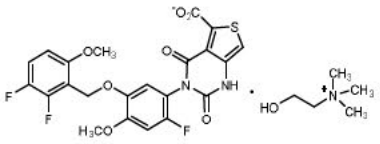
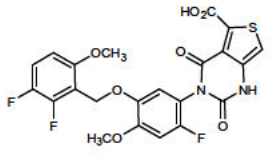
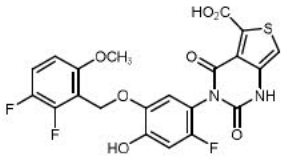
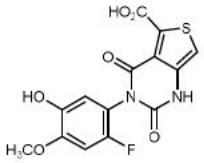
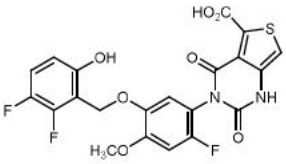
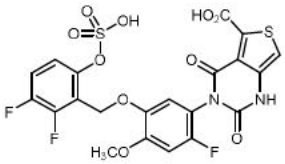
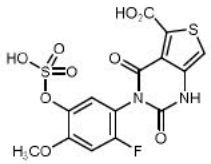
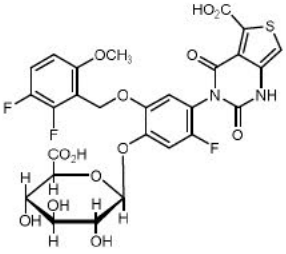
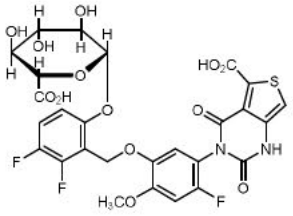
目次

2.4 非臨床に関する概括評価 6
2.4.1 非臨床試験計画概略 6
2.4.1.1 薬理試験 6
2.4.1.2 薬物動態試験 6
2.4.1.3 毒性試験 6
2.4.2 薬理試験 7
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 7
2.4.2.1.1 GnRH 受容体に対する結合親和性 7
2.4.2.1.2 GnRH 受容体に対する拮抗作用 7
2.4.2.1.3 ラットにおける Leuprolide 誘発 LH 分泌に対する作用 7
2.4.2.1.4 発情前期雌ラットにおける E2 分泌に対する作用 7
2.4.2.1.5 OVX カニクイザルにおける LH 分泌に対する作用 7
2.4.2.1.6 カニクイザルにおけるホルモン動態及び月経周期に対する作用 8
2.4.2.1.7 ラット子宮内膜症モデルに対する作用 8
2.4.2.1.8 作用機序 8
2.4.2.1.9 ヒト主要代謝物の GnRH 受容体に対する結合親和性 8
2.4.2.2 副次的薬理試験 8
2.4.2.2.1 各種受容体、イオンチャネル及びトランスポーターに対する結合親和性 8
2.4.2.3 安全性薬理試験 8
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 9
2.4.3 薬物動態試験 9
2.4.3.1 分析方法 10
2.4.3.2 吸収 10
2.4.3.3 分布 10
2.4.3.4 代謝 11
2.4.3.5 排泄 12
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用 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 13
2.4.4.3 遺伝毒性試験 17
2.4.4.4 がん原性試験 18
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 19
2.4.4.6 重要な生殖発生毒性試験 20
2.4.4.6.1 雌の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 20
2.4.4.6.2 胚・胎児発生に関する試験 21

2.4.4.6.3 出生前及び出生後の発生に関する試験 21
2.4.4.6.4 新生児を用いた試験 21
2.4.4.7 局所刺激性試験 21
2.4.4.8 その他の毒性試験 21
2.4.4.8.1 光毒性試験 21
2.4.4.8.2 毒性発現の機序に関する試験 22
2.4.4.8.3 不純物の毒性試験 23
2.4.5 総括及び結論 23
2.4.5.1 薬理試験 23
2.4.5.2 薬物動態試験 23
2.4.5.3 毒性試験 25
2.4.6 参考文献 27

化合物一覧

略号・一般名	化学名	構造式	由来
KLH-2109 コリン塩 (KLH-2109 Choline) リンザゴリクスコリン (Linzagolix Choline)	2-Hydroxy-*N*,*N*,*N*-trimethylethanaminium 3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-methoxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylate		原薬
KLH-2109	3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-methoxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		原薬のフリー体
KP017	3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-hydroxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP018	3-(2-fluoro-5-hydroxy-4-methoxyphenyl)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP046	3-{5-[(2,3-difluoro-6-hydroxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-methoxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP048	3-(5-{[2,3-difluoro-6-(sulfooxy)phenyl]methoxy}-2-fluoro-4-methoxyphenyl)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP049	3-[2-fluoro-4-methoxy-5-(sulfooxy)phenyl]-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP050	4-(5-carboxy-2,4-dioxo-1,2-dihydrothieno[3,4-*d*]pyrimidin-3(4*H*)-yl)-2-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-5-fluorophenyl β-D-glucopyranosiduronic acid		代謝物

略号・一般名	化学名	構造式	由来
KP143	2-{[5-(5-carboxy-2,4-dioxo-1,2-dihydrothieno[3,4-*d*]pyrimidin-3(4*H*)-yl)-4-fluoro-2-methoxyphenoxy]methyl}-3,4-difluorophenyl β-D-glucopyranosiduronic acid		代謝物

略号一覧

略号	略していない表現	内容
[^{14}C]	Carbon 14 labeled	炭素 14 標識
[^{125}I]	Iodine 125 labeled	ヨウ素 125 標識
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine transaminase	アラニントランスアミナーゼ
APA	Action potential amplitude	活動電位振幅
APD	Action potential duration	活動電位持続時間
APD_{30}	Action potential duration 30	30%再分極までの活動電位持続時間
APD_{90}	Action potential duration 90	90%再分極までの活動電位持続時間
$APD_{30\text{-}90}$	Action potential duration 30-90	APD_{90} と APD_{30} 間の差異
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24}$	Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours	0～24 時間までの濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}\infty}$	Area under the concentration-time curve from time 0 to infinity	0～無限大までの濃度-時間曲線下面積
AUC_{τ}	Area under the concentration-time over a dosing interval	投与間隔における濃度-時間曲線下面積
CHO 細胞	Chinese hamster ovary cells	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞
CL_{tot}	Total body clearance	全身クリアランス
C_{max}	Maximum concentration	最高濃度
CYP	Cytochrome P450	シトクロム P450
E2	Estradiol	エストラジオール
ECG	Electrocardiogram	心電図
F	Female	雌
FSH	Follicle-stimulating hormone	卵胞刺激ホルモン
GD	Gestation day	妊娠日齢
GLDH	Glutamate dehydrogenase	グルタミン酸脱水素酵素
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GnRH	Gonadotropin-releasing hormone	性腺刺激ホルモン（ゴナドトロピン：Gn）放出ホルモン
hCaV1.2 (L type)	Human L-type calcium channel 1.2	ヒト L 型カルシウムチャネル 1.2
HEK293 細胞	Human Embryonic Kidney cells 293	ヒト胎児腎臓由来 293 細胞
hERG	Human ether-à-go-go-related gene	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル関連遺伝子
hKCNQ1/E1	Human KCNQ1/E1 potassium channel	ヒト KCNQ1/E1 カリウムチャネル
hKir2.1	Human Kir2.1 potassium channel	ヒト Kir2.1 カリウムチャネル
hKv1.5	Human Kv1.5 potassium channel	ヒト Kv1.5 カリウムチャネル
hNaV1.5	Human sodium channel 1.5	ヒトナトリウムチャネル 1.5
HPLC	High-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフ法
IC_{50}	50% 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
Ki	Inhibition constant	結合阻害定数
K_I	Inhibition constant	阻害定数（k_{inact} が 50%となる濃度）

略号	略していない表現	内容
k_{inact}	Maximal inactivation rate constant	最大不活性化速度定数
LC-MS/MS	Liquid chromatography tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析法
LE	Long Evans	—
LD	Lactation day	哺育日齢
LH	Luteinizing hormone	黄体形成ホルモン
LHRH	Luteinizing hormone-releasing hormone	黄体形成ホルモン放出ホルモン
M	Male	雄
MATE	Multidrug and toxin extrusion	多剤及び毒素排出
MC	Methylcellulose	メチルセルロース
n/a	Not applicable	該当なし
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
OVX	Ovariectomy	卵巣摘出
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白質
PRAC	Pharmacovigilance Risk Assessment Committee	ファーマコビジランス・リスク評価委員会
QTcF	QT interval corrected by the. Fridericia correction formula	Fridericia の補正式で補正された QT 間隔
RMP	Resting membrane potential	静止膜電位
SD	Sprague-Dawley	—
SPRM	Selective progesterone receptor modulator	選択的プロゲステロン受容体モジュレーター
$t_{1/2}$	Half-life	半減期
TBA	Total bile acid	総胆汁酸
T_{max}	Time to reach C_{max}	最高濃度到達時間
TSH	Thyroid-stimulating hormone	甲状腺刺激ホルモン
UDS	Unscheduled DNA synthesis	不定期 DNA 合成
V_{max}	Maximal upstroke velocity	最大アップストローク速度
Vd_{ss}	Volume of distribution at steady state	定常状態の分布容積

2.4 非臨床に関する概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

KLH-2109 コリン塩を用いて、以下の非臨床試験を実施した。投与量及び濃度はすべて、フリー体（KLH-2109）換算値で示した。

2.4.1.1 薬理試験

効力を裏付ける試験として、*in vitro* 試験では、ヒト、カニクイザル及びラット GnRH 受容体に対する KLH-2109 の結合親和性及びヒト GnRH 受容体に対する拮抗作用を検討した。また、*in vivo* 試験では、雄ラットにおける Leuprolide 誘発 LH 分泌に対する作用、発情前期雌ラットにおける E2 分泌に対する作用、OVX カニクイザルにおける LH 分泌に対する作用、並びに雌カニクイザルにおけるホルモン動態及び月経周期に対する作用を検討した。さらに、ラット子宮内膜症モデルに対する作用を検討した。KLH-2109 のヒトにおける主要代謝物である KP017（*O*-脱メチル体）について、ヒト GnRH 受容体に対する結合親和性を検討した。副次的薬理試験として、各種受容体、イオンチャネル及びトランスポーターに対する結合親和性を検討した。安全性薬理試験として、ICH S7 ガイドラインに従った GLP 適用のコアバッテリー試験を実施し、中枢神経系、心血管系、呼吸系及び体温に及ぼす影響を評価した。また、心血管系への影響を精査するため、hERG チャネル以外の心血管イオンチャネルに及ぼす影響を評価する GLP 非適用の *in vitro* 試験を実施した。

