

放射能の取り込み量を測定し、DNA、RNA及びタンパク質の合成率を算出した。

本薬はDNA合成率を時間及び濃度依存的に低下させたが、その程度はACNUより弱かった。本薬の存在下で4時間培養した場合には、RNA合成率及びたんぱく質合成率の有意な低下が認められたが、8あるいは24時間培養ではRNA及びタンパク質の合成率の低下は認められなかった。一方、ACNUは24時間培養でRNA合成率が有意に低下し、4及び24時間培養の30 μ mol/L以上でたんぱく質合成率の低下が認められた。

BCNU耐性細胞に対する増殖抑制作用（参考資料、未公表）

in vitro

ヒト白血病由来CCRF-CEM細胞（CEM-S）に対するBCNU及びACNUのIC₅₀は、各々7及び10 μ mol/Lであった。CCRF-CEM細胞をBCNU存在下で約8カ月培養して樹立された細胞（CEM-R）に対しては、BCNU及びACNUのIC₅₀は各々58及び53 μ mol/Lで、CCRF-CEM細胞に対するIC₅₀に比較して8倍及び5倍の上昇が認められた。CEM-S細胞及びCEM-R細胞に対する本薬のIC₅₀は、各々2002及び281 μ mol/Lであった。

アポトーシス誘導

CEM-S及びCEM-R細胞を本薬1、10、100及び1000 μ mol/Lの存在下で24時間培養した後、Hoechst 33342により核を染色し、核の形態観察によりアポトーシス細胞の比率を算出した。本薬は両細胞に対して濃度依存的にアポトーシスを誘導した。なお、本薬1000 μ mol/Lにおけるアポトーシス細胞の比率は、CEM-S細胞よりCEM-R細胞で高かった。

薬剤感受性について

CEM-R細胞では、CEM-S細胞と比較して本薬処置後のDNA除去修復の活性が亢進し、MGMTのmRNA発現が誘導され、ミスマッチ修復（mismatch repair: MMR）構成酵素であるhMLH1及びhMSH2のmRNA発現量が増加しており、これらはニトロソウレア系抗悪性腫瘍薬によるDNA損傷に対する反応であると考えられる。

BCNU耐性細胞に対する本薬の感受性が親細胞より亢進した点については、本薬曝露後のアポトーシス細胞の割合は、CEM-S細胞よりCEM-R細胞で高く、これはCEM-S細胞においてはMGMTのmRNA発現量及びMMR構成酵素であるhMLH1並びにhMSH2のmRNA発現量が増加していることから、MMR機能の亢進により本薬の感受性が亢進したものと考察されている。

なお、効力を裏付ける試験成績として以下の公表論文（いずれも参考資料）が提出された。

Biochem Pharmacol 36: 457-462, 1987

Br J Cancer 73: 482-490, 1996

Int J Radiat Oncol Biol Phys 47: 779-784, 2000

Cancer Res 54: 3793-3799, 1994

Cancer Res 55: 2853-2857, 1995

Clin Cancer Res 9: 5370-5379, 2003

Cancer Chemother Pharmacol 27: 342-346, 1991

Mol Pharmacol 52: 249-258, 1997

Clin Cancer Res 9: 3801-3807, 2003

Cancer Res 56: 5375-5379, 1996

Mol Pharmacol 54: 334-341, 1998

本薬の細胞増殖抑制に関する申請者の考察

本薬は、非酵素的にMTICに分解され、MTICはさらにメチルジアゾニウムイオンとなり、これがDNAのO⁶-グアニンにメチル基を付加する。これに対する修復機構としてO⁶-メチルグアニンを直接修復するMGMTが関与し、このMGMTによって修復されなかったO⁶-メチルグアニンにより mismatches 塩基対が形成される。この mismatches 塩基対は、MMRにより認識される (Curr Med Chem 9: 1285-1301, 2002)。MMRによる新旧2本のDNA鎖の識別にはアデニンのメチル化が関与していることが知られているが、このアデニンのメチル化は複製後経時的に起こるため、新生DNA鎖ではまだメチル化されておらず、MMRはメチル化アデニンを指標に鋳型DNA鎖であると識別し、新生DNA鎖上の mismatches 塩基を特異的に除去する (J Biol Chem 272: 24727-24730, 1997)。したがって、MMRは鋳型DNA鎖上のO⁶-メチルグアニンではなく、新生DNA鎖上のチミンを特異的に除去するため、これを繰り返すうちに修復が完結せず二本鎖切断が起こり、最終的に細胞死が誘導される。

なお、二本鎖切断等のDNA損傷が修復不能の場合、細胞にアポトーシスが誘導されることが知られており、本薬でも腫瘍細胞に対してアポトーシスの誘導が認められたが、本薬のアポトーシス誘導機構についての詳細は不明である。

