サノフィ株式会社

ランタス XR 注ソロスター

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.6 毒性試験の概要文

Total number of pages: 7

目　　次

1　まとめ 3

2　単回投与毒性試験 4

3　反復投与毒性試験（補助的トキシコキネティクス評価を含む） 4

4　遺伝毒性試験 4

5　がん原性試験（補助的トキシコキネティクス評価を含む） 4

6　生殖発生毒性試験（用量設定試験及び補助的トキシコキネティクス評価を含む） 4

7　局所刺激性試験 5

8　その他の毒性試験 6

8.1　関連たん白質及び高分子たん白質の安全性確認 6

8.1.1　不純物安全性確認のためのラットを用いた 13 週間反復皮下投与毒性試験 6

9　考察及び結論 7

10　図表 7

11　文献 7

1　まとめ

インスリン グラルギン 100 単位/mL 製剤（HOE901-U100、販売名ランタス）は、製造販売承認申請の一環として、非臨床薬理試験、安全性薬理試験、非臨床薬物動態試験及び毒性試験が実施され、審査を受け、米国並びに欧州で 2000 年に承認され、現在は世界 100 カ国以上で登録、販売されている。本邦においても、ランタス注として 2003 年 10 月に承認されている。

今回申請するインスリン グラルギン 300 単位/mL 製剤（HOE901-U300）には、同 100 単位/mL 製剤（HOE901-U100）に比べ、3 倍の濃度のインスリン グラルギン[redacted]が含まれている。したがって、ヒト臨床における投与容量は HOE901-U100 の 3 分の 1 となる。

インスリン グラルギンの毒性に関してはこれまでに十分評価されており、過度の薬理作用に基づき、体重（kg）当りの投与単位に依存すること、及び安全性に関するヒトでの経験が既に豊富にあることから、今回は製剤中の濃度の相違を考慮し局所刺激試験を追加実施した。

ウサギを用いて HOE901-U300 製剤と HOE901-U100 製剤の局所刺激性を検討した（7項）。ウサギの皮下、筋肉内、静脈内及び静脈周囲に投与したところ、いずれの製剤も局所忍容性は良好であった。

また、苛酷条件下で劣化させ、関連たん白質及び高分子たん白質を増加させた HOE901-U300 製剤と標準 HOE901-U300 製剤の毒性を比較検討した。両製剤投与群間では顕著な毒性学的相違は認められず、無毒性量は両製剤とも 8 単位/kg/日と判断された。

2　単回投与毒性試験

該当なし。

3　反復投与毒性試験（補助的トキシコキネティクス評価を含む）

該当なし。

4　遺伝毒性試験

該当なし。

5　がん原性試験（補助的トキシコキネティクス評価を含む）

該当なし。

6　生殖発生毒性試験（用量設定試験及び補助的トキシコキネティクス評価を含む）

該当なし。

7　局所刺激性試験

HOE901-U300 製剤について、市販の HOE901-U100 製剤（ランタス）を参照薬とし、ウサギを用いて局所刺激性を検討した[Module 2.6.7 表 2.6.7.16]、[Module 4.2.3.6-1]。

雌ニュージーランド白色種ウサギ（Crl:KBL [NZW]）6 例／群（計 12 例）に、HOE901-U300 製剤を 1 個体に対し皮下（0.1 mL）及び静脈内（0.5 mL）、または 1 個体に対し静脈周囲（0.1 mL）及び筋肉内（0.5 mL）に単回投与した。また、別の 6 例／群（計 12 例）には HOE901-U100 製剤を同様に投与し、参照群とした。いずれの製剤群とも、個体内対照として反対側の対応する投与部位に等張生理食塩液（0.9% NaCl）を投与した。

インスリン投与に起因する低血糖ショックの可能性を防ぐため、動物に被験製剤を投与した[redacted]溶液（約 20 mL/例）を皮下投与した。必要に応じて[redacted]溶液を追加投与した。

生死、一般状態及び投与部位の観察を少なくとも 1 日 1 回記録した。体重は試験 1、2 及び 6 日に測定した。剖検（試験 1 日及び試験 6 日）時、各 3 例の投与部位を採取し病理組織学的検査用に固定した。

HOE901-U300 製剤群の動物番号 16 及び 20 は、試験 1 日と 2 日の間の夜に死亡した。死因は低血糖によるものである可能性が高かった。この 2 例では、試験 1 日に痙攣が認められた。また、HOE901-U300 製剤群の別の 1 例で試験 2 日に活動性の低下が見られた。体重への明らかな影響は認められなかった。

