糖の範囲内であった。また、絶食下の正常ラットに、ルセオグリフロジン水和物を 3 mg/kg の投与量で単回経口投与したとき、投与後 1~4 時間の血糖値は溶媒を投与したラットに比べ有意に低値を示したが、投与後 8 時間には溶媒を投与したラットの血糖値と同程度まで回復した。すなわち、正常ラットの非絶食下および絶食下血糖値はルセオグリフロジン水和物の投与により有意に低値を示す時点があったが、非絶食下血糖値については変化が一過性で、正常血糖の範囲内であった。

(4) 代謝物の薬理作用

ルセオグリフロジン水和物のヒトにおける主要な代謝物である M2 および M17 のヒト SGLT2 活性に対する IC₅₀ 値は、それぞれ 4.01 および 201 nmol/L であった。また、M2 のヒト SGLT1 活性に対する IC₅₀ 値は 1410 nmol/L であり、M17 はヒト SGLT1 活性を 30 μmol/L で約 48%阻害した。

2.6.2.1.2 副次的薬理試験

ルセオグリフロジン水和物は、促進拡散型のグルコース輸送体である GLUT1 および GLUT4 を発現した脂肪細胞様マウス胎児由来 3T3-L1 細胞³において、インスリン存在下および非存在下でのグルコース取り込み活性を 100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で約 40%阻害したが、10 $\mu\text{mol/L}$ における阻害率は約 10%であった。また、ルセオグリフロジン水和物は、GLUT2 を発現したマウス由来膵 β 細胞株 MIN6 細胞⁴において、グルコース取り込み活性を 100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度でもほとんど阻害しなかった。以上から、ルセオグリフロジン水和物は、GLUT のグルコース取り込み活性にほとんど影響しないと考えられた。

グルコース輸送体以外のトランスポーター、イオンチャネルおよび受容体と各リガンドとの結合試験において、ルセオグリフロジン水和物は、100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で Na^+ channel site 2 および Neurokinin 1 受容体をそれぞれ約 67 および約 59%阻害したが、10 $\mu\text{mol/L}$ の濃度においては、14 種いずれについても阻害率は 18%未満であった。すなわち、ルセオグリフロジン水和物は、グルコース輸送体以外のトランスポーター、イオンチャネルおよび受容体に対しても強い阻害作用を示さなかった。

また、ルセオグリフロジン水和物は、食餌性肥満 (DIO) ラットにおいて、32 日間の反復経口投与により 3 mg/kg 以上の投与量で尿糖排泄量を有意に増加させ、体重増加を有意に抑制した。以上から、ルセオグリフロジン水和物は尿糖排泄を増加させることにより、肥満の進展を抑制する可能性が示唆された。

2.6.2.1.3 安全性薬理試験

中枢神経系、心血管系、呼吸系および胃腸管系に対するルセオグリフロジン水和物の影響を検討した。中枢神経系に対してはラットでの一般症状および行動、自発運動量ならびに体温、心血管系に対しては *in vitro* の hERG チャネル発現 HEK293 細胞での hERG 電流、モルモット摘出乳頭筋での活動電位、ならびに無麻酔下のイヌでの血圧、心拍数および心電図、呼吸系に対してはラットでの呼吸数、1 回換気量および分時換気量、さらに胃腸管系に対してはラットでの消化管内容物輸送に対する影響を検討した。

中枢神経系の試験項目では、ラットにおいて多尿、軟便、下痢、体幹緊張度および腹筋緊張度の低下が認められたが、その他の一般症状および行動に影響を及ぼさなかった。多尿、軟便および下痢は薬理作用に関連した変化と考えられ、体幹緊張度および腹筋緊張度の低下は下痢に伴う二次的変化と考えられた。また、軽度の自発運動量の増加および軽度の体温低下が認められたが、これらの変化は対照群を含む全群の変動の範囲内の変化、あるいは生理的変動の範囲内の変化であった。したがって、ルセオグリフロジン水和物が中枢神経系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

心血管系の試験項目では、*in vitro* での検討においてルセオグリフロジン水和物の 9.59 $\mu\text{mol/L}$ 曝露時に hERG 電流の軽度な抑制 (対照群に対して 7.7%) が認められた。しかしながら、モルモット摘出乳頭筋での活動電位、ならびに無麻酔のイヌにおける血圧、心拍数および心電図に変化は認められなかったことから、ルセオグリフロジン水和物が心血管系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

呼吸系の試験項目では、ラットにおいて 1 回換気量が増加したが、呼吸数および分時換気量に変化は認められなかったことから、ルセオグリフロジン水和物が呼吸系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

胃腸管系では、ルセオグリフロジン水和物はラットにおいて炭末の消化管内輸送に影響を及ぼさなかった。

以上、ルセオグリフロジン水和物について、安全性薬理試験では臨床的に問題となる影響は認められなかった。

2.6.2.1.4 薬力学的薬物相互作用試験

肥満2型糖尿病モデル動物である KKAY マウスにおいて、ルセオグリフロジン水和物 10 mg/kg をスルホニル尿素薬であるグリメピリド 0.5 mg/kg と併用で単回経口投与した結果、併用群ではそれぞれの単独投与群よりも有意に血糖値が低下し、併用効果が認められた。また、併用群ではグリメピリド単独投与群で認められたインスリン分泌の上昇が有意に抑制された。以上から、ルセオグリフロジン水和物はスルホニル尿素薬との併用において、インスリン分泌の上昇を伴わずに単剤治療と比べてより効果的に高血糖を是正し、スルホニル尿素薬による膵β細胞からのインスリン分泌を軽減することにより膵β細胞の疲弊を予防する可能性が示唆された。一方、正常血糖を示す C57BL マウスにおいて、ルセオグリフロジン水和物 10 mg/kg をグリメピリド 0.5 mg/kg と併用で単回経口投与した結果、血糖値に対する併用効果は認められなかった。すなわち、ルセオグリフロジン水和物がグリメピリドの低血糖リスクを増強する可能性は低いと考えられた。

db/db マウスにおいて、ルセオグリフロジン水和物 3 mg/kg をビッグアナイド薬であるメトホルミン 300 mg/kg と併用して8週間反復経口投与した結果、相加的な GHb 低下作用が認められた。したがって、ルセオグリフロジン水和物はビッグアナイド薬と併用することにより、単剤治療と比べてより効果的に高血糖を是正する可能性が示唆された。

さらに、KKAY マウスにおいて、ルセオグリフロジン水和物をチアゾリジン薬であるピオグリタゾンとそれぞれ 0.01 および 0.1% の濃度で併用して 14 日間混餌投与した結果、それぞれの単独投与よりも血糖値が有意に低下し、併用効果が認められた。また、ルセオグリフロジン水和物をピオグリタゾンと併用することにより、ピオグリタゾンによる体重増加が有意に抑制されることが明らかとなった。以上から、チアゾリジン薬との併用は、単剤治療と比べてより効果的に高血糖を是正するとともに、チアゾリジン薬による体重増加が軽減されることから、有用な糖尿病治療法の選択肢の一つになる可能性が示唆された。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 SGLT 阻害作用

(1) ヒト SGLT 発現細胞における SGLT 阻害作用

添付資料番号 4.2.1.1-01 (評価)、4.2.1.1-02 (評価)、4.2.1.1-03 (評価)、
4.2.1.1-04 (評価)、4.2.1.1-05 (評価)、4.2.1.1-06 (評価)

【目的】

ヒト SGLT2、および SGLT2 と相同性が高い SGLT サブタイプに対する作用を明らかにするために、ヒト SGLT1、SGLT2、SGLT5、SMIT1、SMIT2 を介した糖または *myo*-イノシトールのナトリウム依存的な取り込み活性に対するルセオグリフロジン水和物の阻害作用を検討した。また、同様に SGLT サブタイプであるヒト SGLT3 を発現した細胞におけるルセオグリフロジン水和物のナトリウム電流に対する作用を検討した。

【方法】

ヒト SGLT2 または SGLT1 を安定発現させたチャイニーズハムスター卵巣由来細胞 K1 株 (CHO-K1) において、140 mmol/L NaCl を含む緩衝液中で、基質である [^{14}C] α -メチルグルコースの細胞内への取り込み量を測定した。SGLT2 または SGLT1 発現細胞に対してルセオグリフロジン水和物をそれぞれ 0.01~300 または 30~100000 nmol/L の濃度で添加し、ナトリウム依存的グルコース取り込み活性を求め、 IC_{50} 値を算出した。

ヒト SGLT5、SMIT1 または SMIT2 については、一過性に発現させたアフリカミドリザル腎臓由来 COS-7 細胞において、140 mmol/L NaCl を含む緩衝液中で、基質である [^{14}C] D-フルクトース (SGLT5) または [^3H] *myo*-イノシトール (SMIT1 および SMIT2) の細胞内への取り込み量を測定した。SGLT5、SMIT1 または SMIT2 発現細胞に対してルセオグリフロジン水和物をそれぞれ 30~100000、100~300000 または 30~100000 nmol/L の濃度で添加し、ナトリウム依存的なフルクトースまたは *myo*-イノシトールの取り込み活性を求め、 IC_{50} 値を算出した。

ヒト SGLT3 を安定発現させたヒト胎児腎臓由来細胞株 (HEK) 293 細胞において、130 mmol/L NaCl を含む緩衝液中で、パッチクランプ法によりルセオグリフロジン水和物 10 および 100 $\mu\text{mol/L}$ におけるミグリトール誘導ナトリウム電流に対する抑制率を算出した。

対照物質としてフロリジン二水和物 (フロリジン) を用いた。

【結果】

ルセオグリフロジン水和物は、ヒト SGLT2 発現細胞におけるグルコース取り込み活性を阻害し、その IC_{50} 値は 2.26 nmol/L (95%信頼区間 : 1.48~3.43 nmol/L) であった。ルセオグリフロジン水和物のヒト SGLT1 および SGLT5 発現細胞におけるグルコースまたはフルクトース取り込み活性に対する IC_{50} 値はそれぞれ 2900 nmol/L (95%信頼区間 : 2490~3390 nmol/L) および 1310 nmol/L (95%信頼区間 : 933~1830 nmol/L) であった。また、ヒト SMIT1 および SMIT2 発現細胞における *myo*-イノシトール取り込み活性に対する IC_{50} 値はそれぞれ 23300 nmol/L (95%信頼区間 : 13600~39800 nmol/L) および 584 nmol/L (95%信頼区間 : 492~694 nmol/L) であった。ヒト SGLT3 発現細胞におけるミグリトール誘導ナトリウム電流に対するルセオグリフロジン水和物の抑制率は 100 $\mu\text{mol/L}$ で 47.3%であったが、10 $\mu\text{mol/L}$ では 4.5%であった。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物は、SGLT2 を選択的に阻害することが明らかになった。

表 2.6.2-1 ヒト SGLT および SMIT 発現細胞における糖または *myo*-イノシトール取り込み活性およびナトリウム電流に対するルセオグリフロジン水和物の阻害作用

サブタイプ	IC ₅₀ 値[nmol/L] (95%信頼区間)			
	SGL0176		フロリジン	
SGLT2	2.26	(1.48 - 3.43)	27.8	(21.8 - 35.3)
SGLT1	2900	(2490 - 3390)	165	(139 - 197)
SGLT5	1310	(933 - 1830)	1730	(738 - 4070)
SMIT1	23300	(13600 - 39800)	370000	(309000 - 443000)
SMIT2	584	(492 - 694)	47200	(41800 - 53400)

サブタイプ	抑制率 (%)		
	SGL0176 10 μmol/L	SGL0176 100 μmol/L	フロリジン 500 μmol/L
SGLT3	4.5	47.3	65.1

データは4回の実験（各 n=3）から求めた値を示す。
SGLT3 に関しては各 8 例の細胞から求めたナトリウム電流に対する抑制率を示す。

(2) ヒト SGLT2 活性に対する阻害様式および阻害定数

添付資料番号 4.2.1.1-07 (評価)

【目的】

ヒト SGLT2 活性に対するルセオグリフロジン水和物の阻害様式および阻害定数 (K_i) を明らかにするために、ヒト SGLT2 を介したグルコース取り込み活性に対するルセオグリフロジン水和物の作用を検討した。

【方法】

ヒト SGLT2 を発現させた CHO-K1 細胞において、140 mmol/L NaCl を含む緩衝液中で、基質である [¹⁴C] α-メチルグルコースの各濃度 (1~16 mmol/L) におけるナトリウム依存的な細胞内への取り込み活性を測定した。ルセオグリフロジン水和物の各濃度 (0~4 nmol/L) におけるグルコース取り込み活性から、Lineweaver-Burk Plot 法による阻害様式の推定および Dixon Plot 法による K_i 値の算出を行った。

【結果】

各基質濃度およびルセオグリフロジン水和物濃度におけるヒト SGLT2 発現細胞のナトリウム依存的グルコース取り込み活性を Lineweaver-Burk Plot 法を用いて解析した結果、ルセオグリフロジン水和物は、SGLT2 を介したグルコースの取り込みを拮抗的に阻害することが推定された。また、その K_i 値は 1.10 nmol/L (95%信頼区間 : 1.01~1.18 nmol/L) であった。

【結論】

ヒト SGLT2 のグルコース取り込み活性に対するルセオグリフロジン水和物の阻害様式は拮抗的であると推定され、その K_i 値は 1.10 nmol/L であった。

表 2.6.2-2 ヒト SGLT2 発現細胞におけるグルコース取り込み活性に対するルセオグリフロジン水和物の K_i 値 (Dixon Plot 法)

	K_i (nmol/L)	95% 信頼区間 (nmol/L)		
SGL0176	1.10	1.01	-	1.18

データは 4 回の実験 (n=3) の平均値およびその 95%信頼区間を示す。

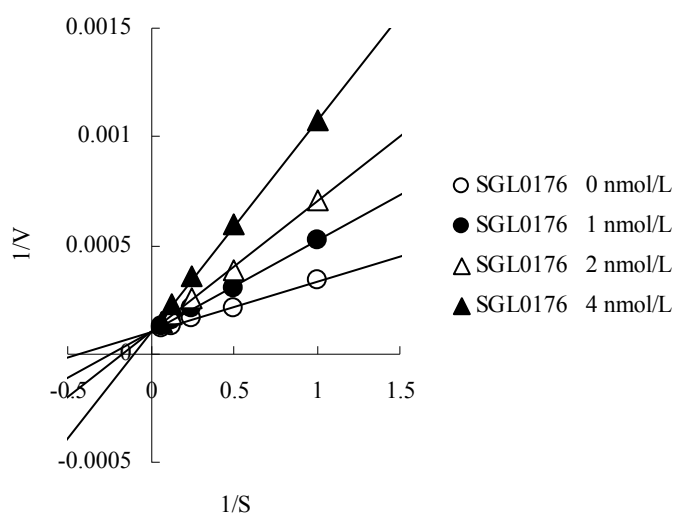


図 2.6.2-1 ヒト SGLT2 発現細胞におけるグルコース取り込み活性に対するルセオグリフロジン水和物の阻害様式 (Lineweaver-Burk Plot 法)

データは 1 回の結果を代表例として示す。V は反応速度 (ナトリウム依存的グルコース取り込み活性、cpm/60 min)、S は基質濃度 (mmol/L) を示す。

2.6.2.2.2 尿糖排泄に対する作用

(1) 正常イヌにおける腎臓でのグルコース再吸収極量に対する作用

添付資料番号 4.2.1.1-08 (評価)、4.2.1.1-09 (評価)

【目的】

血液中のグルコースは腎臓の糸球体でろ過された後、近位尿細管に存在する SGLT を介して再吸収されるが、糸球体ろ液中のグルコース量が再吸収の閾値すなわちグルコース再吸収極量 (TmG) を超えた場合、尿中にグルコースが排泄される。そこで、正常イヌを用いてルセオグリフロジン水和物の TmG に対する作用を検討した。

【方法】

1 群 6 例の雄性ビーグル犬 (7~8 ヶ月齢) を約 21 時間絶食後、ペントバルビタール麻酔下において、40 w/v% グルコースを含む乳酸リンゲル液の左橈側皮静脈内持続注入を開始した。1 時間後、溶媒、ルセオグリフロジン水和物 150 および 500 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ を 35 分間左外側伏在静脈内に持続投与した。

採尿は、投与開始前 25、15、5 分、投与開始後 10、20 および 30 分に採尿カニューレから前後 5 分の 10 分間の蓄尿として各々行った。また、投与開始前 25、15、5 分、投与開始後 10、20 および 30 分に頸静脈より血液を採取した。採取した尿および血液より、グルコースおよびクレアチニン濃度を測定し、下記の式より投与開始前 25、15、5 分、投与開始後 10、20 および 30 分の腎臓における TmG を算出し、TmG 低下率を求めた。また、同時に血漿中ルセオグリフロジン濃度を測定した。

TmG=グルコース糸球体ろ過量-尿糖排泄量

TmG 低下率 (%) = $[1-(A/B)] \times 100$

A：各採尿時点の TmG

B：投与前の TmG の平均値

【結果】

ビーグル犬へのグルコース持続注入開始後 1 時間からルセオグリフロジン水和物を 150 および 500 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ で 30 分間持続投与したとき TmG は経時的に低下した。また、持続投与開始後 30 分の TmG 低下率は、それぞれ 44.06 および 68.28%であり、溶媒対照群に対して TmG の有意な低下が認められた。そのときの血漿中ルセオグリフロジン濃度は、それぞれ 177 および 609 ng/mL であった。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物は TmG を低下させることが明らかとなり、SGLT2 阻害作用を介して腎臓の近位尿細管におけるグルコースの再吸収を抑制すると考えられた。

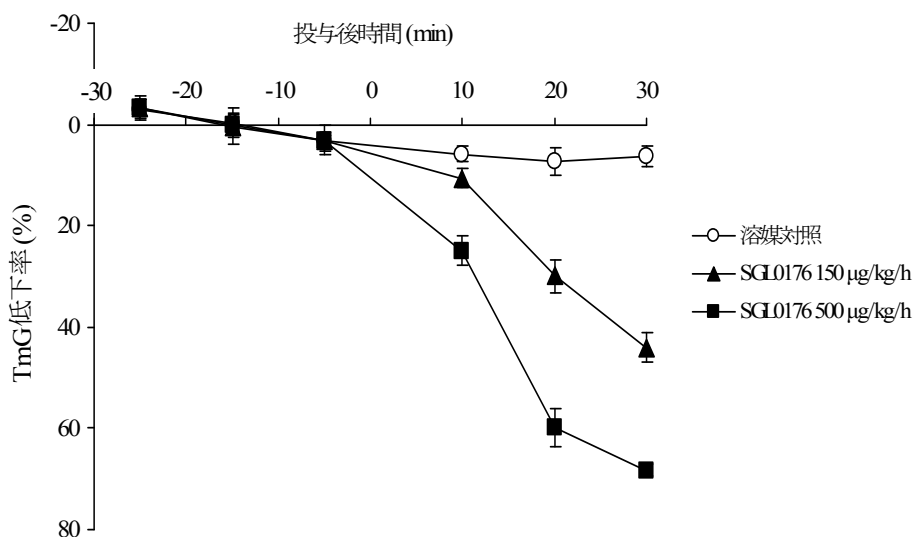


図 2.6.2-2 麻酔下ビーグル犬に対するルセオグリフロジン水和物投与における TmG 低下率の推移データは TmG 低下率の平均値 \pm 標準誤差 (n=6) を表示。

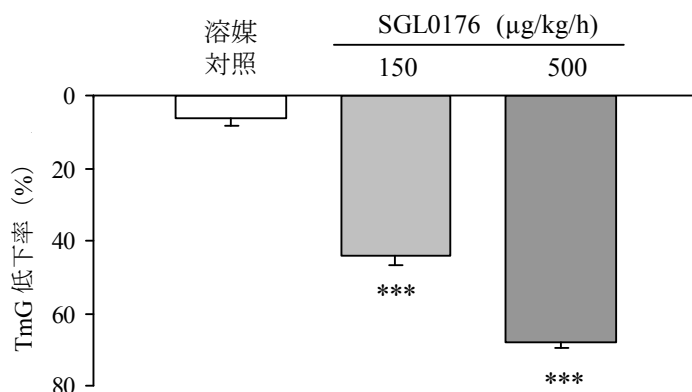


図 2.6.2-3 麻酔下ビーグル犬における TmG に対するルセオグリフロジン水和物の作用
データは、被験物質持続投与開始後 30 分の TmG 低下率の平均値±標準誤差 (n=6) を表示。
*** p<0.001 (溶媒対照群に対する Dunnett の多重比較検定)

