ルムジェブ注カート
ルムジェブ注ミリオペン
ルムジェブ注ミリオペン HD
ルムジェブ注 100 単位/mL

2.4　非臨床試験の概括評価

日本イーライリリー株式会社

目次

2.4　非臨床試験の概括評価 2
2.4.1　非臨床試験計画概略 2
2.4.2　薬理試験 3
2.4.3　薬物動態 4
2.4.4　毒性 5
2.4.5　結論 7
2.4.6　参考文献 7

略語一覧

AUC	血漿/血清中濃度－時間曲線下面積
C_{max}	最高血清中濃度
Early 50% t_{max}	最高血清中濃度の 1/2 の濃度に最初に到達するまでの時間
ECG	心電図
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hERG	ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子
ICH	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
Late 50% t_{max}	最高血清中濃度到達時間後に最高血清中濃度の 1/2 の濃度に低下するまでの時間
NOAEL	無毒性量
NOEL	無影響量
PD	ファーマコダイナミックス
PK	ファーマコキネティクス
QTc	心拍数補正 QT
TK	トキシコキネティクス
t_{max}	最高血清中濃度到達時間

2.4　非臨床試験の概括評価

LY900014 製剤は、2001 年に国内で承認された超速効型インスリンアナログであるヒューマログの有効成分インスリン リスプロ（以下、リスプロ）に、投与部位からの吸収を促進させる異なる作用機序を持つトレプロスチニルナトリウム（以下、トレプロスチニル）及びクエン酸ナトリウム（以下、クエン酸）を添加剤として加えた新規の超速効型インスリン製剤である。トレプロスチニル（フリー体）はトレプロスト®注射液の有効成分として日本で承認されており、肺動脈性肺高血圧症に対し持続静脈内投与又は持続皮下投与で使用されるプロスタサイクリンのアナログである（トレプロスト注射液添付文書, 2017）。本剤では少量のトレプロスチニルを添加することで、局所血管拡張によりリスプロの吸収を促進する。また、クエン酸は血管透過性を高めることで、リスプロの吸収を促進する。LY900014 製剤に含まれる添加剤のうち、トレプロスチニル及び塩化マグネシウム六水和物（以下、塩化マグネシウム）は、医薬品添加剤としての皮下投与による使用前例がないため、新添加剤に相当する。

2.4.1　非臨床試験計画概略

リスプロの非臨床試験（薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験）結果はリスプロの初回承認申請時に提出済みであることから、今回の申請にあたり、新たな試験は実施しなかった。

トレプロスチニルは、リスプロとは作用機序が異なるため、薬理学的な相加／相乗効果（低血糖症や標的器官毒性の増強など）の懸念は低いと考えられる。また、LY900014 製剤の臨床投与に伴うトレプロスチニルの全身曝露量は極めて低く、LY900014 製剤に含まれるトレプロスチニルが添加剤に該当することについては、対面助言にて独立行政法人医薬品医療機器総合機構の確認を得ている（2.5.1.5 参照）。さらに、本申請資料中に含めたトレプロスチニルの毒性試験において、安全性上懸念となるようなシグナルは認められなかった。このため、LY900014 製剤については、全身毒性を評価する反復投与毒性試験は実施しなかった。LY900014 製剤の局所刺激性を評価し、第 I 相臨床試験をサポートする目的で、リスプロ（ヒューマログ）、トレプロスチニル（Remodulin）を混合し調製した LY900014 試験製剤（リスプロ、トレプロスチニル、クエン酸及び塩化マグネシウムを含有）のラット 14 日間反復皮下投与局所刺激性試験を実施した。その結果、局所忍容性は良好であった。なお、本試験で用いた LY900014 試験製剤の組成が、最終的に選択された市販予定製剤の組成と大きく異ならなかったことから、LY900014 市販予定製剤の局所刺激性試験は実施しなかった。

