

令和5年度第9回薬事・食品衛生審議会 薬事分科会  
医薬品等安全対策部会 安全対策調査会

シタグリプチン製品における NTP の検出及び発がんリスク  
に関する評価報告書

< 目 次 >

|                              |    |
|------------------------------|----|
| 評価報告書 (MSD 株式会社) . . . . .   | 2  |
| 評価報告書 (小野薬品工業株式会社) . . . . . | 11 |

シタグリプチン製品におけるNTTPの検出及び発がんリスクに関する評価報告書

2023年9月19日  
MSD株式会社

MSD社が実施したニトロソアミン類の定量試験において、ジャヌビア錠12.5 mg、25 mg、50 mg、100 mg及びスージャヌ配合錠（以下、シタグリプチン製品）中に、ニトロソアミン類である7-Nitroso-3-(trifluoromethyl)-5,6,7,8-tetrahydro[1,2,4]triazolo-[4,3-a]pyrazine（以下、NTTP）が検出されました。本報告書では、シタグリプチン製品中のNTTPに関する定量試験の結果および発がんリスクの評価について報告します。

1. 対象品目、承認年月日等

| 製品名           | 承認年月日       | 承認番号             |
|---------------|-------------|------------------|
| ジャヌビア錠12.5 mg | 2013年9月2日   | 22500AMX01783000 |
| ジャヌビア錠25 mg   | 2009年10月16日 | 22100AMX02258000 |
| ジャヌビア錠50 mg   | 2009年10月16日 | 22100AMX02257000 |
| ジャヌビア錠100 mg  | 2009年10月16日 | 22100AMX02259000 |
| スージャヌ配合錠      | 2018年3月23日  | 23000AMX00452000 |

2. 調査の経緯

MSD社は、NTTPとして特定されたニトロソアミンの存在についてシタグリプチン製品を調査するよう、海外保健当局から要請を受けました。

3. 調査結果

3-1. シタグリプチン製品中のニトロソアミン（NTTP）定量試験結果

NTTPの量を評価するために、有効期間の全範囲（例えば、有効期間の初期、中期及び終了時）をカバーする試験サンプルを世界各国で採取しました。

シタグリプチンリン酸塩錠のNTTP試験結果を以下に示します。

| 製品名          | 含量      | ロット数 | 最小NTTP [ppm] | 最大NTTP [ppm] | 平均NTTP [ppm] | 標準偏差 [ppm] |
|--------------|---------|------|--------------|--------------|--------------|------------|
| シタグリプチンリン酸塩錠 | 12.5 mg | 6    | 0.37         | 0.97         | 0.63         | 0.27       |
|              | 25 mg   | 37   | 0.53         | 1.78         | 0.88         | 0.30       |
|              | 50 mg   | 63   | 0.33         | 2.66         | 0.98         | 0.50       |
|              | 100 mg  | 155  | 0.22         | 4.27         | 1.30         | 0.52       |

※2022年6月以前の製剤における測定結果

スージャヌ配合錠9ロットのNTTP試験結果を以下に示します。

| 製品名  | 含量       | ロット番号   | 有効期間     | NTTP [ppm] <sup>1</sup> |
|--|----------|---------|----------|-------------------------|
| シタグリプチン<br>+ イプラグ<br>リフロジン<br>(スージャヌ<br>配合錠) | 50/50 mg | 19028Y1 | 2022年9月  | <LOD <sup>2</sup>       |
|  | 50/50 mg | 20036Y1 | 2023年5月  | 0.14                    |
|  | 50/50 mg | 22008M1 | 2024年11月 | <LOD <sup>2</sup>       |
|  | 50/50 mg | 22007M1 | 2024年11月 | <LOD <sup>2</sup>       |
|  | 50/50 mg | 21101M1 | 2023年12月 | <LOD <sup>2</sup>       |
|  | 50/50 mg | 21102M1 | 2024年2月  | <LOD <sup>2</sup>       |
|  | 50/50 mg | 22013M1 | 2024年12月 | <LOD <sup>2</sup>       |
|  | 50/50 mg | 22028M1 | 2025年2月  | <LOD <sup>2</sup>       |
|  | 50/50 mg | 22032M1 | 2025年3月  | <LOD <sup>2</sup>       |

<sup>1</sup> NTTPの結果 (ppm) はシタグリプチン遊離塩基に対する値です。

<sup>2</sup> 検出限界 (LOD) は0.05 ppm

### 3-2. ニトロソアミン発生の原因 (NTTP)

NTTPは、製剤の製造中及び主にその後の保存中に生成します。ニトロソアミンは、原薬中に残存するDP-IIアミン (第二級アミン) 及び/又は製剤中の原薬が保存中に加水分解されて生成されるアミンのニトロソ化により生成されます。ニトロソ化剤の混入源は、製剤の添加剤中に残留する亜硝酸塩不純物であることが確認されました。特に結晶セルロース (MCC) 及び無水リン酸水素カルシウム (DCP) の2つの添加剤が、シタグリプチン製品における亜硝酸塩の主要な混入源であることが明らかになりました (図1参照)。



図1. シタグリプチン原薬からNTTPが生成される一般的な経路

## 4. NTTPの発がんリスク

### 4-1. NTTPの1日許容摂取量の根拠

NTTPはシタグリプチン製品に含まれるニトロソアミン不純物です。げっ歯類を用いたNTTPのがん原性試験データがないことから、EMA、FDA、カナダ保健省などの規制当局は、N-nitroso-1,2,3,6-tetrahydropyridine (以下、NTHP; CAS#55556-92-8; 図2) のリードアクリス評価により、生涯許容摂取量 (AI) を37 ng/日と設定しました。以下の評価では、NTTPのAIを確立するための洗練されたアプローチを活用しています。これには、最近発表されたニトロソアミンに関するガイダンスに記載されている、一般構造活性相関 (SAR) に基づく方

