KHK7791

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1　緒言

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
NHE3	Na^+/H^+ exchanger isoform 3（ナトリウムイオン／プロトン交換輸送体 3）
JAN	Japanese Accepted Names for Pharmaceuticals（日本医薬品一般名称）
INN	International Nonproprietary Name（国際一般的名称）

用語の定義

用語	定義
テナパノル塩酸塩	KHK7791 の一般名（JAN）
テナパノル	KHK7791 の遊離塩基

目次

略号及び用語の定義一覧 2
2.6.1 緒言 4
1 構造及び薬理的特性 4
1.1 構造 4
1.2 薬理的特性 4
2 臨床適応及び用法用量 5

2.6.1 緒言

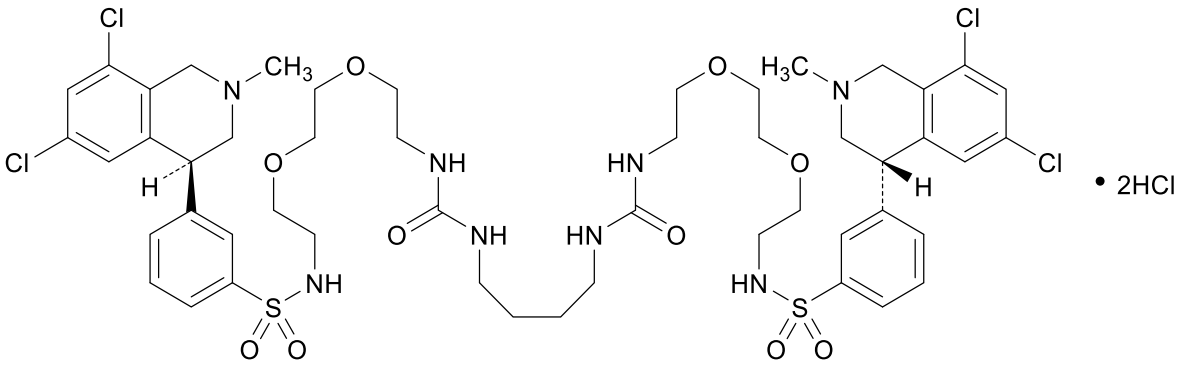
テナパノル塩酸塩（開発番号 KHK7791）は、消化管からの低吸収性を意図してデザインされた選択的な NHE3 阻害薬であり、細胞膜透過性が非常に低く、経口投与後の全身曝露が非常に低いという薬物動態特性を有する。テナパノル塩酸塩は、腸管内腔において Na^+/H^+交換輸送を制御する NHE3 を選択的に阻害し、細胞間隙を介する食事からのリン吸収を低下させる。

テナパノル塩酸塩は、カルシウム非含有・非金属・非ポリマー型の新規薬剤であり、既存のリン吸着薬がそれぞれ抱える血管石灰化、便秘、嘔気、肝臓への鉄蓄積等の安全性の課題を改善しうることが期待される。加えて、既存のリン吸着薬に比べて小型の錠剤で、かつ 1 日 2 回及び 1 回 1 錠の服用という特徴から、服薬負荷を軽減できるという利点があり、服薬アドヒアランスの向上も期待される。

なお、テナパノル塩酸塩は、便秘型過敏性腸症候群患者に対する治療薬として、2019 年 9 月にアメリカ食品医薬品局より、2020 年 4 月にカナダ保健省より新薬承認を取得している。

1 構造及び薬理的特性

1.1 構造



一般名：テナパノル塩酸塩（JAN）、tenapanor（INN）

化学名：*N*,*N*'-(10,17-Dioxo-3,6,21,24-tetraoxa-9,11,16,18-tetraazahexacosane-1,26-diyl)bis{3-[(4*S*)-6,8-dichloro-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-4-yl]benzenesulfonamide} dihydrochloride

開発番号：KHK7791

1.2 薬理的特性

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、NHE3 活性を阻害した。また、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。テナパノル塩酸塩投与により、マウス及びラットで、NHE3 阻害による直接的な作用であるナトリウムの糞便中排泄量の増加、及び尿中排泄量の減少が認められた。同様にカニクイザルでも、ナトリウムの尿中排泄量を減少させた。また、ラット及びカニクイザルで、糞便中の水分量の増加を示す結果が得られた。更に、ラットを用いたリン吸収低下作用の機序解析により、テナパノル塩酸塩が、傍細胞経路によるリン吸収を低下させることが示された。

慢性腎臓病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。テナパノル塩酸塩は、慢性腎臓病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。

以上より、テナパノル塩酸塩は、腸管上皮細胞の NHE3 を選択的に阻害し、リンの傍細胞経路による取込みを減少させることにより、透析施行中の慢性腎臓病患者の高リン血症を改善すると考えられた。

2 臨床適応及び用法用量

本申請における効能又は効果、並びに用法及び用量の案は以下のとおりである。

【効能又は効果】

透析中の慢性腎臓病患者における高リン血症の改善

【用法及び用量】

通常、成人にはテナパノルとして 1 回 5 mg を開始用量とし、1 日 2 回、朝食及び夕食直前に経口投与する。以後、症状、血清リン濃度の程度により適宜増減するが、最高用量は 1 回 30 mg とする。

KHK7791

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2　薬理試験の概要文

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
3-O-MG	3-O-methyl-D-glucose（3-O-メチル-D-グルコース）
5-HT	5-hydroxytryptamine（セロトニン）
CKD	Chronic kidney disease（慢性腎臓病）
Cl^-/HCO_3^-	Chloride/bicarbonate（塩素イオン／炭酸水素イオン）
DMSO	Dimethylsulfoxide（ジメチルスルホキシド）
E/A	Early diastolic filling velocity/Atrial filling velocity（左室急速流入血流速度／心房収縮期流入血流速度）
EC_{50}	50% effective concentration（50%有効濃度）
ENaC	Epithelial sodium channel（上皮性ナトリウムチャネル）
GFR	Glomerular filtration rate（糸球体濾過量）
$hCa_v1.2/\beta2/\alpha2\delta$	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）
$hCa_v3.2$	Human voltage gated calcium T-type channel 3.2（ヒト電位依存性カルシウム T 型チャネル 3.2）
hERG	Human ether-a-go-go related gene（ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子）
hHCN4	Human hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel 4（ヒト過分極活性化環状ヌクレオチド依存性チャネル 4）
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）
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）
$hK_v1.5$	Human potassium voltage-gated channel subfamily A member 5（ヒトカリウム電位依存性チャネルサブファミリーA メンバー5）
$hK_v11.1$	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）
$hK_v7.1$	Human voltage-gated potassium channel 7.1（ヒト電位依存性カリウムチャネル 7.1）
$hNa_v1.5$	Human cardiac voltage gated Na^+ channel $Na_v1.5$（ヒト心筋電位依存性 Na^+チャネル NaV1.5）
HTRF	Homogeneous time resolved fluorescence（時間分解蛍光）
IBAT	Ileal bile acid transporter（回腸胆汁酸輸送体）
IC_{50}	50% inhibit concentration（50%阻害濃度）
ICa_L	Cardiac L-type Ca^{2+} current（心臓 L 型カルシウム電流）
ICa_T	Cardiac T-type Ca^{2+} current（心臓 T 型カルシウム電流）
I_F	Cardiac pacemaker "funny"（If） current（過分極活性化電流）
IK_r	Rapid delayed rectifier potassium current （急速遅延整流カリウム電流）
IK_s	Slow delayed rectifier potassium current （緩徐遅延整流カリウム電流）
IK_{UR}	Ultra rapid delayed rectifier potassium current（超高速遅延整流カリウム電流）
INa	Cardiac sodium current（心臓ナトリウム電流）
I_{to}	Cardiac transient outward potassium current（心臓の一過性外向きカリウム電流）
KIM-1	Kidney injury molecule-1
Na^+/H^+	Sodium/hydrogen（ナトリウムイオン／プロトン）

略号	略していない用語
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）
PiT	Inorganic phosphate transporter（無機リン酸輸送体）
SGLT1	Sodium/glucose cotransporter 1（ナトリウム／グルコース共輸送体 1）
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
cAMP	アデノシン 3',5'-サイクリック一リン酸
CHO（細胞）	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株
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
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）	ヒト胎児腎臓由来細胞株
M1	KHK7791 代謝物
RNA	リボ核酸
OK（細胞）	オポッサム腎臓由来細胞株
pIC_{50}	IC_{50} 値の負の対数値
PS120（細胞）	ハムスター肺由来線維芽細胞株
QRS（間隔）	心電図における Q 波の開始から S 波の終了までの時間
QT（間隔）	心電図における Q 波の開始から T 波の終了までの時間
QTcV（間隔）	心拍数で補正した QT 間隔（Van de Water 補正による QT 間隔）
RR（間隔）	心電図における R 波と次の R 波までの時間
テナパノル	KHK7791 の遊離塩基
テナパノル塩酸塩	KHK7791

目次

略号及び用語の定義一覧 2
2.6.2 薬理試験の概要文 9
1 まとめ 9
1.1 効力を裏付ける試験 9
1.2 副次的薬理試験 10
1.3 安全性薬理試験 10
1.4 薬力学的薬物相互作用試験 10
2 効力を裏付ける試験 11
2.1 ヒト NHE3 活性に対する作用（RDX5791-EF-02A）評価資料 4.2.1.1-1 11
2.2 ラット NHE3 活性に対する作用（RDX5791-EF-01A）評価資料 4.2.1.1-2 11
2.3 リン吸収抑制作用の機序解析（RDX5791-EF-17）評価資料 4.2.1.1-3 12
2.4 ラット、イヌ及びヒトの腸における NHE3 及び ENaC 遺伝子発現比較（RDX5791-EF-15）参考資料 4.2.1.1-4 13
2.5 マウスにおける尿中及び糞便中ナトリウム排泄量に対する作用（1516[redacted]）参考資料 4.2.1.1-5 13
2.6 ラットにおける糞便中水分量及びナトリウム排泄量に対する作用（RDX5791-EF-03）参考資料 4.2.1.1-6 14
2.7 ラットにおける腸管管腔の水分量及びナトリウム量に対する作用（1709[redacted]）参考資料 4.2.1.1-7 16
2.8 ラットにおけるリン吸収低下作用の機序解析（RDX5791-EF-16）評価資料 4.2.1.1-8 16
2.9 サルにおける尿中ナトリウム排泄量及び便性状に対する作用（RDX5791-EF-06.00）参考資料 4.2.1.1-9 19
2.10 カルシトリオール負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットにおける作用（RDX5791-EF-11.01）参考資料 4.2.1.1-10 19
2.11 アデニン誘発 CKD ラットにおける作用（RDX5791-EF-14）参考資料 4.2.1.1-11 21
2.12 高食塩負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットにおける作用（RDX5791-EF-08.01）参考資料 4.2.1.1-12 22
3 副次的薬理試験 22
3.1 In vitro における特異性評価（3126[redacted]）評価資料 4.2.1.2-1 22
3.2 腸に発現する膜輸送体及び胆汁酸受容体に対する作用（RDX5791-EF-12）参考資料 4.2.1.2-2 22
3.3 ヒト NHE2 に対する作用（RDX5791-EF-04）参考資料 4.2.1.2-3 23
3.4 ラットにおける腸管輸送能に対する作用（RDX5791-EF-07.01）参考資料 4.2.1.2-4 23
3.5 ラットにおけるグルコース吸収及び胃排出に対する作用（RDX5791-EF-10.00）参考資料 4.2.1.2-5 24
3.6 M1 の特異性評価（3534[redacted]）評価資料 4.2.1.2-6 25
4 安全性薬理試験 25
4.1 中枢神経系に及ぼす影響 25

4.1.1 ラットにおける一般症状及び行動に及ぼす影響（RDX5791-SP-02）評価資料 4.2.1.3-1 25
4.2 心血管系に及ぼす影響 25
4.2.1 hERG 電流に及ぼす影響（RDX5791-SP-06）評価資料 4.2.1.3-2 25
4.2.2 心筋イオンチャネルに及ぼす影響（3624[redacted]）参考資料 4.2.1.3-3 26
4.2.3 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（RDX5791-SP-05）評価資料 4.2.1.3-4 26
4.2.4 イヌを用いた 3 ヵ月間経口投与（カプセル）毒性試験及び 28 日間回復性試験における心電図評価（RDX5791-TX-11）評価資料 4.2.3.2-11 26
4.2.5 イヌを用いた 9 ヵ月間経口投与（カプセル）毒性試験における心電図評価（[redacted]-775031）評価資料 4.2.3.2-12 27
4.3 呼吸器系に及ぼす影響 27
4.3.1 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（RDX5791-SP-03）評価資料 4.2.1.3-5 27
4.4 消化器系に及ぼす影響 27
4.4.1 ラットにおけるテナパノル塩酸塩経口投与による胃腸管輸送能の評価（RDX5791-SP-04）評価資料 4.2.1.3-6 27
4.5 M1 の評価 28
4.5.1 M1 の心筋イオンチャネルに及ぼす影響（3625[redacted]）参考資料 4.2.1.3-7 28
4.5.2 イヌを用いた 9 ヵ月間経口投与（カプセル）毒性試験における心電図に対する M1 の評価（[redacted]-775031）評価資料 4.2.3.2-12 28

5 薬力学的薬物相互作用 28
5.1 ラットにおける腸管リン吸収に対する炭酸セベラマーとの併用効果（1697[redacted]）参考資料 4.2.1.4-1 28
5.2 炭酸セベラマーを投与中のラットにおける腸管リン吸収に対する上乗せ効果（1926[redacted]）参考資料 4.2.1.4-2 29
5.3 ラットにおける尿中ナトリウム及びリン排泄量に対する炭酸ランタンとの併用による影響（[redacted]120612-06）参考資料 4.2.1.4-3 30
5.4 ラットにおける尿中ナトリウム排泄量に対する炭酸セベラマーとの併用による影響（RDX5791-EF-13.01）参考資料 4.2.1.4-4 30
5.5 高食塩負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットにおけるエナラプリルとの併用効果（RDX5791-EF-09.01）参考資料 4.2.1.4-5 31

6 考察及び結論 32
6.1 効力を裏付ける試験 32
6.2 副次的薬理試験 32
6.3 安全性薬理試験 33
6.3.1 中枢神経系に及ぼす影響 33
6.3.2 呼吸系に及ぼす影響 33
6.3.3 心血管系に及ぼす影響 33
6.3.4 消化器系に及ぼす影響 33
6.3.5 M1 の評価 33

6.4 薬力学的薬物相互作用試験 33
7 参考文献 34
8 補遺 35

表

Table 4.2.1-1 テナパノル塩酸塩による 0.1 Hz での hERG 電流阻害 26
Table 4.2.2-1 in vitro 電気生理学的アッセイにおけるテナパノルの阻害作用 26
Table 4.5.1-1 in vitro 電気生理学的アッセイにおける M1 の阻害作用..... 28

図

Figure 2.3-1 ヒト十二指腸単層におけるリン吸収に対する作用 12
Figure 2.5-1 尿中ナトリウム排泄量 14
Figure 2.5-2 糞便中ナトリウム排泄量（投与 7 日目） 14
Figure 2.6-1 雌雄ラットの糞便中水分量に対する作用 15
Figure 2.6-2 雌性ラットの糞便中ナトリウム排泄量に対する作用 15
Figure 2.6-3 雌雄ラットの尿中ナトリウム排泄量に対する作用 16
Figure 2.8-1 リン酸水溶液を経口投与後の尿中リン酸排泄量に対する作用..... 17
Figure 2.8-2 高リン食摂取後の尿中リン排泄量に対する作用 18
Figure 2.8-3 高リン食摂取後の尿中ナトリウム排泄量に対する作用 18
Figure 2.10-1 血漿中の腎機能マーカーに対する作用 19
Figure 2.10-2 クレアチニンクリアランスに対する作用 20
Figure 2.10-3 心臓及び残存腎臓の重量に対する作用 20
Figure 2.10-4 大動脈弓のリン及びカルシウム含量に対する作用 21
Figure 2.11-1 胃及び大動脈弓のカルシウム及びリン含量に対する作用 21
Figure 3.4-1 ラットにおける小腸輸送能及び全腸管輸送能に対する作用..... 24
Figure 3.5-1 血漿中 3-O-MG 及びアセトアミノフェン濃度..... 24
Figure 5.1-1 ラットにおける尿中リン排泄量に対する作用（試験最終日） 29
Figure 5.2-1 ラットにおける尿中リン排泄量に対する作用 30
Figure 5.4-1 尿中ナトリウム排泄量に対する作用 31

