目次

略語一覧 5
2.6.2 薬理試験の概要文 7
2.6.2.1 まとめ 7
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 18
2.6.2.2.1 In vitro 試験：受容体結合及びシグナル伝達系に対する作用 18
2.6.2.2.1.1 Setmelanotide の受容体結合親和性 18
2.6.2.2.1.2 Setmelanotide の細胞内シグナル伝達に対する作用特性 19
2.6.2.2.2 In vivo 試験：体重及び摂餌量に対する効果 20
2.6.2.2.2.1 肥満型マウス及びラットに対する効果 20
2.6.2.2.2.1.1 Setmelanotide の皮下持続注入投与による効果 20
2.6.2.2.2.1.2 Setmelanotide の皮下投与による効果 25
2.6.2.2.2.2 *Mc4r* ノックアウトマウスに対する効力の欠如 26
2.6.2.2.2.3 通常餌で飼育された野生型（WT）痩せ型ラットに対する効果 27
2.6.2.2.2.3.1 通常餌で飼育された痩せ型 Sprague-Dawley ラットに対する setmelanotide 皮下持続注入投与の効果 27
2.6.2.2.2.3.2 通常餌で飼育された野生型（WT）痩せ型 Sprague-Dawley ラットに対する setmelanotide と Lilly 社の化合物 LY211268 の作用の比較 28
2.6.2.2.2.3.3 通常餌で飼育された野生型（WT）痩せ型 Sprague-Dawley ラットに対する setmelanotide の皮下投与の評価 29
2.6.2.2.2.4 単一遺伝子変異に起因するげっ歯類肥満モデルに対する効果 31
2.6.2.2.2.4.1 Zucker ラットに対する効果 31
2.6.2.2.2.4.2 *Magel2* 欠失マウスに対する効果 33
2.6.2.2.2.5 アカゲザルに対する効果 35
2.6.2.2.2.5.1 通常餌で飼育された痩せ型アカゲザルに対する効果 35
2.6.2.2.2.5.2 食餌誘導性肥満（DIO）型アカゲザルに対する効果 36
2.6.2.2.2.6 イヌに対する効果 38
2.6.2.2.3 Setmelanotide のインスリン及びグルコースパラメーターに対する効果 39
2.6.2.2.3.1 食餌誘導性肥満（DIO）型マウスのエネルギーバランス及びグルコース代謝に対する setmelanotide の皮下投与の効果 39
2.6.2.2.3.2 インスリン感受性とメラノコルチン 4 型受容体（MC4R）活性との関係 43
2.6.2.3 副次的薬理試験 45
2.6.2.3.1 様々な種類の酵素及び受容体のパネルに対する setmelanotide の in vitro での作用 45
2.6.2.3.2 肥満型アカゲザルモデルでの陰茎勃起及び他の一般状態の変化 46
2.6.2.3.3 Setmelanotide による過剰な皮膚色素沈着 46
2.6.2.4 安全性薬理試験 47
2.6.2.4.1 Setmelanotide の心血管系安全性パラメーターに対する作用 47
2.6.2.4.1.1 ヒト胎児腎（HEK）293 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 setmelanotide の in vitro での作用（GLP 試験） 47
2.6.2.4.1.2 Setmelanotide の in vivo での心血管系に対する作用 48
2.6.2.4.1.2.1 Sprague-Dawley ラットの心拍数及び血圧に対する setmelanotide 及び LY2112688 の単回皮下ボーラス投与による作用の評価（非 GLP 試験） 48
2.6.2.4.1.2.2 テレメトリー装置装着ラットの心拍数及び血圧に対する LY2112688 及び setmelanotide の 5 日間皮下ボーラス投与による作用の評価（非 GLP 試験） 49
2.6.2.4.1.2.3 覚醒ラットの心血管系に対する setmelanotide の皮下ボーラス投与による作用と交感神経緊張の関連性（非 GLP 試験） 50
2.6.2.4.1.2.4 テレメトリー装置装着ラットの心拍数及び血圧に対する setmelanotide の 14 日間皮下持続注入投与の作用の評価（非 GLP 試験） 51
2.6.2.4.1.2.5 ナイーブ覚醒雌雄カニクイザルの心血管系に対する setmelanotide の作用のテレメトリー評価（GLP 試験） 52
2.6.2.4.1.2.6 テレメトリー装置装着食餌抵抗性痩せ型アカゲザル及び食餌誘導性肥満（DIO）型アカゲザルの心血管系に対する setmelanotide の作用の評価（非 GLP 試験） 53
2.6.2.4.1.2.7 テレメトリー装置装着覚醒雄性ゲッティンゲンミニブタの心血管系に対する安全性薬理評価（非 GLP 試験） 56
2.6.2.4.2 Setmelanotide の心血管以外の安全性パラメーターに対する作用 57
2.6.2.4.2.1 Sprague-Dawley ラットの中枢神経系に対する setmelanotide の作用の安全性薬理評価（GLP 試験） 57
2.6.2.4.2.2 Sprague-Dawley ラットの呼吸系に対する setmelanotide の作用の安全性薬理評価（GLP 試験） 58
2.6.2.4.2.3 通常餌で飼育された痩せ型及び食餌誘導性肥満（DIO）型 C57BL/6J マウスの肝酵素に対する setmelanotide の用量漸増皮下持続注入投与の評価（非 GLP 試験） 59
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用 60
2.6.2.5.1 Setmelanotide 及び GLP-1R 作動薬の併用投与 60
2.6.2.6 考察及び結論 64
参考文献 68

表一覧

表 2.6.2-1 Setmelanotide の薬理試験一覧 13
表 2.6.2-2 ヒト、マウス又はラットメラノコルチン受容体（hMC1R、hMC3R、hMC4R、hMC5R、mMC2R 又は rMC4R）を発現したチャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）-K1 又は Y1 細胞に対する setmelanotide の阻害定数（Ki）及び 50%効果濃度（EC_{50}） 18
表 2.6.2-3 cAMP 蓄積アッセイを用いたトランスフェクトした 6 種類の動物のメラノコルチン受容体（MC1R、MC2R、MC3R、MC4R 及び MC5R）に対する setmelanotide の 50%効果濃度（EC_{50}） 19
表 2.6.2-4 hMC4R 発現ヒト胎児腎（HEK）293 細胞の Gαs 及び NFAT シグナル伝達経路活性化

に対する setmelanotide、α-メラノサイト刺激ホルモン（α-MSH）及び LY2112688 の EC_{50} 値 20
表 2.6.2-5 食餌誘導性肥満（DIO）型マウスのエネルギーバランス及び臨床検査値に対する setmelanotide の 14 日間皮下持続注入投与の用量別の効果....41
表 2.6.2-6 Sprague-Dawley ラットを用いた setmelanotide 及び LY2112688 の単回皮下ボーラス投与による心拍数及び平均血圧（MBP）の最大上昇（E_{max}）値及び最大上昇値到達時間（T_{max}） 49
表 2.6.2-7 Sprague-Dawley ラットを用いた setmelanotide 又は LY2112688 の 5 日間反復ボーラス投与による心拍数及び平均血圧（MBP）の変化 50
表 2.6.2-8 Sprague-Dawley ラットを用いた setmelanotide の単独又はテラゾシン及びプロプラノロールとの併用単回ボーラス投与による心拍数及び平均血圧（MBP）の E_{max} 及び T_{max} 51
表 2.6.2-9 通常餌で飼育された痩せ型及び食餌誘導性肥満（DIO）型マウスの肝機能に対する setmelanotide の 14 日間皮下持続注入投与の評価（平均値 ± 標準誤差） 59

図一覧

図 2.6.2-1 通常餌で飼育された痩せ型及び食餌誘導性肥満（DIO）型マウスの体重増加に対する setmelanotide の 14 日間皮下持続注入投与の効果（平均値 ± 標準誤差）の媒体対照群との比較 21
図 2.6.2-2 通常餌で飼育された痩せ型及び食餌誘導性肥満（DIO）型マウスのグルコースクリアランスに対する setmelanotide の作用（平均値 ± 標準誤差） 22
図 2.6.2-3 通常餌で飼育された痩せ型ラットの体重増加及び摂餌量に対する setmelanotide の 14 日間皮下持続注入投与の効果（平均値 ± 標準誤差） 24
図 2.6.2-4 Setmelanotide 投与後の *Mc4r* +/+、*Mc4r* +/-及び *Mc4r* -/-マウスの体重変化....26
図 2.6.2-5 通常餌で飼育された痩せ型ラットの体重増加に対する setmelanotide の 7 日間皮下持続注入投与の効果（平均値 ± 標準誤差）の媒体対照群との比較....28
図 2.6.2-6 通常餌で飼育された野生型（WT）痩せ型ラットの体重増加に対する setmelanotide 及び Lilly 化合物 L2112688 の 7 日間皮下持続注入投与の効果（平均値 ± 標準誤差）の媒体対照群との比較 29
図 2.6.2-7 通常餌で飼育された野生型（WT）痩せ型ラットの体重増加に対する setmelanotide の 1 日 3 回、7 日間の皮下投与の効果（平均値 ± 標準誤差）の媒体対照群との比較....30
図 2.6.2-8 Zucker ラット遺伝性肥満モデルの体重増加及び摂餌量の抑制に対する setmelanotide の 7 日間皮下持続注入投与の効果（平均値 ± 標準誤差）の媒体対照群との比較....32
図 2.6.2-9 Zucker ラット遺伝性肥満モデルのトリグリセリド、コレステロール及び遊離脂肪酸濃度に対する setmelanotide の 7 日間皮下持続注入投与の効果（平均値 ± 標準誤差）....33
図 2.6.2-10 Setmelanotide 投与後の *Magel2* 欠失マウス及び野生型（WT）マウスの累積摂餌量の対照媒体投与後の累積摂餌量との比較（A 及び B）、0.1 mg/kg の setmelanotide 投与 3 時間の累積摂餌量（C） 34

図 2.6.2-11 Setmelanotide（0.1 mg/kg）の腹腔内投与による *Magel2* 欠失マウス及び野生型（WT）マウスの摂餌量抑制効果（A）、3 時間のエネルギー消費量（B）、3 時間のガス交換比（RER）（C）及び 1 時間の水平活動量（D）の媒体対照群との比較.....35
図 2.6.2-12 食餌誘導性肥満（DIO）型アカゲザルの摂餌量及び体重に対する setmelanotide の 8 週間皮下持続注入投与の効果.....37
図 2.6.2-13 Setmelanotide 及び LY2112688 の皮下持続注入投与 1 週間後の食餌誘導性肥満（DIO）型アカゲザルの摂餌量に対する効果.....38
図 2.6.2-14 食餌誘導性肥満（DIO）型マウスの体重、体脂肪率及び 1 日あたりの摂餌量に対する setmelanotide の 14 日間の皮下持続注入投与の効果（平均値 ± 標準誤差）.....40
図 2.6.2-15 食餌誘導性肥満（DIO）型マウスのグルコース負荷試験（GTT）（A）及びインスリン負荷試験（ITT）（B）に対する setmelanotide（0.11、0.45 又は 1.12 mg/kg/日、14 日間投与）の効果（平均値 ± 標準誤差）.....42
図 2.6.2-16 食餌誘導性肥満（DIO）型及び *Mc4r* ノックアウトマウスのグルコース負荷に対する setmelanotide の効果（平均値 ± 標準誤差）.....43
図 2.6.2-17 食餌誘導性肥満（DIO）型及び *Mc4r* ノックアウトマウスのインスリン負荷に対する setmelanotide の効果（平均値 ± 標準誤差）.....44
図 2.6.2-18 食餌誘導性肥満（DIO）型マウスのインスリンクランプ試験によるグルコース注入速度（GIR）、肝グルコース産生（HGP）及びグルコース消失速度（Rd）に対する setmelanotide の効果（平均値 ± 標準誤差）.....45
図 2.6.2-19 アカゲザル（n = 8）同一群の投与時間枠の概要.....54
図 2.6.2-20 食餌誘導性肥満（DIO）型アカゲザルを用いた setmelanotide（0.5 mg/kg/日）の皮下投与による心拍数（パネル A 及び B）及び収縮期・拡張期血圧（パネル C）の変化.....55
図 2.6.2-21 食餌誘導性肥満（DIO）型アカゲザルを用いた setmelanotide（0.5 mg/kg/日）及び LY2112688（0.17 及び 0.5 mg/kg/日）の皮下投与による心拍数の変化.....56
図 2.6.2-22 リラグルチド（10 nmol［0.038 mg］/kg/日）及び setmelanotide（3.6 µmol［4 mg］/kg/日）の 1 日 1 回、5 日間単剤皮下投与及び併用皮下投与による食餌誘導性肥満（DIO）型マウスの体重及び体組成に対する作用（［A］体重、［B 及び C］体組成）.....62
図 2.6.2-23 リラグルチド及び setmelanotide の 22 日間併用投与による食餌誘導性肥満（DIO）型マウスの肥満及びグルコース代謝に対する作用（［A］体重、［B］累積摂餌量、［C、D］体組成及び［E、F］耐糖能）.....63

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
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
ALT	Alanine transaminase	アラニントランスアミナーゼ
ANOVA	Analysis of variance	分散分析
AS	Alström syndrome	アルストレーム症候群
AST	Aspartate transaminase	アスパラギン酸トランスアミナーゼ
AUC	Area under the curve	曲線下面積
BBS	Bardet-Biedl syndrome	バルデー・ビードル症候群
bpm	Beats per minute	拍/分
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate	環状アデノシン一リン酸
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣（細胞）
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
DEXA	Dual energy X-ray absorptiometry	二重エネルギーX 線吸収測定
DIO	Diet-induced obesity	食餌誘導性肥満
EC_{50}	50% effective concentration	50%効果濃度
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
E_{max}	Maximum effect	最大効果、最大上昇
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
GIR	Glucose infusion rates	グルコース注入速度
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
GTT	Glucose tolerance testing	グルコース負荷試験
h	Human	ヒト
HDL	High-density lipoprotein	高比重リポタンパク質
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児腎
hERG	Human ether-à-go-go related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HGP	Hepatic glucose production	肝グルコース産生
HOMA-IR	Homeostasis model assessment of insulin resistance	インスリン抵抗性指数 空腹時インスリン値（μU/mL） × 空腹時血糖値（mg/dl）/405
[^{125}I]-NDP-α-MSH	[^{125}I]-(Tyr^2)-(Nle^4-D-Phe^7)-α-MSH	[^{125}I]-(Tyr^2)-(Nle^4-D-Phe^7)-α-MSH
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
I_{Kr}	Rapidly activating, delayed rectifier	急速に活性化する遅延整流性心臓カ

略語	定義（英語）	定義（日本語）
	cardiac potassium current	リウム電流
INN	International nonproprietary name	国際一般名
ITT	Insulin tolerance testing	インスリン負荷試験
Ki	Inhibitory constant	阻害定数
LDL	Low-density lipoprotein	低比重リポタンパク質
LEPR	Leptin receptor	レプチン受容体
m	Mouse	マウス
MBP	Mean blood pressure	平均血圧
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
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
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
NFAT	Nuclear factor of activated T cells	活性化 T 細胞核因子
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
PLC	Phospholipase C	ホスホリパーゼ C
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	QT interval corrected for heart rate	心拍数で補正した QT 間隔
r	Rat	ラット
Rd	Glucose disappearance rate	グルコース消失速度
RER	Respiratory exchange ratio	ガス交換比
RQ	Respiratory quotient	呼吸商
TG	Triglycerides	トリグリセリド
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
T_{max}	Time of maximum effect	最大効果発現時間、最大上昇値到達時間
VO_2	Oxygen consumption	酸素消費量
VCO_2	Carbon dioxide output	二酸化炭素の排出量
WT	Wild-type	野生型

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

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（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薬理試験結果を記載する。

Setmelanotide（別名 RM-493、IRC-022493 又は BIM-22493）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 の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 の適応対象である遺伝性肥満疾患の説明及び、これらの疾患に対する setmelanotide による治療の可能性に関する根拠は、モジュール 2.7 に詳細を記載した。

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症のラットモデル）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 で不活性化される主要な遺伝子の 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。呼吸系、中枢神経系、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）適用下で実施した。さらに、アカゲザルを用いた広範な 8 週間投与試験で setmelanotide は長期間の効力を示した。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である 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 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、本モジュールで説明する 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。

さらに、setmelanotide は、体重減少作用が認められない場合でも耐糖能及びインスリン感受性を改善することを示した。

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の概要を以下に示す。

効力を裏付ける試験：

- 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 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：0.335～1.307 nmol/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。

- 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］）。

- 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。

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 のヒト最高血漿中濃度（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）。

安全性薬理試験：

- 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（HEK）293 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）のトキシコキネティクス（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）。

- Setmelanotide の心血管系以外の安全性薬理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。

薬力学的薬物相互作用試験：

- Setmelanotide 及びグルカゴン様ペプチド-1（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-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。

Setmelanotide を用いて実施した非臨床薬理試験の概要を表 2.6.2-1 に示す。

表 2.6.2-1 Setmelanotide の薬理試験一覧

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number/ Location in eCTD/Reference
Primary Pharmacodynamics				
In vitro potency of setmelanotide on human melanocortin receptors: MC1R, MC3R, MC4R & MC5R and Mouse MC2R	In vitro	In vitro	[redacted], France	IRC-022493 on human MC1345R & mouse MC2R/ 4.2.1.1-1
In vitro potency of setmelanotide on rat melanocortin 4 receptors (MC4R)	In vitro	In vitro	[redacted], France	IRC-022493 on rat MC4/ 4.2.1.1-2
Biochemical characterization of human, rat, mouse, cynomolgus, rhesus macaque, and dog MCRs (MC1R-MC5R) with setmelanotide, α-MSH, and LY2112688	In vitro	In vitro	[redacted], USA	RM-493-PH-027/ 4.2.1.1-3
MC4R agonism promotes durable weight loss in patients with leptin receptor deficiency. NOTE: In vitro pharmacology at the MC4R receptor also included in this publication.	In vitro	In vitro	Institute for Experimental Pediatric Endocrinology, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Germany	Clément 2018 4.3
Effect of increasing SC infusion pump doses on body weight and food and water intake in normal and obese C57BL/6 mice	Mouse	SC Infusion	[redacted], USA	BIM-22493-005/ 4.2.1.1-4
Effect of increasing SC infusion pump doses on body weight and food and water intake in diet induced obese Sprague-Dawley rats	Rat	SC Infusion	[redacted], USA	BIM-22493-003/ 4.2.1.1-5
Effect of time of administration and number of SC injections on body weight and food and water intake in lean and diet induced obese Sprague-Dawley rats	Rat	SC Injection	[redacted], USA	BIM-22493-004/ 4.2.1.1-6

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number/ Location in eCTD/Reference
Evaluation of a melanocortin-4 receptor (MC4R) agonist (setmelanotide) in *Mc4r* deficiency	Mouse	SC Infusion	University of Cambridge Metabolic Research Laboratories and NIHR Cambridge Biomedical Research Centre, Wellcome Trust-MAC Institute of Metabolic Science, Cambridge, United Kingdom	Collet 2017 4.3
Effect of increasing SC infusion pump doses on body weight and food and water intake in normal Sprague-Dawley rats	Rat	SC Infusion	[redacted], USA	BIM-22493-002/ 4.2.1.1-7
Dose-response comparison of the effect of SC infusion of setmelanotide versus LY2112688 (Lilly) and structurally related compounds on body weight gain in normal Sprague-Dawley rats	Rat	SC Infusion	[redacted], USA	BIM-22493-016/ 4.2.1.1-8
Effect of various doses of setmelanotide by SC injection on acute food intake in normal lean Sprague-Dawley rats	Rat	SC Injection	[redacted], USA	BIM-22493-007/ 4.2.1.1-9
Effect of increasing SC doses on body weight and food and water intake in normal Sprague-Dawley rats	Rat	SC Injection	[redacted], USA	BIM-22493-001/ 4.2.1.1-10
Effect of increasing SC infusion pump doses on body weight and food and water intake in obese Zucker rats	Rat	SC Infusion	[redacted], USA	BIM-22493-006/ 4.2.1.1-11
Magel2-null mice are hyper-responsive to setmelanotide, a melanocortin 4 receptor agonist	*Magel2*-null Mouse	IP Injection	Department of Medical Genetics, University of Alberta, Edmonton, AB, Canada,	RM-493-PH-026/ 4.2.1.1-12/ Bischof 2016
Chronic treatment with a melanocortin 4 receptor agonist causes weight loss and improves CV function in diet induced obese macaques Note: This report includes a publication by Kievit 2013	Monkey	SC Infusion	Oregon National Primate Research Center Beaverton, OR, USA	RM-493-PH-007/ 4.2.1.1-13

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number/ Location in eCTD/Reference
Potency and tolerance study by SC injection in beagle dogs	Dog	SC Injection	[redacted], France	32587 TSC/ 4.2.1.1-14
Effects of chronic setmelanotide treatment on energy and glucose metabolism	Mouse	SC Infusion	[redacted], USA	BIM-22493-009/ 4.2.1.1-15
Determine whether setmelanotide acts as an insulin sensitizer independently of weight loss and if this effect is dependent on the MC4 receptor (in C57BL/6J and *Mc4r* knockout mice)	Mouse	SC Injection	[redacted], USA	BIM-22493-008/ 4.2.1.1-16
Secondary Pharmacodynamics				
In vitro pharmacology: Diversity profile	Panel of off-target receptors and enzymes	In vitro	[redacted], France	791318b/ 4.2.1.2-1
Chronic treatment with a melanocortin 4 receptor agonist causes weight loss and improves CV function in diet induced obese macaques Note: Observation of lack of Penile erection is described in this report. This report includes a publication by Kievit 2013 Key issue: Effects of setmelanotide on penile Erection and other animal behavior	Monkey	SC Infusion	Oregon National Primate Research Center Beaverton, OR, USA	RM-493-PH-007/ 4.2.1.1-13
Chronic treatment with a melanocortin 4 receptor agonist causes weight loss and improves CV function in diet induced obese macaques Note: Observation of lack of skin pigmentation is described in this report This report includes a publication by Kievit 2013 Key issue: Skin hyper-pigmentation induced by setmelanotide	Monkey	SC Infusion	Oregon National Primate Research Center Beaverton, OR, USA	RM-493-PH-007/ 4.2.1.1-13

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number/ Location in eCTD/Reference
Safety Pharmacology				
Effect of setmelanotide on cloned hERG potassium channels expressed in human embryonic kidney cells	HEK cells	In vitro	[redacted], USA	RM-493-TOX-010/ 4.2.1.3-1
Effect on heart rate and blood pressure of two MC4R agonists: BIM22497 (LY2112688) and setmelanotide	Rat	SC Bolus	Ipsen [redacted], France	EXP783_788_794/CV02/ 4.2.1.3-2
Effects on heart rate and blood pressure of a 5-day SC bolus administration of setmelanotide and BIM22497 in telemetered rats	Rat	SC Bolus	Ipsen [redacted] France	EXP863_864_CVECG01/ 4.2.1.3-3
Setmelanotide: Role of sympathetic tone on CV effects after SC bolus administration in conscious rats	Rat	SC Bolus	Ipsen [redacted], France	EXP837/CV02/ 4.2.1.3-4
Effects on heart rate and blood pressure of a 14-day SC infusion of setmelanotide in telemetered rats	Rat	SC Infusion	Ipsen [redacted], France	EXP853_CVECG01/ 4.2.1.3-5
A CV telemetry study of multiple-dose setmelanotide in conscious naïve cynomolgus male and female monkeys	Monkey	SC Infusion	[redacted], Canada	RM-493-PH-003/ 4.2.1.3-6
Chronic treatment with a melanocortin 4 receptor agonist causes weight loss and improves CV function in diet induced obese macaques Note: This report includes a publication by Kievit 2013	Monkey	SC Infusion	Oregon National Primate Research Center Beaverton, OR, USA	RM-493-PH-007/ 4.2.1.1-13
Setmelanotide: A CV safety pharmacology study using radio-telemetry in conscious male Göttingen minipigs with TK assessments	Göttingen Minipig	SC Bolus Injection and Infusion	[redacted], Canada	RM-493-PH-005/ 4.2.1.3-7
A pharmacological safety assessment of the effect of setmelanotide on the central nervous system in Sprague-Dawley rats	Rat	SC Infusion	[redacted], Canada	RM-493-PH-001/ 4.2.1.3-8

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number/ Location in eCTD/Reference
A pharmacological assessment of the effect of setmelanotide on the respiratory system of Sprague-Dawley rats	Rat	SC Infusion	[redacted], Canada	RM-493-PH-002/ 4.2.1.3-9
Effect of increasing SC infusion pump doses on liver enzymes in normal and obese C57BL/6J mice	Mouse	SC Infusion	[redacted], USA	BIM-22493-015/ 4.2.1.3-10
Pharmacodynamic Drug Interactions				
Dual melanocortin-4 receptor and GLP-1 receptor agonism amplifies metabolic benefits in diet-induced obese mice.	Mouse	SC Bolus Injection	Division of Metabolic Diseases, Department of Medicine, Technische Universitat Munchen, Munich, Germany	Clemmensen 2015 4.3

Definitions: BIM22497 = LY2112688; CV = cardiovascular; GLP-1 = glucagon-like peptide-1; HEK = human embryonic kidney; hERG = human ether-à-go-go-related gene; IP = intraperitoneal; MCR = melanocortin receptor; MC1R, MC2R, MC3R, MC4R & MC5R = melanocortin type 1, type 2, type 3, type 4 and type 5 receptor; SC = subcutaneous; TK = toxicokinetics.

