ゾコーバ錠 125mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6 毒性試験の概要文

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 3
2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 5
2.6.6.3 反復投与毒性試験 5
2.6.6.4 遺伝毒性試験 5
2.6.6.5 がん原性試験 5
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 5
2.6.6.7 局所刺激性試験 5
2.6.6.8 その他の毒性試験 5
2.6.6.8.1 HDL コレステロール減少機序解明のための試験 5
2.6.6.8.1.1 血漿中レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ活性に対する作用 6
2.6.6.9 考察及び結論 6
2.6.6.9.1 その他の毒性試験 6
2.6.6.10 図表 7
2.6.6.11 参考文献 7

表

表 2.6.6.1-1 主要なエンシトレルビルの毒性試験一覧 4

図

図 2.6.6.8-1 コレステロールの生体内における輸送経路 6

略号及び用語定義一覧表

略号	英語	日本語
Apo-A1	apolipoprotein-A1	アポリポタンパク質 A1
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
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
HDL	high density lipoprotein	高比重リポタンパク質
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
LCAT	lecithin:cholesterol acyltransferase	レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

エンシトレルビルフマル酸共結晶 (以下エンシトレルビルフマル酸) の安全性評価は通常申請時に実施しており, その試験成績は通常申請時に提出した資料に基づき審査されている (1.13 項 既承認医薬品に係る資料 [通常申請]).

本申請では，その他の毒性試験として，特定された副作用 (1.13 項 既承認医薬品に係る資料 [通常申請]) である，高比重リポタンパク質 (HDL) コレステロール減少機序解明のための試験を実施した (表 2.6.6.1-1). 本試験は信頼性基準適応下で実施した.

表 2.6.6.1-1 主要なエンシトレルビルの毒性試験一覧

試験の種類及び期間	動物種等	投与 (処置) 経路	GLP 適用
その他の毒性試験			
HDL コレステロール減少機序解明のための試験	サル血漿	In vitro	非適 [a]

GLP = Good Laboratory Practice
a 信頼性基準 (医薬品，医療機器等の品質，有効性及び安全性の確保等に関する法律施行規則第 43 条) を適用

単回投与毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

反復投与毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

遺伝毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

がん原性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

生殖発生毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

局所刺激性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

その他の毒性試験

エンシトレルビルフマル酸の特定された副作用である HDL コレステロール減少の発現機序解明試験を実施した. サル血漿を用いた in vitro 試験の結果，エンシトレルビルフマル酸は血漿

中レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ (LCAT) 活性を阻害した.

2.6.6.2 単回投与毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

2.6.6.3 反復投与毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

2.6.6.4 遺伝毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

2.6.6.5 がん原性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

2.6.6.7 局所刺激性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

2.6.6.8 その他の毒性試験

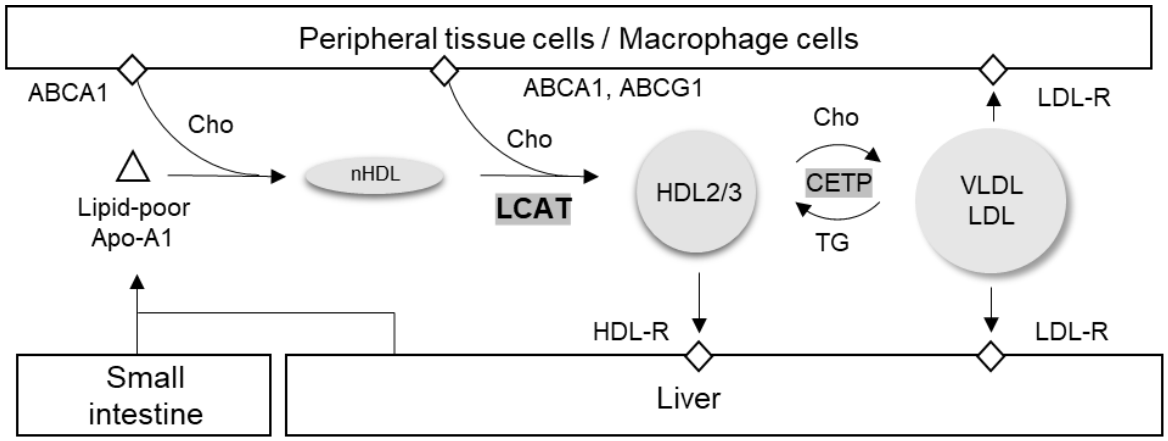
2.6.6.8.1 HDL コレステロール減少機序解明のための試験

エンシトレルビルフマル酸において特定された副作用である HDL コレステロール減少 (1.13 項 既承認医薬品に係る資料 [通常申請]) の発現機序を検討した.

