ジョイクル関節注 30mg

2.4 非臨床試験の概括評価

生化学工業株式会社

目次

2.4 非臨床試験の概括評価 5
2.4.1 非臨床試験計画概略 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 8
2.4.2.3 安全性薬理試験 8
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 8
2.4.3 薬物動態試験 9
2.4.3.1 吸収 9
2.4.3.2 分布 9
2.4.3.3 代謝 10
2.4.3.4 排泄 10
2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用 11
2.4.4 毒性試験 12
2.4.4.1 単回投与毒性試験 12
2.4.4.2 反復投与毒性試験 12
2.4.4.3 遺伝毒性試験 13
2.4.4.4 がん原性試験 13
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 13
2.4.4.6 局所刺激性試験 13
2.4.4.7 その他の毒性試験 14
2.4.4.8 添加剤の安全性評価 15
2.4.5 総括及び結論 16
2.4.6 参考文献 18

略号一覧

略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
$AUC_{0-\infty}$	Area under the concentration-time curve from zero to infinity	0 から∞時間までの濃度-時間曲線下面積
AUC_{τ}	Area under the concentration-time curve over a dosing interval	1 投与間隔の濃度－時間曲線下面積
^{14}C-SI-613	[benzene ring-U-^{14}C] SI-613	^{14}C 標識の SI-613
C_{max}	Maximum concentration	最高濃度
COX	Cyclooxygenase	シクロオキシゲナーゼ
CYP	Cytochrome P450	シトクロム P450
DF	Diclofenac	ジクロフェナク
DF-Na	Diclofenac sodium	ジクロフェナクナトリウム
DF-ラクタム	Diclofenac-lactam	ジクロフェナクラクタム
DF-HA4mer	Diclofenac-hyaluronate 4mer	ジクロフェナク結合ヒアルロン酸 4 糖
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HA	Sodium hyaluronate	ヒアルロン酸ナトリウム
HAS	Hyaluronan synthase	ヒアルロン酸合成酵素
hERG	Human *ether-a-go-go-related gene*	ヒト *ether-a-go-go* 関連遺伝子
HPLC-RAD	High performance liquid chromatography-radioactivity detector	高速液体クロマトグラフィー－放射能検出器
HYAL	Hyaluronidase	ヒアルロン酸分解酵素
IA-HA	Intra-articular sodium hyaluronate	関節腔内投与ヒアルロン酸ナトリウム製剤
IC_{50}	50% inhibition concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IL	Interleukin	インターロイキン
LC/MS^n	High performance liquid chromatography coupled with ion trap mass spectrometry	高速液体クロマトグラフィー／イオントラップ型質量分析
LC/MS/MS	High performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry	高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
LSC	Liquid scintillation counter	液体シンチレーションカウンター
MMP	Matrix metalloproteinase	マトリックスメタロプロテアーゼ
mRNA	Messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸

略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
NSAID	Nonsteroidal anti-inflammatory drug	非ステロイド性抗炎症薬
5-OH-DF	5-Hydroxydiclofenac	5-水酸化ジクロフェナク
4’-OH-DF	4’-Hydroxydiclofenac	4’-水酸化ジクロフェナク
OA	Osteoarthritis	変形性関節症
PBS	Phosphate buffered saline	リン酸緩衝塩化ナトリウム液
PGE_2	Prostaglandin E_2	プロスタグランジン E_2
QWBA	Quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
SI-613	Development code of Diclofenac Etalhyaluronate Sodium	一般的名称 ジクロフェナクエタルヒアルロン酸ナトリウムの開発コード
$t_{1/2}$	Elimination half-life	消失半減期

2.4 非臨床試験の概括評価

SI-613 は、ヒアルロン酸ナトリウム（HA）にジクロフェナク（DF）を共有結合により化学的に結合させた化合物である。非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)である DF の[redacted]の[redacted]は[redacted]である。

変形性膝関節症（膝 OA）に対する薬物療法剤には、経口剤、外用剤、関節注入剤がある。このうち、経口剤及び外用剤は、NSAID の使用頻度が最も高く、膝 OA の症状改善に有効とされるが、長期間の使用により上部消化管障害が増加するとの報告がある[(1)]。関節注入剤では、代表的なものに副腎皮質ステロイド製剤や HA 製剤がある。副腎皮質ステロイド製剤は反復投与により望まれる治療効果とは逆に関節破壊が進展する懸念から、規定以上繰り返して投与することは推奨されていない[(2)]。HA 製剤は、膝 OA 患者に対して疼痛を寛解させると共に日常生活動作及び関節可動域の改善をもたらすことから、関節機能改善剤として分類されている[(3)]。但し HA 製剤の疼痛抑制作用は、NSAID 経口剤や関節注入ステロイド製剤と比較して穏やかとされる。

生化学工業株式会社は、これら経口剤、外用剤、関節注入剤における問題を解決するため、DF を HA に共有結合により化学的に結合させ、投与局所である関節組織において持続的に DF を遊離させることにより、変形性関節症（OA）に対して関節機能改善作用及び持続的な消炎鎮痛作用を発揮すること及び安全性面でも NSAID で見られる全身性の副作用を軽減することが期待できると考え、SI-613 を創製した。

