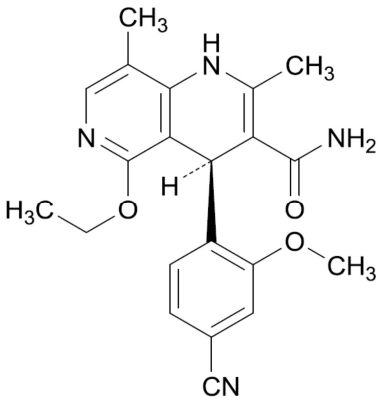
2.6.1 緒言

フィネレノン（JAN：フィネレノン、INN：finerenone、治験成分記号：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に対する治療薬として開発されてきた。

フィネレノンの理化学的性状に関する情報、申請効能・効果及び申請用法・用量を以下に記載する。

構造式	
医薬品一般的名称（JAN）	フィネレノン
国際一般名（INN）	finerenone
治験成分記号	BAY 94-8862
化学名	(4S)-4-(4-cyano-2-methoxyphenyl)-5-ethoxy-2,8-dimethyl-1,4-dihydro-1,6-naphthyridine-3-carboxamide
分子式	$C_{21}H_{22}N_4O_3$
分子量	378.43g/mol
キラリティ／立体化学	あり
申請効能・効果	2型糖尿病を合併する慢性腎臓病患者における腎臓病の進展抑制及び心血管疾患の発症抑制
申請用法・用量	通常、成人にはフィネレノンとして 20mg を 1 日 1 回経口投与する。

2 型糖尿病を合併する慢性腎臓病治療薬としての開発及び承認申請を支持する一連の非臨床試験成績は 2.6.2 以降に詳細に示す。

以下に「非臨床に関する概括評価」（2.4）並びに「非臨床概要文及び概要表」（2.6）で使用される略語一覧を記載する。

略語一覧

略語	英語名称	日本語名称
^{14}C	Carbon 14 labeled	^{14}C 標識
^{3}H	Tritium labeled	^{3}H 標識
^{125}I	Iodine labeled	^{125}I 標識
2-AA	2-aminoanthracene (Anthracene-2-amine)	2-アミノアントラセン
2-NF	2-nitrofluorene (2-nitro-9H-fluorene)	2-ニトロフルオレン
4-NPDA	4-nitro-o-phenylenediamine	4-ニトロ-o-フェニレンジアミン
A	Apical membrane	頂端膜
ACEI	Angiotensin converting enzyme inhibitor	アンジオテンシン変換酵素阻害薬
Ach	Acetylcholine	アセチルコリン
ADAMTS-1	A disintegrin and metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 1	-
AF-2	Ligand-dependent activation function 2	リガンド依存性活性化機能 2
AKI	Acute kidney injury	急性腎障害
ALD	Aldrin epoxidase	アルドリンエポキシダーゼ
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
Ang	Angiotensin II	アンジオテンシン II
ANOVA	Analysis of variance	分散分析
AR	Androgen receptor	アンドロゲン受容体
ARB	Angiotensin receptor blocker	アンジオテンシン受容体拮抗薬
Arg 1	Arginase 1	アルギナーゼ 1
ASC2	Activating signal co-integrator 2	-
ASL	Arterial spin labeling	-
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the plasma concentration vs. time curve (from time 0 to infinity)	時間 0 から無限時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{norm}	Dose normalized AUC	用量で正規化した AUC
AUC(0-x)	Area under curve over x h	0 時間から x 時間までの AUC

略語	英語名称	日本語名称
$AUC(0-x)_{norm}$	Area under curve over x h, normalized	正規化した 0 時間から x 時間までの AUC
$AUC(0-x)_{u}$	Area under curve over x h of unbound fraction	非結合型薬物の 0 時間から x 時間までの AUC
AUCR	AUC ratio	AUC 比
AUC_{u}	Area under curve of unbound fraction	非結合型薬物の AUC
AZT	3'-azido-3'-deoxythymidine	3'-アジド-3'-デオキシチミジン
B	Basal membrane	基底膜
BCS	Biopharmaceutical classification system	生物薬剤学分類システム
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク
BDC	Bile-duct cannulated	胆管カニュレーションを施した
bid	*bis in die* (twice a day)	1 日 2 回
BSEP	Bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
BW, b.w.	Body weight	体重
$C_{(24)}$, C_{24}	Drug concentration in plasma at 24 h after administration	投与後 24 時間における血漿中薬物濃度
CAC	CDER's Carcinogenicity Assessment Committee	CDER のがん原性評価委員会
CAT	Camitine acetyltransferase	カルニチンアセチルトランスフェラーゼ
C_{b}	Concentration in blood	血液中濃度
CD-1	Mouse strain, derived from Lynch's Swiss mice	Lynch の Swiss マウスに由来するマウスの系統
cDNA	Complementary deoxyribonucleic acid	相補的デオキシリボ核酸
$C_{eq,max}$	Maximum concentration of radioactivity	最高放射能濃度
$C_{eq,max,norm}$	$C_{eq,max}$ normalized to dose	用量で正規化した $C_{eq,max}$
CHBB	Himalayan rabbit strain	ヒマラヤウサギの系統
ChIP	Chromatin immune-precipitation	クロマチン免疫沈降
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
CKD	Chronic kidney disease	慢性腎臓病
CL	Clearance	クリアランス
C_{max}	Maximum concentration in plasma	最高血漿中濃度
$C_{max,norm}$	Maximum concentration, normalized	正規化した最高濃度

略語	英語名称	日本語名称
$C_{max,u}$	Maximum concentration of unbound fraction	非結合型薬物の C_{max}
cMI	Chronic myocardial infarction	慢性心筋梗塞
CNS	Central nervous system	中枢神経系
C_p	Concentration in plasma	血漿中濃度
Crea	Creatinine	クレアチニン
Crl:CD-1(ICR)BR	CD-1 outbred mouse, barrier reared, breeder Charles River	CD-1 非近交系マウス、バリア飼育、ブリーダー：Charles River 社
Crl:CHBB:HM	Himalayan rabbit strain, breeder Charles River	ヒマラヤウサギの系統、ブリーダー：Charles River 社
Crl: NMRI BR	NMRI outbred mouse, barrier reared, breeder Charles River	NMRI 非近交系マウス、バリア飼育、ブリーダー：Charles River 社
Crl:WI(Han)	Wistar Hannover outbred rat, breeder Charles River	Wistar Hannover 非近交系ラット、ブリーダー：Charles River 社
$C_{(tint)}$	Concentration at the end of the evaluation interval	評価区間終了時の濃度
CTGF	Connective tissue growth factor	結合組織増殖因子
CV	Cardiovascular	心血管系
C.V.	Coefficient of variation %	変動係数%
CYP	Cytochrome P450	チトクローム P450
DHT	Dihydrotestosterone	ジヒドロテストステロン
DKD	Diabetic kidney disease	糖尿病性腎臓病
DMPK	Drug metabolism and pharmacokinetics	薬物代謝及び薬物動態
DMSO	Dimethylsulfoxide	ジメチルスルホキシド
DOCA	Desoxycorticosterone acetate	デスオキシコルチコステロン酢酸エステル
dp/dt_{max}	Cardiac contractility	心収縮
dp/dt_{min}	Cardiac relaxation	心弛緩
ECG	Electrocardiogram	心電図
ECOD	7-ethoxycoumarin-deethylase	7-エトキシクマリン脱エチル化酵素
EE	Enantiomeric excess	鏡像体過剰率
EH	Epoxide hydrolase	エポキシドヒドロラーゼ
ELISA	Enzyme-linked immuno sorbent assay	酵素結合免疫吸着測定法
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
eNOS	Endothelial nitric oxide synthase	内皮 NO 合成酵素

略語	英語名称	日本語名称
ER	Estrogen receptor	エストロゲン受容体
EROD	7-ethoxyresorufin-deethylase	7-エトキシレゾルフィン脱エチル化酵素
ERY	Erythrocyte count	赤血球数
eq	Equivalent	等量
F	Bioavailability	バイオアベイラビリティ
F0	Filial 0	第0世代
F1	Filial 1	第1世代
F2	Filial 2	第2世代
F_a	Fraction absorbed	吸収率
FACS	Fluorescence activated cell scan	蛍光活性化細胞選別
FCS	Fetal calf serum	ウシ胎児血清
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
F_g	Intestinal availability	消化管アベイラビリティ
f_m	Fraction metabolized	消失に対する代謝寄与率
f_u	Fraction of free (unbound) drug	非結合型分率
GD	Gestation day	妊娠日数
GGT	γ-glutamyltransferase	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
GIT	Gastrointestinal tract	消化管
GLDH	Glutamate dehydrogenase	グルタミン酸脱水素酵素
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
GLU-T	UDP-glucuronyltransferase	UDP-グルクロン酸転移酵素
GR	Glucocorticoid receptor	グルココルチコイド受容体
GS-T	Glutathione S-transferase	グルタチオンS-トランスフェラーゼ
hCav1.2	Human voltage-gated (L-type) calcium channel/current isoform 1.2	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
HB	Hemoglobin concentration	ヘモグロビン濃度
HCT	Hematocrit	ヘマトクリット
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
hERG	Human ether-a-go-go related gene	ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子
HFrEF	Heart failure with reduced ejection fraction	左室駆出率が低下した心不全

略語	英語名称	日本語名称
hNav1.5	Human sodium channel/current isoform 1.5	ヒトナトリウムチャネル／電流アイソフォーム 1.5
HPLC	High performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
Hsd Cpb: WU	Wistar Unilever outbred rat, breeder Harlan Laboratories	Wistar Unilever 非近交系ラット、ブリーダー：Harlan Laboratories 社
Hsd Rcc DoBE	Beagle dog strain, breeder Harlan Laboratories	ビーグル犬の系統、ブリーダー：Harlan Laboratories 社
Hsd RccHan:Wist	Wistar Hannover outbred rat, breeder Harlan Laboratories	Wistar Hannover 非近交系ラット、ブリーダー：Harlan Laboratories 社
Hsd Win:NMRI	NMRI outbred mouse, breeder Harlan Laboratories	NMRI 非近交系マウス、ブリーダー：Harlan Laboratories 社
IC_{20}	Concentration required for 20% inhibition	20%阻害濃度
IC_{50}	Concentration required for 50% inhibition	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
$I_{in,max,u}$	Maximum unbound plasma concentration at the inlet of the liver	肝臓入り口における最高血漿中非結合型濃度
IL-x	Interleukin	インターロイキン
IP, ip, i.p.	Intraperitoneal(ly)	腹腔内
I/R	Ischemia/reperfusion	虚血／再灌流
IV, iv, i.v.	Intravenous(ly)	静脈内
k_a	Absorption rate constant	吸収速度定数
k_{deg}	Apparent first-order degradation rate constant	みかけの一次分解速度定数
K_i	Inhibition constant	阻害定数
K_i	Inhibition constant determined in vitro	*in vitro* で得られた阻害定数
K_I	Inhibitor concentration causing half-maximal inactivation	最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度
k_{inact}	Maximal inactivation rate constant	最大不活性化速度定数
k_{obs}	Observed (apparent first order) inactivation rate	（みかけの一次）不活性化速度
KIM-1	Kidney injury molecule-1	腎臓損傷分子-1

略語	英語名称	日本語名称
LBD	Ligand binding domain	リガンド結合ドメイン
LC-MS	Liquid chromatography-mass spectrometry	液体クロマトグラフィー／質量分析
LC-MS/MS	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
LD	Lactation day	授乳日数
LDH	Lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
LDL	Low-density lipoprotein	低密度リポタンパク質
LEUCO	Leucocyte count	白血球数
LLC-PK1	Lilly laboratory cancer porcine kidney 1	-
LLOQ	Lower limit of quantitation	定量下限
L-MDR1	Cell line expressing MDR1 transporter protein	MDR1 トランスポータータンパクを発現している細胞株
LOD	Limit of detection	検出限界
LSC	Liquid scintillation counting	液体シンチレーション計数
LV	Left ventricular	左心室／左室
LVEDP	Left ventricular end-diastolic pressure	左室拡張末期圧
LVM	Left ventricular mass	左室心筋重量
LYM	Lymphocyte count	リンパ球数
MARCoNI	Microarray Assay for Real-time Coregulator-Nuclear receptor Interaction	リアルタイムコレギュレーター－核受容体相互作用検出のためのマイクロアレイアッセイ
MATE	Multidrug and toxin extrusion protein	多剤排出トランスポーター
M-x	Metabolite x (x = 1 to n)	代謝物 x (x = 1～n)
MBq	Mega Becquerel	メガベクレル
MCH	Mean corpuscular hemoglobin	平均赤血球ヘモグロビン量
MCHC	Mean corpuscular hemoglobin concentration	平均赤血球ヘモグロビン濃度
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein-1	単球走化性タンパク-1
MCV	Mean corpuscular volume	平均赤血球容積
MDCKII	Madin-Darby canine kidney cells	Madin-Darby イヌ腎臓細胞
MDR1	Multidrug-resistance-protein 1	多剤耐性タンパク 1
μ-GST, μGST	Glutathione S-transferase mu	グルタチオン S-トランスフェラーゼ μ

略語	英語名称	日本語名称
MN	Micronucleated	小核を有する
MoE	Multiples of exposure, margins of exposure	曝露量比
MPP^+	1-methyl-4-phenylpyridinium	1-メチル-4-フェニルピリジニウム
MR	Mineralocorticoid receptor	ミネラルコルチコイド受容体
MRA	Mineralocorticoid receptor antagonist	ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬
MRHD	Maximum recommended human dose	最大推奨臨床用量
mRNA	Messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
MS	Mass spectrometry	質量分析
MS/MS	Tandem mass spectrometry	タンデム型質量分析
MTD	Maximum tolerated dose	最大耐量
MWF rat	Munich Wistar Frömter rat	Munich Wistar Frömter ラット
n.a., N/A, NA	Not applicable	該当なし
n.d.	Not detected	検出されていない
n.c.	Not calculated	計算されていない
NA	Noradrenaline	ノルアドレナリン
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NCoR1	Nuclear receptor corepressor 1	核内受容体コリプレッサー1
NCE	Normochromatic erythrocyte	正染性赤血球
NEUTRO	Neutrophil count	好中球数
NF-κB	Nuclear factor-κB	核内因子-κB
NGAL	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin	好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン
NMR	Nuclear magnetic resonance	核磁気共鳴
NMRI	Mouse strain, name refers to Naval Medical Research Institute	マウスの系統、名前は Naval Medical Research Institute に由来
NO	Nitric oxide	一酸化窒素
NOAEL	No-observed-adverse-effect-level	無毒性量
NOEL	No-observed-effect-level	無影響量
NRU	Neutral red uptake	ニュートラルレッド取り込み
n.t.	Not tested	試験せず
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター

略語	英語名称	日本語名称
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
OD, od	once daily	1日1回
OECD	Organization for economic co-operation and development	経済協力開発機構
OPN	Osteopontin	オステオポンチン
PAH	p-aminohippuric acid	パラアミノ馬尿酸
PAI-1	Plasminogen activator inhibitor-1	プラスミノゲンアクチベーターインヒビター-1
P_{app}	Apparent permeability coefficient	みかけの透過係数
p.c.	*post coitus*	交配後
PCE	Polychromatic erythrocyte	多染性赤血球
PCR	Polymerase chain reaction	ポリメラーゼ連鎖反応
PDCO	Pediatric committee	小児用医薬品委員会
PEG	Polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
PGC-1α	Peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1α	ペルオキシゾーム増殖剤活性化受容体γコアクチベーター1α
P-gp	P-glycoprotein	P-糖タンパク質
PhIP	2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine	2-アミノ-1-メチル-6-フェニルイミダゾ［4,5-b］ピリジン
PIF	Photoirritation factor	光毒性係数
PIP	Pediatric Investigational Plan	小児臨床試験計画
PND	Postnatal day	生後日数
po	*per os* (by mouth, orally)	経口
PopPK	Population pharmacokinetics	母集団薬物動態
PPAR	Peroxisome proliferator-activated receptor	ペルオキシゾーム増殖剤活性化受容体
ppm	Parts per million	百万分率
PQ	PQ interval in ECG	ECGにおけるPQ間隔
PR	Progesterone receptor	プロゲステロン受容体
proBNP	Prohormone of brain natriuretic peptide	脳性ナトリウム利尿ペプチド前駆体
PTZ	Pentylenetetrazole	ペンチレンテトラゾール
PXR	Pregnane X receptor	プレグナンX受容体

略語	英語名称	日本語名称
QC	Quality control sample (bioanalytics)	品質管理用検体（生体試料分析）
Q_h	Hepatic blood flow	肝血流量
QRS	QRS complex in ECG	ECG における QRS 群
QT	QT interval in ECG	ECG における QT 間隔
QTc	Corrected QT interval in ECG	ECG における補正 QT 間隔
QWBA	Quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
RAAS	Renin-angiotensin-aldosterone system	レニン - アンジオテンシン - アルドステロン系
R_AAUC	Accumulation ratio = $AUC(0\text{-}x)_{ss}$ / $AUC(0\text{-}x)_{Day1}$	蓄積比 = $AUC(0\text{-}x)_{ss}$ / $AUC(0\text{-}x)_{Day1}$
R_AC_{max}	Accumulation ratio = $C_{max,ss}$ / $C_{max,Day1}$	蓄積比 = $C_{max,ss}$ / $C_{max,Day1}$
RANTES	Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted	-（血小板第 4 因子（PF4）スーパーファミリーに属するケモカイン）
RETI	Reticulocyte	網状赤血球
RIS	Relative induction scores	相対誘導スコア
RLU	Relative light units as emitted by the luciferase reporter gene	ルシフェラーゼレポーターアッセイにおける相対発光強度
RNA	Ribonucleic acid	リボ核酸
ROS	Reactive oxygen species	活性酸素種
S9	Supernatant after centrifugation at 9000 g	9000 g で遠心分離後の上清
SBP	Systolic blood pressure	収縮期血圧
s.c.	Subcutaneous(ly)	皮下
SCHH	Sandwich-cultured human hepatocytes	サンドイッチ培養ヒト肝細胞
SCNN1A	Sodium channel epithelial 1 alpha subunit	ナトリウムチャンネル上皮 1α サブユニット
SD, S.D.	Standard deviation	標準偏差
SEM	Standard error of mean	平均値の標準誤差
SGLT2	Sodium dependent glucose co-transporter 2	ナトリウム - グルコース共輸送体 2
SHRSP	Stroke-prone spontaneous hypertensive rat	脳卒中易発症高血圧自然発症ラット
SMA	Smooth muscle actin	平滑筋アクチン
SoC	Standard of care	標準的治療

略語	英語名称	日本語名称
SPA	Special protocol assessment	臨床試験計画評価
SRC-x	Steroid receptor coactivator-x	ステロイド受容体コアクチベーター-x
ss	Steady state	定常状態
$t_{1/2}$	Half-life	半減期
$t_{1/2,app}$	Apparent half-life	みかけの半減期
T	Time of infusion	注入時間
T3	Triiodothyronine	トリヨードサイロニン
T4	Thyroxine	サイロキシン
TAC	Transverse aortic constriction	大動脈縮窄
TCA	Taurocholic acid	タウロコール酸
TDAR	T-cell dependent antibody response	T 細胞依存性抗体反応
TGF	Transforming growth factor	トランスフォーミング増殖因子
THRO	Thromobocyte count	血小板数
TIF1α	Transcriptional intermediary factor 1α	転写中間因子 1α
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
t_{last}	Last time point used for pharmacokinetic evaluation	薬物動態評価での最終測定時
T_{max}, t_{max}	Time to reach maximum drug concentration	最高薬物濃度到達時間
TNF	Tumor necrosis factor	腫瘍壊死因子
Tnnt2	Cardiac troponin T (troponin T type 2)	心筋トロポニン T (トロポニン T タイプ 2)
TNX	Tenascin-X	テネイシン-X
TRAP220	RNA polymerase II transcription subunit 1	RNA ポリメラーゼ II 転写サブユニット 1
TSH	Thyroid stimulating hormone	甲状腺刺激ホルモン
UAE	Urine albumin excretion	尿中アルブミン排泄量
UGT	Uridine diphosphate glucuronosyltransferase	ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素
ULOQ	Upper limit of quantitation	定量上限
UV	Ultraviolet	紫外線
V, v	Volume	容積
vs, vs.	*versus* (as opposed to)	対（とは対照的に）