(2) 安全性薬理試験

本薬の安全性薬理試験成績として、一般症状に及ぼす影響、心血管系に及ぼす影響、呼吸器系に及ぼす影響、水・電解質代謝及び腎/泌尿器系に及ぼす影響（以上、3.3 急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性、催奇形性その他の毒性に関する資料の項参照）、胃腸管系に及ぼす影響、造血器系及び免疫系への影響に関する試験成績が提出された。

一般症状に及ぼす影響 (P002* , P003* , P004* , P005* 試験、未公表)

ラットに本薬を1日1回、5日間経口投与したところ、50mg/m²以上で体重増加の抑制、200mg/m²で摂餌量の減少、粗毛及び体重増加の抑制、400mg/m²以上で全身蒼白化、自発運動低下、るい瘦、糞便量減少、円背位及び摂餌量減少がみられた。5日間の投与期間中に死亡例は認められなかったが、休薬期間中において200及び400mg/m²では、それぞれ30例中雄1例及び雌雄計18例が、雌の最高投与量の600及び雄の最高投与量800mg/m²では全例が、死亡又は全身状態悪化のため切迫屠殺された。

イヌに本薬を1日1回、5日間経口投与したところ、50mg/m²以上で嘔吐、歯肉蒼白化、125mg/m²で嘔吐、体温上昇、200mg/m²以上では自発運動低下、下痢、拒食、体重減少、摂餌量減少、体温上昇、脱水、糞便量減少/無便及び便変色、更に投与開始1日目より嘔吐がみられた。また、5日間の投与期間中に死亡例は認められなかったが、休薬期間中に死亡又は全身状態悪化のため切迫屠殺された動物は125mg/m²より認められ、200mg/m²以上では休薬期間中に全例が死亡又は全身状態悪化のため切迫屠殺された。

*新薬承認情報提供時に置き換え

心血管系及び呼吸器系に及ぼす影響（P004*、P005* 試験、未公表）

イヌに本薬（25～125 mg/m²）を1日1回、5日間経口投与し、投与開始3日目に無麻酔下で10誘導による心電図を、4日目に血圧（平均血圧、収縮期及び拡張期血圧）及び呼吸数を測定したところ、特記すべき所見は認められなかった。

イヌに本薬（200～1000mg/m²）を1日1回、5日間経口投与し、投与開始3日目に無麻酔下で10誘導による心電図を、4日目に血圧（平均血圧、収縮期及び拡張期血圧）及び呼吸数を測定したところ、特記すべき所見は認められなかった。

水・電解質代謝、腎/泌尿器系に及ぼす影響（P002*、P003*、P004*、P005* 試験、未公表）

ラットに本薬25～200mg/m²を1日1回、5日間経口投与し、投与開始4～5日の0～4及び0～24時間の蓄尿について検査したところ、特記すべき所見は認められなかった。ラットに本薬200～800mg/m²（雄）又は200～600mg/m²（雌）を1日1回、5日間経口投与し、投与開始4～5日の0～4及び0～24時間の蓄尿について検査したところ、200mg/m²群では雄のみで尿量の増加傾向とともに、尿中クレアチニン及び電解質の減少が認められ、400mg/m²以上では雌雄ともに尿量の増加、浸透圧、クレアチニン及び電解質の減少がみられた。

イヌに本薬（25～125mg/m²）を1日1回、5日間経口投与し、投与開始1～2日目の0～4及び0～24時間の蓄尿について検査したところ、特記すべき所見は認められなかった。イヌに本薬（200～1000mg/m²）を1日1回、5日間経口投与し、投与開始1～2日目の0～4及び0～24時間の蓄尿について検査したところ、特記すべき所見は認められなかった。

胃腸管系に及ぼす影響（P006* 試験（非GLP）、未公表）

雄性ラットに本薬200mg/m²を経口投与したところ、胃潰瘍形成は認められなかった（0/6例）。インドメタシン10mg/kgは、6/6例に胃潰瘍形成を認めた。雄性ラットに本薬200mg/m²を経口投与し、胃内容物を含む胃重量から胃内容物排出率に及ぼす影響を検討した結果、本薬は胃内容物排出を47%抑制した。アトロピン（10mg/kg）では83%の抑制が認められた。

雄性ラットに本薬200mg/m²を経口投与し、小腸全長に対する幽門部からの炭素末の移動率を指標として小腸輸送能に及ぼす影響を検討した結果、本薬の小腸輸送能に及ぼす影響は認められなかった。アトロピン10mg/kgでは50%の抑制が認められた。

造血器系に及ぼす影響

3.3. 急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性、催奇形性その他の毒性に関する資料の項参照。

