2.4　非臨床試験の概括評価の目次

2.4.1　非臨床試験計画概略 2
2.4.2　薬理試験 4
2.4.2.1　効力を裏付ける試験 5
2.4.2.2　副次的薬理試験 7
2.4.2.3　安全性薬理試験 7
2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用 7
2.4.3　薬物動態試験 8
2.4.3.1　分析法 8
2.4.3.2　吸収 8
2.4.3.3　分布 9
2.4.3.4　代謝 9
2.4.3.5　排泄 10
2.4.3.6　薬物動態学的薬物相互作用 10
2.4.4　毒性試験 12
2.4.4.1　単回投与毒性試験 12
2.4.4.2　反復投与毒性試験 12
2.4.4.3　遺伝毒性試験 14
2.4.4.4　がん原性試験 14
2.4.4.5　生殖発生毒性試験 15
2.4.4.5.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 16
2.4.4.5.2　胚・胎児発生に関する試験 16
2.4.4.5.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 17
2.4.4.5.4　幼若動物における試験 17
2.4.4.6　局所刺激性試験 18
2.4.4.7　その他の毒性試験 18
2.4.4.7.1　抗原性試験 18
2.4.4.7.2　免疫毒性試験 18
2.4.4.7.3　代謝物に関する試験 18
2.4.4.7.4　依存性試験 19
2.4.4.7.5　光毒性試験 19
2.4.4.7.6　不純物に関する試験 19
2.4.4.8　全身曝露量 20
2.4.5　総括及び結論 23
2.4.6　参考文献一覧 26

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

フィネレノン（BAY 94-8862）は新規の非ステロイド型選択的ミネラルコルチコイド受容体（MR）拮抗薬である。フィネレノンは、2 型糖尿病を合併する慢性腎臓病を適応症として開発された。本適応症における最大推奨臨床用量（MRHD）は 20mg／日である。

フィネレノン及びそのヒト血漿中主代謝物の薬理学的プロファイルを評価するため、効力を裏付ける試験を実施した（2.6.2.2 及び 2.6.3.2）。フィネレノンの *in vitro* における薬理学的プロファイルとして、*in vitro* 活性及び作用機序を検討し、*in vivo* 薬理学的プロファイルとして、複数の動物種を用いた疾患モデル等での効果を検討した。また、副次的薬理試験（2.6.2.3 及び 2.6.3.3）として、フィネレノン及びそのヒト血漿中主代謝物の選択性を、オフターゲット活性及び心筋イオンチャネル阻害作用を指標として検討した。更に、安全性薬理試験（2.6.2.4 及び 2.6.3.4）として、生命維持に重要な器官系〔中枢神経系（CNS）、心電図（ECG）を含む心血管系及び呼吸器系〕に対するフィネレノンの影響を *in vitro* 及び *in vivo*（ラット、イヌ）試験で検討した。

フィネレノンの吸収、分布、代謝及び排泄を評価するため、*in vivo* 及び *in vitro* にて非臨床薬物動態試験を実施した（2.6.4 及び 2.6.5）。*In vivo* 試験では、重要な安全性試験に用いた動物種であるラット及びイヌに加えてマウス及びサルを使用した。臓器・組織分布はラットで、マスバランスはラット、イヌ及びヒトにおいて検討した。また、*in vitro* 試験では、単層培養細胞膜の透過性、血漿タンパク結合、血球／血漿分配及び代謝について、ヒト及び動物由来の試料を用いて検討した。更に、種々のヒト代謝酵素及びトランスポーターに対するフィネレノンの基質特性及び阻害作用、並びにチトクローム P450（CYP）酵素に対する誘導作用についても検討した。

全身毒性及び過度の薬理作用を検討するため（2.6.6 及び 2.6.7）、単回投与試験、並びに 1 日 1 回の強制経口投与によるラットを用いた最長 26 週間、及びイヌを用いた最長 39 週間の反復投与毒性試験を実施した。がん原性試験の用量設定のために、マウスを用いた最長 13 週間の反復投与毒性試験を実施した。また、遺伝毒性試験及び光毒性試験を実施した。ヒトで長期投与されることから、マウス及びラットを用いた、1 日 1 回強制経口投与による 2 年間がん原性試験を実施した。更に、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験を実施した。加えて、幼若動物を用いた毒性試験も実施した。

非臨床安全性試験の主な目的は、標的臓器毒性を明らかにし、その回復性を評価すること、標的臓器毒性あるいは過度の薬理作用に起因する有害作用に対する無毒性量を求めること、及び MRHD における曝露量と比較したときの安全域を算出することである。

患者には、錠剤を経口投与するため、毒性試験の投与経路は経口投与とした。単回及び反復投与毒性、並びに *in vivo* 安全性薬理試験には、ラット及びイヌを使用した。いずれの動物種でも、フィネレノンの曝露量は十分に高かった。これらの動物種ではヒトと同様の代謝経路が確認されており、ヒト血漿中代謝物の主成分もすべて認められた。また、ラット及びイヌは、フィネレノンの薬理作用に反応した。ヒト血漿中代謝物の主成分は、いずれもフィネレノンを投与した毒性試験で十分に評価可能であったことから、代謝物を投与する毒性試験は実施しなかった。

すべての重要な非臨床安全性試験は、現行の試験ガイドライン（主に ICH 及び OECD）に従い、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。試験はすべて

Bayer 社（ドイツ）の試験施設あるいは [redacted] 社（英国）の試験施設で実施した。試験施設はいずれも OECD 加盟国にあり、OECD データ相互受入れシステムに参加している。

2.4.2 薬理試験

ステロイドホルモンであるアルドステロン及びコルチゾールを介する MR の過剰活性化は、慢性腎臓病（CKD）を含む心血管系疾患の発症の原因になると考えられている。左室駆出率が低下した心不全（HFrEF）患者を対象とした臨床試験において、MR を阻害することにより罹患率及び死亡率が低下することが報告されている[1)]。

既存のステロイド型 MR 拮抗薬（MR アンタゴニスト：MRA）であるスピロノラクトン及びエプレレノンにはその特性から幾つかの点において臨床使用上の課題がある。例えば、スピロノラクトンは高い有効性を示すものの、MR に対する選択性が低く、他のステロイドホルモン受容体ファミリーであるアンドロゲン受容体（AR）に対してアンタゴニスト活性を示し、プロゲステロン受容体（PR）に対してアゴニスト活性を示す。その結果、長期使用により生殖器系の副作用（例：痛みを伴う女性化乳房、インポテンツ及び月経不順）がみられることがある[2, 3)]。もう一つのステロイド型 MRA であるエプレレノンは、選択性プロファイルはスピロノラクトンより改善されているものの、活性はスピロノラクトンより低い。また、両剤ともに、特に、腎機能低下患者において、アンジオテンシン変換酵素阻害薬（ACEI）又はアンジオテンシン受容体拮抗薬（ARB）との併用により高カリウム血症を誘発する可能性がある。

CKD 患者を対象とした ACEI 又は ARB の単独又は併用投与に加えてステロイド型 MRA のスピロノラクトン又はエプレレノンを追加投与した複数の小規模臨床試験において、MRA の追加投与による腎保護作用の増強効果が検討され、尿中アルブミン／タンパク排泄が 30%～60%減少することが報告されている[4, 5, 6)]。しかしながら、アルブミン尿は改善するものの、ACEI 又は ARB の単独又は併用投与を含む標準的治療（SoC）にスピロノラクトン又はエプレレノンを追加投与することで高カリウム血症の発現がみられた。スピロノラクトン及びエプレレノンは 2 型糖尿病を合併する患者における CKD に対する効能・効果を有していない。2 型糖尿病を合併する CKD 患者におけるアンメットメディカルニーズは高いにもかかわらず、既存のスピロノラクトン及びエプレレノンにはこのような臨床使用の限界があることから、有効性の高い非ステロイド型選択的 MRA であるフィネレノンが開発された。

腎臓病患者では、高率に心血管系疾患の罹患及び死亡がみられる。したがって、治療オプションとして CKD の進展抑制とともに心血管イベントを減少させる治療が必要である。重要な心血管イベントとしては、心筋梗塞、脳卒中及び心不全による入院加療が挙げられる。糖尿病性腎臓病と臨床診断された 2 型糖尿病患者を対象として、プラセボを対照にフィネレノンの有効性及び安全性を評価することを目的として実施した臨床試験[7)]〔試験 16244：FIDELIO-DKD（Finerenone in Reducing Kidney Failure and Disease Progression in Diabetic Kidney Disease）〕では、臨床的に重要な腎アウトカムの減少を主要評価項目とした（2.7.6.30）。また、あらかじめ設定した主な副次的評価項目は、心血管関連の病態及び死亡が最初に起こるまでの時間の総計であり、心血管死、非致命的心筋梗塞、非致命的脳卒中及び心不全による入院加療がそれぞれ最初に起こるまでの時間を指標とし、その総時間として算出している。本項に示した腎臓病及び心臓病の動物モデル（心筋梗塞誘発性心不全又は高血圧誘発脳卒中モデルなど）においても、腎及び心関連パラメータを指標とした。

フィネレノンの薬理学的プロファイルを評価するため、*in vitro* 試験として MR に対するアンタゴニスト作用の効力、並びに他の受容体又はイオンチャネルに対する選択性を検討した。また、*in vivo* 試験として、ラット、マウス及びイヌを用いた種々の動物モデルにおいて、薬理活性を検討した（2.6.2 及び 2.6.3）。*In vitro* 試験では、フィネレノンをジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解して使用し、*in vivo* 試験では、フィネレノンをエタノール／ソルトール／水、PEG400／グリセリン／水、又はエタノール／PEG400 等の適切な媒体に溶解又は懸濁、若しくはカプセルに充填して経口投与した（2.6.2.2.2 の各項参照）。

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

In vitro 試験では、一連の細胞系ステロイドホルモン受容体トランス活性化アッセイにおいて、フィネレノンの作用を検討した（2.6.2.2.1）。機能的 MR トランス活性化アッセイにおいて、フィネレノンの 50%阻害濃度（IC_{50}）は 17nM であり、その他のステロイドホルモン受容体の機能的トランス活性化アッセイにおいてはいずれも最高 10μM まで活性を示さなかった。放射性リガンド結合アッセイにより得られた成績から、全長 MR 受容体においてフィネレノンは選択的な競合的 MRA であることが確認された。フィネレノンは、関連するすべての MR アゴニスト（アルドステロン及びグルココルチコイド）の作用を、ステロイド型 MRA であるスピロノラクトン及びエプレレノンより高い効力で阻害した。

フィネレノンは *in vitro* において、野生型 MR に加えて、機能獲得型 S810L 変異を有するヒト MR に対しても阻害作用を示した。S810L 変異 MR は、男性の高血圧早期発症及び女性の妊娠高血圧の原因であるとされており、プロゲステロン、並びに拮抗薬であるステロイド型 MRA（スピロノラクトン及びエプレレノン）により活性化される。スピロノラクトン及びエプレレノンとは異なり、フィネレノンは、MR の C 末端 activating function 2 ドメインにおいてヘリックス 12 の突出を引き起こしやすい、いわゆる“bulky-antagonist”であり、その結果、受容体―リガンド複合体は不安定となり、転写コレギュレーターを動員することができない。核受容体タンパク質内のヘリックス 12 のリガンド特異的構造変化により、リガンドタイプ特異的コレギュレーターの動員及びそれに続く生理作用が決定する。

