TABLE OF CONTENTS

略語一覧表 3
2.4 非臨床試験の概括評価 5
1 非臨床試験計画概略 5
2 薬理試験 7
2.1 効力を裏付ける試験 7
2.2 副次的薬理試験 7
2.3 安全性薬理試験 8
2.4 薬力学的薬物相互作用試験 9
3 薬物動態試験 10
3.1 吸収 10
3.2 分布 10
3.3 代謝 11
3.4 排泄 12
3.5 薬物動態学的薬物相互作用 12
4 毒性試験 14
4.1 単回投与毒性試験 14
4.2 反復投与毒性試験 14
4.2.1 マウスの 1 ヵ月間試験（GLP 適用、ACH-17-107 試験） 14
4.2.2 ラットの 14 日間試験（GLP 非適用、ACH-15-041 試験） 14
4.2.3 ラットの 1 ヵ月間試験（GLP 適用、ACH-15-071 試験） 14
4.2.4 ラットの 3 ヵ月間試験（GLP 適用、ACH-16-002 試験） 14
4.2.5 ラットの 6 ヵ月間試験（GLP 適用、ACH-16-020 試験） 14
4.2.6 イヌの 5 日間試験（GLP 非適用、ACH-15-056 試験） 15
4.2.7 イヌの 14 日間試験（GLP 適用、ACH-15-073 試験） 15
4.2.8 イヌの 3 ヵ月間試験（GLP 適用、ACH-15-160 試験） 15
4.2.9 イヌの 3 ヵ月間試験（第 2 試験、GLP 適用、ACH-16-038 試験） 16
4.2.10 イヌの 9 ヵ月試験（GLP 適用、ACH-16-057 試験） 16
4.3 遺伝毒性試験 16
4.4 がん原性試験 16
4.5 生殖発生毒性試験 17
4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 17
4.5.2 胚・胎児発生に関する試験 17
4.5.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 18
4.5.4 幼若動物を用いた毒性試験 18
4.6 局所刺激性試験 18
4.7 その他の毒性試験 18
4.7.1 不純物に関する試験 18
4.7.2 光毒性試験 19
5 総括及び結論 20

5.1 薬理試験 20
5.1.1 効力を裏付ける試験 20
5.1.1.1 In vitro 試験 20
5.1.1.2 In vivo 試験 20
5.1.2 副次的薬理試験 20
5.1.3 安全性薬理試験 21
5.1.4 薬力学的薬物相互作用 22
5.2 薬物動態試験 22
5.3 毒性試験 25
5.4 結論 26
6 参考文献 27

略語一覧表

略語・用語	定義（英語）	定義（日本語）
ADME	absorption, distribution, metabolism and excretion	吸収、分布、代謝及び排泄
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AOX1	aldehyde oxidase 1	アルデヒドオキシダーゼ 1
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the concentration-time curve	濃度時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistant protein	乳癌耐性タンパク質
bid	2 times a day	1 日 2 回
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
CAC	Carcinogenicity Assessment Committee	がん原性評価委員会
Caco-2	human colon carcinoma cell line	ヒト結腸（又は結腸直腸）腺癌細胞
C_{max}	maximum observed concentration	最高血漿中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
C3	complement component 3	補体 C3
C5	complement component 5	補体 C5
C5a	complement component 5a	補体 C5a
C5b-9	complement membrane attack complex	膜侵襲複合体
DB	Dutch Belted	-
DDI	drug-drug interaction	薬物相互作用
EVH	extravascular hemolysis	血管外溶血
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FXR	farnesyl X nuclear receptor	ファルネシル X 核内受容体
GD	Gestation Day	妊娠日齢
GGT	gamma-glutamyltransferase	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hERG	human ether à go-go-related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HPBL	human peripheral blood lymphocyte	ヒト末梢血リンパ球
HSA	human serum albumin	ヒト血清アルブミン
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICRP	International Commission on Radiological Protection	国際放射線防護委員会
IVH	intravascular hemolysis	血管内溶血
JET	jacketed external telemetry	ジャケット式テレメトリー
K_d	dissociation constant	解離速度定数

略語・用語	定義（英語）	定義（日本語）
LD	lactation day	授乳日数
LE	Long Evans	-
mAb	monoclonal antibody	モノクローナル抗体
MATE	multidrug and toxin extrusion	多剤・毒性化合物排出
MDCK	Madin-Darby canine kidney	イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来細胞株
MDR	multidrug resistance protein	多剤耐性タンパク質
MRP	multidrug resistance-associated protein	多剤耐性関連タンパク質
MT_1	melatonin receptor subtype 1	メラトニン受容体サブタイプ 1
N meningitidis	*Neisseria meningitis*	髄膜炎菌
NTCP	sodium taurocholate co-transporting polypeptide	タウロコール酸ナトリウム共輸送ポリペプチド
NOAEL	no-observed-adverse-effect level	無毒性量
NRU	neutral red uptake	ニュートラルレッド取り込み
NZW	New Zealand White	-
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion-transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
PEG	polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
P-gp	P-glycoprotein	P-糖タンパク
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
PNH	paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	発作性夜間ヘモグロビン尿症
qd	1 time a day	1 日 1 回
S9	9000 × g supernatant	9000 × g 上清
TBIL	total bilirubin	総ビリルビン
UGT	uridine diphosphate glucuronosyltransferase	ウリジン二リン酸グルクロノシルトランスフェラーゼ
WH	Wistar Hannover	-

2.4 非臨床試験の概括評価

1 非臨床試験計画概略

ダニコパン（ALXN2040 又は ACH-0144471）は、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）などの補体介在性疾患の治療のためにアレクシオンファーマ合同会社が開発している経口低分子補体 D 因子阻害薬である。

補体 D 因子は、補体第二経路の律速段階である補体 B 因子の開裂を触媒するセリンプロテアーゼである。補体 D 因子は血漿中に最も少ない補体タンパク質の 1 つであり（Schreiber, 1978）、補体第二経路の活性化及び増幅に不可欠で（Harboe, 2004）、補体 C3（C3）フラグメントによるオプソニン化、アナフィラトキシン補体 C3a 及び補体 C5a（C5a）の放出、並びに膜侵襲複合体（C5b-9）の活性化をもたらす。補体 D 因子は急性期蛋白質ではない。補体 D 因子の阻害は補体第二経路を介した補体活性の増幅を阻害するが、古典経路及びレクチン経路は直接阻害しない。

PNH は、終末補体経路の制御不能な活性化により生じる、生命を脅かす後天性の溶血性の希少疾患であり（Bektas, 2020; Brodsky, 2014; Brodsky, 2015）、本邦では指定難病である。慢性的で制御不能な補体 C5（C5）の開裂及び C5a の放出、並びに C5b-9 の形成により、赤血球が溶血する。C5 阻害剤であるラブリズマブ又はエクリズマブにより持続的な血管内溶血（IVH）及び関連する疾患のコントロールが達成された PNH 患者の一部では、臨床的に重要な血管外溶血（EVH）が発現する可能性があり、これらの患者の一部では輸血が必要となる（Hill, 2010; McKinley, 2017; Notaro, 2018; Risitano, 2019）。ダニコパンは C3 の上流の補体カスケードを阻害し、補体増幅ループも遮断する。ダニコパンは、ex vivo で PNH 赤血球への C3 フラグメントの沈着を予防することが示されている（Yuan, 2017）。その結果、IVH（補体末端経路の活性化によって媒介される）と EVH（C3 フラグメントのオプソニン化を介する可能性が高い）の両方が、ダニコパンによって阻害されるか、又は著しく減弱することが示された。さらに、ダニコパンは補体の古典経路及びレクチン経路の特異的な成分を阻害せず、終末補体経路の成分も阻害しないが、古典経路及びレクチン経路を介して開始される補体第二経路を介した補体活性の増幅を阻害する。

ヒトの PNH 治療におけるダニコパンの使用を裏付けるため、ダニコパンの非臨床薬理試験、薬物動態（PK）試験及び毒性試験を実施した。主要な安全性薬理試験及び毒性試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。

ダニコパンの効力を裏付ける試験は、オンターゲットの効力及び選択性に関する種々の in vitro 及び ex vivo アッセイを用いて評価した。ダニコパンは補体 D 因子活性部位に可逆的かつ高親和性で結合し、その酵素活性を強力に阻害した。ダニコパンは種々の in vitro アッセイにおいてヒト血清中で補体第二経路阻害剤として活性を示し、カニクイザル、ビーグル犬、及びより程度は低いがウサギを含む非臨床試験動物種の血清中で活性を示したが、ラット及びマウスでは活性を示さなかった。ビーグル犬を用いた反復投与毒性試験及びウサギを用いた胚・胎児発生試験を含む複数の試験において、経口投与後の ex vivo アッセイにより薬理活性がみられた。

副次的薬理評価では、ダニコパンの細胞毒性は限定的であり、ミトコンドリア毒性のリスクは低く、骨髄前駆細胞増殖に対する影響は軽微であった。さらに、セリンプロテアーゼ、心臓イオンチャネル、薬物乱用関連受容体及びその他の広範な受容体、イオンチャネル並びにトランスポーターパネルを用いて、ダニコパンの副次的薬理プロファイルを評価した。ダニコパンは、ヒト及びイヌのメラトニン受容体サブタイプ 1（MT_1）受容体に対する高親和性リガンドとして作用し、ヒト MT_1 に対して強力なアンタゴニスト活性を示す。ラット及びイヌを用いた毒性試験で示されたように、MT_1 受容体拮抗作用は中枢神経系（CNS）に影響を及ぼさない。in vitro 評価では、

