目　次

目　次 2
表 一 覧 3
略号一覧 4
1 緒言 7
2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性 7
3 薬理試験 8
3.1 薬効を裏付ける試験 9
3.1.1 *In vitro* 薬理試験 9
3.1.2 *In vivo* 薬理試験 10
3.2 副次的薬理試験 11
3.3 安全性薬理試験 12
3.4 薬力学的薬物相互作用試験 14
4 薬物動態試験 14
4.1 分析法 14
4.2 吸収及びバイオアベイラビリティ 15
4.3 分布 15
4.4 妊娠及び授乳動物 16
4.5 代謝 16
4.6 排泄 18
4.7 薬物動態学的薬物間相互作用 18
4.8 トキシコキネティクス 19
5 毒性試験 20
5.1 単回投与毒性試験 21
5.2 反復投与毒性試験 21
5.3 遺伝毒性試験 24
5.4 がん原性試験 24
5.5 生殖発生毒性試験 25
5.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 25
5.5.2 胚・胎児発生に関する試験 26
5.5.3 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 27
5.5.4 幼若イヌを用いた毒性試験 27
5.5.5 生殖発生毒性試験全体の評価 28
5.6 曝露量の比較 28
5.7 局所刺激性試験 31
5.8 その他の毒性試験 31
5.8.1 光毒性試験 31

5.8.2 免疫毒性試験 32
5.8.3 毒性発現機序検討試験 32
5.8.4 依存性試験 34
5.8.5 代謝物の毒性試験 34
6 不純物及び分解物 34
7 安全性の総合評価 35
8 結論 38
9 参考文献 39

表 一 覧

Table 5-1 反復投与毒性試験一覧 21
Table 5-2 遺伝毒性試験一覧 24
Table 5-3 がん原性試験一覧 25
Table 5-4 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 26
Table 5-5 胚・胎児発生に関する試験 26
Table 5-6 出生前及び出生後の発生に関する試験 27
Table 5-7 幼若動物を用いた毒性試験 27
Table 5-8 毒性試験の無毒性量／最小毒性量における総曝露量と臨床用量におけるヒト曝露量との比較 29
Table 5-9 毒性試験の無毒性量／最小毒性量における非結合型曝露量と臨床用量におけるヒト曝露量との比較 30

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収・分布・代謝・排泄
aHUS	atypical hemolytic uremic syndrome	非典型溶血性尿毒症症候群
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT（GPT）	alanine aminotransferase（glutamic pyruvate transaminase）	アラニンアミノトランスフェラーゼ（グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ）
AP	alternative complement pathway	補体第二経路
AR	androgen receptor	アンドロゲン受容体
AST（GOT）	apartate aminotransferase（gutamic oxaloacetic tansaminase）	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ）
AUC	area under the drug plasma concentration-time curve	血漿中薬物濃度-時間曲線下面積
Ba, Bb	fragment of factor B	-
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白質
b.i.d.	twice daily (from Latin：‘bis in die’)	1 日 2 回
BSEP	bile salt export pump	-
C3	complement component 3	補体成分 3
C3a, C3b, C3d, iC3b	fragment of C3	-
C3bBb	C3 convertase	C3 転換酵素
C3G	C3 glomerulopathy	C3 腎症
C3Nef	C3 nephritic factor	-
C5	complement component 5	補体成分 5
C5a	fragment of C5	-
C6	complement component 6	補体成分 6
C7	complement component 7	補体成分 7
C8	complement component 8	補体成分 8
C9	complement component 9	補体成分 9
Cb	concentration in blood	血液中濃度
CD	cluster of differentiation	分化抗原群
CK	creatine kinase	クレアチニンキナーゼ
CM	cardiomyocyte	心筋細胞
Cmax	maximal drug plasma concentration	最高血漿中薬物濃度
CP	classical complement pathway	補体古典経路
Cp	concentration in plasma	血漿中濃度
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DNP	dinitrophenyl	ジニトロフェニル
DRF	dose range finding	用量設定
EC50	50% effective concentration	50%有効濃度
EFD	embryo-fetal development	胚・胎児発生

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
FB	complement factor B	補体 B 因子
FD	complement factor D	補体 D 因子
fu	fraction unbound in plasma	血漿中非結合画分
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	ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子
Hib	*Haemophilus influenzae* type b	インフルエンザ菌 b 型
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IC50, IC90	50% or 90% inhibitory concentration	50%又は 90%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
Ki	inhibition constant (reversible inhibition)	阻害定数（可逆的阻害）
KI	inhibition constant (time-dependent inhibition)	阻害定数（時間依存的阻害）
kinact	maximum inactivation rate constatnt	最大不活性化速度定数
KLH	keyhole limpet hemocyanin	キーホールリンペットヘモシアニン
KO	knock-out	ノックアウト
LC-MS	liquid chromatography-mass spectrometry	液体クロマトグラフィー質量分析
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
LOAEL	lowest observed adverse effect level	最小毒性量
LP	lectin complement pathway	補体レクチン経路
LPS	lipopolysaccharide	リポ多糖
MAC	membrane attack complex (C5b-9)	膜侵襲複合体（C5b-9）
MATE	multidrug and toxin extrusion	-
MPGN	membranoproliferative glomerulonephritis	膜性増殖性糸球体腎炎
MRP	multidrug resistance associated protein	多剤耐性関連蛋白質
mTOR	mammalian target of rapamycin	哺乳類ラパマイシン標的タンパク質
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオントランスポーターポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
Papp	apparent permeability	見かけの透過係数
P-BFU	progenitor cell burst forming unit	赤血球前駆細胞バースト形成細胞
P-GM	progenitor granulocyte and macrophage	顆粒球・マクロファージ前駆細胞
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白
PD	pharmacodynamics	薬力学
PIF	photo irritation factor	光毒性係数
PIGA	phosphatidylinositol glycan class A	ホスファチジルイノシトールグリカンクラス A

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
PK	pharmacokinetics	薬物動態（学）
PNH	paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	発作性夜間ヘモグロビン尿症
(Q)SAR	(quantitative) structure-activity relationship	（定量的）構造活性相関
QTc	QT interval corrected for heart rate	心拍数補正 QT 間隔
QWBA	quantitative whole body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
SC-GEMM	stem cell- granulocyte, erythroid, macrophage, megakaryocyte	顆粒球・赤血球・マクロファージ・巨核球系幹細胞
SLC	solute-carrier	溶質輸送体
SRBC	sheep red blood cell	ヒツジ赤血球
T1/2	elimination half-life	消失半減期
T3	triiodothyronine	トリヨードサイロニン
T4	thyroxine	サイロキシン
TDAR	T-cell dependent antibody response	T 細胞依存性抗体産生試験
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
Tmax	time to reach the maximum drug plasma concentration following drug administration	最高血漿中薬物濃度到達時間
TPO	thyroid peroxidase	甲状腺ペルオキシダーゼ
TR-FRET	time-resolved fluorescence resonance energy transfer	時間分解蛍光共鳴エネルギー移動
TRα	thyroid hormone receptor α	甲状腺ホルモン受容体 α
TRβ	thyroid hormone receptor β	甲状腺ホルモン受容体 β
TSH	thyroid stimulating hormone	甲状腺刺激ホルモン
UGT	uridine diphospho-glucuronosyltransferase	ウリジンジホスホ-グルクロノシルトランスフェラーゼ

1 緒言

イプタコパン（LNP023）は新規作用機序を持つ経口投与可能な低分子の補体阻害薬であり，強力かつ選択的に補体 B 因子（FB）を阻害する。LNP023 は発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）の適応取得を目的に開発された。

LNP023 の標的分子である FB は補体成分 3（C3）及び補体成分 5（C5）転換酵素の触媒作用に重要であり，補体第二経路（AP）の主要なプロテアーゼである。FB を阻害することにより C3 転換酵素が阻害され，C3 の増幅回路の活性化，C3 フラグメントによる細胞のオプソニン化，C5 転換酵素及び膜侵襲複合体（MAC）の形成，並びにカスケード反応に伴って生じるアナフィラトキシン C3a 及び C5a の生成が阻害される（Schubart et al. 2019）。LNP023 は古典経路（CP）及びレクチン経路（LP）のカスケード反応に直接影響しないため，LNP023 治療下においても CP 及び LP による生体防御機構は機能する。したがって，LNP023 は，CP 及び LP の生体防御機構を維持しながら，AP の制御異常によって生じる疾患に対して有用な治療薬になることが期待される。

PNH は，ホスファチジルイノシトールグリカンクラス A（*PIGA*）遺伝子の体細胞変異により，C3 転換酵素及び MAC 形成をそれぞれ制御する重要な補体制御因子 CD55［decay-accelerating factor（DAF）］及び CD59 の発現が細胞表面で欠損することで発症する（Mastellos et al. 2014, Lee et al. 2022, 特発性造血障害に関する調査研究班 2020）。CD55 及び CD59 はそれぞれ C3 転換酵素及び MAC 形成を制御することから，これらの制御因子の欠損により，PNH 患者の赤血球（PNH 型赤血球）は補体介在性の溶血（血管内溶血）が極めて生じやすい状態になり，血栓症の要因となる。抗 C5 抗体薬は MAC 形成を阻害することで血管内溶血を強力に抑制し，PNH 患者での血栓塞栓リスクを低減させ，死亡率を著明に低下させた。しかしながら，C5 阻害は C5 より上流の補体活性化を抑制しない。すなわち，C3 転換酵素が機能し，C3 の増幅回路が活性化して C3 フラグメント生成が増幅され，これによる PNH 型赤血球のオプソニン化が生じる。その結果，C5 阻害下では C3 フラグメントが蓄積した PNH 型赤血球が肝臓や脾臓において貪食作用を受けて血管外溶血が顕在化する。このため，多くの患者では，抗 C5 抗体薬投与下でも貧血が残存する。LNP023 は血管内溶血の抑制に加え，C3 フラグメントによる PNH 型赤血球のオプソニン化を抑制することから，PNH 患者にとって有用な治療薬になる可能性がある。

PNH 患者を対象とした臨床試験において，LNP023［200 mg，1 日 2 回（b.i.d.）］の経口投与により有効性及び安全性が確認されたことから，今回，その治療薬として承認申請を行った。

本概括評価では，LNP023 の薬理試験，薬物動態試験，及び毒性試験の結果から，非臨床における有効性及び安全性を総合的に評価し，以下に記載した。

2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性

LNP023 の非臨床試験（薬理試験，薬物動態試験，及び毒性試験）は，ノバルティス社及びノバルティス社と契約した受託研究機関の試験施設で実施した。なお，本書では特別に記載した場合を除き，LNP023 の用量及び濃度は遊離塩基に換算した値を示す。

LNP023 の効力を裏付ける試験として，*in vitro* 活性及び選択性，ヒト患者由来の生体試料を用いた細胞活性，並びに 3 種類の動物モデルを用いた *in vivo* 薬理作用の各試験を実施した。副次的薬理試験として，*in vitro* では標的外分子に対する選択性及び FB 阻害による莢膜形成細菌の殺菌作用への影響について検討し，*in vivo* では 2 種類のげっ歯類モデルを用いて T 細胞依存性 B 細胞応答に対する影響を検討した。安全性薬理試験として，中枢神経系，呼吸系，及び心血管系に対する影響を *in vitro* 及び *in vivo* で評価した。主要な試験は，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）並びに医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン S7A 及び S7B に準拠して実施した。

LNP023 の非臨床薬物動態（PK）は，反復投与毒性試験又はがん原性試験で用いた動物と同じ種（マウス，ラット，及びイヌ）での吸収・分布・代謝・排泄（ADME）試験にて評価した。検討したすべての動物種において経口及び静脈内の両投与経路で PK を評価し，吸収率及び／又は経口バイオアベイラビリティを算出した。さらに，ADME 試験により PK パラメータ，^{14}C-LNP023 由来放射能の組織分布，代謝経路及び代謝プロファイル，並びに排泄経路及び排泄率を評価した。反復投与毒性試験における安全性評価の一環として血漿試料用いて LNP023 のトキシコキネティクス（TK）を評価した。また，これらの *in vivo* 試験成績を裏付けるとともに薬物動態学的薬物間相互作用の可能性を評価するために，*in vitro* において血液／血漿分布，血漿蛋白結合，膜透過性，代謝，及び薬物間相互作用試験を実施した。

LNP023 の非臨床安全性評価を目的として，用量漸増投与試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験，幼若動物を用いた毒性試験，光毒性試験，及びその他の毒性試験（毒性発現機序検討試験）を実施した。主要な毒性試験は，ICH M3(R2)ガイドライン並びに安全性に関するその他の ICH ガイドラインに準拠して実施した。すべての重要な毒性試験及び安全性薬理試験は，ノバルティス社の試験施設，欧州連合（EU）加盟国，経済協力開発機構（OECD）加盟国，又はデータ相互受け入れ制度参加国（MAD）の GLP 適合受託研究機関の試験施設で，GLP 基準を遵守して実施した。

3 薬理試験

LNP023 は，AP の主要なプロテアーゼである FB を選択的に阻害する経口投与可能な低分子薬である。

補体系は自然免疫系のひとつであり，オプソニン化，炎症誘導，及び MAC 形成による細胞溶解によって病原体を排除し生体を防御する。補体系の過剰な活性化及び制御異常は，虚血による細胞及び組織傷害，炎症性疾患，並びに自己免疫疾患といったさまざまな疾患の発症及び進行に関与する（Thurman and Holers 2006）。

補体系には CP，LP，及び AP の 3 種類の活性化経路が存在する（Merle et al. 2015）（2.6.2-Figure 2-6）。これらの経路の活性化により生成した C3 転換酵素は C3 を分解し，C3a 及び C3b が生成される。生成された C3b は病原体等をオプソニン化して食細胞による貪食作用を惹起する。

