目次

2.4 非臨床試験に関する概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.1.1 薬理試験 4
2.4.1.2 薬物動態試験 4
2.4.1.3 毒性試験 5
2.4.2 薬理試験 5
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 5
2.4.2.2 副次的薬理試験 7
2.4.2.3 安全性薬理試験 7
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 8
2.4.3 薬物動態試験 8
2.4.3.1 分析法 8
2.4.3.2 吸収 9
2.4.3.3 分布 9
2.4.3.4 代謝 10
2.4.3.5 排泄 11
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用 11
2.4.3.7 その他薬物動態試験 12
2.4.4 毒性試験 12
2.4.4.1 単回投与毒性試験 12
2.4.4.2 反復投与毒性試験 13
2.4.4.3 遺伝毒性試験 15
2.4.4.4 がん原性試験 16
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 16
2.4.4.6 局所刺激性試験 17
2.4.4.7 その他の毒性試験 18
2.4.5 総括及び結論 18
2.4.5.1 薬理総括 18
2.4.5.2 薬物動態総括 19
2.4.5.3 毒性総括 20
2.4.5.4 結論 23
2.4.6 参考文献一覧 23

Confidential

表 2.4-1. 非臨床概括評価で用いた略語一覧

略語又は用語	略さない表現又は定義
STN1012600 点眼液	有効成分としてセペタプロストを含有する点眼液
ONO-AG-367	セペタプロストの活性代謝物
AUC	Area under the concentration-time curve（濃度-時間曲線下面積）
BCRP	Breast cancer resistant protein（乳癌耐性蛋白）
CES	Carboxylesterase（カルボキシルエステラーゼ）
Cl	Chlorine（塩素）
C_{max}	Maximum concentration（最高濃度）
CYP	Cytochrome P450（チトクロム P450）
EC_{50}	Half maximal effective concentration（50%有効濃度）
EP1 受容体	Prostaglandin E_2 receptor EP1 subtype（プロスタグランジン E_2 受容体 EP1 サブタイプ）
EP3 受容体	Prostaglandin E_2 receptor EP3 subtype（プロスタグランジン E_2 受容体 EP3 サブタイプ）
FOB	Functional observational battery（機能観察総合評価）
FP 受容体	Prostaglandin $F_{2\alpha}$ receptor（プロスタグランジン $F_{2\alpha}$ 受容体）
GLP	Good Laboratory Practice
hERG	human ether-a-go-go related gene
HEK293 細胞	human embryonic kidney 293 細胞
^{3}H-セペタプロスト	セペタプロストのトリチウム標識体
^{3}H-STN1012600 点眼液	有効成分として ^{3}H-セペタプロストを含有する点眼液
^{3}H-ONO-AG-367	ONO-AG-367 のトリチウム標識体
HPLC-LSC	High performance liquid chromatograph-liquid scintillation counter（高速液体クロマトグラフ/液体シンチレーションカウンター）
HPLC-RAD	High performance liquid chromatograph-radioactivity detector（高速液体クロマトグラフ/放射線検出器）
IC_{50}	Concentration of compound that provides 50% inhibition（50%阻害濃度）
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use（医薬品規制調和国際会議）
IP	Inorganic phosphorus（無機リン）
K	Potassium（カリウム）
Ki	Inhibitory constant（阻害定数）
LC-MS	Liquid chromatography mass spectrometry（高速液体クロマトグラフィー/質量分析）

略語又は用語	略さない表現又は定義
LC-MS/MS	Liquid chromatography tandem mass spectrometry（高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析）
LSC	Liquid scintillation counter（液体シンチレーションカウンター）
MATE1	Multidrug and toxin extrusion protein 1
MATE2-K	Multidrug and toxin extrusion protein 2-K
Na	Sodium（ナトリウム）
OAT3	Organic anion transporter 3（有機アニオントランスポーター3）
OATP1B1	Organic anion transporting polypeptide 1B1（有機アニオン輸送ポリペプチド 1B1）
OATP1B3	Organic anion transporting polypeptide 1B3（有機アニオン輸送ポリペプチド 1B3）
OCT1	Organic cation transporter 1（有機カチオントランスポーター1）
OCT2	Organic cation transporter 2（有機カチオントランスポーター2）
ONO-AG-450	セペタプロストの代謝物（ONO-AG-367 の β 酸化体）
PAPS	Prostaglandin Associated Periorbitopathy Syndrome（プロスタグランジン関連眼周囲症）
QTc	Corrected QT interval（補正 QT 間隔）
$T_{1/2}$	Elimination half-life（消失半減期）

Confidential

2.4 非臨床試験に関する概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

緑内障に対するエビデンスに基づいた唯一確実な治療法は眼圧下降であり、眼圧下降薬としては、プロスタノイド受容体関連薬であるFP受容体作動薬が第一選択薬の1つとして広く使用されている[1]。EP3受容体ノックアウトマウスを用いた解析から、FP受容体作動薬の眼圧下降作用の一部は、FP受容体活性化により産生された内因性のプロスタグランジンが、EP3受容体を活性化することで発揮されていると考えられている[2] [3]。このことから、FP受容体アゴニスト活性に加え、EP3受容体アゴニスト活性も有する化合物は、既存のFP受容体作動薬よりも優れた眼圧下降プロファイルを示す可能性が考えられた。

STN1012600点眼液の有効成分であるセペタプロストはプロドラッグであり、点眼後は生体内で速やかに加水分解され、活性体であるONO-AG-367に代謝される。ONO-AG-367は強力なFP及びEP3受容体アゴニスト活性を有する化合物であることから、セペタプロストは既存のFP受容体作動薬よりも優れた眼圧下降プロファイルを有する新規眼圧下降薬となる可能性が考えられた。そこで、セペタプロストの新規眼圧下降薬としての妥当性を評価するため、以下の薬理、薬物動態及び毒性試験を実施した。

2.4.1.1 薬理試験

セペタプロストの効力を裏付ける試験として、*in vitro*試験系を用いた受容体親和性及び選択性に関する試験、正常眼圧イヌ及び正常眼圧サルを用いた眼圧下降作用に関する試験、及びレーザー誘発高眼圧サルを用いた作用機序に関する試験を実施した。副次的薬理試験としては、*in vitro*試験系を用いたオフターゲット作用に関する試験を実施した。安全性薬理試験については、ICHガイドラインで定められた中枢神経系及び呼吸・循環器系を含む各種器官系に対する作用に加え、追加のフォローアップ及び補足的安全性薬理試験についても検討した。すべての安全性薬理試験はGLPを遵守して実施した。

2.4.1.2 薬物動態試験

吸収については、^{3}H-セペタプロストをサルに単回点眼及び静脈内投与、ラットに単回静脈内投与時の血漿中放射能濃度を測定した。また、トキシコキネティクスとしてセペタプロストをサル及びラットにそれぞれ反復点眼及び反復静脈内投与したときの血漿中セペタプロスト（サルのみ）及びONO-AG-367濃度を測定して、反復投与時の動態を評価した。

分布については、^{3}H-セペタプロストをサルに単回点眼して眼組織分布及び全身組織分布を、ラットに単回静脈内投与して全身組織分布を評価した。また、妊娠ラットを用いて、胎盤・胎児への移行性を評価した。さらに、*in vitro*で各種動物及びヒトの血清蛋白結合を、*in vitro*及び*ex vivo*にてそれぞれ各種動物及びヒト、サル及びラットの血球分配を評価した。

代謝については、各種動物及びヒトの肝細胞を用いて *in vitro* 代謝物プロファイルを評価して動物種間の比較を行うとともに、代謝物の構造推定を行った。また、^{3}H-セペタプロストをサルに単回点眼して血漿、房水、尿、糞及び胆汁中の代謝物プロファイルを評価した。加えて、サル及びラットに単回静脈内投与し、血漿、尿、糞及び胆汁（胆汁はラットのみ）中代謝物プロファイルを評価した。さらに、セペタプロストの代謝における CYP 及びエステラーゼ分子種の関与、並びに ONO-AG-367 による CYP 代謝阻害を *in vitro* で検討した。