2.4.1.2 薬物動態試験

薬物動態試験及び毒性試験において、血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度は、LC-MS/MS を用いたバリデートされた濃度分析法により測定した。KP017 は、開発初期段階において主要代謝物と推察され分析対象とした。ヒトマスバランス試験において、KP017 は血漿中の薬物関連物質の総曝露量に対し 10%以下の代謝物であることが明らかとなったものの、開発初期段階との一貫性を考慮してヒトマスバランス試験以降の試験においても血漿中 KP017 濃度を測定した。

KLH-2109 の吸収、分布、代謝、排泄及び薬物動態学的薬物相互作用について、KLH-2109 コリン塩及び炭素 14 標識体である[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を用い、*in vivo* 及び *in vitro* 試験にて検討した。

In vivo 試験では、安全性薬理試験及び毒性試験で使用された主要評価種であるマウス、ラット、イヌ及びサルを用いて、絶食又は非絶食条件下において KLH-2109 コリン塩又は[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口又は静脈内投与し、血漿中濃度推移、組織分布、代謝物及び排泄経路を評価した。

In vitro 試験では主にラット、サル及びヒト由来の生体試料を用いて、血漿蛋白結合試験、血球移行性試験、代謝試験、代謝酵素の同定試験、代謝酵素阻害試験及び代謝酵素誘導試験を実施した。さらに、Caco-2 細胞又は発現細胞を用いた薬物トランスポーターの基質性評価及び阻害試験を実施した。血漿蛋白結合試験については KP017 も評価した。

2.4.1.3 毒性試験

毒性試験として、単回投与毒性試験（ラット、サル及びイヌ）、反復投与毒性試験（ラットで最長 26 週間、サルで最長 39 週間、マウスで最長 13 週間、イヌで最長 4 週間）、遺伝毒性試

験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験を実施した。

また、胆嚢内の異常内容物の発現機序を探索するため、胆汁を用いた *ex vivo* 試験、並びにマウス、イヌ及びサルを用いた *in vivo* 試験を実施した。さらに、子宮内膜腺癌の発生頻度の増加の機序を検討するため、本薬が血漿中のエストラジオール、プロゲステロン及びプロラクチン濃度並びに視床下部のドパミン濃度へ及ぼす影響を評価した。

KLH-2109 コリン塩の一般毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験及び光毒性試験は GLP 適用試験として実施した。

適応症である子宮筋腫は性成熟前の女性には発症しないため、幼若動物を用いた毒性試験は実施しなかった。依存性試験及び ICH S8 ガイドラインに従った免疫毒性試験は実施しなかった。ヒトマスバランス試験（KLH1103 試験、2.7.2.2.2.1.2）において、循環血中に薬物関連物質の総曝露量に対し 10%を超える代謝物は認められなかったため、代謝物に関する毒性試験は実施しなかった。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 GnRH 受容体に対する結合親和性

ヒト、カニクイザル及びラット GnRH 受容体を発現させた細胞膜画分及び放射性リガンドである[^{125}I]-[D-Trp6]-LHRH を用いた受容体結合試験において、KLH-2109 のヒト、カニクイザル及びラット GnRH 受容体に対する Ki 値は、それぞれ 27.4、75.2 及び 274 nmol/L であった（2.6.2.2.1）。

2.4.2.1.2 GnRH 受容体に対する拮抗作用

ヒト GnRH 受容体を安定的に発現させた HEK293 細胞において、KLH-2109 は GnRH 刺激による細胞内カルシウム濃度上昇を濃度依存的に阻害し、その IC_{50} 値は 36.7 nmol/L であった（2.6.2.2.2）。

2.4.2.1.3 ラットにおける Leuprolide 誘発 LH 分泌に対する作用

雄ラットにおける Leuprolide 誘発 LH 分泌に対する作用を評価した。KLH-2109 コリン塩（10、30 及び 100 mg/kg）は用量依存的な LH 分泌抑制作用を示し、作用の持続時間も用量の増加に伴って延長した（2.6.2.2.3）。

2.4.2.1.4 発情前期雌ラットにおける E2 分泌に対する作用

発情前期雌ラットにおける E2 分泌に対する作用を評価した。KLH-2109 コリン塩（25、50 及び 100 mg/kg）は E2 分泌を用量依存的に抑制した（2.6.2.2.4）。

2.4.2.1.5 OVX カニクイザルにおける LH 分泌に対する作用

OVX 処置した雌カニクイザルにおける LH 分泌に対する作用を評価した。KLH-2109 コリン塩（0.3、1、3、10、25、50 及び 100 mg/kg）は LH 分泌を用量依存的に抑制した。血清中 LH 濃度に対する KLH-2109 コリン塩の最大抑制作用は投与 8～24 時間後に認められ、25～100 mg/kg 投与群において約 80%の抑制作用を示した（2.6.2.2.5）。

2.4.2.1.6 カニクイザルにおけるホルモン動態及び月経周期に対する作用

雌カニクイザルにおけるホルモン動態及び月経周期に対する作用を評価した。KLH-2109 コリン塩（10、25 及び 50 mg/kg）を 1 日 2 回反復投与することにより、月経周期に伴う血清中 E2 及び LH 濃度の上昇が抑制され、月経周期が停止又は延長した（2.6.2.2.6）。

2.4.2.1.7 ラット子宮内膜症モデルに対する作用

ラット子宮内膜症モデルに対する作用を検討した。KLH-2109 コリン塩（50、100 及び 200 mg/kg）を 1 日 2 回反復投与することにより、嚢胞体積が縮小した（2.6.2.2.7）。

2.4.2.1.8 作用機序

KLH-2109 は下垂体前葉に発現している GnRH 受容体に対する選択的な拮抗作用を示し、GnRH の作用を遮断する。それにより、下垂体からの LH 分泌を阻害することで、卵巣からの性ホルモン（E2）分泌を阻害する（2.6.2.2.8）。

2.4.2.1.9 ヒト主要代謝物の GnRH 受容体に対する結合親和性

KLH-2109 のヒトにおける主要代謝物である KP017 のヒト GnRH 受容体に対する結合親和性を評価した。KP017 はヒト GnRH 受容体に対して結合親和性を示した（Ki 値：121 nmol/L）が、その程度は KLH-2109 のヒト GnRH に対する結合親和性（Ki 値：27.4 nmol/L）の 1/4.4 であった（2.6.2.2.9）。

2.4.2.2 副次的薬理試験

2.4.2.2.1 各種受容体、イオンチャネル及びトランスポーターに対する結合親和性

GnRH 受容体以外の各種受容体、イオンチャネル及びトランスポーター（依存性の可能性評価に関連する各種受容体及びトランスポーターを含む）に対する結合親和性を評価した。各種受容体、イオンチャネル及びトランスポーター（計 75 種）への結合阻害試験において、各放射性リガンド結合に対する KLH-2109（10 μmol/L）の阻害率はいずれも 30%未満であり、各種受容体、イオンチャネル及びトランスポーターに対して結合親和性はほとんど認められなかった（2.6.2.3.1、2.6.2.3.2）。

2.4.2.3 安全性薬理試験

KLH-2109 コリン塩の中枢神経系、心血管系、呼吸系及び体温に及ぼす影響を ICH S7 ガイドラインに従ったコアバッテリー試験により評価した。

KLH-2109 コリン塩の安全性薬理試験概要を表 2.4.2.3-1 に示す。

表 2.4.2.3-1　　安全性薬理試験概要

Study No.	Purpose	Methods	Results	Conclusion
11075	Study KLH-2109 action on central nervous system	Behavior and physiological state using Sprague-Dawley rats.	KLH-2109 did not affect central nervous system up to 2000 mg/kg.	No effect of KLH-2109 on central nervous system
11083	Study KLH-2109 action on cardiovascular system *in vitro*.	HEK293 cells expressing hERG channels.	KLH-2109 did not affect potassium current through hERG channels up to 100 μmol/L	No effect of KLH-2109 on cardiovascular system *in*

Study No.	Purpose	Methods	Results	Conclusion
[redacted]		Papillary muscles extracted from Hartley guinea pigs.	KLH-2109 did not affect action potential parameters (APD_{30}, APD_{90}, APD_{30-90}, APA, RMP and V_{max}) of papillary muscles up to 100 µmol/L.	*vitro.*
18-OBE2109-008		CHO or HEK293 cell lines stably expressing the full-length ion channels hNaV1.5 peak and late current, hCaV1.2 (L- type), hKv4.3 (Ito), hKir2.1 and hKCNQ1/E1 (Iks).	KLH-2109 did not affect ion currents through hNaV1.5 peak and late current, hCaV1.2 (L-type), hKv4.3 (Ito), hKir2.1 and hKCNQ1/E1 (Iks) channels up to 100 µmol/L.	
19-OBE2109-001		CHO cell lines stably expressing the full- length ion channel hKv1.5.	KLH-2109 did not affect ion current through hKv1.5 channel up to 100 µmol/L.	
1632-031	Study KLH-2109 action on cardiovascular system *in vivo.*	Blood pressure, heart rate, and ECG waveforms measured with the telemetry system using female cynomolgus monkeys.	KLH-2109 did not affect blood pressure, heart rate, or ECG parameters (PR interval, RR interval, QRS interval, QT interval, and QTcF interval) in monkeys with administration of single oral doses up to 1000 mg/kg.	No effect of KLH-2109 on cardiovascular system *in vivo*
1632-031	Study KLH-2109 action on respiratory system *in vivo.*	Respiratory rate and intrathoracic pressure (maximum and minimum values) measured with the telemetry system using female cynomolgus monkeys.	KLH-2109 did not affect the respiratory system parameters in monkeys with administration of single oral doses up to 1000 mg/kg.	No effect of KLH-2109 on respiratory system *in vivo.*
1632-031	Study KLH-2109 action on body temperature *in vivo.*	Body temperature measured with the telemetry system using female cynomolgus monkeys.	KLH-2109 did not affect body temperature in monkeys with administration of single oral doses up to 1000 mg/kg.	No effects of KLH-2109 on body temperature *in vivo.*

第 I 相臨床試験（KLH1101 試験）で日本人の健康閉経前女性に KLH-2109 200 mg/日を 7 日間反復投与したときの曝露量と比較すると、安全性薬理試験における KLH-2109 の安全域は十分であった（表 2.6.2.4.6-3）。

以上、KLH-2109 コリン塩は中枢神経系、心血管系、呼吸系及び体温に影響を及ぼさなかった。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

該当試験なし

2.4.3 薬物動態試験

KLH-2109 の吸収、分布、代謝、排泄及び薬物動態学的薬物相互作用について、KLH-2109 コリン塩及び[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を用い、*in vivo* 及び *in vitro* 試験にて検討した。薬物動態試験の *in vivo* 試験には主にラット及びサルを用いた。投与経路は主に経口投与とし、食餌の影響及び乳汁移行の検討を除き絶食下にて投与した。トキシコキネティクスの評価では、マウス、ラット、イヌ及びサルが用いられた。

