

テモダールカプセル 20 mg
テモダールカプセル 100 mg

第 2 部 CTD の概要

(6) 非臨床試験の概要文及び概要表

⑥ 毒性試験の概要文

シェリング・プラウ株式会社

目次 (1 of 2)

略語一覧表	1
2.6.6 毒性試験の概要文	2
2.6.6.1 まとめ	2
2.6.6.2 単回投与毒性試験	6
2.6.6.2.1 マウス単回経口投与毒性試験	6
2.6.6.2.2 マウス単回腹腔内投与毒性試験	6
2.6.6.2.3 ラット単回経口投与毒性試験	6
2.6.6.2.4 ラット単回腹腔内投与毒性試験	7
2.6.6.2.5 イヌ単回経口投与毒性試験	8
2.6.6.3 反復投与毒性試験	8
2.6.6.3.1 ラット1クール経口投与毒性試験	8
2.6.6.3.2 ラット(低用量)1クール経口投与毒性試験	9
2.6.6.3.3 ラット3クール経口投与毒性試験	10
2.6.6.3.4 ラット6クール経口投与毒性試験	11
2.6.6.3.5 イヌ1クール経口投与毒性試験	13
2.6.6.3.6 イヌ(低用量)1クール経口投与毒性試験	14
2.6.6.3.7 イヌ3クール経口投与毒性試験	14
2.6.6.3.8 イヌ6クール経口投与毒性試験	15
2.6.6.4 遺伝毒性試験	16
2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験	16
2.6.6.4.2 ヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験	16
2.6.6.4.3 マウス小核試験	17
2.6.6.5 がん原性試験	17
2.6.6.6 生殖発生毒性試験	17
2.6.6.6.1 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	17
2.6.6.6.2 ラット胚・胎児発生に関する予備試験	18
2.6.6.6.3 ラット胚・胎児発生に関する試験	19
2.6.6.6.4 ウサギ胚・胎児発生に関する予備試験	20
2.6.6.6.5 ウサギ胚・胎児発生に関する試験	20
2.6.6.6.6 ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験	21

目次 (2 of 2)

2.6.6.7	局所刺激性試験	22
2.6.6.8	その他の毒性試験	22
2.6.6.8.1	皮膚感作性試験	22
2.6.6.8.2	抗原性試験	23
2.6.6.8.3	依存性試験	23
2.6.6.8.4	不純物の毒性試験	23
2.6.6.8.4.1	不純物のラット1クール経口投与毒性試験	24
2.6.6.8.4.2	不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験	25
2.6.6.8.4.3	不純物のヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験	25
2.6.6.8.5	その他の試験	25
2.6.6.8.5.1	マウス単回静脈内投与試験	25
2.6.6.8.5.2	マウス単回腹腔内投与試験	26
2.6.6.8.5.3	マウス反復腹腔内投与試験	26
2.6.6.8.5.4	ラット反復腹腔内投与試験	26
2.6.6.9	考察及び結論	27
2.6.6.10	図表	39
2.6.6.11	参考文献一覧	39

略語一覧表

略語	名称
AIC	5-amino-1 <i>H</i> -imidazole-4-carboxamide
ALP	アルカリホスファターゼ (alkaline phosphatase)
AUC	濃度-時間曲線下面積 (area under concentration-time curve)
AUC _{0-t}	最終測定可能時点までの AUC
BUN	尿素窒素 (blood urea nitrogen)
Cmax	最高濃度 (maximum drug concentration)
不純物 A *	
DMF	ジメチルホルムアミド (dimethylformamide)
DMSO	ジメチルスルホキシド (dimethyl sulfoxide)
DNA	デオキシリボ核酸 (deoxyribonucleic acid)
DTIC	ダカルバジン (dacarbazine)
GLP	Good Laboratory Practice
γ -GTP	γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ (γ -glutamyl transpeptidase)
Hb	ヘモグロビン (hemoglobin)
Ht	ヘマトクリット (hematocrit)
ICH	日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use)
M/E 比	顆粒球 / 赤芽球比 (myeloid/erythroid ratio)
MGMT	<i>O</i> ⁶ -メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼ (<i>O</i> ⁶ -methylguanine-DNA methyltransferase)
MTIC	5-[(1 <i>Z</i>)-3-methyltriaz-1-en-1-yl]-1 <i>H</i> -imidazole-4-carboxamide
PK	ファーマコキネティクス (pharmacokinetics)
<i>t</i> _{1/2}	末端排泄相の消失半減期 (elimination half-life)
TK	トキシコキネティクス (toxicokinetics)
tmax	最高濃度到達時間 (time of maximum concentration)

*新薬承認情報提供時に置き換えた

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

(1) 主要な毒性試験

テモゾロミドの毒性試験一覧を表 2.6.6-1 に示した。本薬の安全性は、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験及び皮膚感受性試験で検討した。また、不純物の安全性を、不純物を添加した原薬を用いて、反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験で検討した。なお、本薬を反復投与する場合は、臨床投与スケジュールと同じ間歇投与で実施した。

表 2.6.6-1 テモゾロミドの毒性試験一覧

試験の種類	試験系	投与方法	被験物質	GLP
単回投与毒性	マウス, ラット イヌ	経口, 腹腔内 経口	原薬 原薬	適 適
反復投与毒性				
1クール (1ヵ月, 間歇投与 ^a)	ラット, イヌ	経口	原薬	適
1クール (1ヵ月, 間歇投与)	ラット	経口	不純物添加原薬	適
3クール (3ヵ月, 間歇投与)	ラット, イヌ	経口	原薬	適
6クール (6ヵ月, 間歇投与)	ラット, イヌ	経口	原薬	適
遺伝毒性				
復帰突然変異	<i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	(<i>in vitro</i>)	原薬 不純物添加原薬	適 適
染色体異常	ヒト末梢血リンパ球	(<i>in vitro</i>)	原薬 不純物添加原薬	適 適
小核	マウス	腹腔内	原薬	適
生殖発生毒性				
ICH 4.1.1 (間歇投与)	ラット	経口	原薬	適
ICH 4.1.3	ラット, ウサギ	経口	原薬	適
ICH 4.1.2 (間歇投与)	ラット	経口	原薬	適
その他の毒性				
皮膚感受性	モルモット	貼付	原薬	適

ICH 4.1.1: 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験, ICH 4.1.3: 胚・胎児発生に関する試験, ICH 4.1.2: 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

a: 5日間連続投与, 23日間休薬を1クールとした間歇投与

(2) 単回投与毒性試験

マウスの経口及び腹腔内投与 (500 ~ 4000 mg/m²), ラットの経口 (200 ~ 7000 mg/m²) 及び腹腔内投与 (500 ~ 4000 mg/m²), イヌの経口投与 (単回又は漸増, 200 ~ 2000 mg/m²) による単回投与毒性試験を実施した。

経口投与の概略の致死量は、マウスで 1000 mg/m² (雌雄), ラットで 1500 (雄) 又は 2500 mg/m² (雌), イヌで 600 mg/m² (雌雄) であり、イヌが最も低い致死量を示した。経口投与時の毒性症状又は死亡の発現は概して遅延性であった。腹腔内投与の概略の致死量は、マウスで 1000 mg/m² (雌雄), ラットで 2000 mg/m² (雌雄) であった。

マウス及びラットでは、主な毒性症状として、自発運動低下、体重増加抑制がみられ、さらに致死量以上では糞便量減少、軟便、摂餌低下、るい瘦、全身蒼白化、円背位、半眼、振戦、虚脱、歩行失調、又は呼吸困難等がみられた。剖検では、リンパ系器官、胃腸管、雄生殖器等の諸臓器に変色 (暗赤色又は暗色化) がみられた。経口投与と腹腔内投与で明らかな差はみられなかった。

イヌ単回投与試験では、主な毒性症状として、200 mg/m² 以上で嘔吐、糞便異常がみられ、600

mg/m² では9日目に自発運動低下、歯肉蒼白化、体温上昇がみられたため全例（雌雄各1例）を切迫屠殺した。1000及び1500 mg/m² でも雄各1例が12又は13日目に死亡した。剖検では600 mg/m² まで特記すべき所見はなかったが、1000 mg/m² 以上では死亡例にリンパ系器官、胃腸管等の諸臓器に変色（暗赤色又は暗色化）がみられた。イヌ漸増投与試験では、500 mg/m² で嘔吐がみられた。3500 mg/m²（1, 3, 6日目に500, 1000, 2000 mg/m² を漸増投与）では7日目に自発運動低下、体重減少、歩行失調、虚脱、散瞳、呼吸数増加、糞便異常がみられたため全例（雌雄各1例）を切迫屠殺した。剖検では胃腸管等の諸臓器に変色（暗赤色又は暗色化）がみられた。

(3) 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験は、臨床投与スケジュールと同じ間歇投与で、ラット及びイヌの1（5日間連続投与、23日間休薬）、3及び6クール（1, 3及び6ヵ月間）経口投与試験を実施した。各試験とも病理学的検査を投与期間終了時（中間屠殺）と休薬期間終了時（最終屠殺）に実施し、回復性を検討した。血漿中薬物濃度は、1及び3クール投与試験では各クールの投与1及び5日目、6クール投与試験では1, 3及び6クールの投与1及び5日目に測定した。

1) ラット

ラット1クール経口投与毒性試験〔1回目：200, 400, 600（雌）, 800（雄）mg/m², 2回目：25, 50, 100, 150, 200 mg/m²〕では、5日間の投与期間中に死亡はなかったが、休薬期間中に200 mg/m² の雄、400 mg/m² 以上の雌雄で死亡がみられ、600 mg/m² 以上では全例が死亡した。25 mg/m² 以上では末梢血好中球減少、胸腺（重量減少、リンパ球減少）の変化、50 mg/m² 以上では体重増加抑制、末梢血白血球、リンパ球及び血小板の減少、精巣（重量減少又は多核細胞）の変化、100又は150 mg/m² 以上では赤血球減少、骨髄（骨髄細胞減少、出血）、脾臓（重量減少、リンパ球減少）、小腸及び大腸（陰窩壊死、粘膜上皮の過形成・崩壊）、甲状腺（濾胞上皮肥大、コロイド減少又は重量減少）の変化がみられた。さらに死亡又は切迫屠殺例がみられた200又は400 mg/m² 以上では粗毛、糞便量減少、自発運動低下、円背位、るい瘦、全身蒼白化、摂餌量減少、Hb及びHtの減少、血清総蛋白及びアルブミンの減少、総ビリルビン、 γ -GTP、BUN及び尿量の増加、尿浸透圧の減少、リンパ節（暗色化、リンパ球減少、出血）、胃（暗色化、浮腫又は出血）、精巣上体（重量減少、単細胞壊死又は多核細胞）、敗血症等に加えて、眼（眼底蒼白化、網膜の出血・滲出（眼底検査）、網膜変性又は壊死）の変化もみられた。

ラット3クール（25, 50, 200 mg/m²）及び6クール（25, 50, 125 mg/m²）経口投与毒性試験では、1クール投与試験と同様な毒性所見が認められた。即ち、概して25 mg/m² 以上では体重増加抑制、摂餌量減少、脱毛（3クールのみ）、白血球系パラメータ及び血小板の減少、胸腺（リンパ球減少又は重量減少）の変化、50 mg/m² 以上では脾臓（リンパ球減少）、精巣（重量減少、多核細胞）の変化、125 mg/m² 以上では自発運動低下、円背位、全身蒼白化、赤血球系パラメータの減少、血清総蛋白、アルブミン及びグロブリンの減少、又は精巣上体（重量減少、多核細胞）の変化、200 mg/m² では粗毛、骨髄（骨髄細胞減少、出血）、小腸及び大腸（陰窩壊死）の変化等がみられた。6クール投与試験では甲状腺への影響は認められなかった。これらに加えて、ラット3及び6クール投与試験では腫瘍がみられた。最も高頻度に見られたのは乳癌であった。乳癌は、3クール投与試

験の 200 mg/m², 6 クール投与試験の 25 mg/m² 以上で, 特に雌で多く認められた. その他, 6 クール投与試験の 125 mg/m² では皮膚の角化棘細胞腫及び基底細胞腺腫, 少数例で間葉系腫瘍の線維肉腫, 悪性シュワン細胞腫, 子宮内膜間質肉腫, 肉腫, 血管肉腫及び線維腫がみられた. 3 クール投与試験では死亡はなかったが, 6 クール投与試験では雄の 50 mg/m² 以上及び雌の 125 mg/m² で死亡がみられ, 雌では乳癌, 雄ではその他の腫瘍又は広範囲の泌尿生殖器の炎症が死因に関連していると考えられた.

各試験とも血漿中テモゾロミド濃度は投与量の増加に応じた上昇を示し, 雌雄差はなかった. また, 6 クールまで反復投与しても, 蓄積性はなかった.

以上の結果から, ラット反復投与試験における毒性の標的器官は, 骨髄・リンパ系器官, 胃腸管, 雄生殖器, 眼 (網膜), 甲状腺, 乳腺, 皮膚及び間葉系組織と考えられた. 骨髄・リンパ系器官, 胃腸管及び甲状腺の変化については休薬により回復性が認められた. 1, 3 及び 6 クール投与試験における無毒性量はいずれも 25 mg/m² 未満と考えられた.

2) イヌ

イヌ 1 クール経口投与毒性試験 (1 回目: 200, 500, 1000 mg/m², 2 回目: 25, 50, 125 mg/m²) では, 中間屠殺日 (6 日目) に 1000 mg/m² の雌雄各 1 例が, また, その後約 1 週間以内 (休薬期間中) に 125 mg/m² の雄 1 例, 200 ~ 1000 mg/m² の全例が死亡又は切迫屠殺された. 50 mg/m² 以上では嘔吐, 末梢血リンパ球減少, 125 mg/m² 以上では自発運動低下, 末梢血白血球, 好中球及び血小板の減少, 骨髄 (骨髄細胞減少: 切迫屠殺例), 胸腺 (リンパ球減少), 精巣 (多核細胞), 精巣上体 (精子形態異常) の変化がみられた. さらに, 全例が死亡又は切迫屠殺された 200 mg/m² 以上では便の異常 (変色, 減少, 下痢), 脱水, 体重減少, 摂餌量減少, 赤血球, Hb 及び Ht の減少, 血清総蛋白, アルブミン及びグロブリンの減少, 骨髄 (萎縮), 胸腺 (暗色化), 脾臓 (蒼白化, リンパ球減少), リンパ節 (暗色化, リンパ球減少又はうっ血), 腸リンパ組織 (リンパ球減少), 胃 (暗色化, 出血又はうっ血), 小腸及び大腸 (暗色化, 陰窩壊死, うっ血又は出血) の変化, 又は敗血症等がみられた. 1000 mg/m² では眼 (網膜の変性, 壊死) の変化もみられた.

イヌ 3 及び 6 クール (25, 50, 125 mg/m²) 経口投与毒性試験では, 1 クール投与試験と同様な毒性所見が認められた. 即ち, 概して 25 mg/m² 以上では嘔吐, 50 mg/m² 以上では自発運動低下, 便の異常 (変色), 白血球系パラメータ及び血小板の減少, 125 mg/m² では体重減少, 赤血球系パラメータの減少, 胸腺 (重量減少, リンパ球減少), 脾臓 (リンパ球減少), 精巣 (多核細胞), 又は精巣上体 (未熟精子, 精子形態異常) 等の変化がみられた. 死亡はなかった.

各試験とも血漿中テモゾロミド濃度は投与量の増加に応じた上昇を示し, 雌雄差はなかった. また, 6 クールまで反復投与しても, 蓄積性はなかった.

以上の結果から, イヌ反復投与試験における毒性の標的器官は, 骨髄・リンパ系器官, 胃腸管, 雄生殖器及び眼 (網膜) と考えられた. 骨髄・リンパ系器官及び胃腸管の変化については休薬により回復性が認められた. 1, 3 及び 6 クール投与試験の無毒性量はいずれも 25 mg/m² (嘔吐を除く) と考えられた.