特にワクチン接種を受けた患者において、ダニコパンは髄膜炎菌などの臨床的に重要な病原体による感染リスクが C3 及び C5 阻害剤よりも低いことが示されている。

ダニコパンを、C3 阻害剤のコンプスタチン及び治療用抗 C5 モノクローナル抗体（mAb）のエクリズマブを含む他の補体阻害剤と併用し、in vitro による機能的補体第二経路アッセイにおいて検討した。相乗的な相互作用が中等度から強い範囲で認められたが、強い拮抗的相互作用は示唆されなかった。PNH 患者の赤血球を用いて評価したところ、ダニコパンとエクリズマブの相互作用は強力に相乗的であり、拮抗作用はみられなかった（Chou, 1983; Prichard, 1990）。

ダニコパンの安全性薬理を in vitro 及びビーグル犬を用いて、CNS、心血管系及び呼吸系への影響を評価した。ダニコパンを単回経口投与したとき、in vitro 及び in vivo において心血管系への潜在的リスクはみられなかった。ビーグル犬では、呼吸系又は CNS に対する有害作用はみられなかった。

ダニコパンの吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）プロファイルを、in vitro 並びに rasH2 マウス、Wistar Hannover（WH）ラット、Long Evans（LE）ラット、New Zealand White（NZW）ウサギ、Dutch Belted（DB）ウサギ、ビーグル犬及びカニクイザルを用いて検討した。薬物動態学的薬物相互作用（DDI）試験は in vitro で実施した。

6 ヵ月間までの WH ラット及び 9 ヵ月間までのビーグル犬を用いた反復投与毒性試験において、ダニコパンの毒性プロファイルを検討した。rasH2 マウスを用いて最長 6 ヵ月、WH ラットを用いて最長 2 年間、ダニコパンのがん原性プロファイルを検討した。NZW ウサギ及び WH ラットを用いて、ダニコパンの生殖発生毒性プロファイルを検討した。ダニコパンの遺伝毒性と光毒性の可能性を in vitro と WH 又は LE ラットで検討した。

以下の項では、ダニコパンの非臨床薬理（モジュール 2.6.2 及び 2.6.3）、PK（モジュール 2.6.4 及び 2.6.5）及び毒性（モジュール 2.6.6 及び 2.6.7）について詳述する。

2 薬理試験

複数の in vitro 及び in vivo 試験により、ダニコパンの効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験並びに薬力学的 DDI 試験を実施した。これらのデータの要約を以下に示す。各試験の詳細をモジュール 2.6.2 及び 2.6.3 に示す。

2.1 効力を裏付ける試験

ダニコパンは補体 D 因子の活性部位に可逆的に結合することが X 線結晶構造解析により確認され（ACH-15-147 試験）、その親和性はナノモル以下であった（K_d = 0.00054 µmol/L）（ACH-15-082 試験）。ダニコパンは合成基質（ACH-15-083 試験）及びその天然基質 C3bB（補体 C3 の活性化産物である C3b と、補体 B 因子の複合体）に対するアッセイにより補体 D 因子セリンプロテアーゼ活性を阻害することが示された（IC_{50} = 0.018 µmol/L、K_i = 0.0057 µmol/L）（ACH-15-084 試験；ACH-15-085 試験）。

血清中において、ダニコパンは古典経路及びレクチン経路ではなく、補体第二経路を選択的に阻害する（ACH-15-086 試験）。ダニコパンは、溶血アッセイ（IC_{50} = 0.027 µmol/L）及び Wieslab 酵素免疫測定法（IC_{50} = 0.034 µmol/L）での補体第二経路活性を強力かつ選択的に阻害する（ACH-15-088 試験）。また、ダニコパンは「無希釈血清」で実施した改変アッセイにおいても補体第二経路活性を阻害し（補体第二経路溶血アッセイ、IC_{50} = 0.22 µmol/L：Wieslab アッセイ、IC_{50} = 0.27 µmol/L）、非臨床試験及び臨床試験で用いた ex vivo アッセイと in vitro での相関性が示された（ACH-15-088 試験）。

ダニコパンは、健康ヒトドナー20 例から採取した血清パネルにおいても効力を保持していることが示された（補体第二経路溶血アッセイ、IC_{50} range = 0.002～0.048 µmol/L：Wieslab アッセイ、IC_{50} range = 0.043～0.80 µmol/L（無希釈血清）（ACH-15-089 試験）。また、PNH 患者から得られた赤血球の溶血を抑制する（ACH-17-074 試験）（Yuan, 2017）。ダニコパンは、異種（ウサギ）赤血球、ヒト PNH 様赤血球及び PNH 患者由来赤血球を含む感受性細胞上の補体第二経路介在性 C3 フラグメント沈着を効果的に阻害する（ACH-15-091、Yuan, 2017）。

ダニコパンは、ヒト血清並びにサル、イヌ及びウサギの血清中の補体第二経路活性を阻害する（ウサギでは阻害の程度は低い）が、ラット及びマウスの補体第二経路活性は阻害せず、種特異性を示す（ACH-15-087 試験；ACH-15-088 試験；ACH-15-089 試験）。ダニコパンを経口投与したサル血清の ex vivo 分析で、補体第二経路活性のほぼ完全な濃度依存的抑制が認められた（ACH-15-094 試験）。ビーグル犬にダニコパンを経口投与して得られた血清の ex vivo 分析により、この動物種における薬理活性が確認され（ACH-15-093 試験）、5 日間の GLP 非適用の忍容性及び毒性試験（ACH-15-119 試験）、並びに 14 日間、3 ヵ月間及び 9 ヵ月間の GLP 適用の反復投与毒性試験（ACH-15-073 試験；ACH-15-160 試験；ACH-16-057 試験）の 4 試験において、迅速かつ用量依存的な補体第二経路阻害が確認された。GLP 適用の胚・胎児発生に関する試験で得られた妊娠ウサギの母動物サンプルでも補体第二経路阻害が認められた（ACH-15-163 試験）。

2.2 副次的薬理試験

In vitro オフターゲット活性実験の結果から、ダニコパンの細胞毒性は限定的で（ACH-15-095 試験）、ミトコンドリア毒性のリスクは低く（ACH-15-096 試験）、骨髄前駆細胞増殖に対する作用は最小である（ACH-15-110 試験；ACH-15-133 試験）ことが示された。

ダニコパンは、非特異的セリンプロテアーゼのパネルに対して、10 µmol/L 濃度で 50%以上の

阻害と定義した有意な阻害を示さなかった（ACH-15-063 試験）。受容体、イオンチャネル及びトランスポーターの広範なパネルに対して、ダニコパンは検討した 55 のオフターゲット受容体及びイオンチャネルのうち 52 へのリガンド結合を阻害せず（ACH-15-043 試験）、ヒト A_1 及び A_3 アデノシン受容体サブタイプ並びに、より高い活性でヒト MT_1 受容体に対してのみ阻害作用を示した（ACH-15-061 試験）。また、ダニコパンはヒト MT1 機能（ACH-15-061 試験）及びイヌ MT_1 へのリガンド結合（ACH-17-132 試験）の強力なアンタゴニストとして作用するが、組織を用いた機能アッセイではラット MT_1 の弱い阻害剤であった（ACH-16-048 試験）。しかし、イヌ MT_1 に対する強力な作用にもかかわらず、イヌ及びラットを用いた毒性試験では CNS 関連の徴候は認められていない（モジュール 2.6.6）。

さらに 2 つの安全性パネルを用いて評価したところ、ダニコパンは 12 種類の心臓イオンチャネルのうち $hCa_v1.2$ カルシウムチャネルのみを阻害し（ACH-15-069 試験）、44 種類の薬物乱用に関連する受容体に対して有意な作用を示さなかった（ACH-20-021 試験）。

一連の肝胆道系に対する影響を検討したところ、ダニコパンはヒト、イヌ及びラットの肝細胞からの胆汁酸塩排出ポンプ（BSEP）をある程度阻害した（ACH-16-097 試験）。また、ダニコパンは、多剤耐性タンパク質（MDR）3 及び多剤耐性関連タンパク質（MRP）4（ACH-16-085 試験；ACH-16-082 試験）、ウリジン二リン酸グルクロノシルトランスフェラーゼ 1A1（UGT1A1）及び UGT2B7（ACH-15-106 試験）、並びにファルネシル X 核内受容体（FXR）（ACH-16-093 試験）を阻害した。サンドイッチ培養肝細胞を用いた in vitro 試験では、複数の機序を介してダニコパンが胆汁酸の恒常性を阻害する可能性が示されたが、胆汁酸排出は阻害されなかった（ACH-16-021 試験）。

5 種類のダニコパンの代謝物における主要な薬理作用、細胞毒性及びミトコンドリア毒性を評価した。4 種類の代謝物（ACH-0144709、ACH-0145069、ACH-0145071 及び ACH-0145072）について、in vitro 溶血アッセイにより血清中の補体第二経路活性阻害を検討した。これらの代謝物は、血清中の補体第二経路活性に対し阻害作用をほとんど又は全く示さず（IC_{50}＞1 μmol/L）（ACH-16-065 試験 ; RTR-0065 試験）、これはダニコパン（IC_{50}=0.027 μmol/L）とは対照的であった（ACH-15-086 試験）。これらのダニコパンの代謝物は、細胞毒性（2 種類の代謝物を評価）及びミトコンドリア毒性（4 種類の代謝物を評価）の可能性もほとんど示さなかった。アミド加水分解及び/又はカルボニル還元の生成物であるこれらの化合物は、in vitro 及び in vivo の非臨床試験動物種及びヒトにおける最も顕著にみられた代謝物である。

