第 2 部　CTD の概要

一般名：ダパグリフロジンプロピレングリコール水和物

版番号：[redacted]

2.4　非臨床試験の概括評価
フォシーガ®錠

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

標題ページ 1
目次 2
略語及び専門用語一覧表 3
2.4.1　非臨床試験計画概略 4
2.4.2　薬理試験 4
2.4.3　薬物動態試験 6
2.4.4　毒性試験 6
2.4.5　ダパグリフロジンフィルムコーティング錠の変異原性不純物に関する評価 6
2.4.6　総括及び結論 6
2.4.7　参考文献 7

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
BBN	*N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine：*N*-ブチル-*N*-（4-ヒドロキシブチル）ニトロソアミン
BTBR	Black and Tan BRachyury
BTBR ob/ob$^{-/-}$	{BTBR.Cg-Lep^{ob}/WiscJ}
CFVR	Coronary flow velocity reserve：冠動脈血流速度予備能
EDV	End-diastolic volume：拡張末期容積
ESV	End-systolic volume：収縮末期容積
FAC	Fractional area change (of left ventricle)：（左室の）面積変化率
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
FS	Fractional shortening：内径短縮率
HFpEF	Heart failure with preserved ejection fraction：左室駆出率の保たれた心不全
HFrEF	Heart failure with reduced ejection fraction：左室駆出率が低下した心不全
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use：医薬品規制調和国際会議
IVSd	Interventricular septum thickness at end-diastole：拡張末期での心室中隔壁厚
IVSs	Interventricular septum thickness at end-systole：収縮末期での心室中隔壁厚
LV	Left ventricle：左室
LVEF	Left ventricle ejection fraction：左室駆出率
NALP3	NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3 (NALP3), also known as cryopyrin, is a protein that in humans is encoded by the NLRP3 gene：NACHT、LRR 及び PYD ドメインを含むタンパク質 3（NALP3）。別名：クリオピリン。NLRP3 遺伝子でコードされるヒトタンパク質である。
NLRP3	NOD-like receptor protein 3：NOD 様受容体タンパク質 3
ob/ob$^{-/-}$	C57BL/6J-Lep^{ob}
SGLT2	Sodium glucose co transporter 2：ナトリウム・グルコース共輸送体 2
T2DM	Type 2 diabetes mellitus：2 型糖尿病

2.4.1 非臨床試験計画概略

ダパグリフロジン（AZ13219875）は、ナトリウム・グルコース共輸送体 2（SGLT2）に対する非常に強力、選択的かつ可逆的な阻害薬である。SGLT2 は、糸球体濾過液（原尿）からグルコースを再吸収する役割を担う主要な管腔グルコース輸送体であり（Santer et al 2003、Kanai et al 1994）、腎臓に選択的に発現している（2 型糖尿病を目標適応症とした承認申請資料、試験 930005304 及び試験 920008658 の報告書参照、Wells et al 1992、You et al 1995）。SGLT2 の発現は腎近位尿細管に限定的である。SGLT2 変異を有する家族性腎性糖尿病患者は、本遺伝子異常による健康への悪影響を受けない可能性があったことから（Santer et al 2003）、SGLT2 の長期的阻害による治療は比較的安全であると考えられた。また、2 型糖尿病（T2DM）の治療薬として使用される SGLT2 阻害薬は、既存の治療薬に相補的で、既存の治療薬との併用で有効性を示す。2 型糖尿病患者において、尿中へのグルコース排泄及びそれに伴う利尿は、それぞれ体重減少及び血圧低下、又は、それら両方が有益な作用となる可能性が示唆された。

EMPA-REG 臨床試験の結果は 2015 年 9 月に発表された。本臨床試験で、エンパグリフロジン（選択的 SGLT2 阻害薬の一つ）により、心血管系の原因による死亡率及び心不全による入院は、それぞれ 38%及び 35%の有意な減少を示した。興味深いことに、心筋梗塞又は脳卒中の発現に有意な群間差は認められなかった。このことから、SGLT2 阻害薬は他の心血管系疾患よりも特に心不全に対して明らかな保護作用を有する可能性が示された。本所見により、心不全における SGLT2 阻害薬の心保護作用を説明する分子機序について心血管領域で研究することが促されることとなった。

