目次

略語一覧 3
2.4 非臨床試験の概括評価 5
2.4.1 非臨床試験計画概略 5
2.4.2 薬理試験 8
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 8
2.4.2.1.1 Setmelanotide の細胞内シグナル伝達に対する作用特性 8
2.4.2.1.2 Setmelanotide の体重増加及び摂餌量に対する効果 9
2.4.2.1.3 Setmelanotide のインスリン及びグルコースに関連するパラメーターに対する効果 10
2.4.2.2 副次的薬理試験 11
2.4.2.3 安全性薬理試験 11
2.4.2.3.1 Setmelanotide の神経行動及び呼吸パラメーターに対する作用 11
2.4.2.3.2 Setmelanotide の心血管系安全性薬理パラメーターに対する作用 12
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用 13
2.4.3 薬物動態試験 13
2.4.3.1 分析法及びバリデーション 13
2.4.3.2 吸収及び血漿中薬物動態 13
2.4.3.3 分布 14
2.4.3.3.1 Setmelanotide 14
2.4.3.3.2 mPEG-DSPE 14
2.4.3.4 代謝 16
2.4.3.5 排泄 16
2.4.3.6 薬物動態学的相互作用 17
2.4.3.7 その他の薬物動態試験 17
2.4.4 毒性試験 17
2.4.4.1 反復投与毒性 18
2.4.4.2 遺伝毒性 18
2.4.4.2.1 In Vitro 試験 19
2.4.4.2.2 In Vivo 試験 19
2.4.4.3 がん原性 19
2.4.4.4 生殖発生毒性 21
2.4.4.4.1 受胎能及び初期胚発生 22
2.4.4.4.2 胚・胎児発生 22
2.4.4.4.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能 23
2.4.4.5 幼若動物の毒性 23
2.4.4.6 局所刺激性 24
2.4.4.7 その他の毒性 24
2.4.4.7.1 抗原性 24

2.4.4.7.2 免疫毒性 24
2.4.4.7.3 不純物の安全性 24
2.4.4.7.4 光毒性 24
2.4.4.7.5 代謝物 25
2.4.4.7.6 依存性 25
2.4.4.7.7 新添加剤の安全性評価 25
2.4.5 総括及び結論 26
2.4.5.1 薬理 26
2.4.5.2 薬物動態 30
2.4.5.3 毒性 32
2.4.5.4 結論 35
参考文献 37

表一覧

表 2.4-1 Setmelanotide の保存料添加及び非添加製剤の組成 7
表 2.4-2 mPEG-DSPE の毒性試験における最大臨床用量 3 mg/日に対する安全域 26
表 2.4-3 Setmelanotide/mPEG-DSPE の主要な毒性試験における最大臨床用量 3 mg/日に対する安全域 35

略語一覧

略語	定義（英語）	定義（日本語）
ACTH	Adrenocorticotropic hormone	副腎皮質刺激ホルモン
ADA	Anti-drug antibody	抗薬物抗体
ADME	Absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収、分布、代謝及び排泄
AgRP	Agouti-related peptide	アグーチ関連ペプチド
α-MSH	Alpha-melanocyte-stimulating hormone	α-メラノサイト刺激ホルモン
AS	Alström syndrome	アルストレーム症候群
AUC	Area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{∞}	Area under the plasma concentration-time curve from time 0 to infinity	投与後 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{last}	Area under the concentration-time curve from time 0 to the last measurable timepoint	投与後 0 時間から最終測定可能時点までの濃度－時間曲線下面積
BBS	Bardet-Biedl syndrome	バルデー・ビードル症候群
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate	環状アデノシン一リン酸
CL/F	Apparent plasma clearance	見かけの血漿クリアランス
CL_{ss}/F	Apparent plasma clearance at steady state	定常状態における見かけの血漿クリアランス
C_{max}	Maximum observed concentration	最高血漿中（組織中）濃度
CYP	Cytochrome P450	チトクローム P450
DIO	Diet-induced obesity	食餌誘導性肥満
EC_{50}	Concentration for half-maximal effect	50%効果濃度
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着測定法
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
GABA	Gamma-aminobutyric acid	ガンマアミノ酪酸
Gαs	Gs-protein alpha subunit for stimulating adenylate cyclase	アデニル酸シクラーゼを活性化する Gs タンパク質 α サブユニット
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
GLP-1	Glucagon-like peptide-1	グルカゴン様ペプチド-1
GLP-1R	Glucagon like peptide-1 receptor	グルカゴン様ペプチド-1 受容体
hERG	Human ether-à-go-go related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
IC_{50}	50% Inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
Ki	Inhibitory constant	阻害定数
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
LEPR	Leptin receptor	レプチン受容体
MATE	Multidrug and toxin extrusion	多剤排出輸送体
MC	Melanocortin	メラノコルチン
MC1R	Melanocortin type 1 receptor	メラノコルチン 1 型受容体
MC2R	Melanocortin type 2 receptor	メラノコルチン 2 型受容体

略語	定義（英語）	定義（日本語）
MC3R	Melanocortin type 3 receptor	メラノコルチン 3 型受容体
MC4R	Melanocortin type 4 receptor	メラノコルチン 4 型受容体
MC5R	Melanocortin type 5 receptor	メラノコルチン 5 型受容体
MCR	Melanocortin receptor	メラノコルチン受容体
MFD	Maximum feasible dose	最大投与可能用量
mPEG	Methoxypolyethylene glycol	メトキシポリエチレングリコール
mPEG-DSPE	N-(carbonyl-methoxypolyethylene glycol-2000)-1,2-distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine	N-(カルボニル-メトキシポリエチレングリコール-2000)-1,2-ジステアロイル-*sn*-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン
MTD	Maximum tolerated dose	最大耐量
NFAT	Nuclear factor of activated T-cell	活性化 T 細胞核因子
NZW	New Zealand White	—
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
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PCSK1	Proprotein convertase subtilisin/kexin type 1	プロタンパク質転換酵素サブチリシン／ケキシン 1 型
PEG	Polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
PK	Pharmacokinetic	薬物動態
PLC	Phospholipase C	ホスホリパーゼ C
PMDA	Pharmaceuticals and Medical Devices Agency	医薬品医療機器総合機構
POMC	Pro-opiomelanocortin	プロオピオメラノコルチン
PWS	Prader-Willi Syndrome	プラダー・ウィリー症候群
QTc	Corrected QT interval	心拍数で補正した QT 間隔
$t_{1/2}$	Half-life	半減期
Tg	Transgenic	トランスジェニック
TG	Triglycerides	トリグリセリド
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
V_z/F	Apparent volume of distribution	見かけの分布容積
WoE	Weight of evidence	証拠の重み付け
WT	Wild-type	野生型

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

本申請では、4 歳以上を対象とした後天性視床下部性肥満に伴う肥満の治療及び空腹感の抑制を適応とする setmelanotide/mPEG-DSPE（N-[カルボニルメトキシポリエチレングリコール-2000]-1,2-ジステアロイル-*sn*-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン）の承認申請に関する非臨床試験結果を提示する。非臨床試験計画の概略を以下に記載する。

Setmelanotide（別名 RM-493、IRC-022493 又は BIM-22493）は、メラノコルチン（MC）4 型受容体（MC4R）の強力な作動薬として作用する 8 つのアミノ酸からなる環状合成ペプチドで、2 歳以上を対象とした両アレル性プロオピオメラノコルチン（*POMC*）、レプチン受容体（*LEPR*）及びプロタンパク質転換酵素サブチリシン／ケキシン 1 型（*PCSK1*）欠損性肥満並びにバルデー・ビードル症候群（BBS）に伴う肥満の治療及び空腹感の抑制の適応で米国食品医薬品局（FDA）、欧州医薬品庁（EMA）及びその他の規制当局によって既に承認されている。MC4R は、食欲、エネルギー消費及び体重の調節に重要な役割を果たし、多くの動物種で高度に保存されている視床下部神経経路の主要受容体である。MC4R 上流の不活性化変異は、早期に極度の過食を引き起こし、最終的には生命を脅かす重度の肥満症を引き起こす。Setmelanotide は、MC4R を直接活性化することでこの上流の欠陥を回避し、食欲を調節し、過食を抑制し、体重減少を促す。

Setmelanotide は、主要添加剤 mPEG-DSPE を含む保存剤含有製剤で、1 日 1 回皮下投与する。市販用の製剤処方である setmelanotide/mPEG-DSPE（又は RM-493/mPEG-DSPE）には、10 mg/mL setmelanotide、100 mg/mL mPEG-DSPE、8 mg/mL カルボキシメチルセルロース、11 mg/mL マンニトール、5 mg/mL フェノール、10 mg/mL ベンジルアルコール及び 1 mg/mL エデト酸二ナトリウムが含まれている。Setmelanotide/mPEG-DSPE の最大臨床用量は、1 日 1 回 3 mg の投与である。

Setmelanotide は、非臨床薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験で評価し、試験結果の概要を本項に記載し、詳細を以下の項に記載する。

非臨床の効力を裏付ける試験では、マウス、ラット及びアカゲザルモデルを用いて摂餌量及び体重に対する setmelanotide の効果を明らかにした。さらに、耐糖能及びインスリン感受性の改善などの代謝パラメーターも測定した。Setmelanotide は、レプチン受容体遺伝子に変異を有する Zucker fa/fa ラット（MC4R 経路に影響を及ぼす遺伝性肥満のラットモデル）及び *Magel2* 欠失マウス（プラダー・ウィリー症候群［PWS］のマウスモデルであり、*Magel2* 遺伝子は PWS で不活性化される遺伝子の 1 つとして知られている［Lee 2000、Schaaf 2013］）などの肥満関連遺伝子変異を有する動物モデルでも評価した。また、呼吸系、中枢神経、in vitro ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）チャネル電流、in vivo 心血管系などに対する種々の安全性薬理試験を医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適用下で評価した。さらに、アカゲザルを用いた広範な 8 週間投与試験で setmelanotide の長期間の効力を評価した。また、アカゲザルを用いた 1 週間のクロスオーバー心血管系安全性試験で、ヒトで心拍数及び血圧上昇作用が示されている陽性対照 MC4R 作動物質 LY2112688 と比較して、setmelanotide 投与が心拍数及び血圧

を上昇させないことを示した。

非臨床試験では、setmelanotide が従来の MC4R 作動物質 LY2112688 と比較して安全性の面で改善された薬剤候補プロファイルを有することの根拠を示すことに重点を置いた。そのため、setmelanotide の効力を裏付ける薬理試験及び心血管系に対する安全性薬理試験のいくつかは、LY2112688 と並行して実施した。LY2112688 は第 1 相臨床試験で著しい心拍数及び血圧の上昇を示したが（Greenfield 2009）、体重減少に対する効力はほとんど又は全く示さなかった。非臨床の比較試験で、setmelanotide は LY2112688 とは異なる選択性及び薬理特性を示し、setmelanotide は摂餌量及び体重減少作用を示すが心血管系に対する作用を伴わないことが示された。

Setmelanotide の薬物動態（PK）、トキシコキネティクス（TK）、吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）の特徴を明らかにするための試験を実施した。使用した動物種及び系統は、概して setmelanotide の毒性評価に使用した動物であることから、ヒトへの安全な投与を裏付けるための毒性試験における曝露量を評価することができる。マウス、ラット、ウサギ及びサルに setmelanotide を単回及び反復で静脈内投与、皮下投与又は皮下持続投与した。全動物種における血漿中 setmelanotide 濃度は液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（LC-MS/MS）法を用いて測定した。一部の試験ではバリデートされていない分析法を使用したが、重要な TK 試験では、血漿中 setmelanotide 濃度は、バリデートされた分析法により GLP に準拠して測定した。Setmelanotide に対する抗薬物抗体（ADA）は、該当する場合、バリデートされた免疫測定法を用いて、GLP に準拠して測定した。

Setmelanotide の毒性学的特性は、医薬品規制調和国際会議（ICH）の基準に適合した一連の試験で十分に評価されている。全ての重要な試験は GLP に準拠して実施した。Setmelanotide/mPEG-DSPE の皮下投与毒性試験として、ラット及びサル 28 日間用量設定試験、ラット 26 週間及びサル 39 週間反復投与毒性試験、幼若ラットの 28 日間用量設定試験及び 7 週間反復投与毒性試験、ラット受胎能試験（雄は 6 ヵ月間反復投与毒性試験の一部として評価し、雌は受胎能及び胚・胎児発生試験の複合試験にて評価）、ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験、ラットの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、並びにトランスジェニック（Tg）rasH2（rasH2-Tg）マウスの最長 28 日間用量設定試験、rasH2-Tg マウスを用いた 26 週間がん原性試験を実施した。これらの試験は、最大耐量（MTD）又は最大投与可能用量（MFD）までの setmelanotide の毒性及び TK を評価するためにデザインした。Setmelanotide/mPEG-DSPE の反復皮下投与毒性試験には、setmelanotide/生理食塩液群も含まれており、mPEG-DSPE に起因する投与部位の炎症反応により setmelanotide/mPEG-DSPE で達成困難であった setmelanotide の高用量及び高曝露下での全身毒性の評価が可能となった。

Setmelanotide/mPEG-DSPE 製剤による開発プログラムを開始する前に、一連の遺伝毒性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験、in vitro 染色体異常試験、in vivo ラット骨髄小核試験）を完了し、さらに setmelanotide/生理食塩液をラット及びサルに最長 13 週間皮下持続投与した一般毒性試験を実施した。これらの試験は setmelanotide/生理食塩液の早期臨床試験を支援する目的で実施した。

非臨床及び臨床試験では、保存料添加及び非添加 setmelanotide/mPEG-DSPE 製剤が使用されている。ラット及びサルにおける重要な反復投与毒性試験、並びにラット及びウサギにおける生

殖発生毒性試験では保存料非添加製剤を使用した。一方、rasH2-Tg マウスにおけるがん原性試験では保存料添加（商業用）製剤を使用した。カニクイザルを用いた setmelanotide/mPEG-DSPE の単回投与クロスオーバー試験において、保存料の添加が setmelanotide の薬物動態に影響を及ぼさないことが示された。商業用製剤には、setmelanotide 製剤と同程度又はそれ以上の濃度で、各種皮下投与薬剤に使用が承認されている保存料が含まれている。Setmelanotide は mPEG-DSPE と結合しておらず、mPEG-DSPE は非臨床及び臨床製剤のいずれにおいても非結合の賦形剤として添加されている。保存料添加及び非添加製剤の組成を表 2.4-1 に示す。以下に詳述するように、重要な毒性試験では 5%マンニトールで希釈した非臨床用製剤を使用した。

表 2.4-1 Setmelanotide の保存料添加及び非添加製剤の組成

Component	Quantity in Each Formulation	
	Unpreserved[a]	Preserved[b]
Setmelanotide (expressed as net peptide)	10 mg/mL	10 mg/mL
mPEG-DSPE	100 mg/mL	100 mg/mL
Carboxymethylcellulose sodium	8 mg/mL	8 mg/mL
Mannitol	22 mg/mL	11 mg/mL
Phenol	NA	5.0
Benzyl Alcohol	NA	10.0
Disodium Edetate	NA	1.0
Water for Injection	q.s. to 1.0 mL	q.s. to 1.0 mL

mPEG-DSPE = N-(carbonyl-methoxypolyethylene glycol-2000)-1,2-distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine; NA = not applicable; q.s. = quantum satis

a. Formulations without (mPEG-DSPE vehicle control) or with setmelanotide were diluted 10-fold with 5% mannitol for use in pivotal toxicity studies (repeat-dose and reproductive/developmental studies).
b. The commercial formulation, without or with setmelanotide, was diluted 5- to 50-fold with 5% mannitol for use in carcinogenicity studies with Tg.rasH2 mice; formulations without setmelanotide were diluted 5-fold to match the high dose in these studies.