法論（The Carcinogenic Potency Categorization Approach (CPCA)）が含まれます。また、化合物特異的なリスク評価を裏付けるために、ICHガイダンス及びOECD試験ガイドライン (TG488)に従ってBig Blue<sup>®</sup>ラットを用いたin vivoトランスジェニック遺伝子突然変異試験を行いNTTPの変異原性データを取得しました。

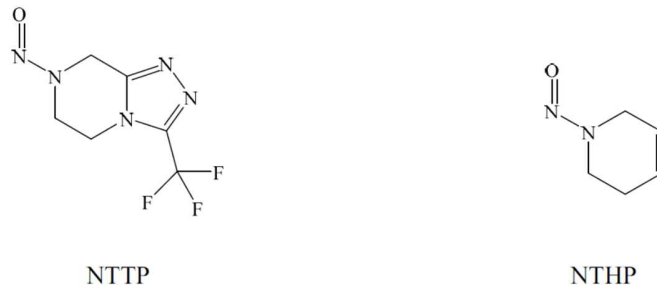
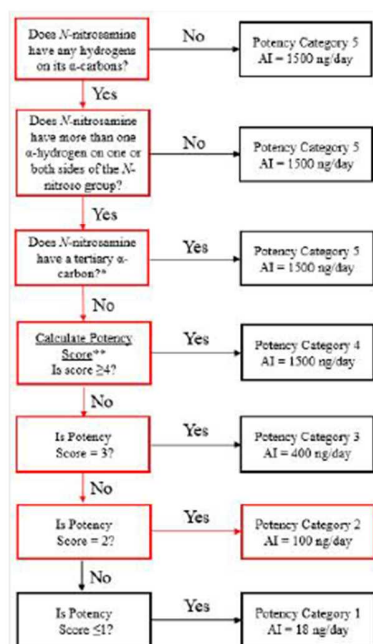


図2. NTTP及びNTHPの構造式

CPCAによる評価：いくつかの規制当局（EMA、FDA、カナダ保健省、厚生労働省など）からの最近のガイダンスにより、がん原性データが不足しているニトロソアミンのAIを確立するための、SARに基づく代替のアプローチが示されました。CPCA評価は、 $\alpha$ -炭素上の水素の数と、不活性化および活性化する構造的特徴の有無に焦点を当てます。各構造的特徴には、AIに関連する総ポテンシスコアを算出するための値が事前に定義されています。NTTPのCPCA評価の概要を以下に示します。



| Count of $\alpha$ -Hydrogens   | Score | Feature Highlighted in Red  |
|--|-------|-----------------------------|
| 2,2  | +1    |                             |
| Deactivating Features  | Score | Features Highlighted in Red |
| N-nitroso group in a 5- or 6-membered ring   | +2    |                             |
| Activating Features  | Score | Features Highlighted in Red |
| Aryl group bonded to $\alpha$ -carbon (i.e., benzylic or pseudo-benzylic substituent on N-nitroso group) | -1    |                             |

|                               |                    |                 |
|-------------------------------|--------------------|-----------------|
| Potency Score = 1 + 2 - 1 = 2 | Potency Category 2 | AI = 100 ng/day |
|-------------------------------|--------------------|-----------------|

この保守的な一般的なSARベースのアプローチを使用すると、NTTPはポテンシーカテゴリー2に分類され、AIは100 ng/日となります。

**Ames試験：**ネズミチフス菌TA97a、TA98、TA100及び大腸菌WP2 uvrA pKM101（代謝活性化系存在下及び非存在下）、並びにネズミチフス菌TA1535（代謝活性化系非存在下）ではNTTPは陰性を示しました。しかし、代謝活性化系存在下のネズミチフス菌TA1535ではNTTPは陽性を示しました。

**In vivo**トランスジェニック遺伝子突然変異試験: NTTPに特有のin vivoデータにより、より洗練されたリスク評価が可能になります。Fischer 344 Big Blue®ラットにNTTPを経口投与した後、十二指腸及び肝臓でのcII遺伝子の突然変異頻度を測定しました。肝臓では16 mg/kg/日以下の用量、また十二指腸ではいずれの用量でも突然変異頻度の増加は観察されませんでした。肝臓において50 mg/kg/日以上の用量で統計学的に有意な突然変異頻度の増加が認められました。ベンチマークドーズ信頼区間（BMD CI）を算出するために、肝臓におけるcII遺伝子変異の用量-反応モデルを用いてNTTPの変異原性活性を検討しました。BMDモデルの平均化のためにPROAST v70.1ソフトウェアを使用しました。200のブートストラップを用いたBMDモデル平均化を使用して、指数関数、Hill、逆指数関数、対数正規型の用量反応モデルである4組の統計モデルのデフォルトセットを適用しました。適合度に基づいて各セットモデルに重み付けを行い、単一セットのBMD90%信頼区間を算出しました。BMDには、トランスジェニック遺伝子突然変異試験に関する公表された推奨事項に従って、50%の臨界効果量（critical effect size : CES）を選択しました(Zeller et al., 2017 ; Johnson et al., 2021)。このモデルにより、NTTPのBMDL<sub>50</sub>（BMD 90%信頼区間下限）は9.17 mg/kg/日、BMDU<sub>50</sub>（BMD90%信頼区間上

限) は27.3 mg/kg/日と算出されました。さらに、NDEA (Bercu et.al., in preparation) 及び NDMA (Gollapudi et.al., 1998; Johnson et.al., 2021) を投与したFischer 344 Big Blue<sup>®</sup>ラットの肝臓から採取した*cII*遺伝子の変異頻度に関する公表データとBMD CIを比較しました。

