TABLE OF CONTENTS

略語一覧表 3
2.4 非臨床試験の概括評価 6
1 非臨床試験計画概略 6
2 薬理試験 7
2.1 まとめ 7
2.2 効力を裏付ける試験 7
2.3 副次的薬理試験 10
2.4 安全性薬理試験 10
2.5 薬理試験のまとめ 11
3 薬物動態試験 12
3.1 まとめ 12
3.2 分析法 12
3.3 薬物動態及び吸収 12
3.3.1 単回投与による薬物動態 12
3.3.2 反復投与によるトキシコキネティクス 13
3.4 分布 13
3.4.1 血漿タンパク結合及び血液分配 13
3.4.2 組織分布 13
3.5 代謝 13
3.5.1 In vitro 代謝 14
3.5.2 In vivo 代謝 14
3.5.2.1 血漿中代謝物 14
3.5.2.2 In vivo 代謝経路 14
3.6 排泄／消失 14
3.7 薬物動態学的薬物相互作用 15
3.7.1 アコラミジスに対する他の薬物の影響 15
3.7.2 他の薬物に対するアコラミジス及び代謝物の影響 16
4 毒性試験 17
4.1 要約 17
4.2 単回及び反復投与毒性試験 17
4.3 遺伝毒性試験 20
4.4 がん原性試験 20
4.4.1 マウスを用いた 4 週間反復投与用量設定試験 20
4.4.2 rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験 20
4.4.3 ラットを用いた 104 週間がん原性試験 21
4.5 生殖発生毒性試験 21
4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 21
4.5.2 胚・胎児発生に関する試験 22
4.5.2.1 ラット 22

4.5.2.2 ウサギ 22
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 22
4.6 局所刺激性試験 23
4.7 その他の毒性試験 23
4.7.1 光毒性試験 23
4.7.2 依存性 23
5 総括及び結論 24
6 参考文献 26

略語一覧表

略語・用語	定義（英語）	定義（日本語）
A97S	Variant with substitution of serine for alanine at amino acid 97 of Transthyretin protein	トランスサイレチンタンパク質の第 97 位のアラニンがセリンに置換した変異体
Acoramidis-AG	acoramidis acylglucuronide	アコラミジスアシルグルクロン酸抱合体（アコラミジス-AG）
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収、分布、代謝、排泄
ATTR	transthyretin amyloidosis	トランスサイレチン型アミロイドーシス
ATTR-CM	ATTR cardiomyopathy	トランスサイレチン型心アミロイドーシス
ATTR-PN	ATTR polyneuropathy	トランスサイレチン型アミロイドポリニューロパチー
ATTRv	Variant transthyretin amyloidosis	遺伝性トランスサイレチン型アミロイドーシス
ATTRv-CM	Variant transthyretin amyloidosis cardiomyopathy	遺伝性トランスサイレチン型心アミロイドーシス
ATTRwt	Wild-type transthyretin amyloidosis	野生型トランスサイレチン型アミロイドーシス
ATTRwt-CM	Wild-type transthyretin amyloid cardiomyopathy	野生型トランスサイレチン型心アミロイドーシス
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
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
C_{max}	maximum observed concentration	最高血漿（組織）中濃度
CSF	cerebrospinal fluid	脳脊髄液
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
ECG	electrocardiographic	心電図
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
F64L	Variant with substitution of leucine for phenylalanine at amino acid 64 of Transthyretin protein	トランスサイレチンタンパク質の第 64 位のフェニルアラニンがロイシンに置換した変異体
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FP	Fluorescence Polarization	蛍光偏光
FPE	Fluorescent Probe Exclusion	蛍光プローブ排除
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
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度

略語・用語	定義（英語）	定義（日本語）
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
ITC	Isothermal Titration Calorimetry	等温滴定熱量測定
hERG	human ether à go-go-related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
K_2-EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium salt	エチレンジアミン四酢酸二カリウム塩
K_I	the concentration of the inhibitor that yields a 50% rate of the maximum inactivation	最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害剤の濃度
k_{inact}	maximum inactivation rate constant	最大酵素不活性化速度定数
K_m	Michaelis constant	ミカエリス定数
L58H	Variant with substitution of histidine for leucine at amino acid 58 of Transthyretin protein	トランスサイレチンタンパクの第 58 位のロイシンがヒスチジンに置換した変異体
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
LSC	liquid scintillation counting	液体シンチレーションカウンター
MAD	multiple ascending dose	反復漸増投与
MATE	multidrug and toxin extrusion	多剤・毒性化合物排出タンパク
MDCK	Madin Darby canine kidney	イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来細胞株
MST	Microscale thermophoresis	マイクロスケール熱泳動
MTD	maximum-tolerated dose	最大耐量
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	no observed effect level	無作用量
NZW	New Zealand White	ニュージーランドホワイト
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
P24S	Variant with substitution of serine for proline at amino acid 24 of Transthyretin protein	トランスサイレチンタンパクの第 24 位のプロリンがセリンに置換した変異体
PCE	polychromatic erythrocytes	多染性赤血球
PD	Pharmacodynamics	薬力学
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態

略語・用語	定義（英語）	定義（日本語）
QTc	corrected QT interval	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
RBP	Retinol Binding Protein	レチノール結合タンパク
rUGT	recombinant UGT	組換え UGT
SPR	Surface Plasmon Resonance	表面プラズモン共鳴
T119M	Variant with substitution of methionine for threonine at amino acid 119 of Transthyretin protein	トランスサイレチンタンパクの第 119 位のスレオニンがメチオニンに置換した変異体
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
t_{max}	time of maximum observed concentration	最高血漿中濃度到達時間
TTR	transthyretin	トランスサイレチン
TTRv	Transthyretin variant	変異型トランスサイレチン
TTRwt	Transthyretin wild type	野生型トランスサイレチン
UGT	uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase	ウリジン-5’-二リン酸-グルクロン酸転移酵素
V122I	Variant with substitution of isoleucine for valine at amino acid 122 of TTR protein	TTR タンパクの第 122 位のバリンがイソロイシンに置換した変異体
V30M	Variant with substitution of methionine for valine at amino acid 30 of TTR protein	TTR タンパクの第 30 位のバリンがメチオニンに置換した変異体
V_{max}	maximum velocity	最大反応速度
WB	Western Blot	ウェスタンブロット
Y114C	Variant with substitution of cysteine for tyrosine at amino acid 114 of TTR protein	TTR タンパクの第 114 位のチロシンがシステインに置換した変異体

2.4 非臨床試験の概括評価

1 非臨床試験計画概略

アコラミジス塩酸塩（ALXN2060 又は AG10）は、トランスサイレチン（TTR）型心アミロイドーシス（ATTR-CM）の経口治療薬として開発中の、強力かつ選択性の高い低分子トランスサイレチン安定化薬である。アコラミジスは、疾患抑制性変異型 TTR（TTRv）T119M の安定化作用を模倣する TTR との特徴的な結合様式により TTR を安定化させる（Miller, 2018）。前臨床試験において、アコラミジスはタファミジスよりも TTR に対して強い結合親和性を示し、TTR 四量体から単量体への解離を防止した（Penchala, 2013）。

薬理試験の概要文（モジュール 2.6.2）では、ATTR-CM の背景、TTR 安定化仮説の根拠と関連する標的の検証、TTR の詳細な構造特性、及びアコラミジスの開発を支持する非臨床薬理試験成績が示されている。また、アコラミジスの重要な生理機能に対する影響を検討する目的で、一連の安全性薬理試験が実施された。

アコラミジスの吸収、分布、代謝、排泄（ADME）及び薬物相互作用の可能性を評価するため、一連の in vitro 及び in vivo 試験を実施した。アコラミジスのこれらの特性は、ラット、イヌ及び一部サルを用いて、経口及び／又は静脈内投与により in vivo で広範囲に評価された。In vitro 及び in vivo 試験から得られた重要な知見の要約は、その総合評価とともにモジュール 2.6.4 に記載している。

一連の毒性試験（GLP 適用及び非適用）は、臨床投与経路（経口）で実施し、毒性標的器官、毒性発現用量及び曝露量及び可逆性を明らかにした。GLP 適用の毒性試験は、国際調和会議（ICH）ガイドライン（ICH M3[R2]）に準拠した試験デザイン及び評価項目で、GLP 原則及び規制を遵守して米国（US）及び英国（UK）で実施した。米国の試験施設（[redacted]、[redacted]、[redacted]）は、米国食品医薬品局（FDA）の GLP 規制（21 CFR Part 58）を遵守している。[redacted] は、英国医薬品・医療製品規制庁（MHRA）が監視する経済協力開発機構（OECD）の GLP 原則を遵守している。毒性試験の概要文（モジュール 2.6.6）に要約したとおり、アコラミジスの毒性試験成績は予定臨床曝露量に対する広い安全域を示しており、予定臨床用量における有害事象発現の可能性が低いことが示唆されることから、本剤の新薬承認申請を支持するものと考える。