(4) 遺伝毒性試験

細菌を用いる復帰突然変異試験，ヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験及びマウス小核試験の結果はいずれも陽性であった。

(5) 生殖発生毒性試験

ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（5, 50, 150 mg/m²）では，交配前の投与を臨床投与スケジュールと同じ間歇投与（5日間連続投与，23日間休薬）で実施し，雄では3クール（3ヵ月）目の5日間投与後の翌日から，雌では2クール（2ヵ月）目の投与1日目から交配を開始した。その結果，雌雄親動物では5 mg/m²以上で軟便（雄），50 mg/m²以上で体重増加抑制及び摂餌量減少，150 mg/m²で脱毛，精巣重量減少がみられ，胚では50 mg/m²以上で着床後死亡率，死亡胚数の増加がみられた。本試験の無毒性量は，親動物の一般毒性については5 mg/m²未満（雄）又は5 mg/m²（雌），生殖能については150 mg/m²，胚については5 mg/m²と考えられた。

ラット胚・胎児発生に関する試験（25, 50, 75 mg/m²，妊娠8～12日投与）では，母動物の25 mg/m²以上で体重増加抑制及び摂餌量減少がみられ，胎児では50 mg/m²以上で体重減少，着床後死亡率の増加，奇形（横隔膜ヘルニア，脳の異常，肩甲骨及び四肢の多様な骨格異常等）がみられた。本試験の無毒性量は，母動物の一般毒性については25 mg/m²未満，生殖能については75 mg/m²，胎児については25 mg/m²と考えられた。

ウサギ胚・胎児発生に関する試験（5, 50, 125 mg/m²，妊娠8～12日投与）では，母動物に特記すべき所見はなかったが，胎児では50 mg/m²以上で奇形（小眼球，脳の異常，頭部，中軸骨格，尾及び四肢の多様な骨格異常等），125 mg/m²で体重減少，着床後死亡率の増加がみられた。本試験の無毒性量は，母動物の一般毒性及び生殖能については125 mg/m²，胎児については5 mg/m²と考えられた。

ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（5, 25, 75 mg/m²，妊娠8～12日及び妊娠21日から5日間投与，生後21日まで観察）では，母動物の25 mg/m²以上で体重増加抑制及び摂餌量減少がみられ，出生児では75 mg/m²で生存率減少，出生時体重減少及びその後の体重増加抑制，奇形，発育遅延及び反射獲得遅延がみられた。本試験の無毒性量は，母動物の一般毒性については5 mg/m²，生殖能については75 mg/m²，出生児については25 mg/m²と考えられた。

(6) その他の毒性試験

1) 感作性試験

本薬の皮膚感作性試験をモルモットを用いて閉鎖貼付法により検討したが，感作性は認められなかった。

2) 不純物の毒性試験

不純物を添加した不純物添加原薬（不純物 A * 0.54%，不純物 B * 0.69%）を用いて，ラット1クール経口投与毒性試験（25, 100, 200 mg/m²），復帰突然変異試験及び染色体異常試験を実施した。その結果，いずれの試験においても，不純物を添加しない原薬と添加した原薬で明らかな差は認められなかった。

* 新薬承認情報提供時に置き換えた

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 マウス単回経口投与毒性試験〔4.2.3.1.1, 試験番号 T001 *〕

ICR マウス（各群雌雄各 5 匹）にテモゾロミドの 500, 1000, 2000, 3000 及び 4000 mg/m² を単回経口投与した。

投与量は、予備試験の結果を基に設定した。即ち、マウス（各群雌雄各 2 匹）にテモゾロミドの 200, 500, 1000, 2000 及び 5000 mg/m² を単回経口投与して投与後 48 時間まで観察したところ、5000 mg/m² 群で全例が死亡した。このため、本試験の最高用量を 4000 mg/m² として、以下 3000, 2000, 1000 及び 500 mg/m² を設定した。

試験成績は、概要表 2.6.7.5（9 頁）に示した。

1000 mg/m² 群の雌雄各 3 例が 10～15 日目に、2000 mg/m² 以上の投与群のほぼ全例が 2～6 日目に死亡又は切迫屠殺された。概略の致死量は、雌雄とも 1000 mg/m² であった。一般状態では、500 mg/m² 以上の投与群で自発運動低下、1000 mg/m² 以上で円背位、半眼、振戦及び体重減少がみられた。2000 mg/m² 以上では虚脱も観察された。剖検では、多くの死亡例で胃（腺胃）粘膜に暗赤色部又は黒色部がみられたが、生存例では 1000 mg/m² 群の雌雄各 1 例でみられた脾臓の萎縮を除いて異常はなかった。

2.6.6.2.2 マウス単回腹腔内投与毒性試験〔4.2.3.1.2, 試験番号 T002 *〕

ICR マウス（各群雌雄各 5 匹）にテモゾロミドの 500, 1000, 2000, 3000 及び 4000 mg/m² を単回腹腔内投与した。

投与量は、予備試験の結果を基に設定した。即ち、マウス（各群雌雄各 2 匹）にテモゾロミドの 200, 500, 1000, 2000 及び 5000 mg/m² を単回腹腔内投与して投与後 48 時間まで観察したところ、5000 mg/m² 群で全例が死亡した。このため、本試験の最高用量を 4000 mg/m² として、以下 3000, 2000, 1000 及び 500 mg/m² を設定した。

試験成績は、概要表 2.6.7.5（9 頁）に示した。

1000 mg/m² 群の雄 1 例及び雌 3 例が 7～12 日目に、2000 mg/m² 以上の投与群のほぼ全例が 2 又は 3 日目に死亡した。概略の致死量は、雌雄とも 1000 mg/m² であった。一般状態では、500 mg/m² 群で自発運動低下（1 例のみ）及び体重増加抑制がみられ、1000 mg/m² 以上の投与群ではさらに円背位及び半眼、2000 及び 3000 mg/m² で振戦、4000 mg/m² で歩行失調がみられた。死亡例の剖検では胃（腺胃）粘膜に暗赤色部又は黒色部がみられたが、生存例では 1000 mg/m² 群の雄 1 例でみられた脾臓の萎縮を除いて異常はなかった。

2.6.6.2.3 ラット単回経口投与毒性試験〔4.2.3.1.3 及び 4.2.3.1.4, 試験番号 T003 * 及び T004 *〕

ラット単回経口投与試験は 2 回実施し、概略の致死量を求めた。初回の試験（試験番号 92128）では、SD ラット（各群雌雄各 5 匹）にテモゾロミドの 5000, 5500, 6000, 6500 及び 7000 mg/m² を単回経口投与した。

* 新薬承認情報提供時に置き換えた

投与量は、予備試験の結果を基に設定した。即ち、ラット（各群雌雄各2匹）にテモゾロミドの200, 500, 1000, 2000, 5000, 7000, 8000, 9000及び10000 mg/m²を単回経口投与して投与後48時間まで観察したところ、7000, 8000及び9000 mg/m²の投与群の各3例が死亡した。このため、本試験の最高用量を7000 mg/m²として、以下6500, 6000, 5500及び5000 mg/m²を設定した。

試験成績は、概要表 2.6.7.5（10頁）に示した。

テモゾロミド投与群の全例が死亡した。主な変化として、自発運動低下、摂餌低下、拒食、糞便量減少、無便、軟便、黄色排泄物、半眼、円背位、尿による被毛の汚れ、呼吸困難及びるい瘦がみられ、5000 mg/m²群の雄では11日目までに、雌では6日目までに死亡した。

そこで、SDラット（各群雌雄各5匹）にテモゾロミドの200, 500, 750, 1500及び2500 mg/m²を投与して追加試験（試験番号93091）を実施した。

試験成績は、概要表 2.6.7.5（10頁）に示した。

1500 mg/m²群の雄1例が15日目に、2500 mg/m²群の雄4例及び雌全例が10～12日目に死亡した。概略の致死量は、雄で1500 mg/m²、雌で2500 mg/m²であった。一般状態では、200 mg/m²以上の投与群で体重増加抑制、1500あるいは2500 mg/m²の投与群で自発運動低下、糞便量減少、黄色排泄物、半眼、円背位、呼吸困難、尿による被毛の汚れ、鼻部痂皮、眼球蒼白化、全身蒼白化あるいは体重減少がみられた。剖検では、1500及び2500 mg/m²の投与群の死亡例及び生存例に、胃、脳、生殖器、リンパ節、肺、膵臓、皮下組織又は盲腸に暗色部が認められた。

2.6.6.2.4 ラット単回腹腔内投与毒性試験〔4.2.3.1.5, 試験番号 T005 *〕

SDラット（各群雌雄各5匹）にテモゾロミドの500, 1000, 2000, 3000及び4000 mg/m²を単回腹腔内投与した。

投与量は、予備試験の結果を基に設定した。即ち、ラット（各群雌雄各2匹）にテモゾロミドの200, 500, 1000, 2000及び5000 mg/m²を単回腹腔内投与して投与後48時間まで観察したところ、5000 mg/m²群で4例中3例が死亡した。このため、最高用量を4000 mg/m²として、以下3000, 2000, 1000及び500 mg/m²を設定した。

試験成績は、概要表 2.6.7.5（10頁）に示した。

2000 mg/m²以上の投与群では14日目までに全例が死亡した。概略の致死量は、雌雄とも2000 mg/m²であった。一般状態では、500 mg/m²以上の投与群で自発運動低下、半眼あるいは体重の増加抑制又は減少、1000 mg/m²以上で円背位、2000 mg/m²以上で拒食及び頭部腫脹、4000 mg/m²群で黄色排泄物がみられた。剖検では、死亡例の胃粘膜、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、小腸、皮下組織の暗赤色部、暗色部等の変色が認められた。また、4000 mg/m²群で小腸捻転及び結腸重積もみられた。

*新薬承認情報提供時に置き換えた

2.6.6.2.5 イヌ単回経口投与毒性試験〔4.2.3.1.6 及び 4.2.3.1.7, 試験番号 T006 * 及び T007 *〕

イヌの単回投与試験は 3 回実施し、概略の致死量を求めた。初回では、ビーグル（雌雄各 1 匹）を用いて、1, 3 及び 6 日目にそれぞれテモゾロミドの 500, 1000 及び 2000 mg/m²（合計 3500 mg/m²）を漸増経口投与した（試験番号 92130）。

試験成績は、概要表 2.6.7.5（11 頁）に示した。

1 日目に 500 mg/m², 3 日目に 1000 mg/m² を投与したが、1 日目の投与後 5 時間以内に嘔吐がみられたのみで、その他の異常はみられなかった。6 日目にさらに 2000 mg/m² を投与したところ、投与後 1 時間以内に橙色便及び 3 時間以内に嘔吐がみられ、その翌日に歩行失調、自発運動低下、呼吸数増加、散瞳、虚脱及び体重減少が認められたため切迫屠殺された。剖検では、食道、胃、十二指腸、空腸及び脾臓に多発性の暗赤色部、褐色部等の変色が認められた。

次に、ビーグル（各群雌雄各 1 匹）に、1500, 1000 及び 200 mg/m² の順で単回経口投与した（試験番号 92130）。

試験成績は、概要表 2.6.7.5（11 頁）に示した。

1000 又は 1500 mg/m² を投与したところ、体重減少がみられ、各 1 例がそれぞれ 12 及び 13 日目に死亡した。剖検では、死亡例の大腸、心臓、リンパ節、肺、胃、胸腺あるいは膀胱に暗赤色部が、頸部皮下、胸腔及び口腔内に暗赤色物質の貯留がみられた。

また、200 mg/m² の投与では、嘔吐、粘液便及び流涎がみられたが、死亡例はなく、剖検にも異常はみられなかった。

3 回目の試験（試験番号 93126）では、ビーグル（各群雌雄各 1 匹）に、600 及び 400 mg/m² を単回経口投与した。投与量については、前回の試験の 1000 mg/m² 群で死亡例がみられ、200 mg/m² 群で死亡例がなかったため、まず 600 mg/m² を投与し、その結果を基に 400 mg/m² を投与した。

試験成績は、概要表 2.6.7.5（11 頁）に示した。

600 mg/m² 群で投与後に嘔吐がみられ、9 日目に歯肉蒼白化、自発運動低下及び体温上昇が認められたため、雌雄とも切迫屠殺された。剖検では、異常はなかった。400 mg/m² 群で嘔吐及び歯肉蒼白化が観察されたが、その他にテモゾロミドの投与に関連する変化はみられなかった。イヌにおける概略の致死量は 600 mg/m² と考えられた。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ラット 1 クール経口投与毒性試験〔4.2.3.2.1, 試験番号 T008 *〕

SD ラット（各群雌雄各 30 匹）にテモゾロミドの 200, 400, 600（雌のみ）及び 800（雄のみ）mg/m² を 5 日間経口投与後、23 日間休薬（1 クール）し、その毒性を検討した。最終投与終了後（6 日目）に各群雌雄各 15 匹、休薬期間終了後（29 日目）に残りのラットを屠殺して検査した。別途 TK 群（各群雌雄各 10 匹）を設定した。

試験成績は、概要表 2.6.7.7A（12 頁）に示した。

* 新薬承認情報提供時に置き換えた

1 及び 5 日目の血漿中テモゾロミド濃度 (AUC_{0-t}) は、投与量にほぼ比例した上昇がみられ、200 及び 400 mg/m² 群では性差はみられなかった。反復投与による蓄積性は 800 mg/m² の投与で認められたが、600 mg/m² 以下の投与ではみられなかった。

投与期間中に死亡はなかったが、休薬期間中に 200 mg/m² 群では雄 1 例、400 mg/m² 群では雌雄各 9 例が 28 日目までに、600 及び 800 mg/m² 群では全例が 21 日目までに死亡又は全身状態悪化のため切迫屠殺された。これらの死亡例の剖検では、肺、胃、リンパ節、精巣及び膀胱に暗色部又は暗色化、肝臓あるいは腎臓に蒼白部あるいは蒼白化がみられ、病理組織学的検査では、生存例でみられた変化のほかに、肝臓の壊死及び変性、胃の表皮肥厚、浮腫及び出血、リンパ節の出血がみられ、敗血症を示唆する細菌コロニーも観察された。

一般状態について、投与期間中に異常はみられなかったが、休薬期間中に 200 mg/m² 以上の投与群で粗毛及び体重増加抑制、400 mg/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。また、眼科学的検査では、400 mg/m² 群で眼底蒼白化、網膜の出血及び滲出性変化が観察された。

臨床検査では、200 mg/m² 以上の投与群で、赤血球数、Hb、Ht、白血球数、リンパ球数、好中球数、好酸球数及び血小板数の減少、血清総蛋白、アルブミン及びトリグリセリドの減少、400 mg/m² 以上で単球数の減少、BUN、総ビリルビン及び γ -GTP の増加がみられた。200 mg/m² 群の血球系の変化は、休薬期間終了後には回復又は回復傾向を示した。また、400 mg/m² 以上で尿量の増加とそれに伴う浸透圧及び電解質の減少がみられた。

最終投与終了後に、主に 200 mg/m² 以上の投与群では、骨髄 (骨髄細胞減少、出血)、脾臓及び胸腺 (重量減少、リンパ球減少)、小腸及び大腸 (陰窩上皮壊死、粘膜上皮崩壊又は過形成)、精囊 (萎縮、分泌物減少、小精囊)、精巣 (小精囊、多核細胞)、甲状腺 (濾胞上皮肥大、コロイド減少、重量減少) に、400 mg/m² 以上でリンパ節 (リンパ球減少)、精巣上体 (重量減少、多核細胞、単細胞壊死) に、600 又は 800 mg/m² 群で網膜 (変性、壊死) に変化がみられた。休薬後にも精巣 (多核細胞、変性、重量減少) 及び甲状腺に変化はみられたが、200 mg/m² 群の骨髄、リンパ系器官及び胃腸管に変化はほとんどみられず、これらの組織の回復又は回復傾向が認められた。投与後あるいは休薬後に、上記以外の組織にも浮腫、萎縮等の変化がみられたが、被験物質による二次的な影響と考えられた。

以上の結果から、本薬の毒性の標的器官は骨髄、リンパ系器官、胃腸管、雄生殖器、甲状腺及び眼で、本試験の無毒性量は 200 mg/m² 未満と考えられた。

2.6.6.3.2 ラット (低用量) 1 クール経口投与毒性試験 [4.2.3.2.2, 試験番号 T009 *]

SD ラット (各群雌雄各 30 匹) に、テモゾロミドの 25, 50, 100, 150 及び 200 mg/m² を 5 日間経口投与後、23 日間休薬 (1 クール) し、その毒性を検討した。最終投与終了後 (6 日目) に各群雌雄各 15 匹、休薬期間終了後 (29 日目) に残りのラットを屠殺して検査した。別途 TK 群 (各群雌雄各 25 匹) を設定した。

* 新薬承認情報提供時に置き換えた

投与量の設定根拠

ラット 1 クール経口投与毒性試験の結果 (2.6.6.3.1 ; 8 頁参照) を基に設定した。即ち、400 mg/m² で雌雄各 9 例が死亡又は全身状態悪化のため切迫屠殺された。200 mg/m² の投与では 1 例のみが死亡した。このため、本試験の最高用量を 200 mg/m² とし、以下 150, 100, 50 及び 25 mg/m² を設定した。

試験成績

試験成績は、概要表 2.6.7.7B (22 頁) に示した。

1 及び 5 日目の血漿中テモゾロミド濃度 (AUC_{0-t}) は、投与量にほぼ比例した上昇がみられ、性差及び蓄積性は認められなかった。

200 mg/m² 群の雄 1 例が 18 日目に死亡した。剖検では肝臓及び肺の暗色化、胸水、腹水、腎盂拡張及び液体貯留、膀胱の暗色化及び液体貯留、精囊の腫大がみられたが、死因を示唆する病理組織学的な変化はみられなかった。その他、25 mg/m² 群の雄 1 例及び 200 mg/m² 群の雌 1 例が 28 日目の採血中に死亡したが、被験物質の投与に関連のない死亡と考えられた。

生存例では、50 mg/m² 以上の投与で体重増加抑制がみられ、200 mg/m² で摂餌量の減少がみられた。

臨床検査では、5 あるいは 15 日目に 25 mg/m² 以上の投与群で好中球数の減少、50 mg/m² 以上で網赤血球数、白血球数、リンパ球数及び血小板数の減少、100 mg/m² 以上で赤血球数の減少及び M/E 比の増加がみられたが、いずれの変化も休薬期間終了時までに回復又は回復傾向を示した。5 日目に統計学的に有意な血小板数の増加がみられたが、背景値の範囲内で生物学的に意義ある変化ではないと考えられた。

最終投与終了後に、25 mg/m² 以上の投与群で胸腺 (重量減少, リンパ球減少), 100 mg/m² 以上で骨髄 (骨髄細胞減少, 出血), 脾臓 (重量減少, リンパ球減少), 小腸及び大腸 (陰窩上皮壊死, 粘膜上皮崩壊又は過形成), 甲状腺 (濾胞上皮肥大, コロイド減少) に変化がみられた。休薬後に、50 mg/m² 以上の投与群で精巣 (重量減少, 多核細胞) に、100 mg/m² 以上で脾臓及び甲状腺に投与後と同様な組織変化がみられた。骨髄, 胸腺, 小腸及び大腸には変化がみられず、休薬による回復が認められた。

以上の結果から、本薬の毒性の標的器官は骨髄, リンパ系器官, 胃腸管, 甲状腺及び雄生殖器 (精巣) で、本試験の無毒性量は 25 mg/m² 未満と考えられた。

2.6.6.3.3 ラット 3 クール経口投与毒性試験 [4.2.3.2.3, 試験番号 T010 *]

SD ラット (各群雌雄各 30 匹) にテモゾロミドの 25, 50 及び 200 mg/m² を 3 クール (5 日間経口投与後, 23 日間休薬を 1 クールとして 3 回) 投与し、その毒性を検討した。最終投与終了後 (62 日目) に各群雌雄各 10 匹, 休薬期間終了後 (85 日目) に残りのラットを屠殺して検査した。別途 TK 群 (各群雌雄各 60 匹) を設定した。

* 新薬承認情報提供時に置き換えた

投与量の設定根拠

ラットに1クール経口投与した2回の試験結果(2.6.6.3.1及び2.6.6.3.2; 8及び9頁参照)を基に設定した。即ち、400 mg/m²の投与では雌雄各9例が死亡又は全身状態悪化のため切迫屠殺された。200 mg/m²の投与でいずれの試験でも1例のみが死亡した。このため、本試験の最高用量を200 mg/m²とし、以下50及び25 mg/m²を設定した。

