2.6.1　緒言

PT003

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次　　頁

目次 2
略語及び専門用語一覧表 3
2.6.1.1　緒言 4
2.6.1.2　予定する効能・効果及び用法・用量 5

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
COPD	慢性閉塞性肺疾患
DSPC	1,2-ジステアロイル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリン又はジステアロイルホスファチジルコリン
GFF MDI	グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物定量噴霧式吸入剤（PT003）
HFA	ハイドロフルオロアルカン
LABA	長時間作用性 β_2 刺激薬
LAMA	長時間作用性抗コリン薬
MDI	定量噴霧式吸入剤

2.6.1.1　　緒言

PT003（グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物定量噴霧式吸入剤：GFF MDI、以下「本剤」）は、慢性閉塞性肺疾患（COPD）治療剤であり、長時間作用性 β_2 刺激薬（LABA）であるホルモテロールフマル酸塩水和物と、長時間作用性抗コリン薬（LAMA）であるグリコピロニウム臭化物を有効成分とする定量噴霧式吸入剤（MDI）である。

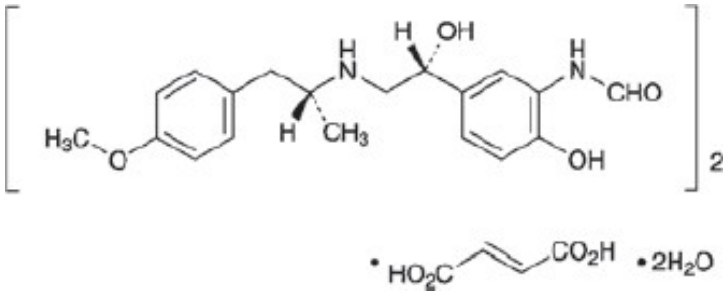
本剤は固定用量配合剤であり、[redacted]した活性薬理成分を共懸濁技術により懸濁したものである。この共懸濁技術では、リン脂質、1,2-ジステアロイル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリン（DSPC）及び塩化カルシウムから成る[redacted]した多孔性粒子を噴射剤であるハイドロフルオロアルカン（HFA）に懸濁する。この粒子は活性薬理成分と強力に非特異的会合を形成し、懸濁液中で薬物が相互作用するのを防ぎ、再現性のある薬物送達を可能とし、また、長期的に安定である。

ホルモテロールフマル酸塩水和物及びグリコピロニウム臭化物は、COPD に対する治療薬として、各成分を含有する吸入剤が日本を含む世界各国で承認されている。

ホルモテロールフマル酸塩水和物

化学名：　*N*-(2-Hydroxy-5-{(1*RS*)-1-hydroxy-2-[(1*RS*)-2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl}phenyl) formamide hemifumarate monohydrate

構造式：



及び鏡像異性体

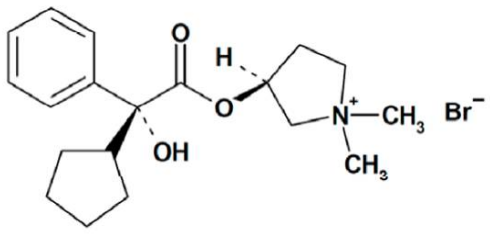
分子式：　$(C_{19}H_{24}N_2O_4)_2 \cdot C_4H_4O_4 \cdot 2H_2O$

分子量：　840.91

グリコピロニウム臭化物

化学名：　(3*RS*)-3-[(2*SR*)-(2-Cyclopentyl-2-hydroxy-2-phenylacetyl)oxy]-1,1-dimethylpyrrolidinium bromide

構造式：



及び鏡像異性体

分子式：　$C_{19}H_{28}BrNO_3$

分子量：　398.33

2.6.1.2　予定する効能・効果及び用法・用量

【効能・効果】（案）

慢性閉塞性肺疾患（慢性気管支炎、肺気腫）の気道閉塞性障害に基づく諸症状の緩解（長時間作用性吸入抗コリン剤及び長時間作用性吸入 β_2 刺激剤の併用が必要な場合）

【用法・用量】（案）

通常、成人には、1 回 2 吸入（グリコピロニウムとして 14.4μg、ホルモテロールフマル酸塩として 9.6μg）を 1 日 2 回吸入投与する。

第 2 部　CTD の概要

一般名：グリコピロニウム臭化物
　　ホルモテロールフマル酸塩水和物

版番号：[redacted]

2.6.2　薬理試験の概要文

PT003

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次　　頁

目次 2
略語及び専門用語一覧表 4
2.6.2.1 まとめ 5
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 6
2.6.2.2.1 ホルモテロール 6
2.6.2.2.2 グリコピロニウム 6
2.6.2.2.2.1 *In vitro* 活性及びムスカリン受容体サブタイプに対する選択性 6
2.6.2.2.2.2 メサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対する作用（試験 SR-[redacted]） 9
2.6.2.2.2.3 モルモット摘出気管のメサコリン誘発気管収縮に対する作用（試験 SR-[redacted]） 9
2.6.2.2.2.4 気管内投与時の *in vivo* 活性及び効果持続時間 9
2.6.2.3 副次的薬理試験 10
2.6.2.3.1 ホルモテロール 10
2.6.2.3.2 グリコピロニウム 10
2.6.2.4 安全性薬理試験 11
2.6.2.4.1 FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI の中枢神経系に対する作用 12
2.6.2.4.2 FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI の心血管系に対する作用 12
2.6.2.4.3 FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI の呼吸器系に対する作用 13
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 13
2.6.2.6 考察及び結論 13
2.6.2.7 参考文献 15

表目次

表 1 ヒト M_1、M_2、M_3、M_4 及び M_5 受容体に対するグリコピロニウム及びアトロピンの阻害活性 7
表 2 ヒト M_1、M_2 及び M_3 受容体に対するグリコピロニウム及びチオトロピウムの結合親和性 8
表 3 ヒト M_1、M_2 又は M_3 受容体を発現させた CHO 細胞の膜画分における[^{3}H] NMS に対するチオトロピウムの結合パラメータ 8

表 4　ヒト M_1、M_2 又は M_3 受容体を発現させた CHO 細胞の膜画分における[^{3}H] NMS に対するグリコピロニウムの結合パラメータ 9
表 5　ラットにおけるグリコピロニウム及びチオトロピウムの効力及び治療係数 10
表 6　安全性薬理に関連した項目を評価した試験 11

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
cAMP	環状アデノシン一リン酸
CHO 細胞	チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞
COPD	慢性閉塞性肺疾患
ED_{50}	50%有効量
FF	ホルモテロールフマル酸塩水和物
FF MDI	ホルモテロールフマル酸塩水和物定量噴霧式吸入剤
GFF MDI	グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物定量噴霧式吸入剤
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GP	グリコピロニウム臭化物
GP MDI	グリコピロニウム臭化物定量噴霧式吸入剤
HR	心拍数
IC_{50}	50%阻害濃度
K_d	解離定数
K_i	阻害定数
k_{off}	解離速度定数
k_{on}	結合速度定数
LABA	長時間作用性 β_2 刺激薬
LAMA	長時間作用性抗コリン薬
MDI	定量噴霧式吸入剤
NMS	N-メチルスコポラミン（ムスカリン受容体のリガンド）
pA_2	メサコリンの濃度反応曲線を高濃度側に 2 倍移動させる拮抗薬濃度の負の対数
$t_{½}$	解離半減期

2.6.2.1 まとめ

PT003（グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物定量噴霧式吸入剤：GFF MDI）は、慢性閉塞性肺疾患（COPD）治療剤であり、ホルモテロールフマル酸塩水和物（以下「ホルモテロール」又は「FF」）とグリコピロニウム臭化物（以下「グリコピロニウム」又は「GP」）を有効成分とする定量噴霧式吸入剤（MDI）である。ホルモテロールは長時間作用性β_2刺激薬（LABA）であり、細胞内サイクリックアデノシン一リン酸（cAMP）濃度を増加させることにより、気道平滑筋を弛緩させ、気管支拡張作用を示す。グリコピロニウムは長時間作用性抗コリン薬（LAMA）であり、アセチルコリンによるムスカリン M_3 受容体の活性化を介する気道収縮を抑制する。