骨髄細胞のコロニー形成（参考資料、Exp Hematol 23: 112-116, 1995）

8例から得たヒト胸骨由来骨髄単核細胞を本薬を含む培地に播種し、9日間培養後のコロニー数を計数した結果、本薬により顆粒球・マクロファージコロニーの形成が抑制され、37%抑制する濃度は8例中6例では18.2～45.7µmol/L、残り2例では55µmol/L以上であった。

*新薬承認情報提供時に置き換え

免疫系に及ぼす影響（参考資料、J Chemother 15: 173-183, 2003）

本薬のインターロイキン-2（IL-2）に対する増殖応答、ナチュラルキラー（NK）活性、リンホカイン活性化キラー（LAK）活性及び付着細胞のCD1b抗原の発現に及ぼす影響を *in vitro* 試験系にて検討された。本薬はヒト末梢血単核細胞のNK活性を抑制し、その時のIC₅₀値は約400 μmol/Lであった。また、IL-2に対する増殖応答及びLAK活性を抑制し、その時のIC₅₀値は細胞のMGMT活性と正の相関を示し、それぞれ約170～400 μmol/L及び約70～400 μmol/Lであった。末梢血単核細胞より分離したプラスチック付着細胞の60%～70%はCD14陽性の単球であり、GM-CSF及びIL-4と共に3日間培養することにより付着細胞の約60%がCD1b陽性の抗原提示細胞に分化したが、この付着細胞の分化に対して本薬は500 μmol/Lで影響を及ぼさなかった。

<機構における審査の概要>

(1) 効力を裏付ける試験における用法・用量について

機構は、効力を裏付ける試験成績として提出された P001* 試験において、*in vitro*では陽性対照としてACNUを選択しているにもかかわらず、*in vivo*でダカルバジン（DTIC）を選択した理由、及び*in vivo*試験における被験薬の用法・用量の設定根拠、について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。

本薬及びDTICは、いずれもMTICからCH₃N₂⁺への変換を経て抗腫瘍作用を発現するため、両薬物の作用機序は同じであると考えられる。DTICの本邦における適応は悪性黒色腫、ホジキンリンパ腫であるが、ヒト脳腫瘍頭蓋内移植モデルを用いた本薬の有効性の検討として、DTICとの比較データも有用であるとの助言を治験相談において得たことから、頭蓋内移植モデルにおけるDTICとの比較試験を実施した。本薬及びDTICの投与スケジュールは、臨床用法である5日間投与を設定した。DTICの投与経路としては、臨床適用経路である静脈内を選択すべきであったが、反復投与により血管外に漏出した薬物による尾静脈周囲炎が発症する可能性、マウス尾静脈への投与には技術的に熟練を要し、反復投与により投与ミスが起こる可能性、また本薬を静脈内投与する場合には安定性を考慮して全動物への投与を溶解後短時間で行う必要性があったため、当該試験では被験薬剤を反復静脈内投与することは困難であると判断した。マウスにおいて、¹⁴C-DTICを腹腔内投与した後の24時間累積尿中放射能排泄率が91.7%という報告（J Pharmacol Exp Ther 179: 386-395, 1971）を参考とし、DTICのほぼ全てが吸収され、全身循環に移行すると考えられる腹腔内投与を静脈内投与の代替として実施することとした。また、本薬の投与量の設定のために行った予備試験では、10、30及び100mg/kg/日（経口）のいずれの投与群においても媒体投与群と比較して抗腫瘍作用が認められたことから、この結果を基に、有意な生存日数の延長が得られ、かつ予定観察期間内（70日間）にマウスの全例が死亡することが予想される用量として、5mg/kg/日を選択し、DTICについても同用量で比較した。なお、本薬及びDTICの分子量はそれぞれ194.15及び182.18とほぼ同程度であることから、投与量をモル換算した場合にもその差は小さい。

機構は、参考資料として提出された公表論文（Cancer Res 54: 3793-3799, 1994）にはBCNUを10日間で3回静脈投与した試験が含まれており、DTICを連続5日間静脈内投与することは手技的に可能と考える。また、当該薬理試験では複数用量での検討がないため、本薬と対照薬の

*新薬承認情報提供時に置き換え

薬効関係について用量反応の特徴を含めて比較することは困難であり、加えて本薬の腹腔内投与の総投与量は参考資料として提出された3つの文献（Cancer Res 54: 3793-3799, 1994、Cancer Res 55: 2853-2857, 1995、Clin Cancer Res 9: 5370-5379, 2003）で用いられた投与量より低く、当該薬理試験では*in vivo*における本薬の最大効果が示されていない可能性もあるため、薬理試験計画の検討は不十分であると考えます。

次に機構は、U87 MG 細胞を頭蓋内移植したヌードマウスを用いた *in vivo* 試験（P001* 試験）での本薬の1日投与量 5mg/kg と臨床投与量の関係について、申請者に薬物動態の観点から説明を求めた。