表1. NDEA、NDMA及びNTTPのBMD CI及びAI

| ニトロソアミン           | BMDL <sub>50</sub> | BMDU <sub>50</sub> | AI                     |
|-------------------|--------------------|--------------------|------------------------|
| NDEA <sup>a</sup> | 0.11 mg/kg/日       | 0.96 mg/kg/日       | 26.5 ng/日 <sup>b</sup> |
| NDMA <sup>c</sup> | 0.06 mg/kg/日       | 2.34 mg/kg/日       | 96 ng/日 <sup>b</sup>   |
| NTTP              | 9.17 mg/kg/日       | 27.3 mg/kg/日       | 37 ng/日 <sup>d</sup>   |

<sup>a</sup> Bercu et.al., in preparationのデータ

<sup>b</sup> 化合物特異的なげっ歯類のがん原性試験データに基づくAI

<sup>c</sup> Gollapudi et.al., 1998及びJohnson et.al., 2021のデータ

<sup>d</sup> NTHPのリードアクロス評価に基づくAI

活性比較に基づく、NTTPの生涯曝露量として少なくとも253 ng/日[= (NTTPのBMDL<sub>50</sub>/NDEAのBMDU<sub>50</sub>) × 26.5 ng/日]の安全性が支持されます。留意すべき点としては、化合物特異的なデータ (例: NTTPのBMDL<sub>50</sub>とNDEAまたはNDMAのBMDL<sub>50</sub>) を用いた追加の活性比較から、ICH M7の毒性学的懸念の閾値に基づく既定のAIである1.5 µg/日、すなわち1500 ng/日までのNTTPの曝露では、患者に対するリスクはほとんど増加しないであろうことが示唆されます。

#### 4-2. NTTPの理論的発がんリスク

がんのリスク評価は、ICH M7の原則を用いて実施されました。この評価では、1) 国内外に流通している製剤ロット数の1%でNTTPを測定した結果（2022年6月以前の1%グローバルデータセット）から得られた平均NTTP濃度（1.30 ppm）を用い、日本で初回承認された直後から提案している暫定期間の終了時（2024年2月）に暫定期間中に供給された製品の3年の有効期間を加えた2027年2月までの回顧的並びに暫定曝露、2) 現在の生涯限度値37 ng/日への前向き曝露（2027年2月から、生涯70年間として）を統合しています。この評価は、シタグリプチンの最高臨床用量である100 mg/日に基づいています。

表2.理論的生涯発がん増加リスク（AI=37ng/日に基づき算出）

| 曝露期間                             | 理論的生涯発がん増加リスク   |
|----------------------------------|-----------------|
| 回顧的曝露並びに暫定曝露：17.33年 <sup>a</sup> | 0.87 in 100,000 |
| 長期間曝露：52.67年 <sup>b</sup>        | 0.75 in 100,000 |
| 総生涯曝露                            | 1.62 in 100,000 |

<sup>a</sup>本邦初回承認時から暫定期間中に供給された製品の有効期間まで（2009年10月～2027年2月）の17.33年間における理論的曝露

<sup>b</sup>52.67年（生涯70年間として）における37 ng/日での理論的曝露

MSD社は、NTTP量を公表されている長期許容摂取量37 ng/日以下まで一貫して抑えるための管理戦略を導入します。しかしながら、理論上の生涯がんリスクの増加は、ICH M7および地域のニトロソアミンガイダンス（EMA、FDA、カナダ保健省、厚生労働省など）で推奨されている目標リスク100,000分の1を超えています。理論上の増加は患者の発がんリスクに対して必ずしも臨床上意味のある増加をもたらすとは限りません。この結論は、げっ歯類の発がん性データを使用してヒトのリスクを推定する保守的な性質に基づいています。さらに、2型糖尿病の治療法には多くの選択肢があり、一般的に生涯にわたり患者の治療法を調整する必要があることを考慮すると、シタグリプチンへの曝露期間は実質的に70年未満となる可能性が高いです。たとえば、日本の病院300施設を対象とし、シタグリプチンを含むDPP-4阻害剤を服用している91,634人の患者のデータを含む大規模データベースからデータを抽出した回顧的観察研究では、シタグリプチンを含むDPP-4阻害剤の最初の処方から中止までの期間の中央値は17カ月（95%信頼区間：16.4-17.5カ月）でした(Kadowaki et. al., 2018)。また、シタグリプチンは、小児の患者への適応がありません。したがって、実際の理論上の生涯がんリスクの増加は、ICH M7に従って70年間で計算されるよりもはるかに小さくなります。さらに、CPCAに基づくAIと、Big Blue<sup>®</sup>ラットにおけるNTTPを用いたin vivoトランスジェニック遺伝子突然変異試験からの化合物特異的安全性データを考慮すると、理論上の生涯がんリスクの増加は、表2で報告されている値よりもはるかに低いことが示されています。たとえば、CPCAに基づくAIを適用すると、理論上の生涯がんリスクの増加は100,000分の1未満となります。

表3.理論的生涯発がん増加リスク（AI=100ng/日に基づき算出）

| 曝露期間                             | 理論的生涯発がん増加リスク   |
|----------------------------------|-----------------|
| 回顧的曝露並びに暫定曝露：17.33年 <sup>a</sup> | 0.32 in 100,000 |
| 長期間曝露：52.67年 <sup>b</sup>        | 0.28 in 100,000 |
| 総生涯曝露                            | 0.60 in 100,000 |

<sup>a</sup>本邦初回承認時から暫定期間中に供給された製品の有効期間まで（2009年10月～2027年2月）の17.33年間における理論的曝露

<sup>b</sup>52.67年（生涯70年間として）における37 ng/日での理論的曝露

MSD社は、以前連絡したように、長期的なNTTP量を37 ng/日以下で管理する意向であり、これは世界市場に対する当社のアプローチおよび現在、EMA、FDA、カナダ保健省等より公表されている限度値と一致しています。したがって、現時点では限度値の改訂は提案しませんが、今後限度値の改訂を再検討する可能性があります。MSD社のシタグリプチン製品のNTTP管理戦略の詳細については、「5. MSD社における今後の対応」で説明します。

