イメグリミン塩酸塩
製造販売承認申請

CTD 第 2 部

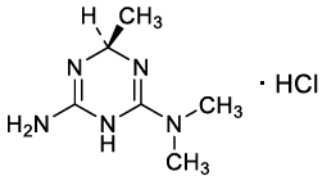
2.4　非臨床試験の概括評価

大日本住友製薬株式会社

目次

2.4 非臨床試験の概括評価
2.4.1 非臨床試験計画概略.....6
2.4.2 薬理試験.....7
2.4.3 薬物動態試験.....11
2.4.4 毒性試験.....19
2.4.5 総括及び結論.....23
2.4.6 参考文献一覧.....28

【本項における用語の説明】

用語	定義、読み替え等
イメグリミン	一般名： イメグリミン塩酸塩 化学名： (6*R*)-N^2,N^2,6-Trimethyl-3,6-dihydro-1,3,5-triazine-2,4-diamine monohydrochloride 化学式（分子量）： $C_6H_{13}N_5$・HCl（191.66） 構造式： 

【一般的略号】

略号	省略しない表現	日本語
ATP	Adenosine triphosphate	アデノシン 3 リン酸
AUC	Area under the plasma drug concentration time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-t}	AUC from zero time to last measurement	投与後 0 時間から最終測定時点の AUC
BCRP	Breast cancer resistance protein	--
bid	Bis in die	1 日 2 回
CD	Cluster of differentiation	--
CL	Clearance	クリアランス
CL_{int}	Intrinsic clearance	固有クリアランス
C_{max}	Maximum measured plasma drug or metabolite concentration	薬物又は代謝物の最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P450	チトクローム P450
GK	Goto-Kakizaki	後藤-柿崎
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
GLP-1	Glucagon-like peptide-1	グルカゴン様ペプチド-1
FOB	Functional observational battery	機能観察総合評価法
HCO_3^-	Hydrogen carbonate ion	炭酸水素イオン
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児由来腎臓
HF	High fat	高脂肪
HFHS	High fat high sucrose	高脂肪高スクロース
hERG	Human ether-a-go-go related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
Hsd Win: NMRI	Harlan sprague dawley winkelmann: naval medical research institute	--
IC_{50}	Half-maximal (50%) inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International council for harmonization of technical requirements for pharmaceuticals for human use	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IPGTT	Intraperitoneal glucose tolerance test	腹腔内グルコース負荷試験
ITT	Insulin tolerance test	インスリン負荷試験
K_{ATP}	ATP sensitive potassium	ATP 感受性 K^+
K_i	Kinetic inhibition constant	阻害定数
K_m	Michaelis-Menten constant	ミカエリス・メンテン定数

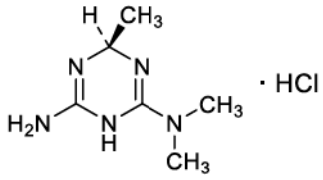
略号	省略しない表現	日本語
LC-MS/MS	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・タンデム型質量分析
LSC	Liquid scintillation counter	液体シンチレーションカウンター
MC	Methylcellulose	メチルセルロース
mGPDH	Mitochondrial glycerol-3-phosphate dehydrogenase	ミトコンドリア・グリセロール 3-リン酸脱水素酵素
MATE	Multidrug and toxin extrusion	--
mRNA	messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
N0-STZ	Neonatal streptozotocin	新生児 STZ
NAD^+	oxidized form nicotinamide adenine dinucleotide	酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド
NADH	reduced form nicotinamide adenine dinucleotide	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド
NAMPT	Nicotinamide phosphoribosyltransferase	ニコチンアミドホスホリボシルトランスフェラーゼ
NOAEL	No-observed-adverse-effect level	無毒性量
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオントランスポーターポリペプチド
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
OGTT	Oral glucose tolerance test	経口ブドウ糖負荷試験
Pgc1a	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha	--
P-gp	P-glycoprotein	P 糖たん白質
PKB	Protein kinase B	プロテインキナーゼ B
QTc	Corrected QT interval	補正 QT 間隔
ROS	Reactive Oxygen Species	活性酸素種
S9	9000×g supernatant fraction	--
SD	Sprague Dawley	--
siRNA	small interfering RNA	--
STZ	Streptozotocin	ストレプトゾトシン
Tg	Transgenic	トランスジェニック
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
t_{max}	Time of the first occurrence of C_{max}	最高血漿中濃度到達時間
V_{max}	Maximum velocity	最大反応速度
ZDF	Zucker diabetic fatty	--

2.4.1　非臨床試験計画概略

2.4.1.1　緒言

イメグリミン塩酸塩（開発コード：PXL008、以下、イメグリミン）は、Tetrahydrotriazine 構造を有する新規化合物（図 2.4.1-1）であり、グルコース濃度依存的インスリン分泌促進作用とインスリン抵抗性改善作用を併せ持つ新規作用機序の薬剤である。イメグリミンの薬理作用はミトコンドリア機能改善に基づくと考えられる。イメグリミンは Merck Serono 社から Poxel SA 社に 2009 年に導出され、大日本住友製薬株式会社は 2017 年 10 月 30 日、国内開発・販売権を Poxel SA 社から獲得した。イメグリミンの薬理作用から、2 型糖尿病発症の病因がインスリン分泌低下、インスリン抵抗性亢進のいずれであっても血糖降下作用が期待できることから、単独療法、併用療法共に 2 型糖尿病の新たな治療選択肢になると考え、イメグリミンの開発に至った。

図 2.4.1-1　イメグリミンの構造式



2.4.1.2　非臨床試験計画概略

イメグリミンの製造販売承認申請にあたり、一連の非臨床試験（薬理試験、薬物動態試験、毒性試験）を実施した。

イメグリミンの特性を明確にするため、各種 *in vitro* 試験及び *in vivo* 非臨床薬理試験を実施した。すなわち、糖尿病モデル動物での長期血糖降下作用、正常及び糖尿病モデル動物を用いたグルコース濃度依存的インスリン分泌作用及び糖尿病モデル動物及び細胞を用いたインスリン抵抗性改善作用を検討した。また、イメグリミンの作用機序として、糖尿病モデル動物由来膵島を用いてグルコース濃度依存的インスリン分泌促進作用の機序を検討した。肝臓及び筋肉でのミトコンドリアに対する作用の検討として、HFHS 食負荷マウスのミトコンドリア関連分子の酵素活性やたん白質量への影響を検討した。

副次的薬理試験では、125 種類の受容体及び酵素に対する結合試験若しくは阻害試験を行った。また、イメグリミンの副作用に関連した薬理学的作用を調べるために、安全性薬理試験としてコアバッテリー試験を実施し、更に乳酸アシドーシスに及ぼす影響を評価した。薬物動態試験として、イメグリミンの動物での体内動態を検討するため、マウス、ラット、イヌ及びサルに、イメグリミンを投与して、吸収、分布、代謝及び排泄について検討した。また、たん白結合、血球移行性、代謝安定性、CYP 誘導、CYP 阻害、膜透過やトランスポーター基質及びトランスポーター阻害について、*in vitro* の系で検討した。毒性試験として、イメグリミンの単回投与毒性試験、反復投与毒性試験（ラット 26 週間、イヌ 12 ヵ月間）、生

殖発生毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験（遺伝子改変マウス 6 ヵ月間、ラット 2 年間）、局所刺激性試験及び抗原性試験を実施した。これらの試験は、適切なガイドラインに準拠し、主要な試験は GLP を遵守して実施した。なお、「医薬品の光安全性評価ガイドラインについて」（薬食審査発 0521 第 1 号、平成 26 年 5 月 21 日、ICH S10 ガイドライン）に従い、イメグリミンは光化学的性質から光毒性ポテンシャルを有さないと判断されるため、光毒性試験を実施しなかった。

イメグリミンの原薬及び製剤中に認められた不純物のうち鏡像異性体（S 体）（イメグリミンの鏡像異性体）及び　　不純物A*　　（[redacted]の[redacted]）の安全性評価を ICH の「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」（医薬審発第 1216001 号、平成 14 年 12 月 16 日、以下 ICH Q3A ガイドラインと略する）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」（医薬審発第 0624001 号、平成 15 年 6 月 24 日、以下 ICH Q3B ガイドラインと略する）に従い実施した。

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1　糖尿病モデルラットでの血糖降下作用

非肥満糖尿病モデル動物である雄性 GK ラットを用いた試験では、イメグリミンは投与 35 日目で用量依存的な空腹時血糖降下作用を示し、56 日目でも有意な血糖降下作用を示した。イメグリミンは GK ラットで長期にわたり血糖降下作用を持続させることが示された（2.6.2.2.1）。

