ネクセトール錠180 mg

第2部（モジュール2）：CTDの概要（サマリー）

2.4 非臨床試験の概括評価

大塚製薬株式会社

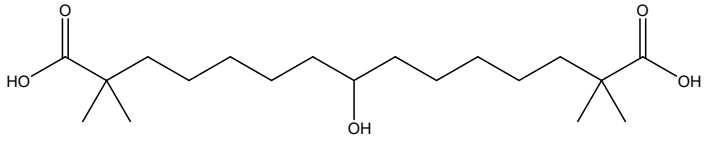
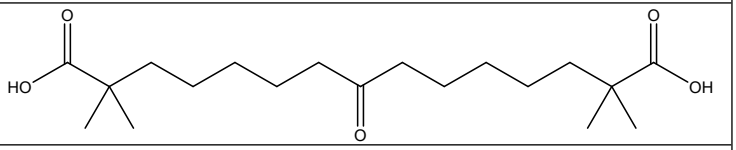
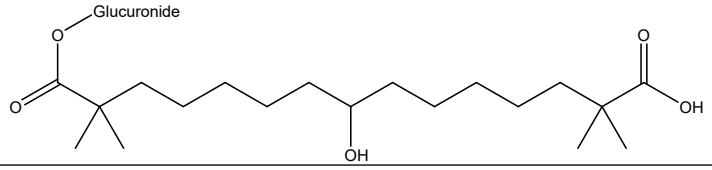
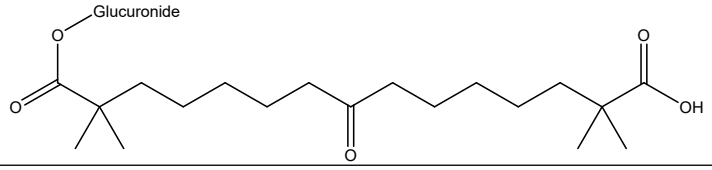
目次

目次 2
略号一覧 3
2.4 非臨床試験の概括評価 6
2.4.1 非臨床試験計画概略 6
2.4.2 薬理試験 7
2.4.2.1 効力を裏付ける薬理試験 7
2.4.2.2 副次的薬理試験 9
2.4.2.3 安全性薬理試験 10
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用 10
2.4.3 薬物動態試験 10
2.4.3.1 吸収 10
2.4.3.2 分布 10
2.4.3.3 代謝 11
2.4.3.4 排泄 12
2.4.4 毒性試験 12
2.4.4.1 単回投与毒性試験 13
2.4.4.2 反復投与毒性試験 14
2.4.4.2.1 死亡及び推定機序 14
2.4.4.2.2 肝臓に対する影響 14
2.4.4.2.3 腎臓に対する影響 14
2.4.4.3 遺伝毒性試験 14
2.4.4.4 がん原性試験 15
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 15
2.4.4.6 幼若動物を用いた試験 15
2.4.4.7 その他の毒性試験 15
2.4.5 総括及び結論 16
2.4.6 参考文献 18

略号一覧

略号	省略していない表現
ACC	アセチルコエンザイムAカルボキシラーゼ
ACL	アデノシン三リン酸クエン酸リアーゼ
ACS	アシルコエンザイムAシンテターゼ
ACSLV1	極長鎖アシルコエンザイムAシンテターゼ1
ALP	アルカリフォスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AMPK	5'-アデノシン一リン酸活性化キナーゼ
ApoE	アポリポ蛋白
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC_{24h}	投与後0時間から24時間までの濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{∞}	投与後0時間から無限大時間までの濃度 - 時間曲線下面積
C_{max}	最高濃度
CNS	中枢神経系
CoA	コエンザイムA
Cr	クレアチニン
CVD	心血管疾患
CYP	チトクロームP450
DBP	拡張期血圧
DIO	食事誘発性肥満
DNA	デオキシリボ核酸
ECAC	発がん性評価委員会
ECG	心電図
EFD	胚・胎児発生
ESP55016	ベムペド酸
ETC-1002	ベムペド酸
ETC-1002-CoA	ETC-1002コエンザイムA
GGT	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hERG	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子
HFHC	高脂肪高コレステロール
HMG-CoA	3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリルコエンザイムA
HbA_{1C}	ヘモグロビンA_{1C}
Hgb	ヘモグロビン
IC50	50%阻害濃度
ICH	医薬品規制調和国際会議

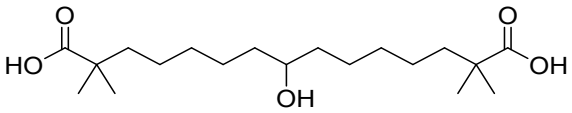
LD	分娩後日数
LDL	低比重リポ蛋白
LDL-C	低比重リポ蛋白コレステロール
LDLR	低比重リポ蛋白受容体
MAP	平均血圧
MRHD	ヒト最大推奨用量
NADPH	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
PNP	出生前及び出生後の発生
PPAR	ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィー
SDH	ソルビトールデヒドロゲナーゼ
SHROB	高血圧自然発症肥満
SREBP2	ステロール応答エレメント結合蛋白2
TK	トキシコキネティクス
TICE	経腸コレステロール排出
UGT	ウリジン-5'-二リン酸グルクロン酸転移酵素
V_d/F	血管外投与時の分布容積

名称（由来）	構造式
ベムペド酸（JAN） Bempedoic acid（INN） ETC-1002 ESP55016	
ESP15228 ベムペド酸の酸化体 （代謝物）	
ベムペド酸グルクロニド ベムペド酸のアシルグルクロニド （代謝物）	
ESP15228グルクロニド ESP15228のアシルグルクロニド （代謝物）	

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

ベムペド酸（8-Hydroxy-2,2,14,14-tetramethylpentadecanedioic acid，ETC-1002，又はESP55016；図 2.4.1-1）は，コレステロール合成経路においてHMG-CoA還元酵素の上流に位置するACLに対するファーストインクラスの低分子阻害薬である。ベムペド酸は肝臓でETC-1002-CoAへの変換が必要なプロドラッグであり，ETC-1002-CoAがACLを競合的に阻害する。ETC-1002-CoAによりACLが阻害されると，肝臓でのコレステロール合成が減少し，これによりLDLRの発現が増加し，血中からのLDL粒子のクリアランスが亢進する。以上より，ETC-1002-CoAによるACL阻害は，スタチン系薬剤によるHMG-CoA還元酵素阻害と同じ経路を介して，LDL-Cを減少させる。ベムペド酸は，第II相及び第III相（短期間及び長期間）国際共同臨床試験，及び国内第II相及び第III相検証試験において高コレステロール血症の成人患者でLDL-Cを低下させることが示されている。



