ゾルトファイ配合注フレックスタッチ

2.4 非臨床試験の概括評価

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

目次

ページ

目次 2
表目次 3
略語一覧 4
2.4.1 非臨床試験計画概要 5
2.4.1.1 インスリン デグルデク／リラグルチド固定比率配合剤 5
2.4.1.2 開発計画 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 7
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用 7
2.4.3 薬物動態試験 8
2.4.3.1 吸収 9
2.4.3.2 分布 9
2.4.3.3 代謝 9
2.4.3.4 排泄 9
2.4.3.5 薬物相互作用 9
2.4.4 毒性試験 10
2.4.4.1 一般毒性 10
2.4.4.1.1 単回投与毒性試験 10
2.4.4.1.2 反復投与毒性試験 10
2.4.4.2 遺伝毒性 12
2.4.4.3 がん原性 12
2.4.4.4 生殖発生毒性 13
2.4.4.5 幼若動物を用いた試験 13
2.4.4.6 局所刺激性 13
2.4.4.7 その他の毒性試験 13
2.4.4.8 製剤中の不純物及び溶出物の安全性評価 13
2.4.4.8.1 製剤中の不純物の評価 13
2.4.4.8.2 製剤中の溶出物の安全性評価 14
2.4.4.9 添加物の評価 15
2.4.4.10 ヒトとの曝露量比較 15

2.4.5 総合的考察及び結論 17
2.4.5.1 概要 17
2.4.5.2 総括 18
参考文献 19

表目次

ページ

表 2.4-1 IDegLira の非臨床薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験の概括評価 6
表 2.4-2 IDegLira 及び各成分を単剤でラットに反復皮下投与した時の IDeg 及びリラグルチドの用量正規化（1 nmol/kg）平均 PK パラメータ 8
表 2.4-3 重要な毒性試験の概括評価 10
表 2.4-4 溶出物の最大臨床曝露量 14
表 2.4-5 動物／ヒトの曝露量比 15

略語一覧

ADA	:	Anti-drug antibody（抗薬物抗体）
AUC	:	area under the concentration-time curve（濃度－時間推移曲線下面積）
AUC/D	:	Dose normalised AUC（用量正規化 AUC）
BG	:	Blood glucose（血糖）
cAMP	:	Cyclic adenosine monophosphate（環状アデノシン一リン酸）
C_{max}	:	Maximum observed concentration in plasma/serum（最高血中濃度）
DRF	:	Dose range finding（用量範囲設定）
EDTA	:	Ethylene diamine tetra-acetic acid（エチレンジアミン四酢酸）
ELISA	:	Enzyme-linked immunosorbent assay（酵素免疫測定法）
FHD	:	First human dose（ヒト初回投与）
GIC	:	Previous name for IDegLira（IDegLira の旧名）
GLP	:	Good laboratory practice（医薬品の非臨床安全性試験の実施基準）
GLP-1	:	Glucagon-like peptide-1（グルカゴン様ペプチド-1）
h	:	Hours（時間）
hERG	:	Human ether-à-go-go related gene（ヒト *ether-à-go-go* 関連遺伝子）
IDegLira	:	insulin degludec / liraglutide（インスリン デグルデク／リラグルチド）
ICH	:	International Conference on Harmonisation（日米 EU 医薬品規制調和国際会議）
i.m.	:	Intramuscular（筋肉内）
i.v.	:	Intravenous（静脈内）
LLOQ	:	Lower limit of quantification（定量下限）
LOCI	:	Luminescence oxygen channelling immunoassay（蛍光酸素チャネリング免疫測定法）
LYD	:	Crossbred of Duroc, Yorkshire and Danish Landrace（デュロック・ヨークシャー・デンマークランドレース交雑種）
M	:	Module（モジュール）
MRHD	:	Maximum recommended human dose（ヒトにおける最大推奨臨床用量）
MTD	:	Maximum tolerated dose（最大耐用量）
NOAEL	:	No observed adverse effect level（無毒性量）
PDE	:	Permitted daily exposure（許容一日曝露量）
PEG	:	Polyethylene glycol（ポリエチレングリコール）
PK	:	Pharmacokinetic（薬物動態）
PKB	:	Protein kinase B（プロテインキナーゼ B）
QC	:	Quality controlled（品質管理）
RIA	:	Radioimmunoassay（放射免疫測定）
SD	:	Standard deviation（標準偏差）
s.c.	:	Subcutaneous（皮下）
TK	:	Toxicokinetic（トキシコキネティクス）
T2DM	:	Type 2 diabetes mellitus（2 型糖尿病）
$t_{½}$	:	terminal half-life（消失半減期）
t_{max}	:	Time to reach C_{max}（最高血中濃度到達時間）

2.4.1 非臨床試験計画概要

2.4.1.1 インスリン デグルデク／リラグルチド固定比率配合剤

インスリン デグルデク／リラグルチド（以下、IDegLira）は、持効型 Basal インスリンアナログであるインスリン デグルデクと市販のグルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）受容体アナログであるリラグルチドとの固定比率配合剤である。IDegLira は Xultophy®の販売名で、2014 年 9 月 18 日に欧州連合（EU）で、2016 年 11 月 21 日に米国で承認されている。

