

ヨンデリス点滴静注用 0.25 mg

ヨンデリス点滴静注用 1 mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6.1 緒言

大鵬薬品工業株式会社

目次

2.6.1 緒言3

2.6.1 緒言

トラベクテジンは、Pharma Mar, S.A.により創製されたカリブ海産のホヤの一種 *Ecteinascidia turbinata* から単離された3つのテトラヒドロイソキノリンサブユニットによって構成される化合物である。現在は、微生物で産生されたシアノサフラシン B を用いた合成法が確立されている。トラベクテジンの抗腫瘍効果発現に関する複雑な機序は完全には解明されていないが、従来のアルキル化剤とは異なり、トラベクテジンが DNA の副溝部分と結合することが抗腫瘍効果を発揮するための最も重要な薬理作用であると考えられる。

トラベクテジンは従来の抗悪性腫瘍剤とは異なる作用機序を有し、染色体転座陽性のヒト悪性軟部腫瘍をはじめ多くのヒト腫瘍細胞に対して高い増殖抑制効果及び抗腫瘍効果が得られることが示唆されたことから、トラベクテジンを用いた治療法の有用性が期待できるものと考えた。

したがって、トラベクテジンは染色体転座が報告されている組織型の悪性軟部腫瘍患者に対し有用な薬剤と考え、以下の効能・効果（案）及び用法・用量（案）で製造販売承認申請を行うこととした。

- ・ 効能・効果（案）

下記の組織型に該当する悪性軟部腫瘍

粘液型/円形細胞型脂肪肉腫，滑膜肉腫，胞巣型横紋筋肉腫，骨外性 Ewing 肉腫/未熟神経外胚葉性腫瘍，隆起性皮膚線維肉腫，低悪性度線維粘液性肉腫，胞巣状軟部肉腫，明細胞肉腫，類血管腫線維性組織球腫，線維形成性小細胞腫瘍，骨外性粘液型軟骨肉腫，間葉型軟骨肉腫，巨細胞性線維芽細胞腫，子宮内膜間質肉腫

- ・ 用法・用量（案）

通常，成人にはトラベクテジンとして1回 1.2 mg/m²（体表面積）を24時間かけて点滴静注し，少なくとも20日間休薬する．これを1サイクルとして，投与を繰り返す．なお，患者の状態により適宜減量する．

ヨンデリス点滴静注用 0.25 mg

ヨンデリス点滴静注用 1 mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6.2 薬理試験の概要文

大鵬薬品工業株式会社

目次

2.6.2 薬理試験の概要文.....5

2.6.2.1 まとめ.....5

2.6.2.2 効力を裏付ける試験.....6

2.6.2.2.1 作用機序.....6

2.6.2.2.2 *In vitro* 薬理試験.....10

2.6.2.2.3 *In vivo* 薬理試験.....17

2.6.2.3 副次的薬理試験.....19

2.6.2.3.1 正常造血細胞に対する影響.....19

2.6.2.4 安全性薬理試験.....20

2.6.2.4.1 中枢神経系安全性薬理試験.....20

2.6.2.4.2 心血管及び呼吸器安全性薬理試験.....20

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験.....21

2.6.2.6 考察及び結論.....21

2.6.2.7 図表.....21

2.6.2.8 参考文献.....22

図一覧

図 2.6.2.1-1 トラベクテジンの化学構造.....5

図 2.6.2.2.2.1.1-1 ヒト腫瘍細胞株に対するトラベクテジンの増殖抑制効果.....11

図 2.6.2.2.2.1.1-2 ヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株に対するトラベクテジンの増殖抑制効果.....13

図 2.6.2.2.2.1.2-1 ヒト腫瘍細胞株に対するトラベクテジン及びシスプラチンの増殖抑制効果.....15

図 2.6.2.2.3.1-1 ヒト滑膜肉腫細胞株 SYO-1 のヌードマウス皮下移植モデルにおけるトラベクテジン投与時の相対腫瘍体積 (RTV) の経時推移.....17

表一覧

表 2.6.2.2.2.1.1-1 ヒト抽出腫瘍細胞に対するトラベクテジンのコロニー形成抑制効果.....12

表 2.6.2.2.2.1.1-2 トラベクテジンの増殖抑制効果の評価に用いたヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株.....13

表 2.6.2.2.2.1.1-3 染色体転座陽性及び陰性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株に対するトラベクテジンの増殖抑制効果の比較.....13

表 2.6.2.2.2.1.2-1 ヒト悪性軟部腫瘍細胞株に対するトラベクテジン及び他の抗悪性腫瘍剤の増殖抑制効果.....14

表 2.6.2.2.2.1.2-2 ヒト乳癌細胞株に対するトラベクテジン及び他の抗悪性腫瘍剤の増殖抑制効果.....15

| | | |
|-----------------|---|----|
| 表 2.6.2.2.1.2-3 | ヒト腫瘍細胞に対するトラベクテジンと他の抗悪性腫瘍剤とのコロニー形成抑制効果の比較..... | 16 |
| 表 2.6.2.2.3.1-1 | ヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株のヌードマウス皮下移植モデルにおけるトラベクテジンの抗腫瘍効果..... | 18 |
| 表 2.6.2.2.3.1-2 | ヒト及びマウス悪性軟部腫瘍細胞株のマウス移植モデルにおけるトラベクテジンの抗腫瘍効果..... | 18 |
| 表 2.6.2.3.1-1 | ヒト血液前駆細胞に対するトラベクテジンの影響..... | 20 |
| 表 2.6.2.4.2.2-1 | カニクイザル (90 µg/kg 投与) とヒト (1.2 mg/m ² 投与) の血漿中濃度の比較 | 21 |

略号一覧表

| 略号 | 内容 |
|------------------|---|
| Arg | arginine residue : アルギニン残基 |
| BFU-E | burst-forming units-erythroid : 赤芽球バースト形成細胞 |
| CFU-GM | granulocyte-macrophage colony forming units : 顆粒球マクロファージ系細胞 |
| CFU-Meg | megakaryocytic colony-forming units : 巨核球コロニー形成細胞 |
| CFU-Mix | multilineage progenitor cell : 多能性前駆細胞 |
| C _{max} | maximum plasma concentration : 最高血漿中薬物濃度 |
| DSB | DNA double strand break : DNA 二本鎖切断 |
| ECG | electrocardiogram : 心電図 |
| G1 | cellular phase for preparing for DNA synthesis : 細胞周期における DNA 合成の準備期間 |
| G2 | cellular phase between DNA synthesis and mitosis : 細胞周期における DNA 合成から有糸分裂が起こるまでの期間 |
| HR | homologous recombination : 相同組換え |
| IC ₅₀ | inhibitory concentration 50 : 50% 阻害濃度 |
| IKr | rapidly activating delayed rectifier K ⁺ : 膜 K ⁺ 電流 |
| i.v. | intravenous : 静脈内 |
| M | cellular phase for mitotic : 細胞周期における有糸分裂と細胞質分裂が起こる期間 |
| MTD | maximum tolerated dose : 最大耐量 |
| NER | nucleotide excision repair : ヌクレオチド除去修復 |
| Pu | purine base : プリン塩基 |
| Pyr | pyrimidine base : ピリミジン塩基 |
| q4d | quaque 4 die : 4 日ごとに 1 回 |
| q7d | quaque 7 die : 7 日ごとに 1 回 |
| qd | quaque die : 1 日 1 回 |
| QTcF | Fridericia's corrected QT : Fridericia 補正式を用いた QT |
| QTcV | Van de Water's corrected QT : Van de Water 補正式を用いた QT |
| RNAPII | RNA polymerase II : RNA ポリメラーゼ II |
| RTV | relative tumor volume : 相対腫瘍体積 |
| S | cellular phase for DNA synthesis and replication : 細胞周期における DNA 合成や複製が行われる時期 |
| TAM | tumor-associated macrophage : 腫瘍関連マクロファージ |
| TC-NER | transcription-coupled nucleotide excision repair : 転写と共役したヌクレオチド除去修復 |
| TGI | tumor growth inhibition rate : 腫瘍増殖抑制率 |
| TV | tumor volume : 腫瘍体積 |

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

ET-743 (トラベクテジン) は、カリブ海産のホヤの一種である *Ecteinascidia turbinata* から単離されたアルカロイドであり、その化学構造は3つのテトラヒドロイソキノリン環を含む多環骨格によって構成される (図 2.6.2.1-1)。

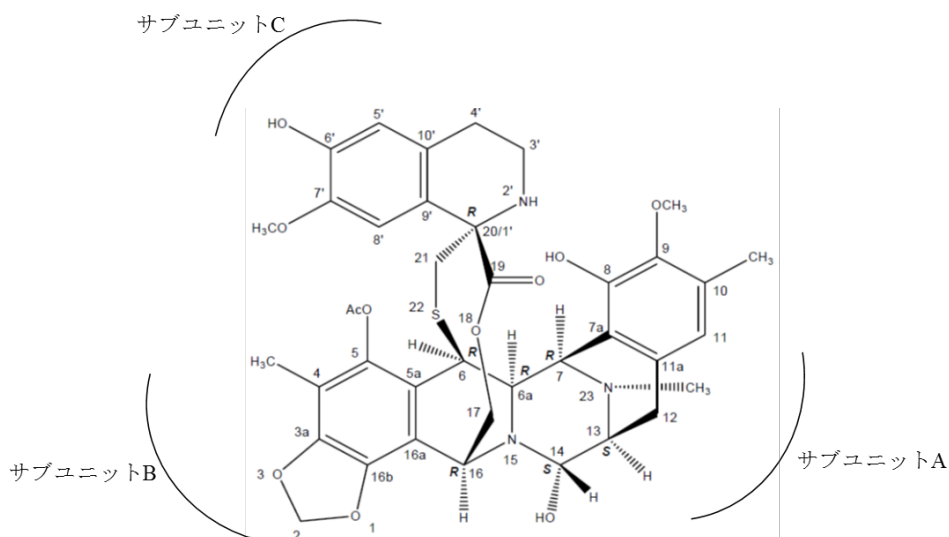


図 2.6.2.1-1 トラベクテジンの化学構造

これらのテトラヒドロイソキノリン環のうち2つ (サブユニット A 及び B) は、DNA 二重らせん構造の副溝と共有結合性の相互作用をすることにより複合体を形成する。第3の環 (サブユニット C) は、DNA 二本鎖から突出しており、近傍に存在するタンパク質群と相互作用する。

トラベクテジンはその3つのサブユニットからなる化学構造により、DNA 及びタンパク質との間で特異的な相互作用をされると考えられており、本作用により様々な細胞機能が影響を受ける。これまでに、転写と共役したヌクレオチド除去修復 (TC-NER) 機構の抑制や DNA 一本鎖切断の誘導、相同組換え (HR) の際の DNA 二本鎖切断の誘導及び転写因子の機能抑制に伴う遺伝子発現制御などが報告されている。また、染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株における特徴的な作用機序として、トラベクテジンは転写因子としての機能を有する転座由来の融合タンパク質の機能を阻害することで、様々な癌関連遺伝子の発現制御を行うことが報告されている。

トラベクテジンの細胞周期に対する作用としては、細胞の S 期中における進行遅延及び G2/M 期での停止のような細胞周期の異常を誘導することが報告されている。

トラベクテジンは腫瘍の微小環境にも作用し、癌細胞におけるサイトカインの産出抑制及び単核食細胞系のアポトーシス誘導に寄与することが報告されている。

トラベクテジンの *in vitro* における細胞増殖抑制効果については、上皮、間葉及び神経外胚葉の固形腫瘍、並びに血液腫瘍を含む様々なヒト腫瘍細胞株を用いて検討された。そして、トラベクテジンはこれらの細胞株に対して濃度依存的な増殖抑制効果を示すことが明らかにされた。

