2.4 非臨床試験の概括評価

目　次

目　次 2
表 一 覧 3
図 一 覧 3
略号一覧 4
1 緒言 5
2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合状況 5
3 薬理試験 6
3.1 効力を裏付ける試験 6
3.2 副次的薬理試験 7
3.3 安全性薬理試験 7
3.4 薬力学的薬物相互作用試験 7
4 薬物動態試験 8
5 毒性試験 8
5.1 単回投与毒性試験 8
5.2 反復投与毒性試験 9
5.3 遺伝毒性試験 10
5.4 がん原性試験 10
5.5 生殖発生毒性試験 10
5.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 10
5.5.2 胚・胎児発生に関する試験 10
5.5.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 10
5.5.4 新生児を用いた試験 11
5.5.5 生殖発生毒性試験の総合評価 11
5.6 トキシコキネティクス 11
5.7 全身曝露量の比較 11
5.8 局所刺激性試験 14
5.9 その他の毒性試験 14
6 不純物及び分解物 14
7 安全性の総合評価 16
8 結論 17
9 参考文献 17

表 一 覧

Table 5-1 併用投与による反復投与毒性試験 9
Table 5-2 併用投与による胚・胎児発生に関する試験..... 10
Table 5-3 全身曝露量の比較（ビルダグリプチン）..... 13
Table 5-4 全身曝露量の比較（メトホルミン）..... 14
Table 6-1 不純物の安全性確認のための非臨床試験..... 15

図 一 覧

Figure 1-1 ビルダグリプチン及びメトホルミンの構造式..... 5

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
AMP	adenosine monophosphate	アデノシン一リン酸
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DPP-4	dipeptidyl peptidase-4	ジペプチジルペプチダーゼ-4
GIP	glucose dependent insulinotropic polypeptide	グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド
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
GLP-1	glucagon-like peptide-1	グルカゴン様ペプチド-1
ICH	International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス

1 緒言

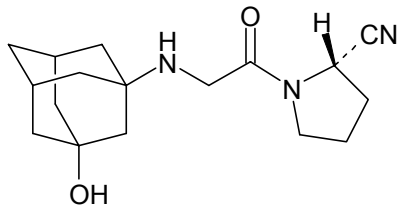
LMF237（販売名：エクメット配合錠，以下，本剤）は，ビルダグリプチン及びメトホルミン塩酸塩（以下，メトホルミン）を有効成分とする配合剤であり，2 型糖尿病の治療薬として開発された。

ビルダグリプチンは，糖代謝において重要な役割を担うインクレチンであるグルカゴン様ペプチド-1（glucagon-like peptide-1，GLP-1）及びグルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド（glucose dependent insulinotropic polypeptide，GIP）の分解酵素であるジペプチジルペプチダーゼ（dipeptidyl peptidase，DPP）-4 を選択的かつ可逆的に阻害する DPP-4 阻害薬である。一方，メトホルミンは，肝臓の糖新生及び消化管の糖吸収を抑制し，末梢組織のインスリン感受性及びグルコース消費を増加することにより血糖値を低下させるビグアナイド薬である。ビルダグリプチン及びメトホルミンは，いずれも 2 型糖尿病治療薬として既に国内で承認されている。

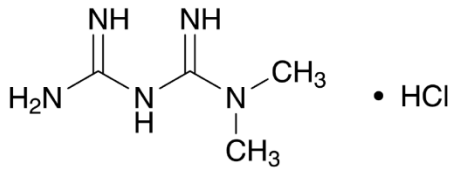
両成分の構造式をFigure 1-1に示す。

Figure 1-1　ビルダグリプチン及びメトホルミンの構造式

ビルダグリプチン



メトホルミン塩酸塩



2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合状況

本剤は，ビルダグリプチン及びメトホルミンの承認用量・用法の範囲内で組み合わされている。ビルダグリプチンは 2013 年 2 月にメトホルミンとの併用を含む 2 型糖尿病の適応を取得してお

り，承認申請時に提出した臨床薬理試験結果及び公表文献において，両剤の併用時の薬理及び薬物動態プロファイルは明らかにされていることから，本剤の特徴を明らかにするための非臨床試験（薬理試験，薬物動態試験）は実施しなかった。併用投与による毒性の検討を目的として，13 週間までの反復投与毒性試験及び胚・胎児発生に関する試験を実施した。毒性試験におけるビルダグリプチンとメトホルミンの用量比は，本剤の予定最高臨床用量における配合比（ビルダグリプチン：メトホルミン = 1：10）を参考にして設定した。また，本剤の一部の不純物の規格値が，製剤の不純物に関する日米 EU 医薬品規制調和国際会議（International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use，ICH）ガイドライン「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン（ICH Q3B）」で規定される安全性の確認が必要な不純物の閾値を超えることから，単回及び反復投与毒性試験，並びに遺伝毒性試験によりその安全性を評価した。

