# ジロキシメルフマラート

## 第 2 部 CTD の概要

## 2.4 非臨床試験の概括評価

バイオジェン・ジャパン株式会社

# 目次

頁

略語・略号一覧表 ..... 4
1 非臨床試験計画概略 ..... 6
1.1 背景 ..... 6
1.2 非臨床試験概略 ..... 6
1.3 非臨床試験計画の考慮事項 ..... 10
1.3.1 動物種の選択 ..... 10
1.3.2 高用量の設定根拠 ..... 11
2 薬理試験 ..... 12
2.1 効力を裏付ける試験 ..... 12
2.2 副次的薬理試験 ..... 13
2.3 安全性薬理試験 ..... 13
2.3.1 心血管系に対する作用 ..... 14
2.3.2 呼吸系及び神経行動に対する作用 ..... 14
3 薬物動態 ..... 15
3.1 分析方法 ..... 15
3.2 吸収 ..... 16
3.3 分布 ..... 17
3.4 代謝 ..... 17
3.5 排泄 ..... 17
3.6 薬物動態学的薬物相互作用 ..... 18
4 毒性試験 ..... 20
4.1 DRF の全身毒性 ..... 20
4.1.1 腎臓 ..... 20
4.1.2 消化器系 ..... 21
4.1.3 心臓 ..... 22
4.1.4 骨 ..... 22
4.1.5 精巣 ..... 23
4.2 DRF の遺伝毒性評価 ..... 23
4.3 DRF のがん原性評価 ..... 23
4.4 DRF の生殖発生毒性評価 ..... 24
4.5 不純物及び分解生成物の評価 ..... 25
4.6 リンパ球減少症の検討 ..... 25
4.7 その他の毒性試験 ..... 27
4.7.1 抗原性及び免疫毒性 ..... 27
4.7.2 依存性 ..... 27
4.7.3 光安全性 ..... 28
4.7.4 代謝物 ..... 28
5 総括及び結論 ..... 29

5.1 DRF 及び代謝物（MMF 及び HES）の薬理作用 ..... 29
5.2 DRF 及びその代謝物の吸収、分布、代謝及び排泄特性 ..... 29
5.3 MMF 及び HES の安全性評価 ..... 30
5.4 安全性薬理及び毒性試験所見の臨床との関連性 ..... 30
5.5 結論 ..... 32
6 参考文献 ..... 43
付録 A ..... 46

## 略語・略号一覧表

| 略語・略号 | 略していない表現 | |
|---|---|---|
| | 英語 | 日本語 |
| ADME | absorption, distribution, metabolism and excretion | 吸収、分布、代謝及び排泄 |
| AUC | area under the concentration-time curve | 濃度時間曲線下面積 |
| BCRP | breast cancer resistance protein | 乳癌耐性タンパク質 |
| BID | bis in die | 1 日 2 回 |
| $C_{max}$ | maximum observed concentration | 最高血漿中濃度 |
| CYP | cytochrome P450 | チトクローム P 450 |
| DDI | drug-drug interaction | 薬物相互作用 |
| DMF | dimethyl fumarate | フマル酸ジメチル |
| DNA | deoxyribonucleic acid | デオキシリボ核酸 |
| DRF | diroximel fumarate | ジロキシメルフマラート |
| EAE | experimental autoimmune encephalomyelitis | 実験的自己免疫性脳脊髄炎 |
| EMA | European Medicines Agency | 欧州医薬品庁 |
| FDA | Food and Drug Administration | 米国食品医薬品局 |
| FOB | functional observation battery | 機能観察総合評価（法） |
| 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 |
| hERG | human ether-a-go-go related gene | ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子 |
| HED | human-equivalent dose | ヒト等価用量 |
| HES | 2-hydroxyethyl succinimide | 2-ヒドロキシエチルスクシンイミド |
| HU | hydroxyurea | ヒドロキシ尿素 |
| $IC_{50}$ | 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 |
| ISR | incurred sample reanalysis | 実試料再分析 |
| $K_2$EDTA | dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid | エチレンジアミン四酢酸二カリウム |
| KIM-1 | kidney injury molecule-1 | － |
| 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 |
| LQC | low quality control | 低濃度の quality control |
| MATE | multidrug and toxin extrusion transporter | 多剤・毒性排出トランスポーター |
| MMF | monomethyl fumarate | フマル酸モノメチル |
| MRHD | maximum recommended human dose | 最大推奨臨床用量 |

| 略語・略号 | 略していない表現 | |
|---|---|---|
| | 英語 | 日本語 |
| mRNA | messenger ribonucleic acid | メッセンジャーリボ核酸、メッセンジャーRNA |
| MS | multiple sclerosis | 多発性硬化症 |
| NGAL | neutrophil gelatinase-associated lipocalin | － |
| Nrf2 | nuclear factor erythroid-derived 2-like 2 | － |
| 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 |
| P-gp | P-glycoprotein | P 糖タンパク質 |
| PK | pharmacokinetic(s) | 薬物動態 |
| PML | progressive multifocal leukoencephalopathy | 進行性多巣性白質脳症 |
| QTc | QT interval corrected for heart rate | 心拍数で補正した QT 間隔 |
| RRMS | relapsing-remitting multiple sclerosis | 再発寛解型多発性硬化症 |
| TCA | tricarboxylic acid | トリカルボン酸 |
| Tg | transgenic | トランスジェニック |
| TK | toxicokinetic(s) | トキシコキネティクス |

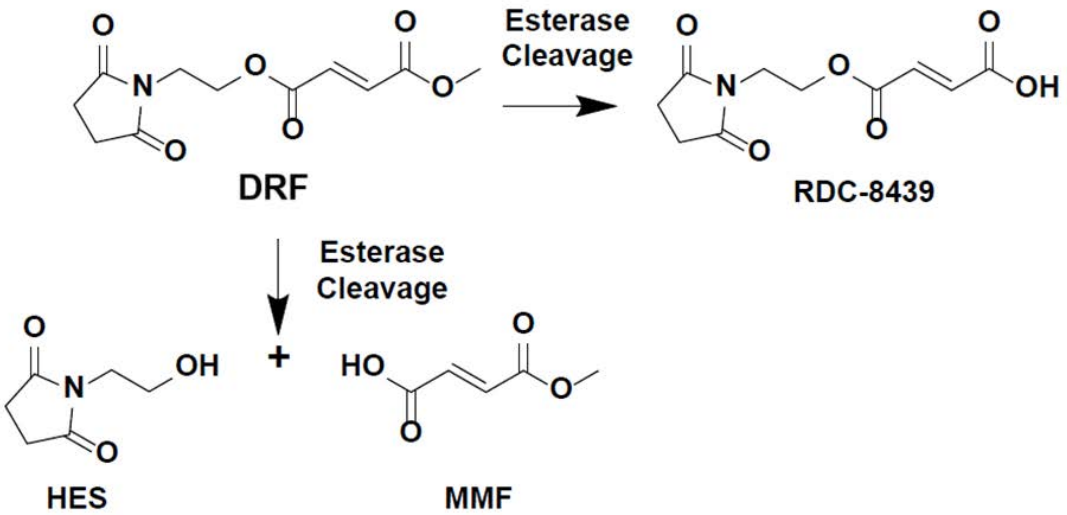
# 1 非臨床試験計画概略

## 1.1 背景

ジロキシメルフマラート（DRF）（別名 BIIB098、ALKS 8700 及び RDC-5108）は、再発完解型多発性硬化症（RRMS）の再発予防及び身体的障害の進行抑制を適応とする治療薬として開発した。DRF は経口投与後、全身循環に入る前に速やかに加水分解され、図 1 に示すように、主活性代謝物であるフマル酸モノメチル（MMF）、主不活性代謝物である 2-ヒドロキシエチルスクシンイミド（HES、別名 RDC-6567）及びマイナーな代謝物の RDC-8439（ヒトに DRF を投与したときの総全身曝露量の 1%未満）を生成する。

DRF 462 mg を経口投与すると、多発性硬化症（MS）の再発予防及び身体的障害の進行抑制を適応として現在市販されているテクフィデラ®（フマル酸ジメチル［DMF］）240 mg の経口投与と生物学的に同程度の MMF の曝露量を示した［M2.7.1.2.3.1、ALK8700-A103 試験］；［M2.7.1.2.3.2、ALK8700-A104 試験］。DRF 及び DMF は両者とも、経口投与後全身循環に入る前にエステラーゼにより速やかに加水分解されて主活性代謝物である MMF に変換され、血漿中では定量できない［M2.7.1.2.3.1、ALK8700-A103 試験］；［M2.7.1.2.3.2、ALK8700-A104 試験］。そのため、DMF で実施された薬物動態（PK）解析と同様に、DRF に関するすべての PK パラメータは、その代謝物である MMF 及び HES の血漿中濃度から算出した。

**図 1 ジロキシメルフマラート（DRF）の生体内代謝経路**




DRF = diroximel fumarate; HES = 2-hydroxyethyl succinimide (RDC-6567); MMF = monomethyl fumarate

## 1.2 非臨床試験概略

DRF の製造販売承認申請では、DRF 及び代謝物に関する薬理、安全性薬理、薬物乱用の可能性、

毒性及び PK／トキシコキネティクス（TK）の包括的な非臨床試験評価結果を示す。

DRF の製造販売承認申請は、既承認医薬品であるテクフィデラ®（DMF）の薬効薬理試験の結果及び一部の安全性試験の結果に基づくものである。それらの結果の信頼性は、DRF 462 mg 及び DMF 240 mg を経口投与後の MMF の PK データを比較した PK 試験によって裏付けられている。この PK 試験の結果は、DRF 及び代謝物の有効性及び安全性プロファイル評価を行った包括的な非臨床薬理試験及び臨床薬理試験、並びに長期安全性試験の評価結果によってさらに裏付けられており、適宜 DMF に関する関連データも記載した。

DRF、ヒトの主活性代謝物 MMF 及びヒトの主不活性代謝物 HES を用いて包括的な非臨床安全性試験を実施した。ヒトのマイナーな代謝物 RDC-8439 も非臨床試験を通して測定した。安全性薬理試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、幼若動物の毒性を含む生殖発生毒性試験、局所刺激性試験、薬物乱用試験及び不純物安全性確認試験を実施した。DRF の非臨床安全性試験では、DMF の製造販売承認申請及び市販後調査で使用された DMF 及び MMF の関連試験も補足資料として含めた。これらには、MMF の in vitro ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）イオンチャネル阻害、細菌を用いる復帰突然変異及びほ乳類細胞を用いる染色体異常試験、並びに DMF の in vivo 薬物乱用性試験が含まれる。また、DMF の進行性多巣性白質脳症（PML）との関連性に関して市販後調査の一環として実施した試験から、リンパ球減少症の発現機序の可能性を検討した DMF 及び MMF の in vitro 及び in vivo 試験結果も、DRF の非臨床安全性評価の補足資料として含めた。これらの試験結果は、臨床試験で DRF を投与された MS 患者でもリンパ球減少が認められていることから、DRF にも関連すると考えられる。用量設定試験及び 2 つの探索的試験以外のすべての安全性試験は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適用下で実施した。非臨床安全性試験一覧を表 1 に示し、安全性薬理試験及び毒性／がん原性試験の試験デザイン及び結果の詳細はそれぞれ M2.6.2 及び M2.6.6 に示す。

**表 1　　非臨床安全性薬理試験及び毒性試験の概要：DRF、MMF 及び HES の試験並びにそれを補完する DMF で実施した試験**

| Study (Study Number/Location in CTD) | Concentration or Dose | Compliance Status | Tabulated Summary |
|---|---|---|---|
| **Safety Pharmacology Studies Conducted with DRF** | | | |
| hERG (AT-5108-02/4.2.1.3-1) | 10 and 300 µmol/L | GLP | 2.6.3.4 |
| Cardiovascular Assessment in Monkeys (AT-5108-08/4.2.1.3-3) | 0, 25, 75, and 400 mg/kg | GLP | 2.6.3.4 |
| Neurobehavioral Assessment in Rats (AT-5108-10/4.2.1.3-4) | 0, 60, 150, and 600 mg/kg | GLP | 2.6.3.4 |
| Respiratory Assessment in Rats (AT-5108-09/4.2.1.3-5) | 0, 60, 150, and 600 mg/kg | GLP | 2.6.3.4 |
| **Safety Pharmacology Studies Conducted with MMF**[a] | | | |
| hERG (PD03-21/Tecfidera application document[b]) | 60, 180, 600, and 1500 µmol/L | GLP | - |
| **Safety Pharmacology Studies Conducted with HES** | | | |
| hERG (AT-6567-02/4.2.1.3-2) | 10 and 300 µmol/L | GLP | 2.6.3.4 |
| **Repeat-Dose Toxicity/TK Studies Conducted with DRF** | | | |
| Oral 5-/28-Day Range-Finding in CByB6F1 Mice (AT-5108-29/4.2.3.2-1) | 5-day: 0, 50, 100, 200, 600, 1000, and 3000 mg/kg<br>28-day: 0, 30, 100, 300, and 1000 mg/kg | GLP | 2.6.7.7A |

| Study (Study Number/Location in CTD) | Concentration or Dose | Compliance Status | Tabulated Summary |
|---|---|---|---|
| 5-Day Oral Dose Range-Finding in Rats (AT-5108-04/4.2.3.2-2) | 0, 100, 300, and 1000 mg/kg | Non-GLP | 2.6.7.6A |
| 14-Day Oral Toxicity With 14-Day Recovery in Rats (AT-5108-05/4.2.3.2-3) | 0, 60, 150, and 600 mg/kg | GLP | 2.6.7.7B |
| 91-Day Oral Toxicity With 28-Day Recovery in Rats (AT-5108-13/4.2.3.2-4) | 0, 60, 150, and 450 mg/kg | GLP | 2.6.7.7C |
| 26-Week Oral Toxicity With 28-Day Recovery in Rats (AT-5108-15/4.2.3.2-5) | 0, 50, 100, and 300 mg/kg | GLP | 2.6.7.7D |
| Oral Dose Range-Finding in Monkeys (AT-5108-06/4.2.3.2-6) | Escalating:<br>0, 100, 300, and 1000 mg/kg<br>Dose range-finding:<br>0, 100, 300, and 1000 mg/kg | Non-GLP | 2.6.7.6B |
| 14-Day Oral Toxicity With 14-Day Recovery in Monkeys (AT-5108-07/4.2.3.2-7) | 0, 25, 75, and 400 mg/kg | GLP | 2.6.7.7E |
| 91-Day Oral Toxicity With 28-Day Recovery in Monkeys (AT-5108-14/4.2.3.2-8) | 0, 25, 75, and 250 mg/kg | GLP | 2.6.7.7F |
| 39-Week Oral Toxicity With 28-Day Recovery in Monkeys (AT-5108-16/4.2.3.2-9) | 0, 15, 50, and 150 mg/kg | GLP | 2.6.7.7G |
| **Genotoxicity/TK Studies Conducted with DRF** | | | |
| In Vitro Bacterial Reverse Mutation (AT-5108-11/4.2.3.3.1-1) | 15 to 5000 µg/plate | GLP | 2.6.7.8A |
| In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration (AT-5108-12/4.2.3.3.1-3) | 15 to 255 µg/mL | GLP | 2.6.7.8C |
| In Vivo Micronucleus and Comet Assay in Rats (AT-5108-23/4.2.3.3.2-1) | 0, 500, 1000, and 2000 mg/kg | GLP | 2.6.7.9A |
| **Genotoxicity Studies Conducted with MMF**[a] | | | |
| In Vitro Bacterial Reverse Mutation (P00012-08-02/Tecfidera application document[b]) | 1.6 to 5000 µg/plate | GLP | - |
| In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration (P00012-08-03/Tecfidera application document[b]) | +S9: 100 to 245 µg/mL<br>-S9: 20.2 to 41.0 µg/mL | GLP | - |
| **Genotoxicity Studies Conducted with HES** | | | |
| In Vitro Bacterial Reverse Mutation (P098-20-01/4.2.3.3.1-2) | 100 to 5000 µg/plate | GLP | 2.6.7.8B |
| In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration (P098-20-02/4.2.3.3.1-4) | 35.8 to 143 µg/mL | GLP | 2.6.7.8D |
| **Carcinogenicity/TK Studies Conducted with DRF** | | | |
| 2-Year Oral Carcinogenicity in Rats (AT-5108-26/4.2.3.4.1-1) | 0, 15, 50, and 150 mg/kg | GLP | 2.6.7.10A |
| 6-Month Oral Carcinogenicity in *ras*H2 Transgenic Mice (AT-5108-31/4.2.3.4.2-1) | Males:<br>0, 30, 100, and 300 mg/kg<br>Females:<br>0, 30, 100, 300, and 1000 mg/kg | GLP | 2.6.7.10B |
| **Developmental and Reproductive Toxicity/TK Studies Conducted with DRF** | | | |
| Male Fertility in Rats (AT-5108-19/4.2.3.5.1-1) | 0, 40, 120, and 400 mg/kg | GLP | 2.6.7.12A |