2 薬理試験

2.1 まとめ

トランスサイレチン型アミロイドーシス（ATTR）は TTR の不安定化により引き起こされる全身性の疾患である。TTR は肝臓、網膜色素上皮、脈絡叢で合成され、体循環における TTR の供給源は肝細胞である。TTR はプレアルブミンとも呼ばれ、サイロキシン（T_4）及びレチノール結合タンパク（RBP）-レチノール（ビタミン A）複合体の担体の一つであり、両者とは生理的条件下で複合体を形成する（Monaco, 1995）。本複合体の大きさは糸球体ろ過の限界を超え、2～3 日の半減期で循環する。ATTR では、TTR 解離により二量体が生成され、それが単量体となり、ミスフォールディングと凝集によりオリゴマーと不溶性アミロイド線維が形成される。このようなアミロイド凝集体はさまざまな組織に沈着し、細胞毒性を示し、組織の機能特性を妨げて臨床症状を引き起こす。最も衰弱性の臨床症状として感覚運動性及び自律神経性多発性ニューロパチー、及び浸潤性拘束型心筋症が挙げられ、治療せずに放置すると、ニューロパチーか心筋症のいずれが優勢であるかにかかわらず進行性で致死的な状態に至る。ATTR は、野生型 TTR（TTRwt）又は TTRv アミロイドタンパク質のいずれかの凝集体の細胞外蓄積によって引き起こされる。

本概括評価では、アコラミジスによる TTR 安定化仮説と詳細な構造特性について説明し、アコラミジスの開発を支持する in vitro 及び in vivo 薬理試験成績を示す。アコラミジスの TTR 四量体への結合は、天然のリガンドである T_4 と同じ結合部位を利用している。TTR 四量体の安定化を伴うこの結合様式は、疾患抑制性 TTRv である T119M に由来する。TTR 四量体を安定化する TTRv T119M と不安定化する病原性 TTRv V30M の両方を共遺伝する複合ヘテロ接合個体は、ATTR から保護される。遺伝子組換え T119M タンパク質を用いた生化学的検討や TTRwt 及び TTRv V30M との比較により、T119M TTR ホモ四量体は、単量体サブユニットへの解離時に TTRwt 及び TTRv V30M とは異なる遷移状態を有することが示され、TTRwt 又は TTRvV30M よりも 100 倍以上遅い速度で解離した（Hammarstrom, 2001）。ATTR の原因である TTR 四量体の単量体への解離を防止する目的で、TTRv T119M の構造をモチーフとしたアコラミジスが開発された。アコラミジスと TTRv V122I との複合体の共結晶化、及びアコラミジスと TTRwt の複合体モデリングの結果、アコラミジスは、T_4 結合部位の内腔の奥深くに位置する T_4 結合部位の上端で荷電した Lys15 及び Lys15'残基と 2 つの塩を形成すること、また、結合空洞の反対側で TTR の隣接する単量体サブユニットである Ser117 及び Ser117'残基と 2 つの水素結合を形成することが明らかになった。後者の知見は、他の TTR 安定化薬と異なるアコラミジスの特徴であり、アコラミジスは構造的に疾患抑制性 TTRv T119M の T_4 結合部位にみられる Ser117 残基と Ser117'残基との結合様式を模倣して設計されているため、特に重要である。

2.2 効力を裏付ける試験

アコラミジスの薬理作用と作用機序について in vitro 及び ex vivo で検討した。アコラミジスによる TTR 安定化の効力と選択性を、精製 TTR タンパク質、健康成人及び遺伝性トランスサイレチン型心アミロイドーシス（ATTRv-CM）被験者由来の血清、血漿サンプルを用いて検討した。ATTR-CM の治療に現在臨床使用されている TTR 安定化薬タファミジスが、一部の試験で対照薬として用いられた。

ATTR の動物モデルはヒトの表現型（線維の組織沈着）を再現しないため、アコラミジスの薬理試験には使用されなかった。例えば、病原性 TTRv V30M を過剰発現するマウスモデルでは、多発性ニューロパチーの表現型を十分に再現できないうえ、患者でみられるような線維性 TTR 沈

着も検出されず、神経学的障害もみられない。また、本モデルでは TTR の沈着は皮膚や消化管では強く、浸透性が高いが、標的臓器である末梢神経系ではそれほどみられない。したがって、アコラミジスの薬効薬理試験では、遺伝子改変動物を用いず、一般に使用されている実験動物の血清を用いた in vitro 試験や in vivo での薬物動態（PK）/薬力学（PD）試験を実施した。

精製 TTR に対するアコラミジスの結合について、蛍光偏光（FP）法、等温滴定熱量測定（ITC）法、表面プラズモン共鳴（SPR）法、マイクロスケール熱泳動（MST）法、並びに結晶学的検討によって検討した（モジュール 2.6.2.2.1）。生理的緩衝液中でのアコラミジスの TTR への結合を評価したところ、TTR の 2 つの T_4 結合部位の両方に対して高い結合親和性が示された（K_{d1} = 4.8 nM、K_{d2} = 314 nM）。固相化された TTR を用いた SPR による解析で、アコラミジスの TTR に対する解離速度定数が小さかったことから、アコラミジス-TTR 四量体複合体の持続性が高いことが示された。また、タファミジス-TTR 複合体よりもアコラミジス-TTR 複合体がより長く持続し、薬理作用がより長く持続する可能性も示された。溶液相における TTR への結合評価が可能である MST 法での結果も含め、ITC 法及び SPR 法での成績は一貫しており、アコラミジスはタファミジスよりも TTR 結合親和性が高かった。

血清及び血漿を用いたアコラミジスの効力を裏付ける薬理試験は、2 つの方法を用いて in vitro 実施された。最初の方法は、蛍光プローブ排除（FPE）アッセイである。FPE アッセイは血清中の標的結合部位への結合占有率を測定する高感度で特異的な方法で、検討には健康成人由来のプール血清、及び野生型トランスサイレチン型アミロイドーシス（ATTRwt）又は遺伝性トランスサイレチン型アミロイドーシス（ATTRv）被験者検体由来の血清を用いた。もうひとつは、ウエスタンブロット（WB）を用いたイムノブロットによるもので、血漿中の TTR 安定化を検討した。酸解離により TTR 二量体又は単量体形成を誘発し、その形成速度を WB により定量することで TTR 四量体の持続性を評価した。

FPE アッセイにおいて、アコラミジスは低濃度（1.25 µM）から特異的かつ用量反応的な効果を示した。FPE アッセイでは、TTR の T_4 結合部位に選択的に結合する共有結合プローブを用いた。本プローブの結合により TTR の T_4 結合部位が修飾され蛍光強度の増加が誘発されるが、この増加はリガンド（例えば、アコラミジス）による競合的な標的結合によって抑制される。FPE アッセイは、タファミジスなどの他の安定化薬で評価された TTR 四量体の安定化効果と密接な相関があることが報告されている。FPE アッセイにおいて、約 10 µM のアコラミジスで最大効果がみられたが、本濃度は、血清中の TTR の 2 つの T_4 結合部位の両方に結合するのに十分な濃度である。また、血清タンパク質の存在下での検討で、TTR に対するアコラミジスの親和性は、天然リガンドである T_4 や血清アルブミンよりも高かった。

WB アッセイは、健康成人由来のプール血漿と野生型トランスサイレチン型心アミロイドーシス（ATTRwt-CM）患者及び ATTRv-CM 患者の血漿を用いて実施され、アコラミジスは、その治療目標トラフ濃度の 10 µM において TTR 四量体を完全に安定化させ、60 を超える被験者サンプルの 18 の固有の遺伝子型の TTR に対しほぼ完全な安定化作用を示した。

比較のため用いたタファミジスが、承認された最大用量で報告されている最高血中濃度（26 µM）及びトラフ濃度（16 µM）（Ji, 2023）で被験者血漿サンプルに添加されたが、10 µM アコラミジスは、最高血中濃度のタファミジス（49 ± 14%）及びトラフ濃度のタファミジス（36 ± 13%）よりも高い標的結合率（トラフ：93 ± 14%）を示した。また、酸解離不安定化後の WB 解析において、A97S、D38A、F64L、L58H、P24S、Y114C 等のまれな変異体もアコラミジス添加によりほぼ完全に安定化された。同一サンプルで比較すると、最高血中濃度におけるタファミジスよりも、トラ

フ濃度におけるアコラミジスの安定化作用の方が有意に強かった（p＜0.0001）。アコラミジスの効果は様々な不安定化変異体にわたって維持され、V122I 変異型に対するアコラミジスの効果は、安定化率の比較でタファミジスよりも約 2 倍優れていた。以上の in vitro 試験成績に加え、AG10-301 試験（モジュール 2.7.3）において、アコラミジスを投与した ATTR-CM 患者でも TTR のほぼ完全な安定化（90%以上）が確認された。疾患の機序及び TTR 不安定化と臨床症状の重症度との関連から、以上の成績は、アコラミジスが ATTRv 患者に対して、変異型の種類とは関係なく有効な治療薬となる可能性を示唆している。

アコラミジスの TTR 安定化作用が in vitro で確認されたことから、アコラミジス経口投与後のイヌ及びサルの血清サンプルを用いて、PK/PD 相関について検討した。その結果、アコラミジスの血漿中薬物濃度と FPE アッセイで評価された TTR 安定化作用との間に相関が認められ、アコラミジスが TTR を占有してほぼ完全に（90%以上）安定化させる血中濃度は、約 10 μM で十分であると考えられた。本アッセイ法は、その後、健康成人及び ATTR-CM 患者における標的結合率及び TTR 安定化の評価にも使用された。臨床試験から得られた ex vivo データから、野生型及び遺伝性の TTR を用いた非臨床 in vitro 試験成績の妥当性が確認され、FPE 及び WB アッセイの両方で、アコラミジスのほぼ完全な TTR 安定化作用の持続が証明された。健康成人における PK/PD の用量反応性から、TTR をほぼ完全に安定化させるための必要最小限の目標濃度（平均トラフ）として 8 μM～10 μM を選択することがさらに支持された。モジュール 2.7.3 で報告されているように、ピボタル第 3 相 AG10-301 試験では、ex vivo FPE アッセイと WB アッセイのいずれにおいても、大部分の被験者でほぼ完全な TTR の安定化がみられた。30 ヵ月目では、アコラミジス群（n = 81）の FPE アッセイによる平均安定化率は 100%で、被験者の大多数（80.2%）でほぼ完全（90%）な安定化がみられた。対照的に、プラセボ投与群（n = 27）では平均安定化率は 6%で、90%の安定化を達成した被験者はみられなかった。同様に、30 ヵ月目におけるアコラミジス群（n = 82）の WB アッセイによる平均安定化率は 90%であったのに対し、プラセボ群（n = 24）では 31%であった。

