目次

1　非臨床試験の概括評価 7
1.1　天然型 GLP-2 の生理学的性質 7
1.2　テデュグルチドの非臨床試験プログラム 9
2　薬理試験 11
2.1　効力を裏付ける試験 11
2.1.1　腸管運動に対する作用 11
2.1.2　腸管栄養活性 11
2.1.3　腸管粘膜バリア及び吸収に対する作用 13
2.1.4　TPN 誘発性腸形成不全モデルに対する効果 14
2.1.5　SBS モデルに対する効果 14
2.1.6　その他の腸疾患モデルに対する作用 15
2.2　副次的薬理試験 15
2.3　安全性薬理試験 15
2.4　薬力学的薬物相互作用 16
3　薬物動態 17
3.1　分析法 17
3.2　吸収 17
3.3　分布 18
3.4　代謝 18
3.5　排泄 18
3.6　薬物動態学的薬物相互作用 19
4　毒性試験 20
4.1　単回投与毒性 20
4.2　反復投与毒性（標的臓器及び曝露量比） 20
4.3　遺伝毒性及びがん原性 21
4.4　生殖発生毒性 21

4.5　幼若動物に対する毒性 22

4.6　局所刺激性 22

4.7　抗原性 22

4.8　不純物の毒性 23

4.9　C 反応性タンパク増加に関する毒性 23

5　総括及び結論 24

参考文献 27

表目次

表 2.4- 1　　NOEL/NOAEL 及び曝露量比の要約 26

図目次

図 2.4- 1　テデュグルチドのアミノ酸配列 7

図 2.4- 2　予想される腸管内 GLP-2 の間接的作用機序 9

図 2.4- 3　雌雄 CD-1 マウスでのテデュグルチドによる用量及び時間依存的 小腸重量増加作用（平均値） 12

図 2.4- 4　雌雄カニクイザルでのテデュグルチドによる用量及び時間依存的 小腸重量増加作用（平均値） 13

略号及び用語の説明

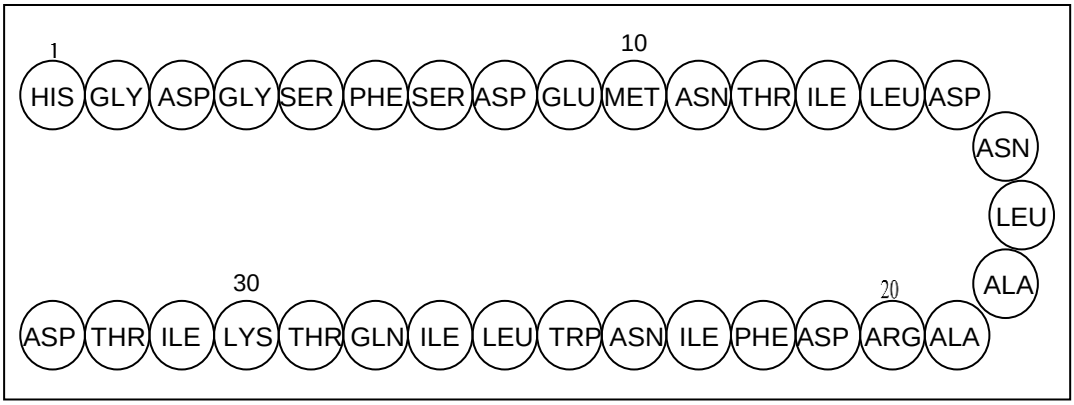
略号／用語	日本語	英語
AUC	濃度-時間曲線下面積	area under the concentration-time curve
AUC_{0-X}	投与後 X 時間までの濃度-時間曲線下面積	area under the concentration-time curve to X hours post dose
AUC_{0-t}	測定可能であった最終時点までの濃度-時間曲線下面積	area under the concentration-time curve to the last measurable concentration
BCRP	乳癌耐性たん白	breast cancer resistance protein
cAMP	環状アデノシン一リン酸	adenosine 3’-5’-cyclic monophosphate
C_{max}	最高濃度	maximum observed concentration
CRP	C 反応性タンパク	C-reactive protein
CYP	シトクロム P450	cytochrome P450
DNA	デオキシリボ核酸	deoxyribonucleic acid
DPP	ジペプチジルペプチダーゼ	dipeptidyl peptidase
ECP	*Escherichia coli* タンパク質	Escherichia coli protein
ED_{50}	50% 有効用量	half maximal effective dose
EFS	フィールド刺激	electrical field stimulation
ELISA	酵素免疫測定法	enzyme-linked-immunosorbent assay
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準	Good Laboratory Practices
GLP-1	グルカゴン様ペプチド-1	glucagon-like peptide-1
GLP-2	グルカゴン様ペプチド-2	glucagon-like peptide-2
GLP-2R	グルカゴン様ペプチド-2 受容体	glucagon-like peptide-2 receptor
GPCR	G-タンパク質共役受容体	G protein-coupled receptor
hERG	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子	human ether-à-go-go-related gene
ICH	日米 EU 医薬品規制調和国際会議	International Conference on Harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use
IGF	インスリン様増殖因子	insulin-like growth factor
IL	インターロイキン	interleukin
KGF	ケラチノサイト増殖因子	keratinocyte growth factor
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析計	liquid chromatography tandem mass spectrometry
MATE	－	multidrug and toxin extrusion protein
NOAEL	無毒性量	no observed adverse effect level
NOEL	無影響量	no observed effect level
NSAID	非ステロイド性抗炎症薬	non-steroidal anti-inflammatory drug

略号／用語	日本語	英語
OAT	有機アニオントランスポーター	organic anion transporter
OATP	－	organic anion transporting polypeptide
OCT	－	organic cation transporter
PBS	リン酸緩衝食塩水	phosphate-buffered saline
P-gp	P 糖たん白	P-glycoprotein
SBS	短腸症候群	short bowel syndrome
$t_{1/2}$	消失半減期	elimination half-life
テデュグルチド	遺伝子組換えヒトグルカゴン様ペプチド-2（GLP-2）アナログであり、2 番目のアラニンがグリシンに置換された 33 個のアミノ酸残基からなるペプチド（開発コード：ALX-0600）	teduglutide a recombinant human glucagon like peptide-2 (GLP-2) analog in which Ala at position 2 is substituted by Gly, a peptide consisting of 33 amino acid residues (compound code: ALX-0600)
TK	トキシコキネティクス	toxicokinetics
T_{max}	最高濃度到達時間	time to maximum concentration
TNBS	2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸	2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid
TPN	中心静脈栄養	total parenteral nutrition
VIP	血管作動性腸管ポリペプチド	vasoactive intestinal polypeptide

1　非臨床試験の概括評価

テデュグルチドは、天然型ヒトグルカゴン様ペプチド-2（GLP-2）の新規遺伝子組換えアナログであり、短腸症候群（SBS）患者の腸管からの補液及び栄養吸収改善を目的に開発された。推奨臨床用法用量は、0.05 mg/kg の 1 日 1 回皮下投与である。テデュグルチドは、GLP-2 のアミノ末端（N 末端）2 位のアラニンがグリシンに置換された 33 個のアミノ酸からなるペプチド（分子量 3752 ダルトン）である（図 2.4- 1）。このアミノ酸の置換により、テデュグルチドは天然型 GLP-2 と比較してジペプチジルペプチダーゼ（DPP）-4 による分解に耐性を示し、消失半減期（$t_{1/2}$）は延長した（2.6.4.5 項）。テデュグルチドはジスルフィド結合及び糖鎖を有さず、翻訳後修飾されない。テデュグルチドは遺伝子組換え技術を応用した大腸菌株を用いて製造される。

図 2.4- 1　　テデュグルチドのアミノ酸配列



テデュグルチドは 1 バイアルに 5 mg の遺伝子組換え型テデュグルチドを含有する凍結乾燥粉末として開発された。0.5 mL の注射用水で用時調製する（10 mg/mL）。溶解後の製剤には L-ヒスチジン（[redacted] mg/mL [[redacted] mmol/L]）、マンニトール（[redacted] mg/mL [[redacted]% w/v]）及びリン酸ナトリウム（[redacted] mg/mL [リン酸塩として [redacted] mmol/L]）を含有する。