HOE901-U300 製剤及び HOE901-U100 製剤はともに、ウサギに投与（予定されている臨床投与経路である皮下）した時の局所忍容性は良好であった。また、誤投与経路として想定される筋肉内、静脈内及び静脈周囲に投与した場合にも忍容性は良好であった。

8　その他の毒性試験

8.1　関連たん白質及び高分子たん白質の安全性確認

8.1.1　不純物安全性確認のためのラットを用いた 13 週間反復皮下投与毒性試験

不純物の安全性確認のため、苛酷条件下で劣化させ、関連たん白質及び高分子たん白質を増加させた HOE901-U300 製剤（以下、劣化品）及び標準 HOE901-U300 製剤（以下、標準品）の毒性を比較検討した[Module 2.6.7 表 2.6.7.17]、 [Module 4.2.3.7.6-1]。

6～7 週齢の Sprague Dawley ラット（Crl:CD(SD)）、雌雄各 10 例／群にそれぞれ 8 単位/kg/日（容量：1 mL/kg）で 13 週間反復皮下投与した。また、陰性対照群にはプラセボのみを同様に投与した。検査項目は、生死、一般状態観察、眼科学的検査、体重、摂餌量、血液学的検査、凝固検査、臨床生化学的検査、尿検査、器官重量、剖検、及び病理組織学的検査であった。

本試験において、いずれの投与群においても死亡例は見られず、全例が実験終了日まで生存した。また、被験物質投与に起因した一般状態の変化も観察されなかった。

標準品投与群の雌で、試験 1～91 日において対照群に比べ平均体重増加量と摂餌量のわずかな減少が認められた。

好中球及びリンパ球の減少を主体とした白血球数の減少が、両製剤投与群の雌で同程度（対照群に対し、標準品：-42%、劣化品：-34%）に見られた。両製剤投与群の雄ではリンパ球のみに起因した軽度の白血球数の減少が認められた。しかしながらこれらの変化はいずれも背景データの範囲内であった。薬効に基づく血糖の低下が、雌雄共に両製剤投与群で同様（対照群に対し、標準品群の雄で-66%、雌で-58%、劣化品群の雄で-65%、雌で-73%）に認められた。また、両製剤投与群においてトリグリセリドの低下が雌雄共に、カリウム及びリンの低下が雌に同程度に認められた。これらの 3 つのパラメータの低下はインスリン依存性の血糖低下により生じること(1)、(2)から、毒性学的な意義は無いものと考えられる。尿量の減少並びにそれに伴う浸透圧の上昇が標準品群の雄のみに認められた。

これらの病理組織学的変化を伴わない独立した臨床病理学検査所見には、毒性学的な意義は無いものと考えられる。

両製剤投与群の雌で病理組織所見における肝細胞グリコーゲン空胞減少に相関する平均肝臓重量低下が認められた。対照群を含む全ての投与群で投与部皮下に肉眼及び組織学的所見（炎症、出血、筋萎縮、壊死、及び線維化）が観察されたが、これは投与手技に関連したものであり、HOE901-U300 に起因したものではないと考えられた。

以上の様に、標準品及び劣化品各 8 単位/kg/日の 13 週間連日皮下投与において、ラットに死亡例及び被験物質投与に関連した一般状態の変化は認められず、忍容性は良好であった。また、両製剤投与群間では顕著な毒性学的相違も認められず、無毒性量は両者とも 8 単位/kg/日と判断された。

9　考察及び結論

HOE901-U100 製剤と HOE901-U300 製剤の原薬は同一であることから、インスリン グラルギンの非臨床毒性プロファイルにおいて製剤間差はないと考えられる。また、HOE901-U300 製剤のウサギにおける局所忍容性は、HOE901-U100 製剤と同様に良好であった。したがって、HOE901-U300 製剤をヒトに投与した場合の新たなリスクの懸念は認められなかった。

苛酷条件下で劣化させ、関連たん白質及び高分子たん白質を増加させた HOE901-U300 製剤及び標準 HOE901-U300 製剤の毒性を比較検討した結果、両製剤とも期待される薬効に基づく血糖の低下が認められたが、両製剤投与群間では顕著な毒性学的相違は認められず、無毒性量は両製剤とも 8 単位/kg/日と判断された。

10　図表

なし。

11　文献

1. Gastaldelli A, Emdin M, Conforti F, Camastra S, Ferrannini E. Insulin prolongs the QTc interval in humans. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2000; 279: R2022-5.
2. Liamis G1, Milionis HJ, Elisaf M. Medication-induced hypophosphatemia: a review. QJM. 2010; 103: 449-59.

