2.4 非臨床試験の概括評価

目　次

目　次 2
表 一 覧 3
図 一 覧 3
略号一覧 5
1 緒言 7
2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性 8
3 薬理試験 8
3.1 効力を裏付ける試験 9
3.1.1 CYP11B1 及び CYP11B2 に対する *in vitro* 阻害活性 9
3.1.2 *In vivo* 薬理活性 9
3.2 副次的薬理試験 10
3.3 安全性薬理試験 12
3.3.1 LCI699 及び SOM230 の併用投与試験（心血管系への影響に関する試験） 14
3.4 薬力学的薬物相互作用試験 14
4 薬物動態試験 14
4.1 分析法 14
4.2 吸収及び生物学的利用性 15
4.3 分布（蛋白結合を含む） 15
4.4 妊娠及び授乳動物 16
4.5 代謝 16
4.6 排泄 17
4.7 薬物動態学的薬物相互作用 18
4.8 トキシコキネティクス 18
5 毒性試験 18
5.1 単回投与毒性試験 18
5.2 反復投与毒性試験 19
5.2.1 マウスを用いた試験 20
5.2.2 ラットを用いた試験 20
5.2.3 イヌを用いた試験 22
5.2.4 反復投与毒性試験の標的器官 23
5.3 遺伝毒性試験 24
5.4 がん原性試験 25
5.5 生殖発生毒性試験 26
5.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 26

5.5.2 胚・胎児発生に関する試験 26
5.5.3 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 27
5.5.4 幼若動物における毒性 27
5.6 局所刺激性試験 28
5.6.1 皮膚一次刺激性試験 28
5.7 その他の毒性試験 28
5.7.1 光毒性試験 28
5.7.2 皮膚感作性試験 29
5.7.3 毒性の発現機序に関する検討試験（肝臓及び甲状腺） 29
5.7.4 不純物及び分解生成物 30
5.8 全身曝露量の比較 31
6 安全性の総合評価 33
7 総括及び結論 37
8 参考文献 39

表一覧

Table 3-1 *In vitro* 安全性薬理試験 12
Table 3-2 *In vivo* 安全性薬理試験 12
Table 5-1 単回投与毒性試験 19
Table 5-2 反復投与毒性試験 19
Table 5-3 遺伝毒性試験 24
Table 5-4 がん原性試験 25
Table 5-5 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 26
Table 5-6 胚・胎児発生に関する試験 27
Table 5-7 出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 27
Table 5-8 幼若ラットを用いた毒性試験 28
Table 5-9 反復投与毒性試験の無毒性量，最小毒性量とヒト臨床用量（30 mg 1 日 2 回投与）における曝露量の比較 32
Table 5-10 がん原性試験とヒト臨床用量（30 mg 1 日 2 回投与）における曝露量の比較 32
Table 5-11 生殖発生毒性試験の無毒性量，最小毒性量とヒト臨床用量（30 mg 1 日 2 回投与）における曝露量の比較 33

図一覧

Figure 1-1 オシロドロスタット（LCI699）の構造式 7

Figure 4-1 マウス，ラット，イヌ及びヒトにおける osilodrostat の推定 *in vivo* 代謝経路 17

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ACTH	adrenocorticotropic hormone	副腎皮質刺激ホルモン
ADME	absorption, distribution, metabolism and excretion	吸収・分布・代謝・排泄
AhR	aryl hydrocarbon receptor	芳香族炭化水素受容体
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
APD60	action potential duration 60	60%再分極するまでの活動電位持続時間
AUC	area under the drug plasma (blood) concentration-time curve	血漿（血液）中薬物濃度-時間曲線下面積
AUC0-t	area under the drug plasma (blood) concentration-time curve (time 0 to t)	血漿（血液）中薬物濃度-時間曲線下面積（時間 0～t）
CAR	constitutive androstane receptor	構成的アンドロスタン受容体
CNS	central nervous system	中枢神経系
Cmax	maximal drug plasma (blood) concentration	最高血漿（血液）中薬物濃度
CS	Cushing’s syndrome	クッシング症候群
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
CYP11B1	11β-hydroxylase	11β-水酸化酵素
CYP11B2	aldosterone synthase	アルドステロン合成酵素
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
EC50	half maximal (50%) effective concentration	50%有効濃度
ECG	electrocardiogram	心電図
ED50	half maximal (50%) effective dose	50%有効量
EFD	embryonic and fetal development study	胚・胎児発生に関する試験
FEED	fertility and early embryonic development study	受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験
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
HEK	Human Embryonic Kidney	ヒト胎児由来の腎
hERG	human ether-à-go-go related gene	ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャンネル遺伝子
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
ICH	International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for human use	医薬品規制調和国際会議
IC50	half maximal (50%) inhibitory concentration	50%阻害濃度
LC-MS	liquid chromatography-mass spectrometry	液体クロマトグラフィー質量分析
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析
LD50	lethal dose 50%	50%致死量
LLNA	local lymph node assay	局所リンパ節測定法
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
LOAEL	lowest observed adverse effect level	最小毒性量
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
NOEL	no observed effect level	無作用量
NSVT	non-sustained ventricular tachycardia	非持続性心室頻拍
PBS	phosphate buffered saline	リン酸緩衝生理食塩液
PPAR	peroxisome proliferator-activated receptor	ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体
PXR	pregnane x receptor	プレグナン X 受容体
PPND	pre and postnatal development study	出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験
PR	PR interval	PR 間隔
PVC	premature ventricular complex	心室性期外収縮
QRS	QRS interval	QRS 間隔
QT	QT interval	QT 間隔
QTc	QTc interval corrected for heart rate	心拍数補正 QT 間隔
QWBA	quantitative whole body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
SOM230	somatostatin analogue	ソマトスタチンアナログ
T1/2	elimination half life	消失半減期
TdP	torsade de pointes	トルサード　ド　ポワント
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
Tmax	time to reach the maximum drug plasma concentration following drug administration	最高血漿中薬物濃度到達時間
TSH	thyroid-stimulating hormone	甲状腺刺激ホルモン
UDP-GT	uridine 5' – diphosphate glucuronic acid transferase	UDP-グルクロン酸転移酵素
UV	ultraviolet	紫外線
UV-A	ultraviolet-A	紫外線 A 領域
UV-B	ultraviolet-B	紫外線 B 領域

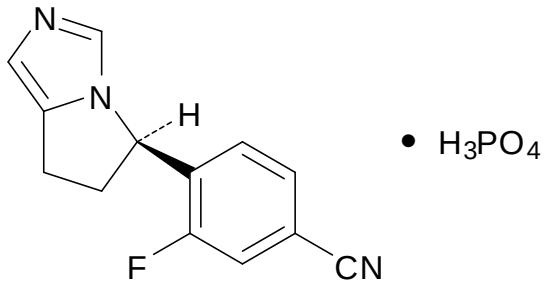
1 緒言

オシロドロスタット（LCI699）（Figure 1-1）はコルチゾール生合成の最終段階を触媒するCYP11B1（11β-水酸化酵素）の強力な阻害剤であり，クッシング症候群（CS）の適応取得を目的とし開発が進められた。ヒト副腎皮質において，CYP11B1 は 11-デオキシコルチゾールからコルチゾールへの変換を触媒する。LCI699 は CYP11B1 を阻害することによりコルチゾール合成抑制作用を示し，高コルチゾール血症を是正することで CS に対し治療効果を示すと考えられる。また，LCI699 は CYP11B1 と相同性が高い CYP11B2（アルドステロン合成酵素）に対し阻害作用を有し，11-デオキシコルチコステロンからアルドステロンへの変換を抑制する。そのため，当初，高血圧及び高アルドステロン症の治療薬として LCI699 の開発が開始されたが，その後中止された。

一連の非臨床薬理試験成績から，LCI699 は遺伝子組み換えヒト CYP11B1 酵素活性を強力に阻害することが示された。LCI699 の CYP11B1 阻害を介したコルチゾール合成抑制作用（ラットにおいてはコルチコステロン合成抑制作用）は動物種によって異なることが示唆され，その効力はヒトにおいて最も高く，サル及びラットでは低いと考えられた。そのため，LCI699 の非臨床薬理試験は限られた試験しか実施していない。

本薬はフィルムコーティング錠として製剤開発された。オシロドロスタットとして 1 mg 及び 5 mg を含有する 2 製剤を市販予定製剤として本承認申請を行う。

Figure 1-1 オシロドロスタット（LCI699）の構造式



一般名：オシロドロスタットリン酸塩（Osilodrostat Phosphate）
化学名：4-[(5*R*)-6,7-Dihydro-5*H*-pyrrolo[1,2-*c*]imidazol-5-yl]-3-fluorobenzonitrile monophosphate
分子式：$C_{13}H_{10}FN_3 \cdot H_3PO_4$
分子量：325.23（リン酸塩）
本薬は一つの不斉中心を持ち，*R*-エナンチオマーの単一異性体である

LCI699 の CS を対象とした臨床試験においてその有効性並びに安全性が認められており，「クッシング症候群」を効能又は効果として本承認申請を行う。なお，承認審査過程における医薬品医療機器総合機構との協議を踏まえ，効能又は効果は「クッシング症候群（外科的処置で効果が不十分又は施行が困難な場合）」に変更された。本概括評価では，LCI699 の薬理試験，薬物動

態試験及び毒性試験の結果から，非臨床における有効性及び安全性を総合的に評価し，以下に記載した。

2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性

LCI699 の非臨床試験（薬理試験，薬物動態試験及び毒性試験）は，ノバルティス社及びノバルティス社と契約した受託研究機関の試験施設で実施した。なお，本書では特別に記載した場合を除き，LCI699 の用量及び濃度は遊離塩基に換算した値を示す。

効力を裏付ける試験として，遺伝子組み換え CYP11B1 を発現させた細胞及び副腎ホモジネートを用いてヒト，ラット又はサル CYP11B1 に対する阻害活性を検討し，ラット及びサルを用いた *in vivo* の検討においてコルチコステロン／コルチゾール合成抑制作用を評価した。なお，LCI699 の CYP11B2 及びアルドステロン生合成に対する作用も同時に検討した。

副次的薬理試験では，LCI699 の CYP11B2 阻害活性及びアルドステロン合成抑制作用を評価し，高血圧モデルラットに対する治療効果を公表文献に基づいて評価したほか，LCI699 のアロマターゼ酵素活性に対する影響並びに LCI699 主要代謝物の酵素活性阻害作用について検討した。

毒性試験に用いた動物種（マウス，ラット，ウサギ及びイヌ）は LCI699 及びその主要代謝物に十分に曝露されたことから，供試動物種としての妥当性が裏付けられた。ヒト血漿中に顕著に認められた代謝物［LXB168（M34.5）］については，2 種類の動物種（ラット又はマウス）で認められた。

LCI699 の非臨床安全性試験として，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験，及びその他の毒性試験（皮膚刺激性試験，皮膚感作性試験，肝毒性に関する探索的試験，光安全性試験，不純物の毒性試験）を実施した。

主要な非臨床毒性試験は，ICH M3(R2) ガイドライン（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）及びその他の安全性に関する ICH ガイドラインに従い，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。

3 薬理試験

LCI699 はコルチゾール生合成の最終段階を触媒する CYP11B1 の強力な阻害剤である。CYP11B1 は副腎皮質束状層において 11-デオキシコルチゾールからコルチゾールへの変換を触媒する。LCI699 は CYP11B1 を阻害することによりコルチゾール合成抑制作用を示し，高コルチゾール血症を是正することで CS に対し治療効果を示すと考えられる。

CS は慢性的なコルチゾール過剰状態（高コルチゾール血症）によって多様な身体的症状を呈する病態の総称である。CS の病型は，副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）の自律的な過剰分泌による ACTH 依存性 CS と，副腎皮質からのコルチゾールの自律的な過剰分泌による ACTH 非依存性 CS に大別される。いずれの病型においても，ACTH による副腎皮質への刺激若しくは副腎皮質

の機能亢進により副腎皮質からコルチゾールが過剰に分泌され，高コルチゾール血症をきたす。CS の患者ではコルチゾールの生理作用に基づき，満月様顔貌，中心性肥満又は水牛様脂肪沈着，伸展性赤紫皮膚線条，皮膚の菲薄化及び皮下溢血，近位筋萎縮による筋力低下，小児では肥満を伴った成長遅延といった特異的症状が認められるほか，高血圧，浮腫，月経異常，耐糖能異常，骨粗鬆症，易感染症，精神異常，色素沈着，ざ瘡及び多毛等の非特異的症状がみられる。これらの身体的，精神的変化は患者の生活の質を低下させるのみならず，予後に重大な影響を及ぼすため，CS ではコルチゾール濃度を正常化させることが第一の治療目標である（2.5-1.1 項）。LCI699 は CYB11B1 を阻害しコルチゾール生合成を抑制することから，CS のいずれの病型に対してもコルチゾール濃度を正常化させ治療効果を示すと考えられる。

3.1 効力を裏付ける試験

3.1.1 CYP11B1 及び CYP11B2 に対する *in vitro* 阻害活性

LCI699 はチャイニーズハムスター肺細胞（V79-4）に発現させた遺伝子組み換えヒト CYP11B1 及び CYP11B2 に対し阻害活性を示し，その 50%阻害濃度（IC50）値はそれぞれ 2.5 nM（Table 2.6.3.1-RD-2007-51927）及び 0.7 nM（Table 2.6.3.1-RD-2009-50223）であった[2.6.2-2.1 項]（Menard et al. 2014）。遺伝子組み換えラット CYP11B1 並びにラット及びサル副腎ホモジネートにおける LCI699 の CYP11B1 阻害活性を検討した結果，IC50 値はそれぞれ 410 nM / 3045 nM（遺伝子組み換えラット CYP11B1／副腎ホモジネート）及び 62 nM（サル副腎ホモジネート）であった[2.6.2-2.1 項]（Menard et al. 2014）。

