

パルモディア錠 0.1 mg

第 2 部 (モジュール 2) CTD の概要 (サマリー)

2.4 非臨床試験の概括評価

興和株式会社

2.4 非臨床試験の概括評価

目次

2.4 非臨床試験の概括評価	3
2.4.1 非臨床試験計画概略	8
2.4.1.1 薬理試験	8
2.4.1.2 薬物動態試験	8
2.4.1.3 毒性試験	8
2.4.2 薬理試験	11
2.4.2.1 効力を裏付ける試験	11
2.4.3 薬物動態試験	14
2.4.3.1 吸収	14
2.4.3.2 分布	14
2.4.3.3 代謝	15
2.4.3.4 排泄	16
2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用	17
2.4.3.6 その他の薬物動態試験	17
2.4.4 毒性試験	19
2.4.4.1 単回投与毒性試験	19
2.4.4.2 反復投与毒性試験	19
2.4.4.3 遺伝毒性試験	20
2.4.4.4 がん原性試験	20
2.4.4.5 生殖発生毒性試験	21
2.4.4.6 局所刺激性試験	22
2.4.4.7 その他の試験	22
2.4.5 総括及び結論	25
2.4.5.1 薬理試験	25
2.4.5.2 薬物動態試験	25
2.4.5.3 毒性試験	25
2.4.5.4 まとめ	27

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4 非臨床試験の概括評価

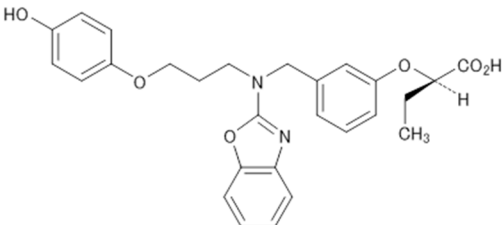
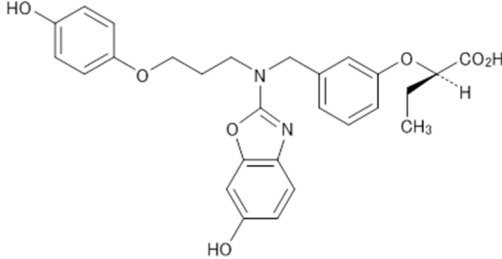
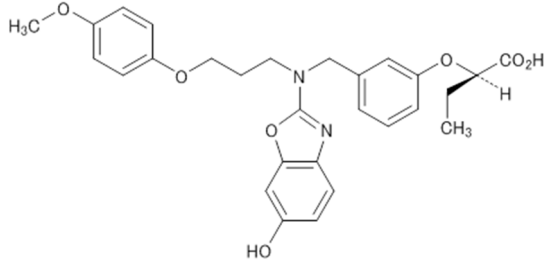
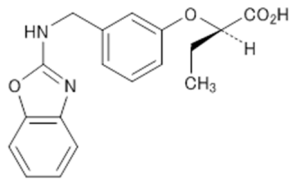
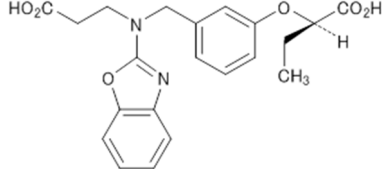
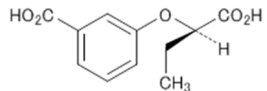
本項で使用した化合物の構造一覧並びに略号及び用語を示した。なお、略号及び用語の斜体表記は、遺伝子表記であることを示す。

化合物の構造一覧表

名称	構造式
ペマフィブラート対掌体	
K-15823 (4-メトキシフェニル基 (3 位) 水酸化体)	
K-15824 (K-15823 の脱メチル及びメチル化体)	
K-15825 (4-メトキシフェニル基 (2 位) 水酸化体)	
K-15827 (脱 4-メトキシフェニル基体) (合成標準品はカルシウム塩、代謝物はフリー体として表示)	

2.4 非臨床試験の概括評価

化合物の構造一覧表(続き)

名称	構造式
K-15828 (4-メトキシフェニル基脱メチル体)	
K-15830 (K-15834 の 4-メトキシフェニル基脱メチル体)	
K-15834 (ベンゾオキサゾール基 (6 位) 水酸化体)	
K-23467 (N-脱アルキル体)	
K-23469 (ジカルボン酸体)	
K-23605 (ベンジル位酸化体)	

2.4 非臨床試験の概括評価

略号及び用語一覧表

略号及び用語	内容
<i>Acox1</i>	acyl-CoA oxidase 1, palmitoyl
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
ALP	アルカリフォスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
<i>Angptl3</i>	Angiopoietin-Like Protein 3 (ANGPTL3)
ApoA-I	アポリポ蛋白 A-I (APOA1)
ApoC-III	アポリポ蛋白 C-III (APOC3)
<i>Apoc3</i>	アポリポ蛋白 C-III (APOC3)
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC ₀₋₂₄	投与後 0 から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積
AUC _{0-t}	最終測定時間までの濃度-時間曲線下面積
BA	生物学的利用率
BCRP	乳癌耐性蛋白
BSEP	胆汁酸塩排出ポンプ
CCK	コレシストキニン
C _{max}	最高血漿中濃度
<i>Cpt1a</i>	carnitine palmitoyltransferase 1a
CYP	チトクロム P450
<i>Cyp4a1</i>	cytochrome P450, family 4, subfamily a, polypeptide 1
FGF21	Fibroblast Growth Factor 21
hERG	human Ether-a-go-go Related Gene
HDL-C	高比重リポ蛋白コレステロール
IC ₅₀	50%阻害濃度
K _i	阻害定数
K _m	ミカエリス-メンテン定数
LDH	乳酸脱水素酵素
LDL	低比重リポ蛋白
LPL	リポ蛋白リパーゼ
MATE	多剤・毒性化合物排出
MCHC	平均赤血球血色素量濃度
MCV	平均赤血球容積
MRP	多剤耐性蛋白
<i>Myc</i>	Myelocytomatosis oncogene

2.4 非臨床試験の概括評価

略号及び用語一覧表(続き)

略号及び用語	内容
NRS	NADPH リジェネレーションシステム
NTCP	胆汁酸ナトリウム共輸送ポリペプチド
OAT	有機アニオントランスポーター
OATP	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	有機カチオントランスポーター
<i>Pex</i>	Peroxisomal biogenesis factor
P-gp	P 糖タンパク質
PPAR	ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor)
PPAR α	ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 α
PPAR γ	ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 γ
PPAR δ	ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 δ
S9	組織ホモジネートを 9000×g で遠心分離した上清分画
SPPARM α	Selective Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α Modulator
$t_{1/2}$	消失半減期
T ₃	トリヨードサイロニン
T ₄	サイロキシン
TG	トリグリセライド
TGSR	TG の分泌速度 (TG-secretion rate)
TIBC	総鉄結合能
tmax	最高血漿中濃度到達時間
TSH	甲状腺刺激ホルモン
UDP-GA	UDP-グルクロン酸
UGT	UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ
UGT1A1	UDP-glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A1
UIBC	不飽和鉄結合能
V _{max}	最大生成速度

2.4 非臨床試験の概括評価

ペマフィブラートは、興和株式会社によって創製された選択的 PPAR α モジュレーター（SPPAR α ）である。ペマフィブラートの化学構造式を図 2.4.1-1 に示す。

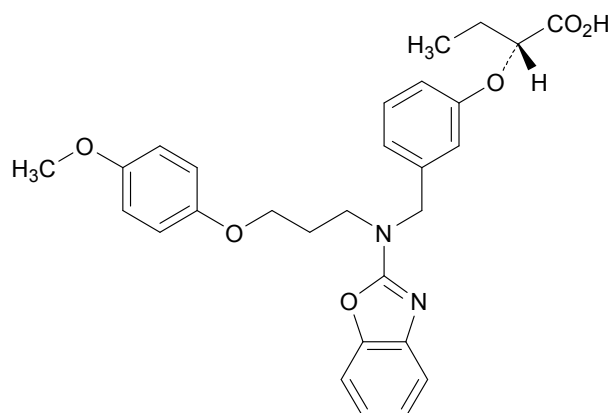


図 2.4.1-1 ペマフィブラートの化学構造式

化学名:

(2*R*)-2-[3-({1,3-Benzoxazol-2-yl}[3-(4-methoxyphenoxy)propyl]amino}methyl)phenoxy]butanoic acid