毒性試験は ICH M3(R2)ガイドライン（医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施 についてのガイダンス）及び関連する ICH ガイドラインに準拠し，主要な試験は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice，GLP）適用とし，ノバルティス ファーマ社及び受託研究機関において実施した。

3 薬理試験

本剤の有効成分の併用投与による効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験は実施しなかった。これまでに得られている併用の薬理プロファイル及び知見，並びに併用投与による新たな試験を不要と判断した理由を 3.1 項及び 3.3 項に示す。

3.1 効力を裏付ける試験

ビルダグリプチンは，グルコースなどの栄養素の摂取に伴い消化管から血中に分泌されるインクレチンの分解酵素である DPP-4 を選択的かつ可逆的に阻害する。この阻害作用により，内因性インクレチンの濃度は上昇し，インクレチンが血糖依存性にインスリン分泌を促進させるとともに，グルカゴンの分泌を抑制し血糖降下作用を発揮する。一方，メトホルミンは，肝臓の糖新生及び消化管の糖吸収を抑制し，末梢組織のインスリン感受性及びグルコース消費を増加させることによって血糖降下作用を示すビグアナイド薬である。これらの機序には，AMP 活性化キナーゼの活性化が示唆されている（Zhou et al. 2001）。このように作用機序の異なるビルダグリプチンとメトホルミンの併用療法により，2 型糖尿病患者のインスリン分泌機能不全及びインスリン抵抗性の両面からの治療が可能となる。

GLP-1 濃度を高めるのはビルダグリプチンの主な作用であるが，メトホルミンにも GLP-1 濃度上昇作用が報告されている。2 型糖尿病患者にメトホルミンを投与したとき，糖負荷後の血漿中 GLP-1 濃度の上昇が認められており（Mannucci et al. 2004），その作用は小腸上皮細胞からの GLP-1 分泌促進（Hinke et al. 2002，Yasuda et al. 2002）及び血中における GLP-1 分解抑制

（Lindsay et al. 2005，Green et al. 2006）によることが示唆されている。GLP-1 分泌促進のメカニズムとして，メトホルミンは腸で GLP-1 の前駆物質であるプレプログルカゴンの遺伝子発現を増強することが報告されている（Migoya et al. 2010）。実際，2 型糖尿病患者にビルダグリプチンとメトホルミンを併用投与すると，各薬剤を単独投与したときと比べて活性型 GLP-1 濃度が上昇したことが臨床試験で確認されている（D'Alessio et al. 2009）。さらに，非臨床研究において GLP-1 の膵 β 細胞増殖作用が報告されており（Lavine and Attie 2010），ビルダグリプチンとメトホルミンの併用投与により GLP-1 を高濃度に維持することで，高血糖状態持続による膵島機能低下抑制，機能維持が期待される。このように，ビルダグリプチンとメトホルミンの併用により，相加的な活性型 GLP-1 濃度の上昇が生じると考えられ，各薬剤の単独療法を上回る血糖降下作用が期待できる。

以上より，ビルダグリプチンとメトホルミンの併用による有用性には科学的根拠があり，臨床において両剤は既に 2 型糖尿病の治療に広く使用され，その有効性は多くの臨床試験で確認されている。さらに，これら両剤の併用時に明らかな薬物動態学的薬物相互作用が認められていないことから，ビルダグリプチンとメトホルミンの併用投与による効力を裏付ける試験は実施しなかった。

3.2 副次的薬理試験

該当資料なし

3.3 安全性薬理試験

ビルダグリプチンの安全性薬理試験では，イヌで心筋ナトリウムチャネルの抑制に関連した心伝導異常がみられ，死亡・瀕死発現用量では中枢神経系への影響を示唆する変化が認められた。一方，メトホルミンのナトリウムチャネル抑制作用に関する報告はなく，心血管系の明らかな変化も認められていない。また，メトホルミンの単回投与毒性試験では，複数の動物種で中枢神経系への影響を示唆する一般状態の変化が観察され，ウサギ及びサルで呼吸数の減少がみられたが，いずれも死亡・瀕死発現用量のみで認められた変化であった。ビルダグリプチンとメトホルミンの併用投与によるラット及びイヌを用いた 13 週間までの反復投与毒性試験では，心血管系，中枢神経系及び呼吸系への影響を示唆する明らかな変化は認められなかった。さらに，2 剤には明らかな薬物動態学的薬物相互作用が認められていないことから，ビルダグリプチンとメトホルミンの併用投与による安全性薬理試験は実施しなかった。

