表 2.6.1-1. 緒言で用いた略語一覧

略語又は用語	略さない表現または定義
ONO-AG-367	セペタプロストの活性代謝物
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）
FP 受容体	Prostaglandin $F_{2\alpha}$ receptor（プロスタグランジン $F_{2\alpha}$ 受容体）

Confidential

2.6.1 緒言

セペタプロストは、小野薬品工業株式会社にて創製された低分子化合物であり、プロドラッグである。セペタプロストは点眼後、生体内で速やかに活性体である ONO-AG-367 に加水分解された後、FP 及び EP3 受容体作動薬として作用し、ぶどう膜強膜流出路を介した房水流出を促進することにより眼圧下降作用を示すと考えられた。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。

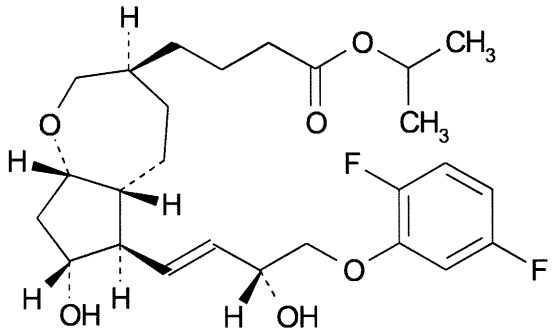


図 2.6.1-1. セペタプロストの構造式

申請する効能・効果及び用法・用量を以下に示す。

効能・効果　　緑内障、高眼圧症

用法・用量　　1 回 1 滴、1 日 1 回点眼する。

目次

2.6.2　薬理試験の概要文 4
2.6.2.1　まとめ 4
2.6.2.2　効力を裏付ける試験 8
2.6.2.3　副次的薬理試験 23
2.6.2.4　安全性薬理試験 24
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験 28
2.6.2.6　考察及び結論 28
2.6.2.7　図表 29
2.6.2.8　参考文献一覧 29

Confidential

表 2.6.2-1. 非臨床概要薬理試験で用いた略語一覧

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
ADP	Adenosine 5'-diphosphate sodium salt（アデノシン 5'-二りん酸ナトリウム）
AUC	Area under the concentration-time curve（濃度-時間曲線下面積）
Chem-1	Adherent rat hematopoietic cell line expressing endogenous Gα15 protein
CHO	Chinese hamster ovary（チャイニーズハムスター卵巣）
C_0	Initial concentration extrapolated in the time point of zero（初期濃度）
Cl	Chlorine（塩素）
C_{max}	Maximum concentration（最高濃度）
DP 受容体	Prostaglandin D_2 receptor（プロスタグランジン D_2 受容体）
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）
EP2 受容体	Prostaglandin E_2 receptor EP2 subtype（プロスタグランジン E_2 受容体 EP2 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）
EP4 受容体	Prostaglandin E_2 receptor EP4 subtype（プロスタグランジン E_2 受容体 EP4 サブタイプ）
FP 受容体	Prostaglandin $F_{2\alpha}$ receptor（プロスタグランジン $F_{2\alpha}$ 受容体）
FOB	Functional observational battery（機能観察総合評価）
GLP	Good Laboratory Practice
hERG	human ether-a-go-go related gene
HEK293 細胞	Human embryonic kidney 293 細胞
IC_{50}	Half maximal inhibitory concentration（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 受容体	Prostaglandin I_2 receptor（プロスタグランジン I_2 受容体）
K	Potassium（カリウム）
Ki	Inhibitory constant（阻害定数）
Na	Sodium（ナトリウム）
PGD_2	Prostaglandin D_2（プロスタグランジン D_2）
PGE_2	Prostaglandin E_2（プロスタグランジン E_2）

Confidential

略語又は用語	略さない表現又は定義
$PGF_{2\alpha}$	Prostaglandin $F_{2\alpha}$（プロスタグランジン $F_{2\alpha}$）
QTc	Corrected QT interval（補正 QT 間隔）
SD ラット	Sprague Dawley ラット
TP 受容体	Thromboxane A_2 receptor（トロンボキサン A_2 受容体）

Confidential

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

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、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、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。STN1012600 点眼液は、正常眼圧イヌ及び正常眼圧サルにおいて有意な眼圧下降作用を示した。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。
STN1012600 点眼液の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も有する可能性が示唆された。安全性薬理試験は、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、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。試験では基本的に STN1012600 点眼液の有効成分であるセペタプロストを評価したが、一部の *in vitro* 試験では活性代謝物である ONO-AG-367 についても評価した。すべての安全性薬理に関する試験は GLP に準じて実施された。

2.6.2.1.1 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

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

正常眼圧イヌに 0.0001%、0.0003%及び 0.001% STN1012600 点眼液、キサラタン®点眼液 0.005%、チモプトール®点眼液 0.5%及びザラカム®配合点眼液（0.005%ラタノプロスト及び 0.5%チモロールの配合剤）を 30 μL 単回点眼し、経時的に眼圧を測定した。STN1012600 点眼液は、0.0001%以上の濃度において濃度依存的な、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投与後 24 時間においても維持された。0.0001% STN1012600 点眼液は、

チモプトール®点眼液 0.5%よりも強く、キサラタン®点眼液 0.005%と同程度の眼圧下降作用を示した。また、0.0003%以上の濃度において、STN1012600 点眼液は、キサラタン®点眼液 0.005%よりも強力で持続的な眼圧下降作用を示し、ザラカム®配合点眼液と比較しても、同程度以上の眼圧下降作用を示した。

正常眼圧サルに 0.00001%、0.00003%、0.0001%、0.0003%、0.001%及び 0.003% STN1012600 点眼液、及び、キサラタン®点眼液 0.005%を 30 μL 単回点眼し、経時的に眼圧を測定した。STN1012600 点眼液は、0.00003%以上の濃度において濃度依存的な眼圧下降作用を示し、0.0001%以上の濃度において、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、投与後 24 時間以上にわたり維持された。一方で、キサラタン®点眼液 0.005%は基剤群と比較して有意な眼圧下降作用を示したが、投与後 24 時間における眼圧下降作用は認められなかった。STN1012600 点眼液は、0.0003%以上の濃度において、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。

正常眼圧サルに 0.0001%、0.0003%及び 0.001% STN1012600 点眼液、及び、キサラタン®点眼液 0.005%を、1 日 1 回、30 μL を 14 日間点眼し、経時的に眼圧を測定した。眼圧測定は投与 1、4、7、11 及び 14 日目に行った。STN1012600 点眼液は、0.0001%以上の濃度において濃度依存的な、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、投与後 24 時間以上にわたり維持された。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。一方で、キサラタン®点眼液 0.005%も基剤群と比較して有意な眼圧下降作用を示したが、投与 4 日目以降において、投与後 24 時間における眼圧下降作用は認められなかった。STN1012600 点眼液は、0.0003%以上の濃度において、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。

FP 受容体作動薬は眼圧下降作用を有する[1] [2] [3]。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[4]。これらのことから、FP 及び EP3 受容体作動薬である 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への EP3 受容体の関与を検討するため、正常眼圧サルに、100 μmol/L EP3 受容体拮抗薬を 10 μL 前房内投与した後、0.002% STN1012600 点眼液を 20 μL 単回点眼し、経時的に眼圧を測定した。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、STN1012600 点眼液の眼圧下降作用が EP3 受容体拮抗薬前房内投与により有意に減弱した。投与後早期の測定時間では眼圧下降作用の変化は認められず、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。また、

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ことが示唆された。

(3) 作用機序に関する試験

STN1012600 点眼液の眼圧下降作用機序を確認するため、房水動態試験を行った。0.002% 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[1] [2] [3]。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。

2.6.2.1.2 副次的薬理試験

(1) オフターゲット作用に関する試験

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。

2.6.2.1.3 安全性薬理試験

(1) 中枢神経系に及ぼす作用

サルを用いた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。

サルにセペタプロストを静脈内投与したときの心血管系及び呼吸系への影響を評価した試験において体温の評価が実施され、2 μg/kg 以上で体温低下が認められた。無影響量は 0.2 μg/kg であった。

(2) 心血管系に及ぼす作用

サルにセペタプロストを静脈内投与したときの心血管系及び呼吸系への影響を評価した結果、2 μg/kg 以上の用量において、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 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が認められなかった。

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。

(3) 呼吸系に及ぼす作用

サルにセペタプロストを静脈内投与した時の心血管系及び呼吸系への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

ONO-AG-367 のヒト血小板に対する作用を *in vitro* で評価した結果、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、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。

ONO-AG-367 の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、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。

ONO-AG-367 のラット血液における血液機能に対する影響について *in vitro* で評価した結果、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。

ラットにセペタプロストを静脈内投与したときの尿量・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、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。

サルにセペタプロストを静脈内投与したときの子宮収縮に対する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。

Confidential

セペタプロストの点眼により散瞳もしくは縮瞳したサルの眼屈折率を評価したところ、屈折率に影響は認められなかった。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 受容体親和性及び選択性に関する試験

(1) プロスタノイド受容体に対する親和性に関する試験

添付資料 4.2.1.1-1

セペタプロスト及びその活性代謝物である ONO-AG-367 の各種プロスタノイド受容体（EP1、EP2、EP3、EP4、FP、DP、IP 及び TP 受容体）に対する結合親和性を、放射性標識リガンドに対する各受容体の結合阻害曲線から各薬剤の Ki 値を算出することで評価した。

各種プロスタノイド受容体発現細胞の膜画分に対する、放射性標識リガンド及び Ki 値を表 2.6.2.2-1 に示す。セペタプロストの FP 受容体に対する Ki 値は 16.8 nmol/L であった。一方、EP1～EP4、DP、IP 及び TP 受容体に対する阻害率は、最高濃度である 10 μmol/L においていずれも 50%未満であり、セペタプロストはプロスタノイド受容体の中で FP 受容体に選択的に結合することが明らかとなった。ONO-AG-367 は、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 であり、FP 及び EP3 受容体に高い結合親和性を示すことが明らかとなった。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。また、EP2、EP4、DP、IP 及び TP 受容体に対する阻害率は、最高濃度である 10 μmol/L においていずれも 50%未満であり、これらの受容体に対しては結合親和性を示さなかった。