2.6.2 薬理試験の概要文

1 まとめ

生体内におけるリンの恒常性維持は、腸管からの吸収、組織又は細胞間の交換及び腎排泄に依存する（Blaine et al., 2015）。食事から摂取したリンは、小腸で傍細胞経路と経細胞経路を介して吸収される。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、リンが電気化学的勾配に依存して細胞間隙を通過する。一方、経細胞経路によるリン吸収は、主に NaPi2b を介して行われ、PiT1 及び PiT2 は、腸管におけるリン吸収にはほとんど関与していない（Sabbagh et al., 2009; Sabbagh et al., 2011）。腸管内腔のリン濃度が正常である場合、NaPi2b の輸送能は飽和しているため、消化管におけるリン吸収は主に傍細胞経路により行われる（King et al., 2018; Marks, 2019; Saurette and Alexander, 2019）。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、ナトリウムと体液量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、Cl^-/HCO_3^-交換と密接に共役しており、腸内の 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）。

テナパノル塩酸塩及び M1 の薬理作用を評価するため、以下の薬理試験を実施した。

1.1 効力を裏付ける試験

ヒト又はラットの NHE3 を発現させた PS120 細胞及び OK 細胞において、テナパノル塩酸塩はヒト及びラットの NHE3 を阻害した。M1 は、ヒト及びラットの NHE3 を阻害しなかった。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。

マウスに、テナパノル塩酸塩（1.5、5 及び 15 mg/kg）を 1 日 2 回 7 日間反復経口投与したとき、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。ラットに、テナパノル塩酸塩（0.1、0.3、1 及び 3 mg/kg）を単回経口投与したとき、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。ラットに、テナパノル塩酸塩（0.15 mg/kg）を単回経口投与したとき、テナパノル塩酸塩は、腸管からのナトリウムと水の吸収を阻害し、腸管内のナトリウムと水の量を増加させた。ラットに、テナパノル塩酸塩（0.5 mg/kg）を単回経口投与したとき、テナパノル塩酸塩は、傍細胞経路を介したリン吸収を低下させた。カニクイザルに、テナパノル塩酸塩（50 及び 150 mg/kg）を 1 日 1 回 5 日間反復経口投与したとき、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。カルシトリオール負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットに、テナパノル塩酸塩（0.065 mg/g diet）を 4 週間混餌投与したとき、テナパノル塩酸塩は腎機能低下、心臓及び腎臓の肥大、高リン血症及び血管石灰化を抑制した。アデニン誘発 CKD ラットに、テナパノル塩酸塩（2 及び 5 mg/kg）を 21 日間混餌投与したとき、テナパノル塩酸塩は、5 mg/kg で大動脈弓の石灰化を抑制する傾向を示した。高食塩食を負荷した 5/6 部分腎臓摘

出ラットに、テナパノル塩酸塩（0.3、1 及び 3 mg/kg）を 1 日 1 回 2 週間又は 4 週間反復経口投与したとき、テナパノル塩酸塩は、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させるとともに、心臓及び腎臓の肥大を抑制した。

1.2 副次的薬理試験

In vitro 特異性評価試験において、テナパノルは、評価した 181 の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素のうち、41 分子に対して作用を示し、特にタキキニン NK1 受容体及び 5-HT1D 受容体に対しては、1 μmol/L 未満の濃度で機能的活性を示した。M1 は、評価した 82 の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素のうち、41 分子に対して作用を示したが、1 μmol/L の濃度まで機能的活性は検出されなかった。腸に発現する膜タンパク質に対し、テナパノル塩酸塩は、最大 10～30 μmol/L まで、NaPi2b、PiT1、IBAT、TGR5、NHE1 及び NHE2 に作用しなかった。

ラットに、テナパノル塩酸塩（10 mg/kg）を単回経口投与したとき、テナパノル塩酸塩は腸管輸送能を促進した。ラットに、テナパノル塩酸塩（30 mg/kg）を単回経口投与したとき、テナパノル塩酸塩はグルコース吸収及び胃排出能に影響を与えなかった。

1.3 安全性薬理試験

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。

中枢神経系及び呼吸器系に対してはテナパノル塩酸塩投与による影響は認められなかった。心血管系では、心筋イオンチャネルの hCav1.2/β2/α2δ（ICa_L）に対して阻害作用（IC_{50}=4.67 μmol/L）が確認されたが、イヌを用いた in vivo 試験では心拍数、血圧及び心電図に異常は認められなかった。ラットを用いた胃腸管輸送能試験では、胃腸管の運動性に有意な変化は認められなかった。

また、M1 は心筋イオンチャネルの $hK_v11.1$（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、ヒト臨床血漿中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。

1.4 薬力学的薬物相互作用試験

ラットに、テナパノル塩酸塩（0.15 mg/kg）を 1 日 2 回反復経口投与及び炭酸セベラマー（0.75、1.5 及び 3 w/w% diet）を混餌投与により 11 日間併用したとき、テナパノル塩酸塩と炭酸セベラマーの併用は、テナパノル塩酸塩又は炭酸セベラマー単独と比較して、尿中リン排泄量を更に減少させた。事前に炭酸セベラマー（1.5 w/w% diet）を 6 日間混餌投与したラットに、その後も炭酸セベラマーを継続して与え、テナパノル塩酸塩（0.15 mg/kg）を 1 日 2 回反復経口投与により 7 日間上乗せしたとき、テナパノル塩酸塩の上乗せは、炭酸セベラマー単独と比較して尿中リン排泄量を更に減少させた。また、併用する炭酸セベラマーの飼料中含量を半減（0.75 w/w% diet）しても、テナパノル塩酸塩の上乗せにより、炭酸セベラマー（1.5 w/w% diet）単独と同程度の尿中リン排泄低下が維持された。ラットに、テナパノル塩酸塩（0.1、0.3、1 及び 3 mg/kg）及び炭酸セベラマー（48 mg/kg）を単回経口投与により併用したとき、炭酸セベ

ラマーは、テナパノル塩酸塩の尿中ナトリウム排泄低下作用に影響を与えなかった。ラットに、テナパノル塩酸塩（0.013 g/kg diet）及び炭酸ランタン（20 g/kg diet）を 7 日間混餌投与で併用したとき、炭酸ランタンは、テナパノル塩酸塩の尿中ナトリウム及びリン排泄低下作用に影響を与えなかった。高食塩負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットに、テナパノル塩酸塩（1 mg/kg）及びエナラプリル（10 mg/kg）を 1 日 1 回 4 週間反復経口投与により併用したとき、テナパノル塩酸塩は、単独及びエナラプリルとの併用により、高食塩負荷及び部分腎臓摘出により誘発された血圧の上昇を抑制し、心臓及び腎臓保護作用を示した。

2 効力を裏付ける試験

2.1 ヒト NHE3 活性に対する作用（RDX5791-EF-02A）評価資料 4.2.1.1-1

ヒト NHE3 活性に対するテナパノル塩酸塩及び M1 の作用を in vitro で評価した。

ヒト NHE3 を安定発現させた PS120 細胞に、テナパノル塩酸塩（0～1 μmol/L）又は M1（0～10 μmol/L）を添加し、一定時間処置した後、NHE3 活性を測定した（プレインキュベーション試験）。また、テナパノル塩酸塩（0～1 μmol/L）又は M1（0～10 μmol/L）処置後、それらを除去し、NHE3 活性を測定した（持続試験）。NHE3 活性は、一過性に酸性化させた細胞の細胞内 pH 回復速度を指標として評価した。細胞内 pH は、pH 感受性蛍光色素を用いて測定した。

テナパノル塩酸塩は、プレインキュベーション試験及び持続試験のいずれにおいても NHE3 活性を濃度依存的に阻害し、pIC_{50} 値はそれぞれ 8.9 及び 7.9 であった。M1 は、プレインキュベーション試験において、3 μmol/L 以上で NHE3 活性を弱くかつ部分的に阻害したが、持続試験においては、10 μmol/L まで阻害せず、いずれの試験でも pIC_{50} 値は 5.0 未満であった。

以上の結果より、テナパノル塩酸塩はヒト NHE3 を阻害するが、M1 は阻害しないことが示された。

2.2 ラット NHE3 活性に対する作用（RDX5791-EF-01A）評価資料 4.2.1.1-2

ラット NHE3 活性に対するテナパノル塩酸塩及び M1 の作用を in vitro で評価した。

ラット NHE3 を一過性に発現させた OK 細胞に、テナパノル塩酸塩（0～1 μmol/L）又は M1（0～10 μmol/L）を添加し、一定時間処置した後、NHE3 活性を測定した（プ　インキュベーション試験）。また、テナパノル塩酸塩（0～1 μmol/L）又は M1（0～10 μmol/L）処置後、それらを除去し、NHE3 活性を測定した（持続試験）。NHE3 活性は、一過性に酸性化させた細胞の細胞内 pH 回復速度を指標として評価した。細胞内 pH は、pH 感受性蛍光色素を用いて測定した。

テナパノル塩酸塩は、プ　インキュベーション試験及び持続試験のいずれにおいても、NHE3 活性を濃度依存的に阻害し、pIC_{50} 値はそれぞれ 8.9 及び 7.7 であった。M1 は、プレインキュベーション試験において、3 μmol/L 以上で NHE3 活性を弱くかつ部分的に阻害したが、持続試験においては、10 μmol/L まで阻害せず、いずれの試験でも pIC_{50} 値は 5.0 未満であった。

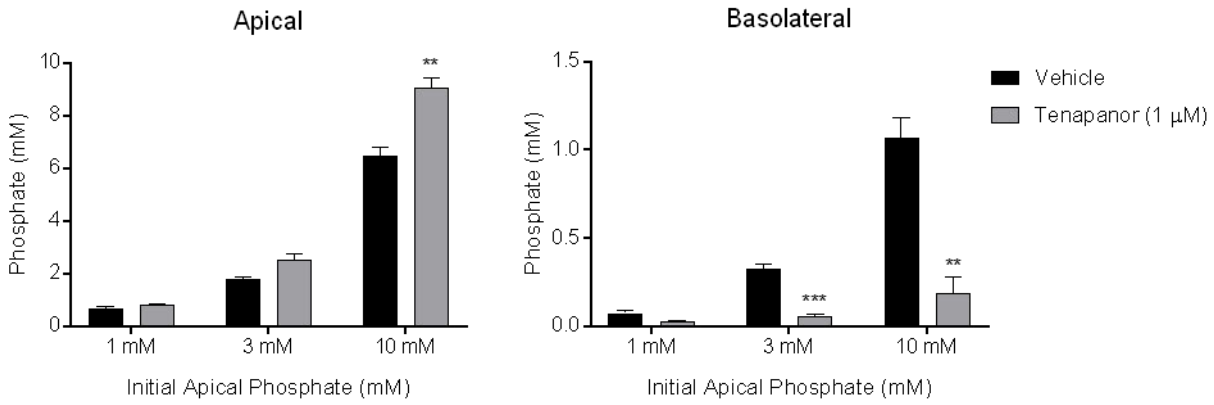
以上の結果より、テナパノル塩酸塩はラット NHE3 を阻害するが、M1 は阻害しないことが示された。

2.3 リン吸収抑制作用の機序解析（RDX5791-EF-17）評価資料 4.2.1.1-3

ヒト小腸上皮細胞を用いて腸管リン吸収に対するテナパノル塩酸塩の作用を評価した。ヒトの生理的な腸管内腔リン濃度において、NaPi2b は飽和し、リンは主に傍細胞経路により吸収されることが知られている（Davis et al., 1983; King et al., 2018; Marks, 2019; Saurette and Alexander, 2019）。

ヒト十二指腸上皮細胞を単層培養し、頂端膜側にテナパノル塩酸塩（1 µmol/L）又は媒体（0.01% DMSO）、及びヒトの生理的な腸管内腔濃度に相当するリン酸塩（1、3 及び 10 mmol/L）を添加して6時間培養し、頂端膜側及び基底膜側の培地中リン酸濃度を測定した。頂端膜側へのリン酸塩の添加により、基底膜側のリン酸濃度が濃度依存的かつ線形性に増加したことから、リンが傍細胞経路を介して頂端膜側から基底膜側へ透過したことが示された。テナパノル塩酸塩は、リンの傍細胞経路による輸送を阻害した（Figure 2.3-1）。

Figure 2.3-1 ヒト十二指腸単層におけるリン吸収に対する作用



左図：頂端膜側のリン酸濃度、右図：基底膜側のリン酸濃度
Tenapanor=テナパノル塩酸塩
M=mol/L
平均値±標準誤差、n=3～4、** p<0.01、*** p<0.001（vs. 媒体、Bonferroni correction）
RDX5791-EF-17 の Figure 1 より引用

細胞間隙のリン透過性に対する作用を経上皮電気抵抗を指標に評価した。

ヒト十二指腸上皮細胞又は回腸上皮細胞を単層培養し、頂端膜側の酸性培地を中性培地に置換すると同時に、頂端膜側の培地にテナパノル塩酸塩（1 µmol/L）又は媒体（0.01% DMSO）を添加し、0.5、1、2、4 及び 5.5 時間後に経上皮電気抵抗を測定した。頂端膜側を中性培地へ置換することにより、十二指腸及び回腸上皮細胞単層における経上皮電気抵抗が 0.5 時間後から顕著にかつ持続的に減少した。これは、中性培地への置換により、プロトン勾配が回復し、NHE3 を介してプロトンが細胞内から頂端膜側に排出した結果である。テナパノル塩酸塩は、この経上皮電気抵抗の減少を抑制した。

また、ヒト十二指腸上皮細胞を単層培養し、頂端膜側の酸性培地を種々の pH の培地に置換すると同時に、頂端膜側の培地にテナパノル塩酸塩（1 µmol/L）又は媒体（0.01% DMSO）を添加し、0.5、1、2、4 及び 5.5 時間後に経上皮電気抵抗を測定した。テナパノル塩酸塩は、中性及びアルカリ性培地への置換後 0.5 時間から顕著にかつ持続的に経上皮電気抵抗を増加させたが、NHE3 を介したプロトン放出がなく、経上皮電気抵抗が既に高い酸性培地では、経上皮電気抵抗を増加させなかった。更に、NHE3 欠損ヒト回腸上皮細胞単層において、ナトリウム

及びリン吸収が低下し、テナパノル塩酸塩処置細胞と同様に、頂端膜側を中性培地に置換しても経上皮電気抵抗は減少しなかった。

以上の結果より、テナパノル塩酸塩は、小腸上皮細胞間のタイトジャンクションを調節することにより、経上皮電気抵抗を増加させ、傍細胞経路によるリン透過性を低下させることで、腸管のリン吸収を抑制することが示された。この作用は NHE3 阻害に依存した、細胞内からのプロトン放出阻害による細胞内 pH 低下作用に起因する可能性が考えられた。

2.4 ラット、イヌ及びヒトの腸における NHE3 及び ENaC 遺伝子発現比較（RDX5791-EF-15）参考資料 4.2.1.1-4

Sprague Dawley ラット、ビーグル犬及びヒトの十二指腸、空腸（ヒトを除く）、回腸、近位結腸及び遠位結腸、並びに各部位由来のヒト初代培養腸上皮細胞における NHE3 及び ENaC の遺伝子発現量を RNA シーケンス法により測定し、比較した。

NHE3 は、ラット、イヌ及びヒトにおいて、腸管全体で発現が認められた。各腸管部位における NHE3 発現量は、種により相対的な差異が認められたものの、おおむねすべての種で類似していた。α-ENaC は、ラット、イヌ及びヒトの腸管全体で発現が認められ、すべての種においてβ及びγサブユニットと比較して発現が高かった。小腸においては、ヒトでラットやイヌより高い発現を示し、結腸においては、イヌでラット及びヒトより低い発現を示した。β-ENaC は、小腸においてはイヌの回腸のみで発現が認められた。近位結腸及び遠位結腸においては、すべての種で発現が認められた。γ-ENaC は、ヒトの近位結腸とラットの遠位結腸のみで発現が認められた。

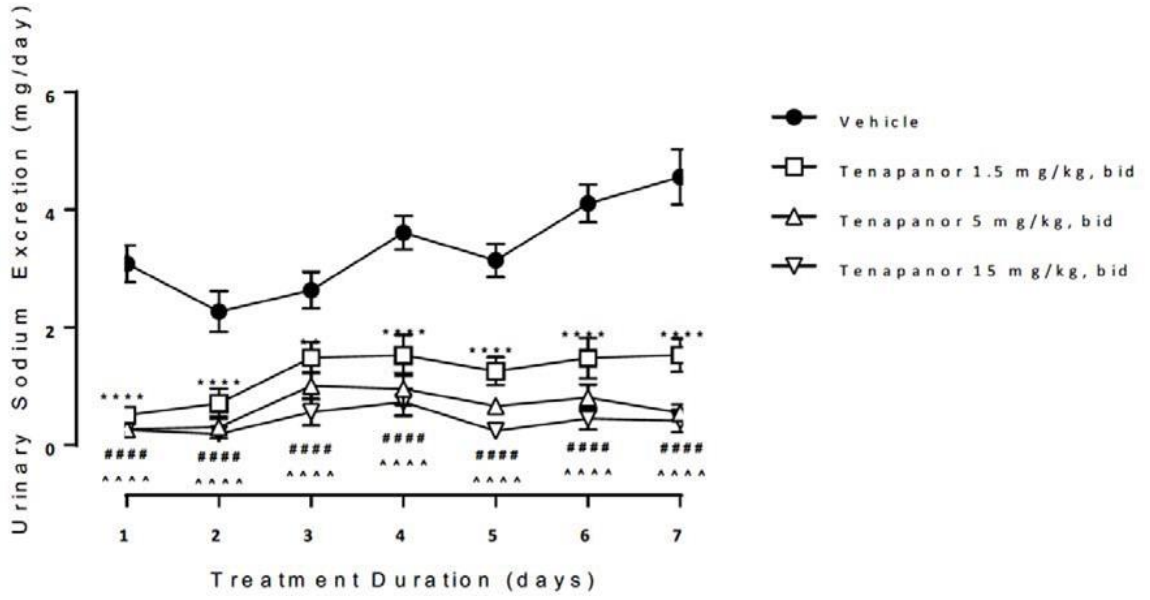
2.5 マウスにおける尿中及び糞便中ナトリウム排泄量に対する作用（1516[redacted]）参考資料 4.2.1.1-5