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 In vitro 試験：受容体結合及びシグナル伝達系に対する作用

2.6.2.2.1.1 Setmelanotide の受容体結合親和性

IRC-022493 on human MC1345R & mouse MC2R 試験（4.2.1.1-1）、
IRC-022493 on rat MC4 試験（4.2.1.1-2）、RM-493-PH-027 試験（4.2.1.1-3）

Setmelanotide は数種類のヒト（h）MCR に対して結合活性を示すが、hMC4R を選択的に認識する。[^{125}I]-(Tyr^{2})-(Nle^{4}-D-Phe^{7})-α-MSH（[^{125}I]-NDP-α-MSH）の hMC4R 結合に対する setmelanotide の Ki 値は 2.1 nmol/L、Gαs-アデニル酸シクラーゼシグナル伝達系を介した cAMP 蓄積アッセイで hMC4R に対する setmelanotide の EC_{50} 値は 0.27 nmol/L であった（表 2.6.2-2）。他の MC 受容体の活性化には MC4R の 18～5,900 倍以上の濃度が必要で、hMC1R に対する EC_{50} 値は 5.8 nmol/L、hMC3R に対する EC_{50} 値は 5.3 nmol/L、hMC5R に対する EC_{50} 値は 1 μmol/L 超であった。ラット（r）MC4R に対する Ki 及び EC_{50} 値は、hMC4R に対する値と同程度であった（表 2.6.2-2）。Setmelanotide はマウス（m）MC2R（ACTH 受容体）に対して cAMP 蓄積アッセイで活性を示さなかった（EC_{50} = 10 μmol/L 超）。試験結果は表 2.6.2-2 にまとめた。全ての試験結果は、各 MCR を安定して発現する細胞株を用いて測定した。

表 2.6.2-2 ヒト、マウス又はラットメラノコルチン受容体（hMC1R、hMC3R、hMC4R、hMC5R、mMC2R 又は rMC4R）を発現したチャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）-K1 又は Y1 細胞に対する setmelanotide の阻害定数（Ki）及び 50%効果濃度（EC_{50}）

Receptor	**Binding Ki (nmol/L)**	**cAMP EC_{50} (nmol/L)**
hMC1R	3.9	5.8
mMC2R	-	> 10,000
hMC3R	10	5.3
hMC4R	2.1	0.27
rMC4R	2.7	0.28
hMC5R	430	1,600

The agonist property of IRC-022493 was determined by measuring its ability to stimulate intracellular adenosine cyclic 3'-5'-monophosphate (cyclic AMP) accumulation in CHO-K1 cells expressing the cloned human MC-R subtypes, MC1, MC3, MC4 and MC5, and in Y1 cells (mouse adrenal cell line) expressing the mouse MC2 receptor subtype.
Definitions: CHO = Chinese hamster ovary; Ki = inhibitory constant; EC_{50} = 50% effective concentration; cAMP = cyclic adenosine monophosphate; h = human; m = mouse; r = rat.
Source: Study IRC-022493 on human MC1345R & mouse MC2R (4.2.1.1-1), Table 2, and Study IRC-022493 on rat MC4 (4.2.1.1-2), Section 6.

非臨床試験で使用した種々の動物種由来の 5 種類の MCR を介した cAMP 蓄積促進に対する setmelanotide の効力は、種々の動物種由来の MCR を安定して発現する細胞株が利用できなかったため、各受容体をトランスフェクトした HEK293 細胞を用いて評価した。マウス、ラット、イヌ、カニクイザル、アカゲザル及びヒトの MCR に対する setmelanotide の EC_{50} 値を、表 2.6.2-3 にまとめた（RM-493-PH-027 試験）。Setmelanotide は、いずれの動物種の MC2R（ACTH

受容体）も活性化しなかった。6 種類の動物の 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：0.335～1.307 nmol/L）。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 setmelanotide の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。

表 2.6.2-3　cAMP 蓄積アッセイを用いたトランスフェクトした 6 種類の動物のメラノコルチン受容体（MC1R、MC2R、MC3R、MC4R 及び MC5R）に対する setmelanotide の 50%効果濃度（EC_{50}）

Species	Setmelanotide EC_{50} (nmol/L) - cAMP accumulation assay				
	MC1R	MC2R	MC3R	MC4R	MC5R
Human	1.730 ± 0.790	No activity*	0.475 ± 0.085	0.787 ± 0.247	No activity*
Mouse	26.04 ± 4.942	No activity*	1.307 ± 0.344	0.210 ± 0.090	No activity*
Rat	0.830 ± 0.011	No activity*	0.389 ± 0.113	0.257 ± 0.043	No activity*
Dog	3.350 ± 1.408	No activity*	0.646 ± 0.165	0.275 ± 0.005	2.492 ± 0.983
Cynomolgus monkey	7.198 ± 1.360	No activity*	0.432 ± 0.092	3.053 ± 1.248	7.784 ± 0.814
Rhesus monkey	26.60 ± 11.89	No activity*	0.335 ± 0.025	1.213 ± 0.241	29.25 ± 6.055

cAMP = cyclic adenosine monophosphate; EC_{50} = 50% effective concentration; MC1R = melanocortin type 1 receptor; MC2R = melanocortin type 2 receptor; MC3R = melanocortin type 3 receptor; MC4R = melanocortin type 4 receptor; MC5R = melanocortin type 5 receptor; SEM = standard error of the mean.
*Assayed up to highest assay concentration of 10 µmol/L.
Note: Values shown represent the mean (n = 6) ± SEM.
Source: Study RM-493-PH-027 (4.2.1.1-3).

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

Clément 2018

Setmelanotide の in vitro 薬理活性を天然物リガンドである α-MSH 及びヒトでの有効性は示されなかったが心拍数及び血圧の急激な上昇を示した MC4R 作動物質 LY2112688 と比較評価した。この試験では、setmelanotide、α-MSH 及び LY2112688 が hMC4R を介して Gαs（cAMP の蓄積）及び NFAT 経路を活性化する作用を比較した。

Setmelanotide は、HEK293 細胞で Gαs-アデニル酸シクラーゼシグナル伝達に加えて、NFAT シグナル伝達も活性化した。EC_{50} 値の測定結果を表 2.6.2-4 にまとめた。Setmelanotide は Gαs シグナル伝達に対して α-MSH（EC_{50} = 23 ± 7 nmol/L）及び LY2112688（EC_{50} = 14 ± 4 nmol/L）よりも約 5 倍強力で、EC_{50} は 3.9 ± 1.7 nmol/L であった。この作用は内因性の MC4R 拮抗物質 AgRP によって完全に阻害され、LY2112688 に対する AgRP の IC_{50} = 3.56 nmol/L、setmelanotide に対する AgRP の IC_{50} = 9.24 nmol/L であった。一方、NFAT シグナル伝達アッセイに対しては、

setmelanotide は α-MSH（EC_{50} = 480 ± 260 nmol/L）及び LY2112688（EC_{50} = 330 ± 190 nmol/L）よりも約 50～100 倍強力で、EC_{50} は 5.9 ± 1.8 nmol/L であった。さらに、setmelanotide によって誘導された NFAT 活性化は MC4R 拮抗物質 AgRP（100 nmol/L）によって阻害されなかったが、α-MSH 及び LY2112688 によって誘導された NFAT 活性化は AgRP によって完全に阻害された。

Setmelanotide と LY2112688 の NFAT シグナル伝達に対する作用の違いの意義については今のところ明らかでない。これら 2 種類の MC4R 作動物質はマウス、ラット及びアカゲザルモデルで摂餌量の抑制及び体重減少に対して効力を示すが、LY2112688 のみがアカゲザルモデル（以下の 2.6.2.4.1.2.6 項を参照）及びヒト（Greenfield 2009）で心拍数及び血圧の上昇を誘発することが報告されている。臨床試験で皮下投与した setmelanotide は、最大 3 mg/日までの用量で心拍数及び血圧の上昇などの心血管系に対する作用を示さなかった（モジュール 2.7 を参照）。

表 2.6.2-4　hMC4R 発現ヒト胎児腎（HEK）293 細胞の Gαs 及び NFAT シグナル伝達経路活性化に対する setmelanotide、α-メラノサイト刺激ホルモン（α-MSH）及び LY2112688 の EC_{50} 値

Agonist Ligand	EC_{50} (nmol/L)	
	Gαs Signaling (cAMP)	NFAT Signaling
Setmelanotide	3.9 ± 1.7	5.9 ± 1.8
α-MSH	23 ± 7	480 ± 260
LY2112688	14 ± 4	330 ± 190

Definitions: cAMP = cyclic adenosine monophosphate; EC_{50} = 50% effective concentration; Gαs = G-protein alpha subunit for stimulating adenylate cyclase; NFAT = nuclear factor of activated T cells.
Source: Clément 2018.

Setmelanotide の作用は、作用機序と関連する又は関連しない様々な（70 超の）受容体に対する in vitro 結合アッセイでも評価した（2.6.2.3.1 項を参照）。

2.6.2.2.2　In vivo 試験：体重及び摂餌量に対する効果

2.6.2.2.2.1　肥満型マウス及びラットに対する効果

2.6.2.2.2.1.1　Setmelanotide の皮下持続注入投与による効果

BIM-22493-005 試験（4.2.1.1-4）、BIM-22493-003 試験（4.2.1.1-5）

Setmelanotide の皮下持続注入投与による摂餌量及び体重増加に対する効果を、3 つの非臨床試験で肥満型マウス及びラットを用いて評価した。これらの試験の 1 つは肥満（DIO）型マウス（BIM-22493-005 試験［4.2.1.1-4］）、残りの 2 つは肥満（DIO）型ラット（BIM-22493-003 試験［4.2.1.1-5］）及び Zucker ラット（BIM-22493-006 試験［4.2.1.1-11）を用いた。DIO 型マウス及びラットを用いた試験の概要を以下に記載し、Zucker ラットを用いた試験の概要は 2.6.2.2.2.4.1 項に記載した。

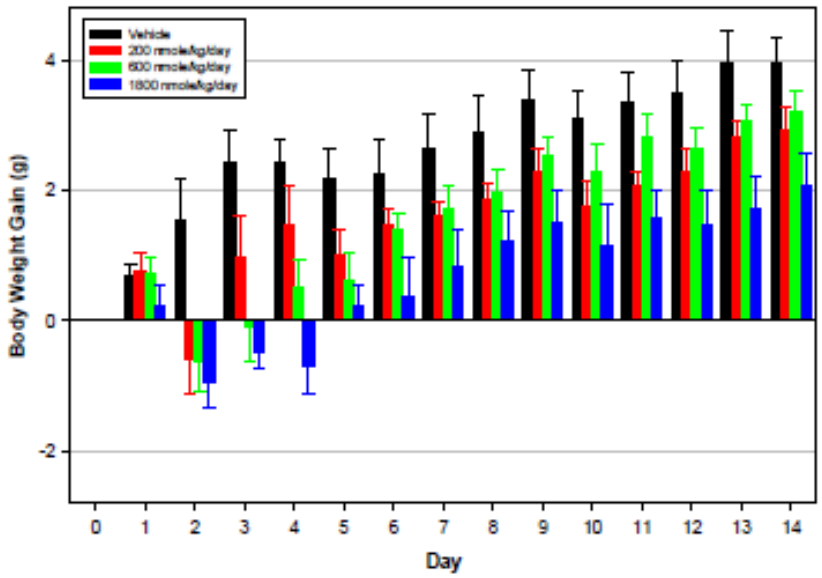
BIM-22493-005 試験（4.2.1.1-4）では、通常餌で飼育された痩せ型マウス及び DIO 型マウス（n = 5～7/群、雄性 C57BL/6）に皮下持続注入用ミニポンプを埋め込み、setmelanotide（200、600 又は 1,800 nmol/kg/日［それぞれ 0.22、0.67 又は 2.00 mg/kg/日］）又は媒体（0.9% NaCl、2%

熱不活化正常マウス血清、2% Tween-80、5% N, N-ジメチルアセトアミド）を 14 日間皮下持続注入投与した。各動物の体重及び摂餌量は 1 日 1 回午前 8 時に測定した。投与 0、15、30、60 及び 180 分後の血中グルコース濃度はグルコメーターを用いて測定し、基礎血漿インスリン濃度は免疫測定法で測定した。DIO 型マウスでは全ての投与群で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、この効果は 14 日間の投与期間を通して維持された（図 2.6.2-1）。一方、通常餌で飼育された痩せ型マウスでは、14 日間の投与の最初の 4 日間に体重増加の用量依存的な抑制が認められたが、投与 14 日目までにこの効果は徐々に消失し体重増加傾向への部分的回復が認められた（図 2.6.2-1）。摂餌量に対する効果は認められなかったが、これは実際に効果がなかったのではなく、試験施設でのマウスの摂餌量の小さな変化を測定する技術的な問題によるものと考えられた。

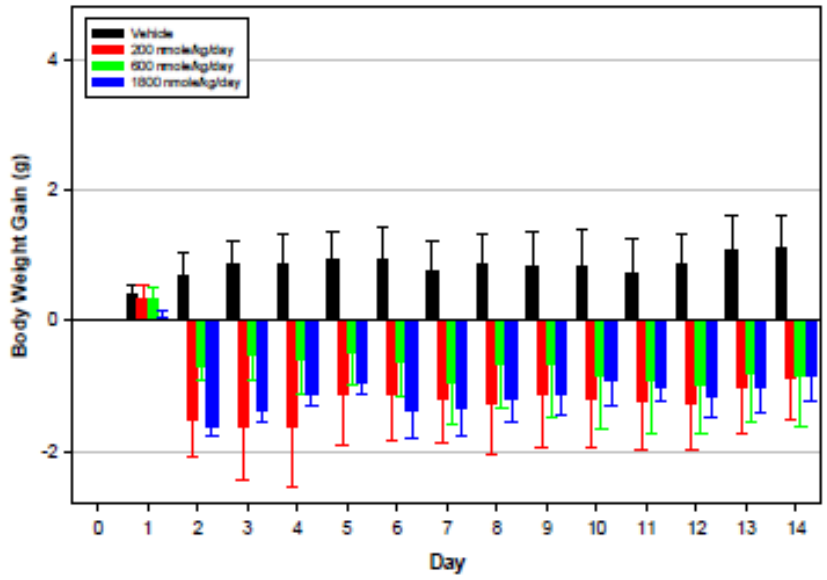
14 日間の投与後、マウスを一晩絶食させ、投与 15 日目に腹腔内グルコース負荷試験を実施した。痩せ型マウスでは投与 15 日目の絶食時基礎インスリン濃度及びグルコース濃度に変化は認められず、setmelanotide 投与によるグルコースクリアランスの変化は認められなかった。しかし、DIO 型マウスでは、媒体対照群で投与 15 日目のグルコースクリアランスが低下していたが、setmelanotide 投与群ではグルコースクリアランス低下の用量依存的な回復が認められた。2 高用量（0.67 及び 2.00 mg/kg/日）投与群では、setmelanotide 投与後にグルコースクリアランスが正常化した（図 2.6.2-2）。

図 2.6.2-1　通常餌で飼育された痩せ型及び食餌誘導性肥満（DIO）型マウスの体重増加に対する setmelanotide の 14 日間皮下持続注入投与の効果（平均値 ± 標準誤差）の媒体対照群との比較

Normal WT Lean Mice



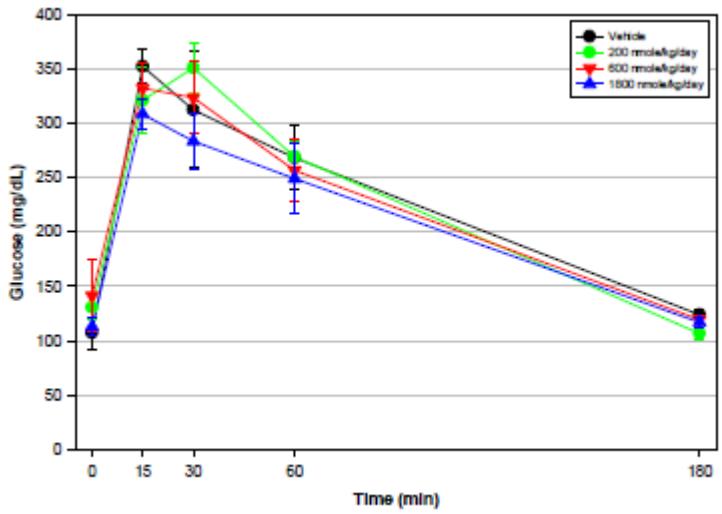
Diet Induced Obese Mice



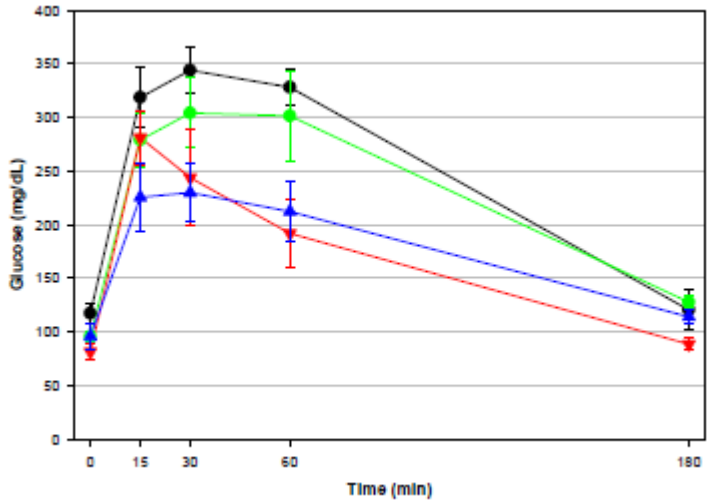
200 nmol/kg/day = 0.22 mg/kg/day
600 nmol/kg/day = 0.67 mg/kg/day
1,800 nmol/kg/day = 2.00 mg/kg/day
Definition: WT = wild-type.
Source: Study BIM-22493-005 (4.2.1.1-4), Figure 2 and Figure 3.

図 2.6.2-2　通常餌で飼育された痩せ型及び食餌誘導性肥満（DIO）型マウスのグルコースクリアランスに対する setmelanotide の作用（平均値 ± 標準誤差）

WT Normal Lean Mice



Diet Induced Obese Mice



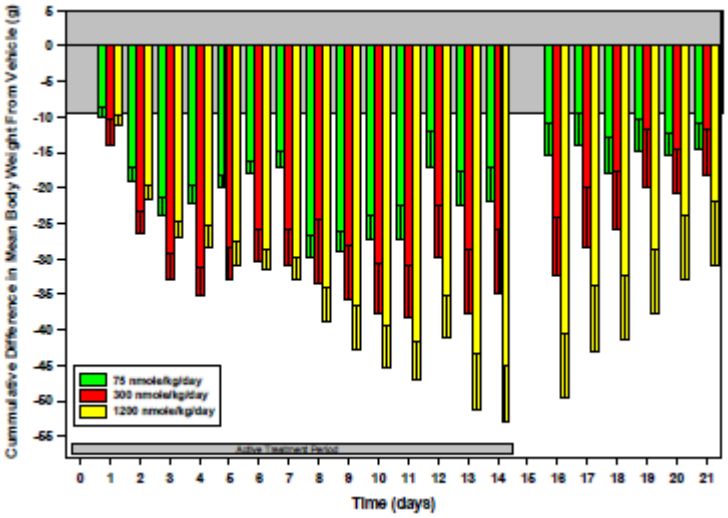
200 nmol/kg/day = 0.22 mg/kg/day
600 nmol/kg/day = 0.67 mg/kg/day
1,800 nmol/kg/day = 2.00 mg/kg/day
Definition: WT = wild-type.
Source: Study BIM-22493-005 (4.2.1.1-4), Figure 6 and Figure 7.