現在まで、左室駆出率が低下した心不全（HFrEF）又は左室駆出率の保たれた心不全（HFpEF）を含めた心不全の非臨床モデルの例は非常に限られている。SGLT2 阻害薬の心保護作用を説明する分子機序に関する研究の一環として、アストラゼネカ社は 2 つの非臨床試験を実施した。これらの試験の一つ目の目的は、モデルに現れる HErEF 又は HFpEF の臨床的特徴を明らかにすることであり、二番目の目的は、それらの心不全の臨床的特徴に対するダパグリフロジンの作用を評価することであった。

ダパグリフロジンに関する上記 2 つの薬理試験において、ダパグリフロジンは（1）C57BL/6J-Lep^{ob}（ob/ob$^{-/-}$）マウスモデルで冠動脈微小血管及び心収縮の機能を改善し（試験番号：Nonclinical HF [redacted]、Adingupu et al 2017）、（2）{BTBR.Cg-Lep^{ob}/WiscJ}（BTBR ob/ob$^{-/-}$）マウスモデルで NLRP3/ASC インフラマソームの活性化を軽減し、糖尿病心筋症の発現を抑制する（試験番号：Nonclinical HF [redacted]、Ye et al 2017）ことが示唆された。

本邦における初回の製造販売承認申請時に提出した毒性試験の成績から、ダパグリフロジンの非臨床における毒性学的特性は明らかになっている。初回の製造販売承認以降に、追加の毒性試験としてダパグリフロジンのラットを用いた 6 カ月間膀胱癌プロモーション試験（試験 8001510）を実施し、20[redacted] 年に試験が完了した。本試験は、ダパグリフロジンの動物を用いた非臨床試験では認められなかったが、早期臨床試験で膀胱癌の発現が認められたことから、米国食品医薬品局（FDA）との Post-approval commitment の一環として実施した試験である。本試験の目的は、*N*-ブチル-*N*-（4-ヒドロキシブチル）ニトロソアミン（BBN）により誘発された膀胱癌の発現頻度及び浸潤の程度に対するダパグリフロジンの影響を評価することであった。

2.4.2 薬理試験

2 種類の異なる心不全の非臨床糖尿病モデルマウスを用いて、ダパグリフロジンの心保護作用について検討した。これら 2 種類のモデルマウスは HFrEF の重要な特徴及び HFpEF の幾つかの

特徴を反映している。これら 2 種類のモデルで、ダパグリフロジン投与により左室の構造的及び機能的不全に有意な改善が認められた。

ob/ob$^{-/-}$マウスにダパグリフロジンを投与したとき、HFrEF の特徴である冠動脈微小血管及び心収縮の機能不全を改善した（試験番号：Nonclinical HF [redacted]、Adingupu et al 2017）。冠動脈微小血管機能は冠動脈血流速度予備能（CFVR）をパラメータとして測定した。本パラメータは、HFrEF で影響を受ける、血管樹全レベルでの冠動脈血管の健全性及び左室の効率の両方を評価する。ダパグリフロジン投与により統計学的に有意な CFVR の増加が認められた。心収縮機能不全は面積変化率（FAC）を用いて測定した。左室 FAC は拡張期と収縮期の間の左室横断面積のパーセント変化率で、収縮機能の駆出期指数である。FAC の増加は心収縮性の改善を示す。ダパグリフロジン投与により統計学的に有意かつ用量依存的な FAC の改善が認められた。総合的にみると、HFrEF 表現型の病態を示すモデルマウスへのダパグリフロジンの投与により、冠動脈微小血管機能、並びに左室の効率及び収縮機能において統計学的に有意な改善が認められた。CFVR の増加は、ベースライン時の冠流速が経時的に減少した結果であることが示唆された。ダパグリフロジンが全身に血管拡張作用を及ぼし、既知のベネフィットである血圧低下をもたらす場合（Weber et al 2016）、充満圧／静脈貯留に関連して前負荷は減少し、次に心拍出量の増加をもたらす後負荷の減少が起きると考えられる。