(2) db/db マウスにおける尿糖排泄に対する作用

添付資料番号 4.2.1.1-10 (評価)

【目的】

高血糖を示す肥満 2 型糖尿病モデルである db/db マウスを用いて、ルセオグリフロジン水和物の単回経口投与における尿糖排泄に対する作用を検討した。

【方法】

1 群 12 例の雄性 db/db マウス (7 週齢) に非絶食下で、溶媒、ルセオグリフロジン水和物 0.1、0.3、1 および 3 mg/kg を単回経口投与した。代謝ケージを用いて投与後 8 時間までの尿を採取し、尿量および尿中グルコース濃度を測定して尿糖排泄量を求めた。正常対照として、12 例の雄性 db/m マウス (7 週齢) に溶媒を単回経口投与した。

【結果】

病態対照群、ルセオグリフロジン水和物 0.1、0.3、1 および 3 mg/kg 群の尿糖排泄量 (8 時間) は、それぞれ 227.64、243.90、274.22、404.53 および 407.83 mg であり、1 および 3 mg/kg 群において病態対照群に対して有意な増加が認められた。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物は、db/db マウスへの単回経口投与により用量依存的に尿糖排泄量を増加させ、1 mg/kg 以上の投与量で有意に尿糖排泄を増加させることが明らかになった。

表 2.6.2-3 db/db マウスにおける尿糖排泄に対するルセオグリフロジン水和物の作用

投与群	投与量 (mg/kg)	尿糖排泄量 (mg)
		0~8 h
病態対照	—	227.64 ± 27.65 ###
SGL0176	0.1	243.90 ± 37.73
	0.3	274.22 ± 32.13
	1	404.53 ± 48.17 **
	3	407.83 ± 33.56 **
正常対照	—	0.03 ± 0.01

データは平均値±標準誤差 (n=12) を表示。

p<0.001 (正常対照群に対する二元配置分散分析)、

** p<0.01 (病態対照群に対する二元配置 Dunnett 型の多重比較検定)

(3) Zucker fatty ラットにおける経口糖負荷後の尿糖排泄に対する作用

添付資料番号 4.2.1.1-11 (評価)

【目的】

耐糖能異常肥満モデルである Zucker fatty ラットを用いて、ルセオグリフロジン水和物の単回経口投与における経口糖負荷後の尿糖排泄に対する作用を検討した。

【方法】

1 群 8 例の雄性 Zucker fatty ラット (10 週齢) を約 17 時間絶食後、溶媒、ルセオグリフロジン水和物 0.1、0.3、1 および 3 mg/kg を単回経口投与し、30 分後にグルコース溶液 (2 g/5 mL/kg) を経口投与した。代謝ケージを用いて被験物質投与後 24 時間までの尿を採取し、尿量および尿中グルコース濃度を測定して尿糖排泄量を求めた。正常対照として、8 例の雄性 Zucker lean ラット (10 週齢) に溶媒を単回経口投与した。

【結果】

病態対照群、ルセオグリフロジン水和物 0.1、0.3、1 および 3 mg/kg 群の尿糖排泄量 (24 時間) はそれぞれ 6.07、27.65、78.53、179.44 および 411.56 mg であり、0.3 mg/kg 以上の群において病態対照群に対して有意な増加が認められた。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物は、Zucker fatty ラットにおける単回経口投与により用量依存的に経口糖負荷後の尿糖排泄量を増加させ、0.3 mg/kg 以上の投与量で有意に尿糖排泄を増加させることが明らかになった。

表 2.6.2-4 Zucker fatty ラットにおける経口糖負荷後の尿糖排泄に対する
ルセオグリフロジン水和物の作用

投与群	投与量 (mg/kg)	尿糖排泄量 (mg)		
		0~8 h	8~24 h	0~24 h
病態対照	—	5.14 ± 3.28	0.93 ± 0.30	6.07 ± 3.58
SGL0176	0.1	23.89 ± 11.21	3.76 ± 2.54	27.65 ± 10.88
	0.3	65.79 ± 10.54	12.75 ± 7.87	78.53 ± 11.55
	1	104.19 ± 12.15	75.24 ± 14.90	179.44 ± 15.27
	3	224.25 ± 26.34	187.31 ± 18.64	411.56 ± 29.10
正常対照	—	0.22 ± 0.04	0.76 ± 0.06	0.98 ± 0.08

データは平均値±標準誤差 (n=8) を表示。

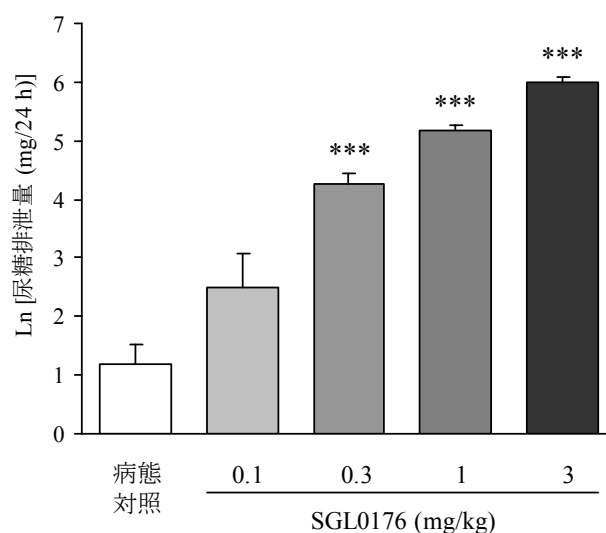


図 2.6.2-4 Zucker fatty ラットにおける経口糖負荷後の尿糖排泄に対する
ルセオグリフロジン水和物の作用

データは、被験物質投与後 24 時間の尿糖排泄量 (mg/24 h) の自然対数の平均値±標準誤差 (n=8) を表示。
*** p<0.001/4 (病態対照群に対する Welch の t 検定、Bonferroni の調整)

(4) 正常イヌにおける経口糖負荷後の尿糖排泄に対する作用

添付資料番号 4.2.1.1-12 (評価)、4.2.1.1-13 (評価)、4.2.1.1-14 (評価)、
4.2.1.1-15 (評価)、4.2.1.1-16 (評価)

【目的】

正常イヌを用いて、ルセオグリフロジン水和物の単回経口投与における経口糖負荷後の尿糖排泄に対する作用を検討した。

【方法】

1群10例の雄性ビーグル犬(7~9ヵ月齢)を約21時間絶食後、溶媒、ルセオグリフロジン水和物0.1、0.3および1 mg/kgを単回経口投与し、1時間後にグルコース溶液(2 g/4 mL/kg)を経口投与した(実験2)。また、上記のビーグル犬(10~12ヵ月齢)を用いて、約21時間絶食後、溶媒、ルセオグリフロジン水和物0.003、0.01および0.03 mg/kgを単回経口投与し、1時間後にグルコース溶液(2 g/4 mL/kg)を経口投与した(実験1)。代謝ケージを用いて被験物質投与後24時間までの尿を採取し、尿量および尿中グルコース濃度を測定して尿糖排泄量を求めた。また、1群3例の雄性ビーグル犬(8~10ヵ月齢)に被験物質を同様に投与して経時的に採血を行い、血漿中ルセオグリフロジン濃度を測定した。

【結果】

ビーグル犬へのグルコース経口投与により、溶媒対照群では3.05 mg(実験1)および7.64 mg(実験2)の尿糖が排泄された。ルセオグリフロジン水和物を単回経口投与した結果、実験1では0.03 mg/kg群の尿糖排泄量は325.29 mgであり、溶媒対照群に対して有意な増加が認められた。また、実験2では0.1、0.3および1 mg/kg群の尿糖排泄量は、それぞれ5599.12、13287.10および20129.68 mgであり、溶媒対照群に対して有意な増加が認められた。有意な尿糖排泄量の増加が認められた0.03、0.1、0.3および1 mg/kg群の血漿中ルセオグリフロジンのC_{max}は、それぞれ16.4、77.3、231および744 ng/mLであり、AUC_{0-24h}はそれぞれ113、509、1600および5080 ng·h/mLであった。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物は、正常イヌにおける単回経口投与により用量依存的に経口糖負荷後の尿糖排泄量を増加させ、0.03 mg/kg以上の投与量で有意に尿糖排泄を増加させることが明らかになった。

表 2.6.2-5 正常イヌにおける経口糖負荷後の尿糖排泄に対するルセオグリフロジン水和物の作用

投与群	投与量 (mg/kg)	尿糖排泄量 (mg)		
		0~24 h		
実験 1				
溶媒対照	—	3.05	±	0.49
SGL0176	0.003	3.28	±	0.62
	0.01	5.07	±	1.69
	0.03	325.29	±	72.46
実験 2				
溶媒対照	—	7.64	±	1.95
SGL0176	0.1	5599.12	±	478.94
	0.3	13287.10	±	691.19
	1	20129.68	±	1870.83

データは平均値±標準誤差（実験 1：n=9、実験 2：n=10）を表示。

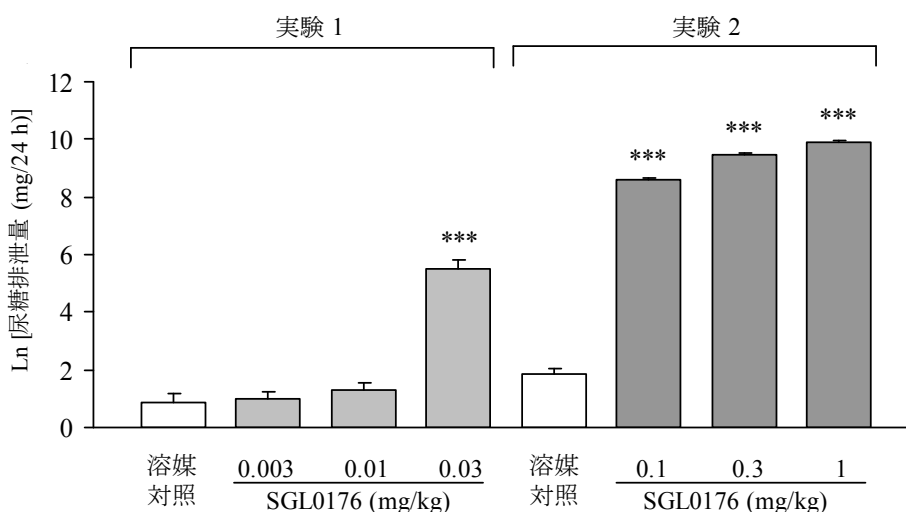


図 2.6.2-5 正常イヌにおける経口糖負荷後の尿糖排泄に対するルセオグリフロジン水和物の作用

データは、被験物質投与後 24 時間の尿糖排泄量 (mg/24 h) の自然対数の平均値±標準誤差（実験 1：n=9、実験 2：n=10）を表示。

*** p<0.001（それぞれの実験での溶媒対照群に対する二元配置 Dunnett 型の多重比較検定）

表 2.6.2-6 正常イヌにおけるルセオグリフロジン水和物単回経口投与後の薬物動態パラメータ

投与量 (mg/kg)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-24h} (ng·h/mL)
0.01	5.61	32.2
0.03	16.4	113
0.1	77.3	509
0.3	231	1600
1	744	5080

データは平均値 (n=3) を表示。

2.6.2.2.3 血糖低下作用

(1) db/db マウスにおける血糖低下作用

添付資料番号 4.2.1.1-17 (評価)、4.2.1.1-18 (評価)、4.2.1.1-19 (評価)、4.2.1.1-20 (評価)

【目的】

肥満 2 型糖尿病モデルである db/db マウスを用いて、ルセオグリフロジン水和物の単回経口投与における非絶食下血糖値に対する作用を検討した。

【方法】

1 群 8 例の雄性 db/db マウス (7 週齢) に非絶食下で溶媒、ルセオグリフロジン水和物 0.1、0.3、1 および 3 mg/kg を単回経口投与した。経時的に採血を行い、血漿中グルコース濃度を測定した。正常対照として、8 例の雄性 db/m マウス (7 週齢) に溶媒を単回経口投与した。また、1 群 27 例の雄性 db/db マウスに被験物質を同様に投与して各時点 3 例 (計 9 時点) の採血を行い、血漿中ルセオグリフロジン濃度を測定した。

【結果】

ルセオグリフロジン水和物を単回経口投与した結果、0.3 mg/kg 以上の群では投与後速やかに血漿中グルコース濃度が低下し、血糖 AUC_{0-8h} が病態対照群に対して有意に低値を示した。

また、有意な血糖低下作用を示した 0.3、1 および 3 mg/kg 群における血漿中ルセオグリフロジンの C_{max} は、それぞれ 86.1、284 および 949 ng/mL であり、AUC_{0-12h} はそれぞれ 119、440 および 1250 ng·h/mL であった。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物は、db/db マウスへの単回経口投与において、血糖低下作用を有することが明らかになった。

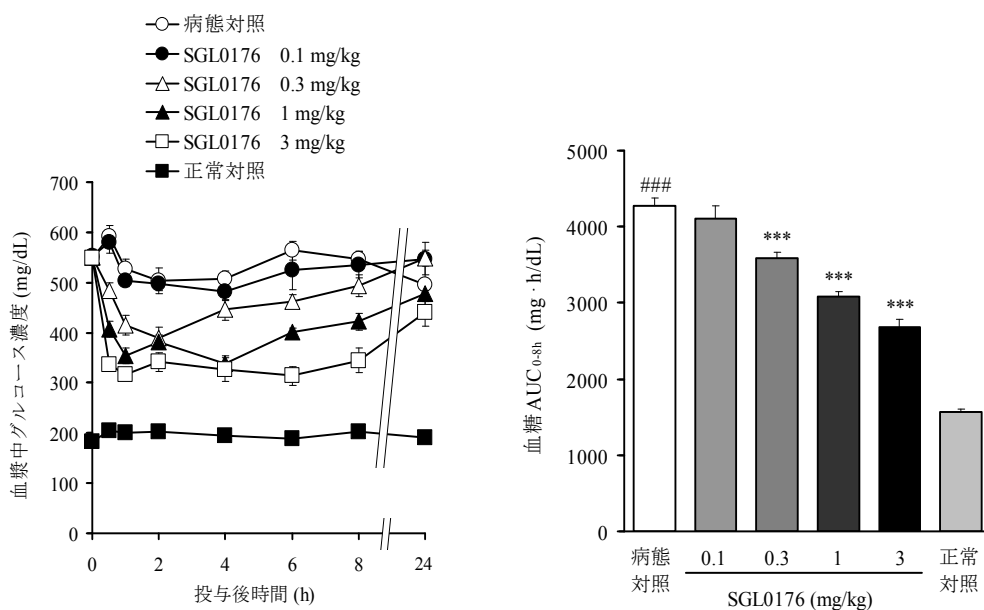


図 2.6.2-6 db/db マウスにおける非絶食下血糖値に対するルセオグリフロジン水和物の作用
 データは平均値±標準誤差 (n=8) を表示。### p<0.001 (正常対照群に対する Welch の t 検定)、
 *** p<0.001 (病態対照群に対する Dunnett の多重比較検定)

表 2.6.2-7 db/db マウスにおけるルセオグリフロジン水和物単回経口投与後の薬物動態パラメータ

投与量 (mg/kg)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-12h} (ng·h/mL)
0.1	21.9	36.3
0.3	86.1	119
1	284	440
3	949	1250

データは平均値 (n=3) を表示。なお、いずれの投与群においても投与後 24 時間の血漿中濃度が定量下限以下であったため、実測可能であった投与後 12 時間までの AUC_{0-12h} を記載した。

(2) db/db マウスにおける糖化ヘモグロビン低下作用

添付資料番号 4.2.1.1-21 (評価)、4.2.1.1-22 (評価)

【目的】

ルセオグリフロジン水和物の糖尿病治療効果を明らかにするために、肥満 2 型糖尿病モデルである db/db マウスを用いて、ルセオグリフロジン水和物の反復経口投与における糖化ヘモグロビン (GHb) 低下作用を検討した。

【方法】

1群 10例の雄性 db/db マウス (11 週齢) に非絶食下で溶媒、ルセオグリフロジン水和物 0.3、1、3 および 10 mg/kg を 1 日 1 回、4 週間反復経口投与した。投与開始前および投与 29 日目に採血を行い、GHb 値を測定した。正常対照として、10 例の雄性 db/m マウス (11 週齢) に溶媒を反復経口投与した。

【結果】

投与 29 日目の GHb 値は、病態対照群またはルセオグリフロジン水和物 0.3、1、3 および 10 mg/kg 投与群において、それぞれ 7.90、7.99、7.77、7.10 および 6.81%であった。また、反復投与 4 週間における GHb 変化量は、病態対照群またはルセオグリフロジン水和物 0.3、1、3 および 10 mg/kg 投与群において、それぞれ 0.43、0.49、0.27、-0.41 および -0.73%であり、3 および 10 mg/kg 投与群では病態対照群に対して有意な GHb 変化量の低下が認められた。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物は、db/db マウスへの反復経口投与により用量依存的に GHb 値を低下させ、糖尿病治療効果を示すことが明らかになった。

表 2.6.2-8 db/db マウスにおけるルセオグリフロジン水和物 4 週間反復経口投与前後の GHb 値

投与群	投与量 (mg/kg)	GHb 値 (%)			
		投与開始前		投与29日目	
病態対照	—	7.47	± 0.13	7.90	± 0.25
SGL0176	0.3	7.50	± 0.13	7.99	± 0.27
	1	7.50	± 0.13	7.77	± 0.17
	3	7.51	± 0.13	7.10	± 0.20
	10	7.54	± 0.12	6.81	± 0.15
正常対照	—	3.94	± 0.03	3.60	± 0.04

データは平均値±標準誤差 (n=10) を表示。

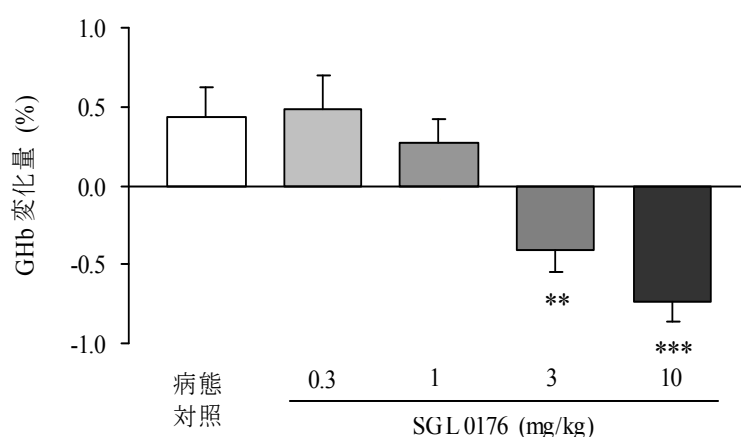


図 2.6.2-7 db/db マウスにおける GHb 変化量に対するルセオグリフロジン水和物の作用

データは平均値±標準誤差 (n=10) を表示。GHb 変化量 (%) = 投与 29 日目の GHb 値 (%) - 投与開始前の GHb 値 (%)

** p<0.01、*** p<0.001 (病態対照群に対する Dunnett の多重比較検定)

(3) Zucker fatty ラットにおける経口糖負荷後の血糖上昇に対する抑制作用

添付資料番号 4.2.1.1-23 (評価)、4.2.1.1-24 (評価)、4.2.1.1-25 (評価)、4.2.1.1-26 (評価)

【目的】

耐糖能異常肥満モデルである Zucker fatty ラットを用いて、ルセオグリフロジン水和物の単回経口投与における経口糖負荷後の血糖値およびインスリン分泌に対する作用を検討した。

【方法】

1 群 8 例の雄性 Zucker fatty ラット (10 週齢) を約 17 時間絶食後、溶媒、ルセオグリフロジン水和物 0.1、0.3、1 および 3 mg/kg を単回経口投与した。30 分後にグルコース溶液 (2 g/5 mL/kg) を経口投与して経時的に採血を行い、血漿中グルコースおよびインスリン濃度を測定した。正常対照として、8 例の雄性 Zucker lean ラット (10 週齢) に溶媒を単回経口投与した。また、1 群 3 例の雄性 Zucker fatty ラット (10 週齢) に被験物質を同様に投与して経時的に採血を行い、血漿中ルセオグリフロジン濃度を測定した。

【結果】

ルセオグリフロジン水和物を単回経口投与した結果、0.3、1 および 3 mg/kg 群で糖負荷後の血漿中グルコース濃度の上昇が有意に抑制された。また、血漿中インスリン濃度はルセオグリフロジン水和物投与群で病態対照群と比較して低下傾向が認められた。すなわち、ルセオグリフロジン水和物は、インスリン分泌を介さずに糖負荷後の血糖値の上昇を抑制した。

