CTD 第 2 部

2.4　非臨床試験の概括評価

MSD 株式会社

目次

頁
表一覧 2
図一覧 3
略号及び用語の定義 4
2.4.1　非臨床試験計画概略 5
2.4.2　薬理試験 6
2.4.2.1　効力を裏付ける試験 6
2.4.2.2　副次的薬理試験 7
2.4.2.3　安全性薬理試験 7
2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用試験 8
2.4.3　薬物動態試験 8
2.4.3.1　分析法とバリデーション報告 8
2.4.3.2　吸収 9
2.4.3.3　分布 9
2.4.3.4　代謝 10
2.4.3.5　排泄 11
2.4.3.6　薬物動態的薬物相互作用 12
2.4.4　毒性試験 12
2.4.4.1　単回投与毒性試験 12
2.4.4.2　反復投与毒性試験 12
2.4.4.3　遺伝毒性試験 15
2.4.4.4　がん原性試験 15
2.4.4.5　生殖発生毒性試験 16
2.4.4.6　局所刺激性試験 18
2.4.4.7　その他の毒性試験 18
2.4.5　総括及び結論 20
2.4.6　参考文献 24

Confidential

表一覧

頁

表2.4: 1　　反復投与毒性試験における曝露量及びヒトの曝露量との比較.....22

Confidential

図一覧

頁

図2.4: 1　　MK-3102の構造式 5
図2.4: 2　　ラット、イヌ及びヒトの MK-3102の推定代謝物 11

C Confidential

略号及び用語の定義

略号	定義	
ADME	Absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収、分布、代謝及び排泄
AMS	Accelerator Mass Spectrometry	加速器質量分析法
AUC	Area under the concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白
CHO	Chinese Hamster Ovary	チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	Maximum concentration	最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P450	チトクロム P450
DPP-4	Dipeptidyl peptidase 4	ジペプチジルペプチダーゼ4
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
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
hERG	Human ether-a-go-go-related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HPLC	High performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonisation	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
K_i	Inhibition constant	阻害定数
LC-MS/MS	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析
MATE	Multidrug and toxin extrusion	
MEC	Molar extinction coefficient	モル吸光係数
hOAT	Human organic anion transporter	ヒト有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
hOCT	Human organic cation transporter	ヒト有機カチオントランスポーター
OGTT	Oral glucose tolerance test	経口ブドウ糖負荷試験
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白
PLD	Phospholipidosis	リン脂質症
QTc	Heart rate-corrected QT interval	心拍数で補正した QT 間隔
SULT	Sulfotransferase	硫酸転移酵素
TEM	Transmission electron microscopy	透過型電子顕微鏡
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
T_{max}	Time to the maximum concentration	最高濃度到達時間
UGT	Uridine diphosphate-glucuronosyltransferase	UDP-グルクロン酸転移酵素
ZDF	Zucker Diabetic Fatty	

C Confidential

2.4.1　非臨床試験計画概略

オマリグリプチン（別名 MK-3102又は[redacted]。以下、MK-3102）は、2型糖尿病の治療を目的として開発された、ヒトジペプチジルペプチダーゼ4（DPP-4）に対する競合的かつ可逆的な阻害剤［50%阻害濃度（IC_{50}）= 1.6 nM、阻害定数（K_i）= 0.8 nM］である。MK-3102の化学名は、(2*R*,3*S*,5*R*)-2-(2,5-ジフルオロフェニル)-5-[2-(メチルスルホニル)-2,6-ジヒドロピロロ[3,4-*c*]ピラゾール-5(4*H*)-イル]テトラヒドロ-2*H*-ピラン-3-アミンである。構造式を[図2.4: 1]に示す。

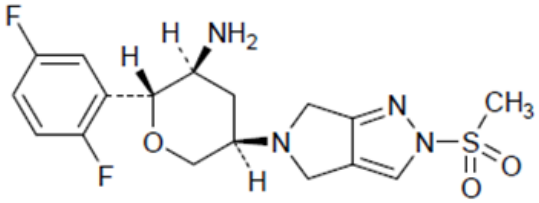


図 2.4: 1　MK-3102 の構造式

MK-3102は、現在市販されている1日1回又は2回投与型の DPP-4阻害剤とは異なり、週1回投与を可能とする血漿中半減期を有する。臨床推奨用量は週1回25 mg であり、この用量を健康被験者に投与したときの定常状態の $AUC_{0\text{-}168\ hr}$ 及び C_{max} は、それぞれ23 μM·hr 及び0.57 μM である[2.7.2.3.1.1 項]。

MK-3102の DPP-4選択性及び薬理学的作用は、一連の in vitro 及び in vivo 薬理試験により検討した。また、心血管系、呼吸器系及び中枢神経系への影響を検討し安全性薬理プロファイルを明らかにした。

非臨床安全性評価、臨床薬理及び開発プログラムの妥当性を裏付けるため、ラット、イヌ及びヒトを対象として MK-3102の薬物動態、吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）の総合的評価を実施した。非臨床試験に用いた動物種及びヒトでの MK-3102の主要なクリアランスの機序を明らかにした。ヒトに特有の代謝物が存在しないことを確認するため、MK-3102の in vitro 及び in vivo の代謝の種間比較を実施した。各動物種について、MK-3102の血漿蛋白結合及び血球移行性を検討した。さらに、in vitro 試験により、MK-3102の主要なヒトチトクロム P450（CYP）分子種に対する阻害作用及び誘導作用のほか、主要なトランスポーターの基質認識性や阻害作用を評価し、臨床における薬物相互作用の可能性を検討した。

MK-3102の非臨床安全性を、安全性薬理、遺伝毒性、反復投与毒性、及び生殖発生毒性、並びにラット及びマウスのがん原性試験で検討した。重要な試験はすべて、日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）の各種ガイドラインを踏まえ、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基

C Confidential

準（GLP）に準拠して実施した。反復投与毒性試験に用いる主な動物種として、薬物動態学的及び薬理学的に検討した試験結果に基づいてラット及びイヌを選択した。これらの動物種は1日1回投与の既承認薬であるシタグリプチンの毒性試験にも用いられた。マウス及びラットの DPP-4に対する MK-3102の in vitro 阻害活性はヒト DPP-4に対する活性よりも弱いが、MK-3102の毒性試験で用いた用量は、標的分子への薬理活性を介した毒性評価に十分な用量である。例えば、2年間マウスがん原性試験の低用量1 mg/kg/日は、マウス経口ブドウ糖負荷試験（OGTT）の最大有効用量0.3 mg/kg を十分に上回っている。また、ラットがん原性試験では、低用量1 mg/kg/日の最小血漿中濃度（C_{min}）は1.62 μM であり、この濃度はラット DPP-4に対する IC_{50} 0.13 μM（50%血清存在下、in vitro）を十分に上回っている。

また、カニクイザルを用いて、皮膚毒性の可能性の検討に絞った反復投与毒性試験を実施した。MK-3102の物理化学的性質及び動物での組織分布試験の結果から、MK-3102が血液-脳関門を通過して中枢神経に移行する可能性が高いことが示唆されたため、ラットを用いた2試験（身体依存性及び自己投与試験）を実施して、薬物乱用の可能性について評価した。

重要な試験はすべて経口投与とし、薬物の投与頻度を1日1回とした。経口投与試験では、MK-3102の媒体として0.5%メチルセルロース水溶液を用いた。MK-3102は本媒体中で安定であり、1日1回投与により幅広い用量において毒性プロファイルを明らかにするために十分な全身曝露量が得られた。ヒトにおける代謝物のプロファイリングを行ったところ、未変化体が唯一の血漿中物質であること（投与薬物に関連する総ての物質の曝露量に対し10%を超える主要代謝物はない）が示されたため、代謝物の毒性を非臨床的に別途評価する必要はなかった。すべての不純物は、ICH Q3A(R2)ガイドラインで規定された安全性確認の必要な閾値である0.15%以下か、あるいは単一の不純物を用いて実施した遺伝毒性試験及びラット反復投与毒性試験から、原薬中の規格値での安全性が確認されている。なお、原薬の規格についてはモジュール3に示した [3.2.S.4.1 項]。

2.4.2　薬理試験

MK-3102の2型糖尿病治療薬としての臨床開発を裏付けるために、複数の in vitro 及び in vivo 非臨床薬理試験を実施し、MK-3102の2型糖尿病治療における有用性及び安全性を検討した。実施した薬理試験を薬理試験の一覧表にまとめた[2.6.3.1 項]。効力を裏付ける試験では、各動物種の DPP-4に対する MK-3102の阻害活性を測定した。In vivo 試験では、耐糖能の改善効果及び最大効果に必要な DPP-4阻害率を検討した。副次的薬理試験では、標的外分子に対する MK-3102の影響を評価した。安全性薬理試験では、心血管系、呼吸器系及び中枢神経系に対する MK-3102の影響を in vitro 及び in vivo で検討した。

