KHK7791

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.4 非臨床試験の概括評価

協和キリン株式会社

略号及び用語の定義一覧

略号

略号	略していない用語
BCRP	Breast cancer resistance protein（乳癌耐性タンパク質）
CKD	Chronic kidney disease（慢性腎臓病）
CYP	Cytochrome P450（チトクローム P450）
DS	Drug substance（原薬）
DP	Drug product（製剤）
EC_{50}	50% effective concentration（50%有効濃度）
FMO	Flavin-containing monooxygenase（フラビン含有モノオキシゲナーゼ）
$hCa_v1.2/\beta2/\alpha2\delta$	Human voltage gated cardiac L-type Ca^{2+} channel 1.2 β2 and α2δ subtypes（ヒト電位依存性心臓 L 型 Ca^{2+}チャネル 1.2β2 及び α2δ サブタイプ）
hERG	Human ether-a-go-go related gene（ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子）
$hK_v11.1$	Human voltage-gated potassium channel 11.1（ヒト電位依存性カリウムチャネル 11.1）
$hK_v4.3$	Human voltage-gated potassium channel 4.3（ヒト電位依存性カリウムチャネル 4.3）
hKChIP2.2	Human voltage-gated potassium channel-interacting protein 2, Kv4 channel complex subunit（ヒト電位依存性カリウムチャネル相互作用タンパク質 2、Kv4 チャネル複合体サブユニット）
$hK_v7.1$	Human voltage-gated potassium channel 7.1（ヒト電位依存性カリウムチャネル 7.1）
hKCNE1	Human potassium voltage-gated channel subfamily E member 1（ヒトカリウム電位依存性チャネルサブファミリーE メンバー1）
ICa_L	Cardiac L-type Ca^{2+} current（心臓 L 型カルシウム電流）
I_{to}	Cardiac transient outward potassium current（心臓の一過性外向きカリウム電流）
IK_s	Slow delayed rectifier potassium current（緩徐遅延整流カリウム電流）
IK_r	Rapid delayed rectifier potassium current （急速遅延整流カリウム電流）
IC_{50}	50% inhibit concentration（50%阻害濃度）
IBAT	Ileal bile acid transporter（回腸胆汁酸輸送体）
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use（医薬品規制調和国際会議）
INN	International Nonproprietary Name（国際一般的名称）
JAN	Japanese Accepted Names for Pharmaceuticals（日本医薬品一般名称）
MATE	Multidrug and toxic compound extrusion transporter（多剤毒素排出輸送体）
MTD	Maximum tolerated dose（最大耐量）
Na^+/H^+	Sodium/hydrogen（ナトリウムイオン／プロトン）
NADPH	Reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate（還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸）
NaPi2b	Sodium-dependent phosphate co-transporter type 2b（ナトリウム依存性リン酸共輸送体 2b）
NHE	Na^+/H^+ exchanger（ナトリウムイオン／プロトン交換輸送体）
NK	Neurokinin 1（ニューロキニン）
OAT	Organic anion transporter（有機アニオン輸送体）
OATP	Organic anion transporting polypeptide（有機アニオン輸送ポリペプチド）
PEPT1	Peptide transporter 1（ペプチドトランスポーター1）
P-gp	P-glycoprotein（P-糖タンパク質）
PiT	Inorganic phosphate transporter（無機リン酸輸送体）
R_b	Blood to plasma partition ratio（血液−血漿分配比）
SGLT1	Sodium/glucose cotransporter 1（ナトリウム／グルコース共輸送体 1）

略号	略していない用語
TGR5	Takeda G-protein-coupled receptor 5（タケダ G タンパク質共役受容体 5）

用語の定義

用語	定義
AUC_{0-t}	投与後 t 時間までの血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
AUC_{last}	最終測定時点までの血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
^{14}C-テナパノル	^{14}C 標識したテナパノル
C_{max}	最高血漿中薬物濃度
$C_{max, ss}$	定常状態における最高血漿中濃度
C_{min}	血漿中濃度のトラフ値
CHO（細胞）	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HEK293（細胞）	ヒト胎児由来腎臓細胞株
HepaRG（細胞）	ヒト肝腫瘍由来細胞株
KHK7791	テナパノル塩酸塩、開発番号
M1	KHK7791 の代謝物、AZ13792925
OK（細胞）	オポッサム腎臓由来細胞株
pH	水素イオン濃度
PS120（細胞）	ハムスター肺由来線維芽細胞株
rasH2 マウス	rasH2-Tg (tg/wt)、ヒト由来 HRAS（c-Ha-ras）遺伝子導入マウス
テナパノル	KHK7791 の遊離塩基
テナパノル塩酸塩	KHK7791 の一般名（JAN）

目次

略号及び用語の定義一覧 2
2.4 非臨床試験の概括評価 6
1 非臨床試験計画概略 6
2 薬理試験 11
2.1 効力を裏付ける試験 11
2.2 副次的薬理試験 12
2.3 安全性薬理 12
2.4 薬力学的薬物相互作用試験 13
3 薬物動態試験 13
3.1 分析法 13
3.2 吸収 13
3.3 分布 14
3.4 代謝 14
3.5 排泄 15
3.6 薬物動態学的薬物相互作用 15
4 毒性試験 16
4.1 単回投与毒性試験 16
4.2 反復投与毒性試験 16
4.3 遺伝毒性試験 16
4.4 がん原性試験 17
4.5 生殖発生毒性試験 17
4.6 幼若動物試験 18
4.7 その他の毒性試験 18
4.7.1 主要代謝物 M1 の毒性 18
4.7.2 光毒性試験 19
4.7.3 不純物 19
5 総括及び結論 20
5.1 薬理試験 20
5.2 薬物動態試験 21
5.3 毒性試験 21
5.3.1 毒性プロファイル 21
5.3.2 消化管障害 21
5.3.3 消化管障害による二次的影響 22
5.3.4 ヒトにおける安全性の考察 22
6 参考文献 22

表

Table 1-1 安全性薬理試験の一覧表（被験物質：テナパノル塩酸塩） 8
Table 1-2 安全性薬理試験の一覧表（被験物質：M1） 8
Table 1-3 毒性試験の一覧表（被験物質：テナパノル塩酸塩） 9
Table 1-4 毒性試験の一覧表（被験物質：M1） 10
Table 1-5 毒性試験の一覧表（被験物質：不純物） 11
Table 4.7-1 安全性評価を実施した不純物及び分解物における規格値 20

2.4 非臨床試験の概括評価

高リン血症は、腎機能の低下に伴い、腎臓でのリン排泄能が低下することにより発症し、透析施行中の CKD 患者の多くに共通して認められる合併症である（Block et al., 2017）。

テナパノル塩酸塩（開発番号 KHK7791）は、腸管内で局所的に作用する選択性の高い低分子の NHE3 阻害薬であり、高リン血症を適応症とし、承認申請している。NHE3 は、主に腸管上皮細胞の頂端膜に発現する Na^+/H^+交換輸送体であり、ナトリウムと体液のバランスの維持において中心的な役割を担っている（Zachos et al., 2005）。Na^+/H^+交換は、塩素イオン／炭酸水素イオン（Cl^-/HCO_3^-）交換と密接に共役しており、腸管内の pH 恒常性を維持しながら、電気的中性の NaCl 及び水分の吸収を促す（Kato and Romero, 2011）。

テナパノル塩酸塩は、ヒト又はラット NHE3 を発現させた細胞において、ヒト及びラット NHE3 活性を阻害し、ヒト小腸上皮細胞において、傍細胞透過性の指標である経上皮電気抵抗を増加させ、細胞間隙のリン透過性を低下させた。なお、経上皮電気抵抗は、細胞内 pH により調節される（King et al., 2018）。

つまり、テナパノル塩酸塩は NHE3 活性を阻害し腸管内腔との Na^+/H^+交換輸送を阻害する。その結果、細胞内 pH が低下し、細胞間隙のリン透過性が低下したと考えられた。