また、トラベクテジンはヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株に対して高い増殖抑制効果を示した。更に、染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株に対するトラベクテジンの効果は、染色体転座陰性の細胞株に対する効果と比較して高かった。

トラベクテジンと他の抗悪性腫瘍剤との *in vitro* における併用効果については、ドキソルビシンとの併用による細胞増殖抑制効果の増強が報告されている。

悪性骨軟部腫瘍細胞株のマウス移植モデルを用いた *in vivo* での抗腫瘍効果については、トラベクテジンは複数の細胞株に対して高い抗腫瘍効果を示し、更に、一部の細胞株に対してその抗腫瘍効果に用量反応性を認めた。

トラベクテジンと他の抗悪性腫瘍剤との *in vivo* での併用効果については、複数のヒト腫瘍細胞株を用いた試験において、投与スケジュール（同時投与及び逐次投与）に関わらずドキソルビシンとの併用による抗腫瘍効果の増強が報告されている。

Irwin の変法による試験では雄性ラットに 50 µg/kg 以下のトラベクテジンを単回静脈投与した。その結果、行動に及ぼす有害な影響、神経障害及び自律神経に対する有害な影響を認めなかった。

トラベクテジン 3 µmol/L 以下の濃度ではヒト *ether-a-go-go* 関連遺伝子 (hERG) トランスフェクト細胞のカリウムチャンネルに顕著な影響を与えなかった。

In vitro 試験に加えて、*in vivo* で麻酔したカニクイザルにトラベクテジン 90 µg/kg を単回 1 時間持続静脈内投与し、心血管機能及び呼吸機能に対するトラベクテジンの影響を検討した。トラベクテジンは、心拍数、第 II 誘導心電図 (ECG) 変数 [RR 間隔, PR 間隔, QT 間隔, Fridericia 補正式を用いた QT (QTcF) 間隔, Van de Water 補正式を用いた QT (QTcV) 間隔及び QRS 時間], ECG 波形及び調律, 左心室の変数である心拍出量, 一回心拍出量及び呼吸機能に影響を及ぼさなかった。また、投与開始後 60~240 分に動脈血圧 (平均, 収縮期及び拡張期) の低下を認めた。しかし、ペントバルビタールナトリウム麻酔では圧受容器反射が低下することが知られていることから、圧受容器反射が正常である無麻酔の動物及びヒトでは、同様の曝露でこのような明らかな血圧低下は認められない可能性がある。

以上より、安全性薬理試験では、トラベクテジンは臨床用量では、中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に明らかな影響を及ぼさないことが示された。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 作用機序

本項では、これまでに報告されているトラベクテジンの作用機序に関する知見を要約した。

トラベクテジンと細胞内高分子との化学的相互作用 (DNA との結合及びヌクレアーゼとの結合) 並びにこれら化学的相互作用が及ぼす生化学レベルへの影響 (DNA 損傷, DNA 修復及び遺伝子発現) に関する知見が報告されている。また、細胞周期への影響やアポトーシス誘導などの細胞レベルにおける生物学的作用及び腫瘍の微小環境への作用も報告されている。

2.6.2.2.1.1 DNAへの結合

トラベクテジンはカルビノールアミンを含有するアルカロイドであり、3つのテトラヒドロイソキノリンサブユニット (サブユニット A, B 及び C) によって構成される (図 2.6.2.1-1)。立体構造モデルの解析結果から、サブユニット A 及び B が DNA 二重らせん構造の副溝部位と共有結合性の相互作用により基本骨格を形成し、サブユニット C が DNA 二本鎖から突き出る形で存在することにより、近傍に存在するタンパク質群との相互作用が可能となる^{1,2,3}。

DNA の主溝部分にあるグアニンの N7 位又は O6 位と結合する従来のアルキル化剤とは異なり、トラベクテジンの反応性 14 位-カルビノールアミン (ヘミアミナル) 基は、DNA 二重らせん構造の副溝の 5'-PuGC-3' 又は 5'-PyrGG-3' に位置する環外 N2 アミノ基と結合する²。DNA に結合した

トラベクテジンは、サブユニット A の N23 位と対側鎖にある修飾グアニンの 5'側に位置する水素結合受容体原子 (O2 位又は N3 位) とが水素結合し、更に、サブユニット B の内部ジエーテル (メチレンジオキシ) 酸素と対側鎖にある修飾グアニンの 3'側に位置する他のグアニンのアミノ基とが水素結合することによって安定化される⁴。特に、TGG 配列及び CGG 配列を含む特異的な 3-5 塩基対の DNA 配列がトラベクテジンの結合親和性が高い部位とされている^{4,5}。また、核磁気共鳴を用いた解析より、特定の DNA 塩基配列を含む水素結合ネットワークが、トラベクテジンのサブユニット A 及び B による DNA の認識に関与することが示唆されている⁶。これらの強固な結合による相互作用の結果として DNA 二重らせん構造の湾曲や副溝の拡張、そして主溝側への DNA の屈曲といった構造変化が誘導されると考えられている⁷。

2.6.2.2.1.2 DNAとの相互作用

トラベクテジンと DNA 及び転写因子とが相互作用することで様々な細胞機能が影響を受けることが報告されている。

2.6.2.2.1.2.1 ヌクレアーゼ活性及びDNA一本鎖切断に対する影響

DNA 修復機構の一つである TC-NER 反応の際に DNA 損傷部分を認識し損傷部位へ動員される複数のヌクレアーゼが機能するが、トラベクテジンを 1~10 nmol/L の濃度で細胞に接触させると、これらのヌクレアーゼとトラベクテジンとが結合し、ヌクレアーゼ活性のない複合体が形成される。その結果、修復不可能な DNA 一本鎖切断が誘発され、細胞死が起こる^{8,9}。

TC-NER 機構が関与するトラベクテジンの作用機序を裏付ける根拠の一つとして、NER 関連遺伝子欠損細胞株に対して、トラベクテジンによる増殖抑制効果の低下が認められる^{8,9,10,11}。それとは逆に、NER 関連遺伝子が野生型及び高発現状態の細胞株に対してトラベクテジンを接触させると、DNA 損傷の誘導が高頻度で発生し、その結果細胞死が誘発される^{8,9,10,11}。また、トラベクテジンは NER 機能が亢進しているシスプラチン耐性細胞に対して高い増殖抑制効果を示すことが報告されている⁸。

分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) の野生株及び突然変異株を用いた解析より、トラベクテジンの作用により生じる DNA 損傷は、主に NER を担うヒト XPG の分裂酵母オルソログである Rad13 タンパク質を介して誘導されることが示唆されている³。トラベクテジンのサブユニット C は Rad13 タンパク質中に存在する 46 残基から成るアミノ酸領域内にあるアルギニン残基 (Arg961) と水素結合する。Rad13, DNA 及びトラベクテジンのサブユニット C によって安定的な三量体が形成され、結果としてトラベクテジンは細胞死を誘導することが示唆されている。

臨床のバイオマーカー研究においては、トラベクテジンの効果と DNA 修復に関わる遺伝子群の発現量との関係を検討した結果、腫瘍内で XPG が高発現している場合、又は BRCA1 が低発現している場合、トラベクテジン投与による臨床転帰が良好であることが報告されている¹²。

トラベクテジンの TC-NER 機構に関わる他の機序としては、ヒト線維芽細胞を用いた解析により、RNA ポリメラーゼ II (RNAPII) の機能を介した機序の存在が示唆されている^{13,14}。転写反応中に RNAPII が DNA 損傷部分を認識することで転写反応が停止し、TC-NER 反応が誘導されるが、細胞にトラベクテジンを 10 nmol/L の濃度で接触させると、RNAPII のメインサブユニットである RPB1 タンパク質の速やかな分解が誘発され、その結果、TC-NER 反応が誘導されなくなることが示唆された。

以上のことから、トラベクテジンの作用機序には、TC-NER 機構が重要な役割を果たすことが示唆された。

2.6.2.2.1.2.2 DNA二本鎖切断の誘導

トラベクテジンによる細胞増殖抑制効果にはNER反応が重要な役割を果たすと考えられるが、DNA二本鎖切断(DSB)修復時に生じるHR反応もトラベクテジンの作用に重要な役割を果たすと考えられている。1~10 nmol/Lのトラベクテジンを哺乳動物由来細胞に接触させると、24時間以内に強固で持続的なDNAとトラベクテジンの複合体が形成される。その結果、DNA複製フォークの崩壊及びDSBが生じる^{15,16}。

トラベクテジンのHR欠損細胞に対する増殖抑制効果は野生型細胞に対する効果より8~23倍高いことが報告されている¹⁷。その理由として、HR欠損細胞ではDSBが発生した際にHR反応が起こらず、その結果染色体異常が生じ、アポトーシスが高頻度に誘導されることが示唆されている。

更に、細胞にトラベクテジンを一度接触させ、その後トラベクテジンを除去した培地で継続して培養すると、HR野生型細胞と欠損細胞との間でDNA二本鎖切断の修復の発生頻度に顕著な差が認められた。トラベクテジンを含まない培地で培養してから6時間後の段階において、HR欠損細胞ではDNA二本鎖切断の修復は認められなかったが、野生型細胞では修復が認められた。同様に、HR経路に関与することが知られているXRCC3及びBRCA2遺伝子を欠損する細胞に対して、トラベクテジンの高い増殖抑制効果が認められたが[IC₅₀(50%阻害濃度)は野生型細胞の1/100未満]、これらの欠損が回復すると、トラベクテジンの増殖抑制効果が低下した¹⁶。

以上のように、DSB修復機能を欠損している細胞に対してトラベクテジンは高い増殖抑制効果を示すことから、トラベクテジンの作用機序にHR経路が重要な役割を果たすことが示唆された。

2.6.2.2.1.2.3 遺伝子発現の制御

トラベクテジンは遺伝子のプロモーターに作用することによってその遺伝子発現に影響を及ぼすが、シスプラチン、ドキシソルビシン及びパクリタキセルのような従来の抗悪性腫瘍剤とは異なる様式で遺伝子発現を制御することが報告されている^{18,19,20,21,22}。

細胞にナノモル濃度のトラベクテジンを接触させると、トラベクテジンはMDR1遺伝子活性化のためのメディエーターであるNF-YやSp遺伝子ファミリーなどの核内因子関連遺伝子群だけでなく、c-fos, c-jun, HSP70, E2F1, H2B及びH4を含む多数の遺伝子の転写を制御することが示唆された^{18,19,20}。

トラベクテジンの活性に関わる重要な因子の一つとしてNF-Yの存在が示唆されている²⁰。通常、NF-YとDNAのGCリッチ配列に結合する転写因子Sp1との相互作用により、クロマチンリモデリングに関わるタンパク質群がプロモーター領域に動員されることでMDR1遺伝子の発現は活性化されるが、トラベクテジンは、NF-Y及びSp1によるMDR1遺伝子の発現を抑制することにより、P糖蛋白による多剤耐性形質の発現が抑制されることが認められた^{21,22}。

2.6.2.2.1.2.4 染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍由来融合遺伝子産物との相互作用

染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍では染色体転座の結果生じる融合遺伝子産物の多くが転写因子として機能し、様々な遺伝子の発現に影響を及ぼすことが報告されている^{23,24,25}。

ヒト粘液型脂肪肉腫細胞株402.91では、染色体転座により生じたFUS-CHOP融合遺伝子が発現しているが、トラベクテジンはFUS-CHOPタンパク質の転写因子としての機能を阻害し、その標的である癌関連遺伝子群(CHOP, PTX3及びFN1)の転写を制御することが報告されている²³。