略語	英語名称	日本語名称
V_{ss}	Volume of distribution at steady state	定常状態における分布容積
WBA	Whole-body autoradiography	全身オートラジオグラフィー

2.6.2 薬理試験の概要文の目次

2.6.2.1 まとめ..... 3
2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験..... 3
2.6.2.1.2 副次的薬理試験..... 4
2.6.2.1.3 安全性薬理試験..... 5
2.6.2.1.4 薬力学的薬物相互作用試験..... 5
2.6.2.2 効力を裏付ける試験..... 5
2.6.2.2.1 *In vitro* 試験..... 6
2.6.2.2.1.1 細胞を用いたステロイドホルモン受容体アッセイ系における有効性及び選択性..... 6
2.6.2.2.1.2 MR 結合アッセイにおける効力及び選択性..... 8
2.6.2.2.1.3 ヒト野生型 MR 及び機能獲得型 S810L 変異 MR を介する薬理的 *in vitro* 特性..... 9
2.6.2.2.1.4 フィネレノンによるコレギュレーターのリクルートに及ぼす作用..... 10
2.6.2.2.1.5 ヒト血漿中のフィネレノン主代謝物アトロプ異性体の *in vitro* 薬理作用..... 12
2.6.2.2.2 *In vivo* 試験..... 12
2.6.2.2.2.1 無麻酔ラットにおける単回投与での *in vivo* 利尿作用..... 12
2.6.2.2.2.2 無麻酔イヌへの単回経口投与における抗ミネラルコルチコイド作用..... 13
2.6.2.2.2.3 高血圧誘発臓器障害の DOCA-salt ラットモデルにおける作用..... 13
2.6.2.2.2.4 慢性心筋梗塞ラットモデルにおける作用..... 18
2.6.2.2.2.5 脳卒中易発症高血圧自然発症ラットモデルにおける作用..... 20
2.6.2.2.2.6 圧負荷誘発心肥大マウスモデルにおける作用..... 22
2.6.2.2.2.7 心筋線維化マウスモデルにおける作用..... 22
2.6.2.2.2.8 2 型糖尿病ラットモデルにおける拡張機能における作用..... 23
2.6.2.2.2.9 虚血／再灌流誘発慢性腎臓病マウスモデルにおける作用..... 24
2.6.2.2.2.10 虚血／再灌流誘発慢性腎臓病ラットモデルにおける作用..... 25
2.6.2.2.2.11 アルブミン尿を伴う遺伝性慢性腎臓病ラットモデルにおける作用..... 26
2.6.2.3 副次的薬理試験..... 27
2.6.2.3.1 *In vitro* 選択性プロファイル..... 27
2.6.2.3.1.1 オフターゲットに対する作用..... 27
2.6.2.3.1.2 ヒト心筋イオンチャネル発現細胞におけるフィネレノンのナトリウム及びカルシウムチャネルに対する作用..... 27

2.6.2.4　安全性薬理試験 28
2.6.2.4.1　*In vitro* 試験 29
2.6.2.4.1.1　*In vitro* における心室再分極 29
2.6.2.4.2　*In vivo* 試験 29
2.6.2.4.2.1　呼吸器系 29
2.6.2.4.2.2　中枢神経系 29
2.6.2.4.2.2.1　一般行動、自発運動活性及び体温 29
2.6.2.4.2.2.2　ペンチレンテトラゾール誘発痙攣 29
2.6.2.4.2.2.3　運動協調性 30
2.6.2.4.2.3　心血管系 30
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験 30
2.6.2.6　考察及び結論 30
2.6.2.7　図表 35
引用文献一覧 36

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験

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）拮抗薬であり、心腎系疾患に対する新たな治療薬となる可能性がある。

一連の効力を裏付ける試験を実施し、フィネレノンの有効性及び特異性を評価した。

In vitro 試験では、リガンド結合領域又は全長受容体を用いた細胞系トランス活性化アッセイ及び放射性リガンド結合アッセイにおいて、フィネレノンの作用を検討した。MR トランス活性化アッセイにおいて、フィネレノンの IC_{50} は 17nM であり、その他のステロイドホルモン受容体のトランス活性化アッセイにおいては最高 10μM まで活性を示さなかったことから、フィネレノンは他のステロイドホルモン受容体に対して少なくとも 500 倍以上の選択性を有することが示された。特に、アンドロゲン受容体（AR）に対して 10μM まで活性を示さなかった。類薬であるスピロノラクトンの AR アンタゴニスト活性が、臨床的に有害な内分泌学的作用（女性化乳房等）の発現に関連するとされていることから、フィネレノンの高い選択性は重要な意味を有している。また、放射性リガンド結合アッセイの成績から、全長 MR 受容体においてフィネレノンは選択的かつ競合的な MR 拮抗薬（MR アンタゴニスト：MRA）であることが確認された。

フィネレノンは、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、ステロイド型の 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（スピロノラクトンの平均 2 倍、及びエプレレノンの 40～70 倍）。また、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。この 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）によっても活性化されることが知られている。

フィネレノンは MR 結合ポケット内においてステロイド型 MRA とは違う組み合わせのアミノ酸群と接し、異なる結合様式を示す。これは、フィネレノンが MR の C 末端 activating function 2（AF-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”であることに起因し、その結果、受容体―リガンド複合体は不安定であり、転写コレギュレーターを動員することができない。アルドステロンを介する転写コレギュレーターの動員に対する阻害作用を検討した *in vitro* 試験において、フィネレノンとエプレレノン間で効果と効力に違いがみられた。

フィネレノンのヒト血漿中主代謝物の *in vitro* における検討により、ヒト血漿中主代謝物は最高 9μM までヒト MR に対して薬理作用を示さなかった。

In vivo 試験では、フィネレノンを複数の動物モデルで評価した。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、短期間投与では影響はみられなかった。

慢性高血圧、虚血性心疾患及び腎疾患等の動物モデルにおいてフィネレノンの作用を検討した。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、心腎の臓器障害に対して保護作用を示した。フィネレノンは用量依存的に収縮期血圧（SBP）及

び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（NT-proBNP）濃度を減少させた。フィネレノンは、ナトリウム利尿作用が同等の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尿タンパクを減少させた。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も減少させ、ナトリウム利尿作用が同等の用量での比較でエプレレノンよりも高い有効性を示した。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。DOCA-salt 処理ラットの心臓及び腎臓の病理組織学的分析から、本動物モデルにおけるフィネレノンの臓器保護作用が明らかになった。本モデルにおいてエプレレノンが臓器保護作用を示すためには、より高用量が必要であった。

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保護作用を示し、1mg/kg で血行動態機能が改善した。また、数種の疾患関連バイオマーカーも減少した。

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ところ、フィネレノンはラットの病態及び死亡に対して比較薬と異なり顕著な抑制作用を示した。また、病理組織学的分析から、心筋細胞の変性に対して保護作用を示し、更に、腎保護作用も示した。

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保護作用は、エプレレノンとは異なる心筋遺伝子発現パターンに付随するものであった。

マウスの心筋線維化モデルにおいて、フィネレノンとエプレレノンを比較した。フィネレノンが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抑制したのに対して、エプレレノンは有意な効果を示さなかった。フィネレノンの抗線維化作用は、*in vivo* での心筋組織及び *in vitro* での単離心筋細胞における線維化促進性のテネイシン-X（TNX）発現に対する有意な阻害作用に付随していた。一方、エプレレノンは *in vivo* で TNX 遺伝子発現に無影響であり、*in vitro* では非常に高濃度でのみ発現に影響を及ぼした。

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関連の拡張期心機能不全を抑制した。

フィネレノンは慢性腎臓病（CKD）マウス及びラットモデルにおいて、クレアチニン及び尿素の増加を抑制することで、虚血／再灌流（I/R）誘発の慢性及び進行性の腎機能障害及び腎構造の変質に対して保護作用を示した。尿細管障害（尿細管の拡張、尿円柱の出現及び細胞剥離）及び尿タンパクはフィネレノン投与群で有意に減少した。フィネレノン投与ラットでは、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）の発現、並びにシリウスレッド染色により判定される尿細管間質性線維化がそれぞれ有意に減少した。

フィネレノンは、アルブミン尿及び内皮障害を自然発症する遺伝性 CKD ラットモデルにおいて、尿中アルブミン排泄を 40%以上減少させ、SBP を有意に低下させた。

2.6.2.1.2 副次的薬理試験

フィネレノン及び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)〕のオフターゲット（全部で 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）に対する作用を検討した結果、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。また、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、特異的 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。心筋イオンチャネルの *in*

vitro ボルテージクランプ試験において、フィネレノン及び主代謝物は 10μM ま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（hERG）K^+電流、ヒトナトリウムチャンネル／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）カルシウムチャンネル／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。

2.6.2.1.3 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〔中枢神経系（CNS）、心電図（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 *in vitro* 試験及び単回投与による *in vivo* 試験により検討した。

In vitro 試験では、フィネレノンをジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解した。*In vivo* 試験では、フィネレノンをエタノール／ソルトール／水（10：40：50）若しくは PEG400／グリセリン／水（96.9：6.0：10.0）（ラット）又はエタノール／PEG400（10：90）（イヌ）に溶解又は懸濁して経口投与した。

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 及び呼吸器系に有害な作用は認められなかった。PQ 間隔はわずかに短縮したが、イヌの血行動態及びその他の ECG パラメータ並びに *in vitro* での心室再分極（hERG K^+電流）に対して有害な作用は認められなかった。また、フィネレノンの 3 種類の主代謝物 BAY 1117267（M-1a）、BAY 1117268（M-2a）及び BAY 1117271（M-3a）は *in vitro* での心室再分極（hERG K^+電流）に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.1.4 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

アルドステロンは、細胞内 MR を活性化し、生理的フィードバックループを介して腎上皮細胞のカリウム排泄及びナトリウムの保持をコントロールする。“アルドステロンブレークスルー”現象〔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）の使用によるアルドステロンの増加、MR 産生増加又はアルドステロン非依存性の MR 活性化（例えば、別の MR 高親和性リガンドであるコルチゾールによって起こる）のこと〕などにより引き起こされる慢性的なアルドステロン分泌増加は、非上皮細胞において、いわゆる“MR 過剰活性化”状態を引き起こし、その結果、炎症促進性の環境が生じて血管、心筋及び腎臓の繊維症から、最終的に臓器障害、心不全及び腎不全につながる[1, 2)]

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このような MR の過剰活性化は心血管系疾患の発症の原因になる。既存のステロイド型 MRA であるスピロノラクトン及びエプレレノンは幾つかの点において臨床使用上の課題がある[3)]。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、ステロイドホルモン受容体ファミリーの AR に対してアンタゴニスト活性並びに 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）が認められることがある[4, 5)]。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[6)]。また、両剤ともに、特に、腎機能低下患者において ACEI 又は 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 患者に 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 の腎保護作用が検討されている。1 型又は 2 型糖尿病を合併する CKD 患者において、ACEI 又は ARB に加えて MRA を追加投

与することにより尿中アルブミン／タンパク質排泄は30%～60%減少した[7]。しかしながら、アルブミン尿は改善するものの、これらのMRA投与により重篤な高カリウム血症が高頻度でみられた。両ステロイド型MRAは2型糖尿病を合併するCKDに対する効能・効果を有していない。このように既存のステロイド型MRAで知られている課題を克服するため、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[2, 8]。

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〔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[9]。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評価した。

2.6.2.2.1　*In vitro*試験

2.6.2.2.1.1　細胞を用いたステロイドホルモン受容体アッセイ系における有効性及び選択性

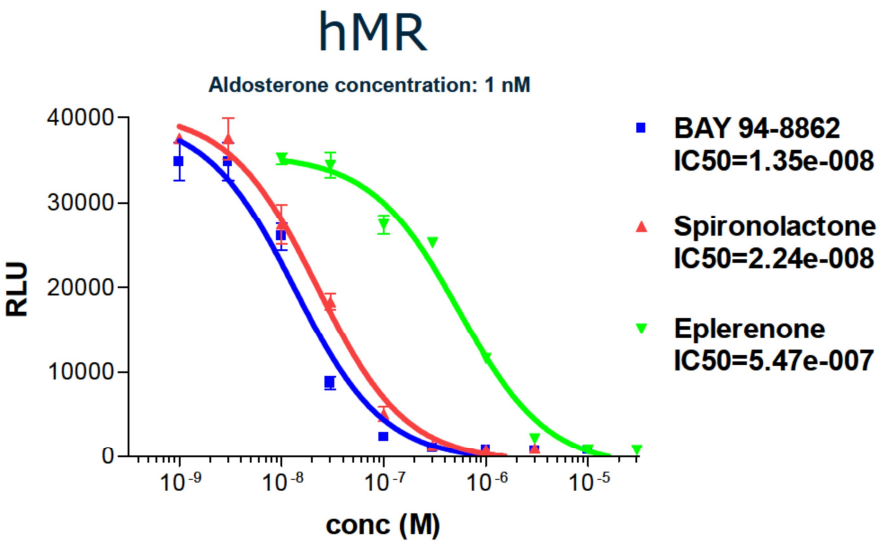
参照項目：4.2.1.1.1 PH-35689

フィネレノンの特性を、スピロノラクトン及びエプレレノンを対照物質として種々の*in vitro*試験で検討した。

試験系として、ヒト、ラット及びイヌのミネラルコルチコイド、ヒトのグルココルチコイド、アンドロゲン、プロゲステロン並びにエストロゲンの受容体〔それぞれMR、GR、AR、PR及びエストロゲン受容体（ER）（ERα及びERβ）〕のリガンド結合ドメイン（LBD）とGAL4 DNA結合ドメインとの融合タンパク質、並びにGAL4結合エレメント及びホタルルシフェラーゼ遺伝子を含むチミジンキナーゼプロモーターコンストラクトを安定発現するチャイニーズハムスター卵巣（CHO）-K1細胞を用いた機能的細胞アッセイ系のプラットホーム（トランス活性化アッセイ）を使用した。各受容体のLBD発現細胞をマルチプレートに入れ24時間培養後に、それぞれのアゴニスト及び被験物質（フィネレノン10^{-9}～10^{-5}M、スピロノラクトン10^{-9}～10^{-5}M、エプレレノン3×10^{-9}～3×10^{-5}Mの範囲）を加え5～6時間培養した後、アゴニスト作用により発現したルシフェラーゼの活性を発光検出ビデオカメラシステムで測定した。

アゴニストとしてアルドステロン（1nM）を用いたヒトMR-LBDトランス活性化アッセイにおいて、フィネレノン、スピロノラクトン及びエプレレノンはアルドステロンの作用を濃度依存的に阻害した。典型的な濃度反応性曲線を図2.6.2.2- 1に示す。この*in vitro*アッセイ系において、フィネレノンはスピロノラクトンと同程度の濃度で、エプレレノンの約1/40の濃度でアンタゴニスト活性を示した。同様のアッセイを9回繰り返し実施したときのフィネレノンのIC_{50}値の平均値は17nMであった。スピロノラクトンとエプレレノン間で効力差（*in vitro*）があることは、よく知られた所見である[3]。

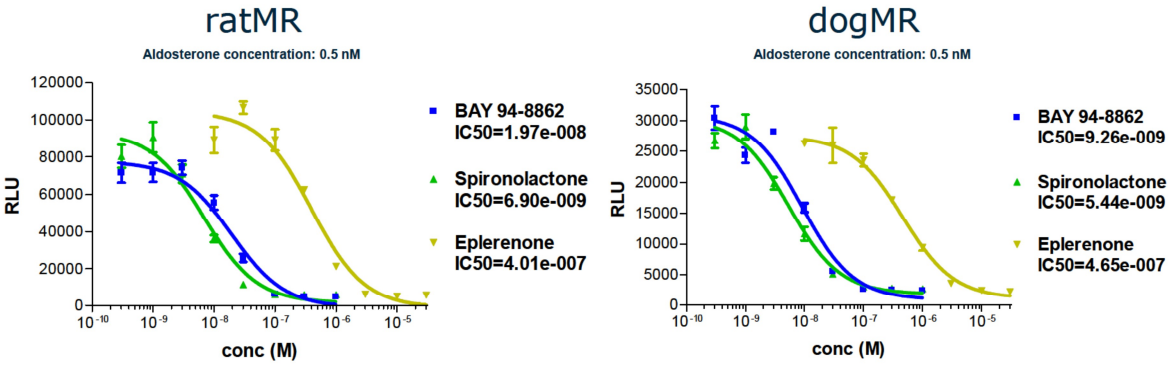
図 2.6.2.2- 1　ヒト MR（hMR）トランス活性化アッセイにおける濃度反応性曲線



RLU = relative light units as emitted by the luciferase reporter gene. Conc (M) = molar concentration.
Mean ± SD. BAY 94-8862: Finerenone.
Concentration tested: BAY 94-8862: 10^{-9} - 3x10^{-6} M, Spironolactone: 10^{-9} - 3x10^{-6} M,
Eplerenone: 10^{-8} - 3x10^{-5} M
Data source: PH-35689

ラット及びイヌ MR-LBD トランス活性化アッセイ（アルドステロン：0.5nM）においても類似した結果が得られた（図 2.6.2.2- 2）。いずれの動物種の受容体に対してもフィネレノンはスピロノラクトンと同程度の IC_{50} 値を示し、エプレレノンの IC_{50} 値の約 1/20～1/40 の濃度であった。

図 2.6.2.2- 2　ラット及びイヌ MR トランス活性化アッセイにおける濃度反応性曲線

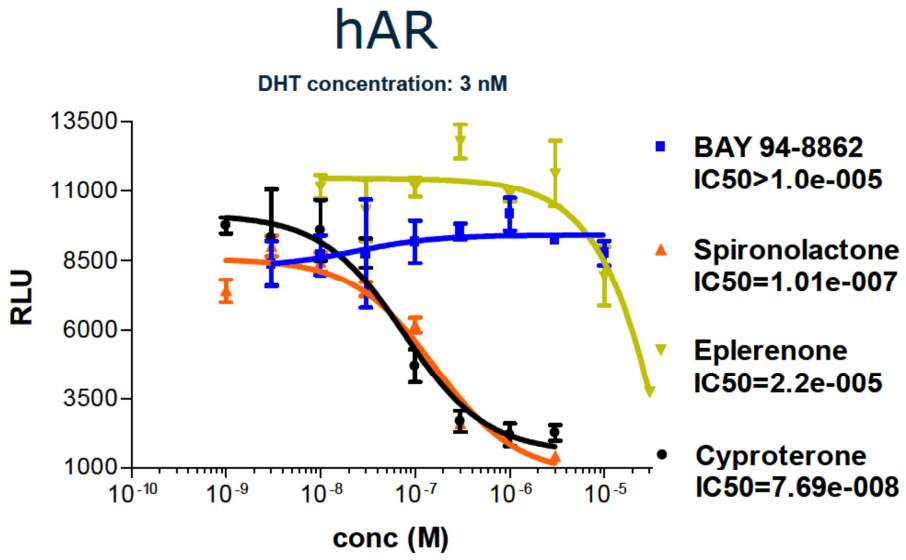


RLU = relative light units as emitted by the luciferase reporter gene. Conc (M) = molar concentration.
Mean ± SD. BAY 94-8862: Finerenone.
Concentration tested: BAY 94-8862: 3x10^{-10} - 10^{-6} M, Spironolactone: 3x10^{-10} - 10^{-6} M,
Eplerenone: 10^{-8} - 3x10^{-5} M
Data source: PH-35689