分子式: C₂₈H₃₀N₂O₆

分子量: 490.55

PPAR α は核内受容体であり、脂肪酸やその誘導体等のリガンド結合を引き金として血中の脂質代謝等に関与する遺伝子の転写を制御する。

PPAR α の活性化によって血漿 TG 濃度が低下することが知られているが、その機序は、肝臓での TG 合成、肝臓から血中への TG 分泌及び血中の TG 濃度の調節のそれぞれの段階における、PPAR α により発現調節された複数の遺伝子の関与によるものと考えられている。代表的な作用としては、LPL の発現亢進及び活性化、Apo C-III の発現抑制及び β 酸化に関連する遺伝子の発現亢進が知られている。さらに PPAR α は ApoA-I の発現亢進と HDL-C の増加への関与も明らかになっている。

PPAR α のリガンドであるフィブラート系薬物は、高 TG 血症の治療薬として複数の薬物が上市されている。一方でフィブラート系薬物は、HMG-CoA 還元酵素阻害薬との併用において、薬剤単独投与時に比べて横紋筋融解症発現の危険性を高め、特に腎機能の低下した患者へのリスクが高くなることが知られている。

ペマフィブラートは、既存のフィブラート系薬物よりも強力な血漿 TG 濃度の低下及び HDL-C の増加作用を有する薬物を旨として興和株式会社によってスクリーニングされた。ペマフィブラートは既存のフィブラート系薬物よりも優れた薬理作用を示し、より多くの患者への治療に貢献可能な薬剤となることが期待される。

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

2.4.1.1 薬理試験

ペマフィブラートの PPAR α に対する強力かつ選択的な活性化作用を示すための試験として、PPAR α 、PPAR γ 又は PPAR δ を導入した COS-7 細胞を用いてトランスアクティベーションアッセイを実施した。

ペマフィブラートの血漿 TG 濃度低下作用を示す試験として、正脂血ラット、フルクトース負荷高 TG 血症ラット、Zucker fatty ラット及び正常イヌを用いた薬理試験を実施した。ペマフィブラートの血漿 HDL-C 濃度増加作用を示す試験として、ヒト ApoA-I トランスジェニックマウスを用いた薬理試験を実施した。ペマフィブラートの脂質低下作用の機序を検討するために、ラットを用いて、肝臓における TG の合成、肝臓から血中への TG の分泌、加水分解・異化（LPL 活性亢進作用と TG クリアランス亢進作用）、LPL 活性の調節因子（ApoC-III、Angiopoietin-Like Protein 3）の血漿濃度と遺伝子発現、血漿 TG 濃度を低下する作用を有する FGF21 の血漿濃度に対するペマフィブラートの作用について検討した。また、本薬の抗動脈硬化作用を示すための試験として、高脂肪・高コレステロール食を負荷した LDL 受容体欠損マウスを用いた薬理試験を実施した。

副次的薬理試験として、ラットを用いてペマフィブラートの血漿 TG 濃度低下作用の持続時間と回復性、胆汁分泌量と胆石形成指数及び *in vitro* における 72 種類の酵素、受容体及びトランスポーターに対するペマフィブラートの阻害作用又は親和性について予備的に検討した。

安全性薬理試験として、一般症状及び中枢神経系、呼吸器系並びに心血管系に及ぼす影響について検討した。

2.4.1.2 薬物動態試験

ペマフィブラートの体内動態は、主としてラット（SD）、イヌ（Beagle）及びサル（Cynomolgus）に経口及び静脈内投与して評価した。代謝試験は、各種動物及びヒトの生体試料を用いた *in vitro* 試験並びにラット、イヌ及びサルを用いた *in vivo* 試験にて評価した。更に、トランスポーターに関しては、Caco-2 細胞、トランスポーター発現細胞及びトランスポーター発現ベシクルを用いた *in vitro* 試験にて評価した。

2.4.1.3 毒性試験

ペマフィブラートの安全性を評価するため、ラット及びイヌを用いた単回投与毒性試験、ラット、イヌ及びサルを用いた反復投与毒性試験、細菌、哺乳類細胞及びラットを用いた遺伝毒性試験、マウス及びラットを用いたがん原性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験を実施した。また、がん原性の機序解明に PPAR α ノックアウトマウス、ラット及びサルを用いた試験を実施した。また、ヒト主要代謝物である K-23467 及び K-23605 の曝露を確認するため、マウス、ラット、妊娠ラット及びサルを用いた代謝物曝露確認試験と、これら代謝物の細菌及びラットを用いた遺伝毒性試験を実施した。その他、有色ラットを用いた光毒性試験、ラットを用いたアトルバスタチン併用投与毒性試験を実施した。なお、局所刺激性試験は経口投与による使用

2.4 非臨床試験の概括評価

が予定されているため、実施しなかった。(表 2.4.1-1)

2.4 非臨床試験の概括評価

表 2.4.1-1 毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	GLP 適用
単回投与毒性試験	経口	ラット、イヌ	適
反復投与毒性試験			
4 週	経口	ラット、イヌ	適
4 週	経口	サル	非適
13 週	経口	ラット、イヌ、サル	適
26 週	経口	ラット、サル	適
52 週	経口	サル	適
遺伝毒性試験			
復帰突然変異試験	<i>in vitro</i>	ネズミチフス菌、大腸菌	適
染色体異常試験	<i>in vitro</i>	CHL/IU 細胞	適
小核試験	経口	ラット	適
がん原性試験			
13 週予備試験	経口	マウス	適
104 週	経口	マウス、ラット	適
生殖発生毒性試験			
受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	経口	ラット	適
胚・胎児発生に関する試験	経口	ラット、ウサギ	適
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	経口	ラット	適
その他の毒性試験			
ラットを用いたがん原性機序検討試験	経口	ラット	適
サルを用いたがん原性機序検討試験	経口	サル	非適
肝毒性の機序検討試験	経口	PPAR α ノックアウトマウス	非適
下垂体及び甲状腺に対する影響評価試験	経口	ラット	非適
性ホルモン測定試験	経口	ラット	非適
血中 CCK 濃度に対する影響評価試験	経口	ラット	非適
代謝物の復帰突然変異試験	<i>in vitro</i>	ネズミチフス菌、大腸菌	非適
代謝物の小核試験 (K-23467)	静注	ラット	適
代謝物の小核試験 (K-23605)	静注	ラット	非適
4 週間反復投与時の代謝物曝露確認試験	経口	マウス、ラット、サル	適
ラット胚・胎児発生時の代謝物曝露確認試験	経口	妊娠ラット	適
光毒性試験	経口	ラット	適
アトルバスタチン併用投与毒性試験	経口	ラット	適

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

ペマフィブラートは、PPAR α に対して強力かつ選択的な活性化作用を示し、正脂血ラット、高脂血症モデルラット、及び正常イヌにおいて著明な血漿 TG 濃度低下作用を示した。その作用はフェノフィブラートと比べて極めて低用量で認められ、特に重篤な病態を呈する高脂血症ラットモデルでも、ペマフィブラートは用量依存的に血漿 TG 濃度を低下させた。フェノフィブラートは 100 mg/kg の用量で血漿 TG 濃度を低下させたが、その低下作用の強さはペマフィブラートの 1 及び 3 mg/kg 投与群までには達しなかった。

ペマフィブラートの作用機序は、肝臓における TG 合成抑制、肝臓から血中への TG 分泌抑制、血中の TG 濃度を速やかに消失させる作用及び FGF21 増加作用を介した血漿 TG 濃度の低下と考えられる。

ペマフィブラートはヒト ApoA-I トランスジェニックマウスにおいて血漿 HDL-C 濃度及び ApoA-I 濃度を増加させたことから、臨床における HDL-C 濃度及び ApoA-I 濃度増加作用が裏付けられた。さらに、ペマフィブラートは高脂肪・高コレステロール食を負荷した LDL 受容体欠損マウスで大動脈洞における脂質沈着抑制作用を示した。

(1) PPAR α 活性化作用

ペマフィブラートはヒト PPAR α に対して強力かつ選択的な活性化作用を示した。ヒトと動物の間には種差がほとんどなかった。ペマフィブラートの代謝物及び対掌体の PPAR α 活性化作用は極めて弱く、生体内では、ペマフィブラートの未変化体が薬効を担っているものと考えられた。