ホルモテロールに関して、薬理試験データはシムビコート®タービュヘイラー®の承認申請時に提出済みである。このため、本薬理試験の概要文では主として先に提出した申請資料に基づいた概略を記載する。摘出気管及び気管支では、ホルモテロールは気管支収縮剤の刺激により誘発された気管支収縮に対し、サルブタモール及びサルメテロールと比較して強力な弛緩作用を示す。ホルモテロールは、作用発現がサルメテロールも速やかにみられ、気管支拡張に関連したこれらの作用の持続時間がサルブタモールよりも長い。副次的薬理試験の結果から、ホルモテロールは、他のよく知られたβ_2刺激薬と同様の副次的薬理プロファイルを有することが示されている。

グリコピロニウムに関して、効力を裏付ける試験データは社内試験結果及び査読付き学術論文に基づき、副次的薬理試験データは査読付き学術論文を基に記載した。ムスカリン受容体を発現させたチャイニーズ・ハムスター卵巣（CHO）細胞における競合結合データから、他のムスカリン受容体サブタイプに比較して M_2 受容体に対する選択性がわずかに低いことが示唆されている（試験 SR-[redacted]、SR-[redacted] 及び SR-[redacted]、並びにSykes et al 2012）。M_3受容体発現 CHO-K1 細胞で、グリコピロニウムのメサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対する抑制作用はアトロピンより約 10 倍強力であった。モルモット摘出気管のメサコリン誘発収縮に対する作用の評価で、グリコピロニウムの pA_2 値は 10.2±0.1（平均値±標準誤差、n=4）であった（pA_2：メサコリンの濃度反応曲線を高濃度側に 2 倍移動させる拮抗薬濃度の負の対数）。また、麻酔下ラットに気管内投与した場合、グリコピロニウムはメサコリン誘発気管支収縮を用量依存的に阻害した。低血圧及び徐脈に対する安全域（治療係数）がグリコピロニウムではチオトロピウムよりも大きいことが確認された。

ホルモテロールとグリコピロニウムでは上記のように作用機序が異なることが知られており、薬力学的薬物相互作用が生じないと考えられる。このため、ホルモテロール／グリコピロニウム併用時の効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験を実施していないが、作用機序が異なるこれら 2 剤の気管支拡張薬を配合することにより、各成分を単独で使用した場合と比較して、肺機能に対して相加的な有効性が得られる可能性があると考えられた（Cazzola et al 2010）。摘出ヒト気管支を用いた *in vitro* 試験で、グリコピロニウムと LABA であるインダカテロールの併用投与の効果について検討したところ（Cazzola et al 2016）、グリコピロニウム／インダカテロール併用では、いずれの成分を単独使用した場合と比較して、相加的効果より強い気管支拡張作用が示された。この効果は、気道平滑筋及び気管支上皮細胞における cAMP 依存性経路の刺激、並びに上皮からのアセチルコリン放出の減少が関与している（Cazzola et al 2016）。また、LAMA であるアクリジニウム臭化物とホルモテロールのヒト気道平滑筋の弛緩に対しても相加的効果より強い効果が得られたことも明らかにされている（Cazzola et al 2014）。これらのデータから、LABA

と LAMA の配合剤は、COPD 患者の治療において、気道平滑筋弛緩に対する相加的なベネフィットを得る上で妥当であると考えられた。

ホルモテロールフマル酸塩定量噴霧式吸入器剤（FF MDI）、グリコピロニウム定量噴霧式吸入器剤（GP MDI）及び GFF MDI について、ラット又はイヌを用いた 14 日間、3 カ月間及び 6 カ月間（GP MDI のみ）の反復吸入投与毒性試験において安全性薬理に関連した項目を評価した。安全性薬理に関する新たな作用及び異常な作用のいずれも認められなかった。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 ホルモテロール

シムビコート®タービュヘイラー®の概要

ホルモテロールの効力を裏付ける試験データは、シムビコート®タービュヘイラー®の承認を支持するために同製剤の承認申請時に提出済みである（第 1 部 13 項参照）。このため、本薬理試験の概要文では主として先に提出した申請資料に基づいた概略を記載する。

ホルモテロールは、強力な選択的かつ有効な LABA であり、吸入投与すると作用発現が速やかにみられ、作用の持続時間が長い。ホルモテロールは、β_2 受容体においてほぼフルアゴニスト作用を示し、細胞内 cAMP 濃度を増加させ、これが平滑筋弛緩及び気管支拡張につながる。ホルモテロールの主要な薬理作用は、気道平滑筋の弛緩である。ホルモテロールはβ_2 選択性が高いことから、心血管作用よりも気管支拡張作用の方が強い。摘出気管及び気管支において、ホルモテロールは、気管支収縮剤の刺激により誘発された気管支収縮に対し、サルブタモール及びサルメテロールと比較して強力な弛緩作用を示す。ホルモテロールは、作用発現がサルメテロールも速やかにみられ、気管支拡張に関連したこれらの作用の持続時間がサルブタモールよりも長い。また、ホルモテロールは、*in vivo* でサルブタモール及びサルメテロールよりも効果が高く、効果持続時間がサルブタモールよりも長い。喘息の動物モデルにおいて、ホルモテロールを吸入投与すると、経口投与よりも低用量で気管支拡張作用がみられる。一部の喘息モデルにおいて、ホルモテロールは、投与経路を問わず、サルブタモールより強力な気管支拡張作用を示し、その持続時間もサルブタモールより長かった。

2.6.2.2.2 グリコピロニウム

グリコピロニウムは LAMA であり、気道平滑筋細胞上に発現するムスカリン M_3 受容体のアセチルコリンによる活性化を介する気道収縮を抑制し、COPD の治療に広く使用されている。グリコピロニウムの効力を裏付ける試験データは社内試験結果及び査読付き学術論文に基づいて記載した。

2.6.2.2.2.1 *In vitro* 活性及びムスカリン受容体サブタイプに対する選択性

公表文献の要約

吸入抗コリン薬の主たる標的は、気道に存在するムスカリン受容体である。ムスカリン受容体には、M_1～M_5 の 5 種類のサブタイプがある。この 5 つのサブタイプのうち M_1、M_2 及び M_3 のみ

が肺に対する生理作用を示すことが確認されている（Lee et al 2001）。これらの受容体サブタイプは気道にそれぞれ特異的に分布している（Haddad et al 1994）、ほとんどは平滑筋に局在し、末梢気道よりも太い気道に密度高く分布する（Mak et al 1990）。また、ムスカリン受容体は気道上皮及び粘膜下腺にも局在し、粘液分泌に対するアセチルコリンの刺激作用と一致する（Mak et al 1990）。

気道平滑筋及び粘液腺に存在する興奮性ムスカリン M_3 受容体は主に気管収縮に関与する。これらの受容体を抑制することにより平滑筋が弛緩する。また、粘液分泌はムスカリン M_1 受容体を介すると考えられており、M_1 受容体を阻害すると粘液分泌が抑制される。一部の薬理試験から、末梢気道での気道平滑筋収縮には M_2 受容体が関与していることが示唆されている（Roffel et al 1993, Struckmann et al 2003）。このため、M_2 受容体と比較して M_3 受容体及び M_1 受容体を選択的に阻害する抗コリン薬では、高い治療効果が得られ、シナプス前膜の M_2（抑制性）自己受容体を阻害することにより起こり得る悪影響を回避することができると考えられる。

グリコピロニウムは、M_2 受容体及び M_3 受容体に対する結合に選択性を示さなかったという研究結果がある一方（Gomez et al 1995）、他の研究では M_3 受容体に対し M_1 受容体及び M_2 受容体に比べて 3～5 倍高い親和性が認められた（Haddad et al 1999）。また、チャイニーズ・ハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた試験では、M_1 受容体及び M_3 受容体に対する結合親和性は同程度であり、M_2 受容体に対するよりもわずかに高い（Casarosa et al 2009）。機能的な親和性の評価において、グリコピロニウムは、M_3 受容体に対し M_2 受容体に比べて高い親和性を示すことが明らかにされている（Fuder et al 1993）。