また、糖負荷後の血糖値上昇に対する有意な抑制作用を示した 0.3、1 および 3 mg/kg 群の血漿中ルセオグリフロジンの C_{max} はそれぞれ 53.0、259 および 830 ng/mL であり、 AUC_{0-24h} はそれぞれ 178、620 および 1960 ng·h/mL であった。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物は、インスリン分泌に依存せず糖負荷後の血糖値上昇を抑制することが明らかになった。

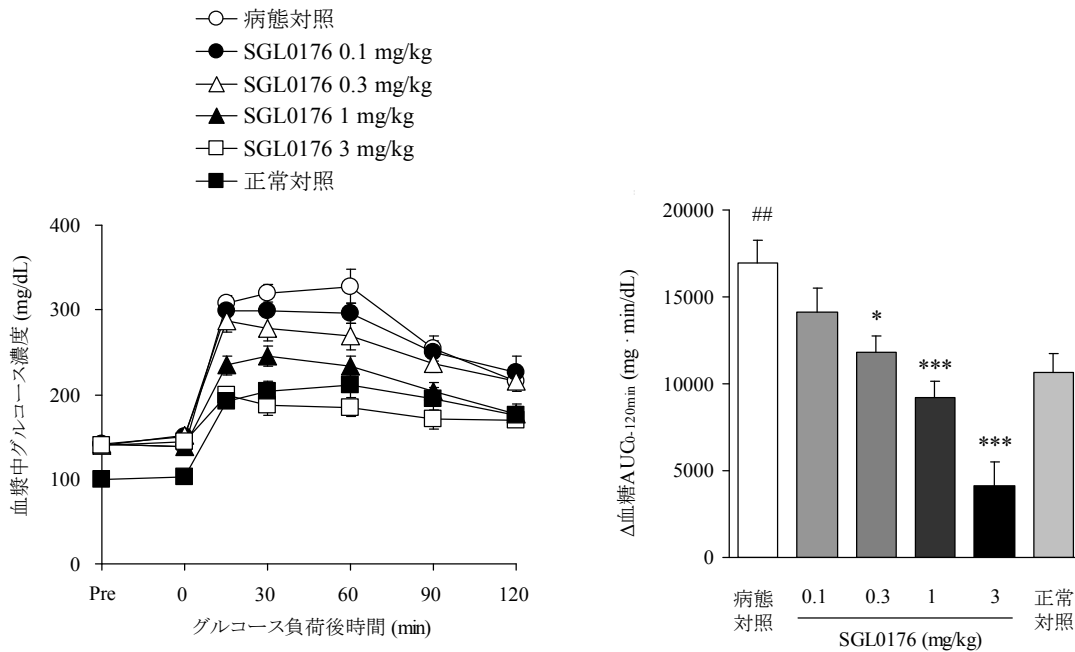


図 2.6.2-8 Zucker fatty ラットにおける経口糖負荷後の血糖値に対する
ルセオグリフロジン水和物の作用

データは平均値±標準誤差 (n=8) を表示。## p<0.01 (正常対照群に対する Student の t 検定)、* p<0.05、*** p<0.001 (病態対照群に対する Dunnett の多重比較検定)

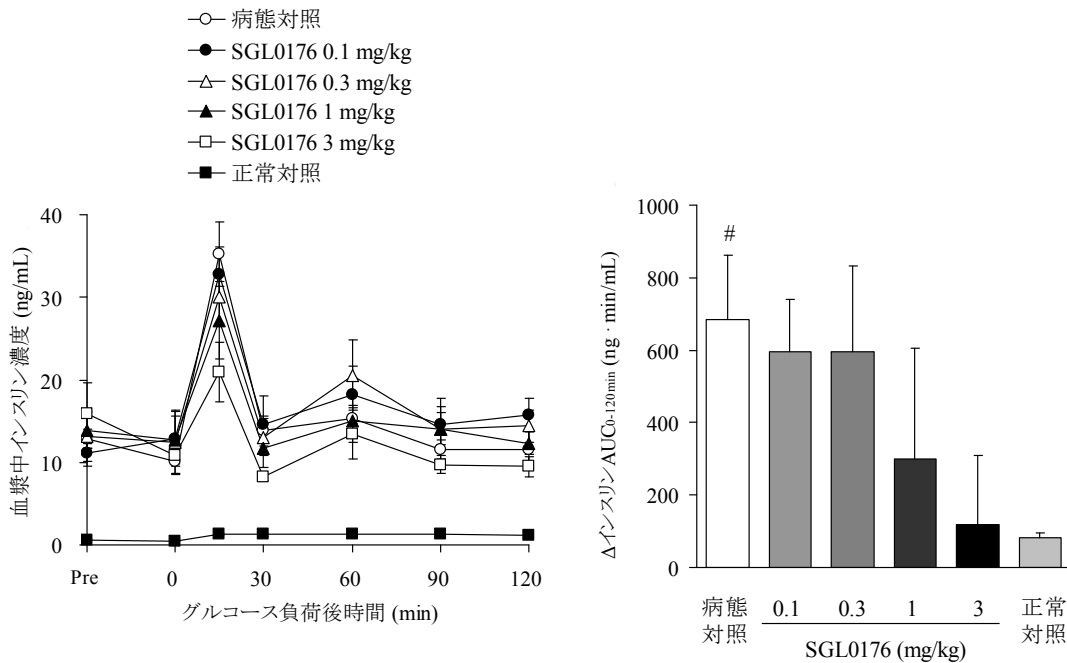


図 2.6.2-9 Zucker fatty ラットにおける経口糖負荷後のインスリン分泌に対する
ルセオグリフロジン水和物の作用

データは平均値±標準誤差 (n=8) を表示。# p<0.05 (正常対照群に対する Welch の t 検定)、SGL0176 各群は、病態対照群に対して有意差なし (病態対照群に対する Dunnett の多重比較検定)。

表 2.6.2-9 Zucker fatty ラットにおけるルセオグリフロジン水和物単回経口投与後の薬物動態パラメータ（経口糖負荷時）

投与量 (mg/kg)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-24h} (ng·h/mL)
0.1	14.2	45.3
0.3	53.0	178
1	259	620
3	830	1960

データは平均値 (n=3) を表示。

(4) ストレプトゾシン誘発糖尿病ラットにおける血糖低下作用

添付資料番号 4.2.1.1-27 (評価)

【目的】

インスリン分泌能が障害された病態モデルであるストレプトゾシン (STZ) 誘発糖尿病ラットを用いて、ルセオグリフロジン水和物の単回経口投与における非絶食下血糖値に対する作用を検討した。

【方法】

雄性 SD ラット (7 週齢) を約 17 時間絶食後、STZ (50 mg/kg) をエーテル麻酔下にて尾静脈内投与し、STZ 誘発糖尿病ラットを作製した。1 週間後、1 群 8 例の STZ 誘発糖尿病ラット (8 週齢) に非絶食下で溶媒、ルセオグリフロジン水和物 0.1、0.3、1 および 3 mg/kg を単回経口投与した後、経時的に採血を行い、血漿中グルコース濃度を測定した。正常対照として、STZ を投与しなかった雄性 SD ラット (8 週齢) に溶媒を単回経口投与した。

【結果】

ルセオグリフロジン水和物を単回経口投与した結果、0.3、1 および 3 mg/kg 群では投与後速やかに血漿中グルコース濃度が低下し、血糖 AUC_{0-8h} が病態対照群に対して有意に低値を示した。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物は、インスリン分泌能が障害された STZ 誘発糖尿病ラットへの単回経口投与において、血糖低下作用を有することが明らかになった。

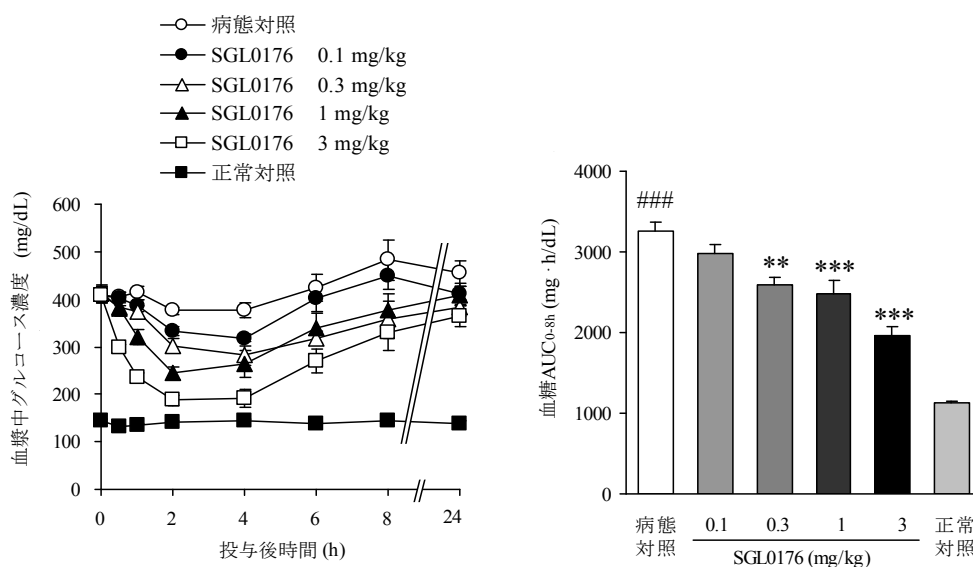


図 2.6.2-10 STZ 誘発糖尿病ラットにおける非絶食下血糖値に対するルセオグリフロジン水和物の作用

データは平均値±標準誤差 (n=8) を表示。

p<0.001 (正常対照群に対する Welch の t 検定)

** p<0.01、*** p<0.001 (病態対照群に対する Dunnett の多重比較検定)

(5) Goto-Kakizaki ラットにおける糖化ヘモグロビン低下作用

添付資料番号 4.2.1.1-30 (評価)

【目的】

ルセオグリフロジン水和物の長期投与における糖尿病治療効果を明らかにするために、非肥満 2 型糖尿病モデルである Goto-Kakizaki (GK) ラットを用いてルセオグリフロジン水和物の混餌投与における糖化ヘモグロビン (GHb) 低下作用を検討した。

【方法】

1 群 9~10 例の雄性 GK ラット (12~14 週齢) に高シヨ糖食、ルセオグリフロジン水和物を 0.002、0.006 および 0.02% 含む高シヨ糖食を 20 週間与えた。混餌投与開始前および投与開始後約 4 週ごとに 20 週まで非絶食下で採血を行い、GHb 値および血漿中インスリン濃度を測定した。また、代謝ケージを用いて混餌投与開始前および投与開始後約 4 週ごとに 24 時間の尿を採取し、尿量および尿中グルコース濃度を測定して、尿糖排泄量を求めた。正常対照として、10 例の雄性 Wistar ラット (13 週齢) に通常食を 20 週間与えた。

【結果】

ルセオグリフロジン水和物投与群における GHb 値は、0.002% 投与群では投与 57 日目より、0.006 および 0.02% 投与群では投与 29 日目より投与 141 日目まで病態対照群に対して有意に低値を示し、ルセオグリフロジン水和物の長期投与により持続的な GHb 低下作用が認められた。

ルセオグリフロジン水和物投与群における尿糖排泄量 (24 時間) は、0.006 および 0.02% 投与群で投与 26 日目より投与 138 日目まで病態対照群に対して有意に高値を示し、ルセオグリフロジン水和物の長期投与により持続的な尿糖排泄増加作用が認められた。

また、非絶食下血漿中インスリン濃度は正常対照群と比較して病態対照群で高値を示したが、ルセオグリフロジン水和物 0.02% 投与群では投与 29 日目より投与 141 日目まで病態対照群に対して有意に低値を示した。

なお、体重および摂餌量から算出した各投与群 (SGL0176 0.002、0.006 および 0.02%) の投与量は、それぞれ 1.1、3.8 および 13.5 mg/kg/day であった。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物の長期投与は、持続的に尿糖排泄を増加させて GHb 値を低下させることが明らかとなった。また、投与期間中非絶食下血漿中インスリン濃度が病態対照群と比較して有意に低値を推移したことより、ルセオグリフロジン水和物は過剰なインスリン分泌を軽減する可能性も示唆された。

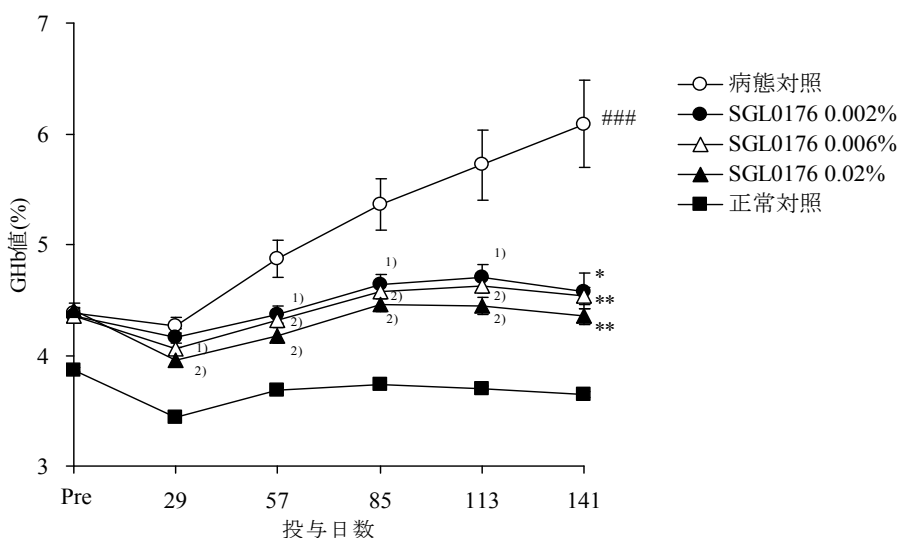


図 2.6.2-11 GK ラットにおける GHb 値に対するルセオグリフロジン水和物の作用

データは、平均値±標準誤差 (病態対照群、SGL0176 0.006%群、SGL0176 0.02%群および正常対照群 : n=10、SGL0176 0.002%群 : n=9) を表示。
 ### p<0.001 (正常対照群に対する Welch の t 検定)、* p<0.05/3、** p<0.01/3 (病態対照群に対する Welch の t 検定、Bonferroni の調整)、¹⁾ p<0.05、²⁾ p<0.01 (病態対照群に対する Welch の t 検定)

表 2.6.2-10 GK ラットにおける尿糖排泄に対するルセオグリフロジン水和物の作用

投与群	投与量	尿糖排泄量 (mg)					
		投与開始前	投与26日目	投与54日目	投与82日目	投与110日目	投与138日目
病態対照群	-	4.6 ± 0.7	5.6 ± 2.1	209.7 ± 104.8	494.9 ± 260.1	1517.3 ± 605.8	1894.9 ± 663.7 #
SGL0176群	0.002%	3.9 ± 0.3	717.8 ± 170.6	953.0 ± 214.0	1136.3 ± 339.4	1862.3 ± 558.0	1546.0 ± 342.2
	0.006%	4.1 ± 0.5	2410.8 ± 171.9 ¹⁾	3442.6 ± 350.7 ¹⁾	4129.1 ± 344.1 ¹⁾	5975.4 ± 713.6 ¹⁾	4652.0 ± 422.1 ***
	0.02%	4.4 ± 0.5	4295.9 ± 144.7 ¹⁾	5744.2 ± 274.1 ¹⁾	5552.6 ± 351.9 ¹⁾	6420.3 ± 408.8 ¹⁾	5032.0 ± 331.6 ***
正常対照群	-	2.7 ± 0.1	3.0 ± 0.1	2.2 ± 0.1	2.8 ± 0.1	3.3 ± 0.1	2.2 ± 0.1

データは、平均値±標準誤差 (病態対照群、SGL0176 0.006%群、SGL0176 0.02%群および正常対照群 : n=10、SGL0176 0.002%群 : n=9) を表示。
 # p<0.05 (正常対照群に対する Welch の t 検定)、*** p<0.001 (病態対照群に対する Dunnett の多重比較検定)、¹⁾ p<0.001 (病態対照群に対する Welch の t 検定)

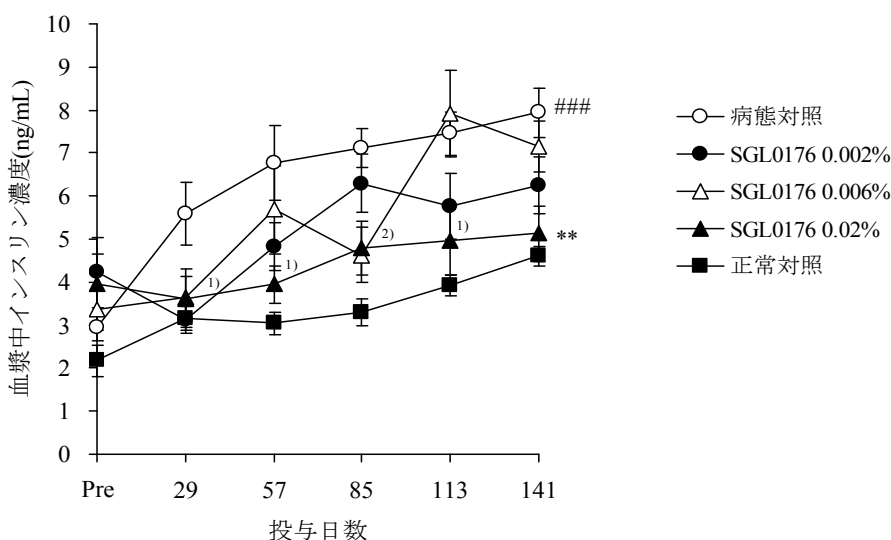


図 2.6.2-12 GK ラットにおける血漿中インスリン濃度に対するルセオグリフロジン水和物の作用データは、平均値±標準誤差(病態対照群、SGL0176 0.006%群、SGL0176 0.02%群および正常対照群:n=10、SGL0176 0.002%群:n=9)を表示。
p<0.001 (正常対照群に対する Welch の t 検定)、** p<0.01 (病態対照群に対する Dunnett の多重比較検定)、¹⁾ p<0.05、²⁾ p<0.01 (病態対照群に対する Welch の t 検定)

(6) ストレプトゾシン誘発糖尿病ラットにおけるインスリン抵抗性改善作用および膵β細胞保護作用

添付資料番号 4.2.1.1-31 (評価)、4.2.1.1-32 (評価)

【目的】

ルセオグリフロジン水和物の糖尿病改善作用を明らかにするために、インスリン分泌能が軽度障害されたストレプトゾシン (STZ) 誘発糖尿病ラットを作製して、ルセオグリフロジン水和物の混餌投与におけるインスリン抵抗性改善作用および膵β細胞に対する作用を検討した。

【方法】

雄性 SD ラット (7 週齢) を約 15 時間絶食後、STZ (40 mg/kg) を尾静脈内に投与し、STZ 誘発糖尿病ラットを作製した。1 週間後、1 群 12 例の STZ 誘発糖尿病ラット (8 週齢) に通常食、ルセオグリフロジン水和物を 0.001、0.003 および 0.01% 含む通常食を 4 週間与えた。混餌投与開始前および投与 2 および 4 週目に非絶食下で採血を行い、血漿中グルコース濃度、血漿中インスリン濃度および GHb 値を測定した。

次に、投与 4 週目の採血後に約 24 時間の休薬および約 15 時間の絶食を行い、高インスリン正常血糖クランプ試験を行った。ラットを麻酔後、左頸静脈および膀胱にカニューレを挿入し、インスリン投与液を左頸静脈カニューレより持続投与 (6 mU/kg/min) した。さらに 40% グルコース投与液を左頸静脈カニューレより持続投与して、インスリン持続投与開始後 90~120 分の血糖値が 120 mg/dL になるように投与速度を調節した。また、膀胱カニューレを介してインスリン持続投与開始後 90~120 分間に尿を採取し、尿量および尿中グルコース濃度を測定して尿中グルコース排泄速度を算出した。インスリン持続投与開始後 90、105 および 120 分のインスリン投与速度およびその間の尿中グルコース

排泄速度より下記の式を用いて糖利用率（GIR：Glucose infusion rate）をそれぞれ求め、全身の糖利用率を算出した。

$$\text{GIR (mg/kg/min)} = \text{グルコース投与液の投与速度 (mg/kg/min)} - \text{尿中グルコース排泄速度 (mg/kg/min)}$$

全身の糖利用率（mg/kg/min）：インスリン持続投与開始後 90、105 および 120 分の GIR の平均値

高インスリン正常血糖クランプ試験終了後に膵臓を摘出し、切片を作製後に抗インスリン抗体を用いて免疫染色を行った。その後、画像解析装置により膵臓のインスリン陽性面積率（%）を測定し、膵臓重量（mg）を掛けて膵β細胞量（mg）を算出した。