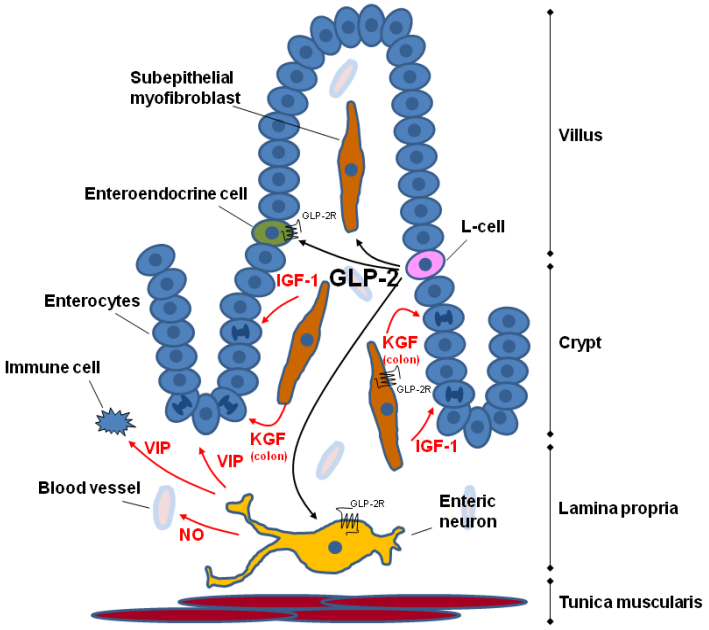
1.1　天然型 GLP-2 の生理学的性質

天然型 GLP-2 は、腸管内容物に応答して主に下部腸管に存在する L 細胞から分泌され、栄養分の吸収を促進する。天然型 GLP-2 は、腸上皮の増殖とアポトーシスの調節作用により、主に腸管粘膜表面の維持と修復に寄与する。さらに、炭水化物、アミノ酸及び脂質吸収能の亢進、刷子縁消化酵素の活性及び発現増加など多彩な機序を介してエネルギー吸収を促進し、六炭糖及び栄養素の輸送を増大する（Cheeseman and Tsang, 1996; Cheeseman, 1997; Cottrell et al, 2006）。また、胃運動を低下させ、胃酸分泌を抑制し、粘膜バリア機能を強化し、腸及び門脈血流量を急激に増加させる（Wojdemann et al, 1998; Wojdemann et al, 1999; Benjamin et al, 2000; Guan et al, 2003; Stephens et al, 2006; Meier et al, 2006; Bremholm et al, 2009）。

GLP-2 はプログルカゴン遺伝子によってコードされる 33 個のアミノ酸からなるペプチドで、ほとんどの脊椎動物でその構造が保持されている（Irwin, 2001）。GLP-2 の N 末端の最初の 10 個のアミノ酸は全ての哺乳動物種で 100%保存されている（Burrin et al, 2003）。この N 端末は

DPP-4 分解部位を含み、GLP-2 の生物学的活性に重要な役割を果たしている。N 末端の伸長及び切断によりペプチドは不活性化される一方、カルボキシ末端の変化は、生物活性にほとんど影響しない（Munroe et al, 1999）。血漿中 GLP-2 の $t_{1/2}$ は、DPP-4 による迅速な分解及び腎クリアランスのため約 7 分と短い（Hartmann et al, 2000; Tavares et al, 2000）。さらに、GLP-2 の生物学的作用は、DPP-4 分解により生成する生理活性の弱い主要代謝物 GLP-2(3-33)との GLP-2 受容体（GLP-2R）での競合によって抑制されると考えられる（Thulesen et al, 2002）。天然型 GLP-2 及びテデュグルチドの作用は、クラス B G-タンパク質共役受容体（GPCR）（セクレチン受容体ファミリー）である GLP-2R によって媒介される。GLP-2R はグルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）及びグルカゴン受容体と類似している（Munroe et al, 1999; Yusta et al, 1999; Yusta et al, 2000b）。この類似性にも関わらず、GLP-2R は GLP-2 に非常に特異的であり、類縁グルカゴンペプチドファミリーとは結合しない（Munroe et al, 1999; DaCambra et al, 2000）。GLP-2 が GLP-2R に結合すると、細胞内環状アデノシン一リン酸（cAMP）濃度が上昇し、インスリン様増殖因子（IGF-1）、ケラチノサイト増殖因子（KGF）及び血管作動性腸管ポリペプチド（VIP）等の増殖因子の分泌を惹起する複数の下流シグナル経路が活性化される（図 2.4- 2）。GLP-2 が示す特異的な活性の一部は、GLP-2R の局在に起因すると考えられる。胃腸管内の GLP-2R タンパク質の発現は、腸内分泌細胞、上皮下筋線維芽細胞、大腸及び小腸の粘膜下並びに筋層間神経叢の腸ニューロンで確認されている（Yusta et al, 2000a; Guan et al, 2006; Orskov et al, 2005; Bjerknes & Cheng, 2001; Nelson et al, 2007）。GLP-2R の発現は生物種間で共通であると考えられる。

図 2.4- 2　　予想される腸管内 GLP-2 の間接的作用機序



Expression of the glucagon-like peptide-2 receptor (GLP-2R) in intestinal endocrine cells, intestinal subepithelial myofibroblasts and enteric neurons suggests that glucagon-like peptide-2 (GLP-2), released from L-cells, acts indirectly to produce its diverse actions in the intestine. Insulin-like growth factor (IGF)-1, released from subepithelial myofibroblasts, induces intestinal growth and activates crypt cell proliferation in the small intestine. Other myofibroblast-derived growth factors released indirectly by GLP-2, such as keratinocyte growth factor (KGF), may induce complementary actions in the colon. GLP-2-mediated enteric neuronal signaling enhances intestinal blood flow through a mechanism involving nitrous oxide (NO) production and has anti-inflammatory actions through vasoactive intestinal polypeptide (VIP), although the target of this VIP effect remains undefined. Neural GLP-2R signaling may also influence the crypt epithelium and gastrointestinal motility.
Source: Based on Dubé & Brubaker, 2007.

1.2　テデュグルチドの非臨床試験プログラム

テデュグルチドの包括的な非臨床試験プログラムが実施された。効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験を含む一連の薬力学的評価は、様々な動物種を用いて実施された。また、毒性試験に使用した全ての動物種について薬物動態試験が実施された。毒性試験については、単回及び反復投与毒性、遺伝毒性、がん原性、生殖発生毒性、幼若動物に対する毒性、抗原性、局所刺激性及び特殊毒性について検討した。

C 反応性タンパク（CRP）への影響を検討したサルでの試験以外、全ての毒性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）に従って実施した。さらに毒性試験は、群別動物数及び評価項目に関して標準的な現在容認されている試験デザインにより、試験計画書及び施設の標準手順書に準拠して実施され、日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインにも準拠している。非臨床試験実施中に認められた逸脱は、いずれも軽微であり、試験の完全性及び結果の解釈に影響を及ぼさなかった。ウサギ局所刺激性試験、マウス及びウサギ抗原性試験並びに *in vitro* 試験を除き、テデュグルチドの投与経路は臨床投与経路である皮下投与とした。テデュグルチドの薬理学的、薬物動態学的及び毒性学的プロファイルは、全ての動物種を通じて高い一貫性を示した。

薬物動態及び毒性試験において、血漿中テデュグルチド濃度は、高い感受性及び特異性をもつバリデートされた酵素免疫測定法（ELISA）により測定した。ただし、幼若ミニブタを用いた試験及びマウスがん原性試験では液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析計（LC-MS/MS）法を使用した。ELISA では内因性 GLP-2 とテデュグルチドとの交差反応が生じるが、内因性 GLP-2 濃度は定量下限付近であったため、毒性試験で測定される血漿中濃度は血漿中テデュグルチド濃度を反映していると考えられる。

免疫毒性の可能性については、反復投与毒性試験における抗体産生能、臨床所見及び解剖学的所見並びにマウス及びウサギの抗原性試験の結果に基づき評価した。

主な非臨床毒性試験では、臨床試験で使用される製剤及び市販予定製剤と同等の製剤であるヒスチジン、マンニトール含有テデュグルチドリン酸緩衝液の凍結乾燥粉末を使用した。初期の試験では、リン酸緩衝食塩水（PBS）を溶媒として用いた。不純物に関する特定の試験は実施しなかった。全ての不純物は毒性試験に基づき適切に評価された。

GLP-2 及びその受容体のアミノ酸配列は動物種間で高度に保存され、また動物種間での GLP-2R 発現プロファイルも類似しているため、テデュグルチドの生物活性に種特異的な差は認められないと考えられる。テデュグルチドの *in vivo* 生物活性はマウス、ラット、フェレット、イヌ、ブタ及びカニクイザルで示された。各動物種で天然型 GLP-2 が高度に保存されていること、一連の非臨床試験で使用した動物種で GLP-2R の発現が認められていること及びテデュグルチドが各動物種で一貫した腸管栄養作用を示すことから、テデュグルチドの非臨床開発プログラムに使用した動物種（マウス、ラット、ウサギ、サル及びミニブタ）は、テデュグルチドの安全性を確認するために適切であったと考えられる。

本項に要約した非臨床成績は、テデュグルチドが SBS 患者に安全に使用できることをサポートしている。

2　薬理試験

テデュグルチドの効力を裏付ける試験（腸管に対する作用）、副次的薬理試験（関連する受容体及び腸管以外の臓器に対する作用）及び安全性薬理試験（心血管系、中枢神経系、呼吸器系に対する作用）を実施した。

2.1　効力を裏付ける試験

テデュグルチドの効力を裏付ける薬理学的性質に関する試験は、げっ歯類（マウス、ラット）及び非げっ歯類（フェレット、イヌ及びカニクイザル）を用いて実施した。また、これらの正常動物を用いた試験に加えて、中心静脈栄養（TPN）誘発性腸形成不全、SBS モデル及び各種腸疾患モデルを用いた試験を実施した。

2.1.1　腸管運動に対する作用

テデュグルチドはイヌの腸管運動に対して神経を介した興奮性及び抑制性作用を生じた（2.6.2.2.3.2 項）。テデュグルチド（0.1～100 µg、動脈内灌流）はフィールド刺激（EFS）により用量依存性の興奮作用の後に抑制作用を示し、この作用は幽門洞よりも空腸及び回腸で顕著であった。EFS 無し（自発的な basal tone がない状態）では、テデュグルチドは興奮作用のみを生じ、抑制作用は示さなかった。一方、摘出回腸においてテデュグルチド（300 nmol/L）は EFS 前に収縮を生じ、EFS によりその作用を増強した。これらテデュグルチドの作用の一部は、輪状筋に対する直接的な興奮作用及び腸管神経系からの抑制性メディエータ遊離による抑制作用であると考えられる。また、テデュグルチドはラット摘出腸管の自発的収縮を用量依存的に抑制した（2.6.2.2.3.1 項）。