HDL を中心としたコレステロールの生体内における輸送経路は, 図 2.6.6.8-1 に示すとおりである. 肝臓や小腸で合成されるアポリポタンパク質 A1 (Apo-A1) を主要タンパク質として含むリポタンパク質である HDL は, 末梢組織で余剰となったコレステロールを末梢組織細胞やマクロファージ細胞より回収する. 回収されたコレステロールは LCAT によりエステル化され HDL の内部に取り込まれる. コレステロール回収及びエステル化の過程において粒子サイズが大きくなった HDL2/3-コレステロールが形成され, その後コレステロールは肝臓等に取り込まれ体外に排泄される [1- 6].

エンシトレルビルフマル酸による HDL コレステロール減少の発現機序を検討するため, LCAT 活性に対するエンシトレルビルフマル酸の作用を in vitro で検証した.

図 2.6.6.8-1 コレステロールの生体内における輸送経路



ABCA1 = ATP-binding cassette subfamily A member 1; ABCG1 = ATP-binding cassette subfamily G member 1; CETP = cholesteryl ester transfer protein; Cho = cholesterol; HDL = high density lipoprotein; HDL-R = HDL-receptor; LCAT = lecithin:cholesterol acyltransferase; LDL = low density lipoprotein; LDL-R = LDL-receptor; Lipid-poor Apo-A1 = lipid-poor apolipoprotein-A1; nHDL = nascent HDL; TG = triglyceride; VLDL = very low density lipoprotein

2.6.6.8.1.1 血漿中レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ活性に対する作用

評価資料 4.2.3.7.3-01

概要表 2.6.7.17.1

サル血漿を用いて HDL によるコレステロールの内部取り込みに関与する酵素である血漿中 LCAT 活性に対するエンシトレルビルフマル酸の作用を検証した．本試験は信頼性基準下で実施した．LCAT は HDL と結合して血中に存在し，末梢組織細胞やマクロファージ細胞等から引き抜いた遊離コレステロールを HDL に取り込む際に，レシチンの脂肪酸を転移してコレステロールエステルを生成する酵素であり [2- 4, 6]，LCAT 活性阻害は血中 HDL コレステロール減少に繋がり得る [7].

サル血漿にエンシトレルビルフマル酸を添加し，37°C で 24 時間インキュベーションした後に Roar LCAT Activity Assay Kit (Roar Biomedical 社) を用いて LCAT 活性を測定した (終濃度 0.206，0.617，1.85，5.56，16.7，50.0，150 又は 450 µg/mL)．陰性対照としてジメチルスルホキシド (DMSO) 用い，陽性対照として sodium iodoacetate を 80 mmol/L の濃度で用いた．陰性対照群の LCAT 活性値に対する減弱率に基づいて，エンシトレルビルフマル酸添加群の LCAT 活性阻害率を算出した.

サル血漿を用いた in vitro 試験では, エンシトレルビルフマル酸は LCAT 活性を阻害した (50% 阻害濃度 IC_{50} = 22.1 µg/mL).

2.6.6.9 考察及び結論

2.6.6.9.1 その他の毒性試験

- HDL コレステロール減少機序解明のための試験

エンシトレルビルフマル酸において特定された副作用である HDL コレステロール減少 (1.13 項 既承認医薬品に係る資料 [通常申請])の機序を検討した.

リポタンパク質の一つである HDL は，コレステロールを末梢細胞から，肝臓に逆輸送する機

能を有する．Apo-A1 を含む新生 HDL 粒子は血中で産生され，新生 HDL は末梢組織細胞から輸送タンパクを介して，遊離のコレステロールを回収し，HDL2/3 コレステロールを形成する．この経路はコレステロール回収と呼ばれる．HDL2/3 により回収された遊離コレステロールは LCAT によりエステル化され，コレステロールエステルは HDL2/3 粒子の中心に取り込まれ，粒子サイズが大きくなる (成熟化)．HDL 中のコレステロールの主な排泄経路は，肝臓に取り込まれた後の胆汁排泄，糞便への直接排泄，及び低比重/超低比重リポタンパク質への供給である．HDL コレステロールの低下機構として，新生 HDL 産生の低下，末梢組織からのコレステロール流出の減少，LCAT によるコレステロールのエステル化の減少，コレステロールクリアランスの増加が考えられる [1-6].