前述のように、TTR 四量体は、T_4 及び RBP-レチノール複合体の担体であり、血中を循環する T_4 の 10%～15%が TTR と結合していると推定されている（Palha, 2002）。甲状腺結合グロブリンと血清アルブミンがホルモンの主要な輸送担体であるため、T_4 の輸送担体としての TTR には余剰がある。TTR は、T_4 の前駆体であるサイログロブリンよりも T_4 に対する結合親和性が低く、アルブミンよりもはるかに低濃度（アルブミン 600 μM に対して～5 μM）で存在するため、生理的条件下では T_4 の補助的な担体として利用されていると考えられている（Schreiber, 2002）。AG10-301 試験において、アコラミジス投与により血清遊離 T_4 値の低下がみられ、その変化率は中央値で-9.63%（プラセボ 3.9%）、平均値で-8.28%（プラセボ 4.25%）であった。遊離 T_4 値の低下は僅かであったため安全性上の問題とは評価されなかった。これらは、TTR 安定化薬であるタファミジスでの成績と一致しており、遊離 T_4 値の低下は臨床的に甲状腺機能障害との関連もみられなかった。

TTR はホロ型 RBP の主要な担体である。TTR の RBP 結合部位は T_4（及びアコラミジス）結合部位と直交しているため、RBP の TTR への結合は T_4 結合部位へのアコラミジス等の低分子化合物の結合による影響を受けない可能性がある（Monaco, 1995）。結晶構造解析では、TTR 四量体あたり 2 つの RBP 結合部位の存在が示されている。しかし、通常の生理的条件下では、TTR 四量体と RBP 複合体の結合は化学量論的に肝細胞での合成と循環血中濃度（～5 μM 対 2 μM）により決定され、循環血中での結合は 1：1 が主体である。AG10-301 試験において、アコラミジス投与に

より血清 RBP 値の低下がみられ、その変化率は中央値で-30.35%（プラセボ-0.14%）、RBP 絶対値で-15.2 mg/L（プラセボ-0.1 mg/L）であった。血清 RBP 値の低下は安全性上の問題とは評価されなかった。血清 RBP 値の低下はタファミジスでもみられ、タファミジス 20 mg と 80 mg で用量反応性を示したが、臨床的なレチノール輸送低下や視力障害との関連もみられていない（Vyndaqel-EPAR, 2020; Vyndaqel-FDA-CDER, 2019）。

2.3 副次的薬理試験

副次的薬理試験において、アコラミジスは、4 つの哺乳類細胞株（Hep3B、Jurkat、MCF7、Hela）に対して細胞毒性及び増殖抑制作用を示さなかった（[redacted] 20[redacted]-005）。また、アコラミジスは 100 µM の濃度で [redacted]（[redacted] 社）パネルの受容体、酵素、及びイオンチャンネルに対してオフターゲット活性を示さなかった。さらに、ジフルニサルのようないくつかの TTR リガンドとは異なり、アコラミジス（10 µM）は甲状腺ホルモン核内受容体に結合せず、シクロオキシゲナーゼ（COX-1 又は COX-2）への有意な阻害もみられなかったことから、アコラミジスはこれらのタンパク質に対するオフターゲット活性を有さないと考えられる。

2.4 安全性薬理試験

安全性薬理試験（GLP 適用）において、アコラミジスは、雄性ラットに 1000 mg/kg まで投与しても、中枢神経系及び呼吸器系に影響を及ぼさなかった（8355819 試験、8355820 試験）。アコラミジスの心血管系に及ぼす影響について in vitro 及び in vivo で検討した。GLP 適用のヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）パッチクランプアッセイ（[redacted]0111.DPW 試験）において阻害率が 50%を越える hERG 電流阻害はみられなかった（アコラミジス 10 µM での阻害率 3.2%、50 µM で 2.1%）。また、副次的薬理試験における GLP 非適用下での hERG チャネル阻害作用の検討（[redacted]0227.TUC 試験）においても、50%を越える阻害はみられなかった（100 µM で 12.9%阻害）。hERG 電流阻害作用の IC_{50}（50 µM 以上）と AG10-301 試験の PK/PD サブスタディで観察された最高血中濃度（12,300 ng/mL、投与 28 日目、投与後 1 時間）での非結合型アコラミジス画分との比較で、33 倍を超える安全域が示された。イヌのテレメトリー試験（8355826 試験）では、AG10-301 試験でのアコラミジスの最高血中濃度（12,300 ng/mL）の 48.2 倍を超える血中濃度で QT 間隔に影響を及ぼさないことが示された。最大 1780 mg の治療量を超えるアコラミジスを単回経口投与した健康成人ボランティアを対象とした心電図測定（AG10-005 試験）において、アコラミジス／アコラミジス-β-D-グルクロン酸抱合体（アコラミジスアシルグルクロン酸抱合体［アコラミジス-AG］）の血漿中濃度と、心拍数（HR）で補正した QT 間隔（QTc）においてプラセボ補正したベースラインからの変化との間に明らかな関連性はないことが示された。AG10-301 試験の PK/PD サブスタディでは、Day 28 の投与後 1 時間の 99.2%の被験者（118/119）のアコラミジスの曝露量は、濃度-QTc 解析に基づき QTc への影響を除外できる最大濃度である 27,500 ng/mL 未満であった。一方、1 名の被験者の濃度は 38,600 ng/mL であったが、この被験者の QTc 間隔へ及ぼすアコラミジスの影響はみられず、この被験者の QTcF は、ベースライン（Day 1）では 463 msec、Day 28 では 441 msec（投与前）及び 461 msec（投与後 1 時間）であった。AG10-301 試験の中央機関による心電図評価において、臨床的に薬物誘発性 QT 延長の兆候は確認されなかった。In vitro 及び in vivo 試験並びに臨床試験の総合的な成績から、アコラミジスは心臓の再分極に対して影響を及ぼさないと考えられる。

肝細胞を用いた in vitro 代謝物プロファイリング成績から、アコラミジス-AG が主要な代謝物

として同定された。アコラミジス-AG は、アコラミジスを投与されたラット、イヌ及びサルの血漿サンプル中の主要な代謝物としても検出された。アコラミジス-AG の薬理作用を、FP 法及び WB により評価した。その結果、FP 法では、ヒト TTR に対するアコラミジス-AG の結合親和性（K_{app} : 1102 nM）は、アコラミジス（K_{app} : 241 nM）より低いことが示された（NC-[redacted]-0003 試験）。ヒト血漿を用いた WB アッセイにおいて、アコラミジス-AG は、プールされたヒト血漿中の TTRwt に対する安定化作用の比較で、アコラミジスの 24%～34%の活性しか示さなかった（001 試験）。さらに、代謝物の血漿中濃度が低い（^{14}C ヒト ADME 試験［AG10-007 試験］に基づく総放射能濃度時間曲線下面積［AUC］の 7.64%）ことは、生理的条件下での TTR の効果に対するアコラミジス-AG の実際の寄与を低下させる可能性がある。

2.5 薬理試験のまとめ

以上、野生型及び遺伝性 ATTR-CM 患者由来サンプルを用いた検討を含む様々な in vitro 及び in vivo 試験により、アコラミジスの TTR に対する薬理作用が明らかになった。生化学的試験により、様々な生物種の TTR に対するアコラミジスの感受性と選択性が確立されている。アコラミジスの薬理作用はイヌとサルにおいて用量依存的であり、幅広い曝露量で PK/PD 相関を検討することができる。ラット及びイヌを用いた安全性薬理試験成績から、臨床においてアコラミジスは中枢神経系、呼吸器系及び心血管系に影響を及ぼす可能性は低いことが示唆された。これらの成績から、アコラミジスの TTR への結合機序、並びに血清中及び血漿中の TTRwt、TTRv の両四量体への安定化作用が示され、被験者の治療を可能とする適切な曝露量が確立された。

3 薬物動態試験

3.1 まとめ

アコラミジスの薬物動態を評価するために、各種動物及び in vitro 試験系を用いて広範な試験を実施した。In vitro 及び in vivo の代謝試験の結果に基づいて、アコラミジス及びその主要代謝物であるアコラミジス-AG のトキシコキネティクス（TK）をラット及びイヌの慢性毒性試験で評価した。健康被験者で実施したヒト ADME 試験及び代謝物濃度の測定試験の結果から、ヒト循環血漿中の主要な成分はアコラミジス及びアコラミジス-AG であることが示されている（AG10-007 試験）。したがって、この項での主要代謝物に関連した記載は、アコラミジス-AG を中心に説明を行っている。

全体として、毒性試験で使用された動物種の全身曝露量及び代謝の結果から、毒性試験で選択された動物種がヒトにおけるアコラミジス及びその代謝物の安全性を評価するために適した動物種であったことが示された。