肺に対する生理作用を示すヒト M_1、M_2 及び M_3 受容体に対する選択性に関して、ムスカリン受容体を発現させた CHO 細胞における競合結合データから、グリコピロニウムは、M_3 受容体及び M_1 受容体に対する選択性が M_2 受容体に対するよりもわずかに高いことが示唆されている（表 1及び表 2）（試験 SR-[redacted]、SR-[redacted] 及び SR-[redacted]、並びにSykes et al 2012）。一方、アトロピンは M_3 受容体よりも M_2 受容体に対する選択性がわずかに高く（表 1）（試験 SR-[redacted]、SR-[redacted] 及び SR-[redacted]）、チオトロピウムはこの 3 種類の受容体サブタイプ間で差はみられないことが示唆されている（表 2）（Sykes et al 2012）。同様の試験条件下、グリコピロニウムのモルモット M_3 受容体に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）の負の対数（pIC_{50}）は 9.3±0.1（平均値±標準誤差、n=4）であった（試験 SR-[redacted]）。また、メサコリン誘発[^{35}S] GTPγS 結合に対する阻害活性により測定したグリコピロニウムのヒト M_2 受容体に対する pIC_{50} 値は 8.6（平均値、n=2）であった（試験 SR-[redacted]）。

表 1　　ヒト M_1、M_2、M_3、M_4 及び M_5 受容体に対するグリコピロニウム及びアトロピンの阻害活性

被験薬	M_1 受容体	M_2 受容体	M_3 受容体	M_4 受容体	M_5 受容体
グリコピロニウム	9.9 (n=2)	9.3±0.1 (n=3)	9.5±0.1 (n=8)	9.8±0.1 (n=3)	9.7±0.1 (n=3)
アトロピン	9.1 (n=2)	9.0±0.2 (n=3)	8.7±0.1 (n=8)	9.0±0.1 (n=3)	8.9±0.03 (n=3)

結果は、ヒト M_1、M_2、M_3、M_4 又は M_5 受容体を発現させたチャイニーズ・ハムスター卵巣細胞の膜画分における[^{3}H] N-メチルスコポラミン結合に対する非標識グリコピロニウム又はアトロピンの 50%阻害濃度（IC_{50}）の負の対数（pIC_{50}）を示す。データは平均値±標準誤差を示す。
ヒト M_1、M_2、M_3、M_4 及び M_5 受容体に対する阻害活性は、それぞれ試験 SR-[redacted]、SR-[redacted]、SR-[redacted]、SR-[redacted] 及び SR-[redacted] の結果を示す。

表 2　　ヒト M_1、M_2 及び M_3 受容体に対するグリコピロニウム及びチオトロピウムの結合親和性

被験薬	M_1 受容体	M_2 受容体	M_3 受容体
グリコピロニウム	9.60 ± 0.03	8.70 ± 0.04	9.59 ± 0.05
チオトロピウム	10.34 ± 0.04	10.05 ± 0.03	10.37 ± 0.04

チオトロピウム又はグリコピロニウムの阻害定数の負対数（pK_i）は、生理条件下にてヒト M_1、M_2 又は M_3 受容体を発現させた CHO 細胞の膜画分を用いて、[^{3}H] N-メチルスコポラミン結合に対する IC_{50} 値から算出した。データ（Sykes et al 2012一部改変）は平均値 ± 標準誤差を示す（n=3 以上）。

M_3 受容体及び M_2 受容体からの解離半減期の比（$t_{½}$比 M_3/M_2）から、グリコピロニウムの M_3 受容体選択性は、チオトロピウム、イプラトロピウム及びアクリジニウムに比して高いことが裏付けられている（Casarosa et al 2009）。また、グリコピロニウムの M_2 受容体に対する解離定数及び解離半減期は M_1 受容体及び M_3 受容体よりも速いことが示されている（Casarosa et al 2009）。この所見は、生理学的ナトリウム濃度下で、グリコピロニウムの M_3 受容体に対する平衡結合及び動的選択性は M_2 受容体と比較して高いことからも裏付けられている。したがって、グリコピロニウムの M_3 受容体と比較した M_2 受容体からの解離速度はチオトロピウムよりも速いことから、チオトロピウムより望ましい安全域（治療係数）が得られるものと期待される（表 2、表 3及び表 4）（Sykes et al 2012）。

グリコピロニウムの解離速度定数がチオトロピウムと比べて高いことが、M_3 受容体に対する親和性が相対的に低いことを決定する重要な因子であると考えられる（Sykes et al 2012）。両リガンドは 8 時間未満で M_3 受容体から完全に解離すること、また、M_3 受容体におけるチオトロピウムの作用発現までの時間は、グリコピロニウムに比べて 4～5 倍長いことが確認されたことから、単に受容体への滞留時間だけでは LAMA の臨床的作用持続時間を説明できないことが示唆された（Sykes et al 2012）。

表 3　　ヒト M_1、M_2 又は M_3 受容体を発現させた CHO 細胞の膜画分における[^{3}H] NMS に対するチオトロピウムの結合パラメータ

ムスカリン受容体	k_{off} (min^{-1})	k_{on} ($M^{-1}\cdot min^{-1}$)	pK_d	$t_{½}$ (min)
M_1	0.0193 ± 0.002	3.37 ± 0.20 $\times 10^8$	10.23 ± 0.02	35.9
M_2	0.064 ± 0.006	8.03 ± 1 $\times 10^8$	10.13 ± 0.08	10.8
M_3	0.015 ± 0.002	2.29 ± 0.05 $\times 10^8$	10.20 ± 0.03	46.2

k_{off} = 解離速度定数、k_{on} = 結合速度定数、pK_d = 解離定数の負対数、NMS = N-メチルスコポラミン、$t_{½}$ = 解離半減期。データ（Sykes et al 2012一部改変）は平均値 ± 標準誤差を示す（n=3 以上）。

表 4　ヒト M_1、M_2 又は M_3 受容体を発現させた CHO 細胞の膜画分における[^{3}H] NMS に対するグリコピロニウムの結合パラメータ

ムスカリン受容体	k_{off} (min^{-1})	k_{on} ($M^{-1}\cdot min^{-1}$)	pK_d	$t_{½}$ (min)
M_1	0.05 ± 0.002	1.16 ± 0.14 $\times 10^8$	9.46 ± 0.09	13.9
M_2	0.646 ± 0.04	6.03 ± 1 $\times 10^8$	8.72 ± 0.09	1.07
M_3	0.061 ± 0.003	1.94 ± 0.21 $\times 10^8$	9.50 ± 0.04	11.4

k_{off} = 解離速度定数、k_{on} = 結合速度定数、pK_d = 解離定数の負対数、NMS = N-メチルスコポラミン、$t_{½}$ = 解離半減期。データ（Sykes et al 2012一部改変）は平均値±標準誤差を示す（n=3 以上）。

2.6.2.2.2.2　メサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対する作用（試験 SR-[redacted]）

ヒト M_3 受容体を発現させた CHO-K1 細胞を用いて、被験薬の存在下及び非存在下で、メサコリン（0.1 nM～30 μM）に対する濃度反応曲線を作成し、ヒト M_3 受容体を介したメサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対するグリコピロニウム（0.3、1、3 及び 10 nM）及びアトロピン（1、3 及び 10 nM）の作用を評価した。グリコピロニウム及びアトロピンの pA_2 値（平均値±標準誤差）は、それぞれ 10.3±0.1（n=4）及び 9.2±0.05（n=3）であり、グリコピロニウムのメサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対する抑制は、アトロピンに比較して約 10 倍強力であった。

2.6.2.2.2.3　モルモット摘出気管のメサコリン誘発気管収縮に対する作用（試験 SR-[redacted]）

雄 Dunkin-Hartley モルモット（250～300 g）摘出気管を用いて、メサコリン誘発モルモット摘出気管の収縮に対するグリコピロニウムの作用を評価した。グリコピロニウム（3 nM）の存在下及び非存在下で、メサコリン（3 nM～1 mM）に対する濃度反応曲線を作成した。グリコピロニウムの pA_2 値は 10.2±0.1（平均値±標準誤差、n=4）であった。