3.4 薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし

4 薬物動態試験

有効成分の併用投与による非臨床薬物動態試験は実施していない。本剤の有効成分は，ビルダグリプチンとメトホルミンであり，各成分の薬物動態は既に明らかになっている（エクア錠承認申請時に提出した非臨床薬物動態試験成績（1.13.1-1-エクア-2.6.4 項）及びメトグルコ添付文書）。ビルダグリプチンをヒトに投与したとき，血漿中には主に未変化体及び加水分解代謝物が存在し，その他グルクロン酸抱合体が認められた。*In vitro* 試験の結果，チトクローム P450（cytochrome P450，CYP）によるビルダグリプチンの代謝はみられず，ビルダグリプチンによる CYP 阻害若しくは誘導はみられなかった。したがって，他の薬剤と併用したときに CYP を介した薬物間相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。一方，メトホルミンは主に有機カチオントランスポーター2（Organic Cation Transporter 2，OCT2）を介して未変化体のまま尿中排泄されるが，ビルダグリプチンは OCT2 を阻害しないことから（照会 120530-A-002 回答の添付資料として提出：DMPK R0700739），ビルダグリプチンがメトホルミンの薬物動態に影響を与える可能性は低いと考える。実際に，エクア錠承認申請時に提出した臨床薬理試験結果（2104 試験，1.13.1-1-エクア-2.7.2-2.3.8 項）により，両剤をヒトに併用投与したとき，臨床上問題となる薬物動態学的相互作用は認められなかった。以上のことから，本剤のヒトにおける薬物動態プロファイルは単剤の薬物動態プロファイルに基づいて説明が可能と考え，非臨床薬物動態試験は実施しなかった。

5 毒性試験

ビルダグリプチンとメトホルミンの併用投与による毒性試験として，ラット及びイヌを用いた用量漸増投与毒性試験，2 週間及び 13 週間反復投与毒性試験，並びにラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験を実施した。併用投与による毒性試験では，本剤の予定最高臨床用量における配合比を参考にして，用量比を 1：10（ビルダグリプチン：メトホルミン）とした。また，製剤中に認められた不純物の安全性評価を目的として，不純物単独の単回投与毒性試験，4 週間反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験，並びに不純物含有バッチにおける 4 週間反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験を実施した。なお，不純物 202-01，209-01 及び 207-01 の安全性は，エクア錠承認申請時に資料提出済みの毒性試験（1.13.1-1-エクア-2.6.6-8.5 項）を使用して評価したことから，今回の承認申請に際して当該試験結果の記載及び評価資料の再提出は行わなかった。

5.1 単回投与毒性試験

ビルダグリプチンとメトホルミンの併用投与による単回投与毒性試験は実施していない。ラット及びイヌを用いた併用投与による用量漸増投与試験の結果から単回投与による概略の致死量（ビルダグリプチン+メトホルミン）を推定すると，ラットでは 75+750 mg/kg 超，イヌでは 40+400 mg/kg 超と考えられた。

5.2 反復投与毒性試験

ビルダグリプチンとメトホルミンの併用投与時の毒性プロファイルを検討する目的で，ラット及びイヌを用いた 13 週間までの反復投与毒性試験を実施した。併用投与による反復投与毒性試験の概要をTable 5-1に示す。

Table 5-1 併用投与による反復投与毒性試験

動物種	投与期間	投与経路	動物数/群	用量 (Vilda+Met; mg/kg/日)	試験番号
ラット (Wistar)	単回用量漸増; 4 日間	経口	雄 2，雌 2	10+100→30+300→75+750 (単回); 75+750 (4 日間)	0570003
	2 週間	経口	雄 5，雌 5	0+0, 10+100, 30+300, 60+600, 60+0, 0+600	0570004
	13 週間	経口	雄 10，雌 10 回復性試験: 雄 6，雌 6	0+0, 10+100, 30+300, 100+1000, 100+0, 0+1000	0670033
イヌ (ビーグル)	単回用量漸増; 4 日間	経口	雄 1，雌 1	10+100→20+200→40+400 (単回); 20+200 (4 日間)	0570002
	2 週間	経口	雄 1~2，雌 1~2	0+0, 1.25+12.5, 2.5+25, 5+50, 5+0, 0+50	0570005
	13 週間	経口	雄 3，雌 3 回復性試験: 雄 2，雌 2	0+0, 2.5+25, 5+50, 10+50, 10+0, 0+50	0670034