3.2 分析法

PK 及び TK 試験の血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG 濃度は、液体クロマトグラフィータンデム質量分析法（LC-MS/MS 法）を用いて測定した。FDA（FDA, 2018）及び欧州医薬品庁（EMA）（EMA, 2011）のガイダンスに従って、ラット、イヌ及びウサギを用いた GLP 準拠の重要な毒性試験で使用するために、ラット、イヌ及びウサギ血漿（抗凝固剤：エチレンジアミン四酢酸二カリウム塩［K_2-EDTA］）中のアコラミジス濃度の分析法を開発し、バリデーションを実施した。同様に、ラット、イヌ及びウサギ血漿（酸性条件下、抗凝固剤：K_2-EDTA）中のアコラミジス-AG 濃度の分析法を開発し、クオリフィケーションを実施した。

血液、血漿、尿、糞、胆汁及び in vitro アッセイ試料中の放射能の測定は液体シンチレーションカウンターにより実施した。組織内放射能濃度の測定は、定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）により実施した。

ラット及びイヌの血漿、血液及び排泄物中の総放射能（^{14}C）は液体シンチレーションカウンター（LSC）により測定した。代謝物の構造の同定は、液体クロマトグラフィー質量分析法（LC-MS 法）を使用して実施した。

3.3 薬物動態及び吸収

マウス、ラット、イヌ及びサルにおけるアコラミジスの非臨床薬物動態の特徴は、クリアランスが低く分布容積が小さいことであった。検討したすべての動物種で、経口投与したときの吸収は速やかであった。ラット及びイヌに反復経口投与したとき、アコラミジスの全身曝露量は概ね用量比例的に増加した。

3.3.1 単回投与による薬物動態

静脈内投与：CD-1 マウス、Sprague Dawley ラット、ビーグル犬及びカニクイザルにアコラミジスを単回静脈内投与したときのアコラミジスの全身クリアランス（CL）は低かった（0.0219～0.0613 L/h/kg）。検討した 4 種類の動物で、分布容積は小さく（0.392～0.612 L/kg）、消失半減期は比較的長かった（5.32～19.4 時間）（モジュール 2.6.5.3、Table 9 及び Table 10）。

経口投与：マウス、雌性ウサギ、イヌ及びサルにアコラミジスを単回経口投与したときの最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）は 1 時間未満であり、吸収は速やかであったが、ラットでは t_{max} は 2.67

時間であった。検討したすべての動物種で、経口投与の絶対的バイオアベイラビリティは中程度であった（30.5%～59.7%）。消失半減期は 5.82～20.0 時間であった（モジュール 2.6.5.3、Table 6～Table 10）。

3.3.2　反復投与によるトキシコキネティクス

アコラミジスの反復投与による TK は、CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic WT マウスの 4 週間、ラットの 1、4、13 及び 26 週間、並びにイヌの 3 日間、1、4、13 及び 39 週間反復投与による一般毒性試験の一部として評価した。マウス、ラット及びイヌにおけるアコラミジス及びその主要代謝物であるアコラミジス-AG の全身曝露量（最高血漿中濃度［C_{max}］及び時間 0 から投与 24 時間後までの濃度時間曲線下面積［AUC_{24h}］）をモジュール 2.6.5.4、Table 12～Table 24 に示す。

ラット及びイヌにアコラミジスを反復投与したとき、長期間の投与後にアコラミジス及びアコラミジス-AG の中程度の蓄積が観察された。マウスでは、4 週間の反復投与後にアコラミジス-AG の蓄積が認められた。各動物種でのアコラミジス及びアコラミジス-AG の曝露量に性差はほとんど認められなかった（2 倍未満の差）。

3.4　分布

3.4.1　血漿タンパク結合及び血液分配

アコラミジスはタンパクとの結合性が高く、血漿タンパク結合率は検討した動物種で 87%～99%の範囲であった（モジュール 2.6.5.6、Table 30）。

ラット、イヌ、サル及びヒト全血中のアコラミジスの血球移行には顕著な種差や濃度依存性は認められず、血液／血漿中濃度比（$K_{B/P}$）は 0.481～0.705 の範囲であり、赤血球に対して低い親和性を示した（モジュール 2.6.5.6、Table 33）。

3.4.2　組織分布

ラットを用いて[^{14}C]-アコラミジス由来放射能の組織分布を QWBA により評価した（モジュール 2.6.5.5、Table 26～Table 29）。白色（Sprague Dawley）及び有色（Long Evans）ラットに[^{14}C]-アコラミジスを単回経口投与したとき、放射能はいずれのラットの組織にも広範囲に分布した。投与 168 時間後では、組織中に放射能はほとんど又は全く検出されなかった。

有色ラットに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したとき、C_{max} の高かった組織は、胆汁及び尿を除き、肝臓、動脈壁、副腎、腎臓（腎皮質を含む）及び胃であった。C_{max} が低かった組織は、脳室周囲器官を除く中枢神経系組織、腹部脂肪、精嚢、鼻甲介及び精巣であった。この試験の全期間を通して、延髄及び臭葉では放射能は検出されなかった。検討した組織中に放射能の蓄積や滞留は観察されず、[^{14}C]-アコラミジス由来放射能はメラニン含有組織とは選択的に結合しなかった。

ラット（Sprague Dawley）にアコラミジス（200 mg/kg）を単回経口投与したときのアコラミジスの脳内移行性を評価した。脳ホモジネート及び脳脊髄液（CSF）中のアコラミジス濃度は、血漿中濃度の 1%未満であったため、経口投与によりアコラミジスが CSF 中の TTR に結合する可能性は低いと考えられた（モジュール 2.6.5.5、Table 25）。

対象となる臨床集団及び予想される年齢層を考慮し、胎盤通過性試験は実施していない。

3.5　代謝

In vitro 及び in vivo 試験系を用いて確認された動物及びヒトの代謝経路の比較をモジュール

2.6.4.5 に示す。主要な代謝経路はグルクロン酸抱合であり、酸化及びその他の抱合は副次的な代謝経路であった。ヒトで検出されたすべての代謝物は、いずれかの動物（ラット又はイヌ）で確認された代謝物であった。したがって、アコラミジスの毒性試験に使用されたラット及びイヌが適切な動物種であったことが確認された。

3.5.1 In vitro 代謝

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝細胞を使用して、アコラミジスの in vitro 代謝を評価した。検討したすべての動物種で、主要な代謝経路はアシルグルクロン酸抱合（アコラミジス-AG の生成）であった。その他の副次的な代謝経路として、一酸化（M308）及びそれに続くグルクロン酸抱合（M484）、タウリン抱合（M399）並びにグリシン抱合（M349）が確認された。肝細胞を用いた試験においてヒト特有の代謝物は確認されなかった（モジュール 2.6.5.10、Table 38～Table 40）。

アコラミジス-AG の in vitro での生成には主にウリジン-5'-二リン酸-グルクロン酸転移酵素（UGT）1A9 が関与し、UGT2B7 及び UGT1A1 も寄与していることが示された（モジュール 2.6.5.15、Table 52 及び Table 53）。アコラミジスの代謝にチトクローム P450（CYP）はほとんど関与していないことが示された。

3.5.2 In vivo 代謝

3.5.2.1 血漿中代謝物

ラットに経口投与したとき、アコラミジスは広範囲に代謝され、血漿中に 11 種類の代謝物が検出された。血漿中の主要成分は、アコラミジス及びアコラミジス-AG であった。その他の微量代謝物として、アシルグルクロン酸抱合体の異性体（M1、M2 及び M3）もラットの血漿中に検出された。イヌではアコラミジスの中程度の代謝が観察され、血漿中の主要成分はアコラミジス及びアコラミジス-AG であった。アコラミジス-AG の異性体は微量代謝物としてイヌの血漿中に検出された（モジュール 2.6.5.9、Table 34～Table 37）。

3.5.2.2 In vivo 代謝経路

ラット及びイヌの主要な in vivo 代謝経路は、グルクロン酸抱合であった。直接的なアシルグルクロン酸抱合体（M4）はラット及びイヌの主要な血漿中代謝物であったが、その異性体（M1～M3 及び M7）は微量な代謝物として確認された。酸化（M6、M8、M11 及び M13）はラット及びイヌの副次的代謝経路であったが、その他の副次的代謝経路であるカルボキシル基を介したグリシン抱合体（M5）はラットでのみ確認された。酸化及びその後のグルクロン酸抱合体（M9）も、ラット及びイヌの副次的代謝経路として観察された。ヒトで観察された代謝物はすべて動物でも検出された（モジュール 2.6.5.9、Table 34～Table 37）。

3.6 排泄／消失

ラット及びイヌに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したとき、[^{14}C]-アコラミジス由来放射能は速やかに吸収され、速やかに排泄された（95%超回収）。無処置ラット及びイヌでの主要な排泄経路は糞中であった（投与量に対する糞中排泄率は、雄性ラット：79.0%、雌性ラット：71.7%、雄性イヌ：51.0%、雌性イヌ：66.0%）。ラットの尿中排泄率は投与量の 16.3%～24.8%であり、イヌの尿中排泄率は投与量の 27.8%～34.4%であった。ラットでの胆汁中排泄率は投与量の 80.5%であっ

た。ラットにおける直接的なアシルグルクロン酸抱合体（M1、M2、M3、M4 及び M7）の胆汁中排泄率は、投与量の 67.2%であった。これに加え、ラットの胆汁及び尿中にアコラミジス未変化体の排泄量が少なかったことから、アコラミジスの主要な消失経路は代謝であると考えられる（モジュール 2.6.5.9、Table 36）（モジュール 2.6.5.13、Table 48 及び Table 49）（モジュール 2.6.5.14、Table 50）。