試験成績

試験成績は、概要表2.6.7.7C(26頁)に示した。

各クールの1及び5日目の血漿中テモゾロミド濃度(AUC_{0-t})は、投与量にほぼ比例した上昇がみられ、性差及び蓄積性は認められなかった。

試験期間中に死亡はなかった。25 mg/m²以上の投与群で脱毛、周期的な体重増加抑制及び摂餌量減少、200 mg/m²群で粗毛及び触診による腫瘤がみられた。腫瘤は、雌では57日目以降、雄では78日目以降に認められた。

臨床検査では、200 mg/m²群で赤血球数、Hb、Ht、網赤血球数、白血球数、好中球数、リンパ球数及び血小板数の減少が、主に各クールの6あるいは12日目にみられ、各クールの休薬期間終了時(28日目)には回復又は回復傾向を示した。また、赤血球数の変化は50 mg/m²群で、白血球系パラメータ及び血小板数の変化は25及び50 mg/m²群でも散発的に認められた。

最終投与終了後に、25 mg/m²以上の投与群で胸腺(重量減少、リンパ球減少、小胸腺)、200 mg/m²群で骨髄(骨髄細胞減少、出血)、脾臓(リンパ球減少)、小腸及び大腸(陰窩上皮壊死)、甲状腺(濾胞上皮肥大、コロイド減少)、精巣及び精巣上体(重量減少、多核細胞)に変化がみられ、乳腺に腫瘤及び腫瘍が認められた。休薬後に、甲状腺、精巣上体及び精巣に投与後と同様の変化がみられ、皮膚及び皮下組織の腫瘤、乳腺の腫瘤及び腫瘍が認められた。骨髄、リンパ系器官及び胃腸管は回復した。乳腺の腫瘍は、投与後には雌の10例中6例(癌2例、上皮内癌5例)にみられ、休薬後には癌が雄の16例中4例及び雌の20例中18例(上皮内癌併発6例)に認められた。

以上の結果から、本薬の毒性の標的器官は骨髄、リンパ系器官、胃腸管、雄生殖器及び乳腺で、本試験の無毒性量は25 mg/m²未満と考えられた。

2.6.6.3.4 ラット6クール経口投与毒性試験[4.2.3.2.4, 試験番号 T011*]

SDラット(各群雌雄各35匹)にテモゾロミドの25、50及び125 mg/m²を6クール(5日間経口投与後、23日間休薬を1クールとして6回)投与し、その毒性を検討した。最終投与終了後(146日目)に各群雌雄各15匹、休薬期間終了後(169日目)に残りのラットを屠殺して検査した。別途TK群(各群雌雄各60匹)を設定した。

投与量の設定根拠

ラット3クール経口投与毒性試験の結果(2.6.6.3.3; 10頁参照)を基に設定した。即ち、200 mg/m²の投与では雌の30例中24例、雄の26例中4例の乳腺に腫瘍がみられ、50 mg/m²以下の投与で

*新薬承認情報提供時に置き換えた

は腫瘍性の変化はみられなかった。このため、本試験の最高用量は 50 と 200 mg/m² の相加平均である 125 mg/m² とし、以下 50 及び 25 mg/m² を設定した。

試験成績

試験成績は、概要表 2.6.7.7D (34 頁) に示した。

1, 3 及び 6 クールの 1 及び 5 日目の血漿中テモゾロミド濃度 (AUC_{0-t}) には、投与量にほぼ比例した上昇がみられ、性差及び蓄積性は認められなかった。

試験期間中に 25 及び 50 mg/m² 群の各雄 1 例, 125 mg/m² 群の雄 8 例及び雌 10 例が死亡又は全身状態悪化のため切迫屠殺された。このうち、雌で乳癌 (9 例), 雄で乳癌以外の悪性腫瘍 (25 mg/m² 群の 1 例及び 125 mg/m² 群の 4 例) 又は泌尿生殖器 (膀胱, 前立腺, 精囊) の炎症 (50 mg/m² 群の 1 例及び 125 mg/m² 群の 2 例) が認められ、これらは死亡又は全身状態悪化に関連していると考えられた。なお、25 mg/m² 群でみられた腫瘍 (悪性リンパ腫) は、単発的でより高用量を投与した群に認められないことから偶発的变化と考えられた。125 mg/m² 群の雄 1 例は採血後に死亡したが、同群の雌雄各 1 例の死因は不明であった。その他、死亡及び切迫屠殺例では、骨髄、脾臓、胸腺、副腎、肝臓及び腎臓に変化がみられた。

生存例では、50 mg/m² 以上の投与群で周期的な体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられた。125 mg/m² 群では、抜毛、円背位、自発運動低下、全身蒼白化及び腫脹に加えて、雌では 92 日目以降、雄では 127 日目以降に触診による腫瘤がみられ、特に雌では腫脹部位に腫瘤を伴う例が多くみられた。

臨床検査では、125 mg/m² 群で赤血球数、Hb、Ht、白血球数、リンパ球数及び血小板数の減少がみられた。また、1～4 クールに 25 及び 50 mg/m² 群で白血球数、リンパ球数及び血小板数、50 及び 125 mg/m² 群で好中球数の散発的な減少がみられたが、5 クール以降にこれらの変化はみられなかった。5 及び 6 クールの 125 mg/m² 群の雌で、血清総蛋白、アルブミン及びグロブリンの減少、白血球系細胞の増加がみられたが、これらは同群の雌の多数例にみられた乳腺の腫瘍 (潰瘍性) に関連した変化と考えられた。

病理検査では、非腫瘍性変化に加えて腫瘍性変化も認められた。非腫瘍性変化としては、最終投与終了後に、25 mg/m² 以上の投与群で胸腺 (リンパ球減少, 重量減少), 50 mg/m² 以上で精巣 (多核細胞, 重量減少), 125 mg/m² 群で精巣上体 (多核細胞, 重量減少) に変化がみられた。125 mg/m² 群の雌で骨髄 (顆粒系細胞増加) 及び脾臓 (顆粒系細胞増加, 腫大) に変化がみられたが、同群でみられた乳腺の腫瘍 (潰瘍性) に関連した変化と考えられた。その他、50 mg/m² 以上で副腎 (皮質肥大, 重量増加), 125 mg/m² 群で肝臓 (重量増加, 壊死), 腎臓 (重量増加) にも変化がみられた。休薬後に、50 mg/m² 以上で精巣, 125 mg/m² 群で胸腺, 精巣上体, 副腎, 肝臓に投与後とほぼ同様の変化がみられ、脾臓の重量増加も認められた。

腫瘍性変化は、乳腺、皮膚及び間葉系組織に多くみられた。乳癌が雌の 25, 50 及び 125 mg/m² 群で 35 例中それぞれ 2, 2 及び 33 例, 雄の 125 mg/m² 群で 1 例にみられた。皮膚の角化棘細胞腫及び基底細胞腺腫が雄の 125 mg/m² 群でそれぞれ 17 例及び 4 例にみられた。さらに、125 mg/m² 群

の雌雄で間葉系組織の腫瘍（線維肉腫、悪性シュワン細胞腫、子宮内膜間質肉腫、肉腫、血管肉腫、線維腫）も認められた。その他の組織では、腺腫、癌、良性莢膜細胞腫、組織球腫等もみられた。

以上の結果から、本薬の毒性の標的器官は、骨髄、リンパ系器官、雄生殖器、乳腺（主に雌）、皮膚（雄）及び間葉系組織で、本試験の無毒性量は 25 mg/m^2 未満と考えられた。

2.6.6.3.5 イヌ 1 クール経口投与毒性試験 [4.2.3.2.5, 試験番号 T012 *]

ビーグル（各群雌雄各 7 匹）にテモゾロミドの 200 、 500 及び 1000 mg/m^2 を 5 日間経口投与後、23 日間休薬（1 クール）し、その毒性を検討した。最終投与終了後（6 日目）に各群雌雄各 3 匹を屠殺して検査し、その後、休薬期間中にテモゾロミド投与群の全例が死亡又は全身状態悪化のために切迫屠殺されたため、20 日目に対照群の動物を屠殺して試験を終了した。

試験成績は、概要表 2.6.7.7E（49 頁）に示した。

1 及び 5 日目の血漿中テモゾロミド濃度（AUC_{0-t}）に、投与量にほぼ比例した上昇がみられ、性差及び蓄積性は認められなかった。

最終投与の翌日（6 日目）に 1000 mg/m^2 群の雌雄各 1 例、休薬期間中に 1000 、 500 及び 200 mg/m^2 群の全例がそれぞれ 9、10 及び 13 日目までに死亡又は全身状態悪化のため切迫屠殺された。これらの例では、1 日目から嘔吐、休薬期間中に自発運動低下、下痢、便変色、糞便量減少、拒食、脱水、体重減少、摂餌量減少及び体温上昇がみられた。

臨床検査では、2 日目に 200 mg/m^2 以上の投与群で白血球数、リンパ球数及び好中球数の減少がみられ、13 日目に 200 mg/m^2 群では、さらに赤血球数、Hb、Ht 及び血小板数の減少がみられた。また、同群では、血清総蛋白、アルブミン及びグロブリンの減少がみられたが、胃腸管の異常に関連した変化と考えられた。

病理検査では、 200 mg/m^2 以上で骨髄（萎縮、巨核球減少）、脾臓（リンパ球減少、色素又は鉄沈着、蒼白部、隆起部）、胸腺（リンパ球減少、暗色化、小胸腺）、リンパ節（リンパ球減少、暗色化、腫大、うっ血、出血）、腸管（陰窩壊死、再生、絨毛萎縮、リンパ組織リンパ球減少、うっ血及び出血を伴う暗色化）及び精巣（多核細胞）に、 1000 mg/m^2 群で網膜（変性、壊死）に変化がみられ、テモゾロミド投与による直接的な変化と考えられた。食道及び舌に変化がみられたが、嘔吐による胃内容物の曝露に関連するものと考えられた。その他、胃、副腎、肺、肝臓、腎臓、唾液腺等の組織にも変化がみられたが、テモゾロミド投与による全身状態の悪化に関連した変化と考えられた。 1000 mg/m^2 群の全例、 200 及び 500 mg/m^2 群の数例で各種組織に細菌のコロニーが認められ、敗血症が示唆されたこと、各種組織に出血が観察されたことより、死亡及び全身状態悪化の原因として、細菌感染及び出血が考えられた。細菌感染は、テモゾロミドの骨髄及びリンパ系器官への影響による宿主抵抗性の低下及び胃腸管の傷害に起因すると考えられた。また、出血は骨髄の巨核球及び末梢の血小板の減少に起因すると考えられた。

以上の結果から、本薬の毒性の標的器官は骨髄、リンパ系器官、胃腸管、雄生殖器及び眼で、本試験の無毒性量は 200 mg/m^2 未満と考えられた。

*新薬承認情報提供時に置き換えた

2.6.6.3.6 イヌ（低用量）1クール経口投与毒性試験〔4.2.3.2.6, 試験番号 T013 *〕

ビーグル（各群雌雄各7匹）にテモゾロミドの25, 50及び125 mg/m²を5日間経口投与後, 23日間休薬（1クール）し, その毒性を検討した. 最終投与終了後（6日目）に各群雌雄各3匹, 休薬期間終了後（29日目）に残りの動物を屠殺して検査した.

投与量の設定根拠

イヌ1クール経口投与毒性試験の結果（2.6.6.3.5 ; 13頁参照）を基に設定した. 即ち, 200 mg/m²以上の投与で2週間以内に全例が死亡又は切迫屠殺されたことから, イヌの反復投与毒性試験において200 mg/m²の投与量は高すぎると考えられた. このため, 本試験の最高用量を125 mg/m²とし, 以下50及び25 mg/m²を設定した.

試験成績

試験成績は, 概要表 2.6.7.7F（59頁）に示した.

1及び5日目の血漿中テモゾロミド濃度（AUC_{0-t}）に, 投与量にほぼ比例した上昇がみられ, 性差及び蓄積性は認められなかった.

125 mg/m²群の雄1例が嘔吐, 流涎, 自発運動低下及び体温上昇を呈し, 11日目に全身状態悪化のため切迫屠殺された. 同例では, 骨髄（骨髄細胞減少）, 脾臓（腫大）, 胸腺（リンパ球減少）, 小腸（暗色部, 肥厚）に変化が認められた.

生存例では, 50 mg/m²群2例で単発的な嘔吐, 125 mg/m²群の多数例で嘔吐及び体温上昇がみられた. 50及び125 mg/m²群の各1例で歯肉蒼白化がみられたが, 50 mg/m²群では最終投与の17及び24日後にみられた変化であった.

臨床検査では, 50 mg/m²群で4日目にリンパ球数の減少がみられた. 125 mg/m²群で概ね4～12日目までに白血球数, 好中球数及びリンパ球数の減少が, 16及び18日目には骨髄造血機能のリバウンドと考えられる白血球数及び好中球数の増加がみられた. また, 同群の8～18日目に血小板数の減少がみられた.

最終投与終了後に, 125 mg/m²群で胸腺（リンパ球減少）に変化がみられた. 休薬後には125 mg/m²群で精巣（多核細胞）及び精巣上体（精子形態異常）に変化がみられた. 胸腺にも変化がみられたが, 投与後に比べて発生例数は減少した.

以上の結果から, 本薬の毒性の標的器官は骨髄, リンパ系器官, 胃腸管及び雄生殖器で, 本試験の無毒性量は25 mg/m²と考えられた.

2.6.6.3.7 イヌ3クール経口投与毒性試験〔4.2.3.2.7, 試験番号 T014 *〕

ビーグル（各群雌雄各7匹）にテモゾロミドの25, 50及び125 mg/m²を3クール（5日間経口投与後, 23日間休薬を1クールとして3回）投与し, その毒性を検討した. 最終投与終了後（68日目）に各群雌雄各3匹, 休薬期間終了後（85日目）に残りの動物を屠殺して検査した.

*新薬承認情報提供時に置き換えた

投与量の設定根拠

イヌに1クール経口投与した2回の試験結果(2.6.6.3.5及び2.6.6.3.6; 13及び14頁参照)を基に設定した。即ち、200 mg/m²以上の投与で全例が死亡又は切迫屠殺された。125 mg/m²の投与では1例のみが切迫屠殺された。このため、本試験の最高用量を125 mg/m²とし、以下50及び25 mg/m²を設定した。

試験成績

試験成績は、概要表2.6.7.7G(63頁)に示した。

各クールの1及び5日目の血漿中テモゾロミド濃度(AUC_{0-t})に、投与量にほぼ比例した上昇がみられ、性差及び蓄積性は認められなかった。

試験期間中に死亡はなかった。25 mg/m²以上の投与群では嘔吐、125 mg/m²群では自発運動低下及び歯肉蒼白化がみられた。嘔吐のほとんどは各クールの投与期間中にみられた。また、自発運動低下は50 mg/m²群でもみられたが、1例に生じた一過性の変化であった。

臨床検査では、125 mg/m²群で白血球数、好中球数、リンパ球数及び血小板数の減少がみられた。これらの変化は各クールの6、10あるいは12日目にみられ、各クールの休薬期間終了時(28日目)に回復又は回復傾向がみられた。

最終投与終了後に、125 mg/m²群に胸腺(重量減少、リンパ球減少)、脾臓(リンパ球減少)、精巣(多核細胞)、精巣上体(精子未成熟/形態異常)がみられた。休薬後にも125 mg/m²群で精巣及び精巣上体に同様の変化がみられた。

以上の結果から、本薬の毒性の標的器官は骨髄、リンパ系器官及び雄生殖器で、本試験の無毒性量は25 mg/m²(嘔吐を除く)と考えられた。

2.6.6.3.8 イヌ6クール経口投与毒性試験[4.2.3.2.8, 試験番号T015*]

ビーグル(各群雌雄各7匹)にテモゾロミドの25、50及び125 mg/m²を6クール(5日間経口投与後、23日間休薬を1クールとして6回)投与し、その毒性を検討した。最終投与終了後(152日目)に各群雌雄各3匹、休薬期間終了後(169日目)に残りの動物を屠殺して検査した。

投与量の設定根拠

イヌ1及び3クール経口投与毒性試験の結果(2.6.6.3.5及び2.6.6.3.7; 13及び14頁参照)を基に設定した。即ち、200 mg/m²以上の1クール投与で全例が死亡又は切迫屠殺されたが、125 mg/m²の3クール投与で死亡はなかった。このため、本試験の投与量は3クール経口投与毒性試験と同様とした。

試験成績

試験成績は概要表2.6.7.7H(67頁)に示した。

1、3及び6クールの1及び5日目の血漿中テモゾロミド濃度(AUC_{0-t})に、投与量にほぼ比例した上昇がみられ、性差及び蓄積性は認められなかった。

*新薬承認情報提供時に置き換えた

試験期間中に死亡はなかった。25 mg/m²以上の投与群で嘔吐、50 mg/m²以上で便の変色、125 mg/m²群で歯肉蒼白化がみられ、148日目（6クール目の8日目）に雄の体重減少が認められた。また、テモゾロミド投与群で軟便及び粘液便がみられたが、対照群でもみられる変化であった。

臨床検査では、125 mg/m²群で白血球数、好中球数、リンパ球数及び血小板数の減少が各クールの投与終了後にみられたが、概ね各休薬期間中に回復する周期的な変化であった。また、同群の雌では赤血球数、Hb及びHtの周期的な減少もみられた。

最終投与終了後あるいは休薬後の病理組織学的検査で、125 mg/m²群で脾臓（髄外造血、色素沈着）、精巣（多核細胞）、精巣上体（精子未成熟／形態異常）に変化がみられた。なお、125 mg/m²群の少数例の腎臓で軽度の慢性炎症もみられたが、ごく軽度の変化は対照群でもみられた。

以上の結果から、本薬の毒性の標的器官は骨髄、リンパ系器官及び雄生殖器で、本試験の無毒性量は25 mg/m²（嘔吐を除く）と考えられた。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 [4.2.3.3.1.1, 試験番号 T016 *]

Salmonella typhimurium (TA100, TA1535, TA98, TA102, TA97a) 及び *Escherichia coli* (WP2uvrA) を用いて復帰突然変異試験を実施した。試験は、代謝活性化系の存在下又は非存在下でそれぞれ2回実施し、結果の再現性を確認した。

