第 2 部 CTD の概要

JAN あるいは販売名：	エンパグリフロジン
剤形・含量：	錠剤・10 mg
文書名：	2.6.1 緒言
文書作成日：	10 November 2020

Proprietary confidential information
© 2020 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission

Proprietary confidential information © 2020 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

目　次

目　次 2
1.　緒　言 3

Proprietary confidential information © 2020 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

1. 緒 言

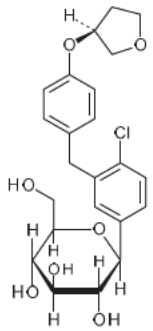
エンパグリフロジンは，経口投与可能なナトリウム-グルコース共役輸送担体 2（SGLT2）に対する強力かつ選択的な阻害剤である。

エンパグリフロジンの化学名，構造式，分子式及び分子量は以下のとおりである。

化学名：

(1*S*)-1,5-Anhydro-1-*C*-{4-chloro-3-[(4-{[(3*S*)-oxolan-3-yl]oxy}phenyl)methyl]phenyl}-D-glucitol

化学構造式：



分子式：$C_{23}H_{27}ClO_7$

分子量：450.91

エンパグリフロジンは，腎臓の近位尿細管に発現している SGLT2 を阻害することでグルコースの再吸収を抑制し，尿中へのグルコース排泄を促進し，結果として血糖値を低下させる。

エンパグリフロジンは，食事及び運動療法を十分に行った上で効果不十分な場合の，成人 2 型糖尿病患者の血糖コントロールの改善を適応として，2014 年 4 月以降に本邦をはじめ米国，欧州を含む多くの国で承認を受け，販売されている。国内においては「2 型糖尿病」の効能・効果で 2014 年 12 月に承認された（本邦での販売名：ジャディアンス錠 10 mg，同 25 mg）。

今回，臨床試験の結果に基づき，慢性心不全の治療を目的として，添付文書（案）［CTD 1.8-02 参照］に記載の効能・効果，用法・用量にて承認申請する。

非臨床試験として，既公表文献の結果を用いて，*in vitro* における患者由来組織への作用や心不全に関する様々な動物モデルを用いた試験によって，エンパグリフロジンの有効性を検討した［CTD 2.6.2 参照］。糖尿病モデル動物及び正常血糖の動物の様々な心不全モデルでエンパグリフロジンは有益な効果を示した。エンパグリフロジンの心血管系に対する作用機序については，様々な可能性を検討中であり，まだ明確なメカニズムは分かっていない。

なお，その他の薬理，薬物動態，及び毒性試験成績は，2 型糖尿病に対する治療薬としての承認申請時に提出済みである。

第 2 部 CTD の概要

JAN あるいは販売名：	エンパグリフロジン
剤形・含量：	錠剤・10 mg
文書名：	2.6.2 薬理試験の概要文
文書作成日：	11 October 2021

Proprietary confidential information
© 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

目　次

目　次 2
略号一覧表 3
1. まとめ 5
2. 効力を裏付ける試験 6
2.1 背景及び根拠 6
2.2 SGLT2 阻害剤：作用機序 6
2.3 *In vitro* 薬理試験 7
2.4 *In vivo* 薬理試験 9
2.4.1 糖尿病動物の疾患関連モデルを用いた試験 9
2.4.2 非糖尿病動物の疾患関連モデルを用いた試験 14
3. 副次的薬理試験 21
4. 安全性薬理試験 22
5. 薬力学的薬物相互作用試験 23
6. 考察及び結論 24
7. 図表 26

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

略号一覧表

3D	3-dimensional	3 次元
ACEi	Angiotensin-converting enzyme inhibitors	アンジオテンシン変換酵素阻害薬
AOPP	Advanced oxidation protein product	蛋白質過酸化物
ALDH	Aldehyde dehydrogenase	アルデヒド脱水素酵素
ARB	Angiotensin receptor blockers	アンジオテンシン受容体拮抗薬
ATP	Adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
βOHB	β-hydroxybutyrate	β-ヒドロキシ酪酸
BI 10773	Empagliflozin	エンパグリフロジン
BW	Body weight	体重
CHF	Chronic heart failure	慢性心不全
CMR	Cardiac magnetic resonance	心臓核磁気共鳴法
Con	Control	対照
DM	Diabetes mellitus	糖尿病
DNA	Deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
DOX	Doxorubicin	ドキソルビシン
E/A	Ratio between early (E)-to-late (A) diastolic mitral inflow	拡張期早期（E）／後期（A）の僧帽弁流入比
EF	Ejection fraction	駆出率
EM	Empagliflozin	エンパグリフロジン
EMPA-REG OUTCOME®	Empagliflozin Cardiovascular Outcome Event Trial in Type 2 Diabetes Mellitus Patients	2 型糖尿病患者を対象としたエンパグリフロジンの心血管アウトカムイベント試験
FAC	Fractional area change	面積変化率
FS	Fractional shortening	短縮率
GSHPx	Glutathione peroxidase	グルタチオンペルオキシダーゼ
HFD	High fat diet	高脂肪食
HF	Heart failure	心不全
HFpEF	Heart failure with preserved ejection fraction	左室駆出率の保たれた心不全
HFrEF	Heart failure with reduced ejection fraction	左室駆出率の低下した心不全
HHF	Hospitalization for heart failure	心不全による入院
IVRT	Isovolumetric relaxation time	等容弛緩時間
IVSd	Interventricular septal width during end-diastole	拡張末期心室中隔厚
IVSs	Systolic interventricular septal thickness	収縮期心室中隔厚
LVEF	Left ventricular ejection fraction	左室駆出率
LVIDd	Left ventricular internal diastolic diameter	左室拡張期内径
LVIDs	Left ventricular internal systolic diameter	左室収縮期内径
MDA	Malondialdehyde	マロンジアルデヒド
MI	Myocardial infarction	心筋梗塞
MRA	Mineralocorticoid receptor antagonists	ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬
n	Number	数（サンプル数）
NOX2	NADPH oxidase 2	NADPH オキシダーゼ 2
p (P)	Probability (significance)	確率（有意性）
PCr	Phosphocreatine	クレアチンリン酸
QOL	Quality of life	生活の質
SD	Standard deviation	標準偏差
SGLT2	Sodium-dependent glucose co-transporter 2	ナトリウム-グルコース共役輸送担体 2
SOD	Superoxid-dismutase	スーパーオキシドジスムターゼ
T2DM	Type 2 diabetes mellitus	2 型糖尿病
TGF-β1	Transforming growth factor beta 1	トランスフォーミング増殖因子ベータ 1
ZDF	Zucker diabetic fatty	Zucker 糖尿病肥満

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

ZSF1 rat	Zucker diabetic fatty / spontaneously hypertensive heart failure F1 rat	Zucker 糖尿病肥満／自然発症高血圧心不全 F1 ラット

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

1. まとめ

エンパグリフロジン（BI 10773）はヒトナトリウム-グルコース共役輸送担体 2（SGLT2）に対する強力かつ選択的な阻害剤である。エンパグリフロジンは腎臓の近位尿細管に発現しているSGLT2 を阻害することでグルコース再吸収を抑制し，それによって尿中グルコース排泄が促進され，結果として血中グルコースを低下させる。

エンパグリフロジンは，食事及び運動療法を十分に行った上で効果不十分な場合の，成人 2 型糖尿病（T2DM）患者の血糖コントロールの改善を適応として承認を受け販売されている。国内においても「2 型糖尿病」の効能・効果で承認され，販売されている。また海外では，心血管リスクの高い T2DM 患者を対象とした心血管アウトカム試験（EMPA-REG OUTCOME®）に基づき［CTD 5.3.5.1-02_1245.25 試験_c02695839］，米国，カナダ，オーストラリアなどを含む 50 カ国（2021 年 9 月時点）で「確定された心血管疾患を合併する 2 型糖尿病患者の心血管死のリスク減少」の効能・効果で承認された。EU を含む 58 カ国（2021 年 9 月時点）では，効能・効果に改訂が加えられたり，国によっては，臨床試験の項に EMPA-REG OUTCOME®の心血管アウトカムの結果が明記されている。