テナパノル塩酸塩は、食事から摂取したリンの腸管からの吸収を抑制することにより、高リン血症に対して有用な治療薬となる可能性が考えられる。

1 非臨床試験計画概略

テナパノル塩酸塩及びヒトにおける主要代謝物である M1 を用いた非臨床薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験を以下のとおり実施した。

【薬理試験】

効力を裏付ける試験として、in vitro では、ヒト又はラットの NHE3 を発現させた PS120 細胞及び OK 細胞におけるテナパノル塩酸塩及び M1 の NHE3 阻害作用を評価した。また、ヒト小腸上皮細胞を用いてリン吸収抑制作用の機序を解析した。In vivo ではマウス、ラット、カニクイザル及び CKD モデルラットを用いて、糞便中及び尿中の水分及びナトリウムへの作用、並びに、尿中及び血中のリンへの作用等を評価した。また、ラットを用いてリン吸収抑制作用の機序を解析した。

副次的薬理試験では、in vitro 特異性評価として、181 種類の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素、並びに、腸に発現する膜輸送体及び胆汁酸受容体に対するテナパノル塩酸塩の作用を評価した。82 種類の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対する M1 の作用を評価した。また、ラットを用いてテナパノル塩酸塩の腸管輸送能、グルコース吸収及び胃排出への影響を評価した。

安全性薬理試験として実施した試験の一覧を、Table 1-1 及び Table 1-2 に示す。ラットを用いてテナパノル塩酸塩の中枢神経系、呼吸器系及び消化器系に及ぼす影響を評価した。イヌ及び in vitro 系を用いて、テナパノル塩酸塩及び M1 の心血管系に及ぼす影響を評価した。

薬力学的薬物相互作用試験として、ラットを用いてテナパノル塩酸塩及びリン吸着薬である炭酸セベラマー又は炭酸ランタンとの併用投与における尿中リン及びナトリウム排泄に対する作用を評価した。また、CKD モデルラットを用いて、高血圧治療薬であるエナラプリルとの併用投与における、心臓、血管及び腎臓の機能への影響を評価した。

【薬物動態試験】

吸収については、テナパノル塩酸塩又は M1 をマウス、ラット及びイヌに単回又は反復経口投与したときの血漿中曝露を評価した。

分布については、有色ラット及びアルビノラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を経口投与したときの放射能の組織分布、in vitro におけるテナパノル及び M1 の血漿蛋白非結合型分率、並びに M1 の R_b を評価した。

代謝については、in vitro ではラット、イヌ及びヒトの肝ミクロソーム、in vivo ではマウス、ラット、イヌ及びヒトの血漿を用いて評価した。また、in vitro でテナパノルの代謝酵素の同定、並びにテナパノル及び M1 の酵素誘導及び阻害作用を評価した。

排泄については、無処置ラット及び胆管カニュレーションラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を経口投与したときの尿、糞及び胆汁中排泄を評価した。

薬物動態学的薬物相互作用については、in vitro 試験により、テナパノル及び M1 について、種々の薬物トランスポーターによる輸送及び薬物トランスポーターに対する阻害作用を評価した。また、人工胃腸液中におけるテナパノルとリン吸着薬の相互作用を評価した。In vivo では、正常ラット又は CKD モデルラットにエナラプリルとテナパノル塩酸塩を併用投与したときのエナラプリルの血漿中曝露に及ぼすテナパノルの影響について評価した。

【毒性試験】

テナパノル塩酸塩の毒性プロファイルを把握するために、単回投与毒性試験（ラット）、反復投与毒性試験（マウス：最長 1 ヵ月、ラット：最長 6 ヵ月、イヌ：最長 9 ヵ月）、遺伝毒性試験（細菌、哺乳類培養細胞、マウス、ラット）、がん原性試験（rasH2 マウス：6 ヵ月、ラット：2 年）、生殖発生毒性試験（マウス、ラット、ウサギ、ゼブラフィッシュ）、幼若毒性試験（ラット：生後 5～61 日目及び生後 21～80 日目）を実施した。また、M1 の単回投与毒性試験（マウス、ラット）、反復投与毒性試験（マウス：最長 1 ヵ月）、遺伝毒性試験（細菌）、がん原性試験（rasH2 マウス：6 ヵ月）、生殖発生毒性試験（ラット、ゼブラフィッシュ）も実施した。その他の毒性試験として、イヌを用いた反復経口投与毒性試験及び変異原性の in silico 解析の結果に基づいて、不純物の安全性を評価した。

主要な毒性試験は GLP を適用した試験であり、ICH ガイドラインに準拠して実施した。毒性試験におけるテナパノル塩酸塩の投与経路は、一部の試験を除き、臨床での用法に合わせて経口投与とした。実施した毒性試験の一覧を Table 1-3、Table 1-4 及び Table 1-5 に示す。

Table 1-1 安全性薬理試験の一覧表（被験物質：テナパノル塩酸塩）

試験の種類	投与経路	試験系	報告書番号	GLP 適用
中枢神経系				
一般状態及び行動に及ぼす影響	経口	Sprague Dawley ラット	RDX5791-SP-02	適用
心血管系				
hERG 電流に及ぼす影響	in vitro	HEK293 細胞	RDX5791-SP-06	適用
心筋イオンチャネルに及ぼす影響	in vitro	ヒト心筋イオンチャネル発現 CHO 及び HEK293 細胞	3624[redacted]	非適用
無麻酔無拘束イヌにおける心拍数、血圧及び心電図に及ぼす影響	経口（カプセル）	ビーグル犬	RDX5791-SP-05	適用
3 ヵ月間経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験における心電図評価	経口（カプセル）	ビーグル犬	RDX5791-TX-11	適用
9 ヵ月間経口投与毒性試験における心電図評価	経口（カプセル）	ビーグル犬	[redacted]-775031	適用
呼吸器系				
無拘束ラットにおける呼吸数、1 回換気量及び分時換気量に及ぼす影響	経口	Sprague Dawley ラット	RDX5791-SP-03	適用
消化器系				
胃腸管輸送能の評価	経口	Sprague Dawley ラット	RDX5791-SP-04	適用

Table 1-2 安全性薬理試験の一覧表（被験物質：M1）

試験の種類	投与経路	試験系	報告書番号	GLP 適用
心血管系				
心筋イオンチャネルに及ぼす影響	in vitro	ヒト心筋イオンチャネル発現 CHO 細胞	3625[redacted]	非適用
9 ヵ月間経口投与毒性試験における心電図評価	経口（カプセル）	ビーグル犬	[redacted]-775031	適用

Table 1-3 毒性試験の一覧表（被験物質：テナパノル塩酸塩）

試験の種類	投与経路	試験系	報告書番号	GLP 適用
単回投与毒性				
単回	経口	Sprague Dawley ラット	RDX5791-TX-01	非適用
反復投与毒性				
7 日（用量設定）	経口	CD-1(ICR)マウス	RDX5791-TX-08	非適用
28 日	経口	CD-1(ICR)マウス	RDX5791-TX-09	適用
7 日	経口	Sprague Dawley ラット	RDX5791-TX-02	非適用
7 日（用量設定）	経口	Sprague Dawley ラット	RDX5791-TX-03	非適用
14 日	経口	Sprague Dawley ラット	RDX5791-07	適用
28 日	経口	Sprague Dawley ラット	RDX5791-TX-5	適用
3 ヵ月	経口	Sprague Dawley ラット	RDX5791-TX-10	適用
6 ヵ月	経口	Sprague Dawley ラット	[redacted]-775030	適用
7 日（用量設定）	経口（カプセル）	ビーグル犬	RDX5791-TX-04	非適用
28 日	経口（カプセル）	ビーグル犬	RDX5791-TX-06	適用
3 ヵ月	経口（カプセル）	ビーグル犬	RDX5791-TX-11	適用
9 ヵ月	経口（カプセル）	ビーグル犬	[redacted]-775031	適用
遺伝毒性				
復帰突然変異（Ames 試験）	in vitro	ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537 大腸菌 WP2 *uvrA* pKM101	RDX5791-GT-02	適用
哺乳類培養細胞を用いた染色体異常	in vitro	ヒト末梢血リンパ球	RDX5791-GT-03	適用
In vivo 小核試験	経口	CD-1(ICR)マウス	RDX5791-GT-04	適用
In vivo 小核試験（用量設定）	静脈内	Wistar Han ラット	3570[redacted]	非適用
In vivo 小核試験	静脈内	Wistar Han ラット	3585[redacted]	適用
がん原性				
104 週	経口	Sprague Dawley ラット	20049785	適用
7 日（用量設定）	経口	CByB6F1 ハイブリッドマウス	0976[redacted]	非適用
1 ヵ月（用量設定）	経口	CByB6F1 ハイブリッドマウス	0977D[redacted]	適用
26 週	経口	rasH2-Tg マウス	RDX5791-TX-16	適用

