2.6.4.6 排泄

(1) 尿糞中排泄

1) ラット

① L-フェニルアラニン ^{14}C-標識体　評価資料 4.2.2.5.1

雄 Sprague-Dawley ラットに ^{14}C-ボルテゾミブ 0.2 mg/kg を単回静脈内投与したときの尿及び糞中排泄を検討した。なお，本試験では，L-フェニルアラニン基の 9 個の炭素全てを ^{14}C-標識した ^{14}C-ボルテゾミブを用いた。

^{14}C-ボルテゾミブ投与後 120 時間までの尿及び糞中への放射能排泄率は，それぞれ投与量の 12.3 及び 40.4%であった。カーカス中に投与量の 37.0%の放射能が認められたことから，酸アミド結合の加水分解によって生じた ^{14}C-標識されたフェニルアラニンがペプチド，蛋白質などに取り込まれ，カーカス中に残存したものと考えられた（表 2.6.4-40）。

表 2.6.4-40 雄ラットに ^{14}C-ボルテゾミブ 0.2 mg/kg を単回静脈内投与したときの放射能の尿糞中排泄

時間 (h)	放射能排泄率（%投与量）	
	尿	糞
0～ 4	2.26±1.63	―
0～ 8	4.46±1.81	―
0～ 12	6.21±2.07	―
0～ 24	8.59±3.45	25.1±13.4
0～ 48	10.1 ±4.39	32.4±12.0
0～ 72	11.0 ±4.71	35.6±12.5
0～ 96	11.7 ±4.92	38.2±13.0
0～120	12.3 ±5.08	40.4±13.4
ケージ洗浄液	0.57±0.28	
拭取り紙	0.83±0.42	
カーカス	37.0 ±7.35	
合計	91.1 ±4.93	

放射能排泄率は，平均値±標準偏差，n=4
―：採取せず

② カルボニル ^{14}C-標識体　評価資料 4.2.2.5.2

雄 Sprague-Dawley ラットに ^{14}C-ボルテゾミブ 0.25 mg/kg を単回静脈内投与したときの尿糞中排泄を検討した。

放射能は，投与後 72 時間までに投与量の 21.10%が尿中に，38.61%が糞中に，6.12 %が呼気中に排泄された。投与後 24 時間までの放射能の回収率は 40.83%であり，放射能の排泄は緩慢であった。摘出した組織及びカーカス中の放射能は，投与量のそれぞれ 15.42%及び 21.12%であり，薬物に由来する放射能の体内への残留が認められた（表 2.6.4-41）。

表 2.6.4-41 雄ラットに ^{14}C-ボルテゾミブ 0.25 mg/kg を単回静脈内投与したときの放射能の尿糞中排泄

時間 (h)	放射能排泄率（%投与量）	
	尿	糞
0～ 8	8.22±6.14	1.14±0.40
8～12	4.01±1.66	}19.11±6.44
12～24	4.08±0.41	
24～48	3.26±0.67	15.36±9.48
48～72	1.53±0.69	3.00±0.66
0～72	21.10±8.94	38.61±14.11
ケージ洗浄液	0.60±0.07	
呼気	6.12±1.57	
摘出した組織	15.42±1.22	
カーカス	21.12±2.77	
合計	102.98±1.33	

放射能排泄率は，平均値±標準偏差，n=3

2) **サル**

① L-フェニルアラニン ^{14}C-標識体　**評価資料** 4.2.2.5.3

雄カニクイザルに ^{14}C-ボルテゾミブ 0.2 mg/kg を単回静脈内投与したときの尿及び糞中排泄を検討した。なお，本試験では，L-フェニルアラニン基の 9 個の炭素全てを ^{14}C-標識した ^{14}C-ボルテゾミブを用いた。

^{14}C-ボルテゾミブの投与後 120 時間までの尿及び糞中放射能排泄率は, それぞれ投与量の 20.7%及び 8.09%であり，総放射能回収率は 34.2%であった（表 2.6.4-42）。