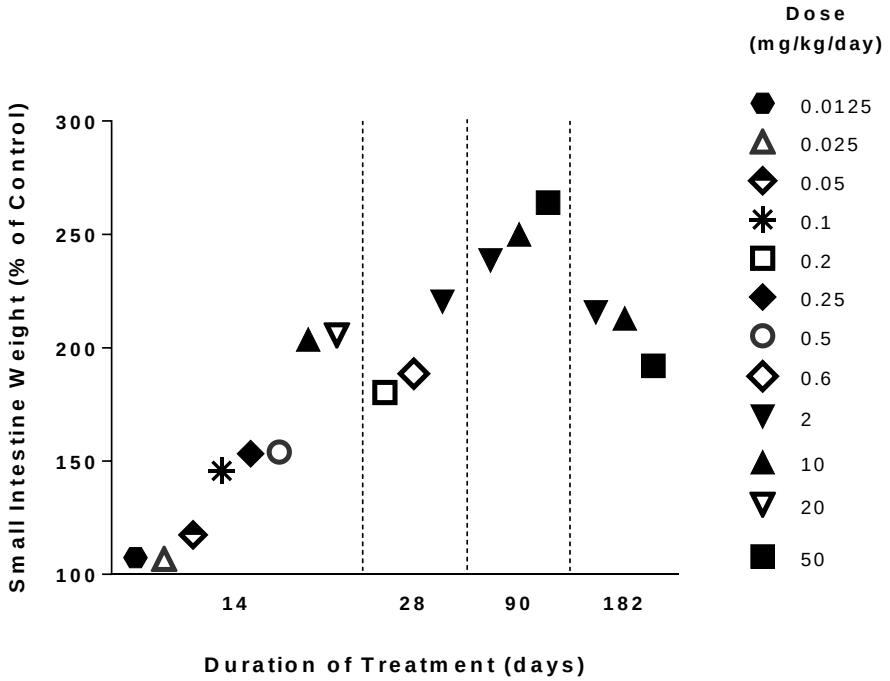
2.1.2　腸管栄養活性

マウス、ラット、フェレット、イヌ及びサルを用いてテデュグルチドの腸管栄養活性を検討した。ほとんどの薬理試験では正常動物を用いた腸管重量の測定及び形態学的解析、いくつかの試験ではタンパク質及びデオキシリボ核酸（DNA）含有量により評価した。また、用量反応性、最適投与レジメン、最大効果及び可逆性の検討を含む一連の薬理試験において、テデュグルチドの腸管栄養活性を詳細に評価した。マウスでの腸管栄養活性は典型的なシグモイド用量反応曲線を示し、テデュグルチドを 14 日間投与したときの 50%有効用量（ED_{50}）は 1 日 1 回投与で 0.98 µg/day、1 日 2 回投与で 1.30 µg/day であった。また、1～5 µg/day（20 g のマウスでは 0.05～0.25 mg/kg/day に相当）投与群での作用は投与 7～14 日目にプラトーに達した（2.6.2.2.4.1 項）。

マウス及びサルを用いた各試験でのテデュグルチドによる腸管栄養活性について、その用量及び時間依存性をそれぞれ図 2.4- 3 及び図 2.4- 4 にまとめる。CD-1 マウスでは、投与期間に関わらず溶媒投与と比較してテデュグルチド投与により小腸重量は 2 倍以上にまで増加することが示された。0.2、0.5 及び 0.6 mg/kg/day の 28 日間までの投与結果から、投与期間の延長により作用が

増大することが示された一方、2 mg/kg/day 以上の用量では投与期間を延長しても更なる増加作用は認められなかった（図 2.4- 3）。

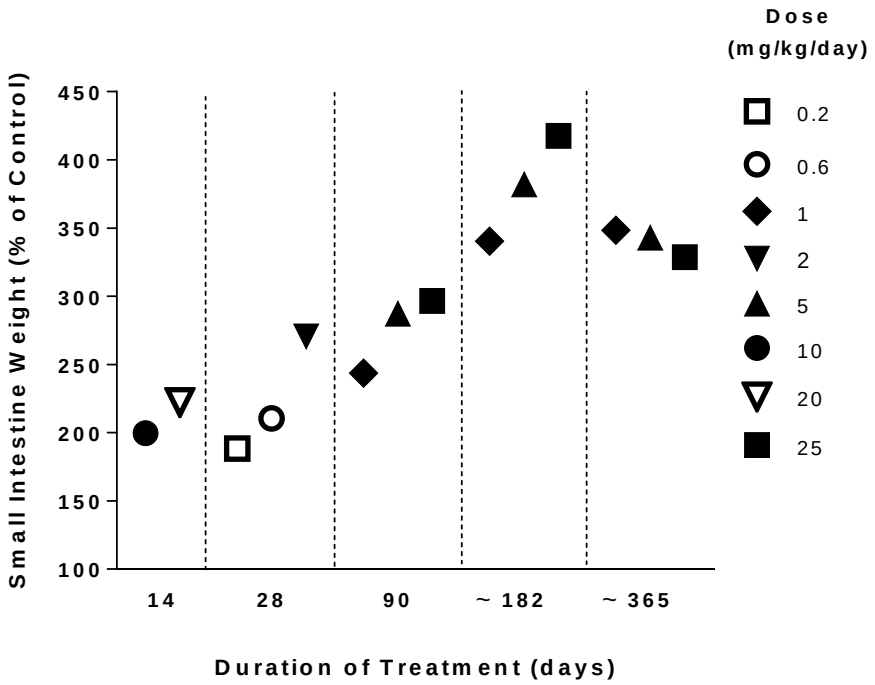
図 2.4- 3　　雌雄 CD-1 マウスでのテデュグルチドによる用量及び時間依存的小腸重量増加作用（平均値）



All mice were treated twice daily dosing via subcutaneous injection. Labels of data points represent the daily dose in mg/kg/day. For ease of review, standard deviations are not provided. Variability of data is high and data points on Day 182 should not be interpreted as an inverse dose-response relationship. (Vehicle controls represent 100% small intestine weight.)
Source: Studies ALX0600-10202-R, 88617, 88730, 0470mn12.001, 7203-112

カニクイザルでは、溶媒投与と比較してテデュグルチド投与により小腸重量は 4 倍以上にまで増加することが示された。テデュグルチド 1 mg/kg/day までの投与で小腸重量は 12 ヵ月間持続的に増加したが、5 及び 25 mg/kg/day では、6 ヵ月を超える投与期間での更なる増加は認められなかった（図 2.4- 4）。

図 2.4- 4　　雌雄カニクイザルでのテデュグルチドによる用量及び時間依存的小腸重量増加作用（平均値）



All monkeys were treated twice daily dosing via subcutaneous injection. Labels of data points represent the daily dose in mg/kg/day. For ease of review, standard deviations are not provided. Variability of data is high and data points on Day 364 should not be interpreted as an inverse dose-response relationship. (Vehicle controls represent 100% small intestine weight.)
Source: 88619; 88729; 7203-100; 1368-100

マウス及びサルにおけるテデュグルチドの腸管栄養活性の比較から、げっ歯類よりも霊長類の小腸粘膜増殖能に対する作用の方が高いことが示唆された。そのため、テデュグルチドの小腸重量増加作用がプラトーに達するまでの時間はマウスよりもサルの方が長いと考えられる。

また、テデュグルチドによる腸管栄養活性は、投与中止によりコントロールレベルに戻ることが、マウス及びサルの試験で確認された。マウスへのテデュグルチド 14 日間投与による小腸重量増加は、投与中止後 14 日以内にコントロールレベルまで戻った。一方、投与を継続した群での小腸重量増加は維持された（2.6.2.2.4.1 項）。1 年間テデュグルチドを投与したサルの小腸重量は、テデュグルチド投与中止 13 週以内にコントロールよりもわずかに高いレベルまで戻った（2.6.6.3.3.5 項）。

テデュグルチドによる腸管栄養活性作用は、ラット（2.6.2.2.4.3 及び 2.6.2.2.4.4 項）、フェレット（2.6.2.2.4.5 項）及びイヌ（2.6.2.2.4.6 項）でも観察された。

2.1.3　腸管粘膜バリア及び吸収に対する作用

テデュグルチドは腸管栄養活性だけでなく粘膜バリア機能及び吸収に対する促進作用も示した。テデュグルチドはマウス空腸細胞において傍細胞及び経細胞透過性の両方を減少させた（2.6.2.2.5.1 項）。この結果から、テデュグルチドは様々な大きさの免疫原性分子の粘膜内への