最初のラット 28 日間用量設定試験は、未希釈の非臨床 mPEG-DSPE 製剤に関連する投与部位反応がみられたため試験を終了した。2 試験目のラット用量設定試験で、非臨床 mPEG-DSPE 製剤（プラセボ及び setmelanotide）を 5%マンニトールで 10 倍に希釈したところ、忍容性が改善された。これらの結果に基づき、ラット 26 週間毒性試験、幼若ラット毒性試験、並びにラット及びウサギの生殖発生毒性試験では 10 倍に希釈した非臨床製剤を使用した。さらに、サル 9 ヵ月間毒性試験では投与 8 週後に投与部位反応が見られたため、5%マンニトールで 10 倍に希釈した非臨床製剤を使用した。希釈製剤を用いたことにより、いずれの重要な試験でも局所忍容性の改善が認められたが、最大臨床用量である 3 mg/日のヒトでの setmelanotide 曝露量と比較して極めて高い曝露量であった（表 2.4-3）。

Setmelanotide/mPEG-DSPE のがん原性を rasH2-Tg マウスを用いた 3 試験の 26 週間皮下投与試験で評価した。最初の 2 試験で技術的問題（1 試験目では無作為化の誤り、2 試験目では給水システムの故障）が発生したが、setmelanotide/mPEG-DSPE は死亡率や腫瘍形成を増加させなかったという試験全体の結果や結論に影響を及ぼさなかった。結論として、setmelanotide/mPEG-DSPE の最大 10 mg/kg/日を rasH2-Tg マウスに 6 ヵ月間皮下投与してもがん原性は認められなかった。推定曝露量（最高血漿中濃度［C_{max}］及び血漿中濃度－時間曲線下面積［AUC］）に基づ

くと、setmelanotide/mPEG-DSPE の臨床用量 3 mg/日に対してそれぞれ 81 倍及び 17 倍であった。詳細を表 2.4-3 に示す。

Setmelanotide の毒性試験及び安全性薬理試験は、本申請を支持するために十分であると考えられる。全ての試験報告書はモジュール 4 に収載されている。

以上、本非臨床試験の概括評価では、setmelanotide/mPEG-DSPE の薬理、薬物動態及び毒性試験評価の要約を包括的に示す。重要な毒性試験で得られた無毒性量は、setmelanotide に対して十分な安全域を示している。本非臨床データパッケージは、setmelanotide/mPEG-DSPE が、*POMC*、*LEPR*、*PCSK1* の両アレル変異及び BBS に関連する肥満の治療及び空腹感の制御を目的とした治療薬として、2 歳以上の患者を対象に FDA、EMA 及びその他の規制当局から承認を受けた際に提供されたものであるが、4 歳以上の後天性視床下部性肥満に関連する肥満治療及び空腹感のコントロールを目的とした setmelanotide/mPEG-DSPE の承認申請にも適用可能と判断した。

2.4.2 薬理試験

本項では、4 歳以上を対象とした後天性視床下部性肥満に伴う肥満の治療及び空腹感の抑制を適応とする setmelanotide/mPEG-DSPE の承認申請に関する薬理試験結果を記載する。

Setmelanotide は、天然に存在する α-メラノサイト刺激ホルモン（α-MSH）の 8 つのアミノ酸からなる環状ペプチド誘導体である。MC4R の強力な作動薬であり、視床下部の MC4R シグナル伝達経路に悪影響を及ぼすことが知られる遺伝的欠陥に起因する重度の遺伝性肥満症の治療薬として当初開発された。これらには、*POMC*、*PCSK1* 及び *LEPR* 欠損性肥満並びに BBS 患者の重度の早期発症型肥満症の遺伝的要因が含まれ、いずれも本申請の適応症に含まれる。また、他の要因として、アルストレーム症候群（AS）、ヘテロ接合性 *MC4R* 欠損症及び MC4R シグナル伝達経路の機能不全により発症する他の遺伝性肥満疾患などがある。

Setmelanotide の非臨床全薬理試験リストは、2.6.3 に記載した。

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 Setmelanotide の細胞内シグナル伝達に対する作用特性

Setmelanotide の薬理特性及び効力を評価する一連の試験を実施し、臨床試験で有効性が欠如し安全性に関する基準を達成できなかった従来の MC4R 作動物質との違いを評価した。（Clément 2018）。

最初に、setmelanotide の薬理活性を細胞ベースの環状アデノシン一リン酸（cAMP）蓄積標準アッセイで評価した。Setmelanotide はヒト MC4R に結合（阻害定数［Ki］＝2.1 nmol/L）し、細胞ベースの cAMP 蓄積を評価する標準アッセイシステムで完全受容体作動活性を示した（50%効果濃度［EC_{50}］＝0.79 nmol/L）。また、メラノコルチン 1 型受容体（MC1R）及びメラノコルチン 3 型受容体（MC3R）活性化に対しても約 1/20 の効力を示した。一方、メラノコルチン 5 型受容体（MC5R）に対する EC_{50} は 10 µmol/L 超を示し、メラノコルチン 2 型受容体（MC2R）（副腎皮質刺激ホルモン［ACTH］受容体）対しては活性を示さなかった（RM-493-PH-027 試験

［4.2.1.1-3］）。Setmelanotide は MC4R に結合した Gs タンパク質 α サブユニット（Gαs）タンパク質を介してアデニル酸シクラーゼを活性化し、cAMP の蓄積を促進したが、この作用は MC4R 拮抗物質によって完全に阻害された。

マウス、ラット、イヌ、カニクイザル、アカゲザル及びヒトのメラノコルチン受容体（MCR）をトランスフェクトした細胞株を用いて、種々の動物種 MCR に対する setmelanotide の薬理活性を比較した（RM-493-PH-027 試験［4.2.1.1-3］）。6 種類の動物種 MC4R に対する setmelanotide の EC_{50} 値は同程度であった（範囲：0.210～3.053 nmol/L）。同様に、MC3R に対する EC_{50} 値も同程度であった（範囲：0.335～1.307nmol/L）。6 種類の動物種 MC1R に対する EC_{50} は 0.830～26.60 nmol/L の範囲で、ラット及びヒトの EC_{50} 値は最も低値を示し（それぞれ 0.830 及び 1.730 nmol/L）、マウス及びアカゲザルの EC_{50} 値が最も高値を示した（それぞれ 26.04 及び 26.60 nmol/L）。トランスフェクトしたヒト、マウス及びラットの MC5R に対する作用は認められなかったが、イヌ、カニクイザル及びアカゲザルの MC5R は setmelanotide によって活性化され、EC_{50} 値はそれぞれ 2.492、7.784 及び 29.25 nmol/L であった。Setmelanotide は、トランスフェクトした 6 種類の動物種のいずれの MC2R（ACTH 受容体）も活性化しなかった。

従来の MC4R 作動物質が cAMP の蓄積を促進したのに対し、setmelanotide は、cAMP の蓄積の促進と同程度の効力で MC4R の活性化による活性化 T 細胞核因子（NFAT）を介したシグナル伝達系も活性化した。Setmelanotide は、NFAT シグナル伝達系の活性化に対して LY2112688 と比較して 50 倍強い効力を示した。重要な点として、setmelanotide によって誘導された NFAT シグナル伝達は内因性の MC4R 拮抗物質であるアグーチ関連ペプチド（AgRP）によって阻害されなかったのに対し、LY2112688 によって誘導されたシグナル伝達は完全に阻害された。これは、setmelanotide と LY2112688 の cAMP 蓄積増加量は同程度で、AgRP によって完全に cAMP 誘導作用が阻害された cAMP の蓄積の促進活性とは著しく異なる。全体として、これらの重要なシグナル伝達の違いは、setmelanotide が他の MC4R 作動物質と異なることを完全には説明できないかもしれないが、LY2112688 と比較して setmelanotide が異なる特性を有していることを示している。

2.4.2.1.2 Setmelanotide の体重増加及び摂餌量に対する効果

マウス及びラット（BIM-22493-001 試験［4.2.1.1-10］、BIM-22493-002 試験［4.2.1.1-7］、BIM-22493-003 試験［4.2.1.1-5］、BIM-22493-004 試験［4.2.1.1-6］、BIM-22493-005 試験［4.2.1.1-4］、BIM-22493-006 試験［4.2.1.1-11］、BIM-22493-007 試験［4.2.1.1-9］及び BIM-22493-016 試験［4.2.1.1-8］）及びアカゲザル（RM-493-PH-007 試験［4.2.1.1-13］）肥満モデルで、setmelanotide 反復投与の摂餌量及び体重変化に対する効力を評価した。全ての動物種及びモデルで効力が示された。

通常餌で飼育された痩せ型 Sprague-Dawley ラット（0.17～1.34 mg/kg/日、7 日間）及び食餌抵抗性痩せ型のアカゲザル（0.5～1.5 mg/kg/日、7 日間）の両方で、setmelanotide の皮下持続注入投与により摂餌量の用量依存的な有意な抑制が認められた。痩せ型ラットで認められた摂餌量及び体重増加の抑制は、setmelanotide の投与終了後も少なくとも 7 日間持続した。

さらに、setmelanotide 投与によってマウス、ラット及びアカゲザルに誘導された体重減少効果

は、脂肪量の減少、エネルギー消費の増加及びグルコース恒常性の改善とも関連していた。

食餌誘導性肥満（DIO）及び遺伝性肥満モデルの両方で認められた摂餌量及び体重増加の抑制に対する setmelanotide の効力は、痩せ型動物で認められた効果より顕著であった。Setmelanotide の主要薬理評価試験である DIO 型アカゲザルに setmelanotide（0.5 mg/kg/日）8 週間投与では、投与開始後 1 週間までに摂餌量及び体重増加に対する有意な抑制が認められた（RM-493-PH-007 試験［4.2.1.1-13］）。摂餌量に対する効果は顕著であったが一時的であり、投与 4 週目から 7 週目の間にベースライン値に戻り、投与 8 週目ではベースライン値からわずかに増加した。投与開始時の摂餌量の抑制は回復したが、8 週間の投与期間中体重減少が継続し、最大-13.5%の体重減少が認められた。8 週間の投与期間中、脂肪量の有意な減少、日中の活動量の有意な増加及びエネルギー消費量の増加も認められた。これらの効果は投与終了後 10～12 週間でベースラインに戻った。Setmelanotide の投与によるトリグリセリド（TG）、コレステロール及び遊離脂肪酸の減少も認められた。

同様に、DIO 型マウスでも、媒体対照群と比較して体重増加の用量依存性の抑制傾向が全ての用量投与群に認められ（0.22～2.00 mg/kg/日、14 日間の皮下持続注入）、効果は 14 日間の持続注入期間中維持された。体重減少に対するこの効果は、DIO 型 Sprague-Dawley ラット（0.08～1.34 mg/kg/日、14 日間の皮下持続注入）でより顕著に求められ、setmelanotide 投与終了後少なくとも 7 日間持続した。

Setmelanotide の使用は遺伝性肥満モデルでも裏付けられた。*Lepr* 遺伝子の自然発生的なミスセンス変異により肥満になる Zucker ラットでは、setmelanotide の皮下持続注入（0.06 又は 0.56 mg/kg/日、7 日間）により、わずか 7 日間の投与後に両用量で体重増加率の減少及び食欲抑制に顕著な効果が認められた（BIM-22493-006 試験［4.2.1.1-11］）。

同様に、MC4R シグナル伝達経路と明確には関連付けられていないものの、別のまれな遺伝性肥満疾患である PWS の動物モデルである *Magel2* 欠失マウスでは、setmelanotide（0.04～1 mg/kg）の単回腹腔内投与により、4 用量全てに野生型（WT）痩せ型マウスと比較して有意な食欲抑制に対する効力が認められた（RM-493-PH-026 試験［4.2.1.1-12］）。

2.4.2.1.3 Setmelanotide のインスリン及びグルコースに関連するパラメーターに対する効果

Setmelanotide は、Sprague-Dawley ラット及びサルの両方で、体重増加及び摂餌量に対する効果とは独立してインスリン感受性を亢進させ、体重減少作用が認められない場合でも setmelanotide 投与による耐糖能及びインスリン感受性の亢進が認められた（RM-493-PH-007 試験［4.2.1.1-13］）。*Mc4r* ノックアウトマウスに setmelanotide を投与した場合、これらの効果は認められなかったことから、setmelanotide のインスリン及びグルコースに対する効果は MC4R に対する作用によるものであることが示された（BIM-22493-008 試験［4.2.1.1-16］）。Setmelanotide は、DIO 型マウスで摂餌量を抑制し体重及び脂肪量を減少させると共にグルコースクリアランスを改善し、肝臓及び末梢組織のインスリン感受性亢進作用を示した。

2.4.2.2 副次的薬理試験

71 種類の受容体（MC4R を含む）に対する競合リガンド結合アッセイ及び 16 種類の酵素アッセイで setmelanotide の作用を 1 µmol/L の濃度で評価して、オフターゲット作用の可能性を評価した（791318b 試験［4.2.1.2-1］）。予想どおり、setmelanotide は、MC4R に対するコントロールプローブリガンドの特異的結合を 97%阻害した。Setmelanotide は、評価した 70 種類のオフターゲット受容体のうち 64 種類に対してそれぞれのリガンドの結合を 20%未満阻害したが、これは主にアッセイの変動によるもので、有意な結合阻害によるものでなかった。一方、5 種類の受容体（ムスカリン、ニューロキニン-2、シグマ、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン及びガンマアミノ酪酸［GABA］トランスポーター）に対しては、リガンドの結合を 20～50%、オピオイド受容体に対してはリガンドの結合を 59%阻害した。臨床用量 3 mg 投与時の setmelanotide のヒト C_{max} は約 38 ng/mL（約 0.034 µmol/L）であり（RM-493-026 試験［5.3.3.1.4］、コホート 3）、そのうち約 50%が血漿タンパク質に結合している（2.6.4 を参照）。したがって、非結合型 setmelanotide のヒト C_{max}（0.017 µmol/L）は、受容体結合アッセイで使用される 1 µmol/L の濃度の約 55 分の 1 である。