表 2.6.2.2-1. 各種プロスタノイド受容体に対するセペタプロスト及び ONO-AG-367 の阻害定数（Ki 値）

受容体	リガンド	Ki 値 (nmol/L)	
		セペタプロスト	ONO-AG-367
ヒト EP1	$[^3H]$-PGE_2	>10000	734
ヒト EP2		>10000	>10000
ヒト EP3		>10000	25.0
マウス EP4		>10000	>10000
ヒト FP	$[^3H]$-$PGF_{2\alpha}$	16.8	0.727
マウス DP	$[^3H]$-PGD_2	>10000	>10000
マウス IP	$[^3H]$-Iloprost	>10000	>10000
マウス TP	$[^3H]$-SQ29548	>10000	>10000

最高濃度である 10 μmol/L における阻害率が 50%未満の場合は、Ki 値を推定せず、「>10000」と表記した。

(2) プロスタノイド受容体に対するアゴニスト活性に関する試験

添付資料 4.2.1.1-2

セペタプロスト及びその活性代謝物である ONO-AG-367 の、FP 及び EP3 受容体に対するアゴニスト活性を、各種受容体を発現させた細胞を用いて、細胞内カルシウム濃度を指標に評価した。

FP 及び EP3 受容体に対する EC_{50} 値を表 2.6.2.2-2 に示す。セペタプロストのヒト FP 及びヒト EP3 受容体に対する EC_{50} 値はそれぞれ 3030 及び>10000 nmol/L、マウス FP 及びマウス EP3 受容体に対する EC_{50} 値はそれぞれ 1530 及び 4510 nmol/L であり、FP 及び EP3 受容体に対するアゴニスト活性は示さなかった、あるいは、非常に弱かった。一方で、ONO-AG-367 のヒト FP 及びヒト EP3 受容体に対する EC_{50} 値はそれぞれ 22.3 及び 28.6 nmol/L、マウス FP 及びマウス EP3 受容体に対する EC_{50} 値はそれぞれ 11.1 及び 14.8 nmol/L であり、FP 及び EP3 受容体に対して強力なアゴニスト活性を示した。

表 2.6.2.2-2. FP 及び EP3 受容体に対する、セペタプロスト及び ONO-AG-367 のアゴニスト活性

受容体	由来	EC_{50} 値 (nmol/L)	
		セペタプロスト	ONO-AG-367
ヒト FP	Chem-1 細胞	3030	22.3
ヒト EP3	CHO 細胞	>10000	28.6
マウス FP	CHO 細胞	1530	11.1
マウス EP3	CHO 細胞	4510	14.8

以上の結果から、セペタプロストは FP 受容体に結合するが、FP 受容体に対するアゴニスト活性は非常に弱いと考えられた。また、セペタプロストの活性代謝物である ONO-AG-367 は、FP 及び EP3 受容体に選択的に結合し、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。

2.6.2.2.2 眼圧下降作用に関する試験

(1) 正常眼圧イヌにおける眼圧下降作用—単回点眼試験—

添付資料 4.2.1.1-3

0.0001%、0.0003%及び 0.001% STN1012600 点眼液、キサラタン®点眼液 0.005%、チモプトール®点眼液 0.5%及びザラカム®配合点眼液（0.005%ラタノプロスト及び 0.5%チモロールの配合剤）の眼圧下降作用を、正常眼圧イヌを使用して検討した。対照には基剤を用いた。各点眼液及び基剤をイヌの片眼に 30 μL 単回点眼した。眼圧測定は、投与前並びに投与後 2、4、6、8 及び 24 時間に実施した。眼圧測定は、無麻酔下（表面麻酔剤の点眼のみで、全身麻酔なし）での眼

圧測定に対する馴化を行ったイヌを使用し、0.4%オキシブプロカイン塩酸塩点眼液を 1 滴点眼後、圧平式眼圧計を用いて行った。

STN1012600 点眼液、キサラタン®点眼液 0.005%、チモプトール®点眼液 0.5%、ザラカム®配合点眼液及び基剤の、最大眼圧下降幅及び投与後 24 時間における眼圧下降幅を図 2.6.2.2-1 に示す。なお、眼圧下降幅は、各点眼液及び基剤投与前の眼圧値から各測定時間の眼圧値を減算した値とし、各測定時間において各個体の眼圧下降幅を平均した値を各測定時間における平均眼圧下降幅とした。また、各測定時間における平均眼圧下降幅のうち、最大値を最大眼圧下降幅とした。

STN1012600 点眼液は 0.0001%以上の濃度で濃度依存的な、基剤群と比較して有意な眼圧下降作用を示した。また、いずれの濃度においても、投与後 24 時間に有意な眼圧下降作用が認められた。キサラタン®点眼液 0.005%及びザラカム®配合点眼液は、基剤群と比較して有意な眼圧下降作用を示し、投与後 24 時間においても有意な眼圧下降作用が認められた。チモプトール®点眼液 0.5%は、基剤群と比較して有意な眼圧下降作用を示したが、投与後 24 時間においては有意な眼圧下降作用は認められなかった。0.0001% STN1012600 点眼液は、チモプトール®点眼液 0.5%よりも強く、キサラタン®点眼液 0.005%と同程度の眼圧下降作用を示した。また、0.0003%以上の濃度において、STN1012600 点眼液はキサラタン®点眼液 0.005%よりも強力で持続的な眼圧下降作用を示し、ザラカム®配合点眼液と比較しても、同程度以上の眼圧下降作用を示した。

以上の結果から、STN1012600 点眼液は 0.0001%から 0.001%の範囲で濃度依存的な、有意な眼圧下降作用を示すことが明らかとなった。また、その作用強度及び持続性は、0.0003%以上の濃度において、キサラタン®点眼液 0.005%及びチモプトール®点眼液 0.5%よりも優れており、ザラカム®配合点眼液と比較しても同程度以上であることが明らかとなった。

Confidential

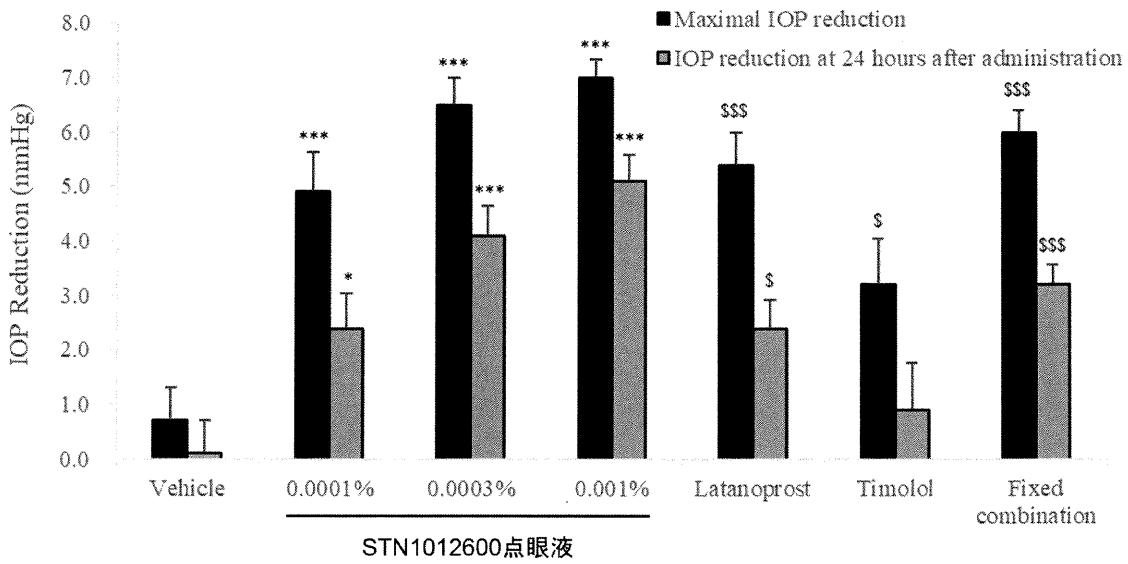


図 2.6.2.2-1. 正常眼圧イヌにおける STN1012600 点眼液、キサラタン®点眼液 0.005%、チモプトール®点眼液 0.5%及びザラカム®配合点眼液単回点眼による眼圧下降作用（最大眼圧下降幅及び投与後 24 時間における眼圧下降幅）

各点眼液を 30 μL 片眼投与した。各値は 8 例の平均値＋標準誤差を示した。なお、基剤群は Vehicle、キサラタン®点眼液 0.005%群は Latanoprost、チモプトール®点眼液 0.5%群は Timolol、ザラカム®配合点眼液群は Fixed combination とそれぞれ表記した。基剤群と各種濃度の STN1012600 点眼液群間の比較は Dunnet の検定により行った。基剤群とキサラタン®点眼液 0.005%群、基剤群とチモプトール®点眼液 0.5%群、及び、基剤群とザラカム®配合点眼液群間の比較は t 検定により行った。

*P<0.05、***P<0.001、基剤群との比較（Dunnet の検定）

$P<0.05、$$$P<0.001、基剤群との比較（Student の t 検定）

（2） 正常眼圧サルにおける眼圧下降作用—単回点眼試験—

添付資料 4.2.1.1-4

0.00001%、0.00003%、0.0001%、0.0003%、0.001%及び 0.003% STN1012600 点眼液、及び、キサラタン®点眼液 0.005%の眼圧下降作用を、正常眼圧サルを使用して検討した。対照には基剤を用いた。各点眼液及び基剤をサルの片眼に 30 μL 単回点眼した。眼圧測定は、投与前並びに投与後 4、8、12、24、48、72 及び 96 時間に実施した。眼圧測定は、モンキーチェアへの保定及び無麻酔下（表面麻酔剤の点眼のみで、全身麻酔なし）での眼圧測定に対する馴化を行ったサルを使用し、0.4%オキシブプロカイン塩酸塩点眼液を 1 滴点眼後、圧平式眼圧計を用いて行った。

STN1012600 点眼液、キサラタン®点眼液 0.005%及び基剤の、最大眼圧下降幅及び投与後 24 時間における眼圧下降幅を図 2.6.2.2-2 に、眼圧下降幅の経時変化を表 2.6.2.2-3 に示す。なお、眼圧下降幅は、各点眼液及び基剤投与前の眼圧値から各測定時間の眼圧値を減算した値とした。各測定時間における各個体の眼圧下降幅のうち、各個体において最大となる眼圧下降幅を平均した

