KHK7580

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

協和発酵キリン株式会社

略号及び用語の定義一覧

略号

略号	略していない用語
BCRP	Breast cancer resistance protein
Ca	カルシウム
Ca^{2+}	イオン化カルシウム
Caco-2 細胞	Human colorectal adenocarcinoma cell（ヒト結腸腺癌由来細胞）
CaR	Calcium receptor（カルシウム受容体）
Cl	クロール
CYP	Cytochrome P450（チトクローム P450）
EC_{50}	50% effective concentration（50%有効濃度）
HEK293 細胞	Human embryonic kidney 293 cell（ヒト胎児由来腎臓 293 細胞）
hERG	Human ether-a-go-go-related gene（ヒト Ether-a-go-go 関連遺伝子）
HSA	Human serum albumin（ヒト血清アルブミン）
IC_{50}	50% inhibitory concentration（50%阻害濃度）
IP	無機リン
K	カリウム
MATE	Multidrug and toxin extrusion
Na	ナトリウム
OAT	Organic anion transporter（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）
OCT	Organic cation transporter（有機カチオントランスポーター）
P-gp	P-glycoprotein（P 糖蛋白質）
PTH	Parathyroid hormone（副甲状腺ホルモン）
SHPT	Secondary hyperparathyroidism（二次性副甲状腺機能亢進症）
UGT	UDP-glucuronosyltransferase（UDP-グルクロン酸転移酵素）
α_1-AGP	α_1-acid glycoprotein（α_1-酸性糖蛋白）

用語の定義

用語	定義
$AUC_{0-\tau}$	投与間隔時間 τ での濃度―時間曲線下面積
AUC_{0-24}	投与後 24 時間までの濃度―時間曲線下面積
AUC_{0-48}	投与後 48 時間までの濃度―時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}$	無限大時間までの濃度―時間曲線下面積
C_{max}	最高濃度
F	生物学的利用率
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hCav1.2	Human voltage-dependent calcium channel 1.2（ヒト電位依存性カルシウムチャネル 1.2）
hKir2.1	Human inwardly rectifying potassium channel 2.1（ヒト内向き整流カリウムチャネル 2.1）
hKir6.2	Human inwardly rectifying potassium channel 6.2（ヒト内向き整流カリウムチャネル 6.2）
hKv1.5	Human voltage-dependent potassium channel 1.5（ヒト電位依存性カリウムチャネル 1.5）
hKv4.3	Human voltage-dependent potassium channel 4.3（ヒト電位依存性カリウムチャネル 4.3)
hKvLQT1	Human voltage-dependent potassium channel 7.1（ヒト電位依存性カリウムチャネル 7.1）
hNav1.5	Human voltage-dependent sodium channel 1.5（ヒト電位依存性ナトリウムチャネル 1.5）
ICH	医薬品規制調和国際会議
M1	KHK7580 代謝物：Taurine conjugate of KHK7580
M2	KHK7580 代謝物：Glycine conjugate of KHK7580
M3	KHK7580 代謝物：KHK7580 glucuronide
M4	KHK7580 代謝物：α-oxidation form of phenylacetic acid moiety of KHK7580
M5	KHK7580 代謝物：Naphthylethylamine
M6	KHK7580 推定代謝物：Dihydrodiol of KHK7580
M7	KHK7580 推定代謝物：Naphthylacetic acid
M8	KHK7580 推定代謝物：M4 glucuronide
M9	KHK7580 推定代謝物：Dihydrodiol of M5
minK	Minimal potassium channel subunit（最小カリウムチャネルサブユニット）
mRNA	伝令リボ核酸
QTc	心拍数で補正した QT 間隔
SUR2A	Sulfonylurea receptor 2A（スルホニル尿素受容体 2A）
$t_{1/2}$	消失半減期

目次

略号及び用語の定義一覧 2
目次 4
2.4 非臨床試験の概括評価 5
2.4.1 非臨床試験計画概略 5
2.4.2 薬理試験 7
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 7
2.4.2.2 副次的薬理試験 7
2.4.2.3 安全性薬理試験 8
2.4.3 薬物動態試験 9
2.4.3.1 吸収 9
2.4.3.2 分布 9
2.4.3.3 代謝 10
2.4.3.4 排泄 10
2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用 11
2.4.3.6 その他の薬物動態試験 11
2.4.4 毒性試験 11
2.4.4.1 単回投与毒性試験 11
2.4.4.2 反復投与毒性試験 12
2.4.4.3 遺伝毒性試験 13
2.4.4.4 がん原性試験 13
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 13
2.4.4.6 局所刺激性試験 14
2.4.4.7 その他の毒性試験 15
2.4.4.7.1 毒性発現の機序に関する試験 15
2.4.4.7.2 光毒性試験 15
2.4.5 総括及び結論 15
2.4.6 参考文献 19

2.4 非臨床試験の概括評価

KHK7580 は選択的なカルシウム受容体（CaR）作動薬（カルシミメティクス）であり、維持透析下の二次性副甲状腺機能亢進症（SHPT）を適応とし申請している。SHPT 治療薬として KHK7580 と同様の作用機序を有したシナカルセト塩酸塩（レグパラ®）が存在する。シナカルセト塩酸塩は、副甲状腺細胞表面の CaR に作用して CaR のカルシウム（Ca）感受性を高め、副甲状腺ホルモン（PTH）分泌を抑制する[1)]。SHPT 患者においてシナカルセト塩酸塩は、高い治療効果を示す一方で、上部消化管に対する副作用（悪心・嘔吐、腹部不快感、食欲不振及び腹部膨満）を一定の割合で発現する[2)]。これらの症状は患者の負担であると同時に、十分な効果を示すまでシナカルセト塩酸塩を増量できない一因となっている。また、シナカルセト塩酸塩は強いチトクローム P450（CYP）2D6 阻害作用を有しており、CYP2D6 の基質となる薬剤の血中濃度を上昇させる可能性があるため併用に注意しなければならない[2)]。KHK7580 は、シナカルセト塩酸塩が有するこれらの問題を軽減することで、SHPT 患者の PTH 管理目標値の達成に貢献することが期待され、また薬物間相互作用の観点からも使いやすい次世代のカルシミメティクスとして開発された。

非臨床薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験を以下のとおり実施した。

2.4.1 非臨床試験計画概略

【薬理試験】

効力を裏付ける試験としてヒト CaR 発現細胞を用い、*in vitro* において KHK7580 並びにヒトにおける主代謝物である M1 及び M2 の CaR に対する作用を評価した。また、*in vivo* において正常マウス及びラット並びに部分腎摘ラットを用いて血漿中又は血清中 PTH 濃度及び Ca 濃度に対する KHK7580 の作用を評価した。更に、部分腎摘ラットを用いて KHK7580 の副甲状腺細胞の増殖に対する作用を検討した。副次的薬理試験として、*in vitro* にて KHK7580 の各種受容体及び各種イオンチャネル等への結合プロファイルを評価し、ラットを用いて KHK7580 の尿中電解質及び胃排出への作用を *in vivo* で検討した。安全性薬理試験として KHK7580 の中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に及ぼす影響を *in vitro* 及び *in vivo* 試験で検討した。