2.4.3.1 分析方法

生体試料中の KLH-2109 及び KP017 濃度は、LC-MS/MS を用いたバリデートされた分析法により測定した。[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を用いた試験では、試料中の放射能濃度を液体シンチレーションカウンターにより測定した。また、代謝物検索試験では、代謝物を放射能検出器付き HPLC により分析し、さらに必要に応じて LC-MS/MS を用いて構造推定を行った。

2.4.3.2 吸収

絶食した雌ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（1、3、10 及び 30 mg/kg）を単回経口投与したとき、曝露量は投与量にほぼ比例して増加した。血漿中放射能濃度は、投与後 1.0～2.3 時間に C_{max} に達し、その後 36.3～41.4 時間の $t_{1/2}$ で消失した。絶食した雄ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、血漿中放射能の C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$は、雌ラットとほぼ同等であった。絶食した雌ラットに KLH-2109 コリン塩（1、3、10 及び 30 mg/kg）を単回経口投与したとき、血漿中 KLH-2109 濃度は、投与後 0.4～1.1 時間に C_{max} に達し、その後 9.9～14.3 時間の $t_{1/2}$ で消失した。絶食した雄ラットに KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、雄ラットの薬物動態パラメータは、雌ラットとほぼ同等であった。

絶食した雌雄のラットに KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回静脈内投与したときの血漿中 KLH-2109 濃度は二相性の消失を示した。雄及び雌ラットにおける血漿中 KLH-2109 濃度の終末相の $t_{1/2}$は、それぞれ 9.8 及び 11.6 時間であった。薬物動態パラメータに性差は認められず、雄及び雌ラットの Vd_{ss} はいずれも約 0.3 L/kg と小さく、CL_{tot} はいずれも 0.03 L/hr/kg 未満と低かった。雄及び雌ラットにおける KLH-2109 のバイオアベイラビリティはそれぞれ 111%及び 120%であった。

非絶食の雌ラットに KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、KLH-2109 の C_{max}、T_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$は絶食時のそれぞれ約 0.5、2.5 及び 0.7 倍であった。

絶食した雌サルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、血漿中 KLH-2109 濃度は投与後 2.0 時間に C_{max} に達し、その後 7.4 時間の $t_{1/2}$ で消失した。

絶食した雌サルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回静脈内投与したときの血漿中 KLH-2109 濃度は二相性の消失を示し、終末相の $t_{1/2}$ は 8.6 時間であった。KLH-2109 の Vd_{ss} は 0.2 L/kg 未満と小さく、CL_{tot} は 0.02 L/hr/kg 未満と低かった。雌サルにおける KLH-2109 のバイオアベイラビリティは、86%であった。

KLH-2109 コリン塩を、マウスに 13 週間（40～1500 mg/kg/日）、ラットに 4 週間（20～2000 mg/kg/日）、13 週間（50～1500 mg/kg/日）及び 26 週間（50～1000 mg/kg/日）、イヌに 2 及び 4 週間（10～1000 mg/kg/日）、並びにサルに 4、13 及び 39 週間（10～1000 mg/kg/日）反復経口投与したとき、血漿中 KLH-2109 濃度の C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与量の増加に伴い増加し、反復投与による明らかな影響は認められなかった。また、顕著な性差は認められなかった。

[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を消化管ループへ注入し、ラットにおける消化管吸収部位について評価した。KLH-2109 は消化管の広範囲より吸収され、特に十二指腸及び空腸からの吸収が良好であると考えられた。

2.4.3.3 分布

マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトのいずれの動物種においても KLH-2109（5～

100 μg/mL）の血球移行率は低く、KLH-2109 はほとんど血球へ移行しないことが示された。マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトのいずれの動物種においても、KLH-2109（5～100 μg/mL）の血漿蛋白結合率は高く（94%以上）、主要な結合蛋白種はアルブミンであった。KP017 も同様にこれら動物種における血漿蛋白結合率は高かった（96%以上）。

ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、ほぼすべての組織において投与後 2 時間に最高濃度に達し、広範に組織へ分布した。組織中放射能濃度は血漿より低く、血漿に対する大脳及び小脳中放射能濃度比は 0.01 であった。投与後 24 時間以降では、肝臓、腎臓、子宮、気管、皮膚、卵巣、膀胱及び肺において、他の組織に比べて高い放射能濃度が認められた。いずれの組織においても放射能の分布に明らかな性差は認められなかった。KLH-2109 のメラニン含有組織への親和性を検討するため、[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を絶食した雌有色ラットに投与した。眼球（ブドウ膜）及び皮膚（有色部）の放射能濃度は、それぞれ投与後 2 時間及び 8 時間で最大を示し、血漿中放射能濃度とともに低下したことから、KLH-2109 はメラニン親和性を有さないと考えられた。

[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を妊娠 13 日目と 17 日目のラットに投与したとき、母動物の多くの組織中放射能濃度は、投与後 2 時間に最高値を示し、血漿中放射能濃度と同様に低下した。妊娠 13 日目のラットでは、投与後 8 時間から胎児組織中に放射能が検出され、投与後 72 時間及び 168 時間に最高濃度に達した。妊娠 17 日目のラットでは、投与後 2 時間から胎児の血液、脳、肝臓、腎臓及び全身の放射能濃度が上昇し、投与後 48 時間又は 72 時間に最高濃度に達した。投与後 2～24 時間の胎児組織中放射能濃度は、母動物の血漿中濃度よりも低かった。投与後 72 時間においては、胎児の血液、腎臓及び全身の放射能濃度は、母動物の血漿よりも高かった。胎児 1 匹あたりに分布した放射能は、いずれの時点においても投与量の 1%未満であった。

2.4.3.4 代謝

マウス、ラット、サル及びヒトの凍結肝細胞を用い、*in vitro* で KLH-2109 の代謝種差を評価した。動物の肝細胞においては寡少な代謝物が複数認められた。ヒト肝細胞では KP017 及び KP050 が検出されたがこれら代謝物は動物の肝細胞でも検出され、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において、NADPH 非存在下及び非特異的 CYP 阻害薬存在下において KLH-2109 の代謝は認められず、KLH-2109 の代謝には CYP が関与すると考えられた。また、KLH-2109 は主に KP017、KP018 及び KP046 に代謝され、KP017 は主に CYP2C9 により、KP046 は主に CYP2C8、2C9 及び 3A4 により生成されると考えられた。KP018 は、CYP により生成されるとともに、生理的 pH で KP046 から非酵素的に生成されることが示唆された。KLH-2109 は CYP により代謝され、主に CYP2C8、2C9 及び 3A4 が関与し、寄与率はそれぞれ 9.0%、24.7%及び 1.3%と推定された。

マウス、ラット及びサルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したときの生体試料中には、*in vitro* で生成された代謝物が認められた。マウス、ラット及びサルでは、それぞれ 11 種（KP049、KP018、M1、KP050、KP143 (M2)、M9、KP048、M6、M7、KP046 及び KP017）、6 種（KP049、KP018、KP048、M6、KP046 及び KP017）及び 9 種の代謝物（M11、KP018、KP050、KP143、M12、M6、M7、KP046 及び KP017）が認められた。また、サルの生

体試料中では、主に KLH-2109 が認められた。

マウスにおける KLH-2109 の代謝経路は、酸化代謝（脱メチル化、脱アルキル化、フッ素の水酸基置換及び一酸素原子付加）とそれに続く抱合代謝（グルクロン酸抱合及び硫酸抱合）と考えられた。ラットでは、KLH-2109 の主要代謝経路は脱メチル化又は脱アルキル化とそれに続く硫酸抱合と考えられた。なお、脱メチル化は、KP046 への代謝が主な経路と考えられた。サルでは、マウスと同様に酸化代謝（脱メチル化、脱アルキル化、フッ素の水酸基置換及び一酸素原子付加）が主な代謝経路と考えられた。

健康成人女性に[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（200 mg）を単回経口投与したときの血漿中には *in vitro* で生成された代謝物が認められたが、いずれも低濃度であり、代謝物の血漿中曝露量は薬物関連物質の総曝露量に対し 10%以下であった（KLH1103 試験、2.7.2.2.2.1.2）。

2.4.3.5 排泄

ラット及びサルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、放射能は主に糞中に排泄された。ラットでは、投与放射能の約 72%～73%が糞中に、約 14%～18%が尿中に排泄された。サルでは、糞及び尿中にそれぞれ投与放射能の約 73%及び約 27%が排泄された。投与後 168 時間における放射能回収率は、いずれの動物種においても 96%以上であった。胆管カニューレ処置をしたラットでは、投与放射能の約 58%が胆汁に、約 10%及び約 4%がそれぞれ糞及び尿中に排泄された。また、胆汁に排泄された放射能は約 80%が再吸収されることから、KLH-2109 は腸肝循環すると考えられた。

哺育ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与し乳汁移行を検討した結果、乳汁中放射能濃度は血漿より低く（0.3 倍未満）、乳汁中放射能の $AUC_{0-\infty}$は血漿の約 0.2 倍であった。

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

KLH-2109 は血漿蛋白結合率が高いため、血漿蛋白結合に起因した薬物相互作用が惹起される可能性について、*in vitro* 試験で評価した。臨床で併用される可能性のある非ステロイド性抗炎症薬は、KLH-2109 の血漿蛋白結合に影響を及ぼさなかった。また、KLH-2109 はそれら薬物の血漿蛋白結合に影響を及ぼさなかった。

In vitro において、KLH-2109 は高濃度（150 µmol/L）で CYP3A4/5 活性に対して誘導能を示した。また、KLH-2109 は CYP2C8 活性に対して可逆的阻害作用（IC_{50}：2.89 µmol/L）及び時間依存的阻害作用（K_I：3.34 µmol/L、k_{inact}：0.00639 min^{-1}）を示した。

KLH-2109 は、OATP1B1、OATP1B3 及び OAT3 の基質であった。また、KLH-2109 は OATP1B1 及び OAT3 を介した輸送に影響を及ぼし、IC_{50} 値はそれぞれ 11.2 及び 0.964 µmol/L であった。

2.4.4 毒性試験

KLH-2109 コリン塩の毒性は、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験及び光毒性試験により評価した。すべての *in vivo* 毒性試験において、KLH-2109 コリン塩は 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して経口投与した。反復投与試験では、主要なげっ歯類としてラットを、主要な非げっ歯類としてカニクイザルを用いた。非げっ歯類としてはイヌが一般的に用いられるが、雌イヌの性周期はヒトとは大きく異なり、イ

ヌはエストロゲン及びプロゲストゲンに対する感受性が高いことが知られている。一方、カニクイザルの月経周期はヒトに類似しており、視床下部-下垂体-性腺軸に影響を及ぼす化合物については、カニクイザルがヒトの臨床試験を予測するための適切種であることが報告されている[1),2)]ことから、KLH-2109 コリン塩の毒性評価はカニクイザルを用いることが適切であると考えられた。がん原性試験としては、Tg-rasH2 マウスを用いた 26 週間反復投与試験及びラットを用いた 104 週間反復投与試験を実施した。さらに、KLH-2109 コリン塩の肝臓に及ぼす影響を評価するため、イヌを用いた反復投与試験を実施した。当該試験は胆嚢内の異常内容物を検証する目的でも実施した。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