インスリン デグルデク（IDeg）はトレシーバ®の販売名で、EU、米国及び本邦で承認されている持効型 Basal インスリンアナログである。IDeg は、本邦ではインスリン療法が適応となる糖尿病患者に対し、1 日 1 回皮下投与による適用が承認されている。本文中では、特に断りのない限り、トレシーバ®は一般名であるインスリン デグルデク（IDeg）で表記する。

リラグルチドは皮下投与により 1 日 1 回使用するようにデザインされた GLP-1 アナログである。リラグルチドは、本邦では 2010 年にビクトーザ®の販売名で承認されており、また、90 以上の国々でも承認されている。本文書中では、特に断りのない限り、ビクトーザ®は一般名リラグルチドで表記する。

本邦では、リラグルチドの最大承認用量は 0.9 mg であったが、臨床試験（2211-4174）において、0.9 mg に対して 1.8mg 用量での優越性が検討された。

非臨床試験に関して投与量は nmol/kg で表記しているが、それによって、2 つの有効成分（IDeg 及びリラグルチド）で同一の単位が用いられ、また IDeg の非臨床プログラムとの整合性が図られる。したがって、IDegLira の 20/54 nmol/kg/日は IDeg の 20 nmol/kg/日及びリラグルチドの 54 nmol/kg/日と同等である。また、このことはリラグルチドの非臨床開発プログラムで mg/kg が使用されていたこととは異なる。用量を比較する場合、IDeg の 60 nmol は 10 単位、リラグルチドの 100 nmol は 0.375 mg に相当することから、IDegLira のヒトにおける最大推奨臨床用量（MRHD）である 50 単位/1.8 mg は IDeg の 300 nmol 及びリラグルチドの 480 nmol に相当する。

2.4.1.2 開発計画

IDegLira（IDeg 及びリラグルチド）は有効成分に関して各成分の薬理特性及び非臨床安全性が十分明らかにされている。IDeg 及びリラグルチドの薬理学的特性は、異なる細胞受容体及びシグナル伝達を介して発現し、分子薬理学的に相互作用を示すことはない。ICH M3（R2）ガイドラインで示されている開発後期ステージの 2 種の被験薬を組み合わせる配合剤の毒性試験に関する記述に従い、IDegLira の開発アプローチでは臨床開発プログラムを支持するための重要な試験として 1 種の動物（Wistar 系ラット）を用いて、最長 13 週間の皮下投与毒性試験を実施した。

ラットは、IDeg 及びリラグルチドのいずれに対しても薬理学的感受性を有すること、及び各成分での開発プログラムにおいてげっ歯類が使用されていたことに基づき、最も適した動物種として選択された。さらに、IDegLira ではウサギ又はブタを用いた 2 種の重要な局所刺激性試験を実施した。すべての重要な非臨床試験は、医薬品の安全性試験の実施基準（GLP）に準拠して実施した。完了した IDegLira の非臨床プログラムの概括評価を表 2.4-1 に示した。

表 2.4-1　　IDegLira の非臨床薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験の概括評価

Study type	**Administration**	**Species**
Primary Pharmacology		
Efficacy Pharmacology	s.c.	Rat
Pharmacokinetics		
Toxicokinetic		
DRF, 4-week and 13 week	s.c.	Rat
Pharmacokinetic		
Single Dose	s.c	Pig
Toxicology		
Repeated dose toxicity		
DRF, 4-week and 13-week	s.c.	Rat
Local tolerance		
Local tolerance	s.c.,i.m, i.v.	Pig and rabbit

臨床開発の開発段階で IDegLira の配合比率の変更がなされており、そのため、IDegLira の非臨床安全性プログラムでは、有効成分である IDeg とリラグルチドの配合比率が異なる 2 種類の IDegLira が検討されている（表 2.4-3）。

すべての不純物は各成分の開発時に安全性が評価され、安全であるとみなされたことから、提案した IDegLira に関する有効期間の規格限度値および使用時規格値は受け入れ可能であると考えられた。容器施栓系構成物中からの溶出物のレベルが決定された。溶出物に対してもヒトの曝露レベルが評価されており、安全性上の懸念はないことが確認された。IDegLira で使用される添加物は現在市販されているインスリン製剤にも使用されている一般的なものであり、ヒトの使用において安全であると考えられる。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

IDeg 600 nmol/mL とリラグルチド 1600 nmol/mL の配合比率からなる IDegLira の薬理作用を雄性 Wistar 系ラットを用いて検討し、その結果を IDeg 及びリラグルチドそれぞれの単剤投与による効果と比較した。IDegLira ならびに IDeg 及びリラグルチドの各単剤に関して 3 用量で検討した。単回皮下投与後の 24 時間血糖値プロファイル、24 時間摂餌量、摂水量及び体重変化について評価した。IDegLira にはいずれの測定項目に対しても用量依存的な効果が認められた。血糖値、摂餌量、摂水量及び体重変化に対する IDegLira の薬理作用は、想定されたとおり各成分として試験した IDeg 及びリラグルチドの既知の作用に基づくものであった。IDegLira 各成分である IDeg 及びリラグルチドの薬理特性は十分に明らかにされていることから、疾患モデルを用いた IDegLira の効力を裏付ける試験は実施していない。