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

In vitro 薬力学試験により、MK-3102は強力で競合的かつ可逆的な DPP-4阻害剤であることが示された。ヒト組換え DPP-4に対する MK-3102の IC_{50}は1.6 nM で、K_i は0.8 nM であった（試験番号 PD001）[2.6.3.1 項]。また、マウス、ラット、イヌ、カニクイザルの血清由来の DPP-4に対する MK-3102の阻害活性も評価した。得られたデータは単一酵素に対する MK-3102の結合を示してお

C Confidential

り、これらの試験で測定された活性の大部分は DPP-4阻害によるものであることが示唆された。MK-3102は、ヒト、カニクイザル、イヌの DPP-4に対して同程度の阻害活性を示したが、マウス及びラットの DPP-4に対しては、それぞれ11分の1及び50分の1の弱い活性を示した。

正常マウスの OGTT で MK-3102を単回経口投与したところ、糖負荷後の血糖値の上昇が用量依存的に抑制された（試験番号 PD003）[2.6.3.1 項]。MK-3102の最大有効用量0.3 mg/kg では、糖負荷後の血糖値の上昇が51%抑制され、そのときの血漿中 DPP-4阻害率は約85%であった。DPP-4欠損（*Dpp-4*$^{-/-}$）マウスに MK-3102の3 mg/kg を投与したところ、糖負荷後の血糖値上昇の有意な抑制は認められなかったことから、作用機序に基づく血糖降下作用が確認された（試験番号 PD003）[2.6.3.1 項]。

2.4.2.2　副次的薬理試験

一連の広範な選択性試験の結果から、MK-3102は DPP-4に対して選択性が高いことが示された。DPP-4以外の試験したすべてのプロテアーゼ（DPP-8及び DPP-9を含む）に対して、MK-3102の IC_{50} は100 μM 超であった。また、MK-3102はイオンチャネルに対して明らかな結合活性を示さず、[redacted] で実施した160を超える酵素活性アッセイ及び受容体結合アッセイ（MerckScreen）では MK-3102による明らかな影響は認められなかった。（試験番号 PD002）[2.6.3.1 項]。

2.4.2.3　安全性薬理試験

ICH S7A 及び S7B ガイドラインを遵守して MK-3102の安全性薬理試験を実施し、中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に及ぼす影響を in vitro 及び in vivo で検討した。

ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）チャネルを発現させたチャイニーズハムスター卵巣（CHO）-K1細胞を用いて、hERG チャネルに対する影響をホールセルボルテージクランプ法で検討した。その結果、MK-3102は弱い hERG 電流阻害を示し、IC_{50}は105 μM、IC_{20}は30 μM であった（TT #[redacted]-4711）[2.6.3.4 項]。この IC_{50}は、ヒトに週1回 MK-3102 25 mg を投与したときの C_{max}（0.57 μM）をフリー体濃度換算した値の約275倍に相当した。

MK-3102を静脈内投与したときの心血管系に及ぼす影響を、迷走神経を切断した麻酔及び人工呼吸下のイヌモデルを用いて評価した（TT #[redacted]-5082、TT #[redacted]-5086）[2.6.3.4 項]。3～40 mg/kg の MK-3102を静脈内投与したところ、20 mg/kg（血漿中濃度約43 μM）以上で、平均血圧がわずかに低下し（-15%以下）、心拍数で補正した QT 間隔（QTc）がわずかに延長［+5%以下（Bazett 補正式）］した。また、20 mg/kg 以上では QRS 間隔のわずかな延長も認められた。総じて、本モデルで認められた心血管系パラメータに対する影響は小さかったため、有害とは考えられなかった。

覚醒イヌの心血管系機能に対する経口投与テレメトリー試験では、75 mg/kg で QTc 及び QT 間隔の延長（それぞれ+8%及び+13%）が認められた（TT #[redacted]-5602、TT #[redacted]-5627）[2.6.3.4 項]。また、75 mg/kg では平均血圧の低下も認められた。MK-3102を単回経口投与したときの心血管系機能に関する無影響量は10 mg/kg（C_{max} = 37 μM）であり、安全域は65倍であった。本試験では、呼吸数、呼吸深度及び体温に影響は認められなかった。呼吸器系及び体温に関する無影響量は、

Confidential

75 mg/kg（C_{max} = 195 μM）以上であり、安全域は342倍であった。

神経系機能に対する影響をマウス（TT #[redacted]-5368）[2.6.3.4 項]及びラット（TT #[redacted]-1081）[2.6.3.4 項]を用いて評価した。マウスに MK-3102の100 mg/kg を経口投与したところ、投与2時間後でのみ一過性の活動性低下及び一過性の体温低下が認められた。MK-3102の平均血漿中濃度は、投与1時間後及び5時間後でそれぞれ223 μM 及び128 μM であり、ヒトに25 mg を投与したときの C_{max} 0.57 μM を十分に上回った。ラットの試験では、2 mg/kg 及び10 mg/kg で被験薬に関連した神経系機能への影響は認められなかった。500 mg/kg では全般的に運動性及び活動性の低下を示す被験薬に関連した変化が認められた。ラットに500 mg/kg 投与したときの C_{max} は464 μM であり、臨床で25 mg を投与したときの C_{max} 0.57 μM の約800倍であった。無影響量10 mg/kg での C_{max} は43 μM であり、臨床で25 mg を投与したときの C_{max} の約75倍であった。

イヌに MK-3102を単回経口投与したときの薬理活性及び薬物動態を評価した探索的経口投与薬理試験では、被験薬に関連した一般状態変化として、90 mg/kg（C_{max} = 286 μM）で活動性低下及び糞量減少が認められた（TT #[redacted]-1015）[2.6.3.4 項]。30 mg/kg（C_{max} = 93 μM、ヒト25 mg 投与時の C_{max} の163倍）では変化は認められなかった。

2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用試験

MK-3102の非臨床薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。DPP-4阻害による血糖降下作用機序はすでに解明されており、過去の複数の臨床試験で、このクラスの薬剤を他の血糖降下剤と併用したときの有効性及び安全性が明らかにされている[資料4.3: 103]。スルホニルウレア剤、速効型インスリン分泌促進剤、ビグアナイド系薬剤、チアゾリジン系薬剤又は α-グルコシダーゼ阻害剤による治療に MK-3102を追加投与したときの有効性及び安全性は、第Ⅲ相臨床試験（P015）で検討された[2.7.3.2.3 項] [2.7.4 項]。

2.4.3　薬物動態試験

実施した非臨床 ADME 試験を薬物動態試験一覧表にまとめた[2.6.5.1 項]。

2.4.3.1　分析法とバリデーション報告

ラット及びイヌを用いた薬物動態試験では、定量下限1 ng/mL（0.002 μM）の探索的液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC-MS/MS）法を用いて、血漿中 MK-3102濃度を測定した。いずれの毒性試験でも血漿中又は乳汁中の MK-3102濃度測定にはバリデートされた LC-MS/MS 法を用いた［定量下限はサルでは20.0 ng/mL（0.0502 μM）、その他は10.0 ng/mL（0.0251 μM）］。これらの試験法は、GLP に準拠してバリデーションを実施しており、最大4000 ng/mL まで良好な直線性が確認された [2.6.4.2 項]。

ラット及びイヌを用いた体内動態試験では、直接液体シンチレーション計数法を用いて胆汁、尿及び血漿の放射能濃度を測定した。糞中放射能濃度は糞ホモジネートを可溶化した後、液体シンチレーション計数法により測定した。ラジオクロマトグラムによる代謝物プロファイリングには、放射能測定用検出器の付いた逆相高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を使用した。ヒト

C Confidential

ADME 試験では、加速器質量分析法（AMS）により、血漿、尿及び糞試料中の放射能濃度を測定した。ヒトの排泄物及び血漿試料の代謝物プロファイリングには HPLC により分画した後、AMS により各画分の放射能を測定し、ラジオクロマトグラムを作成した。代謝物の構造は質量分析によって明らかにし、代謝物の標準物質がある場合には標準物質との比較を実施した [2.6.4.2 項]。

2.4.3.2　吸収

ラット及びイヌに MK-3102を経口投与したところ、MK-3102は速やかにほぼ全量が吸収され、投与0.5～2.0時間後に T_{max} が確認され、経口バイオアベイラビリティは約100%であった [2.6.5.3 項]。ラット及びイヌのいずれにおいても、血漿クリアランスが低く（それぞれ1.1 mL/min/kg、0.9 L/min/kg）、半減期が長い［それぞれ約11時間（平均滞留時間）、約22時間］ことが MK-3102の薬物動態の特徴であった。血漿クリアランスが低いことは、初回通過効果が小さいことを示唆しており、高い経口バイオアベイラビリティと一致している [2.6.5.3 項]。