Setmelanotide の皮下持続注入投与による体重増加及び摂餌量の抑制に対する効果は、DIO 型マウスでの結果と比較して、通常餌で飼育された痩せ型及び DIO 型雄性 Sprague-Dawley ラット（n = 8/群）に 75、300 又は 1,200 nmol/kg/日（それぞれ 0.08、0.34 又は 1.34 mg/kg/日）の用量の 14 日間投与でより顕著であった（BIM-22493-003 試験［4.2.1.1-5］）。ラットには、投与 0 日目の朝にクロロハイドレート麻酔下で皮下に持続注入用ポンプを埋め込み、ポンプには setmelanotide 又は媒体（0.9% NaCl、2%熱不活化正常ラット血清、2% tween-80、5% N,N-ジメチルアセトアミド）を充填した。これらのポンプは、同じ手順で投与 7 日目に交換した。各動物の体重、摂餌量及び水の摂取量は、14 日間 1 日 1 回午前 8:00 に測定した。投与 14 日目までに、媒体対照群と比較して通常餌で飼育された痩せ型ラットでは 22～53 g、DIO 型ラットでは 29～60 g の体重増加の用量依存的な抑制が認められた。さらに、媒体対照群と比較して痩せ型ラットでは 35～68 g、肥満型ラットでは 64～93 g の摂餌量の用量依存的な抑制が認められた（図 2.6.2-3）。しかし、この試験では痩せ型ラット及び肥満型ラットのいずれにも、全般的にグルコースクリアランス、基礎インスリン濃度又はグルコース濃度に変化は認められなかった。同様に、痩せ型ラット及び DIO 型ラットいずれにも、水分摂取量に対する作用は不明であり、用量依存性は示されなかった。

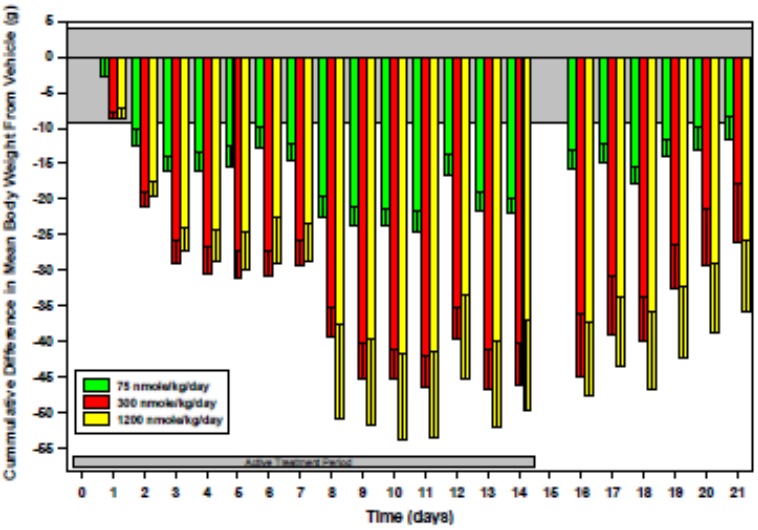
図 2.6.2-3　通常餌で飼育された痩せ型ラットの体重増加及び摂餌量に対する setmelanotide の 14 日間皮下持続注入投与の効果（平均値 ± 標準誤差）

Body Weight Gain

Normal WT Lean Rats

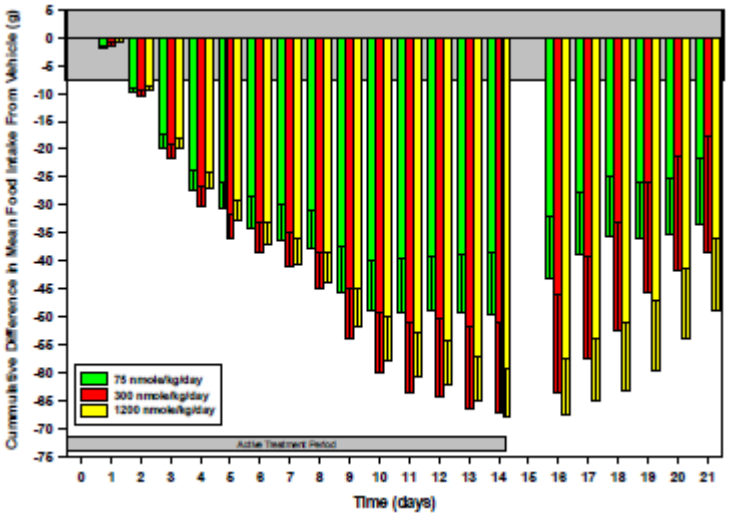


Diet-Induced Obese Rats

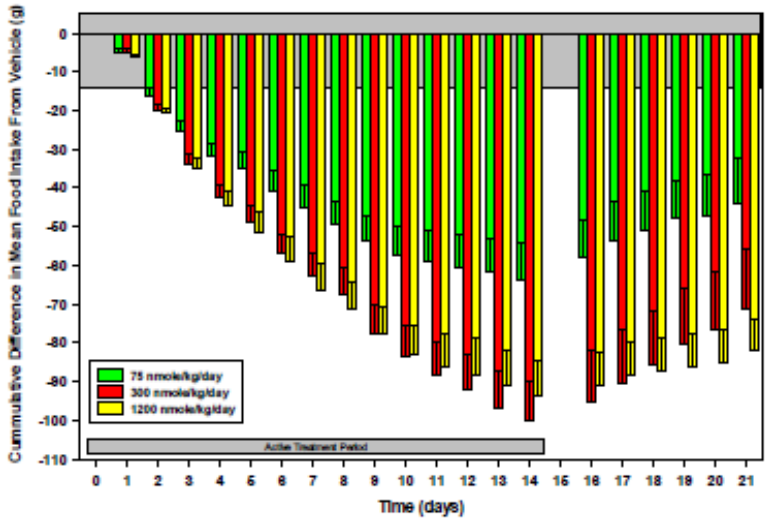


Food Intake

Normal WT Lean Rats



Diet-Induced Obese Rats



75 nmol/kg/day = 0.08 mg/kg/day
300 nmol/kg/day = 0.34 mg/kg/day
1,200 nmol/kg/day = 1.34 mg/kg/day
Definition: WT = wild-type.
Source: Study BIM-22493-003 (4.2.1.1-5), Figure 1, Figure 2, Figure 5 and Figure 6.

2.6.2.2.2.1.2 Setmelanotide の皮下投与による効果

BIM-22493-004 試験（4.2.1.1-6）

Setmelanotide の投与の時期及び回数が体重増加及び摂餌量に及ぼす影響を、通常餌で飼育された痩せ型及び DIO 型ラットで評価した。試験では、痩せ型及び肥満型の雄性 Sprague-Dawley ラット（n = 8/群）に、以下のスケジュールに従って 14 日間、600 nmol（0.67 mg）/kg/日の setmelanotide 又は対照媒体（0.9% NaCl、0.25%ウシ血清アルブミン、2% Tween-80、5% N,N-ジメチルアセトアミド）を皮下投与した。

・1 日 3 回　7 時、12 時、17 時
・1 日 2 回　7 時、17 時
・1 日 1 回　7 時
・1 日 1 回　17 時

その結果、体重増加及び摂餌量の抑制に対する最大の効果は setmelanotide を 1 日 3 回皮下投与で認められた。一方、17 時に 1 日 1 回投与でもおおむね類似した効果が認められた。これは、ラットが夜行性の摂食動物であり、17 時に 1 日 1 回投与では摂餌期間中に setmelanotide の血中濃度が最も高くなることに起因する可能性が高いと考えられた。

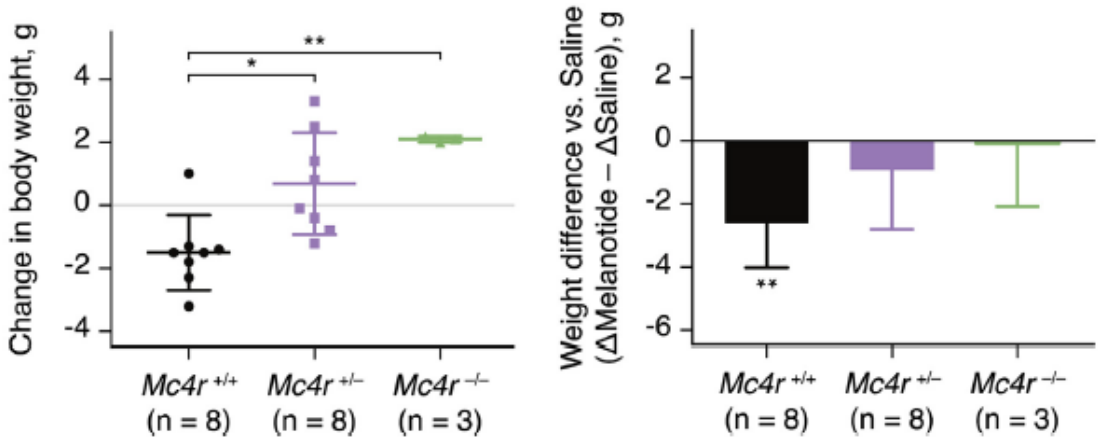
2.6.2.2.2.2 *Mc4r* ノックアウトマウスに対する効力の欠如

Collet 2017

Mc4r 欠損マウス（*Mc4r* ノックアウト、*Mc4r*-/-）、WT マウス（*Mc4r*+/+）及びヘテロ接合性 *Mc4r* マウス（*Mc4r*+/-）を用いて setmelanotide 投与の効果を評価した。マウスは高脂肪飼料（カロリーの 45%が脂肪由来）で飼育し、その後、1,200 nmol（1.34 mg）/kg/日の setmelanotide 又は生理食塩液（対照媒体）を含む皮下持続注入用ポンプを埋め込み、9 日間体重を測定した。生理食塩液投与群は全て高脂肪飼料に応答して体重が増加した。一方、setmelanotide を投与した *Mc4r*+/+マウスは体重が減少したが、setmelanotide を投与した *Mc4r*-/-マウスは媒体対照群と同程度の体重増加を示した。図 2.6.2-4 は、投与開始からの体重の変化（左図）及び生理食塩液を投与したマウスの体重変化との比較（右図）を示す。Setmelanotide 投与による *Mc4r*+/-マウスの体重減少効果はいずれも *Mc4r*+/+と *Mc4r*-/-マウスの中間であった。

以上、*Mc4r*+/+マウス及び *Mc4r*+/-マウスでは setmelanotide 投与により体重が減少し、WT *Mc4r*+/+マウスが最も高い応答を示した。一方、*Mc4r*-/-マウスは setmelanotide 投与に対して応答しなかった。

図 2.6.2-4　Setmelanotide 投与後の *Mc4r* +/+、*Mc4r* +/-及び *Mc4r* -/-マウスの体重変化



ΔMelanotide = ΔSetmelanotide
Δ refers to average body weight change within each group
A treatment that causes no change compared to saline would be represented by a weight difference of zero. Data are presented as mean ± standard deviation (SD) and statistical significance is calculated using a T-test versus saline controls.

Statistical significance is indicated by: *p = < 0.05, **p = < 0.01.
Definitions: *Mc4r* $^{+/+}$ = wild-type; *Mc4r* $^{+/-}$ = heterozygous *Mc4r*; *Mc4r* $^{-/-}$ = *Mc4r* -knockout.
Source: Collet 2017, Figure 3B and 3C.

2.6.2.2.2.3 通常餌で飼育された野生型（WT）痩せ型ラットに対する効果

2.6.2.2.2.3.1 通常餌で飼育された痩せ型 Sprague-Dawley ラットに対する setmelanotide 皮下持続注入投与の効果

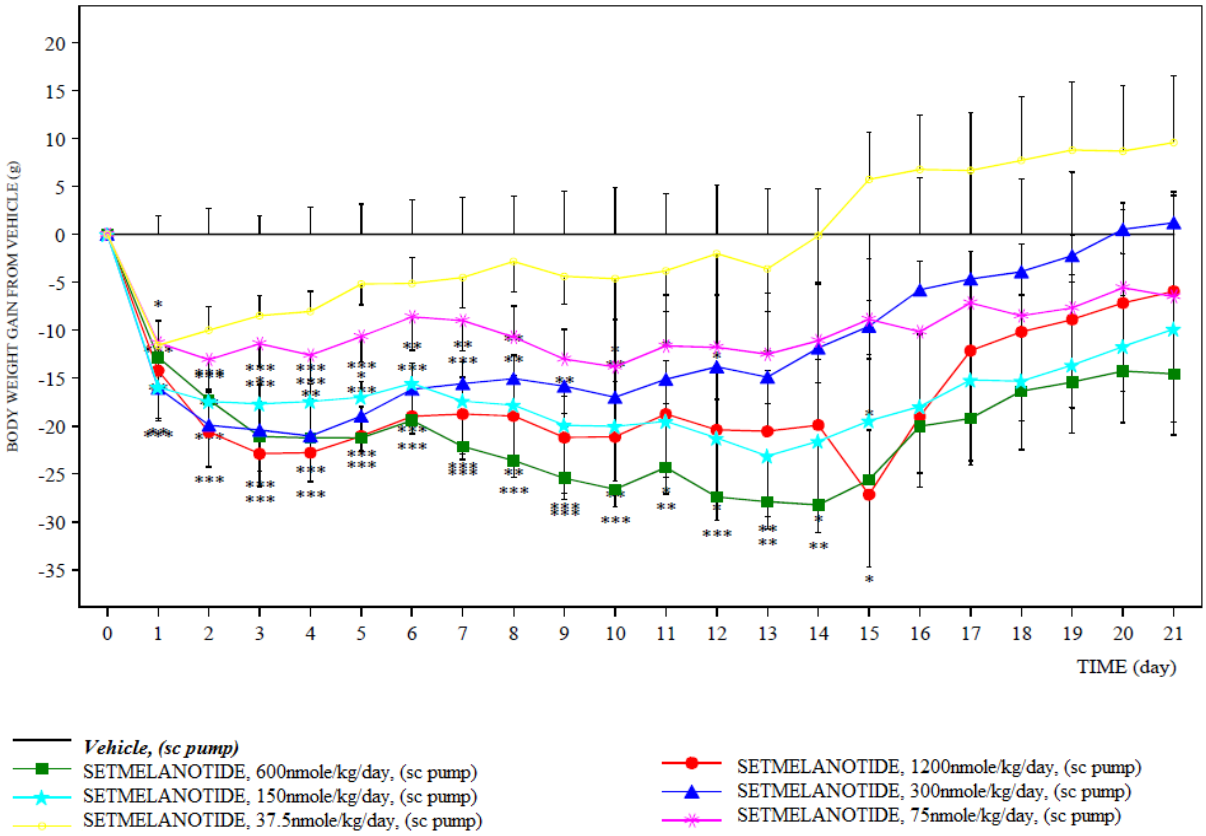
BIM-22493-002 試験（4.2.1.1-7）

雄性 Sprague-Dawley ラット（n = 8/群）に 37.5～1,200 nmol/kg/日（0.04～1.34 mg/kg/日）の用量の setmelanotide を 7 日間皮下持続注入投与し、体重及び摂餌量に対する効果を評価した。ラットには、投与 1 日目の朝にクロロハイドレート麻酔下で皮下に皮下持続注入用ポンプを埋め込んだ。ポンプには 7 日間の setmelanotide 又は媒体（0.9% NaCl、2% 熱不活化正常ラット血清、2% Tween-80、5% N,N-ジメチルアセトアミド）を充填した。各動物の体重、摂餌量及び水の摂取量は、14 日間 1 日 1 回午前 8:00 に測定した。図 2.6.2-5 に示すように、投与期間の終了時までに、全ての setmelanotide 投与群で媒体対照群と比較して体重増加の用量依存的な抑制が認められ、投与 7 日目に 600 nmol/kg/日（0.67 mg/kg/日）投与群で最大-22.1 g の体重減少が認められた。投与終了 1 週間後（投与 14 日目）も全ての setmelanotide 投与群で媒体対照群に比較して体重増加の用量依存的な抑制が続き、600 nmol/kg/日（0.67 mg/kg/日）群で最大-28.2 g の減少が認められた。効果は投与 21 日目までに減弱したが、投与 21 日目（投与終了 2 週間後）でも高用量の setmelanotide 投与群で媒体対照群と比較して体重増加の抑制が持続して認められた。水分摂取量に対する作用は不明であった。

摂餌量に関する結果もおおむね同様であり、投与 7 日目には媒体対照群と比較して総摂餌量が用量依存的に-7.6～-25.2 g まで抑制された。投与終了後も、媒体対照群と比較して摂餌量の継続的な抑制が認められ、投与 14 日目に最大-3.4～-29.1 g の減少が認められた。

以上、通常飼料で飼育された痩せ型 Sprague-Dawley ラットでは 37.5～1,200 nmol/kg/日（それぞれ 0.04～1.34 mg/kg/日）の用量の setmelanotide の皮下持続注入投与により、体重増加率及び食欲に対して抑制効果が認められた。投与終了後には、体重の緩やかな回復が認められた。

図 2.6.2-5　通常餌で飼育された痩せ型ラットの体重増加に対する setmelanotide の 7 日間皮下持続注入投与の効果（平均値 ± 標準誤差）の媒体対照群との比較



Statistical analysis was performed using Dunnett's test (two-tailed) to compare each treatment group with the control group.
Statistical significance is indicated by: *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05.
Definition : sc = subcutaneous.
Source: Study BIM-22493-002 (4.2.1.1-7), p44-figure.

2.6.2.2.2.3.2 通常餌で飼育された野生型（WT）痩せ型 Sprague-Dawley ラットに対する setmelanotide と Lilly 社の化合物 LY211268 の作用の比較

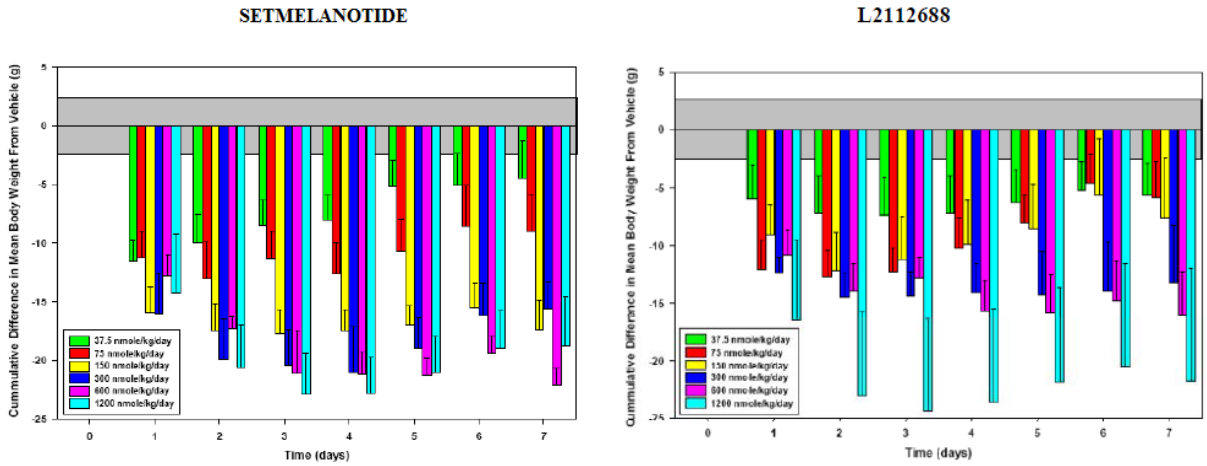
BIM-22493-016 試験（4.2.1.1-8）

Setmelanotide の体重に対する効果を、他の MC4R 作動物質である Lilly 社の化合物 LY2112688 と比較した。この試験では、通常餌で飼育された WT 痩せ型雄性 Sprague-Dawley ラット（n = 8）に皮下注入用ポンプを埋め込み、setmelanotide（0.04、0.08、0.17、0.34、0.67 又は 1.34 mg/kg/日）又は LY2112688（0.04、0.09、0.18、0.35、0.71 又は 1.41 mg/kg/日）を 37.5、75、150、300、600 又は 1,200 nmol/kg/日の用量で、又は媒体（0.9% NaCl、2%熱不活化正常ラット血清、2% Tween-80、5% N,N-ジメチルアセトアミド）を 7 日間皮下持続注入投与した。各動物の体重は 1 日 1 回午前 8:00 に測定した。全ての setmelanotide 投与群では投与期間終了まで、媒体対照群と比較して体重増加が 5～20 g の範囲で用量依存的に抑制された。LY2112688 投与群でも用量依存的な体重増加の抑制が認められたが、低用量投与群では setmelanotide よりも有意に効果が低かった（p = 0.0017、二元配置分散分析［ANOVA］）（図 2.6.2-6）。最高用量投与群でのみ、setmelanotide と LY2112688 は投与 7 日目に体重増加の抑制効果が同等であったが、

LY2112688 の高用量投与群では LY2112688 の低用量投与群よりも非常に大きな変動が認められた。

以上、setmelanotide の皮下持続注入投与による体重増加抑制作用は、LY2112688 よりも強力であることが示された。

図 2.6.2-6　通常餌で飼育された野生型（WT）痩せ型ラットの体重増加に対する setmelanotide 及び Lilly 化合物 L2112688 の 7 日間皮下持続注入投与の効果（平均値 ± 標準誤差）の媒体対照群との比較



Doses:
37.5 nmol/kg/day = 0.04 mg/kg/day
75 nmol/kg/day = 0.08 mg/kg/day
150 nmol/kg/day = 0.17 mg/kg/day
300 nmol/kg/day = 0.34 mg/kg/day
600 nmol/kg/day = 0.67 mg/kg/day
1,200 nmol/kg day = 1.34 mg/kg/day
Source: Study BIM-22493-016 (4.2.1.1-8), Figure 1 and Figure 2.

2.6.2.2.2.3.3 通常餌で飼育された野生型（WT）痩せ型 Sprague-Dawley ラットに対する setmelanotide の皮下投与の評価

BIM-22493-007 試験（4.2.1.1-9）、BIM-22493-001 試験（4.2.1.1-10）

通常餌で飼育された WT 痩せ型雄性 Sprague-Dawley ラット（n = 8/群）を用いて 2 つの非臨床試験、一晩絶食させたラットに単回投与（BIM-22493-007 試験［4.2.1.1-9］）及び 1 日 3 回 7 日間投与（BIM-22493-001 試験［4.2.1.1-10］）を行い、setmelanotide の皮下投与の効果を評価した。

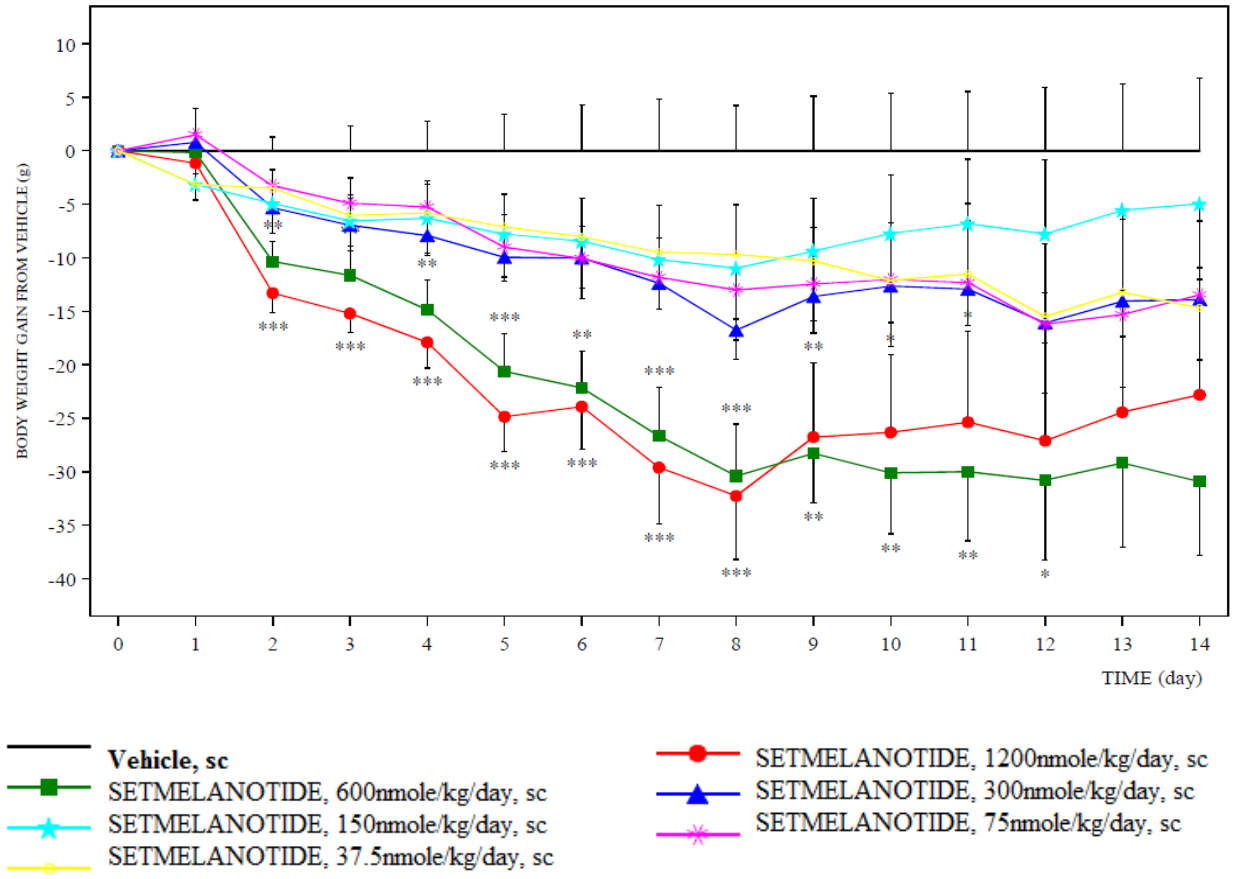
1 番目の試験（BIM-22493-007 試験［4.2.1.1-9］）では、setmelanotide を 100、500 又は 2,500 nmol/kg（0.11～2.79 mg/kg）の用量で単回皮下投与により、通常餌で飼育された痩せ型ラットの摂餌量は用量依存的に有意に抑制され、投与後 6 時間で 3～4 g の摂餌量の抑制が認められた。この試験は短期間の試験であったため、setmelanotide の体重増加に対する効果は評価しなかった。

2 番目の試験（BIM-22493-001 試験［4.2.1.1-10］）では、setmelanotide を 37.5、75、150、300、600 又は 1,200 nmol/kg/日（それぞれ 0.04、0.08、0.17、0.34、0.67 又は 1.34 mg/kg/日）の用量で 1 日 3 回（9:00、13:00、17:00）7 日間皮下投与により評価した。投与期間終了（投与 7 日目）ま

で、媒体（0.9% NaCl、0.25%ウシ血清アルブミン、2% Tween-80、5% N,N-ジメチルアセトアミド）対照群と比較して 10～30 g の用量依存的体重増加の抑制が認められた。特に、setmelanotide の高用量（0.67 及び 1.34 mg/kg）投与群では、投与 7 日目に体重増加が媒体対照群と比較して有意に抑制され、媒体対照群に比較して体重増加の平均減少量はそれぞれ-29.6 g 及び-26.7 g（それぞれ p = 0.0001 及び 0.0006）であった。また、setmelanotide は投与 7 日目までに総摂餌量を媒体対照群と比較して用量依存的に-6～-38 g 抑制した（図 2.6.2-7）。Setmelanotide の高用量（0.67 及び 1.34 mg/kg）投与群では摂餌量が媒体対照群と比較して有意に抑制され、平均減少量はそれぞれ-38.8 及び-35.8 g（それぞれ p = 0.0022 及び 0.0053）であった。

以上、setmelanotide の体重増加及び摂餌量に対する抑制効果は、通常餌で飼育された痩せ型ラットに対して 7 日間皮下投与又は皮下持続注入投与で同程度であることが示された。水分摂取量に対する作用は不明であり、用量依存性は示されなかった。

図 2.6.2-7　通常餌で飼育された野生型（WT）痩せ型ラットの体重増加に対する setmelanotide の 1 日 3 回、7 日間の皮下投与の効果（平均値 ± 標準誤差）の媒体対照群との比較



Statistical analysis was performed using Dunnett's test (two-tailed) to compare each treatment group with the control group.
Statistical significance is indicated by: *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05.
Definition : sc = subcutaneous.
Source: Study BIM-22493-001 (4.2.1.1-10), page 44-Figure.