(2) 血漿脂質低下作用

ペマフィブラートを正脂血ラット、フルクトース負荷高 TG 血症ラット、Zucker fatty ラット、及び非げっ歯類動物として正常イヌに経口投与した。その結果、ペマフィブラートはいずれのモデル動物においても著明な血漿 TG 濃度低下作用を示し、その効果はフェノフィブラートと比較して極めて低用量から認められた。さらに、重篤な病態モデルである Zucker fatty ラットにおいて、ペマフィブラートは用量依存的に血漿 TG 濃度を低下させた。フェノフィブラートも血漿 TG 濃度を低下させたが、その低下率はペマフィブラートの 1 及び 3 mg/kg 投与群までには達しなかった。以上より、ペマフィブラートは強力な血漿 TG 濃度低下作用を示すと考えられた。

(3) 血漿 HDL-C 濃度増加作用

ヒト ApoA-I トランスジェニックマウスにペマフィブラート又はフェノフィブラートを経口投与したところ、両薬物は血漿 HDL-C 濃度及びヒト ApoA-I 濃度を増加させた。

(4) 血漿 TG 濃度低下作用の機序

ラットにペマフィブラート又はフェノフィブラートを経口投与した後、肝臓におけ

2.4 非臨床試験の概括評価

る TG の合成に対する作用を検討した。ペマフィブラート及びフェノフィブラートは TG の合成に対して抑制作用を示した。次に、ラットにペマフィブラート又はフェノフィブラートを経口投与し、TGSR を算出した。ペマフィブラートは対照群と比較して TGSR を有意に低下させた。ラットの LPL の活性を測定したところ、ペマフィブラートは LPL 活性を対照群に対して 2 倍に増加させた。ペマフィブラートを投与したラットに静注用脂肪乳剤を静脈内に注射したところ、対照群に比べて血漿 TG クリアランスが亢進した。ラットにペマフィブラートを投与すると、LPL の活性を負に調節する血漿蛋白質 (ApoC-III、Angiopoietin-Like Protein 3) の血漿中濃度及び肝臓における遺伝子 (*Apoc3*、*Angptl3*) の発現が減少した。また、TG の LPL による水解産物であり、LPL 活性を阻害する遊離脂肪酸に関して、その β 酸化に深く関与する肝臓の *Acox1* と *Cpt1a* の発現を著明に亢進させた。したがって、ペマフィブラートは、肝臓における TG の合成抑制、肝臓から血中への TG の分泌抑制、加水分解・異化の亢進により血漿 TG 濃度を低下させていると考えられた。Zucker fatty ラットにペマフィブラート又はフェノフィブラートを経口投与したところ、ペマフィブラートは著明に血漿 FGF21 濃度を増加させたが、フェノフィブラートでは統計学的に有意な増加は認められなかった。したがって、この重篤な高 TG 血症モデル動物に対してペマフィブラートが強い血漿 TG 濃度低下作用を示した機序のひとつとして、強力な血漿 FGF21 増加作用が寄与した可能性が考えられた。

(5) 抗動脈硬化作用

高脂肪・高コレステロール食を負荷した LDL 受容体欠損マウスにペマフィブラートを投与し、大動脈洞における脂質沈着面積を評価したところ、ペマフィブラートは脂質沈着面積を著明に減少させた。しかし、フェノフィブラートは明らかな作用を示さなかった。したがって、ペマフィブラートは抗動脈硬化作用が期待される。

(6) 副次的薬理試験

ペマフィブラートの血漿 TG 濃度低下作用の持続時間を 1 日 1 回、7 日間投薬したラットを用いて検討したところ、TG 濃度低下作用は休薬後 2 日間持続し、その後対照群と同レベルまで回復した。したがって、本薬の効果は可逆的であると考えられた。胆汁分泌に対する作用について検討したところ、ペマフィブラートは 1 及び 3 mg/kg で胆汁分泌量に影響せず、胆石形成指数を低下させたことから、胆汁分泌に対する影響及び胆石形成の懸念は認められなかった。*In vitro* における副次的薬理試験として 72 種類の酵素、受容体及びトランスポーターに対するペマフィブラートの阻害作用又は親和性について予備的に検討した。ペマフィブラートは CYP3A4 ($IC_{50}=4.04 \mu\text{mol/L}$) 及び UGT1A1 ($IC_{50}=2.21 \mu\text{mol/L}$) に対する阻害作用を示したが、その他の酵素、受容体及びトランスポーターには $10 \mu\text{mol/L}$ の濃度で明らかな影響を及ぼさなかった。

(7) 安全性薬理試験

ペマフィブラートの安全性薬理試験として、一般症状及び中枢神経系、呼吸器系並びに心血管系に及ぼす影響について検討した。ペマフィブラートをラット又はイヌに

2.4 非臨床試験の概括評価

経口投与した際に 100 mg/kg まで一般症状、中枢神経系、呼吸器系に変化は認められなかった。さらに、モルモット摘出乳頭筋及び hERG チャンネルを発現した HEK-293 細胞に対して 10 µmol/L まで明らかな影響を及ぼさなかった。以上より、ペマフィブラートは中枢神経系、呼吸器系及び心血管系に影響を与えないと考えられた。

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 吸収

雌雄ラットにペマフィブラートを単回経口投与（0.1、0.3 及び 1 mg/kg）したとき、血漿中未変化体濃度は投与後 0.25～4.0 時間に C_{max} に達し、その後速やかに消失した。 C_{max} 及び AUC_{0-t} は、投与量に比例して増加した。ペマフィブラートを単回静脈内投与（0.3 mg/kg）したとき、血漿中未変化体濃度は二相性で消失し、最終相の $t_{1/2}$ は 5.25 時間（雌）であった。BA は 9.45%～19.6%であった。 ^{14}C -ペマフィブラートを単回経口投与（1 mg/kg）したとき、血漿中放射能濃度は投与後 0.50～2.0 時間に C_{max} に達し、その後速やかに消失した。 ^{14}C -ペマフィブラートを単回静脈内投与（0.3 mg/kg）したとき、血漿中放射能濃度は二相性で消失した。みかけの吸収率は 27.3%～40.1%であった。

雌雄イヌにペマフィブラートを単回経口投与（0.1、0.3 及び 1 mg/kg、雌は 1 mg/kg のみ）したとき、血漿中未変化体濃度は投与後 0.25～0.50 時間に C_{max} に達し、その後速やかに消失した。雄イヌの C_{max} 及び AUC_{0-t} は投与量に比例して増加した。ペマフィブラートを単回静脈内投与（0.3 mg/kg）したとき、血漿中未変化体濃度は二相性で消失した。BA は 14.5%～18.7%であった。

雄サルにペマフィブラートを単回経口投与（1 mg/kg）したとき、血漿中未変化体濃度は投与後 2.0 時間で C_{max} に達し、その後速やかに消失した。 $t_{1/2}$ は 2.45 時間であった。ペマフィブラートを単回静脈内投与（1 mg/kg）したとき、血漿中未変化体濃度は二相性で消失した。BA は 87.4%であった。 ^{14}C -ペマフィブラートを単回経口投与（1 mg/kg）したとき、血漿中放射能濃度は投与後 1.0 時間に C_{max} に達した。 ^{14}C -ペマフィブラートを単回静脈内投与（1 mg/kg）したとき、血漿中放射能濃度は二相性で消失し、最終相の $t_{1/2}$ は 21.2 時間であった。みかけの吸収率は 74.0%であった。

食餌により、ラットでは C_{max} 及び AUC_{0-t} が低下し、イヌでは AUC_{0-t} はほとんど影響を受けないものの、 C_{max} が低下した。

ラットでは、十二指腸から最も吸収され、次いで空腸、結腸、回腸及び胃から吸収された。

反復投与により、マウス及びイヌでは未変化体の曝露の増加が、ラット、ウサギ及び雌サルでは減少が認められた。雄サルでは未変化体の曝露の顕著な変動は認められなかった。マウス及びイヌでは投与 4 週までに、ラット及び雌サルでは投与 2 週までに定常状態に達するものと考えられた。

2.4.3.2 分布

雄ラットに ^{14}C -ペマフィブラートを単回経口投与（1 mg/kg）したとき、投与後 0.5 時間にほとんどの組織で最も高い放射能濃度が認められ、速やかな組織移行性を認めた。特に肝臓に高い放射能が認められた。投与後 168 時間には全ての組織で定量下限未満となり、組織への残留性はないと考えられた。

有色雄ラットに ^{14}C -ペマフィブラートを単回経口投与（1 mg/kg）したとき、投与後 6 時間まで、メラニン含有組織である眼球、ぶどう膜・網膜及び色素性皮膚に放射能が認められたが、投与後 24 時間には定量下限未満となった。