AP では，C3b は FB と結合し，補体 D 因子（FD）により FB から Ba が切断されて C3bBb となり，これが C3 転換酵素として活性を示し AP 活性化が生じる。C3 転換酵素はさらに C3 を C3b に分解し，増幅回路を活性化して C3b 生成を増幅するとともに，カスケード下流の C5 転換酵素生成を誘導する。C5 転換酵素は C5 を C5a 及び C5b に分解し，C5b は C6，C7，及び C8 と結合しさらに C9 が集合して MAC が膜表面で形成され，細胞を溶解して破壊する。補体活性化の過程で生成した C5a 及び C3a はアナフィラトキシンとして働き炎症を誘導する。AP は C3 の増幅回路活性化によって，CP 及び LP のカスケード反応を増幅させる。

LNP023 は FB の活性ドメインである Bb に結合してその活性を阻害することにより，C3 転換酵素を阻害し C3 の C3a 及び C3b への分解を抑制する。これにより，C3 の増幅回路の活性化，C3b によるオプソニン化，C5 転換酵素及び MAC（C5b-9）の形成，並びにカスケード反応に伴って生じるアナフィラトキシン C3a 及び C5a の生成が阻害される（Schubart et al. 2019）。LNP023 は CP と LP のカスケード反応に直接影響しないことから，LNP023 投与下でも CP 及び LP の生体防御機構は維持される。したがって，LNP023 は AP の制御異常によって生じる疾患に対して有用な治療薬になることが期待される。

以下，LNP023 を PNH 治療薬として開発することを支持する非臨床薬理試験成績の概要について記載した。成績の詳細は，2.6.2 薬理試験の概要文及び 2.6.3 薬理試験概要表を参照のこと。

3.1 薬効を裏付ける試験

3.1.1 *In vitro* 薬理試験

LNP023 による FB（活性型 Bb 及び不活性型 FB）への結合性及びセリンプロテアーゼ活性の阻害作用を一連の *in vitro* アッセイで検討した（2.6.2-2.1 項）。ヒト FB の触媒ドメインに対する競合結合アッセイの結果，LNP023 は標識リガンドの FB への結合を阻害し，50%阻害濃度（IC50）は 9.6 nM（4 ng/mL）であった。血清及び血液を用いたアッセイで，LNP023 は AP 活性化を阻害し，50%ヒト血清を用いたときの MAC 形成阻害の IC50 値は 120 nM（50 ng/mL）及び IC90 値は 450 nM（190 ng/mL）であり，50%ヒト全血を用いたときの IC50 値は 220 nM（93 ng/mL）であった。FB は種を超えて保存されており，LNP023 はさまざまな動物種（マウス，ラット，イヌ，ウサギ，カニクイザル，及びブタ）の 50%血清でも MAC 形成又は C3 沈着を阻害し，AP 活性化阻害作用を示した（2.6.2-Table 2-1）。また，LNP023 は CP 活性化に影響しないことが確認された。

さらに，PNH 及びその他の AP 制御異常疾患の患者から採取した血液又は血清を用いた *in vitro* 試験を実施し，LNP023 の作用を検討した（2.6.2-2.2 項）。その結果，LNP023 は PNH 患者由来赤血球の溶血を阻害し，赤血球表面への C3 フラグメント沈着を阻害した（IC50 値：400 nM）（Schubart et al. 2019）。同様の結果が PNH のサロゲートアッセイでも得られ，CD55 及び CD59 に対するブロッキング抗体とインキュベーションした健康被験者由来赤血球に対し，LNP023 は溶血を阻害した。以上の結果から，LNP023 は MAC 形成により生じる溶血を強力に阻害するだけでなく，抗 C5 抗体薬で認められる C3 フラグメントによるオプソニン化も阻害すると考えられる。

したがって，PNH患者に対するLNP023の臨床使用では，抗C5抗体薬で効果が認められている血管内溶血に加え，血管外溶血も抑制されることが期待される。C3腎症（C3G），非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS），及び膜性増殖性糸球体腎炎（MPGN）患者由来の血清を用いた検討では，LNP023は患者由来血清とインキュベーションしたヒツジ赤血球（SRBC）の溶血を阻害し，C3G患者由来血清ではC3分解も阻害した（2.6.2-2.2.2項）。また，LNP023は，SRBC膜上に固定させたC3転換酵素をC3G患者由来のC3Nef（C3転換酵素に対する自己抗体）で安定化させたとき，このSRBCの溶血を阻害した（Schubart et al. 2019）。さらに，LNP023はaHUS患者で同定された8種類の変異型FBに結合し，野生型FBと同等のAP活性化阻害作用を示した（2.6.2-2.2.3項）。

以上の *in vitro* 試験結果から，LNP023はPNHに加え，C3G，MPGN，及びaHUSといったAP制御異常の認められる疾患に対し，薬理作用を発揮すると期待できる。

3.1.2 *In vivo* 薬理試験

動物モデルを用いて，LNP023の *in vivo* でのAP活性化阻害作用及び疾患改善効果を検討した（2.6.2-2.3項）（Schubart et al. 2019）。なお，げっ歯類では薬理試験に適したPNHモデルが存在しないことから，PNHモデルでの検討は行わなかった。

リポ多糖（LPS）投与によってAPを活性化したマウスモデルに対して，LNP023（3～30 mg/kg）は単回経口投与で血漿中C3d及びiC3b量の増加を抑制し，AP活性化を用量依存的に阻害した（2.6.2-2.3.1.1項）。最大抑制作用は30 mg/kg群の投与後4時間で認められ，対照群に対する阻害率は101%だった。PK / PD解析の結果，*in vivo* でのLNP023のEC50（IC50）値は560 nM（236 ng/mL）及びEC90（IC90）値は1120 nM（472 ng/mL）であった。

マウスK/BxN血清移入関節炎モデルに対して，LNP023（20，60，及び180 mg/kg b.i.d.）は，前肢関節内のBa，C3d，及びC5a量を減少させ，関節での補体活性化を抑制した。さらに，後肢関節の病理組織学的解析により，LNP023は炎症性細胞の浸潤，骨破壊，及びプロテオグリカンの減少を有意に抑制し，60及び180 mg/kgでは関節炎の進行が完全に抑制された（2.6.2-2.3.2.1項）（Schubart et al. 2019）。これらの結果から，LNP023は病変部位での補体活性化を完全に抑制し，AP関連疾患の病態進行を抑制することが示された。

膜性腎症及び糸球体腎炎の病態モデルであるラット受動的ヘイマン腎炎モデルに対して，LNP023（20及び60 mg/kg b.i.d.）を発症前から予防的に経口投与したとき，タンパク尿の発現，糸球体障害，及び尿細管変性は強く抑制された（2.6.2-2.3.2.2項）。また，タンパク尿の発現後からLNP023（60 mg/kg b.i.d.）を治療的に経口投与したとき，病態の進行が抑制された。LNP023を投与したほとんどのラットで糸球体へのC3沈着がみられなかったことから，LNP023投与により補体活性化が強力に抑制されたと考えられた。

以上の *in vivo* 動物モデルの結果から，LNP023は異なる標的臓器においてAP活性化を強力に阻害し，AP関連疾患の進行及び発症を強く抑制することが示唆された。

3.2 副次的薬理試験

副次的薬理試験として，LNP023 の選択性プロファイル，FB 阻害による細菌感染リスク及び B 細胞応答への影響について *in vitro* で検討した。*In vivo* 試験では，T 細胞依存性 B 細胞応答に対する LNP023 の影響を 2 種類のげっ歯類モデルを用いて検討した。

In vitro 試験の結果では，LNP023 濃度を µM だけでなく ng/mL の値を併記し，臨床試験で得られた LNP023 の最高血漿中薬物濃度（Cmax）と比較した。*In vitro* 選択性試験は無血清／無血漿の条件下で実施したことから，比較には臨床用量である 200 mg を 1 日 2 回投与したときの非結合型 LNP023 の Cmax に換算した値（763 ng/mL，1.8 µM）を用いた（2.6.2-3 項）。

LNP023 の CP 活性化に及ぼす影響を，100 µM（42200 ng/mL，200 mg b.i.d.でのヒト非結合型 Cmax の約 55 倍）までの濃度で検討した結果，LNP023 は構造的に関連性がある CP のプロテアーゼ C2 とは交差反応性を示さず，高い選択性で FB を阻害することが示された（2.6.2-2.1 項）。また，LNP023 は，ヒト FD に対しては 100 µM までの濃度で阻害活性は認められなかった（2.6.2-3.1.1 項）。

100 以上の標的外分子（G タンパク質共役受容体，トランスポーター，イオンチャネル，核内受容体，及び酵素）に対する活性について標識リガンドを用いた結合試験等で検討したところ，LNP023 は，少なくとも 30 µM（12660 ng/mL，ヒト非結合型 Cmax の約 17 倍）の濃度まで，いずれの分子にも明らかな活性を示さなかった（2.6.2-3.1.1 項）。多くの分子に対して 100 µM まで濃度を上げて検討したが，有意な活性はみられなかった。

また，31 種類のキナーゼパネルを用いて TR-FRET 法等で *in vitro* 活性を検討した（2.6.2-3.1.1 項）。その結果，ATP 結合部位を有する哺乳類ラパマイシン標的タンパク質（mTOR，IC50 = 9.9 µM，4178 ng/mL，ヒト非結合型 Cmax の約 5 倍）以外のキナーゼに対しては，10 µM まで影響はみられなかった。mTOR はホスファチジルイノシトール 3 リン酸キナーゼ関連タンパク質キナーゼであり，栄養状態や成長因子に応答した細胞増殖の制御に関与している（Yang et al. 2013）。しかしながら，非臨床毒性試験で認められた変化と *in vitro* での mTOR 阻害作用との関連は明らかではなかった。

補体系は生体からの病原体排除に重要であることから，FB 阻害による潜在的リスクとして感染症が懸念される。FB 機能欠損マウス及びヒトでは感染リスクの増加が認められている（マウス：Matsumoto et al. 1997，Mueller-Ortiz et al. 2004，Li et al. 2011，ヒト：Slade et al. 2013，Gauthier et al. 2021）。特に，莢膜形成細菌［髄膜炎菌，肺炎球菌，及びインフルエンザ菌 b 型（Hib）］の殺菌には補体系が機能することから，これらワクチン接種前後の被験者血清又は血液を用いて殺菌作用に及ぼす LNP023 の影響を検討した（2.6.2-3.1.2 項）（Ispasanie et al. 2021，Muri et al. 2021，Muri et al. 2022）。これらの細菌に対する主たる殺菌作用は，髄膜炎菌は菌体上での MAC 形成による血清殺菌作用であり，肺炎球菌はオプソニン化による貪食作用である。Hib の殺菌作用は菌特異的抗体の寄与が考えられているが，MAC 形成とオプソニン化のいずれの寄与が大きいかは明らかになっていない。しかしながら，本実験条件下では，Hib は主に MAC 形成による血

清殺菌作用により殺菌された。検討の結果，LNP023 はこれらの菌に対し，ワクチン未接種では生体にもともと備わっている殺菌作用を減弱させたが，ワクチン接種により抗体価が得られていれば，いずれの菌においても殺菌作用に対する影響はみられないか限定的であった。C5 又は C3 を阻害したときの殺菌作用はワクチン接種状況にかかわらず減弱し，C5 阻害下では髄膜炎菌及び Hib に対して，C3 阻害下ではすべての菌に対して作用が減弱した。これらの検討から，莢膜形成細菌のワクチン接種により抗体価が得られている場合では，AP 阻害下であっても莢膜形成細菌の増殖を抑制し得ることが示唆された。

AP 阻害は T 細胞依存性 B 細胞応答に影響を及ぼす可能性がある。補体活性化により生じた C3 フラグメント（iC3b 及び C3d）は，B 細胞上の補体受容体 2（CD21）に作用して T 細胞依存性 B 細胞応答を増強させる（Hebell et al. 1991，Merle et al. 2015）。LNP023 は C3 フラグメント量を低下させることから，T細胞依存性B細胞応答に対する LNP023 の影響を 2 種類のげっ歯類モデルを用いて検討した（2.6.2-3.2 項）。ジニトロフェニル（DNP）-キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）投与マウスモデル及び SRBC 投与ラットモデルにおいて，LNP023 は T 細胞依存性 B 細胞応答を抑制せず，抗原特異的抗体価に影響は認められなかった。また，イヌ 39 週間反復投与毒性試験の LNP023 投与群での検討で，KLH で惹起したときの免疫応答（IgM 及び IgG 抗体価）に対する影響は軽微であり，本検討での結果と一致していた（5.8.2 項）。これらの結果から，LNP023 は T 細胞依存性 B 細胞応答に影響を及ぼさないことが確認された。

3.3 安全性薬理試験

In vitro 安全性薬理試験として，hERG（human ether-à-go-go related gene）チャネルに関する試験，hERG チャネルのトラフィッキングに関する試験，心筋イオンチャネルに関する試験，ヒト初代培養心筋細胞（CM）を用いた心筋収縮力及び細胞内カルシウムトランジェントに関する試験，並びにラット及びイヌ動脈リング標本を用いた血管反応性に関する試験を実施した。*In vivo* 安全性薬理試験として，ラット，イヌ，及びサルを用いた心血管系に関する試験，並びにラットを用いた中枢神経系及び呼吸系に関する試験を実施した（2.6.2-4 項）。*In vivo* 安全性薬理試験では血漿中薬物濃度を測定しなかったため，曝露量は動物種，性，及び投与量が同じ毒性試験の試験 1 日の曝露量を外挿した。非臨床試験の Cmax と臨床用量（200 mg b.i.d.）でのヒト Cmax を用いて曝露量比を算出した。

心血管系に及ぼす影響

LNP023 の hERG 電流阻害作用の IC50 値は 414.9 µM（ヒト非結合型 Cmax の 230 倍）であり，hERG チャネルのトラフィッキング阻害作用の検討でも 300 µM（ヒト非結合型 Cmax の 166 倍）まで影響はみられなかった。また，LNP023 は心筋活動電位に関与するカリウムまたはカルシウムチャネル（hKir2.1，hKvLQT1 / hminK，hKv4.3，及び hCav1.2）を阻害せず，IC50 値は 300 µM 超（ヒト非結合型 Cmax の 166 倍超）であった。さらに，ヒト心筋ナトリウムチャネル hNav1.5 に対する IC50 値は 50 µM 超（ヒト非結合型 Cmax の 28 倍超）であった。以上のとおり，*In vitro* 試