サノフィ株式会社

ランタス XR 注ソロスター

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.7 NONCLINICAL TOXICOLOGY TABULATED SUMMARY

Total number of pages: 15

TABLE OF CONTENTS

TABLE OF CONTENTS 2

1 PROGRAM OVERVIEW 4

2 OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES 5

3 OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA 5

4 TOXICOLOGY DRUG SUBSTANCE 6

5 SINGLE-DOSE TOXICITY 7

6 REPEAT-DOSE TOXICITY - NONPIVOTAL STUDIES 7

7 REPEAT-DOSE TOXICITY 7

8 GENOTOXICITY: IN VITRO 7

9 GENOTOXICITY: IN VIVO 8

10 CARCINOGENICITY 8

11 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY - NONPIVOTAL STUDIES 8

12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY - FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION 8

13 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY - EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT 9

14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY - EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION 9

15 STUDIES IN JUVENILE ANIMALS 9

16 LOCAL TOLERANCE 10

17 OTHER TOXICITY STUDIES 11

LIST OF TABLES

TS 2.6.7.1 - Toxicology tabulated summary - overview - study program 4
TS 2.6.7.4 - Toxicology drug substance 6
TS 2.6.7.16 - Local tolerance 10
TS 2.6.7.17 - Other toxicity study - Impurity qualification (Rat, 13-week) 11

1 PROGRAM OVERVIEW

TS 2.6.7.1 - Toxicology tabulated summary - overview - study program

Test Article: HOE901-U300

Single-Dose Toxicity: Not applicable

Repeat-Dose Toxicity: Not applicable

Genotoxicity: Not applicable

Carcinogenicity: Not applicable

Reproductive and Developmental Toxicity: Not applicable

Studies in Juvenile Animals: Not applicable

Local Tolerance

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (Concentration)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Rabbit (New Zealand White)	Injection: 0.1 mL/animal Subcutaneous, Paravenous 0.5 mL/animal Intramuscular, Intravenous	Single dose	300 U /mL (Batch [redacted]) 100 U /mL (Batch [redacted]) Controls: isotonic saline solution	Yes	Sanofi-Aventis Deutschland GmbH Drug Safety Evaluation (Frankfurt), Germany	TOL1099	[4.2.3.6-1]
Other Toxicity Studies: Impurity qualification							
Rat Crl:CD(SD)	Subcutaneous	13 weeks	0, 8[a], 8[b] U/kg/day	Yes	[redacted] [redacted] England	TXC1539	[4.2.3.7.6-1]

Abbreviations: U = HOE901 Units
The NOAELs (no-observed-adverse-effect-level) for impurity qualification are underlined ([a]: standard HOE901-U300, [b]: stressed HOE901-U300)

2 OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES

Not applicable.

3 OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Not applicable.

4 TOXICOLOGY DRUG SUBSTANCE

TS 2.6.7.4 - Toxicology drug substance

Test Article: HOE901-U300

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities (%)			Study No.	Type of Study	Location
		Largest single related protein	Sum of related proteins	High molecular weight protein			
[redacted] (HOE901-U300)	99.7	0.2	0.2	< LoQ (0.1%)	TOL1099	Local Tolerance	[4.2.3.6-1]
[redacted] (HOE901-U100)	99.4	0.1	0.5	< 0.1	TOL1099	Local Tolerance	[4.2.3.6-1]
[redacted] (HOE901-U300 standard)	98.3	0.1	0.8	0.1	TXC1539	Impurity qualification	[4.2.3.7.6-1]
[redacted] (HOE901-U300 stressed formulation)	93.5	0.9	4.5	0.8	TXC1539	Impurity qualification	[4.2.3.7.6-1]

5 SINGLE-DOSE TOXICITY

Not applicable.

6 REPEAT-DOSE TOXICITY - NONPIVOTAL STUDIES

Not applicable.

7 REPEAT-DOSE TOXICITY

Not applicable.

8 GENOTOXICITY: IN VITRO

Not applicable.

9 GENOTOXICITY: IN VIVO

Not applicable.

10 CARCINOGENICITY

Not applicable.

11 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY - NONPIVOTAL STUDIES

Not applicable.

12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY - FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Not applicable.

13 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY - EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Not applicable.

14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY - EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Not applicable.

15 STUDIES IN JUVENILE ANIMALS

Not applicable.