KLH-2109 コリン塩の 2000 mg/kg をラット及びサルに単回投与した結果、毒性は認められなかった。概略の致死量は、ラット及びサルとも 2000 mg/kg 超と判断された。GLP 非適用のイヌ単回投与試験では、概略の致死量は 1000 mg/kg 超であった。

単回投与毒性試験の概要及び概略の致死量を表 2.4.4.1-1 に示す。

表 2.4.4.1-1　　単回投与毒性試験概要

Species/strain	Route	Observation period	Number of animals / group	Dose (mg/kg)	Approximate lethal dose (mg/kg)	Study No.
Rat/Crl:CD(SD)	Oral	15 days	M5 F5	1000, 2000	>2000	11070
Monkey/Cynomolgus	Oral	14 days	F2	1000, 2000	>2000	[redacted]
Dog/Beagle	Oral	2 days	F2	10, 100, 1000	>1000	[redacted]

2.4.4.2 反復投与毒性試験

KLH-2109 コリン塩の亜急性毒性及び慢性毒性について、ラット、サル、マウス及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験により評価した。GLP 非適用の試験として、SD 系ラットと Wistar 系ラットにおける毒性発現の同等性を確認するための 4 週間反復投与試験、及びイヌの 4 週間反復投与試験の用量設定を目的とした 2 週間反復投与試験を実施した。

反復投与毒性試験の概要及び無毒性量を表 2.4.4.2-1 に示す。

表 2.4.4.2-1　　反復投与毒性試験概要

Species/strain	Route of administration	Duration of dosing / recovery period	KLH-2109 dose (mg/kg/day)	NOAEL (mg/kg/day)	Study No.
Non-pivotal studies					
Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	Daily for 4 weeks	0, 20, 200, 2000	200	51210
Beagle dog	Oral (gavage)	Daily for 2 weeks	0, 10, 100, 1000	not established	[redacted]
Pivotal studies					
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	Daily for 4 weeks / 4 weeks	0, 20, 200, 2000	200	11076
Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	Daily for 13 weeks	0, 50, 150, 500, 1500	M: 150 F: 500	11090
Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	Daily for 26 weeks / 10 weeks	0, 50, 200, 1000	M: 50 F: 200	11093
Cynomolgus monkey	Oral (gavage)	Daily for 4 weeks / 4 weeks	0, 10, 100, 1000	100	[redacted]
Cynomolgus monkey	Oral (gavage)	Daily for 13 weeks	0, 10, 100, 1000	10	[redacted]
Cynomolgus monkey	Oral (gavage)	Daily for 39 weeks / 20 weeks	0, 10, 100, 1000	10	[redacted]
Mouse/Crl:CD1 (ICR)	Oral (gavage)	Daily for 13 weeks	0, 40, 750, 1500	40	[redacted]

Species/strain	Route of administration	Duration of dosing / recovery period	KLH-2109 dose (mg/kg/day)	NOAEL (mg/kg/day)	Study No.
Beagle dog	Oral (gavage)	Daily for 4 weeks / 4 weeks	0, 10, 100, 1000	100	[redacted]

重要な反復投与毒性試験として、ラットを用いた 4、13 及び 26 週間の経口毒性試験、サルを用いた 4、13 及び 39 週間の経口毒性試験、マウスを用いた 13 週間の経口毒性試験、並びにイヌを用いた 4 週間の経口毒性試験を実施した。これらの試験における投与量は、ラットでは 20～2000 mg/kg/日、サルでは 10～1000 mg/kg/日、マウスでは 40～1500 mg/kg/日及びイヌでは 10～1000 mg/kg/日であった（表 2.4.4.2-2 参照）。トキシコキネティクス評価は、すべての重要な試験内で実施し、LC-MS/MS を用いて KLH-2109 及び KP017 の血漿中曝露を評価した。

表 2.4.4.2-2　　重要な反復投与毒性試験における所見

Study design /Study No.	Key findings
4 weeks, groups of 10 rats/sex dosed orally at 0, 20, 200 or 2000 mg/kg/day + 4 weeks non-dose recovery, groups of 5 rats/sex Study 11076	2000 mg/kg/day: > body weight (F: 115%), < body weight (M: 91%), < red blood cell count (90%) with > reticulocyte counts, bone marrow erythroblast counts and spleen weights; mild renal tubular necrosis with > serum creatinine, urine volume and urinary excretion of Na and Cl; atrophic uterus and vaginal epithelium (F); atrophic testis, epididymis, prostate, seminal vesicle and mammary gland (M); 200 mg/kg/day and higher: – All doses: atrophic ovary (F) NOAEL: 200 mg/kg/day (M and F) C_{max} and AUC_{0-24} of the NOAEL* KLH-2109: 202000 ng/mL and 3202878 ng•hr/mL KP017: 1003 ng/mL and 8600 ng•hr/mL
13 weeks, groups of 10 rats/sex dosed orally at 0, 50, 150, 500 or 1500 mg/kg/day Study 11090	1500 mg/kg/day: > body weight (F: 116%), < body weight (M: 86%); mild renal tubular changes with > urine volume; slightly < pituitary weights; atrophic vaginal epithelium and mammary gland atrophic (F); thyroid follicular dilatation (F); 500 mg/kg/day and higher: < red blood cell count (93%-96%) with > reticulocyte percentage (M), thyroid follicular dilatation (M); atrophic uterus (F); atrophic testis, epididymis, prostate, seminal vesicle and mammary gland (M); 150 mg/kg/day and higher: – All doses: atrophic ovary (F) NOAEL: M: 150 mg/kg/day / F: 500 mg/kg/day C_{max} and AUC_{0-24} of the NOAEL* KLH-2109: 292000 ng/mL and 4350000 ng•hr/mL KP017: 1470 ng/mL and 12100 ng•hr/mL
26 weeks, groups of 15 rats/sex dosed orally at 0, 50, 200 or 1000 mg/kg/day + 10 weeks non-dose recovery, groups of 5 rats/sex Study 11093	1000 mg/kg/day: > body weight (F: 103%), < body weight (M: 88%); atrophic uterus, vaginal epithelium, oviduct and mammary gland (F); atrophic testis and epididymis (M); thyroid follicular dilatation (F); 200 mg/kg/day and higher: atrophic prostate, seminal vesicle and mammary gland (M); thyroid follicular dilatation (M); All doses: atrophic ovary (F) NOAEL: M: 50 mg/kg/day / F: 200 mg/kg/day C_{max} and AUC_{0-24} of the NOAEL* KLH-2109: 174000 ng/mL and 2700000 ng•hr/mL KP017: 1080 ng/mL and 12800 ng•hr/mL
4 weeks, groups of 3 monkeys/sex dosed orally at 0, 10, 100 or 1000 mg/kg/day + 4 weeks non-dose recovery, 2 monkeys /sex at control and high dose Study [redacted]	1000 mg/kg/day: slightly < body weight (M); > serum GLDH (220%-280%) without histological correlates in hepatocytes (M and F); prolonged menstrual cycle (F); atrophic vaginal epithelium (F); atrophic testis, epididymis, prostate and seminal vesicle (M); 100 mg/kg/day and higher: >serum ALT (150%-250%) without histological correlates in hepatocytes (M and F); atrophic ovary, uterus and cervix and/or decreased organ weight (F); All doses: – NOAEL: 100 mg/kg/day (M and F) C_{max} and AUC_{0-24} of the NOAEL* KLH-2109: 110927 ng/mL and 1132970 ng•hr/mL KP017: 1804 ng/mL and 17462 ng•hr/mL

Study design /Study No.	Key findings
13 weeks, groups of 4 monkeys/sex dosed orally at 0, 10, 100 or 1000 mg/kg/day Study [redacted]	1000 mg/kg/day: slightly < body weight (M); atrophic uterus, cervix and vaginal epithelium (F); atrophic testis, epididymis, prostate and seminal vesicle (M); > liver weights (M); 100 mg/kg/day and higher: > serum ALT (120%-200%) and GLDH (130%-280%) without histological correlates in hepatocytes (M and F); prolonged or stopped menstrual cycle (F); atrophic ovary (F); > liver weights (F); All doses: – NOAEL: 10 mg/kg/day (M and F) C_{max} and AUC_{0-24} of the NOAEL* KLH-2109: 40200 ng/mL and 282000 ng•hr/mL KP017: 334 ng/mL and 2220 ng•hr/mL
39 weeks, groups of 4 monkeys/sex dosed orally at 0, 10, 100 or 1000 mg/kg/day + 20 weeks non-dose recovery, 2 monkeys /sex at control and high dose Study [redacted]	1000 mg/kg/day: slightly < body weight (M); atrophic testis, epididymis, prostate and seminal vesicle (M); > liver weights; 100 mg/kg/day and higher: > serum ALT (150%-210%) and GLDH (190%-320%) without histological correlates in hepatocytes (M and F); prolonged menstrual cycle (F); < testis size (M); atrophic ovary, vaginal epithelium, uterus and cervix (F); All doses: – NOAEL: 10 mg/kg/day (M and F) C_{max} and AUC_{0-24} of the NOAEL* KLH-2109: 26200 ng/mL and 310000 ng•hr/mL KP017: 332 ng/mL and 3670 ng•hr/mL
13 weeks, groups of 12 mice/sex dosed orally at 0, 40, 750, or 1500 mg/kg/day Study [redacted]	1500 mg/kg/day: mortality; < pituitary weights (F); 750 mg/kg/day and higher: > body weight (F), biliary sand in gallbladder (M and F), kidney tubular injury (M and F); atrophic mammary gland (F), atrophic testes, epididymides, prostate gland and seminal vesicles (M); atrophic oviduct, uterus, cervix and vagina (F); > liver weights with centrilobular hepatocellular hypertrophy, > extramedullary hemopoiesis and spleen weights; All doses: < body weight (M); atrophic ovary(F) NOAEL: 40 mg/kg/day (M and F) C_{max} and AUC_{0-24} of the NOAEL* KLH-2109: 216000 ng/mL and 2090000 ng•hr/mL KP017: 5270 ng/mL and 80100 ng•hr/mL
4 weeks, groups of 3 dogs/sex dosed orally at 0, 10, 100 or 1000 mg/kg/day + 4 weeks non-dose recovery, 2 dogs/sex at control and high dose Study [redacted]	1000 mg/kg/day: < body weight gain (M); > serum ALP (120%-140%) and GLDH (200%-400%) without histological correlates in hepatocytes (M and F); dark granules in gallbladder (M and F); > liver weight (M and F); enlarged liver (F); 100 mg/kg/day and higher: < body weight gain (F); > serum triglycerides and total cholesterol (M); > serum triglycerides (F); All doses: atrophic uterus (F); atrophic testes, epididymis and prostate (M); NOAEL: 100 mg/kg/day (M and F) C_{max} and AUC_{0-24} of the NOAEL* KLH-2109: 137000 ng/mL and 2200000 ng•hr/mL KP017: 34 ng/mL and 422 ng•hr/mL