2.6.2.2.2.4　気管内投与時の *in vivo* 活性及び効果持続時間

公表文献の要約

ムスカリン作動薬であるメサコリン 30 μg/kg 静脈内投与の 1 時間前又は 6 時間前に、麻酔下の Brown Norway ラットにグリコピロニウム及びチオトロピウムをそれぞれ気管内投与してメサコリン誘発気管支収縮に対する作用を評価した。グリコピロニウム及びチオトロピウムはいずれも気管内投与によりメサコリン誘発気管支収縮を用量依存的に抑制した（表 5）（Trifilieff et al 2015）。

表 5　　ラットにおけるグリコピロニウム及びチオトロピウムの効力及び治療係数

被験薬（メサコリン投与までの時間［h］）	気管支収縮抑制	血圧低下抑制		徐脈抑制	
	ED_{50} (μg/kg)	ED_{50} (μg/kg)	TI	ED_{50} (μg/kg)	TI
グリコピロニウム（1 h）	0.31 ± 0.02	6.04 ± 1.39	19.5	8.70 ± 1.72	28.5
チオトロピウム（1 h）	0.55 ± 0.03	0.83 ± 0.03	1.5	2.32 ± 0.09	4.2
グリコピロニウム（6 h）	0.41 ± 0.03	>100	>250	>100	>250
チオトロピウム（6 h）	0.29 ± 0.01	4.57 ± 1.49	16.0	5.45 ± 0.20	19.1

ED_{50} = 50%有効量、TI = 治療係数（血圧低下抑制又は徐脈抑制の ED_{50}／気管支収縮抑制の ED_{50}）（2.6.2.3.2項参照）。
データ（Trifilieff et al 2015一部改変）は平均値±標準誤差を示す（n=3 以上）。

チオトロピウム、イプラトロピウム及びグリコピロニウムは、ラットに気管内投与したとき、ラットの膀胱組織及び顎下腺組織と比較して選択的に肺組織のムスカリン受容体に結合し、チオトロピウム及びグリコピロニウムの作用は 24 時間以上持続するのに対し、イプラトロピウムの作用は 2 時間の時点では検出されたが、12 時間の時点では検出されなかった（Ogoda et al 2011）。

2.6.2.3　副次的薬理試験

2.6.2.3.1　ホルモテロール

シムビコート®タービュヘイラー®の概要

ホルモテロールの副次的薬理試験データは、シムビコート®タービュヘイラー®の承認申請時に提出済みである（第 1 部 13 項参照）。以下に、先に提出した申請資料に基づいた概略を記載する。

ホルモテロールは 1986 年以来、臨床使用されており、広範な非臨床の副次的薬理試験が実施されている。ホルモテロールは、副次的薬理試験に関する公表文献の成績から、用量依存的な血圧低下、反射性頻脈、骨格筋振戦、低カリウム血症及び高血糖が報告されている。これらの全身作用は、β_2 刺激薬の薬理作用から予想されるもので、一般に他のβ_2 刺激薬でもみられ、気管平滑筋弛緩作用を示す用量よりも高い用量でのみ認められた。これらの試験の結果から、ホルモテロールは、他の既存のβ_2刺激薬と共通の副次的薬理プロファイルを有することが示されている。

2.6.2.3.2　グリコピロニウム

公表文献の要約

ムスカリン性アセチルコリン受容体 M_2（ムスカリン M_2受容体）は、心臓における主たるムスカリン受容体サブタイプであり、ペースメーカー活性及び心房収縮能の調節を介して心血管機能の生理的制御に極めて重要な役割を果たす（Abrams et al 2006）。このため、ラットを用いて、メサコリン 30 μg/kg 静脈内投与の 1 時間前又は 6 時間前にグリコピロニウム及びチオトロピウムを麻酔下で気管内投与して血圧低下及び徐脈に対する影響を検討した。気道抵抗及び心血管機能の変化を記録し、メサコリン誘発気管支収縮抑制の 50%有効量（ED_{50}）値に対し治療係数を算出

した。グリコピロニウム及びチオトロピウムはいずれもメサコリン誘発徐脈を抑制した。検討した両時点で、血圧低下及び徐脈に対する治療係数は、グリコピロニウム（1 時間の時点：19.5 倍及び 28.5 倍、6 時間の時点：いずれも 250 倍超）の方がチオトロピウム（1 時間の時点：1.5 倍及び 4.2 倍、6 時間の時点：16.0 倍及び 19.1 倍）よりも高かった（表 5）（Trifilieff et al 2015）。

グリコピロニウムは臨床麻酔下で使用される有効な抗コリン薬であり、心拍数に対するアセチルコリン又はネオスチグミンのムスカリン性作用と拮抗する。グリコピロニウムがアトラクリウム誘発神経筋遮断を増強するかどうかを明らかにするために、ラット横隔神経/横隔膜摘出標本を用いてアトラクリウム誘発神経筋遮断に対するグリコピロニウム及びネオスチグミンの影響を検討した。グリコピロニウムはラット横隔神経／横隔膜摘出標本においてアトラクリウム誘発神経筋遮断を増強し、グリコピロニウムとネオスチグミンを同時に処置した際には、ネオスチグミン単独の場合と比較してアトラクリウム誘発神経筋遮断をわずかに回復させるに留まった（Wali et al 1987）。別の試験では、ラット横隔膜摘出標本においてアトロピンは神経筋伝達を増強したが、グリコピロニウムは神経筋伝達を抑制した。このような作用はシナプス前神経終末部で起きたものと考えられる（Wali et al 1988）。

抗コリン薬が麻酔薬、鎮痛薬及び鎮静薬と相互作用を生じる可能性があるため、グリコピロニウム及びアトロピンの血漿コリンエステラーゼに対する影響を検討した（Zsigmond et al 1985）。グリコピロニウムは血液脳関門を通過しないことから、グリコピロニウムの脳コリンエステラーゼに対する影響は検討されていない。グリコピロニウム及びアトロピンは、健康被験者の血清から得たヒト血漿コリンエステラーゼに対し、弱い阻害作用を有する。著者らは、*in vivo* でサクシニルコリン又は他の局所麻酔薬の加水分解を妨げる程度まで血漿コリンエステラーゼが阻害されるとは考えにくいとの結論を下した（Zsigmond et al 1985）。

2.6.2.4 安全性薬理試験

独立した安全性薬理試験を実施していないが、安全性薬理に関連した項目について、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）条件下で、ラット又はイヌを用いた FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI の反復吸入投与毒性試験において評価した（表 6）。

表 6　安全性薬理に関連した項目を評価した試験

薬剤	試験	評価項目	試験番号
FF MDI	ラット 14 日間反復吸入投与毒性試験*	中枢神経系	FY09-039
	イヌ 14 日間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY09-038
	イヌ 3 カ月間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY10-129
GP MDI	ラット 14 日間反復吸入投与毒性試験*	中枢神経系	FY08-076
	ラット 6 カ月間反復吸入投与毒性試験*	中枢神経系	FY10-120
	イヌ 14 日間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY08-077
	イヌ 3 カ月間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY10-129
	イヌ 6 カ月間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY12-073
GFF MDI	ラット 14 日間反復吸入投与毒性試験*	中枢神経系	FY09-086
	イヌ 14 日間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY09-087
	イヌ 3 カ月間反復吸入投与毒性試験	中枢神経系、心血管系、呼吸器系	FY10-129

FF MDI = ホルモテロールフマル酸塩定量噴霧式吸入剤、GP MDI = グリコピロニウム定量噴霧式吸入剤、GFF MDI = グリコピロニウム／ホルモテロールフマル酸塩定量噴霧式吸入剤。
*)　中枢神経系に対する影響を評価するために一般状態観察所見のみ評価