MC4R 作動薬の他の機序に基づく作用の可能性については、非臨床試験ではあまり広範に評価していない。勃起促進効果は MC4R の作用機序に基づくと考えられるが、肥満（DIO）型アカゲザルモデルを用いた薬理試験では、setmelanotide による勃起促進効果は認められなかった。また、MC4R 作動活性とは関連しないが MC1R と密接に関連する setmelanotide のオフターゲット作用が臨床で皮膚色素沈着として認められた（モジュール 2.7 を参照）。しかし、肥満（DIO）型アカゲザルを用いた薬理試験で、最大 0.5 mg/kg/日の用量の setmelanotide の 8 週間皮下持続注入投与による皮膚の黒化又は毛色の変化は認められなかった。カニクイザルの毒性試験では顔面の色素沈着が認められたが、回復期間の終了までに解消され、投与 39 週間後の組織病理学的検査でメラノサイトの分化及び増殖との関連は認められなかった（2.6.6 を参照）。

2.4.2.3 安全性薬理試験

2.4.2.3.1 Setmelanotide の神経行動及び呼吸パラメーターに対する作用

安全性薬理試験で、Sprague-Dawley ラットの神経行動及び呼吸系に対する有害な作用の可能性を評価した。GLP 適用下の神経行動に対する評価では、60 及び 120 mg/kg の setmelanotide を皮下持続注入投与した動物に、耳及び足の発赤などの臨床徴候が認められた。定性的及び定量的機能観察総合評価（FOB）パラメーター、体温及び自発運動量に対して、最大 120 mg/kg までの setmelanotide の皮下持続注入投与に関連した作用は認められなかった（RM-493-PH-001 試験［4.2.1.3-8］）。GLP 適用下の呼吸系に対する評価では、呼吸数、一回換気量及び分時換気量に対して、最大 120 mg/kg までの setmelanotide の皮下持続注入投与に関連した作用は認められなかった（RM-493-PH-002 試験［4.2.1.3-9］）。試験に用いた用量は、全般的に、通常餌で飼育された痩せ型及び DIO 型のマウス及びラットを用いた体重減少試験で使用した用量の 50～250 倍であった。さらに、同じ製剤を同じ用量及び注入速度（用量比例性を仮定して、60 mg/kg/日の TK データを 120 mg/kg/日及び 0.5 mL/kg/時に外挿）で投与したラットの 13 週間皮下持続注入試験（RM-

493-TOX-016 試験［4.2.3.7.7-1］、GLP 試験）の TK データから推定された本試験の全身曝露量は、最大推奨臨床用量 3 mg 投与時のヒト C_{max} 及び AUC（37.9 ng/mL 及び 576 ng*hr/mL）（RM-493-026 試験［5.3.3.1.4］、コホート 3）の約 297 倍及び 296 倍であった。

2.4.2.3.2 Setmelanotide の心血管系安全性薬理パラメーターに対する作用

Setmelanotide の心血管系に対する有害な作用の可能性を評価する安全性薬理試験で、ヒト胎児腎細胞に発現したクローン化 hERG カリウムチャネルに対する作用を in vitro で評価した（RM-493-TOX-010 試験［4.2.1.3-1］、GLP 試験）。hERG カリウム電流に対する setmelanotide の 50%阻害濃度（IC_{50}）は、試験した最大濃度 0.3 mg/mL（約 0.3 mmol/L）超と推定された。最大臨床用量 3 mg 投与後の非結合型 setmelanotide の C_{max} が約 0.017 µmol/L（RM-493-026 試験［5.3.3.1.4］、コホート 3）であることを考慮すると、ヒトでの心拍数で補正した QT 間隔（QTc）延長のリスクは非常に低く、臨床用量投与時の非結合型 setmelanotide の C_{max} 曝露量に対して約 17,500 倍の安全域がある。

カニクイザル及びアカゲザルは setmelanotide の心血管系に対する作用を評価するための主要動物種である。GLP 適用下で、テレメトリー装置を装着した雌雄カニクイザルを用いて 3 日間の主要な安全性薬理試験を行った（RM-493-PH-003 試験［4.2.1.3-6］）。この広範な安全性薬理試験で、血行動態及び心電図パラメーターに対して、最大 25 mg/kg/日までの setmelanotide の 3 日間皮下持続注入投与に関連した生物学的又は毒性学的に意義のある作用は認められなかった。これらの結果から、体重減少に対して効力を示した用量に対して十分な安全域があり、この非臨床モデルで心血管系に対する作用が認められないことが確認された。同じ製剤を同じ用量及び注入速度（25 mg/kg 及び 0.104 mL/kg/時間）で投与したカニクイザルの 13 週間皮下持続注入試験（RM-493-TOX-015 試験［4.2.3.7.7-2］、GLP 試験）の TK データから推定したこの試験の全身曝露量は、最大臨床用量 3 mg 投与時のヒトの C_{max} 及び AUC のそれぞれ約 187 倍及び 259 倍であった。

DIO 型アカゲザルを用いた 8 週間試験（RM-493-PH-007 試験［4.2.1.1-13］、非 GLP 試験）では、0.5 mg/kg の setmelanotide の 8 週間皮下持続注入投与中に顕著な体重減少作用（体重が 13.5%減少）が認められたが、短期間及び長期間投与のいずれでも心拍数及び血圧の上昇は認められなかった。次に、非臨床心血管系に対する setmelanotide の安全性薬理評価結果の特異性を裏付けるために、この動物種が従来の MC4R 作動物質の血圧及び心拍数に対する作用を再現することができることを確認した。アカゲザルを用いた 1 週間、2 期間のクロスオーバーテレメトリー試験で、LY2112688（ヒトで心拍数を増加させ血圧を上昇させた［Greenfield 2009］）と setmelanotide を比較評価した。まず、LY2112688 の心血管系に対する作用を、肥満（DIO）型アカゲザルで確認した。LY2112688 は、0.5 mg/kg/日の用量で統計学的に有意な心拍数及び血圧上昇作用を示した。肥満（DIO）型アカゲザルモデルが LY2112688 の心血管系に対する作用に対して感受性が高いことが示された後、同じ動物に 0.5 mg/kg/日の setmelanotide を投与するクロスオーバー試験を実施した。その結果、LY2112688 と異なり心拍数及び血圧の上昇は認められなかった。この試験結果は、心血管系に対する安全性の観点から許容可能なプロファイルを有する MC4R 作動薬の開発が可能であることを初めて示した（Greenfield 2009）。

以上、広範なカニクイザル及びアカゲザルモデルで setmelanotide 投与後に心拍数及び血圧に有意な変化がないことが示され、これはヒトでの心血管系に対する安全性評価と一致すると考えられた。ヒト臨床試験では、現在の用量である 3 mg/日の setmelanotide の皮下投与で心拍数及び血圧の上昇を示す徴候は認められていない（2.5.5.1 を参照）。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用

Setmelanotide 及びリラグルチド（グルカゴン様ペプチド-1［GLP-1］受容体［GLP-1R］作動薬）を併用投与し、肥満及び糖尿病の治療に対する MC4R 及び GLP-1R の同時標的化の効果を評価した（Clemmensen 2015）。DIO 型マウスに setmelanotide（4 mg/kg/日）及びリラグルチド（0.038 mg/kg/日）の 1 日 1 回 5 日間の皮下併用投与により、体重減少作用が促進され、単剤投与で達成できる以上の血糖コントロール及びコレステロール代謝の亢進が認められた。この併用投与による優れた代謝に対する効力は、両剤の食欲抑制及び血糖コントロール作用、さらに setmelanotide のエネルギー消費量増加活性に起因すると考えられる。

2.4.3 薬物動態試験

マウス、ラット、ウサギ及びサルを用いた setmelanotide の ADME の評価を含む非臨床薬物動態試験を実施した。また、重要な毒性試験において GLP に準拠した TK 評価により、無毒性量での血漿中 setmelanotide の C_{max} 及び AUC に基づく全身曝露量データを取得し、最大臨床用量である 3 mg/日におけるヒトの全身曝露量との比較により安全域を算出した（表 2.4-3）。また、放射性同位元素で標識した mPEG-DSPE を用いて、ラットにおける ADME 試験を実施した。Setmelanotide の薬物動態的特徴を明らかにするために実施した全ての非臨床試験の一覧を 2.6.5.1 に記載した。

2.4.3.1 分析法及びバリデーション

全ての動物種における血漿中 setmelanotide 濃度は、LC-MS/MS を用いて測定した。バリデートされていない分析法を使用した試験も一部あったが、大部分の主要な TK 試験では特に、血漿中 setmelanotide 濃度はバリデートされた分析法を用いて、GLP に準拠して測定した。Setmelanotide に対する ADA の生成は、該当する場合、バリデートされた免疫測定法を用いて、GLP に準拠して測定した。これらの分析法の詳細は、2.6.4.2 に要約した。

2.4.3.2 吸収及び血漿中薬物動態

ラットに放射性標識体を静脈内（1 mg/kg、約 100 μCi/kg）及び皮下（2 mg/kg、約 100 μCi/kg）投与した際の PK の比較から、皮下投与時の setmelanotide の生物学的利用率は 76～85%と高く、全身曝露量は概して用量に比例して増加した。マウス、ラット及びサルにおいて、全身曝露量に一貫した性差はみられなかった。蓄積には変動がみられたが、より高用量での反復投与によりわずかに蓄積した。

ラット及びサルに setmelanotide/mPEG-DSPE を単回及び反復皮下投与した際、血漿クリアラン

ス（CL/F）及び見かけの分布容積（V_z/F）は高く、半減期（$t_{1/2}$）は比較的短かった。ラットの26 週間の主要な毒性試験である RM-493-TOX-023 試験（4.2.3.2-3）において、定常状態における見かけの血漿クリアランス（CL_{ss}/F）は雄で 0.338～0.512 L/hr/kg、雌で 0.742～1.54 L/hr/kg であった。V_z/F は雄で 5.06～14.7 L/kg、雌で 3.22～9.44 L/kg であり、$t_{1/2}$ は雄で 7.20～19.9 時間、雌で 1.55～5.69 時間であった。サルの 39 週間の主要な毒性試験である RM-493-TOX-024 試験（4.2.3.2-5）において、CL_{ss}/F の平均値は 0.0842～0.216 L/hr/kg、V_z/F は 0.563～1.19 L/kg、$t_{1/2}$ は 2.49～17.6 時間であった。

カニクイザルを用いた単回投与クロスオーバー試験では、臨床用製剤と同じ組成の製剤で保存料添加又は非添加製剤を用いて setmelanotide を 5 mg/kg で皮下投与した際の setmelanotide の薬物動態を評価した。本試験の結果、保存料は setmelanotide の PK に影響を及ぼさないことが示された（RM-493-PK-007 試験［4.2.2.2-4］）。

算出した TK パラメーターから、中和抗体の可能性を示す証拠はなかった。rasH2-Tg マウスを用いた 6 ヵ月間のがん原性試験 RM-493-TOX-042 試験（4.2.3.4.2-3）の 183 日目の 2 つの試料を除いて、非臨床試験で用いた全ての動物種で、setmelanotide に対する ADA 陽性と判定された試料は認められなかった。陽性と判定されたいずれの試料も確認アッセイでの阻害率は低かった。一方の試料は対照群の動物の試料であり、偽陽性と考えられる。もう 1 つの試料は、1 mg/kg 低用量群の雌マウスの試料であったが、カットポイントは 11.1%と非常に低かった。対照群の動物は setmelanotide に曝露されていないこと、陽性と判定されたいずれの試料も陰性のカットポイント付近であったこと、及びより高用量群では陽性と判定された試料はなかったことを考慮すると、これらの結果は偽陽性である可能性が高いと考えられる。

2.4.3.3 分布

2.4.3.3.1 Setmelanotide

In vitro における血漿タンパク結合率（4 時間インキュベーション）は、マウスで 82.4%、ラットで 82.1%、ウサギで 76.3%及びサルで 78.3%であった。ヒトでは 4 時間のインキュベーションで 79.1%であった。したがって、血漿タンパク結合率は評価した動物種間で類似していた。

ラットを用いた定量的全身オートラジオグラフィーの結果、[^{14}C]-setmelanotide 由来の放射能の C_{max} 及び投与後 0 時間から最終測定可能時点までの濃度―時間曲線下面積（AUC_{last}）は雌雄共に腎臓（全ての部位）で最も高く、次いで肝臓及び肺、並びに雌の子宮及び卵巣で血漿及び全血と同程度の比較的高濃度の曝露がみられた（RM-493-PK-008 試験［4.2.2.2-1］）。放射能に対する曝露量が最も低かったのは脳及び眼であった。AUC_{last} に基づいて算出した腎臓の組織／血漿比は最大 37 であり、[^{14}C]-setmelanotide 及び／又はその代謝物が腎臓に高濃度で存在し、尿中に排泄されることが確認された。

有色皮膚及び白色皮膚への分布に差異はみられなかった。

2.4.3.3.2 mPEG-DSPE

Setmelanotide は、保存料及び主要添加剤である mPEG-DSPE を含有する製剤として、患者に 1

日 1 回皮下投与される。市販用製剤である setmelanotide/mPEG-DSPE は、10 mg/mL setmelanotide、100 mg/mL mPEG-DSPE、8 mg/mL カルボキシメチルセルロース、11 mg/mL マンニトール、5 mg/mL フェノール、10 mg/mL ベンジルアルコール及び 1 mg/mL エデト酸二ナトリウムを含有する。Setmelanotide/mPEG-DSPE の最高臨床用量は 3 mg で、1 日 1 回投与である。

保存料添加又は非添加の setmelanotide/mPEG-DSPE 製剤を用いた非臨床及び臨床試験を実施した。保存料非添加の製剤は、ラット及びサルを用いた主要な反復投与毒性試験において最大 39 週間まで使用され、またラット及びウサギを用いた生殖・発生毒性試験にも用いられた。一方、保存料添加市販用製剤は、rasH2-Tg マウスを用いたがん原性試験に用いられた。カニクイザルにおける保存料添加又は非添加 setmelanotide/mPEG-DSPE の単回投与クロスオーバー試験で、保存料は setmelanotide の PK に影響しないことが示された（RM-493-PK-006 試験［4.2.2.2-3］及び RM-493-PK-007 試験［4.2.2.2-4］）。また、市販用製剤では、setmelanotide 製剤と同程度又はそれ以上の濃度で、各種皮下投与薬剤に使用が承認されている保存料が含まれている。非臨床用及び臨床用のいずれの製剤でも、setmelanotide は mPEG-DSPE と抱合化せず、mPEG-DSPE は非抱合の添加物である。

試験に使用した保存料添加及び非添加製剤の組成を表 2.4-1 に要約した。保存料の添加は PK プロファイルに顕著な影響を及ぼさないことが示された。また、毒性試験に用いられた非臨床試験用製剤は、げっ歯類及び非げっ歯類の投与部位の忍容性を向上させるため、5%マンニトールで 1:10 に希釈した。したがって、本項に示す試験では、臨床試験で使用した mPEG-DSPE 製剤を使用した。