2.4.3.3　分布

ラット及びイヌに対する MK-3102（1 mg/kg）静脈内投与後の分布容積は、それぞれ0.8 L/kg 及び1.3 L/kg であった [2.6.5.3 項]。[^{14}C]-MK-3102 2 mg/kg を単回経口投与後、定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）法により、雄 Long-Evans（LE）ラットの組織分布を評価した。[^{14}C]-MK-3102由来の放射能は速やかに吸収され、脳、精巣をはじめとする組織内に広範囲に分布した。ラットでは、組織中の放射能量は経時的に減少し、最終試料採取時点ではごくわずかとなっていたことから（投与672時間後で2%未満）、組織結合が不可逆的ではないことが示唆された。メラニン含有組織では放射能の滞留時間が他の組織よりも長く、有色皮膚の方が非有色皮膚よりも放射能濃度が高かったことから、[^{14}C]-MK-3102由来の放射能がメラニン親和性を示すことが明らかになった [2.6.5.4 項]。しかし、MK-3102は290～700 nm での吸光度が低く、モル吸光係数（MEC）を算出すると閾値（1000 L mol^{-1} cm^{-1}）を下回るため、光毒性試験を実施する必要はないと考えられた[2.6.6.8.7.5 項]。妊娠したラット及びウサギでは、血漿中濃度の胎児／母体比が0.5～0.7となり、MK-3102が容易に胎盤を通過することが示された [2.6.5.5 項]。

MK-3102は血漿蛋白との結合率は高くはなく、種差が認められた。マウス、ラット、イヌ、アカゲザル、カニクイザル、ウサギ及びヒトでは、[^{3}H]-MK-3102（1、10及び100 μM）の血漿中の平均非結合型分率が、それぞれ38、15、43、85、87、78及び68%であった。上記の濃度範囲（1～100 μM）では、血漿蛋白結合が濃度依存性を示さなかった。しかし、ヒト血漿を用いて臨床相当濃度（1～1000 nM）で実施した追加試験では、ヒト血漿蛋白に対して濃度依存的な結合を示し、これは MK-3102の血漿中 DPP-4との結合の飽和に起因するものであった [2.6.5.6 項]。この濃度依存的な血漿蛋白結合率の変化は、10 nM 未満で顕著であったことから、用量が5 mg 未満の場合ではヒトでの薬物動態が用量比例性を示さないと考えられる。用量が10 mg 以上、平均濃度が50 nM 以上になると、薬物動態プロファイルの大半を占める非結合型薬物がプラトーに近づいたが、これは10～100 mg のヒトでの薬物動態で用量比例性がみられたことと一致する [2.7.2.2.2 項]。

MK-3102は透過性が高く、LLC-PK1細胞では見かけの透過係数が約26 x 10^{-6} cm/s である。また、

C Confidential

ヒト P-糖蛋白（P-gp）の基質ではない。これらのデータは、MK-3102はヒトの中枢神経系に移行する可能性があることを示している[2.6.5.8 項]。この中枢神経系に移行する可能性があるにもかかわらず、毒性試験では薬物乱用について注意すべきデータは示されなかった [2.6.6.8.4 項]。

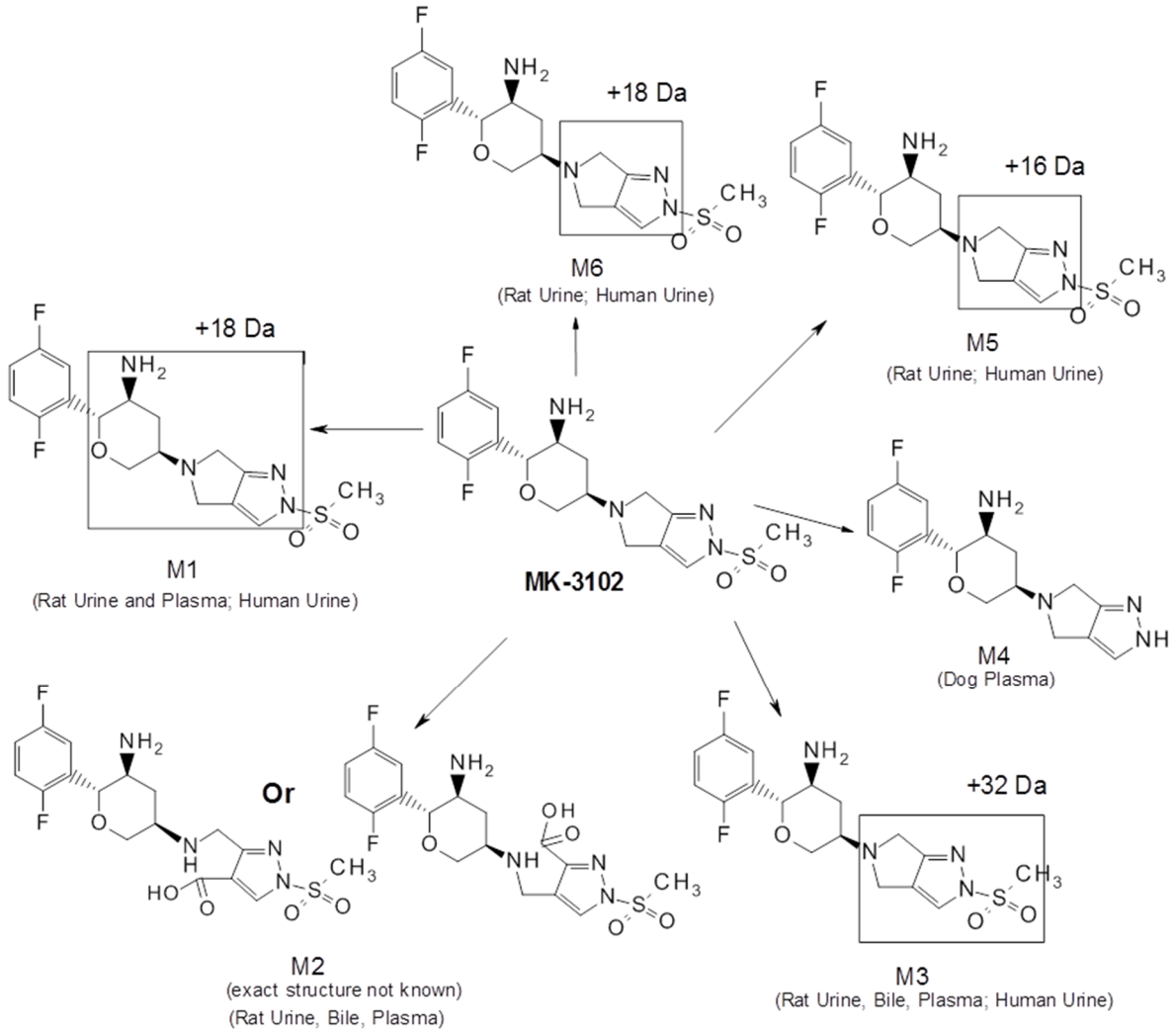
2.4.3.4　代謝

ラット（2 mg/kg 経口投与）、イヌ（2 mg/kg 経口投与）及びヒト（25 mg 経口投与、n=6）について、[^{3}H]-MK-3102又は[^{14}C]-MK-3102の in vivo 動態を検討した。MK-3102の主要消失経路はいずれの動物種においても腎排泄であり、代謝は消失経路としては重要ではないことが示されている。

ラット及びイヌのいずれでも、尿中放射能の主な成分は未変化体であり、それぞれ約86%及び約100%を占め、総放射能排泄量のそれぞれ61%及び82%に相当した。ラットの尿及び胆汁中でモノヒドロキシル化、ジヒドロキシル化による酸化代謝物数種（M1、M2、M3、M5、M6） [図2.4:2] が検出されており、ラットでは排泄量の約28%を占めた。イヌ排泄物中の代謝物はごくわずか（1%未満）であった。ラット及びイヌの血漿中放射能の主な成分は未変化体であった（それぞれ放射能の99%超、87%超）。イヌ血漿中で微量のスルホンアミド加水分解物（M4）が検出された[2.6.5.9 項]。

ヒトでは、放射能のほとんどが尿中に排泄されており（74.4%）、糞中への排泄は少なかった（3.4%）。尿中放射能の大半（約89%）が未変化体であった。未変化体以外の尿中放射能は数種の酸化代謝物（M1、M3、M5及び M6）であり、いずれも尿中放射能の3%未満であった。ヒト血漿では、未変化体が血中放射能のほぼ全量を占め、これまでに認められた主な血漿中代謝物は検出されなかった。ヒトで確認されたすべての代謝物はラットでも検出された[2.6.5.9 項]。

C Confidential



[2.6.5.10 項]

図 2.4: 2 ラット、イヌ及びヒトの MK-3102 の推定代謝物

いずれの動物種の肝ミクロソーム及び肝細胞でも、MK-3102の in vitro 代謝はごくわずかで、in vivo 試験の結果と一貫した結果であった。同様に、MK-3102を CYP3A4、2D6、2C8、2C9、2C19、1A2、2A6、2B6、2E1など様々な発現系 CYP 分子種とインキュベートしたところ、代謝反応がみられなかった[2.6.5.11 項] [2.6.5.12 項]。