| Study (Study Number/Location in CTD) | Concentration or Dose | Compliance Status | Tabulated Summary |
|---|---|---|---|
| Female Fertility and Early Development to Implantation in Rats (AT-5108-20/4.2.3.5.1-2) | 0, 40, 120, and 450 mg/kg | GLP | 2.6.7.12B |
| Oral Dose Range-Finding in Pregnant Rats (AT-5108-17/4.2.3.5.2-1) | 0, 100, 200, 400, and 600 mg/kg | Non-GLP | 2.6.7.11A |
| Embryofoetal Development in Rats (AT-5108-21/4.2.3.5.2-2) | 0, 40, 100, and 400 mg/kg | GLP | 2.6.7.13A |
| Oral Dose Range-Finding in Pregnant Rabbits (AT-5108-18/4.2.3.5.2-3) | Nonpregnant: 50, 200, and 500 mg/kg<br>Pregnant: 0, 50, 100, 200, and 350 mg/kg | Non-GLP | 2.6.7.11B |
| Embryofoetal Development in Rabbits (AT-5108-22/4.2.3.5.2-4) | 0, 50, 150, and 350 mg/kg | GLP | 2.6.7.13B |
| Pre- and Postnatal Development in Rats (AT-5108-30/4.2.3.5.3-1) | 0, 40, 100, and 400 mg/kg | GLP | 2.6.7.14 |
| 6-Week Oral Toxicity Study in Juvenile Rats (AT-5108-38/4.2.3.5.4-1) | 0, 60, 150, and 600 mg/kg | GLP | 2.6.7.15A |
| **Local Tolerance/TK Studies Conducted with DRF** | | | |
| 14-Day Oral Local Tolerance Study in Monkeys (Extended Release Formulation) (AT-5108-24/4.2.3.6-1) | 0, 125, 375, and 840 mg/day | GLP | 2.6.7.16A |
| **Other Toxicity Studies / Mechanistic Studies Conducted with DMF and MMF**[a] | | | |
| DMF and HU: 3-Month Oral Combination Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys (P00012-15-05/4.2.3.7.3-1) | DMF/HU:<br>0/0, 25/0, 0/60, 5/60, 25/60 mg/kg | GLP | 2.6.7.17A |
| DMF and MMF: Haemotoxicity on Human and Monkey T-CFC Cells (PD15-73/4.2.3.7.3-2) | DMF: 3.469–1388 µmol/L,<br>MMF: 3.843–5380 µmol/L | Non-GLP | 2.6.7.17B |
| In Vitro Transcriptional Profiling Feasibility and Pilot Study (RSCH-2018-30/4.2.3.7.3-3) | DMF: 10 µmol/L and 30 µmol/L<br>MMF: 10 µmol/L and 30 µmol/L | Non-GLP | 2.6.7.17C |
| **Other Toxicity Studies / Abuse Liability Studies Conducted with DMF**[a] | | | |
| Self-administration Dose Range Finding in Rats (P00012-13-04/4.2.3.7.4-1) | 0, 12.5, 25, and 50 mg/kg/day;<br>20 pulsation infusions at 0.625, 1.25, and 2.5 mg/kg/infusion over 1 hour | Non-GLP | 2.6.7.17D |
| Self-administration in Rats (P00012-13-07/Tecfidera application document[b]) | 0, 0.625, 1.25, and 2.5 mg/kg/infusion | GLP | - |
| Drug Discrimination in Rats (P00012-14-01/Tecfidera application document[b]) | 0, 25, 100, and 250 mg/kg | GLP | - |
| **Other Toxicity Studies / Impurity Toxicity Study Conducted with DRF** | | | |
| 28-Day Oral Toxicity in Rats Evaluating DRF With or Without *Impurity C Impurity (AT-5108-25/4.2.3.7.6-1) | DRF (*Impurity C)<br>0, 150 (0), and 600 (0) mg/kg (without *Impurity C)<br>0, 150 (2), and 600 (9) mg/kg (with *Impurity C) | GLP | 2.6.7.17E |
| **Other Toxicity Studies / Photosafety Evaluation Conducted with DRF and its Methabolites** | | | |
| Ultraviolet and Visible range absorption of DRF and its metabolites (702-08693/ 4.2.3.7.7-1) | DRF, MMF, HES, and RDC-8439:<br>10 and 100 µmol/L | Non-GLP | 2.6.7.17F |



*新薬承認情報提供時に置き換え

DMF = dimethyl fumarate; DRF = diroximel fumarate; GLP = Good Laboratory Practice; hERG = human ether-a-go-go related gene; HES = 2-hydroxyethyl succinimide; HU = hydroxyurea; MMF = monomethyl fumarate; S9 = postmitochondrial fraction; T-CFC = T-lymphocyte colony forming cell; TK = toxicokinetics.
[a] Supplemental studies from the DMF (Tecfidera) program.
[b] Studies have been submitted at the filing of Tecfidera in Japan.

## 1.3 非臨床試験計画の考慮事項

DRFの承認申請を裏付ける非臨床試験は、以下の米国食品医薬品局（FDA）、欧州医薬品庁（EMA）及び医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン（又はそれ以前のバージョン）に従って実施された。

- ICH S2(R1) 医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンス［ICH 2011］
- ICH M3(R2) 医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス［ICH 2009］
- ICH S5(R2) 医薬品の生殖毒性検索のための試験法ガイドライン［ICH 2000a］
- ICH S1B 医薬品のがん原性を検出するための試験に関するガイダンス［ICH 1997］
- ICH S1C(R2) 医薬品のがん原性試験に関するガイドライン［ICH 2008］
- ICH S3A トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンス［ICH 1994］
- ICH S7A 安全性薬理試験ガイドライン［ICH 2000b］
- ICH S7B ヒト用医薬品の心室再分極遅延（QT 間隔延長）の潜在的可能性に関する非臨床的評価［ICH 2005］
- FDA Guidance for Industry: Assessment of Abuse Potential of Drugs [FDA 2010]; [FDA 2017]
- FDA Guidance for Industry: Drug Interaction Studies — Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations [Draft] [FDA 2012]
- European Medicines Agency (EMA) CPMP/EWP/560/95 Rev. 1: Guideline on the investigation of drug interactions [EMA (CPMP/EWP/560/95/Rev. 1) 2012]
- FDA Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation [FDA 2001]
- FDA Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation [FDA 2018]
- EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev.1: Guideline on bioanalytical method validation [EMA (EMEA/CHMP/EWP/192217/2009) 2011]

### 1.3.1 動物種の選択

In vivo 非臨床安全性試験に使用した動物種は、一般毒性（ラット及びサル）、遺伝毒性（ラット）、がん原性（ラット及びrasH2 トランスジェニック［Tg］マウス）及び生殖発生毒性（ラット

及びウサギ）試験において使用経験のある動物種と一致している。DMF の安全性評価にも同じ動物種が使用されたが、DMF の一般毒性評価にはイヌの試験も含まれ、また、マウスのがん原性試験は Tg モデルではなく 2 年間試験であった。DRF の安全性評価に用いたすべての非臨床試験における動物種で、MMF、HES 及び RDC-8439 を含む DRF の代謝物の臨床曝露量は十分にカバーされた。

### 1.3.2 高用量の設定根拠

GLP 非臨床安全性試験の高用量の選択は ICH ガイドラインに従った。一般毒性試験及びがん原性試験の高用量は、用量設定試験又はテクフィデラ申請に使用した GLP 試験から選択し、最大耐量のアプローチに基づいて設定した［ICH 2008］；［ICH 2009］。用量及び動物種の選択を含むがん原性試験のデザインは、ICH S1B［ICH 1997］及び ICH S1C (R2)［ICH 2008］に示された原則に基づいて作成し、FDA のがん原性評価委員会の勧告も取り入れた。安全性薬理試験の高用量は、ラット［AT-5108-05 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-3）及びサル［AT-5108-07 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-7）2 週間反復投与毒性試験と同じ用量を選択した。In vivo ラット小核／コメット試験［AT-5108-23 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.2-1）では、最大耐量のアプローチに基づいて用量設定試験より高用量を選択した。生殖発生毒性試験の高用量は、ICH S5(R2)ガイドライン［ICH 2000a］に従い、親動物にごく軽度の毒性が発現する用量を選択した。すべての非臨床安全性試験で、用量反応関係を明らかにするための低及び中用量を選択した。

安全性薬理試験及び毒性試験の試験デザインの詳細はそれぞれ M2.6.2 及び M2.6.6 に示す。

# 2 薬理試験

DRF、MMF 及び HES を用いた効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験結果の概要を示し、DRF 及び代謝物の薬理作用評価の概要を示す。

効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験結果より、以下のことが示された。

- DRF は、Lewis ラット実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）モデルを用いた in vivo 評価で、MMF 及び DMF と同程度の有効性を示した。
- HES は、[redacted] 社アッセイパネル及び DiscoverX 社の BioMAP® Diversity PLUS アッセイパネルを用いた in vitro 評価で生物学的に不活性であり、in vivo で MMF の生物学的活性に影響を及ぼさなかった。
- DRF は、in vivo の安全性薬理試験で、心血管系、呼吸系及び神経行動に対して許容可能な安全性プロファイルを示した。
- In vitro 安全性薬理試験で、DRF、MMF 及び HES が hERG チャネル電流を阻害する可能性が低いことが示された。
- 薬物乱用性に関連する受容体を含む in vitro アッセイパネルで、DRF、MMF 及び HES の活性は認められず、薬物乱用性は認められなかった。DRF は、ラットの機能観察総合評価（FOB）及び反復投与毒性試験で、中枢神経系及び神経行動に対する作用を示さなかった。

DMF と同様に、DRF は、全身循環に入る前にエステラーゼにより加水分解され、その薬理作用は急速に生成される主活性代謝物 MMF によって引き起こされる。MMF はトリカルボン酸（TCA）回路を介してさらに代謝される。したがって、MMF の生成及びクリアランスにはチトクローム P450（CYP）酵素系は関与しない。さらに、MMF は主要なトランスポーターと相互作用しないことが示唆されている。MMF はアルブミンに結合するが、その結合率は低い。これらの MMF の吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）特性から、投与された他の薬剤が MMF の薬理作用を阻害する可能性は低いと考えられ、薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。一方、主不活性代謝物の HES が MMF の薬理作用に及ぼす影響については評価し（2.1 項及び 2.2 項に記載）、試験結果はモジュール 4.2.1.1 効力を裏付ける試験及びモジュール 4.2.1.2 副次的薬理試験に添付した。

## 2.1 効力を裏付ける試験

DMF 及び活性代謝物である MMF の薬理作用の機序は文献により広範に評価されている（M2.7.2.5）。DMF 及び MMF は、動物及びヒトの in vitro 及び in vivo 試験で nuclear factor erythroid-derived 2-like 2（Nrf2）経路を活性化することが示されており［Brennan 2015］;［Brennan 2017］;［Gopal 2017］;［Peng 2016］。DRF は DMF と同様、マウスで Nrf2 経路を活性化する［RSCH-20[redacted]-018 試験］（添付資料番号 4.2.1.1-2）。Nrf2 経路は酸化ストレスに対する細胞応答に関与している。また、MMF は in vitro でニコチン酸受容体 GPR109A 作動薬として同定されている。

DRF の作用を標準的な EAE 非臨床モデルで同定し、DRF 及び主代謝物である HES の薬理学的特性を評価した。さらに、DRF をヒトに経口投与後、活性代謝物 MMF よりも高濃度の HES が全身循環する（M2.7.1）ことから、HES の MMF の作用に対する影響を評価した。MS の病態モデルである Lewis ラット EAE モデルで、MMF の濃度時間曲線下面積（AUC）曝露量が同程度とな

る用量を設定し、DRF の作用を DMF 及び MMF の作用と比較検討した（M2.6.2）。本試験の結果から、DRF 投与は、MMF 投与及び DMF 投与と同程度の疾患重症度の有意な低下を引き起こすことが示された。さらに、HES の曝露量が MMF 曝露量の 12 倍であったことから、このモデルで HES は MMF の治療効果に影響を及ぼさないことが示された［LSC[redacted]-069 試験］（添付資料番号 4.2.1.1-1）。

MS 患者の定常状態で、MMF に対する HES の最高血漿中濃度（$C_{max}$）及び AUC は、それぞれ 6.6 倍及び 21 倍高かった［M2.7.2.2.10、ALK8700-A301 試験］。これらの比率は非臨床試験で認められた比率と類似しており、ラットを用いた試験［LSC17-033 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-2）；［AT5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）；［AT-5108-15 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-5）のすべての用量で、MMF に対する HES の平均 $C_{max}$ 比は 2.6～5.7 の範囲で、平均 AUC 比は 11.7～39.6 の範囲であった。非臨床と臨床の曝露量比の類似性から、HES は臨床でも MMF の作用を阻害しないことが予測される。

## 2.2 副次的薬理試験

DRF、MMF 及び HES の副次的薬理試験を実施し、これらの in vitro での作用を評価し、HES が MMF の作用に及ぼす影響を検討した（M2.6.2）。DRF（10 µmol/L）及び HES（300 µmol/L）は、標準的な [redacted] 社アッセイパネルの受容体・酵素・トランスポーターに対して顕著な結合及び阻害作用を示さなかった［AT-5108-01 試験］（添付資料番号 4.2.1.2-1）及び［AT-6567-01 試験］（添付資料番号 4.2.1.2-2）。同様に、MMF（10 及び 30 µmol/L）も、同様のアッセイパネルに対して結合及び阻害作用を示さなかった。

さらに、DiscoverX 社の BioMAP® Diversity PLUS アッセイパネルを用いてそれぞれ最大 450 µmol/L までの濃度で HES 単独及び MMF との併用により、HES 単独の作用及び MMF の作用に及ぼす HES の影響を評価した。HES は in vitro で単独で作用を示さず、MMF の作用に影響を及ぼさないことが示された［ALK003-02-b-00001-000-00 試験］（添付資料番号 4.2.1.2-3）。以上より、HES は in vitro で薬理作用を示さず、MMF の作用に影響を及ぼさないと判断された。

## 2.3 安全性薬理試験

DRF は、GLP 適用下で心血管系、呼吸系及び神経行動に対する安全性を、in vitro 及び in vivo 薬理試験で評価した。また、心血管系に対する作用は、サルを用いた反復投与毒性試験の一般毒性評価にも組み入れて評価した（M2.6.6.3）。さらに、GLP 適用下でヒト主代謝物である MMF 及び HES の作用を in vitro の hERG 試験で評価した。

In vitro 安全性薬理試験では、hERG 試験で、DRF［AT5108-02 試験］（添付資料番号 4.2.1.3-1）、ヒト主活性代謝物 MMF［PD03-21 試験］（テクフィデラ申請資料）及びヒト主不活性代謝物 HES［AT-6567-02 試験］（添付資料番号 4.2.1.3-2）の作用を別々に評価した。In vivo 試験では、カニクイザル又は Sprague Dawley ラットに DRF を単回経口投与し、心血管系に対する作用［AT5108-08 試験］（添付資料番号 4.2.1.3-3）、呼吸系に対する作用［AT-5108-09 試験］（添付資料番号 4.2.1.3-5）及び神経行動に対する作用［AT5108-10 試験］（添付資料番号 4.2.1.3-4）を評価した。