Source: Table 2.6.7.6A-0570003，Table 2.6.7.6A-0570004，Table 2.6.7.7A-0670033，Table 2.6.7.6A-0570002，Table 2.6.7.6A-0570005，Table 2.6.7.7B-0670034

Vilda = ビルダグリプチン，Met = メトホルミン

ビルダグリプチンとメトホルミンを 100+1000 mg/kg/日までの用量でラットに 13 週間反復経口投与した結果，毒性変化として体重減少若しくは体重増加量減少，摂餌量減少，網状赤血球数の減少，心臓及び肝臓重量の増加，胸腺重量の減少，並びに肺胞内泡沫状マクロファージ集簇が認められた。器官重量の変化に関連する病理組織学的変化は認められなかった。肺胞内泡沫状マクロファージ集簇はビルダグリプチンに関連した変化であり，その他の変化はいずれもメトホルミンに関連した変化と考えられた。0+1000 mg/kg/日群の雄でみられた心臓重量の増加を除いて，いずれの変化も 4 週間の休薬による回復性が確認された。

ビルダグリプチンとメトホルミンを 10+50 mg/kg/日までの用量（投与 9 日以降，メトホルミン用量を 100 mg/kg/日から 50 mg/kg/日に減量） でイヌに 13 週間反復投与した結果，毒性変化として瀕死・死亡，糞便異常，体重減少，摂餌量減少，及び前立腺重量の減少が認められた。病理組織学的検査では，死亡例で死戦期における非特異的変化がみられたが，生存例ではビルダグリプチン若しくはメトホルミンに関連した病理組織学的変化は認められなかった。両剤に関連した糞便異常を除いて，いずれもメトホルミンに関連した変化と考えられた。

ラット及びイヌを用いた併用投与による反復投与毒性試験では，併用投与による新たな毒性の発現はみられず，既知の毒性の増強も認められなかった。イヌにおける無毒性量は比較的低用量

であったが，正常血糖値のイヌがメトホルミンの血糖降下作用に対して高い感受性を示したことによるものと考えられた（Table 5-3及びTable 5-4）。

5.3 遺伝毒性試験

該当資料なし

5.4 がん原性試験

該当資料なし

5.5 生殖発生毒性試験

5.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

該当資料なし

5.5.2 胚・胎児発生に関する試験

ビルダグリプチンとメトホルミンの併用投与によるラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験を実施した。試験の概要をTable 5-2に示す。

Table 5-2 併用投与による胚・胎児発生に関する試験

動物種	試験の種類	投与経路	動物数/群	用量 (Vilda+Met; mg/kg/日)	投与期間	試験番号
ラット (Wistar)	胚・胎児発生	経口	25	0+0, 10+100, 30+300, 100+1000, 0+1000	妊娠 6~17 日	0670029
ラット (Wistar)	胚・胎児発生 TK	経口	3~5	0+0, 10+100, 30+300, 100+1000, 0+1000	妊娠 6~17 日	0670172
ウサギ (NZW)	胚・胎児発生 用量設定	経口	3~6	0+0, 5+50, 7.5+75, 10+100, 15+150, 30+300, 50+500	妊娠 7~20 日	0570024
ウサギ (NZW)	胚・胎児発生	経口	20	0+0, 1+10, 3+30, 10+100	妊娠 7~20 日	0670015

Source: Table 2.6.7.13A-0670029，Table 2.6.7.13B-0670172，Table 2.6.7.11-0570024，Table 2.6.7.13C-0670015
Vilda = ビルダグリプチン, Met = メトホルミン, TK = toxicokinetics, NZW = New Zealand White

ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の結果，ラットでは母動物で瀕死，体重及び摂餌量の減少がみられたが，いずれの用量でも母動物の生殖及び胚・胎児発生への影響は認められなかった。ウサギでは母動物の死亡・瀕死を含む一般状態の悪化，体重増加量及び摂餌量の減少がみられ，メトホルミンによる母動物毒性に関連した変化と考えられる吸収胚数の増加が認められた。いずれの動物種においても催奇形性を示唆する変化は認められなかった。

5.5.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

該当資料なし

5.5.4 新生児を用いた試験

該当資料なし

5.5.5 生殖発生毒性試験の総合評価

ラット及びウサギのいずれにおいても，併用投与により催奇形性を示唆する変化は認められなかった。ウサギでみられた吸収胚数の増加は，死亡を含む母動物に対する一般毒性に関連した変化と考えられた。ウサギを用いた試験では低用量群から母動物の毒性変化が認められており，メトホルミンの毒性に対するウサギの感受性が高いことが示唆された。