16 LOCAL TOLERANCE

TS 2.6.7.16 - Local tolerance

Test Article: HOE901-U300

Report Title: HOE901: LOCAL SUBCUTANEOUS, INTRAMUSCULAR, INTRAVENOUS AND PARAVENOUS TOLERANCE STUDY IN FEMALE RABBITS

Species/Strain	Method of Administration (mL/animal)	Doses (Concentration)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Rabbit (New Zealand White)	Single injection: 0.1 mL /animal Subcutaneous, Paravenous 0.5 mL /animal Intramuscular, Intravenous	300 U /mL: Batch [redacted] 100 U /mL: Batch [redacted] Controls: isotonic saline solution	6 F	Two animals of the 300 U group died most likely due to hypoglycemia over night between Day 1 and Day 2. Both, the 100 U and 300 U formulations, displayed a good local tolerability in rabbits following the subcutaneous injection, which is the intended route of clinical use. The intramuscular, intravenous and paravenous injections, representing potential false routes of administration, were also well tolerated.	TOL1099	[4.2.3.6-1]

Abbreviations: F = Female, U = HOE901 Units

17 OTHER TOXICITY STUDIES

TS 2.6.7.17 - Other toxicity study - Impurity qualification (Rat, 13-week)

Test Article: HOE901-U300

Report Title: HOE901: 13-week subcutaneous toxicity study in rats for impurity qualification

Species/Strain: Rat/ Sprague Dawley : Crl:CD(SD)

Duration of Dosing: 13 weeks

Test Article:
standard HOE901-U300 formulation
batch: [redacted] ([redacted])
stressed HOE901-U300 formulation
batch: [redacted] ([redacted])

Initial Age: 6 to 7 weeks

Duration of Post-Dose: none

Study No.: [TXC1539]

Date of First Dose: [redacted]

Method of Administration: subcutaneous

Location : 4.2.3.7.6-1

Vehicle/Formulation : Insulin glargine placebo solution for injection

GLP Compliance : yes

Special Features: none

No Observed Adverse Effect Level: 8 U/kg/day (for both standard and stressed formulations)

Dose (U/kg/day)	**0 (Vehicle Control)**		**8 (Standard HOE901-U300)**		**8 (Stressed HOE901-U300)**	
Number of Animals on Study	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Toxicokinetics:	Not conducted					
Died or Killed Moribund	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations						
Mild raised hair	1	0	4	0	3	1
Red staining on the neck	1	0	1	4	1	3
Ophthalmoscopy	No treatment related changes					

TS 2.6.7.17 – Other toxicity study – Impurity qualification (Rat, 13-week) (continued)

Test Article: HOE901-U300

Report Title: HOE901: 13-week subcutaneous toxicity study in rats for impurity qualification

Dose (U/kg/day)	0 (Vehicle Control)		8 (Standard HOE901-U300)		8 (Stressed HOE901-U300)	
Number of Animals on Study	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Absolute body weights (g)						
Day 1	215.1	173.6	214.5	164.2	213.0	172.3
Day 29	385.8	251.3	392.5	235.1	386.1	253.3
Day 91	551.5	319.9	567.8	298.8	545.1	325.7
Average body weight Gain (g and %) [a]						
Day 1 - 8	47.8	21.5	+6	-13	+1	-16
Day 29 - 36	27.9	12.7	+9	-27	-6	-25
Day 1 - 91	336.4	146.3	+5	-8	-1	+5
Average food consumption (g/animal/day and %) [a]						
Day 1 - 8	27.0	18.0	+3	-3	+4	-2
Day 29 - 36	27.5	20.9	+4	-11	+4	+8
Day 1 - 91	27.8	20.5	+2	-11	+2	+2

Abbreviations: M = male, F = female, [a]: % difference from control

TS 2.6.7.17 – Other toxicity study – Impurity qualification (Rat, 13-week) (continued)

Test Article: HOE901-U300

Report Title: HOE901: 13-week subcutaneous toxicity study in rats for impurity qualification

Dose (U/kg/day)	**0 (Vehicle Control)**		**8 (Standard HOE901-U300)**		**8 (Stressed HOE901-U300)**	
Number of Animals on Study	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Hematology (%) [a]						
Red blood cells (10^{12}/L)	7.71	7.25	7.88 (+2)	7.25 (0)	7.60 (-2)	7.53 (+4)
Hemoglobin (g/dL)	14.1	13.6	14.4 (+2)	13.8 (+1)	14.0 (0)	14.2*, # (+4)
White Blood Cells (10^9/L)	7.05	4.35	6.28 (-11)	2.52** (-42)	5.48 (-22)	2.89* (-34)
Neutrophils (10^9/L)	1.20	1.02	1.34 (+11)	0.47 (-54)	1.26 (+5)	0.71 (-31)
Lymphocytes (10^9/L)	5.42	3.03	4.46 (-18)	1.81 (-41)	3.83 (-29)	1.96 (-36)
Coagulation	No treatment related changes					
Clinical chemistry (%) [a]						
Total bilirubin (µmol/L)	1.4	1.7	1.1 (-20)	1.2*** (-31)	1.3 (-8)	1.0*** (-41)
Blood glucose (mmol/L)	11.0	11.4	3.8*** (-66)	4.8** (-58)	3.9*** (-65)	3.1*** (-73)
Triglycerides (mmol/L)	1.18	1.10	0.80 (-32)	0.59* (-46)	0.80 (-32)	0.50** (-55)
Total protein (g/L)	60	65	61 (+3)	61** (-7)	59 (-2)	63 (-3)
Albumin (g/L)	32	38	33 (+3)	37 (-4)	32 (0)	36 (-5)
Globulin (g/L)	28	27	29 (+2)	24** (-11)	27 (-3)	27## (-1)
A/G ratio	1.14	1.43	1.15 (+1)	1.55 (+9)	1.18 (+3)	1.37# (-4)
BUN (mmol/L)	4.8	5.8	5.9** (+22)	6.6* (+14)	6.0** (+23)	7.1** (+23)