2.6.2.4.1　FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI の中枢神経系に対する作用

中枢神経系安全性評価は、ラット又はイヌを用いた FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI に関する 14 日間及び 3 カ月間、並びに GP MDI に関する 6 カ月間の反復吸入投与毒性試験において一般状態の観察所見により評価した（表 6）。いずれの試験においても中枢神経系の変化を示す徴候は認められなかった。

2.6.2.4.2　FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI の心血管系に対する作用

心血管系安全性薬理の評価は、イヌを用いた FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI に関する 14 日間及び 3 カ月間の反復吸入投与毒性試験の一部として実施した（表 6）。心電図は、全てのイヌについて初回曝露前、初回曝露後、投与 45 日目（3 カ月間吸入投与試験のみ）及び最終曝露後に評価した。イヌを用いた 6 カ月間吸入投与試験も行い、GP MDI、空気のみ及びプラセボ対照を用いて実施した（表 6）。心血管系の評価は、試験開始前、投与 1 日目及び試験終了時（投与 180 日目）に実施した。I、II、III、aVR、aVL 及び aVF 誘導の心電図を心臓専門獣医が心臓リズム、心電図波形及び明らかな機能の変化について評価した。

投与前後の心電図記録を比較したところ、いずれの用量においても心臓リズム及び心電図波形に異常は認められなかった。3 カ月間吸入投与試験では、初回曝露後、投与 45 日目及び最終曝露後に全ての被験物質群の雌雄において、プラセボ又は空気のみと比べ、平均心拍数（HR）の変化率（%）が増加したものの、投与 45 日目及び最終曝露の後の FF MDI 及び GFF MDI の低用量、中用量及び高用量群での心拍数の増加量はほとんど増加しなかった。平均心拍数の増加量は全て基準値の範囲内であり、投与後の洞性頻脈を示す平均値はなかった。FF MDI 又は GFF MDI の投与に起因すると思われるその他の心電図所見は特に認められなかった。心拍数の増加は、FF MDI はβ_2 刺激薬であり、副作用として心拍数の増加が知られていることから予測された反応である。グリコピロニウムもまた心拍数を増加させることが知られている。

GP MDI 投与による 6 カ月間吸入投与試験では投与群への割付け前に、全動物を対象に心電図検査を実施し、初回曝露（投与 1 日目）後、及び最終曝露後（投与 180 日目）にも実施した。I、II、III、aVR、aVL 及び aVF 誘導の心電図を、心臓リズム、心電図波形及び明らかな機能の変化について定性的に評価した。投与前後の心電図記録を比較したところ、いずれの用量においても心臓リズム及び心電図波形に異常は認められなかった。投与前後の群平均値と対照値を比較したところ、PR 間隔、QRS 間隔、QT 間隔又は QTc 間隔のいずれについても被験物質に関連した影響は認められなかった。GP MDI に関連した心拍数の変化はわずかな程度で基準値の範囲内であり、用量依存性を示し、有害とは判断されなかった。GP MDI に関連した心電図パラメータの変化に異常な変化は認められず、本試験で検討した心電図は全て、イヌにおいて定性的及び定量的に正常と判断された。イヌを用いた毒性試験で得られた心血管系に関するデータのほか、グリコピロニウムの心血管系作用に関する詳細なヒト臨床試験データが得られている（臨床に関する概括評価 2.5.5 項参照）。

2.6.2.4.3 FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI の呼吸器系に対する作用

呼吸器系安全性薬理の評価は、イヌを用いた GP MDI、FF MDI 及び GFF MDI に関する 14 日間及び 3 カ月間の反復吸入投与毒性試験の一部として実施した（表 6）。全てのイヌから自発呼吸測定値を、初回曝露前、初回曝露後、投与 45 日目（3 カ月間吸入投与試験のみ）及び最終曝露後に収集し、分時換気量、一回換気量及び呼吸数を測定した。イヌを用いた 6 カ月間吸入投与試験も行い、GP MDI 単剤、空気のみ及びプラセボ対照を用いて実施した（表 6）。呼吸器系の評価は、試験開始前、投与 1 日目及び試験終了時（投与 180 日目）に実施した。

3 カ月間吸入投与試験ではいずれの時点においても、雄では呼吸数及び一回換気量に有意な群間差は認められなかった。GFF MDI 高用量群では本試験期間中を通じて、プラセボ曝露後と比較して分時換気量が少ない傾向がみられた。総体的にみて、曝露した動物全体をプラセボ投与動物と比較して評価すると、呼吸数は、投与 45 日目及び投与 90 日目のデータではベースラインと比較して統計学的に増加する傾向が認められ、一回換気量は投与 1 日目、投与 45 日目及び投与 90 日目に有意に低かった。雌ではいずれの測定時点においても、呼吸数及び分時換気量に有意な群間差は認められなかった。GFF MDI の中用量群及び高用量群では、プラセボ群と比較して一回換気量が有意に高い傾向がみられた。また、曝露した動物全体をプラセボ投与動物と比較して評価すると、呼吸数は、投与 90 日目に高い傾向が認められ、一回換気量は投与 1 日目及び投与 90 日目に有意に低かった。呼吸機能パラメータのこれらの変化の生物学的意義は限定的である。GP MDI 投与に伴う影響は認められなかった。

GP MDI の 6 カ月間吸入投与試験では全てのイヌから自発呼吸測定値（呼吸数、分時換気量及び一回換気量）を、各群への割付け前、投与 1 日目及び投与 180 日目に収集した。雄ではプラセボ群と比較して、3 つの評価項目（呼吸数、一回換気量及び分時換気量）全てに関して有意な群間差は認められなかった。呼吸数に関してベースライン値は投与 1 日目及び投与 180 日目と比較して有意に高く、投与 1 日目も投与 180 日目と比較して有意に高かった。一回換気量については、ベースライン値は投与 1 日目及び投与 180 日目と比較して有意に低く、投与 1 日目も投与 180 日目と比較して有意に低かった。雌ではプラセボ群と比較して、3 つの評価項目（呼吸数、一回換気量及び分時換気量）全てに関して有意な群間差は認められなかった。呼吸数に関してベースライン値は投与 180 日目と比較して有意に高かった。一回換気量については、ベースライン値は投与 1 日目及び投与 180 日目と比較して有意に低く、投与 1 日目も投与 180 日目と比較して有意に低かった。軽微な所見については生物学的意義はないと判断した。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

ホルモテロール及びグリコピロニウムはいずれも長期間にわたり臨床使用されており、標準の安全性評価を除き、非臨床試験において個々の薬剤又は配合剤に関する特定の薬物相互作用試験を実施していない。

2.6.2.6 考察及び結論

PT003（GFF MDI）は COPD 治療剤であり、ホルモテロールとグリコピロニウムを有効成分とする固定用量配合剤である。

ホルモテロールは強力な選択的かつ有効な LABA であり、吸入投与すると作用発現が速やかにみられ、作用の持続時間が長い。摘出気管及び気管支において、ホルモテロールは、気管支収縮剤の刺激により誘発された気管支収縮に対し、サルブタモール及びサルメテロールと比較して強力な弛緩作用を示す。ホルモテロールは、作用発現がサルメテロールも速やかにみられ、気管支拡張に関連したこれらの作用の持続時間がサルブタモールよりも長い。副次的薬理試験の結果から、ホルモテロールは、他の既存のβ_2 刺激薬と共通の副次的薬理プロファイルを有することが示されている。

グリコピロニウムは LAMA であり、気道平滑筋細胞上に発現するムスカリン M_3 受容体のアセチルコリンによる活性化を介する気道収縮を抑制する。ムスカリン受容体を発現させたチャイ CHO 細胞における競合結合データから、他のムスカリン受容体サブタイプに比較して M_2 受容体に対する選択性がわずかに低いことが示唆された。ヒト M_3 受容体発現 CHO 細胞で、グリコピロニウムのメサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対する抑制作用はアトロピンより約 10 倍強力であった。モルモット摘出気管のメサコリン誘発収縮に対する作用の評価で、グリコピロニウムの pA_2 値は 10.2±0.1（平均値±標準誤差、n=4）であった。また、麻酔下ラットに気管内投与した場合、グリコピロニウムはメサコリン誘発気管支収縮を用量依存的に抑制した。このときの気管支収縮抑制作用とメサコリン誘発血圧低下又は徐脈に対する抑制作用から算出した安全域（治療係数）はグリコピロニウムではチオトロピウムよりも大きいことが確認された。