以下の項及び表 2 に、in vivo 安全性薬理試験の結果及び DRF のヒト最大推奨臨床用量

（MRHD）924 （462 1 日 2 回［BID］）mg/日［ALK8700-A107 試験］に対する相対曝露量を記載した。安全性薬理試験から得られた所見及び全身曝露量の包括的な要約は、M2.6.2.7 表 6 に示した。

非臨床安全性薬理試験の結果から、DRF の心血管系、呼吸系及び神経行動に対する安全性プロファイルは許容可能であることが示された。

### 2.3.1 心血管系に対する作用

DRF、主活性代謝物である MMF 及び主不活性代謝物である HES は、いずれも *in vitro* で hERG イオンチャネルを阻害しなかった（DRF 及び HES の 50%阻害濃度［$IC_{50}$］は 300 µmol/L 超、MMF の $IC_{50}$ は 1500 µmol/L 超）（M2.6.2.4.1）。DRF、HES 及び MMF の各 $IC_{50}$ 値を DRF の MRHD での各臨床 $C_{max}$ 値［ALK8700-A107 試験］と比較すると、DRF は経口投与後速やかに MMF に変換され血漿中で定量できないため比較できないが、HES 及び MMF の濃度比はそれぞれ約 4 倍及び 120 倍であった（M2.6.2.6.2.1）。DRF、HES 及び MMF の hERG 試験結果から、DRF の MRHD で、心拍数で補正した QT 間隔（QTc）がヒトで延長する可能性は低いことが示唆された。

サルを用いた単回投与の心血管系に対する安全性薬理試験［AT-5108-08 試験］（添付資料番号 4.2.1.3-3）で、DRF の MRHD での MMF 及び HES の臨床曝露量［ALK8700-A107 試験］のそれぞれ 30 倍以上及び 7 倍以上の曝露量（AUC 及び $C_{max}$）で、軽微な QTc 延長が統計学的に有意に認められた。サルを用いた一般毒性試験で、DRF の反復投与の QTc に対する作用を評価した。2 週間投与試験では、高用量群（400 mg/kg）の雌で統計学的に有意な軽度の QTc 延長が認められ［AT-5108-07 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-7）、同用量を投与した心血管系に対する安全性薬理試験の結果と一致した。AT-5108-07 試験で MMF 及び HES の曝露量（AUC 及び $C_{max}$）は、DRF の MRHD での臨床曝露量［ALK8700-A107 試験］のそれぞれ 32 倍以上及び 5 倍以上であった。また、その後に実施したサルの 91 日間投与試験［AT-5108-14 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-8）及び 39 週間投与試験［AT5108-16 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-9）では、MMF の曝露量（AUC 及び $C_{max}$）は臨床曝露量［ALK8700-A107 試験］のそれぞれ 15 倍以上及び 9 倍以上、HES の曝露量（AUC 及び $C_{max}$）は臨床曝露量［ALK8700-A107 試験］のそれぞれ 4 倍以上及び 3 倍以上であったが、いずれの用量でも QTc に対する作用は認められなかった。安全性薬理試験及び一般毒性試験で認められた QTc の変化は DRF の投与に関連するものであったが、変化の程度が 10%未満であったことから生理的意義はないと考えられる［Ando 2005］。

QT/QTc 試験を含む完了した臨床試験の解析から、DRF 投与はヒトの $QT_c$ に対して臨床的に意義のある影響を及ぼさないことが示された。これらの結果は M2.7.2.3.6 に要約している。

### 2.3.2 呼吸系及び神経行動に対する作用

最大 600 mg/kg までの DRF 投与で、ラットの呼吸系及び神経行動学的パラメータに対する作用は認められず、DRF の MRHD での MMF 及び HES の臨床曝露量［ALK8700-A107 試験］に比較して、600 mg/kg 投与の $C_{max}$ 値はそれぞれ 29 倍及び 14 倍、AUC 値はそれぞれ 14 倍及び 8 倍であった。

# 3 薬物動態

本項では、DRF 及びその代謝物である MMF、HES、並びに RDC-8439 を評価するための非臨床での分析方法、並びに ADME 試験の概要を示す。

動物種間の比較及び反復投与毒性試験に使用する動物種の選択が適切であることを裏付けるため、PK 及び TK 評価を実施した。承認取得のための試験として、DRF、MMF 及び主不活性代謝物の HES を非臨床安全性試験で直接測定し（M2.6.2 及び M2.6.6）、若しくは、既存の試験（ウサギ）又はラット及びサルを用いて実施した PK 試験から HES の曝露量を推定した。

薬物相互作用（DDI）に関連する CYP 及びトランスポーターに関する一連の in vitro 試験を実施し、併用薬の体内動態に関与する酵素及びトランスポーターに DRF、MMF、HES 及び RDC-8439 は影響を及ぼさないとの結論を得た。

全体として、非臨床評価で DRF 及びその代謝物の ADME 特性が適切に特徴付けられ、DRF の開発が裏付けられた。

## 3.1 分析方法

非臨床試験において、マウス、ラット、ウサギ及びサルの血漿中 DRF 及びその代謝物である MMF、HES 並びに RDC-8439 の定量は、[redacted]（[redacted]、[redacted]、USA）及び [redacted]（[redacted]、[redacted]、USA）により開発され、バリデーションを実施した生体試料分析法を用いて実施した。すべての GLP 試験の試料分析は、バリデーション済みの液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC-MS/MS）法を用いて実施し、バリデーションは FDA 及び EMA の Guidance for Industry on Bioanalytical Method Validation［EMA（EMEA/CHMP/EWP/192217/2009）2011］;［FDA 2001］に従った。

バリデーションにより、各試験法の感度、選択性、正確性及び再現性が確認された。分析対象物質の安定性は、試料処理中及び長期保存中に確認され、すべての実試料はバリデーションし確認された長期安定期間内で分析された。

非臨床試験で使用した DRF、MMF、HES 及び RDC-8439 のすべての血漿中薬物濃度分析法の詳細は、M2.6.4.2.1 に示す。

ラット及びサルの検体を用いた HES 測定法の開発は困難であったため、初期の非臨床 PK 及び TK 試験では、DRF、MMF 及び RDC-8439 の濃度測定のみを行ったが、その後の試験では血漿中 HES 濃度も測定した。HES 未測定の試験では、後日、同じ動物種（この測定法はウサギにも適用可能であった）を用いた別試験又は GLP 適用下のラットを用いた PK 試験［M2.6.4.3.2.3、AT-5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）及びサルの試験［M2.6.4.3.3.1、AT5108-28 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-4）で得られた曝露量を線形に外挿することで、HES の全身曝露量を推定した。

すべての動物種の血漿試料は抗凝固剤のエチレンジアミン四酢酸二カリウム（$K_2$EDTA）で調製した。ラット及びサルの血漿中 DRF を安定化させるため、10 mmol/L ジクロルボス、10 mmol/L クエン酸及び 1%ギ酸を添加した。また、DRF を安定化させるため、ウサギ血漿に 10 mmol/L クエン酸及び 1%ギ酸を添加し、マウス血漿には 4 mol/L クエン酸：ギ酸 = 1:1 を添加した。

すべての試験を通して、分析ではタンパク質沈殿法を用い、内標準物質として DRF では塩酸プロプラノロール、RDC-8439 と MMF では重水素標識 MMF（MMF-$D_3$）、HES では N-マレイミドメタノールを用いた。GLP 適用下の毒性試験で得られたすべての TK 試料の分析を、確認された長期安定性試験の期間内で実施した。

試験を通して、実試料再分析（ISR）は、それぞれバリデートされた分析法［EMA（EMEA/CHMP/EWP/192217/2009）2011］;［FDA 2018］;［Fluhler 2014］で少なくとも 1 回実施した。

MMF 及び HES の ISR は、判定基準に適合した。当初、MMF 及び RDC-8439 について［AT-5108-05 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-3）（ラット）及び［AT-5108-07 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-7）（サル）でのみ ISR を実施する計画であった。しかし、ISR 分析の試料数の要件を満たすために、ラット及びサルを用いた複数の試験で ISR を実施した結果、ラット血漿を用いた一部の ISR で、RDC-8439 は判定基準を満たさなかった［AT-5108-13 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-4）;［AT-5108-25 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.6-1）。RDC-8439 の ISR が不適合であったことについて調査したところ、元の分析と ISR では希釈率が異なることが原因であった。定量上限を超える MMF の濃度の場合は試料を希釈した。元の分析及び ISR の両方で同一の希釈率での値が得られた試料のサブセットについては ISR が合格したことから、希釈率が原因であることが確認された。

DRF、MMF 及び RDC-8439 についてバリデートされた分析法を用いて試料を分析したときに実試料中に最も多く認められた分析対象物質は、MMF であったことから、ISR 試料は MMF 濃度に基づいて選択した。DRF については、すべての試料が低濃度の quality control（LQC）濃度未満、又は DRF については LQC を超える濃度で測定された試料数が不十分であったため、ISR を実施しなかった。マウスを用いた非臨床安全性試験［AT-5108-29 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-1）;［AT-5108-31 試験］（添付資料番号 4.2.3.4.2-1）の TK では、検体量が不十分であったため ISR を実施しなかった。そこで、同系統のマウスで単回投与試験を実施し［AT-5108-37 試験］（添付資料番号 4.2.2.1-3）、ISR の評価に適した広い濃度範囲で測定可能な分析対象物質（MMF、HES 及び RDC-8439）の血漿中濃度を得た。本試験では、HES と MMF の実試料の再現性を検証した（M2.6.4.2.1.1）。

## 3.2 吸収

ラット及びカニクイザルに DRF を単回又は反復経口投与し、MMF、HES、RDC-8439 及び DRF の全身吸収を検討した［LSC17-033 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-2）;［AT-5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）;［AT-5108-28 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-4）。ラット及びサルで、DRF は in vivo で速やかに MMF（主活性代謝物）、HES（主不活性代謝物）及び RDC-8439（マイナーな代謝物）に変換されたが、DRF の血漿中濃度は測定されず、RDC-8439 は低濃度であった。そのため、PK 解析では MMF 及び HES の血漿中濃度を用いて PK 解析を行った。Caco-2 細胞における in vitro での透過性データから、透過性の順位は HES＞DRF＞RDC-8439 であり、HES に比べて DRF 及び RDC-8439 の吸収能は低いことが示唆された［XT[redacted]8097 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-1）。ラット及びサルに DRF を経口投与すると、MMF 及び HES の全身曝露量及び $C_{max}$ が用量依存的に増加した。ラット及びサルに DRF を 1 日 1 回 5 日間投与したとき、投与した全用量で MMF 及び HES の蓄積は認められない、あるいはわずかであった（累積係数 1.5 未満）［AT-5108-27 試験］（添付

資料番号 4.2.2.2-3）；［AT-5108-28 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-4）。ラット及びサルでの HES の血漿中曝露量（AUC 及び $C_{max}$）は、ヒトのデータと同様に、MMF の曝露量よりも大きかった（範囲：7.16 から 39.6）。MMF 標識及び promoiety 標識の[$^{14}$C]-DRF をラットに単回経口投与後の総放射能の PK から、速やかな吸収と平均総放射能 $C_{max}$ が同程度であることが示された［032357 試験］（添付資料番号 4.2.2.5-1）。

## 3.3 分布

Long-Evans ラットを用いた定量的全身オートラジオグラフィー試験で、MMF 標識[$^{14}$C]-DRF 関連放射能は脳及びメラニン含有組織を含む多くの組織に広く実質的に分布し［RPT03551 試験］（添付資料番号 4.2.2.3-1）、このことから、DRF はメラニンに結合する可能性が示された。promoiety 標識の[$^{14}$C]-DRF 投与群では、脳内への HES の蓄積は認められず、総放射能に基づくと脳内の HES 曝露量は末梢コンパートメントよりも低かった。マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿並びにヒト血漿成分（ヒト血清アルブミン及び $\alpha_1$-酸性糖タンパク質）での MMF 及び HES のタンパク結合率は低かった（28%以下）［RPT3644 試験］（添付資料番号 4.2.2.3-2）。MMF 及び HES の濃度依存的な結合は認められなかった。

## 3.4 代謝

ヒト肝及び腸の生体由来試料で、DRF は補酵素の非存在下で MMF、HES 及び RDC-8439 に速やかに変換されたことから、DRF の代謝には CYP 酵素は関与せず、ヒドロラーゼ／エステラーゼが関与している可能性が示唆された［XT[redacted]4113 試験］（添付資料番号 4.2.2.4-1）。非臨床試験及び臨床試験のいずれでも DRF は測定可能な濃度ではなかったことから、in vivo でも、DRF がこれらの代謝物に速やかに変換されることも明らかであった。ヒト肝ミクロソームで、HES は代謝的に安定であった（4%～8%の消失）のに対し、RDC-8439 は速やかに代謝された（67%～100%）。これらの結果は in vivo の観察結果とよく一致しており、in vivo では高濃度の HES が観察されたが、RDC-8439 は一部の測定時点でしか測定できなかった。

ラットに promoiety 標識の[$^{14}$C]-DRF を投与した後の in vivo 代謝物試験から、測定可能な放射性代謝物は HES のみであることが示された［032357 試験］（添付資料番号 4.2.2.5-1）。MMF 標識[$^{14}$C]-DRF 投与のラット血漿試料では、グルコースが主要な放射性成分であり、このことは DMF の既知の結果と一致する［P00012-07-03 試験］（テクフィデラ申請資料）。ラット尿中での promoiety 標識及び MMF 標識[$^{14}$C]-DRF の主代謝物は、それぞれ HES（放射能の 75%）及び MMF（放射能の 12.33%）のみであった［032357 試験］（添付資料番号 4.2.2.5-1）。DRF の推定代謝経路を図 1 に示す。

## 3.5 排泄

DRF は主に MMF、HES 及び RDC-8439 への代謝を介して消失する。ラットでは、MMF 標識[$^{14}$C]-DRF 関連放射能は主に呼気中（$CO_2$ として 35.91%）、次いで尿中に排泄され（14.69%）、尿中の主代謝物は MMF であった（12.33%）。promoiety 標識[$^{14}$C]-DRF 投与群では、放射能は尿中に排泄され（75.75%）、尿中の主代謝物は HES（75.16%）であり、腎クリアランスが主な排泄経路と考えられた［032357 試験］（添付資料番号 4.2.2.5-1）。RDC-8439 は一部の測定時点でしか測定できな

かった。したがって、その排泄については検討しなかった。

## 3.6 薬物動態学的薬物相互作用

DRF、MMF、HES 及び RDC-8439 の DDI を検討するため、一連の in vitro 試験を実施した。DRF 及びその代謝物（HES、RDC-8439 及び MMF）は in vitro で Caco-2 細胞を能動的に通過せず［XT[redacted]8097 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-1）；［P00012-10-04 試験］（テクフィデラ申請資料）、吸収率が高い可能性が示唆された。

ヒト肝細胞及びヒト肝ミクロソームを用いて実施した CYP 誘導及び阻害試験に基づき、DRF が CYP を介した DDI を引き起こす可能性は低いと考えられた。DRF は、ヒト肝ミクロソーム中の主要な CYP 酵素（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5）に、臨床的に意義のある直接的、時間依存的、及び代謝依存的な阻害作用を示さなかった［XT[redacted]5135 試験］（添付資料番号 4.2.2.6-4）。DRF を処置したヒト肝細胞を用いた試験では、CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4 活性又は CYP のメッセンジャーリボ核酸（mRNA）に臨床的に重要な誘導は認められなかった［XT[redacted]3079 試験］（添付資料番号 4.2.2.6-2）。いずれの増加も再現性がない、濃度依存性がない、あるいは適切な陽性対照の 20%未満であった。DRF は in vitro で P 糖タンパク質（P-gp）を阻害した。追加で実施された臨床 DDI 試験の結果では、DRF が in vivo では P-gp を阻害しないことが示された。DRF は腸管輸送体乳癌耐性タンパク質（BCRP）の基質でも阻害剤でもなかった。