験においてLNP023は高い濃度まで心筋イオンチャネルを阻害しなかったことから，臨床用量での曝露量において心筋への電気生理学的な直接的影響及び不整脈が誘発されるリスクは低いと考えられた。

In vivo 試験では，サルのみでQTc間隔延長が，イヌのみで心拍数増加，血圧低下，及び心収縮力増加が観察されたが，動物種間で一貫性は認められなかった。

カニクイザルでは，300 mg/kg以上の投与量でQTc間隔の延長が認められ（ヒト総Cmaxの21倍），100 mg/kgではQTc間隔に影響は認められなかった（ヒト総Cmaxの9倍）。一方，イヌではサルを上回る曝露においてもQTc間隔への影響は認められなかった（300 mg/kg，ヒト総Cmaxの33倍）。

イヌを用いた侵襲性テレメトリーによる安全性薬理試験では，50 mg/kg以上で血圧の低下が認められ（ヒト総Cmaxの8倍），100 mg/kg/日以上で心拍数の増加が認められた（ヒト総Cmaxの17倍）。4週間反復投与毒性試験では，ジャケット式テレメトリーによる測定で15 mg/kg/日から心拍数増加が認められた（ヒト総Cmaxの3倍）。1例のイヌで肺動脈血流及び総末梢血管抵抗を測定した結果，50 mg/kg以上で総末梢血管抵抗の低下が認められたことから，血圧低下は末梢血管拡張に起因するものと考えられた。ラットを用いた侵襲性テレメトリーによる安全性薬理試験では，1000 mg/kgでも心拍数及び血圧への影響は認められなかった（ヒト総Cmaxの10倍）。また，サル用量漸増投与試験のジャケット式テレメトリーによる測定では，イヌ以上の曝露量に達した600 mg/kgでも心拍数の増加はみられなかった（ヒト総Cmaxの33倍）。以上のことから，LNP023の血行動態への影響に関して，イヌが最も影響を受けやすい動物種であると考えられた。また，イヌ及びラットの胸部大動脈及び腸間膜動脈リング標本を用いた試験で，LNP023は直接的な血管拡張作用を示さなかったことから，LNP023による血圧低下は間接的なメカニズムによるものと考えられた。

イヌを用いた反復投与毒性試験の150 mg/kg/日以下の群では，心拍数増加作用は反復投与により減弱した（39週間反復投与毒性試験での曝露量に基づくと，ヒト総Cmaxの19倍及びAUC0-24hの14倍）。一方，2及び4週間反復投与毒性試験の300 mg/kg/日以上の群では心拍数の増加は持続的であり，慢性的な変化として病理組織学的検査における限局性の心筋細胞の変性及び線維化を伴っていた（4週間反復投与毒性試験での曝露量に基づくと，ヒト総Cmaxの49倍及び総AUC0-24hの39倍）。幼若イヌを用いた52週間反復投与毒性試験では，150 mg/kg/日で持続性の心拍数増加が認められ，慢性的な変化として限局性の心筋細胞の変性及び線維化に加えて，心臓重量の増加及び大動脈の流出路鉱質沈着も認められた。

LNP023による心血管系機能への影響の詳細，及び年齢による差異を検討する目的で，テレメトリー装置を埋め込んだ幼若イヌ（8週齢）及び若齢成熟イヌ（8ヵ月齢）を用いた14日間反復投与による心血管系安全性薬理試験を実施した。幼若イヌ及び若齢成熟イヌともに，150 mg/kg/日群で心拍数増加及び血圧低下が認められた（ヒト総Cmaxの13倍）。心エコー検査では心収縮力の増加及び血行動態の異常が認められ，幼若イヌでは若齢成熟イヌと比較して影響がより顕著

であった。この差は，幼若イヌの心血管系は未発達でベースライン時でも高心拍出量状態にあり，LNP023 投与に対して適応性が低いことに起因していると考えられた。このような心拍数増加，血圧低下，及び収縮力増加からなる高心拍出量状態は，成熟イヌでは認められず幼若イヌでのみ認められた心臓重量増加及び大動脈鉱質沈着の原因であると考えられた。

LNP023 による心血管系への影響の発現機序を検討する目的で，ヒト初代培養心筋細胞を用いた心筋収縮力及び細胞内カルシウムトランジェントに関する試験を実施した。LNP023 は成人ドナー由来 CM の収縮力に対して軽度の直接作用を示したが，収縮／弛緩キネティクス及びカルシウムトランジェントには影響を及ぼさなかった。これらのことから，LNP023 の心収縮力に対する臨床的意義のある影響は，成人では認められないことが示唆された。

中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響

ラットを用いた安全性薬理試験で，LNP023 は中枢神経系及び呼吸系に対して，それぞれ 770 及び 1000 mg/kg まで影響を及ぼさなかった（ヒト総 Cmax のそれぞれ 12 倍及び 10 倍）。

3.4 薬力学的薬物相互作用試験

LNP023 の薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

4 薬物動態試験

本項では，動物における LNP023 の PK／ADME 試験及び TK 試験，並びにヒト試料等を用いた薬物動態学的薬物間相互作用試験の成績について記載する。LNP023 を用いて実施した PK 試験の詳細は，「2.6.4 薬物動態試験の概要文」に記載されている。

マウス，ラット，及びイヌを用いて PK 試験を実施した。また，マウス，ラット，ウサギ，イヌ，及びサルを用いた毒性試験において TK を評価した。ADME 試験は ^{14}C 標識 LNP023 及び非標識 LNP023 を用いて実施した。さらに，毒性試験に用いた動物種及びヒト試料等を用いた *in vitro* 試験を実施し，血漿蛋白結合，血液／血漿分布，膜透過性，代謝，及び薬物間相互作用を評価した。

4.1 分析法

マウス，ラット，ウサギ，及びイヌ血漿中の LNP023 を定量するため，バリデーション済の液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC-MS/MS）分析法を用いた。LNP023 の LC-MS/MS 分析には，D_5-LNP023 を内部標準として用いた。いずれの動物種においても血漿 10 µL を試料としたとき，定量下限（LLOQ）は 100 ng/mL であった。動物血漿を−60°C 以下（マウス，ラット，及びイヌ）及び設定温度−80°C（ラット，ウサギ，及びイヌ）で長期保存したとき，LNP023 はそれぞれ少なくとも 78 日間及び 238 日間安定であった（2.6.4-2.3 項）。

さらに，ラット血漿中 不純物A*（LNP023 原薬の不純物及び分解産物）を定量するため，バリデーション済の LC-MS/MS 分析法を用いた。ラット血漿 20 µL を試料としたとき，LLOQ は

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.00 ng/mL であった。ラット血漿を−90°C〜−50°C で長期保存したとき，不純物A*は少なくとも 139 日間安定であった（2.6.4-2.3 項）。

In vivo 及び *in vitro* における PK 試験に用いるため，^{14}C-LNP023 を合成した（2.6.4-2.1 項）。血液，血漿，及びその他の生体試料中の放射能濃度は液体シンチレーションカウンターにより測定した。組織及び器官における放射能濃度は定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）により測定し，画像を放射能標準線源と比較計測することにより定量した（2.6.4-2.2 項）。

^{14}C-LNP023 を用いた ADME 試験において，代謝物濃度及び代謝物プロファイルを放射能検出器と組み合わせた高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により検討した。代謝物の構造解析は液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS）又は LC-MS/MS を用いて実施した（2.6.4-2.4 項）。

4.2 吸収及びバイオアベイラビリティ

マウス，ラット，及びイヌにおける LNP023 の PK を検討した（2.6.4-3 項）。

ラットに ^{14}C-LNP023 を単回経口投与したときの吸収率は，81.8%であった[2.6.4-Table 3-1]。マウス，ラット，及びイヌに ^{14}C-LNP023 又は LNP023 を単回経口投与したとき，LNP023 の最高血漿（血液）中濃度到達時間（Tmax）は 0.25〜2 時間であった。単回経口投与時のバイオアベイラビリティはマウスで 46%，ラットで 40%〜68%，及びイヌで 60%であった[2.6.4-Table 3-3]。

^{14}C-LNP023 又は LNP023 を単回静脈内投与したとき，LNP023 の血漿クリアランスはすべての動物種で 0.0912〜0.960 L/h/kg であった。これらの値から算出した血液クリアランスをそれぞれの動物種における肝血流量と比較すると，マウス（11.5%），ラット（8.88%〜14.9%），及びイヌ（5.45%〜6.47%）と低かった。すべての動物種において，消失半減期（T1/2）は約 2.9〜7.5 時間であった。また，定常状態における分布容積は 0.6〜6.6 L/kg であった[2.6.4-Table 3-2]。

不純物A*は LNP023 原薬の不純物及び分解産物であり，ラットを用いた *in vivo* 試験により遺伝毒性について評価した（2.6.6-8.6 項）。雄ラットに不純物A* を 3，10，30，100，及び 300 mg/kg の用量で経口投与したとき，血漿中 不純物A*の Cmax 及び総曝露量に用量比を上回る増加が認められた（2.6.4-3.3項）。また，用量比を上回る曝露量増加はラットにおける TK 試験においても認められた（4.8 項）。

4.3 分布

*In vitro*において LNP023のラット，イヌ，及びヒト血球への分布を検討したところ，LNP023の血漿中濃度に対する血液中濃度の比（Cb / Cp 比）は，検討したすべての動物種で濃度依存性を示した。10〜10000 ng/mL の濃度範囲で，LNP023 濃度の上昇とともに Cb / Cp 比は，ラットで 0.994 から 3.59，イヌで 0.717 から 1.38，及びヒトで 0.600 から 2.14 に増加した[2.6.4-Table 4.1]。

また，*in vitro* における LNP023 の血漿蛋白結合率についても，検討したすべての動物種で濃度依存性を示した。10〜10000 ng/mL の濃度範囲で，LNP023 濃度の上昇とともに血漿中非結合画分

（fu）は，マウスで 6.31%から 37.6%，ラットで 4.03%から 37.3%，イヌで 9.47%から 35.0%，及びヒトで 1.23%（100 ng/mL）から 25.4%に増加した（2.6.4-4.1 項）。

FB のノックアウト（KO）マウス由来の血漿を用いて検討したところ，野生型マウス由来の血漿中における LNP023 の fu（平均値）が濃度依存性を示した（10～10000 ng/mL の濃度範囲で 6.31%～37.6%）のに対して，KO マウス由来の血漿中における fu は LNP023 濃度に依存しなかった（35.8%～40.8%）。これらのデータから，血漿中蛋白質に対する LNP023 の結合及び濃度依存性は，標的分子でありヒト血漿中で多量に存在する FB［血漿中の濃度：315 mg/L（Silva et al. 2012）］との飽和結合に関連する可能性がある（2.6.4-4.1 項）。

白色（Wistar Hannover）又は有色（Long-Evans）ラットにおいて，^{14}C-LNP023 を単回経口投与したときの放射能の組織分布を QWBA により検討した。^{14}C-LNP023 由来放射能は脳を除いて広範囲の組織に分布し，ほとんどの組織で速やかに消失した。白色ラットにおいて，投与後 2 時間までに各組織中の総放射能は Cmax に到達したが，そのうち総放射能 Cmax の組織／血液比が 3 倍を超えていたのは肝臓のみであった。白色ラットにおける脳内放射能濃度は血液中放射能濃度の 1.4%～2.2%であった。雌雄の有色ラットに ^{14}C-LNP023 を単回経口投与したとき，LNP023 が眼組織のメラニンに対して親和性を有すること，及びその結合が可逆的であることが示された（2.6.4-4.2 項）。

4.4 妊娠及び授乳動物

妊娠又は授乳動物における薬物動態試験は実施しなかった。

4.5 代謝

LNP023 の代謝をマウス，ラット，イヌ，サル，及びヒト肝細胞，ヒト細胞分画，ヒト酵素発現系等を用いた *in vitro* 試験，並びにラット及びイヌにおける *in vivo* での ADME 試験で検討した（2.6.4-5 項）。

肝細胞による *in vitro* 代謝は動物種を通じて概ね同様であり，以下の代謝反応により特徴づけられた：N-脱アルキル化（M1 生成），O-脱エチル化（M2 及び M9），C-酸化（M3，M4，M5，M6，及び M7），水酸化（M4，M5，及び M6），及び LNP023 のカルボキシ部位のグルクロン酸抱合（M8 及び M9）。これらの代謝物のうち M1，M2，及び M6 は，ヒト肝細胞における主要な一次酸化代謝物として同定された。ヒト肝細胞で同定されたすべての代謝物は，検討した少なくとも 1 種のヒト以外の動物種においても認められた。全体として，代謝物プロファイルは動物種を通じて質的に類似していた（2.6.4-5.1.1 項）。

ヒト肝ミクロソーム及びヒト酵素発現系を用いた *in vitro* 試験において，LNP023 の酸化的代謝に関与する主要なチトクローム P450（CYP）分子種は CYP2C8 であった（2.6.4-5.1.2 項）。また，直接的なグルクロン酸抱合代謝に関与する主要なウリジンジホスホ-グルクロノシルトランスフェラーゼ（UGT）分子種は UGT1A1 であることが示唆された（2.6.4-5.1.3 項）。