2.4.2.1.2　糖尿病モデルラットでのインスリン分泌促進作用

非肥満 STZ 誘発糖尿病モデルラット（雄性 Wistar ラット）及び雌性 GK ラットでの OGTT（2.6.2.2.2.1 及び 2.6.2.2.2.2）、肥満動物モデルである HF 食負荷ラット（雄性 SD ラット）での IPGTT では（2.6.2.2.2.3）、イメグリミンは、グルコース負荷後の血中インスリン濃度を上昇させ、血糖値上昇を抑制した。また、正常雌性 Wistar ラット及び非肥満糖尿病モデルである N0-STZ 誘発糖尿病モデルラット（雌性 Wistar ラット）でのグルコースクランプ試験では、グルコース濃度依存的なインスリン分泌促進作用を示した（2.6.2.2.2.4 及び 2.6.2.2.2.5）。これらの結果から、イメグリミンの耐糖能異常改善作用の機序にはグルコース濃度依存的インスリン分泌促進作用が寄与すると考えられた。また、グルコース濃度非依存的インスリン分泌促進薬とは異なり、低血糖を引き起こしにくい血糖降下薬であると考えられた。

2.4.2.1.3　糖尿病モデルラットでのインスリン抵抗性改善作用

STZ 誘発糖尿病モデルラットでの euglycemic hyperinsulinemic clamp 試験では、イメグリミンは定常状態グルコース注入率を有意に増加させ（2.6.2.2.3.1）、肥満糖尿病モデルである HFHS 食負荷マウス（雄性 C57BL/6JOlaHsd マウス）での ITT ではインスリン負荷による血糖降下作用を有意に増強させた（2.6.2.2.3.2）。また、本モデルマウスでの肝臓及び筋肉で、

＊ 新薬情報提供時に置き換え

HFHS 食負荷により低下したインスリンシグナル伝達に関わる PKB のリン酸化を有意に回復させた。イメグリミンは、Wistar ラット由来初代培養肝細胞で糖新生を有意に抑制し（2.6.2.2.3.3）、STZ 誘発糖尿病モデルラットを用いた筋肉及び H-2Kb 筋肉細胞株で糖取り込みを有意に上昇させた（2.6.2.2.3.4 及び 2.6.2.2.3.5）。これらの結果から、イメグリミンはインスリン抵抗性改善作用を示すと考えられた。

2.4.2.2　作用機序の検討

イメグリミンの作用機序を検討する一環として、グルコース濃度依存的インスリン分泌促進作用の機序及び肝臓、筋肉でのミトコンドリアに対する作用を検討した。

インスリン分泌促進作用の機序として、膵島での細胞内 NAD^+量、Ca^{2+}量、ATP 量及び NAD^+代謝物の生成に関わる CD38 分子のインスリン分泌への影響を検討した。GK ラット由来膵島を用いた試験で、イメグリミンは高濃度グルコース存在下で濃度依存的なインスリン分泌作用を示した（2.6.2.3.1）。同膵島を用いた試験で、イメグリミンはニコチンアミドを出発物質とする NAD^+合成経路（salvage 経路）の律速酵素である NAMPT 遺伝子発現を上昇させると共に細胞内 NAD^+量を増加させたことから salvage 経路を介して細胞内の NAD^+量を増加させると考えれられた（2.6.2.3.2 及び 2.6.2.3.3）。また、イメグリミンはミトコンドリアの電子伝達に関わる NAD^+量に加えて、細胞内 ATP 量を増加させたことから、ミトコンドリア機能を改善させたと考えられた（2.6.2.3.4）。イメグリミンは Ca^{2+}量も同様に増加させたことから、イメグリミンは細胞内で増加した ATP によって細胞内 K_{ATP} チャネル活性を抑制することで細胞外からの Ca^{2+}流入を増加させ、インスリン分泌を促進したと考えられた（2.6.2.3.5）。更に、CD38 の発現を抑制することにより、イメグリミンのインスリン分泌促進作用が消失したことから、CD38 によって生成される NAD^+代謝産物による細胞内 Ca^{2+}量増加もイメグリミンのグルコース濃度依存的インスリン分泌促進作用に寄与していると考えられた（2.6.2.3.6）。これらの結果から、イメグリミンは膵臓でミトコンドリア機能を改善することによるインスリン分泌の主経路である惹起経路の増強に加え、NAD^+を介したインスリン分泌の増幅経路を活性化することで、グルコース濃度依存的インスリン分泌促進作用を示すと考えられた。更に、イメグリミンは ZDF ラットを用いた試験で β 細胞の脱落を抑制し、ヒト膵島由来初代培養細胞を用いた試験でグルコース又はフルクトースにより誘発される糖毒性による細胞死を抑制したことから、イメグリミンの β 細胞保護作用により、長期にわたる血糖管理が可能であることも示唆された（2.6.2.3.7）。

肝臓及び筋肉でのミトコンドリアに対する作用の検討として、HFHS 食負荷マウスの肝臓でのミトコンドリア関連分子の酵素活性やたん白質量への影響を検討した。その結果、イメグリミンは HFHS 食負荷により低下した Complex III たん白質量及び活性を回復させると共に Complex I 活性を低下させ、ROS 産生を抑制した（2.6.2.3.8）。また、イメグリミンは ATP 合成酵素量も増加させた。更に、HFHS 食負荷マウスの筋肉では、イメグリミンはミトコンドリアの生合成に関わる Pgc1a の発現を増加させ、筋肉から抽出したミトコンドリアの呼吸を回復させたことから、ミトコンドリアの生合成と機能を回復させたと考えら

れた（2.6.2.3.9）。これらの結果から、イメグリミンは肝臓及び筋肉でもミトコンドリア機能を回復させることにより、インスリン抵抗性改善作用を示すと考えられた。

2.4.2.3　副次的薬理試験

125 種類の受容体及び酵素に対する作用を *in vitro* で評価した結果、イメグリミンは 1 μmol/L で、いずれの受容体若しくは酵素に対しても明確な阻害活性を示さなかった（2.6.2.4）。

2.4.2.4　安全性薬理試験

2.4.2.4.1　中枢神経系に及ぼす影響

約 7 週齢の Wistar ラット（雌雄各 5 例/群）に、媒体並びにイメグリミンの 150、500 及び 1500 mg/kg を単回経口投与し、フォトビームを利用した自発運動測定装置を用いて、投与後 30 分の時点から 1 時間にわたり自発運動量を測定した。その後、FOB による機能検査を実施したところ、イメグリミンは、雌雄いずれでも自発運動量に対する影響を及ぼさなかった。また、FOB で認められた影響はごく軽微で、用量反応関係は認められず、自律神経機能、神経筋機能、感覚運動反応及び中枢神経系機能に有意な変化は認められなかった（2.6.2.5.1）。

2.4.2.4.2　心血管系に及ぼす影響

2.4.2.4.2.1　hERG 電流に及ぼす影響

hERG チャネルを安定発現させた HEK293 細胞を用い、hERG テール電流をホールセルパッチクランプ法で測定した（各濃度 4～5 細胞）。イメグリミンは 50、150 及び 500 μmol/L の濃度で、hERG テール電流をそれぞれ 8.1～12.3%、2.7～10.7%及び 4.6～15.2%抑制したが、いずれの濃度でも媒体群と比較して同程度の抑制率であった（2.6.2.5.2.1）。

2.4.2.4.2.2　覚醒イヌにおける心血管に及ぼす影響

58 ヵ月齢のビーグル犬（雌雄各 3 例/群）に媒体並びにイメグリミン 20、100 及び 500 mg/kg を 3 又は 4 日間の投与間隔を空けて単回漸増経口投与し、投与前並びに投与後 2、4、6 及び 24 時間に血圧（収縮期血圧、拡張期血圧及び平均血圧）、心拍数及び心電図パラメータ（PQ 間隔、QRS 幅、QT 間隔及び Van de Water の補正式による QTc）を測定した。500 mg/kg を投与した 6 例中 3 例で軽微な心拍数減少（最大 37%減）が認められたが、心電図パラメータ及び血圧に、被験物質投与に関連した影響は認められなかった（2.6.2.5.2.2）。

2.4.2.4.3　呼吸器系に及ぼす影響

Wistar ラット（雄 8 例/群）に、媒体並びにイメグリミン 150、500 及び 1500 mg/kg を単回経口投与し、投与 30 分前から投与後 4 時間までホールボディプレチスモグラフィ法を用いて呼吸機能を測定した。イメグリミンは溶媒対照群と比較して、いずれの投与量でも、吸気時間、呼気時間、休止時間、最大吸気流量、最大呼気流量、1 回換気量、呼吸数、pause 及

び enhanced pause に有意な影響を及ぼさなかった（2.6.2.5.3）。

2.4.2.4.4　乳酸アシドーシス

2.4.2.4.4.1　重度急性腎不全ラットにおける乳酸アシドーシス惹起に及ぼす影響

雄性 SD ラットに、ゲンタマイシン（250～275 mg/kg/日）を 1 日 1 回、4 日間皮下投与して腎不全を誘発し、血漿中クレアチニン濃度を指標に重度の腎不全動物を選抜した。選抜した動物に、媒体、イメグリミン又はメトホルミンを 8 mL/h/kg（投与量は各化合物 25、50、75 及び 100 mg/kg/h）にて 180 分間静脈内持続投与し、血中グルコース濃度、血中乳酸濃度、血中 H^+濃度、血中 HCO_3^-濃度、血中酸素分圧、血中二酸化炭素分圧及び血中ヘモグロビン濃度を測定した。