排泄については、^{3}H-セペタプロストをサル及びラットにそれぞれ単回点眼及び静脈内投与して、尿、糞及び胆汁中への排泄を評価した。また、授乳期のラットに ^{3}H-セペタプロストを単回静脈内投与して乳汁への排泄を評価した。

2.4.1.3 毒性試験

臨床投与経路である点眼による反復投与時の毒性を評価する目的で、サルを用いた 4、13 及び 39 週間反復点眼試験及びラットを用いた 4 週間反復点眼試験を実施した。全身毒性を評価する目的で、ラットを用いた 4、13 及び 26 週間反復静脈内投与試験及びサルを用いた 4 週間反復静脈内投与試験を実施した。その他、*in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験、ウサギを用いた眼刺激性試験及びモルモットを用いた皮膚感作性試験を実施した。すべての毒性試験は GLP を遵守して実施した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

（1） 受容体親和性及び選択性に関する試験

添付資料 4.2.1.1-1、4.2.1.1-2

セペタプロストの活性代謝物である ONO-AG-367 のプロスタノイド受容体結合試験の結果、ONO-AG-367 はヒト FP 及びヒト EP3 受容体に高い親和性及び選択性を示した（FP 受容体に対する Ki 値は 0.727 nmol/L、EP3 受容体に対する Ki 値は 25.0 nmol/L）。ONO-AG-367 は EP1 受容体にも結合親和性を示したが、その Ki 値は 734 nmol/L であり、FP 及び EP3 受容体と比較し、EP1 受容体に対する結合親和性は低いと考えられた。FP 受容体発現細胞又は EP3 受容体発現細胞を用いてアゴニスト活性を評価した結果、ONO-AG-367 はヒト FP 及びヒト EP3 受容体に対して高いアゴニスト活性を示した（FP 受容体に対する EC_{50} 値は 22.3 nmol/L、EP3 受容体に対する EC_{50} 値は 28.6 nmol/L）。以上の結果から、ONO-AG-367 は FP 及び EP3 受容体に対して選択的に結合し、高いアゴニスト活性を有する、FP 及び EP3 受容体作動薬であることが明らかとなった。

（2） 眼圧下降作用に関する試験

添付資料 4.2.1.1-3、4.2.1.1-4、4.2.1.1-5、4.2.1.1-6

正常眼圧イヌ及び正常眼圧サルを用いて、STN1012600 点眼液の単回点眼時の眼圧下降作用を評価した。その結果、STN1012600 点眼液は 0.0001%以上で濃度依存的に、基剤群と比較して有意な眼圧下降作用を示した。また、その眼圧下降作用は、正常眼圧イヌにおいては投与後 24 時間、正常眼圧サルにおいては投与後 24 時間以上にわたり維持された。0.0003%以上の濃度においては、FP 受容体作動薬であるキサラタン®点眼液 0.005%よりも優れた眼圧下降作用及び持続性を示した。正常眼圧サルを用いた 14 日間反復点眼試験の結果、反復点眼による眼圧下降作用の減衰は認められなかった。

FP 受容体作動薬は眼圧下降作用を有する[4] [5] [6]。一方、EP3 受容体作動薬のみでは眼圧下降作用を示さないことが報告されている[7]。これらのことから、STN1012600 点眼液の眼圧下降作用は、主に FP 受容体活性化によるものと考えられる。STN1012600 点眼液の眼圧下降作用に対する EP3 受容体の関与を検討するため、正常眼圧サルに、EP3 受容体拮抗薬を前房内投与した後、STN1012600 点眼液を単回点眼した。その結果、投与後 8 及び 24 時間には STN1012600 点眼液の眼圧下降作用に有意な変化は認められなかったが、投与後 26 時間においては、眼圧下降作用が有意に減弱した。EP3 受容体拮抗薬前房内投与により、投与後早期の測定時間では眼圧下降作用の減弱が認められず、投与後後期の測定時間においては減弱が認められたことから、EP3 受容体活性化は、STN1012600 点眼液の眼圧下降作用の持続性に寄与することが示唆された。

以上の結果から、STN1012600 点眼液は、正常眼圧イヌ及び正常眼圧サルに対して眼圧下降作用を示し、反復点眼においても減弱することなく安定した作用を発揮することが明らかとなった。STN1012600 点眼液の薬効濃度は 0.0001%以上と考えられ、0.0003%以上の濃度において、キサラタン®点眼液 0.005%よりも作用強度及び持続性に優れていることが示された。STN1012600 点眼液の眼圧下降作用は主に FP 受容体活性化によるものと考えられ、EP3 受容体活性化は、STN1012600 点眼液の眼圧下降作用の持続性に寄与すると考えられた。

(3) 作用機序に関する試験

添付資料 4.2.1.1-7、4.2.1.1-8

STN1012600 点眼液をレーザー誘発高眼圧サルに 1 日 1 回、7 日間反復点眼後、房水動態をフルオロフォトメトリー法により検討した。その結果、房水流量に変化は認められなかった。一方で、統計学的に有意ではなかったが、STN1012600 点眼液投与により、基剤群と比較し、房水流出率が 68.4%、ぶどう膜強膜流出量が 70.7%増大した。FP 受容体作動薬の眼圧下降作用機序は、ぶどう膜強膜流出路を介した房水流出促進であると考えられている[4] [5] [6]。セペタプロストの活性代謝物である ONO-AG-367 は強力な FP アゴニスト活性を有することから、STN1012600 点眼液の眼圧下降作用機序はぶどう膜強膜流出路を介した房水流出促進と考えられた。また、主に線維柱帯流出路からの流出率を示す値と考えられている房水流出率が増大したことから、線維柱帯流出路を介した房水流出促進作用を有する可能性も示唆された。

2.4.2.2　副次的薬理試験

(1)　オフターゲット作用に関する試験

添付資料 4.2.1.2-1

合計 66 種の、受容体、イオンチャネルあるいはトランスポーター（以下、受容体等）と、それらに対応した放射性標識リガンドとの結合に対する ONO-AG-367 の阻害活性を指標に、ONO-AG-367 の各種受容体等に対する結合親和性を検討した。その結果、10 μmol/L の ONO-AG-367 処置時における阻害率は最大でも 22%であり、各種受容体等に対し、ほとんど親和性を示さなかった。以上の結果から、ONO-AG-367 の各種受容体等への結合親和性は非常に低く、オフターゲット作用を示す可能性は低いと考えられた。

2.4.2.3　安全性薬理試験

(1)　中枢神経系に及ぼす作用

添付資料 4.2.3.2-11

サルを用いた 4 週間反復静脈内投与試験の初日に FOB 法によりセペタプロストの中枢神経系に及ぼす影響を評価した結果、200 μg/kg において、中枢抑制を示す種々の所見（動作緩慢、運動失調、接触反応の低下等）が投与直後から観察され、消化器系の症状（流涎、嘔吐及び軟便）も観察された。無影響量は 20 μg/kg であった。

(2)　心血管系に及ぼす作用

添付資料 4.2.1.3-1、4.2.1.3-2、4.2.1.3-3、4.2.1.3-4、4.2.1.3-5、4.2.1.3-6

サルを用いてセペタプロストの心血管系に及ぼす影響を評価した結果、2 μg/kg 以上の用量において、体温低下、血圧上昇及び心拍数増加が認められた。また、20 μg/kg で心拍数の増加に起因した QT 時間の短縮が認められた。しかしながら、PR 間隔、QRS 時間及び QTc を含む心電図パラメータには 20 μg/kg まで影響を及ぼさなかったことから、セペタプロストは 20 μg/kg まで心電図に対して直接的な影響を及ぼさないと考えられた。血圧及び心拍数に対する無影響量は 0.2 μg/kg であった。

hERG チャネルを発現させた HEK293 細胞を用いた *in vitro* 電気生理学的検討において、セペタプロストは 0.627 μmol/L 以上で hERG チャネル電流を阻害し、その IC_{50} 値は 5.2 μmol/L であった。一方、ONO-AG-367 は 10 μmol/L まで hERG チャネル電流に対して作用を示さなかった。

モルモット摘出乳頭筋の活動電位に対する作用の検討において、セペタプロストは 5.28 μmol/L で 30%、50%及び 90%活動電位持続時間の短縮が認められた。一方、ONO-AG-367 は 10 μmol/L まで心筋活動電位に対して無影響であった。