In vivo 試験では、フィネレノンを種々の異なる心腎疾患動物モデルで評価した（2.6.2.2.2）。

フィネレノンを 0.3mg/kg 以上の用量で無麻酔ラットに単回投与すると、有意なナトリウム利尿作用が誘発され、その作用はエプレレノンの 1/3～1/10 の用量で同等であることが示された。フィネレノンを正常な無麻酔イヌに経口投与すると、尿中 Na^+/K^+比は上昇し、0.01mg/kg 以上では統計学的に有意な上昇であった。アルドステロン及びカリウムの血漿中濃度には影響は認められなかった。

フィネレノンは、デスオキシコルチコステロン酢酸エステル（DOCA）-salt ラットモデルにおいて 10 週間の投与により血圧、血漿中脳性ナトリウム利尿ペプチド前駆体(proBNP)の N 末端フラグメント濃度、尿タンパク並びに心及び腎肥大を用量依存的に減少させ、心臓及び腎臓に対して明白な臓器保護作用を示した。フィネレノンは、同等のナトリウム利尿作用を示す用量での直接比較においてエプレレノンよりも効果的に腎肥大及びタンパク尿を減少させた。腎臓における炎症促進性及び線維化促進性のバイオマーカー遺伝子発現においても、同等のナトリウム利尿用量での比較でエプレレノンよりも高い効力を示した。フィネレノンは用量依存的に糸球体、尿細管及び腎血管の損傷に対して保護作用を示した。

脳卒中易発症高血圧自然発症ラット（SHRSP）モデルの反復投与試験において、非ステロイド型のフィネレノン並びにステロイド型のスピロノラクトン及びエプレレノンの効果を比較した。この動物モデルは、タンパク尿を伴う高血圧性心腎障害が生じ高い死亡率を示すという特徴を有する。フィネレノンはラットの病態及び死亡に対して保護作用を示した。病理組織学的分析から、心筋の変性に対して明確な保護作用が示された。更に、フィネレノンは、病理組織学的分析、尿タンパク及び炎症促進性腎遺伝子発現の減少から明らかなように、SHRSP モデルにおいて腎保護作用を示した。

両側腎虚血／再灌流（I/R）誘発 CKD マウスモデルにおける血漿中クレアチニン、血漿中尿素及びトランスフォーミング増殖因子（TGF）-β発現の増加はいずれもフィネレノンの投与により抑制された。組織学的検討により、非投与群でみられたコラーゲンの顕著な沈着はフィネレノン

群ではみられなかった。非投与一側腎 I/R マウスで重度の尿細管間質性の線維化が誘発されたが、フィネレノンは重度の腎線維化を有意に減少させた。非投与両側腎 I/R マウスで増加した尿タンパクは、フィネレノンにより減少した。フィネレノンの慢性的腎機能障害及び線維化に対する保護作用は、フィネレノン投与マウスから単離した腎マクロファージにおける M1-炎症促進性マーカーmRNA 発現の有意な減少、及び M2-抗炎症性マーカーmRNA の発現の有意な増加と関連していた。フィネレノンによる MR 阻害は、腎組織全体及び単離マクロファージにおける IL-4 受容体の発現及び活性を増加させ、それによってマクロファージ集団の M2 フェノタイプへの極性化を促進した。

I/R 誘発 CKD ラットモデルにおいても、フィネレノンは腎機能及び組織構造の慢性及び進行性の悪化を予防し、血漿中クレアチニン及び尿素濃度の増加を抑制した。尿細管障害（尿細管拡張、尿円柱及び細胞剥離）及び尿タンパクも有意に減少させた。また、腎臓損傷分子-1（KIM-1）及び好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン（NGAL）発現を減少させ、シリウスレッド染色によって確認される尿細管間質性線維化も抑制した。ウエスタンブロット分析では、フィネレノンは、線維芽細胞の線維化フェノタイプへの形質転換の特徴であるα-平滑筋アクチン発現を、有意に減少させ、上皮細胞統合性の指標である E-カドヘリン発現を有意に増加させた。

アルブミン尿を自然発症し内皮障害を伴う遺伝性 CKD ラットモデルにおいて、フィネレノンは尿中アルブミン排泄を 40%超減少させ、収縮期血圧（SBP）を有意に低下させた。

慢性心筋梗塞（cMI）ラットモデルにおいて、フィネレノンは心不全に対する顕著な保護作用を示し、血行動態機能の改善及び数種類の疾患関連バイオマーカーの減少が認められた。

圧負荷誘発心肥大マウスモデルにおいて、フィネレノンの投与によりエプレレノンよりも顕著な心肥大抑制作用が認められた。このようなフィネレノンによる心臓保護作用は、エプレレノンとは異なる心筋遺伝子〔トロポニン T タイプ 2（Tnnt2）〕発現パターンに付随するものであった。

マウスの短期間イソプロテレノール誘発心筋線維化モデルを用いて、非ステロイド型 MRA であるフィネレノン及びステロイド型 MRA であるエプレレノンの作用を同等の全身性 MR 阻害用量で比較した。両 MRA はいずれもイソプロテレノールにより増加した左室心筋重量を有意に減少させた。フィネレノンはイソプロテレノール誘発心筋線維化及びマクロファージ浸潤を有意に抑制したが、エプレレノンは有意な作用を示さなかった。また、フィネレノンは心エコー（スペックルトラッキング法）での長軸方向グローバルストレインを有意に改善した。フィネレノンの心筋線維化抑制作用は、*in vivo* での心筋組織及び *in vitro* での H9C2/MR+細胞株における線維化促進性心筋テネイシン-X（TNX）発現に対する有意な抑制作用を伴っており、一方、エプレレノンは TNX 遺伝子発現において *in vivo* で影響を及ぼさず、*in vitro* でも高濃度で弱い抑制作用を示すのみであった（4.2.1.1.2 Hypertension 2018_71_599）。

フィネレノンは Zucker 糖尿病ラットモデルにおいて、メタボリックシンドロームに関連した拡張期心機能障害及び腎障害を抑制した。この作用には急性作用〔心筋血流の改善、酸化ストレス減少／一酸化窒素（NO）生物学的利用能の増加等〕及び長期作用（心筋構造の保護等）が含まれていた。フィネレノンの反復投与により尿タンパク及び腎 NGAL 発現は有意に減少した。

要約すると、新規の非ステロイド型 MRA であるフィネレノンにより、ラット及びマウスの心臓及び腎臓に対する長期間の臓器保護作用が認められた。同等のナトリウム利尿作用を示す用量での直接比較により、フィネレノンはエプレレノンよりも効果的に腎肥大及びタンパク尿を抑制した。フィネレノンは腎臓におけるいくつかの炎症促進性及び線維化促進性バイオマーカー遺伝子の発現も抑制し、その作用は同等のナトリウム利尿用量での比較でエプレレノンよりも高かった。

したがって、フィネレノンの抗肥大化／抗線維化作用と腎臓電解質に対する作用とのバランスは、少なくともラット及びマウスにおいてステロイド型 MRA よりも優れていると考えられた。

2.4.2.2 副次的薬理試験

フィネレノンのオフターゲット（66～67 種類の受容体、トランスポーター及びイオンチャネル）に対する作用を、ヒト血漿中主代謝物〔BAY 1117266（M-1b）、BAY 1117267（M-1a）、BAY 1117268（M-2a）及び BAY 1117271（M-3a）〕とともに検討したところ、すべての放射性リガンド結合試験において、いずれの被験物質も 10μM で有意な作用を示さなかった。フィネレノンはジヒドロピリジンのリード骨格由来の化合物であることから、L 型カルシウムチャネル結合アッセイを実施した結果、フィネレノンは 10μM で活性を示さなかった。

また、HEK/CHO 細胞に安定的に発現させた心筋イオンチャネルのボルテージクランプ試験を実施したところ、フィネレノン及びヒト血漿中主代謝物（M-1a、 M-1b、M-2a 及び M-3a）は 10μM まで *in vitro* で心筋イオンチャネル〔ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（hERG）K^+電流、ヒトナトリウムチャネル／電流アイソフォーム 1.5（hNav1.5）Na^+電流及びヒト電位依存性（L 型）カルシウムチャネル／電流アイソフォーム 1.2（hCav1.2）Ca^{2+}電流〕に対して作用を示さなかった。

2.4.2.3 安全性薬理試験

安全性薬理試験では、生命維持に重要な器官系（CNS、ECG を含む心血管系、呼吸器系）に及ぼすフィネレノンの影響を検討するため *in vitro* 試験及び単回投与による *in vivo* 試験（ラット及びイヌ）を実施した。

フィネレノンに関する安全性薬理試験の全般的な結果として、ラットの CNS 及び呼吸器系〔無影響量（NOEL）：30mg/kg〕、イヌの血行動態／ECG パラメータ（NOEL：10mg/kg）及び *in vitro* での心室再分極（hERG K^+電流）において、生理学的に意味のある影響は認められなかった。PQ 間隔（イヌ）はわずかに短縮したが、その用量での血漿中濃度は MRHD での臨床血漿中濃度の 16 倍以上であり、臨床上有害な影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

2.4.2.4 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ていない。

2.4.3 薬物動態試験

CD-1 マウス、Wistar ラット、ビーグル犬及びカニクイザルを用いて、フィネレノンの *in vivo* における薬物動態を検討した。更に、複数の動物種における血漿タンパク結合、血球／血漿分配及び代謝、並びに種々の代謝酵素及びトランスポーターに関連する薬物相互作用の可能性を *in vitro* 試験にて検討した（2.6.4 及び 2.6.5）。

2.4.3.1 分析法

薬物動態試験における分析法のバリデーション及び実試料の分析は、社内標準操作手順書に従い、「生体試料中薬物濃度分析法のバリデーション」に関する適切なガイドラインを遵守して行った。

トキシコキネティクス試験では、試料を除タンパク後に高速液体クロマトグラフィー（HPLC）／タンデム質量分析（LC-MS/MS）法を用いて血漿中フィネレノン及び／又は代謝物濃度を測定した。種々の試験でフィネレノン及び代謝物の定量に用いた生体試料中薬物濃度分析法についてはバリデーション試験成績と共に 2.6.4.2.3 及び 2.6.5.2 に要約した。

GLP 適用試験から得られた生体試料中の薬物濃度分析法は、米国食品医薬品局（FDA）[8, 9] 及び欧州医薬品庁（EMA）[10] のガイドラインに従ってバリデーションを実施した。マウス、ラット、ウサギ及びイヌでの GLP 適用試験において、血漿中フィネレノン濃度を測定するために用いたフルバリデーション実施済の分析法における定量下限（LLOQ）及び上限（ULOQ）は、予測濃度に合わせて設定し、定量範囲は 0.50 又は 100μg/L（LLOQ）～1000 又は 100000μg/L（ULOQ）であった。また、GLP 適用試験においてマウス、ラット及びイヌ血漿中代謝物の測定に用いたフルバリデーション実施済の分析法の定量範囲は、0.50 又は 1.0μg/L（LLOQ）～1000μg/L（ULOQ）であった（2.6.4.2.3）。