Table 1-3 毒性試験の一覧表（被験物質：テナパノル塩酸塩） (Continued)

試験の種類	投与期間及び投与経路	試験系	報告書番号	GLP 適用
生殖発生毒性				
受胎能及び初期胚発生	交配 14 日前から交配 6 日後に経口	CD-1(ICR)マウス	0967[redacted]	適用
授胎能	経口	Sprague Dawley ラット	[redacted]-775030	適用
胚・胎児発生（用量設定）	妊娠 6～17 日目に経口	Sprague Dawley ラット	RDX5791-TX-12	適用
胚・胎児発生	妊娠 6～17 日目に経口	Sprague Dawley ラット	RDX5791-TX-14	適用
胚・胎児発生（曝露確認）	経口	ニュージーラ　ド白色種ウサギ	0333[redacted]	非適用
胚・胎児発生（用量設定）	妊娠 7～20 日目に経口	ニュージーラ　ド白色種ウサギ	RDX5791-TX-13	適用
胚・胎児発生	妊娠 7～20 日目に経口	ニュージーランド白色種ウサギ	RDX5791-TX-15	適用
胚発生	in vivo	ゼブラフィッシュ	Batch 23	非適用
出生前及び出生後の発生並びに母体機能	妊娠 6 日目から授乳 20 日目まで経口	CD-1(ICR)マウス	[redacted]-775035	適用
幼若毒性（予備忍容性）	生後 5～26 日目に経口	Sprague Dawley ラット	1884[redacted]	非適用
幼若毒性（用量設定）	生後 5～24 日目に経口	Sprague Dawley ラット	00775062	非適用
幼若毒性（用量設定）	生後 21～41 日目に経口	Sprague Dawley ラット	2050[redacted]	非適用
幼若毒性	生後 5～61 日目に経口	Sprague Dawley ラット	00775063	適用
幼若毒性	生後 21～80 日目に経口	Sprague Dawley ラット	20301378	適用

Table 1-4 毒性試験の一覧表（被験物質：M1）

試験の種類	投与経路	試験系	報告書番号	GLP 適用
単回投与毒性				
単回	経口	C57BL/6 マウス	RDX5791-M1-01	非適用
単回	経口	Sprague Dawley ラット	RDX5791-M1-06	非適用
反復投与毒性				
4 日	経口	C57BL/6 マウス	RDX5791-M1-03	非適用
14 日	経口	CByB6F1 ハイブリッドマウス	RDX5791-M1-04	非適用
28 日	経口	rasH2-Tg マウス	[redacted]-775038	適用
遺伝毒性				
復帰突然変異	in vitro	ネズミチフス菌 TA1535、TA100、TA1537 及び TA98 大腸菌 WP2 *uvrA* pKM101	3581[redacted]	適用
In vitro 小核試験	in vitro	マウスリンパ腫細胞 L5178Y	3522[redacted]	適用
がん原性				
26 週	経口	rasH2-Tg マウス	RDX5791-TX-16	適用

Table 1-4　毒性試験の一覧表（被験物質：M1）(Continued)

試験の種類	投与経路	試験系	報告書番号	GLP 適用
生殖発生毒性				
胚・胎児発生（用量設定）	経口	Sprague Dawley ラット	[redacted]-775033	適用
胚・胎児発生	経口	Sprague Dawley ラット	[redacted]-775034	適用
胚発生	in vivo	ゼブラフィッシュ	Batch 23	非適用

Table 1-5　毒性試験の一覧表（被験物質：不純物）

試験の種類	投与経路	試験系	報告書番号	GLP 適用
Derek Nexus 及び Leadscope を用いた変異原性の予測（QSAR）	in silico	NA	[redacted]002drkls	非適用
不純物及び分解物の安全性確認	NA	NA	RDX5791-TX-17	非適用

NA=Not applicable

2　薬理試験

2.1　効力を裏付ける試験

テナパノル塩酸塩の薬理作用を評価するため、in vitro 試験及び in vivo 試験を実施した。ヒト又はラット NHE3 を発現させた細胞において、テナパノル塩酸塩はヒト及びラット NHE3 活性の指標である、一過性に酸性化させた細胞内 pH の回復を阻害し、M1 は NHE3 活性を阻害しなかった（2.6.2-2.1 項、2.6.2-2.2 項）。ヒト小腸上皮細胞において、テナパノル塩酸塩は、傍細胞透過性の指標である経上皮電気抵抗を増加させ、細胞間隙のリン透過性を低下させた（2.6.2-2.3 項）。経上皮電気抵抗は細胞内 pH により調節される（King et al., 2018）ことから、テナパノル塩酸塩による経上皮電気抵抗の増加、すなわち細胞間隙のリン透過性の低下は、Na^+/H^+交換輸送を阻害した結果、細胞内 pH が低下したことによると考えられた。また、傍細胞経路による受動的なリン吸収は、小腸上皮細胞のタイトジャンクションを介して行われることが知られている（Sabbagh et al., 2011）ことから、テナパノル塩酸塩は細胞内 pH の低下を介して、腸管上皮細胞間のタイトジャンクションに変化を生じさせることにより、リンの傍細胞経路による取込みを減少させると考えられた。

マウスにおいて、テナパノル塩酸塩は、糞便中のナトリウム排泄量を増加させ、尿中ナトリウム排泄量を減少させた（2.6.2-2.5 項）。ラットにおいて、テナパノル塩酸塩は、糞便中の水分量及びナトリウム排泄量を増加させ、尿中ナトリウム排泄量を減少させた（2.6.2-2.6 項）。また、傍細胞経路を介したリン吸収を低下させた（2.6.2-2.8 項）。カニクイザルにおいて、テナパノル塩酸塩は、尿中ナトリウム排泄量を減少させ、軟便を誘発した（2.6.2-2.9 項）。

CKD に伴う高リン血症は、腎臓におけるリン排泄能が低下することにより発症し、心血管や軟部組織の異所性石灰化を誘発する。各種 CKD モデルを用いて、高リン血症、血管石灰化腎機能等に対する作用を検討した。テナパノル塩酸塩は、カルシトリオール負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットにおいて、腎機能低下、腎臓及び心臓の肥大、高リン血症並びに血管石灰化を抑制し（2.6.2-2.10 項）、アデニン誘発 CKD ラットにおいて、血管石灰化を抑制する傾向を示した（2.6.2-2.11 項）。更に、テナパノル塩酸塩は、高食塩負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットにおいて、

高血圧を是正し、細胞外液量及び尿中アルブミン排泄量の増加を軽減するとともに、心臓及び腎臓の肥大を抑制した（2.6.2-2.12 項）。

以上より、テナパノル塩酸塩は、腸管上皮細胞における NHE3 に対し選択的に作用して、Na^+/H^+交換輸送を阻害した結果、細胞内の pH が低下し、腸管上皮細胞間のタイトジャンクションに変化が生じることにより、リンの傍細胞経路による取込みを減少させると考えられた。テナパノル塩酸塩は、腸管からのリン吸収を抑制することにより、高リン血症に対して有用な治療薬となる可能性が考えられる。