3.7　薬物動態学的薬物相互作用

3.7.1　アコラミジスに対する他の薬物の影響

CYP はアコラミジスの代謝にほとんど関与していないため、CYP を介したアコラミジスの代謝に対する相互作用はないと考えられる。アコラミジスは主に UGT によって代謝される。複数の UGT アイソフォームがアコラミジス-AG の生成に関与しており、in vitro で主に寄与が確認された酵素は UGT1A9（38.9 pmol/min/mg）、UGT2B7（23.8 pmol/min/mg）及び UGT1A1（12.4 pmol/min/mg）であった（モジュール 2.6.5.15、Table 52 及び Table 53）。[^{14}C]-アコラミジスを用いたヒトマスバランス試験の結果（AG10-007 試験）、ヒト尿中にアコラミジス-AG が投与量の 30.8%排泄され、このアコラミジス-AG の生成には in vitro 試験で示されたように複数の UGT が関与していると考えられる。In vitro でのアコラミジス-AG の生成量をヒト肝臓で発現する UGT の相対的存在量で標準化すると、アコラミジス-AG の生成に対する、in vitro での UGT1A9、UGT2B7 及び UGT1A1 の寄与はそれぞれ 28.2%、53.1%及び 13.3%と推定され、in vivo での寄与はそれぞれ 8.7%、16.3%及び 4.1%と推定される（モジュール 2.6.4.7.2.5）。さらに、以下の組換え UGT（rUGT）でもわずかな寄与が観察された。rUGT1A3（11.2 pmol）、rUGT1A4（48.9 pmol）、rUGT1A6（3.95 pmol）、rUGT2B10（1.13 pmol）及び rUGT2B15（2.27 pmol）。また、[^{14}C]-アコラミジスを投与したときのアコラミジス-AG は循環血漿中総放射能の約 7.64%に相当した。これらの結果から、in vivo での個々の UGT アイソフォームの寄与率は 20%未満であることが示唆され、複数の UGT がアコラミジスの代謝に関与していることから、UGT を介して臨床的に問題となる薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。アコラミジス-AG の生成に主に関与している UGT1A9 及び UGT2B7 は、in vitro 試験系で誘導される可能性が報告されているが、ATTR-CM 患者に使用される薬剤はどれも UGT1A9 及び UGT2B7 の既知の誘導剤ではない。

イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来細胞株（MDCK）-II 細胞を用いた試験系において、アコラミジスは排出トランスポーターである乳癌耐性タンパク質（BCRP）の基質である。

MDCK-II を用いた検討によりアコラミジスは有機アニオントランスポーター（OAT）3、有機カチオントランスポーター（OCT）1、OCT2、有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1、OATP1B3、多剤・毒性化合物排出タンパク（MATE）1、MATE2-K、P 糖タンパク（P-gp）及び胆汁酸塩排出ポンプ（BSEP）の基質ではなく、OAT1 及び BCRP の基質であった。したがって、MDCKII 細胞を用いて OAT1 及び BCRP によるアコラミジスの輸送に関してさらに評価した。その結果、OAT1 のミカエリス定数（K_m）値は 28.5 μM、最大反応速度（V_{max}）値は 45.4 pmol/min/cm^2 であったが、BCRP では 100 μM までのアコラミジスでみかけの基質飽和に達しなかったことから、K_m 値及び V_{max} 値は算出できなかった。K_m 値の特定には高濃度（100 μM 超）での評価が必要であることを考慮すると、OAT1 及び BCRP の基質としてのアコラミジスによって臨床的上問題となる薬物相互作用は生じないと考えられる。（モジュール 2.6.5.15、Table 56～Table 64）。

雄性ビーグル犬にアコラミジスを経口投与したときのアコラミジスの PK に対するオメプラゾール及びペンタガストリンによる pH 変化の影響を評価した。その結果、オメプラゾール及び

ペンタガストリンは、イヌにおけるアコラミジスの吸収及び血漿中曝露量に対して有意な影響を示さなかった（モジュール 2.6.5.15、Table 51）。

3.7.2 他の薬物に対するアコラミジス及び代謝物の影響

アコラミジスは CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対して 150 μM まで、CYP3A4/5 に対して 1100 μM まで阻害作用を示さなかった。一方、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）存在下で 30 分間プレインキュベーションした結果、アコラミジスは CYP2C8 及び CYP2C9 に対して代謝依存的阻害作用を示したが、50%阻害濃度（IC_{50}）値はそれぞれ 76 及び 100 μM と高かった。CYP2C8 に対する最大酵素不活性化速度定数（K_{inact}）値は 0.033 ± 0.003 min^{-1} 及び最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害剤の濃度（K_I）値は 39 ± 11 μM であり、CYP2C9 に対する K_{inact} 値は 0.049 ± 0.001 min^{-1} 及び K_I 値は 210 ± 10 μM であった。CYP2C8 及び CYP2C9 に対する IC_{50} 及び K_I 値が高く、ヒト血漿中の非結合型分率が低いことを考慮すると、この in vitro の阻害作用がそのまま in vivo で発生する可能性は低いと考えられる（モジュール 2.6.5.12、Table 43～Table 45）。

ヒト肝細胞を用いた誘導作用の評価では、最高 150 μM のアコラミジスとインキュベーションした結果、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 のメッセンジャーRNA（mRNA）の誘導作用は認められなかった（モジュール 2.6.5.12、Table 42）。

アコラミジスはヒト肝ミクロソーム及びヒト組換え UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT2B7 及び UGT2B15 をほとんど阻害しなかった。アコラミジスは肝ミクロソーム及び組換え酵素において UGT1A9 を阻害したが、その IC_{50} 値はそれぞれ 150 及び 40 μM と高かった。したがって、アコラミジスのヒト UTG 阻害による臨床的に重要な薬物相互作用が発生する可能性は低いと考えられる（モジュール 2.6.5.12、Table 46 及び Table 47）。

アコラミジスはヒト OCT1、OCT2、OATP1B3、MATE2-K、BSEP、BCRP 及び P-gp を介した輸送に対して有意な阻害作用を示さなかった（モジュール 2.6.5.15、Table 65～Table 67）。一方、アコラミジスは in vitro で OAT1、OAT3 及び MATE-1 を介した輸送を阻害し、その IC_{50} 値はそれぞれ 1.39、1.26 及び 178 μM であった（モジュール 2.6.5.15、Table 68 及び Table 69）。算出された $I_{max,u}/IC_{50}$ 値から、ATTR-CM 患者で最も一般的な併用薬であるループ利尿薬（フロセミドなど）のような OAT1/OAT3 基質との臨床薬物相互作用の可能性が考えられる。OAT1 及び OAT3 基質との臨床薬物相互作用の可能性は、臨床薬物相互作用試験によって評価されている（モジュール 2.7.2）。

ヒト OATP1B1、OATP1B3、MATE2-K、BCRP 及び P-gp を介した輸送に対するアコラミジスの阻害作用をより高濃度で評価したところ（[redacted]-20[redacted]-068 試験）、IC_{50} 値は、OATP1B1：55.5 μM、OATP1B3：125 μM、MATE2-K：>100 μM、BCRP：440 μM 及び P-gp：>1000 μM と推定された。

アコラミジス-AG により OAT1（22.8%）、OAT3（63.5%）及び MATE1（32.3%）を介した輸送で阻害が確認された。アコラミジス-AG による OAT3 活性の IC_{50} 値は 36.7 μM であった（モジュール 2.6.5.15、Table 70 及び Table 71）。アコラミジス-AG はアシルグルクロン酸抱合体であるが、リン酸カリウム緩衝液中での安定性が高く、消失半減期が 161 分と長いため、共有結合する可能性は低い（[redacted]4018 試験）。さらに、この代謝物の循環血漿中曝露量は低かった（[^{14}C]-アコラミジスのヒト ADME 試験において総放射能の濃度時間曲線下面積［AUC］の約 7.64%）。これらの結果から、アコラミジス-AG に起因する臨床薬物相互作用の可能性は低いと考えられる。

4 毒性試験

4.1 要約

アコラミジスについては、臨床投与経路（経口）及び投与レジメン（1 日 1 回投与）で実施した一連の毒性試験（GLP 適用及び非適用）により、毒性標的器官、毒性発現用量及び曝露量、モニタリングの可能性、及び可逆性を評価した。毒性試験（GLP 適用）は、ICH ガイドライン（ICH M3[R2], 2010）に準拠した試験デザイン及び評価項目で、GLP 原則及び GLP 規制を遵守して米国及び英国で実施した。米国の試験施設（[redacted]、[redacted]、[redacted]）は、FDA の GLP 規制（21 CFR Part 58）を遵守している。[redacted] は、MHRA が監視する OECD の GLP 原則を遵守している。

試験の要約は、毒性試験の概要文（モジュール 2.6.6）に記載した。ラット、イヌ、サル、及びヒトの肝細胞を 4 時間処理した in vitro 代謝プロファイリング試験（[redacted]906 試験）では、いずれの動物種においてもアコラミジス-AG が主要代謝物であることが確認された。肝細胞を用いた in vitro 代謝試験（EIDOS-20[redacted]0921-HMS 試験）では、ラット及びイヌと比較して、サル及びヒトの肝細胞におけるアコラミジスの急速な代謝がみられたが、ラット及びイヌの肝細胞におけるアコラミジスの代謝はヒト肝細胞と定性的に同様であった。ヒト以外の霊長類の使用は、他に薬理学的意義のある非げっ歯類が特定できない場合に限定するべきと考えられている。アコラミジスによるイヌ血漿中 TTR の安定化が認められ、イヌにおけるアコラミジスの薬理活性が確認されている（Sinha, 2017）。したがって、ラット及びイヌを毒性試験の供試動物として選択した。