その結果、イメグリミン投与群では、死亡は認められなかった。血中乳酸濃度、血中グルコース濃度、血中 HCO_3^-濃度及び血中 H^+濃度に有意な影響は認められず、乳酸アシドーシスの惹起は示唆されなかった。

一方、メトホルミン投与群では、50 mg/kg/h 以上の群で用量依存的な死亡数の増加が認められ、100 mg/kg/h 群では全例が死亡した。用量依存的な血中乳酸濃度及び血中 H^+濃度の上昇並びに血中グルコース濃度及び血中 HCO_3^-濃度の低下が認められ、50 mg/kg/h 以上の群で認められた死亡は乳酸アシドーシスに伴う死亡と考えられた（2.6.2.5.4.1）。

2.4.2.4.4.2　mGPDH 活性に及ぼす影響

メトホルミンは、主に肝臓でミトコンドリア膜上に存在し、細胞質の NADH をミトコンドリア内に取り込む mGPDH を阻害することで細胞質 NADH 濃度が上昇し、それに伴い乳酸の血中濃度が上昇して乳酸アシドーシスのリスクが高まると考えられている[文献(1)]。イメグリミン及びメトホルミンの乳酸アシドーシス惹起に及ぼす影響を検討する目的で、ラット肝臓由来の mGPDH 活性を測定した。メトホルミンは、mGPDH 活性を濃度依存的に抑制し、250 μmol/L で mGPDH 活性を 47%有意に抑制した。一方、イメグリミンは 250 μmol/L まで mGPDH 活性を抑制しなかった（2.6.2.5.4.2）。

2.4.3　薬物動態試験

2.4.3.1　吸収

雌雄 Hsd Win: NMRI マウス（以下マウスとする）に[^{14}C]標識イメグリミンを 5 mg/kg 又は 100 mg/kg で単回経口投与した。5 mg/kg で経口投与後の血漿中放射能及び未変化体濃度は、雌雄マウスで 0.5～1 時間後に t_{max} を示し、雄性マウスで 421 ng eq./mL 及び 403 ng/mL、雌性マウスで 301 ng eq./mL 及び 253 ng/mL の C_{max} に到達した（2.6.4.3.1）。5 mg/kg で経口投与後の生物学的利用率は、雄性マウスで 65.6%、雌性マウスで 49.0%であった。5 mg/kg 及び 100 mg/kg で経口投与後の吸収率は、それぞれ雄性マウスで 62%及び 50%、雌性マウスで 71%及び 51%であった。経口投与後のイメグリミンの薬物動態に、明確な性差は認められなかった。

雄性 Wistar ラット（以下、ラットとする）に[^{14}C]標識イメグリミンを 5 mg/kg 又は 100 mg/kg で単回経口投与した。5 mg/kg で経口投与後の血漿中放射能及び未変化体濃度は、1～2 時間後に t_{max} を示し、それぞれ 576 ng eq./mL 及び 362 ng/mL の C_{max} に到達した。5 mg/kg で経口投与後の生物学的利用率は、48%であった（2.6.4.3.2）。5 mg/kg 及び 100 mg/kg で経口投与後の吸収率は、それぞれ 55%及び 80%であった。

絶食下雌性ビーグル犬（以下、イヌとする）に[^{14}C]標識イメグリミンを 5 mg/kg で単回経口投与した。経口投与後の血漿中放射能及び未変化体濃度は、1～2 時間後に t_{max} を示し、それぞれ 1650 ng eq./mL 及び 1530 ng/mL の C_{max} に到達した（2.6.4.3.3）。生物学的利用率及び吸収率は、それぞれ 76%及び 82%であった。非絶食下雌性イヌにイメグリミン 5 mg/kg を単回経口投与した。未変化体濃度は、3.0 時間後に t_{max} を示し、904 ng/mL の C_{max} に到達した。生物学的利用率は、69%であった。

雌性カニクイザル（以下、サルとする）にイメグリミン 5 mg/kg を単回経口投与した。未変化体濃度は、7.33 時間後に t_{max} を示し、172 ng/mL の C_{max} に到達した。生物学的利用率は、26.0%であった（2.6.4.3.4）。

イメグリミンの消化管からの吸収率及び生物学的利用率は、比較的良好であった。

2.4.3.2　分布

雌雄白色ラットに[^{14}C]標識イメグリミンを 5 mg/kg で単回経口投与し、定量的全身オートラジオグラフィーにより組織中放射能濃度を測定した。経口投与後 1 時間では、血液中濃度より高い組織が多く認められ、消化管以外では、特に肝臓、腎臓、眼窩外涙腺、眼窩内涙腺、唾液腺、褐色脂肪、舌上皮及び外側鼻腺中の濃度が血液中濃度の 2～7 倍高かった（2.6.4.4.1.1）。投与後 24 時間では、ほとんどの組織中濃度で低値若しくは定量下限未満であり、イメグリミンの組織への残留性は低いと考えられた。

雌雄 Lister-Hooded ラット（有色ラット）に[^{14}C]標識イメグリミンを 5 mg/kg で静脈内投与し、定量的全身オートラジオグラフィーにより組織中放射能濃度を測定した。メラニン含有組織であるぶどう膜中の投与後 1 時間の濃度は、血液中濃度の 2.6～4.0 倍であり、白色ラットに静脈内投与したときの値（1.1～1.2 倍）よりも高値であった（2.6.4.4.1.2）。皮膚中

濃度は、有色素部と無色素部で差は認められなかった。投与後 24 時間では投与後 1 時間から減少し、ぶどう膜中濃度は投与後 1 時間の 5～19%、皮膚有色素部中濃度は定量下限未満であった。以上より、イメグリミンは、メラニン含有組織に弱い結合性を有することが示唆された。

妊娠 18 日目の雌性ラットに[^{14}C]標識イメグリミンを 100 mg/kg で単回経口投与し、組織内放射能濃度を測定することにより胎盤通過性を検討した。経口投与後 1、6、24 時間の胎児中に放射能は認められたものの、その濃度は、母動物の血漿中放射濃度に比べて低かった（8～70%）。また、投与後 6 時間以降では、母動物の血漿中放射濃度の減少に伴い、胎児中放射能濃度は減少した（2.6.4.4.1.3）。

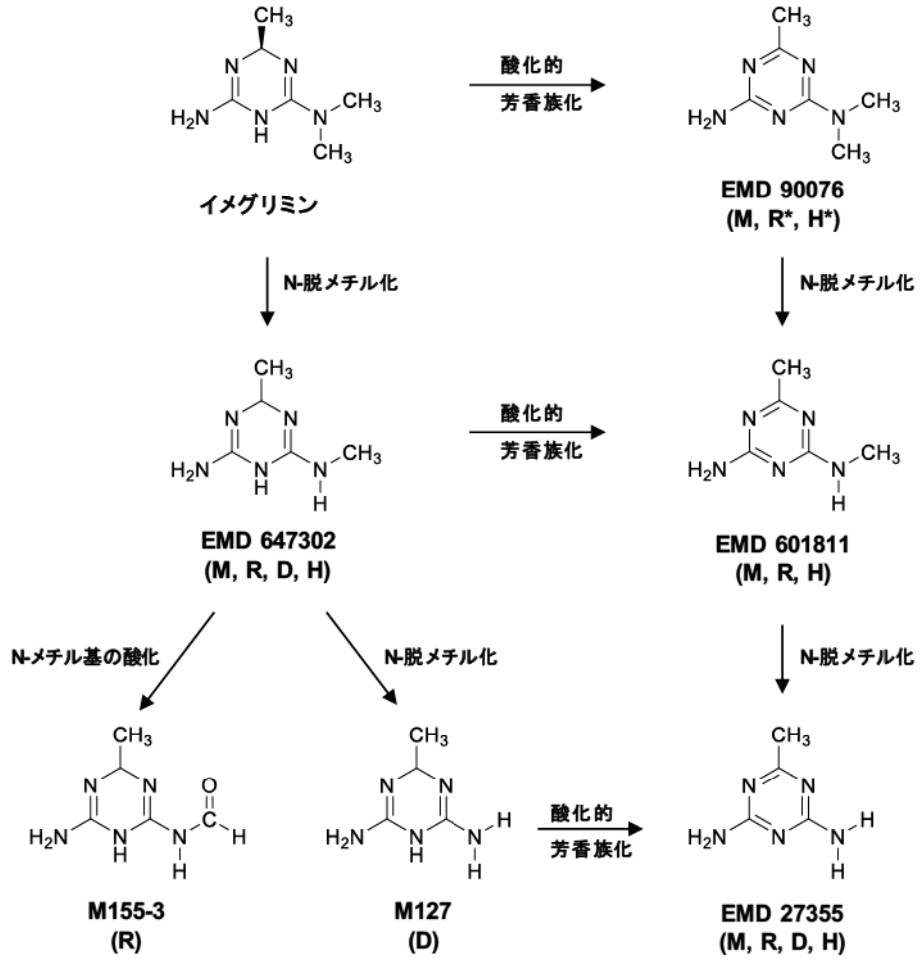
[^{14}C]標識イメグリミンをマウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト血漿に添加し（0.2、2 及び 20 μg/mL）、血漿中たん白結合率を平衡透析法で測定した。各種血漿中たん白結合率は、いずれも 9.1%以下と低値であった。イメグリミンの非結合型分率（0.91～0.99）に、明確な種差及び濃度依存性は認められなかった（2.6.4.4.2）。

