カナグル®錠 100mg
製造販売承認事項一部変更承認申請書
添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.4　非臨床試験の概括評価

田辺三菱製薬株式会社

目次

略語・略号一覧 3
2.4　非臨床試験の概括評価 4
2.4.1　非臨床試験計画概略 4
2.4.1.1　薬理試験 5
2.4.1.2　薬物動態試験 5
2.4.2　薬理試験 5
2.4.2.1　効力を裏付ける試験 5
2.4.3　薬物動態試験 5
2.4.3.1　その他の薬物動態試験 5
2.4.4　毒性試験 6
2.4.5　総括及び結論 6
2.4.5.1　薬理試験 6
2.4.5.2　薬物動態試験 6
2.4.6　参考文献一覧 7

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24h}$	area under the plasma concentration-time curve from time zero to 24 hours	0 時間から 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{24\text{-}48h}$	area under the plasma concentration-time curve from 24 hours to 48 hours	24 時間から 48 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{48\text{-}72h}$	area under the plasma concentration-time curve from 48 hours to 72 hours	48 時間から 72 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}last}$	area under the plasma concentration-time curve from time zero to last time	0 時間から最終測定時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}\infty}$	area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity	0 時間から無限大時間まで外挿した血漿中濃度-時間曲線下面積
CKD	Chronic Kidney Disease	慢性腎臓病
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
db/db	BKS.Cg-+*Lepr*^{db}/+*Lepr*^{db}/Jcl	－
h	hour	時間
SGLT	Sodium Glucose co-transporter	ナトリウムーグルコース共輸送体
SNGFR	Single Nephron Glomerular Filtration Rate	単一ネフロン糸球体濾過量
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
TGF	Tuburoglomerular feedback	尿細管糸球体フィードバック

2.4　非臨床試験の概括評価

カナグリフロジン水和物（(1S)-1,5-Anhydro-1-C-(3-{[5-(4-fluorophenyl)thiophen-2-yl]methyl}-4-methylphenyl)-D-glucitol hemihydrate）は，田辺三菱製薬株式会社にて創製された，経口投与可能なナトリウムーグルコース共輸送体（以下，SGLT）2 選択的阻害薬で，本邦ではカナグル錠 100 ㎎の販売名で 2 型糖尿病治療薬として使用されている．

2.4.1　非臨床試験計画概略

2 型糖尿病の重篤な合併症の一つとして慢性腎臓病（以下，CKD）が知られている．2 型糖尿病を伴う CKD は，血糖コントロールによりその進行が抑制されることから，血糖低下の重要性が示唆されている（DCCTR Group 1993; UKPDS Group 1998; Ohkubo 1995; Ismail-Beigi 2010; Duckworth 2009; ADVANCE Collaborative Group 2008）．一方で近年，血糖低下薬の中でも SGLT2 阻害薬には，血糖低下によらない腎保護的な効果があると報告されてきた．糖尿病では，高血糖により糸球体で濾過されるグルコースの量が増加する（Abdul-Ghani 2011）．さらに，2 型糖尿病患者では近位尿細管に存在するナトリウムーグルコース共輸送体である SGLT2 の発現が増加しており（Wang 2017），それに伴って糸球体で濾過されたグルコースの再吸収量が増加し（Farber 1951），同時に共輸送によって近位尿細管でのナトリウムの再吸収も促進される．そのため，遠位尿細管部位に到達するナトリウム及びクロール濃度が減少しており，尿細管糸球体フィードバック（以下，TGF）の破綻により，輸入細動脈が拡張し糸球体内圧が上昇する．糸球体内圧の上昇は糸球体過剰濾過，糸球体肥大，ポドサイトの脱落等を引き起こし（Kriz 2015），糸球体のバリア機能低下によって生じる蛋白尿が尿細管障害を引き起こすことでさらに腎機能障害を悪化させる．SGLT2 阻害薬によって SGLT2 を阻害するとグルコースの再吸収が阻害され，尿中へのグルコース排出が増加し血糖値が低下するが（Abdul-Ghani 2011），同時に近位尿細管でのナトリウムの再吸収が低下し，遠位尿細管に到達するナトリウム及びクロール濃度が上昇する．緻密斑がそれを感知すると，TGF の破綻で生じた輸入細動脈拡張が是正されて糸球体内圧が低下し，過剰濾過等による尿中アルブミン排泄の増加が軽減され，長期的な腎機能低下の抑制に働くことが期待される．実際に SGLT2 阻害薬は拡張した輸入細動脈径を減少させることで，糖尿病モデルマウスで上昇している単一ネフロン糸球体濾過量（以下，SNGFR）を低下させ，アルブミンの透過率を下げること（Kidokoro 2019），アルブミン尿の低下，メサンギウム領域の拡大の抑制，腎の炎症抑制等の作用が報告されている（Wang 2017）．