雄性 CD-1 マウスに、テナパノル塩酸塩（1.5、5 及び 15 mg/kg）又は媒体（酸性水、0.01% Tween 80）を 1 日 2 回 7 日間反復経口投与した。投与期間中、24 時間ごとに尿を回収し、尿中ナトリウム排泄量を測定した。また、最終投与 24 時間後に糞便を回収し、糞便中ナトリウム排泄量を測定した。

テナパノル塩酸塩は、1.5 mg/kg から投与期間中の尿中ナトリウム排泄量を持続的に減少させ（Figure 2.5-1）、糞便中ナトリウム排泄量を有意に増加させた（Figure 2.5-2）。

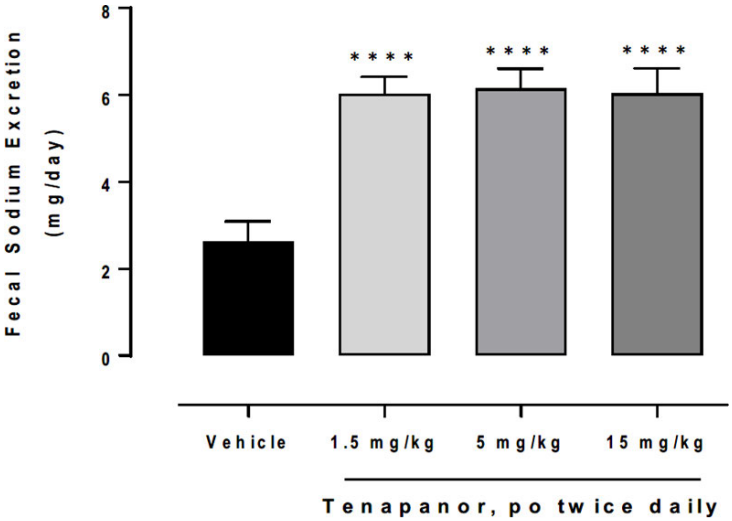
以上の結果より、テナパノル塩酸塩はマウスの腸におけるナトリウム吸収を阻害することが示された。

Figure 2.5-1　尿中ナトリウム排泄量



Tenapanor=テナパノル塩酸塩、bid=1 日 2 回投与
平均値±標準誤差、n=10
** p<0.01（1.5 mg/kg テナパノル塩酸塩 vs. 媒体、Dunnett's test）、**** p<0.0001（1.5 mg/kg テナパノル塩酸塩 vs. 媒体、Dunnett's test）、#### p<0.0001（5 mg/kg テナパノル塩酸塩 vs. 媒体、Dunnett's test）、^^^^ p<0.0001（15 mg/kg テナパノル塩酸塩 vs. 媒体、Dunnett's test）
1516[redacted] の Figure 3-4 より引用

Figure 2.5-2　糞便中ナトリウム排泄量（投与 7 日目）



Tenapanor=テナパノル塩酸塩
po=経口投与
平均値+標準誤差、n=10、**** p<0.0001（テナパノル塩酸塩 vs. 媒体、Dunnett's test）
1516[redacted] の Figure 3-5 より引用

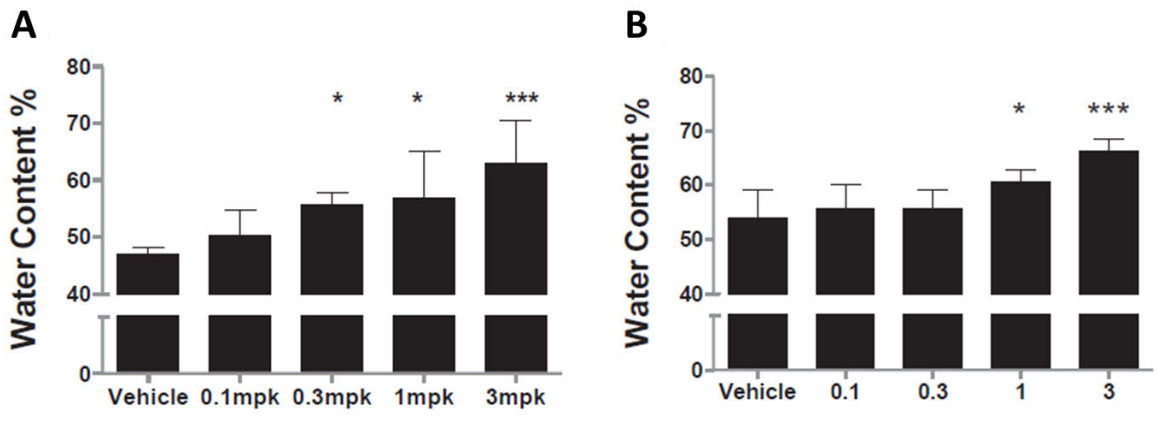
2.6　ラットにおける糞便中水分量及びナトリウム排泄量に対する作用（RDX5791-EF-03）参考資料 4.2.1.1-6

雌雄 Sprague Dawley ラットに、テナパノル塩酸塩（0.1、0.3、1.0 及び 3.0 mg/kg）又は媒体（水）を単回経口投与し、投与直後から 16 時間の尿及び糞便を回収した。糞便及び尿中のナトリウム含量を測定し、糞便の湿重量と乾燥重量の差から糞便中水分量を算出した。

テナパノル塩酸塩は、雌性ラットにおいては 0.3 mg/kg 以上で、雄性ラットにおいては 1.0 mg/kg 以上で糞便中水分量を有意に増加させた（Figure 2.6-1）。また、雌性ラットにおいて、0.3 及び 3.0 mg/kg で糞便中ナトリウム排泄量を有意に増加させた（Figure 2.6-2）。更に、雌雄ラットにおいて、0.1 mg/kg 以上で尿中ナトリウム排泄量を有意に減少させた（Figure 2.6-3）。

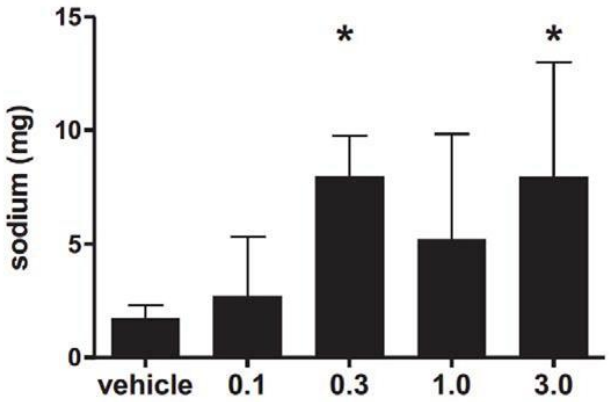
以上の結果より、テナパノル塩酸塩は、ラットの糞便中水分量及びナトリウム排泄量を増加させ、尿中ナトリウム排泄量を減少させることが示された。

Figure 2.6-1　雌雄ラットの糞便中水分量に対する作用



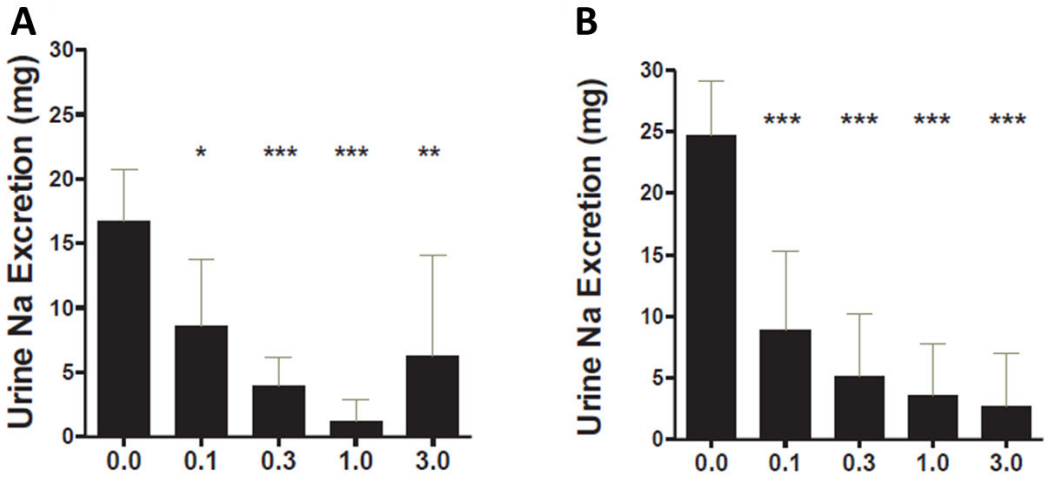
A：雌性ラットの糞便中水分量、B：雄性ラットの糞便中水分量
横軸の単位は mg/kg、mpk=mg/kg
平均値+標準偏差、n=6、*p<0.05、***p<0.001（vs. 媒体、Dunnett's test）
RDX5791-EF-03 の Figure 1（雌性ラットの糞便中水分量）及び Figure 2（雄性ラットの糞便中水分量）より引用

Figure 2.6-2　雌性ラットの糞便中ナトリウム排泄量に対する作用



横軸の単位は mg/kg
平均値+標準偏差、n=6、*p<0.05（vs. 媒体、Dunnett's test）
RDX5791-EF-03 の Figure 4 より引用

Figure 2.6-3　雌雄ラットの尿中ナトリウム排泄量に対する作用



A：雌性ラットの尿中ナトリウム排泄量、B：雄性ラットの尿中ナトリウム排泄量
横軸の単位は mg/kg
平均値+標準偏差、n=6、*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001（vs. 媒体、Dunnett's test）
RDX5791-EF-03 の Figure 1（雌性ラットの尿中ナトリウム排泄量）及び Figure 2（雄性ラットの尿中ナトリウム排泄量）より引用

2.7　ラットにおける腸管管腔の水分量及びナトリウム量に対する作用（1709[redacted]）参考資料 4.2.1.1-7

雄性 Sprague Dawley ラットに対して、食餌を 1 日 1 回 4 時間以内に摂取するように 6 日間訓練した。最終日の食餌を与える直前に、テナパノル塩酸塩（0.15 mg/kg）又は媒体（酸性水、0.01% Tween 80）を単回経口投与した。投与後 0.5、1、2 及び 4 時間に動物を安楽死させ、近位小腸、遠位小腸及び盲腸の内容物を回収し、腸内水分量、腸内ナトリウム濃度及び腸内ナトリウム含量を測定した。更に、腸内テナパノル塩酸塩濃度を測定した。

テナパノル塩酸塩は、近位小腸では投与後 4 時間に、遠位小腸では投与後 0.5～4 時間に、盲腸では投与後 1 時間及び 2 時間に、腸内水分量を有意に増加させた。テナパノル塩酸塩は、近位小腸では投与後 0.5～2 時間に、遠位小腸では投与後 0.5～1 時間に、盲腸では投与後 1～4 時間に、腸内ナトリウム濃度を有意に上昇させた。テナパノル塩酸塩は、近位小腸では投与後 0.5～2 時間に、遠位小腸では投与後 0.5～2 時間に、盲腸では投与後 1 及び 2 時間に、腸内ナトリウム含量を有意に増加させた。腸内テナパノル塩酸塩濃度のピークは、投与後 0.5 時間に遠位小腸で約 10 μmol/L であり、その後経時的に減少した。近位小腸及び盲腸の腸内テナパノル塩酸塩濃度は、いずれの時点でも 1 μmol/L 未満であった。

以上の結果より、テナパノル塩酸塩は腸管からのナトリウムと水の吸収を阻害し、腸管内の水とナトリウム量を増加させることが示された。

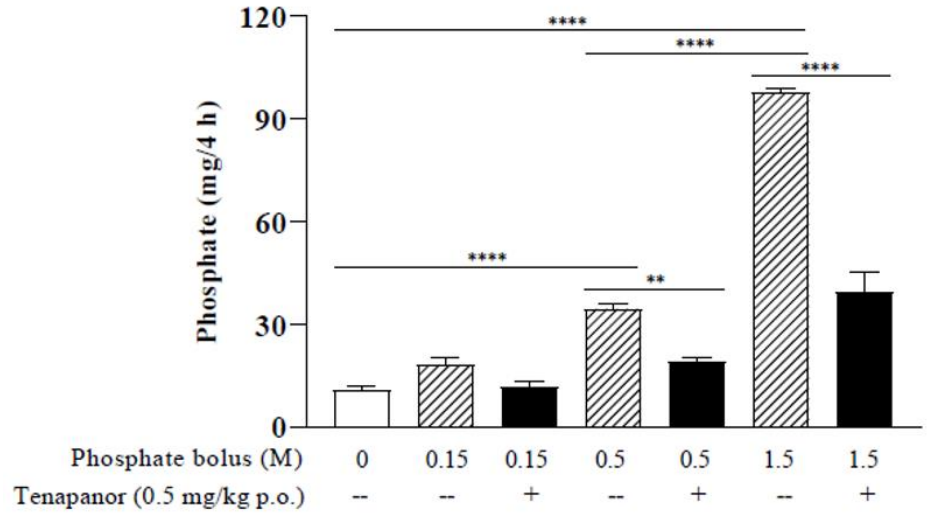
2.8　ラットにおけるリン吸収低下作用の機序解析（RDX5791-EF-16）評価資料 4.2.1.1-8

ラットにおいて、腸管リン吸収低下作用の機序を検討した。

試験 1：雄性 Sprague Dawley ラットを一晩絶食させ、テナパノル塩酸塩（0.5 mg/kg）又は媒体（酸性水、0.01% Tween 80）を単回経口投与し、直ちに NaH_2PO_4（0、0.15、0.5 及び 1.5 mol/L）含有リン酸水溶液 1 mL を経口投与した。投与後 4 時間の尿を回収し、尿中のリン酸含量を測定した。

リン酸水溶液の経口投与により腸内リン酸濃度を増加させたとき、尿中リン酸排泄量が線形性かつ非飽和性に増加したことから、リンが傍細胞経路を介して受動的に吸収されたことが示された。テナパノル塩酸塩は、投与したすべてのリン酸濃度において尿中リン酸排泄量を減少させたことから、テナパノル塩酸塩は傍細胞経路によるリン吸収を低下させることが示唆された（Figure 2.8-1）。

Figure 2.8-1　リン酸水溶液を経口投与後の尿中リン酸排泄量に対する作用

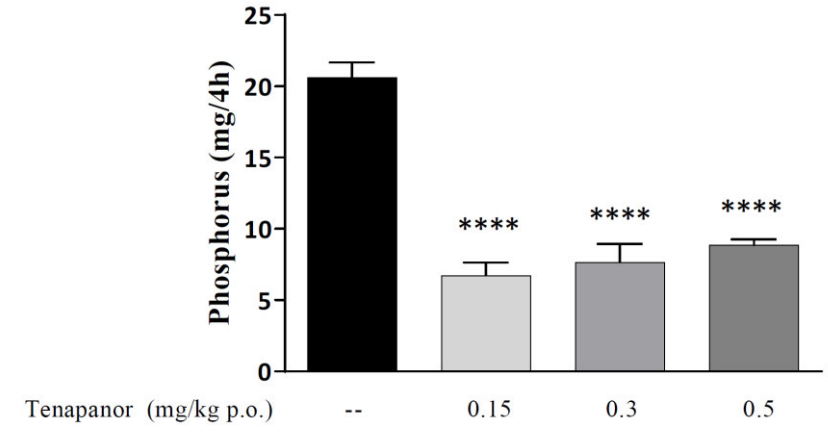


Tenapanor=テナパノル塩酸塩
M=mol/L、p.o.=経口投与
平均値+標準誤差、n=6、**p<0.01、****p<0.0001（Tukey test）
RDX5791-EF-16 の Figure 1 を改変