申請者は、以下のように説明した。

マウスにおける本薬の薬物動態は検討していないが、BALB/c マウスに本薬 20mg/kg を単回腹腔内及び経口投与した際の薬物動態が報告されている（Cancer Res 47: 5846-52, 1987）。当該文献を基にマウスに本薬 5mg/kg を経口投与した際の薬物動態パラメータを推測した結果、 C_{max} はヒトに 150mg/m² を経口投与した場合とほぼ同程度、AUC はヒトに 150 及び 200mg/m² を経口投与した場合のそれぞれ約 1/3 及び約 1/4 であり、当該薬理試験での曝露量は、ヒトでの臨床用量における曝露量と比較して若干低い値を示すと考える。

機構は、臨床での曝露量より低曝露となる投与量を用いて効力を裏付ける試験を実施することに問題はないと考えるが、1 用量の試験結果からは用量反応の情報は得られないことから、今後の適応癌腫の追加等に当たっては、*in vivo* における用量反応性について新たに検討する必要があると考える。

以上、機構は、ヒト膠芽腫由来U87 MG細胞を用いた P001* 試験では、*in vitro*では本薬の濃度依存的な腫瘍細胞の増殖抑制作用が、また頭蓋内移植モデルでは用量反応性は不明であるものの本薬経口投与による生存期間の延長が認められていること、さらに参考資料では、膠芽腫以外の悪性神経膠腫由来細胞株に対しても本薬が増殖抑制作用を有することが示唆されていることから、これらの非臨床薬理試験成績より悪性神経膠腫に対する本薬の薬効は期待できると考える。なお、BCNU耐性ヒト白血病由来細胞に対する本薬の感受性が親細胞株より亢進した理由については、明確に検証されていないと考える。

(3) 耐性について

機構は、本薬に対する耐性化について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

Ma *et al.*はヒト神経膠腫由来SF188細胞を使用し、本薬を50~300µg/mLで段階的に濃度を上げて6カ月間培養することにより本薬耐性細胞（SF188/TR）を樹立したことを報告している（Biochem Pharmacol 63: 1219-1228, 2002）。公表論文のため、試験条件等の詳細は不明であるが、SF188/TRは各種抗悪性腫瘍薬に対しても交差耐性を示すことが報告されている。また、SF188/TRでは親株と比較して、本薬耐性に関与するMGMT活性の亢進がみられたが、MMRには変化がなく、また、アポトーシス誘導タンパク質の減少が認められていた。SF188/TRでみられた交差耐性は、アポトーシス誘導タンパク質等の細胞死に共通の機構が本薬耐性化の過程で変化したためであると考察されている。なお、現時点では、当該論文以外に本薬に対する耐性細胞株の樹立に関する報告はない。

*新薬承認情報提供時に置き換え

機構は、本薬に対する耐性について、明確な機序は不明であるもののMGMT活性の亢進の可能性等が考えられ、文献調査を含めて検討していく必要があると考える。

(4) 薬力学的相互作用について

機構は、国内臨床第Ⅰ相試験では痙攣が認められていることから、本薬の痙攣誘発作用の可能性、及び臨床において併用が予想される抗痙攣薬を含む他剤との薬力学的相互作用に関する検討を省略可能と判断した理由について申請者の説明を求めた。

申請者は以下のように説明した。

マウス単回経口投与毒性試験において、致死量の5倍相当の5000mg/m²投与で痙攣が認められたが、4000mg/m²ではみられず、マウス単回腹腔内投与毒性試験でも痙攣は認められなかった。ラット及びイヌを用いた毒性試験では、致死量以下の投与量で痙攣は認められなかった。

脳腫瘍患者では疾患関連症状として痙攣がみられることが知られており、腫瘍の発生部位にもよるが、40%以上の患者で初期症状としてあるいは脳手術後に痙攣が起こる(Acta Neurochir 142: 1-15, 2000)。そのため、多くの国では予防目的で脳手術の前後に抗痙攣薬の投与が標準的に行われている。新規に診断された膠芽腫を対象とした放射線と本薬の併用療法についての海外第Ⅲ相試験(C028* 試験)では、放射線単独療法群と放射線と本薬の併用療法群で痙攣の発現率に違いは認められなかった(放射線単独療法群: 7% (20/285例)、放射線との併用療法群の併用療法期: 6% (18/288例)、放射線との併用療法後の本薬単独療法期: 11% (25/224例))。また、初回再発の膠芽腫患者を対象として本薬と塩酸プロカルバジンと比較した海外第Ⅱ相試験(C027* 試験)においては、痙攣又は癲癇の前兆は本薬群で23% (25/110例)、プロカルバジン群で21% (23/110例)であった。海外での本薬の市販後、1999年1月26日～2004年7月12日までの期間のPeriodic Safety Update Report (PSUR)によれば、本薬との関連性が否定できない「痙攣/発作」が96例報告されている。一方、PSURに記載された推定使用例数(販売数量データから推測)から、この期間に200,504例(3,007,553 patient days)に市販品が投与されたと推測される。したがって、この期間に報告された「痙攣/発作」の副作用発現頻度は極めて低いと考えられ、脳腫瘍で予想される範囲内であった。以上の非臨床及び臨床成績から本薬自体に痙攣誘発作用はないと考え、本薬の痙攣誘発作用を検討するための安全性試験を新たに実施しなかった。