ラットにおいて，血漿，尿，及び糞について得られた LNP023 の代謝物プロファイルは投与経路によらず質的に類似していた。ラットに ^{14}C-LNP023 を投与したときの *in vivo* 代謝は以下の代謝反応により特徴づけられた：N-脱アルキル化（M1 生成），O-脱エチル化（M2 及び M9），C-酸化（M4，M6，M7，及び M10），水酸化（M4，M6，及び M10），及び LNP023 のカルボキシ部位のグルクロン酸抱合（M8，M9，及び M10）。血漿中における主要成分は未変化体であった（静脈内及び経口投与したとき，それぞれ総放射能 AUC の 87.7%及び 91.0%）。総放射能の全身曝露量に対する M1，M2，M4，及び M8 の割合はいずれも 2.4%未満であった。尿中における主要成分は未変化体（投与量の約 2%～3%）及び M1（投与量の約 1%～2%）であった。尿中に検出された他の代謝物（M2，M4，M6，M7，及び M8）はいずれも投与量の 1%未満であった。ラットの糞中における主要成分は未変化体（静脈内及び経口投与量のそれぞれ 19%及び 36%）及び M2（静脈内及び経口投与量のそれぞれ約 30%）であった。静脈内及び経口投与したとき，糞中に検出された他の第 1 相代謝物は M1，M4，及び M6 であり，それぞれ投与量の 10%未満であった。胆管カニューレを挿入したラットに静脈内投与したとき，胆汁中には投与量の 11.7%が未変化体として排泄された。胆汁中の主要成分は M2 及び M8（それぞれ投与量の約 20%）であり，次いで M1，M9，M4，M10，及び M6（それぞれ投与量の約 3%～6%）であった。アシルグルクロン酸抱合代謝物である M8，M9，及び M10 が胆汁中で検出されたものの糞中には認められなかった。したがって，これらの代謝物が腸内細菌によって脱抱合を受けそれぞれのアグリコンに逆変換されたと考える。以上より，LNP023 は尿中及び胆汁中への分泌／排泄とともに，主に代謝によって消失することが示された（2.6.4-5.2.1 項）。

LNP023 を 150 mg/kg/日の用量で反復経口投与したイヌ毒性試験において，血漿中代謝物を LC-MS により分析した。その結果，反復投与 273 日目において，AUC0-24h プール試料中に LNP023 とともに 7 つの代謝物（M8 は異性体を含む）が検出された。これらの代謝物は， *in vitro* 試験又はラット *in vivo* 試験で同定された代謝物に対応するものであった。代謝経路は，N-脱アルキル化，O-脱アルキル化，酸化，脱水素反応，グルクロン酸抱合，及びそれらの組み合わせを含んでいた（2.6.4-5.2.2 項）。

毒性試験で用いた動物種（ラット及びイヌ）でヒト血漿中代謝物に対する十分な曝露が得られているかについて，ヒトに LNP023 を 200 mg b.i.d.，反復経口投与したときの定常状態における代謝物の曝露量をラット（750 mg/kg/日）及びイヌ（150 mg/kg/日）での曝露量と比較することにより評価した。血漿中においてヒトに特異的な代謝物は検出されなかった。ヒト代謝物（M1，M2，M6，M7，及び M8 とその異性体）の曝露量に対する雌雄のラット及びイヌの曝露量比はいずれも 0.5 を超えていた。このことは，ラット及びイヌでこれらの代謝物に対する十分な曝露が得られたことを示す。一方，アシルグルクロン酸抱合代謝物である M9 の曝露量については，ヒトに対するラット及びイヌにおける曝露量比が 0.5未満であり，動物での曝露量はヒトに比べて低かった。M9 は ^{14}C-LNP023 を 2 mg/kg 静脈内投与後のラット胆汁中に認められ，投与量の 2.98%を占めた。この結果は，M9 の全身曝露レベルは低いものの，ラット肝臓が M9 に曝露されたことを示

している。M9 の曝露は，マウス 26 週間がん原性試験においても確認された。このマウス試験（1000 mg/kg/日）での定常状態における曝露量及びヒト（200 mg b.i.d.）での曝露量に基づくと，ヒトに対するマウスの曝露量比は 0.398 であった（2.6.4-5.2.3 項）。

構造的視点から，アシルグルクロン酸抱合代謝物である M8，M9，及び M10は反応性を有する可能性が考えられる。代謝物が *in vivo* において反応性を示す可能性を探るため，リン酸緩衝液中における安定性を評価したところ，緩衝液中でのアシルグルクロン酸抱合代謝物 M8（MHT297）及び M9（OHJ379）の T1/2はそれぞれ約1.6及び2.0時間であった。また，ヒト肝ミクロソーム及びヒト肝細胞において LNP023 の代謝活性化により反応性代謝物が生成する可能性を評価した。共有結合による蛋白質付加体の形成に基づいて，反応性代謝物の生成量を評価したところ，両試験系で観察された反応性代謝物の生成量は，代謝活性化に対して規定された閾値を下回っていた。したがって，LNP023 では *in vivo* において懸念となるような代謝活性化が生じる可能性は低いと考える（2.6.4-5.1.4 項）。

代謝物 M8，M9，及び M2 について薬理活性を評価したところ，それらの活性の強さは未変化体と比べて 1/150～1/27 であった（2.7.2-2.1.2 項）。

4.6 排泄

ラットにおける主要な排泄経路は糞であった。^{14}C-LNP023 を単回静脈内及び経口投与したとき，投与した総放射能量の 84.6%～94.4%が糞中に，4.79%～5.68%が尿中に排泄された（2.6.4-6.1 項）。

ラットに ^{14}C-LNP023 を単回静脈内及び経口投与したときの LNP023 の尿中排泄率は投与量の 2.07%～3.24%であった。また，LNP023 の糞中排泄率は投与量の 19.0%～36.1%であった（2.6.4-6.1 項）。

胆管カニューレを挿入した雄ラットに ^{14}C-LNP023 を単回静脈内投与したとき，投与放射能の大部分（79.4%）が胆汁中に排泄された。尿中及び糞中への排泄はわずか（それぞれ 13.0%及び 4.21%）であった。また，胆汁中への LNP023 としての排泄は投与量の 11.7%であった（2.6.4-6.2 項）。

4.7 薬物動態学的薬物間相互作用

LNP023 の酸化的代謝及び直接的なグルクロン酸抱合代謝に関与する主要な酵素分子種は，それぞれ CYP2C8 及び UGT1A1 であることが示唆された（4.5 項）。これらに加えて，薬物動態学的薬物間相互作用の可能性を評価するため，ヒト試料，ヒト酵素発現系，及びヒトトランスポーター発現系を用いた *in vitro* 試験により，酵素阻害／誘導，LNP023 の膜透過性及び肝細胞系における輸送，並びにトランスポーターの基質となる可能性及び阻害の可能性を検討した（2.6.4-7 項）。ヒトにおける *in vivo* 薬物動態学的薬物間相互作用に関する試験成績については，2.7.2-3.4.2 項を参照のこと。

肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験において，LNP023 は CYP1A2，CYP2A6，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，CYP2E1，及び CYP3A4/5 の可逆的阻害剤ではないと考えられた。LNP023 は CYP2C8 に対して時間依存的阻害作用を示したが［阻害定数（時間依存的阻害）KI：179 µmol/L，最大不活性化速度定数 kinact：0.0702 min^{-1}］，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，及び CYP3A4/5 の時間依存的阻害剤ではないと考えられた。また，UGT1A1 に対しても阻害作用を示さなかった（2.6.4-7.1 項）。

ヒト初代培養肝細胞において，LNP023 は CYP3A4 に対して弱い誘導作用を示したが，CYP2B6 及び CYP2C9 を誘導しなかった。また，CYP1A2 に対しても LNP023 は誘導剤ではないと考えられた（2.6.4-7.2 項）。

Caco-2 細胞の単層膜を用いた ^{14}C-LNP023 の *in vitro* 膜透過性試験において，細胞の頂端膜から基底膜方向への見かけの透過係数（Papp）を評価したところ，0.5 µmol/L では 1.33×10^{-6} cm/sec で受動的に透過することが明らかとなった。また，ヒト肝細胞系を用いた試験において，LNP023 の肝細胞への取り込み過程における溶質輸送体（SLC）の関与及び胆汁中分泌における能動輸送の関与が示唆された（2.6.4-7.3 項）。

トランスポーター発現細胞又は反転膜小胞を用いた *in vitro* 試験により，LNP023 は排出トランスポーターである P-糖蛋白（P-gp），乳癌耐性蛋白質（BCRP），及び多剤耐性関連蛋白質（MRP）2，並びに取り込みトランスポーターである有機アニオントランスポーターポリペプチド（OATP）1B1 及び OATP1B3 の基質であることが示された。一方，有機アニオントランスポーター（OAT）1，OAT2，OAT3，及び有機カチオントランスポーター（OCT）2の基質ではなかった（2.6.4-7.4 項）。

LNP023 は P-gp［阻害定数（競合阻害を仮定）Ki 値：27.7 µmol/L］，OATP1B1（Ki 値：24.9 µmol/L），OATP1B3（Ki 値：392.7 µmol/L 超），OAT3（プレインキュベーションしたときの Ki 値：183.3 µmol/L），MATE（multidrug and toxin extrusion）1（プレインキュベーションしたときの Ki 値：327.1 µmol/L），OCT1（プレインキュベーションしたときの Ki 値：396.6 µmol/L），及び OCT2［（競合阻害を仮定）Ki 値：359 µmol/L］に対して阻害作用を示した。一方，BCRP，MRP2，BSEP（bile salt export pump）を阻害せず，OAT1 及び MATE2-K に対しても明らかな阻害作用を示さなかった（2.6.4-7.5 項）。

4.8 トキシコキネティクス

マウス，ラット，ウサギ，イヌ，及びサルを用いた毒性試験の一部として TK を評価した（2.6.6 毒性試験の概要文）。得られた曝露量データは「2.6.7 毒性試験概要表」に含まれている。

マウスを用いた LNP023 のがん原性試験において，TK を評価した。100～1000 mg/kg/日で反復経口投与したとき，LNP023 の曝露量は用量の増加に伴い増加した。LNP023 曝露量の増加は用量に比例する傾向にあった。雌雄における LNP023 曝露量は同様であった。150～1000 mg/kg/日の

用量において，初回投与時と反復投与時で曝露量にほとんど差がなく，LNP023 の累積性はみられなかった（2.6.4-3.4.5 項）。

ラットに LNP023 を 50～1000 mg/kg/日で反復経口投与したとき，Tmax は約 0.5～7 時間であった。LNP023 の曝露量は用量の増加に伴い増加し，曝露量の増加は用量に比例する傾向にあった。検討したすべての用量において，初回投与時と反復投与時で曝露量に明らかな差がなかったことから，累積性がほとんどないことが示唆された。雌雄における LNP023 曝露量は同様であった（2.6.4-3.4.1 項）。

ウサギを用いた LNP023 の胚・胎児発生に関する試験において，TK を評価した。妊娠ウサギに 50～600 mg/kg/日で経口投与したとき，投与したすべての動物で LNP023 の曝露が確認された。妊娠 20 日目において，Tmax は投与後 1～7 時間で，用量の増加に伴い遅延した。LNP023 の曝露量は，検討したすべての用量で用量の増加に伴い増加し，曝露量の増加は用量に比例する傾向にあった（2.6.4-3.4.4 項）。

イヌに LNP023 を 5～1000 mg/kg/日で反復経口投与したとき，Tmax は 0.5～3 時間であった。LNP023 の曝露量は用量の増加に伴い増加し，曝露量の増加は用量に比例する傾向にあった。5～300 mg/kg/日の用量において，初回投与時と反復投与時で曝露量に明らかな差がなかったことから累積性がほとんどないことが示唆された。雌雄における LNP023 曝露量はほぼ同様であった（2.6.4-3.4.2 項）。

サルを用いた用量漸増投与試験において，LNP023 を 10～600 mg/kg で経口投与したとき，Tmax は 0.667～6 時間であった。LNP023 の曝露量は用量に比例して増加する傾向にあった（2.6.4-3.4.3 項）。

不純物A*は LNP023 原薬の不純物及び分解産物である。ラットにおいて 不純物A*を投与したときの TK を評価した。31.25～125.0 mg/kg/日で反復経口投与したとき，不純物A*の Tmax は 0.25～3 時間であった。不純物A*の曝露量は用量の増加に伴い増加し，曝露量の増加は用量比を上回る傾向にあった。また，125.0　mg/kg/日の用量群を除き，検討したすべての用量において，初回投与時と反復投与時で曝露量に明らかな差がなかったことから累積性がほとんどないことが示唆された。125.0 mg/kg/日の用量群では，約 2 倍の累積が認められた（2.6.4-3.4.7 項）。

5　毒性試験

LNP023 の非臨床安全性評価を目的として，用量漸増投与試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験，幼若動物を用いた毒性試験，光毒性試験，及びその他の毒性試験（毒性発現機序検討試験）を実施した。

毒性試験の供試動物には，*in vitro* 試験でヒトと同様の FB 阻害作用が認められたマウス，ラット，イヌ，ウサギ，及びカニクイザルを選択した。毒性試験における標的阻害作用は，ラットを用いた 13 及び 26 週間反復投与毒性試験，イヌを用いた 13 及び 39 週間反復投与毒性試験，並びに幼若イヌを用いた 52 週間反復投与毒性試験の試料を使用して確認した。

*In vivo*毒性試験は，LNP023の予定臨床投与経路である経口投与により実施した。毒性試験の被験物質にはLNP023塩酸塩を供試し，用量はすべて遊離塩基で表記した。遊離塩基から塩酸塩への換算には，換算係数：1.086（開発初期バッチでは1.070）を使用する。LPN023は，媒体：0.5% methylcellulose + 0.5% Tween 80水溶液に懸濁して投与した。

5.1 単回投与毒性試験

LNP023の単回投与毒性試験は実施せず，イヌを用いた2週間反復投与毒性試験及びサルを用いた用量漸増投与試験の結果から急性毒性について評価した。

イヌを用いた2週間反復投与毒性試験の用量漸増投与試験相では，LNP023を1000 mg/kgまでの用量で雄3例のイヌに単回経口投与した結果，死亡はみられなかった。100 mg/kg以上で心拍数増加，300 mg/kg以上で嘔吐，600 mg/kg以上で流涎，1000 mg/kgでフィブリノゲン，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST），アルカリホスファターゼ（ALP），総ビリルビン，及びクレアチンキナーゼ（CK）の高値が認められた。本試験における概略の致死量は1000 mg/kg超と考えられた。

カニクイザルを用いた用量漸増投与試験では，LNP023を600 mg/kgまでの用量で雄3例のサルに単回経口投与した結果，死亡はみられなかった。10 mg/kg以上で好中球数の増加，並びにリンパ球数及び好酸球数の減少，300 mg/kg以上でQTc間隔の延長，600 mg/kgでアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）及びASTの上昇，並びに総ビリルビンの増加が認められた。本試験における概略の致死量は600 mg/kg超と考えられた。