値を平均最大眼圧下降幅とした。また、各測定時間において各個体の眼圧下降幅を平均した値を各測定時間における平均眼圧下降幅とした。

STN1012600 点眼液は、0.00003%以上の濃度で濃度依存的な眼圧下降作用を示し、0.0001%以上の濃度で基剤群と比較して有意な眼圧下降作用を示した。0.0001%以上の濃度においては、投与後 24 時間においても有意な眼圧下降作用が認められた。一方で、キサラタン®点眼液 0.005%は基剤群と比較して有意な眼圧下降作用を示したが、投与後 24 時間においては有意な眼圧下降作用は認められなかった。STN1012600 点眼液は 0.0003%以上の濃度において、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（図 2.6.2.2-2）。また、STN1012600 点眼液は、0.00003%及び 0.0001%においては投与後 24 時間まで、0.0003%及び 0.001%においては投与後 48 時間まで、0.003%においては投与後 72 時間まで、投与前と比較して 1 mmHg 以上の眼圧下降が認められ、投与濃度に応じて眼圧下降作用が持続すると考えられた。一方で、キサラタン®点眼液 0.005%は、1 mmHg 以上の眼圧下降作用を示したのは投与後 12 時間までであった（表 2.6.2.2-3）。

以上の結果から、STN1012600 点眼液は 0.0001%から 0.003%の範囲で濃度依存的な、有意な眼圧下降作用を示すことが明らかとなった。また、その作用強度及び持続性は、0.0003%以上の濃度において、キサラタン®点眼液 0.005%よりも優れていることが明らかとなった。

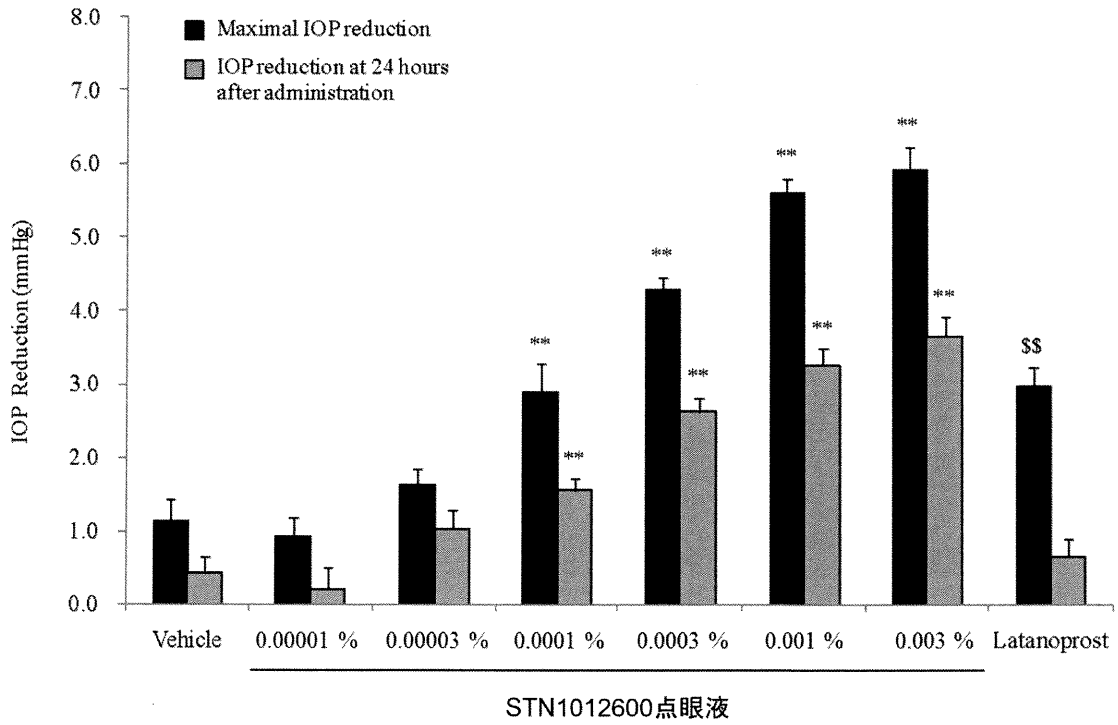


図 2.6.2.2-2. 正常眼圧サルにおける STN1012600 点眼液及びキサラタン®点眼液 0.005%単回点眼による眼圧下降作用（最大眼圧下降幅及び投与後 24 時間における眼圧下降幅）

各点眼液を 30 μL 片眼投与した。各値は 8 例の平均値＋標準誤差を示した。なお、基剤群は Vehicle、キサラタン®点眼液 0.005%群は Latanoprost とそれぞれ表記した。基剤群と各種濃度の STN1012600 点眼液群間の比較は Dunnet の検定により行った。基剤群とキサラタン®点眼液 0.005%群間の比較は Student の t 検定により行った。

**P<0.01、基剤群との比較（Dunnet の検定）

$$P<0.01、基剤群との比較（Student の t 検定）

Confidential

表 2.6.2.2-3. 正常眼圧サルにおける STN1012600 点眼液及びキサラタン®点眼液 0.005%単回点眼による眼圧下降作用（眼圧下降幅の経時変化）

薬剤	投与眼の眼圧下降幅、mmHg（平均値±標準誤差、各群 8 例）							
	0 hr	4 hr	8 hr	12 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
Vehicle	0.00 ± 0.00	0.19 ± 0.26	0.44 ± 0.22	0.60 ± 0.37	0.43 ± 0.22	0.30 ± 0.37	0.28 ± 0.29	0.05 ± 0.32
0.00001% STN1012600 点眼液	0.00 ± 0.00	-0.05 ± 0.30	0.29 ± 0.26	0.29 ± 0.31	0.21 ± 0.29	-0.16 ± 0.15	-0.03 ± 0.25	-0.34 ± 0.30
0.00003% STN1012600 点眼液	0.00 ± 0.00	0.84 ± 0.16	1.00 ± 0.24	1.33 ± 0.19	1.04 ± 0.25	0.63 ± 0.14	0.46 ± 0.17	-0.25 ± 0.22
0.0001% STN1012600 点眼液	0.00 ± 0.00	0.88 ± 0.31	1.91 ± 0.20	2.90 ± 0.38	1.56 ± 0.15	0.45 ± 0.19	-0.03 ± 0.15	0.00 ± 0.24
0.0003% STN1012600 点眼液	0.00 ± 0.00	2.29 ± 0.36	3.40 ± 0.30	4.31 ± 0.16	2.63 ± 0.19	1.49 ± 0.18	0.39 ± 0.16	-0.24 ± 0.19
0.001% STN1012600 点眼液	0.00 ± 0.00	2.71 ± 0.18	4.75 ± 0.25	5.41 ± 0.29	3.26 ± 0.23	2.50 ± 0.14	0.25 ± 0.30	-0.04 ± 0.33
0.003% STN1012600 点眼液	0.00 ± 0.00	2.48 ± 0.45	4.43 ± 0.30	5.94 ± 0.30	3.65 ± 0.27	2.56 ± 0.19	1.00 ± 0.23	0.18 ± 0.23
Latanoprost	0.00 ± 0.00	2.78 ± 0.19	2.16 ± 0.44	1.58 ± 0.33	0.66 ± 0.23	0.53 ± 0.15	0.03 ± 0.22	0.38 ± 0.24

基剤群は Vehicle、キサラタン®点眼液 0.005%群は Latanoprost とそれぞれ表記した。

Confidential

(3) 正常眼圧サルにおける眼圧下降作用—反復点眼試験—

添付資料 4.2.1.1-5

0.0001%、0.0003%及び 0.001% STN1012600 点眼液、及び、キサラタン®点眼液 0.005%の眼圧下降作用を、正常眼圧サルを使用して検討した。対照には基剤を用いた。各点眼液及び基剤をサルの片眼に、1 日 1 回、30 μL を 14 日間点眼した。眼圧測定は投与 1、4、7、11 及び 14 日目の、投与前並びに投与後 4、8、12 及び 24 時間に実施した。なお、投与 14 日目については、さらに投与後 48、72 及び 96 時間にも眼圧を測定した。眼圧測定は、モンキーチェアへの保定及び無麻酔下（表面麻酔剤の点眼のみで、全身麻酔なし）での眼圧測定に対する馴化を行ったサルを使用し、0.4%オキシブプロカイン塩酸塩点眼液を 1 滴点眼後、圧平式眼圧計を用いて行った。

STN1012600 点眼液、キサラタン®点眼液 0.005%及び基剤の、投与 14 日目における最大眼圧下降幅及び投与後 24 時間における眼圧下降幅を図 2.6.2.2-3 に、最大眼圧下降幅の経日変化を表 2.6.2.2-4 に、投与後 24 時間における眼圧下降幅の経日変化を表 2.6.2.2-5 に、投与 14 日目における眼圧下降幅の経時変化を表 2.6.2.2-6 に示す。なお、眼圧下降幅は、各測定日における、各点眼液及び基剤投与前の眼圧値から各測定時間の眼圧値を減算した値とした。各測定時間における各個体の眼圧下降幅のうち、各個体において最大となる眼圧下降幅を平均した値を平均最大眼圧下降幅とした。また、各測定時間において各個体の眼圧下降幅を平均した値を各測定時間における平均眼圧下降幅とした。

STN1012600 点眼液は、投与 14 日目において、0.0001%以上の濃度で濃度依存的な、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投与後 24 時間においても基剤群と比較して有意であった。一方で、キサラタン®点眼液 0.005%は、投与 14 日目において、基剤群と比較して有意な眼圧下降作用を示したが、投与後 24 時間では眼圧下降作用は認められなかった。STN1012600 点眼液は 0.0003%以上の濃度において、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（図 2.6.2.2-3）。

STN1012600 点眼液は、いずれの濃度においても、最大眼圧下降幅及び投与後 24 時間における眼圧下降幅は、投与期間を通じて基剤群と比較して有意であった。また、最大眼圧下降幅及び投与後 24 時間における眼圧下降幅は、投与期間を通じてほぼ一定であり、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。キサラタン®点眼液 0.005%についても、最大眼圧下降幅は投与期間を通じて基剤群と比較して有意であったが、投与後 24 時間における眼圧下降幅は、投与 1 日目のみ基剤群と比較して有意であったが、投与 4 日目以降は基剤群と比較して有意な差は認められなかった（表 2.6.2.2-4、表 2.6.2.2-5）。

STN1012600 点眼液は、投与 14 日目において、0.0001%は投与後 24 時間まで、0.0003%は投与後 48 時間まで、0.001%は投与後 72 時間まで、投与前と比較して 1 mmHg 以上の眼圧下降が認められ、投与濃度に応じて眼圧下降作用が持続すると考えられた。一方で、キサラタン®点眼液 0.005%は、1 mmHg 以上の眼圧下降作用を示したのは投与後 12 時間までであった（表 2.6.2.2-6）。