2.4.2.2 副次的薬理試験

各成分である IDeg 及びリラグルチドの受容体選択性から、ICH S7A の注 2 で定義されている副次的薬理活性を発現する可能性はないことが示されている。したがって、IDeg 及びリラグルチドの直接的な全ての効能・効果、すなわち、IDeg 及びリラグルチドの薬効はそれぞれインスリン及び GLP-1 受容体を介して発現することを検討済みであることから、IDegLira の試験は実施しなかった。

2.4.2.3 安全性薬理試験

各成分とも現行の基準に従って試験されていることから、ICH M3（R2）に準拠し、IDegLira の安全性薬理試験は実施していない。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用

IDeg 及びリラグルチドの薬理学的特性は、異なる細胞受容体及びシグナル経路を介して発現するため、分子薬理学的相互作用を生じることはないことから、非臨床薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

2.4.3　薬物動態試験

IDegLira の薬物動態（PK）を、皮下投与時の 2 成分〔インスリン デグルデク（IDeg）及びリラグルチド〕の PK を検討することにより評価した。PK は Wistar 系ラットを用いた一般毒性評価の一部で試験されており、さらに製剤処方開発の一部としてブタ（ランドレース・ヨークシャー・デュロック交雑種）を用いた単回投与試験も評価した。各成分の PK の特性解析については、それぞれ IDeg 及びリラグルチドの各開発プログラムで実施された。

IDegLira ならびに各成分である IDeg 及びリラグルチドを反復皮下投与時の、ラットにおける IDeg 及びリラグルチドの PK パラメータの概要を表 2.4-2 に示す。IDeg 及びリラグルチドの両方とも、試験した用量範囲内で PK が線形性を示したことから、表 2.4-2 に用量正規化した全身曝露データを示した。IDegLira をラットに皮下投与時の IDeg 及びリラグルチドの PK は、各成分について以前に認められたものと同様であった。

表 2.4-2　IDegLira 及び各成分を単剤でラットに反復皮下投与した時の IDeg 及びリラグルチドの用量正規化（1 nmol/kg）平均 PK パラメータ

Pharmacokinetic parameter	**IDeg (IDegLira)[a]**	**IDeg (IDeg as monocomponent)[b]**	**Liraglutide (IDegLira)[a]**	**Liraglutide (Liraglutide as monocomponent)[c]**
C_{max} (nmol/l)	2.5	1.9	2.2	1.8
t_{max} (h)	1- 4	1- 3	4 - 12	4 - 12
AUC (h*nmol/l)	12.7	10.6	24.3	28.6
$t_{½}$ (h)	2 - 5	2 - 4	3 - 6	5 - 10

a – Study No. 208142 (4-week), 209212 (13-week)
b – Study No. 205239 (4-week) [1]
c – Study No. 980183 (4-week) [2]

ブタでは、IDegLira の一部として投与された IDeg の PK は、IDeg 単剤を投与時の PK と同様であった。ブタにおける単回投与 PK 試験において、IDegLira の一部として投与されたリラグルチドでは、単一成分として投与されたリラグルチドと比較して、C_{max} の低下傾向が認められた。しかしながら、IDegLira 中のリラグルチドの用量正規化総曝露量（AUC／用量）は、リラグルチド単剤の結果と同様であった。IDegLira 製剤処方には[redacted]が含まれるが、リラグルチド単剤（ビクトーザ®）には含まれていない。リラグルチド単剤に[redacted]を添加した結果、[redacted]の増加によりリラグルチドの AUC 及び C_{max} は、[redacted]であるビクトーザ®（表 2.6.5.16.A、AnP080203）と比較して低下し、製剤中の[redacted]とリラグルチドの血漿中濃度には関連性があることが示された。以上の結果から、[redacted]とリラグルチドの PK 特性との関連性が示唆され、IDegLira の臨床薬理試験（Module 2.7.2）で認められたリラグルチド曝露の低下についても説明可能と考えられる。

それぞれ IDeg 及びリラグルチドに対するモノクロナール抗体を用いた特異的測定法により、血清試料（ラット、ブタ及びヒト）中の IDeg 及び血漿試料（ラット、ブタ及びヒト）中リラグルチド濃度を測定した。

抗薬物抗体の産生により PK が変化する可能性がある。しかしながら、IDeg に対する抗体産生に関しては、IDegLira をラットに反復投与後、抗体産生が認められたのは 18/153 例のみと少数であり、抗体陽性動物と抗体陰性動物の血漿中曝露量に差異は認められなかったことから、抗インスリン抗体は IDeg の PK に影響を及ぼさないことが裏付けられた。なお、リラグルチドに対して抗体産生は認められなかった。