ホルモテロールとグリコピロニウムでは上記のように作用機序が異なることが知られており、薬力学的薬物相互作用が生じないと考えられる。このため、ホルモテロール／グリコピロニウム併用時の効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験を実施していないが、作用機序が異なるこれら 2 剤の気管支拡張薬を配合することにより、各成分を単独で使用した場合と比較して、肺機能に対して相加的な有効性が得られる可能性があると考えられた（Cazzola et al 2010）。摘出ヒト気管支を用いた *in vitro* 試験で、グリコピロニウムと LABA であるインダカテロールの併用投与の効果について検討したところ（Cazzola et al 2016）、グリコピロニウム／インダカテロール併用では、いずれの成分を単独使用した場合と比較して、相加的効果より強い気管支拡張作用が示された。この効果は、気道平滑筋及び気管支上皮細胞における cAMP 依存性経路の刺激、並びに上皮からのアセチルコリン放出の減少が関与している（Cazzola et al 2016）。また、LAMA であるアクリジニウム臭化物とホルモテロールのヒト気道平滑筋の弛緩に対しても相加的効果より強い効果が得られたことも明らかにされている（Cazzola et al 2014）。これらのデータから、LABA と LAMA との併用は、COPD 患者の治療において、気道平滑筋弛緩に対する相加的なベネフィットを得る上で妥当であると考えられた。さらに、臨床現場では、LAMA と LABA による併用療法が本邦及び海外のガイドラインに記載されており、その臨床的意義についてもコンセンサスが既に得られ、併用投与の臨床経験が十分蓄積されている（JRS 2013, GOLD 2018）。

安全性薬理に関連した項目について、GLP 条件下でラット又はイヌを用いた FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI に関する反復吸入投与毒性試験において評価した。その結果、ラット又はイヌを用いた 14 日間及び 3 カ月間（FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI）並びに 6 カ月間（GP MDI）の反復投与試験における一般状態の観察所見で、いずれの試験においても中枢神経系の変化を示す徴候は認められなかった。また、イヌを用いた 14 日間及び 3 カ月間（FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI）の反復投与試験では、心拍数の増加及び呼吸数の増加など、ホルモテロール投与に伴う周知の呼吸器系又は心血管系の安全性薬理所見が、FF MDI 及び GFF MDI 投与により認められた。呼吸器系及び心血管系のいずれの安全性薬理に関連した項目に対しても GP MDI 投与による有意な作用は認められなかった。したがって、ラット又はイヌを用いた FF MDI、GP MDI 及び GFF MDI に関する 14 日間、3 カ月間及び 6 カ月間（GP MDI のみ）の反復吸入投与毒性試験において、

中枢系、心血管系及び呼吸器系に対する新たな作用及び異常な作用のいずれも認められなかった。無毒性量は確認されており、これらの用量は臨床で想定される用量を大幅に上回る用量である。

2.6.2.7　参考文献

Abrams et al 2006

Abrams P, Andersson K.E., Buccafusco J.J., Chapple C, de Groat W.C., Fryer A.D., et al.　Muscarinic receptors: their distribution and function in body systems, and the implications for treating overactive bladder. Br J Pharmacol. 2006;148:565-78.

Casarosa et al 2009

Casarosa P, Bouyssou T, Germeyer S, Schnapp A, Gantner F, Pieper M.　Preclinical Evaluation of Long-Acting Muscarinic Antagonists: Comparison of Tiotropium and Investigational Drugs. J Pharmacol Exp Ther. 2009;330:660-8.

Cazzola et al 2010

Cazzola M, Molimard M.　The scientific rationale for combining long-acting beta2-agonists and muscarinic antagonists in COPD. Pulm Pharmacol Ther. 2010 Aug;23(4):257-67.

Cazzola et al 2014

Cazzola M, Calzetta L, Page CP, Rogliani P, Facciolo F, Gavaldà A, et al.　Pharmacological characterization of the interaction between aclidinium bromide and formoterol fumarate on human isolated bronchi. Eur J Pharmacol. 2014 Dec 15;745:135-43.

Cazzola et al 2016

Cazzola M, Calzetta L, Puxeddu E, Ora J, Facciolo F, Rogliani P et al.　Pharmacological characterisation of the interaction between glycopyrronium bromide and indacaterol fumarate in human isolated bronchi, small airways and bronchial epithelial cells. Respir Res. 2016 Jun 13;17(1):70, 1-15.

Fuder et al 1993

Fuder H, Meincke M.　Glycopyrronium bromide blocks differentially responses mediated by muscarinic receptor subtypes. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 1993 Jun;347(6):591-5.

GOLD 2018

GOLD. (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease).　Global strategy for the diagnosis, management and prevention of COPD. Updated 2018. Available from: URL: http://www.goldcopd.org/.

Gomez et al 1995

Gomez A, Bellido I, Sanchez de la Cuesta F.　Atropine and glycopyrronium show similar binding patterns to M_2 (cardiac) and M_3 (submandibular gland) muscarinic receptor subtypes in the rat. Br J Anaesth. 1995 May;74(5):549-52.

Haddad et al 1994

Haddad EB, Mak JC, Hislop A, Haworth SG, Barnes PJ.　Characterization of muscarinic receptor subtypes in pig airways: radioligand binding and northern blotting studies. Am J Physiol. 1994 Jun;266(6 Pt 1):L642-8.

Haddad et al 1999

Haddad EB, Patel H, Keeling JE, Yacoub MH, Barnes PJ, Belvisi MG.　Pharmacological characterization of the muscarinic receptor antagonist, glycopyrrolate, in human and guinea-pig airways. Br J Pharmacol. 1999 May;127(2):413-20.

JRS 2013

COPD（慢性閉塞性肺疾患）診断と治療のためのガイドライン 2013 年版（第 4 版）、日本呼吸器学会.

Lee et al 2001

Lee AM, Jacoby DB, Fryer AD.　Selective muscarinic receptor antagonists for airway diseases. Curr Opin Pharmacol. 2001 Jun;1(3):223-9.

Mak et al 1990

Mak JC, Barnes PJ.　Autoradiographic visualization of muscarinic receptor subtypes in human and guinea pig lung. Am Rev Respir Dis. 1990 Jun;141(6):1559-68.

Ogoda et al 2011

Ogoda M, Niiya R, Koshika T, Yamada S.　Comparative characterization of lung muscarinic receptor binding after intratracheal administration of tiotropium, ipratropium, and glycopyrrolate. J Pharmacol Sci. 2011;115(3):374-82.

Roffel et al 1993

Roffel AF, Elzinga CR, Zaagsma J.　Cholinergic contraction of the guinea pig lung strip is mediated by muscarinic M2-like receptors. Eur J Pharmacol. 1993;250:267-79.

Struckmann et al 2003

Struckmann N, Schwering S, Wiegand S, Gschnell A, Yamada M, Kummer W, et al.　Role of muscarinic receptor subtypes in the constriction of peripheral airways: studies on receptor-deficient mice. Mol Pharmacol. 2003;64:1444-51.

Sykes et al 2012

Sykes DA, Dowling MR, Leighton-Davies J, Kent TC, Fawcett L, Renard E, et al.　The influence of receptor kinetics on the onset and duration of action and the therapeutic index of NVA237 and tiotropium. J Pharmacol Exp Ther. 2012 Nov;343(2):520-8.

Trifilieff et al 2015

Trifilieff A, Ethell BT, Sykes DA, Watson KJ, Collingwood S, Charlton SJ, et al.　Comparing the cardiovascular therapeutic indices of glycopyrronium and tiotropium in an integrated rat pharmacokinetic, pharmacodynamic and safety model. Toxicol Appl Pharmacol. 2015 Aug 15;287(1):9-16.

Wali et al 1987

Wali FA, Dark CH, Altinel A, Jones CJ.　Glycopyrrolate intensifies neuromuscular blockade produced by atracurium in the rat diaphragm preparation. Pharmacol Res Commun. 1987 Nov;19(11):827-35.