これらの非臨床毒性試験成績はアコラミジスの高い安全性を示しており、予定臨床曝露量における有害事象発現の可能性が低いことが示唆されることから、本剤の新薬承認申請を支持するものと考える。臨床試験におけるヒト PK パラメータ（C_{max} 及び AUC）と毒性試験における曝露量から、アコラミジスの広い安全域が算出され、予定臨床曝露量における有害事象発現の可能性が低いことが示唆された。

4.2 単回及び反復投与毒性試験

アコラミジスの単回投与毒性試験は実施しなかった。アコラミジスの安全性及び忍容性については、ラット及びイヌを用いた 7 日間反復投与用量設定試験（GLP 非適用）、ラット及びイヌを用いた 4 及び 13 週間反復投与毒性試験（GLP 適用）、ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験、並びにイヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験により評価した。いずれの試験においても TK 試験を実施した。

ラットを用いた 7 日間反復投与用量設定試験（8355817 試験、用量：100、400、600、及び 1000 mg/kg/日）では、1000 mg/kg/日までの用量で良好な忍容性が認められた。

ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（8355824 試験、用量：50、200、600、及び 1000 mg/kg/日）では、毒性変化は認められなかった。アコラミジスに関連した変化として、1000 mg/kg/日群で体重、体重増加量、及び摂餌量の低値、200 mg/kg/日以上の群で血液生化学的検査及び尿検査における軽度の変化、600 mg/kg/日以上の群の雄及び 1000 mg/kg/日群の雌で肝臓重量の高値を伴う肝臓の肝細胞肥大、600 mg/kg/日以上の群の雄及び 50 mg/kg/日群の雌の腎臓で尿細管上皮細胞の空胞化が認められた。これらの変化においては、1000 mg/kg/日群の雄 1 例の肝細胞肥大を除いて、2 週間の休薬により回復性が認められた。発現した変化の頻度及び重症度、並びに一般状態の変化が認められないことを考慮して、無毒性量（NOAEL）は 1000 mg/kg/日と考えられた。

ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験（8366846 試験）は、50、350、及び 1000 mg/kg/日の

用量で実施した。高用量（1000 mg/kg/日）群では忍容性がみられず、42 例中 4 例が死亡した。なお、同群の生存例は投与期間終了時まで生存した。投与期間終了時には、体重及び体重増加量の低値が認められた。いずれも回復性がみられたが、毒性変化と考えられた。同群でみられた可逆的な摂餌量の低値は、毒性ではないと判断した。臨床検査値の可逆的な変動、並びに副腎、肝臓、及び腎臓でみられた病理組織学的変化は毒性ではないと判断した。したがって、NOAEL は 350 mg/kg/日と考えられた。

ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（20[redacted]1689 試験）の用量には、13 週間反復投与毒性試験の結果から 50、300、及び 600 mg/kg/日を設定した。試験の結果、すべての用量で良好な忍容性が認められた。すべてのアコラミジス投与群の雄で体重、体重増加量及び摂餌量の低値がみられ、600 mg/kg/日群では統計学的有意差が認められた。明らかな食欲低下を伴う体重増加量の低値は被験物質に関連した変化と考えられたが、関連する器官・組織の変化がみられず一般状態への影響が認められなかったことから、毒性変化ではないと判断した。600 mg/kg/日群の雄では、血清アルカリホスファターゼの軽度の高値もみられ、600 mg/kg/日群の雌で肝臓重量の高値が認められたが、いずれも毒性変化ではないと判断した。したがって、NOAEL は 600 mg/kg/日と考えられた。

イヌを用いた 7 日間反復投与用量設定試験（8350153 試験、用量：50、100、200 mg/kg/日）では、高用量（200 mg/kg/日）群においても良好な忍容性が認められた。FPE 法による TTR 安定化アッセイでは、すべてのアコラミジス投与群で Day 7 の投与 1 時間後の TTR の結合部位に対する占有率は 90%超であり、Day 7 の投与前でも 41～77%の占有率での結合が認められた。その後に実施したイヌを用いた 7 日間反復投与用量設定試験（8355818 試験）では、より高い用量（50、200、600、及び 1000 mg/kg/日）を設定し評価した。200 mg/kg/日群までは良好な忍容性がみられ、600 mg/kg/日群ではおおむね忍容性が認められたが、1000 mg/kg/日群では忍容性がみられず、雄 2 例を一般状態不良（削痩、活動性低下、及び／又は脱水等）により Day 5 に安楽死処分した。これらの一般状態不良は、被験物質の直接毒性ではなく、嘔吐及び無形便／水様便に起因した二次的変化である脱水及び電解質の変化が原因と考えられた。600 mg/kg/日群でも同様の臨床検査値の変動が認められた。

イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験（8355825 試験）は、50、200、400、及び 600 mg/kg/日の用量で実施した。高用量（600 mg/kg/日）群では忍容性はみられず、アコラミジスに関連した一般状態の変化として、削痩、活動性低下、脱水、及び体温上昇がみられ、Day 15 に雄 1 例を安楽死処分した。これらの変化は被験物質の直接毒性ではなく、嘔吐及び無形便／水様便、並びに食欲不振の二次的変化である脱水、ストレス、及び電解質の変化が原因と考えられた。病理組織学的検査では、400 及び 600 mg/kg/日群の心臓で心筋変性及び壊死が認められた。したがって、NOAEL は 200 mg/kg/日と考えられた。

イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験でみられた心臓の心筋変性及び壊死は、わずかに低い用量及び曝露量でその後に実施した 13 週間及び 39 週間反復投与毒性試験では認められなかった。心臓病変の発現機序は不明であり、投与期間中の一般状態の観察で関連する変化は認められなかった。39 週間反復投与毒性試験では血中心筋トロポニン濃度を測定したが、いずれのアコラミジス投与群においても被験物質に関連した心臓への影響を示唆するトロポニンの変化は認められなかった。心筋変性及び壊死の偶発的変化を特定したいくつかの事例が報告されており、ビーグル犬の心臓では、被験物質の影響と混同する可能性のある偶発的変化又は死後変化がしばしば認められることが示されている（モジュール 2.6.6.9）。慎重に評価した結果、イヌでみられた心筋変

性／壊死は、より長期の反復投与試験では認められず、アコラミジスとの関連性のない偶発的な病理組織学的変化か、高用量を曝露した場合に発現する変化である可能性が高いと判断した。さらに、アコラミジスに関連した変化である場合も、心筋損傷バイオマーカーによるモニターが可能と考える。AG10-301 試験では、単一施設の登録被験者を対象に、ベースライン及び 30 ヵ月までの試験期間中に高感度トロポニン I（TnI）を測定した。TnI の測定は、ベースラインでは 55 名、30 ヵ月目では 35 名を対象として実施した。いずれの測定時点においても、高感度 TnI のベースラインからの変化率は、プラセボ群に比較してアコラミジス投与群で低値であった（AG10-301 試験、Table 14.2.1.111a）。30 ヵ月目では、アコラミジス投与群ではベースラインからの平均変化率の軽度な減少がみられたが、プラセボ群では増加した。限定的（被験者数が少なく、測定時点後半で減少）ではあるものの、30 ヵ月間にわたるすべての来院検査での一貫した結果は、プラセボとの比較において、心筋損傷バイオマーカーである高感度 TnI に対するアコラミジスの好ましい影響を示すものと考えられた。

イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験の NOAEL（200 mg/kg/日）におけるアコラミジスの AUC 及び C_{max} は、800 mg q12h を投与した健康成人における定常状態の AUC 及び C_{max} と比較して、それぞれ約 7 倍及び約 9 倍であった（モジュール 2.6.6, Table 34）。

イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験（8366847 試験）では、50、125、及び 300 mg/kg/日の用量で経口投与した結果、いずれのアコラミジス投与群においても良好な忍容性が認められた。イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験の 400 及び 600 mg/kg/日群の結果から、高用量には 300 mg/kg/日を設定した。125 及び 300 mg/kg/日群の雌で PR 間隔の明らかな短縮、300 mg/kg/日群の雄で QT 間隔の短縮が認められた。回復性試験の Day 12 の検査では、心拍数、PR 間隔、及び QT 間隔に対照群との差は認められなかった。いずれのアコラミジス投与群においても QRS 幅及び QTc 間隔の変化はみられず、アコラミジスに関連した不整脈及び異常波形も認められなかった。眼科学的検査、臨床検査、器官重量、剖検、及び病理組織学的検査でアコラミジスに関連した変化は認められず、NOAEL は 300 mg/kg/日と考えられた。

イヌ用いた 39 週間反復投与毒性試験（20[redacted]1692 試験）の用量には、13 週間反復投与毒性試験の結果から 50、112、及び 250 mg/kg/日を設定した。アコラミジスに関連した死亡はみられず、眼科学的検査、心筋トロポニン濃度、尿検査、剖検、器官重量、病理組織学的検査で異常は認められなかった。一般状態の変化として、流涎、吐物、異常物質、及び異常便が認められた。体重、体重増加量、及び摂餌量にアコラミジスの影響は認められなかった。心電図検査では、250 mg/kg/日群で心拍数増加及び PR 間隔短縮が認められた。回復性試験期間終了時には、これらの変化は認められなかった。臨床検査では毒性変化は認められなかった。投与期間終了時（Day 274）に、対照群と比較して、250 mg/kg/日群の雄で赤血球数（-12%）、ヘモグロビン（-12%）、ヘマトクリット（-11%）の統計学的に有意な低値が認められた。250 mg/kg/日群で総ビリルビンの統計学的に有意な低値（雄：-47%、雌：-35%）が認められた。いずれの変化も、回復性試験終了時（Day 302）にも認められた。本試験では、高用量（250 mg/kg/日）群においても良好な忍容性がみられ、全身毒性及び標的器官毒性は認められなかった。したがって、NOAEL は 250 mg/kg/日と考えられた。