ベムペド酸

図 2.4.1-1　　ベムペド酸の構造

*In vitro*の効力を裏付ける試験として，ベムペド酸のCoAエステル形成及びACL阻害作用，HMG-CoA還元酵素及びACCに対する作用，及びLDLR発現に及ぼす影響を評価するとともに，ETC-1002-CoAエステル形成に関与するACSを特定した。*In vivo*の効力を裏付ける試験として，正常動物，食事誘発性高コレステロール血症モデル，及び遺伝性高コレステロール血症モデルにおいて血清脂質に対するベムペド酸の効果を評価するとともに，遺伝子改変した食事誘発性動脈硬化症モデルにおいてベムペド酸の効果を評価した。さらにコレステロールの腸管吸収，胆汁酸の合成又は排泄の活性化，TICEの賦活化に及ぼすベムペド酸の効果を評価した。

副次的薬理試験として，ベムペド酸の以下に対する影響を評価した（*in vitro*での各受容体，イオンチャネル，酵素及びトランスポーターへの結合，ヒト初代筋管細胞のコレステロール合成，脂肪酸の合成及び酸化，*in vitro*におけるAMPK活性やPPAR活性，*in vitro*及び*in vivo*での炎症，LDLRノックアウトマウスやKKAyマウスの脂質パラメータ，DIOマウスや果糖摂取マウスの体重，インスリン，グルコース及び脂肪肝，及び高血圧自然発症肥満ラットの血圧）。さらに，LDLRノックアウトマウスを用いてベムペド酸とHMG-CoA還元酵素阻害薬（スタチン系薬剤）との薬力学的薬物相互作用試験を実施した。

安全性薬理試験として，ベムペド酸について，hERGチャネル電流，ラットにおける中枢神経系及び呼吸器系の機能，及びサルにおける心血管系機能への影響を評価した。これらの試験は，ICH S7A，S7B及びM3（R2）に準拠して実施した。

薬物動態試験として，ベムペド酸の吸収，分布，代謝及び排泄について検討した。単回投与における薬物動態はラット，ウサギ及びサルを用いた経口投与にて検討した。反復投与における薬物動態はラット及びサルを用いた経口投与にて評価した。また，血漿蛋白結合率，全血/血漿中

濃度比，メラニン結合性についても試験を実施した。

毒性試験として，ベムペド酸の非臨床安全性プロファイルについて，一般毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験，その他の毒性試験，不純物の試験，及び併用投与毒性試験で評価した。予定臨床適用経路は経口であるため経口投与を設定した。重要な試験は，米国FDAのGLP規則及びICHガイドラインに準拠して実施した。

一般毒性試験は，ラット及びサルを用いて単回投与（サルは漸増投与）及び反復経口投与試験［1，3，6（ラット）又は12ヵ月間投与（サル）］を実施し，回復性についても評価した。サルとヒトにおけるリポ蛋白及び脂質代謝が類似しているため[1]，サルを非げっ歯類の動物種として選択した。

遺伝毒性試験は，細菌を用いた復帰突然変異試験，ヒトリンパ球を用いた*in vitro*染色体異常試験，マウスの骨髄小核試験，及びラットの骨髄小核及び肝臓コメット試験で評価した。

がん原性試験は，マウス及びラットの2年間がん原性試験を実施した。FDAのECACによるSpecial Protocol Assessmentで，これらの試験のプロトコール草案及び用量設定の根拠が審査された。

生殖発生毒性試験は，ラットにおける受胎能及び初期胚発生に関する試験，ラット及びウサギにおけるEFD試験，及びラットにおけるPNP試験を実施した。ラットを用いた幼若動物毒性試験も実施した。

その他の毒性試験は，ベムペド酸及び主要代謝物（ESP15228）のPPARへの結合性又は活性化作用を評価した。これらの試験は，PPARリガンドで認められる所見と同様の所見が初期の毒性試験で認められたため実施した。毒性の機序検討試験では，ベムペド酸のラットを用いた1ヵ月間投与試験及びサルを用いた13週間投与試験で認められた死亡又は状態悪化について検討した。

不純物の変異原性について，合成出発物質及び合成中間体は細菌を用いる復帰突然変異試験で評価し，[redacted]については*in silico*解析で評価した。

併用投与試験は，ベムペド酸とエゼチミブ又はスタチンとの併用投与のために，ラットを用いたベムペド酸とエゼチミブの併用毒性試験（13週間反復投与毒性試験及びEFD試験）及びサルを用いたベムペド酸とアトルバスタチンの併用毒性試験（13週間反復投与毒性試験）を実施した。

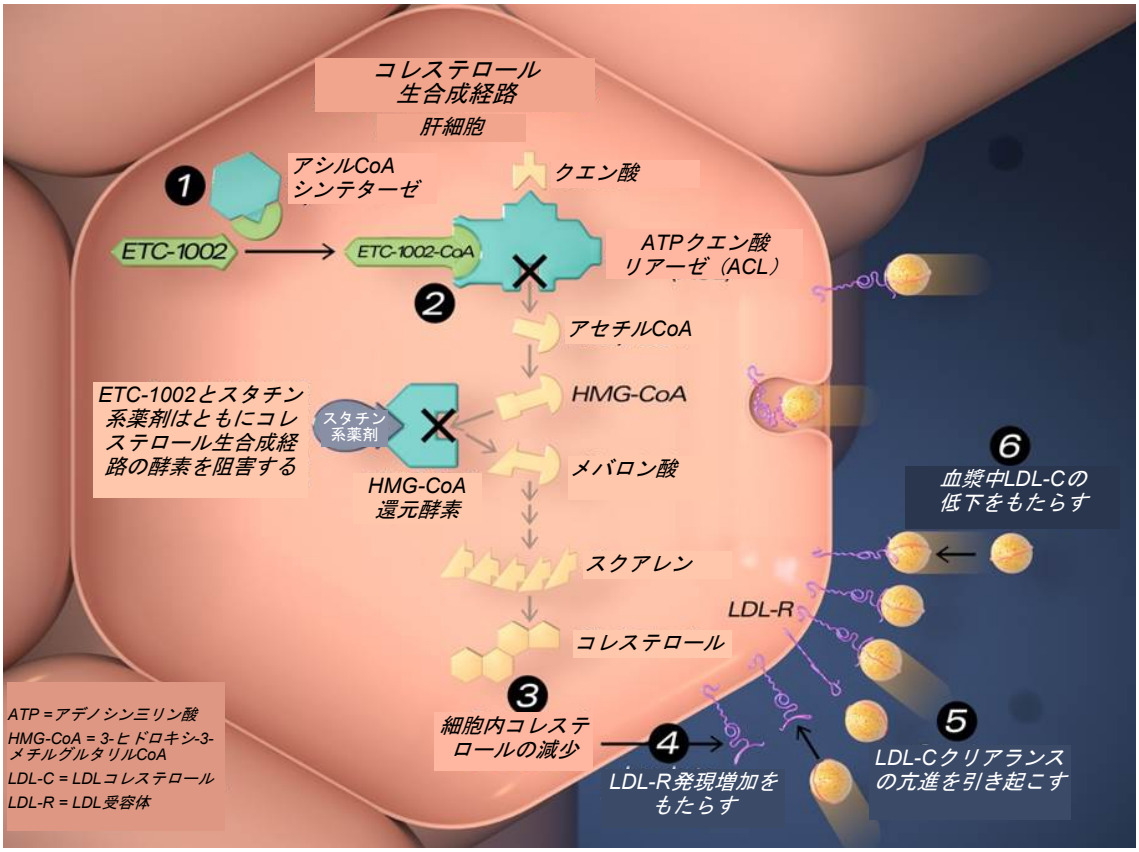
ベムペド酸及びESP15228の双方が構造的に類似し，同等の薬理学的活性を有するため（2.6.2.5.1項参照），本文書（2.4項）ではAUC_{24h}をベムペド酸とESP15228の和として示し，ヒトに対する曝露量比の比較を行うために使用する。ベムペド酸のMRHDは180 mgであり，同用量のベムペド酸＋ESP15228の定常状態でのC_{max}及びAUC_{24h}は，33.78 µg/mL及び 447.4 µg·h/mLである（2.7.2.3.1.6項参照）。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける薬理試験