侵入を阻害することが示唆される。一方、テデュグルチドは腸管粘膜の吸収機能を促進した。テデュグルチドはラット（2.6.2.2.5.2 項）及びサル（2.6.2.2.5.4 項）において D-キシロース吸収を促進した。テデュグルチドはイヌでの D-キシロース吸収には影響しなかったことから（2.6.2.2.5.3 項）、当初イヌはテデュグルチドの安全性試験に不適であると考えられたが、テデュグルチドによるイヌでの腸管栄養活性が観察されている（2.6.2.2.4.6 項）。マウスでは、テデュグルチドによる吸収促進作用と一致して、腸管細胞微絨毛高の増大が認められた（2.6.2.2.5.1 項）。

2.1.4　TPN 誘発性腸形成不全モデルに対する効果

SBS 患者の主な栄養補給法である経静脈栄養は、長期間栄養状態及び水分を維持させることができるが、小腸萎縮などの数多くの合併症を伴う。げっ歯類の腸管上皮は、腸管栄養欠乏による影響を受けやすく、ラット TPN モデルでは、5 日間の TPN により腸管重量は最大 50%減少する（Chance et al, 1997; Chance et al, 2000）。ラット TPN モデルにおいて、テデュグルチドの 7～10 日間投与により TPN 誘発性腸形成不全は完全に抑制された（2.6.2.2.6.1 及び 2.6.2.2.6.2 項）。さらに、すでに TPN により発症した腸形成不全に対して、テデュグルチドは治療的効果を示した（2.6.2.2.6.3 項）。

2.1.5　SBS モデルに対する効果

ラット小腸切除モデルは SBS の確立された動物モデルである。小腸切除により吸収不良及び最終的には体重減少をもたらし、切除の程度は吸収不良の程度に関連している。75%以上の小腸を切除したラットでは体重が減少し、切除の程度に応じて残存腸管粘膜において、内因性 GLP-2 濃度の増加、残存腸管の重量、長さ及び直径並びに絨毛高の増大を含む腸管適応が数週間にわたって認められた（Martin et al, 2005）。

公表論文（Scott et al, 1998）で報告されたテデュグルチド（0.2 mg/kg/day、1 日 2 回）の 21 日間皮下投与によるラット SBS モデルでの腸管適応の増大を再現するための試験を実施したが、テデュグルチドによる有意な作用は認められなかった（2.6.2.2.7.1 項）。

ブタ新生児 80%腸切除モデルを用いて、非げっ歯類 SBS モデルの腸管適応に対するテデュグルチドの作用を評価した結果、形態学的解析においてテデュグルチドによる陰窩-絨毛構造の有意な改善が認められた（2.6.2.2.7.2 項）さらに、ブタ新生児 SBS モデルにテデュグルチドを皮下投与したときの薬理学的及び薬物動態学的評価を実施した（2.6.2.2.7.3 項）。カテーテルを留置した生後 2 日のブタ新生児の回腸を約 50%切除後、すぐに TPN を開始し、テデュグルチドを 5 日間皮下投与した。テデュグルチドによる残存腸管重量、絨毛高及び陰窩深の増加傾向が認められたが、いずれも統計学的に有意ではなかった。試験期間中、SBS モデルでの水分、主要栄養素、熱量吸収及び消化機能の増大は認められなかった。ブタ新生児 SBS モデルで有意な腸管適応が認められなかったことが受容体感受性に起因するのか否かについて明らかにする目的で、GLP-2 の力価及び親和性をヒト受容体と比較するためにブタ GLP-2 受容体をクローン化した。しかし、放射性リガンド結合試験や機能的試験での評価に十分なブタ組換え GLP-2 受容体を発現す

る細胞株は同定されなかった（2.6.2.2.7.3 項）。以上の結果から、テデュグルチドによるブタ新生児 SBS モデルでの腸管適応の増大作用の有無について結論は得られなかった。

2.1.6　その他の腸疾患モデルに対する作用

テデュグルチドは、非ステロイド性抗炎症薬（NSAID）誘発性腸炎（2.6.2.2.8.1.1 項）、2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸（TNBS）誘発性回腸炎（2.6.2.2.8.1.2 項）、化学療法誘発性粘膜炎（Boushey et al, 2001）及び自然発症慢性腸炎（インターロイキン［IL］-10 遺伝子欠損マウス）（2.6.2.2.8.1.3 項）を含む各種げっ歯類炎症性腸炎モデル及び放射線誘発性腸損傷（2.6.2.2.8.2 項）に対しても有効性を示した。また、テデュグルチドはアレルギー及びストレス誘発性腸炎マウスモデルにおいて腸透過性及び管腔取り込みを軽減し、腸の病態生理学的な改善を示した（Cameron et al, 2003; Cameron & Perdue, 2005）。

2.2　副次的薬理試験

In vitro 受容体結合試験において、テデュグルチド（10 及び 30 µmol/L）は代表的なクラス A GPCR に対して有意な相互作用を示さなかった。また、テデュグルチドはヒト GLP-1R 発現細胞での cAMP 産生を促進しなかった（2.6.2.3.1 項）。テデュグルチド（0.2 mg/kg 1 日 1 回）14 日間の皮下投与により、ラットの体重及び飼料効率が溶媒投与と比較してそれぞれ 8.9%及び 8.8%増加したが、いずれも有意な作用ではなかった（2.6.2.3.2 項）。GLP-2R は腸管以外にも肺、膵臓内分泌腺（de Heer et al, 2007）及び脳（Munroe et al, 1999; Tang-Christensen et al, 2000; Lovshin et al, 2004）で発現が若干認められているが、テデュグルチドはこれらの臓器に対して臨床的に意義のある有害作用を示さなかった（2.6.2.4 項及び 2.6.6.3 項）。ヒトに GLP-2（0.1～3.2 mg）を皮下投与した試験では、骨吸収に対して用量依存的な作用が認められている（Henriksen et al, 2003, 2004 and 2007）。反復投与毒性試験で、マウスに最長 6 ヵ月又はサルに最長 12 ヵ月まで投与したとき、テデュグルチドによる骨過形成は観察されなかった。以上、非臨床試験データに基づくと、テデュグルチド長期投与による骨再形成に対する影響は認められない。

2.3　安全性薬理試験

中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に対するテデュグルチドの影響を評価した。一連の *in vivo* 及び *in vitro* 安全性薬試験結果から、テデュグルチドが中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に対して影響を及ぼす可能性は低いことが示唆された。

テデュグルチドはヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）カリウムチャネル電流に対して 300 µg/mL まで影響を及ぼさなかった（2.6.2.4.2.1.1 項）。摘出イヌ心臓プルキンエ線維を用いた *in vitro* 試験において、テデュグルチドは活動電位高、活動電位持続時間及びその他の活動電位パラメータに対して 5.8 µg/mL までいずれも影響を及ぼさなかった（2.6.2.4.2.1.2 項）。

テデュグルチドの中枢神経系プロファイルをラットで検討した。テデュグルチドは 25 mg/kg までの単回皮下投与で、明らかな中枢神経徴候を引き起こさなかった（2.6.2.4.1 項）。テデュグルチドの心血管系及び呼吸器系に対する作用を麻酔ビーグル犬で検討した結果、10 mg/kg までの静脈内投与でいずれも作用は認められなかった（2.6.2.4.2.2.1 項）。

2.4　薬力学的薬物相互作用

薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。吸収増加などテデュグルチドの作用機序を考慮すると、胃腸管吸収される治療指数の狭い併用薬は用量調節が必要になるかもしれない（2.6.2.5 項）。

3　薬物動態

薬理試験及び毒性試験で主に用いられた動物種でのテデュグルチドの PK 及びトキシコキネティクス（TK）試験を実施し、その特性を検討した。また、組織内分布試験、タンパク結合率試験（*in vitro*）、胎盤通過及び乳汁移行性試験も実施した。さらに、代謝安定性試験（*in vitro*）及び代謝プロファイリング試験並びに排泄試験を実施した。薬物相互作用の検討としては、シトクロム P450（CYP）阻害／誘導試験並びにテデュグルチドが排泄及び取込みトランポーターの基質／阻害剤となる可能性について検討した。

3.1　分析法

マウス、ラット、ウサギ、ミニブタ及びサル血漿中テデュグルチド濃度はバリデートされた酵素免疫測定法（ELISA）で測定した。本法では内因性 GLP-2 とテデュグルチドを区別することはできないが、内因性 GLP-2 濃度は検出限界（0.5 ng/mL）付近であったため、本法を用いた血漿中テデュグルチド濃度の定量に問題はないと考えられた。（2.6.4.2.1.1 項）。なお、幼若ミニブタ 90 日間反復投与試験及びマウスがん原性試験では血漿中テデュグルチド濃度は LC-MS/MS 法で測定した（2.6.4.2.1.2 項）。LC-MS/MS 法と ELISA のクロスバリデーション試験を実施した結果、これらの方法で得られたマウス及びラット血漿中濃度に若干の違いがみられた（2.6.4.2.1.3 項）。また、ラット乳汁中テデュグルチド定量法（ELISA）もバリデートした（2.6.4.2.1.4 項）。血漿／血清中抗テデュグルチド抗体濃度はバリデートした ELISA で測定した（2.6.4.2.1.5 項）。中和抗体については電気化学発光法又はセルベースバイオアッセイ法で測定した。