正常対照として、12 例の雄性 SD ラット（8 週齢）に通常食を 4 週間与え、同様の試験を実施した。

【結果】

ルセオグリフロジン水和物の混餌投与 2 および 4 週目の非絶食下の血漿中グルコース濃度は、0.001、0.003 および 0.01% 投与群のいずれにおいても、病態対照群に対して有意に低値を示し、混餌投与 4 週目の GHb 値も病態対照群に対して有意に低値を示した。また、0.01% 投与群においては、混餌投与 4 週目の血漿中インスリン濃度が病態対照群に対して有意に高値を示した。4 週間投与後の全身の糖利用率は、病態対照群および正常対照群において 21.5 および 30.1 mg/kg/min で、病態対照群は正常対照群に対して有意に低値を示し、本病態モデルにおいてインスリン抵抗性が惹起されていることが確認された。一方、0.01% 投与群においては、4 週間投与後の全身の糖利用率が 28.9 mg/kg/min であり、病態対照群に対して有意に高値を示した。すなわち、ルセオグリフロジン水和物のインスリン抵抗性に対する改善作用が認められた。

さらに、4 週間投与後の膵臓より作製した切片のインスリン免疫染色により膵β細胞量を算出したところ、病態対照群は正常対照群に対して有意に低値を示し、本病態モデルにおいて膵β細胞量が著しく減少していることが示された。一方、0.01% 投与群においては、病態対照群に対して膵β細胞量が有意に高値を示し、膵β細胞量の減少に対するルセオグリフロジン水和物の抑制作用が認められた。

なお、体重および摂餌量から算出した各投与群（SGL0176 0.001、0.003 および 0.01%）の投与量は、それぞれ 1.4、4.2 および 11.6 mg/kg/day であった。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物の混餌投与により GHb 低下作用が認められ、インスリン抵抗性が改善するとともに膵β細胞量の減少が抑制された。これらの結果より、ルセオグリフロジン水和物は糖毒性の解除を介して糖尿病病態を改善する可能性が示唆された。

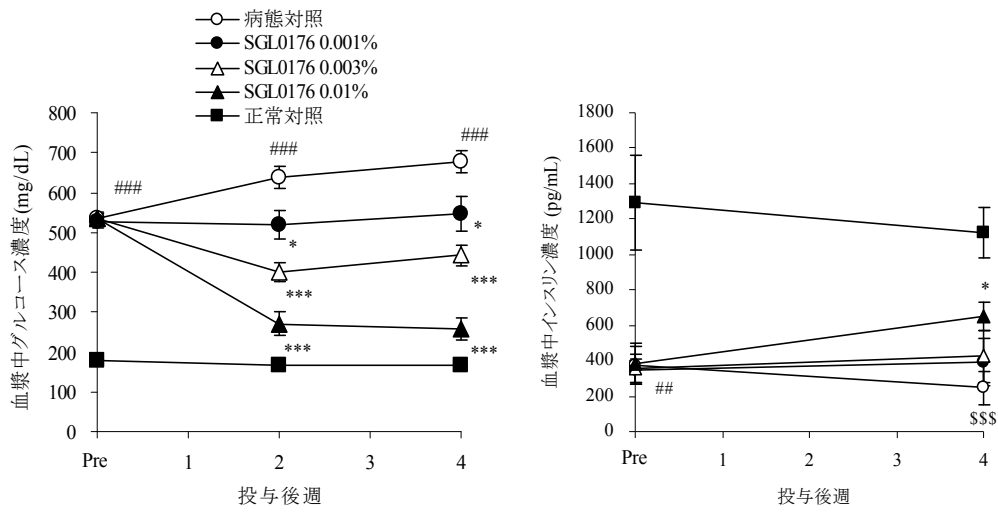


図 2.6.2-13 STZ 誘発糖尿病ラットにおける非絶食下血糖値および血漿中インスリン濃度に対するルセオグリフロジン水和物の作用

データは平均値±標準誤差 (n=12) を表示。## p<0.01、### p<0.001 (正常対照群に対する Welch の t 検定)、\$\$\$ p<0.001 (正常対照群に対する Student の t 検定)、* p<0.05、*** p<0.001 (病態対照群に対する Dunnett の多重比較検定)

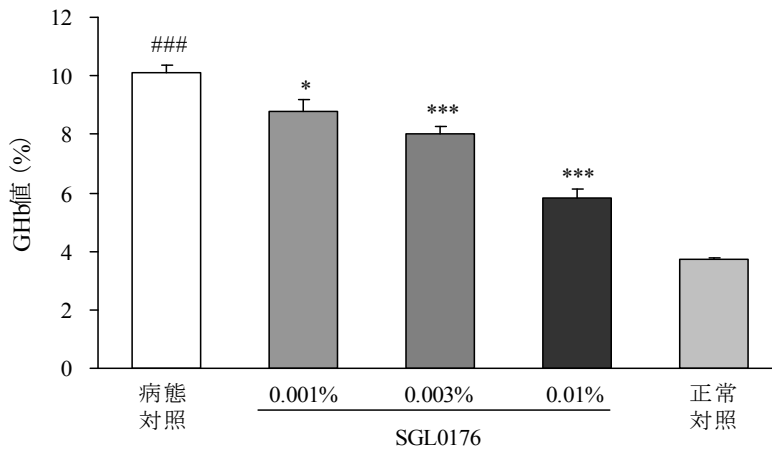


図 2.6.2-14 STZ 誘発糖尿病ラットにおける GHb 値に対するルセオグリフロジン水和物の作用

投与 4 週目の GHb 値 (%) を示す。データは平均値±標準誤差 (n=12) を表示。### p<0.001 (正常対照群に対する Welch の t 検定)、* p<0.05、*** p<0.001 (病態対照群に対する Dunnett の多重比較検定)

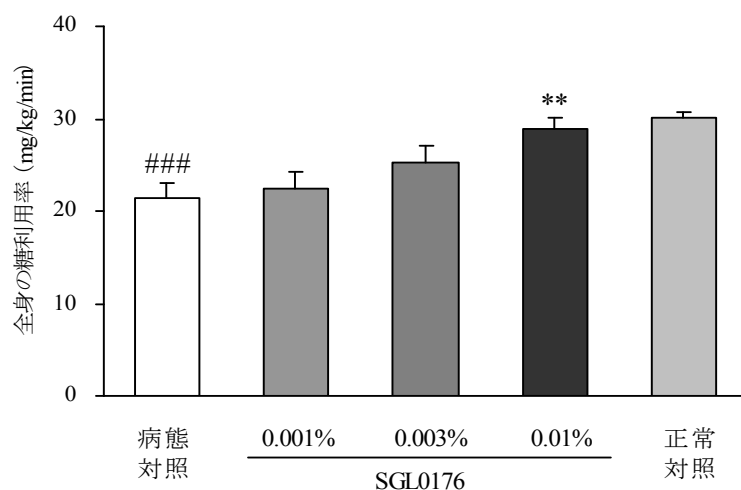


図 2.6.2-15 STZ 誘発糖尿病ラットにおけるインスリン抵抗性に対するルセオグリフロジン水和物の作用

4 週間投与後の全身の糖利用率 (mg/kg/min) を示す。データは平均値±標準誤差 (n=12) を表示。
p<0.001 (正常対照群に対する Welch の t 検定)、** p<0.01 (病態対照群に対する Dunnett の多重比較検定)

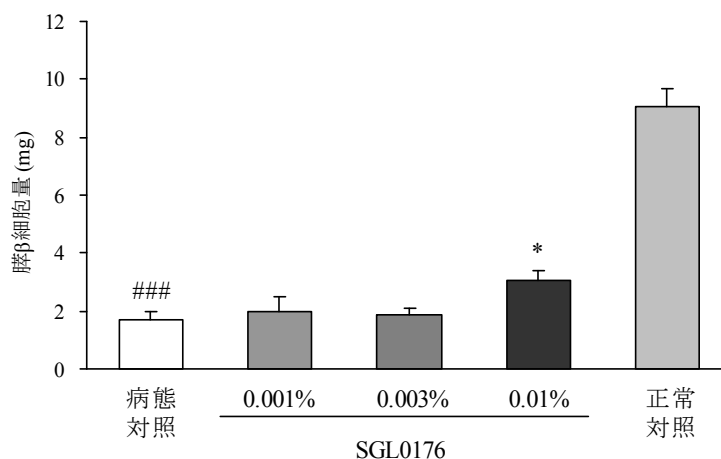


図 2.6.2-16 STZ 誘発糖尿病ラットにおける膵β細胞量に対するルセオグリフロジン水和物の作用
4 週間投与後の膵β細胞量 (mg) を示す。データは平均値±標準誤差 (n=12) を表示。
p<0.001 (正常対照群に対する Welch の t 検定)、* p<0.05/3 (病態対照群に対する Student の t 検定、Bonferroni の調整)

(7) 正常ラットにおける非絶食下血糖値に対する作用

添付資料番号 4.2.1.1-28 (評価)

【目的】

正常動物の非絶食下血糖値に対するルセオグリフロジン水和物の作用を明らかにするため、SD ラットを用いてルセオグリフロジン水和物の単回経口投与における非絶食下血糖値に対する作用を検討した。

【方法】

1群8例の雄性SDラット(8週齢)に非絶食下で溶媒、ルセオグリフロジン水和物0.3、1および3 mg/kgを単回経口投与した。経時的に採血を行い、血漿中グルコース濃度を測定した。また、陽性対照薬として、グリベンクラミドを10 mg/kgの投与量で単回経口投与した。

【結果】

SDラットにおける被験物質投与前の非絶食下血漿中グルコース濃度は、約150 mg/dLであった。ルセオグリフロジン水和物またはグリベンクラミドを単回経口投与した後の経時的な非絶食下血漿中グルコース濃度を用いて、溶媒対照群と各薬剤投与群との二元配置分散分析を行った結果、ルセオグリフロジン水和物およびグリベンクラミドとも非絶食下血糖値の推移に影響を及ぼしたと判断された。そこで次に、各ルセオグリフロジン水和物投与群の血漿中グルコース濃度を各採血時点ごとに溶媒対照群と比較した。その結果、ルセオグリフロジン水和物1および3 mg/kg投与群において、投与後2時間の血漿中グルコース濃度は溶媒対照群に比較して有意に低値を示したが($p < 0.01$ 、溶媒対照群に対するWelchのt検定)、それぞれ142および138 mg/dLといずれも正常血糖の範囲内であり、投与後4時間には溶媒対照群の血漿中グルコース濃度と同程度まで回復した。また、3 mg/kg投与群においては、投与後24時間にも有意な非絶食下血糖値の低下作用が認められたが($p < 0.05$ 、溶媒対照群に対するWelchのt検定)、131 mg/dLと正常血糖の範囲内であった。投与後24時間の血糖低下については、ルセオグリフロジン水和物の尿糖排泄に起因している可能性は低く、薬理的意義に乏しい偶発的な変化と考えられた。なお、ルセオグリフロジン水和物0.3 mg/kg投与群では有意な非絶食下血漿中グルコース濃度の低下は認められなかった(溶媒対照群に対するWelchのt検定)。一方、グリベンクラミド投与群では投与後1から8時間まで非絶食下血漿中グルコース濃度の低下が認められ、投与後4時間には血漿中グルコース濃度が101 mg/dLまで低下した。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物は、1 mg/kg以上の投与量で正常動物の非絶食下血糖値を一過性に有意に低下させたが、その変化は正常血糖の範囲内であった。

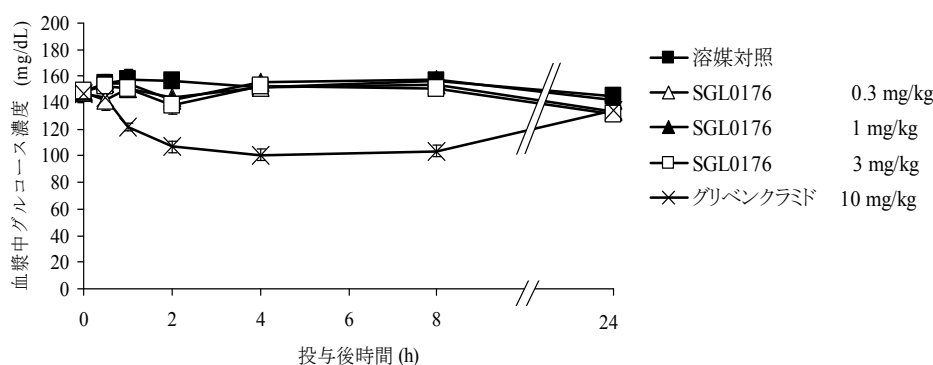


図 2.6.2-17 正常ラットにおける非絶食下血糖値に対するルセオグリフロジン水和物およびグリベンクラミドの作用

データは平均値±標準誤差 (n=8) を表示。投与量効果： $p=0.0238$ 、時間効果： $p < 0.0001$ 、投与量×時間交互作用： $p=0.8442$ (溶媒対照群 vs. SGL0176 投与群、二元配置分散分析にて有意差あり)、投与量効果： $p < 0.0001$ 、時間効果： $p < 0.0001$ 、投与量×時間交互作用： $p < 0.0001$ (溶媒対照群 vs. グリベンクラミド投与群、二元配置分散分析にて有意差あり)

(8) 正常ラットにおける絶食下血糖値に対する作用

添付資料番号 4.2.1.1-29 (評価)

【目的】

正常動物の絶食下血糖値に対するルセオグリフロジン水和物の作用を明らかにするため、SD ラットを用いてルセオグリフロジン水和物の単回経口投与における絶食下血糖値に対する作用を検討した。

【方法】

1 群 8 例の雄性 SD ラット (8 週齢) を約 17 時間絶食後、溶媒、ルセオグリフロジン水和物 0.3、1 および 3 mg/kg を単回経口投与した。経時的に採血を行い、血漿中グルコース濃度を測定した。また、陽性対照薬として、グリベンクラミドを 10 mg/kg の投与量で単回経口投与した。

【結果】

SD ラットにおいて、被験物質投与前の絶食下血漿中グルコース濃度は約 100 mg/dL であった。ルセオグリフロジン水和物またはグリベンクラミドを単回経口投与した後の経時的な絶食下血漿中グルコース濃度を用いて、溶媒対照群と各薬剤投与群との二元配置分散分析を行った結果、ルセオグリフロジン水和物およびグリベンクラミドとも絶食下血糖値の推移に影響を及ぼしたと判断された。そこで次に、各ルセオグリフロジン水和物投与群の血漿中グルコース濃度を各採血時点ごとに溶媒対照群と比較した。その結果、ルセオグリフロジン水和物 3 mg/kg 群において、投与後 1~4 時間の血漿中グルコース濃度は 73~83 mg/dL まで低下したが (投与後 1 時間: $p < 0.01$ 、投与後 2 および 4 時間: $p < 0.001$ 、溶媒対照群に対する Welch の t 検定)、投与後 8 時間には溶媒対照群の血漿中グルコース濃度と同程度まで回復した。ルセオグリフロジン水和物 0.3 および 1 mg/kg 群では有意な血漿中グルコース濃度の低下は認められなかった (溶媒対照群に対する Welch の t 検定)。また、ルセオグリフロジン水和物 1 mg/kg 投与後 0.5 時間および 3 mg/kg 投与後 24 時間の絶食下血漿中グルコース濃度の有意な上昇が認められたが ($p < 0.05$ 、溶媒対照群に対する Welch の t 検定)、薬理的意義に乏しい偶発的な変化と考えられた。一方、グリベンクラミド投与群では、投与後 2 から 8 時間まで絶食下血漿中グルコース濃度の低下が認められ、投与後 8 時間には絶食下血漿中グルコース濃度が 68 mg/dL まで低下した。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物は 3 mg/kg の投与量で絶食下正常動物において血糖低下作用を示すことが明らかになった。

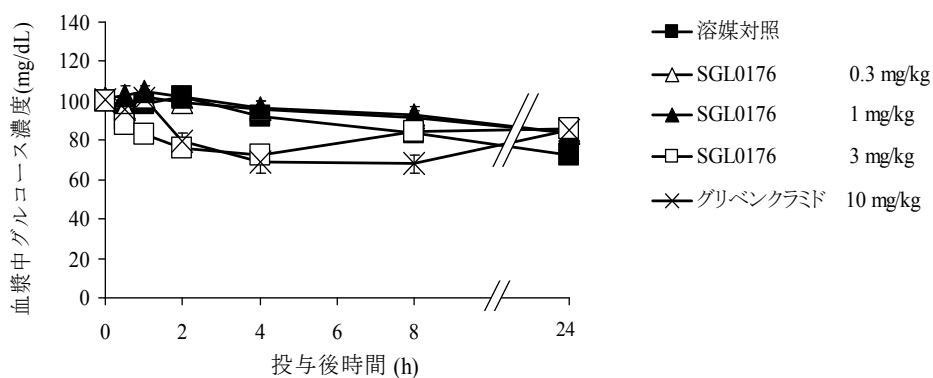


図 2.6.2-18 正常ラットにおける絶食下血糖値に対するルセオグリフロジン水和物およびグリベンクラミドの作用

データは平均値±標準誤差 (n=8) を表示。投与量効果 : $p=0.0021$ 、時間効果 : $p<0.0001$ 、投与量×時間交互作用 : $p<0.0001$ (溶媒対照群 vs. SGL0176 投与群、二元配置分散分析にて有意差あり)、投与量効果 : $p=0.0766$ 、時間効果 : $p<0.0001$ 、投与量×時間交互作用 : $p<0.0001$ (溶媒対照群 vs. グリベンクラミド投与群、二元配置分散分析にて有意差あり)

2.6.2.2.4 代謝物の薬理作用

(1) ヒト SGLT 発現細胞における SGLT 阻害作用

添付資料番号 4.2.1.1-33 (評価)、4.2.1.1-34 (評価)

【目的】

ルセオグリフロジン水和物のヒトにおける主要な代謝物である M2 および M17 について、ヒト SGLT2 および SGLT1 活性に対する阻害作用を検討した。

【方法】

ヒト SGLT2 または SGLT1 を安定発現させた CHO-K1 細胞を用いた。140 mmol/L NaCl を含む緩衝液中で、基質である¹⁴C α-メチルグルコース (1 mmol/L) のナトリウム依存的な細胞内への取り込みを測定した。SGLT2 については、ナトリウム依存的グルコース取り込み活性に対する M2 および M17 の IC₅₀ 値を求めた。SGLT1 については、ナトリウム依存的グルコース取り込み活性に対する M2 の IC₅₀ 値および M17 の 30 μmol/L における阻害率を求めた。

【結果】

ルセオグリフロジン水和物のヒトにおける主要な代謝物である M2 および M17 のヒト SGLT2 活性に対する IC₅₀ 値は、それぞれ 4.01 および 201 nmol/L であった。また、M2 のヒト SGLT1 活性に対する IC₅₀ 値は 1410 nmol/L であり、M17 はヒト SGLT1 活性を 30 μmol/L で 48.2%阻害した。

表 2.6.2-11 ヒト SGLT2 発現細胞におけるグルコース取り込み活性に対する
ルセオグリフロジン代謝物の阻害作用

被験物質	IC ₅₀ (nmol/L)	95% 信頼区間 (nmol/L)		
M2	4.01	2.49	-	6.45
M17	201	144	-	281

データは 4 回の実験 (各 n=3) から求めた値を示す。

表 2.6.2-12 ヒト SGLT1 発現細胞におけるグルコース取り込み活性に対する
ルセオグリフロジン代謝物の阻害作用

被験物質	IC ₅₀ (nmol/L)	95% 信頼区間 (nmol/L)		
M2	1410	1240	-	1610
被験物質	阻害率 (%)	95% 信頼区間 (%)		
M17	48.2	45.2	-	51.1

データは 4 回の実験 (各 n=3) から求めた値を示す。M17 に関しては、30 μmol/L での阻害率の平均値とその 95%信頼区間を示す。

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 その他のグルコース輸送体に対する作用

(1) 脂肪細胞様 3T3-L1 細胞におけるグルコース取り込み活性に対する作用

添付資料番号 4.2.1.2-01 (評価)

【目的】

筋肉および脂肪組織におけるグルコース取り込みは、インスリン非存在下においては促進拡散型のグルコース輸送体である GLUT1、インスリン存在下においては GLUT4 を介して行われている⁵。そこで、ルセオグリフロジン水和物の GLUT1 および GLUT4 に対する作用を明らかにするために、GLUT1 および GLUT4 を発現した脂肪細胞様 3T3-L1 細胞のグルコース取り込み活性に対するルセオグリフロジン水和物の阻害作用を検討した。