効力を裏付ける試験で解明されたベムペド酸の薬理学的作用機序を図 2.4.2-1に示す。肝臓において，ベムペド酸はETC-1002-CoAへと変換されてから，ACLを阻害する。ACLは細胞質のアセチルCoAを生成する酵素であり，アセチルCoAはコレステロール及び脂肪酸の*de novo*合成に利用される。HMG-CoA還元酵素阻害と同様に，ACL阻害を介してコレステロール生合成経路を阻

害することにより，肝臓でのLDLRの密度及び総活性の上昇が引き起こされることで，血中からのLDL粒子のクリアランスが亢進し，血中LDL-Cが低下する[2]。



ベムペド酸（ETC-1002）の作用機序の概要図。 **（1）**ベムペド酸は肝臓でETC-1002-CoAに変換されてから，**（2）**コレステロール合成経路におけるHMG-CoA還元酵素の上流にあるACLを阻害する。コレステロール合成の阻害により **（3）**細胞内のコレステロール量が減少し，これにより **（4）**肝臓でのLDLR発現増加が引き起こされることで， **（5）**血中からのLDL粒子のクリアランスが亢進し， **（6）**血中LDL-Cが低下する[2]。

図 2.4.2-1　　ベムペド酸の作用機序

効力を裏付ける試験により，ベムペド酸はACL依存性のコレステロール合成阻害を介してコレステロール代謝に影響し，この活性にはACSLV1によるETC-1002-CoAの形成が必要であることが明らかにされている[2]。ヒト肝ミクロソームでベムペド酸からETC-1002-CoAの形成が確認されており，セルフリーの酵素アッセイでETC-1002-CoAは組み換えヒトACLを直接阻害したが，同アッセイでベムペド酸は活性を示さなかった[2]。*In vitro*及び*in vivo*薬理試験によりETC-1002-CoAの作用機序としてACL阻害が明らかとなり，ベムペド酸の投与はACLの下流の代謝物（アセチルCoA，マロニルCoA，及びHMG-CoA）の減少，並びにACLの基質であるクエン酸の一過性の増加を伴った。ラット及びヒトの初代肝細胞にベムペド酸を処置したところ，コレステロール及び脂肪酸の生合成が阻害された。*In vitro*試験でベムペド酸の濃度依存的なコレステロール合成阻害はLDLR活性上昇を伴うことが示されており，細胞内ステロール量の減少に反応したSREBP2依存的な転写の代償的な亢進が予測されている。さらに，薬理学的阻害と同様に，ACLの遺伝子サイレンシングはベムペド酸処置と同程度のLDLR蛋白発現増加を誘導した。LDLR活性の上昇によってLDL粒子の分画異化率が上昇することが知られており，これにより血漿中LDL-C値が低下する

[3, 4]。同様に，HFHC食を摂取させたApoEノックアウトマウスにおいて，ベムペド酸は肝臓LDLR遺伝子発現を増加させ，肝細胞の細胞膜のLDLR蛋白発現を上昇させ，血漿中LDL-Cを低下させた[2]。LDLR依存性の裏付けとして，LDLRホモノックアウトミニブタでのベムペド酸のLDL-C低下作用はLDLRヘテロノックアウトミニブタと比較して有意に減弱した。一方，LDLRホモノックアウトミニブタ及びLDLRヘテロノックアウトミニブタの両方において，ベムペド酸投与はアテローム性動脈硬化症の進行を抑制した）。正常動物，及びトリグリセリド過剰生成，高コレステロール血症及びアテローム性動脈硬化症のげっ歯類モデルにおいても，ベムペド酸はコレステロール及び脂肪酸の生合成マーカーを低下させ，血清脂質を改善し，食事誘発性のアテローム性動脈硬化症の進展を抑制した。ベムペド酸の脂質代謝及びリポ蛋白代謝に関する他の機序（コレステロールの吸収，胆汁酸の合成及び分泌，及びTICE）についても検討したが，ベムペド酸の脂質又はリポ蛋白代謝への作用におけるこれらの機序の寄与は小さかった。

2.4.2.2　副次的薬理試験

副次的薬理試験において，ベムペド酸100 μMは単離した受容体，イオンチャネル，酵素及びトランスポーターの幅広いパネルに対して有意な結合を示さなかった。ベムペド酸とETC-1002-CoAはいずれもHMG-CoA還元酵素を阻害しなかった[5]。他の*in vitro*及び*in vivo*試験において，ベムペド酸は肝細胞でのコレステロール生合成を阻害し，肝臓でのコレステロール代謝に対してスタチン様作用を発揮した。一方で，骨格筋細胞ではコレステロール生合成経路を阻害せず，スタチン系薬剤とは異なり，筋毒性を誘発しないことが示された。ベムペド酸によるACL阻害は脂肪酸生合成阻害においてもスタチン系薬剤によるHMG-CoA還元酵素阻害とは異なる。一貫して，ベムペド酸はミトコンドリアでの脂肪酸のβ酸化促進，肝臓のトリグリセリド減少を示し，これらの作用は複数の食事誘発性及び遺伝性の代謝性疾患モデルにおける血糖コントロールの改善と関連することが示された。