2.2 副次的薬理試験

テナパノル塩酸塩の特異性評価試験において、181 の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対する作用を検討した。テナパノル塩酸塩は 41 分子に対して作用を示し、特に 5-HT1D 受容体及びタキキニン NK1 受容体に対しては 1 μmol/L 未満で機能的活性を示し、IC_{50} 値及び EC_{50} 値は、それぞれ 0.35 及び 0.070 μmol/L であった（2.6.2-3.1 項）。臨床用量投与後の定常状態におけるヒト血漿中テナパノル濃度は、ほぼすべての検体において定量下限（0.5 ng/mL=0.000437 μmol/L）未満であった（2.7.2）ことから、上記の in vitro で認められた活性が生体へ影響を及ぼす可能性はないと考えられた。また、テナパノル塩酸塩は溶解限界付近である 10～30 μmol/L までの濃度において腸管内に発現する輸送体又は胆汁酸受容体タンパクである NaPi2b、PiT1、IBAT、TGR5、NHE1 及び NHE2 に対する作用を示さなかった（2.6.2-3.2 項、2.6.2-3.3 項）。テナパノル塩酸塩は、ラットにお　て、グルコース吸収に影響を与えなかったことから、SGLT1 のようなナトリウム依存性グルコース輸送体を阻害しないことが示唆された（2.6.2-3.5 項）。また、テナパノル塩酸塩は、ラットにおいて、胃排泄能に影響を与えず（2.6.2-3.5 項）、腸管輸送能を促進した（2.6.2-3.4 項）。

M1 の特異性評価試験において、M1 は、評価した 82 分子のうち、41 分子に対して作用を示したが、いずれの分子に対しても 1 μmol/L の濃度まで機能的活性は検出されなかった（2.6.2-3.6 項）。透析施行中の高リン血症患者に KHK7791（30 mg）を 1 日 2 回投与したときの M1 の $C_{max,\ ss}$ は 0.039 μmol/L である（5.3.5.1-7）ことから、上記の in vitro で認められた活性が生体へ影響を及ぼす可能性はないと考えられた。

2.3 安全性薬理

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」に準拠し、中枢神経系、心血管系、呼吸器系及び胃腸管系に対するテナパノル塩酸塩の作用を評価した。

中枢神経系に及ぼす影響について、ラットを用いて評価した。テナパノル塩酸塩の 1000 mg/kg の単回経口投与において、一般症状及び行動に異常は認められなかった（2.6.2-4.1 項）。心血管系に及ぼす影響について、in vitro 及びイヌを用いた in vivo 試験により評価した。テナパノルは、評価した 7 種類のヒト組換え電位依存性心筋イオンチャネルのうち $hCa_V1.2/\beta2/\alpha2\delta$（$ICa_L$）に対して 4.67 μmol/L で 50%以上の阻害作用を示した。これまでの臨床試験においてほぼすべての検体で血漿中テナパノル濃度は定量下限（2.7.2）未満であり、C_{max} は最高でも 1 ng/mL（0.000873 μmol/L）を超えないと考えられることから、ヒトにおいて十分な安全域が担保できていると考えられた。なお、無麻酔無拘束イヌへのテナパノル塩酸塩の 1000 mg/kg の単回経口投与では、心拍数、血圧及び心電図のいずれにおいても影響は認められ

なかった。また、同種における 9 ヵ月間反復投与毒性試験では、1000 mg/kg までの投与で、心拍数への影響及び心電図の異常は認められなかった（2.6.2-4.2 項）。

呼吸器系に及ぼす影響について、ラットを用いて評価した。テナパノル塩酸塩の 1000 mg/kg の単回経口投与において、呼吸数、1 回換気量及び分時換気量に対する影響は認められなかった（2.6.2-4.3 項）。

消化器系に及ぼす影響について、ラットを用いて投与 30 分後の時点で評価した。テナパノル塩酸塩の 1000 mg/kg の単回経口投与において、胃腸管輸送能への影響は認められなかった（2.6.2-4.4 項）。

M1 の心血管系に及ぼす影響を in vitro で評価した。M1 は $hK_v11.1$（IK_r、hERG）、$hK_v4.3$/hKChIP2.2（I_{to}）及び $hK_v7.1$/hKCNE1（IK_s）に対して 14.8～27.3 μmol/L で 50%以上の阻害作用を示したが、透析施行中の高リン血症患者に 30 mg の KHK7791 を 1 日 2 回投与したときの M1 の $C_{max,\,ss}$ は 0.039 μmol/L（5.3.5.1-7）であったことから、ヒトにおいて十分な安全域が担保できていると考えられた。なお in vivo において、臨床試験での M1 の曝露量と同等以上曝露されたビーグル犬を用いたテナパノル塩酸塩の 9 ヵ月間の経口投与（カプセル）毒性試験（用量：0、50、300 及び 1000 mg/kg/day）（4.2.3.2-12）において心拍数への影響及び心電図の異常は認められなかった（2.6.2-4.5 項）。

2.4 薬力学的薬物相互作用試験

ラットにおいて、テナパノル塩酸塩と炭酸セベラマーの併用は、尿中リン酸排泄量の減少を指標とした検討において、併用効果を示した。ラット高食塩負荷 5/6 腎臓摘出モデルにおいて、テナパノル塩酸塩とエナラプリルの併用は、血圧の上昇を抑制し、心臓及び腎臓の保護作用を示した（2.6.2-5 項）。

3 薬物動態試験

3.1 分析法

マウス、ラット、ウサギ及びイヌ測定試料中のテナパノル濃度は、液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法により定量した。^{14}C-テナパノルを用いた試験においては、液体シンチーションカウンター又は定量的全身オートラジオグラフィー法により試料中の放射能を測定した（2.6.4-2 項）。

3.2 吸収

テナパノル塩酸塩をラット又はイヌに 1 及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与したとき、ほとんどの時点において血漿中テナパノル濃度（テナパノル塩酸塩濃度換算）は定量下限（0.500 ng/mL）未満であり、テナパノル塩酸塩のバイオアベイラビリティは非常に低いことが示された。M1 を雌性マウス及び雌雄ラットに、それぞれ単回経口投与（100 及び 300 mg/kg）及び反復経口投与（5 及び 30 mg/kg）したとき、M1 は速やかに吸収され、曝露量は用量の増加に伴って上昇した。雌雄のマウス及びラットを用いたテナパノル塩酸塩の 28 日間反復投与試験において、それぞれ 10～200 mg/kg 及び 30～1000 mg/kg の用量で反復経口投与したとき、テナパノルの曝露は用量の増加に伴って上昇する傾向にあった。また、反復経口投与後のテナパノルの曝露量はマウス及びラットにおいて、雄に比べて雌の方が高く、両性において初回投与時に比べて反復投与後の方が高い傾向にあった。テナパノル塩酸塩を雌雄イヌに 1000 mg/kg の

用量で反復経口投与したとき、4 及び 38 週目の M1 の曝露は同程度であり、雌雄間の曝露量に明らかな差は認められなかった（2.6.4-3 項）。

3.3 分布

有色ラット及びアルビノラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg（90.7～94.2 μCi/kg）の用量で単回経口投与したときの放射能の組織分布を評価した。両系統ともに、消化管の内容物で高い放射能が検出され、ほとんどの組織で放射能は定量下限未満であり、放射能の組織分布は限定的であった。両系統で共通して放射能が検出された組織等としては、消化管の内容物の他に胃腸管組織（食道、胃、小腸、盲腸及び大腸）、肝臓、腎臓、肺、脾臓及び尿で、有色ラット及びアルビノラットの間で ^{14}C-テナパノル塩酸塩の放射能は類似した組織分布を示した。また、有色ラットでは、上記の組織等の他にブドウ膜及び副腎でも放射能が検出された。有色ラット及びアルビノラットにおいて、それぞれ投与後 168 及び 48 時間までにすべての組織で放射能は定量下限未満となった。（2.6.4-4.1 項）。