2.4.3.5　排泄

ラット、イヌ及びヒトに[^{3}H]-MK-3102又は[^{14}C]-MK-3102を経口投与したところ、それぞれ約55%、約60%及び約74%が尿中に排泄され、尿が主要な放射能排泄経路であることが示された[2.6.5.13 項] [2.6.5.14 項] [2.6.5.15 項]。ラット及びイヌでは、非結合型薬物の腎クリアランスが

Confidential

糸球体ろ過量の約1/2であり、腎排泄過程での再吸収が示唆される [2.6.4.6 項] [資料4.3: 203] [資料4.3: 204]。

授乳期ラットでは、乳汁中に MK-3102が検出され、母動物の血漿中濃度の約80%に及んだことから、血中 MK-3102が同ラットの乳汁中に移行することが明らかになった [2.6.5.16 項]。

2.4.3.6　薬物動態的薬物相互作用

In vitro データから、MK-3102は薬物相互作用を引き起こす可能性が低いことが示唆されており、臨床試験のいずれの評価とも一致している [2.7.2.2.4 項]。臨床的に意義のある濃度では、MK-3102は CYP（CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、3A4）、第 II 相酵素［UDP-グルクロン酸転移酵素（UGT）1A1及び硫酸転移酵素（SULT）1E1］のほか、ヒト P-gp、ヒト乳癌耐性蛋白（BCRP）、ヒト有機アニオン輸送ポリペプチド1B1、1B3（OATP1B1/1B3）、ヒト有機アニオントランスポーター1、3（hOAT1、hOAT3）、ヒト有機カチオントランスポーター1、2（hOCT1、hOCT2）及びヒト multidrug and toxin extrusion 1（MATE1）などの主要な薬物トランスポーターを阻害せず、IC_{50}値は50 μM 超であった。さらに、MK-3102（最大20 μM）は、CYP3A4、CYP1A2、CYP2B6を誘導しなかった。また、MK-3102の主要消失経路は、主に腎排泄であり、受動的透過によると考えられる再吸収がみられる。また、MK-3102は、近位尿細管に発現しているトランスポーター（P-gp、hOAT1、hOAT3、hOCT2）又は肝取込みトランスポーター（hOCT1）の基質ではなかった。以上のことから、MK-3102が薬物相互作用を引き起こす、又は受けるリスクは概して低いと考えられる。

2.4.4　毒性試験

実施した MK-3102の毒性試験を毒性試験の一覧表 [2.6.7.1 項] に示した。

2.4.4.1　単回投与毒性試験

MK-3102の単回投与毒性試験は実施していないが、マウス、ラット、サル、イヌ及びウサギを用いた反復投与毒性試験及び用量設定試験において、単回投与又は短期間投与後の急性毒性について評価した。これらの試験［2.6.6.2 項］では、臨床推奨用量でのヒト全身曝露量（$AUC_{0\text{-}24\ hr}$）と比較して高い（500倍を超える）全身曝露量でのみ、死亡が認められたため、毒性試験に用いた動物種において MK-3102の急性毒性は低いことが示された。

2.4.4.2　反復投与毒性試験

ヒトでの MK-3102の予定用法は週1回であることから、反復投与毒性試験及びがん原性試験（1日1回投与）での安全域は、動物での曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）とヒトの曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）の比から算出した。なお、動物での曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）は、トキシコキネティクス（TK）パラメータである $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ を7倍して算出した。

C Confidential

2.4.4.2.1　マウス

MK-3102の2年間がん原性試験の用量設定のために、CD1マウスを用いた用量設定試験（TT #[redacted]-6036）[2.6.7.6 項]、並びに TK を検討するための2試験（TT #[redacted]-6037及び TT #[redacted]-1061）[2.6.7.6 項] を実施した。用量設定試験では、MK-3102を30、100、250、750又は1500 mg/kg/日の用量で経口投与した。1500 mg/kg/日群は最大耐量を超えており、一般状態変化及び過度の死亡により同群の投与を試験6日で終了した。同用量群では病理組織学的な変化として、胃粘膜の変性、下顎唾液腺の粘液細胞の肥大、及びリン脂質症（PLD）を示唆する種々の組織に細胞の空胞化がみられた。750 mg/kg/日群では、胃粘膜、精細管、並びに胆嚢に病理組織学的な変化がみられた。750 mg/kg/日の全身曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）は、25 mg を投与したヒトの $AUC_{0\text{-}168\ hr}$ の約2121倍であった。250 mg/kg/日投与では病理学的な変化はなく、生前検査において認められた変化（体重増加量の減少及び臨床検査値の変化）は、その程度と関連する病理組織学的な変化が認められなかったことから、毒性学的な意義は低いと思われた。したがって、マウスを用いた試験での無毒性量は250 mg/kg/日で、この際の全身曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）は、25 mg を投与したヒトの $AUC_{0\text{-}168\ hr}$ の約940倍であった。

2.4.4.2.2　ラット

MK-3102のラット経口反復投与毒性を、1週間（10、100又は750 mg/kg/日）、2週間（2、10又は500 mg/kg/日）、3ヵ月間（2、10又は100 mg/kg/日）、及び6ヵ月間（2、10又は100 mg/kg/日）投与により検討した。

MK-3102の反復投与毒性試験の用量設定のために実施したラット1週間毒性試験（TT #[redacted]-2559）[2.6.7.6 項] では、10及び100 mg/kg/日は良好な忍容性を示した。高用量（750 mg/kg/日）は最大耐量を超えており、一般状態変化（活動性低下、眼及び鼻孔からの赤色分泌物、眼瞼下垂）、血清生化学値の変化（血中尿素窒素及びアルカリホスファターゼの増加）、肝重量増加及び病理組織学的な変化（肝細胞の空胞化及び単細胞壊死、肺胞性組織球症）がみられた。750 mg/kg/日の全身曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）は、25 mg を投与したヒトの $AUC_{0\text{-}168\ hr}$ の4500倍超であった。

ラット2週間毒性試験（TT #[redacted]-1081）[2.6.7.7A 項] では、500 mg/kg/日群のみに毒性変化がみられ、これは25 mg を投与したヒトの $AUC_{0\text{-}168\ hr}$ の約2960倍であった。生前検査では、活動性低下及びごく軽度から軽度な臨床検査値の変化がみられた。病理学的変化として、500 mg/kg/日群に PLD に一致した種々の組織（肝、肺、精巣上体、精のう）に細胞の空胞化がみられた。同群では、他の病理学的な変化として、甲状腺濾胞細胞の肥大、副腎皮質の肥大、並びに肝、甲状腺及び副腎重量の増加がみられた。

ラット3ヵ月間毒性試験（TT #[redacted]-6014）[2.6.7.7B 項] では、生前検査における変化として100 mg/kg/日群で流涎及び軽度なアルカリホスファターゼの増加がみられた。また、同群での病理学的変化として、肝重量の増加及び黄体数増加に伴う卵巣重量の増加がみられた。ラット6ヵ月

C Confidential

間毒性試験（TT #[redacted]-1006）[2.6.7.7C 項] においても、高用量100 mg/kg/日を用いた。本用量でみられた変化は、流涎、血液パラメータ変化（赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリット、及び網赤血球数のごく軽度な減少）、尿パラメータ変化（尿 pH の低下）、及び臓器重量変化（肝重量の軽度増加）であった。ラット6ヵ月間毒性試験でみられたこれらの変化は、程度がごく軽度であったこと及び肝酵素誘導に関連する変化であり、毒性学的に意義が低いと考えられたことから、無毒性量は100 mg/kg/日で、この際の全身曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）は、25 mg を投与したヒトの $AUC_{0\text{-}168\ hr}$ の約1111倍であった。

薬剤誘発性の PLD（ラットでは2週間毒性試験の500 mg/kg/日でのみみられた）は、主にリソソーム由来の多層板構造物（lamella bodies）の存在を特徴とするリン脂質の蓄積である。また、PLD の発現は毒性メカニズムではなく生体の適応反応によると考えられる。毒性試験で PLD を誘発する多くの薬剤が現在、安全に市販されているため、毒性試験でみられる動物での PLD とヒトへのリスクとの明確な関連性はない [資料4.3: 301] [資料4.3: 302]。PLD を誘発する他の化合物と同様に、MK-3102の構造は、非極性のトリフルオロフェニル群及び極性を持った第一級塩基性アミンを含むため、陽イオン性両親媒性薬物に分類される。他の変化として、100 mg/kg/日を投与したラット慢性毒性試験及び500 mg/kg/日を投与したラット2週間経口投与毒性試験において、肝重量の増加、甲状腺重量の増加、もしくは甲状腺の濾胞細胞肥大がみられた。ラットの毒性試験において高用量投与でみられた、これらの甲状腺及び肝臓の変化は、肝臓の酵素誘導に起因したものであり、その結果として代償的に甲状腺が影響を受けたものである。ラット7日間忍容性試験 [2.6.7.5 項] では、各種肝酵素の遺伝子発現を解析し、投薬群で複数の肝 CYP 遺伝子の誘導が確認された。肝酵素誘導及び PLD がみられたラット投与量は、臨床用量をはるかに超える用量（25 mg を投与したヒトの曝露量の1000倍以上）であり、ヒトへの外挿性は低いものと考えられた。

