目次

表目次 3

図目次 4

略号一覧 5

1. まとめ 7

2. 効力を裏付ける試験 13

2.1 [redacted]-201038（MTP 阻害剤）の阻害機序（報告書番号[redacted]-Apr[redacted]a, M4.2.1.1-1） 13

2.2 HepG2 細胞からのリポたん白分泌に対する[redacted]-201038（MTP 阻害剤）の作用（報告書番号[redacted]-Dec[redacted]a, M4.2.1.1-2） 14

2.3 ラット、ハムスター及びヒトの MTP に対する[redacted]-201038 の阻害作用（報告書番号[redacted]-Mar[redacted]a, M4.2.1.1-3） 15

2.4 蛍光標識トリグリセリド転送アッセイキットを用いたロミタピド（AEGR-733）、[redacted]-203215 及び[redacted]-203304 の MTP 阻害作用の検討（報告書番号 AEGR-733PC0024, M4.2.1.1-4） 16

2.5 Triton モデルラットにおける VLDL 分泌に対する[redacted]-201038 の急性有効性（報告書番号[redacted]-Jan[redacted]a, M4.2.1.1-5） 16

2.6 ラットの血漿中コレステロールに対する[redacted]-201038（強力な MTP 阻害剤）の 3 日間経口投与の作用（報告書番号[redacted]-Apr[redacted]b, M4.2.1.1-6） 19

2.7 ハムスターの血漿中コレステロールに対する[redacted]-201038（強力な MTP 阻害剤）の 3 日間経口投与による作用（報告書番号[redacted]-Jan[redacted]b, M4.2.1.1-7） 20

2.8 ハムスターにおける[redacted]-201038 の 3 週間投与：血漿及び組織中脂肪に対する作用（報告書番号[redacted]-Feb[redacted]a, M4.2.1.1-8） 21

2.9 [redacted]-201038 を投与したハムスターにおける肝臓及び小腸のトリグリセリド蓄積の回復性（報告書番号[redacted]-Apr[redacted]c, M4.2.1.1-9） 25

2.10 カニクイザル（*Macaca fascicularis*）の血漿中コレステロール、リポたん白コレステロール、血漿中トリグリセリド濃度、肝酵素、クレアチンキナーゼ及び体重に対する[redacted]-201038 の作用（報告書番号[redacted]-Oct[redacted]a, M4.2.1.1-10） 25

2.11 カニクイザル（*Macaca fascicularis*）に 7 日間投与後 10 及び 24 時間の血漿中トリグリセリド濃度に対する[redacted]-201038 の作用（報告書番号[redacted]-Nov[redacted]a, M4.2.1.1-11） 26

2.12 高脂血症カニクイザル（*Macaca fascicularis*）の血漿中コレステロール、リポたん白コレステロール、血漿中トリグリセリド、肝酵素、クレアチンキナーゼ及び体重に対する[redacted]-201038 の作用（報告書番号[redacted]-Oct[redacted]b, M4.2.1.1-12） 29

3. 副次的薬理試験 30

3.1 ラットへの高用量の[redacted]-201038 の投与：凝固時間の変化に対するビタミン K 補充の効果（報告書番号[redacted]-May[redacted]c, M4.2.1.2-1） 30

3.2 非臨床モデルを用いた HDL 低下作用の機序及び MTP 阻害に伴う脂肪肝の改善についての検討（報告書番号 AEGR-733PC0010, M4.2.1.2-2） 31

3.3 [redacted]-201038 の一般薬理作用（報告書番号[redacted]-Nov[redacted]a, M4.2.1.2-3） 31

3.4 各種受容体及びチャネルスクリーニング試験（報告書番号[redacted]-May[redacted]b, M4.2.1.3-3） 33

4. 安全性薬理試験 34

4.1 ロミタピド（別名 AEGR-733 及び[redacted]-201038）、[redacted]-203215 及び[redacted]-203304：安定的に遺伝子導入した HEK293 細胞で記録される hERG テール電流に及ぼす影響（報告書番号 AEGR-733PC0019, M4.2.1.3-1） 34

4.2 安全性薬理試験（報告書番号[redacted]-May[redacted]b, M4.2.1.3-3） 34

4.3 AEGR-733：Irwin 試験による Sprague-Dawley ラットの一般行動及び生理的状態に及ぼす影響（報告書番号 AEGR-733PC0017, M4.2.1.3-2） 35

5. 薬力学的薬物相互作用試験 37

6. 考察及び結論 38

参考文献 43

表目次

表 1－1　非臨床薬理試験一覧 11
表 2－1　標準飼料ハムスターにロミタピドを投与したときの病理組織学的検査及び剖検の組織スコア [1] 23
表 2－2　高脂肪飼料ハムスターにロミタピドを投与したときの病理組織学的検査及び剖検の組織スコア [1] 24
表 2－3　標準飼料又は高脂肪飼料ハムスターにロミタピドを 3 週間投与したときの肝臓及び小腸のトリグリセリド濃度（mg/g tissue） 24

図目次

図 2－1　ロミタピドによるヒト MTP の阻害 14
図 2－2　ロミタピド存在下でのトリグリセリドの MTP への結合に対する阻害 14
図 2－3　HepG2 細胞における apo B 分泌、apo AI 分泌及び[^{3}H]チミジン取り込みに対するロミタピドの作用 15
図 2－4　摂餌後及び絶食下ラットにおけるロミタピドのトリグリセリド分泌阻害作用の比較 18
図 2－5　ラットの総コレステロールに対するロミタピドの作用 19
図 2－6　ラットのリポたん白コレステロールに対するロミタピドの作用 20
図 2－7　ハムスターのリポたん白コレステロールに対するロミタピドの作用 21
図 2－8　ロミタピドのコレステロール低下作用 23
図 2－9　ロミタピドを 7 日間連日強制経口投与したときの最終投与 10 及び 24 時間後に測定した血漿中トリグリセリド濃度に対する作用 28
図 2－10　ロミタピドを 7 日間連日強制経口投与したときの最終投与 10 及び 24 時間後に測定した血漿中総コレステロール濃度に対する作用 28

略号一覧

略称・略号	省略していない表現又は定義	
^{14}C	Carbon 14	炭素 14
^{3}H	Hydrogen 3	トリチウム
5-HT1	5-hydroxytryptamine 1 (serotonin 1)	5-ヒドロキシトリプタミン 1(セロトニン 1)
5-HT2	5-hydroxytryptamine 2 (serotonin 2)	5-ヒドロキシトリプタミン 2(セロトニン 2)
AEGR	Aegerion Pharmaceuticals, Inc	Aegerion Pharmaceuticals, Inc.
ALT	Alanine transaminase	アラニントランスアミナーゼ
apo AI	Apolipoprotein AI	アポリポたん白 AI
apo B	Apolipoprotein B	アポリポたん白 B
apobec	Apolipoprotein B mRNA editing enzyme complex	アポリポたん白 B mRNA 編集酵素複合体
APTT	Activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	Aspartate transaminase	アスパラギン酸トランスアミナーゼ
[redacted]-201038 [redacted]-201038-04 AEGR-733	Lomitapide	ロミタピド
[redacted]-201038-01	Lomitapide, free base	ロミタピド遊離塩基
cDNA	Complementary DNA	相補的 DNA
CE	Cholesteryl ester	コレステロールエステル
CETP	Cholesteryl ester transfer protein	コレステロールエステル転送たん白
C_{max}	Maximum observed plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
DG	Diglyceride	ジグリセリド
DGAT1	Diacylglycerol acyltransferase1	ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ 1
DGAT2	Diacylglycerol acyltransferase2	ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ 2
DNA	Deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
ED_{50}	Median effective dose	50%効果用量
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着測定
ER	Endoplasmic reticulum	小胞体
hApo AI	Transgenic human Apo AI	ヒトアポリポたん白 AI トランスジェニック
hapoBstg	Human apolipoprotein B-100 transgenic	ヒトアポリポたん白 B-100 トランスジェニック
HDL-C	High-density lipoprotein cholesterol	高密度リポたん白コレステロール
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児由来腎臓
HepG2	Human liver hepatocellular carcinoma cell line	ヒト肝芽腫細胞株
hERG	Human ether-a-go-go-related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HoFH	Homozygous familial hypercholesterolaemia	ホモ接合体家族性高コレステロール血症
IC_{50}	Half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
IKr	Potassium channel	カリウムチャネル

略称・略号	省略していない表現又は定義	
JW Rabbit	Japanese white rabbit	日本白色ウサギ
LAHB	LDLR +/- apobec -/- hapoBstg	LDLR ヘテロ欠損、apobec ホモ欠損、ヒトアポリポたん白 B トランスジェニック
LDL	low-density lipoprotein	低密度リポたん白
LDLR	low-density lipoprotein receptor	低密度リポたん白受容体
LDL-C	Low-density lipoprotein cholesterol	低密度リポたん白コレステロール
M1 [redacted]-203215 (M215)	Metabolite 1	代謝物 1
M2 [redacted]-224433 (M433)	Metabolite 2	代謝物 2
M3 [redacted]-203304 (M304)	Metabolite 3	代謝物 3
M18 [redacted]-203304-AG (M18)	Metabolite 18	代謝物 18
MTP	Microsomal triglyceride transfer protein	ミクロソームトリグリセリド転送たん白
N/A	Not applicable	該当なし
PA	Photoactivatable analog	光活性化アナログ
PC	Phosphatidylcholine	ホスファチジルコリン
PEG	Polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
PK	Pharmacokinetic	薬物動態
PT	Prothrombin time	プロトロンビン時間
SCD1	Stearoyl-CoA desaturase 1	ステアリン酸-CoA 不飽和化酵素 1
SD	Sprague-Dawley	Sprague-Dawley
SUV	Small unilamellar vesicles	単層リポソーム
TG	Triglyceride	トリグリセリド
TC	Plasma total cholesterol	血漿中総コレステロール
Triton	Triton WR1339	Triton WR1339
VLDL	Very low-density lipoprotein cholesterol	超低密度リポたん白コレステロール

薬理試験の概要文

1. まとめ

注：ロミタピドの旧称は[redacted]-201038 及びAEGR-733 であるが、本資料中では[redacted]-201038 及びAEGR-733 の代わりに「ロミタピド」の名称を用いる。但し、試験表題を記載する場合には、試験表題に記載されているとおりの名称を表記する。また、ロミタピドの代謝物である[redacted]-203215（M215）、[redacted]-224433（M433）、[redacted]-203304（M304）及び[redacted]-203304-AG（M18）については、本資料中で、それぞれ Aegerion 代謝物番号の M1、M2、M3 及びM18 と記載する。

ロミタピドメシル酸塩(ロミタピド)は､ホモ接合体家族性高コレステロール血症(HoFH)患者に対して食事療法や他の脂質低下治療の補助として投与し、コレステロール及びトリグリセリドを低下させることを目的とした、強力かつ選択性の高い低分子ミクロソームトリグリセリド転送たん白（MTP）阻害剤である。MTP は小胞体内腔に存在する細胞内脂質転送たん白であり、膜間での個々の脂肪分子への結合及び輸送（すなわち脂質合成部位から肝臓や腸管内のアポリポたん白 B［apo B］分子発現部位への輸送）を担っている。このため、MTP を阻害すると、リポたん白の分泌が抑制され、コレステロール及びトリグリセリドを含むリポたん白輸送脂質の血中濃度が低下する。推奨投与開始用量は 1 日 1 回 5 mg、最短 2 週間の経口投与である。用量は最短 4 週間の間隔で 1 日 1 回 10 mg、20 mg、40 mg、最大 60 mg まで増量することができる。本用量漸増法は、個別の患者ごとに有効性を最大にし、かつ胃腸管系の副作用及びトランスアミナーゼ上昇を最小限に抑える至適用量を設定するために設計された。臨床で使用するために、ロミタピドの非臨床薬理プロファイルについて、一連の *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験で検討した（表 1－1）。これらの試験の結果は、ロミタピドで提案されている臨床使用の妥当性を裏付けるものである。特記した場合を除き、すべての非臨床薬理試験において遊離塩基のロミタピドを使用した。

In vitro において、ロミタピドは組換えヒト MTP を介した各種脂質基質の転送を阻害した。トリグリセリド及びコレステロールエステルの転送は同程度阻害され、その 50%阻害濃度（IC_{50}）は約 0.5 nmol/L であった。ロミタピドによるジグリセリド転送阻害作用はわずかに弱かったが（IC_{50} は 1.2 nmol/L）、ホスファチジルコリン（PC）転送阻害作用は弱かった（最大阻害率 18%）。単層リポソーム（SUV）間のトリグリセリド転送を選択的に評価する試験において、ロミタピドはラット、ハムスター及びヒトの MTP を同程度の効力で阻害し、その IC_{50} は 5～7 nmol/L であった。光活性化 MTP 阻害剤との競合結合試験において、ロミタピドによる MTP 阻害は MTP との直接的相互作用によるものであることが示された。HepG2 細胞（MTP の発現、apo B リポたん白の合成及び分泌、

並びにアポリポたん白 AI［apo AI］の発現及び分泌といったヒト肝臓表現型の特徴の多くを保持するヒト肝芽腫細胞）を用いてロミタピドの検討を行ったところ、apo B 分泌に対する IC_{50} は 0.8 nmol/L であった。ロミタピドの apo AI 分泌阻害濃度は apo B 分泌阻害濃度の 8000 倍高かった（チミジンデオキシリボ核酸［DNA］取り込みの阻害により示された細胞毒性に関連すると考えられる）。ロミタピドの 2 つの主要代謝物 M1 及び M3 は、意義のある MTP 阻害の薬理活性を示さなかった。M3 の MTP 阻害作用の IC_{50} 値は 6.3 μmol/L であり、この値はロミタピドの IC_{50} 値の約 400 倍高い。M1 は、300 μmol/L（ロミタピドの IC_{50} 値より約 19,000 倍高い）の濃度まで、MTP に対して有意な作用を示さなかった。