2.4.3.2 吸収

フィネレノンの血漿クリアランスはマウス（約 0.0062L/(h·kg)）及びラット（約 0.011～0.014L/(h·kg)）で極めて低く、イヌ（約 0.16L/(h·kg)）及びサル（0.39L/(h·kg)）では低かった。フィネレノンを単回静脈内投与したときの血漿中未変化体の終末相における消失半減期は、マウスで約 12 時間、ラットで約 8.1～8.6 時間であった。一方、イヌでの終末相における消失半減期は約 1.7 時間、サルでは約 1.3 時間と短かった（2.6.4.3.1）。

生物薬剤学分類システム（BCS）に関する FDA ガイダンス[11]に基づくと、*in vitro* においてフィネレノンは Caco-2 細胞での膜透過性が高い化合物であった（2.6.4.8.1）。無処置及び胆管カニュレーションを施したラットに[^{14}C]フィネレノンを単回経口及び静脈内投与したマスバランス試験の結果に基づくと、消化管からの放射能の吸収率は高い又は完全であった。フィネレノンの絶対的バイオアベイラビリティは、ラットでは約 83%～120%と高い又は完全であり、イヌでは 0.03～0.3mg/kg の用量範囲で約 57%～60%、3mg/kg の用量では約 100%と中程度～高かった（2.6.4.3.1）。

ラットに単回投与後、血漿中濃度 - 時間曲線下面積（AUC）及び最高血漿中濃度（C_{max}）で評価したフィネレノンの曝露量は、検討した用量範囲（静脈内投与：0.3 及び 1mg/kg、経口投与：0.3～3mg/kg）で用量にほぼ比例して増加した。ラットに反復経口投与後、雄ラットに比較して雌ラットでの曝露量は最大で約 8.4 倍高く、これは CYP 酵素系の活性が概して雌ラットの肝臓で低いこと[12, 13] に起因すると考えられる。イヌにフィネレノンを単回経口投与後の曝露量は、0.03～0.3mg/kg の用量範囲では用量に比例して増加したが、0.3～3mg/kg の範囲では用量比例性を上回って増加した。イヌに反復投与後の薬物動態に性差はみられなかった（2.6.4.3）。

2.4.3.3 分布

種々の動物種の血漿中におけるフィネレノンの非結合型分率（f_u）は臨床濃度範囲においてCD-1 マウスで約 0.077%、Wistar ラットで約 0.047%、CHBB ウサギで約 0.18%、ビーグル犬で約 5.5%、カニクイザルで約 2.6%、ヒトでは約 8.3%であり、フィネレノンのタンパク結合率には種差が認められた。ヒトにおける主要な結合タンパクは、血清アルブミンであった。フィネレノンは、臨床濃度範囲においてラット及びイヌの全血中では主に血漿に分布した〔血液中濃度／血漿中濃度比（C_b/C_p）がそれぞれ約 0.55 及び約 0.72〕。一方、ヒトの全血中では血液と血漿にほぼ均等に分布した（C_b/C_p：約 0.94）（2.6.4.4.1）。マウス、ラット、イヌ、ウサギ及びヒトにおいて、薬理学的に不活性なヒト血漿中代謝物のタンパク結合率の種差はフィネレノンに比べて小さかった（非結合型分率は M-1a：約 5.8%～15%、M-1b：約 1.3%～12%、M-2a：約 17%～58%、M-3a：約 68%～82%）（2.6.4.8.6.2）。

分布容積はマウス（約 0.10L/kg）及びラット（約 0.11～0.14L/kg）で小さく、イヌ（約 0.39L/kg）及びサル（約 0.25L/kg）では中程度であった（2.6.4.3.1）。

ラットに[^{14}C]フィネレノンを単回投与したとき、放射能は種々の臓器・組織に分布した。放射能濃度が最も高かったのは、血液及び血流量が多い臓器・組織であった。脳では放射能濃度が極めて低かった（血液中濃度の 2%未満に相当）。この値は、成熟動物においては血液脳関門を通過した放射能よりもむしろ、脳に残存した血液中放射能を反映する。胎児では、血液脳関門の通過が示された〔胎児脳内放射能 AUC(0-24)は胎児血液中放射能 AUC(0-24)の約 10%〕。放射能の有色組織への親和性は低かった。また、[^{14}C]フィネレノンはラットの血液胎盤関門を中程度に通過した〔放射能 AUC(0-24)の胎児／母体血液比及び胎児血液／母体血液比はそれぞれ 0.06 及び 0.09〕。ラット体内の放射能は時間と共に消失し、不可逆的な結合や残留は認められなかった（2.6.4.4.2）。

2.4.3.4 代謝

[^{14}C]フィネレノンを単回経口投与したとき、マウス及びラット血漿中ではフィネレノンが圧倒的な主要成分であった（総放射能 AUC の 96%超）。対照的に、イヌ及びヒト血漿中では、フィネレノンが総放射能 AUC に占める割合はそれぞれ約 28%及び 7.1%であり、はるかに少なかった。ヒト血漿中では、ナフチリジン代謝物 M-1、M-2 及び M-3 が主成分であり、総放射能 AUC のそれぞれ約 49%、約 22%及び 9%を占めた（2.6.4.5.2）。これらの代謝物は軸性キラリティを示し、アトロプ異性体 M-1a、M-1b、M-2a、M-2b、M-3a 及び M-3b から成ることが明らかとなった。ラット、イヌ及びヒトの血漿及び／又は尿試料を分析した結果、いずれの動物種においても、各代謝物について主に一方のアトロプ異性体（「a」を付した一連の異性体であり、異性体存在比はいずれも 80%超）が認められた。ヒトでのマスバランス試験及び腎機能障害を有する患者での試験における代謝物の曝露量、並びに単回及び反復投与後のアトロプ異性体比のデータに基づくと、代謝物 M-1a、M-1b、M-2a 及び M-3a がヒト血漿中の主代謝物であることが明らかとなった（2.6.4.8.6.1）。ヒト血漿中の主代謝物は、いずれも MR に対する薬理学的な活性を有さず、意味のあるオフターゲット作用もないことが示された（2.6.2.2.1.5 及び 2.6.2.3.1.1）。*In vivo* でフィネレノン（*S*－エナンチオマー）が薬理学的に不活性なエナンチオマーBAY 94-8863（*R*－エナンチオマー）に反転しラセミ化が生じる可能性について、ヒト血漿中において検討した結果、フィネレノンのキラル反転／ラセミ化は生じないことが明らかとなった（2.6.4.5.3）。

ラット、イヌ及びヒトの全動物種を通じ、*in vivo* においてフィネレノンはほぼ酸化的代謝反応によってのみ消失し、主にナフチリジン代謝物（M-1、M-2 及び M-3）が産生する経路、及び寄与の程度は少ないが、恐らくエポキシド中間体の産生を経由したジヒドロジオール代謝物（M-4、M-5 及び M-8）を産生する経路が認められた。*In vivo* で得られた代謝プロファイルのデータは *in vitro* でのデータを反映しており、いずれの動物種においても、ナフチリジン代謝物の産生

経路（M-1、M-2 及び M-3 の排泄率の合計：ラットで約 41%、イヌで約 48%及びヒトで約 63%）が、ジヒドロジオール代謝物の産生経路（M-4、M-5 及び M-8 の排泄率の合計：ラットで約 17%、イヌで約 17%及びヒトで約 22%）よりも優勢であった。ヒトで認められた代謝物はすべて動物でも認められ、ヒトに特異的な代謝物はみられなかった（2.6.4.5.2）。

2.4.3.5 排泄

[^{14}C]フィネレノンを単回経口投与したとき、ラットでは放射能は主に胆汁／糞を介する経路（投与量の約 76%）で排泄されたが、イヌでは放射能は胆汁／糞を介する経路（投与量の 42%）及び尿を介する経路（投与量の約 53%）にほぼ均等に排泄された。ヒトでは、放射能は主に尿中に排泄された（投与量の約 80%）。放射能の回収率は、ヒトで完全（101%）であり、ラット（約 96%）及びイヌ（約 97%）においてもほぼ完全であった（2.6.4.6.1～2.6.4.6.3）。[^{14}C]フィネレノンを授乳ラットに単回静脈内投与後、放射能（未変化体及び／又は放射性代謝物）は中程度に乳汁中に分泌された（2.6.4.6.4）。

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

In vitro 試験に基づくと、フィネレノンは P-糖タンパク質（P-gp）の基質であった。一方、フィネレノンは乳癌耐性タンパク（BCRP）、取込みトランスポーターである有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1/1B3 及び有機カチオントランスポーター（OCT）1 のいずれに対しても基質とならなかった（2.6.4.8.2 及び 2.6.4.8.3）。フィネレノンの吸収率が高いこと（ヒトにおいて糞中への未変化体としての排泄は投与量の 1%未満であり、かつ糞中でフィネレノンは安定である）（2.6.4.5.2）を考慮すると、P-gp 阻害薬と併用してもフィネレノンは吸収過程において薬物動態学的薬物相互作用の被相互作用薬になる可能性は低いと考えられる。*In vitro* 試験の結果、フィネレノンの酸化的代謝は主に CYP3A4 により触媒され、わずかに CYP2C8 の寄与も認められた（2.6.4.5.1.2）。フィネレノンの消失経路として CYP3A4 が主要な役割を果たしていることは、中程度の CYP3A4 阻害薬であるエリスロマイシン〔併用時／非併用時のフィネレノンの AUC 比（AUCR）：3.5〕及びベラパミル（フィネレノンの AUCR：2.7）を併用した 2 つの臨床薬物相互作用試験の結果、CYP3A4 を介したフィネレノンの代謝割合（f_m）が 0.87～0.89 と算出されたことにより確認された。また、CYP2C8 の役割がわずかであることは、強い CYP2C8 阻害薬であるゲムフィブロジルと併用した臨床薬物相互作用試験で、意味のある薬物動態学的薬物相互作用が認められなかったことにより確認された（2.7.2.2.3.1.2）。

In vitro 試験のデータから、フィネレノンが *in vivo* において CYP3A4 酵素阻害薬として薬物動態学的薬物相互作用を引き起こす可能性が示されたが、CYP2C8、CYP1A1 及びそのほかのすべての CYP 並びにウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）分子種に対しては阻害薬とならないことが示された（2.6.4.5.1.4、2.6.4.5.1.5 及び 2.6.4.9）。また、*in vitro* 試験のデータから、フィネレノン及びその代謝物が *in vivo* において弱～中程度の CYP3A4 誘導作用を示す可能性が示された（2.6.4.5.1.6 及び 2.6.4.8.6.5）。しかし、フィネレノン 20mg を 1 日 1 回 10 日間反復投与後に CYP3A4 の典型基質ミダゾラムを単回経口投与した臨床薬物相互作用試験において、ミダゾラムの曝露量に意味のある変化は認められなかった（ミダゾラムの AUCR：1.11）。更に、CYP2C8 及び CYP2C9 の典型基質（レパグリニド及びワーファリン）を用いた臨床薬物相互作用試験でも、意味のある変化は認められなかった（2.7.2.2.3.2.2～2.7.2.2.3.2.4）。結論として、検討したすべての CYP 及び UGT 分子種の基質薬に対して、臨床においてフィネレノン及びその代謝物の阻害又は誘導作用により薬物動態学的薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。