【方法】

マウス胎児由来 3T3-L1 細胞を脂肪細胞様に分化誘導し、100 nmol/L インスリンを含む緩衝液またはインスリンを含まない緩衝液で処理した後、ルセオグリフロジン水和物の各濃度における 50 μmol/L [¹⁴C] 2-デオキシ-D-グルコースの細胞内への取り込み活性を測定した。陽性対照物質として、10 μmol/L サイトカラシン B を用いた。

【結果】

脂肪細胞様 3T3-L1 細胞において、ルセオグリフロジン水和物は 1、10 および 100 μmol/L の濃度においてインスリン存在下のグルコース取り込み活性をそれぞれ 2.66、10.4 および 43.3% 阻害し、インスリン非存在下のグルコース取り込み活性をそれぞれ 3.25、11.1 および 41.1% 阻害した。

【結論】

GLUT1 および GLUT4 を介したグルコース取り込み活性に対するルセオグリフロジン水和物の阻害作用は、ヒト SGLT2 阻害作用 (IC₅₀ 値: 2.26 nmol/L、表 2.6.2-1) に比べて非常に弱いことが明らかになった。

表 2.6.2-13 脂肪細胞様 3T3-L1 細胞におけるグルコース取り込み活性に対するルセオグリフロジン水和物の作用

試験物質	濃度 (μmol/L)	阻害率 [%] (95%信頼区間)	
		インスリン存在下	インスリン非存在下
SGL0176	1	2.66 (1.02 - 4.31)	3.25 (0.585 - 5.92)
SGL0176	10	10.4 (5.44 - 15.3)	11.1 (8.91 - 13.4)
SGL0176	100	43.3 (42.4 - 44.1)	41.1 (36.5 - 45.6)
サイトカラシン B	10	96.3 (95.8 - 96.7)	93.3 (92.3 - 94.3)

データは 4 回の実験 (各 n=3) の平均値およびその 95% 信頼区間を示す。

(2) 膵β細胞株 MIN6 細胞におけるグルコース取り込み活性に対する作用

添付資料番号 4.2.1.2-02 (評価)

【目的】

肝臓、膵臓におけるグルコース取り込みおよび腎臓から血中へのグルコース取り込みは、促通拡散型のグルコース輸送体である GLUT2 を介して行われている⁵。そこで、ルセオグリフロジン水和物の GLUT2 に対する作用を明らかにするために、GLUT2 を発現した膵β細胞株 MIN6 細胞のグルコース取り込み活性に対するルセオグリフロジン水和物の阻害作用を検討した。

【方法】

マウス由来膵β細胞株 MIN6 細胞を用いて、ルセオグリフロジン水和物を 1、10 および 100 μmol/L 含む緩衝液中での 50 μmol/L [¹⁴C] 2-デオキシ-D-グルコースの細胞内への取り込み活性を測定した。陽性対照物質として、400 μmol/L フロレチンを用いた。

【結果】

GLUT2 を発現した膵β細胞株 MIN6 細胞において、ルセオグリフロジン水和物 1、10 および 100 μmol/L におけるグルコース取り込み活性の阻害率は、それぞれ 5.51、3.73 および 2.44%であった。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物は、GLUT2 を介したグルコース取り込み活性に対して、ほとんど阻害作用を示さないことが明らかになった。

表 2.6.2-14 膵β細胞株 MIN6 細胞におけるグルコース取り込み活性に対するルセオグリフロジン水和物の作用

試験物質	濃度 (μmol/L)	阻害率 (%)	(95%信頼区間)
SGL0176	1	5.51	(4.09 - 6.92)
SGL0176	10	3.73	(0.384 - 7.07)
SGL0176	100	2.44	(-0.279 - 5.16)
フロレチン	400	92.6	(91.7 - 93.4)

データは 4 回の実験 (各 n=3) の平均値およびその 95%信頼区間を示す。

2.6.2.3.2 各種トランスポーター・イオンチャネルおよび受容体に対する作用

添付資料番号 4.2.1.2-03 (評価)、4.2.1.2-04 (評価)

【目的】

各種トランスポーター、イオンチャネルおよび受容体のリガンド結合に対するルセオグリフロジン水和物の作用を検討した。

【方法】

ヒトリコンビナントタンパクまたはラット組織を用いて、トランスポーター (3 種)、イオンチャネル (5 種) および受容体 (6 種) に特異的なリガンドの結合に対して、各濃度のルセオグリフロジン水和物および陽性対照物質の阻害率を算出した。

【結果】

ルセオグリフロジン水和物は、Na⁺ channel site 2 の特異的なリガンド結合に対して 100 μmol/L で 66.96%の阻害率を示したが、10 μmol/L における阻害率は 14.98%であった。Neurokinin 1 受容体の特異的なリガンド結合に対して 100 μmol/L で 58.75%の阻害率を示したが、10 μmol/L においては全く阻害しなかった。その他のトランスポーター (3 種)、イオンチャネル (4 種) および受容体 (5 種) の特異的なリガンド結合に対するルセオグリフロジン水和物の阻害率は、いずれも 100 μmol/L では 35%未満、10 μmol/L においては 18%未満であった。

【結論】

各種トランスポーター、イオンチャネルおよび受容体のリガンド結合に対するルセオグリフロジン水和物の阻害作用は、ヒト SGLT2 阻害作用 (IC₅₀ 値 : 2.26 nmol/L、表 2.6.2-1) に比べて、非常に弱いことが明らかになった。

表 2.6.2-15 各種トランスポーター、イオンチャネルおよび受容体のリガンド結合に対するルセオグリフロジン水和物の作用

トランスポーター・イオンチャネル・受容体	リガンド	阻害率 (%)		
		SGL0176		陽性対照物質
		10 $\mu\text{mol/L}$	100 $\mu\text{mol/L}$	
【トランスポーター】				
Adenosine transporter (ヒト)	[³ H]NBTI	9.39	32.73	100.00 (NBTI)
Dopamine transporter (ヒト)	[³ H]WIN 35428	0.00	0.00	99.11 (GBR 12909)
Norepinephrine transporter (ヒト)	[³ H]Nisoxetine	0.00	0.00	98.66 (Desipramine)
【イオンチャネル】				
Ca ²⁺ channel (Type L, dihydropyridine) (ラット)	[³ H]PN 200-110	0.00	2.52	100.00 (Nitrendipine)
Cl ⁻ channel (ラット)	[³⁵ S]TBPS	0.49	0.00	100.00 (Picrotoxin)
K ⁺ channel K _A (ラット)	[¹²⁵ I]Dendrotoxin	0.00	0.00	100.00 (Dendrotoxin)
K ⁺ channel K _{ATP} (ラット)	[³ H]Glibenclamide	2.82	4.65	98.98 (Glibenclamide)
Na ⁺ channel site 2 (ラット)	[³ H]Batrachotoxinin	14.98	66.96	95.75 (Dibucaine)
【受容体】				
Adenosine A ₁ (ヒト)	[³ H]DPCPX	0.38	9.16	97.54 (DPCPX)
Angiotensin AT ₁ (ヒト)	[¹²⁵ I]Angiotensin II	1.65	24.72	100.00 (Angiotensin II)
Bradykinin B ₂ (ヒト)	[³ H]Bradykinin	0.40	7.69	99.93 (HOE 140)
Mineralcorticoid (ラット)	[³ H]Aldosterone	13.75	31.81	97.59 (Aldosterone)
Neurokinin1 (ヒト)	[¹²⁵ I]Substance P	0.00	58.75	98.60 (L-703,606)
Vasopressin V ₂ (ヒト)	[³ H]Arg-Vasopressin	17.44	34.18	99.44 ([Arg ⁸]-Vasopressin)

データは平均値 (neurokinin1 : n=3、その他 : n=2) を表示。陽性対照物質濃度 : HOE 140 および dendrotoxin は 1 $\mu\text{mol/L}$ 、その他は 10 $\mu\text{mol/L}$

2.6.2.3.3 食餌性肥満モデルラットにおける体重増加抑制作用

添付資料番号 4.2.1.2-05 (評価)

【目的】

高脂肪高シヨ糖食負荷による食餌性肥満 (DIO) ラットを用いて、ルセオグリフロジン水和物の反復経口投与における尿糖排泄に対する作用および体重増加抑制作用を検討した。

【方法】

雄性 SD ラット (7 週齢) に 11 週間高脂肪高シヨ糖食を与えて DIO ラットを作製した後、1 群 10 または 9 例のラットに、非絶食下において溶媒、ルセオグリフロジン水和物 3 および 10 mg/kg の投与量で 1 日 1 回、32 日間反復経口投与した。反復投与開始前および投与 29 日目に体重を測定し、投与 31 日目から 24 時間の尿を採取し、尿糖排泄量を測定した。正常対照として、高脂肪高シヨ糖食を負荷しない雄性 SD ラット (18 週齢) に溶媒を反復経口投与した。

【結果】

DIO ラットに反復経口投与した結果、投与 31 日目における尿糖排泄量は、肥満対照群、ルセオグリフロジン水和物 3 および 10 mg/kg 群でそれぞれ 3.1、2547.9 および 4937.7 mg/24 h であり、3 および 10 mg/kg 群において肥満対照群に対して有意な尿糖排泄量の増加が認められた。

また、投与 29 日目の体重は、肥満対照群、ルセオグリフロジン水和物 3、10 mg/kg 群および正常対照群でそれぞれ 780.4、748.4、723.5 および 614.1 g であった。反復投与開始前から投与 29 日目までの体重変化率を算出した結果、肥満対照群、ルセオグリフロジン水和物 3 および 10 mg/kg 群でそれぞれ 10.5、5.9 および 2.2% であり、ルセオグリフロジン水和物 3 および 10 mg/kg 群において肥満対照群に対して有意な体重増加抑制作用が認められた。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物は、反復投与において 3 および 10 mg/kg の投与量で高脂肪高シヨ糖食負荷 DIO ラットの尿糖排泄を増加させ、肥満の進展を抑制する可能性が示唆された。

表 2.6.2-16 DIO ラットにおける尿糖排泄に対するルセオグリフロジン水和物の作用

投与群	投与量 (mg/kg)	尿糖排泄量 (mg/24 h)
肥満対照	–	3.1 ± 0.2 ###
SGL0176	3	2547.9 ± 144.4 ***
	10	4937.7 ± 261.2 ***
正常対照	–	4.5 ± 0.3

投与 31 日目の尿糖排泄量 (mg/24 h) を示す。

データは、平均値±標準誤差 (肥満対照群、SGL0176 10 mg/kg 群、正常対照群 : n=10、SGL0176 3 mg/kg 群 : n=9) を表示。

p<0.001 (正常対照群に対する Student の t 検定)、*** p<0.001/2 (肥満対照群に対する Welch の t 検定、Bonferroni の調整)

表 2.6.2-17 DIO ラットにおけるルセオグリフロジン水和物反復経口投与前後の体重

投与群	投与量 (mg/kg)	体重 (g)	
		投与開始前	投与 29 日目
肥満対照	–	706.3 ± 10.6	780.4 ± 17.1
SGL0176	3	706.9 ± 12.0	748.4 ± 13.7
	10	707.6 ± 10.4	723.5 ± 15.3
正常対照	–	569.4 ± 10.4	614.1 ± 13.3

データは、平均値±標準誤差 (肥満対照群、SGL0176 10 mg/kg 群、正常対照群 : n=10、SGL0176 3 mg/kg 群 : n=9) を表示。

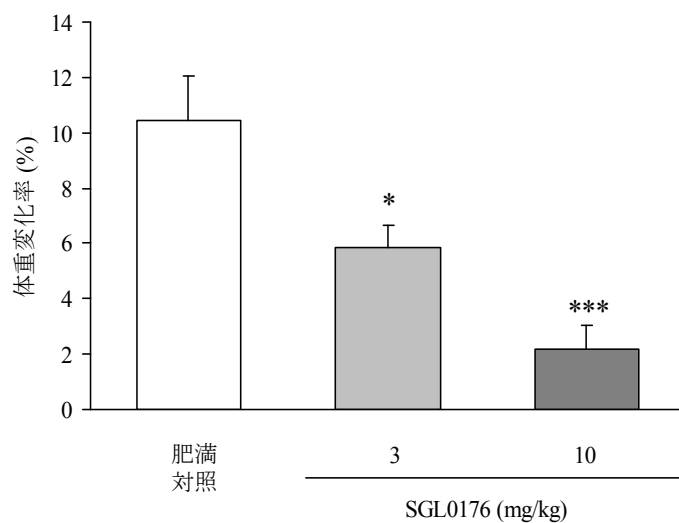


図 2.6.2-19 DIO ラットにおける体重変化率に対するルセオグリフロジン水和物の作用

データは、平均値±標準誤差（肥満対照群、SGL0176 10 mg/kg 群：n=10、SGL0176 3 mg/kg 群：n=9）を表示。

体重変化率 (%) = [(投与 29 日目の体重 - 投与開始前の体重) / 投与開始前の体重] × 100

* p<0.05、*** p<0.001（肥満対照群に対する Dunnett の多重比較検定）

2.6.2.4 安全性薬理試験

主要な試験は医薬品 GLP に準拠し、試験法は安全性評価に関する ICH ガイドラインに従って実施した。ルセオグリフロジン水和物の中樞神経系、心血管系、呼吸系および胃腸管系に対する作用を各種実験動物、摘出器官および細胞を用いて検討した。

2.6.2.4.1 中樞神経系に対する影響

(1) ラットにおける一般症状および行動

添付資料番号 4.2.1.3-01 (評価)

ルセオグリフロジン水和物を 0 (対照)、1、10 および 100 mg/kg の投与量で 6 例/群の雄性 SD ラット (5 週齢) に単回経口投与して、一般症状および行動に及ぼす影響を Irwin の多次元観察法に準じて検討した。対照群には、0.5%CMC-Na 水溶液を同様に投与した。

投与後 24 時間に、10 mg/kg 群で軟便 1 例、100 mg/kg 群で多尿 6 例、軟便 2 例および下痢 2 例が認められたが、薬理作用に関連した変化と考えられた。下痢の認められた 2 例のうちの 1 例に体幹緊張度および腹筋緊張度の低下が認められたが、下痢に伴う二次的変化と考えられた。

以上の結果から、ルセオグリフロジン水和物は 100 mg/kg の投与量まで中樞神経作用による一般症状および行動に影響を及ぼさないと考えられた。

(2) ラットにおける自発運動量

添付資料番号 4.2.1.3-02 (評価)

ルセオグリフロジン水和物を 0 (対照)、1、10 および 100 mg/kg の投与量で 6 例/群の雄性 SD ラット (5 週齢) に単回経口投与して、自発運動量に及ぼす影響について自発運動量測定装置 (SUPERMEX) を用いて検討した。対照群には、0.5%CMC-Na 水溶液を同様に投与した。

100 mg/kg 群で投与後 1.5~2.0 時間に自発運動量の有意な増加が認められたが、対照群を含む全群の変動の範囲内のわずかな変化であること、また一過性の変化であることから、偶発的な変化と考えられた。

以上の結果から、ルセオグリフロジン水和物は 100 mg/kg の投与量まで自発運動量に影響を及ぼさないと考えられた。

(3) ラットにおける体温

添付資料番号 4.2.1.3-03 (評価)

ルセオグリフロジン水和物を 0 (対照)、1、10 および 100 mg/kg の投与量で 6 例/群の雄性 SD ラット (5 週齢) に単回経口投与して、体温に及ぼす影響について検討した。対照群には、0.5%CMC-Na 水溶液を同様に投与した。

100 mg/kg 群で投与後 8 時間の体温に有意な低下 (-0.5°C) が認められた。なお、溶媒対照群の背景データの正常範囲 (平均値±2 標準偏差: 36.7~38.3°C) を越えない軽度の変化であった。

以上の結果から、ルセオグリフロジン水和物は 10 mg/kg の投与量まで体温に影響を及ぼさないと考えられた。

2.6.2.4.2 心血管系に対する影響

(1) hERG 電流

添付資料番号 4.2.1.3-04 (評価)

hERG チャンネルを発現させた HEK293 細胞 (5 例/群) を用いて、hERG 電流に及ぼすルセオグリフロジン水和物の影響をホールセルクランプ法により検討した。

ルセオグリフロジン水和物は 0 (対照)、0.1、1 および 10 $\mu\text{mol/L}$ を適用した。また、陽性対照として 0.1 $\mu\text{mol/L}$ の E-4031 を適用した。対照群には灌流液に媒体である 0.1%ジメチルスルホキシドを添加して灌流した。

灌流 10 分後の実曝露濃度はそれぞれ 0.0886、0.973 および 9.59 $\mu\text{mol/L}$ であった。

対照群の hERG 電流は適用前値に対して 96.3%であったのに対し、0.1、1 および 10 $\mu\text{mol/L}$ 群でそれぞれ適用前値の 93.8、94.3 および 88.9%であり、10 $\mu\text{mol/L}$ 群で hERG 電流の有意な減少が認められた。また、10 $\mu\text{mol/L}$ 群において対照群に対する抑制率は、7.7%であった。陽性対照群は hERG 電流を適用前値に対し有意に減少させ、対照群に対する抑制率は 89.4%であった。

以上の結果から、ルセオグリフロジン水和物は 10 $\mu\text{mol/L}$ (実曝露濃度 : 9.59 $\mu\text{mol/L}$) の濃度で hERG 電流を軽度抑制すると考えられた。

(2) モルモット摘出乳頭筋活動電位

添付資料番号 4.2.1.3-05 (評価)

雄性 Hartley モルモット摘出乳頭筋標本 (6 例/群) を用いて、心筋細胞の活動電位に及ぼすルセオグリフロジン水和物の影響について検討した。

ルセオグリフロジン水和物を 0 (対照)、0.1、1 および 10 $\mu\text{mol/L}$ の濃度でモルモット摘出乳頭筋標本に適用し、静止膜電位 (RMP)、活動電位振幅 (APA)、30、50 および 90%活動電位持続時間 (APD₃₀、APD₅₀ および APD₉₀) ならびに最大立ち上がり速度 (V_{max}) への影響を検討した。また、陽性対照として 30 $\mu\text{mol/L}$ の (\pm) -ソタロール塩酸塩を適用した。対照群には灌流液に媒体である 0.1%ジメチルスルホキシドを添加して灌流した。

灌流 33 分後の実曝露濃度はそれぞれ 0.0972、0.945 および 9.27 $\mu\text{mol/L}$ であった。

いずれの群でも、RMP、APA、APD₃₀、APD₅₀、APD₉₀ および V_{max} の各パラメータに影響は認められなかった。陽性対照群は、APD₃₀、APD₅₀ および APD₉₀ を適用前値に対してそれぞれ 9.7、21.7 および 25.1%有意に延長させた。

以上の結果から、ルセオグリフロジン水和物は 10 $\mu\text{mol/L}$ (実曝露濃度 : 9.27 $\mu\text{mol/L}$) の濃度まで、モルモット摘出乳頭筋の活動電位に影響を及ぼさないと考えられた。

(3) 無麻酔イヌにおける血圧、心拍数、心電図

添付資料番号 4.2.1.3-06 (評価)

無麻酔下のビーグル犬を用いて、血圧、心拍数、心電図および一般状態に及ぼすルセオグリフロジン水和物の影響について検討した。

ルセオグリフロジン水和物を 0 (対照)、1、3 および 10 mg/kg の投与量で 4 例/群の雄性ビーグル犬 (18 箇月齢) に単回経口投与して、血圧 (収縮期、拡張期および平均血圧)、心拍数、心電図 (PR 間隔、QRS 時間、QT 間隔および QTc) および一般状態に及ぼす影響についてテレメトリー法で検討

した。QTcはFridericiaの補正式を用いて算出した。対照群には、0.5%CMC-Na水溶液を同様に投与した。

いずれの群においても血圧、心拍数、心電図および一般状態に影響は認められなかった。

以上の結果から、ルセオグリフロジン水和物は10 mg/kgの投与量までビーグル犬の心血管系および一般状態に影響を及ぼさないと考えられた。

2.6.2.4.3 呼吸系に対する影響

(1) ラットにおける呼吸機能

添付資料番号 4.2.1.3-07 (評価)

ルセオグリフロジン水和物を0 (対照)、1、10 および 100 mg/kg の投与量で8例/群の雄性SDラット(6週齢)に単回経口投与して、Whole body plethysmograph法で呼吸数、1回換気量および分時換気量に及ぼす影響について検討した。対照群には、0.5%CMC-Na水溶液を同様に投与した。