ロミタピドの *in vitro* 活性は、*in vivo* の顕著な脂質低下作用として発現した。絶食下及び摂餌後ラットに、血漿中トリグリセリドの蓄積を誘発する Triton WR1339（Triton）を静脈内投与する前にロミタピドを前投与したところ、Triton により誘発されるトリグリセリド蓄積が抑制された。50%効果用量（ED_{50}）は絶食下及び摂餌後ラットでそれぞれ 0.19 mg/kg 及び 0.15 mg/kg であったことから、肝臓及び腸管のいずれのリポたん白分泌もロミタピドによって阻害されたと考えられる。ラットにロミタピドを単回経口投与したところ、血漿中総コレステロール（TC）及びトリグリセリドの急速な低下が認められた。ラットにロミタピドを 3 日間経口投与したところ、TC が用量依存的に低下した（ED_{50} = 2.5 mg/kg）。ハムスター（有用なヒトリポたん白代謝モデル）においても、ロミタピドはコレステロール低下剤としての有効性を示し、3 週間の投与中の TC 低下作用の ED_{50} 値は、高脂肪飼料群で、1～2.3 mg/kg、標準飼料群では 2.3～4.7 mg/kg であった。超低密度リポたん白コレステロール+低密度リポたん白コレステロール（VLDL + LDL-C）、高密度リポたん白コレステロール（HDL-C）及びトリグリセリドの低下作用は TC 低下作用と対応していた。TC 低下作用の ED_{50} 付近の用量では、VLDL + LDL-C は HDL-C よりも強く影響を受けたが、より高用量では、これらのパラメータの低下は同程度であった。前述したように、ハムスターにおけるコレステロール低下作用は 21 日間（全試験期間）持続し、高脂肪飼料群に対する TC 低下作用の ED_{50} 値は標準飼料群に対する ED_{50} 値よりも低かった。標準飼料、高脂肪飼料を問わず、ハムスターへのロミタピドの 3 週間にわたる投与により、肝臓及び小腸のトリグリセリド濃度が用量依存的に上昇し、最大蓄積は投与 7 日目までに認められた。ロミタピドの最終投与 48 時間後には、肝臓及び小腸のトリグリセリド濃度は、いずれも対照群のレベルまで回復した。標準飼料を与えたサルにおいては、ロミタピドを 2 週間経口投与したときの血漿中 TC、VLDL + LDL-C 及び HDL-C 低下作用の ED_{50} 値は、それぞれ 2.1、2.4 及び 1.9 mg/kg であった。1 週間投与後に血漿中トリグリセリドは有意に低下したが（ED_{50} = 2 mg/kg）、この作用は持続しなかった（対照群において時間の経過とともにト

リグリセリドが著しく低下したことに関連すると考えられた）。サルを用いた別の試験では、血漿中トリグリセリド低下作用は、ロミタピドの投与 10 時間後に明らかに認められたが、投与 24 時間後では認められなかった（トリグリセリドの代謝回転速度が速いことに関連すると考えられる）。高脂肪飼料群にロミタピドを 5 mg/kg の用量で投与したときの血漿中 TC 濃度の変化は、標準飼料群に同用量のロミタピドを投与したときの変化と同程度であった。標準飼料を与えたサルを用いた試験と同様に、血漿中トリグリセリドに対する作用は、対照群においてトリグリセリドが著しく低下したために評価できなかった。血漿中アラニントランスアミナーゼ（ALT）及びアスパラギン酸トランスアミナーゼ（AST）値はわずかに上昇した（対照値の≤3 倍）。

ラットにおいて、ロミタピドは、非常に高用量の 125 及び 250 mg/kg でプロトロンビン時間（PT）及び活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）を延長させたが、ラットへのビタミン K 補充により、この凝固障害は予防された。一連の一般薬理試験において、高用量（経口投与 : ≥10 mg/kg、静脈内投与 : 20 mg/kg）のロミタピドを投与したところ、活動や行動に変化はなく、中枢神経系（CNS）、呼吸系、心血管系、腎臓系及び胃腸管系のパラメータへの影響はわずかにすぎなかった。また、ロミタピドは一連の安全性薬理試験において、受容体／チャネルリガンド結合スクリーニング試験では望ましくない機能活性を示す可能性はほとんどない又は全くないと考えられ、心血管系及び CNS の急性試験（ラットにそれぞれ 150 mg/kg 及び 1～150 mg/kg を経口投与）でも良好な忍容性を示した。ロミタピドはヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）テール電流を阻害したが、その IC_{50} 値の 1.7 μmol/L は、日本人における 60 mg の用量での最高血漿中濃度（C_{max}）と比較して約 40 倍高かった。本試験における代謝物 M1 及び M3 の活性はさらに低く、IC_{50} 値はそれぞれ 135 μmol/L 及び＞300 μmol/L であった。全体として、これらの結果から、ヒトにおいて推奨用量のロミタピドは、検討した *in vitro* 受容体／チャネル及び器官系に関連した望ましくない薬理活性を示す可能性はないと考えられる。

以上、*in vitro* 試験において、ロミタピドは MTP を介したトリグリセリド転送作用及び apo B 含有リポたん白分泌を強力に阻害することが示された。ロミタピドの *in vitro* 活性は、*in vivo* ではラット、ハムスター及びサルにおける非常に効果的な脂質低下作用として示された。MTP 阻害及びこれによる血漿脂質低下により、中性脂肪が肝臓及び小腸内に可逆性に蓄積する。したがって、ロミタピドの主要な薬力学的作用は、MTP 阻害、血漿脂質低下並びに肝臓及び小腸内の中性脂肪蓄積からなる一連の作用である。ロミタピドを投与したサルで血漿中 ALT 及び AST が上昇したが、これらの上昇は対照群の 3 倍未満であった。一連の一般薬理試験及び安全性薬理試験では、ヒトにおいてロミタピドの推奨用量を投与したときに安全性上の重要な問題となる結果は認められなかった。

結論として、これらの非臨床薬理試験プログラムの結果は、提案されているロミタピドの HoFH 患者への使用の妥当性を裏付けるものである。

表 1－1　非臨床薬理試験一覧

Type of Study	Study Title (Study Number)	Test System	Method of Admin	Form
Primary Pharmacodynamics				
In vitro	Mechanism of inhibition of microsomal triglyceride transfer protein inhibition by [redacted]-201038 ([redacted]-Apr[redacted]a)	SUV-lipid transport; SUV and HepG2 cells- binding to MTP	N/A	lomitapide free base
In vitro	Effects of the microsomal triglyceride transfer protein inhibitor [redacted]-201038 on lipoprotein secretion from HepG2 cells ([redacted]-Dec[redacted]a)	SUV	N/A	lomitapide free base
In vitro	The inhibition of rat, hamster, and human MTP by [redacted]-201038 ([redacted]-Mar[redacted]a)	HepG2 cells	N/A	lomitapide free base
In vitro	Evaluation of lomitapide, [redacted]-203215, and [redacted]-203304 for microsomal triglyceride transfer protein inhibition using fluorescent-labeled triglyceride transfer assay kit (AEGR-733PC0024)	Vesicles	N/A	lomitapide mesylate
In vivo	The acute efficacy of [redacted]-201038 in the rat triton model of VLDL secretion ([redacted]-Jan[redacted]a)	Sprague-Dawley (SD) rat	Oral and IV	lomitapide free base
In vivo	The effect of 3-day oral treatment with [redacted]-201038, a potent MTP inhibitor, on rat plasma cholesterol ([redacted]-Apr[redacted]b)	SD rat	Oral	lomitapide free base
In vivo	The effect of 3-day oral treatment with [redacted]-201038, a potent MTP inhibitor, on hamster plasma cholesterol ([redacted]-Jan[redacted]b)	Syrian golden hamster	Oral	lomitapide free base
In vivo	Three-week treatment of hamsters with [redacted]-201038: effect on plasma and tissue lipids ([redacted]-Feb[redacted]a)	Syrian golden hamster	Oral	lomitapide free base
In vivo	Reversibility of hepatic and intestinal triglyceride accumulation in [redacted]-201038 treated hamsters ([redacted]-Apr[redacted]c)	Syrian golden hamster	Oral	lomitapide free base
In vivo	The effects of [redacted]-201038 on plasma cholesterol, lipoprotein cholesterol, plasma triglyceride concentrations, liver enzymes, creatine kinase, and body weight in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) ([redacted]-Oct[redacted]a)	Cynomolgus monkey	Oral	lomitapide free base
In vivo	The effect of [redacted]-201038 on plasma triglyceride concentrations, evaluated 10 and 24 hours after 7 days of treatment in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) ([redacted]-Nov[redacted]a)	Cynomolgus monkey	Oral	lomitapide free base
In vivo	The effects of [redacted]-201038 on plasma cholesterol, lipoprotein cholesterol, plasma triglyceride concentrations, liver enzymes, creatine kinase, and body weight in the hyperlipidemic cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) ([redacted]-Oct[redacted]b)	Cynomolgus monkey	Oral	lomitapide free base
Secondary Pharmacodynamics				

Type of Study	Study Title (Study Number)	Test System	Method of Admin	Form
In vivo	Treatment of rats with high doses of [redacted]-201038: effect of vitamin K supplementation on altered clotting times ([redacted]-May[redacted]c)	SD rat	Oral	lomitapide free base
In vivo	Using preclinical models to explore the mechanism of HDL lowering and the potential for amelioration of steatosis with MTP inhibition (AEGR-733PC0010)	Wild type mouse and various genetically modified models (e.g., DGAT1 -/-, SCD1 -/-, LAHB)	Oral	lomitapide mesylate
In vivo/ in vitro	[redacted]-201038 general pharmacology ([redacted]-Nov[redacted]a)	CD-1 Mouse, SD Rat, Beagle Dog/JW Rabbit, Hartley Guinea Pig Ileum	Oral and IV (dog)	lomitapide mesylate
Safety Pharmacology				
In vitro	Lomitapide (also known as AEGR-733 and [redacted]-201038), [redacted]-203215, and [redacted]-203304: effects on hERG tail current recorded from stably transfected HEK293 cells (AEGR-733PC0019)	HEK293 cells stably transfected with hERG cDNA	N/A	lomitapide mesylate
In vitro/ *in vivo*	Safety pharmacology ([redacted]-May[redacted]b)	Receptors, ion channel binding sites/SD Rat	Oral	lomitapide free base
In vivo	AEGR-733: effects on gross behavioural and physiological status in Sprague Dawley rats using the Irwin test (AEGR-733PC0017)	SD rat	Oral[a]	lomitapide mesylate
Pharmacodynamics Drug Interactions				
N/A				

[a] Irwin 1968 *Psychopharmacologia*

2. 効力を裏付ける試験

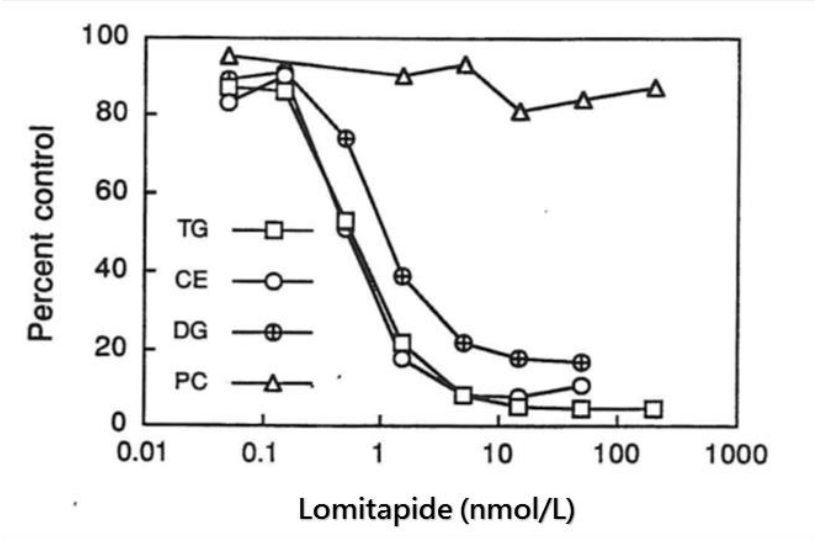
2.1 [redacted]-201038（MTP 阻害剤）の阻害機序（報告書番号[redacted]-Apr[redacted]a, M4.2.1.1-1）

本試験ではロミタピドが MTP の脂質転送活性を阻害する機序について、MTP 活性（脂質転送の評価）及び脂質結合に対するロミタピドの作用を評価するアッセイを用いて検討した。本試験ではロミタピド遊離塩基を用いた。

MTP 活性アッセイでは、ドナー側の SUV からアクセプター側の膜への脂質転送を測定した。本脂質転送アッセイ系には、ドナー側の膜（卵 PC、カルジオリピン、[^{14}C]標識基質及びごく微量の[^{3}H]ジパルミトイル PC）、アクセプター側の膜（卵 PC）、ウシ血清アルブミン（脂肪酸非含有）並びに各濃度のロミタピドを添加した。アッセイは MTP の添加によって反応を開始させた。反応終了後に、ドナー側の SUV をペレット化し、上清の放射能を測定して脂質転送量を定量した。さらに、ロミタピドの MTP 阻害様式を調べるために、MTP に結合する光活性化アナログ（PA）を用いた競合結合試験で、本薬の MTP への結合を検討した。また、別の PA を用いた競合結合試験では、HepG2 細胞の小胞体（ER）内腔へのロミタピドの到達能を検討した。脂質結合アッセイでは、脂質の MTP への結合に対するロミタピドによる阻害を測定した。MTP を各濃度のロミタピド存在下でドナー側の SUV とともにインキュベートした。トリグリセリドの MTP 結合量を、放射能及びたん白濃度の測定により定量化した。