【薬物動態試験】

薬物動態試験として非標識体及び ^{14}C 標識した KHK7580（^{14}C-KHK7580）をラット及びサルに投与後の血漿中薬物濃度推移を検討した。分布については、^{14}C-KHK7580 を用いて、ラットにおける組織内分布、胎児及び胎盤移行性並びに *in vitro* における血漿蛋白結合率及び血球への移行を検討した。代謝については、*in vitro* では肝細胞（ラット、サル及びヒト）を用いて、*in vivo* では ^{14}C-KHK7580 を投与後の血漿（ラット及びサル）、尿糞（ラット及びサル）及び胆汁（ラット）を用いて解析した。更に、*in vitro* 試験により KHK7580 の代謝酵素、酵素誘導及び阻害を評価した。排泄については、尿（ラット及びサル）、糞（ラット及びサル）、呼気（ラット）、胆汁（ラット）、乳汁中（ラット）への排泄を評価した。薬物動態学的薬物相互作用については、*in vitro* 試験により種々のトランスポーターに対する KHK7580 の基質性及び阻害作用を評価した。更に部分腎摘ラットにおける KHK7580 の血漿中薬物濃度推移を評価した。非臨床薬物動態試験における投与経路は、臨床投与経路である経口投与とし、一部の試験では静脈内投与を実施した。特に示さない限り、単回投与は絶食下で、反復経口投与は非絶食下で実施した。

【毒性試験】

KHK7580 の毒性プロファイルを検討するために、反復投与毒性試験（ラット：最長 6 ヵ月間、カニクイザル：最長 9 ヵ月間）、遺伝毒性試験、がん原性試験（ラット：2 年間、rasH2 トランスジェニックマウス：6 ヵ月間）、生殖発生毒性試験（ラット、ウサギ）及びその他の毒性試験（Ca 補充試験、眼房水中 KHK7580 濃度測定試験及び光毒性試験）を実施した（表 2.4.1-1）。投与頻度及び投与経路は、KHK7580 の用法にあわせて 1 日 1 回経口投与とした。主要な毒性試験は GLP に適合した試験であり、ICH ガイドラインに準拠して実施した。急性毒性は反復投与毒性試験から評価可能と判断したため、単回投与毒性試験を実施しなかった。また、臨床投与経路が経口であるため、局所刺激性試験を実施しなかった。

表2.4.1-1 毒性試験の一覧

試験の種類及び期間	投与方法	動物種/系統、細菌又は細胞	GLP
反復投与毒性試験			
2 週間	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	非適用
4 週間（+4 週間休薬）	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
13 週間	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
26 週間	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
2 週間	強制経口	カニクイザル	非適用
4 週間（+4 週間休薬）	強制経口	カニクイザル	適用
13 週間	強制経口	カニクイザル	適用
39 週間	強制経口	カニクイザル	適用
遺伝毒性試験			
復帰突然変異試験	*In vitro*	ネズミチフス菌及び大腸菌	適用
染色体異常試験	*In vitro*	チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞	適用
骨髄小核試験	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
がん原性試験			
104 週間	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
2 週間（用量設定試験）	強制経口	マウス/Crlj:CD1(ICR)	非適用
4 週間（用量設定試験）	強制経口	マウス/Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl（非遺伝子組換え同腹仔）	適用
26 週間	強制経口	マウス/Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl	適用
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	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
胚・胎児発生に関する試験（用量設定試験）	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
胚・胎児発生に関する試験	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
胚・胎児発生に関する試験（用量設定試験）	強制経口	ウサギ/Kbl:NZW	適用
胚・胎児発生に関する試験	強制経口	ウサギ/Kbl:NZW	適用
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	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
その他の毒性試験			
毒性発現の機序に関する試験：Ca 補充試験	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	非適用
毒性発現の機序に関する試験: 眼房水中 KHK7580 濃度測定試験	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
毒性発現の機序に関する試験: 眼房水中 KHK7580 濃度測定試験	強制経口	カニクイザル	適用
その他の試験：光毒性試験	*In vitro*	BALB/3T3 clone A31 細胞	適用
その他の試験：光毒性試験	強制経口	ラット/ Crl:Long-Evans	適用

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

ヒト CaR に対する KHK7580 の作用についてヒト CaR を発現させたヒト胎児由来腎臓 293 細胞（HEK293 細胞）を用いて検討した。KHK7580 は濃度の増加に伴い細胞内イオン化カルシウム（Ca^{2+}）濃度を上昇させ、その 50%有効濃度（EC_{50}）値は 6.70×10^{-8}～1.59×10^{-7} mol/L であった（2.6.2.2.1）。また、ヒト CaR を発現させた HEK293 細胞において、KHK7580 は濃度の増加に伴い Ca 刺激による反応曲線を低濃度側へシフトさせた（2.6.2.2.2）。この作用様式は、アロステリックに作用する化合物の特徴として知られている[3)]。また、KHK7580 の構造は、CaR に対する既存のポジティブアロステリックモジュレーターと類似している[4-7)]。以上より、KHK7580 はヒト CaR に対してアロステリック作動活性を有することが示唆された。

副甲状腺細胞において CaR は高発現しており、細胞外 Ca 濃度を感知して、副甲状腺からの PTH 分泌を制御している[8,9)]。副甲状腺から分泌された PTH の生理作用として血中 Ca 濃度を制御していることが知られている。また、既存のカルシミメティクスであるシナカルセト塩酸塩は、血中 PTH 濃度及び Ca 濃度を低下させることが報告されている[1)]。そこで、*in vivo* において血中 PTH 濃度及び Ca 濃度に対する KHK7580 の作用を正常マウス及び正常ラットを用いて評価した。

雌雄マウスに KHK7580（0.3、1 及び 3 mg/kg）を 1 日 1 回 2 週間反復経口投与したとき、初回及び最終投与後それぞれにおいて、投与前と比較して、投与量の増加に伴い、血漿中 PTH 濃度及び Ca 濃度が低下した（2.6.2.2.3）。雄性ラットに KHK7580（0.03、0.1、0.3 及び 1 mg/kg）を単回経口投与したとき、0.03 mg/kg 以上で有意に血清中 PTH 濃度が低下し、0.1 mg/kg 以上で有意に血清中 Ca 濃度が低下した（2.6.2.2.4）。

SHPT は慢性腎不全の主要な合併症であり、高 PTH 血症を示す。また、SHPT では副甲状腺細胞の増殖亢進による副甲状腺細胞過形成を呈する。そこで、SHPT の高 PTH 血症及び副甲状腺細胞過形成に対する KHK7580 の作用を検討する目的で 5/6 腎臓摘出（部分腎摘）術を施したラットを用いて KHK7580 の作用を評価した。

部分腎摘術を施した雄性ラットに KHK7580（0.03、0.1、0.3 及び 1 mg/kg）を 1 日 1 回 2 週間反復経口投与したとき、初回及び最終投与後ともに、0.1 mg/kg 以上で有意に血清中 PTH 及び Ca 濃度が低下した（2.6.2.2.5）。また、部分腎摘術を施した雄性ラットに KHK7580（0.1 及び 0.3 mg/kg）を 1 日 1 回 4 週間反復経口投与したとき、0.1 mg/kg 以上で部分腎摘による副甲状腺細胞の増殖亢進及び副甲状腺の重量増加が有意に抑制された（2.6.2.2.6）。

以上より、KHK7580 は副甲状腺細胞の CaR に作用することで、血中 PTH 濃度を低下させ、血中 Ca 濃度を二次的に低下させることが示唆された。また、KHK7580 は腎機能の低下による副甲状腺細胞過形成の進展を抑制することが示唆された。

2.4.2.2 副次的薬理試験

副次的薬理試験として、*in vitro* にて受容体結合プロファイルを評価し、ラットを用いて尿中電解質及び胃排出への作用を評価した。KHK7580 の各種受容体、イオンチャネル及びトランスポーターに対する結合活性を検討したところ、本化合物は 10 µmol/L の濃度でアドレナリン α2A、アドレナリン α2B、アドレナリン α2C 及びドパミン D3 受容体に対する標識物質の結合を各々82.03%、46.76%、55.68%及び 41.41%阻害した。これらの受容体に対して、1 µmol/L の濃度では、KHK7580 の結合阻害率はいずれも 40%未満であった（2.6.2.3.1）。

