用語及び略号一覧

略号	英語	日本語
ATP	adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
HCM	hypertrophic cardiomyopathy	肥大型心筋症

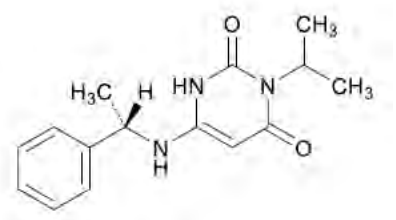
1 緒言

マバカムテン（別名：BMS-986427、MYK-461 又は SAR439152）は新規の心筋ミオシン選択的かつ可逆的なアロステリック阻害剤である。マバカムテンは収縮及び弛緩の単位である心筋サルコメアにおいて心筋ミオシン複合体に作用し、ミオシンヘッドとアクチンが強く結合するクロスブリッジ数を減少させ、力の発生過程であるアデノシン三リン酸（ATP）加水分解サイクルの阻害により心筋の収縮力及び ATP 消費を抑制する。

肥大型心筋症（HCM）は左室の肥大、拡張障害及び収縮の亢進を特徴とする原発性の心筋疾患である。心筋の収縮及び左室拡張機能の異常から、HCM は一般的に心筋の基本的な収縮装置であるサルコメアの疾患と考えられている。実際、HCM 患者ではサルコメアタンパク質をコードする遺伝子の 1 つ以上に高い割合で変異がみられ、しばしば本疾患発症の予測因子となる。しかしながら、HCM 患者では既知の HCM 病因性変異の種類及び有無にかかわらず収縮及び拡張期の機能障害がみられる。心筋の収縮及び拡張機能の障害により心室腔の縮小及び心室内血行動態の変化が生じ、構造的異常と組み合わさって動的な左室流出路閉塞を来たした HCM は、閉塞性 HCM に分類される。

心筋サルコメアはミオシン複合体を主要成分とする太いフィラメント及びアクチンを主要成分とする細いフィラメントから構成される。心筋ミオシン複合体は、ATP の加水分解酵素活性を有するミオシン重鎖を含み、ATP 加水分解サイクルを介してサルコメアを収縮させ、力を発生させる。マバカムテンは、心筋ミオシンにおける ATP 加水分解サイクルの進行を阻害する作用及び本サイクルに移行するミオシンヘッドの数を減少させる作用の 2 種類の作用を有する。いずれの作用によっても、アクチンと強く結合するクロスブリッジの数が減少し、ATP 加水分解サイクルが阻害されて、結果として心筋の収縮及び ATP 消費（エネルギー消費）が抑制される。HCM の病態において、マバカムテンはこれらの作用を介して、左室での過剰な収縮性、拡張障害、過剰なエネルギー消費、心筋ストレス、拡張期充満の異常及び動的な左室流出路閉塞を抑制又は改善する。これらの新規作用機序に基づき、マバカムテンは閉塞性 HCM に対する治療薬となることが期待される。

マバカムテンの化学構造式を以下に示す。



【効能又は効果】

閉塞性肥大型心筋症

【用法及び用量】

通常、成人にはマバカムテンとして 5 mg を 1 日 1 回経口投与から開始し、患者の状態に応じて適宜増減する。ただし、最大投与量は 1 回 15 mg とする。

Table of Contents

1 まとめ 12
2 ミオシン複合体の構造、機能及び性質並びにマバカムテンの作用 16
2.1 ミオシン複合体の構造 16
2.2 ミオシン複合体とアクチンによる ATP 加水分解サイクル 17
2.3 ミオシンヘッドにおける状態変化 18
3 効力を裏付ける試験 19
3.1 In vitro 及び ex vivo での作用機序の解析 19
3.1.1 定常状態での生化学的解析 19
3.1.2 遷移相の速度論的解析 23
3.1.3 太いフィラメントの再構成系での解析 25
3.1.4 アクチンフィラメントの滑り運動試験 26
3.1.5 除膜した心筋線維での生体力学的解析 27
3.1.6 正常心筋細胞を用いた ex vivo での作用機序の解析 29
3.1.7 ランゲンドルフ摘出灌流ラット心臓での解析 31
3.2 正常動物での作用 33
3.2.1 麻酔正常ラットにおけるマバカムテン単回経口投与による心機能及び血行動態の変化 33
3.2.2 テレメトリー機器を装着した覚醒正常ラットにおけるマバカムテンの単回経口投与による全身及び左室血行動態の変化 36
3.2.3 テレメトリー機器を装着した覚醒正常イヌにおけるマバカムテンの単回経口投与による左室圧及び容積並びに全身血行動態の変化 38
3.2.4 テレメトリー機器を装着した覚醒正常イヌにおけるマバカムテンの単回経口投与による心筋の収縮機能抑制における作用機序 41
3.2.5 正常なラット及びイヌにおける長期反復経口投与による作用 42
3.2.6 β 遮断薬又は L 型カルシウムチャネル拮抗薬と併用時のマバカムテンの作用 43
3.2.7 マバカムテン投与時の強心薬に対する反応性 44
3.2.8 正常なラット及びイヌでの作用の要約 48
3.2.8.1 収縮及び拡張機能に及ぼすマバカムテンの作用 48
3.2.8.2 マバカムテンの全身血行動態に及ぼす作用及び HR 亢進の作用機序 49
3.2.8.3 活動性弛緩に及ぼすマバカムテンの作用 50
3.3 HCM 病態モデルでの作用 51
4 副次的薬理試験 57
4.1 標的外作用及び細胞傷害性の評価 57
4.2 血管収縮に及ぼす作用 58
4.3 In vivo での骨格筋機能に及ぼす作用 58
5 安全性薬理試験 59
5.1 hERG イオンチャネル電流に及ぼす影響の評価（GLP 適合） 60

5.2 覚醒イヌを用いた心血管系及び呼吸系に及ぼす影響の評価（GLP 適合）..... 60
5.3 正常ラットを用いた中枢神経系に及ぼす影響の評価（GLP 適合）..... 62
5.4 電気生理学的評価..... 62
5.4.1 正常イヌでの単回経口投与試験における心電図の評価..... 62
5.4.2 イヌ 3 ヵ月間及び 39 週間反復経口投与毒性試験における心電図の評価..... 63
5.4.3 正常イヌでの 14 日間反復経口投与試験（テレメトリー）（GLP 非適合）..... 64
5.4.4 In vitro 及び in silico での評価..... 65
5.4.4.1 ウサギプルキンエ線維における活動電位に及ぼす影響（GLP 非適合）..... 65
5.4.4.2 正常心臓及び HCM 病態を有する心臓由来のヒト初代培養心室筋細胞における活動電位に及ぼす影響（GLP 非適合）..... 66
5.4.4.3 室温におけるマバカムテンの短時間処理が心臓イオンチャネルに及ぼす影響（GLP 非適合）..... 67
5.4.4.4 生理的温度におけるマバカムテンの短時間処理が心臓イオンチャネルに及ぼす影響（GLP 非適合）..... 68
5.4.4.5 ヒト初代培養心室筋細胞での心臓イオンチャネル電流に及ぼす影響（GLP 非適合）..... 68
5.4.4.6 hERG イオンチャネルの細胞表面発現に及ぼす影響（GLP 非適合）..... 69
5.4.4.7 心臓イオンチャネル電流におけるマバカムテンの長時間処理が及ぼす影響（GLP 非適合）..... 70
5.4.4.8 ヒト iPSC-CM の電場電位及びインピーダンスにおけるマバカムテンの長時間処理が及ぼす影響（GLP 非適合）..... 70
5.4.4.9 In silico での活動電位に及ぼす影響（GLP 非適合）..... 70
5.4.5 覚醒ラットでの 7 日間反復経口投与試験（GLP 非適合）..... 71
5.4.6 電気生理学的評価の要約..... 73
6 薬力学的薬物相互作用試験..... 76
7 考察及び結論..... 77
8 参考文献..... 81

List of Tables

Table 3.1.1-1: ミオシンにおける ATP 加水分解サイクルの進行速度に対するマバカムテンの阻害作用 20

Table 3.1.1-2: 野生型及び HCM 病因性変異型のヒト心筋ミオシンでの ATP 加水分解サイクルに対するマバカムテンの阻害活性 21

Table 3.1.5-1: 様々なカルシウム濃度でのラット及びブタ由来の心室筋線維における等尺性張力の発生に及ぼすマバカムテンの作用 27

Table 3.1.6-1: 正常ラット由来の初代培養左室心筋細胞における無負荷での収縮及び弛緩に及ぼすマバカムテンの作用 29

Table 3.2.3-1: テレメトリー機器を装着した覚醒正常イヌの血行動態及び左室機能におけるマバカムテン及びメトプロロールの単回経口投与による作用 39

Table 3.2.4-1: 覚醒正常イヌにおけるマバカムテンの単回経口投与による心機能、収縮速度及び変力性の変化 41

Table 3.2.8.1-1: 正常なラット及びイヌを用いた単回又は反復経口投与試験におけるマバカムテンの主な作用 48

Table 3.3-1: In vitro 及び ex vivo の HCM モデルにおけるマバカムテンの作用に関する報告 52

Table 5-1: 実施した GLP 適合の安全性薬理評価 60

Table 5.4.1-1: 正常イヌでのマバカムテンの単回経口投与による左室機能及び心電図の変化 63

Table 5.4.3-1: テレメトリー機器を装着した正常イヌにおけるマバカムテンの長期（14 日間）反復経口投与による機械的作用及び心電図の変化 64

Table 5.4.4.2-1: hVM 及び hHVM の活動電位におけるマバカムテン及び MYK-1078 の短時間処理による作用 66

Table 5.4.4.5-1: hVM 及び hHVM におけるマバカムテン及び MYK-1078（3 μM）の短時間処理が心臓イオンチャネル電流に及ぼす影響 69

Table 5.4.5-1: 覚醒ラットにおけるマバカムテンの長期（7 日間）反復経口投与による機械的作用及び心電図の変化 72

Table 5.4.6-1: マバカムテンの主な電気生理学的作用 75

List of Figures

Figure 2.1-1: ミオシン複合体の構造 16
Figure 2.1-2: 太いフィラメント及び細いフィラメントの構造 17
Figure 2.2-1: ATP 加水分解サイクルにおけるマバカムテンの作用 18
Figure 2.3-1: ミオシンヘッドにおける DRX 及び SRX 状態並びにマバカムテンの作用 19
Figure 3.1.1-1: ブタ心筋原線維系での様々な Ca^{2+}濃度における ATP 加水分解サイクルの進行速度に及ぼす作用 22
Figure 3.1.2-1: ウシ心筋アクトミオシン系における Pi 放出に及ぼす作用 24
Figure 3.1.3-1: 太いフィラメントの再構成系における作用 25
Figure 3.1.5-1: 除膜したラット心室筋線維におけるカルシウム反応性及び除膜したブタ心室筋線維における機械的伸張ストレス応答におけるマバカムテンの作用 28
Figure 3.1.6-1: ラット初代培養左室心筋細胞におけるマバカムテンを処理した条件での β-AR 刺激に対する反応性 31
Figure 3.1.7-1: ランゲンドルフ摘出灌流ラット心臓での解析 33
Figure 3.2.1-1: 麻酔ラットにおける心機能（心エコー）及び左室血行動態（カテーテル）の評価 35
Figure 3.2.2-1: テレメトリー機器を装着した覚醒ラットにおけるマバカムテンの単回経口投与による全身及び左室血行動態の変化 37
Figure 3.2.3-1: 覚醒正常イヌにおけるマバカムテンの単回経口投与が左室圧及び容積に及ぼす作用（代表例） 40
Figure 3.2.3-2: 覚醒正常イヌにおけるマバカムテン又はメトプロロールの単回経口投与が左室圧及び容積に及ぼす作用 40
Figure 3.2.6-1: メトプロロール又はベラパミルを投与した正常覚醒イヌの左室機能に及ぼすマバカムテンの作用 44
Figure 3.2.7-1: 正常ラットにおいてマバカムテンの単回経口投与により抑制した心収縮能に及ぼす DOB 又は LEVO の単回静脈内投与による作用 46
Figure 3.2.7-2: 正常覚醒イヌにおける DOB の作用に及ぼすマバカムテン投与の影響 47
Figure 3.3-1: HCM 自然発生モデルネコにおけるマバカムテンによる作用 55
Figure 3.3-2: R403Q 変異型 MYH7 を有する遺伝子改変 HCM ブタモデルにおける MYK-581 の単回静脈内投与による作用 56

Figure 3.3-3: R403Q 変異型 MYH7 を有する遺伝子改変 HCM ブタモデルにおける MYK-581 の反復経口投与による作用 57

Figure 5.4.5-1: 覚醒ラットにおけるマバカムテンの長期（7 日間）反復経口投与による心電図の変化及び機械的作用 73

用語及び略号一覧

略号	英語	日本語
ABCC8	adenosine triphosphate binding cassette subfamily C member 8	―
AC50	half maximal concentration of activation	50%活性化濃度
ADP	adenosine diphosphate	アデノシン二リン酸
ANOVA	analysis of variance	分散分析
AP	action potential	活動電位
APD	action potential duration	活動電位持続時間
APDX	action potential duration at X% of repolarization	X%再分極時間
AR	adrenergic receptor	アドレナリン受容体
ATP	adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
ATPase	adenosine triphosphate hydrolase	―
ATP2A2	adenosine triphosphate hydrolase sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+} transporting 2	―
BB	β-adrenergic receptor blockade	―
bc	bovine cardiac	―
BCL	basic cycle length	基本刺激周期
bpm	beats per minute	―
CACNA1C	calcium voltage gated channel subunit alpha1 C	―
Cav1.2/3.2	voltage gated calcium channel alpha subunit 1.2/3.2	―
Ca^{2+}	calcium ion	カルシウムイオン
CCB	L type calcium channel blockade	―
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
Cmax	maximum measured concentration	最高血漿中濃度
CNS	central nervous system	―
CO	cardiac output	心拍出量
CRISPR/Cas9	clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR associated proteins	―
CT	pre ejection period	前駆出期
CTRL	control	―
D	Day	―

略号	英語	日本語
DBP	diastolic blood pressure	拡張期血圧
DMA	dimethylacetamide	ジメチルアセトアミド
DMSO	dimethyl sulfoxide	－
DOB	dobutamine	ドブタミン
DP	left ventricular developed pressure (isovolumic)	等容性収縮圧
dP/dtmax	peak rate of left ventricular pressure increase during systole	最大圧立ち上がり速度
dP/dtmin	peak rate of left ventricular pressure decrease during diastole	最高圧下降速度
DRX	disordered relaxed	－
E	peak velocity of early diastolic transmitral flow	拡張早期最大血流速度
e	Napier's constant	ネイピア数
e'	peak velocity of early diastolic septal and lateral mitral annular motion	中隔側及び側壁側の拡張早期僧帽弁輪最大運動速度
Ea	arterial elastance	動脈エラスタンス
ECV	extracellular volume fraction	細胞外容積分画
EDP	left ventricular end diastolic pressure	左室拡張末期圧
EDV	left ventricular end diastolic volume	左室拡張末期容積
E/e'	ratio of peak velocity of early diastolic transmitral flow (E) to peak velocity of early diastolic septal and lateral mitral annular motion (e')	中隔側及び側壁側の拡張早期僧帽弁輪最大運動速度（e'）に対する拡張早期最大血流速度（E）の比
Eed	end diastolic elastance	拡張末期エラスタンス
Ees	end systolic elastance	収縮末期エラスタンス
EF	left ventricular ejection fraction	左室駆出率
ELC	essential light chain	必須軽鎖
EMw	electromechanical window	電気機械的ウインドウ
ESP	left ventricular end systolic pressure	左室収縮末期圧
ESV	left ventricular end systolic volume	左室収縮末期容積
FOB	functional observational battery	機能観察総合評価
FPD	absolute duration of the field potential	－
FPDcF	corrected duration of the field potential using the Fridericia’s formula	－
FS	left ventricular fractional shortening	左室短縮率

略号	英語	日本語
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
HCM	hypertrophic cardiomyopathy	肥大型心筋症
HCN2/4	hyperpolarization activated cyclic nucleotide gated potassium and sodium channel 2/4	―
HEK293	human embryonic kidney cells 293	―
hERG	human ether-a-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
hHVM	human hypertrophied ventricular myocytes	HCM 病態を有する心臓由来のヒト初代培養心室筋細胞
hiPSC	human induced pluripotent stem cells	―
HMM	heavy meromyosin	重メロミオシン
HR	heart rate	心拍数
hVM	human healthy ventricular myocytes	正常心臓由来のヒト初代培養心室筋細胞
I_{CaL}	L type calcium channel current	L 型カルシウムチャネル電流
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IC50	half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
I_{KATP}	adenosine triphosphate dependent potassium current	ATP 依存性カリウム電流
I_{Kr}	rapid components of the delayed rectifier potassium current	急速活性化遅延整流性カリウムチャネル電流
I_{Ks}	slow components of the delayed rectifier potassium current	緩徐活性化遅延整流カリウムチャネル電流
I_{Kur}	ultra rapid delayed rectifier potassium current	超急速活性化遅延整流性カリウム電流
I_{K1}	inward rectifier potassium current	内向き整流カリウム電流
I_{NaL}	late sodium current	後期ナトリウム電流
iPSC-CM	cardiomyocytes derived from induced pluripotent stem cells	人工多能性幹細胞由来の心筋細胞
ISO	isoproterenol	―
I_{to}	transient outward potassium current	一過性外向きカリウムチャネル電流
IV	intravenous	―
JTp	J point to the peak of the T wave	J 波及び T 波のピーク間

略号	英語	日本語
KChIP2.2	potassium channel interacting protein 2.2	―
KCND2/3	potassium voltage gated channel subfamily D member 2/3	―
KCNJ8/12	potassium inwardly rectifying channel subfamily J member 8/12	―
Kir2.1/3.1/3.4/6.2	inward rectifier potassium channel 2.1/3.1/3.4/6.2	―
KO	knockout	ノックアウト
KvLQT1/minK	I_{Ks} producing slow voltage gated potassium channel subunit alpha/beta	―
Kv1.5/4.3	voltage gated potassium channel subunit 1.5/4.3	―
LA Vol	left atrial volume	―
LEVO	levosimendan	レボシメンダン
LMM	light meromyosin	軽メロミオシン
LV	left ventricular	―
LVIDs	left ventricular internal diameter at end systole	―
LVOT	left ventricular outflow tract	左室流出路
LVP	left ventricular pressure	―
LVV	left ventricular volume	―
mant	2' (or 3')-O-(N-methylanthraniloyl)	―
MAVA/Mava	mavacamten	―
[MAVA]	mavacamten concentration	―
[MAVA]p/ [MAVA]plasma	plasma concentration of mavacamten	―
MBP	mean systemic pressure	平均血圧
MET	metoprolol	―
ms	millisecond	―
MYBPC/MYBP-C	myosin binding protein C	ミオシン結合タンパク質 C
MYH6/7	myosin heavy chain 6/7	―
MYK	MYK-581	―
NA	not applicable	―
Nav1.5	voltage gated sodium channel subunit alpha 5	―
ND	not determined	―

略号	英語	日本語
nH	Hill coefficient	―
NPPA and B	natriuretic peptide A and B	―
N.S.	not significant	―
NT-proBNP	N terminal pro b type natriuretic peptide	ヒト脳性ナトリウム利尿ペプチド前駆体 N 端フラグメント
oHCM	obstructive HCM	閉塞性 HCM
pCa	$-\log [Ca^{2+}]$	―
pCa X	when pCa is X	―
pCa50	the Ca^{2+} concentration at half of the maximal adenosine triphosphate hydrolase rate	最大速度の半分の ATP 加水分解サイクルの進行速度が得られる Ca^{2+}濃度
PEG	polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
Pi	inorganic phosphate	無機リン酸
Pmin	minimum early left ventricular filling pressures	最小早期左室充満圧
PO	oral	―
POST	post dose	―
PP	pulse pressure	脈圧
PRE	predose	―
pre-DOB	predose of dobutamine	―
PRSW	preload recruitable stroke work	前負荷動員一回仕事量
QTc	rate corrected QT interval	心拍数で補正された QT
QTcB	corrected QT interval using the Bazett’s formula	Bazett の式で補正された QT
QTcF	corrected QT interval using the Fridericia’s formula	Fridericia の式で補正された QT
QTcR	corrected QT interval using the Ollerstam's formula	Ollerstam の式で補正された QT
QTcV	corrected QT interval using the Van de Water's formula	Van de Water の式で補正された QT
QT1000	QT interval duration at an RR interval of 1000 ms	RR 間隔を 1000 ms として補正した QT
RLC	regulatory light chain	調節軽鎖
RNAi	ribonucleic acid interference	―
RSE	relative surface expression of the channel	―
RT50 or 75	time to reach 50 or 75% of the resting length	50 又は 75%弛緩時間

略号	英語	日本語
RYR2	ryanodine receptor 2	―
R^2	correlation coefficient	―
S	subfragment	サブフラグメント
s/sec	second	―
SBP	systolic blood pressure	収縮期血圧
SCN5A	sodium voltage gated channel alpha subunit 5	―
SD	standard deviation	標準偏差
SEM	standard error of the mean	標準誤差
SF	shortening fraction	短縮率
SL	sarcomere length	サルコメア長
SRX	super relaxed	―
SUR2A	sulfonylurea receptor 2A	―
SV	stroke volume	一回拍出量
tau	time constant of left ventricular pressure decay	左室圧減衰の時定数
tau1/e	time constant of left ventricular pressure decay (time to 1/e decrease)	―
tau1/2	time constant of left ventricular pressure decay (halfmaximal)	―
tauw	tau calculated using Weiss' formula	Weiss らの方法による tau
Tend	T wave end	T 波の終期
Tmax	maximal isometric tension	最大張力
Tn	troponin	トロポニン
Tpe	from the peak of the T wave to its end	T 波のピークから終期まで
VEH	vehicle	―
Vmax	estimated maximal velocity of contractile element shortening	推定収縮最大速度
vs	versus	―
Vshortening	velocity of shortening	―
WT	wild type	―

1 まとめ

マバカムテン（別名：BMS-986427、MYK-461 又は SAR439152）は新規の心筋ミオシン選択的かつ可逆的なアロステリック阻害剤である。マバカムテンは収縮及び弛緩の単位である心筋サルコメアにおいて心筋ミオシン複合体に作用し、ミオシンヘッドとアクチンが強く結合するクロスブリッジ数を減少させ、力の発生過程であるアデノシン三リン酸（ATP）加水分解サイクルの阻害により心筋の収縮力及び ATP 消費を抑制する。

肥大型心筋症（HCM）は左室の肥大、拡張障害及び収縮の亢進を特徴とする原発性の心筋疾患である[1]。心筋の収縮及び左室拡張機能の異常から、HCM は一般的に心筋の基本的な収縮装置であるサルコメアの疾患と考えられている。実際、HCM 患者ではサルコメアタンパク質をコードする遺伝子の 1 つ以上に高い割合で変異がみられ[2,3,4,5]、しばしば本疾患発症の予測因子となる[6]。しかしながら、HCM 患者では既知の HCM 病因性変異の種類及び有無にかかわらず収縮及び拡張期の機能障害がみられる[7]。心筋の収縮及び拡張機能の障害により心室腔の縮小及び心室内血行動態の変化が生じ、構造的異常[8]と組み合わさって動的な左室流出路（LVOT）閉塞を来たした HCM は、閉塞性 HCM（oHCM）に分類される。oHCM 患者の臨床症状は個々でその程度は異なるが、労作時に症状を伴う患者は運動が制限されるため、身体活動能力が低下していく。HCM 患者において心筋でのエネルギーの枯渇が知られており、運動時に心拍出量（CO）を増加できないことに関与する可能性がある[9]。LVOT 閉塞は HCM の重要な予後因子であり[10]、疾患進行及び死亡のリスクを増加させる[11]。oHCM 患者の重要な治療目標の一つは、日常生活に多大な影響を及ぼしている症状及び身体活動能力を改善させることである。左室圧と大動脈圧に生じた LVOT 圧較差を下げることも oHCM の重要な治療指標であるものの、本邦では oHCM の適応症を有する治療薬は存在せず、他の循環器疾患で承認された薬剤による症状緩和を目的とした薬物療法と非薬物療法に大別される対症療法が中心である。薬物療法では、主に β 遮断薬、非ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬及び強い陰性変力作用を有するナトリウムチャネル阻害薬が使用される[12]。いずれの薬剤も、LVOT 圧較差を軽減させる効果を有するものの、そのエビデンスは十分に確立されておらず、oHCM の病態生理を標的とする薬剤ではない[9]。また、効果不十分な患者に最高用量までの増量を検討するものの、副作用により結果的に増量が困難となり、症状の軽減に至らない問題がある[13,14]。本邦では oHCM の適応症を有する又は心室肥大の主原因とされるサルコメアの過剰収縮を標的とした治療薬は存在せず、oHCM に対する医療ニーズは満たされていない。

心筋サルコメアはミオシン複合体を主要成分とする太いフィラメント及びアクチンを主要成分とする細いフィラメントから構成される。心筋ミオシン複合体は、ATP の加水分解酵素活性を有するミオシン重鎖を含み、ATP 加水分解サイクルを介してサルコメアを収縮させ、力を発生させる[15]。マバカムテンは心筋ミオシンにおける ATP 加水分解サイクルの進行を阻害する作用及び本サイクルに移行するミオシンヘッドの数を減少させる作用の 2 種類の作用を有する（ATP 加水分解サイクルを含むミオシン複合体の構造、機能及び性質並びにマバカムテンの作用機序は 2 項に詳述する）。い

ずれの作用によっても、アクチンと強く結合するクロスブリッジの数が減少し、ATP 加水分解サイクルが阻害されて、結果として心筋の収縮及びATP消費（エネルギー消費）が抑制される。HCMの病態において、マバカムテンはこれらの作用を介して、左室での過剰な収縮性、拡張障害、過剰なエネルギー消費、心筋ストレス、拡張期充満の異常及び動的 LVOT 閉塞を抑制又は改善する。

効力を裏付ける試験：

In vitro、ex vivo及び正常動物を用いたin vivo試験により、マバカムテンの薬理作用の評価及び作用機序解析を実施した。また、in vitro及びin vivoの HCM 病態モデルを用いた試験により、マバカムテン及びそのフッ素化ツール化合物 MYK-581 の有効性を評価した。

In vitro の定常状態での解析において、マバカムテンは複数の動物種並びに野生型及び複数の HCM 病因性変異を有するミオシンヘッドにおける ATP 加水分解サイクルの進行を阻害した。また、マバカムテンが心筋ミオシン選択的なアロステリックな阻害剤であり、ATP 加水分解サイクルにおいて ATP と結合したミオシンヘッドに選択的に結合することが示された。遷移相の速度論的解析により、マバカムテンがミオシンヘッドからの無機リン酸（Pi）放出を抑制することで、ATP 加水分解サイクルの進行を阻害することが示された。また、太いフィラメントの再構成系での解析により、マバカムテンが ATP 加水分解サイクルに移行しない状態のミオシンヘッドを増加させ、拡張期のクロスブリッジ数及び張力も減少させることが示された。ATP 加水分解サイクルに移行しない状態のミオシンヘッドはエネルギー消費も少ない特徴を有し、マバカムテンにより拡張期のエネルギー消費を抑制することが示唆された。マバカムテンは、アクチンフィラメントの滑り運動試験においてアクチンフィラメントの滑り速度を抑制し、除膜した心筋線維系において収縮期と拡張期のいずれのカルシウムイオン（Ca^{2+}）濃度でも張力を抑制した。正常心筋細胞を用いた試験において、マバカムテンにより心筋細胞の収縮が濃度依存的に阻害される一方で弛緩が亢進し、拡張期のサルコメア及び細胞の長さが増加した。また、マバカムテンは心筋細胞内での Ca^{2+}流入に影響しなかった。以上の in vitro 試験により、マバカムテンがミオシンヘッドのATP加水分解サイクルの進行及び本サイクルへの移行を阻害する 2 つの作用機序により、収縮期に加えて拡張期にも存在するミオシンとアクチンのクロスブリッジの数を減少させ、力の発生過程である ATP 加水分解サイクルを阻害し、心筋サルコメアの収縮力及び拡張期張力を直接的に抑制することが示された。

正常なラット及びイヌを用いた単回経口投与試験において、マバカムテンにより収縮機能が用量依存的に低下し、心室伸展性が改善し、全身血行動態及び左室拡張末期圧（EDP）が維持される作用が示された。この様な新規の薬理学的プロファイルは、正常イヌに β 遮断薬又は L 型カルシウムチャネル拮抗薬を 7 日間反復経口投与しても維持され、従来の陰性変力作用を有する薬剤と異なるマバカムテンの作用が確認された。さらに、正常なラット及びイヌを用いた試験において、マバカムテン投与条件で内因性機構による心予備能の動員が可能であることが示された。摘出成体ラット心室筋細胞を用いた ex vivo 試験でも同様の結果であった。反復経口投与試験でも同様の作用が確認さ

れており、マバカムテンの反復投与により、収縮機能が用量依存的かつ持続的に低下する一方で、心室充満、拡張機能及び心筋ストレスの指標は維持された。

In vitro の HCM 病態モデルでは、心筋のサルコメアタンパク質であるトロポニン（Tn）、ミオシン結合タンパク質 C（MYBPC）及びミオシン重鎖における種々の HCM 病因性変異による異常なサルコメアの挙動がマバカムテン処理により改善されることが報告されている[16,17,18,19,20,21]。複数の閉塞性及び非閉塞性 HCM 動物モデル（自然発症又は遺伝子改変モデル）を用いた試験において、マバカムテン又は MYK-581 の投与による LVOT 閉塞と関連する症状の早期の軽減及び拡張機能障害の改善に加えて、心筋ストレスの軽減、心室肥大及び線維症の抑制、心予備能の回復及び死亡率の低下が示された。これらの有益な作用により、HCM 患者を対象とした臨床試験【モジュール 2.7.3、3.2 項】で認められた有効性が裏付けられ、マバカムテンが HCM の病因に直接作用して治療上の有効性をもたらすことが示された。サルコメアでの力の発生及びエネルギー消費がアクチンに強く結合するミオシンヘッドの数に依存することから、マバカムテンの作用機序により病因性変異の種類にかかわらず HCM 病態での異常なクロスブリッジ動態が改善すると考えられた。実際に、異なる HCM 病因性変異を有する複数の動物モデルにおいてマバカムテン投与により拡張機能障害が改善し、in vivo でも異常なクロスブリッジ動態が改善して ATP 加水分解サイクルに移行しない状態のミオシンヘッドの数が回復することが示唆された。

以上より、マバカムテンが心筋ミオシンに選択的かつ可逆的に作用し、ATP 加水分解サイクルをアロステリックに阻害することが示され、ミオシンヘッドの ATP 加水分解サイクルの進行及び本サイクルへの移行を阻害する 2 つの作用機序が示された。また、従来の陰性変力作用を有する薬剤とは異なり、サルコメアレベルで直接的に収縮機能及び拡張期張力を抑制して弛緩を亢進し、エネルギー消費を抑制するマバカムテンの新規の薬理作用及び作用機序が示された。

副次的薬理試験：

In vitro で受容体を含む標的外のタンパク質に対する結合及び細胞傷害性に及ぼす作用を評価し、顕著な標的外の作用及び直接的な細胞傷害作用は認められなかった。また、in vitro 及び正常イヌを用いた in vivo 試験において血管収縮に対する直接的な作用は示されなかった。以上より、マバカムテンの心筋ミオシン選択性が示された。In vivo でマウス及びラットを用いて骨格筋機能に対する影響を評価し、薬力学的作用（20%超の心機能抑制）がみられる曝露量でのマバカムテン投与が骨格筋機能に影響しないことが示された。

安全性薬理試験：

医薬品規制調和国際会議（ICH）M3(R2)、S7A 及び S7B ガイドラインに従い、ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（hERG）イオンチャネル電流に対する影響、心血管系及び呼吸系への影響（テレメトリー機器及び呼吸記録用バンドを装着したイヌ）、中枢神経系への影響（ラット）を医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に適合した試験により評価した。健康

被験者を対象とした臨床試験【モジュール 2.7.6、1.3.2.12.4 項】並びにイヌ 3 ヵ月間［試験番号 NC-19-0051（モジュール 4.2.3.2-8）］及び 39 週間［試験番号 NC-16-0048（モジュール 4.2.3.2-9）、【モジュール 2.6.6、3.9 項】］反復経口投与毒性試験において心拍数（HR）で補正された QT（QTc）間隔の軽度の延長がみられたことから、複数の独立した in vitro、in silico 及び in vivo 安全性薬理試験を実施し、in vivo での効力を裏付ける試験で得られた心電図の解析を含めて詳細な電気生理学的な評価を実施した。

In vitro の評価において、マバカムテンは hERG イオンチャネルとの顕著な相互作用を示さなかった。In vitro 及び in silico の電気生理学的解析において、マバカムテンによるリエントリー性不整脈及び Torsade de pointes（TdP）の傾向はみられなかった。In vivo での正常動物を用いた試験では、7 日間以上の長期投与により顕著に心機能が低下する条件で、主に J 波及び T 波のピーク間（JTp）間隔の延長による QTc 間隔の軽度かつ可逆的な延長が認められ、健康被験者を対象とした臨床試験の結果（モジュール 2.7.6、1.3.2.12.4 項）と一致した。イヌ反復経口投与毒性試験における QTc 間隔の変化は、持続的な左室機能抑制に伴ってみられ、休薬期に回復した。さらに、ラットでの 7 日間反復経口投与試験により、このような QTc 間隔延長は主に一過性外向きカリウムチャネル電流（I_{to}）[22]及び ATP 依存性カリウム電流（I_{KATP}）[23]による早期再分極電流の抑制を介していることが示された。HCM 病態では、I_{to} 及び I_{KATP} が消失又は減弱していることが報告されている。したがって、このような QTc 間隔延長は正常な心臓において心筋ミオシンの持続的阻害により誘導される機械的変化に対する適応反応（電気生理学的リモデリング）であると考えられ、一方で HCM 病態を呈する心臓ではこのような作用機序により正常心臓においてマバカムテンの持続的曝露で認められる QTc 間隔延長を生じる可能性が低いことが示唆された。さらに、マバカムテンは HCM 病態を有する心臓では心機能を改善するため、正常な心臓においてマバカムテン投与による心機能の抑制を介して誘発される電気生理学的リモデリングは HCM 病態では生じないと考えられた。実際に、HCM 患者を対象とした臨床試験【モジュール 2.7.4、2.1.6.3.2.4 項】においてマバカムテンの投与により QTc 間隔が延長する傾向は認められなかった。イヌにおける心血管系及び呼吸系での有害な影響（最高用量 10 mg/kg）及びラットにおける中枢神経系への影響（最高用量 10 mg/kg）は認められなかった。

以上の非臨床薬理試験により、心筋ミオシン重鎖に選択的に作用してクロスブリッジの過剰形成を抑制するマバカムテンの新規の薬理学的プロファイルが示された。マバカムテンは心筋ミオシンでの ATP 加水分解サイクルを阻害する新規の作用機序を有する。このような作用により、HCM の病態において左室での過剰な収縮性、拡張障害、過剰なエネルギー消費、心筋ストレス、拡張期充満の異常及び動的 LVOT 閉塞を抑制又は改善し、HCM 患者の症状及び身体活動能力を改善する。マバカムテンは心筋の収縮機能に加え、拡張機能及び心筋ストレスも改善することから、oHCM 患者に対する治療効果を示すことが期待される。