表 2.6.4-42 雄ザルに ^{14}C-ボルテゾミブ 0.2 mg/kg を単回静脈内投与したときの放射能の尿糞中排泄

時間 (h)	放射能排泄率（%投与量）	
	尿	糞
0～ 4	5.09	―
0～ 8	9.33	―
0～ 12	10.4	―
0～ 24	12.2	1.90
0～ 48	15.1	2.33
0～ 72	17.7	3.81
0～ 96	19.5	6.29
0～120	20.7	8.09
ケージ洗浄液	4.44	
拭取り紙	0.98	
合計	34.2	

放射能排泄率は，平均値，n=2
―：採取せず

② カルボニル ^{14}C-標識体　　**評価資料** 4.2.2.5.4

雌雄カニクイザルに ^{14}C-ボルテゾミブ 0.2 mg/kg を単回静脈内投与したときの放射能の尿及び糞中排泄を検討した。

雄において，放射能は，投与後 144 時間までに投与量の 25.34%が尿中に，12.96%が糞中に排泄された。ケージ洗浄液, 摘出した組織及びカーカス中の放射能は, 投与量のそれぞれ 11.11%, 8.67%及び 21.52%であった。雌において，放射能は，投与後 144 時間までに投与量の 10.59%が尿中に，14.94%が糞中に排泄された。ケージ洗浄液，摘出した組織及びカーカス中の放射能は，投与量のそれぞれ 15.07%，8.04%及び 16.40%であった（表 2.6.4-43）。

^{14}C-標識体の標識位置を変更しても，放射能の排泄パターンに顕著な違いはみられなかった。

表 2.6.4-43　雌雄サルに ^{14}C-ボルテゾミブ 0.2 mg/kg を単回静脈内投与したときの放射能の尿糞中排泄

時間 (h)	放射能排泄率（%投与量）			
	雄		雌	
	尿	糞	尿	糞
0～ 24	17.77	0.43	3.07	3.37
24～ 48	3.06	5.27	2.44	5.90
48～ 72	1.78	3.96	1.57	2.41
72～ 96	1.02	1.66	1.20	1.56
96～120	0.86	0.89	1.31	1.02
120～144	0.85	0.75	1.00	0.68
0～144	25.34	12.96	10.59	14.94
ケージ洗浄液	11.11		15.07	
消化管	3.16		3.76	
心臓	0.15		0.10	
腎臓	0.65		0.49	
肝臓	4.12		3.27	
肺	0.49		0.35	
膵臓	0.10		0.07	
摘出した組織の合計	8.67		8.04	
カーカス	21.52		16.40	
合計	79.60		65.04	

放射能排泄率は，各 n=1 の値

(2) 胆汁中排泄

1) ラット

① L-フェニルアラニン ^{14}C-標識体　　**評価資料** 4.2.2.5.1

胆管カニュレーションを施した雄 Sprague-Dawley ラットに L-フェニルアラニン基の 9 個の炭素全てを ^{14}C-標識した ^{14}C-ボルテゾミブ 0.2 mg/kg を単回静脈内投与したときの胆汁中排泄を検討した。

放射能は，投与後 72 時間までに投与量の 24.8%が胆汁中に，13.1%が尿中に，8.64%が糞中に排泄された。カーカス中の放射能は，投与量の 42.8%であった。薬物に由来する放射能は，主に胆汁を経由して糞中に排泄されると考えられた。また，放射能は糞中にも検出されたことから，本薬あるいは代謝物の一部は，消化管内に分泌されていると考えられた（表 2.6.4-44）。

表 2.6.4-44　雄ラットに ^{14}C-ボルテゾミブ 0.2 mg/kg を単回静脈内投与したときの放射能の胆汁中排泄

時間 (h)	放射能排泄率（%投与量）		
	胆汁	尿	糞
0～ 2	10.2±3.84	－	－
0～ 4	16.1±8.96	3.35±2.42	－
0～ 8	19.6±10.7	7.14±2.51	－
0～12	21.3±11.3	8.10±2.54	－
0～24	22.6±11.6	10.4±2.32	2.14±1.10
0～48	23.8±12.0	12.0±1.94	6.52±2.87
0～72	24.8±12.5	13.1±1.73	8.64±3.42
ケージ洗浄液	0.96±0.43		
拭取り紙	0.23±0.06		
カーカス	42.8±4.60		
合計	90.5±3.60		