ラットに[^{14}C]-mPEG-DSPE を単回又は反復皮下投与した際の PK、マスバランス及び組織分布（脈絡叢を含む）を評価した（RM-493-PK-013 試験［4.2.2.3-4］）。雌雄ラットに[^{14}C]-mPEG-DSPE を 20 mg/kg（100 µCi/kg）で単回皮下投与した際、血漿中で[^{14}C]-mPEG-DSPE 由来の放射能が認められた。投与後 8 時間に C_{max} に到達し、雄で 33.3 µg 等量/g、雌で 30.1 µg 等量/g であった。AUC_{last} は雄ラットで 544 µg 等量*hr/g 及び雌ラットで 508 µg 等量*hr/g であった。[^{14}C]-mPEG-DSPE 由来の放射能は、雄では投与後 144 時間まで、雌では投与後 168 時間まで血漿中で定量可能であった。$t_{1/2}$ は雄で 43.2 時間、雌で 30.1 時間であった。雌雄ラットの排泄に関するデータから、[^{14}C]-mPEG-DSPE を 20 mg/kg で単回皮下投与した際、投与量の 95～97%が尿、糞及びケージ洗浄液中に排泄された。投与量の 73～75%が尿中（ケージ洗浄液を含む）に排泄され、残り（23%）は糞中に排泄された。[^{14}C]-mPEG-DSPE を単回皮下投与後 24 時間において、組織中の[^{14}C]-mPEG-DSPE 由来の放射能濃度の平均値は投与部位で最も高かった。次に高い[^{14}C]-mPEG-DSPE 由来の放射能濃度は、消化管内容物、副腎、脾臓、腎臓及び肝臓でみられた。雌雄共に[^{14}C]-mPEG-DSPE の 7 回目の皮下投与後 24 時間における、組織中の[^{14}C]-mPEG-DSPE 由来の放射能濃度は、最終投与部位で最も高かった。雌雄で分布に明らかな差異はみられなかったが、反復投与後の放射能濃度は概して単回投与後よりも高かった。7 回目の投与後 2 週間及び 7 週間における脈絡叢中濃度は、雌ラット 1 例を除く全ての動物で定量下限未満であった。この雌ラットは、前時点を含む他の全ての測定試料とは異なり、高濃度を示した。

2.4.3.4 代謝

ラットにおける setmelanotide の主要な in vivo 代謝経路は、C 末端のアミドの加水分解による[redacted]（代謝物 M19 として同定）への変換であることが明らかとなった（RM-493-PK-008 試験［4.2.2.2-1］）。さらに、主要代謝物は加水分解により代謝される。血漿試料の高速液体クロマトグラフィーによる分析の結果、setmelanotide 未変化体の放射能の関心領域は測定された放射能の 76～95%であった。

In vitro 試験及びラットにおける in vivo 試験により、setmelanotide は肝臓で代謝されないことが示された。これらの試験から setmelanotide の代謝には主要なチトクローム P450（CYP）は関与しないこと、及び主要な消失経路が尿中排泄であることが示された。ラットの尿中には 19 種類の代謝物が検出され、そのうち 4 種類の代謝物は少なくとも 1 試料で投与量の 5%以上であった（2.4.3.5 項）。尿中代謝物の生成メカニズムは不明であるが、in vitro 及び in vivo のデータから肝代謝ではないことが示唆された。

In vitro 試験において setmelanotide はヒト、ラット及びサルの肝ミクロソーム中で安定であることが示された。ヒト、ラット及びサルの腎ミクロソーム中でも同様の結果が得られたが、腎ミクロソームの安定性評価に用いることができる公知の陽性対照は存在しない。また、setmelanotide はヒト、ラット及びサルの肝細胞中でも安定であることが示された。

2.4.3.5 排泄

雌雄ラットに[^{14}C]-setmelanotide を単回皮下投与した際、投与量の約 85%が尿中（ケージ洗浄液含む）に排泄され、6%が糞中に排泄された（RM-493-PK-008 試験［4.2.2.2-1］）。尿試料の分析の結果、19 種類の代謝物が検出され、そのうち 4 種類の代謝物は少なくとも 1 試料で投与量の 5%以上であった。代謝物のうち 1 種類の代謝物は、MC1R、MC3R 及び MC4R に対して活性を示したが、その活性は setmelanotide 未変化体の約 10 分の 1～約 3 分の 1 であった。他の代謝物の活性は全体的に 1,000 分の 1 未満であった。

糞試料の分析の結果、1 種類の代謝物が検出され、その代謝物は主要代謝物の加水分解、すなわち[redacted]が[redacted]に変換された代謝物の加水分解によって生成した代謝物であった。これらのデータ及び放射能の尿中排泄率が高いことから、ラットにおいて setmelanotide は肝臓で代謝されず、未変化体として尿中排泄されることが示された。

臨床試験（RM-493-026 試験［5.3.3.1.4］）において、一部の被験者から経時的に尿を採取し、尿中 setmelanotide 濃度を測定した。ラットでは尿中から複数の代謝物が検出されたのに対し、ヒトにおいては、尿中で定量可能であった代謝物は M19 及び M7 の 2 種類のみであり、これらの代謝物はラットの尿中でも投与量の 5%以上検出された。M19 は C 末端アミドの加水分解により[redacted]に変換された代謝物であり、M7 は[redacted]－[redacted]間の結合の切断及び[redacted]のさらなる脱離によって生成した代謝物である。被験者数は 6 例と少なく、データに変動がみられたが、setmelanotide を 3 mg で投与した際、M19 は投与量の約 2%、M7 は 1%未満、setmelanotide 未変化体は 20～40%に相当すると推定された。主要代謝物の加水分解によりさらなる代謝が起こる。尿中代謝物の生成メカニズムは不明であるが、in vitro 及び in vivo

のデータから肝代謝ではないことが示唆された。

ヒトにおける循環血中の代謝物に関する曝露量のデータが存在しないため、代謝物についての非臨床毒性評価について結論を導くことはできないが、setmelanotide は小さいペプチド（オクタペプチド）であることから、動物種間で代謝パターンが大きく異なることはないと考えられる。主要な薬理作用を有する化合物は未変化体であり、未変化体については毒性試験において広範に評価されている。

2.4.3.6 薬物動態学的相互作用

In vitro 試験及びラットにおける in vivo 試験により、setmelanotide は肝臓では代謝されないことが示され、併用薬との薬物相互作用の可能性は低いことが示唆された。さらに実施した in vitro 試験では、setmelanotide は 1.2 μmol/L（臨床用量における曝露量に対して高いマージンを示す濃度）で、CYP3A に対して 18.2%阻害し、試験で評価した他の主要な CYP 分子種に対して阻害作用を示さなかった。また、setmelanotide は CYP1A2、CYP2B6 又は CYP3A の誘導する可能性は低い。なお、1 μmol/L までの濃度で 1 例のドナーから調製したヒト肝細胞に対して細胞毒性はないことが示された。さらに、ヒト肝ミクロソーム中で setmelanotide は CYP の時間依存的阻害剤ではないことが示された。Setmelanotide は多剤排出輸送体（MATE）1 及び MATE2K を含む評価したいずれのトランスポーターの基質又は阻害剤ではないことが示された（18RHYTP3 試験［4.2.2.6-7］）。これらの評価の結果から、setmelanotide との薬物動態学的相互作用が惹起される可能性は低いことが示唆された（T0063 試験［4.2.2.6-1］、18RHYTP2_CYP Inhibition 試験［4.2.2.6-2］、18RHYTP2_CYP TDI 試験［4.2.2.6-3］、18RHYTP2_CYP Induction 試験［4.2.2.6-4］）。

2.4.3.7 その他の薬物動態試験

開発初期では生理食塩液を投与媒体に用いた。関連する皮下持続投与による PK 試験及び他の製剤による PK 試験の結果を 2.6.4.8 に示す。これらの製剤に関する結果は、臨床試験で使用される市販用製剤と同一の mPEG-DSPE 製剤で得られた試験結果を裏付けるものである。

網羅性のため、他の製剤を用いた試験報告書をモジュール 4 に含めた。

2.4.4 毒性試験

Setmelanotide の皮下投与による毒性プロファイルは、ラット及びサルの反復投与毒性試験、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、rasH2-Tg マウスの 26 週間がん原性試験、ラット及びウサギの生殖発生毒性試験、幼若ラットの毒性試験により十分に特徴づけられている。これらの試験は、setmelanotide の MTD 又は MFD までの毒性及び TK を評価することを目的として実施された。In vitro 遺伝毒性試験は、ICH S2 ガイドラインにおける上限濃度までの setmelanotide で実施した。Setmelanotide の全ての重要な毒性試験は、経済協力開発機構（OECD）の GLP に準拠して実施した。

Setmelanotide の全ての用量設定試験は、短期間の反復投与試験として実施した。ICH M3(R2)

ガイドラインに従い、単回投与毒性試験は実施しなかった。

Setmelanotide の薬物動態学的特性を明らかにするために実施した非臨床試験の一覧を、2.6.7.1 に示す。

2.4.4.1 反復投与毒性

Setmelanotide/mPEG-DSPE 又は setmelanotide/生理食塩液（setmelanotide/mPEG-DSPE 製剤よりも高用量及び高い全身曝露を確保するために使用）は、ラットで 26 週間（RM-493-TOX-023 試験［4.2.3.2-3］）、サルで 39 週間（RM-493-TOX-024 試験［4.2.3.2-5］）投与した反復皮下投与毒性試験で良好な忍容性を示した。これらの試験で最も一般的な所見は、摂餌量及び体重の減少、並びに投与部位の炎症反応であった。体重及び摂餌量の影響は、MC4R 作動薬活性に関連する setmelanotide の主薬理作用に直接関連している。投与部位反応は主に媒体の mPEG-DSPE に起因し、高用量では setmelanotide も関与している可能性がある。Setmelanotide/mPEG-DSPE 製剤を用いた臨床試験における局所投与部位反応は、一般的に軽度で可逆的であり、最も一般的な症状は紅斑、掻痒、疼痛、硬結及び腫脹であり、これらは約 3 日以内に軽快する（RM-493-009 試験［5.3.3.1.3］）。Setmelanotide を投与した全てのサル試験の全用量で、口吻部及び眼窩周囲の皮膚の色素沈着（暗色化）が観察され、これはメラニンとみられる表皮色素の増加と病理組織学的に相関していた。皮膚の暗色化は、MC1R における setmelanotide の過剰な薬理作用によるものであり、メラノサイトの分化や増殖とは関連しておらず、微粒子状の茶色～黒色の色素であるメラニンの濃度が増加することによるものである（RM-493-TOX-024［4.2.3.2-5］）。

ラット及びサルにおける setmelanotide の反復投与毒性試験では、全身的な有害作用は観察されなかった。ラット（上皮細胞）及びサル（マクロファージ）で反復投与後に脈絡叢で観察された mPEG-DSPE に関連する軽微な空胞化は、PEG のクリアランスに関連する有害ではない適応反応と考えられる（詳細は 2.4.5.3 項参照）。ラット及びカニクイザルの脳切片で抗 PEG 抗体を用いた免疫組織化学染色を実施し、脈絡叢における PEG の存在を確認したが、いずれの動物種においても脈絡叢での PEG 染色は認められなかった。脈絡叢の空胞化は、幼若ラットを用いた 7 週間毒性試験（RM-493-TOX-035 試験［4.2.3.5.4-2］）では認められず、幼若ラット、成獣ラット及びカニクイザルの肝臓、腎臓など、その他の全身臓器のいずれにも空胞化は認められなかった。さらに、rasH2-Tg マウスを用いた 3 試験の 26 週間がん原性試験（RM-493-TOX-042［4.2.3.4.2-3］、RM-493-TOX-044［4.2.3.4.2-4］及び RM-493-TOX-045 試験［4.2.3.4.2-5］）においても、投与に関連した脳の空胞化は認められなかった。

2.4.4.2 遺伝毒性

Setmelanotide の遺伝毒性を評価するため、細菌を用いる復帰突然変異試験、in vitro 染色体異常試験及び in vivo ラット骨髄小核試験の一連の試験を実施した。Setmelanotide の遺伝毒性はいずれの試験においても陰性であり、ICH S2(R1)ガイドラインで定められた各試験の上限濃度及び用量まで検討を行った結果、変異原性及び染色体異常誘発性のいずれも認められなかった。

2.4.4.2.1 In Vitro 試験

Setmelanotide の変異原性を評価するために細菌を用いる復帰突然変異試験（RM-493-TOX-008 試験［4.2.3.3.1-1］）を実施した。ネズミチフス菌試験菌株（TA1535、TA1537、TA98 及び TA100）及び大腸菌試験菌株 WP2*uvrA* を被験物質の 5000 µg/plate（本試験系における標準限度用量）までの濃度範囲でラット肝分画 S9 代謝活性化系（S9 mix）の存在下及び非存在下で処理した。試験はプレート法を用いて実施した。S9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株でも被験物質による復帰突然変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。規制当局のガイドラインに準拠して実施した本 in vitro 変異原性試験において、setmelanotide は遺伝毒性を示さなかった。

また、ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験（RM-493-TOX-009 試験［4.2.3.3.1-2］）で setmelanotide の遺伝毒性を評価した。毒性限界までの濃度（最大 5 mg/mL）で setmelanotide を処理したところ、S9 mix の有無にかかわらず、異常分裂中期細胞の発現頻度に統計学的に有意な増加は認められず、濃度依存性及び再現性のある増加は認められなかった。したがって setmelanotide は、規制当局のガイドラインに基づいて実施した本 in vitro 染色体損傷誘発試験においても、遺伝毒性を示さなかった。

2.4.4.2.2 In Vivo 試験

Setmelanotide の遺伝毒性を評価するためにラット骨髄を用いた in vivo 小核試験（RM-493-TOX-020 試験［4.2.3.3.2-1］）を実施した。ラットに媒体対照（0.9%滅菌生理食塩液）又は setmelanotide/生理食塩液を、2 日間皮下持続投与（24 時間/日）した。高用量である 200 mg/kg/日は、4 日間及び 14 日間の用量設定試験で皮下持続投与したときの MTD と判断された用量である。陽性対照としてシクロホスファミドを単回経口投与した。投与終了後 24 時間に骨髄を採取した。Setmelanotide 投与群では、小核を有する幼若赤血球の発現率に有意な増加は認められなかった。また、幼若赤血球の割合に有意な減少は見られず、骨髄毒性は認められなかった。陽性対照群では小核を有する幼若赤血球の発現率の有意な増加が明らかに認められた。Setmelanotide は、規制当局のガイドラインに準拠して実施した本 in vivo 染色体損傷誘発試験においても、遺伝毒性を示さなかった。

2.4.4.3 がん原性

Setmelanotide のラットの最長 26 週間及びサルの最長 39 週間の反復投与毒性試験（RM-493-TOX-023 試験［4.2.3.2-3］及び RM-493-TOX-024 試験［4.2.3.2-5］、GLP 適用）、並びに生後 7～55 日に投与した幼若ラット試験（RM-493-TOX-035 試験［4.2.3.5.4-2］、GLP 適用）において、前がん性、過形成性及び肥大性（増殖性）組織変化の増加は認められていない。これらの試験では、setmelanotide の最大臨床用量 3 mg/日における臨床曝露量（AUC 及び C_{max}）に対して十分な曝露量比が得られた（表 2.4-3）。加えて、mPEG-DSPE 媒体においても、臨床用量に対して高倍率の用量で投与した場合でも、前がん性又は増殖性組織反応は認められていない。

rasH2-Tg ヘミ接合マウスを用いた setmelanotide/mPEG-DSPE の 26 週間皮下投与がん原性試験

を 3 試験実施した（RM-493-TOX-042 試験［4.2.3.4.2-3］、RM-493-TOX-044 試験［4.2.3.4.2-4］及び RM-493-TOX-045 試験［4.2.3.4.2-5］、いずれも GLP 適用）。最初の 2 試験では技術的な問題（1 試験目では無作為化エラー、2 試験目では給水システムの故障）が発生したが、これらの技術的問題による試験結果や結論に対する影響はなく、setmelanotide/mPEG-DSPE による死亡率や腫瘍形成の増加はないと結論した。これらの rasH2-Tg マウスを用いた 3 試験は、setmelanotide が患者に対して発がん性リスクを示さないことを裏付けている。