これらのことから，LCI699 の CYP11B1 阻害活性はヒトにおいて最も高く，次いでサル，ラットの順に阻害活性を示すと考えられた。

3.1.2 *In vivo* 薬理活性

LCI699 はコルチゾール生合成の最終段階を触媒する CYP11B1 及びアルドステロン生合成を触媒する CYP11B2 を阻害することから，ヒト及びサルにおいてコルチゾール及びアルドステロンの血漿中濃度を測定することにより，その作用を評価できる。ACTH 及びアンジオテンシン II は副腎刺激作用を有し，投与後速やかにコルチゾール及びアルドステロン生合成を誘導することから，これらの負荷試験が副腎機能の評価に用いられている。一方で，ラット及びマウス等の副腎ではコルチゾール前駆体（17-OH プレグネノロン及び 17-OH プロゲステロン）生合成を触媒する CYP17α 活性が低い（Ahmed et al. 2019）。これらの動物種ではグルココルチコイドとしてコルチコステロンが最終生成物であり，CYP11B1 の触媒により 11-デオキシコルチコステロンからコルチコステロンが生成する。そのため，ラットを用いた負荷試験ではコルチゾールの代わりにコルチコステロンを測定した。

ラットに LCI699 を単回投与［0.1~3 mg/kg（経口），0.3 mg/kg（経動脈）］したところ，アンジオテンシン II 負荷により上昇した血漿中アルドステロン濃度を低下させた。作用は用量依存的

であり，50%有効量（ED50）値は 0.6 mg/kg で 50%有効濃度（EC50）値は 127 nM であった（Table 2.6.3.1-RD-2006-50315）。また同様の検討において，LCI699 は ACTH 負荷により上昇した血漿中コルチコステロン濃度を低下させ，その ED50 値は 73 mg/kg であり EC50 値は 36 µM であった（Menard et al. 2014）。

カニクイザルに LCI699 を単回経口投与（5～150 µg/kg）したところ，ACTH 負荷により誘導される血漿中アルドステロン濃度上昇を抑制した。作用は用量依存的であり，血漿中アルドステロン濃度の最大値は 150 µg/kg 群において溶媒投与時と比較して 90%低下した。しかしながら，血漿中コルチゾール濃度への影響は認められなかった（Table 2.6.3.1-RD-2010-50210）。

カニクイザルを用いた同様の検討において，LCI699（0.003～10 mg/kg，経口又は静脈内投与）を投与し血漿中における LCI699 濃度とアルドステロン及びコルチゾール濃度との相関を評価した結果，アルドステロン合成抑制作用に対する LCI699 の EC50 値は 4.9 nM であった。一方，コルチゾール合成抑制作用の EC50 値は 1500 nM であった（Weldon et al. 2016）。

以上，遺伝子組み換え CYP11B1 又は CYP11B2 を発現させた細胞を用いた *in vitro* の検討において，LCI699 のヒト CYP11B1 阻害活性はヒト CYP11B2 と比較して 1/3 程度であったものの，その IC50 値は 2.5 nM であり，CYP11B1 に対する強い阻害活性が認められた。また，CYP11B1 阻害活性におけるヒトとラットでの IC50 値の比較では，LCI699 はヒトにおいてより強力な阻害作用を示し，遺伝子組み換えラット CYP11B1 での IC50 値の比較では 164 倍，ラット副腎ホモジネートでの比較では 1218 倍の阻害活性を示した。ラット及びサルを用いた *in vivo* の検討では，LCI699 のコルチコステロン／コルチゾール生合成に対する抑制作用は弱いことが明らかとなった。なお，一連の臨床試験成績では LCI699 の優れたコルチゾール合成抑制作用が認められている。これらのことから，LCI699 の CYP11B1 阻害を介したコルチゾール合成抑制作用は動物種によって異なることが示唆され，ヒトにおいて最も高い効力を示すと考えられた。

3.2 副次的薬理試験

副次的薬理試験として，LCI699 の CYP11B2 阻害活性並びにアルドステロン生合成に対する抑制作用，アロマターゼ酵素活性に対する影響及び LCI699 主要代謝物の酵素活性阻害作用について検討した。

アルドステロン生合成を触媒する CYP11B2 は CYP11B1 と高い相同性を有し，LCI699 は CYP11B2 酵素活性を阻害する（3.1 項）。*In vitro* の検討において LCI699 は遺伝子組み換えヒト CYP11B2 に対し阻害活性を示し（IC50 値 0.7 nM）（Table 2.6.3.1-RD-2009-50223），ヒト副腎皮質癌由来細胞株（NCI-H295R）においてアルドステロン合成を抑制した（IC50 値 17 nM）（Table 2.6.3.1-RD-2005-51167）。

ヒトレニン並びにヒトアンジオテンシノーゲンを遺伝子導入させたラットから作成した高血圧モデルラット（Bohlender et al. 1997）を用いて LCI699 のアルドステロン合成抑制作用による治療効果を検討した。本モデルラットではレニン及びアンジオテンシノーゲンの過剰発現によりレニ

ン-アンジオテンシン-アルドステロン系が亢進し，アルドステロンの過剰分泌に伴い，致死的な重症高血圧を発症する。ラットに LCI699 を投与（10～100 mg/kg/日，経口）した結果，血漿中アルドステロン濃度及び尿中アルドステロン量が LCI699 非投与の対照群に比べ有意に減少した。また，心肥大の軽減，心拡張／収縮機能障害の軽減及びタンパク尿改善といった心腎機能障害が改善し，生存期間の有意な延長が認められた（Menard et al. 2014）。このことから，アルドステロン過剰分泌に伴う心血管系の疾患に対し LCI699 はアルドステロン生合成を抑制することにより循環アルドステロン量を是正し治療効果を示すことが示唆された。なお，CS は副腎機能が異常に亢進しコルチゾールが過剰に分泌することにより発症する疾患であり，CYP11B1 酵素活性が亢進している（3 項）。この病態においては LCI699 によるアルドステロン合成阻害作用の臨床的意義は低いと考えられる。CS 及びクッシング病を対象とした臨床試験において，LCI699 の投与により血漿中アルドステロン濃度の低下が認められるとともに，アルドステロン前駆体（11-デオキシコルチコステロン）の上昇が認められた（2.5-5.6.3.1 項）。これに関連して「副腎ホルモン前駆体蓄積関連事象」の有害事象が認められたものの，概ね治験薬の休薬又は用量調節，処置等により管理可能であった（2.5-5.5.3 項）。

卵巣ホルモンであるエストロン及びエストラジオールはアルドステロン及びコルチゾールと同様にコレステロールから生合成され，卵巣においてアンドロステンジオン又はテストステロンからアロマターゼの触媒により合成される（2.6.2-Figure 2-1）。乳癌等のホルモン療法において臨床使用されているアロマターゼ阻害薬のうち，早期に開発された薬剤（ファドロゾール等）は CYP11B1 及び CYP11B2 阻害作用を示すことが知られている（Meredith et al. 2013）。そのため，LCI699 もアロマターゼに対し作用を示す可能性が考えられることから，LCI699 のヒトアロマターゼの酵素活性に対する影響を検討した。その結果，LCI699 のヒトアロマターゼに対する阻害活性は弱く（IC50 値 1.7 µM）（Table 2.6.3.1-RD-2007-51924），ヒト CYP11B1 阻害活性（IC50 値 2.5 nM）と比べ 1/680 以下であった。

LCI699 の主要代謝物である LXB168（M34.5），LWP114（M16.5）及び LFD085（M24.9）について CYP11B1，CYP11B2 及びアロマターゼの酵素活性に対する影響を検討した（Table 2.6.3.1-RD-2014-00299，RD-2014-00365，RD-2014-00354）（4.5 項）。ヒト血漿中に最も多く存在する循環代謝物である LXB168 はいずれの酵素に対しても阻害作用は認められなかった。また，これらの酵素に対する LWP114 の阻害作用（IC50 値 ≥2.4 µM）は LCI699 と比べて弱かった。LFD085 ではアロマターゼ（IC50 値 1.8 µM）に対する阻害作用は弱く，CYP11B1（IC50 値 40 nM），CYP11B2（IC50 値 7.0 nM）に対する阻害作用が認められたが，いずれの作用も LCI699 と比べ弱かった（LCI699 IC50 値 ≤2.5 nM）。ヒトに ^{14}C 標識 LCI699 を経口投与したときの LWP114 及び LFD085 の血漿中総放射能の 0 時間から 48 時間までの曲線下面積（AUC0-48h）に対する平均寄与率は低かったことから（≤9.4%，C2101 試験）（2.7.2-3.1.4 項），これら代謝物が LCI699 の薬理効果に与える影響は小さいと考えられる。

3.3 安全性薬理試験

LCI699 のオフターゲット活性，中枢神経系（CNS），心血管系及び呼吸系への影響を検討した。

Table 3-1 *In vitro* 安全性薬理試験

試験の種類	試験系	用量／濃度	特記事項
オフターゲット活性	*In vitro*	10 µM まで	ヒスタミン-1 受容体結合アッセイ（IC50 = 10 µM）。検討したその他のいずれの標的に対しても明らかな活性なし
hERG チャネル	HEK293 細胞	1，10，30，100，330 µM	IC50 = 54 µM
hERG チャネル	HEK293 細胞	0.1，0.3，1，3，10，30，100 µM	hERG 阻害作用なし
哺乳類細胞におけるクローン化イオンチャネル	哺乳類細胞（HEK293 又は CHO 細胞）	10，100 µM（Kir6.2/SUR2A 及び hKvLQT1/hminK は 30 及び 300 µM を追加）	Kir6.2/SUR2A 及び hKvLQT1/hminK に対する IC50 値はそれぞれ 103.6 及び 95.0 µM。その他のチャネルに対しては明らかな阻害作用なし
ウサギ摘出心臓	*In vitro*	0.1，0.3，1，3，10 µM	10 µM で APD60 延長に伴う不整脈誘発作用の変化
ウサギ摘出心室切片	*In vitro*	0.4，1.4，4.3，14.3，42.9 µM SOM230：0.1，0.3，1，3，10 µM 種々の濃度の LCI699 と 0.1 及び 0.3 µM の SOM230 又は 0.1 µM の SOM230 並びに 60，200 及び 400 mg/dL のグルコースとの併用	42.9 µM の LCI699 と 0.3 µM の SOM230 との併用による催不整脈作用

Source：[Table 2.6.3.4-RD-2013-50304]，[Table 2.6.3.4-0616814]，[Table 2.6.3.4-1370701]，[Table 2.6.3.4-1370651]，[Table 2.6.3.4-0518535]，[Table 2.6.3.4-1570263-01]

Table 3-2 *In vivo* 安全性薬理試験

試験の種類	試験系	投与経路	用量（mg/kg）	特記事項
CNS	Wistar 系ラット	経口・単回	0，0.5，1，5	CNS に対する影響は認められなかった
呼吸系	Wistar 系ラット	経口・単回	0，1.5，5	呼吸系に対する影響は認められなかった
心血管系	ビーグル犬	経口・単回	0，7.5	心血管系に対する影響は認められなかった
	ビーグル犬	経口・単回	0，0.5，1.5，5	心血管系に対する影響は認められなかった

試験の種類	試験系	投与経路	用量（mg/kg）	特記事項
	カニクイザル	LCI699：経口・単回 SOM230：皮下・単回	LCI699：0，10，30 SOM230：0，1.6	30/1.6 mg/kg LCI699／SOM230：LCI699 単独投与（30 mg/kg）と比較して QTc 間隔延長の程度が大きく，持続時間が長かった
	カニクイザル	LCI699：経口・単回 SOM230：皮下・単回	LCI699：0，30 SOM230：0，0.129，0.517，2.07	30 mg/kg：QTc 間隔の延長（SOM230 との併用効果なし），動脈圧の上昇（最大 26%）
	カニクイザル	経口・2 週間	0，10，30	10，30 mg/kg：QTc 間隔の延長（対照群に比べて約 11%～29%）
	カニクイザル	経口・単回	0，10，30，100（2～3 日間の休薬期間をおいて用量漸増単回投与）	30 mg/kg 以上：QTc 間隔延長（ベースラインに比べて 15%～39%） 100 mg/kg：雄 1 例で一般状態の重篤な変化，PR 及び QRS 間隔の変化，P 波の変化並びに異常な心室伝導；別の雄 1 例で PVC，NSVT 及び TdP（回復性あり）

Source：[Table 2.6.3.4–0680190]，[Table 2.6.3.4–0680191]，[Table 2.6.3.4–0570242]，[Table 2.6.3.4–0680192]，[Table 2.6.3.4–1270320]，[Table 2.6.3.4–1270612]，[Table 2.6.3.4–1270713]，[Table 2.6.3.4–1570261]

オフターゲットに関する安全性薬理試験において，GPCR，イオンチャネル，トランスポーター及び酵素を含む一連の 66 種類の結合アッセイで LCI699 のオフターゲットスクリーニングを実施した結果，ヒスタミン-1 受容体に阻害活性（64%阻害，IC50 = 10 µM，Ki = 7.1 µM）を示した。ヒスタミン-1 受容体阻害作用は CNS でアゴニスト活性又はアンタゴニスト活性に関与する可能性があるため，この阻害の毒性学的意義は不明であった[2.6.2-4.1 項]。一方，ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験では，高用量群で CNS に関連した一般状態の変化が認められた。本薬投与に関連した一般状態の変化として，攻撃的行動，接触過敏反応及び自発運動の亢進が認められ，イヌが最も感度が高く，次いでマウス，ラットの順であった。これらの変化は，13 週間反復投与毒性試験の 10 mg/kg/日群の 1 例で 1 日のみにみられた限定的なものであり，イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験では認められなかった。CNS の変化は，マウスを用いた 13 週間反復投与毒性試験の 30 mg/kg/日群（高用量群）及びラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験の 50 mg/kg/日群でみられたが，ラットを用いた 4 及び 26 週間反復投与毒性試験では認められなかった [2.6.6-3.4 項] [2.6.6-3.6 項]。ラットを用いた CNS 及び呼吸系に関する試験において，5 mg/kg［臨床推定曝露量の約 10 倍の最高血漿中薬物濃度（Cmax）］までの群で CNS 及び呼吸系に影響は認められなかった[2.6.2-6 項]。