2.4.3.1 吸収

IDegLira をラットに投与した結果、IDeg 及びリラグルチドの PK はともに用量比例性を示し、性差は認められなかった。IDegLira の反復投与における各成分の全身性の蓄積は限定的（＜2 倍）であった。このことは、各成分いずれの消失半減期（$t_{½}$）及び投与間隔とも一致するものであった。

2.4.3.2 分布

各成分について分布特性が検討されているため、IDegLira の試験は実施しなかった。

2.4.3.3 代謝

IDegLira の代謝試験は実施しなかった。ラットを用いた IDegLira のトキシコキネティクス（TK）データから、単剤と比較して、更なる試験を必要とする代謝特性の変化は示されていない。

2.4.3.4 排泄

各成分で排泄特性が検討されているため、IDegLira の試験は実施しなかった。

2.4.3.5 薬物相互作用

各成分について、*in vitro* 薬物相互作用試験が実施されている。IDeg 及びリラグルチドの両方とも、治療上及び生理学的に意味のある薬物濃度条件下において、CYP の相互作用及びタンパク質結合に関連した薬物動態学的相互作用を誘発する可能性は低いと考えられた。特に、治療上及び生理学的に意味のある薬物濃度条件下において、リラグルチドはヒトアルブミンに対する IDeg 結合に影響を及ぼさなかった。

2.4.4 毒性試験

IDegLira の一般毒性は、2 種の重要な毒性試験において 13 週間までの反復皮下投与後に評価した。

表 2.4-3 重要な毒性試験の概括評価

Study type and duration	**Route of administration**	**Species/Strain**	**Ratio of insulin degludec/liraglutide**
Repeat-dose toxicity			
4 weeks	Subcutaneous	Rat/Wistar	600/1600 nmol/ml
13 weeks	Subcutaneous	Rat/Wistar	600/960 nmol/ml[a]
Local tolerance			
Single dose	Subcutaneous	Pig/Danish country-Yorkshire cross breed	600/1600 nmol/ml
Single dose	Subcutaneous, intramuscular and intravenous	Rabbit/New Zealand White	600/960 nmol/ml[a]

[a] Ratio of insulin degludec/liraglutide identical to human drug product containing IDegLira 100 U/3.6mg per ml.

健常な正常血糖動物に対してインスリンを投与することは、死亡に至る可能性のある低血糖症の発生リスクに関係している。低血糖症及び低血糖症に関連した死亡は、インスリン特有の薬理作用の結果であることから、毒性というよりは予想される過剰な薬理作用によるものと考えられる。同様に、摂餌量の減少及び体重増加量の減少などの GLP-1 受容体活性化に関係した所見は、リラグルチドの薬理作用によることがよく知られていることから、毒性というより予想される過剰な薬理作用によるものと考えられる。したがって、無毒性量（NOAEL）は、予想される過剰な薬理作用以外に有害作用がみられない用量であると考えられる。

2.4.4.1 一般毒性

2.4.4.1.1 単回投与毒性試験

IDeg 及びリラグルチドの各成分について単回投与毒性が評価されている。ICH M3 (R2)に従い、IDegLira に関して単回投与毒性試験は実施しなかった。

2.4.4.1.2 反復投与毒性試験

ラットを用いて、最初に実施した重要でない試験である 2 週間用量設定試験に引き続き、重要な毒性試験として 4 週間及び 13 週間試験を行った。13 週間試験では 4 週間の回復性検討期間も組み入れた。4 週間試験では、IDegLira の初期の設定用量は 0/0、10/27、30/80、及び 60/160 nmol/kg/日であった。低血糖症に関係した死亡がみられたことから、本試験では MTD（最大耐量）を上回っており、IDegLira の 60/160 nmol/kg/日投与群を第 11 日に中止し、中用量群を第 12 日に 20/54 nmol/kg/日に減じた。13 週

間試験における IDegLira の用量は、試験期間を通して、0/0、2/3.2、7/11.2 及び 20/32 mmol/kg/日であった。

4 週間試験において、2 mmol/L 未満の血中グルコースレベルを示す低血糖症、低血糖症様の一般状態変化及び低血糖に関連した死亡が認められた。なお、対照群動物における投与第 1 日の血中グルコースレベルは 6.1～8.0 mmol/L の範囲内であった。さらに、IDegLira 20/54 nmol/kg/日投与群では、対照群と比較して摂餌量が 18%以上減少し及び体重増加は 80%以上抑制された。これらの結果及び IDegLira の配合比率の変更を考慮し、13 週間試験では用量を低く設定した（表 2.4-3）。13 週間試験において血中グルコースレベルの低下は高用量の 20/32 nmol/kg/日群でのみ認められた。体重増加抑制は両試験で認められたが、摂餌量の減少は 4 週間試験でのみ認められた。

4 週間及び 13 週間試験において、血液学的検査及び血液生化学的検査の検査項目にわずかな変化が認められたが、これらの変化は病理組織学的変化を伴っていないことから、毒性学的関連性はないものと考えられた。