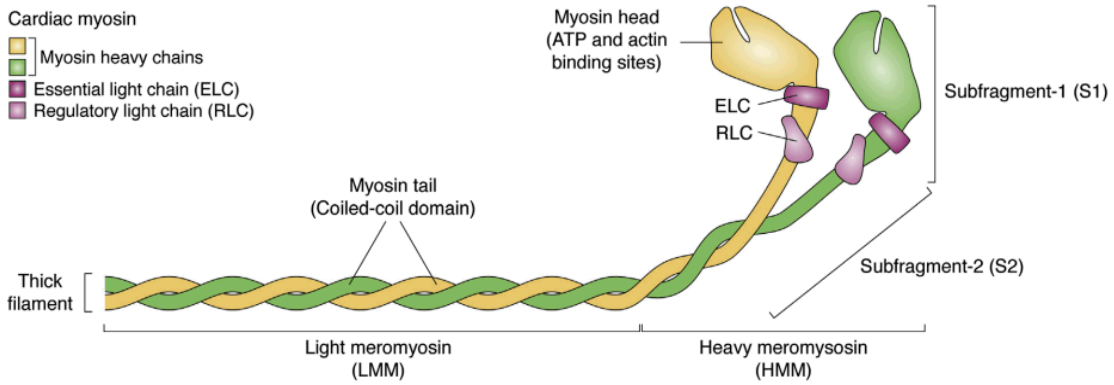
2 ミオシン複合体の構造、機能及び性質並びにマバカムテンの作用

2.1 ミオシン複合体の構造

心筋の収縮及び弛緩の単位であるサルコメアは、心筋の収縮を引き起こす分子モーターとして知られるミオシン複合体を含む太いフィラメントとアクチン、トロポミオシン及び Tn 複合体を含む細いフィラメントから構成される [15]。

心筋ミオシン複合体は 2 本のミオシン重鎖、必須軽鎖（ELC）及び調節軽鎖（RLC）からなる 6 量体である（Figure 2.1-1）。心筋ミオシン複合体は、重メロミオシン（HMM）と軽メロミオシン（LMM）の 2 つの領域に分類される。HMM はサブフラグメント（S）1 領域及び S2 領域からなる。S1 領域はミオシンヘッドとも呼ばれ、アクチン結合部位及び ATP を加水分解する酵素活性を有する。ミオシン複合体はミオシンヘッドを含むミオシン重鎖を 2 本有するため 2 頭構造である。ミオシン複合体の尾部である LMM はコイル状であり、集合して太いフィラメントを構成する [15,20]。

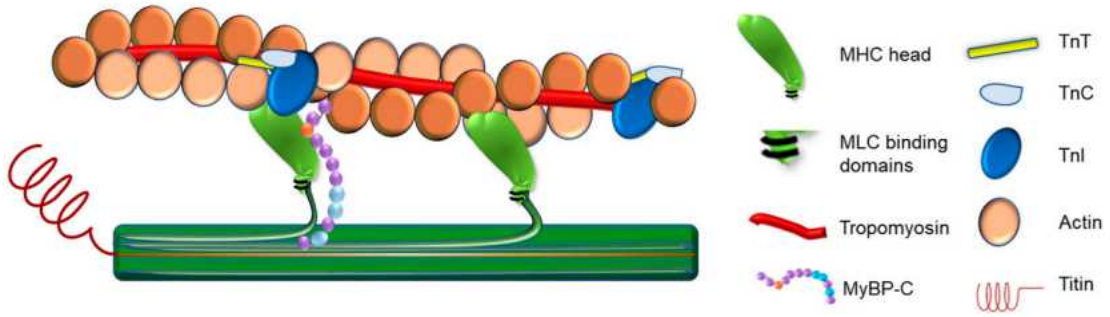
Figure 2.1-1: ミオシン複合体の構造



Source: Barrick et al.[15] [Figure (https://www.jbc.org/article/S0021-9258(21)01103-0/fulltext)/CCBY]

心筋の細いフィラメントでは、α アクチンが主要成分であり、調節因子であるトロポミオシン及び Tn 複合体がアクチンに結合する。Tn 複合体は、TnC、TnI 及び TnT の 3 つのタンパク質からなる（Figure 2.1-2）。トロポミオシンは、細いフィラメントを安定化し、ミオシンヘッドの結合を抑制して心筋収縮を制御する。TnI は、Tn 複合体の阻害サブユニットとして心筋収縮を抑制し、TnC 及び TnT は、それぞれ Ca^{2+}依存的な心筋収縮の制御及びサルコメアの協調的な活性化に関与する[24]。また、ミオシン及びアクチンに結合する MYBPC は、アクチンとミオシンヘッドのクロスブリッジ形成を抑制することが知られている [18,24]。

Figure 2.1-2: **太いフィラメント及び細いフィラメントの構造**



MHC, myosin heavy chain; MLC, myosin light chain.
Source: Martin et al.[24] [Figure (https://www.mdpi.com/1422-0067/23/24/16223)/CCBY]

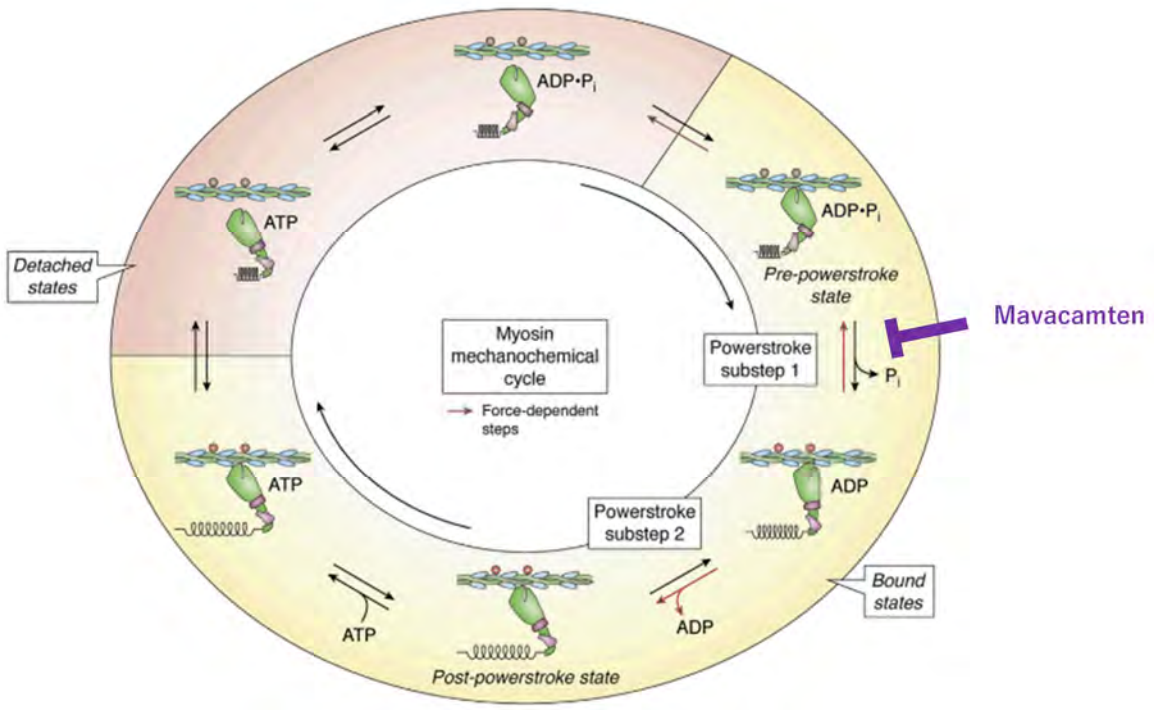
2.2 ミオシン複合体とアクチンによる ATP 加水分解サイクル

心筋では、心筋細胞における脱分極及び Ca^{2+}流入によってサルコメアが活性化し、化学エネルギーを機械的な力に変換する過程が開始される。ミオシン重鎖はミオシンヘッドに ATP を加水分解する酵素活性を有し、ATP のエネルギーを使用して力を発生することで、アクチンフィラメント上を運動する。

ATP 加水分解サイクルでは、ATP がミオシンヘッドに結合するとアデノシン二リン酸（ADP）と Pi に加水分解される。Pi が放出されるとミオシンヘッドがアクチンに強く結合してアクチンフィラメントを牽引するパワーストロークが生じて力を発生し、その後に ADP が放出され、ミオシンヘッドはアクチンから解離する（Figure 2.2-1）[15]。Pi 及び ADP 放出はそれぞれ心筋の収縮及び拡張の重要な決定因子である。

ミオシンヘッドがアクチンに強く結合し、クロスブリッジを形成してパワーストロークが起こる前段階として、ATP が ADP と Pi に加水分解され（Figure 2.2-1、左上）、ミオシンヘッドに ADP と Pi が結合した状態となる（Figure 2.2-1、中央上及び右上）。これらの段階からミオシンヘッドがアクチンと強く結合してクロスブリッジを形成し、パワーストローク（Figure 2.2-1、右下）へ進行するにはミオシンヘッドからの Pi の放出が律速段階となる（Figure 2.2-1、右中央）。マバカムテンはこの律速段階を阻害することでミオシンヘッドによるパワーストロークへの進行を阻害し、ATP 加水分解サイクルの進行を阻害する。パワーストローク後に次の ATP 加水分解サイクルに進行するにはミオシンヘッドに結合した ADP が放出され、新たに ATP が結合してミオシンヘッドがアクチンから解離する必要があるが（Figure 2.2-1、中央下）、これらの段階にマバカムテンは作用しない。このように、マバカムテンはクロスブリッジの動態に直接的に作用し、心臓の収縮期及び拡張期の機能を直接的に調節する。

Figure 2.2-1: **ATP 加水分解サイクルにおけるマバカムテンの作用**



Source: modified from Barrick et al.[15] [Figure (https://www.jbc.org/article/S0021-9258(21)01103-0/fulltext)/CCBY] based on Reports NC-14-0005 and NC-20-0050

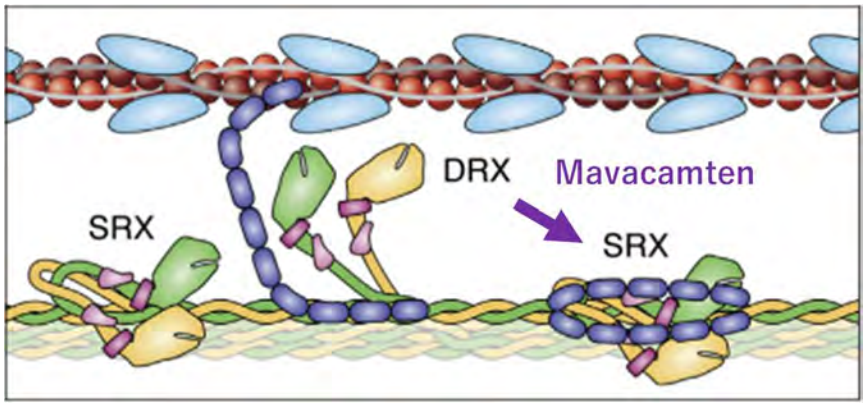
2.3 ミオシンヘッドにおける状態変化

ATP 加水分解サイクルにおいてミオシンヘッドに ADP 及び Pi が結合した状態（Figure 2.2-1、中央上）は、ATP 加水分解サイクルの進行が速く、パワーストロークの段階へと容易に進行できる状態であり、disordered relaxed（DRX）状態と呼ばれる [15]。DRX 状態の一部は構造の変化を伴って、ATP 加水分解サイクルの進行が遅く、パワーストロークへと容易に進行できない super relaxed（SRX）状態に移行することが知られている [15]。これら 2 種の状態は、ATP 加水分解サイクルの進行速度の違いからエネルギー消費速度が異なり、DRX 状態では速く、SRX 状態では遅いと考えられる。正常な心臓では心周期中にアクチンと強く結合しているミオシンヘッドは全体のごく一部であり、残りは DRX 状態又は心筋予備能として SRX 状態で存在している。

また、正常な心筋では DRX 及び SRX 状態にあるミオシンヘッドの割合が制御されているが、HCM 病態では、心筋ミオシン重鎖を含むサルコメアタンパク質における病因性変異により SRX 状態が減少し、ATP 加水分解サイクルに移行するミオシンヘッドの数が増加することが示されている [18,20,21,25,26,27,28]。これらの変異及び HCM で特徴的な心筋ストレスにより、DRX 状態へ移行してアクチンと強く結合するミオシンヘッドの数が増加し、クロスブリッジ形成が過剰に生じ、拡張期の張力及びエネルギー消費が増加すると考えられる。

マバカムテンは心筋のミオシンヘッドに結合して SRX 状態を安定化させることで、SRX 状態のミオシンヘッドを増加させることが示されており、この作用により ATP 加水分解サイクルに移行するミオシンヘッド数を抑制してミオシンヘッドがアクチンと強く結合したクロスブリッジの数を抑制し、心筋の拡張期張力を低下させ、ATP 消費（エネルギー消費）を抑制する。

Figure 2.3-1: ミオシンヘッドにおける DRX 及び SRX 状態並びにマバカムテンの作用



Source: modified from Barrick et al.[15] [Figure (https://www.jbc.org/article/S0021-9258(21)01103-0/fulltext)/CCBY] based on Report NC-20-0046

以上で示したように、マバカムテンは Pi 放出の抑制を介した ATP 加水分解サイクルの進行の阻害及び DRX 状態の抑制を介した ATP 加水分解サイクルに移行するミオシンヘッドの数の抑制の 2 種類の作用を有する。これらの作用により、マバカムテンはミオシンヘッドがアクチンと強く結合したクロスブリッジの数を抑制し、力の発生状態のミオシンヘッド数を減少させて、心筋収縮を抑制する。

3 効力を裏付ける試験

3.1 In vitro 及び ex vivo での作用機序の解析

マバカムテンの作用機序について、種々の生化学的手法（試験番号 NC-14-0005、NC-20-0050、NC-20-0046 及び NC-20-0064）、生物物理学的手法（試験番号 NC-20-0045）及び生体力学的手法（試験番号 NC-20-0048、NC-20-0064、NC-14-0006、NC-20-0052、NC-20-0049 及び NC-20-0063）により、in vitro 及び ex vivo での広範な解析を実施した。

3.1.1 定常状態での生化学的解析

［試験番号 NC-14-0005（モジュール 4.2.1.1-1）］

定常状態におけるミオシンヘッドでの ATP 加水分解サイクルに対するマバカムテンの作用を評価した。ADP 依存的な酵素を使用して、ADP の生成から ATP 加水分解サイクルの進行速度を測定し、ミカエリス・メンテン速度論的解析を実施した。

ウシ心筋、ヒト心筋、ウサギ腰筋及びニワトリ平滑筋由来の精製又は遺伝子組換え（ヒトのみ）ミオシン S1 単独の系、アクトミオシン系（精製又は遺伝子組換えミオシン S1 及びアクチン）、アクトミオシン及び制御因子からなる系（精製又は遺伝子組換えミオシン S1、アクチン、Tn 及びトロポミオシン）並びに除膜した筋原線維系を用いて、定常状態における ATP 加水分解サイクルに対するマバカムテンの作用を評価した（$n \geq 3$）。

マバカムテンはウシ及びヒト心筋ミオシン S1 単独の系における ATP 加水分解サイクルの進行速度を同程度の 50%阻害濃度（IC50）で阻害し（Table 3.1.1-1）、ミオシン S1 がマバカムテンにより阻害されるサルコメアの最小機能単位であることが示された。ウシ及びヒトのアクトミオシン系でもミオシン S1 単独の系と同程度の阻害活性が認められ、この作用は HMM でも報告されている [20,29]。なお、ウシのアクトミオシン系では、マバカムテン濃度の急速希釈により ATP 加水分解サイクルの進行速度が回復したという試験結果が得られており、マバカムテンによる阻害作用は可逆的であることが示されている。

同様の結果がウシ及びヒト心筋由来の 2 種類の Ca^{2+}依存性の試験系（アクトミオシン及び制御因子からなる系並びに除膜した心室筋原線維系）でも得られた。最大速度の半分の ATP 加水分解サイクルの進行速度が得られる Ca^{2+}濃度（pCa50）において、マバカムテンはいずれの系でも同程度に ATP 加水分解サイクルを阻害した。

Table 3.1.1-1: **ミオシンにおける ATP 加水分解サイクルの進行速度に対するマバカムテンの阻害作用**

		Ca^{2+} independent system IC50 (µM)		Ca^{2+} dependent system IC50 (µM) at pCa50	
Test system	**Species**	**Myosin S1 alone**	**Actomyosin (myosin S1 + actin)**	**Actomyosin + regulatory proteins**	**Skinned myofibril**
Cardiac	Bovine	0.27 ± 0.02	0.47 ± 0.01	0.53 ± 0.02	0.49 ± 0.03
	Human	0.52 ± 0.09	0.73 ± 0.05	0.53 ± 0.08	0.71 ± 0.06
Masseter (slow skeletal)	Bovine	ND	ND	ND	0.43 ± 0.04
Psoas (fast skeletal)	Rabbit	4.71 ± 0.20	5.85 ± 0.15	5.09 ± 1.22	2.14 ± 0.31
Gizzard (smooth)	Chicken	> 50	> 50	ND	ND

Data are mean ± standard deviation.
Ca^{2+}, calcium ion; ND, not determined.
Source: Report NC-14-0005

マバカムテンの心筋選択性を平滑筋（ニワトリ砂嚢）、速筋（ウサギ腰筋）及び遅筋（ウシ咬筋）と比較して評価した。

マバカムテンはミオシン S1 単独の系及びアクトミオシン系のいずれにおいても平滑筋ミオシンに対して活性を示さず（Table 3.1.1-1）、血管平滑筋の収縮性に作用しないことが示唆された。ミオシンの速筋アイソフォームに対するマバカムテンの活性は、ミオシン S1 単独の系から除膜した筋原線維系の全てで心筋アイソフォームと比較して著しく低く、3 分の 1 未満であった（Table 3.1.1-1）。一方、遅筋（ウシ咬筋）の筋原線維系では、心筋と同じミオシンアイソフォームを共有することから予想されるように、心筋と同程度に ATP 加水分解サイクルが阻害された。

種々の HCM 病因性変異を有する遺伝子組換えヒトミオシン重鎖 MYH7 を含むアクトミオシン系に対するマバカムテンの作用を評価した。

R403Q を含む変異型ミオシン S1 は野生型と同程度に阻害され IC50 は 0.65～1.31 μM の範囲であった（Table 3.1.1-2）。なお、MYK-461-005（EXPLORER-HCM）試験では血漿トラフ濃度が 700 ng/mL 未満を目標としてデザインされている【モジュール 2.7.3、1.1.1 項】。この範囲の上限値である 700 ng/mL をヒトでの 1 日最大濃度とすると、当該濃度における遊離型推定濃度は非結合型分率の約 0.07【モジュール 2.6.4、4.3 項】から約 0.179 μM と算出された（ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度）。

Table 3.1.1-2: 野生型及び HCM 病因性変異型のヒト心筋ミオシンでの ATP 加水分解サイクルに対するマバカムテンの阻害活性

Wild type or mutants human myosin（MYH7）	IC50 (μM)
Wild type	0.91 ± 0.05
R403Q	0.71 ± 0.01
R453C	1.02 ± 0.02
R719W	1.31 ± 0.51
R723G	1.04 ± 0.06
G741R	0.65 ± 0.03

Data are mean ± standard deviation.
Source: Report NC-14-0005

ATP 加水分解サイクルに対するマバカムテンの阻害様式を検討するため、ウシ及びヒト心筋のアクトミオシン系において定常状態で基質濃度の影響を評価した。

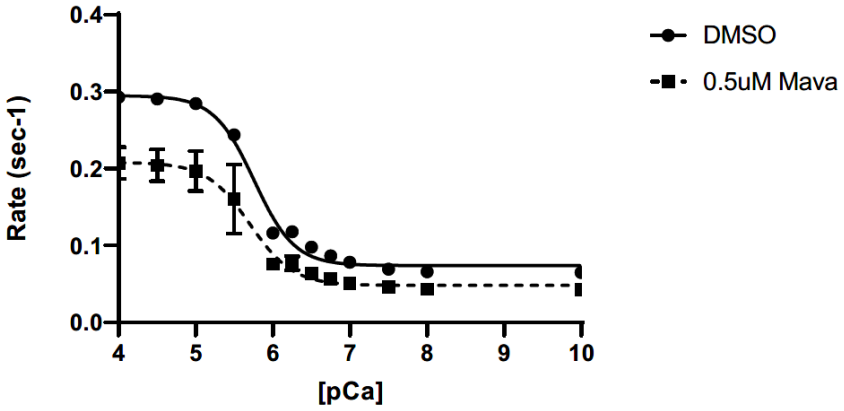
基質として ATP マグネシウム及びアクチンを使用したアクトミオシン系において、マバカムテンはアクチンのミオシンヘッドへの結合に依存せずにミオシンヘッドに結合し（データ示さず）、アクチンに関して非競合的であることが示された。一方で、マバカムテンのミオシンヘッドへの結合は

ATP のミオシンヘッドへの結合に依存し（データ示さず）、ATP とは不競合的であることが示された。

種々の Ca^{2+}濃度での ATP 加水分解サイクルの進行速度に及ぼすマバカムテンの作用を、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びブタの心筋原線維系において評価した。

マバカムテンはマウス、ラット、ウサギ、イヌ及びブタの心筋原線維の ATP 加水分解サイクルの進行速度をそれぞれの pCa50 において、それぞれ 0.29 ± 0.03、0.32 ± 0.02、0.76 ± 0.04、0.45 ± 0.07 及び 0.49 ± 0.05 μM の IC50［平均値 ± 標準偏差（SD）］で阻害した。報告された低 Ca^{2+}濃度での作用 [17] と同様に、前活性化（拡張期）Ca^{2+}濃度である pCa 7.5 でもマバカムテンは 0.5 μM でブタの心筋原線維の ATP 加水分解サイクルの進行速度を阻害した。収縮期及び拡張期の Ca^{2+}濃度（ぞれぞれ pCa 6.0 及び pCa 7.5）のいずれでも、ATP 加水分解サイクルの進行速度が阻害される一方で、Ca^{2+}に対する反応性は維持された（Figure 3.1.1-1）。心筋ミオシン重鎖 MYH7 において病因性変異 R403Q を有するブタの心筋原線維でも Ca^{2+}反応性における同様の結果が得られている [20]。このような Ca^{2+}反応性が維持される結果から、マバカムテン投与条件でも心予備能の動員が可能であることが示唆された。

Figure 3.1.1-1: ブタ心筋原線維系での様々な Ca^{2+}濃度における ATP 加水分解サイクルの進行速度に及ぼす作用



Data, collected in porcine cardiac (left ventricular) myofibrils (1 mg/mL) from healthy (wild type) animals, are expressed as mean ± SD.
DMSO, dimethyl sulfoxide; Mava, mavacamten; sec, second.
Source: Report NC-14-0005

以上の試験において、マバカムテンはミオシン S1 の ATP 加水分解サイクルを阻害した。また、基質濃度の影響を評価した試験では、基質であるアクチン及び ATP に関してそれぞれ非競合的及び不競合的であった。これらの結果から、マバカムテンが基質競合型阻害剤ではなく、ミオシンヘッドの ATP 加水分解サイクルに対するアロステリック阻害剤であり、ATP が結合したミオシンヘッド（Figure 2.2-1）に選択的にマバカムテンが結合することが示された。

3.1.2 遷移相の速度論的解析

［試験番号 NC-14-0005（モジュール 4.2.1.1-1）及び NC-20-0050（モジュール 4.2.1.1-2）］

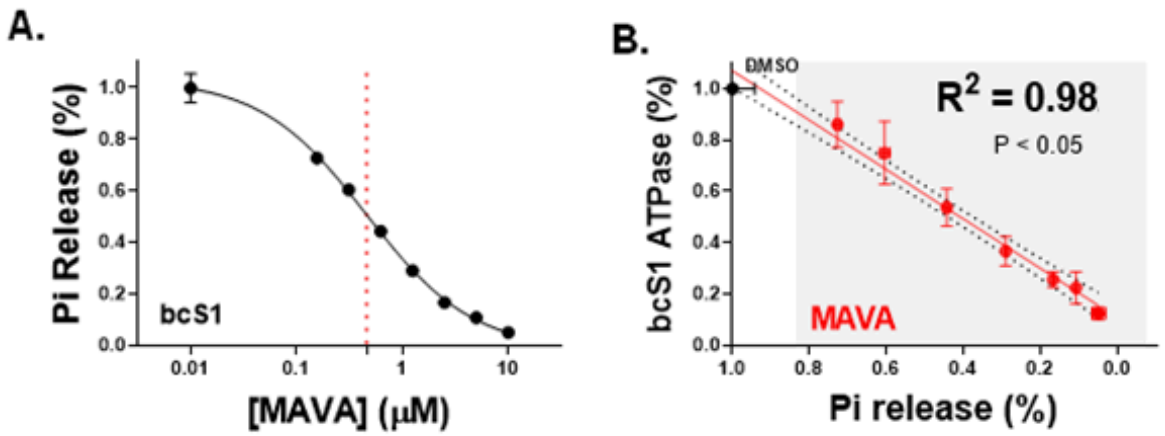
遷移相の速度論的解析[30]により、マバカムテンがミオシンでの ATP 加水分解サイクルのどの段階に作用するかを評価した。

精製ウシ心筋ミオシン S1 単独の系において、ミオシン S1 に対する ATP 結合に及ぼすマバカムテンの作用を内在性のトリプトファン蛍光の変化により測定した（試験番号 NC-14-0005）。

ATP 結合の速度は、媒体及び 40 μM のマバカムテン処理（$n \geq 3$）でそれぞれ 2.9 ± 0.3 及び 2.5 ± 0.4 μM^{-1} s^{-1}（平均値 ± SD）であり、マバカムテン処理の影響を受けなかった。アクトミオシン系においても同様の結果となった。同試験において高濃度の ATP により飽和した ATP 結合速度（ATP 結合の最大速度）は、ATP 加水分解反応とその逆反応の速度の総計としての ATP 加水分解の速度を反映するため、次に ATP 結合の最大速度についても評価した。マバカムテン処理により ATP 結合の最大速度がほとんど変化せず、マバカムテンは ATP 加水分解の段階に影響しないことが示された。以上より、マバカムテンは ATP 加水分解サイクルにおいてミオシンヘッドに対する ATP の結合及び ATP 加水分解の段階にほとんど影響しないことが示された。

次に、精製ウシ心筋ミオシン S1 において、ATP 加水分解サイクルの律速段階[31,32,33]の一つである Pi 放出（Figure 2.2-1、右中央）に対するマバカムテンの作用を、蛍光標識 Pi 結合タンパク質を用いて評価した（試験番号 NC-20-0050）。マバカムテンは、Pi 放出速度を 0.46 ± 0.15 μM の IC50［平均値 ± 標準誤差（SEM）］で阻害し（Figure 3.1.2-1 A）、Pi 放出の段階を阻害することが示された。また、Pi 放出及び ATP 加水分解サイクルの進行速度の阻害率の間で相関（$R^2 = 0.98$、$P < 0.05$、Pearson 解析）が認められた（Figure 3.1.2-1 B）。マバカムテンはヒト及びウシのアクトミオシン系において、Pi 放出速度をそれぞれ 1.78 ± 0.07 及び 1.85 ± 0.14 μM の IC50（平均値 ± SD）で濃度依存的に抑制することが報告されている[34]。

Figure 3.1.2-1: ウシ心筋アクトミオシン系における Pi 放出に及ぼす作用



A: Dose dependent inhibition of Pi release in actomyosin by MAVA (n = 3).
B: Linear relationship between the MAVA induced inhibition of actin activated Pi release and the overall ATP turnover rate (n = 2).
Data are mean ± SEM.
ATPase, adenosine triphosphate hydrolase; bc, bovine cardiac; DMSO, dimethyl sulfoxide; MAVA, mavacamten; [MAVA], mavacamten concentration.
Source: Report NC-20-0050

ATP 加水分解サイクルでのパワーストロークにはミオシンヘッドがアクチンに強く結合することが必要である（2.2 項）ことから、蛍光色素ピレン標識アクチンを用いて、ミオシンヘッドとアクチンの結合の強さによる蛍光の変化を指標にミオシンヘッドのアクチンへの強い結合への移行に及ぼす影響を評価した（試験番号 NC-14-0005）[34]。マバカムテンは強い結合への移行速度に影響せず、強い結合への移行の段階に作用しないことが示された（データ示さず）。

パワーストローク後にアクチン結合状態にある心筋ミオシンヘッドからの ADP 放出（Figure 2.2-1、右下）は、心筋での ATP 加水分解サイクルにおけるミオシンヘッドのアクチンからの解離に必要であり[35]、拡張期での心筋弛緩の重要な決定因子である[36]。この ADP 放出速度に対するマバカムテンの影響を、精製ウシミオシン S1 単独の系又はアクトミオシン系で蛍光標識 ADP を用いて評価した（試験番号 NC-14-0005）。マバカムテンはミオシン S1 単独の系で ADP 放出速度（平均値 ± SD）を低下させたものの（0.14 ± 0.001 s^{-1} vs 媒体対照 0.26 ± 0.001 s^{-1}）、実際の心筋での機能により関連性が高いと考えられるアクトミオシン系では影響しなかった（132 ± 3 s^{-1} vs 媒体対照 129 ± 3 s^{-1}）。

要約すると、心筋ミオシンにおける ATP 加水分解サイクルのマバカムテンによるアロステリックな阻害作用は、心筋ミオシンヘッドからの Pi 放出の段階での阻害によることが示された。マバカムテンはミオシンヘッドに対する ATP の結合、ATP 加水分解、ミオシンヘッドのアクチンへの強い結合への移行及びミオシンヘッドからの ADP 放出の各段階に影響しなかった。以上より、マバカムテンが、力の発生に必要なアクチンと強く結合したクロスブリッジに移行するミオシンヘッド（Figure

2.2-1、右）の数を減少させて、定常状態のサルコメアでの ATP 加水分解サイクルの進行を阻害することが示唆された。

3.1.3 太いフィラメントの再構成系での解析

［試験番号 NC-20-0046（モジュール 4.2.1.1-3）及び NC-20-0064（モジュール 4.2.1.1-4）］

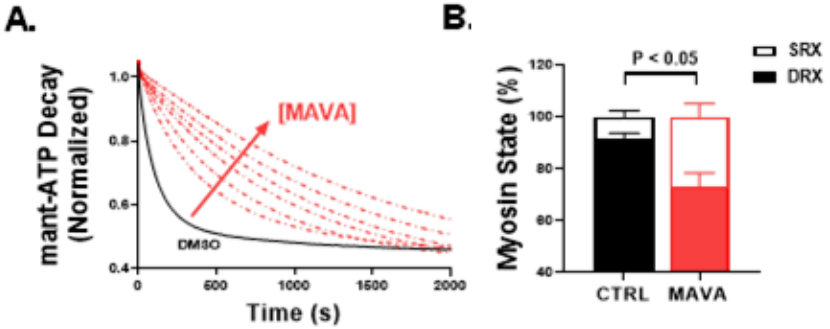
ウシ全長心筋ミオシンを用いた太いミオシンフィラメントの再構成系において、蛍光色素 2' (or 3')-O-(N-methylanthraniloyl)（mant）標識 ATP を用いて、マバカムテンの作用機序解析を実施した（試験番号 NC-20-0046）。mant 標識 ATP がタンパク質に結合すると蛍光強度が亢進することを利用して、過剰量の非標識 ATP 添加後の mant 標識 ATP 及びその加水分解物のミオシンからの解離速度を測定した。

マバカムテン非処理条件での mant 標識 ATP の解離速度曲線（Figure 3.1.3-1 A）において、標識 ATP 及びその加水分解物の解離速度が速い初期相（パワーストロークに進行できる DRX 状態）及び標識 ATP 及びその加水分解物の解離速度が遅い後期相（パワーストロークに容易に進行できない SRX 状態）の 2 つの相がみられ、論文報告 [20,37,38] と一致した。

マバカムテン処理により、濃度依存的に mant 標識 ATP 及びその加水分解物の解離速度が低下し（Figure 3.1.3-1 A）、DRX 状態が減少して SRX 状態が増加した（Figure 3.1.3-1 B）。

また、mant 標識 ATP 解離曲線（Figure 3.1.3-1 A）を双指数関数によりフィッティングして DRX 状態での ATP 加水分解サイクル速度を算出した。マバカムテンは DRX 状態のミオシンでの ATP 加水分解サイクル速度を濃度依存的に阻害し、IC50（平均値 ± SD）は 0.4 ± 0.1 µM であった。

Figure 3.1.3-1: 太いフィラメントの再構成系における作用



A: Representative fluorescence decay of mant-ATP following a nonfluorescent ATP chase in the absence (black) or presence of MAVA (red, at increasing concentrations from 0 to 50 µM shown by the red arrow).
B: Changes in myosin population in the DRX and SRX states following treatment with 0.78 µM MAVA concentration. Data, collected using reconstituted bovine myosin thick filaments (full length myosin), are expressed as mean ± SEM (n = 8).
CTRL, control; DMSO, dimethyl sulfoxide; MAVA, mavacamten; [MAVA], mavacamten concentration; s, second.
Source: Report NC-20-0046

ミオシン重鎖 MYH7 に HCM 病因性変異 R403Q を有する除膜したブタ心室筋線維を用いた試験においても、論文報告 [20] と同様に、マバカムテン処理により、HCM において低下した SRX 状態にあるミオシンヘッド数が回復した（データ示さず）（試験番号 NC-20-0064）。また、マバカムテンにより SRX 状態に安定化されたミオシンヘッドは、ADP と Ca^{2+}のいずれによっても DRX 状態に移行したこと（データ示さず）（試験番号 NC-20-0046）から、マバカムテンによる機能的阻害条件でも心予備能を動員できることが示唆された。心筋ミオシン重鎖（マウスでは MYH6、ヒト及びブタでは MYH7）及び MYBPC3 をコードする遺伝子の HCM 病因性変異は、SRX 状態の調節異常を介してクロスブリッジの動態異常に関与し、ATP 加水分解サイクルに移行するミオシンヘッドの数を増加させることが示されている [18,20,21,25,26,27,28]。これらの変異により、DRX 状態へ移行し、アクチン分子と強く結合してクロスブリッジを形成するミオシンヘッドの数が過剰に増加し、拡張期の機能障害及び ATP 加水分解サイクルの亢進が生じると考えられる。

以上より、マバカムテンがミオシンヘッドの DRX 状態から SRX 状態への移行を促進することで、DRX 状態にあるミオシンヘッドの数を抑制することが示され、結果としてアクチンとミオシンヘッドが強く結合したクロスブリッジの数が抑制されることが示唆された。

3.1.4 アクチンフィラメントの滑り運動試験

［試験番号 NC-20-0045（モジュール 4.2.1.1-5）］

マバカムテンがアクチンフィラメントの滑り速度に及ぼす影響を評価するために、ガラス表面に結合させた全長ミオシン上において蛍光標識したアクチンフィラメントの ATP 存在下で誘導される運動を蛍光顕微鏡システムにより記録し、画像解析を実施した。