ヒト肝細胞及び遺伝子組換えヒト CYP 分子種を用いて実施した CYP 誘導及び阻害試験、P-gp 試験、並びに MMF のタンパク結合特性に基づくと、MMF が CYP を介して DDI を引き起こす可能性は低いと考えられた。また、MMF は臨床での濃度で CYP2D6 及び CYP3A4 に対する阻害作用を示さず、MMF の誘導能は低いと考えられた［P00012-04-13 試験］（テクフィデラ申請資料）；［P00012-04-14 試験］（テクフィデラ申請資料）。また、他の CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A4）に対する阻害作用の $IC_{50}$ は 50 µmol/L を上回ったことから、MMF で CYP 阻害を介する DDI の可能性は低いことが示唆された［PD05-28 試験］（テクフィデラ申請資料）；［PD00012-10-03 試験］（テクフィデラ申請資料）。MMF は in vitro で P-gp の基質でも誘導剤でもなかった［P00012-10-04 試験］（テクフィデラ申請資料）；［P00012-06-03 試験］（テクフィデラ申請資料）；［P00012-06-05 試験］（テクフィデラ申請資料）。MMF は P-gp、BCRP、有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1、OATP1B3、有機アニオントランスポーター（OAT）1、OAT3、有機カチオントランスポーター（OCT）1、OCT2、多剤・毒性排出トランスポーター（MATE）1、MATE-2K を阻害しなかった［P00012-06-03 試験］（テクフィデラ申請資料）；［P00012-12-03 試験］（テクフィデラ申請資料）；［P00012-12-05 試験］（テクフィデラ申請資料）；［P00012-12-06 試験］（テクフィデラ申請資料）。

ヒト肝細胞及びヒト肝ミクロソームを用いて実施した CYP 誘導及び阻害試験に基づくと、HES が CYP を介した DDI を引き起こす可能性は低いと考えられる。HES は、ヒト肝ミクロソーム中の主要な CYP 酵素（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5）に、臨床的に意義のある直接的、時間依存的及び代謝依存的な阻害作用を示さなかった［XT[redacted]A014 試験］（添付資料番号 4.2.2.6-1）。ヒト肝細胞で、HES は CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4 活性又は CYP の mRNA に対して臨床的に重要な誘導は認められなかった［XT[redacted]3079 試験］（添

付資料番号 4.2.2.6-2)。HES は in vitro で P-gp の基質又は誘導剤ではなく、in vitro で P-gp の阻害作用を示さなかった［XT[redacted]8097 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-1）；［[redacted]ALKRP1R3 試験］（添付資料番号 4.2.2.6-5）。HES は、BCRP 及び肝取り込みトランスポーターである OATP1B1、OATP1B3、OCT1 の基質でも阻害剤でもなく、腎分泌のメディエーター（OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 又は MATE2-K）でもなかった［Alkermes-01-[redacted]20[redacted] 試験］（添付資料番号 4.2.2.6-3)。

ヒト肝細胞及びヒト肝ミクロソームを用いて実施した CYP 誘導及び阻害試験に基づき、RDC-8439 が CYP を介した DDI を引き起こす可能性は低いと考えられた。RDC-8439 は、ヒト肝ミクロソームの主要な CYP 酵素（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5）に対して、臨床的に意義のある直接的、時間依存的、代謝依存的な阻害を示さなかった［XT[redacted]A014 試験］（添付資料番号 4.2.2.6-1)。ヒト肝細胞で、RDC-8439 は CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4 活性又は CYP の mRNA に対して臨床的に重要な誘導は示さなかった［XT[redacted]3079 試験］（添付資料番号 4.2.2.6-2)。また、RDC-8439 は in vitro で P-gp の基質又は誘導剤ではなく、in vitro で P-gp を阻害しなかった［XT[redacted]8097 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-1）；［[redacted]ALKRP1R3 試験］（添付資料番号 4.2.2.6-5)。RDC-8439 は BCRP の阻害剤ではなく基質である可能性があったが、膜透過性が低く、実際の排出比に大きなばらつきがあることから、これらの結果が臨床的に及ぼす影響はごくわずかであると予想される［Alkermes-01-[redacted]20[redacted] 試験］（添付資料番号 4.2.2.6-3)。

全体として、本試験の結果から、CYP 又はトランスポーターの相互作用に起因する DRF、HES、RDC8439 及び MMF の臨床における DDI の可能性は低いことが示唆された。

# 4 毒性試験

DRF の毒性試験で得られた所見、並びにその主代謝物である MMF 及び HES の全身曝露量を以下の項及び表 3 に記載し、MRHD（924［462 BID］mg/日）の DRF を投与したときのそれぞれの曝露量と関連した所見を記述する。毒性所見及び全身曝露データのより包括的な要約は M2.6.6 の表 2～表 6 に示す。

DRF の毒性試験の結果から、以下が示された。

- DRF 関連所見のパターンは DMF で認められたものと類似したか、又はフマル酸エステルの既知の薬理作用と一致した。
- 一般毒性試験では、腎臓、消化管、心臓、骨及び精巣が標的器官として特定された。幼若ラットでは、腎臓、消化管及び骨が標的器官として特定された。
- 遺伝毒性試験では、DRF は in vitro 変異原性が陰性、in vitro 染色体異常誘発性が陽性、in vivo 染色体異常誘発性及びデオキシリボ核酸（DNA）損傷が陰性であった。MMF 及び HES はいずれも in vitro 変異原性及び染色体異常誘発性が陰性であった。
- DRF はラットの受胎能に影響を及ぼさなかった。DRF はラット及びウサギに催奇形性を示さず、臨床的に適切な用量でラットの出生前及び出生後の発生に影響を及ぼさなかった。母動物毒性用量では、DRF はラット及び／又はウサギの胚・胎児の骨格変異及び異常、並びに出生児の出生時体重及び離乳前期間の体重／体重増加量の減少と関連した。幼若ラットでは、DRF は神経行動、精子及び性周期パラメータ、並びに生殖能及び交配結果に影響を及ぼさなかった。
- DRF は rasH2-Tg マウスでがん原性を示さず、ラットがん原性試験では精巣ライディッヒ細胞腺腫の発生率を増加させた。
- リンパ球減少及び PML の発症機序を検討するために、DMF の市販後に実施した DMF 及び MMF の探索試験では、RRMS 患者におけるこの所見に対する意味のある知見は得られなかった。

独立した単回投与毒性試験は実施しなかったため、M4.2.3.1 に単独の単回投与毒性試験を含めていない。DRF の忍容性は、マウス、ラット、及びサルの用量設定試験における 5 日間投与の急性曝露後に評価され、その後の長期反復投与試験で検討する用量を選択するための情報が十分に得られた。また、サル 5 日間用量設定試験では、試験デザインに単回投与試験も含めた。

## 4.1 DRF の全身毒性

### 4.1.1 腎臓

腎臓は、病理組織学的所見（再生を伴う尿細管変性／壊死、尿細管肥大及び／又は間質線維化）、腎臓重量の増加、並びに尿量、尿比重、及び腎障害バイオマーカーの変化を含む腎機能変化を示唆する臨床検査パラメータの変化に基づき、ラット及びサルにおける標的器官として特定された。ラット 26 週間試験［AT-5108-15 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-5）では、これらの尿中バイオマーカーとして、kidney injury molecule-1（KIM-1）、neutrophil gelatinase-associated lipocalin（NGAL）、アルブミン及び／又はオステオポンチン／クレアチニン比の増加が認められた。サル

39 週間試験［AT-5108-16 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-9）では、尿中バイオマーカーとしてアルブミン、NGAL、及び／又はシスタチン C／クレアチニン比の増加が認められた。病理組織学的変化に伴って腎機能変化を示唆する臨床検査値の変化が認められた場合に、腎臓所見を毒性と判断した（13 週間以上の試験）。腎臓の病理組織学的変化は、ラット及びサルの短期試験（2 週間など）でも認められたが、重症度が限定的で可逆的であり、関連する機能的な臨床検査値の変化がみられなかったことから、毒性ではないと判断した。

長期反復投与毒性試験では、腎臓に毒性所見が認められた用量における MMF 及び HES の曝露量（AUC）は、MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のサルでそれぞれ約 3 倍及び 1.1 倍、ラットでそれぞれ約 1.3 倍以上及び 1.4 倍以上であった。MMF の臨床曝露量で認められた動物の腎毒性は、DMF で認められた非臨床所見と一致している（テクフィデラ申請資料）。

rasH2-Tg マウスの同腹の野生型における腎臓所見は、DRF の 28 日間投与後に MMF 及び HES の曝露量（AUC）が MRHD を投与したときの臨床での曝露量と同程度以上で、腎臓重量増加及び腎皮質尿細管上皮細胞の軽微～軽度肥大が雌に認められた。しかしながら、尿細管変性／壊死及びその他の糸球体病変は認められなかった。したがって、これらの所見は適応性変化と考えられた。rasH2-Tg マウス 26 週間試験［AT-5108-31 試験］（添付資料番号 4.2.3.4.2-1）では腎毒性は認められなかったことから、マウスでは明らかな腎毒性がみられなかったことは、試験期間が比較的短期間であったことと関連しないと考えられる。

### 4.1.2 消化器系

げっ歯類（ラット及び rasH2-Tg マウスと同腹の野生型）における摂餌量減少を伴う用量依存的な体重減少及びサルにおける嘔吐は、DRF によって引き起こされる消化管刺激に起因した。ラット及びマウスにおける病理組織学的変化（前胃及び／又は十二指腸の粘膜過形成）に基づき、上部消化管が標的器官として特定された。サルでは、用量設定試験で高用量の DRF を投与したときの胃に病理組織学的変化が認められたが、これらの所見はその後のより長期の試験では認められなかった。用量設定試験における消化管関連の一般状態所見及び体重／摂餌量所見と剖検及び病理組織学的所見との関連が、高用量の DRF 投与動物に認められた。しかし、用量設定試験後の本試験では、一般状態及び体重／摂餌量の変化に関連する病理組織学的所見は認められなかった。

ラット及びマウスの胃及び十二指腸の病理組織学的所見は、用量設定試験後の本試験で消化管障害を示唆する関連所見が認められなかったこと、病理組織学的変化は軽度で良性であったこと、及び／又は休薬期間後に回復性が認められたことから、毒性ではないと考えられた。ラットの慢性毒性試験［AT-5108-15 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-5）では、前胃粘膜過形成は、MMF 及び HES の曝露量（AUC）が MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ約 3 倍及び 6 倍であった雄に認められた。この所見は、2 週間試験［AT-5108-05 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-3）及び 91 日間試験［AT-5108-13 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-4）では MMF 及び HES の曝露量が雄と同程度の雌に認められたため、雄に特異的ではなかった。マウス 28 日間試験［AT-5108-29 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-1）では、前胃粘膜過形成は、MMF 及び HES の曝露量（AUC）が臨床曝露量のそれぞれ約 11 倍以上及び 4 倍以上で認められた。

毒性試験では、消化管のその他の組織の病理組織学的変化は一貫していなかった。サルでは、

舌及び食道の上皮過形成が 2 週間［AT-5108-07 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-7）及び／又は 91 日間［AT-5108-14 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-8）投与試験で認められた。これらの所見は休薬期間後に回復し、DRF 投与に対する他の消化管組織の変化（過形成）と一致していた。

### 4.1.3 心臓

ラット 91 日間試験［AT-5108-13 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-4）では、高用量（450 mg/kg）の雄 3 例が Day 54～58 に死亡又は切迫と殺され、死因は心臓の炎症／壊死であった。これらの病理組織学的所見は DRF 関連と考えられ、MMF 及び HES の曝露量は DRF の MRHD での臨床曝露量（AUC）の約 4 倍であった。91 日間試験のその他のラット、より高い用量／曝露量でのより短期（2 週間）の試験、及びやや低い用量／曝露量でのより長期（26 週間）の試験では心臓所見は認められなかった。また、サル毒性試験では、心臓に DRF に関連する病理組織学的所見は認められなかった。フマル酸エステルを反復投与したときに心臓に同様の病理組織学的変化が報告されている。ラットにおける DMF の 2 年間がん原性試験［P00012-04-11 試験］（テクフィデラ申請資料）では、動脈硬化、拡張、鉱質沈着、心膜炎、及び／又は壊死が認められた。

### 4.1.4 骨

サル 91 日間試験［AT-5108-14 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-8）では、高用量（250 mg/kg）で大腿骨近位部及び遠位部並びに脛骨近位部に骨端軟骨異形成が認められ、このときの MMF 及び HES の曝露量は MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量（AUC）のそれぞれ約 15 倍以上及び 4 倍であった。これらの骨の所見は、病理組織学的変化が、血管新生阻害活性を有する化合物（血管内皮細胞増殖因子阻害剤など）を反復投与したときの変化と類似しているため［Patyna 2008］；［Ryan 1999］、フマル酸エステルで報告されている血管新生阻害活性に関連する可能性がある［Arbiser 2011］；［García-Caballero 2011］。さらに重要なこととして、250 mg/kg で観察された毒性、特に消化管毒性（高い嘔吐率、食欲減退、削痩、低体重）の結果としての影響であったことを踏まえると、骨端軟骨の所見は栄養障害に起因した可能性もある［Frazier 2017］；［Guedes 2019］。

AT-5108-14 試験（添付資料番号 4.2.3.2-8）で認められた所見は回復性を示したが、骨端軟骨異形成は 4 週間の休薬期間後も高用量群の 1/4 例で認められた。DRF による同様の骨所見は、サルではより短期（2 週間）の試験のより高い用量／曝露量［AT-5108-07 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-7）又はより長期の試験（39 週間）のより低い用量／曝露量［AT-5108-16 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-9）で認められず、用量／曝露量及び投与期間の両方が骨端軟骨の変化の発現に重要であることが示唆された。また、カニクイザルを用いた DMF の慢性毒性試験［P00012-05-08 試験］（テクフィデラ申請資料）では、骨端軟骨異形成は報告されなかった。サルでは DMF による骨関連所見が認められなかったこと、及び本試験で得られた MMF の全身曝露量（AUC）は、DRF のサル慢性試験［AT-5108-16 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-9）で得られた所見及び MMF の曝露量と一致しており、DRF のサル 91 日間試験で認められた曝露量よりも有意に低かった。

DRF 及び DMF のサル試験データを総合すると、治療用量を超える用量又は高い MMF 曝露量が骨端軟骨異形成の発現に必須であり、その作用発現には時間を要することが示唆される。骨への影響の最も可能性の高い原因は、消化管毒性に続発する栄養不良／体重減少である。

#### 4.1.5 精巣

1000 mg/kg の DRF を 1 日 1 回 28 日間投与した rasH2-Tg マウスと同腹の野生型に、軽微な変性を示す精巣の変化として、巨大精子細胞の出現頻度増加及び精細管内精子細胞の軽微減少が認められた［AT-5108-29 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-1）。これらの所見は精巣の絶対及び相対重量の減少と関連した。また、300 mg/kg 以上で精巣上体管内に細胞残屑の増加がみられたが、これは精巣の重症度の低い変性の下流変化と一致した。精巣／精巣上体の変化が毒性と判断された用量（1000 mg/kg）での MMF 及び HES の曝露量（AUC）は、MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ約 15 倍及び 6 倍であった。精巣毒性（生殖細胞変性、萎縮、精子減少、及び／又は過形成）は、マウス、ラット、及びイヌに臨床用量以上の DMF の用量で認められた［P00012-04-02 試験］（テクフィデラ申請資料）；［P00012-04-03 試験］（テクフィデラ申請資料）；［P00012-05-05 試験］（テクフィデラ申請資料）。