IDegLira 投与動物において全身曝露が確認された。曝露は用量比例的に増大し、性差は認められなかった。$t_{½}$から予期されたように、13 週間までの投与後、全身性の蓄積は全くないか限定的（<2 倍）であった。リラグルチドに対する抗体は認められなかったものの、IDeg に対する抗体は、比較可能な IDeg の試験と同様の頻度で検出された。

4 週間試験において、IDegLira 投与ラットでは、対照群と比較して、前立腺の絶対ならびに相対重量及び心臓の絶対重量が減少した。これらの変化は、著しい摂餌量の減少及び体重増加抑制に関連すると考えられた。13 週間試験において、腎臓及び卵巣の相対重量が増加した。これらの変化は、体重増加抑制に関連すると考えられた。

4 週間試験における肉眼的及び顕微鏡的検査から、以下のことが明らかとなった：副腎における皮質細胞の空胞形成がみられた。この変化は、本試験でみられた摂餌量の減少により血中グルコース濃度の低下が悪化したことに対する適応反応として、糖質コルチコイドの産生増大を反映していると考えられた。肝臓では、グリコーゲン蓄積の増大を示唆すると考えられる軽微から軽度までの細胞質の染色希薄化が認められた。この変化は過剰な糖質コルチコステロイドレベルに対する反応としてよく知られている現象であり、副腎の空胞形成との関連性が認められている[3,4]。

IDegLira の 20/54 nmol/kg/日投与ラットを剖検したところ、2/10 例に前立腺及び精嚢の小型化が認められた。この所見と一致して、同投与群では前立腺重量の減少がみられた。なお、前立腺及び精嚢に病理組織学的変化は認められなかった。精細管では VII/VIII ステージの精母細胞に軽微なアポトーシスが認められた。これらの前立腺と精嚢の変化ならびに VII/VIII ステージ特異的な精母細胞のアポトーシ

スは、本試験でみられた摂餌量の減少／体重増加抑制に関連すると考えられる。同様に、前立腺、精嚢及び精巣の変化は食事制限ラットでも報告されている[5]。さらに、リラグルチド単剤の検討においては、統計学的に有意な前立腺及び精嚢重量の減少が認められている[6,7]。前立腺重量の減少は他の GLP-1 アナログでも認められている[8]。以上のことから、前立腺ならびに精嚢の変化及び精母細胞のアポトーシスは、リラグルチドの摂餌量に及ぼす薬理作用に関連したものと考えられた。ステージ特異的な精母細胞のアポトーシスに加え、精巣では軽微な精細管の変性が認められた。この変化は他のインスリンの試験でも共通して認められており[9,10,11,12,13]、低血糖症に関係するものである。精巣の変化はいずれも、病理組織学的グレードの最も低い軽微な変化であった。注射部位では、用量に関連した潰瘍の発生頻度増加が 4 週間試験で認められたが、組織学的検査では被験物質投与群と溶媒投与群との間に差異は認められなかった。注射部位の顕微鏡的検査において、炎症細胞浸潤、壊死及び線維化／肉芽組織を認める軽度から中等度の反応が対照群を含む全群でみられ、群間差は認められなかった。

13 週間試験では、溶媒投与群と同様に、IDegLira 投与群でも毒性学的関連性のある肉眼的又は顕微鏡的な変化及び注射部位反応は認められなかった。とりわけ、副腎、肝臓、前立腺、精嚢又は精巣に関して、投与に関連した所見は認められなかった。結果として、NOAEL は IDegLira の最高用量である 20/32 nmol/kg/日と考えられた。

2.4.4.2 遺伝毒性

IDeg 及びリラグルチドの遺伝毒性に関する評価は、現行の基準（ICH S6 (R1)、ICH M3 (R2)及び ICH S2 (R1)）に準拠して実施されている。リラグルチドは、2.4.4.3 で記述したように、げっ歯類に対してがん原性を有するものの、標準的な組み合わせの *in vitro* 及び *in vivo* 試験において、リラグルチドは遺伝毒性を有さないことが証明された。IDeg は変異原性を有さないバイオテクノロジー応用医薬品であると考えられることから、遺伝毒性試験は実施しなかった。以上より、ICH M3 (R2)に従い、IDegLira の遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.4.4.3 がん原性

IDeg の細胞増殖及び新生物形成に関する *in vitro* 及び *in vivo* の非臨床試験の結果、有害所見は認められず、IDeg のがん原性はヒトインスリンを超えるものではないと結論された[14]。リラグルチドのがん原性は、マウス及びラットを用いた 104 週間試験で評価した。リラグルチドは非遺伝毒性による、GLP-1 受容体を介した特異的メカニズムによりげっ歯類の甲状腺の C-細胞腫瘍を誘発した。IDeg 及びリラグルチドの薬理学的特性は異なる細胞受容体及びシグナル伝達介して発現し、分子薬理学的相互作用を示すことはない。IDeg 及びリラグルチドともに現行の基準（ICH S1A-S1C、ICH M3 (R2)、ICH S6 (R1)）に準拠してがん原性の評価が行われていることから、固定比率配合剤である IDegLira のがん原性試験は実施しなかった。