5.6 トキシコキネティクス

ラット及びイヌを用いた 2 及び 13 週間反復投与毒性試験，並びにラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験において，ビルダグリプチン及びメトホルミンのトキシコキネティクス（toxicokinetics，TK）パラメータを検討した。

ラットでは，メトホルミンの併用投与により，ビルダグリプチンの Cmax の低下がみられたが，AUC への影響は認められず用量比例的な増加を示した。メトホルミンの AUC はビルダグリプチンの併用投与により増加する傾向がみられたが，ビルダグリプチンを併用した場合もメトホルミンの AUC は用量比例的に増加した。ビルダグリプチン及びメトホルミンの TK パラメータに性差は認められなかった。

イヌでは，メトホルミンの併用投与によるビルダグリプチンの TK パラメータへの影響は認められず，ビルダグリプチンの AUC は用量比例的に増加した。メトホルミンの AUC はビルダグリプチンの併用投与により増加する傾向がみられたが，ビルダグリプチンを併用した場合もメトホルミンの AUC は概ね用量比例的に増加した。ビルダグリプチン及びメトホルミンの TK パラメータに性差は認められなかった。

ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，いずれの動物種においても併用投与による母動物の TK パラメータに対する影響は認められなかった。ラットの胎児中薬物濃度測定では，100+1000 mg/kg/日群のみでビルダグリプチンが検出され，その濃度は投与 24 時間後の母動物血漿中濃度の約 23%であった。胎児中メトホルミン濃度はメトホルミン 300～1000 mg/kg/日の用量範囲で検出され，その濃度はいずれも母動物の投与 24 時間後の血漿中濃度の約 7%であった。ウサギの胎児中薬物濃度測定では，いずれの群の胎児においてもビルダグリプチンは検出されなかった。胎児中メトホルミン濃度は，すべてのメトホルミン投与群で検出され，その濃度はいずれも母動物の投与 24 時間後の血漿中濃度とほぼ同等であった。

5.7 全身曝露量の比較

併用投与による毒性試験の無毒性量における曝露量を，本剤投与後のヒトの曝露量と比較した（Table 5-3及びTable 5-4）。無毒性量における曝露量は，雌雄の平均値を使用した。

毒性試験の無毒性量における曝露量は，概ね本剤を投与したヒトの曝露量を上回る値を示した。イヌを用いた反復投与毒性試験の無毒性量におけるビルダグリプチンの曝露量は，本剤を投与したヒトの曝露量に比較して低値（0.7 倍）であった。これは，正常血糖値のイヌがメトホルミンの血糖降下作用に対して高い感受性を示したことに関連したものと推察され，本剤の糖尿病治療を目的としたヒトへの投与におけるリスクを示すものではないと考えられる。また，ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の無毒性量におけるビルダグリプチン及びメトホルミンの曝露量も，ヒトの曝露量に比較して低値（それぞれ 0.4 倍及び 0.8 倍）であった。本試験の無毒性量を規定する毒性は死亡を含む母動物の一般毒性に関連したものであり，メトホルミンの毒性に対するウサギの感受性が高いことが原因と考えられた。

各毒性試験の無毒性量を規定した毒性所見は，いずれもビルダグリプチン又はメトホルミンの単剤投与で認められる変化であり，併用投与による新たな毒性の発現あるいは既知の毒性の増強は認められなかった。ビルダグリプチン及びメトホルミン単剤のこれまでの臨床使用において，毒性試験でみられた変化に関連した副作用は認められていないことから，これらの毒性変化が本剤の臨床使用において新たな安全性上のリスクとなる可能性は低いものと考えられた。

Table 5-3 全身曝露量の比較（ビルダグリプチン）

試験の種類 (試験番号)	無毒性量 (mg/kg/日)	毒性量における主な所見	AUC [a] (ng.h/mL)	Cmax [a] (ng/mL)	曝露量比	
					AUC 比 [b]	Cmax 比 [b]
ラット, 2 週間 (0570004)	10（雄）	体重増加量減少, 摂餌量減少	2505	827	1.1	3.3
ラット, 13 週間 (0670033)	30	体重減少, 摂餌量減少, 網状赤血球数減少, 肝臓・心臓重量増加, 胸腺重量減少, 肺胞内泡沫状マクロファージ集簇	9295	2240	4.0	9.1
イヌ, 2 週間 (0570005)	5	著変なし	2680	1475	1.2	6.0
イヌ, 13 週間 (0670034)	2.5（雌）	死亡 (低血糖), 体重減少	1620	815	0.7	3.3
ラット, 胚・胎児発生 (0670029) (0670172)	100 (胎児)	著変なし	39900	3770	17.3	15.3
	30 (母動物)	瀕死, 体重減少, 摂餌量減少	12100	2790	5.2	11.3
ウサギ, 胚・胎児発生 (0670015)	3	母動物: 死亡・瀕死, 体重増加量減少, 摂餌量減少 胚・胎児: 吸収胚数増加	994	367	0.4	1.5

