サノフィ株式会社

HOE901/AVE0010

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.6 毒性試験の概要文

Total number of pages: 11

目　　次

目　　次 **2**

表　目　次 **3**

略号と用語の定義 **4**

1　　まとめ **5**

2　　単回投与毒性試験 **6**

3　　反復投与毒性試験 **6**

4　　遺伝毒性試験 **6**

5　　がん原性試験 **6**

6　　生殖発生毒性試験 **6**

7　　幼若動物を用いた試験 **6**

8　　局所刺激性試験 **7**

8.1　雌ウサギを用いた皮下、筋肉内、静脈内及び静脈周囲投与による局所刺激性試験（TOL1122） 7

8.2　雌ウサギを用いた皮下、筋肉内、静脈内及び静脈周囲投与による局所刺激性試験（TOL1145） 8

9　　その他の毒性試験 **10**

10　　考察及び結論 **10**

参 考 文 献 **11**

表　目　次

表 1 - インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤の毒性試験 5

表 2 -ウサギを用いた局所刺激性試験 7

表 3 - インスリン グラルギン／リキシセナチドプレミックス製剤の局所刺激性試験の結果 10

略号と用語の定義

GLP：　　医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practices）

1　まとめ

インスリングラルギン 100 単位/mL 製剤（以下、インスリングラルギン）とリキシセナチド製剤（以下、リキシセナチド）との固定比配合剤（以下、インスリングラルギン／リキシセナチド配合剤）は、1 日 1 回皮下投与用として開発された。インスリン グラルギンは、米国、EU、日本及び世界の他の地域において、15 年以上にわたり販売されている。リキシセナチドは EU、日本及びその他の数ヵ国で 2013 年以降に承認され、米国では 2016 年に承認されている。

インスリン グラルギン及びリキシセナチドについては完全な非臨床毒性試験プログラムが実施されている。各製剤の毒性試験については、Module 1.13.1-2 「ランタス注カート、ランタス注キット資料概要（以下、[Module 1.13.1-2]）」及び Module 1.13.1-4「リキスミア皮下注 300 µg CTD 第 2 部、添付資料一覧（以下、[Module 1.13.1-4]）」及び M1.13.1-5 「ランタス XR ソロスター CTD 第 2 部、添付資料一覧（以下、[Module 1.13.1-5]）」を参照のこと。

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤について実施した非臨床毒性試験を表 1に示した。

表 1－インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤の毒性試験

試験番号	試験の種類	投与経路	動物種
TOL1122	局所刺激性試験	静脈内、筋肉内、皮下、静脈周囲	ウサギ
TOL1145	局所刺激性試験	静脈内、筋肉内、皮下、静脈周囲	ウサギ

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤の[redacted]試験[redacted]について FDA 及び EMA と協議した。その結果、いずれの当局とも、本配合剤は両化合物について[redacted]試験により特徴づけられ、[redacted]試験を除いて、インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤の承認申請のための[redacted]試験は必要ないとの当社の説明に同意した (1)、(2)。

なお、ウサギを用いた局所刺激性試験の結果は8項に示した。

すべての毒性試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を遵守して実施した。

2　単回投与毒性試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤の試験は実施しなかった（1項参照）。個々の化合物については単回投与毒性試験が実施されている[Module 1.13.1-2、Module 1.13.1-4]。

3　反復投与毒性試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤の試験は実施しなかった（1項参照）。個々の化合物については反復投与毒性試験が実施されている[Module 1.13.1-2、Module 1.13.1-4]。

4　遺伝毒性試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤の試験は実施しなかった（1項参照）。個々の化合物については遺伝毒性試験が実施されている[Module 1.13.1-2、Module 1.13.1-4]。

5　がん原性試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤の試験は実施しなかった（1項参照）。個々の化合物についてはがん原生試験が実施されている[Module 1.13.1-2、Module 1.13.1-4]。

なお､細胞増殖活性の有無を検討するための *in vitro* 薬理試験については[Module 2.6.2] に記述した。

6　生殖発生毒性試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤の試験は実施しなかった（1項参照）。個々の化合物については生殖発生毒性試験が実施されている[Module 1.13.1-2、Module 1.13.1-4]。

7　幼若動物を用いた試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤を用いた試験は実施していない。リキシセナチド製剤については幼若動物を用いた試験が実施されている[Module 1.13.1-4]。