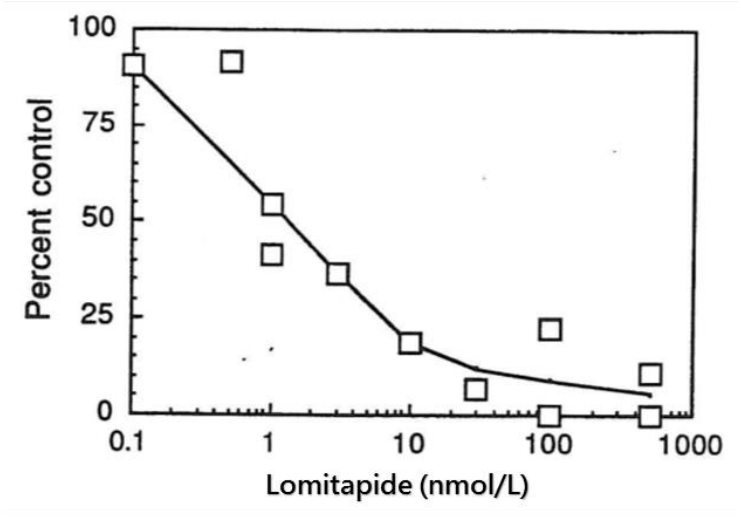
ロミタピドは、中性脂質の転送を濃度依存的に阻害した（図 2－1）。トリグリセリド、コレステロールエステル又はジグリセリドの転送に対する IC_{50} は、それぞれ 0.5、0.55 又は 1.2 nmol/L であった。このことから、すべての中性脂質の転送がトリグリセリド転送と同様の様式でロミタピドによって阻害されることが示された。一方、ロミタピドの PC 転送に対する阻害作用は弱かった（PC 転送に対する最大阻害率は 18%にすぎなかった）。ロミタピドは、PA の MTP への結合を濃度依存的に阻害したことから、ロミタピドは MTP（MTP 複合体の 97 kDa サブユニット）に直接結合すること、また、ロミタピドは HepG2 細胞の ER 内腔に到達することが示された。ロミタピド存在下で、HepG2 細胞からの apo B 分泌に対する阻害作用の IC_{50} は 0.8 nmol/L であり、ヒト MTP のトリグリセリド転送に対する阻害作用の IC_{50}（0.5 nmol/L）と同程度であった。脂質結合アッセイの結果から、ロミタピドはトリグリセリドの MTP 結合量を濃度依存的に低下させることが示され、その IC_{50} は 1.2 nmol/L（前述のトリグリセリドの MTP への結合に対する阻害作用の IC_{50} と同程度）であった（図 2－2）。

図 2－1　ロミタピドによるヒト MTP の阻害



0.25 mol%の[^{14}C]トリグリセリド（TG）、[^{14}C]コレステロールエステル（CE）、[^{14}C]ジグリセリド（DG）又は[^{14}C]ホスファチジルコリン（PC）で調製したドナー側の単層リポソームを用いて、各濃度のロミタピド存在下での MTP の脂質転送活性を測定した。

図 2－2　ロミタピド存在下でのトリグリセリドの MTP への結合に対する阻害



2.5 mol%の[^{14}C]トリグリセリド及び 5 μg の MTP を含有するドナー側のリポソームを 0～500 nmol/L のロミタピド存在下で室温で 2 時間インキュベートした。

2.2 HepG2 細胞からのリポたん白分泌に対する[redacted]-201038（MTP 阻害剤）の作用（報告書番号[redacted]-Dec[redacted]a, M4.2.1.1-2）

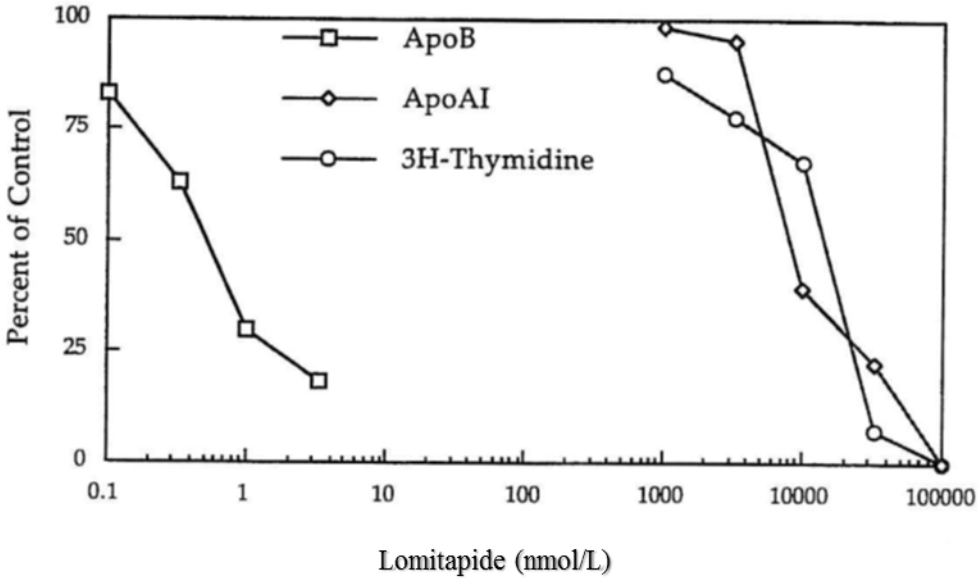
本試験では、ロミタピドの MTP 選択的阻害による apo B リポたん白分泌阻害能をヒト肝臓の細胞培養モデル（HepG2 細胞）を用いて *in situ* で検討した。また、細胞毒性につい

ては、[^{3}H]チミジン取り込みアッセイを用いて検討した。本試験ではロミタピド遊離塩基を用いた。

apo B 分泌試験では、HepG2 細胞を培地中で各濃度のロミタピドと 16 時間インキュベートし、apo B 及び apo AI（陰性対照たん白）の蓄積を酵素結合免疫吸着測定（ELISA）法を用いて測定した。[^{3}H]チミジン取り込みアッセイでは、HepG2 細胞を各濃度のロミタピドと 16 時間インキュベートした後､沈殿物中の放射能濃度を液体シンチレーションカウンターで定量した。

ロミタピドは apo B 分泌を阻害し、その IC_{50} は 0.8 nmol/L であったが、apo AI 分泌に対する IC_{50} は 6.5 μmol/L（apo B に対する IC_{50} の 8000 倍高値）であった（図 2－3）。このことから、ロミタピドは apo B 分泌に対して選択性の高い阻害作用を有することが示された。[^{3}H]チミジン取り込みに対する IC_{50} は 12.4 μmol/L（apo AI 阻害の IC_{50} と同程度）であったことから、本阻害作用は毒性によるものではないことが示された。

図 2－3　HepG2 細胞における apo B 分泌、apo AI 分泌及び[^{3}H]チミジン取り込みに対するロミタピドの作用



2.3 ラット、ハムスター及びヒトの MTP に対する[redacted]-201038 の阻害作用（報告書番号[redacted]-Mar[redacted]a, M4.2.1.1-3）

本試験では、ラット、ハムスター及びヒト由来の肝臓 MTP に対するロミタピドの阻害作用を検討した。本試験ではロミタピド遊離塩基を用いた。

MTP 活性は、ドナー側 SUV とアクセプター側 SUV との間の[^{14}C]トリグリセリド転送量を定量することにより測定した。ドナー側とアクセプター側のリポソームは、[^{3}H]PC 及

び[^{14}C]トリグリセリドを含有する脂質を超音波処理することにより調製した。ドナー側及びアクセプター側のリポソーム、MTP 並びに各濃度のロミタピドを含有する反応試験管を適切な条件下で 1 時間インキュベートした。ドナー側リポソームを遠心分離により沈殿させ、得られた上清中のトリグリセリド／PC（液体シンチレーションカウンターで測定）比の比較によりトリグリセリド転送量を算出した。トリグリセリド転送阻害は、濃度－阻害曲線の直線回帰から算出した。

本試験において、ロミタピドは、ラット、ハムスター及びヒトの MTP に対して同程度の効力を示し、IC_{50} 値は、それぞれ 0.005、0.007 及び 0.005 μmol/L であった。

2.4 蛍光標識トリグリセリド転送アッセイキットを用いたロミタピド（AEGR-733）、[redacted]-203215 及び[redacted]-203304 の MTP 阻害作用の検討（報告書番号 AEGR-733PC0024, M4.2.1.1-4）

本試験では、ロミタピド並びにその主要代謝物 M1 及び M3 の MTP 阻害作用を検討した。本試験ではロミタピドメシル酸塩を用いた。

蛍光マイクロタイタープレートにリポソームを水、緩衝液、各濃度の各被験物質及び MTP とともに添加し、30 分間インキュベートした後に転送蛍光量を測定した。被験物質が MTP を阻害した場合には、対照条件下と比較して転送蛍光量は低下した。

ロミタピド存在下では、1 nmol/L の濃度から転送蛍光量が低下し、この低下は 0.1～1 μmol/L の間で最大に達した。10 μmol/L では、リポソームの不安定化が観察された。トリグリセリド転送阻害の IC_{50} 値は 15.5 nmol/L であった。M3 存在下では、0.3 μmol/L から転送蛍光量が低下し、30 μmol/L で最大低下に達した。トリグリセリド転送に対する IC_{50} は 6.3 μmol/L であった。一方、M1 は 300 μmol/L の濃度までトリグリセリド転送に対する作用を示さず、このため IC_{50} 値は算出しなかった。

2.5 Triton モデルラットにおける VLDL 分泌に対する[redacted]-201038 の急性有効性（報告書番号[redacted]-Jan[redacted]a, M4.2.1.1-5）

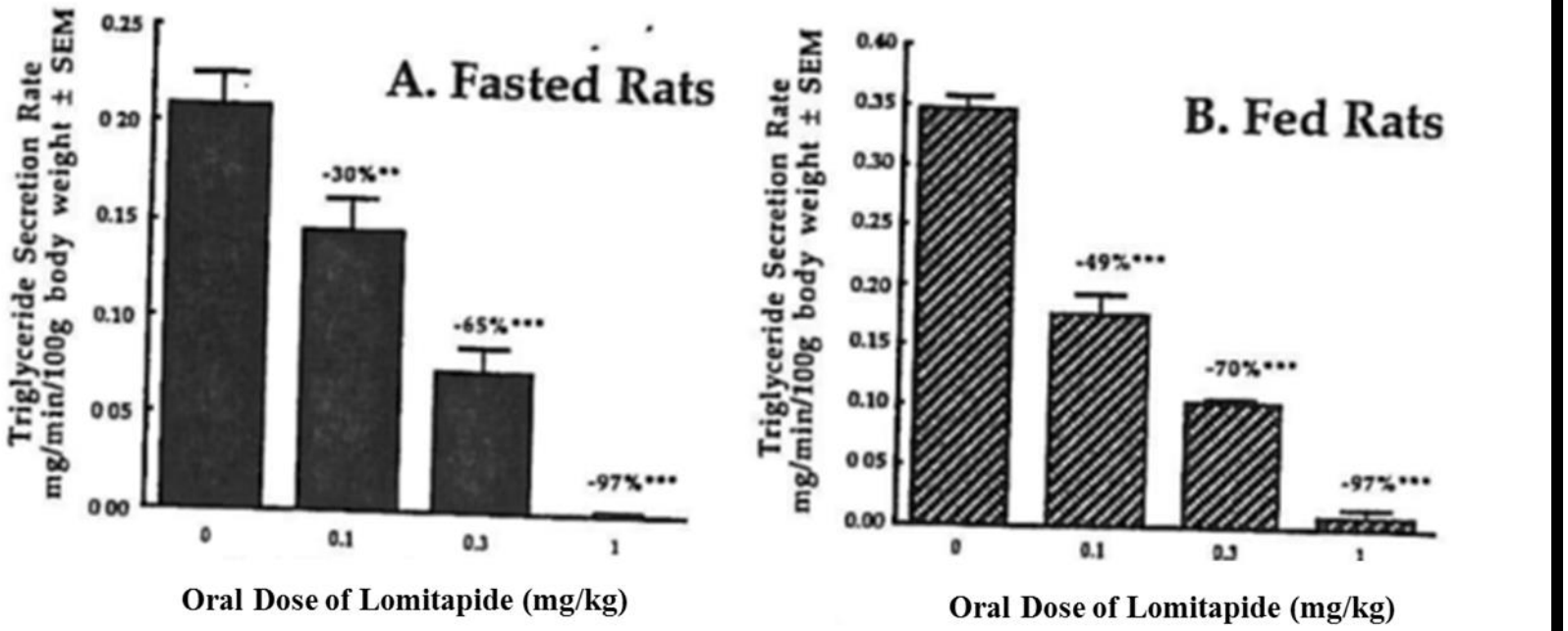
本試験は、ラットにロミタピドを経口及び静脈内投与したときの MTP 阻害の有無を検討することを目的とした。本試験ではロミタピド遊離塩基を用いた。

Sprague-Dawley（SD）ラット（体重 200 g）に、Triton の単回静脈内投与と同時又は 1 時間前にロミタピドを 0、0.1、0.3 及び 1 mg/kg の用量で静脈内投与又は経口投与した。Triton は、血漿中トリグリセリドリッチリポたん白のクリアランスを阻害する非イオン性界面活性剤である。肝臓及び腸管のリポたん白分泌に対するロミタピドの作用を検討するために、それぞれ絶食下及び摂餌後ラットを用いた。リポたん白分泌速度は、Triton 投与

（単独及びロミタピドとの併用）後 2.5 時間の血漿中トリグリセリド蓄積量を算出することにより測定した。

Triton 投与により血漿中トリグリセリドが時間依存的に蓄積した。絶食下ラットへのロミタピドの前投与（経口）により、Triton 誘発性の血漿中トリグリセリド蓄積が抑制され、その ED_{50} は 0.19 mg/kg であった（図 2－4）。このように絶食下ラットにおける有効性により、肝臓のリポたん白分泌の阻害が示された。絶食下ラットにロミタピドを静脈内投与したときの ED_{50} は 0.15 mg/kg であった。両投与経路で効力が同程度であったことから、ロミタピドが十分吸収されること、及び肝臓でのバイオアベイラビリティが示された。血漿中 ALT 及び AST の上昇は認められなかった。摂餌後ラットにおける有効性も 0.15 mg/kg であったことから、腸管のリポたん白分泌も阻害されることが示された（図 2－4）。これらの結果から、ロミタピドによる MTP 阻害が VLDL-トリグリセリド分泌を阻害する有効な手段であることが示された。