2.4.1 非臨床試験計画概略

20[redacted]年より SI-613 に関連した基礎研究を開始し、20[redacted]年より SI-613 の薬理、薬物動態及び毒性を評価する目的で包括的な非臨床試験を開始した。SI-613 の非臨床試験に関する評価は、日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）が策定したガイドライン M3（R2）[(4)]、S2（R1）[(5)]、S2B[(6)]、S3A[(7)]、S4[(8)]、S4A[(9)]、S5（R2）[(10)]、S7A[(11)]、S7B[(12)]、S10[(13)]、M7[(14)]、国際標準化機構が策定した医療機器の生物学的評価規格及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構との[redacted]相談[redacted]（[redacted]、[redacted]年[redacted]月[redacted]日）〔1.13.2-04〕における機構見解に基づき実施した。がん原性試験など一部の毒性試験は、上記の機構見解を踏まえ実施しなかった。また、安全性薬理及び薬物動態の一部は独立した試験を実施せず、反復投与毒性試験の結果から評価した。毒性試験及び安全性薬理試験は、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。SI-613 の薬理学的、薬物動態学的及び毒性学的特徴を明らかにする目的で以下の各種試験を実施した。

薬理試験

効力を裏付ける試験として、in vitro 薬理学的特性の試験では、SI-613 のシクロオキシゲナーゼ(COX)-2 酵素に対する阻害活性、正常ヒト関節軟骨細胞を用いたマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)-1、-3 及び-13 の産生抑制作用及びヒト OA 患者由来滑膜細胞を用いた高分子量 HA の産生促進作用について検討した。In vivo 薬理学的特性の試験では、SI-613 の疼痛抑制作用及び抗炎症作用を評価した。副次的薬理試験は実施しなかった。安全性薬理評価では、安全性薬理コアバッテリーとして、

ラットを用いて中枢神経系に対する作用、ヒト *ether-a-go-go* 関連遺伝子（hERG）電流に対する作用、並びにイヌ及びカニクイザルを用いて心血管系に対する作用、ラットを用いて呼吸系に対する作用を評価した。In vivo 評価は独立した試験として実施せず、単回及び反復投与毒性試験の結果から評価した。いずれの試験も GLP を遵守して実施した。

薬物動態試験

薬物動態試験として、薬理試験及び毒性試験に用いた動物種であるラット、ウサギ及びカニクイザルを用いて、SI-613 又は ^{14}C 標識の SI-613（^{14}C-SI-613）を膝関節腔内投与したときの薬物動態を検討した。加えて、SI-613 が未変化体のまま全身循環へ移行した場合の薬物動態を検討するため、ラットを用いた静脈内投与試験を実施した。In vitro 試験では、ヒト由来試料を用いて薬物相互作用に関する試験を実施した。生体試料中 SI-613 及び代謝物濃度測定には、高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析（LC/MS/MS）を用いた。生体試料中放射能測定には、液体シンチレーションカウンター（LSC）、高速液体クロマトグラフィー－放射能検出器（HPLC-RAD）又は定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）を用いた。代謝物の構造解析には、高速液体クロマトグラフィー／イオントラップ型質量分析（LC/MS^n）を用いた。

毒性試験

毒性試験として、SI-613 のラット及びイヌを用いた単回投与毒性試験、カニクイザル、イヌ及びラットを用いた反復投与毒性試験、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験、カニクイザル及びウサギを用いた局所刺激性試験、in vitro 光毒性試験、並びに in vitro 細胞毒性試験を実施した。また、代謝物であるジクロフェナクラクタム（DF-ラクタム）の in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、不純物の in silico 変異原性予測、並びに臨床製剤による SI-613 のカニクイザルを用いた反復投与毒性試験に組み込んだ添加剤の反復投与毒性試験を実施した。がん原性試験は実施しなかった。カニクイザル、イヌ及びウサギを用いた反復投与毒性試験又は局所刺激性試験の投与経路は、SI-613 の臨床投与経路である膝関節腔内とした。その他の毒性試験の投与経路は、SI-613 を確実に全身曝露させるため静脈内とした。カニクイザル及びウサギを用いた反復投与毒性試験又は局所刺激性試験、並びに in vitro 細胞毒性試験は、SI-613 製剤を用いた。その他の毒性試験は、SI-613 をリン酸緩衝塩化ナトリウム液（PBS）に溶解した液（SI-613PBS 溶液）を用いた。上記の毒性試験は、不純物の in silico 変異原性予測を除き、いずれも GLP を遵守して実施した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

ヒト COX-2 酵素に対する SI-613 の阻害活性を in vitro で評価した結果、SI-613 そのものは濃度 0.0043～10 μM の範囲で COX-2 阻害活性を示さなかった〔2.6.2.2.1.1〕。SI-613 の構成成分であるジクロフェナクナトリウム（DF-Na）は、濃度依存的にヒト COX-2 活性を阻害した。したがって、HA に化学的に結合された DF は COX-2 に対する親和性が低下していると考えられた。