トレプロスチニルの非臨床安全性評価は、新添加剤として、各国の規制当局における添加剤のためのガイドライン（FDA 2005、EMA 2007）及び助言に基づき計画した。安全性薬理試験（心血管系、中枢神経系及び呼吸系）、ラット及びイヌの最長 26 週間反復皮下投与毒性試験、標準的組み合わせの遺伝毒性試験並びにラット及びウサギの生殖発生毒性試験を実施した。

がん原性試験については、トレプロスチニルの血管拡張作用は腫瘍原性と関連しないと考えられること、本申請資料に含めたトレプロスチニルの非臨床安全性試験において、腫瘍原性を示唆するような毒性変化や遺伝毒性は認められていないこと、LY900014 製剤の治療用投与に伴うトレプロスチニルの全身曝露量が極めて低く、全身性の作用は発現しないと予想されることから、実施しなかった。

塩化マグネシウムは、医薬品添加剤としての皮下投与による使用前例がないが、LY900014 製剤の最大 1 日投与量に含まれる量は、静脈内投与用添加剤として使用前例がある最大用量（213.6 mg[1]）の約 200 分の 1 である。このため、塩化マグネシウムについて独立した非臨床試験は実施しなかった。塩化マグネシウムは、トレプロスチニルの一連の毒性試験及び LY900014 製剤のラット 14 日間反復皮下投与局所刺激性試験で用いた媒体対照に含まれていたことから、この成績に基づき塩化マグネシウムの評価を行った。

安全性薬理、毒性及びトキシコキネティクス（TK）試験は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice：GLP）に従い実施した。医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for human use：ICH）ガイドラインをはじめとする各国のガイドラインも参照した。

2.4.2　薬理試験

トレプロスチニル及びクエン酸の薬理作用を検討する目的で、種々の効力を裏付ける試験を実施した。また、糖尿病 Yucatan ミニブタを用いた試験を実施し、リスプロによる血糖降下作用に対する両添加剤の作用を評価した。さらに、トレプロスチニルに対する安全性薬理試験を実施し、その安全性を評価した。以下に得られた試験成績を要約する。

効力を裏付ける試験

- In vitro 血管内皮細胞透過性アッセイ及び in vivo Miles 透過性アッセイにおいて、クエン酸は血管透過性を用量依存的に亢進させた。
- ラットの微小循環血流量に及ぼすトレプロスチニルの作用をレーザードップラーイメージング法で検討したところ、投与部位の血流量は用量依存的かつ局所的に増加した。
- 糖尿病 Yucatan ミニブタを用いた試験において、リスプロの血糖降下作用に対するクエン酸及びトレプロスチニルの作用を評価したところ、クエン酸及びトレプロスチニルはリスプロによる血糖降下作用の作用発現を速めることが示された。

安全性薬理試験

- トレプロスチニルは、ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（human ether-a-go-go-related gene：hERG）チャネル電流に対して問題となる阻害作用を示さなかった。
- トレプロスチニルをイヌに単回投与したときの心血管系パラメータを評価した。0.015 mg/kg 以上の用量で心拍数の増加を伴う顕著で一過性の血圧低下が、0.07 mg/kg の用量で QT 間隔及び心拍数補正 QT（corrected QT：QTc）間隔の延長が見られ、心血管系評価項目に対する無影響量（no-observed-effect level：NOEL）は 0.004 mg/kg であった。心電図（electrocardiogram：ECG）の定性的評価において影響はみられなかった。3 及び 6 ヵ月間連日反復投与したときには、QT 及び QTc 間隔の延長はみられなかった。
- トレプロスチニルをラットに単回皮下投与したときの中枢神経系（行動評価及び体温測定）ならびに呼吸系のパラメータを評価した。用いた最高用量である 0.1 mg/kg/日の用量まで中