[^{14}C]標識イメグリミンをマウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト血液に添加し（0.2 及び 20 μg/mL）、放射能の血球移行率を検討した。各種血球／血漿中濃度比は、マウスで 0.77～0.84、ラットで 0.98～1.12、ウサギで 0.86～0.95、イヌで 0.22～0.31、サルで 1.03～1.12 及びヒトで 0.42～0.53 であった（2.6.4.4.2）。

2.4.3.3　代謝

経口投与後に体内に吸収されたイメグリミンは、大部分が未変化体のまま尿中へ排泄されるが、一部は代謝を受ける。イメグリミンは、酸化的芳香族化によって EMD 90076 へ、N-脱メチル化によって EMD 647302 へそれぞれ代謝される。EMD 90076 は、N-脱メチル化によって EMD 601811 及び EMD 27355 へ代謝される。EMD 647302 は、酸化的芳香族化によって EMD 601811 へ代謝されるか、又は N-メチル基の酸化を受け M155-3 へ、若しくは N-脱メチル化によって M127 へ代謝される。各種動物及びヒトにおけるイメグリミンの推定代謝経路を図 2.4.3-1 に示す。

図 2.4.3-1 イメグリミンの推定代謝経路



M：マウス、R：ラット、D：イヌ、H：ヒト
*：Radio-HPLC では検出されず、LC-MS/MS 分析で検出された。

[^{14}C]標識イメグリミン（1、10 及び 100 µmol/L）をヒト及びラットの各生体試料（肝、肺、腎、小腸のミクロソーム並びに S9）と 60 分間インキュベーションし、代謝物の生成を検討した。ラジオクロマトグラム上に代謝物ピークは認められず、イメグリミンはいずれの酵素源でも代謝を受けなかった（2.6.4.5.2.1）。

[^{14}C]標識イメグリミン（1、10 及び 100 µmol/L）を各種動物（マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ミニブタ及びサル）及びヒトの肝細胞と 24 時間インキュベーションして代謝を検討した。インキュベーション後のイメグリミン残存率は、マウスで 88.1～90.4%、ラットで 72.7～90.32%、ウサギで検出限界未満～1.5%、ミニブタで 63.8～93.3%、イヌで 53.1～60.05%、サルで 88.7～90.64%、ヒトで 90.0～94.30%であり、ウサギを除いて安定であった（2.6.4.5.2.2）。ヒトで生成したすべての代謝物は、少なくとも一種以上の動物種で生成しており、ヒトに特有な代謝物は認められなかった。

雌雄マウスに[^{14}C]標識イメグリミンを 100 mg/kg で単回経口投与し、代謝物組成を検討し

た。血漿中の主放射能成分は、未変化体（血漿中総放射能 AUC の 95～97%）であった（表 2.4.3-1）（2.6.4.5.3.1）。血漿中の代謝物としては、EMD 601811、EMD 647302 及び EMD 90076 が検出されたが、その濃度はいずれも低値であった。投与後 0～120 時間の尿中及び糞中では、いずれも未変化体が主放射能成分（投与した総放射能量の 52～61%及び 36～42%）であった。

雄性ラットに[^{14}C]標識イメグリミンを 100 mg/kg で単回経口投与し、血漿中の代謝物組成を検討した。主放射能成分は、未変化体（血漿中総放射能 AUC の 69%）であった（表 2.4.3-1）（2.6.4.5.3.2）。血漿中の主要な代謝物として、EMD 601811 及び EMD 647302 が認められ、それぞれ血漿中総放射能 AUC の 13%及び 3%であった。その他の血漿中代謝物としては、投与後 8 時間の時点のみ EMD 27355 及び M155-3 がわずかに検出された。

雄性ラットに[^{14}C]標識イメグリミンを 5 mg/kg で単回経口投与後 48 時間までの尿中及び糞中では、未変化体が主放射能成分（投与した総放射能量の 32%及び 50%）であった（2.6.4.5.3.2）。

雌性イヌに[^{14}C]標識イメグリミンを 100 mg/kg で単回経口投与し、代謝物組成を検討した。血漿中の主放射能成分は、未変化体（血漿中総放射能 AUC の 86%）であった（表 2.4.3-1）（2.6.4.5.3.3）。血漿中の主要な代謝物は EMD 647302 であり、血漿中総放射能 AUC の 10%であった。その他の血漿中代謝物としては、投与後 6 時間の時点のみ EMD 27355 がわずかに検出された。投与後 0～48 時間の尿中及び糞中では、未変化体が主放射能成分（投与した総放射能量の 43.0%及び 32.7%）であった。

代謝の種差を考察する目的で、以下にヒトでの *in vivo* 代謝を要約する。ヒトに[^{14}C]標識イメグリミンを 1000 mg で単回経口投与したとき、血漿中の主放射能成分は、動物と同様に未変化体（血漿中総放射能 AUC の 93%）であった（表 2.4.3-1）（2.6.4.9）（2.7.2.2.1.2）。血漿中の主要な代謝物として、EMD 601811 及び EMD 27355 が認められ、それぞれ血漿中総放射能 AUC の 5%及び 2%であった。ヒトでは、投与後 144 時間までに投与した総放射能量の 99.3%が尿又は糞中へ排泄された。尿中へは 43.9%の放射能が排泄され、その内訳は未変化体が 42.7%、EMD 647302 が 0.7%、EMD 27355 が 0.3%、未同定の代謝物が 0.1%であり、大部分が未変化体であった。糞中へは 55.4%の放射能が排泄され、すべて未変化体であった。以上のことから、動物及びヒトで、経口投与後に体内に吸収されたイメグリミンは、一部は代謝されるが、主に未変化体として尿中へ排泄されることが示唆された。

ヒト血漿中で同定されたすべての代謝物は、少なくとも 1 種以上の動物種で検出されており、*in vitro* 代謝と同様に *in vivo* でもヒトに特有な代謝物は認められなかった。更に、ヒトで血漿中の総放射線 AUC の 10%［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、ICH M3 （R2）］を超える代謝物は認められなかったことから（表 2.4.3-1）、ヒト代謝物の非臨床安全性評価は不要と判断された（2.6.4.9）。

表 2.4.3-1　[^{14}C]標識イメグリミンを各種動物又はヒトに経口投与後の血漿中総放射能 AUC に対する各代謝物の割合

	マウス (100 mg/kg 単回)	ラット (100 mg/kg 単回)	イヌ (100 mg/kg 単回)	ヒト (1000 mg 単回)
EMD 27355	--	NC	NC	2%
M155-3	--	NC	--	--
EMD 647302	NC	3.3%	10%	--
EMD 601811	NC	13%	--	5%
イメグリミン	95～97%	69%	86%	93%
EMD90076	NC	-- [1)]	--	-- [1)]

詳細は、2.6.4.9、表 2.6.4.7.3-1 を参照。
NC：算出せず、--：Radio-HPLC で検出されず、1）LC-MS/MS で検出された

マウス（100 mg/kg）、ラット（5 mg/kg）及びイヌ（100 mg/kg）に[^{14}C]標識イメグリミンを単回経口投与後の尿中及び糞中では、いずれの動物種でも未変化体が主放射能成分（投与した総放射能量の 32～61%及び 32.7～50%）であった（2.6.4.5.3.1、2.6.4.5.3.2、2.6.4.5.3.3）。ヒトでは、投与後 144 時間までに投与した総放射能量の 99.3%が尿中又は糞中へ排泄された。尿中へは 43.9%の放射能が排泄され、大部分が未変化体（42.7%）であった（2.6.4.9）（2.7.2.2.2.1.3）。糞中へは 55.4%の放射能が排泄され、すべて未変化体であった。また、経口投与後に糞中へ排泄された放射能の大部分は、未吸収の[^{14}C]標識イメグリミンに由来すると推察された。

ラットの 26 週間毒性試験（2.6.6.3.7）及びイヌの 52 週間毒性試験（2.6.6.3.10）にて、イメグリミンを経口投与したときのイメグリミン（R 体）又は鏡像異性体（S 体）の血漿中濃度をそれぞれ分離測定し（TK 評価）、生体内の異性体変換を検討した。いずれの動物種でも、総 AUC［イメグリミン（R 体）+鏡像異性体（S 体）］に占める鏡像異性体（S 体）の割合は [redacted]%であり、投与した原薬中に含まれる鏡像異性体（S 体）の割合（[redacted]%）と同様であった（2.6.4.5.3.4）。また、臨床試験でも動物試験と同様に、イメグリミン（R 体）又は鏡像異性体（S 体）のヒト血漿中濃度をそれぞれ分離測定し、生体内の異性体変換を検討した。ヒトの総 AUC に占める鏡像異性体（S 体）の割合（[redacted]%）は、投与した原薬中に含まれる鏡像異性体の割合（[redacted]%）と同様であった（2.6.4.5.3.4）、（表 2.6.4.5.3-1）、（2.7.2.2.2.1.3）。以上のことから、イメグリミンは、動物及びヒトの生体内で異性体変換しないことが示唆された。