遺伝子型が確認された rasH2-Tg マウスにおいて、6 ヵ月間の setmelanotide/mPEG-DSPE 投与に関連した死亡、剖検所見及び腫瘍性変化は認められなかった。雌雄別及び雌雄合算で解析した場合においても、腫瘍発現率に統計学的に有意な用量依存的増加は認められなかった。生理食塩液対照群、mPEG-DSPE 対照群及び setmelanotide/mPEG-DSPE 群で観察された良性及び悪性腫瘍は、このマウスの系統及び週齢において一般的に認められる性質のものであり、発現率は対照群及び被験物質投与群で同程度であり、用量依存性の傾向は見られず、試験施設の背景データの範囲内であったことから、自然発生的と判断された。陽性対照である N-ニトロソメチル尿素群では、予想どおり、アルキル化発がん物質の作用により、生理食塩液対照群及び mPEG-DSPE 対照群と比較して、雌雄共に高い死亡率並びにリンパ腫及び胃腫瘍（扁平上皮乳頭腫及び／又は癌）が高い発現率で認められた。

1 mg/kg/日以上の群で被毛の薄化及び暗色変化、10 mg/kg/日群の雌で尾部の淡色／ピンク色の変色が認められ、いずれも有害ではないと判断された。3 試験の 26 週間がん原性試験の全試験で観察された被毛の暗色化は setmelanotide が MC1R に対して部分作動薬として作用した結果であると考えられる。rasH2-Tg マウスの 26 週間がん原性試験で定常状態における投与 1 時間後の血漿中 setmelanotide 濃度 360～1,800 nmol/L（遊離型濃度 63～317 nmol/L）は、マウス MC1R の EC_{50} を大きく上回っていた。Setmelanotide のマウス MC1R の EC_{50} は、ヒトと比較して 15 倍低い。しかしながら、rasH2-Tg マウスモデルを用いた 6 ヵ月間がん原性試験で観察された血漿中濃度及び曝露量（10 mg 投与時の総 C_{max} は最大 2,210 ng/mL、遊離型 C_{max}［非結合率 17.6%］は 388 ng/mL=347 nmol/L）から、MC1R への作用が示唆される。rasH2-Tg マウスで得られたデータは、setmelanotide がマウスのメラノサイトにおいて MC1R を活性化し、被毛の暗色化を引き起こすことを示しているが、3 試験の 26 週間試験では、いずれの組織にも細胞の過形成、肥大、異形成、前がん性変化及び腫瘍性変化は認められていない。

ヒトの皮膚ではメラノサイトが表皮－真皮接合部及び毛包内に存在するのに対し、マウスでは主に毛包内に存在する。マウスのメラノサイトの MC1R 活性化により被毛の暗色化が生じ（Beaumont 2011）、これはサル及びヒトで観察される皮膚の暗色化と類似した薬理作用である。用量依存的な被毛の黒色化は、毛包メラノサイトにおける setmelanotide の MC1R 活性によるものと考えられ、メラノサイトの増殖、異形成及び腫瘍形成は認められなかった。重要な点として、MC1R に関連する皮膚暗色化が観察されたサル 39 週間試験（RM-493-TOX-024 試験［4.2.3.2-5］）で、メラノサイトの増殖、異形成及び腫瘍形成は認められなかった（MC1R に対する EC_{50}＝7.2 nmol/L、メラニン顆粒の増加のみ）。さらに、MC1 受容体の活性化により、紫外線防御的な皮膚色素沈着が誘導され、メラニン濃度が上昇することで、メラノーマのリスクが低下される可能性があることが示されている（Böhm 2024）。

最後に、MC1R を介した被毛暗色化が観察されたことは、rasH2-Tg マウスにおける setmelanotide の薬理活性を示すものであり、このモデルが皮膚における化学発がん性に対して感受性を有することを示していることから、rasH2-Tg マウスモデルが setmelanotide 曝露に伴うメラノーマ又はその他の皮膚がんのリスク評価に適したモデルであることがさらに支持される。

病理組織学的検査において、setmelanotide/mPEG-DSPE に関連した有害ではない混合細胞性細胞浸潤が、1 mg/kg/日以上の投与群の投与部位に認められ、また、10 mg/kg/日群の雄ではアカントーシスが観察された。同様に、mPEG-DSPE に関連した有害ではない空胞化マクロファージ浸潤が、全身的な影響を伴うことなく投与部位に認められた。いずれもがん原性試験において一貫して観察された所見である。

要約すると、rasH2-Tg マウスを用いた 3 試験全てにおいて、setmelanotide が患者に対して発がん性リスクを示さないことが示された。最大臨床用量である 3 mg/日のヒト C_{max} 及び AUC のそれぞれ 81 倍及び 17 倍に相当する曝露量においても、いずれの試験においてもがん原性の証拠は認められなかった（表 2.4-3）。

Setmelanotide/mPEG/DSPE を用いたラットの 2 年間がん原性試験は実施していないが、本件に関しては医薬品医療機器総合機構（PMDA）に医薬品安全性相談（ICH S1B(R1)ガイドラインに係る相談）した（薬機審長発第 92 号、令和 7 年 4 月 18 日）。この相談において、以下のような ICH S1B(R1)ガイドラインに準拠した「証拠の重み付け」（WoE）アプローチを提示した結果、ラットの 2 年間がん原性試験は免除された。

WoE により、setmelanotide/mPEG-DSPE は患者に対して発がん性リスクを示さないことが示されている。Setmelanotide の rasH2-Tg マウスにおける 26 週間がん原性試験では、死亡率や腫瘍形成の増加は認められなかった。さらに、setmelanotide は復帰突然変異試験、in vitro 染色体異常試験及び in vivo 小核試験において遺伝毒性を示さなかった。ラット（最長 26 週間）、サル（最長 39 週間）及び生後 7～55 日に投与した幼若ラットの反復投与毒性試験においても、前がん病変、過形成、肥大性（増殖性）組織変化は認められず、これらの試験では最大臨床用量 3 mg/日の AUC に基づいて十分な安全域のあることが示された。

加えて、mPEG-DSPE 群でも、臨床用量を大きく上回る投与量において、前がん病変及び増殖性組織反応は認められていない。したがって、総合的な WoE により、setmelanotide/mPEG-DSPE にはがん原性の可能性がないことを支持している。

2.4.4.4 生殖発生毒性

ラットでは、雌雄受胎能に setmelanotide に関連した影響は認められず、setmelanotide の曝露量が、最大臨床用量の 3 mg/日のヒト C_{max} 及び AUC に対してそれぞれ 34 倍及び 11 倍に達する用量においてもラットに催奇形性は認められなかった。ウサギでは、吸収胚数及び着床後胚損失率の増加が、ヒトの AUC の約 0.4 倍を超える曝露量で認められたが、これは投与期間中の著しい摂餌量の低下に起因する可能性が高く、setmelanotide の薬理作用に対するウサギの感受性の高さを示唆するものと考えられた。ラットの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では、setmelanotide の曝露量が最大臨床用量の 3 mg/日のヒト C_{max} 及び AUC に対してそれぞれ 20 倍及び 7 倍に達する用量においても、母動物毒性及び F1 世代への有害作用は認められ

なかった。

2.4.4.4.1 受胎能及び初期胚発生

Setmelanotide/mPEG-DSPE 3 mg/kg/日及び setmelanotide/生理食塩液 15 mg/kg/日が雄ラットの生殖能及び初期胚発生に及ぼす影響について、ICH S5(R2)ガイドラインに準拠し、26 週間反復投与皮下投与毒性試験（RM-493-TOX-023 試験［4.2.3.2-3］）において評価した。29 日間投与した雄ラットを未処置雌ラットと交配させた。交尾確認雌を妊娠 13 日に安楽死させ、卵巣及び子宮検査を実施した。雄については、交尾率及び受胎率、精子の濃度・運動性・形態の評価、並びに雄性生殖器の病理組織学的検査を実施した。Setmelanotide/生理食塩液又は setmelanotide/mPEG-DSPE のいずれの用量にも、交尾率、受胎率、授胎率、着床数、生存胚及び死亡胚数、早期吸収胚数、着床前及び着床後胚損失率に影響は認められなかった。未処置雌の黄体数は全群で一貫していた。投与終了時に、精子の運動性、形態及び数に setmelanotide に関連した影響は認められなかった。精細管の精子形成サイクル評価を含む精巣の詳細な病理組織学的検査を実施したが、投与に関連する変化は認められなかった。Setmelanotide/生理食塩液の無毒性量 15 mg/kg/日における C_{max} 及び AUC 値（雌雄合算）は、最大臨床用量 3 mg/日の臨床曝露量のそれぞれ 116 倍及び 49 倍であった。

Setmelanotide/mPEG-DSPE の雌受胎能及び初期胚発生に及ぼす影響について、5 mg/kg/日までの用量でラットを用いた皮下投与試験（RM-493-TOX-029 試験［4.2.3.5.1-1］）で評価した。ICH S5(R2)ガイドラインにおける生殖発生過程 A～D（交尾前～妊娠終了）を対象とし、未処置雄ラットとの交配開始 14 日前から交配期間及び妊娠 17 日まで雌ラットに投与した。

母動物の評価項目は、死亡、一般状態、体重、体重増加量、摂餌量、発情周期、交尾率、受胎率、妊娠率、TK、ADA 検査、卵巣及び子宮検査（黄体、着床部位、胎盤検査、生存及び死亡胎児、早期及び後期吸収胚）、並びに剖検所見とした。胎児の評価項目は、性比、着床前及び着床後胚損失、胎児体重、内臓及び骨格検査とした。母動物の全身毒性は認められず、発情周期、受胎能、胚・胎児発生に投与に関連した影響は認められなかった。本試験における無毒性量での曝露量（C_{max} 及び AUC）は、最大臨床用量 3 mg/日の臨床曝露量のそれぞれ 34 倍及び 11 倍であった（表 2.4-3）。

2.4.4.4.2 胚・胎児発生

雌の受胎能評価を含めたラットの胚・胎児発生に関する試験結果を 2.4.4.4.1 項に示す。

妊娠 New Zealand White（NZW）ウサギに setmelanotide を最高 0.2 mg/kg/日の用量で投与したときの胚・胎児発生に対する影響を評価した（RM-493-TOX-031 試験［4.2.3.5.2-2］）。Setmelanotide/mPEG-DSPE を NZW ウサギの妊娠 7～13 日に 0.05 及び 0.2 mg/kg/日、又は妊娠 13～19 日に 0.05、0.1 及び 0.2 mg/kg/日の用量で皮下投与した結果、全用量群で setmelanotide の薬理作用に起因する摂餌量及び体重減少が認められたが、死亡例や肉眼的異常所見は認められなかった。

0.1 mg/kg/日以上の群では吸収胚数及び着床後胚損失率の増加が認められ、setmelanotide に関

連する胚致死性が示唆された。妊娠 13～19 日投与の 0.2 mg/kg/日群では胎児体重の低下が認められ、成長に対する影響（胎児毒性）が示された。この影響は setmelanotide の主薬理作用に対するウサギの非常に高い感受性に起因しており、投与期間中に母動物の摂餌量が著しく低下したことによるものであるため、ヒトには該当しないと考えられる。催奇形性の明らかな証拠は認められなかった。

無毒性量における setmelanotide の曝露量は、最大臨床用量である 3 mg/日皮下投与時のヒト AUC 及び C_{max} のそれぞれ約 0.4 倍及び約 1.4 倍であった（表 2.4-3）。

2.4.4.4.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能

Setmelanotide のラットを用いた出生前・出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を実施して、出生児の発達、生存性、身体的発達、行動及び生殖能に対する影響を評価した（RM-493-TOX-033 試験［4.2.3.5.3-1］）。妊娠 6 日～分娩後 21 日の妊娠、分娩及び授乳期間中に、setmelanotide/ mPEG-DSPE を最高 5 mg/kg/日の用量で皮下投与した。妊娠期間及び授乳期間中に、血漿中（母動物及び出生児）及び乳汁中（母動物）setmelanotide 濃度を測定した。F0 世代の評価項目は死亡率、一般状態、体重、摂餌量、母動物の妊娠成績及び剖検所見とし、F1 世代の評価項目は生存性、一般状態、体重、摂餌量、視覚機能（瞳孔閉鎖及び視覚性置き直し）、身体的発達（膣開口及び包皮分離）、行動発達（活動性試験、聴覚驚愕及び馴化）、学習及び記憶（Cincinnati 水迷路）、生殖能［発情周期、交尾能、受胎能、卵巣及び子宮検査（黄体数、着床部位、生存胚、死亡胚及び早期吸収胚）］並びに剖検所見とした。

F0 母動物に投与に関連する体重増加量及び摂餌量の減少が認められ、これらは setmelanotide の薬理作用によると考えられた。F0 母動物の全用量群の分娩後 11 日に用量相関的な乳汁中 setmelanotide が検出されたが、全用量群の生後 11 日の出生児には定量可能な血漿中 setmelanotide は検出されなかった。母動物に全身毒性は認められなかったため、無毒性量は 5.0 mg/kg/日と推定された。いずれの用量群においても F1 世代の生存性、発育、成熟、視覚機能、神経行動及び生殖能に setmelanotide に関連した有害な影響は認められなかったため、F1 世代の無毒性量も 5.0 mg/kg/日と推定された。

無毒性量の妊娠 20 日における setmelanotide の曝露量は、最大臨床用量 3 mg 投与時のヒト AUC 及び C_{max} のそれぞれ約 7 倍及び約 20 倍に相当する（表 2.4-3）。

2.4.4.5 幼若動物の毒性

Setmelanotide を幼若ラットの生後 7～55 日に皮下投与したとき、setmelanotide/mPEG-DSPE の 3 mg/kg/日まで、setmelanotide/生理食塩液の 15 mg/kg/日まで良好な忍容性を示した（RM-493-TOX-035 試験［4.2.3.5.4-2］）。Setmelanotide に関連する有害な一般状態変化、全身臓器に対する影響は見られず、成長パラメーター、性成熟、行動、学習及び記憶、並びに生殖能に対する影響は認められなかった。1.5 mg/kg/日以上の用量で薬理作用による摂餌量及び体重増加量の減少が観察された。mPEG-DSPE 及び／又は setmelanotide に関連する投与部位反応として出血、炎症細胞浸潤及び/又は筋線維の変性／再生が全投与群で認められた。これらの変化は回復期間で可