2.4.4.4 生殖発生毒性

IDeg 及びリラグルチドともに、適切なガイドライン（ICH M3 (R2)、ICH S5 (R2)）に準拠して生殖発生毒性が検討されている。

IDeg の生殖毒性試験では、母動物の血中グルコース低下による二次的な変化と考えられる、胎仔及び乳仔に及ぼす軽微な影響のみがみられ、胚毒性及び催奇性に関して IDeg とヒトインスリンとの差異は全く認められなかった。

リラグルチドでは、ラットにおいて早期胚死亡増加、ウサギにおいて母動物摂餌量減少に起因するものと推測される軽度の胎仔骨格異常が認められている。

有効成分である IDeg 及びリラグルチドの生殖発生毒性プロファイルが詳細に解明されていることから、ICH M3 (R2)に準拠して、IDegLira の生殖発生毒性試験は実施しなかった。

2.4.4.5 幼若動物を用いた試験

小児及び成人集団におけるインスリンの生理学及び薬理学は周知であること、さらに各成分のデータが得られていることを考慮すると、幼若動物を用いた毒性試験が新たな情報を提供することにはならないと考えられた。したがって、IDegLira の幼若動物を用いた試験は実施しなかった。

2.4.4.6 局所刺激性

局所刺激性はウサギ及びブタで検討した。さらに、IDegLira の重要な反復投与毒性試験に局所刺激性を組み入れて評価した。意図しない IDegLira の筋肉内又は静脈内投与後の局所での組織反応についてもウサギで評価した。局所での組織反応は軽度かつ溶媒と同程度であり、製剤の臨床使用に懸念はないものと考えられた。このことに一致して、IDegLira の臨床試験においてみられた注射部位反応の発生頻度は低かった（Module 2.7.4、2.1.12.4 項参照）。

2.4.4.7 その他の毒性試験

IDegLira の各成分の薬理学的特性及び非臨床安全性の特性が十分に解析されている。ICH M3(R2)に従い、IDegLira に関して更なる毒性試験の必要性はないと判断した。

2.4.4.8 製剤中の不純物及び溶出物の安全性評価

2.4.4.8.1 製剤中の不純物の評価

すべてのリラグルチド関連不純物に関する有効期間の規格限界値及び使用時規格値は、リラグルチド 6.0 mg/ml（ビクトーザ®）と同等又は許容限界の範囲内にある。

*E1　不純物を除くすべての IDeg 関連不純物に関する有効期間の規格限界値及び使用時規格値は、インスリン デグルデク 100 単位/ml（トレシーバ®）のものと同等、又は許容限界の範囲内にある。しかしながら、*E1　不純物のレベルに関しては、IDeg の非臨床プログラムの一環で実施されたラットにおける 4 週間毒性試験においてその安全性が確認されている[15]。結果として、不純物の安全性が確認されていることから、提示した IDegLira の有効期間の規格限度値及び使用時規格値は適合していると考えられる（IDegLira の 規格については Module 3.2.P.5.6 を参照）。

2.4.4.8.2　製剤中の溶出物の安全性評価

IDegLira は[redacted]ゴム製プランジャーと[redacted]ゴムディスクで密閉された容器に入れて供給される。この容器施栓系はインスリン デグルデク製剤（トレシーバ®）及びリラグルチド製剤（ビクトーザ®）で使用されているものと同等である（Module 3.2.P.2.4 を参照）。

IDegLira の長期間の溶出物試験では、5 種類の溶出物（3 種の*F　異性体及び 2 種の*G　異性体）が検出・確認された（Module 3.2.P.2.4）。

表 2.4-4　溶出物の最大臨床曝露量

Compound	CAS number	Maximal concentration (µg/mL)	Max. clinical s.c. exposure (µg/person/day)[a]
*F1異性体 *F2異性体 *F3異性体	[redacted]	1.4[b]	0.72
*G1異性体 *G2異性体	[redacted]	2.7[b]	1.4

[a] Based on a MRHD of 50 U IDeg and 1.8 mg liraglutide (i.e. volume of 0.5 ml/person/day)
[b] The sum of all isomers

IDegLira の MRHD は 50 単位/1.8 mg であることに基づいて、前述の 5 種の物質の最大 1 日曝露量を算出し（表 2.4-4）、以下のように評価した：

3 種類の*F　異性体を合わせた最大臨床曝露量は、残存溶媒に関する ICH Q3C ガイドライン（2011）で規定された許容一日曝露量（PDE：21.7 mg/ヒト/日）の少なくとも 31000 分の 1 よりも低い。したがって、このレベルは患者に対する安全性リスクに関連しないと考えられる。

*物質G　の PDE は設定されていない。科学文献を検索したが、ICH Q3C の別表 3 に示されている方法に基づいた、PDE を推定する十分なデータは得られなかった。