In vitro 心血管系に関する安全性薬理試験では，HEK293 細胞における hERG チャネル電流阻害への軽度の影響（IC50 = 54 µM）がみられ，ウサギ摘出心臓を用いた試験において 10 µM で APD60 延長に伴う不整脈誘発作用が認められた。イヌを用いた心血管系に関する試験では，LCI699 を 7.5 mg/kg までの用量で単回投与した結果，心血管系への影響は認められなかった。しかし，イヌを用いた 14 日間静脈内持続投与毒性試験において，50 mg/kg/日群で QRS，QT 及び

QTc 間隔の延長並びにカリウムの低下が認められた。サルを用いた 2 週間反復投与試験において，10 mg/kg 以上の群で QTc 間隔延長がみられ，用量漸増単回投与試験において 100 mg/kg 群の 1 例の雄に心室性期外収縮（PVC），非持続性心室頻拍（NSVT）及びトルサード ド ポワント（TdP）が認められた。

In vitro 及び *in vivo* 試験成績により，LCI699 は高用量で QTc 間隔延長及び TdP の発現が示唆された [2.6.2-4.2 項]。

3.3.1 LCI699 及び SOM230 の併用投与試験（心血管系への影響に関する試験）

LCI699 及びソマトスタチンアナログ（SOM230）の 2 剤を併用した際の安全性を評価した。LCI699，SOM230 及び／又はグルコース併用の影響を検討するため，ウサギ摘出心室切片標本を用いた試験を実施した。LCI699 投与による用量依存的な QTc 延長が認められたが，SOM230 又はグルコース付加による増強は認められなかった。42.9 µM LCI699/0.3 µM SOM230 併用投与群では，催不整脈作用が認められた。

サルを用いた心血管系に関する試験（テレメトリー）において，30 mg/kg LCI699/1.6 mg/kg SOM230 併用投与群は，30 mg/kg LCI699 群の単剤投与に比べて，QTc 間隔が延長した。しかし，別のサルを用いた心血管系に関する試験では，併用投与の影響は再現されなかった [2.6.2-4.2 項]。

3.4 薬力学的薬物相互作用試験

実施していない。

4 薬物動態試験

マウス，ラット，ウサギ，イヌ及びサルを用いてトキシコキネティクス（TK）を評価した。ADME 試験（マウス，ラット，及びイヌ）は ^{14}C で標識した原薬（^{14}C-LCI699）を用いて実施した。毒性試験は非標識の LCI699 を用いて実施した。ラット，ウサギ及びイヌを用いた一部の試験において，LCI698（*S*-エナンチオマー，不純物）の血漿曝露量も測定した。得られたデータから，LCI699 から LCI698 へのキラル変換が生じる可能性は低いことが示された。毒性試験の動物種及びヒトにおける LCI699 の血漿蛋白結合，血液／血漿中濃度比，及び代謝を *in vitro* 試験で評価した。

代謝物 LXB168 のヒトでの *in vitro* 血漿蛋白結合率及び薬物相互作用（CYP 及びトランスポーター），並びに LCI698 のラット，ウサギ，及びイヌでの曝露量を評価した。

4.1 分析法

マウス，ラット，ウサギ，イヌ，サル及びヒトの血漿中の LCI699 濃度を，$^{15}N^{13}C^{2}H_4$-LCI699 を内部標準として LC-MS/MS を用いて定量した[2.6.4-2.3 項]。

放射能の測定は液体シンチレーションカウンターで行った。組織中の放射能濃度は定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）で測定した。

^{14}C-LCI699 を用いた ADME 試験では，オフライン又はオンラインで放射能検出器を接続した高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で代謝物濃度及び代謝パターンを評価した。代謝物の構造は，LC-MS 又は LC-MS/MS を用い，可能な限り標準品と比較して決定した[2.6.4-2.4 項]。

4.2 吸収及び生物学的利用性

ラット及びイヌに ^{14}C-LCI699 を単回経口投与したときの経口バイオアベイラビリティはそれぞれ 122%及び 117%と高かった[2.6.4-3.2 項]。個体間変動の影響及び 2 つの異なる用量（静脈内及び経口投与）よりバイオアベイラビリティを算出していることから絶対値の解釈には注意が必要であるものの，初回通過効果は小さいことが示唆された。ラット及びイヌにおいて LCI699 は速やかに吸収され，Tmax は 0.5～0.83 時間であった。血漿中 LCI699 濃度の Cmax は，ラットで 791 ng/mL，イヌで 5550 ng/mL であった。見かけの消失半減期（T1/2）は，ラットで 1.3 時間，イヌで 2.2 時間であった。

LCI699 を急速静脈内投与したときの血漿中濃度推移は 1 相性であり，T1/2 はラットで 1.5 時間，イヌで 2.2 時間であった。LCI699 の血漿クリアランスは，ラットで 1.0 L/h/kg，イヌで 0.32 L/h/kg であり，血液／血漿中濃度比を考慮し，肝血流量の文献値（Davies and Morris 1993）と比較したとき，低～中程度であった。定常状態における分布容積は，ラットで 2.3 L/kg，イヌで 1.1 L/kg であり，いずれも総体液量（Davies and Morris 1993）より大きかったことから，組織に広範に分布することが示唆された。

4.3 分布（蛋白結合を含む）

ヒトを含む検討したすべての動物種（マウス，ラット，イヌ，サル，ヒト）において，LCI699 の *in vitro* 血球移行性及び血漿蛋白結合率は，検討した 0.02～100 µg/mL の濃度範囲で濃度依存性は認められなかった[2.6.4-4.1 項]。LCI699 の濃度範囲 0.02～100 µg/mL での血液／血漿中濃度比（平均値 ± SD）は，マウスで 0.940 ± 0.110，ラットで 0.83 ± 0.11，イヌで 0.93 ± 0.11，サルで 0.94 ± 0.07，ヒトで 0.85 ± 0.07 であった。^{14}C-LCI699 の血漿蛋白結合率は検討したすべての動物種で低く（平均値の範囲は 26.6%～36.7%），マウス（31.8%），ラット（35.9%），イヌ（26.8%），サル（26.6%）及びヒト（36.7%）の間で明らかな種差は認められなかった。ラット及びヒトの血清を用いて ^{14}C-LCI699 の 0.02 及び 100 µg/mL での血清蛋白結合率を測定した結果，それぞれ 38.8%及び 30.5%（平均値）であった。

代謝物 LXB168（M34.5）について，*in vitro* でヒト蛋白結合率を評価した。LXB168 の血漿蛋白結合率は濃度範囲 0.5～50 µM で 33.8%～39.3%であり，濃度依存性は認められなかった[2.6.4-4.1 項]。

雄性有色ラット及び雄性アルビノラットにおける ^{14}C-LCI699 由来放射能の組織分布を QWBA により検討した[2.6.4-4.2 項]。ラットに ^{14}C-LCI699 を 3 mg/kg の用量で単回経口投与したとき，薬物由来放射能は速やかに広範な組織に分布し，分布容積は 2.3 L/kg であった。放射能濃度は，

白色脂肪を除き，検討したすべての組織において血液よりも高い Cmax を示し，ほとんどの組織の Tmax は投与後 1 時間であった。投与 168 時間後では，放射能の残留が認められた眼，腎臓，腺胃，肝臓，皮膚（有色ラット）及びブドウ膜を除き，血液を含むほとんどの組織で LLOQ（6.06 ng-eq/g）未満であった。Cmax 又は AUC に基づく組織／血液比が高値（9 以上）を示した組織は，ブドウ膜，皮膚（有色ラット），眼，腺胃，小腸，肝臓，及び副腎皮質であった。有色ラットのブドウ膜及び皮膚中の放射能濃度は，投与後 168 時間でアルビノラットより 11 倍以上高かったことから，放射性標識された薬物関連成分はメラニンに対して顕著な親和性を有することが示唆された。メラニンへの結合は，その T1/2 がブドウ膜で 44 時間，皮膚で 82 時間であったことから可逆的であると考えられるが，血液（13 時間）と比べて長かった。

4.4 妊娠及び授乳動物

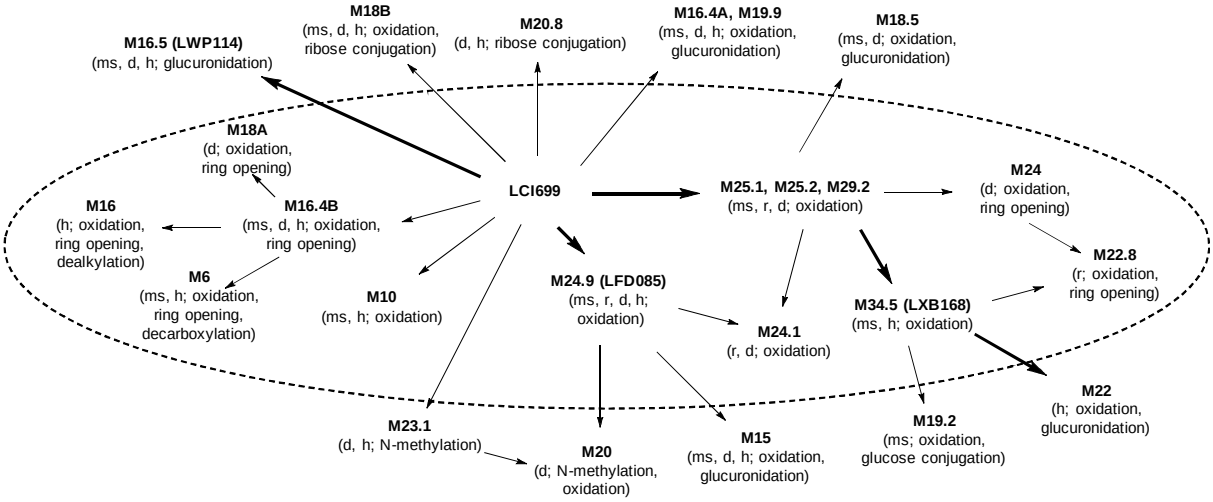
ウサギの胚・胎児発生に関する試験（EFD）において，LCI699 の胎盤通過性を検討した[2.6.4-4.4 項]。ウサギに LCI699 を 3，10，及び 30 mg/kg/日の用量で妊娠 7～20 日目に 1 日 1 回経口投与した。TK 用の動物を最終採血時点（妊娠 21 日目に相当する投与後 24 時間時点）で殺処分し，母体ごとに同腹児をプールして分析した。LCI699 はいずれの用量群の胎児においても定量できなかった（LLOQ = 5 ng/g 胎児組織）。これに対応する投与 24 時間後の母動物の血漿中濃度は，低用量群で LLOQ（1 ng/mL）未満であり，30 mg/kg/日群の高用量群でも低濃度（平均値 ± SD：1.28 ± 1.34 ng/mL）であった。したがって，胎児組織／母動物血漿濃度比は算出できなかった。

授乳ラットの乳汁中への LCI699 及び代謝物の移行に関する試験は実施していないが，LCI699 の ADME 特性に基づくと本薬は乳汁中に移行する可能性がある。

4.5 代謝

LCI699 の *in vivo* 代謝について，マウス，ラット，イヌ，及びヒトで評価した[2.6.4-5.2 項]。推定代謝経路をFigure 4-1に示す。マイナーな代謝経路には種差がみられたが，主要な代謝経路は動物種全体を通して同じであった。ヒトで検出されたすべての代謝物が動物種（ラット，イヌ，又はマウス）でも検出された。ヒト血漿中代謝物 LXB168（M34.5，ヒトの循環血中における総薬物関連成分の AUC の 10%超を占める）の曝露量に対して，毒性試験の動物種であるラット及びマウスの曝露量が超えていることを評価するため，ヒトに LCI699 50 mg を単回投与したときの曝露量と，ラット及びマウスの ADME 試験における曝露量とを比較した[2.6.4-Table 5-1]。LXB168（M34.5）のラットでの AUC 及び Cmax はヒトよりも高く（AUC 比及び Cmax 比が 1 超），マウスでの AUC 及び Cmax はヒトよりも低かった。

Figure 4-1　マウス，ラット，イヌ及びヒトにおける osilodrostat の推定 *in vivo* 代謝経路



ms：マウス，r：ラット，d：イヌ，mo：サル，h：ヒト

ヒト血漿中に最も豊富に存在する 3 種類の代謝物［酸化代謝物 M34.5（LXB168）及び M24.9（LFD085）並びにグルクロン酸抱合体 M16.5（LWP114）］について，11β-水酸化酵素，アルドステロン合成酵素及びアロマターゼに対する *in vitro* 薬理活性を測定した[2.6.4-5.2.1 項]。代謝物 M34.5 及び M16.5 の阻害活性は，すべてのアッセイにおいて LCI699 に比べ弱い又は活性を示さなかった（IC50 > 3 μM）。代謝物 M24.9 は，11β-水酸化酵素阻害活性（IC50：40 nM，LCI699 の 1/12），アルドステロン合成酵素阻害活性（IC50：7 nM，LCI699 の 1/4）及び弱いアロマターゼ阻害活性（IC50：1.8 μM）を示した。以上の活性に関する結果及び LCI699 と比較して M24.9 の曝露量が比較的小さいことから，代謝物が LCI699 の薬理作用に寄与する可能性はほとんどないと考えられる。

4.6　排泄

^{14}C-LCI699 を用いたラット，イヌ及びヒトの ADME 試験で消失及び排泄を検討した [2.6.4-6.1 項]。

ラット，イヌ及びヒトにおける主な消失経路は代謝及び尿中排泄（代謝物の排泄）であり，未変化体の腎クリアランスの寄与は小さかった。ADME 試験において，投与経路（静脈内又は経口投与）にかかわらず，総放射能の尿中排泄率（投与量%）は，ラットで約 79%，イヌで約 90%であった。ヒトにおける総放射能の尿中排泄率（投与量%）は約 90%であった。いずれの動物種及びヒトにおいても未変化体 LCI699 の排泄は少なく，尿中排泄率は約 5%～10%，糞中排泄率は 3%未満であった。

