ヴォリブリス錠2.5mg

製造販売承認事項一部変更承認申請書添付資料

第２部（モジュール２）CTDの概要（サマリー）

2.4. 非臨床試験の概括評価

グラクソ・スミスクライン株式会社

Feb 02 2021 14:15:19

非臨床試験の概括評価の目次

頁

2.4. 非臨床試験の概括評価 1

2.4.1. 非臨床試験計画概略 1

2.4.2. 薬理試験 1

2.4.3. 薬物動態 1

2.4.3.1. 分析法 1

2.4.3.2. 吸収 1

2.4.3.3. 分布 1

2.4.3.4. 代謝 2

2.4.4. 毒性試験 2

2.4.4.1. 急性毒性 2

2.4.4.2. 反復投与毒性 2

2.4.4.3. 遺伝毒性 2

2.4.4.4. がん原性 2

2.4.4.5. 生殖発生毒性 3

2.4.4.6. 局所刺激性 5

2.4.4.7. その他の毒性試験 5

2.4.5. 総括及び結論 5

2.4.6. 参考文献 6

2.4 の略号等一覧

略語（略称）	内　容
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	乳癌耐性蛋白質（breast cancer resistance protein）
BSEP	胆汁酸塩輸出ポンプ（bile salt export pump）
Cmax	最高血漿中濃度
ET	エンドセリン
GLP	医薬品の安全性試験の実施に関する基準
HPLC-MS/MS	高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析
IC50	50%阻害濃度
MRP	多剤耐性関連蛋白質（multidrug resistance associated protein）
NOAEL	無毒性量
NTCP	タウロコール酸ナトリウム共輸送ポリペプチド（sodium taurocholate co-transporting polypeptide）
OATP	有機アニオン輸送ポリペプチド（organic anion transporting polypeptide）
PAH	肺動脈性肺高血圧症
P-gp	P-糖蛋白質
TK	トキシコキネティクス

2.4. 非臨床試験の概括評価

2.4.1. 非臨床試験計画概略

アンブリセンタンはエンドセリン A 受容体に選択性を有するエンドセリン受容体アンタゴニストであり、成人を対象に「肺動脈性肺高血圧症」の適応で 2010 年 7 月に承認されている（1.13.1.3.）。

本承認申請は、8 歳以上の小児における肺動脈性肺高血圧症（PAH）に対するアンブリセンタンの用量追加に係る製造販売承認事項一部変更承認申請である。薬理に関してはアンブリセンタンの既承認の申請時資料（1.13.1.3.）により既に評価されているため新たな試験は実施しなかった。小児期及び青年期にみられる PAH の基礎的な病態生理は成人の PAH とおおむね同様であることから小児の PAH に対する治療は成人と同様の治療アルゴリズムに沿って行われ、本薬を含むエンドセリン受容体拮抗薬は小児の PAH に対する肺血管拡張薬として治療ガイドラインで推奨されている[日本循環器学会, 2019]。薬物動態に関しては、幼若動物のトキシコキネティクス（TK）及び肝取込み・排出トランスポーターへの影響に関する試験を新たに実施した。毒性に関しては、小児における安全性について検討するため、幼若ラットを用いた 8 週間反復経口投与毒性試験、並びに、この試験で観察された脳重量低値及び異常呼吸音に関するフォローアップ試験として、脳における詳細な病理組織学的検査及び幼若ラットを用いた呼吸機能への影響に関する試験（回復性の検討を含む）を実施した。8 週間反復経口投与毒性試験は医薬品の安全性試験の実施に関する基準（GLP）に従って実施し、その他のフォローアップとして実施した試験も GLP の一般原則に従って実施した。

2.4.2. 薬理試験

新たな試験は実施していないことから、該当しない。

2.4.3. 薬物動態

2.4.3.1. 分析法

ラット血漿中アンブリセンタン（GSK1325760）の濃度測定には、高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析（HPLC-MS/MS）法を用いた。当該分析法はバリデーション試験にて妥当性及び再現性が確認されている（2.6.5.2.、2011N124308、2012N139530）。

2.4.3.2. 吸収

幼若ラットにアンブリセンタンを反復経口投与（生後 7～62 日）したときの曝露量は、おおむね用量に比例して増加した。幼若ラットにおける曝露量は、同程度の用量を投与したときの成獣の曝露量とおおむね同程度であった。