3.2　吸収

マウス、ラット、ウサギ、ミニブタ及びサルにテデュグルチドを単回皮下投与後の血漿中テデュグルチドは速やかに最高濃度（C_{max}）に達した（最高濃度到達時間［T_{max}］：20 分～2.7 時間、平均値）（2.6.4.3 項、表 2.6.4-4）。0.5～25 mg/kg 皮下投与後の絶対的バイオアベイラビリティはいずれの動物（マウス、ラット、ウサギ、ミニブタ及びサル）でも 75%超であった（2.6.4.3 項、表 2.6.4-5）。全ての動物種でテデュグルチドの曝露量（C_{max} 及び濃度-時間曲線下面積［AUC］）は線形性か線形性をわずかに下回って増加した。テデュグルチドの吸収に、明らかな性差、種差及び系統差はみられなかった（2 倍未満）（2.6.4.3 項）。SBS 患者にテデュグルチドを 0.05 mg/kg/day で 1 日 1 回皮下投与後の AUC は 0.235 μg•hr/mL であり（2.7.2.2.2.3.1.1.2 項）、これはマウスに 0.6 mg/kg/day（2.6.4.3.2.1 項、表 2.6.4-6）及びサルに 0.2 mg/kg/day（2.6.4.3.2.5 項、表 2.6.4-10）で反復皮下投与したときよりも低かった。テデュグルチドの消失半減期（$t_{1/2}$）は 0.36～3.1 時間で反復投与による変化はみられなかった。単回及び反復投与による AUC に変化がなかったことから、テデュグルチドの反復投与による蓄積性はないと考えられた（2.6.4.3 項）。また、幼若動物と成熟動物との間で TK パラメータに差はみられなかった（2.6.4.3.2.4 項）。

3.3　分布

雌雄ラットに ^{14}C-テデュグルチドを単回皮下投与後の放射能は各組織に広範に分布し、多くの組織で投与 4 時間後に C_{max} に達した。^{14}C-テデュグルチドの組織内分布に性差はみられなかった。白色及び有色ラットでの放射能のブドウ膜及び皮膚への分布から、放射能のメラニンへの選択的な結合はみられなかった（2.6.4.4.1 項）。テデュグルチドのタンパク結合率は中程度であり、検討した全濃度を通して、動物では 72.2%～91.7%、ヒトでは 79.2%～93.5%であった（2.6.4.4.3 項）。また、検討したいずれの動物種でもテデュグルチドは主に血漿コンパートメントに分布することが示唆された（2.6.4.4.2 項）。ラット乳汁移行試験では、テデュグルチドを 25 mg/kg で皮下投与後の乳汁中テデュグルチド濃度は血漿中テデュグルチド濃度の 3%未満であった。また、ウサギでのテデュグルチドの胎盤通過はごくわずか又は通過しなかった。（2.6.4.4.4 項）。ラットでの中枢移行性試験では、脳脊髄液中濃度は血漿中濃度の 2%～5%であり、テデュグルチドの血液-脳関門通過性は低いことが示された（2.6.4.4.5 項）。

3.4　代謝

天然型 GLP-2 ペプチドである GLP-2(1-33)はセリンプロテアーゼ DPP-4 によって生理活性が顕著に低い GLP-2（3-33）へと速やかに分解される（Drucker et al 1997 及び Thulesen et al 2002）。テデュグルチドは DPP-4 に対して耐性を示すが、テデュグルチドの消失経路としては小さなペプチドフラグメントに分解された後、腎の糸球体ろ過によって消失すると予想される（2.4.3.5 項）。このように、テデュグルチドの代謝経路が低分子ペプチドやアミノ酸への分解であると予想されるため、ICH S6 ガイドライン及び補遺に準拠し、従来の代謝試験は実施しなかった。ただし、*in vitro* での代謝安定性試験及び PK 試験の一部としてラットでの代謝プロファイリング試験は実施した。テデュグルチドはヒト肝細胞中で安定であった。（2.6.4.5.1.1 項）。また、^{14}C-テデュグルチドをラットに単回皮下投与後の血漿中には 2 つの主要ピークが検出され、1 つはテデュグルチド関連ピークであった。もう 1 つは極性ピークであったことから、テデュグルチドが分解して生成した標識化されたグリシン又は低分子ペプチドであると考えられた。尿中に検出されたピークも極性ピークであった。なお、糞中放射能回収率が低かったことから（4.31%）、糞中代謝物のプロファイリングは実施しなかった。

3.5　排泄

ラットに ^{14}C-テデュグルチドを単回皮下投与後の放射能は主に尿中に排泄された。テデュグルチドの主要排泄経路は腎での糸球体ろ過及び尿細管での異化であると考えられる（Tavares et al, 2000; Ruiz-Grande et al, 1990）。^{14}C-テデュグルチド投与後の排泄経路に性差はみられなかった（2.6.4.6 項）。

3.6　薬物動態学的薬物相互作用

テデュグルチドは *in vitro* で CYP に対する阻害作用及び誘導作用を示さなかったことから、臨床においても肝臓での CYP 代謝を介した薬物相互作用を引き起こさないと考えられる（2.6.4.7.1 項及び 2.6.4.7.2 項）。さらに、テデュグルチドは *in vitro* で主要なトランスポーターである P-糖たん白（P-gp）、乳癌耐性たん白（BCRP）、organic anion transporting polypeptide（OATP）1B1、OATP1B3、有機アニオントランスポーター（OAT）1、OAT3、organic cation transporter（OCT）2、multidrug and toxin extrusion protein（MATE）1 及び MATE2K の基質及び阻害剤ではなかったことから、臨床でこれらのトランスポーターを介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた（2.6.4.7.3 項）。

4　毒性試験

テデュグルチドの安全性を検討するために、単回及び反復投与毒性、遺伝毒性、がん原性、生殖発生毒性、幼若動物に対する毒性、抗原性、局所刺激性及びその他の毒性試験を実施し、包括的に毒性を評価した。これらの試験はサル CRP 試験以外、GLP 準拠で実施した。曝露量比は、無影響量（NOEL）又は無毒性量（NOAEL）での曝露量に基づき算出した。

4.1　単回投与毒性

マウスにテデュグルチドを 8 時間間隔で 1 日 2 回皮下投与し、急性毒性を評価した（2.6.6.2 項）。200 mg/kg/day までの投与で投薬の影響は認められず、概略の致死量は 200 mg/kg/day 超であった。

4.2　反復投与毒性（標的臓器及び曝露量比）

反復皮下投与後のテデュグルチドの毒性プロファイルをマウス（26 週間投与まで）及びサル（12 ヵ月間投与まで）で包括的に評価した。さらに、ラット及び幼若ミニブタでも検討した。マウス、ラット、サル及びミニブタの全ての投与量で腸管栄養作用が認められた。作用は種々の動物種で一致しており、所見の大半は被験物質の薬理活性か、又は薬理活性の過度の発現に関連していた。いずれの動物種にも明らかな毒性所見は認められなかった。

毒性試験で認められた特記すべき所見は次の 3 つに大別される。

- テデュグルチドの薬理活性に関連した影響（すなわち、標的臓器である小腸及び大腸への影響）
  試験した全動物種の全投与量で薬理作用が確認された。これらは、小腸及び／又は大腸の重量及び長さの増加であり、対応する病理組織学的検査所見として、これらの臓器における粘膜過形成及び／又は肥大が認められた。腸の組織形態学的検査では、絨毛高及び陰窩深の増大が観察された。所見は、被験物質を投与したほぼ全動物に認められ、用量反応性はみられなかった。用量反応性が認められなかったことについては、毒性試験で選択されたいずれの投与量も、用量反応曲線のプラトーに達していたためである可能性が高い（2.6.2.2.4 項）。休薬期間中に、これらの薬理学的影響は部分的に回復した。

- 非標的臓器における過度の薬理学的反応に関連した影響
  反復投与毒性試験において、過度の薬理作用は、肝内胆管（マウス、サル）、肝外胆管（サル、幼若ミニブタ）、胆嚢（マウス、サル、幼若ミニブタ）、胃（サル）及び膵臓（サル）に認められた。共通する病理組織学的検査所見として肥大又は過形成が観察され、腸で認められた所見と同様であった。これら過度の薬理作用は、部分的又は完全に回復し、有害な一般症状を引き起こさず、関連する臨床検査値変動を伴わなかった。

- 投与部位における影響
  投与部位では、共通の所見として炎症が認められた。本所見はサルで最も顕著であり（軽度～重度、壊死を伴う）、マウス（ごく軽微～軽度）及びラット（概ねごく軽微～中等度）ではサルよりも軽度であった。休薬期間後、部分的又は完全な回復がみられた。ミニブタでは、連日投与により、投与量に依存したごく軽微から重度（壊死を伴う）の炎症が認められた。

主要な長期反復毒性試験の NOAEL は、マウスで最高用量の 50 mg/kg/day であった。サルでの NOAEL は、高用量（25 mg/kg/day）で観察された投与部位反応の重症度に基づき 5 mg/kg/day と判断した（2.6.6.3 項）。このときの曝露量はヒトに 0.05 mg/kg/day を投与したときの曝露量のそれぞれ約 250 倍及び約 39 倍であった（表 2.4- 1）。

4.3　遺伝毒性及びがん原性

テデュグルチドは標準的な *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験で陰性であった（2.6.6.4 項）。