テナパノルの in vitro における血漿蛋白非結合型分率は、100 μmol/L の濃度において、マウスでは 0.00100%未満、ラットでは 0.00701%、ウサギでは 0.00748%、イヌでは 0.00313%、ヒトでは 0.00300%であり、いずれの種においても血漿中蛋白への結合が高かった（2.6.4-4.2.1 項）。また、M1 の in vitro における血漿蛋白非結合型分率は、0.01～10 μmol/L の濃度範囲において、マウスでは 2.42%～4.52%、ラットでは 1.96%～2.91%、ウサギでは 4.46%～5.03%、イヌでは 4.93%～5.58%、ヒトでは 3.20%～3.43%であり、いずれの種においても濃度依存性は観察されなかった。M1 のヒト R_b は 0.03～3 μmol/L の濃度範囲において 5.13～5.87 であり、明らかな濃度依存性は認められなかった（2.6.4-4.2.2 項）。

3.4 代謝

人工胃液及び人工腸液中におけるテナパノルの安定性は高かった。テナパノルをラット、イヌ及びヒト肝ミクロソーム中で反応させたとき、NADPH 存在下でテナパノルはいずれの種においても代謝され、ヒトで認められた代謝物はラット及びイヌ肝ミクロソームの両方、又はラット肝ミクロソームで観察された（2.6.4-5.2 項）。一方、健康成人に ^{14}C-KHK7791 を経口投与したときのプール血漿、尿又は糞中から 9 種類の代謝物が検出された。血漿には 5 種類の代謝物（M1、M2、M11、M12 及び M15）が検出され、M1 は血漿中総放射能の 16%を占めたが、その他の代謝物はいずれも 10%未満だった（2.7.2）。生成した代謝物はいずれも酸化的 N-又は O-脱アルキル化体と考えられた（2.6.4-5.3 項）。テナパノルはヒト肝及び小腸ミクロソーム中で速やかに代謝された（2.6.4-5.5 項）。また、リコンビナント CYP を用いた検討から CYP3A4 及び CYP3A5 の寄与が最も大きく、その寄与率はそれぞれ 56.8%及び 39.8%であった。その他の CYP 分子種として、CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 においてもテナパノルの代謝が観察され、その寄与率は 0.0113%～2.19%であった。また、CYP2E1 においてはテナパノルの代謝は観察されず、FMO の寄与を評価した結果その寄与は低いと考えられた。これらの結果に加え、主代謝物である M1 の生成には CYP3A が関与することから、テナパノルの主代謝酵素は CYP3A であると考えられた（2.6.4-5.4 項）。

テナパノル及び M1 の CYP を介した薬物相互作用の可能性について HepaRG 細胞を用いて、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対するテナパノルの誘導作用を in vitro で評価した。テナパノルは 0.0001～20 μmol/L の濃度範囲においていずれの CYP 分子種に対しても誘導作用を示さなかった。また、ヒト肝ミクロソームを用いた検討において、テナパノルは CYP1A2 に対して

可逆的阻害作用を示さなかったが、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A に対して可逆的阻害作用を示し、IC_{50}はそれぞれ 15.4、10.4、14.2、>30、3.26 及び 0.402～0.68 μmol/L であった。また、いずれの CYP 分子種に対してもテナパノルは時間依存的阻害作用を示さなかった（2.6.4-5.8.1 項）。

ヒト凍結肝細胞を用いて、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する M1 の誘導作用を評価した。M1 は 0.03～10 μmol/L の濃度範囲において、CYP1A2 に対する誘導作用を示さなかったが、CYP2B6 については 3 ロット中 1 ロットにおいて、CYP3A4 については 3 ロット中 2 ロットにおいて誘導作用を示した。ヒト肝ミクロソームを用いた検討において、M1 は 30 μmol/L の濃度まで CYP1A2、CYP2A6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2E1 に対して可逆的阻害作用を示さなかったが、CYP2B6、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A に対して可逆的阻害作用を示し、IC_{50}はそれぞれ>30、>30、1.95 及び 0.083～0.110 μmol/L であった。また、評価したすべての CYP 分子種に対しても M1 は時間依存的阻害作用を示さなかった（2.6.4-5.8.2 項）。

3.5 排泄

無処置及び胆管カニュ ーションしたラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を経口投与したとき、いずれのラットにおいても投与後 24 時間までに投与した放射能の大部分が未変化体として糞中に排泄された。胆管カニュレーションの有無によらず主な排泄経路は糞中であり、尿及び胆汁中への排泄はわずかであった（2.6.4-6.2 項）。ヒトマスバランス試験におけるテナパノルの主消失経路は糞中であり（2.7.2-2.2.3 項）、テナパノルの排泄経路はヒトとラットで類似していた。

3.6 薬物動態学的薬物相互作用

テナパノル及び M1 につ て、薬物トランスポーターによる輸送及び薬物トランスポーターの代表的基質の輸送に対する阻害作用を、薬物トランスポーター発現細胞を用いて評価した。

テナパノルは P-gp、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではなかった。M1 は BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の基質ではなかったが、P-gp の弱い基質と考えられた（2.6.4-7.1 項）。

テナパノルは P-gp 及び BCRP に対してはそれぞれ 100 及び 300 μmol/L の濃度まで阻害作用を示さなかったが、OATP1B1 及び OATP1B3 に対しては濃度依存的な阻害作用を示し、IC_{50}はそれぞれ 0.658 及び 1.43 μmol/L であった。テナパノルは OATP2B1 に対して濃度依存的な阻害作用を示し、IC_{50}は 0.01 μmol/L であった。PEPT1 に対しては 5 μmol/L の濃度まで明確な濃度依存的な阻害作用を示さなかった。M1 は P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、MATE1 及び MATE2-K を阻害し、IC_{50}はそれぞれ 80.7、43.7、23.6、46.7、>100、16.9 及び 21.9 μmol/L であった。M1 は OAT3 及び OCT2 に対しては、0.3～100 μmol/L の濃度範囲において、明確な濃度依存的な阻害作用を示さなかった（2.6.4-7.2 項）。

人工胃腸液中におけるテナパノルと本邦で承認されているリン吸着薬の相互作用を評価した。炭酸セベラマー、クエン酸第二鉄水和物、セベラマー塩酸塩、スクロオキシ水酸化鉄、ビキサロマー及び炭酸ランタン水和物へのテナパノルの結合率はそれぞれ 37.9%、42.3%、50.3%、8.61%、4.46%及び 4.16%であった（2.6.4-7.3 項）。正常ラット又は高食塩食負荷 CKD ラットにエナラプリル（10 mg/kg）とテナパノル塩酸塩（1 mg/kg）を同時に併用投与したときのエナラプリルの活性代謝物エナラプリラトの $AUC_{0\text{-}t}$は、エナラプリル（10 mg/kg）を単独経口投与したときのエナラプリラトの $AUC_{0\text{-}t}$と比較して約 50%減少した（2.6.4-8.1 項）。

4 毒性試験

4.1 単回投与毒性試験

テナパノル塩酸塩の単回経口投与毒性試験は、ラットを用いて実施した。

ラットに 300 mg/kg の用量で単回経口投与した結果、薬理作用に基づく下痢及び摂餌量の減少、飲水量の増加が認められたが、一般状態の悪化や瀕死や死亡例は認められなかった。このため、単回投与の MTD は 300 mg/kg を超える用量と判断した（2.6.6-2 項）。

4.2 反復投与毒性試験

テナパノル塩酸塩の反復経口投与毒性試験は、マウス、ラット及びイヌを用いて実施した。

マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験（10、50 及び 200 mg/kg/day）では、薬理作用に基づく軟便、体重の増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。10 mg/kg/day 投与群の雄並びに 50 mg/kg/day 以上の投与群の雌雄で直腸粘膜の炎症細胞浸潤、200 mg/kg/day 投与群の雌雄で腸管の陰窩細胞の壊死、雌で直腸の杯細胞の減少が認められた。上記変化は休薬により回復性が認められた（2.6.6-3.1 項）。