2.4.3.3. 分布

新たな試験は実施していないことから、該当しない。

2.4.3.4. 代謝

新たな試験は実施していないことから、該当しない。

2.4.3.4.1. 排泄

新たな試験は実施していないことから、該当しない。

2.4.3.4.2. 薬物動態学的薬物相互作用

トランスポーター発現細胞又は膜小胞を用いて検討した結果、アンブリセンタンは、有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1 及び 1B3 を用量依存的に弱く阻害し、その IC50 はそれぞれ 47 及び 45 μM であった。また、アンブリセンタンは 100 μM でタウロコール酸ナトリウム共輸送ポリペプチド（NTCP）の活性を約 50%阻害した。検討した 100 μM までの濃度において、アンブリセンタンは胆汁酸塩輸出ポンプ（BSEP）、乳癌耐性蛋白質（BCRP）、P-糖蛋白質（P-gp）及び多剤耐性関連蛋白質（MRP）2 を阻害しなかった。

アンブリセンタンのトランスポーターへの影響については、既審査済資料（1.13.1.3.）でも評価されており、ヒト肝細胞において、アンブリセンタン（最高濃度 100 μM）は NTCP、OATP、BSEP 及び MRP2 を阻害しなかった。今回、新たな試験において、アンブリセンタンは OATP1B1、OATP1B3 及び NTCP を阻害し、その IC50 はそれぞれ 47、45 及び約 100 μM であった。しかしながら、これらの IC50 は 8 歳以上 18 歳未満の小児 PAH 患者の推定血漿中非結合形濃度［0.03 μM：Cmax を 981 ng/mL（2.59 μM、2.7.2.3.1.2.2.）、血漿中非結合形分率を 1.2%として算出］を大きく上回る（約 1500 倍以上）ことから、アンブリセンタンがこれらのトランスポーターを介して臨床的意義のある薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

2.4.4. 毒性試験

2.4.4.1. 急性毒性

新たな試験は実施していないことから、該当しない。

2.4.4.2. 反復投与毒性

新たな試験は実施していないことから、該当しない。

2.4.4.3. 遺伝毒性

新たな試験は実施していないことから、該当しない。

2.4.4.4. がん原性

新たな試験は実施していないことから、該当しない。

2.4.4.5. 生殖発生毒性

幼若ラットを用いた 8 週間反復経口投与毒性試験を実施した。また、この試験で観察された脳重量低値及び異常呼吸音に関してより詳細に検討するため、脳における詳細な病理組織学的検査及び幼若ラットにおける呼吸機能への影響に関するフォローアップ試験（回復性の検討を含む計 2 試験）を実施した。

幼若ラットを用いた 8 週間反復経口投与毒性試験において、アンブリセンタンの 4、10 及び 20 mg/kg/日を生後 7～62 日に経口投与した結果、4 mg/kg/日以上の群で呼吸雑音、10 mg/kg/日以上の群で鼻腔への悪影響（炎症、上皮の萎縮･再生･過形成等）、20 mg/kg/日群で体重増加量及び摂餌量の低値並びに赤血球系パラメータの軽度の高値及び心重量の高値が認められた（4 mg/kg/日投与時の試験 1 日における AUC はヒト小児推定曝露量の 2.3 倍に相当する）。8 週間の休薬後においても 20 mg/kg/日群で心重量の高値がみられたが、それ以外の所見はいずれもおおむね回復した。投与期間終了時では、全投薬群で瞳孔膜遺残の発現頻度増加及び尺骨長の軽度短縮がみられ、20 mg/kg/日群では脳重量の低値（4%）（雌では休薬後でも低値）が観察された（20 mg/kg/日投与時の試験 8 週における AUC はヒト小児推定曝露量の 3.8 倍に相当する）。なお、脳重量の低値に関連した中枢神経系への影響を示唆する一般状態変化はみられず、脳の病理組織学的検査（ミエリン及びグリア細胞の免疫組織化学染色による評価を含む）においても投薬による影響は認められなかった。10 mg/kg/日以上の群における鼻腔への影響等に基づき、無毒性量は雌雄ともに 4 mg/kg/日と推定された。このときの試験 8 週における AUC 及び Cmax（雌雄合算値）はそれぞれ 8.81 μg.h/mL 及び 3.31 μg/mL であり、小児患者においてアンブリセンタンの高用量（5～10 mg）を投与したときの推定曝露量（AUC 及び Cmax）のそれぞれ 1.0 及び 3.4 倍に相当する（表 2.4.4-1）。