以上の結果から、STN1012600 点眼液は 0.0001%から 0.001%の範囲で濃度依存的な、有意な眼圧下降作用を示し、反復点眼による眼圧下降作用の減衰はないと考えられた。また、その作用強度及び持続性は、0.0003%以上の濃度において、キサラタン®点眼液 0.005%よりも優れていることが明らかとなった。

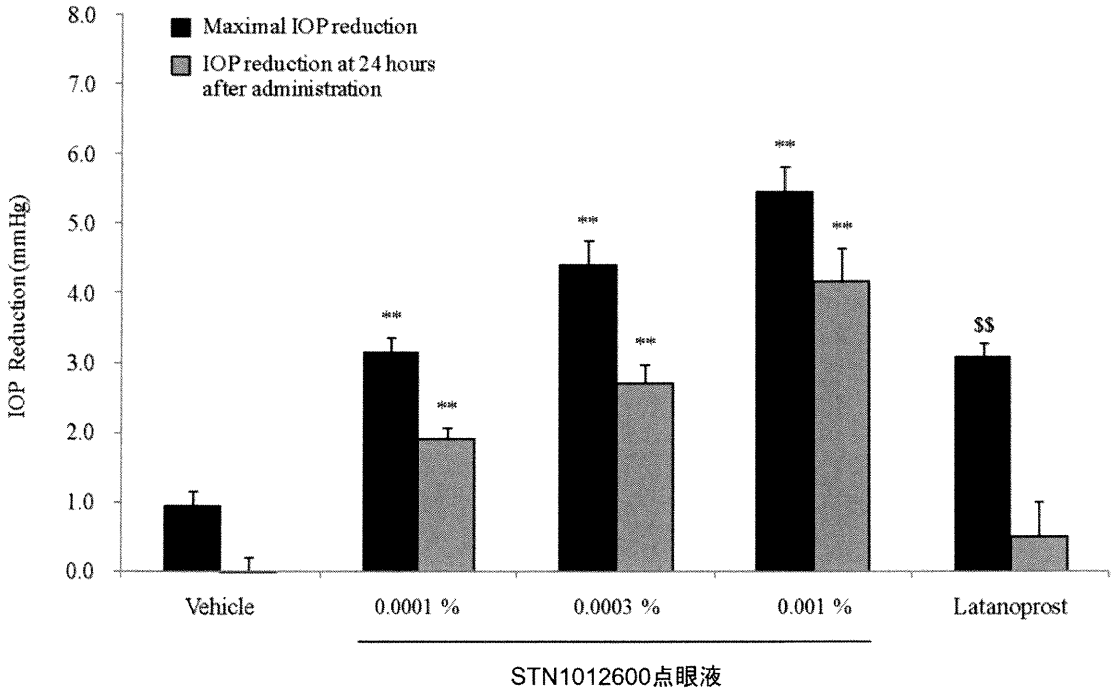


図 2.6.2.2-3. 正常眼圧サルにおける STN1012600 点眼液及びキサラタン®点眼液 0.005%の 14 日間反復点眼による眼圧下降作用（投与 14 日目における、最大眼圧下降幅及び投与後 24 時間における眼圧下降幅）

各点眼液を、1 日 1 回、30 μL を 14 日間片眼投与した。各値は 8 例の平均値＋標準誤差を示した。なお、基剤群は Vehicle、キサラタン®点眼液 0.005%群は Latanoprost とそれぞれ表記した。基剤群と各種濃度の STN1012600 点眼液群間の比較は Dunnet の検定により行った。基剤群とキサラタン®点眼液 0.005%群間の比較は Student の t 検定により行った。

**P<0.01、基剤群との比較（Dunnet の検定）

$$P<0.01、基剤群との比較（Student の t 検定）

Confidential

表 2.6.2.2-4. 正常眼圧サルにおける STN1012600 点眼液及びキサラタン®点眼液 0.005%の 14 日間反復点眼による眼圧下降作用（最大眼圧下降幅の経日変化）

薬剤	投与眼の最大眼圧下降幅、mmHg（平均値±標準誤差、各群 8 例）				
	1 日目	4 日目	7 日目	11 日目	14 日目
Vehicle	0.61 ± 0.20	0.81 ± 0.17	0.83 ± 0.27	0.89 ± 0.18	0.93 ± 0.23
0.0001% STN1012600 点眼液	3.60 ± 0.23**	3.26 ± 0.24**	3.50 ± 0.22**	3.23 ± 0.19**	3.16 ± 0.21**
0.0003% STN1012600 点眼液	4.88 ± 0.20**	4.48 ± 0.23**	4.43 ± 0.18**	4.43 ± 0.25**	4.41 ± 0.34**
0.001% STN1012600 点眼液	5.51 ± 0.27**	5.59 ± 0.35**	5.29 ± 0.26**	5.58 ± 0.33**	5.46 ± 0.37**
Latanoprost	2.99 ± 0.33##	2.71 ± 0.24##	2.83 ± 0.31##	2.54 ± 0.28##	3.08 ± 0.20##

基剤群は Vehicle、キサラタン®点眼液 0.005%群は Latanoprost とそれぞれ表記した。基剤群と各種濃度の STN1012600 点眼液群間の比較は Dunnet の検定により行った。基剤群とキサラタン®点眼液 0.005%群間の比較は Student の t 検定により行った。

**P<0.01、基剤群との比較（Dunnet の検定）

##P<0.01、基剤群との比較（Student の t 検定）

表 2.6.2.2-5. 正常眼圧サルにおける STN1012600 点眼液及びキサラタン®点眼液 0.005%の 14 日間反復点眼による眼圧下降作用（投与後 24 時間における眼圧下降幅の経日変化）

薬剤	投与眼の投与後 24 時間における眼圧下降幅、mmHg（平均値±標準誤差、各群 8 例）				
	1 日目	4 日目	7 日目	11 日目	14 日目
Vehicle	-0.11 ± 0.18	0.19 ± 0.13	0.04 ± 0.46	-0.03 ± 0.33	-0.01 ± 0.21
0.0001% STN1012600 点眼液	2.03 ± 0.24**	2.05 ± 0.15**	2.18 ± 0.17**	1.86 ± 0.13**	1.91 ± 0.16**
0.0003% STN1012600 点眼液	2.51 ± 0.21**	3.39 ± 0.25**	2.86 ± 0.22**	3.16 ± 0.32**	2.71 ± 0.27**
0.001% STN1012600 点眼液	3.63 ± 0.19**	3.76 ± 0.34**	3.63 ± 0.28**	3.80 ± 0.39**	4.16 ± 0.50**
Latanoprost	0.86 ± 0.23##	0.19 ± 0.20	0.41 ± 0.31	0.58 ± 0.41	0.49 ± 0.50

基剤群は Vehicle、キサラタン®点眼液 0.005%群は Latanoprost とそれぞれ表記した。基剤群と各種濃度の STN1012600 点眼液群間の比較は Dunnet の検定により行った。基剤群とキサラタン®点眼液 0.005%群間の比較は Student の t 検定により行った。

**P<0.01、基剤群との比較（Dunnet の検定）

##P<0.01、基剤群との比較（Student の t 検定）

表 2.6.2.2-6. 正常眼圧サルにおける STN1012600 点眼液及びキサラタン®点眼液 0.005%の 14 日間反復点眼による眼圧下降作用（投与 14 日目における眼圧下降幅の経時変化）

薬剤	投与眼の眼圧下降幅、mmHg（平均値±標準誤差、各群 8 例）							
	0 hr	4 hr	8 hr	12 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
Vehicle	-0.44 ± 0.12	0.35 ± 0.15	0.30 ± 0.15	0.06 ± 0.37	-0.01 ± 0.21	-0.08 ± 0.37	0.03 ± 0.15	-0.09 ± 0.17
0.0001% STN1012600 点眼液	1.75 ± 0.20	2.21 ± 0.22	2.21 ± 0.33	3.16 ± 0.21	1.91 ± 0.16	0.80 ± 0.20	0.10 ± 0.11	-0.38 ± 0.16
0.0003% STN1012600 点眼液	2.40 ± 0.26	3.54 ± 0.50	3.95 ± 0.23	4.21 ± 0.31	2.71 ± 0.27	1.40 ± 0.22	0.01 ± 0.21	-0.23 ± 0.27
0.001% STN1012600 点眼液	3.85 ± 0.36	4.34 ± 0.44	4.46 ± 0.46	5.25 ± 0.32	4.16 ± 0.50	2.93 ± 0.40	1.43 ± 0.36	0.16 ± 0.25
Latanoprost	0.54 ± 0.17	2.86 ± 0.27	1.45 ± 0.23	1.38 ± 0.23	0.49 ± 0.50	-0.14 ± 0.17	0.04 ± 0.19	-0.30 ± 0.17

基剤群は Vehicle、キサラタン®点眼液 0.005%群は Latanoprost とそれぞれ表記した。

Confidential

(4) 正常眼圧サルにおける眼圧下降作用—EP3 受容体活性化の役割—

添付資料 4.2.1.1-6

STN1012600 点眼液の眼圧下降作用に対する EP3 受容体活性化の役割を、正常眼圧サルを使用して検討した。対照には基剤を用いた。前房内投与用基剤（0.5%ジメチルスルホキシド含有生理食塩液）又は 100 μmol/L EP3 受容体拮抗薬 (ONO-AE3-240[5]) を 10 μL 前房内投与した後、0.002% STN1012600 点眼液又は基剤を 20 μL 単回点眼した。前房内投与は、全身麻酔下にてマイクロシリンジを用いて実施した。眼圧測定は、投与前並びに投与後 8、24 及び 26 時間に実施した。眼圧測定は、モンキーチェアへの保定及び無麻酔下（表面麻酔剤の点眼のみで、全身麻酔なし）での眼圧測定に対する馴化を行ったサルを使用し、0.4%オキシブプロカイン塩酸塩点眼液を 1 滴点眼後、圧平式眼圧計を用いて行った。

Control 群、EP3 受容体拮抗薬群、STN1012600 群及び STN1012600 + EP3 受容体拮抗薬群における、各群の処置内容及び各測定時間における眼圧変化値を表 2.6.2.2-7 に示す。なお、眼圧変化値は、各測定時間の眼圧値から、投与前の眼圧値を減算した値とした。各測定時間において各個体の眼圧変化値を平均した値を、各測定時間における平均眼圧変化値とした。