SI-613 の疼痛抑制作用は、硝酸銀誘発ラット関節炎モデルを用いて検証した。単回膝関節腔内投与した SI-613 は、0.05～0.5 mg/関節の用量で用量依存的に疼痛反応を抑制した〔2.6.2.2.2.1〕。SI-613 は、単回膝関節腔内投与した HA、SI-613 の投与量に相当する DF-Na と HA の混合液並びに連日経口投与した DF-Na と比較して強くかつ持続的に疼痛反応を抑制した〔2.6.2.2.2.2〕。SI-613 の抗炎症作用は、コラーゲン誘発ラット関節炎モデルを用いて検証した。単回膝関節腔内投与した SI-613 は、0.05～0.5 mg/関節の用量で用量依存的に膝関節腫脹を抑制した〔2.6.2.2.2.3〕。SI-613 は、単回膝関節腔内投与した HA、SI-613 の投与量に相当する DF-Na と HA の混合液並びに連日経口投与した DF-Na と比較して強くかつ持続的に膝関節腫脹を抑制した〔2.6.2.2.2.4〕。以上の結果から、単回膝関節腔内投与した SI-613 は、消炎鎮痛作用を発揮することが示された。SI-613 の消炎鎮痛作用の持続性は、炎症作用が比較的長期間持続する抗原誘発ウサギ関節炎モデルを用いて検証した。単回膝関節腔内投与した SI-613 の抗炎症作用は、投与後 28 日まで持続した〔2.6.2.2.2.5〕。当該モデルにおいて、SI-613 は炎症足の関節液中プロスタグランジン E_2（PGE_2）濃度を低下させたことから〔2.6.2.2.2.6〕、SI-613 の抗炎症作用は PGE_2 の産生抑制によるものと推察された。SI-613 を単回膝関節腔内投与したとき、少なくとも投与後 28 日まで DF が滑膜組織に残留することが明らかとなり〔2.6.4.8.2〕、当該モデルにおいて、抗炎症作用と滑膜組織中 DF 濃度に関連性が認められた。これらのことから、SI-613 から徐放された DF が COX-2 阻害を介し、PGE_2 の産生抑制による消炎鎮痛作用を発揮すると推察された。

SI-613 の関節機能改善作用は、ヒト軟骨細胞及びヒト OA 患者由来滑膜細胞を用いた in vitro 試験で検証した。SI-613 は、ヒト膝関節軟骨細胞のインターロイキン（IL）-1β 刺激系において 0.5～2 mg/mL の範囲で濃度依存的に MMP-1, -3 及び-13 の産生を抑制した〔2.6.2.2.1.2〕。SI-613 は、ヒト OA 患者由来滑膜細胞の IL-1 β 刺激系において高分子量 HA の産生を促進した〔2.6.2.2.1.3〕。SI-613 により産生された HA の重量平均分子量は、240 万 Da 以上であった。SI-613 は、ヒアルロン酸合成酵素（HAS）の遺伝子である *HAS2* mRNA 発現を対照と比較して有意に促進し、ヒアルロン酸分解酵素（HYAL）の遺伝子である *HYAL2* mRNA 発現を対照と比較して有意に抑制した〔2.6.2.2.1.4〕。したがって、SI-613 の高分子量 HA 産生促進作用は、*HAS2* mRNA 発現促進による高分子量 HA 産生促進及び *HYAL2*_mRNA 発現抑制による高分子量 HA 分解抑制によるものと考えられた。これらのことから、SI-613 は、軟骨破壊の軽減作用や病的関節液の正常化作用を有し、関節腔内投与ヒアルロン酸ナトリウム製剤（IA-HA）と同様に OA 患者に対して関節機能改善作用を発揮することが期待された。

2.4.2.2 副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施しなかった。

2.4.2.3 安全性薬理試験

SI-613 は hERG 電流に対する作用を示さなかった〔2.6.2.4.2.1〕。心血管系に対する作用として、静脈内投与時に血圧低下が認められた〔2.6.2.4.2.2〕が、膝関節腔内投与時には認められなかった〔2.6.2.4.2.2、2.6.2.4.2.3〕。SI-613 は、中枢神経系及び呼吸系に対する作用を示さなかった〔2.6.2.4.1.1、2.6.2.4.3.1〕。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

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

2.4.3.1 吸収

ラット及びウサギに ^{14}C-SI-613 を単回膝関節腔内投与したとき〔2.6.4.3.1.1、2.6.4.3.1.3〕、いずれの種においても血漿中放射能濃度は投与後 24 時間に最高濃度（C_{max}）に達したのち、緩やかに減少し、ラットは 190.82 時間（7.95 日）、ウサギは 21.66 日の消失半減期（$t_{1/2}$）であった。ラット及びウサギの血漿中放射能濃度推移に明確な種差は認められなかった。

雌雄カニクイザルに SI-613 を 0.4、1.2 及び 4 mg/kg の用量で 4 週に 1 回の頻度で 53 週間反復膝関節腔内投与したとき〔2.6.4.3.2.1〕、血漿中 SI-613 濃度は 4 mg/kg の全採血時点において定量下限未満（<0.2 μg eq./mL）であり、膝関節腔内投与された SI-613 は未変化体のまま全身循環へは移行しないと考えられた。代謝物である血漿中 DF、DF-ラクタム及びジクロフェナク結合ヒアルロン酸 4 糖（DF-HA4mer）において、ほぼ全ての C_{max} 及び濃度－時間曲線下面積（AUC_{τ}）は用量依存的に増加し、明確な性差は認められなかった。また、反復投与による明確な増加も認められなかったことから、反復投与によってこれらの代謝物が蓄積する可能性は低いと考えられた。