上記試験で観察された脳重量低値と呼吸機能の変化との関連性を検討するため、フォローアップ試験として実施した 1 回目の呼吸機能への影響に関する試験において、アンブリセンタンの 20 mg/kg/日を生後 7 日から生後 20、27 又は 36 日まで経口投与した。試験 11 日（生後 17 日）以降、異常呼吸音（呼吸周期と明らかに同調した呼吸休止を伴うクリック音）がみられ、投与期間終了時の生後 20、27 又は 36 日の検査では、呼吸周期中の呼気終末休止期（無呼吸時間）の延長、低酸素血症及び脳重量低値（雄で 5.7～7.6%、雌で 1.3～2%）が認められた。鼻咽頭部の病理組織学的検査では、鼻腔に軽微～軽度な炎症性変化がみられたが、上気道閉塞に至る程度ではなく、その他に投薬に関連した変化は認められなかった。この試験の結果を踏まえて実施した次の呼吸機能への影響に関する試験（回復性の検討を含む）では、アンブリセンタンの 20 mg/kg/日を生後 7～26 日に経口投与した。試験 5 日（生後 11 日）からクリック音がみられ、試験 11 日（生後 17 日）以降、投与期間終了時まで全例で観察されたが、投与期間終了約 3 週間後ではいずれの動物においても観察されなかった。投与期間終了時（生後 26 日）及び休薬 2 日後（生後 28 日）の検査では、低酸素血症、高炭酸ガス症、呼気終末休止期（無呼吸時間）の延長及び最大呼気流量の増加がみられたが、休薬 1 ヵ月後（生後 54 日）には消失した。脳重量の変化は投与期間終了時にはみられなかったが、休薬 2 日後（生後 28 日）及び休薬 1 ヵ月後（生後 54 日）に低値［雄で 2.7%（生後 54 日）、雌で 1.9 及び 2.9%（それぞれ生後 28 及び 54 日）］が認められた。神経行動学的検査、脳組

織の低酸素応答遺伝子の発現解析及び脳・咽頭・喉頭部（喉頭蓋を含む）の病理組織学的検査において、投薬に関連した変化は認められなかった。

上述した毒性試験において、アンブリセンタンを投与した幼若ラットで脳重量の低値がみられたが、脳の組織学的変化は認められなかった。げっ歯類では、幼若期（生後 2 日以降の脳が急速に発達する重要な期間）に低酸素条件下で飼育した場合、脳重量が低値を示すことが報告されている[Ment, 1998; Farahani, 2008]。フォローアップ試験では、生後 20～36 日の検査で低酸素血症が認められている。これらのことから、脳重量低値については、同時に観察された低酸素血症によるものと考えられる。フォローアップ試験で実施した上気道の病理組織学的検査では、鼻腔に軽微～軽度な炎症性変化がみられたが、上気道閉塞に至る程度ではなく、その他に投薬に関連した変化は認められなかった。下気道（肺・気管）の病理組織学的検査については、これらのフォローアップ試験では実施していないが、8 週間反復経口投与毒性試験において異常は認められなかった。このように、生後 20 日以降に観察された低酸素血症に関連する呼吸器の組織学的変化は認められなかった。一方、フォローアップ試験では、低酸素血症が投与期間終了時及び短期休薬期間終了時に観察され、同時期にクリック音及び無呼吸時間の延長も認められた。これらの所見はいずれも長期休薬期間終了時には消失した。これらのことから、低酸素血症についてはクリック音及び無呼吸に関連した変化と考えられる。フォローアップ試験において、これらの呼吸異常と関連すると考えられる組織学的変化は認められなかったが、クリック音についてはヒト小児において軟口蓋筋の異常な運動に関連していることが報告されている[Schwartz, 2012]。アンブリセンタンは、他の ET_A 受容体阻害薬と同様、ラットの胚・胎児発生試験において軟口蓋、硬口蓋、下顎等の頭頸部の形態形成異常を引き起こす（1.13.1.3.）ことから、これらの組織に作用する可能性が示唆される。また、ラットでは軟口蓋の発達は生後 6～8 週まで継続し[Srivastava, 1979]、上記の試験における投与時期（生後 7～最長 36 日）はこの時期と一致している。これらのことから、クリック音及び無呼吸時間の延長については、アンブリセンタンが呼吸時の軟口蓋及び喉頭蓋の機能的連動を障害し、各呼吸周期における上気道の断続的な閉鎖を引き起こしたことによるものと推察される。アンブリセンタンを生後 63 日まで投与した 8 週間反復経口投与毒性試験では、10 及び 20 mg/kg/日群で試験 6～7 日以降に呼吸雑音が認められ、大部分の動物で試験 33 日まで観察されたが、それ以降は投与期間中にもかかわらず、いずれの群でも発現例数は減少し、投与期間終了時では数例でのみ確認された。このことから、本所見は永続的な変化ではなく、成長に伴い消失することが示唆される。