逆性を示した。

これらの結果に基づき、setmelanotide/mPEG-DSPE の無毒性量は 3 mg/kg/日であった。無毒性量での setmelanotide の曝露量は、臨床用量 3 mg/日のヒト C_{max} 及び AUC のそれぞれ 21 倍及び 7 倍であった（表 2.4-3）。

2.4.4.6 局所刺激性

投与部位の忍容性は、全ての setmelanotide の毒性試験で評価されている。最も一般的な所見は投与部位の炎症反応で、主な添加剤である mPEG-DSPE に起因するものであり、高用量では setmelanotide の関与も考えられた。投与部位反応の病理組織学的検査の詳細は 2.6.6 に記載した。臨床用 setmelanotide/mPEG-DSPE 製剤を用いたヒトでの局所投与部位反応は、全般的に軽度かつ可逆的であり、最も多く見られる症状は紅斑、掻痒、疼痛、硬結及び腫脹であり、これらは通常約 3 日以内に軽快する（RM-493-009 試験［5.3.3.1.3］）。

2.4.4.7 その他の毒性

2.4.4.7.1 抗原性

ADA 測定では、ラット、ウサギ、サルを用いた毒性試験において、抗原性の証拠は認められなかった。rasH2-Tg マウスの媒体対照群及び低用量群の各 1 例の血清試料は、陽性判定のカットポイントをわずかに上回っていた（RM-493-TOX-042 試験［4.2.3.4.2-3］）。対照群の動物は setmelanotide に曝露されていないこと、両動物の試料が陰性判定のカットポイント近くであったこと、及びいずれの setmelanotide 投与群の他のマウスも陰性であったことを考慮すると、これらの結果は偽陽性の可能性が高い。

rasH2-Tg マウスを用いた 2 及び 3 試験目のがん原性試験の血清試料では ADA 陰性であった。

2.4.4.7.2 免疫毒性

Setmelanotide/mPEG-DSPE を用いたラット及びサルの反復投与毒性試験を含め、setmelanotide のいずれの試験においても免疫毒性は認められなかった。

2.4.4.7.3 不純物の安全性

原薬及び製剤中の不純物は、setmelanotide/生理食塩液のラット及びサルを用いた 13 週間持続皮下投与毒性試験（RM-493-TOX-016 試験［4.2.3.7.7-1］及び RM-493-TOX-015 試験［4.2.3.7.7-2］）で安全性が確認されているか、ICH の適合性基準を下回る規格値が設定されている。原薬及び製剤の規格設定に関する追加情報は、2.6.6.8.2 項、並びに 3.2.S.4.5 及び 3.2.P.5.6 に記載する。

2.4.4.7.4 光毒性

Setmelanotide はペプチドであるため、ICH S10 ガイドラインに従い、光毒性試験は実施していない。

2.4.4.7.5 代謝物

Setmelanotide の単離代謝物の毒性試験は実施しておらず、必要とも考えていない。ヒトにおける結果では、測定可能な尿中代謝物は M19 及び M7 の 2 種類のみであることが示されている。M19 は C 末端アミドの加水分解によって[redacted]に変換されることで生じ、M7 は[redacted]－[redacted]結合の切断及びその後の[redacted]の消失によって生じる。投与量 3 mg/日の M19 は約 2%、M7 は 1%未満と推定されている。

2.4.4.7.6 依存性

Setmelanotide の反復投与による依存性を評価するための特定の試験は実施していない。安全性薬理試験（2.4.2.3.1）を含む非臨床安全性試験において、中枢神経系に対する影響は観察されなかった。また、ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験における一般状態観察で、回復期間中に薬物離脱症状は認められなかった。

2.4.4.7.7 新添加剤の安全性評価

日本では mPEG-DSPE の皮下投与は新添加剤に該当する。Setmelanotide の 10 mg 製剤は 100 mg の mPEG-DSPE を含有し、最大臨床用量 3 mg/日投与時の mPEG-DSPE の投与量は約 30 mg/日（体重 60 kg の被験者を想定した場合、0.5 mg/kg/日）である。

mPEG-DSPE の安全性を、ラット及びサルにおける皮下投与による一般毒性試験及び生殖発生毒性試験により評価し、さらに遺伝毒性及びがん原性についても評価した。その結果、皮下投与による mPEG-DSPE（最高 30 mg/日）の安全性が確認された（表 2.4-2）。

一般毒性

ラット 26 週間及びサル 39 週間投与毒性試験において、それぞれ 30 mg/kg/日及び 3/10 mg/kg/日（3 mg/kg/日は最初の 8 週間）の mPEG-DSPE を反復皮下投与したところ、いずれの試験においても全身毒性は見られず、mPEG-DSPE に起因すると考えられる投与部位の炎症反応が見られたものの、有害とは判断されなかった。また、ラット及びサルの脳で観察されたメトキシポリエチレングリコール（mPEG）関連の細胞質空胞化の程度は軽微で、脈絡叢上皮細胞（ラット）又はマクロファージ（サル）に局在しており、他の臓器や組織では観察されず、脳組織の変形や変性、炎症及び壊死などの有害な病理組織学的変化は見られず、一般状態観察において機能障害も認められなかった。したがって、この所見は mPEG のクリアランスに関連する適応反応であると考えられ、毒性とは判断されなかった。30 mg/kg/日及び 3/10 mg/kg/日は、それぞれ臨床用量（0.5 mg/kg/日）の 60 倍及び 6/20 倍に相当する。

生殖発生毒性

生殖発生毒性試験において、mPEG-DSPE（50 mg/kg/日、臨床用量の 100 倍）はラットにおいて全身性の母動物毒性を示さず、発情周期、受胎能及び胚・胎児発生に投与に関連する影響を及ぼさなかった。

遺伝毒性

mPEG-DSPE は、ネズミチフス菌及び大腸菌を用いる復帰突然変異試験（最高 5,000 µg/plate）及びチャイニーズハムスター肺由来細胞（CHL/IU 細胞）を用いる染色体異常試験（最高 5,000 µg/mL）において、代謝活性の有無にかかわらず遺伝毒性を示さなかった（ヤンセンファーマ株式会社 2009）。

なお、rasH2-Tg マウスの 6 ヵ月間皮下投与がん原性試験において、mPEG-DSPE（50 mg/kg/日：臨床用量の 100 倍）はがん原性を示さなかった。

表 2.4-2 mPEG-DSPE の毒性試験における最大臨床用量 3 mg/日に対する安全域

Study	Dose of mPEG-DSPE in the vehicle control group	mPEG-DSPE Dose Margins [a]
6-Month Rat	30 mg/kg/day	60
9-Month Monkey	3/10 mg/kg/day (3 mg/kg/day from week 1 – 8 / 10 mg/kg/day from week 9 - 39)	6/20
Female Fertility and EFD in Rats	50 mg/kg/day	100
PPD in Rats	50 mg/kg/day	100
26-Week Tg.rasH2 Mouse Carcinogenicity (3)	50 mg/kg/day	100

EFD = embryo-fetal development; mPEG-DSPE = N-(carbonyl-methoxypolyethylene glycol-2000)-1,2-distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine; PPD = pre/postnatal development

a mPEG-DSPE dose of the vehicle control group in the toxicity study based on the maximum clinical dose of 3 mg/day is 30 mg/day (0.5 mg/kg/day, assuming a 60 kg subject)

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 薬理

4 歳以上を対象とした後天性視床下部性肥満の治療を適応とする、本承認申請で示された試験結果を以下に要約する。これらは、重度の遺伝性肥満症の治療を適応として FDA、EMA 及び他の規制当局から承認を受けた際に提供されたのと同じ非臨床データパッケージである。

Setmelanotide は、天然に存在する α-MSH の 8 つのアミノ酸からなる環状ペプチド誘導体である。MC4R の強力な作動薬であり、FDA、EMA 及び他の規制当局によって、視床下部の MC4R シグナル伝達経路に悪影響を及ぼすことが知られる遺伝的欠陥に起因する重度の遺伝性肥満症の治療薬として承認されている。これらには、プロオピオメラノコルチン（*POMC*）、レプチン受容体（*LEPR*）及びプロタンパク質転換酵素サブチリシン／ケキシン 1 型（*PCSK1*）欠損患者、並びにバルデー・ビードル症候群（BBS）患者の重度の早期発症型肥満症の遺伝的要因が含まれる。また、他の要因として、アルストレーム症候群（AS）、ヘテロ接合性 *Mc4r* 欠損症及び MC4R シグナル伝達経路の機能不全により発症する他の遺伝性肥満疾患又は後天性肥満疾患（主に頭蓋咽頭腫又は視床下部の他の腫瘍により誘発される視床下部性肥満など）などがある。

非臨床試験は、setmelanotide とその標的である MC4R との分子生理学的な相互作用を理解し、臨床試験で有効性が欠如し安全性に関する基準を満たせなかった従来の MC4R 作動物質との違いを明らかにするようデザインした。さらに、痩せ型及び肥満型の非臨床動物種、並びに遺伝性肥満モデルを用いて setmelanotide の臨床での有効性を予測した。アカゲザルが臨床試験の予測性が最も高いという仮説に基づき、アカゲザルに主な焦点を当てて、体重減少、摂餌

量、他の代謝パラメーター及び血糖パラメーターを慎重に評価した。また、LY2112688 などの MC4R 作動物質を臨床で使用した場合に認められる心拍数及び血圧の上昇リスクを理解することにも重点を置いて評価した。

細胞系での作用特性：

Setmelanotide は、以前のヒト臨床試験で心拍数及び血圧の上昇を誘発すると報告された MC4R 作動物質 LY2112688 と比較して、独自のシグナル伝達特性を示した（Greenfield 2009）。まず、setmelanotide はヒト MC4R に結合（Ki = 2.1 nmol/L）し、MC4R 結合型 Gαs タンパク質シグナル伝達を介して cAMP の蓄積を促進した（EC_{50} = 0.79 nmol/L）。この cAMP の蓄積は MC4R 拮抗物質 AgRP によって完全に阻害された。さらに、setmelanotide は NFAT 活性化経路を介してホスホリパーゼ C（PLC）も活性化するが、これは Gq/G_{11} シグナルタンパク質を介して誘導されると考えられ、この PLC 活性化作用は AgRP によって阻害されなかった（Clément 2018）。PLC 活性化アッセイ（ルシフェラーゼレポーター遺伝子を用いた NFAT 活性の測定による）では、setmelanotide と LY2112688 の差異が示され、(a) setmelanotide は LY2112688 よりも 50 倍高い効果（EC_{50} = 5.9 nmol/L）を示し、(b) setmelanotide による PLC の活性化は AgRP によって阻害されなかったが、LY2112688 による PLC の活性化は AgRP によって完全に阻害された。これらの試験結果は setmelanotide が独自のシグナル伝達活性化能を有することを示しているが、薬理作用に関して明らかにされたこれらの細胞ベースの作用の違いの重要性は明らかでない。しかし、視床下部室傍核の Gαs シグナルタンパク質をノックアウトしたマウスモデルで、残存する Gq/G_{11} シグナルタンパク質を介した MC4R シグナル伝達は心血管系に対する応答を示さなかった（Li 2016）ことは重要である。

マウス、ラット及びアカゲザルの肥満モデルに対する効力、並びにインスリン及びグルコースに関するパラメーターに対する作用：

摂餌量及び体重増加を抑制する setmelanotide の薬理作用は、通常餌で飼育された痩せ型動物よりも DIO 型モデル及び遺伝性肥満モデルで顕著であった。DIO 型マウス、ラット及びアカゲザルモデルでは、setmelanotide の反復投与の開始直後から摂餌量が抑制され、体重及び脂肪量の減少効果が認められ、投与期間中継続した。体重減少効果は、脂肪量の減少、エネルギー消費量の増加、グルコース恒常性の改善及びインスリン感受性の改善と関連した。

DIO 型アカゲザルに 0.5 mg/kg/日の setmelanotide を 8 週間皮下持続注入投与により、投与期間中に体重が 13.5%減少した。体重減少はエネルギー消費量の増加によるもので、摂餌量は投与開始後早期に抑制効果が認められ、投与開始 4 週目から 7 週目にかけてベースライン値に戻り、投与 8 週目にはベースライン値からわずかに増加した。投与終了後 10～12 週の間に体重はベースライン値に戻った。TG、コレステロール及び遊離脂肪酸の用量依存性の減少も認められた。比較対照である Lilly 社の MC4R 作動物質 LY2112688 で同じ投与量で認められた作用と比較して、setmelanotide は摂餌量に対して有意な抑制効果を示した。

DIO 型マウス及び Sprague-Dawley ラットモデルでは 14 日間の setmelanotide の持続注入投与期間中、全ての投与群で媒体対照群と比較して体重増加の用量依存性の抑制傾向が認められた。この体重減少効果は、DIO 型マウスと比較して DIO 型 Sprague-Dawley ラットでより顕著で、setmelanotide 投与終了後も少なくとも 7 日間継続した。

Setmelanotide の投与により、Sprague-Dawley ラット及びアカゲザルの両方で体重減少が認められない場合でも耐糖能及びインスリン感受性の改善が認められた。これらのインスリン及びグルコースに関するパラメーターに対する作用は setmelanotide が MC4R に作用することによるもので、setmelanotide を投与した *Mc4r* ノックアウトマウスではこれらのパラメーターの変化は認められなかった。Setmelanotide の投与により、TG、コレステロール及び遊離脂肪酸も用量依存的に減少した。

レプチン受容体遺伝子に変異を有する Zucker ラットモデル、PWS の動物モデルである *Magel2* 遺伝子欠失マウス肥満モデルなどの遺伝性肥満モデルで、setmelanotide は非常に高い効力を示した。これらのモデルでの体重増加率の減少及び急性の摂餌量の抑制に対する setmelanotide の効力は対応する WT 動物での効力よりも優れていた。

Setmelanotide 及び GLP-1 受容体作動薬の併用投与の効果：

Setmelanotide 及びリラグルチド（GLP-1R 作動薬）の併用投与により、肥満及び糖尿病治療での MC4R 及び GLP-1R の同時標的化の効果を評価した。DIO 型マウスに setmelanotide（4 mg/kg/日）及びリラグルチド（0.038 mg/kg/日）を 1 日 1 回 5 日間皮下併用投与により、体重減少作用が促進され、単剤投与で達成できる以上の血糖コントロール及びコレステロール代謝の亢進が認められた。この併用投与の優れた代謝に対する効力は、両剤の食欲抑制作用及び血糖コントロール作用、並びに setmelanotide によるエネルギー消費量増加作用によるものと考えられた。

効力を裏付ける試験をまとめると、マウス、ラット及びアカゲザルの肥満モデルを用いた試験で、setmelanotide は体重増加を著しく抑制し、又は体重減少をもたらし、その効果は投与終了後も数日間持続することが示された。また、この体重減少効果は、脂肪量の減少、エネルギー消費の増加及びグルコース恒常性の改善と関連し、インスリン感受性を亢進した。重要な点として、setmelanotide は体重減少効果とは独立してインスリン感受性の亢進及びグルコース恒常性改善を示した。体重減少効果に伴うこれらの効果は、setmelanotide が MC4R に作用することによって誘導されることが示された。これらの結果より、種々の非臨床モデルで setmelanotide の効力が確かめられ裏付けられた。