ラットに ^{14}C-SI-613 を 1、3 及び 10 mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき〔2.6.4.3.1.2〕、血漿中放射能濃度は 1 及び 3 mg/kg では投与後 4 時間まで、10 mg/kg では投与後 24 時間までに急激に減少し、その後は 50.3～80.4 時間の $t_{1/2}$ で減少した。投与後 5 分の血漿中放射能濃度及び $AUC_{0-\infty}$は用量依存的に増加した。

2.4.3.2 分布

ラットに ^{14}C-SI-613 を単回膝関節腔内投与したとき〔2.6.4.4.1.1〕、特に腰リンパ節に高濃度の放射能が認められ、次いで肝臓＞脾臓＞腎臓＞副腎の順に高濃度であった。投与後 12 週までに腰リンパ節及び副腎を除く組織で放射能の消失が認められた。ウサギに ^{14}C-SI-613 を単回膝関節腔内投与したとき〔2.6.4.4.2.1〕、特に膝窩リンパ節に高濃度の放射能が認められ、次いで滑膜組織、靭帯、半月板及び軟骨の放射能濃度が高く、膝蓋骨が最も低かった。関節洗浄液中には投与後 5 分で投与量の大部分となる 76.01%の放射能が認められ、投与後 3 日に投与量の 4.87%まで急激に減少した。膝関節組織や関節洗浄液中の放射能は投与後 12 週においても残存が認められた。これらのことから、膝関節腔内投与された SI-613 は、長期間膝関節に残存し、代謝を受けたのち持続的に全身組織へ移行すると考えられた。

ラットに ^{14}C-SI-613 を単回静脈内投与したとき〔2.6.4.4.1.2〕、特に肝臓及び脾臓に高濃度の放射能が認められ、次いで骨髄＞大腸内容物＞小腸内容物＞副腎の順に高濃度であった。分布が認められた多くの組織では投与後 28 日においても放射能の残存が認められ、特に脾臓、肝臓、副腎及び骨髄において高濃度であった。

妊娠ラットに ^{14}C-SI-613 を単回膝関節腔内投与したとき〔2.6.4.4.4〕、放射能の胎児への移行が認められたが、妊娠 7 及び 17 日目の胎児中放射能濃度はそれぞれ母体血漿中放射能濃度の 0.24～1.26 倍及び 0.15～0.23 倍であり、その移行は胎盤の形成により抑制されると考えられた。

2.4.3.3 代謝

ラットに ^{14}C-SI-613 を単回膝関節腔内投与したとき〔2.6.4.5.1.1〕、血漿中では DF、DF 水酸化体（5-水酸化ジクロフェナク（5-OH-DF）又は 4’-水酸化ジクロフェナク（4’-OH-DF））、DF-ラクタム及び DF-HA4mer が検出された。尿中では 5-OH-DF、DF-HA4mer、DF 水酸化体の硫酸抱合体及び DF のグルクロン酸抱合体が検出され、胆汁中では DF、4’-OH-DF 及び DF のフェニル酢酸部位が安息香酸に変換された代謝物が検出された。ウサギに ^{14}C-SI-613 を単回膝関節腔内投与したとき〔2.6.4.5.1.3〕、SI-613 は滑膜組織及び関節洗浄液中において経時的に低分子化した。滑膜組織及び関節洗浄液中では、DF、DF-ラクタム及び DF-HA4mer などの低分子化体が検出された。これらのことから、膝関節腔内投与された SI-613 は、HA の低分子化により DF-HA4mer を始めとする低分子化体、DF の遊離により DF 及び DF-ラクタムとして全身循環へ移行し、その後さらに代謝を受けて体外へ排泄されると考えられた。

ラットに ^{14}C-SI-613 を単回静脈内投与したとき〔2.6.4.5.1.2〕、投与後 2 時間の血漿中では放射能の大部分が SI-613 として検出され、その後の血漿中では DF、5-又は 4’-OH-DF、DF 水酸化体のグルクロン酸抱合体などが検出された。尿中では DF 水酸化体の硫酸抱合体、DF-HA4mer などが検出された。このことから、静脈内投与された SI-613 は、膝関節腔内投与時と同様の代謝経路で代謝されると考えられた。

2.4.3.4 排泄

ラットに ^{14}C-SI-613 を単回膝関節腔内投与したとき〔2.6.4.6.1.1〕、投与後 70 日までの尿及び糞中放射能排泄率はそれぞれ投与量の 52.5%及び 43.0%であった。胆管カニューレを施したラットに ^{14}C-SI-613 を単回膝関節腔内投与したとき〔2.6.4.6.2〕、投与後 48 時間までの胆汁及び尿中放射能排泄率はそれぞれ投与量の 27.9%及び 3.7%であった。これらのことから、膝関節腔内投与された SI-613 は、代謝物として胆汁中に排泄された後、その一部は再吸収され、最終的に尿及び糞中に排泄されると考えられた。