100 mg/kg群で投与後8時間に1回換気量の有意な増加(対照群と比べて+19%)が認められたが、呼吸数および分時換気量に影響は認められなかった。また、1回換気量への影響は投与後24時間には消失した。1および10 mg/kgでは投与後24時間まで呼吸機能に影響は認められなかった。

以上の結果から、ルセオグリフロジン水和物は10 mg/kgの投与量まで呼吸系に対して影響を及ぼさないと考えられた。

2.6.2.4.4 胃腸管系に対する影響

(1) ラットにおける消化管内の内容物輸送

添付資料番号 4.2.1.3-08 (参考)

ルセオグリフロジン水和物を0 (対照)、1、10 および 100 mg/kg の投与量で6例/群の雄性SDラット(6週齢)に単回経口投与し、消化管内の炭末輸送に対する影響について検討した。また、陽性対照として0.3 mg/kgカルバミルコリン塩酸塩を投与した。対照群には、0.5%CMC-Na水溶液を同様に投与した。

いずれの群においても消化管内の炭末の移動距離に影響は認められなかった。なお、陽性対照群では消化管内の炭末の移動距離に有意な延長が認められた。

以上の結果から、ルセオグリフロジン水和物は100 mg/kgの投与量まで消化管内の内容物輸送に対して影響を及ぼさないと考えられた。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

2.6.2.5.1 グリメピリドとの併用効果

添付資料番号 4.2.1.4-01 (評価)、4.2.1.4-02 (評価)

【目的】

高血糖時におけるスルホニル尿素薬との併用効果を明らかにするため、肥満2型糖尿病モデルであるKKAyマウスにおいて、ルセオグリフロジン水和物とグリメピリドの併用単回投与における血糖値およびインスリン分泌に対する作用を検討した。また、C57BL/6Nマウスを用いて正常血糖時におけるスルホニル尿素薬との併用効果を同様に検討した。

【方法】

1群10例の雌性KKAyマウス（5週齢）に溶媒、ルセオグリフロジン水和物10 mg/kg、グリメピリド0.5 mg/kgまたはルセオグリフロジン水和物とグリメピリドを上記投与量で併用し、非絶食下で単回経口投与した。経時的に採血を行い、血漿中グルコースおよびインスリン濃度を測定した。

また、1群10例の正常血糖である雌性C57BL/6Nマウス（5週齢）に対して同様に投与および採血を行い、血漿中グルコース濃度を測定した。

上記試験について、投与前を基準とした投与後120分までの血漿中グルコース濃度変化量の総和（血漿中グルコース濃度変化面積）および投与前から各採血時間までの血漿中インスリン濃度変化量（血漿中インスリン濃度変化量）を算出した。

【結果】

KKAyマウスにおいては、ルセオグリフロジン水和物単独投与群およびグリメピリド単独投与群の血漿中グルコース濃度変化面積は、いずれも病態対照群と比較して有意に低値を示した。さらに、ルセオグリフロジン水和物とグリメピリドの併用群の血漿中グルコース濃度変化面積は、ルセオグリフロジン水和物単独投与群およびグリメピリド単独投与群と比較して有意に低値を示し、血糖値に対する併用効果が認められた。また、投与前を基準とした投与後の血漿中インスリン濃度変化量は、グリメピリド単独投与群では病態対照群と比較して、投与後30および120分において有意に高値を示し、グリメピリドの作用機序であるインスリン分泌促進作用が認められた。一方、ルセオグリフロジン水和物単独投与群においては、血漿中インスリン濃度変化量が病態対照群と比較して、投与後30～120分で有意に低値を示した。ルセオグリフロジン水和物とグリメピリドの併用群においては、グリメピリド単独投与群と比較して、投与後30～120分において血漿中インスリン濃度変化量が有意に低値を示した。

次に、C57BL/6Nマウスを用いて上記と同条件で正常血糖における併用試験を実施した。ルセオグリフロジン水和物とグリメピリドの併用群においては、ルセオグリフロジン水和物単独投与群と比較して血漿中グルコース濃度変化面積が有意に低値を示したが、グリメピリド単独投与群と比較して血漿中グルコース濃度変化面積に有意な差はなく、血糖値に対する併用効果は認められなかった。

【結論】

KKAyマウスにおいては、ルセオグリフロジン水和物はグリメピリドとの併用により、効果的に高血糖を是正することが明らかになった。さらに、投与後の血糖低下に伴い血漿中インスリン濃度が低下したことから、グリメピリドによる膵β細胞からのインスリン分泌が軽減される可能性も示唆された。一方、正常血糖の動物では、血糖値に対するルセオグリフロジン水和物とグリメピリドの併用効果は認められず、ルセオグリフロジン水和物がグリメピリドの低血糖リスクを増強する可能性は低いと考えられた。

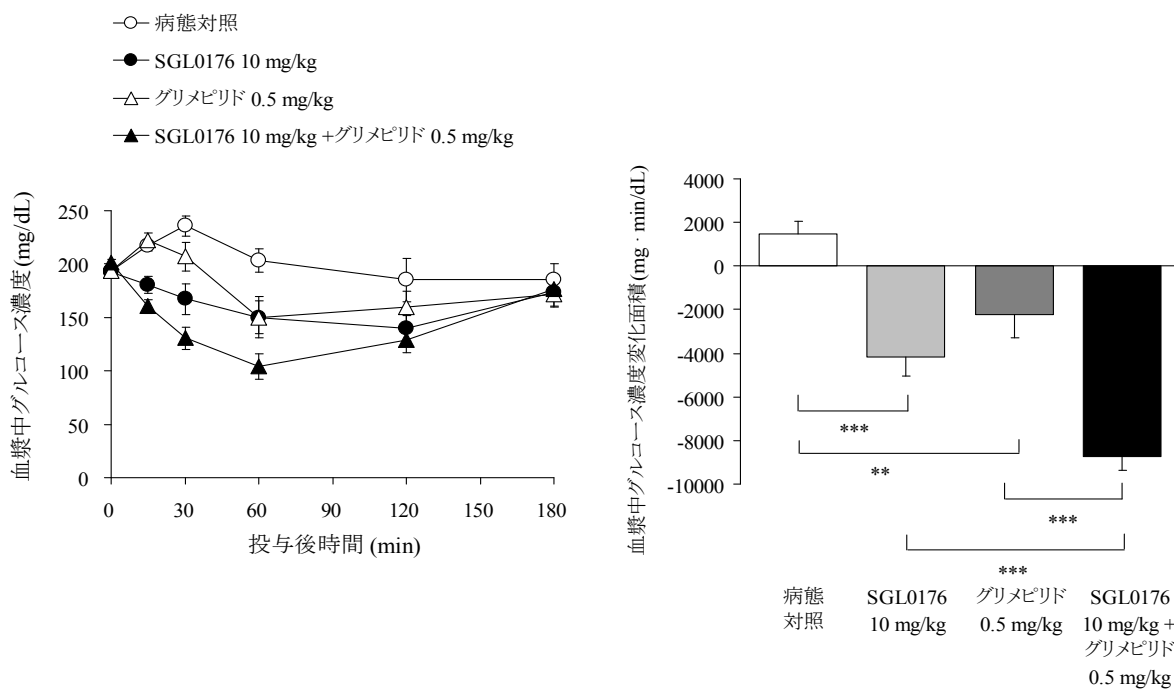


図 2.6.2-20 KKAY マウスにおける非絶食下血糖値に対するルセオグリフロジン水和物とグリメピリドの併用効果

データは平均値±標準誤差 (n=10) を表示。血漿中グルコース濃度変化面積 (mg · min/dL) は、投与前 (0 分) を基準とした投与後 120 分までの血漿中グルコース濃度変化量の総和。

** p<0.01、*** p<0.001 (Student の t 検定)

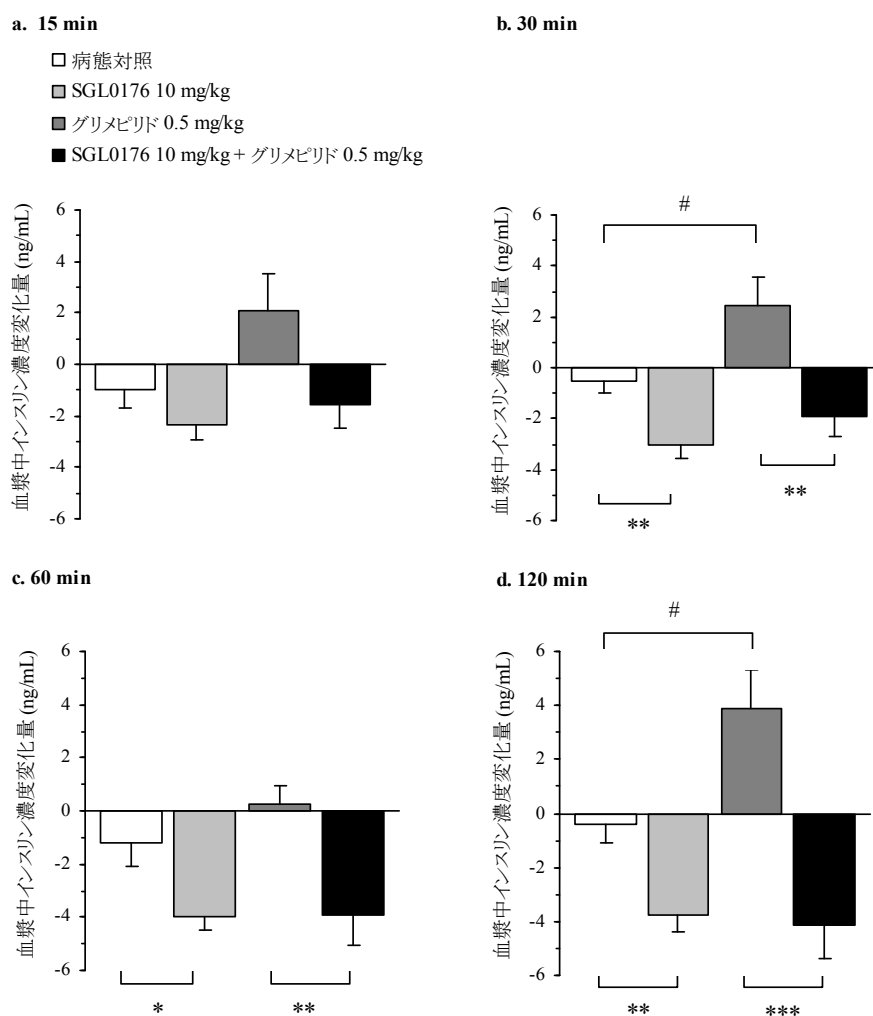


図 2.6.2-21 KKAY マウスにおけるインスリン分泌に対するルセオグリフロジン水和物とグリメピリドの併用効果

データは平均値±標準誤差 (n=10) を表示。血漿中インスリン濃度変化量 (ng/mL) = 投与後 15、30、60 または 120 分の血漿中インスリン濃度 (ng/mL) - 投与前 (0 分) の血漿中インスリン濃度 (ng/mL)
 * p<0.05、** p<0.01、*** p<0.001 (Student の t 検定)、# p<0.05 (Welch の t 検定)、SGL0176 10 mg/kg+ グリメピリド 0.5 mg/kg 群は、SGL0176 10mg/kg 群に対して有意差なし (投与後 15 および 30 分 : Student の t 検定、投与後 60 および 120 分 : Welch の t 検定)。

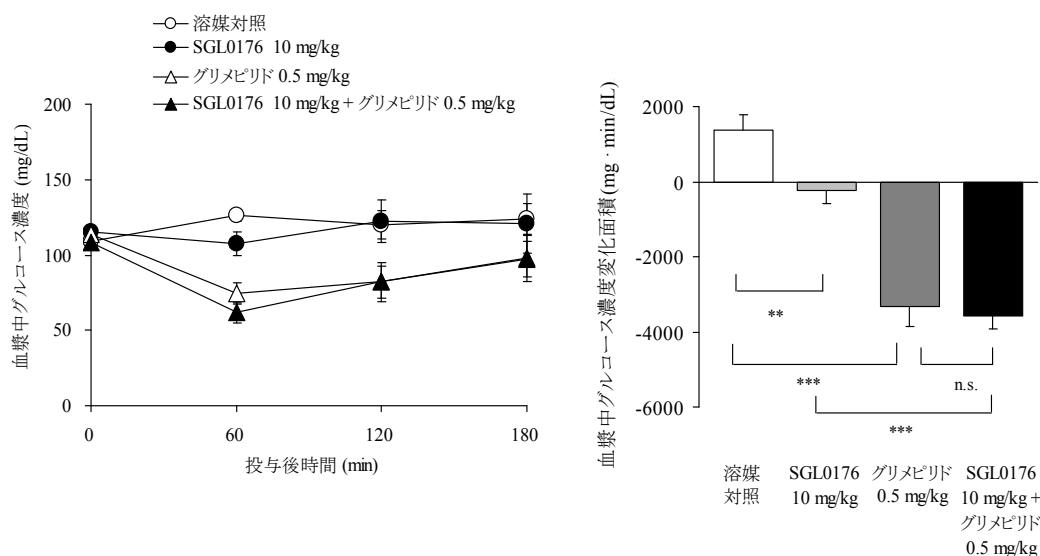


図 2.6.2-22 C57BL/6N マウスにおける血糖値に対するルセオグリフロジン水和物とグリメピリドの併用効果

データは平均値±標準誤差 (n=10) を表示。血漿中グルコース濃度変化面積 (mg·min/dL) は、投与前 (0分) を基準とした投与後 120 分までの血漿中グルコース濃度変化量の総和。

** p<0.01、*** p<0.001 (Student の t 検定)、n.s.: 有意差なし (Student の t 検定)

2.6.2.5.2 メトホルミンとの併用効果

添付資料番号 4.2.1.4-03 (評価)

【目的】

ビグアナイド薬との併用効果を明らかにするために、肥満 2 型糖尿病モデルである db/db マウスにおいて、ルセオグリフロジン水和物とメトホルミンの併用反復投与における糖化ヘモグロビン (GHb) 低下作用を検討した。

【方法】

1 群 11~12 例の雄性 db/db マウス (10 週齢) に非絶食下で溶媒、ルセオグリフロジン水和物を 3 mg/kg の投与量で 1 日 1 回、メトホルミンを 150 mg/kg の投与量で 1 日 2 回またはルセオグリフロジン水和物とメトホルミンを上記と同じ用法用量で併用し、8 週間の反復経口投与をした。反復投与開始前および投与 56 日目に尾静脈より採血を行い、GHb 値を測定した。正常対照として、12 例の雄性 db/m マウス (10 週齢) に溶媒を反復経口投与した。

【結果】

反復投与 56 日目の GHb 値は、病態対照群、ルセオグリフロジン水和物単独投与群、メトホルミン単独投与群およびルセオグリフロジン水和物とメトホルミンの併用群において、それぞれ 10.13、7.89、9.76 および 7.18%であった。また、反復投与 8 週間における GHb 変化量は、病態対照群、ルセオグリフロジン水和物単独投与群、メトホルミン単独投与群およびルセオグリフロジン水和物とメトホルミンの併用群において、それぞれ 2.78、0.57、2.39 および -0.18%であった。二元配置分散分析の結果、有意な交互作用は認められず、メトホルミンの要因およびルセオグリフロジン水和物の要因に有意な

主効果が認められたため、ルセオグリフロジン水和物とメトホルミンの併用による GHb 値に対する相加的な低下作用が明らかになった。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物は、メトホルミンとの併用により相加的な GHb 低下作用を示し、効果的に高血糖を是正する可能性が示唆された。

表 2.6.2-18 db/db マウスにおけるルセオグリフロジン水和物とメトホルミン併用における 8 週間反復経口投与前後の GHb 値

投与群	投与量 (mg/kg)	GHb値(%)			
		投与開始前		投与56日目	
病態対照	—	7.36	± 0.13	10.13	± 0.22
SGL0176	3	7.33	± 0.12	7.89	± 0.31
メトホルミン	300	7.35	± 0.12	9.76	± 0.25
SGL0176+メトホルミン	3, 300	7.35	± 0.12	7.18	± 0.23
正常対照	—	4.48	± 0.04	4.05	± 0.05

データは、平均値±標準誤差（病態対照群、SGL0176 3 mg/kg 群、SGL0176 3 mg/kg+メトホルミン 300 mg/kg 群および正常対照群：n=12、メトホルミン 300 mg/kg 群：n=11）を表示。

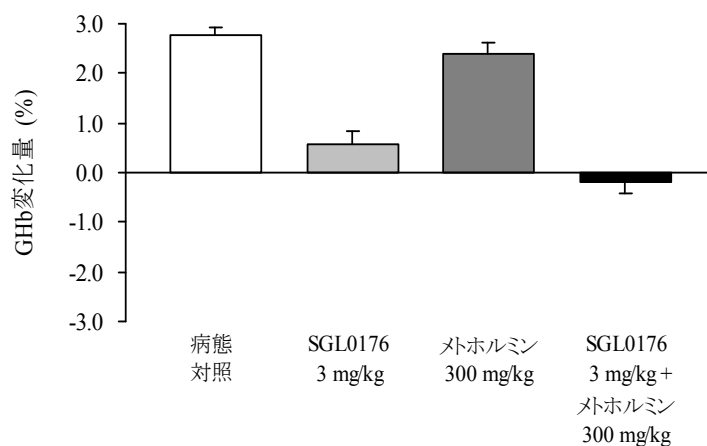


図 2.6.2-23 db/db マウスにおける GHb 変化量に対するルセオグリフロジン水和物とメトホルミンの併用効果

データは平均値±標準誤差（病態対照群、SGL0176 3 mg/kg 群、SGL0176 3 mg/kg+メトホルミン 300 mg/kg 群：n=12、メトホルミン 300 mg/kg 群：n=11）を表示。

GHb 変化量 (%) = 投与 56 日目の GHb 値 (%) - 投与開始前 GHb 値 (%)

ルセオグリフロジン水和物の主効果：p<0.001、メトホルミンの主効果：p<0.05、交互作用：p=0.4353（二元配置分散分析）

2.6.2.5.3 ピオグリタゾンとの併用効果

添付資料番号 4.2.1.4-04 (評価)

【目的】

チアゾリジン薬との併用効果を明らかにするために、肥満 2 型糖尿病モデル動物である KKAY マウスにおいて、ルセオグリフロジン水和物とピオグリタゾンの併用反復投与における血糖低下作用を検討した。また、ピオグリタゾンによる体重増加に対する効果についても検討した。

【方法】

1 群 9~10 例の雄性 KKAY マウス (11 週齢) に通常食、ルセオグリフロジン水和物を 0.01%、ピオグリタゾンを 0.1% 含む通常食またはルセオグリフロジン水和物およびピオグリタゾンを上記濃度含む通常食を 14 日間与えた。混餌投与開始前および投与 14 日目に非絶食下で採血を行い、血漿中グルコース濃度を測定した。体重は、投与期間中に投与開始前を含めて週 1~3 回測定した。正常対照として、10 例の雄性 C57BL/6J マウス (11 週齢) に通常食を 14 日間与えた。

【結果】

ルセオグリフロジン水和物単独投与群およびピオグリタゾン単独投与群において、いずれも病態対照群と比較して投与 14 日目の非絶食下血漿中グルコース濃度は、有意に低値を示した。さらに、ルセオグリフロジン水和物とピオグリタゾンの併用群の投与 14 日目の血漿中グルコース濃度は、ルセオグリフロジン水和物単独投与群およびピオグリタゾン単独投与群と比較して有意に低値を示し、血糖値に対する併用効果が認められた。

ルセオグリフロジン水和物単独投与群においては、投与開始前から投与 14 日目までの体重変化量が病態対照群に比べ有意に低値を示し、ルセオグリフロジン水和物の体重増加抑制作用が認められた。一方、ピオグリタゾン単独投与群においては、病態対照群に比べ投与開始前から投与 14 日目までの体重変化量は有意に高値を示し、ピオグリタゾンによる体重増加が認められた。また、ルセオグリフロジン水和物とピオグリタゾンの併用群における体重変化量は、ピオグリタゾン単独投与群に比べ有意に低値を示した。

なお、体重および摂餌量から算出したルセオグリフロジン水和物単独投与群、ピオグリタゾン単独投与群およびルセオグリフロジン水和物とピオグリタゾンの併用群 (SGL0176 0.01%、ピオグリタゾン 0.1% 群および SGL0176 0.01% + ピオグリタゾン 0.1% 群) の投与量は、それぞれ 17.2、145.7 および 16.1、161.4 mg/kg/day であった。