試験 2：雄性 Sprague Dawley ラットに対して、食餌（0.6 w/w%リン含有食）を 1 日 1 回 4 時間以内に摂取するように 6 日間訓練した。最終日に、ラットにテナパノル塩酸塩（0.15、0.3 及び 0.5 mg/kg）又は媒体（酸性水、0.01% Tween 80）を単回経口投与し、1.2 w/w%リン含有食 5 g を与えた。投与後 4 時間の尿を回収し、尿中のリン及びナトリウム含量を測定した。

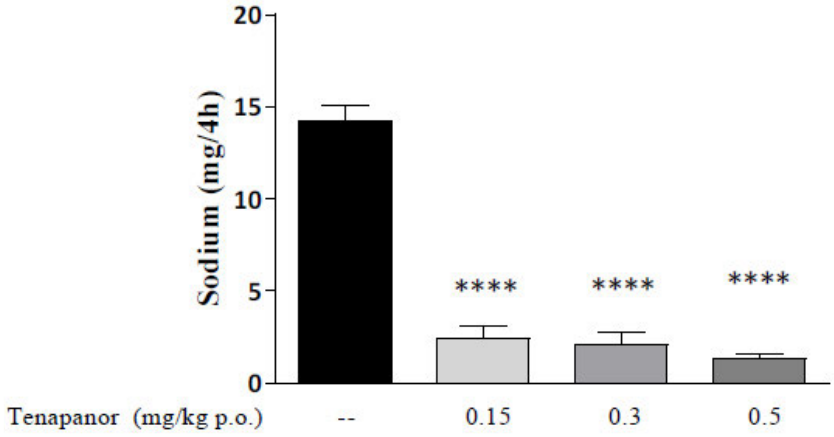
テナパノル塩酸塩は、0.15 mg/kg から高リン食摂取後の尿中リン排泄量及び尿中ナトリウム排泄量を有意に減少させた（Figure 2.8-2 及び Figure 2.8-3）。

Figure 2.8-2　高リン食摂取後の尿中リン排泄量に対する作用



Tenapanor=テナパノル塩酸塩
p.o.=経口投与
平均値+標準誤差、n=8、****p<0.0001（vs. 媒体、Dunnett's test）
RDX5791-EF-16 の Figure 2 より引用

Figure 2.8-3　高リン食摂取後の尿中ナトリウム排泄量に対する作用



Tenapanor=テナパノル塩酸塩
p.o.=経口投与
平均値+標準誤差、n=8、 ****p<0.0001（vs. 媒体、Dunnett's test）
RDX5791-EF-16 の Figure 3 より引用

試験 3：雄性 Sprague Dawley ラットに対して、食餌を 1 日 1 回 4 時間以内に摂取するように 6 日間訓練した。最終日に、ラットにテナパノル塩酸塩（0.15 mg/kg）又は媒体（酸性水、0.01% Tween 80）を経口投与し、1.2 w/w%リン含有食 5 g を与えた。投与後 0.5、1、2 及び 4 時間に安楽死させ、近位小腸、遠位小腸及び盲腸の内容物を回収し、水分量、ナトリウム濃度及びリン酸濃度を測定した。

テナパノル塩酸塩は、投与後 1 時間及び 2 時間に、盲腸内のナトリウム、リン酸及び水分量を有意に増加させた。盲腸へのナトリウム及びリン酸の送達を増加させたことから、テナパノル塩酸塩が小腸でこれらのイオンの吸収を阻害したことが示唆された。また、腸管リン吸収の抑制に伴い腸内リン酸濃度が上昇したことから、テナパノル塩酸塩がリンの傍細胞透過性を低下させることが示唆された。

以上の結果より、テナパノル塩酸塩は、傍細胞経路のリン透過性を低下させることにより、ラットの小腸におけるリン吸収を低下させることが示された。

2.9 サルにおける尿中ナトリウム排泄量及び便性状に対する作用（RDX5791-EF-06.00）参考資料 4.2.1.1-9

雄性カニクイザルにテナパノル塩酸塩（50 mg/kg）を 1 日 2 回 5 日間反復経口投与し、7 日間休薬した後、テナパノル塩酸塩（150 mg/kg）を 1 日 2 回 5 日間反復経口投与した。投与期間中、24 時間ごとに尿及び糞便を回収し、尿中ナトリウム排泄量の測定及び便性状の観察を行った。その結果、テナパノル塩酸塩は、尿中ナトリウム排泄量を有意に減少させ、軟便を誘発した。

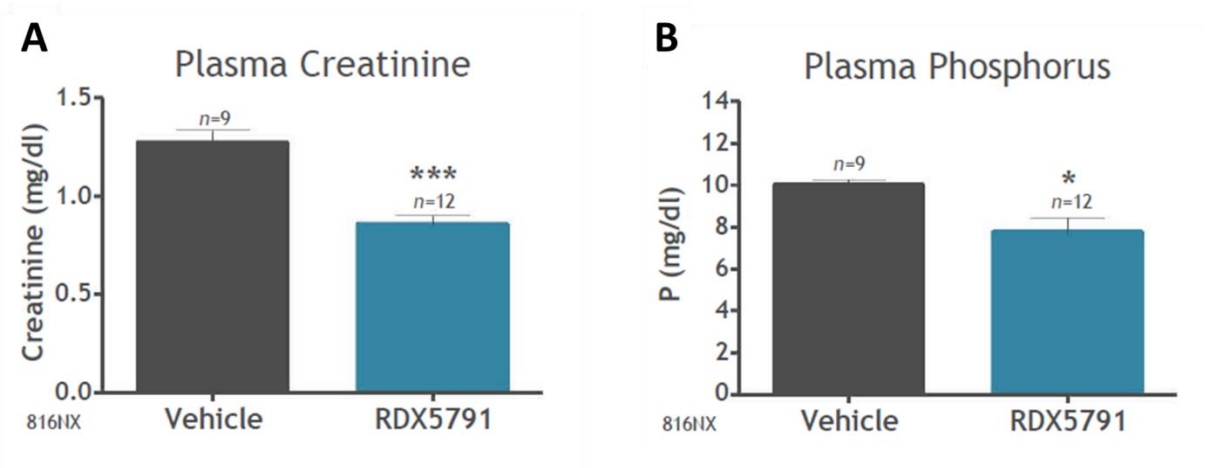
2.10 カルシトリオール負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットにおける作用（RDX5791-EF-11.01）参考資料 4.2.1.1-10

雄性 Sprague Dawley ラットに 5/6 部分腎臓摘出処置を行い、その 3 日後より、高リン食（0.9%リン及び 0.6%カルシウム含有）を与え、活性型ビタミン D_3 であるカルシトリオール（80 ng/kg）を週 3 回 4 週間反復腹腔内投与することにより、CKD に伴う高リン血症及び血管石灰化を惹起した。同時にテナパノル塩酸塩（0.065 mg/g diet）を 4 週間混餌投与した。ミネラル代謝への影響を考慮し、カルシトリオールの最終投与 48 時間後にラットを安楽死させ、血液及び組織を採取し、ラットのカルシウム及びリン代謝を定常状態に近づけて解析した。血管石灰化の評価として、大動脈弓のミネラル含有量を測定した。

テナパノル塩酸塩は、血中クレアチニンの上昇を抑制し、GFR の指標であるクレアチニンクリアランスの低下を抑制するとともに、心臓及び残存腎臓の重量を減少させた。また、テナパノル塩酸塩は、血中リン濃度の上昇を抑制し、大動脈弓のリン及びカルシウム含量を減少させた（Figure 2.10-1、Figure 2.10-2、Figure 2.10-3 及び Figure 2.10-4）。

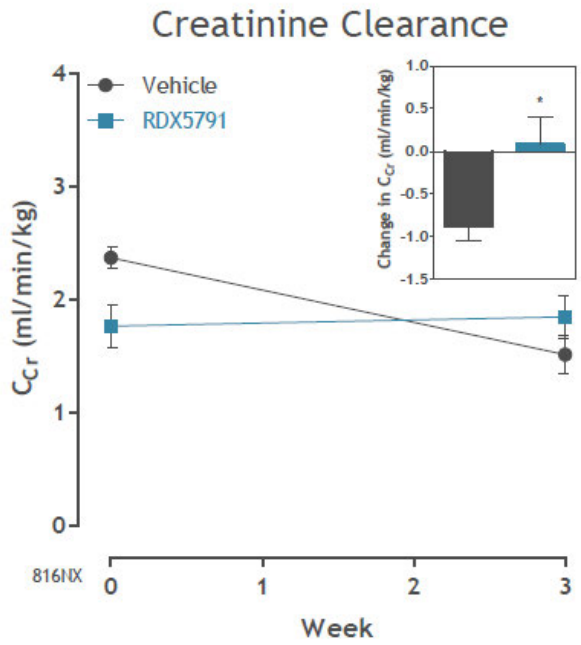
以上の結果より、カルシトリオール負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットにおいて、テナパノル塩酸塩は腎機能低下、腎臓及び心臓の肥大、高リン血症及び血管石灰化を抑制することが示された。

Figure 2.10-1 血漿中の腎機能マーカーに対する作用



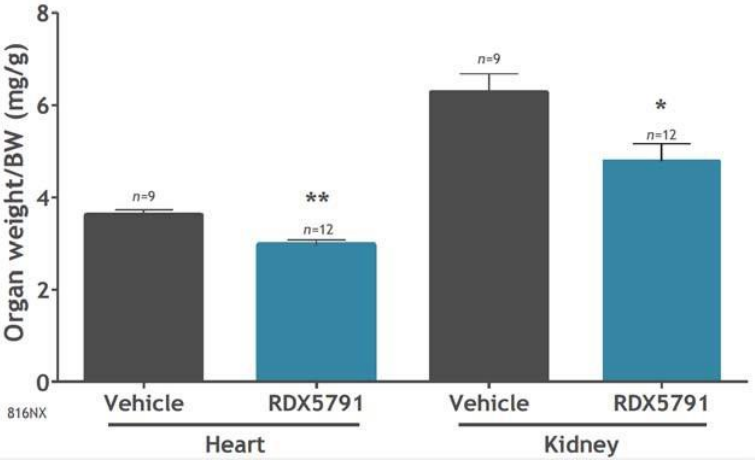
A：血漿中のクレアチニン濃度、B：血漿中のリン濃度
RDX5971=テナパノル塩酸塩
平均値+標準誤差、*p<0.05、***p<0.001（vs. 媒体、Student's *t*-test）
RDX5791-EF-11.01 の Figure 6 より引用

Figure 2.10-2　クレアチニンクリアランスに対する作用



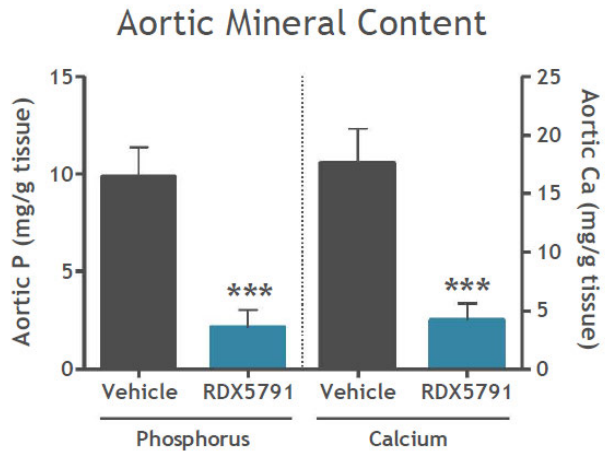
RDX5971=テナパノル塩酸塩
C_{Cr}=クレアチニンクリアランス
平均値±標準誤差、n=9～12、*p<0.05（vs. 媒体、Student's *t*-test）
RDX5791-EF-11.01 の Figure 8 より引用

Figure 2.10-3　心臓及び残存腎臓の重量に対する作用



RDX5971=テナパノル塩酸塩、BW=体重
平均値+標準誤差、*p<0.05、**p<0.01（vs. 媒体、Student's *t*-test）
RDX5791-EF-11.01 の Figure 7 より引用

Figure 2.10-4　大動脈弓のリン及びカルシウム含量に対する作用



RDX5971=テナパノル塩酸塩
平均値+標準誤差、n=9～12、***p<0.001（vs. 媒体、Student's *t*-test）
RDX5791-EF-11.01 の Figure 10 より引用

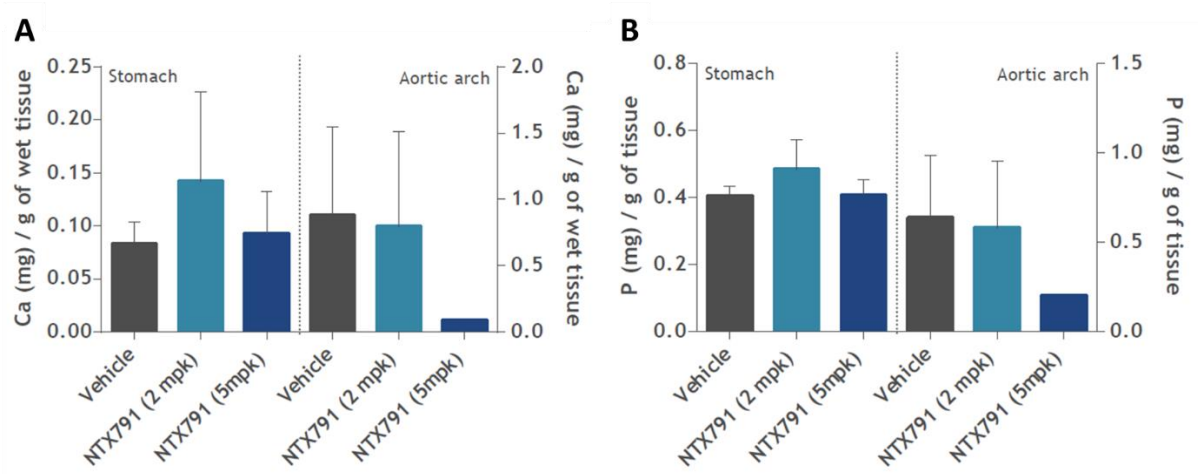
2.11 アデニン誘発 CKD ラットにおける作用（RDX5791-EF-14）参考資料 4.2.1.1-11

雄性 Sprague Dawley ラットにアデニン含有飼料（0.75%アデニン及び 1.2%リン）を約 3 週間与え、CKD を誘発した。その後、テナパノル塩酸塩（2 及び 5 mg/kg）をアデニン含有飼料（0.3%アデニン及び 1.2%リン）に混合して 21 日間与えた。

テナパノル塩酸塩（5 mg/kg）は、大動脈弓のカルシウム及びリン含量を減少させる傾向を示したが、胃のカルシウム及びリン含量には影響を与えなかった（Figure 2.11-1）。

アデニン誘発 CKD ラットにおいて、テナパノル塩酸塩は血管石灰化を抑制する傾向が示された。

Figure 2.11-1　胃及び大動脈弓のカルシウム及びリン含量に対する作用



A：胃及び大動脈弓のカルシウム含量に対する作用、B：胃及び大動脈弓のリン含量に対する作用
NTX791=テナパノル塩酸塩、mpk=mg/kg
平均値+標準偏差、n=9～12
RDX5791-EF-14 の Figure 11（胃及び大動脈弓のカルシウム含量に対する作用）及び Figure 12（胃及び大動脈弓のリン含量に対する作用）より引用

2.12 高食塩負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットにおける作用（RDX5791-EF-08.01）参考資料 4.2.1.1-12

雄性 Sprague Dawley ラットに 5/6 部分腎臓摘出処置を行い、その 1 週後から高食塩食（4% NaCl 含有）を給餌し、テナパノル塩酸塩（0.3、1 及び 3 mg/kg）又は媒体（水）を 1 日 1 回 4 週間反復経口投与した。治療的効果を評価する目的で、投与開始から 2 週後に、一部のラットは媒体投与からテナパノル塩酸塩（3 mg/kg）の投与に切り換えた。血圧は非観血尾部カフ法で測定し、体液量はバイオインピーダンス分光法で測定した。

部分腎臓摘出及び高食塩負荷により誘発されたラットの細胞外液量、血圧及び尿中アルブミン排泄量の増加に対し、高食塩食給餌開始と同時投与及び 2 週後からの投与のいずれにおいても、テナパノル塩酸塩は抑制作用を示した。また、テナパノル塩酸塩は心臓及び残存腎臓の重量を減少させた。

以上の結果より、高食塩負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットにおいて、テナパノル塩酸塩は予防的投与及び治療的投与のいずれにおいても、細胞外液量、血圧及び尿中アルブミン排泄量の増加並びに心臓及び腎臓の肥大を抑制することが示された。

3 副次的薬理試験

3.1 In vitro における特異性評価（3126[redacted]）評価資料 4.2.1.2-1

181 種類の異なる分子（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、in vitro 放射性リガンド結合、酵素及び機能アッセイにより評価した。