2.6.2.2.2.4 単一遺伝子変異に起因するげっ歯類肥満モデルに対する効果

2.6.2.2.2.4.1 Zucker ラットに対する効果

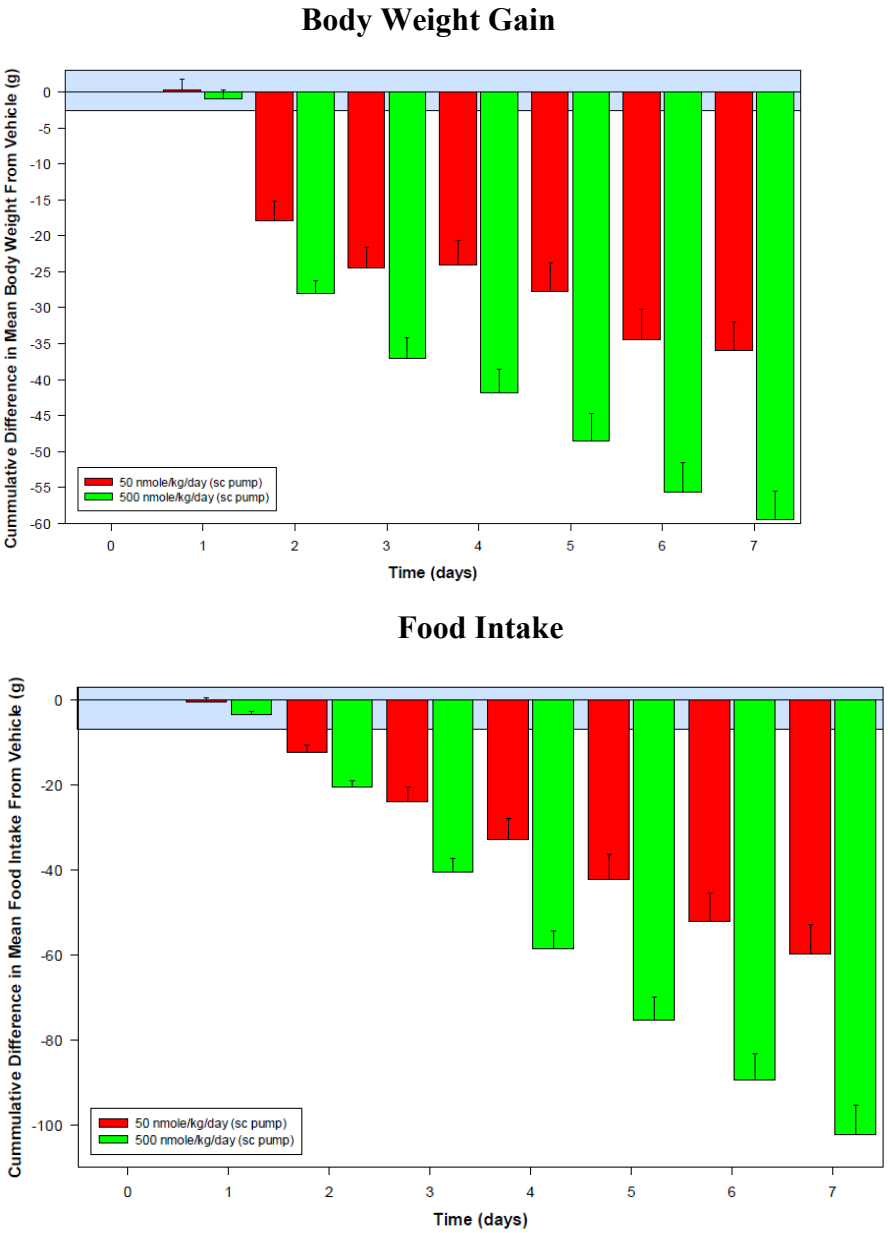
BIM-22493-006 試験（4.2.1.1-11）

Setmelanotide の効果を遺伝性肥満モデルである Zucker ラットで評価した。Zucker ラットは自然発生的 *Lepr* 突然変異モデルであり、高インスリン血症、高 TG 血症、高コレステロール血症、高血圧などのいくつかの特徴を伴う肥満表現型を示す。この *LEPR* 欠損性の肥満は本申請の適応症の 1 つであるため、本試験は特に効力の評価に関連すると考えられる。

雄性 Zucker ラット（n = 8/群）に皮下持続注入用ポンプを埋め込んで setmelanotide（50 又は 500 nmol［それぞれ 0.06 又は 0.56 mg］/kg/日）又は対照媒体（0.9% NaCl、2%加熱不活化正常ラット血清、2% Tween-80、5% N,N-ジメチルアセトアミド）を 7 日間投与し、各動物の体重、摂餌量及び水の摂取量は 7 日間 1 日 1 回午前 8:00 に測定した。投与終了後 1 日目にグルコース負荷試験を実施した。グルコース（1 g/kg）を 0 時に注入し、注入後 0、2.5、5、10、20、40 分にカニューレで血液サンプルを採取した。血漿を取り出し、グルコース及びインスリン濃度を測定した。グルコース負荷試験の終了時に、追加の血清サンプルを採取し、TG、コレステロール及び遊離脂肪酸を測定した。

投与 7 日目に 50 及び 500 nmol（0.06 及び 0.56 mg）/kg/日投与群で、それぞれ媒体対照群と比較して体重増加の-35 g 及び-60 g の有意な減少が認められた（各用量投与群で投与 1 日目を除き、$p < 0.0001$、Dunnett 検定［両側］）。同様に、7 日間の投与期間の終了まで摂餌量も用量依存的な抑制が認められ、50 及び 500 nmol（0.06 及び 0.56 mg）/kg/日投与群でそれぞれ媒体対照群と比較して摂餌量の-60 g 及び-100 g の有意な抑制が認められた（それぞれ $p = 0.0006$ 及び $p = 0.0001$、Dunnett 検定［両側］）（図 2.6.2-8）。

図 2.6.2-8　Zucker ラット遺伝性肥満モデルの体重増加及び摂餌量の抑制に対する setmelanotide の 7 日間皮下持続注入投与の効果（平均値 ± 標準誤差）の媒体対照群との比較

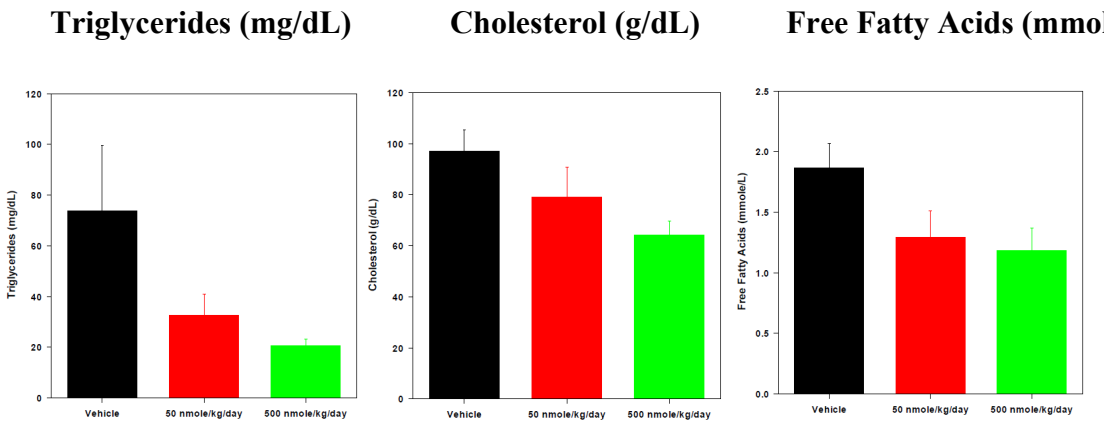


50 nmol/kg/day = 0.06 mg/kg/day
500 nmol/kg/day = 0.56 mg/kg/day
Definition : sc = subcutaneous.
Source: Study BIM-22493-006 (4.2.1.1-11), Figure 1 and Figure 2.

Setmelanotide は 50 又は 500 nmol（それぞれ 0.06 又は 0.56 mg）/kg/日の 7 日間皮下持続注入投与により、体重増加及び摂餌量に対する有意な抑制に加えて絶食時の基礎血漿グルコース濃度及びグルコース負荷後の血漿グルコース濃度の用量依存的な減少を示し、グルコース変化を正常範囲に戻すために必要なインスリン量の用量依存的な減少も示した。しかしこれらの減少はいずれの用量投与群でも媒体対照群に対して有意差は認められなかった。投与 7 日目には TG、コレステロール及び遊離脂肪酸濃度の用量依存的な減少が認められた（図 2.6.2-9）。500 nmol

（0.56 mg）/kg/日投与群では、媒体対照群と比較してコレステロール濃度が有意に減少した（64.3 対 97.1 g/dL、p = 0.0294、Dunnett 検定［両側］）。一方、50 nmol（0.06 mg）/kg/日投与群では媒体対照群と比較して有意差は認められなかった。また、投与 7 日目では setmelanotide のいずれの投与群でも TG 及び遊離脂肪酸に関して媒体対照群と比較して有意差は認められなかった。

図 2.6.2-9　Zucker ラット遺伝性肥満モデルのトリグリセリド、コレステロール及び遊離脂肪酸濃度に対する setmelanotide の 7 日間皮下持続注入投与の効果（平均値 ± 標準誤差）



50 nmol/kg/day = 0.06 mg/kg/day
500 nmol/kg/day = 0.56 mg/kg/day
Source: Study BIM-22493-006 (4.2.1.1-11), Figure 5, Figure 6, and Figure 7.

以上、DIO 型及び遺伝性肥満ラットモデルを用いた試験結果から、setmelanotide は 50～1,200 nmol（0.06～1.34 mg）/kg/日の用量範囲で、わずか 7 日間の皮下持続注入投与で肥満ラットの体重増加率を減少させ、食欲を抑制し、血漿中のグルコース及びインスリン濃度を正常化する効果があることが示された。

2.6.2.2.2.4.2 *Magel2* 欠失マウスに対する効果

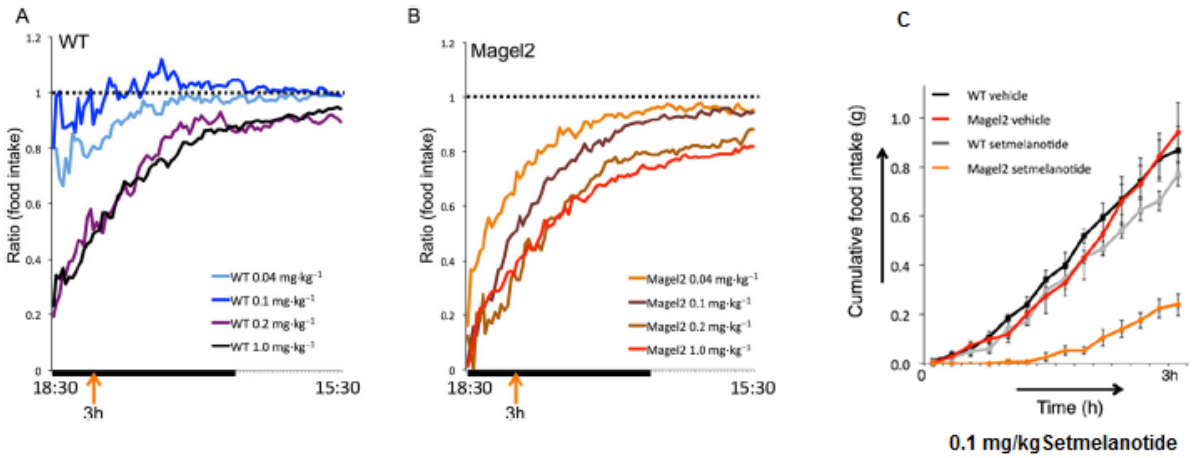
RM-493-PH-026 試験（4.2.1.1-12）／Bischof 2016

雄性 *Magel2* 欠失マウス及び WT マウス（n = 6/群）を用いて、0.04、0.1、0.2 及び 1 mg/kg の 4 用量の setmelanotide（0.9% NaCl、2%加熱不活化正常マウス血清、0.5% DMSO を含む媒体 120 µL）を単回腹腔内投与し、用量漸増試験を実施した。*Magel2* 欠失マウスは POMC 産生神経細胞の活性化に欠陥があり、POMC 由来の MC4R 作動性リガンドである α-及び β-MSH の正常な放出が失われており、PWS 患者に認められる代謝及び食欲の不均衡のモデルとして適切な動物モデルである（Bischof 2016、Lee 2000、Schaaf 2013）。マウスは代謝ケージで、摂餌量、活動量（レーザー光の遮断を利用）、酸素消費量（VO_2）及び二酸化炭素の排出量（VCO_2）を 14 分ごとに測定した。

Setmelanotide は 4 用量全てで投与 3 時間に *Magel2* 欠失マウスの摂餌量の抑制を示したが、WT マウスに対しては高用量（0.2 及び 1 mg/kg）のみ投与 3 時間に摂餌量の抑制効果を示した

（図 2.6.2-10A 及び B）。0.1 mg/kg の投与では遺伝子型間差が最も顕著で、*Magel2* 欠失マウスでは投与 3 時間に摂餌量に対する顕著な抑制効果が認められたが WT マウスでは効果はまったく認められなかった（図 2.6.2-10C）。

図 2.6.2-10　Setmelanotide 投与後の *Magel2* 欠失マウス及び野生型（WT）マウスの累積摂餌量の対照媒体投与後の累積摂餌量との比較（A 及び B）、0.1 mg/kg の setmelanotide 投与 3 時間の累積摂餌量（C）



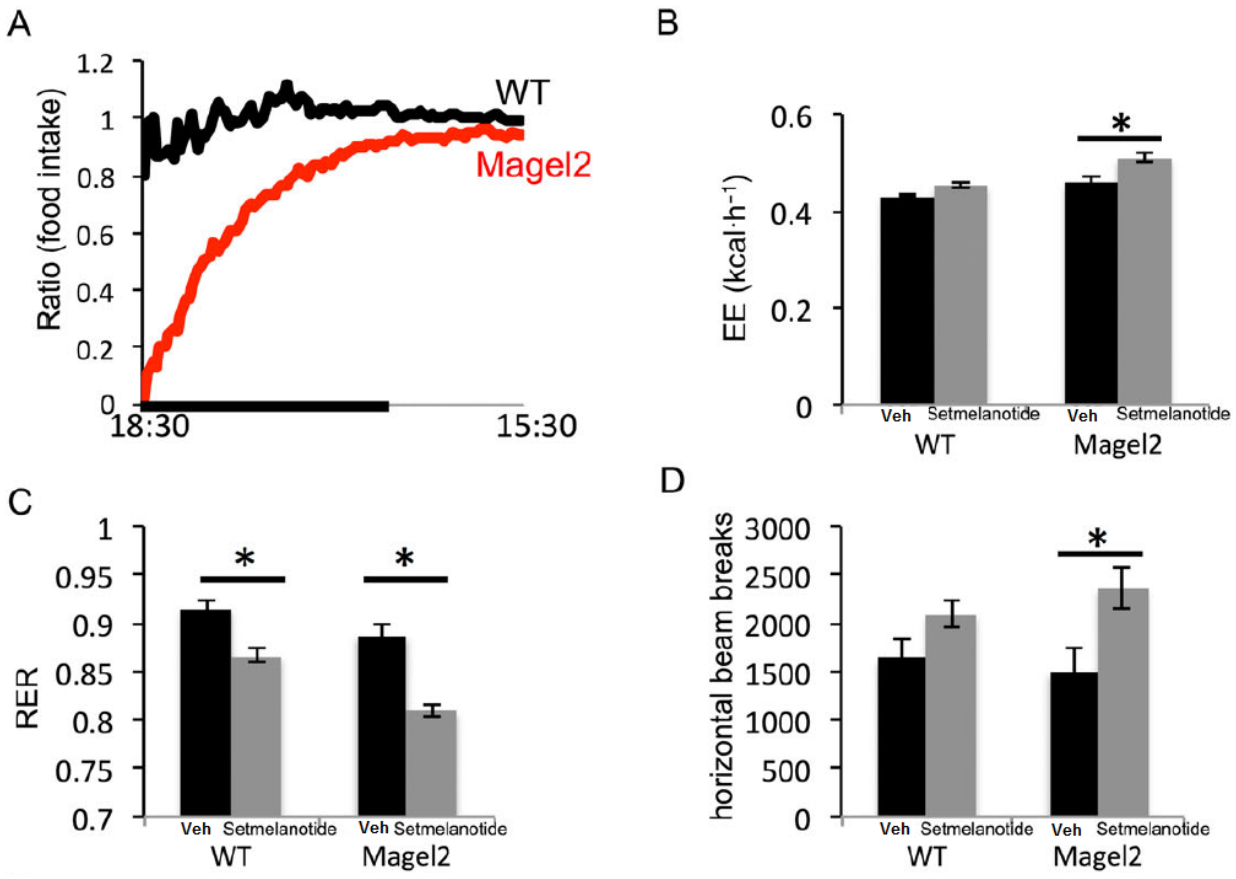
(A, B) Ratio of cumulative food intake after setmelanotide administration to cumulative food intake after vehicle administration, plotted against the time of day for each of four doses, within each genotype. Ratios were calculated for each mouse and then averaged within genotypes. A value of '1' (dotted line) indicates equal cumulative food intake after treatment with setmelanotide, compared with values after vehicle (0.9% NaCl, 2% heat inactivated normal mouse serum, 0.5% DMSO) treatment. (C) 3 h cumulative food intake at 0.1 mg/kg in *Magel2*-null and WT mice (mean ± SEM).
Definition: SEM = standard error of the mean; WT = wild-type.
Source: Study RM-493-PH-026 (4.2.1.1-12), Figures 3A, 3B, and 2E.

Setmelanotide は 0.2 及び 1 mg/kg の用量で WT 及び *Magel2* 欠失マウス両方のエネルギー消費量を増加させた。また、setmelanotide は 0.1 mg/kg の低用量でも *Magel2* 欠失マウスのエネルギー消費量を増加させ、摂餌量の抑制との関連性が認められた（図 2.6.2-11A 及び B）が、WT マウスの摂餌量に対しては効果が認められなかった。さらに、本試験で setmelanotide の投与は 4 用量全てでガス交換比（RER）に有意に作用し、両遺伝子型で媒体対照群と比較して RER の低下が認められた（図 2.6.2-11C）。

Setmelanotide は 0.2 及び 1 mg/kg の用量で両遺伝子型のマウスの 1 時間当たりの活動量を媒体対照群と比較して増加させた。また、setmelanotide は 0.1 mg/kg の低用量でも *Magel2* 欠失マウスの 1 時間当たりの活動量を媒体対照群と比較して増加させた。（図 2.6.2-11D）。

以上、*Magel2* 欠失マウスは、setmelanotide の単回投与による食欲抑制効果及び代謝促進効果に対して高い感受性を示した。

図 2.6.2-11　Setmelanotide（0.1 mg/kg）の腹腔内投与による *Magel2* 欠失マウス及び野生型（WT）マウスの摂餌量抑制効果（A）、3 時間のエネルギー消費量（B）、3 時間のガス交換比（RER）（C）及び 1 時間の水平活動量（D）の媒体対照群との比較



Bars represent mean ± SEM.
(A) Ratio of cumulative food intake after setmelanotide administration to cumulative food intake after vehicle administration, plotted versus time of day. A value of '1' indicates no difference between cumulative food intake after setmelanotide and after vehicle administration. The black bar indicates the dark phase. (B) Energy Expenditure (EE): VO_2 and VCO_2 were used to calculate EE (kcal/h). Average EE over 3 h after setmelanotide administration was compared to EE after vehicle administration. (C) Average RER (respiratory exchange ratio, VCO_2/VO_2) over 3 h after setmelanotide administration was compared to RER over the same time interval, after vehicle administration. (D) Total activity (horizontal beam breaks) over 1 h after setmelanotide administration was compared to activity after vehicle administration.
* $P < 0.05$, significant difference between setmelanotide and vehicle (0.9% NaCl, 2% heat inactivated normal mouse serum, 0.5% DMSO), as determined by two-factor ANOVA.
Definitions: ANOVA = analysis of variance; EE = energy expenditure; WT = wild-type; RER = respiratory exchange ratio; Veh = vehicle; SEM = standard error of the mean.
Source: Study RM-493-PH-026 (4.2.1.1-12), Figure 2A, 2B, 2C, and 2D.