また、トラベクテジンの投与を受けたヒト粘液型脂肪肉腫細胞株皮下移植ヌードマウス及び粘

液型脂肪肉腫患者の腫瘍組織では、腫瘍中の脂肪分化に関与する転写因子である C/EBP α 及び C/EBP β 、並びに脂肪細胞のマーカーである PPAR γ 2 の発現が上昇し、その結果、粘液型脂肪肉腫組織から正常脂肪組織への分化誘導が起こることが報告されている^{23,26,27}。

更に、ヒト Ewing 肉腫で多く認められる染色体転座により生じた EWS-FLI1 タンパク質も転写因子として機能することが認められるが、トラベクテジンは EWS-FLI1 タンパク質の機能を阻害することで、その標的遺伝子であり腫瘍発生に関与する NR0B1 遺伝子の転写を抑制することが示されている²⁴。

以上のことから、トラベクテジンは染色体転座により生じた融合タンパク質がその標的遺伝子のプロモーター領域へ結合することを阻害し、結果として癌関連遺伝子の発現を制御することが示唆された。

2.6.2.2.1.3 細胞周期に対する影響

In vitro でナノモル濃度のトラベクテジンを各種癌細胞に接触させると、S 期中における進行遅延及び G2/M 期での停止などの細胞周期異常が誘発されることが報告されている^{11,28,29,30,31,32}。

細胞周期の中で G1 期にある細胞が、トラベクテジンに対する感受性が最も高く、この特徴は他の細胞障害性抗悪性腫瘍剤とは異なるものである。また、G2/M 期で停止する細胞の割合は、トラベクテジン濃度又はその作用時間に依存することが示唆されている。

ヒト肺癌細胞株 A549 に対して、トラベクテジンを 24 時間以上 1.8 nmol/L で接触させた細胞は、S 期中における進行遅延が認められている²⁸。また、ヒト結腸腺癌細胞株に対してトラベクテジンを 1 時間接触させた場合にも同様の作用が認められ、その後培地からトラベクテジンを除去した場合にも細胞の S 期中における進行遅延が生じ、G2/M 期で停止した²⁹。その際、G1 期にある細胞は、他の細胞周期にある細胞よりトラベクテジンに対する高い感受性を示した²⁹。

ヒトメラノーマ細胞株に対してトラベクテジンを 1 nmol/L で 1 時間接触させた場合、細胞は不可逆的に G2/M 期で停止した後、細胞周期異常及びアポトーシスの活性化が生じることが報告されている³⁰。また、ヒト子宮頸癌、結腸癌及び白血病細胞株に 10 nmol/L のトラベクテジンを 24 時間接触させた場合にも同様の作用が認められている^{31,32}。その際、トラベクテジンを細胞に 1 時間という短時間接触させた場合にも G2/M 期における細胞の蓄積が認められた。ヒト結腸癌 HCT-116 細胞株においては、その後トラベクテジンを培地から除去して 24 時間経過した後にもその状態が持続することが認められた³¹。

トラベクテジンの細胞周期に対する影響は、卵巣癌細胞（チャイニーズハムスター卵巣 AA8 細胞、NER 高発現 ERA-5 サブクローン細胞及び NER 欠損 UV-96 サブクローン細胞）においてコンピュータシミュレーション法を用いて詳細に検討されている¹¹。NER が欠損しているか否かにより、各細胞周期にある細胞のトラベクテジンに対する感受性に差異が認められた。このことから、細胞に対するトラベクテジンの作用に NER が重要な役割を果たすことが示唆された。

2.6.2.2.1.4 腫瘍微小環境に対する影響

炎症促進作用をもつメディエーターである CCL2 及び IL-6 の産生量は、腫瘍局所での炎症活性の高さと正の相関関係にあり、これらは腫瘍の増殖、悪液質の発生及び卵巣癌や多発性骨髄腫などの様々な癌の転移によって二次的に生じる骨融解を促進させる機能を持つことが報告されているが、単球、マクロファージ、腫瘍関連マクロファージ (TAM) 及びヒト卵巣癌細胞を用いた *in vitro* による評価において、トラベクテジンは濃度依存的に各細胞中の CCL2 及び IL-6 の細胞外への産生を抑制した³³。また、細胞にトラベクテジンを接触させると CCL2 においてはその転写レベル

が抑制された。一方、ドキソルビシン及びタキソールでは、これらの遺伝子の発現への影響は認められなかった。

炎症性メディエーター及び TAM は癌によって引き起こされる炎症反応を誘発し、腫瘍増殖や抗癌剤耐性に関与していることから、有望な抗癌剤のターゲットであると考えられるが、トラベクテジンは TAM を含む単核食細胞系に作用し、アポトーシスを引き起こすことが報告されている^{34, 35}。

以上のことから、トラベクテジンによるサイトカイン類の産生抑制作用及び単核食細胞系に対するアポトーシス誘導作用がその抗腫瘍効果に寄与している可能性が考えられる。

これらの現象は、トラベクテジンの投与を受けた悪性軟部腫瘍患者の腫瘍組織においても同様に観察されたことから³⁵、トラベクテジンの有用性を示す作用機序の一つである可能性が示唆された。

2.6.2.2.2 *In vitro* 薬理試験

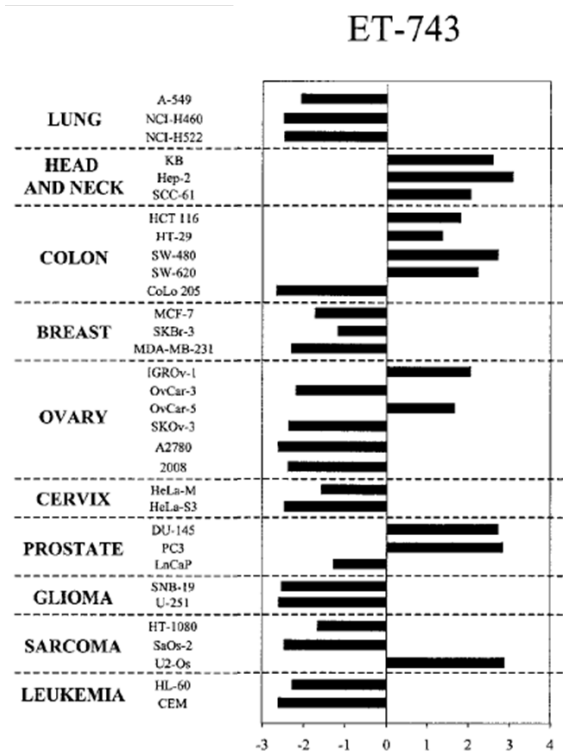
他の抗悪性腫瘍剤に耐性を有する細胞株を含め、様々なヒト腫瘍細胞株に対する *in vitro* でのトラベクテジンの強い増殖抑制効果及びコロニー形成抑制効果が報告されている。また、ドキソルビシンとの併用による増殖抑制効果の相加又は相乗作用が報告されている。

2.6.2.2.1 細胞増殖抑制効果

2.6.2.2.1.1 ヒト腫瘍細胞株に対する増殖抑制効果

様々なヒト腫瘍細胞株を用いた *in vitro* 試験において、トラベクテジンの増殖抑制効果が報告されている^{24, 34, 36, 37}。また、染色体転座陽性細胞株を含むヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株に対するトラベクテジンの増殖抑制効果を評価した。

ヒト肺癌、頭頸部癌、大腸癌、乳癌、卵巣癌、子宮頸癌、前立腺癌、神経膠腫、悪性骨軟部腫瘍及び白血病細胞株に対するトラベクテジンの増殖抑制効果が報告されている³⁶。トラベクテジンを細胞株ごとに3~4世代時間連続接触させた結果、すべての細胞株に対して増殖抑制効果が認められた(図 2.6.2.2.1.1-1)。



各ヒト腫瘍細胞株に対するトラベクテジン (ET-743) の IC₅₀ (nmol/L) : 0.56 × 2 (横軸の値)

第 4.3.36 項 参考文献 Poindessous V, et al. Figure 4 抜粋及び改変

図 2.6.2.2.1.1-1 ヒト腫瘍細胞株に対するトラベクテジンの増殖抑制効果

また、複数のヒト抽出腫瘍細胞に対するトラベクテジンのコロニー形成抑制効果が報告されている³⁷。細胞を 10 nmol/L のトラベクテジンに 14 日間連続接触させ、50% より高いコロニー形成抑制率が認められたときに効果ありと判定した結果、評価した細胞の 49% においてコロニー形成抑制効果が認められ、更に、その多くのヒト腫瘍細胞に対してトラベクテジンの濃度依存性が認められた (表 2.6.2.2.1.1-1)。ヒト卵巣癌細胞においては、1.0 nmol/L の低濃度でもトラベクテジンのコロニー形成抑制効果が認められた。

表 2.6.2.2.2.1.1-1 ヒト摘出腫瘍細胞に対するトラベクテジンのコロニー形成抑制効果

| Tumor type | Number of Evaluable Specimens | 1.0 nmol/L | 10 nmol/L | 100 nmol/L | 1.0 μmol/L |
|---------------------|-------------------------------------|------------|-------------|-------------|--------------|
| Ovary | 21 | 2/9 (22%) | 9/20 (45%) | 7/12 (58%) | 8/12 (67%) |
| Breast | 15 | 0/1 (0%) | 6/15 (40%) | 11/14 (79%) | 14/14 (100%) |
| Non-small-cell lung | 14 | 0/1 (0%) | 7/14 (50%) | 9/13 (69%) | 11/13 (85%) |
| Colon | 8 | 0/1 (0%) | 4/8 (50%) | 3/7 (43%) | 5/7 (71%) |
| Melanoma | 8 | - | 5/7 (71%) | 7/8 (88%) | 6/7 (86%) |
| Kidney | 7 | 0/1 (0%) | 3/7 (43%) | 3/6 (50%) | 4/6 (67%) |
| Unknown primary | 5 | - | 1/5 (20%) | 1/5 (20%) | 3/5 (60%) |
| Sarcoma | 4 | 0/1 (0%) | 3/4 (75%) | 2/3 (67%) | 2/3 (67%) |
| Corpus uteri | 3 | - | 2/3 (67%) | 2/3 (67%) | 2/3 (67%) |
| Peritoneum | 1 | 0/1 (0%) | 1/1 (100%) | - | - |
| Head/neck | 1 | 0/1 (0%) | 1/1 (100%) | - | - |
| Lymphoma | 1 | - | 0/1 (0%) | 0/1 (0%) | 0/1 (0%) |
| Pancreas | 1 | - | 1/1 (100%) | 1/1 (100%) | 1/1 (100%) |
| Mesothelioma | 1 | - | 1/1 (100%) | 1/1 (100%) | 1/1 (100%) |
| Prostate | 1 | - | 0/1 (0%) | 0/1 (0%) | 0/1 (0%) |
| Stomach | 1 | - | 0/1 (0%) | 0/1 (0%) | 1/1 (100%) |
| Total | 92 | 2/16 (13%) | 44/90 (49%) | 47/76 (62%) | 58/75 (77%) |