## 4.2 DRF の遺伝毒性評価

DRF が遺伝毒性を有している可能性は低い。

In vitro 遺伝毒性試験の結果、DRF は変異原性を示さなかったが［AT-5108-11 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.1-1）、肝代謝活性化系存在下及び非存在下で染色体構造異常誘発性であることが示された［AT-5108-12 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.1-3）。In vivo 小核／コメット試験［AT-5108-23 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.2-1）では、MMF 及び HES の曝露量（AUC）が MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ 33 倍及び 8 倍まで、DRF は染色体異常誘発性を示さず、十二指腸細胞又は肝細胞の DNA 損傷を誘発しなかった。

また、MMF は細菌を用いる復帰突然変異試験で陰性であり［P00012-08-02 試験］（テクフィデラ申請資料）、ほ乳類細胞を用いる染色体異常試験では肝代謝活性化系の存在下及び非存在下で細胞毒性濃度でのみ弱陽性を示した［P00012-08-03 試験］（テクフィデラ申請資料）。

これらの所見は、DMF において in vitro の細菌及びほ乳類細胞を用いる復帰突然変異試験では陰性［5403/89 試験］（テクフィデラ申請資料）；［5405/89 試験］（テクフィデラ申請資料）、ほ乳類細胞を用いる染色体異常試験では細胞毒性濃度で陽性［5407/89 試験］（テクフィデラ申請資料）；［P00012-04-16 試験］（テクフィデラ申請資料）、ラット小核試験では in vivo 染色体異常誘発能陰性［P00012-04-04 試験］（テクフィデラ申請資料）であった所見と一致した。

HES は細菌を用いる復帰突然変異試験［P098-20-01 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.1-2）及びほ乳類細胞を用いる染色体異常試験［P098-20-02 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.1-4）のいずれでも陰性であった。

## 4.3 DRF のがん原性評価

FDA の Executive Carcinogenicity Assessment Committee が承認したデザイン／用量を用いて、ラット 2 年間試験［AT-5108-26 試験］（添付資料番号 4.2.3.4.1-1）及び rasH2-Tg マウス 26 週間試験［AT-5108-31 試験］（添付資料番号 4.2.3.4.2-1）により DRF のがん原性を評価した。ラット 2 年間試験では、高用量群（150 mg/kg）の雄に、非腫瘍性腎病変に起因すると考えられる DRF に関

連した死亡率の増加が認められた。また、この用量では精巣のライディッヒ細胞腺腫の発現率増加が認められ、DRF 投与に関連すると考えられた。150 mg/kg での MMF 及び HES の曝露量（AUC）は、MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のいずれも約 2 倍であった。DMF を投与した雄ラットにライディッヒ細胞腺腫が報告されており［P00012-04-11 試験］（テクフィデラ申請資料）、ヒトへの外挿性は疑わしい［Steinbach 2015］。マウス試験では、いずれの用量でも DRF に関連した死亡及び腫瘍発生率の増加は認められなかった。雄マウスに高用量（300 mg/kg）を投与したときの MMF 及び HES の全身曝露量（AUC）は、MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ約 3 倍及び 1 倍であった。高用量（1000 mg/kg）の雌における MMF 及び HES の曝露量は、臨床曝露量のそれぞれ約 13 倍及び 4 倍であった。

DRF のがん原性は、AT-5108-31 試験（添付資料番号 4.2.3.4.2-1）及び AT-5108-26 試験（添付資料番号 4.2.3.4.1-1）により十分に評価されており、DRF、MMF、及び HES を用いた遺伝毒性試験の組合せにより補完されており、他の試験や探索的試験を実施する必要はないと考えられる。

## 4.4 DRF の生殖発生毒性評価

DRF はラットの受胎率に影響を及ぼさなかった。DRF はラット及びウサギに催奇形性を示さず、臨床用量でラットの出生前及び出生後の発生に影響を及ぼさなかった。胚・胎児への影響及び胎児発生への影響は、母動物毒性がある治療用量を上回る用量でのみ認められた。幼若ラットでは、DRF は神経行動、精子及び性周期パラメータ、並びに生殖能及び交配結果に影響を及ぼさなかったが、成熟動物で認められたものと同様の標的器官への影響が示された。

生殖発生毒性試験で DRF の受胎率への影響を評価した結果、最高用量で有害作用は認められず、この用量での MMF 及び HES の曝露量（AUC）は、雄ラット［AT-5108-19 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.1-1）では MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ約 7 倍及び 4 倍、雌ラット［AT-5108-20 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.1-2）では臨床曝露量のそれぞれ約 9 倍及び 4 倍であった。

ラット胚・胎児発生試験［AT-5108-21 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.2-2）では、DRF は胎児体重の減少及び胎児の骨格骨化変異と関連し、MMF 及び HES の曝露量が臨床曝露量のそれぞれ約 10 倍及び 5 倍であった。なお、DMF でも、ラットに母動物毒性がある治療用量を上回る用量で DMF を投与したときに、胎児体重（減少）及び骨格発生（骨化遅延）に同様の影響が認められている［テクフィデラ申請資料］。ウサギ胚・胎児発生試験［AT-5108-22 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.2-4）では、DRF は胎児の骨格異常（椎体異常及び重度の胸骨分節配列異常）と関連し、MMF 及び HES の曝露量（AUC）が MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ約 6 倍及び 2 倍であった。これらの曝露マージンにおける骨格異常の発現率は、試験施設の背景対照範囲内か、わずかに上回った。MMF 及び HES の AUC の高い曝露量（臨床曝露量のそれぞれ約 13 倍及び 4 倍）では、骨格異常に加えて、着床後胚損失率の増加及びそれに伴う平均生存胎児数の減少、並びに発生変異（第 13 肋骨）が認められた。

ラット出生前・出生後発生試験［AT-5108-30 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.3-1）では、高用量（400 mg/kg）で出生児の出生時体重及び離乳前の体重／体重増加量の DRF に関連した減少が認められた。いずれの用量でも離乳後の発生、行動、及び生殖機能に変化は認められなかった。

400 mg/kg での MMF 及び HES の曝露量（AUC）は臨床曝露量のそれぞれ約 10 倍及び 3 倍であった。

幼若ラットの毒性試験［AT-5108-38 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.4-1）では、高用量（600 mg/kg）の DRF に関連した発育遅延、すなわち、体重増加量／体重の減少、発育遅延による雌の膣開口遅延、雌のリンパ球数、雌雄の総 T 細胞、ヘルパーT 細胞、及び細胞傷害性 T 細胞の軽度増加、大腿骨サイズ（雄のみ）、骨量及び骨密度の減少並びに骨形態の変化がみられ、DRF の直接作用に関連する骨所見も認められたが、病理組織学的な関連所見はなかった。中用量（150 mg/kg）では、体重増加量の軽微な変化並びに大腿骨遠位部総スライス面積及び骨量の軽度の減少も認められた。神経行動、精子運動性／精子数/精子形態、性周期、及び周期長、並びに生殖能及び交配結果に対する影響は認められなかった。標的器官への影響は成熟動物で認められた影響と同様であり、600 及び 150 mg/kg で腎臓重量の増加を伴う腎尿細管細胞肥大、並びに 600 mg/kg で前胃の扁平上皮過形成が認められた。これらの標的器官の所見は 600 mg/kg で毒性と判断された。600 mg/kg での MMF 及び HES の曝露量（AUC）は臨床曝露量のそれぞれ約 6～9 倍及び 5～8 倍であった。

## 4.5 不純物及び分解生成物の評価

DRF 原薬中の製造工程由来不純物 *不純物C［[redacted]］の安全性を、Sprague Dawley ラットを用いて DRF を併用投与した 28 日間反復経口投与毒性試験［AT-5108-25 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.6-1）で確認した。その結果、*不純物C 不純物の添加は、DRF に関連する試験パラメータの変化に影響しなかった。本試験の所見に基づき、9 mg/kg の *不純物C 併用又は非併用下での DRF の無毒性量は 600 mg/kg と判断された。DRF/*不純物C を 600/0 mg/kg の用量で反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（$C_{max}$/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 13 倍以上／6 倍以上及び 8 倍／5 倍であった。DRF/*不純物C を 600/9 mg/kg の用量で反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（$C_{max}$/AUC）は、DRF の MRHD における臨床曝露量のそれぞれ 14 倍以上／10 倍以上及び 8 倍／5 倍であった。非臨床試験では不純物 *不純物C の併用又は非併用下で DRF 投与後に曝露がみられたが、臨床試験では測定可能な曝露はみられなかったため、*不純物B の全身曝露比は無限大に近かった。

DRF 原薬中の製造工程由来不純物 *不純物A の判定基準（M3.2.S.4.1）は、臨床試験での最大安全開始用量を規定する原則を用いてラット 2 週間毒性試験により裏付けられた［FDA 2005a］。方法及び計算を付録 A に示す。原薬及び／又は製剤中のその他の不純物／分解物は、それぞれ ICH Q3A (R2)［ICH 2006b］及び ICH Q3B (R2)［ICH 2006a］のガイダンスに従った ICH 限度値で管理する。

## 4.6 リンパ球減少症の検討

リンパ球減少の重要な特定された臨床リスクを、DRF の一般毒性試験により検討した。以下に示すように、マウス、ラット及び／又はサルにおける評価項目に DRF に関連する所見が認められたが、これらの所見の発現に一貫性はなく、有害作用ではないと考えられた。DMF の製造販売承認後に DRF のリンパ球減少の作用機序を検討するため、DMF 及び MMF を対象とした一連の非



*新薬承認情報提供時に置き換え

臨床試験を実施した。しかし、これらの試験では、RRMS 患者におけるこの所見に関する知見は得られなかった。

サルでは、軽度のリンパ球減少が 5 日間用量設定試験［AT-5108-06 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-6）及び 2 週間試験［AT-5108-07 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-7）でのみ認められた。これらの所見は休薬期間後に回復し、DRF 関連及び／又はストレスによる二次的変化であり、毒性所見ではないと考えられた。げっ歯類の試験では、DRF に関連した血中リンパ球数減少は認められなかった。ラット 5 日間用量設定試験［AT-5108-04 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-2）で軽度のリンパ球数増加が認められ、これは胃病変に関連する所見の炎症パターンと一致していた。DMF のラット反復投与試験（2 年間がん原性試験を含む）のいずれにもリンパ球数減少は認められなかった。

Ex vivo 及び in vivo リンパ球フェノタイピング試験では、リンパ球細胞集団に対する DMF/MMF の特異的な影響は認められず、DMF 及び DRF の毒性試験データと一致した。

- Ex vivo 血液毒性試験［PD15-73 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.3-2）では、DMF 及び MMF は、推奨臨床用量での生理的濃度以下又はサルでの最大耐量を超える濃度で、ヒト及びカニクイザルの骨髄及び末梢血の単核細胞由来 T リンパ球コロニー形成細胞に対して細胞毒性を示さなかった。細胞毒性レベルでは、DMF は MMF より強い毒性が認められた。
- サルを用いた DMF 及びヒドロキシ尿素（HU）の 3 ヵ月間併用投与試験［P00012-15-05 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.3-1）では、DMF 単独投与又は DMF と HU の併用投与による末梢血イムノフェノタイピング（総 T 細胞、ヘルパーT 細胞、細胞傷害性 T 細胞、B 細胞、NK 細胞及び単球サブセット）への影響は認められなかった。DMF の作用は、MMF の既知の薬理作用と一致して、赤血球濃厚液中胎児ヘモグロビンの上昇と複数の組織における Nrf2 調節遺伝子のアップレギュレーションに限定された。

Ex vivo 転写プロファイリングの実行可能性パイロット試験［RSCH-2018-30 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.3-3）は、フマル酸添加 in vitro 培養ヒトリンパ球の転写プロファイリングに適切な実験条件を選択するために実施した。ドナー数は少なかったが、いくつかの所見が得られた。

- $CD4^+$T 細胞、$CD8^+$T 細胞及び末梢血単核細胞の単離及びポリクローナル T 細胞活性化剤による刺激に成功した。健康被験者の全血 140 mL から RNA を分離し、転写プロファイリングを行った。実験は目的とおりに進められた。抗 CD3 及び抗 CD28 活性化による遺伝子発現変化は、既知の T 細胞活性化反応と一致した。
- MS 患者の絶対リンパ球数の変動を考慮すると、これらのアッセイを実施するためには最大 200 mL の血液を採取する必要があると見積もられたが、この血液量はほとんどの治験審査委員会によって設けられている上限を超えている。さらに、複数の治験実施医療機関で実施することによる技術的なばらつきは、データの価値が制限されることになる。
- DMF は、NF-κB 誘導遺伝子発現の強力な阻害剤であり、その結果 T 細胞の活性化を阻害したが、MMF は作用を示さなかった。これらのデータは、公表文献［Gillard 2015］と一致している。
- 休止状態又は T 細胞受容体を介したポリクローナル刺激後の $CD4^+$及び $CD8^+$T 細胞における差次的遺伝子発現解析から、MMF は転写に対して統計学的に有意な作用を示さず、MMF の

作用機序は転写ではないことが示唆された。

- 公表文献のエビデンスが蓄積されたことにより、リンパ球に対する DMF 及び MMF の作用の多くはシステインの翻訳後修飾を介しているため、トランスクリプトームに反映されない可能性があることが示されている［Blewett 2016］;［Kornberg 2018］。

## 4.7 その他の毒性試験

### 4.7.1 抗原性及び免疫毒性

DRF は毒性試験で標的免疫系器官に対する影響が認められなかった低分子薬であるため、DRF の抗原性及び免疫毒性の評価は実施しなかった。

### 4.7.2 依存性

テクフィデラ（DMF）の申請資料に薬物乱用の可能性を示す所見がないことから、DMF 及び MMF に薬物乱用の可能性がないことが示されており、非臨床試験ではラットを用いた in vivo の薬物乱用性試験で裏付けられている。DMF は、ラットで自己投与行動を維持せず［P00012-13-04 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.4-1）及び［P00012-13-07 試験］（テクフィデラ申請資料）、薬物弁別性も示さなかった［P00012-14-01 試験］（テクフィデラ申請資料）。

DRF の薬物乱用の可能性は、DRF［AT-5108-01 試験］（添付資料番号 4.2.1.2-1）、HES［AT-6567-01 試験］（添付資料番号 4.2.1.2-2）及び MMF［RSCH-2013-023 試験］（テクフィデラ申請資料）を用いた in vitro の副次的薬理試験、並びに動物及びヒトに DRF（活性代謝物 MMF 及び不活性代謝物 HES の十分な in vivo 曝露量を示す投与量）を投与した in vivo 試験の中枢神経系に対する作用の評価結果に基づき総合的に判断した。また、DMF に対して実施したラットの薬物弁別試験及び自己投与試験では、DMF の in vivo の主要代謝物である MMF の作用が評価されている（FDA の DMF に対する市販後要件）。

DRF［AT-5108-01 試験］（添付資料番号 4.2.1.2-1）、MMF［RSCH-2013-023 試験］（テクフィデラ申請資料）及び HES［AT-6567-01 試験］（添付資料番号 4.2.1.2-2）は、薬物乱用性に関連することが知られている受容体、リガンド結合性イオンチャネル及び酵素に有意な結合を示さなかった。DRF、並びに in vivo 代謝物である MMF 及び HES は、ラットを用いた FOB に基づく中枢神経系に対する安全性薬理試験で、中枢神経系に対する作用及び神経行動変化（興奮又は鎮静作用）を示さなかった［AT-5108-10 試験］（添付資料番号 4.2.1.3-4）。マウス、ラット、ウサギ及びサルを用いて DRF を評価した非臨床試験の反復投与毒性試験の投与期間及び休薬観察期間（M2.6.6）、又は臨床試験（M2.5）で、中枢神経系に対する作用及び神経行動変化（興奮作用又は鎮静作用）は認められなかった。すべての試験及び動物種の一般状態の変化の観察で一貫性なく認められた活動性低下は、中枢神経系に対する作用ではなく、標的臓器毒性に関連した全身性の作用に起因するものであった。DMF を投与したラットの薬物弁別試験及び自己投与試験で薬物乱用の可能性は認められなかったことから、活性代謝物である MMF が作用を示さないことが示唆される。治療用量の DRF 及び DMF を投与したときの MMF 曝露量は比較可能であり、すでに完了している DMF の薬物乱用性評価結果を DRF の薬物乱用の評価に利用できると考えている（M2.6.6.8.2）。

