目次

2.4 非臨床に関する概括評価 3
2.4.1 非臨床試験戦略の概要 3
2.4.1.1 緒言 3
2.4.1.2 非臨床試験計画 4
2.4.2 薬理試験 5
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 6
2.4.2.2 副次的薬理試験 9
2.4.2.3 安全性薬理試験 9
2.4.3 薬物動態試験 11
2.4.3.1 分析法 11
2.4.3.2 吸収、分布及び排泄 11
2.4.3.3 代謝 12
2.4.3.4 薬物間相互作用 12
2.4.3.5 パチロマーカルシウムからのフッ化物の体内動態 14
2.4.4 毒性試験 15
2.4.4.1 単回投与毒性試験 15
2.4.4.2 反復投与毒性試験 15
2.4.4.3 遺伝毒性試験 16
2.4.4.4 がん原性試験 17
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 17
2.4.4.6 局所刺激性試験・その他の毒性試験 18
2.4.4.7 不純物及び分解生成物の評価 18
2.4.5 概要及び結論 21
2.4.5.1 薬理試験 21
2.4.5.2 薬物動態試験 21
2.4.5.3 毒性試験 22
2.4.6 引用文献 25

表

表 2.4.4.7-1. [redacted]不純物の毒性評価概要 20
表 2.4.5.3-1. パチロマーカルシウムの投与量に基づいたヒトでの暴露に対する安全域 24

略語表

AUC	血漿中濃度曲線下面積
CHO	チャイニーズハムスター卵巣由来線維芽細胞株
C_{max}	最高血漿中濃度
EMA	欧州医薬品庁
FDA	米国食品医薬品局
GI	消化管
GLP	Good Laboratory Practice
hERG	ヒトether-a-go-go関連遺伝子
ICH	医薬品規制調和国際会議
LOEL	最小影響量
MRHD	最大推奨臨床用量
NCEs	正染性赤血球数
NOAEL	無毒性量
NOEL	無影響量
PCEs	多染性赤血球数
PDE	一日許容曝露量
QSPR	定量的構造特性相関
RLY5016	パチロマーカルシウム
RLY5016H	パチロマー
RLY5016Na	パチロマーナトリウム
SGF	疑似胃液
USP	米国薬局方

2.4 非臨床に関する概括評価

2.4.1 非臨床試験戦略の概要

2.4.1.1 緒言

本申請は、高カリウム血症の治療におけるビルタサ懸濁用散分包 8.4g (以下、本剤) の使用に関する申請である。本剤は、1 日 1 回、水に懸濁して投与する経口懸濁液用の粉末として製剤化されたものである。本剤は、原薬であるパチロマーソルビテクスカルシウム (以下、本薬) に懸濁剤として [redacted]wt%のキサンタンガムを配合したものである。

本薬は、直径約 100 マイクロメートルの球状ビーズからなる流動性のある粉末である。本薬は、ジビニルベンゼン及び 1,7-オクタジエンを共重合した 2-フルオロアクリル酸メチルから合成される。このポリマーは 3 つの繰り返し単位、すなわち負に帯電した 2-フルオロ-2-プロペノエートと、ポリマーを架橋する 2 つの二官能性分子を含む。各ポリマービーズは、ポリマー鎖の間に複数の共有結合で架橋された 1 つの高分子である。カルシウム-ソルビトール複合体は、負に帯電したポリマーアニオンの対イオンである。ポリマーアニオンは”パチロマーアニオン”とも呼ばれ、活性本体である。パチロマーは、プロトン化されたパチロマーアニオンの名称である。簡単にするために、ポリマーアニオン (活性部分) の質量はプロトンによって大きな影響を受けないため、本剤の臨床用量を説明する際は、パチロマーアニオンではなくパチロマーを用いる。本非臨床概要及び本申請における非臨床概要の項では、「ポリマーアニオン」という用語は、「パチロマー」及び「パチロマーアニオン」と同じ意味である。

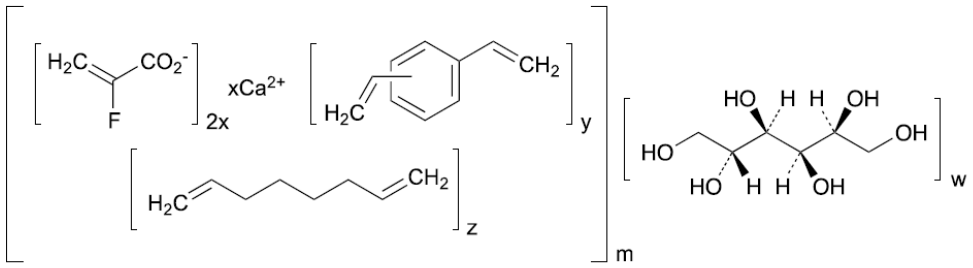
本申請のために実施された非臨床薬理学研究では本薬に加えて、3 つの被験物質を使用した。これらはすべて対イオンの種類のみが異なるものであり、同一のパチロマーアニオンを含む。被験物質 RLY5016 (以下、パチロマーカルシウム) 、RLY5016Na (パチロマーナトリウム) 及び RLY5016H (以下、パチロマー) は、それぞれカルシウム (ソルビトールなし) 、ナトリウム及びプロトンと複合化したパチロマーアニオンである。活性部分が同じ (すなわち、パチロマーアニオン) であることから、これらの被験物質を用いた非臨床試験において本薬の安全性が支持されている。本薬を投与した非臨床試験では、パチロマーカルシウムを投与した試験と比較できる様に、用量はパチロマー (水分及びソルビトール含有量調整後) として表示される。

本申請資料に記載された非臨床試験のいくつかは、[redacted] (米国[redacted]) により実施または委託試験として実施した。パチロマーカルシウムの開発権は、20[redacted] 年 [redacted]月に Relypsa, Inc. (米国カリフォルニア州レッドウッドシティ) に譲渡された。[redacted]が作成した研究レポートでは、パチロマーカルシウム (すなわちカルシウムと複合体を形成したポリマー) をコード番号 [redacted] と表記しているが、この物質はパチロマーカルシウムと同一である。

本薬 (Calcium, hydrolyzed divinylbenzene-Me 2-fluoro-2-propenoate-1,7-octadiene polymer sorbitol complexes) の化学構造を図 1 に示す。本構造においてモノマー配列は規則

的ではなく、ポリマー鎖に沿ってランダムに架橋していると考えられる。

図 1 本薬の化学構造



2.4.1.2 非臨床試験計画

非臨床の薬理試験及び薬物動態試験の大部分は、[redacted]または Relypsa, Inc.で実施した。すべての安全性薬理試験は Good Laboratory Practice (GLP) に従い実施した。また、ラット及びイヌを用いた薬物動態試験は、GLP 準拠で実施した。探索的試験を除き、ウサギを用いた胚胎児発生試験を含む毒性プログラムのすべての試験は、GLP 試験として実施した。それぞれの薬物動態試験及び毒性試験の GLP 適用について、表の要約 (それぞれ 2.6.5 項及び 2.6.7 項) に記載した。

パチロマーカルシウムの薬理試験は、本薬剤の主要な薬力学的作用である、大腸内腔でカリウムと結合し、糞便からのカリウム排泄を増加させて、体内からのカリウムの排出と血清カリウム濃度の低下をもたらす事に焦点を当てたものである。薬理試験により、パチロマーカルシウムは、単純な *in vitro* 試験でのイオンマトリックス内と同様に複雑な *in vivo* 試験の環境内においてもカリウムと結合することが示された。しかしながら、本薬は特異的なカリウム結合剤ではない。パチロマーカルシウムは、消化管での局所的な pH において様々な濃度で存在するカチオン (例えば、カリウム、プロトン、マグネシウム、カルシウム及びナトリウム) と結合する。陽イオン濃度は消化管の場所によって異なる。例えば、パチロマーカルシウムは、特定の陽イオンが最も多く存在する上部消化管においてプロトン及びナトリウムに遭遇する。またカリウムとの結合の大部分は、カリウムが最も豊富な結腸で生じる。本薬は大腸でカリウムと結合することにより、便中カリウム排泄を増加させ、結果として高カリウム血症患者の血清カリウム値を低下させる。第 2 相及び第 3 相臨床試験では、本剤が、高カリウム血症患者の増加した血清カリウム値を生理的なレベルまで低下させ、その後の 1 年間その範囲内が維持できることが実証された。安全性薬理試験は、中枢神経系、呼吸器系、心血管系及び消化器系の試験で構成された。