被験微生物として大腸菌及び髄膜炎菌（*N meningitidis*）を用いた in vitro 試験において、ダニコパン投与の潜在的な感染リスクを評価した。大腸菌を用いた試験において、ダニコパンは血清殺菌活性（ACH-15-143 試験）並びにヒト単球及び顆粒球によるオプソニン化貪食作用（ACH-15-143 試験 ; ACH-16-066 試験）を阻害しなかった。髄膜炎菌の複数の分離株を用いたところ、対照薬の C3 阻害剤及び補体 C5 阻害剤と比較して、ダニコパンの全血及び血清による殺作用の阻害は低かった（ACH-19-015 試験）。これらの所見は、特にワクチン接種した個人において、ダニコパンは髄膜炎菌を含む臨床的に意味のある病原体に対して感染リスクが低いことを示唆する。

2.3 安全性薬理試験

ダニコパンの安全性薬理を包括的評価した。ラット及びマウスでは薬理作用を示さないことから、ビーグル犬を用いて in vivo 安全性薬理試験を実施した。In vitro 安全性薬理試験において、ダニコパンの 10 μmol/L でヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）イオンチャネルがわずかに 29.9%

阻害されたが（ACH-15-109 試験）、臨床試験である ALXN2040-PNH-301 試験（PMX-0038）においてヒトに 200 mg を 1 日 3 回投与したときの最高血漿中濃度（C_{max}）と比較して、hERG に対する安全域が約 117 倍高いことから、ダニコパンは QT 延長のリスクは低いと考えられた。さらに、イヌに最高 500 mg/kg を単回投与しても、血行動態及び心電図の評価項目に影響は認められなかった（ACH-15-072 試験）。イヌでは、1 日総投与量が 1000 mg/kg/日まで、呼吸機能及び CNS 機能に対する影響は認められなかった（ACH-15-073 試験）。

2.4 薬力学的薬物相互作用試験

ダニコパンとの相乗的又は拮抗的相互作用の可能性を明らかにするため、補体阻害剤 FUT-175、コンプスタチン及び抗 C5 抗体とダニコパンの相互作用を、公表されている解析指標（Chou and Talalay, 1983; Prichard and Shipman, 1990）で評価した（ACH-15-100 試験及び ACH-17-073 試験）。全体として、ダニコパンと他の補体阻害剤との間で中等度から強力な相乗的相互作用が認められ、強力な拮抗的相互作用は示唆されなかった。PNH 患者の赤血球を用いた際、ダニコパンとエクリズマブの相互作用は強い相乗作用を示し、拮抗作用は認められなかった。

3　薬物動態試験

複数の in vitro 及び in vivo 試験を実施し、ダニコパンの ADME 及び PK DDI プロファイルの特性を評価した。これらのデータの要約を以下に示す。各試験の詳細をモジュール 2.6.4 及び 2.6.5 に示す。

3.1　吸収

ダニコパンの in vitro 膜透過性は、ヒト結腸（又は結腸直腸）腺癌細胞（Caco-2）で評価した。ダニコパンの P 糖タンパク（P-gp）及び乳癌耐性タンパク質（BCRP）の基質性は、Caco-2 及び多剤耐性タンパク質 1 発現イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来細胞株（MDR1-MDCK）の細胞単層膜で評価した。ダニコパンの排出動態は、MDR1-MDCK 細胞で検討した（ACH-15-115 試験）。ダニコパンは良好な膜透過性を有し、排出トランスポーターである P-gp の弱い基質であるが、BCRP の基質である可能性は低かった。ダニコパンは低い溶解性及び良好な膜透過性により溶解律速の吸収を示す可能性がある。

ダニコパンの PK をラット、イヌ及びサルで検討した（それぞれ ACH-15-044 試験、ACH-15-036 試験及び ACH-15-040 試験）。ダニコパンの PK 特性は、中程度から高度の in vivo クリアランス、中程度の定常状態の分布容積、短い消失半減期及び中程度の経口バイオアベイラビリティであった。ラット（ACH-15-144 試験）及びイヌ（ACH-15-145 試験）で[^{14}C]-ダニコパンを用い放射能の PK、未変化体の PK、経口バイオアベイラビリティ及び吸収率を検討した。雌ラットは雄ラットと比較して非常に低いクリアランス（29.5 mL/min/kg に対して 10.4 mL/min/kg）であることが示された。[^{14}C]-ダニコパンの吸収率はラット及びイヌで高かった。

おおむね、ダニコパンは、マウス（qd）、ラット（bid）、イヌ（bid）及びウサギ（qd）で 1000 mg/kg/day まで用量の増加に伴う経口吸収性を示した。反復投与したとき、ラットでの曝露はわずかに低下する傾向であり（ACH-15-071 試験）、イヌでは蓄積せず（ACH-15-073 試験）、ウサギでは濃度時間曲線下面積（AUC）はわずかに高くなる傾向であったが、最高血漿中濃度（C_{max}）は変化しなかった（ACH-15-163 試験）。

徐放性製剤開発の可能性を検討するため、ダニコパンの消化管吸収部位を雄ラットで検討した（ACH-15-135 試験）。その結果、ダニコパンは、十二指腸から結腸までの消化管全体にわたり吸収されることが示された。

3.2　分布

[^{14}C]-ダニコパンの血漿タンパク結合を in vitro でマウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒトの血漿、並びにヒト血清アルブミン（HSA）及びヒトα1-酸性糖タンパク質で検討した（ACH-15-114 試験）。ダニコパンは、すべての種で中程度に高い血漿タンパク結合を示し、ヒト血漿中では HSA が主な結合タンパクであることが示された。[^{14}C]-ダニコパンの血球移行をラット、イヌ及びヒト全血で検討した（ACH-15-118 試験）。ダニコパンは、検討した種で中程度の血球移行を示した。ラット（ACH-15-144 試験）及びイヌ（ACH-15-145 試験）に放射性標識体を投与した in vivo 試験でも、[^{14}C]-ダニコパン由来放射能の血球移行は中程度であった。

[^{14}C]-ダニコパンを雄有色 LE ラット及び WH ラットに経口（20 mg/kg）又は静脈内（5 mg/kg）で単回投与したときの薬物由来放射能の組織分布を定量的全身オートラジオグラフィーにより検討した（ACH-15-150 試験）。そこで得られた情報により、ヒトでの吸収、分布及び排泄試験の放射能線量測定法を決定した。単回経口又は静脈内投与したとき、[^{14}C]-ダニコパン由来放射能は有

色及びアルビノラットの組織に広く分布した。ほとんどの組織の放射能濃度はすべての時点で血液中濃度と同程度か、高かった。[^{14}C]-ダニコパン由来放射能は、有色 LE ラットでメラニン含有組織に選択的に結合することが示唆された。ヒトへの[^{14}C]-ダニコパンの 300 μCi（11.1 MBq）の単回経口投与は、米国食品医薬品局（FDA）及び国際放射線防護委員会（ICRP）のガイドラインに照らして男性被験者に重大な放射線被曝の危険性を生じないと予測された。

メラニンへの親和性を in vitro で検討した結果、ダニコパンのメラニンへの親和性は陽性対照のクロロキンと比較して低かった（ACH-20-027 試験）。ダニコパンを有色 DB 及び NZW ウサギに経口投与し、眼組織での濃度を検討した（ACH-19-004 試験、ACH-19-030 試験及び ACH-20-044 試験）。単回経口投与後の網膜及び血漿の最高濃度は DB 及び NZW ウサギとも同程度であったが、NZW ウサギでは脈絡膜の網膜色素上皮及び血漿での AUC が同程度であるの対し、DB ウサギでは脈絡膜の網膜色素上皮の AUC が血漿の AUC よりもかなり高かった（ACH-19-030 試験）。また、DB ウサギでは反復投与により網膜の AUC が増加した（ACH-19-030 試験及び ACH-20-044 試験）。

NZW ウサギで胎盤／乳汁移行性試験を実施した（ACH-19-013 試験）。胎盤期妊娠日数（GD）19 のすべての母動物及び胎児血漿でダニコパンの曝露が認められた。授乳日数（LD）9 及び 10 の母動物の血漿及び乳汁中でダニコパンは定量可能であった。分娩後 Day 9 の乳児は 50 mg/kg/day でダニコパンに曝露されなかったが、250 mg/kg/day では一部の乳児が曝露された。

3.3 代謝

ダニコパンの代謝安定性をラット、イヌ、サル及びヒトの肝ミクロソーム及び肝細胞で検討した（ACH-15-108 試験）。全体として、肝ミクロソーム及び肝細胞共に動物の in vivo クリアランスを良好に予測し、ダニコパンの動物での in vivo クリアランスはほとんどが肝代謝クリアランスによるものであることが示唆された。

ダニコパンの in vitro 代謝をラット、イヌ、サル及びヒトの肝ミクロソーム、肝サイトゾル及び凍結肝細胞、Aroclor で誘導したラット肝 9000 × g 上清（S9）で検討した（ACH-15-136 試験）。別試験でマウス及びウサギ肝細胞での in vitro 代謝も検討した（ACH-17-194 試験）。酸化、還元及び加水分解代謝物がヒト及び動物の in vitro 試験で同定された。ヒト特異的な代謝物は認められなかった。肝細胞で主要な代謝経路はアミドの加水分解であり、ラットで 58.6%、イヌで 84.8%及びヒトで 83.7%であり、カルボニル基の還元並びにカルボニル基の還元及びアミドの加水分解を合わせた代謝物はサルで 84.1%であった。酸化代謝はヒト肝細胞で非常に少なく代謝全体の 0.8%のみであった。動物で肝細胞での酸化代謝物の合計は、ラットで 41.4%、イヌで 15.2%及びサルで 1.6%であった（ACH-15-136 試験）。マウス及びウサギ肝細胞で主要な代謝経路はマウスで一酸化（70.1%）、ウサギでアミドの加水分解（86.2%）であった。肝細胞での酸化代謝物の合計は、マウスで 70.1%及びウサギで 12.1%であった（ACH-17-194 試験）。