ラットに ^{14}C-SI-613 を単回静脈内投与したとき〔2.6.4.6.1.2〕、投与後 7 日までの尿及び糞中放射能排泄率はそれぞれ投与量の 31.1%及び 31.9%であった。このことから、静脈内投与された SI-613 は、膝関節腔内投与時と同様に尿及び糞中に排泄されると考えられた。

授乳ラットに ^{14}C-SI-613 を単回膝関節腔内投与したとき〔2.6.4.6.3〕、放射能の乳汁中への移行が認められたが、放射能濃度の乳汁／血漿比は 0.22～0.53 であり、その移行率は低かった。

2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用

SI-613 のヒトシトクロム P450（CYP）分子種（CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4）に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）は 50 μg/mL 以上であり〔2.6.4.7.1〕、SI-613 の CYP 阻害に起因した薬物相互作用が発生する可能性は低いと考えられた。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

ラットに SI-613 を単回静脈内投与（投与用量：10 mg/kg）したとき〔2.6.6.2.1〕、投与直後に一過性の運動性低下、不規則呼吸及び腹臥位が認められた。概略の致死量は、10 mg/kg を超えると判断した。

イヌに SI-613 を単回静脈内投与（投与用量：5 mg/kg）したとき〔2.6.6.2.2〕、投与直後又は投与後 1 日に一過性の口腔粘膜、眼瞼結膜及び耳介の蒼白、運動性低下及び血圧低下、並びに血清中アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の高値が認められた。概略の致死量は、5 mg/kg を超えると判断した。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

カニクイザルに SI-613 製剤を 53 週間間歇膝関節腔内投与（投与用量：0.4、1.2 及び 4 mg/kg、投与頻度：4 週 1 回）したとき〔2.6.6.3.1〕、いずれの用量においても投与局所（膝関節滑膜）及び周辺組織（所属リンパ節）に SI-613 を異物と認識した処理反応が認められた。これと同質の変化は、臨床使用実績が豊富で安全性が確認されている膝関節腔内投与 HA 製剤の毒性試験においても認められていること、水腫やフィブリン様物質などの炎症を示唆する変化や滑膜の壊死を伴わなかったことから、毒性変化ではないと判断した。これより無毒性量は 4 mg/kg/4 weeks と判断した。

イヌに SI-613 を 4 週間間歇膝関節腔内投与（投与用量：1、2 及び 6 mg/kg、投与頻度：週 1 回）及び 13 週間間歇膝関節腔内投与（投与用量：2 又は 6 mg/kg、投与頻度：週 1 回、又は 4 週 1 回）したとき〔2.6.6.3.2、2.6.6.3.3〕、いずれの用量においても投与局所（膝関節滑膜）及び周辺組織（下腿部及び/又は所属リンパ節）に SI-613 を異物と認識した処理反応が認められた。これと同質の変化は、臨床使用実績が豊富で安全性が確認されている膝関節腔内投与 HA 製剤の毒性試験においても認められていることから、毒性変化ではないと判断した。4 週間投与では、いずれの用量においても下腿部の水腫及び線維化が認められたため、無毒性量は 1 mg/kg/week 未満と判断した。これらの変化は休薬により回復性又は回復傾向を示した。13 週間投与では、4 週間投与の変化に加え、いずれの用量においても膝関節滑膜に SI-613PBS 溶液の粘弾性の高さに起因したと考えられる水腫及びフィブリン様物質を伴う炎症が認められたため、無毒性量は 2 mg/kg/4 weeks 未満と判断した。これらの変化は休薬により回復傾向を示した。

ラットに SI-613 を 4 週間静脈内投与（投与用量：1、3 及び 10 mg/kg）及び 26 週間静脈内投与（投与用量：0.3、1 及び 3 mg/kg）したとき〔2.6.6.3.4、2.6.6.3.5〕、いずれの用量においても投与局所（尾静脈）及び/又は全身（肺、肝臓及び/又は脾臓）に異物処理を反映した変化が認められた。これらの変化は組織障害を伴わなかったことから、毒性変化ではないと判断した。4 週間投与では、3 mg/kg 以上で投与直後に一過性のよろめき歩行が認められたことから、無毒性量は 1 mg/kg/day と判断した。26 週間投与では、異物処理を反映した変化のみが認められたため、無毒性量は 3 mg/kg/day と判断した。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験〔2.6.6.4.1〕、ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験〔2.6.6.4.2〕及びラットを用いた小核試験〔2.6.6.4.3〕は、いずれも陰性であった。SI-613 は遺伝毒性を有しないと判断した。

2.4.4.4 がん原性試験

SI-613 及び代謝物に遺伝毒性の懸念がないこと、反復投与毒性試験にて膝関節及び全身組織に前がん病変並びに腫瘍形成を示唆する変化が認められていないこと、並びに SI-613 の構成成分である HA 及び DF の臨床使用においてがん原性を示唆する有害事象が報告されていないことから、SI-613 及び代謝物の膝関節及び全身組織に対するがん原性懸念は低いと判断した。そのため、がん原性試験は実施しなかった（[redacted]相談（[redacted]）[redacted]（[redacted]、[redacted]年[redacted]月[redacted]日）〔1.13.2-02〕、[redacted]相談[redacted]（[redacted]、[redacted]年[redacted]月[redacted]日）〔1.13.2-04〕）。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