ベムペド酸による脂質合成の阻害はAMPK活性の上昇と一致した。ベムペド酸がAMPKシグナルを活性化する分子メカニズムに関して，*in vitro*及び*in vivo*でこの活性化はアデニル酸エネルギー状態変化非依存的に生じることが示され，AMPK複合体との直接的な相互作用が示唆された。セルフリーのAMPK活性評価試験でETC-1002-CoAは組み換えヒトAMPKαβγ複合体をβ1依存的に活性化した。ただし，ベムペド酸によるAMPK活性化には肝臓特異的なACSVL1依存的CoA形成が必要であり，ヒト肝臓においてはAMPK β2含有複合体の発現が優位であることから，ベムペド酸の薬理作用におけるAMPK経路の寄与は小さいと考えられる。さらに，ApoEとAMPKβ1のダブルノックアウトマウスを用いた検討により，ベムペド酸の薬理作用（LDL-C低下作用及び動脈硬化進展抑制作用）はAMPK経路に非依存的であることが明らかとなった[2]。

他の副次的薬理試験において，*in vitro*と*in vivo*の両方でベムペド酸は抗炎症作用を示し[6]，コレステロール摂取LDLRノックアウトマウスにおいてベムペド酸は血清脂質を減少させ，大動脈のアテローム性動脈硬化性病変の進展を抑制した。さらにベムペド酸はインスリン抵抗性マウス，DIOマウス及び果糖を摂取したハムスターで高トリグリセリド血症，脂肪肝及び血糖コントロールを改善し，SHROBラットでMAP，DBP及び心拍数を低下させた[7]。

2.4.2.3　安全性薬理試験

ベムペド酸は300 μmol/L（103 μg/mL）までの濃度でhERGチャネル電流に影響を及ぼさず，1000 μmol/L（345 μg/mL）でhERGチャネル電流を5.4%のみ阻害した。IC_{50}は1000 μmol/L（345 μg/mL）超と推定された。サルにベムペド酸を100 mg/kgまで単回経口投与しても，心拍数，血圧，及び心電図パラメータに対する影響は認められなかった。ヒトにおいてThorough QT試験を実施したが，ベムペド酸に関連する臨床的意義のあるQT延長は認められず，一貫性のある心電図パラメータ変化も認められなかった（2.7.2項参照）。

ラットにベムペド酸を100 mg/kgまで単回経口投与しても，覚醒/活動性，自律神経機能，神経筋機能及び生理機能に対する影響は認められなかった。100 mg/kgで熱に対する反応潜時の短縮が認められた。

ラットにベムペド酸を100 mg/kgまで単回経口投与しても，呼吸数，一回換気量及び分時換気量に対する影響は認められなかった。

2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用

LDLRノックアウトマウスにおいて，ベムペド酸30 mg/kg/日とアトルバスタチン10又は30 mg/kg/日の併用，並びにベムペド酸100 mg/kg/日とアトルバスタチン10 mg/kg/日の併用によって，LDL-C低下作用に関して明らかな薬力学的薬物相互作用は認められなかった。ただし，ベムペド酸100 mg/kg/日とアトルバスタチン30 mg/kg/日の2週間併用投与により強力なLDL-C低下作用が確認された。

2.4.3　薬物動態試験

ベムペド酸の吸収，分布，代謝及び排泄について検討した。薬物動態試験は，放射性標識体及び非標識体を用いて，薬効薬理及び安全性評価に使用された動物種（ラット，ウサギ及びサル）において実施した。なお，メラニン結合性の検討は有色ラットで行い，その他はアルビノラットを用いた。また，各動物及びヒト生体試料を用いて*in vitro*試験を実施した。

2.4.3.1　吸収

ラット，ウサギ及びサルに^{14}C-ベムペド酸を単回又は反復経口投与したところ，ベムペド酸は速やかに吸収され，放射能の最高血漿中濃度はラット及びサルでは投与1～2時間後，ウサギでは投与4時間後に認められた。胆管カニューレ挿入ラットの胆汁中放射能回収率から，^{14}C-ベムペド酸10 mg/kg単回経口投与後に投与放射能の80%以上が吸収されたことが示された。カニューレ挿入動物とカニューレ非挿入動物の血漿中AUC_{∞}を比較したところ，カニューレ非挿入動物での腸肝循環が血漿中総AUC_{∞}の39.1%を占めた。

2.4.3.2　分布

*In vitro*での^{14}C-ベムペド酸の血漿蛋白結合率は，マウス，ラット，サル及びヒトでいずれも94%以上であった。血漿蛋白結合率は，マウス，ラット及びヒトでは100 μg/mLの濃度まで，サルでは300 μg/mLの濃度まで同等であった。ベムペド酸，ESP15228及びベムペド酸グルクロニドの5 μmol/Lでのヒト血漿蛋白結合率は99%以上であった。ラットでのベムペド酸のV_d/Fは

123 mL/kgであり，組織分布は小さいことが示唆された。

^{14}C-ベムペド酸の血球移行は，ラット，ウサギ及びサルにおいて限定的であり，全血/血漿中濃度比は，ラット及びサルでは約0.5，ウサギでは0.64であった。

アルビノラット及び有色ラットに^{14}C-ベムペド酸10 mg/kgを単回経口投与したQWBA試験の結果から，放射能は速やかに全身に分布し，組織内濃度の最高値は初回試料採取時点の投与2時間後で認められた。投与2～24時間後の放射能濃度は胃及び腸内容物で最も高く，続いて肝臓（薬理活性部位）及び腎臓が高かった。アルビノラットと有色ラットで放射能の分布はほぼ同様であり，メラニン含有組織への保持や親和性は認められなかった。ラットに^{14}C-ベムペド酸10 mg/kgを1日1回14日間反復経口投与したところ，10 mg/kg単回経口投与時と比較して，全血中の放射能は低く，肝臓内の放射能は約2倍に上昇した。一方，定常状態での腎臓及び骨格筋の放射能濃度は，単回投与後と同程度であった。

2.4.3.3　代謝

マウス，ラット，サル及びヒト肝細胞でのベムペド酸の代謝は同様であり，主要成分（試料中放射能の10%以上）はベムペド酸グルクロニド（M11）であった。ヒト肝ミクロソームを用いた*in vitro*試験においてNADPH依存性のベムペド酸及びESP15228の代謝はいずれもわずかであった。ベムペド酸及びESP15228間で双方向の変換が認められ，ベムペド酸からESP15228への変換及びESP15228からベムペド酸への変換はそれぞれ約1%及び約5%であった。これらのデータから，ベムペド酸及びESP15228の代謝へのCYP酵素の寄与は小さいことが示唆された。ヒト肝ミクロソームにおいて，ベムペド酸及びESP15228のグルクロン抱合に関与するUGT酵素としてUGT2B7が同定された。