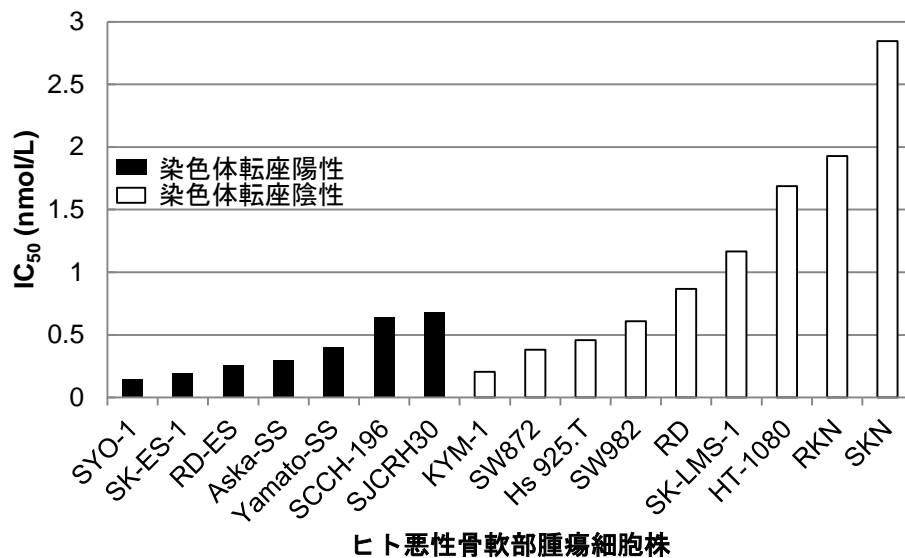
第 4.3.37 項 参考文献 Izbicka E, et al. Table 1b 抜粋及び改変

ヒト悪性骨軟部腫瘍に対するトラベクテジンの効果を確認するために、染色体転座陽性の株を含む複数のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株に対するトラベクテジンの増殖抑制効果を評価した（第 4.2.1.1.1 項）。染色体転座陽性の株として、Aska-SS, RD-ES, SCCH-196, SJCRH30, SK-ES-1, SYO-1 及び Yamato-SS の 7 株、並びに染色体転座陰性の株として、Hs 925.T, HT-1080, KYM-1, RD, RKN, SK-LMS-1, SKN, SW872 及び SW982 の 9 株を用いた（表 2.6.2.2.2.1.1-2）。トラベクテジンは各細胞株に 72 時間連続接触させた。トラベクテジンの IC₅₀ は染色体転座陽性の株に対して 0.145~0.683 nmol/L、染色体転座陰性の株に対して 0.205~2.846 nmol/L となり、評価したすべての細胞株に対してトラベクテジンは増殖抑制効果を示した（図 2.6.2.2.2.1.1-2）。また、染色体転座陽性及び陰性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株に対するトラベクテジンの IC₅₀ の幾何平均値を比較した結果、トラベクテジンは染色体転座陰性よりも陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株で有意に高い増殖抑制効果を示した（表 2.6.2.2.2.1.1-3）。

表 2.6.2.2.2.1.1-2 トラベクテジンの増殖抑制効果の評価に用いたヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株

| 染色体転座 | 細胞株 | 組織型 | 融合遺伝子 |
|-------|-----------|---------------------------|----------------|
| 陽性 | Aska-SS | Synovial sarcoma | SS18-SSX1 |
| | RD-ES | Ewing's sarcoma | EWS-FLI1 |
| | SCCH-196 | Small round cell sarcoma | EWS-FLI1 |
| | SJCRH30 | Alveolar rhabdomyosarcoma | PAX3-FOXO1 |
| | SK-ES-1 | Ewing's sarcoma | EWS-FLI1 |
| | SYO-1 | Synovial sarcoma | SS18-SSX2 |
| | Yamato-SS | Synovial sarcoma | SS18-SSX1 |
| 陰性 | Hs 925.T | Pagetoid sarcoma | not determined |
| | HT-1080 | Fibrosarcoma | |
| | KYM-1 | Rhabdomyosarcoma | |
| | RD | Rhabdomyosarcoma | |
| | RKN | Leiomyosarcoma | |
| | SK-LMS-1 | Leiomyosarcoma | |
| | SKN | Leiomyosarcoma | |
| | SW872 | Liposarcoma | |
| | SW982 | Synovial sarcoma | |

第 4.2.1.1.1 項 試験報告書 No.13SA01 3.1.4 本文より作表



第 4.2.1.1.1 項 試験報告書 No.13SA01 図 7-18 改変

図 2.6.2.2.2.1.1-2 ヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株に対するトラベクテジンの増殖抑制効果

表 2.6.2.2.2.1.1-3 染色体転座陽性及び陰性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株に対するトラベクテジンの増殖抑制効果の比較

| 染色体転座 | 細胞株数 | IC ₅₀ の幾何平均値 (nmol/L) | IC ₅₀ の幾何平均値比 (95% 信頼区間) |
|-------|------|----------------------------------|-------------------------------------|
| 陰性 | 9 | 0.837 | 1 |
| 陽性 | 7 | 0.325 | 0.388 (0.172-0.875) |

第 4.2.1.1.1 項 試験報告書 No.13SA01 表 8-4 改変

上記試験と同様に、様々なヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株に対するトラベクテジンの増殖抑制効果を評価した成績が報告されている²⁴。染色体転座陽性の株は、TC71, TC32, EW8, SCS991 及び RH30 の 5 株、並びに染色体転座陰性の株は、RD, SAOS, U2OS 及び HOS の 4 株が用いられ、トラベクテジンを 48 時間連続で接触させた。その結果、トラベクテジンは評価されたすべての細胞株に対して増殖抑制効果を示し、その IC₅₀ は染色体転座陽性の株に対しては 0.4~2 nmol/L、染色体転座陰性の株に対しては 4~6 nmol/L であった。

染色体転座により生じた FUS-CHOP 融合遺伝子を発現するヒト粘液型脂肪肉腫細胞株 402.91 に対するトラベクテジンのコロニー形成抑制効果及び増殖抑制効果が報告されている³⁴。トラベクテジンを 0.5~10 nmol/L の濃度で 1 時間接触させ、その後トラベクテジンを培地から除去し 15 日経過した後におけるコロニー形成抑制効果が評価された。その結果、トラベクテジンのコロニー形成抑制作用の IC₅₀ は 1.5 nmol/L であった。また、トラベクテジンを 2.5 nmol/L、5 nmol/L 及び 10 nmol/L の濃度で 1 時間接触させた後、培地からトラベクテジンを除去してから 72 時間後までの生細胞数を経時的に計測した。その結果、トラベクテジンの濃度依存的な細胞増殖抑制効果が認められた。

染色体転座によって生じる融合遺伝子は、複数のヒト悪性骨軟部腫瘍でその存在が認められており、その多くが細胞内で転写因子として機能していることが報告されている²⁵。トラベクテジンは第 2.6.2.2.1.2.4 項で記載したとおり、染色体転座により生じた融合遺伝子である FUS-CHOP 及び EWS-FLI1 の転写因子としての機能を抑制することが報告されており、また、その他の多くの染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞においても、それら融合遺伝子の転写因子としての機能を阻害することで増殖抑制効果及び抗腫瘍効果を示す可能性がある。

以上のことから、トラベクテジンは、多くのヒト腫瘍細胞株に対して増殖抑制効果を示し、染色体転座陽性の悪性骨軟部腫瘍細胞株に対してはより高い増殖抑制効果を有していることが示唆された。

2.6.2.2.1.2 他の抗悪性腫瘍剤との細胞増殖抑制効果の比較

トラベクテジンの細胞増殖抑制効果について他の抗悪性腫瘍剤と比較した結果が報告されている（表 2.6.2.2.1.2-1, 表 2.6.2.2.1.2-2）^{38, 39}。

表 2.6.2.2.1.2-1 ヒト悪性軟部腫瘍細胞株に対するトラベクテジン及び他の抗悪性腫瘍剤の増殖抑制効果

| Cell lines | IC ₅₀ (nmol/L) | | | | | | |
|--------------|---------------------------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | HT-1080 | M8805 | HS-90 | HS-16 | HS-18 | HS-30 | HS-42 |
| Trabectedin | 0.0002 | 0.0006 | 0.001 | 0.02 | 0.06 | 0.3 | 0.004 |
| Methotrexate | 15 | 230 | 45 | 36 | 110 | 95 | 25 |
| Doxorubicin | 20 | 110 | 30 | 160 | 60 | 50 | 10 |
| VP-16 | 18 | 90 | 22 | 48 | 39 | 18 | 16 |
| Paclitaxel | 0.2 | 0.8 | 0.3 | 0.8 | 0.8 | 0.2 | 0.2 |

第 4.3.38 項 参考文献 Li WW, et al. Table 1 改変

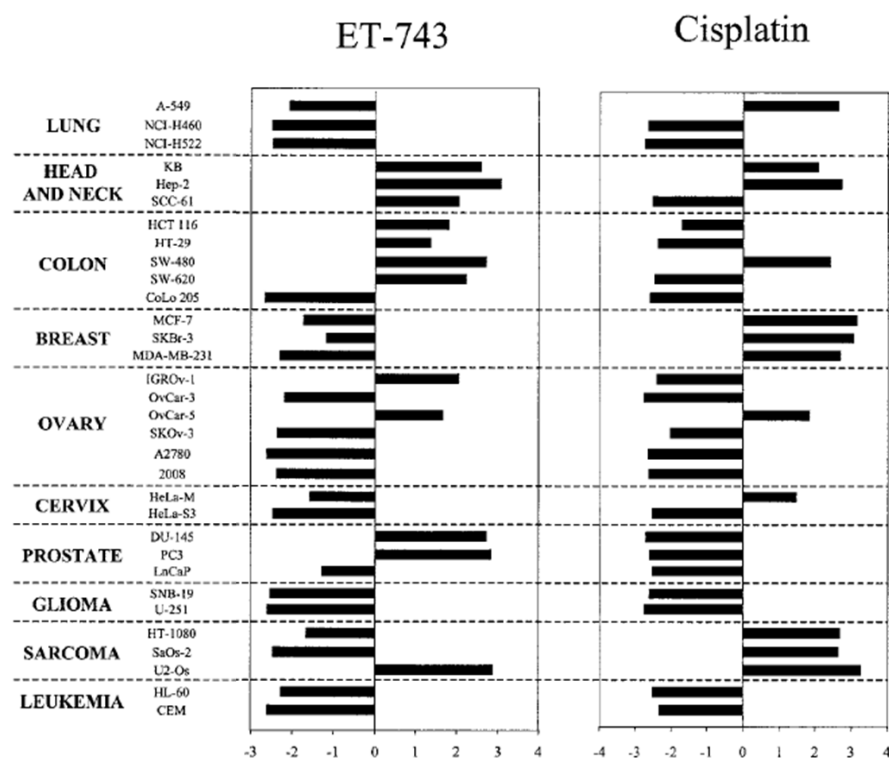
表 2.6.2.2.1.2-2 ヒト乳癌細胞株に対するトラベクテジン及び他の抗悪性腫瘍剤の増殖抑制効果

| Cell lines | IC ₅₀ (nmol/L) | |
|----------------|---------------------------|------|
| | MX-1 | MCF7 |
| Trabectedin | 0.1 | 1.5 |
| Doxorubicin | 3.8 | 130 |
| Cisplatin | 160 | 1450 |
| 5-fluorouracil | 0.37 | 8200 |
| Camptothecin | 25.0 | 9.6 |
| Paclitaxel | 2.8 | 6.4 |

第 4.3.39 項 参考文献 Takahashi N, et al. Table 1 抜粋及び改変

ヒト腫瘍細胞株に対するトラベクテジンの増殖抑制効果は、多くの場合他の抗悪性腫瘍剤と比較して高いことが示唆された。

更に多くのヒト腫瘍細胞株を用いて、トラベクテジンとシスプラチンとの間で増殖抑制効果を比較した結果が報告されている³⁶。トラベクテジン及びシスプラチンを細胞株ごとに3~4世代時間連続接触させた際の細胞増殖抑制効果を評価した結果、すべての細胞株に対する平均 IC₅₀ はトラベクテジンで 0.56 nmol/L、シスプラチンで 2.1 μmol/L となり、トラベクテジンの高い増殖抑制効果が示唆された (図 2.6.2.2.1.2-1)。