8　局所刺激性試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤について実施した局所刺激性試験を、以下の表 2、8.1項及び8.2項に要約した。

なお、個々の化合物についても局所刺激性試験が実施されている[Module 1.13.1-2、Module 1.13.1-4、Module 1.13.1-5]。

表 2 –ウサギを用いた局所刺激性試験

製剤	濃度		経路	投与容量（mL）	GLP	試験番号
	インスリン グラルギン	リキシセナチド				
[redacted]	3.6 mg/mL	70 μg/mL	静脈内	0.5	適用	TOL1122
[redacted]	3.7 mg/mL	66 μg/mL	筋肉内	0.5		
			皮下	0.1		
			静脈周囲	0.1		
[redacted]	3.6 mg/mL	0.8 mg/mL	静脈内	0.5	適用	TOL1145
			筋肉内	0.5		
			皮下	0.1		
			静脈周囲	0.1		

8.1　雌ウサギを用いた皮下、筋肉内、静脈内及び静脈周囲投与による局所刺激性試験（TOL1122）

[Module 4.2.3.6-1]

臨床試験で使用予定の製剤の一つであるインスリン グラルギン／リキシセナチドプレミックス製剤（濃度については表 2参照）の局所刺激性試験を NZW ウサギを用いて実施した。初めに本プレミックス製剤を以前実施したリキシセナチド単独での局所刺激性試験と同容量、即ち、皮下（0.5 mL）、静脈内（0.5 mL）、筋肉内（0.5 mL）／静脈周囲（0.1 mL）を投与した。その結果、インスリン グラルギンの過剰投与に起因したと考えられる低血糖により皮下投与群、及び筋肉内／静脈周囲投与群に死亡例が発生した。このことからインスリン グラルギンに関連した低血糖による死亡を避けるため、以前に実施したインスリン グラルギン単独での局所刺激性試験(3) のデザインに従って皮下（0.1 mL）、筋肉内（0.5 mL）及び静脈周囲（0.1 mL）群を追加した（投与容量については表 2参照）。

被験製剤を右側に投与し、対照溶液（生理食塩液）を個体内対照として反対側に投与した。投与経路毎に 4 例を使用し、投与 24 時間後（急性反応の有無を評価するため）及び 120 時間後（所見がみられた場合の回復性の有無を評価するため）に 2 例ずつ安楽死させた。注射部位の評価は肉眼検査、触診及び組織学的検査により実施した。

最初に製剤[redacted]について検討した（静脈内経路）。バッチ[redacted]には、2 種類の添加剤（0.02 mg/mL ポリソルベート 20 及び 1.75 mg/mL 酢酸緩衝液）が低濃度で含まれており、pH はやや低かった。pH がより低いことによる局所への影響の可能性がわずかに増加したものの、このバッチは臨床用バッチを代表するものとして適切と考えられる。次いで、最終臨床用製剤（バッチ[redacted]）について、皮下、筋肉内及び静脈周囲投与により評価した。

被験製剤を筋肉内投与した 4 例中 1 例（0.5 mL、体重［kg］当たりインスリン グラルギン 11.6 U 及びリキシセナチド 7.7 µg に相当）は、投与 8 時間後に低血糖が示唆される活動性低下、臥位及び痙攣を示した。この動物には直ちにグルコースが投与されたが夜間に死亡した。死因は低血糖と考えられた。

上記以外にはいずれの群においても、一般状態の変化は認められなかった。すべての群で 1～2 日目に、リキシセナチドの薬理作用に起因すると考えられる軽度の体重減少がみられた。多くの例では 2～6 日目に体重の変化は回復した。

生存期間中における皮下、静脈内及び静脈周囲投与後の注射部位の所見は、すべての群で類似していた。筋肉内注射部位には変化はみられなかった。剖検時の肉眼観察では、いずれの群とも被験製剤投与後と対照溶液投与後で類似しており注射関連の変化を示すものと考えられた。病理組織学的検査においてもすべての群で良好な忍容性がみられた。

インスリン グラルギン／リキシセナチドプレミックス製剤を、予定臨床投与経路の皮下注射により投与したときの忍容性は、すべてのウサギで良好であった。同様に、誤って投与する可能性がある経路を代表する筋肉内、静脈内及び静脈周囲注射を行った場合の局所忍容性も良好であった（表 3参照）。

