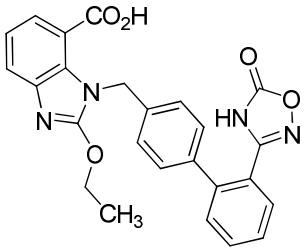
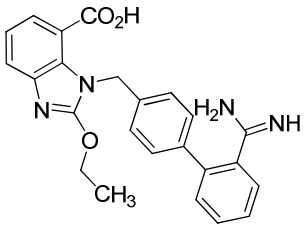
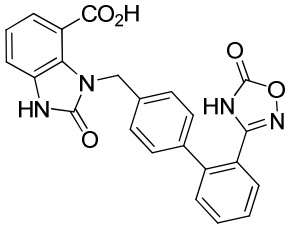
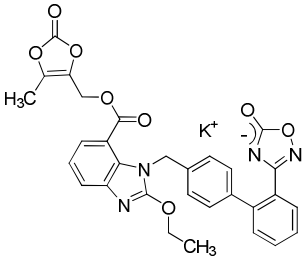
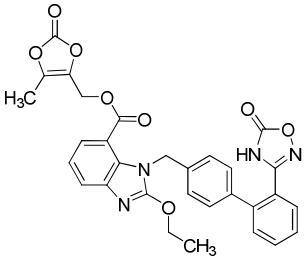
目次

略号一覧表 2
2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.2 薬理試験 4
2.4.3 薬物動態試験 4
2.4.4 毒性試験 5
2.4.4.1 0 及び 7 日齢ラットを用いた試験 5
2.4.4.2 14 日齢ラットを用いた試験 6
2.4.4.3 21 日齢ラットを用いた試験 6
2.4.5 総括及び結論 7
2.4.6 参考文献一覧 8

表

表 2.4.4-1 幼若動物を用いた TAK-491 及び TAK-536 M-II の毒性試験の概要 5

略号一覧表

略号	一般名（略称）	化学構造式	由来
TAK-536	アジルサルタン：JAN		原薬
TAK-536 M-I	—		代謝物
TAK-536 M-II	—		代謝物
TAK-491	アジルサルタン　メドキソミル　一カリウム塩		TAK-536 プロドラッグ
TAK-491F (TAK-491 フリー体)	アジルサルタン　メドキソミル：r-INN		—

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現又は説明
AII	angiotensin II〔アンジオテンシン II〕
ACE	angiotensin converting enzyme〔アンジオテンシン変換酵素〕
ARB	angiotensin II receptor blocker〔アンジオテンシン II 受容体拮抗薬〕
AUC	area under the plasma concentration-time curve〔血漿中濃度-時間曲線下面積〕

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

アジルサルタン（以下、TAK-536）は武田薬品工業株式会社において創製された新規アンジオテンシン II（AII）受容体拮抗（ARB）で、AII タイプ 1 受容体を選択的に阻害する。本剤はレニン–アンジオテンシン系最終産物である AII の強い昇圧作用を受容体レベルで阻害することにより降圧効果を示し、1 日 1 回の経口投与で 24 時間にわたって持続した効果を示す高血圧症治療薬である。米国においては TAK-536 のプロドラック体である TAK-491 の開発を進め、2011 年 2 月に承認を取得した。一方、国内においては TAK-536 として臨床試験を行い、2012 年 1 月に製造販売承認を取得し、2014 年 3 月にアジルバ錠 10 mg の製造販売承認を取得した。

TAK-536 の非臨床毒性試験として、アジルサルタン（アジルバ錠 20 mg、同錠 40 mg）初回申請時に、TAK-536 を用いたラット・マウス・イヌの単回投与試験、ラット・イヌの反復投与試験（4、13、26/52 週間投与）、遺伝毒性試験（復帰突然変異、2 種類の遺伝子突然変異、in vitro 染色体異常、マウス・ラット小核及びラット肝 unscheduled DNA synthesis）、マウス・ラットの 2 年間投与がん原性試験、ラット・ウサギの生殖発生毒性試験（ラット受胎能・初期胚発生、ラット・ウサギ胚・胎児発生、ラット出生前後発生・母体機能）、局所刺激性試験（ウサギ静脈・静脈周囲刺激性）及び抗原性試験を実施した。また、TAK-536 を経口投与されたヒトの血漿中に検出される代謝物 TAK-536 M-II の安全性評価のために、M-II を用いて反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験、遺伝毒性試験及びがん原性試験を実施した。さらに、今回、小児適用として承認申請を行うにあたり、非臨床安全性評価として新たに幼若ラットに TAK-491、TAK-536 M-II 又はその両方を投与する単回投与試験、反復投与毒性試験を実施した。