5.2 反復投与毒性試験

ラットを用いた最長26週間の反復経口投与毒性試験，及びイヌを用いた最長39週間の反復経口投与毒性試験を実施した（Table 5-1）。

Table 5-1 反復投与毒性試験一覧

動物種／系統	投与期間(週)	投与経路	動物数／群	用量 (mg/kg/日)	試験番号
ラット, Han Wistar	2	強制経口	雄 5	0, 100, 300, 1000	1370303
	4	強制経口	主試験: 雄 10, 雌 10 回復性試験: 雄 6, 雌 6	0, 100, 300, 1000	1470568 [a]
	13	強制経口	主試験: 雄 10, 雌 10 回復性試験: 雄 5, 雌 5	0, 50, 150, 500	1570195 [a]
	26	強制経口	主試験: 雄 20, 雌 20 回復性試験: 雄 10, 雌 10	0, 50, 150, 750	1570193 [a]

動物種／系統	投与期間 (週)	投与経路	動物数／群	用量 (mg/kg/日)	試験番号
イヌ, ビーグル	2	強制経口	雄 3	0, 100, 300, 1000	1470220
	4	強制経口	主試験: 雄 3, 雌 3 回復性試験: 雄 2, 雌 2	0, 15, 50, 300	1470567 [a]
	13	強制経口	主試験: 雄 3, 雌 3 回復性試験: 雄 2, 雌 2	0, 5, 30, 150	1570194 [a]
	39	強制経口	主試験: 雄 4, 雌 4 回復性試験: 雄 2, 雌 2	0, 5, 30, 150	1570192 [a]

Sources: Table 2.6.7.6-1370303，Table 2.6.7.7A-1470568，Table 2.6.7.7B-1570195，Table 2.6.7.7C-1570193，Table 2.6.7.6-1470220，Table 2.6.7.7D-1470567，Table 2.6.7.7E-1570194，Table 2.6.7.7F-1570192

a = GLP 適用

LNP023 の反復投与毒性試験では，甲状腺（ラット及びイヌ）及び精巣（イヌで顕著）で病理組織学的変化が認められた。また，イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験の 150 mg/kg/日群の雄 1 例で血液／骨髄毒性を示唆する変化がみられ，イヌを用いた 2 及び 4 週間反復投与毒性試験の高用量（300 mg/kg/日以上）群で心筋細胞の変性／壊死及び線維化がみられたが，これらの変化はラットでは認められなかった。

一部の試験のみで認められた変化として，総ビリルビンの高値がラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験の 100 mg/kg/日以上の群，26 週間反復投与毒性試験の 750 mg/kg/日群でみられたが，関連する病理組織学的変化は認められなかった。イヌを用いた 2 及び 4 週間反復投与毒性試験では 15 mg/kg/日以上の群で総ビリルビンの高値がみられ，関連する病理組織学的変化として 300 mg/kg/日群で胆管過形成及び肝臓クッパー細胞の色素沈着増加が認められた。ラットを用いた 4 及び 26 週間反復投与毒性試験のそれぞれ 300 及び 50 mg/kg/日以上の群で蛋白尿がみられたが，関連する病理組織学的変化は認められなかった。

イヌの骨髄毒性（150 mg/kg/日）及び心臓線維化（300 mg/kg/日）を除き，いずれの変化においても休薬による回復性が認められた。これらの毒性変化及び TK 値から，イヌが最も感受性の高い動物種と考えられた。

ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験の無毒性量は，最高用量の 750 mg/kg/日と考えられた。イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験の無毒性量は，精巣で精細管変性がみられたことから雄では 5 mg/kg/日，150 mg/kg/日群の雄 1 例で認められた骨髄毒性が性特異的変化ではない可能性を考慮して雌では 30 mg/kg/日と考えられた。

反復投与毒性試験で確認された主な毒性標的器官を以下に要約する。

甲状腺への影響

ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験では甲状腺濾胞細胞肥大が認められ，甲状腺重量の高値又は甲状腺ホルモンの軽度で一過性の変動を伴っていた。甲状腺の変化については，短期反復投与毒性試験では毒性変化と判断したが，長期反復投与毒性試験では重症度の悪化はみられず，

休薬による回復性が確認され，甲状腺機能低下又は甲状腺機能亢進を示唆する一般状態の変化は認められなかった。したがって，長期反復投与毒性試験では高用量（ラット：750 mg/kg/日，イヌ：150 mg/kg/日）群の甲状腺の変化についても毒性と判断しなかった。ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験における甲状腺ホルモン測定では，時に T4 低下を伴う一過性の T3 上昇が認められ，TSH に明らかな影響はみられなかったことから，末梢における潜在的な甲状腺不応の可能性が考えられた。

雄性生殖器への影響

イヌを用いた 4，13，及び 39 週間反復投与毒性試験の 30 mg/kg/日以上の群において，精巣の精細管変性及び精巣上体の細胞残屑が認められた。ラットでは，同様の変化が 13 週間反復投与毒性試験の 500 mg/kg/日群の 1 例でみられたが，26 週間反復投与毒性試験では高用量の 750 mg/kg/日群においても認められなかった。変化の重症度は軽微から軽度であり，投与期間の長期化による重症度の悪化はみられず，精子検査（ラット及びイヌ）又は雄授胎能試験（ラット）で毒性学的意義のある変化は認められなかった。イヌ及びラットのいずれの動物種においても，休薬により完全な回復又は回復傾向が認められた。

両動物種における生殖器（精巣，精巣上体，及び前立腺）重量の変化及びイヌにおけるアンドロゲンの軽微な増加傾向から代償性ホルモン応答が示唆され，精巣における変化の悪化が抑制された可能性が考えられる。毒性発現機序の検討を目的としたラット及びイヌの初代培養精細管モデルを用いた *ex vivo* 試験では，精子形成過程における LNP023 の直接作用としてセルトリ細胞を介したアンドロゲンシグナル伝達に対する影響が示唆された。

造血／骨髄への影響

イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験では，投与期間終了時に高用量（150 mg/kg/日）群の雄 1 例に中等度の低再生性貧血がみられ，休薬期間中に重度の非再生性貧血へと進行し，早期試験終了に至った。主な病理組織学的変化として骨髄で高度の線維化がみられ，骨髄塗抹標本検査では赤血球形成異常が認められた。イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験では，高用量（150 mg/kg/日）群の雄 1 例に軽度の貧血がみられ，骨髄塗抹検査では赤血球形成低下がみられたが，骨髄の病理組織学的変化は認められなかった。

心血管系への影響

イヌを用いた 2 及び 4 週間反復投与毒性試験の高用量群（それぞれ 1000 及び 300 mg/kg/日）では，心臓乳頭筋で心筋細胞の変性／壊死及び炎症性細胞浸潤が認められた。同様の所見は，幼若イヌを用いた 8 及び 52 週間反復投与毒性試験の高用量群（それぞれ 300 及び 150 mg/kg/日）においても認められた。成熟イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験，及び幼若イヌを用いた 52 週間反復投与毒性試験の回復性試験群では，乳頭筋の線維化が認められ，心筋細胞変性の回復傾向が示唆された。

イヌを用いた安全性薬理試験及び反復投与毒性試験では，いずれも心拍数増加及び血圧低下が認められている。反復投与毒性試験の 150 mg/kg/日以下の群では，心拍数増加作用は反復投与により減弱したが，高用量群では心拍数の増加は持続的であった（3.3 項）。イヌの左心室乳頭筋は虚血に対して高感受性であることから（Harleman et al. 1986），心筋細胞変性／壊死は高用量群でみられた持続的な心拍数増加による虚血に関連した変化である可能性が考えられた。

5.3 遺伝毒性試験

In vitro 遺伝毒性試験として，ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験，ヒトリンパ芽球様 TK6 細胞を用いた小核試験，及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験を，*in vivo* 遺伝毒性試験としてラットを用いた小核試験を実施した（Table 5-2）。

いずれの試験においても，LNP023 の変異原性又は染色体異常誘発性は認められなかった。

Table 5-2 遺伝毒性試験一覧

試験系	評価項目	濃度／用量	結果	試験番号
in vitro				
S. typhimurium, TA 98, 100	突然変異	5-500 µg/well (± S9)	陰性	1313007
S. typhimurium, TA 98, 100, 1535, 97a, 102	突然変異	5-5000 µg/plate (± S9)	陰性	1470563 [a]
ヒト TK6 細胞	染色体異常	125-500 µg/mL (± S9)	陰性	1314004
ヒト末梢血リンパ球	染色体異常	300-459 µg/mL (± S9)	陰性	1470562 [a]
in vivo				
ラット, Han Wistar	小核形成	0, 100, 300, 1000 mg/kg	陰性	1470568 [a]

Sources: Table 2.6.7.8A-1313007，Table 2.6.7.8B-1470563，Table 2.6.7.8C-1314004，Table 2.6.7.8D-1470562，Table 2.6.7.9A-1470568-Appendix 7

a = GLP 適用

5.4 がん原性試験

rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験，及びラットを用いた 104 週間がん原性試験を実施した（Table 5-3）。

rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験の高用量には，野生型 rasH2 マウスを用いた用量設定試験の結果を参考にして，忍容性のみられた投与可能な最大用量として 1000 mg/kg/日を設定した。ラットを用いた 104 週間がん原性試験の高用量には，ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験の無毒性量を参考にして，750 mg/kg/日を設定した。

Table 5-3 がん原性試験一覧

投与期間	動物種／系統	動物数／群	投与経路	用量 (mg/kg/日)	特記すべき所見	試験番号
26 週間	マウス, rasH2 transgenic	雄 25, 雌 25	強制経口	0, 100, 300, 1000	生存率への影響はみられず，がん原性を示唆する変化は認められなかった。	1770876 [a]
104 週間	ラット, Han Wistar	雄 50, 雌 50	強制経口	0, 150, 300, 750	750 mg/kg/日: 雌雄で死亡率増加 [b]。 がん原性を示唆する変化は認められなかった。	1770877 [a]

Sources: Table 2.6.7.10D-1770876, Table 2.6.7.10A-1770877

a = GLP 適用

b = 750 mg/kg/日群の雄では，生存例が 15 例になった Week 102～103 にすべての投与群の雄を早期試験中止とした。750 mg/kg/日群の雌では生存例が 15 例となった Week 99～100 に早期試験終了とし，他のすべての投与群の雌は計画通り Week 105～106 に試験終了とした。

rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験では，いずれの用量においても生存率への影響はみられなかった。腫瘍性病変の増加はみられず，がん原性は示唆されなかった。

ラットを用いた 104 週間がん原性試験では，750 mg/kg/日群で死亡率の増加がみられたが，死因は高濃度かつ高容量の投与液が逆流したこと，又はこの系統のラットにおける一般的な変化によるものと考えられ，LNP023 の毒性に直接関連する死亡ではないと判断した。150 又は 300 mg/kg/日群では，LNP023 に関連した死亡率の増加は認められなかった。腫瘍性病変の増加は認められず，がん原性は示唆されなかった。

5.5 生殖発生毒性試験

ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験（Table 5-4），ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（Table 5-5），ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（Table 5-6），並びに幼若イヌを用いた 52 週間反復投与毒性試験（Table 5-7）を実施した。

5.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

LNP023 の雄ラットを用いた授胎能試験，並びに雌ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験を実施した（Table 5-4）。

Table 5-4 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

動物種／系統	試験の種類	投与経路	動物数／群	用量 (mg/kg/日)	投与期間	試験番号
ラット, Han Wistar	雄授胎能	強制経口	雄 25	0, 50, 150, 750	交配前 13 週間，交配期間中，及び剖検前日まで	1870193 [a]
ラット, Han Wistar	雌受胎能・初期胚発生	強制経口	雌 24	0, 100, 300, 1000	交配前 2 週間，交配期間中，及び妊娠 6 日まで	1770670 [a]

Sources: Table 2.6.7.12A-1870193，Table 2.6.7.12B-1770670
a = GLP 適用

雄ラットを用いた授胎能試験では，交配，授胎能，及び受胎能に LNP023 投与の影響はみられず，精子検査，精巣及び精巣上体の病理組織学的検査で異常は認められなかった。雄授胎能及び初期胚発生に対する無毒性量は最高用量の 750 mg/kg/日と考えられた。

雌ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験では，性周期，交尾率，及び受胎率に影響は認められなかった。1000 mg/kg/日群で着床前及び着床後胚死亡率増加，並びに生存胚数減少が認められた。雌受胎能及び初期胚発生に対する無毒性量は 300 mg/kg/日と考えられた。

5.5.2 胚・胎児発生に関する試験

LNP023 のラットを用いた胚・胎児発生に関する試験，ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験，及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験を実施した（Table 5-5）。

Table 5-5 胚・胎児発生に関する試験

動物種／系統	試験の種類	投与経路	動物数／群	用量 (mg/kg/日)	投与期間	試験番号
ラット, Han Wistar	胚・胎児発生	強制経口	雌 24	0, 100, 300, 1000	妊娠 6～17 日	1670321 [a]
ウサギ, NZW	胚・胎児発生 (DRF)	強制経口	雌 6	0, 50, 300, 600	妊娠 7～20 日	1670322 [a]
ウサギ, NZW	胚・胎児発生	強制経口	雌 20	0, 100, 250, 450	妊娠 7～20 日	1670323 [a]

Sources: Table 2.6.7.13A-1670321，Table 2.6.7.13B-1670322，Table 2.6.7.13C-1670323
DRF = 用量設定，NZW = ニュージーランドホワイト
a = GLP 適用

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，最高用量の 1000 mg/kg/日群においても母動物及び胚・胎児に対する毒性は認められず，母動物及び胎児における無毒性量はいずれも 1000 mg/kg/日と考えられた。

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，450 mg/kg/日群の母動物で体重増加量及び摂餌量の低値が認められたことから，母動物に対する無毒性量は 250 mg/kg/日と考えられた。胎児