EMPA-REG OUTCOME®において，標準治療に上乗せしたエンパグリフロジンは，主要評価項目（心血管死，非致死的心筋梗塞又は非致死的脳卒中からなる複合評価項目）のリスクを低下させ，また，心血管死，心不全による入院（HHF）及び原因を問わない死亡を減少させた［CTD4.3-01_P15-09840］。さらに，これらの心血管への有益な効果は，エンパグリフロジンの血糖低下作用とは関係なく一貫して示された［CTD4.3-02_P18-10152］。

この薬理試験の概要文には，慢性心不全（CHF）患者の治療にエンパグリフロジンを使用する根拠を示すため，関連する公表済みの非臨床試験の結果をまとめて記載する。

心血管系に対するエンパグリフロジンの作用は，種々の薬理学的モデル，特にマウス，ラット及びブタといった動物種に様々な刺激によって誘発した心不全（HF）モデルで検討した。試験は正常血糖及び糖尿病（DM）を有するモデル動物を用いて実施した。

エンパグリフロジンは *in vivo* において心機能を改善し，心臓のリモデリング過程を抑制した。また，エンパグリフロジンは *in vivo* において炎症及び酸化ストレスを抑制した。特記すべきこととして，これらの心血管への有益な効果が DM 動物及び非 DM 動物の両方で認められた。

エンパグリフロジンの副次的薬理試験及び安全性薬理試験は，初回申請時に評価し，報告している［CTD1.13.1-01_ジャディアンス錠承認時申請資料］。安全性薬理試験において，エンパグリフロジンによる神経，肺，胃腸，肝臓及び心血管系への影響は認められず，腎機能への影響は，予測された薬理学的変化のみであった。

薬理試験の結果に基づくと，エンパグリフロジンは CHF 患者において効果的かつ革新的治療法となる可能性がある。これらの有益な効果をもたらす正確な分子メカニズムについては現在複数の非臨床及び臨床試験で検討中である。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

2. 効力を裏付ける試験

2.1 背景及び根拠

CHF は，心臓が様々な組織の代謝的要求を満たすのに十分な血液供給を行うことができない，又は心臓が左室充満圧を上昇させなければ十分な血液供給を行うことができないことを特徴とする進行性の症候群である。

HF は，死亡及び入院の大きなリスクに加えて［CTD4.3-14_R19-2188，CTD4.3-15_R19-2189］，生活の質（QOL）のあらゆる面に大きな影響を及ぼすが，特に患者の運動機能及び日常活動に大きな影響を及ぼすことが示されている［CTD4.3-16_R19-2240，CTD4.3-17_R19-2191，CTD4.3-18_R19-2187］。QOL スコアが低値であることは，高い死亡率の独立予測因子である［CTD4.3-19_R17-0953］。また，治療ガイドラインに従った治療を行った場合でも，HF 患者の QOL は大きく低下したままである［CTD4.3-16_R19-2240］。

左室駆出率の低下した HF（HFrEF）患者の治療に推奨される治療法には，アンジオテンシン変換酵素阻害薬（ACEi），アンジオテンシン受容体拮抗薬（ARB），アンジオテンシン受容体ネプリライシン阻害薬（ARNi），β 遮断薬及びミネラルコルチコイド受容体拮抗薬（MRA）の使用，植込み型除細動器（ICD）などの植込み型機器の使用並びに心臓再同期療法（CRT）があり，これらはいずれも HFrEF 患者の死亡率を低下させることが示されている［CTD4.3-20_P16-05920］。それにもかかわらず，死亡率（HHF の 1 年後において 37.5%）及び再入院率（59.6%）は依然として高く［CTD4.3-21_R16-2217］，入院患者の 30%が退院後 90 日以内に再入院となる［CTD4.3-22_R16-1527］。さらに，治療ガイドラインに従って標準治療を行った場合でも，全体的及び疾患特異的な QOL は大きく低下したままである［CTD4.3-17_R19-2191］。

さらに，HFrEF とは対照的に，左室駆出率の保たれた HF（HFpEF）患者の治療に現在使用されているのは，利尿薬，β 遮断薬，MRA 及び ACEi 又は ARB であるが，これまでのところ HFpEF 患者の罹患率及び死亡率を低下させることが確実に示された治療薬はない［CTD4.3-17_R19-2191］。

したがって，HF 患者の治療を目的とした新規の作用機序を有する治療薬の開発が広く必要とされている。

2.2 SGLT2 阻害剤：作用機序

エンパグリフロジンは，腎臓の近位尿細管における SGLT2 を阻害することにより，腎臓でのグルコース再吸収を抑制し，それによって尿中へのグルコース排泄が促進され，結果として血中グルコースが低下する。しかし，心機能に対するエンパグリフロジンの作用は，SGLT2 阻害による尿中グルコース排泄促進作用とは無関係であることが明らかになっている［CTD4.3-02_P18-10152］。

エンパグリフロジンは，DM 及び非 DM 動物の HF モデルで心機能を改善した（参考文献については以下の項を参照）。

エンパグリフロジンは *in vivo* において心臓内皮機能不全に対して有益な効果を示した。また，内皮細胞に SGLT2 発現が検出された。さらに，エンパグリフロジンは，ケトン体，すなわち β-ヒ

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

ドロキシ酪酸（βOHB）の血漿中濃度を上昇させた。ケトン体はグルコース酸化と比較して酸素消費量が少なく，不全心において代替燃料として役割を果たすことが示唆されている。

また，エンパグリフロジンは *in vivo* において線維化，炎症及び酸化ストレスを抑制することが示されている。これらの作用はエンパグリフロジンの心保護効果に寄与する可能性がある。

しかし，エンパグリフロジンの心血管への効果の正確な分子メカニズムについてはまだ検討中であり，進行中の複数の非臨床及び臨床試験で検討していく予定である。

2.3 *In vitro* 薬理試験

HF は心血行動態ポンプ機能の低下及び内皮機能不全を特徴とする。末期 HF 患者心筋組織からの単離肉柱（trabeculae carneae）の病態生理学的に上昇した拡張期張力に対するエンパグリフロジンの作用を *ex vivo* で検討した。また，マウスから摘出した乳頭筋を用いた試験でも同様の検討を行った。血管内皮機能不全は，コリン作動性神経刺激時の弛緩の欠如として現れる。DM 誘発性の内皮機能障害に対するエンパグリフロジンの作用を，DM 性高血圧 HF ラットを用いて *ex vivo* で測定した。

末期 HF 患者由来ヒト心室心筋組織に対するエンパグリフロジンの作用

エンパグリフロジンの心筋組織に対する直接作用について検討した［CTD4.3-03_P18-09844］。末期 HF 患者の外植心臓及び対照となる健常ドナーから心室心筋組織を入手した。外植 HF 心臓由来肉柱の一般的な特徴として，拡張期張力は著しく上昇している。*ex vivo* 収縮試験において，全体を単離したヒト末期 HF 患者由来心室肉柱（n=10）を濃度 0.1，0.5 及び 1 µmol/L のエンパグリフロジンに曝露し，対照（n=14）と比較した。

エンパグリフロジンは，ヒト HF 肉柱の異常に上昇した拡張期張力を有意かつ濃度依存的に低下させた（図 2.3: 1）。0.5 µmol/L のエンパグリフロジンへの曝露によって，無処置のベースラインと比較して，拡張期張力は約 24.2%低下した（n=10，p=0.0009）。少数の DM 被験者と非 DM 被験者の組織間でも比較を行ったが，拡張期張力に対するエンパグリフロジンの作用に差は認められなかった。HF 検体では，心筋フィラメントのリン酸化の抑制が認められた。エンパグリフロジンは，HFpEF 患者由来組織においてトロポニン I，ミオシン結合蛋白質 C 及びタイチンの心筋フィラメントのリン酸化レベルを有意に回復させたが，*ex vivo* の心筋カルシウムレベルに対しては作用を示さなかった。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