【結論】

ルセオグリフロジン水和物は、ピオグリタゾンとの併用により効果的に高血糖を是正するとともにピオグリタゾンの副作用である体重増加を抑制したことから、ルセオグリフロジン水和物とピオグリタゾンの併用は有用な糖尿病治療法の選択肢の一つになる可能性が示唆された。

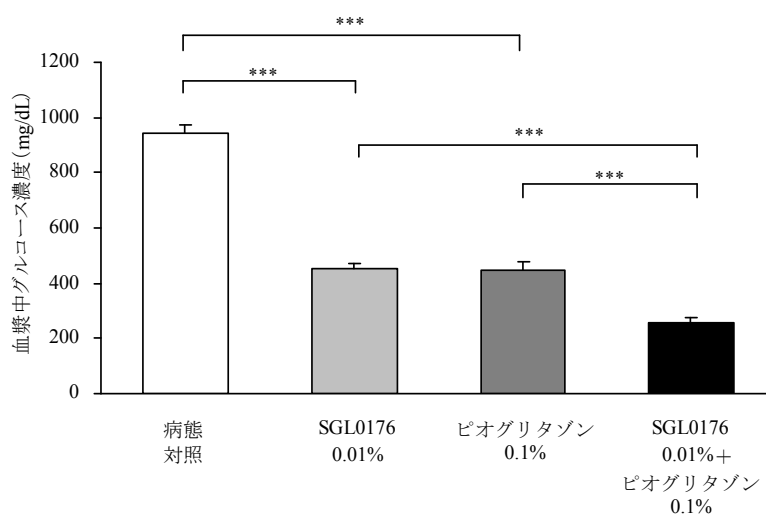


図 2.6.2-24 KKAY マウスにおける非絶食下血糖値に対するルセオグリフロジン水和物とピオグリタゾンの併用効果

データは、平均値±標準誤差（病態対照群：n=9、SGL0176 0.01%群、ピオグリタゾン 0.1%群および SGL0176 0.01%+ピオグリタゾン 0.1%群：n=10）を表示。*** p<0.001（Student の t 検定）

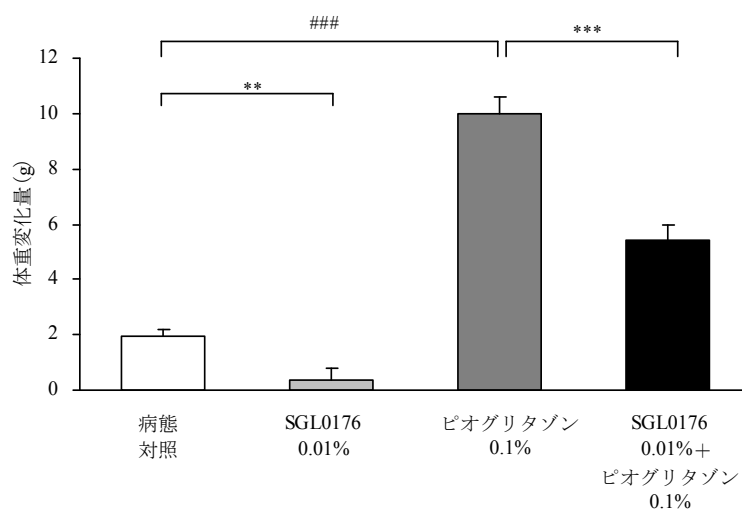


図 2.6.2-25 KKAY マウスにおけるピオグリタゾンによる体重増加に対するルセオグリフロジン水和物の作用

データは、平均値±標準誤差（病態対照群：n=9、SGL0176 0.01%群、ピオグリタゾン 0.1%群および SGL0176 0.01%+ピオグリタゾン 0.1%群：n=10）を表示。

体重変化量 (g) = 投与 14 日目の体重 (g) - 投与開始前の体重 (g)

** p<0.01、*** p<0.001（Student の t 検定）、### p<0.001（Welch の t 検定）

2.6.2.6 考察及び結論

ルセオグリフロジン水和物は、ヒト SGLT2 発現細胞においてナトリウム依存的グルコース取り込み活性を阻害し、その IC₅₀ 値は 2.26 nmol/L であった。また、SGLT2 と相同性が高い SGLT サブタイプのうち、ヒト SGLT1、SGLT5、SMIT1 および SMIT2 活性に対する IC₅₀ 値はそれぞれ 2900、1310、

23300 および 584 nmol/L であり、ヒト SGLT3 を介したナトリウム電流に対する抑制率は 100 $\mu\text{mol/L}$ で約 47%であったが、10 $\mu\text{mol/L}$ では約 5%であった。すなわち、ルセオグリフロジン水和物は SGLT2 を選択的に阻害することが示された。さらに、SGLT2 のグルコース取り込み活性を拮抗的に阻害することが推定され、その K_i 値は 1.10 nmol/L であることが明らかになった。一方、GLUT1 および GLUT4 を発現した脂肪細胞様 3T3-L1 細胞において、インスリン存在下および非存在下でのグルコース取り込み活性を 100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度ではいずれに対しても約 40%阻害したが、10 $\mu\text{mol/L}$ における阻害率は約 10%であった。また、GLUT2 を発現した膵 β 細胞株 MIN6 細胞におけるグルコース取り込み活性を、100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度でほとんど阻害しなかった。その他の 14 種のトランスポーター、イオンチャネルおよび受容体と各リガンドとの結合試験においては、100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で Na^+ channel site 2 および Neurokinin 1 受容体をそれぞれ約 67 および約 59%阻害したが、10 $\mu\text{mol/L}$ の濃度においては、14 種いずれについても阻害率は 18%未満であった。すなわち、ルセオグリフロジン水和物は GLUT を介したグルコース取り込みおよびその他のトランスポーター、イオンチャネルおよび受容体に対して 10 $\mu\text{mol/L}$ においては弱い作用しか示さず、SGLT2 に対して高い選択性を示すことが明らかになった。

以上から、ルセオグリフロジン水和物は SGLT2 選択的な阻害剤であると考えられた。

ルセオグリフロジン水和物は、イヌにおける静脈内持続投与によりグルコース再吸収極量 (TmG) を低下させた。また、マウス、ラットおよびイヌの各種動物にルセオグリフロジン水和物を単回経口投与した結果、用量依存的に尿糖排泄量を増加させることが明らかとなった。すなわち、ルセオグリフロジン水和物は SGLT2 の阻害を介して腎臓におけるグルコース再吸収の閾値を下げることにより、尿糖排泄を増加させると考えられた。

さらに、肥満 2 型糖尿病モデルである db/db マウスにおけるルセオグリフロジン水和物の単回経口投与により、用量依存的な血糖低下作用が認められた。耐糖能異常肥満モデルである Zucker fatty ラットにおいては、ルセオグリフロジン水和物の単回経口投与によりインスリン分泌を増強させることなく糖負荷後の血糖上昇を抑制する作用が認められた。また、インスリン分泌能が障害された STZ 誘発糖尿病ラットにおいても、ルセオグリフロジン水和物の単回経口投与により、用量依存的な血糖低下作用が認められた。db/db マウスにおけるルセオグリフロジン水和物の 4 週間反復経口投与試験では、糖化ヘモグロビン (GHb) 低下作用が認められ、糖尿病治療効果が確認された。また、非肥満 2 型糖尿病モデルである GK ラットにおけるルセオグリフロジン水和物の 20 週間混餌投与により、持続的な尿糖排泄増加作用および GHb 低下作用が認められ、過剰なインスリン分泌が軽減される可能性も示唆された。STZ 誘発糖尿病ラットにおいては、4 週間混餌投与により GHb 低下作用が認められ、インスリン抵抗性が改善するとともに膵 β 細胞量の減少が抑制された。

以上から、ルセオグリフロジン水和物はインスリンが過剰に分泌される耐糖能異常肥満モデルの Zucker fatty ラットにおける糖負荷後の血糖の上昇を抑制し、インスリン分泌能が障害された STZ 誘発糖尿病ラットにおいても血糖低下作用を示すことより、いずれの病態の糖尿病患者に対しても治療効果を発揮すると考えられた。さらに、STZ 誘発糖尿病ラットにおいて 4 週間混餌投与によりインスリン抵抗性が改善するとともに膵 β 細胞量の減少が抑制されたことから、糖毒性の解除による糖尿病改善作用も期待される。

食餌性肥満ラットにおけるルセオグリフロジン水和物の 32 日間反復経口投与試験では、尿糖排泄量の増加とともに体重増加率の有意な減少が認められた。ルセオグリフロジン水和物の体重増加抑制作用は従来の経口血糖降下薬にはない特長であり、有用な経口血糖降下薬になると考えられる。

ルセオグリフロジン水和物は、新規作用機序の血糖降下薬であるため、既存薬との併用により血糖低下作用の増強が期待される。肥満2型糖尿病モデルであるKKAyマウスにおいて、ルセオグリフロジン水和物とスルホニル尿素薬であるグリメピリドを単回で併用した結果、各薬剤を単独投与した時よりさらに強力な血糖低下作用が認められた。インスリン分泌促進薬であるスルホニル尿素薬は、その臨床使用において低血糖に注意する必要があるが、正常血糖であるC57BLマウスにおいては、ルセオグリフロジン水和物とグリメピリドを併用しても、ルセオグリフロジン水和物はグリメピリドの血糖低下作用を増強しなかった。また、KKAyマウスにおいては、ルセオグリフロジン水和物はスルホニル尿素薬との併用により、インスリン分泌の上昇を伴わずに単剤投与と比べてより効果的に高血糖を是正したことから、スルホニル尿素薬による膵β細胞からのインスリン分泌を軽減する可能性が示唆された。KKAyマウスを用いたチアゾリジン薬であるピオグリタゾンとの14日間併用反復経口投与試験においても、各薬剤を単独投与した時よりさらに強力な血糖低下作用が認められた。さらに、ルセオグリフロジン水和物を併用することでピオグリタゾンによる体重増加が抑制されたことから、ルセオグリフロジン水和物はピオグリタゾンによる体重増加を軽減する可能性が示唆された。db/dbマウスにおいては、主に糖新生を抑制することにより血糖低下作用を示すビグアナイド薬（メトホルミン）との8週間併用反復経口投与により相加的なGHb低下作用が認められ、併用による糖尿病治療効果が確認された。これらの結果から、ルセオグリフロジン水和物はインスリン分泌を伴わない血糖低下作用を有し、尿糖排泄の増加により体重増加抑制作用を示す新規作用機序の経口血糖降下薬であることから、既存の経口血糖降下薬との併用により強力かつ有用な治療効果を発揮すると考えられた。

ラットの中樞神経系（一般状態、自発運動および体温を含む）、呼吸系および胃腸管系に関する安全性薬理試験で用いたルセオグリフロジン水和物1、10、100 mg/kgを単回経口投与したときの曝露量（ C_{max} ）と、ヒトにルセオグリフロジン水和物5 mgを7日間投与時の曝露量を比較した値を表2.6.2-19に示した（特に断りのない限りヒトの血漿中曝露量は、2型糖尿病患者を対象とした臨床薬理試験（TS071-02-2試験、5 mg/日、7日間投与時、 C_{max} ：299 ng/mL）〔2.7.6.4.2（3）項〕の値を用いた）。中枢作用に関する一般状態観察および自発運動試験、ならびに消化管内の内容物輸送において影響が認められなかった100 mg/kg群の曝露量とヒトの曝露量との比は21.3倍であった。体温測定および呼吸機能試験において影響が認められなかった10 mg/kg群の推定曝露量とヒト曝露量との比は1.6倍であったが、認められた変化は軽微であり、臨床試験においてもこれらに関連した問題となる有害事象の発現は認められなかった。便性状に関する一般状態観察において影響が認められなかった1 mg/kg群の推定曝露量とヒト曝露量との比は0.1倍であった。一般状態観察で認められた便性状の異常は、ラットで腸管腔内のSGLT1に対する阻害作用が強く発現したことによるものと考えられたが、ルセオグリフロジン水和物のラットおよびヒトのSGLT1阻害活性がそれぞれSGLT2阻害活性の1/108倍および1/1283倍であること等から（表2.6.6-6）、ヒトにおいてSGLT1阻害作用に関連する影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。臨床試験においてもこれらに関連した問題となる有害事象の発現は認められなかった。したがって、ルセオグリフロジン水和物は、中枢神経系、呼吸系および胃腸管系に対してヒトに影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。また、心血管系に関する安全性薬理試験において、hERG電流試験でルセオグリフロジン水和物9.59 μmol/L曝露時にhERG電流の軽度な抑制（対照群に対して7.7%）が認められたが、電流に影響が認められなかった0.973 μmol/L添加群とタンパク結合を考慮したヒト曝露量（ヒト非結合型曝露量）との比は37.1倍であった（表2.6.2-20）。また、活動電位試験で影響が認められなかったルセオグリフロジン水和物9.27 μmol/L添加群とヒト非結合型曝露量との比は353.3倍であった（表2.6.2-20）。さらに、無麻酔イヌで心血管系に影響が認められ

なかった 10 mg/kg 群の曝露量とヒト曝露量との比は 31.5 倍であった (表 2.6.2-21)。なお、ヒトにおける QT/QTc 評価試験において最大臨床推奨用量の 4 倍に相当する 20 mg を投与しても心電図に影響なかった [2.7.6.17.2 項]。したがって、ルセオグリフロジン水和物は、心血管系に対してヒトに影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

表 2.6.2-19 ラット安全性薬理試験とヒト臨床試験における血漿中薬物濃度の比

	用量 (mg/kg)	C _{max} (ng/mL)	結 果				
			一般状態および 行動観察	自発 運動量	体温	呼吸機能	消化管内の 内容物輸送
ヒト	5 mg	299 ^{a)} (1.0)					
ラット	1	35.7 ^{b)} (0.1)	—	—	—	—	—
	10	493 ^{c)} (1.6)	軟便 ^{e)}	—	—	—	—
	100	6380 ^{d)} (21.3)	下痢 ^{e)} 軟便 ^{e)} 多尿 ^{e)}	—	体温低下 (軽度)	一回換気量 増加 (軽度)	—

() : ヒト C_{max} との比、— : 影響なし

- a) 臨床薬理試験 (TS071-02-2 試験) の 5mg、7 日間投与時の値
 b) ラット動態 PK (非絶食) 結果 (4.2.2.2-05)
 c) ラット 1 箇月間反復経口投与毒性試験で用いた 20 mg/kg からの推定曝露量
 d) ラット 1 箇月間反復経口投与毒性試験で用いた 100 mg/kg の初回投与時の値
 e) 中枢神経系への影響ではないと判断

表 2.6.2-20 *in vitro* 安全性薬理試験とヒト臨床試験における血漿中薬物濃度の比

	試験項目	用量、または濃度 (μ mol/L)	非結合型 C _{max} 、または 濃度 (ng/mL)	結 果
ヒト		5 mg	11.4 ^{a)} (1.0)	
<i>in vitro</i>	hERG 電流	0.0886	38.5 ^{b)} (3.4)	—
		0.973	423 ^{b)} (37.1)	—
		9.59	4167 ^{b)} (365.5)	抑制 (軽度)
	活動電位	0.0972	42.2 ^{b)} (3.7)	—
		0.945	411 ^{b)} (36.1)	—
		9.27	4028 ^{b)} (353.3)	—

() : ヒト非結合型 C_{max} との比、— : 影響なし

- a) 臨床薬理試験 (TS071-02-2 試験) での 7 日間投与時の非結合型 C_{max} : ヒトタンパク結合率 96.2% から算出
 b) 分子量 : 434.55 として算出

表 2.6.2-21 イヌ安全性薬理試験とヒト臨床試験における血漿中薬物濃度の比

	用量 (mg/kg)	C _{max} (ng/mL)	結果
ヒト	5 mg	299 ^{a)} (1.0)	影響なし (血圧、心拍数、心電図)
イヌ	1	914 ^{b)} (3.1)	
	3	2760 ^{b)} (9.2)	
	10	9430 ^{c)} (31.5)	

() : ヒト C_{max} との比

- a) 臨床薬理試験 (TS071-02-2 試験) での 7 日間投与時の値
 b) イヌ動態 PK (絶食) 結果 (4.2.2.2-08)
 c) イヌ 1 箇月間反復経口投与毒性試験で用いた 10 mg/kg の初回投与時の値

以上から、ルセオグリフロジン水和物は腎臓において SGLT2 を選択的に阻害し、尿糖排泄を増加させてインスリン分泌に依存しない血糖低下作用を示す新規経口血糖降下薬であることが明らかになり、副次的薬理あるいは安全性薬理の観点から特に問題となる作用は認められなかった。さらにルセオグリフロジン水和物は、尿糖排泄の増加により体重増加抑制作用や糖毒性の解除によるインスリン抵抗性改善作用および膵 β 細胞保護作用を示すことから、高い有用性が期待される。

2.6.2.7 図表

図表は本文中の適切な箇所に記載した。

2.6.2.8 参考文献

- 1 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. [添付資料番号4.3-02]
- 2 Wright EM, Hirayama BA, Loo DF. Active sugar transport in health and disease. J Intern Med. 2007;261:32-43. [添付資料番号4.3-04]
- 3 Clarke JF, Young PW, Yonezawa K, Kasuga M, Holman GD. Inhibition of the translocation of GLUT1 and GLUT4 in 3T3-L1 cells by the phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor, wortmannin. Biochem J. 1994;300:631-5. [添付資料番号4.3-05]
- 4 Miyazaki J, Araki K, Yamato E, Ikegami H, Asano T, Shibasaki Y, et al. Establishment of a pancreatic β cell line that retains glucose-inducible insulin secretion: special reference to expression of glucose transporter isoforms. Endocrinology. 1990;127:126-32. [添付資料番号4.3-06]
- 5 Uldry M, Thorens B. The SLC2 family of facilitated hexose and polyol transporters. Eur J Physiol. 2004;447:480-9. [添付資料番号4.3-07]

ルセフィ錠 2.5mg

ルセフィ錠 5mg

CTD 第 2 部

2.6.3 薬理試験概要表

大正製薬株式会社

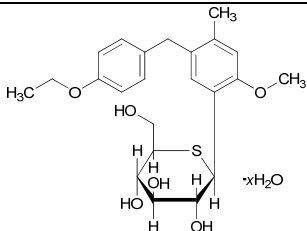
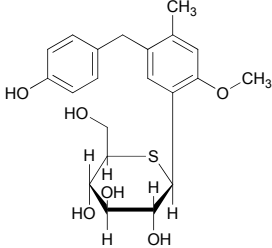
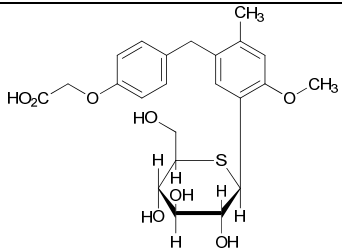
目次

2.6	非臨床試験の概要文及び概要表	5
2.6.3	薬理試験概要表	5
2.6.3.1	効力を裏付ける試験	5
2.6.3.2	副次的薬理試験	11
2.6.3.3	安全性薬理試験	12
2.6.3.4	薬力学的薬物相互作用試験	14

略号一覧

略号	略していない表現 (英語)	略していない表現 (日本語)
CHO-K1	chinese hamster ovary-K1	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞 K1 株
C _{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CMC-Na	carboxymethyl cellulose sodium salt	カルボキシメチルセルロースナトリウム
DIO	diet-induced obesity	食餌性肥満
GHb	glycated hemoglobin	糖化ヘモグロビン
GK	Goto-Kakizaki	Goto-Kakizaki
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品安全性試験実施基準
GLUT	glucose transporter	グルコース輸送体
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓由来細胞株
hERG	human ether-a-go-go related gene	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子
IC ₅₀	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
Ki	kinetic constant for inhibitor	阻害定数
PK	pharmacokinetics	薬物動態
SD	Sprague-Dawley	—
SGLT	sodium glucose cotransporter	ナトリウム-グルコース共輸送体
SGLT1	sodium glucose cotransporter 1	ナトリウム-グルコース共輸送体 1
SGLT2	sodium glucose cotransporter 2	ナトリウム-グルコース共輸送体 2
SGLT3	sodium glucose cotransporter 3	ナトリウム-グルコース共輸送体 3
SGLT5	sodium glucose cotransporter 5	ナトリウム-グルコース共輸送体 5
SMIT1	sodium <i>myo</i> -inositol cotransporter 1	ナトリウム- <i>myo</i> -イノシトール共輸送体 1
SMIT2	sodium <i>myo</i> -inositol cotransporter 2	ナトリウム- <i>myo</i> -イノシトール共輸送体 2
STZ	streptozocin	ストレプトゾシン
TmG	maximal rate of tubular reabsorption of glucose	グルコース再吸収極量