雄性ラットに KHK7580（0.3、1 及び 3 mg/kg）を単回経口投与し、KHK7580 の尿量及び尿中電解質（ナトリウム（Na）、カリウム（K）及びクロール（Cl））排泄に対する影響、尿中 Ca 及び無機リン（IP）排泄量並びに尿 pH に対する影響を評価した。ラットにおいて、KHK7580 は 0.3 mg/kg 以上の投与量で Ca 排泄量を増加させ、IP 排泄量を減少させた。更に、1 mg/kg 以上で Cl 排泄量を増加させ、3 mg/kg では尿 pH を低下させた。Na 及び K 排泄量並びに尿量に対しては、KHK7580 は影響を与えなかった（2.6.2.3.2）。これらの影響は、腎臓の尿細管及び集合管に発現している CaR を介した作用又は血中 PTH 濃度の低下に基づく二次的な影響と考えられた[10-13]。

雄性ラットに KHK7580（0.3、1 及び 3 mg/kg）又はシナカルセト塩酸塩（10、30 及び 100 mg/kg）を単回経口投与したときの胃排出に対する作用を検討した。KHK7580 は、正常ラットにおいて PTH を有意に低下させた投与量（0.03 mg/kg）の 100 倍の投与量においてもラット胃排出率に影響を与えなかった。一方、シナカルセト塩酸塩は、正常ラットにおいて KHK7580 の 0.03 mg/kg と同程度の PTH 低下作用を示すと推定される投与量（1 mg/kg）[1] の 30 倍の投与量から胃排出率を有意に低下させた（2.6.2.3.3）。以上のことから、KHK7580 はシナカルセト塩酸塩に比べ、ラット胃排出能に与える影響が少ないことが示唆された。

ヒト CaR を発現させた HEK293 細胞において、ヒトにおける KHK7580 の主代謝物である M1 及び M2 は濃度の増加に伴い細胞内 Ca^{2+}濃度を上昇させ、その EC_{50} 値はそれぞれ、7.89×10^{-8}～1.24×10^{-7} mol/L 及び 1.83×10^{-7}～2.08×10^{-7} mol/L であった（2.6.2.3.4）。

2.4.2.3 安全性薬理試験

安全性薬理試験として、中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に及ぼす KHK7580 の影響を検討した。

中枢神経系に及ぼす影響を雄性ラットで検討した。10 mg/kg までの単回経口投与において、一般症状及び行動に影響は認められなかった（2.6.2.4.1.1）。

心血管系に及ぼす影響を各種 *in vitro* 評価、雄性ラット及び雄性カニクイザルで検討した。ヒト Ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）電流に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）値は 100 µmol/L よりも高値であり、その他の心筋イオンチャネル電流（hCav1.2、hKv1.5、hKvLQT1/minK、hKv4.3、hNav1.5、hKir2.1 及び hKir6.2/SUR2A）は 10 µmol/L で抑制されなかった（2.6.2.4.2.1、2.6.2.4.2.2、2.6.2.4.2.3）。加えて、雄性モルモット乳頭筋及び雄性ラット右心房でも、10 µmol/L で活動電位及び拍動数に影響はなかった（2.6.2.4.2.4、2.6.2.4.2.5）。無麻酔無拘束下の雄性ラットでは、単回経口投与により 3 mg/kg 以上で心拍数の増加、10 mg/kg で血圧の一過的な上昇が認められた（2.6.2.4.2.6）。また、無麻酔無拘束下の雄性カニクイザルでも、単回経口投与により 3 mg/kg 以上で心拍数の増加、10 mg/kg で血圧の上昇及び QTc の延長が認められた（2.6.2.4.2.7）。ラット及びカニクイザルにおける各所見は、他の CaR 作動薬でも認められており[14-16]、いずれも薬理作用による二次的な影響に起因すると考えた。

呼吸器系に及ぼす影響を雄性ラットで検討した。10 mg/kg までの単回経口投与において、1 分間の呼吸数、1 回換気量及び分時換気量に影響は認められなかった（2.6.2.4.3.1）。

安全性薬理試験では心血管系に及ぼす影響のみが認められ、この影響は薬理作用による二次的な影響に起因すると考えた。予定臨床最大用量 12 mg 投与時の推定非結合型 C_{max} をもとに算出した安全域ではカニクイザルにおける心拍数の増加が最も狭く、1 倍未満であった。しかし、本所見は、カニクイザルを用いた反復投与毒性試験では認められないため、急性的な反応であ

り、毒性学的意義は低いと判断した。また、血圧の上昇及び QTc の延長は、十分な安全域があり、過度の薬理作用に注意すれば、ヒトにおける安全性は確保できると判断した。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 吸収

雄性ラットに ^{14}C-KHK7580（1 mg/kg）を単回経口投与したとき、血漿中放射能濃度は投与後 1.1 時間に C_{max} に達し、$t_{1/2}$ は 18.83 時間であった（2.6.4.3.1.1）。雄性サルに ^{14}C-KHK7580（1 mg/kg）を単回経口投与したとき、血漿中放射能濃度は投与後 1.25 時間に C_{max} に達し、$t_{1/2}$ は 101.16 時間であった（2.6.4.3.1.2）。

KHK7580 を、雄性ラットに 0.1、0.3 及び 1 mg/kg、雄性サルに 0.1、0.3 及び 1 mg/kg 単回経口投与したとき、血漿中 KHK7580 濃度はラットで投与後 0.25～0.81 時間、サルで 1.25～1.50 時間に C_{max} を示し、KHK7580 の吸収は速やかであった。$t_{1/2}$ はラット及びサルでそれぞれ 5.77～6.66 時間及び 5.53～8.94 時間であった。C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$はラット及びサルのいずれにおいても、投与量の増加に伴った上昇及び増加が認められた。KHK7580 を経口投与したときの F はラットで 81.6～85.6%、サルで 44.1～55.8%であった（2.6.4.3.2.1、2.6.4.3.2.2）。

雌雄ラットを用いた KHK7580 の 4 週間反復投与毒性試験（0.1、0.3、1.5 及び 6 mg/kg/day）において 1 日 1 回経口投与したとき、投与期間を通して血漿中 KHK7580 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、投与量の増加に伴ってそれぞれ上昇及び増加した。AUC_{0-24} はいずれの投与量においても雄に比べて雌の方が約 2～5 倍高い値を示した。反復経口投与 28 日目の全身曝露は雌の 6 mg/kg を除き、投与 1 日目と同程度であった。雌の 6 mg/kg においては反復投与により全身曝露が約 2 倍に増加した（2.6.4.3.3.1）。雌雄ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験時の KHK7580（雄：0.3、1.5 及び 6 mg/kg、雌：0.1、0.6 及び 3 mg/kg）の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、投与量の増加に伴ってそれぞれ上昇及び増加した。投与 182 日目の全身曝露は、初回投与時に比べて、雄においては約 0.3～0.7 倍に減少し、雌においては約 1.6～2.9 倍に増加した（2.6.4.3.3.2）。雌雄サルにおける 39 週間反復経口投与毒性試験時の KHK7580（0.3、1 及び 3 mg/kg）の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、投与量の増加に伴ってそれぞれ上昇及び増加し、投与 1 日目と 273 日目でほぼ同程度であった（2.6.4.3.3.3）。