マウスがん原性試験では、2 年間のテデュグルチド投与により、1 mg/kg/day 以上で胆嚢の乳頭状腺腫が増加し、12.5 mg/kg/day 群の雄で空腸腺癌（悪性腫瘍）が増加した。胆嚢の腫瘍は投薬に関連した所見であったが良性であり、その特徴は、上皮における乳頭状突起のより広範な増殖であった。本所見はテデュグルチドの薬理活性に関連した二次的影響及び／又はこの組織における局所刺激作用に対する反応であると考えられる。一方、高用量群の雄に認められた空腸腫瘍は、テデュグルチド投与に関連した所見と考えられ、本剤の薬理活性に関連した二次的作用である可能性が示唆された。したがって、無発がん量は 3.5 mg/kg/day と判断した。このときの測定可能であった最終時点までの AUC（$AUC_{0\text{-}t}$）は 10.6 µg•hr/mL であり、これは SBS 患者に 0.05 mg/kg/day を投与したときの無限時間までの AUC（0.235 µg•hr/mL）の 45.1 倍である（2.6.6.5.1.1 項及び表 2.4- 1）。ラット 2 年間がん原性試験では、35 mg/kg/day 群の雄で胆管上皮由来の良性腫瘍及び空腸粘膜腺腫の発現頻度が統計学的に増加し、テデュグルチドの腸管栄養作用との関連が示唆された。いずれの用量においても、投薬に関連した悪性腫瘍は認められず、他の一般的な自然発生腫瘍の発現頻度はテデュグルチド投与によって増加しなかった。この試験の良性腫瘍に関する NOEL は 3 mg/kg/day と判断した。このときの AUC 値は SBS 患者に 0.05 mg/kg/day を投与したときの AUC の 9.8 倍であった（2.6.6.5.1.2 項及び表 2.4- 1）。

4.4　生殖発生毒性

テデュグルチドは、ラットの生殖能、初期胚発生又は精子パラメータに影響を及ぼさず、ラット及びウサギにおいて奇形の増加又は発生毒性を引き起こさず、ラットの出生前及び出生後の発生に影響を及ぼさなかった（2.6.6.6 項）。

4.5　幼若動物に対する毒性

GLP-2 及び GLP-2R の発現は、新生児、幼若及び成熟動物でそれぞれ異なることが知られている。ラットでは新生児で腸での GLP-2R 発現が特に高く出生後成熟動物レベルに顕著に低下する（Lovshin et al, 2000）。成熟動物と同様に、GLP-2 は静脈内投与後、濃度依存的にミニブタ新生児の小腸重量及び絨毛高を増加させるが、絨毛高の増加は明らかに成熟動物で認められる陰窩細胞増殖亢進というよりもむしろ腸細胞のアポトーシス低下によると考えられる（Burrin et al, 2005; Burrin et al, 2007; Petersen et al, 2001; Burrin et al, 2000）。

当初実施した幼若ウサギを用いた試験では、過度の死亡が認められ評価不能であったことから、その後に実施した幼若ミニブタを用いた試験で幼若動物に対する毒性を評価した。幼若動物を用いた毒性試験は反復投与毒性試験に使用した動物と異なる動物種で実施したが、幼若ミニブタで観察された所見は若齢成熟マウス、ラット及びサルと同様であり、小児集団に特定のリスクを示唆する新たな又は特有の毒性は認められなかった（2.6.6.7 項）。

4.6　局所刺激性

ウサギ（単回静脈内、静脈周囲及び動脈内投与）及びミニブタ（皮下投与）を用いて局所刺激性試験を実施した。ウサギの試験では、静脈内投与後、投与部位に刺激性は認められなかったが、静脈周囲及び動脈内投与後には投与手技に関連するとみられる血腫形成を伴う一過性の明瞭な紅斑が認められた。ミニブタの試験では、皮下投与後、テデュグルチドは濃度及び投与方法関連性の刺激性を認めた。30 mg/mL 及び 50 mg/mL と比較して 20 mg/mL では明らかな影響は観察されず、4 日ごとの投与で観察された所見（出血及び慢性活動性炎症及び壊死）は、ほとんどがごく軽微であった（2.6.6.8 項）。

反復皮下投与試験では、投与部位の炎症反応が共通して観察された。作用はサル（軽度から重度、壊死を伴う）及び幼若ミニブタ（ごく軽微から重度）で強く、マウス（ごく軽微から軽度［26 週間試験でのみ壊死を伴う］及びラット（概ねごく軽微から中等度）でより軽度であった（2.6.6.3 項及び 2.6.6.7 項）。

4.7　抗原性

テデュグルチドは、マウス（短期曝露）、ラット及びウサギにおいて抗原性を示さなかった。一方、マウス（長期曝露）では弱～中等度、サルでは全例ではないが数匹に弱い反応が認められた。104 週間マウスがん原性試験では、13～26 週間投与後、1 mg/kg/day 以上の 1 日 1 回皮下投与により抗体が検出され、中和抗体も全投薬群で認められた。サルでは 4 週間以上にわたる 0.6 mg/kg/day 以上の 1 日 2 回皮下投与により、抗体産生が認められた。抗体価及び抗体が認められた動物数は、用量増加に伴い増加したが、線形性は認められなかった。投与中止により抗体価は低下した。

マウス及びサルにおいて抗テデュグルチド抗体の発現に伴う腸での薬理活性の低下は認められなかった。さらに、全試験を通じて、抗体の存在によって全身曝露量が減少するという一貫したエビデンスも認められなかった。したがって、マウス及びサルで抗テデュグルチド抗体が発現したものの、これらの動物種がテデュグルチドの非臨床安全性／毒性試験に不適切であるとはみなされない（2.6.6.9.1 項）。

反復投与毒性試験において、血液学的検査、免疫系臓器の重量及び／又は病理組織検査所見、血清グロブリンの変化、並びに感染症及び腫瘍発現頻度増加に関して、免疫毒性反応を示す所見は認められなかった。したがって、テデュグルチドの免疫毒性に関する独立した試験は実施していない。

4.8　不純物の毒性

特定の不純物の安全性を確認するための毒性試験は実施しなかった。しかし、テデュグルチド原薬の不純物は下流の精製工程によって管理されている。また、個別に規格設定された製剤中の不純物は、テデュグルチドのペプチド断片である　類縁物質D*　及び　類縁物質C*　のみである（2.3.P.5.1 項）。毒性試験に使用されたロットにおける個々の不純物含量（2.6.7.4 項）及び規格限度値（2.3.P.5.1 項）に基づき、マウス 26 週間、ラット 13 週間及びサル 1 年間反復投与毒性試験における NOAEL での個々の不純物の投与量と規格限度値に基づく推奨臨床用量（0.05 mg/kg/day）での不純物投与量との比（投与量に基づく曝露量比）を算出した。算出された曝露量比は 43 以上であり、製剤中の不純物の安全性が確認された（2.6.6.9.3 項、表 2.6.6-23）。

以上から、不純物の安全性に危惧すべき問題はないと考えられる。

4.9　C 反応性タンパク増加に関する毒性

臨床試験において、プラセボ群と比較してテデュグルチド群で CRP 増加が観察されたため（2.7.4.3.1.1.1.1 項）、サルでの CRP 増加の可能性を検討した。本試験では、それぞれ濃度の異なる *Escherichia coli* タンパク質（ECP）を含有する 3 ロットのテデュグルチド（0、77 及び 124 ppm ECP）又はプラセボを皮下投与したときの CRP 反応を検討した。各投与後に CRP の増加がみられ、概して 24 時間時点で最高値に達し、48 時間までに投与前値に戻った。CRP 濃度の上昇は、プラセボ及び ECP 0 ppm のロットに比べて、ECP 77 ppm 及び 124 ppm のロットで大きかった。プラセボ及び ECP 0 ppm のロットでの CRP の増加は同程度であり、わずかであった（2.6.6.9.4.2 項）。本所見から、臨床試験における CRP の上昇は ECP 含量に関連する可能性が示唆された。

5　総括及び結論

テデュグルチドはヒト GLP-2 の新規遺伝子組換えアナログであり、1 個のアミノ酸が置換されていることで DPP-4 による分解に耐性を示し、より持続した生物活性を示す。テデュグルチドが結合する GLP-2R は、腸管内の少数の細胞型及び腸管外では極めて少数の細胞型にのみ発現する。マウスでのテデュグルチドによる腸管栄養作用はシグモイド型用量反応曲線を示した。低用量では、作用は投与期間に依存したが、高用量では投与期間の延長による薬理作用の増強は認められなかった。また、いくつかの試験でテデュグルチド投与中止により腸管栄養作用はコントロールレベルに戻ることが示された。

テデュグルチドは、主な薬理作用である用量依存的な腸管栄養作用に加え、粘膜バリア機能及び吸収促進作用により TPN による腸萎縮を改善し、小腸切除後の残存腸管の機能的な改善をもたらす。また、テデュグルチドはその他の各種腸疾患モデルでの腸損傷及び機能障害に対して効果を示した。

テデュグルチドの臨床投与経路は皮下投与を予定していることから、ほとんどの非臨床試験は皮下投与で実施した。テデュグルチド皮下投与後の絶対的バイオアベイラビリティは全動物種を通して 75%超であり、曝露量は概ね線形性を示し、性差、種差及び系統差はみられなかった。全身循環からはタンパク質分解によって消失すると考えられている。CYP を介した代謝は起こらない。テデュグルチド及び関連フラグメントは糸球体ろ過を介して消失すると考えられ、$t_{1/2}$ は 0.36～3.1 時間であった。