イヌ用いた 39 週間反復投与毒性試験の NOAEL（250 mg/kg/日）におけるアコラミジスの C_{max} 及び AUC を、800 mg q12h を投与した健康成人における定常状態の C_{max} 及び AUC と比較すると、それぞれ約 18 倍及び約 25 倍であった（モジュール 2.6.6, Table 34）。

4.3 遺伝毒性試験

アコラミジスの遺伝毒性については、標準的組合せである in vitro 試験（細菌を用いた復帰突然変異試験）及び 2 種類の in vivo 試験（小核試験及びコメットアッセイ）により評価した。いずれの試験においても陰性の結果が得られたことから、アコラミジスに遺伝毒性はなく、ヒトにおける遺伝毒性リスクが低いことが示唆された。

ヒスチジン要求性ネズミチフス菌 5 菌株（TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA102）を用いて、代謝活性化系の非存在下及び存在下で、独立した 2 実験によりアコラミジスの復帰突然変異誘発性を評価した（8358481 試験）。ラット肝臓代謝活性化系（S-9）の非存在下及び存在下で、最高濃度を 5000 µg/plate（規制ガイドラインの推奨最高用量であり、本試験の毒性用量）に設定した。本試験条件下において、いずれの菌株においてもアコラミジスの復帰突然変異誘発性は認められなかった。

アコラミジスについて、雄ラット骨髄の多染性赤血球（PCE）における小核誘発性及びアルカリコメットアッセイにより同動物の肝臓及び胃における DNA 鎖切断の可能性を評価した（8358482 試験）。アコラミジスを 2000 mg/kg/日（規制ガイドラインで推奨する in vivo 遺伝毒性試験の最高用量）（ICH S2[R1], 2012）までの用量で経口投与した結果、本試験条件下において、アコラミジスによる小核を有する PCE の発現頻度の増加はみられず、生物学的意義のある肝臓及び胃における DNA 鎖切断誘発性も認められなかった。

4.4 がん原性試験

アコラミジスのがん原性試験として、マウスを用いた 4 週間反復投与用量設定試験（8409781 試験）、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（8410991 試験）、及びラットを用いた 104 週間がん原性試験（8409782 試験）を実施した。

4.4.1 マウスを用いた 4 週間反復投与用量設定試験

本試験は、がん原性試験の用量設定に必要な情報、すなわち、過度の毒性及び生存率の低下を誘発しない用量及び TK パラメータを得ることを目的とし、rasH2 野生型マウス（001178-W [wild type],CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic）にアコラミジスを 500、1000、及び 1500 mg/kg/日の用量で、1 日 1 回、4 週間反復経口投与した（8409781 試験）。1000 mg/kg/日以下の群で、アコラミジスの忍容性が認められた。1500 mg/kg/日群では、アコラミジスの単回投与により毒性変化が認められたため、同群は Day 1 に早期試験終了とした。1000 mg/kg/日群では一般状態に明らかな影響はみられなかったが、同群の雄で軽微から高度の尿細管変性／再生が認められた。さらに、アコラミジスとの関連は不明であるが、Week 4 に雌雄各 1 例が死亡した。したがって、26 週間のがん原性試験において、過度の毒性及び生存率低下を誘発しない最大耐量（MTD）は 500 mg/kg/日と考えられた。

4.4.2 rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験

本試験は、001178-T RasH2 マウス（CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic）に 26 週間反復経口投与し、アコラミジスのがん原性を評価することを目的として実施した。rasH2 雌雄マウスに媒体又はアコラミジスを 30、100、及び 300 mg/kg/日の用量で 26 週間反復経口投与した結果、生存率、死亡率、一般状態、体重、摂餌量への影響は認められなかった。アコラミジスに関連した腫瘍性病変はみられず、器官重量、剖検、及び病理組織学的検査で異常は認められなかった。したがって、アコラミジスにがん原性はないものと考えられた。なお、陽性対照（N-メチル-N-ニトロソウレア）群

では、明らかながん原性が認められた。陽性対照群の死亡は主に腫瘍性病変に起因したものと考えられた。

4.4.3　ラットを用いた 104 週間がん原性試験

本試験は、Sprague Dawley ラットに 104 週間反復経口投与し、アコラミジスのがん原性及び TK を評価することを目的として実施した。

本試験の用量は雌雄で異なり、ラットを用いた 13 週間（8366846 試験）及び 26 週間（20[redacted]1689 試験）反復投与毒性試験の結果を参考にして設定した。本試験の雄の用量は、5、15、及び 50 mg/kg/日を設定した。高用量（50 mg/kg/日）は、26 週間反復投与毒性試験における統計学的に有意な体重変化から選択した。反復投与毒性試験における雄ラットの Day 1～182 の体重増加量は、対照群と比較して、50 mg/kg/日群で-12.3%、300 mg/kg/日群で-17.8%、及び 600 mg/kg/日群で-29.7%の低値であった。Day 182 の体重は、対照群と比較してそれぞれ-9.1%、-12.8%、及び-20.5%の低値であった。したがって、300 及び 600 mg/kg/日は MTD を超える用量と考えられることから、本試験の高用量には 50 mg/kg/日を選択した。雌の用量は 40、120、及び 350 mg/kg/日とした。26 週間反復投与毒性試験の 600 mg/kg/日群の雌では体重の有意な低値は認められなかった。しかし、13 週間反復投与毒性試験の 1000 mg/kg/日群では、死亡及び体重の低値が認められたことから、600 mg/kg/日が MTD 近似用量であると考えられた。13 週間反復投与毒性試験における中用量は 350 mg/kg/日であることから、この用量を本試験の雌の高用量に選択した。低・中用量には、雌雄共に予想曝露量（AUC）比が約 3 分の 1 となる用量を設定した。

本試験では、アコラミジスに関連した死亡率及び生存率への影響は認められず、がん原性を適切に評価するのに十分な動物数が生存した。

アコラミジスに関連した一般状態、体重、及び摂餌量への影響は認められなかった。副腎及び膵臓で、アコラミジスに関連した非腫瘍性増殖性病変の発現頻度の高値が認められた。対照群と比較して、15 mg/kg/日以上の群の雄の副腎皮質で索状帯過形成、15 mg/kg/日群の雄の膵臓で膵島細胞過形成の発現頻度及び重症度の高値が認められた。剖検で関連する変化は認められなかった。病理組織学的検査では、アコラミジスに関連した腫瘍性病変は認められなかった。

以上のとおり、アコラミジスを雄では 5、15、及び 50 mg/kg/日、雌では 40、120、及び 350 mg/kg/日の用量で反復経口投与した結果、高用量群においても忍容性がみられ、生存率への影響は認められなかった。雄の副腎及び膵臓でアコラミジスに関連した非腫瘍性増殖性病変の発現頻度の高値がみられたが、雌雄共にアコラミジスのがん原性を示唆する変化は認められなかった。したがって、アコラミジスのがん原性に対する NOAEL は雄では 50 mg/kg/日、雌では 350 mg/kg/日と考えられた。

4.5　生殖発生毒性試験

臨床試験及び承認申請に必要な一連の生殖発生毒性については、ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験、並びに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により評価した。

4.5.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験（20[redacted]3873 試験）では、雌雄の交配及び受胎能、並びに初期胚発生に対する被験物質に関連した影響は認められなかった。雄では 350 mg/kg/

日までの群で忍容性がみられたが、350 及び 1000 mg/kg/日群ではアコラミジスに関連した一般状態の変化がみられ、350 mg/kg/日群では体重増加量の有意な低値、1000 mg/kg/日では体重増加量及び摂餌量の有意な低値が認められた。雌では、350 及び 1000 mg/kg/日群で一般状態の変化がみられ、1000 mg/kg/日群では交配前期間中の体重増加量及び摂餌量の低値が認められた。したがって、親動物の一般毒性に対する NOAEL は、雄では 50 mg/kg/日、雌では 350 mg/kg/日、生殖毒性に対する無作用量（NOEL）は雌雄共に 1000 mg/kg/日と考えられた。

4.5.2　胚・胎児発生に関する試験

4.5.2.1　ラット

ラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験（8405806 試験）では、Sprague Dawley 妊娠ラットの妊娠 6～17 日に、アコラミジスを 50、350、及び 1000 mg/kg/日の用量で、1 日 1 回、経口投与した結果、対照群と比較して、1000 mg/kg/日群で体重及び体重増加量の低値、摂餌量の低値が認められた。50 及び 350 mg/kg/日群では、体重及び体重増加量に試験物質に関連した影響は認められなかった。1000 mg/kg/日群の胎児で胎児重量の低値が認められた。なお、胎児の外表検査において外表異常及び変異は認められなかった。

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（8411734 試験）では、Sprague Dawley 妊娠ラットの器官形成期に、アコラミジスを 50、350、及び 1000 mg/kg/日の用量で、1 日 1 回、経口投与した結果、いずれの用量においても胎児に奇形は認められなかった。50 及び 350 mg/kg/日群ではアコラミジスの影響は認められず、1000 mg/kg/日群の変化は毒性ではないと判断した。したがって、母動物及び胚・胎児発生に対する NOAEL は 1000 mg/kg/日と考えられた。

4.5.2.2　ウサギ

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験（8405805 試験）では、ニュージーランドホワイト（NZW）妊娠ウサギの妊娠 7～19 日に、アコラミジスを 50、350、及び 1000 mg/kg/日の用量で、1 日 1 回、経口投与した結果、350 mg/kg/日以上の群で被験物質に関連した死亡が認められた。したがって、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の高用量には 50～350 mg/kg/日が適切と考えられた。

