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]

2.6.6　毒性試験の概要文
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
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 4
2.6.6.3 反復投与毒性試験 4
2.6.6.4 遺伝毒性試験 4
2.6.6.5 がん原性試験 4
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 6
2.6.6.7 局所刺激性試験 7
2.6.6.8 その他の毒性試験 7
2.6.6.9 考察及び結論 7
2.6.6.10 参考文献 7

表目次

表 1 試験デザイン 5
表 2 雌性ラットにダパグリフロジン 0.5 mg/kg/日を強制経口投与したときの第 2 期の 4 週及び 26 週におけるダパグリフロジンのトキシコキネティクスデータの要約 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
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
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
PEG	Polyethylene glycol：ポリエチレングリコール
SGLT2	Sodium glucose co transporter 2：ナトリウム・グルコース共輸送体 2

2.6.6.1 まとめ

ダパグリフロジンは、ナトリウム・グルコース共輸送体 2（SGLT2）阻害剤である。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、早期臨床試験では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。

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-TIMI58 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）。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

該当なし

2.6.6.3 反復投与毒性試験

該当なし

2.6.6.4 遺伝毒性試験

該当なし

2.6.6.5 がん原性試験

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）が 20[redacted] 年に完了した。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、ラットの膀胱癌イニシエーション／プロモーションモデルを用いて、*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。腫瘍のイニシエーション／プロモーションの陽性対照としてウラシルを使用した。また、ダパグリフロジン及びその主代謝物である AZ13794518 のトキシコキネティクスを評価した。

イニシエーターとして、20%エタノール水溶液で調製した BBN を強制経口投与した。被験物質であるダパグリフロジンを溶媒（90%ポリエチレングリコール[PEG] 400 水溶液）に溶解して 1 日 1 回強制経口投与した。陽性対照物質（ウラシル）は、餌中配合濃度 3%で混餌投与（自由摂取）した。ダパグリフロジンの調製に使用した溶媒を溶媒対照とした。

本試験において、イニシエーションフェーズ（第 1 期）では、BBN を 6 週間経口投与した。2 週間の休薬期間後に群分けを行いプロモーションフェーズ（第 2 期）に移行し、26 週間投与後に剖検を実施した（表 1）。

第 1 期では、2 群から成る Harlan Sprague Dawley 系雄性ラットに、BBN を 100 mg/kg/投与（群 1、n=165）及び 400 mg/kg/投与（群 2、n=115）の用量で週 2 回強制経口投与した。第 2 期では、群 1 の動物を各群雄 50 例の 3 群に分け、溶媒（群 3）、ダパグリフロジン 0.5 mg/kg/日（群 4）及びウラシル（3%混餌）（群 5）を投与した。また、群 2 の動物を各群雄 50 例の 2 群に分け、溶媒（群 6）及びダパグリフロジン 0.5 mg/kg/日（群 7）を投与した。

表 1　　試験デザイン

第 1 期 6 週間（第 1-6 週）	休薬 2 週間（第 7-8 週）	第 2 期 26 週間（第 9-34 週）		
群 1 BBN 100 mg/kg/投与 N=165	休薬後に再割付	群 3 溶媒（n=50）	群 4 ダパグリフロジン 0.5 mg/kg/日 （n=50）	群 5 ウラシル （3%混餌） （n=50）
群 2 BBN 400 mg/kg/投与 N=115	休薬後に再割付	群 6 溶媒（n=50）	群 7 ダパグリフロジン 0.5 mg/kg/日 （n=50）	該当なし

評価項目は、一般状態、体重、摂餌量、尿検査、尿生化学、トキシコキネティクス（ダパグリフロジン、代謝物 AZ13794518）、器官重量（膀胱）、並びに膀胱の剖検及び病理組織学的検査であった。トキシコキネティクスの評価のために、第 11 及び 33 週（第 2 期の 4 週及び 26 週）に溶媒群（群 3 及び群 6）及びダパグリフロジン群（群 4 及び群 7）から血液サンプルを採取した。

溶媒対照群（群 3 及び群 6）の血液サンプルでは、ダパグリフロジン及び AZ13794518 は検出限界未満であった。ダパグリフロジンを投与された全ての動物でダパグリフロジンの曝露が確認された。ダパグリフロジン 0.5 mg/kg/日群（群 4 及び群 7）において、第 26 週と第 4 週の C_{max} 及び AUC_{0-t} は類似した（表 2）。