Abbreviations: M = male, F = female, Statistical evaluation was performed by ANOVA and protected t-tests. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$: comparison with the control

$p \leq 0.05$, ## $p \leq 0.01$, ### $p \leq 0.001$: comparison between test articles, [a]: % difference from control

TS 2.6.7.17 – Other toxicity study – Impurity qualification (Rat, 13-week) (continued)

Test Article: HOE901-U300

Report Title: HOE901: 13-week subcutaneous toxicity study in rats for impurity qualification

Dose (U/kg/day)		0 (Vehicle Control)		8 (Standard HOE901-U300)		8 (Stressed HOE901-U300)	
Number of Animals on Study		**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Clinical chemistry (%) [a] (cont'd)							
Creatinine (µmol/L)		47	48	44 (-6)	47 (-2)	42** (-10)	45 (-7)
Sodium (mmol/L)		147.8	145.6	150.5*** (+2)	149.0*** (+2)	149.7* (+1)	149.3*** (+3)
Potassium (mmol/L)		4.37	4.76	4.14 (-5)	4.42 (-7)	4.19 (-4)	4.03 (-15)
Chloride (mmol/L)		104.9	102.5	106.1 (+1)	104.3* (+2)	106.2 (+1)	105.0** (+2)
Phosphorus (mmol/L)		1.9	2.1	1.7 (-11)	1.6*** (-23)	1.8 (-9)	1.6*** (-25)
Urinalysis (%) [a]							
Volume (mL)		12.7	7.5	8.2 (-36)	7.2 (-4)	11.3 (-11)	8.4 (+12)
Osmolality (mOsm/kg)		1092	1324	1462 (+34)	1113 (-16)	1138 (+4)	1143 (-14)
Organ weights (%) [a]							
Liver (g)		17.091	10.622	16.285 (-5)	8.745** (-18)	15.775 (-8)	8.160***(-23)
Macroscopic observations		No treatment related changes					
Microscopic observations							
Liver: glycogenic vacuolation	not present	1	4	2	10	0	9
	minimal	4	3	5	0	6	1
	slight	3	3	3	0	4	0
	moderate	2	0	0	0	0	0

Abbreviations: M = male, F = female, Statistical evaluation was performed by ANOVA and protected t-tests. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$: comparison with the control

$p \leq 0.05$, ## $p \leq 0.01$, ### $p \leq 0.001$: comparison between test articles, [a]: % difference from control

TS 2.6.7.17 – Other toxicity study – Impurity qualification (Rat, 13-week) (continued)

Test Article: HOE901-U300

Report Title: HOE901: 13-week subcutaneous toxicity study in rats for impurity qualification

Dose (U/kg/day)	**0 (Vehicle Control)**		**8 (Standard HOE901-U300)**		**8 (Stressed HOE901-U300)**	
Number of Animals on Study	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Microscopic observations (cont'd)						
Injection site (range of severity grades):						
Hemorrhage	5 (2-3)	6 (2-3)	6 (1-3)	3 (1-3)	8 (1-4)	5 (2-3)
Inflammation	6 (1-2)	7 (1-3)	7 (1-3)	5 (1-2)	9 (1-2)	4 (1-3)
Myopathy	2 (1)	2 (2-3)	0	1 (1)	1 (3)	0
Necrosis	5 (2-3)	1 (3)	5 (2)	0	6 (2)	2 (1-2)
Fibrosis	3 (2)	1 (2)	4 (1-2)	2 (1)	3 (1-2)	1 (2)

Abbreviations: M = male, F = female

Range of severity grades: 1= minimal, 2= slight, 3 = moderate, 4= marked