4.7 薬物動態学的薬物相互作用

ヒトにおける *in vitro* 及び *in vivo* での薬物動態学的薬物相互作用試験については，「2.7.2 臨床薬理試験」に示す。

4.8 トキシコキネティクス

マウス，ラット，ウサギ，及びイヌを用いた毒性試験の一部として経口投与後の TK を評価した[2.6.4-3.3 項]。また，ラット及びサルに LCI699（経口投与）と SOM230（皮下投与）の併用投与を実施した（2.6.2 薬理試験の概要文）。ラット及びイヌを用いた毒性試験の一部として静脈内持続投与後の TK も評価した。関連する曝露量データは毒性試験概要表に示す[Table 2.6.7.3]。

全体として，LCI699 の血漿曝露量はラットでほぼ用量に比例して増加したが，マウス，雌性ウサギ，及びイヌでは用量比を上回って増加した。いずれの動物種（マウス，ラット，ウサギ，イヌ，及びサル）に 1 日 1 回反復投与した場合も，血漿中 LCI699 濃度の蓄積及び（自己誘導による）低下は認められず，LCI699 の T1/2 が短いことと一致していた。マウス，ラット，及びイヌにおいて性差は認められなかった（ウサギは雌性のみ，サルは雄性のみ検討）。

幼若ラットにおける平均血漿曝露量（Cmax 及び AUC）は，成熟ラットと比較し同程度又はわずかに低かった（2 倍以内）。

LCI699 のエナンチオマー（不純物）である LCI698 の血漿曝露について，ラット，ウサギ，及びイヌを用いた一部の試験において検討した。全体として，LCI698 の曝露量（Cmax 及び AUC）は，対応する LCI699 の曝露量の 1/1000 以下（幼若ラットでは Cmax で 1/200 以下）であった。

動物の無毒性量（NOAEL）における LCI699 の曝露量は，ヒトに予定最大臨床用量の 30 mg を 1 日 2 回投与したときの曝露量より高かった。安全域を5.8 項に要約する。

5 毒性試験

LCI699 の非臨床安全性試験として，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験，及びその他の毒性試験（皮膚刺激性試験，皮膚感作性試験，肝毒性に関する探索的試験，光安全性試験，不純物の毒性試験）を実施した。

毒性試験は Novartis 社で実施又は Novartis が受託研究機関に委託して実施した。主要な毒性試験は，医薬品規制調和国際会議（ICH）M3(R2) ガイドライン（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）及びその他の安全性に関する ICH ガイドラインに従って実施した。

5.1 単回投与毒性試験

マウスを用いた単回投与毒性試験を実施した結果，150 mg/kg 群で死亡が認められた。

Table 5-1 単回投与毒性試験

動物種（系統）	動物数	投与経路	用量 (mg/kg)	LD_{50} (mg/kg)	MNLD (mg/kg)	試験番号 /GLP 適用の有無
マウス（CD-1）	雄 5，雌 5	経口	0, 50，100，125，150	> 150	125	0680189 /GLP 適用

Source：[Table 2.6.7.5-0680189]

5.2 反復投与毒性試験

Table 5-2 反復投与毒性試験

動物種（系統）	投与期間（週）	投与経路	動物数/ 群	用量 (mg/kg/日)	試験番号 /GLP 適用の有無
マウス（CD-1）	2	経口	雄 5，雌 5	0，10，50，100，200	0670273 /GLP 非適用
	13	経口	雄 10，雌 10	0，10，30，100，200	0770695 /GLP 適用
ラット（Wistar）	2	経口	雌 5	0，30，100，300/200	0560244 /GLP 非適用
	4	経口	雄 10，雌 10 雄 6，雌 6（回復性試験用の対照群及び 50 mg/kg/日群）	0，1，5，50	0670141 /GLP 適用
	13	経口	雄 10，雌 10 雄 6，雌 6（回復性試験用の対照群及び 50 mg/kg/日群）	0，0.5，5，50	0770713 /GLP 適用
	26	経口	雄 20，雌 20 雄 10，雌 10（回復性試験用の対照群及び 20 mg/kg/日群）	0，0.2，2，20	0870522 /GLP 適用
	3 日間	静脈内投与	雄 2，雌 2	1，3，10	0870524 /GLP 非適用
	2	静脈内投与	雄 6，雌 6	0，1，5，50	0870525 /GLP 適用
イヌ（ビーグル）	12 日間	経口	雄 2	1，4 及び 9 日目にそれぞれ 30，15 及び 7.5	0570241 /GLP 非適用
	4	経口	雄 3，雌 3 雄 2，雌 2（回復性試験用の対照群及び 10 mg/kg/日群）	0，0.5，1.5，10	0670142 /GLP 適用
	13	経口	雄 3，雌 3 雄 2，雌 2 （回復性試験用の対照群及び 10 mg/kg/日群）	0，0.1，1，10	0770714 /GLP 適用

動物種（系統）	投与期間（週）	投与経路	動物数/ 群	用量 (mg/kg/日)	試験番号 /GLP 適用の有無
	39	経口	雄 4，雌 4 雄 2，雌 2（回復性試験用の対照群及び 10 mg/kg/日群）	0，0.1，1，10	0870521 /GLP 適用
	第 1 相：用量漸増， 第 2 相：4 日間	静脈内投与	第 1 相： 雄 1，雌 1 第 2 相： 雄 3，雌 3	第 1 相：1，10，20，40 第 2 相：40	0870527 /GLP 非適用
	2	静脈内投与	雄 3，雌 3	0，0.5，5，50	0870526 /GLP 適用

Source：[Table 2.6.7.6-0670273]，[Table 2.6.7.6-0560244]，[Table 2.6.7.6-0870524]，[Table 2.6.7.6-0570241]，[Table 2.6.7.6-0670123] [Table 2.6.7.6-0870527]，[Table 2.6.7.7A-0770695]，[Table 2.6.7.7B-0670141]，[Table 2.6.7.7C-0670713]，[Table 2.6.7.7D-0870522]，[Table 2.6.7.7F-0870525]，[Table 2.6.7.7G-0670142]，[Table 2.6.7.7H-0770714]，[Table 2.6.7.7 I-0870521]，[Table 2.6.7.7J-0870526]

5.2.1 マウスを用いた試験

マウスを用いた 2 週間及び 13 週間反復投与毒性試験を実施した。

LCI699 の標的器官は CNS，肝臓，雌性生殖器，副腎及び胸腺であった。13 週間反復投与毒性試験では，200 mg/kg/日群で単回投与後に死亡が認められた。また，30 mg/kg/日以上の群で重度かつ用量依存的な CNS に関連した一般状態の変化（攻撃性，接触過敏反応及び自発運動の亢進）が認められた。

肝臓の変化として，13 週間反復投与毒性試験では，細胞質の空胞化，小葉中心性肝細胞肥大（10 mg/kg/日以上の雄及び 100 mg/kg/日群の雌），肝臓重量の増加（30 及び 100 mg/kg/日群）及び ALT の軽微（約 2 倍）な上昇（100 mg/kg/日群）が認められた。

雌性生殖器の変化として，卵巣重量の増加（30 及び 100 mg/kg/日群）及び子宮重量の減少（30 及び 100 mg/kg/日群）が認められた。また，30 及び 100 mg/kg/日群の雌で，副腎重量の増加及び胸腺重量の減少が認められた。2 週間反復投与毒性試験では，100 mg/kg/日以上の群で副腎皮質束状帯の軽微から軽度な肥大が認められた。

5.2.2 ラットを用いた試験

ラットを用いた 2，4，13 及び 26 週間反復投与毒性試験を実施した。

雌ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験では，300 mg/kg/日群で投与後 3 日以内に死亡又は安楽死処分した（2 日目以降に 200 mg/kg/日に減量）。雌ラットの生存時の変化として，流涎及び平均体重の増加が認められた。ラットの毒性標的器官は肝臓，雌性生殖器，副腎，甲状腺，腎臓及び脾臓であった。

4 及び 13 週間反復投与毒性試験では，いずれも 50 mg/kg/日群で流涎が認められた。26 週間反復投与毒性試験の 20 mg/kg/日群の雌，並びに 4 及び 13 週間反復投与毒性試験の 50 mg/kg/日群の雌で，体重増加が認められた。

13 週間反復投与毒性試験では，CNS に関連した変化として 50 mg/kg/日群で接触過敏反応，自発運動の亢進及び立毛がみられ，5 mg/kg/日以上の雌で自発運動の亢進及び立毛がみられたが，4 及び 26 週間反復投与毒性試験では，これらの一般状態の変化は認められなかった。

4 週間反復投与毒性試験では，50 mg/kg/日群の雌雄で肝臓の大型化，関連する肝臓重量増加，肝細胞に細胞質の空胞化及び肥大の病理組織学的変化が認められた。4 週間の回復期間後，肥大はみられなかったが空胞化は持続していたことから，部分的な回復性が示唆された。13 及び 26 週間反復投与毒性試験でも肝臓に同様の変化が認められた。13 週間反復投与毒性試験の 0.5 mg/kg/日群以上の雄及び 50 mg/kg/日群の雌で肝細胞の細胞質空胞化がみられ，休薬期間後に回復性は認められなかった。26 週間反復投与毒性試験の 20 mg/kg/日群の雌雄でみられた空胞化は，13 週間回復期間後に雄 1 例以外では，完全な回復性が示唆された。

本薬投与に関連する雌性生殖器の変化として，卵巣，子宮及び膣で認められた。卵巣の変化として，4 及び 13 週間反復投与毒性試験の 5 mg/kg/日以上の群で卵巣重量の増加及び関連した卵胞の変性が認められたが，4 週間休薬期間後に回復性が示唆された。26 週間反復投与毒性試験では，20 mg/kg/日群で卵巣重量の増加が認められたが卵胞の変化はなく，回復性のある黄体肥大の発現率増加がみられた。4 及び 13 週間反復投与毒性試験の 50 mg/kg/日群で子宮の小型化又は菲薄化，子宮重量の減少及び萎縮が認められた。26 週間反復投与毒性試験では，20 mg/kg/日までの群で，これらの変化は認められなかった。13 週までの毒性試験で認められた子宮の病理組織学的変化は，8 週間後には回復性を示したが，子宮重量の低値は回復性を示さなかった。4 週間反復投与毒性試験の 50 mg/kg/日群で膣の粘液分泌が認められたが，休薬後 4 週には回復した。13 週間反復投与毒性試験の 50 mg/kg/日群の雌で，発情周期がランダムに分布していたが，回復期間の雌は剖検時点で 5 例が後期／休止期にあったことから，発情周期の中断又は同期化が示唆された。26 週間反復投与毒性試験の 20 mg/kg/日群の雌でも発情周期はランダムに分布していた。雄性生殖器では，13 週間反復投与毒性試験まで本薬投与の影響は認められなかった。26 週間反復投与毒性試験では 20 mg/kg/日群で病理組織学的変化を伴わない前立腺重量の減少が認められた。前立腺重量の減少は 13 週間の回復期間後にも回復しなかった。

4 及び 13 週間反復投与毒性試験の 50 mg/kg/日群並びに 26 週間反復投与毒性試験の 20 mg/kg/日群で，副腎皮質束状帯に軽微から軽度の肥大及び軽微から中等度の空胞化が認められた。これらの影響は回復性が示された。2 週間反復投与毒性試験の 30 mg/kg/日以上の群で，副腎皮質球状帯の空胞化が認められた。

4 及び 13 週間反復投与毒性試験の 50 mg/kg/日群で，甲状腺重量の増加がみられたが，病理組織学的変化はみられず，回復性が示唆された。2 週間反復投与毒性試験の 100 mg/kg/日以上の群で甲状腺濾胞の肥大／過形成がみられた。

脾臓では，2 週間反復投与毒性試験の 30 mg/kg/日以上の群で脾臓重量の増加及び造血亢進がみられた。4 及び 13 週間反復投与毒性試験の 50 mg/kg/日群の雌で，腎臓重量の増加がみられたが，

病理組織学的変化は認められなかった。26 週間反復投与毒性試験では，20 mg/kg/日までの群で腎臓の変化は認められなかった。

ラットに LCI699 を 2 週間静脈内持続投与（24 時間／日）した結果，忍容性は良好であった。臨床検査の変化として，血液濃縮（5 mg/kg/日以上の群で赤血球パラメータの増加，50 mg/kg/日群でクレアチニン及びアルブミンの増加）及び肝臓の軽度な代謝機能障害（50 mg/kg/日群で尿素及びトリグリセリドの減少並びにアルカリホスファターゼ及び総ビリルビンの増加）が認められた。5 又は 50 mg/kg/日群の肝臓，甲状腺，副腎，乳腺及び雌性生殖器で病理組織学的変化が認められた。

5.2.2.1 LCI699 及び SOM230 の併用投与毒性試験

LCI699 及びソマトスタチンアナログ（SOM230）の 2 剤を併用した際の安全性を評価した。ラットに LCI699 を 20 mg/kg/日までの用量及び SOM230 を 0.3 mg/kg/日までの用量で併用投与した結果，標的器官毒性は SOM230 又は LCI699 の単剤投与時に比べて増悪した変化は認められなかった。さらに LCI699 の単剤投与により雌でみられた副腎の変化は，LCI699 及び SOM230 を併用投与された雌では認められなかった。

5.2.3 イヌを用いた試験

イヌを用いた単回投与用量漸減試験並びに 2，4，13 及び 39 週間毒性試験を実施した。毒性標的器官は CNS 及び副腎と考えられた。

CNS に関連した一般状態の変化として，単回投与用量漸減試験の 15 mg/kg 以上の群で攻撃性，歩行失調，接触過敏反応，自発運動の低下，筋肉振戦，横臥位及び流涎が認められた。