表2を裏付けるための計算 (AI=37ng/日)

| 曝露量の計算   | 理論的発がんリスクの計算  |
|--|---|
| 生涯許容摂取量での総曝露<br>= 37 ng/日 × 365 日/年 × 70 年 = 945,350 ng    |   |
| 回顧的曝露並びに暫定曝露<br>= 130 ng/日 × 365 日/年 × 17.33年 = 822,309 ng | 回顧的曝露<br>= 822,309ng / 945,350 ng<br>= 0.87 in100,000   |
| 長期間曝露<br>= 37 ng/日 × 365 日/年 × 52.67年 = 711,308 ng         | 長期間曝露<br>= 711,308 ng / 945,350 ng<br>= 0.75 in 100,000 |

表3を裏付けるための計算 (AI=100ng/日)

| 曝露量の計算   | 理論的発がんリスクの計算  |
|--|---|
| 生涯許容摂取量での総曝露<br>= 100 ng/日 × 365 日/年 × 70 年 = 2,555,000 ng |   |
| 回顧的曝露並びに暫定曝露<br>= 130 ng/日 × 365 日/年 × 17.33年 = 822,309 ng | 回顧的曝露<br>= 822,309 ng / 2,555,000 ng<br>= 0.32 in100,000  |
| 長期間曝露<br>= 37 ng/日 × 365 日/年 × 52.67年 = 711,308 ng         | 長期間曝露<br>= 711,308 ng / 2,555,000 ng<br>= 0.28 in 100,000 |

## 5. MSD社における今後の対応

以上の評価結果を踏まえ、シタグリプチン製品について、以下の対応を実施又は予定しています。

### シタグリプチンリン酸塩錠

- CPCAとBig Blue®ラット変異原性データを使用した化合物特異的評価は、37 ng/日をはるかに超えるレベルでのNTTPの安全性を裏付けています。ただし、MSD社はNTTPの長期許容摂取量として37 ng/日を引き続き適用します。この保守的なアプローチは、世界的な供給継続性を確保するためにNTTP生成の管理に重点を置いたMSD社の世界的な管理戦略と一致しています。
- NTTP量を、公表されている長期許容摂取量37 ng/日以下まで一貫して抑えるための管理戦略の開発に取り組む間、246.7 ng/日以下のシタグリプチンリン酸塩錠のロットを暫定的に出荷できることを海外保健当局（EMA、FDA、オーストラリア医療製品管理局、カナダ保健省など）と合意しました。246.7ng/日の暫定管理値を満たす市場流通製品に対し、これらの海外保健当局から、製品回収等の措置は要請されていません。また、厚生労働省とは、NTTPの変異原性・発がん性を評価するために追加の非臨床試験（In vivoトランスジェニック遺伝子突然変異試験）の実施を検討していることを説明したうえで、上記海外当局と同様に、246.7 ng/日以下のシタグリプチンリン酸塩錠のロットの暫定的な出荷に合意



していました。

- 暫定期間中に、すべてのバルク製剤ロットについてNTTP試験を実施中です。MSD社は、全世界で数百ロットを出荷しており、製剤中のNTTP量は有効期間を通して暫定限度値（2.46 ppm）以下であることを保証しています。
- NTTP生成の根本原因に基づき、有効期間を通して長期許容摂取量内でNTTP量を管理するための妥当なNTTP管理戦略は、以下に焦点を当てています。
  - （1）添加剤中の亜硝酸塩含有量の管理、及び（2）原薬であるシタグリプチンリン酸塩へのニトロソ化阻害剤の添加
- 根本原因の調査および是正措置の評価が完了しています。MSD社は、現在、長期管理戦略を裏付けるデータを作成中であり、2023年10月1日までに本邦での製造販売承認事項一部変更承認申請を行う予定です。
- 「4-2. NTTPの理論的発がんリスク」に記載したMSD社による統合リスク評価に基づく、シタグリプチン製品中に現在存在するNTTPの量では、患者に対するリスクはほとんどありません。

#### シタグリプチン+イブラグリフロジン配合錠:

- MSD社は、シタグリプチン+イブラグリフロジン配合錠中のNTTPの暫定出荷管理試験は必要ないと慎重に判断しました。この決定は、これまでに得られたシタグリプチン+イブラグリフロジン配合錠の回顧的な試験の結果に基づくものであり、包装形態及び添加剤の亜硝酸塩試験の結果によっても裏付けられています。
- シタグリプチン+イブラグリフロジン配合錠9ロットの回顧的な試験から得られた一貫して低いNTTPデータ（1ロットを除くすべてのロットがLOD未満でありました）は、乾燥剤入りの防湿性の高い包装とシタグリプチン+イブラグリフロジン配合錠の特定の供給業者から供給された結晶セルロースのロット中の亜硝酸塩含有量の低さに起因すると考えられます。これらの結果は、シタグリプチン/イブラグリフロジンの出荷前にNTTP試験を実施しないという決定を強く支持するものです。
- これまでに得られた安定性試験のデータから、シタグリプチン+イブラグリフロジン配合錠について、有効期間を通してNTTPの長期的な管理値である0.37ppmを超えないことを保証するための追加の管理戦略は必要ないと考えます。MSD社は、安定性試験において、有効期間中のNTTP量を継続してモニタリングします。

引用文献

Bercu, J.P., Zhang, S., Sobol, Z., Escobar, P., Shuler, M. (2023) Comparison of the transgenic rodent mutation assay, error corrected next generation duplex sequencing, and the alkaline comet assay to detect dose-related mutations following exposure to N-nitrosodiethylamine. *Mut. Res.* In press.  
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2023.503685>