抗痙攣薬を含む他剤との薬力学的相互作用に関しては、非臨床及び臨床成績より、本薬には痙攣誘発作用がないと考えられることから、痙攣閾値を低下させることが知られている薬剤と併用しても、痙攣の発生頻度を増加させる可能性は低いと考える。また、本薬はカルバマゼピン、フェニトイン等の抗痙攣薬の代謝に関与する酵素分子種による代謝を受けないことから、酵素阻害及び誘導による薬物動態学的相互作用が起こる可能性は極めて低いと推定され、薬力学的及び薬物動態学的相互作用に関する試験を実施しなかった。

機構は、回答について概ね了承するものの、本薬と併用される薬剤との相互作用に関する安全性情報は今後も収集し、解析していく必要があると考える。

(5) 安全性薬理について

安全性薬理試験(反復投与(1クール)毒性試験)において、投与開始5日目のトキシコキネティクスAUC_{0-t}は、ラット200mg/m²投与では24.7µg·h/mL(P002* 試験:雄)、15.2µg·

*新薬承認情報提供時に置き換え

h/mL (P003* 試験：雄)、28.4 μ g \cdot h/mL (P002* 試験：雌)、20.9 μ g \cdot h/mL (P003* 試験：雌)、イヌに対する 200mg/m² 投与では雄 28.8 μ g \cdot h/mL、雌 33.8 μ g \cdot h/mLであった。国内第 I 相試験 C016* におけるヒトでの曝露量 (AUC_{0-t}: 36.0 μ g \cdot h/mL) は、安全性薬理試験におけるラット及びイヌでの 200mg/m² 投与時の曝露量を下回っていることから、機構は、当該試験で認められた胃内容物排泄能低下及び水・電解質代謝異常の発現機序、及び臨床使用における注意喚起の必要性について申請者に照会中である。

3.2 薬物動態試験に関する資料

<提出された資料の概略>

生体試料中の本薬及び生体内分解物である5-[(1 \mathcal{Z} -3-methyltriaz-1-en-1-yl)-1Himidazole-4-carboxamide (MTIC) は、各々バリデートされたHPLC法及びLC-MS/MS法により測定された。

(1) 吸収 (単回投与)

¹⁴C標識体 (試験番号 A014* 、 A016*)

雄性ラットに¹⁴C標識した本薬200mg/m² (674 \times 10⁶Bq/m²) を静脈内投与した際の血漿中放射能濃度は、投与後5分 (初回測定時) に42.8 μ g Eq/gを示した後12時間まで速やかに低下し、投与後24~168時間にかけてほぼ一定のレベルで推移した。静脈内投与後の血漿中放射能濃度のAUC_{0-t}は102 μ g Eq \cdot h/gであった。200mg/m² (674 \times 10⁶Bq/m²) を経口投与した際の血漿中放射能濃度は、投与後15分 (初回測定時) に36.6 μ g Eq/gを示し、その後は静脈内投与時とほぼ同様に推移した。経口投与後の血漿中放射能濃度のAUC_{0-t}は120 μ g Eq \cdot h/gであった。静脈内及び経口投与後の血漿中放射能濃度のAUC_{0-t}から算出した吸収率は118%であった。

¹⁴C標識体投与時の血漿中未変化体濃度の薬物動態 (PK) パラメータは、以下のとおりである。静脈内及び経口投与後の血漿中未変化体濃度のAUC_{0-t}から算出した絶対バイオアベイラビリティ (BA) は111%であった。

投与量 mg/m ²	経路	t _{max} h	C _{max} □g/mL	t _{1/2 λ z} h	AUC _{0-t} □g \cdot h/mL	CL or CL/F mL/min/kg	Vd or Vd/F L/kg
200	静脈内	0.08	44.0	1.15	78.0	6.44	0.64
	経口	0.5	42.7	1.25	87.5	5.95	0.65