ダニコパンはアミドの加水分解により二つの代謝物を生成するため、2 ヵ所の異なる部位に標識した[^{14}C]-ダニコパンを用い、ダニコパンの共有結合性をラット、イヌ及びヒト肝細胞で検討した（ACH-16-076 試験）。ダニコパンはラット、イヌ及びヒト肝細胞の in vitro で反応性代謝物を生成する可能性は低いことが示された。

ラットに[^{14}C]-ダニコパンを単回経口又は静脈内投与したとき、ダニコパンは広範に代謝され、標識部位を含まない M173 を含む複数の代謝物が推定された（ACH-16-051 試験）。全体として、ラットの in vivo と in vitro の代謝経路は一致しており、in vivo で推定された代謝経路は、1）複数

ヵ所の一酸化及び二酸化、2）ケトンの還元、3）アミドの加水分解、4）一酸化体（M596a）のグルクロン酸抱合などであった。経口及び静脈内投与したとき、血漿中で[^{14}C]-ダニコパンの未変化体が主要な循環血中放射能成分（おおむね各時点での循環血中放射能の 70%超）であり、次いでアミドの加水分解体（M426）が主要な循環血中代謝物（各時点での循環血中放射能の 18%未満）であった。ダニコパンは、経口及び静脈内投与後、大部分が代謝により消失し、未変化体は尿糞中で投与放射能の約 10%～20%であった（尿には投与放射能の 0.72%以下）。尿糞中の主要代謝物は M426 であり、雄ラットでは経口及び静脈内投与放射能のそれぞれ約 20%及び約 29%、雌ラットでは経口及び静脈内投与放射能のそれぞれ約 39%及び約 45%であった。もう一つの主要代謝物は一酸化体の M596c であり、雄ラットでは経口及び静脈内投与放射能のそれぞれ約 22%及び約 32%であったが、雌ラットでは経口及び静脈内投与放射能の 4%未満であった。

イヌに[^{14}C]-ダニコパンを単回経口又は静脈内投与したとき、ダニコパンは広範に代謝され、標識部位を含まない M173 を含む代謝物が同定又は推定された（ACH-16-052 試験）。In vivo で推定された代謝経路は、1）アミドの加水分解、2）アミドの加水分解及び一酸化、3）複数ヵ所での一酸化などであった。経口及び静脈内投与したときいずれも、血漿中で[^{14}C]-ダニコパンの未変化体が主要な放射能成分であり、次いで M426 が主代謝物であった。

ラット及びイヌに反復経口投与したときのダニコパンのアミドの加水分解及びカルボニル基の還元体（M428）及びカルボニル基の還元体（M582）のダニコパンに対する曝露の割合は 1.13%以下であり、反復投与により蓄積する可能性は低かった（ACH-15-157 試験）。

ラット、イヌ及びヒトの血漿中代謝物プロファイルの比較から、ヒトの主要循環血中代謝物である M426（ACH-0144709）、M173（ACH-0144240）及び M596h は動物にも存在し、ヒトより動物で曝露量が大きいことが示された（ACH-17-143 試験）。

3.4 排泄

[^{14}C]-ダニコパン由来放射能の排泄を雌雄ラット（ACH-15-144 試験）及び雄イヌ（ACH-15-145 試験）で検討した。[^{14}C]-ダニコパン由来放射能の総回収率は、単回経口及び静脈内投与したとき、雌雄ラットで 87.32%～97.80%であり、雄イヌで 92.08%～97.31%であった。[^{14}C]-ダニコパン由来放射能は、ラット及びイヌいずれにおいても主に代謝物として糞中に排泄された。

3.5 薬物動態学的薬物相互作用

ダニコパンは、チトクローム P450（CYP）での代謝がわずかであること（ACH-15-136 試験）、P-gp の基質ではあるが efflux ratio が低いこと、BCRP の基質となる可能性は低いこと（ACH-15-115 試験）、有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1 及び OATP1B3 の基質ではないこと（ACH-16-008 試験）から、CYP 分子種、P-gp、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害により薬物相互作用の影響を受ける可能性はないか、低いと考えられる。

ダニコパンは、in vitro で CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A 等の CYP 分子種、UGT1A1 及び UGT2B7（ACH-15-106 試験）、並びに BCRP、P-gp、有機カチオントランスポーター（OCT）2、OATP1B1、多剤・毒性化合物排出（MATE）1 及び MATE2-K の一連のトランスポーター（ACH-15-116 試験）を阻害し、その多くの IC_{50} は 10 μmol/L 超であった。ダニコパンは CYP2C8 及び CYP3A4 を誘導したが、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP2C9 は誘導しなかった（ACH-17-145 試験）。

In vitro 試験により、ダニコパン及び特定の代謝物が、ヒト BSEP、MRP2、MRP3、MRP4、MDR3、

タウロコール酸ナトリウム共輸送ポリペプチド（NTCP）及びFXR、イヌBSEP及びMRP2、並びにラットBSEP等の胆汁酸の肝胆系動態に関与するトランスポーター及びその他の標的と相互作用するかを検討した（ACH-16-016試験、ACH-16-025試験、ACH-16-082試験、ACH-16-085試験、ACH-16-093試験、ACH-16-097試験）。さらに、サンドイッチ培養ヒト肝細胞でin vitro試験を行い、ダニコパンが胆汁酸の排泄動態を阻害する可能性を検討した（ACH-16-021試験）。ダニコパンは評価したトランスポーター／標的のいくつかを阻害したが、全体として得られた結果からイヌで認められた胆汁うっ滞との関連性は明らかにできなかった。また、個々のトランスポーター／標的に及ぼす薬物の複数の相互作用の潜在的な影響及び寄与を予測することは困難であった。

4　毒性試験

反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験及び光毒性試験を含む包括的な毒性試験を実施し、ダニコパンの非臨床毒性プロファイルを明らかにした。これらのデータの要約を以下に示す。各試験の詳細をモジュール 2.6.6 及び 2.6.7 に示す。

4.1　単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施しなかった。野生型 RasH2 マウス（ACH-17-107 試験）、WH ラット（ACH-15-071 試験）、イヌ（ACH-15-073 試験）を用いた反復投与毒性試験における初回投与時の一般状態では、ダニコパンに関連する変化はみられなかった。これらの動物種における概略の致死量は、1000 mg/kg を上回る量と考えられた。

4.2　反復投与毒性試験

4.2.1　マウスの 1 ヵ月間試験（GLP 適用、ACH-17-107 試験）

雌雄の野生型 rasH2 マウスを用いた 1 ヵ月間用量設定試験では、トランスジェニックマウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験の用量を設定するために、ダニコパンを 0、250、500、750 及び 1000 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回強制経口投与した。本試験では、ダニコパンに関連する毒性は認められなかった。これらの結果に基づき、無毒性量（NOAEL）は 1000 mg/kg/日と判断された。NOAEL におけるダニコパンの C_{max} は雄で 33,000 ng/mL、雌で 47,000 ng/mL であり、$AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 514,000 ng•h/mL、雌で 725,000 ng•h/mL であった。

4.2.2　ラットの 14 日間試験（GLP 非適用、ACH-15-041 試験）

雄 WH ラットに 0、100、200 及び 700 mg/kg/日（0、50、100 及び 350 mg/kg、1 日 2 回投与）の用量で 14 日間強制経口投与した。NOAEL は 700 mg/kg/日であり、Day 14 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、それぞれ 17,400 ng/mL 及び 186,000 ng•h/mL であった。

4.2.3　ラットの 1 ヵ月間試験（GLP 適用、ACH-15-071 試験）

雌雄 WH ラットに 0、200、500 及び 1000 mg/kg/日（0、100、250 及び 500 mg/kg、1 日 2 回投与）の用量で 1 ヵ月間経口投与し、その後 14 日間の休薬期間を設定した。ダニコパンの WH ラットに対する忍容性は良好であった。NOAEL は 1000 mg/kg/日であり、Day 28 の C_{max} は雄及び雌で、それぞれ 16,900 及び 22,400 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ は、それぞれ 183,000 及び 273,000 ng•h/mL であった。

4.2.4　ラットの 3 ヵ月間試験（GLP 適用、ACH-16-002 試験）

雌雄 WH ラットに 0、200、500 及び 1000 mg/kg/日（0、100、250 及び 500 mg/kg、1 日 2 回投与）の用量で 3 ヵ月間経口投与したところ、忍容性は良好であった。副腎、肝臓及び甲状腺に毒性ではない変化がみられ、代謝酵素産生の増加に対する適応反応と考えられた。いずれの用量でも毒性変化がみられなかったことから、NOAEL は 1000 mg/kg/日（C_{max}：雄 14,900 ng/mL、雌 27,800 ng/mL；$AUC_{0\text{-}24}$：雄 147,000 ng•h/mL、雌 279,000 ng•h/mL）と考えられた。

4.2.5　ラットの 6 ヵ月間試験（GLP 適用、ACH-16-020 試験）

雌雄 WH ラットに 0、200、500 及び 1000 mg/kg/日（0、100、250 及び 500 mg/kg、1 日 2 回投

与）の用量で 6 ヵ月間経口投与したところ、忍容性は良好であった。病理組織学的検査では、肝臓、甲状腺及び副腎にダニコパンに関連する変化がみられた。肝細胞の小葉中心性肥大はすべての用量の雌雄に、肝細胞及び/又はクッパー細胞の細胞質顆粒、肝細胞の好塩基性変化がすべて用量の雌に、肝細胞の単細胞壊死が 500 mg/kg/日の雌 2 例にみられた。また、すべての用量の雌雄で甲状腺濾胞細胞肥大、500 mg/kg/日の雌 1 例で甲状腺濾胞細胞腺腫、1000 mg/kg/日の雌雄の数例及び 200 mg/kg/日の雌 1 例で副腎皮質肥大、1000 mg/kg/日の雄で副腎皮質空胞化がみられた。これらの変化は、ラットの 1 ヵ月間及び 3 ヵ月間試験でもみられた。肝臓及び甲状腺の肥大は、げっ歯類特異的な代謝酵素産生亢進に対する適応反応であると考えられ、毒性ではないと考えられた。副腎の変化は、みられた変化が軽微から軽度であったことから、毒性ではないと考えられた。本試験の NOAEL は 1000 mg/kg/日（C_{max}：雄 23,600 ng/mL、雌 33,500 ng/mL；AUC_{0-24}：雄 193,000 ng•h/mL、雌 346,000 ng•h/mL）と考えられた。