図 2－4　摂餌後及び絶食下ラットにおけるロミタピドのトリグリセリド分泌阻害作用の比較



***P < 0.001
**P < 0.005

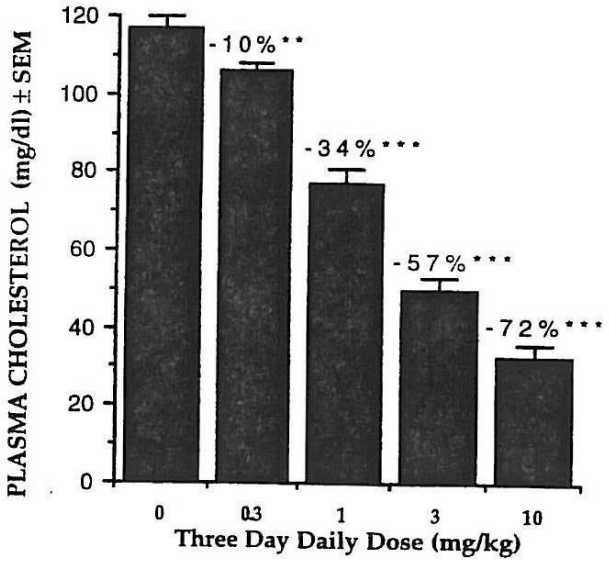
2.6 ラットの血漿中コレステロールに対する[redacted]-201038（強力な MTP 阻害剤）の 3 日間経口投与の作用（報告書番号[redacted]-Apr[redacted]b, M4.2.1.1-6）

本試験は、ラットにロミタピドを 3 日間連日経口投与したときのコレステロール低下作用を検討することを目的とした。本試験ではロミタピド遊離塩基を用いた。

SD ラット（1 群 4 匹）にロミタピドを 0、0.3、1、3 及び 10 mg/kg の用量で 3 日間連日経口投与した。最終投与後に 18 時間絶食し、麻酔下で血漿サンプルを得て、脂質濃度及びトランスアミナーゼ濃度を測定した。

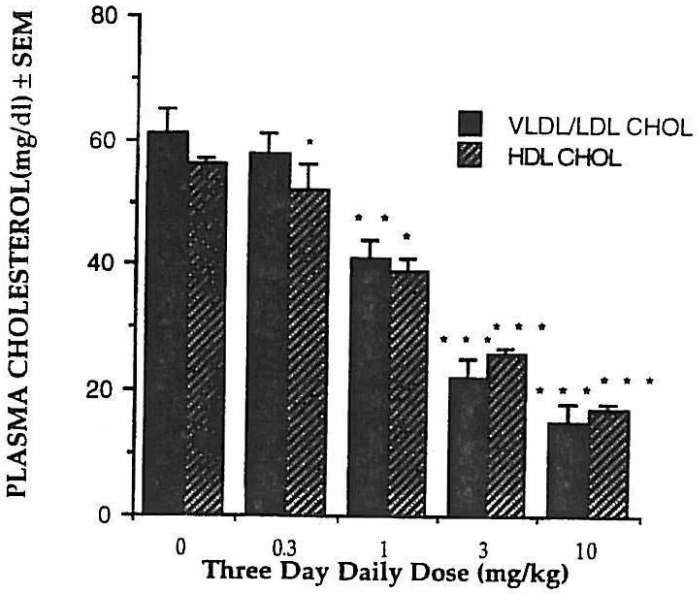
ロミタピドの TC 低下作用の ED_{50} は 2.5 mg/kg であった（図 2－5）。VLDL + LDL-C 及び HDL-C は、すべての用量で同程度低下した（図 2－6）。血漿中トランスアミナーゼの上昇は認められなかった。血漿中トリグリセリドは 3 mg/kg で 36%低下し、10 mg/kg で 63%低下した。

図 2－5　ラットの総コレステロールに対するロミタピドの作用



*P < 0.5
**P < 0.05
***P < 0.005

図 2－6　ラットのリポたん白コレステロールに対するロミタピドの作用



*$P < 0.5$
**$P < 0.05$
***$P < 0.005$

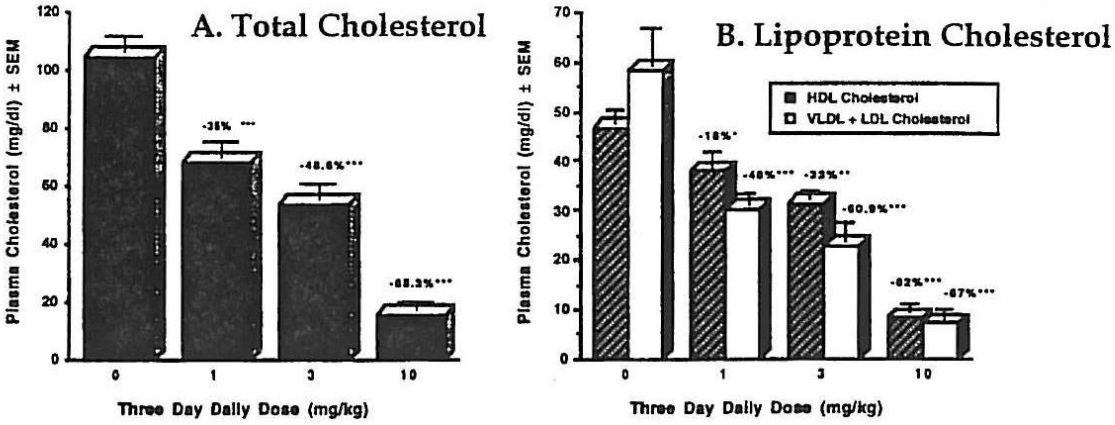
2.7 ハムスターの血漿中コレステロールに対する[redacted]-201038（強力な MTP 阻害剤）の 3 日間経口投与による作用（報告書番号[redacted]-Jan[redacted]b, M4.2.1.1-7）

本試験は、ハムスターにロミタピドを 3 日間連日経口投与したときのコレステロール低下作用を検討することを目的とした。ハムスターは有用なヒトリポたん白代謝モデルであることが報告されている。本試験ではロミタピド遊離塩基を用いた。

ゴールデンシリアンハムスター（1 群 4 又は 5 匹）に、ロミタピドを 1、3 及び 10 mg/kg の用量で 3 日間連日経口投与した。最終投与後に 18 時間絶食し、麻酔下で血漿サンプルを得て、脂質及びトランスアミナーゼの血漿中濃度を測定した。

TC 低下作用の ED_{50} は 2 mg/kg であった（図 2－7）。VLDL + LDL-C 及び HDL-C も、すべての用量で有意に低下したが、HDL-C に対する作用は VLDL + LDL-C に対する作用よりも弱かった（図 2－7）。ロミタピド投与群の血漿中 ALT の上昇は認められなかったが、ロミタピド投与群の血漿中 AST は、対照群と比較して 10 mg/kg でわずかではあるが有意に上昇し（1.7 倍）、血漿中トリグリセリドは、対照群と比較して 10 mg/kg で 26%低下した。

図 2－7　ハムスターのリポたん白コレステロールに対するロミタピドの作用



*P < 0.5
**P < 0.05
***P < 0.005

2.8 ハムスターにおける[redacted]-201038 の 3 週間投与：血漿及び組織中脂肪に対する作用（報告書番号[redacted]-Feb[redacted]a, M4.2.1.1-8）

本試験は､ハムスターにロミタピドを最長 3 週間､連日経口投与したときのコレステロール低下作用を検討することを目的とした。本試験ではロミタピド遊離塩基を用いた。

標準飼料を与えたゴールデンシリアンハムスター（1 群 4 又は 5 匹）にロミタピドを 1、3 及び 6 mg/kg の用量で最長 3 週間、連日経口投与した。高脂肪飼料を与えた 1 群 4 匹又は 5 匹からなる別の群にもロミタピドのこれらの用量を投与した。1、2 及び 3 週間投与後に動物を 18 時間絶食し、脂質及び血漿生化学検査用の血漿サンプルを採取した。また、3 週間投与後には、肝臓及び小腸の剖検及び病理組織学的検査を行った。

高脂肪飼料に馴化させたハムスターは、5 日後に安定した高脂血症状態となった。血漿中 TC 及び VLDL + LDL-C は、いずれの飼料で維持したハムスターにおいても用量依存的に低下したが（図 2－8、血漿中 TC データ）、1 mg/kg での作用は、標準飼料群への 7 日間投与後（TC）及び 14 日間投与後（VLDL + LDL-C）並びに高脂肪飼料群への 21 日間投与後では有意ではなかった。脂質パラメータに対する ED_{50} 値は、14 及び 21 日間投与後と比較して 7 日間投与後の方が低かったが、コレステロール低下作用は、3 週間の投与の間維持された。また、高脂肪飼料群における 7 日間投与後の TC 低下の ED_{50}（1 mg/kg）は、標準飼料群における ED_{50}（2.3 mg/kg）よりも低く、この差は 14 日間投与後（標準飼料群：4.4 mg/kg、高脂肪飼料群：1.8 mg/kg）及び 21 日間投与後（標準飼料群：4.7 mg/kg、高脂肪飼料群：2.3 mg/kg）も維持された。7 日間投与後に、HDL-C は

すべての用量で有意に低下したが、以降は標準飼料群の 6 mg/kg のみで有意に低下した（1 及び 3 mg/kg での値は対照値と同程度であった）。本パラメータの低下は、高脂肪飼料群の方が明らかな一貫性を示した。血漿中トリグリセリドはいずれの飼料群においてもすべての用量で 7 日間投与後に有意に低下した（標準飼料群及び高脂肪飼料群でそれぞれ対照群に対して 8%～49%及び 55%～80%低下）。標準飼料群では、21 日間投与後にトリグリセリドに対する有意な作用はみられなかった。高脂肪飼料群では、7 日間投与後以降にトリグリセリドの顕著な低下（28%～69%）が認められたが、概して有意ではなかった。

1 及び 3 週間投与後に、血漿中 ALT 及び AST を含む一連の血液生化学的検査パラメータ並びに体重における有意な変化は、いずれの投与群でもみられなかった。肝臓及び小腸の病理組織学的検査では、いずれの飼料群においても、投与 7、14 及び 21 日目に、ロミタピドの 3 及び 6 mg/kg の用量で用量依存的な脂質性の空胞化の増加がみられ、1 mg/kg では脂質性の空胞化が散発的にみられた（表 2－1 及び表 2－2）。標準飼料群の脂質性の空胞化は肝臓と小腸で概して同程度であったが、高脂肪飼料群では肝臓よりも小腸の脂質性の空胞化の方が概して大きかった。最大作用は、概して 7 日間投与後に認められ、それ以降は脂質蓄積症の安定又は低下がみられ、脂質蓄積症の経時的な増大を示す結果はみられなかった。肝臓及び小腸において、脂質性の空胞化がみられたことと一致してトリグリセリド蓄積も認められた。いずれの飼料群でも、この蓄積は 3 及び 6 mg/kg で最も顕著であり、また、肝臓よりも小腸の方が大きかった（表 2－3）。いずれの組織でも、投与 7 日目と投与 14 及び 21 日目との間でトリグリセリド濃度に意義のある差はないと考えられたが、小腸のトリグリセリド濃度は、標準飼料群の 3 及び 6 mg/kg 並びに高脂肪飼料群の 6 mg/kg で、投与 14 又は 21 日目の方が低値となる傾向を示した。投与 7 日目の小腸のトリグリセリド濃度（対照値と比較した増加倍数）は、高脂肪飼料群よりも標準飼料群の方が高かったが、この差は概して経時的に減少した。肝臓のトリグリセリド濃度（対照値と比較した増加倍数）は、いずれの飼料群でも、すべての測定時点で概して同程度であった。

図 2－8　ロミタピドのコレステロール低下作用

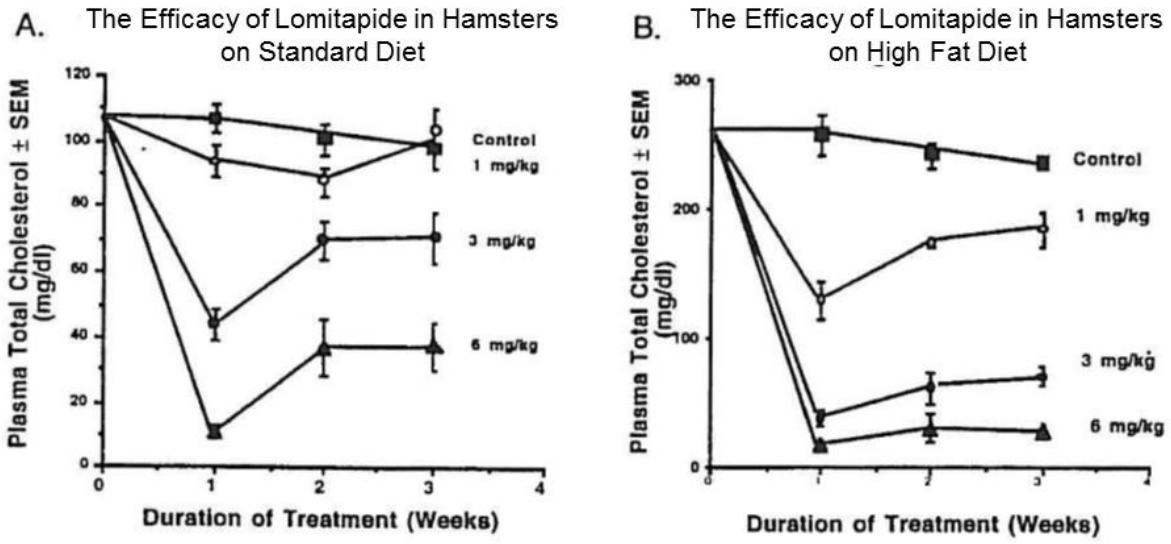


表 2－1　標準飼料ハムスターにロミタピドを投与したときの病理組織学的検査及び剖検の組織スコア [1]