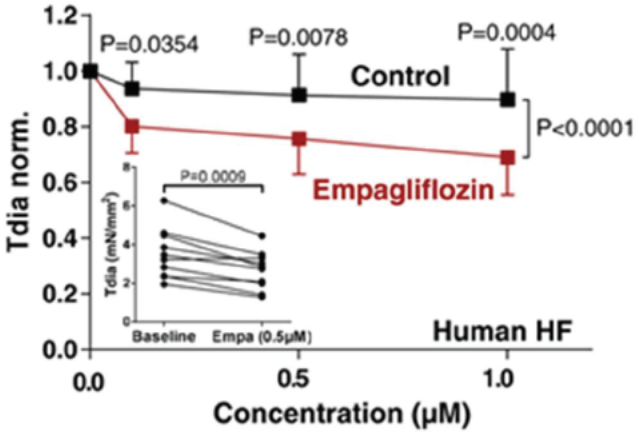


図 2.3: 1　16 例のヒト心臓から単離した HF 肉柱（n=10）にエンパグリフロジン（0.1，0.5，1 μmol/L）を添加したときの拡張期張力（Tdia norm.）。データは平均値 ± 標準偏差で示す。

さらに，T2DM モデルマウス（BKS.Cg-Dock7^{m}+/+ Lepr^{db}/J）由来乳頭筋を用いた *ex vivo* 収縮試験で検討を行い，野生型マウスと比較した［CTD4.3-03_P18-09844］。このマウスは典型的な糖尿病性心筋症の表現型を示し，収縮期張力が約 65.6%低下し，拡張期張力は有意に約 50.4%上昇していた。

エンパグリフロジンはこの拡張期張力を有意に約 19.1%低下させた。なお，エンパグリフロジンを wash-out したとき，この作用は可逆的であった。以上のことから，ヒト組織で得られた結果が裏付けられた。

まとめると，エンパグリフロジンは心筋の拡張期硬度を改善することにより心筋機能に直接作用することが示され，それが拡張機能改善に反映される可能性がある。

ラットにおける内皮機能不全及び心臓リモデリングに対するエンパグリフロジンの作用

メタボリックシンドロームのモデルとして実験で使用されている Zucker 糖尿病肥満／自然発症高血圧心不全 F1（ZSF1）ラットは，HFpEF の症状を示し，内皮依存性の弛緩機能不全及び心臓リモデリングが発現する［CTD4.3-04_P20-01824］。

このラットに，エンパグリフロジンを 1 日用量 30 mg/kg で 6 週間混餌投与した。動物を安楽殺した後，上腸間膜動脈輪の血管反応性を検討した。ZSF1 群では，内皮依存性弛緩の鈍化に伴ってアセチルコリンに対する内皮依存性収縮反応の増加が認められた。エンパグリフロジンは正常な内皮依存性弛緩を回復させ，アセチルコリンに対する内皮依存性収縮反応を抑制した（図 2.3: 2）。ZSF1 ラットでは心臓重量の増加及び左室容積の増加が認められる。これらのいずれのパラメータもエンパグリフロジンの投与により有意に減少した。興味深いこととして，本モデルでは，血管内皮細胞に SGLT2 の発現が検出された。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

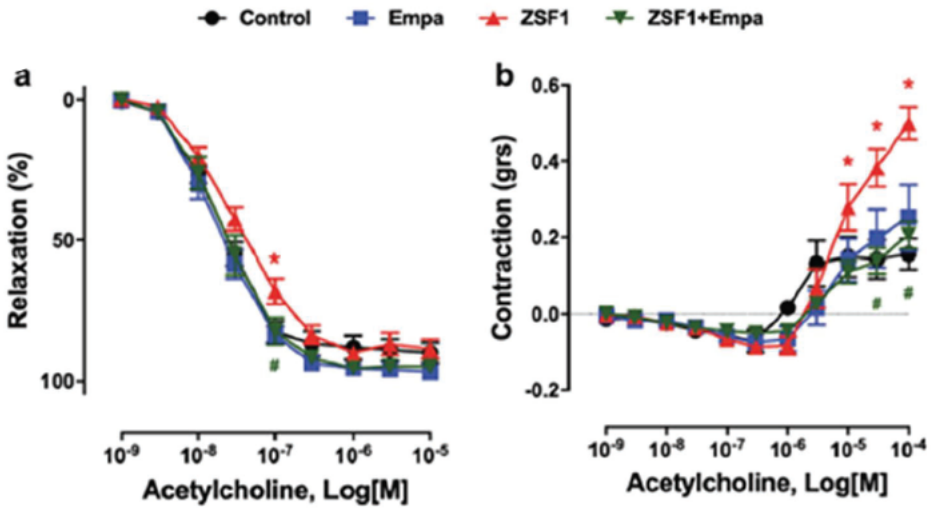


図 2.3: 2　　**ZSF1 ラットにエンパグリフロジンを 30 mg/kg/日の用量で 6 週間投与したときのアセチルコリン誘発の内皮依存性の血管の弛緩と収縮に対する作用。データは平均値 ± 標準偏差（n=8~10）で示す。*P< 0.05 （対照群との比較），#P< 0.05（ZSF1 群との比較）**

総合すると，エンパグリフロジンは *ex vivo* において末期 HF 患者由来組織及び DM 性心筋症マウス由来組織の両方で心筋の拡張期硬度を改善した。この効果は，エンパグリフロジンが心筋フィラメントのリン酸化を回復させたことによって生じた可能性がある。DM 性高血圧ラットにおいて，*ex vivo* で対照群から採取した血管では内皮機能の低下がみられたが，エンパグリフロジンの投与群では内皮機能が保持された。

2.4　*In vivo* 薬理試験

2.4.1　糖尿病動物の疾患関連モデルを用いた試験

動物モデルにおいて，T2DM は様々な方法で誘発することが可能である。レプチン受容体の欠損により肥満及びインスリン抵抗性に続いて T2DM を発症するマウス（db/db マウス）を用いた試験，さらに，遺伝的な T2DM モデルである KK-Ay マウス（C57BL/6J から派生した DM 自然発症 KK マウスに，アグーチ遺伝子座の突然変異 A^y を導入したマウス）を用いた試験を行った。これらの T2DM マウスモデルでは心血管機能の不全又はリモデリングを呈する。また，HFpEF を呈する Zucker DM 肥満ラット（ZDF ラット）の試験を行った。

<u>肥満及び T2DM マウスにおける心血管障害に対するエンパグリフロジンの作用</u>

雄の db/db マウス（C57BLKS/J-lepr^{db}/lepr^{db}，7 週齢）及び非 DM 対照として雄の lean db/+マウス（7 週齢）を用いて，0.03%エンパグリフロジン含有標準飼料を 10 週間与えたときの心血管障害に対するエンパグリフロジンの作用を，非含有飼料を与えた動物と比較した（n＝9～11）［CTD4.3-05_P14-15469］。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

エンパグリフロジン非含有飼料を与えた db/db マウスでは，db/+マウスと比較してより顕著な心臓間質の線維化，冠動脈周囲の線維化，冠動脈肥厚，心臓間質へのマクロファージ浸潤及び心臓内スーパーオキシド濃度の上昇が認められた。db/db マウスにエンパグリフロジンを 10 週間混餌投与したとき，心臓間質の線維化（$p<0.05$），冠動脈周囲の線維化（$p<0.05$），冠動脈肥厚（$p<0.05$），心臓間質へのマクロファージ浸潤（$p<0.01$）及び心臓内スーパーオキシド濃度（$p<0.01$）が有意に改善された。

db/db マウスのアセチルコリンによる血管内皮依存性弛緩作用は，非 DM db/+マウスと比較して有意に弱かった。エンパグリフロジンを投与すると，血管内皮機能の低下が対照 db/db マウスと比較して有意に改善された。

要約すると，db/db T2DM モデルマウスにおいて，エンパグリフロジンは心臓線維化，炎症，冠動脈リモデリング及び血管機能不全を改善した。

DM マウスにおける心筋の酸化ストレス及び線維化に対するエンパグリフロジンの作用

遺伝的な T2DM モデルである KK-Ay マウス（8 週齢）を用いて，心筋の酸化ストレス及び線維化に対するエンパグリフロジンの作用を検討した［CTD4.3-06_P19-01258］。KK-Ay マウスに高脂肪食（HFD）を摂取させ，血中グルコース濃度が 200 mg/dL より高いマウスを 2 群に無作為に割付け，対照群を加えた下記の 3 群（n = 15）で試験を行った。