2.6.2.2.2.5　アカゲザルに対する効果

Setmelanotide を皮下持続注入投与して一連の薬理作用を評価した。

2.6.2.2.2.5.1　通常餌で飼育された痩せ型アカゲザルに対する効果

RM-493-PH-007 試験（4.2.1.1-13）

最初に通常餌で飼育された痩せ型アカゲザルを用いて、摂餌量の抑制に対して setmelanotide

が効力を示す用量を検討した。雌雄各 3 匹の合計 6 匹のアカゲザルに皮下持続注入用ポンプを埋め込み、媒体（0.9% NaCl、2%熱不活性化正常アカゲザル血清、5% N,N-ジメチルアセトアミド）に溶解した setmelanotide を 150、450 又は 1,350 nmol/kg/日（それぞれ 0.17、0.5 又は 1.5 mg/kg/日）の用量で 7 日間投与した。各用量投与終了後、1 週間の媒体投与期間を設けた。その結果、setmelanotide の最低用量（150 nmol［0.17 mg］/kg/日）で、軽微な摂餌量の抑制が認められたが有意ではなかった。しかし、高用量（450 及び 1,350 nmol［0.5 及び 1.5 mg］/kg/日）では、投与後 1 週間に媒体対照群と比較してそれぞれ-22.9%及び-25.1%の有意な摂餌量の抑制が認められた。3 用量投与群全てで、耐糖能、絶食時血糖値又は絶食時インスリン濃度に変化は認められなかった。また、グルコース負荷後のインスリン分泌曲線下面積（AUC）を測定すると、1.5 mg/kg/日の用量でわずかに有意な減少が認められた。投与開始前の動物は痩せ型健康体であり、高いインスリン感受性を示していたことから、このモデルでグルコース恒常性に顕著な変化が認められなかったことは想定内の結果と考えられる。

以上、450 nmol（0.5 mg）/kg/日の setmelanotide の投与によって摂餌量の有意な抑制が認められたため、肥満型サルの非臨床試験ではこの用量を使用することを選択した。

2.6.2.2.2.5.2 食餌誘導性肥満（DIO）型アカゲザルに対する効果

RM-493-PH-007 試験（4.2.1.1-13）／Kievit 2013

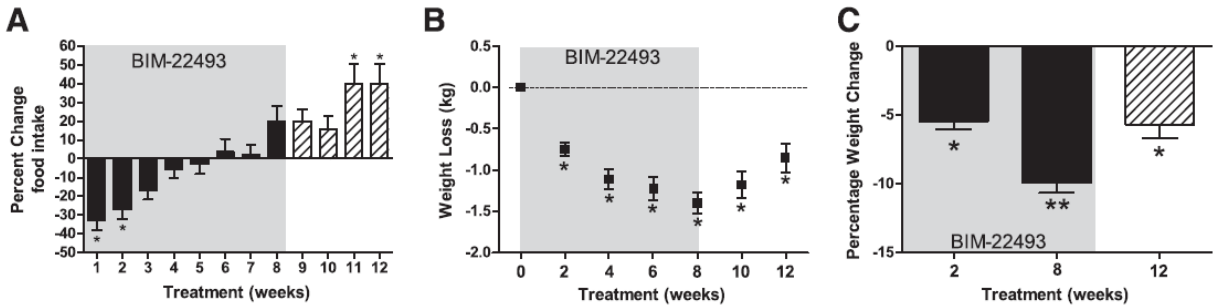
約 1.5 年間高脂肪飼料で飼育された 12 匹の雄性アカゲザルに皮下持続注入用ポンプを埋め込み、setmelanotide を 450 nmol（0.5 mg）/kg/日で、8 週間投与した。12 匹中、9 匹は投与開始前のベースラインで肥満、インスリン抵抗性及び高血圧を示したが、残りの 3 匹は食餌抵抗性と分類され、体重、脂肪量及び血圧は正常範囲内であった。摂餌量は 1 日 1 回測定し、体重は投与期間中 2 週間ごとに測定した。さらに、投与開始前、投与 4 週目及び 8 週目に経静脈グルコース負荷試験及び二重エネルギーX 線吸収測定（DEXA）スキャンを実施し、投与 8 週目にエネルギー消費量を測定した。

Setmelanotide の投与 1 週間後に、媒体投与と比較して摂餌量の約 35%の有意な抑制が認められた。しかし、この効果は持続せず摂餌量は投与 4 週目から 7 週目までに徐々に回復し、投与 8 週目にはわずかに増加が認められた（図 2.6.2-12A）。体重が減少すると、エネルギーバランスを回復するために食物摂取量を増加させる恒常性維持機構が作動することが知られている。したがって、DIO 型アカゲザルで認められた摂餌量の抑制作用の減弱は、薬理作用の消失又は耐性の発現ではなく、体重減少に対する代償性生理反応を反映していると考えられる。摂餌量の抑制作用が減弱したにもかかわらず、体重の継続的な減少が認められ、これは、エネルギー消費量及び活動量の増加と整合した。

なお、摂餌量の抑制作用の減弱は動物モデル特異的なもので、臨床転帰を予測するものではないと考えられ、ヒトでは、setmelanotide の長期投与で同様の減弱は認められず、継続治療により空腹感及び体重の持続的な減少が認められている。

投与終了後、摂餌量は有意に増加し、投与後 12 週間までに正常範囲に戻り、動物は投与前の体重に戻った。

図 2.6.2-12　食餌誘導性肥満（DIO）型アカゲザルの摂餌量及び体重に対する setmelanotide の 8 週間皮下持続注入投与の効果



* p < 0.001
**p < 0.01
Note: The black bars are data from actively treated rhesus macaque monkey, the crosshatched bars are during vehicle treatment; the shaded area represents the 8-week treatment period. The panel-A y-axis corrected for mis-labeled ligand in the source document.
A: Administration of Setmelanotide (0.5 mg/kg/day) decreased food intake in the first 4 weeks. Upon termination of the treatment, a slight rebound hyperphagia can be observed during the washout period (weeks 9–12). Body weight change in kilograms (B) and percentage (C) at specific time points during treatment with setmelanotide. Data (n = 12) were analyzed with repeated measures ANOVA (P < 0.001). *Individually significant time points by Dunnett post hoc test (vs. vehicle). C: Data were analyzed by repeated measures ANOVA (P < 0.001) with Bonferroni post hoc test (weight loss at 8 weeks significantly different [**P < 0.01] vs. 2 and 12 weeks).
Note: BIM-22493 = Setmelanotide.
Definition: ANOVA = analysis of variance.
Source: Study RM-493-PH-007 (4.2.1.1-13), Kievit 2013, Figure 1.

摂餌量が増加した後も、動物は setmelanotide の投与期間中及び一部の動物では投与終了後 2 週間まで体重減少が継続し、最大で約 13.5%の体重減少が認められた（図 2.6.2-12B 及び C）。Setmelanotide 投与終了後、動物の体重は増加し始め、投与終了後 4 週間までに 0.5 kg の増加を示し、投与終了後 10～12 週間までに投与開始前の体重に戻り、摂餌量も投与開始前に戻った。

体組成分析の結果、8 週間の投与期間中に脂肪量が有意に減少し、平均減少率は元の脂肪量の 19～38%であった。動物は投与終了後 4 週間で体脂肪の減少を回復した。

日中の活動量は、8 週間の投与期間中有意に増加し、投与終了までに約 2 倍に増加した（p = 0.037、ANOVA［繰り返し測定］）。夜間の活動量に変化は認められず、setmelanotide の投与は睡眠パターンを乱さないことが示された。二酸化炭素（CO_2）生成量で測定したエネルギー消費量は、投与期間終了時に 14%増加したが、これは日中の活動量の増加に伴う二次的なものであると考えられた。

予想通り、8 週間の投与期間中に血漿レプチン濃度の減少が認められたが、この減少は投与開始前に高レプチン血症であった肥満（DIO）型動物に限定された。レプチン濃度の減少の程度は体重減少と有意に相関した。投与終了後レプチン濃度のリバウンドが認められたが、これは体脂肪量の回復によると考えられた。血清 TG 濃度も 8 週間の投与期間中に徐々に減少した。

絶食時血漿インスリン濃度及びインスリン抵抗性指数（HOMA-IR）は、8 週間の投与期間中に改善した。さらに、経静脈グルコース負荷試験では、肥満型動物のインスリン分泌及びグルコースクリアランスが、8 週間の投与期間及び投与終了後 4 週間にわたって改善が認められた。投与終了後 12 週間までに、インスリン感受性及び耐糖能は投与開始前の値に戻った。

Setmelanotide の投与量を 3 分の 1（0.17 mg/kg/日）に減量した同様の投与パターンでは、摂餌量及び体重に対する効果は少なかったが、インスリン感受性は同程度の改善が認められた。

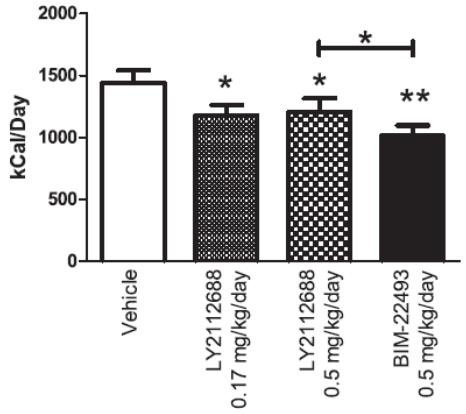
MC4R 経路の活性化は、あくびの増加、筋肉の硬直、ストレッチ、陰茎の勃起など、摂食に直接関連しないいくつかの作用との関連性が示唆されている（Martin and MacIntyre 2004）。しかし、本試験ではこれらの作用のいずれも認められなかった。

以上、450 nmol（0.5 mg）/kg/日の setmelanotide を 8 週間投与すると、肥満（DIO）型のアカゲザルの摂餌量、体重及び脂肪量の減少、並びにグルコース恒常性、インスリン感受性及びレプチン濃度の改善に効果的であることが示された。

この試験で評価した setmelanotide の心血管系パラメーターに対する作用及び関連する追加評価については、以下の 2.6.2.4.1.2.6 項に記載した。

また、同一 DIO 型アカゲザルを用いて setmelanotide（0.5 mg/kg/日）及び LY2112688（0.17 及び 0.5 mg/kg/日）の皮下持続注入投与 1 週間後の摂餌量に対する効果を比較した。LY2112688 の投与による摂餌量の有意な抑制が認められたが、この抑制は同一用量の setmelanotide で認められた抑制と比較して有意に少なかった（図 2.6.2-13）。

図 2.6.2-13 Setmelanotide 及び LY2112688 の皮下持続注入投与 1 週間後の食餌誘導性肥満（DIO）型アカゲザルの摂餌量に対する効果



Note: BIM-22493 = Setmelanotide.
n = 12/group, vehicle = 0.9% NaCl, 2% heat-inactivated rhesus macaque monkey serum and 5% N,N-dimethylacetamide)
All statistics were performed by repeated measures ANOVA. *Individually significant values by Bonferroni post hoc test from vehicle period. *P < 0.05, **P < 0.01.
Definition; ANOVA = analysis of variance.
Source: Study RM-493-PH-007 (4.2.1.1-13), Kievit 2013, Figure 5A.

2.6.2.2.2.6 イヌに対する効果

32587 TSC 試験（4.2.1.1-14）

通常餌で飼育された痩せ型ビーグル犬を用いて setmelanotide の摂餌量、体重、血糖値、インスリン濃度及び臨床検査値パラメーターに対する効果を評価した。ビーグル犬 6 匹（雄 3 匹、雌 3 匹）に、15、45、150、450、1,500 又は 4,500 nmol/kg/日（それぞれ 0.02、0.05、0.17、0.5、1.67 又は 5.0 mg/kg/日）の setmelanotide を 1 日 3 回 3 日間皮下投与した。各用量の投与間に 4 日

間（4 低用量）又は 5 日間（2 高用量）のウォッシュアウト期間を設けた。それぞれの用量は、4 時間間隔で 1 日 3 回、皮下投与した。

150～4,500 nmol/kg/日（0.17～5.0 mg/kg/日）の setmelanotide の用量では、setmelanotide 投与期間の体重増加が用量依存的に抑制（10～15%の減少）され、ウォッシュアウト期間中に完全又は部分的な回復が認められた。体重の用量依存的な減少は 150～4,500 nmol/kg/日（0.17～5.0 mg/kg/日）の setmelanotide の用量全般にわたって摂餌量の用量依存的な抑制（50～70%）と相関し、ウォッシュアウト期間中に摂餌量は徐々に又は急速に回復した。Setmelanotide の体重及び摂餌量に対する効果は、一般に雄性動物よりも雌性動物の方が顕著であった。

グルコース負荷試験ではグルコース濃度はグルコース注入後 5 分でピークに達しその後は減少し、注入後 90 分にわたって setmelanotide 投与群のグルコース濃度は未投与群以下であった。しかし、明確な用量依存性は認められなかった。

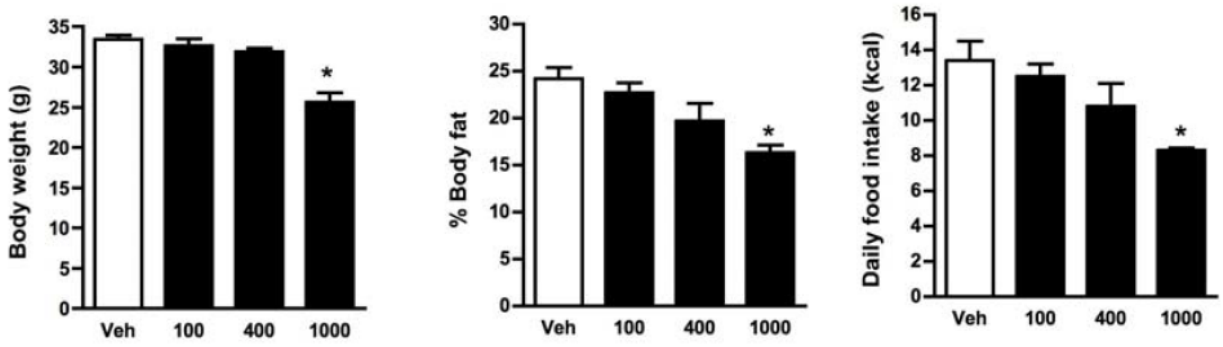
2.6.2.2.3 Setmelanotide のインスリン及びグルコースパラメーターに対する効果

2.6.2.2.3.1 食餌誘導性肥満（DIO）型マウスのエネルギーバランス及びグルコース代謝に対する setmelanotide の皮下投与の効果

BIM-22493-009 試験（4.2.1.1-15）

Setmelanotide のエネルギーバランス及びグルコース代謝に対する効果を DIO 型マウスで評価した。雄性マウス（C57BL/6J）（n = 8）に、setmelanotide（100、400 又は 1,000 nmol/kg/日［それぞれ 0.11、0.45 又は 1.12 mg/kg/日］）又は対照媒体（0.9% NaCl、2%加熱不活化正常マウス血清、2% Tween-80、5% N,N-ジメチルアセトアミド）を皮下持続注入用ポンプで 14 日間投与し、その後絶食状態でグルコース負荷試験及びインスリン負荷試験を実施した。さらに、高インスリン正常血糖クランプ試験によりグルコース恒常性を評価した。剖検後、肝臓、生殖腺周囲白色脂肪組織、褐色脂肪組織及びヒラメ筋試料を採取し、グルコースの取り込みを解析した。その結果、setmelanotide 全投与群で摂餌量、体重及び体脂肪含量の用量依存的な減少が認められた。評価した最高用量（1.12 mg/kg/日）では、setmelanotide の 14 日間投与により、媒体対照群に比較して摂餌量（それぞれ 8.5 vs. 13.1 kcal、$p < 0.0001$）、体重（24.6 vs. 32.3 g、$p < 0.0001$）及び脂肪含量（15.2% vs. 25.9%、$p < 0.0001$）の有意な減少が認められた（図 2.6.2-14）。

図 2.6.2-14　食餌誘導性肥満（DIO）型マウスの体重、体脂肪率及び 1 日あたりの摂餌量に対する setmelanotide の 14 日間の皮下持続注入投与の効果（平均値 ± 標準誤差）



*p < 0.01 versus vehicle control, as determined by Dunnett's test (two-tailed).
100 nmol/kg/day = 0.11 mg/kg/day
400 nmol/kg/day = 0.45 mg/kg/day
1,000 nmol/kg/day = 1.12 mg/kg/day
Source: Study BIM-22493-009 (4.2.1.1-15), Figure 1.

1.12 mg/kg/日の setmelanotide の投与では、体重減少に伴い、血清レプチン（3.6 vs. 14.9 ng/mL、p < 0.0001）、インスリン（1.1 vs. 3.6 ng/mL、p = 0.0001）及び TG（73.4 vs. 95.8 mg/dL、p = 0.0277）が媒体対照群と比較して有意に減少した。血清グルコース濃度は、1.12 mg/kg/日の setmelanotide 投与群で媒体対照群に比較して減少が認められた（それぞれ 135.4 vs. 161.6 mg/dL）が、投与群間差は統計学的に有意ではなかった。

VO_2 は、1.12 mg/kg/日の setmelanotide 投与群で有意に増加し、0.45 mg/kg/日でもわずかに増加したが統計学的に有意ではなかった。Setmelanotide の投与は、呼吸商（RQ）には影響しなかった。

Setmelanotide のエネルギーバランス及び臨床検査値に対する作用の概要を、用量別に表 2.6.2-5 に示す。

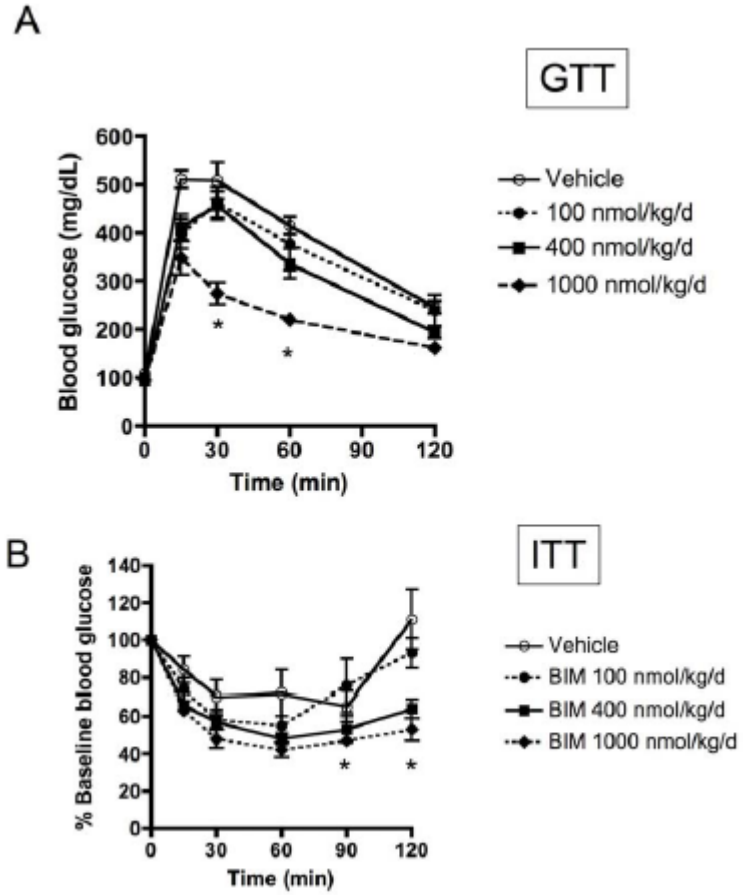
表 2.6.2-5　食餌誘導性肥満（DIO）型マウスのエネルギーバランス及び臨床検査値に対する setmelanotide の 14 日間皮下持続注入投与の用量別の効果

Group	Body Weight (g)	Body Fat (%)	Daily Food Intake (kcal)	VO_2 (mL/kg/hr)	RQ	Serum Leptin (ng/mL)	Serum Insulin (ng/mL)	Serum Glucose (mg/dL)	Serum TG (mg/dL)
Vehicle Control									
n	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Mean (± SEM)	32.3 (0.06)	25.9 (1.3)	13.1 (0.7)	2,555 (165)	0.81 (0.01)	14.9 (1.2)	3.6 (0.4)	161.6 (8.9)	95.8 (5.1)
Setmelanotide 0.11 mg/kg/day									
n	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Mean (± SEM)	32.2 (0.4)	24.5 (1.6)	12.3 (0.4)	2,455 (54)	0.80 (0.01)	9.9 (0.8)	2.7 (0.3)	156.1 (7.3)	86.8 (6.9)
P-value[1]	0.9986	0.8589	0.6082	0.8812	0.8718	0.0081	0.2056	0.9184	0.5563
Setmelanotide 0.45 mg/kg/day									
n	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Mean (± SEM)	30.4 (0.7)	20.2 (1.9)	10.8 (0.7)	2,624 (117)	0.79 (0.01)	6.3 (1.5)	2.1 (0.5)	133.4 (5.7)	102.6 (6.3)
P-value[1]	0.0932	0.0293	0.0146	0.9549	0.3439	<0.0001	0.0219	0.0349	0.7437
Setmelanotide 1.12 mg/kg/day									
n	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Mean (± SEM)	24.6 (0.8)	15.2 (0.8)	8.5 (0.2)	3,165 (111)	0.76 (0.01)	3.6 (0.5)	1.1 (0.3)	135.4 (8.0)	73.4 (4.4)
P-value[1]	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0031	0.0127	<0.0001	0.0001	0.0530	0.0277

[1] P-value determined by Dunnett's test (two-tailed).
Definitions: RQ = respiratory quotient; SEM = standard error of the mean; TG = triglycerides; VO_2 = oxygen consumption.
Source: Study BIM-22493-009 (4.2.1.1-15), Figure 1, p9.

また、1.12 mg/kg/日の setmelanotide の投与は、体重減少に伴い評価した全ての時点で耐糖能（$p \leq 0.0293$、Dunnett 検定［両側］）及びインスリン耐性（$p \leq 0.0017$、Dunnett 検定［両側］）を媒体対照群と比較して有意に改善した（図 2.6.2-15）。

図 2.6.2-15　食餌誘導性肥満（DIO）型マウスのグルコース負荷試験（GTT）（A）及びインスリン負荷試験（ITT）（B）に対する setmelanotide（0.11、0.45 又は 1.12 mg/kg/日、14 日間投与）の効果（平均値 ± 標準誤差）



*p < 0.001 vs vehicle, as determined by Dunnett's test (two-tailed).
Note: “BIM” = Setmelanotide.
100 nmol/kg/day = 0.11 mg/kg/day
400 nmol/kg/day = 0.45 mg/kg/day
1,000 nmol/kg/day = 1.12 mg/kg/day
Definitions: GTT = glucose tolerance testing; ITT = insulin tolerance testing.
Source: Study BIM-22493-009 (4.2.1.1-15), Figure 2, p6.