Confidential

(3) 呼吸系に及ぼす作用

添付資料 4.2.1.3-1、4.2.1.3-2

サルを用いてセペタプロストの呼吸系に及ぼす影響を評価した結果、0.06 μg/kg 以上の用量において、呼吸数増加及び 1 回換気量低下が認められ、無影響量は 0.04 μg/kg であった。

(4) その他の作用

添付資料 4.2.1.3-7、4.2.1.3-8、4.2.1.3-9、4.2.1.3-10、4.2.1.3-11、4.2.1.3-12

ヒト血小板に対する作用を *in vitro* で評価した結果、活性代謝物である ONO-AG-367 は 100 μmol/L まで血小板凝集惹起作用を示さず、また ADP 及びコラーゲンによる血小板凝集惹起に対して抑制作用を示さなかった。しかしながら、ONO-AG-367 は ADP 及びコラーゲン惹起による血小板凝集に対する亢進作用が認められ、その無影響量はそれぞれ 0.1 及び 1 μmol/L であった。ヒト血液における凝固及び線溶系に対する作用を *in vitro* で評価した結果、ONO-AG-367 は血液凝固系（プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間）及び血液線溶系（プラスミン活性）に対して作用を示さなかった。ラット血漿に対する作用を同様に *in vitro* で評価した結果、ONO-AG-367 は 1 μmol/L においても血小板凝集、血液凝固系及び血液線溶系に対して作用を示さなかった。

ラットを用いてセペタプロストの尿量・尿中電解質排泄に対する作用を評価した結果、10 μg/kg 以上の用量で静脈内投与したとき、尿量の増加、尿 pH の低下及び尿中電解質（Na、K 及び Cl）の総排泄量の増加が認められたことから、無影響量は 1 μg/kg であった。

サルを用いてセペタプロストの子宮収縮に及ぼす作用を評価した結果、0.2 μg/kg の用量で自発収縮の軽微な亢進がみられ、2 μg/kg では全例で明らかな収縮が認められたことから、子宮収縮に対する無影響量は 0.06 μg/kg と考えられた。

サルを用いてセペタプロストによって散瞳もしくは縮瞳したときの眼屈折率に影響を及ぼす作用を検討したが、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試験

該当する試験はない。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法

^{3}H-セペタプロスト及び ^{3}H-ONO-AG-367 を用いた試験においては、生体試料及び *in vitro* 試験試料中の総放射能は LSC を用いて測定した。また、セペタプロスト及び代謝物由来の放射能は

HPLC-RAD 又は HPLC-LSC を用いて測定した。代謝物構造推定には LC-MS 及び LC-MS/MS を用いた。

トキシコキネティクスにおいては、ラット血漿中 ONO-AG-367、サル血漿中セペタプロスト及び ONO-AG-367 濃度を LC-MS/MS により定量した。

2.4.3.2 吸収

添付資料 4.2.2.2-1、4.2.3.2-4、4.2.3.2-10

サルに 0.008% ^{3}H-STN1012600 点眼液を単回点眼したときの血漿中放射能濃度を測定した。点眼後の放射能の吸収は速やかであり、血漿中放射能濃度は最初の測定時点である点眼後 5 分に C_{max} に達し、点眼後 6 時間には C_{max} の約 1%まで速やかに減少したのち、$T_{1/2}$ 8.7 時間で緩やかに消失する二相性を示した。点眼時の見かけの吸収率は 72.0%であった。

サルに STN1012600 点眼液を 1 日 2 回 39 週間反復点眼したときの血漿中 ONO-AG-367 の C_{max} 及び AUC は投与量の増加に伴って上昇した。反復点眼による蓄積及び雌雄差は認められなかった。ラットにセペタプロストを 1 日 1 回、26 週間反復静脈内投与したときの血漿中 ONO-AG-367 の C_{max} 及び AUC は投与量の増加に伴って上昇し、反復投与により雌雄ともに全身曝露量は増加する傾向を示した。投与初日の全身曝露量に明らかな雌雄差は認められなかったが、13 及び 26 週における全身曝露量は雌に比べて雄で高い傾向を示した。ラット雌雄間で代謝活性が異なることが報告されていること[8] [9]から、代謝活性の雌雄差に起因すると推察された。

2.4.3.3 分布

添付資料 4.2.2.2-1、4.2.2.2-2、4.2.2.3-1、4.2.2.3-2

サルに 0.008% ^{3}H-STN1012600 点眼液を単回点眼したときの眼組織中放射能は、角膜、虹彩、眼瞼結膜に高濃度に分布し、最初の測定時点である点眼後 0.5 時間に C_{max} に達したのち減少した。メラニン色素含有組織である虹彩、毛様体及び脈絡膜中放射能濃度はメラニン色素非含有組織と同様の $T_{1/2}$ で経時的に減少したことから、セペタプロスト及びその代謝物のメラニン親和性はないと考えられた。臨床想定用量である 1 日 1 回で本剤を反復点眼したとき、セペタプロスト及びその代謝物はメラニン色素含有組織を含む各眼組織に蓄積しないと考えられた。また、ほとんどの全身組織における放射能濃度は、最初の測定時点である投与後 0.5 時間に C_{max} に達した。組織／血漿の放射能濃度比は、吸収及び排泄に関与する組織（胆嚢内胆汁、大腸、胆嚢、腎臓、肝臓、小腸、鼻粘膜、胃及び膀胱）で高値を示し、すべての全身組織中放射能の $T_{1/2}$ は血漿の $T_{1/2}$（20 時間）と比べて短かった。

ラットに ^{3}H-セペタプロストを単回静脈内投与したとき、組織中放射能濃度は、肝臓、腎臓及び膀胱で高値を示した。放射能濃度はすべての全身組織において最初の測定時点である投与後 0.25 時間に C_{max} に達し、ほとんどの組織で投与後 72 時間までに放射能濃度は定量下限未満となった。投与後 72 時間において放射能濃度が定量された組織の $T_{1/2}$ は、血漿と同程度又はそれ以

下であったことから、セペタプロスト及びその代謝物が全身組織中に残留する可能性は低いと考えられた。

セペタプロストは生体内で速やかにONO-AG-367に代謝されるため、^{3}H-ONO-AG-367の*in vitro*血清蛋白結合率を評価した。^{3}H-ONO-AG-367の血清蛋白に対する結合率は、ラットで78.3%～79.0%、サルで72.5%～73.5%、ヒトで83.9%～85.4%であった。

サルに^{3}H-STN1012600点眼液を単回点眼したとき及びラットに^{3}H-セペタプロストを単回静脈内投与したときの放射能の*ex vivo*血球分配率は経時的に上昇し、投与後48時間ではそれぞれ40.4%及び76.9%を示した。この*ex vivo*で認められた血球分配率の上昇は血液中で生成された比較的血球に分配されやすい代謝物（ONO-AG-450の還元体を含むONO-AG-450の代謝物）の割合に影響されると考えられた。

妊娠18日のラットに^{3}H-セペタプロストを単回静脈内投与したとき、母体及び胎児の組織中放射能濃度は、ほとんどの組織で最初の測定時点である投与後5分にC_{max}を示したのち、経時的に減少した。胎盤及び胎児への放射能の分布が認められたことから、セペタプロスト又はその代謝物が胎盤を通過し胎児に分布することが明らかとなった。

2.4.3.4　代謝

添付資料4.2.2.4-1、4.2.2.4-2、4.2.2.4-3、4.2.2.4-4、4.2.2.4-5、4.2.2.4-6

サルに^{3}H-STN1012600点眼液を単回点眼したとき、房水中にセペタプロストは存在せず、主代謝物としてONO-AG-367が認められた。ヒトエステラーゼを用いた代謝試験においてセペタプロストはCES1によりONO-AG-367に代謝されたこと、角膜中におけるエステラーゼ活性は角膜上皮において最も高いという報告[10]から、セペタプロストは主に角膜上皮で代謝されることが示唆された。