ヒト乳幼児期では、上気道の構造が解剖学的にげっ歯類及び他の哺乳類と類似しており、軟口蓋と喉頭蓋が接近し、食道と気道を分離することで哺乳と呼吸を同時に行うことができる。ヒトでは、成長に伴い舌骨及び喉頭が下降し始め、喉頭下降は生後 3 年には完了する。そのため、その後は、乳幼児期のように軟口蓋と喉頭蓋が近接し相互作用することはない[Laitman, 1993; Barsh, 1999]。また、ヒトでは生後急速に脳が発達し、約 2～3 歳までに脳重量は成人の約 90～95%に達する[Semple, 2013]。これらのことから、本承認申請の対象である 8 歳以上の小児患者において、幼若ラットで観察されたような呼吸障害及び脳重量低値が生じるリスクは極めて低いと考えられる。

以上のように、幼若動物の 8 週間反復経口投与毒性試験における無毒性量での曝露量は、小児患者の臨床曝露量と同程度以上であった。本試験では、脳重量の低値が認められたが、本所見は軟口蓋及び喉頭蓋に対する本薬の影響により生じたこれらの部位における呼吸時の機能的連動障害と、それに関連した上気道の断続的な閉塞に伴う無呼吸時間の延長並びに低酸素血症によるものと考えられる。喉頭下降が未完で咽喉頭部の発達が完了していない乳幼児（0～3 歳）では、幼若ラットと同様、呼吸障害及び低酸素血症により、脳重量への影響が発現する可能性は否定できない。しかしながら、喉頭下降が完了する 4 歳以上では、軟口蓋及び喉頭蓋は近接しておらず、本申請の対象年齢である 8 歳以上の小児患者において、これらの所見が発現するリスクは極めて低いと考えられる。

表 2.4.4-1　アンブリセンタンの経口投与時の動物／ヒト曝露量比

試験の種類	投与量 (mg/kg/日)	性	Cmax (μg/mL)		AUC (μg.h/mL)		動物／ヒト曝露量比			
							Cmax		AUC	
			Day 1	Week 8	Day 1	Week 8	Day1	Week 8	Day1	Week 8
8 週間投与試験 (2012N143182)	4 (NOAEL)	M	2.42	2.90	18.4	7.91	2.5	3.0	2.0	0.9
		F	2.59	3.72	24.4	9.70	2.6	3.8	2.7	1.1
		MF	2.50	3.31	21.4	8.81	2.6	3.4	2.3	1.0
	10	M	7.14	7.94	57.2	21.9	7.3	8.1	6.3	2.4
		F	6.08	3.87	47.8	8.92	6.2	3.9	5.2	1.0
		MF	6.61	5.91	52.5	15.4	6.7	6.0	5.7	1.7
	20	M	11.8	11.5	96.6	43.4	12.0	11.7	10.6	4.7
		F	11.2	13.7	81.9	26.9	11.4	14.0	9.0	2.9
		MF	11.5	12.6	89.3	35.1	11.7	12.8	9.8	3.8
ヒト小児 [a]	高用量 (5-10 mg)	-	0.981		9.15		NA		NA	

M＝ 雄、F＝ 雌、MF＝ 雌雄合算平均値、NA＝ 該当せず、Day1＝生後 7 日
a＝8 歳以上 18 歳未満の小児 PAH 患者を対象とした AMB112529 試験で得られた成績をもとにした推定値（2.7.2.3.1.2.2.）