さらに、1.12 mg/kg/日の setmelanotide の投与により、インスリン感受性は媒体対照群と比較して顕著に改善した。これは高インスリン正常血糖クランプ試験中にグルコース濃度を維持するために必要なグルコース注入速度（GIR）の有意な増加（51.5 vs. 28.3 mg/kg/分、$p < 0.0001$）によって示された。また、1.12 mg/kg/日の setmelanotide 投与群では、媒体対照群と比較して肝グルコース産生（HGP）の有意な減少（11.9 vs. 22.1 mg/kg/分、$p < 0.0001$）及びグルコース消失速度（Rd）の有意な増加（62.1 vs. 50.4 mg/kg/分、$p = 0.0041$）が認められた。

以上、setmelanotide は DIO 型マウスの摂餌を抑制し、体重及び脂肪量を減少し、グルコースクリアランスを改善し、肝臓及びインスリンの感受性を亢進することが示された。

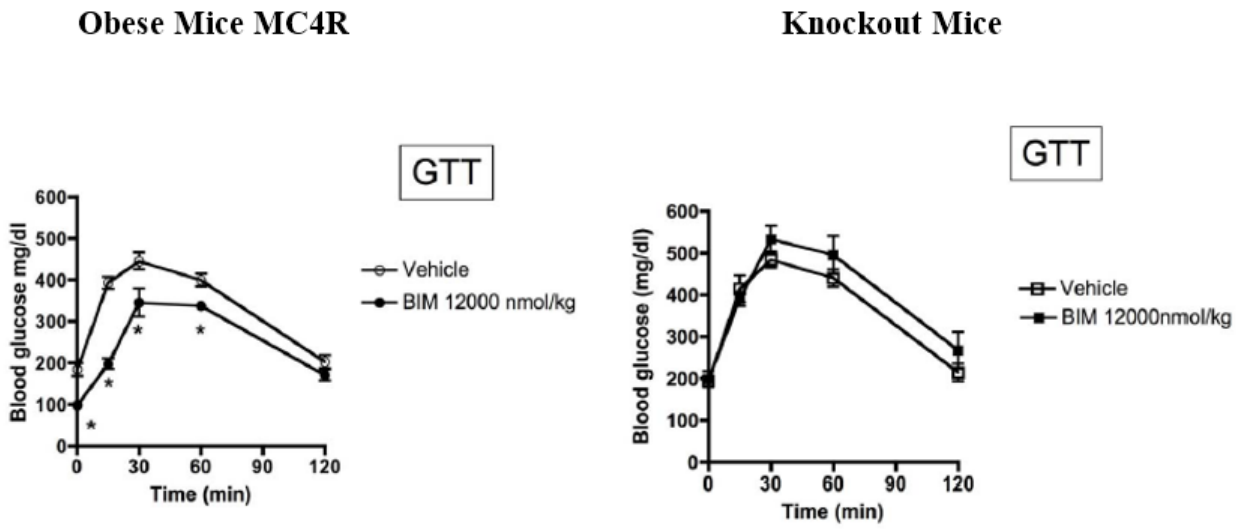
2.6.2.2.3.2 インスリン感受性とメラノコルチン 4 型受容体（MC4R）活性との関係

BIM-022493-008 試験（4.2.1.1-16）

DIO 型 C57BL/6J マウス及び *Mc4r* ノックアウトマウスを用いて、インスリン及びグルコース負荷試験に対する setmelanotide の単回皮下投与の効果を評価した。この短期間での評価は、体重減少の影響を排除した状態で setmelanotide の作用を明らかにするのに役立った。

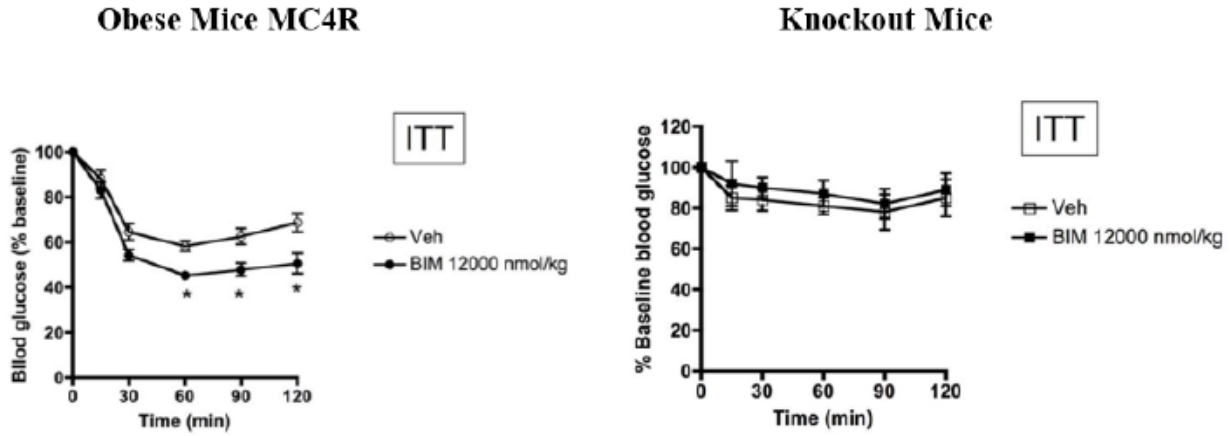
雄性 DIO 型 C57BL/6J マウス及び *Mc4r* ノックアウトマウスにグルコース又はインスリン負荷試験開始 30 分前に 12,000 nmol（13.41 mg）/kg の setmelanotide 又は対照媒体を皮下投与では、DIO 型マウスに 12,000 nmol（13.41 mg）/kg の setmelanotide の投与による著しい急性作用が認められた。そのため、高インスリン正常血糖クランプ試験及び放射性同位元素トレーサー動態分析は、別のマウス群に 12,000 nmol（13.41 mg）/kg の setmelanotide 又は対照媒体を投与して実施した。クランプ試験後、肝臓試料を採取して免疫ブロット法で評価した。体重及び摂餌量はこの試験では評価しなかった。その結果、DIO 型マウスでは 12,000 nmol（13.41 mg）/kg の setmelanotide の単回投与により、耐糖能及びインスリン感受性の亢進が認められた。一方、*Mc4r* ノックアウトマウスでは耐糖能及びインスリン感受性の改善は認められなかった（図 2.6.2-16 及び図 2.6.2-17 を参照）。

図 2.6.2-16 食餌誘導性肥満（DIO）型及び *Mc4r* ノックアウトマウスのグルコース負荷に対する setmelanotide の効果（平均値 ± 標準誤差）



Note: “BIM” = Setmelanotide.
Setmelanotide 12,000 nmol/kg = 13.41 mg/kg.
*p < 0.01 versus vehicle, as determined by Student’s test (two-tailed), n = 8.
Definition: GTT = glucose tolerance testing.
Source: Study BIM-22493-008 (4.2.1.1-16), Figure 1A and Figure 2A.

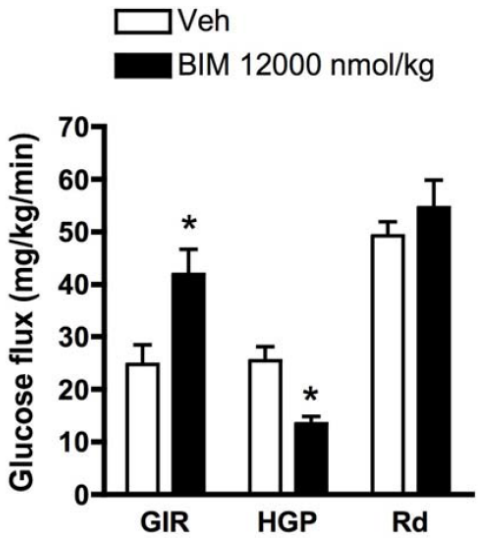
図 2.6.2-17 食餌誘導性肥満（DIO）型及び *Mc4r* ノックアウトマウスのインスリン負荷に対する setmelanotide の効果（平均値 ± 標準誤差）



Note: "BIM" = Setmelanotide.
*p < 0.01 versus vehicle, as determined by Student's test (two-tailed), n = 8 (left), n = 6 (right).
Setmelanotide: 12,000 nmol/kg = 13.41 mg/kg.
Definition: ITT = insulin tolerance testing.
Source: Study BIM-22493-008 (4.2.1.1-16), Figure 1B and Figure 2B.

さらに、インスリンクランプ試験の結果、グルコース注入速度（GIR）の測定により、setmelanotide の投与がインスリン感受性を急性的に亢進することが示された。Setmelanotide はグルコース注入速度（GIR）を加速させ、肝グルコース産生（HGP）を低下させたが、グルコース消失速度（Rd）には影響しなかった。したがって、setmelanotide の急性効果は、肝臓でのインスリンの作用に関係していることが示唆された（図 2.6.2-18）。これは、インスリンシグナル伝達を媒介するタンパク質の免疫ブロット分析によって確認された。Setmelanotide はインスリン感受性の亢進と一致して、[redacted]、[redacted]、[redacted]及び[redacted]の発現を増加させた。

図 2.6.2-18　食餌誘導性肥満（DIO）型マウスのインスリンクランプ試験によるグルコース注入速度（GIR）、肝グルコース産生（HGP）及びグルコース消失速度（Rd）に対する setmelanotide の効果（平均値 ± 標準誤差）



Note: “BIM” = Setmelanotide.
*p < 0.01 versus vehicle, as determined by Student’s test (two-tailed), n = 7.
Setmelanotide: 12,000 nmol/kg = 13.41 mg/kg.
Definitions: Veh = vehicle; GIR = glucose infusion rates; HGP = hepatic glucose production; Rd = glucose disappearance rate.
Source: Study BIM-22493-008 (4.2.1.1-16), Figure 1C.

以上、setmelanotide がインスリン感受性亢進作用を示すことが示唆された。単回投与試験で setmelanotide は、肥満型マウスの肝臓及び末梢の両方のインスリン感受性を亢進させた。一方、setmelanotide は *Mc4r* 欠損マウスのインスリン感受性に対して効果を示さなかった。したがって、setmelanotide のインスリン及びグルコースに対する急性効果は、MC4R に対する作用によるものである可能性が高い。

2.6.2.3　副次的薬理試験

2.6.2.3.1　様々な種類の酵素及び受容体のパネルに対する setmelanotide の in vitro での作用

791318b 試験（4.2.1.2-1）

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。予想通り setmelanotide は MC4 受容体に対して対照リガンドの特異的結合を 97%阻害した。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、setmelanotide は結合を 20%未満阻害し、これは主にアッセイの変動に起因するわずかな結合であることを示している。残る 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 GABA トランスポーター）に対してはそれぞれのリガンドの結合を 20～50%阻害し、オ

ピオイド受容体に対しては 59%阻害した。臨床用量 3 mg 投与時の setmelanotide の C_{max} は約 38 ng/mL、すなわち約 0.034 µmol/L で（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 参照）。したがって、臨床用量投与後の非結合型 setmelanotide の C_{max} は、これら受容体結合アッセイで使用した 1 µmol/L の濃度の約 55 分の 1 である。

2.6.2.3.2 肥満型アカゲザルモデルでの陰茎勃起及び他の一般状態の変化

RM-493-PH-007 試験（4.2.1.1-13）

メラノコルチン経路の活性化は、摂餌以外のいくつかの活動と関連しており、MC4R 経路の活性化によるストレッチ、あくび、筋肉の硬直及び陰茎勃起の増加が報告されている（Greenfield 2009、Argiolas 2000、Van der Ploeg 2002、Wessells 2000）。2.6.2.2.2.5 項及び 2.6.2.4.1.2.6 項に記載したように、肥満型アカゲザルモデルを用いた効力を裏付ける試験及び心血管系に対する安全性薬理試験（RM-493-PH-007 試験［4.2.1.1-13］）では、0.5 mg/kg/日の setmelanotide の 8 週間皮下持続注入投与し、投与前、投与期間中及び投与後の一般状態の変化を観察した。これらの観察では、ストレッチ、あくび、陰茎勃起などの行動の変化は認められなかった。投与期間中の活動量の増加による筋肉の硬直も認められなかった。

摂餌に関する交絡因子となる可能性のある他の副作用には、頭痛、無力症、吐き気、嘔吐及び下痢がある。嘔吐及び下痢に関しては毎日ケージを点検し、いずれも認められなかった。一方、比較対照である MC4R 作動物質 LY2112688 では、2 例の動物で吐き気の徴候である口を大きく開ける行動（ギャッピング）が認められた。

2.6.2.3.3 Setmelanotide による過剰な皮膚色素沈着

RM-493-PH-007 試験（4.2.1.1-13）

表皮メラノサイトの MC1R の活性化はメラニン生成を促進し、メラニン形成を促す。形成されたメラニンはケラチノサイトに移動し、皮膚の色素沈着を亢進する。勃起不全患者を対象とした臨床試験で、MC1R、MC3R 及び MC4R に親和性のある MCR 作動薬である bremelanotide の投与により、皮膚の黒ずみが報告されている（Palatin Technologies 2007）。Setmelanotide は強力な MC4R 作動薬（EC_{50} = 0.79 nmol/L）であるが、20 倍高い濃度では MC1R も活性化する（EC_{50} = 1.7 nmol/L）（2.6.2.2.1 項）。2.6.2.2.2.5 項及び 2.6.2.4.1.2.6 項に記載したように、肥満型アカゲザルモデルの効力を裏付ける試験及び心血管系に対する安全性薬理試験（RM-493-PH-007 試験［4.2.1.1-13］）では、最大 0.5 mg/kg/日の setmelanotide を 8 週間皮下持続注入投与後に、過剰な皮膚の色素沈着が認められた。この試験では、皮膚の黒化及び被毛の色の変化は認められなかった。

一方、カニクイザルを用いた 39 週間毒性試験では、高用量曝露時に顔面に過剰な色素沈着が認められた。この過剰な色素沈着は回復期間終了までに改善し、39 週間の投与後の組織病理学的検査でメラノサイトの分化又は増殖と関連しないと判断された（2.6.6 を参照）（RM-493-TOX-024 試験［4.2.3.2-5］）。[redacted]は、文献のレビュー及び[redacted]

[redacted]に基づき、長期間の MC1R 活性化の利点及びリスクの評価に関する[redacted]を作成している（[redacted]、Böhm 2025）。この評価によると、長期間の MC1R の活性化が予期せぬ健康リスクを誘発しないという考えを裏付ける臨床的証拠は、アジソン病の疫学的研究から得られている。具体的には、ACTH を介した長期間の MC1R の活性化はユーメラニン産生を増加させ、皮膚及び色素性母斑の黒化を誘発するが、色素性母斑の黒化現象は悪性黒色腫のリスク増加には関連しないことが示されている。さらに、MC1R の活性化は紫外線からの保護を促進する皮膚色素沈着及び DNA 修復の促進、異常な細胞増殖の抑制を介して、悪性黒色腫のリスクを軽減させると判断されている。また、長期間の MC1R の活性化で色素性母斑の黒化が認められたが、一般患者に適用できる MC1R 作動薬による健康リスクは現時点では想定されず、MC1R の活性化は悪性黒色腫の予防に寄与すると考えられている。しかし、薬理的手段による MC1R の長期間の活性化に関しては、臨床試験での評価は限定的であることに留意する必要がある。なお、MC1R 作動薬の SCENESSE®（INN：afamelanotide、Clinuvel Pharmaceuticals Ltd）が、希少疾患である赤芽球性プロトポルフィリン症成人患者の光毒性予防を目的としたファーストインクラスの光保護薬として欧州医薬品庁により承認されていることにも注目する必要がある。

2.6.2.4 安全性薬理試験

2.6.2.4.1 Setmelanotide の心血管系安全性パラメーターに対する作用

2.6.2.4.1.1 ヒト胎児腎（HEK）293 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 setmelanotide の in vitro での作用（GLP 試験）

RM-493-TOX-010 試験（4.2.1.3-1）

生理的温度に近い温度（33～35℃）条件で、hERG チャネル電流（急速に活性化する遅延整流性心臓カリウム電流である IKr の代替電流）に対する 0.01 mg/mL 及び 0.3 mg/mL の濃度の setmelanotide の in vitro 作用を GLP 適用下で評価した。

Setmelanotide は、hERG 電流を濃度 0.01 mg/mL（約 10 µmol/L）で 1.6 ± 0.4%、濃度 0.3 mg/mL（約 300 µmol/L）で 9.2 ± 0.4%阻害した（平均値 ± 標準誤差、n = 3）。対照媒体（HEPES［4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸］緩衝生理食塩水）は 0.8 ± 0.8%の阻害を示した。0.3 mg/mL の hERG 阻害は、媒体対照群と比較して統計学的に有意であった（$p < 0.05$、一元配置 ANOVA に続く Dunnett の多重比較検定）。試験はこれら 2 濃度でのみ実施し、0.3 mg/mL での setmelanotide による阻害が 20%未満であったため、試験プロトコルに従って試験を終了した。したがって、setmelanotide の hERG カリウム電流に対する作用の IC_{50} 値は、0.3 mg/mL（約 300 µmol/L）超と推定された。

同様のアッセイ条件で、陽性対照の 60 nmol/L のテルフェナジンは、hERG カリウム電流を 80.3 ± 2.8%阻害した（平均値 ± 標準誤差、n = 2）。この結果により、試験系の hERG 阻害に対する感度が確認された。

臨床用量 3 mg 皮下投与時の setmelanotide の血漿中非結合型のヒト C_{max} 値は約 0.017 µmol/L と推定されている（RM-493-026 試験［5.3.3.1.4］、コホート 3）。これはアッセイで hERG に対して

ほとんど作用しなかった setmelanotide 濃度である 10 µmol/L の約 500 分の 1、非常に少ない作用が確認された濃度である 300 µmol/L の約 17,500 分の 1 である。hERG カリウム電流の阻害に対する setmelanotide の IC_{50} 値が 300 µmol/L 超と推定され、臨床用量投与時の非結合型 setmelanotide の C_{max} 曝露量 0.017 µmol/L と比較して 17,500 倍超の安全域があることから、臨床用量の setmelanotide の hERG チャネル阻害による QT 延長のリスクは低いことが示唆された。

2.6.2.4.1.2 Setmelanotide の in vivo での心血管系に対する作用

Setmelanotide の心血管系に対する安全性薬理試験では、ラット、ミニブタ、アカゲザル及びカニクイザルを用いて用量設定及び投与方法を広範に検討した。さらに、第 1 相ヒト臨床試験で心血管系に対する作用が報告されている MC4R 作動物質 LY2112688（Greenfield 2009）を比較対照として、ラット及びアカゲザルを用いた心血管系に対するプロファイル評価試験も実施した。ラット及びアカゲザル、並びに主要な GLP 試験ではカニクイザルを用いて、最大 25 mg/kg/日の用量の setmelanotide を評価した。これらの試験結果に基づき、setmelanotide のヒトの心血管系に対する安全性薬理試験のリスク評価では、アカゲザル及びカニクイザルのみが有用な動物種であると判断された。

2.6.2.4.1.2.1 Sprague-Dawley ラットの心拍数及び血圧に対する setmelanotide 及び LY2112688 の単回皮下ボーラス投与による作用の評価（非 GLP 試験）

EXP783_788_794/CV02 試験（4.2.1.3-2）

最初に、非 GLP 試験で setmelanotide 単回皮下ボーラス投与の心血管系に対する作用を LY2112688 と比較して評価した。雄性 Sprague-Dawley ラット（n = 7～8/群）に、setmelanotide（0.01、0.03、0.1、0.3 又は 3 mg/kg）、LY2112688（0.1、0.3 又は 3 mg/kg）又は対照媒体（0.9% NaCl）を単回皮下ボーラス投与し、投与前、投与 30、60、90、120、150、180、210 及び 240 分後に血圧及び心拍数を測定した。

両化合物（setmelanotide 及び LY2112688）は 0.1～3 mg/kg で心拍数の用量依存的な有意な上昇を示し、高用量投与群では低用量投与群より早期に心拍数は最大値に達し、その後しばらく一定の高値を保つか、徐々にベースライン値に戻った。Setmelanotide は 0.01 及び 0.03 mg/kg の低用量（それぞれ 9 nmol/kg 及び 27 nmol/kg）でも心拍数に対して同様の作用を示し、心拍数の最大上昇（E_{max}）値はそれぞれ+65 及び+62 拍/分（bpm）であった。媒体対照群と比較した心拍数の E_{max} 値は setmelanotide 及び LY2112688 の両方で最高用量（3 mg/kg）投与後 90 分に認められ、E_{max} 値はそれぞれ setmelanotide で+136 bpm、LY2112688 で+125 bpm であった。Setmelanotide 及び LY2112688 はまた、平均血圧（MBP）の有意な上昇を誘発し、上昇した MBP はその後段階的にベースライン値に戻った。媒体対照群と比較した MBP の E_{max} 値は、setmelanotide（0.3 mg/kg）で投与後 90 分に+16 mmHg、LY2112688（3 mg/kg）で投与後 60 分に+14 mmHg であった。化合物及び用量別の心拍数及び MBP の E_{max} 値及び最大上昇値到達時間（T_{max}）を表 2.6.2-6 にまとめた。

表 2.6.2-6 Sprague-Dawley ラットを用いた setmelanotide 及び LY2112688 の単回皮下ボーラス投与による心拍数及び平均血圧（MBP）の最大上昇（E_{max}）値及び最大上昇値到達時間（T_{max}）

Dose (mg/kg)	Heart Rate			Mean Blood Pressure		
	E_{max} (bpm)	Significance[1]	T_{max} (min)	E_{max} (mmHg)	Significance[1]	T_{max} (min)
Setmelanotide						
0.01	+65	< 0.05	210	+1	NS	180
0.03	+62	NS	150	+6	< 0.05	180
0.1[2]	+85/ +86	< 0.01/ < 0.01	120/ 150	+11/ +11	< 0.05/ NS	120/ 150
0.3	+128	< 0.001	90	+16	< 0.05	90
3	+136	< 0.001	90	+15	< 0.05	90
LY2112688						
0.1	+83	< 0.05	120	+6	NS	240
0.3	+118	< 0.001	120	+10	< 0.05	60
3	+125	< 0.001	90	+14	< 0.01	60

[1]Significance relative to vehicle control (0.9% NaCl).
[2]First and second experiment.
Definitions: NS = Not significant; E_{max} = maximum effect; T_{max} = time of maximum effect.
Source: Study EXP783_788_794/CV02 (4.2.1.3-2), p13.

2.6.2.4.1.2.2 テレメトリー装置装着ラットの心拍数及び血圧に対する LY2112688 及び setmelanotide の 5 日間皮下ボーラス投与による作用の評価（非 GLP 試験）

EXP863_864_CVECG01 試験（4.2.1.3-3）

Sprague-Dawley ラットに単回皮下ボーラス投与で心拍数及び血圧に対して認められた作用は、Sprague-Dawley ラットに 600 nmol/kg の setmelanotide（0.67 mg/kg）又は LY2112688（0.71 mg/kg）を 5 日間反復皮下ボーラス投与した非 GLP 試験でも認められた。

覚醒雄性 Sprague-Dawley ラット（n = 5/群）に自由に動きながら長期間心血管系パラメーターを測定できる無線テレメトリー装置を装着した。心拍数及び MBP は投与前、投与期間中及び投与終了後に測定した。被験物質の薬理効果は、試験期間中 1 日当たりの摂餌量及び体重増加を毎日測定して評価した。

Setmelanotide の投与 1 日目では、心拍数の最大平均上昇は投与後 2.5 時間で+86 bpm で、投与後 17.5 時間までにベースライン値（投与前値）に戻った。同様に、LY2112688 の投与 1 日目では、心拍数の最大平均上昇は投与後 2 時間で+105 bpm で、投与後 19.5 時間までにベースライン値に戻った。以後の投与日では各被験物質の投与後に認められる頻脈の程度は減弱し、setmelanotide の投与 5 日目では、心拍数の最大平均上昇は投与後 3 時間で+47 bpm、LY2112688

では、心拍数の最大平均上昇は投与後 2.5 時間で+30 bpm であった。Setmelanotide 及び LY2112688 の投与により、MBP の一時的な上昇も認められ、投与後 3 時間以内に最大上昇が認められ投与後 6 時間までにベースライン値に戻った。化合物及び投与日ごとの心拍数及び MBP の変化を表 2.6.2-7 にまとめた。

表 2.6.2-7 Sprague-Dawley ラットを用いた setmelanotide 又は LY2112688 の 5 日間反復ボーラス投与による心拍数及び平均血圧（MBP）の変化

Day	HR (bpm)				Mean Blood Pressure (mmHg)			
	E_{max}	Significance[1]	Daily Mean	Significance[1]	E_{max}	Significance[1]	Daily Mean	Significance[1]
Setmelanotide								
1	+86	< 0.01	+21	< 0.01	+13	< 0.05	+1	NS
2	+67	NS	+13	< 0.001	+12	< 0.01	+1	NS
3	+63	NS	+10	< 0.5	+10	NS	+2	NS
4	+44	NS	+7	< 0.001	+9	NS	+2	NS
5	+47	< 0.01	+5	< 0.5	+11	< 0.05	+2	NS
LY2112688								
1	+105	< 0.001	+28	< 0.001	+18	< 0.01	+3	NS
2	+46	< 0.01	+19	< 0.001	+7	NS	+4	NS
3	+43	< 0.05	+16	< 0.001	+8	NS	+4	NS
4	+38	< 0.05	+3	NS	+9	< 0.01	-0.2	NS
5	+30	NS	+8	< 0.5	+7	NS	+0.2	NS

[1]Significance relative to vehicle control (NaCl 0.9%), as determined by Student's test (two-tailed).
Source: Study EXP863_864_CVEG001(4.2.1.3-3), page-8.