2.4.3.2 分布

雄性アルビノラット及び雄性有色ラットに ^{14}C-KHK7580（1 mg/kg）を単回経口投与したときの放射能の組織分布を評価した。雄性アルビノラットにおいて、放射能はほぼ全身に分布した。大部分の組織における放射能濃度は投与後 1 時間に最高値を示し、ハーダー氏腺及び肝臓における放射能濃度は血漿中放射能濃度よりも高かった。組織中放射能濃度は経時的に減少し、投与後 96 時間には大部分の組織において放射能は検出されなかった。雄性有色ラットにおいても、放射能は全身に分布した。雄性有色ラットの眼球の放射能濃度は雄性アルビノラットより高かった。更に、雄性有色ラットの眼球、有色皮膚及びブドウ膜の放射能の消失は緩やかであったことから、^{14}C-KHK7580 由来物質がメラニンに対して親和性を有することが示唆された（2.6.4.4.1）。

^{14}C-KHK7580 の *in vitro* 血漿蛋白結合率は 0.1～10 μg eq./mL の濃度範囲において、マウスで 88.7～89.6%、ラットで 95.2～95.8%、ウサギで 95.6～96.2%、サルで 95.1～96.2%、ヒトで 97.8～98.4%であり、いずれの動物種においても明確な濃度依存性は認められなかった。ヒトにお

ける主代謝物である M1 及び M2 の *in vitro* ヒト血漿蛋白結合率は、100 ng/mL の濃度で、それぞれ 97.5%及び 98.3%であった。ヒト血漿中における ^{14}C-KHK7580 の主結合蛋白は、ヒト血清アルブミン（HSA）及び α_1-酸性糖蛋白（α_1-AGP）と考えられた。ラット、サル及びヒト血液における ^{14}C-KHK7580 の血球移行率は、0.1～10 μg eq./mL の濃度範囲においてそれぞれ 7.6～9.0%、27.1～27.9%及び 5.2～9.2%であった（2.6.4.4.2）。

妊娠 18 日目のラットに ^{14}C-KHK7580 を 1 mg/kg の投与量で単回経口投与したとき、胎児組織中放射能濃度は、胎児の腸内容物を除く検討したすべての組織において投与後 1 時間に最高値を示し、その後、経時的に減少した。投与後 1 及び 10 時間の胎児組織中放射能濃度は、肝臓及び脳で高かったが、いずれも母体血漿より低値であった。胎児の腸内容物の放射能濃度は、投与後 48 時間に投与後 1 及び 10 時間より高値を示し、母体血漿の 29.74 倍であった。妊娠ラットに ^{14}C-KHK7580 を単回経口投与したときの放射能は、胎盤を介し胎児へ移行することが示された（2.6.4.4.3）。

2.4.3.3 代謝

ヒト肝細胞を用いた検討において、KHK7580 の代謝物として M1、M3、M4 及び M5 が検出され、また M2 と推定される代謝物も検出された。いずれの代謝物もラット及びサルの両方、又はいずれかで生成していた（2.6.4.5.1）。

雄性ラットに ^{14}C-KHK7580 を単回経口投与したとき、血漿中には主に未変化体が認められ、代謝物として M1、M3、M5 及び M8 がわずかに認められた。尿中には M9、糞中には未変化体及び M1、胆汁中には M1 が主に認められた（2.6.4.5.2.1）。

雄性サルに ^{14}C-KHK7580 を単回経口投与したとき、血漿中には未変化体の他に、代謝物として M1、M2、M5 及び M6 が認められた。その他、M3、M4 及び M7 がわずかに認められた。尿中には M5 及び M7、糞中には M6 が主に認められた（2.6.4.5.2.2）。

健康成人男性に ^{14}C-KHK7580 を単回経口投与したとき、血漿中には未変化体が最も多く認められた。代謝物として主に M1 及び M2 が認められ、その他、M3 がわずかに認められた。尿中には主に M1 及び M2、糞中には主に M1 が認められた（2.7.2.2.6）。

ヒト肝ミクロソーム、遺伝子組換え CYP 分子種発現系及びヒト UDP-グルクロン酸転移酵素（UGT）分子種発現系を用いた検討において、M4 への代謝には CYP2D6 及び CYP3A4 が、M3 への代謝には UGT1A1 及び UGT1A3 が関与すると考えられた（2.6.4.5.4.1、2.6.4.5.4.2）。

初代培養ヒト肝細胞を用いて CYP 誘導を評価した結果、KHK7580 は濃度依存的に CYP1A2、2B6、2C8、2C9 及び 3A4 の mRNA 発現量を増加させ、それらの最大誘導倍率はそれぞれ 1.12～29.1、3.40～8.67、3.40～9.47、1.60～2.84 及び 3.24～13.8 倍であった（2.6.4.5.5.1）。

KHK7580 はヒト肝ミクロソームにおいて、CYP2D6 に対してのみ競合的な阻害傾向を示したが、IC_{50} 値は評価した最大濃度である 50 μmol/L より高値であった。また、KHK7580 は、CYP3A に対して時間依存的な阻害傾向を示したが、最大不活化速度定数等の時間依存的阻害に関するパラメータは算出できなかった（2.6.4.5.5.2）。

2.4.3.4 排泄

雄性ラットに ^{14}C-KHK7580 を 1 mg/kg の投与量で単回経口投与したとき、投与後 168 時間までの放射能の尿及び糞中累積排泄率（投与放射能に対する百分率、以降同様）はそれぞれ 21.3%及び 79.1%であり、主排泄経路は糞中と考えられた（2.6.4.6.1.1）。雄性サルに ^{14}C-KHK7580 を 1 mg/kg の投与量で単回経口投与したとき、投与後 336 時間までの放射能の尿及び

糞中累積排泄率はそれぞれ 57.3%及び 30.2%であり、主排泄経路は尿及び糞中と考えられた（2.6.4.6.1.2）。

胆管カニューレ処置した雄性ラットに ^{14}C-KHK7580 を 1 mg/kg の投与量で単回経口投与したとき、投与後 48 時間までの胆汁中累積排泄率は 94.7%であり、経口投与した放射能のほとんどが吸収され、主に胆汁中に排泄された。また、^{14}C-KHK7580 投与後に採取した胆汁を別のラットの十二指腸に投与したところ、胆汁中に排泄された放射能の約 70%が再吸収されると考えられた（2.6.4.6.2）。

授乳ラットに ^{14}C-KHK7580 を非絶食下で 1 mg/kg の投与量で単回経口投与したとき、放射能濃度の乳汁/血漿比は投与後 24 時間に最大（3.71）となり、AUC_{0-48} の乳汁/血漿比は 1.32 であった。^{14}C-KHK7580 を経口投与したときの放射能は乳汁中へ移行することが示された（2.6.4.6.3）。

2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用

ヒト結腸腺癌由来細胞（Caco-2 細胞）単層膜を用いた検討において、KHK7580 は P-glycoprotein（P-gp）及び breast cancer resistance protein（BCRP）の基質ではないと考えられた（2.6.4.7.1）。また、KHK7580 は P-gp 及び BCRP を阻害する傾向を示したが、その IC_{50} 値は、評価した最大濃度である 50 µmol/L より高値であった（2.6.4.7.2）。Organic anion transporting polypeptide（OATP）1B1 又は OATP1B3 発現 HEK293 細胞を用いた検討において、KHK7580 は OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではないと考えられた（2.6.4.7.3）。また、KHK7580 は OATP1B1 を阻害したが、その IC_{50} 値は、評価した最高濃度である 10 µmol/L より高値であった。KHK7580 は、OATP1B3 を阻害しなかった（2.6.4.7.4）。Organic anion transporter（OAT）1、OAT3、organic cation transporter（OCT）2、multidrug and toxin extrusion（MATE）1 及び MATE2-K 発現 HEK293 細胞を用いた検討において、KHK7580 の IC_{50} 値は 10 µmol/L より高値であった（2.6.4.7.5）。