(1) 対照群：正常 C57BL/6J マウス，非投与
(2) DM 群：T2DM KK-Ay マウス，溶媒経口投与
(3) DM + エンパグリフロジン（DM + EM）群：T2DM KK-Ay マウス，エンパグリフロジンを 10 mg/kg/日の用量で経口投与

DM マウスにエンパグリフロジンを 8 週間投与した（DM + EM 群）とき，空腹時及び食後の血糖値並びに糖化ヘモグロビン A1c（HbA1c）濃度の有意な低下が認められた。

KK-Ay マウスでは左室機能が低下しており，これを示す所見として，駆出率（EF），短縮率（FS），面積変化率（FAC）及び拡張期早期（E）／後期（A）の僧帽弁流入比（E/A 比）の低下が認められた。DM + EM 群では，EF，FS，FAC 及び E/A 比が対照群と同程度の値まで大幅に回復した（表 2.4.1: 1）。また，DM + EM 群では，DM 群と比較して，左室拡張期内径（LVIDd）の減少の抑制がみられた。しかし，左室収縮期内径（LVIDs）及び収縮期心室中隔厚（IVSs）の値には，3 群の間で有意差は認められなかった。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

表 2.4.1: 1　　心エコー図の評価によるマウスの左室構造及び機能データ

	対照 （n=15）	DM （n=15）	DM + EM （n=15）	p 値
心拍数（bpm）	473.13 ± 24.31	421.22 ± 20.35*	465.60 ± 22.82#	<0.001
LVIDd（mm）	3.43 ± 0.31	2.94 ± 0.23*	3.33 ± 0.28#	<0.001
LVIDs（mm）	2.33 ± 0.17	2.22 ± 0.15	2.05 ± 0.17	0.059
IVSd（mm）	1.05 ± 0.08	1.06 ± 0.06	0.94 ± 0.08*#	0.005
IVSs（mm）	1.35 ± 0.07	1.36 ± 0.08	1.31 ± 0.09	0.815
左室重量（mg）	92.60 ± 9.75	74.23 ± 8.53*	86.49 ± 9.12*#	<0.001
左室重量／BW 比（mg/g）	3.65 ± 0.44	2.21 ± 0.25*	2.69 ± 0.30*#	<0.001
EF（%）	70.26 ± 5.46	60.22 ± 6.62*	73.73 ± 5.79#	<0.001
FS（%）	33.08 ± 3.12	23.14 ± 2.37*	37.22 ± 3.25*#	<0.001
FAC（%）	70.42 ± 7.72	54.27 ± 7.49*	71.38 ± 7.69#	<0.001
E/A	1.73 ± 0.24	1.22 ± 0.15*	1.70 ± 0.24#	<0.001

データは平均値 ± SD で示す。p 値は一元配置分散分析で算出し，多重比較には LSD 検定を使用した。
LVIDd：LV 拡張期内径，LVIDs：LV 収縮期内径，IVSd：拡張末期心室中隔厚，IVSs：収縮期心室中隔厚，
BW：体重，EF：駆出率，FS：短縮率，FAC：面積変化率，E/A：拡張期早期（E）／後期（A）の僧帽弁流入比，* p<0.05（対照群との比較），# p<0.05（DM 群との比較）

次に，エンパグリフロジンの酸化ストレスに対する作用を検討した。DM 群における脂質ヒドロペルオキシド濃度及びマロンジアルデヒド（MDA）濃度は対照群よりも有意に高く（p<0.05），また DM＋EM 群では DM 群と比較して有意な減少がみられた（p<0.05）。対照的に，DM 群における抗酸化物質であるスーパーオキシドジスムターゼ（SOD）及びグルタチオンペルオキシダーゼ（GSHPx）の濃度低下はエンパグリフロジンにより改善した（p<0.05）。結論として，エンパグリフロジンは，酸化ストレスのバイオマーカーと考えられる MDA の上昇をほぼ完全に抑制した（図 2.4.1: 1）。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

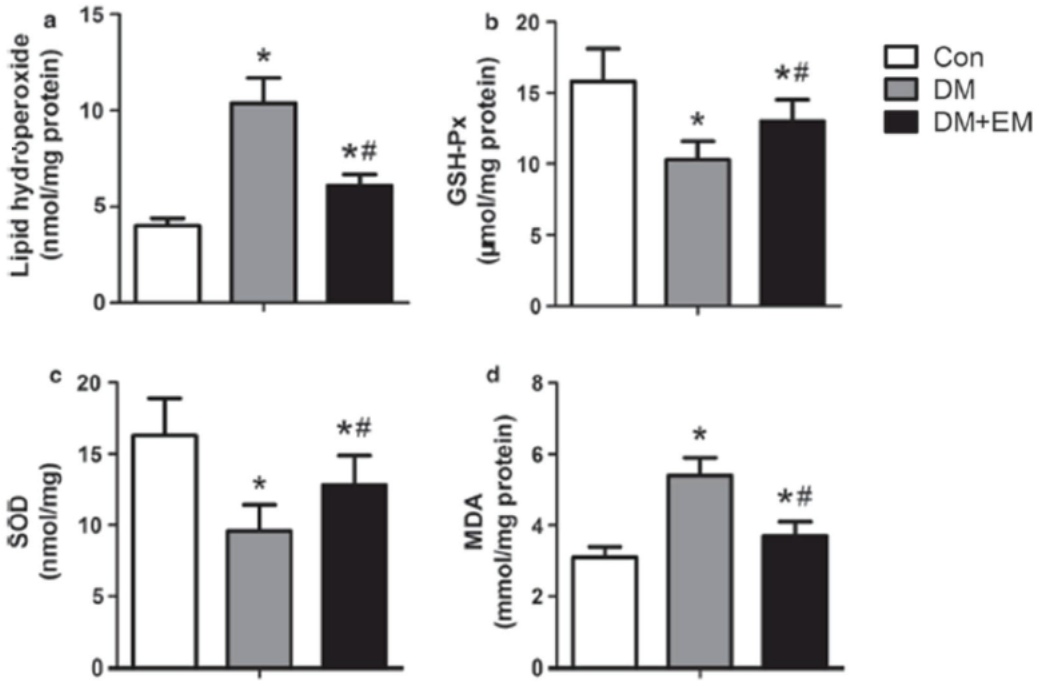


図 2.4.1: 1　　DM マウスにエンパグリフロジンを 10 mg/kg/日で 8 週間経口投与したときの酸化ストレスに対する作用。心組織中の a） 脂質ヒドロペルオキシド，b）GSHPx，c）SOD 及び d）MDA 量を示す。データは平均値 ± 標準偏差（n=15）で示す。*P< 0.05（対照群との比較），#P< 0.05（DM 群との比較）

エンパグリフロジンの心筋線維化に対する作用を検討した。マッソントリクローム染色を用いた組織学的評価及び免疫組織化学的評価において，DM マウスでは細胞外マトリックスの大量の蓄積及び心筋の線維化が認められた。エンパグリフロジンの投与により，DM マウスと比較して，TGF-β1，I 型コラーゲン，III 型コラーゲン及び結合組織の陽性領域の有意な減少が認められた（それぞれ $p<0.05$）（図 2.4.1: 2）。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