Control 群においては、投与後 24 時間において、投与前と比較し有意な眼圧下降が認められた。本試験では Control 群においても前房内投与を実施していることから、前房内投与時の全身麻酔あるいは前房内投与が眼圧に影響している可能性が考えられた。EP3 受容体拮抗薬群においては、測定期間を通じて、投与前と比較し有意な眼圧の変化は認められなかった。STN1012600 群においては、測定期間を通じて、投与前と比較し有意な眼圧下降が認められた。STN1012600 + EP3 受容体拮抗薬群においては、投与後 24 時間においては、投与前と比較し有意な眼圧下降が認められたが、投与後 8 時間及び 26 時間においては、有意な眼圧の変化は認められなかった（表 2.6.2.2-7）。

本試験では、Control 群においても投与後 24 時間に有意な眼圧下降が認められたことから、前房内投与時の全身麻酔あるいは前房内投与が眼圧に影響している可能性が考えられた。そこで、それらの影響を排除して、EP3 受容体拮抗薬による STN1012600 点眼液の眼圧下降作用への影響を評価するため、STN1012600 群及び STN1012600 + EP3 受容体拮抗薬群の眼圧変化値から、Control 群の眼圧変化値を減算し、差分解析を行った。STN1012600 群及び STN1012600 + EP3 受容体拮抗薬群の差分解析の結果を図 2.6.2.2-4 に示す。投与後 8 時間及び 24 時間においては、両群の間に有意差は認められなかった。一方で、投与後 26 時間においては、群間で有意差が認められ、EP3 受容体拮抗薬前房内投与により、STN1012600 点眼液の投与後 26 時間における眼圧下降作用が減弱することが示唆された（図 2.6.2.2-4）。

以上の通り、投与後早期の測定時間では EP3 受容体拮抗薬による眼圧下降作用の変化は認められず、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。なお、マウスを用いた実験により、FP 受容体作動薬であるラタノプロストと、EP3 受容体作動薬である ONO-AE-248[5]を併用点眼することで FP 及び EP3 受容体を同時に活性化すると、ラタノプロストにより FP 受容体のみを活性化した場合と比較し、眼圧下降作用が持続化することが報告されている[6]。

当該文献からも、EP3 受容体活性化は、FP 受容体活性化に由来する眼圧下降作用を持続化することが示唆されている。

Confidential

表 2.6.2.2-7. 正常眼圧サルにおける STN1012600 点眼液の眼圧下降作用に対する EP3 受容体拮抗薬の影響（眼圧変化値）

群名	処置内容		投与眼の眼圧変化値、mmHg（平均値±標準誤差、各群 7 例）		
	前房内投与	点眼	8 hr	24 hr	26 hr
Control	前房内投与用基剤	基剤	0.1 ± 0.4	-1.1 ± 0.3*	-0.7 ± 0.4
EP3 受容体拮抗薬	100 μmol/L ONO-AE3-240	基剤	0.1 ± 0.4	-0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.4
STN1012600	前房内投与用基剤	0.002% STN1012600 点眼液	-1.3 ± 0.4*	-1.7 ± 0.5*	-1.4 ± 0.4*
STN1012600 + EP3 受容体拮抗薬	100 μmol/L ONO-AE3-240	0.002% STN1012600 点眼液	-1.1 ± 0.9	-0.9 ± 0.4*	-0.5 ± 0.3

各群における投与前値からの比較は、対応のある t 検定（経時測定型）により行った。

*P<0.05、投与前値との比較（対応のある t 検定（経時測定型））

Confidential

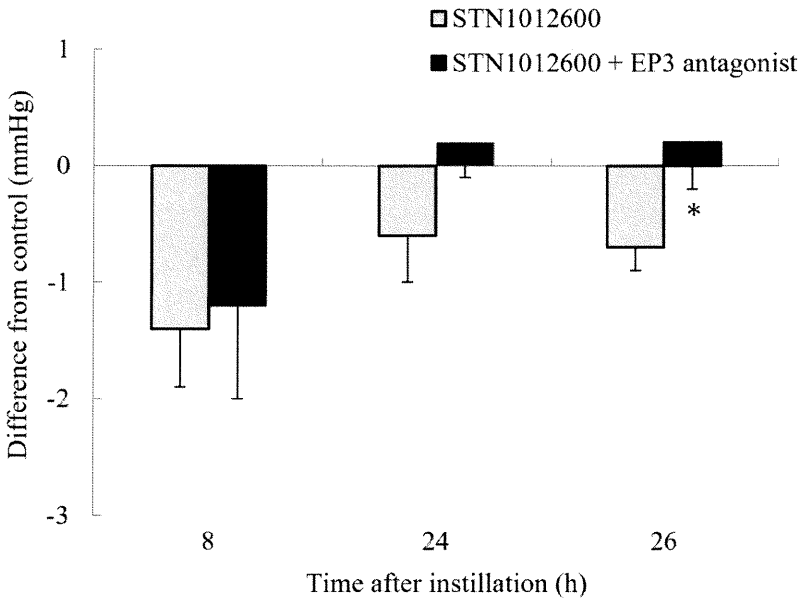


図 2.6.2.2-4. 正常眼圧サルにおける STN1012600 点眼液の眼圧下降作用に対する EP3 受容体拮抗薬の影響（Control 群からの差分解析）

各前房内投与用液を 10 μL 片眼に前房内投与した後、各点眼液を 20 μL 片眼投与した。STN1012600 群及び STN1012600 + EP3 受容体拮抗薬群の眼圧変化値から、Control 群の眼圧変化値を減算し、差分解析を行った。各値は 7 例の平均値－標準誤差を示した。なお、STN1012600 + EP3 受容体拮抗薬群は STN1012600 + EP3 antagonist と表記した。STN1012600 群と STN1012600 + EP3 受容体拮抗薬群間の比較は対応のある t 検定により行った。

*P<0.05、STN1012600 群との比較（対応のある t 検定）

(5) 房水動態試験

添付資料 4.2.1.1.-7、4.2.1.1-8

片眼の線維柱帯部分にアルゴンレーザーを照射することで作製したレーザー誘発高眼圧サルを用いて、0.002% STN1012600 点眼液を 1 日 1 回、20 μL を 7 日間点眼した時の房水動態をフルオロフォトメトリー法[7]により検討した。対照には基剤を用いた。

基剤又は 0.002% STN1012600 点眼液投与後の、房水流量、房水流出率及びぶどう膜強膜流出量の測定結果を表 2.6.2.2-8 に示す。0.002% STN1012600 点眼液による房水流量の変化は認められなかったため、STN1012600 点眼液は房水産生量に影響を及ぼさないと考えられた。一方で、0.002% STN1012600 点眼液により、統計学的に有意ではなかったが、房水流出率及びぶどう膜強膜流出量が、基剤群と比較しそれぞれ 68.4%及び 70.7%増大した。なお、房水流出率は、線維柱帯流出路及びぶどう膜強膜流出路の流出率を合算した総房水排出率を表すが、霊長類ではぶどう膜強膜流出路の流出率の寄与は非常に小さいと考えられており、主に線維柱帯流出路からの房水流出率を示す値と考えられている[8]。

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[1] [2] [3]。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、及び、本房水動態試験の結果から、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、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。

表 2.6.2.2-8. レーザー誘発高眼圧サルにおける 0.002% STN1012600 点眼液の 7 日間反復点眼による房水動態への影響

房水動態指標	基剤*	0.002% STN1012600 点眼液*	変化率#	P 値
房水流量 (μL/min)	3.008 ± 0.456	3.084 ± 0.593	2.5%	0.874
房水流出率 (μL/min/mmHg)	0.254 ± 0.044	0.428 ± 0.126	68.4%	0.199
ぶどう膜強膜流出量 (μL/min)	2.154 ± 0.556	3.678 ± 1.245	70.7%	0.239

各点眼液を、1 日 1 回、20 μL を 7 日間投与した。各群 8 例のレーザー誘発高眼圧サルをデータ解析に用いた。

*：平均値±標準誤差

#：（0.002% STN1012600 点眼液群の平均値－基剤群の平均値）/ 基剤群の平均値×100%で算出

P 値は基剤群との比較：対応のある t 検定を用いて算出した。

2.6.2.3 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セペタプロスト及び ONO-AG-367 の阻害活性を指標に、セペタプロスト及び ONO-AG-367 の各種受容体等に対する結合親和性を検討した。

10 μmol/L セペタプロスト処置時の、各種受容体等に対する阻害率は最大でも 35%であった。10 μmol/L ONO-AG-367 処置時の、各種受容体等に対する阻害率は最大でも 22%であった。

以上の結果、及び、受容体親和性に関する試験の結果 (2.6.2.2.1 項) から、セペタプロストは FP 受容体に、ONO-AG-367 は FP 及び EP3 受容体に特異的に親和性を示し、その他の受容体等に対する親和性はない、あるいは、非常に弱いと考えられ、オフターゲット作用を示す可能性は低いと考えられた。

2.6.2.4 安全性薬理試験

2.6.2.4.1 サルにおける中枢神経系に及ぼす影響

添付資料 4.2.3.2-11

中枢神経系に及ぼす影響の検討は、サルを用いた 4 週間反復静脈内投与試験の初日に実施した。中枢神経系に及ぼす影響に関する評価以外の詳細は反復投与毒性試験の項（2.6.6.3.11 項）に記載した。1 群あたり雌雄各 3 匹のカニクイザルに、セペタプロストを 0、2、20 及び 200 μg/kg の用量で投与し、FOB 法により観察した。さらに、セペタプロスト及びその活性代謝物である ONO-AG-367 の全身的曝露を評価するために血漿中薬物濃度測定を実施した。

その結果、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）が観察された。また、投与直後の瞳孔径の散大及び縮小が認められた。

セペタプロストを 2、20 及び 200 μg/kg の用量で投与した時の血漿中セペタプロストの C_0 は、それぞれ 765、7810 及び 82900 pg/mL であり、血漿中 ONO-AG-367 の C_{max} は、それぞれ 1310、12900 及び 128000 pg/mL であった。