2.4.3.6 その他の薬物動態試験

部分腎摘術を施した雄性ラットに KHK7580（0.03、0.1、0.3 及び 1 mg/kg）を 2 週間反復経口投与したとき、血漿中 KHK7580 濃度は投与量の増加に伴って上昇し、投与 7 日及び 14 日目における投与後 24 時間の血漿中濃度は同程度であった。0.1、0.3 及び 1 mg/kg の投与量において投与 24 時間後の血漿中濃度は正常ラットの 10 倍以上を示し、部分腎摘ラットにおいて KHK7580 の全身クリアランスが低下している可能性が考えられた（2.6.4.8.1）。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験を実施していないが、ラット及びカニクイザルいずれも反復投与毒性試験の中で KHK7580 の最高用量（10 mg/kg）が最も高い 2 週間反復経口投与毒性試験で急性毒性を検討した。

ラット及びカニクイザルではいずれも初回投与では 10 mg/kg まで死亡例及び一般状態の変化は認められなかった。しかし、投与 2 日以降では、ラット及びカニクイザルにおいて 3 mg/kg 以上で筋攣縮等の症状、10 mg/kg で死亡例又は状態悪化による投与中止例が認められた（2.6.6.3.1、2.6.6.3.5）。以上のように、ラットにおける概略の致死量は 10 mg/kg と判断し

た。カニクイザルでは 10 mg/kg の初回投与後に死亡や一般状態の変化は認められなかったが、投与 4 日には不活発や腹臥位が認められた。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

ラットを用いた 4、13 及び 26 週間反復経口投与毒性試験並びにカニクイザルを用いた 4、13 及び 39 週間反復経口投与毒性試験で亜急性又は慢性毒性を検討した。各試験における KHK7580 の投与量と無毒性量を表 2.4.4.2-1に示す。なお、雌性ラットで 4 週間の反復投与による曝露増加が認められたため、以後の 13 及び 26 週間反復投与毒性試験では雌性ラットへの投与量を減じて実施した。

表2.4.4.2-1 重要な反復投与毒性試験における投与量と無毒性量の一覧

動物種/系統	投与期間	投与量 (mg/kg/day)	無毒性量 (mg/kg/day)
ラット/Crl:CD(SD)	4 週間 （+4 週間休薬）	0, 0.1, 0.3, 1.5, 6	<0.1
ラット/Crl:CD(SD)	13 週間	雄: 0, 0.3, 1.5, 6 雌: 0, 0.1, 0.6, 3	雄: <0.3 雌: 0.1
ラット/Crl:CD(SD)	26 週間	雄: 0, 0.3, 1.5, 6 雌: 0, 0.1, 0.6, 3	雄: <0.3 雌: <0.1
カニクイザル	4 週間 （+4 週間休薬）	0, 0.1, 0.3, 1, 3	0.3
カニクイザル	13 週間	0, 0.3, 1, 3	雄: 0.3 雌: 1
カニクイザル	39 週間	0, 0.3, 1, 3	0.3

ラットを用いた反復経口投与毒性試験では、薬理作用に基づく影響として副甲状腺萎縮、血中 PTH 及び Ca 濃度低下並びに血中 IP 濃度上昇が最低用量（雄：0.3 mg/kg/day、雌：0.1 mg/kg/day）から認められた。更に、二次的影響として血中 PTH 濃度低下による骨の所見（外環状層板過骨症、海綿骨肥厚等）、血中 Ca 濃度低下による筋攣縮、眼の所見（水晶体混濁、水晶体線維膨化等）及び歯の所見（切歯欠損等）並びに血中 IP 濃度上昇による血管等への鉱質沈着が認められ、特に水晶体混濁は雌雄ともに 0.1 mg/kg/day の 4 週間反復投与で発現した。中用量（雄：1.5 mg/kg/day、雌：0.6 mg/kg/day）以上で発現した心臓所見、体重及び摂餌量の低値並びに胆管上皮細胞肥大についても薬理作用に起因する可能性が高いと考えた。なお、4 週間反復経口投与毒性試験における休薬試験の結果から、血中 PTH 及び Ca 濃度低下、血中 IP 濃度上昇、心臓所見、体重及び摂餌量の低値並びに胆管上皮細胞肥大の回復性は示唆されたが、水晶体混濁の回復性はなかった（2.6.6.3.1、2.6.6.3.2、2.6.6.3.3、2.6.6.3.4）。

カニクイザルを用いた反復経口投与毒性試験では、薬理作用に基づく影響として血中 PTH 及び Ca 濃度低下が 0.3 mg/kg/day 以上、血中 IP 濃度上昇が 1 mg/kg/day 以上で認められた。更に、二次的影響として血中 Ca 濃度低下による QTc 延長及び血中 IP 濃度上昇による腎臓の鉱質沈着が認められ、特に QTc 延長は 1 mg/kg/day の 4 週間反復経口投与で発現した。鉱質沈着以外の腎臓所見として、間質浮腫が 3 mg/kg/day、集合管上皮細胞肥大が 1 mg/kg/day 以上で認められた。間質浮腫には鉱質沈着による二次的影響を、集合管上皮細胞肥大には薬理作用による影響を考えた。なお、4 週間反復経口投与毒性試験における休薬試験の結果から、血中 PTH 及び Ca 濃度低下、血中 IP 濃度上昇、QTc 延長並びに腎臓所見（鉱質沈着、間質浮腫及び集合管上皮細胞肥大）の回復性が示唆された（2.6.6.3.5、2.6.6.3.6、2.6.6.3.7、2.6.6.3.8）。

以上より、最長の投与期間における無毒性量は、ラットにおいて雄 0.3 mg/kg/day 未満、雌 0.1 mg/kg/day 未満であり、カニクイザルにおいて雌雄ともに 0.3 mg/kg/day であった。しかし、いずれの所見も薬理作用に起因するため、過度の薬理作用に注意することにより、ヒトにおける安全性を担保しうると判断した。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験、哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験及びラットを用いた骨髄小核試験により遺伝毒性を検討した。いずれの試験結果も陰性であったため、KHK7580 は遺伝毒性を示さないと判断した（2.6.6.4.1.1、2.6.6.4.1.2、2.6.6.4.2.1）。

2.4.4.4 がん原性試験

ラットを用いたがん原性試験及び rasH2 マウスを用いたがん原性試験によりがん原性を検討した。いずれの試験結果も陰性であったため、KHK7580 はがん原性を示さないと判断した（2.6.6.5.1.1、2.6.6.5.2.3）。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

KHK7580 の生殖に及ぼす影響を、ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験並びに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により検討した。生殖発生毒性試験における主な所見及び予定臨床最大用量投与時の推定非結合型 $AUC_{0-\tau}$ に対する曝露比を表 2.4.4.5-1に示す。

表2.4.4.5-1 生殖発生毒性試験結果一覧

動物種/系統	評価対象	無毒性量 (mg/kg/day)	毒性所見	曝露比 [a]
受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験				
ラット /Crl:CD(SD)	親動物 (雄/雌)	1.5/0.6	雄 6 mg/kg、雌 3 mg/kg: 体重低値、摂餌量低値	2.1[b]/5.1[c]
	親動物生殖及び初期胚発生(雄/雌)	6/0.6	雌 3 mg/kg: 発情回数減少傾向、発情周期延長傾向、黄体数減少	14[b]/5.1[c]
胚・胎児発生に関する試験				
ラット /Crl:CD(SD)	母動物	0.3	≥1 mg/kg: 体重低値、摂餌量低値	1.3
	胚・胎児発生	0.3	≥1 mg/kg: 体重低値 3 mg/kg: 内臓変異、骨格変異	1.3
ウサギ /Kbl:NZW	母動物	0.25	0.6 mg/kg: 糞量減少、体重低値、摂餌量低値	0.49
	胚・胎児発生	0.6	−	1.4