薬物動態試験は、ラット及びイヌ (すなわち、本薬の毒性プロファイルを特徴付けるために使用された動物種) を用いた吸収、分布、排泄試験、*in vitro* 薬物相互作用、フッ化カルシウム (パチロマーカルシウムの分解産物) からのフッ化物吸収の評価などを含む。パチロマーカルシウムの高分子の大きさ (100 ミクロンビーズ) を考えると、全身性の吸収は予想されなかった。パチロマーカルシウムの生物学的利用能がないことは、^{14}C 標識したパチロマーカルシウムビーズを用いて確認された。血漿、糞便、尿のモニタリング、及び全身オートラジオグラフィー (ラットのみ) を実施し、薬剤の吸収と分布が生じるかについて評価した。パチロマーカルシウムビーズが消化管通過中に物理的に安定であることは、陽イオンが結合したビーズがヒト被験者の糞便から回収されたことにより実証された。20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日の [redacted] での米国食品医薬品局 (FDA) との合意に基づき、本薬と本剤が投与される患者集団において、一般的に使用されている一連の経口性薬物との潜在的な薬物相互作用を評価するために、生物学的に関連性のある *in vitro* 試験系を使用した。加えて、本薬と薬物の結合を確実に予測する定量的構造特性相関 (QSPR) ベースのモデルが開発された。パチロマーカルシウムに含まれるフッ化物はフッ化カルシウムとして存在し、溶解度とバイオアベイラビリティが低いため、パチロマーカルシウムを経口投与してもフッ化物の吸収は最小限であるという仮説を立て、最終的にラットモデルを用いて検証した。

反復投与毒性試験 (ラット及びイヌを用いた短期及び慢性試験) 、遺伝毒性試験、生殖毒性試験など、包括的な毒性試験を実施した。非臨床毒性試験の期間は、ICH S4 Duration of Chronic Toxicity Testing in Animals (Rodent and Nonrodent Toxicity Testing) , September 2008 に基づき、臨床試験の全投与期間を支持する推奨期間を満たす期間で実施した。毒性試験における投与経路は、臨床試験での使用を想定して経口投与とした。最高用量は、体重 (kg) あたりの投与可能な用量として設定した。パチロマーカルシウムポリマーは非吸収性で胃腸管毒性がないため、発がん性試験及び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は実施しなかった。尚、本薬の毒性プログラムを構成する一連の試験は、米国、欧州及び日本の各規制当局に相談し、本剤の新薬承認申請をサポートするのに十分であることを確認した。毒性評価は、唯一の分解物であるフッ化物を含む、原薬に含まれる可能性のある 14 種類の不純物について実施した。この評価には、包括的な文献検索、*in silico* 解析、Ames 試験 (不純物の可能性がある 1 種類) が含まれる。毒性評価の結果は、原薬中の不純物を同定、分類、管理するための体系的かつ徹底したアプローチの一部として使用した (3.2.S.3.2 項参照) 。

分析証明書は、毒性試験プログラムで使用した本剤のすべてのロットについて入手可能である。引用文献は、セクション 4.3 に記載した。

2.4.2 薬理試験

薬理試験は 2.6.2 項で報告及び要約され、2.6.3 項で表に示されている。効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験は、ビルタサ懸濁用散分包 8.4 g (以下本剤) の開発プログラムの一部と

して実施された。本剤は非吸収性であるため、副次的薬理試験及び薬力学的薬物相互作用試験は実施されなかった。従って、Module 4 には、4.2.1.2 項及び 4.2.1.4 項の情報は含まれていない。

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 *in vitro* 試験

パチロマーカルシウムポリマーは、消化管を通過する際に、プロトン、ナトリウム、カリウム、カルシウム及びマグネシウム濃度の変化を特徴とする一連の異なる陽イオン環境に曝露される（Fordtran 1966 [2]、Wrong 1965 [12]）。パチロマーカルシウムポリマーはイオン交換樹脂として機能し、消化管の陽イオン環境の変化は本ポリマーに結合した陽イオンの変化として現れる。生理学的条件下での本ポリマーのカルシウム対イオン交換量及びカリウム結合能を評価するために、*in vitro* 試験として 2 試験を実施した。

最初の *in vitro* 試験（TR 300-07-026「ペプシン不含 USP 疑似胃液中のパチロマーカルシウムの脱灰」）において、絶食時の胃内を模倣した酸性環境（ペプシン不含 USP 疑似胃液 [SGF]）へパチロマーカルシウムを曝露すると、カルシウムが水素イオンと交換されることが認められ、これは本ポリマーの基本的なイオン交換メカニズムを示している。

大腸特有の pH（Fallingborg 1989 [1]）及び滞留時間（Rao 2009 [9]、Read 1980 [10]）の条件下で本ポリマーのカリウム結合能を *in vitro* で測定するために、プロトン化したポリマー（パチロマー; 4 mg/mL）を用いて pH 6.5 の普通のカリウム緩衝液中に室温で 24 時間インキュベートし、*in vitro* 結合試験（TR 300-07-025「生理的 pH でのパチロマーカルシウムのカリウム結合能の測定」）を実施した。本試験の結果から、ポリマー1 g 当たり 8.5~8.8 mEq のカリウムが結合したことが示された。本ポリマーの最大カリウム結合能は 8.4~10 mEq/g（3.2.S.4.5 項参照）であることから、これらの結果は本ポリマーの総結合能の 85%以上が生理的条件（pH 6.5）下での陽イオン交換に利用可能であることを示している。

2.4.2.1.2 *in vivo* 試験

パチロマーカルシウムのカリウム結合における *in vivo* での薬力学的効果を 3 つの動物モデルで評価した：正常腎機能ラット及びブタ（TR 300-07-009「正常腎機能［NRF］ラットにおけるパチロマーカルシウムの薬理学的効果」及び TR 300-07-010「正常腎機能［NRF］ブタにおけるパチロマーカルシウムの薬理学的効果」、並びに慢性腎不全ラット（TR 300-07-027「高カリウム血症ラットモデルにおけるパチロマーカルシウムの薬理学的効果」）。これらすべてのモデルでパチロマーカルシウムが他の特定の陽イオンの排泄の増加とともに糞便中カリウムの排泄の増加を促進する効果が示された。さらに、ラット慢性腎不全モデルでパチロマーカルシウムを処置した動物において血清中カリウム量の上昇に対する低下が示された。

パチロマーカルシウムの陽イオン結合能は正常な腎機能を有するラット（6 匹/群）で評価された（TR 300-07-009）。パチロマーカルシウム（0、0.8 又は 1.8 g/kg/日）を 7 日間処置し

た後、無処置の対照群と比較して糞便、尿及び血清試料において有意な陽イオン電解質の変化が認められた。1.8 g/kg/日のパチロマーカルシウムを処置した群では、無処置の対照群と比較して糞便抽出物のカリウム含有量において 2.5 倍の有意な増加が認められた。同様に、高用量群から調製した糞便抽出物においても、ナトリウム（6.9 倍）、マグネシウム（1.3 倍）及びカルシウム（9.6 倍）の有意な増加が認められた。カルシウム（3.9 倍）を除いて、これらの陽イオンの実質的な増加は低用量群では認められなかった。イオン交換ポリマーとしてのパチロマーカルシウムの活性を考慮すると、糞便中陽イオン含有量の増加は、正常な糞便中陽イオン排出に本ポリマーに結合した陽イオンが補充されたことと整合性を有している。パチロマーカルシウムのカルシウムの多くが交換されなかったか、交換されたとしても吸収されなかったため、糞便中カルシウム量の増加が生じた可能性がある。尿中カルシウム量の有意な増加（2 倍）及び尿中マグネシウム量の有意な減少（35%）が高用量群で認められたが、低用量群では認められず、いずれの群でも尿中カリウム量又はナトリウム量に変化はなかった。本樹脂が消化管を通過する際に、他の陽イオンと交換された本ポリマー中のカルシウムの一部が吸収されることによって、尿中カルシウム量の増加が生じることが予想される。パチロマーカルシウムはマグネシウムなどの二価陽イオンに対して親和性があるため、本試験においてラットで観察されたような尿中マグネシウム量の減少が生じる可能性がある。血清中陽イオン含有量の分析によって、低用量群ではなく高用量群で血清中カリウム量及びマグネシウム量の有意な減少が認められた。一方、血清中ナトリウム量及びカルシウム量の変化は認められなかった。正常腎機能ラットでは糞便中カリウム量が増加し、尿中カリウム量の代償的な減少は認められなかったが、これはおそらく高用量群で認められた血清中カリウム量の実質的な減少を示している。尿中マグネシウム量の減少を伴い、糞便中マグネシウム量の僅かで有意な増加が認められたが、これら 2 つの一連の変動バランスは血清中マグネシウム量の全体的な減少を防ぐのに十分ではなかったようである。結論として、本試験によりパチロマーカルシウムがラットの消化管において効果的なカリウム結合剤であることが示された。