2.4 非臨床試験の概括評価

妊娠ラットに ^{14}C -ペマフィブラート（1 mg/kg）を単回経口投与したとき、妊娠 12 日目の胎盤には投与後 0.5、2 及び 6 時間に血漿中放射能濃度より低い放射能が認められた。妊娠 18 日目の胎盤及び胎児には投与後 0.5、2 及び 6 時間に血漿中放射能濃度より低い放射能が認められた。投与後 24 時間ではいずれも定量下限未満となった。

雄サルに ^{14}C -ペマフィブラートを単回経口投与（1 mg/kg）したとき、投与後 1 時間にほとんどの組織で最も高い放射能濃度が認められた。投与後 1 及び 6 時間の肝臓及び投与後 1 時間の腎臓を除き、いずれの組織も血漿より低い放射能濃度であった。

マウス、ハムスター、ラット、イヌ、サル及びヒトにおける ^{14}C -ペマフィブラートの血漿蛋白非結合率は、いずれの動物種も 1%未満であった。ヒト血清アルブミン及び α_1 -酸性糖蛋白との蛋白非結合率は、それぞれ 1%未満及び 25.02%～45.79%であった。

マウス、ハムスター、ラット、イヌ、サル及びヒトにおける ^{14}C -ペマフィブラートの血球移行率（*in vitro*）は、それぞれ 9.6%～12.2%、5.1%～13.7%、18.2%～41.4%、1.4%～7.8%、17.2%～27.2%及び 1.7%～13.1%であった。

^{14}C -ペマフィブラートは P-gp、BCRP、OATP1A2、OATP1B1、OATP1B3、OCT2 及び NTCP で輸送されることが示された。OATP1B1 及び OCT2 に対する K_m 値はそれぞれ 232.3 及び 29.8 $\mu\text{mol/L}$ であった。

2.4.3.3 代謝

雌雄ラットにペマフィブラートを単回経口投与（1 mg/kg）したとき、血漿中の 4 代謝物（K-15823、K-15827、K-15828 及び K-15834）の AUC_{0-t} は未変化体の 10%未満であった。雌雄ラットにペマフィブラートを単回経口（0.1、0.3 及び 1 mg/kg）及び静脈内投与（0.3 mg/kg）したとき、未変化体及び 4 代謝物（K-15823、K-15827、K-15828 及び K-15834）の糞中排泄率は、それぞれ 24.3%～54.4%、0.0%～0.4%、0.0%～1.7%、9.0%～24.9%及び 1.2%～6.3%であった。雄ラットに ^{14}C -ペマフィブラートを単回経口投与（1 mg/kg）したとき、血漿中に K-23467（未変化体の AUC_{0-t} の 16%）、K-15827/K-23469（2%）及び K-23605（10%）が検出された。雄ラットに ^{14}C -ペマフィブラートを単回経口投与（1 mg/kg）したときの胆汁中には、未変化体の抱合体と推定される代謝物（排泄率：50%）、未変化体（10%）及び K-15828 の抱合体と推定される代謝物（5%）が、糞中には、未変化体（40%）、K-15828（29%）、K-15834（7%）及び K-15827（5%）が主に排泄された。

雌雄イヌにペマフィブラートを単回経口（0.1、0.3 及び 1 mg/kg、雌は 1 mg/kg のみ）及び静脈内投与（0.3 mg/kg、雄のみ）したとき、4 代謝物（K-15823、K-15827、K-15828 及び K-15834）の AUC_{0-t} は未変化体の 10%未満であった。未変化体及び 4 代謝物（K-15823、K-15827、K-15828 及び K-15834）の糞中排泄率は、それぞれ 31.3%～41.1%、0.00%～0.101%、1.51%～2.55%、3.37%～6.48%及び 2.00%～3.57%であった。

雄サルにペマフィブラートを単回経口及び静脈内投与（各 1 mg/kg）したとき、K-23467 及び K-23469 の AUC_{0-t} は未変化体の 10%以上であった。雄サルに ^{14}C -ペマフィブラートを単回経口投与（1 mg/kg）したとき、既知代謝物として血漿中に主に K-23467、K-15827/K-23469 及び K-23605 が検出された。

各種動物及びヒトの肝ミクロゾームを用いた ^{14}C -ペマフィブラートの代謝試験

2.4 非臨床試験の概括評価

(NRS 添加条件下) では、代謝物として主に K-15823、K-15824、K-15825、K-15827、K-15828、K-15830 及び K-15834 が生成し、雌雄マウスでは K-15834 が、雌雄ラット、雄サル及びヒトでは K-15828 が、雌雄イヌでは K-15827 が最も高濃度であったが、いずれの動物種も類似した代謝パターンを示した。第 I 相反応 (NRS 添加条件下) の代謝クリアランスは、雄ハムスターで高く、雄マウス及び雌雄ラットで低い傾向を示した。また、第 II 相反応 (UDP-GA 添加条件下) の代謝クリアランスは雄イヌで高かった。ヒト肝ミクロゾームでは、第 I 相反応により K-15828 及び K-15834、第 II 相反応により未変化体グルクロナイドが主に検出され、 V_{\max}/K_m はそれぞれ 101.6、15.3 及び 38.7 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ protein であった。また、 ^{14}C -ペマフィブラートは CYP2C8、CYP2C9、CYP3A4、CYP3A7 (胎児に特有の分子種)、UGT1A1、UGT1A3 及び UGT1A8 により代謝された。K-15828 への代謝反応の CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4 の寄与率は、それぞれ 31.2%、20.6% 及び 31.2%、K-15834 への代謝反応の寄与率は、それぞれ 29.1%、33.9% 及び 61.4% であった。

各種動物及びヒトの肝サイトゾル、肝 S9 及び肝細胞を用いた ^{14}C -ペマフィブラートの代謝試験において、肝 S9 中では肝ミクロゾーム中と類似の反応パターンを示し、K-15827、K-15828 及び K-15834 が主に検出された。肝細胞中では、脱抱合化 (β -グルクロニダーゼ及びスルファターゼ) した際の代謝物として、雌マウス及び雌雄イヌでは K-15827 が、雌雄ラット、雌雄サル及び男女ヒトでは K-15828 が、雄マウスでは K-15834 が最も高濃度であったが、いずれの種においても類似した代謝パターンを示した。また、肝ミクロゾーム中で代謝させた際とも類似していた。肝サイトゾル中では、いずれの動物種も反応はほとんど進まなかった。

以上より、ペマフィブラートは水酸化、O-脱メチル化及び脱アリール化反応などの酸化を受け、主に K-15823、K-15824、K-15825、K-15827、K-15828、K-15830 及び K-15834 を生成した。その他、ヒトマスバランス試験では、血漿及び尿中の主要な代謝物として 3 代謝物 (K-23467、K-23469 及び K-23605) が検出された (2.7.6.1.4 表 2.7.6.1-8)。In vitro 及び in vivo 試験の結果から、K-23467 はペマフィブラートから、K-23469 は K-15827 から、K-23605 は K-23467 から生成しているものと推察された。

雌雄ラットにペマフィブラート及び ペマフィブラート対掌体を単回経口 (3 mg/kg) 及び静脈内投与 (0.3 mg/kg) したとき、相互に光学異性化はほとんどおこらなかった。

2.4.3.4 排泄

雌雄ラットに ^{14}C -ペマフィブラートを単回経口 (1 mg/kg) 及び静脈内投与 (0.3 mg/kg) したとき、尿中には放射能はほとんど排泄されず (排泄率: 0.53%~1.99%)、大部分は糞中に排泄された (97.26%~98.74%)。

雄サルに ^{14}C -ペマフィブラートを単回経口 (1 mg/kg) 及び静脈内投与 (1 mg/kg) したとき、放射能の一部は尿中に排泄されたものの (排泄率: 11.04%~12.18%)、大部分は糞中に排泄された (41.96%~50.77%)。

雄ラットに ^{14}C -ペマフィブラートを単回経口投与 (1 mg/kg) したとき、胆汁中に投与放射能の 69.5% が排泄された。排泄された胆汁の一部を別個体の雄ラットに単回十二指腸内投与したとき、胆汁中に投与した放射能の 60.0% が排泄された。

2.4 非臨床試験の概括評価

授乳期ラットに ^{14}C -ペマフィブラートを単回経口投与 (1 mg/kg) したとき、 ^{14}C -ペマフィブラート由来の放射能は乳汁中に移行することを確認したが、その濃度は血漿中放射能濃度の低下に対応して低下した。