–：特記すべき所見なし、*：雌動物の NOAEL における C_{max} 及び AUC_{0-24}、>：増加 / 高値、<：減少 / 低値

ラット、サル、マウス及びイヌを用いた重要な反復投与毒性試験では、視床下部-下垂体-性腺軸への影響に代表される過剰な薬理作用の発現が認められたが、マウスの 13 週間反復投与試験における 1500 mg/kg/日群での 1 例の死亡及び 1 例の切迫屠殺並びに 750 mg/kg/日群での投与失宜が疑われる 1 例の死亡を除いて、懸念すべき毒性は認められなかった。主な所見は、すべての動物種における精巣、卵巣、前立腺、精嚢、精巣上体、乳腺、卵管、子宮及び／又は膣の萎縮を主とする生殖器への影響、並びにラット及びマウスにおける下垂体重量の低値であった。サルでは月経の停止及び月経周期の延長が認められた。KLH-2109 コリン塩の高用量では、体重変化（すべての動物種の雄及び雌イヌでの体重減少、雌マウス及び雌ラットでの体重増加）並びにラット及びマウスでの赤血球パラメータの低値が認められた。赤血球パラメータの低値に関連して、髄外造血並びに脾臓重量及び網状赤血球数の高値が認められた。その他、KLH-2109 コリン塩の薬理作用に基づくと推察される所見として、ラットでの甲状腺の濾胞拡張並びにサル及びイヌでの肝逸脱酵素の上昇が認められた。肝逸脱酵素の上昇に関連する変化として、イヌ 4 週間反復投与試験及びサル 39 週間反復投与試験では肝臓重量の高値が、イヌ

では血清脂質パラメータの高値が認められた。

KLH-2109 コリン塩の毒性所見として、ラット及びマウスの腎臓における尿細管障害、並びにイヌ及びマウスの胆嚢内における異常内容物が認められた。ラットにおける腎尿細管障害に関連して、血清クレアチニン、尿量、並びに尿中ナトリウム及びクロライド排泄量の高値も認められた。

回復試験では、すべての KLH-2109 コリン塩の薬理作用に基づく所見及び毒性所見について、少なくとも部分的な回復性が確認された。

GnRH は下垂体からの黄体形成ホルモン及び卵胞刺激ホルモンの分泌を調節するため、毒性用量の GnRH アンタゴニストを投与すると、下垂体-性腺軸に影響を及ぼすことが予想され、KLH-2109 コリン塩のラット、サル、マウス及びイヌの反復投与毒性試験では生殖器の萎縮が、マウス及びラットでは下垂体重量の減少が、サルでは月経の停止又は延長が認められた。同様の所見は、ラット及びサルを用いた GnRH アンタゴニストの反復投与毒性試験でも報告されている [3), 4)]。

GnRH アンタゴニストの反復投与毒性試験では、KLH-2109 コリン塩の毒性試験と同様に体重の変化も報告されており、性ステロイドホルモンの減少によるものと考えられる [5), 6)]。

赤血球パラメータの低値はラット及びマウスで認められ、血中網状赤血球数及び骨髄中多染性赤芽球の増加、髄外造血並びに脾臓重量の増加などの適応性変化を伴っていた。これらの変化は、KLH-2109 コリン塩による視床下部-下垂体軸の変化及び性ステロイドホルモン分泌抑制に引き続いた変化と考えられた。性ステロイドホルモンは赤血球造血を促進し [5), 6)]、GnRH アンタゴニストの毒性試験でも赤血球パラメータの低値が報告されている [3), 4)]。マウスの無毒性量（13 週間反復投与試験での 40 mg/kg/日）及びラットの無毒性量（26 週間反復投与試験での 200 mg/kg/日）での曝露量と 200 mg/日を日本人の健康閉経前女性に 7 日間投与したときの曝露量（AUC_{τ}：412144.6 ng•hr/mL）を比較したときに、マウスでは 5.1 倍及びラットでは 6.6 倍の安全域が得られていることから、赤血球パラメータの変化についての安全性に関する懸念は低いものと考えられた。

甲状腺はラットでの毒性標的臓器であった。甲状腺濾胞の拡張が認められ、TSH を介したコロイドの細胞への取り込みの減少に関係するものと考えられた [7)]。性腺摘出ラットでは、血清 TSH 濃度、甲状腺 TSH レセプター濃度、甲状腺細胞への TSH の結合が減少すること [8)]、雌ラットでは甲状腺濾胞が肥大すること [9)]が報告されている。したがって、甲状腺の変化はラットにおける KLH-2109 コリン塩の薬理作用の二次的変化と推察され、安全性に関する懸念は低いものと考えられた。ラットでの無毒性量（26 週間反復投与試験での 200 mg/kg/日）での曝露量と 200 mg/日を日本人の健康閉経前女性に 7 日間投与したときの曝露量を比較したときに、6.6 倍の安全域が得られている。

サル及びイヌでは、血清肝逸脱酵素の上昇が認められた。サルの無毒性量（39 週間反復投与試験での 10 mg/kg/日）及びイヌの無毒性量（4 週間反復投与試験での 100 mg/kg/日）での曝露量と 200 mg/日を日本人の健康閉経前女性に 7 日間投与したときの曝露量を比較したときに、安全域はサルでは 0.8 倍及びイヌでは 5.3 倍であった。しかしながら、サル及びイヌのいずれにおいても、最高用量の 1000 mg/kg/日でも肝毒性を示唆する病理組織学的変化は認められず、血清肝逸脱酵素の上昇に関する回復性も良好であったことから、安全性に関する懸念は低いも

のと考えられた。

腎尿細管障害が 750 mg/kg/日以上を投与したマウス及び 1500 mg/kg/日以上を投与したラットで認められた。当該所見は Tg-rasH2 マウス 26 週間反復投与がん原性試験での最高用量である 500 mg/kg/日及びラット 26 週間反復投与試験での最高用量である 1000 mg/kg/日では認められなかった。それら試験の最高用量における定常状態での曝露量と 200 mg/日を日本人の健康閉経前女性に 7 日間投与したときの曝露量を比較したときに、マウスでは 13 倍、ラットでは 9.5 倍の安全域が得られていることから、安全性に関する懸念は低いものと考えられた。

イヌ 4 週間反復投与試験における胆嚢内の暗色顆粒及びマウス 13 週間反復投与試験における胆嚢内の胆砂に関しては、発現機序に関する試験を実施した。その結果、胆嚢所見を誘発した用量を投与した動物の胆汁中の KLH-2109 濃度は、胆汁中の飽和溶解度を上回っていたことから、胆嚢所見の発現機序は胆汁中の KLH-2109 濃度が胆汁中の溶解度を超えて析出したことに起因するものと推察された。一方、200 mg/日を投与したヒト胆汁中の KLH-2109 の推定濃度は、ヒト胆汁中の KLH-2109 の飽和溶解度の 3.2%～5.7%であったことから、ヒトにおいて胆嚢所見が発現する可能性は低いものと考えられた。

以上、反復投与毒性試験において認められた毒性は、大部分が KLH-2109 コリン塩の GnRH アンタゴニストとしての薬理作用に基づくものと考えられた。重要な反復投与毒性試験における KLH-2109 コリン塩の無毒性量は、主要な評価種であるラット及びサルにおいて、それぞれ 200 及び 10 mg/kg/日であり、無毒性量での曝露量は、それぞれ 2700000 及び 310000 ng•hr/mL であった。無毒性量と臨床用量 200 mg/日の曝露量を基にした安全域は、ラットでは 6.6 倍及びサルでは 0.8 倍であった。

総合的な非臨床毒性プロファイルから、子宮筋腫を有する女性に対する 200 mg/日までの用量における安全性に関する懸念は低いものと考えられた。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

KLH-2109 コリン塩の遺伝毒性について、標準的な組合せの遺伝毒性試験及びラットを用いる肝・不定期 DNA 合成（UDS）試験により評価した（表 2.4.4.3-1）。

試験用量は、細胞毒性を示した濃度、最大推奨濃度又は最大推奨用量のいずれかを設定した。KLH-2109 コリン塩は染色体異常試験を除くすべての遺伝毒性試験で陰性であった。染色体異常試験では、代謝活性化系存在下及び非存在下の両方で、KLH-2109 コリン塩は著明な細胞増殖抑制が認められた用量において染色体異常誘発性を示した。染色体異常に対する影響は、著明な細胞毒性を示す濃度でのみ観察された変化であり、*in vivo* 試験である小核試験及び UDS 試験ではいずれも陰性であったことから、毒性学的意義はないものと判断された。したがって、KLH-2109 コリン塩は遺伝毒性を示さないものと判断された。

表 2.4.4.3-1　　遺伝毒性試験概要

Test type	Bacterial strain or species/strain	Concentration or dose	Result	Study No.
Reverse mutation	*Salmonella typhimurium /Escherichia coli*	39–5000 µg/plate	Negative	11077
Chromosomal aberration	Chinese hamster lung-derived fibroblast line	0.125–0.8 mg/mL	Positive	11078
Unscheduled DNA synthesis (oral administration)	Rats/ Crl:CD(SD)	1000, 2000 mg/kg	Negative	[redacted]

Test type	Bacterial strain or species/strain	Concentration or dose	Result	Study No.
Micronucleus (oral administration)	Rats/ Crl:CD(SD)	500, 1000, 2000 mg/kg	Negative	11079

2.4.4.4 がん原性試験

KLH-2109 コリン塩のがん原性について、経口投与によるラット 104 週間反復投与試験及び Tg-rasH2 マウス 26 週間反復投与試験により評価した（表 2.4.4.4-1）。両試験で設定した投与量は、米国食品医薬品局（FDA）のがん原性評価委員会（CAC）の承認を得た。KLH-2109 コリン塩は生存率に影響を与えず、腫瘍を誘発しなかった。Wistar 系ラットにおける子宮内膜腺癌及び乳腺腺癌の発生頻度のわずかな増加は偶発的であり、KLH-2109 コリン塩投与に関連しないものと考えられた。マウスの卵巣及び子宮並びにラットの卵巣及び雌性乳腺で認められた非腫瘍性病変は、KLH-2109 コリン塩の薬理作用に関連するものと考えられた。

表 2.4.4.4-1　　がん原性試験概要

Species/strain	Route of administration	Duration of dosing (weeks)	KLH-2109 dose (mg/kg/day)	Study No.
Rat/ RccHan:WIST	Oral (gavage)	104 weeks	0, 5, 50, 500	[redacted]
Mouse/Non-Tg-rasH2	Oral (gavage)	4 weeks	0, 50, 250, 500	
Mouse/Tg-rasH2	Oral (gavage)	26 weeks	0, 15, 50, 250 (M), 500 (F)	