ヒト AR-LBD トランス活性化アッセイにおいて、ジヒドロテストステロン（DHT、3nM）のアゴニスト作用に対するフィネレノンの阻害活性を両ステロイド型 MRA と比較した。スピロノラクトンは IC_{50} 値 101nM でアンタゴニスト活性を示したが、フィネレノンは最高 10 μM の濃度まで活性

を示さなかった（図 2.6.2.2- 3）。スピロノラクトンは臨床においてその AR アンタゴニスト活性を介して女性化乳房の副作用を示すことが知られており[10]、フィネレノンが AR に活性を示さないことは重要な相違点である。

図 2.6.2.2- 3　ヒト AR（hAR）トランス活性化アッセイにおける濃度反応性曲線



RLU = relative light units as emitted by the luciferase reporter gene. Conc (M) = molar concentration.
Mean ± SD. DHT = Dihydrotestosterone. Cyproterone is an AR control antagonist.
BAY 94-8862: Finerenone.
Concentration tested: BAY 94-8862: $3x10^{-9}$ - 10^{-5} M, Spironolactone: 10^{-9} - $3x10^{-6}$ M,
Eplerenone: 10^{-8} - $3x10^{-5}$ M, Cyproterone: 10^{-9} - $3x10^{-6}$ M
Data source: PH-35689

その他のヒトステロイドホルモン受容体（GR、PR、ERα及び ERβ）に関してもトランス活性化アッセイを実施し、フィネレノンの活性をステロイド型 MRA と比較した。フィネレノンは他のいずれのステロイドホルモン受容体に対しても最高 10μM の濃度まで、アンタゴニスト活性を示さなかった（4.2.1.1.1 PH-35689/Table 1）。更に、各ステロイドホルモン受容体アッセイにおいて、アゴニストを添加せずにフィネレノンの作用を検討した結果、フィネレノンは最高 10μM までいずれの受容体に対してもアゴニスト活性を示さなかった。したがって、スピロノラクトンが AR 及び PR に対してそれぞれ有意なアンタゴニスト及びアゴニスト活性を示す[3, 4]のに対して、フィネレノンは選択的 MRA であることが示された。

フィネレノンは、すべての関連する MR アゴニスト〔アルドステロン、DOCA 並びにグルココルチコイド（コルチゾール及びコルチコステロン）〕の作用を阻害した〔IC_{50} 値：それぞれ 17（平均値、n=9）、46、5 及び 24nM〕。その効力はスピロノラクトン〔施設蓄積データ IC_{50} 値：それぞれ 28（平均値、n=156）、114、19 及び 41nM〕の平均 2 倍、エプレレノン〔施設蓄積データ IC_{50} 値：それぞれ 990（平均値、n=54）、1970、360 及び 940nM〕の 40～70 倍であった（PH-35689/Table 2）。

2.6.2.2.1.2　MR 結合アッセイにおける効力及び選択性

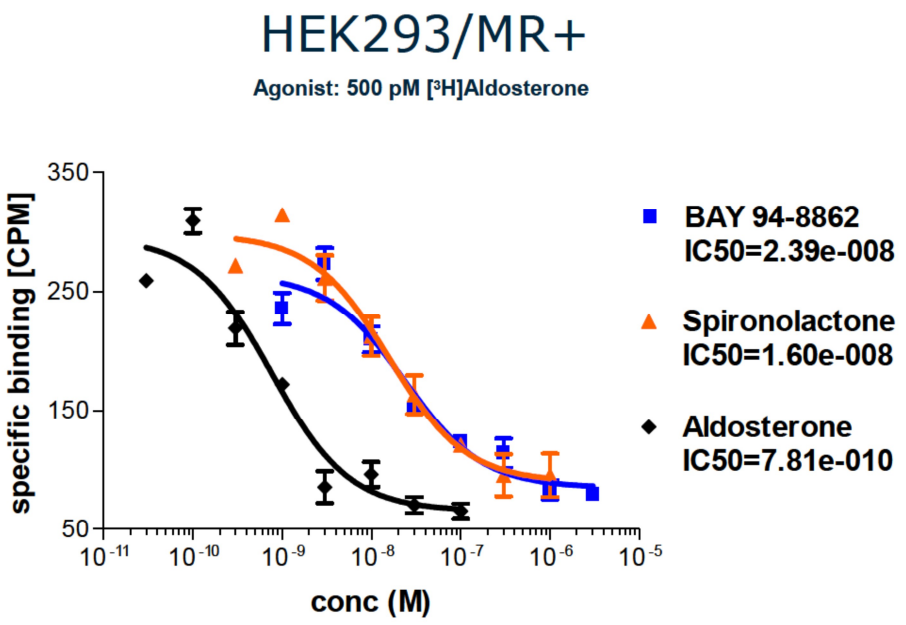
参照項目：4.2.1.1.1 PH-35689

放射性リガンド結合アッセイにより、フィネレノンのヒト MR への結合能を検討した。

全長ヒト MR cDNA を安定的に遺伝子導入したヒト胎児腎細胞株 HEK293（HEK293/MR+）を用いてアゴニストである[^{3}H]アルドステロン(500pM)を放射性リガンドとした受容体結合試験を実施した。

フィネレノンは[^{3}H]アルドステロンの MR 結合を濃度依存的に抑制した(図 2.6.2.2- 4)。フィネレノンの濃度反応性曲線はスピロノラクトンとほぼ同じであり、IC_{50} 値はそれぞれ 23.9 及び 16nM であった。

図 2.6.2.2- 4　全長ヒト MR 安定発現細胞を用いた[^{3}H]アルドステロン結合アッセイにおける濃度反応性曲線

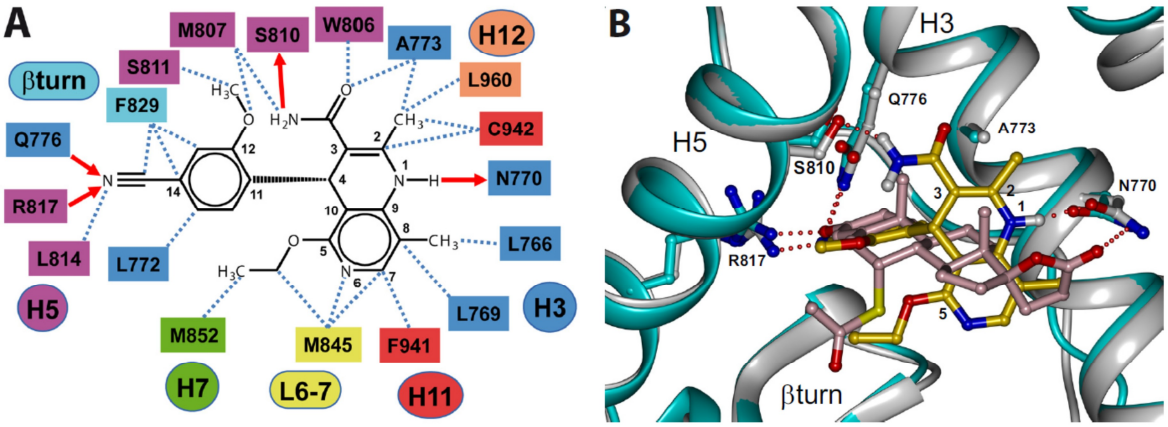


Mean ± SD. BAY 94-8862: Finerenone.
Concentration tested: BAY 94-8862: 10^{-9} - $3x10^{-6}$ M, Spironolactone: $3x10^{-10}$ - 10^{-6} M, Aldosterone: $3x10^{-11}$ - 10^{-7} M
Data source: PH-35689

2.6.2.2.1.3　ヒト野生型 MR 及び機能獲得型 S810L 変異 MR を介する薬理的 *in vitro* 特性

X 線構造解析により、フィネレノンは野生型 MR LBD 構造の内部に結合する [8, 11]。近傍のアミノ酸と多数のファンデルワールス接触を形成し、結合ポケット内で 4 本の水素結合を介して固定されると考えられている。すなわち、ジヒドロナフチリジンの NH が Asn770 のカルボニル基と、シアノ基が Gln776 及び Arg817 とそれぞれ水素結合し、一方、アミド基の NH は水素結合ドナーとして作用し Ser810 と結合する（図 2.6.2.2- 5）。フィネレノンのメトキシ基、シアノ基及びフェニル基はスピロノラクトンの A 及び B 環とほぼ同じ容積及び空間を占める。一方、ジヒドロナフチリジン環はスピロノラクトンのステロイド”平面”と直交する方向で安定する。変異導入アプローチにより、スピロノラクトンと比較してフィネレノンのより高い MR 選択性に関わる重要なアミノ酸残基として、Ser810 及び Ala773 が同定された [11]。

図 2.6.2.2- 5　MR リガンド結合ポケット内におけるフィネレノンの存在状態



A, schematic representation of the contacts between finerenone and the residues lining the binding pocket of MR. The hydrogen bonds and van der Waals contacts are depicted as solid red arrows and blue dashed lines, respectively. The numbers of the secondary structure elements are indicated in colored circles or ovals. The residue numbers are indicated in boxes and colored according to the secondary structure element to which they belong.
B, superimposition of finerenone and spironolactone within the MR-binding pocket. Only residues that anchor the ligands are shown. Hydrogen bonds between finerenone or spironolactone, and the polar residues are depicted as dashed red lines.
Data source: 11)

機能獲得型 S810L 変異 MR を発現する細胞を用いた *in vitro* アッセイを用いて、フィネレノンの作用を検討した。この変異 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として知られている[12)]。プロゲステロン並びに拮抗薬であるはずのステロイド型 MRA スピロノラクトン及びエプレレノンは S810L 変異 MR を活性化する。フィネレノンはアルドステロン非存在下で S810L 変異 MR を活性化しなかったことに加えて、S810L 変異 MR に対するアルドステロン誘発活性の阻害が可能であった[11)]。

以上のように、フィネレノンは MR 結合ポケット内で、ステロイド型 MRA とは異なる組み合わせのアミノ酸群と接することが示されている。その上、フィネレノンが野生型 MR に加えて機能獲得型 S810L 変異 MR に対しても阻害作用を示すことから、ステロイド型と非ステロイド型 MRA の間にはリガンドーMR 相互作用及びそれにつづく機能的作用に明らかな違いがあることが裏付けられる[10, 11, 12)]。

2.6.2.2.1.4　フィネレノンによるコレギュレーターのリクルートに及ぼす作用

参照項目：4.2.1.1.2 Hypertension 2018_71_599

クロマチン免疫沈降（ChIP）アッセイにより、MR 標的プロモーターにおける転写コアクチベーターであるステロイド受容体コアクチベーター1（SRC-1）のリクルートに及ぼす作用がフィネレノンとスピロノラクトンでは異なることが示されている[10)]。フィネレノンはインバースアゴニストとして作用し、ナトリウムチャネル上皮 1αサブユニット（SCNN1A）遺伝子のプロモーター領域において SRC-1 のリクルートをアルドステロン非存在下においても減少させる。一方、スピロノラクトンは部分アゴニストとして作用し、アルドステロンよりも弱い程度で SRC-1 のリクルートを促進する。これらの知見は、スピロノラクトンなどの他のステロイド型 MRA は、フィネレノンと同様に MR の同じ LBD に結合するものの、その作用メカニズムは異なる可能性があることを示唆している。

フィネレノンの非ステロイド型 MRA 作用とエプレレノンなどのステロイド型 MRA 作用とで、異なった MR コレギュレーター結合が誘発されるか否かを明らかにするため、ペプチドアレイ〔MARCoNI (Microarray Assay for Real-time Coregulator-Nuclear receptor Interaction)〕を利用して、核内受容体との相互作用領域であるコレギュレーターの LXXLL モチーフ（コアクチベーター）又は LXXXIXXXL モチーフ（コリプレッサー）を含むボックスと MR-LBD との間の直接的相互作用を検討し、アルドステロン存在下及び非存在下における MR コレギュレーター結合に及ぼすエプレレノン及びフィネレノンの濃度依存性を評価した。

アルドステロン存在下（アンタゴニストモード）では、両 MRA はともにコアクチベーターである SRC1、RNA ポリメラーゼⅡの転写サブユニット 1 のメディエーター（TRAP220）、転写中間因子 1α（TIF1α）、ペルオキシゾーム増殖剤活性化受容体γコアクチベーター1α（PGC-1α）及び活性化シグナル・コインテグレーター2（ASC2）の結合を濃度依存的に阻害した（4.2.1.1.2 Hypertension 2018_71_599/Figure 5B）。このアルドステロン誘発 MR コアクチベーター結合の阻害作用におけるフィネレノンの濃度依存性曲線は、エプレレノンと比較して少なくとも 1 log 低濃度側にシフトしていることから、フィネレノンのアンタゴニスト作用がより高いことが示された。更に、フィネレノンはアルドステロンを介する MR コアクチベーター結合を完全に阻害したのに対して、エプレレノンの阻害作用は最大でも部分的であった。一方、MR とコリプレッサーである核内受容体コリプレッサー1（NCoR1）との結合はアルドステロン存在下で両 MRA により濃度依存的に促進されたが、フィネレノンの作用及び効力はエプレレノンより高かった。フィネレノンとエプレレノンとの作用の差はアルドステロン非存在下でより明白であった。エプレレノンは単独では、高濃度で MR コアクチベーター結合を誘発したのに対して、フィネレノンはアルドステロン非存在下でも MR コアクチベーター結合を阻害し、インバースアゴニストとして作用することが示された。アルドステロン非存在下での MR と NCoR1 との結合に関しても、両 MR は同様の結果を示した。

SRC-1 は、アルドステロン／MR 誘発の線維化促進遺伝子 TNX の発現に関して機能的役割を有することが示されている。ラット心筋細胞株 H9C2 を用いて、アルドステロン／MR を介する TNX 発現を *in vitro* で検討した。

全長ラット MR を安定発現する H9C2 細胞（H9C2/MR+細胞）にフィネレノン、エプレレノン又はスピロノラクトンを加え、アルドステロン（10nM）存在下で 24 時間培養した。培養後、細胞を溶解し、TNX mRNA 及び細胞外マトリックスのリモデリングに関与する MR 標的遺伝子である a disintegrin and metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 1（ADAMTS-1）の mRNA 産生量をリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法で測定した。

フィネレノンはアルドステロン誘発 TNX 発現を濃度依存的に抑制した（Hypertension 2018_71_599/Figure 4E, 4F）。一方、エプレレノンの阻害作用は弱く、スピロノラクトンは有意な阻害を示さなかった。同様に、フィネレノンでは、ADAMTS-1 の発現は検討した最小濃度（50nM）から有意に減少したのに対して、エプレレノン及びスピロノラクトンでは最高濃度（それぞれ 50 及び 5μM）でのみ阻害作用を示した。

これらの成績から、MR コレギュレーター結合の制御能においてエプレレノンによるステロイド型 MRA 作用とフィネレノンによる非ステロイド型 MRA 作用との間には重要な差異があることが明らかになった。アルドステロン存在下での MR コアクチベーター阻害作用及びコリプレッサー誘発作用に関して、フィネレノンはエプレレノンよりもより高い効力を示した。一方、アルドステロン非存在下では、フィネレノンはエプレレノンとは異なりインバースアゴニストとして作用した。

2.6.2.2.1.5　ヒト血漿中のフィネレノン主代謝物アトロプ異性体の *in vitro* 薬理作用

参照項目：4.2.1.1.3 PH-36933

フィネレノンのヒト血漿中代謝物の主成分（M-1、M-2 及び M-3）それぞれのアトロプ異性体について、MR-LBD 細胞アッセイを用いて *in vitro* 薬理作用を検討した。これらの代謝物については、フィネレノンのジヒドロピリジン部分の酸化によりナフチリジン代謝物 M-1 が生成し、更なる水酸化によりヒドロキシメチルナフチリジン代謝物 M-2 が生成、続いて酸化を受けてカルボン酸代謝物 M-3 が生成する[13)]。M-1、M-2 及び M-3 はいずれも軸不斉がみられるため、それぞれに 2 種類のアトロプ異性体が存在（例えば、M-1 には M-1a 及び M-1b が存在）し、M-1a、M-1b、M-2a、M-3a がヒト血漿中の主代謝物である（2.6.4.8.6.1）。

ヒト MR 安定発現 CHO-K1 細胞を用いたヒト MR-LBD トランス活性化アッセイ（2.6.2.2.1.1）を用いて、アルドステロン（1nM）のアゴニスト作用に対する各アトロプ異性体（M-1a、M-1b、M-2a、M-2b、M-3a 及び M-3b）（3×10^{-9}～10^{-5}M）の影響を検討した。

いずれの代謝物も最高 9μM の濃度まで薬理作用を示さなかった。ジヒドロピリジン構造の非ステロイド型 MRA において明らかになった構造活性相関から、ジヒドロピリジン核の芳香環化により、化合物は機能的 MR 発現細胞アッセイで薬理学的に不活性になることが示されており[8)]、この結果はその知見と一致する。

2.6.2.2.2　*In vivo* 試験

2.6.2.2.2.1　無麻酔ラットにおける単回投与での *in vivo* 利尿作用

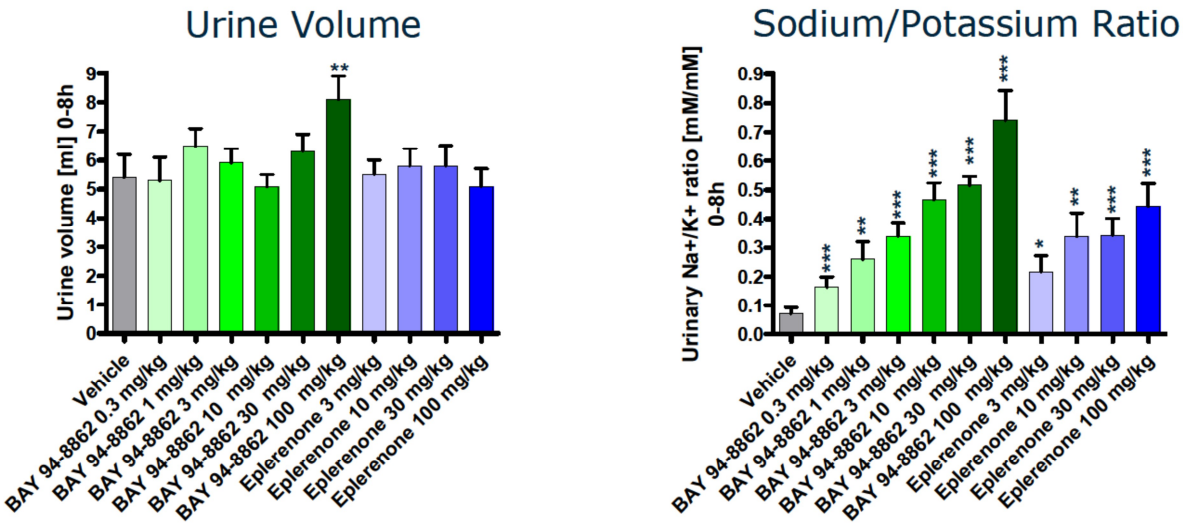
参照項目：4.2.1.1.4 PH-35690

アルドステロンは MR 受容体を活性化し、遠位尿細管後方において電解質のホメオスタシスを制御する。無麻酔ラットにおける急性利尿作用を検討する試験を実施し、フィネレノンの作用及び効力をエプレレノンと直接比較した。