4.2.6　イヌの 5 日間試験（GLP 非適用、ACH-15-056 試験）

雌ビーグル犬を用いた 2 相（フェーズ A 及びフェーズ B）の用量漸増/5 日間忍容性試験において、フェーズ A では、最初にダニコパンを 0、50、250、750 mg/kg/日（375 mg/kg の 1 日 2 回投与）と用量を各用量間に 3 日間の休薬期間を設け漸増した。フェーズ B では、別の未投与イヌに 0 及び 750 mg/kg/日（375 mg/kg、1 日 2 回投与）の用量で、心機能への影響を評価するため体外ジャケット式テレメトリー（JET）を装着し 5 日間投与した。ダニコパンは、いずれの相においても 750 mg/kg/日まで良好な忍容性を示した。体重、心拍数及びトリグリセリドの軽微な変化は、その変化の性質が軽微であり、他の心電図パラメータ又は病理組織学的変化との相関がみられなかったことから、いずれも毒性ではないと考えられた。NOAEL である 750 mg/kg/日における Day 5 の C_{max} 及び AUC_{0-24} はそれぞれ 18,600 ng/mL 及び 169,000 ng•h/mL であった。

4.2.7　イヌの 14 日間試験（GLP 適用、ACH-15-073 試験）

雌雄ビーグル犬にダニコパンを 0、100、500 及び 1000 mg/kg/日の用量（0、50、250 及び 500 mg/kg、1 日 2 回投与）で 14 日間経口投与し、その後 14 日間の休薬期間を設けた。その結果、いずれの用量でも毒性変化はみられなかったことから、NOAEL は 1000 mg/kg/日と判断された。この用量における C_{max} 及び AUC_{0-24} は、それぞれ 23,100 ng/mL 及び 274,500 ng•h/mL であった。

4.2.8　イヌの 3 ヵ月間試験（GLP 適用、ACH-15-160 試験）

雌雄ビーグル犬にダニコパンを 0、100、250、500 及び 1000 mg/kg/日の用量（0、50、125、250 及び 500 mg/kg、1 日 2 回投与）で 3 ヵ月間経口投与した結果、NOAEL は 100 mg/kg/日であり、その際の Week 13 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、それぞれ 7,290 ng/mL 及び 56,900 ng•h/mL であった。胆汁うっ滞性肝障害のため、250 mg/kg/日以上の用量では忍容性はみられなかった。黄疸、体重減少及び重度の摂餌量減少がみられたため、1000 mg/kg/日の 3 例を投与終了前に安楽死した。忍容性がみられなかった用量における肝障害を示唆する変化として、γ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT）、アルカリホスファターゼ（ALP）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）及び総ビリルビン（TBIL）の顕著な増加と、それらに伴う病理組織学的変化（主に小葉中心性の肝細胞及び毛細胆管内胆管における色素沈着、門脈域における軽微から軽度の混合性細胞浸潤を伴う中等度の胆管過形成/肥大、類洞における多核細胞の形成を伴うクッパー細胞の肥大）がみられた。

4.2.9　イヌの 3 ヵ月間試験（第 2 試験、GLP 適用、ACH-16-038 試験）

最初のイヌの 3 ヵ月間試験でみられた肝臓所見の特徴を明らかにし、NOAEL を決定するために、雌雄ビーグル犬にダニコパンを 150 及び 250 mg/kg/日の用量（75 及び 125 mg/kg、1 日 2 回投与）で 3 ヵ月間反復経口投与した。いずれの用量でも肝障害を示唆する変化がみられたが、250 mg/kg/日群の 1 例では重症度はより高く、投与終了前に安楽死した。みられた肝臓の変化は、黄疸及び ALT、GGT、ALP、AST 並びに総/直接/間接ビリルビンの増加であり、一部の動物では Day 12 又は Day 14 からみられた。ダニコパンに関連した病理所見として、ほとんどの器官の微黄色化及び肝臓の病理組織学的所見（門脈の慢性混合細胞浸潤を伴う中等度の胆管肥大/過形成及びクッパー細胞における中等度の色素沈着など）がみられた。また、250 mg/kg/日では骨髄造血細胞密度の軽微な増加がみられた。NOAEL は、肝臓の病理組織学的変化が軽度であったこと、肝酵素上昇が一過性であったこと、これらの変化によるイヌの健康状態への有害な影響がみられなかったことから 150 mg/kg/日と考えられた。この用量における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は雌でそれぞれ、12,700 ng/mL 及び 81,200 ng•h/mL、雄で 12,600 ng/mL 及び 70,900 ng•h/mL であった。

4.2.10　イヌの 9 ヵ月試験（GLP 適用、ACH-16-057 試験）

雌雄ビーグル犬にダニコパンを 0、35、75 及び 150 mg/kg/日の用量（0、17.5、37.5 及び 75 mg/kg、1 日 2 回投与）で 9 ヵ月間反復経口投与した。Day 1、Day 91 及び Day 273 の少なくとも投与後 3～4 時間にわたり血清中の補体第二経路活性が急速かつ完全に阻害され（EC_{50} = 385 ng/mL；663 nmol/L）、投与後 6～12 時間までに部分的又は完全に回復した。血漿中 C3 濃度は Day 1 では比較的変化しなかったが、Day 91 及び Day 273 までに約 50%増加し、最終投与後 5.5 日までに投与前の濃度に回復した。150 mg/kg/日では胆汁うっ滞性肝障害のため忍容性はみられず、安楽死例もみられた。炎症（好中球数、単球数、フィブリノゲン及びグロブリンの増加、アルブミン濃度の低下）、ストレス（リンパ球減少）、脱水（赤血球系パラメータ、尿素及びクレアチニンの増加）及び肝障害（AST、ALT、ALP、GGT 活性、TBIL、直接ビリルビン及び間接ビリルビン濃度の増加）を示唆するダニコパンに関連した病理組織学的変化として、胆管肥大/過形成、クッパー細胞及び肝細胞の色素沈着、胸腺のストレス関連リンパ球枯渇及び/又は副腎皮質肥大がみられた。主試験の動物にみられたこれらのダニコパンに関連した臨床検査及び病理組織学的変化は、13 週間の休薬期間終了時にはみられなかったことから、完全に回復したと考えられた。以上の結果から、本試験の NOAEL は 75 mg/kg/日と考えられた。この用量における C_{max} は雄で 6,400 ng/mL、雌で 8,330 ng/mL であり、$AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 48,100 ng•h/mL、雌で 51,000 ng•h/mL であった。

4.3　遺伝毒性試験

In vitro 試験として Ames 試験（ACH-15-078 試験）及びヒト末梢血リンパ球（HPBL）を用いた小核試験（ACH-15-077 試験）及び in vivo 試験として雌雄 WH ラットを用いた 1 ヵ月間小核試験（ACH-15-071 試験）において、ダニコパンの遺伝毒性を評価した。これらの GLP 適用試験において、ダニコパンは遺伝毒性を示さなかった。

4.4　がん原性試験

ヘミ接合型 TgRasH2 マウス（25 例/性/群）にダニコパンを 0、250、750 及び 1500 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 6 ヵ月間反復経口投与し、GLP 適用のダニコパンのがん原性を評価した（ACH-17-

164 試験)。ダニコパンのトキシコキネティクスを野生型 RasH2 マウスを用いて測定した。本試験の用量は、前述の RasH2 野生型マウス（ACH-17-107 試験）を用いた 28 日間 DRF 試験の結果及び FDA のがん原性評価委員会（CAC）の推奨に基づき選択した。その結果、ダニコパンは 1500 mg/kg/日までがん原性を示さなかった。Day 182 における 1500 mg/kg/日の C_{max} は雄で 26,800 ng/mL、雌で 55,700 ng/mL であり、AUC_{0-24} は雄で 402,000 ng•h/mL、雌で 810,000 ng•h/mL であった。

また、WH ラット（50 例/性/群）にダニコパンを 0、5、50 及び 500 mg/kg/日の用量（0、2.5、25 及び 250 mg/kg、1 日 2 回投与）で 2 年間反復経口投与し、ダニコパンのがん原性及びトキシコキネティクスプロファイルを評価した（GLP 適用、ACH-17-158 試験)。対照群（50 例/性/群）に水又は溶媒（PEG400:Kolliphor HS15、90:10［w:w］）を投与した。本試験の用量は、WH ラットを用いた 1 ヵ月間（ACH-15-071 試験)、3 ヵ月間（ACH-16-002 試験）及び 6 ヵ月間（ACH-16-020 試験）の結果に基づき、FDA の CAC と協議し選択した。一般状態の変化又は触診による腫瘤観察、体重、摂餌量、腫瘍性及び非腫瘍性病変に対してダニコパンに関連した影響は認められなかった。溶媒及びダニコパン群に含まれる PEG400 の経口投与は低い生存率と関連しており、これは胃逆流及びその後の強制経口投与中に一般的に発生する気道病変に関連している可能性が高いと考えられた。WH ラットに最高 500 mg/kg/日までの用量で 2 年間ダニコパンを投与したところ、がん原性はみられなかった。500 mg/kg/日における Day 181 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雄でそれぞれ 16,700 ng/mL 及び 158,000 ng•h/mL、雌で 22,400 ng/mL 及び 239,000 ng•h/mL であった。