BTBR ob/ob$^{-/-}$マウスモデルにおける左室の構造的及び機能的パラメータは、ダパグリフロジン投与により正常 WT 対照マウスと同程度のレベルまで回復した（試験番号：Nonclinical HF [redacted]、Ye et al 2017）。本マウスモデルにおける左室の病理学的変化として、同週齢の WT 対照マウスと比べて、拡張末期容積（EDV）、収縮末期容積（ESV）、拡張末期での心室中隔壁厚（IVSd）及び収縮末期での心室中隔壁厚（IVSs）の増加が認められた。これら適応異常の変化は、左室の機能低下、即ち内径短縮率（FS）及び左室駆出率（LVEF）両方の低下と関連していた。重要な点として、IVSd 及び IVSs の肥厚化は HFpEF 病態における左室リモデリングの特徴を示している。ダパグリフロジン 1 mg/kg/日を 8 週間反復投与することにより、EDV、ESV、IVSd 及び IVSs は正常 WT 対照マウスと同程度のレベルまで回復した。これらのパラメータのダパグリフロジン投与による改善は、左心室の主要な 2 つの機能パラメータである FS 及び LVEF が補正されることに関連していた。左心室の構造的及び機能的パラメータに対するダパグリフロジンの有益な作用は、少なくとも一部は NOD 様受容体（NLRP3）依存性インフラマソーム活性化の減弱によるものであった。また、本マウスモデルにおいて、ダパグリフロジンの投与により心筋の線維化及びアポトーシスの軽減も認められた。これらの結果から、ダパグリフロジンは心室リモデリングに効果を示すことが示唆された。

以上の結果を要約すると、HFrEF 及び HFpEF の混合表現型特徴を有する糖尿病性心筋症モデル BTBR ob/ob$^{-/-}$マウスにおいて LVEF 及び FS に改善が認められたことから、ダパグリフロジンの投与によって心室の構造的傷害が改善され、その結果、統計学的に有意な機能的改善がもたらされたと考えられる。同様に、HFrEF 表現型モデル ob/ob$^{-/-}$マウスで、ダパグリフロジン投与により冠動脈微小血管及び心収縮の機能不全に改善が認められた。ダパグリフロジンの投与による心室の構造的及び機能的な改善は、左室の心筋の線維化及びアポトーシスの軽減にも関連していた。NLRP3 依存性インフラマソームの活性化に対するダパグリフロジンの抑制作用が、心室への有益な作用をもたらす機序の一部である可能性が示された。

したがって、*in vivo* の心不全モデルマウスを用いた試験で示された心保護作用に基づくと、ダパグリフロジンは HFrEF 及び HFpEF 表現型としての心室の構造的及び機能的不全を改善する可能性が示された。また、ダパグリフロジン投与により心室リモデリングに関与する分子過程の一部が抑制された。NLRP3 インフラマソーム活性化の減弱が、ダパグリフロジンによる上記の心機能改善の分子機序の少なくとも一部を説明する可能性が示された。故に、ダパグリフロジンは、

HFrEF の治療、加えて、おそらく HFpEF の治療にも新規の作用機序を示す可能性があると考えられた。

2.4.3 薬物動態試験

該当なし

2.4.4 毒性試験

初回の製造販売承認以降に、追加の毒性試験としてダパグリフロジンのラットを用いた 6 カ月間膀胱癌プロモーション試験（試験 8001510）を実施し、20[redacted] 年に試験が完了した。本試験は、ダパグリフロジンの動物を用いた非臨床試験では認められなかったが、早期臨床試験では膀胱癌の発現が認められたことから、FDA との Post-approval commitment の一環として実施した試験である。

本試験の目的は、BBN により誘発された膀胱癌の発現頻度及び浸潤の程度に対するダパグリフロジンの影響を評価することであった。BBN を週 2 回 6 週間強制経口投与し、その後ダパグリフロジンを第 9 週から第 34 週にかけて 26 週間 1 日 1 回強制経口投与した。ウラシル（陽性対照物質）は、3%の濃度で混餌投与した。試験終了時に、膀胱癌の発現頻度及び浸潤の程度を評価した。

溶媒対照群と比較してダパグリフロジン 0.5 mg/kg／BBN 100 mg/kg 群で尿路上皮過形成の発現頻度の軽微な上昇が認められたが、BBN 100 mg/kg 又は 400 mg/kg を前投与した動物において、移行上皮癌の発現頻度及び浸潤に対するダパグリフロジン投与（最大臨床推奨用量での曝露量の約 7 倍）の影響は認められなかった。本試験の結果から、ダパグリフロジンは膀胱癌のプロモーター又はプログレッサーとして作用しないことが示された。