無処置ラット及び胆管カニューレ挿入ラットに^{14}C-ベムペド酸10 mg/kgを単回経口投与したところ，血漿及び糞中の主要成分はベムペド酸及びベムペド酸モノヒドロキシメチル体（M2）であった。尿中の主要成分はベムペド酸モノヒドロキシメチル体（M2）のみであった。胆汁中の主要成分はベムペド酸モノヒドロキシメチル体（M2）及びベムペド酸グルクロニド（M11）であった。ESP15228（M1）は血漿中の微量成分であった。^{14}C-ベムペド酸10 mg/kgを14日間反復経口投与したところ，雄ラットの血漿，尿及び肝臓中の主要成分はベムペド酸及び/又はベムペド酸モノヒドロキシメチル体（M2）であった。反復経口投与後に認められた代謝物は，単回経口投与後に認められた代謝物と概ね一致した。

ウサギに^{14}C-ベムペド酸20 mg/kgを単回経口投与したところ，血漿中の主要成分はベムペド酸であり，微量のESP15228（M1），ベムペド酸グルクロニド（M11）及びベムペド酸硫酸抱合体（M14）が認められた。

サルに^{14}C-ベムペド酸10 mg/kgを単回経口投与したところ，血漿中の主要成分はベムペド酸であった。次いでESP15228（M1），ベムペド酸グルクロニド（M11）及びESP15228グルクロニド（M15）が認められた。尿中の成分としては，主にベムペド酸グルクロニド（M11），次いでESP15228グルクロニド（M15）が認められた。糞中の成分としては，投与後24時間の試料ではベムペド酸が試料中放射能の100.00%を占めており，投与後48～72時間及び投与後96～120時間の試料にはベムペド酸タウリン抱合体（M13）が主要成分として認められた。サルに^{14}C-ベムペド酸10 mg/kgを14日間反復経口投与したところ，血漿，尿及び肝臓試料中の主要成分はベムペド酸で

あった。ESP15228（M1）は，血漿及び尿中に最も多く（試料中放射能の20%以上）認められた代謝物であった。肝臓中の成分としては，ESP15228（M1）は試料中放射能の5%未満であったが，ESP15228モノヒドロキシメチル体（M4）は投与24時間後に試料中放射能の29.7%を占めた。ベムペド酸グルクロニド（M11）は，すべての試料中に認められ，肝臓では試料中放射能の27.0%～33.7%，血漿及び尿では試料中放射能の6.4%～7.7%を占めた。

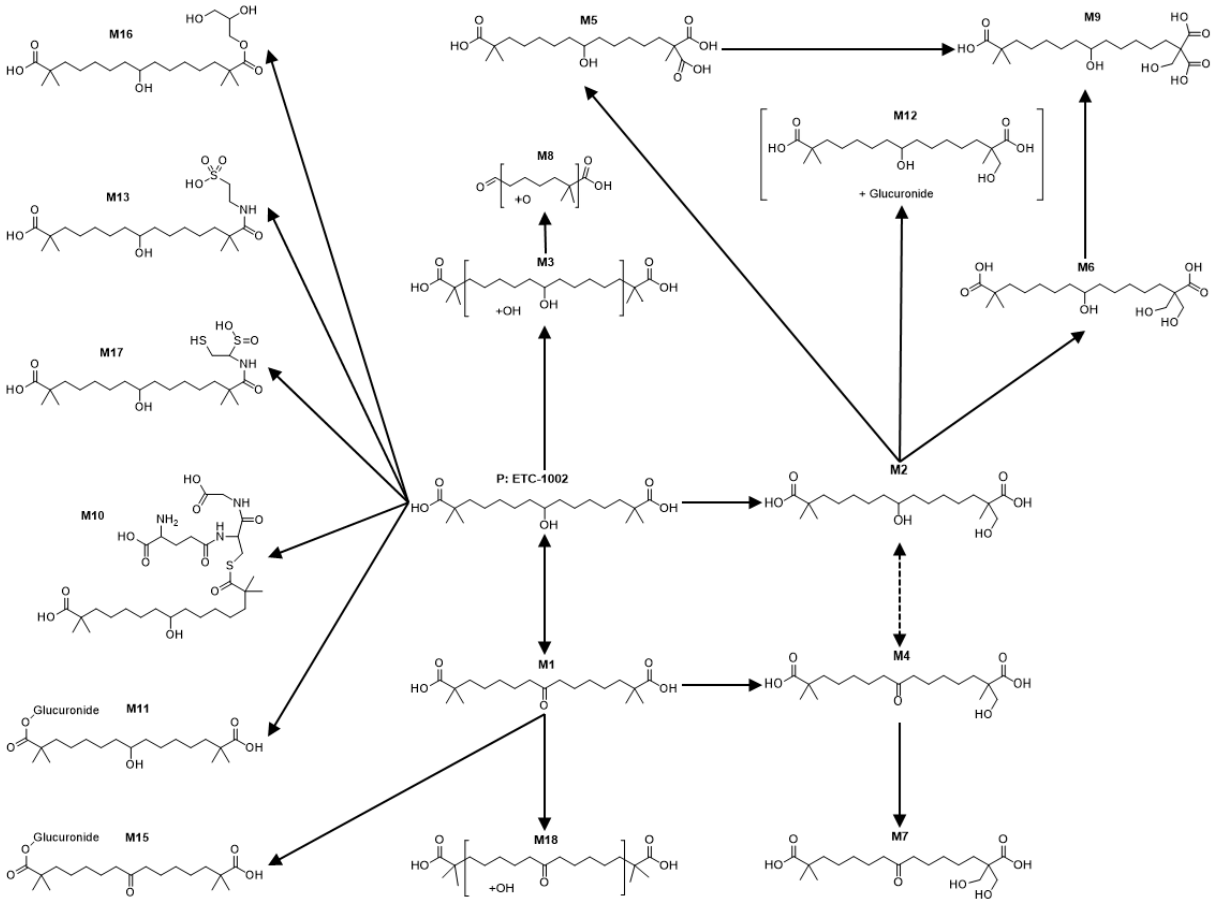


図 2.4.3-1　　ベムペド酸の推定代謝経路

2.4.3.4　排泄

無処置ラットに^{14}C-ベムペド酸10 mg/kgを単回経口投与したところ，放射能は主に糞中に排泄され（投与放射能量の77.95%），尿中には17.44%が排泄された。胆管カニューレ挿入ラットでは，投与放射能量の85.84%が胆汁中に排泄され，尿中への排泄は4.94%であった。これらの結果から，ラットでの主要な排泄経路は胆汁排泄であることが示された。一方，サルに^{14}C-ベムペド酸10 mg/kgを単回経口投与したところ，主要な排泄経路は尿中排泄であり，投与後120時間以内の尿及び糞中への放射能排泄率は，それぞれ48.5%及び29.1%であった。