TAK-536 の成熟動物を用いた反復投与毒性試験では、主な毒性変化として TAK-536 の薬理作用に起因した変化がラットの腎臓及び胃、イヌの腎臓で認められた。ラットでより広範な器官に薬理作用起因の変化が認められたこと及び腎臓における所見は両動物種で類似していたことから、幼若動物を用いた非臨床毒性試験は、Crl:CD(SD) ラットを用いて実施した。投与開始日齢は 0、7、14 及び 21 日齢とした。TAK-491 は生体内で速やかに加水分解され活性本体である TAK-536 に変換されることから、TAK-491 及び TAK-536 M-II 投与による幼若動物を用いた試験で毒性及び血漿中薬物濃度を評価することにより、TAK-536 の幼若動物に対する毒性を評価することが可能であると判断した。

2.4.2 薬理試験

薬理試験については、アジルサルタン（アジルバ錠 20 mg、同錠 40 mg）初回申請時にすでに評価されていることから、新規の試験は実施していない。

2.4.3 薬物動態試験

薬物動態試験については、アジルサルタン（アジルバ錠 20 mg、同錠 40 mg）初回申請時にすでに評価されていることから、新規の試験は実施していない。

2.4.4 毒性試験

今回、小児適用として申請を行うにあたり、非臨床安全性評価として新たに幼若ラットを用いた単回投与試験（投与開始時 0 日齢、7 日齢）及び反復投与毒性試験（投与開始時 0 日齢、7 日齢、14 日齢、21 日齢）を実施した。表 2.4.4-1 に新たに実施した幼若動物を用いた毒性試験の概略を示す。主要な試験として、7 日齢ラットにおける 13 週間経口投与毒性試験（4.2.3.5.4-5, 4.2.3.5.4-6）、14 日齢ラットにおける 2 週間経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（4.2.3.5.4-9）及び 21 日齢ラットにおける 13 週間経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（4.2.3.5.4-10）を GLP 基準に準拠して実施した。

表 2.4.4-1　幼若動物を用いた TAK-491 及び TAK-536 M-II の毒性試験の概要

試験の種類	試験系 投与開始日齢	投与量 (mg/kg/日)	主要所見	GLP 適用	ドキュメント 番号
単回経口	ラット 0 及び 7 日齢	TAK-491: 生後 0 日: 20, 100 生後 7 日: 100, 500	最大非致死量 ≥100 mg/kg (生後 0 日) ≥500 mg/kg (生後 7 日)	非適	[redacted]
1 週経口	ラット 0 及び 7 日齢	TAK-491: 生後 0 日: 200, 1000 生後 7 日: 200, 1000	無毒性量 <200 mg/kg/日	非適	[redacted]
1 週経口	ラット 0 日齢	TAK-491: 20, 100	無毒性量 <20 mg/kg/日	非適	[redacted]
5 週経口	ラット 7 日齢	TAK-491/TAK-536 M-II: 20/2000, 100/2000, 500/2000	無毒性量 <20/2000 mg/kg/日	非適	[redacted]
13 週経口＋4 週回復	ラット 7 日齢	TAK-491/TAK-536 M-II: 5/2000、20/2000	無毒性量 <5/2000 mg/kg/日	適	[redacted],
2 週経口 ＋4 週回復	ラット 14 日齢	TAK-491/TAK-536 M-II: 1/2000, 10/2000, 100/2000	無毒性量 <1/2000 mg/kg/日	非適	[redacted]
2 週経口	ラット 14 日齢	TAK-491: 0.01、0.1、1 TAK-536 M-II: 200、2000	無毒性量 0.1 mg/kg/日 (TAK-491), 2000 mg/kg/日 (TAK-536 M-II)	非適	[redacted]
2 週経口 ＋4 週回復	ラット 14 日齢	TAK-491: 0.1、0.5、10 TAK-536 M-II: 2000	無毒性量 0.1 mg/kg/日 (TAK-491) 2000 mg/kg/日 (TAK-536 M-II)	適	[redacted]
13 週経口 ＋4 週回復	ラット 21 日齢	TAK-491/TAK-536 M-II: 0.1/1000, 0.5/1000, 10/1000	無毒性量 0.5/1000 mg/kg/日	適	[redacted]