以上、DRF 並びにその主活性代謝物 MMF 及び不活性代謝物 HES の包括的な in vitro 及び in vivo 評価を行い、DRF による薬物乱用の可能性はないと判断された。また、DRF は、臨床試験で明らかな薬物乱用の可能性を示すシグナルは認められず（M2.7.4.5.7）、薬物乱用の可能性を示すエビデンスは認められなかった。

### 4.7.3 光安全性

DRF とその代謝物（MMF、HES 及び RDC-8439）の紫外／可視吸収スペクトルを評価した結果、いずれも 190～280 nm の範囲でのみ吸収性を示し、最大 UV 値は約 205 nm であった［702-08693 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.7-1）。ICH S10 ガイダンス［ICH 2013］に基づき、DRF 及びその代謝物は 290～700 nm の範囲の光を吸収しなかったことから直接的な光毒性の懸念はないと考えられたため、追加の光毒性試験は実施しなかった。

### 4.7.4 代謝物

DRF の主代謝物である活性代謝物 MMF 及び不活性代謝物 HES については、DRF を用いて実施した毒性試験で十分にカバーされているため、in vivo 毒性試験は実施しなかった。副次的薬理試験（受容体結合）、安全性薬理試験（hERG 阻害）及び遺伝毒性を評価する独立した MMF 及び HES の in vitro 試験を実施し、DRF を用いて実施した同様の試験と併せて考察した。

# 5 総括及び結論

## 5.1 DRF 及び代謝物（MMF 及び HES）の薬理作用

DRF、並びに主活性代謝物である MMF 及び主不活性代謝物である HES の薬理作用を、効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験で評価した。DRF は、Lewis ラット EAE モデルで MMF 及び DMF と同程度の疾患重症度の有意な低下を示し、HES は循環血中濃度では、MMF の作用を阻害しないことが示された。MS 患者で定常状態の HES の $C_{max}$ 及び AUC 値は、MMF よりもそれぞれ 6.6 倍及び 21 倍高かった［M2.7.2.2.10、ALK8700-A301 試験］。これらの比率は非臨床試験で認められた比率と類似しており、ラットを用いた試験［LSC17-033 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-2）；［AT-5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）；［AT-5108-15 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-5）のすべての用量で MMF に対する HES の平均 $C_{max}$ の比は 2.6～5.7 の範囲で、平均 AUC の比は 11.7～39.6 の範囲であった（M2.6.4）。非臨床と臨床の曝露量比の類似性から、HES は臨床でも MMF の作用を阻害しないことが予測される。

さらに、[redacted] 社アッセイパネルを用いた評価では、DRF 及び HES は受容体・酵素・トランスポーターに対して顕著な結合及び阻害作用を示さなかった。同様に、MMF も同様のアッセイパネルに対して結合及び阻害作用を示さなかった。

アッセイパネルで評価した DRF（10 µmol/L）、MMF（30 µmol/L）及び HES（300 µmol/L）の濃度を DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）での DRF、MMF 及び HES の血漿中 $C_{max}$ 値［ALK8700-A107 試験］と比較したところ、DRF は経口投与後速やかに MMF に変換され血漿中で定量できないため比較できないが、MMF 及び HES ではそれぞれ約 2.4 倍及び 4 倍であった。DiscoverX 社の BioMAP®Diversity PLUS アッセイパネルを用いた HES の in vitro の評価では、HES は試験したすべてのパラメータに対して作用を示さず［ALK003-02-b-00001-000-00 試験］（添付試験番号 4.2.1.2-3）、DRF の MRHD での HES の $C_{max}$［ALK8700-A107 試験］の約 6 倍の濃度（450 µmol/L）でも MMF の作用を阻害しなかった。

以上、DRF は in vivo で効力を示し、代謝物である HES は DRF の作用を阻害しないことが示された。

## 5.2 DRF 及びその代謝物の吸収、分布、代謝及び排泄特性

DRF 及びその代謝物の ADME 特性は、非臨床動物種を通して包括的に評価された。ヒトでの試験と一致して、in vivo で、DRF は速やかに MMF 及び HES に変換され、ラット及びサルで DRF の血漿中濃度は検出されなかった。

EMA 及び FDA の DDI ガイダンス［EMA（CPMP/EWP/560/95/Rev.1）2012］；［FDA 2012］に準拠し、臨床的に意義のあるヒト CYP 分子種を用いた in vitro の試験により、DRF、HES 及び RDC-8439 は阻害剤ではなく（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5）、MMF も阻害剤ではない（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A4）ことが示された［P00012-04-13 試験］（テクフィデラ申請資料）；［P00012-06-04 試験］（テクフィデラ申請資料）；［PD05-28 試験］（テクフィデラ申請資料）；［PD00012-10-03 試験］（テクフィデラ申請資料）。DRF、MMF、HES 及び RDC8439 は、検討し

たヒト CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4）を誘導しなかった。したがって、DRF 又はその代謝物が CYP を介した DDI を引き起こす可能性は低いと考えられる。

In vitro で DRF は P-gp を阻害したが、in vivo の臨床 DDI 試験では、DRF は P-gp を阻害しないことが示された。DRF の体循環に存在している主代謝物である HES は P-gp を阻害せず、BCRP、MATE1、MATE2-K、OAT1、OAT3 及び OCT2 の基質及び阻害剤ではなかった。これらの結果に基づき、in vivo でのトランスポーターを介した相互作用のさらなる検討は不要である。MMF は P-gp、BCRP、MATE1、MATE-2K、OAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3 の阻害剤ではなかった。MMF は P-gp の基質ではなく又誘導もしなかった。

## 5.3 MMF 及び HES の安全性評価

MMF 及び HES はヒト循環血漿中における DRF の 2 つの主代謝物であり、それぞれ血漿中総薬物関連曝露量の 10%超を占める。

MMF は DRF の薬理活性成分であり、DRF の非臨床安全性試験で認められた毒性所見の原因と考えられる（M2.6.6）。このことを裏付ける証拠として、標的器官への影響のプロファイルは DMF と類似し（M2.7.1）、HES には既知の薬理活性がないこと（M2.6.2）が確認されている。MMF の安全性は十分に評価されていると考えられる。MMF の in vitro hERG アッセイ及び in vitro 遺伝毒性試験を含む独立した試験を実施した。一般毒性試験、in vivo 遺伝毒性試験及びがん原性試験では、最大耐量のアプローチにより高用量を設定し、生殖発生毒性試験では、軽微な親動物毒性が認められた用量を高用量に設定した（1.3.2 項）。

HES の安全性評価は M2.6.6.9.7 に記載している。HES を用いた独立した試験として、in vitro hERG アッセイ及び in vitro 遺伝毒性試験を実施した。ラット及びサルを用いた DRF の長期一般毒性試験、ラットを用いた胚・胎児発生試験及び幼若動物毒性試験、並びにラット及び rasH2-Tg マウスを用いたがん原性試験では、高用量／最大耐量（一般毒性試験及びがん原性試験）又は無毒性量（胚・胎児発生試験）での HES の曝露量（AUC）は、MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量（924［462 BID］mg/日；M2.6.6、表 10）を上回った。これらの毒性評価項目での HES の非臨床曝露量は、MRHD での臨床曝露量を 1 動物種で上回ったため、HES の安全性は ICH ガイドライン［ICH 2012］に従って適切に評価されていると考えられる。

## 5.4 安全性薬理及び毒性試験所見の臨床との関連性

DRF の非臨床安全性薬理試験及び毒性試験で認められた所見（サルでの QTc 延長、マウス、ラット及びサルで認められた腎臓、心臓、骨及び精巣の変化など）は、DRF 及び DMF のいずれでもヒトとの関連性が認められないこと、並びに標的毒性（げっ歯類の前胃粘膜過形成、ラット精巣ライディッヒ細胞腺腫など）のヒトへの外挿性がないことから、ヒトの安全性に対するリスクは低いと考えられる。

サルの心血管系に対する安全性薬理試験［AT-5108-08 試験］（添付資料番号 4.2.1.3-3）及び 2 週間毒性試験［AT-5108-07 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-7）で、DRF をそれぞれ単回及び反復投与後に DRF の投与に関連した QTc 延長が認められた。この延長は、軽度の変化であったことから毒性ではないと考えられ、また、MMF 及び HES の曝露量は MRHD（924［462 BID］mg/日）

で DRF を投与したときの臨床曝露［ALK8700-A107 試験］量よりもかなり高かった。曝露量（$C_{max}$ 及び AUC）に基づくと、安全性薬理試験での QTc 延長は、MMF 及び HES の曝露量が、MRHD で投与したときの臨床曝露量［ALK8700-A107 試験］のそれぞれ 30 倍以上及び 7 倍以上で認められた。2 週間試験での QTc 延長は、MMF 及び HES の曝露量が、MRHD で投与したときの臨床曝露量［ALK8700-A107 試験］のそれぞれ 32 倍以上及び 5 倍以上で認められた。サルでのこれらの所見の臨床との関連は不明であるが、QT/QTc 試験を含む完了した臨床試験の解析から、DRF 投与はヒトの QTc に対して臨床的に重要な影響を及ぼさないことが示された（M2.7.2.3.6）。

DRF の一般毒性試験では、腎臓、消化管、心臓、骨、及び精巣の標的器官に対する有害作用が、MMF/HES の全身曝露量（AUC）が MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ約 1／1、4／4、4／4、15／4、及び 15／6 倍以上で認められた。ラット及びマウスの前胃における所見は、ほとんどの試験で DRF に関連し、毒性ではないと判断されたが、動物種間の胃の解剖学的な差異により、臨床との関連性はないと考えられる［Kararli 1995］。動物の腎臓、心臓、骨、及び精巣における毒性所見は、骨の所見以外、すべて DMF で認められている。サルに DRF の 250 mg/kg を投与したときに観察された毒性所見、特に消化管毒性（高い嘔吐率、食欲減退、削痩、低体重）の結果としての毒性所見を踏まえると、骨端軟骨の所見は栄養障害に起因した可能性が最も高い［Frazier 2017］；［Guedes 2019］。また、骨の骨端軟骨異形成はフマル酸エステルの血管新生阻害作用と一致する可能性がある（4 項）。DRF の臨床試験成績（M2.5）及びテクフィデラのこれまでの臨床使用では、臨床との関連性は認められていないことから、動物にみられた所見はヒトに外挿できないか、MRHD を超える用量の DRF に関連する可能性があることが示唆される。

ラット 2 年間がん原性試験［AT-5108-26 試験］（添付資料番号 4.2.3.4.1-1）の高用量で認められた精巣ライディッヒ細胞腺腫は、MMF 及び HES の曝露量（AUC）が DRF の MRHD を投与したときの臨床曝露量の約 2 倍で発現した。これらの所見は DMF のラットがん原性試験［P00012-04-11 試験］（テクフィデラ申請資料）でも報告されており、ヒトへの外挿性は疑わしい［Steinbach 2015］。

生殖発生毒性試験では、妊娠雌動物への DRF 投与に関連して、ラットでは骨格変異［AT-5108-21 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.2-2）、ウサギでは骨格変異／異常［AT-5108-22 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.2-4）が認められた。これらの所見は、MMF/HES の曝露量（AUC）が MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量と比較してラットで約 10 倍／5 倍、ウサギで 6 倍以上／2 倍以上で認められた。DRF ではまた、MMF/HES の曝露量（AUC）が MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量の約 10 倍／3 倍で、ラットの出生時体重及び離乳前期間中の体重／体重増加量の減少が認められた。ウサギの骨格異常を除き、DMF でも同様の発生所見が報告されている［P00012-06-01 試験］（テクフィデラ申請資料）；［P00012-06-02 試験］（テクフィデラ申請資料）。

幼若ラットでは、骨、腎臓、及び消化管（前胃）も標的器官として特定された。出生後 25～63 日に DRF を投与した幼若ラットでは、MMF 及び HES の曝露量（AUC）が臨床曝露量のそれぞれ約 6～9 倍及び 5～8 倍で、発育遅延（体重／体重増加量の減少、発育遅延に起因した性成熟に影響のない雌の膣開口遅延、大腿骨サイズの減少（雄のみ）、骨量、骨密度、及び骨形状の変化）が認められた。骨の所見は DRF の直接作用でもあった。同じ曝露量比でその他の標的器官にみられた影響は、腎臓重量の増加を伴う腎尿細管細胞肥大及び前胃扁平上皮過形成であった。

リンパ球減少症の臨床的リスクは、DRF の一般毒性試験では十分に再現されなかった。サルでは、毒性ではない軽度のリンパ球減少が短期試験で認められ、ストレスによって引き起こされる二次的影響と考えられた。リンパ球減少は、長期（91 日間及び 39 週間）試験では認められなかった。げっ歯類の試験では、DRF に関連した血中リンパ球数の減少は認められなかった。Ex vivo 及び in vivo リンパ球フェノタイピング試験では、リンパ球集団に対する DMF/MMF の特異的な影響は認められず、DMF 及び DRF の毒性試験データと一致した。Ex vivo 転写プロファイリングパイロット試験では、DMF は NF-κB 誘導遺伝子発現の強力な阻害剤であり、その結果 T 細胞の活性化を阻害したが、MMF は作用のないことが示された。MMF は、休止状態及び刺激された $CD4^+$ 及び $CD8^+$細胞の転写に影響しなかったことから、MMF の作用機序は転写ではないことが示唆された。MS 患者に転写プロファイリングアッセイを実施することは、大量の血液（最大 200 mL）を必要とするため、実施不可能である。

## 5.5 結論

DRF を動物及びヒトに経口投与すると、全身循環に入る前に急速に加水分解され、主活性代謝物（MMF）、主不活性代謝物（HES）、及びマイナーな代謝物（RDC-8439）を生成する。DRF は血漿中では検出されない。DRF の in vivo の薬理学的特性評価では、Lewis ラット EAE モデルで、AUC に基づき MMF の曝露量を一致させた場合、DMF 及び MMF と同程度の効力があることが示された。In vitro 及び in vivo 試験結果から、HES は動物及びヒトで MMF の曝露量を上回る曝露量で生成されるが、薬理作用はなく不活性であることが示された。

MS 患者で定常状態の HES の $C_{max}$ 及び AUC の値は、MMF よりもそれぞれ 6.6 倍及び 21 倍高かった（M2.7.2.2.10、ALK8700-A301 試験）。これらの曝露量比は非臨床試験で認められた曝露量比と類似している。ラットを用いた試験［LSC17-033 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-2）；［AT-5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）；［AT5108-15 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-5）のすべての用量で、MMF に対する HES の平均 $C_{max}$ の比は 2.6～5.7 の範囲で、平均 AUC の比は 11.7～39.6 の範囲であった（M2.6.4）。非臨床と臨床の曝露量比の類似性から、HES が臨床でも MMF の作用を阻害しないことが示唆された。

In vitro における ADME 関連試験で DRF、MMF、HES、及び RDC-8439 はヒト CYP 分子種を阻害又は誘導しなかったことより、DRF 及びその代謝物が CYP を介した DDI を生じる可能性は低いことが示された。さらに、トランスポーター試験の結果から、DRF 及びその代謝物はトランスポーターへの活性を示さないか、又は軽微かつ限定的な影響しか及ぼさないことが示されている。

DRF は、DRF 及び HES は薬物乱用性と関連する可能性が知られている受容体に対して in vitro で活性が認められなかったこと、DRF を投与した動物試験で投与期間中及び休薬期間中に神経系に対する作用（興奮及び鎮静作用）が認められなかったこと、並びに DRF を投与したヒトで明らかな薬物乱用の可能性を示す徴候は認められなったことから、薬物乱用の可能性は低いと考えられる。さらに DMF がラットで自己投与行動の維持及び薬物弁別性の誘発活性を示さなかったことから、ラットの主活性代謝物である MMF も作用を示さないことが示唆され、MMF の薬物乱用の可能性は低いことが裏付けられた。