アッセイは、テナパノル 0.003～300 µmol/L 内の濃度 8 点で濃度反応曲線を作成する方法又は 10 µmol/L の単一濃度で検討し、25%を超える活性が検出された場合に濃度反応曲線を作成する方法で実施した。

テナパノルは 41 分子に対して作用を示した。特にタキキニン NK1 受容体及び 5-HT1D 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。

テナパノル塩酸塩は、in vivo でほとんど曝露されないため、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推察される。臨床用量投与後の定常状態におけるヒトの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）。

3.2 腸に発現する膜輸送体及び胆汁酸受容体に対する作用（RDX5791-EF-12）参考資料 4.2.1.2-2

腸に発現する膜輸送体（NHE1、NaPi2b、PiT1 及び IBAT）及び胆汁酸受容体（TGR5）に対する作用を評価した。

NHE1 は、NHE3 と同じく Na^+/H^+交換輸送体である。ヒト NHE1 を内因性に発現する HEK293 細胞（Willoughby et al., 2005）に、テナパノル塩酸塩（1 pmol/L～10 µmol/L）を添加し、NHE1 活性を測定した。NHE1 活性は、一過性に酸性化させた細胞の細胞内 pH 回復速度を指標として評価した。その結果、テナパノル塩酸塩は、10 µmol/L まで NHE1 活性に影響を与えなかった。

PiT1 及び NaPi2b は、ナトリウムの濃度勾配を利用してリン吸収を促進する共輸送体である。PiT1 は様々な組織や細胞で広く発現し、NaPi2b は主に小腸内腔の頂端膜及び肺に発現する。ヒト PiT1 を内因性に発現する HEK293 細胞（Yamazaki et al., 2010）にテナパノル塩酸塩（0.1 nmol/L～30 μmol/L）を添加し処置した後、細胞内へのリン取込み量を測定することにより、PiT1 阻害作用を評価した。その結果、テナパノル塩酸塩は、30 μmol/L まで PiT1 を介したリン輸送活性に影響を与えなかった。ヒト NaPi2b を一過性に発現させた HEK293 細胞にテナパノル塩酸塩（0.1 nmol/L～30 μmol/L）を添加し処置した後、細胞内へのリン取込み量を測定することにより、NaPi2b 阻害作用を評価した。PiT1 阻害薬である NTX8 の添加により内因性 PiT1 活性を消失させる条件において、テナパノル塩酸塩は、30 μmol/L まで NaPi2b を介したリン輸送活性に影響を与えなかった。

IBAT は、胆嚢から小腸に分泌される胆汁酸塩の再吸収に関与している。ヒト IBAT を一過性に発現させた HEK293 細胞に、テナパノル塩酸塩（0.035～25 μmol/L）を添加し処置した後、細胞内へのタウロコール酸取込み量を測定することにより、IBAT に対する作用を評価した。その結果、テナパノル塩酸塩は 25 μmol/L まで IBAT を介した胆汁酸輸送活性に影響を与えなかった。

TGR5 は胆汁酸をリガンドとする G タンパク質共役受容体である。ヒト TGR5 を安定発現させた HEK293 細胞にテナパノル塩酸塩（0.05 nmol/L～10 μmol/L）を添加し、TGR5 による cAMP 産生を測定することにより、TGR5 活性に対する作用を評価した。cAMP 産生は、HTRF 検出法により測定した。その結果、テナパノル塩酸塩は、10 μmol/L までヒト TGR5 を介した cAMP 産生を活性化させず、TGR5 に影響を与えなかった。

以上の結果より、テナパノル塩酸塩は、NHE1、NaPi2b、PiT1、IBAT 及び TGR5 の活性に影響を与えないことが示された。

3.3 ヒト NHE2 に対する作用（RDX5791-EF-04）参考資料 4.2.1.2-3

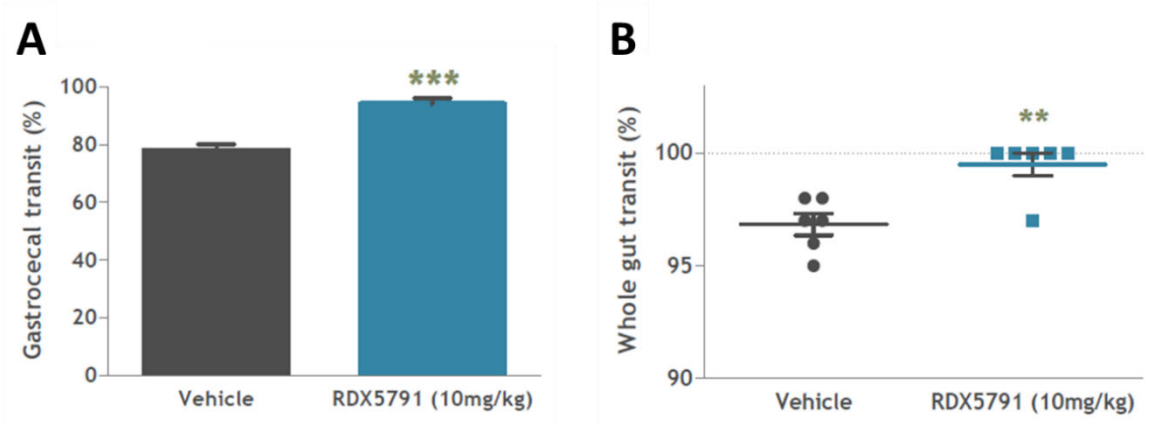
ヒト NHE2 を一過性に発現させた OK 細胞に、テナパノル塩酸塩（0～10 μmol/L）を添加し、NHE2 に対する作用を評価した。NHE2 活性は、一過性に酸性化させた細胞の細胞内の pH 回復を指標に評価した。NHE1 特異的阻害薬であるエチルイソプロピルアミロリドを添加し、内因性の NHE1 活性を消失させた。その結果、テナパノル塩酸塩は、10 μmol/L まで NHE2 活性に影響を与えなかった。

3.4 ラットにおける腸管輸送能に対する作用（RDX5791-EF-07.01）参考資料 4.2.1.2-4

前日より 16 時間絶食させた Sprague Dawley ラットに、テナパノル塩酸塩（10 mg/kg）又は媒体（水）を単回経口投与した。その直後に、12 w/v%カーマインレッド溶液を経口投与（5 mL/kg）し、1 時間後にラットを解剖した。小腸（幽門から回盲弁まで）の長さ及び幽門からカーマインレッドが到達した距離を測定し、色素の移行率を算出することにより小腸輸送能を評価した。また、カーマインレッド溶液を投与した 6 時間後にラットを解剖し、全腸管（幽門から肛門まで）の長さと、カーマイン　ッドが到達した距離を測定し、色素の移行率を算出することにより、全腸管輸送能を評価した。カーマイン　ッドが評価領域を超えた場合は、輸送能を 100%とした。

テナパノル塩酸塩は、小腸及び全腸管いずれにおいてもカーマインレッド移行率を増加させた（Figure 3.4-1）。したがって、テナパノル塩酸塩は、ラットにおいて腸管輸送能を促進することが示された。

Figure 3.4-1　ラットにおける小腸輸送能及び全腸管輸送能に対する作用



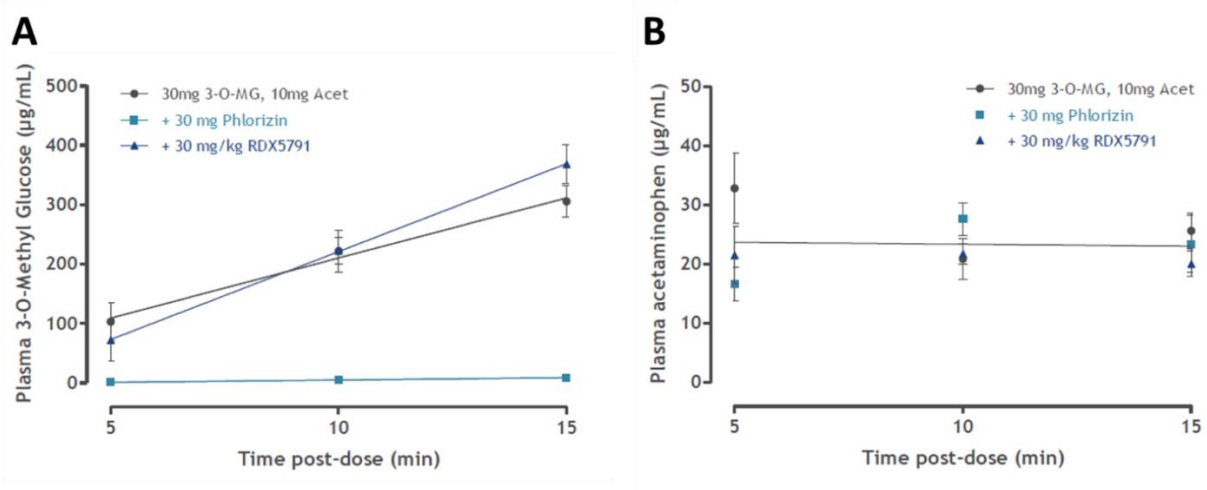
A：小腸輸送能に対する作用、B：全腸管輸送能に対する作用
RDX5791=テナパノル塩酸塩
平均値±標準誤差、n=6、***p<0.001（vs. 媒体、Student's *t*-test）
RDX5791-EF-07.01 の Figure 1（小腸輸送能に対する作用）及び Figure 2（全腸管輸送能に対する作用）より引用

3.5　ラットにおけるグルコース吸収及び胃排出に対する作用（RDX5791-EF-10.00）
参考資料 4.2.1.2-5

前日より 16 時間絶食させた雄性 Sprague Dawley ラットに、テナパノル塩酸塩（30 mg/kg）又は媒体（水）並びに非代謝性グルコース類縁体の 3-O-MG（30 mg）及びアセトアミノフェン（10 mg）の混合液を経口投与した。投与後 5、10 及び 15 分に頸静脈に留置したカテーテルから採血し、血漿中 3-O-MG 及びアセトアミノフェン濃度を測定した。陽性対照として、SGLT1 阻害薬であるフロリジンも評価した。

フロリジンは、グルコース吸収を抑制したが、テナパノル塩酸塩は血漿中 3-O-MG 及びアセトアミノフェン濃度の推移に影響を与えなかった。したがって、テナパノル塩酸塩は、ラットのグルコース吸収及び胃排出に影響を与えないことが示された。

Figure 3.5-1　血漿中 3-O-MG 及びアセトアミノフェン濃度



A：血漿中 3-O-MG 濃度、B：血漿中アセトアミノフェン濃度

RDX5971=テナパノル塩酸塩、Acet=アセトアミノフェン
平均値±標準誤差、n=6
RDX5791-EF-10.00 の Figure 1（血漿中アセトアミノフェン濃度）及び Figure 2（血漿中 3-O-MG）より引用

3.6 M1 の特異性評価（3534[redacted]）評価資料 4.2.1.2-6

82 種類の異なる分子（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、in vitro 放射性リガンド結合、酵素及び機能アッセイにより評価した。

アッセイは、M1 0.003～100 μmol/L 内の濃度 8 点で濃度反応曲線を作成する方法で実施した。

M1 は、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。

M1 は、in vivo でほとんど曝露されないため、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推察される。透析施行中の高リン血症患者に KHK7791（30 mg）を 1 日 2 回反復経口投与したときの M1 の $C_{max, ss}$ は、0.039 μmol/L であった（5.3.5.1-7）。

4 安全性薬理試験

4.1 中枢神経系に及ぼす影響

4.1.1 ラットにおける一般症状及び行動に及ぼす影響（RDX5791-SP-02）評価資料 4.2.1.3-1

雄性 Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、100、300 及び 1000 mg/kg の用量で単回経口投与した（10 例／群）。投与後約 15、30、45 分及び投与後 1、2、3、4、24 時間に、Irwin 変法により一般症状及び行動を評価した。また、投与後約 60 分に体温を測定した。

その結果、一般症状及び行動評価では、テナパノル塩酸塩投与による明らかな影響は認められなかった。

体温測定では、1000 mg/kg 投与群において、投与後 60 分に媒体群と比較して統計学的に有意な体温低下が認められたが、変化の程度は 0.5℃ 未満であったため、毒性学的に意義のある変化と判断しなかった。

以上より、テナパノル塩酸塩は 1000 mg/kg までの単回経口投与において、雄性ラットの一般症状、行動及び体温に影響を及ぼさないと判断した。

4.2 心血管系に及ぼす影響

4.2.1 hERG 電流に及ぼす影響（RDX5791-SP-06）評価資料 4.2.1.3-2

hERG 導入 HEK293 細胞にホールセルパッチクランプ法を適用して hERG 電流を測定し、テナパノル塩酸塩を 1、3 及び 10 μmol/L で処理したときの hERG 電流に及ぼす影響を検討した。溶媒には 0.1 vol% DMSO を用いた。

結果を Table 4.2.1-1 に示した。テナパノル塩酸塩は 10 μmol/L の濃度で hERG 電流を 17.9±2.5%阻害した。細胞を 3 Hz で 10 μmol/L のテナパノル塩酸塩に曝露した場合には、0.1 Hz と比較して増悪しなかったことから hERG 電流の頻度依存性阻害はないと考えられた。

以上より、テナパノル塩酸塩は検討した最高濃度（10 μmol/L）においても hERG 電流の平均阻害率が 20%未満であった。ヒトで観察されたテナパノル塩酸塩の全身曝露量は非常に低いことから本変化の臨床的意義はないと判断した。

Table 4.2.1-1　テナパノル塩酸塩による 0.1 Hz での hERG 電流阻害

濃度（μmol/L）	1	3	10
hERG 電流阻害（%）	+5.1 ± 1.3	−11.0 ± 2.9	−17.9 ± 2.5

値は平均値±平均標準誤差（n=5～9）

4.2.2　心筋イオンチャネルに及ぼす影響（3624[redacted]）参考資料 4.2.1.3-3

7 種類のヒト組換え電位依存性心筋イオンチャネルにおけるテナパノルの作用を、ホールセルパッチクランプ法を用いて評価した。試験では各チャネルを導入した CHO 細胞又は HEK293 細胞を用いて、$hCa_v1.2/\beta2/\alpha2\delta$（$ICa_L$）、$hCa_v3.2$（$ICa_T$）、hHCN4（$I_F$）、$hK_v1.5$（$IK_{UR}$）、hKv4.3/hKChIP2.2（$I_{to}$）、hKv7.1/hKCNE1（$IK_s$）及び$hNa_v1.5$（INa）に対する影響を評価した。最大処理濃度として 33 又は 100 μmol/L まで評価を実施した。溶媒には 0.33 vol% DMSO を用いた。

その結果、Table 4.2.2-1 に示すようにテナパノルは 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 $hCa_v1.2/\beta2/\alpha2\delta$（$ICa_L$）に対して阻害作用（$IC_{50}$ = 4.67 μmol/L）を示した。他のイオンチャネルに対しては最大処理濃度においても明らかな阻害作用は認められなかった。

Table 4.2.2-1　in vitro 電気生理学的アッセイにおけるテナパノルの阻害作用

チャネル	IC_{50}（μmol/L）	最高処理濃度（μmol/L）
$hCa_v1.2/\beta2/\alpha2\delta$（$ICa_L$）	4.67	33.3

4.2.3　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（RDX5791-SP-05）評価資料 4.2.1.3-4

ラテン方格法によるクロスオーバーデザインに従い、雄性ビーグル犬 4 例にテナパノル塩酸塩を 0（対照）、100、300 又は 1000 mg/kg の用量で各 1 回ずつ、計 4 回経口投与し、無麻酔無拘束下における心拍数、血圧及び心電図に及ぼす影響を検討した。対照群には空カプセルを投与した。動物は、投与前、投与後 2、4 及び 24 時間に一般症状を観察した。72 時間以上のウォッシュアウト期間を投与間に設けた。心拍数、血圧（収縮期血圧、拡張期血圧及び平均血圧）及び心電図（P 波持続時間、PR 間隔、QRS 幅、R 波高及び QT 間隔）の 1 分間平均値を投与前 15 分、投与後 30 分並びに投与後 1、2、4、8、12 及び 22 時間に測定、解析した。

その結果、テナパノル塩酸塩に関連した一般症状の変化は認められなかった。

血圧、心拍数及び心電図測定では、1000 mg/kg 投与まで影響は認められなかった。

以上より、無麻酔無拘束下のイヌにテナパノル塩酸塩を投与したときの心血管系に対する無影響量は、最高用量の 1000 mg/kg と判断した。

4.2.4　イヌを用いた 3 ヵ月間経口投与（カプセル）毒性試験及び 28 日間回復性試験における心電図評価（RDX5791-TX-11）評価資料 4.2.3.2-11