各ヒト腫瘍細胞株に対するトラベクテジン (ET-743) の IC₅₀ (nmol/L) : 0.56 × 2 (横軸の値)

各ヒト腫瘍細胞株に対するシスプラチン (Cisplatin) の IC₅₀ (μmol/L) : 2.1 × 2 (横軸の値)

第 4.3.36 項 参考文献 Poindessous V, et al. Figure 4 抜粋及び改変

図 2.6.2.2.1.2-1 ヒト腫瘍細胞株に対するトラベクテジン及びシスプラチンの増殖抑制効果

コロニー形成抑制効果について 10 nmol/L のトラベクテジンと他の抗悪性腫瘍剤とを比較した成績が報告されている³⁷。細胞を 10 nmol/L のトラベクテジン及び諸濃度の他の抗悪性腫瘍剤に 14 日間連続接触させ、50% より高いコロニー形成抑制率が認められた場合に効果ありと判定した。その結果、トラベクテジンは他の抗悪性腫瘍剤と比較して全般的にコロニー形成抑制効果が高いことが示唆された (表 2.6.2.2.1.2-3)。

表 2.6.2.2.1.2-3 ヒト腫瘍細胞に対するトラベクテジンと他の抗悪性腫瘍剤とのコロニー形成抑制効果の比較

| Agent | Concentration ^{a)} (µg/mL) | S/S ^{b)} | S/R ^{c)} | R/S ^{d)} | R/R ^{e)} | Total |
|----------------------------|--|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------|
| Alkylating agents | | | | | | |
| Cytosin | 3.0 | 6 | 6 | 1 | 12 | 25 |
| Adriamycin | 0.04 | 1 | 17 | 1 | 12 | 31 |
| Cisplatin | 0.2 | 5 | 18 | 0 | 28 | 51 |
| Hydroxyhexa-methylmelamine | | | | | | |
| BCNU | 0.1 | 0 | 4 | 0 | 1 | 5 |
| Tubulin-interacting agents | | | | | | |
| Paclitaxel | 0.25 | 2 | 14 | 1 | 17 | 34 |
| Paclitaxel | 2.5 | 4 | 15 | 1 | 22 | 42 |
| Paclitaxel | 10 | 10 | 6 | 6 | 11 | 33 |
| Vinblastine | 0.05 | 0 | 3 | 1 | 3 | 7 |

a) 使用した抗悪性腫瘍剤の接触濃度は、臨床で認められる最高血漿中濃度の 0.1~1.0 倍相当である。

b) S/S ; 両剤に対して効果あり

c) S/R ; トラベクテジンに対してのみ効果あり

d) R/S ; トラベクテジンに対してのみ効果なし

e) R/R ; 両剤に対して効果なし

第 4.3.37 項 参考文献 Izbicka E, et al. Table 2

2.6.2.2.2.2 ドキソルビシンとの併用による細胞増殖抑制効果

ヒト悪性軟部腫瘍細胞株 (HT-1080, HS-18 及び TE-671) に対してトラベクテジン及びドキソルビシンを同時に接触させることで、併用による細胞増殖抑制作用の相加又は相乗効果が認められている^{40,41}。HT-1080 と HS-18 においては、72 時間同時に連続接触させることで相乗効果が認められた。また、HT-1080 と HS-18 に対するトラベクテジンとドキソルビシンとの併用効果について、それらの細胞への接触順序を検討した結果、トラベクテジンを接触させた後にドキソルビシンを接触させるスケジュールにおいて最も高い細胞増殖抑制効果の増強が認められた。HT-1080 を用いた評価において、トラベクテジンとドキソルビシンを 72 時間同時接触させた場合の 90% 細胞増殖抑制濃度は、トラベクテジン及びドキソルビシンをそれぞれ単独で 72 時間連続接触させた場合の 90% 細胞増殖抑制濃度と比較して、それぞれ 1.5 倍及び 6.7 倍低下した。また、トラベクテジンを 24 時間接触させた後にドキソルビシンを追加して更に 48 時間反応させる逐次併用させた場合は、同じくそれぞれ 3.75 倍及び 11.8 倍低下した。

また、ヒト骨肉腫細胞株である U-2 OS 及び Saos-2 に対しても、トラベクテジンとドキソルビシンとの併用による増殖抑制作用の相加又は相乗効果が認められた⁴²。

同様に、ヒト乳癌細胞株である MCF7 及び MX-1 を用いた場合にも、96 時間連続接触させることによって、トラベクテジンとドキソルビシンの相加的な細胞増殖抑制効果が認められた³⁹。

更に、抗悪性腫瘍剤非投与の悪性骨軟部腫瘍患者から採取し樹立した細胞株に対して、それらの p53 ステータスに関わらず、トラベクテジンは $IC_{50} < 1 \text{ nmol/L}$ でコロニー形成抑制効果を示した⁴³。一方、ドキソルビシンについては同様の現象は観察されず、トラベクテジンとドキソルビシンとの間に交叉耐性は認められないことが報告されている。

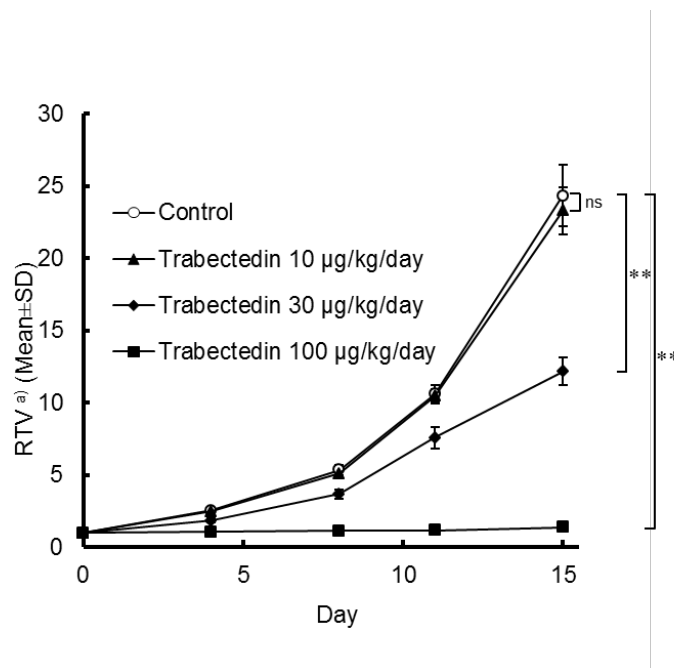
以上の結果から、*in vitro* においてトラベクテジンとドキソルビシンを併用することによって、相加的又は相乗的な細胞増殖抑制効果が得られることが示された。

2.6.2.2.3 *In vivo*薬理試験

複数のヒト及びマウス悪性骨軟部腫瘍細胞株のマウス移植モデルを用いて、*in vivo* におけるトラベクテジンの単独投与及びドキソルビシンとの併用投与での抗腫瘍効果を評価した。

2.6.2.2.3.1 マウス移植モデルにおける抗腫瘍効果

SS18-SSX2 融合遺伝子を発現するヒト滑膜肉腫細胞株 SYO-1 のヌードマウス皮下移植モデルを用いて、トラベクテジンの抗腫瘍効果及びその用量依存性を評価した（第 4.2.1.1.2 項）。群分け日を Day 0 とし、トラベクテジンを $10 \mu\text{g/kg/day}$ 、 $30 \mu\text{g/kg/day}$ 及び $100 \mu\text{g/kg/day}$ （最大耐薬量）の用量で Day 1、Day 5 及び Day 9 の計 3 回尾静脈内投与した。Day 15 における腫瘍増殖抑制率 (TGI) は、トラベクテジン $10 \mu\text{g/kg/day}$ 、 $30 \mu\text{g/kg/day}$ 及び $100 \mu\text{g/kg/day}$ 投与群でそれぞれ 4.3%、50.0% 及び 94.3% となり、 $30 \sim 100 \mu\text{g/kg/day}$ の範囲でトラベクテジンの用量依存的な抗腫瘍効果を認めた（図 2.6.2.2.3.1-1）。



** : $p < 0.01$ (Williams' test)

ns : not significant

a) 各測定日と Day 0 における腫瘍体積 (TV) の比より RTV を算出した。

$$RTV = (TV \text{ on Day } n) / (TV \text{ on Day } 0)$$

第 4.2.1.1.2 項 試験報告書 No.13TA06 図 9-1 改変

図 2.6.2.2.3.1-1 ヒト滑膜肉腫細胞株 SYO-1 のヌードマウス皮下移植モデルにおけるトラベクテジン投与時の相対腫瘍体積 (RTV) の経時推移

次に、複数のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株のヌードマウス皮下移植モデルを用いて、トラベクテジンの抗腫瘍効果を評価した（第 4.2.1.1.3 項，第 4.2.1.1.4 項，第 4.2.1.1.5 項，第 4.2.1.1.6 項，及び第 4.2.1.1.7 項）。染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株として，SK-ES-1 及び SJCRH30 を，染色体転座陰性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株として KHOS/NP, RD 及び SK-LMS-1 を用いた。群分け日を Day 0 とし，トラベクテジンを 100 µg/kg/day の用量で Day 1, Day 5 及び Day 9 の計 3 回尾静脈内投与した。その結果，SK-ES-1, SJCRH30, KHOS/NP, RD 及び SK-LMS-1 の Day 15 における TGI は，それぞれ 62.7%，48.8%，73.6%，56.0% 及び 38.4% となり，すべての細胞株に対して有意なトラベクテジンの抗腫瘍効果を認めた（表 2.6.2.2.3.1-1）。

表 2.6.2.2.3.1-1 ヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株のヌードマウス皮下移植モデルにおける
トラベクテジンの抗腫瘍効果

| Cell lines (Tissue type) | Drug | Dose (µg/kg/day) | Treatment | RTV ^{a)} (mean ± SD) | TGI ^{b)} (%) |
|--|-------------|---------------------|-------------------|----------------------------------|--------------------------|
| SK-ES-1 (Ewing's sarcoma) | Control | – | Day 1, 5, 9, i.v. | 13.69 ± 0.67 | - |
| | Trabectedin | 100 | Day 1, 5, 9, i.v. | 5.11 ± 0.17 ** | 62.7 |
| SJCRH30 (Alveolar rhabdomyosarcoma) | Control | – | Day 1, 5, 9, i.v. | 15.23 ± 0.67 | - |
| | Trabectedin | 100 | Day 1, 5, 9, i.v. | 7.80 ± 0.56 ** | 48.8 |
| KHOS/NP (Osteosarcoma) | Control | – | Day 1, 5, 9, i.v. | 19.85 ± 0.58 | - |
| | Trabectedin | 100 | Day 1, 5, 9, i.v. | 5.24 ± 0.56 ** | 73.6 |
| RD (Rhabdomyosarcoma) | Control | – | Day 1, 5, 9, i.v. | 9.52 ± 0.44 | - |
| | Trabectedin | 100 | Day 1, 5, 9, i.v. | 4.19 ± 0.26 ** | 56.0 |
| SK-LMS-1 (Leiomyosarcoma) | Control | – | Day 1, 5, 9, i.v. | 32.58 ± 2.86 | - |
| | Trabectedin | 100 | Day 1, 5, 9, i.v. | 20.06 ± 1.46 ** | 38.4 |