ラットを用いた反復経口投与毒性試験では、薬理作用に基づく軟便、下痢、体重の増加抑制又は減少、摂餌量の減少、飲水量の増加が認められた。14 日間反復経口投与毒性試験（0.1、1 及び 10 mg/kg/day）では、0.1 mg/kg/day 以上の投与群の雌雄で大腸の炎症又は杯細胞の減少が認められた。28 日間反復経口投与毒性試験（30、100、300 及び 1000 mg/kg/day、1000 mg/kg/day 投与は、雄は 18 日間、雌は 15 日間で投与終了）では、30 mg/kg/day 以上の投与群で消化管毒性による途中死亡例が認められた。生存例では、30 mg/kg/day 以上の投与群で小腸又は大腸で炎症細胞浸潤、粘膜上皮のびらん、萎縮、腺上皮の壊死又は杯細胞の減少が認められたほか、リンパ節、脾臓、胸腺、骨髄のリンパ球又は細胞の減少、腎臓の硝子円柱及び尿細管の変性／再生が認められた。30 mg/kg/day 以上の投与群の雄では、凝固腺及び精嚢の分泌物の減少も認められた。3 ヵ月間反復経口投与毒性試験（0.1、1 及び 5 mg/kg/day）では、最高用量の 5 mg/kg/day 投与群まで毒性学的意義のある変化は認められなかった。6 ヵ月間反復経口投与毒性試験（1、3 及び 10 mg/kg/day）では、10 mg/kg/day 投与群の雄 2 例で、消化管毒性による死亡が認められた（2.6.6-3.2 項）。

イヌを用いた反復経口投与毒性試験では、薬理作用に基づく軟便及び下痢がすべての投与群（50～1000 mg/kg/day）で認められたが、最長 9 ヵ月間、最高用量の 1000 mg/kg/day まで毒性学的意義のある変化は認められなかった（2.6.6-3.3 項）。

マウス、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験においては、軟便及び下痢に基づく一般状態の悪化や瀕死又は死亡、並びに病理学的検査における細胞壊死の所見を除き、薬理作用に基づく作用については毒性と判断しなかった。

最長の投与期間における無毒性量は、マウス（28 日間）において 50 mg/kg/day、ラット（6 ヵ月間）において雄は 3 mg/kg/day、雌は 10 mg/kg/day、イヌ（9 ヵ月間）において 1000 mg/kg/day であった。

4.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro の染色体異常試験（2.6.6-4.1 項）、並びにマウス及びラットを用いた骨髄小核試験（2.6.6-4.2 項）を行い、テナパノル塩酸塩の遺伝毒性を評価した。テナパノル塩酸塩は遺伝毒性を示さないと判断した。

4.4 がん原性試験

rasH2 マウス及びラットを用いたがん原性試験によりがん原性を評価した。

rasH2 マウスにテナパノル塩酸塩を雄に 5、15 及び 50 mg/kg、雌に 50、150 及び 400 mg/kg の用量で 1 日 2 回 26 週間反復経口投与した。また、M1 を 55 及び 165 mg/kg/day（投与開始 99 日目から 110 mg/kg/day に減量）の用量で 1 日 1 回 26 週間反復経口投与した結果、がん原性を示さなかった（2.6.6-5.2 項、2.6.6-8.1.8 項）。

Sprague Dawley ラットに、1、3 及び 10 mg/kg/day（3 mg/kg/day 群は 92 日目から 2 mg/kg/day に減量、10 mg/kg/day 群は 69～85 日目の間の休薬期間をはさんだ後、86 日目から 5 mg/kg/day に減量）の用量でテナパノル塩酸塩を、雄に 83～86 週間、雌に 95 週間反復経口投与した結果、がん原性を示さなかった（2.6.6-5.1 項）。以上より、テナパノル塩酸塩はがん原性を示さないと判断した。

4.5 生殖発生毒性試験

マウス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（10 及び 50 mg/kg/day）、ラット反復経口投与毒性試験の中で授胎能を評価した試験（1、3 及び 10 mg/kg/day）、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（ラット：1、10 及び 30 mg/kg/day、ウサギ：5、15 及び 45 mg/kg/day）、ゼブラフィッシュを用いた胚発生毒性試験（0.1、1、10 及び 100 μmol/L）、マウス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（20、60 及び 200 mg/kg/day）により生殖発生毒性を評価した。

CD-1 マウスにテナパノル塩酸塩を 50 mg/kg/day まで経口投与した結果、雌の受胎能、交配能妊娠能及び初期胚発生に影響は認められなかった。また、雄 Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 10 mg/kg/day まで経口投与して、無処置雌と交配したときに、雄の生殖能（交配能、授胎能及び交尾能）、胚の子宮内生存率にテナパノル塩酸塩投与に関連した影響は認められなかった。

ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、すべての投与群で母動物に薬理作用に基づく軟便及び下痢等が認められたが、いずれの動物種も、評価可能な最高用量（ラット：1 mg/kg/day、ウサギ：45 mg/kg/day）まで、子宮重量、胎児の発育及び生存、胎児の外表異常、内臓及び骨格の異常や変異は認められなかった。ゼブラフィッシュを用いた胚発生毒性試験では、100 μmol/L まで催奇形性を誘発しなかった（2.6.6-6.2 項）。

マウス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では、テナパノル塩酸塩投与による母動物の妊娠期間、分娩状態、着床数、着床後死亡への影響は認められなかった。60 及び 200 mg/kg/day 投与群では、授乳期間中の F_1 児において、体重の低値及び体重増加抑制に一過性の影響が認められたが、離乳後の F_1 生存率、F_1 体重増加及び F_1 生殖能又は F_2 出生後生存率にテナパノル塩酸塩の影響は認められなかった（2.6.6-6.3 項）。母動物の全身毒性に対する無毒性量は 200 mg/kg/day、F_1 新生児の発生毒性に関する無毒性量は 20 mg/kg/day、F_1 親動物に対する全身及び生殖毒性並びに F_2 新生児に関する無毒性量は 200 mg/kg/day と判断した。

以上より、テナパノル塩酸塩は親動物の生殖能及び次世代の発生に影響を与えないと考えられた。

4.6 幼若動物試験

テナパノル塩酸塩を幼若ラットに 8 週間（生後 5～61 日）反復経口投与し毒性を評価した。本試験に先立ち実施した、生後 5 日齢の幼若ラットを用いた用量設定試験（0.1、0.5、2.5 及び 5 mg/kg/day）において、0.5 mg/kg/day 以上の群で瀕死や死亡例が認められた。このことから、8 週間反復経口投与毒性試験の投与用量を 0.03、0.1 及び 0.3 mg/kg/day に設定した。その結果、0.3 mg/kg/day 投与群でテナパノル塩酸塩の投与と関連した瀕死又は死亡が認められた。これらの動物では、成体ラットと同様に、薬理作用に基づく軟便及び下痢が認められていたことから、本試験で認められた毒性は、テナパノル塩酸塩の薬理作用とそれに基づく二次的な変化であると考えられた。また、生存例では、最高用量の 0.3 mg/kg/day まで幼若ラットの発育分化、機能発達及び生殖能に対する影響は認められなかった（2.6.6-6.4 項）。

更に、離乳後の幼若ラットに 60 日間（生後 21～80 日）反復経口投与し毒性を評価した。本試験に先立ち実施した、生後 21 日齢の幼若ラットを用いた用量設定試験（0.1、1 及び 5 mg/kg/day）において、雄では 1 mg/kg 以上の投与群、雌では 5 mg/kg 投与群で、瀕死や死亡例が認められた。このことから、60 日間反復経口投与毒性試験では、雄は 0.1、0.3 及び 0.7 mg/kg/day、雌は 0.1、0.3 及び 1.0 mg/kg/day のテナパノル塩酸塩を経口投与した。その結果、評価した最高用量までテナパノル塩酸塩投与に起因した瀕死又は死亡例は認められなかった。本試験で認められた毒性は、前述の生後 5～61 日齢の幼若ラットを用いた試験と同様に、テナパノル塩酸塩の薬理作用に基づく軟便とそれに関連する二次的な変化であると考えられた。また、雌での平均膣開口日数の遅延や雄での脛骨長の短縮は、体重減少に伴った二次的な変化であると考えられた（2.6.6-6.4 項）。