更に、*in vitro* 試験のデータから、フィネレノン及びその代謝物が P-gp、BCRP 及び OATP の基質となる薬物との間で薬物相互作用を引き起こす可能性が示された（2.6.4.8.4、2.6.4.8.5、2.6.4.8.6.6 及び 2.6.4.8.6.7）。しかしながら、トランスポーターの典型基質薬を併用した臨

床試験成績（2.7.2.2.3.2.3 及び 2.7.2.2.3.2.5）に基づくと、フィネレノン 20mg を投与したとき、検討したトランスポーターの基質薬との間で臨床的に問題となる薬物動態学的薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる（2.6.4.9）。

2.4.4 毒性試験

薬物の長期使用のための現行の試験ガイドライン及び規制要件に従い、フィネレノンの毒性及びトキシコキネティクスプロファイルを評価した。単回投与試験は、ラット及びマウスを用いて実施した。一般毒性評価のための反復投与毒性試験をマウス、ラット及びイヌを用いて実施し、それぞれ最長 13 週間、26 週間及び 39 週間投与した。*In vitro* の細菌及び哺乳類細胞を用いる試験並びに *in vivo* マウス小核試験を実施し、遺伝毒性を評価した。マウス及びラットを用いた 2 年間がん原性試験を実施し、フィネレノンのがん原性を検討した。また、生殖発生毒性をラット及びウサギを用いて検討した。小児適用開発のため幼若毒性試験を実施した。光毒性を *in vitro* 試験で検討した。フィネレノンについて実施した非臨床毒性試験の一覧を、表 2.6.6.1- 1 及び 2.6.7.1 に示す。すべての重要な試験は、GLP 下で実施した。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

フィネレノンの単回投与毒性試験を、マウス及びラットを用いて実施した。ラットでは 300mg/kg 以上の経口投与で、マウスでは 200mg/kg の静脈内投与で死亡が認められた（2.6.6.2.1 及び 2.6.7.5）。非げっ歯類を用いたフィネレノンの単回投与毒性試験は実施していないが、イヌの 4 週間強制経口投与毒性試験（2.6.6.3.2.1）の成績から、単回経口投与時の影響を考察した。イヌに 15mg/kg/日まで投与したが、死亡はみられなかった。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

主要な反復投与毒性試験として、ラットを用いた 4 週間から 26 週間の強制経口投与毒性試験、イヌを用いた 4 週間から 39 週間の強制経口投与毒性試験を実施した。4 週間試験においては、投与期間終了後、ラットは 4 週間、イヌは 2 週間の休薬期間を設けた。加えて、マウスを用いた 13 週間強制経口投与毒性試験を実施した。主要な試験及び予備試験の結果は、2.6.6.3 及び 2.6.7.6、2.6.7.7 に記載した。

フィネレノンをマウス、ラット及びイヌに反復投与した結果、投与に関連した死亡や重度の一般状態への影響は認められず、忍容性が確認された。雌ラットでは 5mg/kg/日以上の用量群、雄ラットでは 15mg/kg/日以上の用量群において、主として体重増加量の減少などの軽度の一般状態の悪化がみられた。マウス及びイヌの主要な試験において、フィネレノンの忍容性は、検討した最高用量まで良好であった。

いずれの動物種においても、水及び電解質バランスへの影響（K^+/Na^+比の増加を含む）及び副腎球状帯の代償性肥大がみられた。反復投与毒性試験で検討した低用量は、薬理作用を示す用量であったことから、副腎への影響は低用量においても認められた。これらの変化は、主要な薬理作用の影響と考えられた。ラットでは 4 週間休薬後にごく軽度の肥大がみられたが、程度は軽減されており、回復性が示された。

ラットで、雌性生殖器に病理組織学的変化がみられた。13 週間強制経口投与毒性試験において、10mg/kg/日から卵巣に軽度な変化（泡沫状黄体細胞）がみられ、30mg/kg/日で子宮及び膣に萎縮性変化が認められた。また、ラット及びマウスを用いた混餌投与の予備試験では、高血中濃度が持続したが、雌性生殖器への影響は萎縮性変化に限定されていた。受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、軽度の卵巣重量減少が 10mg/kg/日からみられ、雌受胎能の軽度な低下が 30mg/kg/日で認められた。ラット 26 週間強制経口投与毒性試験の高用量 5mg/kg/日の曝露量は、推定ヒト曝露量の約 17 倍であったが、雌性生殖器に影響は認められなかった。ラットがん原性試験において、卵巣重量の減少が 10mg/kg/日群でみられたが、ラット、マウスともにがん原性試験で、そのほかの変化は認められなかった。したがって、長期曝露後においても、雌

性生殖器への影響は MRHD を明らかに上回る用量に限定されていた。これらの変化は、過度の薬理作用によるホルモン不均衡あるいは卵巣機能の調節の変化を示唆している可能性があると考えられた。MR は卵巣及びそのほかの雌性生殖器組織に発現しており[14、15]、卵巣機能の調節に関与する可能性がある。ラットを用いた反復投与毒性試験において、30mg/kg/日群の雌における非結合型濃度は約 72μg/L（0.2μM）であり、非ミネラルコルチコイドステロイドホルモン受容体との結合は、10μM までみられなかった（2.6.2.2.1.1）ことから、プロゲステロン受容体のようなそのほかのステロイド受容体とフィネレノンの相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。

雄イヌにフィネレノンを長期投与した結果、前立腺の小型化及び前立腺重量減少が 1.5mg/kg/日〔MRHD の非結合型 AUC（AUC_u）の約 10 倍に相当〕以上で観察され、無毒性量は 0.5mg/kg/日（ヒト AUC_uの 2 倍に相当）であった。病理組織学的変化は高用量 5mg/kg/日（ヒト AUC_uの 60 倍に相当）においても認められなかった。マウス及びラットの主要な試験では、このような所見はみられなかったが、中止されたラット 13 週間混餌投与毒性試験ではフィネレノンの高い曝露が持続し、前立腺及び精嚢の重量減少及び軽度の萎縮が 75mg/kg/日（ヒト AUC_uの約 27 倍に相当）でみられた。MRA のエプレレノンにおいてもイヌで前立腺重量減少が誘発され、萎縮が認められている。エプレレノンについては、軽度のホルモン不均衡が確認されており、それがこれらの変化の原因となった可能性が高い[16]。イヌにおけるフィネレノンの雄性生殖器への影響は顕著ではなく、臨床用量を上回る用量でみられており、MRHD の約 10 倍の曝露量でも、その程度は軽度であった。また、マウス 13 週間強制経口投与毒性試験では、精巣重量増加及び精上皮落屑の増加が、高用量の 10mg/kg/日（ヒト AUC_uの約 15 倍に相当）で観察された。ラットでは、中止された 13 週間混餌投与試験においてのみ、病理組織学的変化を伴わない精巣重量増加が、25mg/kg/日（ヒト AUC_uの約 21 倍に相当）以上の用量でみられた。受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、高用量の 30mg/kg/日（ヒト AUC_uの約 16 倍に相当）まで、雄の受胎能への影響は認められなかった。

マウス、ラット及びイヌにおいて、肝臓の軽度の変化が亜急性毒性試験でみられ、ラットでは亜慢性毒性試験でも観察されたが、ラット及びイヌを用いた慢性毒性試験、並びにマウス及びラットを用いたがん原性試験などの長期投与試験では認められなかった。これらが主に短期毒性試験に限定され、高い曝露量のみで発現し、また肝臓に変性性の変化を伴わなかったことを考慮すると、高い薬物負荷に対する肝臓の適応の徴候であり、肝毒性を示すものではないと考えられる。

ラットの 4 週間及び 13 週間強制経口投与毒性試験においては、腎臓に変性性の変化もみられた。これらの変化に関連して、4 週間投与後に血清尿素及び尿中グルタチオン S-トランスフェラーゼμ（μ-GST)の増加がみられ、軽度で可逆的な好塩基性尿細管の増加も認められた。また、イヌの 4 週間経口投与毒性試験では、高用量群の雌 2 例で腎臓の病理学的変化を伴わない血清尿素の増加がみられた。尿素の増加は、軽度の機能障害を示すものと考えられた。ラットにおける腎臓の病理組織学的変化（雌雄における、好塩基性尿細管の発現頻度及び程度の軽度の増加）及び生化学的変化（軽度かつ孤発性のμ-GST 増加）の程度が軽度であったこと、並びにイヌにおいて関連する病理組織学的変化が認められなかったことから、両動物種における尿素の貯留は、形態学的損傷による腎クリアランス能の低下によるものではないと考えられた。30mg/kg/日群の雌ラットにおける腎臓の限局性鉱質化は、血清カルシウム増加及び尿 pH 上昇に関連している可能性が考えられた。更に、ラット及びイヌの慢性毒性試験並びにラット及びマウスのがん原性試験では、腎毒性は認められなかった。また、ラットの 4 週間及び 13 週間試験では尿路の移行上皮過形成がみられたが、長期試験では認められなかった。4 週間及び 13 週間試験で腎臓を含む尿路にみられた所見は、いずれもフィネレノンの薬理作用に関連した二次的影響と考えられ、また経時的に悪化せず、長期投与後には認められなかったことから、薬理作用への適応性変化であることが示唆された。ラット 13 週間強制経口投与毒性試験成績から算出した安全域は、MRHD の曝露量に対して 10 倍以上であった。フィネレノンとの構造類似性がない、ステロイド型 MRA で

あるエプレレノンのラット 13 週間反復投与毒性試験において、ヒト治療時曝露量の 9～18 倍に相当する曝露量で、慢性進行性腎症の悪化がみられた[17]ことから、腎臓の所見は薬理作用に関連することが示唆される。

マウス、ラット及びイヌにおいて、十分な安全域が確認された（マウス：表 2.4.4- 1、ラット：表 2.4.4- 2、イヌ：表 2.4.4- 3）。マウス 13 週間強制経口投与毒性試験の無毒性量は、雄で 3mg/kg/日、雌で 7.5mg/kg/日であった。これらの用量における曝露量を、MRHD における曝露量と比較すると、総 AUC については 786～2288 倍、AUC_uについては 7～21 倍に相当する。ラット 26 週間強制経口投与毒性試験における無毒性量は、雄で 5mg/kg/日、雌で 1.5mg/kg/日であった。これらの用量における曝露量を、MRHD における曝露量と比較すると、総 AUC については 1067～1503 倍、AUC_uについては 6～8 倍に相当する。イヌ 39 週間強制経口投与毒性試験における無毒性量は、雄で 0.5mg/kg/日、雌で 5mg/kg/日であった。これらの用量における曝露量を、MRHD における曝露量と比較すると、総 AUC については 3～90 倍、AUC_uについては 2～60 倍に相当する。