** : p < 0.01 (Aspin-Welch's t-test)

a) RTV = (TV on Day 15) / (TV on Day 0)

b) TGI (%) = [(コントロール群の RTV) - (トラベクテジン群の RTV)] / (コントロール群の RTV) × 100
 第 4.2.1.1.3 項 試験報告書 No.13TA01 表 7-1, 第 4.2.1.1.4 項 試験報告書 No.13TA02 表 7-1, 第 4.2.1.1.5 項 試験報告書 No.13TA03 表 7-1, 第 4.2.1.1.6 項 試験報告書 No.13TA04 表 7-1 及び第 4.2.1.1.7 項 試験報告書 No.13TA05 表 7-1 抜粋, 改変及び合体

また，ヒト及びマウス悪性軟部腫瘍細胞株のマウス移植モデルを用いた試験結果が報告されており，これらの試験系においてもトラベクテジンの抗腫瘍効果が認められている（表 2.6.2.2.3.1-2）
 44, 45

表 2.6.2.2.3.1-2 ヒト及びマウス悪性軟部腫瘍細胞株のマウス移植モデルにおける
トラベクテジンの抗腫瘍効果

| Tumor cell line | Route and schedule | Trabectedin dose | TGI ^{e)} |
|------------------------------|---|---------------------------|-------------------|
| TE-671 rhabdomyosarcoma | qd ^{a)} × 1 i.v. ^{b)} | 200 µg/kg/day on day 0 | 33% on day 19 |
| M5076 reticulum cell sarcoma | q7d ^{c)} × 2 i.v. | 150 µg/kg/day on day 0, 7 | 64% on day 18 |
| CHSA chondrosarcoma | q4d ^{d)} × 3 i.v. | 100 µg/kg/day on day 0 | 82% on day 19 |
| | | 50 µg/kg/day on day 4, 8 | |

a) qd : 1 日 1 回

b) i.v. : 静脈内

c) q7d : 7 日ごとに 1 回

d) q4d : 4 日ごとに 1 回

e) TGI (%) : 100 - [(トラベクテジン群の腫瘍重量) / (コントロール群の腫瘍重量) × 100]
 第 4.3.44 項 参考文献 Donald S, et al. Table 1 と第 4.3.45 項 参考文献 Morioka H, et al. Table 1
 を合体及び改変

染色体転座陽性のヒト悪性軟部腫瘍の一つである粘液型脂肪肉腫では FUS-CHOP 融合遺伝子の発現が確認されているが、FUS-CHOP のサブタイプの違いによってトラベクテジンの抗腫瘍効果及び脂肪組織への分化能の程度に差異が生じることが報告されている^{27,46}。FUS-CHOP type I, type II 又は type III を発現する粘液型脂肪肉腫細胞株のヌードマウス皮下移植モデルにおいて、いずれのサブタイプにおいてもトラベクテジン投与による抗腫瘍効果が認められた。その程度は FUS-CHOP type III と比較して FUS-CHOP type I 及び type II を発現する腫瘍に対して高いことが観察され、更にこれら 2 つの腫瘍では脂肪細胞のマーカーである PPAR γ 2 遺伝子の発現上昇に伴う腫瘍組織の脂肪組織への分化が認められた²⁷。このことから、ヒト粘液型脂肪肉腫に対するトラベクテジンの抗腫瘍効果には、FUS-CHOP タンパク質の機能が寄与することが示唆された。

以上の試験結果より、ヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株に対してトラベクテジンは高い抗腫瘍効果を有することが示された。

2.6.2.2.3.2 ドキソルビシンの併用による抗腫瘍効果

マウス線維肉腫由来細胞株 UV2237 M とヒト横紋筋肉腫由来細胞株 TE-671 を用いた、*in vivo* におけるトラベクテジンとドキソルビシンの併用効果が報告されている⁴¹。両剤の併用による抗腫瘍効果の増強は、その投与スケジュール（同時投与又は逐次投与）に関わらず認められた。TE-671 に対しては、至適用量（トラベクテジン 100 μ g/kg 及びドキソルビシン 10 mg/kg）を用いた場合、それぞれ単剤で投与した場合よりも抗腫瘍効果が約 1.5~1.8 倍増強されたが、その際に薬剤投与スケジュールの違い（同時投与又は逐次投与）による効果の違いは認められなかった。両剤併用による一時的なマウスの体重減少が観察されたが、薬剤投与後に回復することが確認された。また、トラベクテジンとドキソルビシンの併用による転移抑制効果についても併せて評価されており、静脈から移植したマウス線維肉腫細胞株 UV2237 M 及びドキソルビシン耐性を有する UV2237 M の肺転移能が、両剤の併用投与により抑制されることが示唆された。

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 正常造血細胞に対する影響

トラベクテジンの骨髄/血液毒性の可能性を評価するため、種々の処理スケジュールを用いて、マウス⁴⁷及びヒト⁴⁸造血前駆細胞に関する試験を実施した。幹細胞コロニー形成アッセイ法を用いた顆粒球マクロファージ系細胞（CFU-GM）、赤芽球バースト形成細胞（BFU-E）、巨核球コロニー形成細胞（CFU-Meg）及び多能性前駆細胞（CFU-Mix）にトラベクテジンを 1~24 時間処理した。マウス前駆細胞及びヒト前駆細胞で増殖阻害を認め、1~3 時間の処理後より有意に増殖が阻害された。この効果はすべての細胞種で処理時間が長いほど顕著であり、細胞毒性を高めるためには長時間処理が重要であることを示している。CFU-Meg は他の前駆細胞よりトラベクテジンへの感受性が高かった（表 2.6.2.3.1-1）。これは、トラベクテジンが投与された患者で血小板数減少が発現する可能性があることを示唆している。

表 2.6.2.3.1-1 ヒト血液前駆細胞に対するトラベクテジンの影響

| Time of Drug Exposure (hr) | IC ₅₀ (nmol/L) | | | |
|----------------------------|---------------------------|--------|---------|---------|
| | CFU-GM | BFU-E | CFU-Mix | CFU-Meg |
| 1 | 220±30 | 120±30 | 40±20 | 50±20 |
| 3 | 120±20 | 40±10 | 60±20 | 30±10 |
| 6 | 80±20 | 41±9 | 50±10 | 30±9 |
| 8 | 82±20 | 40±12 | 60±20 | 20±2 |
| 24 | 50±10 | 30±5 | 40±15 | 10±1 |

第 4.3.48 項 参考文献 Albella B, et al. Table 2 抜粋

2.6.2.4 安全性薬理試験

試験概要を概要表 2.6.3.4 に記載した。

2.6.2.4.1 中枢神経系安全性薬理試験

Irwin の変法の試験を用いて全身活動及び行動に対するトラベクテジンの影響の可能性を検討した (第 4.2.1.3.1 項)。雄性ラットに 12.5, 25 及び 50 µg/kg/day を単回静脈内投与し、投与後 24 時間及び 7 日間にわたって投与後の変化を評価した。その結果、行動に及ぼす有害な影響、神経学的障害及び自律神経に対する有害な影響を認めなかった。

2.6.2.4.2 心血管及び呼吸器安全性薬理試験

2.6.2.4.2.1 *In vitro*試験

カリウムチャンネルに対するトラベクテジンの影響を hERG トランスフェクト細胞で評価した。溶媒と比較して、トラベクテジンは 0.01 µmol/L～3 µmol/L の濃度範囲で hERG トランスフェクト HEK293 細胞の膜 K⁺電流 (I_{Kr}) に有意な影響を与えなかった。それより高濃度 (10 µmol/L) では、軽度の影響 (溶媒対照と比較して約 10%減少) を認めた (第 4.2.1.3.2 項)。

2.6.2.4.2.2 *In vivo*試験

In vitro 試験に加えて、心血管及び呼吸機能に対するトラベクテジンの影響を *in vivo* で最高可能用量を用いて検討した (第 4.2.1.3.3 項)。麻酔カニクイザルに 90 µg/kg/day を単回 1 時間持続静脈内投与し、心血管及び呼吸機能に対する影響を検討した。単回投与時の最大耐量 (MTD) より若干高い用量を投与したため、この用量で生じる嘔吐を防ぐために麻酔下で試験を行った。患者での最高血漿中薬物濃度 (C_{max}) 範囲と同等の曝露を得るために 1 時間投与スケジュールを選択した。

トラベクテジンは、心拍数、第 II 誘導 ECG 変数 (RR 間隔, PR 間隔, QT 間隔, QTcF 間隔, QTcV 間隔及び QRS 時間), ECG 波形及び調律, 左心室の変数である心拍出量, 一回心拍出量及び呼吸機能に影響を及ぼさなかった。トラベクテジンは、投与開始後 60～240 分に動脈血圧 (平均, 収縮期及び拡張期) の低下を認めた。この低下傾向は 180 分の拡張期血圧では時間対応媒体データと比較して統計学的に有意であった。しかし、ペントバルビタールナトリウム麻酔は圧受容器反射が低下することが知られていることから、圧受容器反射が正常である無麻酔の動物及びヒトでは、同様の曝露で、このような明らかな血圧低下は認められない可能性がある^{49,50,51}。血漿中トラベクテジン濃度は投与開始後 45 分, 90 分及び 180 分にそれぞれ 10.6±5.4, 1.73±0.41 及び 0.59±0.12 ng/mL に達した。この安全性薬理試験で測定されたトラベクテジンの血漿中濃度

は、トラベクテジン 1.2 mg/m² の 24 時間持続静脈内投与を受けた患者で達した濃度より高かった (表 2.6.2.4.2.2-1)。

表 2.6.2.4.2.2-1 カニクイザル (90 µg/kg 投与) とヒト (1.2 mg/m² 投与) の血漿中濃度の比較

| | C _{max} | |
|--|------------------|-----------------|
| カニクイザル 90 µg/kg (1 時間持続静脈内投与) | 10.6 ng/mL | 第 4.2.1.3.3 項 |
| ヒト 1.2 mg/m ² (24 時間持続静脈内投与) | 1.66 ng/mL | 表 2.7.2.2.1.2-1 |

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当なし。

2.6.2.6 考察及び結論

トラベクテジンは、既存の抗悪性腫瘍剤とは異なる新規の DNA への結合様式を示す化合物である。トラベクテジンの抗腫瘍効果発現に関する複雑な機序は完全には解明されていないが、トラベクテジンが DNA の副溝部分と結合することが抗腫瘍効果を発揮するための最も重要な薬理作用であると考えられる。トラベクテジンは DNA と結合し、NER 及び HR 経路を制御する。また、染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍で認められる融合タンパク質をはじめとする様々な転写因子の機能を阻害することで、細胞増殖に関与する遺伝子群の転写制御を行うことが示唆された。これらの薬理作用を介して、細胞周期の異常を発生させ、最終的にアポトーシス及び細胞死を招くと考えられた。それは腫瘍内の癌細胞だけでなく単核食細胞系を含む微小環境においても認められることが併せて示唆された。

トラベクテジンは、*in vitro* において様々なヒト腫瘍細胞に対して他の抗悪性腫瘍剤よりも高い増殖抑制効果を示し、染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株に対しては、染色体転座陰性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株より高い増殖抑制効果を示した。*In vivo* においては染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株を含むヒト腫瘍細胞株のヌードマウス皮下移植モデルにおいてトラベクテジンの抗腫瘍効果を認め、更にその用量反応性を確認した。

トラベクテジンと他の抗悪性腫瘍剤との併用については、*in vitro* 及び *in vivo* においてトラベクテジンとドキソルビシンとの併用により、相加的又は相乗的な抗腫瘍効果の増強が期待できることが示唆された。