ヒト凍結肝細胞をイメグリミン（20、60 及び 120 μmol/L）存在下で 48 時間インキュベーションし、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA 発現量を測定した。いずれの分子種でも、コントロールに対する増加は、1.8 倍以下であった（2.6.4.5.4）。同じ濃度範囲で、ヒト新鮮肝細胞又は凍結肝細胞と 72～96 時間インキュベーションし、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4/5 の酵素活性を測定した。200 μmol/L の濃度では細胞毒性が認められため、誘導能の評価は行わなかった。いずれの分子種でも、コントロール酵素活

性に対する増加は、1.2 倍以下であった。「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン（平成 30 年、薬生薬審発 0723 第 6 号）」（以下「相互作用ガイドライン」とする）で提唱されている 2 倍を下回ったことから、イメグリミンは、評価が可能であった 120 μmol/L までこれら CYP に対する誘導能はないことが示唆された。この濃度 120 μmol/L は、臨床用量（1000 mg）での C_{max}（1804.4 ng/mL＝9.4 μmol/L）より約 13 倍高いことから、臨床においてイメグリミンによる CYP 誘導が生じる可能性は低いと推察された。

ヒト肝ミクロソームを用いた検討で、イメグリミンは、各種CYP分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4/5）に対して顕著な影響を与えず、評価した最高濃度（CYP3A4/5：6000 μmol/L、その他 CYP：1000 μmol/L）で 50%以上の阻害作用は認められなかった（2.6.4.5.5）。薬物動態学的相互作用のリスクについて、「相互作用ガイドライン」でのカットオフ基準を用いて考察した。カットオフ値（CYP3A4/5：4174 μmol/L、その他 CYP：940 μmol/L）よりも高濃度で 50%以上の阻害が認められなかったことから、臨床で CYP 阻害に基づく相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。

2.4.3.4　排泄

雌雄マウスに[^{14}C]標識イメグリミンを 5 mg/kg 又は 100 mg/kg で単回経口投与したときの糞尿中放射能を測定した。投与後 120 時間までに 48.4～62.1%の放射能量が尿中に、35.6～41.7%の放射能量が糞中にそれぞれ排泄された（2.6.4.6.1）。

雄性ラットに[^{14}C]標識イメグリミンを 5 mg/kg で単回経口投与したときの糞尿中放射能を測定した。投与後 120 時間までに 38.23%の放射能量が尿中に、52.21%の放射能量が糞中にそれぞれ排泄された（2.6.4.6.2）。

雌性イヌに[^{14}C]標識イメグリミンを 5 mg/kg 又は 100 mg/kg で単回経口投与したときの糞尿中放射能を測定した。投与後 120 時間までに 76.6 及び 55.1%の放射能量が尿中に、15.6 及び 33.0%の放射能量が糞中にそれぞれ排泄された（2.6.4.6.3）。

マウス、ラット及びイヌにそれぞれ[^{14}C]標識イメグリミンを 5 mg/kg で単回静脈内投与したとき、投与後 120 時間までに 75.2～95.2%の放射能量が尿中に、1.0～14.2%の放射能量が糞中へそれぞれ排泄された（2.6.4.6.1、2.6.4.6.2、2.6.4.6.3）。静脈内投与後に糞中へ排泄された放射能は、胆汁排泄に由来すると推察された。

授乳期ラットに[^{14}C]標識イメグリミンを 5 mg/kg で単回経口投与し、乳汁中への放射能の移行を検討した。乳汁中放射能濃度は、投与後 4 時間に最大値 935 ng eq./mL（血漿中放射能濃度の 3.06 倍）に達し、以後、血漿中放射能濃度の減少に伴い低下した（2.6.4.6.4）。乳汁中放射能濃度は、投与後 1 時間を除く 24 時間までの全時点で血漿中放射能濃度よりも高く、放射能 AUC の乳汁/血漿比は、2.06 であった。投与後 2 時間の乳汁中放射能に占める未変化体の割合は、87.6%と高かった。

2.4.3.5　薬物動態学的相互作用

Caco-2 細胞を用いてイメグリミンの経細胞輸送への P-gp 及び BCRP の関与を検討した結

果、イメグリミンはP-gp及びBCRPの基質ではないと考えられた（2.6.4.7.1）。また、イメグリミン（0.1～3000 μmol/L）は、P-gpによるジゴキシン輸送活性を阻害しなかった。

ヒトOCT1発現細胞を用いて、イメグリミンの細胞内取り込みへのOCT1の関与を検討した。イメグリミンはOCT1の基質となり、その細胞内取り込みのK_m、V_{max}、及びCL_{int}はそれぞれ1130 μmol/L、16500 pmol/mg protein/min、及び14.6 μL/mg protein/minであった（2.6.4.7.2）。ヒトOCT2発現細胞を用いて、イメグリミンの細胞内取り込みへのOCT2の関与を検討した。イメグリミンはOCT2の基質となり、その細胞内取り込みのK_m、V_{max}、及びCL_{int}はそれぞれ41.1 μmol/L、1490 pmol/mg protein/min、及び36 μL/mg protein/minであった。

ヒトMATE1、MATE2-K、OAT1及びOAT3発現細胞を用いて、イメグリミンの細胞内取り込みへの各種トランスポーターの関与について検討した結果、イメグリミンは、MATE1及びMATE2-Kの基質であり、OAT1及びOAT3の基質ではないと考えられた（2.6.4.7.2）。OCT2、MATE1及びMATE2-Kの典型的阻害薬であるシメチジンを用いた臨床相互作用試験では、非併用時と比較してシメチジン併用時にイメグリミンの曝露量が増加したが、その程度はC_{max}で1.34倍、AUC_{0-t}で1.27倍であり、臨床的に意義のある増加ではないと考えられた（2.7.2.2.2.4.2.2、2.7.2.3.5.2.3）。

ヒトBCRP発現膜ベシクルを用いて、BCRPの典型的基質の取り込みに対するイメグリミン（300及び3000 μmol/L）の阻害作用を検討した結果、イメグリミンは、BCRPによる輸送活性を阻害しなかった（2.6.4.7.3）。

ヒトOCT1及びOCT2発現細胞を用いて、OCT1及びOCT2の典型的基質の取り込みに対するイメグリミンの阻害作用を検討した。イメグリミンは典型基質のヒトOCT1及びOCT2発現細胞内への取り込みを阻害し、そのK_i値若しくはIC_{50}値はそれぞれ154及び146 μmol/Lであった（2.6.4.7.3）。

ヒトMATE1、MATE2-K、OAT1、OAT3、OATP1B1及びOATP1B3発現細胞を用いて、各種トランスポーターの典型的基質の取り込みに対するイメグリミンの阻害作用を検討した。イメグリミンは、MATE1の典型的基質のMATE1発現細胞への取り込みを阻害し、そのIC_{50}値は19.24 μmol/Lであった（2.6.4.7.3）。その他のMATE2-K、OAT1、OAT3、OATP1B1及びOATP1B3のトランスポーターに対しては、イメグリミン（評価した最高濃度：1000 μmol/L）は、これらを阻害しなかった。

薬物動態学的相互作用のリスクについて、「相互作用ガイドライン」でのカットオフ基準を用いて考察した（表 2.4.3-2）。P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2及びMATE2-Kでは、各種カットオフ値よりも高濃度で50%以上の阻害が認められなかったことから、臨床でこれらのトランスポーター阻害に基づく相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。MATE1に対する阻害に関しては、IC_{50}（19.24 μmol/L）はカットオフ値を超えず、ガイドライン上、臨床相互作用試験が必要と判定された。しかし、MATE1の典型基質であるメトホルミンを用いた臨床相互作用試験では、イメグリミンはメトホルミンの全身曝露量に影響を与えず、臨床用量（1000 mg）でMATE1を阻害する可能性は低いと考え

られた（2.7.2.2.2.4.2.1、2.7.2.3.5.2.3）。

OCT1 に対する阻害のリスク評価の指針はガイドラインには記載されていないが、その K_i 値（154 μmol/L）は臨床用量（1000 mg）での C_{max}（1804.4 ng/mL＝9.4 μmol/L）より約 16 倍高いことから、臨床でイメグリミンによる OCT1 阻害が生じる可能性は低いと推察された。

表 2.4.3-2　ガイドラインに基づくトランスポーター阻害による薬物動態学的相互作用のリスク評価

トランスポーター	局在又は機能	IC_{50} (μmol/L)	カットオフ値（μmol/L）			
			小腸	取り込み系	排泄系 1	排泄系 2
			0.1×[I]	$10\times[I]_{u,\ inlet,\ max}$	$10\times C_{max,\ free}$	$50\times C_{max,\ free}$
P-gp	小腸	＞3000	2087	--	--	--
BCRP	小腸	＞3000	2087	--	--	--
OATP1B1/3	肝取り込み	＞1000	--	158	--	--
OAT1/3	腎排泄	＞1000	--	--	94	--
OCT2	腎排泄	146	--	--	94	--
MATE1	腎排泄	19.24	--	--	--	470
MATE2-K	腎排泄	＞1000	--	--	--	470