Source: Table 2.6.7.6A-0570004, Table 2.6.7.7A-0670033, Table 2.6.7.6A-0570005, Table 2.6.7.7B-0670034, Table 2.6.7.13A-0670029, Table 2.6.7.13B-0670172, Table 2.6.7.13C-0670015

a = 雌雄の平均値

b = LMF237 50/500 mg 単回投与後のヒトにおける値 (2×AUClast=2306.26 ng.h/mL, Cmax=247.01 ng/m; A1101 試験) を基に動物／ヒトの曝露量比を算出

Table 5-4 全身曝露量の比較（メトホルミン）

試験の種類 (試験番号)	無毒性量 (mg/kg/日)	毒性量における主な所見	AUC [a] (ng.h/mL)	Cmax [a] (ng/mL)	曝露量比	
					AUC 比 [b]	Cmax 比 [b]
ラット, 2 週間 (0570004)	100（雄）	体重増加量減少, 摂餌量減少	38680	8124	2.1	5.8
ラット, 13 週間 (0670033)	300	体重減少, 摂餌量減少, 網状赤血球数減少, 肝臓・心臓重量増加, 胸腺重量減少, 肺胞内泡沫状マクロファージ集簇	103000	14500	5.6	10.4
イヌ, 2 週間 (0570005)	50	著変なし	68640	16072	3.8	11.5
イヌ, 13 週間 (0670034)	25（雌）	死亡 (低血糖), 体重減少	27450	6485	1.5	4.6
ラット, 胚・胎児発生 (0670029) (0670172)	1000 (胎児)	著変なし	448000	31400	24.5	22.5
	300 (母動物)	瀕死, 体重減少, 摂餌量減少	135000	14100	7.4	10.1
ウサギ, 胚・胎児発生 (0670015)	30	母動物: 死亡・瀕死, 体重増加量減少, 摂餌量減少 胚・胎児: 吸収胚数増加	14300	2130	0.8	1.5

Source: Table 2.6.7.6A-0570004, Table 2.6.7.7A-0670033, Table 2.6.7.6A-0570005, Table 2.6.7.7B-0670034, Table 2.6.7.13A-0670029, Table 2.6.7.13B-0670172, Table 2.6.7.13C-0670015

a = 雌雄の平均値

b = LMF237 50/500 mg 単回投与後のヒトにおける値 (2×AUClast=18250.72 ng.h/mL, Cmax=1397.53 ng/m; A1101 試験) を基に動物／ヒトの曝露量比を算出

5.8 局所刺激性試験

該当資料なし

5.9 その他の毒性試験

該当資料なし

6 不純物及び分解物

本剤の予定最高臨床用量はビルダグリプチン 100 mg／メトホルミン 1000 mg／日であることから，製剤の不純物に関する ICH ガイドライン「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン（ICH Q3B）」により安全性の確認が必要な不純物の閾値は，ビルダグリプチン由来不純物，メトホルミン由来不純物ともに 0.2%と規定される。本剤における不純物のうち，ビルダグリプチン由来不純物である 366-98，202-01，209-01 及び 207-01 の規格値がこの閾値を超えることから，単回及び反復投与毒性試験，復帰突然変異試験並びに染色体異常試験の成績から

その安全性を評価した。なお，不純物 202-01，209-01 及び 207-01 については，エクア錠承認申請時に資料提出済みの毒性試験を用いて評価したことから，今回の承認申請に際して当該試験結果の本 CTD への再記載及び評価資料の再提出は行わなかった。不純物の安全性確認のために実施した非臨床試験の概要をTable 6-1に示す。