2.4.4　毒性試験

非臨床安全性試験プログラムの概要を表 2.4.4-1に示し，特筆すべき所見について各セクションで考察した。

表 2.4.4-1　　主な毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	投与経路	動物種
単回投与毒性試験	経口	ラット及びサル
反復投与毒性試験		
2週間	経口	マウス，ラット及びサル
4週間（4週間回復性）	経口	ラット及びサル
13週間（4週間回復性）	経口	マウス，ラット及びサル
26週間	経口	ラット
52週間	経口	サル
遺伝毒性試験		
復帰突然変異	*in vitro*	ネズミチフス菌及び大腸菌
染色体異常	*in vitro*	ヒトリンパ球
骨髄小核	経口	マウス
骨髄小核及び肝臓コメット	経口	ラット
がん原性試験		
2年間がん原性	経口	マウス及びラット
生殖発生毒性試験		
受胎能及び初期胚発生	経口	ラット
胚・胎児発生	経口	ラット及びウサギ
出生前後	経口	ラット
幼若動物を用いた毒性試験		
11週間投与（6週間回復性）	経口	ラット
その他の毒性試験		
機序検討試験	経口	ラット
PPARリガンド結合性又は活性化	*in vitro*	タンパク質，サル及びヒト腎繊維芽細胞
ロット比較試験	経口	ラット
バイオマーカー探索試験	経口	ラット及びサル
不純物の試験		
復帰突然変異　不純物A*	*in vitro*	ネズミチフス菌及び大腸菌
不純物C*	*in vitro*	ネズミチフス菌及び大腸菌
in silico [redacted]	*in silico*	[redacted]及び[redacted]
併用投与毒性試験		
ベムペド酸 + エゼチミブ		
13週間	経口	ラット
胚・胎児発生	経口	ラット
ベムペド酸 + アトルバスタチン		
13週間[a]	経口	サル
2週間	経口	サル
13週間	経口	サル

[a] 全併用投与群での過度の毒性のため，投与をDay 6に中止し，全併用投与動物をDay 20に安楽死させた。

2.4.4.1　単回投与毒性試験

ベムペド酸の単回投与による死亡は認められなかった（ラットで1000 mg/kg，サルで2000 mg/kg）。

2.4.4.2　反復投与毒性試験

ベムペド酸をMRHDの曝露量の約6.8倍以上となる用量で反復投与すると，マウス，ラット，及びサルで死亡が認められ，ほとんどの動物では状態悪化/死亡の原因は不明であった。単回投与の結果を考慮すると，高用量の急性曝露には忍容性があるが，1～2週間の反復投与で状態悪化/瀕死状態となった。

2.4.4.2.1　死亡及び推定機序

症状はマウス，ラット，及びサルで同様であり，摂餌量減少及び活動性低下が認められた後に，急激な瀕死又は死亡前の摂餌量及び体重減少が認められた。死亡又は瀕死状態がラット及びサルにおいて同程度の高い全身曝露量（AUC_{24h} について，ラットでは 3126 μg·h/mL 以上，サルでは 4130 μg·h/mL 以上，MRHD の曝露量の約 7 倍以上）及び同様の投与時期で生じたことから，共通した機序だと示唆された。両動物種を用いた機序検討試験により，死亡及び瀕死状態は，摂餌量減少，糖新生の減少及び／又は解糖系の亢進による，高度な血糖値の低下が長期的に生じたためと考えられた。これらの変化は，ベムペド酸の投与中止により回復し，サルでは高糖質補給により，血糖値低下の悪化及び死亡を防ぐことができた。

2.4.4.2.2　肝臓に対する影響

全ての動物種で，肝重量増加，肝細胞肥大及び空胞化/脂肪蓄積が認められたが，全て可逆的であった。これらはマウス及びラットで顕著であり，肝臓の酵素誘導及び/又はわずかなペルオキシソーム増殖に対する適応反応と考えられた。マウス及びラットでは，肝臓の適応性変化が低用量から認められ，高用量でより顕著になり有害な影響として認められた。マウスの 13 週間投与試験では，100 mg/kg/日以上で肝細胞の変性，細胞質変化，及び空胞化，並びにクッパー細胞色素の増加，300 mg/kg/日以上で肝細胞の単細胞壊死の増加が認められた。ラットの 13 週間及び 52 週間投与試験では，30 mg/kg/日以上で ALP，GGT，AST，ALT 及び SDH の増加並びに肝細胞の単細胞壊死が認められた。また，胆管の過形成が 13 週間投与試験の 30 mg/kg/日以上，52 週間投与試験の 60 mg/kg/日で認められた。これらの血液生化学パラメータの増加は可逆的であり，病理組織学的変化も回復期間中に回復傾向を示した。げっ歯類での所見と対照的に，サルでは 2000 mg/kg/日までの単回投与又は 60 mg/kg/日までの最長 52 週間反復投与しても，肝臓に対する有害な影響は認められなかった。

2.4.4.2.3　腎臓に対する影響

ラットに1000 mg/kgを単回投与及びサルに150 mg/kg/日以上を最大2週間投与すると，尿素窒素及び/又はCrが増加し，尿細管上皮細胞の変性及び/又は壊死が認められた。しかし，サルに最大60 mg/kg/日（MRHDの曝露量の10倍）を52週間反復投与しても，腎臓に対する有害な影響は認められなかった。

2.4.4.3　遺伝毒性試験

ベムペド酸は，細菌に対して変異原性を示さず，1242 mg/kg の用量までマウス骨髄に遺伝毒性を示さなかった。ヒト末梢血リンパ球を用いた *In vitro* 染色体異常試験での陽性反応が，代謝活

性化系の存在下において，染色体異常の評価の最大許容用量に近い又はそれを越える細胞毒性を示す濃度で認められた。そこで，ラット骨髄小核試験及び肝臓コメット試験を実施したが，MNPCE 数の増加及び肝臓の DNA 損傷を誘発しなかった。以上より，ベムペド酸は遺伝毒性を有していないと考えられた。