*G1異性体 及び *G2異性体 は、*in vivo* マウス骨髄小核試験で遺伝毒性を有さないことが示されている[16,17]。これらの*G 異性体のいずれも、Product Quality Research Institute がすべての非がん原性の毒性作用を考慮して設定した、非常に保守的な安全性確認が必要な閾値[18]の少なくとも 3 分の 1 よりも低い。したがって、これらの化合物の最大臨床曝露量の計算値は、患者に対する安全性リスクに関連しないものと考えられる。

結論として、容器施栓系は検出される溶出物レベルに安全性上の懸念がなく、インスリン デグルデク 100 単位/mL 及びリラグルチド 3.6 mg/mL 製剤（IDegLira100 単位/3.6 mg/mL）に適していると考えられる。

2.4.4.9 添加物の評価

販売を予定している IDegLira 製剤は、等張剤としてグリセロール（19.7 mg/mL）、インスリンのダイヘキサマー形成用として[redacted]及び防腐剤としてフェノール（5.7 mg/mL）を含む溶媒から構成される。すべての添加物は医薬品添加物として使用実績があり、日本薬局方にも収載されており、処方中の各含有量は日本における既承認製剤の最大使用量の範囲内である。

2.4.4.10 ヒトとの曝露量比較

最長投与期間の毒性試験において NOAEL 投与時の定常状態の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 及び C_{max} で測定した曝露量を、IDegLira の MRHD（50 単位/1.8 mg）と同一用量である検証的試験（臨床試験報告書 Module 5.3.3.5、NN9068-3697）の最高用量投与時のヒト曝露量と比較した。到達曝露量は毒性試験の概要文にまとめて掲載されている（Module 2.6.6.9、表 2.6.6-8）。動物／ヒトの曝露量比を下表（表 2.4-5）に示す：

表 2.4-5 動物／ヒトの曝露量比

Study type	**IDeg**		**Liraglutide**	
	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (h*nmol/l)	**C_{max} (nmol/l)**	**$AUC_{0\text{-}24hr}$ (h*nmol/l)**	**C_{max} (nmol/l)**
Repeated dose toxicity[a]	1.6	5.7	2.2	4.2

[a] Rat exposure data obtained from 13 week toxicity study in rats study no: 209212. Human exposure calculated from trial N9068-4183 at the maximum recommended human dose of IDegLira (50 U/1.8 mg) with Japanese subjects.

ラットにおける 13 週間毒性試験から得られた IDegLira の NOAEL 20/32 nmol/kg/日を動物／ヒトの曝露量比の算出に用いた。

低血糖症及び低血糖症様の一般状態変化は、反復投与毒性試験において用量を制限する主要な所見であった。これらの影響は、主として IDeg 投与に関連するが、リラグルチド投与による摂餌量の減少も血中グルコースの低下状態を促進させると考えられた。したがって、ヒトに対する動物の曝露量比

（IDeg で 1.6 倍、リラグルチドで 2.2 倍）は、正常血糖動物では高いものとは考えられない。動物／ヒトの曝露量比が低いことから、ヒトでも低血糖症リスクの増大を示唆する可能性がある。しかしながら、正常血糖ラットへのインスリン投与のリスクから得られた曝露量比は、ヒトにおけるリスク予測に役立つものとは考えられず、ヒトにおけるリスクはこれまでに得られた多くの臨床データに基づいて評価されるべきである。さらに、血漿中グルコース濃度に基づく個別の患者の用量漸増では、臨床的には潜在的な低血糖症リスクを低くすることに配慮される。このことに関連して、IDegLira の臨床試験では IDeg に比較して低血糖症の頻度が低いことが認められている（Module 2.7.4、2.1.18 項参照）。結果として、IDegLira で得られた動物／ヒトの曝露量比はヒトにおける IDegLira の安全使用に十分であると考えられた。

2.4.5　総合的考察及び結論

2.4.5.1　　概要

IDegLira の各成分は、医薬品の製造承認を支持するために完了した非臨床プログラムの一部として各成分の薬理特性及び非臨床安全性が十分明らかにされている。したがって、IDegLira の非臨床安全性プログラムは、ICH M3 (R2)ガイドラインに準拠し、ラットを用いた最長 13 週間の反復投与毒性試験ならびにウサギ及びブタを用いた局所刺激性試験を組み入れた。

ラットを用いた IDegLira の効力を裏付ける薬理試験を実施した結果、体重及び血糖コントロールに及ぼす各成分の既知の効果が確認された。毒性試験プログラムの一部として評価した PK プロファイルから、ラットに IDegLira を皮下投与時の IDeg 及びリラグルチドの PK が、各成分を投与したときに認められた PK と同様であることが裏付けられた。ラットにおける PK は用量比例性であり、性差は認められなかった。リラグルチドに対する抗薬物抗体は検出されなかった。また、IDeg では抗体産生が低頻度に認められたが、PK に影響を及ぼさなかった。