以上のように、トラベクテジンは従来の抗悪性腫瘍剤とは異なる作用機序を有し、染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍をはじめ多くのヒト腫瘍細胞に対して高い増殖抑制効果及び抗腫瘍効果が得られることが示唆されたことから、トラベクテジンを用いた治療法の有用性が期待できるものと考えられた。

安全性薬理試験の結果より、トラベクテジンは臨床用量で中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に明らかな影響を及ぼさないことが示された。

2.6.2.7 図表

本文中に記載した。

2.6.2.8 参考文献

- 1 Sakai R, Rinehart KL, Guan Y, Wang AH. Additional antitumor ecteinascidins from a Caribbean tunicate: crystal structures and activities *in vivo*. Proc Natl Acad Sci USA. 1992;89:11456-11460. (第 4.3.1 項)
- 2 Pommier Y, Kohlhagen G, Bailly C, Waring M, Mazumder A, Kohn KW. DNA sequence- and structure-selective alkylation of guanine N2 in the DNA minor groove by ecteinascidin 743, a potent antitumor compound from the Caribbean tunicate *Ecteinascidia turbinata*. Biochemistry. 1996;35:13303-13309. (第 4.3.2 項)
- 3 Herrero AB, Martín-Castellanos C, Marco E, Gago F, Moreno S. Cross-talk between nucleotide excision and homologous recombination DNA repair pathways in the mechanism of action of antitumor trabectedin. Cancer Res. 2006;66:8155-8162. (第 4.3.3 項)
- 4 Marco E, David-Cordonnier MH, Bailly C, Cuevas C, Gago F. Further insight into the DNA recognition mechanism of trabectedin from the differential affinity of its demethylated analogue ecteinascidin ET729 for the triplet DNA binding site CGA. J Med Chem. 2006;49:6925-6929. (第 4.3.4 項)
- 5 Marco E, Gago F. DNA structural similarity in the 2:1 complexes of the antitumor drugs trabectedin (Yondelis) and chromomycin A₃ with an oligonucleotide sequence containing two adjacent TGG binding sites on opposing strands. Mol Pharmacol. 2005;68:1559-1567. (第 4.3.5 項)
- 6 Seaman FC, Hurley LH. Molecular basis for the DNA sequence selectivity of Ecteinascidin 736 and 743: Evidence for the dominant role of direct readout via hydrogen bonding. J Am Chem Soc. 1998;120:13028-13041. (第 4.3.6 項)
- 7 Zewail-Foote M, Hurley LH. Ecteinascidin 743: a minor groove alkylator that bends DNA toward the major groove. J Med Chem. 1999;42:2493-2497. (第 4.3.7 項)
- 8 Takebayashi Y, Pourquier P, Zimonjic DB, Nakayama K, Emmert S, Ueda T, et al. Antiproliferative activity of ecteinascidin 743 is dependent upon transcription-coupled nucleotide-excision repair. Nat Med. 2001;7:961-966. (第 4.3.8 項)
- 9 Zewail-Foote M, Li VS, Kohn H, Bearss D, Guzman M, Hurley LH. The inefficiency of incisions of ecteinascidin 743-DNA adducts by the UvrABC nuclease and the unique structural feature of the DNA adducts can be used to explain the repair-dependent toxicities of this antitumor agent. Chem Biol. 2001;8:1033-1049. (第 4.3.9 項)
- 10 Damia G, Silvestri S, Carrassa L, Filiberti L, Faircloth GT, Liberi G, et al. Unique pattern of ET-743 activity in different cellular systems with defined deficiencies in DNA-repair pathways. Int J Cancer. 2001;92:583-588. (第 4.3.10 項)
- 11 Tavecchio M, Natoli C, Ubezio P, Erba E, D'Incalci M. Dynamics of cell cycle phase perturbations by trabectedin (ET-743) in nucleotide excision repair (NER)-deficient and NER-proficient cells, unravelled by a novel mathematical simulation approach. Cell Prolif. 2007;40:885-904. (第 4.3.11 項)
- 12 Schöffski P, Taron M, Jimeno J, Grosso F, Sanfilippo R, Casali PG, et al. Predictive impact of DNA repair functionality on clinical outcome of advanced sarcoma patients treated with trabectedin: a retrospective multicentric study. Eur J Cancer. 2011;47:1006-1012. (第 4.3.12 項)

- 13 Aune GJ, Takagi K, Sordet O, Guirouilh-Barbat J, Antony S, Bohr VA, et al. Von Hippel-Lindau-coupled and transcription-coupled nucleotide excision repair-dependent degradation of RNA polymerase II in response to trabectedin. *Clin Cancer Res.* 2008;14:6449-6455. (第 4.3.13 項)
- 14 Sarker AH, Tsutakawa SE, Kostek S, Ng C, Shin DS, Peris M, et al. Recognition of RNA polymerase II and transcription bubbles by XPG, CSB, and TFIIH: insights for transcription-coupled repair and Cockayne Syndrome. *Mol Cell.* 2005;20:187-198. (第 4.3.14 項)
- 15 Casado JA, Río P, Marco E, García-Hernández V, Domingo A, Pérez L, et al. Relevance of the Fanconi anemia pathway in the response of human cells to trabectedin. *Mol Cancer Ther.* 2008;7:1309-1318. (第 4.3.15 項)
- 16 Tavecchio M, Simone M, Erba E, Chiolo I, Liberi G, Foiani M, et al. Role of homologous recombination in trabectedin-induced DNA damage. *Eur J Cancer.* 2008;44:609-618. (第 4.3.16 項)
- 17 Soares DG, Escargueil AE, Poindessous V, Sarasin A, de Gramont A, Bonatto D, et al. Replication and homologous recombination repair regulate DNA double-strand break formation by the antitumor alkylator ecteinascidin 743. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104:13062-13067. (第 4.3.17 項)
- 18 Jin S, Gorfajn B, Faircloth G, Scotto KW. Ecteinascidin 743, a transcription-targeted chemotherapeutic that inhibits MDR1 activation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97:6775-6779. (第 4.3.18 項)
- 19 Minuzzo M, Ceribelli M, Pitarque-Martí M, Borrelli S, Erba E, diSilvio A, et al. Selective effects of the anticancer drug Yondelis (ET-743) on cell-cycle promoters. *Mol Pharmacol.* 2005;68:1496-1503. (第 4.3.19 項)
- 20 Minuzzo M, Marchini S, Brogginì M, Faircloth G, D'Incalci M, Mantovani R. Interference of transcriptional activation by the antineoplastic drug ecteinascidin-743. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97:6780-6784. (第 4.3.20 項)
- 21 Friedman D, Hu Z, Kolb EA, Gorfajn B, Scotto KW. Ecteinascidin-743 inhibits activated but not constitutive transcription. *Cancer Res.* 2002;62:3377-3381. (第 4.3.21 項)
- 22 Scotto KW, Johnson RA. Transcription of the multidrug resistance gene MDR1: a therapeutic target. *Mol Interv.* 2001;1:117-125. (第 4.3.22 項)
- 23 Forni C, Minuzzo M, Viridis E, Tamborini E, Simone M, Tavecchio M, et al. Trabectedin (ET-743) promotes differentiation in myxoid liposarcoma tumors. *Mol Cancer Ther.* 2009;8:449-457. (第 4.3.23 項)
- 24 Grohar PJ, Griffin LB, Yeung C, Chen QR, Pommier Y, Khanna C, et al. Ecteinascidin 743 interferes with the activity of EWS-FLI1 in Ewing sarcoma cells. *Neoplasia.* 2011;13:145-153. (第 4.3.24 項)
- 25 Osuna D, de Álava E. Molecular pathology of sarcomas. *Rev Recent Clin Trials.* 2009;4:12-26. (第 4.3.25 項)
- 26 Pérez-Losada J, Pintado B, Gutiérrez-Adán A, Flores T, Bañares-González B, del Campo JC, et al. The chimeric FUS/TLS-CHOP fusion protein specifically induces liposarcomas in transgenic mice. *Oncogene.* 2000;19:2413-2422. (第 4.3.26 項)
- 27 Di Giandomenico S, Frapoli R, Bello E, Uboldi S, Licandro SA, Marchini S, et al. Mode of action of trabectedin in myxoid liposarcomas. *Oncogene.* in press. (第 4.3.27 項)
- 28 Simoens C, Korst AE, De Pooter CM, Lambrechts HA, Pattyn GG, Faircloth GT, et al. *In vitro* interaction between ecteinascidin 743 (ET-743) and radiation, in relation to its cell cycle effects. *Br J Cancer.* 2003;89:2305-2311. (第 4.3.28 項)

- 29 Erba E, Bergamaschi D, Bassano L, Damia G, Ronzoni S, Faircloth GT, et al. Ecteinascidin-743 (ET-743), a natural marine compound, with a unique mechanism of action. *Eur J Cancer*. 2001;37:97-105. (第 4.3.29 項)
- 30 Biroccio A, Gabellini C, Amodei S, Benassi B, Del Bufalo D, Elli R, et al. Telomere dysfunction increases cisplatin and ecteinascidin-743 sensitivity of melanoma cells. *Mol Pharmacol*. 2003;63:632-638. (第 4.3.30 項)
- 31 Takebayashi Y, Goldwasser F, Urasaki Y, Kohlhagen G, Pommier Y. Ecteinascidin 743 induces protein-linked DNA breaks in human colon carcinoma HCT116 cells and is cytotoxic independently of topoisomerase I expression. *Clin Cancer Res*. 2001;7:185-191. (第 4.3.31 項)
- 32 Gajate C, An F, Mollinedo F. Differential cytostatic and apoptotic effects of ecteinascidin-743 in cancer cells. Transcription-dependent cell cycle arrest and transcription-independent JNK and mitochondrial mediated apoptosis. *J Biol Chem*. 2002;277:41580-41589. (第 4.3.32 項)
- 33 Allavena P, Signorelli M, Chieppa M, Erba E, Bianchi G, Marchesi F, et al. Anti-inflammatory properties of the novel antitumor agent yondelis (trabectedin): inhibition of macrophage differentiation and cytokine production. *Cancer Res*. 2005;65:2964-2971. (第 4.3.33 項)
- 34 Germano G, Frapolli R, Simone M, Tavecchio M, Erba E, Pesce S, et al. Antitumor and anti-inflammatory effects of trabectedin on human myxoid liposarcoma cells. *Cancer Res*. 2010;70:2235-2244. (第 4.3.34 項)
- 35 Germano G, Frapolli R, Belgiovine C, Anselmo A, Pesce S, Liguori M, et al. Role of macrophage targeting in the antitumor activity of trabectedin. *Cancer Cell*. 2013;23:249-262. (第 4.3.35 項)
- 36 Poindessous V, Koepfel F, Raymond E, Comisso M, Waters SJ, Larsen AK. Marked activity of irifolven toward human carcinoma cells: comparison with cisplatin and ecteinascidin. *Clin Cancer Res*. 2003;9:2817-2825. (第 4.3.36 項)
- 37 Izbicka E, Lawrence R, Raymond E, Eckhardt G, Faircloth G, Jimeno J, et al. *In vitro* antitumor activity of the novel marine agent, ecteinascidin-743 (ET-743, NSC-648766) against human tumors explanted from patients. *Ann Oncol*. 1998;9:981-987. (第 4.3.37 項)
- 38 Li WW, Takahashi N, Jhanwar S, Cordon-Cardo C, Elisseyeff Y, Jimeno J, et al. Sensitivity of soft tissue sarcoma cell lines to chemotherapeutic agents: identification of ecteinascidin-743 as a potent cytotoxic agent. *Clin Cancer Res*. 2001;7:2908-2911. (第 4.3.38 項)
- 39 Takahashi N, Li W, Banerjee D, Guan Y, Wada-Takahashi Y, Brennan MF, et al. Sequence-dependent synergistic cytotoxicity of ecteinascidin-743 and paclitaxel in human breast cancer cell lines *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res*. 2002;62:6909-6915. (第 4.3.39 項)
- 40 Takahashi N, Li WW, Banerjee D, Scotto KW, Bertino JR. Sequence-dependent enhancement of cytotoxicity produced by ecteinascidin 743 (ET-743) with doxorubicin or paclitaxel in soft tissue sarcoma cells. *Clin Cancer Res*. 2001;7:3251-3257. (第 4.3.40 項)
- 41 Meco D, Colombo T, Ubezio P, Zucchetti M, Zaffaroni M, Riccardi A, et al. Effective combination of ET-743 and doxorubicin in sarcoma: preclinical studies. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2003;52:131-138. (第 4.3.41 項)
- 42 Scotlandi K, Perdichizzi S, Manara MC, Serra M, Benini S, Cerisano V, et al. Effectiveness of Ecteinascidin-743 against drug-sensitive and -resistant bone tumor cells. *Clin Cancer Res*. 2002;8:3893-3903. (第 4.3.42 項)