雄性イヌに¹⁴C標識した本薬200mg/m² (674 \times 10⁶Bq/m²) を静脈内投与した際の血漿中放射能濃度は、投与後5分 (初回測定時) に22.0 μ g Eq/gを示した後12時間まで速やかに低下し、投与後24~120時間にかけてほぼ一定のレベルで推移した。静脈内投与後の血漿中放射能濃度のAUC_{0-t}は74.7 μ g Eq \cdot h/gであった。200mg/m² (674 \times 10⁶Bq/m²) を経口投与した際の血漿中放射能濃度は、投与後0.38時間に18.0 μ g Eq/gを示し、その後は静脈内投与時とほぼ同様に推移した。経口投与後の血漿中放射能濃度のAUC_{0-t}は73.6 μ g Eq \cdot h/gであった。静脈内及び経口投与後の血漿中放射能濃度のAUC_{0-t}から算出した吸収率は101%であった。

¹⁴C標識体投与時の血漿中未変化体濃度のPKパラメータは、以下のとおりである。静脈内及び経口投与後の血漿中未変化体濃度のAUC_{0-t}から算出した絶対BAは110%であった。

*新薬承認情報提供時に置き換え

投与量 mg/m ²	経路	t _{max} h	C _{max} □g/mL	t _{1/2 λ z} h	AUC _{0-t} □g·h/mL	CL or CL/F mL/min/kg	Vd or Vd/F L/kg
200	静脈内	0.10	23.0	1.43	36.3	4.47	0.56
	経口	0.41	17.7	1.65	88.5	4.12	0.59

非標識体 (試験番号 A015*、A017*、A018*、A019*)

ラットに本薬200mg/m²を経口投与した際の血漿中未変化体濃度は、t_{max}を示した後に雌雄ともに一相性に低下し、投与後12時間以降は定量下限 (0.1µg/mL) 未満となった。また、血漿中MTIC濃度は、t_{max}を示した後に雌雄ともに一相性に低下し、投与後8~12時間以降は定量下限 (0.01µg/mL) 未満となった。それぞれのPKパラメータを以下に示す。

血漿中未変化体 PKパラメータ

投与量 mg/m ²	性	t _{max} h	C _{max} □g/mL	t _{1/2 λ z} h	AUC _{0-t} □g·h/mL	CL/F mL/min/kg	Vd/F L/kg
200	雄	0.75	21.5	1.17	54.4	—	—
	雌	0.25	31.4	1.22	55.7	—	—

血漿中MTIC PKパラメータ

投与量 mg/m ²	性	t _{max} h	C _{max} □g/mL	t _{1/2 λ z} h	AUC _{0-t} □g·h/mL	CL/F mL/min/kg	Vd/F L/kg
200	雄	0.50	0.329	1.64	1.00	—	—
	雌	1.00	0.385	1.35	1.11	—	—

ラットに本薬200mg/m²を静脈内投与した際の血漿中未変化体のPKパラメータを以下に示す。AUC_{0-∞}から算出した絶対BAは、雄では96%、雌では100%であった。

投与量 mg/m ²	性	経路	t _{max} h	C _{max} □g/mL	t _{1/2 λ z} h	AUC _{0-∞} □g·h/mL	CL or CL/F mL/min/kg	Vd or Vd/F L/kg
200	雄	静脈内	0.08	34.7	1.23	55.6	8.50	0.90
		経口	0.25	25.2	1.26	53.4	8.80	1.00
	雌	静脈内	0.08	35.3	1.12	50.6	10.5	1.00
		経口	0.25	29.3	1.19	50.3	10.5	1.10

イヌに本薬200mg/m²を経口投与した際の血漿中未変化体濃度は、t_{max}を示した後に雌雄ともに一相性に低下し、投与後12時間以降は定量下限 (0.1µg/mL) 未満となった。また、血漿中MTIC濃度は、t_{max}を示した後に雌雄ともに一相性に低下し、投与後8時間以降は定量下限 (0.01µg/mL) 未満となった。それぞれのPKパラメータを以下に示す。

血漿中未変化体 PKパラメータ

投与量 mg/m ²	性	t _{max} h	C _{max} □g/mL	t _{1/2 λ z} h	AUC _{0-t} □g·h/mL	CL/F mL/min/kg	Vd/F L/kg
200	雄	0.58	9.25	1.58	20.7	—	—
	雌	0.50	8.50	1.68	20.5	—	—

*新薬承認情報提供時に置き換え

血漿中MTIC PKパラメータ

投与量 mg/m ²	性	t _{max} h	C _{max} □g/mL	t _{1/2 λ z} h	AUC _{0-t} □g·h/mL	CL/F mL/min/kg	Vd/F L/kg
200	雄	0.5	0.186	1.57	0.502	—	—
	雌	0.5	0.223	1.61	0.586	—	—

イヌに本薬40mg/m²を静脈内投与あるいは本薬200mg/m²を経口投与した際の血漿中未変化体のPKパラメータを以下に示す。投与量補正後のAUC_{0-t}から算出した絶対BAは雄では101%、雌では95%であった。