検査では，LNP023 投与に関連した胎児の異常及び変異は認められず，胎児に対する無毒性量は最高用量の 450 mg/kg/日と考えられた。

5.5.3 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

LNP023 のラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を実施した。

Table 5-6 出生前及び出生後の発生に関する試験

動物種／系統	試験の種類	投与経路	動物数／群	用量 (mg/kg/日)	投与期間	試験番号
ラット, Han Wistar	出生前及び出生後の発生	強制経口	雌 22	0, 100, 300, 1000	妊娠 6 日から授乳 21 日まで	1770878 [a]

Sources: Table 2.6.7.14-1770878

a = GLP 適用

試験の結果，いずれの用量においても母動物の分娩又は哺育状況への影響，あるいは出生児の生存，身体的発達，行動，及び生殖能への影響は認められなかった。母動物及び出生児に対する無毒性量は 1000 mg/kg/日と考えられた。

5.5.4 幼若イヌを用いた毒性試験

幼若イヌを用いた 8 週間反復投与用量設定試験，並びに幼若イヌを用いた 52 週間反復投与毒性試験及び 27 週間回復性試験を実施した（Table 5-7）。

一般毒性試験の結果に基づくとイヌが最も感受性の高い動物種と考えられたことから，動物種としてイヌを選択した。投与は生後 28 日（ヒトの 6 ヵ月齢に相当）から開始し，52 週間（イヌの成熟まで，ヒトの 18 歳以上に相当）反復投与した。

Table 5-7 幼若動物を用いた毒性試験

動物種／系統	試験の種類	投与経路	動物数／群	用量 (mg/kg/日)	投与期間	試験番号
イヌ, ビーグル	幼若動物を用いた毒性試験 (DRF)	強制経口	雄 0～4, 雌 1～4	0, 5, 30, 150, 300, 600 [a]	生後 28 日又は 31 日から 8 週間	1770671
イヌ, ビーグル	幼若動物を用いた毒性試験	強制経口	主試験: 雄 5, 雌 5 回復性試験: 雄 5, 雌 5	0, 5, 30, 150	生後 28 日から 52 週間	1870009 [b]

Sources: Table 2.6.7.15A-1770671, Table 2.6.7.15B-1870009

DRF = 用量設定

a = 600 mg/kg/日の用量で雌 1 例に生後 29 日から 2 日間投与したが，忍容性が認められなかったため生後 31 日に安楽死処分した。

b = GLP 適用

52 週間反復投与毒性試験では，成熟イヌを用いた毒性試験と同様の変化として 30 mg/kg/日以上の群で精巣，甲状腺，及び肝臓の病理組織学的変化，並びに 150 mg/kg/日群で心拍数増加が認められた。成熟イヌでは認められなかった変化として，30 mg/kg/日以上の群で心臓重量の高値及び大動脈の鉱質沈着が認められた。心臓重量の変化は 27 週間の休薬により雄では完全に回復したが，雌では休薬による回復性は認められなかった。大動脈鉱質沈着は心基部（流出路）に限局しており，対照群と比較して LNP023 投与群では発現頻度及び重量度の増加がみられ，休薬による回復は認められなかった。本試験の無毒性量は 5 mg/kg/日と考えられた。

5.5.5 生殖発生毒性試験全体の評価

生殖発生毒性試験では，最高用量群においても，雄授胎能への影響，催奇形性，及び出生児への影響は認められなかった。雌ラットの受胎能及び初期胚発生に関する試験では，胚致死性が認められた。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，本試験と同等以上の曝露量で胚及び胎児で毒性変化がみられなかったことから，この変化は着床過程における母動物毒性の影響と考えられた。ウサギにおける母動物毒性として，450 mg/kg/日以上の群で体重増加量及び摂餌量の低値が認められた。妊婦における LNP023 投与経験はわずかであり，重大な先天異常，流産，母体又は胎児の有害な転帰の薬剤関連リスクについての情報は得られていない。妊婦又は妊娠している可能性のある女性には，治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与することとする。

幼若イヌを用いた 52 週間反復投与毒性試験では，心臓重量の高値及び大動脈流出路の鉱質沈着が認められた。幼若及び若齢成熟イヌを用いた心血管系安全性薬理試験の結果，幼若イヌの未熟な心血管系では LNP023 の作用に対する感受性が高いことが確認された。大動脈流出路の鉱質沈着は，イヌでは正常動物でも認められることが報告されており，また媒体対照群でも認められることから，イヌに特異的な所見である可能性が考えられる。これらのことから，成人患者においては，幼若イヌでみられた変化の臨床的意義は低いと考えられた。

5.6 曝露量の比較

長期反復投与毒性試験，がん原性試験，及び生殖発生毒性試験の無毒性量／最小毒性量における曝露量を，予定臨床用量（200 mg b.i.d.）におけるヒト曝露量と比較し，安全域を算出した（Table 5-8）。

FB はヒト血漿中に比較的多く存在する血漿蛋白である（200～300 mg/L，Silva et al. 2012，Zhang et al. 2014）。LNP023 の血漿蛋白結合は，検討したすべての動物種で濃度依存性を示した。これは特にヒト血漿中で多量に存在する FB との飽和結合によるものと考えられる。このことを考慮して，予定臨床用量（200 mg b.i.d.）におけるヒト曝露量，並びにラット及びイヌを用いた重要な毒性試験の無毒性量／最小毒性量における曝露量において非結合型濃度を推定した（Table 5-9）。非結合型曝露量を用いて算出した安全域は，毒性試験又は *in vitro* 試験で認められたオフターゲット毒性に対しても意義があると考える。

Table 5-8 毒性試験の無毒性量／最小毒性量における総曝露量と臨床用量におけるヒト曝露量との比較

動物種／試験の種類(試験番号)	用量[a] (mg/kg)	性	無毒性量／最小毒性量	血漿中総 LNP023 濃度			
				AUC0-24h[b, c, d] (ng.h/mL)	安全域	Cmax[c, d] (ng/mL)	安全域
ヒト	200 mg b.i.d.	雌雄	NA	51200	NA	4120	NA
ラット, 26 週間 (1570193)	750	雄	無毒性量	295000	5.8	63900	15.5
		雌	無毒性量	369000	7.2	65200	15.8
		雌雄	無毒性量	332000	6.5	64500	15.7
イヌ, 39 週間 (1570192)	5	雄	無毒性量	39300	0.8	4580	1.1
	30	雌	無毒性量	155000	3.0	21000	5.1
		雄	最小毒性量 (精巣毒性)	183000	3.6	25000	6.1
		雌雄	最小毒性量／無毒性量	169000	3.3	23000	5.6
	150	雄	最小毒性量 (骨髄毒性)	840000	16.4	88200	21.4
		雌		628000	12.3	65900	16.0
		雌雄		734000	14.3	77000	18.7
マウス, rasH2 Tg, 26 週間がん原性 (1770876)	1000	雌雄	無毒性量 (がん原性)	227000	4.4	75900	18.4
ラット, 104 週間がん原性 (1770877)	750	雌雄	無毒性量 (がん原性)	620000	12.1	78100	19.0
ラット, 雄授胎能 (1870193)[e]	750	雄	無毒性量	295000	5.8	63900	15.5
ラット, 雌受胎能 (1770670)[f]	300	雌	無毒性量	123000	2.4	22700	5.5
ラット, EFD (1670321)	1000	雌	無毒性量	278000	5.4	36000	8.7
ウサギ, EFD (1670323)	250	雌	無毒性量 (母動物毒性)	153000	3.0	15000	3.6
	450	雌	無毒性量 (胎児毒性)	400000	7.8	30600	7.4
ラット, PPND (1770878)[f]	1000	雌	無毒性量	278000	5.4	36000	8.7

動物種／試験の種類(試験番号)	用量[a] (mg/kg)	性	無毒性量／最小毒性量	血漿中総 LNP023 濃度			
				AUC0-24h[b, c, d] (ng.h/mL)	安全域	Cmax[c, d] (ng/mL)	安全域
幼若イヌ, 52 週間 (1870009)	5	雌雄	無毒性量	48100	0.9	5870	1.4

Source: Table 2.6.7.7C-1570193，Table 2.6.7.7F-1570192，Table 2.6.7.10D-1770876，Table 2.6.7.10A-1770877，Table 2.6.7.12A-1870193，Table 2.6.7.12B-1770670，Table 2.6.7.13A-1670321，Table 2.6.7.13C-1670323，Table 2.6.7.14-1770878，Table 2.6.7.15B-1870009

EFD = 胚・胎児発生，NA = 該当なし，PPND = 出生前及び出生後の発生

a = ヒト用量は 200 mg b.i.d.（400 mg/日）を示す。

b = 毒性試験では 1 日 1 回投与，ヒトでは 1 日 2 回投与における AUC0-24h。ヒトでは定常状態における AUC0-12h 値を 2 倍して使用した。

c = 曝露量（AUC，Cmax）は有効数字 3 桁に四捨五入した。総血漿中濃度は各試験の結果を使用した。

d = ヒト血漿中濃度は FIH 試験（CLNP023X2101 試験）の結果を使用した。

e = 26 週間反復投与毒性試験（試験番号 1570193）から外挿した。

f = EFD 試験（試験番号 1670321）から外挿した。

Table 5-9 毒性試験の無毒性量／最小毒性量における非結合型曝露量と臨床用量におけるヒト曝露量との比較

動物種／試験の種類(試験番号)	用量[a] (mg/kg)	性	無毒性量／最小毒性量	血漿中非結合型 LNP023 濃度			
				AUC0-24h[b, c, d] (ng.h/mL)	安全域	Cmax[c, d] (ng/mL)	安全域
ヒト	200 mg b.i.d.	雌雄	NA	7810	NA	763	NA
ラット, 26 週間 (1570193)	750	雄	無毒性量	152000	19.5	36700	48.1
		雌	無毒性量	195000	25.0	37500	49.1
		雌雄	無毒性量	174000	22.3	37100	48.6
イヌ, 39 週間 (1570192)	5	雄	無毒性量	14200	1.8	2050	2.7
	30	雌	無毒性量	74300	9.5	10900	14.3
		雄	最小毒性量 (精巣毒性)	88500	11.3	13000	17.0
		雌雄	最小毒性量／無毒性量	81400	10.4	11900	15.6
	150	雄	最小毒性量 (骨髄毒性)	442000	56.6	47100	61.7
		雌		328000	42.0	35100	46.0
		雌雄		385000	49.3	41100	53.9
ラット, 104 週間がん原性 (1770877)	750	雌雄	無毒性量 (がん原性)	343000	43.9	45200	59.2
ラット, 雄授胎能 (1870193)[e]	750	雄	無毒性量	152000	19.5	36700	48.1
ラット, 雌受胎能 (1770670)[f]	300	雌	無毒性量	53800	6.9	12200	16.0

動物種／試験の種類(試験番号)	用量[a] (mg/kg)	性	無毒性量／最小毒性量	血漿中非結合型 LNP023 濃度			
				AUC0-24h[b, c, d] (ng.h/mL)	安全域	Cmax[c, d] (ng/mL)	安全域
ラット, EFD (1670321)	1000	雌	無毒性量	141000	18.1	20100	26.3
ラット, PPND (1770878)[f]	1000	雌	無毒性量	141000	18.1	20100	26.3
幼若イヌ, 52 週間 (1870009)	5	雌雄	無毒性量	18500	2.4	2730	3.6

Source: Table 2.6.7.7C-1570193，Table 2.6.7.7F-1570192，Table 2.6.7.10A-1770877，Table 2.6.7.12A-1870193，Table 2.6.7.12B-1770670，Table 2.6.7.13A-1670321， Table 2.6.7.14-1770878，Table 2.6.7.15B-1870009

EFD = 胚・胎児発生，NA = 該当なし，PPND = 出生前及び出生後の発生

a = ヒト用量は 200 mg b.i.d.（400 mg/日）を示す。

b = 毒性試験では 1 日 1 回投与，ヒトでは 1 日 2 回投与における AUC0-24h。ヒトでは定常状態における AUC0-12h 値を 2 倍して使用した。

c = 曝露量（AUC，Cmax）は有効数字 3 桁に四捨五入した。非結合型濃度はモデリングの結果（DMPK R22004499）から推定した。

d = ヒト血漿中濃度は FIH 試験（CLNP023X2101 試験）の結果を使用した。

e = 26 週間反復投与毒性試験（試験番号 1570193）から外挿した。

f = EFD 試験（試験番号 1670321）から外挿した。

5.7 局所刺激性試験

LNP023 の予定臨床投与経路は経口投与であり，局所刺激性については毒性試験において評価していることから，独立した局所刺激性試験は実施しなかった。いずれの毒性試験においても LNP023 投与に関連した胃腸管毒性は認められなかった。

労働衛生に関連したハザード評価の観点から，三次元組織ヒト表皮モデル（EpiSkin™）を用いた皮膚刺激性試験及びマウスを用いた局所リンパ節アッセイを実施し，皮膚刺激性及び皮膚感作性について評価した。試験の結果，LNP023 の皮膚刺激性及び皮膚感作性を示唆する反応は認められなかった。

5.8 その他の毒性試験

5.8.1 光毒性試験

3T3 線維芽細胞株を用いた *in vitro* 光毒性試験では，LNP023 の光毒性係数（PIF）は 7.0 であり，弱い光毒性が示唆された。

マウスを用いた紫外線照射局所リンパ節アッセイによる *in vivo* 光毒性試験では，明らかな光毒性を示唆する反応は認められず，ヒトにおける光毒性リスクは低いと考えられた。最高用量の 1000 mg/kg/日における曝露量をヒト曝露量と比較すると，総 AUC で 11.7 倍，総 Cmax で 37.6 倍であった。

5.8.2 免疫毒性試験

LNP023 の作用機序（FB 阻害）に関連したリスクとして，免疫調節及び易感染性が考えられる。

すべての非臨床安全性試験において LNP023 に関連した感染症は認められていない。しかしながら，イヌを用いた反復投与毒性試験では炎症を示唆する臨床検査値の変化，並びに肝臓の混合性炎症細胞浸潤及び肉芽腫がみられ，若齢イヌを用いた 14 日間安全性薬理試験ではテレメトリー装置埋植処置に関連した体温上昇及び手術部位の炎症が認められ，これらの動物では感染の可能性が示唆された。