非臨床試験により、DRF 及びその代謝物の安全性は十分に評価されている。一般毒性試験、遺

伝毒性試験、がん原性試験、及び幼若動物の毒性を含む生殖発生毒性試験で認められた所見は、概して DMF で報告された所見と一致しており、活性代謝物である MMF と関連していた。毒性と考えられる標的器官への影響は、MRHD での DRF の治療時曝露量を上回る曝露量で認められた（表 3）。また、臨床試験でモニタリングが容易な非臨床所見（QTc 延長及び腎毒性など）は、ヒトでそのような所見は認められていない。以上のことから、DRF の安全性プロファイルは許容可能であると考えられる。DRF の主不活性代謝物の安全性については、一般毒性試験、胚・胎児発生に関する試験、及びがん原性試験（1 動物種）における全身曝露量が DRF の MRHD での臨床曝露量を上回っていることから、十分に評価されているものと考える。

表 2　雄性動物に DRF を単回経口投与したときの安全性薬理試験所見（DMF の依存性試験を含む）、並びに MMF 及び HES の全身曝露量の要約

| System | Species Study Number/ Location in CTD | Key Findings | Dose (mg/kg) | MMF AUC[a] (ng*h/mL)/ $C_{max}$[a] (ng/mL) | HES AUC[a,b] (ng*h/mL)/ $C_{max}$[a,b] (ng/mL) | MMF Nonclinical to Clinical AUC/$C_{max}$[c] Multiple (×) | HES Nonclinical to Clinical AUC/$C_{max}$[d] Multiple (×) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Cardiovascular | Monkey (AT-5108-08/ 4.2.1.3-3) | Slight ↑ in QTc (not considered physiologically relevant or adverse) | 400 | 193000/ 63400 | 1650000/ 117000 | 30/39 | 7/11 |
| | | No noteworthy or adverse findings | 75 | 34400/ 17900 | 355000/ 28100 | 5/11 | 2/3 |
| Respiratory | Rat (AT-5108-09/ 4.2.1.3-5) | No noteworthy or adverse findings | 600 | 90800/ 46700 | 1810000/ 159000 | 14/29 | 8/14 |
| Neurobehavioral | Rat (AT-5108-10/ 4.2.1.3-4) | No adverse findings | 600 | 90800[e]/ 46700[e] | 1810000/ 159000 | 14/29 | 8/14 |
| Self-administration/ potential of drug abuse liability | Rat (P00012-13-07[f]) | DMF did not maintain self-administration behavior. | IV/DMF:0, 0.625, 1.25, 2.5 mg/kg/infusion | NA/ 19500[g] | NA | NA/12 | NA |
| Drug discrimination properties | Rat (P00012-14-01[f]) | DMF did not incur partial or full substitution, indicating significant differences to the interoceptive cues produced by the reference compound and positive control compound. | PO/DMF: 0,25, 100, 250 mg/kg | NA/ 30770[h] | NA | NA/19 | NA |

AUC = area under the concentration-time curve; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours; $AUC_{last}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration; BID = bis in die; $C_{max}$ = maximum observed concentration; DMF = dimethyl fumarate; DRF = diroximel fumarate; HES = 2-hydroxyethyl succinimide; IV = intravenous; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable; PO = per os; QTc = QT interval corrected for heart rate

[a] AUC (reported as $AUC_{last}$ or $AUC_{0\text{-}24h}$) and $C_{max}$ values for MMF and HES were reported from plasma concentration data on the day of dosing for all studies.

[b] Systemic exposure parameters for HES were estimated by linear extrapolation of the AUC and $C_{max}$ values using data from respective bridging pharmacokinetic rat [AT-5108-27] (M 4.2.2.2-3) and monkey [AT-5108-28] (M 4.2.2.2-4) studies.

[c] Clinical exposure parameters for MMF were obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 BID) mg/day of DRF; $AUC_{0\text{-}24h}$ and $C_{max}$ values were 6470 ng*h/mL and 1620 ng/mL, respectively.

[d] Clinical exposure parameters for HES were obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 BID) mg/day of DRF; $AUC_{0\text{-}24h}$ and $C_{max}$ values were 227000 ng*h/mL and 11000 ng/mL, respectively.

[e] MMF exposure data are from AT-5108-09 (M 4.2.1.3-5), as the dose levels used in both studies were identical.
[f] Studies has been submitted at the filing of Tecfidera in Japan.
[g] $C_{max}$ value was estimated from the DMF dose range-finding study for self-administration [P00012-13-04] (M 4.2.3.7.4-1).
[h] $C_{max}$ value was estimated from the DMF 13-week rat repeat-dose toxicity study [P00012-04-01[f]].

表 3　DRF の反復投与毒性試験における標的器官所見並びに MMF 及び HES の全身曝露量の要約

| Target | Species Study Number / Location in CTD | Target Findings | Dose (mg/kg) | MMF AUC[a] (ng*h/mL) in M/F | HES AUC[a] (ng*h/mL) in M/F | MMF Nonclinical to Clinical AUC[b] Multiple (×) in M/F | HES Nonclinical to Clinical AUC[c] Multiple (×) in M/F |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kidney | 2-Week Rat (AT-5108-05/ 4.2.3.2-3) | Tubular degeneration/ necrosis and ↑ kidney wts with no clinical pathology correlates. Findings were partially to fully reversible following a recovery period and were considered non-adverse. | 600 | 87300/ 59500 | 1180000[d]/ 1180000[d] | 13/9 | 5/5 |
| | | No noteworthy or adverse findings | 150 | 13500/ 14900 | 354000[d]/ 354000[d] | 2/2 | 2/2 |
| Kidney | 6-Week Juvenile Rat (AT-5108-38/ 4.2.3.5.4-1) | ↓ urine ↓ sodium, ↓ potassium, ↓ chloride, ↓ calcium, ↓ creatinine, ↓ phosphorus, ↓ osmolality, ↑ kidney weight, renal tubule cell hypertrophy. Kidney weight and pathology partially reversed following the recovery period. Findings were considered adverse. | 600 | 56100/ 39600 | 1750000/ 1140000 | **9/6** | **8/5** |
| | | ↑ kidney weight, renal tubule cell hypertrophy. Kidney pathology fully reversed and kidney weight partially reversed following the recovery period. | 150 | 9250/ 14500 | 400000/ 335000 | 1.4/2 | 1.8/1.5 |
| | | ↑ kidney relative weight<br>Kidney weight changes resolved following the recovery period. | 60 | 5760/ 4790 | 199000/ 145000 | 0.9/0.7 | 0.9/0.6 |

| Target | Species Study Number / Location in CTD | Target Findings | Dose (mg/kg) | MMF AUC[a] (ng*h/mL) in M/F | HES AUC[a] (ng*h/mL) in M/F | MMF Nonclinical to Clinical AUC[b] Multiple (×) in M/F | HES Nonclinical to Clinical AUC[c] Multiple (×) in M/F |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kidney | 13-Week Rat (AT-5108-13/ 4.2.3.2-4) | Tubular degeneration/ regeneration, ↑ kidney wts, and clinical pathology correlates in urine (↑ volume, ↓ specific gravity). Findings were partially to fully reversible following a recovery period and were considered adverse. | 450 | 28000/ 48200 | 905000[d]/ 905000[d] | **4/7** | **4/4** |
| | | Tubular degeneration/ regeneration in M and ↑ kidney wts with no clinical pathology correlates. Findings were considered nonadverse. | 150 | 10800/ 22700 | 354000[d]/ 354000[d] | 2/4 | 2/2 |
| | | No noteworthy or adverse findings | 60 | 5080/ 8360 | 154000[d]/ 154000[d] | 0.8/1 | 0.7/0.7 |
| Kidney | 26-Week Rat (AT-5108-15/ 4.2.3.2-5) | Tubular hypertrophy, degeneration/ necrosis with associated luminal proteinaceous material, and regeneration; ↑ kidney wts; and clinical pathology correlates in urine (↑ urinary biomarkers[e], ↑ volume, ↓ specific gravity, ↑protein). Findings were partially to fully reversible following a recovery period and considered adverse. | 300 | 22200/ 40400 | 1330000/ 856000 | 3/6 | 6/4 |
| | | Tubular hypertrophy, degeneration/ necrosis with associated luminal proteinaceous material, and regeneration; ↑ kidney wts; and clinical pathology correlates in urine (↑ urinary biomarkers, ↑ protein). Findings were considered adverse. | 100 | 8430/ 17700 | 432000/ 321000 | **1.3/3** | **2/1.4** |
| | | ↑ Kidney wts; ↑protein (M) and ↑ albumin to creatine ratio in urine (nonadverse findings) | 50 | 4460/ 7230 | 115000/ 101000 | 0.7/1.1 | 0.5/0.4 |

| Target | Species Study Number / Location in CTD | Target Findings | Dose (mg/kg) | MMF AUC[a] (ng*h/mL) in M/F | HES AUC[a] (ng*h/mL) in M/F | MMF Nonclinical to Clinical AUC[b] Multiple (×) in M/F | HES Nonclinical to Clinical AUC[c] Multiple (×) in M/F |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kidney | 2-Week Monkey (AT-5108-07/ 4.2.3.2-7) | Tubular degeneration/ regeneration and ↑ kidney wts with no clinical pathology correlates. Findings were partially to fully reversible following a recovery period and considered nonadverse. | 400 | 294000/ 209000 | 1210000[d]/ 1210000[d] | 45/32 | 5/5 |
| | | Tubular degeneration/regeneration in 1F with no clinical pathology correlates (nonadverse) | 75 | 41100/ 36200 | 471000[d]/ 471000[d] | 6/6 | 2/2 |
| Kidney | 13-Week Monkey (AT-5108-14/ 4.2.3.2-8) | Tubular dilation, hypertrophy, degeneration/ regeneration, and interstitial fibrosis; ↑ kidney wts; and clinical pathology correlates in urine (↑ volume, ↓ specific gravity, ↓ pH). Findings were partially to fully reversible following a recovery period and considered adverse. | 250 | 99700/ 106000 | 869000[d]/ 869000[d] | **15/16** | **4/4** |
| | | Tubular hypertrophy and degeneration/ regeneration (F) with no clinical pathology correlates (nonadverse findings) | 75 | 30800/ 31200 | 471000[d]/ 471000[d] | 5/5 | 2/2 |
| | | Tubular hypertrophy (F) with no clinical pathology correlates (nonadverse) | 25 | 11800/ 9930 | 87000[d]/ 87000[d] | 2/2 | 0.4/0.4 |
| Kidney | 39-Week Monkey (AT-5108-16/ 4.2.3.2-9) | Tubular hypertrophy, degeneration/ regeneration, and/or interstitial fibrosis; ↑ kidney wts; and clinical pathology correlates in urine (↑ urinary biomarkers[f], ↓ pH, and ↓ specific gravity). Findings were partially to fully reversible following a recovery period and were considered adverse. | 150 | 62600/ 57400 | 607000/ 601000 | 10/9 | 3/3 |
| | | Tubular hypertrophy and degeneration/ regeneration; clinical pathology correlates (↑ urinary biomarkers) in F. Findings were considered adverse. | 50 | 16900/ 19100 | 243000/ 248000 | **3/3** | **1.1/1.1** |
| | | No noteworthy or adverse findings | 15 | 4690/ 4480 | 95500/ 78900 | 0.7/0.7 | 0.4/0.3 |

| Target | Species Study Number / Location in CTD | Target Findings | Dose (mg/kg) | MMF AUC[a] (ng*h/mL) in M/F | HES AUC[a] (ng*h/mL) in M/F | MMF Nonclinical to Clinical AUC[b] Multiple (×) in M/F | HES Nonclinical to Clinical AUC[c] Multiple (×) in M/F |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Stomach | 28-Day Mouse (CByB6F1) [AT-5108-29/ 4.2.3.2-1] | Mucosal hyperplasia and hyperkeratosis of the nonglandular stomach (nonadverse findings) | 1000 | 97400/ 70400 | 1380000/ 935000 | 15/11 | 6/4 |
| | | No noteworthy or adverse findings | 300 | 15700/ 10400 | 243000/ 197000 | 2/2 | 1.1/0.9 |
| Stomach | 2-Week Rat (AT-5108-05/ 4.2.3.2-3) | Mucosal hyperplasia of the nonglandular stomach and duodenum (M); ↑ stomach wts. Microscopic changes reversible and stomach wts partially reversible following a recovery period. Findings were considered nonadverse. | 600 | 87300/ 59500 | 1180000[d]/ 1180000[d] | 13/9 | 5/5 |
| | | No noteworthy or adverse findings | 150 | 13500/ 14900 | 354000[d]/ 354000[d] | 2/2 | 2/2 |
| Stomach | 6-Week Juvenile Rat (AT-5108-38/ 4.2.3.5.4-1) | Squamous epithelial hyperplasia of the nonglandular stomach, with single instances of inflammation (M) or erosion (F). Histopathology in the stomach fully (F) or partially (M) reversed following recovery period. Findings were considered adverse. | 600 | 56100/ 39600 | 1750000/ 1140000 | **9/6** | **8/5** |
| | | No noteworthy findings | 150 | 9250/ 14500 | 400000/ 335000 | 1.4/2 | 1.8/1.5 |
| | | No noteworthy findings | 60 | 5760/ 4790 | 199000/ 145000 | 0.9/0.7 | 0.9/0.6 |
| Stomach | 13-Week Rat (AT-5108-13/ 4.2.3.2-4) | Mucosal hyperplasia of the nonglandular stomach and duodenum (F), with correlating ↓ in body wt and food consumption; ↑ stomach wts. Microscopic changes reversible, and stomach wts partially reversible following a recovery period. Findings were likely adverse. | 450 | 28000/ 48200 | 905000[d]/ 905000[d] | **4/7** | **4/4** |
| | | Mucosal hyperplasia of the nonglandular stomach and duodenum (F); ↑ stomach wts. Findings were considered nonadverse. | 150 | 10800/ 22700 | 354000[d]/ 354000[d] | 2/4 | 2/2 |
| | | ↑ stomach wts (nonadverse) | 60 | 5080/ 8360 | 154000[d]/ 154000[d] | 0.8/1.3 | 0.7/0.7 |

| Target | Species Study Number / Location in CTD | Target Findings | Dose (mg/kg) | MMF AUC[a] (ng*h/mL) in M/F | HES AUC[a] (ng*h/mL) in M/F | MMF Nonclinical to Clinical AUC[b] Multiple (×) in M/F | HES Nonclinical to Clinical AUC[c] Multiple (×) in M/F |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Stomach | 26-week Rat (AT-5108-15/ 4.2.3.2-5) | Mucosal hyperplasia of the non-glandular stomach (M) and ↑ stomach wts. Microscopic changes reversible, and stomach wts partially reversible following a recovery period. Findings were considered non-adverse. | 300 | 22200/ 40400 | 1330000/ 856000 | 3/6 | 6/4 |
| | | ↑ Stomach wts (non-adverse) | 100 | 8430/ 17700 | 432000/ 321000 | 1.3/3 | 2/1.4 |
| | | No noteworthy or adverse findings | 50 | 4460/ 7230 | 115000/ 101000 | 0.7/1.1 | 0.5/0.4 |
| Heart | 13-Week Rat (AT-5108-13/ 4.2.3.2-4) | Cardiac inflammation/ necrosis in 3M resulting in mortality/euthanasia. Finding was not observed in other M/F at terminal necropsy or in recovery animals and was considered adverse. | 450 | 28000/ 48200 | 905000[d]/ 905000[d] | **4/7** | **4/4** |
| | | No noteworthy or adverse findings | 150 | 10800/ 22700 | 354000[d]/ 354000[d] | 2/4 | 2/2 |
| Bone | 6-Week Juvenile Rat (AT-5108-38/ 4.2.3.5.4-1) | ↓ femur size (M), mass, density, and changes in bone geometry, considered adverse. Fully reversible, with no histopathology correlates. | 600 | 56100/ 39600 | 1750000/ 1140000 | **9/6** | **8/5** |
| | | ↓ distal femur total slice area and bone mass, which were non-adverse and fully reversible. | 150 | 9250/ 14500 | 400000/ 335000 | 1.4/2 | 1.8/1.5 |
| | | No noteworthy or adverse findings | 60 | 5760/ 4790 | 199000/ 145000 | 0.9/0.7 | 0.9/0.6 |
| Bone | 13-Week Monkey (AT-5108-14/ 4.2.3.2-8) | Physeal dysplasia in distal femur and proximal tibia. Finding persisted in 1 of 4 animals (F) following a recovery period and was considered adverse. | 250 | 99700/ 106000 | 869000[d]/ 869000[d] | **15/16** | **4/4** |
| | | No noteworthy or adverse findings | 75 | 30800/ 31200 | 471000[d]/ 471000[d] | 5/5 | 2/2 |
| Testes/ Epididymides | 28-Day Mouse (CByB6F1) [AT-5108-29/ 4.2.3.2-1] | Minimal testicular degeneration and ↑ debris in tubules of epididymides; ↓ testes wts. Findings were considered adverse. | 1000 | 97400/ NA | 1380000/ NA | **15/NA** | **6/NA** |
| | | ↑ debris in epididymides of 1M (non-adverse) | 300 | 15700/ NA | 243000/ NA | 2/NA | 1.1/NA |
| | | No noteworthy or adverse findings | 100 | NC/ NA | 102000/ NA | NC/NA | 0.4/NA |