表 2　　雌性ラットにダパグリフロジン 0.5 mg/kg/日を強制経口投与したときの第 2 期の 4 週及び 26 週におけるダパグリフロジンのトキシコキネティクスデータの要約

投与量（mg/kg/日）	0.5			
群	4	7	4	7
週	4	4	26	26
t_{max} (h)	2	4	2	2
C_{max} (± SE) (µg/mL)	0.324 (0.0127)	0.270 (0.0107)	0.238 (0.0225)	0.253 (0.0113)
$AUC_{(0-t)}$* (± SE) (µg.h/mL)	3.08 (0.105)	2.92 (0.0602)	2.64 (0.135)	3.27 (0.183)

* Time ‘t’ 24 hours
SE Standard error

第 1 期の期間中に、動物 1 例が状態悪化のため 33 日目に除外されたが、第 2 期に割り付けられる動物数への影響はなかった。第 2 期の期間中に、溶媒（PEG 400 水溶液）を投与された 1 例及びダパグリフロジン 0.5 mg/kg/日を投与された 5 例が試験の 60～173 日目に死亡発見された。ダパグリフロジン 0.5 mg/kg/日を投与された死亡 1 例については、尿路感染が死亡の原因である

と考えられた。その他の 5 例については、病理検査から死亡の原因を特定することはできなかった。

BBN の 6 週間投与（第 1 期）における生存期間中の特記すべき所見は、1 例で認められた血尿のみであった。

溶媒対照群と比較した場合、ダパグリフロジンの投与により、被毛の黄着色、皮膚の乾燥及び痂疲形成の発現頻度上昇、並びに平均摂餌量の増加にもかかわらず、体重増加量の低下（溶媒対照群より 4~6%低い）が認められた。第 2 期の終了時には、ダパグリフロジンの投与により、尿量及び尿中グルコース濃度の増加、並びに総グルコース排泄量、グルコース/クレアチニン比、ナトリウム排泄量及びナトリウム/クレアチニン比の増加が認められた。更に、BBN 400 mg/kg 投与後に対照物質（PEG 400 水溶液）及びダパグリフロジンを投与した動物の尿サンプルで、潜血陽性及び／又は赤血球混入の頻度上昇が認められた。

ウラシルの投与により、溶媒対照群（群 3 及び群 6）に比べて被毛の黄着色及び皮膚の乾燥の発現頻度上昇、並びに摂餌量減少を伴う平均体重及び平均体重増加量の低下が認められた。第 2 期の終了時には、尿量、総ナトリウム排泄量及びナトリウム/クレアチニン比の増加が認められた。更に、総グルコース排泄量及びグルコース/クレアチニン比の増加が認められたが、その程度はダパグリフロジン/BBN 投与群に比べてはるかに小さかった。尿の潜血陽性及び／又は赤血球混入の頻度が著しく上昇し、比重及び浸透圧の低下も認められた。

膀胱重量に対する BBN の影響は認められなかった。BBN 100 mg/kg 群に比べ、BBN 400 mg/kg 群の剖検では蒼白/隆起病巣、肥厚、腫瘤及び結節の発現頻度上昇がみられ、病理組織学的検査では尿路上皮過形成の発現頻度及び重症度の上昇、乳頭腫の発現頻度上昇、移行上皮癌の発現頻度及び浸潤性の上昇が認められた。このことは BBN の投与に関連した剖検及び病理組織学的所見に対する影響であることを示しており、病理組織学的所見に関しては統計学的有意差が認められた。

腫瘍のプロモーション及びプログレッションの陽性対照としてウラシル（3%混餌）を投与した結果、膀胱重量の統計学的に有意な増加、蒼白/隆起/暗色病巣、肥厚、腫瘤、拡張及び結節等の剖検所見の発現頻度上昇がみられた。病理組織学的検査では、尿路上皮過形成の発現頻度及び重症度の上昇、混合性細胞浸潤及び結晶の発現頻度の上昇、並びに膀胱の移行上皮癌の発現頻度の統計学的に有意な上昇が認められた。

膀胱重量又は剖検所見にダパグリフロジンに関連した影響は認められなかった。病理組織学的検査においては、溶媒対照に比べ、ダパグリフロジン／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。BBN を前投与した動物の移行上皮癌の発現率にダパグリフロジンに関連した影響は認められなかった。

結論として、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性に対するダパグリフロジン投与の影響は認められなかった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

該当なし

2.6.6.7 局所刺激性試験

該当なし

2.6.6.8 その他の毒性試験

該当なし

2.6.6.9 考察及び結論

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）が 20[redacted] 年に完了した。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。

結論として、BBN 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性に対するダパグリフロジンの影響は認められなかった。更に、ダパグリフロジンの早期臨床試験で膀胱癌の発現症例がみられたものの、プラセボ群よりもダパグリフロジン群での膀胱癌の発現率は低かった（Wiviott et al 2019）。

2.6.6.10 参考文献

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.