哺乳類でのアミノ酸配列の高い相同性及び GLP-2 受容体の発現の保持に基づき、テデュグルチドは多くの動物種（マウス、ラット、フェレット、イヌ、ミニブタ及びサル）で *in vivo* 活性を示した。テデュグルチドの薬理、薬物動態及び毒性プロファイルは試験を実施した全動物種で類似していた。テデュグルチドの反応性の差は、GLP-2R における活性の差というよりも、むしろ生理学的な種特異的差異によると考えられる。

マウスで 6 ヵ月間まで、サルで 12 ヵ月間までの主要な反復投与毒性試験において、次のような特記すべき所見が観察された。

- テデュグルチドの薬理活性に関連した影響（すなわち、小腸及び大腸の重量増加及び伸長並びに関連するこれらの臓器における病理組織学的粘膜過形成及び／又は肥大）
- 非標的臓器における過度の薬理学的反応に関連した影響
- 投与部位での影響

テデュグルチドの遺伝毒性は標準的な *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験において陰性であった。

マウスがん原性試験では、テデュグルチド投与により、1 mg/kg/day 以上で胆嚢の良性腺腫が増加し、1 及び 12.5 mg/kg/day（低用量及び高用量）群の雄で統計学的に有意であった。本所見はテデュグルチドの薬理活性に関連した二次的影響及び／又はこの組織における局所刺激作用に対する反応であると考えられる。また、12.5 mg/kg/day 群の雄で投薬に関連した空腸腺癌が増加

した。本所見についても、テデュグルチドの薬理活性に関連した二次的影響である可能性が示唆された。無発がん量は 3.5 mg/kg/day と判断した。このときの雄マウスの AUC は 10.6 μg•hr/mL であり、これは SBS 患者にテデュグルチドの臨床推奨用量を投与したときの AUC の 45.1 倍である。

ラット 2 年間がん原性試験では、テデュグルチド 35 mg/kg/day 群の雄で胆管及び空腸の良性腫瘍発現頻度の増加を認め、NOEL は 3 mg/kg/day と判断した。このときの AUC 値は SBS 患者に臨床推奨用量を投与したときの AUC の 9.8 倍であった。いずれの用量においても、投与に関連した悪性腫瘍は認められず、他の一般的な自然発生腫瘍の発現頻度はテデュグルチド投与によって増加しなかった。

テデュグルチドは、ラットの生殖能、初期胚発生又は精子パラメータに影響を及ぼさず、ラット及びウサギにおいて奇形の増加又は発生毒性を引き起こさず、ラットの出生前及び出生後の発生に影響を及ぼさなかった。したがって、非臨床データセットに、雌雄生殖能及び胎児に対する安全性上の問題は認められなかった。テデュグルチドの胎盤通過性は低く、胎児曝露は限定的である（2.6.4.4.4 項）。また、授乳ラットでの乳汁中分泌率も低かった。

幼若ミニブタでの 13 週間投与試験を実施した。GLP-2 及び GLP-2R の発現は、新生児、幼若及び成熟動物で異なることが知られているが、幼若ミニブタを用いた試験結果に、成熟マウス、ラット及びサルの結果と比較して、新たな又は特有の毒性は認められなかった。このことから、小児集団へのテデュグルチド投与に、特有のリスクはないことが示唆された。

テデュグルチドは、マウス（短期曝露）、ラット及びウサギにおいて抗原性を示さず、マウス（長期曝露）では軽度から中等度、サルでは全例ではないが数匹に弱い抗体反応が認められた。マウス及びサルにおいて抗テデュグルチド抗体の発現に伴う腸での薬理活性の低下は認められなかった。さらに、全試験を通じて、抗体の存在によって全身曝露量が減少するという一貫したエビデンスも認められなかった。したがって、マウス及びサルで抗テデュグルチド抗体が発現したものの、これらの動物種がテデュグルチドの非臨床毒性試験に不適切であるとはみなされない。

表 2.4- 1 に、種々の非臨床試験の NOEL/NOAEL 及び対応する AUC 並びにヒトでの臨床用量（0.05 mg/kg/day）における AUC 値に対する曝露量比を要約する（2.6.6.10 項）。

表 2.4- 1　　NOEL/NOAEL 及び曝露量比の要約

Species	Study Number	Dosing Duration	NOAEL (mg/kg/day)	AUC_{0-8} (μg•hr/mL)	MOE[a]
Mouse	0470MN12.001	13 Weeks	50	M: 77.1 F: 41.9	M: 328.1 F: 178.3
Mouse	7203-112	26 Weeks	50	M: 84.5 F: 58.4	M: 359.6 F: 248.5
Rat (Sprague-Dawley)	02-2776	14 Days	50	M: 53.4 F: 43.9	M: 227.2 F: 186.8
Rat (Wistar Han)	800869	14 Days	50	M: 52.3 F: 30.5	M: 222.6 F: 129.8
Rat (Sprague-Dawley)	800069	13 Weeks	50	M: 54.2 F: 36.7	M: 230.6 F: 156.2
Monkey	88729	28 Days	2	M: 2.7 F: 2.7	M: 11.5 F: 11.5
Monkey	7203-100	13 Weeks	5	M: 6.3 F: 7.0	M: 26.8 F: 29.8
Monkey	1368-100	52 Weeks	5	M: 9.1 F: 16.3	M: 38.7 F: 69.4
Mouse	8214171	104 Weeks[b]	M: 3.5[c] F: 12.5[c]	M: 10.6[d] F: 28.8[d]	M: 45.1 F: 122.6
Rat (Wistar Han)	800070	104 Weeks[b]	M: 3[c] F: 10[c]	M: 2.3 F: 4.9	M: 9.8 F: 20.9
Rat (Sprague-Dawley)	7203-117	GD 6 to 17	50 (Maternal and Developmental)	F: 51.5	F: 219.1
Rabbit	[redacted]-487001	GD 7 to 20	50 (Maternal and Developmental)	F: 49.3	F: 209.8
Juvenile Minipigs	66585	90 days from LD 7	Not identified	NA	NA[e]

AUC_{0-8} = area under the concentration-time curve from time zero to 8 hours postdose; AUC_{0-t} = area under the concentration-time curve to the last measurable concentration; AUCss = area under the concentration-time curve under steady state; F = female; GD = gestation day; LD = lactation day; M = male; MOE = margin of exposure; NOEL= no observed effect level; NOAEL= no observed adverse effect level.

[a] Human AUC at the clinical dose of 0.05 mg/kg/day is 0.235 μg•hr/mL (Clinical Report NPS-RAS-004). MOEs were calculated based on per dose even if twice daily administration in animals.
[b] TK collection and exposure determined at Week 52
[c] No carcinogenic effect level in 104-week mouse and rat carcinogenicity studies
[d] AUC_{0-t}
[e] Exposure (AUC_{0-8}: 1.476 μg•hr/mL in males, 1.589 μg•hr/mL in females) at the lowest dose of 1 mg/kg/day was 14 (males) and 16 (females)-fold the pediatric (<18 years) clinical exposure (AUCss : 0.102 μg•hr/mL in Japanese pediatric patients) at 0.05 mg/kg (Clinical Report SHIR-CSC-129-Japanese).

非臨床試験結果に基づくと、テデュグルチドは適切な安全域を有していることが示された。

テデュグルチドは試験した動物種において同様の作用を示し、テデュグルチドの安全性が十分に確立された。これにより非臨床試験プログラムは、SBS 患者に対するテデュグルチドの長期皮下投与による治療をサポートしていると結論づけられた。

参考文献

Benjamin MA, McKay DM, Yang P-C, Cameron H, Perdue MH. Glucagon-like peptide-2 enhances intestinal epithelial barrier function of both transcellular and paracellular pathways in the mouse. Gut 2000; 47:112-9. (4.3.4)

Bjerknes M, Cheng H. Modulation of specific intestinal epithelial progenitors by enteric neurons. Proc Natl Acad Sci USA 2001;98:12497-502. (4.3.5)

Boushey RP, Yusta B, Drucker DJ. Glucagon-like peptide (GLP)-2 reduces chemotherapy-associated mortality and enhances cell survival in cells expressing a transfected GLP-2 receptor. Cancer Res 2001;61:687-93. (4.3.6)

Bremholm L, Hornum M, Henriksen BM, Larsen S, Holst JJ. Glucagon-like peptide-2 increases mesenteric blood flow in humans. Scand J Gastroenterol 2009; 44:314-9. (4.3.8)

Burrin DG, Stoll B, Guan X, Cui L, Chang X, Hadsell D. GLP-2 rapidly activates divergent intracellular signaling pathways involved in intestinal cell survival and proliferation in neonatal piglets. Am J Physiol Endocrinol Metab 2007; 292:E281-291. (4.3.12)

Burrin DG, Stoll B, Jiang R, Petersen Y, Elnif J, Buddington RK et al. GLP-2 stimulates intestinal growth in premature TPN-fed pigs by suppressing proteolysis and apoptosis. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2000; 279:G1249-56. (4.3.14)

Burrin DG, Stoll B, Guan X. Glucagon-like peptide 2 function in domestic animals. Domest Anim Endocrinol 2003;24:103-22. (4.3.68)

Burrin DG, Stoll B, Guan X, Cui L, Chang X, Holst JJ. Glucagon-like peptide 2 dose-dependently activates intestinal cell survival and proliferation in neonatal piglets. Endocrinology 2005;146:22-32. (4.3.13)