−：異常なし
a：血液透析施行中の二次性副甲状腺機能亢進症患者に予定臨床最大用量 12 mg を 14 日間反復投与した時の推定非結合型 $AUC_{0-\tau}$（230 ng·h/mL）（5.3.3.5-1）に対する反復投与時の非結合型 AUC_{0-24} の比率を示した。
b：ラットを用いた 4 週間反復経口投与試験（資料番号：4.2.3.2-2）における投与 28 日の非結合型 AUC_{0-24} を用いた。
c：ラットを用いた 13 週間反復経口投与試験（資料番号：4.2.3.2-3）における投与 91 日の非結合型 AUC_{0-24} を用いた。

表2.4.4.5-1 生殖発生毒性試験結果一覧（続き）

動物種/系統	評価対象	無毒性量 (mg/kg/day)	毒性所見	曝露比 [a]
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/Crl:CD(SD)	母動物	0.3	≥1 mg/kg: 体重低値、摂餌量低値 3 mg/kg: 妊娠期間延長、出産率低値、子宮内受胎産物	1.3[d]
	出生児	<0.3	≥0.3 mg/kg: 体重低値、水晶体混濁、陰茎亀頭包皮分離遅延、総行動距離及び立ち上がり回数の高値 (オープンフィールド検査) ≥1 mg/kg: 死産児率高値、生後 4 日の生存率低値、眼球混濁、虹彩瞳孔膜遺残、正向反射反応時間延長、自由落下反射消失、瞳孔反射消失 3 mg/kg: 出生率低値、生後 21 日の生存率低値、切歯破損、膣開口遅延	<1.3[d]

a：血液透析施行中の二次性副甲状腺機能亢進症患者に予定臨床最大用量 12 mg を 14 日間反復投与した時の推定非結合型 $AUC_{0-\tau}$（230 ng·h/mL）（5.3.3.5-1）に対する反復投与時の非結合型 AUC_{0-24} の比率を示した。
d：ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（資料番号：4.2.3.5.2.-2）における妊娠 17 日（1 日 1 回、12 日間投与後）の非結合型 AUC_{0-24} を用いた。

ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において、体重及び摂餌量の低値が高用量投与群の雄雌に認められたため、親動物の一般毒性に対する無毒性量は雄 1.5 mg/kg/day 及び雌 0.6 mg/kg/day と判断した。また、発情回数の減少傾向、発情周期の延長傾向及び黄体数の減少が 3 mg/kg/day の雌に認められたため、親動物の生殖及び初期胚発生に対する無毒性量は雄 6 mg/kg/day 及び雌 0.6 mg/kg/day と判断した（2.6.6.6.1.1）。

ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、いずれも催奇形性は認められなかった。体重及び摂餌量の低値等がラットの 1 mg/kg/day 以上及びウサギの 0.6 mg/kg/day で認められたため、母動物の一般毒性に対する無毒性量は、ラット 0.3 mg/kg/day 及びウサギ 0.25 mg/kg/day と判断した。また、胎児体重の低値がラットの 1 mg/kg/day 以上で認められたため、胚・胎児発生に対する無毒性量はラット 0.3 mg/kg/day、ウサギ 0.6 mg/kg/day と判断した（2.6.6.6.2.2、2.6.6.6.2.4）。

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は、体重及び摂餌量の低値が 1 mg/kg/day 以上で認められたため、母動物の一般毒性に対する無毒性量は、0.3 mg/kg/day と判断した。体重の低値、水晶体混濁及び行動発達検査の異常等が 0.3 mg/kg/day 以上の出生児に認められたため、出生児に対する無毒性量は 0.3 mg/kg/day 未満と判断した。その他の重大な所見として、死産児率の高値、生後 4 日における生存率の低値、感覚・反射検査の異常等が 1 mg/kg/day 以上の出生児に認められた（2.6.6.6.3.1）。母動物の胎盤、哺育等に異常が認められなかったこと及び KHK7580 は胎児へ移行することが確認されていることより、出生児に対するこれら影響は、胎児・出生児への直接的な影響と考えられた。以上より、KHK7580 は次世代の発生に大きな影響を与えるため、妊娠している可能性のある女性及び妊婦に対する使用は禁忌とすべきと判断した。また、乳汁への移行性も認められるため、授乳期の女性に対しては本剤投与中の授乳は避けるべきと考えた。

2.4.4.6 局所刺激性試験

臨床投与経路が経口であるため、局所刺激性試験は検討しなかった。

2.4.4.7 その他の毒性試験

2.4.4.7.1 毒性発現の機序に関する試験

水晶体皮質前部混濁は、ラットを用いた反復経口投与毒性試験では認められたものの、カニクイザルを用いた反復経口投与毒性試験では認められなかった。本所見の発現機序を明らかにすべく、雄性ラットにおける水晶体混濁発現に対する血中 Ca 濃度の影響並びに雄性ラット及び雄性カニクイザルにおける眼房水中 KHK7580 濃度を検討した。雄性ラットへの KHK7580 の反復投与によって生じる血中 Ca 濃度低下をグルコン酸 Ca 液の静脈内持続投与で抑制すると、水晶体皮質前部混濁の発現も同時に抑制された（2.6.6.8.1.1）。眼房水中 KHK7580 濃度は、雄性ラット及び雄性カニクイザルいずれにおいても検出され、全身曝露からの移行率についても大きな差異はなかった（2.6.6.8.1.2）。以上より、ラットにおいて認められた水晶体皮質前部混濁は、血中 Ca 濃度低下による二次的影響であり、KHK7580 の直接的な影響ではないと判断した。

2.4.4.7.2 光毒性試験

光安全性評価として、BALB/3T3 clone A31 細胞を用いた光細胞毒性試験を実施したものの、非照射条件下で細胞毒性を示さず判定不能であった（2.6.6.8.2.1.1）。そこで、雌性有色ラットを用いた光毒性試験（1、3 及び 6 mg/kg）を実施した。その結果、陰性であったため、KHK7580 は光毒性を示さないと判断した（2.6.6.8.2.1.2）。

2.4.5 総括及び結論

KHK7580 は、ヒト CaR に対してアロステリックに作用し、正常マウス及びラット並びに部分腎摘ラットにおける血漿又は血清中 PTH 及び Ca 濃度を低下させた。また、KHK7580 は、部分腎摘ラットにおける副甲状腺細胞の増殖亢進及び副甲状腺の重量増加を抑制した。これらの作用はシナカルセト塩酸塩でも確認されており[1,17]、KHK7580 はシナカルセト塩酸塩と同様の効果を SHPT 患者に示す可能性が示唆された。シナカルセト塩酸塩は、臨床において上部消化管に対する副作用（悪心・嘔吐、腹部不快感、食欲不振及び腹部膨満）が一定の割合で発現する[2]。透析患者において、シナカルセト塩酸塩の服用により胃排出能の遅延が認められ、その程度は、上部消化管障害が認められる患者で強いことが報告されている[18]。ラットを用いた検討において、KHK7580 はシナカルセト塩酸塩に比べ、ラット胃排出能に与える影響が少ないことが示唆された。以上のことから、KHK7580 はシナカルセト塩酸塩に比べ、臨床において上部消化管に対する副作用の軽減が期待される。