2.4.4.2.3　イヌ

MK-3102のイヌ経口反復投与毒性を、2週間（5 mg/kg/日）、3ヵ月間（2、10又は75 mg/kg/日）、及び9ヵ月間（2、10又は75 mg/kg/日）投与により検討した。

イヌ2週間毒性試験（TT #[redacted]-1080）[2.6.7.7D 項] では、投与に関連した変化はみられなかった。本試験は早期探索的臨床試験を支持するために、用量を絞って（5 mg/kg/日の単一用量）実施した。イヌ3ヵ月間（TT #[redacted]-6015）[2.6.7.7E 項] 及び9ヵ月間毒性試験（TT #[redacted]-1007）[2.6.7.7F 項] は、2、10又は75 mg/kg/日の用量で毒性を評価した。イヌ3ヵ月間毒性試験では毒性変化はみられなかった。イヌ9ヵ月間毒性試験では、毒性の標的臓器として75 mg/kg/日群（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$ は18130 μM·hr）において胃が特定された。この胃の病理組織学的な変化は、ごく軽度から軽度の腺上皮の変性、及びごく軽度から中等度の腺粘膜の慢性炎症であった。さらに、9ヵ月間毒性試験の75 mg/kg/日群では、体重増加量の減少及び病理組織学的変化を伴わない肝重量の増加がみられた。この肝重量の増加は、ラットと同様に肝酵素誘導に起因していたものと考えられた。イヌ9ヵ月間

C Confidential

毒性試験での無毒性量は10 mg/kg/日であり、これはヒトに25 mg を投与したときの $AUC_{0\text{-}168\ hr}$ の139倍であった。

2.4.4.2.4　サル

カニクイザルの用量設定忍容性試験（TT #[redacted]-6006）[2.6.7.6 項] では、MK-3102を用量漸増法（3又は30 mg/kg/日を各々3日間、その後300 mg/kg/日を2日間）により経鼻胃投与した。300 mg/kg/日群でみられた一般状態変化（傾眠、活動性低下、脱力もしくは歩行失調）の重症度から、本用量は最大耐量を超えていた。本用量はヒトに25 mg を投与したときの曝露量（AUC）の400倍を超えていた。サル3ヵ月間毒性試験（TT #[redacted]-6010）[2.6.7.7G 項] では、MK-3102を1、3又は9 mg/kg/日の用量で経鼻胃内投与したが、いずれの用量においても毒性変化はみられなかった。本試験での高用量（9 mg/kg/日）は、25 mg を投与したヒトの曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）の約48倍であった。特にカニクイザルにみられる皮膚病変は、いくつかの DPP-4阻害剤では、臨床曝露量に相当する曝露での標的分子を介さない潜在的な毒性であることが報告されているが、MK-3102を投与したカニクイザル又は他の動物種を用いた毒性試験では皮膚病変はみられなかった。

2.4.4.3　遺伝毒性試験

2.4.4.3.1　In vitro 試験

細菌を用いた復帰突然変異試験（TT #[redacted]-8039及び TT #[redacted]-9022）[2.6.7.8A 項] [2.6.7.8B 項]、及び CHO 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験（TT #[redacted]-8661）[2.6.7.8C 項]の結果、MK-3102に遺伝毒性は認められなかった。

2.4.4.3.2　In vivo 試験

ラット骨髄を用いた in vivo 小核試験（TT #[redacted]-8730）[2.6.7.9 項] の結果、MK-3102に遺伝毒性は認められなかった。

2.4.4.4　がん原性試験

2.4.4.4.1　長期試験

マウス及びラットの2年間がん原性試験では、MK-3102を1、5、又は20 mg/kg/日の用量で経口投与して発がん性を検討した（TT #[redacted]-1002及び TT #[redacted]-1166）[2.6.7.10A 項] [2.6.7.10B 項]。各試験の高用量は、ICH S1C(R2)ガイドラインに基づいて、ヒトの AUC と比較して25倍以上の曝露量が見込める投与量を設定した。マウスのがん原性試験では、25 mg を投与したヒトの曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）の約103倍まで発がん性は認められなかった。また、ラットの2年間がん原性試験では、投薬群の雄で甲状腺の傍濾胞細胞腺腫の発生率が同時対照群に比べ数値的に増加していた。しかしながら、この腫瘍の発生率は当該施設での対照群の背景データの範囲内であり、検定の多重性調整を行った後の増加傾向は統計学的に有意でなかった。高用量である20 mg/kg/日を投与した際の曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）は、25 mg を投与したヒトの曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）の約325倍であった。

C Confidential

2.4.4.4.2　短期から中期試験

MK-3102の短期又は中期がん原性試験は実施していない。

2.4.4.4.3　その他の試験

長期のがん原性試験ではヒトでの発がんリスクを示唆するような MK-3102投与による腫瘍性病変はみられなかったことから、その他の試験は実施しなかった。

2.4.4.5　生殖発生毒性試験

2.4.4.5.1　受胎能及び着床までの初期胚の発生に関する試験

MK-3102の2、10又は100 mg/kg/日を経口投与し、雌雄ラット受胎能試験を実施した（TT #[redacted]-7400）[2.6.7.12 項]。いずれの投薬群においても投与に関連した交尾行動、受胎能、帝王切開時のパラメータ、精巣重量、精子数及び精子運動能に変化はみられなかった。雌及び雄の受胎能パラメータに対する無毒性量は100 mg/kg/日で、これは25 mg を投与したヒトの曝露量のそれぞれ1348倍及び1043倍であった。また、一般毒性に関する無毒性量は、雌ラットで10 mg/kg/日（25 mg を投与したヒトの曝露量の約182倍）、雄ラットで100mg/kg/日で、初期胚発生に関する無毒性量は100 mg/kg/日であった。

2.4.4.5.2　胚・胎児発生に関する試験

ラット胚・胎児発生に関する試験（GLP）の用量設定のために、妊娠ラットに MK-3102の2、10、100又は500 mg/kg/日を投与する予備試験を実施した（TT #[redacted]-7005）[2.6.7.11 項]。500 mg/kg/日群は過度の母動物毒性により安楽殺した。100 mg/kg/日群では軽度な胎児体重の減少がみられたが、これ以外の胎児体重又は胚／胎児生存率には投与に関連した変化はみられなかった。また、胎児の外形又は胎盤の形態にも変化はみられなかった。ラットの胚・胎児発生に関する試験（GLP）では、MK-3102を2、10又は100 mg/kg/日の用量で妊娠ラットに経口投与した（TT #[redacted]-7000）[2.6.7.13A 項]。胎児への影響は、高用量である100 mg/kg/日群で胎児体重の減少、過剰肋骨を有する胎児数の軽度な増加、及び仙尾椎の骨化数の減少がみられた。また、同群では母動物毒性として一過性の体重減少及び摂餌量の減少がみられた。母動物毒性及び発生毒性の無毒性量は10 mg/kg/日で、この用量での妊娠ラットの曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）は、25 mg を投与したヒトの曝露量（23 μM·hr）の約85倍であった。

ウサギ胚・胎児発生に関する試験（GLP）の用量設定のために、妊娠ウサギに MK-3102の2、10、100又は500 mg/kg/日を投与する予備試験を実施した（TT #[redacted]-7015）[2.6.7.11 項]。500 mg/kg/日群は過度の母動物毒性により安楽殺した。投薬群では発生毒性はみられなかった。ウサギの胚・胎児発生に関する試験（GLP）では、MK-3102を2、10又は50 mg/kg/日の用量で妊娠ウサギに経口投与した（TT #[redacted]-7010）[2.6.7.13B 項]。10及び50mg/kg/日群では一過性の母動物体重の減少及び

C Confidential

摂餌量の減少がみられた。いずれの投薬群においても発生毒性はみられなかった。別に実施した妊娠ウサギを用いた TK 試験（TT #[redacted]-7140）[2.6.5.5 項] において、MK-3102の胎盤通過は約55%～57%であり、ウサギ胎児が MK-3102に曝露されたことが示された。本試験での胎児における無毒性量は50 mg/kg/日で、この用量での母動物の曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）は、25 mg を投与したヒトの曝露量の450倍であった。また、母動物における無毒性量は2 mg/kg/日で、これは25 mg を投与したヒトの曝露量の約14倍であった。