2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用

ペマフィブラート及び 3 代謝物 (K-23467、K-23469 及び K-23605) の各種 CYP 分子種 [CYP1A2、CYP 2A6 (ペマフィブラートのみ)、CYP 2B6、CYP 2C8、CYP 2C9、CYP 2C19、CYP 2D6、CYP 2E1 及び CYP3A4/5] 並びに UGT1A1 及び UGT2B7 に対する阻害作用を *in vitro* で評価したところ、ペマフィブラートは CYP2C9 (K_i : 10.7 $\mu\text{mol/L}$) 及び UGT1A1 (IC_{50} : 5.91 $\mu\text{mol/L}$) を阻害した。

ペマフィブラート、K-23467、K-23469 及び K-23605 (0.2、2 及び 20 $\mu\text{mol/L}$) の CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用を *in vitro* で評価した結果、いずれもほとんど誘導しないものと考えられた。

ペマフィブラート、K-23467、K-23469 及び K-23605 の各種トランスポーター (P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1、MATE2-K、OCT1、MRP2、MRP4 及び BSEP) の輸送活性に対する阻害作用を *in vitro* 試験にて評価したところ、ペマフィブラートは P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び MRP4 を阻害し、 IC_{50} 値はそれぞれ 20.8、4.42、0.101、1.84、2.42、0.0961 及び 2~20 $\mu\text{mol/L}$ であった。K-23467 は OAT1 及び OAT3 を阻害し、 IC_{50} 値はいずれも 2~20 $\mu\text{mol/L}$ であった。K-23469 は OAT1、OAT3 及び MRP4 を阻害し、 IC_{50} 値はそれぞれ 2~20、0.2~2 及び 2~20 $\mu\text{mol/L}$ であった。

ペマフィブラートの ^{14}C -ワルファリン及び ^3H -ジアゼパムのヒト血漿蛋白結合率に与える影響を平衡透析法 (*in vitro*) により評価したところ、ペマフィブラートの添加により、 ^{14}C -ワルファリン及び ^3H -ジアゼパムの血漿蛋白非結合率はほとんど変動しなかった (^{14}C -ワルファリン: 0.76%~0.78%、 ^3H -ジアゼパム: 2.48%~2.60%)。ペマフィブラートのスルホニルウレア剤 (グリベンクラミド、グリクラジド及びグリメピリド) のヒト血清アルブミンとの蛋白結合率に与える影響を予備的に調べた結果、いずれの蛋白非結合率に対してもほとんど影響を与えなかった。

ペマフィブラートのヒト血漿蛋白結合に対する各種薬物の影響を平衡透析法 (*in vitro*) により評価したところ、ワルファリン、ジアゼパム、ジギトキシン及びピタバスタチンの添加により、ペマフィブラートの血漿蛋白非結合率はほとんど変動しなかった (添加なし: 0.061%、添加あり: 0.043%~0.061%)。

ペマフィブラートの各種陰イオン交換樹脂に対する吸着率を評価したところ、各種陰イオン交換樹脂へのペマフィブラート (0.8 $\mu\text{g/mL}$) の吸着率は 90%以上であり、ペマフィブラートは陰イオン交換樹脂に吸着されやすいものと考えられた。

2.4.3.6 その他の薬物動態試験

In vitro 小型化透析システムを用いて、ポリスルホン系血液透析膜によるペマフィブラート、K-23467、K-23469 及び K-23605 の透析性を評価したところ、ヒト血漿中のペマフィブラート、K-23467、K-23469 及び K-23605 は平衡透析膜を介した透析によりほ

2.4 非臨床試験の概括評価

とんど除去されないものと考えられた。

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験はラット及びイヌを用いて実施した。

ラットでは、ペマフィブラートを雌雄に単回強制経口投与した（雌雄 300、1000 及び 2000 mg/kg/日）。その結果、2000 mg/kg/日群で雄 1/5 匹、雌 4/5 匹が投与後 10 日以内に死亡した。よって、概略の致死量を雌雄共に 2000 mg/kg/日と判断した。2000 mg/kg/日の Cmax は雄 423807.4 ng/mL、雌 649122.0 ng/mL、AUC₀₋₂₄ は雄 1837313.2 ng·h/mL、雌 13348346.2 ng·h/mL であった。

イヌでは、ペマフィブラートを雄に単回強制経口投与した（1000 及び 2000 mg/kg/日）。その結果、いずれの投与量でも死亡例は認められず、概略の致死量は 2000 mg/kg/日を上回ると判断した。2000 mg/kg/日の Cmax は 186462.0 ng/mL、AUC₀₋₂₄ は 2659492.5 ng·h/mL であった。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験ではラット、イヌ及びサルを用いて実施した。

ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験（雄 0.03、0.1、0.3、1 及び 3 mg/kg/日、雌 0.03、0.1、1、5 及び 25 mg/kg/日）の無毒性量は雌雄共に 0.03 mg/kg/日であった。本用量の投与 26 週時の AUC₀₋₂₄ は雄 5.92 ng·h/mL、雌 7.52 ng·h/mL であった。ラットの主な変化は次のとおりである。試験期間中、雌 1 mg/kg/日の 1 匹で切迫屠殺例が発現し、病理組織検査より慢性進行性腎症が認められた。体重の増加抑制が雄 1 mg/kg/日以上、雌 5 mg/kg/日以上でみられた。ヘマトクリット値、血色素量若しくは赤血球数の減少が雄 0.3 mg/kg/日以上、雌 1 mg/kg/日以上で、血清鉄の減少が雌の全投与群、雄 0.1 mg/kg/日以上でみられ、UIBC、TIBC、トランスフェリン飽和度の減少、MCV、MCHC の低下から鉄欠乏性の貧血が示唆された。また、ALP、ALT 及び AST の増加が雄 0.1 mg/kg/日以上、ALP の増加が雌 1 mg/kg/日以上でみられた。ペマフィブラートの薬理作用に起因する肝臓重量の増加、肝細胞の好酸性化及び肥大が雄 0.3 mg/kg/日以上、雌 1 mg/kg/日以上で認められた。また、肝細胞の多核化、アポトーシス、有糸分裂活性の増加が雄 0.3 mg/kg/日以上、雌 1 mg/kg/日以上で、出血や炎症性反応を伴った肝細胞の壊死、胆管過形成、マクロファージ/クッパー細胞の色素沈着が雄 0.1 mg/kg/日以上、雌 1 mg/kg/日以上で認められた。また、軽度以上の慢性進行性腎症が雌 0.1 mg/kg/日以上、雄 1 mg/kg/日以上で認められた。甲状腺の濾胞上皮細胞の肥大及び濾胞内濃縮コロイドが雄 0.3 mg/kg/日以上、雌 1 mg/kg/日以上でみられた。休薬により慢性進行性腎症、胆管過形成、マクロファージ/クッパー細胞の色素沈着以外の変化については回復あるいは回復傾向がみられた。

イヌを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（雌雄 0.1、0.3、1 及び 3 mg/kg/日）の無毒性量は雌雄共に 0.1 mg/kg/日未満であった。本用量の投与 13 週時の AUC₀₋₂₄ は雄 30.0 ng·h/mL、雌 43.1 ng·h/mL であった。イヌの主な変化は次のとおりである。切迫屠殺例が雄 3 mg/kg/日で発現し、軟便、下痢が 0.3 mg/kg/日以上で、体重及び摂餌量の著しい減少が 1 mg/kg/日以上でみられた。また、心電図検査で異常 T 波を示す動物が 3 mg/kg/日でみられた。赤血球数及び血色素量、ヘマトクリット値の低値が雄

2.4 非臨床試験の概括評価

0.1 mg/kg/日以上、雌 0.3 mg/kg/日以上で、UIBC、TIBC の減少が雌 1 mg/kg/日以上、雄 3 mg/kg/日で、骨髄の造血細胞減少が 3 mg/kg/日で、肝臓の類洞壁細胞、脾臓の赤脾髄における褐色色素沈着（ヘモジデリン沈着）が 0.3 mg/kg/日以上で認められ、鉄代謝に関連が示唆される貧血がみられた。肝細胞の好酸性化、肝細胞の変性/壊死が 1 mg/kg/日から、卵円形細胞の増殖が 3 mg/kg/日で認められ、ALT の増加が 0.1 mg/kg/日から、AST、ALP 及び LDH の増加が 1 mg/kg/日から、総蛋白及びアルブミンの減少が雌 0.3 mg/kg/日、雄 1 mg/kg/日からみられ、肝障害が示唆された。また、3 mg/kg/日の雄で脾臓にラ氏島細胞の萎縮、腺房細胞の変性/壊死、間質炎症細胞浸潤及び間質浮腫が認められ、骨格筋では筋線維の萎縮及び間質単核細胞浸潤が認められた。