マバカムテン処理（最高濃度 40 μM、n = 3）により、アクチンフィラメントの滑り速度における抑制がみられた。HMM を用いた同様の試験においても、マバカムテン処理により、HMM によるアクチンフィラメントの滑り速度が低下することが報告されている［IC50（平均値 ± SD）：0.59 ± 0.15 μM］[34]。

また、アクチンへの抵抗負荷として働くように、強力なアクチン結合タンパク質であるユトロフィンを 0～0.4 μM の濃度でウシ心筋ミオシンに結合させて上記と同様の試験を実施し、発生する力をユトロフィン濃度×運動速度として算出した。

抵抗負荷を与えた条件で測定した発生する力の総計は、マバカムテンにより低下した（データ示さず）。

以上より、マバカムテン処理でミオシンによるアクチンフィラメントの滑り速度が低下することが示され、in vivo では、マバカムテンがミオシンヘッドでの ATP 加水分解サイクルのアロステリックな阻害を介して直接的な陰性変力作用を有する可能性が示唆された。

3.1.5 除膜した心筋線維での生体力学的解析

［試験番号 NC-20-0048（モジュール 4.2.1.1-6）及び NC-20-0064（モジュール 4.2.1.1-4）］

ラット及びブタ由来の除膜した左室心筋線維を用いて、異なる Ca^{2+}濃度でのマバカムテンの作用を評価した。また、局所サルコメアの機械的ストレスが心筋細胞間での収縮の不均衡を生じ、HCM 病態で心筋細胞の錯綜配列及び線維化の原因となる可能性が報告されていることから[39]、伸張ストレスを与えた条件でのマバカムテンの作用も評価した。

正常なラット及びブタ由来の除膜した左室心筋線維を用いて、pCa 8～pCa 4.5 での等尺性張力を測定した（試験番号 NC-20-0048）。マバカムテンは Ca^{2+}感受性の指標となる pCa50 及び協調性の指標となる pCa 反応曲線のヒル勾配に影響しなかった。一方で、収縮期と拡張期のいずれの pCa においても発生する張力を濃度依存的に減弱させ、最大張力（Tmax）も減弱させた（Table 3.1.5-1 及び Figure 3.1.5-1 A）（試験番号 NC-20-0048）。HCM 病因性変異を有するブタの筋線維においても、正常動物由来の心筋線維と同様に Tmax が減弱したのに加えて、さらに Ca^{2+}感受性の抑制もみられた（データ示さず）（試験番号 NC-20-0064）。

ブタ除膜心筋線維において、サルコメア長（SL）を 0.3 µm 伸張させることで機械的伸張ストレスを与えた条件で同様の評価を実施した。

マバカムテン非処理で、Tmax、pCa50 及びヒル勾配が統計学的有意に上昇し、伸張により張力 pCa 関係が左上方に移行した（Figure 3.1.5-1 B 左図）。また、収縮期及び拡張期の Ca^{2+}濃度（それぞれ pCa 5.8 及び 6.4）のいずれでも力を発生するクロスブリッジ数を反映する心筋線維の硬度が増加し、拡張期 Ca^{2+}濃度（pCa 8.0）で mant 標識 ATP 及びその加水分解物の解離速度が亢進した（データ示さず）。これらの結果から、伸張を介した機械的ストレスによりクロスブリッジを形成できるミオシンヘッドの割合が増加し、in vivo での拡張末期張力を反映すると考えられる拡張期 Ca^{2+}濃度（pCa 6.4）での張力が増加することが示唆された。

このような条件において 1 µM のマバカムテン処理により、pCa50、拡張期 Ca^{2+}濃度（pCa 6.4）での張力及び硬度における機械的ストレスによる変化の抑制又は抑制傾向がみられ（Figure 3.1.5-1 B）、拡張期の ATP 消費量を反映する mant 標識 ATP 及びその加水分解物の解離速度が低下した（データ示さず）。

Table 3.1.5-1: 様々なカルシウム濃度でのラット及びブタ由来の心室筋線維における等尺性張力の発生に及ぼすマバカムテンの作用

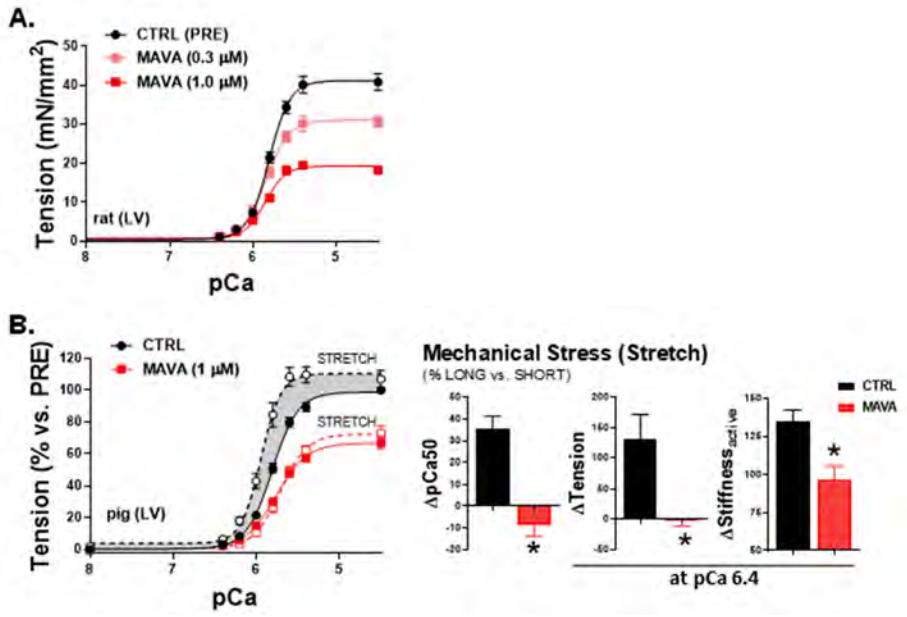
Species	Condition (at 2.0 µm SL)	Tmax		pCa50	Hill Slope
		mN/mm2	%	-	nH
Rat (n = 5 or 10)	PRE	41.2 ± 1.1	100.8 ± 1.4	5.81 ± 0.01	3.5 ± 0.2
	MAVA (0.3 µM)	31.1 ± 0.9*	80.0 ± 1.8*	5.84 ± 0.02	3.1 ± 0.3
	MAVA (1.0 µM)	19.4 ± 0.5*	46.6 ± 1.6*	5.85 ± 0.02	3.5 ± 0.6

Table 3.1.5-1: 様々なカルシウム濃度でのラット及びブタ由来の心室筋線維における等尺性張力の発生に及ぼすマバカムテンの作用

Species	Condition (at 2.0 µm SL)	Tmax		pCa50	Hill Slope
		mN/mm2	%	-	nH
Pig (n = 16)	PRE	24.7 ± 1.2	100.0 ± 4.5	5.82 ± 0.01	3.4 ± 0.3
	MAVA (1.0 µM)	17.9 ± 1.8*	72.3 ± 7.3*	5.79 ± 0.02	2.9 ± 0.2

*: P < 0.05 vs PRE by one way analysis of variance.
Data are mean ± SEM.
MAVA, mavacamten; nH, Hill coefficient; PRE, predose; Tmax, maximal isometric tension (may not necessarily occur at pCa 4.5, the highest tested).
Source: Report NC-20-0048

Figure 3.1.5-1: 除膜したラット心室筋線維におけるカルシウム反応性及び除膜したブタ心室筋線維における機械的伸張ストレス応答におけるマバカムテンの作用



*: P < 0.05 vs CTRL by unpaired t-tests.
A: Effects of MAVA (at 0.3 and 1 µM) on tension in skinned rat ventricular papillary muscle fibers (MAVA, n = 5; CTRL, n = 10).
B: Effects of MAVA (at 1 µM) under mechanical stress (stretch) in skinned pig ventricular papillary muscle fibers (n = 8). Mechanical stretch (shown as STRETCH or Stretch) was given by adjusting the SL from 2.0 µm (SHORT) to 2.3 µm (LONG).
Data are mean ± SEM.
CTRL, control; LV, left ventricular; MAVA, mavacamten; PRE, predose.
Source: Report NC-20-0048

以上より、マバカムテンが収縮期と拡張期のいずれの Ca^{2+}濃度でも筋線維の張力を抑制すること、また、伸張を介した機械的ストレスにより筋線維で亢進する拡張期の張力、Ca^{2+}感受性、硬度及び張力 pCa 関係の変化を抑制することが示された。

3.1.6 正常心筋細胞を用いた ex vivo での作用機序の解析

［試験番号 NC-14-0006（モジュール 4.2.1.1-7）、NC-20-0052（モジュール 4.2.1.1-8）及び NC-20-0049（モジュール 4.2.1.1-9）］

正常成体雄性ラット（Sprague Dawley）由来の初代培養摘出左室心筋細胞を用いて、無負荷の条件での心筋細胞の収縮及び弛緩、Ca^{2+}流入並びに β-アドレナリン受容体（AR）刺激反応性に及ぼす作用を評価した（試験番号 NC-14-0006）。

ラット左室心筋細胞に 0.03～1 μM の濃度でマバカムテンを処理し、化合物処理前後の収縮動態を記録して拡張期における心筋細胞の長さ、収縮速度、心筋細胞の短縮率（SF）及び 75%弛緩時間（RT75）を算出した。SF のマバカムテンによる濃度依存的な減少の報告[40]と同様に、0.3 及び 1 μM のマバカムテン処理により SF 及び収縮速度が減少し、弛緩時の細胞長が増加した（Table 3.1.6-1）。同様の結果は、ヒトの人工多能性幹細胞由来心筋細胞（iPSC-CM）を用いて様々な手法により実施した試験（試験番号 NC-20-0049）、安全性薬理試験（試験番号 NC-20-0038）及び論文報告[18,41]でもみられており、マバカムテン処理により心筋細胞の収縮が濃度依存的に阻害される一方で弛緩速度が亢進し、弛緩時のサルコメア及び細胞の長さが増加した。

Table 3.1.6-1: 正常ラット由来の初代培養左室心筋細胞における無負荷での収縮及び弛緩に及ぼすマバカムテンの作用

	% Change			
Concentration (n = 3-8 cells/each)	**Resting Length**	**Vshortening**	**SF**	**RT75**
0.3 μM	+0.6 ± 0.6↑	−55 ± 10	−57 ± 9↓	−6 ± 8
1.0 μM	+1.2 ± 0.4↑	−88 ± 7	−91 ± 7↓	−10 ± 12

↑, ↓: P < 0.05 vs predose by Student's t-tests.
Data are mean ± SD, showing changes from pre exposure/baseline.
Vshortening, velocity of shortening.
Source: Report NC-14-0006

次に、細胞膜透過性の Ca^{2+}感受性蛍光色素 Fura-2 を用いて、ラット左室心筋細胞内 Ca^{2+}濃度のマバカムテン処理による変化を測定した（試験番号 NC-14-0006 及び NC-20-0052）。0.25 μM のマバカムテン処理により収縮期の細胞質 Ca^{2+}濃度が変化せず（Figure 3.1.6-1 B 右）、拡張期の細胞質 Ca^{2+}濃度にも影響しなかったことから（データ示さず）、従来の陰性変力作用を有する薬剤とは異なり、マバカムテンは Ca^{2+}流入に顕著な影響を及ぼさず、催不整脈リスクを増大させる可能性が低いこと

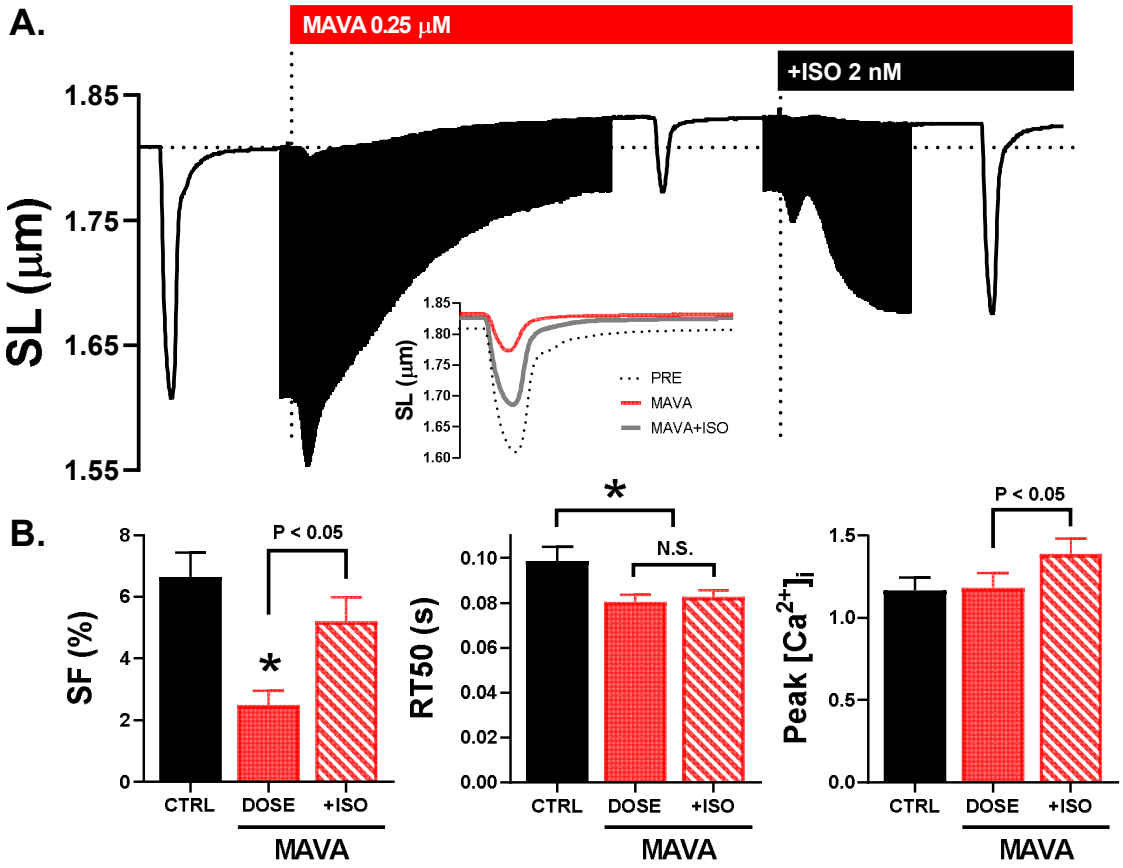
が示された。同様の結果が他にも報告されており [40,42]、HCM 病因性変異を有する細いフィラメントではマバカムテンにより異常な Ca^{2+}の流入が抑制されることも示されている [16]。

さらに、初代培養ラット左室心筋細胞を用いて、マバカムテンにより収縮機能を阻害した条件で β-AR 刺激反応性を評価した（試験番号 NC-20-0052）。

心筋細胞に 1 Hz の電気刺激を与えてペーシングし、0.25 μM のマバカムテンで 5 分間処理した後に、β-AR アゴニストであるイソプロテレノール（2 nM）で 3 分間処理し、SL 及び Fura-2 を用いた心筋細胞の Ca^{2+}濃度変化の測定を同時に実施した。心筋細胞の SF を SL における拡張期からの変化率より算出した。0.25 μM のマバカムテン処理で、収縮期の SL が延長し、SF が抑制されて収縮機能の低下が示された。また、RT50 が短縮して弛緩機能が向上した（Figure 3.1.6-1 A 及び B）。このような条件で、2 nM のイソプロテレノールにより、マバカムテンによる SF の抑制が低減し（Figure 3.1.6-1 B 左）、マバカムテン処理条件での β-AR 刺激反応性が示され、3.1.3 項でマバカムテンによる機能的阻害条件でも心予備能を動員できる可能性が示唆された結果が支持された。β-AR 刺激反応性が確認されたものの、RT50 は変化せず（Figure 3.1.6-1 B 左及び中央）、弛緩時（拡張期）における SL のイソプロテレノールによる短縮（平均値 ± SEM）も、マバカムテン前処理で抑制された（+2.6 ± 0.6%、1.88 ± 0.01 vs 媒体対照で 1.83 ± 0.01 μm、$P < 0.05$）。

以上より、正常成体雄性ラット由来の摘出左室心筋細胞において、マバカムテンが Ca^{2+}流入に影響せず、収縮を抑制し弛緩を亢進することが示された。また、マバカムテンにより収縮機能を阻害した条件で内因性の心臓調節機構が維持されていること及び β-AR 刺激により心臓予備能が動員されることも確認された。

Figure 3.1.6-1: ラット初代培養左室心筋細胞におけるマバカムテンを処理した条件での β-AR 刺激に対する反応性



*: P < 0.05 using unpaired t-tests.
A: Representative SL of an isolated rat left ventricular myocyte under MAVA exposure (5 min at 0.25 μM) as well as the functional rescue triggered by an overlapping isoproterenol challenge (+ISO, 3 min at 2 nM) (inset: representative twitches)
B: Effects of ISO under MAVA treatment compared with time matched controls (CTRL) or MAVA treatment only (DOSE) on SF, RT50, and peak [Ca^{2+}] (n ≥ 9 cells, ≥ 5 animals).
Experiments performed at 1Hz.
Data are mean ± SEM.
CTRL, control; ISO, isoproterenol; MAVA, mavacamten; N.S., not significant; PRE, predose; s, second.
Source: Report NC-20-0052

3.1.7 ランゲンドルフ摘出灌流ラット心臓での解析

［試験番号 NC-20-0063（モジュール 4.2.1.1-10）］

ランゲンドルフ摘出灌流ラット心臓を用いて、無処理及び β 遮断薬（メトプロロール 0.1 μM）処理条件での心機能に及ぼすマバカムテンの作用を ex vivo で評価した。無処理及び β 遮断薬処理条件を統合した解析並びに無処理及び β 遮断薬処理条件での比較を実施した。使用した摘出心臓では交感神経支配が欠如しているため、本試験ではメトプロロールに β-AR アゴニストのイソプロテレノール

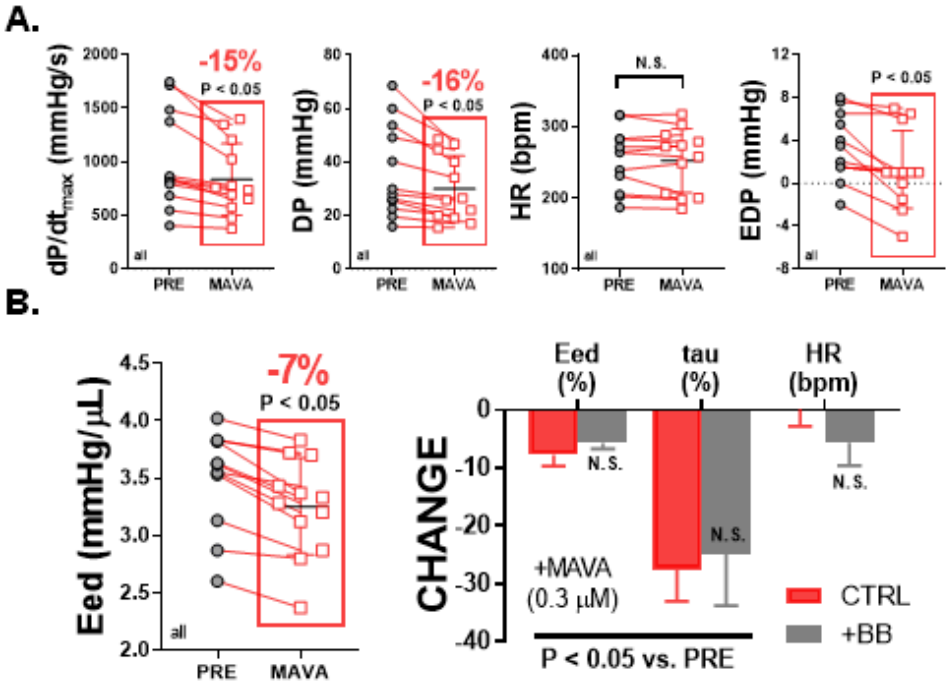
（10 nM）を併用した。拡張末期心室エラスタンス（Eed）は、バルーンを用いて前負荷として30 µL の伸展刺激を与えた際の EDP の変化から算出した。結果は平均値 ± SEM として示す。

0.3 µM のマバカムテン処理により、陰性変力作用の指標である収縮期の左室の最大圧立ち上がり速度（dP/dtmax）及び等容性収縮圧（DP）が処理前値と比較して低下した（Figure 3.1.7-1 A）。また、マバカムテン処理により処理前値と比較して EDP（−2 ± 1 mmHg）及び Eed が低下し（Figure 3.1.7-1 A 及び B 左）、左室圧減衰の時定数（tau）が短縮した［左室圧が dP/dtmin からネイピア数（e）分の 1 減衰するまでの時定数 tau1/e が 22 ± 8%減少］。HR に顕著な変化はみられなかった。

また、マバカムテン単独処理とβ遮断薬併用処理との比較では、Eed、tau 及び HR において統計学的有意な変化はみられなかった（Figure 3.1.7-1 B 右）。

以上から、マバカムテン処理により、ランゲンドルフ摘出灌流ラット心臓において陰性変力作用が誘導されるものの EDP 及び Eed が低下し心筋伸展性が亢進することが示された。β 遮断薬による処理でも心筋伸展性は維持された。

Figure 3.1.7-1: ランゲンドルフ摘出灌流ラット心臓での解析



Statistical analysis: Paired functional data recorded before (PRE) and during MAVA administration were compared using paired t-tests; MAVA induced changes (relative or absolute) were also compared between CTRL and BB conditions using unpaired t-tests.
A: Effects of MAVA (0.3 µM) on dP/dtmax, DP, HR, and EDP at steady state in isolated rat hearts under both CTRL and BB conditions (all, n = 12).
B: Effects of MAVA (0.3 µM) on Eed (EDP changes in response to a 30 µL preload increase) at steady state in isolated rat hearts under both CTRL and BB conditions (all, n = 12) (in the left). Response to MAVA under BB treatment on estimated stiffness (Eed), tau, and HR (n =6 for CTRL, n = 7 for BB) (in the right).
Data are mean ± SEM, showing steady-state values before (PRE) and during treatment values.
BB, β-AR blockade; CTRL, control; MAVA, mavacamten; N.S., not significant; PRE, predose.
Source: Report NC-20-0063

3.2 正常動物での作用

正常ラットとイヌを用いてマバカムテンの単回及び反復投与による作用を評価した（試験番号 NC-20-0055、NC-16-0049、NC-20-0059 及び NC-16-0048）。

3.2.1 麻酔正常ラットにおけるマバカムテン単回経口投与による心機能及び血行動態の変化

［試験番号 NC-20-0055（モジュール 4.2.1.1-11）］

麻酔雄性正常ラット（Sprague Dawley）に、媒体［ジメチルアセトアミド（DMA）：ポリエチレングリコール（PEG）400：30% β シクロデキストリン水溶液（5：25：70）の混合液、n＝8］又はマバカムテン［低用量：1 又は 2 mg/kg（各 n＝7 又は 5）、中用量：4 mg/kg（n＝7）及び高用量：8 又は 10 mg/kg（各 n = 6 又は 7）］を単回経口投与し、心エコー検査により、投与前及び投与 3 時間後の

左室短縮率（FS）、左室拡張末期容積（EDV）及び HR を測定した（ECHO/PK-PO グループ）。結果は平均値 ± SEM で表示する。

低、中及び高用量投与後の試験終了時におけるマバカムテンの血漿中濃度は、それぞれ 245 ± 33、658 ± 40 及び 1019 ± 55 ng/mL であった。

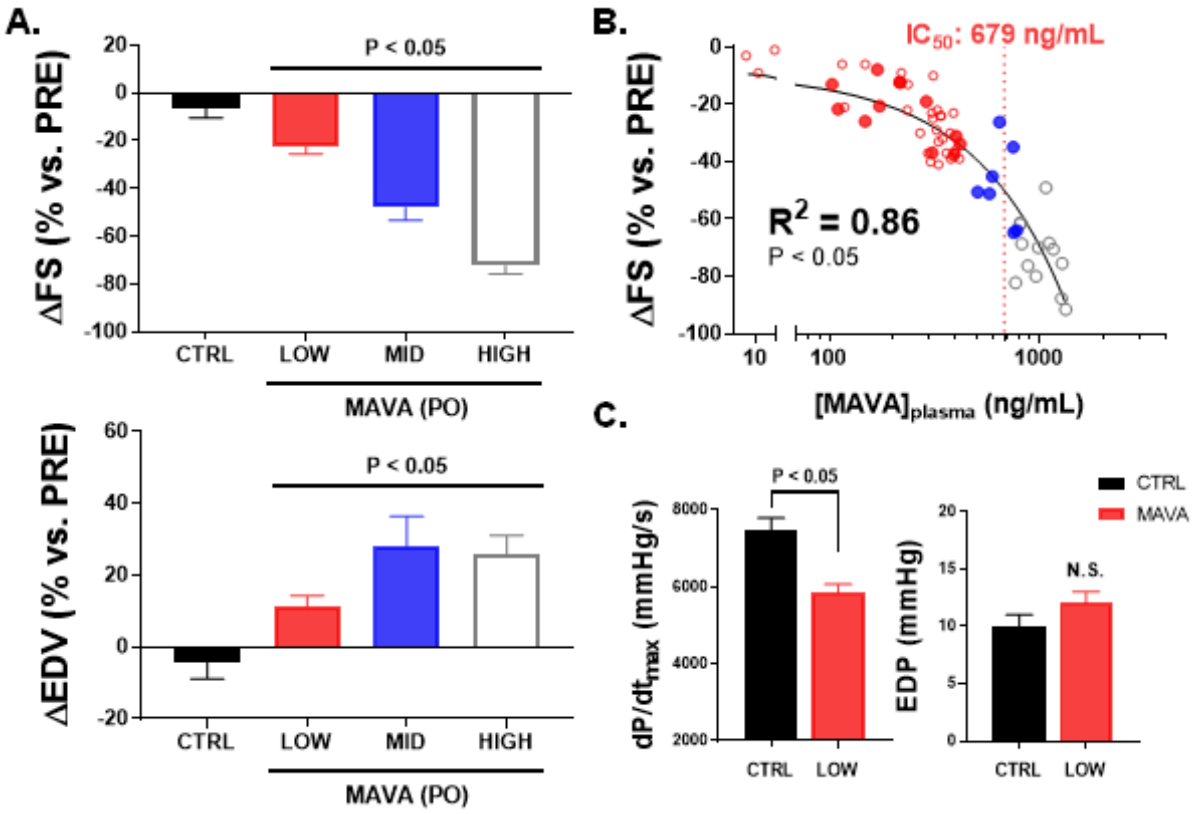
マバカムテン投与による顕著な HR の変化はみられなかった（マバカムテン投与群で投与前と比較して+5 ± 2～+16 ± 3% vs 媒体投与群で+3 ± 3%）。FS は用量依存的に低下し、血漿中薬物濃度と FS の相関関係が認められた（Figure 3.2.1-1 A 上及び Figure 3.2.1-1 B）。In vivo での FS 低下の IC50 推定値は血漿中総薬物濃度で 679 ng/mL（遊離型薬物濃度で 0.27 µM、非結合型分率：約 0.11【モジュール 2.6.4、4.3 項】から算出）であり、前述の筋原線維系における in vitro での阻害の IC50 である 0.49～0.71 µM（3.1.1 項）と同レベルであった。マバカムテン投与により、いずれの用量でも EDV が増加した（Figure 3.2.1-1 A 下）。

麻酔雄性正常ラットに、媒体（n = 7）又はマバカムテン（低用量：1 又は 2 mg/kg、各 n = 8）を単回経口投与し、カテーテルを用いて侵襲的に左室血行動態を評価した（HEMO グループ）。

低用量の投与により、dP/dtmax において媒体対照群と比較して−22 ± 3%の顕著な低下がみられるにもかかわらず、EDP は変化しなかった（Figure 3.2.1-1 C）。

以上のように、マバカムテンの単回経口投与により、HR 及び EDP は顕著に変化しないにもかかわらず、心収縮機能が低下し、EDV が増加することが示された。

Figure 3.2.1-1: 麻酔ラットにおける心機能（心エコー）及び左室血行動態（カテーテル）の評価



Statistical analysis: Data were compared using either one way analysis of variance with post-hoc analysis or unpaired t-tests. In addition, linear regression analyses were used to study the relationships between circulating plasma concentrations of MAVA and the resulting FS values.
A: Effects of oral administration of MAVA in healthy rats on FS and recruited preload (EDV) (ECHO/PK-PO group).
B: Relationship of MAVA plasma exposure and the degree of induced functional attenuation (ECHO/PK-PO group).
C: Effects of MAVA on function (dP/dtmax) and EDP (HEMO group).
LOW (1 and 2 mg/kg PO; red), MID (4 mg/kg PO; blue), or HIGH (8 and 10 mg/kg PO; white) in ECHO/PK-PO group.
All data are mean ± SEM.
CTRL, control; MAVA, mavacamten; [MAVA]plasma, plasma concentration of mavacamten; N.S., not significant; PO, oral; PRE, predose.
Source: Report NC-20-0055

3.2.2 テレメトリー機器を装着した覚醒正常ラットにおけるマバカムテンの単回経口投与による全身及び左室血行動態の変化

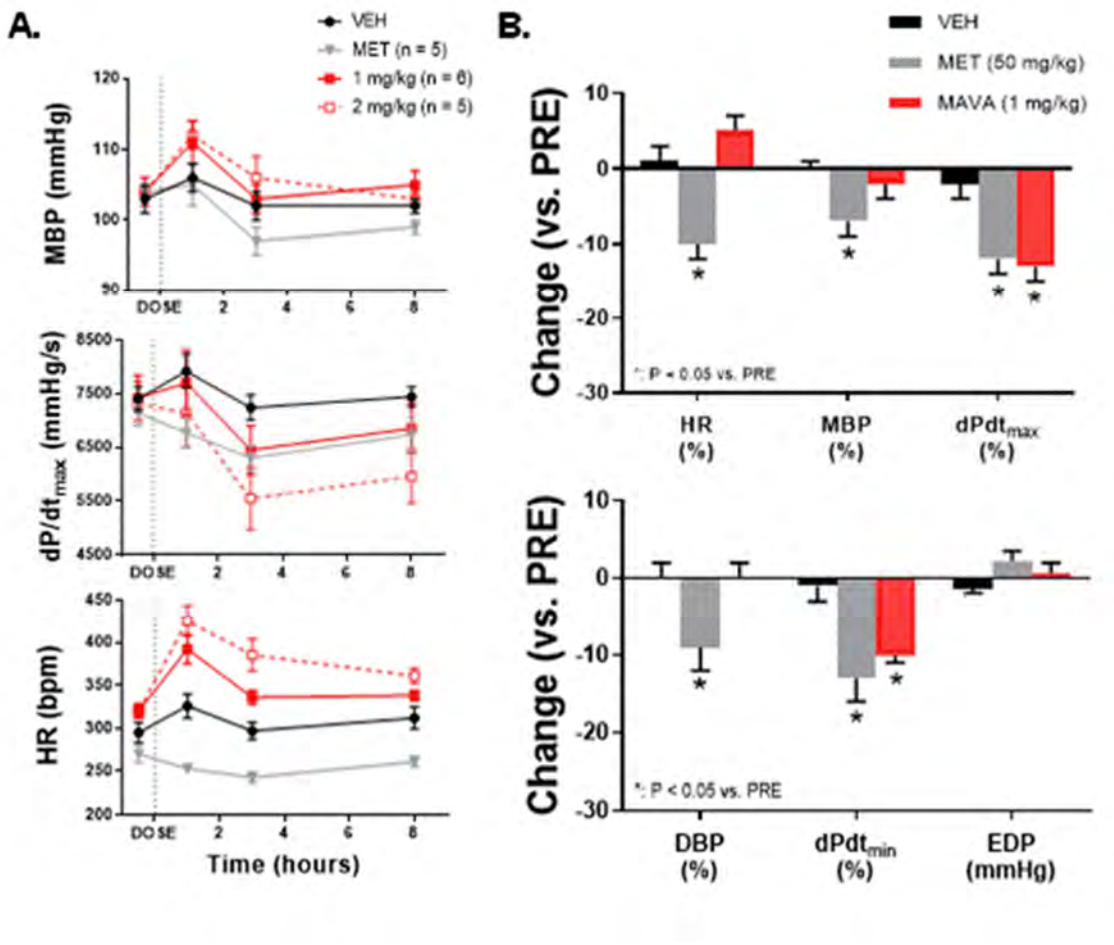
［試験番号 NC-20-0055（モジュール 4.2.1.1-11）］

テレメトリー機器を装着した覚醒雄性正常ラット（Sprague Dawley）において、媒体［DMA：PEG400：30% β シクロデキストリン水溶液（5：25：70）の混合液、n = 11］又はマバカムテン（1 及び 2 mg/kg、それぞれ n = 6 及び 5）若しくは β 遮断薬メトプロロール（50 mg/kg、n = 6）を単回経口投与して、全身及び左室血行動態に及ぼす作用を評価した（TEL グループ）。結果は平均値 ± SEM で示す。

マバカムテン投与 3 時間後において、投与前値と比較して、dP/dtmax 及び最高圧下降速度（dP/dtmin）が抑制されたものの、EDP は変化しなかった（Figure 3.2.2-1 A 及び B）。HR、拡張期血圧（DBP）及び平均血圧（MBP）も変動しなかった（Figure 3.2.2-1 B）。メトプロロール投与では、dP/dtmax が抑制され、MBP 及び HR も低下した（Figure 3.2.2-1 B）。HR に及ぼすマバカムテンの作用については 3.2.8 項で考察する。

以上より、正常ラットにおいてマバカムテンの単回経口投与により左室収縮機能が抑制され、全身血行動態に顕著な影響がみられないことが示された。

Figure 3.2.2-1: テレメトリー機器を装着した覚醒ラットにおけるマバカムテンの単回経口投与による全身及び左室血行動態の変化



*: P < 0.05 vs PRE. Paired functional data recorded before and post treatment, were compared using two way analysis of variance with post-hoc analysis.
A: Effects of oral MAVA administration on MBP (top), dP/dtmax (middle), and HR (bottom) in healthy conscious telemetered rats.
B: Comparative effects (at +3 hours postdosing) of MAVA and MET on HR, MBP and DBP, as well as in EDP and peak rates of pressure change (dP/dtmax and dP/dtmin).
Data are mean ± SEM, showing either absolute values both predose and postdosing or changes (vs PRE) at 3 hours postdosing.
MAVA, mavacamten; MET, metoprolol; PRE, predose; VEH, vehicle.
Source: Report NC-20-0055

3.2.3 テレメトリー機器を装着した覚醒正常イヌにおけるマバカムテンの単回経口投与による左室圧及び容積並びに全身血行動態の変化

［試験番号 NC-20-0059（モジュール 4.2.1.1-12）］

テレメトリー機器を装着した覚醒雄性正常イヌ（Beagle）を用いて、マバカムテン［1.5 mg/kg、媒体：0.5%メチルセルロース］を単回経口投与し、投与前及び投与 3 時間後での左室圧及び容積を評価した。また、心臓選択的 β 遮断薬メトプロロール（2 mg/kg、タブレット）を単回経口投与して同様の評価を実施した（試験 A）。結果は平均値 ± SEM で示す。