サルに^{3}H- STN1012600点眼液を単回点眼したとき、房水、胆汁、尿及び糞中にセペタプロストは認められず、血漿中においてもセペタプロストの存在割合は低かったことから、セペタプロストは生体内で速やかにONO-AG-367及びその代謝物に代謝されると考えられた。また、セペタプロストは加水分解によりONO-AG-367、次いでβ酸化によりONO-AG-450に代謝されたのち、さらに水酸化、還元、タウリン抱合、グルクロン酸抱合及びそれらの反応の組み合わせによって代謝されると推測された。

ラット、イヌ、サル及びヒト肝細胞によって生成される代謝物を比較した。いずれの種においても主代謝物としてONO-AG-367及びONO-AG-450が認められ、ヒト特異的代謝物は認められなかった。

ヒト肝ミクロソームを用いてONO-AG-367の代謝におけるCYPの関与を調べた。反応液中ONO-AG-367濃度はインキュベーション開始直後から低下しなかったことから、ONO-AG-367はCYPによって代謝されず、主な代謝経路はβ酸化であると考えられた。

ヒト肝ミクロソームを用いてONO-AG-367の各CYP分子種における代謝の直接的阻害、時間及び代謝依存的阻害を評価した。検討したすべてのCYP分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6及びCYP3A4/5）に対して直接的な阻害、並びに時間及び代謝依存的な阻害作用は認められなかったことから、CYP阻害の懸念はないと考えられた。

2.4.3.5 排泄

添付資料 4.2.2.2-1、4.2.2.2-2、4.2.2.3-2

サルに^{3}H-セペタプロストを単回静脈内投与したとき、尿及び糞中に投与放射能のそれぞれ66.1%及び32.6%が排泄され、^{3}H-STN1012600点眼液を単回点眼したときは尿及び糞中に投与放射能のそれぞれ46.2%及び33.7%が排泄された。尿中にセペタプロスト及びONO-AG-367は存在せず、主代謝物としてONO-AG-450が認められた。糞中にセペタプロストは存在せず、主代謝物はONO-AG-450及びONO-AG-367であった。

ラットに^{3}H-セペタプロストを単回静脈内投与したとき、尿及び糞中に投与放射能のそれぞれ26.7%及び70.7%が排泄された。胆汁中にセペタプロストは存在せず、主代謝物としてONO-AG-367タウリン抱合体及びONO-AG-450が認められた。尿中にセペタプロストは存在せず、主代謝物はONO-AG-450であった。糞中にセペタプロストは存在せず、主代謝物はONO-AG-450還元体、ONO-AG-450及びONO-AG-367であった。

胆管カニュレーションを施したラットに^{3}H-セペタプロストを単回静脈内投与したとき、胆汁、尿及び糞中にそれぞれ投与放射能の74.6%、22.7%及び0.4%が排泄されたことから、放射能は胆汁を介して糞中に排泄されると考えられた。

授乳期のラットに^{3}H-セペタプロストを単回静脈内投与したとき、乳汁への放射能の移行が認められたことから、投与されたセペタプロストの一部は、セペタプロスト又はその代謝物として乳汁へ排泄されると考えられた。

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

添付資料 4.2.2.6-1

*In vitro*において各種ヒトトランスポーターのセペタプロスト及びONO-AG-367に対する基質認識性を検討した結果、セペタプロストはBCRP、ONO-AG-367はMATE2-K、OAT3、OATP1B1及びOATP1B3の基質であることが示唆された。MATE2-K及びOAT3は腎排泄に関与するトランスポーターであるが、外国で実施された第I相試験 (ONO-9054IOU001) において点眼後24時間までの尿中に排泄されたONO-AG-367は投与量の10%未満であったことから、ONO-AG-367の主排泄経路は腎排泄でないと考えられた。したがって、これらトランスポーターを介する全身薬物相互作用の懸念はないと考えられた。また、OATP1B1又はOATP1B3に関しては、これらのトランスポーター阻害薬がセペタプロストと併用され血漿中ONO-AG-367濃度が増加した場合においても、十分な安全域を確保できることから、全身性の有害事象が生じる可

能性は極めて低いと推察された。加えて、眼局所においては、併用される可能性がある緑内障・高眼圧症治療点眼剤のこれらトランスポーター輸送に対する阻害活性の程度及び角膜における mRNA の発現量から、薬物相互作用が生じる可能性は極めて低いと推察された。

また、*in vitro* においてセペタプロスト及び ONO-AG-367 が各種ヒトトランスポーターの輸送活性に及ぼす影響を検討した結果、セペタプロストは、BCRP、MATE1、OATP1B1、OATP1B3、OCT1 及び OCT2、ONO-AG-367 は BCRP、OAT3、OATP1B1、OATP1B3 及び OCT2 の輸送活性を阻害することが示唆された。セペタプロスト及び ONO-AG-367 によるトランスポーター阻害作用が併用薬の消化管吸収及び全身クリアランスに影響を及ぼす可能性を評価した結果、パラメータ値は各トランスポーター阻害薬のカットオフ基準値をいずれも下回っていた。よって、本剤及びこれらトランスポーター基質となる薬物が併用投与された場合、セペタプロスト及び ONO-AG-367 が各トランスポーターの輸送活性を阻害することによって全身薬物相互作用を起こす可能性は極めて低いと考えられた。加えて眼局所においては、セペタプロスト及び ONO-AG-367 のこれらトランスポーター輸送に対する阻害活性の程度及び角膜における mRNA の発現量から、薬物相互作用が生じる可能性は極めて低いと推察された。

以上のことから、本剤と併用される可能性がある薬剤やその他薬剤との薬物動態学的相互作用を生じる可能性は低いと考えられ、セペタプロスト及び ONO-AG-367 がこれらトランスポーターの基質となること及び輸送活性を阻害することの臨床的意義は低いと推察された。

2.4.3.7　その他薬物動態試験

該当する試験はない。

2.4.4　毒性試験

2.4.4.1　単回投与毒性試験

添付資料 4.2.3.2-6、4.2.3.2-11

独立した単回投与毒性試験は実施せず、ラット及びサルを用いた反復静脈内投与試験の初回投与時の観察結果より、急性毒性を評価した。ラットを用いた 4 週間反復静脈内投与試験の初回投与後の観察において、セペタプロストは 100 μg/kg まで死亡あるいは切迫剖検例が認められなかったが、100 μg/kg で投与後ほぼ全例に耳介蒼白が認められ、うち数例は一過性の自発運動減少、呼吸緩徐あるいは呼吸深大を示した。サルを用いた 4 週間反復静脈内投与試験の初回投与後の観察において、200 μg/kg まで死亡あるいは切迫剖検例は認められなかったが、20 μg/kg 以上の群で流涎、嘔吐及び泥状便、軟便あるいは水様便といった糞便性状の異常が観察された。また、200 μg/kg では中枢抑制を示す動作緩慢、運動失調、接触反応の低下等が投与直後から観察され、瞳孔径の散大及び縮小も認められた。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

臨床投与経路である点眼投与時の毒性を評価するために、サルを用いた4週間、13週間及び39週間反復点眼試験及びラットを用いた4週間反復点眼試験を実施し、全身への毒性作用をより詳細に評価するために、ラットを用いた4週間、13週間及び26週間反復静脈内投与試験及びサルを用いた4週間反復静脈内投与試験を実施した。

(1) サル4週間反復点眼試験

添付資料 4.2.3.2-1、4.2.3.2-2

カニクイザルに0.0003%、0.001%、0.005%及び0.01% STN1012600点眼液又は基剤を4週間反復点眼投与し、眼局所及び全身への毒性を評価した。結果として、0.001%以上の点眼液を点眼した時に数例で一過性の散瞳又は縮瞳が認められた。また、0.005%以上では一過性の眼球結膜の出血、眼球結膜又は眼瞼結膜の充血が観察された。無毒性量は0.0003%と考えられた。

さらに、瞳孔径への影響を評価するために追加でサルを用いた4週間反復点眼試験を実施したが、評価に用いた0.002%及び0.003%点眼液の両方で投与初日の投与直後に一過性の散瞳が認められたため、無毒性量が決定できなかった。