2.4.4.4　　がん原性試験

2年間がん原性試験では，雄マウスの75 mg/kg/日以上で肝細胞腺腫及び癌，雄ラットの30 mg/kg/日で肝細胞腺腫，甲状腺濾胞細胞腺腫，及び膵島細胞腺腫＋癌の発生頻度が増加した。（MRHDの曝露量に対してマウスでは0.6倍以上，ラットでは1.0倍の曝露量）。肝臓及び甲状腺腫瘍については，げっ歯類特有のPPARα活性化による機序であると考えられた。膵臓腫瘍については，ヒトとの関連性は不明であった。

2.4.4.5　　生殖発生毒性試験

ラットを用いた受胎能試験において，60 mg/kg/日まで受胎能に対する影響は認められなかった（MRHDの曝露量の5.1倍）。60 mg/kg/日の用量において，性周期の延長，発情期回数の減少，及び着床前死亡率の増加が認められた。30 mg/kg/日以上の用量で，母動物の体重増加量の減少，摂餌量の減少，及び生殖パラメータ（黄体数，着床数，生存胚数及び同腹児数の減少）に対する影響が認められた（MRHDの曝露量の3.1倍）。

ラット EFD 試験では，胎児の骨格異常の発生頻度の増加が認められた（MRHDの曝露量の3.2倍以上）。ウサギ EFD 試験では催奇形性は認められなかった（MRHDの曝露量の8.7倍）。

ラット PNP 試験では，30 mg/kg/日以上の用量で過度の母動物毒性が認められ，新生児死亡率が上昇した。また，10及び20 mg/kg/日以上の用量で，死産児数の増加，LD 4 の生存率低下，並びに出生児の学習及び記憶能力に影響が認められた。

2.4.4.6　　幼若動物を用いた試験

ベムペド酸を幼若ラットに投与したときの毒性及び曝露プロファイルは，成熟ラットで認められたものと同様であり，幼若動物特有の所見は認められなかった。

2.4.4.7　　その他の毒性試験

PPARリガンド結合性又は活性化

ベムペド酸及びESP15228の*in vitro*試験では，PPARα及びPPARγの弱い活性化作用が認められた。ラット及びサルの長期投与試験では，骨格筋，心筋，及びそれらのトロポニンに対するPPARα又はPPARγに関連した有害な影響は認められなかった。

不純物の試験

原薬の規格（3.2.S.4.1項参照）には[redacted]の個別規格が設定された不純物が記載されている。合成出発物質（　　不純物A*　　）及び合成中間体（不純物C*）は，細菌に対して変異原性を示さなかった。[redacted]は，不純物C*の塩素の代わりにヨードを含有しており，不純物C*で変異原性を示さないため，細菌を用いた復帰突然変異試験は実施しなかった。[redacted]には変異原性の警告構造は認められなかった。

併用投与毒性試験

エゼチミブをベムペド酸と併用投与しても，お互いの毒性プロファイルは変化しなかった。ベムペド酸，ESP15228，及びエゼチミブの曝露量は，両薬剤の併用投与によって顕著に変化しなかった。ベムペド酸を高用量のエゼチミブと併用投与すると，エゼチミブ＋エゼチミブグルクロニドの曝露量が雌で増加した。

ベムペド酸及びアトルバスタチンを臨床的に忍容可能な用量で併用投与しても，お互いの標的臓器に対する付加的及び相乗的な影響及びTKへの影響も認められなかった。

乱用性の評価

乱用の可能性を示唆する所見は認められなかった。

2.4.5 総括及び結論

ベムペド酸の薬理学的作用機序を図 2.4.2-1に示す。ベムペド酸は経口投与後に，肝臓でASCVL1によりETC-1002-CoAに変換される。ETC-1002-CoAはACLを直接阻害し，コレステロールの合成を阻害する。コレステロール合成の阻害によって，肝臓でのLDLR蛋白の発現が増加し，LDLRによる血漿中LDL-Cのクリアランスが亢進する。*In vivo*においてもこの活性を反映し，ベムペド酸はコレステロールの生合成を阻害し，血清脂質を改善する。正常脂質代謝，脂質代謝低下，トリグリセリド過剰生成，高コレステロール血症，及びアテローム性動脈硬化症の複数のげっ歯類モデルにおいて，ベムペド酸は血清脂質の改善とともに，食事誘発性のアテローム性動脈硬化症の進展を抑制した。これらの非臨床データと一致し，第II相及び第III相（短期間及び長期間）国際共同臨床試験，及び国内第II相及び第III相検証試験において高コレステロール血症の成人患者でLDL-Cを低下させた（2.7.3参照）。

ベムペド酸の作用機序はスタチン系薬剤と類似しており，両薬ともコレステロール合成の同じ生化学経路に作用して，コレステロール合成を阻害する。非臨床試験において，両薬剤ともにLDLRの発現を増加させ，CVDのサロゲートマーカーであるLDL-Cを低下させるとともに，CVDの重要な副次的マーカーも低下させた。一方，スタチン系薬剤は筋肉関連AE及びHbA_{1C}上昇を引き起こすが，ベムペド酸は骨格筋では活性を示さず脂肪酸の生合成を阻害しないことから，このような作用がベムペド酸で認められる可能性は低い。

LDLRノックアウトマウスを用いた探索的な薬力学的薬物相互作用試験において，ベムペド酸100 mg/kg/日とアトルバスタチン30 mg/kg/日の2週間併用時に強力なLDL-C低下作用が認められた。スタチン系薬剤と異なり，ベムペド酸は骨格筋でのコレステロール合成を阻害せず（これは，ヒト筋細胞にASCVL1が存在していないことによる），ヒトで骨格筋に対する有害作用が認められる可能性は低いと示唆される。ベムペド酸とアトルバスタチンの併用の非臨床安全性試験において，両薬を臨床的に忍容性のある用量で投与したとき，いずれの薬物の標的臓器にも相加的及び相乗的な影響は認められず，トキシコキネティクス的相互作用も認められなかった。以上より，これらの非臨床データはベムペド酸とスタチン系薬剤の併用療法を裏付ける。全体としてみた場合，ベムペド酸180 mgと高強度，中強度，又は低強度スタチン療法（アトルバスタチンを含む）を併用した海外の広範な第III相臨床試験プログラムで得られたヒトでの安全性データを総合すると，ベムペド酸はスタチン系薬剤と安全に併用できることが示唆されている。さらに，これらの患者の安全性プロファイルは，高強度，中強度，又は低強度スタチン療法による基礎治療

下にプラセボの投与を受けた患者と同様であった。一方，国内試験でも低強度スタチンの使用例が少なく，解釈に限界はあるものの，スタチン強度の違い（高強度，低強度，使用なし）でベムペド酸の有害事象の発現割合に大きな差はないと考えられた。