マバカムテン投与の 3 及び 24 時間後における血漿中薬物濃度は 254 ± 33 及び 147 ± 30 ng/mL であり、ヒトでの 1 日最大濃度（3.1.1 項）のそれぞれ約 0.363 及び 0.210 倍であった。

マバカムテン投与により、投与前と比較して、左室駆出率（EF）、負荷に依存しない指標である前負荷動員一回仕事量（PRSW）、dP/dtmax、推定収縮最大速度（Vmax）及び収縮末期エラスタンス（Ees）が低下し、顕著な収縮機能の低下が示された。左室収縮末期容積（ESV）については増加がみられたものの、左室収縮末期圧（ESP）及び CO は変化しなかった。拡張期では、EDV が増加し、顕著な前負荷の増加が示された。一方で、EDP 及び Eed の推定値は変化しなかった（Table 3.2.3-1）。以上の左室圧及び容積における変化により、左室圧及び容積の関係が圧･容積ループ図において（右上方向でなく）右横方向に移行し（Figure 3.2.3-1 及び Figure 3.2.3-2 右下）、より健全な状態に変化したことが示唆された。

マバカムテン投与により、MBP は変動せず、全身血行動態に顕著に作用しないことが示されたものの、脈圧［PP、収縮期血圧（SBP）と拡張期血圧の差］は低下した（Table 3.2.3-1）。HR、左室圧が dP/dtmin から 2 分の 1 減衰するまでの時定数 tau1/2、dP/dtmin 及び後負荷の指標である動脈エラスタンス（Ea）に及ぼす作用については 3.2.8 項で考察する。

一方で、β 遮断薬メトプロロール（2 mg/kg）の単回経口投与によりマバカムテン投与と同程度に PRSW の低下を誘導した条件で、前負荷を示す EDV のわずかな増加が認められ、Eed 及び EDP においても統計学的有意な増加がみられた（Table 3.2.3-1 及び Figure 3.2.3-2 右上）。

EDV と EDP の関係図において EDV 増加によりマバカムテン投与では右横方向に移行した一方で、メトプロロール投与では右上に移行した（Figure 3.2.3-2 左）。

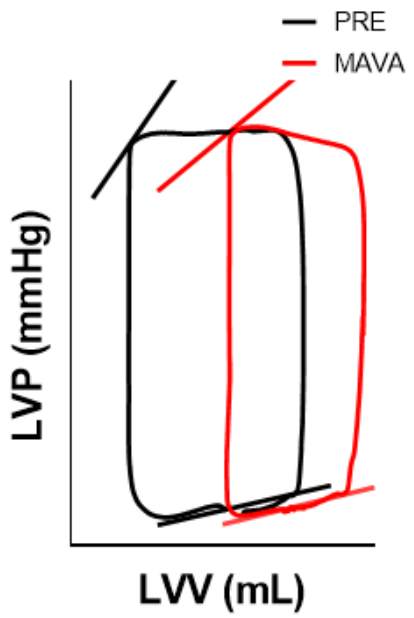
以上より、マバカムテンが心筋伸展性を亢進する作用を有し、従来の陰性変力作用を有する薬剤の作用とは異なることが示された。

Table 3.2.3-1: テレメトリー機器を装着した覚醒正常イヌの血行動態及び左室機能におけるマバカムテン及びメトプロロールの単回経口投与による作用

	Mavacamten (1.5 mg/kg PO, n = 8)			Metoprolol (2 mg/kg PO, n = 6)		
	PRE	**POST**	**Change**	**PRE**	**POST**	**Change**
MBP (mmHg)	107 ± 6	109 ± 5	*+3 ± 4%*	103 ± 6	99 ± 5	*−4 ± 1%*↓
PP (mmHg)	43 ± 3	31 ± 3	*−27 ± 4%*↓	39 ± 4	36 ± 4	*−8 ± 4%*
EDP (mmHg)	6 ± 1	7 ± 1	*+1 ± 1*	6 ± 0	10 ± 1	*+4 ± 1*↑
ESP (mmHg)	122 ± 6	114 ± 8	*−6 ± 3%*	115 ± 6	111 ± 5	*−3 ± 1%*
dP/dtmax (mmHg/s)	3190 ± 231	2342 ± 282	*−28 ± 3%*↓	3088 ± 391	2345 ± 189	*−22 ± 4%*↓
dP/dtmin (mmHg/s)	−2944 ± 202	−2297 ± 275	*−24 ± 5%*↓	−2976 ± 229	−2661 ± 189	*−10 ± 1%*↓
Vmax (s^{-1})	61 ± 5	52 ± 4	*−13 ± 5%*↓	58 ± 2	47 ± 1	*−18 ± 3%*↓
tau1/2 (ms)	19.2 ± 1.2	24.6 ± 1.3	*+30 ± 5%*↑	17.1 ± 0.8	20.2 ± 0.9	*+19 ± 4%*↑
EDV (mL)	27.0 ± 0.7	30.8 ± 0.8	*+14 ± 2%*↑	27.7 ± 0.4	28.7 ± 0.4	*+3 ± 1%*↑
ESV (mL)	9.3 ± 0.7	16.4 ± 1.2	*+79 ± 14%*↑	9.5 ± 1.2	12.5 ± 1.2	*+35 ± 8%*↑
EF (%)	66 ± 2	47 ± 3	*−28 ± 5%*↓	66 ± 4	56 ± 4	*−14 ± 2%*↓
CO (L/min)	1.7 ± 0.1	1.7 ± 0.1	*+3 ± 7%*	2.0 ± 0.1	1.5 ± 0.0	*−25 ± 3%*↓
Ea (mmHg/mL)	6.0 ± 0.3	7.6 ± 0.4	*+28 ± 10%*↑	5.7 ± 0.4	6.3 ± 0.4	*+9 ± 3%*↑
Ees (mmHg/mL)	9.8 ± 0.8	6.6 ± 0.6	*−32 ± 4%*↓	9.4 ± 0.2	6.4 ± 0.4	*−32 ± 4%*↓
Eed (mmHg/mL)	2.0 ± 0.2	2.2 ± 0.3	*+12 ± 4%*	1.8 ± 0.1	2.5 ± 0.1	*+37 ± 5%*↑
PRSW (mmHg)	98 ± 7	64 ± 5	*−35 ± 2%*↓	101 ± 2	69 ± 3	*−31 ± 4%*↓

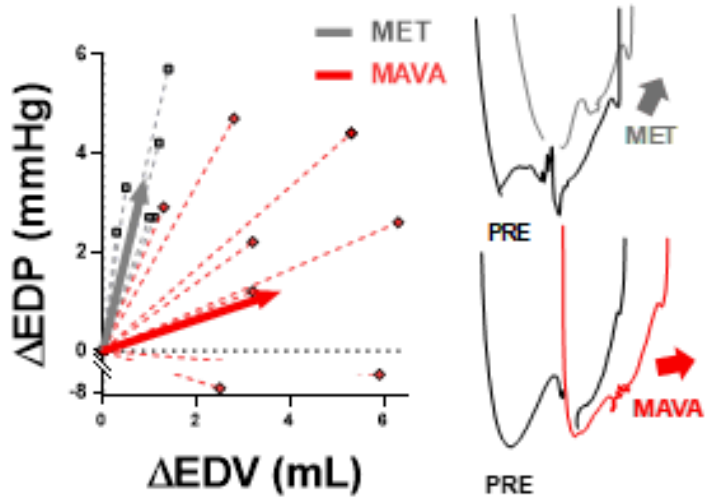
↑, ↓: $P < 0.05$ vs PRE using unpaired t-tests.
Data are mean ± SEM, showing absolute values predosing/baseline (PRE) and 3 hours postdosing (POST); changes (vs PRE) are shown in italics.
PO, oral; POST, post dose; PRE, predose.
Source: Report NC-20-0059

Figure 3.2.3-1: 覚醒正常イヌにおけるマバカムテンの単回経口投与が左室圧及び容積に及ぼす作用（代表例）



Effects of MAVA (1.5 mg/kg PO) on the LV pressure volume relationships (representative) in healthy conscious dogs.
LVP, left ventricular pressure; LVV, left ventricular volume; MAVA, mavacamten; PRE, predose.
Source: Report NC-20-0059

Figure 3.2.3-2: 覚醒正常イヌにおけるマバカムテン又はメトプロロールの単回経口投与が左室圧及び容積に及ぼす作用



Data are scatter plot showing relative changes vs predosing/baseline (PRE) at 3 hours postdosing in the left and representative curves of the left ventricular end diastolic pressure volume relationships (in the right).
MAVA, mavacamten; MET, metoprolol; PRE, predose.
Source: Report NC-20-0059

3.2.4 テレメトリー機器を装着した覚醒正常イヌにおけるマバカムテンの単回経口投与による心筋の収縮機能抑制における作用機序

［試験番号 NC-20-0059（モジュール 4.2.1.1-12）及び NC-20-0058（モジュール 4.2.1.1-13）］

正常なラット及びイヌで示されたマバカムテン投与による心筋収縮機能の低下（3.2.1 及び 3.2.3 項）が、心筋における駆出前の収縮速度及び Ees に反映される変力性のいずれに起因するかについて、正常イヌを用いて評価した。

テレメトリー機器を装着した雄性の覚醒正常イヌ（Beagle）を用いて、マバカムテン（1.5 mg/kg）を単回経口投与した試験 A（3.2.3 項）及びβ遮断薬メトプロロール（0.5 ± 0.1 mg/kg）又は L 型カルシウムチャネル拮抗薬ベラパミル（5 ± 1 mg/kg）のいずれかの 1 日 3 回での 7 日間反復経口投与により軽度の心抑制を誘発させた条件でマバカムテン（1.5 mg/kg）を単回経口投与した試験 B（3.2.6 項）のデータを統合して解析した（試験番号 NC-20-0059）。いずれもマバカムテンの投与前及び投与 3 時間後に心筋の収縮速度及び変力性の指標を測定した。

マバカムテンの経口投与により、収縮機能の指標である EF 及び CO の投与前値と比較した低下がみられた（Table 3.2.4-1）。収縮速度に関連する指標である dP/dtmax は、マバカムテンの経口投与により低下し、前駆出期（CT）も延長した。また、変力性に関連する指標である Ees 及び PRSW もマバカムテンの経口投与により低下した。

マバカムテン［1.2 mg/kg、媒体として DMA：PEG400：生理食塩液（5：10：85）の混合液を使用］の単回静脈内投与によっても（試験番号 NC-20-0058）、投与 1 時間後に投与前値と比較して、EF の低下に伴う dP/dtmax の低下がみられた。

以上より、マバカムテン投与による心機能の低下に、収縮速度及び変力性がいずれも寄与することが示された。

Table 3.2.4-1: 覚醒正常イヌにおけるマバカムテンの単回経口投与による心機能、収縮速度及び変力性の変化

		NC-20-0059 1.5 mg/kg PO (3 h post dose)	NC-20-0058 1.2 mg/kg IV (1 h post dose)
Cardiac effects			
Performance	EF	−35 ± 4%↓	−20 ± 2% ↓
	CO	−6 ± 7%	−6 ± 6%
Clinotropy (velocity)	dP/dtmax	−27 ± 2%↓	−25 ± 2% ↓
	CT	+25 ± 3%↑	NA
Inotropy (force)	Ees	−31 ± 3%↓	NA
	PRSW	−33 ± 2%↓	NA

↑, ↓: P < 0.05 vs predose using unpaired t-tests.
Dosing: 1.5 mg/kg (PO; n = 16) or 1.2 mg/kg (IV; n = 4).

Data are mean ± SEM, showing relative changes from predosing/baseline values at either 3 hours postdosing (PO) or 1 hour (IV).
IV, intravenous; NA, not applicable; PO, oral.
Source: Reports NC-20-0058 and NC-20-0059

3.2.5 正常なラット及びイヌにおける長期反復経口投与による作用

正常なラット（Sprague Dawley）及びイヌ（Beagle）でのマバカムテンの反復経口投与による作用が非臨床毒性試験において評価されている。

ラット 26 週間反復経口投与毒性試験［試験番号 NC-16-0049（モジュール 4.2.3.2-5）、【モジュール 2.6.6、3.5 項】］において、マバカムテンを 0（媒体対照）、0.3、0.6 及び 1.2 mg/kg/day の用量で 26 週間反復経口投与（1 日 1 回）した［1 群雌雄各 n = 10 並びに回復群 1 群雌雄各 n = 5（0 及び 1.2 mg/kg/day）］。1.2 mg/kg/day でのマバカムテン投与により、Week 25 で媒体対照群と比較した FS の低下及び EDV の増加がみられ、収縮機能の低下及び前負荷の増加が示された。これらの投与に関連した影響は、休薬 10 週までに完全に回復した。一方で、心筋ストレスの指標である血漿中ヒト脳性ナトリウム利尿ペプチド前駆体 N 端フラグメント（NT-proBNP）濃度においてはマバカムテン投与による影響はみられなかった。

イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験［試験番号 NC-16-0048（モジュール 4.2.3.2-9）、【モジュール 2.6.6、3.9 項】］において、マバカムテンを 0（媒体対照）、0.06、0.18、0.30（雄のみ）及び 0.45（雌のみ） mg/kg/day の用量で 39 週間反復経口投与（1 日 1 回）した［1 群雌雄各 n = 4 並びに回復群 1 群雌雄各 n = 2（0 mg/kg/day）、1 群雄 n = 2（0.30 mg/kg/day）及び 1 群雌 n = 2（0.45 mg/kg/day）］。0.30 及び 0.45 mg/kg/day でのマバカムテン投与により、媒体対照群と比較した EF の顕著な低下及び EDV の顕著な増加が認められ、収縮機能の抑制及び前負荷の増加が示された。休薬 4 週及び 12 週の評価により、心エコー検査に対するマバカムテン関連の影響はいずれも休薬 4 週までに完全な回復性が認められた。一方で、最高用量でも拡張機能の指標である等容性弛緩時間並びに中隔側及び側壁側の拡張早期僧帽弁輪最大運動速度（e'）に対する拡張早期最大血流速度（E）の比（E/e'）のいずれも顕著に変化しなかった。また、血漿中 NT-proBNP 濃度において媒体対照群と比較した影響はみられなかった。同様に、テレメトリー機器を装着したイヌにおける 0.045 mg/kg/day での 31 日間反復経口投与試験でも収縮機能が低下したものの、拡張機能は維持された（データ示さず）（試験番号 NC-20-0058）。

以上の試験において、マバカムテンの反復経口投与により持続的かつ顕著な収縮期の心機能抑制がみられたものの休薬により回復し、拡張機能は維持され、心筋ストレスの指標は上昇しないことが示された。

3.2.6 β遮断薬又はL型カルシウムチャネル拮抗薬と併用時のマバカムテンの作用

［試験番号 NC-20-0059（モジュール 4.2.1.1-12）］

テレメトリー機器を装着した雄性正常覚醒イヌ（Beagle）を用いて、HCM 治療で一般的に使用されるβ遮断薬又はL型カルシウムチャネル拮抗薬と併用時のマバカムテンの作用を評価した（試験B）。

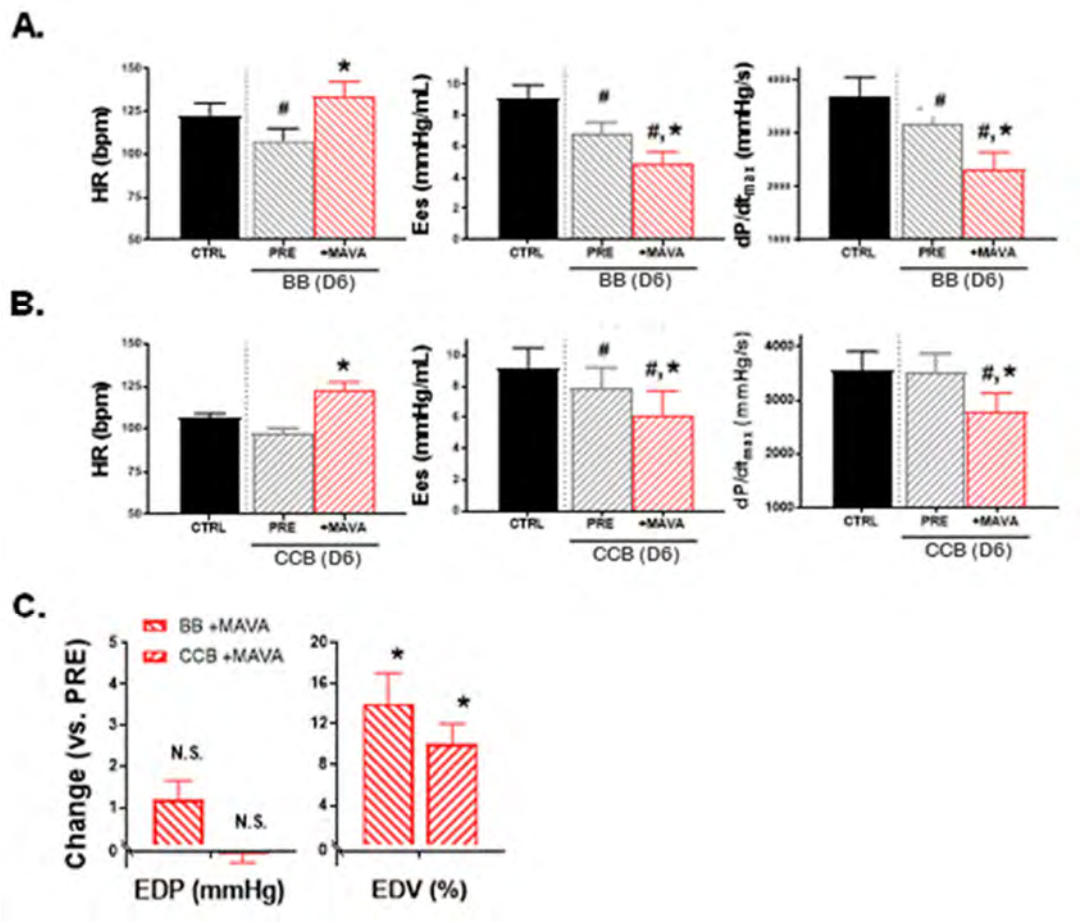
β遮断薬メトプロロール（0.5 ± 0.1 mg/kg、タブレット）又はL型カルシウムチャネル拮抗薬ベラパミル（5 ± 1 mg/kg、タブレット）のいずれかの 1 日 3 回での 7 日間反復経口投与（各 n = 4）により軽度の心抑制を誘発させた条件で、マバカムテンの 1.5 mg/kg での単回経口投与により心機能に及ぼす作用を測定した。結果は平均値 ± SEM で示す。

メトプロロール及びベラパミルのいずれを投与した条件でも、マバカムテンの併用投与によりメトプロロール及びベラパミル単独投与に対して PRSW がそれぞれ−30 ± 6 及び−28 ± 8%低下し、収縮機能の相加的な抑制が示された。収縮期の心室硬度の指標である Ees 及び収縮性の指標である dP/dtmax も相加的に低下し、前負荷の指標である EDV が増加したものの、EDP は顕著に変化しなかった（Figure 3.2.6-1）。

全身血圧と HR に及ぼす作用については 3.2.8 項で考察する。

以上より、選択的 β 遮断薬及び L 型カルシウムチャネル拮抗薬との併用でも、収縮機能を相加的に抑制するものの EDP は維持するマバカムテンの新規の薬理学的プロファイルが示された。

Figure 3.2.6-1: メトプロロール又はベラパミルを投与した正常覚醒イヌの左室機能に及ぼすマバカムテンの作用



#, P < 0.05 compared with CTRL and *, P < 0.05 compared with PRE. Data were compared using either one way analysis of variance with post-hoc analysis or Student's t-tests.
A: Effects of single dose MAVA (1.5 mg/kg oral) given to dogs in the setting of (mild) cardio depression induced via selective BB (metoprolol) for 7 days on HR, Ees, and dP/dtmax.
B: Similar study to A, using CCB (verapamil) for 7 days.
C: Combination effects of MAVA and BB or CCB on ventricular distensibility (EDP and EDV).
Data are mean ± SEM, showing absolute values prior to the onset of (PRE), as well as after sustained blockade (D6), both before (PRE) and after (+3 hours) MAVA administration or showing relative changes (vs PRE).
BB, β-AR blockade; CCB, L type Ca^{2+} channel blockade; CTRL, control; D6, Day 6; MAVA, mavacamten; N.S., not significant; PRE, predose.
Source: Report NC-20-0059

3.2.7 マバカムテン投与時の強心薬に対する反応性

［試験番号 NC-20-0057（モジュール 4.2.1.1-14）及び NC-20-0059（モジュール 4.2.1.1-12）］

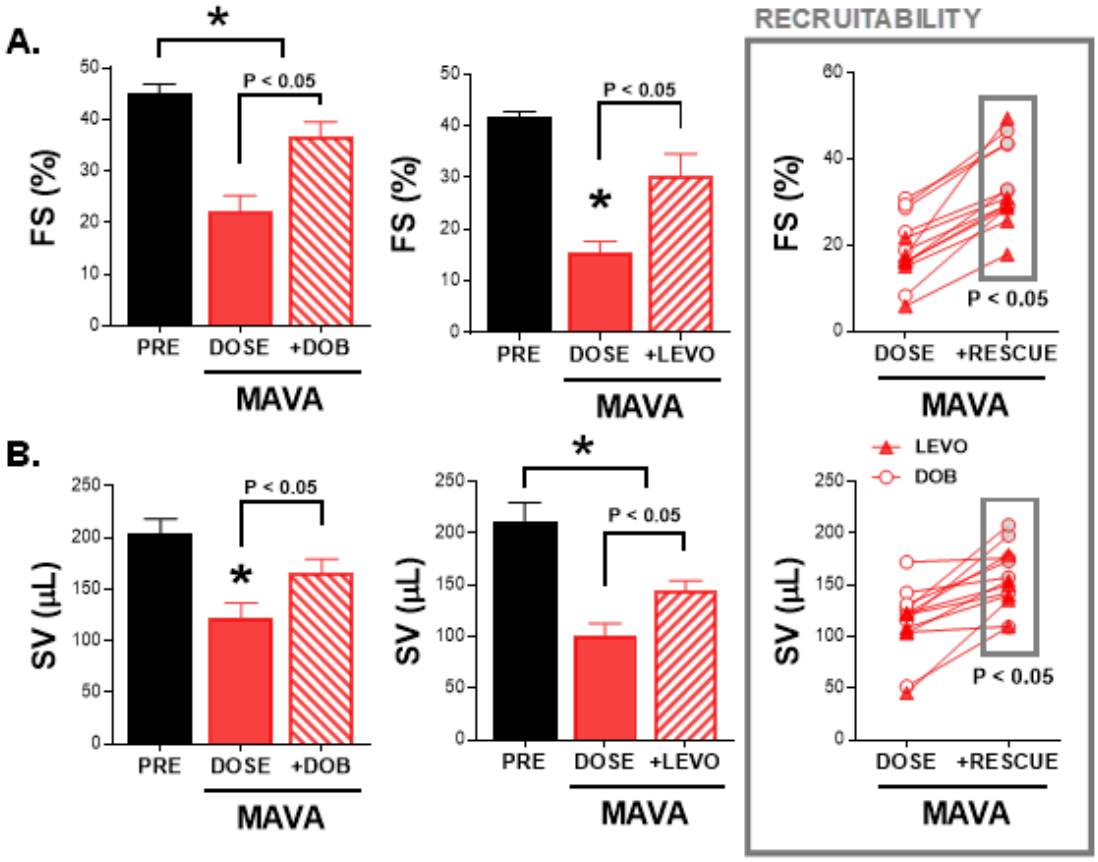
HCM 患者において β-AR 経路を含む内因性機序による心予備能及び身体活動能力の維持又は回復は重要である。マバカムテンが心筋でのイオン電流ホメオスタシス及び Ca^{2+}流入に顕著に影響しない結果 [40]（試験番号 NC-14-0006 及び NC-20-0052）並びに SRX 状態にあるミオシンヘッドが心筋サル

コメアでの Ca^{2+}増加によって心予備能として部分的に動員された結果（試験番号 NC-20-0046）から、マバカムテン投与条件でも自律反射などの内因性の心臓制御機構は影響を受けず、自律神経刺激及び強心薬を含む薬理学的刺激に反応して心予備能が動員される可能性が考えられた。そのため、正常なラット及びイヌを用いて内因性機序での心筋予備能の動員性を評価した（試験番号 NC-20-0057 及び NC-20-0059）。

正常雄性ラット（Sprague Dawley）において、心収縮機能を顕著に低下させる（EF における 40%超の低下）用量のマバカムテン（4 mg/kg、媒体：0.5%メチルセルロース）を単回経口投与し、強心薬として β-AR アゴニストであるドブタミン（DOB、媒体：生理食塩液、n = 7）又はホスホジエステラーゼ III 阻害薬であるレボシメンダン［LEVO、媒体：DMA：PEG：30% 2-ヒドロキシプロピル-β シクロデキストリン水溶液（5：25：70）の混合液、n = 6］を静脈内投与により併用して、麻酔下での心エコー検査により心収縮能の指標である FS 及び一回拍出量（SV）を評価した（試験番号 NC-20-0057）。

心筋細胞を用いた ex vivo 試験での結果（Figure 3.1.6-1）と一致して、マバカムテンを経口投与した正常ラットにおいて、DOB 又は LEVO の併用投与により、FS 及び SV が回復した（Figure 3.2.7-1）。

Figure 3.2.7-1: 正常ラットにおいてマバカムテンの単回経口投与により抑制した心収縮能に及ぼす DOB 又は LEVO の単回静脈内投与による作用



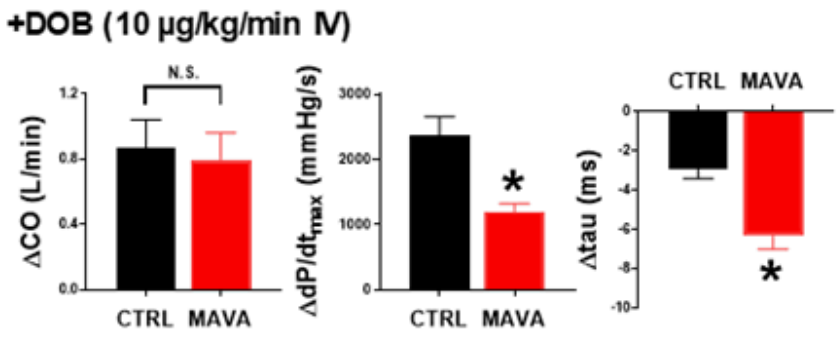
*, P<0.05 vs PRE using one way analysis of variance with post-hoc analysis.
In healthy rats, effects of administration of MAVA (at 4 mg/kg oral) and rescue effects of DOB (10 µg/kg/min intravenous for 10 min) or LEVO (0.3 µmol/kg intravenous for 20 min) in all MAVA treated animals on FS (A) and SV (B).
Data are mean ± SEM, showing absolute values predosing/baseline (PRE) and 3 hours (DOSE) following MAVA administration, as well as during functional rescue (+RESCUE).
DOB, dobutamine; LEVO, levosimendan; MAVA, mavacamten; PRE, predose.
Source: Report NC-20-0057

同様の結果は、テレメトリー機器を装着した雄性の覚醒正常イヌ（Beagle）を用いた試験においても認められた（試験番号 NC-20-0059）。3.2.4 項で記載したイヌを用いて、マバカムテン（1.5 mg/kg）を単回経口投与したイヌ及びメトプロロール（0.5 ± 0.1 mg/kg）又はベラパミル（5 ± 1 mg/kg）のいずれかの 1 日 3 回での 7 日間反復経口投与後にマバカムテン（1.5 mg/kg）を単回経口投与したイヌに、1、2、5 及び 10 µg/kg/min で DOB を静脈内投与により併用し、DOB のみを静脈内投与した条件と比較した。

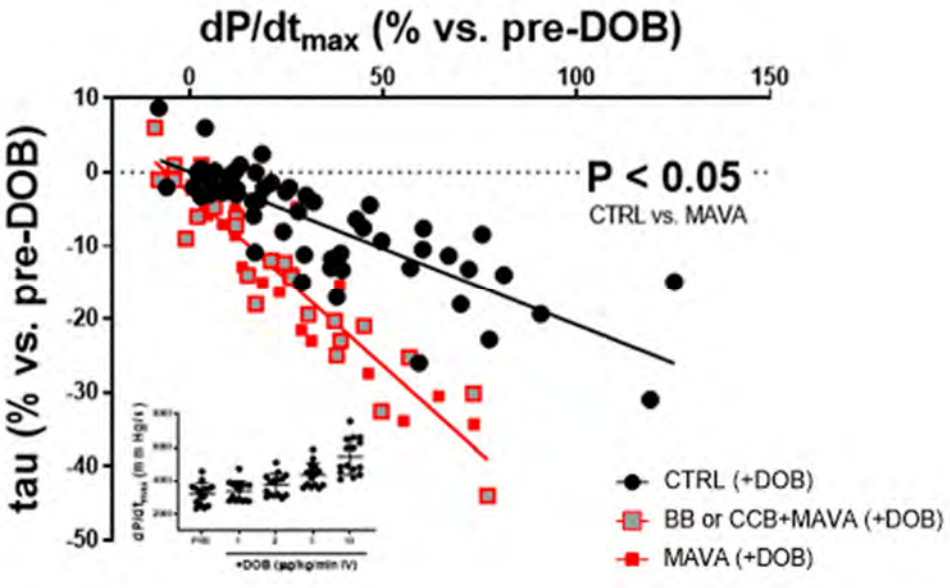
マバカムテンの投与前及び投与後のいずれでも、DOB 投与により心収縮能の指標である CO が同程度に増加した（Figure 3.2.7-2 A 左）。CO では β-AR アゴニスト反応性は維持されているにもかかわらず、dP/dtmax ではβ-AR アゴニストによる上昇をマバカムテンが鈍化させたことから（Figure 3.2.7-2 A 中央）、β-AR アゴニスト投与条件でもマバカムテンによる収縮機能の抑制作用が維持されることが示された。さらに、β-AR アゴニスト投与条件で、前述の心筋伸展性の亢進（3.2.3 項）と一致して、マバカムテン投与により弛緩の指標である tau の短縮が亢進し（Figure 3.2.7-2 A 右）、dP/dtmax 及び tau の関係図において回帰直線は下方に移行した（Figure 3.2.7-2 B）。

Figure 3.2.7-2: 正常覚醒イヌにおける DOB の作用に及ぼすマバカムテン投与の影響

A.



B.



*, P<0.05 vs CTRL using unpaired t-tests. The relationships between subsets of parameters were evaluated via linear least squares models.
A: Effects of MAVA treatment under DOB challenge on CO, dP/dtmax, and tau (n = 12). Comparison between CTRL and MAVA (MAVA only and BB or CCB+MAVA) in changes (vs predose of DOB).