Gollapudi, B.B., Jackson, K.M. Stott, W.T. (1998) Hepatic lacI and cII mutation in transgenic (lambda LIZ) rats treated with dimethylnitrosamine. *Mut. Res.* 419(1-3): 131-135.  
[https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(98\)00132-6](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(98)00132-6)

Johnson, G.E., Dobo, K., Gollapudi, B., Harvey, J., Kenny, J., Kenyon, M., Lynch, A., Minocherhomji, S., Nicolette, J., Thybaud, V., Wheeldon, R., Zeller, A. (2021) Permitted daily exposure limits for noteworthy N-nitrosamines. *Environ. Mol. Mutagen.* 62(5):293-305.  
<https://doi.org/10.1002/em.22446>

Zeller, A., Duran-Pacheco, G., Guerard, M. (2017) An appraisal of critical effect sizes for the benchmark dose approach to assess dose-response relationships in genetic toxicology. *Arch. Toxicol.* 91:3799-3807.  
<https://doi.org/10.1007/s00204-017-2037-3>

Kadowaki T, Sarai N, Hirakawa T, Taki K, Iwasaki K, Urushihara H. Persistence of oral antidiabetic treatment for type 2 diabetes characterized by drug class, patient characteristics and severity of renal impairment: A Japanese database analysis. *Diabetes, obesity & metabolism.* 2018;20(12):2830-2839.

シタグリプチン製品におけるNTTPの検出及び発がんリスクに関する評価報告書

2023年9月19日  
小野薬品工業株式会社

MSD社が実施したニトロソアミン類の定量試験において、グラクティブ錠12.5 mg、25 mg、50 mg、100 mg（以下、シタグリプチン製品）中に、ニトロソアミン類である7-Nitroso-3-(trifluoromethyl)-5,6,7,8-tetrahydro[1,2,4]triazolo-[4,3-a]pyrazine（以下、NTTP）が検出されました。本報告書では、シタグリプチン製品中のNTTPに関する定量試験の結果および発がんリスクの評価について報告します。

1. 対象品目、承認年月日等

| 製品名            | 承認年月日       | 承認番号             |
|----------------|-------------|------------------|
| グラクティブ錠12.5 mg | 2013年9月2日   | 22500AMX01784000 |
| グラクティブ錠25 mg   | 2009年10月16日 | 22100AMX02261000 |
| グラクティブ錠50 mg   | 2009年10月16日 | 22100AMX02260000 |
| グラクティブ錠100 mg  | 2009年10月16日 | 22100AMX02262000 |

2. 調査の経緯

MSD社は、NTTPとして特定されたニトロソアミンの存在についてシタグリプチン製品を調査するよう、海外保健当局から要請を受けました。

3. 調査結果

3-1. シタグリプチン製品中のニトロソアミン（NTTP）定量試験結果

NTTPの量を評価するために、有効期間の全範囲（例えば、有効期間の初期、中期及び終了時）をカバーする試験サンプルを世界各国で採取しました。

シタグリプチンリン酸塩錠のNTTP試験結果を以下に示します。

| 製品名          | 含量      | ロット数 | 最小 NTTP [ppm] | 最大 NTTP [ppm] | 平均 NTTP [ppm] | 標準偏差 [ppm] |
|--------------|---------|------|---------------|---------------|---------------|------------|
| シタグリプチンリン酸塩錠 | 12.5 mg | 6    | 0.37          | 0.97          | 0.63          | 0.27       |
|              | 25 mg   | 37   | 0.53          | 1.78          | 0.88          | 0.30       |
|              | 50 mg   | 63   | 0.33          | 2.66          | 0.98          | 0.50       |
|              | 100 mg  | 155  | 0.22          | 4.27          | 1.30          | 0.52       |

※2022年6月以前の製剤における測定結果

3-2. ニトロソアミン発生の原因（NTTP）

NTTPは、製剤の製造中及び主にその後の保存中に生成します。ニトロソアミンは、原薬中に残存するDP-IIアミン（第二級アミン）及び／又は製剤中の原薬が保存中に加水分解されて

生成されるアミンのニトロソ化により生成されます。ニトロソ化剤の混入源は、製剤の添加剤中に残留する亜硝酸塩不純物であることが確認されました。特に結晶セルロース（MCC）及び無水リン酸水素カルシウム（DCP）の2つの添加剤が、シタグリプチン製品における亜硝酸塩の主要な混入源であることが明らかになりました（図1参照）。

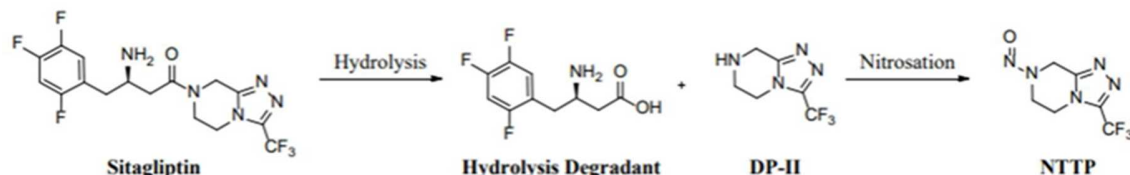


図1. シタグリプチン原薬からNTTPが生成される一般的な経路

#### 4. NTTPの発がんリスク

##### 4-1. NTTPの1日許容摂取量の根拠

NTTPはシタグリプチン製品に含まれるニトロソアミン不純物です。げっ歯類を用いたNTTPのがん原性試験データがないことから、EMA、FDA、カナダ保健省などの規制当局は、N-nitroso-1,2,3,6-tetrahydropyridine（以下、NTHP; CAS#55556-92-8; 図2）のリードアクリス評価により、生涯許容摂取量（AI）を37 ng/日と設定しました。以下の評価では、NTTPのAIを確立するための洗練されたアプローチを活用しています。これには、最近発表されたニトロソアミンに関するガイダンスに記載されている、一般構造活性相関（SAR）に基づく方法論（The Carcinogenic Potency Categorization Approach (CPCA)）が含まれます。また、化合物特異的なリスク評価を裏付けるために、ICHガイダンス及びOECD試験ガイドライン (TG488)に従ってBig Blue<sup>®</sup>ラットを用いたin vivoトランスジェニック遺伝子突然変異試験を行いNTTPの変異原性データを取得しました。