13 週間反復投与毒性試験では，10 mg/kg/日群の雌 1 例において投与 1 日に流涎及び攻撃的行動が認められた。39 週間までの反復投与試験では，10 mg/kg/日までの群で CNS の毒性変化は認められなかった。4 週間反復投与毒性試験の 1.5 mg/kg/日以上の群の雌雄で，粘液便，軟便及び下痢が認められたが，休薬後に回復性を示した。10 mg/kg/日群の雌雄各 2 例でみられた一過性の流涎及び 10 mg/kg/日群の雄 1 例でみられた一過性の流涙は，投与 1 週目から発現したため，本薬投与に関連した変化と考えられた。13 週間反復投与毒性試験の 10 mg/kg/日群で流涎，並びにすべての投薬群の雌で流涙が認められ，流涙は 4 週間の休薬後にも回復性を示さなかった。39 週間反復投与毒性試験では，10 mg/kg/日までの群で一般状態の変化は認められなかった。

2 週間反復投与毒性試験では，副腎皮質は毒性標的器官と考えられ，すべての反復投与試験においても変化が認められた。3 mg/kg/日以上の群で，副腎皮質の球状帯に空胞化が認められた。13 及び 39 週間反復投与毒性試験においても，1 mg/kg/日以上の群で同様の変化が認められた。39 週間反復投与毒性試験では，1 mg/kg/日以上の群で副腎皮質球状帯に軽微から中等度の萎縮が認められた。39 週間反復投与毒性試験で認められた副腎皮質の萎縮は，休薬後 4 週に回復性が示唆された。4 週間反復投与毒性試験では，副腎皮質の空胞化の回復性がみられたが，13 及び 39 週間反復投与毒性試験では部分的な回復性が示唆された。

13 週間反復投与毒性試験では，0.1 及び 10 mg/kg/日群の雌各 1 例で肝酵素の一過性上昇が認められた。これらの変化は，他の反復投与毒性試験では認められず，肝臓に関連した病理組織学的変化は認められなかった。

イヌに LCI699 を 14 日間反復静脈内持続投与（24 時間／日）した結果，忍容性は良好であった。しかし，50 mg/kg/日群の 1 例で CNS に関連した重度の変化が認められた。この用量では摂餌量，体重及び ECG への影響も認められた。5 mg/kg/日以上の群で，尿素，コレステロール，カリウム及び尿比重の減少，並びに 50 mg/kg/日群でリンの減少に関連した病理組織学的変化が認められた。

5.2.4 反復投与毒性試験の標的器官

マウス，ラット及びイヌを用いて実施した反復投与毒性試験の試験成績から，主な毒性標的器官は CNS，副腎，肝臓及び雌性生殖器と考えられた。

CNS に関連する一般状態の変化として，イヌでは 10 mg/kg/日以上，マウスでは 30 mg/kg/日以上，ラットでは 50 mg/kg/日以上の群で攻撃性及び接触過敏反応が認められた。イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験の雌 1 例で，これらの変化は投与 1 日のみで認められ，39 週間反復投与毒性試験の同用量の群では認められなかった。マウスを用いた 2 及び 13 週間反復投与毒性試験では，CNS の変化が認められた。ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験の 50 mg/kg/日群で接触過敏反応，自発運動の亢進及び立毛がみられたが，4 及び 26 週間反復投与毒性試験では認められなかった。

マウス，ラット及びイヌで本薬投与に関連した副腎の変化が認められた。マウスにおける副腎の変化は，13 週間反復投与毒性試験の副腎重量の増加及び 2 週間反復投与毒性試験の高用量群でみられた副腎皮質束状帯の肥大のみであった。ラットでは，副腎皮質束状帯の肥大及び空胞化も認められた。

一方，イヌにおける副腎の変化（空胞化，萎縮）は副腎皮質球状帯のみで認められ，げっ歯類とは対照的であった。副腎皮質球状帯の萎縮は回復性を示したが，空胞化は持続して認められた。副腎皮質の束状帯及び球状帯でみられた変化は，LCI699 による 11β-水酸化酵素及びアルドステロン合成酵素の阻害に対する適応性反応であると考えられることから，一次的な毒性作用ではないと考えられた。

肝臓において，マウス及びラットで，肝重量の増加及び肝細胞の肥大（しばしば空胞化及び肝酵素の軽微な上昇を伴う）が認められた。

マウス及びラットで，小葉中心性肝細胞肥大及び細胞質の空胞化が認められた。ラットにおいて，小葉中心性の肝細胞肥大は投与期間終了後に回復したが，空胞化は 26 週間反復投与毒性試験の 13 週間の回復期間後にも持続して認められた。マウス及びイヌでは，肝酵素の軽微な上昇（約 2 倍）が認められた。

本薬投与による卵巣，子宮及び膣への影響は，げっ歯類で認められたが，イヌでは認められなかった。マウスでは器官重量の変化のみであったが，ラットでは卵巣で卵胞の変性及び黄体の肥大，発情周期の異常並びに子宮の萎縮が認められた。これらの所見は子宮重量の変化を除いてすべて，投与期間終了後に完全に回復性を示した。雄性生殖器への影響は，前立腺重量の減少（病理組織学的変化を伴わず，回復性なし）を除いて影響はなかった。

甲状腺において，濾胞の肥大／過形成又は甲状腺重量の増加がラットで認められたが，マウス及びイヌでは認められなかった。

5.3 遺伝毒性試験

LCI699 の遺伝毒性試験として，ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異（Ames）試験，TK6 細胞を用いた *in vitro* 小核試験，ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験，ラットを用いた小核試験及びラットを用いたコメットアッセイを実施した（Table 5-3）。

Ames 試験において，突然変異誘発能を示唆する反応は認められなかった。TK6 細胞を用いた *in vitro* 小核試験において，染色体異常誘発性及び異数性誘発性を示唆する反応は認められなかった。

ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験において，代謝活性化系の有無にかかわらず，高濃度（2000 µg/mL 以上）群で染色体異常誘発性が認められた。

しかし，ラットを用いた小核試験では，致死量付近の高用量（200 mg/kg）で小核誘発能を示唆する反応は認められなかった。また，ラットを用いたコメットアッセイでは，104.8 mg/kg までの用量で肝細胞及び白血球に DNA 損傷は誘発されなかったことから，証拠の重み付けに基づいて，LCI699 の遺伝毒性リスクはないと考えられた。

Table 5-3 遺伝毒性試験

評価項目	試験系	濃度／用量	結果	試験番号/GLP 適用の有無
In vitro				
変異原性	ネズミチフス菌，TA 98，100	30～1000 µg/plate (± S9)	陰性	0513100 /GLP 非適用
変異原性	ネズミチフス菌，TA 1535，1537，102，98，100	1.6～5000 µg/plate (± S9)	陰性	0680235 /GLP 適用
小核	TK6 細胞（不死化ヒト脾臓リンパ芽球由来細胞）	71～1136 µg/mL (- S9) 284～2272 µg/mL (+ S9)	陰性	0514061 /GLP 非適用

評価項目	試験系	濃度／用量	結果	試験番号/GLP 適用の有無
染色体異常	ヒト末梢血リンパ球	実験 1：1400～2272 µg/mL（± S9） 実験 2：1200～2200 µg/mL（- S9） 1200～2272 µg/mL（- S9）	2000 µg/mL 以上で陽性（± S9）	0680236 /GLP 適用
In vivo				
小核	R. *norvegicus*（ラット）	30，100，200 mg/kg	陰性	0670426 /GLP 適用
コメットアッセイ（一本鎖 DNA 切断）	Wistar HanIbm:WIST (SPF)ラット	26.2，52.4，104.8 mg/kg	陰性	0612507 /GLP 適用

Source：[Table 2.6.7.8A-0513100]，[Table 2.6.7.8A-0514061]，[Table 2.6.7.8B-0680235]，[Table 2.6.7.8C-0680236]，[Table 2.6.7.9A-0670426]，[Table 2.6.7.9B-0612507]

5.4 がん原性試験

ラット及びマウスを用いたがん原性試験を実施した（Table 5-4）。

ラット及び雌マウスの生存において，本薬投与に関連した影響はなかった。雄マウスでは，高用量群（30 mg/kg/日）で肝臓癌（腺腫／癌）による死亡率の増加が認められた。雄マウスの 30 mg/kg/日以上の群，雄ラットの 10 mg/kg/日以上の群，雌ラットの 30 mg/kg/日群で肝細胞腺腫の発現率の増加が認められた。雌ラットの 30 mg/kg/日群及び雄マウスの 3 mg/kg/日以上の群で肝細胞癌の発現率の増加が認められた。雄ラットのみ，10 mg/kg/日以上の群で甲状腺濾胞腺腫／癌の発現増加が認められた。雌ラット及び雌雄マウスでは甲状腺腫瘍は認められなかった。

肝臓癌及び甲状腺癌の発現機序として，肝臓における構成的アンドロスタン受容体（CAR）の活性化によって甲状腺ホルモンの消失が亢進し，甲状腺刺激ホルモン（TSH）の分泌増加及び甲状腺濾胞細胞の増殖が誘発すると考えられた。この変化は，げっ歯類特異的であり，ヒトにおける発がんリスクへの外挿性はないと考えられた（Alison et al. 1994, Capen 1997）。

Table 5-4 がん原性試験

試験の種類	動物種/系統	1 群あたりの動物数/性	投与経路	用量 (mg/kg/日)	コメント	試験番号/GLP 適用の有無
104 週間がん原性	マウス/CD-1	70	経口	0，3，10，30	雌：103 週間* 雄：104 週間	1270062 /GLP 適用
104 週間がん原性	ラット/HanIbm Wistar	50	経口	0，3，10，30	104 週間	1270061 /GLP 適用

*対照群の生存率が 29%に低下したため，投与期間を 103 週間とした。

Source：[Table 2.6.7.10A-1270062]，[Table 2.6.7.10B-1270061]

5.5 生殖発生毒性試験

5.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

50 mg/kg/日群の雌で，生殖器系への作用として，発情周期の異常，交配までの所要日数の延長，交配率及び受胎率の低下，妊娠率の低下並びに黄体数，着床数及び生存胚数の減少が認められた。無処置の雌と交配させた群では，雄授胎能及び生殖能への影響は認められなかった。精巣上体重量の軽度な減少がみられたが，その他の雄性生殖器の影響はないことから毒性学的意義は低いと考えられた。したがって，本試験条件下において，生殖能及び受胎能に対する無毒性量は雄で 50 mg/kg/日，雌で 5 mg/kg/日であると考えられた。

Table 5-5 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

試験の種類	動物種/系統	投与経路	動物数/群	用量 (mg/kg/日)	投与期間	試験番号/GLP 適用の有無
受胎能及び初期胚発生	ラット（Wistar）	経口	雄 25 雌 25	0，0.5，5，50	雄：交配前 4 週間，2 週間の交配期間中及び最終剖検まで 雌：交配前 2 週間，2 週間の交配期間中及び妊娠 6 日まで	0770785 /GLP 適用

Source：[Table 2.6.7.12-0770785]

5.5.2 胚・胎児発生に関する試験

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，50 mg/kg/日群で母動物への影響（流涎，膣からの赤色分泌物，外観の蒼白化，糞量減少）が認められた。50 mg/kg/日群の雌 13 例，5 mg/kg/日群の雌 1 例で，妊娠 21 日（帝王切開時）に羊膜嚢内の体液量の増加が認められた。50 mg/kg/日群で胚・胎児死亡，生存胎児の減少及び胎児重量の減少がみられ，外表異常，内臓変異及び骨格変異もみられた。50 mg/kg/日群の胎児 3 例で外表異常（短鼻，舌突出及び四肢の回転異常）が認められた。同群の別の胎児 3 例で内臓変異（肺表面の不整）が認められた。50 mg/kg/日群で，骨格変異（骨化不全及び過剰肋骨）が認められた。本試験における母動物に対する無毒性量は 0.5 mg/kg/日，胚・胎児に対する無毒性量は 5 mg/kg/日と考えられた。

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験では，25 mg/kg/日以上の群で，母動物毒性並びに胚毒性（胚吸収の増加，生存胎児数の減少及び着床後胚損失）が認められた。母動物及び胎児に対する無作用量（NOEL）は 5 mg/kg/日と考えられた。

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，10 mg/kg/日以上の群で糞量減少及び無便，並びにケージ受皿の赤色汚れ及び摂餌量の減少がみられ，30 mg/kg/日群で母動物の体重減少が認められた。10 mg/kg/日以上の群で妊娠子宮重量の減少が認められた。10 mg/kg/日以上の群で胚・胎児毒性（胚吸収の増加／生存胎児の減少）が認められた。本薬投与に関連した催奇形性は認められなかった。以上のことから，10 mg/kg/日以上の群で胚・胎児毒性又は死亡が認められ，本試験における NOEL は母動物及び胎児ともに 3 mg/kg/日と考えられた。

Table 5-6 胚・胎児発生に関する試験

試験の種類	動物種/系統	投与経路	動物数/群	用量 (mg/kg/日)	投与期間	試験番号 /GLP 適用の有無
胚・胎児発生	ラット	経口	雌 25	0，0.5，5，50	交配後 6～17 日	0770784 /GLP 適用
胚・胎児発生（用量設定）	ウサギ	経口	第 1～3 群，6 群：雌 6 第 4～5 群：雌 3	0，5，25，40，50，100	受精後 7～20 日	0670245 /GLP 非適用
胚・胎児発生	ウサギ	経口	雌 20	0，3，10，30	受精後 7～20 日	0670281 /GLP 適用

Source：[Table 2.6.7.13A-0770784]，[Table 2.6.7.11-0670245]，[Table 2.6.7.13C-0670281]