副次的薬理試験の結果から，コレステロール摂取させたLDLRノックアウトマウスにおいて，ベムペド酸は血糖コントロールを改善し，血清及び肝臓中の脂質を減少させ，アテローム性動脈硬化症の進展を抑制した。また，インスリン抵抗性マウス，DIOマウス，及び果糖を摂取させたハムスターにおいて，ベムペド酸は高トリグリセリド血症，脂肪肝，及び血糖コントロールを改善した。さらに*in vitro*及び*in vivo*でベムペド酸は抗炎症作用を示した。一方，ベムペド酸は，*in vitro*で単離した受容体，イオンチャネル，酵素，及びトランスポーターに対して明確なオフターゲット結合を示さなかった。これらの結果から，ベムペド酸の副次的薬理作用に関連した有害作用が認められる可能性は低い。

安全性薬理試験の結果から，ベムペド酸によるhERGチャネル電流のIC_{50}は1000 μmol/L超と推定され，ベムペド酸投与によるラットのCNS及び呼吸機能，並びにサルの心血管機能に対する有害作用は認められなかった。

ベムペド酸の薬物動態試験は，薬効薬理及び安全性評価に使用された動物種及び*in vitro*試験で評価した。ベムペド酸は良好な経口吸収性が示され，投与後速やかに全身に分布した。経口投与後の組織内濃度は胃及び腸内容物で最も高く，次いで肝臓（薬理活性部位）及び腎臓が高かった。また，メラニン含有組織への保持や親和性は認められなかった。*In vitro*での^{14}C-ベムペド酸の血漿蛋白結合率は，マウス，ラット，サル，及びヒトでいずれも94%以上であった。*In vitro*及び*in vivo*でのベムペド酸の代謝は非臨床試験に使用した動物種及びヒト間で定性的に同様であり，ヒトでのみ認められた代謝物はなかった。ラットでの主要な排泄経路は胆汁排泄である一方，サルでの主要な排泄経路は尿中排泄であった。

ベムペド酸の毒性試験により，以下の非臨床安全性プロファイルが明らかにされた。

単回経口投与時の忍容性は，ラット及びサルで1000及び2000 mg/kgまで良好であった。高用量の反復投与により，マウス，ラット，及びサルで状態悪化／死亡が認められた。これは，摂餌量減少，糖新生の減少及び／又は解糖系の亢進による，高度な血糖値の低下が長期的に生じたためと考えられる。これらの変化は，ベムペド酸の投与中止により回復し，サルでは高糖質補給により，血糖値低下の悪化及び死亡を防ぐことができた。肝臓又は腎臓の病理組織学的変化，並びに尿素窒素及びCr濃度の増加が認められた。有害ではなく適応反応と考えられる肝臓の変化が認められた。

ベムペド酸は遺伝毒性を示さなかった。

雄マウス又は雄ラットにおいて，肝細胞腺腫及び癌，甲状腺濾胞細胞腺腫，及び膵島細胞腺腫と癌の発生頻度が増加した。肝臓及び甲状腺腫瘍については，げっ歯類特有の機序であると考えられた。膵臓腫瘍については，ヒトとの関連性は不明であった。

ベムペド酸はラットの受胎能に影響を与えなかった。ラット胎児の骨格異常の発生頻度の増加が認められた。ウサギEFD試験では催奇形性は認められなかった。ラットPNP試験では，ベムペド酸により過度の母動物毒性が認められ，新生児死亡率が上昇した。また，死産児数の増加，LD 4の生存率低下，並びに出生児の学習及び記憶能力に影響が認められた。ベムペド酸を幼若ラ

ットに投与したときの毒性及びTKプロファイルは，成熟ラットで認められたものと同様であり，幼若動物特有の所見は認められなかった。

ベムペド酸及びESP15228の*in vitro*試験では，PPARα及びPPARγの弱い活性化作用が認められた。ラット及びサルの長期投与試験では，PPARα又はPPARγに関連した有害な影響は認められなかった。

不純物に関して，変異原性又は変異原性の警告構造は認められなかった。

エゼチミブをベムペド酸と併用投与しても，お互いの毒性プロファイルは変化しなかった。ベムペド酸，ESP15228，及びエゼチミブの曝露量は，両薬剤の併用投与によって顕著に変化しなかった。ベムペド酸を高用量のエゼチミブと併用投与すると，エゼチミブ＋エゼチミブグルクロニドの曝露量が雌で増加した。ベムペド酸及びアトルバスタチンを臨床的に忍容可能な用量で併用投与しても，お互いの標的臓器に対する付加的及び相乗的な影響及びTKへの影響も認められなかった。

乱用の可能性を示唆する所見は認められなかった。

2.4.6　参考文献

1 Yin W, Carballo-Jane E, McLaren DG, Mendoza VH, Gagen K, Geohagen NS, et al. Plasma lipid profiling across species for identification of optimal animal models of human dyslipidemia. J Lipid Res. 2012;53(1):51-65.（参考文献番号4.3-80）

2 Pinkosky SL, Newton RS, Day EA, Ford RJ, Lhotak S, Austin RC, et al. Liver specific ATP citrate lyase inhibition by bempedoic acid decreases LDL C and attenuates atherosclerosis. Nat Commun. 2016;7:13457.（参考文献番号4.3-56）

3 Kovanen PT, Bilheimer DW, Goldstein JL, Jaramillo JJ, Brown MS. Regulatory role for hepatic low-density lipoprotein receptors in vivo in the dog. Proc Natl Acad Sci USA. 1981;78(2):1194 8.（参考文献番号4.3-39）

4 Kesaniemi YA, Witztum JL, Steinbrecher UP. Receptor mediated catabolism of low-density lipoprotein in man. Quantitation using glucosylated low-density lipoprotein. J Clin Invest. 1983;71(4):950 9.（参考文献番号4.3-36）

5 Cramer CT, Goetz B, Hopson KL, Fici GJ, Ackermann RM, Brown SC, et al. Effects of a novel dual synthesis inhibitor and its potential utility in treating dyslipidemia and metabolic syndrome. J Lipid Res. 2004;45(7):1289 301.（参考文献番号4.3-13）

6 Filippov S, Pinkosky SL, Lister RJ, Pawloski C, Hanselman JC, Cramer CT, et al. ETC 1002 regulates immune response, leukocyte homing, and adipose tissue inflammation via LKB1 dependent activation of macrophage AMPK. J Lipid Res. 2013;54(8):2095 2108.（参考文献番号4.3-21）

7 Samsoondar JP, Burke AC, Sutherland BG, Telford DE, Sawyez CG, Edwards JY, et al. Prevention of diet induced metabolic dysregulation, inflammation, and atherosclerosis in Ldlr-/- mice by treatment with the ATP citrate lyase inhibitor bempedoic acid. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2017;37(4):647 56.（参考文献番号4.3-60）