ブタはヒト消化器系の優れたモデルを提供できるので（Jensen 1996 [6]、Stevens 1977 [11]）、カリウムの結合及び除去における本ポリマーの薬理学的効果を評価するために、正常な腎機能を有するブタを用いてパチロマーカルシウムを評価した（TR 300-07-010）。1 g/kg/日のパチロマーカルシウムを添加した飼料を 10 日間給餌したブタでは、パチロマーカルシウム処置群の糞便抽出物を無処置群と比較すると、カリウム、ナトリウム及びカルシウム量の有意な増加が認められた。対照的に、パチロマーカルシウムを処置したブタでは、無処置群よりも尿中カリウム及びナトリウム排泄が有意に少なかった。この結果は、正常な腎機能を有する動物において予想されることであり、この動物において糞便中カリウム及びナトリウム排泄の増加は陽イオンの尿中排泄の代償的な減少によって平衡を保っている。正常な腎機能を有するラットで観察されたように、パチロマーカルシウム処置したブタでも、無処置群よりも有意に多くの尿中カルシウム排泄が認められた。血清中カリウム、ナトリウム、マグネシウム及びカルシウム量においてパチロマーカルシウム処置群と無処置群の間に有意差は認められず、これは正常な腎機能を有する動物においてこれらの陽イオンの糞便及び尿を介した排泄の代償的な変化を

反映している。従って、本試験によって正常腎機能ブタにおいてパチロマーカルシウムが糞便中カリウム排泄を効果的に増加させ、尿中カリウム排泄を減少させることが示された。

慢性腎不全の病因を模倣するために様々な動物モデルが使用されているが、慢性腎不全に伴う高カリウム血症のモデルはほとんどない。そのため、NADR-TQ と呼ぶ新しいラット高カリウム血症モデルを作製し、このモデルでは 5/6 腎摘除及びその腎摘除 2 週間後にアドリアマイシン 3.5 mg/kg の単回静脈投与によって慢性腎不全が惹起された。アドリアマイシン投与直後からのトリメトプリム (飼料中 0.3%w/w) 及びキナプリル (飲水中 30 mg/L) の処置によって高カリウム血症状態を惹起した。正常な腎機能を有するラットの血清中カリウム量は 6.00±0.65 mmol/L であったが、キナプリル及びトリメトプリムを曝露せずアドリアマイシンを投与した腎摘除ラットでは、アドリアマイシン投与 2 週間後に僅かで有意な血清中カリウム量の上昇 (6.58±0.65 mmol/L) が認められた。アドリアマイシンを投与した腎摘除ラットの飼料への添加物としてのトリメトプリム及びキナプリルの併用は高カリウム血症をさらに悪化させ、持続的かつ進行性の高カリウム血症を生じた。7 及び 14 日目の NADR-TQ ラットの血清中カリウム量は、それぞれ 7.08±0.89 及び 7.26±0.68 mmol/L であった。

慢性腎不全を惹起したラット (10 匹/群) にパチロマーカルシウム混餌飼料 (飼料中 2.6 g/kg/日) 又は飼料単独を給餌するように無作為に割り当てた (TR300-07-027) 。7 日目においてパチロマーカルシウムを処置した NADR-TQ ラットでは、無処置の NADR-TQ ラットよりも有意に低い血清中カリウム量が認められた (6.4±0.8 vs. 7.6±0.7 mmol/L、p<0.001) 。パチロマーカルシウムを処置した動物での血清中カリウム量は正常範囲内 (6.00±0.65 mmol/L) であったが、無処置の NADR-TQ ラットは高カリウム血症を発症した。14 日目ではパチロマーカルシウム処置群の血清中カリウム量も無処置の NADR-TQ ラットよりも低かったが、その差は統計的に有意ではなかった。処置 14 日間後に、パチロマーカルシウムを処置した NADR-TQ ラットでは無処置の NADR-TQ ラットよりも有意に多い糞便中カリウム排泄 (p <0.001) が認められた (0.33±0.06 mEq カリウム/日 vs. 0.15±0.08 mEq カリウム/日) 。比較の目的として、正常な腎機能を有するラットでは約 0.04 mEq カリウム/日を排泄したが、トリメトプリム及びキナプリルの添加がなくアドリアマイシンを投与した腎摘除動物では約 0.12 mEq カリウム/日を排泄した。対照的に、NADR-TQ ラットの尿中カリウム排泄に対するパチロマーカルシウム処置の効果は認められなかった。従って、パチロマーカルシウムを処置した動物で認められた糞便中カリウム排泄の増加は、尿中排泄の減少の代償ではなく、全身のカリウム減少及び血清中カリウム量の正常化が正味の効果であった。これらの結果から、パチロマーカルシウムがカリウムの「吸着源」として作用し、慢性腎不全で認められる大腸での適応性カリウム分泌を促進することが示された。

2.4.2.1.3 結論

効力を裏付ける試験の成績から、パチロマーカルシウムが単純な *in vitro* のイオン性マトリックス内と同様に哺乳類の消化管での複雑な *in vivo* 環境内においてカリウムと結合することが示された。

2.4.2.2　副次的薬理試験

本剤の非臨床試験では、副次的薬理試験又はヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）アッセイを含めなかった。その活性部分であるパチロマーカルシウムのポリマーアニオンは非常に大きく（直径 100 µm）、不溶性で全身的に吸収されない（2.6.4.3 項を参照）。本ポリマーの分布は消化管（GI）に限定されるため、hERG 受容体と相互作用したり、全身吸収の結果として標的外への薬力学的効果を引き起こすことはできないと考えられる。本ポリマーの局所的な（GI）オフターゲット効果の可能性を 2 つの方法で評価した：（1）（カリウムに対する目的とする効果に加えて）血清中電解質に対するパチロマーソルビテクスカルシウム（以下本薬）の効果を臨床試験において評価し、また、（2）非臨床試験での安全性薬理試験において、胃排出及び腸管通過時間に対する本薬の効果を評価した。従って、副次的薬理試験及び hERG アッセイは本薬の開発に必要ではないと判断した。

2.4.2.3　安全性薬理試験

^{14}C-labeled パチロマーカルシウムを用いて実施されたラット及びイヌの試験ではポリマーは吸収されず、全身性の曝露も認められなかったが、GLP に準拠した安全性薬理試験としてパチロマーカルシウムの中枢神経系、呼吸器系、心血管系及び消化管機能に対する作用を検討した。

パチロマーカルシウムの中枢神経系に対する作用は、ラットを用いた Irwin 法試験（Irwin, 1968 [3]）によって検討した（試験番号 TR 350-07-003）。一般行動、自律神経系や自発運動量に及ぼす影響も評価した。その結果、パチロマーカルシウムの 1、3 及び 6 g/kg の単回経口投与は媒体投与群と比較し、中枢神経系に影響を及ぼさなかった。

パチロマーカルシウムの単回経口投与（0、1、3 及び 6 g/kg）の呼吸器系パラメーターに対する作用は、無拘束･覚醒下のラットを用いた全身プレチスモグラフ法によって検討した（試験番号 TR 350-07-005）。呼吸パラメーター（1 回換気量、呼吸数及び分時換気量）に及ぼす影響を評価した結果、パチロマーカルシウム投与群で認められた変化は、媒体投与群における変化と同等であった。