化学構造式一覧

略号	一般名	化学構造式	由来
—	ルセオグリフロジン 水和物		原薬
M2 (O-脱エチル体)	—		代謝物
M17 (カルボン酸体)	—		代謝物

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 効力を裏付ける試験

被験物質：ルセオグリフロジン水和物

評価対象となる系	種/系統	試験方法	濃度	例数	特記すべき所見	実施施設	試験番号	添付資料番号	区分
SGLT2 阻害作用	ヒト SGLT2/CHO-K1 細胞 (安定発現細胞)	<i>in vitro</i>	0 および 0.01～300 nmol/L	4 (各 n=3)	IC ₅₀ 値 2.26 nmol/L	大正製薬 (株)	P20815	4.2.1.1-02	評価
SGLT1 阻害作用	ヒト SGLT1/CHO-K1 細胞 (安定発現細胞)	<i>in vitro</i>	0 および 30～100000 nmol/L	4 (各 n=3)	IC ₅₀ 値 2900 nmol/L	大正製薬 (株)	P20882	4.2.1.1-01	評価
SGLT3 阻害作用	ヒト SGLT3/HEK293 細胞 (安定発現細胞)	<i>in vitro</i>	0、10、100 μmol/L	n=8	10、100 μmol/L で各々 4.5、47.3%抑制した。	■■■■■ ■■■■■ ■■■■■	102115■■■	4.2.1.1-03	評価
SGLT5 阻害作用	ヒト SGLT5/COS-7 細胞 (一過性発現細胞)	<i>in vitro</i>	0 および 30～100000 nmol/L	4 (各 n=3)	IC ₅₀ 値 1310 nmol/L	大正製薬 (株)	PB01039	4.2.1.1-04	評価
SMIT1 阻害作用	ヒト SMIT1/COS-7 細胞 (一過性発現細胞)	<i>in vitro</i>	0 および 100～300000 nmol/L	4 (各 n=3)	IC ₅₀ 値 23300 nmol/L	大正製薬 (株)	PB01040	4.2.1.1-05	評価
SMIT2 阻害作用	ヒト SMIT2/COS-7 細胞 (一過性発現細胞)	<i>in vitro</i>	0 および 30～100000 nmol/L	4 (各 n=3)	IC ₅₀ 値 584 nmol/L	大正製薬 (株)	PB01041	4.2.1.1-06	評価
SGLT2 阻害様式	ヒト SGLT2/CHO-K1 細胞 (安定発現細胞)	<i>in vitro</i>	ルセオグリフロジン水和物： 0、1、2、4 nmol/L 基質： 1、2、4、8、16 nmol/L	4 (各 n=3)	阻害様式は拮抗阻害と推定された。 Ki 値 1.10 nmol/L	大正製薬 (株)	P20880	4.2.1.1-07	評価

濃度はルセオグリフロジン（無水物）換算値として表記した。

2.6.3.1 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：ルセオグリフロジン水和物

評価対象となる系	種/系統	投与方法	投与量	性および例数	特記すべき所見	実施施設	試験番号	添付資料番号	区分
TmG に対する作用	イヌ/ビーグル (7~8 ヶ月齢)	静脈内 (40%グルコース持続注入開始1時間後35分間持続投与)	150、500 μg/kg/h	雄 6	投与開始後30分において、150、500 μg/kg/h で TmG が各々 44.06、68.28%低下した。 そのときの血漿中ルセオグリフロジン濃度は、150、500 μg/kg/h で各々177、609 ng/mL であった。	大正製薬 (株) [Redacted]	P20716 [Redacted]3142	4.2.1.1-08 4.2.1.1-09	評価
尿糖排泄増加作用	マウス/ BKS.Cg-+Lepr ^{db} /+Lepr ^{db} /Jcl または BKS.Cg-m+/+Lepr ^{db} /Jcl (7週齢)	単回経口 (非絶食下)	0、0.1、0.3、1、 3 mg/kg	雄 12	1、3 mg/kg で尿糖排泄量が有意に増加した。	大正製薬 (株)	P20662	4.2.1.1-10	評価
尿糖排泄増加作用	ラット/ Crlj:ZUC-Lepr ^{fa} Genotype:Lepr ^{fa} /Lepr ^{fa} または Crlj:ZUC-Lepr ^{fa} Genotype:Lepr ^{fa} /+ or +/+ (10週齢)	単回経口 (絶食下、投与30分後経口糖負荷)	0、0.1、0.3、1、 3 mg/kg	雄 8	0.3、1、3 mg/kg で尿糖排泄量が有意に増加した。	大正製薬 (株)	P20640	4.2.1.1-11	評価

投与量はルセオグリフロジン（無水物）換算値として表記した。

2.6.3.1 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：ルセオグリフロジン水和物

評価対象となる系	種/系統	投与方法	投与量	性および例数	特記すべき所見	実施施設	試験番号	添付資料番号	区分
尿糖排泄増加作用	イヌ/ビーグル (7~12 ヲ月齡)	単回経口 (絶食下、投与1時間後 経口糖負荷)	0、0.003、 0.01、0.03、 0.1、0.3、 1 mg/kg PK 試験 0.003、0.01、 0.03、0.1、0.3、 1 mg/kg	雄 9 または 10 雄 3 (PK 試験)	0.03、0.1、0.3、 1 mg/kg で尿糖排 泄量が有意に増 加した。 同用量における 血漿中ルセオグ リフロジンの C _{max} は、各々16.4、 77.3、231、 744 ng/mL であつ た。	大正製薬 (株) ■■■■■ ■■■■■ ■■■■■	P20633 P20669 P20636 ■■■■■3462 K00849	4.2.1.1-12 4.2.1.1-13 4.2.1.1-14 4.2.1.1-15 4.2.1.1-16	評価
血糖低下作用	マウス/ BKS.Cg-+Lepr ^{db} /+Lepr ^{db} /Jcl または BKS.Cg-m+/+Lepr ^{db} /Jcl (7 週齡)	単回経口 (非絶食下)	0、0.1、0.3、 1、3 mg/kg	雄 8 雄 3 (PK 試験)	0.3、1、3 mg/kg で血糖値が有意 に低下した。 同用量における 血漿中ルセオグ リフロジンの C _{max} は、各々86.1、 284、949 ng/mL であった。	大正製薬 (株) ■■■■■ ■■■■■ ■■■■■	P20676 P20657 ■■■■■3302 K00850	4.2.1.1-17 4.2.1.1-18 4.2.1.1-19 4.2.1.1-20	評価
GHb 低下作用	マウス/ BKS.Cg-+Lepr ^{db} /+Lepr ^{db} /Jcl または BKS.Cg-m+/+Lepr ^{db} /Jcl (11 週齡)	1 日 1 回 4 週間反復経 口	0、0.3、1、3、 10 mg/kg	雄 10	3、10 mg/kg で反 復投与後の GHb 変化量が有意に 低下した。	大正製薬 (株) ■■■■■ ■■■■■ ■■■■■	P20663 041127	4.2.1.1-21 4.2.1.1-22	評価

投与量はルセオグリフロジン（無水物）換算値として表記した。

2.6.3.1 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：ルセオグリフロジン水和物

評価対象となる系	種/系統	投与方法	投与量	性および例数	特記すべき所見	実施施設	試験番号	添付資料番号	区分
糖負荷後血糖上昇抑制作用	ラット/ Crlj:ZUC-Lepr ^{fa} Genotype:Lepr ^{fa} /Lepr ^{fa} または Crlj:ZUC-Lepr ^{fa} Genotype: Lepr ^{fa} /+ or +/+ (10 週齢)	単回経口 (絶食下、投与30分後経口糖負荷)	0、0.1、0.3、 1、3 mg/kg PK 試験 0.1、0.3、1、 3 mg/kg	雄 8 雄 3 (PK 試験)	0.3、1、3 mg/kg で経口糖負荷後の血糖上昇を有意に抑制した。 血漿中インスリン濃度は低下傾向が認められた。 同用量における血漿中ルセオグリフロジンの C _{max} は、各々 53.0、259、830 ng/mL であった。	大正製薬 (株) [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED]	P20920 P20625 [REDACTED]3431 K00839	4.2.1.1-23 4.2.1.1-24 4.2.1.1-25 4.2.1.1-26	評価
血糖低下作用	ラット/STZ 誘発糖尿病 [Crl:CD(SD)] (8 週齢)	単回経口 (非絶食下)	0、0.1、0.3、 1、3 mg/kg	雄 8	0.3、1、3 mg/kg で血糖値が有意に低下した。	大正製薬 (株)	P20667	4.2.1.1-27	評価
GHb 低下作用	ラット/GK/Slc (12~14 週齢)	20 週間高シヨ糖食混餌	0.002、0.006、 0.02%	雄 9 または 10	20 週間投与後の GHb 値が 0.002、0.006、0.02% で有意に低下した。 投与 29 から 141 日目までの非絶食下血漿中インスリン濃度が 0.02% で有意に低値を示した。 投与 26 から 138 日目までの尿糖排泄量が 0.006、0.02% で有意に増加した。	大正製薬 (株)	PB01025	4.2.1.1-30	評価

投与量はルセオグリフロジン（無水物）換算値として表記した。

2.6.3.1 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：ルセオグリフロジン水和物

評価対象となる系	種/系統	投与方法	投与量	性および例数	特記すべき所見	実施施設	試験番号	添付資料番号	区分
GHb 低下作用、インスリン抵抗性改善作用および膵β細胞保護作用	ラット/STZ 誘発糖尿病 [CrI:CD(SD)] (8 週齢)	4 週間通常食混餌	0.001、0.003、0.01%	雄 12	投与終了後の GHb 値が 0.001、0.003、0.01% で有意に低下した。0.01% で投与終了後にインスリン抵抗性改善作用が認められた。投与終了後の血漿中インスリン濃度が 0.01% で有意に増加した。0.01% で膵β細胞量の減少が有意に抑制された。	大正製薬 (株)	PB01020 PB01027	4.2.1.1-31 4.2.1.1-32	評価
正常血糖に対する作用	ラット/CrI:CD(SD) (8 週齢)	単回経口 (非絶食下)	0、0.3、1、3 mg/kg	雄 8	1、3 mg/kg で血糖値が投与後 2 時間に有意に低値を示した (正常血糖の範囲内)。	大正製薬 (株)	P20678	4.2.1.1-28	評価
正常血糖に対する作用	ラット/CrI:CD(SD) (8 週齢)	単回経口 (絶食下)	0、0.3、1、3 mg/kg	雄 8	3 mg/kg で血糖値が投与後 1、2 および 4 時間に有意に低値を示した。投与後 8 時間では、正常対照とほぼ同程度まで回復した。	大正製薬 (株)	P20666	4.2.1.1-29	評価

投与量はルセオグリフロジン（無水物）換算値として表記した。

2.6.3.1 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：ルセオグリフロジン水和物

評価対象となる系	種/系統	試験方法	濃度	例数	特記すべき所見	実施施設	試験番号	添付資料番号	区分
代謝物 (M2、M17) の SGLT2 阻害作用	ヒト SGLT2/CHO-K1 細胞 (安定発現細胞)	<i>in vitro</i>	M2 : 0 および 0.1~300 nmol/L M17 : 0 および 3.1~10300 nmol/L	4 (各 n=3)	IC ₅₀ 値 M2 : 4.01 nmol/L M17 : 201 nmol/L	大正製薬 (株)	P20823	4.2.1.1-34	評価
代謝物 (M2、M17) の SGLT1 阻害作用	ヒト SGLT1/CHO-K1 細胞 (安定発現細胞)	<i>in vitro</i>	M2 : 0 および 30~100000 nmol/L M17 : 0 および 30 μmol/L	4 (各 n=3)	IC ₅₀ 値 M2 : 1410 nmol/L 阻害率 M17 : 30 μmol/L で 48.2%	大正製薬 (株)	P20884	4.2.1.1-33	評価

濃度はルセオグリフロジン（無水物）換算値として表記した。

2.6.3.2 副次的薬理試験

被験物質：ルセオグリフロジン水和物

評価対象となる系	種/系統	試験 および 投与方法	濃度 および 投与量	性および 例数	特記すべき所見	実施施設	試験番号	添付資料 番号	区分
GLUT1、 GLUT4 を介 したグルコ ース取り込 み活性に対 する作用	マウス/脂肪細胞様 3T3-L1 細胞	<i>in vitro</i>	0、1、10、 100 μmol/L	4 (各 n=3)	阻害率 インスリン存在 下： 1 μmol/L 2.66% 10 μmol/L 10.4% 100 μmol/L 43.3% インスリン非存在 下： 1 μmol/L 3.25% 10 μmol/L 11.1% 100 μmol/L 41.1%	大正製薬 (株)	P20700	4.2.1.2-01	評価
GLUT2 を介 したグルコ ース取り込 み活性に対 する作用	マウス/膵β細胞株 MIN6 細胞	<i>in vitro</i>	0、1、10、 100 μmol/L	4 (各 n=3)	阻害率 1、10、100 μmol/L で各々 5.51、3.73、2.44%	大正製薬 (株)	PB01009	4.2.1.2-02	評価
トランスポ ーター、イオ ンチャンネル、 受容体に対 する作用	ヒト/リコンビナント タンパク ラット/組織 (14 種)	<i>in vitro</i>	0、10、 100 μmol/L	1 (各 n=2 または 3)	100 μmol/L で Na ⁺ channel site 2 およ び Neurokinin 1 受 容体を約 67 および 約 59%阻害 10 μmol/L における 阻害率は、14 種い ずれも 18%未満	■■■■■ ■■■■■	■■■■■-3521- ■■■■■-3638-■■■■■	4.2.1.2-03 4.2.1.2-04	評価
体重増加抑 制作用	ラット/DIO [CrI:CD(SD)] (18 週齢)	1 日 1 回 32 日間反復 経口	0、3、10 mg/kg	雄 9 または 10	3、10 mg/kg で反復 投与後の体重変化 率が有意に低下し た。	大正製薬 (株)	P20818	4.2.1.2-05	評価

投与量および濃度はルセオグリフロジン（無水物）換算値として表示した。

2.6.3.3 安全性薬理試験

被験物質：ルセオグリフロジン水和物

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	濃度または投与量 ^{a)}	性別および動物数／群	特記すべき所見	GLP適用	実施施設	試験番号	添付資料番号	区分
一般症状及び行動観察 (Irwin 法)	ラット／ CrI:CD(SD)	強制経口	0 ^{b)} 、1、10、 100 mg/kg	雄 6	10 mg/kg：投与後 24 時間に軟便 (1/6 例) 100 mg/kg：投与後 24 時間に多尿 (6/6 例)、軟便および下痢 (各 2/6 例)、体幹緊張度および腹筋緊張度の低下 (各 1/6 例)	適	■■■■■■■■■■ ■■■■■■■■■■	■■■■ 0729	4.2.1.3-01	評価
自発運動量 (SUPERMEX)	ラット／ CrI:CD(SD)	強制経口	0 ^{b)} 、1、10、 100 mg/kg	雄 6 ^{d)}	影響なし	適	■■■■■■■■■■ ■■■■■■■■■■	■■■■ 0730	4.2.1.3-02	評価
体温 (直腸体温測定)	ラット／ CrI:CD(SD)	強制経口	0 ^{b)} 、1、10、 100 mg/kg	雄 6	100 mg/kg：投与後 8 時間に軽度の体温低下、投与後 24 時間には回復	適	■■■■■■■■■■ ■■■■■■■■■■	■■■■ 0732	4.2.1.3-03	評価
hERG 電流 (ホールセルクランプ法)	hERG チャネル発現 HEK293 細胞	<i>in vitro</i>	0 ^{c)} 、0.0886、 0.973、9.59 μmol/L	5	9.59 μmol/L で軽度の抑制 (抑制率：7.7%)	適	■■■■■■■■■■ ■■■■■■■■■■	■■■■ 0726	4.2.1.3-04	評価
活動電位 (微小電極法)	モルモット／Slc: Hartley の摘出乳頭筋	<i>in vitro</i>	0 ^{c)} 、0.0972、 0.945、9.27 μmol/L	6	影響なし	適	■■■■■■■■■■ ■■■■■■■■■■	■■■■ 0727	4.2.1.3-05	評価

投与量はルセオグリフロジン (無水物) 換算値として表示した。

a) 単回投与、b) 溶媒：0.5%CMC-Na 水溶液、c) 溶媒：灌流液+0.1%ジメチルスルホキシド、d) 2 例のラットから得られた結果を 1 例分として解析した。

2.6.3.3 安全性薬理試験 (続き)

被験物質：ルセオグリフロジン水和物

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	投与量 ^{a)}	性別および動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	実施施設	試験番号	添付資料番号	区分
血圧、心拍数、心電図および一般状態 (テレメトリー法)	イヌ/ビーグル (無麻酔)	強制経口	0 ^{b)} 、1、3、10 mg/kg	雄 4	影響なし	適	██████████ ██████████	████ 0728	4.2.1.3-06	評価
呼吸機能 (Whole body plethysmograph 法)	ラット / Crl:CD(SD)	強制経口	0 ^{b)} 、1、10、100 mg/kg	雄 8	100 mg/kg : 投与後 8 時間に 1 回換気量の増加、投与後 24 時間には消失	適	██████████ ██████████	████ 0731	4.2.1.3-07	評価
胃腸管機能 (炭末輸送)	ラット / Crl:CD(SD)	強制経口	0 ^{b)} 、1、10、100 mg/kg	雄 6	影響なし	不適	大正製薬 (株)	T89149	4.2.1.3-08	参考

投与量はルセオグリフロジン (無水物) 換算値として表示した。

a) 単回投与、b) 溶媒：0.5%CMC-Na 水溶液

2.6.3.4 薬力学的薬物相互作用試験

被験物質：ルセオグリフロジン水和物

評価対象となる系	種/系統	投与方法	投与量	性および例数	特記すべき所見	実施施設	試験番号	添付資料番号	区分
グリメピリドとの併用効果	マウス/KK-Ay/TaJcl (5週齢)	単回経口(非絶食下、単独および併用)	<ul style="list-style-type: none"> ・ルセオグリフロジン水和物 10 mg/kg ・グリメピリド 0.5 mg/kg ・ルセオグリフロジン水和物 10 mg/kg と グリメピリド 0.5 mg/kg 	雌 10	血糖値に対する併用効果があった。 ルセオグリフロジン水和物単独および併用においてインスリン分泌抑制作用があった。	大正製薬(株)	P20945	4.2.1.4-01	評価
グリメピリドとの併用効果	マウス/C57BL/6NJcl (5週齢)	単回経口(非絶食下、単独および併用)	<ul style="list-style-type: none"> ・ルセオグリフロジン水和物 10 mg/kg ・グリメピリド 0.5 mg/kg ・ルセオグリフロジン水和物 10 mg/kg と グリメピリド 0.5 mg/kg 	雌 10	正常血糖値に対する併用効果はなかった。	大正製薬(株)	P20931	4.2.1.4-02	評価

投与量はルセオグリフロジン（無水物）換算値として表示した。

2.6.3.4 薬力学的薬物相互作用試験（続き）

被験物質：ルセオグリフロジン水和物

評価対象となる系	種/系統	投与方法	投与量	性および例数	特記すべき所見	実施施設	試験番号	添付資料番号	区分
メトホルミンとの併用効果	マウス/ BKS.Cg-+Lepr ^{db} /+Lepr ^{db} /Jcl または BKS.Cg-m+/+Lepr ^{db} /Jcl (10週齢)	8週間反復経口（単独および併用） ・ルセオグリフロジン水和物 1日1回 ・メトホルミン 1日2回 ・ルセオグリフロジン水和物 1日1回とメトホルミン 1日2回併用	・ルセオグリフロジン水和物 3 mg/kg/日 ・メトホルミン 300 mg/kg/日 ・ルセオグリフロジン水和物 3 mg/kg/日とメトホルミン 300 mg/kg/日	雄 11 または 12	相加的なGHb低下作用があった。	大正製薬（株）	P20841	4.2.1.4-03	評価
ピオグリタゾンとの併用効果	マウス/KK-Ay/TaJcl または C57BL/6JJcl (11週齢)	14日間通常食混餌（単独および併用）	・ルセオグリフロジン水和物 0.01% ・ピオグリタゾン 0.1% ・ルセオグリフロジン水和物 0.01%とピオグリタゾン 0.1%	雄 9 または 10	血糖値に対する併用効果があった。 ルセオグリフロジン水和物単独で体重増加抑制作用があった。 併用においてピオグリタゾンによる体重増加に対する抑制作用があった。	大正製薬（株）	PB01002	4.2.1.4-04	評価

投与量はルセオグリフロジン（無水物）換算値として表記した。