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]

2.6.7　毒性試験概要表
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
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 3
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 3
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 3
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 3
2.6.7.5 単回投与毒性試験 4
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 4
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 4
2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験 4
2.6.7.9 In Vivo 遺伝毒性試験 4
2.6.7.10 がん原性試験 5
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 8
2.6.7.12 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
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 8
2.6.7.14 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 8
2.6.7.15 新生児を用いた試験 8
2.6.7.16 局所刺激性試験 8
2.6.7.17 その他の毒性試験 8

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: Dapagliflozin

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day)	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location in CTD
Carcinogenicity	Rat, Sprague-Dawley	Oral (Gavage)	26 weeks [a]	0.5	Yes	[redacted], Canada	8001510	4.2.3.4.2.1

a 6 weeks of twice weekly dosing with *N*-Butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)-Nitrosamine (BBN) followed by a 2-week washout and then by 26 weeks of daily dosing with Dapagliflozin

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: Dapagliflozin

Type of study	Species and strain	Method of administration	Doses (mg/kg/day)	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Carcinogenicity	Rat, Sprague-Dawley	Oral (Gavage)	0.5	Yes	8001510	4.2.3.4.2.1

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

2.6.7.10 項参照

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Test Article: Dapagliflozin

Batch No.	Purity (%) [a]	Specified impurities (%)			Type of study	Study number
		BMS-814978-01	Individual other	Total impurities		
[redacted]	100 (81.3)	<0.05%	<0.05%	<0.05%	6-month oral urinary bladder cancer promotion and progression study in rats	8001510

a Corresponding purity determined against a reference standard and corrected for total volatiles, water, and propylene glycol. Table entry in parentheses indicates “as is” purity.

2.6.7.5　単回投与毒性試験

該当なし

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当なし

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

該当なし

2.6.7.8　In Vitro 遺伝毒性試験

該当なし

2.6.7.9　In Vivo 遺伝毒性試験

該当なし

2.6.7.10　がん原性試験

<table>
<tr><td colspan="2">Report Title: Dapagliflozin: Six-Month Oral Urinary Bladder Cancer Promotion and Progression Study in Male Sprague-Dawley Rats Pretreated Orally for 6-Weeks with N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl)-Nitrosamine</td><td>Test Article: Dapagliflozin</td></tr>
<tr><td>Species / Strain: Rat / Sprague-Dawley</td><td>Duration of dosing: 6 weeks of twice weekly dosing with BBN followed by a 2-week washout and then by 26 weeks of daily dosing with Dapagliflozin</td><td>Study number: 8001510</td></tr>
<tr><td>Age at start of dosing: 5 to 6 weeks</td><td>Duration of post-dose: None</td><td>GLP compliance: Yes</td></tr>
<tr><td>Date of first dose: [redacted] 20[redacted]</td><td>Method of administration: Oral (gavage)</td><td>Testing Facility: [redacted], [redacted], Canada</td></tr>
<tr><td colspan="2">Special features: None</td><td>Vehicle / Formulation: BBN = suspension in 20% ethanol in water; Dapagliflozin = solution in 90% PEG 400 in water</td></tr>
<tr><td colspan="3">No observed adverse-effect level: Not applicable</td></tr>
<tr><td colspan="3">Conclusion: No effects on incidence or invasiveness of transitional cell carcinoma (TCC) were observed with Dapagliflozin in animals pretreated with either BBN 100 mg/kg/dose or 400 mg/kg/dose. A slight increase in urothelial hyperplasia was noted at 0.5 mg/kg/day Dapagliflozin/BBN 100 mg/kg/dose, in comparison to its control.</td></tr>
</table>