8.2　雌ウサギを用いた皮下、筋肉内、静脈内及び静脈周囲投与による局所刺激性試験（TOL1145）

[Module 4.2.3.6-2]

臨床試験で使用予定の製剤よりも、高濃度のリキシセナチドを含有するインスリン グラルギン／リキシセナチドプレミックス製剤を用いた第 2 の試験を実施し、ウサギにおける局所刺激性を評価した。

試験は、インスリン グラルギン／リキシセナチドプレミックス製剤について先に実施した局所刺激性試験（8.1 項）のデザインに従って、皮下、筋肉内、静脈周囲及び静脈内投与経路により実施した。

被験製剤を右側に投与し、対照溶液（生理食塩液）を個体内対照として反対側に投与した。投与経路毎に 4 例を使用し、投与 24 時間後（急性反応の有無を評価するため）及び 120 時間後（所見がみられた場合の回復性の有無を評価するため）に 2 例ずつ安楽死させた。注射部位の評価を肉眼検査、触診及び組織学的検査により実施した。

被験物質関連の一般状態の変化は認められなかった。体重はすべての群で同程度であった。

生存期間中における皮下、静脈内及び静脈周囲投与後の注射部位の所見は、対照溶液投与後と類似しており注射関連の変化を示すものと考えられた。筋肉内注射部位には変化はみられなかった。剖検時の肉眼観察では、いずれの群とも被験製剤投与後と対照溶液投与後で類似しており注射関連の変化を示すものと考えられた。病理組織学的検査において静脈周囲投与を除く他の群で良好な忍容性がみられた。静脈周囲投与部位では、中等度の変化、即ち結合組織にごく軽度の混合炎症性細胞浸潤を伴う、ごく軽度から軽度の漿液性滲出液が観察された（投与 24 時間後で 2/2 例、投与 120 時間後で 1/2 例）。同様の変化は対照溶液ではみられなかった。

インスリン グラルギン／リキシセナチドプレミックス製剤を、予定臨床投与経路の皮下注射により投与したときの忍容性は良好であった。筋肉内及び静脈内投与後においても同様の良好な局所忍容性が認められた。静脈周囲投与後の局所忍容性は中等度であった。

両試験の結果の要約を表 3に示す。

表 3－インスリン グラルギン／リキシセナチドプレミックス製剤の局所刺激性試験の結果

製剤コード及び説明	試験番号	経路	結果
[redacted]（ポリソルベート及び酢酸緩衝液を含む、pH 4.0）	TOL1122	静脈内	良好な忍容性
[redacted]（最終臨床用製剤）		皮下	良好な忍容性
		筋肉内	良好な忍容性
		静脈周囲	良好な忍容性
[redacted]	TOL1145	皮下	良好な忍容性
		静脈内	良好な忍容性
		筋肉内	良好な忍容性
		静脈周囲	中等度の忍容性

9　その他の毒性試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤について、その他の毒性試験は実施しなかった（1 項参照）。個々の化合物について、その他の毒性試験が実施されている[Module 1.13.1-2、Module 1.13.1-4、Module 1.13.1-5]

不純物の安全性確認については、個々の化合物の副産物を評価した 2 つの資料 (4)、(5) で説明されている。

10　考察及び結論

臨床試験で使用予定の製剤を代表するインスリン グラルギン／リキシセナチドプレミックス製剤を水溶液としてウサギに皮下投与したときの忍容性は良好であった。筋肉内又は静脈内といった誤った経路で注射した場合の忍容性も良好であったが、静脈周囲投与時の忍容性は良好ないし中等度であった。

これらの局所刺激性試験の結果において、インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤をヒトに使用したときのリスクは示唆されなかった。

参 考 文 献

1. FDA - CDER, IND 105157 and IND 062724, Meeting Minutes, June 25, 2010
2. EMA, Scientific Advice Lixisenatide/Insulin Glargine, response given by CHMP, March 18, 2010
3. Troschau G. HOE 901 (I 90 1459): Single-dose local tolerance study in rabbits (intravenous, paravenous, subcutaneous, intramuscular). Hoechst Marion Roussel Report No. 97.0292, 1997
4. Durchfeld-Meyer B. Nonclinical safety data review of desamido products in insulin glargine formulations, Sanofi 2015
5. Dietert G. Nonclinical safety data review of Iso-Asp(9)-AVE0010 in lixisenatide formulation, Sanofi 2015