生後 5～61 日齢及び生後 21～80 日齢のいずれにおいても、成体ラットでも認められている軟便又は水様便、及び体重減少又は体重増加抑制が 0.3 mg/kg/day 以上の投与群で認められた。いずれの発達段階においても幼若動物特有の毒性所見は認められなかった。ラットの幼若動物に対する無毒性量は、生後 5～61 日齢及び生後 21～80 日齢のいずれにおいても、雌雄ともに 0.1 mg/kg/day と判断した。

4.7 その他の毒性試験

4.7.1 主要代謝物 M1 の毒性

テナパノルの不活性代謝物である M1 は評価したいずれの動物種（マウス、ラット、ウサギ及びイヌ）においても検出された。テナパノル塩酸塩を健康成人に 1 日 2 回 15 mg の用量で反復経口投与したときの M1 濃度は、マウス及びラットに比べて高かった（2.6.4-5.3 項）。また、ヒトマスバランス試験において、M1 の暴露量はテナパノル関連物質総曝露量の 10%を超えていた（2.7.2-2.2.3 項）ことから、M1 の各種毒性試験を実施した。

雄 C57BL/6 マウスを用いた M1 の単回経口投与毒性試験では、概略の致死量は 1000 mg/kg と判断した。雌雄の Sprague Dawley ラットを用いた M1 の単回経口投与毒性試験では、MTD は 1000 mg/kg を超える用量であった。雌雄の C57BL/6 マウスに 30、100 及び 300 mg/kg/day の用量の M1 を 4 日間反復経口投与した試験では、300 mg/kg/day 投与群で重篤な嗜眠及び努力性又は促拍呼吸が認められ、このときの 24 時間後の平均 C_{min} は雄で 1282 ng/mL、雌で 80 ng/mL であった。CByB6F1 ハイブリッドマウスに 500 及び 1000 mg/kg/day の用量の M1 を 14 日間反復経口投与した試験では、500 mg/kg/day 投与群から瀕死又は死亡が多発し、M1 の忍容性は認められなかった。このときの血漿中 M1 濃度は、最終投与後 30 分で約 54 μg/mL、投与後 24 時間で

約 2～5 μg/mL であり、高い血漿中濃度が認められた。rasH2 マウスに 75、150 及び 250 mg/kg/day の用量の M1 を 28 日間反復経口投与した試験では、M1 投与により毒性学的意義のある変化は認められなかった。投与 27 日目における AUC_{last} 及び C_{max} は、雄で 201000 ng·h/mL 及び 40900 ng/mL、雌で 439000 ng·h/mL 及び 42000 ng/mL であった。

M1 は、復帰突然変異試験で変異原性を示さず、L5178Y 細胞を用いた小核試験で小核を誘発しなかったことから、遺伝毒性を有していないと考えられた。

rasH2 マウスに M1 を 55 及び 165 mg/kg/day（投与開始 99 日目から 110 mg/kg/day に減量）の用量で 1 日 1 回 26 週間反復経口投与した結果、M1 はがん原性を示さなかった。

Sprague Dawley ラットを用いて胚・胎児発生を評価（30、150 及び 400 mg/kg/day）した結果、M1 の 400 mg/kg/day 投与群で、媒体投与群に比べて生存胎児数の減少、胎児の平均体重の減少、胎児の異常（局所又は全身性の浮腫及び骨格異常）及び変異（脾臓の淡色化及び小型化、骨格変異、骨化不全）の増加が認められた。したがって、M1 は催奇形性を有すると判断した。

マウス、ラット及びイヌを用いたテナパノル塩酸塩の反復経口投与毒性試験において、M1 は血漿中で検出された。マウスがん原性試験では、テナパノル塩酸塩及び M1 を投与したすべての動物で M1 の曝露が認められたが、反復投与による M1 の蓄積はほとんどみられなかった。ラットを用いた胚・胎児発生毒性試験では、母動物及び胚・胎児発生における無毒性量である 150 mg/kg/day 投与群では、妊娠 17 日目の母動物の AUC_{last} 及び C_{max} は、それぞれ 897000 ng·h/mL 及び 52500 ng/mL であった（2.6.6-8.1 項）。

以上より、C57BL/6 マウスの 4 日間反復経口投与毒性試験から、M1 は 300 mg/kg/day で努力性又は促拍呼吸並びに重篤な嗜眠を引き起こした。CByB6F1 ハイブリッドマウスを 500 及び 1000 mg/kg/day の用量で 14 日間反復経口投与したとき、瀕死又は死亡が多発し、M1 の忍容性は認められなかった。rasH2 マウスに M1 を 28 日間反復経口投与したときの無毒性量は 250 mg/kg であった。ラットの胚・胎児発生毒性試験から、M1 はラットで催奇形性を誘発すると判断した。透析施行中の高リン血症患者に 30 mg の KHK7791 を 1 日 2 回投与したときの M1 の $C_{max,ss}$ は 14 ng/mL（0.039 μmol/L）（5.3.5.1-7）であることから、ヒト臨床濃度に対する安全域は十分担保できていると考えられた。

4.7.2 光毒性試験

「医薬品の光安全性評価ガイドラインについて（平成 26 年 5 月 21 日付け薬食審査発 0521 第 1 号）」を踏まえ、テナパノル塩酸塩の光毒性の懸念は低いと考え、in vitro 及び in vivo 光毒性試験は実施していない。

テナパノル塩酸塩は、290～400 nm の波長をほとんど吸収せず（2.3.P.5.6、3.2.P.5.6-1）、白色の粉末であることから、可視光領域も含めて、太陽光の波長内（290～700 nm）に光吸収がほとんどないと考えられる。また、全身曝露が低く、ラットを用いた組織分布試験で、眼と皮膚にほとんど分布しなかった（2.6.4-4.1 項）。

4.7.3 不純物

テナパノル塩酸塩に含まれるすべての不純物及び分解物は、ICH M7「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理ガイドライン」、ICH Q3A（R2）「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン」及び ICH Q3B（R2）「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン」に従って、評価した。

テナパノル関連物質の全 39 構造について、Derek Nexus 及び Leadscope を用いた in silico 評価を行った。変異原性予測では、全 39 構造のうち 32 構造が ICH M7 のクラス 5 に、3 構造がクラス 4 に、2 構造がクラス 3 に、1 構造がクラス 2 に、残り 1 構造がクラス 1 に分類された（2.6.6-8.2.1 項）。これらクラス 1～4 の不純物については、製造工程において適切に管理される（2.3.S.3）。

US 申請時（2018 年 9 月）における規格値が ICH Q3A で設定される安全性確認の閾値を上回った合計 10 種類の不純物及び分解物については、イヌを用いた反復経口投与毒性試験及び変異原性の in silico 解析の結果に基づいた安全性評価を行った。イヌの無毒性量における各不純物及び分解物の存在量は、ヒトにおける一日最大投与量（60 mg）に含まれる不純物及び分解物の存在量に対して十分な安全域を有することを確認した。なお、これら 10 種類の不純物及び分解物は、変異原性の in silico 解析において、ICH M7 のクラス 5 に分類されている（2.6.6-8.2.2 項）。

以上より、テナパノル塩酸塩の原薬及び製剤に含まれる合計 10 種類の不純物及び分解物の規格値（Table 4.7-1）（2.3.S.3、3.2.S.3.2）は適切に設定されており、テナパノル塩酸塩を投与される患者に対する安全性上の懸念は無いと考えられた。

Table 4.7-1　安全性評価を実施した不純物及び分解物における規格値

分解物/不純物	原薬（DS）規格*	製剤（DP）規格*
不純物A※	[redacted]	[redacted]
不純物B※	[redacted]	[redacted]
不純物C※	[redacted]	[redacted]
不純物D※	[redacted]	[redacted]
不純物E※	[redacted]	[redacted]
不純物F※	[redacted]	[redacted]
不純物G※	[redacted]	[redacted]
不純物H※	[redacted]	[redacted]
不純物I※	[redacted]	[redacted]
不純物J※	[redacted]	[redacted]