パチロマーカルシウムの経口投与の心血管系に対する作用は、ビーグル犬（4 頭）を用いたテレメトリー法によって検討した（試験番号 TR 350-07-016）。ビーグル犬は 4×4 ラテン方格法によるクロスオーバーデザインとして割り付けた。各々の動物は、パチロマーカルシウムの 4 用量（0、1、2 又は 3.5 g/kg）の内、いずれかの用量を所定の順序で週 1 回投与した。心血管機能は心拍数、血圧及び心電図パラメーターについて評価し、テレメトリーデータは少なくとも投与後 24 時間まで収集した。血圧（収縮期血圧、拡張期血圧、平均動脈圧及び脈圧）、心拍数及び体温について、パチロマーカルシウムの投与に伴う統計学的に有意な変化は認められなかった。いずれの心電図パラメーターも定性的・定量的に正常範囲内であり、QT/QTc 間隔について統計学的に有意な変化（処置、又は処置×時間）は認められなかった。不整脈も認められず、パチロマーカルシウムの投与に起因する心電図上の異常所見は認められなかった。

パチロマーカルシウムの消化管通過時間に対する作用は2試験で検討した。ラット（1群6例）を用いて、パチロマーカルシウムの単回経口投与（0、1、3及び6 g/kg）1時間後に炭末マーカーを経口投与し、25 分後に剖検し、小腸内での炭末の移動距離を測定した。また、胃排出能の指標として、胃及び内容物の重量を測定した。初回の消化管運動試験（試験番号TR 350-07-004）において、パチロマーカルシウムはいずれの用量においても胃排出後の消化管通過に影響を及ぼさなかった。しかし、パチロマーカルシウムの全ての用量で、胃重量（内容物を含む）増加を指標とする胃排出低下が、媒体投与群に比して有意に認められた。パチロマーカルシウムの1、3及び6 g/kgの投与は、胃及び内容物の重量を媒体対照群に比してそれぞれ68%、86%及び86%増加させた。初回消化管運動試験の終了後、ラットの投与試験に用いたパチロマーカルシウムのロットは高濃度のトルエンを含むことが判明した。トルエンは[redacted]消化管機能についての安全性薬理試験は、胃排出の遅延がパチロマーカルシウムに関連した変化であるのか、またトルエンの間接的な影響であるのかを評価するために再試験を行った。

再試験（試験番号TR 350-07-006）は、初回試験と同様の試験デザインで実施されたが、結果は若干異なった。パチロマーカルシウムの1及び6 g/kgの投与は、消化管通過に影響を及ぼさなかった。しかし、パチロマーカルシウムの3 g/kgの投与は軽度ではあるものの、媒体投与群と比して統計学的に有意に消化管通過を低下（23%）させた。また、パチロマーカルシウムの1 g/kgの投与は胃排出に影響を及ぼさなかった。しかし、パチロマーカルシウムの3及び6 g/kgを投与すると、胃重量（内容物を含む）の増加を指標とする胃排出減少が、媒体投与群に比して有意に認められ、胃重量（内容物を含む）を44%増加させた。本試験における投与量が高いことから（3 g/kg投与群; 約0.5 g、6 g/kg投与群; 約1 g）、パチロマーカルシウムの胃内残存がこれら投与群における胃及び内容物の重量増加（平均増加量; 0.8 g）に影響したと推察された。したがって、パチロマーカルシウムの胃排出に及ぼす影響は薬理作用ではなく、物理作用に起因する可能性がある。本試験で使用した3及び6 g/kgの用量は、本剤（25.2 g/日ポリマーアニオン）の最大推奨臨床用量（MRHD）の約6倍及び12倍である。

2.4.3 薬物動態試験

薬物動態試験の詳細は 2.6.4 項に記載し、2.6.5 項で表にまとめた。

2.4.3.1 分析法

パチロマーソルビテクスカルシウム (以下本薬) の吸収、分布及び排泄試験は ^{14}C 標識したパチロマーカルシウムを用いて、液体シンチレーションカウンターによりラット及びイヌの血液、尿及び糞、又はラット組織を測定することにより、また、ラット全身オートラジオグラフィーにより実施した。

本薬は吸収されないため本薬の薬物代謝についてラット及びイヌの血液又は組織を用いた評価は行わなかった。代わりに、パチロマーカルシウムポリマーの代謝安定性を臨床試験被験者の糞から回収したポリマービーズ中の陽イオン含量を測定することにより評価した。また、このポリマービーズ中の陽イオン含量と投与されたパチロマーカルシウムに含まれるカルシウム量と比較することでも評価した。

本薬と他剤との *in vitro* 結合試験では、相互作用する可能性のある薬物を定量するために、逆相高速液体クロマトグラフ法、液体クロマトグラフィー質量分析法、イオンクロマトグラフ法を開発した。全ての測定法について、特異性、直線性、正確さ、精度、安定性を検証した。

ラット血漿中フッ化物は、ヘキサメチルジシロキサンの促進拡散により生体試料中のフッ化物をアルカリ性トラップ液に移行させた後、フッ化物イオン特異的電極を用いて分析した。

2.4.3.2 吸収、分布及び排泄

本薬は直径が約 100 μm の球状ビーズとして製造される。この粒子径は小腸上皮細胞を経る経細胞経路及び細胞間隙経路を介する吸収を阻止するのに十分な大きさである。様々な粒子径のポリマービーズを用いて、約 1 μm 以上の粒子は吸収されず、また肝臓、脾臓、骨髄、腎臓に蓄積しないことを示した吸収試験に関する多数の報告がある (Jani, 1989 [4], Jani, 1990 [5]; Jung, 2000 [7]) 。吸収試験のために製造したパチロマーカルシウムの粒度分布は約 [redacted] – [redacted] μm の範囲であった (すなわち、ポリマービーズが小腸吸収されうる最大径を大きく超えていた) 。

経口投与後、パチロマーカルシウムのポリマーアニオンが吸収されないことを確認するために、ラット及びイヌを用いた単回投与試験が実施された (それぞれ TR 350-07-007 及び TR 350-07-008) 。^{14}C 標識したパチロマーカルシウムは、[redacted] を用いて合成され、血漿、尿及び糞がモニターされた。

ラットを用いた試験では、^{14}C 標識したパチロマーカルシウムを 313 mg/kg (107 μCi/kg) の用量で 9 匹のラットに経口投与し、投与後 0.25、0.5、1、2、4、8、24、48 及び 72 時間の各時点につき 3 匹のラットから血液を採取した。イヌを用いた試験では、^{14}C 標識したパチロマーカルシウムを 350 mg/kg (105 μCi/kg) の用量で 6 頭のビーグル犬にゼラチンカプセルで経口投与し、投与後 0.25、0.5、1、2、4、8、24、48、72、96、120 及び 168 時間に血液を採取した。

投与された標識体の 0.004%及び 0.002%がそれぞれラット及びイヌの血漿中に存在していた。ラット定量的全身オートラジオグラフィーにより放射性標識体は消化管の外側に検出されなかった。放射性標識体の糞及び尿からの回収率は、ラットでそれぞれ 84%及び 0.15%、イヌでそれぞれ 99.9%及び 0.1%未満であった。ラット糞で観察された低回収率の原因は、ラット糞の回収と均一化が難しかったためであった。ラット及びイヌの尿から回収された放射能量は、放射性標識体中に存在する架橋形成に用いられなかった架橋剤の放射能量と同等であった。また、その架橋に用いられなかった放射能量の多く (97.87%) は[redacted]と共溶出する単一ピークであった。以上より、ラット及びイヌを用いた試験により、ポリマーは非吸収性で生物学的利用能を示さないことが明らかとなった。

2.4.3.3 代謝

パチロマーカルシウムは吸収されず、血液中や組織中で代謝も起きないため、ラット及びイヌを用いた薬物動態試験において代謝物評価は実施しなかった。それゆえ、モジュール 4 の 4.2.2.4.項に含まれる情報はない。その代わり、臨床試験 (RLY5016-101) で得られた糞中のポリマービーズ中の陽イオン含有量を測定し、投与したパチロマーカルシウム中のカルシウム量と比較することにより、パチロマーカルシウムポリマーの代謝安定性を評価した。