2.4.4.5.3　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

ラットの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（TT #[redacted]-7100）[2.6.7.14 項]では、MK-3102の、出生児（F_1世代）の発達、成長、行動検査、生殖行動及び受胎能に対する影響を評価した。MK-3102の2、10又は100 mg/kg/日をラット（F_0世代）の妊娠6日～授乳20日に経口投与した。100 mg/kg/日群では、母動物の体重増加量の減少及び摂餌量の減少がみられた。F_1世代では、10及び100 mg/kg/日群の出生後7～21日に進行性ではない出生児体重の減少がみられたが、離乳後において MK-3102投与による変化がみられなかったことから、この体重変化は一過性の変化であった。いずれの投薬群の F_1世代においても離乳後の発達、行動、生殖行動及び受胎能への影響はみられなかった。F_1世代の無毒性量は100 mg/kg/日で、この用量での妊娠ラットの曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）は、25 mg を投与したヒトの曝露量（23 μM·hr）の約645倍であった。また、母動物における無毒性量は10 mg/kg/日で、これは25 mg を投与したヒトの曝露量の約85倍であった。

別に実施した妊娠ラットを用いた TK 試験（TT #[redacted]-7130）[2.6.5.5 項] において、10及び100 mg/kg/日の投与2～24時間後の MK-3102の胎児／母体の血漿中濃度比は0.52～0.67の範囲であった。また、2及び10 mg/kg/日の投与2時間後の MK-3102の乳汁／母体血漿中濃度比は0.76～0.81の範囲であった [2.6.5.16 項]。これはラット胎児及び出生児が MK-3102に曝露されたことを示している。

2.4.4.5.4　幼若動物を用いた試験

MK-3102を2、10、又は50 mg/kg/日の用量で、幼若ラットに出生後28～55日まで1日1回経口投与した（TT #[redacted]-7340）[2.6.7.15 項]。死亡率、一般状態、体重、摂餌量、臨床検査、発達指標、及び行動検査のいずれにも投与に関連した変化は認められなかった。中間解剖では投与に関連した肝重量の増加が50 mg/kg/日群の雌ラットにみられた。しかしながら、この肝重量増加に関連する病理組織学的変化がみられなかったことから、毒性学的な意義は低いと考えられた。また、約4週間の休薬期間終了時（最終解剖）において、投与に関連した臓器重量（肝臓を含む）の変化が認められなかったことから、中間解剖にみられた雌の肝重量変化は完全な回復性が示された。本試験での無毒性量は50 mg/kg/日で、25 mg を投与したヒトの曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）の587倍であった。

C Confidential

2.4.4.6　局所刺激性試験

ウシ角膜の上皮を用いた眼刺激性試験（TT #[redacted]-7850）[2.6.7.16 項] 結果から、MK-3102は刺激性物質でないと分類された。

ウサギ皮膚刺激性試験（TT #[redacted]-7851）[2.6.7.16 項] において、MK-3102による紅斑及び浮腫はみられなかった。

2.4.4.7　その他の毒性試験

2.4.4.7.1　抗原性試験

標準的な反復投与毒性試験で、MK-3102の抗原性を示唆する変化はみられなかった。したがって、抗原性試験は実施しなかった。

2.4.4.7.2　免疫毒性試験

標準的な反復投与毒性試験で、MK-3102の免疫毒性を示唆する変化はみられなかった。したがって、ICH S8ガイドラインに従い、免疫毒性試験は実施しなかった。

MK-3102の労働安全性を担保する試験として、マウスの局所リンパ節試験を実施した（TT #[redacted]-7801）[2.6.7.17 項]。その結果、媒体対照群と比較して MK-3102に関連した刺激性指数の増加がみられなかったことから、MK-3102は皮膚感作物質ではないと考えられた。

2.4.4.7.3　毒性発現の機序に関する試験

マウスの5日間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-2554）[2.6.7.17 項] を実施して、3ヵ月間用量設定試験で種々の組織にみられた細胞の空胞化が PLD と一致するか否かを、透過型電子顕微鏡（TEM）を用いて調べた。TEM 観察のために、対照群及び投薬群（1500 mg/kg/日）の代表例のマウスから肝組織を採取した。光学顕微鏡下にみられた肝細胞の空胞に一致して、主に肝細胞の細胞質内に多層板構造物（リン脂質のリソソームへの蓄積と一致）の蓄積が認められた。肝細胞よりも顕著ではなかったが、同様な多層板構造の集積がまれに類洞細胞及び胆管上皮にもみられた。これらの変化は、PLD の特徴と一致していた。

Zucker Diabetic Fatty（ZDF）雄ラットの3ヵ月間試験（TT #[redacted]-0001）を実施し、MK-3102の膵臓での安全性を検討した [2.6.7.17.項]。本ラット糖尿病モデルでは、定性的病理組織学的手法において、膵炎又は膵臓へのいかなる毒性変化もみられなかった。さらに、定量的病理組織学的手法において、他の膵臓評価項目（増殖指標、α 細胞量、β 細胞量、膵島領域）にも、投与に関連した変化は認められなかった。10 mg/kg/日での曝露量（$AUC_{0\text{-}168hr}$）は約1890 μM·hr で、これは25 mg を投与したヒトの曝露量の約82倍であった。ZDF ラットを用いた別試験（TT #[redacted]-2576）[2.6.7.17 項] では、MK-3102の10 mg/kg/日投与は、標的に対する強力な作用（DPP-4阻害が97%超、活性型グルカゴン様ペプチド1［GLP-1］が9～10倍増加）を伴うことが示された。

C Confidential

2.4.4.7.4　依存性試験

MK-3102の薬物乱用に関する評価のために、ラットの身体依存性試験（用量は2、10又は100 mg/kg/日）（TT #[redacted]-9016）[2.6.7.17 項]、及びラットの静脈内自己投与試験（用量は0.1、0.3、1.0又は3.0 mg/kg/注入）（TT #[redacted]-9003）[2.6.7.17 項] を実施した。身体依存性試験において、MK-3102の100 mg/kg/日までを投与しても、急性の行動学的又は生理学的影響はみられなかった。1日1回、30日間投与の期間中に耐性又は感作性はみられず、投与の中止による退薬症候を示す症状も認められなかった。高用量の100 mg/kg/日の C_{max} は339 μM で、これは25 mg を投与したヒトの C_{max}（0.57 μM）の約595倍であった。自己投与試験では、コカインの自己投与訓練を受けたラットにおいて、MK-3102の高用量（3.0 mg/kg/注入）投与まで自己投与はみられなかった。3.0 mg/kg/注入の血漿中濃度はほぼ90 μM に達していて、これは25 mg を投与したヒトの C_{max}（0.57 μM）の約158倍であった。これらの試験結果から、MK-3102には依存性又は乱用の可能性は認められなかった。

2.4.4.7.5　代謝物の毒性試験

ヒトの血漿中において、経口投与による投与薬物に関連する総ての物質の曝露量の10%を超える血漿中の代謝物は検出されなかった。したがって、MK-3102は ICH M3(R2)ガイドラインに従い、個々の代謝物に関する毒性試験は実施しなかった。

2.4.4.7.6　不純物の毒性試験

デスメシルオマリグリプチン（des-mesyl omarigliptin）を除いて、原薬 [3.2.S.4.1 項] 及び製剤 [3.2.P.5.1 項]中のすべての不純物は、ICH Q3A(R2)及び Q3B(R2）ガイドラインで規定された安全性確認が必要とされる閾値以下であった。このデスメシルオマリグリプチンは、原薬中に最大0.3%の濃度で存在している不純物であるため、遺伝毒性試験（TT #[redacted]-8029/TT #[redacted]-8038; TT #[redacted]-8635/TT #[redacted]-8638）及びラット3ヵ月間反復投与毒性試験（TT #[redacted]-9023）を実施し、その安全性が確認されている [2.6.7.17 項]。さらに、すべての不純物について、突然変異誘発能を評価しており、その結果については原薬の項 [3.2.S.3.2 項] に記載した。

2.4.4.7.7　その他の試験

雌ラットの7日間忍容性試験（TT #[redacted]-2559）[2.6.7.6 項]で採取した保存中の凍結肝組織を用い、750 mg/kg/日でみられた肝重量の増加が酵素誘導によって引き起こされた可能性について、ポリメラーゼ連鎖反応法（PCR）で検討した（TT #[redacted]-9718）[2.6.7.17 項]。10及び100 mg/kg/日では遺伝子発現の誘導がみられなかったが、750 mg/kg/日では種々の肝 CYP 遺伝子、異物代謝、及びトランスポーター遺伝子、並びにグルタチオン代謝遺伝子発現の明らかな誘導がみられた。

MK-3102静脈内投与液を用いた in vitro 溶血性試験（TT #[redacted]-7800）[2.6.7.17 項] を、ラットの血液を用いて実施した。本試験では自己投与試験（TT #[redacted]-9003）[2.6.7.17 項]のために開発された MK-3102静脈内投与液が用いられた。その結果、MK-3102投与液は溶血性を示さなかった。