テモゾロミドを dimethylformamide (DMF) に溶解し、その最大溶解濃度（50 mg/mL）を示す被験液を試験系に添加した。なお、添加量は DMF が細胞毒性を示さない最大液量（50 µL）とした。その結果、テモゾロミドの最高用量は 2500 µg/プレートとなり、次に 1000 µg/プレート（TA102 のみ 1750 µg/プレート）、以下公比 2 で 6 用量を設定した。2 回目の試験では 2500、1750 及び 1000 µg/プレート、以下公比 2 で 6 用量を設定した。

試験成績

試験成績は 概要表 2.6.7.8A（76 頁）に示した。

代謝活性化系の存在下及び非存在下のいずれの条件においても、テモゾロミドによる復帰突然変異の誘発性が認められた。

2.6.6.4.2 ヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験 [4.2.3.3.1.2, 試験番号 T017 *]

ヒト末梢血リンパ球を用いて染色体異常試験を実施した。試験は、代謝活性化系の存在下又は非存在下でそれぞれ2回実施し、結果の再現性を確認した。

処理時間は、代謝活性化系非存在下で 3、24 又は 48 時間、代謝活性化系存在下で 3 時間とした。溶媒には精製水を用い、各試験条件下とも、分裂指数が溶媒対照の 40% 以下の用量を除いて高用量側から 3～4 用量について染色体標本の観察を行った。

試験成績

試験成績は 概要表 2.6.7.8B（78 頁）に示した。

* 新薬承認情報提供時に置き換えた

代謝活性化系の存在下及び非存在下のいずれの条件においても、テモゾロミドによる染色体異常の誘発性が認められた。

2.6.6.4.3 マウス小核試験〔4.2.3.3.2.1, 試験番号 T018 ＊〕

ICR マウス（各群雌雄各 5 匹）を用いて小核試験を実施した。マウスに 1 日 1 回、2 日間腹腔内投与し、最終投与後 24 及び 48 時間目に骨髄塗抹標本を作製した。

投与量は、予備試験に基づいて設定した。即ち、マウスにテモゾロミドの 50, 125, 250, 500, 750 及び 1000 mg/m² を投与したところ、骨髄の多染性赤血球比が、対照群と比較して 750 mg/m² 群の雄で 30% 以下、雌で 40% 以下に低下した。このため、最高用量を雄では 552 mg/m²（160 mg/kg に相当）、雌では 621 mg/m²（180 mg/kg に相当）として、以下それぞれ公比 2 で各 3 用量を設定した。

試験成績

試験成績は 概要表 2.6.7.9（83 頁）に示した。

テモゾロミドによる小核を有する多染性赤血球の誘発性が認められた。

2.6.6.5 がん原性試験

テモゾロミドは明らかな遺伝毒性物質であり、ラットを用いた反復投与毒性試験（2.6.6.3.3 及び 2.6.6.3.4 ; 10 及び 11 頁参照）では、投与開始から 62 日目に乳腺に腫瘍が認められ、169 日目までに皮膚及び種々の間葉系組織にも腫瘍がみられ、テモゾロミドががん原性を有することは明らかであった。本邦ガイドラインで、進行がんの治療を目的とした抗悪性腫瘍剤などでは、通常、がん原性試験を必要としないとされていることから、がん原性試験は実施しなかった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験〔4.2.3.5.1.1, 試験番号 T019 ＊〕

SD ラット（各群雌雄各 25 匹）にテモゾロミドの 5, 50 及び 150 mg/m² を、雄では 3 クール（5 日間経口投与後、23 日間休薬を 1 クールとして 3 回）投与して最終投与の翌日に交配を開始し、雌では 1 クール投与後に交配と同時にさらに 5 日間投与した。妊娠 14 日に雌ラットを屠殺し、黄体数、着床数及び胚の生死を観察した。雄ラットは 3 クール終了後（85 日目）に屠殺して検査した。

投与量の設定根拠

ラット 1 クール（低用量）及び 3 クール経口投与毒性試験（2.6.6.3.2 及び 2.6.6.3.3 ; 9 及び 10 頁参照）の結果を基に設定した。即ち、200 mg/m² の投与では、3 クール試験の雌雄に体重減少が認められ、1 クール試験で死亡もみられた。150 mg/m² の 1 クール投与では、赤血球系及び白血球系パラメータの低下、血小板数減少、骨髄、リンパ系器官、胃腸管及び甲状腺に変化がみられ、雄で精巣の重量減少及び多核細胞が認められた。また、精巣の多核細胞は 50 mg/m² の投与でも観察された。このため、本試験の最高用量は 150 mg/m² とし、以下 50 及び 5 mg/m² を設定した。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた

試験成績

試験成績は 概要表 2.6.7.12 (85 頁) に示した。

雄の親動物では、5 mg/m² 以上の投与群で軟便及び液状便、50 mg/m² 以上で摂餌量減少を伴う体重の減少又は増加抑制が各投与期間に認められ、150 mg/m² 群で脱毛、口の周囲及びケージ内に赤色物質、精巣の重量減少がみられた。

母動物でも、50 mg/m² 以上で摂餌量減少を伴う体重の減少あるいは増加抑制が交配前の投与期間及び妊娠初期に認められ、150 mg/m² で脱毛がみられた。

胚については、50 mg/m² 以上で着床後死亡率の上昇及び死亡胚数の増加がみられた。

本試験の無毒性量は、親動物の一般毒性については雄では 5 mg/m² 未満、雌では 5 mg/m²、生殖能については 150 mg/m²、胚については 5 mg/m² と考えられた。

投与スケジュール及び投与量の妥当性について

雄では、対照群、低、中及び高用量群の 1, 2, 1 及び 1 例を除く各群の全例が交配開始後 4 日までに交尾した。3 クール目の投与によって様々なステージの生殖細胞が影響を受けるため、長期的な影響（精巣中の生殖細胞の発生と生存性）と短期的な影響（精巣上体への移行、受精、胚・胎児の生存性）が共に検討できる。また、反復投与毒性試験では、雄の生殖器に、精巣重量の減少と精巣変性がみられ、休薬期間後にも回復性はみられていない。したがって、成熟雄動物の生殖機能、配偶子の発生及び成熟、交尾行動、受精については、本試験デザインで評価できると考えられた。

雌では、交配前 28 ～ 24 日に 1 クール目の投与を行い、性周期を 1 クール目の投与前後で比較した。この時期に投与することにより卵母細胞の成熟性（実際には交尾あるいはその後の妊娠中に明らかになる）について評価することができる。また、2 クール目の 1 日目が交配期間の 1 日目となるが、上記のとおり交配開始後 4 日までに交尾したため、交尾日を妊娠 0 日とすると、妊娠 0 日から妊娠 1 日ないし 4 日にテモゾロミドが投与された。したがって、本試験の投与スケジュール及び投与量で成熟雌動物の生殖機能、配偶子の発生及び成熟、交尾行動、受精、着床前発生、着床について評価可能と考えられた。本試験では胚への明らかな影響が認められたため、本試験の投与スケジュール及び投与量は妥当であったと判断した。

2.6.6.6.2 ラット胚・胎児発生に関する予備試験 [4.2.3.5.2.1, 試験番号 T020 *]

SD 妊娠ラット（各群 8 匹）にテモゾロミドの 5, 25, 50 及び 150 mg/m² を妊娠 8 日から 5 日間経口投与した。妊娠 20 日に母動物を屠殺し、子宮内の胚・胎児を観察した。

試験成績は、概要表 2.6.7.11 (84 頁) に示した。

母動物では、150 mg/m² 群で妊娠 20 日の体重は対照群より低かったが、胎児を含む子宮重量を差し引いた体重に対照群との差はなかった。

胎児では、150 mg/m² 群の 8 例中 6 例の母動物で胎児の生存が認められず、他の 2 例の母動物においても、胎児の生存率低下、体重減少、吸収胚率及び着床後死亡率の上昇がみられた。

* 新薬承認情報提供時に置き換えた

2.6.6.6.3 ラット胚・胎児発生に関する試験〔4.2.3.5.2.2, 試験番号 T021 *〕

SD 妊娠ラット（各群 25 匹）にテモゾロミドの 25, 50 及び 75 mg/m² を妊娠 8 日から 5 日間経口投与した。妊娠 20 日に母動物を屠殺し、子宮内の胚・胎児を観察した。

投与量の設定根拠

ラット胚・胎児発生に関する予備試験（2.6.6.6.2 ; 18 頁参照）の結果に基づいて設定した。即ち、150 mg/m² の投与では、胎児の生存率低下、体重減少、吸収胚率及び着床後死亡率の上昇がみられたことより、評価に必要な生存胎児が得られる可能性は少ないと考えられた。50 mg/m² の投与では、変化はみられなかった。これらのことから、本試験の最高用量を 150 mg/m² の半量の 75 mg/m² とし、以下 50 及び 25 mg/m² を設定した。なお、投与日は、器官形成期で最も感受性が高いと考えられる 5 日間とした。

試験成績

試験成績は、概要表 2.6.7.13A（88 頁）に示した。

母動物では、投与期間中に 25 mg/m² 以上の投与群で体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられた。投与終了後も 50 mg/m² 以上で体重増加抑制はみられ、妊娠 20 日の体重は対照群より低かったが、胎児を含む子宮重量を差し引いた体重に対照群との差はなく、体重の変化はむしろ胎児への影響に起因すると考えられた。その他、75 mg/m² 群の 1 例に円背位、蒼白化、色素涙、痂皮（鼻部）、流涎、赤色又は黒色の膣分泌液がみられ、別の 1 例の剖検で腎盂拡張がみられた。

胎児では、50 mg/m² 以上の投与群に体重減少がみられた。また、これらの投与群では生存率低下、吸収胚（前期）数増加及び着床後死亡率上昇の傾向がみられた。外表、内臓及び骨格検査では、50 mg/m² 群の 4 例及び 75 mg/m² 群の多数例に異常がみられた。異常は 50 mg/m² 群では横隔膜ヘルニア、75 mg/m² 群ではさらに肩甲骨及び四肢の異常、水頭及び腸骨配列異常等が認められた。また、50 mg/m² 以上の投与群で内臓及び骨格変異の増加が認められ、これら変異の主な原因は妊娠期間中の胎児が小さいことに関連すると考えられた。なお、25 mg/m² 群の 1 例に単鼻孔、無顎及び無口の複合奇形がみられたが、以下に示したように、テモゾロミドの投与による変化ではないと考えられた。

本試験の無毒性量は、母動物の一般毒性では 25 mg/m² 未満、生殖能では 75 mg/m²、胎児では 25 mg/m² と判断された。

25 mg/m² 群でみられた単鼻孔、無顎及び無口の複合奇形について

25 mg/m² 群の胎児 1 例に単鼻孔、無顎及び無口の複合奇形がみられた。50 及び 75 mg/m² 群の胎児の頭蓋顔面には複合奇形又は単独奇形としても認められず、テモゾロミドを投与した母動物の胎児 1035 例で、異常が認められたこの胎児 1 例以外に、いずれの胎児にも頭蓋顔面の外表、内臓又は骨格に奇形が認められなかったことから、本奇形は他と関連性のない孤立的な変化と考えられた。また、先に実施したラット予備試験（2.6.6.6.2 ; 18 頁参照）では、5, 25, 50 及び 150 mg/m² の用量で、各々 98, 128, 107 及び 8 例の胎児を検査したが、外表の異常所見（頭蓋顔面の所見を含む）は全く認められなかった。加えて、Middle Atlantic Reproduction and Teratology Association 編纂の同

* 新薬承認情報提供時に置き換えた

系ラットの背景データ¹⁾には、無口及び無顎が認められていることから、これらの所見は自然発生によると考えられた。また、ラットとウサギでみられた頭蓋顔面の所見の誘発機序はそれぞれ異なること(2.6.6.6.5; 20 頁参照)を考え併せると、ラットにおける単鼻孔、無顎及び無口は、自然発生的なものであり、テモゾロミド投与と関連はないものと考えられた。

投与スケジュール及び投与量の妥当性について

投与は妊娠 8～12 日の 5 日間投与としたが、ラットでは泌尿器系を除くほとんどの器官の発生がこの投与期間中に開始して完了するため、この 5 日間は器官形成期中で最も感受性が高い時期と考えられる。したがって、この投与スケジュールで成熟雌動物の生殖機能、胚発生、主要な器官の形成については評価可能と考えられた。結果として、催奇形性作用が確認されたため、本試験の投与スケジュール及び投与量は妥当であったと判断した。

2.6.6.6.4 ウサギ胚・胎児発生に関する予備試験 [4.2.3.5.2.3, 試験番号 T022 *]

New Zealand White 妊娠ウサギ(各群 7～8 匹)にテモゾロミドの 5, 25, 50 及び 150 mg/m² を妊娠 8 日から 5 日間経口投与した。妊娠 29 日に母動物を屠殺し、子宮内の胚・胎児を観察した。

試験成績は、概要表 2.6.7.11 (84 頁)に示した。

母動物では、150 mg/m² 群の投与期間中あるいは休薬初期に摂餌量の減少及び体重の増加抑制又は減少がみられた。胎児では、150 mg/m² 群に生存率低下、吸収胚率及び着床後死亡率の上昇、体重減少がみられ、四肢、指及び尾の異常、眼球突出、鼻孔閉鎖、口蓋裂又は口唇裂等の異常又は変異が認められた。50 mg/m² 以下の投与群に特記すべき所見はみられなかった。

2.6.6.6.5 ウサギ胚・胎児発生に関する試験 [4.2.3.5.2.4, 試験番号 T023 *]

New Zealand White 妊娠ウサギ(各群 17～20 匹)にテモゾロミドの 5, 50 及び 125 mg/m² を妊娠 8 日から 5 日間経口投与した。妊娠 29 日に母動物を屠殺し、子宮内の胚・胎児を観察した。なお、別途各群 4 匹の母動物を用いて、血漿中テモゾロミド濃度を測定した。

投与量の設定根拠

ウサギ胚・胎児発生に関する予備試験(2.6.6.6.4; 20 頁参照)の結果に基づいて設定した。即ち、150 mg/m² の投与で、母動物の体重及び摂餌量の減少、胎児の生存率低下、吸収胚率及び着床後死亡率の上昇、体重減少がみられ、外表異常あるいは変異が観察された。50 mg/m² の投与では母動物及び胎児に変化はみられなかった。これらのことから、本試験の最高用量を 125 mg/m² とし、以下 50 及び 5 mg/m² を設定した。

試験成績

試験成績は、概要表 2.6.7.13B (94 頁)に示した。

妊娠 12 日(投与 5 日目)の血漿中テモゾロミド濃度(AUC_{0-t})には、投与量にほぼ比例した上昇がみられた。

*新薬承認情報提供時に置き換えた

母動物では、一般状態、剖検、体重及び摂餌量に変化はみられなかった。

胎児では、125 mg/m² 群で後期吸収胚数の増加、着床後死亡率の上昇、体重減少が認められた。さらに、同群の胎児全例で外表（頭部、四肢、尾、躯幹等）、内臓（頭部、心臓、血管、腎臓、尿管、肝臓等）あるいは骨格（頭部、椎骨、腰部、四肢等）の異常がみられた。また、50 mg/m² 群でも対照群と比べて骨格異常（頭部のみ）の増加が認められた。

本試験の無毒性量は、母動物の一般毒性及び生殖能では125 mg/m²、胎児では5 mg/m²と判断された。

頭蓋顔面における所見について

ウサギの胚・胎児発生に関する予備試験（鼻孔閉鎖、口蓋裂、口唇裂）及び本試験（短口鼻又は鼻裂、口蓋裂）で認められた所見は、いずれも頭蓋顔面における所見であるが、これらはラット胎児でみられた単鼻孔、無顎及び無口の複合奇形（2.6.6.6.3；19頁参照）とは異なる発生段階で生じている。即ち、下顎、上顎、及び鼻は、神経堤由来であり、第一鰓弓から発生するが、単鼻孔、無顎及び無口の所見は、初期の発生異常により下顎が第一鰓弓から発生しなかったために生じた可能性が高いと考えられる。鼻孔閉鎖、口蓋裂、口唇裂及び短口鼻又は鼻裂の原因となる異常は、ラット胎児でみられた構造（顎、口及び鼻孔）の欠如ではなく、むしろ基礎構造（例：5つの顔面隆起、鼻板）の成長阻害のため発達が遅れたために起こったものと考えられる。したがって、ラットとウサギでみられたこれらの所見は、外表検査では頭蓋顔面の異常と判断されるが、異なる発生段階、構造及び機序に起因しており同一の変化ではない。

投与スケジュール及び投与量の妥当性について

投与は妊娠8～12日の5日間投与としたが、ウサギでは泌尿器系を除くほとんどの器官の発生がこの投与期間中に開始して完了するため、この5日間は器官形成期の中で最も感受性が高い時期と考えられる。したがって、この投与スケジュールで成熟雌動物の生殖機能、胚発生、主要な器官の形成については評価可能と考えられた。結果として、催奇形性作用が確認されたため、本試験の投与スケジュール及び投与量は妥当であったと判断した。

2.6.6.6.6 ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験〔4.2.3.5.3.1、試験番号 T024*〕

SD妊娠ラット（各群24又は25匹）にテモゾロミドの5、25及び75 mg/m²を妊娠8日から5日間及び妊娠21日から5日間経口投与した。母動物は全例を自然分娩させ、授乳21日に屠殺して検査した。F₁出生児は生後4日に概ね1腹雌雄各4匹に調整し、行動機能及び形態分化を検討した後、生後21日に屠殺して検査した。

投与量の設定根拠

ラット胚・胎児発生に関する試験（2.6.6.6.3；19頁参照）の結果に基づいて設定した。即ち、妊娠8日からの5日間投与では、25 mg/m²以上で母動物の体重増加抑制及び摂餌量減少、50 mg/m²以上で胎児の体重減少と伴に生存率低下、吸収胚数増加及び着床後死亡率上昇の傾向がみられた。

*新薬承認情報提供時に置き換えた

また、50 mg/m² 群の 4 例に内臓の異常、75 mg/m² 群の多数例に外表、内臓及び骨格の異常がみられた。これらのことから、本試験の最高用量を 75 mg/m² とし、以下 25 及び 5 mg/m² を設定した。

試験成績

試験成績は、概要表 2.6.7.14 (102 頁) に示した。

母動物では、25 mg/m² 以上の投与群で妊娠 8～13 日に体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられ、75 mg/m² 群では妊娠 13 日以降の体重増加抑制及び授乳期間中の摂餌量減少もみられた。