Table 6-1　　不純物の安全性確認のための非臨床試験

試験の種類 [試験番号]	被験物質 / バッチ番号	不純物濃度	結果
単回,ラット, 経口 [0870553]	366-98/ CHAD0103K	[redacted]%	概略の致死量 > 2000 mg/kg
4 週間,ラット,経口 [0870552]	366-98/ CHAD0206K	[redacted]%	無毒性量 > 1000 mg/kg/日
4 週間, ラット, 経口 [0170152] [a]	TOX1/LAF237/ 01/1	202-01:[redacted]%, 209-01:[redacted]%, 207-01:[redacted]%	不純物に関連した毒性発現は認められなかった。
復帰突然変異試験 [0870554]	366-98/ CHAD0103K	[redacted]%	陰性
復帰突然変異試験 [0212001] [a]	TOX1/LAF237/ 01/1	202-01:[redacted]%, 209-01:[redacted]%, 207-01:[redacted]%	陰性
染色体異常試験 [0870551]	366-98/ CHAD0206K	[redacted]%	構造異常誘発能はみられなかった。 数的異常誘発能: 1670 µg/mL (-S9)
染色体異常試験 [0112214] [a]	TOX1/LAF237/ 01/1	202-01:[redacted]%, 209-01:[redacted]%, 207-01:[redacted]%	陰性

a = エクア錠承認申請時に評価済み試験 (1.13.1-1-エクア-2.6.6-8.5 項)

安全性の確認が必要とされる不純物について，366-98 単独あるいは不純物 202-01，209-01 及び 207-01 を多く含むビルダグリプチン（TOX1/LAF237）を被験物質として，ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験，復帰突然変異試験及び染色体異常試験を実施し，安全性についての評価を行った。反復投与毒性試験の結果，366-98 投与に関連した毒性の発現及び不純物に関連した毒性プロファイルの変化がみられなかったことから，不純物に特異的な毒性はないものと考えられた。毒性試験における不純物の用量は，本剤の予定最高臨床用量（ビルダグリプチン 100 mg）及び各不純物の規格値から算出したヒトにおける不純物の最大用量を上回ることが確認された（[2.6.6-Table 8-2]，[2.6.6-Table 8-3]，[2.6.6-Table 8-4]）。

復帰突然変異試験では，いずれの試験においても各不純物の変異原性を示唆する反応は認められなかった。TOX1/LAF237 の染色体異常試験では染色体異常誘発性は認められなかった。366-98 の染色体異常試験では，いずれの条件下においても構造異常誘発性はみられなかったが，代謝活性化系非存在下の最高濃度処理群で倍数体の増加が認められた。遺伝毒性のうち数的異常誘発能の発現には閾値があり，臨床用量における曝露量を上回る場合は，ヒトでの遺伝毒性リスクの増加を示唆するものではないと考えられている。本剤（ビルダグリプチン 50 mg／メトホルミン 500 mg）を単回投与したヒトにおける曝露量（Cmax）は 247.01 ng/mL（A1101 試験）であり，

規格値上限 ([redacted]%）の 366-98 が含まれていると仮定すると 366-98 の血中濃度は[redacted]ng/mL と推定される。366-98 の染色体異常試験における倍数体非発現最高濃度は 1000 μg/mL（純度補正値：[redacted]μg/mL）であり，ヒト血中濃度に比較して[redacted]倍以上の差が認められることから，ヒトでの数的異常発現リスクは低いものと考えられた。その他の不純物では遺伝毒性を示唆する変化が認められなかったことから，TOX1/LAF237 の復帰突然変異試験及び染色体異常試験の最高処理濃度における不純物濃度を被験物質中の不純物含有量から算出した結果，いずれの不純物処理濃度もヒトにおける血中不純物濃度を上回ることが確認された。

以上のことから，製剤中の不純物の規格値までの安全性は確認されているものと判断した。

7 安全性の総合評価

ビルダグリプチンとメトホルミンを 100+1000 mg/kg/日までの用量でラットに 13 週間反復経口投与した結果，毒性変化として体重減少若しくは体重増加量減少，摂餌量減少，網状赤血球数の減少，心臓及び肝臓重量の増加，胸腺重量の減少，並びに肺胞内泡沫状マクロファージ集簇が認められた。器官重量の変化に関連した病理組織学的変化は認められなかった。肺胞内泡沫状マクロファージ集簇はビルダグリプチンに関連した変化であり，その他の変化はいずれもメトホルミンに関連した変化と考えられた。0+1000 mg/kg/日群の雄でみられた心臓重量の増加を除いて，いずれの変化も 4 週間の休薬による回復性が確認された。

ビルダグリプチンとメトホルミンを 10+50 mg/kg/日までの用量（投与 9 日以降，メトホルミン用量を 100 mg/kg/日から 50 mg/kg/日に減量）でイヌに 13 週間反復投与した結果，毒性変化として瀕死・死亡，糞便異常，体重減少，摂餌量減少，及び前立腺重量の減少が認められた。病理組織学的検査では，死亡例で死戦期における非特異的変化がみられたが，生存例ではビルダグリプチン若しくはメトホルミンに関連した変化は認められなかった。両剤に関連した糞便異常を除いて，いずれもメトホルミンに関連した変化と考えられた。