雌雄のビーグル犬にテナパノル塩酸塩を 0（対照）、50、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で、カプセルにより 1 日 1 回、91 日間反復経口投与した（対照群及び 1000 mg/kg/day 群は 6 例／性／群、50 及び 300 mg/kg/day 群は 4 例／性／群）。対照群には空カプセルを投与した。心電図、心拍数及び波形間隔（PR、QRS、RR、QT 及び QTcV）を投与開始前、投与 12 及び 16 週目に記録した。マルチリード（I、II、III、aVR、aVL、aVF 及び V2）ECG は、すべての動物において投与開始前、投与 12 及び 16 週目に記録した。心拍数並びに PR、RR、QRS、QT 及び QTcV［Van de Water 補正；$QTcV = QT - 0.087 \times (RR-1)$］間隔を評価した。

その結果、いずれの用量においても心拍数並びに PR、QRS、RR、QT 及び QTcV 間隔にテナパノル塩酸塩に関連した影響は認められなかった。

以上より、テナパノル塩酸塩に関連した心電図の異常所見は認められず、イヌの心電図に対する無影響量は最高用量の 1000 mg/kg/day と判断した。

4.2.5 イヌを用いた 9 ヵ月間経口投与（カプセル）毒性試験における心電図評価（[redacted]-775031）評価資料 4.2.3.2-12

雌雄のビーグル犬にテナパノル塩酸塩を 0（対照）、50、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で、カプセルにより 1 日 1 回、9 ヵ月間反復経口投与した（4 例／性／群）。対照群には空カプセルを投与した。マルチリード（I、II、III、aVR、aVL、aVF 及び V2）ECG は、すべての動物において無作為化前の馴化期間中に少なくとも 1 週間間隔で 2 回（−3 及び−2 週目）、投与の最初の週（0 週目）、中間付近（19 週目）及び最終週（38 週目）に記録した。心拍数並びに PR、RR、QRS、QT 及び QTcV［Van de Water 補正；QTcV = QT −0.087 × (RR-1)］間隔を評価した。

その結果、いずれの用量においても心拍数並びに PR、QRS、RR、QT 及び QTcV 間隔にテナパノル塩酸塩に関連した影響は認められなかった。

以上より、テナパノル塩酸塩に関連した心電図の異常所見は認められず、イヌの心電図に対する無影響量は最高用量の 1000 mg/kg/day と判断した。

4.3 呼吸器系に及ぼす影響

4.3.1 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（RDX5791-SP-03）評価資料 4.2.1.3-5

雄性 Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、100、300 及び 1000 mg/kg の用量で単回経口投与し、1回換気量、分時換気量及び呼吸数に及ぼす影響を検討した（4例／群）。各呼吸機能は、無拘束下で全身プレチスモグラフィーシステムを用いて、テナパノル塩酸塩又は媒体投与後 15 分、1、2、4 及び 6 時間に測定した。

その結果、すべての投与群において、呼吸数、1 回換気量及び分時換気量に明らかな変化は認められなかった。

以上より、ラットの呼吸器系に対する無影響量は最高用量の 1000 mg/kg と判断した。

4.4 消化器系に及ぼす影響

4.4.1 ラットにおけるテナパノル塩酸塩経口投与による胃腸管輸送能の評価（RDX5791-SP-04）評価資料 4.2.1.3-6

雄性 Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、100、300 及び 1000 mg/kg の用量で単回経口投与した（10 例／群）。テナパノル塩酸塩又は媒体投与後 30 分に 10%活性炭含有 0.25%メチルセルロース懸濁液を 10 mL/kg の容量で単回経口投与し、活性炭投与後 30±3 分後にラットを安楽死させ、活性炭の移動距離を測定した。

その結果、すべてのテナパノル塩酸塩投与群において媒体群と比較して活性炭の移動距離に対して明らかな影響は認められなかった。

以上より、テナパノル塩酸塩は最高用量の 1000 mg/kg までラットの胃腸管輸送能に影響を及ぼさないと判断した。

4.5 M1 の評価

4.5.1 M1 の心筋イオンチャネルに及ぼす影響（3625[redacted]）参考資料 4.2.1.3-7

4 種類のヒト組換え電位依存性心筋イオンチャネルにおける M1 の作用を、ホールセルパッチクランプ法を用いて評価した。各チャネルを導入した CHO 細胞を用いて、hKv11.1（IK_r、hERG）、hKv4.3/hKChIP2.2（I_{to}）、hKv7.1/hKCNE1（IK_s）及び hNav1.5（INa）に対する影響を評価した。最大処理濃度として 33 μmol/L まで評価を実施した。溶媒には 0.33 vol% DMSO を用いた。

その結果、M1 は $hK_v11.1$（IKr、hERG）、hKv4.3/hKChIP2.2（I_{to}）及び hKv7.1/hKCNE1（IK_s）チャネルに対して 50%以上の阻害作用が認められた。Table 4.5.1-1 に示すように、IC_{50} 値はそれぞれ 16.5、27.3 及び 14.8 μmol/L であった。一方で、透析施行中の高リン血症患者に 30 mg のテナパノル塩酸塩を 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）であることから、ヒト臨床血漿中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。

Table 4.5.1-1 in vitro 電気生理学的アッセイにおける M1 の阻害作用

チャネル	IC_{50}（μmol/L）	最高処理濃度（μmol/L）
$hK_v11.1$（IKr 、hERG）	16.5	33.3
hNav1.5（INa）	>33.3	33.3
hKv4.3/hKChIP2.2（I_{to}）	27.3	33.3
hKv7.1/hKCNE1（IK_s）	14.8	33.3

4.5.2 イヌを用いた 9 ヵ月間経口投与（カプセル）毒性試験における心電図に対する M1 の評価（[redacted]-775031）評価資料 4.2.3.2-12

ビーグル犬を用いた 9 ヵ月間の経口投与（カプセル）毒性試験（[redacted]-775031）において、テナパノル塩酸塩を 1000 mg/kg/day の用量で投与したときの M1 の曝露量は臨床試験での $C_{max, ss}$（4.28～17.3 ng/mL）（5.3.5.1-7）よりも高濃度であった（C_{max}：19.3～22.3 ng/mL）。また、本試験において心拍数及び心電図（PR、QRS、RR、QT 及び QTcV 間隔）に異常は認められなかった。

5 薬力学的薬物相互作用

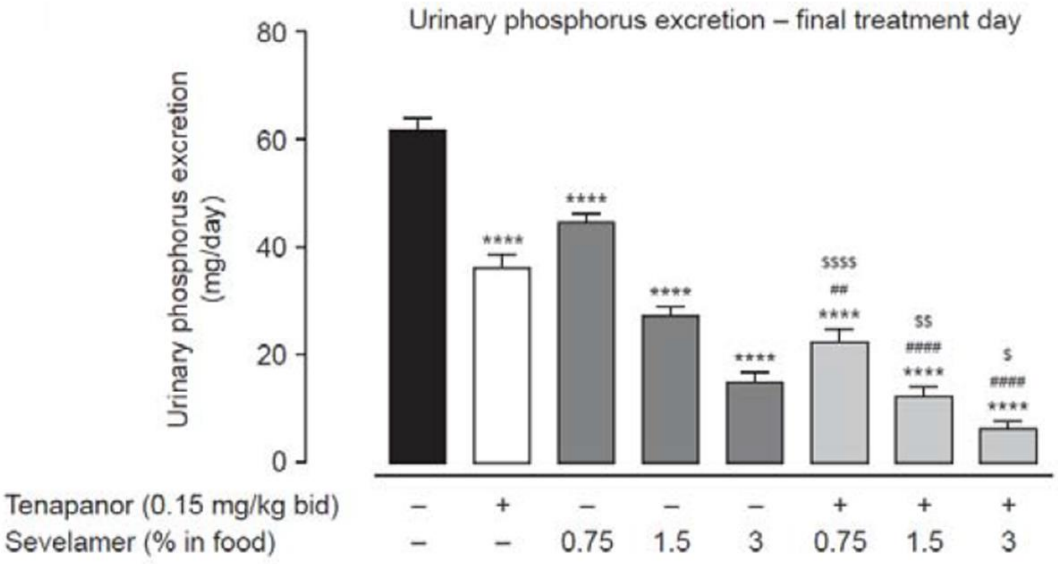
5.1 ラットにおける腸管リン吸収に対する炭酸セベラマーとの併用効果（1697[redacted]）参考資料 4.2.1.4-1

雄性 Sprague Dawley ラットに、テナパノル塩酸塩（0.15 mg/kg）又は媒体（酸性水、0.01% Tween 80）を 1 日 2 回 11 日間反復経口投与した。同時に、炭酸セベラマー（0.75、1.5 及び 3 w/w% diet）を混合した飼料又は非混合の飼料を 11 日間与えた。試験期間の最後の 4 日間において、24 時間ごとに尿を回収し、尿量及び尿中リン濃度から尿中リン排泄量を算出した。

テナパノル塩酸塩単独は、尿中リン排泄量を有意に減少させた。炭酸セベラマー単独は用量依存的に尿中リン排泄量を減少させた。テナパノル塩酸塩と炭酸セベラマーの併用は、単独投与と比較して、尿中リン排泄量を更に減少させた（Figure 5.1-1）。

以上の結果より、テナパノル塩酸塩と炭酸セベラマーの併用は、単独投与と比較して、ラットにおける腸管リン吸収を更に抑制することが示唆された。

Figure 5.1-1　ラットにおける尿中リン排泄量に対する作用（試験最終日）



Tenapanor=テナパノル塩酸塩、Sevelamer=炭酸セベラマー、bid=1 日 2 回投与
平均値±標準誤差、n=6、****p<0.0001（vs. 媒体、Tukey test）、##p<0.01、####p<0.0001（vs. テナパノル塩酸塩単独、Tukey test）、$p<0.05、$$p<0.01、$$$$p<0.0001（vs. セベラマー同用量の単独、Tukey test）
1697[redacted] の Figure 2 より引用

5.2　炭酸セベラマーを投与中のラットにおける腸管リン吸収に対する上乗せ効果（1926[redacted]）参考資料 4.2.1.4-2

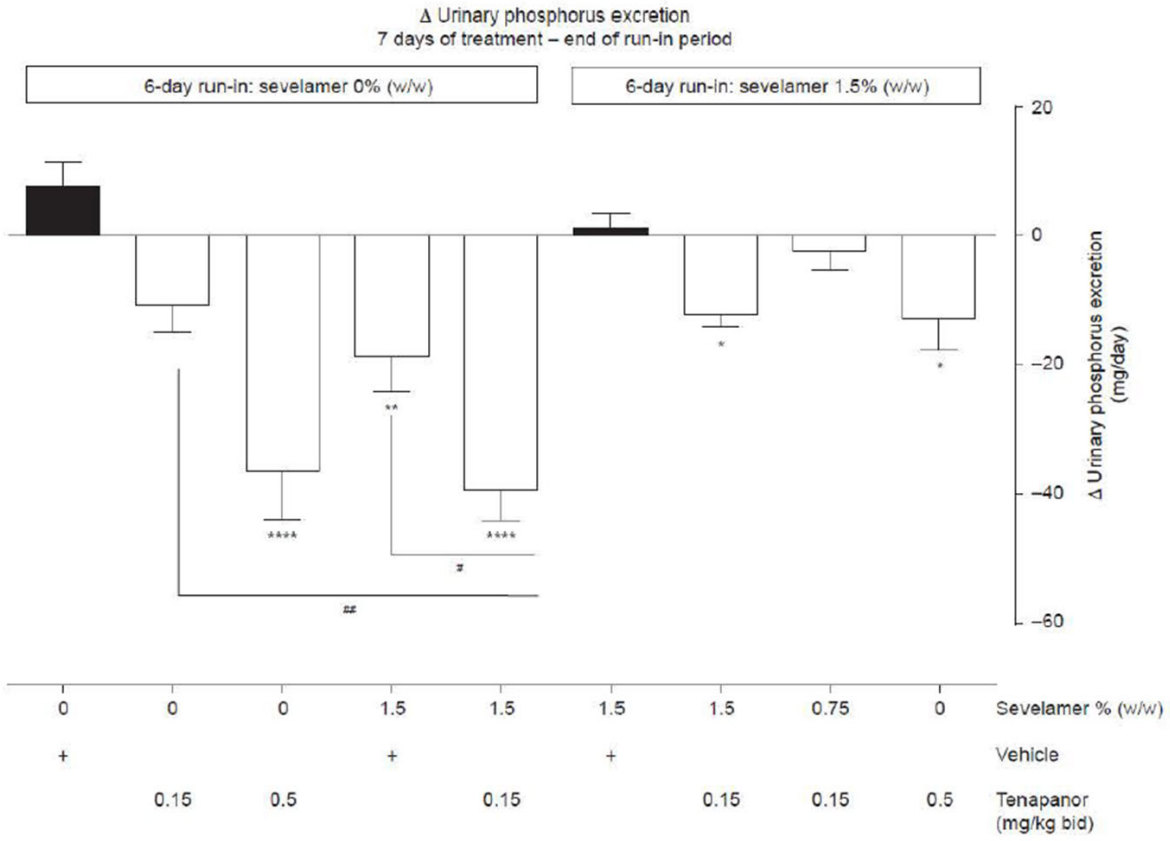
炭酸セベラマーを既に投与しているラットの腸管リン吸収に対するテナパノル塩酸塩の上乗せ効果を検討した。また、テナパノル塩酸塩の上乗せにより、併用する炭酸セベラマーの投与量を減量できるか検討した。

雄性 Sprague Dawley ラットに、炭酸セベラマー（1.5 w/w% diet）を混合した飼料又は非混合の飼料を 6 日間与え、6 日目に 24 時間尿を回収した。その後、炭酸セベラマー（0.75 及び 1.5 w/w% diet）を混合した飼料又は非混合の飼料を 7 日間与えると同時に、テナパノル塩酸塩（0.15 及び 0.5 mg/kg）又は媒体（酸性水、0.01% Tween 80）を 1 日 2 回 7 日間反復経口投与により併用した。最終投与日に 24 時間尿を回収し、尿量及び尿中リン濃度から尿中リン排泄量を算出した。

炭酸セベラマーは、尿中リン排泄量を有意に減少させた。テナパノル塩酸塩（0.15 mg/kg）の上乗せは、尿中リン排泄量を更に減少させた。また、テナパノル塩酸塩（0.15 mg/kg）を上乗せしたとき、炭酸セベラマーの飼料中含量を半減（0.75 w/w% diet）しても、炭酸セベラマー（1.5 w/w% diet）を単独で与えたときと同程度の尿中リン排泄低下作用が維持された。更に、炭酸セベラマーの投与を止め、高用量のテナパノル塩酸塩（0.5 mg/kg）を単独で投与したとき、炭酸セベラマー（1.5 w/w% diet）と低用量のテナパノル塩酸塩（0.15 mg/kg）を併用したときと同程度の尿中リン排泄低下作用が認められた（Figure 5.2-1）。

以上の結果より、炭酸セベラマーを既に投与されているラットにおいて、テナパノル塩酸塩の上乗せは、腸管リン吸収を更に抑制し、更に炭酸セベラマー単独による腸管リン吸収の抑制を維持しながら、炭酸セベラマーの投与量を減量可能であることが示された。

Figure 5.2-1　ラットにおける尿中リン排泄量に対する作用



Tenapanor=テナパノル塩酸塩、Sevelamer=炭酸セベラマー、Δ=変化量
平均値±標準誤差、n=6、*p<0.05、**p<0.01、****p<0.0001（vs. 媒体、Tukey test）、#p<0.05、##p<0.01（vs. セベラマー1.5% 単独又はテナパノル塩酸塩 0.15 mg/kg 単独、Tukey test）
1926[redacted] の Figure 2 より引用

5.3　ラットにおける尿中ナトリウム及びリン排泄量に対する炭酸ランタンとの併用による影響（[redacted]120612-06）参考資料 4.2.1.4-3

雄性 Sprague Dawley ラットに、テナパノル塩酸塩（0.013 g/kg diet）を混合した飼料及び炭酸ランタン（20 g/kg diet）を混合した飼料を 7 日間与え、7 日目に 17 時間尿及び糞便を回収した。

テナパノル塩酸塩は尿中ナトリウム及びリン排泄量を有意に減少させ、糞便中のナトリウム排泄量を増加させた。炭酸ランタンは尿中リン排泄量を減少させたが、尿中及び糞便中のナトリウム排泄量に影響を与えなかった。また、テナパノル塩酸塩の作用は、炭酸ランタンの併用により影響を受けなかった。