2.4.4.1 0 及び 7 日齢ラットを用いた試験

TAK-491 の 0、200 及び 1000 mg/kg/日並びにエナラプリルの 100 mg/kg/日を 0 及び 7 日齢の Crl:CD(SD) ラットに 7 日間経口投与し、その毒性及び心臓への影響を評価した。0 日齢ラットでは投薬各群、7 日齢ラットでは 1000 mg/kg/日群に死亡、体重減少がみられた。病理組織学的検査では投薬各群で尿細管拡張がみられ、7 日齢ラットの 200 mg/kg 群では尿細管空胞化もみられた。いずれの群においても心臓に異常はみられなかった。

TAK-491 の 0、20 及び 100 mg/kg/日を 0 日齢の Crl:CD(SD)ラットに 7 日間経口投与し、その毒性及び心臓への影響を評価した。いずれの群にも死亡例はなかったが、投薬各群で心重量の低値がみられた。腎臓及び心臓の病理組織学的検査では、腎臓に投薬各群で尿細管拡張がみられ、20 mg/kg 群では尿細管空胞化もみられた。

TAK-491/TAK-536 M-II の 0/0、20/2000、100/2000 及び 500/2000 mg/kg/日を 7 日齢の Crl:CD(SD)ラットに 5 週間併用経口投与し、その毒性を評価した。20/2000 mg/kg/日から死亡、体重増加量の低値がみられ、病理組織学的検査では腎臓に腎盂拡張、乳頭浮腫、尿細管拡張や間質の線維化を特徴とする腎症、傍糸球体細胞の肥大及び小葉間動脈の中膜肥厚がみられた。

TAK-491/TAK-536 M-II の 0/0、5/2000 及び 20/2000 mg/kg/日を 7 日齢の Crl:CD(SD)ラットに 13 週間併用経口投与し、その毒性を評価するとともに、20/2000 mg/kg 群には投薬終了後 4 週間の休薬群を設けその回復性を評価した。投薬各群で死亡、体重低値、貧血、心臓及び肝臓の重量低値がみられた。病理組織学的検査では 20/2000 mg/kg 群の雌雄で心臓の壁内冠状動脈の中膜肥厚、投薬各群の雌雄で腎臓において水腎症に関連する変化として、腎盂拡張、好塩基性尿細管や間質の線維化などで特徴づけられる腎症、リンパ球浸潤がみられ、さらに、小葉間動脈の中膜肥厚及び傍糸球体細胞肥大もみられた。投薬期間にみられた所見の多くは回復／回復傾向を示したが、心臓及び腎臓の組織学的変化に回復性はみられなかった。

2.4.4.2 14 日齢ラットを用いた試験

TAK-491/TAK-536 M-II の 0/0、1/2000、10/2000 及び 100/2000 mg/kg/日を 14 日齢の Crl:CD(SD)ラットに 2 週間併用経口投与して毒性を評価するとともに、4 週間の休薬期間を設定し回復性を評価した。1/2000 mg/kg/日から体重減少、心臓及び腎臓の重量低値がみられ、病理組織学的評価では腎臓の好塩基性尿細管がみられた。4 週間の休薬後、腎臓の好塩基性尿細管に回復性が認められたが、皮髄境界部鉱質沈着などの腎臓病理所見が発現した。

TAK-491 の 0、0.01、0.1 及び 1 mg/kg/日並びに TAK-536 M-II の 200 及び 2000 mg/kg/日を 14 日齢の Crl:CD(SD)ラットに 2 週間経口投与し、その毒性を評価した。いずれの群にも死亡例はなかった。1 mg/kg/日で心重量の低値がみられ、病理組織学的評価では腎臓に好塩基性尿細管がみられた。

TAK-491 の 0、0.1、0.5 及び 10 mg/kg/日並びに TAK-536 M-II の 2000 mg/kg/日を 14 日齢の Crl:CD(SD)ラットに 2 週間経口投与し、その毒性を評価するとともに、4 週間の休薬期間を設定し回復性を評価した。いずれの群にも死亡例はなかった。0.5 mg/kg/日からクレアチニン及び尿素窒素の高値がみられ、腎重量の低値並びに腎臓の好塩基性尿細管がみられ、10 mg/kg/日では腎臓で乳頭浮腫がみられた。4 週間の休薬期間終了時、好塩基性尿細管は回復傾向を示したが、乳頭浮腫は、投薬期間終了時に比べてその頻度が増加した。したがって、本試験における TAK-491 投与における無毒性量は、0.1 mg/kg/日であり、その際の TAK-536 の AUC(0-24)は 1046 ng·hr/mL であった。また、TAK-536 M-II は毒性を示さなかったことから、無毒性量は 2000 mg/kg/日と判断した。