放射能排泄率は，平均値±標準偏差，n=3
－：採取せず

② カルボニル ^{14}C-標識体　**評価資料** 4.2.2.5.2

胆管カニュレーションを施した雄 Sprague-Dawley ラットに ^{14}C-ボルテゾミブ 0.25 mg/kg を単回静脈内投与したときの胆汁中排泄を検討した。

放射能は, 投与後 72 時間までに投与量の 35.10%が胆汁中に, 16.16%が尿中に, 7.75%が糞中に, 1.20%が呼気中に排泄された。投与後 24 時間までの放射能の回収率は 50.59 %であった。カーカス中の放射能は，投与量の 32.33%であった（表 2.6.4-45）。

^{14}C-標識体の標識位置を変更しても，放射能の排泄パターンに顕著な違いはみられなかった。本薬に由来する放射能は，主に胆汁を経由して糞中に排泄され，糞中に排泄された放射能は，本薬あるいは代謝物の一部が消化管内に分泌されたことによると考えられた。

表 2.6.4-45　雄ラットに ^{14}C-ボルテゾミブ 0.25 mg/kg を単回静脈内投与したときの放射能の胆汁中排泄

時間 (h)	放射能排泄率（%投与量）		
	胆汁	尿	糞
0～ 2	16.32±4.88	―	―
2～ 4	2.55±0.28	―	―
4～ 8	3.74±0.39	9.74±4.43	1.98±0.47
8～12	2.15±0.39	1.57±0.36	}3.27±1.47
12～24	3.59±0.22	1.89±0.59	
24～48	4.35±0.40	1.98±0.27	2.25±0.52
48～72	2.41±0.88	0.99±0.41	0.24±0.48
0～72	35.10±4.80	16.16±4.54	7.75±1.99
ケージ洗浄液	0.54±0.13		
呼気	1.20±0.48		
カーカス	32.33±3.14		
合計	93.08±5.89		

放射能排泄率は，平均値±標準偏差，n=4
―：採取せず

2)　**サル**　　**評価資料** 4.2.2.5.3

胆管カニュレーションを施した雄カニクイザルに L-フェニルアラニン基の 9 個の炭素全てを ^{14}C-標識した ^{14}C-ボルテゾミブ 0.2 mg/kg を単回静脈内投与したときの胆汁中排泄を検討した。

投与後 24 時間までに約半分の放射能（投与量の 26.4%）が回収された。投与後 120 時間までの胆汁，尿及び糞中への放射能の排泄率は，投与量のそれぞれ 16.7%，21.2%及び 3.00%であった。ケージ洗浄液及び拭取り紙を含めた放射能の回収率は，投与量の 45.5%であった（表 2.6.4-46）。

サルにおいて，尿中に排泄される放射能の割合は，胆汁中よりも多かった。

表 2.6.4-46 雄ザルに ^{14}C-ボルテゾミブ 0.2 mg/kg を単回静脈内投与したときの放射能の胆汁中排泄

時間 (h)	放射能排泄率（%投与量）		
	胆汁	尿	糞
0～ 2	5.44	―	―
0～ 4	9.84	5.68	―
0～ 8	11.2	8.99	―
0～ 12	11.6	10.9	―
0～ 24	12.6	13.7	0.06
0～ 48	14.1	16.2	0.63
0～ 72	15.1	18.2	1.66
0～ 96	16.1	19.7	2.55
0～120	16.7	21.2	3.00
ケージ洗浄液	3.91		
拭取り紙	0.72		
合計	45.5		

放射能排泄率は，平均値，n=2
－：採取せず

(3) 乳汁排泄

本薬の乳汁移行性に関する検討は実施していない。これまでに実施された前臨床薬物動態試験の結果から，ボルテゾミブは，薬物の排出トランスポーターである P-糖蛋白質（以下，P-gp）及び MRP2 の基質ではないことが示唆されている（表 2.6.4-50）。そこで，ボルテゾミブの乳汁中/血漿中濃度比（以下，M/P 比）を Henderson-Hasselbalch 式[11]から予測した。なお，乳汁及び血漿の pH は，それぞれ 6.5 及び 7.5 と仮定した。