この分析 (RLY-TR-0054) により、パチロマーカルシウムポリマーアニオンは安定で、消化管通過中に分解しないことが明らかとなった。糞中から回収したビーズは顕微鏡下で 100 µm 径の完全体であることを確認した。ビーズの代謝安定性は、回収したパチロマーカルシウムのビーズの陽イオン含有量の分析により検討した。全ての投与量で、回収したポリマービーズに結合した主要な生理学的陽イオン (Na^+、NH_4^+、K^+、Mg^{2+}、Ca^{2+}) の合計は、消化管を通過する前のビーズに結合したカルシウムイオンと等しかった。よって、代謝によって陽イオン結合能が消失すれば陽イオン含有量に反映されるので、パチロマーカルシウムは代謝も消化管通過による変化も受けない。

2.4.3.4 薬物間相互作用

本薬と対象患者群で一般的に使用される 28 種の経口剤との薬物間相互作用を評価するために、生体に近い *in vitro* 試験系を用いた (RLY-TR-0130) 。当試験は消化管中 pH 状態を表現する 3 種の異なる試験液 (pH1.2 の模擬胃液、pH4.5 の酢酸緩衝液、pH6.8 の模擬腸液) を用いて実施した。加えて、本薬と薬物の結合を精度よく予測する QSPR モデルを開発した (QSPR-RLY-001) 。

この *in vitro* 試験において、6 種の薬物 (アムロジピン、シナカルセト、シプロフロキサシン、キニジン、チアミン、トリメトプリム) が 3 種の試験液全てにおいて本薬と 45%以上の結合を示した。またレボチロキシンは 1 種の試験液において本薬の存在下で不溶であった。7 種の薬物 (クロピドグレル、フロセミド、リチウム、メトホルミン、メトプロロール、ベラパミル、ワルファリン) は 1 種の試験液において約 30%から 50%の結合を示した。残りの 14 薬物 (アロプリノール、アモキシシリン、アピキサバン、アスピリン、アトルバスタチン、

セファレキシン、ジゴキシン、グリピジド、リシノプリル、フェニトイン、リボフラビン、リバロキサバン、スピロノラクトン、バルサルタン) は 3 種の試験液全てにおいて本薬との結合を示さなかった (30%未満の結合) 。

これらの *in vitro* 試験の結果に基づいて、12 薬物 (アムロジピン、シナカルセト、シプロフロキサシン、クロピドグレル、フロセミド、レボチロキシン、リチウム、メトホルミン、メトプロロール、トリメトプリム、ベラパミル、ワルファリン) を臨床薬物間相互作用試験で評価することとした。臨床薬物間相互作用試験の結果は、2.7.2 項に示した。

同様の 3 種の試験液を用いて、免疫抑制剤である 2 剤 (タクロリムス及びミコフェノール酸モフェチル) の本薬への結合を評価した (RLY-TR-0174)。これら 2 剤はビルタサ懸濁用散分包 8.4g が処方される可能性のある腎移植患者で共通して使用される。ミコフェノール酸モフェチルは pH6 以上においてミコフェノール酸に変換されるため模擬腸液を用いた評価は出来なかった。ミコフェノール酸モフェチルは pH1.2 で 50%以上の結合率を示したが pH4.5 では結合しなかった。タクロリムスは 3 種の試験液全てにおいて本薬との結合を示さなかった (30%未満の結合)。

更に本薬と同時に処方されることがある 25 種の経口剤 (アンギオテンシン変換酵素阻害薬、アンギオテンシン II 受容体拮抗薬、アンギオテンシン受容体ネプリリシン阻害剤、アドレナリン β 受容体拮抗薬、ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬、ナトリウムーグルコース共輸送体 2 阻害薬、ループ利尿薬) の相互作用を評価するため RLY-TR-0130 と同様の試験を実施した (REP079631TC-EN03)。カルベジロール及びネビボロールで 3 種の試験液全てにおいて明らかな結合 (80%以上の結合) が観察された。キナプリル、テルミサルタン、ロサルタンカリウム、イルベサルタン、オルメサルタンメドキソミル、アジルサルタン、ビソプロロールフマル酸塩、フィネレノン及びトラセミドで部分的な結合 (1 又は 2 試験液での結合) が検出された。残る 14 剤の薬物 (カプトプリル、エナラプリル、フォシノプリル、ラミプリル、トランドラプリル、ベナゼプリル、ペリンドプリル、カンデサルタンシレキセチル、サクビトリル、エプレレノン、ダパグリフロジン、エンパグリフロジン、カナグリフロジン、ブメタニド) では 3 種の試験液全てにおいて本薬との結合は検出されなかった (30%未満の結合)。

異なる pH の試験液を用いて本薬との相互作用を観察する手法は部分的に正に帯電した分子が pH1.2 から pH6.8 で中性に脱プロトン化する動的な過程を表現できていないかもしれなかった。試験した全ての薬物はほとんど小腸から吸収されるため、試験した薬物の動態をより正確に評価するため消化管通過中の pH 変動を模倣できる消化管モデルを確立した (REP089939TC-EN03)。当試験では REP079631TC-EN03 試験において低い pH で本薬との相互作用を示したキナプリル、ロサルタン、イルベサルタン、オルメサルタンメドキソミル、アジルサルタン、フィネレノン及びトラセミドの 7 薬物を評価した。オルメサルタン以外の薬物は相互作用を示さなかった (30%未満の結合)。回収率 (非結合率) は REP079631TC-EN03 試験における pH4.5 及び pH6.8 での回収率と同等であった。以上より、本薬への結合は可逆的で、試験された薬物が消化管通過中に中性又は負に帯電するにつれて減少することが確認された。オルメサルタンメドキソミルにおいては、分析データは活性代謝物であるオルメサルタンに由

来する第 2 のシグナルを示した。オルメサルタンの回収率（非結合率）に補正すると、本薬との結合は中程度（35%の結合）から結合無しに変化した (14%の結合)。後者の結合無しの結果は REP079631TC-EN03 試験で観察された pH4.5 及び pH6.8 の結果から予測されるとおりであった。

RLY-TR-0184 試験では、本薬のカリウム結合能がセベラマーによって影響されないか及びセベラマーのリン酸結合能がパチロマーナトリウムによって影響されないかを *in vitro* で検討した。セベラマーは重症腎障害患者にパチロマーと併用される可能性のある非吸収性のリン酸結合ハイドロゲルである。pH の変化はポリマー結合能に影響するので試験は大腸及び上部消化管（それぞれパチロマー及びセベラマーのイオン結合場所）を模した生理的 pH 範囲を維持するように行った。パチロマーナトリウムは本薬から放出されるカルシウムイオンがリン酸と結合して沈殿してしまうのを防ぎ pH を維持するため本薬の代替としてリン酸結合試験で用いた。それぞれのポリマーの結合能及びキャパシティーはラングミューアーの等温吸着式で決定した。パチロマー及びセベラマー塩酸塩のイオン結合能に影響は観察されなかった。

2.4.3.5　パチロマーカルシウムからのフッ化物の体内動態

パチロマーカルシウム中にはフッ化物が存在するため、分解物としてフッ化カルシウムが生成する。フッ化カルシウムは低い溶解度及び低い生物学的利用率を示すため、パチロマーカルシウムからのフッ化物吸収は極めて低いと考えられたが、この仮説を確かめるためラットを用いて検討した（TR300-07-028）。ラットにパチロマーナトリウム及びパチロマーカルシウムを経口投与し、血漿中フッ化物の体内動態を評価した。パチロマーカルシウム投与後のフッ化物の最高血漿中濃度（C_{max}）及び血漿中濃度曲線下面積（AUC）は、パチロマーナトリウムと比較して、それぞれ 6 倍及び 4 倍低かった。以上の結果はパチロマーカルシウムのポリマーアニオンのカウンターイオンとしてナトリウムよりもカルシウムの吸収が極めて低いことを明らかにした。

2.4.4 毒性試験

毒性試験の概要文は第 2.6.6 項に、概要表は第 2.6.7 項に示す。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

パチロマーソルビテクスカルシウム（以下、本薬）は消化管から吸収されないことから、発現する毒性は限定的であると考えられた。したがって、単回投与毒性試験（急性毒性試験）は実施せず、モジュール 4（第 4.2.3.1 項）には情報を含まない。なお、最大耐量、又は投与可能な最大用量を設定するため、イヌにおける用量漸増試験を実施した（第 2.6.6.3.5 項）。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