[1] 医薬品添加物辞典 2016

枢神経系及び呼吸機能の重大な変化はみられなかった。0.1 mg/kg/日群でわずかな体温低下が認められ、トレプロスチニルの薬理作用により生じた血管拡張／赤色化による二次的な変化と推察された。中枢神経系及び呼吸系の評価項目に対する NOEL は、それぞれ 0.03 及び 0.1 mg/kg/日であった。

2.4.3 薬物動態

リスプロのファーマコキネティクス（PK）及びファーマコダイナミックス（PD）に及ぼすトレプロスチニル及びクエン酸の影響を評価するため、これらを種々の量で含有するリスプロ製剤を雄性糖尿病 Yucatan ミニブタに投与する PK/PD 試験を 4 件実施した。これらの試験ではリスプロを有効成分とする超速効型インスリンアナログであるヒューマログを対照製剤として使用した。以下に得られた成績を要約する。

- トレプロスチニル及びクエン酸の存在下で、リスプロの吸収はヒューマログ対照群と比較して速やかであり、総インスリン濃度に対する Early 50% t_{max}［最高血清中濃度（C_{max}）の 1/2 の濃度に最初に到達するまでの時間］及び Late 50% t_{max}［最高血清中濃度到達時間（t_{max}）後に C_{max} の 1/2 の濃度に低下するまでの時間］の短縮が認められた。
- 市販予定製剤と同じ濃度のクエン酸及びトレプロスチニルを含む LY900014 試験製剤（133D）を投与した試験では、LY900014 試験製剤（133D）群の総インスリン曝露量［血清中濃度－時間曲線下面積（AUC）及び C_{max}］はヒューマログ対照群の値よりも有意に高かった。しかしながら、同試験における LY900014 試験製剤（133D）群の総インスリン曝露量は、他の 3 試験におけるヒューマログ対照群の曝露量と同程度であった。

LY900014 製剤に少量含まれるトレプロスチニル（リスプロ 1 単位当たり 10 ng）は肺動脈性肺高血圧症の治療薬として承認されているが、医薬品添加剤としての皮下投与による使用前例がないため、トレプロスチニルを皮下投与した薬物動態試験を実施した。ラット、妊娠ラット、妊娠ウサギ及びイヌを用いて、トレプロスチニルを連日皮下投与した際の TK を評価した。また、ラット及びヒトの肝細胞を用いて、[^{14}C]トレプロスチニルの in vitro 代謝を検討した。さらに、ラットに[^{14}C]トレプロスチニルを単回皮下又は単回静脈内投与した際の薬物動態（吸収、分布、代謝及び排泄）も評価した。以下に得られた成績を要約する。

- ラット及びイヌのいずれにおいても、トレプロスチニルの曝露量は用量の増加に伴ってほぼ用量比例的に増加した。雌雄間の曝露量の差は 2 倍以内であった。ラット及びイヌの反復投与後の曝露量を試験 1 日目と比較した結果、トレプロスチニルの血漿中濃度に蓄積は認められなかった。イヌ 6 ヵ月間反復投与毒性試験におけるトレプロスチニルの曝露量は試験 1 日目と 180 日目で概して同程度であった。ラット 6 ヵ月間反復投与毒性試験では、試験 90 及び 180 日目の曝露量は試験 1 日目よりも高かったが、投与前及び投与 24 時間後の血漿中濃度は定量下限未満であった。妊娠ウサギでの曝露量は用量の増加に伴って増加したが、その増加には一貫した用量比例性は認められなかった。
- 雄性ラットに[^{14}C]トレプロスチニルを単回皮下投与したとき、未変化体は循環血中放射能の

37%であった。In vitro 及び in vivo の代謝は類似しており、主要代謝経路は、水酸化及び脱水素化の組合せを含めた、種々の部位での酸化であった。ヒト肝細胞とのインキュベーションで確認されたすべての代謝物は、ラットの肝細胞でも認められた。

- 雄性ラットに[^{14}C]トレプロスチニルを単回皮下投与したとき、放射能は組織及び臓器に広範に分布した。高い放射能濃度を示した組織は、投与部位、肝臓、腎臓及び血漿であった。
- 雄性ラットに[^{14}C]トレプロスチニルを単回皮下投与した際の主要排泄経路は、代謝物としての肝胆汁中／糞中排泄であった。