出生児では、75 mg/m² 群で生児数減少、死亡児数増加及び体重減少がみられた。また、同群では、生後 21 日までに、生存率低下、体重増加抑制、正向反射及び切歯萌出の遅延、呼吸困難又は努力呼吸を伴うチアノーゼ、外表、内臓及び骨格の異常あるいは変異（回転肢、短軀、横隔膜ヘルニア、足根骨弯曲、脳小型、水頭、尿管及び腎盂の拡張、腎乳頭未発達）がみられた。

本試験の無毒性量は、母動物の一般毒性では 5 mg/m²、生殖能では 75 mg/m²、出生児では 25 mg/m² と判断された。

投与スケジュール及び投与量の妥当性について

各群の全例が妊娠 21 日から 23 日までに分娩したため、分娩日を授乳 0 日とすると、2 回目の 5 日間投与では授乳 0 日から授乳 2 日ないし 4 日までテモゾロミドが投与された。出生児は乳汁を介してテモゾロミドに曝露されると考えられるため、この投与スケジュールで、母動物の生殖機能のうち分娩及び新生児の子宮外生存への適応については評価できたと考えられた。さらに、離乳後の評価は、離乳後の投与による直接的な影響を評価するというより、発生・成長の初期の過程（妊娠中、及び授乳期の初期）で生じた薬物の影響を、それらが明らかになる後の時期に観察するとの意味合いが強いため、本試験に用いた投与スケジュールは、授乳 21 日まで母動物へ投与し乳汁を介して出生児が曝露される場合と大きく異なるものではないと考えられる。本試験では、このような考え方にに基づき、妊娠期間中及び出生後の初期の影響を哺育期間中に評価するために、分娩、授乳、哺育、及び出生児の生存性等の指標について最も感受性の高い時期に投与した。その結果、出生児の生存率低下、体重増加抑制、出生後の発育遅延等の毒性所見が認められ、出生児の初期及び後期の発生・発育への影響が評価できたため、本試験の投与スケジュール及び投与量は妥当であったと判断した。

2.6.6.7 局所刺激性試験

本剤は経口適用の製剤であり、経口投与による単回及び反復投与毒性試験で刺激性を示唆する変化はみられなかったため、局所刺激性試験は実施しなかった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 皮膚感作性試験 [4.2.3.7.7.1, 試験番号 T028 *]

Hartley モルモットを用い、感作のためテモゾロミドの 6 時間閉鎖貼付を 3 回 (週 1 回) 実施し、最終感作の 14 日後に惹起のため 5 時間閉鎖貼付した (Bühler の変法)。

* 新薬承認情報提供時に置き換えた

試験成績

試験成績は、概要表 2.6.7.17.1 (105 頁) に示した。

20 例中 3 例でごく軽度の紅斑がみられたのみであり、テモゾロミドに感作性は認められなかった。

2.6.6.8.2 抗原性試験

テモゾロミドの抗原性試験は、以下の臨床データ及び理由から、実施しなかった。

- (1) 欧米で実施された 4 種の臨床試験 (C030 *, C031 *, C027 *, C028 * ; 2.5.1.6.1 参照) において、アナフィラキシー反応の報告は認められなかった。
- (2) 1999 年 1 月から 2005 年 7 月の定期的安全性報告 (5.3.6 参照) の調査 (推定患者数: 288,663 例) 及びその後 2005 年 9 月までの調査では、アナフィラキシー反応についての報告は 3 件のみであった。
- (3) テモゾロミドの分子量は 194.15 と低分子化合物であり、また血漿蛋白との結合率はヒトで約 12 ~ 16 % と低いため、抗原性を発現する可能性は低いと考えられる^{2,4)}。
- (4) 重篤なアレルギー性副作用であるショックが臨床で発現した低分子合成医薬品の 6 剤のうち、アナフィラキシーショックの予知に有用と考えられているモルモット能動的全身性アナフィラキシー試験又は受身皮膚アナフィラキシー試験で陽性を示した医薬品は 1 剤もなかったとの報告がある³⁾。
- (5) テモゾロミドの臨床投与経路は経口投与で、一般的に経口剤では抗原性は獲得され難いと考えられる^{5,6)}。
- (6) テモゾロミドのラット及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験では、1 クールを 5 日間投与、23 日間休薬として各 1, 3 及び 6 クールの投与及び休薬を繰り返したが、いずれの試験でもアナフィラキシー反応を示唆する所見は認められなかった (2.6.6.3 ; 8 頁参照)。
- (7) Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験で、テモゾロミドに感作性は認められなかった (2.6.6.8.1 ; 22 頁参照) ため、薬物アレルギーの発現に必要な不可欠な感作性を有する可能性は低いと考えられる。

2.6.6.8.3 依存性試験

テモゾロミドのラット及びイヌの反復投与毒性試験 (2.6.6.3 ; 8 頁参照) において、休薬後の摂餌量及び行動等に禁断症状を示唆する変化はみられなかったため、依存性試験は実施しなかった。

2.6.6.8.4 不純物の毒性試験

テモゾロミドの原薬には 0.15% を超える不純物として、不純物 A * (■% 以下) 及び不純物 B * (■% 以下)、製剤には 0.2% を超える不純物として、不純物 B * (■% 以下) 及び AIC (■% 以下) が含まれている (2.3.S.4 及び 2.3.P.5 参照)。AIC については、テモゾロミドの分解過程で薬物代謝酵素に非依存的な化学反応で生成される主要代謝物で、プリン生合成系にお

* 新薬承認情報提供時に置き換えた

る内因性の中間生成物と同じ物質であり、生体内の核酸合成系で再利用され、最終的にはプリン分解産物として体外へ排泄される。不純物 A * 及び不純物 B * については、これらの不純物を添加したテモゾロミド原薬（それぞれ 0.54% 及び 0.69% 含有）を用いて、反復投与毒性試験（ラット 1 クール試験）及び遺伝毒性試験（復帰突然変異試験及び染色体異常試験）を実施した。

2.6.6.8.4.1 不純物のラット 1 クール経口投与毒性試験 [4.2.3.7.6.1, 試験番号 T025 *]

SD ラット（各群雌雄各 20 匹）に、不純物を添加したテモゾロミドの 25, 100 及び 200 mg/m², 又はテモゾロミドの 200 mg/m² を 5 日間経口投与後、23 日間休薬（1 クール）し、その毒性を検討した。最終投与終了後（6 日目）に各群雌雄各 10 匹、休薬期間終了後（29 日目）に残りのラットを屠殺して検査した。別途 TK 群（各群雌雄各 3 匹）を設定した。

投与量の設定根拠

ラットに 1 クール経口投与した 2 回の試験結果（2.6.6.3.1 及び 2.6.6.3.2 ; 8 及び 9 頁参照）を基に設定した。即ち、400 mg/m² の投与では雌雄各 9 例が死亡又は全身状態悪化のため切迫屠殺された。200 mg/m² の投与でいずれの試験でも 1 例のみが死亡した。このため、本試験の不純物を添加したテモゾロミドの最高用量を 200 mg/m² とし、以下 100 及び 25 mg/m² を設定した。また、比較対照として不純物を添加していないテモゾロミドを用いて 200 mg/m² を設定した。

試験成績

試験成績は、概要表 2.6.7.17.2A（106 頁）に示した。

1 及び 5 日目の血漿中テモゾロミド濃度は、不純物添加テモゾロミドの投与量にほぼ比例した上昇がみられ、不純物非添加のテモゾロミドと比較した場合、不純物添加の有無による差は認められなかった。

不純物添加テモゾロミドでは、25 mg/m² 以上の投与群で、脱毛及び鼻口部被毛の汚れ（赤）、体重増加抑制、摂餌量の減少、網赤血球数及び白血球系（好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球）細胞数の減少、ALT の減少、胸腺の重量減少及び皮質萎縮、骨髄の赤血球系細胞の減少、脾臓のリンパ球の減少、100 mg/m² 以上で、骨髄の顆粒球系細胞の減少、腸管陰窩上皮の単細胞壊死、精巣の精子変性、200 mg/m² 群で、ALP の減少、脾臓及び精巣の重量減少、胸腺の重量減少に関連した小胸腺がみられた。

不純物非添加のテモゾロミド（200 mg/m²）投与群では、不純物添加テモゾロミドの同用量の投与群とほぼ同様の変化がみられた。

本試験において、テモゾロミドの一般毒性について不純物添加の有無による明らかな差は認められなかった。

*新薬承認情報提供時に置き換えた

2.6.6.8.4.2 不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験 [4.2.3.7.6.2, 試験番号 T026 *]

Salmonella typhimurium (TA1535, TA98, TA97a, TA100, TA102) 及び *Escherichia coli* (WP2uvrA) を用いて復帰突然変異試験を実施した。試験は、不純物添加及び非添加のテモゾロミドについて代謝活性化系の存在下又は非存在下でそれぞれ 2 回実施し、結果の再現性を確認した。

テモゾロミドの復帰突然変異試験 (2.6.6.4.1 ; 16 頁参照) を参考に、1 回目の試験では、最高用量を 2500 µg/プレートとし、以下公比 2 で 19.7 µg/プレートまでの 8 用量を設定した。2 回目の試験では、高用量側の 78.5 ~ 2500 µg/プレートの範囲で 8 用量を設定した。

試験成績

試験成績は、概要表 2.6.7.17.2B (110 頁) に示した。

代謝活性化系の有無にかかわらず、不純物添加及び非添加のテモゾロミドに復帰突然変異の誘発性が認められた。不純物添加と非添加における復帰変異コロニー数の差は本試験における変動範囲内であり、テモゾロミドの復帰突然変異誘発性に不純物添加の有無による明らかな差は認められなかった。

2.6.6.8.4.3 不純物のヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験 [4.2.3.7.6.3, 試験番号 T027 *]

ヒト末梢血リンパ球を用いて染色体異常試験を実施した。試験は、不純物添加及び非添加のテモゾロミドについて代謝活性化系の存在下又は非存在下でそれぞれ 2 回実施し、結果の再現性を確認した。

処理時間は、代謝活性化系非存在下で 4 又は 19 時間、代謝活性化系存在下で 4 時間とした。溶媒には精製水を用い、各試験条件下とも、分裂指数低下率が 60% 以上の用量を除いて高用量側から 3 又は 4 用量について染色体標本の観察を行った。

試験成績

試験成績は、概要表 2.6.7.17.2C (114 頁) に示した。

代謝活性化系の有無にかかわらず、不純物添加及び非添加のテモゾロミドに染色体異常の誘発性が認められた。不純物添加と非添加とで染色体異常細胞の出現頻度に明らかな差はなく、テモゾロミドの染色体異常誘発性に不純物添加の有無による明らかな差は認められなかった。

2.6.6.8.5 その他の試験

テモゾロミドの毒性試験については、開発初期の段階 (19■■ ~ 19■■ 年) に臨床適用経路と異なる投与方法を用いてマウスの単回静脈内及び腹腔内投与試験、マウス及びラットの反復腹腔内投与試験が実施された。

2.6.6.8.5.1 マウス単回静脈内投与試験 [4.2.3.7.7.2, T029 *]

MF1 マウス (雄 10 匹) にテモゾロミドの 140 mg/kg (515 mg/m² に相当) を単回静脈内投与し、28 日目に屠殺して検査した。なお、投与量の 140 mg/kg は、溶媒として用いた 20% DMSO 溶液におけるテモゾロミドの溶解性を考慮して設定された。

* 新薬承認情報提供時に置き換えた

試験成績は、概要表 2.6.7.17.3 (116 頁) に示した。

一般状態、体重及び剖検に、特記すべき所見はみられなかった。

2.6.6.8.5.2 マウス単回腹腔内投与試験 [4.2.3.7.7.3, T030 *]

MF1 マウス (各群雄 10 匹) にテモゾロミドの 8.75, 17.5, 35, 70 及び 140 mg/kg (32, 64, 128, 357 及び 515 mg/m² に相当) を単回腹腔内投与し、14 日目に各群 5 匹、28 日目に残りの動物を屠殺して検査した。

試験成績は、概要表 2.6.7.17.3 (116 頁) に示した。

投与量に依存した赤血球系パラメータ、白血球系パラメータ及び血小板数の減少がみられたが、これらの変化は観察期間内に明らかな回復又は回復傾向がみられた。140 mg/kg 群の 14 日目の病理検査では、小腸、精巣及び脾臓の壊死、リンパ節及び胸腺のリンパ球壊死がみられた。28 日目の検査では、精巣に変化はみられなかった。

2.6.6.8.5.3 マウス反復腹腔内投与試験 [4.2.3.7.7.4, T031 *]

MF1 マウス (各群雄 10 匹) にテモゾロミドの 14, 35, 70 及び 140 mg/kg (51, 128, 257 及び 515 mg/m² に相当) の 5 日間腹腔内投与を 4 回繰り返す (各投与間休業 2 日間)、最終投与の 28 日後に動物を屠殺して検査した。

試験成績は、概要表 2.6.7.17.3 (116 頁) に示した。

140 mg/kg 群の全例が死亡又は切迫屠殺され、死亡の前に立毛及び嗜眠が観察された。70 mg/kg 群の 2 例が円背位を呈した後に死亡した。

生存例では、35 mg/kg 以上の投与群で体重の増加抑制又は減少、赤血球系パラメータ、白血球系パラメータ及び血小板数の減少がみられた。

最終投与の 28 日後の病理検査では、14 mg/kg 以上の投与群で胸腺 (リンパ球壊死)、リンパ節 (リンパ球壊死・減少)、小腸 (陰窩上皮壊死、粘膜固有層壊死) に、35 mg/kg 以上で脾臓 (壊死、萎縮等)、精巣 (精祖細胞減少、多核細胞等)、胃 (角化亢進、嚢胞)、肺 (マクロファージ浸潤、II 型肺胞上皮過形成等) に、70 mg/kg 以上で骨髄 (無形成、うっ血) に変化がみられた。

2.6.6.8.5.4 ラット反復腹腔内投与試験 [4.2.3.7.7.5, T032 *]

Wistar ラット (雄 10 匹) にテモゾロミドの 7 mg/kg (49 mg/m² に相当) の 5 日間腹腔内投与を 4 回繰り返す (各投与間休業 2 日間)、最終投与の 28 日後に動物を屠殺して検査した。

試験成績は、概要表 2.6.7.17.3 (116 頁) に示した。

死亡例はなく、体重増加抑制及び赤血球系パラメータの減少がみられた。最終投与の 28 日後の病理検査では、精巣 (生殖細胞減少、多核細胞) に変化がみられた。

* 新薬承認情報提供時に置き換えた

2.6.6.9 考察及び結論

2.6.6.9.1 単回投与毒性

単回投与毒性試験は、マウス、ラット（経口、腹腔内）及びイヌ（経口）を用いて実施した。各試験の概略の致死量及び主な毒性所見を表 2.6.6-2 にまとめた。

臨床投与経路の経口投与において、最も低い概略の致死量を示したのはイヌであり、600 mg/m² で死亡がみられた。マウス及びラットの概略の致死量は各々 1000 及び 1500 ~ 2500 mg/m² であり、腹腔内投与と大きな差はみられず、明らかな雌雄差もなかった。経口投与時の毒性症状及び死亡は概して遅延性であり、概略の致死量における最初の死亡は、マウスで 10 日目 (1000 mg/m²)、ラットで 15 日目 (雄: 1500 mg/m²) 又は 11 日目 (雌: 2500 mg/m²)、イヌで 9 日目 (600 mg/m²) であった。非常に高用量のマウスの 4000 mg/m²、ラットの 5000 mg/m² 以上では、投与 24 時間以内に死亡がみられた。

主な毒性症状としては、マウス及びラットに共通して自発運動低下及び体重増加抑制がみられ、概略の致死量以上では円背位、半眼、マウスでは振戦、虚脱、歩行失調、ラットでは全身蒼白化、糞便量減少、摂餌低下等がみられた。イヌでは嘔吐、糞便異常、歯肉蒼白化がみられ、概略の致死量以上では体温上昇、自発運動低下、体重減少、歩行失調、虚脱、散瞳等がみられた。剖検では、各動物種に共通して、概略の致死量以上で出血又はうっ血を示唆する変色（暗赤色化又は暗色化）が、リンパ系器官、胃腸管、又は雄生殖器等の細胞分裂の比較的速い組織・器官にみられ、死因は明らかではないが、これらの組織・器官の機能低下により全身状態が悪化したことによるものと推察された。同様な所見は、他のアルキル化剤でも報告されている²⁻⁹⁾。

表 2.6.6-2 単回投与毒性試験でみられた主な毒性所見

動物種	投与経路	概略の致死量 (mg/m ²)	主な毒性所見 (mg/m ²)	試験番号
マウス	経口	MF : 1000	≥ 500 : 自発運動低下 ≥ 1000 : 円背位, 半眼, 振戦, 体重増加抑制, 胃暗赤色化 ≥ 2000 : 虚脱, 黄色排泄物	T001 *
	腹腔内	MF : 1000	≥ 500 : 自発運動低下, 体重増加抑制 ≥ 1000 : 円背位, 半眼, 胃暗赤色化 ≥ 2000/4000 : 振戦, 歩行失調	T002 *
ラット	経口	M : 1500 ^a F : 2500 ^a	≥ 200 : 体重増加抑制 200, ≥ 1500 : 胃・肺暗赤色又は暗色化 ≥ 1500 : 自発運動低下, 円背位, 糞便量減少, 全身蒼白化, 皮下組織・精巣・精巣上体・精嚢・睪嚢・脳・リンパ節暗赤色	T003 *
			≥ 2500 : 半眼, 黄色排泄物, 呼吸困難, 大腸暗赤色 ≥ 5000 : 摂餌低下, 軟便, るい瘦, 尿による被毛の汚れ	T004 *
	腹腔内	MF : 2000	≥ 500 : 自発運動低下, 体重増加抑制 500, ≥ 2000 : 半眼 ≥ 1000 : 円背位 ≥ 2000/4000 : 摂餌低下, 頭部腫脹, 黄色排泄物, 胃・小腸・リンパ節・皮下組織暗赤色又は暗色化	T005 *
イヌ	経口	MF : 600	≥ 200 : 嘔吐, 糞便異常 400, 600 : 歯肉蒼白化 ≥ 600/3500 ^b : 自発運動低下, 体温上昇 ≥ 1000 : 体重減少, リンパ節・胃・大腸・肺・心臓・膀胱暗赤色又は暗赤色化 1500 : 胸腺暗赤色化, 胸腔・皮下組織に暗赤色物質 3500 ^b : 歩行失調, 虚脱, 散瞳, 呼吸数増加, 食道・小腸・脾臓暗赤化	T006 * T007 *

a : 1500 mg/m² は雄 1/5 例, 2500 mg/m² は雄 4/5 例, 雌 5/5 例が死亡した。

b : 試験番号 92130 は漸増投与のため, 所見がみられた時までの積算投与量で示した。

* 新薬承認情報提供時に置き換えた

2.6.6.9.2 反復投与毒性

反復投与毒性試験は、臨床投与スケジュールと同じ間歇投与¹⁰⁾で、ラット及びイヌの1クール(5日間連続投与、23日間休薬)、3クール及び6クール(1、3及び6ヵ月間)経口投与試験を実施した。各試験とも病理学的検査を投与期間終了時(中間屠殺)と休薬期間終了時(最終屠殺)に実施し、回復性を検討した。血漿中薬物濃度は、1及び3クール投与試験では各クールの投与1及び5日目、6クール投与試験では1、3及び6クールの投与1及び5日目に測定した。