要約すると、マウス、ラット及びイヌへの反復経口投与による、フィネレノンの毒性学的プロファイルは、副腎の適応性変化、並びに腎臓及び尿路における水及び電解質バランスに対する過度の薬理作用を特徴としていた。また、過度の薬理作用によるホルモン不均衡を反映したと考えられる雌雄生殖器の変化が認められた。いずれの変化もおおむね軽度であり、患者におけるフィネレノンの安全な使用を妨げるものではないと考えられた。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

フィネレノンの復帰突然変異作用及び染色体異常誘発性を検討するため、細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames 試験）、哺乳類細胞を用いる染色体異常試験及びマウス小核試験を実施した（2.6.6.4）。*in vitro* 試験及び *in vivo* 小核試験のいずれにおいても、フィネレノンの遺伝毒性は示されなかった。

2.4.4.4 がん原性試験

フィネレノンのがん原性を、マウス及びラットを用いた 1 日 1 回強制経口投与による 2 年間がん原性試験で評価した（2.6.7.10.1 及び 2.6.7.10.2）。マウスでは、フィネレノンを、雄には 30mg/kg/日まで、雌には 7.5mg/kg/日まで投与した。これらの用量におけるヒト MRHD の曝露量に対する曝露比は、総 AUC が雄で最大 2773 倍、雌で 2091 倍、AUC_uが雄で最大 26 倍、雌で 19 倍であった。ラットでは、フィネレノンを、雄には 20mg/kg/日まで、雌には 10mg/kg/日までの用量で投与した。これらの用量における曝露量比は、総 AUC が雄で最大 3773 倍、雌で 5061 倍、AUC_uが雄で最大 21 倍、雌で最大 28 倍であった。

用量設定は、雌雄のマウスを用いた 13 週間用量設定試験、雄マウスを用いた単回投与トキシコキネティクス試験、並びにラットを用いた 13 週間及び 26 週間毒性試験の結果に基づいて行った。雄マウスの高用量は、単回投与トキシコキネティクス試験でみられた、曝露量の飽和に基づいて設定した。雌マウスの高用量は、MRHD の定常状態曝露量と比較して 25 倍の AUC_uに到達するように設定した。雄ラットの高用量は、体重増加量減少の認められた最大耐量（MTD）に基づいて設定し、雌ラットの高用量は、十分な AUC 比（MRHD の定常状態曝露量と比較して 25 倍超）に基づいて設定した。曝露量の比較は、20mg の用量での健康被験者における定常状態の曝露量に基づいて行った。マウス及びラットがん原性試験の用量設定は、米国 FDA の臨床試験計画評価〔Special Protocol Assessment（SPA）〕における同意が得られている。がん原性試験の用量設定は、FDA が推奨する用量設定の基準を満たすものであった（2.6.6.5.3）。

マウス 2 年間がん原性試験では、軽度かつ一過性の体重増加量減少がみられたのみで、フィネレノンの忍容性が確認された。生存率に投与の影響はみられなかった。30mg/kg/日群の雄マウス

で精巣のライディッヒ細胞腺腫の頻度増加がみられた。腫瘍は 2 年間の投与期間終了時屠殺例のみに認められた。30mg/kg/日の用量における雄マウスの曝露量は、MRHD での曝露量と比較して、総 AUC については 2773 倍、AUC_uについては 26 倍であった。10mg/kg/日群においては、ライディッヒ細胞腺腫は認められず、この所見の無毒性量は 10mg/kg/日であった。安全域は、MRHD での曝露量と比較して、総 AUC については 1803 倍、AUC_uについては 17 倍であった。雌雄のマウスに、フィネレノン投与に関連するそのほかの所見はみられなかった（2.6.6.5.1）。

ラットでは、高用量を含めたいずれの用量においても、発がん性はみられず、生存率への影響も認められなかった。雌雄のラットで、軽微から顕著な体重増加量の減少がみられた。加えて、電解質バランスの変化及び副腎の適応性変化がみられた。高用量群の雌で卵巣重量減少がみられたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。いずれの変化も軽度であり、ラットを用いた亜慢性及び慢性毒性試験における所見と一致していた（2.6.6.5.2）。

マウス及びラットのライディッヒ細胞腫瘍は、抗アンドロゲン薬及び性ホルモン濃度を変化させるそのほかの薬剤、あるいは視床下部―下垂体系に影響を及ぼす薬剤によって誘発されることが知られている[18)]。このような腫瘍は、MRA であるのみならず、抗アンドロゲン活性も有するスピロノラクトンのラットがん原性試験においても観察されている[19)]。フィネレノンは MR に対して極めて選択的であるため、マウスがん原性試験の曝露量で、他のステロイド受容体との相互作用が生じる可能性は低い。したがって、げっ歯類（ラット）のライディッヒ細胞に発現してテストステロン産生に影響を及ぼすことが示されている MR[20)]を介して、フィネレノンがホルモン不均衡を誘発した可能性が高いと考えられる。ライディッヒ幹細胞の発生に、アルドステロンも直接関与している可能性がある[21)]ことから、フィネレノンが直接的な薬理作用を及ぼす可能性もある。しかしながら、ライディッヒ細胞腫瘍は試験終了時まで生存したマウスのみで観察されたこと、また、ライディッヒ細胞過形成の頻度増加は、マウスあるいはラットにおいて、いずれの用量でもみられなかったことから、フィネレノンの直接作用の可能性は低いと考えられる。軽度のホルモン不均衡を示唆する雄性生殖器の変化は、マウス 13 週間試験の高用量（10mg/kg/日）、及び一部のラット予備試験における極めて高い用量でも認められたことから、MRHD における曝露量を明らかに上回る曝露量でのホルモン不均衡が、マウスにおけるこの種の腫瘍の原因である可能性が高いと考えられた。

ラット及びマウスのがん原性試験成績を精査した結果、臨床用量においてヒトで問題となる発がんリスクはないと結論した。ライディッヒ細胞腫瘍の発現に関するげっ歯類の感受性、並びに MRHD を大きく上回る用量における薬理作用により発現したと考えられること、また十分な安全域があることから、雄マウスにおけるライディッヒ細胞腫瘍の増加は、ヒトで問題にはならないと考えられる。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

フィネレノンの生殖発生毒性を、ラット及びウサギを用いて詳細に検討した。いずれの動物種も、薬物動態及び代謝の観点から適した動物種である。また、ラットでは薬理作用がみられ、ウサギについても、MR が動物種間で保存されていることから、薬理作用が発現すると推測される。ラットを用いた、雌雄の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験を実施し、生殖機能を評価した。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験、及びラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を実施し、発生毒性を評価した。小児を対象とした臨床開発を支持するため、幼若ラットを用いた毒性試験を実施した（2.6.6.6）。

フィネレノンは雄の受胎能に影響を及ぼさなかった。ウサギではフィネレノンに起因する胚・胎児毒性はみられなかった。また、胚・胎児発生に関する試験において、胚・胎児致死性は認められなかった。フィネレノンはラットにおいて、雌の受胎能及び初期胚発生に影響を及ぼし、胚・胎児毒性（変異及び胎児体重減少）を示すとともに、出生前及び出生後の発生にも影響を及

ぼした。ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の高用量において、胎児 1 例にまれな奇形がみられた。ラット及びウサギで母動物の忍容性への影響がみられ、ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、及び胚・胎児発生に関する試験の高用量ではその程度が最大耐量を超えていた。

ラットにおいてフィネレノンは胎盤を通過し、乳汁中に分泌された（2.6.4.4.2.2 及び 2.6.4.6.4）。

2.4.4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

雌雄の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験を、フィネレノンの 3～30mg/kg/日の用量で実施した（2.6.6.6.1 及び 2.6.7.12）。すべての用量で、雌雄のラットに体重増加量の減少がみられ、高用量における減少の程度は、この種の試験における最大耐量を超えていた。フィネレノンの投与により、卵巣重量の軽度な減少が中用量 10mg/kg/日以上で、また雌受胎能の軽度の低下が高用量 30mg/kg/日で認められた。雄受胎能の変化は認められなかった。この試験の高用量でみられた、胚・胎児生存への軽度の影響（着床後胚死亡数の増加及び生存胚数減少）は、この用量の雌で認められた顕著な体重増加量の減少に起因する可能性が示唆された。雄の受胎能に関する無毒性量は高用量（30mg/kg/日）と判断され、この用量の安全域は、MRHD での曝露量と比較して、総 AUC が 2792 倍、AUC_uが 16 倍であった。雌の受胎能に関する無毒性量は 3mg/kg/日と判断され、この用量の安全域は、MRHD での曝露量と比較して、総 AUC が 1803 倍、AUC_uが 10 倍であった（表 2.6.6.9- 3）。

2.4.4.5.2 胚・胎児発生に関する試験

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（2.6.6.6.2.2）を、30mg/kg/日までの用量で実施した。10mg/kg/日以上で母動物毒性の徴候（体重増加量減少）がみられ、30mg/kg/日では妊娠 6～13 日の体重への影響は顕著であり、この種の試験における最大耐量を超えていると考えられた（2.6.7.13.1）。ラットの胚・胎児発生に対するフィネレノンの有害作用を示す変化として、胎児体重減少、骨化遅延及び／又は変異発現率増加が、中用量 10mg/kg/日以上で観察された。高用量 30mg/kg/日では、試験施設において自然発生性にみられる心臓、大血管、肺及び脾臓の奇形が複合した奇形が胎児 1 例で認められた。また、この胎児では、過去の背景データでは認められていない、まれな奇形（重複大動脈弓）もみられた。重複大動脈弓については、胚・胎児用量設定試験の高用量群（100mg/kg/日）の胎児 1 例においても認められた（2.6.6.6.2.1）。したがって、このまれな奇形とフィネレノン投与との関連性は否定できない。主要な試験では、検討したいずれの用量においても、投与に関連した他の奇形は認められなかった。また、投与に関連した胚・胎児致死性を示唆する変化は認められなかった。MRHD の曝露量と比較すると、ラット高用量（30mg/kg/日）の曝露量は、総 AUC が 4530 倍、AUC_uが 25 倍であった。奇形がみられなかった中用量（10mg/kg/日）における、ヒト曝露量比は、総 AUC が 3333 倍、AUC_uが 19 倍であった。発生毒性に関する無毒性量（3mg/kg/日）におけるラットの曝露量は、ヒト曝露量と比較して、総 AUC が 1848 倍、AUC_uが 10 倍であった（表 2.6.6.9- 3）。

ウサギでは、2.5mg/kg/日まで投与したところ、母動物毒性（体重増加量減少及び摂餌量減少）が高用量（2.5mg/kg/日）で認められた（2.6.6.6.2.4 及び 2.6.7.13.2）が、高用量においても、発生毒性の徴候はみられず、2.5mg/kg/日が発生毒性に関する無毒性量と考えられた。この用量における曝露比は、総 AUC が 598 倍、AUC_uが 13 倍であった（表 2.6.6.9- 3）。