2.4.4.6.　局所刺激性

新たな試験は実施していないことから、該当しない。

2.4.4.7.　その他の毒性試験

新たな試験は実施していないことから、該当しない。

2.4.5.　総括及び結論

本承認申請は、8 歳以上の小児における肺動脈性肺高血圧症に対するアンブリセンタンの用量追加に係る製造販売承認事項一部変更承認申請である。本申請に際して、肝取込み・排出トランスポーターへの影響並びに幼若ラットにおける TK 及び毒性について評価した。

幼若ラットにアンブリセンタンを反復経口投与（生後 7～62 日）したときの曝露量は、おおむね用量に比例して増加し、同程度の用量を投与したときの成獣の曝露量とおおむね同程度であった。アンブリセンタン（最高濃度 100 μM）は、BSEP、BCRP、P-gp 及び MRP2 を阻害しなかった。一方、アンブリセンタンは、OATP1B1、OATP1B3 及び NTCP を阻害した

が、これらの IC50 は小児 PAH 患者の推定血漿中非結合形濃度を大きく上回る（約 1500 倍以上）ことから、アンブリセンタンがこれらのトランスポーターを介して臨床的意義のある薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

アンブリセンタンを生後 7 日の幼若ラットに 8 週間経口投与した結果、主要所見として異常呼吸音、鼻腔への悪影響及び脳重量低値がみられ、フォローアップ試験として実施した呼吸機能への影響に関する試験では、更に低酸素血症及び無呼吸時間の延長も認められた。8 週間反復経口投与毒性試験における無毒性量は 4 mg/kg/日と推定され、このときの曝露量は小児患者の臨床曝露量と同程度以上であった。幼若ラットにおいて認められた脳重量の低値は、幼若期のみ解剖学的に近接する軟口蓋及び喉頭蓋に対する本薬の影響により生じたこれらの部位における呼吸時の機能的連動障害と、それに関連した上気道の断続的な閉塞に伴う無呼吸時間の延長並びに低酸素血症によるものと考えられる。喉頭下降が未完で咽喉頭部の発達が完了していない乳幼児（0〜3 歳）では、幼若ラットと同様、呼吸障害及び低酸素血症により、脳重量への影響が発現する可能性は否定できないが、喉頭下降が完了する 4 歳以上では、軟口蓋及び喉頭蓋は近接していないため、本申請の対象年齢である 8 歳以上の小児患者において、これらの所見が発現するリスクは極めて低いと考えられる。

以上より、アンブリセンタンを予定用法・用量で 8 歳以上の小児 PAH 患者に投与することにより、危惧すべき作用が発現する可能性は極めて低いと考えられる。

2.4.6. 参考文献

Barsh LI. The Origin of Pharyngeal Obstruction during Sleep. Sleep Breath. 1999;3:17-22.

Farahani R, Kanaan A, Gavrialov O, et al. Differential Effects of Chronic Intermittent and Chronic Constant Hypoxia on Postnatal Growth and Development. Pediatr Pulmonol. 2008;43(1):20-8.

Laitman JT, Reidenberg JS. Specializations of the human upper respiratory and upper digestive systems as seen through comparative and developmental anatomy. Dysphagia. 1993;8:318-25.

Ment LR, Schwartz M, Makuch RW, et al. Association of chronic sublethal hypoxia with ventriculomegaly in the developing rat brain. Brain Res Dev Brain Res. 1998;111(2):197-203.

Schwartz RH, Bahadori RS, myseros JS. Loud Clicking Sounds Associated With Rapid Soft Palate Muscle Contractions. Pediatr Emerg Care. 2012;28(2):158-9.

Semple BD, Blomgren K, Gimlin K, et al. Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. Prog Neurobiol. 2013;106-107:1-16.

Srivastava HC, Vyas DC. Postnatal development of rat soft palate. J Anat. 1979;128(1):97-105.

日本循環器学会. 肺高血圧症治療ガイドライン（2017 年改訂版）. Available at URL (2020.9.25): https://www.j-circ.or.jp/cms/wp-content/uploads/2020/02/JCS2017_fukuda_h.pdf. 2019 Jul 6:.