サルを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験（雄 0.3、1、3 及び 10 mg/kg/日、雌 0.1、0.3、1 及び 3 mg/kg/日）の無毒性量は雌雄共に 0.3 mg/kg/日であった。本用量の投与 52 週時の AUC₀₋₂₄ は雄 72.4 ng·h/mL、雌 89.4 ng·h/mL であった。サルの主な変化は次のとおりである。体重の減少が雌雄 1 mg/kg/日以上で、アルブミン及び A/G 比の減少が雄 1 mg/kg/日以上で、AST 及び ALT の増加が雄 3 mg/kg/日以上、雌 1 mg/kg/日以上で、肝臓の重量増加が雄 10 mg/kg/日以上及び雌 1 mg/kg/日以上で、肝細胞の顆粒状好酸性化及び空胞化がペマフィブラートの全投与群で、肝細胞及びクッパー細胞のリボフスチン及びヘモジデリンの沈着が雄 1 mg/kg/日以上及び雌 0.3 mg/kg/日以上でみられた。肝臓において壊死等の障害性変化やそれに付随する炎症性変化は認められておらず、肝臓重量の増加、顆粒状好酸性化はペルオキシゾーム増生を示唆し、空胞化は中性脂肪の内包が確認されたことから、ペマフィブラートの薬理作用によるものと考えられた。また、いずれの変化も休薬により回復あるいは回復傾向がみられた。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験については以下の試験を実施した。

ネズミチフス菌 4 株並びに大腸菌 1 株を用いた復帰突然変異試験では S9 処理の有無にかかわらず、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。また、哺乳類培養細胞株の CHL/IU を用いた染色体異常試験では短時間処理法（6 時間処理後 18 時間培養、ラット肝 S9 による代謝活性系存在下も含む）及び連続処理法（24 時間処理）とも構造異常あるいは数値的異常を有する細胞頻度の増加は認められなかった。また、ラットにペマフィブラートを 2 日間強制経口投与して行った小核試験（125、250、500 及び 1000 mg/kg/日）では染色体異常誘発性は認められなかった。

以上より、ペマフィブラートは遺伝毒性を有しないと判断した。

2.4.4.4 がん原性試験

がん原性試験ではマウス（雌雄 0.075、0.15 及び 0.3 mg/kg/日）及びラット（雄 0.3、1 及び 3 mg/kg/日、雌 1、3 及び 10 mg/kg/日）を用いて実施した。

マウスでは腫瘍性病変として、肝細胞癌の発現頻度の増加が 0.15 mg/kg/日以上で、肝細胞腺腫の発現頻度の増加が 0.075 mg/kg/日以上で認められた。よって、マウスの腫瘍性病変に対する無毒性量は雌雄共に 0.075 mg/kg/日未満と判断した。0.075 mg/kg/日の投与 26 週時の AUC₀₋₂₄ は雄 12.7 ng·h/mL、雌 33.1 ng·h/mL であった。

2.4 非臨床試験の概括評価

ラットでは腫瘍性病変として、肝細胞癌、肝細胞腺腫若しくはその合計における発現頻度の増加が雌雄 1 mg/kg/日以上で認められた。また、膵臓腺房細胞癌の発現頻度の増加が雄 0.3 mg/kg/日以上で、膵臓腺房細胞腺腫の発現頻度の増加が雄 0.3 mg/kg/日以上、雌 1 mg/kg/日以上で認められた。また、精巣ライディッヒ細胞腺腫の発現頻度の増加が雄 1 mg/kg/日以上で認められた。また、甲状腺濾胞上皮細胞腺腫の発現頻度の増加が雄 0.3 mg/kg/日以上、雌 1 mg/kg/日以上で認められた。よって、ラットの腫瘍性病変に対する無毒性量は雄 0.3 mg/kg/日未満、雌 1 mg/kg/日未満と判断した。投与 26 週時の雄 0.3 mg/kg/日での AUC_{0-24} は 53.9 ng·h/mL、雌 1 mg/kg/日での AUC_{0-24} は 163.1 ng·h/mL であった。

肝臓、膵臓及び精巣の腫瘍は PPAR α 作動薬のげっ歯類特異的な腫瘍として言及される。また、甲状腺の腫瘍は肝臓の代謝亢進作用を有する化学物質でげっ歯類に特異的に誘発されることが広く知られている。ペマフィブラートの催腫瘍性もこれらに該当すると考え、ヒトへの外挿性が低いものと判断した。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

ラットを用いて受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 (5、15 及び 50 mg/kg/日) を行った。雌雄共に 5 mg/kg/日以上で体重増加抑制、貧血等が認められたが、精子検査 (生存指数、精子数及び奇形精子の発現頻度)、性周期、交尾率、受胎率及び交尾所要日数、着床数並びに着床前及び着床後死亡率に変化は認められなかった。ただし、50 mg/kg/日で黄体数及び生存胚数の軽微な減少を認めた。よって、一般毒性学的無毒性量は雌雄とも 5 mg/kg/日未満、雄の生殖能に対する無毒性量は 50 mg/kg/日、雌の生殖能及び初期胚に対する無毒性量は 15 mg/kg/日と判断した。

ラット (10、30 及び 100 mg/kg/日) 及びウサギ (1、10 及び 100 mg/kg/日) を用いて胚・胎児発生に関する試験を行った。ラットでは 10 mg/kg/日以上で母動物の体重の増加抑制若しくは減少が認められた。胎児に対して、着床数、着床前及び着床後死亡率、生存胎児数、性比、胎児体重、胎盤重量、外表奇形、内臓異常、骨格異常、骨格変異及び骨化進行度に特記すべき変化は認められなかった。よって、一般毒性学的無毒性量は 10 mg/kg/日未満、胚・胎児の発生に対する無毒性量は 100 mg/kg/日と判断した。一方、ウサギでは摂餌量の減少や消瘦から栄養失調による二次的影響と考えられる早産または流産した例数の増加が 10 mg/kg/日群でみられた。ただし、帝王切開した動物の剖検で黄体数に差は認められなかった。胎児に対して、ラットと同様に特記すべき変化は認められなかった。よって、一般毒性学的無毒性量は 10 mg/kg/日、胚・胎児の発生に対する無毒性量は 100 mg/kg/日と判断した。両試験結果より、ペマフィブラートは催奇形性作用を有しないと判断した。

ラットを用い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 (0.1、0.3、3、10 及び 30 mg/kg/日) を行った。3 mg/kg/日以上で母動物の死亡がみられ、授乳期間中、10 mg/kg/日以上で母動物の哺育能の低下が、30 mg/kg/日で体重増加抑制、摂餌量の減少がみられたが、分娩時の異常はみられず、妊娠率及び妊娠期間、授乳期間終了後の剖検も特に異常は認められなかった。次世代 (F₁ 児) への影響について、着床痕数、出産児数、出生児数、出産率、出生率及び性比に変化は認められなかった。3 mg/kg/

2.4 非臨床試験の概括評価

日以上で F₁ 児の成長抑制がみられ、10 mg/kg/日以上で出生児の生後 4 日生存率の低下がみられたが、離乳率に差は認められなかった。また、3 mg/kg/日以上で F₁ 児の身体的発達過程（耳介開展、毛生、切歯萌出、眼瞼開裂など）に遅延傾向が、また 10 mg/kg/日以上から初期行動検査で背面立ち直り反射の低下がみられたが、いずれも最終時検査では差は認められなかった。離乳後の F₁ 児の一般状態、知能検査、生殖機能検査等で特記すべき変化は認められなかった。よって、母動物の一般毒性学無毒性量、生殖発生に及ぼす影響及び出生児の発生に関する無毒性量とも 0.3 mg/kg/日と判断した。

2.4.4.6 局所刺激性試験

ペマフィブラートは経口投与による使用が予定されているため、局所刺激性試験は実施しなかった。

2.4.4.7 その他の試験

(1) 発がん機序検討試験

がん原性試験で肝細胞（マウス、ラット）、膵臓腺房細胞（ラット）、精巣ライディッヒ細胞（ラット）、甲状腺濾胞上皮細胞（ラット）において腫瘍発現が認められた。

ペマフィブラートは選択的かつ強力な PPAR α アゴニスト作用を有する薬物であり、PPAR α アゴニスト作用を有する化合物ではげっ歯類で肝臓、膵臓及び精巣に対し催腫瘍性を示すもののヒトへの発がんリスクは低いとされている。そこで、上記の考えがペマフィブラートでも支持されることを確認するため以下の試験を実施した。