各試験の主な毒性所見を表2.6.6-3及び表2.6.6-4にまとめた。また、各動物種とヒトの薬物動態パラメータの比較を表2.6.6-5にまとめた。

血漿中テモゾロミド濃度は投与量の増加に応じた上昇を示し、雌雄差はなく、6クールまで反復投与しても蓄積性はなかった。

ラット及びイヌに共通した本薬の主要な標的器官は、骨髄・リンパ系器官(末梢血白血球及び血小板の減少、骨髄細胞減少、胸腺、脾臓及びリンパ節のリンパ球減少)、胃腸管(嘔吐<イヌのみ>、便の異常、小腸及び大腸の陰窩壊死)、及び精巣(多核細胞)であり、他のアルキル化剤と同様に細胞分裂が比較的速い組織・器官に強い毒性が認められた。低用量からみられた所見は、嘔吐、末梢血白血球減少又は血小板減少であった。毒性は概して遅延性であった。1クール投与試験で休薬期間中に全例が死亡した600~1000 mg/m²(最小致死量の3~8倍)では、網膜の変性及び壊死もみられた。これらのうち、血球パラメータの減少は、血漿中テモゾロミド濃度又は代謝物MTIC濃度が消失してもしばらく持続したが、概して23日間の休薬期間中には回復するため、3及び6クール投与では各クールごとに減少と回復が繰り返し認められた(図2.6.6-1)。なお、対照群の好中球の散発的な上昇は生理的な変動幅に収まるものであった。その他の毒性所見の多くも休薬期間中に回復性を示し、6クールまで反復投与しても明らかな増強はみられなかった。しかし、精巣については回復性はみられなかった。精巣への影響は他のアルキル化剤でもみられており、投与条件(投与量、投与期間、年齢等)により異なるものの、ヒトに対してしばしば精巣に重篤な影響を及ぼすことが報告されている¹¹⁾。

1クール投与試験の死亡は、ラットの200 mg/m²以上、イヌの125 mg/m²以上でみられ、本薬による骨髄抑制や胃腸管への影響が全身状態の悪化や死亡に関連していると考えられた。また、細菌感染を示す所見(敗血症)もみられ、宿主抵抗性の低下等による二次的な影響も考えられた。

ラットの1クール投与試験でみられた網膜の変化は、病理組織学的にはごく軽度から高度の外顆粒層の変性及び壊死であり、検討した最高用量(雄:800 mg/m²、雌:600 mg/m²)でのみ認められた。同様の所見は、他のアルキル化剤でも高用量の投与で報告されている。即ち、マウス及びラットに高用量のアルキル化剤を投与した際、網膜の変性がみられ¹²⁻¹⁴⁾、この網膜毒性の誘発機序はアポトーシスを介した光受容細胞の損傷であると報告されている¹⁵⁾。また、網膜のchemokines及びミクログリア由来のTNF- α の発現に加えて、ミクログリアの活性化が網膜の変化に何らかの関与をしているとの報告もある¹⁶⁾。これらのことから、網膜の変化は、非常に高い用量を投与した際のアルキル化剤に共通した作用と考えられた。

その他、ラットで甲状腺に変化がみられた。病理組織学的には、ごく軽度から中等度の濾胞細胞又は上皮の肥大及びコロイド減少であった。過形成又は細胞毒性を伴わないこのような肥大性の変

化は、甲状腺における機能亢進あるいは機能低下を示していると考えられた。また、甲状腺の変化は、1クール投与試験の100 mg/m²以上でみられたが、6クール投与試験の125 mg/m²では認められなかったことから、進行性の変化とは考えられず、可逆性であり、時間経過に応じた回復性はホメオスタシスに関連していることを示唆している。これらのことから、甲状腺の変化は、内分泌系のホメオスタシスの乱れに対する二次的で非特異的な適応性の反応で、しばしば細胞毒性作用による種々の組織及び臓器の変化とともに起こり得ると考えられた。

また、ラット1クール投与試験では尿中電解質（Na, K, Cl及びCa）濃度の低下及び尿量の増加がみられた。400 mg/m²以上の投与で尿量は約2倍に増加し、これに伴い尿中電解質濃度は約1/2に低下した。血清中電解質（Na, K, Cl及びCa）濃度に異常は認められなかった。このことから、尿中電解質濃度の低下は、尿量増加によって生じた変化であり、本薬がラット消化管からの電解質の吸収あるいは腎での尿中排泄に影響した結果ではないと考えられた。尿量の増加は動物の大半が死亡又は全身状態の悪化のため切迫屠殺されるきわめて高用量（400 mg/m²以上）で認められた変化で、ラットの最小致死量（200 mg/m²）以下の用量ではみられなかった。

これらに加えて、ラット3及び6クール投与試験では腫瘍がみられた。最も高頻度に見られたのは乳癌であり、3クール試験の200 mg/m²、6クール試験の25、50及び125 mg/m²で、特に雌で多く認められた。6クール試験の125 mg/m²では、皮膚及び間葉系組織の腫瘍もみられた。6クール投与試験の死亡例の死因は、雌では乳癌によるものであり、雄ではそれ以外の腫瘍又は泌尿生殖器の炎症によるものであった。イヌ反復投与試験では125 mg/m²を6クール投与しても腫瘍及びがん病変は何ら認められなかった。腫瘍については**2.6.6.9.4 がん原性**で考察した。

体表面積当たりの投与量で比較した場合、本薬に対するラット及びイヌの感受性はヒトより高く、臨床推奨用量（150又は200 mg/m²）はラット及びイヌの致死量であった。しかし、200 mg/m²を投与した場合の血漿中テモゾロミド濃度及び代謝物MTIC濃度には、種による明らかな差はみられなかった（表2.6.6-5）。

以上、反復投与毒性試験では本薬の薬理作用に基づくアルキル化剤に共通した毒性がみられた。1、3及び6クール投与試験の無毒性量はラットで各々25 mg/m²未満、イヌで各々25 mg/m²（嘔吐を除く）であり、臨床推奨用量（150又は200 mg/m²）はラット及びイヌの致死量であった。しかし、低用量からみられた末梢血白血球及び血小板の減少は毒性の良い指標であり、これらをモニターすることが重篤な毒性を避けるために重要であると考えられた。

表 2.6.6-3 ラット反復経口投与毒性試験でみられた主な毒性所見

ラット：主な毒性所見（投与量：mg/m ² ）			
試験	1 グール (試験番号 T008 *, T009 *)	3 グール (試験番号 T010 *)	6 グール (試験番号 T011 *)
投与量	25, 50, 100, 150, 200, 400, 600(F),800(M)	25, 50, 200	25, 50, 125
死亡	M : ≥ 200, F : ≥ 400	—	M : ≥ 50, F : 125
一般状態	≥ 50 : 体重増加抑制 ≥ 200 : 粗毛, 摂餌量減少 ≥ 400 : 糞便量減少, 自発運動低下, 円背位, るい瘦, 全身蒼白化	≥ 25 : 脱毛, 体重増加抑制, 摂餌量減少 200 : 粗毛, 腫瘍 (57 日～)	≥ 50 : 体重増加抑制, 摂餌量減少 125 : 自発運動低下, 円背位, 全身蒼白化, 腫脹, 腫瘍 (92 日～)
臨床検査	≥ 25 : 好中球 ↓ ≥ 50 : 白血球・リンパ球・血小板 ↓ ≥ 100 : 赤血球 ↓ ≥ 200 : Hb・Ht・総蛋白・アルブミ ン ↓ ≥ 400 : 総ビリルビン・γ-GTP・ BUN・尿量 ↑, 尿浸透圧 ↓	≥ 25 : 白血球・好中球・リン パ球・血小板 ↓ ≥ 50 : 赤血球 ↓ 200 : Hb・Ht ↓	≥ 25 : 白血球・リンパ球・血小 板 ↓ ≥ 50 : 好中球 ↓ 125 : 赤血球・Hb・Ht・総蛋 白・アルブミン・グロブリ ン ↓
骨髄・ リンパ系	≥ 25 : 胸腺の重量 ↓・リンパ球減少 ≥ 100 : 骨髄細胞減少, 脾臓重量 ↓ ≥ 150 : 骨髄出血, 脾臓リンパ球減少 ≥ 400 : リンパ節の暗色化・リンパ球 減少・出血	≥ 25 : 胸腺の重量 ↓・リンパ 球減少 200 : 骨髄の細胞減少・出血, 脾臓リンパ球減少	≥ 25 : 胸腺リンパ球減少 ≥ 50 : 胸腺重量 ↓, 脾臓リンパ 球減少
胃腸管	≥ 100 : 小腸・大腸の陰窩壊死 ≥ 150 : 小腸・大腸粘膜上皮の過形 成・崩壊 ≥ 200 : 胃の暗色化 ≥ 400 : 胃の浮腫・出血	200 : 小腸・大腸の陰窩壊死	—
雄生殖器官	≥ 50 : 精巣の多核細胞 ≥ 100 : 精巣重量 ↓ ≥ 400 : 精巣上体の重量 ↓・単細胞壊 死 800 : 精巣上体の多核細胞	200 : 精巣・精巣上体の重量 ↓・多核細胞	≥ 50 : 精巣の重量 ↓・多核細胞 125 : 精巣上体の重量 ↓・多核 細胞
眼 (網膜) / 甲状腺	≥ 100 : 甲状腺の濾胞上皮肥大・コロ イド減少 ≥ 400 : 眼底蒼白化, 網膜の出血・滲 出 (眼底検査), 甲状腺重量 ↓ ≥ 600 : 網膜の変性・壊死	200 : 甲状腺の濾胞上皮肥 大・コロイド減少	—
腫瘍	—	200 : 乳癌, 乳腺線維腫	≥ 25 : 乳癌 125 : 皮膚の角化棘細胞腫・基 底細胞腺腫, 間葉系腫瘍等 ^a
無毒性量	< 25	< 25	< 25

1 グール = 5 日間連続経口投与し, 以後 23 日間休薬する。

a : 間葉系組織 : 線維肉腫 (皮下組織, 精囊, 頭部, 胸腔/腹腔), 悪性シュワン細胞腫 (視神経, 心臓), 子宮内
膜間質肉腫, 肉腫 (唾液腺), 血管肉腫 (皮下組織), 線維腫 (膀胱), その他の組織 : 腺腫 (甲状腺, 副腎, 下
垂体, 肺), 癌 (精囊), 悪性線維性組織球腫 (全身性), 良性莢膜細胞腫 (卵巣)。

* 新薬承認情報提供時に置き換えた

表 2.6.6-4 イヌ反復経口投与毒性試験でみられた主な毒性所見

試験	イヌ：主な毒性所見（投与量：mg/m ² ）		
	1クール （試験番号 T012 ＊, T013 ＊）	3クール （試験番号 T014 ＊）	6クール （試験番号 T015 ＊）
投与量	25, 50, 125, 200, 500, 1000	25, 50, 125	25, 50, 125
死亡	M：≥ 125, F：≥ 200	—	—
一般状態	≥ 50：嘔吐 ≥ 125：自発運動低下 ≥ 200：便の異常（変色，減少，下痢）， 脱水，体重減少，摂餌量減少	≥ 25：嘔吐 ≥ 50：自発運動低下	≥ 25：嘔吐 ≥ 50：便の異常（変色） 125：体重減少
臨床検査	≥ 50：リンパ球↓ ≥ 125：白血球・好中球・血小板↓ 200：赤血球・Hb・Ht・総蛋白・アルブ ミン・グロブリン↓	125：白血球・好中球・リン パ球・血小板↓	≥ 50：白血球・好中球・リ ンパ球・血小板↓ 125：赤血球・Hb・Ht ↓
骨髄・ リンパ系	125：骨髄細胞減少 ≥ 125：胸腺リンパ球減少 ≥ 200：骨髄萎縮，脾臓の蒼白化・リン パ球減少，リンパ節の暗色化・うっ 血，腸リンパ組織リンパ球減少 ≥ 500：胸腺暗色化，リンパ節リンパ球 減少	125：胸腺の重量↓・リンパ 球減少，脾臓リンパ球減 少	—
胃腸管	≥ 200：胃の暗色化・出血，小腸の暗色 化・陰窩壊死・うっ血・出血，大腸 の暗色化・陰窩壊死・出血 1000：胃・大腸のうっ血	—	—
雄生殖器	125：精巣上体の精子形態異常 125, ≥ 500：精巣の多核細胞	125：精巣の多核細胞，精巣 上体の未熟精子・精子形 態異常	125：精巣の多核細胞，精巣 上体の未熟精子・精子形 態異常
眼（網膜）	1000：網膜の変性・壊死	—	—
無毒性量	25	25（嘔吐を除く）	25（嘔吐を除く）

1クール＝5日間連続経口投与し，以後23日間休薬する。

表 2.6.6-5 動物とヒトの薬物動態学的パラメータの比較

種	投与量 (mg/m ²)		AUC (μg・hr/mL)	Cmax (μg/mL)	tmax (hr)	t _{1/2} (hr)	試験番号
ラット	200（単回，PK試験）	未変化体	55.1	26.5	0.5	1.20	A015 ＊
		MTIC	1.06	0.357	0.8	1.50	
	200（5日間反復，致死量 ^a ）						T008 ＊ T009 ＊
イヌ	200（単回，PK試験）	未変化体	20.6	8.88	0.54	1.63	A017 ＊
		MTIC	0.544	0.205	0.50	1.59	
	125（5日間反復，致死量 ^a ）						T013 ＊
ヒト	200（5日間反復，臨床推奨用量）	未変化体	35.1	15.3	0.58	2.03	C016 ＊
		MTIC	0.594	0.272	0.75	1.93	
		未変化体	36.0	14.0	0.92	2.02	
	750（単回，最大許容量 ^b ）	MTIC	0.636	0.284	0.92	1.87	
		未変化体	137	40.8	1.33	1.88	C018 ＊
		MTIC	4.53	1.66	1.65	1.88	

a：1クール投与試験の致死量

b：外国人

*新薬承認情報提供時に置き換えた

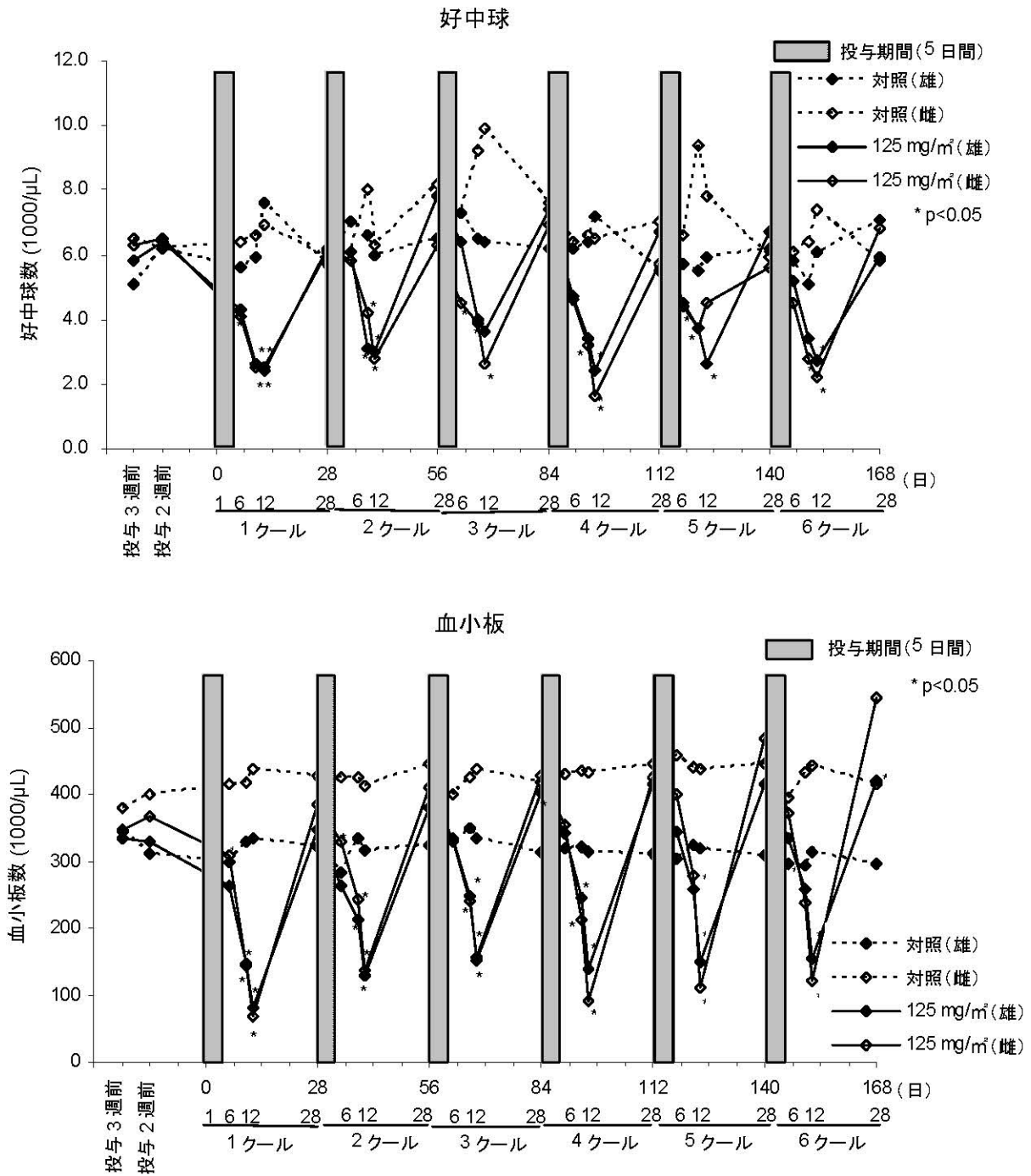


図 2.6.6-1 イヌの6クール投与試験における末梢血好中球数及び血小板数の推移

2.6.6.9.3 遺伝毒性

本薬は他のアルキル化剤と同様に遺伝毒性を示し、細菌を用いる復帰突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験及びマウス小核試験はいずれも陽性であった。