2.4.4 毒性

LY900014 製剤の承認申請をサポートするための一連の毒性試験を実施した。新添加剤であるトレプロスチニルについて、ラット及びイヌの最長 26 週間反復投与毒性試験、標準的組み合わせの遺伝毒性試験並びにラット及びウサギの生殖発生毒性試験を実施した。また、LY900014 製剤の局所刺激性を評価する目的で、リスプロ（ヒューマログ）及びトレプロスチニル（Remodulin）を混合し調製した LY900014 試験製剤（リスプロ、トレプロスチニル、クエン酸及び塩化マグネシウムを含有）を用いてラット 14 日間皮下投与局所刺激性試験を実施した。別の新添加剤である塩化マグネシウムについては、トレプロスチニルの一連の毒性試験で用いた溶媒対照の成績に基づき評価した。以下に得られた成績を要約する。

トレプロスチニル

- ラット及びイヌを用いた 13 又は 26 週間反復投与毒性試験におけるトレプロスチニルの忍容性は良好であった。ラットでは 0.1 mg/kg/日まで、イヌでは 0.07 mg/kg/日までの用量で、生存への影響、注射部位に対する局所刺激性を示す毒性所見及び直接的な標的器官毒性の徴候はなく、無毒性量（no-observed-adverse-effect levels：NOAEL）はそれぞれ 0.1 及び 0.07 mg/kg/日であった。
- 一般状態所見として、トレプロスチニルの血管拡張作用に関連し、ラット及びウサギで用量依存性の四肢の赤色化のみが一過性に見られた。
- ラット 14 日間皮下投与局所刺激性試験で、リスプロ（ヒューマログ）及びトレプロスチニル（Remodulin）を混合し調製した LY900014 試験製剤（リスプロ、トレプロスチニル、クエン酸及び塩化マグネシウムを含有）を投与したところ、注射部位反応は認められなかった。
- 標準的組合せの遺伝毒性試験において、トレプロスチニルに遺伝毒性は認められなかった。
- 生殖発生毒性試験において、ラットでは 0.1 mg/kg/日までの用量で雌雄の生殖能、胚・胎児発生、出生前及び出生後発生及び母体の機能に毒性は認められず、ウサギでは 0.4 mg/kg/日までの用量で胚・胎児発生に毒性は認められなかった。

トレプロスチニルの一連の毒性試験におけるトレプロスチニルの血漿中曝露量をヒトにおける曝露量と比較した安全域を表 2.4-1 に示す。トレプロスチニルはヒトに LY900014 製剤の一日最大用量 100 U を投与した際のトレプロスチニルの曝露量に比べはるかに高い曝露量において安全性の問題となるような毒性所見を示さなかった。