Treatment (mg/kg)	7 Days		14 Days		21 Days	
	Micro Score	Macro Score	Micro Score	Macro Score	Micro Score	Macro Score
Liver						
Vehicle	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06 ± 0.06
1	0.00	0.80 ± 0.14	0.25	0.31 ± 0.11	0.00	0.25 ± 0.25
3	1.00	1.60 ± 0.24	0.50	1.90 ± 0.13	0.25	1.00 ± 0.00
6	3.25	2.10 ± 0.43	1.50	2.10 ± 0.13	1.50	0.50 ± 0.50
Small Intestine						
Vehicle	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.31 ± 0.21
1	0.50	0.12 ± 0.07	0.00	0.38 ± 0.23	0.00	1.00 ± 1.00
3	1.50	1.30 ± 0.42	0.33	2.80 ± 0.25	0.00	2.00 ± 0.00
6	2.75	2.60 ± 0.13	1.25	4.00 ± 0.00	1.00	3.00 ± 0.40

[1]　解剖時に肝臓及び小腸を肉眼的に観察した。肝臓は 1)テクスチャー：平滑からオレンジの皮様の穴の空いた表面、2)色調：正常の栗色から淡い褐色、3)パターン：網目の観察されないものから境界の明確な 6 角形の輪郭、小腸は 1)色調：半透明のピンク色から不透明の白色、2)厚さ：非常に薄いものから充血した厚みのあるものを評価し、組織ごとに正常の 0 から重篤な異常の 4 から 5 にスコア付けした。

表 2－2　高脂肪飼料ハムスターにロミタピドを投与したときの病理組織学的検査及び剖検の組織スコア [1]

Treatment (mg/kg)	7 Days		14 Days		21 Days	
	Micro Score	Macro Score	Micro Score	Macro Score	Micro Score	Macro Score
Liver						
Vehicle	0.00	4.00 ± 0.40	0.00	2.30 ± 0.47	0.00	2.75 ± 0.25
1	0.75	2.50 ± 0.50	0.00	0.00 ± 0.00	0.25	0.50 ± 0.50
3	1.25	1.90 ± 0.43	2.00	2.30 ± 0.30	1.00	0.33 ± 0.33
6	2.00	3.30 ± 0.48	2.00	2.50 ± 0.50	1.00	2.00 ± 1.00
Small Intestine						
Vehicle	0.00	2.00 ± 0.41	0.00	1.00 ± 0.41	0.00	0.50 ± 0.29
1	1.00	2.60 ± 0.38	0.33	1.60 ± 0.33	0.00	1.75 ± 0.25
3	2.25	3.80 ± 0.25	1.00	4.00 ± 0.00	1.33	3.30 ± 0.33
6	3.00	5.00 ± 0.00	2.50	5.00 ± 0.00	2.00	4.00 ± 0.00

[1] 解剖時に肝臓及び小腸を肉眼的に観察した。肝臓は 1)テクスチャー：平滑からオレンジの皮様の穴の空いた表面、2)色調：正常の栗色から淡い褐色、3)パターン：網目の観察されないものから境界の明確な 6 角形の輪郭、小腸は 1)色調：半透明のピンク色から不透明の白色、2)厚さ：非常に薄いものから充血した厚みのあるものを評価し、組織ごとに正常の 0 から重篤な異常の 4 から 5 にスコア付けした。

表 2－3　標準飼料又は高脂肪飼料ハムスターにロミタピドを 3 週間投与したときの肝臓及び小腸のトリグリセリド濃度（mg/g tissue）

Treatment (mg/kg)	7 Days		14 Days		21 Days	
	Liver	Small Intestine	Liver	Small Intestine	Liver	Small Intestine
Standard Diet						
Vehicle	9.1 ± 0.6	10.7 ± 1.0	8.0 ± 0.4	10.0 ± 0.6	9.0 ± 0.5	13.0 ± 0.7
1	11.0 ± 0.3	43.0 ± 1.8	11.0 ± 1.1	43.0 ± 4.5	11.0 ± 1.5	38.0 ± 2.2
3	18.0 ± 1.8	64.0 ± 4.0	12.0 ± 0.8	50.0 ± 4.3	23.0 ± 3.5	55.0 ± 7.6
6	24.0 ± 0.4	70.0 ± 11.3	19.0 ± 3.4	52.0 ± 7.7	19.0 ± 1.0	50.0 ± 3.9
High-Fat Diet						
Vehicle	14.0 ± 1.5	21.0 ± 2.0	10.0 ± 0.40	13.0 ± 1.9	15.0 ± 0.6	18.0 ± 2.2
1	17.0 ± 2.0	35.0 ± 2.80	20.0 ± 1.2	26.0 ± 1.9	17.0 ± 3.0	43.0 ± 2.9
3	22.0 ± 3.1	69.0 ± 10.9	27.0 ± 3.1	56.0 ± 1.8	25.0 ± 4.8	66.0 ± 12.5
6	32.0 ± 13.0	76.0 ± 16.2	31.0 ± 1.6	71.0 ± 8.7	36.0 ± 3.9	60.0 ± 6.2

2.9 [redacted]-201038 を投与したハムスターにおける肝臓及び小腸のトリグリセリド蓄積の回復性（報告書番号[redacted]-Apr[redacted]c, M4.2.1.1-9）

本試験は、ロミタピドを経口投与したハムスターの肝臓及び小腸における脂肪蓄積の回復性について検討することを目的とした。本試験ではロミタピド遊離塩基を用いた。

ゴールデンシリアンハムスター（1 群 4 匹）にロミタピドを 0 又は 10 mg/kg の用量で最長 7 日間、連日経口投与した。投与 3、5 及び 7 日目の投与後に 18 時間絶食し、血漿脂質濃度及び血漿生化学検査値を測定した。3 及び 7 日間投与後には肝臓及び小腸の切片も得て、トリグリセリド濃度の測定に供した。これらの評価は、投与終了後 1 週間の期間においても実施した。

ロミタピド投与群の TC 及びトリグリセリドの血漿中濃度は、投与期間中、対照群と比較して 85%以上低下した。最終投与 24 時間後でも血漿中 TC 濃度は低下していたが、最終投与 48 時間後には投与前値まで回復した。血漿中トリグリセリドは同様のパターンを示したが、最終投与 48 時間後の濃度のみは対照群よりも高く、対照群のレベルへの回復がみられたのは最終投与 72 時間後であった。肝臓及び小腸のトリグリセリド濃度は、投与開始後急速に上昇し、投与期間終了時までに対照群と比較してそれぞれ 3 倍及び 4 倍の上昇を示した。これらの濃度は最終投与 24 時間後も持続していたが、最終投与 48 時間後には対照群のレベルまで回復し、急速かつ完全な回復性が示された。

2.10 カニクイザル（*Macaca fascicularis*）の血漿中コレステロール、リポたん白コレステロール、血漿中トリグリセリド濃度、肝酵素、クレアチンキナーゼ及び体重に対する[redacted]-201038 の作用（報告書番号[redacted]-Oct[redacted]a, M4.2.1.1-10）

本試験は、雄カニクイザルの血漿中 TC、VLDL + LDL-C、HDL-C 及びトリグリセリド、血漿生化学検査値（クレアチンキナーゼ及びトランスアミナーゼを含む）、糞便中脂肪、摂餌量、並びに体重に対するロミタピドの作用を検討することを目的とした。本試験ではロミタピド遊離塩基を用いた。

ロミタピドは、50%エタノール／水を用いて 0、1.25、2.5 又は 5.0 mg/kg の用量で 1 日 1 回強制経口投与した。サル（体重 3.2～3.4 kg）は各用量で 5 匹とした。投与 0 日目、並びに 7 及び 14 日間投与後の血漿サンプルを評価した。なお、血液サンプルの採取前には動物を 16 時間絶食した。糞便サンプルは、投与 12 日目から投与 14 日目にかけて回収し（対照群及び 5.0 mg/kg 群）、総糞便中脂肪酸、遊離脂肪酸及び中性脂肪を分別して糞便中脂肪量を定量した。糞便サンプル回収には代謝ケージを使用しなかった。

7 日間投与後の血漿中 TC、VLDL + LDL-C 及び HDL-C は、用量依存的に有意に低下した。薬物投与群における血漿中 TC、VLDL + LDL-C 及び HDL-C の低下（対照群及び薬

物投与群の投与前値からの正味の変化率の和として算出）の範囲は、1.25 mg/kg でのそれぞれ約 35%、30%及び 41%から 5.0 mg/kg でのそれぞれ約 81%、73%及び 89%に及んだ。TC は対照群に比し用量依存的に低下し、その ED_{50} は 2.1 mg/kg であった。血漿中トリグリセリド濃度も用量依存的に低下した（1.25、2.5 及び 5.0 mg/kg でそれぞれ約 43%、72%及び 95%）。血漿中 ALT 及び AST はすべての用量で有意に上昇したが、対照群の値の 3.3 倍未満（ALT）及び 1.7 倍未満（AST）の上昇であった（絶対値に基づく）。血漿クレアチンキナーゼ及び体重には有意な変化はみられなかった。

14 日間投与後においても、血漿中 TC、VLDL + LDL-C 及び HDL-C は用量依存的に有意に低下した。血漿中 TC、VLDL + LDL-C 及び HDL-C の低下の範囲は、1.25 mg/kg でのそれぞれ約 31%、28%及び 33%から 5.0 mg/kg でのそれぞれ約 75%、71%及び 78%に及んだ。投与 7 日目と比較して、血漿中トリグリセリドの有意な変化はみられなかった。血漿中 ALT は 2.5 及び 5.0 mg/kg 投与群で有意に上昇したが、対照群の 2.9 倍未満の上昇であった（絶対値に基づく）。血漿中 AST も 5.0 mg/kg 投与群で有意に上昇したが、対照群の 1.7 倍未満の上昇であった（絶対値に基づく）。血漿クレアチンキナーゼ及び体重には有意な変化はみられなかった。糞便中脂肪測定では、ロミタピド投与群の飼料中脂肪酸の糞便中排泄率が対照群と比較して有意に増加した（ロミタピド 5.0 mg/kg 投与群 31%及び対照群 12%）が、糞便採取には代謝ケージを使用しなかったため、これらの値の正確性は不明である。

2.11 カニクイザル（*Macaca fascicularis*）に 7 日間投与後 10 及び 24 時間の血漿中トリグリセリド濃度に対する[redacted]-201038 の作用（報告書番号[redacted]-Nov[redacted]a, M4.2.1.1-11）

本試験は、雄カニクイザルにロミタピドを経口投与したときの血漿脂質の経時的変化を検討することを目的とした。先に実施した試験では、対照群のトリグリセリド濃度の変化及びおそらく血漿サンプルの採取時期と考えられる様々な影響が示された。また、サルを用いた薬物動態（PK）試験では、ロミタピドを 15 mg/kg の用量で単回投与したとき、投与 12 時間後と 24 時間後との間で血漿中ロミタピド濃度が約 3 分の 1 に低下することが示された。本試験ではロミタピド遊離塩基を用いた。

カニクイザルにロミタピドを 50%エタノール／水を用いて 0、2.5 又は 5.0 mg/kg の用量で 1 日 1 回、7 日間経口投与した。サルは 1 群 7 匹とした。最終投与 10 及び 24 時間後に血漿サンプルを得て、TC、VLDL + LDL-C、HDL-C、ALT 値及び AST 値の測定に供した。最終投与 10 時間後のサンプル採取前の 6 時間及び最終投与 24 時間後のサンプル採取前の 18 時間、動物を絶食した。

最終投与 10 時間後の評価時の動物は食後状態であったことが、対照群の血漿中トリグリセリド濃度が上昇していたことから示された。しかし、ロミタピドは、2.5 及び 5.0 mg/kg で血漿中トリグリセリド濃度をそれぞれ約 153%及び 171%有意に低下させた（対照群及び薬物投与群の投与前値からの正味の変化率の和として算出）（図 2－9）。血漿中 TC、VLDL + LDL-C 及び HDL-C も用量依存的に有意に低下した（対照値と比較して 2.5 mg/kg で約 55%、57%及び 54%、5.0 mg/kg では約 67%、66%及び 70%）（図 2－10、血漿中 TC）。血漿中 ALT 及び AST の有意で用量依存的な上昇も認められたが、対照群の 2 倍未満の上昇であった（絶対値に基づく）。血漿クレアチンキナーゼ及び体重には有意な変化はみられなかった。

最終投与 24 時間後の評価時では、ロミタピドのいずれの用量でもトリグリセリドの有意な低下はみられなかった。血漿中 TC、VLDL + LDL-C 及び HDL-C は、用量依存的に有意に低下した（対照値と比較して 2.5 mg/kg で約 49%、42%及び 57%、5.0 mg/kg では約 63%、53%及び 74%）。血漿中 ALT 及び AST の有意で用量依存的な上昇も認められたが、対照群の 2 倍未満の上昇であった（絶対値に基づく）。血漿クレアチンキナーゼ及び体重には有意な変化はみられなかった。

以上のように、ロミタピドは食後の血漿中トリグリセリド上昇を妨げると考えられたが、ロミタピドのトリグリセリドに対する作用は、血漿中リポたん白に対する作用に比べて一過性である。これらの結果は、トリグリセリドの代謝回転速度はコレステロールよりも速いことと一致し、また、サルにおけるロミタピドの血漿中 PK とも一致している。