投与量 mg/m ²	性	経路	t _{max} h	C _{0.05h} □g/mL	t _{1/2 λ z} h	AUC _{0-∞} □g·h/mL	CL mL/min/kg	Vd L/kg
40	雄	静脈内	—	3.53	1.45	5.96	5.71	0.71
	雌	静脈内	—	3.02	1.51	6.04	5.58	0.73

投与量 mg/m ²	性	経路	t _{max} h	C _{max} □g/mL	t _{1/2 λ z} h	AUC _{0-∞} □g·h/mL	CL/F mL/min/kg	Vd/F L/kg
200	雄	経口	0.38	14.1	1.36	31.4	5.70	0.67
	雌	経口	0.44	12.1	1.41	29.7	5.96	0.73

雄性イヌに臨床試験用製剤又は毒性試験用製剤（薬のみをカプセルに封入）を経口投与し、血漿中未変化体のAUC_{0-t}から算出した臨床試験用製剤に対する毒性試験用製剤の相対的BAは102%であった。

単回投与と試験成績に対する申請者の考察

ラット及びイヌに本薬を経口投与した際の血漿中未変化体濃度のt_{max}は、投与後30分前後に認められ、本薬の速やかな吸収性が示唆された。また、t_{1/2}はラット及びイヌでそれぞれ約1.2及び1.5時間であり、反復投与によっても蓄積性はない。

絶対BAはラット及びイヌともに約100%であり、本薬は消化管及び肝臓において初回通過代謝を受けないことが示唆された。この理由として、本薬の主要な生体内変換が非酵素的な分解反応（化学的な加水分解）であることに起因する。

未変化体及びMTICの血漿中濃度は平行して推移し、t_{max}及びt_{1/2}がほぼ一致していたこと、未変化体に対するMTICの血漿中濃度比（MTIC/未変化体のAUC比）が、ラットで1.9~2.1%、イヌで2.7~3.0%といずれも低値を示したことから、血漿中MTIC濃度は同時に存在する本薬の濃度に依存することが示唆された。また、この現象はMTICから5-amino-1H-imidazole-4-carboxamide (AIC) への分解 (3.2 (3) *in vitro*における化学分解及び推定代謝経路の項参照) が本薬からMTICへの分解よりも明らかに速い (MTICの分解半減期が短い) ことに起因するものと考えられる。

(2) 分布

組織放射能 (試験番号 A021*、A022*)

有色ラットに¹⁴C標識した本薬を経口投与した際の組織中放射能濃度は、いずれの組織でも投

*新薬承認情報提供時に置き換え

与後6時間までに最高値を示した後、168時間まで緩やかに低下した。臓器別の最高放射能濃度は、腎臓及び肝臓で最も高く、次いで、脾臓、肺、副腎、腸間膜リンパ節、顎下腺、骨髄、胸腺、甲状腺で血漿とほぼ同じか、やや下回る値を示した。脳における放射能濃度は、他の組織と比較してやや低値で推移するものの、投与後2時間において最高値となり、この時の血漿中放射能濃度の36～37%を示し、本薬が血液－脳関門を通過することが示唆された。投与後168時間における各臓器の放射能濃度は、同時点の血漿中放射能濃度の100～1000倍高値を示し、組織放射能の残留性が示唆された。なお、組織放射能の分布のパターンに性差は認められなかった。

全身オートラジオグラフィ（試験番号 A023*）

雄性ラットにおいて、¹⁴C標識した本薬を経口投与した際、投与後0.25時間では、胃、小腸、肝臓及び腎臓における放射能濃度が高く、次いで心臓、骨髄、骨格筋、精巣等で高濃度を示し、脳での放射能濃度は血液よりも若干低い程度であった。投与後1時間では、投与後0.25時間とほぼ同様であったが、脳において比較的高い放射能濃度を示した。投与後3時間では、腎臓、肝臓、精巣、骨髄、骨格筋、胸腺、小腸（内容物）等で比較的高い放射能濃度を示し、脳では投与1時間後とほぼ同程度であった。投与後24時間では、大部分の組織で放射能濃度の低下が認められたものの、この時点では、肝臓、消化管下部、唾液腺、ハーダー腺、骨髄等において比較的高い放射能濃度を示していた。投与後168時間における各組織の放射能濃度はさらに低下したものの、放射能の残存が認められており、これは本薬の分解生成物であるAICが生体成分としてプリン生合成系に取り込まれ、生体成分として再利用されたことに起因するものであると推察されている。また、投与後3時間において、腎臓で高濃度を示したことは、本薬の主排泄経路が腎臓を介しての尿中排泄であることを反映していると申請者は推察している。

脳内及び脳脊髄液中への移行性（試験番号 A014*、A016*、A018*）

ラットに本薬200 mg/m²を投与した際の脳内への未変化体移行率（脳/血漿のAUC_{0-t}比）は、静脈内投与では雄39%、雌37%、経口投与では雄37%、雌35%であった。