72 時間低塩食を与えたラット（雄性 Wistar、7～10 週齢、各群 6～8 例）にフィネレノン（0.3、1、3、10、30 及び 100mg/kg）、エプレレノン(3、10、30 及び 100mg/kg)又は媒体（85.8%PEG400、5.3%グリセリン、8.9%水）を単回強制経口投与し、8 時間採尿した。尿サンプルは容量を測定し、尿中ナトリウム及びカリウムをフレーム分光法で測定した。

単回投与後の両被験物質の尿量及びナトリウム／カリウム（Na^+/K^+）比を図 2.6.2.2- 6 に示した。フィネレノンは最高用量でのみ有意な尿量増加を示したがそれ以下では有意な増加はみられず、エプレレノンと同様に尿量に対して用量依存的な影響を示さなかった。一方、フィネレノン及びエプレレノンの顕著な急性作用はナトリウム利尿であり、いずれも用量依存的に Na^+/K^+比を上昇させた。フィネレノンの 3mg/kg での Na^+/K^+比上昇作用はエプレレノンの 10 及び 30mg/kg と、10mg/kg での作用はエプレレノンの 100mg/kg とそれぞれ同程度であり、フィネレノンはエプレレノンの 1/3～1/10 の用量で同等のナトリウム利尿作用を示した。

図 2.6.2.2- 6 フィネレノン及びエプレレノンの無麻酔ラットにおける単回投与での利尿作用の比較



BAY 94-8862: finerenone
Mean ± SEM, n = 7(vehicle) or 8 (the other groups); *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.005 (Student's t-test)
Data source: PH-35690

2.6.2.2.2.2 無麻酔イヌへの単回経口投与における抗ミネラルコルチコイド作用

参照項目：4.2.1.1.5 PH-35702

無麻酔イヌにおけるフィネレノンのナトリウム利尿作用の最小有効経口用量を Astonin H チャレンジモデルを用いて検討した[14,15]。

試験 1 日目にイヌ（ビーグル、23～30 カ月齢、雄 6 例／雌 3 例）にミネラルコルチコイドである Astonin H（フルドロコルチゾン、0.3mg/イヌ）を経口投与した。2 日目にフィネレノン（0.001～1mg/kg）又はスピロノラクトン（0.3mg/kg）を単回経口投与した（媒体群：空カプセル）。5 時間後にフィネレノン、アルドステロン及びカリウムの血漿中濃度測定のため採血し、その後プロポフォール（4～6mg/kg iv）麻酔下で膀胱からカテーテルで採尿して尿中 Na^+及び K^+濃度をフレーム分光法で測定した。被験物質の投与はクロスオーバーデザイン（休薬期間：最短 1 週間）で実施した。

フィネレノンは 0.001～1mg/kg で尿中 Na^+/K^+比を上昇させ、0.01mg/kg 以上で媒体群との間に統計学的有意差（$p<0.05$、t 検定）が認められた。スピロノラクトンも 0.3mg/kg で同様に有意な尿中 Na^+/K^+比の上昇作用を示した。フィネレノンの最小有効経口用量（0.01mg/kg）での血漿中濃度は 4.81±1.24ng/mL（mean±SEM、n=9）であった。フィネレノンはいずれの用量でも、血漿中アルドステロン濃度及びカリウム濃度に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.2.2.3 高血圧誘発臓器障害の DOCA-salt ラットモデルにおける作用

参照項目：4.2.1.1.6 PH-35687

重篤な臓器障害を伴う MR 依存性高血圧の動物モデルのプロトタイプとして、DOCA-salt ラットモデルがある。DOCA は効力の高い MR アゴニストであり、週 1 回の皮下注射で動物に適用できる。このモデルでは一側腎摘出により腎重量を減少させ、1%NaCl 溶液を飲水投与する。このモ

デルにより心臓及び腎臓の構造・機能を保護する可能性のある薬剤の評価が可能である。本モデルを用いてフィネレノンの作用を検討した。

ラット（雄性 Sprague-Dawley、11～12 週齢、各群 6～11 例）を 7 群に分け、1 群を偽手術群とした。それ以外の 6 群のラットに、イソフルラン（2.0%）及びブプレノルフィン（0.03mg/kg）麻酔下で一側腎摘出を実施し、1 週間後に、DOCA（30mg/kg、媒体：ゴマ油）を週 1 回、10 週間皮下投与しその期間には 1%NaCl 溶液を飲水投与した。DOCA 投与開始日から 77 日間、媒体（40%ソルトール、10%エタノール、50%水）、フィネレノン（それぞれ 0.1、1 及び 10mg/kg/日）、又はエプレレノン（それぞれ 30 及び 100mg/kg/日）を 1 日 1 回強制経口投与した。投与期間中に週 1 回代謝ケージ内で採尿し、テールカフ法（非侵襲血圧モニタリングシステム、9002-series; TSE Systems, Bad Homburg, Germany）により SBP を測定した。投与終了時に、イソフルラン（2%）麻酔下で左心室挿入 Millar-Tip (2F)カテーテルにより血行動態を測定した。

10 週間の DOCA-salt 処理ラットにおいて、フィネレノンは、0.1 及び 1mg/kg/日で SBP に影響を及ぼさなかったが、10mg/kg/日では有意に SBP を低下させ、エプレレノンも 30 及び 100mg/kg/日でそれぞれ有意に SBP を低下させた（いずれも $p<0.05$、ANOVA 及び Newman-Keuls Multiple Comparison Test）（図 2.6.2.2- 7）。

心臓への作用

11 週後の試験終了時点において、DOCA-salt 処理ラットの心重量／体重比（相対心重量：心肥大及びリモデリングの感度の高いパラメータの一つ）は、フィネレノンの 1 及び 10mg/kg/日の投与で媒体群と比較して有意に低下した（いずれも $p<0.05$）（図 2.6.2.2- 8）。エプレレノンは両用量ともに相対心重量に影響を及ぼさなかった。

10 週間の DOCA-salt 処理ラットで左室内血行動態パラメータを測定した結果、媒体群では偽手術群と比較して収縮期機能の低下〔すなわち、収縮力（dp/dt_{max}）の有意な増加（$p<0.05$）：DOCA-salt 処理により代償性／肥大性フェーズに増加する〕及び拡張期機能の低下〔すなわち、緩和時間（tau）の有意な延長（$p<0.05$）〕がみられた（4.2.1.1.6 PH-35687/Figure 5）。フィネレノンは心拍数に影響を及ぼすことなく、1 及び 10mg/kg/日で dp/dt_{max} を、10mg/kg/日で tau をそれぞれ媒体群と比較して有意に減少させた（$p<0.05$、いずれも ANOVA 及び Newman-Keuls Multiple Comparison Test）。したがって、フィネレノンは DOCA-salt 処理ラットにおける収縮期及び拡張期機能の低下を防止することが示された。エプレレノンは 30 及び 100mg/kg/日で有意な作用を示さなかった。

また、試験終了時点で採取した血液を使って、臨床病態に関連したマーカーである NT-proBNP〔proBNP(1-45)を測定〕の血漿中濃度を ^{125}I-proBNP(1-45)を用いたラジオイムノアッセイで定量した[a)]。媒体群において血漿中 NT-proBNP 濃度は偽手術群と比較して有意に増加した（$p<0.05$）のに対して、フィネレノン群では用量依存的な減少を示した（1 及び 10mg/kg/日で媒体群と比較して $p<0.05$）（最小有効用量 1mg/kg/日）（図 2.6.2.2- 9）。エプレレノンは 100mg/kg/日で、フィネレノンの 1mg/kg/日と同程度の有意な減少（$p<0.05$）を示した。

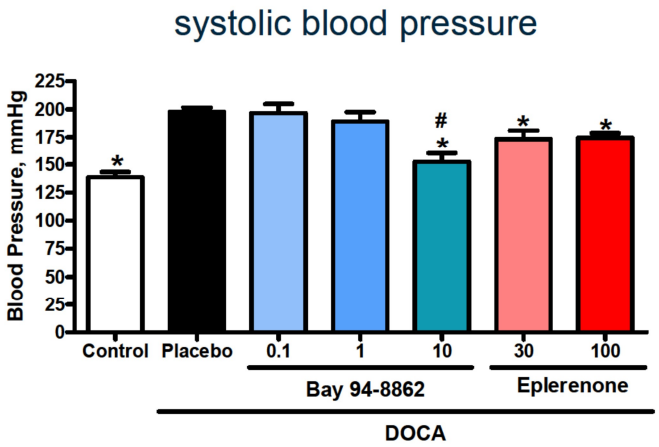
試験終了時点に実施した DOCA-salt 処理ラットの病理組織学的検討において、媒体群では明らかな心筋変性及び線維化がみられ、リモデリング過程の進行及びグレード 3 の壊死を伴う広範囲

---

a) 使用した測定キットは、NT-proBNP(1-45)の他、その関連ペプチドにも反応することから、血漿中に存在する proBNP 等も測定値に含まれる可能性は否定できないが、ラットの血漿中で proBNP の形態で存在する割合は僅かであることから（Nishikimi T et al. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2015:309:R639-R649）、実質的に NT-proBNP の濃度が測定されていると考えられる。

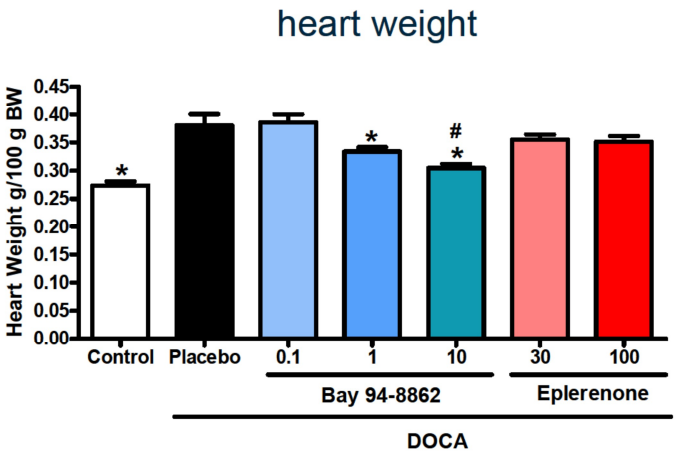
の脈管障害が示された（4.2.1.1.6 PH-35687/Figure 7）。対照的に、フィネレノン群では軽度の心筋及び血管変化がみられたのみであった。

図 2.6.2.2- 7　10 週間処理 DOCA-salt ラットモデルの収縮期血圧におけるフィネレノンの作用



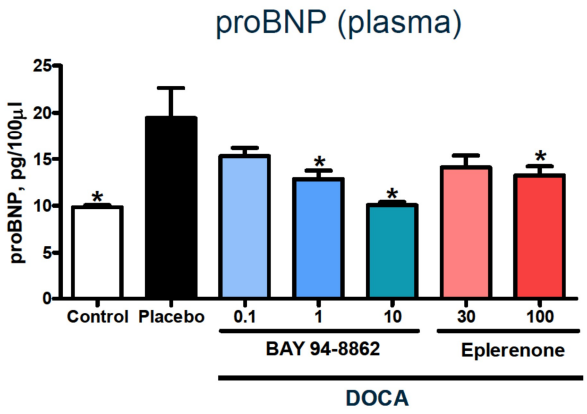
Mean ± SEM, n=6-11; *p<0.05 vs. placebo; #p<0.05 vs. eplerenone (ANOVA followed by Newman–Keuls Multiple Comparison Test). BAY 94-8862: finerenone.
Data source: PH-35687

図 2.6.2.2- 8　DOCA-salt ラットモデルにおける 11 週後の相対心重量に対するフィネレノンの作用



Mean ± SEM, n=6-11; *p<0.05 vs. placebo; #p<0.05 vs. eplerenone (ANOVA followed by Newman–Keuls Multiple Comparison Test). BAY 94-8862: finerenone.
Data source: PH-35687

図 2.6.2.2- 9 10 週間処理 DOCA-salt ラットモデルにおける血漿中 NT-proBNP 濃度に対するフィネレノンの作用



Mean ± SEM, n=6-11; *p<0.05 vs. placebo (ANOVA followed by Newman–Keuls Multiple Comparison Test).
BAY 94-8862: finerenone. proBNP: NT-proBNP
Data source: PH-35687

腎臓への作用

腎重量／体重比は腎肥大とリモデリングの感度のよいパラメータである。11 週後の試験終了時点において、DOCA-salt 処理ラット媒体群の腎重量／体重比は偽手術群と比較して顕著に上昇した（p＜0.05）（図 2.6.2.2- 10）。フィネレノンの 1 及び 10mg/kg/日並びにエプレレノンの 30 及び 100mg/kg/日投与群は、媒体群と比較して有意に腎重量／体重比を低下させた（いずれも p＜0.05）。

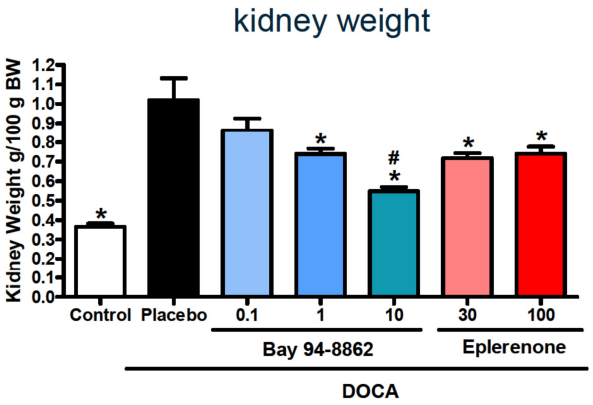
臨床病態に関連したモニタリング可能な腎障害バイオマーカーは尿タンパク値である。試験終了時点での媒体群のクレアチニン補正尿タンパク値は、偽手術群と比較して顕著に増加しており（p＜0.05）、フィネレノンは 10mg/kg/日で、エプレレノンは 30 及び 100mg/kg/日で媒体群と比較して有意にクレアチニン補正尿タンパク値を減少させた（いずれも p＜0.05）（図 2.6.2.2- 11）。フィネレノンの 10mg/kg/日でのクレアチニン補正尿タンパク値はエプレレノンの両用量での値と比較して有意に低かった（p＜0.05）。また、フィネレノンの 1mg/kg/日も有意ではないもののエプレレノンの両用量と同程度の減少傾向を示した。

DOCA-salt ラットモデルにおいて、フィネレノンとエプレレノンとの腎保護作用を更に比較検討するために、試験終了時点で摘出したラット腎皮質から抽出した RNA サンプルを用いて、アルドステロン依存性の炎症促進性、線維化及びリモデリング遺伝子の発現を定量的 PCR 法で検討した。 検討したすべてのバイオマーカー遺伝子の発現は媒体群で偽手術群と比較して顕著に増加し、フィネレノンは 1 及び 10mg/kg/日でいずれの遺伝子発現も顕著に減少させた（いずれも p＜0.05）（図 2.6.2.2- 12）。これらバイオマーカー遺伝子発現の減少はエプレレノンの 100mg/kg の減少作用と同程度かそれ以上であった。

病理組織学的検討において、血管病変、糸球体病変、尿細管病変等の腎臓病変をグレード（グレード 0：No lesions、グレード 1 ：Minimal/very few/very small、グレード 2：Slight/few/small、グレード 3：Moderate/moderate number/moderate size、グレード 4：Marked/many/large）に基づき半定量的に点数化し、各群の平均スコア（すべての重症度スコアの合計を動物数で割ったもの）を算出した。媒体群の腎臓では広範囲な血管及び糸球体損傷がみられたのに対して、フィネレノン群の腎損傷重症度スコアは偽手術群よりわずかに高値を示した

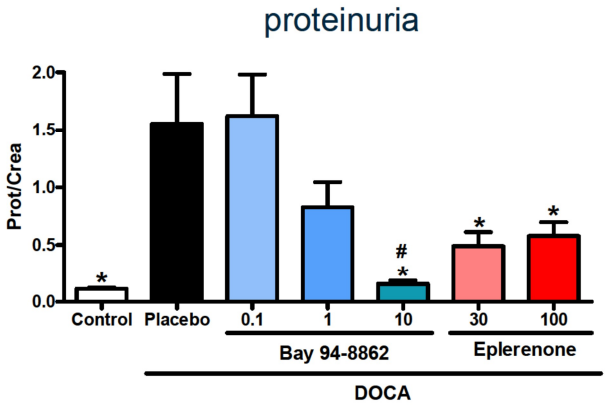
のみであった（4.2.1.1.6 PH-35687/Figure 8）。エプレレノン群では腎損傷重症度スコアはフィネレノン群よりも高かった。

図 2.6.2.2- 10　DOCA-salt ラットモデルにおける 11 週後の腎重量に対するフィネレノンの作用



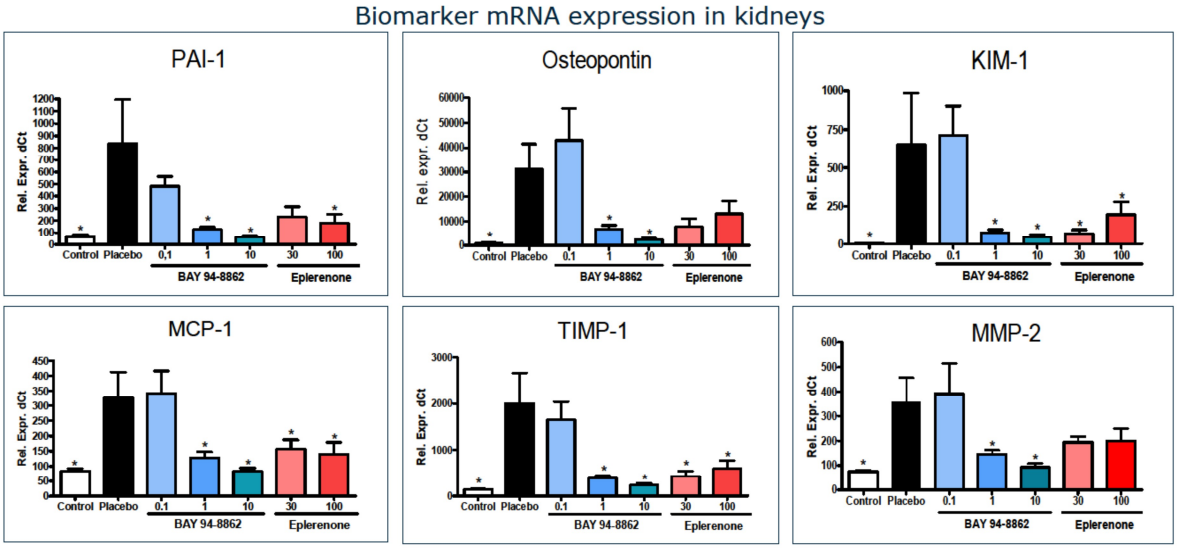
Mean ± SEM, n=6-11; *p<0.05 vs. placebo, # p<0.05 vs. eplerenone (ANOVA followed by Newman–Keuls Multiple Comparison Test). BAY 94-8862: finerenone.
Data source: PH-35687

図 2.6.2.2- 11　DOCA-salt ラットモデルにおける 11 週後の尿タンパクに対するフィネレノンの作用



Mean ± SEM, n=6-11; *p<0.05 vs. placebo, # p<0.05 vs. eplerenone (ANOVA followed by Newman–Keuls Multiple Comparison Test). BAY 94-8862: finerenone.
Data source: PH-35687

図 2.6.2.2- 12　DOCA-salt ラットモデルにおけるアルドステロン依存性の炎症促進性、線維化及びリモデリング遺伝子発現に対するフィネレノンの作用



Mean ± SEM, n=6-11; *p<0.05 vs. placebo (ANOVA followed by Newman–Keuls Multiple Comparison Test). BAY 94-8862: finerenone.
Data source: PH-35687