以上より、フィネレノンはラットにおいて、母動物毒性用量の 10mg/kg/日以上で胚・胎児発生に対する有害作用を示した。この用量の AUC_uは、MRHD での曝露量の 19 倍に相当した。また、高用量（30mg/kg/日）群の胎児 1 例で、心臓及び血管の複合奇形及びまれな奇形（重複大動脈弓）が観察された。この胎児の母動物には顕著な母動物毒性が認められており、母動物毒性が胎児奇

形の要因となった可能性が考えられた。重複大動脈弓は、用量設定試験において高用量（100mg/kg/日）群の胎児 1 例にもみられたが、用量設定試験の検出力は低く、投与との明らかな関連性を示唆するものではないと考えられた。しかしながら、これまでに得られた成績に基づくと、投与との関連性は否定できない。また、ラット胚・胎児発生毒性試験の高用量（30mg/kg/日）における AUC_u は、MHRD の曝露量の 25 倍に相当した。発生毒性に関する無毒性量における、AUC_u に基づく安全域は、ラットで 10 倍、ウサギで 13 倍であり、ウサギにおいては母動物毒性のため、より高用量は検討されなかったものの、安全域は動物種間でよく一致していた。これまでに得られた成績を基に、ICH S5(R3)ガイドラインに示された安全域に関する考察を考慮すると、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験においてみられた所見が、ヒトのリスク評価における懸念の増加を示唆する可能性は低いと考えられた。

2.4.4.5.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験において、ラットに 10mg/kg/日までの用量を投与した結果、高用量で軽度の母動物毒性がみられた（2.6.6.6.3.2 及び 2.6.7.14）。中用量（3mg/kg/日）以上で、生後数日間の出生児死亡が増加した。また、高用量（10mg/kg/日）で、出生児の体重増加が抑制され、耳介開展が遅延した。更に、次世代児の神経行動評価において、中用量以上で、自発運動量が軽度に増加した。出生前及び出生後の発生に関する無毒性量は、低用量（1mg/kg/日）であり、この用量における安全域は、総 AUC が 324 倍、AUC_u が 2 倍であった（表 2.6.6.9- 3）。

生後 14 日に投与を開始した幼若動物毒性試験においては、フィネレノンによる一般状態への影響がみられなかった（2.4.4.5.4）ことから、出生前及び出生後の発生に関する試験でみられた生後数日間の所見は、未成熟な腎臓を有する、非常に幼若な出生児において、薬理作用に対する感受性がより高いことを示している可能性が考えられた。13 週間強制経口投与毒性試験（2.6.6.3.1.2.4）では、機能観察総合評価（FOB）及び自発運動量評価の結果、若齢（6 週齢）からフィネレノンを 30mg/kg/日まで 13 週間投与しても、CNS の機能への影響は認められなかった。成体ラットにおける、フィネレノンの血液脳関門透過性は極めて低く、脳における曝露量はわずかである（2.6.4.4.2.1）こと、またフィネレノン及び／又は代謝物は、ラットの胎盤を通過し、胎児の脳への曝露も認められていること（2.6.4.4.2.2）から、次世代児における CNS への影響は、妊娠中に出生前の脳がフィネレノンに曝露されたことによる可能性が考えられた。MR は脳内に広く発現し、MRA は脳機能を調節することが示されている[22, 23]。胎児がストレスなどに曝露されると、成人期の MR 発現に影響を及ぼす可能性があることが示された研究もあり[24]、本試験において、曝露終了後にも影響が持続した可能性も否定できない。

以上のように、妊娠期及び授乳期の母動物にフィネレノンを投与した結果、出生児死亡増加、出生児発達遅延及び次世代児の神経行動変化が認められた。MRHD での曝露量と比較すると、これらの変化のみられた用量における、AUC_u 曝露量比は 10 倍未満であった。したがって、妊娠中のフィネレノン曝露により、神経行動変化のような有害作用が小児に生じる可能性が考えられる。また、乳汁を介して新生児がフィネレノンに曝露された場合も、何らかの有害作用が誘発される可能性が考えられる。

2.4.4.5.4 幼若動物における試験

フィネレノンはラットの乳汁中に存在するため、ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験において、授乳中の幼若ラットはフィネレノンに間接的に曝露された。生後 7 日に間引きされた出生児において、トキシコキネティクス測定によりフィネレノンへの曝露が確認されている。

加えて、計画中の小児患者集団を対象としたフィネレノンの臨床開発を支持するため、幼若ラットを用いた 13 週間強制経口投与毒性試験、並びに雌幼若ラット受胎能に関する試験（いずれも生後 14 日に投与開始）を実施した。これらの試験は、成人患者集団においては主要な試験ではない。試験デザインは、EMA に小児臨床試験計画〔Pediatric Investigational Plan（PIP）〕として提出され、小児用医薬品委員会〔Pediatric Committee（PDCO）〕による同意が得られた。これらの試験において、10mg/kg/日までの用量を検討した結果、忍容性が認められ、毒性変化及び雌の受胎能への影響はみられなかった（2.6.6.6.4 及び 2.6.7.15）。

2.4.4.6 局所刺激性試験

消化管における局所刺激性は、経口投与による毒性試験で評価されていることから、局所刺激性に関する独立した試験は必要ないと考えられる。消化管の病理組織学的検査において、1 日 1 回経口投与による局所刺激性を示唆する結果は認められなかった（2.6.6.3、2.6.6.5）。

2.4.4.7 その他の毒性試験

2.4.4.7.1 抗原性試験

抗原性試験は実施しなかった。

2.4.4.7.2 免疫毒性試験

反復投与毒性試験において、免疫毒性の懸念を示唆する変化はみられないことから、独立した試験は実施しなかった。ラット 13 週間強制経口投与毒性試験（2.6.6.3.1.2.4）において、ヒツジ赤血球を用いた T 細胞依存性抗体反応（TDAR、プラークアッセイ）、脾臓細胞の FACS 及び免疫グロブリン検査を実施したが、免疫機能障害を示唆する変化はみられなかった。

2.4.4.7.3 代謝物に関する試験

フィネレノンの代謝物について、独立した毒性試験は実施しなかった。ヒト血漿中の主成分である代謝物 M-1、M-2 及び M-3 については、すべてフィネレノンの毒性試験で適切に評価されている。

代謝物 M-1、M-2 及び M-3 への曝露量を、マウス、ラット及びイヌの 13 週間強制経口投与毒性試験、ラットの 26 週間強制経口投与毒性試験、イヌの 39 週間強制経口投与毒性試験、マウス及びラットのがん原性試験、並びにラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験で測定した。マウス、ラット、イヌ及びウサギについては、測定された代謝物曝露量を、ヒトの母集団薬物動態解析による、MRHD での曝露量と比較した（2.6.6.8.3.1）。

毒性試験で測定された曝露量成績に基づき、反復投与毒性、がん原性及び胚・胎児発生毒性を評価するのに十分な代謝物 M-1、M-2 及び M-3 への曝露量が確認された。M-1 のヒト曝露量比は、反復投与毒性試験では総 AUC について最大で 2.9、AUC_u が最大で 4.4、がん原性試験では総 AUC が最大で 3.8、AUC_u が最大で 4.3、発生毒性試験では総 AUC が最大で 6.8、AUC_u が 2.5 であった。M-2 のヒト曝露量比は、反復投与毒性試験では総 AUC が最大で 18.8、AUC_u が最大で 52.3、がん原性試験では総 AUC が最大で 2.7、AUC_u が最大で 7.1、発生毒性試験では総 AUC が最大で 2.2、AUC_u が最大で 5.8 であった。M-3 の曝露量比は、反復投与毒性試験では総 AUC が最大で 1.8、AUC_u が最大で 2.0、がん原性試験では総 AUC が最大で 2.3、AUC_u が最大で 2.8、発生毒性試験では総 AUC が最大で 0.9、AUC_u が最大で 1.0 であった。

ラットについては、ヒト血漿中主代謝物であるアトロプ異性体の M-1a、M-1b、M-2a 及び M-3a への曝露量を、反復投与後のアトロプ異性体比に基づいて算出し（表 2.6.4.8- 12）、ヒト反復

投与時のアトロプ異性体比に基づいて算出したヒト曝露量と比較した。曝露量の詳細及び算出された曝露量安全域を 2.6.6.8.3.2 に示す。マウス、イヌ及びウサギにおいては、M-1、M-2 及び M-3 のみについて曝露量安全域を算出した。アトロプ異性体「a」が主要な異性体である（*in vitro* 評価結果、表 2.6.4.8- 9）ことを考慮すると、これらの曝露量安全域による評価は妥当と考えられる。

ラットにおいて、ヒト血漿中主代謝物 M-1a、M-1b、M-2a 及び M-3a の曝露量（AUC）はそれぞれの評価に十分であることが確認された。

M-1a の曝露量比は、反復投与毒性試験では総 AUC が最大 3.3、AUC_uが最大 3.4、がん原性試験では総 AUC が最大 4.4、AUC_uが最大 4.6、ラットの胚・胎児発生毒性試験では総 AUC 及び AUC_uが 2.3 であった。M-1b の曝露量比は、反復投与毒性試験では総 AUC が最大 1.3、AUC_uが最大 3.7、がん原性試験では総 AUC が最大 0.9、AUC_u が最大 2.5、ラットの胚・胎児発生毒性試験では総 AUC が 2.1、AUC_uが 5.9 であった。M-2a の曝露量比は、反復投与毒性試験では総 AUC が最大 2.0、AUC_uが最大 5.2、がん原性試験では総 AUC が最大 2.7、AUC_uが最大 7.1、ラットの胚・胎児発生毒性試験では総 AUC が 2.0、AUC_uが 5.3 であった。M-3a の曝露量比は、反復投与毒性試験では総 AUC が最大 1.3、AUC_uが最大 1.4、がん原性試験では総 AUC が最大 2.0、AUC_uが最大 2.2、ラットの胚・胎児発生毒性試験では総 AUC が 0.8、AUC_uが 0.9 であった。

2.4.4.7.4 依存性試験

フィネレノンは安全性薬理試験、単回及び反復投与毒性試験などの非臨床安全性試験において、CNS への影響がみられなかったことから、依存性試験は実施しなかった。更に、ラットを用いた分布試験において、脳への移行は非常に低かった（2.6.4.4.2.1）。

2.4.4.7.5 光毒性試験

フィネレノンは 290～700nm の波長光に軽度の吸収を示すことから、3T3-NRU 光毒性試験を実施した。その結果、PIF は 4.2 であり、光毒性閾値の 5 を下回っていた（2.6.6.8.5）。計 6 回の 3T3-NRU アッセイを実施し、うち 2 回で軽度の陽性（PIF：8 及び 10）が確認された。しかしながら、最近の公表論文によると、現行の閾値（PIF＞5）は、*in vivo* で光毒性を発揮する物質の予測には厳しすぎることが示唆されている[25)]。更に、皮膚や有色素組織にフィネレノンの蓄積は認められない（2.6.4.4.2）。したがって、フィネレノンは光毒性を有しないと考えられた。