4.5 生殖発生毒性試験

4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

雌雄 NZW ウサギを用いて、0、125、250 及び 500 mg/kg/日の用量で、交配 14 日前から妊娠 7 日（雌）まで、並びに交配期間中から剖検前日まで（雄：56~58 回投与)、生殖過程に及ぼすダニコパンの経口投与による影響を検討した（GLP 適用、ACH-16-006 試験)。高用量では体重減少及び体重増加量の減少により死亡及び/又は瀕死状態が認められたことから、一般毒性の NOAEL は雄で 125 mg/kg/日、雌で 250 mg/kg/日と考えられた。500 mg/kg/日における雌雄の生殖能の低下（忍容性の低下による二次的変化と考えられる）に基づき、雌雄の受胎能に関する NOAEL は 250 mg/kg/日と考えられた。いずれの用量でも子宮内生存率に対するダニコパンに関連した変化はみられなかった。したがって、初期胚に対する NOAEL は検討した最高用量である 500 mg/kg/日と考えられた。

4.5.2 胚・胎児発生に関する試験

交配雌 WH ラットを用いた試験では、ダニコパンを 0、200、500 及び 1000 mg/kg/日の用量（0、100、250 及び 500 mg/kg、1 日 2 回投与）で妊娠 6 日から 17 日まで経口投与した（GLP 適用、ACH-16-050 試験)。母動物に関する NOAEL は、母動物に有害な影響がみられなかったことから 1000 mg/kg/日と考えられた。胎児に関する NOAEL は、1000 mg/kg/日で胎児体重の軽微な減少（最大 8%）がみられたことから、500 mg/kg/日と考えられた。500 及び 1000 mg/kg/日における妊娠 17 日の C_{max} はそれぞれ 23,400 及び 24,600 ng/mL であり、AUC_{0-24} はそれぞれ 259,000 及び 292,000 ng•h/mL であった。

交配雌 NZW ウサギを用いた試験では、ダニコパンを 0、200、500 及び 1000 mg/kg/日の用量で妊娠 7 日から 20 日まで 1 日 1 回経口投与した（GLP 適用、ACH-15-163 試験)。1000 mg/kg/日で

母動物及び胎児の体重減少並びに母動物の体重増加量及び摂餌量の減少による流産がみられたことから、母動物及び胎児に対する NOAEL は 500 mg/kg/日と考えられた。妊娠 20 日の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、500 mg/kg/日でそれぞれ 12,500 ng/mL 及び 184,000 ng•h/mL であった。

4.5.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

交配雌 NZW ウサギに、ダニコパンを 0、50、125 及び 250 mg/kg/日の用量で、妊娠 7 日から授乳 41 日まで 1 日 1 回経口投与した（GLP 適用、ACH-16-007 試験）。すべての用量において、いずれの評価パラメータにも有害作用がみられなかったことから、母動物の一般毒性、F1 出生児の発生毒性、F1 親動物の一般毒性及び F1 生殖/初期胚毒性に対する NOAEL は、いずれも 250 mg/kg/日と考えられた。

NZW ウサギを用いたダニコパンの予備的な胎盤/乳汁移行性試験（ACH-19-013 試験）について 3.2 項を参照。

4.5.4 幼若動物を用いた毒性試験

4 週齢の幼若イヌに、100、250、500、750 又は 1000 mg/kg/日の用量で約 2 週間（生後 26/30~41 日）経口投与した忍容性試験及び 250/100、500 又は 1000 mg/kg/日の用量で約 8 週間にわたって経口投与した用量設定試験を実施した（GLP 非適用、ACH-17-153 試験）。忍容性試験では、いずれの用量でも死亡及び毒性所見はみられなかった。用量設定試験では、500 mg/kg/日で肝障害により投与終了前に動物を安楽死した。ダニコパンに関連した臨床検査パラメータの変化として、1000 mg/kg/日及び 500 mg/kg の 1 日 2 回投与（500 mg/kg bid）の雌で網状赤血球数の軽度から中等度の減少、1000 mg/kg/日及び 500 mg/kg bid（雌のみ）で AST、ALT、ALP、GGT 及び TBIL の軽度から高度な増加がみられた。500 mg/kg/日以上でダニコパンに関連してみられた病理組織学的変化は、軽微から中等度の胆管肥大/過形成であり、ほとんどは軽微から軽度の門脈域の混合性細胞浸潤を伴い、肝細胞障害が示唆される変化を伴わない胆管上皮の軽微な急性変性・壊死が散見された。これらの結果からその後の幼若イヌを用いた試験の高用量として 250 mg/kg/日が推奨された。幼若イヌでみられたダニコパンに関連する変化については、イヌを用いた反復投与毒性試験（4.2 項）でみられたものと類似していた。

4.6 局所刺激性試験

ラット、イヌ、ウサギ及びマウスを用いて実施した毒性試験（4.2、4.4 及び 4.5 項）において、いずれの動物種においても、ダニコパンに関連した特記すべき局所刺激性はみられなかった。

4.7 その他の毒性試験

ダニコパンの抗原性試験、免疫毒性試験、依存性試験及び代謝物に関する試験は、懸念される影響がみられなかったことから実施しなかった。

4.7.1 不純物に関する試験

ダニコパンの原薬中に潜在的に含まれる可能性のある不純物である、　　*不純物A　　は、Ames 試験で陰性であった（ACH-19-020 試験）。

4.7.2 光毒性試験

In vitro 試験としてニュートラルレッド取り込み（NRU）アッセイ（GLP 適用、ACH-16-015 試験）及び in vivo 試験としてラットを用いた光毒性試験（GLP 適用、ACH-16-049 試験）を実施し、ダニコパンの光毒性を評価した。

NRU アッセイ（ACH-16-015 試験）において、培地中の溶解限界（3.17 μg/mL）以上の濃度で、ダニコパンの光毒性が示唆された。

NRU アッセイの結果をうけ、ラットを用いた光毒性試験を実施した（ACH-16-049 試験）。有色 LE ラットに、ダニコパンを 200、500 及び 1000 mg/kg/日（100、250 及び 500 mg/kg、1 日 2 回投与）の用量で、3 日間反復経口投与し、紫外線 B、紫外線 A 及びキセノンランプからの可視光を照射した。対照群（溶媒、PEG400:Kolliphor HS15［90:10、w:w］）及びダニコパン投与のいずれの用量においてもラットの有色部位及び非有色部位に光毒性を示唆する皮膚反応はみられなかった。また、眼の光毒性を示唆するダニコパンに関連した肉眼所見及び病理組織学的変化もみられなかった。有色ラットを用いた in vivo 光毒性試験の陰性結果に基づくと、ダニコパンは皮膚又は眼の光毒性を示さないと考えられた。

5 総括及び結論

ダニコパンの薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験を実施した。以下に重要な所見の要約を示す。

5.1 薬理試験

5.1.1 効力を裏付ける試験

5.1.1.1 In vitro 試験

- ダニコパンは補体 D 因子活性部位に可逆的かつ高親和性に結合し、天然基質 C3bB を用いた酵素アッセイにおいて補体 D 因子を阻害する。
- ダニコパンはヒト血清中の補体第二経路活性を阻害することが、溶血アッセイ及び Wieslab アッセイにより示された。ダニコパンは「無希釈血清」で実施した改変アッセイにおいても補体第二経路活性を阻害し、非臨床試験及び臨床試験で用いた ex vivo アッセイと in vitro での相関性が示された。
- ダニコパンは補体第二経路活性に選択的であり、対応する機能アッセイにおいて古典経路及びレクチン経路活性を直接阻害しないが、古典経路及びレクチン経路を介して開始される補体第二経路を介した補体活性の増幅を阻害すると考えられる。
- ダニコパンは、健康なヒトドナーから得られた血清パネルにおいて効力を保持していたことが示された。さらに、ヒト PNH 患者由来の検体を用いたアッセイにおいて、ダニコパンは補体第二経路活性化後の溶血から赤血球を保護し、補体第二経路調節不全の非典型溶血性尿毒症症候群患者の血清において細胞溶解活性を抑制した。
- 終末補体反応の阻害に加えて、ダニコパンは C3 フラグメントによる標的細胞のオプソニン化を用量依存的に阻害した。したがって、ダニコパンは、エクリズマブ又はラブリズマブの投与を受けている一部の PNH 患者で認められる EVH の根底にある補体依存性プロセスを阻害する。

5.1.1.2 In vivo 試験

- カニクイザル、イヌ及び程度は低いがウサギを含む非臨床試験に使用した動物種の血清では、ダニコパンは in vitro で活性を示したが、ラット及びマウスでは活性を示さなかった。ビーグル犬を用いた GLP 適用の反復投与毒性試験を含む複数の非臨床試験で使用した動物種及びウサギを用いた GLP 適用の胚/胎児発生に関する試験の母動物から得られたサンプルにおいて、経口投与後の ex vivo アッセイで薬理活性が認められた。

5.1.2 副次的薬理試験

- In vitro オフターゲット活性実験の結果から、ダニコパンの細胞毒性は限定的で、ミトコンドリア毒性のリスクは低く、骨髄前駆細胞増殖に対する作用は最小であることが示された。