ラットに SI-613 を静脈内投与（投与用量：1、3 及び 10 mg/kg）したとき〔2.6.6.6.1〕、受胎能及び初期胚発生に影響は認められなかった。受胎能及び初期胚発生に関する無毒性量は 10 mg/kg/day と判断した。

ラット及びウサギに SI-613 を静脈内投与（投与用量：1、3 及び 10 mg/kg（ラット）、0.4、1.2 及び 4 mg/kg（ウサギ））したとき〔2.6.6.6.2、2.6.6.6.3〕、胚・胎児発生に影響は認められなかった。胚・胎児発生に関する無毒性量は、ラットでは 10 mg/kg/day、ウサギでは 4 mg/kg/day と判断した。

ラットに SI-613 を静脈内投与（投与用量：1、3 及び 10 mg/kg）したとき〔2.6.6.6.4〕、母動物の生殖機能及び次世代の発生に影響は認められなかった。母動物の生殖機能に関する無毒性量及び次世代の発生に関する無毒性量は、いずれも 10 mg/kg/day と判断した。

2.4.4.6 局所刺激性試験

カニクイザルに SI-613 製剤を 13 週間間歇膝関節腔内投与（投与用量：0.2、0.6 及び 2 mg/kg/joint、投与頻度：4 週 1 回）したとき〔2.6.6.7.1〕、最終投与後 4 週まで、投与局所（膝関節滑膜）及び周辺組織（所属リンパ節）に SI-613 を異物と認識した処理反応が認められた。これと同質の変化は、臨床使用実績が豊富で安全性が確認されている膝関節腔内投与 HA 製剤の毒性試験においても認められていること、水腫やフィブリン様物質などの炎症を示唆する変化や滑膜の壊死を伴わなかったことから刺激性を示す変化ではないと判断した。

ウサギに SI-613 製剤を単回膝関節腔内投与（投与用量：0.2、0.5 又は 2 mg/kg/joint）したとき〔2.6.6.7.2、2.6.6.7.3〕、投与後 18 箇月まで、局所刺激性を示唆する変化は認められなかった。

これらの試験において、SI-613 製剤は膝関節への刺激性を有しないと判断した。

2.4.4.7 その他の毒性試験

2.4.4.7.1 光毒性試験

マウス胎児由来線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取り込み法による光毒性試験〔2.6.6.8.1〕で、SI-613 は非光毒性物質と判定された。SI-613 は光毒性作用を有しないと判断した。

2.4.4.7.2 細胞毒性試験

チャイニーズハムスター肺線維芽細胞を用いたコロニー形成法による細胞毒性試験〔2.6.6.8.2〕で、SI-613 は 280 μg/mL 以上で細胞毒性を示した。SI-613 は細胞毒性を有すると判断した。

2.4.4.7.3 代謝物の安全性評価

ヒト血漿中において SI-613 関連物質の総曝露量の 10%を超える代謝物は DF、DF-ラクタム及び DF-HA4mer であった。ICH ガイドライン M3（R2）(4) に基づき、これらの代謝物の安全性について SI-613 のカニクイザルを用いた 53 週間反復投与毒性試験、ラットを用いた胚・胎児試験及びラットを用いた小核試験の結果より評価した。DF、DF-ラクタム及び DF-HA4mer の一般毒性及び生殖発生毒性については、SI-613 のカニクイザルを用いた 53 週間反復投与毒性試験及びラットを用いた胚・胎児試験の無毒性量においてヒトの曝露量を上回る曝露が認められていたことから、SI-613 の毒性試験において安全性が担保されていると判断した。また、DF 及び DF-HA4mer の遺伝毒性については、SI-613 のラットを用いた小核試験においてヒトの曝露量を上回る曝露が認められていたことから、SI-613 の毒性試験において安全性が担保されていると判断した。一方、DF-ラクタムについては、ラットを用いた小核試験においてヒトの曝露量を上回る曝露が認められなかったことから、DF-ラクタムの in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験〔2.6.6.8.3.1、2.6.6.8.3.2、2.6.6.8.3.3〕を実施した。染色体異常試験において数的異常誘発性（倍数性）が認められたが、構造異常誘発性は認められず、細菌を用いた復帰突然変異試験及びラットを用いた小核試験はいずれも陰性であったことから、DF-ラクタムは遺伝毒性を有しないと判断した。

2.4.4.7.4 不純物の安全性評価

SI-613 原薬及び製剤に含まれる可能性のある不純物は、ICH ガイドライン Q3A（R2）(15) 及び Q3B（R2）(16) の安全性確認の閾値を超えないことを確認した。そのため、ICH ガイドライン Q3A 及び Q3B に基づいた安全性評価は行わなかった。

ICH ガイドライン M7 [14] に基づき、SI-613 原薬及び製剤に含まれる可能性のある 12 不純物について in silico ツールを用いて変異原性を評価した〔2.6.6.8.4.1〕。3 不純物（ 不純物A* 、 不純物B* 及び 不純物C* ）は変異原性を有すると予測された。