サノフィ株式会社

HOE901/AVE0010

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.7 毒性試験概要表

Total number of pages: 12

目　　次

目　　次 2

表　目　次 3

1　　毒性試験一覧表 4

2　　トキシコキネティクス試験の一覧表 5

3　　トキシコキネティクス試験成績の一覧 5

4　　毒性試験使用ロット 6

5　　単回投与毒性試験 7

6　　反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験 7

7　　反復投与毒性試験 7

8　　In vitro 遺伝毒性試験 7

9　　In vivo 遺伝毒性試験 8

10　　がん原性試験 8

11　　生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験 8

12　　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 8

13　　生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験 8

14　　生殖発生毒性試験－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 9

15　　幼若動物を用いた試験 9

16　　局所刺激性試験 9

17　　その他の毒性試験 12

表　目　次

表 2.6.7.1 - Toxicology tabulated summary - overview - study program 4
表 2.6.7.4 - Toxicology drug substance 6
表 2.6.7.16 A- Local tolerance..... 10
表 2.6.7.16 B- Local tolerance..... 11

1 毒性試験一覧表

表 2.6.7.1 - Toxicology tabulated summary - overview - study program

Test Article: Insulin glargine / lixisenatide

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity							
No studies were performed with the insulin glargine / lixisenatide combination product.							
Repeat-Dose Toxicity							
No studies were performed with the insulin glargine / lixisenatide combination product.							
Genotoxicity							
No studies were performed with the insulin glargine / lixisenatide combination product.							
Carcinogenicity							
No studies were performed with the insulin glargine / lixisenatide combination product.							
Reproductive and Developmental Toxicity							
No studies were performed with the insulin glargine / lixisenatide combination product.							
Local Tolerance							
Rabbit (New Zealand white)	SC, PV IM, IV	Single dose	0.1 mL/animal 0.5 mL/animal	Yes	Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany	TOL1122	4.2.3.6-1
Rabbit (New Zealand white)	SC, PV IM, IV	Single dose	0.1 mL/animal 0.5 mL/animal	Yes	Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany	TOL1145	4.2.3.6-2
Other Toxicity Studies							
No studies were performed with the insulin glargine / lixisenatide combination product.							

Abbreviations: SC: Subcutaneous; PV: Paravenous; IM: Intramuscular; IV: Intravenous; M: Male; F: Female

2　トキシコキネティクス試験の一覧表

該当なし

3　トキシコキネティクス試験成績の一覧

該当なし

4　毒性試験使用ロット

表 2.6.7.4 - Toxicology drug substance

Test Article: Insulin glargine / lixisenatide

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities (%)				Study No.	Type of Study	Location
		lixisenatide related impurities	insulin glargine related impurities	Sum of related proteins	HMWPs insulin glargine			
[redacted]		[redacted]	[redacted]			TOL1122	Local Tolerance (Rabbit)	4.2.3.6-1
[redacted]		[redacted]	[redacted]			TOL1122	Local Tolerance (Rabbit)	4.2.3.6-1
[redacted]		[redacted]		[redacted]	[redacted]	TOL1145	Local Tolerance (Rabbit)	4.2.3.6-2

Abbreviations: HMWPs: High Molecular Weight Proteins

5 単回投与毒性試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤を用いた試験は実施していない。各製剤の単回投与毒性試験については、Module 1.13.1-2 「ランタス注カート、ランタス注キット資料概要（以下、[Module 1.13.1-2]）」及び Module 1.13.1-4「リキスミア皮下注 300 µg　CTD 第 2 部、添付資料一覧（以下、[Module 1.13.1-4]）」を参照。

6 反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験

次項参照。

7 反復投与毒性試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤を用いた試験は実施していない。各製剤の反復投与毒性試験については、[Module 1.13.1-2]及び[Module 1.13.1-4]を参照。

8 *In vitro* 遺伝毒性試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤を用いた試験は実施していない。各製剤の *in vitro* 遺伝毒性試験については、[Module 1.13.1-2]及び[Module 1.13.1-4]を参照。

9 *In vivo* 遺伝毒性試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤を用いた試験は実施していない。各製剤の *in vivo* 遺伝毒性試験については、[Module 1.13.1-2]及び[Module 1.13.1-4]を参照。