以上の結果より、当試験条件下における中枢神経系への無影響量は 20 μg/kg であった。

2.6.2.4.2 無麻酔サルにおける心血管系及び呼吸系に及ぼす影響

添付資料 4.2.1.3-1、4.2.1.3-2

雄性カニクイザル 5 匹を用いて、セペタプロストの心血管系及び呼吸系に対する影響を無麻酔下で検討した。セペタプロストは 0.02、0.04、0.06、0.2、2 及び 20 μg/kg の 6 用量を単回静脈内投与した。また、媒体対照として 0.1 w/v%ポリソルベート 80 を被験物質と同様の方法で投与した。投与は媒体対照を含めてクロスオーバー法により実施した。血圧、心電図及び体温はテレメトリー法により測定し、呼吸波形は whole body plethysmograph 法により測定した。

セペタプロストは 2 μg/kg 以上において血圧上昇、心拍数増加及び体温低下が認められた。また 0.06 μg/kg 以上において呼吸数増加及び 1 回換気量低下が認められた。一方、心電図については 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が、その他のパラメーター（PR 間隔、QRS 時間及び QTc）に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。なお、20 μg/kg 投与群では、投与後約 1 時間まで横臥あるいは腹臥が認められた。

セペタプロストを 0.06、0.2 及び 2 μg/kg の用量で投与した時の血漿中セペタプロストの C_0 は、それぞれ 29.9、58.0 及び 606 pg/mL であった。なお、0.04 μg/kg を投与した時の C_0 については、投与後 15 分以降の測定値が検出下限未満であったため算出しなかった。セペタプロストを 0.04、0.06、0.2 及び 2 μg/kg を投与した時の血漿中 ONO-AG-367 の C_{max} は、それぞれ 13.3、27.8、102 及び 846 pg/mL であった。

以上の結果より、セペタプロストは無麻酔カニクイザルにおいて、2 μg/kg 以上で血圧上昇、心拍数増加及び体温低下、0.06 μg/kg 以上で呼吸数増加及び 1 回換気量減少を示したことから、血圧、心拍数及び体温に対する無影響量は 0.2 μg/kg、呼吸系に対する無影響量は 0.04 μg/kg と考えられた。一方、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。

2.6.2.4.3 hERG チャネル電流に対する作用

添付資料 4.2.1.3-3、4.2.1.3-4

セペタプロストの HEK293 細胞に安定発現させた hERG チャネル電流に対する作用を検討した。hERG チャネル電流の測定は、セペタプロスト濃度 0.1、0.3、1、3 及び 7 μmol/L で実施した。その結果、0.3 μmol/L 以下では hERG チャネル電流に変化は認められなかったが、1 μmol/L で hERG チャネル電流の減少傾向が認められ、3 μmol/L 以上では有意な減少が認められた。セペタプロストはガラス及びプラスチック製器材に吸着するため、灌流液の濃度測定を行った結果、実際に細胞に適用されたと考えられる濃度はそれぞれ 0.0488、0.153、0.627、2.14 及び 5.16 μmol/L であった。従って、セペタプロストは 0.153 μmol/L まで hERG チャネル電流に対して影響を及ぼさず、0.627 μmol/L 以上で濃度依存的に hERG チャネル電流を阻害すると考えられた。灌流液の測定濃度を用いて算出したセペタプロストの hERG チャネル電流に対する IC_{50} 値は 5.2 μmol/L であった。

セペタプロストの活性代謝物である ONO-AG-367 についても同様に hERG チャネル電流に対する作用を 0.1、1 及び 10 μmol/L の濃度で検討した。その結果、ONO-AG-367 は 10 μmol/L まで hERG チャネル電流に対して作用が認められなかった。

2.6.2.4.4 モルモット摘出乳頭筋の活動電位に対する作用

添付資料 4.2.1.3-5、4.2.1.3-6

セペタプロストの心筋活動電位に対する作用をモルモット（Slc: Hartley 系、雄、4～5 週齢）の摘出乳頭筋を用いて検討した。0.1、1 及び 7 μmol/L の濃度で評価した。その結果、1 μmol/L まで心筋活動電位に対して作用が認められなかったが、7 μmol/L で 30%、50%及び 90%活動電位持続時間の短縮が認められ、カルシウムチャネル阻害作用が示唆された。セペタプロストはガラス及びプラスチック製器材に吸着するため、1 及び 7 μmol/L の灌流液の濃度測定を行った結果、実際に摘出乳頭筋に適用されたと考えられる濃度はそれぞれ 0.689 及び 5.28 μmol/L であった。従って、セペタプロストは 0.689 μmol/L まで心筋活動電位に対して作用せず、5.28 μmol/L で心筋活動電位持続時間を短縮させると考えられた。

セペタプロストの活性代謝物である ONO-AG-367 についても同様に hERG チャネル電流に対する作用を 0.1、1 及び 10 μmol/L の濃度で検討した。その結果、ONO-AG-367 は 10 μmol/L まで心筋活動電位に対して作用が認められなかった。

2.6.2.4.5 ヒト血小板に対する作用 (in vitro)

添付資料 4.2.1.3-7

ONO-AG-367 のヒトの血小板に対する作用について検討するため、ヒト血液より調製した多血小板血漿を用いて、ONO-AG-367 の ADP 及びコラーゲンによる血小板凝集惹起に対する亢進及び抑制作用、ONO-AG-367 による血小板凝集惹起作用を検討した。0.1、1、10 及び 100 μmol/L の濃度で評価した。その結果、ONO-AG-367 は、ADP 及びコラーゲンの血小板凝集惹起に対し、それぞれ 0.1 及び 1 μmol/L まで影響を示さなかったが、1 及び 10 μmol/L 以上で血小板凝集の亢進作用を示した。一方、100 μmol/L まで血小板凝集惹起に対する抑制作用や血小板凝集惹起作用は示さなかった。

2.6.2.4.6 ヒト血液における凝固及び線溶系に対する作用 (in vitro)

添付資料 4.2.1.3-8

ONO-AG-367 のヒトにおける血液凝固系（プロトロンビン時間及び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）に対する作用について、ヒト血漿を用いて評価した。0.1、1、10 及び 100 μmol/L の濃度で評価した。

その結果、ONO-AG-367 は最高濃度とした 100 μmol/L においても、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。

2.6.2.4.7 ラット血液機能に対する作用 (in vitro)

添付資料 4.2.1.3-9

ONO-AG-367 のラットにおける血液機能に対する影響について、ラット血漿を用いた血小板凝集（ADP 及びコラーゲン惹起による血小板凝集抑制作用及び亢進作用、単独凝集惹起作用）、血液凝固系（プロトロンビン時間、PT 及び活性化部分トロンボプラスチン時間、APTT）及び血液線溶系（プラスミン活性）に対する作用を評価した。0.001、0.01、0.1 及び 1 μmol/L の濃度で評価した。

その結果、ONO-AG-367 は最高濃度とした 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。

2.6.2.4.8 ラットにおける尿量・尿中電解質排泄に対する作用

添付資料 4.2.1.3-10

1 群あたり各 8 匹の雌性 SD ラットに、セペタプロストを 0.1、1、10 及び 100 μg/kg の用量で単回静脈内投与し、尿量・尿中電解質排泄に対する作用を評価した。被験物質の投与後、生理食塩

液 25 mL/kg を経口負荷し、代謝ケージで投与後 0～3 時間及び 3～6 時間の尿を採取し、投与後 0～3 時間の尿量及び投与後 0～6 時間の尿量、尿 pH 及び尿中電解質総排泄量について評価した。

その結果、セペタプロストは 10 μg/kg 以上で有意な尿量の増加、尿 pH の低下及び尿中電解質総排泄量（Na、K 及び Cl）の増加が認められ、無影響量は 1 μg/kg であった。

2.6.2.4.9　　麻酔下サルにおける子宮収縮に及ぼす影響

添付資料 4.2.1.3-11

5 匹の非妊娠カニクイザル（雌）にセペタプロストの 0、0.02、0.06、0.2 及び 2 μg/kg を麻酔下で静脈内に低用量より単回投与し、子宮内圧を測定した。評価項目は、投与前を基準とした波形の変化、収縮曲線下面積（変化率）、平均収縮圧（変化率）及び最大収縮圧（変化率）とした。さらにセペタプロスト及びその活性代謝物である ONO-AG-367 の全身的曝露を評価するために血漿中薬物濃度測定を実施した。

その結果、セペタプロストは 0.06 μg/kg まで子宮収縮に対して影響を及ぼさなかった。0.2 μg/kg では 5 例中 4 例で自発収縮の軽微な亢進がみられたが、収縮曲線下面積、平均収縮圧及び最大収縮圧について媒体対照と比べ有意な差は認められなかった。一方、2 μg/kg の全例では投与終了後 2～5 分を最大とする明らかな収縮が認められ、投与終了後 30 分まで持続し、収縮曲線下面積、平均収縮圧及び最大収縮圧について媒体対照と比べ有意に増加した。

セペタプロストを 0.02、0.06、0.2 及び 2 μg/kg の用量で投与した時の血漿中セペタプロストの C_0 は、それぞれ 11.8、13.8、81.7 及び 724 pg/mL、血漿中 ONO-AG-367 の C_{max} は、6.73、12.7、54.8 及び 540 pg/mL であり、いずれも投与量の増加に伴って増加した。

以上の結果より、本試験条件下において、セペタプロストは非妊娠のカニクイザルの子宮収縮に対して 0.2 μg/kg で軽微ながらも自発収縮を亢進させ、2 μg/kg で媒体対照と比較して有意な収縮作用を示したことから、子宮収縮に対する無影響量は 0.06 μg/kg と考えられた。

2.6.2.4.10　　サルにおける瞳孔径及び眼屈折率への影響

添付資料 4.2.1.3-12

STN1012600 点眼液をカニクイザルに反復点眼投与して、瞳孔径並びに眼の屈折率に対する影響を評価した。最初に感受性検査として、0.01% STN1012600 点眼液を左眼角膜上に、点眼液基剤を右眼角膜上に点眼投与し、瞳孔径を測定した。感受性検査の結果から、左眼に右眼と比較して 1.0 mm 以上拡大した個体を散瞳群、左右の瞳孔径の差が 0.5 mm 以下の個体を縮瞳群及び無変化群に振り分けた。

無変化群及び散瞳群には、0.01% STN1012600 点眼液を左眼、点眼液基剤を右眼の角膜上にそれぞれ単回点眼投与し、瞳孔径及び屈折率を点眼後 24 時間まで経時的に測定した。縮瞳群には、無変化群及び散瞳群と同様の方法で 0.01% STN1012600 点眼液及び点眼液基剤を 1 日 2 回、最長 8