IDegLira の反復投与毒性試験では、インスリン及び GLP-1 アナログの薬理作用又は過剰な薬理作用に関連した影響、すなわち、血中グルコースの低値／低血糖症、摂餌量の減少及び体重増加抑制が認められた。ラット 4 週間試験は MTD を超えており、低血糖症のため、投与中に動物を安楽死させ、投与量を下げた。副腎、肝臓及び精巣で認められた組織学的所見は、概してインスリン単剤で広く報告されているか、又は既知の GLP-1 アナログの薬理作用を反映する摂餌量減少の特性と類似していることから、これらの所見は、インスリン及び GLP-1 アナログの過剰な薬理作用に関連するものであった。局所刺激性はウサギ及びブタの 2 試験で評価し、ウサギでは、意図しない筋肉内又は静脈内投与時の影響についても検討した。局所での組織反応は軽度かつ溶媒と同程度であり、局所刺激性の懸念はないものと考えられた。

低血糖症及び低血糖症様の一般状態変化は、反復投与毒性試験における用量制限因子であった。正常血糖ラットへの投与により得られた曝露データは、2 型糖尿病患者におけるヒトでの低血糖症発生リスクを予測するものではないと考えられることから、動物／ヒト曝露量比は十分なものと考えられる。

すべての不純物の安全性が確認されていることから、提案した IDegLira に関する有効期間の規格限度値及び使用時規格値は受け入れ可能であると考えられた。容器施栓系構成物からの溶出物のレベルが決定された。溶出物に対して予測されるヒト曝露レベルが評価され、安全性上の懸念はないことが確認された。

すべての添加物は医薬品添加物として使用実績があり、日本薬局方にも収載されており、処方中の各含有量は日本における既承認製剤の最大使用量の範囲内である。

2.4.5.2 総括

ICH M3 (R2)ガイドラインに準拠し、IDegLira に関して最長 13 週間の反復投与毒性試験ならびにウサギ及びブタを用いた局所刺激性試験を実施した。非臨床プログラムから、インスリン及び GLP-1 アナログによる既知の薬理作用及び過剰な薬理作用に起因する予期された所見が明らかになった。IDegLira の非臨床試験プログラムから、ヒトへの長期間の皮下投与に関して安全性上の懸念がないことが明らかになった。

参考文献

[1] Table 1 in Addendum E from Study report: NNC 0100-0000-0454 – 4-week toxicity study in rats with daily subcutaneous administration of NNC 0100-0000-0454 - (205239)

[2] Table 2 in Appendix 24 from Study report: NNC 0090-0000-1170 – 28 Day Subcutaneous Toxicity Study in Rats - (980183)

[3] Leakey J, Seng J, Allaben W. Influence of body weight, diet, and stress on aging, survival and pathological endpoints in rodents: implications for toxicity testing and risk assessment. Regulatory Research Perspective. 2004; 4(1):1-28

[4] Margolis RN, Curnow RT. Effects of dexametasone administration on hepatic glycogen synthesis and accumulation in adrenalectomized fasted rats. Endocrinology. 1984;115:625-629

[5] Rehm S, White, TE, Zahalka, EA, Stanislaus DJ, Boyce RW, Wier PJ. Effect of food restriction on testis and accessory sex glands in maturing rats. Toxicol Pathol. 2008;36:687-694

[6] 980186 Study report: NNC 0090-0000-1170 – Preliminary Segment I-II Subcutaneous Reproduction Study in Rats

[7] 990284 Study report: NNC 0090-0000-1170 – Main Segment I/II Subcutaneous Reproduction Study in Rats

[8] Summary basis of approval Byetta FDA approval package, Pharmacology review, NDA application number 21-773, 2005

[9] Mancine RE, Penhos JA, Izquierdo IA, Heinrich JJ. Effect of acute hypoglycemia on rat testis. Proc Soc Exp Bio Med. 1960;104:699-702

[10] 940301 Study report: X14 – Toxicity to rats by repeated (twice daily) subcutaneous injection for 52 weeks - Volume 1

[11] 940303 Study report: X14 – A study of fertility and embryofoetal development in the rat by twice daily subcutaneous injection

[12] 950460 Study report: NN304 – A range finding study of effects on fertility and embryofoetal development in the rat by subcutaneous injection

[13] 960122 Study report: NN304 – A study of effect on fertility and embryofoetal development in the rat by subcutaneous injection

[14] Nonclinical assessment of the carcinogenic potential of insulin degludec

[15] 210227 Study report: NNC 0100-0000-0454 (Aged and Non-Aged) – 1-Month Subcutaneous Toxicity Study in Rats (Bridging study)

[16] 210060 Study report: 2-Bromophenol - Induction of micronuclei in the bone marrow of treated mice

[17] 210064 Study report: 4-Bromophenol – Induction of micronuclei in the bone marrow of treated mice

[18] Ball D, Blanchard J, Jacobson-Kram D, McClellan RO, McGovern T, Norwood DL, et al. Development of Safety Qualification Thresholds and Their Use in Orally Inhaled and Nasal Drug Product Evaluation. Toxicol. Sci. 2007;97(2):226-236