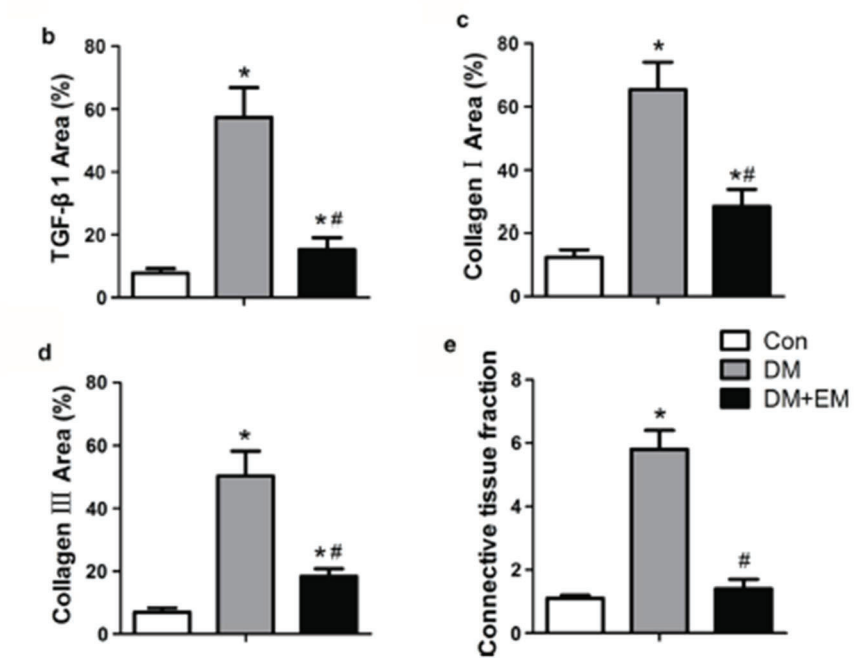


図 2.4.1: 2　DM マウスにエンパグリフロジンを 10 mg/kg/日で 8 週間経口投与したときの，細胞外マトリクスの蓄積と心筋線維化に対する作用。b）TGF-β1，c）I 型コラーゲン，d）III 型コラーゲン及び e）結合組織陽性領域を示す。データは平均値 ± 標準偏差（n=15）で示す。*P< 0.05（対照群との比較），#P< 0.05（DM 群との比較）

要約すると，T2DM である KK-Ay マウスモデルにおいて，エンパグリフロジンは左室機能不全及びリモデリングを抑制するとともに，心筋線維化及び酸化ストレスを抑制した。

左室駆出率の保たれた心不全（HFpEF）ラットにおける心収縮性に対するエンパグリフロジンの作用

肥満 DM ラット（ZDF）（Lepr$^{fa+/+}$，17~18 週齢，n＝14）の心エコー図評価により，肥満でない対照（Lepr$^{fa+/-}$，17~18 週齢，n＝6）と比較して，ZDF ラットは軽度の拡張機能不全を有することが明らかになった［CTD4.3-03_P18-09844］。また，ZDF ラットでは，等容弛緩時間（IVRT）延長，E/A 比低下及び軽度心肥大（壁厚増加）が認められた。エンパグリフロジンを 0.25 mg/kg の用量で静脈内投与したとき，臨床的に意義のある血漿中濃度である 700 nmol/L となった。この用量において，エンパグリフロジンは ZDF ラットの IVRT を有意に短縮し（27.0 ± 3.6 ms に短縮），E/A 比を上昇させた（1.6 ± 0.4 に上昇）ことから，EF を指標とする収縮機能を変化させず，拡張機能を改善することが示された。つまり，エンパグリフロジンは *in vivo* で HF に関連するパラメーターを改善した［CTD4.3-03_P18-09844］。

DM マウスにおけるエネルギー基質代謝に対するエンパグリフロジンの作用

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

心臓クレアチンリン酸（PCr）／アデノシン三リン酸（ATP）比の低下を特徴とする心臓エネルギー欠乏は，HF の発症に大きな役割を果たすと考えられている。

雄の C57BL/Ks db/db マウス（10 週齢，n = 10）を 4 時間絶食させた後，エンパグリフロジン（30 mg/kg）を単回経口投与した。さらに 2 時間絶食させた後，血漿中グルコース及びケトン体（βOHB）濃度を測定した。その後，*in vivo* における心臓の PCr／ATP 比及び機能を，それぞれ ^{31}P 磁気共鳴分光法（MRS）及び磁気共鳴画像法（MRI）を用いて測定した［CTD4.3-07_P18-09761］。

エンパグリフロジンは，溶媒投与群（n = 9）と比較して，血漿中グルコースを低下させ（12.1 ± 0.7 mM 対 17.3 ± 1.8 mM，p=0.013），血漿中ケトン体濃度を上昇させた（1.7 ± 0.3 mM 対 0.6 ± 0.1 mM，p=0.002）。エンパグリフロジン投与マウスの心臓における PCr／ATP 比は，溶媒投与群と比較して 45%高かった（0.80 ± 0.05 対 0.55 ± 0.05，p=0.001）。エンパグリフロジンはこの比を，非 DM の db/+マウスで別の試験において測定された値まで上昇させた。心臓 PCr／ATP 比は血漿中ケトン体濃度と相関したが（r^2=0.34，p=0.011），血漿中グルコース濃度とは相関しなかった（r^2=0.12，p=0.15）。

エンパグリフロジン投与マウスは，溶媒投与群と比較して，拡張末期容積（EDV）が小さく（35.9 ± 1.7 µL 対 41.1 ± 1.3 µL, p=0.03），1 回拍出量が少なかったが（24.0 ± 0.8 µL 対 28.9 ± 0.9 µL, p=0.002），EF 及び収縮末期容積に有意差は認められなかった。

要約すると，絶食下の db/db マウスにエンパグリフロジンを単回経口投与したとき，血漿中ケトン体濃度の上昇に伴って心臓エネルギー状態が改善したことから，心代謝の健康状態にケトン体が関与していることが示唆された。

DM モデル動物の試験をまとめると，エンパグリフロジンにより心臓及び冠動脈周囲の線維化の抑制が認められ，心臓リモデリングを有意に改善した。さらに，エンパグリフロジンは抗炎症作用を示し，内因性抗酸化物質の濃度を回復させることにより心臓の酸化ストレスを抑制した。また，血管内皮機能の低下には回復が認められた。エンパグリフロジンにより心臓のエネルギー供給が改善され，この有益な効果は，血漿中ケトン濃度の上昇に伴って認められた。より重要なこととして，エンパグリフロジンはげっ歯類 T2DM モデルにおいて心機能のパラメータを回復させた。

2.4.2 非糖尿病動物の疾患関連モデルを用いた試験

非臨床実験条件において HF を誘発する方法は複数あり，例えば，虚血再灌流又は冠動脈結紮により誘発した心筋梗塞（MI）による二次的な HF，横行大動脈縮窄術（TAC）により誘発される HF 並びに抗がん剤のドキソルビシン（DOX）の注入により誘発される HF などがある。

<u>MI に伴う HF を有するブタにおける心臓の機能及びリモデリングに対するエンパグリフロジンの作用</u>

雌の非 DM ヨークシャーブタ（3～4 カ月齢，体重：20 ± 1 kg，n=14）において，左前下行枝近位部を 2 時間バルーン閉塞して MI を誘発した後に再灌流を行うことにより，二次的な HF を誘発

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

させた[CTD4.3-10_P19-03216]。心筋障害を 3 次元（3D）心エコー法及び心臓核磁気共鳴法（CMR）で確認した。その後，動物を無作為に群分けし，エンパグリフロジン（10 mg/body，n=7）又は溶媒（n=7）のいずれかを 2 カ月間連日経口投与し，投与期間終了後に，3D エコー図及び CMR を再度測定した。冠動脈と冠静脈洞から同時に血液を採取し，心筋での代謝物消費量を評価するとともに心筋酸素消費量及び心筋仕事効率を算出した。組織検体を採取し，心筋のエネルギー状態及び心代謝の分子マーカーを評価した。