ダパグリフロジンの早期臨床試験において膀胱癌の発現が認められたが、心血管イベントに及ぼすダパグリフロジンの影響を評価した大規模臨床試験である DECLARE-TIMI 58 試験においては、17000 例以上の患者が組み入れられたが、ダパグリフロジン群での膀胱癌の発現率はプラセボ群よりも低かった（Wiviott et al 2019）。

2.4.5 ダパグリフロジンフィルムコーティング錠の変異原性不純物に関する評価

新たな適応症である慢性心不全は、既承認の適応症（1 型及び 2 型糖尿病）に比べ、許容される発がんリスクレベルに著しく影響を及ぼさないと考えられることから、「「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理ガイドラインについて」の一部改正について」（薬生薬審発 0627 第 1 号、平成 30 年 6 月 27 日）に基づき、本申請においては変異原性不純物に関するリスクの再評価は不要と判断した。

2.4.6 総括及び結論

非臨床薬理試験の結果から、ダパグリフロジンは HFrEF 及び HFpEF 表現型としての心室の構造的及び機能的不全を改善する可能性が示された。また、ダパグリフロジン投与により心室リモデリングに関与する分子過程の一部が抑制された。NLRP3 インフラマソーム活性化の減弱が、ダパグリフロジンによる上記の心機能改善の分子機序の少なくとも一部を説明する可能性が示された。故に、ダパグリフロジンは、HFrEF の治療、加えて、おそらく HFpEF の治療にも新規の作用機序を示す可能性があると考えられた。

ラットを用いた 6 カ月間膀胱癌プロモーション試験の結果から、ダパグリフロジンは膀胱癌のプロモーター又はプログレッサーとして作用しないことが示された。

2.4.7 参考文献

Adingupu et al 2017

Adingupu D, Hagerstrand L, Palmer M, Karageorgis A, El Hachmane M, Gopel S, et al. Abstract 20522: SGLT2 Inhibition With Dapagliflozin Improves Coronary Vascular Derangement in the Leptin- Deficient Ob/ob Mice. Circulation 2017;136:A20522 (CRA).

Kanai et al 1994

Kanai Y, Lee WS, You G, Brown D, Hediger MA. The human kidney low affinity Na+/glucose co-transporter SGLT2: delineation of the major renal reabsorptive mechanism for D-glucose. J Clin Invest 1994; 93:397-404.

Santer et al 2003

Santer R, Kinner M, Lassen CL, Schneppenheim R, Eggert P, Bald M, et al. Molecular analysis of the SGLT2 gene in patients with renal glucosuria. J Am Soc Nephrol 2003; 14:2873-2882.

Weber et al 2016

Weber MA, Mansfield TA, Cain VA, Iqbal N, Parikh S, Ptaszynska A. Blood pressure and glycaemic effects of dapagliflozin versus placebo in patients with type 2 diabetes on combination antihypertensive therapy: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study. Lancet Diabetes Endocrinol, 2016;4(3):211-20.

Wells et al 1992

Wells RG, Pajor AM, Kanai Y, Turk E, Wright EM, Hediger MA. Cloning of a human kidney cDNA with similarity to the sodium-glucose cotransporter. Am J Physiol 1992; 263: F459-F465.

Wiviott et al 2019

Wiviott SD, Raz I, Bonaca MP, Mosenzon O, Kato ET, Cahn A, et al. Dapagliflozin and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. N Engl J Med 2019; 380: 347-57.

Ye et al 2017

Ye Y, Bajaj M, Yang HC, Perez-Polo JR, Birnbaum Y. SGLT-2 Inhibition with Dapagliflozin Reduces the Activation of the Nlrp3/ASC Inflammasome and Attenuates the Development of Diabetic Cardiomyopathy in Mice with Type 2 Diabetes: Further Augmentation of the Effects with Saxagliptin, a DPP4 Inhibitor. Cardiovasc Drugs Ther. 2017 Apr;31(2):119-132.

You et al 1995

You G, Lee WS, Barros EJ, Kanai Y, Huo TL, Khawaja S et al. Molecular characteristics of Na^+-coupled glucose transporters in adult and embryonic rat kidney. J Biol Chem 1995; 270: 29365-71.