C Confidential

MK-3102の30、100、250、750又は1500 mg/kg/日を rasH2 マウスに経口投与して1ヵ月用量設定及び TK 試験を実施した（TT #[redacted]-6035）[2.6.7.17 項]。しかしながら、MK-3102のがん原性評価を rasH2マウスに代わり CD1マウスを用いた2年間のがん原性試験で実施したため、本系統ではこれ以降の試験を実施しなかった。本試験での rasH2マウスの忍容性は、CD1マウスの3ヵ月間用量設定試験で観察されたものと概ね類似していた。過度の死亡率及び一般状態変化がみられたため、1500 mg/kg/日群の雄マウスは試験5日に投与を終了した（$AUC_{0\text{-}24\ hr}$は16600 μM·hr）。最小影響量の250 mg/kg/日（$AUC_{0\text{-}24\ hr}$は3230 μM·hr）での投与に関連した変化は、白血球、好中球及びリンパ球の軽度から中等度な減少、アルカリホスファターゼのごく軽度な増加、及び雄にごく軽度から軽度な精細管変性に限られていた。

MK-3102を100 mg/kg/日の用量で雄ラットに投与した14日間経口投与安全性リード化合物最適化試験では、毒性スクリーニングとして探索的な遺伝子発現プロファイルを解析した（TT #[redacted]-3505）[2.6.7.17 項]。肝臓、腎臓、骨格筋及び心臓の各組織を採取して、遺伝子発現を解析した。MK-3102の100 mg/kg/日（$AUC_{0\text{-}24\ hr}$は5003 μM·hr）を投与した動物から採取したこれらの組織には、特記すべき転写反応はみられなかった。これら4組織にみられた転写反応の生物学的意義は不明確ではあるが、毒性学的に意義のある組織反応に関連しないと考えられた。

ICH S10ガイドラインに従い、MK-3102を用いた光毒性試験は実施していない。これは MK-3102の紫外線／可視光波長域290～700 nm [3.2.S.3.1 項] での吸収はわずかであり、MK-3102の MEC は、58.7 L mol^{-1} cm^{-1}と算出され、MEC の閾値1000 L mol^{-1} cm^{-1}未満であったことから光毒性の懸念はないものと考えられたためである。さらに、MK-3102の光安定性試験は ICH Q1B ガイドラインに準拠して実施し、白色光又は紫外線照射において分解物は認められなかった [3.2.S.7.1.項]。

2.4.5　総括及び結論

MK-3102は、2型糖尿病の治療薬として開発されたヒト DPP-4に対する競合的かつ可逆的な阻害剤（IC_{50} = 1.6 nM、K_i = 0.8 nM）である。MK-3102は強力かつ選択性の高い DPP-4阻害剤（選択性はジペプチジルプロテアーゼの60,000倍超）であり、標的外分子及びイオンチャネルに対して明らかな影響を及ぼさなかった。マウスの OGTT で、血糖降下作用及び DPP-4阻害作用が示された。臨床推奨用量は週1回25 mg であり、このときのヒト $AUC_{0\text{-}168\ hr}$及び C_{max}は、それぞれ23 μM·hr及び0.57 μM である。

ラット、イヌ及びヒトを対象として MK-3102の薬物動態、吸収、分布、代謝及び排泄を総合的に評価した。ラット及びイヌに MK-3102を経口投与したところ、速やかに吸収され投与0.5～2.0時間後に T_{max} が確認された。経口バイオアベイラビリティは約100%であり、いずれの動物種でも MK-3102がほぼ完全に吸収されたことを示している。ラットでは、MK-3102が脳、精巣をはじめとする組織内に広範囲に分布した。MK-3102はヒト P-gp の基質ではなく、膜透過性が高かった。

C Confidential

以上のデータは、MK-3102はヒトの中枢神経系に移行する可能性を示している。

MK-3102は中枢神経系に移行する可能性があるが、非臨床毒性試験から、MK-3102は中枢に対する活性がないことが示唆され、臨床量に相当する曝露量では中枢神経系及び行動に対して有害な影響を及ぼす懸念はないことが示された。脳内で DPP-4の関与が明らかになった生理機能はこれまでにない。全体的に、脳内の DPP-4レベルは、腎臓や肺などの他組織内のレベルと比較してはるかに低い [資料4.3: 310] [資料4.3: 311] [資料4.3: 312]。さらに、MK-3102は DPP-4に対する選択性が高く、イオンチャネルに対して in vitro で顕著な活性を示さず、標的外の神経伝達物質系に対して活性を示さなかった。サル（300 mg/kg）、イヌ（90 mg/kg）及びラット（500 mg/kg）で活動性低下に関連した変化が認められたが、これらの変化は、ヒトに25 mg 投与時の C_{max} を十分に超える（180～495倍）極めて高い用量でのみ認められた。MK-3102のいずれの毒性試験でも、末梢神経系及び中枢神経系に病理組織学的変化は認められなかった。MK-3102の薬物乱用に関する非臨床試験としてラットの身体依存性試験及び静脈内自己投与試験を行ったが、薬物乱用を示す変化は認められなかった。中枢神経系における DPP-4の分布は少なく、また中枢神経系における DPP-4の生理機能も知られてないことから、有害な神経行動学的変化は予想されない。さらに、臨床試験においても精神神経系の安全性に懸念させる徴候は認められなかった [2.7.4 項]。

ラット、イヌ及びヒトを対象として、MK-3102の in vivo での薬物動態を検討した。いずれの動物種でも MK-3102の主要消失経路は腎排泄であり、代謝は主要な消失経路ではなかった。ラット及びイヌの血漿中の主な成分は未変化体であった（それぞれ血漿中放射能の99%超及び87%超）。ヒト血漿では、MK-3102が血漿中放射能のほとんどが未変化体であり、これまでに認められた主な血漿中代謝物は検出されなかった。ヒトで確認されたすべての代謝物が非臨床試験で用いた動物種でも検出された。In vitro データから、MK-3102が薬物相互作用を引き起こす可能性が低いことが示された。また、MK-3102は薬物相互作用を受けないものと予想された。臨床薬物相互作用試験の結果も同様に、MK-3102の薬物相互作用リスクが概して低いことを示していた。

安全性薬理試験の心血管系評価では、MK-3102は hERG 電流に対して弱い阻害を示し、IC_{50}は 105 µM であった。覚醒イヌの心血管系機能に対する経口投与テレメトリー試験では、75 mg/kg で QTc 間隔の延長（+8%）及び QT 間隔の延長（+13%）が認められた。また、75 mg/kg では平均血圧の低下も認められた。MK-3102を単回経口投与したときの心血管系機能に関する無影響量は 10 mg/kg（C_{max} = 37 µM）であり、臨床で週1回25 mg を投与したときのヒトでの C_{max} 0.57 µM と比較して、安全域は65倍であった。臨床 QT 評価試験（P010）では、治療用量を超える MK-3102（175 mg）は QTc 間隔に対して臨床的に意味のある影響を及ぼさないことが示された。このときの C_{max} 及び AUC は、健康被験者に25 mg を週1回3週間投与したときの定常状態の C_{max} 及び AUC の、それぞれ約8倍及び7.7倍に相当した。また、第Ⅱ相及び第Ⅲ相試験では、心拍数、血圧（収縮期及び拡張期）、心電図の各間隔（QTc 間隔を含む）に、ベースラインからの顕著な変化は認められなかった。

C Confidential

マウス（最長3ヵ月間）、ラット（最長6ヵ月間）、イヌ（最長9ヵ月間）、及びサル（最長3ヵ月間）を用いた反復投与毒性試験を実施した。重要な毒性試験にはラット及びイヌの2種を用いた。マウスの反復投与試験は2年間経口投与がん原性試験の用量設定試験として行い、サルの反復投与試験はMK-3102により有害な皮膚反応が生じないことを確認するために実施した。ラット及びイヌの慢性毒性の結果に基づいた曝露比を [表2.4: 1] に示し、重要な反復投与毒性試験で観察された毒性について、以下に要約した。

表 2.4: 1 反復投与毒性試験における曝露量及びヒトの曝露量との比較

Species	Study Duration	Dose Levels (mg/kg/day)	$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (μM·hr)	$AUC_{0\text{-}168\ hr}$ (μM·hr)	Exposure Multiple[a]
Rat	6 month	2	122	854	37
		10	534	3738	163
		100 (NOAEL)	3650	25550	1111
Dog	9 month	2	92	644	28
		10 (NOAEL)	458	3206	139
		75	2590	18130	788

[a:] Exposure multiples are based on a comparison of the preclinical $AUC_{0\text{-}168\ hr}$ to the therapeutic target $AUC_{0\text{-}168\ hr}$ of 23 μM•hr at the clinical dose of 25 mg once per week.