(2) サル13週間反復点眼試験

添付資料 4.2.3.2-3

カニクイザルに0.001%、0.003%、0.005%及び0.01% STN1012600点眼液又は基剤を13週間反復点眼投与し、眼局所及び全身への毒性を評価した。結果として、投与初期に0.01%で一過性の結膜充血が観察された以外に異常は認められなかった。結膜充血についても、少数例で短期間に認められた変化であったことから毒性学的意義はないと考え、無毒性量は0.01%と考えた。

(3) サル39週間反復点眼試験

添付資料 4.2.3.2-4

カニクイザルに0.003%、0.005%及び0.01% STN1012600点眼液又は基剤を39週間反復点眼投与し、眼局所及び全身への毒性を評価した。結果として、0.003%以上で瞳孔径への影響、0.005%で虹彩色素沈着、0.005%以上で上眼瞼の深化が認められた。これらの変化は、FP受容体作動薬のクラスエフェクトとして知られており、外観的な変化に留まり機能的な変化を伴わないことから、毒性学的意義のない変化と考え、無毒性量は0.01%と考えた。

(4) ラット4週間反復点眼試験

添付資料 4.2.3.2-5

ラットに 0.001%、0.003%及び 0.01% STN1012600 点眼液又は基剤を 4 週間反復点眼投与し、眼局所及び全身への毒性を評価した。結果として、虹彩血管収縮が 0.001%以上の点眼群で認められた。さらに 0.01%の雄 1 例では網膜血管収縮、網膜萎縮及び網膜赤色点（斑）が認められ、剖検でも網膜赤色点（斑）が、病理組織学的検査では網膜出血及び網膜ひだ／ロゼットを伴った網膜萎縮が認められた。虹彩血管の収縮については、器質的変化を伴わず虹彩の機能にも影響がなかったため毒性学的意義のない変化と考え、無毒性量は 0.003%と考えた。

(5) ラット 4 週間反復静脈内投与試験

添付資料 4.2.3.2-6、4.2.3.2-7、4.2.3.2-8

ラットにセペタプロストを 0、1、10 及び 100 μg/kg の用量で 4 週間反復静脈内投与し、全身への毒性を評価した。結果として、100 μg/kg で投与後ほぼ全例に耳介蒼白が認められ、うち数例は一過性の自発運動減少、呼吸緩徐あるいは呼吸深大を示した。眼科検査では 10 μg/kg の 1 例で網膜赤色点（斑）が認められた。尿検査においては、10 μg/kg 以上で尿中 Na 及び Cl 濃度あるいは総排泄量の低値が認められた。血液学的検査においては、100 μg/kg でヘマトクリット値及びヘモグロビン量の低値、網赤血球百分率の高値及びプロトロンビン時間の短縮が認められた。また、10 μg/kg 以上で血小板数の低値が認められた。剖検では、1 μg/kg の 2 例及び 100 μg/kg の 1 例に眼球の赤色点（斑）が認められ、病理組織学的検査の結果、硝子体出血であった。病理組織学的検査では他に 100 μg/kg で脾臓の髄外造血が認められた。この試験では無毒性量は求められなかった。

無毒性量を求めるために 0、0.03、0.1 及び 0.3 μg/kg の用量で 4 週間静脈内投与試験を追加実施した結果、被験物質投与に関連した変化は認められず、無毒性量は 0.3 μg/kg と考えられた。また、眼底出血所見の回復性を検討するために 100 μg/kg の用量で 1 日 2 回静脈内投与を 4 週間実施したが、眼底出血所見は認められなかったことから、回復性は検討できなかった。

(6) ラット 13 週間反復静脈内投与試験

添付資料 4.2.3.2-9

ラットにセペタプロストを 0、0.1、0.3、1 及び 10 μg/kg の用量で 13 週間反復静脈内投与し、全身への毒性を評価した。結果として、病理組織学的検査において 10 μg/kg で大腿骨髄及び胸骨髄に限局的な骨髄細胞減少、及び脾臓での髄外造血が認められた。これらの所見は 4 週間の休薬後の動物ではみられなかった。無毒性量は 1 μg/kg と考えられた。

(7) ラット 26 週間反復静脈内投与試験

添付資料 4.2.3.2-10

ラットにセペタプロストを 0、0.4、2 及び 10 μg/kg の用量で 26 週間反復静脈内投与し、全身への毒性を評価した。結果として、血液学的検査において 10 μg/kg で網赤血球数の高値及び血小

板数の低値が認められた。器官重量測定においては、脾臓重量の高値が 2 μg/kg 以上の投与群で認められた。病理組織学的検査においては、2 μg/kg 以上の雄、10 μg/kg の雌で大腿骨髄及び胸骨髄に局所的な細胞密度の低下及び脾臓での髄外造血の増加が認められた。また、10 μg/kg の雄で大腿骨及び胸骨の骨梁の増加が認められた。骨髄の細胞密度の低下は 4 週間休薬後の動物でも認められたが、その他の所見は回復した。無毒性量は雄で 0.4 μg/kg、雌で 2 μg/kg と考えられた。

(8) サル 4 週間反復静脈内投与試験

添付資料 4.2.3.2-11

サルにセペタプロストを 0、2、20 及び 200 μg/kg の用量で 4 週間反復静脈内投与し、全身への毒性を評価した。結果として、一般状態観察において 20 μg/kg 以上で、投与初期より流涎、嘔吐及び泥状便、軟便あるいは水様便といった糞便性状の異常が観察され、さらに運動性の低下が観察された。20 μg/kg 群以上では体重減少が認められた。血液生化学的検査においては、200 μg/kg で IP の低値、Cl 及び総コレステロールの低値、尿検査では 200 μg/kg で Na 及び Cl の低値が認められた。剖検では、200 μg/kg の雌全例の胸腺が小さかった。器官重量では、胸腺重量の低値が雄では 20 μg/kg 以上で、雌では 200 μg/kg で認められた。また、200 μg/kg の雌では副腎重量の高値が認められた。病理組織学的検査では、20 μg/kg の雌で皮下組織の脂肪細胞の萎縮性変化、胸腺の萎縮が認められた。200 μg/kg では、脂肪細胞の萎縮性変化が心臓、骨髄、皮下組織にみられ、胸腺及び脾臓の萎縮も観察された。これらの所見は、4 週間の休薬で回復性が認められた。無毒性量は 2 μg/kg と考えられた。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒトリンパ球細胞を用いた染色体異常試験及びラットを用いた小核試験を実施した。

(1) 細菌を用いる復帰突然変異試験

添付資料 4.2.3.3.1-1

ネズミチフス菌株の TA100、TA1535、TA98 及び TA1537 並びに大腸菌株 WP2*uvrA* の 5 菌株を使用した。試験は非代謝活性化条件及び代謝活性化条件下でプレインキュベーション法により実施した。用量検討試験をセペタプロスト濃度として 1.22～5000 μg/plate で実施し、本試験は明らかな生育阻害が認められる用量もしくは 5000 μg/plate を最高用量として、非代謝活性化条件では TA100、TA1535 及び TA1537 で 1.22～78.1 μg/plate、TA98 で 2.44～313 μg/plate、WP2*uvrA* で 78.1～5000 μg/plate、代謝活性化条件下では、TA100、TA1535 及び TA1537 で 4.88～313 μg/plate、TA98 で 9.77～5000 μg/plate、WP2*uvrA* で 39.1～2500 μg/plate で試験を実施した。結果としてセペタプロストは変異原性を示さなかった。

(2) 哺乳類細胞を用いる染色体異常試験

添付資料 4.2.3.3.1-2

ヒトリンパ球細胞を使用した。まず初めに、細胞増殖抑制検討を実施し、短時間処理法（非代謝活性化条件下及び代謝活性化条件下）及び連続処理法 24 時間処理の 50%細胞増殖抑制用量を評価した。その結果に基づいて、染色体異常試験では、短時間処理法非代謝活性化条件下ではセペタプロスト濃度として 20～140 μg/mL、代謝活性化条件下では 60～180 μg/mL、連続処理法では、10～120 μg/mL で評価を実施した。結果としてセペタプロストは染色体異常誘発性を示さなかった。

(3) ラットを用いる小核試験

添付資料 4.2.3.3.2-1

ラットに、セペタプロストを 0、1、3 及び 10 mg/kg の用量で 24 時間間隔 3 回腹腔内投与し、小核をもつ幼若赤血球の出現頻度を評価した。結果として、セペタプロスト投与群で小核をもつ幼若赤血球の増加が認められず、*in vivo* における染色体異常誘発性を示さなかった。