Wali et al 1988

Wali FA, Suer AH, McAteer E, Dark CH, Jones CJ.　Effects of atropine and glycopyrrolate on neuromuscular transmission in the rat phrenic nerve-diaphragm preparation. Gen Pharmacol. 1988;19(2):285-90.

Zsigmond et al 1985

Zsigmond EK, Winnie AP, Barabas E, and Wang XY.　The inhibitory effect of glycopyrrolate on human plasma-cholinesterase. Can Anaesth Soc J. 1985 Jan;32(1):20-2.

2.6.3　薬理試験概要表

PT003

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次　　頁

目次 2
略語及び専門用語一覧表 3
2.6.3.1　薬理試験：一覧表 4
2.6.3.2　効力を裏付ける試験 6
2.6.3.3　副次的薬理試験 8
2.6.3.4　安全性薬理試験 8
2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験 11

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
CHO 細胞	チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞
f	呼吸数
FF	ホルモテロールフマル酸塩水和物
GP	グリコピロニウム臭化物
gpM_X	モルモット遺伝子組み換えムスカリン M_X 受容体サブタイプ
HR	心拍数
huM_X	ヒト遺伝子組み換えムスカリン M_X 受容体サブタイプ
IC_{50}	50%阻害濃度
[redacted]	[redacted], USA
MDI	定量噴霧式吸入剤
MV	分時換気量
NMS	N-メチルスコポラミン（ムスカリン受容体のリガンド）
NS	有意差なし
pA_2	メサコリンの濃度反応曲線を高濃度側に 2 倍移動させる拮抗薬濃度の負の対数
TV	一回換気量

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test Article: Formoterol Fumarate MDI (FF MDI), Glycopyrronium (GP), Glycopyrronium MDI (GP MDI), Glycopyrronium and Formoterol Fumarate MDI (GFF MDI)

Type of Study/Description	GLP [1)]	Test System	Method of Admin.	Testing Facility	Study Number	Location in Module 4
Primary Pharmacodynamics						
GP						
Antagonist Potency at Human Recombinant Muscarinic M_1 Receptors (huM_1)	No	huM_1-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.1
Antagonist Potency at Human Recombinant Muscarinic M_2 Receptors (huM_2)	No	huM_2-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.2
Antagonist Potency at Human Recombinant Muscarinic M_3 Receptors (huM_3)	No	huM_3-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.3
Antagonist Potency at Human Recombinant Muscarinic M_4 Receptors (huM_4)	No	huM_4-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.4
Antagonist Potency at Human Recombinant Muscarinic M_5 Receptors (huM_5)	No	huM_5-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.5
Antagonist Potency at Guinea pig Recombinant Muscarinic M_3 Receptors (gpM_3)	No	gpM_3-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.6
Antagonist Potency at huM_2 Assessed by Antagonism of Methacholine-Induced GTPγS Binding	No	huM_2-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.7
Antagonist Potency at huM_3 Assessed by Antagonism of Methacholine-Induced Intracellular Calcium Flux	No	huM_3-Transfected CHO Cell Membrane	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.8

Test Article: Formoterol Fumarate MDI (FF MDI), Glycopyrronium (GP), Glycopyrronium MDI (GP MDI), Glycopyrronium and Formoterol Fumarate MDI (GFF MDI)

Type of Study/Description	GLP [1)]	Test System	Method of Admin.	Testing Facility	Study Number	Location in Module 4
Antagonist Potency at Guinea-Pig Muscarinic Receptors As Assessed by Inhibition Of Methacholine-induced Contraction of Isolated Guinea-pig Tracheal Rings	No	Isolated Guinea-pig Tracheal Rings	*In vitro*	AstraZeneca, Sweden, Mölndal	SR-[redacted]	4.2.1.1.9
Secondary Pharmacodynamics	None presented					
Safety Pharmacology	Yes	Central nervous*, cardiovascular and respiratory assessments were conducted.				
GFF MDI						
14-day Inhalation Toxicity Study in Rats	Yes	Sprague-Dawley Rat	Inhalation	[redacted]	FY09-086	4.2.3.2.11
14-day Inhalation Toxicity Study in Dogs	Yes	Beagle Dog	Inhalation	[redacted]	FY09-087	4.2.3.2.12
3-Month Inhalation Toxicity Study in Dogs	Yes	Beagle Dog	Inhalation	[redacted]	FY10-129	4.2.3.2.15
GP MDI						
14-day Inhalation Toxicity Study in Rats	Yes	Sprague-Dawley Rat	Inhalation	[redacted]	FY08-076	4.2.3.2.6
6-Month Inhalation Toxicity Study in Rats	Yes	Sprague-Dawley Rat	Inhalation	[redacted]	FY10-120	4.2.3.2.17
14-day Inhalation Toxicity Study in Dogs	Yes	Beagle Dog	Inhalation	[redacted]	FY08-077	4.2.3.2.7
3-Month Inhalation Toxicity Study in Dogs	Yes	Beagle Dog	Inhalation	[redacted]	FY10-129	4.2.3.2.15
6-Month Inhalation Toxicity Study in Dogs	Yes	Beagle Dog	Inhalation	[redacted]	FY12-073	4.2.3.2.18
FF MDI						
14-day Inhalation Toxicity Study in Rats	Yes	Sprague-Dawley Rat	Inhalation	[redacted]	FY09-039	4.2.3.2.3
14-day Inhalation Toxicity Study in Dogs	Yes	Beagle Dog	Inhalation	[redacted]	FY09-038	4.2.3.2.4
3-Month Inhalation Toxicity Study in Dogs	Yes	Beagle Dog	Inhalation	[redacted]	FY10-129	4.2.3.2.15
Pharmacodynamic Drug Interactions	No studies were conducted.					

CHO = Chinese Hamster Ovary; FF = Formoterol Fumarate; GP = Glycopyrrolate; gpM_X = Guinea pig Recombinant Muscarinic M_X Receptors; huM_X = Human Recombinant Muscarinic M_X Receptors; [redacted] = [redacted], USA

1) An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement. *Clinical signs were assessed.

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

Test Article: Glycopyrronium (GP)

Organ Systems Evaluated	Species / Strain	Method of Admin.	Concentration	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	GLP [1)]	Study Number
CHO-K1 cells transfected with huM_1 receptor As quantified by competition with ([^{3}H]NMS) binding	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.003 to 100 nM Atropine: 0.003 to 1000 nM	GP: n=2 Atropine: n=2	GP and atropine bind to huM_1 receptors with pIC_{50} values (mean±SEM) of 9.9±0.2 and 9.1±0.1, respectively.	No	SR-[redacted]
CHO-K1 cells transfected with huM_2 receptor As quantified by competition with ([^{3}H]NMS) binding	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.003 to 100 nM Atropine: 0.03 to 1000 nM	GP: n=3 Atropine: n=3	GP and atropine bind to huM_2 receptors with pIC_{50} values (mean±SEM) of 9.3±0.1 and 9.0±0.2, respectively.	No	SR-[redacted]
CHO-K1 cells transfected with huM_3 receptor As quantified by competition with ([^{3}H]NMS) binding	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.03 to 1000 nM Atropine: 0.03 to 1000 nM	GP: n=8 Atropine: n=8	GP and atropine bind to huM_3 receptors with pIC_{50} values (mean±SEM) of 9.5±0.1 and 8.7±0.1, respectively.	No	SR-[redacted]
CHO-K1 cells transfected with huM_4 receptor As quantified by competition with ([^{3}H]NMS) binding	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.003 to 100 nM Atropine: 0.003 to 1000 nM	GP: n=3 Atropine: n=3	GP and atropine bind to huM_4 receptors with pIC_{50} values (mean±SEM) of 9.8±0.1 and 9.0±0.1, respectively.	No	SR-[redacted]
CHO-K1 cells transfected with huM_5 receptor As quantified by competition with ([^{3}H]NMS) binding	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.003 to 100 nM Atropine: 0.003 to 1000 nM	GP: n=3 Atropine: n=3	GP and atropine bind to huM_5 receptors with pIC_{50} values (mean±SEM) of 9.7±0.1. and 8.9±0.03, respectively.	No	SR-[redacted]