心血管系に対する安全性薬理試験：

本非臨床試験では、臨床試験で MC4R 作動物質 LY2112688 によって誘発された心拍数及び血圧の上昇の報告（Greenfield 2009）を踏まえて、setmelanotide の心血管系に対する安全性を評価した。これらの評価では、主にカニクイザル及びアカゲザルを評価した。

In vitro 試験で最大臨床用量 3 mg 投与時のヒト血漿中非結合型 setmelanotide 濃度の約 17,500 倍の濃度でも hERG カリウム電流に対する阻害作用はほとんど認められなかったことから、setmelanotide による hERG に関連する QTc 延長リスクは非常に低いと考えられた。

カニクイザルを用いた心血管系に対するテレメトリーGLP 試験（RM-493-PH-003 試験［4.2.1.3-6］）では、最大 25 mg/kg/日（RM-493-PH-007 試験［4.2.1.1-13］［非 GLP 試験］で、アカゲザルで顕著な体重減少作用を示した用量の 50 倍）の用量で setmelanotide の 3 日間皮下持続注入投与により、血行動態及び心電図パラメーターに対して生物学的に意義のある setmelanotide の投与に関連した作用は認められなかった。

肥満型アカゲザルを用いた 8 週間の試験の結果、0.5 mg/kg の setmelanotide の皮下持続注入が

心拍数及び心電図パラメーターに作用しないことが示された（RM-493-PH-007 試験［4.2.1.1-13］、非 GLP 試験）。これらのカニクイザル及びアカゲザルを用いた試験結果は、臨床試験で setmelanotide が 3 mg/日の皮下投与により、心拍数及び血圧に対する作用を示さなかった（モジュール 2.7 を参照）ことと一致する。

その他の安全性薬理試験：

オフターゲット受容体パネル：

競合リガンド結合アッセイで 71 種類のオフターゲット受容体に対する作用を評価した。64 種類のオフターゲット受容体に対する 1 µmol/L の setmelanotide の結合阻害はわずか（20%未満）であり、これは主にアッセイの変動によるものと考えられた。5 種類のオフターゲット受容体に対しては、setmelanotide はリガンド結合を 20～50%阻害した。なお、アッセイに用いた setmelanotide の濃度 1 µmol/L は、臨床用量 3 mg 投与時に認められた非結合型 setmelanotide の C_{max} の約 55 倍に相当する（RM-493-026 試験［5.3.3.1.4］、コホート 3）。

呼吸系及び中枢神経系に対する安全性薬理試験：

ICH ガイドラインに準拠した GLP 適用下で実施した安全性薬理試験のコアバッテリー試験では、雄性ラットを用いた神経行動に対する安全性薬理試験で、setmelanotide を最大 120 mg/kg まで皮下持続注入投与により、FOB の定性的又は定量的パラメーターのいずれに対しても投与に関連した作用は認められず、自発運動量に対する作用も認められなかった。また、120 mg/kg までの投与では、ラットの呼吸数、一回換気量及び分時換気量に対しても投与に関連した作用は認められなかった。

結論：

Setmelanotide は、選択性の高い MC4R 作動薬で、in vitro で MC4R とカップリングしている Gαs タンパク質を介して cAMP の蓄積を促進すると共に、NFAT 活性化経路（これは MC4R が Gq/G11 シグナル伝達タンパク質とカップリングすることによると考えられる）を介して PLC を活性化する。

DIO 型マウス、ラット及びアカゲザルモデルを用いた非臨床の効力を裏付ける試験で、setmelanotide は、摂餌量、体重、肥満及び体重増加率の抑制に効力を示し、代謝パラメーター、耐糖能及びインスリン感受性の改善を示し、インスリン感受性亢進作用を示した。

Setmelanotide は、レプチン受容体遺伝子に変異を有する Zucker *fa*/*fa* ラット（MC4R 経路に影響を及ぼす遺伝性肥満ラットモデル）、*Magel2* 欠失マウス（PWS のマウスモデル）などの遺伝性肥満のげっ歯類モデルで、それぞれ対応する WT 動物と比較して高い効力を示した。

GLP 適用下の呼吸系、中枢神経系、in vitro hERG チャネル電流、in vivo 心血管系などに対する安全性薬理試験で、setmelanotide の作用による安全性に関する懸念は認められなかった。カニクイザルを用いた心血管系に対する GLP 適用下の安全性薬理試験では、アカゲザルで摂餌量の抑制及び体重減少に対して効力を示した用量の 50 倍量を 3 日間皮下持続注入投与により心血管系に対する懸念される徴候は認められなかった。肥満型アカゲザルでは、setmelanotide の 8 週間の長期投与で心拍数及び血圧の上昇は認められなかった。非臨床試験で setmelanotide の心血管系に関する安全性プロファイルは、おおむね良好と判断された。

以上、in vitro 及び in vivo の効力を裏付ける試験結果より、setmelanotide は強力かつ選択性の

高い MC4R 作動薬であり、心血管系に影響を及ぼすことなく体重減少に対して効力を示した。

2.4.5.2 薬物動態

マウス、ラット、ウサギ及びサルを用いた setmelanotide の ADME に関する非臨床試験を実施した。主に setmelanotide/mPEG-DSPE を投与したときの PK、TK 及び ADME の結果を以下に要約する。

吸収及び血漿中薬物動態：

ラットに放射性標識体を静脈内（1 mg/kg、約 100 μCi/kg）及び皮下（2 mg/kg、約 100 μCi/kg）投与したときの PK の比較から、setmelanotide の絶対的生物学的利用率は 76～85%であった。マウス、ラット及び／又はサルに setmelanotide を単回及び反復投与した際、全身曝露量は概してほぼ用量に比例して増加し、一貫した性差はなく、反復投与した際、より高用量ではわずかに蓄積がみられた。サルにおいて臨床用製剤中の保存料の有無は、setmelanotide の PK に影響を及ぼさなかった。

CL/F 及び V_z/F は高く、$t_{1/2}$ は比較的短かった。ラットの 26 週間の毒性試験において、CL_{ss}/F は雄で 0.338～0.512 L/hr/kg、雌で 0.742～1.54 L/hr/kg であった。V_z/F は雄で 5.06～14.7 L/kg、雌で 3.22～9.44 L/kg であり、$t_{1/2}$ は雄で 7.20～19.9 時間、雌で 1.55～5.69 時間であった。サルの 39 週間の試験では、CL_{ss}/F の平均値は 0.0842～0.216 L/hr/kg、V_z/F は 0.563～1.19 L/kg、$t_{1/2}$ は 2.49～17.6 時間であった。

主要な毒性試験で得られた setmelanotide の全身曝露量とヒトにおける最大臨床用量 3 mg 投与時の曝露量の比較を表 2.4-3 に示す。

分布：

In vitro における血漿タンパク結合率（4 時間インキュベーション）は、マウスで 82.4%、ラットで 82.1%、ウサギで 76.3%及びサルで 78.3%であった。ヒトでは、同じ評価方法で 79.1%であった。したがって、血漿タンパク結合率は評価した動物種間で類似していた。

ラットにおける定量的全身オートラジオグラフィーを用いた組織分布試験において、雌雄共に腎臓（全ての部位）で最も曝露量が高く、次いで肝臓及び肺、並びに雌の子宮及び卵巣で血漿及び全血と同程度の比較的高濃度の曝露がみられた。放射能に対する曝露量が最も低かったのは脳及び眼であった。

有色皮膚及び白色皮膚への分布に差異はみられなかった。

雌雄ラットに[^{14}C]-mPEG-DSPE を 20 mg/kg（100 μCi/kg）で単回又は反復皮下投与した際、$t_{1/2}$ は雄で 43.2 時間、雌で 30.1 時間であった。排泄に関するデータから、投与量の 95～97%が尿、糞及びケージ洗浄液中に排泄された。投与量の 73～75%が尿中、残り（23%）は糞中に排泄された。単回又は反復皮下投与後 24 時間における組織中の[^{14}C]-mPEG-DSPE 由来の放射能濃度の平均値は、単回投与では投与部位で、反復投与では最終投与部位で最も高かった。7 回目の投与後 2 週間及び 7 週間における脈絡叢中濃度は、雌ラット 1 例除いて定量限界未満であった。この雌ラットは、前時点を含む他の全ての試料とは異なり、高濃度を示した。これらのデータから、皮下投与後 7 週間における[^{14}C]-mPEG-DSPE の脈絡叢への移行は限定的であることが示唆された。

代謝：

血漿試料のラジオクロマトグラフィーによる分析の結果、setmelanotide 未変化体は測定された放射能の 76～95%であった。Setmelanotide 未変化体及び 19 種類の代謝物が、尿を主とするラット排泄物の抽出物中で検出された。4 種類の代謝物は一部の試料で投与量の 5%超であった。Setmelanotide の主要な代謝経路は、C 末端アミドの加水分解による[redacted]への変換であった。ラット尿中において検出された遊離[redacted]体のみが、MC1R、MC3R 及び MC4R に対して活性を示したが、その活性は setmelanotide 未変化体の約 10 分の 1～約 3 分の 1 であった。他の代謝物の活性は全体的に 1,000 分の 1 未満であった。

臨床試験（RM-493-026 試験［5.3.3.1.4］）において、尿中 setmelanotide の測定のため、一部の被験者から経時的に尿を採取した。ラットでは尿中から複数の代謝物が検出されたのに対し、ヒト尿中で定量可能であった代謝物は M19 及び M7 の 2 種類のみであった。M19 は C 末端アミドの加水分解により[redacted]に変換された代謝物であり、M7 は[redacted]－[redacted]間の結合の切断及び[redacted]のさらなる脱離によって生成した代謝物である。被験者数は 6 例と少なく、データには変動がみられたが、setmelanotide を 3 mg で投与した際、M19 は投与量の約 2%、M7 は 1%未満、setmelanotide 未変化体は 20～40%に相当すると推定された。

Setmelanotide は肝臓で代謝されなかった。Setmelanotide はヒト、ラット及びサルの肝及び腎ミクロソーム中及び肝細胞中で安定であった。

排泄：

雌雄ラットに[^{14}C]-setmelanotide の単回皮下又は静脈内投与後 168 時間までに投与量の 90%超が尿、糞及びケージ洗浄液中に排泄された。未変化体及び代謝物は主に尿中に排泄され（85.1%）、糞中排泄率は小さかった（6.2%）。

薬物動態学的薬物相互作用：

Setmelanotide と併用される薬物との薬物相互作用の可能性は低いと考えられる。臨床用量での曝露量に比して非常に高い曝露量で CYP3A に対してわずかな阻害作用を示したことを除いて、setmelanotide は CYP に対する阻害作用又は誘導作用を示さなかった。また、setmelanotide は P-糖タンパク質、乳癌耐性タンパク、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2、MATE1 又は MATE2K の基質ではなく、これらのトランスポーターの顕著な阻害剤でもなかった。

抗薬物抗体：

rasH2-Tg マウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験（RM-493-TOX-042 試験［4.2.3.4.2-3］）の Day 183 の 2 つの試料を除いて、非臨床毒性試験で評価した全ての動物種で抗 setmelanotide 抗体が陽性と判定された試料は認められなかった。陽性と判定されたいずれの試料も確認アッセイでの阻害率は低く、一方の試料は対照群の動物の試料であり、偽陽性と考えられる。もう 1 つの試料は、1 mg/kg 低用量群の雌マウスの試料であり、カットポイントは 11.1%と非常に低かった。対照群の動物は setmelanotide に曝露されていないこと、いずれの試料も陰性のカットポイント付近であったこと、及び setmelanotide 高用量群の他のマウスは陽性ではなかったことを考慮すると、これらの結果は偽陽性である可能性が高い。

2.4.5.3 毒性

Setmelanotide の皮下投与による毒性プロファイルは、ラット及びサルの反復投与毒性試験、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、rasH2-Tg マウスのがん原性試験、ラット及びウサギの生殖発生毒性試験、幼若ラットの毒性試験により十分に特徴づけられている。これらの試験は、setmelanotide の MTD 又は MFD までの用量の毒性及び TK を評価するために計画された。In vitro 遺伝毒性試験は、ICH S2 ガイドラインにおける上限濃度までの setmelanotide で実施した。Setmelanotide の全ての重要な毒性試験は、OECD の GLP に準拠して実施した。

反復投与毒性：

Setmelanotide/mPEG-DSPE 又は setmelanotide/生理食塩液を、ラット及びサルにそれぞれ最長 26 週間及び 39 週間皮下投与したときの忍容性は良好であった。

ラット及びサルの反復投与毒性試験における有害所見は、主に mPEG-DSPE に起因した投与部位の炎症反応に限定されており、高用量では setmelanotide の関与も示唆されている。臨床試験における setmelanotide/mPEG-DSPE 製剤による局所投与部位反応は全般的に軽度かつ可逆的であり、最も一般的な症状は紅斑、掻痒、疼痛、硬結及び腫脹であり、通常 3 日以内に軽快する。

ラット及びサルにおける setmelanotide の反復投与毒性試験では、全身的な有害作用は観察されなかった。摂餌量及び体重減少は、setmelanotide の主薬理作用に直接関連するものであった。ラット（上皮細胞）及びサル（マクロファージ）で反復投与後に脈絡叢で観察された mPEG-DSPE に関連する軽微な空胞化は、PEG のクリアランスに関連する有害ではない適応反応と考えられた。他の MC4R 作動薬とは異なり、サル 39 週間毒性試験では、血圧や心電図に投与に関連する変化は認められなかった。ラット及びサルの反復投与毒性試験での無毒性量における曝露量は、最大臨床用量 3 mg/日に対して十分な安全域が得られている。Setmelanotide/mPEG-DSPE の C_{max} 及び AUC に基づく安全域は、ラット試験でそれぞれ 20 倍及び 9 倍、サル試験でそれぞれ 32 倍及び 26 倍であった（表 2.4-3）。

Setmelanotide/mPEG-DSPE の反復皮下投与毒性試験では、ラット及びサルの脳の脈絡叢に軽微な細胞質空胞化が認められた。ラット 26 週間毒性試験では、病理学的ピアレビューにより、mPEG-DSPE 含有製剤を投与したラットの数例で、脈絡叢上皮細胞の軽微な空胞化が認められた（雄雌合算で媒体群、低・中・高用量群を合わせた 160 例中 9 例）。回復群では、低用量群及び中用量群の各 2 例の脈絡叢上皮細胞の軽微な空胞化が観察されたが、媒体群及び高用量群では認められなかった。これらの変化は、発現頻度及び程度が極めて低く、局所的であり、炎症、変性や壊死、脳実質及び脳室系の変化などが認められなかったことから、有害とは判断されなかった。空胞化は、投与部位におけるマクロファージや慢性活動性炎症に関連する他の細胞型において認められたが、生理食塩液対照群でも観察される背景所見である肝細胞空胞化を除き、他の組織や細胞型では認められなかった（RM-493-TOX-023 試験［4.2.3.2-3］）。PEG 及び PEG 化バイオ医薬品投与後に脈絡叢を含めた多くの組織で認められる細胞質空胞化は、PEG のクリアランスに関連する適応反応であり、PEG に対する毒性反応ではないと考えられている。