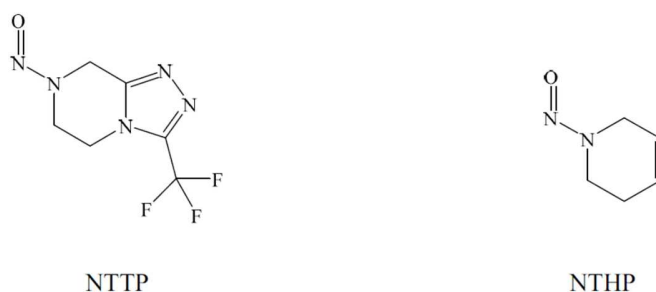
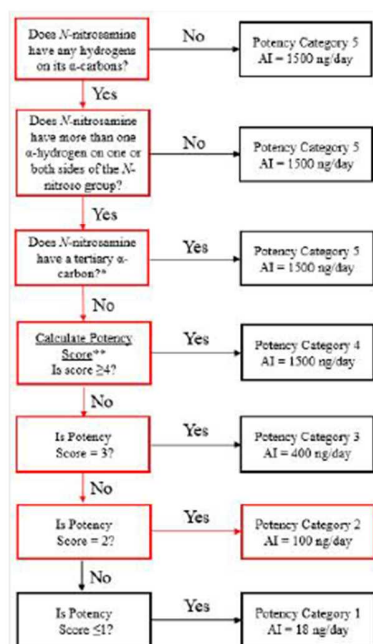


図2. NTTP及びNTHPの構造式

CPCAによる評価:いくつかの規制当局（EMA、FDA、カナダ保健省、厚生労働省など）からの最近のガイダンスにより、がん原性データが不足しているニトロソアミンのAIを確立するための、SARに基づく代替のアプローチが示されました。CPCA評価は、 $\alpha$ -炭素上の水素の数と、不活性化および活性化する構造的特徴の有無に焦点を当てます。各構造的特徴には、AIに関連する総ポテンシスコアを算出するための値が事前に定義されています。NTTPのCPCA評価の概要を以下に示します。



| Count of $\alpha$ -Hydrogens   | Score | Feature Highlighted in Red  |
|--|-------|-----------------------------|
| 2,2  | +1    |                             |
| Deactivating Features  | Score | Features Highlighted in Red |
| N-nitroso group in a 5- or 6-membered ring   | +2    |                             |
| Activating Features  | Score | Features Highlighted in Red |
| Aryl group bonded to $\alpha$ -carbon (i.e., benzylic or pseudo-benzylic substituent on N-nitroso group) | -1    |                             |

|                               |                    |                 |
|-------------------------------|--------------------|-----------------|
| Potency Score = 1 + 2 - 1 = 2 | Potency Category 2 | AI = 100 ng/day |
|-------------------------------|--------------------|-----------------|

この保守的な一般的なSARベースのアプローチを使用すると、NTTPはポテンシーカテゴリー2に分類され、AIは100 ng/日となります。

**Ames試験：**ネズミチフス菌TA97a、TA98、TA100及び大腸菌WP2 uvrA pKM101（代謝活性化系存在下及び非存在下）、並びにネズミチフス菌TA1535（代謝活性化系非存在下）ではNTTPは陰性を示しました。しかし、代謝活性化系存在下のネズミチフス菌TA1535ではNTTPは陽性を示しました。

**In vivo**トランスジェニック遺伝子突然変異試験: NTTPに特有のin vivoデータにより、より洗練されたリスク評価が可能になります。Fischer 344 Big Blue<sup>®</sup>ラットにNTTPを経口投与した後、十二指腸及び肝臓での*cII*遺伝子の突然変異頻度を測定しました。肝臓では16 mg/kg/日以下の用量、また十二指腸ではいずれの用量でも突然変異頻度の増加は観察されませんでした。肝臓において50 mg/kg/日以上の用量で統計学的に有意な突然変異頻度の増加が認められました。ベンチマークドーズ信頼区間 (BMD CI) を算出するために、肝臓における*cII*遺伝子変異の用量-反応モデルを用いてNTTPの変異原性活性を検討しました。BMDモデルの平均化のためにPROAST v70.1ソフトウェアを使用しました。200のブートストラップを用いたBMDモデル平均化を使用して、指数関数、Hill、逆指数関数、対数正規型の用量反応モデルである4組の統計モデルのデフォルトセットを適用しました。適合度に基づいて各セットモデルに重み付けを行い、単一セットのBMD90%信頼区間を算出しました。BMDには、トランスジェニック遺伝子突然変異試験に関する公表された推奨事項に従って、50%の臨界効果量 (critical effect size : CES) を選択しました(Zeller et al., 2017 ; Johnson et al., 2021)。このモデルにより、NTTPのBMDL<sub>50</sub> (BMD 90%信頼区間下限) は 9.17 mg/kg/日、BMDU<sub>50</sub> (BMD90%信頼区間上

限) は27.3 mg/kg/日と算出されました。さらに、NDEA (Bercu et.al., in preparation) 及び NDMA (Gollapudi et.al., 1998; Johnson et.al., 2021) を投与したFischer 344 Big Blue<sup>®</sup>ラットの肝臓から採取した*cII*遺伝子の変異頻度に関する公表データとBMD CIを比較しました。