カットオフ値：ガイドライン「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン（平成 30 年、薬生薬審発 0723 第 6 号）」で提唱されている基準を、IC_{50} と比較できる値（濃度）に換算した。IC_{50} がカットオフ値を超えた場合は、臨床薬物相互作用試験は不要とされる。

詳細は、2.6.4.9、表 2.6.4.7.3-2 を参照。

--：適応なし

2.4.4　毒性試験

2.4.4.1　単回投与毒性試験

イメグリミンの単回投与試験は、ラット及びマウスを用いて経口投与及び静脈内投与にて実施した。その結果、概略の致死量は、ラットの経口投与で 3000 及び 4000 mg/kg（2.6.6.2.3）、マウスの経口投与で 4000 mg/kg（2.6.6.2.1）であり、ラットの静脈内投与で 150 及び 200 mg/kg（2.6.6.2.4）、マウスの静脈内投与で 100～200 mg/kg（2.6.6.2.2）であったことから、イメグリミンのラット及びマウスにおける単回経口投与及び単回静脈内投与での毒性ポテンシャルは低いと判断された。

2.4.4.2　反復投与毒性試験

イメグリミンの反復投与試験で、ラットでは最長 26 週間にわたって 250 mg/kg/日の経口投与に忍容性を示した（2.6.6.3.7）。300 mg/kg/日では、13 週間の反復経口投与で、肝臓逸脱酵素と血漿中乳酸値が高値を示した。主な病理組織学的所見は 300 mg/kg/日で腸間膜リンパ節、甲状腺及び副腎に認められ、いずれも過量投与によるストレス又は代謝活性化に起因した軽微な変化であり、毒性学的意義はないと考えられた（2.6.6.3.6）。がん原性試験の用量設定を目的として実施した 13 週間の反復投与試験で病理組織学的変化として、500 mg/kg/日以上の群の雌雄で腎臓の好塩基性尿細管、たん白円柱、又は皮質尿細管の拡張の発生例数の増加、1000 mg/kg/日以上の群の雌雄で副腎の束状帯の肥大、2000 mg/kg/日群の雌雄で小腸のび漫性粘膜肥大、2000 mg/kg/日群の雌で甲状腺の濾胞上皮のび漫性肥大及び膣の粘膜の発情休止期の発生例数の増加が認められた（2.6.6.5.1.1）。日本人単回及び反復投与試験（5.3.3.1.02 参照）における 2000 mg/日（1000 mg, bid）で 7 日間反復投与時のイメグリミン曝露量（C_{max}：1804.4 ng/mL 及び AUC：25250 ng·h/mL）に対するラット 26 週間反復投与毒性試験の NOAEL におけるマージンは、雄の C_{max} で 3.8 倍及び AUC で 2.2 倍並びに雌の C_{max} で 5.3 倍及び AUC で 2.6 倍であった。

イヌでは最大 52 週間で 300 mg/kg/日まで明らかな毒性兆候は認められなかった（2.6.6.3.10）。500 mg/kg/日では、消化管症状、流涎、縮瞳、羞明及び瞬膜の突出、並びに体重及び摂餌量の減少が認められた（2.6.6.3.9）。より高用量では、血糖の顕著な減少及び乳酸値の増加が認められ、イヌの機序検討試験では、いずれも 50%グルコース及び 0.9%塩化ナトリウム溶液の静脈内投与後に完全な回復性が示された（2.6.6.3.4）。イヌ 52 週試験の NOAEL における臨床曝露量に対するマージンは、雄の C_{max} で 27.8 倍及び AUC で 11.5 倍並びに雌の C_{max} で 40.2 倍及び AUC で 20.3 倍であった。

ラット及びイヌともに重篤な毒性は認められず、すべての毒性兆候に回復性があり、イヌにおいては十分な安全域が認められた。

2.4.4.3　遺伝毒性試験

イメグリミンの遺伝毒性試験では、遺伝子突然変異を誘発する作用又は染色体異常誘発性を示さなかった（2.6.6.4.1、2.6.6.4.2）。

2.4.4.4　がん原性試験

イメグリミンのがん原性試験では、ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験で 500 mg/kg/日の用量までイメグリミン投与に起因した発がんは認められなかった。ラットの発がん NOAEL における臨床曝露量に対するマージンは雄の C_{max} で 7.7 倍及び AUC で 4.7 倍並びに雌の C_{max} で 11.5 倍及び AUC で 5.0 倍であった。(2.6.6.5.1.2)。

また、Tg-rasH2 マウスを用いた 26 週間反復経口投与がん原性試験で 1500 mg/kg/日の用量までイメグリミン投与に起因した発がんは認められず、Tg-rasH2 マウスの発がん NOAEL における臨床曝露量に対するマージンは雄の C_{max} で 19.7 倍及び AUC で 9.7 倍並びに雌の C_{max} で 19.0 倍及び AUC で 10.5 倍であった。(2.6.6.5.2.2)

2.4.4.5　生殖発生毒性試験

イメグリミンのラットの受胎能及び初期胚発生に関する試験では、雄親動物は 1000 mg/kg/日の用量まで（2.6.6.6.1.1)、雌親動物は 1500 mg/kg/日の用量まで（2.6.6.6.1.2）初期胚発生を含む生殖能への影響は認められなかった。雌雄親動物での NOAEL における臨床曝露量に対するマージンは、雄の C_{max} で 7.8 倍及び AUC で 5.0 倍並びに雌の C_{max} で 15.2 倍及び AUC で 7.2 倍であった（ラット 4 週試験及びラット 13 週試験の曝露量を基に算出した)。

イメグリミンのラットの胚・胎児発生に関する試験では、母動物では 1500 mg/kg/日のみに体重増加抑制などの毒性がみられたものの、胎児では 150 mg/kg/日以上で体重の低値又は低値傾向及び舌骨の骨化遅延やその他の骨化に軽微な遅延が認められた。これらの骨化遅延は胎児体重の低値又は低値傾向に起因した変化と考えられるものの、その変化は 500 及び 1500 mg/kg/日で用量相関性は認められなかった（2.6.6.6.2.1)。このため、500 mg/kg/日以下の用量で追加試験を実施したが、いずれの投与用量においても胎児体重や舌骨を含む骨化にイメグリミン投与による影響は認められなかった。したがって、胚・胎児の発生に対する NOAEL は 500 mg/kg/日と判断された（2.6.6.6.2.2)。なお、1500 mg/kg/日まで胚・胎児致死作用及び催奇形性は認められなかった。

イメグリミンのウサギにおける胚・胎児発生に関する試験では、体重減少などの母動物毒性が認められた 200 mg/kg/日で全胚吸収、生存胎児数の低値傾向を伴う着床後死亡率の上昇傾向及び生存胎児体重（平均値及び雄胎児）の低値傾向がみられたが、催奇形性はみられなかった。このことから、胚・胎児の発生に対する NOAEL は 100 mg/kg/日と判断された（2.6.6.6.2.3)。

イメグリミンのラットの胚・胎児の発生に対する NOAEL である 500 mg/kg/日における臨床曝露量に対するマージンは C_{max} で 7.1 倍及び AUC で 4.2 倍であり、ウサギの胚・胎児の発生に対する NOAEL である 100 mg/kg/日における臨床曝露量に対するマージンは C_{max} で 0.5 倍、AUC で 0.2 倍であった。したがって、イメグリミンはラット及びウサギで催奇形性はなかったものの、胚／胎児致死作用又は胎児発育抑制がみられており、ウサギでの安全マ

ージンは十分ではないと考えられた。更にイメグリミンは妊娠ラットで胎児に移行することが示唆されており（2.4.3.2）、妊婦における安全性は確立されていないことから、妊婦及び妊娠している可能性のある女性には投与を避けるべきであると考えられた。

イメグリミンのラットにおける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では、1000 mg/kg/日まで母動物の生殖並びに出生児の成長及び発達に対する影響は認められなかった（2.6.6.6.3）。

2.4.4.6　局所刺激性試験

イメグリミンは眼及び皮膚局所の一次刺激性を有さないと判断された（2.6.6.7.1、2.6.6.7.2）。

2.4.4.7　その他の毒性試験

(1) 光毒性試験

イメグリミンは 203 及び 240 nm に吸収極大を示し（2.3.S.3.1 及び 3.2.S.3.1 項参照）、290～700 nm の波長の範囲では吸収は示さない。この光化学的性質に基づいて、イメグリミンは光毒性ポテンシャルを有さないと判断されたため、光毒性評価は実施しなかった。