以上の結果より、テナパノル塩酸塩の尿中ナトリウム及びリン排泄低下作用は、炭酸ランタンの併用により影響を受けないことが示された。

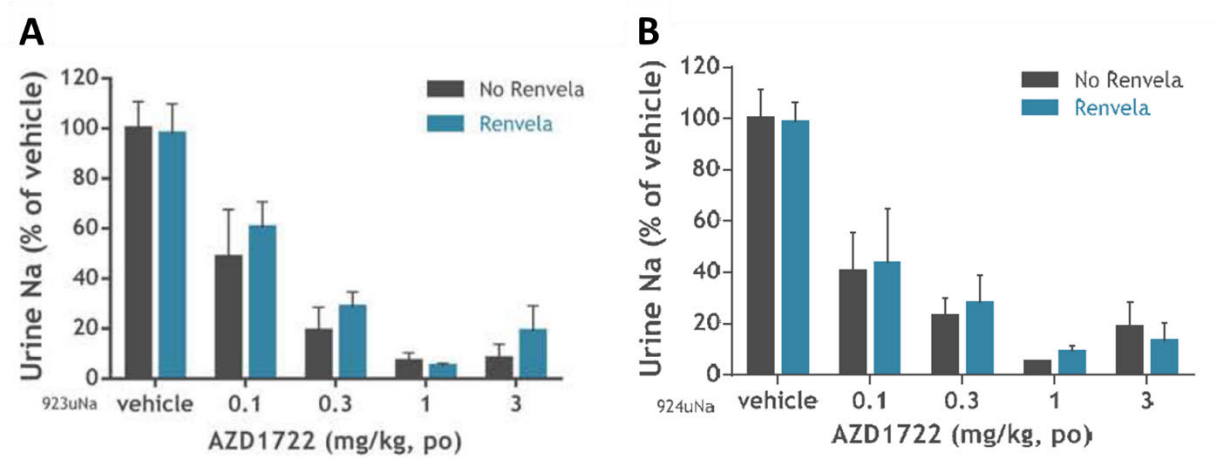
5.4　ラットにおける尿中ナトリウム排泄量に対する炭酸セベラマーとの併用による影響（RDX5791-EF-13.01）参考資料 4.2.1.4-4

雄性 Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩（0.1、0.3、1 及び 3 mg/kg）又は媒体（水）を単回経口投与し、その 10 分前又は 10 分後に炭酸セベラマー（48 mg/kg）を単回経口投与した。投与後 16 時間の尿を回収し、尿量及び尿中ナトリウム濃度から尿中ナトリウム排泄量を算出した。

テナパノル塩酸塩はいずれの条件においても尿中ナトリウム排泄量を減少させた。また、炭酸セベラマーはテナパノル塩酸塩の尿中ナトリウム排泄低下作用に影響を与えなかった（Figure 5.4-1）。

以上の結果より、テナパノル塩酸塩の尿中ナトリウム排泄低下作用は、炭酸セベラマーの併用により影響を受けないことが示された。

Figure 5.4-1　尿中ナトリウム排泄量に対する作用



A：テナパノル塩酸塩投与の 10 分後に炭酸セベラマーを投与したラットにおける尿中ナトリウム排泄量
B：炭酸セベラマー投与の 10 分後にテナパノル塩酸塩を投与したラットにおける尿中ナトリウム排泄量
AZD1722=テナパノル塩酸塩、Renvela=炭酸セベラマー
po=経口投与
平均値+標準誤差、n=6
RDX5791-EF-13.01 の Figure 2D 及び Figure 3D より引用

5.5　高食塩負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットにおけるエナラプリルとの併用効果（RDX5791-EF-09.01）参考資料 4.2.1.4-5

雄性 Sprague Dawley ラットに 5/6 部分腎臓摘出処置を行い、その 1 週後から高食塩食（4% NaCl 含有）給餌下で、媒体（水）、テナパノル塩酸塩（1 mg/kg）及びエナラプリル（10 mg/kg）を単独又は併用で 1 日 1 回 4 週間反復経口投与した。偽手術群には、通常食（0.49% NaCl 含有）を与えた。血圧を投与前並びに投与後 2 及び 4 週に測定し、尿中のタンパク、アルブミン及び尿細管障害マーカーである KIM-1 の排泄量等を投与後 1 及び 4 週に測定した。投与後 4 週に、超音波検査及び直接カテーテル検査により、心臓及び血管の機能解析を行った。解剖時に心臓及び腎臓の形態学的解析を行った。

高食塩食負荷及び部分腎臓摘出により誘発された血圧の上昇、尿中アルブミン及び KIM-1 排泄量の増加並びに残存腎及び左心室の肥大に対し、テナパノル塩酸塩単独及びエナラプリルとの併用は同程度の抑制作用を示した。また、テナパノル塩酸塩とエナラプリルの併用でのみ、拡張機能の指標である E/A 比の低下をわずかに改善し、動脈硬化の指標である脈波伝播速度の上昇を低下させた。

以上の結果より、高食塩負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットにおいて、テナパノル塩酸塩は単独及びエナラプリルとの併用により心臓及び腎臓の保護作用を示した。

6 考察及び結論

6.1 効力を裏付ける試験

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 NHE3 活性を阻害し、M1 は NHE3 活性を阻害しなかった。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。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。

マウスにおいて、テナパノル塩酸塩は、尿中ナトリウム排泄量を減少させ、糞便中ナトリウム排泄量を増加させた。ラットにおいて、テナパノル塩酸塩は、尿中ナトリウム排泄量を減少させ、糞便中の水分量及びナトリウム排泄量を増加させ、傍細胞経路によるリン吸収を低下させた。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。

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、血管石灰化及び腎機能等に対する作用を検討した結果、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、高リン血症及び血管石灰化を抑制し、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。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。

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り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。

6.2 副次的薬理試験

テナパノル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結果、テナパノルは 41 分子に対して作用を示し、特にタキキニン NK1 受容体及び 5-HT1D 受容体に対しては 1 μmol/L 未満で機能的活性を示した。臨床用量投与後の定常状態におけるヒトの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最大 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質である NaPi2b、PiT1、IBAT、TGR5、NHE1 及び NHE2 に対する作用を示さなかった。

テナパノル塩酸塩は、ラットにおいて、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。

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。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 $C_{max, ss}$ は、0.039 μmol/L

であることから、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。

6.3 安全性薬理試験

6.3.1 中枢神経系に及ぼす影響

ラットへの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。

6.3.2 呼吸系に及ぼす影響

ラットへの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して影響は認められなかった。

6.3.3 心血管系に及ぼす影響

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 hCav1.2/β2/α2δ（ICa_L）に対して 4.67 μmol/L で 50%以上の阻害作用を示した。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 ヵ月間反復経口投与毒性試験では、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。

6.3.4 消化器系に及ぼす影響

ラットへのテナパノル塩酸塩の 1000 mg/kg の単回経口投与において、胃腸管輸送能に影響は認められなかった。

6.3.5 M1 の評価

M1 を用いて心血管系に及ぼす影響を評価した。M1 は hKv11.1（IKr、hERG）、hKv4.3/hKChIP2.2（I_{to}）及び hKv7.1/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 のテナパノル塩酸塩を 1 日 2 回投与したときの M1 の $C_{max,\ ss}$ は 0.039 μmol/L（約 13.9 ng/mL）（5.3.5.1-7）であることから、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。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（1000 mg/kg 投与群における 38 日目の C_{max}：20.8 ng/mL）（[redacted]-775031）において心拍数及び心電図に異常は認められなかった。

6.4 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、単独投与と比較して、尿中リン排泄量を更に減少させた。このことから、テナパノル塩酸塩とリン吸着薬の併用は、腸管からのリン吸収抑制を増強させることが示唆され、リン吸着薬を服用しているにもかかわらず血清リン濃度の管理目標値を達成できていない患者において、テナパノル塩酸塩の併用により、血清リン濃度を適切に管理できる可能性が示唆される。

ラットにおいて、テナパノル塩酸塩は、炭酸セベラマー又は炭酸ランタン併用の有無にかかわらず尿中ナトリウム排泄量を減少させた。また、炭酸セベラマー及び炭酸ランタンは、テナパノル塩酸塩の尿中ナトリウム排泄低下作用に影響を与えなかった。すなわち、炭酸セベラマー又は炭酸ランタンの併用は、テナパノル塩酸塩の薬力学的活性に影響を与えないことが示された。

ラット高食塩負荷 5/6 腎臓摘出モデルにおいて、テナパノル塩酸塩は単独及び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。これらの結果は、テナパノル塩酸塩による腸管からのナトリウムの吸収抑制作用によるものと考えられた。

7 参考文献

Blaine et al., 2015
Blaine J, Chonchol M, Levi M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostatis. Clin J Am Soc Nephrol. 2015;10:1257-72.

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.

Davis et al., 1983
Davis GR, Zerwekh JE, Parker TF, et al. Absorption of phosphate in the jejunum of patients with chronic renal failure before and after correction of vitamin D deficiency. Gastroenterology. 1983;85:908-16.

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

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.

Marks, 2019
Marks J. The role of SLC34A2 in intestinal phosphate absorption and phosphate homeostatis. Pflugers Arch. 2019;471:165-73.

Sabbagh et al., 2009
Sabbagh Y, O'Brien SP, Song W, et al. Intestinal Npt2b plays a major role in phosphate absorption and homeostatis. J Am Soc Nephrol. 2009;20:2348-58.

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

Saurette and Alexander, 2019
Saurette M, Alexander RT. Intestinal phosphate absorption: the paracellular pathway predominates?. Exp Bio Med. 2019;244:646-54.

Willoughby et al., 2005
Willoughby D, Masada N, Crossthwaite AJ, et al. Localized Na^+/H^+ exchanger 1 expression protects Ca^{2+}-regulated adenylyl cyclases from changes in intracellular pH. J Biol Chem. 2005;280:30864-72.

Yamazaki et al., 2010
Yamazaki M, Ozono K, Okada T, et al. Both FGF23 and extracellular phosphate activate Raf/MEK/ERK pathway via FGF receptors in HEK293 cells. J Cell Biochem. 2010;111:1210-21.

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

8 補遺

テナパノル塩酸塩を用いて以下の試験を実施したが、本申請の評価には不要と判断し、製造販売承認申請資料から除外した。

試験タイトル：マウスオピオイド誘発性便秘モデルにおける腸管輸送能に対する作用（RDX5891-EF-14.00）

本申請の適応疾患とは異なる便秘型過敏性腸症候群に関連する疾患モデルにおける薬理作用を評価するために実施した試験である。

試験タイトル：ラット大腸過敏症モデルにおける作用（10-2801/[redacted]）

本申請の適応疾患とは異なる便秘型過敏性腸症候群に関連する疾患モデルにおける薬理作用を評価するために実施した試験である。

試験タイトル：ラット過敏性腸症候群モデルにおける作用（1920[redacted]）

本申請の適応疾患とは異なる便秘型過敏性腸症候群に関連する疾患モデルにおける薬理作用を評価するために実施した試験である。

試験タイトル：hERG 電流に及ぼす影響（[redacted]-09-01）

hERG 電流に及ぼす影響は、GLP 試験（試験番号[redacted]-10-01-GLP）で実施されており、4.2.1 項に記載されている。

KHK7791

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3　薬理試験概要表

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
ECG	Electrocardiogram（心電図）
ENaC	Epithelial sodium channel（上皮性ナトリウムチャネル）
hERG	Human ether-a-go-go related gene（ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子）
NA	Not applicable（適応外）
NHE	Na^+/H^+ exchanger（ナトリウムイオン／プロトン交換輸送体）
PO	〈Latin〉*per os*（経口投与、内服）

用語の定義

用語	定義
AZ13792925	KHK7791 代謝物 M1
AZD13667691	テナパノル
AZD1722	テナパノル塩酸塩（又はテナパノル）
CHO（細胞）	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株
HEK293（細胞）	ヒト胎児腎臓由来細胞株
M1	KHK7791 代謝物
OK（細胞）	オポッサム腎臓由来細胞株
PS120（細胞）	ハムスター肺由来線維芽細胞株
RDX5791	テナパノル塩酸塩（又はテナパノル）
テナパノル	KHK7791 の遊離塩基
テナパノル塩酸塩	KHK7791

目次

略号及び用語の定義一覧 2
2.6.3 薬理試験概要表 4
1 薬理試験：一覧表 4
2 効力を裏付ける試験 8
3 副次的薬理試験 11
4 安全性薬理試験 12
5 薬力学的薬物相互作用試験 14

2.6.3 薬理試験概要表

1 薬理試験：一覧表

被験物質：テナパノル塩酸塩（又はテナパノル）						
試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	GLP 適用	試験報告書番号	資料番号
効力を裏付ける試験						
ヒト NHE3 活性に対する作用	ヒト NHE3 発現 PS120 細胞	in vitro	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-02A	4.2.1.1-1
ラット NHE3 活性に対する作用	ラット NHE3 発現 OK 細胞	in vitro	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-01A	4.2.1.1-2
リン吸収抑制作用の機序解析	ヒト小腸上皮細胞	in vitro	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-17	4.2.1.1-3
ラット、イヌ及びヒトの腸における NHE3 及び ENaC 遺伝子発現比較	Sprague Dawley ラット、ビーグル犬、ヒトの腸組織、ヒト初代培養腸上皮細胞	なし	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-15	参考 4.2.1.1-4
マウスにおける尿中及び糞便中ナトリウム排泄量に対する作用	CD-1 マウス	経口	[redacted]	非適用	1516[redacted]	参考 4.2.1.1-5
ラットにおける糞便中水分量及びナトリウム排泄量に対する作用	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-03	参考 4.2.1.1-6
ラットにおける腸管管腔の水分量及びナトリウム量に対する作用	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	非適用	1709[redacted]	参考 4.2.1.1-7
ラットにおけるリン吸収低下作用の機序解析	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-16	4.2.1.1-8
サルにおける尿中ナトリウム排泄量及び便性状に対する作用	カニクイザル	経口	[redacted] ([redacted])	非適用	RDX5791-EF-06.00	参考 4.2.1.1-9
カルシトリオール負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットにおける作用	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-11.01	参考 4.2.1.1-10
アデニン誘発慢性腎臓病ラットにおける作用	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-14	参考 4.2.1.1-11
高食塩負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットにおける作用	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-08.01	参考 4.2.1.1-12

Table continues

被験物質：テナパノル塩酸塩（又はテナパノル）（続き）						
試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	GLP 適用	試験報告書番号	資料番号
副次的薬理試験						
in vitro における特異性評価	結合アッセイ、機能アッセイ、酵素アッセイ	in vitro	[redacted]	非適用	3126[redacted]	4.2.1.2-1
腸に発現する膜輸送体及び胆汁酸受容体に対する作用	HEK293 細胞	in vitro	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-12	参考 4.2.1.2-2
ヒト NHE2 に対する作用	ヒト NHE2 発現 OK 細胞	in vitro	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-04	参考 4.2.1.2-3
ラットにおける腸管輸送能に対する作用	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-07.01	参考 4.2.1.2-4
ラットにおけるグルコース吸収及び胃排泄に対する作用	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-10.00	参考 4.2.1.2-5
安全性薬理試験						
中枢神経系						
一般状態及び行動に及ぼす影響	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	適用	RDX5791-SP-02	4.2.1.3-1
心血管系						
hERG 電流に及ぼす影響	HEK293 細胞	in vitro	[redacted]	適用	RDX5791-SP-06	4.2.1.3-2
心筋イオンチャネルに及ぼす影響	ヒト心筋イオンチャネル発現 CHO 細胞及び HEK293 細胞	in vitro	[redacted]	非適用	3624[redacted]	4.2.1.3-3
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	ビーグル犬	経口	[redacted]	適用	RDX5791-SP-05	4.2.1.3-4
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	ビーグル犬	経口	[redacted]	適用	RDX5791-TX-11	4.2.3.2-11

Table continues

被験物質：テナパノル塩酸塩（又はテナパノル）（続き）						
試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	GLP 適用	試験報告書番号	資料番号
9ヵ月間経口投与毒性試験における心電図評価	ビーグル犬	経口	[redacted]	適用	[redacted]-775031	4.2.3.2-12
呼吸系						
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	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	適用	RDX5791-SP-03	4.2.1.3-5
消化器系						
胃腸管輸送能の評価	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	適用	RDX5791-SP-04	4.2.1.3-6
薬力学的薬物相互作用試験						
ラットにおける腸管リン吸収に対する炭酸セベラマーとの併用効果	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	非適用	1697[redacted]	参考 4.2.1.4-1
炭酸セベラマーを投与中のラットにおける腸管リン吸収に対する上乗せ効果	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	非適用	1926[redacted]	参考 4.2.1.4-2
ラットにおける尿中ナトリウム及びリン排泄量に対する炭酸ランタンとの併用による影響	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	非適用	[redacted]120612-06	参考 4.2.1.4-3
ラットにおける尿中ナトリウム排泄量に対する炭酸セベラマーとの併用による影響	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-13.01	参考 4.2.1.4-4
高食塩負荷 5/6 部分腎臓摘出ラットにおけるエナラプリルとの併用効果	Sprague Dawley ラット	経口	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-09.01	参考 4.2.1.4-5