表1. NDEA、NDMA及びNTTPのBMD CI及びAI

| ニトロソアミン           | BMDL <sub>50</sub> | BMDU <sub>50</sub> | AI                     |
|-------------------|--------------------|--------------------|------------------------|
| NDEA <sup>a</sup> | 0.11 mg/kg/日       | 0.96 mg/kg/日       | 26.5 ng/日 <sup>b</sup> |
| NDMA <sup>c</sup> | 0.06 mg/kg/日       | 2.34 mg/kg/日       | 96 ng/日 <sup>b</sup>   |
| NTTP              | 9.17 mg/kg/日       | 27.3 mg/kg/日       | 37 ng/日 <sup>d</sup>   |

<sup>a</sup> Bercu et.al., in preparationのデータ

<sup>b</sup> 化合物特異的なげっ歯類のがん原性試験データに基づくAI

<sup>c</sup> Gollapudi et.al., 1998及びJohnson et.al., 2021のデータ

<sup>d</sup> NTHPのリードアクロス評価に基づくAI

活性比較に基づく、NTTPの生涯曝露量として少なくとも253 ng/日[= (NTTPのBMDL<sub>50</sub>/NDEAのBMDU<sub>50</sub>) × 26.5 ng/日]の安全性が支持されます。留意すべき点としては、化合物特異的なデータ (例: NTTPのBMDL<sub>50</sub>とNDEAまたはNDMAのBMDL<sub>50</sub>) を用いた追加の活性比較から、ICH M7の毒性学的懸念の閾値に基づく既定のAIである1.5 µg/日、すなわち1500 ng/日までのNTTPの曝露では、患者に対するリスクはほとんど増加しないであろうことが示唆されます。

#### 4-2. NTTPの理論的発がんリスク

がんのリスク評価は、ICH M7の原則を用いて実施されました。この評価では、1) 国内外に流通している製剤ロット数の1%でNTTPを測定した結果（2022年6月以前の1%グローバルデータセット）から得られた平均NTTP濃度（1.30 ppm）を用い、日本で初回承認された直後から提案している暫定期間の終了時（2024年2月）に暫定期間中に供給された製品の3年の有効期間を加えた2027年2月までの回顧的並びに暫定曝露、2) 現在の生涯限度値37 ng/日への前向き曝露（2027年2月から、生涯70年間として）を統合しています。この評価は、シタグリプチンの最高臨床用量である100 mg/日に基づいています。

表2.理論的生涯発がん増加リスク（AI=37ng/日に基づき算出）

| 曝露期間                             | 理論的生涯発がん増加リスク   |
|----------------------------------|-----------------|
| 回顧的曝露並びに暫定曝露：17.33年 <sup>a</sup> | 0.87 in 100,000 |
| 長期間曝露：52.67年 <sup>b</sup>        | 0.75 in 100,000 |
| 総生涯曝露                            | 1.62 in 100,000 |

<sup>a</sup>本邦初回承認時から暫定期間中に供給された製品の有効期間まで（2009年10月～2027年2月）の17.33年間における理論的曝露

<sup>b</sup>52.67年（生涯70年間として）における37 ng/日での理論的曝露

MSD社は、NTTP量を公表されている長期許容摂取量37 ng/日以下まで一貫して抑えるための管理戦略を導入します。しかしながら、理論上の生涯がんリスクの増加は、ICH M7および地域のニトロソアミンガイダンス（EMA、FDA、カナダ保健省、厚生労働省など）で推奨されている目標リスク100,000分の1を超えています。理論上の増加は患者の発がんリスクに対して必ずしも臨床上意味のある増加をもたらすとは限りません。この結論は、げっ歯類の発がん性データを使用してヒトのリスクを推定する保守的な性質に基づいています。さらに、2型糖尿病の治療法には多くの選択肢があり、一般的に生涯にわたり患者の治療法を調整する必要があることを考慮すると、シタグリプチンへの曝露期間は実質的に70年未満となる可能性が高いです。たとえば、日本の病院300施設を対象とし、シタグリプチンを含むDPP-4阻害剤を服用している91,634人の患者のデータを含む大規模データベースからデータを抽出した回顧的観察研究では、シタグリプチンを含むDPP-4阻害剤の最初の処方から中止までの期間の中央値は17カ月（95%信頼区間：16.4-17.5カ月）でした(Kadowaki et. al., 2018)。また、シタグリプチンは、小児の患者への適応がありません。したがって、実際の理論上の生涯がんリスクの増加は、ICH M7に従って70年間で計算されるよりもはるかに小さくなります。さらに、CPCAに基づくAIと、Big Blue<sup>®</sup>ラットにおけるNTTPを用いたin vivoトランスジェニック遺伝子突然変異試験からの化合物特異的安全性データを考慮すると、理論上の生涯がんリスクの増加は、表2で報告されている値よりもはるかに低いことが示されています。たとえば、CPCAに基づくAIを適用すると、理論上の生涯がんリスクの増加は100,000分の1未満となります。

表3.理論的生涯発がん増加リスク（AI=100ng/日に基づき算出）

| 曝露期間                             | 理論的生涯発がん増加リスク   |
|----------------------------------|-----------------|
| 回顧的曝露並びに暫定曝露：17.33年 <sup>a</sup> | 0.32 in 100,000 |
| 長期間曝露：52.67年 <sup>b</sup>        | 0.28 in 100,000 |
| 総生涯曝露                            | 0.60 in 100,000 |

<sup>a</sup>本邦初回承認時から暫定期間中に供給された製品の有効期間まで（2009年10月～2027年2月）の17.33年間における理論的曝露

<sup>b</sup>52.67年（生涯70年間として）における37 ng/日での理論的曝露

MSD社は、以前連絡したように、長期的なNTTP量を37 ng/日以下で管理する意向であり、これは世界市場に対するMSD社のアプローチおよび現在、EMA、FDA、カナダ保健省等より公表されている限度値と一致しています。したがって、現時点では限度値の改訂は提案しませんが、今後限度値の改訂を再検討する可能性があります。小野薬品工業のシタグリプチン製品のNTTP管理戦略の詳細については、「5. 小野薬品工業における今後の対応」で説明します。