5.5.3 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

妊娠雌の分娩異常及び分娩遅延（最長交配後 24 日まで）及び一般状態悪化のため高用量（20 mg/kg/日）群を安楽死処分した。

F1 世代では，5 mg/kg/日以下の用量で胎児の身体発達検査，行動機能に関する検査及び生殖機能検査の影響は認められなかった。出生児の 5 mg/kg/日群の雄では，離乳後期間中に体重減少及び摂餌量の軽度な減少が認められたが，発達，行動及び生殖パラメータへの影響がなかったことから，毒性変化ではないと考えられた。

したがって，母動物毒性及び出生児（F1 世代）の発達に対する無毒性量は 5 mg/kg/日と考えられた。

Table 5-7 出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

試験の種類	動物種/系統	投与経路	動物数/群	用量 (mg/kg/日)	投与期間	試験番号 /GLP 適用の有無
出生前及び出生後の発生	ラット（Wistar）	経口	雌 24	0，1，5，20	交配後 6 日～分娩後 20 日	1470797 /GLP 適用

Source：[Table 2.6.7.14-1470797]

5.5.4 幼若動物における毒性

用量設定毒性試験では，Wistar 系幼若ラット（生後 28 日から 55 日）に 28 日間反復経口投与した結果，流涎，体重及び摂餌量の一過性の減少，軽微から中等度の血液学的検査及び血液生化学的検査並びに器官重量の変化が認められた。病理組織学的変化は炎症を示唆するものであり，ALT の軽度な増加，尿素及びクレアチニンの増加，総炭酸水素塩の増加及びカリウム及びクロールの低下が認められた。また，副腎，肝臓及び腎臓の器官重量増加が認められた。

本試験（GLP 適用）では，Wistar 系幼若ラット（生後 28 日から 55 日）に LCI699 を 1，5 及び 50 mg/kg/日の用量で反復経口投与した結果，すべての投薬群の雄で体重減少（回復性あり），50 mg/kg/日群の雌で体重増加が認められた。

50 mg/kg/日群の雌雄で性成熟（包皮分離又は膣開口）が遅延したが，6 週間の回復期間後に生殖能及び生殖パラメータへの影響は認められなかった。長骨成長及び行動機能検査において，すべての投薬群で本薬投与に関連した変化は認められなかった。50 mg/kg/日群の雄でテストステロン濃度に軽度な減少がみられたが，雌のエストラジオール濃度に変化はなく，生殖機能への影響は雌雄いずれにも認められなかった。50 mg/kg/日群の雌雄で可逆的な血液学的検査及び血液生化学的検査の変化，器官重量の変化及び病理組織学的変化（雌雄の肝臓及び副腎並びに雌の生殖器）がみられた。

幼若ラットの本薬投与に関連した毒性変化は成熟動物と同様であり，無毒性量は雌雄ともに 5 mg/kg/日と考えられた。

Table 5-8 幼若ラットを用いた毒性試験

試験の種類	動物種/系統	投与経路	動物数/群	用量 (mg/kg/日)	投与期間	試験番号 /GLP 適用の有無
用量設定試験	ラット（Wistar）	経口	雄 6，雌 6	0，20，50，150	生後 28～55 日	1570247 /GLP 非適用
4 週間投与及び 6 週間回復性	ラット（Wistar）	経口	雄 52，雌 52	0，1，5，50	生後 28～55 日	1570248 /GLP 適用

Source：[Table 2.6.7.15A-1570247]，[Table 2.6.7.15B-1570248]

5.6 局所刺激性試験

5.6.1 皮膚一次刺激性試験

ウサギを用いた皮膚一次刺激性を評価した[Table 2.6.7.16B-0506123]。0.5 mL の純水に LCI699 0.5 g を溶解させた薬液にパッチを浸漬させ，雄ウサギの背部皮膚に塗布した。パッチを通気性テープで固定し，半閉塞条件下で 4 時間適用した。パッチ除去後約 1，24，48 及び 72 時間後に皮膚反応を評価した。本試験条件下で LCI699 は皮膚刺激性を示さなかった。

5.7 その他の毒性試験

5.7.1 光毒性試験

LCI699 の光毒性を評価した [Table 2.6.7.17A-0617504]。1% ジメチルスルホキシド（DMSO）及びリン酸緩衝生理食塩液（PBS）中の 1000 µM LCI699 を用いて，紫外線（UV）領域から可視光線領域における吸収スペクトルを検討した。

LCI699 は UV-A 及び可視光線の範囲内で顕著な吸収を示さなかった。UV-B の範囲内では，300 nm 未満のみで，軽度な吸収の増加が検出された。したがって，LCI699 が日光（290～700 nm）により活性化される可能性は低いと考えられた。

5.7.2 皮膚感作性試験

LCI699 の皮膚感作性について，マウスを用いた局所リンパ節測定法（LLNA）により評価した [Table 2.6.7.16A-0506124]。DMSO 中の LCI699 を 0（媒体），0.25，2.5 又は 25%（w/w）（25 µL/site の投与容量）で，BALB/c 系雌マウスの両耳介背面皮膚に 3 日間反復塗布した。

25%（w/w）で耳介重量の増加，2.5%（w/w）以上の濃度でリンパ節重量の増加，すべての濃度でリンパ球数の増加が認められた。このことから LCI699 は強い感作性物質であることが示唆された。したがって，LCI699 は皮膚感作性（区分 1A）に分類した （Daniel et al. 2018）。

5.7.3 毒性の発現機序に関する検討試験（肝臓及び甲状腺）

本試験 [Table 2.6.7.17B-1520459] は，LCI699 のマウス及びラットを用いた 104 週間経口投与がん原性試験（[Table 2.6.7.10A-1270062] 及び [Table 2.6.7.10B-1270061]）で認められた肝臓及び甲状腺における発がん性の発現機序を検討した。

ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 [Table 2.6.7.7B-0670141] において，本薬投与したラット凍結肝臓試料の遺伝子発現解析を実施した結果，CAR 活性化因子の標的である *cyp2b1*/*cyp2b2* 及び UDP-グルクロン酸転移酵素（UDP-GT）の転写産物を含む，薬物代謝の全 3 相反応に関連した顕著な遺伝子発現誘導が認められた。

CAR の活性化は，げっ歯類に特異的な非遺伝毒性の肝細胞癌の発現に対する作用機序として知られており，臨床上の意義は低いと考えられている（Qatanani et al. 2005，Elcombe et al. 2013）。また，UDP-GT は，げっ歯類において甲状腺ホルモン（T3 及び T4）を低下させることで，慢性的に甲状腺を過剰刺激し，甲状腺濾胞の肥大，過形成及び腫瘍発現を誘導することが知られている。しかし，甲状腺ホルモンの代謝は，げっ歯類及びヒト間で異なるため，これらの変化はげっ歯類特異的であり，ヒトへの外挿性はない（Alison et al. 1994, Capen 1997）。

LCI699 を投与したラット肝臓の遺伝子発現プロファイルとフェノバルビタールを投与したラット肝臓（80 mg/kg の 3 日又は 4 週間投与）の遺伝子発現プロファイルを比較した [Table 2.6.7.17C-1520459a]。また，LCI699 の CAR 活性化を介した肝臓癌の発現機序を評価した（Peffer et al. 2018, Rooney and Hill 2018）。

LCI699 投与群では，CAR 遺伝子シグネチャー（*Cyp2b1*，*Ugt2b1* 及び *Ces2c*）の用量依存的な増加が認められ，その変化はフェノバルビタールと同様であった。また，LCI699 投与群では，芳香族炭化水素受容体（AhR）遺伝子シグネチャー（*Cyp1a1*，*Cyp1a2* 及び *Aldh3a1*）も軽度の増加がみられたが，この作用もフェノバルビタールを投与したラットの変化と同様であった。フェノバルビタール及び LCI699 の AhR 遺伝子シグネチャー（*Cyp1a1*，*Cyp1a2*）増加の程度は，既存の AhR 活性化剤に比べて極めて低いため，LCI699 の腫瘍性病変は AhR 誘導による変化ではないと考えられた（Kishida et al. 2008, Rooney and Hill 2018）。なお，LCI699 投与群では，プレグナン X 受容体（PXR），ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体（PPAR）α 及びエストロゲン受容体の遺伝子シグネチャーの誘導は認められなかった。

以上のことから，LCI699 はフェノバルビタールと同程度の CAR 活性化作用を有すると考えられた。LCI699 の腫瘍性病変（肝臓及び甲状腺）の機序は，フェノバルビタールの場合と同様に，げっ歯類特異的でありヒトにおける発がんリスクに外挿性はないと考えられた。

5.7.4 不純物及び分解生成物

本剤の予定 1 日臨床最高用量は 60 mg/日（30 mg を 1 日 2 回投与）であることから，不純物に関する ICH ガイドライン「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（ICH Q3A）」及び「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（ICH Q3B）」に従い，安全性確認の必要な不純物の閾値を，原薬では 0.15%，製剤では 0.2%と設定した。

不純物含有の被験物質として，LCI699 原薬では，不純物 LCI698（不純物 G*），不純物 B*及び不純物 C*が，それぞれ [redacted]%，[redacted]%及び [redacted]%存在している[3.2.S.3.2 項]。LCI699 製剤の分解生成物として，不純物 D*，不純物 E*及び不純物 F*が，それぞれ [redacted]%，[redacted]%及び [redacted]%存在している [3.2.P.5.6 項]。これらの不純物含有 LCI699 を用いて，*in vitro* 復帰突然変異試験及びラット及びイヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験を実施した結果，不純物特異的な一般毒性及び遺伝毒性は認められなかった。

一方，LCI698（不純物 G*）を含む LCI699 のラットを用いた胚・胎児発生毒性試験では，LCI698（不純物 G*）の影響として胚・胎児毒性（吸収胚数の軽度な増加）がみられたが，用量依存性はなかった。LCI699 はラットに対して胚・胎児毒性を示し，LCI698 は LCI699 の [redacted]%以下（規格限界値）であることから，付加的なリスクを示さないと考えられた。

不純物 D*，不純物 E*及び不純物 F*の *in silico* 解析を実施した結果，変異原性に関する構造上の懸念は認められなかった（ICH M7：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，クラス 5）（[Table 2.6.7.17D-1419328]，[Table 2.6.7.17D-1419395]）。不純物 A*は変異原性が認められたが，原薬中では [redacted] ppm 以下に管理されるため，LCI699 30 mg を 1 日 2 回投与する場合の臨床曝露量は [redacted] µg/日であり，ICH M7 ガイダンスで規定される毒性学的懸念のある閾値に基づく許容摂取量（1.5 µg/日）を下回っている[Table 2.6.7.17D-1870337] [3.2.S.3.2 項]。

以上のことから，LCI699 の不純物は，ICH Q3A，Q3B 及び ICH M7 に基づいて評価を行い，いずれも安全性の懸念がない，あるいは管理可能と考えられた。

5.7.4.1 *S*-エナンチオマーLCI698 の安全性試験

主要な毒性試験で用いた LCI699 のバッチには，*S*-エナンチオマーである LCI698（不純物 G*）が含まれており，その含量は [redacted]%であった。

ラットを用いた 4，13 及び 26 週間反復投与毒性試験並びにイヌを用いた 13 及び 39 週間反復投与毒性試験で血中 LCI698 濃度が検出されたことから，主成分である LCI699 と併せてラット及びイヌで包括的に LCI698 の安全性が評価されたと考えられた。

＊新薬承認情報提供時に置き換え

LCI698 は，*in vitro* 試験でヒトアロマターゼを阻害することが知られており（IC50 = 9 nM）[2.6.2-3.2 項]，アロマターゼは生殖器に影響を及ぼすことが知られている。LCI699 の毒性変化に対する LCI698 の寄与を検討するため，胚・胎児発生に関する毒性試験を実施した [Table 2.6.7.13B-1170415]。

Wistar 系妊娠ラットに LCI698 を高濃度（[redacted]%）又は低濃度（[redacted]%未満）含む LCI699 をそれぞれ 50 mg/kg/日の用量で，若しくは LCI698 単剤を 0.03 mg/kg/日の用量で，妊娠 6 日から 17 日まで反復経口投与した。LCI698 濃度が [redacted]%未満から [redacted]%に増加しても LCI699 による母動物毒性，胚致死，胎児毒性及び催奇形性が増悪することはなく，LCI698 単剤を 0.03 mg/kg/日の用量で投与しても母動物毒性，胎児毒性及び催奇形性は認められなかった。しかしながら，対照群に比べて初期及び後期胚吸収の増加が認められた。

結論として，LCI698 の曝露量は，LCI699 に比べて極めて低い（[redacted] 未満）ため，認められた生殖発生毒性に対する LCI698 の寄与は，軽微であると考えられた。

5.8 全身曝露量の比較

クッシング病患者を対象とした臨床第 III 相試験（C2301 試験）の成績より，LCI699 を 30 mg の用量で 1 日 2 回投与したときの忍容性は良好であった。

健康被験者及びクッシング病患者を対象とした臨床試験成績を統合し母集団 PK 解析を実施した結果，LCI699 を 30 mg の用量で 1 日 2 回投与した定常状態における全身曝露量の中央値は AUC0-12h が 1372.25 ng·h/mL，Cmax が 232.26 ng/mL であった。ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験及びマウス及びラットを用いたがん原性試験における全身曝露量比をそれぞれTable 5-9及びTable 5-10に示した。

ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験（0, 0.5, 5 及び 50 mg/kg/日）の無毒性量（0.5 mg/kg/日）の曝露量は，ヒトの曝露量（AUC 及び Cmax）に比べて同程度又はわずかに低値であった。一方，ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（0, 0.2, 2 及び 20 mg/kg/日）の無毒性量（2 mg/kg/日）における曝露量は，ヒトの曝露量に比べて約 2 倍であった（Table 5-9）。

また，イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験（0, 0.1, 1 及び 10 mg/kg/日）の無毒性量（1 mg/kg/日）の曝露量も，ヒトの曝露量に比べて同程度又はわずかに低値であった。イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験（0, 0.1, 1 及び 10 mg/kg/日）の無毒性量（10 mg/kg/日）における曝露量は，ヒトの曝露量に比べて約 8 倍であった（Table 5-9）。