反復投与毒性試験に組み込んだ免疫毒性評価では，LNP023 の免疫系に対する臨床的意義のある作用は認められなかった。イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験では，30 mg/kg/日以上の群のリンパ系組織にリンパ系細胞枯渇がみられたが，39 週間反復投与毒性試験では最高用量の 150 mg/kg/日まで同様の変化は認められなかった。イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験に組み込んだ T 細胞依存性抗体産生試験（TDAR）では，すべての LNP023 投与群で抗原惹起後の抗体応答（IgM 及び IgG 抗体価）の軽微な低下がみられたのみであり，いずれの群においても IgM 及び IgG 抗体応答が保たれていると考えられた。

以上に加えて非臨床薬理試験では FB 及び AP 阻害に対する選択的な薬力学的作用が確認されていることを踏まえると，LNP023 は獲得免疫に対して臨床的に意義のある作用を示さないと考えられた。

5.8.3 毒性発現機序検討試験

反復投与毒性試験でみられた主な標的器官毒性の発現機序検討を目的として，探索的毒性発現機序検討試験を GLP 非適用で実施した。

5.8.3.1 FB ノックアウトマウスにおける表現型検討

FB 欠損に伴う変化について検討する目的で，FB ノックアウトマウス（B6;129S4-Cfb<tm1Hrc>）の表現型を検討した。器官重量，剖検，及び病理組織学的検査の結果，Mouse Genome Informatics (2023)に示された表現型との一致が確認された。FB ノックアウトマウスと野生型マウスの表現型に差は認められなかったことから，ラット及びイヌで認められた毒性変化はオンターゲット毒性ではなくオフターゲット毒性の可能性が考えられた。

5.8.3.2 甲状腺の変化に関する機序検討試験

甲状腺濾胞細胞肥大に関する毒性発現機序検討試験として，反復投与毒性試験の試料を使用した遺伝子発現解析及び *in vitro* 試験を実施した。

ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験の肝臓試料，並びにイヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験の甲状腺及び肝臓試料における遺伝子発現解析では，甲状腺濾胞細胞肥大との関連が考えられる甲状腺遺伝子のアップレギュレーションがみられたが，肝臓の甲状腺ホルモン代謝関連遺伝子又は甲状腺ホルモン結合蛋白質をコードする遺伝子の変化は認められなかった。したがって，

肝代謝及び甲状腺ホルモン輸送の異常が甲状腺濾胞細胞肥大の主な原因ではないことが示唆された。

甲状腺ペルオキシダーゼ（TPO）活性に関する *in vitro* 試験では，イヌの TPO 活性に対する LNP023 の影響はみられず，甲状腺濾胞細胞肥大は TPO 阻害によるものではないと考えられた。

甲状腺ホルモン受容体のルシフェラーゼレポーターアッセイでは，LNP023 の 80 μM（ヒト非結合型 Cmax の 44 倍）以上の濃度で，アゴニストの T3 に対する甲状腺ホルモン受容体 α 及び β（TRα 及び TRβ）のレポーター活性の濃度依存的低下が認められ，高曝露では甲状腺受容体シグナル伝達に干渉する可能性が示唆された。放射性リガンド結合アッセイでは，TRα 及び TRβ に対する直接結合は認められなかった。

以上のことから，毒性発現機序検討試験ではラット及びイヌにおける甲状腺の病理組織学的変化について完全に解明することはできなかった。

5.8.3.3　精巣毒性に関する機序検討試験

主にイヌで認められた精巣毒性に関する毒性発現機序検討試験として，反復投与毒性試験の試料を使用した遺伝子発現解析及び *in vitro* 試験を実施した。

イヌを用いた 13 及び 39 週間反復投与毒性試験の精巣試料を用いたエピゲノム活性領域の遺伝子発現解析及び分子プロファイリングでは，精巣決定因子のモチーフエンリッチメントが確認された。

初代培養精細管モデルである [redacted] を用いた *ex vivo* 試験では，体細胞（主にセルトリ細胞）の増加及びセルトリ細胞特異的遺伝子の調節がみられ，さらにギャップ及びタイトジャンクション機能，血液－精巣関門の機能，円形精子細胞数，及びアンドロゲンにより調節される遺伝子発現への影響がみられた。精子形成過程のうち LNP023 の影響がみられた過程は，セルトリ細胞を介したアンドロゲンシグナル伝達に依存することが知られていることから，アンドロゲンシグナルの関与が推察された。

アンドロゲン受容体（AR）活性に対する LNP023 の直接作用を検討した AR レポーターアッセイでは，アゴニストの 6α-Fl-Testosterone に対するアンドロゲン受容体のレポーター活性に変化はみられなかった。

In vitro 試験により，精子形成に関与する遺伝子のホルモン依存性転写活性化に関与する酵素であるヒストンリジン脱メチル化酵素（JMJD1A/KDM3A 及び JMJD1B/KDM3B）に対する LNP023 の阻害作用を検討した。試験の結果，JMJD1A/KDM3A に対してのみ IC50 が 130 μM［ヒト非結合型 Cmax の 71.9 倍，雄イヌの最小毒性量（30 mg/kg/日）における非結合型 Cmax の 4.2 倍］と算出された。

以上のとおり，ラット及びイヌ精細管初代培養モデルを用いた試験から，LNP023 の精子形成過程に対する直接作用として，セルトリ細胞を介したアンドロゲンシグナル伝達の抑制に関連し

た精子成熟の遅延が示唆された。JMJD1A/KDM3A 阻害の可能性を完全に除外することはできないが，IC50 値が高いことからヒトへの外挿性は低いと考えられた。

5.8.3.4 骨髄毒性に関する機序検討試験

イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験の 1 例で認められた血液／骨髄毒性に関する追加検討として *in vitro* 試験を実施し，造血幹細胞及び前駆細胞に対する LNP023 の細胞毒性を検討した。

イヌの骨髄由来の単核細胞を，顆粒球・赤血球・マクロファージ・巨核球系幹細胞（SC-GEMM），又は赤芽球バースト形成細胞（P-BFU，赤血球前駆細胞），並びに顆粒球・マクロファージ前駆細胞（P-GM）に必要な成長因子の存在下又は非存在下で培養した。細胞増殖障害により細胞毒性を評価した結果，P-BFU 増殖に対してのみ IC50 は 3586 μM（ヒト総 Cmax の 367 倍，150 mg/kg/日群のイヌの総 Cmax の 20 倍）と算出され，非常に高濃度であった。

さらに，イヌ及びヒトの骨髄由来単核細胞を用いた同様の検討では，イヌのいずれの細胞集団においても LNP023 の作用はみられず，ヒト SC-GEMM 及び P-BFU に対する作用も認められなかった。ヒト P-GM に対してのみ，高濃度の LNP023 により軽度の抑制がみられ，IC50 は 217 又は 226 μM（臨床用量におけるヒト総 Cmax の 22 倍以上，ヒト非結合型 Cmax の 100 倍以上）であった。さらに，イヌ及びヒトの P-BFU 試料を用いて遺伝子発現解析を実施した結果，イヌ及びヒト P-BFU の転写プロファイルに明らかな影響はみられなかった。

以上のことから，イヌにおける骨髄毒性発現濃度又は臨床用量におけるヒト血中濃度では，造血幹細胞及び前駆細胞に対する LNP023 の細胞毒性は発現しないものと考えられた。

5.8.4 依存性試験

LNP023 の中枢神経系への影響を示唆するオフターゲット作用はみられず，放射性標識体を用いた分布試験で脳への曝露量は少なく，かつ一過性であった。LNP023 の作用機序からは依存性は予測されず，安全性薬理試験及び反復投与毒性試験からは中枢神経系への影響は示唆されなかった。以上のことから，依存性試験は実施しなかった。

5.8.5 代謝物の毒性試験

ヒト血漿中に全曝露量の 10%を超える代謝物は認められなかったことから，独立した代謝物の毒性試験は実施しなかった。

6 不純物及び分解物

ICH Q3A 及び Q3B に基づくと，LNP023 の原薬及び製剤中の不純物のうち，不純物AA*，不純物Z*，及び 不純物T*の規格値は安全性確認が必要な閾値を上回る。不純物AA*及び不純物Z*はそれぞれ代謝物 [redacted] 及び [redacted] と同一であり，また，不純物Z*及び 不純物T*は一般毒性試験及び遺伝毒性試験に使用したバッチに推定ヒト不純物用量を上回る量が含まれていた。以上のことから，不純物AA*，不純物Z*，及び 不純物T* の安全性は確認されたと判断した。

LNP023の不純物の変異原性について，ICH M7に従い（定量的）構造活性相関［(Q)SAR］法により評価した。変異原性の警告構造を有する不純物のうち，製造工程で十分に除去されない可能性のある不純物については，細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames試験）の実施又はクラス3の変異原性不純物として管理することで対応した。

LNP023の製造工程中の潜在的な不純物及び分解生成物である 不純物A*は，Ames試験及びヒトリンパ球を用いた小核試験で変異原性及び小核発現頻度の増加が認められたため，ラットを用いて *in vivo* 遺伝子突然変異試験（*Pig-a* アッセイ）及び小核試験を実施した。試験の結果，不純物A*による *Pig-a* 遺伝子突然変異及び小核の誘発は認められなかった。したがって，不純物A* は *in vivo* で遺伝毒性を示す可能性はないものと考えられた。以上のことから，不純物A* は非変異原性不純物と考えられ，毒性試験成績から算出した許容限度値である [redacted] で管理することが支持された。

7 安全性の総合評価

LNP023 は FB 阻害により補体活性化を阻害することから，潜在的な安全性リスクとして莢膜形成細菌に対する易感染性，及び免疫応答の調節が考えられる。莢膜形成細菌である髄膜炎菌，肺炎球菌，及び Hib の殺菌には補体系が関与している。これらの細菌に対するワクチン接種前後の被験者血清又は血液を用いた *in vitro* 試験結果から，LNP023 は，ワクチン未接種では髄膜炎菌，肺炎球菌，及び Hib に対する殺菌作用を減弱させた（Ispasanie et al. 2021，Muri et al. 2021，Muri et al. 2022）。しかしながら，ワクチン接種により抗体価が得られていれば，LNP023により APが阻害された状態においても殺菌作用は保たれた。一方，抗 C5 抗体薬及び C3 阻害薬では，ワクチン接種状況にかかわらず殺菌作用が減弱し，抗 C5 抗体薬では髄膜炎菌及び Hib に対して，C3 阻害薬ではすべての菌に対して作用が減弱した。この *in vitro* 試験結果から，LNP023 治療を受ける患者ではワクチン接種により，抗 C5 抗体薬又は C3 阻害薬治療の患者に比べ，莢膜形成細菌に対して高い感染防御能を示すと示唆された。DNP-KLH 投与マウスモデル及び SRBC 投与ラットモデルを用いた *in vivo* の検討では，LNP023 は T 細胞依存性 B 細胞応答に影響を及ぼさなかった。イヌを用いた反復投与毒性試験において，T 細胞依存性抗体応答に対する臨床的に意義のある作用は認められなかった。いずれの非臨床安全性試験でも LNP023に関連した感染症は認められなかったが，一部のイヌで炎症が認められ，潜在的な感染症により発現した可能性が考えられる。LNP023 を投与された患者では，感染症発現について注意深い観察が必要である。

In vitro 心血管系安全性薬理試験では，LNP023 は高濃度までヒト心筋イオンチャネルに直接影響を及ぼさなかった。*In vivo* 心血管系安全性薬理試験及び反復投与毒性試験に組み込んだ心血管系安全性評価では，サルで QTc 間隔の延長が認められたが（臨床用量でのヒト総 Cmax の 21倍以上），イヌでは同等以上の血漿中曝露量でも認められなかった。また，イヌで心拍数増加，血圧低下，及び心収縮力増加が認められたが（臨床用量でのヒト総 Cmax のそれぞれ 3，8，及び 13倍），ラット及びサルでは心拍数の変化は認められなかった。

＊新薬承認情報提供時に置き換え

心臓の病理組織学的変化として，イヌを用いた 2 及び 4 週間反復投与毒性試験の高用量（300 mg/kg/日以上），並びに幼若イヌを用いた 8 及び 52 週間反復投与毒性試験の高用量（150 mg/kg/日以上）において心筋細胞の変性／壊死及び炎症性細胞浸潤が認められた。これらの変化は高い曝露でのみ認められ（4 週間反復投与毒性試験の曝露量に基づくと，臨床用量でのヒト総 Cmax の 49 倍，総 AUC の 39 倍），持続性の心拍数増加作用を伴っていた。成熟イヌの 150 mg/kg/日以下の群では，心拍数増加は反復投与により減弱した（39 週間反復投与毒性試験の曝露量に基づくと，臨床用量でのヒト総 Cmax の 19 倍，総 AUC の 14 倍）。

健康被験者を対象とした第 I 相臨床試験では，1200 mg の投与量（臨床用量 200 mg b.i.d.での総 Cmax の 4 倍）まで，QTc 間隔，心拍数，及び血圧に変化は認められなかった。イヌにおける心筋変性は高い曝露量でのみ認められたこと，臨床試験では 1200 mg までの用量で心血管系の機能的な変化がみられていないことから，非臨床試験で認められた心血管系の変化が臨床用量において発現する可能性は低いと考えられた。

ラットを用いた安全性薬理試験では，LNP023 による中枢神経系及び呼吸系への影響は認められなかった。

LNP023 のラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験では，主な変化として甲状腺濾胞細胞肥大，精巣毒性，及び骨髄毒性が認められた。ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験の無毒性量は，最高用量の 750 mg/kg/日（臨床用量でのヒト総 AUC の 6.5 倍，ヒト非結合型 AUC の 22.3 倍）と考えられた。イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験の無毒性量は，雄では 30 mg/kg/日群の精巣毒性により 5 mg/kg/日（臨床用量でのヒト総 AUC の 0.8 倍，ヒト非結合型 AUC の 1.8 倍），150 mg/kg/日群の 1 例でみられた骨髄毒性により雌では 30 mg/kg/日（臨床用量でのヒト総 AUC の 3.3 倍，ヒト非結合型 AUC の 10.4 倍）と考えられた。