安全性薬理試験として中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に及ぼす影響を検討した。KHK7580 は、中枢神経系及び呼吸器系に対して臨床上、問題となる作用は認められなかった。心血管系への影響として、心拍数の増加、血圧の上昇及び QTc の延長が認められた。これらは、いずれも薬理作用による二次的な影響に起因すると考えられた。

薬物動態試験の結果より、KHK7580 の経口吸収性は良好であり、評価した範囲内では投与量の増加に伴って全身曝露は増加した。ラットでは反復投与において、薬物動態に性差を伴った変化が認められたが、サルでは反復投与による薬物動態の変化は認められなかった。ラットを用いた分布試験において、放射能はほぼ全身に分布し、投与後の放射能は主にハーダー氏腺及び肝臓等に分布した。有色ラットを用いた検討において ^{14}C-KHK7580 由来物質がメラニンに対して親和性を有することが示唆された。また、^{14}C-KHK7580 由来物質が、胎児及び乳汁へ

移行することが示唆された。ヒトにおける KHK7580 の主代謝物は、第 II 相代謝物である M1 及び M2 であった。これらの代謝物は、ラット又はサルの代謝物解析においても確認された。KHK7580、M1 及び M2 の CaR に対する EC_{50} 値、蛋白結合率並びに臨床曝露量（2.7.2.2.6）の結果より、ヒトでの薬理作用における M1 及び M2 の寄与はそれぞれ 15.7%及び 3.6%であり限定的であると推定された。ラット、サル及びヒトにおける KHK7580 の主消失経路は代謝であり、代謝物はラットでは主に糞中に、サル及びヒトでは尿及び糞中に排泄された。また、KHK7580 の体内動態に腸肝循環の存在が示唆された。

KHK7580 は CYP 分子種に対して強い阻害作用を示さなかった。KHK7580 は *in vitro* において CYP1A2、2B6、2C8、2C9 及び 3A4 を誘導したが、臨床薬物相互作用試験（2.7.2.2.5.1）の結果から、各 CYP 分子種の基質になる薬剤の薬物動態に臨床的に重要な影響を与えないことが確認された。KHK7580 は P-gp、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではなく、P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対して強い阻害作用を示さなかった。したがって、臨床においてこれらのトランスポーターを介した薬物間相互作用が起きる可能性は低いと考えられた。

急性、亜急性又は慢性毒性は、反復投与毒性試験に加え、長期がん原性試験の結果を含めて評価した。その結果、眼、歯、副甲状腺、骨、心臓、肝臓、腎臓等に影響が認められた。ラット及びカニクイザルへの KHK7580 の反復投与で認められた主な所見並びに予定臨床最大用量投与時の推定非結合型 $AUC_{0-\tau}$ に対する曝露比を表 2.4.5-1に示す。いずれの影響も薬理作用に基づく直接的又は二次的な影響と考えられた。したがって、血中 PTH 濃度、血中 Ca 濃度等を定期的にモニターし、適切な投与量に調整することで、KHK7580 の安全性を担保しうると判断した。

表2.4.5-1　ラット及びカニクイザルへの KHK7580 の反復投与で認められた主な所見と曝露比

動物種/系統	投与期間	投与量[a] (mg/kg/day)		血中 Ca 及び IP 濃度の変動並びに毒性所見[b]		曝露比[c]	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
ラット/Crl:CD(SD)	4 週	≥0.1	≥0.1	水晶体皮質前部混濁	*血中 Ca 濃度低値*、*血中 IP 濃度高値* 水晶体皮質前部混濁	0.14	0.68
		≥0.3	≥0.3	*血中 Ca 濃度低値* 水晶体線維膨化	水晶体線維膨化	0.42	2.0
		≥1.5	≥1.5	心筋線維変性/壊死、*血中 IP 濃度高値*	摂餌量低値、胆管上皮細胞肥大	2.1	10
		6	6	筋攣縮、摂餌量低値、体重低値、十二指腸びらん	筋攣縮、体重低値、心筋線維変性/壊死、心臓鉱質沈着、十二指腸びらん	14	49

a：下線の付いた太文字は GLP 適用反復投与毒性試験の無毒性量を示す。
b：斜体字は薬理作用であり、毒性所見とは見なさず
c：血液透析施行中の二次性副甲状腺機能亢進症患者に予定臨床最大用量 12 mg を 14 日間反復投与した時の推定非結合型 $AUC_{0-\tau}$（230 ng·h/mL）（5.3.3.5-1）に対する反復投与時の非結合型 AUC_{0-24} の比率を示した。

表2.4.5-1 ラット及びカニクイザルへの KHK7580 の反復投与で認められた主な所見と曝露比（続き）

動物種/系統	投与期間	投与量[a] (mg/kg/day)		血中 Ca 及び IP 濃度の変動並びに毒性所見[b]		曝露比[c]	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
ラット/Crl:CD(SD)	13 週	≥0.3	≥**0.1**	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値* 水晶体皮質前部混濁、外環状層板過骨症	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値*	0.28	0.93
		≥1.5	≥0.6	心筋変性、心筋線維化、水晶体線維膨化	水晶体皮質前部混濁、心筋変性、水晶体線維膨化、胆管上皮細胞肥大、外環状層板過骨症	1.2	5.1
		6	3	体重低値、摂餌量低値、筋攣縮、心内膜下出血、胆管上皮細胞肥大、腎盂鉱質沈着	体重低値、摂餌量低値、腎盂鉱質沈着、十二指腸びらん、副腎皮質球状帯細胞肥大	8.0	35
ラット/Crl:CD(SD)	26 週	≥0.3	≥0.1	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値* 水晶体皮質前部混濁、副甲状腺萎縮、肺動脈壁限局性鉱質沈着、外環状層板過骨症、切歯所見	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値* 水晶体皮質前部混濁、副甲状腺萎縮	0.32	0.91
		≥1.5	≥0.6	水晶体線維膨化、心筋変性、心筋線維化、海綿骨肥厚、精巣上体間質限局性鉱質沈着	海綿骨肥厚、胆管上皮細胞限局性肥大、腎盂鉱質沈着	1.8	5.6
		6	3	筋攣縮、切歯欠損、体重低値、摂餌量低値、副腎皮質球状帯細胞肥大、小葉中心性肝細胞肥大、腎盂鉱質沈着	筋攣縮、切歯欠損、体重低値、摂餌量低値、心筋変性、心筋線維化、肺動脈壁限局性鉱質沈着、水晶体線維膨化、副腎皮質球状帯細胞肥大、外環状層板過骨症、切歯所見	11	34

a：下線の付いた太文字は GLP 適用反復投与毒性試験の無毒性量を示す。
b：斜体字は薬理作用であり、毒性所見とは見なさず
c：血液透析施行中の二次性副甲状腺機能亢進症患者に予定臨床最大用量 12 mg を 14 日間反復投与した時の推定非結合型 $AUC_{0-\tau}$（230 ng·h/mL）（5.3.3.5-1）に対する反復投与時の非結合型 AUC_{0-24} の比率を示した。