肝臓の腫瘍発現に対して、PPAR α の関与を検討するため、PPAR α ノックアウトマウスを用いた試験を実施し、さらに、発がん機序における動物種差を検討するため、ラット及びサルの肝臓を用いた細胞増殖活性測定、アポトーシス、ペルオキシゾーム増生の観察、並びに遺伝子発現解析を行った。その結果、野生型マウスで肝臓の障害性変化が認められたものの PPAR α ノックアウトマウスでは何ら変化は認められなかった。また、肝臓における細胞増殖活性及びアポトーシスはラットでは増加がみられたが、サルでは特に変化が認められなかった。電子顕微鏡を用いたペルオキシゾーム増生の評価では、ラットで肝細胞におけるペルオキシゾーム/ミトコンドリア比率の増加が認められた。サルでも増加傾向がみられたが、肝臓重量の増加はラットで著しく、生体全体に対する影響に動物種差が示唆された。また、ペルオキシゾーム増生、脂肪酸 β 酸化等に関与する遺伝子の発現解析によりラットで *Acox1*、*Cyp4a1*、*Pex1* 及び *Pex11a* mRNA の明らかな発現上昇が認められ、さらに発がん遺伝子である *Myc* mRNA の発現が上昇し、サルとの遺伝子発現誘導に差異が確認された。以上から、ペマフィブラートの肝臓へ対する影響は PPAR α アゴニスト作用を介したものであり、げっ歯類に特異性が高く、既存の PPAR α アゴニストと同様にヒトへの発がんリスクは低いと判断した。

膵臓の腫瘍発現に対して、ラットの血漿中 CCK 濃度の測定を行った。その結果、血漿中 CCK 濃度の増加を示す個体がみられ、本腫瘍が血漿中 CCK 濃度の増加を介して発生したものであると考えられた。CCK 増加による膵臓腺房細胞腫瘍はげっ歯類特異的なものであると考えられており、ペマフィブラートを投与したサルの膵臓におい

2.4 非臨床試験の概括評価

でも細胞増殖活性は認められていないことから、他の PPAR α アゴニストと同様にヒトで膵臓腺房細胞腫瘍を誘発するリスクは低いと判断した。

精巣の腫瘍発現に対して、ラット及びサルの精巣を用いた細胞増殖活性測定、並びに血漿中の性ホルモンの濃度測定を行った。その結果、細胞増殖活性はラットで増加がみられたもののサルで変化はなく、またラットで血漿中エストラジオール及びテストステロンの上昇が認められたが、サルでは特に変化は認められなかった。精巣ライディッヒ細胞腺腫は PPAR α 活性化による肝臓のアロマターゼ活性の亢進及びエストラジオールの代謝抑制に伴う血中エストラジオール濃度の増加によるものと考えられ、ヒトでは PPAR α アゴニストによるアロマターゼの活性化は起こりがたいことから、ヒトへの発がんリスクは低いと判断した。

甲状腺の腫瘍発現に対して、ラットの肝臓中の T₄UGT 活性及び血漿中 T₄、T₃ 及び TSH の濃度測定と、ラット下垂体の抗 TSH 抗体による免疫染色を行った。その結果、肝臓中の T₄UGT 活性の増加、血漿中総 T₄、遊離型 T₄ の低値が認められた。また、下垂体の空胞化所見が抗 TSH 抗体による免疫染色で陽性であったことから、下垂体における TSH の合成亢進が示唆された。したがって、ラットの甲状腺濾胞上皮腺腫は甲状腺ホルモン代謝亢進に基づく二次的な変化であり、ラットで特異性が高く、ヒトへの発がんリスクは低いものと判断した。

(2) 代謝物

ヒトマスバランス試験の結果から総曝露の 10%を超える代謝物として K-23467 及び K-23605 が検出された。このため、反復投与毒性（サル）、胚・胎児発生に関する生殖発生毒性（妊娠ラット）、がん原性（マウス、ラット）を評価した動物種にペマフィブラートを投与し、これら代謝物の曝露量を確認した。

サルの長期反復投与毒性試験における無毒性量の 0.3 mg/kg/日、妊娠ラットの胚・胎児の発生に対する無毒性量の 100 mg/kg/日において、K-23467、K-23605 の曝露量は臨床最大用量のヒト曝露量に対しそれぞれ高く上回り、これら代謝物の全身毒性あるいは胚・胎児毒性に与える影響は低いものと判断した。

がん原性において、ラットでは最高用量である 3 mg/kg/日（雄）、10 mg/kg/日（雌）で K-23467 及び K-23605 の曝露量は臨床最大用量に対しそれぞれ等価、マウスでは最高用量である 0.3 mg/kg/日で K-23467 の曝露量は 2 倍程度を示した。がん原性試験で発現した腫瘍はペマフィブラートの PPAR α アゴニスト作用に起因することが知られているものであり、これらに PPAR α アゴニスト活性がなく、また細菌を用いた復帰突然変異試験及びラットを用いた小核試験が陰性であり直接的な遺伝毒性の懸念はないこと、臨床曝露量に対し高曝露下にあったサルの長期投与で増殖性病変が特に認められないこと、さらにはペマフィブラートの臨床最大用量は 0.4 mg/日と極めて低いことから発がん性の懸念は低いものと判断した。

(3) 光毒性

雄性の有色ラットにペマフィブラートを 0.5、5 及び 50 mg/kg/日で単回強制経口投与し、投与後 30 分に約 10 J/cm² の長波長紫外線（UVA）を照射し、耳介及び背部皮膚

2.4 非臨床試験の概括評価

の肉眼的観察、眼科学的検査及び病理組織学的検査（眼球/視神経、背部皮膚、耳介）を実施した。その結果、いずれの観察、検査においても特に異常は認められず、ペマフィブラートは光毒性を有しないと判断した。

(4) スタチン併用投与毒性

スタチンとの併用投与によりペマフィブラートの毒性作用が増強するか若しくは新規の毒性が発現するかを検討するため、ラットを用いて代表的なスタチンの一種であるアトルバスタチンとの併用投与による毒性試験を実施した。投与量はペマフィブラートを 0.3、1 及び 3 mg/kg/日、アトルバスタチンを 10、30 及び 100 mg/kg/日として各投与量を組み合わせ、投与期間は 13 週間とした。

その結果、アトルバスタチンの併用投与により毒性作用の増強及び新規の毒性発現は認められなかった。骨格筋に対しては、大腿四頭筋、腓腹筋、ヒラメ筋及び横隔膜の病理組織学的検査を実施し、異常所見は認められなかった。トキシコキネティクスでは、ペマフィブラートの C_{max} 及び AUC_{0-24} は併用投与したアトルバスタチンの投与量増加に伴い増加する傾向がみられた。アトルバスタチン及びその代謝物の C_{max} 、 AUC_{0-24} 、 t_{max} 及び $t_{1/2}$ は、ペマフィブラートの投与量によらず一定であった。以上より、ペマフィブラートはスタチンとの併用により毒性作用が増強する若しくは新規の毒性が発現する危険性は低いと判断した。

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 薬理試験

薬効を裏付ける試験：ペマフィブラートは、強力かつ選択的な PPAR α 活性化作用を示し、各種モデル動物において血漿 TG 濃度低下作用を示した。その作用はフェノフィブラートと比べて極めて低用量で認められ、重篤な病態モデルでは TG 濃度低下作用が強い傾向があった。その作用機序は、肝臓の TG 合成抑制、肝臓から血中への TG の分泌抑制、血中の TG の加水分解・異化亢進作用及び FGF21 濃度増加作用を介した血中 TG 濃度の低下と考えられる。ヒト ApoA-I トランスジェニックマウスにおいて血漿 HDL-C 濃度及びヒト ApoA-I 濃度を増加させたことから、臨床においても HDL-C 濃度及びヒト ApoA-I 濃度を増加させると考えられた。さらに、高脂肪・高コレステロール食を負荷した LDL 受容体欠損マウスで本薬は抗動脈硬化作用を示したことから、臨床においても抗動脈硬化作用が期待される。

副次的薬理試験：ラットにおいて、ペマフィブラートの血漿 TG 濃度低下作用の持続時間は 2 日間であり、その効果は可逆的であった。胆汁分泌量と胆石形成指数について、ラットを用いて検討したところ、胆汁分泌に影響は認められず、胆石形成の懸念は認められなかった。72 種類の酵素、受容体及びトランスポーターに対するペマフィブラートの阻害作用又は親和性について予備的に検討したところ、受容体及びトランスポーターのほとんどに明らかな影響を及ぼさなかった。