HDL コレステロール減少機序解明のため，(1) コレステロールの影響を受けた画分を特定することを目的とした，第 1 相試験 (T1211) 反復投与パートの血漿サンプルを使用した経時的脂質解析を実施した．また，(2) ヒト血清によるコレステロール流出への影響，(3) 血漿中の LCAT 活性への影響，及び (4) サルにおけるコレステロール排泄に及ぼす影響を評価した．

エンシトレルビルフマル酸の第 1 相試験の 750/250 mg 投与時の各脂質画分中の経時的な解析では，ゲルろ過高速液体クロマトグラフィーを用い，リポプロテインを分画し，各脂質画分に含まれるコレステロール及びトリグリセリドを分析した [8]．その結果，主にコレステロールが減少した HDL 画分は HDL2/3 画分であり，新生 HDL 画分への影響は軽微であった．また，THP-1 細胞株及び HDL を含むヒト血清を用いた in vitro 試験の結果，エンシトレルビルフマル酸は 200 µg/mL までの濃度においてコレステロール回収能に影響を及ぼさなかった [9]．サル血漿を用いた in vitro 試験では，エンシトレルビルフマル酸は LCAT 活性を阻害した (IC_{50} = 22.1 µg/mL) (2.6.6.8.1)．サルにおけるコレステロール排泄評価の結果，エンシトレルビルフマル酸は 10 mg/kg/日の用量で糞中及び胆汁中へのコレステロール排泄に影響を及ぼさなかった [10].

以上から，臨床試験でのコレステロールの減少は，主に HDL2/3 画分の減少によるものであることが明らかとなった．また，ヒトでの詳細な HDL コレステロールの減少機序は不明であるが，サルでは，エンシトレルビルが LCAT 活性阻害を介して，HDL の成熟化過程に影響し，HDL コレステロールを減少させると考えられた．

2.6.6.10 図表

図表は本文中の適切な場所に記載した．

2.6.6.11 参考文献

1. Ouimet M, Barrett TJ, Fisher EA. HDL and reverse cholesterol transport. Circ Res 2019;124:1505-18.
2. Glomset JA. The Plasma Lecithin:cholesterol Acyltransferase Reaction. J Lipid Res 1968;9(2):155-67.
3. Remaley AT, Amar M, Sviridov D. HDL-replacement therapy: Mechanism of action, types of agents and potential clinical indications. Expert Rev Cardiovasc Ther 2008;6(9):1203-15.
4. Rousset X, Vaisman B, Amar M, Sethi AA, Remaley AT. Lecithin:cholesterol acyltransferase: from biochemistry to role in cardiovascular disease. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes 2009;16(2):163-

71.

5. Yamamoto S, Narita I, Kotani K. The Macrophage and its related cholesterol efflux as a HDL function index in atherosclerosis. Clin Chim Acta 2016;457:117-22
6. Márquez AB, Nazir S, van der Vorst EPC. High-Density Lipoprotein Modifications: A Pathological Consequence or Cause of Disease Progression? Biomedicines. 2020; 8(12):549.
7. Tobar HE, Cataldo LR, González T et al. Identification and functional analysis of missense mutations in the lecithin cholesterol acyltransferase gene in a chilean patient with hypoalphalipoproteinemia. Lipids Health Dis 2019;18:132.
8. [redacted] Lipid Profiling in Human Plasma from Phase 1 Study (Multiple Dose Study) of S-217622. Final Report (Study No.: S-217622-CB-114-N). Shionogi & Co., Ltd.; [redacted]
9. [redacted] Effects of S-217622 fumaric acid on Cholesterol Efflux Activity from THP-1 Cells (Study No.: S-217622-TB-124-N). Shionogi & Co., Ltd.; [redacted].
10. [redacted] Effect of S-217622 fumaric acid on Cholesterol Excretion in Monkeys (Study No.: S-217622-TF-191-N). [redacted].