* 国内申請時
DS = drug substance（原薬）
DP = drug product（製剤）

※新薬承認情報提供時に置き換え

5　総括及び結論

5.1　薬理試験

テナパノル塩酸塩は、NHE3 を選択的に阻害した。テナパノル塩酸塩は NHE3 の阻害により細胞間隙のリン透過性を低下させた。M1 は、NHE3やその他の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対して、臨床において想定される濃度では明らかな作用を示さなかった。

テナパノル塩酸塩は、マウス、ラット及びカニクイザルにおいて、尿中ナトリウム排泄量を低下させた。ラットを用いた作用機序解析において、腸管管腔及び糞便中の水分及びナトリウム量の増加、リンの傍細胞透過性の低下による小腸でのリン吸収の低下が認められた。ラットにおけるテナパノル塩酸塩による尿中ナトリウム排泄量の低下は炭酸セベラマー又は炭酸ランタンの影響を受けなかった。テナパノル塩酸塩に炭酸セベラマーを併用投与したとき、尿中リン排泄量は、テナパノル単剤投与よりも低下した。

テナパノル塩酸塩は、CKD モデルラットにおいて、腎機能低下、腎臓及び心臓の肥大、高リン血症及びそれに伴う血管石灰化を抑制した。CKD モデルラットを用いたエナラプリルとの併用試験において、テナパノル塩酸塩はエナラプリルとの併用により血圧の上昇を抑制し、心臓及び腎臓の保護作用を示した。

安全性薬理試験では、in vivo において、心血管系、中枢神経系、呼吸器系、消化管運動及び体温に対する影響は認められなかった。

以上のことから、テナパノル塩酸塩は、透析施行中の高リン血症に有効な治療薬となる可能性がある。

5.2 薬物動態試験

テナパノル塩酸塩は細胞膜透過性が非常に低く、経口投与後、大部分が吸収されず標的部位である消化管内に高濃度で存在すると考えられた。また、消化管内安定性は高く、投与したうちの大部分が未変化体として糞中に排泄された。体内に一部吸収されたテナパノルは、小腸及び肝臓に発現する CYP3A により、不活性代謝物である M1 等の代謝物に速やかに代謝されることで、全身曝露が非常に低くなると考えられた。テナパノルの代謝に顕著な種差は観察されておらず、ラット又はイヌでヒトと同様の代謝物が生成した。

以上の結果より、非臨床試験における薬物動態学的特性は、十分評価できていると考えられた。

5.3 毒性試験

5.3.1 毒性プロファイル

テナパノル塩酸塩の毒性プロファイルを 検討するために、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、幼若毒性試験及び不純物の安全性評価を実施した。

その結果、ほぼすべての in vivo 試験を通してテナパノル塩酸塩投与による下痢や軟便などの消化器症状が認められたが、遺伝毒性、がん原性、生殖発生毒性、幼若動物特有の毒性はいずれも認められなかった。

主要代謝物 M1 の単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験を実施した結果、臨床投与量より極めて高い曝露条件下においてマウスで重篤な嗜眠並びに努力性及び促拍呼吸を引き起こし、ラットで催奇形性が認められた。

5.3.2 消化管障害

単回及び反復経口投与毒性試験では、テナパノル塩酸塩投与による主要な毒性として消化管障害が認められた。特にげっ歯類ではイヌに比べて感受性が高く、用量の増加や投与期間の延長に伴い程度や発現頻度が増悪した。

げっ歯類を用いた毒性試験において、一般状態観察で認められた変化は主に軟便及び下痢であり、剖検時の水溶性内容物の貯留を伴う腸管の拡張、及び腸管の病理所見も認められた。一般状態の悪化や瀕死又は死亡例の増加は、過剰な薬理作用に基づく持続的な下痢による影響であると考えられた。

また、毒性試験で認められた排泄物の異常及び消化管の病理所見は、いずれも NHE3（機能）欠損マウスの所見と類似しており、過剰な薬理作用に起因した変化であると考えられた。これらの病理学的所見は休薬期間で回復性が認められた。

一方、イヌでは、排泄物の異常は軟便にとどまり、長期反復経口投与毒性試験（最長 9 ヵ月、最高用量 1000 mg/kg/day）では腸管の病理所見は認められなかった。

5.3.3 消化管障害による二次的影響

げっ歯類を用いた反復経口投与毒性試験では、高用量において摂餌量の減少及び／又は飲水量への影響が認められた。これらはいずれも下痢や軟便に伴う脱水に起因した変化であり、テナパノル塩酸塩の薬理作用に基づく二次的な影響と考えられた。

また、ラットを用いた反復経口投与毒性試験では、摂餌量及び飲水量に影響が認められる用量である 10 mg/kg/day 以上の投与群においてリンパ球数及び白血球数の低値と、脾臓の絶対重量並びに体重及び脳重量に対する相対重量の低値が認められた。30 mg/kg/day 以上の投与群では、各種リンパ組織におけるリンパ球数及び白血球数の減少が認められた。これらはいずれも下痢や軟便、摂餌量減少による栄養不良に関連した変化であり、テナパノル塩酸塩の薬理作用に基づく二次的な影響と考えられた。これらの変化は、長期試験では認められなかった。

一方、イヌを用いた反復経口投与毒性試験では、脱水や栄養不良に関連した変化は認められなかった。これは、イヌでは最高用量まで軟便にとどまり、排泄物の異常に伴う水分消失や、下痢や軟便、摂餌量減少による栄養不良の程度が低かったためと考えられた。

5.3.4 ヒトにおける安全性の考察

マウス、ラット及びイヌを用いたテナパノルの単回／反復経口投与毒性試験で認められた急性／慢性の諸変化は、いずれも消化管における NHE3 阻害を起点とした変化と考えられ、それ以外には明らかな毒性変化は認められなかった。テナパノル塩酸塩の全身曝露は非常に低いことが示唆されており、これまでの臨床試験においてほぼすべての検体で血漿中テナパノル濃度は定量下限（0.5 ng/mL）未満であった。このため、血中曝露をもとにヒトでの安全域を明確に算出することは困難だったが、少なくともヒトの全身曝露を上回る条件下で実施された各種単回／反復経口投与毒性試験において、薬理作用と関連の無い毒性変化が認められなかったことから、薬理作用に関連しない副作用の発現リスクは低いと考えられた。

また、主要代謝物 M1 の経口投与により、マウスで重篤な嗜眠、努力性又は促拍呼吸、並びにラットで催奇形性が認められたが、テナパノル塩酸塩を健康成人に投与したときの血漿中 M1 濃度（2.7.2）より極めて高い曝露条件下の結果であり、ヒトに対する安全域は十分担保できていると考えられた。

以上、非臨床試験の結果は、KHK7791 の製造販売承認申請を支持すると考えられた。

6 参考文献

Block et al., 2017

Block GA, Rosenbaum DP, Leonsson-Zachrisson M, et al. Effect of tenapanor on serum phosphate in patients receiving hemodialysis. J Am Soc Nephrol. 2017;28:1933-42.

King et al., 2018

King AJ, Siegel M, He Y, et al. Inhibition of sodium/hydrogen exchanger 3 in the gastrointestinal tract by tenapanor reduces paracellular phosphate permeability. Sci Transl Med. 2018;10:1-38.

Kato and Romero, 2011

Kato A, Romero MF. Regulation of electroneutral NaCl absorption by the small intestine. Annu Rev Physiol. 2011;73:261-81.

Sabbagh et al., 2011

Sabbagh Y, Giral H, Caldas Y, et al. Intestinal phosphate transport. Adv Chronic Kidney Dis. 2011;18:85-90.

Zachos et al., 2005

Zachos NC, Tse M, Donowitz M. Molecular physiology of intestinal Na^+/H^+ exchange. Annu Rev Physiol. 2005;67:411-43.