甲状腺濾胞細胞肥大は，ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験で一貫して認められ，甲状腺重量の増加及び軽度で一過性の甲状腺ホルモンの変化を伴っていた。これらの変化は投与期間の長期化による悪化はみられず，休薬により回復し，甲状腺機能低下又は甲状腺機能亢進を示唆する一般状態の変化は認められなかったことから，毒性とは判断しなかった。*In vitro* 毒性発現機序検討試験では，高濃度の LNP023 処理により甲状腺受容体シグナル伝達への干渉が示唆された。しかし，甲状腺ホルモン受容体（TRα 及び TRβ）に対する直接結合及びその他の関連するオフターゲット作用は認められなかった。臨床試験では甲状腺ホルモン測定を実施しており，臨床的に意味のある経時的な変化は認められていない。したがって，ヒト甲状腺に対するリスクは低いと考えられる。

精巣毒性がイヌの 30 mg/kg/日以上の群で認められた。精巣の変化は軽微から軽度であり，投与期間の長期化による悪化はみられず，休薬により回復又は回復傾向を示し，精子検査（ラット，イヌ）又は雄授胎能（ラット雄授胎能試験）に毒性学的意義のある変化は認められなかった。ラット及びイヌの精細管初代培養モデルを用いた *ex vivo* 試験では，精子形成過程における LNP023 の直接作用が確認され，セルトリ細胞を介したアンドロゲンシグナル伝達を抑制する可

能性が示唆された。雄性生殖器の変化は軽度かつ可逆的であり，授胎能に対する影響は示唆されなかったことから，無毒性量及び最小毒性量を使用して曝露量比を算出した。イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験の雄の無毒性量（5 mg/kg/日）での総 AUC は臨床用量でのヒト総 AUC の 0.8 倍，精巣毒性の最小毒性量である 30 mg/kg/日における総 AUC はヒト総 AUC の 3.6 倍であった。オフターゲット毒性である可能性を考慮して非結合型 AUC で比較すると，無毒性量での非結合型 AUC はヒト非結合型 AUC の 1.8 倍，最小毒性量での AUC はヒト非結合型 AUC の 11.3 倍であった。FB ノックアウトマウス，又は AP に遺伝的欠損を有する患者において，生殖能力の明らかな異常は報告されていない。臨床試験では生殖ホルモン測定を実施しており，臨床的に意味のある経時的な変化は認められなかった。以上のデータを総合すると，非臨床試験で認められた精巣毒性の臨床用量におけるヒトへの外挿性は低いものと考えられた。

イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験では，150 mg/kg/日群の 1 例で骨髄毒性が認められた。イヌ又はヒトの骨髄由来の幹細胞及び前駆細胞を用いた *in vitro* 毒性発現機序検討試験では LNP023 による血液毒性は認められず，イヌにおける骨髄毒性の発現機序又はヒトでの発現可能性は明らかにできなかった。イヌの骨髄毒性は高い曝露量で認められており（臨床用量でのヒト総 AUC の 14.3 倍，ヒト非結合型 AUC の 49.3 倍），骨髄毒性に対する無毒性量（30 mg/kg/日）での曝露量はヒト総 AUC の 3.3 倍，ヒト非結合型 AUC の 10.4 倍であった。LNP023 の作用機序（FB 阻害）から骨髄に対する作用は予測されない。他の腎疾患患者を対象とした臨床試験では赤血球数及びヘモグロビンに対する影響はみられず，PNH 患者では溶血により減少していた赤血球数が概ね正常値まで増加した。以上のとおり，イヌで認められた骨髄毒性は，発現頻度が低く安全域が認められること，臨床試験では関連した変化が認められていないことから，臨床用量におけるヒトへの外挿性は低いと考える。

FB ノックアウトマウス（Matsumoto et al. 1997）又は AP に遺伝的欠損を有する患者（Skattum et al. 2011）で関連する異常が報告されていないことから，毒性試験における主な毒性変化は LNP023 のオフターゲット毒性の可能性が高いと考えられる。LNP023 は選択的セリンプロテアーゼ阻害剤であり，*in vitro* 試験では広範なオフターゲットに対して作用しないことが確認されている。一連の毒性発現機序検討試験では，毒性試験でみられた変化とオフターゲット結合の関連及び毒性発現機序は完全には解明できなかった。

In vitro 及び *in vivo* 遺伝毒性試験において，LNP023 の変異原性及び染色体異常誘発性は認められなかった。*In vitro* 及び *in vivo* 光毒性試験では，LNP023 はヒトにおける光毒性の弱い潜在的リスクを有することが示唆された。

rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験及びラットを用いた 104 週間がん原性試験では，マウス（臨床用量でのヒト総 AUC の 4.4 倍，ヒト非結合型 AUC の 12.1 倍）及びラット（臨床用量でのヒト総 AUC の 12.1 倍，非結合型 AUC の 43.9 倍）のいずれにおいても，がん原性を示唆する結果は認められなかった。

LNP023 の雄授胎能に対する影響は，最高用量の 750 mg/kg/日群（臨床用量におけるヒト総 AUC の 5.8 倍，非結合型 AUC の 19.5 倍）においても認められなかった。雌ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験では，最高用量の 1000 mg/kg/日群（臨床用量でのヒト総 AUC の 5.4 倍，非結合型 AUC の 18.1 倍）で着床前及び着床後胚死亡率の増加がみられ，LNP023 の胚致死性が示唆された。雌受胎能及び初期胚発生の無毒性量（300 mg/kg/日）における曝露量は，臨床用量におけるヒト総 AUC の 2.4 倍，非結合型 AUC の 6.9 倍であった。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，最高用量においても LNP023 の催奇形性及び胚・胎児毒性は認められず，胚・胎児に対する無毒性量はラットで 1000 mg/kg/日（ヒト総 AUC の約 5.4 倍，非結合型 AUC の 18.1 倍），ウサギで 450 mg/kg/日（ヒト総 AUC の 7.8 倍）と判断された。ウサギでは 450 mg/kg/日で母動物毒性が認められ，母動物に対する無毒性量は 250 mg/kg/日（ヒト総 AUC の 3 倍）であった。ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験では，最高用量の 1000 mg/kg/日（ヒト総 AUC の 5.4 倍，非結合型 AUC の 18.1 倍）においても母動物及び出生児に対する毒性は認められなかった。

精液を介して母体が LNP023 に曝露された場合の影響に関して，精液中の LNP023 は 177000 ng と算出された（臨床用量における平均最高血漿中濃度は 3540 ng/mL，精液量を 5 mL，バイオアベイラビリティを 100%，安全係数を 10 とする）。ヒト分布容量（血液量及び細胞外容量）を 10 L とすると，精液を介した母体の曝露量は 17.7 ng/mL と推定され，非常に低い濃度であった（臨床用量でのヒト総 Cmax の 1/233，ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の無毒性量における総 Cmax の 1/2000）。したがって，男性患者の避妊は必要ではないと判断した。

幼若イヌを用いた 52 週間反復投与毒性試験では，30 mg/kg/日以上の群で心臓重量の高値及び大動脈基部の鉱質沈着が認められ，無毒性量は 5 mg/kg/日と考えられた（臨床用量におけるヒト総 AUC の 0.9 倍，非結合型 AUC の 2.4 倍）。幼若イヌでみられた心臓重量の高値及び大動脈基部の鉱質沈着は，ベースラインで高心拍出量状態にあり，また LNP023 投与に対する適応性が十分ではない幼若イヌにおいて，LNP023 の血行動態に対する影響が持続した結果と考えられている。大動脈流出路の鉱質沈着は媒体対照群でも認められていること，イヌは動物種として大動脈鉱質沈着を発症しやすいとの報告があることから，イヌに特異的な所見である可能性が考えられる。以上のことから，幼若イヌにおける持続的な血管系に対する影響は，成人患者において臨床的意義のある変化ではないと考えられた。

8 結論

LNP023 は，新規作用機序を持つ経口投与可能な低分子の補体阻害薬であり，強力かつ選択的に FB を阻害する。

非臨床薬理試験では，ラット，イヌ，ウサギ，及びヒト等の FB に対し，LNP023 は AP 活性化を強力に阻害した。PNH 患者由来の赤血球を用いた検討で，LNP023 は MAC 形成による溶血を阻

害し，赤血球表面への C3 フラグメント沈着を阻害した。このため，LNP023 は血管内溶血及び血管外溶血をともに阻害し，PNH 型赤血球の溶血に対し高い抑制効果を示すと期待できる。

非臨床安全性試験では，主な毒性標的器官として甲状腺，精巣，及び骨髄が特定された。毒性変化は休薬による回復性及び回復傾向を示し，いずれの変化も臨床でのモニターが可能と考えられた。LNP023 に遺伝毒性及びがん原性は認められなかった。雄授胎能に対する影響はみられず，催奇形性は認められなかったが，ラットでは着床までの初期胚発生に対する影響が認められた。

以上，一連の非臨床試験成績から，PNH 患者に対する LNP023 投与のベネフィット・リスクバランスは良好であり，その治療薬として添付文書案に規定した用法・用量で本薬を使用することは支持されると判断した。

9 参考文献

[Cybulsky AV, Rennke HG, Feintzeig ID, et al. (1986)] Complement-induced glomerular epithelial cell injury. Role of the membrane attack complex in rat membranous nephropathy. J Clin Invest; 77(4):1096-107.

[Gauthier A, Wagner E, Thibeault R, et al. (2021)] A novel case of complement factor B deficiency. J Clin Immunol; 41(1):277-9.

[Harleman JH, Joseph EC, Eden RJ, et al. (1986)] Cardiotoxicity of a new inotrope/vasodilator drug (SK&F 94120) in the dog. Arch Toxicol; 59(1):51-5.

[Hebell T, Ahearn JM, Fearon DT (1991)] Suppression of the immune response by a soluble complement receptor of B lymphocytes. Science; 254(5028):102-5.

[Ispasanie E, Muri L, Schubart A, et al. (2021)] Alternative complement pathway inhibition does not abrogate meningococcal killing by serum of vaccinated individuals. Front Immunol; 12:747594.

[Lee JW, Brodsky RA, Nishimura JI, et al. (2022)] The role of the alternative pathway in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and emerging treatments. Expert Rev Clin Pharmacol; 15(7):851-61.

[Li Q, Li YX, Stahl GL, et al. (2011)] Essential role of factor B of the alternative complement pathway in complement activation and opsonophagocytosis during acute pneumococcal otitis media in mice. Infect Immun; 79(7):2578-85.

[Mastellos DC, Ricklin D, Yancopoulou D, et al. (2014)] Complement in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: exploiting our current knowledge to improve the treatment landscape. Expert Rev Hematol; 7(5):583-98.

[Matsumoto M, Fukuda W, Circolo A, et al. (1997)] Abrogation of the alternative complement pathway by targeted deletion of murine factor B. Proc Natl Acad Sci U S A; 94(16):8720-5.

[Merle NS, Church SE, Fremeaux-Bacchi V, et al. (2015)] Complement system part I - molecular mechanisms of activation and regulation. Front Immunol; 6:262.

[Molina H, Wong W, Kinoshita T, et al. (1992)] Distinct receptor and regulatory properties of recombinant mouse complement receptor 1 (CR1) and Crry, the two genetic homologues of human CR1. J Exp Med; 175:121-9.

[Mouse Genome Informatics (2023)] Cfb<tm1Hrc> Targeted Allele Detail MGI:1861129. Mouse Genome Database. The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine (Internet) Available from: <http://www.informatics.jax.org/allele/MGI:1861129> (Accessed 23 February 2022)

[Mueller-Ortiz SL, Drouin SM, Wetsel RA (2004)] The alternative activation pathway and complement component C3 are critical for a protective immune response against *Pseudomonas aeruginosa* in a murine model of pneumonia. Infect Immun; 72(5):2899-906.

[Muri L, Ispasanie E, Schubart A, et al. (2021)] Alternative complement pathway inhibition abrogates pneumococcal opsonophagocytosis in vaccine-naïve, but not in vaccinated individuals. Front Immunol; 12:732146.

[Muri L, Schubart A, Thorburn C, et al. (2022)] Inhibition of the different complement pathways has varying impacts on the serum bactericidal activity and opsonophagocytosis against *Haemophilus influenzae* type b. Front Immunol; 13:1020580.

[Schubart A, Anderson K, Mainolfi N, et al. (2019)] Small-molecule factor B inhibitor for the treatment of complement-mediated diseases. Proc Natl Acad Sci U S A; 116(16):7926-31.

[Schubart A, Flohr S, Junt T, et al. (2023)] Low-molecular weight inhibitors of the alternative complement pathway. Immunol Rev; 313(1):339-57.

[Silva AS, Teixeira AG, Bavia L, et al. (2012)] Plasma levels of complement proteins from the alternative pathway in patients with age-related macular degeneration are independent of complement factor H Tyr^{402} His polymorphism. Mol Vis; 18:2288-99.

[Skattum L, van Deuren M, van der Poll T, et al. (2011)] Complement deficiency states and associated infections. Mol Immunol; 48(14):1643-55.

[Slade C, Bosco J, Unglik G, et al. (2013)] Deficiency in complement factor B. N Engl J Med; 369:1667-9.

[Spicer AP, Seldin MF, Gendler SJ (1995)] Molecular cloning and chromosomal localization of the mouse decay-accelerating factor genes. Duplicated genes encode glycosylphosphatidylinositol-anchored and transmembrane forms. J Immunol; 155:3079-91.

[Thurman JM, Holers VM (2006)] The central role of the alternative complement pathway in human disease. J. Immunol, 176(3):1305-10.

[Yang H, Rudge DG, Koos JD, et al. (2013)] mTOR kinase structure, mechanism and regulation. Nature; 497(7448):217-23.

[Zhang Y, Nester CM, Martin B, et al. (2014)] Defining the complement biomarker profile of C3 glomerulopathy. Clin J Am Soc Nephrol; 9(11):1876-82.

特発性造血障害に関する調査研究班 (2020) 発作性夜間ヘモグロビン尿症診療の参照ガイド令和 1 年改訂版 (Internet) Available from: <http://zoketsushogaihan.umin.jp/file/2020/06v2.pdf> (Accessed 28 April 2023)