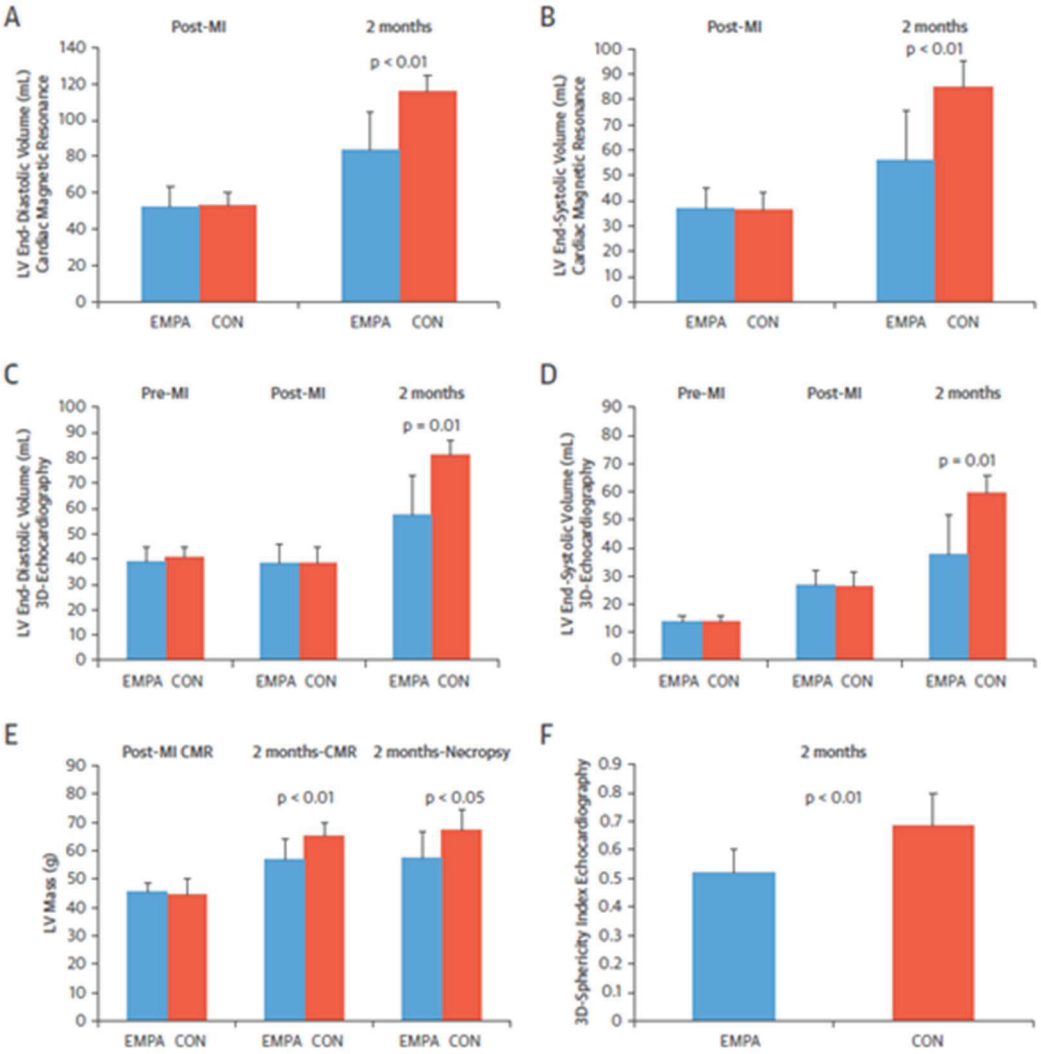


図 2.4.2: 1　エンパグリフロジンを 1 日 10 mg 2 カ月間投与したときの，HF を誘発したブタにおける左室リモデリングへの作用。A）及び C）左室拡張末期容積，B）及び D）左室収縮末期容積，E）左室重量及び F）3D sphericity index。CMR 及び 3D エコー法で測定した。データは平均値 ± 標準偏差（n=20）で示す。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

エンパグリフロジン投与群の動物で顕著な尿糖が認められたことから，SGLT2 が効果的に阻害されたことが示された。

エンパグリフロジンは心臓リモデリング及び HF を改善した。詳細に述べると，CMR 及び 3D 心エコー法において，エンパグリフロジンは左室収縮末期及び拡張末期容積を減少させた（図 2.4.2: 1）。さらに，エンパグリフロジン投与群では，対照群と比較して，CMR 及び剖検直後の直接重量測定の両方で得られた平均左室重量並びに 3D sphericity index が有意に小さかった（図 2.4.2: 1）。

MI の 2 カ月後に，対照群では，MI 処置をしていない群と比較して，遊離脂肪酸の顕著な低下及びグルコース消費量の増加を特徴とする心筋の代謝変化が認められた。心筋での乳酸産生量が増加していたことから，グルコースは主に嫌気性代謝により代謝されていることが確認された。

エンパグリフロジンの投与は，エネルギー源をグルコースからケトン体及び遊離脂肪酸に切り替えることにより，心臓エネルギー代謝を変化させた。エンパグリフロジン投与群では対照群と比べて心筋 ATP 含量がより高かった。

要約すると，エンパグリフロジンは左室収縮及び拡張機能を改善するとともに左室リモデリングを改善した。ブタにおけるこの効果は，少なくとも部分的には，エネルギー代謝をケトン体及び遊離脂肪酸に切り替えることで心臓のエネルギー供給が改善したことにより得られた可能性がある。

非 DM マウスにおける DOX 誘発 HF に対するエンパグリフロジンの作用

DOX は種々のがんの治療に使用される既承認の薬剤である。DOX の重篤な副作用として，うっ血性 HF に至る拡張型心筋症がある。このことから，DOX は，種々の動物モデルで実験的な心筋症の誘発に使用される。DOX 誘発性心毒性の特徴は，左室機能不全及び心肥大であり，これによってうっ血性 HF に至る。

DOX の単回投与（急性モデル）及び 12 日間反復投与（慢性モデル）による *in vivo* 試験を実施した［CTD4.3-08_P19-10933］。いずれの条件でも，雄の C57BL/6J マウス（8 週齢）を 1 群 5 匹からなる 4 群（対照群，エンパグリフロジン投与群，DOX 群，DOX+エンパグリフロジン投与群）に無作為に割り付けた。マウスに 300 mg/kg エンパグリフロジン含有標準固形飼料を与えた。急性モデルは DOX 投与 2 週間後，慢性モデルは 6 週間後に心機能と組織学的変化について検討した。

エンパグリフロジンは，急性及び慢性モデルのいずれの条件下でも，マッソントリクローム染色で示される，マウス心臓における DOX 誘発の心筋線維化を抑制した。

慢性モデルでは，心臓に肥大性変化が認められた。エンパグリフロジンは，DOX 群と比較して，FS を有意に改善させ，左室収縮期径を有意に減少させるとともに左室重量を有意に減少させた。

ケトン体，すなわち βOHB の血清中濃度は，DOX 単回投与の有無に関係なく，エンパグリフロジン投与マウスにおいて有意に高かった。

ケトン体（βOHB）の作用を検討するため，*in vitro* において H9C2 心筋細胞を 100 µM，1 mM，10 mM 及び 30 mM の βOHB で 2 時間処理した後，5 µM の DOX に 12 時間曝露した。H9C2 細胞

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

での DOX による活性酸素種（ROS）産生の増加が，βOHB 前処理により有意に抑制された。さらに，βOHB 前処理により，DOX 誘発による活動性ミトコンドリアを標識するテトラメチルローダミンメチルエステル（TMRM）標識の低下は認められなかった。この結果から，βOHB は DOX 誘発のミトコンドリア機能不全から心筋細胞を保護することが示唆される。最後に，βOHB は H9C2 心筋細胞内 ATP 濃度を有意に上昇させた。

次に，βOHB の作用を，DOX 急性モデルを用いて *in vivo* で検討した。βOHB の投与によって，DOX 投与マウスの左室における筋原線維の構造が保持され，心臓の線維化を抑制された。

要約すると，エンパグリフロジンはマウス DOX 誘発 HF モデルにおいて，心肥大及び心筋線維化を抑制し，結果として心筋症の発症を抑制した。この薬理効果は，急性及び慢性いずれのモデルでも確認されたとともに，βOHB を介したものであることが明らかになった。

MI 後の左室機能不全を有する非 DM ラットにおける心機能に対するエンパグリフロジンの作用

雄の非 DM の Sprague-Dawley ラット（8～10 週齢）に，MI を誘発するために冠動脈の永久結紮を行った。対照ラットには偽手術を行った［CTD4.3-09_P19-03653］。結紮手術の 2 日前（早期）又は 2 週間後（後期）から，ラットに平均摂取量が 30 mg/kg/日となるようにエンパグリフロジン含有固形飼料又は対照固形飼料を与えた。後期投与群は手術 2 週後に左室駆出率（LVEF）に基づいて，ベースラインの心機能が群間で同程度になるように群分けした。10 週間の混餌投与後に，心機能と組織学的変化について検討した。最終的な各群の例数は，エンパグリフロジン早期投与 MI 群 13 例，エンパグリフロジン後期投与 MI 群 11 例，対照飼料摂取 MI 群 22 例，エンパグリフロジン投与偽手術群 19 例及び対照飼料摂取偽手術群 8 例であった。