雄性ラット及び雄性イヌに¹⁴C標識した本薬200mg/m²（674×10⁶Bq/m²）を経口投与した際の脳脊髄液中への放射能移行率（脳脊髄液/血漿のAUC_{0-6h}比）は、ラットで44.1%、イヌで54.3%、また脳脊髄液中への未変化体移行率（脳脊髄液/血漿のAUC_{0-6h}比）はラットで41.3%、イヌで31.4%であった。

以上から、本薬は、未変化体として血液－脳関門及び血液－脳脊髄液関門を通過するものと申請者は考察している。

血球移行性（*in vivo*）（試験番号 A014*、A016*）

雄性ラット及び雄性イヌに¹⁴C標識した本薬を経口した際、投与後0.25、1、3及び6時間の放射能の全血中/血漿中比は、ラットではそれぞれ0.858、0.895、0.933及び1.37、イヌでは0.738、0.762、0.792及び0.883であり、ヘマトクリット値を考慮すると、血漿よりやや低レベルの放射能が血球中に移行しているものと申請者は考察している。

*新薬承認情報提供時に置き換え

血漿タンパク結合（試験番号 A014*、A016*）

雄性ラット及び雄性イヌに¹⁴C標識した本薬を経口し、投与後0.25、1、3及び6時間の血漿中及び血漿の限外ろ過液中の放射能濃度からタンパク結合率を算出した。ラットにおけるタンパク結合率は投与後0.25、1、3及び6時間で24.5、26.7、20.7及び26.7%であり、投与後時間あるいは血漿中放射能濃度に依らずほぼ一定の値を示した。一方、イヌにおけるタンパク結合率は投与後0.25、1、3及び6時間で45.9、31.8、24.2及び14.0%と、投与後の時間経過又は血漿中放射能濃度の低下に伴う結合率の低下が認められた。

本薬はタンパク結合率が低く、また血漿タンパクとの結合部位の競合による薬物相互作用が発現する可能性は低いと申請者は考察している。

胎盤・胎児移行性及び乳汁移行性

本項に該当する試験は実施されていない。

(3) 代謝

血漿、尿及び糞中代謝物（試験番号 A014*、A016*）

雄性ラット及び雄性イヌに¹⁴C標識した本薬を静脈内投与した際、投与後6時間までの血漿中放射能の大部分は未変化体で、血漿中では代謝物の存在は認められなかった。一方、雄性ラット及び雄性イヌに¹⁴C標識した本薬を経口投与した際、投与後初期には、血漿中放射能の大部分は未変化体であったが、時間経過とともに未変化体の割合が低下し、未同定の高極性代謝物の割合が増加した。また、尿中では、投与後4時間までは未変化体とAICの割合が高く、少量の3-methyl-4-oxo-3,4-dihydroimidazo[5,1-d][1,2,3,5]tetrazine-8-carboxylic acid (TMA) 及び複数の構造未定の高極性代謝物が検出されたが、投与後4時間以降は経時的に未変化体、AIC及びTMAの割合が低下し、高極性代謝物の割合が増加した。また、投与後24時間までに尿中に排泄された未変化体、AIC、TMA及び高極性代謝物の投与量に対する割合は、ラットでそれぞれ25、11、2.5及び18%、イヌでそれぞれ3.4、13、2.4及び22%であった。なお、血漿中及び尿中からはMTICに相当するピークは検出されず、また糞中放射能は少なく、分析は不能であった。

血漿及び尿中代謝物プロフィールは、静脈内及び経口投与でほぼ同様の組成比パターンを示し、本薬が初回通過効果を受けないと申請者は考察している。

*in vitro*における化学分解及び推定代謝経路

*in vitro*の生理的なpH条件下において、本薬は塩基と反応して加水分解され、MTICに変換され、続いてMTICはAICとDNAのアルキル化に関与するCH₃N₂⁺に分解されると報告されている（J Pharm Pharmacol 38: 63 1986、J Chem Soc Chem Commun 15: 1177-1178, 1993、Biochemistry 33: 9045-9051, 1994、Cancer Res 47: 5846-5852, 1987、Cancer Treatment Rev 23: 35-61, 1997）。この過程は、薬物代謝酵素に非依存的であるが、その他の副次的な経路により生成されるTMAについて、その生成過程は、薬物代謝酵素による反応と推定される。しかし、TMAは尿中から僅かに検出される程度であり、また、本薬の薬物代謝酵素に由来する反応は加水分解反応に比べて極めてマイナーであると考えられること等の理由から、TMAの生成量はごく少量であると考えられ、本薬からTMAへの変換過程が本薬のクリアランスに対する影響

*新薬承認情報提供時に置き換え