2.4.4.7.6 不純物に関する試験

フィネレノンの不純物について、独立した毒性試験は実施していない。承認申請用の規格では、原薬中のすべての不純物の上限値は、安全性確認の閾値を下回っている（2.3.S.4.1）。また、製剤中で安全性確認の閾値を上回る分解物は、ヒト血漿中主代謝物の一つである BAY 1117267（M-1a）である。M-1a は、ヒト及び毒性試験で用いた動物種（ラット）で検出されている（2.6.6.8.3.2）ことから、安全性が確認されていると考えられる。

2.4.4.8 全身曝露量

フィネレノンの血漿中濃度を測定し、薬物動態プロファイルを評価する目的で、主要な毒性試験においてトキシコキネティクス評価を実施した。

トキシコキネティクス評価の結果、マウス、ラット及びイヌの全身曝露量は、MRHD での曝露量より大幅に高いことが、総 AUC 及び C_{max}、並びに非結合型分率にて補正した非結合型 AUC（AUC_u）及び C_{max}（$C_{max,u}$）のいずれについても示された。

腎臓病の治療における MRHD は、20mg の 1 日 1 回経口投与である。腎機能障害を有する被験者の曝露量は、腎機能が正常な被験者より高かったため、第Ⅰ相及び第Ⅱ相 a 成績に基づく母集団薬物動態解析によってヒト曝露量を算出した。その結果、総 AUC は 660μg·h/L、AUC_u は 55μg·h/L、C_{max} は 161μg/L、$C_{max,u}$ は 13.4μg/L であった（2.7.2）。非臨床リスク評価及び安全域の推定には、MRHD 及びこれらの曝露量を用いた。

マウスを用いた主要な 13 週間反復投与毒性試験において、雌雄のフィネレノン曝露量を同程度にする目的で、雄には 1～10mg/kg/日、雌には 0.5～7.5mg/kg/日を 1 日 1 回強制経口投与した。この試験の高用量における曝露量は、MRHD の曝露量と比較して、$C_{max,u}$ が 6 倍、AUC_u が 15～21 倍であった。がん原性試験の曝露量比は、$C_{max,u}$ が 5～8 倍、AUC_u が 19～26 倍であった（表 2.4.4-1）。

表 2.4.4- 1 主要なマウス毒性試験におけるフィネレノン定常状態曝露量及びヒト曝露量比

Daily dose [mg/kg/day]	Sex	Total exposure				Unbound exposure			
		C_{max}		AUC(0-24)		$C_{max,u}$		$AUC(0-24)_u$	
		[μg/L]	**MoE**	[μg·h/L]	**MoE**	[μg/L]	MoE	[μg·h/L]	**MoE**
13-week toxicity study in mice									
1	M	16200	101	202000	306	12	0.9	156	3
3 (NOAEL)	M	43800	272	519000	786	34	2.5	400	7
10	M	99400	617	1070000	1621	77	5.7	824	15
0.75	F	13500	84	217000	329	10	0.8	167	3
2.5	F	40200	250	632000	958	31	2.3	487	9
7.5 (NOAEL)	F	103000	640	1510000	2288	79	5.9	1163	21
104-week carcinogenicity study in mice									
1	M	13500	84	177000	268	10	0.8	136	2
3	M	34100	212	519000	786	26	2.0	400	7
10 (NOAEL)	M	97700	607	1190000	1803	75	5.6	916	17
30	M	135000	839	1830000	2773	104	7.8	1409	26
0.75	F	12500	78	190000	288	10	0.7	146	3
2.5	F	34800	216	661000	1002	27	2.0	509	9
7.5 (NOAEL)	F	87700	545	1380000	2091	68	5.0	1063	19
Human exposure[a]									
20 mg/day		161		660		13.41		54.98	

[a] Exposure derived from population kinetics
Fraction unbound (f_u): human: 8.33%, mouse: 0.077%
MoE: multiples of exposure (when compared to estimated human plasma levels);
AUC(0-24): AUC between 0 and 24 hours; $AUC(0-24)_u$: unbound AUC between 0 and 24 hours; C_{max}: maximum drug concentration; $C_{max,u}$: unbound C_{max};
NOAEL: No observed adverse effect level, M: male; F: female

ラットを用いた、4、13 及び 26 週間強制経口投与毒性試験を実施した。トキシコキネティクス評価の結果、曝露量は用量に伴って増加したが、その程度は用量比に比べて少なかった（雄：15mg/kg/日以上の用量、雌：全用量）。ラットでは、雄に比べて雌の曝露量が高かった。このため、長期投与試験において、雌雄で曝露量が類似するように、雌ラットの用量を低く設定した。ラットの 4 週間及び 13 週間強制経口投与毒性試験の高用量における曝露量は、MRHD の曝露量と比較して、$C_{max,u}$ が 4～5 倍、AUC_u が 15～23 倍であった。26 週間強制経口投与毒性試験の高用量における、定常状態での曝露量比もほぼ同じ範囲内であった。がん原性試験の曝露量比は、$C_{max,u}$ が 5～6 倍、AUC_u が 21～28 倍であった（表 2.4.4- 2）。

表 2.4.4- 2 主要なラット毒性試験におけるフィネレノン定常状態曝露量及びヒト曝露量比

		Total exposure				Unbound exposure			
Daily dose	**Sex**	**C_{max}**		**AUC(0-24)**		**$C_{max,u}$**		**$AUC(0-24)_u$**	
[mg/kg/day]		[µg/L]	**MoE**	[µg·h/L]	**MoE**	[µg/L]	MoE	[µg·h/L]	**MoE**
4-week toxicity study in rats									
3 (NOAEL)	M	18975	118	315146	477	9	0,7	147	3
10	M	57398	357	993599	1505	27	2.0	462	8
30	M	116639	724	1842506	2792	54	4.0	857	16
3 (NOAEL)	F	59273	368	1190202	1803	28	2.1	553	10
10	F	104374	648	2060230	3122	49	3.6	958	17
30	F	135460	841	2524171	3825	63	4.7	1174	21
13-week toxicity study in rats									
3	M	25813	160	419184	635	12	0.9	195	4
10 (NOAEL)	M	80808	502	1375110	2084	38	2.8	639	12
30	M	115355	716	1821813	2760	54	4.0	847	15
3 (NOAEL)	F	57285	356	1211627	1836	27	2.0	563	10
10	F	123245	765	2211234	3350	57	4.3	1028	19
30	F	155810	968	2680696	4062	72	5.4	1247	23
26-week toxicity study in rats									
1.5	M	7610	47	118000	179	4	0.3	55	1
5 (NOAEL)	M	42500	264	704000	1067	20	1.5	327	6
15	M	107000	665	1980000	3000	50	3.7	921	17
0.5	F	17000	106	349000	529	8	0.6	162	3
1.5 (NOAEL)	F	46500	289	992000	1503	22	1.6	461	8
5	F	101000	627	1990000	3015	47	3.5	925	17
104-week carcinogenicity study in rats									
2	M	17400	108	314000	476	8	0.6	146	3
6	M	64700	402	1030000	1561	30	2.2	479	9
20 (NOAEL)	M	143000	888	2490000	3773	66	5.0	1158	21
1	F	29500	183	599000	908	14	1.0	279	5
3	F	94700	588	1840000	2788	44	3.3	856	16
10 (NOAEL)	F	163000	1012	3340000	5061	76	5.7	1553	28
Human exposure[a]									
20 mg/day		161		660		13.41		54.98	

[a] Exposure derived from population kinetics
Fraction unbound (f_u): human: 8.33%, rat: 0.0465%
MoE: multiples of exposure (when compared to estimated human plasma levels);
AUC(0-24): AUC between 0 and 24 hours; $AUC(0-24)_u$: unbound AUC between 0 and 24 hours; C_{max}: maximum drug concentration; $C_{max,u}$: unbound C_{max};
NOAEL: No observed adverse effect level, M: male; F: female

イヌを用いた、4、13 及び 39 週間強制経口投与毒性試験を実施した。トキシコキネティクス評価の結果、曝露量は投与したすべての用量（0.5～15mg/kg/日）で用量比を上回って増加した。高用量での曝露量は、MRHD の曝露量と比較して、$C_{max,u}$ が 34～91 倍、AUC_u が 60～164 倍であった（表 2.4.4- 3）。

表 2.4.4- 3 主要なイヌ毒性試験におけるフィネレノン定常状態曝露量及びヒト曝露量比

	Total exposure				Unbound exposure			
Daily dose	**C_{max}**		**AUC(0-24)**		**$C_{max,u}$**		**$AUC(0-24)_u$**	
[mg/kg/day]	[µg/L]	**MoE**	[µg·h/L]	**MoE**	[µg/L]	MoE	[µg·h/L]	**MoE**
4-week toxicity study in dogs (males and females pooled)								
1.5	1265	8	3868	6	69	5.2	212	4
5 (NOAEL)	4637	29	19108	29	255	19.0	1049	19
15	22144	138	164713	250	1216	90.6	9043	164
13-week toxicity study in dogs (males and females pooled)								
1	1100	7	4562	7	60	4.5	250	5
3	3409	21	17591	27	187	14.0	966	18
10 (NOAEL)	15847	98	87738	133	870	64.9	4817	88
39-week toxicity study in dogs (males and females pooled)								
0.5 (M: NOAEL)	560	3	2110	3	31	2.3	116	2
1.5	2180	14	9910	15	120	8.9	544	10
5 (F: NOAEL)	8350	52	59600	90	458	34.2	3272	60
Human exposure[a]								
20 mg/day	161		660		13.41		54.98	

[a] Exposure derived from population kinetics
Fraction unbound (f_u): human: 8.33%, dog: 5.49%,
MoE: multiples of exposure (when compared to estimated human plasma levels);
AUC(0-24): AUC between 0 and 24 hours; $AUC(0-24)_u$: unbound AUC between 0 and 24 hours; C_{max}: maximum drug concentration; $C_{max,u}$: unbound C_{max};
NOAEL: No observed adverse effect level, M: male; F: female

2.4.5 総括及び結論

フィネレノンは新規の非ステロイド型選択的 MRA であり、*in vitro* で高い効力及び MR への選択性を示すとともに、*in vivo* で種々の動物モデルにおいて有効性を示した。ラットモデルにおいて尿タンパク検査、炎症促進性／線維化促進性遺伝子発現又は病理組織学的検討を行った結果、フィネレノンは弱いナトリウム利尿作用を示す用量で心臓及び腎臓の保護作用を示したのに対し、ステロイド型 MRA のエプレレノンでは、同等の効果を示すのに高用量が必要であった。

広範囲の受容体等のスクリーニングにおいて、非特異的なオフターゲット作用は認められなかった。

生命維持に重要な器官系（ECG を含む心血管系、呼吸系及び CNS）に関する安全性薬理試験において、フィネレノンによる有害作用は認められなかった。心室再分極に関する試験（*in vitro* の hERG K^+電流及びイヌにおける ECG 検査）では、ヒトにおいてフィネレノンが不整脈を誘発するリスクは低いと考えられた。