安全性薬理試験：ペマフィブラートの一般症状及び中枢神経系、呼吸器系並びに心血管系に及ぼす影響について検討したところ、明らかな影響は認められなかった。

2.4.5.2 薬物動態試験

ペマフィブラートを経口投与したとき、循環血液への吸収及び循環血からの消失は動物種によらず速やかであった。ラット及びサル分布試験の結果、速やかな組織移行性を認め、ラットでは特に肝臓に高い放射能が認められた。また、ラットでは、メラニンを含む組織、乳汁、胎盤及び胎児にも移行したものの、全ての組織から速やかに消失し、残留性はないと推察された。*In vitro* 代謝試験の結果、主要な代謝物は脱アリール化による K-15827、O-脱メチル化による K-15828 及び水酸化による K-15834 の 3 種であった。その他、ラット、サル及びヒトの血漿中には、主要な代謝物として K-23467、K-23469 及び K-23605 が検出された。ラットでは、放射能は主に胆汁を介して糞中に排泄された。

ペマフィブラートは、臨床使用上、血漿蛋白結合を介した相互作用を起こす可能性は低く、また、肝代謝酵素及びトランスポーターを阻害並びに肝代謝酵素を誘導する可能性は低いと考えられた。また、ペマフィブラートは陰イオン交換樹脂に吸着されやすく、透析により血漿から除去されにくいものと考えられた。

2.4.5.3 毒性試験

単回投与毒性試験では、ラットでの概略の致死量は経口投与では雌雄共に 2000 mg/kg/日であり、イヌの雄では 2000 mg/kg/日を経口投与しても死亡例はみられなかった。ラットの 2000 mg/kg/日の C_{max} は雄 423807.4 ng/mL、雌 649122.0 ng/mL、AUC₀₋₂₄

2.4 非臨床試験の概括評価

は雄 1837313.2 ng·h/mL、雌 13348346.2 ng·h/mL であり、臨床最大用量 0.4 mg/日の C_{max} は 3.787 ng/mL、AUC₀₋₂₄ は 30.096 ng·h/mL であることから、ペマフィブラートはヒトに対し急性毒性の懸念は低いと判断された。

反復投与毒性試験では、主要な毒性変化並びに標的器官として貧血、肝臓、脾臓、精巣、甲状腺及び腎臓があげられた。貧血はラット及びイヌで認められ、血清鉄、TIBC、UIBC、MCV あるいは MCHC の低下から鉄欠乏性貧血が示唆された。これは、肝障害に起因しトランスフェリンからの鉄の利用に変化が生じたものと考えられた。回復性のある変化であり、臨床で注意しモニタリングすることで重篤な有害事象の発生は回避可能と判断した。また、肝臓において、ペマフィブラートのペルオキシゾーム増生作用に起因すると考えられる重量増加、肝細胞の好酸性化及び肥大が認められ、ラットでは後述するがん原性試験結果と関連する肝細胞の多核化、アポトーシス、有糸分裂活性の増加、再生性過形成、炎症性反応を伴った肝細胞壊死等の変化が認められた。イヌでも肝細胞の変性/壊死が発現し、またサルでは器質的障害性変化はないものの A/G 比の減少、ALT の増加といった肝機能への影響がうかがわれた。ただし、肝臓への影響はげっ歯類に比べイヌ、サルは共に高曝露下で認められるものであり動物種差がみられた。また、ラット及びマウスではがん原性試験によりそれぞれ肝細胞腫瘍の発現が認められた。PPAR α アゴニストによる肝障害、肝発がんはげっ歯類に特異性が高く、ヒトへのリスクは低いとされる。ペマフィブラートの上記変化もこれに該当するものと判断した。また、脾臓に対しラットのがん原性試験により腺房細胞腫瘍の発現が認められた。本変化は血漿中 CCK 濃度の増加を介して発症したものと考えられた。類薬のラットのがん原性試験においても脾臓腺房細胞腫瘍の発現が報告されており、ラット特異性の高い変化とされ、臨床使用で特に問題ないことから、ヒトへの発がんリスクは低いと判断した。また、精巣に対しラットのがん原性試験によりライディッヒ細胞腫瘍の発現が認められた。本変化はペマフィブラートによる肝臓でのアロマターゼ活性亢進及びエストラジオールの代謝抑制に伴う血中エストラジオール濃度の増加に起因したものと考えた。類薬でも精巣ライディッヒ細胞腺腫が報告されており、ヒトでは PPAR α アゴニストによるアロマターゼの活性化は起こりがたいとされることから、ペマフィブラートもヒトへのリスクは低いものと判断した。また、甲状腺に対しラットのがん原性試験により濾胞上皮細胞腫瘍の発現が認められた。本変化はげっ歯類特異的として知られている肝 T₄UGT 誘導による甲状腺ホルモンの代謝亢進に伴う二次的变化と考え、ヒトへのリスクは低いものと判断した。また、腎臓に対しラットの長期反復投与毒性試験で慢性進行性腎症が認められた。慢性進行性腎症は高週齢の SD ラットにおいては自然発生的にみられる変化として知られており、これが早期に認められたものと考えられた。その原因として PPAR α 活性による肝臓の蛋白質合成亢進から血漿中の蛋白質濃度が高く保たれたことにより、糸球体基底膜の変化が促進されたと考えた。ペマフィブラートの血漿中蛋白濃度の増加はイヌ、サルでは認められず、肝臓への影響と同様にラット特異性がみられた。よって、本変化はヒトへのリスクは低いものと判断した。

生殖発生毒性試験では、生殖能並びに胚・胎児の発生に対する影響は特に認められなかった。ラットを用いた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

2.4 非臨床試験の概括評価

は出生児の一時的な発達遅延及び反射行動の低下がみられたが、知能検査、生殖機能検査等に特に変化は認められなかった。本試験における無毒性量は臨床最大用量に対し推定で2倍程度の曝露マージンが確保されている。

代謝物では、ヒトマスバランス試験の結果から総曝露の10%を超える代謝物のK-23467及びK-23605について安全性評価した。サルでの長期反復投与毒性試験における無毒性量(0.3 mg/kg/日)、妊娠ラットの胚・胎児の発生に対する無毒性量(100 mg/kg/日)はそれぞれ、臨床最大用量におけるK-23467、K-23605のヒト曝露量に対し高い曝露マージンを示し、これら代謝物が全身毒性あるいは胚・胎児毒性に与える影響は低いものと判断した。また、がん原性について、ラットの最高用量でK-23467及びK-23605の曝露量はそれぞれ臨床最大用量に対し等価、マウスの最高用量でK-23467は2倍程度の曝露量を示した。がん原性試験で発現した腫瘍はペマフィブラートのPPAR α アゴニスト作用に起因するものであり、これら代謝物はPPAR α アゴニスト活性がなく、遺伝毒性の懸念もないこと、またサルの長期投与で増殖性病変が特に認められないこと、さらにはペマフィブラートの臨床最大用量は0.4 mg/日と極めて低いことから発がん性の懸念は低いものと判断した。

光毒性試験では、有色ラットを用いた試験において、いずれの検査においても異常は認められず、ペマフィブラートは光毒性を有しないと判断した。

スタチン併用投与毒性試験では、ラットを用いたアトルバスタチン併用投与毒性試験において、毒性作用の増強及び新規の毒性発現は認められず、骨格筋及び心筋においても病理組織学的検査で異常所見は認められなかった。

2.4.5.4 まとめ

ペマフィブラートは、強力かつ選択的なPPAR α 活性化作用を示し、各種モデル動物において血漿TG濃度低下作用を示した。また、ペマフィブラートは経口投与によって速やかに吸収され組織内に移行することが明らかになった。排泄経路は主に糞であり尿への排出量は低いことが明らかになった。毒性試験の結果から、ペマフィブラートは急性毒性のリスクは低いと考えられた。また、肝細胞、膵臓腺房細胞、精巣ライディッヒ細胞、甲状腺濾胞上皮細胞において腫瘍発現が認められたが、これらはいずれもげっ歯類特異的に認められる現象であり、臨床最大用量である0.4 mg/日における発がん性の懸念は低いと考えられた。

以上の非臨床試験成績から、ペマフィブラートは優れた血漿TG濃度低下作用を示し、なおかつ安全な薬物であると判断した。