サルの 39 週間毒性試験において、脳の脈絡叢上皮細胞の空胞化は認められなかった。mPEG-DSPE を含む製剤を投与した全例の脈絡叢間質に、軽微な空胞化（泡沫状）マクロファージ集簇がみられ、回復群にも脈絡叢に残存していた。PEG に対するマクロファージの空胞化は、毒性

学的意義のない正常な生理学的反応と考えられている（Ivens 2015、Rudmann 2013）。この見解と一致して、炎症、変性、壊死、脳組織の変形、脳におけるその他の有害な変化などは認められなかった。

さらに、脈絡叢上皮細胞の空胞化に関連するリスク因子の一つは PEG 部分の分子量であり、PEG 部分が少なくとも 40 kDa である場合にのみ、サルで脈絡叢上皮細胞の空胞化が観察されている。これに対し、setmelanotide 製剤中の mPEG-DSPE の分子量はわずか 2 kDa で、懸念される閾値の 20 分の 1 である。Setmelanotide 製剤に使用されている mPEG-DSPE の低い分子量は、1）カニクイザルにおける脈絡叢上皮細胞の空胞化が見られなかったこと、2）カニクイザルにおける脈絡叢マクロファージの空胞化及びラットにおける脈絡叢上皮細胞の空胞化が非常に軽微であったこと、及び 3）サル及びラットに反復投与しても脈絡叢の空胞化が重篤化することがなかったことに直接関係していると考えられる。

また、遊離 PEG は脳内で能動的に輸送されないものの、PEG 部分が能動的に輸送される薬剤に共有結合されている場合、高分子量の PEG による脈絡叢上皮細胞の空胞化が著しく促進される可能性があることが示唆されている。mPEG-DSPE は setmelanotide と共有結合されていないため、能動輸送及び脈絡叢への蓄積の可能性が低くなる。これは、反復投与によって脈絡叢の空胞化が重篤化しなかったという結果と一致している。

全体として、反復投与毒性試験で得られた無毒性量は、setmelanotide の 3 mg 投与の臨床用量に対して、mPEG-DSPE に関して十分な安全域が得られている。

Setmelanotide を用いた全てのカニクイザル試験で、鼻口部及び眼窩周囲の皮膚の色素沈着（暗色化）が観察されており、これはメラニンと一致する表皮色素の増加と組織学的に相関している。この色素沈着は setmelanotide の MC1R 作動薬活性によるものであり、網膜など他の色素組織では観察されなかった。通常、この所見は投与開始から約 1 週間後に現れ、投与期間終了まで継続する。S-100 タンパク質（メラノサイトに発現し、ケラチノサイトには発現しない）に対する免疫染色を用いて鼻口部皮膚切片を検査した結果、投与群と対照群の S-100 陽性細胞数に顕著な差は認められなかったことから、setmelanotide 投与サルにおける顔面の色素沈着はメラノサイトの細胞増殖によるものではないことが示唆された。回復期間終了時には、顔面の色素沈着は改善又は消失しており、可逆性のあることが示された。

カニクイザルでは MC1R の皮膚色調における役割は、他の動物種とは異なる可能性があるが（Haitina 2007、Nakayama 2008）、観察された皮膚の暗色化は MC1R に対する setmelanotide の薬理作用と考えられている。カニクイザルにおける口吻部の暗色化は、有害事象やメラノサイトの増殖と関連せず、休薬後 6～10 週間以内に回復した。Setmelanotide の臨床試験でも可逆的な皮膚の暗色化が報告されている。また、MC1R、MC3R 及び MC4R に親和性を持つ MCR 作動薬である勃起不全治療薬 bremelanotide の臨床試験でも皮膚の暗色化が報告されている（Palatin Technologies Inc. 2007）。慢性的な MC1R 活性化のベネフィット及びリスクについては、ホワイトペーパー（Böhm 2024）において詳細に検討されている。

遺伝毒性：

Setmelanotide の遺伝毒性を、細菌を用いる復帰突然変異試験、in vitro 染色体異常試験及び in vivo ラット骨髄小核試験により評価した。いずれの試験においても ICH S2(R1)ガイドラインで

規定された上限濃度まで用いたが、変異原性及び染色体異常誘発性は認められなかった。したがって、setmelanotide は遺伝毒性を有していないと判断される。

がん原性：

rasH2-Tg マウスを用いた 3 試験のがん原性試験を実施した。初回の試験では、主試験群に割り付けられた動物数が各群雌雄各 25 匹を下回っていたが、遺伝子型が確認された rasH2-Tg マウスにがん原性は認められなかった。追加で実施した 2 試験の 26 週間がん原性試験においても、脳組織を含めてがん原性は認められなかった。いずれの組織においても、setmelanotide/mPEG-DSPE 投与に関連するがん原性は認められず、ラット及びサルの長期反復投与毒性試験で観察された投与に関連する脳組織における空胞化も認められなかった。総合的な WoE 評価に基づき、setmelanotide はヒトに対して発がんリスクを示さないと判断される。3 試験の rasH2-Tg マウス 26 週間がん原性試験においてがん原性が示されなかったことに加え、setmelanotide は細菌を用いた復帰突然変異試験、in vitro 染色体異常試験及び in vivo 小核試験において遺伝毒性を示さなかった。Setmelanotide の最大臨床用量 3 mg/日におけるヒト AUC に対して十分に高い曝露量比（表 2.4-3）で実施したラットの最長 26 週間及びサルの最長 39 週間の反復投与毒性試験、並びに生後 7～55 日に投与した幼若ラット試験においても、肥大、過形成及び前がん病変などの組織変化の増加や明らかなホルモン作用は認められていない。また、mPEG-DSPE 対照群に増殖性、前がん及び腫瘍性病変は観察されなかった。

生殖発生毒性：

ラットでは、雌雄受胎能に setmelanotide に関連した影響は認められず、臨床用量 3 mg/日の C_{max} 及び AUC に対してそれぞれ 34 倍及び 11 倍の曝露量でも催奇形性は認められなかった。ウサギでは、吸収胚数及び着床後胚損失率の増加が、ヒト AUC の約 0.4 倍超の曝露量で認められたが、これは投与期間中の著しい摂餌量の低下に起因する可能性が高く、setmelanotide の主薬理作用に対するウサギの感受性の高さを示唆するものである。ウサギにおいても催奇形性は認められなかった。ラットの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では、最大臨床用量のヒト C_{max} 及び AUC に対してそれぞれ 20 倍及び 7 倍の曝露量でも、母動物毒性及び F1 世代への有害作用は認められなかった。

幼若動物を用いた試験：

本試験は、あらゆる年齢の小児患者に対する治療を支援することを目的として実施した。Setmelanotide/mPEG-DSPE を生後 7～55 日の幼若ラットに皮下投与したときの忍容性は良好であった。薬理作用による摂餌量及び体重増加量の減少が認められた。投与部位の炎症反応は成獣ラットで認められたものと類似していた。いずれの用量でも全身毒性は見られず、性成熟、成長パラメーター、行動、学習・記憶、生殖能、眼科学的検査及び病理組織学的検査において影響は認められなかった。無毒性量における setmelanotide/mPEG-DSPE の曝露量は、最大臨床用量の 3 mg 投与時のヒト C_{max} 及び AUC のそれぞれ 21 倍及び 7 倍であった。しかしながら、臨床データに基づき、現行の添付文書では 2 歳以上の小児への適応が認められている

mPEG-DSPE の安全性評価：

mPEG-DSPE を皮下投与したときの安全性を、ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験、ラットを用いた生殖発生毒性試験、並びに rasH2-Tg マウスを用いたがん原性試験により評価し、

さらに mPEG-DSPE の in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験により評価した。これらの試験結果から、ヒトにおいて 30 mg/日までの mPEG-DSPE を皮下投与したときの安全性が確認された。

安全性評価：

Setmelanotide の最大臨床用量 3 mg/日における setmelanotide の安全域を表 2.4-3 に示す。

ウサギの胚・胎児発生試験を除き、setmelanotide の毒性試験で、setmelanotide の臨床曝露量に対して十分な安全域が示された。各動物種の MTD（局所投与部位の忍容性による制限用量）までの用量における setmelanotide の非常に高い曝露量にもかかわらず、これらの試験では全身毒性は確認されなかった。ウサギでは、胚・胎児毒性は過剰な薬理作用に起因した妊娠中の著しい摂餌量の減少に関連した。したがって、これらの過剰な作用はヒトに関連しない可能性がある。全体として、安全域の評価により、成人及び 4 歳以上の小児における最大臨床用量 3 mg/日での有害事象のリスクは低いことが示唆される。

表 2.4-3 Setmelanotide/mPEG-DSPE の主要な毒性試験における最大臨床用量 3 mg/日に対する安全域

	Animal Systemic Exposure to Setmelanotide at NOAEL		**Animal to Human Exposure Ratio to Setmelanotide dose of 3mg/day (C_{max} and AUC) at NOAEL of each study[a]**	
	C_{max} (ng/mL)	**AUC (ng*hr/mL)**	**C_{max}**	**AUC**
6-Month Rat[b] (RM-493-TOX-023 / 4.2.3.2-3)	773	5,100	20	9
9-Month Monkey (RM-493-TOX-024 / 4.2.3.2-5)	1,203	15,245	32	26
Juvenile Rat (RM-493-TOX-035 / 4.2.3.5.4-2)	805	3,840	21	7
Female Fertility and EFD in Rats (RM-493-TOX-029 / 4.2.3.5.1-1)	1,280	6,450	34	11
EFD in Rabbits[d] (RM-493-TOX-031 / 4.2.3.5.2-2)	53	206	1.4	0.4
PPD in Rats (RM-493-TOX-033 / 4.2.3.5.3-1)	744	4,140	20	7
Carcinogenicity in Tg.rasH_2 Mice (RM-493-TOX-045 / 4.2.3.4.2-5)	3,070[c]	9,600[c]	81	17

Abbreviations: AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum observed concentration; EFD = embryo-fetal development; NOAEL = no observed adverse effect level; PPD = pre/postnatal development

a Setmelanotide exposure margins are based on C_{max} and AUC (sex-combined for studies with males and females) at the NOAEL for each study and human exposure of 37.9 ng/mL and 576 ng*hr/mL, respectively, following a 3.0 mg subcutaneous dose (clinical Study RM-493-026 [5.3.3.1.4], Cohort 3).

b Includes evaluation of male fertility.

c Estimated exposure based on Day 28 toxicokinetic data from wild-type rasH2 mice (Study RM-493-TOX-041 [4.2.3.4.2-2]) in males and females combined.

d The lower exposure ration in EFD study in rabbits can be explained by exaggerated pharmacology of setmelanotide that resulted is severe reduction in food intake

2.4.5.4 結論

以上、本総括評価で要約した試験結果により、setmelanotide/mPEG-DSPE の薬理、薬物動態及び毒性試験の包括的評価結果を示す。Setmelanotide は、比較対照である MC4R 作動物質

LY2112688 で認められた有害な心血管系に対する作用を引き起こすことなく、遺伝性肥満症に関連する動物モデルで体重減少を促す強力な MC4R 作動薬である。Setmelanotide は皮下投与した際の生物学的利用率は高く、全身曝露量は概して用量に比例していた。全身曝露量に一貫した性差はなく、高用量での反復投与によりわずかに蓄積した。In vitro で CYP やトランスポーターとの相互作用がほとんど又は全くみられないことから、setmelanotide は他の併用薬と相互作用を惹起する可能性は低いと考えられる。Setmelanotide は非遺伝毒性物質であり、高曝露条件下でも全身毒性が認められなかった重要な皮下投与毒性試験における無毒性量は十分な安全域を示した。これらの非臨床試験結果を総合すると、setmelanotide/mPEG-DSPE を 4 歳以上の患者に対する後天性視床下部性肥満（頭蓋咽頭腫などの良性腫瘍に起因する）に伴う肥満及び空腹感の抑制を目的とした治療薬として承認申請する根拠となる。

参考文献

- Beaumont KA, Wong SS, Ainger SA, et al. Melanocortin MC1 receptor in human genetics and model systems. Eur J Pharmacol. 2011;660(1):103-10.
- Böhm M, Robert C, Malhotra S, et al. An overview of benefits and risks of chronic melanocortin-1 receptor activation. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2025;39:39-51. Epub 2024; Jul 31.
- Clément K, Biebermann H, Farooqi IS, et al. MC4R agonism promotes durable weight loss in patients with leptin receptor deficiency. Nat Med. 2018;24(5):551-5.
- Clemmensen C, Finan B, Fischer K, et al. Dual melanocortin-4 receptor and GLP-1 receptor agonism amplifies metabolic benefits in diet-induced obese mice. EMBO Mol Med. 2015;7(3):288-98.
- Greenfield JR, Miller JW, Keogh JM, et al. Modulation of blood pressure by central melanocortinergic pathways. N Engl J Med. 2009;360(1):44-52.
- Haitina T, Ringholm A, Kelly J, et al. High diversity in functional properties of melanocortin 1 receptor (MC1R) in divergent primate species is more strongly associated with phylogeny than coat color. Mol Biol Evol. 2007;24(9):2001-8.
- Ivens IA, Achanzar W, Baumann A, et al. PEGylated Biopharmaceuticals: Current Experience and Considerations for Nonclinical Development. Toxicol Pathol. 2015;43:959-83.
- Lee S, Kozlov S, Hernandez L, et al. Expression and imprinting of MAGEL2 suggest a role in Prader–Willi syndrome and the homologous murine imprinting phenotype. Hum Mol Genet. 2000;9(12):1813-9.
- Li YQ, Shrestha Y, Pandey M, et al. G(q/11)α and G(s)α mediate distinct physiological responses to central melanocortins. J Clin Invest. 2016;126(1):40-9.
- Nakayama K, Shotake T, Takeneka O, et al. Variation of the melanocortin 1 receptor gene in the macaques. Am J Primatol. 2008;70(8):778-85.
- Palatin Technologies, Inc. Palatin Technologies and King Pharmaceuticals report data showing improvements in sexual relationship and self-esteem in patients with erectile dysfunction treated with bremelanotide. Press Release, 22 May 2007.
- Rudmann DG, Alston JT, Hanson JC, et al. High Molecular Weight Polyethylene Glycol Cellular Distribution and PEG-associated Cytoplasmic Vacuolation Is Molecular Weight Dependent and Does Not Require Conjugation to Proteins. Toxicol Pathol. 2013;41:970-83.
- Schaaf CP, Gonzalez-Garay ML, Xia F, et al. Truncating mutations of MAGEL2 cause Prader–Willi phenotypes and autism. Nat Genet. 2013;45(11):1405-8.
- ヤンセンファーマ株式会社, ドキシル注 20mg, 申請概要, 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表－毒性－, 2009. https://www.pmda.go.jp/drugs/2009/P200900018/index.html（アクセス日：2025 年 9 月 26 日）