Cameron HL, Yang P-C, Perdue MH. Glucagon-like peptide-2-enhanced barrier function reduces pathophysiology in a model of food allergy. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2003; 284:G905-12. (4.3.16)

Cameron HL, Perdue MH. Stress impairs murine intestinal barrier function: improvement by glucagon-like peptide-2. J Pharmacol Exp Ther 2005;314:214-20. (4.3.15)

Chance WT, Foley-Nelson T, Thomas I, Balasubramaniam A. Prevention of parenteral nutrition-induced gut hypoplasia by coinfusion of glucagon-like peptide-2. Am J Physiol 1997; 273:G559-63. (4.3.17)

Chance WT, Sheriff S, Foley-Nelson T, Thomas I, Balasubramaniam A. Maintaining gut integrity during parenteral nutrition of tumor-bearing rats: effects of glucagon-like peptide 2. Nutr Cancer 2000; 37:215-22. (4.3.18)

Cheeseman CI, Tsang R. The effect of GIP and glucagon like peptides on intestinal basolateral membrane hexose transport. Am J Physiol 1996; 271:G477-82. (4.3.20)

Cheeseman, CI. Upregulation of SGLT-1 transport activity in rat jejunum induced by GLP-2 infusion *in vivo*. Am J Physiol 1997; 273:R1965-71. (4.3.21)

Cottrell JJ, Stoll B, Buddington RK, Stephens JE, Cui L, Chang X et al. Glucagon-like peptide-2 protects against TPN-induced intestinal hexose malabsorption in enterally refed piglets. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2006; 290:G293-300. (4.3.22)

DaCambra MP, Yusta B, Sumner-Smith M, Crivici A, Drucker DJ, Brubaker PL. Structural determinants for activity of glucagon-like peptide-2. Biochemistry 2000; 39:8888-94. (4.3.23)

de Heer J, Pedersen J, Orskov C, Holst JJ. The alpha cell expresses glucagon-like peptide-2 receptors and glucagon-like peptide-2 stimulates glucagon secretion from the rat pancreas. Diabetologia 2007; 50:2135-42. (4.3.24)

Drucker DJ, Shi Q, Crivici A, Sumner-Smith M, Tavares W, Hill M et al. Regulation of the biological activity of glucagon-like peptide 2 *in vivo* by dipeptidyl peptidase IV. Nat Biotechnol 1997; 15:673-7. (4.3.29)

Dubé PE, Brubaker PL. Frontiers in glucagon-like peptide-2: multiple actions, multiple mediators. Am J Physiol Endocrinol Metab 2007;293: E460-5. (4.3.31)

Guan X, Stoll B, Lu X, Tappenden KA, Holst JJ, Hartmann B et al. GLP-2-mediated up-regulation of intestinal blood flow and glucose uptake is nitric oxide-dependent in TPN-fed piglets. Gastroenterology 2003; 125:136-47. (4.3.34)

Guan X, Karpen HE, Stephens J, Bukowski JT, Niu S, Zhang G et al. GLP-2 receptor localizes to enteric neurons and endocrine cells expressing vasoactive peptides and mediates increased blood flow. Gastroenterology 2006;130:150-64. (4.3.33)

Hartmann B, Harr MB, Jeppesen PB, Wojdemann M, Deacon CF, Mortensen PB et al. *In vivo* and *in vitro* degradation of glucagon-like peptide-2 in humans. J Clin Endocrinol Metab 2000; 85:2884-8. (4.3.35)

Henriksen DB, Alexandersen P, Bjarnason NH, Vilsbøll T, Hartmann B, Henriksen EE et al. Role of Gastrointestinal Hormones in Postprandial Reduction of Bone Resorption. J Bone Miner Res 2003; 18:2180-9. (4.3.36)

Henriksen DB, Alexandersen P, Byrjalsen I, Hartmann B, Bone HG, Christiansen C et al. Reduction of nocturnal rise in bone resorption by subcutaneous GLP-2. Bone 2004; 34:140-7. (4.3.37)

Henriksen DB, Alexandersen P, Hartmann B, Adrian CL, Byrjalsen I, Bone HG et al. Disassociation of bone resorption and formation by GLP-2 A 14-day study in healthy postmenopausal women. Bone 2007; 40:723-9. (4.3.38)

Irwin DM. Molecular evolution of proglucagon. Regul Pept 2001;98:1-12. (4.3.40)

Lovshin J, Yusta B, Iliopoulos I, Migirdicyan A, Dableh L, Brubaker PL et al. Ontogeny of the Glucagon-Like Peptide-2 Receptor Axis in the Developing Rat Intestine. Endocrinology 2000;141:4194-201. (4.3.69)

Lovshin JA, Huang Q, Seaberg R, Brubaker PL, Drucker DJ. Extrahypothalamic expression of the glucagon-like peptide-2 receptor is coupled to reduction of glutamate-induced cell death in cultured hippocampal cells. Endocrinology 2004; 145:3495-506. (4.3.44)

Martin GR, Wallace LE, Hartmann B, Holst JJ, Demchyshyn L, Toney K et al. Nutrient-stimulated GLP-2 release and crypt cell proliferation in experimental short bowel syndrome. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2005; 288:G431–8. (4.3.46)

Meier JJ, Nauck MA, Pott A, Heinze K, Goetze O, Bulut K et al. Glucagon-like peptide 2 stimulates glucagon secretion, enhances lipid absorption, and inhibits gastric acid secretion in humans. Gastroenterology 2006; 130:44-54. (4.3.49)

Munroe DG, Gupta AK, Kooshesh F, Vyas TB, Rizkalla G, Wang H et al. Prototypic G protein-coupled receptor for the intestinotrophic factor glucagon-like peptide-2. Proc Natl Acad Sci USA 1999; 96:1569-73. (4.3.50)

Nelson DW, Sharp JW, Brownfield MS, Raybould HE, Ney DM. Localization and activation of glucagon-like peptide-2 receptors on vagal afferents in the rat. Endocrinology 2007;148:1954-62. (4.3.51)

Orskov C, Hartmann B, Poulsen SS, Thulesen J, Hare KJ, Holst JJ. GLP-2 stimulates colonic growth via KGF, released by subepithelial myofibroblasts with GLP-2 receptors. Regul Pept 2005;124:105-12. (4.3.52)

Petersen YM, Burrin DG, Sangild PT. GLP-2 has differential effects on small intestine growth and function in fetal and neonatal pigs. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2001; 281:R1986-93. (4.3.53)

Ruiz-Grande C, Pintado J, Alarcón C, Castilla C, Valverde I, López-Novoa JM. Renal catabolism of human glucagon-like peptides 1 and 2. Can J Physiol Pharmacol 1990; 68:1568-73. (4.3.54)

Scott RB, Kirk D, MacNaughton WK, Meddings JB. GLP-2 augments the adaptive response to massive intestinal resection in rat. Am J Physiol 1998; 275:G911-21. (4.3.55)

Stephens J, Stoll B, Cottrell J, Chang X, Helmrath M, Burrin DG. Glucagon-like peptide-2 acutely increases proximal small intestinal blood flow in TPN-fed neonatal piglets. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2006; 290:R283-9. (4.3.56)

Tang-Christensen M, Larsen PJ, Thulesen J, Romer J, Vrang N. The proglucagon-derived peptide, glucagon-like peptide-2, is a neurotransmitter involved in the regulation of food intake. Nat Med 2000; 6:802-7. (4.3.57)

Tavares W, Drucker DJ, Brubaker PL. Enzymatic- and renal-dependent catabolism of the intestinotropic hormone glucagon-like peptide-2 in rats. Am J Physiol Endocrinol Metab 2000; 278:E134-9. (4.3.59)

Thulesen J, Knudsen LB, Hartmann B, Hastrup S, Kissow H, Jeppesen PB et al. The truncated metabolite GLP-2 (3-33) interacts with the GLP-2 receptor as a partial agonist. Regul Pept 2002;103:9-15. (4.3.67)

Wojdemann M, Wettergren A, Hartmann B, Hilsted L, Holst JJ. Inhibition of sham feeding-stimulated human gastric acid secretion by glucagon-like peptide-2. J. Clin Endocrinol Metab 1999; 84:2513-7. (4.3.62)

Wojdemann M, Wettergren A, Hartmann B, Holst JJ. Glucagon-like peptide-2 inhibits centrally induced antral motility in pigs. Scand J Gastroenterol 1998; 33:828-32. (4.3.63)

Yusta B, Somwar R, Wang F, Munroe D, Grinstein S, Klip A et al. Identification of glucagon like peptide-2 (GLP-2)-activated signaling pathways in baby hamster kidney fibroblasts expressing the rat GLP-2 receptor. J Biol Chem 1999;274:30459-67. (4.3.66)

Yusta B, Huang L, Munroe D, Wolff G, Fantaske R, Sharma S et al. Enteroendocrine localization of GLP-2 receptor expression in humans and rodents. Gastroenterolgy 2000a;119:744-55. (4.3.65)

Yusta B, Boushey RP, Drucker DJ. The glucagon-like peptide-2 receptor mediates direct inhibition of cellular apoptosis via a cAMP-dependent protein kinase-independent pathway. J Biol Chem 2000b;275:35345-52. (4.3.64)