病理組織学的な変化を伴わない肝重量の増加が、75 mg/kg/日を投与したイヌの9ヵ月間毒性試験でみられた。同様に、500 mg/kg/日を投与したラット2週間毒性試験、並びに100 mg/kg/日を投与したラット3及び6ヵ月間毒性試験においても肝重量の増加がみられた。また、ラット2週間毒性試験（500 mg/kg/日）では、他の変化として甲状腺重量の増加及び濾胞細胞の肥大がみられた。この甲状腺及び肝臓の変化は、肝ミクロソームの酵素誘導が主な原因であり、これによって代償的に甲状腺が影響を受けたものと考えられた。肝臓の遺伝子発現のプロファイルをラット7日間忍容性試験で評価した。MK-3102の750 mg/kg/日の投与により複数の肝 CYP 遺伝子である CYP2a、CYP2b、CYP2c、及び CYP3a などの遺伝子発現が増加した。甲状腺及び肝臓にみられたこれらの変化は適応反応であり、毒性学的な意義は低いと考えられた。培養したヒトの肝細胞を用いた in vitro 試験において、MK-3102は20 μM の濃度まで CYP3A4、CYP2B6、又は CYP1A2を誘導しなかった。

イヌの9ヵ月間毒性試験では、毒性の標的臓器として胃が特定された。この胃の病理組織学的な変化は、75 mg/kg/日群でみられたごく軽度から軽度の腺上皮の変性、及びごく軽度から中等度の腺粘膜の慢性炎症であった。ラットのいずれの試験でも胃に変化はみられず、全身曝露量がイヌの曝露量と比較して高い場合でも認められなかった。しかしながら、CD1マウスの3ヵ月用量設定試験において、750 mg/kg/日（ヒトに25 mg を投与したときの曝露量の約2121倍）以上の群で胃の腺胃粘膜変性がみられた。イヌ及びマウスにみられた胃の変化は、体重増加量の減少と関連していた。胃の変化の機序は不明であるが、げっ歯類やイヌを用いたシタグリプチン毒性試験で同様の変化が認められなかったため、これらの変化が薬理作用に起因する可能性は低い。また、イヌ

C Confidential

の9ヵ月間毒性試験で認められたこれらの変化の無毒性量10 mg/kg/日は、ヒト曝露量と比較して安全域が139倍であったため、臨床使用での安全性が裏付けられる。

MK-3102の反復投与毒性試験及びがん原性試験では、いずれの動物種を用いた毒性試験においても投与に関連した膵炎又は膵癌はみられなかった。ZDF ラット（げっ歯類糖尿病モデル）を用いて MK-3102の膵臓毒性についても評価したが、膵臓に毒性変化は認められなかった。同様に、既に市販している1日1回投与の DPP-4阻害剤であるシタグリプチンの製造販売承認取得のために実施した正常動物（糖尿病モデルでない）の毒性試験においても、膵炎又は膵癌は認められなかった。

げっ歯類糖尿病モデルを用いたシタグリプチンの膵臓への影響について､3種類のげっ歯類糖尿病モデルを用いた試験が実施された。すなわち1）ZDF ラットを用いた3ヵ月間試験、2）高脂肪食／ストレプトゾトシンマウスモデルを用いた10週間試験 [資料4.3: 321]、3）ヒト膵島アミロイドポリペプチド（HIP）を発現しているトランスジェニックマウスモデルを用いた1年間試験 [資料4.3: 322]では、シタグリプチンに明らかな膵臓への毒性変化は認められていない。欧州医薬品庁（EMA）と米国食品医薬品局（FDA）は、インクレチン標的薬（GLP-1受容体作動薬及び DPP-4阻害剤）投与中の患者における膵炎及び膵癌に関連する非臨床及び臨床データの包括的評価を実施した [資料4.3: 319]。FDA がインクレチン標的薬のすべてについて、承認申請の一環として実施された250を超える毒性試験から得られたげっ歯類15,480例及び非げっ歯類2475例について病理組織学的な再評価を行った結果、明らかな膵臓毒性を示唆する所見は認められていない。同様に、FDA による承認条件の一環として実施された複数のげっ歯類糖尿病モデルの3ヵ月間膵臓毒性試験についてもレビューしたが、膵臓毒性はみられていない。

遺伝毒性の標準的な組み合わせである in vitro 及び in vivo 試験において、MK-3102に遺伝毒性は認められず、がん原性試験において、マウス及びラットにそれぞれヒト曝露量の103倍及び325倍の曝露となるように MK-3102を最長2年間投与しても、発がん性は認められなかった。

MK-3102を雌雄ラットに投与（高用量100mg/kg/日）して受胎能に及ぼす影響を評価したが、投与に関連した変化はみられなかった。ウサギの胚・胎児発生に関する試験では、いずれの投薬群においても発生毒性はみられなかった。ラットの胚・胎児発生に関する試験では、高用量である100 mg/kg/日群で、胎児体重の減少及び骨格変異の軽度な増加（過剰肋骨を有する胎児の増加及び仙尾椎の骨化数の減少）がみられた。同100 mg/kg/日群では母動物毒性（一過性の体重減少及び摂餌量の減少）がみられた。MK-3102のラット及びウサギの胎盤通過は速やかで、胎児／母体の血漿中濃度比は0.5～0.7の範囲であった。無毒性量10 mg/kg/日での妊娠ラットの曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）は、25 mg を投与したヒトの曝露量（23 μM·hr）の約85倍であった。

ラットの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では、100 mg/kg/日群において母動物（F_0）体重増加量の減少及び摂餌量の減少がみられた。F_1世代では、10及び100 mg/kg/日群の出生後7～21日に進行性でない出生児体重の減少がみられたが、離乳期間において

C Confidential

MK-3102投与による変化がみられなかったことから、この体重変化は一過性の変化であった。いずれの投薬群の F_1世代においても離乳後の発達、行動、生殖行動及び受胎能への影響はみられなかった。MK-3102の乳汁中への移行を授乳中のラットで調べた。MK-3102は乳汁中に検出され、母体の血漿中濃度の約80%であったことから、授乳ラットの血中の MK-3102は乳汁中へ移行することが示された。F_1世代の無毒性量は100 mg/kg/日であり、この用量での妊娠ラットの曝露量（$AUC_{0\text{-}168\ hr}$）は、25 mg を投与したヒトの曝露量（23 μM·hr）の645倍であった。

幼若ラットの毒性試験では、いずれの用量でも明らかな変化（発達指標及び行動検査を含む）はみられなかったことから、無毒性量は50 mg/kg/日であった（安全域は587倍）。

結論として、MK-3102の薬理、薬物動態及び毒性を広範に評価した。この全体的な非臨床プロファイルから、2型糖尿病患者に対する長期治療において、週1回25 mg の MK-3102は安全に使用可能であると考えられた。

2.4.6　参考文献

[資料4.3: 103] Plosker GL. Sitagliptin: a review of its use in patients with type 2 diabetes mellitus. Drugs. 2014;74:223-42.

[資料4.3: 203] Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. Pharm Res. 1993;10(7):1093-5.

[資料4.3: 204] Kampa N, Boström I, Lord P, Wennstrom U, Ohagen P, Maripuu E. Day-to-day variability in glomerular filtration rate in normal dogs by scintigraphic technique. J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med. 2003;50(1):37-41.

[資料4.3: 301] Halliwell WH. Cationic amphiphilic drug-induced phospholipidosis. Toxicol Pathol. 1997;25(1):53-60.

[資料4.3: 302] Reasor MJ, Hastings KL, Ulrich RG. Drug-induced phospholipidosis: issues and future directions. Expert Opin Drug Saf. 2006;5(4):567-83.

[資料4.3: 310] Mentlein R. Dipeptidyl-peptidase IV (CD26)-role in the inactivation of regulatory peptides. Regul Pept. 1999;85(1):9-24.

[資料4.3: 311] Guieu R, Fenouillet E, Devaux C, Fajloun Z, Carrega L, Sabateir JM, et al. CD26 modulates nociception in mice via its dipeptidyl-peptidase IV activity. Behav Brain Res. 2006;166(2):230-5.

[資料4.3: 312] Hong W, Petell JK, Swank D, Sanford J, Hixson DC, Doyle D. Expression of dipeptidyl peptidase IV in rat tissues is mainly regulated at the mRNA levels. Exp Cell Res. 1989;182(1):256-66.

[資料4.3: 319] Egan AG, Blind E, Dunder K, de Graeff PA, Hummer BT, Bourcier T, et al. Pancreatic safety of incretin-based drugs--FDA and EMA assessment. N Engl J Med. 2014;370(9):794-7.

[資料4.3: 321] Engel SS, Williams-Herman DE, Golm GT, Clay RJ, Machotka SV, Kaufman KD, et al.

C Confidential

Sitagliptin: review of preclinical and clinical data regarding incidence of pancreatitis. Int J Clin Pract. 2010;64(7): 984-90.

[資料4.3: 322] Aston-Mourney K, Subramanian SL, Zraika S, Samarasekera T, Meier DT, Goldstein LC, et al. One year of sitagliptin treatment protects against islet amyloid-associated β-cell loss and does not induce pancreatitis or pancreatic neoplasia in mice. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2013;305(4):E475-84.

C Confidential