表2.4.5-1 ラット及びカニクイザルへの KHK7580 の反復投与で認められた主な所見と曝露比（続き）

動物種/系統	投与期間	投与量[a] (mg/kg/day)		血中 Ca 及び IP 濃度の変動並びに毒性所見[b]		曝露比[c]	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
ラット/Crl:CD(SD)	104 週[d]	≥0.3	≥0.1	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値* 各種動脈鉱質沈着	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値*	0.28	0.79
		≥1.5	≥0.6	体重低値、摂餌量低値、甲状腺びまん性 C 細胞過形成、副甲状腺萎縮、精子うっ滞、精巣上体鉱質沈着	各種動脈鉱質沈着、甲状腺びまん性 C 細胞過形成、副甲状腺萎縮、心筋症、腎臓鉱質沈着/尿路上皮過形成、海綿骨増殖	0.85	4.4
		6	3/2[e]	生存率低値、筋攣縮、切歯欠損、心筋症、胃筋層鉱質沈着、腎臓鉱質沈着/尿路上皮過形成、精巣上体精子肉芽腫、精巣精細管萎縮	体重低値、摂餌量低値、切歯欠損、白内障、網膜萎縮	3.6	20
カニクイザル	4 週	**≥0.3**	**≥0.3**	−	−	0.082	0.10
		≥1	≥1	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値* QTc 延長、心筋線維変性/壊死、腎臓集合管上皮細胞肥大	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値* QTc 延長	0.56	0.37
		3	3	腎臓間質浮腫、腎臓乳頭部鉱質沈着	−	1.2	0.99
カニクイザル	13 週	**≥0.3**	≥0.3	−	−	0.0066	0.033
		≥1	**≥1**	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値* QTc 延長、腎臓集合管上皮細胞肥大	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値*	0.10	0.12
		3	3	心拍数減少、心室性期外収縮、心外膜下炎症性細胞浸潤及び線維化	心拍数増加、QTc 延長、腎臓集合管上皮細胞肥大	0.38	0.75
カニクイザル	39 週	**≥0.3**	**≥0.3**	*血中 Ca 濃度低値*	*血中 Ca 濃度低値*	0.15	0.027
		≥1	≥1	*血中 IP 濃度高値* QTc 延長	*血中 IP 濃度高値* QTc 延長	0.69	0.16
		3	3	心拍数増加、腎重量高値、腎臓集合管上皮細胞肥大、腎臓髄質間質鉱質沈着	腎重量高値、腎臓集合管上皮細胞肥大、腎臓髄質間質鉱質沈着、腎盂鉱質沈着、腎臓髄質間質浮腫	1.1	1.2

−：異常なし
a：下線の付いた太文字は GLP 適用反復投与毒性試験の無毒性量を示す。
b：斜体字は薬理作用であり、毒性所見とは見なさず
c：血液透析施行中の二次性副甲状腺機能亢進症患者に予定臨床最大用量 12 mg を 14 日間反復投与した時の推定非結合型 $AUC_{0\text{-}\tau}$（230 ng·h/mL）（5.3.3.5-1）に対する反復投与時の非結合型 $AUC_{0\text{-}24}$ の比率を示した。
d：がん原性試験
e：投与 47 週から投与量を 3 mg/kg/day から 2 mg/kg/day へ減量した。

生殖発生毒性試験において催奇形性は認められなかったものの、児の出生、生存及び発達に影響が認められた。このため、妊娠している可能性のある女性及び妊婦に対する使用は禁忌とすべきと判断した。また、乳汁への移行性も認められるため、授乳期の女性に対しては本剤投与中の授乳は避けるべきと考えられた。

遺伝毒性試験、がん原性試験及び光毒性試験の結果から、KHK7580 は遺伝毒性、がん原性及び光毒性を示す可能性は低いと考えられた。

2.4.6 参考文献

1. Nemeth EF, Heaton WH, Miller M, Fox J, Balandrin MF, Van Wagenen BC, et al. Pharmacodynamics of the type II calcimimetic compound cinacalcet HCl. J Pharmacol Exp Ther. 2004;308:627-35.
2. レグパラ®錠 12.5 mg、25 mg、75 mg [package insert]. 東京: 協和発酵キリン株式会社; 2015.
3. Parmentier ML, Prezeau L, Bockaert J, Pin JP. A model for the functioning of family 3 GPCRs. Trends Pharmacol Sci. 2002;23:268-74.
4. Hauache OM, Hu J, Ray K, Xie R, Jacobson KA, Spiegel AM. Effects of a calcimimetic compound and naturally activating mutations on the human Ca^{2+} receptor and on Ca^{2+} receptor/metabotropic glutamate chimeric receptors. Endocrinology. 2000;141:4156-63.
5. Hu J, Reyes-Cruz G, Chen W, Jacobson KA, Spiegel AM. Identification of acidic residues in the extracellular loops of the seven-transmembrane domain of the human Ca^{2+} receptor critical for response to Ca^{2+} and a positive allosteric modulator. J Biol Chem. 2002;277:46622-31.
6. Ray K, Northup J. Evidence for distinct cation and calcimimetic compound (NPS 568) recognition domains in the transmembrane regions of the human Ca^{2+} receptor. J Biol Chem. 2002;277:18908-13.
7. Ray K, Tisdale J, Dodd RH, Dauban P, Ruat M, Northup JK. Calindol, a positive allosteric modulator of the human Ca^{2+} receptor, activates an extracellular ligand-binding domain-deleted rhodopsin-like seven-transmembrane structure in the absence of Ca^{2+}. J Biol Chem. 2005;280:37013-20.
8. Brown EM, Gamba G, Riccardi D, Lombardi M, Butters R, Kifor O, et al. Cloning and characterization of an extracellular Ca^{2+}-sensing receptor from bovine parathyroid. Nature. 1993;366:575-80.
9. Almaden Y, Canalejo A, Ballesteros E, Anon G, Canadillas S, Rodriguez M. Regulation of arachidonic acid production by intracellular calcium in parathyroid cells: effect of extracellular phosphate. J Am Soc Nephrol. 2002;13:693-8.
10. Graca JAZ, Schepelmann M, Brennan SC, Reens J, Chang W, Yan P, et al. Comparative expression of the extracellular calcium-sensing receptor in the mouse, rat, and human kidney. Am J Physiol Renal Physiol. 2016;310:F518-33.
11. Riccardi D, Valenti G. Localization and function of the renal calcium-sensing receptor. Nat Rev Nephrol. 2016;12:414-25.
12. Quarles LD. Endocrine functions of bone in mineral metabolism regulation. J Clin Invest. 2008;118:3820-8.

13. Renkema KY, Velic A, Dijkman HB, Verkaart S, van der Kemp AW, Nowik M, et al. The calcium-sensing receptor promotes urinary acidification to prevent nephrolithiasis. J Am Soc Nephrol. 2009;20:1705-13.
14. Odenwald T, Nakagawa K, Hadtstein C, Roesch F, Gohlke P, Ritz E, et al. Acute blood pressure effects and chronic hypotensive action of calcimimetics in uremic rats. J Am Soc Nephrol. 2006;17:655-62.
15. Fryer RM, Segreti JA, Widomski DL, Franklin PH, Banfor PN, Koch KA, et al. Systemic activation of the calcium sensing receptor produces acute effects on vascular tone and circulatory function in uremic and normal rats: focus on central versus peripheral control of vascular tone and blood pressure by cinacalcet. J Pharmacol Exp Ther. 2007;323:217-26.
16. Fielden MR, Dean C Jr, Black K, Sawant SG, Subramanian R, Tomlinson JE, et al. Nonclinical safety profile of etelcalcetide, a novel peptide calcimimetic for the treatment of secondary hyperparathyroidism. Int J Toxicol. 2016;35:294-308.
17. Colloton M, Shatzen E, Miller G, Stehman-Breen C, Wada M, Lacey D, et al. Cinacalcet HCl attenuates parathyroid hyperplasia in a rat model of secondary hyperparathyroidism. Kidney Int. 2005;67:467-76.
18. 福本和生, 野口智永, 酉家佐吉子, 島津栄一, 三宅晋. シナカルセト塩酸塩の上部消化管合併症の機序. 透析会誌. 2010;43:309-15.