2.4.4.3 21 日齢ラットを用いた試験

TAK-491/TAK-536 M-II の 0/0、0.1/1000、0.5/1000 及び 10/1000 mg/kg/日を 21 日齢の Crl:CD(SD) ラットに 13 週間併用経口投与し、その毒性を評価するとともに、4 週間の休薬期間を設定し回復性を評価した。いずれの群にも死亡例はなかった。10/1000 mg/kg/日でクレアチニン及び尿素窒素の高値、腎重量の高値がみられ、病理組織学的評価では腎臓に好塩基性尿細管及び単核細胞浸潤、並びに傍糸球体細胞の肥大がみられた。いずれの所見も 4 週間

の休薬期間終了時には所見の程度が軽減する傾向がみられた。したがって、本試験における無毒性量は、0.5/1000 mg/kg/日であり、その際の TAK-536 の AUC(0-24)は 10411 ng·hr/mL であった。

2.4.5 総括及び結論

小児適用として申請を行うにあたり、幼若ラットを用いた毒性試験を実施し、その毒性を評価した。投与開始日齢の違いによる致死量及び発現した毒性の成熟動物との比較、並びに標的器官でみられた毒性所見の小児への外挿性について以下のとおり総括する。

（1）致死量

幼若ラットに TAK-491 を反復投与した結果、0 日齢ラットでは 200 mg/kg/日、7 日齢ラットでは 1000 mg/kg で死亡がみられ、TAK-491/TAK-536 M-II を併用反復投与した結果、7 日齢ラットでは 20/2000 mg/kg/日、14 日齢ラットでは 100/2000 mg/kg/日で死亡がみられた。TAK-491 又は TAK-536 M-II の 10 mg/kg/日又は 2000 mg/kg/日を 14 日齢ラットに反復投与した試験及び TAK-491/TAK-536 M-II の 10/1000 mg/kg/日を 21 日齢ラットに併用反復投与した試験では死亡例は認められなかった。一方、成熟ラット（6 週齢）に TAK-491 を 4 週間反復投与した試験では 2000 mg/kg/日まで死亡はみられていない[1]。

以上の結果から、TAK-491 投与に関連した死亡は、成熟ラットと比較して幼若ラットでより低用量で発現していた。ARB であるロサルタン[2]、バルサルタン[3]、カンデサルタン シレキセチル[4]、TAK-536[5]又は TAK-491[1]をラット母動物の周産期・授乳期又は器官形成期・授乳期に投与すると生後の生存率の低下がみられることから、TAK-491 の幼若ラットを用いた反復投与毒性試験でみられた死亡は、ARB の薬理作用と関連した出生後のより早期の曝露に起因すると考えられた。

（2）成熟動物との比較

幼若ラットを用いた反復経口投与毒性試験では、心臓及び腎臓に種々の器質的な変化が認められた。7 日齢ラット 13 週間試験では、20/2000 mg/kg で心臓において壁内冠状動脈の中膜肥厚、5/2000 mg/kg 以上で、腎臓において腎盂拡張、腎症、リンパ球浸潤、小葉間動脈の中膜肥厚、並びに傍糸球体細胞肥大、14 日齢ラット 2 週間試験では、0.5 mg/kg 以上で腎臓において好塩基性尿細管、10 mg/kg で乳頭浮腫、21 日齢ラット 13 週間試験では、10/1000 mg/kg で腎臓において傍糸球体細胞肥大、好塩基性尿細管、及び単核細胞浸潤がみられた。

成熟ラットを用いた TAK-536 の反復経口投与毒性試験（4、13 及び 26 週間）においては、病理組織学的変化のみられた標的器官は、腎臓（好塩基性尿細管、尿細管上皮色素沈着、単核細胞浸潤）、副腎（球状帯細胞萎縮）、及び胃（腺胃びらん）であった。また、病理組織学的変化を伴わないものの心臓重量の低値が 4 週及び 13 週試験では 3 mg/kg/日から、26 週試験では 1 mg/kg/日からみられていた[5]。

以上より、ラットを用いた反復投与毒性試験において、幼若ラット及び成熟ラットともに、腎臓を標的器官としており、その所見は類似していた。一方、幼若ラットでは、病理所見を伴った心臓への影響が発現し、胃あるいは副腎では、明らかな所見は認められなかった。