非臨床試験では，国内臨床投与量（100 mg/日）の血漿中曝露量における 2 型糖尿病を伴う CKD への作用を確認することを目的とした．そのため，まず病態モデルでの薬物動態試験を実施し，カナグリフロジン血漿中曝露量から国内臨床投与量相当のモデルマウスへの投与量を設定し，次に尿中アルブミン排泄量を指標として，カナグリフロジン水和物の 2 型糖尿病を伴う CKD に対する作用を評価した．なお，カナグリフロジンの用量（mg/kg, w/w%）は全て無水物換算値で示した．

2.4.1.1　薬理試験

カナグリフロジン水和物の効力を裏付ける試験として，2 型糖尿病モデルマウスである BKS.Cg-+*Lepr*^{db}/+*Lepr*^{db}/Jcl（以下，db/db）マウスを用いて，カナグリフロジン水和物の単回経口投与による腎糖再吸収阻害作用及び血糖降下作用を確認し，長期混餌投与による尿中アルブミン排泄量に対する作用を検討することにより，2 型糖尿病を伴う CKD に対する影響を評価した．

2.4.1.2　薬物動態試験

薬理試験に使用した db/db マウスにおけるカナグリフロジン水和物の薬物動態について検討した．雄性 db/db マウスにカナグリフロジン水和物を単回経口投与したとき，及び雄性 db/db マウスに 3 日間混餌投与したときの血漿中カナグリフロジン濃度を，液体クロマトグラフタンデム質量分析計により測定した．得られた血漿中カナグリフロジン濃度推移から，最高血漿中濃度（以下，C_{max}），消失半減期（以下，$t_{1/2}$）及び血漿中濃度-時間曲線下面積（以下，AUC）などの薬物動態パラメータを算出した．

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

2 型糖尿病モデルでアルブミン尿を呈する db/db マウスにおいて，カナグリフロジン水和物単回経口投与（0.3～30 mg/kg）により，用量依存的な腎糖再吸収阻害及び血糖低下が確認された．db/db マウスにおいてカナグリフロジン水和物は，SGLT2 を阻害することによって，腎におけるグルコースの再吸収を阻害し，尿糖としての排泄を促進した結果，血糖を低下したと考えられた．また，カナグリフロジン水和物は，db/db マウスへの 0.003 w/w%の 12 週間混餌投与により，尿中アルブミン排泄量の経時的増加を対照群と比較して有意に抑制した．

2.4.3　薬物動態試験

2.4.3.1　その他の薬物動態試験

非絶食下，雄性 db/db マウスに 3，10 及び 30 mg/kg のカナグリフロジン水和物を単回経口投与したときの血漿中カナグリフロジン濃度を測定した．血漿中カナグリフロジン濃度は，0.5～2.0 時間で C_{max} に到達し，2.4～2.6 時間の $t_{1/2}$ で血漿中から消失した．また C_{max}，$AUC_{0\text{-}last}$ 及び $AUC_{0\text{-}\infty}$ は，おおむね用量に比例して増加した．

雄性 db/db マウスに 0.003，0.01 及び 0.03 w/w%のカナグリフロジン水和物を 3 日間混餌投与したときの血漿中カナグリフロジン濃度を測定した．$AUC_{24\text{-}48h}$ 及び $AUC_{48\text{-}72h}$ は，おおむね用量に比例して増加した．また，いずれの用量においても血漿中カナグリフロジン濃度は投与開始から 24 時間以降でほぼ一定であったことから，投与開始から 24 時間後には定常状態に達していることが示唆された．

2.4.4　毒性試験

該当なし.

2.4.5　総括及び結論

2.4.5.1　薬理試験

2 型糖尿病モデルマウスを用いて，カナグリフロジン水和物の腎糖再吸収阻害作用及び血糖降下作用を確認し，長期混餌投与による尿中アルブミン排泄量に対する作用を検討することにより，2 型糖尿病を伴う CKD に対する影響を評価した.

2 型糖尿病モデルでアルブミン尿を呈する db/db マウスにおいて，カナグリフロジン水和物は単回経口投与により，用量依存的な腎糖再吸収阻害作用及び血糖低下作用を示した．カナグリフロジン水和物はヒト SGLT2 に対する阻害作用と同様，マウス SGLT2 に対する阻害作用を示すことから（初回承認時申請資料 2.6.2.2.1.1.3），db/db マウスにおいて，カナグリフロジン水和物は SGLT2 を阻害することによって腎におけるグルコースの再吸収を阻害し，尿糖としての排泄を促進した結果，血糖を低下したと考えられた．また，カナグリフロジン水和物は，db/db マウスへの 0.003 w/w%の 12 週間混餌投与により，尿中アルブミン排泄量の経時的増加を対照群と比較して有意に抑制した.

SGLT2 阻害薬は SGLT2 を阻害することにより，グルコースのみならずナトリウムの再吸収を抑制し，遠位尿細管に到達するナトリウム及びクロール濃度を上昇させる．緻密斑がそれを感知すると，TGF の破綻で生じた輸入細動脈拡張が是正され糸球体内圧が低下する結果，過剰濾過等による尿中アルブミン排泄の増加が抑制され，長期的な腎機能低下の抑制に寄与すると考えられる．実際に，糖尿病モデルマウスにおいて SGLT2 阻害薬は輸入細動脈径の拡張を抑制したことにより，糖尿病モデルマウスで上昇している SNGFR を低下させ，アルブミンの透過率を下げること（Kidokoro 2019），尿中アルブミン排泄量の減少や糸球体のメサンギウム領域拡大抑制，腎の炎症抑制を示すこと等が報告されている（Wang 2017）.