2.6.6.9.4 がん原性

本邦ガイドラインで、進行がんの治療を目的とした抗悪性腫瘍剤などでは、通常、がん原性試験を必要としない¹⁷⁾とされていることから、がん原性試験は実施しなかった。

しかし、本薬のラット3及び6クール投与試験で腫瘍がみられた(2.6.6.9.2)。イヌ反復投与では腫瘍及び前がん病変は認められなかった。

以下に、本薬と既承認アルキル化剤の発がん性の比較(腫瘍の種類及び投与量、雌ラットにおける乳癌の発生時期及び発生頻度)、発がんの機序及び乳癌が高頻度で誘発された理由、及び本薬の発がん性の評価について考察した。

(1) 本薬と既承認アルキル化剤の発がん性の比較

1) 腫瘍の種類及び投与量

本薬はラットに種々の良性・悪性腫瘍を誘発した。ラット6クール(6カ月間)投与試験では、乳癌、乳腺上皮内癌、皮膚の角化棘細胞腫及び基底細胞腺腫、少数例で間葉系腫瘍の線維肉腫、悪性シュワン細胞腫、子宮内膜間質肉腫、肉腫、血管肉腫及び線維腫が主として125 mg/m²で認められ、多くは加齢とともに自然発生する腫瘍であった¹⁸⁻²⁵⁾。最も高い頻度でみられたのは悪性腫瘍の乳癌であり、特に雌で多く認められた。

ラットにおける種々の良性・悪性腫瘍の誘発は他のアルキル化剤でも報告されている。乳癌はプロカルバジン、ダカルバジン(DTIC)、シクロホスファミドでも雌に高頻度に誘発されることが報告されており²⁶⁻³⁰⁾、発がん性を比較する際に最も重要な腫瘍と考えられた。また、げっ歯類の皮膚腫瘍はプロカルバジン³¹⁾で、間葉系腫瘍はメルファラン、DTIC、マイトマイシンC、ダクチノマイシン及びダウノルビシン^{28,29,32-34)}で報告されている。

アルキル化剤をラットに24週間(週3回)腹腔内投与後、78週目に観察して比較検討した試験では、シクロホスファミド、マイトマイシンC(還元されてアルキル化作用を示す³⁵⁾)、メルファラン、プロカルバジン及びDTICで悪性腫瘍の誘発がみられている²⁸⁾が、その用量はいずれも臨床用量付近又はそれ以下の用量であった(表2.6.6-6)。

以上、他のアルキル化剤と同様に、本薬は臨床用量付近又はそれ以下で種々の悪性・良性腫瘍をラットに誘発した。乳癌は悪性腫瘍であり発生頻度も高いため、本薬の発がん性を比較する際に最も重要な腫瘍であると考えられた。

2) 雌ラットにおける乳癌の発生時期及び発生頻度

本薬による腫瘍のうち、最も高い頻度でみられたのは雌ラットの乳癌であった。雌ラットの乳癌は、比較的早い時期(3クール投与試験の200 mg/m²)から誘発され、6クール投与試験では25及び50 mg/m²の各2例、125 mg/m²の33/35例(94%)に認められた。

雌ラットに比較的早い時期から高頻度で乳癌を誘発することは、類薬であるプロカルバジン及びDTICでも報告されている（表 2.6.6-7）。即ち、プロカルバジンは、臨床では連日経口投与されるが、雌ラットに臨床 1 日最大投与量の約 7 倍を単回経口投与すると 10 週間で乳癌を高頻度に誘発した³⁶⁾。また、DTIC は、臨床では静脈内に間歇投与されるが、雌ラットに臨床用量を混餌経口にて 10 週間連日投与すると 15 週目に乳癌を高頻度で誘発した²⁹⁾。

以上、本薬は雌ラットに比較的短い期間で高頻度の乳癌を誘発したが、その発生時期及び発生頻度はプロカルバジン及びDTIC と比べて明らかな差はなかった。

表 2.6.6-6 各種アルキル化剤のラット長期腹腔内投与試験²⁸⁾における腫瘍誘発のまとめ

薬剤	ラット		ヒト	
	投与方法 投与期間	投与量	主な腫瘍 ^a (雌)	投与方法 投与量
シクロホス ファミド		5, 10 mg/kg (35, 70 mg/m ²)	乳腺腺腫：45% 乳癌：17%	連日静脈内投与 100-200 mg ^b (67-133 mg/m ²)
				週 1-2 回静脈内投与 300-500 mg (200-333 mg/m ²)
マイトマイ シン C ^c	腹腔内に週 3 回 24 週間投与後、 78 週目に観察	0.038, 0.15 mg/kg (0.27, 1 mg/m ²)	腹膜における 肉腫：97%	連日静脈内投与 2 mg (1.3 mg/m ²)
				週 1-2 回静脈内投与 4-6 mg (2.7-4 mg/m ²)
				1-3 週間間隔で静脈内 投与 10-30 mg (6.7-20 mg/m ²)
メルファ ラン		0.9, 1.8 mg/kg (6.3, 13 mg/m ²)	腹膜における 肉腫：43%	連日経口投与 2-4 mg (1.3-2.7 mg/m ²)
				4-10 日間連日経口投与 2-6 週間休薬を繰り返す 6-12 mg (4-8 mg/m ²)
プロカルバ ジン		30, 60 mg/kg (210, 420 mg/m ²)	乳癌：54% 白血病：35%	連日経口投与 150-300 mg ^b (100-200 mg/m ²)
DTIC		50, 100 mg/kg (350, 700 mg/m ²)	乳癌：73% リンパ腫：55%	5 日間連日静脈内投与 4 週間休薬を繰り返す 100-200 mg (67-133 mg/m ²)

体表面積は、ヒト 1.5 m²、ラット 0.0357 m² (250g) として算出した。

a：低・高用量の合算値

b：50-100 mg から開始し、1 週間以内に 150-300 mg まで増量する。

c：マイトマイシン C は細胞内で還元されアルキル化剤として抗腫瘍活性を示す。

表 2.6.6-7 各種アルキル化剤の雌ラット経口投与試験における乳癌発生率のまとめ

薬剤	ラット					ヒト	
	投与方法	投与期間	観察時期	投与量	乳癌発生率	投与方法	投与量
プロカルバジン ³⁶⁾	単回強制経口投与	(単回)	10 週	50 mg/匹 (1400 mg/m ²)	50%	連日経口投与	150-300 mg ^a (100-200 mg/m ²)
			20 週	50 mg/匹 (1400 mg/m ²)	100%		
DTIC ²⁹⁾	連日混餌経口投与	14 週	18 週	8 mg/匹 (211 mg/m ²)	100%	5 日間連日 静脈内投与 4 週間休薬を 繰り返す	100-200 mg (67-133 mg/m ²)
			24 週	6 mg/匹 (174 mg/m ²)	50%		
		10 週	15 週	5 mg/匹 (138 mg/m ²)	63%		
テモゾロミド	5 日間連日 強制経口投与 23 日間休薬	3 クール (12 週)	13 週	7 mg/匹 (200 mg/m ²)	67%	5 日間連日 経口投与 23 日間休薬 を繰り返す	150-200 mg/m ²
		6 クール (24 週)	25 週	4 mg/匹 (125 mg/m ²)	94%		

体表面積は、ヒト 1.5 m²、ラット 0.0357 m² (250g) として算出した。
a : 50-100 mg から開始し、1 週間以内に 150-300 mg まで増量する。

(2) 発がんの機序及び乳癌が雌ラットで高頻度で誘発された理由

本薬や DTIC は、MTIC を経て活性代謝物のメチルジアゾニウムイオンへ生体内変換された後に、DNA をメチル化 (アルキル化) する。このうち、O⁶- グアニンのメチル化は本薬の抗腫瘍作用に関連する (2.6.2.6.1.2.1) とともに、遺伝毒性及び発がん性に関係すると考えられている³⁷⁾。しかしながら、O⁶- メチルグアニンは O⁶- メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼ (MGMT) によって修復されるため、この MGMT 修復酵素の活性の違いが感受性の違いに影響すると考えられる³⁸⁻⁴²⁾。事実、MGMT 修復酵素の活性は動物種や組織ごとに大きく異なり⁴³⁻⁴⁵⁾、イヌの報告はみあたらないものの、ラット組織の MGMT 活性はヒト組織より低いと報告されている⁴³⁾。

さらにラットでは他の組織に比べて雌の乳腺の MGMT 活性が低く、特に本薬の投与開始時期に相当する 50 日齢付近では最も活性が低くなると報告されている⁴⁵⁾。また、この時期は乳腺の終末部が乳芽から腺房へと分化発達する時期でもある⁴⁶⁾。このことは、この時期に本薬や他のアルキル化剤を投与された雌ラットの乳腺が他の組織に比べて感受性が高かったこととも一致している。

本薬が DNA のアルキル化剤として作用すること以外に、腫瘍のプロモーターとしての作用は確認されておらず、他の発癌機序については知られていない。DNA のアルキル化は、アルキル化産物、細胞中 DNA 修復能、細胞の種類などの多くの因子が関与して、遺伝毒性を介した腫瘍形成を増大させることが多く報告されている。ホルモン性の因子は腫瘍の成長に関与しているが、DNA のアルキル化のレベルはホルモンレベルに依存したものではない。また、正常細胞ではミスマッチ修復機構が損なわれることなく正常に機能しており、エピジェネティックなサイレンシングが、ラットの乳腺腫瘍発生に関与することはないと考える。腫瘍発生の原因は、急速に分化発育する雌ラットの乳腺では MGMT 活性が相対的に低いことに起因している。なお、DNA のアルキル化によ

る雌ラットの乳癌誘発については、本薬でのみ特異的に誘発するのではなく、他のアルキル化剤でも同様にみられ、ラットの乳癌誘発モデルとして知られている⁴⁷⁾。

以上、ラットは O^6 -メチルグアニンのメチル基の除去 (DNA 修復) を担う MGMT 活性が相対的に低いことに加えて、特に雌の乳腺では MGMT 活性が低く影響を受け易い時期であったため、腫瘍が高頻度に誘発されたと考えられた。

(3) 乳腺腫瘍及びその他の腫瘍の性差について

前項の (2) に示したように、本薬のラットの試験で最も高い頻度でみられたのは雌の乳癌で、本薬の投与開始時期に相当する 50 日齢付近では MGMT 活性が相対的に低いことに加えて、特に雌の乳腺では乳 (腺) 芽から腺房へと分化する時期であったため、腫瘍が高頻度に誘発されたと考えられた。この乳芽が急速に分化発達する時期は、雌ラットで乳癌誘発の感受性が高い時期に相当し、他の抗腫瘍剤を用いた検討でもこの高感受性期に投与して乳癌誘発がみられることが報告されている^{36,48)}。55 日齢以降に乳芽の数は急速に減少し、55 日齢以降はアルキル化剤の投与による腫瘍発生 (発生頻度、動物あたりの腫瘍数) も低下している⁴⁶⁾。一方、雄ラットの乳腺の発育は雌より著しく遅く、8 週齢では分岐した乳管はあるものの乳腺の樹枝状分岐は密ではない、9 あるいは 10 週齢の時期に、雌の乳腺の発育は継続しているのに対して、雄の乳腺では発育が停止している。SD 系の雌ラットでは乳癌はよくみられる自然発生的な腫瘍であるが、雄では乳癌の自然発生は稀で、乳癌誘発には明らかな性差があることを示唆するものと考えられている¹⁸⁾。

乳癌以外の腫瘍でその発生頻度に性差がみられたのは、雄の皮膚の良性腫瘍であった。雌では皮膚の腫瘍は認められなかったが、雄では高用量群 (35 例) で角化棘細胞腫が 17 例及び基底細胞腺腫が 4 例にみられた。角化棘細胞腫は、ラットによくみられる自然発生腫瘍¹⁹⁾ であり、よく分化した局在性の良性腫瘍で、浸潤あるいは転移することはない、死亡又は全身状態悪化の原因となることもない。基底細胞腺腫は角化棘細胞腫に類似した病態生理学的な特徴を持つ良性腫瘍である。これらの上皮腫瘍の自然発生は、雄では雌より高い発生頻度でみられ、とりわけ角化棘細胞腫は雌より雄でよくみられる腫瘍と報告されている²¹⁾。雄ラットの皮膚腫瘍が高頻度に発生する理由は明らかではない。同様な腫瘍はヒトでも認められ、良性であり医学的に重大な問題をもたらすことはない。また良性の腫瘍は治療しなくても、時に自然退縮することも知られている^{49,50)}。その他、ラットの試験では間葉系腫瘍がみられたが、雌雄で発生頻度が少なく、明らかな性差は認められなかった。

(4) MGMT 及び MMR 構成蛋白 (MLH1) のエピジェネティックな発現抑制及び二次発がんに及ぼす影響について

腫瘍細胞では MGMT 及び MMR の構成蛋白である MLH1 の遺伝子プロモーター領域における CpG アイランドのシトシンのメチル化によって、これら遺伝子のエピジェネティックなサイレンシングが起こることが知られている。この CpG アイランドのメチル化は S-アデノシルメチオニンから直接メチル基が転位されることによって生じる。近年、methylation specific promoter PCR 法を用いて、様々な癌の MGMT 及び MLH1 遺伝子のプロモーター領域におけるメチル化の発現頻度が報告されている⁵¹⁻⁵⁷⁾。また、最近実施された臨床試験では、神経膠腫における MGMT プロモーター

のメチル化とテモゾロミドの効果に相関性があることが報告されている⁵⁸⁾。現在のところ、CpG アイランドの高メチル化による癌抑制遺伝子のサイレンシングは、ヒトの腫瘍発現に関与する主たるエピジェネティックな作用機序の1つと考えられている⁶²⁾。

一方、正常細胞では、CpG アイランドのメチル化は生じないか、又は生じるとしても極めて稀であると報告⁵⁹⁻⁶¹⁾されているため、MGMT 及び MLH1 がともに発現され、これら蛋白質が担う DNA 修復機構が機能することを示唆している。したがって、正常細胞では、エピジェネティックなサイレンシングによる MGMT 及び MLH1 の発現抑制は通常起こらず、本薬投与後の二次発がんに関与することはないと考えられる。

(5) 本薬の発がん性の評価

本薬はラットで比較的早い時期に高い頻度で腫瘍を誘発したが、アルキル化剤は基本的に発がん性を有すること、また同種の薬剤に関する広範囲な文献的評価からアルキル化剤の多くが臨床用量付近又はそれ以下でラットに悪性腫瘍を誘発し、特にプロカルバジン及び DTIC でも本薬と同様に比較的短い期間で乳癌を高頻度に誘発することを考慮すると、本薬の発がん性は他のアルキル化剤とほぼ同様であろうと考えられた。さらに、ヒトでは二次性悪性腫瘍の発生頻度は低く、ラットの試験でみられた悪性腫瘍の発生時期に比べ、早期の発現は認められなかった。したがって、本薬及び他のアルキル化剤に対する感受性がヒトよりラットで高いこと、加えて現在までに本薬が投与された患者数を考慮すると、毒性試験の結果は、ヒトにおける二次性悪性腫瘍の発現の可能性を過大に評価していると考えられる。いずれのアルキル化剤でも投与された患者にはリスクがあるが、本薬による治療上のベネフィットはそのリスクを上回ると判断される。

2.6.6.9.5 生殖発生毒性

生殖発生毒性試験は、ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験、ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を実施した。各試験の投与量、投与期間、及び主な毒性所見を表 2.6.6-8 にまとめた。

胚・胎児への影響については、臨床推奨用量 (150 又は 200 mg/m²) より低い 50 mg/m² 以上で、着床後死亡率の増加、胎児の体重減少及び奇形 (横隔膜ヘルニア、小眼球、脳の異常、頭部、中軸骨格、尾及び四肢の多様な骨格異常等) がみられ、他のアルキル化剤と同様⁶³⁻⁶⁶⁾に、本薬でも胚・胎児致死作用及び催奇形性作用が確認された。また、出生児への影響についても 75 mg/m² で生存率の減少及び発育遅延がみられた。本薬の乳汁移行は検討されていないが、分布試験で検討した全ての組織への移行が認められているため (2.6.4.4)、本薬による子宮内曝露に加え、乳汁を介した曝露の影響も否定できないと考えられた。このような出生児への影響は、他のアルキル化剤でも報告されている^{63, 67)}。

ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、交尾能及び受胎能への影響は認められなかった。しかし、反復投与試験では精巣への影響がラット (≥ 50 mg/m²) 及びイヌ (≥ 125 mg/m²) で認められ、休薬期間中に回復性は認められなかった (2.6.6.9.2)。また、病理組織学的検

査による雄受胎能の評価は、受胎能試験よりも、雄生殖器への影響を感度良く検出できると報告されている⁶⁸⁾。これらのことから、本薬による雄受胎能への影響は否定できないと考えられた。