(2) 抗原性試験

イメグリミンは皮膚感作性を有さないと判断された（2.6.6.8.2）。

(3) 鏡像異性体の安全性

鏡像異性体はイメグリミン原薬中の規格上限 [redacted]%で管理され（3.2.S.4.1 項参照）、イメグリミンの臨床適用用量が 2000 mg/日（1000 mg bid）を予定していることから、イメグリミン原薬中に [redacted]%の鏡像異性体が含まれる場合、鏡像異性体の一日最大摂取量は [redacted]mg/日であり、ヒトの体重を 60 kg と仮定するとおよそ [redacted] mg/kg/日となる。これは ICH Q3A ガイドラインにおける安全性確認が必要とされる閾値（0.15%又は一日摂取量 1.0 mg のどちらか低い方）を超えてヒトに投与される可能性を示しており、イメグリミンの原薬規格の安全性を適切に評価するために ICH Q3A ガイドラインに従い鏡像異性体を被験物質とした遺伝毒性試験及びラット 4 週間反復投与毒性試験を実施した。

鏡像異性体を用いた毒性試験の結果から、鏡像異性体に遺伝子突然変異及び染色体異常を誘発する作用はないと考えられた（2.6.6.8.3.1.2、2.6.6.8.3.1.3、2.6.6.8.3.1.4）。また、ラット 4 週間反復投与毒性試験は 150、500 及び 1500 mg/kg/日の投与量で評価され、NOAEL は 500 mg/kg/日と判断された（2.6.6.8.3.1.1）。この NOAEL は、臨床適用予定用量における最大推定投与量（およそ [redacted] mg/kg/日）を大きく上回った。

(4) 不純物A*　の安全性

不純物A*　はイメグリミン原薬中の規格上限 [redacted]%及びイメグリミン製剤中の規格上限

[redacted]%として管理され（3.2.S.4.1 及び 3.2.P.5.1 項参照）、イメグリミンの臨床適用用量が2000 mg/日（1000 mg bid）を予定していることから、イメグリミン原薬中に [redacted]%の不純物A*　が含まれる場合、不純物A*　の一日摂取量は[redacted] mg/日であり、ヒトの体重を 60 kg と仮定するとおよそ [redacted] mg/kg/日となる。また、イメグリミン製剤中に [redacted]%の 不純物A*　が含まれる場合、不純物A*　の一日摂取量は[redacted] mg/日であり、ヒトの体重を 60 kg と仮定するとおよそ [redacted]mg/kg/日となる。これは ICH Q3A ガイドラインにおける安全性確認が必要とされる閾値（0.15%又は一日摂取量 1.0 mg のどちらか低い方）及び ICH Q3B ガイドラインにおける安全性確認が必要とされる閾値（0.2%あるいは 1 日総摂取量 3 mg のいずれか低い方）を超えてヒトに投与される可能性を示しており、イメグリミンの原薬及び製剤規格の安全性を適切に評価するために ICH Q3A ガイドライン及び ICH Q3B ガイドラインに従い不純物A*　を被験物質とした遺伝毒性試験、ラット単回投与毒性試験及びラット 4 週間反復投与毒性試験を実施した。

不純物A*　を用いた毒性試験の結果から、不純物A*　に遺伝子突然変異及び染色体異常を誘発する作用はないと考えられ（2.6.6.8.3.2.3、2.6.6.8.3.2.4、2.6.6.8.3.2.5）、ラット単回投与試験で LD_{50} 値は 1000～2000 mg/kg と推察された（2.6.6.8.3.2.1）。また、ラット 4 週間反復投与毒性試験は 50、150 及び 450 mg/kg/日の投与量で評価され、NOAEL は 50 mg/kg/日と判断された（2.6.6.8.3.2.2）。この NOAEL は臨床適用予定用量における推定最大投与量（およそ [redacted] 又は[redacted]mg/kg/日）を大きく上回った。

＊ 新薬情報提供時に置き換え

2.4.5　総括及び結論

2.4.5.1　薬理試験に関する考察

2 型糖尿病の治療薬には、スルホニル尿素薬、速効型インスリン分泌促進薬、ビグアナイド薬、α-グルコシダーゼ阻害薬、チアゾリジン薬、DPP4 阻害薬、GLP1 受容体作動薬、SGLT2 阻害薬、インスリン製剤などがあり、作用機序の異なる薬剤が複数存在する[文献(2)]。イメグリミンは、非臨床薬理試験の結果から、既存の 2 型糖尿病治療薬とは異なり、インスリン分泌臓器である膵臓及びインスリン標的臓器である肝臓及び筋肉でミトコンドリア機能を改善し、単剤でグルコース濃度依存的なインスリン分泌促進作用とインスリン抵抗性改善作用を併せ持つ新規なプロファイルを有する薬剤であり、長期にわたり血糖降下作用を持続させると考えられた。また、グルコース濃度非依存的インスリン分泌促進薬とは異なり、低血糖を引き起こしにくい血糖降下薬であると考えられた。

その作用機序は、インスリン分泌臓器である膵臓や肝臓などのインスリン標的臓器でのミトコンドリア機能異常の改善と考えられる。すなわち、イメグリミンは膵島において NAD^+ 生合成 salvage 経路を介して NAD^+ 量を増加させることで細胞内の ATP 量を増加させ、K_{ATP} チャネル活性が抑制されることにより、細胞内 Ca^{2+} 量を増加させた。また CD38 により NAD^+ から生成される NAD^+ 代謝産物も細胞内 Ca^{2+} 量の増加に寄与していると考えられた。さらにイメグリミンはヒト膵島由来初代培養細胞の高糖条件で誘発される細胞死を抑制した。これらのことから、イメグリミンはインスリン分泌の主経路である惹起経路の増強に加え、NAD^+ を介したインスリン分泌の増幅経路を活性化することで、グルコース濃度依存的なインスリン分泌作用を示すことが示唆された。また、イメグリミンがβ細胞の保護効果を示すことから、長期にわたる血糖管理が可能であることも示唆された。

一方、肝臓ではミトコンドリアの Complex III の活性を回復させると共に Complex I 活性を低下させ、ROS 産生を抑制し、ミトコンドリア機能を回復させたと考えられた。また筋肉においても病態で低下したミトコンドリアの生合成に関与する Pgc1a の発現をイメグリミン投与により回復させた。これらのことからイメグリミンは、インスリン標的臓器でのミトコンドリア機能を回復させることにより、糖取り込みや糖の生合成を含む全体の糖代謝を改善することで、インスリン抵抗性を改善することが示唆された。

よって、イメグリミンは 2 型糖尿病の成因であるインスリン分泌不全とインスリン抵抗性亢進の程度を問わず、2 型糖尿病患者に幅広く使用できると考えられた。また、既存の 2 型糖尿病治療薬とは異なる機序を有することから、単剤療法と共に DPP4 阻害薬やメトホルミンなどの他のいずれの 2 型糖尿病薬との併用療法でも血糖降下作用を発揮すると考えられた。

2.4.5.2　薬物動態に関する考察

非臨床薬物動態試験の結果から、動物に経口投与後、イメグリミンは速やかに体内に吸収され、全身に速やかに分布して、一部は代謝（酸化的芳香族化、N-脱メチル化）されるが、主に未変化体として尿中へ排泄されることが明らかとなった。消化管からの吸収率は比較

的良好（50%～82%）であり、代謝的にも安定であることから生物学的利用率も比較的良好（26.0%～76%）であった。ヒトに[^{14}C]標識イメグリミンを経口投与したときの *in vivo* 代謝評価においても、動物と同様にイメグリミンはほとんど代謝を受けず、血漿中及び尿中の主放射能成分は未変化体であった。また、イメグリミンは、動物及びヒトの生体内で異性体変換しないことが示唆された。イメグリミンは、P-gp、BCRP、OAT1 及び OAT3 の基質ではなく、OCT1、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の基質であることが明らかとなった。イメグリミンの CYP に対する誘導能及び阻害能、又はトランスポーターに対する阻害能は弱く、臨床で相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。

2.4.5.3　安全性に関する総合考察

イメグリミンの非臨床安全性評価として、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、局所刺激性試験及び抗原性試験を実施した。

安全性薬理試験では、イメグリミンは、単回経口投与により 1500 mg/kg まで中枢神経系及び呼吸器系に対して影響を及ぼさなかった。心血管系に対しては、500 mg/kg を投与したイヌ 6 例中 3 例で軽微な心拍数減少が認められたが、血圧及び心電図パラメータに対して影響を及ぼさず、hERG テール電流に対して 500 μmol/L まで影響を及ぼさなかった。これらの結果から、心血管系、呼吸器系及び中枢神経系に対して重大な影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

単回投与試験は、ラット及びマウスを用いて経口投与及び静脈内投与により実施した。その結果、概略の致死量は、ラットの経口投与で 3000 及び 4000 mg/kg、マウスの経口投与で 4000 mg/kg であり、ラットの静脈内投与で 150 及び 200 mg/kg、マウスの静脈内投与で 100～200 mg/kg であったことから、イメグリミンのラット及びマウスにおける単回経口投与及び単回静脈内投与での毒性ポテンシャルは低いと判断された。