表 2.4-1 トレプロスチニルを皮下投与時の安全域（全身曝露量に基づく）

種 用量	AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	ヒトにおける曝露量との比較 [a]
ヒト		
1000 ng/日トレプロスチニル	0.0309[b]	-
反復投与毒性試験		
ラットにおける 3 ヵ月間投与試験（報告書 8327887）[c]		
0.1 mg/kg/日 [d]	40.2	1301 倍
0.03 mg/kg/日	13.7	443 倍
0.01 mg/kg/日	4.69	152 倍
ラットにおける 6 ヵ月間投与試験（報告書 8340039）[e]		
0.1 mg/kg/日 [d]	45.4	1469 倍
0.01 mg/kg/日	5.07	164 倍
イヌにおける 3 ヵ月間投与試験（報告書 8327888）[c]		
0.07 mg/kg/日 [d]	27.7	896 倍
0.015 mg/kg/日	6.32	205 倍
0.004 mg/kg/日	1.63	53 倍
イヌにおける 6 ヵ月間投与試験（報告書 8340050）[e]		
0.07 mg/kg/日 [d]	22.9	741 倍
0.004 mg/kg/日	1.40	45 倍
生殖毒性試験		
ラットにおける雄受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（報告書 8338440）[f]		
0.1 mg/kg/日 [d]	30.2	977 倍
0.03 mg/kg/日	9.96	322 倍
0.01 mg/kg/日	2.80	91 倍
ラットにおける雌受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（報告書 8338441）[g]		
0.1 mg/kg/日 [d]	21.4	693 倍
0.03 mg/kg/日	8.94	289 倍
0.01 mg/kg/日	2.74	89 倍
ラットにおける胚・胎児発生に関する試験（報告書 8338442）[h]		
0.1 mg/kg/日 [d]	29.8	964 倍
0.03 mg/kg/日	7.41	240 倍
0.01 mg/kg/日	2.67	86 倍
ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験（報告書 8338443）[i]		
0.4 mg/kg/日 [d]	370	11974 倍
0.14 mg/kg/日	137	4434 倍
0.05 mg/kg/日	58.8	1903 倍
ラットにおける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（報告書 20104727）[j]		
0.1 mg/kg/日 [d]	18.7	605 倍
0.03 mg/kg/日	6.78	219 倍
0.01 mg/kg/日	1.65	53 倍

略語：AUC＝濃度－時間曲線下面積、AUC_{0-24}＝0 時間から 24 時間までの AUC

a 曝露量比＝（動物における AUC_{0-24}）÷（ヒトにおける AUC_{0-24}）

b 日本人健康被験者にトレプロスチニル 1000 ng を投与したときの AUC_{0-24}（インスリン一日最大用量である 100 U の LY900014 製剤を投与した際に含有されるトレプロスチニルの用量に相当：ITRK 試験）

c 8327887 試験では Day 90 の投与後、8327888 試験では Day 92 の投与後における雌雄合算血漿中 AUC の平均値

d 無毒性量

e Day 180 の投与後における雌雄合算血漿中 AUC の平均値

f Day 28 の投与後における雄血漿中 AUC の平均値

g 妊娠 7 日の投与後における雌血漿中 AUC の平均値

h 妊娠 17 日の投与後における雌血漿中 AUC の平均値

i 妊娠 19 日の投与後における雌血漿中 AUC の平均値

j 授乳 20 日の投与後における雌血漿中 AUC の平均値

LY900014 製剤

- リスプロ（ヒューマログ）及びトレプロスチニル（Remodulin）を混合し調製した LY900014 試験製剤（リスプロ、トレプロスチニル、クエン酸及び塩化マグネシウムを含有）のラット 14 日間皮下投与局所刺激性試験において、投与に関連する注射部位反応は見られなかった。

塩化マグネシウム

- トレプロスチニルの一連の毒性試験及び LY900014 試験製剤のラット 14 日間反復皮下投与局所刺激性試験で用いた媒体対照の成績に基づき、塩化マグネシウムの評価を行ったところ、安全性上の懸念は認められなかった。

2.4.5　結論

LY900014 製剤の製造販売承認申請をサポートするための一連の非臨床試験を実施した。有効成分であるリスプロの非臨床試験成績は初回承認申請時に既提出である（リスプロの既提出申請資料）。今回新たに提出した LY900014 製剤及び添加剤に関する非臨床試験成績に基づくと、安全性上問題となるような所見は認められなかった。

2.4.6　参考文献

[EMA] European Medicines Agency. 2007. Guideline for excipients in the dossier for application for marketing authorisation of a medicinal product. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-excipients-dossier-application-marketing-authorisation-medicinal-product-revision-2_en.pdf. Accessed Mar. 5, 2019.

[FDA] Food and Drug Administration. 2005. Guidance for Industry. Nonclinical studies for the safety evaluation of pharmaceutical excipients. Available at: https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM079250.pdf. Accessed Mar. 5, 2019.