本薬は全身性の吸収が認められないため、反復投与毒性試験においてトキシコキネティクス評価は実施しなかった（第 2.4.3.2 項）。

2.4.4.2.1 ラット

経口投与（混餌投与）による 2 週間反復投与毒性試験（パチロマーカルシウムの最大 17.6 g/kg/日に相当、用量設定試験、試験番号 TR 350-07-009）、4 週間反復投与毒性試験（パチロマーカルシウムの最大 15 g/kg/日に相当、試験番号 TR 350-07-010、TR 350-07-018）及び 26 週間反復投与毒性試験（パチロマーカルシウムの最大 5 g/kg/日に相当、試験番号 TR 350-09-001）を実施したが、本剤のラットにおける忍容性は良好であった。有害作用は認められず、臨床検査（血液学検査、血液生化学検査、尿検査）及び解剖時病理評価（肉眼所見、器官重量及び病理組織診断）においても毒性学的に重要な変化は認められなかった。

ラットにおける 2 週間、4 週間及び 26 週間の反復投与毒性試験では、高用量投与群において、投与量に関連した平均摂餌量の増加が認められた（2 週間毒性試験; 10 及び 15 g/kg/日、4 週間毒性試験; 4、10 及び 15 g/kg/日、26 週間毒性試験; 2.5 及び 5 g/kg/日）。これらの投与期間中の摂餌量の増加は、飼料中の被験物質量が多いことによる単位重量あたりの低栄養を反映しており、有害作用とは考えられなかった。

4 週間反復投与毒性試験では、血清中の総タンパク及びアルブミンの有意な減少が高用量投与群の雌で認められ、尿中カルシウム排泄の増加が高用量投与群の雌雄で認められた。カルシウムはパチロマーカルシウム中ポリマーに関連した対イオンであるため、尿中カルシウム排泄の増加は予想される変化であった。高用量投与群の雌で認められた尿中カルシウム排泄の増加を除き、血清中の総タンパク及びアルブミン、カルシウム排泄については、回復期間（Day 15）において対照群と 15 g/kg/日投与群では同等であった。これらの検査値の変動に関連した病理組織学的変化は認められず、回復期間（Day 15）における検査値（平均）も対照群と同等であったことから、有害作用とは考えられなかった。26 週間の反復投与毒性試験では、臨床検査に対する影響は認められなかった。

以上のことから、ラットの反復投与毒性試験におけるパチロマーカルシウムの無毒性量 (混餌投与) は、2 週間毒性試験では 17.6 g/kg/日以上であり、4 週間毒性試験では 15 g/kg/日を超える量と考えられた。また、26 週間毒性試験における本薬の無毒性量 (混餌投与) は、パチロマーカルシウムとして 5 g/kg/日を超える量と考えられた。標的臓器毒性は認められなかった。

2.4.4.2.2 イヌ

ビーグル犬にパチロマーカルシウムを 7 g/kg/日の用量で 10 日間反復投与し (1 日 2 回、ゼラチンカプセル) 、用量設定試験を実施した (試験番号 TR 350-07-011) 。イヌに投与可能な用量は、投与可能なカプセル数に基づいて設定され、最大用量は 7 g/kg/日であった。本試験におけるパチロマーカルシウムの最大耐量は 7 g/kg/日を超える量と判断した。

イヌにおける反復投与毒性試験として、経口投与 (ゼラチンカプセル) による 4 週間反復投与毒性試験 (パチロマーカルシウムの最大 7 g/kg/日に相当、試験番号 TR 350-07-015、TR 350-07-019) 及び 39 週間反復投与毒性試験 (パチロマーカルシウムの最大 3.75 g/kg/日に相当、試験番号 TR 350-10-001) を実施したが、本剤のイヌにおける忍容性は良好であった。有害作用は認められず、臨床検査 (血液学検査、血液生化学検査、尿検査) 、解剖時病理評価 (肉眼所見、器官重量及び病理組織診断) 、眼科学的検査及び心電図検査においても毒性学的に重要な変化は認められなかった。

39 週間反復投与毒性試験では、高用量投与群の雌において平均摂餌量の有意な減少が認められた。平均摂餌量の減少は 2 週、4 週、14 週、15 週、19 週及び 22 週において認められたが、平均体重及び体重変化に及ぼす影響は認められなかった。なお、投与カプセルの吐き出しがごくまれに認められたものの、本剤の投与自体に影響することはなかった。

以上のことから、イヌの反復投与毒性試験におけるパチロマーカルシウムの無毒性量は、4 週間毒性試験では 7 g/kg/日を超える量と判断した。また、39 週間毒性試験における本薬の無毒性量は、パチロマーカルシウムとして 3.75 g/kg/日と判断した。標的臓器毒性は認められなかった。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

本薬の遺伝毒性評価について、標準的なバッテリー試験として *in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施した。

パチロマーカルシウムの細菌を用いる復帰突然変異試験 (Ames 試験) を実施した (試験番号 TR 350-07-012) 。試験菌株としてネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) (TA98、TA100、TA1535 及び TA1537) 及び大腸菌 (*Escherichia coli*) (WP2*uvr*A) を用いた。パチロマーカルシウムの用量は 33.3~5,000 μg/plate とし、最高用量は ICH S2 (R1) ガイドラインの推奨用量とした。代謝活性化系 (アロクロール誘導ラット肝 S9 画分由来のミクロソーム酵素) の存在下及び非存在下で実施した。その結果、細菌を用いる復帰突然変異試験においてパチロマーカルシウムの変異原性は認められなかった。

パチロマーカルシウムの染色体異常誘発性は、チャイニーズハムスター卵巣由来線維芽細胞株（CHO）を用いて評価した。本検討は予備試験と確認試験の2段階で実施した（試験番号TR 350-07-013）。予備試験の結果から、染色体異常誘発性の確認試験におけるパチロマーカルシウムの用量は、代謝活性化系の非存在下では15.6~500 μg/mLとし、代謝活性化系の存在下では31.3~500 μg/mLとした。その結果、染色体異常、倍数性及び核内倍加は認められなかったことから、パチロマーカルシウムは代謝活性化系の存在下及び非存在下のいずれにおいてもCHO細胞における染色体構造異常を示さないと判断した。

パチロマーカルシウムの染色体異常誘発活性及び分裂装置に及ぼす影響については、ラット骨髄における多染性赤血球中の小核を観察することによって評価した（試験番号TR 350-07-014）。パチロマーカルシウム（0、1、3及び6 g/kg）をラットに単回経口投与した。本検討の投与用量は、ラットにおける2週間反復投与毒性試験（用量設定試験、試験番号TR 350-07-009）の成績に基づいて設定し、1%カルボキシメチルセルロース溶液を用いて調製可能な最大量とした。骨髄の小核含有多染性赤血球の出現頻度は、投与後24時間（全投与群）及び48時間（高用量投与群）に評価した。細胞毒性は、個体毎に少なくとも初めの500個の赤血球における多染性赤血球数（PCEs）及び正染性赤血球数（NCEs）を計測することによって評価した。その結果、パチロマーカルシウムは6 g/kgの用量まで骨髄における細胞毒性を示さず、小核含有多染性赤血球の統計学的に有意な増加も認められなかった。以上のことから、パチロマーカルシウムは*in vivo*骨髄小核試験において変異原性を示さないと判断した。

2.4.4.4　がん原性試験

本薬は非吸収性であり、39週間までの反復投与毒性試験においても過形成性変化は認められず、遺伝毒性も認められなかったことから、がん原性試験は実施しなかった。

本薬の動物を用いた毒性試験では消化管における組織学的変化は認められず、臨床試験においても本薬の投与に関連した消化管の腫瘍性病変の兆候は認められていない。これまでに実施された試験においてリスク要因も認められていないことから、本薬のがん原性試験の実施は不要と判断した。がん原性試験の実施については、米国、欧州及び日本の各規制当局に相談し、その必要性について確認した。なお、がん原性試験は実施しなかったため、モジュール4（第4.2.3.4項）には情報を含まない。