Setmelanotide（0.67 mg/kg）又は LY2112688（0.71 mg/kg）の 5 日間皮下ボーラス投与により、投与期間中の摂餌量は抑制され、投与終了後にはベースライン値に戻った。同時に、投与期間中に体重の減少が認められた。

2.6.2.4.1.2.3 覚醒ラットの心血管系に対する setmelanotide の皮下ボーラス投与による作用と交感神経緊張の関連性（非 GLP 試験）

EXP837/CV02 試験（4.2.1.3-4）

Kuo らは、MC4R 作動物質によって誘発される心拍数及び MBP の上昇が α1 遮断薬及び β 遮断薬の併用投与によって抑制されることを示し（Kuo 2004）、MC4R 作動物質の心血管系に対する作用が交感神経緊張の増加に関連している可能性を示唆した。そこで、ラットで setmelanotide によって誘発される心拍数及び MBP の上昇が交感神経刺激に関連しているか、雄性 Sprague-Dawley ラットを用いた非 GLP 試験で検討した。

動物（n = 7/群）に、0.3 mg/kg（269 nmol/kg）の setmelanotide を単独で皮下ボーラス投与又は

α1 遮断薬テラゾシン及びβ遮断薬プロプラノロールをそれぞれ 0.5 mg/kg/時間の用量で静脈内持続注入併用投与した。Sprague-Dawley ラットの大腿動脈（心拍数及び MBP 測定用）及び静脈（静脈内注入用）にカテーテルを挿入し、測定の少なくとも 18 時間前にカテーテルを頸部基部に露出させた。

0.3 mg/kg（269 nmol/kg）の setmelanotide を皮下ボーラス投与すると、心拍数が有意に +114 bpm 上昇した。テラゾシン及びプロプラノロールを併用投与すると、心拍数の上昇は +45 bpm と大幅に抑制され、テラゾシン及びプロプラノロールの単独投与で認められた効果（+17 bpm）と同程度であった。

Setmelanotide 単独投与後に認められた MBP の上昇は中程度（+8 mmHg）であった。テラゾシン及びプロプラノロールの単独投与では、MBP は 15 mmHg 減少した。Setmelanotide のテラゾシン及びプロプラノロールとの併用投与では、テラゾシン及びプロプラノロール単独投与と比較して MBP の上昇は認められなかった（-15 mmHg）。心拍数及び MBP の E_{max} 及び T_{max} を化合物及び投与レジメンごとに表 2.6.2-8 にまとめた。

表 2.6.2-8　Sprague-Dawley ラットを用いた setmelanotide の単独又はテラゾシン及びプロプラノロールとの併用単回ボーラス投与による心拍数及び平均血圧（MBP）の E_{max} 及び T_{max}

Treatment Group	Heart Rate (bpm)			Mean Blood Pressure (mmHg)		
	E_{max} (bpm)	Significance[1]	T_{max} (min)	E_{max} (mmHg)	Significance[1]	T_{max} (min)
Terazosin/propranolol alone	+17	NA	150	-15	NA	30
Setmelanotide alone	+114	<0.001	60	+8	<0.001	60
Terazosin/propranolol + Setmelanotide	+45	NS	150	-15	NS	30

[1]Significance relative to Terazosin/propranolol alone, as determined by Student's test (two-tailed).
Definitions: NA = not applicable; NS = not significant; E_{max} = maximum effect; T_{max} = time of maximum effect.
Source: Study EXP837/CV02 (4.2.1.3-4), page-4.

以上、テラゾシン及びプロプラノロールをそれぞれ 0.5 mg/kg/時間で併用投与してα受容体及びβ受容体を薬理的に阻害すると、ラットで 0.3 mg/kg の setmelanotide の皮下ボーラス投与で認められた心血管系に対する作用が阻害され、ラットでは setmelanotide の心血管系に対する作用が交感神経緊張の増加に関連していることが示唆された。

2.6.2.4.1.2.4 テレメトリー装置装着ラットの心拍数及び血圧に対する setmelanotide の 14 日間皮下持続注入投与の作用の評価（非 GLP 試験）

EXP853_CVECG01 試験（4.2.1.3-5）

ラットで認められた setmelanotide の心血管系に対する作用が、高血漿中薬物濃度に関連している可能性があるため、一定期間にわたって安定した低血漿中薬物濃度を維持した条件で setmelanotide の投与による心血管系に対する作用を非 GLP 試験で評価した。自由に動きながら

心血管系パラメーターを長期間測定できる無線テレメトリー装置を装着した Sprague-Dawley ラット（n = 6）に、皮下持続注入用の浸透圧ポンプを用いて 600 nmol/kg/日（0.67 mg/kg/日）の setmelanotide を 14 日間投与した。投与期間中、72～108 ng/mL の安定した血漿中 setmelanotide 濃度が維持された。心拍数及び MBP は、投与前、投与中及び投与後に測定した。交感神経緊張が活性化されることを間接的に示す指標として、体温も測定した。Setmelanotide の薬理効果は、試験期間中 1 日当たりの摂餌量及び体重増加を毎日測定して評価した。

投与期間全体を通して、心拍数は setmelanotide 投与群が媒体対照群よりも高かった。心拍数の E_{max} は投与 1 日目の+36 bpm で、これは setmelanotide の皮下ボーラス投与で認められた E_{max} よりも低かったが、媒体対照群（+7 bpm）よりも有意に高かった。同様に、血圧も 14 日間の投与期間を通して setmelanotide 投与群が媒体対照群よりも高かった。したがって、setmelanotide は低血漿中濃度でも多少軽減されてはいるが心血管系に対する作用を示すことが示唆された。さらに、投与 1～16 日目に+0.1～+0.3 ℃の軽度だが一貫した体温の上昇が認められ、交感神経緊張が活性化されていることも示唆された。

600 nmol/kg/日（0.67 mg/kg/日）の setmelanotide を 14 日間持続注入投与により、通常餌で飼育された痩せ型ラットで予想される薬理効果が誘導された。注入開始後最初の 4 日間摂餌量は抑制され（投与 1 日目に最大 57%減少）、その後ベースライン値に戻った。同時に、投与 1 日目には体重が 4.5%減少した。その後投与 2 日目～試験終了日の間、setmelanotide 投与群と媒体対照群の体重増加は同程度であった。

2.6.2.4.1.2.5 ナイーブ覚醒雌雄カニクイザルの心血管系に対する setmelanotide の作用のテレメトリー評価（GLP 試験）

RM-493-PH-003 試験（4.2.1.3-6）

Setmelanotide の 3 日間皮下持続注入投与によるカニクイザルの血行動態及び心電図パラメーターに対する安全性薬理評価を、テレメトリー装置を用いて GLP 適用下で検討した。使用した全ての動物は過去に特定の薬物及び処置を受けたことがないナイーブ動物で、テレメトリー装置を既に装着されているか又は以前に装着されたことがあった動物である。試験に登録する前に、動物の健康状態を検査した。各動物の体重は、手術前（該当する場合）、無作為化時、各用量投与の前日及び投与が行われない期間には週 1 回測定した。4 × 4 ラテン方格クロスオーバー試験を実施し、雄 4 匹及び雌 4 匹のカニクイザルそれぞれに、2.5、12、25 mg/kg/日の setmelanotide 又は媒体（注射用 0.9% NaCl）を 3 日間投与した。各用量投与間には最低 7 日間の休薬期間を設けた。

パラメーターは、動脈血圧（収縮期血圧、拡張期血圧、MBP 及び脈圧）、心拍数及び定量的心電図間隔（PR、QRS、QT 及び QTc）を評価した。心電図波形の定性的評価は、認定を受けた獣医心臓専門医によって行われ、投与開始前 2 回（最低 30 分間隔）、各用量投与前 2 回（最低 30 分間隔）、投与 1 日目の注入投与開始後 3 時間及び投与 2 及び 3 日目の同時刻、注入投与終了直後及び各用量の 72 時間注入投与終了後 3、6、8、12、18、24 時間に実施した。投与開始時、動物の年齢は約 2～5 歳で、体重は雄で 3.7～4.9 kg、雌で 3.0～3.5 kg であった。

試験期間中に死亡例は認められなかった。また、投与に関連する臨床徴候は認められなかっ

た。

最大 25 mg/kg/日の Setmelanotide の投与により、収縮期血圧、心拍数及び心電図間隔・波形に生物学的に意義のある変化は認められなかった。この用量は、前述の肥満型アカゲザルを用いた 8 週間の効力を裏付ける薬理試験で顕著な体重減少を示した 0.5 mg/kg/日の用量の 50 倍である。

以上、アカゲザルで顕著な体重減少作用を示した用量の 50 倍に相当する最大 25 mg/kg/日の setmelanotide を 3 日間皮下持続注入投与により、血行動態又は心電図パラメーターに対して生物学的に意義のある作用は認められなかった。

2.6.2.4.1.2.6 テレメトリー装置装着食餌抵抗性痩せ型アカゲザル及び食餌誘導性肥満（DIO）型アカゲザルの心血管系に対する setmelanotide の作用の評価（非 GLP 試験）

RM-493-PH-007 試験（4.2.1.1-13）／Kievit 2013

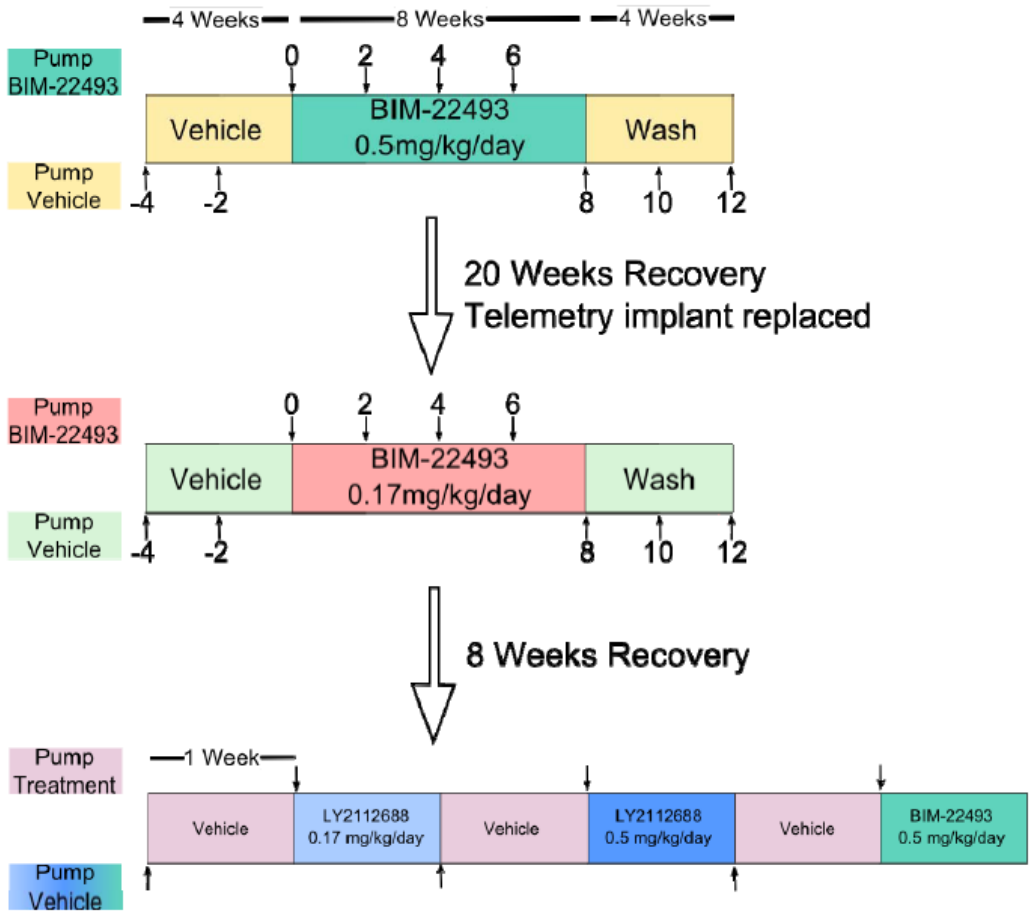
アカゲザルを用いて、setmelanotide（0.5 mg/kg/日）の 8 週間の皮下持続注入投与試験及びその後同一アカゲザル群を用いた 1 週間のクロスオーバー試験で心血管系機能に対する作用を非 GLP 試験で評価した。2 つの投与レジメン間にウォッシュアウト期間を設けた。図 2.6.2-19 に示すように、比較化合物 LY2112688（0.17 及び 0.5 mg/kg/日）を 2 つの 1 週間の用量漸増試験で同様に皮下持続注入投与し、その後 1 週間 setmelanotide（0.5 mg/kg/日）を皮下持続注入投与するクロスオーバー試験を行った。なお、LY2112688 は、ヒトの単回投与試験で心拍数及び血圧の上昇を誘発することが報告されている（Greenfield 2009）。したがって、この試験デザインは、LY2112688 と比較して setmelanotide による心血管系に対する作用が認められないことを立証するのに有用と考えられた。約 1.5 年間高脂肪飼料で飼育された雄性肥満型及び痩せ型（食餌抵抗性）サル（n = 8）を使用した。

皮下埋め込みミニポンプを用いた 0.5 mg/kg/日の setmelanotide の 8 週間皮下持続注入投与では、心拍数の上昇は認められなかった。実際には平均心拍数に有意な低下（p = 0.008、ANOVA［繰り返し測定］）が認められ、この低下は主に肥満型動物で顕著であった。投与後 4 週間、肥満型動物の心拍数は有意に低下した状態が維持された。心拍数の低下と並行して、肥満型動物及び痩せ型動物の両方で拡張期血圧の有意な低下も認められたが、収縮期血圧に対する作用は認められなかった（図 2.6.2-20）。一方、LY2112688 を持続注入投与した動物群では、血圧の上昇及び心拍数の有意な上昇が認められた。0.17 mg/kg/日の LY2112688 投与群では、投与 1 日目及び 2 日目にそれぞれ平均 15.5 bpm 及び 16.5 bpm の有意な心拍数の上昇が認められ、0.5 mg/kg/日の LY2112688 投与群では投与 2 日目に 14.4 bpm の心拍数の上昇が認められた。0.5 mg/kg/日の用量では、摂餌量の抑制が認められたが、これは同等の用量の setmelanotide で認められた抑制より有意に少なかった。一方、同じ用量の setmelanotide にクロスオーバー後では、心拍数（図 2.6.2-21）及び血圧に有意な上昇は認められなかった。この比較試験は上述のカニクイザルを用いた GLP 適用下の心血管系に対する評価同様、setmelanotide はヒト以外の霊長類モデルで心血管系に対する作用を誘発しないことを示唆し、サルを用いたモデルはラットモデルと比較してヒトの心血管系に対する安全性予測により適している可能性が示唆された。

0.5 mg/kg/日の setmelanotide の単回皮下ボーラス投与による作用も検討した。投与後 6～7 時間持続する代償的な血圧低下を伴う心拍数の軽度な上昇が認められた。その後アカゲザルに 1 日 1 回皮下ボーラス投与を行うと心拍数の上昇応答は投与 2 日目及び 3 日目と徐々に低下し、投与 4 日目にはほぼ消失したが、関連する摂餌量の抑制は setmelanotide の 4 日間の投与期間中持続した。なお、setmelanotide のボーラス投与では皮下持続注入投与よりも高い C_{max} を示すことに留意する必要がある（C_{max} はそれぞれ 951 ng/mL 及び約 150 ng/mL）（2.6.4、BIM-22493-018 試験［4.2.2.7-2］を参照）。

Setmelanotide 及び LY2112688 の心血管系に対する作用プロファイルの違いを考慮して、本試験では、6 匹の動物に埋め込み型浸透圧ミニポンプを使用して皮下持続注入投与（0.5 mg/kg/日、3 日間）後、setmelanotide 及び LY2112688 の血液及び脳脊髄液濃度を評価した（2.6.4、RM-493-PK-002 試験［4.2.2.7-3］）。Setmelanotide の脳脊髄液濃度は低く、測定可能だったのは 6 匹のうち 4 匹のみであった（定量下限値、0.397 ng/mL）。血漿/脳脊髄液濃度比の計算値は 198～2,049 の範囲であった。一方、LY2112688 の脳脊髄液濃度は比較的高く、0.742～3.31 ng/mL の範囲で、6 匹全ての動物で測定可能であった。LY2112688 の血漿/脳脊髄液濃度比は 65～371 の範囲であった。

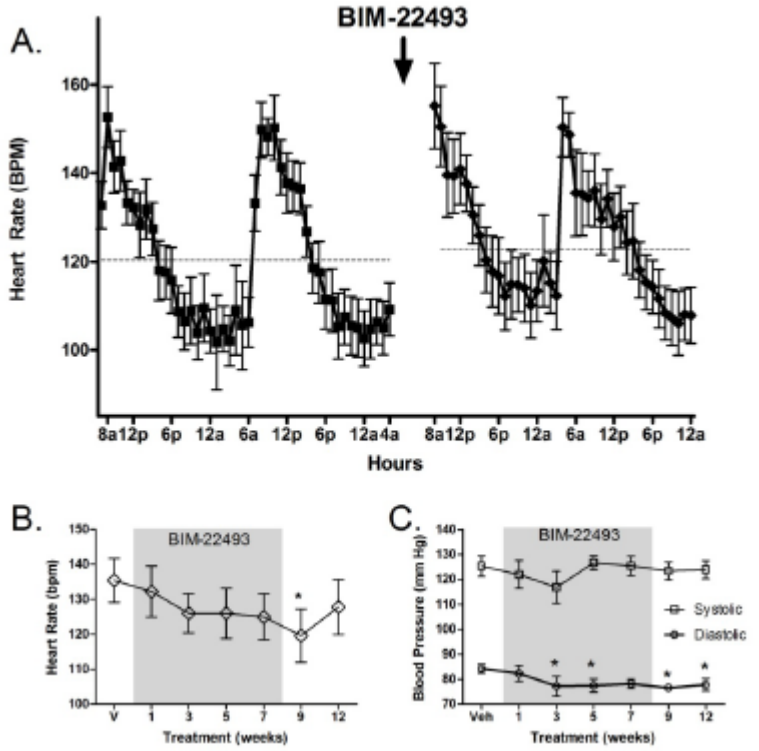
図 2.6.2-19　アカゲザル（n = 8）同一群の投与時間枠の概要



Note: BIM-22493 = Setmelanotide.

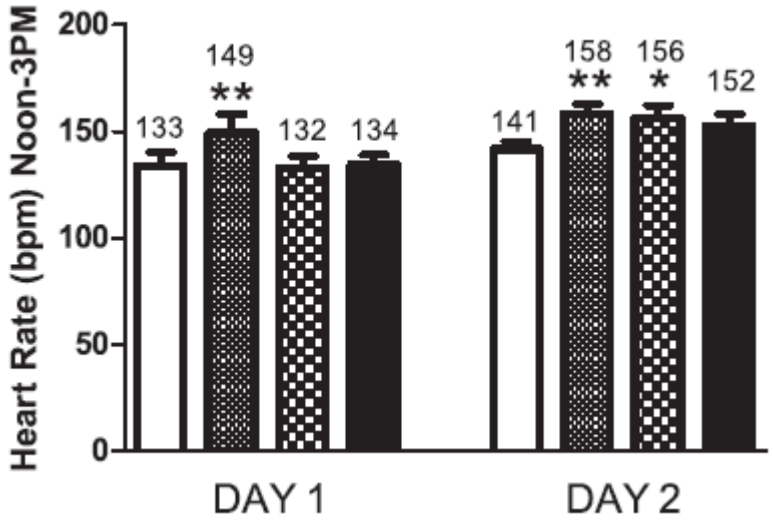
Arrows indicate two-week or one-week subcutaneous minipumps implantations, exchanges, or removals and the agent administered.
Source: Study RM-493-PH-007 (4.2.1.1-13); Kievit 2013, Adapted from supplementary Figure 1.

図 2.6.2-20　食餌誘導性肥満（DIO）型アカゲザルを用いた setmelanotide（0.5 mg/kg/日）の皮下投与による心拍数（パネル A 及び B）及び収縮期・拡張期血圧（パネル C）の変化



Note: BIM-22493 = Setmelanotide.
All statistics were performed by repeated measures ANOVA where * are individually significant by Dunnett's posthoc test from vehicle (B and C).
Definitions: ANOVA = analysis of variance; BPM(or bpm) = beats per minute.
Source: Study RM-493-PH-007 (4.2.1.1-13), Primate manuscript Figure 5.

図 2.6.2-21　食餌誘導性肥満（DIO）型アカゲザルを用いた setmelanotide（0.5 mg/kg/日）及び LY2112688（0.17 及び 0.5 mg/kg/日）の皮下投与による心拍数の変化



Treatment group (from left to right) = vehicle (0.9% NaCl, 2% heat-inactivated rhesus macaque monkey serum and 5% N,N-dimethylacetamide), LY2112688 0.17 mg/kg/day, LY2112688 0.5 mg/kg/day, Setmelanotide 0.5 mg/kg/day (same as Figure 2.6.2-13).
LY2112688 increased heart rate for 2 days after implantation of the minipump, whereas setmelanotide did not alter heart rate ($p < 0.001$). All statistics were performed by repeated measures ANOVA. *Individually significant values by Bonferroni post hoc test from vehicle period. *$p < 0.05$, **$p < 0.01$.
Definitions: ANOVA = analysis of variance; bpm = beats per minute.
Source: Study RM-493-PH-007 (4.2.1.1-13); Kievit 2013, Figure 5B.

2.6.2.4.1.2.7 テレメトリー装置装着覚醒雄性ゲッティンゲンミニブタの心血管系に対する安全性薬理評価（非 GLP 試験）

RM-493-PH-005 試験（4.2.1.3-7）

覚醒雄性ゲッティンゲンミニブタ（n = 4/群）を用いて、setmelanotide（0.5 mg/kg）の単回皮下ボーラス投与又は皮下持続注入投与の心血管系に対する作用を非 GLP 探索試験で評価した。

Setmelanotide 及び対照媒体（0.9% NaCl、2%熱不活性化ミニブタ自己血清、5% N,N-ジメチルアセトアミド）をクロスオーバー試験デザインで単回皮下ボーラス投与又は 24 時間皮下持続注入投与のいずれかで投与した。動物は、各投与間に少なくとも 48 時間のウォッシュアウト期間を設けた。これは、ラット（半減期 90 分）及びサル（半減期 6 時間）の半減期データに基づき、以前の投与の影響を十分に制限できると考えられたためである。

死亡、一般状態の変化、体重、血行動態・心電図による心血管機能（無線テレメトリー記録）及び TK を評価した。

Setmelanotide 投与による体重及び臨床徴候に対する投与に関連した作用は認められなかった。しかし、setmelanotide の持続注入投与開始後、1 例の動物で食欲抑制及び活動量の減少が認められた。

心血管に対する作用の評価では、setmelanotide の皮下ボーラス投与及び皮下持続注入投与は類似した作用を示し、心拍数の軽度の上昇（約 23.4%）を示した。一方、動脈血圧に対する作用は変動が激しく一貫性が示されなかった。また、皮下持続注入投与では、ボーラス投与よりも作

用の発現が遅く、持続時間が長かった。PK 解析では、皮下ボーラス投与は同等用量の 24 時間皮下持続注入投与より最大曝露量（C_{max}）は約 2 倍高く（それぞれ 231 ± 110 ng/mL 及び 127 ± 15.1 ng/mL）、24 時間皮下持続注入投与では総曝露量（AUC）は皮下ボーラス投与量の 2.77 倍高値を示した。動脈血圧に対する作用は軽度で一貫性がなく、有害とはみなされなかった。全ての心電図パラメーターは投与後の観察期間全体にわたって安定した値を示し、いずれの投与方法（ボーラス又は持続注入）でも投与前の平均値と同様であった。

2.6.2.4.2 Setmelanotide の心血管以外の安全性パラメーターに対する作用

2.6.2.4.2.1 Sprague-Dawley ラットの中枢神経系に対する setmelanotide の作用の安全性薬理評価（GLP 試験）

RM-493-PH-001 試験（4.2.1.3-8）

雄性 Sprague-Dawley ラットに setmelanotide を単回 24 時間皮下持続注入投与し、中枢神経系に対する安全性薬理評価を GLP 適用下で検討した。

試験デザイン：

Group / Identification	**Dose Level (mg/kg)[1]**	**Dose Concentration (mg/mL)**	**Dose Rate (mL/kg/hr)**	**Number of Males**
1 / Control	0	0	0.5	8
2 / Setmelanotide	10	0.833	0.5	8
3 / Setmelanotide	60	5	0.5	8
4 / Setmelanotide	120	10	0.5	8

[1] Doses and concentrations are expressed as peptide content and corrected for purity.
Note: Control = 0.9% NaCl.