2.4.4.8 添加剤の安全性評価

SI-613 製剤に含まれる添加剤はマクロゴール 400、クエン酸水和物及びクエン酸ナトリウム水和物である。いずれの添加物も、医薬品添加物事典 2016 における静脈内投与の使用実績を下回ることから、全身曝露による安全性はヒトで確認されていると判断した。一方、これら添加剤の膝関節腔内投与での使用実績については医薬品添加物辞典 2016 に記載されていないことから、膝関節腔内投与による膝関節への安全性について、カニクイザルを用いた膝関節腔内投与による反復投与毒性試験の結果より評価した。カニクイザルにプラセボ製剤を 53 週間間歇膝関節腔内投与（投与用量：マクロゴール 400 は 12.6 mg/kg/joint、クエン酸水和物は 0.16 mg/kg/joint、クエン酸ナトリウム水和物は 0.34 mg/kg/joint、投与頻度：4 週 1 回）したとき〔2.6.6.9〕、刺激性を示唆する変化は認められなかったことから、SI-613 製剤に含まれる添加剤は膝関節への刺激性を有しないと判断した。

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.4.5 総括及び結論

ヒト COX-2 酵素に対する SI-613 の阻害活性を in vitro で評価した結果、SI-613 そのものは COX-2 阻害活性を示さなかった。関節炎ラットに SI-613 を単回膝関節腔内投与した結果、消炎鎮痛作用が示された。SI-613 の消炎鎮痛作用は、単回膝関節腔内投与した HA 及び DF-Na と HA の混合液並びに連日経口投与した DF-Na の作用を上回った。これらの結果から、SI-613 は単回投与において消炎鎮痛作用を発揮することが示された。単回膝関節腔内投与した SI-613 の抗炎症作用は、投与後 28 日まで持続した。SI-613 投与後に炎症足の関節液中 PGE_2 濃度の低下が認められたことから、SI-613 の消炎鎮痛作用は PGE_2 の産生抑制によるものと推察された。薬物動態試験の結果から、SI-613 を単回膝関節腔内投与したとき、少なくとも投与後 28 日まで DF が滑膜組織に残留することが明らかとなり、抗炎症作用と滑膜組織中 DF 濃度に関連性が認められた。これらの結果から、SI-613 から徐放された DF が COX-2 阻害を介し、PGE_2 の産生抑制による消炎鎮痛作用を発揮すると推察された。さらに、in vitro 試験において、SI-613 は MMP-1、-3 及び-13 の産生抑制及び高分子量 HA の産生促進作用を示し、SI-613 は IA-HA と同様の関節機能改善作用を有することが推察された。

以上の結果より、SI-613 は、それ自体 COX-2 阻害活性を有しないが、関節内で持続的に DF を遊離することで、持続的な消炎鎮痛作用を示すと考えられた。また、SI-613 は DF の薬理作用に加えて、IA-HA と同様の関節機能改善作用を持つことが示唆された。

臨床投与経路における体内動態を検討するため、SI-613 又は ^{14}C-SI-613 を膝関節腔内投与したときの薬物動態試験を実施した。膝関節腔内投与された SI-613 は、長期間膝関節に残存し、未変化体のままでは全身循環へは移行せずに、HA の低分子化や DF の遊離などの代謝を受けたのち、DF、DF-ラクタム及び DF-HA4mer を始めとする低分子化体として全身循環へ移行すると考えられた。血漿中 DF、DF-ラクタム及び DF-HA4mer に明確な性差や反復投与による明確な増加は認められなかった。全身循環に移行した代謝物は各組織へ分布し、更なる代謝を受けたのち、最終的に尿及び糞中に排泄されると考えられた。また、全身循環に移行した代謝物の胎盤通過及び乳汁移行が認められた。

SI-613 が未変化体として全身循環へ移行した場合の体内動態を検討するため、^{14}C-SI-613 を静脈内投与したときの薬物動態試験を実施した。血漿中放射能濃度は投与後 24 時間までに急速に減少し、その後は緩やかに減少した。組織中放射能濃度は多くの組織で投与後 1 日までに最高濃度に達することから、全身循環へ移行した SI-613 は速やかに各組織へ移行すると考えられた。その後、HA の低分子化及び DF の遊離を受け、最終的に DF 及びその代謝物、並びに DF-HA4mer として尿及び糞中に排泄されると考えられた。

SI-613 の各 CYP 分子種に対する IC_{50} は、ヒトにおける血漿中 SI-613 濃度以上であり、SI-613 の CYP 阻害に起因した薬物相互作用が発生する可能性は低いと考えられた。

SI-613 の毒性試験において、臨床投与経路である膝関節腔内投与では、滑膜における泡沫状マクロファージ、多核巨細胞、集簇したマクロファージの限局性壊死、単核細胞浸潤並びに滑膜の乳頭状増生などの SI-613 に対する異物処理を反映した変化が認められた。これらは異物処理を反映した変化であり、これらと同質の変化は、臨床使用実績が豊富で安全性が確認されている膝関節腔内投与 HA 製剤の毒性試験においても認められていることから、臨床において問題となる変化ではなく、毒性変