2.4.4.4 がん原性試験

がん原性試験を実施しなかった。実施しなかった理由を 2.6.6.5 項に記載した。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

ラットにおける受胎能及び初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギにおける胚・胎児発生への影響に関する試験、及びラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を実施した。

(1) 受胎能及び初期胚発生に関する試験

添付資料 4.2.3.5.1-1

ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験では、セペタプロストを 0、3、10 及び 30 μg/kg の用量で静脈内投与した。結果として、親動物の一般毒性として、30 μg/kg の雄 2 匹で死亡が認められた。生殖機能への影響に関しては、発情頻度、発情期の間隔、器官重量、交尾率、受胎率、交配所要日数、黄体数、着床数、着床率及び着床前死亡率に投与に関連する異常は認められなかった。初期胚発生への影響についても、生存胎児数、着床後死亡数、胎児生存率及び着床後死亡率に投与に関連する異常は認められなかった。一般毒性に対する無毒性量は雄で 10 μg/kg、雌で 30 μg/kg と考えられた。また、親動物の生殖機能及び初期胚発達に対する無毒性量は 30 μg/kg と考えられた。

(2) 胚・胎児発生への影響に関する試験

添付資料 4.2.3.5.2-1、4.2.3.5.2-2、4.2.3.5.2-3、4.2.3.5.2-4

ラット胚・胎児試験では、用量設定試験の結果から 0、1、3 及び 10 μg/kg の用量を設定し静脈内投与で評価を実施した。結果として、10 μg/kg で、基剤群と比較した時、死亡胚胎児数の高値、着床後胚死亡率の高値、生存胎児数の低値、胎児生存率の低値、胎児体重の低値、高頻度の骨格異常及び変異、及び骨化数の低値が認められた。母動物に対する無毒性量は 10 μg/kg、胚・胎児に対する無毒性量は 3 μg/kg と考えられた。

ウサギ胚・胎児試験では、用量設定試験の結果から 0、0.02、0.04 及び 0.1 μg/kg の用量を設定し静脈内投与で評価を実施した。母動物への影響として、0.04 μg/kg 以上で流産及び外陰部出血が認められた。0.1 μg/kg の母動物のうち 6 匹では、卵巣中の黄体が退縮していたため、黄体数を計測できなかった。0.04 μg/kg 以上では、投与期間中の体重増加の抑制及び軽度の摂餌量低下が認められた。胚・胎児への影響として、0.1 μg/kg では全胚死亡や高頻度の着床後胚死亡に伴い胎児生存率及び生存胎児数の低値が認められた。さらに、胎児体重の低値も認められた。母体に対する無毒性量は 0.02 μg/kg、胚・胎児に対する無毒性量は 0.04 μg/kg と考えられた。

(3) 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

添付資料 4.2.3.5.3-1

ラットにおける出生前後の発生並びに母体の機能に関する試験では、0、0.3、1 及び 3 μg/kg の用量で静脈内投与し、妊娠、授乳母動物、胎児及び出生児の発達への影響について評価した。結果として F_0 母動物及び F_1 出生児において、投与に関連する変化は認められず、無毒性量は 3 μg/kg と考えられた。

2.4.4.6 局所刺激性試験

添付資料 4.2.3.6-1、4.2.3.6-2、4.2.3.6-3

ウサギを用いた 1 日 10 回点眼による眼刺激性試験及び 1 日 2 回 4 週間反復点眼による眼刺激性試験を実施した。

ウサギ 1 日 10 回点眼眼刺激性試験では、0.0003%、0.001%、0.005%及び 0.01% STN1012600 点眼液及びその基剤を 1 日 10 回点眼投与し、眼刺激性を評価した。結果として、0.0003%から瞬目回数の増加あるいは結膜充血が認められた。STN1012600 点眼液で認められた所見の種類や程度はキサラタン®点眼液 0.005%と比べて明らかな差は認められなかった。

ウサギ 4 週間反復点眼眼刺激性試験では、0.0003%、0.001%、0.005%及び 0.01% STN1012600 点眼液及びその基剤を 1 日 2 回 4 週間反復点眼し、眼刺激性を評価した。その結果、0.0003%以上の点眼群で点眼初期から一過性の結膜充血が認められた。結膜充血は点眼液濃度に関わらず同

程度の反応で、翌日の点眼までに消失する変化であった。また、投与日を経るごとに発現例数が減少した。

2.4.4.7 その他の毒性試験

(1) 皮膚感作性試験

添付資料 4.2.3.7.1-1

モルモットを用いた Maximization Test を実施し、STN1012600 点眼液には皮膚感作性はないと判断した。

(2) 光安全性

光安全性に関する初期評価として、290～700 nm の間の波長での光吸収性を評価した結果、セペタプロストは当該波長帯に吸収性を示さなかった。したがって、セペタプロストに光毒性懸念はないと判断した。

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 薬理総括

セペタプロストの活性代謝物である ONO-AG-367 は FP 及び EP3 受容体に対して選択的に結合し、高いアゴニスト活性を有する、FP 及び EP3 受容体作動薬であることが明らかとなった。STN1012600 点眼液は、正常眼圧イヌ及び正常眼圧サルにおいて強い眼圧下降作用を示し、その作用強度及び持続性はキサラタン®点眼液 0.005%より優れることが示された。また、EP3 受容体活性化は、STN1012600 点眼液の眼圧下降作用の持続性に寄与することが示唆された。房水動態試験の結果、STN1012600 点眼液の眼圧下降作用機序はぶどう膜強膜流出路を介した房水流出促進と考えられた。また、線維柱帯流出路を介した房水流出促進作用を有する可能性も示唆された。

オフターゲット作用に関する試験を実施した結果、ONO-AG-367 の各種受容体等への結合親和性は非常に低く、オフターゲット作用を示す可能性は低いと考えられた。

安全性薬理試験では、中枢神経系への作用として中枢抑制を示す種々の所見、心血管系への作用として血圧上昇及び心拍数増加、呼吸系への作用として呼吸数増加及び 1 回換気量低下が認められた。これらは他のプロスタグランジン関連薬の非臨床試験でも認められている作用で、セペタプロストの持つ FP 受容体アゴニスト活性を反映したものと考えられた。他にも、FP 受容体アゴニスト活性に由来する作用として、子宮収縮及び尿量増加・尿中電解質排泄が認められた。また、EP3 受容体アゴニスト活性に関連する作用として血小板凝集促進が認められた。また、それぞれの作用の最少影響量時の全身曝露量と本剤の臨床用法用量での全身曝露量の間に安全域を確認できた。

2.4.5.2 薬物動態総括

サルに ^{3}H-STN1012600 点眼液を点眼したときの吸収は速やかであり、血漿中放射能濃度は点眼後 5 分に C_{max} に達したのち、速やかに減少した。点眼時の見かけの吸収率は 72.0%であった。サルに STN1012600 点眼液を反復点眼したときの血漿中 ONO-AG-367 の C_{max} 及び AUC は投与量の増加に伴って上昇し、蓄積及び雌雄差は認められなかった。ラットにセペタプロストを反復静脈内投与したときの血漿中 ONO-AG-367 の C_{max} 及び AUC は投与量の増加に伴って上昇し、反復投与により雌雄ともに全身曝露量は増加する傾向を示した。投与初日の全身曝露量に明らかな雌雄差は認められなかったが、13 及び 26 週における全身曝露量は雌に比べて雄で高い傾向を示した。ラット雌雄間で代謝活性が異なることが報告されていること[8] [9]から、代謝活性の雌雄差に起因すると推察された。

サルに ^{3}H-STN1012600 点眼液を点眼したとき、眼組織中放射能は角膜、虹彩、眼瞼結膜に高濃度に分布し、点眼後 0.5 時間に C_{max} に達したのち減少した。セペタプロスト及びその代謝物はメラニン含有組織を含む各眼組織に蓄積しないと考えられた。サルに ^{3}H-STN1012600 点眼液を点眼したときの全身組織中放射能の $T_{1/2}$ は血漿より短かったこと、ラットに ^{3}H-セペタプロストを静脈内投与したときの全身組織の $T_{1/2}$ は血漿と同程度であったことから、セペタプロスト及びその代謝物が全身組織中に残留する可能性は低いと考えられた。妊娠ラットに ^{3}H-セペタプロストを静脈内投与したとき、胎盤及び胎児への放射能の分布が認められ、セペタプロスト又はその代謝物が胎盤を通過し胎児に分布することが明らかとなった。