表2を裏付けるための計算 (AI=37ng/日)

| 曝露量の計算   | 理論的発がんリスクの計算  |
|--|---|
| 生涯許容摂取量での総曝露<br>= 37 ng/日 × 365 日/年 × 70 年 = 945,350 ng    |   |
| 回顧的曝露並びに暫定曝露<br>= 130 ng/日 × 365 日/年 × 17.33年 = 822,309 ng | 回顧的曝露<br>= 822,309ng / 945,350 ng<br>= 0.87 in100,000   |
| 長期間曝露<br>= 37 ng/日 × 365 日/年 × 52.67年 = 711,308 ng         | 長期間曝露<br>= 711,308 ng / 945,350 ng<br>= 0.75 in 100,000 |

表3を裏付けるための計算 (AI=100ng/日)

| 曝露量の計算   | 理論的発がんリスクの計算  |
|--|---|
| 生涯許容摂取量での総曝露<br>= 100 ng/日 × 365 日/年 × 70 年 = 2,555,000 ng |   |
| 回顧的曝露並びに暫定曝露<br>= 130 ng/日 × 365 日/年 × 17.33年 = 822,309 ng | 回顧的曝露<br>= 822,309 ng / 2,555,000 ng<br>= 0.32 in100,000  |
| 長期間曝露<br>= 37 ng/日 × 365 日/年 × 52.67年 = 711,308 ng         | 長期間曝露<br>= 711,308 ng / 2,555,000 ng<br>= 0.28 in 100,000 |

## 5. 小野薬品工業における今後の対応

以上の評価結果を踏まえ、シタグリプチン製品について、以下の対応を実施又は予定しています。

### シタグリプチンリン酸塩錠

- CPCAとBig Blue<sup>®</sup>ラット変異原性データを使用した化合物特異的評価は、37 ng/日をはるかに超えるレベルでのNTTPの安全性を裏付けています。ただし、小野薬品工業はNTTPの長期許容摂取量として37 ng/日を引き続き適用します。この保守的なアプローチは、世界的な供給継続性を確保するためにNTTP生成の管理に重点を置いたMSD社の世界的な管理戦略と一致しています。
- NTTP量を、公表されている長期許容摂取量37 ng/日以下まで一貫して抑えるための管理戦略の開発に取り組む間、246.7 ng/日以下のシタグリプチンリン酸塩錠のロットを暫定的に出荷できることを海外保健当局（EMA、FDA、オーストラリア医療製品管理局、カナダ保健省など）と合意しました。246.7ng/日の暫定管理値を満たす市場流通製品に対し、これらの海外保健当局から、製品回収等の措置は要請されていません。また、厚生労働省とは、NTTPの変異原性・発がん性を評価するために追加の非臨床試験（In vivoトランスジェニック遺伝子突然変異試験）の実施を検討していることを説明したうえで、上記海外当



局と同様に、246.7 ng/日以下のシタグリプチンリン酸塩錠のロットの暫定的な出荷に合意していました。

- 暫定期間中に、すべてのバルク製剤ロットについてNTTP試験を実施中です。MSD社は、全世界で数百ロットを出荷しており、製剤中のNTTP量は有効期間を通して暫定限度値（2.46 ppm）以下であることを保証しています。
- NTTP生成の根本原因に基づき、有効期間を通して長期許容摂取量内でNTTP量を管理するための妥当なNTTP管理戦略は、以下に焦点を当てています。
  - （1）添加剤中の亜硝酸塩含有量の管理、及び（2）原薬であるシタグリプチンリン酸塩へのニトロソ化阻害剤の添加
- 根本原因の調査および是正措置の評価が完了しています。小野薬品工業は、現在、長期管理戦略を裏付けるデータを作成中であり、2023年10月1日までに本邦での製造販売承認事項一部変更承認申請を行う予定です。
- 「4-2. NTTPの理論的発がんリスク」に記載したMSD社による統合リスク評価に基づく、シタグリプチン製品中に現在存在するNTTPの量では、患者に対するリスクはほとんどありません。

引用文献

Bercu, J.P., Zhang, S., Sobol, Z., Escobar, P., Shuler, M. (2023) Comparison of the transgenic rodent mutation assay, error corrected next generation duplex sequencing, and the alkaline comet assay to detect dose-related mutations following exposure to N-nitrosodiethylamine. *Mut. Res.* In press.  
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2023.503685>

Gollapudi, B.B., Jackson, K.M. Stott, W.T. (1998) Hepatic lacI and cII mutation in transgenic (lambda LIZ) rats treated with dimethylnitrosamine. *Mut. Res.* 419(1-3): 131-135.  
[https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(98\)00132-6](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(98)00132-6)

Johnson, G.E., Dobo, K., Gollapudi, B., Harvey, J., Kenny, J., Kenyon, M., Lynch, A., Minocherhomji, S., Nicolette, J., Thybaud, V., Wheeldon, R., Zeller, A. (2021) Permitted daily exposure limits for noteworthy N-nitrosamines. *Environ. Mol. Mutagen.* 62(5):293-305.  
<https://doi.org/10.1002/em.22446>

Zeller, A., Duran-Pacheco, G., Guerard, M. (2017) An appraisal of critical effect sizes for the benchmark dose approach to assess dose-response relationships in genetic toxicology. *Arch. Toxicol.* 91:3799-3807.  
<https://doi.org/10.1007/s00204-017-2037-3>

Kadowaki T, Sarai N, Hirakawa T, Taki K, Iwasaki K, Urushihara H. Persistence of oral antidiabetic treatment for type 2 diabetes characterized by drug class, patient characteristics and severity of renal impairment: A Japanese database analysis. *Diabetes, obesity & metabolism.* 2018;20(12):2830-2839.