ラット 104 週間反復投与試験で認められた子宮内膜腺癌及び乳腺腺癌の発生頻度の増加は、本薬投与に関連した腫瘍ではないと結論されている [10)]。当該試験では、統計学的に有意な子宮内膜腺癌の発生頻度の増加が、両対照群（媒体及び水）との傾向検定並びに 50 及び 500 mg/kg/日群と水対照群との対比較において認められた。50 及び 500 mg/kg/日群での子宮内膜腺癌の発生頻度は試験実施施設における発生頻度を上回っていた。一方、媒体対照群（0.5%メチルセルロース水溶液）での子宮内膜腺癌の発生頻度も試験実施施設における発生頻度を上回っていた。投薬群と媒体対照群を比較したとき、発生頻度の増加は傾向検定においてのみ認められ、対比較では統計学的有意差は認められなかった。また、500 mg/kg/日群での子宮内膜腺癌の発生頻度（16.7%）は、既報の Wistar 系ラットを用いたがん原性試験における対照群での自然発生性の子宮内膜腺癌の発生頻度（～14%）及び Wistar 系ラットを用いた一生涯試験の発生頻度（39%）と比較したときに同等以下であった。さらに、KLH-2109 コリン塩は遺伝毒性試験において陰性であり、Tg-rasH2 マウス 26 週間反復投与がん原性試験では発がん性を示さず、本薬の薬理作用は子宮内膜腺癌を誘発するものではなく、腺癌の前癌病変も観察されなかった。以上より、50 及び 500 mg/kg/日群での子宮内膜腺癌の発生頻度の増加は偶発的であり、本薬投与に関連しないものと考えられた。

乳腺腺癌に関しては、統計学的に有意な発生頻度の増加が両対照群との対比較において 50 mg/kg/日群で認められた。その発生頻度（28.3%）は試験実施施設の発生頻度（平均：13.2%、幅：7%～20%）を上回っていた。しかしながら、統計学的に有意な正の傾向は認められず、500 mg/kg/日群における発生頻度は 50 mg/kg/日群及び両対照群に比して低かった。また、腺癌の前癌病変が認められないこと、並びに所見の発生頻度と投与量との関連性が認められないことから、乳腺腺癌の発生頻度の増加は偶発的であり、本薬投与に関連しないものと考えられた。

がん原性試験における曝露量とヒト臨床用量（200 mg/日）における曝露量の比較を表 2.4.4.4-2 に示す。

表 2.4.4.4-2　　がん原性試験における曝露量とヒト臨床用量（200 mg/日）における曝露量の比較

Species (Study No.)	Occasion (weeks)	Dose (mg/kg/day)	KLH-2109 AUC_{0-24} (ng•hr/mL)		KLH-2109 Exposure Ratios for AUC_{0-24}	
			Male	Female	Male	Female
Mouse ([redacted])	26	15	505000	1500000	1.2	3.6
		50	1220000	2680000	3.0	6.5
		250	2480000	—	6.0	—
		500	—	5290000	—	12.8
Rat ([redacted])	26	5	294000	496000	0.7	1.2
		50	1240000	3190000	3.0	7.7
		500	2310000	4050000	5.6	9.8
	52	5	293000	534000	0.7	1.3
		50	1240000	2740000	3.0	6.6
		500	2440000	3850000	5.9	9.3

試験番号 KLH1101、[redacted] 及び [redacted]。
曝露比の算出には日本人の健康閉経前女性に 200 mg/日を投与したときの AUC_{τ}（412144.6 ng•hr/mL）を用いた。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

KLH-2109 コリン塩の生殖発生毒性について、雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギにおける胚・胎児発生に関する試験、並びに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により評価した。雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、本薬投与による影響からの回復性も評価した。

生殖発生毒性試験の概要及び無毒性量を表 2.4.4.5-1 に示す。

トキシコキネティクスは、重要な試験のうち妊娠前の雌ラットに投与した受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、並びにラット及びウサギにおける胚・胎児発生に関する試験で評価した。すべての試験において、高用量における本薬投与による影響が認められたことから、曝露が証明された。

表 2.4.4.5-1　　生殖発生毒性試験概要

Species/strain	Route of administration	Duration of dosing (weeks)/ recovery period (weeks)	KLH-2109 dose (mg/kg/day)	NOAEL (mg/kg/day)			Study No.
				F0	F0R	F1	
Non-pivotal							
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	4 weeks before mating	0, 3, 10, 30, 100	n/a	n/a	n/a	51171
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD0 to GD7	0, 3, 10, 30, 100, 300	n/a	n/a	n/a	51172
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD6 to GD17	0, 3, 10, 30, 100, 300	n/a	n/a	n/a	51173
Rabbit/New Zealand White	Oral (gavage)	From GD6 to GD18	0, 1, 3, 10, 30, 100	n/a	n/a	n/a	51183
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD6 to LD20	0, 10, 30, 100, 300	n/a	n/a	n/a	51215
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD6 to LD20	0, 300, 600, 1000	n/a	n/a	n/a	52007
Pivotal							
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	4 weeks before mating	0, 0.16, 0.8, 4, 20, 100	100	4	4	11071
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD0 to GD7	0, 100, 300, 1000	<100	300	300	11072

Species/strain	Route of administration	Duration of dosing (weeks)/ recovery period (weeks)	KLH-2109 dose (mg/kg/day)	NOAEL (mg/kg/day)			Study No.
				F0	F0R	F1	
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD6 to GD17	0, 30, 100, 300	300	100	100	11073
Rabbit/New Zealand White	Oral (gavage)	From GD6 to GD18	0, 0.3, 3, 30	30	3	3	11074
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD6 to LD20	0, 30, 100, 300	300	100	300	[redacted]

F0：母動物又は親動物の一般毒性、F0R：母動物又は親動物の生殖機能、F1：初期胚発生又は胚・胎児発生、出生児、n/a：該当なし

2.4.4.6 重要な生殖発生毒性試験

表 2.4.4.6-1　　重要な生殖発生毒性試験における所見

Study design/Study No.	Key findings
Female fertility and early embryonic development (administration before pregnancy)	
Groups of 20 female rats dosed orally at 0, 0.16, 0.8, 4, 20 or 100 mg/kg/day for 4 weeks or longer before mating, mated females were examined on gestation day (GD) 15 Withdrawal groups of 20 female rats at 0 and 100 mg/kg/day had a 4-week treatment free period before mating and assessment on GD 15 Study 11071	100 mg/kg/day: > mean number of days in estrous cycle; < number of days required for copulation; < pregnancy rate 20 mg/kg/day and higher: > incidence of no cycle or irregular cycle; < numbers of implantations; < implantation rates; < numbers of surviving embryos; > incidence large atretic follicles; < incidence large ovarian follicles; < numbers of corpora lutea Withdrawal (100 mg/kg/day): no noteworthy observations NOAEL (reproductive function and early embryonic development): 4 mg/kg/day C_{max} and AUC_{0-24} of the NOAEL KLH-2109: 25200 ng/mL and 302513 ng•hr/mL KP017: 53.0 ng/mL and 778 ng•hr/mL
Female fertility and early embryonic development (administration during early pregnancy)	
Groups of 20 mated female rats dosed orally at 0, 100, 300 or 1000 mg/kg/day from GD 0-7 were examined on GD 15 Study 11072	1000 mg/kg/day: < conceptus size (7/20 litters) 100 mg/kg/day and higher: < body weight in dams NOAEL (reproductive function and embryonic development): 300 mg/kg/day
Embryo-fetal development	
Groups of 25 rats dosed orally at 0, 30, 100 or 300 mg/kg/day on GD 6-17 were examined on GD 20 Study 11073	300 mg/kg/day: > total litter loss (3/24 dams); > embryo-foetal mortality NOAEL (reproductive function and embryo-foetal development): 100 mg/kg/day C_{max} and AUC_{0-24} of the NOAEL KLH-2109: 173400 ng/mL and 2384012 ng•hr/mL KP017: 634.9 ng/mL and 6097 ng•hr/mL
Groups of 22 rabbits dosed orally at 0, 0.3, 3.0 or 30 mg/kg/day on GD 6-18 with examination on GD 28 Study 11074	30 mg/kg/day: > no pregnancy (15/22); NOAEL (reproductive function and embryo-foetal development): 3.0 mg/kg/day C_{max} and AUC_{0-24} of the NOAEL KLH-2109: 186 ng/mL and 1500 ng•hr/mL KP017: 271 ng/mL and 1784 ng•hr/mL
Pre- and postnatal development	
Groups of 22 mated female rats dosed orally at 0, 30, 100 or 300 mg/kg/day on GD6 to LD20 were studied Study [redacted]	300 mg/kg/day: > total litter loss (3/22 dams); < gestation index NOAEL (maternal reproductive function): 100 mg/kg/day NOAEL (maternal general toxicology / F1 postnatal development): 300 mg/kg/day

>：増加 / 高値、<：減少 / 低値

2.4.4.6.1 雌の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

妊娠前投与試験では、雌ラットに 20 及び 100 mg/kg/日を交配前 4 週間以上投与した結果、性周期及び着床数に影響が認められたが、これは本薬の薬理作用に起因するものであった。100 mg/kg/日における所見には、回復性が確認されたことから、本薬は生殖機能に不可逆的な影響を与えないことが示唆された。母動物（F0）の一般毒性学的無毒性量は 100 mg/kg/日、雌生殖機能（F0）に対する無毒性量及び初期胚発生（F1）に対する無毒性量は 4 mg/kg/日であった。妊娠初期投与試験では、雌ラットに本薬を投与した結果、300 mg/kg/日まで初期胚発生に影響を及ぼさなかったが、1000 mg/kg/日で受胎産物の小型化が認められた。母動物（F0）の一

般毒性学的無毒性量は 100 mg/kg/日未満、雌生殖機能（F0）に対する無毒性量は及び初期胚発生（F1）に対する無毒性量は 300 mg/kg/日であった。

2.4.4.6.2 胚・胎児発生に関する試験

ラットでは 300 mg/kg/日で全胚死亡の母動物数の増加並びに着床後胚・胎児死亡率の高値傾向及び生存胎児数の低値傾向が認められた。母動物（F0）の一般毒性学的無毒性量は 300 mg/kg/日、生殖機能（F0）に対する無毒性量及び胚・胎児発生（F1）に対する無毒性量は 100 mg/kg/日であった。ウサギでは 30 mg/kg/日で 22 例中 15 例が妊娠しなかった。これらは、本薬の薬理作用に関連するものと考えられた。しかし、これらの試験では、胎児体重への有意な影響や催奇形性は認められなかった。母動物（F0）の一般毒性学的無毒性量は 30 mg/kg/日、生殖機能（F0）に対する無毒性量及び胚・胎児発生（F1）に対する無毒性量は 3 mg/kg/日であった。