サルに ^{3}H-STN1012600 点眼液を点眼したとき、房水中にセペタプロストは存在せず、主として活性体の ONO-AG-367 に代謝された。ヒトエステラーゼを用いた代謝試験においてセペタプロストは CES1 により ONO-AG-367 に代謝されたこと、角膜中におけるエステラーゼ活性は角膜上皮において最も高いという報告[10]から、セペタプロストは主に角膜上皮で代謝されることが示唆された。

サル及びラットに ^{3}H-セペタプロストを点眼又は静脈内投与したとき、尿、糞及び胆汁中に未変化体のセペタプロストは認められなかったことから、セペタプロストは生体内で速やかに ONO-AG-367 及びその代謝物に代謝されると考えられた。また、セペタプロストは加水分解により ONO-AG-367、次いでβ酸化により ONO-AG-450 に代謝されたのち、さらに複数の代謝物へ代謝されると推測された。

ラット、イヌ、サル及びヒト肝細胞によって生成される代謝物を比較した結果、いずれの種においても主代謝物として ONO-AG-367 及び ONO-AG-450 が認められ、ヒト特異的代謝物は認められなかった。ONO-AG-367 は CYP によって代謝されず、セペタプロストは CES1 によって ONO-AG-367 に代謝されることが明らかとなった。セペタプロスト及び ONO-AG-367 の CYP 誘導に関する試験は実施していない。「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン（薬生薬審発 0723 第 6 号、平成 30 年 7 月 23 日）」に掲載されている CYP 誘導薬（リファンピシン等）が *in vitro* 培養肝細胞系で誘導を示すには、少なくとも 10 μmol/L の濃度が必要と

されている。本剤を 1 日 1 回 7 日間、反復両眼点眼したときの血漿中 ONO-AG-367 の C_{max} の平均値は 31.3 pmol/L (13.8 pg/mL) であり、前述の 10 μmol/L と比べて十分低い。したがって、CYP 誘導が関与する薬物相互作用が生じる懸念はないと考えられた。また、ヒト肝ミクロソームを用いて ONO-AG-367 の CYP に対する直接的な阻害、又は時間及び代謝依存的阻害を評価した結果、阻害作用は認められなかったことから、代謝阻害が関与する薬物相互作用についても懸念はないと考えられた。

サル及びラットに ^{3}H-セペタプロストを点眼又は静脈内投与したとき、放射能は尿及び糞中に排泄され、糞中への排泄には胆汁を介することが確認された。授乳期のラットに ^{3}H-セペタプロストを静脈内投与したとき、乳汁への放射能の移行が認められたことから、投与されたセペタプロストの一部は、セペタプロスト又はその代謝物として乳汁へ排泄されると考えられた。

In vitro において各種ヒトトランスポーターによる輸送及び輸送活性阻害を評価し考察した結果から、STN1012600 点眼液と併用される可能性のある薬剤及びその他薬剤との薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。

以上、非臨床薬物動態試験によって、セペタプロストは投与後速やかに加水分解を受け、主として活性代謝物である ONO-AG-367 として眼組織及び血漿中に存在し、さらに代謝されて生体から排泄されると考えられた。また、反復点眼によりセペタプロストあるいはその代謝物の全身組織及び眼組織への蓄積性が低いと考えられた。

2.4.5.3 毒性総括

STN1012600 点眼液の臨床投与経路である点眼投与による毒性評価として、ラット、ウサギ及びサルを用いた反復点眼投与試験を実施した。

STN1012600 点眼液はサル及びウサギの反復点眼試験で結膜充血が認められた。結膜充血はほとんどの場合で一過性の反応であり、反復投与による増悪がみられない事、他の炎症性所見を伴わない事から、刺激性に由来するものではないと考えた。結膜充血は他の FP 受容体作動薬でもよくみられる所見で、FP 受容体を介さない局所的な一酸化窒素の放出による血管拡張作用やニューロペプチドの関与によるものと考えられている[11]。セペタプロストについても、所見の推移などの特徴から他の FP 受容体作動薬と同様の機序によるものと考えられた。よって、臨床使用上の大きな懸念にならないと考えられるものの、他の FP 受容体作動薬と同様に注意が必要と考えられる。

サルの反復点眼試験において、縮瞳や散瞳等の瞳孔径への影響が認められた。瞳孔径への影響は、ほとんどの場合は一過性で、瞳孔径への影響の発現頻度とその程度に点眼液濃度への依存性は認められなかった。また、対光反射検査等の機能検査から視機能への影響は認められなかった。瞳孔径への影響は、サル 4 週間反復点眼試験で比較対照として評価したラタノプロスト点眼液でも認められているが、臨床ではこれに関連すると考えられる副作用は報告されていない。したがって、同作用が臨床で発現する可能性は低いと考えた。以上より、瞳孔径への影響は、ヒトへの外挿性が乏しく、臨床使用上の大きな懸念にならないと考えた。

サル 39 週間反復点眼試験の投与期間後期に、虹彩色素沈着及び上眼瞼の深化が認められた。これらの所見は、FP 受容体作動薬が持つ典型的なクラスエフェクトとして知られており、臨床でも主な副作用として知られる(1)。STN1012600 点眼液の臨床試験でも、上眼瞼の深化が PAPS として確認された。これらの反応は、外観的な変化に留まり機能的な変化を伴わない事から毒性学的意義は大きくないと考えられるものの、臨床使用時にはこれらの所見が発現する可能性を考慮する必要があると考えられた。

ラット 4 週間反復点眼試験で虹彩血管の収縮が認められた。セペタプロストは FP 及び EP3 受容体作動薬であるが、プロスタグランジン E2 の EP3 受容体を介した作用として血管平滑筋の収縮が報告されていること(12)から、虹彩血管の収縮についてはセペタプロストの薬理作用を介した反応である可能性が考えられた。しかしながら、病理組織学的検査において虹彩に器質的な変化が生じておらず、瞳孔反射検査にも影響が認められなかったことから毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。また、サルやウサギ等の点眼試験では認められていないことから、比較的眼球の小さなラット特有の変化であると考えられた。以上より、虹彩血管の収縮は、ヒトへの外挿性が乏しく、臨床使用上の懸念にならないと考えた。

STN1012600 点眼液の濃度は極めて低いことから、臨床投与経路である点眼投与で、全身毒性を評価するための充分な全身曝露を得ることが難しい。実際、サルとラット用いた反復点眼投与毒性試験では全身性の所見は認められなかった。そこで、全身への影響を評価するためにラット及びサルを用いた静脈内投与試験を実施した。

セペタプロストを高用量で全身曝露させたときの急性反応として、ラットでは 100 μg/kg の用量で耳介蒼白が認められ、一過性の自発運動減少、呼吸緩徐あるいは呼吸深大を示す個体も認められた。100 μg/kg 群の 1 日 2 回投与では死亡例も認められた。サルにおいては、20 μg/kg 以上の用量で流涎、嘔吐及び泥状便、軟便あるいは水様便といった糞便性状の異常が観察され、さらに運動性の低下が観察された。

血液学的検査における変化として、ラット 4 週間反復投与試験で血小板数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン量の低値、網赤血球百分率の高値及びプロトロンビン時間の短縮が認められた。ラット 13 週間反復投与試験では特段の変化は認められず、26 週間反復投与試験では、網赤血球数の高値及び血小板数の低値が認められた。血液生化学的検査における変化としては、サル 4 週間反復投与試験の高用量でのみ無機リンの低値、Cl 及び総コレステロールの低値が認められた。尿検査では、ラット 4 週間反復投与試験で尿中 Na 及び Cl 濃度あるいは総排泄量の低値が認められた。サル 4 週間反復投与試験では尿中 Na 及び Cl 濃度の低値が認められた。これらの血液学的検査及び生化学的検査での変化については、他の FP 受容体作動薬の非臨床試験でも認められている反応で薬理作用に由来する変化と考えられた(13)。