2.6.2.2.2.4　慢性心筋梗塞ラットモデルにおける作用

参照項目：4.2.1.1.7 PH-35686

心不全の主要な医学的原因の一つは虚血性心疾患（通常、心筋梗塞後にみられる）であり、心不全症例のほぼ 2/3 を占める。したがって、心筋梗塞誘発心不全のモデルである cMI ラットモデルは、血行動態（カテーテルチップ圧トランスデューサーを使って測定）、血漿中バイオマーカー及び遺伝子発現を統合的に解析するのに有用である。

ラット（雄性 Wistar、8～10 週齢、1 群 10～14 例）の左冠動脈前下行肢を恒久的に結索し、偽手術群では血管を結索せず同様の手術を行なった。1 週間後に、冠動脈結索ラットを 6 群に分け、媒体（10%エタノール、40%ソルトール、50%水）、フィネレノン（0.1、0.3 又は 1mg/kg/日）、及びエプレレノン（100mg/kg/日）を 1 日 1 回、8 週間強制経口投与、又はエナラプリル（10mg/kg/日）を 8 週間飲水投与した。試験最終日にイソフルラン（2%）麻酔下で左心室挿入 Millar-Tip (2F)カテーテルにより、血行動態を Powerlab Chart 5 ソフトウェアを使用して測定した。また、血液サンプルを採取して血漿中 NT-proBNP〔proBNP(1-45)を測定〕[a] 及びアルドステロン濃度を市販のラジオイムノアッセイキットで測定した。更に、摘出心及び肺の重量を測定し、組織から抽出した mRNA を用いてリアルタイム PCR 法によりオステオポンチン（OPN）遺伝子発現量を測定した。

[a] 使用した測定キットは、NT-proBNP(1-45)の他、その関連ペプチドにも反応することから、血漿中に存在する proBNP 等も測定値に含まれる可能性は否定できないが、ラットの血漿中で proBNP の形態で存在する割合は僅かであることから（Nishikimi T et al. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2015:309:R639-R649）、実質的に NT-proBNP の濃度が測定されていると考えられる。

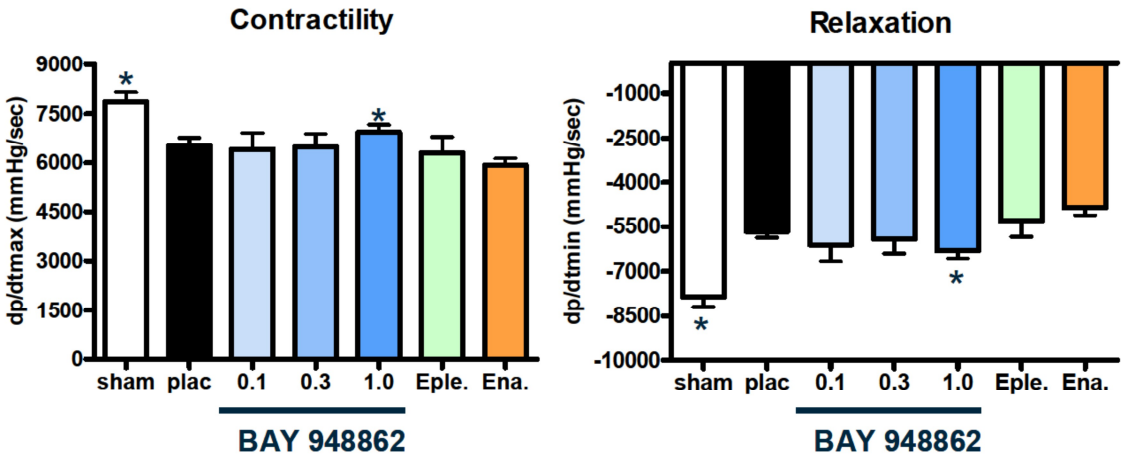
媒体群の左室血行動態〔dp/dt_{max} 及び弛緩（dp/dt_{min}）〕は偽手術群と比較してそれぞれ有意に減少及び増加した。フィネレノンの 1mg/kg/日投与群では、8 週間投与後に媒体群と比較して dp/dt_{max} 及び dp/dt_{min} の有意な改善作用がみられた（$p \leqq 0.05$）が、エプレレノンの 100mg/kg/日投与群では作用はみられなかった（図 2.6.2.2- 13）。左室拡張末期圧（LVEDP）及び tau もフィネレノンの 1mg/kg/日投与群で改善傾向がみられた（p=0.06）。

また、フィネレノンの 1mg/kg/日投与群では血漿中 NT-proBNP 濃度が媒体群と比較して有意に減少した（図 2.6.2.2- 14）。一方、エプレレノンの 100mg/kg/日投与群では影響はみられなかった。

フィネレノンは 1mg/kg/日投与群で、右室及び肺の相対重量を低下させ（4.2.1.1.7 PH-35686/Figure 4）、また、肺 OPN mRNA 発現量を有意に減少させ、心 OPN mRNA 発現量を減少させる傾向を示した（4.2.1.1.7 PH-35686/Figure 5, 6）。

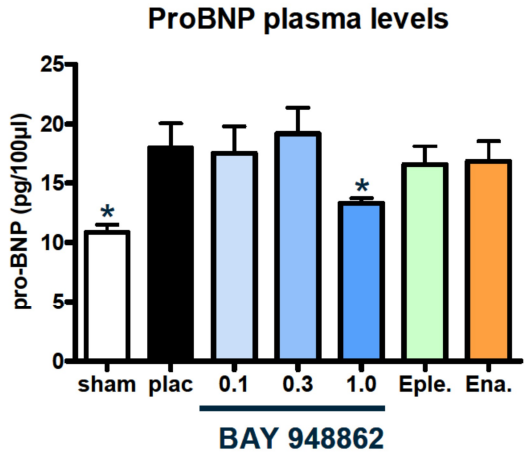
血漿中アルドステロン濃度は、フィネレノンの 0.3 及び 1mg/kg/日投与群並びにエプレレノンの 100mg/kg/日投与群で代償的に増加したことから（4.2.1.1.7 PH-35686/Figure 8）、両 MRA の *in vivo* MR 阻害活性が確認された。

図 2.6.2.2- 13　cMI ラットモデルにおける収縮力（dp/dt_{max}）及び弛緩（dp/dt_{min}）に対するフィネレノンの作用



sham = sham-operated. plac = placebo. Eple = eplerenone, 100 mg/kg. Ena = enalapril, 10 mg/kg. Dosages are given in mg/kg/day.
mean ± SEM, n = 10 -14. *p ≤ 0.05 vs. combined placebo (unpaired Student's t-test).
BAY 948862: finerenone.
Data source: PH-35686

図 2.6.2.2- 14　cMI ラットモデルにおける血漿中 NT-proBNP 濃度に対するフィネレノンの作用



sham = sham-operated. plac = placebo. Eple = eplerenone, 100 mg/kg. Ena = enalapril, 10 mg/kg. Dosages are given in mg/kg/day.
mean ± SEM, n = 10 -14.*p ≤ 0.05 vs. combined placebo (unpaired Student's t-test).
BAY 948862: finerenone. proBNP: NT-proBNP
Data source: PH-35686

2.6.2.2.2.5　脳卒中易発症高血圧自然発症ラットモデルにおける作用

参照項目：4.2.1.1.8 PH-35688

SHRSP は重篤な高血圧、悪性腎硬化症、タンパク尿、並びに脳出血及び脳梗塞を含む脳血管障害を発症する[16]。SHRSP におけるレニンーアンジオテンシンーアルドステロン系（RAAS）の役割と一致して、この動物に塩分ダイエットを行ったときに血漿中レニン活性が逆説的に増加するという知見が得られている。SHRSP において、腎、心筋及び脳血管障害のため疾病率及び死亡率は増加しており、これは RAAS 活性増加と関連性がある。したがって、SHRSP モデルは高血圧誘発臓器障害の高レニン性動物モデルと考えられる。

SHRSP（雄性、10 週齢、1 群 12 例）に 7 週間高塩ダイエット（2%NaCl 飲水投与）を行い、媒体（10%エタノール、40%ソルトール、50%水）、フィネレノン（10mg/kg/日）、エプレレノン（30mg/kg/日）又はスピロノラクトン（30mg/kg/日）を 1 日 1 回強制経口投与し、生死のモニタリング及び尿マーカー（総タンパク、クレアチニン及び OPN）の測定を実施した。また、生存ラットの心臓及び腎臓の形態学的変化を病理組織学的に評価し、半定量的に重症度スコアとして点数化した。心臓については血管病変、心筋病変等を、腎臓については血管病変、糸球体病変、尿細管病変等を、グレード（グレード 0：No lesions、グレード 1 ：Minimal/very few/very small 、グレード 2：Slight/few/small、グレード 3：Moderate/moderate number/moderate size、グレード 4：Marked/many/large）に基づき半定量的に点数化し、各群の平均スコア（すべての重症度スコアの合計を動物数で割ったもの）を算出した。

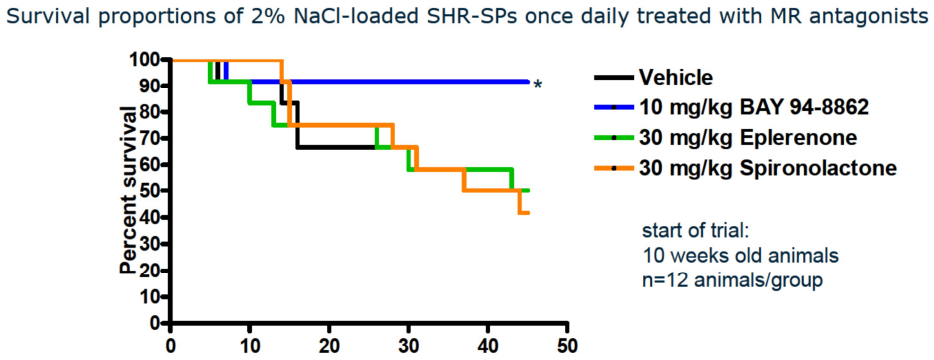
投与期間として媒体群の 60%が死亡するまでの期間を設定し、最終的に 45 日間投与した。フィネレノンは、媒体群と比較して生存率の低下を有意に抑制した（$p<0.05$、Log-Rank-Test）（図 2.6.2.2- 15）。一方、エプレレノン及びスピロノラクトンは生存率の低下を抑制しなかった。

フィネレノンは尿タンパク／クレアチニン比を媒体群と比較して有意に低下させ（図 2.6.2.2- 16）、更に、尿中 OPN のタンパク濃度及び腎内 mRNA 発現量を有意に減少させた[17]。

エプレレノン及びスピロノラクトンはいずれも 30mg/kg/日で、媒体群と比較して尿タンパク／クレアチニン比及び尿中 OPN タンパク濃度に有意な差はみられなかった。

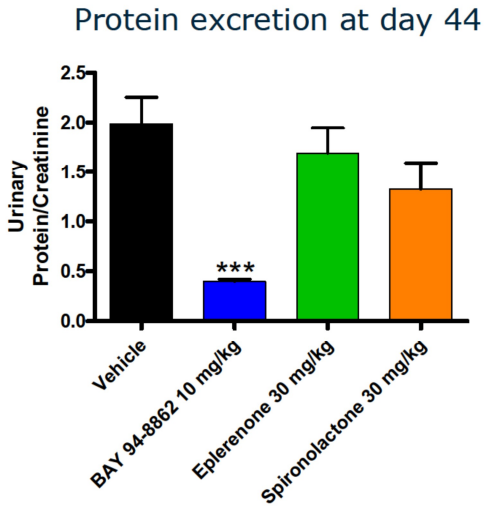
半定量的病理組織学的検査において、フィネレノンは心臓（脈管障害、局所的な心筋の変性及び線維化を含む）並びに腎臓（尿細管変性及び腎内脂肪組織委縮を含む）の病変の重症度スコアを低下させたことから、心腎保護作用を有することが示された（4.2.1.1.8 PH-35688/Figure 8）。エプレレノン及びスピロノラクトンは、本試験条件下で、中等度の保護作用を示した。

図 2.6.2.2- 15　SHRSP の生存におけるフィネレノンの作用（カプランーマイヤー生存曲線）



*p<0.05 vs. all other groups (Log-Rank-Test).
BAY 94-8862: finerenone.
Data source: PH-35688

図 2.6.2.2- 16　生存 SHRSP の尿タンパク／クレアチニン比におけるフィネレノンの作用



mean ± SEM, n = 6 -11. ***: p ≤ 0.005 vs. Vehicle group (unpaired Student's t-test).
BAY 94-8862: finerenone.
Data source: PH-35688

2.6.2.2.2.6　圧負荷誘発心肥大マウスモデルにおける作用

参照項目：4.2.1.1.9 J Cardiovasc Pharmacol 2016_67_402

大動脈縮窄（TAC）モデルを使用して、マウスの圧誘発心肥大に対するフィネレノンの作用を検討した。

マウス（雄性 C57BL/6J、8～9 週齢）をケタミン／キシラジン麻酔下で開胸し、大動脈弓に 26 ゲージ針を当てて縫合糸を巻くことにより血管を結紮し、左室圧負荷をかけて TAC を引き起こした。偽手術群には結紮することなく同じ手順を実施した。手術したマウスに、媒体（10%エタノール、40%ソルトール、50%水）（10 例）、フィネレノン（10mg/kg/日、8 例）又はエプレレノン（200mg/kg/日、11 例）を手術 1 週前から 5 週間毎日強制経口投与し、偽手術群（5 例）には媒体を投与した。投与量は、ラットの急性ナトリウム利尿作用（フィネレノンの 10mg/kg はエプレレノンの 100mg/kg と同等）（2.6.2.2.2.1）に基づき決定した。投与期間中に、イソフルラン（1.5～2%）麻酔下で Vevo 770 高分解イメージングシステム（VisualSonics、Canada）を用いて心エコー検査を実施し、左室心筋重量（LVM）を算出した。投与終了時点で、心臓を摘出し左心室サンプルから抽出した RNA を用いて、PCR に基づくマイクロアレイ分析を実施し、心肥大の遺伝子発現プロファイルを解析した。

マイクロアレイ分析から、フィネレノンとエプレレノン投与マウス間で遺伝子発現調節に違いがあることが明らかになった（4.2.1.1.9 J Cardiovasc Pharmacol 2016_67_402/Figure 2）。一部の遺伝子〔結合組織増殖因子（CTGF）及び MR(NR3C2)等〕での発現調節は両 MRA で同様であったが、顕著な相違が心筋トロポニン T（無傷の心筋収縮においてアクチンーミオシン相互作用を促進するトロポミオシン結合タンパク、Tnnt2）で認められた。TAC 後の Tnnt2 調節不全が圧負荷中の不適応性心筋リモデリングと関連していると考えられた。Tnnt2 発現は媒体群で偽手術群と比較して有意に増加し、フィネレノン群では媒体群と比較して有意に減少し、エプレレノン群では影響はみられなかった。

TAC 誘発 4 週間での心エコー検査において、媒体群の平均 LVM は偽手術群と比較して有意に増加した。フィネレノン群の LVM（28.4 ± 3.7mg、mean±SEM、n=8）は媒体群（39.3±3.1mg、n=10）より有意に低かった（J Cardiovasc Pharmacol 2016_67_402/Figure 3B）。一方、エプレレノン群（38.4±4.3mg、n=11）は平均 LVM の増加に対して影響を及ぼさなかった。

以上の結果から、フィネレノンはステロイド型 MRA のエプレレノンとは異なる心肥大遺伝子発現プロファイルを示し、それと関連して圧負荷心肥大を抑制することが示された。

2.6.2.2.2.7　心筋線維化マウスモデルにおける作用

参照項目：4.2.1.1.2 Hypertension 2018_71_599

短期間イソプロテレノール皮下投与により誘発される心筋線維化マウスモデルを用いて、フィネレノン及び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。非麻酔雄性 129/Sv マウスにおいて、エプレレノンの 100 及び 200mg/kg とほぼ同等のナトリウム利尿作用がフィネレノンの 10mg/kg で得られることが示されている。

マウス（雄性 129/Sv、8～9 週齢、1 群 6～11 例）に媒体（水）、フィネレノン（10mg/kg/日）又はエプレレノン（200mg/kg/日）の反復強制経口投与を開始し、3 日後にイソプロテレノール（25mg/kg）又は媒体（NaCl）を皮下投与した。イソプロテレノール投与 13 日後に心エコー検査を実施し、14 日後に採血して血清中アルドステロン濃度を酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）キットで測定した。また、心臓の組織片を採取しホルマリン固定後、切片のピクロシリウスレッド染色又はマクロファージで高発現する CD68 の染色により、それぞれコラーゲン線維又はマクロファージ浸潤の組織学的検査を行った。

フィネレノン及びエプレレノン群において両血清中アルドステロン濃度は、予想されたように代償的に大きく増加した（4.2.1.1.2 Hypertension 2018_71_599/Figure 4A）。両投与群において濃度増加の程度に差はみられなかったことから、両群で同程度の全身性 MR 阻害活性を示すことが示唆された。

イソプロテレノール投与により、LVM、心筋線維化及びマクロファージ浸潤は非投与媒体群と比較して有意に増加した（Hypertension 2018_71_599/Figure 1C, 2B, 2D）。両 MRA はいずれもイソプロテレノール誘発 LVM 増加を有意に減少させた。フィネレノンは心筋線維化及びマクロファージ浸潤の増加をイソプロテレノール／媒体群と比較して有意に抑制し、エプレレノンはいずれに対しても抑制作用を示さなかった。心エコー（スペックルトラッキング法）の結果、フィネレノンは長軸方向グローバルストレインを有意に改善し、エプレレノンではこの作用は弱かった。

フィネレノンの心筋線維化抑制作用は、イソプロテレノール投与マウスにおいて増加した線維化促進性心筋 TNX 発現に対するフィネレノンの有意な抑制作用を伴っており、一方、エプレレノンは TNX 発現の増加に対しても抑制作用を示さなかった（Hypertension 2018_71_599/Figure 4B）。

更に、イソプロテレノール投与マウスにおいては、心筋の古典的線維化分子（トランスフォーミング増殖因子（TGF）-β、I 型コラーゲンα1 鎖及びガレクチン 3）の遺伝子発現も有意に増加した。これらのイソプロテレノール誘発心筋遺伝子発現増加はフィネレノンによりいずれも有意に減少し、エプレレノンによってもガレクチン 3 を除き有意に減少した。

これらの結果から、MR 依存性心筋遺伝子発現はリガンド依存性に調節されていること、及び MRA ごとに異なる遺伝子／プロモーター特異的心筋 MR 阻害活性を示すことが明らかになった。

2.6.2.2.2.8 2 型糖尿病ラットモデルにおける拡張機能における作用

参照項目：4.2.1.1.10 Diabetes Obes Metab 2018_20_2399

2 型糖尿病のモデル動物である Zucker fatty fa/fa ラットを用いて、フィネレノンのメタボリックシンドロームに関連した心腎機能障害の進展に対する作用を検討した。