化ではないと判断した。臨床製剤と同組成の製剤をカニクイザルに膝関節腔内投与したときには、上記の SI-613 に対する異物処理を反映した変化以外に影響は認められなかったが、臨床製剤と組成が異なる高粘弾性の SI-613PBS 溶液をイヌに膝関節腔内投与したときには、異物処理を反映した変化に加え、滑膜の水腫やフィブリン様物質を伴う炎症及びそれに関連すると考えられる滑膜の線維化が認められた。高粘弾性の投与液は関節腔内への投与により炎症を惹起することが報告されていることから、イヌで認められた炎症及び線維化は粘弾性の高い投与液に特有の変化と考えられ、粘弾性の低い臨床製剤では生じない毒性変化と判断した。

静脈内投与では、SI-613 の全身への高曝露に伴い、脾臓における泡沫状マクロファージ、肝臓における泡沫状クッパー細胞並びに肺における多核巨細胞を伴う肉芽腫が認められた。これらは、上述した膝関節腔内投与時における異物処理を反映した変化と同様、SI-613 に対するマクロファージ系細胞の異物処理を反映した変化と考えられ、組織障害を伴わなかったことから、毒性変化ではないと判断した。また、静脈内投与直後の運動性の低下や不規則呼吸などの一般状態変化、血圧低下及び肝逸脱酵素の高値が一過性に認められたが、粘弾性の高い投与液を静脈内に投与したときに認められる変化であり、当該試験に用いた投与液の粘弾性の高さに起因する毒性変化と考えられた。SI-613 は静脈内に直接投与されないことを踏まえると、この変化が臨床使用で生じる可能性は低いと考えられた。

安全性薬理評価において、SI-613 は、hERG 電流に対する作用を示さなかった。静脈内投与において投与液の粘弾性の高さに起因する心血管系に対する作用を示したが、膝関節腔内投与では心血管系に対する作用を示さなかった。当該変化は、粘弾性の高い SI-613PBS 溶液を静脈内投与したことに起因すると推察され、SI-613 は静脈内に直接投与されないことを踏まえると、臨床使用において生じる可能性は低いと考えられた。また、SI-613 は、中枢神経系及び呼吸系に対する作用は示さなかった。

これに加え、SI-613 の生殖発生毒性、遺伝毒性、光毒性及び細胞毒性に対する安全性、並びに代謝物及び添加剤に安全性の懸念はないと考えられた。

以上、これまで得られている非臨床試験の成績から、SI-613 は関節腔内投与により、滑膜細胞での高分子量ヒアルロン酸の産生促進、軟骨細胞でのマトリックスメタロプロテアーゼの産生抑制及びシクロオキシゲナーゼ阻害によるプロスタグランジン類の産生抑制を介して、変形性関節症の臨床症状を改善すること、及びヒトにおける安全性について懸念すべき問題の無いことが示唆された。すなわち、SI-613 は臨床において安全で有用な OA に対する関節機能改善剤になり得ると考えられた。

2.4.6 参考文献

（1） Schaffer D, Florin T, Eagle C, Marschner I, Singh G, Grobler M, et al. Risk of serious NSAID-related gastrointestinal events during long-term exposure: a systematic review. Med J Aust. 2006;185:501-506.

（2） Tehranzadeh J, Booya F, Root J. Cartilage metabolism in osteoarthritis and the influence of viscosupplementation and steroid: a review. Acta Radiol. 2005;46:288-296.

（3） 添付文書：アルツディスポ®関節注 25mg, 第 17 版. 2016 年 7 月改訂.

（4） 「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」について（薬食審査発 0219 第 4 号、平成 22 年 2 月 19 日）

（5） 医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンスについて（薬食審査発 0920 第 2 号、平成 24 年 9 月 20 日）

（6） 医薬品の遺伝毒性試験に関するガイドラインについて（医薬審第 1604 号、平成 11 年 11 月 1 日）

（7） トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンスについて（薬審第 443 号、平成 8 年 7 月 2 日）

（8） 単回及び反復投与毒性試験ガイドラインの改正について（薬新薬第 88 号、平成 5 年 8 月 10 日）

（9） 反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正について（医薬審第 655 号、平成 11 年 4 月 5 日）

（10） 医薬品の生殖発生毒性試験に係るガイドラインの改定について（薬審第 316 号、平成 9 年 4 月 14 日）

医薬品の生殖発生毒性試験についてのガイドラインの改正について（医薬審 第 1834 号、平成 12 年 12 月 27 日）

（11） 安全性薬理試験ガイドラインについて（医薬審発第 902 号、平成 13 年 6 月 21 日）

（12） ヒト用医薬品の心室再分極遅延（QT 間隔延長）の潜在的可能性に関する非臨床的評価について（薬食審査発 1023 第 4 号、平成 21 年 10 月 23 日）

（13） 医薬品の光安全性評価ガイドラインについて（薬食審査発 0521 第 1 号、平成 26 年 5 月 21 日）

（14） 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（薬生審査発 1110 第 3 号、平成 27 年 11 月 10 日）

（15） 新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドラインの改定について（医薬審発第 1216001 号、平成 14 年 12 月 16 日）

（16） 新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドラインの改定について（医薬審発第 0624001 号、平成 15 年 6 月 24 日）