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（8411735 試験）では、NZW 妊娠ウサギの器官形成期に、アコラミジスを 25、75、及び 200 mg/kg/日の用量で、1 日 1 回、経口投与した結果、いずれの用量においても体重、摂餌量、生殖及び子宮内パラメータ、胚・胎児生存率、及び胎児の形態形成に被験物質に関連した影響はみられず、胎児毒性は認められなかった。したがって、母動物及び胚・胎児に対する NOAEL は 200 mg/kg/日と考えられた。

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

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（8411736 試験）では、Sprague Dawley 妊娠ラットの妊娠 6 日から授乳 20 日までの期間、アコラミジスを 50、350、及び 1000 mg/kg/日の用量で、1 日 1 回、経口投与した結果、1000 mg/kg/日群でアコラミジスに関連した母動物の死亡及び毒性変化が認められた。1000 mg/kg/日群における主な母動物の変化として、体重及び摂餌量の低値、並びに胚吸収の発現頻度の高値、出生児数及び生存児数の低値が認められた。いずれのアコラミジス投与群においても、授乳期間中の評価項目に被験物質の影響は認められなかった。

1000 mg/kg/日群の哺育期間中の F1 動物で、体重の低値が認められ、離乳後も持続したが、離乳の約 2 週間後には対照群と同等の体重増加量が認められた。1000 mg/kg/日群の F1 動物の神経行動学的検査では、近接刺激及び空間認識に対するアコラミジスの影響が認められ、毒性変化と考えられた。350 mg/kg/日群の F1 動物でも学習障害が認められたが、一過性であり、毒性ではないと判断した。1000 mg/kg/日群の F1 動物で毒性変化が認められたが、同群では母動物毒性も認められており潜在的な交絡に留意することが必要と考えられた。いずれの用量においても、アコラミジスに関連した F1 動物の死亡及び一般状態の変化はみられず、生後発育、摂餌量、妊娠中体重、発情周期、生殖及び子宮内パラメータ、並びに剖検でアコラミジスの影響は認められなかった。したがって、F0 母動物及び F1 動物に対する NOAEL はいずれも 350 mg/kg/日と考えられた。

4.6 局所刺激性試験

本剤の臨床投与経路は経口であることから局所刺激性試験は実施しなかった。

4.7 その他の毒性試験

4.7.1 光毒性試験

アコラミジスの光毒性について、BALB/c3T3 マウス線維芽細胞を用いた in vitro NRU 光毒性試験により評価した（20[redacted]8057 試験）。本試験では、アコラミジス処理 BALB/c3T3 マウス線維芽細胞の紫外線非照射下における生存率を、アカラミジス処理細胞の紫外線照射下の生存率と比較することにより、アカラミジスの光毒性を評価した。陽性対照にはプロメタジンを使用した。本試験条件下において、アコラミジスの光毒性を示唆する反応は認められなかった。

4.7.2 依存性

アコラミジスの依存性試験は実施しなかった。アコラミジスの中枢神経系に対する潜在的な影響について、雄ラットを用いた単回経口投与による Irwin 変法により評価した（8355820 試験）。いずれの評価時点においても、アコラミジスに関連した Irwin 変法の評価項目に異常はみられず、最高用量（1000 mg/kg）においても体温への影響は認められなかった。したがって、NOEL は 1000 mg/kg と考えられ、アコラミジスの中枢神経系に対する影響が発現する可能性は低いことが示唆された。

5　総括及び結論

アコラミジスの非臨床安全性プロファイルについて、ラット及びイヌを用いた 26 週間及び 39 週間までの反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、及び光毒性試験により評価した。

イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験で認められた心筋変性／壊死は予期し得ぬ病理組織学的変化であり、若干低い用量及び曝露量で実施したイヌを用いた 13 週間及び 39 週間反復投与毒性試験では同様の変化は認められなかった。ラットでは、いずれの試験においても同様の変化は認められなかった。広範な検査により変化の原因を特定できなかったが、ビーグル犬の心臓では、被験物質の影響と混同する可能性のある偶発的変化又は死後変化がしばしば認められることが報告されている。慎重な評価の結果、イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験でみられた心筋変性／壊死は、より長期の反復投与試験で認められていないことから、アコラミジスとの関連性のない偶発的な病理組織学的変化である可能性が高いと判断した。さらに、同試験の NOAEL（200 mg/kg/日）におけるアコラミジスの AUC 及び C_{max} は、800 mg q12h を投与した健康成人における定常状態の AUC 及び C_{max} と比較して、それぞれ約 7 倍及び約 9 倍であった（モジュール 2.6.6, Table 34）。イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験の NOAEL（250 mg/kg/日）におけるアコラミジスの C_{max} 及び AUC を、臨床試験における C_{max} 及び AUC と比較すると 18～25 倍であった。ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験の NOAEL（600 mg/kg/日）におけるアコラミジスの C_{max} 及び AUC を、臨床試験における C_{max} 及び AUC と比較すると 25～33 倍であった（モジュール 2.6.6, Table 34 及び 35）。

アコラミジスの遺伝毒性は陰性であり、ヒトに対する遺伝毒性リスクが低いことが示唆された。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 週間がん原性試験において、アコラミジスのがん原性は認められなかった。

雌雄ラットの交配及び受胎能に対するアコラミジスの影響は認められなかった。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、胚・胎児の生存に対するアコラミジスの影響は認められなかった。出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では、いずれの用量においても、哺育中のパラメータにアコラミジスの影響は認められなかった。高用量（1000 mg/kg/日）群の F1 動物では体重の低値がみられ離乳後も持続したが、成熟期間開始約 2 週間後の体重増加量に対照群との差は認められなかった。1000 mg/kg/日群の F1 動物でアコラミジスに関連した学習障害が示唆された。F1 動物ではアコラミジスに関連した死亡及び一般状態の変化はみられず、生後発育、摂餌量、妊娠中体重、発情周期、生殖及び子宮内パラメータ、並びに剖検でアコラミジスの影響は認められなかった。1000 mg/kg/日群の母動物における体重、体重増加量、及び摂餌量の低値による F1 動物への影響により、同群の変化に対する解釈を混乱させる可能性が考えられた。ATTR-CM の患者集団は一般に高齢者でありほとんどが男性のため、上記所見の臨床的意義は低いと考えられる。

アコラミジスに光毒性はみられず、ヒトにおける安全性上リスクは低いものと考えられた。アコラミジス不純物の in silico 解析により、遺伝毒性の可能性が低いことが示唆された。

2 試験の臨床試験（AG10-001 試験及び AG10-005 試験）におけるヒト PK パラメータ（C_{max} 及び AUC）と毒性試験の曝露量から安全域を算出した（モジュール 2.6.6, Table 34 及び 35）。アコラミジスの毒性試験の結果から予定臨床曝露量における広い安全域が示され、有害事象発現の可能性が低いことが示唆された。以上のとおり、非臨床試験成績はアコラミジスの高い安全性を示しており、予定臨床用量における有害事象発現の可能性が低いことが示唆されることから、本剤

の新薬承認申請を支持するものと考える。

アコラミジスの非臨床薬理、薬物動態、及び毒性プロファイルは十分に評価されており、ATTR-CM の成人患者の治療におけるアコラミジスの使用を裏付けるものである。

6 参考文献

EMA. Guideline on Bioanalytical Method Validation. CHMP: London, UK. 2011.

FDA. Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry (FDA-2013-D-1020). 2018.

Hammarstrom P, Schneider F, Kelly JW. Trans-suppression of misfolding in an amyloid disease. Science. 2001;293(5539):2459-2462.

ICH M3[R2]. Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals. FDA-2008-D-0470. 2010.

ICH S2[R1]. Genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use (FDA-2008-D-0178). 2012.

Ji A, Wong P, Judge DP, Graef IA, Fox J, Sinha U. Acoramidis Produces Near-Complete TTR Stabilization in Blood Samples from Patients with Variant Transthyretin Amyloidosis that is Greater than that Achieved with Tafamidis. European Society of Cardiology (ESC) Congress; Amsterdam. ePoster, Pharmacotherapy; 2023.

Miller M, Pal A, Albusairi W, Joo H, Pappas B, Haque Tuhin MT, et al. Enthalpy-driven stabilization of transthyretin by AG10 mimics a naturally occurring genetic variant that protects from transthyretin amyloidosis. J Med Chem. 2018;61(17):7862-7876.

Monaco HL, Rizzi M, Coda A. Structure of a complex of two plasma proteins: transthyretin and retinol-binding protein. Science. 1995;268(5213):1039-1041.

Penchala SC, Connelly S, Wang Y, Park MS, Zhao L, Baranczak A, et al. AG10 inhibits amyloidogenesis and cellular toxicity of the familial amyloid cardiomyopathy-associated V122I transthyretin. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(24):9992-9997.

Sinha U, Rao SI, Fox J, Zamboni R, Kumar N, Graef I, et al. Abstract 17426: AG10 potently and selectively stabilizes transthyretin in vitro and upon oral dosing in dogs: potential for treating transthyretin amyloidosis. Circulation. 2017;136 Suppl_1:A17426.

Vyndaqel-EPAR. Assessment report: Vyndaqel, International non-proprietary name: tafamidis, Procedure No. EMEA/H/C/002294/X/0049/G. 2020.

Vyndaqel-FDA-CDER. Assessment Report: Vyndaqel, International non-proprietary name: tafamidis, Application No. 211996 and 212161. 2019.