B: Effects of MAVA treatment under DOB challenge on dP/dtmax (inset, n = 15) and the relationship between the changes (vs predose of DOB) in tau and dP/dtmax (CTRL [+DOB], n = 56; BB or CCB+MAVA [+DOB], n = 28; MAVA [+DOB], n = 16).
BB, β-AR blockade; CCB, L type Ca^{2+} channel blockade; CTRL, control; DOB, dobutamine; IV, intravenous; MAVA, mavacamten; N.S., not significant; PRE, predose; pre-DOB, predose of dobutamine.
Source: Report NC-20-0059

以上より、マバカムテン投与による心機能の抑制条件でもβ-AR経路などの内因性の機能的動員機構が反応すること及び強心薬を投与した条件でもマバカムテン投与により拡張機能が促進されることが示された。

3.2.8 正常なラット及びイヌでの作用の要約

3.2.8.1 収縮及び拡張機能に及ぼすマバカムテンの作用

非臨床薬理試験及び非臨床毒性試験として実施した正常なラット及びイヌでの主要な単回及び反復投与試験の結果を Table 3.2.8.1-1 に要約する。

いずれの正常なラット及びイヌを用いた試験においても［試験番号 NC-20-0055、NC-20-0058、NC-20-0059、NC-16-0049（モジュール 4.2.3.2-5）及び NC-16-0048（モジュール 4.2.3.2-9）］、マバカムテン投与により ESV の増加を伴って収縮機能の指標である EF 又は FS 及び dP/dtmax が低下し、前負荷の指標である EDV が増加した。FS の低下は用量及び曝露量に依存することが示され（3.2.1 項）、マウスでの結果[40]［試験番号 NC-20-0056（モジュール 4.2.1.1-15）］と一致した。また、マバカムテン投与により、収縮機能及び EDV の変化にもかかわらず、EDP は増加せず（E/e'も同様）、拡張期に重要な心筋伸展性の亢進が示唆された（Table 3.2.8.1-1 及び Table 3.2.3-1）。

以上より、マバカムテンが心筋ミオシンに対する直接的な作用を介して、左室容積の増加を伴って収縮機能を曝露量及び用量依存的に低下させ、左室の心筋伸展性を亢進することから、従来の陰性変力薬[43,44]とは異なる薬理プロファイルを有することが示された。

Table 3.2.8.1-1: 正常なラット及びイヌを用いた単回又は反復経口投与試験におけるマバカムテンの主な作用

	Rat		Dog		
	Single dose	Repeated dose (26 week)	Single dose	Repeated dose (39 week)	
	n = 11-12	n = 6-30	n = 8-16	n = 8-12	
Parameter	NC-20-0055	NC-16-0049	NC-20-0059 [c]	NC-16-0048	
Dose (PO)	1 and 2 mg/kg	1.2 mg/kg/day	1.5 mg/kg	0.18 mg/kg/day	0.3 and 0.45 mg/kg/day
[MAVA]p	245 ± 33 ng/mL [a]	690 ± 83 ng/mL	254 ± 33 ng/mL	287 ± 30 ng/mL	577 ± 54 ng/mL
EF or FS	−23 ± 3%↓ [a] (FS)	−28 ± 4%↓ (FS)	−28 ± 5%↓ (EF)	−12 ± 3% (EF)	−34 ± 3%↓ (EF)

Table 3.2.8.1-1: 正常なラット及びイヌを用いた単回又は反復経口投与試験におけるマバカムテンの主な作用

	Rat		Dog		
	Single dose	Repeated dose (26 week)	Single dose	Repeated dose (39 week)	
	n = 11-12	n = 6-30	n = 8-16	n = 8-12	
Parameter	**NC-20-0055**	**NC-16-0049**	**NC-20-0059** [c]	**NC-16-0048**	
ESV or LVIDs	+28 ± 4%↑ [a] (LVIDs)	+75 ± 13% (ESV) [e]	+79 ± 14%↑ (ESV)	+33 ± 14% (ESV)	+166 ± 15%↑ (ESV)
EDV	+11 ± 3%↑ [a]	+33 ± 6% [e]	+14 ± 2%↑	+0 ± 7%	+39 ± 6%↑
dP/dtmax	−19 ± 3%↓ [b]	NA	−28 ± 3%↓	NA	NA
HR	+12 ± 3%↑ [b]	+11 ± 2% [e]	+25 ± 3%↑ [d]	+18 ± 14%	+5 ± 6%
EDP or E/e'	+2 ± 1 mmHg [b] (EDP)	NA	+1 ± 1 mmHg (EDP)	−7 ± 7% (E/e') [e]	−12 ± 6% (E/e') [e]
NT-proBNP	NA	0.32 ± 0.05 ng/mL	NA	550 ± 76 pmol/mL	942 ± 155 pmol/mL
		0.39 ± 0.12 ng/mL in VEH		745 ± 77 pmol/mL in VEH	

a Echocardiology study (unconscious)
b Telemetry study (conscious)
c Study A except for HR
d Study A and B
e No statistical analyses performed
↑, ↓: $P < 0.05$ vs either predosing (acute) or time matched VEH (chronic) values. Statistical analysis: Refer to the legend of Figure 3.2.1-1 (NC-20-0055) and Table 3.2.3-1 (NC-20-0059); analysis of variance and pairwise comparisons were used for NC-16-0049 and NC-16-0048.
Data are mean ± SEM, showing relative changes (except for EDP and NT-proBNP, which are absolute changes and absolute values, respectively) from predosing/baseline values or VEH treated control for the repeated dose studies.
LVIDs, left ventricular internal diameter at end systole; [MAVA]p, plasma concentration of mavacamten; NA, not applicable; PO, oral; VEH, vehicle.
Source: Reports NC-20-0055, NC-16-0049, NC-20-0059, and NC-16-0048

3.2.8.2 マバカムテンの全身血行動態に及ぼす作用及び HR 亢進の作用機序

正常なラット及びイヌを用いた試験において［試験番号 NC-20-0055、NC-16-0048（モジュール 4.2.3.2-9）、NC-20-0059 及び NC-15-0007］、マバカムテンの投与により、PP の低下（試験番号 NC-20-0055 及び Table 3.2.3-1）に伴って軽度から中等度の HR の亢進が認められたものの（Table 3.2.8.1-1 及び 5.2 項）、MBP は顕著に変化せず（Table 3.2.3-1 及び Figure 3.2.2-1）、マバカムテン投与は全身血行動態に顕著に影響しないと考えられる。テレメトリーを装着した覚醒イヌでは、3 及び 10 mg/kg での投与により Day 1 に HR の亢進を伴う SBP の低下が認められた（5.2 項）ものの、これは顕著な心機能抑制の結果と考えられる。

マバカムテンの単回経口投与後に認められる HR 亢進の作用機序は完全には解明されていないものの、覚醒イヌにおいて（試験番号 NC-20-0059）、マバカムテンと β 遮断薬又は L 型カルシウムチャネル拮抗薬との併用投与により、それぞれ+24 ± 6 及び+26 ± 6%（平均値 ± SEM、本項は以下同様）の HR 亢進が認められたことから（Figure 3.2.6-1）、治療用量範囲内でのマバカムテンの単回投与後の HR 亢進は圧受容体反射活性化の結果ではないと考えられる。また、β-AR 刺激に対する応答性が維持されているにもかかわらず、ランゲンドルフ摘出灌流ラット心臓では固定前負荷の条件で直接的な HR の亢進が認められなかったこと（試験番号 NC-20-0063）（Figure 3.1.7-1）、低用量投与により低レベルでのみ心機能が抑制される条件では HR の変化は認められなかったこと、HR の亢進が反復経口投与では鈍化したこと及び HR の亢進は心機能抑制の後にみられること［試験番号 NC-16-0048（モジュール 4.2.3.2-9）及び NC-20-0058］を考慮すると、HR の亢進はマバカムテン投与後の間接的又は二次的な作用と考えられた。このような間接的又は二次的な HR の亢進の原因としては、心膜腔内圧など心外性の作用[45]や内因性の伸展反射の可能性が考えられた。実際に、ヒト iPSC-CM では、マバカムテンによる機能的抑制に伴ってナトリウムスパイク振幅に変化はないものの、軽度かつ濃度依存的な固有拍動数の増加（1 μM での 24 時間曝露で+30.1 ± 1.5%）が認められたことから、マバカムテンの直接的な心伸展作用が示され、持続的曝露では固有拍動数の増加作用が減弱した（1 μM での 120 時間曝露で+1.2 ± 0.3%）（試験番号 NC-20-0038）。ヒト iPSC-CM を用いた試験では、短期間処理によりわずかではあるものの統計学的有意な拍動数の増加がみられた（データ示さず）（試験番号 NC-20-0049）。また、マバカムテンによるイオン電流やカルシウム恒常性の変化はみられておらず（3.1.1 及び 5.4 項）、HCM 患者を対象とした臨床試験【モジュール 2.7.4、4.1 項】において、臨床的に意味のある心拍数の変化は認められていない。

以上より、正常動物においてマバカムテン投与により全身血行動態に顕著な影響はみられないことが示され、HR の亢進がみられたものの間接的又は二次的な作用である可能性が示された。

3.2.8.3 活動性弛緩に及ぼすマバカムテンの作用

摘出ランゲンドルフ灌流ラット心臓を用いた ex vivo 試験では（試験番号 NC-20-0063）、固定前負荷条件で 0.3 μM でのマバカムテン処理により tau が処理前値と比較して短縮し（3.1.7 項）、初代培養左室心筋細胞（試験番号 NC-20-0052）において 0.25 μM でのマバカムテン処理により RT50 が短縮した（Figure 3.1.6-1 B 中央）。初代培養左室心筋細胞（試験番号 NC-14-0006）及びヒト iPSC-CM（試験番号 NC-20-0038 及び NC-20-0049）でも収縮及びインピーダンスの弛緩時間が短縮した。

一方、in vivo の麻酔正常ラットを用いた単回経口投与試験においては（試験番号 NC-20-0055）、マバカムテン（1 及び 2 mg/kg）投与により、媒体対照群と比較して、活動性弛緩の負荷依存性指標である Weiss らの方法による tau（tauw）が+39 ± 7%（平均値 ± SEM）延長し、dP/dtmin が低下したものの、EDP は変化しなかった。覚醒正常イヌを用いた試験においても（試験番号 NC-20-0059）、マバカムテン（1.5 mg/kg）の単回経口投与により、投与前値と比較して、tau1/2 が延長し、dP/dtmin が低下したにもかかわらず、EDP（Table 3.2.3-1）及び最小早期左室充満圧（Pmin）は統計学的有意に

変化せず、心室充満は変化しないことが示された。同試験では、Ea が投与後に顕著に増加したことから（Table 3.2.3-1）、後負荷の関与が示唆され、マバカムテン投与後の Ea の変化と tau 増加に相関関係がみられた（データ示さず）。別途実施した覚醒正常イヌの試験において tau の延長は認められなかった（試験番号 NC-20-0058）。

以上の結果から、マバカムテンの拡張機能に対する直接的な作用及び覚醒正常イヌを用いた試験での Ea の増加を考慮すると、マバカムテン投与による tau 及び dP/dtmin の変化に臨床上の意味はなく、後負荷の変動に反応した可能性が高いと考えられる。

3.3 HCM 病態モデルでの作用

サルコメアタンパク質に HCM 病因性変異を有するアクトミオシン系、筋線維及び心筋細胞に対する in vitro 及び ex vivo でのマバカムテンの作用については複数報告されている（Table 3.3-1 に要約する）。

細いフィラメントの制御因子であるヒト心筋 TnT 及び TnI における HCM 病因性変異が知られている[2]。ヒト心筋 TnT 及び TnI の HCM 病因性変異型（それぞれ R92Q 及び R145G）並びにウサギ骨格筋由来のアクトミオシン系での ATP 加水分解サイクルの進行速度において、変異により Ca^{2+}感受性が亢進し、マバカムテン［0.25 μM、ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度（3.1.1 項）の約 1.4 倍］によりこの感受性の亢進が抑制されることが報告されている[16]。これらの変異型タンパク質の遺伝子導入により過剰収縮が生じたモルモット左室心筋細胞において、弛緩時の SL 及び弛緩速度の低下がマバカムテンにより改善した。さらに、HCM 病態で報告されている細胞内での Ca^{2+}動態の異常[42,46,47]と一致して、細いフィラメントのいずれの変異によっても筋線維における弛緩速度及び Ca^{2+}解離速度の低下がみられたが、マバカムテンにより改善し、拡張機能に対する有益な作用が示唆された。

野生型及び心筋 MYBPC ノックアウト（KO）マウスから単離した除膜左室心筋線維を用いた in vitro 試験で、マバカムテン（0.5～1.0 μM、ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度の約 2.8～5.6 倍）の作用が報告されている[17]。野生型心筋線維においてマバカムテンにより Ca^{2+}感受性の指標である pCa50 が変化せず、Tmax を濃度依存的に抑制することが確認され、3.1.5 項の結果（試験番号 NC-20-0048）及び報告[40]と一致した。また、心筋 MYBPC KO 心筋線維では、前活性化（拡張期）Ca^{2+}濃度において、クロスブリッジ形成速度が亢進した。心筋 MYBPC KO 心筋線維において、マバカムテンが前活性化 Ca^{2+}濃度での張力並びにクロスブリッジ形成の速度及び程度を低下させたことから、マバカムテンによる拡張期クロスブリッジ動態の改善が示された[17]。心筋 MYBPC3 に短縮型の HCM 病因性変異を有するマウス及び HCM 患者由来の心筋組織[18]並びにヒト iPSC-CM[19]についても報告されている。これらの心筋組織及び細胞では HCM 病態と一致した弛緩の顕著な減弱が認められた。これらの心筋 MYBPC 短縮変異を有するモデルでは、変異によりクロスブリッジ形成の促進[17]及びエネルギー消費の少ない SRX 状態にあるミオシンヘッドの不安定化[25,48]を促進するミオシンヘッドの立体構造変化が生じ、心機能障害が誘発されることも示された。また、HCM 患者由来の心

筋組織において、マバカムテンは細胞レベルで太いフィラメントにおける SRX 状態にあるミオシンヘッドの割合を回復し、変異により生じる心筋の弛緩障害を改善した[18]。

心筋ミオシン重鎖の HCM 病因性変異（ブタ及びヒトでそれぞれ R403Q 及び R663H）により、ミオシンヘッドが SRX 状態に留まれず、アクチンと強く結合したミオシンヘッドの割合が増加して拡張期張力が亢進することが示されている[20]。この様な SRX 状態の調節異常及び弛緩障害は、MYH6 又は MYH7（マウス及びヒトの心筋ミオシンアイソフォームをそれぞれコードする遺伝子）における R403Q、V606M 及び R719W 変異のヘテロ接合マウス及びこれらの変異を有する患者由来の左室心筋組織並びにヒト iPSC-CM でも報告されている[21]。マバカムテン（0.3～3 μM、ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度の約 1.7～16.8 倍）により、ミオシンヘッドが SRX 状態で安定化して DRX 及び SRX 状態の割合が改善し、これらの HCM 変異によって生じる収縮及び拡張における機能障害が改善した[20,21]。さらに、変異型 MYH7 を発現するヒト iPSC-CM において、マバカムテン処理（0.3 μM で 24 時間）により基礎酸素消費速度が改善した結果は、SRX 状態の割合の増加に伴う機能的及びエネルギー的なバランスの異常が改善したことによると考えられた[21]。

以上より、心筋のサルコメアタンパク質である Tn、MYBPC 及びミオシン重鎖における種々の HCM 病因性変異による異常なサルコメアの挙動がマバカムテン処理により改善されることが示された。

Table 3.3-1: In vitro 及び ex vivo の HCM モデルにおけるマバカムテンの作用に関する報告

Tested HCM pathogenic mutations	Test system	Noteworthy findings
Cardiac TnT and TnI mutations[16]	Thin filament including cardiac TnT R92Q or cardiac TnI R145G mutants Mutant human recombinant reconstituted thin filaments, with rabbit skeletal S1 Guinea pig cardiomyocytes adenovirally cotransduced (~50% mutant expression) 0.25 μM mavacamten	Blunted increased Ca^{2+} sensitivity (ATPase rate) Restored hypercontracted sarcomere length Accelerated abnormal relaxation and Ca^{2+} disassociation from the myofilament
MYBPC3 knockout[17]	Left ventricular fibers from cardiac MYBPC knockout mice 0.5 - 1 μM mavacamten	Normalized increased cross bridge recruitment at diastolic (preactivating) Ca^{2+}

Table 3.3-1: In vitro 及び ex vivo の HCM モデルにおけるマバカムテンの作用に関する報告

Tested HCM pathogenic mutations	Test system	Noteworthy findings
MYBPC3 mutations[18]	Cardiomyocytes from mice carrying heterozygous (MYBPC3t/+) or homozygous (MYBPC3t/t) truncating MYBPC3 mutations, expressing graded reductions of cardiac MYBPC protein (and wild type controls) Cardiomyocytes from wild type mice transfected with a cardiotropic adeno associated virus serotype 9 carrying green fluorescent protein and RNAi targeting MYBPC3 transcripts Healthy (donor) and HCM human heart fibers with heterozygous truncating MYBPC3 mutations Up to 0.3 µM mavacamten	Dose dependently normalized sarcomere hypercontractility and shortened prolonged relaxation times (in MYBPC3t/t) Restored population of myosin heads in the low energy consumption (ordered) SRX state
MYBPC3 mutations[19]	Control and MYBPC haplo-insufficient constructs of human iPSC-CMs (via CRISPR/Cas9 mutagenesis) Up to 10 µM mavacamten	Dose-dependent reduction in sarcomere contractility and shortening of relaxation times
β-cardiac myosin heavy chain (MYH7) mutations[20]	Left ventricular fibers from Yucatan mini-pigs carrying heterozygous MYH7 R403Q mutation (and wild-type controls) Ventricular tissues from HCM patients (MYH7 R663H) or from nonfailing donor hearts (control) 1 µM mavacamten	Restored population of myosin heads in SRX state Restored both thick filament ordering and population of myosin heads available to interact with actin Normalized/blunted diastolic (pre activating Ca^{2+}) tension development
α and β cardiac myosin heavy chain (MYH6 and MYH7, respectively) mutations[21]	Cardiomyocytes and heart tissue from heterozygous mice carrying pathogenic MYH6 mutations (R403Q, V606M, and R719W) Control and MYH7 (R403Q, V606M, and R719W) mutant human iPSC-CMs constructs (via CRISPR/Cas9 mutagenesis) Healthy (donor) and HCM human heart fibers with MYH7 mutations 0.3~3 µM mavacamten	Restored population of myosin heads in SRX state Dose dependently normalized sarcomere hypercontractility and shortened prolonged relaxation times Normalized increased basal oxygen consumption rate

ATPase, adenosine triphosphate hydrolase; CRISPR/Cas9, clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR associated proteins; RNAi, ribonucleic acid interference.

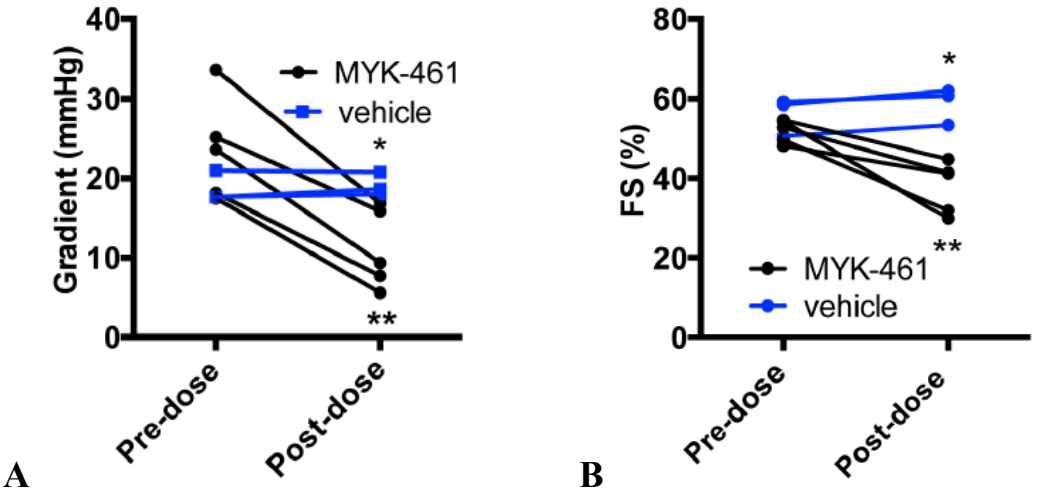
In vivo におけるマバカムテン又はそのフッ素化ツール化合物であり同等の生化学的性質を有する MYK-581（ウシ心筋及びウサギ骨格筋に対する IC50 はそれぞれ 0.32 及び 2.23 μM）[49]の有効性を HCM の自然発症モデル及び遺伝子改変動物モデルを用いて評価した。

心筋ミオシン重鎖遺伝子における HCM 病因性変異（R403Q、R453C 及び R719W）のヘテロ接合マウス（非閉塞性 HCM モデル）において、マバカムテンを長期投与（2.5 mg/kg/day で最長 26 週間の飲水投与、n = 6～9）した [40]。マバカムテン投与により、FS が低下し、心室肥大、心筋細胞の錯綜配列、心筋線維症が抑制され、心肥大及び線維化促進と関連する遺伝子発現の抑制も示された。特に、R403Q 変異型を有するマウスでは、FS の低下がわずかであったにもかかわらず、これらの有益な作用が認められた。また、心筋ストレスに関連するナトリウム利尿ペプチド前駆体をコードする NPPA 及び NPPB の発現についてもそれぞれマバカムテン投与による抑制及び抑制傾向が示された（データ示さず）。

心筋トロポニン TnT の R92L 又は R92W 変異型を遺伝子導入し、左室において異常な拡張特性を示す雌性遺伝子改変 HCM モデルマウス（非閉塞性 HCM モデル）を用いて、マバカムテンを長期間投与（0.83 mg/kg/day で最長 6 ヵ月間の飲水投与、各変異型 n = 5）した［試験番号 NC-20-0066（モジュール 4.2.1.1-16）］。マバカムテン投与により、E/e'及び E の減速時間がいずれも改善したことから（データ示さず）、in vivo での拡張機能の改善が示され、in vitro での結果 [42] と一致した。なお、この試験において血漿中総マバカムテン濃度は 0.70～2.23 μM（ヒトでの 1 日最大濃度の約 0.27～0.87 倍）であった。

β-AR アゴニストの投与により LVOT 閉塞を誘導した HCM 自然発生ネコ（oHCM モデル）を用いて、マバカムテンの有効性を評価した[50]。本モデルはサルコメアタンパク質における既知の HCM 病因性変異を有さない。麻酔した同モデルネコにアトロピンを 0.04 mg/kg で静脈内投与した後に、イソプロテレノールを 0.04 μg/kg/min で試験を通して静脈内投与することで LVOT 閉塞を誘導した。同一のネコにおいて、低（0.12 及び 0.15 mg/kg/h）及び高用量（0.3 及び 0.36 mg/kg/h）のマバカムテン［媒体として PEG400：生理食塩液（1:1）の混合液を使用］を 0.3、0.12、0.36 及び 0.15 mg/kg/h の順で連続的に静脈内投与し（n = 5、媒体対照群 n = 3）、血液試料の採取と心エコー測定を実施した。高用量では 5 分間投与後に心エコー検査を開始し、合計 10 分間投与した。マバカムテンの静脈内投与により、FS 及び LVOT 閉塞がいずれも曝露量依存的かつ統計学的有意に低下し、僧帽弁の収縮期前方運動が抑制された（Figure 3.3-1）。本試験により、HCM 病因性変異を有さないモデルでの有効性が示された。

Figure 3.3-1: HCM 自然発生モデルネコにおけるマバカムテンによる作用

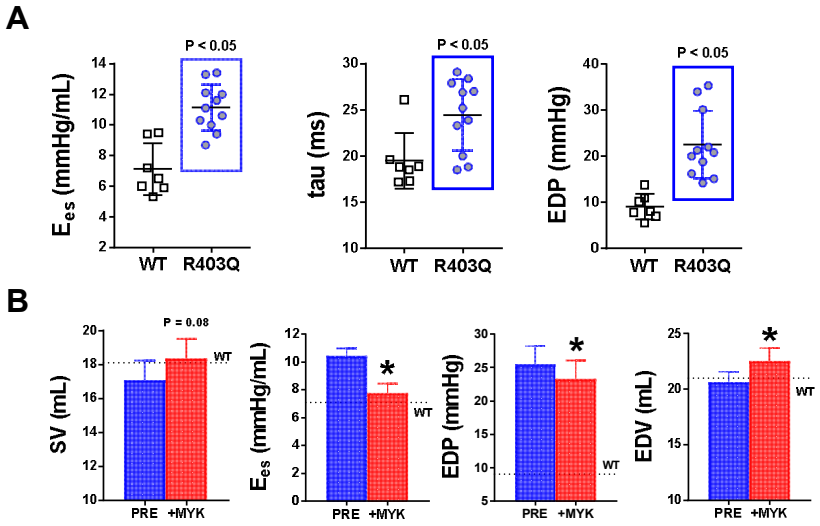


A: Before and after plot of LVOT pressure gradient. *, P = 0.038 vs vehicle by unpaired t-test; **, P = 0.0007 vs predose by paired t-test.
B: Before and after plot of FS in response to treatment with MYK-461. *, P = 0.03 vs vehicle by unpaired t-test; **, P = 0.01 vs predose by paired t-test.
Source: Stern et al.[50] [Figure (https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0168407)/ CCBY]

MYBPC3 の A31P 変異型遺伝子ホモ接合ネコの HCM 自然発生モデル（oHCM モデル）において、MYK-581 の有効性を評価した[51]。同モデルにおいて、MYK-581（0.5 mg/kg/h）の 30 分間の単回静脈内投与により（n = 8）、投与前値と比較して FS 及び PRSW が低下し、動的 LVOT 閉塞の発現が抑制された。また、左室拡張末期径は増加したにもかかわらず、EDP 及び Eed は低下した（データ示さず）。

HCM 病因性の R403Q 変異型 MYH7 ヘテロ接合ユカタンミニブタを遺伝子改変 HCM モデル（非閉塞性 HCM モデル）として用い、MYK-581 投与による有効性を評価した[52]。同モデル（n = 11）では野生型（n = 7）と比較して、ヒト HCM で認められる収縮期及び拡張期の異常と一致して、EDP 及び Ees の亢進並びに tau の延長が示された（Figure 3.3-2）。また、同モデルでは心室における線維化が報告されている[53]。このような HCM 発症ブタモデル（n = 8）において、MYK-581（0.25 mg/kg）を単回静脈内投与した。投与前と比較して SV の増加傾向、Ees の低下、EDV の増加及び EDP の低下がみられ、収縮及び拡張機能並びに左室の心筋伸展性における改善が示された（Figure 3.3-2）。これらの作用は、MYH7 に HCM 病因性変異 R663H を有する HCM 患者の心筋組織から単離した心筋線維におけるマバカムテンによる SRX 状態の増加[20]と一致すると考えられた。さらに、MYK-581 投与条件で DOB の静脈内投与（10 µg/kg/min）による負荷に反応して SV が顕著に増加し（データ示さず）、HCM 発症ブタモデルでの β-AR 作動性心予備能の低下が MYK-581 投与により改善することが示された。

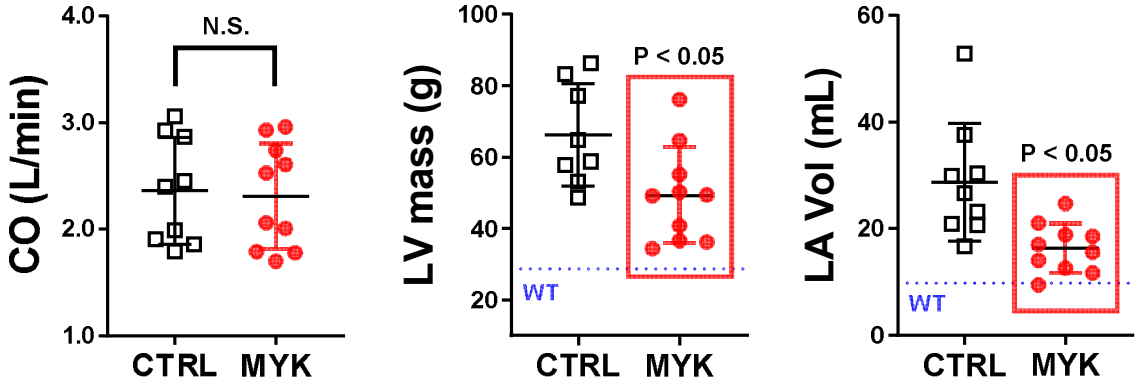
Figure 3.3-2: **R403Q 変異型 MYH7 を有する遺伝子改変 HCM ブタモデルにおける MYK-581 の単回静脈内投与による作用**



*, P < 0.05 vs PRE. Data were compared using either unpaired or paired t-tests.
A: Effects of R403Q mutation of MYH7 on Ees, tau, and EDP.
Data are shown as scatter plot with mean ± SEM of WT and R403Q animals.
B: Effects of MYK treatment on SV, Ees, EDP, and EDV. Black dotted line indicates the values of the WT animal.
Data are mean ± SEM, showing predosing/baseline (HCM) and steady state treatment values (+MYK) in R403Q animals.
MYK, MYK-581; PRE, predose; tau, time constant of relaxation (half maximal); WT, wild type.
Source: del Rio et al.[52]

同じHCM発症ブタモデルを用いて、MYK-581（最初の3週間に5 mg/day、次の5週間に7.5 mg/day、その後 10 mg/day で 6 週間）を反復経口投与し（n＝10）、磁気共鳴画像法による心臓の T1 マッピング及び細胞外容積分画（ECV）を含む評価を実施した[54]。β-AR アゴニスト DOB（10 µg/kg/min、n＝6）を静脈内投与により併用した試験も実施し、侵襲性血行動態評価（試験終了時）を実施した。MYK-581 投与により、無処置対照群と比較して CO は変化せず、左室重量及び左心房体積のいずれもが減少した（Figure 3.3-3）。また、EF が抑制されて左心房容積が縮小し、非造影心筋 T1 値及び ECV 値が低下して、左室の構造及び心筋伸展性の改善が示唆された。実際に、MYK-581 投与による EDP、Eed 及び tauw の低下又は短縮がみられた。さらに、試験期間中の死亡率は無処置対照群と比較して MYK-581 投与群で低かった。また、β-AR アゴニスト DOB 及び MYK-581 の併用試験において、MYK-581 投与条件で DOB 投与により SV が増加して β-AR 刺激反応性が示され（いずれもデータ示さず）、正常動物での結果（3.2.7 項）と一致した。

Figure 3.3-3: **R403Q 変異型 MYH7 を有する遺伝子改変 HCM ブタモデルにおける MYK-581 の反復経口投与による作用**



Data were compared using unpaired t-tests.
Effects of MYK treatment on CO, LV mass, and LA Vol in mini pig genetic model of HCM.
Data are shown as scatter plot with mean ± SEM. Blue dotted line indicates the values of the WT animal.
CTRL, control; LA Vol, left atrial volume; LV mass, left ventricular mass; MYK, MYK-581; N.S., not significant; WT, wild type.
Source: del Rio et al.[54]

以上の複数の HCM の自然発症モデル及び遺伝子改変モデルを用いた試験において、マバカムテン又は MYK-581 の投与による LVOT 閉塞と関連する症状の早期の軽減と拡張機能障害の改善に加えて、心筋ストレスの軽減及び心室肥大の抑制が示された。

4 副次的薬理試験

4.1 標的外作用及び細胞傷害性の評価

［試験番号 NC-14-0009（モジュール 4.2.1.2-1）、NC-14-0007（モジュール 4.2.1.2-2）及び NC-14-0008（モジュール 4.2.1.2-3）］

マバカムテンの標的選択性を確認するために、ヒトのキナーゼ、酵素及び受容体を含む複数の標的外タンパク質に対する作用の有無を評価した。

ヒトのキナーゼ、酵素及び受容体を含む 143 種のタンパク質に対して、10 µM［ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度（3.1.1 項）の約 55.9 倍］のマバカムテンによる顕著な作用（50%以上の活性化又は阻害）は認められなかった（試験番号 NC-14-0009）。

13 種類の細胞株を用いた細胞傷害性試験で、マバカムテン（0.1、0.3、1、3、10 及び 30 µM）の 48 時間処理による細胞傷害性は認められなかった（試験番号 NC-14-0007）。

HepG2 細胞を用いた試験では、10 µM までの濃度で 72 時間処理した結果、細胞膜透過性のわずかな増加が認められたが、50%活性化濃度（AC50）は 10 µM 超であった。細胞数、核面積及び DNA 構

造並びにミトコンドリアの大きさ及び膜電位において媒体対照と比較した変化はみられず、細胞傷害性及びチトクローム C 放出も認められなかった（試験番号 NC-14-0008）。

以上の結果から、マバカムテンが標的選択性を有し、細胞傷害性への影響は認められないことが確認された。

4.2 血管収縮に及ぼす作用

In vitro 試験で、マバカムテンはニワトリ由来の平滑筋ミオシンを阻害せず（3.1.1 項）、血管平滑筋の収縮性に作用しないことが示唆された。また、テレメトリー機器を装着した正常イヌにマバカムテン（1.5 mg/kg）を単回経口投与した試験（試験 A、3.2.3 項）において（試験番号 NC-20-0059）、投与前値と比較して EF が減少し、PP が低下したにもかかわらず、MBP 及び CO は顕著に変化しなかった（Table 3.2.4-1）。CO 及び MBP がいずれも顕著に変化しなかったことから、全身血管抵抗は維持されていることが示唆され、in vitro 試験で示されたマバカムテンの心筋ミオシン選択性を反映する結果となった。また、覚醒正常イヌを用いた心血管系及び呼吸系に及ぼす影響の評価（5.2 項）においても血管収縮に対する直接的な作用は示されなかった。

以上より、マバカムテンは血管収縮に直接的に作用しないことが示された。

4.3 In vivo での骨格筋機能に及ぼす作用

マバカムテンはアクトミオシン系においてウサギの骨格筋速筋ミオシンに対しても弱い作用を示すものの、ウシ及びヒトの心筋ミオシン並びにウシの骨格筋遅筋ミオシンをより強力に阻害した [34]（試験番号 NC-14-0005 及び 3.1.1 項）。マバカムテンは心筋と共通のアイソフォームである骨格筋遅筋のミオシンに対しても生化学的阻害作用を有する（3.1.1 項）ため、覚醒マウス及びラットの骨格筋機能に対する影響を評価した。

雄性の C57/BL6 マウスに媒体（1%ジメチルスルホキシド）又はマバカムテンを飲水投与して（n = 4）自発的ケージホイール運動に及ぼす影響を評価し報告している [40]。マバカムテンを 0.0075 mg/mL 溶液になるように調製し、1.25 mg/kg/day を目標用量として投与した。ホイールシステムを含む個別ケージにマウスを収容して投与開始（Day 4）の前 3 日間で動物をケージ及びホイールに馴化させ、各動物の日ごとの運動量としてケージホイールでの走行時間及び距離を記録した。ケージホイールでの走行時間及び距離のいずれにおいてもマバカムテン投与群と媒体対照群で統計学的有意な差は認められなかった（t-test）。

前肢及び後肢握力並びに自発運動量に及ぼす影響を、中枢神経系の安全性薬理評価（試験番号 NC-15-0006）の一環として、雄性正常ラット（Sprague Dawley）に媒体（0.5%メチルセルロース）又はマバカムテン（1、3 及び 10 mg/kg）を単回経口投与後に評価した（n = 8）。評価した用量では、検討したいずれの機能パラメータにもマバカムテンに関連した変化は認められなかった。自動計測システムを用いて測定した投与 2 及び 24 時間後の握力及び活動レベルはいずれも、マバカムテン投与群と媒体対照群で同様であった。

さらに、心臓、骨格筋及び横隔膜の機能に対する MYK-581 の作用を in situ 及び in vivo で評価した[49]。麻酔（イソフルラン）かつ人工呼吸下のラット（Sprague Dawley）に MYK-581（最高用量 0.5 mg/kg、n = 8）を静脈内投与し、左室内圧を測定することにより心機能を評価した。内因性及び横隔神経の刺激による横隔膜収縮及び大腿四頭筋の刺激による骨格筋収縮をひずみゲージを用いて測定した。MYK-581 投与により、心収縮機能の指標が低下したものの、横隔膜張力又は骨格筋張力のいずれにも顕著な影響はみられなかった。

以上より、マバカムテンが標的外及び細胞傷害性作用並びに血管収縮に対する直接的な作用を有しておらず、心筋ミオシンを選択的に阻害することが示された。マバカムテン（又は MYK-581）は in vivo で、骨格筋機能に影響しないことが示され、これは健康被験者を対象とした臨床試験においてマバカムテン投与により骨格筋機能で顕著な変化がみられないこと【Clinical study report: MYK-461-002、13.1 項】と一致した。

5 安全性薬理試験

ICH ガイドライン M3(R2)、S7A 及び S7B に従い、in vitro での hERG イオンチャネル電流に及ぼす影響の評価、in vivo でのテレメトリー機器及び呼吸記録用バンドを装着したイヌを用いた心血管系及び呼吸系の評価並びにラットを用いた中枢神経系の評価を GLP に適合した試験により実施し（Table 5-1）、マバカムテンの安全性薬理を評価した。健康被験者を対象とした臨床試験【モジュール 2.7.6、1.3.2.12.4 項】並びにイヌ 3 ヵ月間［試験番号 NC-19-0051（モジュール 4.2.3.2-8）］及び 39 週間［試験番号 NC-16-0048（モジュール 4.2.3.2-9）、【モジュール 2.6.6、3.9 項】］反復経口投与毒性試験において QTc 間隔の軽度延長がみられたことから、複数の in vitro 試験、in silico 解析及び反復投与 in vivo 試験を実施し、正常動物を用いた効力を裏付ける試験（試験番号 NC-20-0059）及び上記非臨床毒性試験で得られた心電図の解析も含めて電気生理学的な安全性評価を詳細に実施した。

患者への投与に際しては、忍容性及び治療反応に応じて用量を個別に調節するが、MYK-461-005（EXPLORER-HCM）試験は血漿中トラフ濃度が 700 ng/mL 未満を目標としてデザインされている【モジュール 2.7.3、1.1.1 項】。この範囲の上限値 700 ng/mL をヒトでの 1 日最大濃度とした。当該濃度での遊離型推定濃度は、非結合型分率の約 0.07【モジュール 2.6.4、4.3 項】から約 0.179 μM と算出された（ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度）。これらの値を基準に各試験での安全域を算出した。また、ヒトではマバカムテンの主要な代謝物として MYK-1078 が報告されており、健康被験者において[^{14}C]マバカムテンの単回経口投与後に MYK-1078 は血漿中総放射能曝露量の 3.56%を占めた【モジュール 2.7.2、3.2.3 項】。

Table 5-1: 実施した GLP 適合の安全性薬理評価

Target/organs	Test system	Study report number	Concentration/ Dose and route
hERG	HEK293 cells (in vitro)	NC-14-0061	10 and 60 µM
Respiratory and cardiovascular	Dog (in vivo)	NC-15-0007	1, 3, and 10 mg/kg PO
CNS	Rat (in vivo)	NC-15-0006	1, 3, and 10 mg/kg PO

CNS, central nervous system; HEK293, human embryonic kidney cells 293; PO, oral.