Daily Dose	Vehicle	Dapagliflozin, 0.5 mg/kg/day	3% uracil in diet	Vehicle	Dapagliflozin, 0.5 mg/kg/day
Twice weekly BBN Dose (mg/kg)	100	100	100	400	400
Number of Animals	M: 50	M: 50	M: 50	M: 50	M: 50
Toxicokinetics [a]:					
Week-4					
$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (µg.h/mL)		3.08	NA		2.92
C_{max} (µg/mL)		0.324	NA		0.270
Week-26					
$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (µg.h/mL)		2.64	NA		3.27
C_{max} (µg/mL)		0.238	NA		0.253
Noteworthy Findings					
Died or Sacrificed Moribund	0	3	0	1	2
Body Weight Gain (%) [b]	(g)			(g)	
Day -1 to 182	130.4	-16 ***	-45 ***	142.1 **	-19 ***
Food Consumption (%) [b]	(g/animal/day)			(g/animal/day)	
Day 1 to 8	20.4	7.4	-45	20.0	7.9
Day 22 to 29	19.8	12	-33	19.4	11
Day 85 to 92	19.0	10	-17	17.5	22
Day 176 to 182	20.5	7.9	-13	18.2	12
Clinical Observations [c]	+	+++	++	++	+++
Urinalysis [d]					
Volume (mL)	4.42	7.87 ***	16.2 ***	4.37	8.63 ***
Blood or presence of red blood cells	+	+	+++	++	++
Urine Chemistry [d]					
Glucose concentration (mg/dL)	16.9	7298.2 ***	13.7 *	18.3	6469.9 ***
Total glucose excretion (mg/collection)	0.69	554.35 ***	2.16 ***	0.75	547.53 ***
Glucose/creatinine ratio	0.1051	76.7371 ***	0.2829 ***	0.1103	73.6144 ***
Sodium excretion (mmol/collection)	0.155	0.219 *	0.408 ***	0.174	0.248 ***
Sodium/creatinine ratio (mmol/g)	23.2	29.6	53.6 ***	25.1	33.3 *

Daily Dose	Vehicle	Dapagliflozin, 0.5 mg/kg/day	3% uracil in diet	Vehicle	Dapagliflozin, 0.5 mg/kg/day
Twice weekly BBN Dose (mg/kg)	100	100	100	400	400
Number of Animals	M: 50	M: 50	M: 50	M: 50	M: 50
Histopathology [e]					
Number examined	50	50	50	50	50
Urinary bladder					
Urothelial papilloma [f]	16	19	41	42	44
Transitional cell carcinoma [f]					
In situ	0	0	2 *	4 *	4
Minimally invasive	0	0	42 *	2 *	2
Markedly invasive	0	0	0	1 *	2
Urothelial hyperplasia					
Minimal	30	36	0	30	31
Mild	0	2	18	19	14
Moderate	0	0	32	1	5
Mixed cell infiltration					
Minimal	1	0	8	1	1
Crystal					
Minimal	0	0	9	0	1

M = male; + = mild; ++ = moderate; +++ = marked; NA = not applicable
* p<0.05; ** p<0.01; ***p<0.001

a There were no concentrations of Dapagliflozin or AZ13794518 above LLOQ in samples taken from rats dosed with vehicle control (100 BBN and 400 BBN).

b For controls, group means are shown, for treated groups, percent differences from respective controls are shown. Statistical significance, if any, is based on actual data (not on the percent differences).

c Clinical signs of increased incidence of yellow fur staining (ventral aspect, urogenital or abdominal), dry skin (tail), and/or skin scabs (tail) were associated with the administration of Dapagliflozin and Uracil. Values at the end of dosing period. + = less than 10 animals affected; ++ = between 11 and 20 animals affected; +++ = more than 21 animals affected.

d Increased incidence of urine samples with positive blood and/or the presence of red blood cells in control (vehicle/400 BBN) and Dapagliflozin animals previously dosed with 400 mg/kg/dose of BBN at Week 33 and a marked incidence in animals dosed with uracil. Values at the end of dosing period.
+ = less than 10 animals affected; ++ = between 11 and 30 animals affected; +++ = more than 30 animals affected

e Incidence presented.

f Carcinomas and papillomas' incidence reflects the combined incidence of multiple and single carcinomas and papillomas.

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当なし

2.6.7.12　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

該当なし

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当なし

2.6.7.14　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

該当なし

2.6.7.15　新生児を用いた試験

該当なし

2.6.7.16　局所刺激性試験

該当なし

2.6.7.17　その他の毒性試験

該当なし