被験物質：M1						
試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	GLP 適用	試験報告書番号	資料番号
効力を裏付ける試験						
ヒト NHE3 活性に対する作用	ヒト NHE3 発現 PS120 細胞	in vitro	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-02A	4.2.1.1-1
ラット NHE3 活性に対する作用	ラット NHE3 発現 OK 細胞	in vitro	[redacted]	非適用	RDX5791-EF-01A	4.2.1.1-2
副次的薬理試験						
M1 の特異性評価	結合アッセイ、機能アッセイ、酵素アッセイ	in vitro	[redacted]	非適用	3534[redacted]	参考 4.2.1.2-6
安全性薬理試験						
心血管系						
心筋イオンチャネルに及ぼす影響	ヒト心筋イオンチャネル発現 CHO 細胞	in vitro	[redacted]	非適用	3625[redacted]	参考 4.2.1.3-7
9ヵ月間経口投与毒性試験における心電図評価	ビーグル犬	経口	[redacted]	適用	[redacted]-775031	4.2.3.2-12

2 効力を裏付ける試験

Test Article: Tenapanor Hydrochloride				
Study Report No.	Study Title	Species, Strain, Group Size	Route, Duration, Dose	Key Findings
RDX5791-EF-02A	In Vitro Evaluation of the Inhibition Potential of Tenapanor and its Major Metabolite, AZ13792925, (pIC_{50}) on Human NHE3	PS120 cells	in vitro, up to 1 µmol/L	Tenapanor Hydrochloride is a potent, full inhibitor of human NHE3 ($pIC_{50} \geq 7.9$).
RDX5791-EF-01A	In Vitro Evaluation of the Inhibition Potential of Tenapanor and its Major Metabolite, AZ13792925, (pIC_{50}) on Rat NHE3	OK cells	in vitro, up to 1 µmol/L	Tenapanor Hydrochloride is a potent, full inhibitor of rat NHE3 ($pIC_{50} \geq 7.7$).
RDX5791-EF-17	The Mechanism of Action of Tenapanor in Reducing Paracellular Phosphate Absorption	Human small intestine epithelium	in vitro, 1 µmol/L	Tenapanor Hydrochloride inhibits the absorption of intestinal phosphate by modulating tight junctions, which increases transepithelial electrical resistance and reduces paracellular phosphate permeability. This occurs across the typical luminal phosphate concentration range in humans. The effect is mediated exclusively via on-target inhibition of NHE3 and is likely the result of decreased intracellular pH due to the inhibition of proton secretion.
RDX5791-EF-15	Cross-Species Analysis of Intestinal NHE3 and ENaC Gene Expression	Sprague Dawley rat, Beagle dog and human duodenum, jejunum, ileum, proximal and distal colons	NA	Small intestine and proximal colon NHE3 expression is higher in rats compared to dogs, but expression levels were similar in all three species within each segment of the intestine. ENaC expression was lowest in the dog colon compared to human and rat.

Table continues

Test Article: Tenapanor Hydrochloride (Continued)				
Study Report No.	Study Title	Species, Strain, Group Size	Route, Duration, Dose	Key Findings
1516[redacted]	The Pharmacodynamic Effect of Tenapanor in the Mouse	Mouse, CD-1, 10 males/group	Oral, twice daily for 7 days, 1.5, 5, 15 mg/kg	Tenapanor Hydrochloride induced an immediate, dose-dependent, significant and sustained reduction in urinary sodium excretion compared to vehicle control on Day 1 through Day 7. Fecal sodium excretion was significantly increased on treatment Day 7. Tenapanor Hydrochloride inhibited intestinal sodium absorption in mice.
RDX5791-EF-03	The Effect of a Single Dose of RDX5791 on Fecal Water and Sodium Content in Normal Rats	Rat, Sprague Dawley, 6 males or females/group	Oral, single dose, 0.1, 0.3, 1, 3 mg/kg	Animals treated with Tenapanor Hydrochloride had a dose dependently increased fecal water content. The effect was documented in the fecal form score and in the fecal water content. Fecal sodium increased, and urine sodium was significantly decreased by Tenapanor Hydrochloride treatment groups.
1709[redacted]	The Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Effect of Tenapanor in the Lumen of the Gastrointestinal Tract of Rats	Rat, Sprague Dawley, 6 males/group/ time-point	Oral, single dose, 0.15 mg/kg	Tenapanor Hydrochloride induced luminal retention of sodium and water, indicating inhibition of intestinal sodium and water absorption.
RDX5791-EF-16	Determination of the Mechanism of Phosphate Absorption Inhibition by Tenapanor in Rats	Rat, Sprague Dawley, 6-8 males/group	Oral, single dose, Study 1: 0.5 mg/kg, Study 2: 0.15, 0.3, 0.5 mg/kg, Study 3: 0.15 mg/kg	Tenapanor Hydrochloride reduced phosphate absorption in the small intestine of rats by decreasing the paracellular permeability to phosphate.
RDX5791-EF-06.00	A Pharmacodynamic Study of RDX5791 in Cynomolgus Monkeys	Monkey, Cynomolgus, 8 males/group	Oral, twice daily for 5 days, 50, 150 mg/kg	Tenapanor Hydrochloride exhibited pharmacodynamic activity in non-human primates and caused the expected pharmacodynamic effects of reduced urinary Na^+ and softened stools.
RDX5791-EF-11.01	The Effects of RDX5791 in a Rat Model of Uremia-Associated Vascular Calcification	Rat, Sprague Dawley, 12 males/group	Admixed in diet, 4 weeks, 0.065 mg/g diet	Tenapanor Hydrochloride improved kidney function, reduced heart hypertrophy and renal hypertrophy, accompanied by anti-hyperphosphatemic effects and reduced vascular calcification.

Table continues

Test Article: Tenapanor Hydrochloride (Continued)				
Study Report No.	Study Title	Species, Strain, Group Size	Route, Duration, Dose	Key Findings
RDX5791-EF-14	The Effects of RDX5791 in a Rat CKD Model Featuring Vascular Calcification	Rat, Sprague Dawley, 10-12 males/group	Admixed in diet, 21 days, 2, 5 mg/kg/day	5 mg/kg Tenapanor Hydrochloride showed a trend towards reduced calcification in the aortic arch in an adenine-induced chronic renal failure model.
RDX5791-EF-08.01	The Effects of RDX5791 in a Rat Model of Chronic Kidney Disease (CKD)	Rat, Sprague Dawley, 12 males/group	Oral, once daily for 2 or 4 weeks, 0.3, 1, 3 mg/kg	Tenapanor Hydrochloride reduced extracellular fluid volume, left ventricular hypertrophy, and renal hypertrophy while exhibiting anti-hypertensive and anti-albuminuric effects. These effects were dose-dependent and observed in both prophylactic and interventional treatment groups.

CKD=Chronic kidney disease

Test Article: M1				
Study Report No.	Study Title	Species, Strain, Group Size	Route, Duration, Dose	Key Findings
RDX5791-EF-02A	In Vitro Evaluation of the Inhibition Potential of Tenapanor and its Major Metabolite, AZ13792925, (pIC_{50}) on Human NHE3	PS120 cells	in vitro, up to 10 μmol/L	M1 showed only weak and partial inhibition of human NHE3 (pIC_{50} <5).
RDX5791-EF-01A	In Vitro Evaluation of the Inhibition Potential of Tenapanor and its Major Metabolite, AZ13792925, (pIC_{50}) on Rat NHE3	OK cells	in vitro, up to 10 μmol/L	M1 showed only weak and partial inhibition of rat NHE3 (pIC_{50} <5).

3 副次的薬理試験

Test Article: Tenapanor Hydrochloride (or Tenapanor)				
Study Report No.	Study Title	Species, Strain, Group Size	Route, Duration, Dose	Key Findings
3126[redacted]	AZD1722: Selectivity Screening in Radioligand Binding, Enzyme Activity and Functional Assays In Vitro	NA	in vitro, 0.003 to 100 μmol/L	Activity was seen at 41/181 targets but only two targets were identified with functional EC_{50} or IC_{50} values <1 μmol/L: the 5-HT1D receptor (0.070 μmol/L) and the Tachykinin NK1 receptor (0.35 μmol/L).
RDX5791-EF-12	Biochemical Specificity of RDX5791	HEK293 cells	in vitro, up to 10-30 μmol/L	PiT1, NaPi2b, NHE1, IBAT and TGR5 were not inhibited by Tenapanor Hydrochloride.
RDX5791-EF-04	pIC_{50} of RDX5791 Against Human NHE2 Expressed Transiently in OK Cells	OK cells	in vitro, up to 10 μmol/L	Tenapanor Hydrochloride did not inhibit the activity of human NHE2 activity expressed in OK cells.
RDX5791-EF-07.01	The Effect of RDX5791 on Gastrointestinal Transit in Sprague Dawley Rats	Rat, Sprague Dawley, 6 males/group	Oral, single dose, 10 mg/kg	Tenapanor Hydrochloride increased the transit rate of a soluble marker through the proximal GI tract and effectively increased GI propulsive activity in rats.
RDX5791-EF-10.00	The Effects of a Single Dose of RDX5791 on Glucose Absorption in Rats.	Rat, Sprague Dawley, 6 males/group	Oral, single dose, 30 mg/kg	Glucose absorption was not affected by a single, acute dose of Tenapanor Hydrochloride as estimated by the appearance of a non-metabolizable glucose analogue in blood. Tenapanor Hydrochloride did not affect stomach emptying in the rats during the glucose absorption test.

GI=Gastrointestinal; IBAT=Ileal bile acid transporter; NaPi2b=Sodium-dependent phosphate co-transporter type 2b; PiT1=Inorganic phosphate transporter-1; TGR5=Takeda G-protein-coupled receptor 5

Test Article: M1				
Study Report No.	Study Title	Species, Strain, Group Size	Route, Duration, Dose	Key Findings
3534[redacted]	AZ13792925: Selectivity Screening in Radioligand Binding, Enzyme Activity and Functional Assays In Vitro	NA	0.003 to 100 μmol/L	Activity was noted at 41 of 82 targets. The four targets with Ki or IC_{50} activity at <1 μmol/L were the dopamine D_3 receptor (0.13 μmol/L), 5-HT_7 receptor (0.24 μmol/L), 5-HT_{2B} receptor (0.37 μmol/L), and carbonic anhydrase II (0.43 μmol/L).

4 安全性薬理試験

Test Article: Tenapanor Hydrochloride (or Tenapanor)				
Study Report No.	Study Title	Species, Strain, Group Size	Dose, Route, Duration	Key Findings
RDX5791-SP-02	Neuropharmacological Profile (NPP) of RDX5791 in Rats	Rat, Sprague Dawley 10 males/group	100, 300, 1000 mg/kg, PO, once	No effect
RDX5791-SP-06	RDX5791: In Vitro Effect on hERG Current (I_{Kr}) Expressed in Human Embryonic Kidney (HEK) Cells	HEK 293 Cells	1, 3, 10 μmol/L, in vitro	<20% Mean reduction in hERG current amplitude
3624[redacted]	AZD13667691: Selectivity Screening in Cardiac Ion Channel Electrophysiological Assays In Vitro	CHO cells stably transfected with Cav1.2/β2/α2δ, hHCN4, hKv1.5, hKv4.3/hKChIP2.2, hKv7.1/hKCNE1 or hNav1.5; HEK 293 cells stably transfected with hCav3.2	up to 100 μmol/L, in vitro	Tenapanor had significant activity at $hCa_v1.2/\beta2/\alpha2\delta$ (ICa_L), IC_{50} = 4.67 μmol/L
RDX5791-SP-05	Evaluation of Cardiovascular Function Following Administration of RDX5791 in Conscious Telemetered Male Beagle Dogs	Dog, Beagle 4 males	100, 300, 1000 mg/kg, PO, once	No effect
RDX5791-TX-11	A 3 Month Oral (Capsule) Toxicity Study of RDX5791 in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Period	Dog, Beagle 4-6/sex/group	50, 300, and 1000 mg/kg, PO, once daily for 3 months	No effects on ECG or cardiac parameters
[redacted]-775031	A 9 Month Oral (Capsule) Toxicity Study of AZD1722 in Beagle Dogs	Dog, Beagle 4/sex/group	50, 300, and 1000 mg/kg, PO, once daily for 9 months	No effects on ECG or cardiac parameters
RDX5791-SP-03	Evaluation of Respiratory Function of RDX5791 Following Single-dose Oral Administration in Sprague Dawley Rats	Rat, Sprague Dawley 4 males/group	100, 300, 1000 mg/kg, PO, once	No effect

Table continues

Test Article: Tenapanor Hydrochloride (or Tenapanor) (Continued)				
Study Report No.	Study Title	Species, Strain, Group Size	Dose, Route, Duration	Key Findings
RDX5791-SP-04	A Gastrointestinal Propulsion Assay of Orally Administered RDX5791 in the Rat	Rat, Sprague Dawley 10 males/group	100, 300, 1000 mg/kg, PO, once	No effect

Test Article: M1				
Study Report No.	Study Title	Species, Strain, Group Size	Dose, Route, Duration	Key Findings
3625[redacted]	AZ13792925: Selectivity Screening in Cardiac Ion Channel Electrophysiological Assays In Vitro	CHO cells stably transfected with hKv4.3/ hKChIP2.2, hKv7.1/ hKCNE1, hKv11.1 or hNav1.5	up to 33.3 μmol/L, in vitro	AZ13792925 had significant activity at the $hK_v11.1$ (IKr, IC_{50}= 16.5 μmol/L), $hNa_v1.5$ (INa, IC_{50} >33.3; hKv4.3/hKChIP2.2 (I_{to}, IC_{50}= 27.3 μmol/L) and $hK_v7.1$/hKCNE1 (IK_s, IC_{50}= 14.8 μmol/L)
[redacted]-775031	A 9 Month Oral (Capsule) Toxicity Study of AZD1722 in Beagle Dogs	Dog, Beagle 4/sex/group	50, 300, and 1000 mg/kg, PO, once daily for 9 months	No effects on ECG or cardiac parameters

5 薬力学的薬物相互作用試験

Test Article: Tenapanor Hydrochloride				
Study Report No.	Study Title	Species, Strain, Group Size	Route, Duration, Dose	Key Findings
1697[redacted]	The Pharmacodynamics of the Combination of Tenapanor and Sevelamer on Intestinal Phosphate Absorption in Rats	Rat, Sprague Dawley, 6 males/group	Tenapanor Hydrochloride: oral, twice daily for 11 days, 0.15 mg/kg Sevelamer carbonate: admixed in diet, 11 days, 0.75, 1.5, 3 w/w%	The combination of Tenapanor Hydrochloride and sevelamer resulted in more pronounced reductions in intestinal phosphate absorption than either drug administered alone.
1926[redacted]	The Effect of Adding Tenapanor to a Stable Dose of Sevelamer on Intestinal Phosphate Absorption in Rats	Rat, Sprague Dawley, 6 males/group	(Pre-combination period) Sevelamer: admixed in diet, 6 days, 1.5 w/w% (Combination period) Tenapanor Hydrochloride: oral, twice daily for 7 days, 0.15, 0.5 mg/kg Sevelamer carbonate: admixed in diet, 7 days, 0.75, 1.5 w/w%	Tenapanor Hydrochloride in rats already on a stable dose of sevelamer enabled further reductions in urinary phosphorus excretion compared to binder monotherapy. The addition of Tenapanor Hydrochloride also allowed for a 50% reduction in the sevelamer dose while maintaining comparable levels of urinary phosphorus excretion achieved by the high dose of binder.
[redacted]120612-06	The Effect of AZD1722 and Lanthanum Carbonate (Fosrenol) on Sodium and Phosphate Urine Excretion in Conscious Rats In Vivo	Rat, Sprague Dawley, 6 males/group	Tenapanor Hydrochloride: admixed in diet, 7 days, 0.013 g/kg diet Lanthanum carbonate: admixed in diet, 7 days, 20 g/kg diet	Tenapanor Hydrochloride in combination with lanthanum carbonate decreased urine sodium and phosphorus excretion, and increased fecal sodium concentration. The effects were similar in magnitude to those observed with Tenapanor Hydrochloride alone, indicating no pharmacodynamic drug interaction between Tenapanor Hydrochloride and lanthanum carbonate.
RDX5791-EF-13.01	The Effects of a Single Dose of AZD1722 in Rats Administered Renvela	Rat, Sprague Dawley, 6 males/group	Tenapanor Hydrochloride: oral, single dose, 0.1, 0.3, 1, 3 mg/kg Sevelamer carbonate: oral, single dose, 48 mg/kg	Tenapanor Hydrochloride pharmacodynamic effects on urinary sodium were not affected by a previous dosing with sevelamer.
RDX5791-EF-09.01	The Effects of RDX5791 and Enalapril in a Rat Model of Chronic Kidney Disease (CKD)	Rat, Sprague Dawley, 10-12 males/group	Tenapanor Hydrochloride: oral, once daily for 4 weeks, 1 mg/kg Enalapril: oral, once daily for 4 weeks, 10 mg/kg	In combination with enalapril, Tenapanor Hydrochloride provided robust antihypertensive, cardiac and renal protective effects in uremic rats fed a high sodium diet.