- ダニコパンは非特異的セリンプロテアーゼのパネルに対して不活性であったことから、ダニコパンの補体 D 因子触媒部位に対する選択性が確認され、非特異的プロテアーゼ阻害によるオフターゲット作用のリスクが低いことが示唆された。
- 受容体、イオンチャネル及びトランスポーターの広範なパネルに対して、ダニコパンはヒト A_1 及び A_3 受容体に対して阻害作用を示し、また、ヒト及びイヌの MT_1 受容体に高親和性のリガンドであり、ヒト MT_1 に対して強力なアンタゴニスト活性を示した。ラット及びイヌを用いた毒性試験で示されたように、MT_1 受容体拮抗作用は CNS に影響を及ぼさない。
- 2 つの安全性パネルを用いて評価したところ、ダニコパンは 12 種類の心臓イオンチャネルのうち $hCa_v1.2$ カルシウムチャネルのみを阻害し、44 種類の薬物乱用に関連する受容体に対して有意な作用を示さなかった。
- ダニコパンはヒト、イヌ及びラットの肝細胞における BSEP を阻害した。また、MDR3、UGT1A1 及び UGT2B7 並びに FXR など、ヒト組織から得られる可能性がある肝胆道系の標的を阻害した。
- ダニコパンの 4 種類の代謝物の補体第二経路阻害を溶血アッセイにより検討したところ、血清中の補体第二経路に対する阻害活性はほとんど又は全くなかった。ダニコパンの代謝物は、細胞毒性（2 種類の代謝物を評価）及びミトコンドリア毒性（4 種類の代謝物を評価）の可能性もほとんど示さなかった。アミド加水分解及び/又はカルボニル還元の生成物であるこれらの化合物は、in vitro 及び in vivo の非臨床試験で使用した動物種及びヒトにおける最も顕著な代謝物であった。
- 大腸菌及び髄膜炎菌（*N meningitidis*）を用いた in vitro 試験において、ダニコパンは細菌感染を引き起こすリスクが低いことが示唆された。髄膜炎菌の複数の分離株を用いたところ、対照薬の C3 阻害剤及び C5 阻害剤と比較して、ダニコパンの全血及び血清による殺作用の阻害は低く、特にワクチン接種後の感染リスクが低いことが示唆された。

5.1.3 安全性薬理試験

- In vitro ヒト hERG アッセイにおける QT 延長の評価（安全域は約 117 倍）、並びに心臓イオンチャネルの阻害が限定的であること、収縮期血圧、拡張期血圧及び脈圧、テレメトリーを装着したビーグル犬を用いた GLP 適用の心血管系安全性薬理試験において心電図波形及び心電図パラメータ（PR、QRS、QT、及び QTc）に影響がなく、ダニコパンは潜在的な心血管リスクを示さなかった。
- ビーグル犬を用いた安全性薬理評価の結果、最高用量（C_{max}=23,100 ng/mL=40 µmol/L）でも呼吸系及び CNS に対する有害作用はみられなかった。

5.1.4 薬力学的薬物相互作用

- In vitro において、ダニコパンと他の補体阻害剤との間で拮抗的相互作用は認められなかったことから、ダニコパンを他の補体阻害剤（エクリズマブ及びラブリズマブを含む）と併用することの妥当性が裏付けられた。
- C5 阻害剤との中等度から強力な相乗的相互作用がみられ、強力な拮抗的相互作用はみられなかった（Chou and Talalay, 1983; Prichard and Shipman, 1990）。

5.2 薬物動態試験

- ダニコパンは Caco-2 細胞単層膜で高膜透過性（Papp from apical to basolateral：8.85×10^{-6} cm/s）であり、efflux ratio が 4.08 であり、P-gp の弱い基質であるが、BCRP の基質である可能性は低かった。
- ダニコパンの PK を雄ラット、雄イヌ及び雄サルで検討した。ダニコパンの in vivo クリアランスは中から高度（17.5～31.7 mL/min/kg）であり、定常状態の分布容積は中程度（0.595～1.80 L/kg）であり、消失半減期は短く（静脈内投与：0.775～1.51 h、経口投与：1.62～3.38 h）、経口バイオアベイラビリティは中程度（15.8%～38.7%）であった。PK の雌雄差がラットの放射性標識体を用いた試験で認められた。高い経口吸収性がラット及びイヌの放射性標識体を用いた試験で認められ、[^{14}C]-ダニコパンを投与したときの経口吸収率はラットで 79%～95%、イヌで 79%～83%と見積もられた。経口投与でのバイオアベイラビリティはラットで 66%～80%、イヌで 51%であった。
- タンパク結合はすべての種で中程度に高く、血漿中非結合型分率はマウスで 6.4%～7.4%、ラットで 11.5%～13.0%、ウサギで 8.6%～11.6%、イヌで 10.6%～21.1%、サルで 3.5%～5.7%、及びヒトで 5.7%～8.7%であった。HSA が主にヒト血漿中でのタンパク結合に寄与している可能性が高い。ダニコパンの血球への分配は中程度であり、すべての種で血漿中濃度と比較して血液中濃度が低かった。
- [^{14}C]-ダニコパン由来放射能は単回経口又は静脈内投与したとき、有色及びアルビノラットの組織に広く分布した。[^{14}C]-ダニコパン由来放射能はほとんどの組織で投与後 8 時間まで存在し、ほとんどの組織の放射能濃度はすべての時点で血液中濃度と同程度か、高かった。有色眼組織（ブドウ膜）及び有色皮膚への分布傾向から[^{14}C]-ダニコパン由来放射能が有色 LE ラットでメラニン含有組織に選択的に結合することが示唆された。分布試験の結果から[^{14}C]-ダニコパン 300 µCi（11.1 MBq）の単回経口投与は、FDA 及び ICRP のガイドラインに照らして男性被験者に重大な放射能被曝リスクを生じないと予測された。
- In vitro 結合試験によりダニコパンがメラニンに結合することが示されたが、陽性対照のクロロキンと比較して親和性は低かった。ダニコパンを有色 DB ウサギ及び NZW ウサギに経口投与した試験により、ダニコパンが速やかに血液網膜関門を透過し、DB ウサギで脈絡膜の網膜色素上皮のようなメラニン含有組織で濃度が高いこと

が示され、in vitro でのメラニン結合試験の結果と一致した。さらに、DB ウサギでは反復投与により神経網膜でダニコパンの曝露が増加した。これは、DB ウサギでダニコパンが脈絡膜の網膜色素上皮のメラニンに緩やかに結合することにより貯留し、神経網膜中のダニコパンレベルを継続的に保持している可能性が高かった。

- NZW ウサギでの胎盤／乳汁移行性試験により、胎盤期 GD 19 のすべての母動物及び胎児血漿でダニコパンの曝露が認められた。LD 9 及び 10 のすべての母動物の血漿及び乳汁中でダニコパンが定量可能であったが、分娩後 Day 9 の乳児は 50 mg/kg/日でダニコパンに曝露されておらず、250 mg/kg/日では一部の乳児が曝露された。

- ダニコパンの代謝安定性の結果から in vivo クリアランスのほとんどが肝代謝クリアランスによるものであることが示唆された。アルデヒドオキシダーゼ 1（AOX1）がダニコパンからヒト血漿中主要代謝物 ACH-0144709（M426）及び ACH-0144240（M173）への代謝に関与する可能性が示唆されたが、AOX1 非発現 HEK293 細胞でも ACH-0144709 が生成し、AOX1 ではなく HEK293 細胞に内在的に存在する酵素によるものと考えられた。

- In vitro での代謝物プロファイルは、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝ミクロソーム、肝サイトゾル及び肝細胞、Aroclor で誘導したラット肝 S9、並びにマウス及びウサギ肝細胞で検討した。また、in vitro で認められた特定の代謝物がラット、イヌ及びサルの PK 試験で得られた血漿中に存在するかを確認した。酸化、還元及び加水分解代謝物がヒト及び動物の in vitro 試験で同定され、全体として、ヒト特異的な代謝物はなかった。肝細胞で最も主要な代謝経路は、マウスで一酸化（70.1%）であり、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトでアミドの加水分解（ラット：58.6%、ウサギ：86.2%、イヌ：84.8%及びヒト：83.7%）であり、サルではカルボニル基の還元及びカルボニル基の還元とアミドの加水分解の組合せ（84.1%）であった。酸化代謝はヒト肝細胞で非常にわずかであり、代謝全体の 0.8%のみであった。肝細胞での代謝全体に占める酸化代謝の合計は、マウスで 70.1%、ラットで 41.4%、ウサギで 12.1%、イヌで 15.2%及びサルで 1.61%であった。ダニコパンが in vitro のラット、イヌ及びヒト肝細胞で反応性代謝物を生成する可能性は低かった。

- [^{14}C]-ダニコパンをラットに単回経口又は静脈内投与したとき、ダニコパンは広範に代謝され、いくつかの代謝物が LC/MS/MS により推定された。全体として、ラットで in vivo と in vitro の代謝経路が一致し、in vivo で推定された代謝経路は、1）複数ヵ所への一酸化及び二酸化、2）ケトンの還元、3）アミドの加水分解、4）一酸化体（M596a）のグルクロン酸抱合、などであった。経口及び静脈内投与したときいずれも、血漿中で[^{14}C]-ダニコパンの未変化体が主要な循環血中放射能成分（おおむね、各時点での循環血中放射能の 70%超）であり、次いで M426 が主要な循環血中代謝物（各時点での循環血中放射能の 18%未満）であった。ダニコパンは経口及び静脈内投与したときいずれも、広範に代謝により消失し、未変化体は尿糞中に投与放射能の約 10～20%であった（尿には投与放射能の 0.72%未満）。主要な尿糞中代謝物はアミドの加水分解由来の M426 であり、雄ラットでは経口及び静脈内投与放射能のそれぞれ約 20%及び約 29%、雌ラットでは経口及び静脈内投与放射能のそれぞれ

約 39%及び約 45%であった。もう一つの主要代謝物は一酸化体の M596c であり、雄ラットでは経口及び静脈内投与放射能のそれぞれ約 22%及び約 32%であったが、雌ラットでは経口及び静脈内投与放射能の 4%未満であった。[^{14}C]-ダニコパンをイヌに単回経口又は静脈内投与したとき、ダニコパンは広範に代謝された。代謝物標品により同定するか、又は[^{14}C]-ダニコパンをイヌに単回経口又は静脈内投与したときの血漿、尿及び糞を LC/MS/MS 法で分析、推定し、ダニコパンの未変化体及び 8 種の代謝物を同定した。イヌでのダニコパンの主要代謝経路は、1）アミドの加水分解、2）アミドの加水分解及び一酸化、3）複数ヵ所での一酸化などであり、アミドの加水分解が主代謝経路であった。さらに、マイナーな代謝経路として、カルボニル基の還元、並びにアミドの加水分解及びカルボニル基の還元の組合せなどが存在した。