フィネレノンの吸収、分布、代謝及び排泄を *in vitro* 及び *in vivo* 試験で評価した。その結果、フィネレノンの薬物動態には顕著な種差は認められず、ヒトにおけるフィネレノンの代謝経路はラット及びイヌでも認められた。したがって、フィネレノンの薬物動態特性に基づくと、ラット及びイヌをそれぞれげっ歯類及び非げっ歯類として非臨床安全性評価に使用することは適切と考えられた。

フィネレノンについて、包括的な毒性試験プログラムを実施した。マウスで最長 13 週間、ラットで最長 26 週間、イヌで最長 39 週間の反復投与毒性試験を実施した結果、フィネレノンの忍容性は総じて良好であり、毒性学的プロファイルの特徴は、主として薬理作用に直接的又は間接的に関連する所見及び過度の薬理作用を示す所見であった。薬理作用に関連した所見として、水及び電解質バランスの障害、副腎の適応性変化並びに腎臓及び尿路の所見が認められた。雌のげっ歯類では、雌性生殖器に主として萎縮性の病理組織学的変化が認められた。加えて、雄性生殖器の軽度の変化がイヌでみられ、げっ歯類の高用量でも認められた。雌雄の生殖器の所見は、MRHD を上回る用量における、過度の薬理作用の徴候と考えられた。イヌにおける前立腺への影響は、既承認の MRA であるエプレレノンにおいても知られている。

検討した最高用量においても、特に注目すべき毒性は認められなかった。非臨床安全性試験において、肝毒性を示唆する変化はみられなかった。高い曝露量で観察された腎臓の所見は、化学構造が類似していないエプレレノンでも知られていることから、本薬に固有の毒性を示すものではなく、過度の薬理作用に起因する所見と考えられた。反復投与毒性試験における曝露量は、フィネレノンの毒性学的プロファイルを評価するのに適切であった。

フィネレノンについて *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験を実施した結果、遺伝毒性は認められなかった。

雌雄ラット及び雌マウスにおいて、フィネレノンのがん原性は認められなかった。30mg/kg/日群の雄マウスでみられたライディッヒ細胞腫瘍の増加は、ライディッヒ細胞上に発現することが知られている MR を介した、過度の薬理作用に起因した可能性が考えられた。げっ歯類はライディッヒ細胞腫瘍を発現しやすいことが知られていること、MRHD を上回る用量での薬理作用に起因する変化であること、また安全域は総 AUC が 1803 倍、AUC_uが 17 倍あることから、雄マウスにおけるライディッヒ細胞腫瘍の増加は、臨床使用において問題にならないと考えられる。

フィネレノンの生殖発生毒性についても詳細な検討を行った。フィネレノンは、高用量の 30mg/kg/日（ヒト総 AUC の 2792 倍、ヒト AUC_uの 16 倍）においても、雄の受胎能への影響はみ

られなかった。雌ラットでは、10mg/kg/日以上の用量で卵巣重量が軽度に減少した。高用量の30mg/kg/日（ヒト総 AUC の 3825 倍、ヒト AUC_u の 21 倍）では、雌の受胎能障害及び初期胚発生に対する有害作用が認められた。無毒性量の 3mg/kg/日における安全域は、MRHD での曝露量と比較して、総 AUC が 1803 倍、AUC_u が 10 倍であった。ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験では、胚・胎児致死性はみられず、ウサギでは、明らかな母動物毒性が誘発された最高用量でも、催奇形性は認められなかった。ラットでは、胚・胎児発生並びに出生前及び出生後の発生に、フィネレノンによる有害な影響がみられた。まれな奇形を有する胎児 1 例が、高用量の30mg/kg/日で認められた。この用量では、顕著な母動物毒性が認められ、また、ヒト曝露量比は総 AUC が 4530 倍、AUC_u が 25 倍であった。ラットの胚・胎児発生に関する無毒性量は 3mg/kg/日であり、この用量の安全域は、総 AUC が 1848 倍、AUC_u が 10 倍であった。ウサギでは母動物毒性のため、より高い用量は投与されなかったものの、AUC_u に基づく、発生毒性に関する無毒性量の安全域は 13 倍であり、動物種間でよく一致していた。これまでに得られた成績を基に、ICH S5(R3)ガイドラインに示された、安全域に関する考察を考慮すると、ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、並びにラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験でみられた所見が、ヒトのリスク評価における懸念の増加を示唆する可能性は低いと考えられた。

出生前及び出生後の発生に関する無毒性量は 1mg/kg/日であり、この用量における安全域は、総 AUC が 324 倍、AUC_u が約 2 倍であった。出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験結果から、妊娠中のフィネレノン曝露により、神経行動変化などの小児への有害作用が生じる可能性が考えられる。また、乳汁を介して新生児がフィネレノンに曝露された場合にも、何らかの有害作用が誘発される可能性が考えられる。

幼若動物を用いた毒性試験において、フィネレノンの投与を生後 14 日に開始し、13 週間継続したが、有害な影響はみられなかった。このことから、若齢ラットあるいは成体ラットと比較して、幼若ラットの感受性が高いことを示す成績はなく、また、幼若ラットにおいて新たな標的臓器毒性は認められなかった。

フィネレノンの発生毒性に関する成績に基づき、女性パートナーへの、男性を介した発生毒性が発現する可能性はないと考えられた。女性パートナーにおける最高血漿中濃度は、以下のように算出した。すなわち、母集団薬物動態解析から得られた、MRHD の 20mg/日における曝露量成績に基づく患者の総最高血漿中濃度は 161μg/L（0.16μg/mL）であり（最高精液中濃度と仮定する）、射精液量を 5mL、膣取込みを 100%、女性の血液量を 5L と仮定した場合、算出される女性の最高血漿中濃度は 5mL×0.16μg/mL/5L=0.16μg/L である。この濃度に基づくと、ラットの生殖発生毒性試験における、最も低い無毒性量での曝露量（出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験の無毒性量 1mg/kg/日での C_{max}：11700μg/L）と比較した安全域は 73000 倍であり、ウサギの胚・胎児発生に関する試験における無毒性量での曝露量（無毒性量の 2.5mg/kg/日での C_{max}：28900μg/L）と比較した安全域は 180000 倍以上である。また、非結合型濃度（対応する女性パートナーでは 0.0134μg/L、ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験の無毒性量では 5μg/L、ウサギ胚・胎児発生に関する試験の無毒性量では 53μg/L）の安全域も、ラットで 373 倍、ウサギで 3955 倍である。

フィネレノンのヒト血漿中の主代謝物は、毒性試験で使用した動物種において認められ、全身毒性、がん原性及び発生毒性を評価するために十分な曝露量に達していた。また、代謝物の構造は、*in silico* 評価によりクラス 5（変異原性なし）と評価された。

フィネレノンに光毒性は認められなかった。

以上、非臨床薬理試験及び安全性薬理試験における検討結果は、2 型糖尿病を合併する慢性腎臓病に対するフィネレノンの有効性を支持するものであった。フィネレノンの吸収、分布、代謝

及び排泄の特性についても評価した結果、毒性試験に使用した動物種の選択は妥当と考えられた。単回及び反復投与毒性試験では、患者での安全な使用の障害となるような臓器毒性及びそのほかの所見はみられなかった。遺伝毒性試験及び光毒性試験において、フィネレノンの臨床使用におけるリスクは示唆されなかった。また、マウス及びラットがん原性試験では、げっ歯類においてホルモン不均衡により誘発されることが知られているライディッヒ細胞腫瘍がマウスで増加したが、十分な安全域があることから、MRHD における発がん性は示唆されなかった。フィネレノンは、雄の受胎能に影響を及ぼさなかったが、雌の受胎能及び初期胚発生に対する有害作用が認められた。ラットにおいて、顕著な母動物毒性が発現した用量で、まれな奇形が単発的にみられたが、そのほかにフィネレノン投与に関連する可能性のある奇形はラット及びウサギのいずれにも認められなかった。胚・胎児致死性及び幼若動物毒性は認められなかったが、胚・胎児発生には有害作用がみられ、妊娠期及び授乳期に曝露された次世代児に、出生後死亡増加、生後の発達遅延及び神経行動変化がみられた。ラットにおいてフィネレノンは胎盤を通過し、乳汁中に分泌された。

総じて、フィネレノンの非臨床プロファイルは、2 型糖尿病を合併する慢性腎臓病の治療における安全な使用を支持するものと考えられた。

2.4.6 参考文献一覧

1) Zannad F et al., Eur Heart J 2012:33:2782-2795 (4.3.41)

2) Jeunemaitre X et al., Am J Cardiol 1987:60:820-825 (4.3.4)

3) Garthwaite SM et al., Mol Cell Endocrinol 2004:217:27-31 (4.3.5)

4) Bomback AS et al., Am J Kidney Dis. 2008:51:199-211 (4.3.22)

5) Navaneethan SD et al., Clin J Am Soc Nephrol 2009:4:542-551 (4.3.24)

6) Shavit L et al, Kidney Int 2012:81:955-968 (4.3.7)

7) Bakris GL et al., Am J Nephrol 2019:50:333-344 (4.3.9)

8) FDA, U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM). Guidance for Industry. Bioanalytical Method Validation. May 2001 (4.3.44)

9) FDA, U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM). Bioanalytical Method Validation. Guidance for Industry. May 2018. (4.3.46)

10) EMA, Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP/192217/2009. July 2011. (4.3.42)

11) FDA, U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. Guidance for Industry. Dec 2017. (4.3.45)

12) Mugford CA et al., Drug Metab Rev 1998:30:441-498 (4.3.52)

13) Kato R, Drug Metab Rev 1974:3:1-32 (4.3.50)

14) Tetsuka M et al., Biol Reprod 1999:60:330-335 (4.3.64)

15) Gomez-Sanchez EP et al., J Histochem Cytochem 2009:57:633-641 (4.3.58)

16) Levin S et al., Toxicol Pathol 2013:41:271-279 (4.3.60)

17) FDA, Inspra. Summary basis of approval, Pharmacology Review, 2002 (4.3.56)

18) Greaves P, Male Genital Tract, In: Histopathology of Preclinical Toxicity Studies, 4th edition, Elsevier, Amsterdam Boston London 2012:615-666 (4.3.59)

19) Aldactone® label, NDA 12-151/S-062, Revised January 2008 (4.3.54)

20) Ge R-S et al., Mol Cell Endocrinol 2005:243:35-42 (4.3.57)

21) Zhang J et al., Front Endocrinol 2018:9, Article 4 (4.3.65)

22) Smythe JW et al., Pharmacol Biochem Behav 1997:56:507-513 (4.3.62)

23) Mostalac-Preciado CR et al., Behav Brain Res 2011:223:88-98 (4.3.61)

24) Tamura M et al., J Neurosci 2011:31:11505-11514 (4.3.63)

25) Bauer D et al., Toxicol Sci 2009:108, S:428:PS 2061 (4.3.55)