以上のとおり，カナグリフロジン水和物は 2 型糖尿病モデルマウスにおいて，SGLT2 を阻害することによる腎糖再吸収阻害作用及び血糖低下作用を示し，本モデルで観察された尿中アルブミン排泄量増加に対し抑制作用を示した．これらの結果は，2 型糖尿病を伴う CKD に対する有用性を支持するものと考えられた.

2.4.5.2　薬物動態試験

薬理試験に用いた db/db マウスにおけるカナグリフロジン水和物の薬物動態について検討した．単回経口投与後の C_{max}，$AUC_{0\text{-}last}$ 及び $AUC_{0\text{-}\infty}$は，3～30 mg/kg の投与量範囲において，おおむね用量に比例して増加した．また，3 日間混餌投与したときの $AUC_{24\text{-}48h}$ 及び $AUC_{48\text{-}72h}$ は，0.003～0.03 w/w%の投与量範囲において，おおむね用量に比例して増加した．いずれの用量においても血漿中カナグリフロジン濃度は投与開始から 24 時間以降でほぼ一定であったことから，投与開始から 24 時間後には定常状態に達していることが示唆された．3 mg/kg で単回経口投与したときの $AUC_{0\text{-}last}$ は 5726 ng· h/mL であり，0.003 w/w%で 3 日間混餌投与したとき

の $AUC_{24\text{-}48h}$ は 6493 ng· h/mL，$AUC_{48\text{-}72h}$ は 6169 ng· h/mL であった．これらの血漿中曝露量は，日本人の 2 型糖尿病患者にカナグリフロジン 100 mg/日を 16 日間投与した際の投与 16 日目における $AUC_{0\text{-}24h}$（6635 ng·h/mL，初回承認時申請資料 M2.7.6.12）とほぼ同程度であり，薬理試験の結果は臨床投与量相当での作用を示唆するものと考えられた．

以上のように，カナグリフロジン水和物は，2 型糖尿病モデルでアルブミン尿を呈する db/db マウスにおいて，臨床血漿中曝露量とほぼ同等の血漿中曝露量で，腎糖再吸収阻害作用，血糖低下作用及び尿中アルブミン排泄量増加抑制作用を示したことから，2 型糖尿病を伴う CKD に対する有用性を期待させるものと考えられた．

2.4.6　参考文献一覧

Abdul-Ghani 2011; Abdul-Ghani MA, Norton L, Defronzo RA. Role of sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT 2) inhibitors in the treatment of type 2 diabetes. Endocr Rev. 2011;32(4):515‐31.

ADVANCE Collaborative Group 2008; The ADVANCE Collaborative Group. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. N Engl J Med. 2008;358(24):2560‐72.

DCCTR Group 1993; The Diabetes Control Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med. 1993;329(14):977–86

Duckworth 2009; Duckworth W, Abraira C, Moritz T, Reda D, Emanuele N, Reaven PD, et al. Glucose control and vascular complications in veterans with type 2 diabetes. N Engl J Med. 2009;360(2):129‐39

Farber 1951; Farber SJ, Berger EY, Earle DP. Effect of diabetes and insulin on the maximum capacity of the renal tubules to reabsorb glucose. J Clin Invest. 1951;30(2):125-129.

Ismail-Beigi 2010; Ismail-Beigi F, Craven T, Banerji MA, Basile J, Calles J, Cohen RM, et al. Effect of intensive treatment of hyperglycaemia on microvascular outcomes in type 2 diabetes: an analysis of the ACCORD randomised trial. The Lancet. 2010;376(9739):419‐30.

Kidokoro 2019; Kidokoro K, Cherney DZI, Bozovic A, Nagasu H, Satoh M, Kanda E, et al. Evaluation of glomerular hemodynamic function by empagliflozin in diabetic mice using in vivo imaging. Circulation. 2019;140(4):303‐15.

Kriz 2015; Kriz W, Lemley KV. A potential role for mechanical forces in the detachment of podocytes and the progression of CKD. J Am Soc Nephrol. 2015;26(2):258‐69.

Ohkubo 1995; Ohkubo Y, Kishikawa H, Araki E, Miyata T, Isami S, Motoyoshi S, et al. Intensive insulin therapy prevents the progression of diabetic microvascular complications in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: a randomized prospective 6-year study. Diabetes Res Clin Pract. 1995;28(2):103‐17.

UKPDS Group 1998; UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). The Lancet. 1998;352(9131):837‐53.

Wang 2017; Wang XX, Levi J, Luo Y, Myakala K, Herman-Edelstein M, Qiu L, et al. SGLT2 Protein Expression Is Increased in Human Diabetic Nephropathy: SGLT2 protein inhibition decreases renal lipid accumulation, inflammation, and the development of nephropathy in diabetic mice. J Biol Chem. 2017;292(13):5335‐48.