- ラット、イヌ及びヒトの in vivo 血漿中代謝物プロファイルの比較から、これらの種の代謝は類似しており、ヒトの主要代謝物すべてがラット及びイヌの非臨床安全性試験で確認され、ヒトに対する動物での相対曝露は大きいものであることが示された。したがって、ダニコパンの循環血中代謝物は非臨床安全性試験で評価されていた。

- ヒト肝細胞でダニコパンの CYP による代謝の寄与が低いことから、ダニコパンが CYP の基質として薬物相互作用を受ける可能性は低いことが示唆された。ダニコパンは高膜透過性で efflux ratio が低い P-gp の基質であるため、ダニコパンの経口投与時の曝露が消化管で P-gp による排出の影響を受ける可能性は低い。また、ダニコパンは BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではなかった。以上のことから、ダニコパンはこれらの薬物トランスポーターの阻害による薬物相互作用の影響を受ける可能性はないか、低いと考えられた。

- ダニコパンは、一連の CYP 分子種を阻害し、IC_{50} は 30 µmol/L 超（CYP1A2）、13 µmol/L（CYP2B6）、25 µmol/L（CYP2C8）、20 µmol/L（CYP2C9）、11 µmol/L（CYP2C19）、22 µmol/L（CYP2D6）、及び 14～16 µmol/L（CYP3A［ミダゾラム及びテストステロン］）であった。いずれの分子種に対しても時間依存的阻害作用は認められなかった。ダニコパンは UGT を阻害し、IC_{50} は 0.81 µmol/L（UGT1A1）及び 0.82 µmol/L（UGT2B7）であった。ダニコパンは一連のトランスポーターを阻害し、IC_{50} は 5.72 µmol/L（BCRP）、3.96 µmol/L（P-gp）、27.4 µmol/L（OCT2）、10.8 µmol/L（OATP1B1）、19.9 µmol/L（MATE1）、11.6 µmol/L（MATE2-K）及び 23.9 µmol/L（BSEP）であった。有機アニオントランスポーター（OAT）3、OATP1B3 及び MRP2 に対する IC_{50} は 30 µmol/L 超であった。ダニコパンは OAT1 を阻害しなかった。ダニコパンは CYP2C8 及び CYP3A4 を中程度誘導したが、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP2C9 は誘導しなかった。相対誘導スコアにより予測した臨床での予測 C_{max} でのミダゾラムの AUC の減少は 15%と予測され、臨床的に意義のある CYP3A4 誘導のリスクはないか、低いことが示唆された。In vitro でのヒト代謝酵素及び薬物トランスポーターに対する阻害並びに治療域での曝露と用量から臨床での薬物相互作用評価の必要性を検討した。

- イヌで肝胆汁性胆汁うっ滞が認められたため、ダニコパン及び特定の代謝物の胆汁酸の排泄動態に関与するトランスポーター／標的との相互作用を検討した。全体として、得られた結果から肝胆汁性胆汁うっ滞は複雑な性質を持っており、種々の in vitro 試験系の限界が明らかになった。ダニコパンは評価した標的のいくつかと相互作用を示したが、個々の標的への相互作用がイヌで認められた肝胆汁性胆汁うっ滞に対してどの程度寄与しているか評価することは困難である。ダニコパンとは異なり、検討した代謝物は胆汁酸の排泄動態に関与するトランスポーター／標的と相互作用する可能性はないか、低いことが示された。

- [^{14}C]-ダニコパン由来放射能は、ラット及びイヌいずれも主に代謝物として糞中に排泄された。[^{14}C]-ダニコパン由来放射能の総回収率は、単回経口又は静脈内投与したとき、ラットでは 87.32%～97.80%であり、イヌでは 92.08%～97.31%であった。

5.3 毒性試験

- ダニコパンの薬力学的効果がみられたことに基づき、毒性試験及び生殖発生毒性試験に用いる主な非臨床動物種としてイヌ及びウサギを選択した（2.1 項参照）。イヌは非臨床毒性試験で最も感受性の高い動物種であった。14 日間以上の投与期間を用いた複数の反復投与毒性試験において、イヌの剖検及び病理組織学的検査から、ダニコパンに関連した肝胆汁性胆汁うっ滞がみられた。イヌの肝胆汁性胆汁うっ滞は、TBIL、ALT、AST、ALP 又は GGT の増加、並びに肝細胞及びクッパー細胞における色素沈着、胆管上皮の肥大/過形成を特徴とした。イヌの 9 ヵ月間反復経口投与毒性試験における NOAEL は 75 mg/kg/日であり、このときの C_{max} は 7,365 ng/mL、AUC_{0-24} は 49,550 ng•h/mL であった。イヌの NOAEL における AUC_{0-24} は、150 mg 及び 200 mg を 1 日 3 回投与した際のヒト AUC_{0-24} のそれぞれ約 6 倍及び約 5 倍であり、イヌの C_{max} は、それぞれ約 13 倍及び約 11 倍であった（ヒトの曝露量は ALXN2040-PNH-301 試験、PMX-0038 に基づく）。肝胆汁性胆汁うっ滞は、他の非臨床動物種ではみられなかった。

- げっ歯類では、ダニコパンの忍容性は良好であり、体重増加量の軽微な変化、血清コレステロールの増加、肝重量の増加、肝細胞肥大、TSH の増加、甲状腺濾胞細胞肥大を伴う T4 の減少などの毒性ではない変化がみられたのみであり、これらは CYP450 酵素誘導と一致している。ラットにおける 6 ヵ月間反復投与毒性試験の NOAEL は 1000 mg/kg/日であり、このときの C_{max} は 28,550 ng/mL、AUC_{0-24} は 269,500 ng•h/mL であった。ラットの NOAEL のおける AUC_{0-24} は、150 mg 及び 200 mg を 1 日 3 回投与した際のヒト AUC_{0-24} のそれぞれ約 32 倍及び約 26 倍であり、C_{max} は、それぞれ約 51 倍及び約 41 倍であった（ヒトでの曝露量は ALXN2040-PNH-301 試験、PMX-0038 に基づく）。

- ダニコパンは、WH ラット（500 mg/kg/日）及び TgRasH2 マウス（1500 mg/kg/日）で検討した最高用量までがん原性を示さなかった。

- ダニコパンのウサギ及びラットの受胎能、胚・胎児発生及び出生後の発生に関する試験において毒性学的に意義のある変化はみられなかった。
- ダニコパンは、細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）、HPBL を用いた in vitro 小核試験及びラットを用いた in vivo 小核試験において、遺伝毒性を示さなかった。
- ダニコパンはメラニンに結合するが（3.2 項参照）、有色 LE ラットを用いた in vivo 光毒性試験において光毒性は陰性であった。

5.4 結論

結論として、非臨床試験で得られたデータは、ダニコパンによる補体 D 因子の強力かつ選択的な阻害が、EVH の徴候又は症状を発現している成人 PNH 患者の治療に実行可能な治療アプローチであるという仮説を裏付けている。非臨床試験の結果は、2.6.6 項に詳述した安全域に基づき、PNH 患者の治療を目的として、C5 阻害剤と併用投与することにより、ダニコパンが治療的に適切な用量でヒトに安全に投与できることを裏付けている。

6 参考文献

Bektas M, Copley-Merriman C, Khan S, Sarda SP, Shammo JM. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: current treatments and unmet needs. J Manag Care Spec Pharm. 2020;26(12-b Suppl):S14-S20.

Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood. 2014;124(18):2804-2811.

Brodsky RA. Complement in hemolytic anemia. Blood. 2015;126(22):2459-2465.

Chou T-C, Talalay P. Analysis of combined drug effects: a new look at a very old problem. Trends Pharmacol Sci. 1983;4:450-454.

Harboe M, Ulvund G, Vien L, Fung M, Mollnes TE. The quantitative role of alternative pathway amplification in classical pathway induced terminal complement activation. Clin Exp Immunol. 2004;138(3):439-446.

Hill A, Rother RP, Arnold L, et al. Eculizumab prevents intravascular hemolysis in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and unmasks low-level extravascular hemolysis occurring through C3 opsonization. Haematologica. 2010;95(4):567-573.

McKinley CE, Richards SJ, Munir T, et al. Extravascular hemolysis due to C3-loading in patients with PNH treated with eculizumab: defining the clinical syndrome. Blood. 2017;130(Supplement 1):3471-3471.

Notaro R, Sica M. C3-mediated extravascular hemolysis in PNH on eculizumab: mechanism and clinical implications. Semin Hematol. 2018;55(3):130-135.

Prichard MN, Shipman C, Jr. A three-dimensional model to analyze drug-drug interactions. Antiviral Research. 1990;14(4-5):181-205.

Risitano AM, Marotta S, Ricci P, et al. Anti-complement Treatment for Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Time for Proximal Complement Inhibition? A Position Paper From the SAAWP of the EBMT. Front Immunol. 2019;10:1157.

Schreiber RD, Pangburn MK, Lesavre PH, Muller-Eberhard HJ. Initiation of the alternative pathway of complement: recognition of activators by bound C3b and assembly of the entire pathway from six isolated proteins. Proc Natl Acad Sci U S A. 1978;75(8):3948-3952.

Yuan X, Gavriilaki E, Thanassi JA, et al. Small-molecule factor D inhibitors selectively block the alternative pathway of complement in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and atypical hemolytic uremic syndrome. Haematologica. 2017;102(3):466-475.