反復投与試験で、ラットでは最長 26 週間にわたって 250 mg/kg/日の経口投与に忍容性を示した。300 mg/kg/日では、肝臓逸脱酵素と血漿中乳酸が高値を示した。主な病理組織学的所見は 300 mg/kg/日で腸間膜リンパ節、甲状腺及び副腎に認められ、いずれも過量投与によるストレス又は代謝活性化に起因した軽微な変化であり、毒性学的意義はないと考えられた。がん原性試験の用量設定を目的として実施した 13 週間の反復投与試験で、病理組織学的に、500 mg/kg/日以上の群の雌雄で腎臓の好塩基性尿細管、たん白円柱、又は皮質尿細管の拡張の発生例数の増加、1000 mg/kg/日以上の群の雌雄で副腎の束状帯の肥大、2000 mg/kg/日群の雌雄で小腸のび漫性粘膜肥大、2000 mg/kg/日群の雌で甲状腺の濾胞上皮のび漫性肥大及び膣の粘膜の発情休止期の発生例数の増加が認められた。日本人単回及び反復投与試験（5.3.3.1.02 参照）における 2000 mg/日（1000 mg, bid）の 7 日間反復投与時のイメグリミン曝露量（C_{max}：1804.4 ng/mL、AUC：25250 ng･h/mL）に対するラット 26 週試験の NOAEL におけるマージンは、雄の C_{max} で 3.8 倍及び AUC で 2.2 倍並びに雌の C_{max} で 5.3 倍及び AUC で 2.6 倍であった。

イヌでは最長 52 週間で 300 mg/kg/日まで明らかな毒性兆候は認められなかった。500 mg/kg/日では、消化管症状、流涎、縮瞳、羞明及び瞬膜の突出、並びに体重及び摂餌量の減少が認められた。より高用量では、血糖の顕著な減少及び乳酸値の増加が認められ、イヌの機序検討試験では、いずれも 50%グルコース及び 0.9%塩化ナトリウム溶液の静脈内投与後に完全な回復性が示された。イヌ 52 週試験の NOAEL における臨床曝露量に対するマージンは、雄の C_{max} で 27.8 倍及び AUC で 11.5 倍並びに雌の C_{max} で 40.2 倍及び AUC で 20.3 倍であった。

ラット及びイヌともに重篤な毒性は認められず、すべての毒性兆候に回復性があり、イヌにおいては十分な安全域が認められた。

遺伝毒性試験では、遺伝子突然変異を誘発する作用及び染色体異常誘発性を示さなかった。

がん原性試験では、ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験で 500 mg/kg/日の用量までイメグリミン投与に起因した発がんは認められなかった。ラットの発がん NOAEL における臨床曝露量に対するマージンは雄の C_{max} で 7.7 倍及び AUC で 4.7 倍並びに雌の C_{max} で 11.5 倍及び AUC で 5.0 倍であった。また、Tg-rasH2 マウスを用いた 26 週間反復経口投与がん原性試験で 1500 mg/kg/日の用量までイメグリミン投与に起因した発がんは認められず、Tg-rasH2 マウスの発がん NOAEL における臨床曝露量に対するマージンは雄の C_{max} で 19.7 倍及び AUC で 9.7 倍並びに雌の C_{max} で 19.0 倍及び AUC で 10.5 倍であった。

ラットの受胎能及び初期胚発生に関する試験では、雄親動物は 1000 mg/kg/日の用量まで、雌親動物は 1500 mg/kg/日の用量まで初期胚発生を含む生殖能への影響は認められなかった。雌雄親動物での NOAEL における臨床曝露量に対するマージンは、雄の C_{max} で 7.8 倍及び AUC で 5.0 倍並びに雌の C_{max} で 15.2 倍及び AUC で 7.2 倍であった。

ラットの胚・胎児発生に関する試験では、胚・胎児の発生に対する NOAEL は 500 mg/kg/日であり、1500 mg/kg/日まで胚・胎児致死作用及び催奇形性は認められなかった。ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験では、体重減少などの母動物毒性が認められた 200 mg/kg/日で全胚吸収、生存胎児数の低値傾向を伴う着床後死亡率の上昇傾向及び生存胎児体重（平均値及び雄胎児）の低値傾向がみられたが、催奇形性はみられなかった。このことから、胚・胎児の発生に対する NOAEL は 100 mg/kg/日と判断された。イメグリミンのラットの胚・胎児の発生に対する NOAEL である 500 mg/kg/日における臨床曝露量に対するマージンは C_{max} で 7.1 倍、AUC で 4.2 倍であり、ウサギの胚・胎児の発生に対する NOAEL である 100 mg/kg/日における臨床曝露量に対するマージンは C_{max} で 0.5 倍、AUC で 0.2 倍であった。したがって、イメグリミンはラット及びウサギで催奇形性はなかったものの、胚／胎児致死作用又は胎児発育抑制がみられており、ウサギでの安全マージンは十分ではないと考えられた。更にイメグリミンは妊娠ラットで胎児に移行することが示唆されており（2.4.3.2）、妊婦における安全性は確立されていないことから、妊婦及び妊娠している可能性のある女性には投与を避けるべきであると考えられた。

ラットにおける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では、

1000 mg/kg/日まで母動物の生殖並びに出生児の成長及び発達に対する影響は認められなかった。

イメグリミンは眼及び皮膚局所の一次刺激性及び皮膚感作性を有さず、光毒性ポテンシャルも有さないと判断された。

原薬に含まれる不純物である鏡像異性体及び、原薬及び製剤中に認められた不純物A*　の遺伝毒性試験及び一般毒性試験を実施した。いずれの化合物においても遺伝子突然変異及び染色体異常を誘発する作用はなく、一般毒性試験では、ヒトでの推定最大摂取量を大きく上回る投与量で適切に評価された。

乳酸アシドーシス惹起に対する影響を以下に考察した。

乳酸アシドーシスは嫌気的解糖が進行し、乳酸が過剰に産生される病態であり、ミトコンドリア糖尿病患者で好発するなどミトコンドリア機能の低下が原因として知られている。イメグリミンと同じく血糖降下作用を有するメトホルミンは、ヒトで非常に低頻度ではあるものの乳酸アシドーシスの副作用を有することが知られており、メトホルミンによるミトコンドリア機能への影響として、Complex I の活性を低下させる作用（2.6.2.3.8）及びmGPDH を阻害する作用[文献(1)]の 2 つの作用が報告されている。

イメグリミンはミトコンドリア機能への影響として Complex I の活性を低下させる作用が示され（2.4.2.2）、ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験の 300 mg/kg/日群（AUC：85500 ng·h/mL）及びイヌを用いた 5 日間反復投与による機序検討試験の 1000 mg/kg/日群（AUC：365000 ng·h/mL）で血漿中乳酸の濃度上昇が認められた（2.4.4.2）。しかしながら、イメグリミンとメトホルミンの乳酸アシドーシス惹起に対する影響を *in vivo* で比較検討したところ、重度急性腎不全ラットにおいて、メトホルミンでは 50 mg/kg/h 以上で 180 分間の静脈内持続投与により乳酸アシドーシスに伴う死亡が認められたが、イメグリミンでは 100 mg/kg/h まで乳酸アシドーシスを認めなかった。（2.4.2.4.4.1）

また、メトホルミンのミトコンドリア機能への影響として mGPDH 阻害作用が報告されている。mGPDH は主に肝臓でミトコンドリア膜上に存在し、細胞質の NADH をミトコンドリア内に取り込む機能を有しており、メトホルミンがこの mGPDH を阻害することで細胞質 NADH 濃度が上昇し、それに伴い乳酸の血中濃度が上昇して乳酸アシドーシスのリスクが高まると考えられている[文献(1)]。そのため、イメグリミンとメトホルミンの mGPDH 活性への作用を *in vitro* で比較検討したところ、メトホルミンは 250 μmol/L で mGPDH 活性を 47%有意に抑制したが、イメグリミンは mGPDH 活性を抑制しなかった（2.4.2.4.4.2）。このように、イメグリミンとメトホルミンではミトコンドリア機能への影響の差が認められており、*in vivo* でイメグリミンに乳酸アシドーシスが認められなかったことも踏まえると、イメグリミンは、メトホルミンとは異なり、ヒトで乳酸アシドーシスを惹起するリスクは低いと考えられた。

以上のように、イメグリミン並びにその不純物である鏡像異性体及び 不純物A*　を用いた非臨床試験で認められた毒性はいずれも重篤なものではなく、回復性又は回復傾向が認

＊ 新薬情報提供時に置き換え

められており、十分な安全域が確認された。そのため、これらの非臨床毒性試験結果は、イメグリミンをヒトに投与するときの安全性を支持するものと考えられた。

2.4.6　参考文献一覧

(1) Anila K. Madiraju, Derek M. Erion, Yasmeen Rahimi, Xian-Man Zhang, Demetrios Braddock, Ronald A. Albright, et al. Metformin suppresses gluconeogenesis by inhibiting mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase. Nature. 2014;510:542-546.

(2) 日本糖尿病学会. 糖尿病治療ガイド 2018-2019. 第 1 版. 東京: 文光堂; 2018.