図 2－9　ロミタピドを 7 日間連日強制経口投与したときの最終投与 10 及び 24 時間後に測定した血漿中トリグリセリド濃度に対する作用

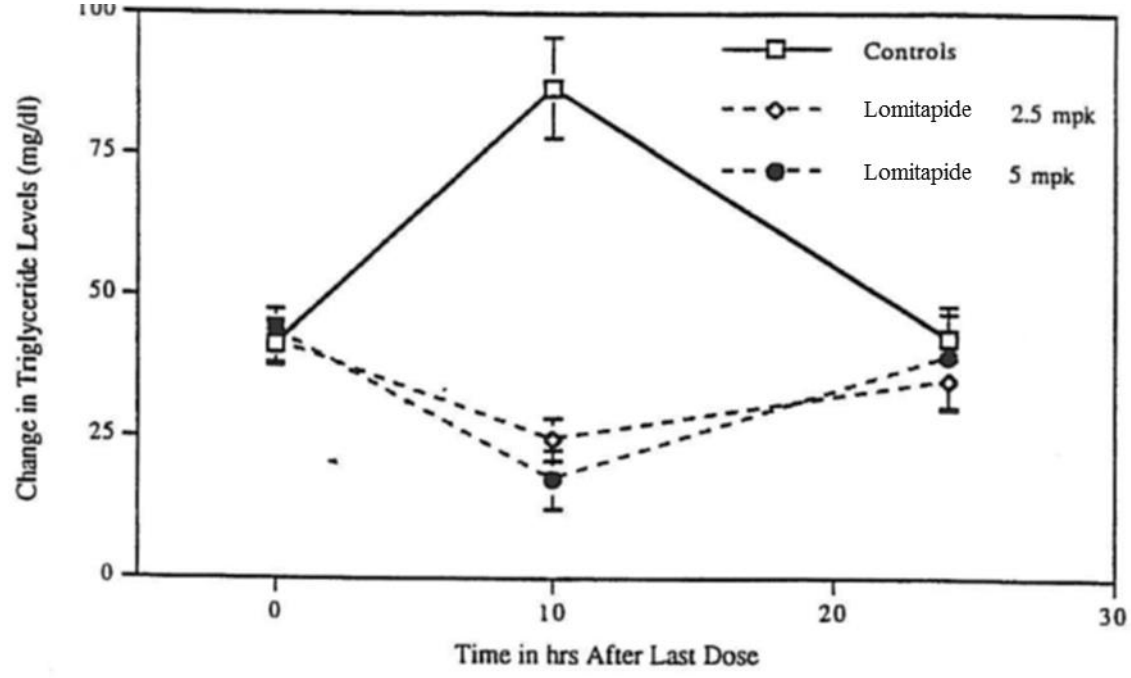
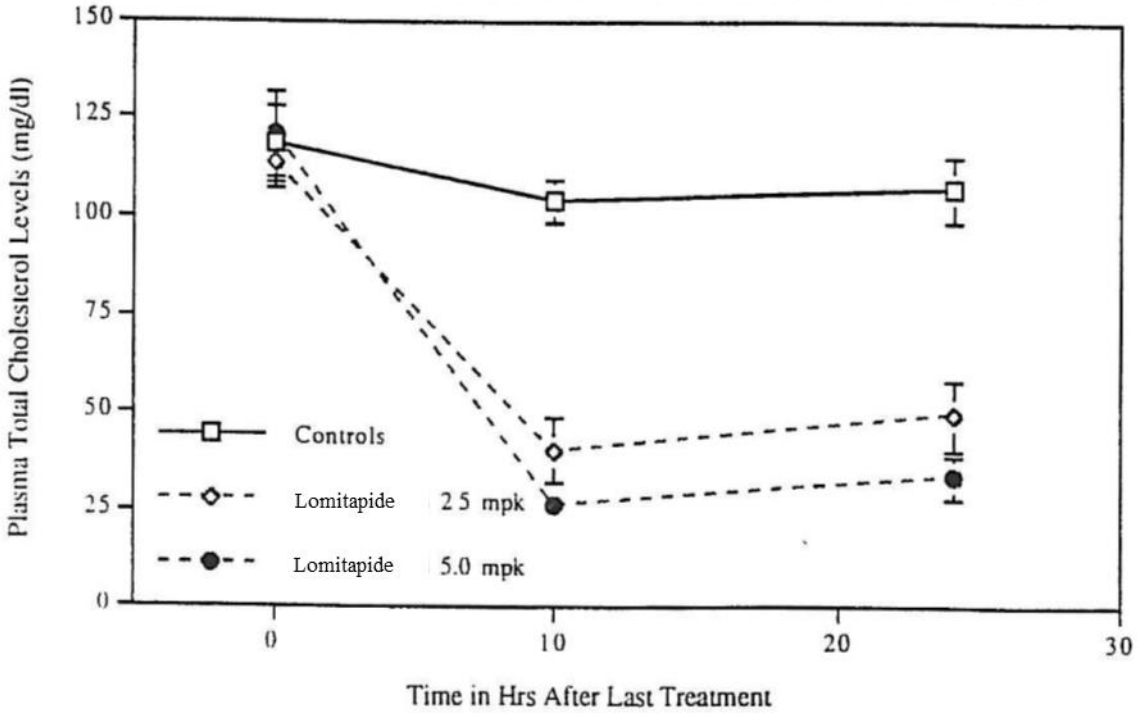


図 2－10　ロミタピドを 7 日間連日強制経口投与したときの最終投与 10 及び 24 時間後に測定した血漿中総コレステロール濃度に対する作用



2.12 高脂血症カニクイザル（*Macaca fascicularis*）の血漿中コレステロール、リポたん白コレステロール、血漿中トリグリセリド、肝酵素、クレアチンキナーゼ及び体重に対する[redacted]-201038 の作用（報告書番号[redacted]-Oct[redacted]b, M4.2.1.1-12）

本試験は、高脂血症カニクイザルの血漿中 TC、VLDL + LDL-C、HDL-C 及びトリグリセリド、血漿生化学検査値（クレアチンキナーゼ及びトランスアミナーゼを含む）、糞便中脂肪、摂餌量並びに体重に対するロミタピドの作用を検討することを目的とした。本試験ではロミタピド遊離塩基を用いた。

サル（体重 3～3.4 kg）に高脂肪及び高コレステロール飼料（0.1%コレステロール、脂肪量として 36% kcal）を 4 週間与えた後、ロミタピドを 0 又は 5 mg/kg の用量で 14 日間経口投与した（1 群 5 匹とした）。本薬は 50%エタノール／水を用いて調製した。7 及び 14 日間投与後に動物の絶食下での血漿中 TC、VLDL + LDL、HDL-C、トリグリセリド、ALT 及び AST を測定し、14 日間投与後には他の血漿生化学検査値も測定した。糞便サンプルは、投与 12 日目から投与 14 日目にかけて回収し（対照群及び薬物投与群）、総糞便中脂肪酸、遊離脂肪酸及び中性脂肪を分別して糞便中脂肪量を定量した（糞便サンプル回収には代謝ケージを使用しなかった）。

7 日間投与後のロミタピド投与群の血漿中 TC、VLDL + LDL-C 及び HDL-C は、対照群と比較して有意に低下した（それぞれ約 77%、86%及び 60%；対照群及びロミタピド投与群の投与前値からの正味の変化率の和として算出）。血漿中トリグリセリドには有意な変化はみられなかった。ロミタピド投与群の血漿中 ALT 及び AST は有意に上昇したが、対照群の 2.3 倍以下の上昇であった（絶対値に基づく）。血漿クレアチンキナーゼには有意な変化はみられなかった。

14 日間投与後のロミタピド投与群の血漿中 TC、VLDL + LDL-C 及び HDL-C は、対照群と比較して有意に低下した（それぞれ約 82%、89%及び 70%）。血漿中トリグリセリドには有意な変化はみられなかった。ロミタピド投与群の血漿中 ALT 及び AST は有意に上昇したが、対照群の 3 倍以下の上昇であった（絶対値に基づく）。血漿クレアチンキナーゼ及び体重には有意な変化はみられなかった。糞便中脂肪測定では、対照値と比較して 24 時間の総糞便中脂肪酸（0.2 g に対して 0.8 g）及び 24 時間の糞便中脂肪酸排泄率（1.5%に対して 5.4%）の増加がみられた。しかし、例数が少なく、個体ごとの飼料中脂肪消費量を正確に推定することが困難であったために、これらの増加は有意ではなかった。また、薬物投与群のうち 2 匹は、試験 10 日目に下痢となり、試験期間中、軟便が持続した。なお、糞便採取には代謝ケージを使用しなかったため、測定値の正確性については不明である。

3. 副次的薬理試験

3.1 ラットへの高用量の[redacted]-201038 の投与：凝固時間の変化に対するビタミン K 補充の効果（報告書番号[redacted]-May[redacted]c, M4.2.1.2-1）

本試験は、ラットへのロミタピド投与によって生じる凝固障害及び体重増加量に及ぼす毒性作用をビタミンKの補充により予防できるか否かについて検討することを目的とした。本試験ではロミタピド遊離塩基を用いた。

SD ラット（体重 210 g、1 群 4～5 匹）にビタミン K 補充下又は非補充下でロミタピドを 0、125 及び 250 mg/kg の用量で 2 週間投与した。これらはラットにおけるコレステロール低下作用の ED_{50}（2.5 mg/kg、[redacted]-Apr[redacted]b）よりも非常に高い用量である。ロミタピドの投与開始 2 日前にビタミン K（200 µg/kg）を経口投与し、投与期間中は、ビタミン K を 100 µg/kg の用量で皮下投与した。投与 14 日目に一晩絶食した後、PT、APTT、並びに TC、トリグリセリド、ALT、AST、クレアチンキナーゼ及び乳酸の血漿中濃度を測定した。また、組織の剖検も実施した。

ビタミン K 補充下及び非補充下でロミタピドを投与したラットは、いずれの用量でも投与期間中に体重が増加せず、試験後期には体重減少を示した。また、ビタミン K 非補充下の 250 mg/kg 投与群の 1 匹が死亡した。ビタミン K 非補充下ラットの PT は、対照群の 17 秒に対して、125 及び 250 mg/kg 投与群でそれぞれ 28 秒及び 46 秒であった。同様に、APTT は、対照群で 22 秒、125 及び 250 mg/kg 投与群でそれぞれ 56 秒及び 76 秒であった。ビタミン K の補充により、PT 及び APTT の延長が予防された。ビタミン K 非補充下ラットにおいて凝固障害がみられたことと一致して、ヘマトクリットも 125 及び 250 mg/kg 投与群でそれぞれ 34%及び 44%低下した。ビタミン K 補充下ラットにおいても対照群と比較してヘマトクリットが低下（125 及び 250 mg/kg 投与群でそれぞれ 18%及び 28%）したが、ビタミン K 非補充下ラットにおける低下よりも小さい低下であった。本試験でロミタピド投与群の血漿中 TC 及びトリグリセリドが対照群に比して低下したが、ラットにおける強い TC 低下作用（[redacted]-Apr[redacted]b、ED_{50} = 2.5 mg/kg）から予想されるほど顕著ではなかった。この差の原因は不明であるが、これらの用量は、重要なラット毒性試験で検討した用量の 3～5 倍高かったことに留意することが重要である。本試験で認められた他の影響は、250 mg/kg 投与群で血漿中乳酸の上昇（対照群の＜2 倍）、両投与群での血漿中 ALT の上昇（対照群の＜3 倍）などであった。また、肝臓及び小腸において、両投与群で脂肪蓄積を示す明らかな組織の白色性変化及び構造変化に基づく脂質蓄積症が認められた。ビタミン K 非補充下ラットではロミタピドの両投与群で胸膜腔

が鮮桃色の外観を呈し、また、軽度の出血が高頻度でみられたが(凝固障害と一致する)、ビタミン K 補充下ラットではこれらの変化はみられなかった。

3.2 非臨床モデルを用いた HDL 低下作用の機序及び MTP 阻害に伴う脂肪肝の改善についての検討（報告書番号 AEGR-733PC0010, M4.2.1.2-2）

本試験では、野生型及び各種遺伝子改変マウスモデル(DGAT1 -/-、DGAT1 +/-、SCD1 -/-、SCD1 +/-、LAHB［LDLR +/-apobec -/-hapoBtsg］、並びにヒト apo AI 及び CETP を遺伝子導入した LAHB など）を用いて、ロミタピドによる MTP 阻害が HDL-C を低下させる機序を検討するとともに、肝臓のトリグリセリド合成の抑制、肝脂肪酸酸化の促進、肝臓への脂肪酸流入の抑制又はコレステロール吸収の阻害がロミタピドの MTP 阻害に伴う脂肪肝を改善するか否かを検討した。本試験ではロミタピドメシル酸塩を用いた。

野生型及び遺伝子改変マウスに、ロミタピドを 1 mg/kg の用量で 4 日間、連日経口投与し、血漿脂質パラメータ（特に HDL-C）に対するロミタピドの作用が変化するか否かについて確認した。本用量は、野生型マウスにロミタピドを 0.25～3 mg/kg の用量で 4 日間投与した予備試験の結果に基づいて選択した。また、野生型及び遺伝子改変マウスに、フェノフィブラート（脂肪酸酸化を促進する）、ニコチン酸（脂肪組織から肝臓への脂肪酸流入を抑制する）及びエゼチミブ（コレステロール吸収を阻害する）のような他の薬物、並びに魚油含有飼料と併用してロミタピドを同一の用法用量で投与し、ロミタピドにより誘発される脂肪肝に対する作用を検討した。

DGAT2 が触媒するトリグリセリド合成の阻害（SCD1 のノックアウトによる）及び魚油栄養補給は、ロミタピドにより誘発される脂肪肝を改善することが示されたが、DGAT1 阻害、肝臓への脂肪酸流入の低下及びコレステロール吸収の阻害では改善はみられなかった。フェノフィブラートとロミタピドの併用により、LAHB マウス（野生型マウスより脂質レベルが高いヒト化マウスモデル）の脂肪肝が軽減された。ロミタピドによる HDL-C 低下に対しては、いずれの治療方法も意義のある作用を示さなかった。

3.3 [redacted]-201038 の一般薬理作用（報告書番号[redacted]-Nov[redacted]a, M4.2.1.2-3）

一連の一般薬理試験において、マウス及びラットの活動及び行動、マウス、ラット又はイヌの CNS、呼吸系、心血管系、腎臓系及び胃腸管系の各種機能、並びに摘出回腸に及ぼすロミタピドの影響を検討した。本試験ではロミタピドメシル酸塩を用いた。

雄 CD-1 マウス（5 週齢、体重 19～24 g）にロミタピドを 0、10、30 及び 100 mg/kg の用量で経口投与したときの影響を、一般的な活動及び行動（Irwin パラメータ［Irwin, 1968 *Psychopharmacologia*］）、自発運動量、催眠作用、電撃ショック誘発性痙攣反応、ペン