フィネレノンの短期間及び長期間処理における作用を検討するため、2 種類の投与試験を実施した。短期及び長期反復投与試験（それぞれ 7 及び 90 日間）において、雄性 Zucker fatty fa/+ラット（12 週齢）を正常対照群（それぞれ 9 例）として、雄性 Zucker fa/fa ラット（12 週齢）を非処置群（それぞれ 10 及び 12 例）及びフィネレノン群（10 及び 12 例）に分け、フィネレノン群に 2mg/kg/日を反復混餌投与した。長期試験では投与前、投与 7 日目及び 90 日目に、心エコー検査を実施した。両試験の最終日に、24 時間採尿し、尿タンパクを測定するとともに、Brietal（50mg/kg）麻酔下でラットの右頸動脈から左心室に micro-manometer-tipped カテーテルを挿入して左室血行動態を測定し、心筋組織内の血液灌流を Arterial Spin Labeling（ASL）による核磁気共鳴画像法で評価した。最後に心腎組織サンプルを採取し、組織学的、生化学的検討を行い、腎サンプルから抽出した RNA の real-time PCR により、腎障害マーカーである NGAL mRNA を定量した。更に、短期投与試験では、LV 組織サンプルのホモジネートをインキュベートして生成する活性酸素種（ROS）を電子スピン共鳴分光法で測定した。

短期試験（4.2.1.1.10 Diabetes Obes Metab 2018_20_2399/Figure 3, 4）では、Zucker fa/fa ラット非処置群で Zucker fatty fa/+ラット正常対照群と比較して心筋組織内の血流が有意に減少したのに対して、フィネレノンは心筋組織内の血流を非処置群と比較して有意に増加させた。一方、非処置群で有意に増加した ROS に関しては、フィネレノンは非処置群と比較して有意に減少させた。長期試験（Diabetes Obes Metab 2018_20_2399/Figure 1, 2, 3）では、フィ

ネレノンは、非処置群で有意に増加した LV 拡張末期圧及び LV 拡張末期圧－容量関係並びに LV 収縮期径及び LV 拡張期径をいずれも有意に減少させ、この変化は非処置群で有意に増加した LV 重量及び LV コラーゲン密度のフィネレノンによる有意な減少と関連していた。フィネレノンの長期投与により、非処置群で有意に増加した尿タンパク及び腎 NGAL 発現は有意に減少した。

以上の結果から、フィネレノンは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。

2.6.2.2.2.9 虚血／再灌流誘発慢性腎臓病マウスモデルにおける作用

参照項目：4.2.1.1.11 Kidney Int 2018_93_1344

CKD に対する有効性を評価するため、一側及び両側腎 I/R 誘発 CKD マウスモデルにおけるフィネレノンの作用を検討した。

ペントバルビタール（60mg/kg）麻酔下で、マウス（雄性 C57BL/6、8 週齢、1 群 5～6 例）を開腹し、腎臓を露出させ腎茎部に非外傷性血管クランプを挟み 22.5 分間（両側）又は 30 分間（一側）虚血を誘発した後、クランプを外し血流を再灌流させた。フィネレノンの 10mg/kg（媒体：40%kolliphor、10%エタノール及び 50%水）を I/R 処置の 48、24 及び 1 時間前に強制経口投与した。4 週間後に採血して血漿中のクレアチニン及び尿素濃度を自動分析装置で測定した。試験の最後に腎臓を摘出し、固定後シリウスレッド染色切片の組織学的検査を行い、腎組織及び腎マクロファージ（M）から抽出した RNA を用いたリアルタイム PCR により、腎線維化マーカー（TGF-β）、炎症促進性 M1 マーカー〔腫瘍壊死因子（TNF）-α、IL-1β、単球走化性タンパク質-1（MCP-1）及び RANTES〕、抗炎症性 M2 マーカー〔プラスミノーゲン活性化阻害因子（PAI-1）、マンノース受容体、PPAR-γ、IL-10、Arg1 及び Ym1〕並びに IL-4 受容体の mRNA 発現量をそれぞれ定量した。

両側腎 I/R の 4 週間後に、非投与 I/R 群の血漿中クレアチニン、血漿中尿素及び TGF-β発現量は非手術対照群と比較して有意に増加し、フィネレノンはこれらの増加をいずれも有意に減少させた（4.2.1.1.11 Kidney Int 2018_93_1344/Figure 1a, 1b, 1d）。腎臓の組織学的検討では非投与 I/R 群で顕著なコラーゲン沈着がみられたが、フィネレノン群ではコラーゲン沈着はみられず、また、一側腎 I/R マウスでは非投与 I/R 群で重度の尿細管間質性の線維化が誘発されたが、フィネレノン群では重度の腎線維化は有意に減少した（Kidney Int 2018_93_1344/Figure 1e, 1f, 1g, 1h, S3）。両側腎 I/R マウス非投与群では尿タンパクが偽手術群と比較して有意に増加したが、フィネレノン群ではこの増加は有意に抑制された（Kidney Int 2018_93_1344/Figure 1c）。このような I/R 後の非投与群でみられた慢性的腎機能障害及び線維化に対するフィネレノンの保護作用は、フィネレノン群の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（Kidney Int 2018_93_1344/Figure 1k, 1i）と関連していた。フィネレノンによる MR 阻害により、腎全体で IL-4 受容体の発現が増加しリン酸化（活性化）が促進され、単離マクロファージでは IL-4 受容体陽性細胞の割合が増加することから（Kidney Int 2018_93_1344/Figure 4a, 4b, 4c）、その結果として、マクロファージ集団において M2 フェノタイプへの極性化が促進されたと考えられる。

2.6.2.2.2.10 虚血／再灌流誘発慢性腎臓病ラットモデルにおける作用

参照項目：4.2.1.1.12 Hypertension 2017_69_870

急性腎障害（AKI）及び CKD に対する有効性を評価するため、両側腎 I/R 誘発 CKD ラットモデルにおけるフィネレノンの作用を検討した。

ペントバルビタール（30mg/kg）麻酔下で、ラット（雄性 Wistar、8 週齢、急性試験 1 群 5～8 例、慢性試験 1 群 7～9 例）を開腹し、腎臓を露出させ腎茎部に非外傷性血管クランプを挟み 25 分間（急性試験）又は 45 分間（慢性試験）虚血を誘発した後、クランプを外し血流を再灌流させた。急性試験では I/R 処置の 48、24 及び 1 時間前に、慢性試験では I/R 処置の 2 日、1 日及び 1 時間前に、それぞれフィネレノンの 10mg/kg（媒体：40%kolliphor、10%エタノール及び 50%水）を強制経口投与した。急性試験では、24 時間後に、慢性試験では 4 ヵ月後に採血し血漿中クレアチニン及び尿素濃度を自動分析装置で定量し、腎臓を摘出し固定して組織学的検討を実施した。また、腎組織から抽出した RNA を用いたリアルタイム PCR を実施し、NGAL 及び KIM-1 mRNA 量を分析した。慢性試験では、I/R 処置の 24 時間後に、ペントバルビタール（30mg/kg）麻酔下で右大腿動脈にポリエチレンチューブを挿入し、左腎動脈に超音波流量プローブ（Transonic）を設置して、それぞれ平均動脈圧及び腎血流量をモニターした。

急性試験（4.2.1.1.12 Hypertension 2017_69_870/Figure 1A, 1B, 1F）では、非投与 I/R 群で 24 時間後に血漿中クレアチニン及び尿素濃度は偽手術群と比較して有意に増加し、腎機能障害が認められたが、フィネレノン群ではいずれの血漿中濃度も有意に減少した。組織学的検討から、非投与 I/R 群では尿細管障害（尿細管拡張、尿円柱及び細胞剥離）がみられ、フィネレノン投与群ではこれらの尿細管障害（障害尿細管率の上昇）は有意に減少した。また、AKI の特徴の一つであるマクロファージ CD68 浸潤の増加が非投与 I/R 群でみられたが、これもフィネレノン群では減少した。

慢性試験（Hypertension 2017_69_870/Figure 4）では、虚血誘発 4 ヵ月後に非投与 I/R 群で血漿中クレアチニン及び尿素濃度は偽手術群と比較して有意に増加し、腎機能障害への進展が認められたが、フィネレノン群ではいずれの血漿中濃度の増加もみられなかった。非投与 I/R 群では尿タンパク（121.6 ± 21.6mg/24hr）が有意に増加したが、フィネレノン群では非投与 I/R 群と比較して有意に減少した（57.6 ± 18.9mg/24hr）。虚血誘発腎障害発生 4 ヵ月後に非投与 I/R 群の腎血行動態は変化しており、主に腎血流量の減少傾向〔9.2 ± 0.5mL/分、p=0.09 vs 偽手術群（6.9 ± 0.5mL/分）〕の結果として腎血管抵抗が偽手術群と比較して有意に増加した。このような非投与 I/R 群の腎血行動態の変化は、フィネレノン群では観察されなかった。平均動脈圧は両群とも偽手術群と比較して有意な変化はみられなかった。偽手術群においては予想どおり尿細管及び糸球体構造が正常であったのに対して、非投与 I/R 群では虚血誘発 4 ヵ月後に尿細管拡張の進展、尿細管円柱の存在及び糸球体硬化がみられた。フィネレノン群では障害スコアで明らかなように、病変の発現をほぼ完全に予防した（Hypertension 2017_69_870/Figure 5）。また、非投与 I/R 群における NGAL mRNA 発現増加はフィネレノン群で有意に減少し、KIM-1 mRNA 発現も減少傾向を示した。腎組織のシリウスレッド染色切片の組織学的検討により、非投与 I/R 群では尿細管間質性線維化の進展がみられたが、フィネレノン群ではコラーゲンの沈着は限定されていた。このような組織学的知見は、腎臓の線維化促進性の遺伝子（TGF-β及び I 型コラーゲン）mRNA が非投与 I/R 群で増加し、フィネレノン群で増加が抑制されたという結果で裏付けられた。また、非投与 I/R 群と比較して、フィネレノン群では線維芽細胞のマーカーであるα-平滑筋アクチン（α-SMA）発現の有意な減少、及び上皮細胞統合性の指標である E-カドヘリン発現の有意な増加がウエスタンブロット分析により明らかになった。

2.6.2.2.2.11 アルブミン尿を伴う遺伝性慢性腎臓病ラットモデルにおける作用

参照項目：4.2.1.1.13 Front Pharmacol 2018_9_Article 1131

アルブミン尿は、酸化ストレスの増加に関連した腎血管障害の初期マーカーの一つである。Munich Wistar Frömter (MWF)ラットはアルブミン尿を自然発症し、NO の利用能低下を伴った内皮障害を示す。本 CKD ラットモデルにおけるフィネレノンの作用を検討した。

雄性の MWF ラット（12 週齢）及び対照として週齢を合わせた Wistar ラット（W-C ラット、尿中アルブミン値が正常）（1 群 10 例）に、フィネレノン（10mg/kg/日）又は媒体（10%エタノール、40%PEG400 及び 50%水）を 1 日 1 回 4 週間強制反復経口投与した。最終投与後に 24 時間採尿し、尿中アルブミン排泄（UAE）をラット特異抗体を用いた ELISA で定量した。その後、ケタミン（80mg/kg）及びキシラジン（8mg/kg）麻酔下で頸動脈にカテーテルを挿入し血圧を測定した。最後に胸部大動脈を摘出し、血管リング標本を作製して organ bath 内に吊るし、ノルアドレナリン（NA）及びアンジオテンシンⅡ(AngⅡ)誘発収縮及びアセチルコリン（Ach）誘発弛緩を検討した。また、血管標本を用いてウエスタンブロット分析により、Akt、内皮 NO 合成酵素（eNOS）及びそのリン酸化体を定量した。

媒体投与 MWF ラット群では SBP が媒体投与 W-C ラット群と比較して有意に上昇し、UAE が顕著に増加しアルブミン尿が認められ、一方、フィネレノン投与 MWF ラット群では媒体投与 MWF ラット群と比較して SBP が有意に低下し、UAE は 40%を超える有意な減少を示した（4.2.1.1.13 Front Pharmacol 2018_9_Article 1131/Figure 1）。媒体投与 MWF ラットの大動脈リング標本の収縮性を検討した結果、媒体投与 W-C ラットのリング標本と比較して、NA 及び AngⅡ収縮がより大きくなり(NA 誘発収縮では効力の指標である pD_2 の有意な増加、AngⅡ誘発収縮では最大反応の指標である E_{max} の有意な増加)、逆に、アセチルコリンによる弛緩はより小さくなった（pD_2 及び E_{max} の有意な減少）（Front Pharmacol 2018_9_Article1131/Table 2）。一方、フィネレノン投与 MWF の大動脈リング標本の反応性は媒体投与 MWF ラットと比較して有意な差があり（NA 誘発収縮では pD_2 及び E_{max} の減少、AngⅡ誘発収縮では E_{max} の減少並びに Ach 誘発弛緩では pD_2 及び E_{max} の増加）、概ね、媒体投与 W-C ラットの標本のレベルまで回復した。媒体投与 MWF ラットの大動脈標本において、発現した Akt 及び eNOS 中のリン酸化体（p）の割合（pAkt/Akt 及び peNOS/eNOS）が媒体投与 W-C ラットと比較して有意に低下し、フィネレノン投与 MWF ラットの大動脈標本では、媒体投与 MWF ラットと比較して有意に上昇したことから（Front Pharmacol 2018_9_Article1131/Figure 7D, 7E）、フィネレノン投与 MWF ラットの大動脈リング標本における反応の回復性は、Akt 及び eNOS 活性がアップレギュレーションされ NO 利用能が促進したことによるものと考えられる。

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 *In vitro*選択性プロファイル

2.6.2.3.1.1 オフターゲットに対する作用

参照項目：4.2.1.2.1 R-8637
4.2.1.2.2 R-13007
4.2.1.2.3 R-13008
4.2.1.2.4 R-13009
4.2.1.2.5 R-13010

オフターゲットに対する作用を検討するため、各ターゲット（56～57 種類の受容体、4 種類のトランスポーター及び 6 種類のイオンチャネルの計 66～67 種類）の特異的放射性リガンドを用いた結合アッセイを、フィネレノン（4.2.1.2.1 R-8637）並びに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）（それぞれ 4.2.1.2.2 R-13007、4.2.1.2.3 R-13008、4.2.1.2.4 R-13009 及び 4.2.1.2.5 R-13010）について実施した（n=2）。50%以上の阻害又は促進作用が認められた場合、「有意」と判定した。

ヒトの（神経）伝達物質系を主とする種々のオフターゲット〔アデノシン（A1、A2A 及び A3）、アドレナリン系（α1a、α1b、α1d、α2a、β1、β2 及び NET）、カンナビノイド（CB1）、ドーパミン（D1、D2s、D3、D4.4 及び DAT）、GABA（A、B1A 及び GABA-T）、グルタミン酸（カイニン酸、NMDA 及びグリシン）、ヒスタミン（H1、H2 及び H3）、ムスカリン性（M1、M2 及び M3）、オピオイド（δ1、κ及びμ）、セロトニン系（5-HT1a、5-HT2b、5-HT3 及び SERT）等〕に対して、フィネレノン及び 4 種類のヒト血漿中主代謝物はいずれも 10μM で作用を示さなかった。

フィネレノンはジヒドロピリジンリード骨格由来の化合物であるが、L 型カルシウムチャネル（L 型ベンゾチアゼピン結合部位及びジヒドロピリジン結合部位）及び N 型カルシウムチャネル結合アッセイにおいて 10μM で作用を示さなかった。

2.6.2.3.1.2 ヒト心筋イオンチャネル発現細胞におけるフィネレノンのナトリウム及びカルシウムチャネルに対する作用

参照項目：4.2.1.2.6 PH-41101
4.2.1.2.7 PH-41111
4.2.1.2.8 PH-41106
4.2.1.2.9 PH-41107
4.2.1.2.10 PH-41109

フィネレノン（4.2.1.2.6 PH-41101、及び 2.6.2.4.1.1）並びにヒト血漿中主代謝物 M-1b：BAY 1117266（4.2.1.2.7 PH-41111）、M-1a：BAY 1117267（4.2.1.2.8 PH-41106 及び 2.6.2.4.1.1）、M-2a：BAY 1117268（4.2.1.2.9 PH-41107 及び 2.6.2.4.1.1）及び M-3a：BAY 1117271（4.2.1.2.10 PH-41109 及び 2.6.2.4.1.1）の心筋イオンチャネルに対する作用を、hNav1.5 発現ヒト胎児腎（HEK）293 細胞及び hCav1.2 発現 CHO 細胞を用いた *in vitro* 自動パッチクランプ記録法、並びに hERG カリウムチャネル発現 HEK293 細胞を用いた単極ホールセルボルテージクランプ法により検討した。

フィネレノン及びヒト血漿中主代謝物はいずれも 10μM までこれらの心筋イオンチャネルに対して作用を示さなかった。

以上、オフターゲット結合試験及び心筋イオンチャネルの電気生理学的試験の結果より、フィネレノンの高度の選択性が裏付けられた。

2.6.2.4 安全性薬理試験

生命維持に重要な器官系（CNS、ECG を含む心血管系及び呼吸器系）の機能に及ぼすフィネレノンの影響を *in vitro* 及び *in vivo* 試験で検討した。試験は ICH S7A「安全性薬理試験ガイドライン」及び S7B「ヒト用医薬品の心室再分極遅延（QT 間隔延長）の潜在的可能性に関する非臨床的評価」ガイドラインに従い、探索的に実施した代謝物の hERG 試験（4.2.1.3.1 A53161）及びペンチレンテトラゾール誘発痙攣試験（4.2.1.3.3 PH-36046）を除き、GLP の原則に則り実施した。

In vitro 試験ではフィネレノンは DMSO に溶解し、*in vivo* 試験では媒体として Wistar 又は Sprague-Dawley ラットにエタノール／ソルトール／水（10：40：50）又は PEG400／グリセリン／水（96.9：6.0：10.0）、Beagle イヌにエタノール／PEG400（10：90）を溶解又は懸濁し、経口投与した。

また、雄性 Wistar ラット及び雌雄 Beagle イヌにおいてフィネレノンの血漿中濃度を測定した試験の主要な結果を表 2.6.2.4- 1 及び表 2.6.2.4- 2 にまとめた。

表 2.6.2.4- 1 Wistar ラットにおける単回経口投与後のフィネレノンの全身暴露

		4.2.1.3.2 PH-35845			4.2.1.3.3 PH-36046		
Parameter	Dose	3mg/kg	10mg/kg	30mg/kg	30mg/kg	60mg/kg	100mg/kg
AUC (0-5)	[mg*h/L]	33.6	152.6	291.8	N/A	N/A	N/A
C_{max}	[mg/L]	10.6	39.6	94.5	114	168	162
$C_{max.u}$	[µg/L]	4.9	18.4	43.9	53.0	78.1	75.3
T_{max}	[h]	5.0	2.3	5.0	5.0	5.0	5.0

fu 0.0465%: 2.6.4.4.1

表 2.6.2.4- 2 Beagle イヌにおける単回経口投与後のフィネレノンの全身暴露

		4.2.1.3.4 PH-35861		
Parameter	Dose	1mg/kg	3mg/kg	10mg/kg
AUC (0-5)	[mg*h/L]	3.7	13.4	49.5
C_{max}	[mg/L]	1.4	4.0	13.9
$C_{max.u}$	[µg/L]	76.9	219.6	763.1
T_{max}	[h]	0.8	0.8	1.0

fu 5.49%: 2.6.4.4.1

2.6.2.4.1 *In vitro*試験

2.6.2.4.1.1 *In vitro*における心室再分極

参照項目：4.2.1.3.1 A53161
4.2.1.3.5 PH-35775

hERG カリウムチャネルを恒常的に発現するよう遺伝子導入した HEK293 細胞を用いた単極ホールセルボルテージクランプ法により、フィネレノン（1～100μM）及び 3 種類のヒト血漿中主代謝物〔BAY 1117267（M-1a）、BAY 1117268（M-2a）及び BAY 1117271（M-3a)〕(2.6.4.8.6)（0.1～100μM）の心室再分極に及ぼす影響を *in vitro* で評価した。