左室の平均梗塞サイズは 33%であり，MI を誘導した群間で差は認められなかった。MI により左室が有意に拡張し，LVEF が低下した。エンパグリフロジン早期投与群（EMPA-E）及び後期投与群（EMPA-L）のいずれにおいても，LVEF は非投与群より有意に高かった（$p<0.05$，図 2.4.2: 2）。つまり，エンパグリフロジンは MI 後の進行性心機能悪化を抑制した。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

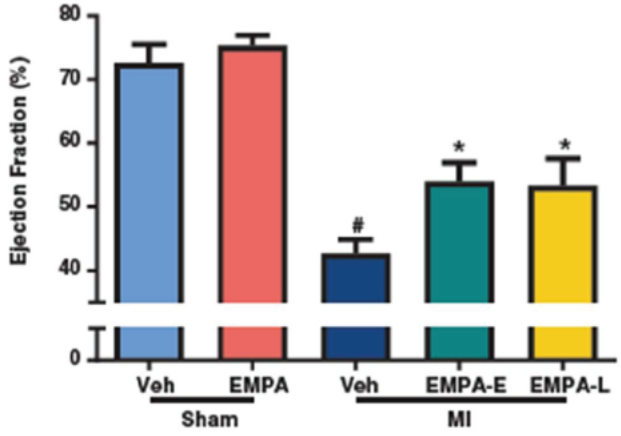


図 2.4.2: 2　　MI 後の左心室機能不全を示す非 DM ラットの LVEF に対するエンパグリフロジンの作用。データは平均値 ± 標準偏差で示す。*p<0.05（MI-Veh との比較），#p<0.05（Sham-Veh との比較）

MI 後に，心室重量が 10%増加し心筋細胞断面積が 81%増加する顕著な心肥大が認められた。エンパグリフロジンを早期及び後期投与したときのいずれにおいても，対照飼料摂取 MI 群と比較して，左室重量増加が抑制され，心筋細胞断面積が減少した。MI を起こしていない部分の左室でみられた心筋線維化の有意な増加も，エンパグリフロジン投与により顕著に抑制された（図 2.4.2: 3）。エンパグリフロジンによる線維化抑制に伴って，線維化マーカーである I 型コラーゲン及びプロコラーゲンの発現も同様に低下した。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

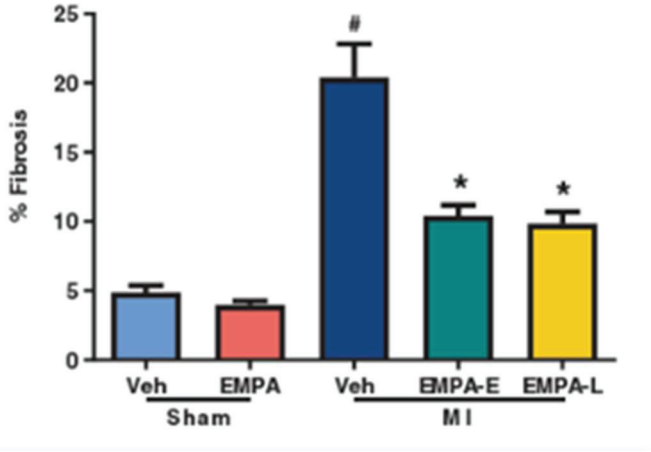


図 2.4.2: 3　MI 後の左心室機能不全を示す非 DM ラットの MI 誘発心線維化に対するエンパグリフロジンの作用。データは平均値 ± 標準偏差で示す。*p<0.05（MI-Veh との比較），#p<0.05（Sham-Veh との比較）

対照飼料摂取 MI 群のラットの心臓において，蛋白質過酸化物（AOPP）及びスーパーオキシド生成酵素である，NADPH オキシダーゼ 2（NOX2）の発現量の上昇が認められた。エンパグリフロジンは早期及び後期投与のいずれにおいても AOPP 及び NOX2 の発現を抑制した。

また，エンパグリフロジンはミトコンドリア DNA（mtDNA）の損傷を回復させ，mtDNA／核 DNA 比を上昇させるとともに，ミトコンドリア生合成の重要なメディエーターであるペルオキシソーム増殖因子活性化受容体ガンマコアクチベーター-1 アルファ（PGC-1α）発現を回復させたことから，心臓におけるミトコンドリア機能不全を抑制することが示唆された。心臓内 ATP 濃度は対照飼料摂取 MI 群で有意に低く，エンパグリフロジン早期投与 MI 群ではこれが有意に回復し（p<0.05），エンパグリフロジン後期投与 MI 群では ATP 濃度上昇傾向が認められた（p=0.08）（図 2.4.2: 4）。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

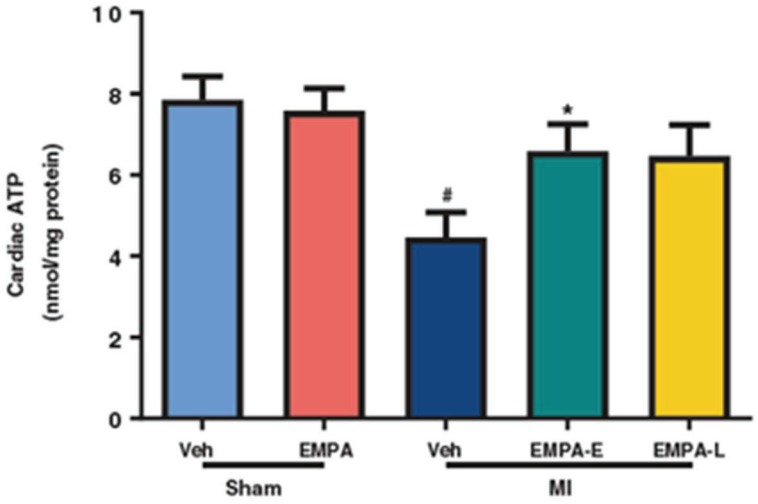


図 2.4.2: 4　MI 後の左心室機能不全を示す非 DM ラットの心臓内 ATP 濃度に対するエンパグリフロジンの作用。データは平均値 ± 標準偏差で示す。*p<0.05（MI-Veh との比較），#p<0.05（Sham-Veh との比較）

不全心ではグルコース及び脂肪酸の酸化が障害されるが，燃料源としてケトン体の使用が増加する。エンパグリフロジンは，偽手術群及び MI 群両方において，循環血中ケトン体濃度及び尿中ケトン体排泄量を増加させた。同時に，心筋でのケトン体分解に関与する蛋白質（ケトン体トランスポーター，ケトン産生酵素 β-ヒドロキシ酪酸デヒドロゲナーゼ及びサクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ）の発現を指標とするケトン体利用がエンパグリフロジンにより促進された。

要約すると，MI 後の左室機能不全を有する非 DM ラットにおいて，エンパグリフロジンは心臓の機能及びリモデリングを改善した。この効果に伴って，心臓での ATP 産生が大幅に改善された。

非 DM 動物モデルを用いた試験を総合すると，ブタ MI モデルにおいて，エンパグリフロジンは左室収縮及び拡張機能を改善し，心臓リモデリングを抑制した。エネルギー代謝は，グルコースからケトン体の利用に切り替えられた。エンパグリフロジン投与ブタの心筋内 ATP は，溶媒投与対照と比較して高かった。DOX 誘発 HF において，エンパグリフロジンは心臓リモデリングを抑制し，心機能を改善した。また，エンパグリフロジンは，血漿中 βOHB 濃度を上昇させた。βOHB は心筋細胞を用いた *in vitro* 試験において，抗酸化作用を示し，ミトコンドリア機能不全を抑制するとともに細胞内 ATP 濃度を上昇させた。冠動脈の永久結紮を行ったラットにおいて，エンパグリフロジンは進行性の心機能悪化を抑制した。さらに，心臓リモデリング及び酸化ストレスも抑制した。エンパグリフロジン投与群では，媒体投与対照と比較して，心臓における ATP 濃度が高かった。また，エンパグリフロジンはケトン体の血漿中濃度を上昇させ，心臓でのケトン体利用を促進した。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