（3）標的器官でみられた毒性所見の小児への外挿性

7 日齢ラット 13 週間試験において、心臓の壁内冠状動脈の中膜肥厚及び右心室壁の心筋変性（20/2000 mg/kg 群）が認められた。しかしながら、これらの心臓における病理組織学的変化は、14 あるいは 21 日齢から投与を開始した試験、さらには成熟ラットを用いた 4、13 及び 26 週間試験では認められないことから、出生後のごく早期に投与を開始した場合にのみ認められる変化であると考えられた。ラットでは生後 3 週齢までは心臓の構造的・機能的発達が活発な時期であり[6]、未発達な心臓において TAK-536 に対する感受性が高かったと推察される。一方、ヒトの心血管系は、離乳までが機能的成熟の活発な時期とされていることから[7]、7 日齢ラットへの 13 週間投与で認められた心臓所見が、2 歳以上の小児集団への投与において発現する懸念は低いと考えられた。

7、14 あるいは 21 日齢から投与を開始した幼若ラット毒性試験では、投与開始日齢によって病理組織学的評価における腎臓の器質的変化及びその回復性に差が認められ、より若齢のラットでは、腎臓への影響が強く発現し、腎臓における所見が増悪すると考えられた。傍糸球体細胞肥大、小葉間動脈の中膜肥厚、好塩基性尿細管及びリンパ球（単核細胞）浸潤は、成熟ラットにおける TAK-536 投与でもみられる変化であり、ARB 及び ACE 阻害薬で報告されている薬理作用に起因した腎臓における血行動態の変化あるいはそれに伴う虚血による所見と考えられる[8][9]。

ラットではネフロンの形成が生後 11 日に完了し、尿細管の分化が離乳（生後約 21 日）まで、尿細管の形態学的発達が生後 28 日まで、機能的成熟（糸球体濾過率）が生後 42 日まで継続するとされている[10][11]。一方、ヒトの腎臓の構造的な発達は生後 52 週までに、機能的な発達は生後 104 週までに終了するとされていることから[10]、2 歳以上の小児集団への投与において、7 あるいは 14 日齢ラットへの投与で認められた腎臓所見の増悪が発現する懸念は低いと考えられた。

21 日齢ラットに TAK-491/TAK-536 M-II を 13 週間併用投与したときの無毒性量は、0.5/1000 mg/kg/日、その際の TAK-536 の AUC(0-24)は 10411 ng·hr/mL であり、成人に 40 mg を投与した際の TAK-536 の AUC (32874 ng·hr/mL)の 0.3 倍、20 mg を投与した際の TAK-536 の AUC (16395 ng·hr/mL)の 0.6 倍であった。しかしながら、幼若ラットを用いた毒性試験における低い無毒性量は、他の ARB でも報告されている腎臓における器質的変化の発現によるものであることから、腎臓の構造的・機能的発達が終了するとされている 2 歳以上の小児集団への投与において、危惧すべき重篤な副作用が発現する可能性は低いと考えられた。

2.4.6 参考文献一覧

[1] NDA application number: 200796Orig1s000. Center for Drug Evaluation and Research. 2010. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/200796Orig1s000PharmR.pdf

[2] Spense SG, Cukierski MA, Manson JM, Robertson RT, Eydelloth RS. Evaluation of the reproductive and developmental toxicity of the AT1-selective anigotensin II receptor antagonist losartan in rats. Teratology. 1995;51:383-97.

[3] NDA application number: 21-283/S-024. Center for Drug Evaluation and Research. 2007. http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2007/021283Orig1s024.pdf

[4] カンデサルタン シレキセチル及びブロプレス®錠 製造承認申請書添付資料概要. へ-5

[5] アジルバ錠 製造販売承認申請資料概要. CTD 2.6.6.6
[6] Hew KW and Keller KA. Postnatal anatomical and functional development of the heart: a species comparison, Birth Defects Research, (part B), 2003;68:309-320.
[7] International Conference on Harmonisation (ICH) Guideline 11 (step 4) adopted 4 April 2020. Nonclinical safety tesing in support of development of paediatric pharmaceuticals.
[8] Friberg P, Sundelin B, Bohman SO, Bobik A, Nilsson H, Wickman A, Gustafsson H, Petersen J, Adams MA. Renin-angiotensin system in neonatal rats: induction of a renal abnormality in response to ACE inhibition or angiotensin II antagonism. Kidney Int. 1994;45(2):485-92.
[9] Chen Y, Lasaitiene D, Friberg P. The renin-angiotensin system in kidney development. Acta Physiol Scand. 2004;181(4):529-35.
[10] Frazier KS. Species differences in renal development and associated developmental nephrotoxicity. Birth Defects Research. 2017;109:1243–1256.
[11] Zoetis T, Hurtt ME. Species comparison of anatomical and functional renal development. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2003;68:111-20.