Test Article: Glycopyrronium (GP)

Organ Systems Evaluated	Species / Strain	Method of Admin.	Concentration	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	GLP [1)]	Study Number
CHO-K1 cells transfected with gpM_3 receptor As quantified its ability to compete with specific binding of [^{3}H]NMS	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.003 to 100 nM Atropine: 0.01 to 300 nM	GP: n=4 Atropine: n=4	GP and atropine bind to gpM_3 receptors with pIC_{50} values (mean±SEM, n=4) of 9.3±0.1 and 8.9±0.03, respectively.	No	SR-[redacted]
CHO-K1 cells transfected with huM_2 receptor Quantified by inhibition of [^{35}S] GTPγS binding	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.003 to 100 nM Atropine: 0.003 to 100 nM	GP: n=2 Atropine: n=2	GP and atropine inhibit huM_2 receptors with pIC_{50} values (mean) of 8.55 and 8.01, respectively.	No	SR-[redacted]
CHO-K1 cells transfected with huM_3 receptor Assessed by Antagonism of Methacholine-Induced Intracellular Calcium Flux	CHO-K1 cells	*In vitro*	GP: 0.3, 1, 3 and 10 nM Atropine: 1, 3 and 10 nM Concentration-effect (E/[A]) curve to methacholine (0.1 nM to 30 μM),	GP: n=4 Atropine: n=3	GP and atropine are an antagonist at the huM_3 with pA_2 estimates (mean±SEM) of 10.3±0.1 and 9.2±0.05, respectively.	No	SR-[redacted]
Guinea-pig tracheal rings Methacholine-induced contraction	Guinea-Pigs / Dunkin-Hartley	*In vitro*	GP: 3 nM Concentration effect curves to methacholine (3 nM to 1 mM final concentration)	Male n=4	GP is an inhibitor of muscarinic receptor-mediated tracheal smooth muscle contraction with a pA_2 value (mean±SEM) of 10.2±0.1.	No	SR-[redacted]

CHO=Chinese Hamster Ovary; E/[A]=Concentration-effect; GP=Glycopyrrolate; gpM_X=Guinea pig Recombinant Muscarinic M_X Receptors; huM_X=Human Recombinant Muscarinic M_X Receptors; NMS = N-methyl-scopolamine; pIC_{50}=a negative logarithm of 50% inhibition concentration; pA_2=a negative logarithm of an antagonist concentration to produce a twofold rightward shift of the concentration effect curve to methacholine

1) An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.

2.6.3.3　副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施していない。

2.6.3.4　安全性薬理試験

Test Article: Formoterol Fumarate MDI (FF MDI), Glycopyrronium MDI (GP MDI), Glycopyrronium and Formoterol Fumarate MDI (GFF MDI)

Organ Systems Evaluated	Species / Strain	Method of Administration	Dose (average of male and female) (μg/kg/day) (GP/FF)	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	GLP [1)]	Study Number
FF MDI							
Central nervous	Sprague-Dawley Rat	Inhalation (14 days)	36 91 158	10/sex/group	NS	Yes	FY09-039
Central nervous	Beagle dog	Inhalation (14 days)	9 13 24	4/sex/group	NS	Yes	FY09-038
Cardiovascular	Beagle dog	Inhalation (14 days)	9 13 24	4/sex/group	↑HR ↑HR ↑HR	Yes	FY09-038
Respiratory	Beagle dog	Inhalation (14 days)	9 13 24	4/sex/group	NS	Yes	FY09-038
Central nervous	Beagle dog	Inhalation (3 months)	4.4 10.3 14.3	4/sex/group	NS	Yes	FY10-129

Test Article: Formoterol Fumarate MDI (FF MDI), Glycopyrronium MDI (GP MDI), Glycopyrronium and Formoterol Fumarate MDI (GFF MDI)

Organ Systems Evaluated	Species / Strain	Method of Administration	Dose (average of male and female) (μg/kg/day) (GP/FF)	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	GLP [1)]	Study Number
Cardiovascular	Beagle dog	Inhalation (3 months)	4.4 10.3 14.3	4/sex/group	NS	Yes	FY10-129
Respiratory	Beagle dog	Inhalation (3 months)	4.4 10.3 14.3	4/sex/group	NS	Yes	FY10-129
GP MDI							
Central nervous	Sprague-Dawley Rat	Inhalation (14 days)	48 267 535	8/sex/group for low and mid 10/sex/group for high	NS	Yes	FY08-076
Central nervous	Sprague-Dawley Rat	Inhalation (6 months)	68 275 548	15/sex/group	NS	Yes	FY10-120
Central nervous	Beagle dog	Inhalation (14 days)	17 30 80	3/sex/group for low and mid 4/sex/group for high	NS	Yes	FY08-077
Cardiovascular	Beagle dog	Inhalation (14 days)	17 30 80	3/sex/group for low and mid 4/sex/group for high	NS	Yes	FY08-077
Respiratory	Beagle dog	Inhalation (14 days)	17 30 80	3/sex/group for low and mid 4/sex/group for high	NS	Yes	FY08-077
Central nervous	Beagle dog	Inhalation (3 months)	87	4/sex/group	NS	Yes	FY10-129

Test Article: Formoterol Fumarate MDI (FF MDI), Glycopyrronium MDI (GP MDI), Glycopyrronium and Formoterol Fumarate MDI (GFF MDI)

Organ Systems Evaluated	Species / Strain	Method of Administration	Dose (average of male and female) (μg/kg/day) (GP/FF)	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	GLP [1)]	Study Number
Cardiovascular	Beagle dog	Inhalation (3 months)	87	4/sex/group	NS	Yes	FY10-129
Respiratory	Beagle dog	Inhalation (3 months)	87	4/sex/group	NS	Yes	FY10-129
Central nervous	Beagle dog	Inhalation (6 months)	19 58 75	4/sex/group	NS	Yes	FY12-073
Cardiovascular	Beagle dog	Inhalation (6 months)	19 58 75	4/sex/group	NS	Yes	FY12-073
Respiratory	Beagle dog	Inhalation (6 months)	19 58 75	4/sex/group	NS	Yes	FY12-073
GFF MDI							
Central nervous	Sprague-Dawley Rat	Inhalation (14 days)	75/15 234/44 381/71	4/sex/group	NS	Yes	FY09-086
Central nervous	Beagle dog	Inhalation (14 days)	17.2/3.4 51.8/8.9 74.6/12.7	4/sex/group	NS	Yes	FY09-087
Cardiovascular	Beagle dog	Inhalation (14 days)	17.2/3.4 51.8/8.9 74.6/12.7	4/sex/group	↑HR ↑HR ↑HR	Yes	FY09-087

Test Article: Formoterol Fumarate MDI (FF MDI), Glycopyrronium MDI (GP MDI), Glycopyrronium and Formoterol Fumarate MDI (GFF MDI)

Organ Systems Evaluated	Species / Strain	Method of Administration	Dose (average of male and female) (µg/kg/day) (GP/FF)	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	GLP [1)]	Study Number
Respiratory	Beagle dog	Inhalation (14 days)	17.2/3.4 51.8/8.9 74.6/12.7	4/sex/group	↑f, ↑MV, ↑TV ↑f, ↑MV, ↑TV ↑f, ↑MV, ↑TV	Yes	FY09-087
Central nervous	Beagle dog	Inhalation (3 months)	17.6/4.5 43.4/10.5 60.7/14.4	4/sex/group	NS	Yes	FY10-129
Cardiovascular	Beagle dog	Inhalation (3 months)	17.6/4.5 43.4/10.5 60.7/14.4	4/sex/group	↑HR ↑HR ↑HR	Yes	FY10-129
Respiratory	Beagle dog	Inhalation (3 months)	17.6/4.5 43.4/10.5 60.7/14.4	4/sex/group	NS	Yes	FY10-129

1 An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.
f = breathing frequency, MV = minute volume, NS = nothing significant, HR = heart rate, TV = tidal volume

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。