テトラゾール誘発性痙攣反応、酢酸誘発痛覚反応並びに胃腸管輸送能の試験で検討した。また、雄 SD ラット（7 週齢、体重 180～200 g）にロミタピドを 0、3、10、30 及び 100 mg/kg（1 群 10 匹）の用量で経口投与したときの影響を、一般的な活動及び行動（Irwin パラメータ［Irwin, 1968 *Psychopharmacologia*］）の試験で検討した。雄 SD ラット（7 週齢、体重 180～210 g）にロミタピドを 0、10、30 及び 100 mg/kg（1 群 8 匹）の用量で経口投与したときの体温への影響並びに雄 SD ラット（7 週齢、体重 180～200 g）にロミタピドを 0、10、30 及び 100 mg/kg（1 群 8 匹）の用量で経口投与したときの尿検査値への影響を検討した。さらに、麻酔下の雄ビーグル犬（8～10 ヵ月齢、体重 10～11 kg）にロミタピドを 0、0.8、1.8、4 及び 20 mg/kg（1 群 3 匹）の用量で静脈内投与し、薬物投与後 1 時間にわたり、呼吸、大腿動脈圧、大腿動脈血流量、心拍数及び心電図のパラメータについて検討した。*In vitro* 試験では、Hartley モルモット及び日本白色種ウサギから回腸を得て、自発運動（ウサギ）及びアゴニスト誘発性収縮（モルモット）に及ぼす影響を $0～6 \times 10^{-5}$ mg/mL の範囲の濃度で検討した。アゴニストはアセチルコリン、ヒスタミン、セロトニン及び塩化バリウムとした。経口投与では、ロミタピドを 75%ポリエチレングリコール（PEG）に溶解して薬液を調製した。静脈内投与液は、60% N,N-ジメチルホルムアミドを媒体とした。これらの試験ではロミタピドを使用し、すべて、遊離塩基としての用量及び濃度を示す。

マウス及びラットの一般的活動及び行動において薬物に関連する変化はみられなかった。摘出ウサギ回腸の自発運動及び摘出モルモット回腸のアゴニスト誘発性収縮に及ぼす影響はみられなかった。マウスの CNS 評価では、催眠、痙攣及び抗痙攣活性に及ぼす影響は認められなかった。しかし、一過性であるが有意な自発運動量の減少が≥10 mg/kg（10 及び 100 mg/kg で投与 225～240 分後、30 mg/kg では投与 105～240 分後）で認められた。酢酸誘発痛覚反応の有意な低下が≥30 mg/kg で認められた。ラットの体温への影響は認められなかった。また、マウスの胃腸管運動は 100 mg/kg 投与群で有意に抑制された（対照群の通過率 53%に対して 2.6%）。10 及び 30 mg/kg 投与群では胃腸管運動に及ぼす影響はみられなかった。ラットにロミタピドを 10、30 及び 100 mg/kg の用量で経口投与したときには、すべての用量で有意なナトリウム排泄低下（対照群の≤約 40%低値）及びカリウム排泄低下（対照群の≤約 45%低値）が認められ、30 及び 100 mg/kg では有意な尿量減少がみられた（対照値のそれぞれ約 20%及び 50%低値）。これらの動物の血漿中ロミタピド濃度は測定していないため、ヒトの治療用量での薬物濃度（C_{max}）での影響と比較することはできない。しかし、マウスに 10、30 及び 100 mg/kg のロミタピドを投与したときの血漿中ロミタピド濃度は、アロメトリックスケーリングで調整した臨床の最大用量でのロミタピド濃度の 1 倍、3 倍及び 10 倍を超えていた。イヌでは、ロミタピ

ドを 20 mg/kg の用量で静脈内投与したときに、一過性であるが有意な影響として、呼吸数増加（投与 15～60 分後に対照群の＜2 倍）、平均血圧低下（約 30%、投与 1 分後のみ）、拡張期血圧低下（≤約 40%、投与 1 及び 5 分後のみ）、心拍数減少（約 20%、投与 15 分後のみ）、大腿動脈血流量減少（約 35%、投与 1 分後のみ）、及び心電図 T 波振幅の増加（投与 1 分後のみ）などがみられた。イヌに 20 mg/kg を静脈内投与したとき、アロメトリックスケーリングで調整した臨床の最大用量でのロミタピド濃度の 13 倍の血漿中濃度を示した。0.8、1.8 及び 4 mg/kg の用量を静脈内投与したときには、いずれの影響も認められなかった。

結論として、ロミタピドは活動及び行動の変化を誘発せず、CNS、呼吸系、心血管系、腎臓系及び胃腸管系のパラメータに対しては高用量（経口投与試験では mg/kg 換算でヒト最高用量 60 mg の≥10 倍）で検討したときに軽度又は一過性の影響がみられたにすぎなかった。これらの結果から、ヒトにおいて、ロミタピドは推奨用量で、検討した器官系に関連した望ましくない薬理活性を示す可能性はないと考えられる。

3.4 各種受容体及びチャネルスクリーニング試験（報告書番号[redacted]-May[redacted]b, M4.2.1.3-3）

本試験は、31 種類の受容体及びチャネルへの特異的放射性リガンドの結合に対するロミタピドの拮抗作用について *in vitro* で検討することを目的とした。

In vitro で検討した 31 種類の標的のうち、放射性リガンド結合阻害の程度が著しかったのは、セロトニン 5-HT1 受容体、セロトニン 5-HT2 受容体、非選択的シグマ受容体及び 2 型ナトリウムチャネルの 4 種類のみであった。セロトニン 5-HT1 受容体、セロトニン 5-HT2 受容体、シグマ受容体に対するロミタピドの IC_{50} 値は 3 μmol/L であったことから、これらの 3 種類の受容体への結合と比較して、MTP 阻害に対する選択性が 6000 倍であることが示された。また、ロミタピドにより[^{3}H]バトラコトキシニンの 2 型ナトリウムチャネルへの結合が阻害されたが、その IC_{50} 値は 0.3 μmol/L（MTP 活性阻害に対する選択性は 600 倍）であった。追加試験を実施して、ロミタピド存在下でのこれらの結合部位の機能的活性を検討した。シグマ結合部位については、モルモット輸精管の電気刺激誘発性収縮試験で検討した結果、ロミタピドはシグマ受容体に対して機能的拮抗作用を有することが示された。対照的に、別の *in vitro* 生物試験の結果、ロミタピドによるセロトニン 5-HT2 及び 2 型ナトリウムチャネルの結合部位でのリガンド置換は受容体の機能的作動・拮抗作用に関連しないと考えられた。

これらの結果からロミタピドは、推奨用量を投与したヒトにおいて、検討した受容体／チャネルに関連した望ましくない薬理活性を示す可能性はないと考えられる。

4. 安全性薬理試験

4.1 ロミタピド（別名 AEGR-733 及び[redacted]-201038）、[redacted]-203215 及び[redacted]-203304：安定的に遺伝子導入した HEK293 細胞で記録される hERG テール電流に及ぼす影響（報告書番号 AEGR-733PC0019, M4.2.1.3-1）

本試験は、ロミタピド並びにその主要代謝物 M1 及び M3 の hERG チャネル電流（カリウムチャネル［IKr］）、心臓の急速活性型遅延整流カリウム電流）に対する *in vitro* での影響を検討することを目的とした。本試験ではロミタピドメシル酸塩を用い、ロミタピド遊離塩基濃度として 3 μmol/L（約 2100 ng/mL）の濃度まで検討した。また、M1 及び M3 は 300 μmol/L（それぞれ約 105 及び 113 μg/mL）の濃度まで検討した。

ロミタピドの hERG 阻害作用の IC_{50} 値は 1.7 μmol/L（約 1200 ng/mL、60 mg での日本人の C_{max} の約 40 倍）であった。また、代謝物 M1 の IC_{50} 値は 135 μmol/L、代謝物 M3 の IC_{50} 値は＞300 μmol/L であった。

結論として、これらの結果から、ロミタピドを投与したヒトにおいて心室再分極遅延は安全性の問題とはならないと考えられる。この結論は、ヒトにおけるロミタピドの綿密な QT 評価試験で心室再分極に対する有害作用が認められなかったことからも裏付けられている（M2.7.2.5. 表 9 参照）。

4.2 安全性薬理試験（報告書番号[redacted]-May[redacted]b, M4.2.1.3-3）

本試験では、SD ラット（8～9 週齢、体重 270～300 g）の一般行動及び心血管系に及ぼすロミタピドの影響を検討した。本試験ではロミタピド遊離塩基を用いた。

一般行動に及ぼす影響を検討する試験では、1 群 8 匹のラットに媒体又はロミタピドを 150 mg/kg の用量で経口投与した。媒体は M-pyrol、水、クレモホール®及びエタノール（10：80：5：5）とした。投与 1 時間後に、オープンフィールド内での一般的活動を 10 分間測定した。本観察期間中に、立ち上がり回数、身づくろい行動、異食（床敷きの咀嚼）の発現を記録した。一般的活動の観察直後に、協調運動、全身平衡、上体抵抗性及び感覚刺激反応性を評価した。これらの試験終了後にラットを約 2 時間休息させ、2 回目の一般的活動の観察を行った。ロミタピドの急性心血管系作用は正常血圧ラットを用いて検討した。1 群 5 匹のラットにロミタピドを 150 mg/kg の用量で単回経口投与するか又は同容量の媒体（M-pyrol、水、クレモホール®）を単回経口投与した。腹大動脈に慢性的に挿入したカニューレを用いて、1、4 及び 24 時間後に心拍数及び平均動脈血圧を直接測定した。

一般行動試験では、すべての動物の試験中の行動及び反応は正常であった。薬物に関連した行動変化は認められなかった。心血管系試験の結果、平均動脈血圧に対する有意な影響はみられず、24 時間後の心拍数が対照値と比較して軽度減少（18%）したにすぎなかった。

結論として、ラットを用いた心血管系及び CNS の急性試験では、ヒト最高用量の約 150 倍高い用量で良好な忍容性を示した。これらのラットにおける血漿中薬物濃度は測定していないが、投与した用量はアロメトリックスケーリングで調整した臨床の最大用量の約 30 倍である。これらの結果から、ヒトにおいて、ロミタピドは推奨用量で、検討した器官系に関連した望ましくない薬理活性を示す可能性はないと考えられる。

4.3 AEGR-733：Irwin 試験による Sprague-Dawley ラットの一般行動及び生理的状態に及ぼす影響（報告書番号 AEGR-733PC0017, M4.2.1.3-2）

本試験は、ラットの一般行動及び生理的状態に及ぼすロミタピドの影響を検討することを目的とした。本試験ではロミタピドメシル酸塩を用いた。

1 群 6 匹の雌 SD ラット（体重 170 g）にロミタピド 0、1、30 及び 100 mg/kg 又はクロルプロマジン 10 mg/kg（陽性対照）を単回経口投与した。ロミタピドの媒体は 75% PEG-400 とした。各ラットの投与 1、4、8 又は 24 時間後に、Irwin 試験（Irwin, 1968 *Psychopharmacologia*）で示されているパラメータを系統的に検討した。

媒体対照群で軟便又は下痢、頭部及び顔面周囲の赤色の汚れ、並びに異常な身づくろい（全般的な異常）が観察された。軟便又は下痢、頭部及び顔面周囲の赤色の汚れ、並びに異常な身づくろいの同様の結果が、ロミタピドのすべての用量で観察された。媒体対照群とロミタピド投与群で同様の所見が認められたことから、これらの所見は媒体に対する反応である考えられた。ロミタピド投与群では CNS に対する影響の徴候はみられなかった。本試験での媒体による影響は、75% PEG-400 の投与容量（14.3 mL/kg）が、前述のロミタピドの一般薬理試験（[redacted]-Nov[redacted]a）で使用した投与容量（10 mL/kg）よりも多かったことに関連すると考えられた。薬物に関連した CNS に及ぼす影響がみられなかったことは、前述の試験（[redacted]-Nov[redacted]a）と一致している。

クロルプロマジン投与群では、既知の薬理活性と一致する、行動及び生理的状態に及ぼす影響（運動量低下、カタレプシー、警戒性低下など）がみられた。クロルプロマジン投与群（10 mg/kg）のラットは、顕著な嗜眠のために投与 8 時間後の時点で屠殺した。

結論として、ラットにロミタピドを 1、30 又は 100 mg/kg の用量で経口投与したとき（血漿中薬物濃度は、アロメトリックスケーリングで調整した臨床の最大用量の 0.2、6 及び 20 倍を示した）に、CNS に対する毒性作用はみられなかった。

5. 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的相互作用は、一連のヒト薬物動態相互作用試験（M2.7.2、2.6 項）の一部として実施した。薬力学作用の指標（例えば LDL-C 及び他のリポたん白）は全ての臨床試験においてルーチン的に取得した。申請者はヒトにおいてこのようなデータを取得することがより適切であると考え、薬力学的相互作用の非臨床評価では非臨床開発における動物の使用に関する 3R ルール（Reduce、Refine、Replace）（ICH M3 (R2) *Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals*、2009 年 6 月）に適合し、動物の不必要な使用を回避した。

6. 考察及び結論

ロミタピドの HoFH 患者での使用を支持するために、一連の *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験でロミタピドの薬理作用を検討した。

MTP は、肝臓及び小腸における apo B 含有リポたん白の合成に必要である。MTP は、個々の脂質分子に結合して、脂質合成部位から apo B 分子発現部位へ輸送する（Atzel, 1993 *Biochemistry*）。脂質転送が不十分な場合は、発現過程の apo B はタンパク分解により消失し、リポたん白分泌が阻害される。MTP 活性を阻害すると、肝臓の VLDL 分泌及び小腸のカイロミクロン分泌が抑制され、その結果として、コレステロール及びトリグリセリドなどのリポたん白含有脂質が低下する。

In vitro 試験の結果から、ロミタピドが MTP に直接結合することが明らかに示された。この作用により、MTP への脂質の結合が妨げられることで脂質転送が阻害される。ロミタピドのトリグリセリド及びコレステロールエステル転送に対する阻害作用の IC_{50} 値は、約 0.5 nmol/L であった。ロミタピドは、ラット、ハムスター及びヒトの MTP によるトリグリセリド転送を強力に阻害した（IC_{50} 値は 5～7 nmol/L）。さらに、ロミタピドの効力を HepG2 細胞で確認したところ、apo B 分泌に対する IC_{50} は 0.8 nmol/L であった。したがって、MTP へのロミタピドの結合により、最終的には、トリグリセリド及びコレステロールを全身へ輸送するリポたん白の生成及び分泌が阻害される。代謝物 M1 及び M3 が薬理活性を有するか否かについて主に検討するために実施した別の *in vitro* MTP 阻害試験では、トリグリセリド転送阻害の IC_{50} 値は、ロミタピドで 15.5 nmol/L、M1 では 6.3 μmol/L であった。M3 は、300 μmol/L の濃度まで有意な阻害作用を示さなかった。したがって、代謝物 M1 及び M3 は、ヒトにおいてロミタピドの治療濃度で脂質低下作用を示さないと結論できる。