2.4.4.6.3 出生前及び出生後の発生に関する試験

ラットにおいて 300 mg/kg/日で全胚死亡の母動物（22 例中 3 例）及び出産率の低値傾向が認められた。

一般症状、摂餌量、剖検所見、妊娠期間、着床数、出生児数、死産児数、性比、出生率、生後 4 日の生存率、離乳率及び出生後体重には影響は認められなかった。本薬投与に起因する F1 動物の一般症状及び肉眼所見の異常は認められなかった。F1 動物の発育分化、感覚機能、学習及び行動、性周期及び生殖機能に有意な影響は認められなかった。また、F1 妊娠動物の妊娠期間に、一般症状、体重及び摂餌量への影響は認められなかった。

以上、母動物（F0）の一般毒性学的無毒性量は 300 mg/kg/日、生殖機能（F0）に対する無毒性量は 100 mg/kg/日、出生児（F1）に対する無毒性量は 300 mg/kg/日であった。

2.4.4.6.4 新生児を用いた試験

幼若動物を対象とした試験は行われていない。

2.4.4.7 局所刺激性試験

KLH-2109 コリン塩は経口剤であり、局所刺激性試験は必要ないと考えられる。毒性試験において、消化管への刺激性を示唆する所見は観察されなかった。

2.4.4.8 その他の毒性試験

2.4.4.8.1 光毒性試験

KLH-2109 コリン塩の光毒性について、*in vitro* 及び *in vivo* 試験により評価した。KLH-2109 コリン塩は *in vitro* で光毒性陽性であったが、*in vivo* では光毒性を示唆する反応を誘発しなかったことから、KLH-2109 コリン塩は臨床使用において光毒性を示さないと考えられた（表 2.4.4.8.1-1）。

表 2.4.4.8.1-1　　光毒性試験概要

Test type	Cell type or species/strain	Concentration or dose	Result	Study No.
Neutral red uptake phototoxicity assay	Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts	7.0-400.0 mg/L	Positive	[redacted]

Test type	Cell type or species/strain	Concentration or dose	Result	Study No.
Single dose study in pigmented rats	Rat/ Crl:LE	10, 100, 1000 mg/kg	Negative	[redacted]

2.4.4.8.2 毒性発現の機序に関する試験

胆嚢内の異常内容物の発現機序を探索するため、胆汁を用いた *ex vivo* 試験及び、*in vivo* 試験を実施した。さらに、子宮内膜腺癌の発生頻度の増加の機序を検討するため、KLH-2109 コリン塩が視床下部のドパミン並びに血漿中のプロラクチン、エストラジオール及びプロゲステロン濃度へ及ぼす影響を評価した（表 2.4.4.8.2-1）

表 2.4.4.8.2-1　　毒性発現の機序に関する試験概要

Type of Study	Test system	Concentration or dose (mg/kg)	Study No.
Pharmacokinetic study after 1-week oral administration	Beagle dog and Cynomolgus monkey	10, 100, 1000	[redacted]
Pharmacokinetic study by 1-week oral administration to ICR mice	Mouse/ Crl:CD1(ICR)	0, 40, 200, 750	52167
Saturated solubility of KLH-2109 in human bile	*Ex vivo* human bile	n/a	32061 [a]
Saturated solubility of KLH-2109 and its metabolites in dog and mouse bile	*Ex vivo* dog and mouse bile	n/a	52166
Measurement of dopamine levels at hypothalamus after single dose in sexually mature and aged female rats	Rat/ RccHan:WIST	0, 500	KLH-21027
Effects on sexual hormones in sexually mature female rats after single oral administration	Rat/ RccHan:WIST	0, 5, 50, 500, 2000	52257
Effects on sexual hormones and estrous cycle in sexually mature female rats after 2- week repeated oral administration	Rat/ RccHan:WIST	0, 5, 50, 500, 2000	52258
Effects on sexual hormones and estrous cycle in aged female rats after 2-week repeated oral administration	Rat/ RccHan:WIST	0, 5, 50, 500, 2000	52262

n/a：該当なし；[a]：GLP 適用試験

胆嚢内の異常内容物については、*ex vivo* 及び *in vivo* の発現機序に関する試験により検討した。その結果、胆嚢所見が認められた用量を投与したイヌ（試験番号 [redacted] – 2.6.6.9.2.1）及びマウス（試験番号 52167 – 2.6.6.9.2.2）の胆汁中の KLH-2109 濃度は、胆汁中の飽和溶解度（試験番号 52166 – 2.6.6.9.2.4）を上回っていたことから、胆嚢所見の発現機序は胆汁中の KLH-2109 濃度が胆汁中の溶解度を超えて析出したことに起因するものと推察された。また、リスク評価の結果、200 mg/日を投与したヒト胆汁中の KLH-2109 の推定濃度は、ヒト胆汁中の KLH-2109 の飽和溶解度（試験番号 32061 – 2.6.6.9.2.3）の 3.2%～5.7%であったことから、ヒトにおいて胆嚢所見が発現する可能性は低いものと考えられた。

Wistar 系ラットの子宮内膜腺癌及び乳腺腺癌の発生頻度の増加については、発現機序に関する試験により検討した。Wistar 系ラットの視床下部におけるドパミン濃度を測定した結果（試験番号 KLH-21027 – 2.6.6.9.2.5）、KLH-2109 コリン塩の 500 mg/kg の単回投与は、性成熟雌ラット及び正常な周期を示す加齢雌ラットのドパミン濃度に影響を及ぼさなかったが、異常な性周期を示す加齢雌ラットのドパミン濃度をわずかに増加させた。血漿中エストラジオール、プロゲステロン及びプロラクチン濃度に対する KLH-2109 コリン塩の影響を検討するために、性成熟雌 Wistar 系ラット（試験番号 52257 – 2.6.6.9.2.6）を用いた単回投与試験、並びに性成熟雌ラ

ット（試験番号 52258 – 2.6.6.9.2.7）及び異常な性周期（持続休止期又は持続発情期）を示す加齢雌ラット（試験番号 52262 – 2.6.6.9.2.8）を用いた 2 週間反復投与試験を実施した。KLH-2109 コリン塩の投与量は 5、50、500 及び 2000 mg/kg/日とした。その結果、エストロゲン優位な状態ではないことが確認され、プロラクチン濃度にも意義ある影響を及ぼさなかった。

2.4.4.8.3 不純物の毒性試験

原薬中の不純物（2.3.S.4.1）の規格値 [redacted] は [redacted] とし、これは ICH Q3A(R2) ガイドラインに規定される [redacted] に相当する。ICH M7 (R2) ガイドラインに従った医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価により、変異原性の可能性のある KLH-2109 の不純物（5 つ）が同定された。すべての不純物は、毒性学的懸念の閾値（Threshold of toxicological concern; TTC）1.5 µg/日を用いて評価され、当該ガイドラインのオプション 3（2.3.S.3.2）で管理可能であることが示された。

製剤中の不純物（2.3.P.5.1）の規格値は [redacted] であり、これは ICH Q3B (R2)ガイドラインに既定される [redacted] に相当する。臨床試験に使用されたバッチは、それぞれの不純物の含量は 0.20%未満であった。

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 薬理試験

効力を裏付ける試験では、KLH-2109 は受容体結合試験において、ヒト、カニクイザル及びラット GnRH 受容体に対して結合親和性を示し、機能性試験において、ヒト GnRH 受容体に対して濃度依存的な拮抗作用を示した。KLH-2109 コリン塩は Leuprolide により誘発した雄ラットの LH 分泌を有意に抑制し、その作用の持続時間は用量の増加に伴って延長した。また、KLH-2109 コリン塩は発情前期雌ラットの E2 分泌を有意に抑制し、本薬の LH 及びエストロゲン分泌抑制作用が確認された。KLH-2109 コリン塩は OVX 処置を施した雌カニクイザルにおいて血清中 LH 濃度を低下させ、性成熟した雌カニクイザルにおいて月経周期の停止又は延長とともに血清中 E2 及び LH 濃度の上昇を抑制した。さらに、KLH-2109 コリン塩はラット子宮内膜症モデルにおいて子宮内膜切片移植部位の嚢胞体積を縮小させた。副次的薬理試験では、各種受容体、イオンチャネル及びトランスポーター（計 75 種）への結合阻害試験において、各放射性リガンド結合に対する KLH-2109（10 µmol/L）の阻害率はいずれも 30%未満であり、各種受容体、イオンチャネル及びトランスポーターに対して結合親和性はほとんど認められなかった。安全性薬理試験では、臨床用量における曝露量を超える曝露量において、中枢神経系、心血管系、呼吸系及び体温への影響は認められなかった。

以上、KLH-2109 コリン塩は GnRH 受容体に選択的に作用し、GnRH 受容体拮抗作用を介して LH 分泌を抑制し、エストロゲン分泌を低下させることにより、病巣の増殖抑制又は縮小を通じて子宮筋腫を改善すると考えられる。

2.4.5.2 薬物動態試験

KLH-2109 コリン塩をラット及びサルに単回経口投与したとき、速やかに吸収され、ラットにおいて曝露量は概ね投与量に比例して増加した。ラット及びサルにおけるバイオアベイラビリティはいずれも 80%以上と良好であった。また、ラット及びサルにおいて、いずれも

KLH-2109 の分布容積は小さく、全身クリアランスは低かった。KLH-2109 コリン塩をマウス、ラット、イヌ及びサルに反復経口投与したとき、血漿中 KLH-2109 濃度の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は投与量の増加に伴い増加し、反復投与による明らかな影響は認められなかった。また、顕著な性差は認められなかった。KLH-2109 は消化管の広範囲より吸収され、特に十二指腸及び空腸からの吸収が良好であった。

KLH-2109 は血球に移行せず、血漿蛋白結合率は 94%以上であり濃度依存的な明らかな変化は認められなかった。ヒトの血漿蛋白質のうち、KLH-2109 の主な結合蛋白種はアルブミンであった。

[^{14}C]KLH-2109 コリン塩をラットに単回経口投与したとき、放射能は速やかにかつ広範囲に各組織へ分布したが、脳を含め組織への移行性は低く、組織への残留性は認められなかった。有色ラットのメラニン含有組織にも残留性は認められず、さらに妊娠ラットにおいても同様な組織分布が認められた。胎児組織中の放射能は母動物に比べ緩やかに上昇したことから、KLH-2109 及びその代謝物は胎盤を通過し、緩やかに胎児に分布すると考えられた。