ラット及びイヌを用いた併用投与による反復投与毒性試験では，併用投与による新たな毒性はみられず，既知の毒性の増強も認められなかった。イヌにおける無毒性量は比較的低用量であったが，これは正常血糖値のイヌがメトホルミンの血糖降下作用に対して高い感受性を示したことによるものと考えられた。

反復投与毒性試験の TK では，ビルダグリプチンとの併用によりメトホルミンの AUC が増加する傾向がみられたが，いずれの試験においてもメトホルミンの毒性プロファイルへの影響は認められなかったことから，毒性学的意義は低いものと考えられた。

ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の結果，ウサギでメトホルミンの母動物毒性に関連した変化が胚・胎児でみられたが，いずれの動物種においても催奇形性を示唆する変化は認められなかった。ウサギを用いた試験では，低用量群から母動物の毒性変化が認められており，メトホルミンの毒性に対するウサギの感受性が高いことが示唆された。

以上のとおり，ビルダグリプチンとメトホルミンを予定最高臨床用量における本剤の配合比に基づき併用投与した結果，併用投与による新たな毒性の発現はみられず，各単剤の毒性の増強も認められなかった。一部の毒性試験の無毒性量における曝露量は本剤を投与したヒトの曝露量を下回る値であったが，ビルダグリプチン及びメトホルミン単剤のこれまでの臨床使用において，毒性試験でみられた変化に関連した副作用が認められていないことから，本剤の臨床使用において新たな安全性上のリスクとなる可能性は低いものと考えられた。

また，本剤の不純物について，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験によりその安全性を評価した結果，いずれの不純物についても規格値までの安全性は確認されているものと判断した。

8 結論

ビルダグリプチン及びメトホルミンはいずれも糖尿病治療薬として広く使用されており，ビルダグリプチンはメトホルミンとの併用を含む 2 型糖尿病の適応を取得している。本剤は両剤の承認用量・用法の範囲内での組み合わせであり，併用時の薬理及び薬物動態プロファイルはこれまでの臨床使用において明らかにされており，併用により各薬剤の単独療法を上回る血糖降下作用が期待され，臨床上問題となる薬物動態学的相互作用がないことが確認されている。また，ビルダグリプチンとメトホルミンの併用投与による反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験の結果，併用投与による新たな毒性の発現及び既知の毒性変化の増強は認められなかった。

以上のことから，本剤の推奨される用法・用量に従って使用する場合，2 型糖尿病の治療薬として安全に使用できるものと考えられる。

9 参考文献

[D'Alessio DA, Denney AM, Hermiller LM, et al. (2009)] Treatment with the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor vildagliptin improves fasting islet-cell function in subjects with type 2 diabetes. J Clin Endocrinol Metab; 94(1):81-8.

[Green BD, Irwin N, Duffy NA, et al. (2006)] Inhibition of dipeptidyl peptidase-IV activity by metformin enhances the antidiabetic effects of glucagon-like peptide-1. Eur J Pharmacol; 547(1-3):192-9.

[Hinke SA, Kühn-Wache K, Hoffmann T, et al. (2002)] Metformin effects on dipeptidylpeptidase IV degradation of glucagon-like peptide-1. Biochem Biophys Res Commun; 291(5):1302-8.

[Lavine JA and Attie AD (2010)] Gastrointestinal hormones and the regulation of β-cell mass. Ann N Y Acad Sci; 1212:41-58.

[Lindsay JR, Duffy NA, McKillop AM, et al. (2005)] Inhibition of dipeptidyl peptidase IV activity by oral metformin in type 2 diabetes. Diabet Med; 22(5):654-7.

[Mannucci E, Tesi F, Bardini G, et al. (2004)] Effects of metformin on glucagon-like peptide-1 levels in obese patients with and without Type 2 diabetes. Diabetes Nutr Metab; 17(6):336-42.

[Migoya EM, Bergeron R, Miller JL, et al. (2010)] Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors administered in combination with metformin result in an additive increase in the plasma concentration of active GLP-1. Clin Pharmacol Ther; 88(6):801-8.

Yasuda N, Inoue T, Nagakura T, et al. (2002) Enhanced secretion of glucagon-like peptide 1 by biguanide compounds. Biochem Biophys Res Commun; 298(5):779-84. (available upon request)

Zhou G, Myers R, Li Y, et al. (2001) Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. J Clin Invest; 108(8):1167-74. (available upon request)