5.1 hERG イオンチャネル電流に及ぼす影響の評価（GLP 適合）

［試験番号 NC-14-0061（モジュール 4.2.1.3-1）：薬理試験概要表 2.6.3.4］

生理的温度付近（34 ± 1°C）において、急速活性化遅延整流性カリウムチャネル電流（I_{Kr}）を担う hERG を安定的に発現させた HEK293 細胞を用いて、hERG イオンチャネル電流に及ぼすマバカムテンの作用を評価した（n = 3 又は 4）。10 及び 60 µM の高濃度（ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度の約 55.9 及び 335.2 倍）での短時間（5.5 分未満）処理により、それぞれ−5.0 ± 0.6 及び −9.6 ± 0.6%（平均値 ± SEM）の阻害が認められた［いずれも $P < 0.05$、一元配置分散分析（ANOVA）後の Dunnett's test］（Table 5.4.6-1）。

5.2 覚醒イヌを用いた心血管系及び呼吸系に及ぼす影響の評価（GLP 適合）

［試験番号 NC-15-0007（モジュール 4.2.1.3-2）：薬理試験概要表 2.6.3.4］

テレメトリー機器及び呼吸記録用バンドを装着した正常雄性イヌ（Beagle）に、媒体（0.5%メチルセルロース）又はマバカムテン（1、3 及び 10 mg/kg）を単回経口投与した（各 n = 4）。その後、媒体対照群及び 10 mg/kg 投与群に、それぞれ追加の心血管系モニタリング（媒体対照群を使用）及びトキシコキネティクス解析（10 mg/kg 投与群を使用）の目的で、再度マバカムテンを 10 mg/kg で単回経口投与した。

投与日（Day 1）の投与前（少なくとも 2 時間）及び投与後（少なくとも 24 時間）に、テレメトリー機器により測定した全身血行動態（MBP 及び HR）、心電図（RR、PR、QRS 及び QT 間隔）、体温及び活動量並びに呼吸記録用バンドにより測定した呼吸パラメータ（1 回換気量、呼吸数及び分時換気量）を連続的に収集し、投与 7、14、21 及び 28 日後に 24 時間連続測定を実施した。トキシコキネティクス解析用の血液試料は、初回投与の 24 時間後並びに 8、15、22 及び 29 日後に全動物から採取した。再投与での心血管系モニタリングのデータは、投与前（2 時間）及び投与後（運動時を除き 96 時間以上）に継続的に収集し、投与 7 日後には 24 時間連続測定を実施した。また、最初のテレメトリーデータ収集期の終了後にマバカムテンを 10 mg/kg で追加投与し、0.5、1、2、4、8

及び 24 時間に血液試料を採取した。統計解析は、ANOVA 後の Williams' test 又は Dunnett's test により実施した。結果は平均値 ± SEM［最高血漿中濃度（Cmax）は平均値 ± SD］で示す。

10 mg/kg 投与時の平均 Cmax は 729 ± 121 ng/mL であり、ヒトでの 1 日最大濃度の約 1.04 倍であった。本試験を通じて死亡例はみられなかった。

1 mg/kg での投与により、心血管系及び呼吸系への影響は認められなかった。

3 及び 10 mg/kg での投与により、心機能の阻害作用と一致して、SBP 及び PP が用量依存的に低下し、代償的に HR が亢進した。3 mg/kg で SBP は Day 1 の投与 5 時間後で投与前と比較して−16 ± 1%低下し［124 ± 2 vs 媒体対照群で 142 ± 7 mmHg（P < 0.05）］、HR は投与前と比較して+48 ± 14%増加した［119 ± 12 vs 媒体対照群で 71 ± 2 bpm（P < 0.05）］。10 mg/kg での SBP 及び HR の変化は顕著であり Day 1 の投与 5 時間後で投与前値と比較してそれぞれ−26 ± 4%の低下及び+122 ± 28%の亢進であった。10 mg/kg での SBP 及び HR の変化は Week 1 まで持続し、嘔吐、活動低下、呼吸数の増加及び摂餌量の減少を含む一般状態の変化を伴った。

10 mg/kg での投与により、投与後 24 時間まで呼吸系への中等度の影響がみられ、呼吸数の増加及び一回換気量の減少が認められ、分時換気量に変化はみられなかった。

10 mg/kg での投与により、8 例中 5 例で Week 3 まで心室異所性活動の発現頻度がわずかに増加した。3 及び 10 mg/kg 投与群の各 1 例では、投与 28 日後まで心室補充収縮の発現頻度が高かった。心電図ピアレビューでは、高用量群の 1 例で房室接合部の期外脱分極が報告されたものの、心室の異所性脱分極は裏付けられなかった。

いずれの用量でも QRS 間隔に変化は認められなかったものの、3 及び 10 mg/kg 投与群では Day 4 まで PR 間隔の短縮が認められ、HR の亢進を反映したものと考えられた。

長期投与試験｛5.4.3 及び 5.4.5 項並びにイヌ 3 ヵ月間［試験番号 NC-19-0051（モジュール 4.2.3.2-8）］及び 39 週間［試験番号 NC-16-0048（モジュール 4.2.3.2-9）、【モジュール 2.6.6、3.9 項】］反復経口投与毒性試験｝では QTc 間隔延長がみられたのに対して、本試験では投与 5 時間後に 3 mg/kg での投与により、SBP 及び HR の変化に伴って QT 間隔は投与前値 242 ± 8 ms から 211 ± 9 ms へと短縮した。しかしながら、個体ごとの HR 値を用いて Ollerstam の式で補正した QT（QTcR）間隔[55]は投与前値及び投与後でそれぞれ 242 ± 7 及び 230 ± 7 ms と算出され、QT 間隔の短縮は鈍化又は消失する傾向がみられた。

10 mg/kg でも QT 間隔の短縮がみられ、用量依存的であった。一方で QTcR 間隔はわずかに延長したものの、QTcR 間隔延長の時期は HR 亢進と同時期であり HR の顕著な亢進に起因すると考えられた。投与 7 日後においても、マバカムテンの 10 mg/kg 投与によるわずかな QTcR 間隔延長がみられた。この結果は、イヌでの長い半減期[56]により持続する曝露量（Day 9 で血漿中濃度：188 ± 110 ng/mL、ヒトでの 1 日最大濃度の約 0.27 倍）及びこの用量で Week 1 まで認められた心血管系への影響を反映

している可能性が考えられた。さらに、独立ピアレビューで評価し、リエントリー性不整脈素因の推定に使用される心室レスティチューションの傾き（QT 及び TQ 間隔の比）が 1 を大きく下回ったままであったこと、QT 間隔における不安定性の指標である QT 間隔の 10 パーセンタイルと 90 パーセンタイルの差（ΔQT90-10%）が投与前値から上昇していたものの、媒体対照群の投与前値と同程度であったことから（16 ± 3.1 ms vs 媒体対照群の投与前値 16 ± 2.9 ms）、マバカムテン投与と関連した QT 間隔延長が TdP 誘発性又は非誘発性の不整脈を生じるリスクは低いと考えられた。

5.3 正常ラットを用いた中枢神経系に及ぼす影響の評価（GLP 適合）

［試験番号 NC-15-0006（モジュール 4.2.1.3-3）：薬理試験概要表 2.6.3.4］

正常雄性ラット（Sprague Dawley）に媒体（0.5%メチルセルロース）又はマバカムテン（1、3 及び 10 mg/kg）を単回経口投与し（n = 8）、機能観察総合評価（FOB）[57]及び運動活動性の評価を投与前並びに投与 2 及び 24 時間後に盲検下で実施した。統計解析は、Bartlett's test 後に Williams' test、Dunnett's test、Shirley's test 又は Steel's test を実施した。結果は平均値 ± SD で示す。

自動化システムで測定した垂直活動のレベルは、投与 2 時間後に媒体対照群及び 10 mg/kg 投与群で、それぞれ 30 ± 4.7 及び 29 ± 9.1 回であり、統計学的有意な差はみられなかった。水平活動でも同様の結果となった。

10 mg/kg 投与群では、投与 24 時間後に投与前値及び媒体対照群と比較して−1.0℃の統計学的有意でない軽微な平均体温の低下が認められた。マバカムテンを 8～10 mg/kg で投与したラット（試験番号 NC-20-0055）では、FS が短縮したことから（Figure 3.2.1-1）、この用量での CO の減少を反映したものと考えられた。

評価した用量では、FOB 及び運動活動性の評価のいずれでも、マバカムテンによる中枢神経系に及ぼす影響は認められなかった。

5.4 電気生理学的評価

In vivo の効力を裏付ける試験（試験番号 NC-20-0059）及びイヌ反復経口投与毒性試験（試験番号 NC-19-0051 及び NC-16-0048）で得られた心電図の解析並びに複数の独立した in vitro、in silico 及び in vivo の電気生理学的試験の実施により、マバカムテン及び代謝物 MYK-1078 の電気生理学的な安全性評価及び作用機序解析を実施した。電気生理学的評価の結果は 5.4.6 項及び Table 5.4.6-1 に要約した。

5.4.1 正常イヌでの単回経口投与試験における心電図の評価

効力を裏付ける試験として実施したテレメトリー機器を装着した正常イヌを用いた単回経口投与試験（3.2.3 項、試験番号 NC-20-0059 の試験 A）において、左室機能の評価及び心電図測定を実施した。

1.5 mg/kg での投与により、投与 3 及び 24 時間後での HR の亢進並びに 3 時間後の dP/dtmax の減少が示された（Table 5.4.1-1）。

心電図測定では、PR 及び QRS 間隔の顕著な変化は認められなかった。投与 3 時間後に RR 間隔及び QT 間隔関係図において QT 間隔値が下方に移行し（任意の RR 間隔での QT 間隔が短縮する）（データ示さず）、再分極が急激に加速する可能性が示唆された。マバカムテン投与により、Fridericia の式で補正された QT（QTcF）間隔[58]はほとんど変化しなかったにもかかわらず、QT 間隔の絶対値及び RR 間隔を 1000 ms として補正した QT（QT1000）間隔のいずれも短縮した（Table 5.4.1-1）。本試験では、心室における再分極の終了に相当する T 波の終期（Tend）から機械的充満の開始（Pmin）までの時間的間隔として定義される電気機械的ウインドウ（EMw）がマバカムテン投与により延長した（Table 5.4.1-1）。既知の TdP 誘発物質では EMw の短縮が報告されている[59,60]ことから、マバカムテン投与での EMw の延長による催不整脈リスクは低いことが示唆される。さらに、単回経口投与後 24 時間後まで QT 間隔延長は認められなかったことから、イオンチャネルの輸送に対する影響は無視できることが示唆された。

Table 5.4.1-1: 正常イヌでのマバカムテンの単回経口投与による左室機能及び心電図の変化

	HR (bpm)	PR (ms)	QRS (ms)	QT (ms)	QTcF (ms)	QT1000 (ms)	EMw (ms)	dP/dtmax (mmHg/s)
PRE	91 ± 8	89 ± 4	43 ± 2	226 ± 9	261 ± 4	234 ± 7	113 ± 6	3189 ± 431
3 h	106 ± 7↑	88 ± 4	43 ± 2	215 ± 7↓	261 ± 5	225 ± 7↓	161 ± 15↑	2331 ± 298↓
24 h	108 ± 10↑	89 ± 4	41 ± 1	214 ± 7	259 ± 3	226 ± 6	133 ± 7↑	2766 ± 258

↑, ↓: P < 0.05 vs PRE using unpaired t-tests.
Data (n = 7) are mean ± SEM, showing absolute value both predosing/baseline (PRE) as well as at 3 hours and 24 hours postdosing.
PRE, predose.
Source: Report NC-20-0059

5.4.2 イヌ 3 ヵ月間及び 39 週間反復経口投与毒性試験における心電図の評価

正常雌雄イヌ（Beagle）にマバカムテンを 3 ヵ月間（最高用量：雌雄 0.45 mg/kg/day）反復経口投与した非臨床毒性試験［試験番号 NC-19-0051（モジュール 4.2.3.2-8）］及び 39 週間（最高用量：雌 0.45 mg/kg/day、雄 0.3 mg/kg/day）反復経口投与した非臨床毒性試験［試験番号 NC-16-0048（モジュール 4.2.3.2-9）、【モジュール 2.6.6、3.9 項】］における心電図を評価した。

単回経口投与試験（5.4.1 項）で QTcF 間隔がほとんど変化しなかったのに対して、健康被験者を対象とした臨床試験【モジュール 2.7.6、1.3.2.12.4 項】と類似した QTcF 間隔延長が 0.18 mg/kg/day 以上の用量で認められた。39 週間反復投与試験でみられた QTcF 間隔の変化は、休薬後の回復期間に正常化した。

5.4.3 正常イヌでの 14 日間反復経口投与試験（テレメトリー）（GLP 非適合）

［試験番号 NC-20-0060（モジュール 4.2.1.3-4）：薬理試験概要表 2.6.3.4］

イヌ反復経口投与毒性試験（5.4.2 項）及び覚醒イヌを用いた心血管系及び呼吸系に及ぼす影響の評価（5.2 項）で QTc 間隔の変化がみられたため、正常イヌ（Beagle）を用いた 14 日間反復経口投与試験（GLP 非適合）でさらに検討した。

テレメトリー機器を装着した正常雄性イヌに媒体（ゼラチンカプセル）又はマバカムテンを反復経口投与（n = 4）した。媒体を Day 1 に投与し、マバカムテンを投与開始後 1 週間以内に定常状態かつ持続的な曝露量に達するように、Day 2 に 1.5 mg/kg を 2 回、Day 3 以降は 0.3 mg/kg を 1 日 1 回で 13 日間投与した。投与前、Day 1、2、4、8、11 及び 15 に左室圧及び心電図測定に関するテレメトリーデータの約 24 時間連続収集を実施した。また、Day −1、7 及び 14 の投与 3 時間後にブトルファノール（0.1～0.3 mg/kg）及びアセプロマジン（0.01～0.02 mg/kg）の投与により化学的に活動を制限する条件で心エコー検査を実施した。Day −1、3、7、10 及び 14 に血液試料を採取した。

この投与レジメンでの血漿中マバカムテン濃度は Day 7 及び 14 でそれぞれ 415 ± 48 及び 426 ± 54 ng/mL であり、ヒトでの 1 日最大濃度のそれぞれ約 0.59 及び 0.61 倍であった。

マバカムテン投与により EF 及び dP/dtmax が低下して左室 EDV が増加し（Table 5.4.3-1）、マバカムテンの薬力学的作用が確認された。

マバカムテン投与により、EDV の増加に伴って QT 間隔が延長する傾向が認められ、試験終了時（Day 15）の QTcF 間隔延長は投与前値と比較して+19 ± 2 ms に達した（Table 5.4.3-1）。この QTcF 間隔延長は主に早期再分極（J 波）の変化を反映する JTp 間隔の延長によるものであり、再分極の終末部に相当する T 波のピークから終期まで（Tpe）間隔にはほとんど変化がなかったことから（Table 5.4.3-1）、貫壁性再分極が維持され hERG イオンチャネルなどが担う遅延再分極電流が変化しないことが示唆された。QRS 及び PR 間隔並びに HR は顕著に変化せず、その他の心電図の変化も認められなかった。

Table 5.4.3-1: テレメトリー機器を装着した正常イヌにおけるマバカムテンの長期（14 日間）反復経口投与による機械的作用及び心電図の変化

		PRE	Day 8	*Change*	Day 15	*Change*
Mechanical effects	**EF (%)** [a]	71 ± 2	57 ± 2	*−21 ± 4%*↓	53 ± 3	*−26 ± 2%*↓
	EDV (mL) [a]	40.5 ± 6.4	46.5 ± 6.9	*+15 ± 1%*↑	49.7 ± 6.4	*+24 ± 3%*↑
	dP/dtmax (mmHg/s)	2584 ± 185	1957 ± 136	*−24 ± 4%*↓	1987 ± 93	*−22 ± 4%*↓
Electrocar-diographic effects	**HR (bpm)**	77 ± 3	80 ± 2	*+5 ± 5%*	78 ± 3	*+3 ± 7%*
	PR (ms)	98 ± 4	90 ± 3	*−8 ± 3%*	91 ± 4	*−7 ± 3%*
	QRS (ms)	45 ± 3	43 ± 2	*−4 ± 2%*	43 ± 2	*−3 ± 2%*

Table 5.4.3-1: テレメトリー機器を装着した正常イヌにおけるマバカムテンの長期（14日間）反復経口投与による機械的作用及び心電図の変化

	PRE	Day 8	*Change*	Day 15	*Change*
QT (ms)	230 ± 6	243 ± 8	*+5 ± 2%*	247 ± 9	*+7 ± 2%*
QTcF (ms)	255 ± 6	273 ± 8	*+17 ± 2*↑	274 ± 8	*+19 ± 2*↑
JTp (ms)	144 ± 4	159 ± 7	*+15 ± 5*	162 ± 5	*+19 ± 4*↑
Tpe (ms)	40 ± 3	43 ± 3	*+3 ± 1*	43 ± 2	*+3 ± 2*
EMw (ms)	84 ± 5	88 ± 5	*+6 ± 2*	89 ± 6	*+7 ± 4*

a The ventricular function and structure were evaluated via transthoracic echocardiography both prior to dosing (Day -1) as well as on study days 7 and 14.
↑, ↓: P < 0.05 vs PRE using one way ANOVA with post-hoc analysis.
Data are mean ± SEM, showing absolute value both predosing/baseline (PRE) as well as after 7 (Day 8) and 14 days (Day 15) of treatment; changes (from PRE) are shown in italics.
PRE, predose.
Source: Report NC-20-0060

以上より、正常イヌを用いた in vivo 試験（5.2 及び 5.4.1 項）において顕著な心機能抑制をもたらす用量で単回経口投与後 24 時間まで QT 間隔は変化しないか短縮することが示された。一方で、正常なイヌ及びラットでの長期反復経口投与では（5.4.2、5.4.3 及び 5.4.5 項）、遅発性の QTc 及び JTp 間隔の延長がみられ、正常な心臓におけるマバカムテンの二相性の心電図プロファイルが示された。このような長期投与で認められた QT 間隔延長は、hERG イオンチャネル非依存で TdP 及び催不整脈リスクは低いと考えられた。また、機械及び電気カップリング過程を介した拡張期圧の上昇による QT 間隔の延長が報告されており[61]、持続的な心臓の機能及び構造的変化により誘発される機械及び電気的リモデリングである可能性が考えられた。

5.4.4 In vitro 及び in silico での評価

マバカムテンの長期投与で QTc 間隔延長がみられたことから、マバカムテンがイオンホメオスタシス、電流又はチャネルに作用している可能性が考えられた。そのため、複数の in vitro 電気生理学的試験を実施して QTc 間隔変化の作用機序及び TdP リスクを評価した。

5.4.4.1 ウサギプルキンエ線維における活動電位に及ぼす影響（GLP 非適合）

［試験番号 NC-19-0036（モジュール 4.2.1.3-5）及び NC-19-0037（モジュール 4.2.1.3-6）：薬理試験概要表 2.6.3.4］

ウサギプルキンエ線維にマバカムテン及び代謝物である MYK-1078 を短時間処理し、活動電位（AP）波形及び AP 持続時間（APD）に及ぼす作用を評価した。0.3、3、10 及び 30 µM の濃度でマバカムテン（ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度のそれぞれ約 1.7、16.8、55.9 及び 167.6 倍）及び MYK-1078 を低い濃度から連続的に各濃度 30 分間で処理し、最高濃度で処理後にウォッシュアウトした。結果は平均値 ± SEM で示す。マバカムテン処理により（n = 5）、最高濃度 30 µM で 50%再

分極時間（APD50）が対照群と比較してわずかに短縮し（−4 ± 3%）、静止膜電位や他の AP パラメータへの影響は認められなかった（Table 5.4.6-1）（試験番号 NC-19-0036）ことから、マバカムテンがナトリウムイオン及び Ca^{2+}チャネルを軽度に阻害する可能性が示唆された。一方で、MYK-1078 を各濃度（n = 3）で 30 分間処理した同様の試験において、最高濃度 30 µM まで影響は認められなかった（試験番号 NC-19-0037）。

5.4.4.2 正常心臓及び HCM 病態を有する心臓由来のヒト初代培養心室筋細胞における活動電位に及ぼす影響（GLP 非適合）

［試験番号 NC-20-0061（モジュール 4.2.1.3-7）：薬理試験概要表 2.6.3.4］

正常心臓及び HCM 病態を有する心臓由来のヒト初代培養心室筋細胞（それぞれ hVM 及び hHVM）を用いて、マバカムテンが AP に及ぼす影響を評価した。0.3、3、10 及び 30 µM の濃度でマバカムテン（ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度のそれぞれ約 1.7、16.8、55.9 及び 167.6 倍）及び MYK-1078 を 20 分間処理した。APD の解析では基本刺激周期（BCL）を 1000 ms とした。結果は処理前値と比較した変化（%）を平均値 ± SEM で示す。hVM において、マバカムテンにより、90%再分極時間（APD90）及び 30%再分極時間（APD30）が 3 及び 30 µM で濃度依存的に短縮し、APD90 と APD30 の差（APD90−APD30 値）がそれぞれ−15.4 ± 1.0 及び−17.4 ± 1.4%低下して AP 波形が尖鋭化した（Table 5.4.4.2-1）。一方で、MYK-1078 により軽度であるが濃度依存的に APD90 が延長し、3 及び 30 µM で APD90−APD30 値がそれぞれ+7.0 ± 1.4 及び+19.5 ± 1.4%上昇して AP 波形が平低化した。AP 波形に対するその他の影響は認められなかった。hHVM においても同様の結果となり、マバカムテン処理により APD90 及び APD30 が短縮したが、MYK-1078 処理により APD90 が延長した。また、hVM において 10 nM のドフェチリドにより hERG イオンチャネル電流遮断を介して APD 延長を誘発した場合でも、マバカムテンの併用により 3 及び 30 µM で APD90 における軽度の短縮がみられたことから、TdP 誘発と関連する hERG イオンチャネルとの相互作用は無視できる程度であることが示唆された。

Table 5.4.4.2-1: hVM 及び hHVM の活動電位におけるマバカムテン及び MYK-1078 の短時間処理による作用

		hVM		hHVM	
Compound	**Target**	**3 µM**	**30 µM**	**3 µM**	**30 µM**
MAVA	APD90 (%)	−18.1 ± 0.9	−25.4 ± 1.7	−21.3 ± 1.6	−35.0 ± 2.4
	APD30 (%)	−12.8 ± 2.0	−22.5 ± 1.0	−17.8 ± 2.9	−35.7 ± 1.1
	APD90−APD30 (ms)	−15.4 ± 1.0	−17.4 ± 1.4	ND	ND
MAVA + dofetilide	APD90 (%)	−12.4 ± 1.4	−18.4 ± 0.6	ND	ND

Table 5.4.4.2-1: hVM 及び hHVM の活動電位におけるマバカムテン及び MYK-1078 の短時間処理による作用

		hVM		hHVM	
Compound	**Target**	**3 µM**	**30 µM**	**3 µM**	**30 µM**
MYK-1078	APD90 (%)	+3.7 ± 0.8	+13.4 ± 0.8	+7.3 ± 0.5	+23.4 ± 0.4
	APD30 (%)	−2.8 ± 0.4	−1.6 ± 0.3	−1.1 ± 0.3	−4.5 ± 0.7
	APD90−APD30 (ms)	+7.0 ± 1.4	+19.5 ± 1.4	ND	ND

Data are mean ± SEM.
MAVA, mavacamten; ND, not determined.
Source: Report NC-20-0061

5.4.4.3 室温におけるマバカムテンの短時間処理が心臓イオンチャネルに及ぼす影響（GLP 非適合）

［試験番号 NC-19-0034（モジュール 4.2.1.3-8）及び NC-19-0035（モジュール 4.2.1.3-9）：薬理試験概要表 2.6.3.4］

室温において、ヒト心臓イオンチャネル Cav1.2、Cav3.2、HCN2、HCN4、hERG、Kir2.1、Kir3.1/3.4、Kir6.2/SUR2A、Kv1.5、Kv4.3 又は Kv4.3/KChIP2.2、KvLQT1/minK 並びに Nav1.5 をそれぞれ発現するチャイニーズハムスター卵巣（CHO）又は HEK293 細胞を用いて、心臓イオンチャネル電流に対するマバカムテン及び MYK-1078 の短時間処理による作用を評価した。結果は媒体対照と比較した変化（%）を平均値 ± SEM で示す。マバカムテンは 1、10 及び 30 µM（ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度のそれぞれ約 5.6、55.9 及び 167.6 倍）で、MYK-1078 は 30 µM で短時間（それぞれ 3 分間又は 3 分間以上）処理した（n＝3～7）。マバカムテンは hKir6.2 と SUR2A の複合体が担う I_{KATP} を 10 µM で阻害しなかった（+50.5 ± 25.1%）（試験番号 NC-19-0034）。hKv4.3 と KChIP2.2 の複合体が担う I_{to} に対する影響は、30 µM でも軽微であった（−12.6 ± 3.3%）（試験番号 NC-19-0035）（Table 5.4.6-1）。短時間処理では、マバカムテンのその他の心臓イオンチャネルに対する作用及び MYK-1078 の評価した全ての心臓イオンチャネルに対する影響は、いずれも 10%未満であった。

5.4.4.4 生理的温度におけるマバカムテンの短時間処理が心臓イオンチャネルに及ぼす影響（GLP 非適合）

［試験番号 NC-20-0061（モジュール 4.2.1.3-7）：薬理試験概要表 2.6.3.4］

生理的温度（37 ± 1℃）において、hVM 並びに Nav1.5(late)、Cav1.2（マバカムテンのみ）及び Kir6.2/SUR2A を発現する HEK293 細胞を用いて、0.3、3、10 及び 30 μM の濃度でマバカムテン（ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度のそれぞれ約 1.7、16.8、55.9 及び 167.6 倍）及び MYK-1078 を短時間（3 分間又は定常状態に達するまで）処理することで実施した。結果は、処理前値と比較した変化（%）を平均値 ± SEM で表示する。マバカムテン処理により、I_{to} において 30 μM で−12.4 ± 1.6%の軽度の阻害がみられ、室温での評価と同様の結果であった。緩徐活性化遅延整流カリウムチャネル電流（I_{Ks}）及び超急速活性化遅延整流カリウム電流（I_{Kur}）並びに内向き整流カリウム電流（I_{K1}）に対しては、マバカムテンは、30 μM でそれぞれ−2.3 ± 0.8、−8.3 ± 1.5 及び−4.9 ± 1.8%のわずかな阻害を示した。生理的温度において、マバカムテン及び MYK-1078 はいずれも、Cav1.2 が担う電流［L 型カルシウムチャネル電流（I_{CaL}）：30 μM でそれぞれ−14.7 ± 1.9 及び−10.3 ± 2.0%］及び I_{KATP}（30 μM でそれぞれ+4.3 ± 0.7 及び+4.3 ± 1.4%）に対して軽度ではあるが濃度依存的な作用を示し、APD を短縮した（Table 5.4.6-1）。また、マバカムテン及び MYK-1078 は、Nav1.5 が担う後期ナトリウム電流（I_{NaL}）を 30 μM でそれぞれ−40.4 ± 1.2 及び−79.3 ± 1.6%阻害し、IC50 はそれぞれ> 30 及び 10.9 μM であった（Table 5.4.6-1）。

5.4.4.5 ヒト初代培養心室筋細胞での心臓イオンチャネル電流に及ぼす影響（GLP 非適合）

［試験番号 NC-20-0061（モジュール 4.2.1.3-7）：薬理試験概要表 2.6.3.4］

hVM 及び hHVM での I_{NaL} 及び I_{Kr} に対するマバカムテン及び MYK-1078 の短時間処理による作用を、マニュアルパッチクランプ法により評価した。3 μM の濃度でマバカムテン（ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度の約 16.8 倍）及び MYK-1078 を約 20 分間処理した。マバカムテン未処理で、hHVM では hVM と比較してより強い I_{NaL} 及びより弱い I_{Kr} がみられた（Table 5.4.4.5-1）。hVM 及び hHVM において、マバカムテン及び MYK-1078 処理により、いずれも 3 μM で I_{NaL} が阻害され、hHVM でより顕著な作用が示された（Table 5.4.4.5-1 及び Table 5.4.6-1）。一方で、hVM 及び hHVM のいずれでも、I_{Kr} に対するマバカムテンの作用は無視できる程度であったものの、MYK-1078 による軽微な阻害がみられ、5.4.4.2 項での APD に関する結果が裏付けられた。

Table 5.4.4.5-1: hVM 及び hHVM におけるマバカムテン及び MYK-1078（3 µM）の短時間処理が心臓イオンチャネル電流に及ぼす影響

Compound	Target	hVM I (pA) [a]	hVM Inhibition (%) [b]	hVM Mean ± SEM	hHVM I (pA) [a]	hHVM Inhibition (%) [b]	hHVM Mean ± SEM
MAVA		−192.4	−11.3		−261.4	−19.7	
	I_{NaL}	−151.7	−18.8	−14.5 ± 2.2	−332.6	−22.5	−22.8 ± 1.9
		−181.2	−13.4		−294.5	−26.2	
		+185.1	−6.3		+98.4	−5.1	
	I_{Kr}	+155.0	−3.1	−4.9 ± 0.9	+81.0	−2.8	−5.5 ± 1.7
		+106.3	−5.2		+68.9	−8.7	
MYK-1078		−123.4	−16.8		−218.4	−29.7	
	I_{NaL}	−185.9	−24.1	−20.0 ± 2.1	−271.7	−23.9	−29.0 ± 2.8
		−204.2	−19.2		−297.6	−33.4	
		+165.7	−33.4		+92.1	−36.9	
	I_{Kr}	+112.1	−28.1	−28.9 ± 2.4	+65.6	−33.4	−34.1 ± 1.5
		+128.3	−25.1		+78.4	−32.0	

a Current amplitude of controls, showing either inward (−) or outward (+) direction.
b Relative blockade (in % vs control).
Data are either individual values (recorded from each cell, n = 3 per condition) or mean ± SEM.
MAVA, mavacamten.
Source: Report NC-20-0061

5.4.4.6 hERG イオンチャネルの細胞表面発現に及ぼす影響（GLP 非適合）

［試験番号 NC-19-0040（モジュール 4.2.1.3-10）、NC-20-0039（モジュール 4.2.1.3-11）及び NC-20-0042（モジュール 4.2.1.3-12）：薬理試験概要表 2.6.3.4］

生理的温度（37°C）において、hERG を遺伝子導入した HEK293 細胞を用い、ゲルダナマイシンを陽性対照とした試験において、hERG イオンチャネルの細胞表面発現に及ぼす作用を評価した。結果は媒体対照と比較した変化（%）を平均値 ± SEM で示す。0.1、0.3、1、3、10 及び 30 µM の濃度でマバカムテン（ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度のそれぞれ約 0.6、1.7、5.6、16.8、55.9 及び 167.6 倍）及び MYK-1078 の長時間（約 16 時間）処理により、マバカムテン又は MYK-1078 のいずれの処理でも、最高濃度 30 µM まで hERG イオンチャネルの細胞表面発現が維持されたことから、これらの化合物が hERG イオンチャネルの輸送を阻害しないことが示された（試験番号 NC-19-0040）。さらに、ペンタミジンを陽性対照とした室温の試験（n = 31 又は 32）では、マバカムテン及び MYK-1078 の最高濃度 30 µM での 24 時間処理により、hERG イオンチャネル電流に対して若干の作用が認められた（それぞれ−11.7 ± 1.7 及び−0.4 ± 1.5%）（試験番号 NC-20-0039）。同様に、I_{to} を担う hKv4.3 の細胞表面発現において、マバカムテンの最高濃度 30 µM での約 16 時間処理により顕著な変化は認められなかった（Table 5.4.6-1）（試験番号 NC-20-0042）。

5.4.4.7 心臓イオンチャネル電流におけるマバカムテンの長時間処理が及ぼす影響（GLP 非適合）

［試験番号 NC-20-0061（モジュール 4.2.1.3-7）］

生理的温度（37 ± 1℃）において、hVM 及び hERG を発現する HEK293 細胞を用いて、I_{Ks}、I_{K1}、I_{Kur}、I_{to} 及び I_{NaL} 並びに I_{Kr}（hERG イオンチャネル電流）に対するマバカムテン及び MYK-1078 の長時間処理による作用を評価した。0.3、3、10 及び 30 μM の濃度でマバカムテン（ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度のそれぞれ約 1.7、16.8、55.9 及び 167.6 倍）及び MYK-1078 により hVM 及び HEK293 細胞を 48 時間処理した（n = 8 又は 10）。長時間処理により、短時間処理（5.4.4.4 項）と同程度かつ濃度依存的に Nav1.5 が担う I_{NaL} が阻害され、IC50 はマバカムテン及び MYK-1078 でそれぞれ 30.7 及び 9.4 μM であった。マバカムテンの hERG イオンチャネル電流に対する阻害作用の IC50 は> 30 μM であり、ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度の約 167.6 倍超であった。MYK-1078 の同 IC50 は 5.3 μM であった。

5.4.4.8 ヒト iPSC-CM の電場電位及びインピーダンスにおけるマバカムテンの長時間処理が及ぼす影響（GLP 非適合）

［試験番号 NC-20-0038（モジュール 4.2.1.3-13）：薬理試験概要表 2.6.3.4］

生理的温度（37℃）において、ヒト iPSC-CM における電場電位及びインピーダンスに及ぼすマバカムテンの長時間処理の作用を評価した。マバカムテンを 0.03、0.1、0.3 及び 1 μM（ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度のそれぞれ約 0.2、0.6、1.7 及び 5.6 倍）で 2 時間から最長 7 日間まで処理した（n＝1～6）。結果は処理前値と比較した変化（%）を平均値±SEM で示す。マバカムテンの長時間処理によっても、電場電位持続時間の絶対値及び拍動数による補正値のいずれにも影響がみられず、hERG イオンチャネル電流の結果と一致した（5.4.4.6 項）。ヒト iPSC-CM において、マバカムテンの 1 μM での 24 時間処理により、収縮指標である単収縮でのインピーダンスの振幅が処理前値と比較して−98.7 ± 0.5%低下するものの（P＜0.05、Dunnett's test）、細胞興奮性には影響せず、ペンタミジンやモキシフロキサシンとは異なり、律動異常を示さなかった。

5.4.4.9 In silico での活動電位に及ぼす影響（GLP 非適合）

［試験番号 NC-20-0061（モジュール 4.2.1.3-7）：薬理試験概要表 2.6.3.4］

包括的な in vitro 催不整脈アッセイ（CiPA）イニシアティブ[62,63]に従って in silico の AP モデリング解析を実施した（試験番号 NC-20-0061）。本解析では、正常なヒト心内膜心筋細胞の AP に関する O'Hara-Rudy モデル[64]が TdP のリスク評価に最適化され[65]、これらのモデルをもとに作成された hHVM 及び対照群としての hVM のモデル[66]を使用した。マバカムテンを 0.3、3、10 及び 30 μM の濃度（ヒトでの 1 日最大濃度における遊離型推定濃度のそれぞれ約 1.7、16.8、55.9 及び 167.6 倍）で作用させた後に、活性が残存する I_{CaL}、I_{NaL}、I_{Kr}、I_{Ks}、I_{K1} 及び I_{to} 並びに APD について、平衡状態（BCL を 1000 ms として 100 拍動後に推定）で解析した。