10 がん原性試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤を用いた試験は実施していない。各製剤のがん原性試験については、[Module 1.13.1-2]及び[Module 1.13.1-4]を参照。

11 生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験

次項参照。

12 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

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤を用いた試験は実施していない。各製剤の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験については、[Module 1.13.1-2]及び[Module 1.13.1-4]を参照。

13 生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤を用いた試験は実施していない。各製剤の胚･胎児発生に関する試験については、[Module 1.13.1-2]及び[Module 1.13.1-4]を参照。

14　生殖発生毒性試験－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

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤を用いた試験は実施していない。各製剤の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ついては、[Module 1.13.1-2]及び[Module 1.13.1-4]を参照。

15　幼若動物を用いた試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤を用いた試験は実施していない。リキシセナチド製剤の幼若動物を用いた試験については、[Module 1.13.1-4]を参照。

16　局所刺激性試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤を用いた試験について以下に記載した。各製剤の局所刺激性試験については、[Module 1.13.1-2]及び[Module 1.13.1-4]を参照。

表 2.6.7.16 A- Local tolerance

Test Article: Insulin glargine / lixisenatide

Report Title: AVE0010/Insulin glargine: combined local s.c., i.m., i.v., p.v. tolerance study in female rabbits

Species/Strain	Method of Administration	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Rabbit (New Zealand white)	SC, IM, IV, PV	AVE0010: 70 µg/mL (IV) 66 µg/mL (SC, IM, PV) Insulin glargine: 3.6 mg/mL (IV) 3.7 mg/mL (SC, IM, PV) Administration Volume: SC, PV: 0.1 mL/animal IV, IM: 0.5 mL/animal	4F	One of 4 rabbits treated with AVE0010/insulin glargine intramuscularly (0.5 mL) showed decreased activity, recumbent posture and convulsions 8 hours p.a. indicative for hypoglycemia. Despite immediate glucose injection, the rabbit was found dead on Day 2. No further clinical signs were observed in any group. Slight body weight loss occurred in all groups between Day 1 and 2, attributed to the pharmacological action of AVE0010. Between Day 2 and Day 6 body weight development recovered in most rabbits. In-life findings at the injection sites after IV, SC, and PV administration were comparable in all groups. IM injections sites showed no alterations during in-life observation. Macroscopic observations at the injection sites after IV, SC, PV and IM administration, were considered to be comparable after test article and control article administration, representing injection-related changes. Histopathological investigation displayed a good tolerability in rabbits with all injection routes.	TOL1122	[4.2.3.6-1]

Abbreviations: IV: Intravenous; IM: Intramuscular; SC: Subcutaneous; PV: Paravenous

表 2.6.7.16 B- Local tolerance

Test Article: Insulin glargine/lixisenatide

Report Title: AVE0010/Insulin glargine: Combined local SC, IM, IV and PV tolerance study in female rabbits

Species/Strain	Method of Administration	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Rabbit (New Zealand white)	SC, IM, IV, PV	AVE0010: 0.8 mg/mL Insulin glargine: 3.6 mg/mL Administration Volume: SC, PV: 0.1 mL/animal IV, IM: 0.5 mL/animal	4F	No compound related clinical signs were observed. Body weights were comparable in all groups. In-life observations at the injection sites after SC, IV, and PV administration of AVE0010/Insulin glargine (ready to use solution) were comparable to the controls. Any IM injections sites showed no alterations during in-life observation. There were no macroscopic observations, related to the treatment with AVE0010/Insulin glargine. Following SC administration, the intended route of clinical use, a good local tolerability of AVE0010/Insulin glargine was present in rabbits. Following IM and IV administration, a good local tolerability of AVE0010/Insulin glargine was present in rabbits too. Following PV administration, a moderate local tolerability of AVE0010/Insulin glargine was present in rabbits.	TOL1145	[4.2.3.6-2]

Abbreviations: IV: Intravenous; IM: Intramuscular; SC: Subcutaneous; PV: Paravenous;

17　その他の毒性試験

インスリン グラルギン／リキシセナチド配合剤を用いた試験は実施していない。各製剤のその他の毒性試験については、[Module 1.13.1-2]、[Module 1.13.1-4]及び「ランタス XR ソロスター　CTD 第 2 部、添付資料一覧」[Module 1.13.1-5]を参照。