フィネレノンは *in vitro* hERG K^+電流に対して弱い阻害作用を示した（IC_{20} 値：約 22μM）(4.2.1.3.5 PH-35775)。一方、3 種類のヒト血漿中主代謝物は最高検討濃度まで 20%を超える阻害作用を示さず（IC_{20}値：M-1a；10μM 超、M-2a 及び M-3a；100μM 超）、*in vitro* で心室再分極を遅延させなかった（4.2.1.3.1 A53161）。

2.6.2.4.2 *In vivo*試験

2.6.2.4.2.1 呼吸器系

参照項目：4.2.1.3.6 A46292

非拘束、非麻酔ラット（雄性 Sprague-Dawley、8～10 週齢、1 群 8 例）を、全身プレチスモグラフィー（WBP）チャンバーに入れ、1 時間後に呼吸器系パラメータ（呼吸数、1 回換気量及び分時換気量）の投与前値を 30 分間測定した。次に、媒体又はフィネレノンの 3、10 及び 30mg/kg を強制経口投与し、WBP チャンバー内で 5 時間呼吸器系パラメータを測定した。

フィネレノンは最高 30mg/kg まで、いずれの呼吸器パラメータに対しても影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.2.2 中枢神経系

2.6.2.4.2.2.1 一般行動、自発運動活性及び体温

参照項目：4.2.1.3.2 PH-35845

ラット（雄性 Wistar、約 6 週齢、1 群 6 例）に媒体又はフィネレノンの 3、10 及び 30mg/kg を単回経口投与した。投与 0.5、1、2 及び 5 時間後に Irwin 変法により一般行動を約 4 分間観察して点数化した。投与 1 及び 5 時間後に、ラットを 1 匹ずつオープンフィールドボックスに入れ、移動距離、静止時間及び立ち上がり回数を 5 分間自動測定して自発運動活性を評価した。また、投与前及び投与 0.5、1、2 及び 5 時間後に体温を測定した。

フィネレノンはいずれの用量でも一般行動、自発運動活性及び体温に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.2.2.2 ペンチレンテトラゾール誘発痙攣

参照項目：4.2.1.3.3 PH-36046
4.2.1.3.7 PH-35773

ラット（雄性 Wistar、約 6 週齢、1 群 7 例）に媒体又はフィネレノンの 3、10 及び 30mg/kg を経口投与した。約 60 分後からペンチレンテトラゾール（PTZ）を尾静脈に持続投与して、痙攣が誘発されるまでに投与した PTZ 量を測定し痙攣閾値用量を算出した（4.2.1.3.7 PH-35773）。別の試験では、ラット（雄性 Wistar、約 6 週齢、1 群 7～8 例）に媒体又はフィネレノンの 30、60 及び 100mg/kg を経口投与、並びに陽性対称としてイソニアジドの 120mg/kg を皮下投与し、約 5 時間後から又イソニアジドでは 1 時間後から PTZ を持続静注した（4.2.1.3.3 PH-36046）。

いずれの試験においても、フィネレノンは全用量で PTZ 痙攣閾値用量に影響を及ぼさなかった。イソニアジドは有意に PTZ 誘発痙攣用量を減少させた（p＜0.05、vs 媒体群、Fisher's LSD test）。

2.6.2.4.2.2.3 運動協調性

参照項目：4.2.1.3.8 A45947

運動協調性に対する影響を評価するために 加速ロータロッド試験を実施した。加速ロータロッド試験のトレーニングを 3 日間実施し、翌日にラット（雄性 Wistar、4～5 週齢、1 群 12 例）に、媒体又はフィネレノンの 3、10 及び 30mg/kg を経口投与した。60 分後に、ラットをロータロッドに乗せ連続的に回転速度を上げながら、ラットが落下するまでの時間を測定した。

フィネレノンはいずれの用量でも、ロータロッドから落下するまでの時間が媒体群と同程度であり、運動協調性に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.2.3 心血管系

参照項目：4.2.1.3.4 PH-35861

イヌ〔Beagle、2～7 歳、雌雄各 4 例（全 8 例）を使って 1 用量 5 例ずつ投与〕の大腿動脈に血圧測定用のカテーテルを挿入し、胸部皮下に 2 本の ECG 電極を設置した。血圧及び ECG シグナルを、側腹部皮下に埋め込んだテレメトリー装置のトランスミッターを介したテレメトリーシステムで解析することで、収縮期、拡張期及び平均動脈圧、心拍数並びに ECG パラメータ〔第 2 誘導 ECG シグナル：PQ、QT、QTc（QT を Fridericia 及び van de Water 補正式を用いて心拍数で補正）及び QRS 間隔〕を測定した。心血管系パラメータの測定は、媒体又はフィネレノンの 1、3 及び 10mg/kg の経口投与 75 分前から投与 16 時間後まで 15 分ごとに実施した。

フィネレノンは、血圧及び心拍数に影響を及ぼさなかった。ECG パラメータに関しては、3 及び 10mg/kg で房室伝導の軽度促進（PQ 間隔が 5%～10%短縮）がみられたが、QT、QTc 及び QRS、間隔には影響を及ぼさなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

2.6.2.6 考察及び結論

細胞内 MR はアルドステロンによって活性化され、生理的フィードバックループを介して腎上皮細胞のナトリウム貯留及びカリウム排泄を制御する。しかしながら、慢性的なアルドステロン分泌増加（ACEI/ARB の投与により、又は投与したにもかかわらず血漿中アルドステロン濃度が増加する“アルドステロンブレークスルー”現象により誘発される[18]）又はアルドステロンによる塩濃度の調節不全（即ち、正常血漿中アルドステロン濃度であっても生じる慢性的な高ナトリウム貯留[19]）により異常な MR の過剰活性化が誘発される。MR は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（げっ歯類ではコルチコステロン）に同程度の親和性で結合し、両ホルモンは MR 過剰活性化を介して心血管系疾患を発生させる。

MR 過剰活性化による炎症及び線維化は腎臓においてもみられている[20]。その結果としての糸球体ポドサイト障害及びメサンギウム細胞増殖は糸球体傷害、腎血管収縮及びアルブミン尿として現れる可能性がある。腎線維芽細胞における MR 過剰活性化は炎症マーカー（MCP-1、PAI-1、

OPN、IL-6 及び IL-1β）の発現増加を引き起こす可能性がある[21]。また、MR 過剰活性化はおそらくポドサイトのアポトーシスを誘発するか、あるいは少なくとも糸球体装置に必須の細胞種であるポドサイトの接着能を消失させると考えられる。ポドサイトの機能不全又は細胞数減少は、糸球体硬化過程の重要なステップである糸球体基底膜の露出及びアルブミンのような高分子の漏出の原因になり得る。MR は、メサンギウム細胞及び皮質集合管主細胞等、他の腎細胞においても発現する。皮質集合管主細胞における MR 過剰活性化によって、炎症の主要調整因子であり、アルドステロンを介する尿細管障害にも寄与する核内因子-κB（NF-κB）の活性が増加することが示されている。異なるタイプの糸球体、尿細管及び血管系の腎細胞に発現する MR の慢性的な過剰活性化の結果として、線維化、タンパク尿、腎機能低下及び最終的な腎不全につながることが考えられる。

これまでに実施された MR 過剰活性化を標的とした MRA（スピロノラクトン及びエプレレノン）の小規模臨床試験成績において、CKD の進展抑制の指標として確立されたサロゲートマーカーである尿中アルブミン排泄に 30%以上の持続的な低下[22]が認められている。しかしながら、これら 2 種類のステロイド型 MRA には構造に起因する特性から臨床使用上の課題がある[4, 8]。例えば、スピロノラクトンは高い有効性を持つものの、MR 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に対しても作用し、臨床的に問題となる副作用を起こす可能性がある。一方のエプレレノンは選択性プロファイルがスピロノラクトンより改善された第 2 世代の MRA であるが、*in vitro* 活性はスピロノラクトンの約 1/40 であり、高血圧患者を対象としたスピロノラクトンとの比較臨床試験において、より低い効力及び有効性しか示さなかった[23]。両 MRA は特に腎機能低下の背景を持つ患者において、ACEI 又は ARB[24]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ことも明らかになっている。

このような臨床使用可能なステロイド型 MRA において知られている課題を克服するために、有効性の高い新規の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。

In vitro 試験

MR トランス活性化アッセイにおいて、フィネレノンの IC_{50} は 17nM であり、その他のステロイドホルモン受容体の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（2.6.2.2.1.1）。したがって、フィネレノンは他のステロイドホルモン受容体に対して少なくとも 500 倍以上の選択性を有することが示された。放射性リガンド結合アッセイにより得られた成績（2.6.2.2.1.2）からは、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）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、S810L 機能獲得型変異を有するヒト MR に対しても阻害作用を示した（2.6.2.2.1.3）。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り、プロゲステロン及びステロイド型 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。

MR の LBD には、α-ヘリックス 3、4、5 及び 12 から成るリガンド依存的な AF-2 が含まれる。LBD にリガンドが結合することにより、α-ヘリックス 12 が安定的に相互作用できるような構造変化を起こし、転写コレギュレーターの結合プラットホームとしての役割を持つ LBD 表面に疎水性の裂け目が形成される[25]。現在までに 400 種類を超える分子が転写コレギュレーターとして公表されており[26]、これらの分子は核内ホルモン受容体を介した遺伝子発現調節において中心的役割を持つと認識され、核内ホルモン受容体活性の組織及びリガンド選択性を決めるものと考えられている[27]。しかしながら、MR に関連する転写コレギュレーターは、約 20 種類と相対的に少数の報告しかない。但し、最近では MR－転写コレギュレーター共因子の相互作用におけるリ

ガンド及び組織選択性が報告されている[28, 29]。比較的一般的なコアクチベーターの中では、SRC-1、SRC-2 及び PGC-1αは LxxLL モチーフを介して MR の AF-2 領域と強く相互作用する[28]。

スピロノラクトン及びエプレレノンは、リガンド結合ポケット内に収まるものの安定な活性型コンフォメーションを形成しない、いわゆる“passive antagonist”であり、受容体と比較的速やかに解離し MR の C 末端 AF-2 ドメインの保存ヘリックス 12 を安定化できない。ステロイドホルモン受容体を含むすべての核内ホルモン受容体において、リガンド結合によりヘリックス 12 の位置はシフトする[30]。スピロノラクトン及びエプレレノンとは異なり、非ステロイド型、ジヒドロピリジン構造の MRA である BR-4628 及びフィネレノンは“bulky-passive antagonist”である[8, 11, 31]。嵩張った（bulky）非ステロイド型 MRA の結合により、MR の C 末端 AF-2 ドメインにおけるヘリックス 12 の突出が起こりやすく、その結果として、不安定な受容体－リガンド複合体が形成され、コレギュレーターを動員することができない[3]。核内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。ある種の“嵩張った”化学合成リガンドは、内因性リガンドによる活性化核内受容体とは異なる受容体タンパク質構造を形成すると考えられ、その結果、コレギュレーターの転換が起こる[32]。このような嵩張った置換基を入れて側鎖を延長することは、エストロゲン受容体アンタゴニスト作用の研究領域においては確立した手法である。閉経後の女性の骨粗鬆症の予防及び治療を適応症とするラロキシフェンはこの 1 例であり、ステロイド型リガンドとは異なるエストロゲン受容体タンパク質構造を誘導し、異なる組み合わせの転写コレギュレーターと結合する[33]。

In vitro 試験において、アルドステロン誘発性コレギュレーター動員及びそれに引き続く下流の転写性遺伝子発現の阻害作用におけるフィネレノン及びエプレレノン間の効力及び有効性の違いを明らかにした（2.6.2.2.1.4）。フィネレノンはアルドステロン誘発性 TNX 発現を濃度依存的に抑制したのに対して、エプレレノンの阻害作用は弱く、スピロノラクトンは有意な阻害作用を示さなかった。これらの *in vitro* データから、MR コレギュレーター結合を異なる形で制御する能力において、ステロイド型の MRA とフィネレノンのような非ステロイド型の MRA の作用間に大きな差があることが明らかになった。

フィネレノンの 3 種類のヒト血漿中代謝物の主成分 M-1、M-2 及び M-3 の *in vitro* における検討により、最高 9μM まで主代謝物にヒト MR に対する薬理作用は認められなかった（2.6.2.2.1.5）。

In vivo 試験

フィネレノンは 0.3mg/kg の単回投与で無麻酔ラットにおいて有意なナトリウム利尿を誘発し、エプレレノンは最小有効用量として 3mg/kg でナトリウム利尿を誘発した。フィネレノンは 3 及び 10mg/kg で、それぞれエプレレノンの 10～30mg/kg 及び 100mg/kg と同程度の尿中ナトリウム濃度増加作用を示した（2.6.2.2.2.1）。フィネレノンは無麻酔イヌにおいて、0.01、0.1 及び 1mg/kg で有意に尿中 Na^+/K^+比を上昇させた（2.6.2.2.2.2）。

フィネレノンの作用を、心筋梗塞誘発心不全又は脳卒中モデル等の腎及び心疾患の慢性非臨床モデルで評価した。フィネレノンは、DOCA-salt ラットモデル（2.6.2.2.2.3）、cMI ラットモデル（2.6.2.2.2.4）及び SHRSP モデル（2.6.2.2.2.5）において、心不全の進展に対して顕著な保護作用を示した。また、用量依存的に収縮期及び拡張期の血行動態を改善し、心筋の肥大及び線維化を抑制した。DOCA-salt 及び SHRSP モデルにおいてフィネレノン投与群では心筋変性を抑制した。DOCA-salt 及び cMI ラットモデルにおいて、この疾患に関連したバイオマーカーである NT-proBNP はフィネレノンの 1mg/kg/日の投与で減少した。cMI ラットモデルでは、同じ用量で、心筋梗塞 8 週間後に心不全を発症した動物の心肺における収縮性、tau、LVEDP を含む複数の血行動態パラメータを改善し、右室及び肺の重量並びに OPN 発現を減少させた。一方、DOCA-salt

ラットモデルにおけるステロイド型 MRA、エプレレノンの保護作用は限定的であり、その作用は主に 30mg/kg での組織学的及びバイオマーカー発現パラメータにおける保護作用であった。スピロノラクトンの作用も同様であり、SHRSP モデルにおいて 30mg/kg で死亡率低下を伴わない中等度の臓器保護作用を示したのみであった。DOCA-salt ラットモデルにおいて、フィネレノンは腎肥大及び尿タンパクを、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抑制した。同様の比較で、フィネレノンは数種類の炎症促進性及び線維化促進性バイオマーカーに関してもエプレレノンより減少した。フィネレノンは糸球体、尿細管及び腎血管の損傷に対して用量依存的な保護作用を示した。また、SHRSP モデルにおいても、フィネレノンはスピロノラクトン及びエプレレノンよりも顕著な腎保護作用を示した。反復投与動物モデルにおいて、ステロイド型 MRA が抗リモデリング作用を発揮するためには、単回投与動物モデルにおいてナトリウム利尿及び抗カリウム利尿を示す用量よりも比較的高い用量が必要であるとされている。実際、ラットの単回投与試験におけるナトリウム利尿用量[34, 35]は、同様の反復投与試験における心保護作用（すなわち、相対心重量及び BNP 濃度の減少作用を指標とした抗心肥大作用）の用量の 1/10 以下である[36, 37, 38, 39]。

圧負荷誘発心肥大マウスモデルにおいて、フィネレノンはエプレレノンよりも大きな心肥大抑制作用を示した（2.6.2.2.2.6）。フィネレノンによる心保護作用はエプレレノン投与動物とは異なる心筋遺伝子発現パターンを伴っていた。したがって、フィネレノンの心肥大の抑制作用は心筋遺伝子調節変更の結果である可能性が考えられ、この変更は異なる組織分布パターン及びその結果としての組織特異的 MR コレギュレーター調節を介するものである。化合物の化学構造に基づくステロイド受容体の組織選択的調節というコンセプトは、もともと、選択的エストロゲン受容体モジュレーターであるタモキシフェン及びラロキシフェン開発の土台としてエストロゲン受容体で説明されたものである。これらの薬剤の組織特異的活性の少なくとも一部は組織特異的コアクチベーターにおける作用に起因するものであった[40]。

マウスの短期間イソプロテレノール皮下投与誘発心筋線維化モデルを用いて、フィネレノン及び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（2.6.2.2.2.7）。両 MRA はいずれもイソプロテレノール誘発の LVM 増加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、エプレレノンではこの作用は弱かった。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 TNX 発現に対する有意な抑制作用（2.6.2.2.1.4）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。

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／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（2.6.2.2.2.8）。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。

両側腎 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 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（2.6.2.2.2.9）。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、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を伴っていた。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の増加、並びにそれによる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悪化を抑制し、血漿中クレアチニン及び尿素濃度の増加も抑制した（2.6.2.2.2.10）。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した。また、KIM-1 及び NGAL 発現を減少させ、シリウスレッド染色によ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マーカーであるα-SMA 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%以上減少させ、SBP を有意に低下させた（2.6.2.2.2.11）。

副次的薬理試験

放射性リガンド結合試験を用いた広範囲なオフターゲットスクリーニングにおいて、フィネレノン及びヒト血漿中主代謝物は非特異的な作用を示さなかった。同様に心筋の hERG、hNav1.5 及び hCav1.2 チャネルにも影響を及ぼさなかった。これらの結果から、フィネレノンの薬理学的ターゲットに対する特異性及び選択性が明らかになった。

安全性薬理試験

安全性薬理試験において生命維持に重要な器官系（CNS、ECG を含む心血管系及び呼吸器系）の機能に及ぼすフィネレノンの影響を検討した。フィネレノンはラットの CNS 及び呼吸器系機能並びにイヌの血行動態パラメータ/ECG（QRS 及び QT/QTc 間隔）において生理的な影響を及ぼさず、無影響量（NOEL）はそれぞれ 30mg/kg 及び 10mg/kg であった。*In vitro* では心室再分極（hERG K^+電流）に弱い作用〔IC_{20}値：約 22μM（8,325μg/L）〕を示したが、以下に示す CKD 患者への最大推奨臨床用量（MRHD）20mg 投与時の非結合型血漿中濃度と比べると極めて高濃度であり、実質的な影響を及ぼさないと考えられた。また、イヌの ECG で PQ 間隔を軽度短縮（NOEL：1mg/kg）したが、この時の最高血漿中非結合濃度も MRHD 投与時の血漿中濃度の 16 倍以上であった。

CKD 患者にフィネレノンの MRHD 20mg 投与時の平均最高血漿中濃度は 161μg/L（$C_{max,u}$=13.4μg/L、f_u=8.33%）であった（2.4.4.8）。イヌの安全性薬理試験においてフィネレノンの 3mg/kg 以上の用量で房室伝導の加速がみられ、この時の最高血漿中濃度は 4.0mg/L（$C_{max,u}$=219.6μg/L、f_u=5.49%）（表 2.6.2.4- 2）であった。一方、血行動態パラメータ（血圧及び心拍数）は 10mg/kg まで〔最高血漿中濃度 13.9mg/L（$C_{max,u}$=763.1μg/L）〕影響がみられなかった。これらの血漿中濃度（$C_{max,u}$）はそれぞれヒトの約 16 及び 57 倍に相当する。ラットにおいては、最高 30mg/kg〔C_{max}= 約 94.5mg/kg（$C_{max,u}$= 約 43.9μg/L、f_u=0.0465%）〕まで CNS 機能に影響を及ぼさず、PTZ 痙攣閾値用量も 100mg/kg まで変化はみられなかった〔血漿中濃度は 60mg/kg 以上で頭打ち：60mg/kg で C_{max}= 約 168mg/L（$C_{max,u}$= 約 78.1μg/L）〕（表 2.6.2.4- 1）。これらの血漿中濃度は、それぞれヒトの約 3 及び 6 倍に相当する。