ロミタピドの *in vitro* 活性は、ラット、ハムスター及びサルの *in vivo* 試験において示された。

ラットの Triton モデルにおいて、ロミタピドの血漿中トリグリセリド蓄積抑制作用の ED_{50} 値は、絶食下及び摂餌後ラットでそれぞれ 0.19 mg/kg 及び 0.15 mg/kg であり、同程度の値であったことから、ロミタピドは肝臓及び小腸からのいずれのトリグリセリド分泌に対しても有効に阻害することが示された。正常ラットにロミタピドを 3 日間連日投与したときの、TC 低下作用の ED_{50} は 2.5 mg/kg であった。VLDL + LDL-C 及び HDL-C も同様に低下したが、これらのコレステロールパラメータに対する低下作用と比較してトリグリセリドに対する低下作用は弱かった。

ハムスターは、1) 肝臓のコレステロール合成量がヒトと同程度である（Spady, 1988 *J Clin Invest*）、2) LDL 分画中における血漿中コレステロールの比率が大きい（Ohtani, 1990 *J Lipid Res*）、3) 肝臓により分泌される VLDL-C には apo B100 のみが含まれ、ヒトと同様である（Liu, 1991 *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*）、4) LDL-C が食餌性脂肪に反応して上昇する（Woollett, 1992 *J Lipid Res*）などの理由から、有用なヒトリポたん白代謝モデルであることが報告されているため、本げっ歯類を用いた試験も実施した。

標準飼料を与えたハムスターにロミタピドを 1、3 及び 10 mg/kg の用量で 3 日間投与したときの TC 低下作用の ED_{50} は 2 mg/kg（ラットにおける ED_{50} と同程度）であった。これと比較し、ロバスタチン及びアトルバスタチンのハムスターにおける TC 低下作用の ED_{50} 値は＞100 mg/kg（経口）である。VLDL + LDL-C 及び HDL-C もすべての用量で有意に低下したが、トリグリセリドに対して有意な低下がみられたのは 10 mg/kg のみであった。

ハムスターにロミタピドを 1、3 及び 6 mg/kg の用量で 3 週間投与した試験では、投与後 1 週間の血漿中 TC、VLDL + LDL-C 及び HDL-C は、標準飼料及び高脂肪飼料で維持したいずれのハムスターにおいても用量依存的に有意に低下した。3 及び 6 mg/kg（標準飼料群の 3 mg/kg での HDL-C を除く）では、これらのパラメータの有意な低下が、試験期間中、持続していた。1 mg/kg では、高脂肪飼料群で投与後 2 週間にすべてのパラメータが有意に低下したが、標準飼料群では投与後 2 週間に有意に低下したパラメータは VLDL + LDL-C のみであった。

最大のコレステロール低下作用は投与後 7 日に認められ、高脂肪飼料群における低下の方が大きかった（ED_{50} 値は標準飼料群：2.3 mg/kg、高脂肪飼料群：1 mg/kg）。ED_{50} 値は、試験中に徐々に増加したが、標準飼料群（投与後 14 及び 21 日でそれぞれ 4.4 及び 4.7 mg/kg）よりも高脂肪飼料群（投与後 14 及び 21 日でそれぞれ 1.8 及び 2.3 mg/kg）の方が常に低値であった。標準飼料群と比較して、高脂肪飼料群の ED_{50} 値は約 2 分の 1 であったことから、本薬は高コレステロール血症状態で最も強い効力を示すことが示唆された。両飼料群で、血漿中トリグリセリドはすべての用量で投与後 7 日に有意に低下したが、その低下の程度は VLDL + LDL-C 低下の程度よりも小さく、また、標準飼料群よりも高脂肪飼料群の方が顕著であった。標準飼料群では、投与後 21 日にトリグリセリドに対する有意な作用はみられなかった。高脂肪飼料群では、トリグリセリド低下作用が経時的に顕著となったが、その変化は必ずしも有意ではなかった。コレステロール低下作用による影響として、両飼料群の肝臓及び小腸に脂質性の空胞化がみられ、この変化は、投与後 7 日に最大となり（最大コレステロール低下時間）、7 日以降は安定又は

減弱したことから、脂質蓄積症の経時的な増強を示す結果はみられなかった。肝臓及び小腸のトリグリセリド蓄積は、脂質性の空胞化の程度に一致して、投与後 7 日に概して最大となり、7 日以降は安定又は減弱した。これらの結果から、ヒトにおいてこれら組織の脂質性の空胞化がロミタピドの反復投与により増大し続けることはないと考えられる。重要なこととして、ハムスターの肝臓及び小腸における脂質蓄積症及びトリグリセリド蓄積は、ロミタピドの投与中止後 48～72 時間で回復することが示された。

標準飼料を与え、ロミタピドを最高 5 mg/kg の用量で 2 週間投与したサルの TC に対する有効性は、標準飼料を与えたラット及びハムスターの TC に対する有効性と同程度であった（サル、ラット及びハムスターにおける ED_{50} 値はそれぞれ 2.1、2.5 及び 2 mg/kg）。ロミタピドを 5 mg/kg の用量（本用量のみ検討）で投与した高脂肪飼料群でも、同程度の脂質低下作用が認められた。ハムスターでの結果とは対照的に、サルでは標準飼料群と高脂肪飼料群との間でコレステロール低下作用の差はほとんどなかった。標準飼料群における 1 週間投与後のトリグリセリド低下作用の ED_{50} は 2 mg/kg であったが、2 週間投与後にはトリグリセリドの有意な低下は認められなかった。また、高脂肪飼料群にロミタピドを最長 2 週間連日投与したときには、トリグリセリドの有意な低下は認められなかった。このように、サルではロミタピドのトリグリセリド低下作用がコレステロール低下作用より弱かった。その理由として以下のことが考えられる。すなわち、1) 別の試験で、ロミタピドの 2.5 及び 5 mg/kg でのトリグリセリド低下作用は投与中止 10 時間後に顕著であったが、24 時間後（前述のサル試験では、血液サンプルは投与 16 時間後に採取した）では顕著ではないことから、サンプル採取時間が重要である。2) 対照群におけるトリグリセリドに対する作用にはバラツキがみられた。いずれの場合も、サルにおいては全般的にロミタピドのトリグリセリド低下作用がコレステロール低下作用よりも弱いと考えられる。

HDL-C は、検討したすべての動物種において有意に低下した。動物実験においてロミタピドによる MTP 阻害が一貫して HDL-C を低下させたことは、肝臓特異的 MTP ノックアウトマウスにおいて対照動物より HDL-C 及び VLDL-C が有意に低値であったという知見（Raabe, 1999 *J Clin Invest*）と一致している。トリグリセリドリッチリポたん白の脂肪分解が HDL-C 生成の基質を供給していることから、VLDL-C 及び HDL-C の低下はメカニズム上関連している可能性が非常に高い。低コレステロール血症は、MTP の機能サブユニットを欠失させる突然変異に伴う希少代謝疾患である無β-リポたん白血症の要素である（Zamel, 2008 *Orphanet J Rare Dis*）。このように、MTP 阻害が HDL-C を低下させることは予想されなかったことではない。

しかし、臨床試験の観察では注目すべき結果は極めて少ない。低脂肪食の血清脂質への影響も MTP 阻害による変化と交絡がある。ロミタピドの臨床試験における HDL-C レベルへの影響はわずかであり、変動しやすく、一過性であった。日本人及び白人被験者の PK/PD 試験 AEGR-733-023 において HDL-C は両方の人種グループで低下したが、その変化はわずかであり、白人被験者の変化の方がわずかに大きかった。いずれのグループにおいても、用量依存性は認められず、血漿中ロミタピド濃度との関連も認められなかった。AEGR-733-030 試験において、治験期間中、日本人 HoFH 患者は HDL-C の変化を示さなかった。国際共同の第 3 相試験 UP1002/AEGR-733-005 において、用量漸増（効力）相の終了時に一過性の HDL-C の低下が認められたが、試験終了時にはベースラインに回復した。

薬理学的介入による HDL-C の変化（上昇又は低下）は心血管リスクに影響するという臨床上の根拠は全くないことに注目しなければならない。HDL-C の変化は、その変化の幅が小さく、変動があり、一過性であり、このような変化が重要であるという科学的根拠がないため、申請者は動物実験で観察されたことは臨床上の意義があるとは考えていない。

サルにおいて良好な忍容性を示す用量で血漿中トランスアミナーゼの軽度上昇（対照群の≤3 倍）が認められたが、ラット及びハムスターでは認められなかった。これらパラメータの上昇は、ラット及びイヌを用いた毒性試験でも認められた（ラットよりもイヌの方が高い上昇）。HDL-C 低下作用及びトランスアミナーゼ上昇作用などのロミタピドの作用の一部は、イヌの肥満治療のために市販されている MTP 阻害剤ジルロタピド（Slentrol®）を投与したイヌにおいても認められている（Slentrol, 2006 *Package Insert*）。無 β-リポたん白血症患者でもこのような所見が示されていることから（Zamel, 2008 *Orphanet J Rare Dis*）、これらの作用は MTP 阻害剤に共通する作用であると考えられる。しかし、動物で観察された全ての薬理学的又は毒性学的作用が臨床試験においてヒトに直接橋渡しされないことに注目しなければならない。AEGR-733-030 （国内第 3 相試験）において 9 例中 3 例（33%）の患者に治療に関連した ALT 及び AST 並びに ALT 又は AST のベースラインから正常値上限（ULN）の 3 倍超の変化、そのうち 1 例の患者で治療に関連したベースラインから ULN の 5 倍超の変化を認めた（M2.7.4 参照）。ロミタピドの用量の減量又は一時的な休薬により、2 例の患者のトランスアミナーゼレベルはベースラインに回復した。1 例の患者は ULN の 5 倍を超えるトランスアミナーゼの上昇により投与を中止された。AEGR-733-005（国際共同の第 3 相試験）においても同様の反応が記録されており、患者の 28%が治療に関連した ALT 及び AST 並びに ALT 又は AST のベースラインから ULN の 3 倍超の変化を来たし、患者の 14%がベースラインから ULN の 5 倍超

の変化を示した。この試験では全ての患者が用量の減量又は一時的休薬によって良好に管理され、トランスアミナーゼの上昇により恒久的に中止した患者はなかった。ロミタピドの治療を受ける患者は定期的に肝機能を検査することが推奨される。

ロミタピドは、その作用機序から、脂溶性ビタミンの吸収を阻害する可能性がある。げっ歯類を用いたロミタピドの反復投与毒性試験では、検討した最高用量で出血が認められた（M2.6.6、3.3.3 項、3.3.4 項及び 3.3.5 項）。ビタミン K 補充により、ロミタピドの高用量を投与したラットの凝固障害が予防されたが、対照群と比較して、体重増加量の減少は予防されなかった。この結果は、ロミタピドの薬力学的作用（脂肪吸収低下）から予期されるものであった。一連の一般薬理試験において、ロミタピドは活動及び行動の変化を誘発せず、CNS、呼吸系、心血管系、腎臓系及び胃腸管系のパラメータに対しては、ヒトでの用量と比較して高い用量で検討したときに軽度の影響がみられたにすぎなかった。また、ロミタピドは一連の安全性薬理試験において、*in vitro* 受容体／チャネルリガンド結合スクリーニング試験では、望ましくない機能活性を示す可能性はほとんどないか又は全くなく、心血管系及び CNS の急性試験（ラットに最高 150 mg/kg の用量を経口投与）でも良好な忍容性を示した。ロミタピドは hERG 試験で阻害作用を示したが、その IC_{50} 値の 1.7 μmol/L は、日本人における 60 mg の用量での C_{max} 値と比較して約 40 倍高かった。また、代謝物 M1 の IC_{50} 値は 135 μmol/L、代謝物 M3 の IC_{50} 値は＞300 μmol/L であった。全体として、これらの結果から、ヒトにおいて、ロミタピドは推奨用量で、検討した *in vitro* 受容体／チャネル及び器官系に関連した望ましくない薬理活性を示す可能性はないと考えられる。

結論として、これらの非臨床薬理試験プログラムの結果は、提案されているロミタピドの HoFH 患者への使用の妥当性を裏付けるものである。

参考文献

1. Atzel, A. and J. R. Wetterau (1993). "Mechanism of microsomal triglyceride transfer protein catalyzed lipid transport." Biochemistry **32**(39): 10444-10450.
2. Irwin, S. (1968). "Comprehensive observational assessment: Ia. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse." Psychopharmacologia **13**(3): 222-257.
3. Liu, G. L., et al. (1991). "The association of hepatic apoprotein and lipid metabolism in hamsters and rats." Comp Biochem Physiol A Comp Physiol **99**(1-2): 223-228.
4. Ohtani, H., et al. (1990). "Effects of dietary cholesterol and fatty acids on plasma cholesterol level and hepatic lipoprotein metabolism." J Lipid Res **31**(8): 1413-1422.
5. Raabe, M., et al. (1999). "Analysis of the role of microsomal triglyceride transfer protein in the liver of tissue-specific knockout mice." J Clin Invest **103**(9): 1287-1298.
6. Slentrol (2006). Package Insert.
7. Spady, D. K. and J. M. Dietschy (1988). "Interaction of dietary cholesterol and triglycerides in the regulation of hepatic low density lipoprotein transport in the hamster." J Clin Invest **81**(2): 300-309.
8. Woollett, L. A., et al. (1992). "Saturated and unsaturated fatty acids independently regulate low density lipoprotein receptor activity and production rate." J Lipid Res **33**(1): 77-88.
9. Zamel, R., et al. (2008). "Abetalipoproteinemia: two case reports and literature review." Orphanet J Rare Dis **3**: 19.