- 43 Moneo V, Serelde BG, Fominaya J, Leal JF, Blanco-Aparicio C, Romero L, et al. Extreme sensitivity to Yondelis (Trabectedin, ET-743) in low passaged sarcoma cell lines correlates with mutated p53. *J Cell Biochem.* 2007;100:339-348. (第 4.3.43 項)
- 44 Donald S, Verschoyle RD, Greaves P, Gant TW, Colombo T, Zaffaroni M, et al. Complete protection by high-dose dexamethasone against the hepatotoxicity of the novel antitumor drug yondelis (ET-743) in the rat. *Cancer Res.* 2003;63:5902-5908. (第 4.3.44 項)
- 45 Morioka H, Weissbach L, Vogel T, Nielsen GP, Faircloth GT, Shao L, et al. Antiangiogenesis treatment combined with chemotherapy produces chondrosarcoma necrosis. *Clin Cancer Res.* 2003;9:1211-1217. (第 4.3.45 項)
- 46 Frapolli R, Tamborini E, Viridis E, Bello E, Tarantino E, Marchini S, et al. Novel models of myxoid liposarcoma xenografts mimicking the biological and pharmacologic features of human tumors. *Clin Cancer Res.* 2010;16:4958-4967. (第 4.3.46 項)
- 47 Gómez SG, Bueren JA, Faircloth GT, Jimeno J, Albella B. In vitro toxicity of three new antitumoral drugs (trabectedin, aplidin, and kahalalide F) on hematopoietic progenitors and stem cells. *Exp Hematol.* 2003;31:1104-1111. (第 4.3.47 項)
- 48 Albella B, Faircloth G, López-Lázaro L, Guzmán C, Jimeno J, Bueren JA. In vitro toxicity of ET-743 and aplidine, two marine-derived antineoplastics, on human bone marrow haematopoietic progenitors: comparison with the clinical results. *Eur J Cancer.* 2002;38:1395-1404. (第 4.3.48 項)
- 49 Einstein R, Goodman AH, Yeoh EB. Comparison of the cardiac effects of β -adrenoreceptor agonists in anaesthetised and conscious dogs. *J Auton Pharmacol.* 1986;6:9-14. (第 4.3.49 項)
- 50 Grohs JG, Fischer G, Raberger G. Cardiovascular effects of flesinoxan in anaesthetized and conscious dogs. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1990;341:472-475. (第 4.3.50 項)
- 51 Shimokawa A, Kunitake T, Takasaki M, Kannan H. Differential effects of anesthetics on sympathetic nerve activity and arterial baroreceptor reflex in chronically instrumented rats. *J Auton Nerv Syst.* 1998;72:46-54. (第 4.3.51 項)

ヨンデリス点滴静注用 0.25 mg

ヨンデリス点滴静注用 1 mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6.3 薬理試験の概要表

大鵬薬品工業株式会社

目次

2.6.3 薬理試験の概要表3

 2.6.3.1 薬理試験：一覧表3

 2.6.3.2 効力を裏付ける試験4

 2.6.3.3 副次的薬理試験5

 2.6.3.4 安全性薬理試験5

 2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験6

2.6.3 薬理試験の概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

(1) 効力を裏付ける試験

Test Article : Trabectedin

| 試験の種類 | 試験系 | 投与方法 | 実施施設 | 試験番号 | 記載箇所 |
|---------------------|--|-----------------|------------|------|--------------|
| トラベクテジンの細胞増殖抑制効果の評価 | ヒト滑膜肉腫細胞株 Aska-SS ヒト Ewing 肉腫細胞株 RD-ES ヒト小円形細胞肉腫細胞株 SCCH-196 ヒト胞巣型横紋筋肉腫細胞株 SJCRH30 ヒト Ewing 肉腫細胞株 SK-ES-1 ヒト滑膜肉腫細胞株 SYO-1 ヒト滑膜肉腫細胞株 Yamato-SS ヒト Pagetoid 肉腫細胞株 Hs 925.T ヒト線維肉腫細胞株 HT-1080 ヒト横紋筋肉腫細胞株 KYM-1 ヒト横紋筋肉腫細胞株 RD ヒト平滑筋肉腫細胞株 RKN ヒト平滑筋肉腫細胞株 SK-LMS-1 ヒト平滑筋肉腫細胞株 SKN ヒト脂肪肉腫細胞株 SW872 ヒト滑膜肉腫細胞株 SW982 | <i>in vitro</i> | 大鵬薬品工業株式会社 | ■ | 4.2.1.1.1 |
| トラベクテジンの抗腫瘍効果の評価 | ヒト滑膜肉腫細胞株 SYO-1 皮下移植マウス | 静脈内投与 | 大鵬薬品工業株式会社 | ■ | 4.2.1.1.2 |
| トラベクテジンの抗腫瘍効果の評価 | ヒト Ewing 肉腫細胞株 SK-ES-1 皮下移植マウス | 静脈内投与 | 大鵬薬品工業株式会社 | ■ | 4.2.1.1.3 |
| トラベクテジンの抗腫瘍効果の評価 | ヒト胞巣型横紋筋肉腫細胞株 SJCRH30 皮下移植マウス | 静脈内投与 | 大鵬薬品工業株式会社 | ■ | 4.2.1.1.4 |
| トラベクテジンの抗腫瘍効果の評価 | ヒト骨肉腫細胞株 KHOS/NP 皮下移植マウス | 静脈内投与 | 大鵬薬品工業株式会社 | ■ | 4.2.1.1.5 |
| トラベクテジンの抗腫瘍効果の評価 | ヒト横紋筋肉腫細胞株 RD 皮下移植マウス | 静脈内投与 | 大鵬薬品工業株式会社 | ■ | 4.2.1.1.6 |
| トラベクテジンの抗腫瘍効果の評価 | ヒト平滑筋肉腫細胞株 SK-LMS-1 皮下移植マウス | 静脈内投与 | 大鵬薬品工業株式会社 | ■ | 4.2.1.1.7 |
| 上記以外は文献引用 | — | — | — | — | 4.3.1~4.3.46 |

(2) 副次的薬理試験

Test Article : Trabectedin

| 試験の種類 | 試験系 | 投与方法 | 実施施設 | GLP 適用 | 試験番号 | 記載箇所 |
|--------------|---------|-----------------|--|--------|------|--------|
| 血液前駆細胞に対する評価 | マウス骨髄細胞 | <i>In vitro</i> | PharmaMar, Madrid – Spain | 適用外 | — | 4.3.47 |
| 血液前駆細胞に対する評価 | ヒト骨髄細胞 | <i>In vitro</i> | Department of Molecular and Cellular Biology, C.I.E.M.A.T., Madrid – Spain | 適用外 | — | 4.3.48 |

(3) 安全性薬理試験

Test Article : Trabectedin

| 試験の種類 | 試験系 | 投与方法 | 実施施設 | GLP 適用 | 試験番号 | 記載箇所 |
|-------------------|--------------|-----------------|-------|--------|-------|-----------|
| 中枢神経系 (Irwin の変法) | ラット/SD | 静脈内投与 | ■■■■■ | 適 | ■ | 4.2.1.3.1 |
| 心血管系 (hERG 電流) | ヒト HEK293 細胞 | <i>In vitro</i> | ■■■■■ | 適用外 | ■■■■■ | 4.2.1.3.2 |
| 心血管系及び呼吸器系 | 麻酔サル/カニクイ | 静脈内投与 | ■■■■■ | 適 | ■■■■■ | 4.2.1.3.3 |

(4) 薬力学的薬物相互作用試験

該当なし.

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

関連する図表は、第 2.6.2.2 項に記載した.

2.6.3.3 副次的薬理試験

関連する図表は、第 2.6.2.3 項に記載した。

2.6.3.4 安全性薬理試験

Test Article : Trabectedin

| Organ Systems Evaluated | Species/Strain Sex/No. Per Group | Route | Doses ^a | Noteworthy Findings | GLP Compliance | Study No. | Location in CTD |
|-------------------------|--|-----------------|--|---|----------------|-----------|-----------------|
| Central nervous system | Rat Sprague-Dawley/male /5 per group, 4 groups | Intravenous | 12.5, 25 and 50 µg/kg (300 µg/m ²) | In a modified Irwin's Test, a single intravenous injection of trabectedin did not lead to adverse behavioral effects, neurological impairment or adverse autonomic response | Yes | ████ | 4.2.1.3.1 |
| Cardiovascular | Human HEK293 cells expressing hERG | <i>In vitro</i> | 0.01 µmol/L to 10 µmol/L | Trabectedin, compared with solvent, had no significant effect on the membrane K ⁺ potassium channel current (I _{Kr}) in hERG-transfected HEK293 cells over a concentration range of 0.01 µmol/L to 3 µmol/L. At high concentration (10 µmol/L, 7,618 ng/mL), only a marginal effect (about 10% reduction relative to solvent control) was observed | No | ████ | 4.2.1.3.2 |

^a Single dose unless specified otherwise
hERG = human ether-a-go-go-related gene

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

Test Article : Trabectedin

| Organ Systems Evaluated | Species/Strain Sex/No. Per Group | Route | Doses ^a | Noteworthy Findings | GLP Compliance | Study No. | Location in CTD |
|--------------------------------|--|----------------------|---|--|----------------|-----------|-----------------|
| Cardiovascular and respiratory | Anesthetized Cynomolgus Monkey/Male/ 4 per group, 2 groups | Intravenous infusion | 90 µg/kg (1080 µg/m ²) 60 minutes | Trabectedin did not have any relevant effects on heart rate, lead II ECG variables (PR, QT, QTcF, QTcV intervals and QRS duration), ECG waveform and rhythm, left ventricular variables, cardiac output, stroke volume, arterial blood variables or respiratory variables. Trabectedin lowered arterial blood pressure (mean, systolic and diastolic) between 60-240 min following the start of infusion. However, since sodium pentobarbitone anesthesia is known to depress the baroreceptor reflex, this decrease in blood pressure may be less evident or even absent, at similar exposures, in conscious animals and human where this reflex is intact. Plasma trabectedin levels attained 10.6 ± 5.4, 1.73 ± 0.41 and 0.59 ± 0.12 ng/mL, 45, 90 and 180 min after onset of infusion. | Yes | ██████ | 4.2.1.3.3 |

^a Single dose unless specified otherwise

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当なし.