日間反復点眼投与し、縮瞳が 2 日間連続して認められた翌日に 1 回点眼投与し、瞳孔径及び屈折率を経時的に測定した。評価に用いた動物数は各群 5 匹とした。

結果として、無変化群では、瞳孔径及び眼の屈折率に変化はみられなかった。散瞳群では、STN1012600 点眼液の単回点眼により散瞳が認められた。散瞳は点眼後 2～6 時間に認められ、点眼後 24 時間には消失したが、いずれの測定時間においても眼の屈折率に変化は認められなかった。縮瞳群では、STN1012600 点眼液の 3～6 日間の反復点眼により縮瞳が認められた。縮瞳は点眼後 2～6 時間に認められ、点眼後 24 時間には消失したが、いずれの測定時間においても眼の屈折率に変化は認められなかった。

以上の結果より、STN1012600 点眼液により散瞳あるいは縮瞳が認められるが、いずれの状態においても眼の屈折率には影響を及ぼさないことが明らかとなった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当する試験はない。

2.6.2.6 考察及び結論

セペタプロストはプロドラッグであり、点眼後、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 FP 及び EP3 受容体に選択的に結合し、高いアゴニスト活性を示す、FP 及び EP3 受容体作動薬である。

正常眼圧イヌ及び正常眼圧サルにおける STN1012600 点眼液の眼圧下降作用を検討した。その結果、0.0001%以上の濃度において濃度依存的な、有意な眼圧下降作用が認められた。また、その作用強度及び持続性は、0.0003%以上の濃度において、キサラタン®点眼液 0.005%よりも優れていた。14 日間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。EP3 受容体拮抗薬を用いた検討から、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。STN1012600 点眼液の眼圧下降作用機序を確認するため、レーザー誘発高眼圧サルを用いて、7 日間反復点眼後の房水動態を検討した。その結果、房水産生量に影響はないと考えられた。一方で、統計学的に有意ではなかったが、房水流出率及びぶどう膜強膜流出量が、基剤群と比較し、それぞれ 68.4%及び 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[(1) (2) (3)]。セペタプロストの活性代謝物である ONO-AG-367 は強力な FP 受容体アゴニスト活性を有すること、及び、房水動態試験の結果から、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、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。

安全性薬理試験では、中枢神経系への影響として 200 μg/kg で中枢抑制を示す種々の所見が認められ、2 μg/kg 以上の用量で体温低下が認められた。心血管系への影響として、2 μg/kg 以上で血圧上昇及び心拍数増加が認められた。中枢神経系及び心血管系への作用に対する最少影響量である 2 μg/kg 投与時の血漿中 ONO-AG-367 の C_{max} は 846 pg/mL であり、本剤の臨床用法用量でのヒト

血漿中 ONO-AG-367 濃度 C_{max} 13.8 pg/mL と比較したとき、十分な安全域が認められた。また、呼吸系への影響として、0.06 μg/kg で呼吸数増加及び 1 回換気量低下が認められ、その時の血漿中 ONO-AG-367 の C_{max} は 27.8 pg/mL であった。さらに 0.2 μg/kg で子宮収縮に対する作用が認められ、その時の血漿中 ONO-AG-367 の C_{max} は 54.8 pg/mL であった。これらの作用についても、臨床での血漿中 ONO-AG-367 濃度との間に安全域を確認できた。他に血小板に対する作用を評価した結果、ONO-AG-367 は 1 μmol/L（約 440 ng/mL）以上で 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たが、臨床での血漿中 ONO-AG-367 濃度との間に十分な乖離を確認できた。なお、血小板凝集亢進作用は、EP3 受容体を介して発揮されることが報告[9]されていることから、本作用はセペタプロストの持つ EP3 受容体アゴニスト活性に由来している可能性が考えられた。さらに、ラットで尿量・尿中電解質排泄に対する作用が確認され、10 μg/kg 以上で腎機能への影響が確認された。この試験では全身曝露を評価しなかったものの、安全域が確認されている心血管系に対する作用より高用量での作用であることから安全域は確保できていると考えた。以上のように、安全性薬理試験を通じて FP 受容体アゴニスト活性及び EP3 受容体アゴニスト活性に由来すると考えられる様々な薬理作用が確認された。これらの作用は基本的に他の FP 受容体作動薬の非臨床試験においても認められる変化であったが、血小板凝集亢進作用については他の FP 受容体アゴニスト類では認められていないことから、EP3 受容体を介した作用である可能性が考えられた。また、本剤の臨床用法用量でのヒトでの全身曝露量と各作用に対する無影響量との間に十分な乖離を確認できた。呼吸系への影響は十分な乖離を確認できなかったが、呼吸系に対する最少影響量時の作用は軽微であったことから、安全性懸念とはならないと考えた。

以上の結果から、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 受容体作動薬であり、既存の FP 受容体作動薬とは異なる薬理プロファイルを有す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、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。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剤となる可能性が考えられた。

2.6.2.7　　図表

本文中に記載。

2.6.2.8　　参考文献一覧

(1)　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）

(2) 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）

(3) 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）

(4) 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.

(5) Sugimoto Y, Narumiya S. Prostaglandin E receptors. J Biol Chem. 2007;282(16):11613-7.

(6) Yamagishi-Kimura R, Honjo M, Aihara M. The Roles Played by FP/EP3 Receptors During Pressure-lowering in Mouse Eyes Mediated by a Dual FP/EP3 Receptor Agonist. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2022;63(2):1-9.

(7) Toris CB, Zhan GL, Wang YL, Zhao J, McLaughlin MA, Camras CB, et al. Aqueous humor dynamics in monkeys with laser-induced glaucoma. J Ocul Pharmacol Ther. 2000;16(1):19-27.

(8) Toris CB, Gabelt BT, Kaufman PL. Update on the mechanism of action of topical prostaglandins for intraocular pressure reduction. Surv Ophthalmol. 2008;53 Suppl1:S107-20.

(9) Ma H, Hara A, Xiao CY, Okada Y, Takahata O, Nakaya K, et al. Increased Bleeding Tendency and Decreased Susceptibility to Thromboembolism in Mice Lacking the Prostaglandin E Receptor Subtype EP_3. Circulation. 2001;104:1176-80.

目次

2.6.3 薬理試験 2
2.6.3.1 薬理試験： 一覧表 2
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 5
2.6.3.3 副次的薬理試験 9
2.6.3.4 安全性薬理試験 10
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 13

Confidential

2.6.3 薬理試験

2.6.3.1 薬理試験： 一覧表

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
(1) 効力を裏付ける試験					
プロスタノイド受容体に対する親和性に関する試験	各種プロスタノイド受容体（EP1、EP2、EP3、EP4、FP、DP、IP 及び TP 受容体）発現細胞	*in vitro*	日本 [redacted]	[redacted]	4.2.1.1-1
プロスタノイド受容体に対するアゴニスト活性に関する試験	FP 受容体又は EP3 受容体発現細胞	*in vitro*		[redacted]	4.2.1.1-2
正常眼圧イヌにおける眼圧下降作用―単回点眼試験―	ビーグル犬	点眼		[redacted]	4.2.1.1-3
正常眼圧サルにおける眼圧下降作用―単回点眼試験―	カニクイザル	点眼	日本 [redacted]	[redacted]	4.2.1.1-4
正常眼圧サルにおける眼圧下降作用―反復点眼試験―	カニクイザル	点眼		[redacted]	4.2.1.1-5
正常眼圧サルにおける眼圧下降作用―EP3 受容体活性化の役割―	カニクイザル	点眼及び前房内投与	日本 [redacted]	[redacted]	4.2.1.1-6
房水動態試験	カニクイザル	点眼	アメリカ [redacted]	[redacted]	4.2.1.1-7
			日本 [redacted]	[redacted]	4.2.1.1-8

Confidential

2.6.3.1　　**薬理試験：　一覧表（続き）**

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
ラタノプロスト低反応性正常眼圧サルにおける眼圧下降作用	カニクイザル	点眼	日本 [redacted]	[redacted]	4.2.1.1-9 4.2.1.1-10
チモロールマレイン酸塩点眼液との併用効果	カニクイザル	点眼		[redacted]	4.2.1.1-11
（2）副次的薬理試験					
オフターゲット作用に関する試験	種々の受容体、イオンチャネルあるいはトランスポーターを発現する組織及び細胞等	*in vitro*	台湾 [redacted]	[redacted]	4.2.1.2-1
（3）安全性薬理試験					
サルにおける中枢神経系に及ぼす影響	カニクイザル	静脈内投与	日本 [redacted]	[redacted]	4.2.3.2-11
無麻酔サルにおける心血管系及び呼吸系に及ぼす影響	カニクイザル	静脈内投与	日本 [redacted]	[redacted]	4.2.1.3-1 4.2.1.3-2
hERG チャネル電流に対する作用	hERG 発現 HEK293 細胞	*in vitro*	日本 [redacted]	[redacted]	4.2.1.3-3 4.2.1.3-4
モルモット摘出乳頭筋の活動電位に対する作用	モルモット摘出乳頭筋	*in vitro*	日本 [redacted]	[redacted]	4.2.1.3-5 4.2.1.3-6
ヒト血小板に対する作用	ヒト多血小板血漿	*in vitro*	日本 [redacted]	[redacted]	4.2.1.3-7
ヒト血液における凝固及び線溶系に対する作用	ヒト血漿	*in vitro*	日本 [redacted]	[redacted]	4.2.1.3-8

Confidential

2.6.3.1　　**薬理試験：　一覧表（続き）**

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
ラット血液機能に対する作用	ラット血漿	*in vitro*	日本 [redacted]	[redacted]	4.2.1.3-9
ラットにおける尿量・尿中電解質排泄に対する作用	ラット/ Crl:CD (SD)	静脈内投与	日本 [redacted]	[redacted]	4.2.1.3-10
麻酔下サルにおける子宮収縮に及ぼす影響	カニクイザル	静脈内投与	日本 [redacted]	[redacted]	4.2.1.3-11
サルにおける瞳孔径及び眼屈折率への影響	カニクイザル	点眼	日本 [redacted]	[redacted]	4.2.1.3-12
（4）薬力学的薬物相互作用試験					
該当する試験はない。					