安全性薬理の観点から、フィネレノンは臨床において有害な影響を引き起こす可能性は低いと考えられる。

2.6.2.7　　図表

図表は本文中に記載した。

引用文献一覧

1) Nagase M et al., Nat Rev Nephrol 2013:9:86-98 (4.3.1)
2) Kolkhof P et al., Handb Exp Pharmacol. 2016:243:271-305 (4.3.2)
3) Kolkhof P et al., Mol Cell Endocrinol. 2012:350:310-317 (4.3.3)
4) Jeunemaitre X et al., Am J Cardiol. 1987;60:820-825 (4.3.4)
5) Garthwaite SM et al., Mol Cell Endocrinol. 2004:217:27-31 (4.3.5)
6) de Gasparo M et al., J Steroid Biochem. 1989:32:223-227 (4.3.6)
7) Shavit L et al., Kidney Int. 2012:81:955-968 (4.3.7)
8) Bärfacker L et al., ChemMedChem. 2012:7:1385-1403 (4.3.8)
9) Bakris GL et al., Am J Nephrol. 2019:50:333-344 (4.3.9)
10) Kolkhof P et al., J Endocrinol. 2017:234:T125-T140 (4.3.10)
11) Amazit L et al., J Biol Chem. 2015:290:21876-21889 (4.3.11)
12) Geller DS et al., Science. 2000:289:119-123 (4.3.12)
13) Gerisch M et al., Drug Metab Dispos.2018:46:1546–1555 (4.3.13)
14) Rosenthale ME et al., Proc Soc Exp Biol Med. 1965:118:806-809 (4.3.14)
15) Wenzl H et al., Arzneim Forsch. 1971:21, :S:1115-1122 (4.3.15)
16) Yamori Y et al., Jpn Circ J. 1975:39:611-615 (4.3.16)
17) Kolkhof P et al., Eur Heart J. 2012:33, Abstract S:978-979 (4.3.17)
18) Bomback AS et al., Nat Clin Pract Nephrol. 2007:3:486-492 (4.3.18)
19) Nagase M et al., Hypertens Res. 2009:32:649-657 (4.3.19)
20) Barrera-Chimal J et al., Kidney Int. 2019:96:302-319 (4.3.20)
21) Brown NJ. Nat Rev Nephrol. 2013:9:459-469 (4.3.21)
22) Bomback AS et al., Am J Kidney Dis. 2008:51:199-211 (4.3.22)
23) Weinberger MH et al., Am J Hypertens. 2002:15:709-716 (4.3.23)
24) Navaneethan SD et al., Clin J Am Soc Nephrol. 2009:4:542-551 (4.3.24)
25) Huyet J et al., Mol Pharmacol. 2007:72:563–571 (4.3.25)
26) O'Malley BW. Mol Endocrinol. 2016:30:1015–1018 (4.3.26)
27) Lonard DM et al., Cell. 2006:125:411–414 (4.3.27)
28) Yang J et al., Mol Cell Endocrinol. 2012:350:196–205 (4.3.28)
29) Fuller PJ et al., J Endocrinol. 2017;234:T23-T34 (4.3.29)
30) Nagy L et al., Trends Biochem Sci. 2004:29:317–324 (4.3.30)
31) Fagart J et al., J Biol Chem. 2010:285:29932-29940 (4.3.31)

32) Imai Y et al., Physiol Rev. 2013:93:481-523 (4.3.32)
33) Rastinejad F et al., J Mol Endocrinol. 2013:51:T1-T21 (4.3.33)
34) de Gasparo M et al., J Pharmacol Exp Ther. 1987:240:650–656 (4.3.34)
35) Kagawa CM. Endocrinology. 1960:67:125–132 (4.3.35)
36) Delyani JA et al., Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2001:50:H647–H654 (4.3.36)
37) Rocha R et al., Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2002:283:H1802–H1810 (4.3.37)
38) Brandish PE et al., J Cardiovasc Pharmacol. 2009:53:44–51 (4.3.38)
39) Kramer F et al., Biomarkers. 2008:13:270-281 (4.3.39)
40) Shang Y et al., Science 2002:295:2465–2468 (4.3.40)

2.6.3.1 薬理試験： 一覧表

試験一覧表は、2.6.3.2、2.6.3.3、2.6.3.4 及び 2.6.3.5 を参照。

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

Test Article: **BAY 94-8862 (finerenone)**

Primary Pharmacodynamics – Overview

Type of Study	Test System	Method of Administration	Noteworthy findings	Location in CTD (Report Number)
In vitro				
Pharmacological *in vitro* characterization of BAY 94-8862	*In vitro* cell-based human steroid hormone receptor (GR, AR, PR, ER) and human, rat and dog MR assays	-	IC_{50} of 17 nM at human MR; IC_{50} of about 10.000 nM or higher at all other human steroid hormone receptors; no agonistic activity of BAY 94-8862 at any human steroid hormone receptor	4.2.1.1.1 (PH-35689)
In vitro effects on coregulator (coactivator and corepressor) recruitment to MR-LBD	*In vitro* microarray assay for real-time coregulator-nuclear receptor interaction (MARCoNI)	-	Inhibition of aldosterone-induced MR-coactivator or -corepressor binding, more potent than eplerenone; Inhibition of MR-coactivator or MR-corepressor binding in the absence of aldosterone, acting as an inverse agonist, whereas eplerenone induced the binding, acting as a partial agonist	4.2.1.1.2 (Hypertension 2018_71_599)
Pharmacological *in vitro* characterization of six atropisomers of the predominant human plasma metabolites of BAY 94-8862	*In vitro* cell-based human MR assay	-	No pharmacological activity up to 9 µM of the atropisomers of the three predominant human plasma metabolites of BAY 94-8862 at human MR	4.2.1.1.3 (PH-36933)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Noteworthy findings	Location in CTD (Report Number)
In vivo				
Acute diuretic effects	*In vivo* *acute diuresis model (rat)*	Oral administration	Dose dependent increase of sodium excretion with a minimal effective dose of 0.3 mg/kg	4.2.1.1.4 (PH-35690)
Anti-mineralocorticoid effect	*In vivo* Astonin H challenge model (dog)	Oral administration	Increase in Na^+/K^+ ratio from 10 μg/kg BAY 94-8862 onwards	4.2.1.1.5 (PH-35702)
Prevention of hypertension-induced end-organ damage of heart and kidney	*In vivo* DOCA-salt model (rat)	Oral administration	Dose dependent reduction of cardiac and renal hypertrophy, proteinuria, renal gene expression of inflammatory and pro-fibrotic marker, and plasma pro-BNP;	4.2.1.1.6 (PH-35687)
Effects in post-MI HF	*In vivo* chronic myocardial infarction model (rat)	Oral administration	Improvement of hemodynamic function and decrease in pro-BNP with 1 mg/kg BAY 94-8862	4.2.1.1.7 (PH-35686)
Survival, prevention of end-organ damage	*In vivo* Stroke-prone spontaneous hypertensive model (rat)	Oral administration	Improved survival with BAY 94-8862 compared to spironolactone and eplerenone; robust nephroprotection with BAY 94-8862 as determined by proteinuria, renal osteopontin expression and renal histopathology; less pronounced with eplerenone and spironolactone	4.2.1.1.8 (PH-35688)
Effects on cardiac hypertrophy and left ventricular gene expression	*In vivo* pressure-induced cardiac hypertrophy model (mouse)	Oral administration	Many differences in left ventricular gene expression between BAY 94-8862 (10 mg/kg/d) and eplerenone (200 mg/kg/d); Inhibition of TAC-induced increase in left ventricular mass by BAY 94-8862 but not eplerenone	4.2.1.1.9 (J Cardiovasc Pharmacol 2016_67_402)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Noteworthy findings	Location in CTD (Report Number)
Effects on cardiac hypertrophy, cardiac fibrosis and macrophage infiltration	*In vivo* cardiac fibrosis model (mouse)	Oral administration	Inhibition of isoproterenol-induced increase in left ventricular mass, cardiac fibrosis and macrophage invasion by BAY 94-8862 (10 mg/kg/d), whereas only inhibition of the increase in left ventricular mass by eplerenone (200 mg/kg/d); Inhibition of isoproterenol-induced increase in cardiac gene expression of some fibrotic molecules (such as TNX, TGF-β)	4.2.1.1.2 (Hypertension 2018_71_599)
Effects on diastolic cardiac dysfunction and nephropathy	*In vivo* type-2 diabetes mellitus model (rat)	Oral administration	Increase of myocardial tissure perfusion and decrease of ROS in Zucker fa/fa rats by short-time treatment of BAY 94-8862 (2 mg/kg/d); Improvement of diastolic cardiac function (such as LV end-diastolic pressure, LV end-diastolic pressure-volume relationship), reduction of LV weight and collagen density, and decrease of proteinuria and NGAL expression by long-term treatment	4.2.1.1.10 (Diabetes Obes Metab 2018_20_2399)
Effects on parameters of CKD after I/R treatment	*In vivo* renal I/R-induced CKD model (mouse)	Oral administration	Prevention by BAY 94-8862 (10 mg/kg, 3 times) of plasma creatinine, urea and TGF-β expression which increased for 4 weeks after I/R, and protection of subsequent chronic dysfunction and fibrosis, that were associsted with both a decrease of pro-inflammatory M1-marker expression and an increase of anti-inflammatory M2-marker expression	4.2.1.1.11 (Kidney Int 2018_93_1344)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Noteworthy findings	Location in CTD (Report Number)
Effects on parameters of AKI and CKD after I/R treatment	*In vivo* renal I/R-induced CKD model (rat)	Oral administration	Protection by BAY 94-8862 (10 mg/kg, 3 times) from increase of plasma creatinine and urea, and tublar lesions for 24hr after I/R (AKI); Protection by BAY 94-8862 from development of renal dysfunction (increase of plasma creatinine and urea, and urinary protein), modification of renal hemodynamics (increase of renal vascular resistance and decrease of renal blood flow), renal tissue damage (such as glomerular sclerosis), histological changes (such as tublointerstitial fibrosis) and change of marker proteins (increase of α-SMA and decrease of E-cadherin) for 4 months after I/R (CKD)	4.2.1.1.12 (Hypertension 2017_69_870)
Effects on albumin urea, *in vitro* aortic ring-contraction profiles (as indicators of endothelial dysfunction associated to low NO availability) and phosphorylation status of Akt and eNOS in aorta	*In vivo* genetic CKD model (rat)	Oral administration	Decrease of UAE and SBP by BAY 94-8862 (10 mg/kg/d); Reversal of endothelial dysfunction in aortic rings *in vitro* (decrease of E_{max} and/or pD_2 of NA- or Ang II-contraction, increase of E_{max} and pD_2 of Ach-induced relaxation); Upregulation of pAkt and peNOS in aorta	4.2.1.1.13 (Front Pharmacol 2018_9_Article 1131)

All studies except the following studies were performed at Bayer AG, Wuppertal, Germany.
Testing facility:
4.2.1.1.2: Deutsches Herzzentrum Berlin, Germany, 4.2.1.1.9 Charité-Universitaetsmedizin, Germany, 4.2.1.1.10: Normandie Univ.,France
4.2.1.1.11 and 4.2.1.1.12: INSERM,France, 4.2.1.1.13: Universidad San Pablo-CEU, Spain
-: not applicable

2.6.3.3 副次的薬理試験

Test article: **BAY 94-8862 (finerenone)**

Secondary Pharmacodynamics – Overview

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Location in CTD (Report Number)
Radioligand binding assays	Various	*In vitro*	[redacted][a]	4.2.1.2.1 (R-8637)
Radioligand binding assays conducted with BAY 1117266 (M-1b)	Various	*In vitro*	[redacted][a]	4.2.1.2.2 (R-13007)
Radioligand binding assays conducted with BAY 1117267 (M-1a)	Various	*In vitro*	[redacted][a]	4.2.1.2.3 (R-13008)
Radioligand binding assays conducted with BAY 1117268 (M-2a)	Various	*In vitro*	[redacted][a]	4.2.1.2.4 (R-13009)
Radioligand binding assays conducted with BAY 1117271 (M-3a)	Various	*In vitro*	[redacted][a]	4.2.1.2.5 (R-13010)
Effects on human cardiac ion channels	HEK293 cells (hNav1.5 Na^+), CHO cells (hCav1.2 L-type Ca^{2+})	*In vitro*	Bayer AG, Wuppertal, Germany	4.2.1.2.6 (PH-41101)
Effects of BAY 1117266 (M-1b) on human cardiac ion channels	HEK293 cells (hERG K^+, hNav1.5 Na^+), CHO cells (hCav1.2 L-type Ca^{2+})	*In vitro*	Bayer AG, Wuppertal, Germany	4.2.1.2.7 (PH-41111)
Effects of BAY 1117267 (M-1a) on human cardiac ion channels	HEK293 cells (hERG K^+, hNav1.5 Na^+), CHO cells (hCav1.2 L-type Ca^{2+})	*In vitro*	Bayer AG, Wuppertal, Germany	4.2.1.2.8 (PH-41106)
Effects of BAY 1117268 (M-2a) on human cardiac ion channels	HEK293 cells (hERG K^+, hNav1.5 Na^+), CHO cells (hCav1.2 L-type Ca^{2+})	*In vitro*	Bayer AG, Wuppertal, Germany	4.2.1.2.9 (PH-41107)
Effects of BAY 1117271 (M-3a) on human cardiac ion channels	HEK293 cells (hERG K^+, hNav1.5 Na^+), CHO cells (hCav1.2 L-type Ca^{2+})	*In vitro*	Bayer AG, Wuppertal, Germany	4.2.1.2.10 (PH-41109)

[a] [redacted], Taiwan, R.O.C.

2.6.3.4 安全性薬理試験

Test Article: **BAY 94-8862 (finerenone)**

Safety Pharmacology - Overview

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Location in CTD (Report Number)
Effects on hERG K+ current	Transfected HEK cells	*In vitro*	Bayer AG, Wuppertal, Germany	4.2.1.3.5 (PH-35775) [a] 4.2.1.3.1 (A53161) [b]
Effects on respiratory system	Rats	Oral (gavage)	Bayer AG, Berlin, Germany	4.2.1.3.6 (A46292)
Effects on central nervous system	Rats	Oral (gavage)	Bayer AG, Wuppertal, Germany Bayer AG, Berlin, Germany	4.2.1.3.2 (PH-35845) 4.2.1.3.7 (PH-35773) 4.2.1.3.3 (PH-36046) 4.2.1.3.8 (A45947)
Effects on cardiovascular system	Conscious dogs	Oral (gelatine capsule)	Bayer AG, Wuppertal, Germany	4.2.1.3.4 (PH-35861)

[a] study conducted with parent drug BAY 94-8862
[b] study conducted with metabolites BAY 1117267, BAY 1117268, and BAY 1117271

Test Article: **BAY 94-8862 (finerenone)**

Safety Pharmacology - *In-vitro* studies

Organ Systems Evaluated	Test system	Concentration [µmol/L]	Noteworthy Findings	GLP	Location in CTD (Report No.)
Electrophysiology					
hERG K^+ current	Transfected HEK cells (whole-cell voltage-clamp technique)	0 – 1 – 10 – 100 positive control E-4031: 1	low-potency hERG block (IC_{20} ~22 µmol/L); E-4031: ~95% hERG block.	Yes	4.2.1.3.5 (PH-35775) [a]
hERG K^+ current	Transfected HEK cells (whole-cell voltage-clamp technique)	0 – 0.1 – 1 – 10 – 100 positive control E-4031:1	low-potency hERG block (IC_{20} >10 µmol/L); E-4031: >90% hERG block.	No	4.2.1.3.1 (A53161) [b]

[a] study conducted with parent drug BAY 94-8862
[b] study conducted with metabolites BAY 1117267, BAY 1117268, and BAY 1117271

Test Article: **BAY 94-8862 (finerenone)**

Safety Pharmacology - *In-vivo* studies

Organ Systems Evaluated	Species /Strain	Method of Admin.	Doses [a] [mg/kg]	Gender (No. per Group)	Noteworthy Findings	GLP	Location in CTD (Report No.)
Central nervous system							
Behavior (mod. Irwin test)	Rat/ Wistar	Oral (gavage)	0 – 3 – 10 – 30	male (6)	None (up to 5 hours observation)	Yes	4.2.1.3.2 (PH-35845)
Locomotor activity (open field test)	Rat/ Wistar	Oral (gavage)	0 – 3 – 10 – 30	male (6)	None (up to 5 hours observation)	Yes	4.2.1.3.2 (PH-35845)
Body temperature	Rat/ Wistar	Oral (gavage)	0 – 3 – 10 – 30	male (6)	None (up to 5 hours observation)	Yes	4.2.1.3.2 (PH-35845)
Anti- / proconvulsive effect (pentylenetetrazole threshold test)	Rat/ Wistar	Oral (gavage)	0 – 3 – 10 – 30	male (7)	None (about 1 hour post-treatment)	Yes	4.2.1.3.7 (PH-35773)
Anti- / proconvulsive effect (pentylenetetrazole threshold test)	Rat/ Wistar	Oral (gavage)	0 – 30 – 60 – 100 (positive control: isoniazide, 120 mg/kg s.c.)	male (7-8)	None (about 5 hours post-treatment); isoniazide: proconvulsive effect at 1 hour post-treatment.	No	4.2.1.3.3 (PH-36046)
Motor coordination (RotaRod test)	Rat/ Wistar	Oral (gavage)	0 – 3 – 10 – 30	male (12)	None (about 1 hour post-treatment)	Yes	4.2.1.3.8 (A45947)

[a] single dose unless specified otherwise

Organ Systems Evaluated	Species /Strain	Method of Admin.	Doses [a] [mg/kg]	Gender (No. per Group)	Noteworthy Findings	GLP	Location in CTD (Report No.)
Respiratory system							
Whole-body plethysmo-graphy	Rat/ Sprague Dawley	Oral (gavage)	0 – 3 – 10 – 30	male (8)	No physiologically significant effects on respiration rate, tidal and minute volume (up to 5 hours observation).	Yes	4.2.1.3.6 (A46292)
Cardiovascular system							
Hemodynamics, ECG	Dog/ Beagle [b]	Oral (gelatine capsules)	0 – 1 – 3 – 10	male & female (5)	No effects on arterial blood pressure, heart rate, and QT/QTc interval (up to 16 hours observation); minor PQ interval shortening at ≥ 3 mg/kg.	Yes	4.2.1.3.4 (PH-35861)

Organ Systems Evaluated	Species /Strain	Method of Admin.	Doses [a] [mg/kg]	Gender (No. per Group)	Noteworthy Findings	GLP	Location in CTD (Report No.)
Systemic exposure							
Rat	Rat/ Wistar	Oral (gavage)	0 – 3 – 10 – 30	male (3)	mean $C_{max,u}$ at 0.5 to 5 hours post-treatment amounted to 5.0 µg/L, 18.6 µg/L, and 44 µg/L.	Yes	4.2.1.3.2 (PH-35845)
Rat	Rat/ Wistar	Oral (gavage)	0 – 30 – 60 – 100	male (6-8)	mean $C_{max,u}$ at ~5 hours post-treatment amounted to 53.6 µg/L, 79 µg/L, and 76.1 µg/L.	No	4.2.1.3.3 (PH-36046)
Dog	Dog/ Beagle [b]	Oral (gelatine capsules)	0 – 1 – 3 – 10	male & female (3)	mean $C_{max,u}$ at ~1 hour post-treatment amounted to 77 µg/L, 220 µg/L, and 765 µg/L.	Yes	4.2.1.3.4 (PH-35861)

[a] single dose unless specified otherwise
[b] conscious, telemetered dogs

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。