マバカムテン処理により、30 μM の濃度で APD90 が最大となり（hVM 及び hHVM で処理前値と比較してそれぞれ+9.8 及び+3.0%）（Table 5.4.6-1）、正常及び HCM 病態のいずれのモデルでも早期後脱分極を促進する傾向はみられなかった。同様に、hERG イオンチャネル電流、I_{NaL} 及び I_{CaL} に対する作用に関するデータを利用した in silico QT フィンガープリント解析手法によっても QT 間隔延長はみられなかった（試験番号 NC-20-0061）。以上の in silico の電気生理学的プロファイル解析により、HCM 病態でマバカムテンの催不整脈リスクが低いことが示唆された。

5.4.5 覚醒ラットでの 7 日間反復経口投与試験（GLP 非適合）

［試験番号 NC-20-0062（モジュール 4.2.1.3-14）：薬理試験概要表 2.6.3.4］

正常な心臓ではマバカムテンの強力な陰性変力作用により左室に顕著な構造変化が生じることから、適応反応が惹起され早期再分極電流[67]が可逆的に抑制される可能性が考えられた。再分極が hERG イオンチャネル非依存で主に I_{to} に依存しており、代謝物として MYK-1078 を生じる動物種であるラット【モジュール 2.6.4、5 項】を用いて早期再分極電流に及ぼす作用を評価した。

正常雄性ラット（Sprague Dawley）を以下のようにコホート A 及び B に割り当て、評価を実施した。コホート A ではマバカムテン［4 mg/kg、媒体として DMA： PEG400：30% β シクロデキストリン水溶液（5：25：70）の混合液を使用］を 1 日 1 回で 7 日間経口投与し、心電図測定及び心エコー検査を投与前及び最終投与約 3 時間後に実施した（n = 5）。各時点で HR、RR 間隔、PR 間隔、QRS 間隔、QT 間隔及び HR で補正した QT 間隔を算出した。試験終了後に血液試料を採取した。コホート B ではマバカムテン（2 及び 4 mg/kg、n = 1 及び 11）又は媒体（0.5%メチルセルロース、n = 10）を 1 日 1 回で 7 日間経口投与した。投与前及び最終投与約 3 時間後に心エコー検査を実施した。試験終了後に血液試料を採取し、遺伝子発現解析に供するため左室組織試料を採取した。心臓の機械的指標である FS、HR 及び EDV は、コホート A 及び B での結果を統合して解析した。結果は平均値 ± SEM で示す。

Day 8 でのマバカムテンの血漿中濃度はコホート A 及び B でそれぞれ、902 ± 132 及び 623 ± 55 ng/mL（ヒトでの 1 日最大濃度のそれぞれ約 1.29 及び 0.89 倍）であった。

マバカムテン投与により試験終了時に投与前値と比較して EDV の増加を伴う FS の短縮がみられたことから、薬力学的作用が確認され（Table 5.4.5-1）、前述の結果（3.2.1 項）と一致した。HR の亢進も認められた。

マバカムテン投与群では、QT 間隔及び QTcF 間隔のいずれにも投与前値と比較して延長が認められ（Table 5.4.5-1）、QTcF 間隔及び EDV の変化量において相関関係がみられた（Figure 5.4.5-1 右）。PR 及び QRS 間隔の顕著な変化は認められなかった。

これらの機械的及び電気生理学的変化に伴って、ラットで早期再分極電流である I_{to} 及び I_{KATP} を担うイオンチャネルをコードする遺伝子（それぞれ KCND3 及び KCND2 並びに KCNJ12、ABCC8 及び KCNJ8）の発現が媒体対照群と比較して抑制された（Table 5.4.5-1）。これら 2 つの早期再分極電流

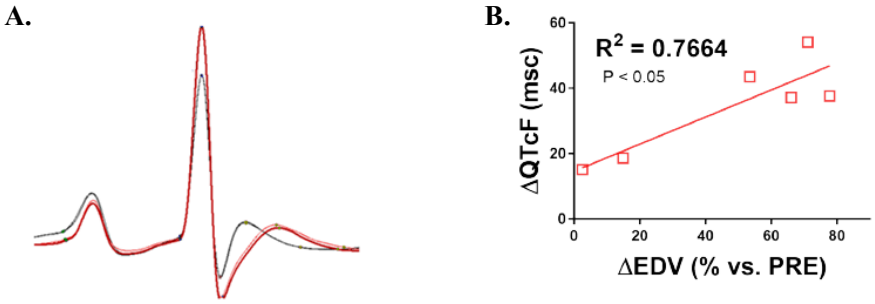
は遮断又は抑制されると APD が延長するにもかかわらず催不整脈リスクは無視できる程度であることが報告されている[68]。一方で、機械的な影響を受けていない哺乳類細胞では、マバカムテンの長期間曝露によっても I_{to} を担うイオンチャネル（ヒト KCND3 によりコードされるヒト Kv4.3）の細胞表面発現は維持され（試験報告 NC-20-0042）、ヒト Kv4.3 の細胞表面発現に対してマバカムテンの直接的作用がないことが示された（5.4.4.6 項）。

Table 5.4.5-1: 覚醒ラットにおけるマバカムテンの長期（7 日間）反復経口投与による機械的作用及び心電図の変化

		PRE or CTRL (gene expression)	Day 8	Change (%) vs PRE or CTRL
Mechanical effects (Cohort A and B)	**FS (%)**	47 ± 1	17 ± 2	*−65 ± 4*↓
	HR (bpm)	342 ± 7	379 ± 10	*+11 ± 2*↑
	EDV (µL)	330 ± 13	482 ± 23	*+48 ± 7*↑
Electrocardiographic effects (Cohort A)	**PR (ms)**	47 ± 1	45 ± 1	*−3 ± 2*
	QRS (ms)	18 ± 1	19 ± 1	*+1 ± 2*
	QT (ms)	55 ± 2	71 ± 5	*+15 ± 3*↑
	QTcB (ms)	135 ± 6	186 ± 11	*+51 ± 8*↑
	QTcF (ms)	100 ± 4	135 ± 8	*+34 ± 6*↑
Gene expression (Cohort B)	**KCND3**	6.1 ± 0.5	4.4 ± 0.2	*−28 ± 4* ↓
	KCND2	0.11 ± 0.01	0.06 ± 0.00	*−44 ± 4* ↓
	ABCC8	13.2 ± 0.6	10.5 ± 0.4	*−21 ± 3* ↓
	KCNJ8	17.5 ± 1.4	14.5 ± 0.8	*−17 ± 5*
	KCNJ12	19.5 ± 2.3	16.0 ± 0.8	*−18 ± 4*
	CACNA1C	24.1 ± 1.5	24.3 ± 1.1	*+1 ± 5*
	RYR2	113.6 ± 13.3	109.2 ± 10.6	*−4 ± 9*
	ATP2A2	2185.0 ± 64.7	1879.0 ± 75.6	*−14 ± 3* ↓
	SCN5A	84.7 ± 7.3	83.0 ± 5.5	*−2 ± 6*

↑, ↓: P < 0.05 vs PRE or CTRL by paired or unpaired t-tests.
Data are mean ± SEM, showing absolute value both predosing/baseline (PRE) and after 7 days of treatment (Day 8) with either placebo (CTRL) or mavacamten (at 2 and 4 mg/kg/day oral); changes (from PRE or CTRL) are shown in italics.
CTRL, control; PRE, predose; QTcB, corrected QT interval using the Bazett's formula.
Source: Report NC-20-0062

Figure 5.4.5-1: **覚醒ラットにおけるマバカムテンの長期（7 日間）反復経口投与による心電図の変化及び機械的作用**



A: Effects of sustained mavacamten exposure in healthy Sprague Dawley rats on electrocardiogram (representative). Red and black line means mavacamten treated and predose, respectively.
B: Relationships between changes (% vs PRE) in QTcF and EDV analyzed via linear regression.
PRE, predose.
Source: Report NC-20-0062

5.4.6 電気生理学的評価の要約

5.4 項で示した QT 間隔延長の作用機序に関する可能性及び電気生理学的に評価した結果を本項及び Table 5.4.6-1 に要約した。

正常なラット及びイヌを用いた試験では、薬力学的作用が確認できる用量での持続的曝露後に、健康被験者を対象とした臨床試験での結果【モジュール 2.7.6、1.3.2.12.4 項】と一致した軽度の QTc 間隔延長が認められた。このような QTc 間隔延長は持続的な左室での心収縮機能の低下に伴って生じ、休薬により回復した。In vitro の評価において、マバカムテンは短期及び長期処理のいずれでも hERG イオンチャネルとの臨床的に意味のある相互作用を示さなかった。In vitro 及び in silico での電気生理学的解析において、リエントリー性不整脈及び TdP の傾向は示されなかった。正常イヌで認められた軽微な QTc 間隔延長は主に JTp 間隔の延長によるものであり、in vitro で hERG イオンチャネルに作用しない結果と一致した。これらの JTp の変化は J 波（QRS 間隔の末端部分）の軽度の変化を伴っており I_{to}[22] 又は I_{KATP}[23] などの早期再分極電流の密度及び均一性の変化を反映する可能性が考えられた。また、I_{NaL} が hVM と比較して hHVM で亢進しており、マバカムテンによりいずれの細胞でも中程度に阻害された。正常動物での 7 日間以上の長期投与によるこのような QTc 間隔延長は内因性の適応反応として生じ、hERG イオンチャネル電流の変化を介しておらず主に早期再分極電流である I_{to} 及び I_{KATP} [67] の抑制を介することが示された。HCM 病態においてはマバカムテン投与のない状態で既に I_{to} 及び I_{KATP} は消失又は減弱していることが報告されている[69,70]。また、I_{NaL} は HCM 病態で亢進することが報告されており [69]、in vitro 試験の結果と一致した。さらに、マバカムテンによる中等度の I_{NaL} 阻害とそれに付随する HCM 発症を抑制する有益な作用[71]により、早期再分極電流である I_{to} 及び I_{KATP} を軽度に抑制する影響が相殺され、QT 間隔及び APD が変化しない若しくは短縮する可能性が示唆された。また、マバカムテンは HCM 病態を有する心臓では心機能を改善するた

め、正常な心臓でマバカムテン投与による心機能抑制を介して誘発される QT 間隔延長を生じる電気生理学的リモデリングは HCM 病態では生じないと考えられる。実際に、HCM 患者を対象とした臨床試験【モジュール 2.7.4、2.1.6.3.2.4 項】においてマバカムテンの投与により QTc 間隔が延長する傾向は認められなかった。

以上より、正常な心臓でマバカムテンの持続的な曝露によりみられた QT 間隔延長は、hERG イオンチャネル電流の変化によるものでなく、マバカムテンによる心機能の抑制に対する二次的かつ正常な適応反応として生じる I_{to} などの早期再分極電流の変化による可能性が強く支持され、非臨床試験での正常動物及び臨床試験での健康被験者でマバカムテンの持続的曝露により QTc 間隔延長をもたらす作用が HCM 患者で生じる可能性は低いと考えられる。

Table 5.4.6-1: マバカムテンの主な電気生理学的作用

	Test system	Duration	Concentra-tion/dose	Observation	Study report
In vitro	HEK293	Acute	10 and 60 µM	hERG ↔ (−9.6% at 60 µM)	NC-14-0061
	Purkinje fibers	Acute	0.3, 3, 10, and 30 µM	APD90 ↓ (−1% at 30 µM) APD50 ↓ (−4% at 30 µM)	NC-19-0036
	hVM (healthy)	Acute	0.3, 3, 10, and 30 µM	APD90 ↓ (−25.4% at 30 µM)	NC-20-0061
			dofetilide (10 nM) + 0.3, 3, 10, and 30 µM	APD90 ↓ (−18.4% at 30 µM)	
	hHVM (HCM)	Acute	0.3, 3, 10, and 30 µM	APD90 ↓ (−35.0% at 30 µM)	
	HEK293/ CHO	Acute	1 and 10 µM	hERG ↔ (+4.3% at 10 µM) hCav1.2 ↔ (+5.7% at 10 µM) hKv4.3 ↔ (+3.9% at 10 µM)	NC-19-0034
	HEK293/ CHO	Acute	30 µM	hERG ↔ (+7.8%) hCav1.2 ↔ (+4.5%) hKv4.3/KChIP2.2 ↔ (−12.6%)	NC-19-0035
	HEK293	Acute	0.3, 3, 10, and 30 µM	I_{NaL} (Nav1.5 late) ↓ (−40.4% at 30 µM) I_{CaL} (Cav1.2) ↔ (−14.7% at 30 µM)	NC-20-0061
	hVM (healthy)	Acute	0.3, 3, 10, and 30 µM	I_{to} (Kv4.3) ↔ (−12.4% at 30 µM) I_{Ks} (KvLQT1) ↔ (−2.3% at 30 µM) I_{Kur} (Kv1.5) ↔ (−8.3% at 30 µM) I_{K1} (Kir2.1/2.2) ↔ (−4.9% at 30 µM)	
		Acute	3 µM	I_{NaL} (Nav1.5 late) ↔ (−14.5%) I_{Kr} (hERG) ↔ (−4.9%)	
	hHVM (HCM)	Acute	3 µM	I_{NaL} (Nav1.5 late) ↓ (−22.8%) I_{Kr} (hERG) ↔ (−5.5%)	
	HEK293	16 hour	0.1, 0.3, 1, 3, 10, and 30 µM	hERG (RSE) ↔ (trafficking)	NC-19-0040
	HEK293	16 hour	0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, and 30 µM	hKv4.3 (RSE) ↔ (trafficking)	NC-20-0042
	HEK293	24 hour	0.3, 3, and 30 µM	hERG ↔ (−11.7% at 30 µM)	NC-20-0039
	HEK293	48 hour	0.3, 3, 10, and 30 µM	I_{Kr} (hERG) ↓ (−31.5% at 30 µM)	NC-20-0061
	hVM	48 hour	0.3, 3, 10, and 30 µM	I_{NaL} (Nav1.5 late) ↓ (−49.0% at 30 µM) I_{to} (Kv4.3) ↔ (−3.4% at 30 µM) I_{Ks} (KvLQT1) ↔ (−11.0% at 30 µM) I_{Kur} (Kv1.5) ↔ (−6.8% at 30 µM) I_{K1} (Kir2.1/2.2) ↔ (−5.8% at 30 µM)	

Table 5.4.6-1: マバカムテンの主な電気生理学的作用

	Test system	Duration	Concentra-tion/dose	Observation	Study report
	hiPSC	168 hour	0.03, 0.1, 0.3, and 1 μM	FPD ↔, FPDcF ↔	NC-20-0038
In silico	0.3, 3, 10, and 30 μM At 30 μM: I_{Kr} (0.685, chronic), I_{NaL} (0.510, chronic), I_{CaL} (0.853), I_{Ks} (0.977), I_{K1} (0.951), and I_{to} (0.876) (fraction of control)			APD90: +9.8% (hVM) +3.0% (hHVM)	NC-20-0061
In vivo	Dog	Acute	3 and 10 mg/kg	QT ↓, QTcR ↔, HR ↑	NC-15-0007
	Dog	Acute	1.5 mg/kg	QT ↓, QTcF ↔, QT1000 ↓, HR ↑	NC-20-0059
	Dog	3 month	0.06, 0.18, 0.30, and 0.45 mg/kg/day	QT ↔, QTcV ↑, QTcF ↑, HR ↑	NC-19-0051
	Dog	39 week	0.06, 0.18, 0.30, and 0.45 mg/kg/day	QT ↔, QTcF ↑, HR ↔	NC-16-0048
	Dog	14 day	1.5 mg/kg on Day 2 + 0.3 mg/kg/day on Days 3~15	QT ↔, QTcF ↑, JTp ↑, HR ↔	NC-20-0060
	Rat	7 day	4 mg/kg	QT ↑, QTcF ↑, HR ↑	NC-20-0062
			2 and 4 mg/kg	KCND3/KCND2 (I_{to}) ↓ KCNJ12/ABCC8 and KCNJ8 (I_{KATP}) ↓ CACNA1C (I_{CaL}) ↔ SCN5A (I_{NaL}) ↔	

↑, ↓, or ↔, increased/prolonged, decreased/shortened/downregulated, or unchanged single channel currents, APD, and in vivo electrocardiographic parameters. For in vivo parameters, ↑ and ↓ reflect statistically significant changes vs predosing values. For ionic currents, ↓ reflects at least 15% inhibition. For transcriptome data, ↓ reflects statistically significant downregulation vs placebo treated controls.
FPD and FPDcF, absolute and rate corrected duration of the field potential using the Fridericia's formula; hiPSC, human induced pluripotent stem cells; QTcV, corrected QT interval using the Van de Water's formula; RSE, relative surface expression of the channel.

6 薬力学的薬物相互作用試験

前述した β 遮断薬であるメトプロロール、L 型カルシウムチャネル拮抗薬であるベラパミル、β-AR アゴニストであるイソプロテレノール及びDOB並びにホスホジエステラーゼIII阻害剤であるLEVO 以外の薬剤との薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

7 考察及び結論

マバカムテンは新規の心筋ミオシン選択的かつ可逆的なアロステリック阻害剤である。マバカムテンは収縮及び弛緩の単位である心筋サルコメアにおいて心筋ミオシン複合体に作用し、ミオシンヘッドとアクチンが強く結合するクロスブリッジ数を減少させ、力の発生過程である ATP 加水分解サイクルの阻害により心筋の収縮力及び ATP 消費を抑制する。

効力を裏付ける試験において、in vitro の定常状態での解析により、複数の動物種由来及び HCM 病因性変異を有する心筋ミオシンにおいてマバカムテンの ATP 加水分解サイクルの進行に対する阻害作用が示され、心筋ミオシン選択性も示された。また、マバカムテンが心筋ミオシンに対するアロステリックな阻害剤であり、ATP 加水分解サイクルにおいて ATP と結合したミオシンヘッドに選択的に結合することが示された。遷移相の速度論的解析により、マバカムテンが心筋ミオシンヘッドでの Pi 放出を抑制する一方で、ATP 結合及びミオシンのアクチンからの解離の段階には影響しないことが示された。このような作用により、収縮期及び拡張期においてミオシンヘッドがアクチンと強く結合した状態への移行を阻害し、パワーストロークへの進行を阻害することで ATP 加水分解サイクルの進行を阻害し、アクチンと強く結合するクロスブリッジ数を抑制して収縮力及び張力発生を抑制すると考えられる。太いフィラメントを用いた試験において、マバカムテンは、ATP 加水分解サイクルに移行しない状態でありエネルギー消費の少ない SRX 状態にあるミオシンヘッドの割合を増加させて、パワーストロークに進行できる DRX 状態にあるミオシンヘッドの割合を減少させた。このように、マバカムテンは ATP 加水分解サイクルに移行するミオシンヘッドの割合を減少させる作用によっても、拡張期のクロスブリッジ数及び張力発生を抑制し、さらにエネルギー消費も低下させることが示唆された。In vitro 運動性試験において、マバカムテンが HMM によるアクチンフィラメントの運動を抑制し、ミオシンヘッドでの ATP 加水分解サイクルのアロステリックな阻害を介して直接的な陰性変力作用を有することが示唆された。除膜した心筋線維を用いた試験において、収縮期と拡張期のいずれの Ca^{2+}濃度でも、マバカムテン処理により心筋線維での張力発生が抑制され、伸張を介した機械的ストレスにより筋線維に誘導される生化学的及び生体力学的な変化が抑制された。正常心筋細胞を用いた ex vivo 試験において、マバカムテンにより心筋細胞の収縮が濃度依存的に阻害される一方で弛緩が亢進して弛緩時のサルコメア及び細胞の長さが増加し、Ca^{2+}流入には影響しなかった。また、マバカムテンによる SF の抑制がイソプロテレノールにより回復したことから、マバカムテンで収縮機能を阻害した条件で、β-AR 刺激による心臓予備能の動員可能性が確認された。これらの試験では、RT50 又は RT75 が短縮して弛緩が亢進した。灌流ラット心臓を用いた試験において、マバカムテン処理により EDP 及び Eed が低下し心筋伸展性が亢進することが示され、β 遮断薬の併用処理でも心筋伸展性は維持された。以上の in vitro 及び ex vivo 試験により、マバカムテンは心筋ミオシンに選択的に作用して、ミオシンヘッドの ATP 加水分解サイクルの進行及び本サイクルへの移行を阻害する 2 つの新規作用機序により、クロスブリッジ数を減少させてサルコメアレベルで直接的に収縮力及び拡張期張力を抑制し、弛緩を亢進して、エネルギー消費を抑制する新

規の薬理作用を有することが示された。これらの薬理学的プロファイルは従来の陰性変力作用を有する薬剤とは異なっている。

麻酔正常ラットを用いた単回経口投与試験により、マバカムテンが HR に影響せず、用量及び曝露量依存的に心筋の収縮機能を低下させ、EDV を顕著に増加させることが示された。テレメトリー機器を装着した覚醒正常ラットにおける単回経口投与試験では、マバカムテンが dP/dtmax 及び dP/dtmin を顕著に低下させるものの、EDP への影響はわずかであることが示された。また、MBP を含む全身血行動態にも顕著に影響せず、マバカムテンの作用の心筋ミオシン選択性と一致した。覚醒正常イヌにおける単回経口投与試験では、マバカムテン投与により収縮機能が顕著に低下する一方で、EDP 及び Eed は顕著に変化せず心室伸展性が亢進し、従来の陰性変力作用を有する薬剤とは異なる作用を有することが示された。本試験でも MBP は顕著に変化しなかった。また、覚醒正常イヌにおける単回経口投与試験では、マバカムテンが収縮の速度及び変力性への作用を介して心筋の収縮性を抑制することが示された。これらの in vivo での作用は、in vitro でのアクチン運動速度の抑制及び ex vivo での除膜した心筋線維での張力の抑制と一致した。マバカムテン投与により、直接的な拡張機能の改善及びエネルギー消費の抑制に加えて心筋の収縮速度が低下し、心室腔サイズの増大及び僧帽弁前尖の運動を促進する前方変位力[9]が抑制されて、LVOT 閉塞の予防に最適な心室内の機械的環境が作られると期待される。また、MBP は顕著に変動せず、マバカムテン投与が全身血行動態に顕著に作用しないことが示された。

正常なラット及びイヌにおける長期反復経口投与試験において単回経口投与試験と同様の結果が確認されており、持続的かつ顕著に収縮機能を抑制するにもかかわらず、拡張機能及び心筋伸展性が亢進することが示された。長期投与による持続的な心機能の抑制及び心室容積の増加は休薬により回復し、心機能障害に特徴的な血漿中 NT-proBNP 値の上昇とは関連しなかった。

正常イヌを用いた、HCM 治療で一般的に使用される β 遮断薬又は L 型カルシウムチャネル拮抗薬との併用試験により、これらの薬剤との併用時でも EDV が増加するにもかかわらず EDP が維持され、心筋の伸展性が改善する従来の陰性変力作用を有する薬剤とは異なったマバカムテンの新規の薬理学的プロファイルが示された。また、正常ラットを用いたマバカムテン投与時の β-AR アゴニストに対する反応性の評価により、マバカムテン投与により心機能を抑制した条件でも β-AR 経路などの内因性の機能的動員機序が反応することが示された。正常イヌを用いた試験では、強心薬の投与条件でもマバカムテン投与により tau の短縮が亢進して心臓充満を促進することが示された。したがって、in vitro、ex vivo 及び HCM 動物モデルを用いた in vivo 試験の結果と一致して、マバカムテン投与時の心予備能及び身体活動能力の回復を目的とした β-AR アゴニストの使用が支持された。また、強心薬を投与した条件でもマバカムテン投与により収縮の減弱作用が維持された。

以上の正常なラット及びイヌを用いた単回及び反復経口投与試験により、マバカムテンの左室圧及び容積関係に対する望ましい作用が示された。これらの結果により、HCM 患者を対象とした臨床試験【モジュール 2.7.3、3.2 項】におけるマバカムテンによる LVOT 閉塞、拡張機能障害及び身体活

動能力の改善を含む有効性が裏付けられ、従来の陰性変力作用を有する薬剤とは異なり、マバカムテンが心筋ミオシンを標的として陰性変力作用を有し、かつ拡張機能を直接的に改善する新規作用機序を有することが示された。

サルコメアでの力の発生並びにエネルギー消費は、力の発生状態にあるミオシンヘッドの数に依存することから、マバカムテンにより病因性変異の種類に関係なくHCMでの異常なクロスブリッジ動態が改善することが予想された。実際に、Tn、MYBPC3 又はミオシン重鎖のいずれかに HCM 病因性変異を有する種々の in vitro モデルにおいて、DRX 状態のミオシンヘッド数及びサルコメアの Ca^{2+} 感受性亢進を抑制し、収縮性の亢進を直接的に抑制して拡張期の過剰なクロスブリッジ形成により生じる過剰な拡張期張力を抑制した。変異により生じる異常がマバカムテンにより改善することが示され、いずれのHCM病因性変異を有するサルコメアにおいても異常な挙動を改善するマバカムテンの有益な薬理学的プロファイルが示された。さらに、マバカムテンにより収縮及び弛緩の異常のいずれも改善することから、HCM 患者において拡張期の心筋ストレスが抑制され、心臓リモデリングが改善される可能性が示唆された。

マバカムテンは、クロスブリッジの動態を直接的に調節するため、HCM 病態動物モデルにおいてはHCM 病態の心筋における異常な拡張機能の原因となるクロスブリッジの過剰形成を改善して収縮期及び拡張期での心臓の挙動を直接的に調節し、心筋での過剰なエネルギー消費を抑制する可能性が考えられた。そのため、HCM の自然発症及び遺伝子改変動物モデルにおいて、マバカムテン及びツール化合物である MYK-581 の有効性を評価した。HCM の自然発症モデルにおいてマバカムテンの静脈内投与により LVOT 閉塞の減弱が示された。非閉塞性 HCM の遺伝子改変モデルにおいて、マバカムテンの単回静脈内投与により、Ees 及び EDP が低下し、拡張機能障害が改善した。非閉塞性HCM の遺伝子改変モデルではマバカムテンの反復投与による心筋におけるストレス及び傷害並びに心筋肥大及び線維症の改善、心機能の維持、心予備能の回復並びに死亡率の低下が示された。マバカムテンにより、心筋における拡張期のクロスブリッジ数及び過剰なエネルギー消費の抑制を介して拡張機能も改善するため、心臓リモデリングも改善される可能性が示唆された。以上より、HCM モデルにおいて心筋の収縮及び弛緩の単位であるサルコメアにおいてミオシンを標的とし、HCM の病因であるサルコメアの異常に直接作用するマバカムテンの新規の薬理学的プロファイル及び治療上の有効性が示され、HCM 患者を対象とした臨床試験【モジュール 2.7.3、3.2 項】で認められた有効性が裏付けられた。

In vitro の効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験において、マバカムテンの心筋ミオシンに対する選択性が示され、in vivo の効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験でも心筋ミオシンに対する選択性を反映した結果となった。In vitro 及び in vivo 試験において血管収縮に対する直接的な作用は示されなかった。また、in vivo 試験においてマバカムテン投与が骨格筋機能に影響しないことが示された。

In vitro の心血管系安全性薬理評価において、マバカムテンは短期及び長期処理のいずれでも hERG イオンチャネルとの臨床的に意味のある相互作用を示さなかった。In vitro 及び in silico での電気生理学的解析において、リエントリー性不整脈及び TdP の傾向は示されなかった。また、hHVM においてマバカムテン処理による I_{NaL} の中程度の抑制が示された。正常なラット及びイヌを用いた試験では、健康被験者を対象とした臨床試験【モジュール 2.7.6、1.3.2.12.4 項】と同様に、薬力学的作用が確認できる用量での持続的曝露後に軽微な QTc 間隔延長が認められた。正常イヌにおけるこのような軽微な QTc 間隔延長は、Tpe 間隔への影響はわずかで主に JTp 間隔の延長によるものであり、in vitro 試験で遅延再分極電流に作用しない結果が支持された。また、QTc 間隔の変化は持続的な左室機能抑制と関連しており、投与中止により回復した。正常動物での作用機序解析により、7 日間以上の長期反復経口投与による QTc 間隔延長は、JTp 間隔の延長と一致して主に I_{to} 及び I_{KATP} を含む早期再分極電流の抑制を介することが示され、持続的な心収縮機能の低下に対する内因性の適応反応として生じることが示唆された。一方で、HCM 病態においては I_{to} 及び I_{KATP} は消失又は減弱していることが報告されており、マバカムテンによる中等度の I_{NaL} 阻害とそれに付随する HCM 発症を抑制する有益な作用により、I_{to} 及び I_{KATP} を抑制する影響が相殺される可能性が示唆された。さらに、HCM 病態においては、マバカムテンがサルコメア機能の正常化により心機能を改善することからも、正常な心臓での電気生理学的リモデリングは生じないと考えられた。以上の電気生理学的評価及びマバカムテンの心機能及び血行動態に及ぼす有益な作用から、リエントリー性不整脈及び TdP のリスクは低いことが示され、正常動物を用いた試験及び健康被験者を対象とした臨床試験【モジュール 2.7.6、1.3.2.12.4 項】でマバカムテンの持続的曝露により認められた QTc 間隔延長が、HCM 患者で生じる可能性は低いことが示唆された。実際に、HCM 患者を対象とした臨床試験【モジュール 2.7.4、2.1.6.3.2.4 項】においてマバカムテンの投与により QTc 間隔が延長する傾向は認められなかった。正常なラット及びイヌを用いた in vivo 安全性薬理試験では、薬力学的作用を示す用量での単回経口投与により、心血管系、呼吸系及び中枢神経系での有害な影響は認められなかった。

以上の非臨床薬理試験より、マバカムテンが心筋ミオシンに選択的なアロステリック阻害剤であり、ミオシンヘッドとアクチンのクロスブリッジの過剰形成を抑制し、催不整脈リスクのない新規の選択的陰性変力作用を有することが示された。さらに、HCM 病態モデルにおいて、従来の陰性変力作用を有する薬剤とは異なり、マバカムテン又は MYK-581 投与による拡張及び収縮機能の改善、心予備能の回復、心臓のストレス及び傷害の減少並びに死亡率の低下が示された。これらの非臨床試験の結果により、マバカムテンが HCM 患者に対する新たな治療選択肢を提供するものと期待される。

8 参考文献

[1] Marian AJ, Braunwald E. Hypertrophic cardiomyopathy: Genetics, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and therapy. Circ Res 2017;121:749-70.

[2] Hershberger RE, Cowan J, Morales A, et al. Progress with genetic cardiomyopathies: Screening, counseling, and testing in dilated, hypertrophic, and arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. Circ Heart Fail 2009;2:253-61.

[3] Gersh BJ, Maron BJ, Bonow RO, et al. 2011 ACCF/AHA guideline for the diagnosis and treatment of hypertrophic cardiomyopathy: A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Circulation 2011;124:2761-96.

[4] Maron BJ, Maron MS, Semsarian C. Genetics of hypertrophic cardiomyopathy after 20 years: Clinical perspectives. J Am Coll Cardiol 2012;60:705-15.

[5] Alfares AA, Kelly MA, McDermott G, et al. Results of clinical genetic testing of 2,912 probands with hypertrophic cardiomyopathy: Expanded panels offer limited additional sensitivity. Genet Med 2015;17:880-8.

[6] Ho CY. New paradigms in hypertrophic cardiomyopathy: Insights from genetics. Prog Pediatr Cardiol 2011;31:93-8.

[7] Hoskins AC, Jacques A, Bardswell SC, et al. Normal passive viscoelasticity but abnormal myofibrillar force generation in human hypertrophic cardiomyopathy. J Mol Cell Cardiol 2010;49:737-45.

[8] Sherrid MV, Gunsburg DZ, Moldenhauer S, et al. Systolic anterior motion begins at low left ventricular outflow tract velocity in obstructive hypertrophic cardiomyopathy. J Am Coll Cardiol 2000;36:1344-54.

[9] Sherrid MV. Drug therapy for hypertrophic cardiomypathy: Physiology and practice. Curr Cardiol Rev 2016;12:52-65.

[10] Maron MS, Olivotto I, Betocchi S, et al. Effect of left ventricular outflow tract obstruction on clinical outcome in hypertrophic cardiomyopathy. N Engl J Med 2003;348:295-303.

[11] Ho CY. Hypertrophic cardiomyopathy in 2012. Circulation 2012;125:1432-8.

[12] 日本循環器学会/日本心不全学会. 心筋症診療ガイドライン（2018 年改訂版）. [Internet]. [Cited 2024 May 18]. Available from: https://www.asas.or.jp/jhfs///////pdf/guideline_20190410.pdf.

[13] Papadakis M, Basu J, Sharma S. Mavacamten: Treatment aspirations in hypertrophic cardiomyopathy. Lancet 2020;396:736-7.

[14] Ammirati E, Contri R, Coppini R, et al. Pharmacological treatment of hypertrophic cardiomyopathy: Current practice and novel perspectives. Eur J Heart Fail 2016;18:1106-18.

[15] Barrick SK, Greenberg MJ. Cardiac myosin contraction and mechanotransduction in health and disease. J Biol Chem 2021;297:101297.

[16] Sparrow AJ, Watkins H, Daniels MJ, et al. Mavacamten rescues increased myofilament calcium sensitivity and dysregulation of Ca^{2+} flux caused by thin filament hypertrophic cardiomyopathy mutations. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2020;318:H715-22.

[17] Mamidi R, Li J, Doh CY, et al. Impact of the myosin modulator mavacamten on force generation and cross-bridge behavior in a murine model of hypercontractility. J Am Heart Assoc 2018;7:e009627.

[18] Toepfer CN, Wakimoto H, Garfinkel AC, et al. Hypertrophic cardiomyopathy mutations in MYBPC3 dysregulate myosin. Sci Transl Med 2019;11:eaat1199.

[19] Toepfer CN, Sharma A, Cicconet M, et al. SarcTrack. Circ Res 2019;124:1172-83.

[20] Anderson RL, Trivedi DV, Sarkar SS, et al. Deciphering the super relaxed state of human β-cardiac myosin and the mode of action of mavacamten from myosin molecules to muscle fibers. Proc Natl Acad Sci U S A 2018;115:E8143-52.

[21] Toepfer CN, Garfinkel AC, Venturini G, et al. Myosin sequestration regulates sarcomere function, cardiomyocyte energetics, and metabolism, informing the pathogenesis of hypertrophic cardiomyopathy. Circulation 2020;141:828-42.

[22] Yan GX, Antzelevitch C. Cellular basis for the electrocardiographic J wave. Circulation 1996;93:372-9.

[23] Antzelevitch C, Yan GX. J-wave syndromes: Brugada and early repolarization syndromes. Heart Rhythm 2015;12:1852-66.

[24] Martin AA, Thompson BR, Hahn D, et al. Cardiac sarcomere signaling in health and disease. Int J Mol Sci 2022;23:16223.

[25] McNamara JW, Li A, Lal S, et al. MYBPC3 mutations are associated with a reduced super-relaxed state in patients with hypertrophic cardiomyopathy. PLoS One 2017;12:e0180064.