長期の毒性試験で曝露量比が大きくなった理由として，長期投与により忍容性が変化したのではなく，長期試験では用量範囲がより狭い範囲（13 週間：0.5～50 mg/kg/日→26 週間：0.2～20 mg/kg/日）となり，結果として NOAEL が高くなったことが考えられた。

Table 5-9 反復投与毒性試験の無毒性量，最小毒性量とヒト臨床用量（30 mg 1 日 2 回投与）における曝露量の比較

動物種	投与期間	性	用量 (mg/kg)	AUC0-24h (ng·h/mL)[a]	Cmax (ng/mL)[a]	曝露量比 [b]	
						AUC0-24h 比	Cmax 比
ラット	13 週間	雄	0.5 (NOAEL)	816	208	0.30	0.90
		雌	0.5 (NOEL)	726	232	0.26	1.0
		雄	5 (LOAEL)	13700	2030	5.0	8.8
		雌	5 (LOAEL)	11400	2260	4.2	9.7
	26 週間	雄	2.0 (NOAEL)	6170	869	2.2	3.7
		雌	2.0 (NOAEL)	5150	931	1.9	4.0
イヌ	13 週間	雄	1.0 (NOAEL)	713	372	0.26	1.6
		雌	1.0 (NOAEL)	605	357	0.22	1.5
		雄	10 (LOAEL)	26300	5380	9.6	23
		雌	10 (LOAEL)	20900	5940	7.6	26
	39 週間	雄	10 (NOAEL)	22200	3770	8.1	16
		雌	10 (NOAEL)	20300	3850	7.4	17

[a] 13，26 又は 39 週間経口投与試験の投与期間終了時に得られた平均値。
[b] ヒトで予測される曝露量［ヒトに LCI699 30 mg を bid 投与後の定常状態における AUC0-24h（2745 ng·h/mL）及び Cmax（232 ng/mL）］

Table 5-10 がん原性試験とヒト臨床用量（30 mg 1 日 2 回投与）における曝露量の比較

動物種	用量 (mg/kg/日)	AUC (ng·h/mL)	Cmax (ng/mL)	曝露量比 [e]	
				AUC 比	Cmax 比
マウス [c]	3[a]	4141	1021	1.5	4.4
	10	8460	3435	3.1	14.8
	30	56750	13650	21	58.8
ラット [d]	3[b]	9833	912	3.6	3.9
	10[b]	22777	3038	8.3	13.1
	30[b]	98331	9115	36	39.3

[a] マウスの AUC 及び Cmax は，10～100 mg/kg のデータから推定した。
[b] ラットの AUC 及び Cmax は，1～50 mg/kg のデータから推定した。
[c] マウスを用いた 13 週間反復投与用量設定毒性試験
[d] ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験
[e] ヒトで予測される曝露量［ヒトに LCI699 30 mg を 1 日 2 回投与後の定常状態における AUC0-24h（2745 ng·h/mL）及び Cmax（232 ng/mL）］

Table 5-11 生殖発生毒性試験の無毒性量，最小毒性量とヒト臨床用量（30 mg 1 日 2 回投与）における曝露量の比較

試験	動物種	世代／性	用量 (mg/kg/日)	AUC0-24h (ng·h/mL)[b]	Cmax (ng/mL)[b]	曝露量比 [a]	
						AUC0-24h 比	Cmax 比
EFD	ウサギ	母動物	3 (NOEL)	850	481	0.31	2.1
		母動物	10 (LOAEL)	11800	3170	4.3	14
		胎児	3 (NOEL)	850	481	0.31	2.1
		胎児	10 (LOAEL)	11800	3170	4.3	14
EFD	ラット	母動物	0.5 (NOAEL)	749	172	0.27	0.74
		母動物	5 (LOAEL)	12800	1920	4.7	8.3
		胎児	5 (NOAEL)	12800	1920	4.7	8.3
		胎児	50	118000	11000	43	47
FEED	ラット	雄	50 (NOAEL)	100000	11400	36	49
		雌	5 (NOAEL)	11400	2260	4.2	9.7
PPND	ラット	雄	5 (NOAEL)	17700	2670	6.4	12
		雌	5 (NOAEL)	13100	3100	4.8	13

[a] ヒトで予測される曝露量［ヒトに LCI699 30 mg を 1 日 2 回投与後の定常状態における AUC0-24h（2745 ng·h/mL）及び Cmax（232 ng/mL）］
[b] 母動物の血中薬物濃度測定値。FEED 試験及び PPND 試験では，それぞれ 13 週間反復投与毒性試験の投与 75 日及び 4 週間反復投与毒性試験の投与 29 日の値を使用した。

6 安全性の総合評価

LCI699 の非臨床安全性評価を目的として，安全性薬理試験，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験，及びその他の毒性試験（皮膚刺激性試験，皮膚感作性試験，肝毒性に関する探索的試験，光安全性試験，不純物の毒性試験）を ICH M3(R2) ガイドライン及びその他の安全性に関する ICH ガイドラインに準拠して実施した。LCI699 の非臨床安全性試験において，心血管系，CNS，肝臓，雌性生殖器官及び副腎が主要な毒性標的器官と考えられた。

安全性薬理試験では，*in vitro* において hERG チャネルを阻害し，不整脈を誘発する可能性が示された。また，サル及びイヌを用いた心血管系に関する試験では QTc 間隔延長がみられ，サルの高用量群では PR 及び QRS 間隔の延長，PVC 及び TdP が認められた。心血管系への影響が認められた曝露量は，非結合形 Cmax（サル 2 週間反復投与毒性試験の 10 mg/kg/日群の 14 日目における Cmax は総濃度で 2220 ng/mL，非結合形濃度で 1629 ng/mL [Table 2.6.7.3]）に基づくと，ヒトに 30 mg 1 日 2 回の用量で投与した場合の推定曝露量（非結合形濃度で 147 ng/mL）の 11 倍以上であった。LCI699 に関連した QTc 間隔延長並びにそれに続く PVC 及び TdP の正確なメカニズムは現時点で不明であるが，非臨床において高い曝露量でみられた心臓電気生理学的変化及び不安定化は，心臓イオンチャネルへの複合的な作用を示唆するものと考えられた。

マウス，ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験並びにラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験において，主要な毒性標的器官は CNS，副腎，肝臓及び雌性生殖器と考えられた。ラット及びイヌの 26 又は 39 週間反復投与毒性試験の無毒性量における曝露量（AUC）は，予定最大臨床用量（30 mg を 1 日 2 回投与）における曝露量より高く（Table 5-9），十分な安全域（4 倍～16 倍）が認められた。イヌを用いた 13 及び 39 週間反復投与毒性試験では，副腎の変化に基づいて NOAEL が設定されているが，この変化は LCI699 反復投与による薬理作用に関連した適応性反応と考えられた。

マウス，ラット及びイヌにおいて，主に高用量で CNS に関連した所見（攻撃性，接触過敏反応及び自発運動の亢進）が認められた。イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験において，投与 71 日（雄）の LOAEL における曝露量比は 27 倍であった（Cmax は総濃度が 5380 ng/mL，非結合形濃度が 3938 ng/mL）（Table 5-9）。イヌにおける CNS への影響について，NOAEL（1 mg/kg/日）における曝露（Cmax）は，予定最大臨床用量（30 mg を 1 日 2 回投与）における曝露量の約 2 倍であった。ラットにおいて，LCI699 は血液脳関門を通過して脳及び脊髄に分布し，組織／血液中濃度比は 0.73～2.4 であったことから，脳に顕著に曝露される可能性が示唆された [2.6.4-4.3 項]。CNS 及び末梢神経系における病理組織学的変化は認められず，CNS に関連した一般状態変化のメカニズムは現時点で不明である。LCI699 は，乱用又は依存性に関連する中枢の受容体に対して親和性を示さなかった [2.6.2-4.1 項]。ラットでは，アルドステロン及びコルチコステロンが脳内で少量産生されており，アルドステロン合成酵素（CYP11B2）及び 11β-水酸化酵素（CYP11B1）の二重阻害剤［FAD286（ファドロゾールの *R*-エナンチオマー）］及び鉱質コルチコイド受容体拮抗剤（エプレレノン）により，これらのホルモンが調節される報告が示されている（Gomez-Sanchez et al. 2005, Huang et al. 2013）。オフターゲット活性に関する安全性薬理試験における LCI699 のヒスタミン-1 受容体阻害作用の IC50 は 10 µM であり，予定最大臨床用量における非結合形 Cmax（0.65 µM）の 15 倍であった [Table 2.6.3.4-RD-2013-50304]。

マウス，ラット及びイヌで認められた本薬投与に関連した副腎の変化（副腎重量増加，副腎皮質束状帯の肥大及び空胞化，副腎皮質球状帯の萎縮）は，それぞれコルチコステロン（イヌではコルチゾール）及びアルドステロン生合成に関与する 11β-水酸化酵素（副腎皮質束状帯で生成）及びアルドステロン合成酵素（副腎皮質球状帯で生成）の長期阻害に対する適応性反応と考えられた。臨床試験では，LCI699 の 2～60 mg/日の用量で「低コルチゾール血症関連事象」が認められ，LCI699 の作用機序（コルチゾール合成阻害作用）による可能性が予想されている [2.7.4-2.1.5.2 項]。毒性試験では，これらの変化は認められず，げっ歯類の 11β-水酸化酵素及びアルドステロン合成酵素に対する LCI699 の阻害活性は，ヒトの酵素に比べて弱いためと考えられた [2.6.2-2.1 項]。また，マウス及びラットの高用量群で認められたコルチゾール阻害に対する適応性反応と考えられる副腎皮質肥大に関連した臨床試験の有害事象は認められなかった。臨床試験では「低コルチゾール血症関連事象」が認められたため，コルチゾール濃度を定期的にモニタリングする必要がある。

ラット及びマウスで認められた肝細胞肥大は，本薬投与による薬物代謝酵素誘導に対する適応性反応と考えられた。ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験 [Table 2.6.7.7B-0670141] で得られた肝臓の遺伝子発現解析において [Table 2.6.7.17B-1520459]，薬物代謝に関連する遺伝子発現の誘導が認められた。臨床試験における肝酵素上昇は低頻度かつ軽度であった[2.7.4-3.2.1.1 項]。

ラット及びマウスの生殖器で認められた変化は，アロマターゼ阻害剤で報告されている変化（Nunez et al. 1996, Junker and Nogués 1994）と同様であった。アロマターゼは，アンドロステンジオン，テストステロン及び 16α-ヒドロキシデヒドロエピアンドロステロン硫酸塩を，それぞれエストロン，エストラジオール及びエストリオールに変換する主要な酵素である（Bulun 2014）。LCI699 は *in vitro* 試験で遺伝子組換えヒトアロマターゼを阻害し，IC50 は 1.7 µM であった [Table 2.6.3.1 RD-2007-51924]。高用量で雌性生殖器及び前立腺にみられた変化は，LCI699 のアロマターゼ阻害作用に起因すると考えられた。雌性生殖器及び雄前立腺の重量への影響にエナンチオマー不純物 LCI698（アロマターゼ阻害作用を有する）が寄与している可能性は否定できないが，LCI698 の濃度は LCI699 と比較して極めて低いため（1/1000 未満），その寄与は小さいと考えられた。

ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験並びにラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，母動物毒性が生じる用量（5 mg/kg/日超）で胚・胎児毒性が認められた。生殖発生毒性が発現する用量で，LCI699（LCI698 を含む）の Cmax はアロマターゼ阻害の IC50 値以上に達していたことから，アロマターゼ阻害によって生殖発生毒性が発現した可能性は否定できない。FEED，EFD 及び PPND 試験の NOAEL における曝露量比をTable 5-11 に示した。分娩異常及び分娩遅延への影響は，アロマターゼ阻害による二次的変化であるエストロゲンの減少に起因すると考えられた。他のアロマターゼ阻害剤においても，同様の変化が認められている（Beltrame et al. 2001）。ステロイド生合成阻害剤であるケトコナゾールを用いたラットの試験で同様の変化が生じており，プレドニゾン（合成コルチコステロイド）投与により，胚・胎児毒性及び催奇形性の発現が減少したことが報告されていることから，コルチコステロン阻害も関与している可能性がある（Amaral and Nunes 2009）。

ヒト末梢血リンパ球では，高濃度である 2000 µg/mL（8.8 mM 以上）のみにおいて，代謝活性化系の有無にかかわらず染色体異常誘発作用が認められた。ラットを用いた *in vivo* 遺伝毒性試験（小核試験及びコメットアッセイ）では，致死量付近の用量（200 mg/kg まで）において遺伝毒性は認められなかった。証拠の重み付けに基づき，LCI699 の遺伝毒性リスクはないと考えられた。さらに，データベース解析において，*in vitro* 染色体異常試験は，がん原性を予測するには特異性が低いことが示唆されており（Kirkland et al. 2005），この観点から *in vivo* 小核試験の信頼性が高いと考えられた（Matthews et al. 2006）。

マウス及びラットを用いたがん原性試験では，腫瘍性病変として肝臓腫瘍（腺腫／癌），雄ラットで甲状腺腫瘍の発現が認められた。本薬投与に関連した肝臓及び甲状腺の腫瘍は，フェノバルビタールと同様に CAR 活性化の作用機序によるものであり，ヒトへの外挿性はないと考えら

れた。フェノバルビタールは，げっ歯類において遺伝毒性以外のメカニズムにより肝腫瘍を発現することが知られているが，ヒトの疫学的調査では発がん性は認められていない（Whysner et al. 1996, La Vecchia and Negri 2014）。フェノバルビタールがラット及びマウスで肝腫瘍を発現するメカニズムとして，CAR 活性化を介した薬物代謝酵素誘導，甲状腺ホルモン（T3 及び T4）クリアランスの増加，細胞増殖及びクローン増殖に基づいて，肝臓の変異細胞巣，腺腫及び癌並びに甲状腺の濾胞性腫瘍を発現することが知られている（Qatanani et al. 2005, Elcombe et al. 2013, Peffer et al. 2018）。