表 2.6.6-8 生殖発生毒性試験のまとめ

試験	受胎能及び着床までの 初期胚発生に関する試験	胚・胎児発生に関する試験		出生前及び出生後の発生 並びに母体の機能に 関する試験
試験番号	T019 *	T021 *	T023 *	T024 *
動物	ラット	ラット	ウサギ	ラット
投与経路	経口	経口	経口	経口
投与期間	雄：交配前3クール ^a 雌：交配前1クール+ 交配1日から5日間 ^a	妊娠8～12日	妊娠8～12日	妊娠8～12日 +妊娠21日から5日間
剖検日	雄：交配期間終了後 雌：妊娠14日	妊娠20日	妊娠29日	出産後21日
投与量 (mg/m ²)	5, 50, 150	25, 50, 75	5, 50, 125	5, 25, 75
F ₀ 動物 (mg/m ²)	≥ 5 : 軟便 (M) ≥ 50 : 体重増加抑制, 摂餌量減少 150 : 脱毛, 精巣重量↓	≥ 25 : 体重増加抑制, 摂餌量減少	—	≥ 25 : 体重増加抑制, 摂餌量減少
F ₁ 動物 (mg/m ²)	≥ 50 : 着床後死亡率↑, 胚/胎児死亡数↑	≥ 50 : 着床後死亡率↑, 胎児の体重↓, 奇形 ^b	≥ 50 : 胎児の奇形 ^b 125 : 着床後死亡率↑, 胎児体重↓	75 : 生存率↓, 出生時体 重↓, 出生後の体重増 加抑制, 奇形, 発育・ 反射獲得遅延
無毒性量 (mg/m ²)	親 (一般) : <5(M), 5(F) (生殖) : 150 胚 : 5	母動物 (一般) : <25 (生殖) : 75 胎児 : 25	母動物 (一般) : 125 (生殖) : 125 胎児 : 5	母動物 (一般) : 5 (生殖) : 75 出生児 : 25

a : 交配の開始は、雄では3クール（3ヵ月）目の最終投与日の翌日、雌では2クール（2ヵ月）目の投与1日目とした。

b : 横隔膜ヘルニア（ラット）、小眼球（ウサギ）、脳の異常、頭部、中軸骨格、尾及び四肢の多様な骨格異常等

2.6.6.9.6 皮膚感作性

皮膚感作性をモルモットで検討したが、本薬に皮膚感作性は認められなかった。

2.6.6.9.7 不純物の毒性

不純物である不純物 B *（製剤規格値 ■ % 以下）及び不純物 A *（原薬規格値 ■ % 以下）を添加した不純物添加原薬を用いて、ラット 1 クール投与試験を実施した。本薬（不純物非添加）に対する動物の感受性はヒトより高く、臨床推奨用量がラット 1 クール投与試験の致死量に相当するため、各不純物の投与量はヒト 1 日最大摂取量の各々 1.2 倍及び 1.1 倍に相当する量での検討であったが、不純物添加による新たな毒性所見は認められなかった。本薬と同様に不純物添加原薬は遺伝毒性を示したが、本薬の遺伝毒性に不純物添加による増強は認められなかった。

また、これら不純物について公表文献を調査したところ、不純物 A * をマウスに単回腹腔内投与した際の LD₅₀ は 28.7 mg/kg⁶⁹⁾ で、復帰突然変異試験（使用菌株：Salmonella typhimurium TA100、処理濃度：0.5～100 µg/plate）では、不純物 A * の 0.5～5.0 µg/plate で用量に依存した復帰変異コ

* 新薬承認情報提供時に置き換えた

ロニー数の増加がみられたが、不純物 B * は陰性を示したと報告されている⁷⁰⁾。また、SD ラットを用いたがん原性試験²⁹⁾では、陰性対照群でみられた乳腺腫瘍以外に、不純物 B * の経口投与で副腎に、不純物 A * の経口投与で脾臓又は胃に、腹腔内投与で膀胱に腫瘍(各 1 例)がみられている。しかし、その発生頻度は低く、腫瘍がみられた不純物 B * の用量は本剤に含まれる最大量の 96 倍、不純物 A * の経口投与では 124 倍に相当する高い用量であった。

以上のことから、テモゾロミドの原薬又は製剤にこれら不純物が含まれていても規格値の範囲内であれば、新たな毒性が発生する可能性は極めて低いと考えられた。

2.6.6.10 図表

本文中の該当箇所に挿入した。

2.6.6.11 参考文献一覧

- 1) Middle Atlantic Reproduction and Teratology Association. Historical control data for development and reproductive toxicity studies using the CrI:CD[®] BR rat. Charles River Laboratories; 1993. p.10.
- 2) 日本製薬工業協会 医薬品評価委員会基礎研究部会. 抗原性試験の質疑応答集, 資料 81. 1997.
- 3) 日本製薬工業協会 医薬品評価委員会基礎研究部会. 医薬品の抗原性試験および免疫原性試験に関する調査, 資料 93. 1999.
- 4) 日本製薬工業協会 医薬品評価委員会基礎研究部会. 薬物アレルギー評価法に関する文献調査, 資料 107. 2001.
- 5) Weiner HL, Mayer LF. Oral tolerance: mechanisms and applications. Introduction. Ann N Y Acad Sci 1996;778:13-8.
- 6) Kim YO, Chung HJ, Kil KS, Park JH, Kim DS, Cho DH. Immunotoxicity evaluation and guidelines for drug approval in Korea. Drug Inf J 2000;34:25-32.
- 7) 西川智, 納屋聖人, 原卓司, 宮崎英治, 大黒友路. 5-(3,3-dimethyl-1-triazeno)-imidazole-4-carboxamide の安全性に関する研究(第 1 報) マウス, ラットによる急性毒性試験. 薬理と治療 1981;9:177-81.
- 8) 江角吉造, 中尾寿夫. 抗腫瘍剤 Procarbazine Hydrochloride の毒性研究(1) ラット, マウスにおける急性毒性試験. 応用薬理 1972;6:355-64.
- 9) 村岡義博, 松村彰一, 矢原功, 伊東文雄, 渡辺弘, 森茂栄一 他. Ifosfamide (Z4942) の急性毒性試験. 基礎と臨床 1982;16(2):431-8.
- 10) 厚生労働省医薬食品局審査管理課. 抗がん剤の臨床試験実施及び承認申請のために実施される毒性試験に関する Q&A. 平成 16 年 8 月 9 日.
- 11) Kinsella TJ. Effects of radiation therapy and chemotherapy on testicular function. In: Burger JE, Tardiff RG, Scialli AR, Zenick H, editors. Sperm Measures and Reproductive Success: Institute for Health Policy Analysis. New York: Alan R. Liss, Inc.;1989.p.157-77.
- 12) Kiuchi K, Yoshizawa K, Shikata N, Matsumura M, Tsubura A. Nicotinamide prevents N-methyl-N-nitrosourea-induced photoreceptor cell apoptosis in Sprague-Dawley rats and C57BL mice. Exp Eye Res 2002;74:383-92.
- 13) 義澤克彦, 螺良愛郎. メチルニトロソ尿素誘発網膜変性動物モデルの特徴とヒト網膜色素変性症治療法開発への応用. 日眼会誌 2005;109:327-37.

*新薬承認情報提供時に置き換えた

- 14) Yoshizawa K, Yang J, Senzaki H, Uemura Y, Kiyozuka Y, Shikata N, et al. Caspase-3 inhibitor rescues N-methyl-N-nitrosourea-induced retinal degeneration in Sprague-Dawley rats. *Exp Eye Res* 2000;71:629-35.
- 15) Yuge K, Nambu H, Senzaki H, Nakao I, Miki H, Uyama M, et al. N-methyl-N-nitrosourea-induced photoreceptor apoptosis in the mouse retina. *In Vivo* 1996;10:483-8.
- 16) Zeng H-y, Zhu X-a, Zhang C, Yang L-P, Wu L-m, Tso MOM. Identification of sequential events and factors associated with microglial activation, migration, and cytotoxicity in retinal degeneration in rd mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2992-9.
- 17) 厚生省医薬安全局審査管理課長. 医薬品のがん原性試験に関するガイドラインについて. 医薬審第1607号, 平成11年11月1日.
- 18) Baldrick P. Carcinogenicity evaluation: comparison of tumor data from dual control groups in the Sprague-Dawley rat. *Toxicol Pathol* 2005;33(2):283-91.
- 19) Chandra M, Riley MGI, Johnson DE. Spontaneous neoplasms in aged Sprague-Dawley rats. *Arch Toxicol* 1992; 66:496-502.
- 20) McMartin DN, Sahota PS, Gunson DE, Hsu HH, Spaet RH. Neoplasms and related proliferative lesions in control Sprague-Dawley rats from carcinogenicity studies. *Toxicol Pathol* 1992;20:212-25.
- 21) Zwicker GM, Eyster RC, Sells DM, Gass JH. Spontaneous skin neoplasms in aged sprague-dawley rats. *Toxicol Pathol* 1992;20(3 Pt 1):327-40.
- 22) Greaves P. Subcutaneous (soft tissue or mesenchymal neoplasms). In: Greaves P, editor. *Histopathology of preclinical toxicity studies*. Second edition. Amsterdam: Elsevier Science; 2000. p.26-54.
- 23) Greaves P, Faccini JM. Salivary glands. In: Greaves P, Faccini JM, editors. *Rat histopathology A glossary for use in toxicity and carcinogenicity studies*. Second edition. Amsterdam: Elsevier Science; 1992. p.106-7.
- 24) Bomhard E. Frequency of spontaneous tumors in Wistar rats in 30-months studies. *Exp Toxic Pathol* 1992;44:381-92.
- 25) Yoshitomi K, Boorman GA. Intraocular and orbital malignant schwannomas in F344 rats. *Vet Pathol* 1991;28:457-66.
- 26) International Agency for Research on Cancer (IARC). Dacarbazine. In: *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans* 1981;26:203-15.
- 27) International Agency for Research on Cancer (IARC). Procarbazine Hydrochloride. In: *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans* 1981;26:311-39.
- 28) Weisburger JH, Griswold DP, Prejean JD, Casey AE, Wood HB, Weisburger EK. The carcinogenic properties of some of the principal drug used in clinical cancer chemotherapy. *Recent Results Cancer Res* 1975;52:1-17.
- 29) Beal DD, Skibba JL, Croft WA, Cohen SM, Bryan GT. Carcinogenicity of the antineoplastic agent, 5-(3,3-dimethyl-1-1-triazeno)-imidazole-4-carboxamide, and its metabolites in rats. *Journal of the National Cancer Institute* 1975;54:951-7.
- 30) Schmähl D, Habs M. Carcinogenic action of low-dose cyclophosphamide given orally to Sprague-Dawley rats in a lifetime experiment. *Int J Cancer* 1979;23:706-12.
- 31) National Cancer Institute. Bioassay of procarbazine for possible carcinogenicity. *National Cancer Institute Carcinogenesis technical report series No.19*; 1979.
- 32) Melphalan hydrochloride. In: *Physicians' Desk Reference* 58 edition. New Jersey: Thomson PDR;2004.p.1120-1.

- 33) Dactinomycin. In: Physicians' Desk Reference 58 edition. New Jersey: Thomson PDR;2004.p.1947-9.
- 34) Daunorubicin HCl. In: Physicians' Desk Reference 58 edition. New Jersey: Thomson PDR;2004. p.896-8
- 35) Verweij J, Sparreboom A, Noter K. Antitumor antibiotics. In: Chabner BA, Longo DL, editors. Cancer Chemotherapy and Biotherapy: Principles and practice, 3rd edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins;2001.p.482-99.
- 36) Heuson JC, Heimann R. Ibenzmethyzin (Natulan), a highly effective mammary carcinogen in the huggins system. Eur J Cancer 1966;2:385-6.
- 37) Singer, B. N-nitroso alkylating agents: Formation and persistence of alkyl derivatives in mammalian nucleic acids as contributing factors in carcinogenesis. J Natl Cancer Inst 1979;62(6):1329-39.
- 38) Catapano CV, Brogginini M, Erba E, Ponti M, Mariani L, Citti L, D'Incalci M. In vitro and in vivo methazolastone-induced DNA damage and repair in L-1210 leukemia sensitive and resistant to chloroethylnitrosoureas. Cancer Res 1987;47:4884-9.
- 39) D'Incalci M, Citti L, Taverna P, Catapano CV. Importance of the DNA repair enzyme *O*⁶-alkyl guanine alkyltransferase (AT) in cancer chemotherapy. Cancer Treat Rev 1988;15:279-92.
- 40) Pegg AE. Mammalian *O*⁶-alkylguanine-DNA alkyltransferase: Regulation and importance in response to alkylating carcinogenic and therapeutic agents. Cancer Res 1990;50:6119-29.
- 41) Lee SM, Thatcher N, Crowther D, Margison GP. Inactivation of *O*⁶-alkyl guanine-DNA alkyltransferase in human peripheral blood mononuclear cells by temozolomide. Br J Cancer 1994;69:452-6.
- 42) Gerson SL. MGMT: its role in cancer aetiology and cancer therapeutics. Nat Rev Cancer 2004;4:296-307.
- 43) Gerson SL, Trey JE, Miller K, Berger NA. Comparison of *O*⁶-alkylguanine-DNA alkyltransferase activity based on cellular DNA content in human, rat and mouse tissues. Carcinogenesis 1986;7:745-9.
- 44) Jun GL, Ro JY, Kim MH, Park GH, Paik WK, Magee PN, Kim S. Studies on the distribution of *O*⁶-methylguanine-DNA methyltransferase in rat. Biochem Pharmacol 1986;35:377-84.
- 45) Fong LYY, Jensen DE, Magee PN. DNA methyl-adduct dosimetry and *O*⁶-alkylguanine-DNA alkyltransferase activity determinations in rat mammary carcinogenesis by procarbazine and N-methylnitrosourea. Carcinogenesis 1990;11:411-7.
- 46) Russo J, Russo IH. Biology of disease: Biological and molecular bases of mammary carcinogenesis. Lab Invest 1987;57:112-37.
- 47) McCormick DL, Adamowski CB, Fiks A, Moon RC. Lifetime dose-response relationships for mammary tumor induction by a single administration of N-methyl-N-nitrosourea. Cancer Res 1981;41:1690-4.
- 48) Skibba JL, Erturk E, Bryan GT. Induction of thymic lymphosarcoma and mammary adenocarcinomas in rats by oral administration of the antitumor agent, 4(5)-(3,3-dimethyl-1-triazeno)imidazole-5(4)-carboxamide. Cancer 1970;26:1000-5.
- 49) Rook A, Whimster I. Keratoacanthoma: a thirty year retrospect. Br J Dermatol 1979;100:41-7.
- 50) Bowman HE, Pinkus H. Keratoacanthoma (molluscum sebaceum). AMA Arch Pathol 1955;60:19-25.
- 51) Esteller M, Hamilton SR, Burger PC, Baylin SB, Herman JG. Inactivation of the DNA repair gene *O*⁶-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is a common event in primary human neoplasia. Cancer Res 1999;59:793-7.

- 52) Esteller M, Fraga MF, Guo M, Garcia-Foncillas J, Hedenfalk I, Godwin AK, et al. DNA methylation patterns in hereditary human cancers mimic sporadic tumorigenesis. *Hum Mol Genet* 2001;10:3001-7.
- 53) Paz MF, Fraga MF, Avila S, Guo M, Pollan M, Herman JG, et al. A systematic profile of DNA methylation in human cancer cell lines. *Cancer Res* 2003;63:1114-21.
- 54) Zhang J, Martins CR, Fansler ZB, Roemer KL, Kincaid EA, Gustafson KS, et al. DNA methylation in anal intraepithelial lesions and anal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005;11:6544-9.
- 55) Safar AM, Spencer III H, Su X, Coffey M, Cooney CA, Ratnasinghe LD, et al. Methylation profiling of archived non-small cell lung cancer: a promising prognostic system. *Clin Cancer Res* 2005;11:4400-5.
- 56) Hong SH, Kim HG, Chung WB, Kim EY, Lee JY, Yoon SM, et al. DNA hypermethylation of tumor-related genes in gastric carcinoma. *J Korean Med Sci* 2005;20:236-41.
- 57) Fukushima T, Katayama Y, Watanabe T, Yoshino A, Ogino A, Ohta T, et al. Promoter hypermethylation of mismatch repair gene hMLH1 predicts the clinical response of malignant astrocytomas to nitrosourea. *Clin Cancer Res* 2005;11:1539-44.
- 58) Hegi ME, Diserens A-C, Gorlia T, Hamou M-F, de Tribolet N, Weller M, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 2005;352:997-1003.
- 59) Herman JG, Umar A, Polyak K, Graff JR, Ahuja N, Issa J-PJ, et al. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:6870-5.
- 60) Esteller M, Herman JG. Cancer as an epigenetic disease: DNA methylation and chromatin alterations in human tumours. *J Pathol* 2002;196:1-7.
- 61) Herman JG, Baylin SB. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Engl J Med* 2003;349:2042-54.
- 62) Esteller M. Aberrant DNA methylation as a cancer-inducing mechanism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005;45:629-56.
- 63) Thompson DJ, Molello JA, Strebing RJ, Dyke IL. Reproduction and teratology studies with oncolytic agents in the rat and rabbit. II. 5-(3,3-dimethyl-1-triazeno)imidazole-4-carboxamide (DTIC). *Toxicol Appl Pharmacol* 1975;33:281-90.
- 64) 江角吉造, 巴山潤吉. 妊娠中に経口投与された Procarbazine Hydrochloride のラットおよびマウス胎仔の発生および生後発育におよぼす影響. *応用薬理* 1972;6:381-97.
- 65) 永岡隆晴, 奈良間功. Ifosfamide (Z4942) の生殖試験 ラットにおける器官形成期投与試験. *基礎と臨床* 1982;16(2):93-117.
- 66) 永岡隆晴, 奈良間功. Ifosfamide (Z4942) の生殖試験 ウサギにおける器官形成期投与試験. *基礎と臨床* 1982;16(2):118-28.
- 67) 永岡隆晴, 大石雅彦, 奈良間功. Ifosfamide (Z4942) の生殖試験 ラットにおける周産期および授乳期投与試験. *基礎と臨床* 1982;16(2):129-44.
- 68) 厚生省薬務局審査課長. 医薬品の生殖発生毒性試験に係るガイドラインの改定について. 薬審第316号, 平成9年4月14日.
- 69) Hano K, Akashi A, Yamamoto I, Narumi S, Iwata H. Further investigation on the carcinostatic activity of 4(or 5)-aminoimidazole-5(or 4)-carboxamide derivatives: structure-activity relationship. *Jpn J Cancer Res* 1968;59:207-16.
- 70) Lower Jr. GM, Lanphear SP, Johnson BM, Bryan GT. Aryl and heterocyclic diazo compounds as potential environmental electrophiles. *J Toxicol Environ Health* 1977;2:1095-107.