Confidential

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

(1) *in vitro* 試験一覧

試験項目	試験成績			試験番号	資料番号
プロスタノイド受容体に対する親和性に関する試験	受容体	Ki 値 (nmol/L)		[redacted]	4.2.1.1-1
		セペタプロスト	ONO-AG-367		
	ヒト EP1	>10000	734		
	ヒト EP2	>10000	>10000		
	ヒト EP3	>10000	25.0		
	マウス EP4	>10000	>10000		
	ヒト FP	16.8	0.727		
	マウス DP	>10000	>10000		
	マウス IP	>10000	>10000		
	マウス TP	>10000	>10000		

最高濃度である 10 μmol/L における阻害率が 50%未満の場合は、Ki 値を推定せず、「>10000」と表記した。

試験項目	試験成績			試験番号	資料番号
プロスタノイド受容体に対するアゴニスト活性に関する試験	受容体	EC_{50} 値 (nmol/L)		[redacted]	4.2.1.1-2
		セペタプロスト	ONO-AG-367		
	ヒト FP	3030	22.3		
	ヒト EP3	>10000	28.6		
	マウス FP	1530	11.1		
	マウス EP3	4510	14.8		

Confidential

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

（1） *in vivo* 試験一覧

試験項目	動物種／系統	投与経路	投与量・投与期間	試験結果	試験番号	資料番号
正常眼圧イヌにおける眼圧下降作用 —単回点眼試験—	ビーグル犬	点眼	セペタプロスト：0.0001%、0.0003%、0.001% ラタノプロスト：0.005%（キサラタン®点眼液 0.005%） チモロール：0.5%（チモプトール®点眼液 0.5%） 配合剤：ラタノプロスト 0.005%、チモロール 0.5%（ザラカム®配合点眼液） 30 μL 単回	・ 0.0001%以上の濃度において濃度依存的な、有意な眼圧下降作用を示し、投与後 24 時間においても有意な眼圧下降作用が認められた。 ・ 0.0003%以上の濃度において、キサラタン®点眼液 0.005%及びチモプトール®点眼液 0.5%よりも優れた眼圧下降作用及び持続性を示し、ザラカム®配合点眼液と比較しても同程度以上の眼圧下降作用を示した。	[redacted]	4.2.1.1-3
正常眼圧サルにおける眼圧下降作用 —単回点眼試験—	カニクイザル	点眼	セペタプロスト：0.00001%、0.00003%、0.0001%、0.0003%、0.001%、0.003 % ラタノプロスト：0.005%（キサラタン®点眼液 0.005%） 30 μL 単回	・ 0.0001%以上の濃度において濃度依存的な、有意な眼圧下降作用を示し、投与後 24 時間においても有意な眼圧下降作用が認められた。 ・ 0.0003%以上の濃度において、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。	[redacted]	4.2.1.1-4

Confidential

2.6.3.2　　効力を裏付ける試験（続き）

試験項目	動物種／系統	投与経路	投与量・投与期間	試験結果	試験番号	資料番号
正常眼圧サルにおける眼圧下降作用—反復点眼試験—	カニクイザル	点眼	セペタプロスト：0.0001%、0.0003%、0.001% ラタノプロスト：0.005%（キサラタン®点眼液 0.005%） 1 日 1 回 30 μL、14 日間	・ 0.0001%以上の濃度において濃度依存的な、有意な眼圧下降作用を示し、投与後 24 時間においても有意な眼圧下降作用が認められた。いずれの濃度においても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。 ・ 0.0003%以上の濃度において、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。	[redacted]	4.2.1.1-5
正常眼圧サルにおける眼圧下降作用—EP3 受容体活性化の役割—	カニクイザル	点眼及び前房内投与	＜点眼＞ セペタプロスト：0.002% 20 μL 単回 ＜前房内投与＞ EP3 受容体拮抗薬 (ONO-AE3-240)：100 μmol/L 10 μL 単回	・ EP3 受容体拮抗薬の前房内投与後に、STN1012600 点眼液を単回点眼した結果、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。	[redacted]	4.2.1.1-6

Confidential

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

試験項目	動物種／系統	投与経路	投与量・投与期間	試験結果	試験番号	資料番号
房水動態試験	カニクイザル	点眼	セペタプロスト：0.002% 1日1回 20 μL、7日間	・ 房水流量に変化は認められなかった。 ・ 統計学的に有意ではなかったが、房水流出率及びぶどう膜強膜流出量が、それぞれ68.4%及び70.7%増大した。	[redacted]	4.2.1.1-7 4.2.1.1-8
ラタノプロスト低反応性正常眼圧サルにおける眼圧下降作用	カニクイザル	点眼	セペタプロスト：0.002% ラタノプロスト：0.005%（キサラタン®点眼液0.005%） 20 μL 単回	・ ラタノプロスト低反応性正常眼圧サル（キサラタン®点眼液0.005%に対し、1 mmHg未満の眼圧下降作用しか示さなかった個体）に対し、投与後8、10、12及び24時間において有意な眼圧下降作用を示した。	[redacted]	4.2.1.1-9 4.2.1.1-10
チモロールマレイン酸塩点眼液との併用効果	カニクイザル	点眼	セペタプロスト：0.002% チモロール：0.5%（チモプトール®点眼液0.5%） 20 μL 単回	・ 投与後6、8及び24時間において、STN1012600点眼液及びチモプトール®点眼液0.5%併用群では、各単剤群よりも強い眼圧下降作用を示した。	[redacted]	4.2.1.1-11

Confidential

2.6.3.3 副次的薬理試験

(1) *in vitro* 試験一覧

試験項目	試験成績	試験番号	資料番号
オフターゲット作用に関する試験	各種受容体、イオンチャネルあるいはトランスポーターと、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阻害率は、10 μmol/L セペタプロスト処置時においては最大でも 35%、10 μmol/L ONO-AG-367 処置時においては最大でも 22%であった。	[redacted]	4.2.1.2-1

Confidential

2.6.3.4 安全性薬理試験

試験項目	動物種／系統	投与経路	投与量・投与期間	試験結果	試験番号	資料番号
サルにおける中枢神経系に及ぼす影響	カニクイザル	静脈内投与	セペタプロスト：2、20、200 μg/kg、単回投与	・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）が観察された。投与直後に瞳孔径の散大及び縮小が認められた。無影響量は 20 μg/kg であった。	[redacted]	4.2.3.2-11
無麻酔サルにおける心血管系及び呼吸系に及ぼす影響	カニクイザル	静脈内投与	セペタプロスト：0.02、0.04、0.06、0.2、2、20 μg/kg、単回投与（クロスオーバー投与）	・2 μg/kg 以上で体温低下が認められた。中枢神経系に関する無影響量は 0.2 μg/kg であった。 ・2 μg/kg 以上で血圧上昇及び心拍数増加が認められた。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。心血管系に対する無影響量は 0.2 μg/kg であった。 ・0.06 μg/kg 以上で、呼吸数増加及び 1 回換気量低下が認められた。呼吸系に対する無影響量は 0.04 μg/kg であった。	[redacted]	4.2.1.3-1 4.2.1.3-2
hERG チャネル電流に対する作用	hERG 発現 HEK293 細胞	*in vitro*	セペタプロスト：0.0488、0.153、0.627、2.14、5.16 μmol/L ONO-AG-367：0.1、1、10 μmol/L	・セペタプロストは 0.153 μmol/L まで hERG チャネル電流に対して影響を及ぼさず、0.627 μmol/L 以上で濃度依存的に hERG チャネル電流を阻害すると考えられた。セペタプロストの hERG チャネル電流に対する IC_{50} 値は 5.2 μmol/L であった。 ・ONO-AG-367 は最高用量の 10 μmol/L まで hERG チャネル電流に対して作用が認められなかった。	[redacted]	4.2.1.3-3 4.2.1.3-4

Confidential

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

試験項目	動物種／系統	投与経路	投与量・投与期間	試験結果	試験番号	資料番号
モルモット摘出乳頭筋の活動電位に対する作用	モルモット摘出乳頭筋	*in vitro*	セペタプロスト：0.1、0.689、5.28 μmol/L ONO-AG-367：0.1、1、10 μmol/L	・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、カルシウムチャネル阻害作用が示唆された。 ・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。	[redacted]	4.2.1.3-5 4.2.1.3-6
ヒト血小板に対する作用	ヒト多血小板血漿	*in vitro*	ONO-AG-367：0.1、1、10、100 μmol/L	・ONO-AG-367は100 μmol/Lまで血小板凝集惹起作用を示さず、adenosine 5'-diphosphate sodium (ADP)及びコラーゲンの血小板凝集惹起に対し抑制作用を示さなかった。 ・ONO-AG-367はADP及びコラーゲンの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。	[redacted]	4.2.1.3-7
ヒト血液における凝固及び線溶系に対する作用	ヒト血漿	*in vitro*	ONO-AG-367：0.1、1、10、100 μmol/L	・ONO-AG-367はヒト血漿において最高濃度である100 μmol/Lにおいても血液凝固系（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。	[redacted]	4.2.1.3-8
ラット血液機能に対する作用	ラット血漿	*in vitro*	ONO-AG-367：0.001、0.01、0.1、1 μmol/L	・ONO-AG-367は1 μmol/Lまで、ラットの血小板凝集、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。	[redacted]	4.2.1.3-9
ラットにおける尿量・尿中電解質排泄に対する作用	ラット/ Crl:CD (SD)	静脈内投与	セペタプロスト：0.1、1、10、100 μg/kg、単回投与	・10 μg/kg以上で尿量の増加、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。無影響量は1 μg/kgであった。	[redacted]	4.2.1.3-10

Confidential

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

試験項目	動物種／系統	投与経路	投与量・投与期間	試験結果	試験番号	資料番号
麻酔下非妊娠サルにおける子宮収縮に及ぼす影響	カニクイザル	静脈内投与	セペタプロスト：0.02、0.06、0.2 及び 2 μg/kg、単回投与	· 0.2 μg/kg で自発収縮の軽微な亢進が見られた。2 μg/kg では投与終了後 2～5 分を最大とする明らかな収縮が認められ、収縮曲線下面積、平均収縮圧及び最大収縮圧が増加した。セペタプロストの子宮収縮に対する無影響量は 0.06 μg/kg と考えられた。	[redacted]	4.2.1.3-11
サルにおける瞳孔径及び眼屈折率への影響	カニクイザル	点眼	0.01% STN1012600 点眼液、反復投与	· STN1012600 点眼液点眼による散瞳あるいは縮瞳の状態においても、眼屈折率には影響を及ぼさなかった。	[redacted]	4.2.1.3-12

Confidential

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし。

Confidential