全ての動物は、死亡、健康状態の悪化の徴候及び投与に対する応答を動物搬入日及び剖検日には 1 日 1 回、それ以外は 1 日 2 回評価した。各動物の体重は、無作為化時及び投与前日に測定した。FOB パラメーター及び自発運動量（8 の字迷路を使用）評価は、投与前、持続注入投与終了後約 5 分、3、8 及び 24 時間に実施した。試験終了後全ての動物は安楽死させ、それ以上の検査を行わずに廃棄した。投与開始時、動物は約 10 週齢で、体重は 301～371 g であった。

全ての投与処方は仕様範囲内であり、対照媒体処方には setmelanotide は含まれていなかった。

Setmelanotide の投与に関連した死亡は認められなかった。

60 mg/kg 及び 120 mg/kg 投与群では、setmelanotide を投与した動物に注入投与終了後 24 時間まで耳介及び足に発赤が認められた。

10、60 又は 120 mg/kg の用量の setmelanotide の投与により、FOB の定性的又は定量的パラメーターのいずれにも setmelanotide の投与に関連した作用は認められなかった。雄性ラットの自発運動量に対して 24 時間皮下持続注入投与した setmelanotide の作用は認められなかった。

以上、120 mg/kg までの setmelanotide の単回 24 時間皮下持続注入投与により、雄性ラットの

FOB パラメーターの質的又は量的変化及び自発運動量に対する作用は認められなかった。臨床徴候に対する無影響量は 10 mg/kg と判断された。

2.6.2.4.2.2 Sprague-Dawley ラットの呼吸系に対する setmelanotide の作用の安全性薬理評価（GLP 試験）

RM-493-PH-002 試験（4.2.1.3-9）

雄性 Sprague-Dawley ラットに setmelanotide を単回 24 時間皮下持続注入投与し、呼吸系に対する安全性薬理評価を GLP 適用下で検討した。

試験デザイン：

Group / Identification	**Dose Level (mg/kg)[1]**	**Dose Concentration (mg/mL)**	**Dose Rate (mL/kg/hr)**	**Number of Males**
1 / Control	0	0	0.5	6
2 / Setmelanotide	10	0.833	0.5	6
3 / Setmelanotide	60	5	0.5	6
4 / Setmelanotide	120	10	0.5	6

[1] Doses and concentrations are expressed as peptide content and corrected for purity.
Note: Control = 0.9% NaCl.

全ての動物は、死亡、健康状態の悪化の徴候及び投与に対する応答を動物搬入日及び剖検日には 1 日 1 回、それ以外は 1 日 2 回評価した。各動物の体重は、無作為化時及び投与前日に測定した。動物はヘッドアウトプレチスモグラフィーチャンバーに入れ、換気パラメーター（一回換気量、呼吸数及び導出分時換気量）を、投与前に約 30 分間、注入投与終了直後（5 分以内）及び注入投与終了後 3、8 及び 24 時間後に 30 分間測定した。試験終了後全ての動物は安楽死させ、その後の検査は行わず廃棄した。投与開始時、動物は約 10 週齢で体重は 284～345 g であった。

全ての投与処方は、濃度に関する許容基準を満たしていた。

この試験では、全ての動物に setmelanotide の投与に関連した死亡及び臨床徴候は認められなかった。10、60 及び 120 mg/kg の用量で setmelanotide の単回 24 時間皮下持続注入投与により、呼吸数、一回換気量及び導出分時換気量に対して setmelanotide の投与に関連した作用は認められなかった。

以上、10、60 及び 120 mg/kg の用量で setmelanotide の単回 24 時間皮下持続注入投与により、雄性 Sprague-Dawley ラットの呼吸系に対して setmelanotide の投与に関連した作用は認められなかった。

2.6.2.4.2.3 通常餌で飼育された痩せ型及び食餌誘導性肥満（DIO）型 C57BL/6J マウスの肝酵素に対する setmelanotide の用量漸増皮下持続注入投与の評価（非 GLP 試験）

BIM-22493-015 試験（4.2.1.3-10）

Setmelanotide 投与による肝毒性の可能性を非 GLP 試験で評価した。痩せ型及び DIO 型雄性マウス（n =7～ 8/群）に、setmelanotide（150、450 又は 1,350 nmol/kg/日［それぞれ 0.168、0.503 又は 1.51 mg/kg/日］）又は対照媒体を 14 日間皮下持続注入投与した。その後、一晩絶食させ、投与 15 日目に血液生化学検査用の血液試料を採取した。組織病理学的検査用の組織試料は採取しなかった。

痩せ型マウス及び肥満型マウスの肝機能検査結果を投与群別に表 2.6.2-9 にまとめた。

表 2.6.2-9 通常餌で飼育された痩せ型及び食餌誘導性肥満（DIO）型マウスの肝機能に対する setmelanotide の 14 日間皮下持続注入投与の評価（平均値 ± 標準誤差）

Parameter / Statistic	Animals / Dose							
	Lean Mice				Obese Mice			
	Vehicle Control	Setmelanotide (mg/kg)			Vehicle Control	Setmelanotide (mg/kg)		
		0.168	0.503	1.51		0.168	0.503	1.51
AST								
N	7	7	8	8	7	7	7	8
Mean (±SEM)	50 (4)	51 (3)	71 (11)	141 (23)	192 (29)	153 (18)	139 (8)	164 (16)
P-value[1]	-	0.9999	0.5815	0.0002	-	0.2845	0.2845	0.2845
ALT								
N	7	7	8	8	7	7	7	8
Mean (±SEM)	40 (3)	44 (4)	54 (8)	161 (45)	113 (7)	75 (21)	71 (12)	93 (17)
P-value[1]	-	0.9989	0.9509	0.0048	-	0.2312	0.2312	0.2312
ALP								
N	7	7	8	8	7	7	7	8
Mean (±SEM)	52 (3)	56 (4)	54 (4)	56 (3)	55 (3)	49 (5)	49 (5)	52 (8)
P-value[2]	-	0.8100	0.8100	0.8100	-	0.8630	0.8630	0.8630
GGT								
N	7	7	8	8	7	7	7	8
Mean (±SEM)	1 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (1)	0 (0)	2 (1)
P-value[2]	-	0.8297	0.8297	0.8297	-	0.2188	0.2188	0.2188
Total bilirubin								
N	7	7	8	8	7	6	7	8

Parameter / Statistic	Animals / Dose							
	Lean Mice				Obese Mice			
	Vehicle Control	Setmelanotide (mg/kg)			Vehicle Control	Setmelanotide (mg/kg)		
		0.168	0.503	1.51		0.168	0.503	1.51
Mean (±SEM)	0.3 (0)	0.3 (0.0)	0.5 (0.1)	0.4 (0.1)	0.3 (0.1)	0.2 (0.0)	0.4 (0.1)	0.3 (0.1)
P-value[2]	-	0.1317	0.1317	0.1317	-	0.4829	0.4289	0.4289
Direct bilirubin								
N	7	7	8	5	7	5	6	6
Mean (±SEM)	0.204 (0.034)	0.263 (0.036)	0.570 (0.151)	0.384 (0.188)	0.389 (0.119)	0.166 (0.037)	0.462 (0.112)	0.434 (0.249)
P-value[2]	-	0.1193	0.1193	0.1193	-	0.5816	0.5816	0.5816

[1] p-Value determined by Dunnett's test (two-tailed).
[2] p-Value determined by one-way ANOVA.
Definitions: AST = aspartate transaminase; ALP = Alkaline phosphatase; ALT = alanine transaminase; GGT = gamma glutamyl transferase; SEM = Standard error of the mean.
Source: Study BIM-22493-015 (4.2.1.3-10).

最高用量の setmelanotide（1,350 nmol［1.51 mg］/kg/日）を投与した痩せ型マウスでは、媒体対照群と比較してアラニントランスアミナーゼ（ALT）が+308%（ALT 値はそれぞれ 161 U/L 及び 40 U/L、p = 0.0048）及びアスパラギン酸トランスアミナーゼ（AST）が 181%（AST 値はそれぞれ 141 U/L 及び 50 U/L、p = 0.0002）と有意に増加した。本試験では、全ての用量で肥満型マウスに肝機能検査値の有意な増加は認められず、ラットを用いた 26 週間及びサルを用いた 39 週間の反復投与毒性試験を含む全ての反復投与毒性試験でも肝毒性は認められなかった（詳細は 2.6.6 を参照）。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用

2.6.2.5.1 Setmelanotide 及び GLP-1R 作動薬の併用投与

Clemmensen 2015

DIO 型マウスに setmelanotide 及び GLP-1R 作動薬の反復併用投与を行い、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。結果を同様の投与プロトコルで setmelanotide 及び GLP-1R 作動薬をそれぞれ単独投与した場合の効力と比較した。試験では長時間作用型 GLP-1R 作動薬であるリラグルチド（Victoza®、Novo Nordisk A/S の有効成分）（本邦ではビクトーザ®）を使用した。

リラグルチドを含む GLP-1R 作動薬は 2 型糖尿病の治療で推奨される標準的薬物療法であり、動物モデルで体重減少作用も示している。しかし、ヒトでの食欲抑制の効力は限定的で、一部の患者では用量制限性の胃腸障害を生じることがある。一方、本モジュールで前述したように、マウス、ラット及びアカゲザルに対する setmelanotide の投与は、摂餌量及び体重の抑制、脂肪量の減少、エネルギー消費量の増加、インスリン感受性の改善及びグルコース恒常性の維持をもたらす。一つは脳の MC4R を標的とし、もう一つは主に末梢の GLP-1R を標的とする 2 剤を併用投与することにより、対応する単剤療法より優れた代謝改善効果が得られることが期

待された。

雄性 DIO 型マウスに、setmelanotide（3.6 µmol［4 mg］/kg/日）、リラグルチド（10 nmol［0.038 mg］/kg/日）又はこれらの併用（setmelanotide［3.6 µmol/kg/日］＋リラグルチド［10 nmol/kg/日］）を 1 日 1 回 5 日間、皮下ボーラス投与した。併用投与での各用量は、2 剤のこれまでの最適治療量に基づいて選択した。同様の用量を用いて 22 日間の反復投与試験を行い、両剤併用による長期間の効果も評価した。

統計学的有意差は、一元配置 ANOVA 又は二元配置 ANOVA を用い、必要に応じて Bonferroni の事後検定又は対応のない両側性 Student の t 検定を実施した。対象となるデータは正規分布に従うものと仮定した。結果は平均値 ± 標準誤差で示し、$P < 0.05$ を有意とした。

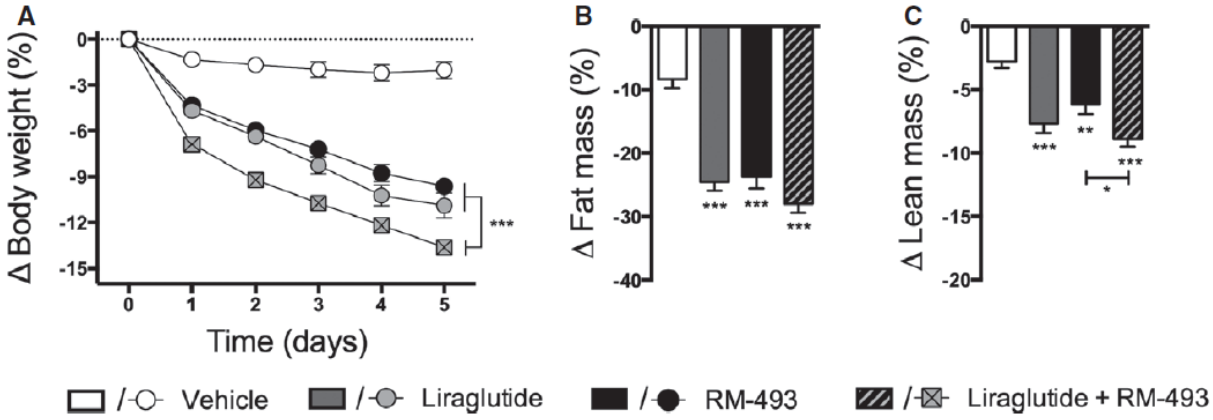
Setmelanotide 及びリラグルチドの併用投与による体重減少作用の亢進

Setmelanotide 又はリラグルチドのいずれかを 5 日間投与すると、媒体対照群と比較して有意な体重減少が認められ、両剤それぞれの単独投与により類似した体重減少が認められた（図 2.6.2-22A）。一方、両剤の併用投与ではいずれの単剤投与と比較して有意な体重減少作用が認められた（$p < 0.001$）。関連する体組成の変化（除脂肪体重及び脂肪量の減少）も認められた（図 2.6.2-22B 及び C）。

いずれの単剤投与でも媒体対照群と比較して摂取カロリーで示した累積摂餌量の減少が認められたが、併用投与では setmelanotide（$p < 0.01$）及びリラグルチド（$p < 0.05$）単独投与と比較して有意な摂餌量の抑制が認められた。投与群全てで、1 回当たりの摂餌量の抑制ではなく自発的な摂餌回数の抑制が認められた。したがって、併用投与ではそれぞれの単剤が持つ独自の食欲抑制の効力に加え、MC4R を介した熱産生経路からの作用も受けていると考えられた。

併用投与によって認められたエネルギー消費量の増加は、setmelanotide 単独投与による効果と一致しており、この効果はおおむね MC4R 活性によるものであることが示唆される。一方、リラグルチド投与ではエネルギー消費量に対する作用は認められなかった。RER の減少は、単独投与及び併用投与の両方で、媒体対照群と比較して、体脂肪量の減少と一致して認められた（$p < 0.001$）。

図 2.6.2-22　リラグルチド（10 nmol［0.038 mg］/kg/日）及び setmelanotide（3.6 µmol［4 mg］/kg/日）の 1 日 1 回、5 日間単剤皮下投与及び併用皮下投与による食餌誘導性肥満（DIO）型マウスの体重及び体組成に対する作用（［A］体重、［B 及び C］体組成）



Data represent mean ± SEM, n = 8,*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001
Note: RM-493 = Setmelanotide.
Definitions: DIO = diet-induced obesity; SEM = standard error of the mean.
Source: Clemmensen 2015, Figure 1.

併用投与による血糖値改善

絶食時血糖値は、リラグルチド単剤又は併用のいずれかで 5 日間投与後、媒体対照群と比較して同程度の減少が認められた（$p < 0.001$）。しかし、単剤投与と比較すると、併用投与のみが耐糖能を改善し（$p < 0.01$）、絶食時インスリン濃度を低下させた（$p < 0.05$）。グルコース刺激によるインスリン分泌は、いずれの単剤投与でも低下したが、併用投与によってこの効果は強化され、単剤投与と比較して併用投与によりインスリン感受性が亢進することが示唆された。インスリン感受性の改善は、併用投与を受けたマウスでのみ認められた。

併用投与による単剤投与超のコレステロール代謝の改善

リラグルチド投与は血漿中のコレステロール濃度を減少させ（$p < 0.05$）、併用投与ではこの効果がさらに亢進された（$p < 0.01$）。この効果は、高比重リポタンパク質（HDL）と比較して低比重リポタンパク質（LDL）値が減少したことによるものである。LDL 値は、媒体投与群と比較して併用投与では 64%、リラグルチド単剤投与では 35%、setmelanotide 単剤投与では 46%減少した。血漿中のコレステロール値の低下と並行して、肝臓のコレステロール値の上昇が認められた。単剤投与及び併用投与の両方で、コレステロールの取り込みと代謝を制御する肝臓の調節機構が活性化され、(a) LDL 受容体の負の調節因子である *Pcsk9* 及び *ldol* の低下、及び (b) コレステロール生合成の調節因子である *Hmgrc* の低下が認められた。併用投与でのみ、胆汁へのコレステロール分泌の調節因子である *Abcg* 発現量の上昇が認められた。この変化は、併用投与による肝臓の LDL クリアランスの増加を示している。

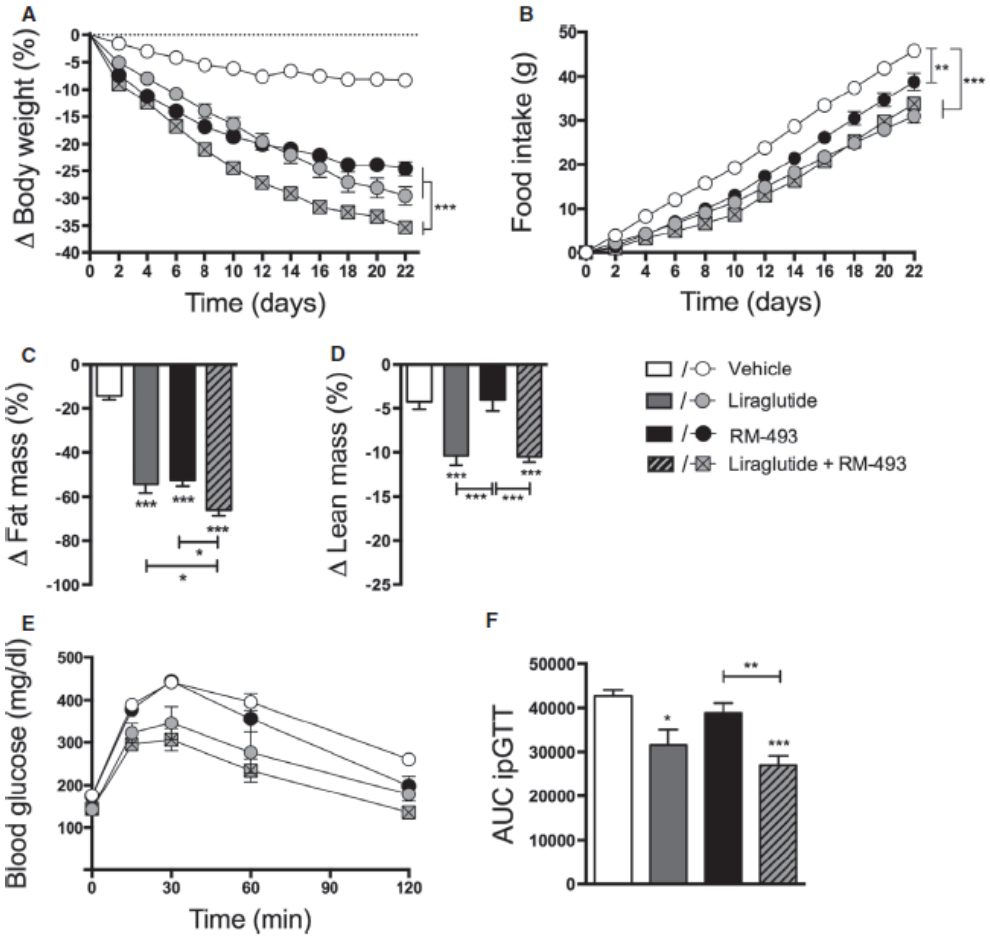
22 日間の長期間併用投与によるエネルギー及びグルコース代謝の改善

22 日間の長期間併用投与試験では、リラグルチド単剤投与（29.55 ± 1.66%の体重減少、

p < 0.001）又は setmelanotide 単剤投与（24.55 ± 1.33%の体重減少、p < 0.001）と比較して併用投与による体重減少作用の強化が認められた（35.36 ± 0.82%の体重減少）（図 2.6.2-23A）。さらに、併用投与では、両単剤投与と比較して脂肪量の減少の強化が認められた（図 2.6.2-23C）。体重減少作用が強化されたことに加え、併用投与では両単剤投与と比較して耐糖能の改善もより顕著であった（図 2.6.2-23E 及び F）。

以上、DIO 型マウスに setmelanotide 及びリラグルチドを併用投与すると、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、両剤の食欲抑制作用及び血糖コントロール作用、並びに setmelanotide のエネルギー消費量増加作用に起因する。

図 2.6.2-23　リラグルチド及び setmelanotide の 22 日間併用投与による食餌誘導性肥満（DIO）型マウスの肥満及びグルコース代謝に対する作用（[A] 体重、[B] 累積摂餌量、[C、D] 体組成及び [E、F] 耐糖能）



Data represent mean ± SEM, n = 8, *p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001
Note: RM-493 = Setmelanotide.
Definitions: AUC = area under the curve; DIO = diet-induced obesity; GTT = glucose tolerance testing; SEM = standard error of the mean.
Source: Clemmensen 2015, Figure 6.

2.6.2.6 考察及び結論

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、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評価し、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、本プログラムでは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特に重点を置いた。

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モデルの体重増加及び摂餌量に対する効力、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 の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

医薬品規制調和国際会議（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のラットモデル）、*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。

参考文献

- Argiolas A, Melis MR, Murgia S, Schiöth HB. ACTH- and alpha-MSH-induced grooming, stretching, yawning and penile erection in male rats: site of action in the brain and role of melanocortin receptors. Brain Res Bull. 2000;51(5):425-431.
- Bischof JM, Van Der Ploeg LH, Colmers WF, Wevrick R. *Magel2*-null mice are hyper-responsive to setmelanotide, a melanocortin 4 receptor agonist. Br J Pharmacol. 2016;173(17):2614-2621.
- Böhm M, Robert C, Malhotra S, Clément K, Farooqi S. An overview of benefits and risks of chronic melanocortin-1 receptor activation. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2025;39(1):39-51.
- Clément K, Biebermann H, Farooqi IS, Van der Ploeg L, Wolters B, Poitou C, et al. MC4R agonism promotes durable weight loss in patients with leptin receptor deficiency. Nat Med. 2018;24(5):551-555.
- Clemmensen C, Finan B, Fischer K, Tom RZ, Legutko B, Sehrer L, 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):288-298.
- Collet T-H, Dubern B, Mokrosinski J, Connors H, Keogh JM, de Oliveira EM, et al. Evaluation of a melanocortin-4 receptor (MC4R) agonist (Setmelanotide) in MC4R deficiency. Mol Metab. 2017; 6(10): 1321-1329.
- Greenfield JR, Miller JW, Keogh JM, Henning E, Satterwhite JH, Cameron GS, et al. Modulation of blood pressure by central melanocortinergic pathways. N Engl J Med. 2009;360(1):44-52.
- Kievit P, Halem H, Marks DL, Dong JZ. Glavas MM, Sinnayah P, et al. Chronic treatment with a melanocortin-4 receptor agonist causes weight loss, reduces insulin resistance, and improves cardiovascular function in diet-induced obese rhesus macaques. Diabetes. 2013;62(2):490-497.
- Kuo JJ, da Silva AA, Tallam LS, Hall JE. Role of adrenergic activity in pressor responses to chronic melanocortin receptor activation. Hypertension. 2004;43(2):370-375.
- Lee S, Kozlov S, Hernandez L, Chamberlain SJ, Brannan CI, Stewart CL, 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):1813-1819.
- Li YQ, Shrestha Y, Pandey M, Chen M, Kablan A, Gavrilova O, et al. G(q/11)α and G(s)α mediate distinct physiological responses to central melanocortins. J Clin Invest. 2016;126(1):40-49.
- Martin WJ, MacIntyre DE. Melanocortin receptors and erectile function. Eur Urol. 2004;45(6):706-713.
- 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.
- [redacted]
- Schaaf CP, Gonzalez-Garay ML, Xia F, Potocki L, Gripp KW, Zhang B, et al. Truncating mutations of

MAGEL2 cause Prader–Willi phenotypes and autism. Nat Genet. 2013;45(11):1405-1408.

- Van der Ploeg LHT, Martin WJ, Howard AD., Nargund RP, Austin CP, Guan X, et al. A role for the elanocortin 4 receptor in sexual function. Proc Natl Acad Sci USA 2002;99(17):11381-11386.
- Wessells H, Levine N, Hadley ME, Dorr R, Hruby V. 2000. Melanocortin receptor agonists, penile erection, and sexual motivation: human studies with Melanotan II. Int J Impot Res Suppl 4:S74-79.