2.4.4.5　生殖発生毒性試験

本薬の生殖発生毒性は、ラットにおける受胎能試験、ラット及びウサギにおける催奇形性試験を実施し、投与可能な最大量の投与を行うことによって評価した。その結果、いずれの投与量においても影響は認められず、無毒性量は最高用量であった。これらの試験結果と、本剤が非吸収性であることを踏まえて、出生前及び出生後の発生に関する試験は実施しなかった。また、幼若動物を用いた試験も実施していない。したがって、モジュール4には第4.2.3.5.3項及び第4.2.3.5.4項の情報を含まない。

なお、本薬の投与を行った生殖発生毒性試験では、パチロマーカルシウムの投与を行った試験との比較のために投与用量はパチロマーカルシウム (すなわち、水及びソルビトール含量を調整したもの)として示す。

2.4.4.5.1　受胎能及び初期胚発生に関する試験

ラットにおける受胎能及び初期胚発生に関する試験 (試験番号 RLY-TR-0006) は、本薬を 5 g/kg/日までの用量で検討した。その結果、雌雄いずれの受胎能及び初期胚発生に対しても本薬の影響は認められなかった。本薬の投与に関連した一般状態変化は認められなかった。体重及び摂餌量の軽度の減少は認められたが、飼料中の本薬の量が多いことによる単位重量あたりの低栄養を反映したものと考えられた。受胎能及び初期胚発生に関する試験におけるパチロマーカルシウムの無毒性量は、本試験の最高用量である 5 g/kg/日と判断した。

2.4.4.5.2　胚・胎児発生に関する試験

胚· 胎児発生に関する試験は、妊娠ラットを用いた試験 (試験番号 TR 350-08-001) ではパチロマーカルシウムを 6 g/kg/日までの用量で検討し、妊娠ウサギを用いた試験 (試験番号 RLY-TR-0005) では本薬を 3 g/kg/日までの用量で検討したが、器官形成期における経口投与において催奇形性は認められなかった。ラット及びウサギのいずれの動物種及び投与量においても、母動物の毒性は認められず、投与に関連した剖検所見及び子宮重量に対する影響も認められなかった。また、帝王切開時の評価項目においても変化は認められず、いずれの投与群においても黄体数、着床痕数、平均吸収胚数、着床後胚損失率や平均胎児体重に対する影響は認められなかった。胎児に関して、投与に関連した外表、内臓及び骨格の異常並びに奇形は認められなかった。本試験におけるラットの無毒性量は 6 g/kg/日を超える量、ウサギの無作用量は 3 g/kg/日と判断した。

2.4.4.6　局所刺激性試験・その他の毒性試験

ラット及びイヌにおける反復投与毒性試験において消化管の所見も認められなかったことから、本薬の局所刺激性試験は実施しなかった。したがって、モジュール 4 (4.2.3.6) には情報を含まない。また、その他の毒性試験項 (4.2.3.7) には、不純物についての情報が含まれる (第 4.2.3.7.6 項) 。

2.4.4.7　不純物及び分解生成物の評価

本薬原薬中の 14 種類の不純物の毒性評価を実施した (第 2.6.6.8.1 項) 。これらの不純物は、[redacted] (第 3.2.S.3.2.2 項) 。[redacted]

[redacted]（第3.2.S.3.2.3 項）。

[redacted]

毒性評価の結果に基づいて、原薬中の不純物を同定、分類、管理するための詳細かつ体系的なアプローチをとった。原薬中の不純物の限度値についての根拠は第 3.2.S.3.2 項に含まれる。本薬原薬で提示している商用規格（第 3.2.S.4.1 項）には、[redacted]を提示している。毒性試験に使用した原薬ロットの不純物プロファイルは第 2.6.7.4 項に示す。不純物プロファイルに基づき、毒性試験で用いた本薬の複数のロットは、治験薬の製造で用いられた本薬のロットの品質及び安定性試験に供されたロットの代表例と考えられ、原薬中不純物の規定限度値、並びに本薬の商用生産で用いられる出発原料、試薬及び中間体に求められる不純物管理を満たす。包括的な評価及び管理戦略に基づき、本薬の不純物プロファイルは十分理解され、管理されている。

表 2.4.4.7-1. [redacted]不純物の毒性評価概要

[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]				
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]				
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]				
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]				
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

[a] [redacted]

[b] [redacted]

2.4.5 概要及び結論

ビルタサ懸濁用散分包 8.4 g (以下本剤) に対して実施された包括的な非臨床試験によって製品の使用目的に対する安全性が示されている。

2.4.5.1 薬理試験

効力を裏付ける試験の試験結果は、パチロマーソルビテクスカルシウム (以下本薬) の活性部分 (すなわち、パチロマーカルシウムのポリマーアニオン) が単純な *in vitro* のイオン性マトリックス内及び複雑な *in vivo* 環境でカリウムに結合することを示している。本ポリマーの結合能を測定する *in vitro* 試験において、生理的な pH の普通の緩衝液で評価した際の実質的なカリウム結合 (8.7 mEq K^+/g ポリマー) が示された。これらの条件下では、本ポリマーの総結合能の 85%以上が陽イオン吸着に利用可能である。本ポリマーの作用機序を評価した動物モデルでは、ラットとブタの両モデルで糞便中カリウム排泄が増加し、高カリウム血症ラットにパチロマーカルシウムを処置すると血清中カリウム量が正常な血清中カリウム量の範囲内に実質的に減少した。

安全性薬理試験としてパチロマーカルシウムの中枢神経系、呼吸器系、心血管系及び胃腸管系に対する作用を検討した。ラットでは 6 g/kg、イヌでは 3.5 g/kg の投与量までの検討を行った結果、有害作用は認められなかった。パチロマーカルシウムは胃排出を遅延 (胃及び内容物の重量増加) させたが、多量のポリマーを投与した結果、パチロマーカルシウムが胃内に残存したものと考えられる。したがって、パチロマーカルシウムの胃排出に及ぼす影響は薬理作用ではなく、物理作用に起因する可能性がある。本試験で使用した 3 及び 6 g/kg の用量は、本剤のヒトにおける最大推奨臨床用量 (25.2 g/日、ポリマーアニオン) の約 6 倍及び 12 倍である。

2.4.5.2 薬物動態試験

本薬は直径が約 100 μm の球状ビーズとして製造される。この粒子径は小腸上皮細胞を経る経細胞経路及び細胞間隙経路を介する吸収を阻止する。

炭素の放射性同位体 (^{14}C) で標識したパチロマーカルシウムビーズを用いたラット及びイヌにおける薬物動態試験によりパチロマーカルシウムポリマーが非吸収性で生物学的利用能を示さないことが明らかとなった。尿から回収された微量な放射能量は、放射性標識ポリマー中に存在する架橋形成に用いられなかった架橋剤の放射能量と同等であった。ラット定量的全身オートラジオグラフィーにより放射性標識体は消化管の外側に検出されなかった。

消化管通過中のパチロマーカルシウムビーズの物理的及び代謝的安定性は被験者の糞中からパチロマーカルシウムビーズを回収することで明らかにした。糞中から回収したビーズは 100 μm の球状の完全体で、この回収したポリマービーズに結合していた主な生理的陽イオン (Na^+、NH_4^+、K^+、Mg^{2+}、Ca^{2+}) の合計は消化管を通過していないビーズに結合しているカル

シウムイオン量と同等であった。そのためパチロマーカルシウムは消化管通過中代謝を受けず、変化もしない。

本剤を服用する患者群で共通して使用される経口剤と本薬の相互作用を検討する目的で生物学的に妥当な *in vitro* 試験系を用いた。加えて、本薬との結合を精度よく予測するために定量的構造特性相関モデルを確立した。*In vitro* 試験において試験した 28 薬剤中 14 薬剤で相互作用が観察された。*In vitro* で本薬と相互作用した 12 薬剤は臨床薬物動態試験で評価し、2.7.2 項にまとめた。免疫抑制剤のタクロリムスとミコフェノール酸モフェチルは同様の試験液 (pH1.2 の模擬胃液、pH4.5 の酢酸緩衝液、pH6.8 の模擬腸液) 中で試験した。ミコフェノール酸モフェチルは pH1.2 で本薬と相互作用し、タクロリムスは相互作用しなかった。加えて、対象患者群で使用される 25 種の経口剤と本薬の相互作用を検討した。2 剤で全ての 3 種の試験液で相互作用が観察され、2 剤で 2 種の試験液で相互作用が観察された。1 種の試験液で相互作用が観察された 7 剤のうち 6 剤が pH1.2 で相互作用を示した。以上のうちの 7 剤は、異なる pH 条件にわたる結合をより現実的に評価するため、消化管通過中の pH シフトを模倣する消化管モデルで試験した。その結果、pH1.2 における本薬への結合は可逆的で、試験薬剤の結合は消化管通過中に中性又は負に帯電することによる減少分であることが示された。よってこの消化管モデルにおいて 7 剤に本薬との相互作用は観察されなかった。本薬のカリウム結合能がセベラマーによって影響されないか及びセベラマーのリン酸結合能がパチロマーナトリウムによって影響されないかを *in vitro* で結合親和性及びキャパシティーを決定することにより検討した。パチロマー及びセベラマー塩酸塩のイオン結合能に影響は観察されなかった。