[26] Adhikari AS, Trivedi DV, Sarkar SS, et al. β-Cardiac myosin hypertrophic cardiomyopathy mutations release sequestered heads and increase enzymatic activity. Nat Commun 2019;10:2685.

[27] Sarkar SS, Trivedi DV, Morck MM, et al. The hypertrophic cardiomyopathy mutations R403Q and R663H increase the number of myosin heads available to interact with actin. Sci Adv 2020;6:eaax0069.

[28] Spudich JA. Three perspectives on the molecular basis of hypercontractility caused by hypertrophic cardiomyopathy mutations. Pflugers Arch 2019;471:701-17.

[29] Rohde JA, Roopnarine O, Thomas DD, et al. Mavacamten stabilizes an autoinhibited state of two-headed cardiac myosin. Proc Natl Acad Sci U S A 2018;115:E7486-94.

[30] De La Cruz EM, Ostap EM. Kinetic and equilibrium analysis of the myosin ATPase. Methods Enzymol 2009;455:157-92.

[31] Lionne C, Iorga B, Candau R, et al. Evidence that phosphate release is the rate-limiting step on the overall ATPase of psoas myofibrils prevented from shortening by chemical cross-linking. Biochemistry 2002;41:13297-308.

[32] Iorga B, Candau R, Travers F, et al. Does phosphate release limit the ATPases of soleus myofibrils? Evidence that (A)M·ADP·Pi states predominate on the cross-bridge cycle. J Muscle Res Cell Motil 2004;25:367-78.

[33] Mijailovich SM, Nedic D, Svicevic M, et al. Modeling the actin.myosin ATPase cross-bridge cycle for skeletal and cardiac muscle myosin isoforms. Biophys J 2017;112:984-96.

[34] Kawas RF, Anderson RL, Ingle SRB, et al. A small-molecule modulator of cardiac myosin acts on multiple stages of the myosin chemomechanical cycle. J Biol Chem 2017;292:16571-7.

[35] Siemankowski RF, White HD. Kinetics of the interaction between actin, ADP, and cardiac myosin-S1. J Biol Chem 1984;259:5045-53.

[36] Biesiadecki BJ, Davis JP, Ziolo MT, et al. Tri-modal regulation of cardiac muscle relaxation; intracellular calcium decline, thin filament deactivation, and cross-bridge cycling kinetics. Biophys Rev 2014;6:273-89.

[37] Stewart MA, Franks-Skiba K, Chen S, et al. Myosin ATP turnover rate is a mechanism involved in thermogenesis in resting skeletal muscle fibers. Proc Natl Acad Sci U S A 2010;107:430-5.

[38] McNamara JW, Li A, Dos Remedios CG, et al. The role of super-relaxed myosin in skeletal and cardiac muscle. Biophys Rev 2015;7:5-14.

[39] Kraft T, Montag J. Altered force generation and cell-to-cell contractile imbalance in hypertrophic cardiomyopathy. Pflugers Arch 2019;471:719-33.

[40] Green EM, Wakimoto H, Anderson RL, et al. A small-molecule inhibitor of sarcomere contractility suppresses hypertrophic cardiomyopathy in mice. Science 2016;351:617-21.

[41] Feric NT, Pallotta I, Singh R, et al. Engineered cardiac tissues generated in the Biowire II: A platform for human-based drug discovery. Toxicol Sci 2019;172:89-97.

[42] Sparrow AJ, Sievert K, Patel S, et al. Measurement of myofilament-localized calcium dynamics in adult cardiomyocytes and the effect of hypertrophic cardiomyopathy mutations. Circ Res 2019;124:1228-39.

[43] Nishimura RA, Schwartz RS, Holmes Jr DR, et al. Failure of calcium channel blockers to improve ventricular relaxation in humans. J Am Coll Cardiol 1993;21:182-8.

[44] Kass DA, Wolff MR, Ting CT, et al. Diastolic compliance of hypertrophied ventricle is not acutely altered by pharmacologic agents influencing active processes. Ann Intern Med 1993;119:466-73.

[45] Pathak CL. The relation of pericardial pressure to chronotropic response of isolated frog hearts. Jpn Heart J 1974;15:299-307.

[46] Robinson P, Liu X, Sparrow A, et al. Hypertrophic cardiomyopathy mutations increase myofilament Ca^{2+} buffering, alter intracellular Ca^{2+} handling, and stimulate Ca^{2+}-dependent signaling. J Biol Chem 2018;293:10487-99.

[47] Davis JP, Norman C, Kobayashi T, et al. Effects of thin and thick filament proteins on calcium binding and exchange with cardiac troponin C. Biophys J 2007;92:3195-206.

[48] McNamara JW, Singh RR, Sadayappan S. Cardiac myosin binding protein-C phosphorylation regulates the super-relaxed state of myosin. Proc Natl Acad Sci U S A 2019;116:11731-6.

[49] del Rio CL, Roof SR, Anto A, et al. Acute cardio-selective functional modulation via a small-molecule direct myosin-attenuator (MYK-581) preserves diaphragmatic function in vivo: Comparison versus disopyramide [poster]. Eur Heart J 2019;40(Suppl 1):ehz745.0862.

[50] Stern JA, Markova S, Ueda Y, et al. A small molecule inhibitor of sarcomere contractility acutely relieves left ventricular outflow tract obstruction in feline hypertrophic cardiomyopathy. PLoS One 2016;11:e0168407.

[51] Ferguson BS, Stern JA, Oldach MS, et al. Effects of a mavacamten-like myosin inhibitor (MYK-581) in a feline model of obstructed hypertrophic cardiomyopathy: Evidence of improved ventricular filling (beyond obstruction reprieve) [poster]. Eur Heart J 2020;41(Suppl 2):ehaa946.3713.

[52] del Rio CL, Yadav A, Huang N, et al. Acute effects of a small-molecule direct myosin-modulator (MYK-581) in a mini-pig genetic model of non-obstructed hypertrophic cardiomyopathy: In vivo evidence for contractile regulation with improved compliance and functional reserve [poster]. Circulation 2018;138:A13204.

[53] Sewanan LR, Schwan J, Kluger J, et al. Extracellular matrix from hypertrophic myocardium provokes impaired twitch dynamics in healthy cardiomyocytes. JACC Basic Transl Sci 2019;4:495-505.

[54] del Rio CL, Yadav A, Ferguson BS, et al. Chronic treatment with a mavacamten-like myosin-modulator (MYK-581) blunts disease progression in a mini-pig genetic model of non-obstructed hypertrophic cardiomyopathy: In vivo evidence for improved relaxation and functional reserve [poster]. Circulation 2019;140:A14585.

[55] Ollerstam A, Persson AH, Visser SAG, et al. A novel approach to data processing of the QT interval response in the conscious telemetered beagle dog. J Pharmacol Toxicol Methods 2007;55:35-48.

[56] Grillo MP, Erve JCL, Dick R, et al. In vitro and in vivo pharmacokinetic characterization of mavacamten, a first-in-class small molecule allosteric modulator of beta cardiac myosin. Xenobiotica 2019;49:718-33.

[57] Moser VC. Screening approaches to neurotoxicity: A functional observational battery. J Am Coll Toxicol 1989;8:85-93.

[58] Moss AJ. Introductory note to a translated classic article of L. S. Fridericia. Ann Noninvasive Electrocardiol 2003;8:341-2.

[59] Vargas HM. A new preclinical biomarker for risk of Torsades de Pointes: Drug-induced reduction of the cardiac electromechanical window. Br J Pharmacol 2010;161:1441-3.

[60] van der Linde HJ, Van Deuren B, Somers Y, et al. The electro-mechanical window: A risk marker for Torsades de Pointes in a canine model of drug induced arrhythmias. Br J Pharmacol 2010;161:1444-54.

[61] Meijborg VMF, Belterman CNW, de Bakker JMT, et al. Mechano-electric coupling, heterogeneity in repolarization and the electrocardiographic T-wave. Prog Biophys Mol Biol 2017;130:356-64.

[62] Sager PT, Gintant G, Turner JR, et al. Rechanneling the cardiac proarrhythmia safety paradigm: A meeting report from the Cardiac Safety Research Consortium. Am Heart J 2014;167:292-300.

[63] Crumb Jr WJ, Vicente J, Johannesen L, et al. An evaluation of 30 clinical drugs against the comprehensive in vitro proarrhythmia assay (CiPA) proposed ion channel panel. J Pharmacol Toxicol Methods 2016;81:251-62.

[64] O'Hara T, Virág L, Varró A, et al. Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: Model formulation and experimental validation. PLoS Comput Biol 2011;7:e1002061.

[65] Dutta S, Chang KC, Beattie KA, et al. Optimization of an in silico cardiac cell model for proarrhythmia risk assessment. Front Physiol 2017;8:616.

[66] Christophe B, Crumb Jr WJ. Impact of disease state on arrhythmic event detection by action potential modelling in cardiac safety pharmacology. J Pharmacol Toxicol Methods 2019;96:15-26.

[67] Saygili E, Rana OR, Saygili E, et al. Losartan prevents stretch-induced electrical remodeling in cultured atrial neonatal myocytes. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2007;292:H2898-905.

[68] Chiamvimonvat N, Chen-Izu Y, Clancy CE, et al. Potassium currents in the heart: Functional roles in repolarization, arrhythmia and therapeutics. J Physiol 2017;595:2229-52.

[69] Coppini R, Ferrantini C, Yao L, et al. Late sodium current inhibition reverses electromechanical dysfunction in human hypertrophic cardiomyopathy. Circulation 2013;127:575-84.

[70] Liu Z, Cai H, Dang Y, et al. Adenosine triphosphate-sensitive potassium channels and cardiomyopathies (Review). Mol Med Rep 2016;13:1447-54.

[71] Olivotto I, Camici PG, Merlini PA, et al. Efficacy of ranolazine in patients with symptomatic hypertrophic cardiomyopathy: The RESTYLE-HCM randomized, double-blind, placebo-controlled study. Circ Heart Fail 2018;11:e004124.

Table of Contents

1 薬理試験：一覧表 2
2 効力を裏付ける試験 7
3 副次的薬理試験 7
4 安全性薬理試験 8
5 薬力学的薬物相互作用試験 16

1 薬理試験：一覧表

Table 2.6.3.1: Pharmacology Overview

Test articles: Mavacamten (MYK-461), MYK-581, and MYK-1078

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Facility	Study Number (Test Facility Study Number)	Location in Dossier
Primary Pharmacodynamics					
In vitro and ex vivo studies					
Biochemical characterization of MYK-461	Cardiac, smooth, and skeletal myosin S1 Varying from myosin S1 alone to myofibrils (human, rabbit, bovine, and chicken)	In vitro: Incubation	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-14-0005	4.2.1.1-1
Effects of MYK-461 on the inorganic phosphate release and ATPase rates of actin activated bovine cardiac myosin S1	Cardiac myosin S1 Actomyosin system (bovine)	In vitro: Incubation	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-20-0050	4.2.1.1-2
Effects of MYK-461 on the SRX of cardiac myosin	Reconstituted STFs from full length cardiac myosin (porcine and bovine)	In vitro: Incubation	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-20-0046	4.2.1.1-3
Biomechanical effects of MYK-461 in skinned ventricular muscle fibers with pathogenic HCM mutations	Skinned left ventricular papillary muscle fibers (porcine/Yucatan)	Ex vivo: Incubation	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-20-0064	4.2.1.1-4
Effects of MYK-461 in loaded and unloaded in vitro motility assays	Reconstituted STFs from full length cardiac myosin (bovine)	In vitro: Incubation	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-20-0045	4.2.1.1-5
Biomechanical effects of MYK-461 in skinned ventricular muscle fibers from healthy animals	Skinned left ventricular papillary muscle fibers (healthy rat/Sprague Dawley and porcine/Yucatan)	Ex vivo: Incubation	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-20-0048	4.2.1.1-6
Acute functional effects of MYK-461 in primary ventricular myocytes from healthy rats	Primary left ventricular myocytes (healthy rat/Sprague Dawley)	Ex vivo: Incubation	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-14-0006	4.2.1.1-7

Table 2.6.3.1: Pharmacology Overview

Test articles: Mavacamten (MYK-461), MYK-581, and MYK-1078

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Facility	Study Number (Test Facility Study Number)	Location in Dossier
Effects of β-adrenergic receptor stimulation with isoproterenol on the MYK-461 induced functional depression in primary ventricular myocytes from healthy rats	Primary left ventricular myocytes (healthy rat/Sprague Dawley)	Ex vivo: Incubation	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-20-0052	4.2.1.1-8
Functional effects of MYK-461 in human iPSC-CMs	iPSC-CMs (human; iCell^2 and GFP-tagged wild type cells)	In vitro: Incubation	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-20-0049	4.2.1.1-9
Cardiac effects of MYK-461 in isolated Langendorff perfused rat hearts: Effects of stretch and β-adrenergic receptor blockade	Isolated Langendorff perfused hearts (healthy rat/Sprague Dawley)	Ex vivo: Perfusion	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-20-0063	4.2.1.1-10
In vivo studies					
Pharmacodynamic study with single administration of MYK-461 to rats	Rat/Sprague Dawley (male)	In vivo: PO	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-20-0055	4.2.1.1-11
Cardiovascular evaluation of MYK-461 with single administration to conscious dogs	Dog/Beagle (male)	In vivo: PO or IV	[redacted]	NC-20-0059 [redacted]	4.2.1.1-12
Acute and chronic effects of MYK-461 on cardiac performance and hemodynamics in conscious dogs	Dog/Mongrel (male)	In vivo: PO or IV	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-20-0058	4.2.1.1-13
Rescue of depressed left ventricular systolic performance induced by a single dose administration of MYK-461 to rats: Effects of dobutamine and levosimendan	Rat/Sprague Dawley (male)	In vivo: PO or IV	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-20-0057	4.2.1.1-14

Table 2.6.3.1: Pharmacology Overview

Test articles: Mavacamten (MYK-461), MYK-581, and MYK-1078

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Facility	Study Number (Test Facility Study Number)	Location in Dossier
Pharmacodynamic study with single administration of MYK-461 to mice	Mouse/129s6/SvEv (male)	In vivo: PO	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-20-0056	4.2.1.1-15
Acute and chronic effects of myosin inhibition on mouse models of thin filament pathogenic troponin mutations	Mouse/wild type and transgenic (female)	In vivo: PO or SQ	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-20-0066	4.2.1.1-16
Secondary Pharmacodynamics					
Kinase diversity screen, safety screen	Various targets (human, rat, hamster, guinea pig, rabbit, porcine, and bovine)	In vitro: Incubation	[redacted]	NC-14-0009 [redacted]	4.2.1.2-1
In vitro pharmacology and ADME tox study of MYK-461	Thirteen different cell lines (human, mouse, and rat)	In vitro: Incubation	[redacted]	NC-14-0007 [redacted]	4.2.1.2-2
Cytotoxicity screening panel	HepG2 cells	In vitro: Incubation	[redacted]	NC-14-0008 [redacted]	4.2.1.2-3

Table 2.6.3.1: Pharmacology Overview

Test articles: Mavacamten (MYK-461), MYK-581, and MYK-1078

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Facility	Study Number (Test Facility Study Number)	Location in Dossier
Safety Pharmacology					
Effect of MYK-461 on cloned hERG potassium channels expressed in mammalian cells	HEK293 cells (human)	In vitro: Incubation	[redacted]	NC-14-0061 [redacted]	4.2.1.3-1
Cardiovascular and respiratory assessments in conscious telemetered dogs	Dog/Beagle (male)	In vivo: PO	[redacted]	NC-15-0007 [redacted]	4.2.1.3-2
Neurobehavioral assessment in rats	Rat/Sprague Dawley (male)	In vivo: PO	[redacted]	NC-15-0006 [redacted]	4.2.1.3-3
Functional and electrocardiographic effects of a 14 day repeated administration of MYK-461 to conscious telemetered dogs	Dog/Beagle (male)	In vivo: PO	[redacted] MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-20-0060 [redacted]	4.2.1.3-4
Exploratory in vitro effects of MYK-461 on action potential parameters in isolated rabbit Purkinje fibers	Isolated Purkinje fibers (rabbit/New Zealand)	In vitro: Incubation	[redacted]	NC-19-0036 [redacted]	4.2.1.3-5

Table 2.6.3.1: Pharmacology Overview

Test articles: Mavacamten (MYK-461), MYK-581, and MYK-1078

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Facility	Study Number (Test Facility Study Number)	Location in Dossier
Exploratory in vitro effects of MYK-1078 on action potential parameters in isolated rabbit Purkinje fibers	Isolated Purkinje fibers (rabbit/New Zealand)	In vitro: Incubation	[redacted]	NC-19-0037 [redacted]	4.2.1.3-6
Electrophysiological evaluation of MYK-461 and MYK-1078: A human cardiac electrophysiological profile	HEK293 cells and ventricular myocytes (human)	In vitro and ex vivo: Incubation In silico	[redacted]	NC-20-0061	4.2.1.3-7
Effects of MYK-461 on ion channels expressed in mammalian cells	HEK293 cells (human)	In vitro: Incubation	[redacted]	NC-19-0034 [redacted]	4.2.1.3-8
Effects of MYK-461 and MYK-1078 on ion channels expressed in mammalian cells	HEK293 cells (human)	In vitro: Incubation	[redacted]	NC-19-0035 [redacted]	4.2.1.3-9
Effects of MYK-461 and MYK-1078 on cloned hERG channel surface expression in mammalian cells	HEK293 cells (human)	In vitro: Incubation	[redacted]	NC-19-0040 [redacted]	4.2.1.3-10
Effects of MYK-461, MYK-1078, and MYK-581 on hERG channels expressed in mammalian cells	HEK293 cells (human)	In vitro: Incubation	[redacted]	NC-20-0039 [redacted]	4.2.1.3-11

Table 2.6.3.1: Pharmacology Overview

Test articles: Mavacamten (MYK-461), MYK-581, and MYK-1078

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Facility	Study Number (Test Facility Study Number)	Location in Dossier
Effects of MYK-461 on cloned hKv4.3 channel surface expression in mammalian cells	HEK293 cells (human)	In vitro: Incubation	[redacted]	NC-20-0042 [redacted]	4.2.1.3-12
Long term effects of MYK-461, MYK-1078, and MYK-581 on human iPSC-CMs (field potential and impedance analysis)	iPSC-CMs (iCell^2) (human)	In vitro: Incubation	[redacted]	NC-20-0038 [redacted]	4.2.1.3-13
Mechanical and electrocardiographic effects of a 7 day repeated administration of MYK-461 to rats	Rat/Sprague Dawley (male)	In vivo: PO	MyoKardia, Inc., [redacted]	NC-20-0062	4.2.1.3-14

ADME, absorption, distribution, metabolism, and excretion; ATPase, adenosine triphosphate hydrolase; GFP, green fluorescent protein; HCM, hypertrophic cardiomyopathy; HEK293, human embryonic kidney cells 293; hERG, human ether-a-go-go related gene; iPSC-CMs, cardiomyocytes derived from induced pluripotent stem cells; IV, intravenous; PO, oral; S, subfragment; SQ, subcutaneous; SRX, super relaxed; STF, synthetic thick filament; tox, toxicology.

2 効力を裏付ける試験

概要文中に記載

3 副次的薬理試験

概要文中に記載

4 安全性薬理試験

Table 2.6.3.4: Safety Pharmacology

Test articles: Mavacamten (MYK-461), MYK-581, and MYK-1078

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Sex and Number per Group	Method of Admin-istration	Concentra-tion/ Dose and Duration	Noteworthy Findings	GLP compli-ance	Study No.
CV HEK293 cells Ion channel evaluated: hERG	Human	NA n = 3 to 4 per concen-tration	In vitro: Incubation	MYK-461: 10 and 60 µM	hERG inhibition by MYK-461 was 5.0% at 10 µM and 9.6% at 60 µM, both statistically different ($P < 0.05$) than vehicle controls (1.0%).	Yes	NC-14-0061
CV and respiratory (telemetered)	Dog/ Beagle	M4	In vivo: PO	MYK-461: 0 (0.5% MC), 1, 3, and 10 mg/kg Single dose	Clinical signs included vomitus, decreased activity, rapid breathing, and decreased feed consumption at 10 mg/kg. Single oral doses of 3 and 10 mg/kg of MYK-461 resulted in dose related decreases in blood pressure (mainly in systolic pressure) and pulse pressure, with compensatory increases in heart rate, that persisted for up to one week. Additional effects seen at 10 mg/kg were an increase in QTc interval at Week 1 post dosing, as well as an increase in respiratory rate and a decrease in tidal volume with no change in minute volume for up to 24 hours post dose. An increased incidence of ventricular escape beats was observed for up to 3 weeks post dose in one dog treated with each of these doses but was not confirmed during peer review. Based on an independent review, the risk for the test article producing arrhythmia of either torsadogenic or non torsadogenic origin were determined to be small. Ventricular restitution (QT/TQ) remained well below 1.0, the ratio of concern for reentrant arrhythmia. No cardiovascular or respiratory effects occurred at a dose of 1 mg/kg.	Yes	NC-15-0007

Table 2.6.3.4: Safety Pharmacology

Test articles: Mavacamten (MYK-461), MYK-581, and MYK-1078

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Sex and Number per Group	Method of Administration	Concentration/ Dose and Duration	Noteworthy Findings	GLP compliance	Study No.
CNS	Rat/ Sprague Dawley	M8	In vivo: PO	MYK-461: 0 (0.5% MC), 1, 3, and 10 mg/kg Single dose	Horizontal and vertical activity in the MYK-461 treated groups, as measured by an automated system, were comparable to activity levels in the vehicle control group at 2 and 24 hours post dose. A slight decrease in mean body temperature was noted in the 10 mg/kg group at 24 hours post dose (-1.0°C compared to control and pretest temperatures). There were no neurobehavioral effects of MYK-461 at doses ≤ 10 mg/kg as assessed by a FOB or by automated motor activity monitoring.	Yes	NC-15-0006
CV (telemetered)	Dog/ Beagle	M4	In vivo: PO	MYK-461: 0 mg/kg (empty gelatin capsule) on Day 1 1.5 mg/kg BID on Day 2 0.3 mg/kg/d on Days 3 to 15	MYK-461 triggered upward shifts of the beat to beat QT versus RR relationship and QT prolongation that were observed concomitantly with functional (cardio depression) and geometrical (ventricular enlargement) effects as assessed via both echocardiography and telemetered LV pressure analyses; single lead ECG was collected via telemetry. MYK-461 exerted marked negative inotropy (on Day 15, EF: -26% and dP/dtmax: -22%, both $P < 0.05$ vs predose), increasing LV EDV (+24%). QTcF prolongations reached +19 ms (274 vs 255 ms predose, $P < 0.05$) at the end of the study (Day 15) and was due (primarily) to lengthening of the JTp (+19 ms on Day 15, 162 vs 144 ms predose, $P < 0.05$). Negligible changes were observed in the terminal portion of repolarization (Tpe: +3 ms on Day 15, 43.0 vs 40.4 ms predose, NS), suggesting preserved transmural repolarization and unchanged late repolarizing (eg, hERG) currents. No other notable electrocardiographic changes were observed postdosing, as both QRS and PR intervals as well as heart rate remained unchanged. QTcF prolongations were related (non linearly) to EDV increases.	No	NC-20-0060

Table 2.6.3.4: Safety Pharmacology

Test articles: Mavacamten (MYK-461), MYK-581, and MYK-1078

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Sex and Number per Group	Method of Administration	Concentration/ Dose and Duration	Noteworthy Findings	GLP compliance	Study No.
CV Purkinje fibers	Rabbit/ New Zealand	NA n = 5 per concentration	In vitro: Incubation	MYK-461: 0.3, 3, 10, and 30 µM	From 0.3 µM to 10 µM, no effects on the resting membrane potential nor AP parameters were observed, whatever the stimulation rate. At 30 µM, a slight decrease in APD at 50% of repolarization was noted (-7% at 0.25Hz). These results were not suggestive of an arrhythmogenic profile.	No	NC-19-0036
CV Purkinje fibers	Rabbit/ New Zealand	NA n = 3 per concentration	In vitro: Incubation	MYK-1078: 0.3, 3, 10, and 30 µM	From 0.3 µM to 30 µM, no effects on the resting membrane potential nor AP parameters were observed, whatever the stimulation rate. MYK-1078 was devoid of electrophysiological effects on the Purkinje fiber preparation, and the observations are not suggestive of an arrhythmogenic profile.	No	NC-19-0037
CV HEK293 cells and ventricular myocytes Ion channels evaluated: For MYK-461 Acute effects: Nav1.5 late Cav1.2 Kir6.2/SUR2A (I_{KATP}) I_{Ks}, I_{K1}, I_{Kur}, I_{to} Chronic effects:	Human	NA n = 3 to 10 per concentration	In vitro and ex vivo: Incubation In silico	MYK-461 and MYK-1078: 0.3, 3, 10, and 30 µM	The most prominent effect of MYK-461 was a concentration dependent shortening of the APD in human ventricular myocytes (both from healthy and hypertrophied hearts), likely due to a greater blockade of I_{NaL} than I_{Kr}. In contrast, MYK-1078 was associated with a modest increase in APD, likely the result of its greater block of I_{Kr} than I_{NaL}. Neither compound was associated with early afterdepolarizations or substantive triangulation, biomarkers for arrhythmogenesis. The APD shortening effects of MYK-461 were also examined in healthy myocytes treated with dofetilide (10 nM). Dofetilide led to a prolongation of the APD which could be reduced by the addition of MYK-461. At 30 µM, the change in ion current amplitudes ranged from +4.3% (Kir6.2/SUR2A) to -40.4% (Nav1.5 late). Similar results were observed, with inhibitions ranging from 3.4% (I_{to}) to 49% (I_{NaL}). hERG inhibition was 31.5% at 30 µM upon chronic exposure. MYK-461 (at 3 µM) inhibited I_{Kr} (4.9% and 5.5%) and I_{NaL} (14.5% and 22.8%) in	No	NC-20-0061

Table 2.6.3.4: Safety Pharmacology

Test articles: Mavacamten (MYK-461), MYK-581, and MYK-1078

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Sex and Number per Group	Method of Admin-istration	Concentra-tion/ Dose and Duration	Noteworthy Findings	GLP compli-ance	Study No.
I_{Ks}, I_{K1}, I_{Kur}, I_{to}, I_{NaL}, hERG for MYK-1078 Acute effects: Nav1.5 late, Cav1.2, Kir6.2/SUR2A Chronic effects: hERG, I_{NaL}					human ventricular myocytes isolated from either healthy or hypertrophied hearts. At 30 μM, MYK-1078 blocked I_{NaL} by 79.3% with an IC50 of 10.9 μM. Chronic exposure to MYK-1078 was associated with marked reduction in hERG (IC50: 5.3 μM) and I_{NaL} (IC50: 9.4 μM) current amplitudes. MYK-1078 (at 3 μM) inhibited I_{Kr} (28.9% and 34.1%) and I_{NaL} (20.0% and 29.0%) in human ventricular myocytes isolated from either healthy or hypertrophied hearts. Although in silico modeling predicted a small increase in APD under healthy conditions (9.8% at 30 μM) and less of an increase under hypertrophied conditions (3.0% at 30 μM) for MYK-461, under no conditions were EADs observed in the study. Similarly, a QT Fingerprinting model (using the effects on hERG, I_{NaL}, and Cav1.2) predicted negligible changes in QTc for MYK-461 (-8.8 ms at 10 μM).		

Table 2.6.3.4: Safety Pharmacology

Test articles: Mavacamten (MYK-461), MYK-581, and MYK-1078

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Sex and Number per Group	Method of Administration	Concentration/ Dose and Duration	Noteworthy Findings	GLP compliance	Study No.
CV HEK293 or CHO cells Ion channels evaluated: hCav1.2 hCav3.2 hHCN2 hHCN4 hERG hKir2.1 hKir3.1 /hKir3.4 hKir6.2 /hSUR2A hKv1.5 hKv4.3 hKvLQT1 /hminK hNav1.5	Human	NA n = 3 to 7 per concentration	In vitro: Incubation	MYK-461: 1 and 10 μM	Inhibition by MYK-461 at 10 μM was ≤ 6.9% for all channels, with the exceptions of hKir6.2/SUR2A (-50.5 ± 25.1%) and hKv1.5 (-7.6 ± 4.2%). hERG inhibition was 4.3 ± 1.9% at 10 μM.	No	NC-19-0034

Table 2.6.3.4: Safety Pharmacology

Test articles: Mavacamten (MYK-461), MYK-581, and MYK-1078

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Sex and Number per Group	Method of Administration	Concentration/ Dose and Duration	Noteworthy Findings	GLP compliance	Study No.
CV HEK293 cells or CHO cells Ion channels evaluated: hCav1.2 hCav3.2 hHCN2 hHCN4 hERG hKir2.1 hKir3.1 /hKir3.4 hKir6.2 /hSUR2A hKv1.5 hKv4.3 /hKChiP2.2 hKvLQT1 /hminK hNav1.5	Human	NA n = 3 to 6 per concentration	In vitro: Incubation	MYK-461 and MYK-1078: 30 μM	For MYK-461, inhibition was ≤ 12.6% for all channels, with a hERG inhibition of 7.8%. For MYK-1078, inhibition was ≤ 8.9% for all channels, with a hERG inhibition of 4.0%.	No	NC-19-0035
CV HEK293 cells Ion channel evaluated: hERG	Human	NA n = 3 per concentration	In vitro: Incubation	MYK-461 and MYK-1078: 0.1, 0.3, 1, 3, 10, and 30 μM	Neither of MYK-461 and MYK-1078 resulted in a significant decrease in hERG WT surface expression at any concentration tested. Therefore, none of the test articles were predicted to be hERG trafficking inhibitors at the concentrations tested.	No	NC-19-0040

Table 2.6.3.4: Safety Pharmacology

Test articles: Mavacamten (MYK-461), MYK-581, and MYK-1078

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Sex and Number per Group	Method of Administration	Concentration/ Dose and Duration	Noteworthy Findings	GLP compliance	Study No.
CV HEK293 cells Ion channel evaluated: hERG	Human	NA n = 31 to 32 per concentration	In vitro: Incubation	MYK-461, MYK-1078, and MYK-581: 0.3, 3, and 30 µM	The hERG inhibition with MYK-461, MYK-1078, and MYK-581 upon chronic exposure at 30 µM was 11.7%, 0.4%, and 7.7 %, respectively. The test articles had no significant effects on hERG channel current.	No	NC-20-0039
CV HEK293 cells Ion channel evaluated: hKv4.3	Human	NA n = 3 per concentration	In vitro: Incubation	MYK-461: 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, and 30 µM	MYK-461 did not result in a significant decrease in hKv4.3 WT surface expression at any concentration tested and is not predicted to be a hKv4.3 trafficking inhibitor.	No	NC-20-0042
CV iPSC-CMs (iCell^2)	Human	NA n = 6 per concentration	In vitro: Incubation	MYK-461 and MYK-581: 0.03, 0.1, 0.3, and 1 µM MYK-1078: 0.3, 1, 3, and 10 µM	MYK-461 decreased the impedance twitch amplitude and shortened the twitch duration in a concentration dependent manner after two hour exposure, indicating a reduction in the capacity of the cells to generate motion. Short term exposure to MYK-461 (up to 1 µM) did not affect the sodium spike amplitude, suggesting that the compound has no direct effect on cardiac sodium channels. Four hour exposure to MYK-461 (≥ 0.1 µM), increased the spike rate in a concentration dependent manner, albeit this effect decreased upon sustained exposures. Short and long term exposure to MYK-461 did not affect the field potential duration, suggesting that hERG channel activity was not affected. Similar observations were made for both MYK-1078 and MYK-581.	No	NC-20-0038

Table 2.6.3.4: Safety Pharmacology

Test articles: Mavacamten (MYK-461), MYK-581, and MYK-1078

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Sex and Number per Group	Method of Admin-istration	Concentra-tion/ Dose and Duration	Noteworthy Findings	GLP compli-ance	Study No.
CV	Rat/ Sprague Dawley	M5-18	In vivo: PO	MYK-461: 2 and 4 mg/kg/d on Days 2 to 8 (n = 1 for 2 mg/kg/d)	At the end of the study, treated rats showed marked reductions in FS (-65% vs -1% in control, $P < 0.05$) and increased left ventricular EDV. Significant ($P < 0.05$) prolongations of both the absolute (QT: +27%) and the rate corrected QT intervals (eg, QTcF: +34%), which were linearly correlated with the changes in EDV and FS, were observed. No changes in the PR or QRS intervals were noted. The QT and mechanical changes were accompanied by downregulation of genes encoding the I_{to} (KCND3/KCND2) and I_{KATP} (KCNJ12/ABCC8 and KCNJ8) currents. Expression of calcium handling (CACNA1C, RYR2, and ATP2A2) and sodium current (SCN5A) genes were preserved.	No	NC-20-0062

ABCC8, adenosine triphosphate binding cassette subfamily C member 8; AP, action potential; APD, action potential duration; ATP2A2, adenosine triphosphate hydrolase sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+} transporting 2; BID, twice daily; CACNA1C, calcium voltage gated channel subunit alpha1 C; Cav1.2/3.2, voltage gated calcium channel alpha subunit 1.2/3.2; CHO, Chinese hamster ovary; CNS, central nervous system; CV, cardiovascular; d, day; dP/dtmax, peak rate of left ventricular pressure increase during systole; EAD, early afterdepolarization; ECG, electrocardiogram; EDV, left ventricular end diastolic volume; EF, left ventricular ejection fraction; FOB, functional observational battery; FS, left ventricular fractional shortening; GLP, Good Laboratory Practice; HCN2/4, hyperpolarization activated cyclic nucleotide gated potassium and sodium channel 2/4; HEK293, human embryonic kidney cells 293; hERG, human ether-a-go-go related gene; IC50, half maximal inhibitory concentration; I_{KATP}, adenosine triphosphate dependent potassium channel current; I_{Kr}, rapid components of the delayed rectifier potassium current; I_{Ks}, slow components of the delayed rectifier potassium current; I_{Kur}, ultra rapid delayed rectifier potassium current; I_{K1}, inward rectifier potassium current; I_{NaL}, late component of the inward sodium current; iPSC-CMs, cardiomyocytes derived from induced pluripotent stem cells; I_{to}, transient outward potassium current; KChiP2.2, potassium channel interacting protein 2.2; KCND2/3, potassium voltage gated channel subfamily D member 2/3; KCNJ8/12, potassium inwardly rectifying channel subfamily J member 8/12; Kir2.1/3.1/3.4/6.2, inward rectifier potassium channel 2.1/3.1/3.4/6.2; KvLQT1/minK, I_{Ks} producing slow voltage gated potassium channel subunit alpha/beta; Kv1.5/4.3, voltage gated potassium channel subunit 1.5/4.3; LV, left ventricular; M, male; MC, methylcellulose; NA, not applicable; Nav1.5, voltage gated sodium channel subunit alpha 5; No., number; NS, not significant; PO, oral; QTc, rate corrected QT interval; QTcF, corrected QT interval using the Fridericia's formula; RYR2, ryanodine receptor 2; SCN5A, sodium voltage gated channel alpha subunit 5; SUR2A, sulfonylurea receptor 2A;WT, wild type.

5 薬力学的薬物相互作用試験

該当なし