マウス、ラット、サル及びヒトの肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験では、すべての動物種の肝細胞において KP017（*O*-脱メチル体）及び KP050（KP017 のグルクロン酸抱合体）が認められた。ヒト肝細胞では、KP017 及び KP050 のみが検出され、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た *in vitro* 代謝試験においては、KP018（*O*-脱アルキル体）、未知代謝物の M6、KP046（*O*-脱メチル体）、KP017 及び M10 の生成が認められ、いずれも CYP により生成されることが示唆された。KP017 は主に CYP2C9 により、KP046 は主に CYP2C8、2C9 及び 3A4 により生成されると考えられた。KP018 は、CYP により生成されるとともに、生理的 pH で KP046 から非酵素的に生成されることが示唆された。KLH-2109 は CYP により代謝され、主に CYP2C8、2C9 及び 3A4 が関与し、寄与率はそれぞれ 9.0%、24.7%及び 1.3%と推定された。*In vivo* 代謝試験の結果は *in vitro* 代謝試験と同様な結果であり、マウス、ラット及びサルにおける KLH-2109 の主な代謝経路は、酸化代謝（脱メチル化、脱アルキル化、フッ素の水酸基置換及び一酸素原子付加）であり、マウス及びラットにおいては酸化代謝に続く抱合代謝（グルクロン酸抱合及び/又は硫酸抱合）であると考えられた。

ラットにおいて、投与された放射能は糞中に約 70%が排泄され、尿中には約 14%～18%が排泄された。また、胆管カニューレ処置したラットでは、投与放射能の約 87%が吸収され、約 58%が胆汁中に排泄されたことから、KLH-2109 の主な排泄経路は、胆汁を介した糞中排泄と考えられた。胆汁中には主に KLH-2109 として存在し、かつ胆汁に排泄された放射能は約 80%が再吸収されることから、KLH-2109 は腸肝循環すると考えられた。サルにおいても、糞中及び尿中への排泄はそれぞれ投与放射能の約 73%及び約 27%であり、主な排泄経路は糞中と考えられた。哺育ラットでは、血漿中の放射能が乳汁中に緩やかに移行したが、移行性は低いと考えられた。

血漿蛋白結合に起因して薬物相互作用が生じる可能性について、*in vitro* 試験において評価した。臨床で併用される可能性のある非ステロイド性抗炎症薬は、KLH-2109 の血漿蛋白結合に影響を及ぼさなかった。また、KLH-2109 はそれら薬物の血漿蛋白結合に影響を及ぼさなかった。*In vitro* での CYP 誘導試験において、KLH-2109 は高濃度（150 μmol/L）では CYP3A4/5 活性を誘導した。*In vitro* での CYP 阻害試験では、KLH-2109 は CYP2C8 活性に対して可逆的阻害

作用（IC_{50}：2.89 μmol/L）及び時間依存的阻害作用（K_I：3.34 μmol/L、k_{inact}：0.00639 min^{-1}）を示した。*In vitro* の薬物トランスポーター試験において、KLH-2109 は OATP1B1、OATP1B3 及び OAT3 の基質であることが示された。また、KLH-2109 は、OATP1B1 及び OAT3 を介した輸送に影響を及ぼし、IC_{50} 値はそれぞれ 11.2 及び 0.964 μmol/L であった。

2.4.5.3 毒性試験

KLH-2109 コリン塩の毒性試験で認められた所見のほとんどは薬理作用に由来すると考えられた。それらは、視床下部-下垂体-性腺軸に関連した所見であり、下垂体、精巣、卵巣、前立腺、精嚢、精巣上体、卵管、子宮、膣及び乳腺において認められた。薬理作用に関連した所見に加えて、肝臓、胆嚢、腎臓及び甲状腺においても所見が認められたが、十分な安全域のある所見、回復性が確認された所見、又はヒトへの外挿性が乏しい所見であったことから、安全性に関する懸念は低いものと考えられた。重要な反復投与毒性試験における主要な評価動物種である雌ラット及び雌サルにおける KLH-2109 コリン塩の無毒性量は、それぞれ 200 及び 10 mg/kg/日であり、無毒性量での曝露量はそれぞれ 2700 及び 310 μg•hr/mL であった。無毒性量における曝露量と臨床用量（200 mg/日）における曝露量を比較したときの安全域は、ラットでは 6.6 倍及びサルでは 0.8 倍であった。

反復投与毒性試験において認められた免疫毒性エンドポイントの変化は、げっ歯類において 750 mg/kg/日以上で認められたのみであった。それらは、KLH-2109 コリン塩の薬理作用による性ステロイドホルモンの減少による胸腺重量の高値、脾臓における髄外造血及び骨髄における赤血球造血の亢進であった。しかしながら、げっ歯類で限定的に認められた所見であったこと、回復性が確認されたこと、並びに十分な安全域が得られていることから、毒性学的意義は低いものと考えられた。その他、白血球、顆粒球、リンパ球及び血清グロブリンの変化、免疫系臓器の重量や組織学的変化、並びに感染症及び腫瘍の発生率の増加など、免疫抑制又は亢進を示唆する変化は認められなかった。以上より、さらなる免疫毒性試験は実施しなかった。

生殖発生毒性試験では、雌ラットの受胎能及び初期胚発生に関する試験（妊娠前投与）において、KLH-2109 コリン塩を妊娠前に約 4 週間反復投与した結果、20 及び 100 mg/kg/日で性周期及び着床数への影響が、100 mg/kg/日で受胎率への影響が認められた。しかしながら、100 mg/kg/日における受胎能への影響は 4 週間の休薬により回復したことから、KLH-2109 コリン塩は女性の生殖機能に不可逆的な影響を及ぼさないと考えられた。また、雌ラットの初期胚発生に関する試験（妊娠初期投与）において、1000 mg/kg/日で受胎産物の小型化が認められた。ラット及びウサギ胚・胎児発生に関する試験では、器官形成期の雌ラット及び雌ウサギに KLH-2109 コリン塩を投与した結果、いずれの動物種においても催奇形性を示さなかった。しかしながら、ラットの 300 mg/kg/日で全胚死亡の母動物数の増加及び胚・胎児死亡の増加傾向が認められ、ウサギの 30 mg/kg/日ではほとんどの動物が妊娠しなかった。これらラット及びウサギの胚・胎児発生に対する影響は、KLH-2109 コリン塩の薬理作用に起因する可能性が推察された。ラット出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験において、300 mg/kg/日で全胚死亡の母動物数の増加及び出産率の低値傾向が認められた。ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験における生殖機能（F0）及び胚・胎児発生（F1）に対する無毒性量における曝露量と臨床用量（200 mg/日）における曝露量を比較したときの安全域は、それぞれ 5.8 倍及び 0.004 倍であった。

遺伝毒性試験では、*in vitro* 及び *in vivo* 試験のいずれにおいても KLH-2109 コリン塩は遺伝毒性を示さなかった。また、がん原性試験では KLH-2109 はがん原性を示さず、生存率にも影響を及ぼさなかった。Wistar 系ラットにおける子宮内膜腺癌及び乳腺腺癌の発生頻度のわずかな増加に関しては、前癌病変の発生頻度の増加が認められなかったことから、投与に関連した所見とは判断されなかった。マウスの卵巣及び子宮並びにラットの卵巣及び乳腺における非腫瘍性病変は、KLH-2109 コリン塩の薬理作用に関連したものと考えられた。

薬物依存性の可能性に関しては、副次的薬理試験において各種オフターゲットへの KLH-2109 の結合親和性を評価した結果、各種オフターゲットに対する 10 µmol/L での阻害率は 30%未満であり、親和性を有しないことが示された。評価ターゲットには、既知の薬物依存に関連するターゲットであるドパミン、セロトニン、γ-アミノ酪酸、オピオイド、カンナビノイド、N-メチル-D-アスパラギン酸受容体、カルシウム及びカリウム等のイオンチャネル複合体、ドパミン及びセロトニン等のトランスポーター等が含まれていた（試験番号 [redacted] – 2.6.2.3.1 及び [redacted] – 2.6.2.3.2）。ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を投与した組織分布試験では、大脳及び小脳における放射能濃度は、全時点において血漿中の 0.01 倍であった（試験番号 [redacted]0045 – 2.6.4.4.1.1）。また、ラットを用いた QWBA 試験では、血液に対する大脳及び小脳中放射能濃度比が 0.03 倍以下であり、脳内分布が低いことが確認されている（試験番号 [redacted] – 2.6.4.4.1.4）。さらに、ラットを用いた中枢神経系試験では、2000 mg/kg を投与しても中枢神経系への影響を示唆する一般症状は認められなかった。臨床用量における安全域は、C_{max} で 8.0 倍、AUC で 11.8 倍であった。以上より、KLH-2109 コリン塩は薬物依存に関する懸念は低いものと考えられた。

ラット、サル、マウス及びイヌを用いた反復投与毒性試験では、過剰な薬理作用の発現が認められたが、懸念すべき毒性は認められなかった。KLH-2109 コリン塩による生殖器及び他の標的臓器における変化には十分な安全域及び少なくとも部分的な回復性が認められ、ヒトへの外挿性は低いものであった。遺伝毒性、がん原性、予期しない生殖発生毒性及び光毒性は認められなかった。

以上、非臨床毒性試験パッケージは KLH-2109 の 200 mg/日までの臨床投与量の長期投与をサポートするものであった。

2.4.6 参考文献

1) Cline JM, Söderqvist G, Register TC, et al. Assessment of hormonally active agents in the reproductive tract of female nonhuman primates. Toxicol Pathol. 2001;29(1):84-90.

2) Cline JM. Assessing the mammary gland of nonhuman primates: effects of endogenous hormones and exogenous hormonal agents and growth factors. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2007;80(2):126-46.

3) Sundaram K, Didolkar AK, Keizer-Zucker A, et al. A 90-day subcutaneous toxicity and fertility study of a LHRH antagonist in rats. Fundam Appl Toxicol. 1990; 14:734-744.

4) Chester AE, Fairchild DG, Depass LR. Acute and subchronic toxicity studies with detirelix, a luteinizing hormone-releasing hormone antagonist, in the rat and monkey. Fundam Appl Toxicol. 1991;17(3):505-18.

5) Mooradian AD, Morley JE, Korenman SG. Biological actions of androgens. Endocr Rev. 1987;8(1):1-28.

6) Mirand EA, Gordon AS. Mechanism of estrogen action in erythropoiesis. Endocrinology. 1966;78(2):325-32.

7) Capen CC, DeLellis RA, Yarrington JT. Thyroid follicular cells. In: Haschek WM, Rousseaux CG editors. Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology. 3rd ed. San Diego: Academic Press; 1991. p.2436-2461.

8) Banu KS, Govindarajulu P, Aruldhas MM. Testosterone and estradiol modulate TSH-binding in the thyrocytes of Wistar rats: influence of age and sex. J Steroid Biochem Mol Biol. 2001;78(4):329-42.

9) Sosić-Jurjević B, Filipović B, Milosević V, et al. Effects of ovariectomy and chronic estradiol administration on pituitary-thyroid axis in adult rats. Life Sci. 2006;79(9):890-7.

10) Okazaki Y. Assessment report on incidences of uterine endometrial adenocarcinoma and female mammary gland adenocarcinoma found in the 104-week rat carcinogenicity study of KLH-2109 Choline (linzagolix). Assessment report. [redacted]