最後にラット投与実験により、カルシウムとポリマーアニオンの複合体 (パチロマーカルシウム) を投与したときの全身吸収性がナトリウムとポリマーアニオンの複合体 (パチロマーナトリウム) を投与したときより低いことを明らかにした。比較できる投与量においてパチロマーカルシウムのフッ化物血漿中濃度はパチロマーナトリウムと比較して 6 倍低く、血漿中濃度下面積は 4 倍低かった。これらの結果はフッ化ナトリウムよりフッ化カルシウムのほうが低溶解性で低生物学的利用能であることから予想どおりであった。

2.4.5.3 毒性試験

パチロマーカルシウムのラット (混餌投与) 又はイヌ (カプセル) における 4 週間経口投与毒性試験を実施したが、忍容性は良好であった。最高用量は、体重 (kg) あたりの投与可能な用量として設定した。パチロマーカルシウムの投与に関連した変化は、ラットでは摂餌量の増加が、イヌでは便性状の変化の他に体重及び摂餌量の変化が認められたのみであり、他の有害作用は認められなかった。4 週間反復投与毒性試験におけるパチロマーカルシウムの無毒性量は、ラットでは 15 g/kg/日を超える量であり、イヌでは 7 g/kg/日を超える量であった。標的臓器毒性は認められなかった。

反復投与毒性試験として、ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験、及びイヌにおける 39 週間反復経口投与毒性試験を実施したが、本薬の忍容性は良好であり、最高用量が無毒

性量に相当した。無毒性量は、パチロマーカルシウムとしてラットでは 5.0 g/kg/日を超える量であり、イヌでは 3.75 g/kg/日であった。

パチロマーカルシウムは、細菌を用いる復帰突然変異試験、染色体異常試験及びラットにおける小核試験のいずれにおいても陰性を示したことから、遺伝毒性を有さないと考えられた。

パチロマーカルシウム又は本薬を、妊娠ラットでは 6 g/kg/日まで、妊娠ウサギでは 3 g/kg/日までの用量で器官形成期に経口投与した結果、催奇形性は認められなかった。また、本薬を 5 g/kg/日までの用量で投与した結果、雌雄いずれのラットの受胎能にも影響を及ぼさず、初期胚発生に対する影響も認められなかった。

本薬は非吸収性であり、39 週間までの反復投与毒性試験においても過形成性変化は認められず、遺伝毒性も認められなかった。また、投与可能な最大量の投与を行った場合においても、ラットの受胎能に影響を及ぼさず、ラット及びウサギにおいて催奇形性も認められなかった。そのため、がん原性試験及び出生前及び出生後の発生に関する試験は実施しなかった。本件については米国、欧州及び日本の各規制当局に相談し、その必要性について確認した。

本薬の原薬中の 14 種類の不純物の毒性評価を実施した。毒性評価は、文献情報の全般調査、*in silico* 計算解析、及び Ames 試験によって実施した。評価結果に基づいて、原薬中不純物の同定、分類及び管理のための系統的で徹底したアプローチをとった。包括的な評価及び管理戦略に基づき、本薬の不純物プロファイルは十分理解され、管理されている。

パチロマーカルシウムの最大推奨臨床用量は 30 g/日（体重 60 kg のヒトで 0.5 g/kg/日に相当）（25.2 g/日、ポリマーアニオン）であるが、安全域を FDA ガイダンスを参考に mg/kg 換算で算出すると（FDA, 2005、Mordenti, 1986[8)]）、最長投与期間の反復投与毒性試験における無毒性量との間にラットでは約 10 倍の、イヌでは約 7.5 倍の安全域が認められる（表 2.4.5.3-1）。さらに、4 週間反復投与毒性試験では、最大推奨臨床用量に対してラットでは 30 倍の、イヌでは 14 倍までの投与用量を設定して検討したが、結果として有害作用は認められなかった。なお、臨床試験におけるパチロマーカルシウムの 30 g/日（25.2 g/日、ポリマーアニオン）までの投与では、投与期間 1 年間までの安全性及び有効性が示されている（第 2.5.4.6 項、第 2.5.5.6 項）。

表 2.4.5.3-1.　パチロマーカルシウムの投与量に基づいたヒトでの暴露に対する安全域

動物種	投与期間	無毒性量 [a] (g/kg/日)	最大推奨臨床用量 [b] に対する安全域
ラット	4 週間	> 15	30 倍
ラット	26 週間	> 5	10 倍
イヌ	4 週間	> 7	14 倍
イヌ	39 週間	3.75	7.5 倍

[a] 無毒性量は、体重 (kg) あたりの投与可能な用量 (g) としての上限。

[b] 最大推奨臨床用量は、体重 60 kg のヒトで 0.5 g/kg/日に相当する量 (FDA Guidance July 2005) 。

2.4.6 引用文献

1) Fallingborg J, Christensen LA, Ingeman-Nielsen M, et al. PH-Profile and Regional Transit Times of the Normal Gut Measured by a Radiotelemetry Device. Aliment Pharmacol Ther, 3[6], 605-613, 1989.
2) Fordtran JS, Locklear TW. Ionic Constituents and Osmolality of Gastric and Small-Intestinal Fluids After Eating. American Jouranl of Digestive Diseases, 11[7], 503-521, 1966.
3) Irwin S. Comprehensive Observational Assessment: Ia. A Systematic, Quantitative Procedure for Assessing the Behavioral and Physiologic State of the Mouse. Psychopharmacologia, 13[3], 222-257, 1968.
4) Jani P, Halbert GW, Langridge J, Florence AT. The Uptake and Translocation of Latex Nanospheres and Microspheres After Oral Administration to Rats. J Pharm Pharmacol, 41[12], 809-812, 1989.
5) Jani P, Halbert GW, Langridge J, Florence AT. Nanoparticle Uptake by the Rat Gastrointestinal Mucosa: Quantitation and Particle Size Dependency. J Pharm Pharmacol, 42[12], 821-826, 1990.
6) Jensen SL, Gregersen H, Shokouh-Amiri MH, Moody FG. Essentials of Experimental Surgery : Gastroenterology. Harwood Academic Publishers; 1996.
7) Jung T, Kamm W, Breitenbach A, et al. Biodegradable Nanoparticles for Oral Delivery of Peptides: Is There a Role for Polymers to Affect Mucosal Uptake? Eur J Pharm Biopharm, 50[1], 147-160, 2000.
8) Mordenti J. Man versus Beast: Pharmacokinetic Scaling in Mammals. J Pharm Sci, 75[11], 1028-1040, 1986.
9) Rao SS, Kuo B, McCallum RW, et al. Investigation of Colonic and Whole-Gut Transit With Wireless Motility Capsule and Radiopaque Markers in Constipation. Clin Gastroenterol Hepatol, 7[5], 537-544, 2009.
10) Read NW, Miles CA, Fisher D, et al. Transit of a Meal Through the Stomach, Small Intestine, and Colon in Normal Subjects and Its Role in the Pathogenesis of Diarrhea. Gastroenterology, 79[6], 1276-1282, 1980.
11) Stevens CE. Comparative Physiology of the Digestive System. In: Dukes HH, Swenson MJ, editors. Dukes' Physiology of Domestic Animals. 9th ed. Ithaca, N.Y: Comstock Pub. Associates, p. 216-32. 1977.
12) Wrong O, Metcalfe-Gibson A. The Electrolyte Content Faeces. Proc R Soc Med, 58[12], 1007-1009, 1965.