| Target | Species Study Number / Location in CTD | Target Findings | Dose (mg/kg) | MMF AUC[a] (ng*h/mL) in M/F | HES AUC[a] (ng*h/mL) in M/F | MMF Nonclinical to Clinical AUC[b] Multiple (×) in M/F | HES Nonclinical to Clinical AUC[c] Multiple (×) in M/F |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Developmental | Rat EFD (AT-5108-21/ 4.2.3.5.2-2) | Skeletal variations in foetuses[g] (adverse) | 400 | NA/ 63100 | NA/ 1180000 | **NA/10** | **NA/5** |
| | | No noteworthy or adverse findings | 100 | NA/ 14200 | NA/ 352000 | NA/2 | NA/2 |
| Developmental | Rabbit EFD (AT-5108-22/ 4.2.3.5.2-4) | Skeletal variations and malformations in foetuses[h] (adverse findings) | 350 | NA/ 87700 | NA/ 1030000 | NA/14 | NA/5 |
| | | Skeletal malformations in foetuses (adverse) | 150 | NA/ 40600 | NA/ 421000 | **NA/6** | **NA/2** |
| | | No noteworthy or adverse findings | 50 | NA/ 11300 | NA/ 155000 | NA/2 | NA/0.7 |
| Developmental | Rat Pre- and Postnatal Development (AT-5108-30/ 4.2.3.5.3-1) | ↓ Pup birth weights and wt gains during the pre-weaning period (adverse findings) | 400 | NA/ 63000 | NA/ 622000 | **NA/10** | **NA/3** |
| | | No noteworthy or adverse findings | 100 | NA/ 17900 | NA/ 246000 | NA/3 | NA/1.1 |
| Developmental | 6-Week Juvenile Rat (AT-5108-38/ 4.2.3.5.4-1) | ↓ Body weight gain/body weight, ↓ food consumption, later vaginal opening attainment (F), ↓ femur size (M), mass, density, and changes in bone geometry. Effects on growth were considered adverse. | 600 | 56100/ 39600 | 1750000/ 1140000 | **9/6** | **8/5** |
| | | ↓ Body weight gain, ↓ food consumption, ↓ distal femur total slice area and bone mass, non-adverse | 150 | 9250/ 14500 | 400000/ 335000 | 1.4/2 | 1.8/1.5 |
| | | No noteworthy findings | 60 | 5760/ 4790 | 199000/ 145000 | 0.9/0.7 | 0.9/0.6 |

↑ = increased; ↓ = decreased; AUC = area under the concentration-time curve; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; $AUC_{last}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration; BID = bis in die ; $C_{max}$ = maximum observed concentration; DRF = diroximel fumarate; EFD = embryofoetal development; HES = 2-hydroxyethyl succinimide; F = female; KIM-1 = kidney injury molecule-1; M = male; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable; NC = not calculable due to < 3 consecutive quantifiable concentrations; NGAL = neutrophil gelatinase-associated lipocalin; wts = weights.

Note: Bolded values represent the lowest exposure multiples associated with the corresponding adverse target organ toxicity.

[a] AUC (reported as $AUC_{last}$ or $AUC_{0\text{-}24h}$) for MMF and HES were calculated from plasma concentrations obtained on the last day of dosing.

[b] Clinical exposure parameters for MMF were obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 BID) mg/day of DRF; $AUC_{0\text{-}24h}$ value was 6470 ng*h/mL.

[c] Clinical exposure parameters for HES were obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 BID) mg/day of DRF; $AUC_{0\text{-}24h}$ value was 227000 ng*h/mL.

[d] HES exposure was estimated by linear extrapolation of the AUC value using data from bridging pharmacokinetic studies in rats [AT-5108-27] (M 4.2.2.2-3) or monkeys [AT-5108-28] (M 4.2.2.2-4), as applicable.

[e] Urinary biomarkers evaluated in the 26-week rat toxicity study [AT-5108-15] (M 4.2.3.2-5) included KIM-1, NGAL, albumin, and osteopontin to creatinine ratios. Increases were noted in one or more biomarkers at the 100 and 300 mg/kg doses of DRF.

[f] Urinary biomarkers evaluated in the 39-week monkey toxicity study [AT-5108-16] (M 4.2.3.2-9) included NGAL, albumin, cystatin C, and beta-2-microglobulin to creatinine ratios. Increases were noted in one or more biomarkers at the 50 and 150 mg/kg doses of DRF.

[g] Skeletal variations noted in the rat EFD study [AT-5108-21] (M 4.2.3.5.2-2) included reduced ossification of the skull and vertebral arches.

[h] In the rabbit EFD study [AT-5108-22] (M 4.2.3.5.2-4), skeletal variations included 13th full rib(s) at 350 mg/kg and skeletal malformations (vertebral centra anomaly, vertebral anomaly with associated rib anomaly, and/or severely misaligned sternebra[e]) at 150 and 350 mg/kg.

# 6 参考文献

Ando K, Hombo T, Kanno A, et al. QT PRODACT: in vivo QT assay with a conscious monkey for assessment of the potential for drug-induced QT interval prolongation. J Pharmacol Sci. 2005;99(5):487-500. doi: 10.1254/jphs.qt-a4.

Arbiser JL. Fumarate esters as angiogenesis inhibitors: key to action in psoriasis? J Invest Dermatol. 2011;131(6):1189-91. doi: 10.1038/jid.2011.45.

Blewett MM, Xie J, Zaro BW, et al. Chemical proteomic map of dimethyl fumarate-sensitive cysteines in primary human T cells. Sci Signal. 2016;9(445):rs10. doi: 10.1126/scisignal.aaf7694.

Brennan MS, Matos MF, Li B, et al. Dimethyl fumarate and monoethyl fumarate exhibit differential effects on KEAP1, NRF2 activation, and glutathione depletion in vitro. PLoS One. 2015;10(3):e0120254. doi: 10.1371/journal.pone.0120254. eCollection 2015.

Brennan MS, Matos MF, Richter KE, et al. The NRF2 transcriptional target, *OSGIN1*, contributes to monomethyl fumarate-mediated cytoprotection in human astrocytes. Sci Rep. 2017;7:42054. doi: 10.1038/srep42054.

European Medicines Agency. Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP/192217/2009. July 21, 2011.

European Medicines Agency. Guideline on the investigation of drug interactions. CPMP/EWP/560/95/Rev. 1 Corr. 2**. 21 Jun 2012.

Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Bioanalytical method validation. 2001.

Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. 2005a.

Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Good pharmacovigilance practices and pharmacoepidemiologic assessment. 2005b.

Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Assessment of Abuse Potential of Drugs. 2010.

Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Drug interaction studies - study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations [Draft]. 2012.

Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Assessment of Abuse Potential of Drugs. 2017.

Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Bioanalytical method validation. 2018.

Fluhler E, Vazvaei F, Singhal P, et al. Repeat analysis and incurred sample reanalysis: recommendation for best practices and harmonization from the global bioanalysis consortium harmonization team. AAPS J. 2014;16(6):1167-74. doi: 10.1208/s12248-014-9644-1. Epub 2014 Aug 19.

Frazier KS. Drug-induced Physeal Abnormalities in Preclinical Toxicity Studies. Toxicol Pathol.

2017;45(7):869-75. doi: 10.1177/0192623317713319. Epub 2017 Jun 23.

García-Caballero M, Marí-Beffa M, Medina MÁ, et al. Dimethylfumarate inhibits angiogenesis in vitro and in vivo: a possible role for its antipsoriatic effect? J Invest Dermatol. 2011;131(6):1347-55. doi: 10.1038/jid.2010.416. Epub 2011 Feb 3.

Gillard GO, Collette B, Anderson J, et al. DMF, but not other fumarates, inhibits NF-κB activity in vitro in an Nrf2-independent manner. J Neuroimmunol. 2015;283:74-85. doi: 10.1016/j.jneuroim.2015.04.006. Epub 2015 Apr 23.

Gopal S, Mikulskis A, Gold R, et al. Evidence of activation of the Nrf2 pathway in multiple sclerosis patients treated with delayed-release dimethyl fumarate in the Phase 3 DEFINE and CONFIRM studies. Mult Scler. 2017;23(14):1875-83. doi: 10.1177/1352458517690617. Epub 2017 Feb 3.

Guedes PMSG, Zamarioli A, Botega II, et al. Undernutrition impairs the quality of growth plate and trabecular and cortical bones in growing rats. Acta Cir Bras. 2019;34(3):e201900301. doi: 10.1590/s0102-865020190030000001.

ICH guideline. Note for Guidance on Toxicokinetics: The assessment of systemic exposure in toxicity studies S3A. Step 4 version dated 27 October 1994.

ICH guideline. Testing for carcinogenicity of pharmaceuticals S1B. Step 4 version dated 16 July 1997.

ICH guideline. Detection of toxicity to reproduction for medicinal products and toxicity to male fertility S5(R2). Step 4 version, parent guideline dated 24 June 1993; addendum dated 9 November 2000a, incorporated in November 2005.

ICH guideline. Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals S7A. Current Step 4 version dated 8 November 2000b.

ICH guideline. The non-clinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals S7B. Step 4 version dated 12 May 2005.

ICH guideline. Impurities in new drug products Q3B(R2). Step 4 version dated 2 June 2006a.

ICH guideline. Impurities in new drug substances Q3A(R2). Step 4 version dated 25 October 2006b.

ICH guideline. Dose selection for carcinogenicity studies of pharmaceuticals S1C(R2). Step 4 version, parent guideline dated 27 October 1994; addendum on a limit dose dated 17 July 1997 and incorporated in November 2005; revised on 11 March 2008.

ICH guideline. Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals M3(R2). Step 4 version dated 11 June 2009.

ICH guideline. Guidance on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use S2(R1). Step 4 version dated 9 November 2011.

ICH guideline. Photosafety evaluation of pharmaceuticals S10. Step 4 version dated 13 November 2013.

ICH guideline M3(R2). Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals: questions & answers (R2). Current version dated 5 March 2012.

Kararli TT. Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. Biopharm Drug Dispos. 1995;16(5):351-80. doi: 10.1002/bdd.2510160502.

Kornberg MD, Bhargava P, Kim PM, et al. Dimethyl fumarate targets GAPDH and aerobic glycolysis to modulate immunity. Science. 2018;360(6387):449-53. doi: 10.1126/science.aan4665. Epub 2018 Mar 29.

Patyna S, Arrigoni C, Terron A, et al. Nonclinical safety evaluation of sunitinib: a potent inhibitor of VEGF, PDGF, KIT, FLT3, and RET receptors. Toxicol Pathol. 2008;36(7):905-16. doi: 10.1177/0192623308326151. Epub 2008 Nov 3.

Peng H, Li H, Sheehy A, et al. Dimethyl fumarate alters microglia phenotype and protects neurons against proinflammatory toxic microenvironments. J Neuroimmunol. 2016;299:35-44. doi: 10.1016/j.jneuroim.2016.08.006. Epub 2016 Aug 5.

Ryan AM, Eppler DB, Hagler KE, et al. Preclinical safety evaluation of rhuMAbVEGF, an antiangiogenic humanized monoclonal antibody. Toxicol Pathol. 1999;27(1):78-86. doi: 10.1177/019262339902700115.

Steinbach TJ, Maronpot RR, Hardisty JF. Human Relevance of Rodent Leydig Cell Tumors. In: Harbison RD, Bourgeois MM, Johnson GT, editors. Hamilton and Hardy's Industrial Toxicology. 6th Edition, Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons; 2015, p1191-8.

## 付録 A

### DRF 原薬中 *不純物A 不純物の規格の妥当性

**背景**：

DRF 原薬中の *不純物A 不純物の最大許容量は、ヒトにおける最大安全開始用量の算定について概説された原則を用いて決定した［FDA 2005b］。戦略・計算は以下のとおりであった。

- 評価に最も適切な非臨床安全性試験を特定した。
- 動物に投与した不純物量（mg/kg）は、無毒性量で算出した。
- 動物の無毒性量での mg/kg 用量をヒト等価用量（HED）に変換した。ラット及びサルの非臨床試験では、体表面積の差を考慮し、それぞれ 0.16 及び 0.32 の換算係数を乗じて HED を算定した。
- HED（mg/kg）に 60 を乗じてヒトにおける不純物の総投与量に換算した（体重 60 kg の成人と仮定）。
- 不純物のヒト用量（mg）を 924 mg の DRF で割って、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）を投与したときの無毒性量相当不純物量（重量%）を求めた。
- この値を安全係数 10 で割って、DRF 原薬中の最大許容不純物量（重量%）を求めた。不純物評価に用いた一般毒性試験の期間（2 週間）が比較的短かったため、10 を選択した。

### DRF 原薬中 *不純物A の最大許容量の算定

使用した DRF のロット（[redacted]）には最高量の *不純物A が含まれていたため、DRF のラット［AT-5108-05 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-3）及びサル［AT-5108-07 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-7）を用いた 2 週間反復投与毒性試験は、最大許容不純物量を算出するための最も適切な試験と考えられた。サル 2 週間反復投与毒性試験の方が無毒性量及び HED が低かったため、原薬中の許容可能な不純物量をより安全に推定できると考えられたが、この試験は用いなかった。これは、サル 2 週間投与試験で認められた有害所見が、in vivo で DRF が MMF に代謝変換される過程で生成した MMF に関連し、*不純物A （5.3 項）に起因したものではないと考えられたためである。したがって、ラット 2 週間反復投与毒性試験では有害所見は認められなかったため、無毒性量の 600 mg/kg を用いて、DRF 原薬中不純物 *不純物A の最大許容量を算出した。

AT-5108-05 試験（添付資料番号 4.2.3.2-3）に使用したロット [redacted] の *不純物A 含量（[redacted] 重量%）に基づき、下記の計算により、DRF 原薬中 *不純物A の最大許容量を [redacted] 重量%と算定した。

- 無毒性量でラットに投与した *不純物A 量＝[redacted] mg/kg（600 mg/kg×[redacted]）
- *不純物A の HED＝[redacted] mg/kg（[redacted] mg/kg×0.16）
- *不純物A の HED（mg）＝[redacted] mg（[redacted] mg/kg×60 kg ヒト）
- MRHD での無毒性量に相当する *不純物A 量＝[redacted] 重量%（[redacted] mg/924 mg×100）
- *不純物A の最大許容量＝[redacted] 重量%（[redacted] 重量%/安全係数 10）

注：すべての計算の最後に、*不純物A の許容最大量を有効数字 2 桁に丸めた。証明のため、

計算に示す値は四捨五入して差し支えない。

**結論**：

ラット 2 週間毒性試験［AT-5108-05 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-3）の所見に基づき、許容可能と考えられる DRF 原薬中 *不純物A の最大量は [redacted] 重量%と算定された。



*新薬承認情報提供時に置き換え