3. 副次的薬理試験

新たな副次的薬理試験はない。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

4. 安全性薬理試験

新たな安全性薬理試験はない。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

5. 薬力学的薬物相互作用試験

新たな薬力学的薬物相互作用試験はない。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

6. 考察及び結論

これまでに，*in vitro* 試験及び種々の動物モデルを用いて，心血管系に対するエンパグリフロジンの有益な効果を検討する薬理試験が実施されている。HF に特化した試験を含め，様々な動物種の DM を有する又は有しない動物を用いた試験が実施された。

DM 性高血圧ラットから採取した血管を用いた *ex vivo* 試験において，エンパグリフロジンは血管内皮機能不全に対して有益な効果を示した。また，エンパグリフロジンは，末期 HF 患者由来組織及び糖尿病性心筋症マウス由来組織を用いた *ex vivo* 試験で心筋の拡張期硬度を改善した。この効果は，エンパグリフロジンによって心筋フィラメントのリン酸化が回復したことによる可能性がある。

種々の動物モデルにエンパグリフロジンを投与したとき，*in vivo* での心エコー図又は CMR において，心機能の改善又は進行性心機能悪化の抑制が認められた。

T2DM モデルでは，遺伝的 T2DM モデルである KK-Ay マウスにおいて，エンパグリフロジンは EF，FS，FAC 及び E/A 比といった心機能パラメータを改善した。これらの結果に加えて，HFD を摂取させたアルデヒド脱水素酵素（ALDH）2*2 変異（ALHD の活性が低くなる変異）を有する T2DM マウスモデルにエンパグリフロジンを投与すると，心機能が改善され，FS，EF 及び運動後の心拍出量が有意に増加し，心機能の改善により運動能力（走行距離）が向上したことが報告されている［CTD4.3-23_P18-09003］。その他の T2DM モデルにおいても同様にエンパグリフロジンによる心機能の改善が報告されている［CTD4.3-24_P20-00869，CTD4.3-25_P19-07532，CTD4.3-26_P18-07465，CTD4.3-27_P17-07459］ことから，本概要文に記載したエンパグリフロジンの効果が裏付けられている。

非 DM 動物を用いた試験では，ブタの虚血／再灌流誘発 MI による HF モデル，マウスの DOX 誘発 HF モデル及びラットの冠動脈結紮誘発 HF モデルにおいて，エンパグリフロジンによる心機能の改善が認められた。

ブタにおける MI 誘発による HF モデルに，エンパグリフロジンを経口投与すると，CMR 及び 3D エコー図のいずれの測定においても，対照群と比較して，左室拡張末期及び左室収縮末期容積が有意に減少した。マウスの DOX 誘発 HF モデルにおいて，エンパグリフロジンは心臓 FS を有意に改善させ，左室収縮期径を有意に減少させた。冠動脈の永久結紮により MI を誘発したラットに，MI 誘発前又は誘発後からエンパグリフロジンの投与を開始したところ，いずれの条件でも LVEF が有意に改善された。これらの試験に加えて，他の試験でも，エンパグリフロジンが非 DM 動物の心血管機能に対して有益な効果を示すことが *in vivo* で確認されている［CTD4.3-24_P20-00869, CTD4.3-26_P18-07465, CTD4.3-28_P20-01434, CTD4.3-29_P19-10833, CTD4.3-30_P18-10661］。

上述した試験の多くで，心臓の拡張機能の改善が認められている。また，収縮機能の改善［CTD4.3-26_P18-07465］又は収縮及び拡張の両機能の改善［CTD4.3-10_P19-03216］が認められている報告もある。

心機能の改善に加えて，エンパグリフロジンは心臓リモデリングを抑制し，これを示す所見として心臓の肥大及び線維化の抑制が認められた。線維化過程に対する作用は複数の DM 動物

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

［CTD4.3-05_P14-15469，CTD4.3-06_P19-01258，CTD4.3-25_P19-07532］及び非 DM 動物［CTD4.3-08_P19-10933，CTD4.3-9_P19-03653，CTD4.3-31_P20-00978，CTD4.3-33_P19-02786］の両方で認められた。

さらに，エンパグリフロジンは，種々の DM 動物及び非 DM 動物モデルにおいて *in vivo* で酸化ストレスを抑制した［CTD4.3-05_P14-15469，CTD4.3-06_P19-01258，CTD4.3-9_P19-03653，CTD4.3-25_P19-07532，CTD4.3-29_P19-10833，CTD4.3-30_P18-10661］。酸化ストレスの抑制は，HF に対するエンパグリフロジンの有益な効果の一つである可能性がある。

エンパグリフロジンの投与による db/db マウスにおける心臓間質へのマクロファージ浸潤抑制で示されたように，その他の試験においても，エンパグリフロジンの抗炎症効果が認められている［CTD4.3-24_P20-00869，CTD4.3-30_P18-10661，CTD4.3-34_P19-11151］。ラットの冠動脈結紮誘発 HF モデルにおいては，エンパグリフロジンによりミトコンドリア機能が改善することも報告されている。

エンパグリフロジンによる血漿中ケトン体濃度の上昇が，多くの動物モデルにおいて確認された［CTD4.3-07_P18-09761，CTD4.3-08_P19-10933，CTD4.3-10_P19-03216，CTD4.3-35_P18-08803，CTD4.3-36_P18-12030］。ケトン体は不全心のエネルギー供給に用いられるグルコース酸化の「代替燃料」と考えられている。実際，βOHB といったケトン体の酸化は，グルコース酸化と比較して酸素消費量が少ない効率的な ATP 産生経路であると考えられる［CTD4.3-37_P16-06721］。しかし，これと矛盾する結果として，自然発症高血圧 HF ラットにエンパグリフロジンを投与したときにケトン体の利用が減少したとの報告もされている［CTD4.3-35_P18-08803］。

また，エンパグリフロジンは SGLT2 を介して，グルコースだけでなくナトリウムの再吸収も抑制するため，遠位尿細管へのナトリウムの送達が増加する［CTD4.3-11_P19-10736］。その結果として，尿細管糸球体フィードバックの活性化によって，いくつかの生理学的機能に変化がみられる可能性があり，それには糸球体内圧の低下，心臓の前負荷及び後負荷の減少並びに交感神経活性の低下などの影響が考えられている［CTD4.3-12_P18-07484，CTD4.3-13_P20-04404］。

以上のように，様々な非臨床試験において，エンパグリフロジンは HF に対して顕著かつ有益な効果を示した。これらの有益な効果は DM 動物及び非 DM 動物で一貫して認められた。様々な処置により誘発した HF の動物モデルにおいて，エンパグリフロジンは心機能を改善し，心臓リモデリング過程を抑制した。また，エンパグリフロジンにより炎症及び酸化ストレスが抑制された。

これらの結果に基づくと，エンパグリフロジンは CHF 患者に対する革新的治療法の有望な選択肢になると考えられる。内皮機能に対するエンパグリフロジンの直接的作用，代謝への作用による心臓の代替エネルギー源としてのケトン体の供給及び酸化ストレス抑制は，臨床試験で認められた HF の改善に寄与している可能性がある。これらのエンパグリフロジンによる有益な効果の正確な分子メカニズムについては，非臨床及び臨床試験で検討中である。

Proprietary confidential information © 2021 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7. 図表

図表は本文中の適切な場所に示した。

第 2 部 CTD の概要

JAN あるいは販売名：	エンパグリフロジン
剤形・含量：	錠剤・10 mg
文書名：	2.6.3 薬理試験概要表
文書作成日：	10 November 2020

Proprietary confidential information
© 2020 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission

Proprietary confidential information © 2020 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

目　次

目　次 2
1. 薬理試験：一覧表 3
2. 効力を裏付ける試験 3
3. 副次的薬理試験 3
4. 安全性薬理試験 3
5. 薬力学的薬物相互作用試験 3

Proprietary confidential information © 2020 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

1. 薬理試験：一覧表

該当する試験は実施していない。

2. 効力を裏付ける試験

該当なし。

3. 副次的薬理試験

該当なし。

4. 安全性薬理試験

該当なし。

5. 薬力学的薬物相互作用試験

該当なし。