がん原性試験では，非腫瘍性病変として肝臓で変異細胞巣（好酸性細胞，好塩基性細胞，明細胞又は混合型細胞）の発現頻度が増加した。この変化は，細胞の複製段階からクローン増殖へ進展する重要な変化と考えられた。ラット及びマウスを用いた反復投与毒性試験において，肝臓重量の増加，小葉中心性肝細胞肥大及び肝臓の空胞化が認められ，これらの変化も CAR 活性化を介した作用機序と考えられた。一方，イヌではそれらの変化は認められなかった。マウスの 13 週間反復投与毒性試験では，200 mg/kg/日群の死亡例（投与 2 日後）で肝細胞の有糸分裂の増加がみられており，この変化は肝細胞の代謝回転の亢進を反映したもので，明らかな変性性変化は認められなかった。ラットの 2 週間静脈内持続投与毒性試験においても，50 mg/kg/日群の肝臓で有糸分裂の増加が認められた。げっ歯類に Nitrapyrin（CAR 活性化剤）を反復投与した報告では，投与初期（投与 1～28 日目）に一過性の急激な細胞増殖が誘発し，肝臓では細胞数が増加するため，複製段階にある肝細胞が多数認められている（Peffer et al. 2018）。したがって，肝細胞の増殖についても，CAR 活性化を介した作用機序に起因した変化と考えられた。

追加試験として，LCI699 のラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験の肝臓から得た遺伝子発現解析結果と，フェノバルビタールを 80 mg/kg の用量で 3 日間及び 4 週間投与したラット肝臓の遺伝子発現プロファイルを比較検討した。その結果，LCI699 投与群では，CAR 遺伝子シグネチャー（*Cyp2b1*，*Ugt2b1* 及び *Ces2c*）の用量依存的な増加が認められ，その変化はフェノバルビタールと同様であった。LCI699 投与群では，AhR 遺伝子シグネチャー（*Cyp1a1*，*Cyp1a2*）も軽度に誘導したが，AhR 活性化因子遺伝子（*Aldh3a*）の上昇は認められなかったため，LCI699 で認められた肝臓の腫瘍性変化は AhR 活性化因子を介した作用機序と関連性はないと考えられた（Rooney et al. 2018）。フェノバルビタールを投与したラットの肝臓では，AhR 遺伝子シグネチャー（*Cyp1a1*，*Cyp1a2*）が誘導されることが報告されているが，その誘導の程度は，既知の AhR 活性化剤と比較して極めて低い（Kishida et al. 2008）。また，Wistar 系ラットの CYP1A1 mRNA のベースラインは，SD 系ラットと比較して高い（Kishida et al. 2008）。AhR ノックアウトマウスにフェノバルビタールを投与した結果，CYP1A2 mRNA が上昇する（Zaher et al. 1998）。これらの報告から，CYP1A1／CYP1A2 の発現上昇は，AhR 非依存的な経路で誘導される可能性が示唆された。LCI699 では検討した用量において，フェノバルビタールと同様に PPARα 及びエストロゲン受容体の遺伝子シグネチャーの誘導は認められなかった。一方，フェノバルビタールでは，ラット及びマウスとは異なり，ヒトにおいて CAR 活性化による

薬物代謝酵素誘導及び肝腫大を発現する可能性があるが，細胞増殖の活性化及び腫瘍形成は認められていない（Elcombe et al. 2013）。また，LCI699 と同様の作用機序を有する複数の薬物において，げっ歯類で認められた肝腫瘍がヒトでも発現する可能性は低い（Friedrich and Olejniczak 2011）。なお，LCI699 の健康被験者における薬物相互作用試験では，50 mg の用量で単回投与した結果，中等度の CYP1A2 活性阻害が認められた（基質の曝露量が 2.54 倍に増加）。そのため，LCI699 は，ヒトにおいて，顕著な AhR 誘導を発現しないと考えられた [2.7.2-2.2.3.1 項]。

がん原性試験で認められた甲状腺の腫瘍及び濾胞細胞過形成は，肝酵素誘導により生じた甲状腺ホルモンの代謝及び排泄の亢進，視床下部-下垂体-甲状腺系の活性化を介した代償性の TSH 分泌増加による二次的な変化と考えられた。甲状腺ホルモンの代謝には種差があるため，ヒトにおいて，甲状腺の変化が発現する可能性は低いと考えられる（Alison et al. 1994, Capen 1997）。

以上のことから，LCI699 投与したラット及びマウスの肝臓及び甲状腺の腫瘍性病変は，遺伝毒性のメカニズムではなく，フェノバルビタールと同様に CAR 活性化による薬物代謝活性化に関連したメカニズムであり，ヒトの発癌リスクには外挿性がないと考えられた。

LCI699 の光毒性及び皮膚刺激性は認められなかった。しかし，本薬は皮膚感作物質であるため，皮膚への長期接触は避けるべきである。

安全性確認の必要な閾値を超えた製剤の不純物又は分解物を含む LCI699 の毒性プロファイルは，LCI699 と同様であった。LCI699 の製剤／原薬中の *S*-エナンチオマー（LCI698）は，LCI699 の毒性変化に対して付加的な影響を与えなかった。

ヒトにおける LCI699 の代謝物は，ラット，マウス及びイヌにおいて検出されたことから，代謝物の影響は，LCI699 と含めて毒性評価されていると考えられた。

7 総括及び結論

LCI699 はコルチゾール生合成の最終段階を触媒する CYP11B1（11β-水酸化酵素）の強力な阻害剤である。LCI699 は遺伝子組み換えヒト CYP11B1 に対し強い阻害活性を示し，その IC50 値は 2.5 nM であった。一方，遺伝子組み換えラット CYP11B1 に対する阻害作用の IC50 値は 410 nM であり，ラット及びサル副腎ホモジネートを用いた検討から得られた IC50 値はそれぞれ 3045 nM 及び 62 nM であった。また，ラットにおいて ACTH 負荷により上昇した血漿中コルチコステロン濃度を用量依存的に低下させ，ED50 値は 73 mg/kg，EC50 値は 36 µM であった。しかしながら，サルにおいてはコルチゾール生合成に対する抑制作用は認められなかった。一方，一連の臨床試験では LCI699 の優れたコルチゾール合成抑制作用が認められている。これらのことから，LCI699 の CYP11B1 阻害を介したコルチゾール合成抑制作用（ラットにおいてはコルチコステロン合成抑制作用）は動物種によって異なることが示唆され，その効力はヒトにおいて最も高く，サル及びラットでは低いと考えられた。

ラット及びイヌを用いて *in vivo* での PK 及び TK を評価した。LCI699 は Caco-2 細胞において高い透過性を示し，排出トランスポーターの基質ではなかった。ラット及びイヌにおける吸収は

速やかであった（Tmax：0.5～0.83 時間）。ラット及びイヌにおける血漿中 LCI699 濃度の T1/2 は短かった（約 2 時間）。ラットでは検討した用量範囲で曝露量が用量に比例して増加したが，マウス，ウサギ，及びイヌでは用量比を上回って増加した。いずれの動物種においても蓄積及び性差は認められなかった。蛋白結合率は低く（26.6%～36.7%），明らかな種差は認められなかった。ラット及びイヌの ADME 試験において，投与経路（静脈内又は経口投与）にかかわらず，消失は主に代謝及び尿中排泄（代謝物の排泄）によるものであり，腎クリアランスの寄与は小さかった（尿中総排泄率はラットで約 79%，イヌで約 90%；LCI699 未変化体の尿中排泄率は約 5%～10%，糞中排泄率は 3%未満）。

LCI699 の安全性薬理試験成績では高用量で QTc 間隔延長及び TdP が認められたため，添付文書（案）の重要な基本的注意に「QT 延長があらわれることがあるので，投与開始前及び投与開始後 1 週間以内を目安に心電図検査を行うこと。また，増量時も含め，その後も必要に応じて心電図検査を行うこと」を注意喚起した。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，LCI699 の胚・胎児毒性又は催奇形性が認められたことから，添付文書（案）では妊娠又は妊娠している可能性のある女性には投与しない旨を注意喚起した。

以上のことから，一連の LCI699 の非臨床試験成績は，クッシング症候群患者における本薬の臨床使用を支持するものと判断した。

8 参考文献

[Ahmed A, Schmidt C, Brunner T (2019)] Extra-adrenal glucocorticoid synthesis in the intestinal mucosa: between immune homeostasis and immune escape. Front Immunol; 10:1438.

[Alison RH, Capen CC, Prentice DE (1994)] Neoplastic lesions of questionable significance to humans. Toxicol Pathol; 22(2):179-86.

[Amaral VC and Nunes GP Jr (2009)] Prednisone reduces ketoconazole-induced skeletal defects in rat fetuses. Arch Toxicol; 83(9):863-71.

[Beltrame D, di Salle E, Giavini E, et al. (2001)] Reproductive toxicity of exemestane, an antitumoral aromatase inactivator, in rats and rabbits. Reprod Toxicol; 15(2):195-213.

[Bohlender J, Fukamizu A, Lippoldt A, et al. (1997)] High human renin hypertension in transgenic rats. Hypertension; 29(1 Pt 2):428-34.

[Bulun SE (2014)] Aromatase and estrogen receptor α deficiency. Fertil Steril; 101(2):323-9.

[Capen CC (1997)] Mechanistic data and risk assessment of selected toxic end points of the thyroid gland. Toxicol Pathol; 25(1):39-48.

[Daniel AB, Strickland J, Allen D, et al. (2018)] International regulatory requirements for skin sensitization testing. Regul Toxicol Pharmacol; 95:52-65.

[Davies B and Morris T (1993)] Physiological parameters in laboratory animals and humans. Pharm Res; 10(7):1093-5.

[Elcombe CR, Peffer RC, Wolf DC, et al. (2014)] Mode of action and human relevance analysis for nuclear receptor-mediated liver toxicity: A case study with phenobarbital as a model constitutive androstane receptor (CAR) activator. Crit Rev Toxicol; 44(1):64-82.

[Friedrich A and Olejniczak K (2011)] Evaluation of carcinogenicity studies of medicinal products for human use authorised via the European centralised procedure (1995-2009). Regul Toxicol Pharmacol; 60(2):225-48.

[Gomez-Sanchez EP, Ahmad N, Romero DG, et al. (2005)] Is aldosterone synthesized within the rat brain? Am J Physiol Endocrinol Metab; 288(2):E342-6.

[Huang BS, White RA, Ahmad M, et al. (2013)] Role of brain corticosterone and aldosterone in central angiotensin II-induced hypertension. Hypertension; 62(3):564-71.

[Junker Walker U and Nogués V (1994)] Changes induced by treatment with aromatase inhibitors in testicular Leydig cells of rats and dogs. Exp Toxicol Pathol; 46(3):211-3.

[Kirkland D, Aardema M, Henderson L, et al. (2005)] Evaluation of the ability of a battery of three *in vitro* genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens I. Sensitivity, specificity and relative predictivity. Mutat Res; 584 (1-2):1-256.

[Kishida T, Muto S, Hayashi M, et al. (2008)] Strain differences in hepatic cytochrome P450 1A and 3A expression between Sprague-Dawley and Wistar rats. J Toxicol Sci; 33(4):447-57.

[La Vecchia C and Negri E (2014)] A review of epidemiological data on epilepsy, phenobarbital, and risk of liver cancer. Eur J Cancer Prev; 23(1):1-7.

[Matthews EJ, Kruhlak NL, Cimino MC, et al. (2006)] An analysis of genetic toxicity, reproductive and developmental toxicity, and carcinogenicity data: I. Identification of carcinogens using surrogate endpoints. Regul Toxicol Pharmacol; 44(2):83-96.

[Menard J, Rigel DF, Watson C, et al. (2014)] Aldosterone synthase inhibition: cardiorenal protection in animal disease models and translation of hormonal effects to human subjects. J Transl Med; 12:340.

[Meredith EL, Ksander G, Monovich LG, et al. (2013)] Discovery and *in vivo* evaluation of potent dual CYP11B2 (aldosterone synthase) and CYP11B1 inhibitors. ACS Med Chem Lett; 4(12):1203-7.

[Nunez SB, Blye RP, Thomas PM, et al. (1996)] Recovery of reproductive function in rats treated with the aromatase inhibitor fadrozole. Reprod Toxicol; 10(5):373-7.

[Peffer RC, LeBaron MJ, Battalora M, et al. (2018)] Minimum datasets to establish a CAR-mediated mode of action for rodent liver tumors. Regul Toxicol Pharmacol; 96:106-20.

[Qatanani M, Zhang J, Moore DD (2005)] Role of the constitutive androstane receptor in xenobiotic-induced thyroid hormone metabolism. Endocrinology; 146(3):995-1002.

[Rooney J, Hill T 3 rd, Qin C, et al. (2018)] Adverse outcome pathway-driven identification of rat liver tumorigens in short-term assays. Toxicol Appl Pharmacol; 356:99-113.

[Weldon SM, Cerny MA, Gueneva-Boucheva K, et al. (2016)] Selectivity of BI 689648, a novel, highly selective aldosterone synthase inhibitor: comparison with FAD286 and LCI699 in nonhuman primates. J Pharmacol Exp Ther; 359(1):142-50.

[Whysner J, Ross PM, Williams GM (1996)] Phenobarbital mechanistic data and risk assessment: enzyme induction, enhanced cell proliferation, and tumor promotion. Pharmacol Ther; 71(1-2): 153-91.

[Zaher H, Yang TJ, Gelboin HV, et al. (1998)] Effect of phenobarbital on hepatic CYP1A1 and CYP1A2 in the Ahr-null mouse. Biochem Pharmacol; 55(2):235-8.