病理組織学的検査における変化としては、脾臓の髄外造血がラット 4 週間反復投与試験、ラット 13 週間反復投与試験及びラット 26 週間反復投与試験で認められた。また、骨への影響として、ラット 13 週間反復投与試験で大腿骨髄及び胸骨髄に限局的な骨髄細胞減少が、ラット 26 週間反復投与試験で大腿骨及び胸骨の骨髄で限局的な骨髄細胞減少、大腿骨及び胸骨の骨梁の増加

が認められた。骨への影響及び脾臓での髄外造血の増加はFP受容体作動薬の非臨床試験でも認められている反応で[13]、薬理作用に由来する変化と考えられた。

反復静脈内投与試験の血漿中ONO-AG-367濃度と臨床使用時の用法用量での血漿中濃度を比較した。その結果、それぞれの毒性試験の無毒性量における血漿中ONO-AG-367のC_{max}及びAUCは、臨床使用時と比較して、それぞれ約50倍以上及び約20倍以上の乖離を確認できた。

以上より、静脈内投与試験では薬理作用に基づくと考えられる様々な作用が確認できたが、それらはすべて既存のFP受容体作動薬の非臨床試験でも認められている反応であった。また、それぞれの作用に安全域が確認できたことから、臨床でこれらの作用が発現する可能性は低く、臨床使用上の懸念はないと考えられた。

生殖発生毒性試験においては、ラット胚・胎児試験で、死亡胚胎児数の高値、着床後胚死亡率の高値、生存胎児数の低値、胎児生存率の低値、胎児体重の低値、高頻度の骨格異常及び変異、骨化数の低値が認められた。ウサギ胚・胎児試験では、母動物への影響として、流産及び外陰部出血及び黄体退行が認められた。胚・胎児への影響としては、全胚死亡や高頻度の着床後胚死亡に伴う胎児生存率及び生存胎児数の低値が認められ、胎児体重の低値も認められた。このようにラットやウサギの胚・胎児毒性試験で、黄体退行、妊娠維持、胎児生存率及び生存胎児数の減少が認められたが、これらはFP受容体作動薬の非臨床試験でよく認められる反応であり[13]、典型的なクラスエフェクトであると考えられた。また、生殖発生毒性試験における無毒性量時の血漿中ONO-AG-367濃度と臨床用量でのヒト血漿中濃度を比較した結果、ラットでは十分な安全域を確認できたものの、ウサギではほとんど乖離が認められなかった。しかしながら、ウサギにおいてはプロスタグランジンに対して種特異的に高い感受性を示すことが知られており[14]、実際にタフルプロストのウサギ胚・胎児毒性試験で、ラットと比較して極めて低用量から同様の所見が認められている[13]。したがって、他のFP受容体作動薬と比較して、臨床使用上の懸念が上回ることはないと考えられた。

以上、STN1012600点眼液及びその有効成分であるセペタプロストは毒性試験プログラムを通じて、FP受容体アゴニスト活性に由来すると考えられる所見やプロスグランジン骨格に由来すると考えられる所見を示した。セペタプロストの活性代謝物であるONO-AG-367はFP及びEP3受容体作動薬であることから、EP3受容体に関連すると考えられる所見も認められたがその毒性学的意義は乏しく、既存のFP受容体作動薬の持つ毒性プロファイルから逸脱した特徴は認められなかった。これは既存のFP受容体作動薬の毒性試験では、十分な高用量まで評価されており、その中でFP受容体を介したEP3受容体による作用まで併せて評価できていたためと考えられた。

以上より、STN1012600点眼液は臨床使用上、既存のFP受容体作動薬に類似した毒性プロファイルを示し、新たな懸念はないと考えられた。

2.4.5.4 結論

セペタプロストの活性代謝物である ONO-AG-367 は FP 及び EP3 受容体作動薬であり、FP 受容体作動薬とは異なる薬理プロファイルを有する。STN1012600 点眼液の眼圧下降作用は、キサラタン®点眼液 0.005%よりも作用強度及び持続性に優れていることが示され、ONO-AG-367 の特徴である EP3 受容体アゴニスト活性は、STN1012600 点眼液の眼圧下降作用の持続性に寄与することが示唆された。STN1012600 点眼液の眼圧下降作用機序はぶどう膜強膜流出路を介した房水流出促進と考えられ、また、線維柱帯流出路を介した房水流出促進作用を有する可能性も示唆された。これらのことから、STN1012600 点眼液は、既存の FP 受容体作動薬よりも優れた作用強度及び持続性を兼ね備えた、新規薬理プロファイルを有する眼圧下降薬となることが期待できる。また、セペタプロストは生体内で速やかに ONO-AG-367 に加水分解された後、さらに代謝されて生体から排泄され、セペタプロストあるいはその代謝物の全身組織及び眼組織への蓄積性が低いと考えられた。STN1012600 点眼液及びその有効成分であるセペタプロストは毒性試験プログラムを通じて、既存の FP 受容体作動薬に類似した毒性プロファイルを示し、新たな安全性上の懸念を示さなかった。

以上の非臨床試験成績から、STN1012600 点眼液は有効かつ安全な薬剤であり、緑内障及び高眼圧症に対する新規眼圧下降薬になりえると判断した。

2.4.6 参考文献一覧

(1) 緑内障診療ガイドライン（第 5 版）. 日本眼科学会雑誌. 2022;126(2):85-177.

(2) Ota T, Aihara M, Saeki T, Narumiya S and Araie M. The effects of prostaglandin analogues on prostanoid EP1, EP2, and EP3 receptor-deficient mice. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006;47(8):3395-9.

(3) Ota T, Aihara M, Saeki T, Narumiya S and Araie M. The IOP-lowering effects and mechanism of action of tafluprost in prostanoid receptor-deficient mice. Br J Ophthalmol. 2007;91(5):673-6.

(4) ヴィアトリス製薬株式会社. キサラタン®点眼液 0.005% 添付文書. 2021 年 9 月改訂（第 2 版）

(5) ノバルティスファーマ株式会社. トラバタンズ®点眼液 0.004% 添付文書. 2021 年 7 月改訂（第 1 版）

(6) 参天製薬株式会社. タプロス®点眼液 0.0015%/ タプロス®ミニ点眼液 0.0015% 添付文書. 2021 年 12 月改訂（第 1 版）

(7) Saeki T, Ota T, Aihara M, Araie M. Effects of prostanoid EP agonists on mouse intraocular pressure. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2009;50(5):2201-8.

(8) Santa Maria C, Machado A. Changes in some hepatic enzyme activities related to phase II drug metabolism in male and female rats as a function of age. Mech Ageing Dev 1988;44:115-25.

(9) Kawai K, Kawasaki-Tokui Y, Odaka T, Tsuruta F, Kazui M, Iwabuchi, et al. Disposition and metabolism of the new oral antidiabetic drug troglitazone in rats, mice and dogs.Arthneimittelforschung Drug Res 1997;47:356-68.

(10) Lee VH, Morimoto KW, Stratford RE Jr. Esterase distribution in the rabbit cornea and its implications in ocular drug bioavailability. Biopharm Drug Dispos. 1982;3:291-300.

(11) Feldman RM. Conjunctival hyperemia and the use of topical prostaglandins in glaucoma and ocular hypertension. J. Ocul. Pharmacol. Ther. 2003;19(1):23-35.

(12) van Rodijnen WF, Korstjens IJ, Legerstee N, ter Wee PM, Tangelder GJ. Direct vasoconstrictor effect of prostaglandin E_2 on renal interlobular arteries: role of the EP3 receptor. Am J Physiol Renal Physiol. 2007;292:1094-101.

(13) 参天製薬株式会社. 2.4 非臨床に関する概括評価. タフルプロスト点眼液 0.0015% 申請資料概要. p.18-29.

(14) Szczech GM, Purmalis BP, Harris SB. Preclinical safety evaluation of 15[S]15-methyl prostaglandin $F_{2\alpha}$,: Reproduction and teratology. Adv prostaglandin and Thromboxane Res. 1978;4:157-79.