Henderson-Hasselbalch 式から算出された M/P 比は，約 0.93 であり，本薬の乳汁中濃度は，血漿中濃度と同程度であると予測され，本薬は乳汁中へ移行する可能性があると考えられた。

(4) ホウ酸の排泄

1) ウサギ及びモルモット

赤木ら[12]は, ウサギ及びモルモットに 5～10%のホウ砂溶液として単回経口投与したときのホウ素の尿中排泄を検討している。ホウ酸は大部分が投与後 48 時間までの尿中に排泄されたが，その後も緩慢ながら排泄が続いた（表 2.6.4-47）。

表 2.6.4-47　モルモット及びウサギにホウ砂を単回経口投与したときのホウ素の尿中排泄

動物種	性別	投与量 (mg/kg)	ホウ素の尿中排泄率 (%)					
			時間 (h)					
			24	48	72	96	120	合計
モルモット	雌	15.3	39.3	15.9	3.2	8.0	6.0	72.4
		16.6	50.3	7.0	6.9	4.1	2.8	71.1
	雄	44.4	72.5	14.1	8.6	0.4	0.6	96.2
		16.7	75.3	9.6	5.5	1.6	0.8	92.8
ウサギ	雄	88.3	72.3	5.9	4.2	1.0	0.9	84.3
		58.5	71.5	1.8	0.2	0.1	0.0	73.6
平均			72.5		4.8	2.5	2.2	82.0

出典：参考資料 12）

2)　ヒト

Jansen ら[13]は，健康男性被験者にホウ酸を静脈内投与したときの血漿中ホウ酸濃度及び尿中へのホウ酸の排泄を検討している。8 名の被験者にホウ酸 562～611 mg を 20 分間定速静注した。血漿中ホウ酸濃度の $t_{1/2\beta}$ は 21.0 時間，投与後 120 時間までの尿中排泄率（Ae）は投与量の 98.7%であった（表 2.6.4-48）。ホウ酸の定速静注中及び投与後に，有害事象はみられなかった。Jansen らは，ホウ酸には蓄積性を示唆する傾向はないことを結論している。

表 2.6.4-48　ヒトにホウ酸を静脈内投与したときのホウ酸の薬物動態パラメータ

CL (mL/min/1.73m^3)	$t_{1/2\beta}$ (h)	V_1 (L/kg)	V_2 (L/kg)	V_3 (L/kg)	Ae (%)
54.6±8.0	21.0±4.9	0.251±0.099	0.456±0.067	0.340±0.128	98.7±9.1

薬物動態パラメータは，平均値±標準偏差，n=8
出典：参考資料 13）

2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用

(1) Caco-2 単層膜を用いたボルテゾミブの透過性　評価資料 4.2.2.6.1

Caco-2 単層膜を用いて，ボルテゾミブの透過性を検討した。

Caco-2 細胞におけるボルテゾミブの頂側膜側から側底膜側への見かけの透過係数（P_{app}，A→B）は 291 nm/s，側底膜側から頂側膜側への見かけの透過係数（P_{app}，B→A）は 382 nm/s であったことから，本薬の透過性は比較的良好であると考えられた（表 2.6.4-49）。

表 2.6.4-49　Caco-2 単層膜を用いたボルテゾミブの透過性

化合物	見かけの透過係数 P_{app} (nm/s)		
	A→B	B→A	B→A/A→B 比
ボルテゾミブ	291.73	382.29	1.31
プロプラノロール	647.3	554.1	0.86
Lucifer Yellow	<20	<20	1

見かけの透過係数は，2 回の実験から算出
B→A/A→B 比は n=2 の平均値

(2) Caco-2 単層膜を用いたトランスポーターを介する薬物動態学的薬物相互作用

評価資料 4.2.2.6.2

Caco-2 単層膜を用いて，トランスポーターを介する薬物動態学的相互作用を検討した。

ボルテゾミブの輸送は，P-gp の阻害剤である GF918，多剤耐性関連蛋白質 MRP2 の阻害剤である MK571，代謝阻害剤であるアジ化ナトリウムあるいは密着結合（tight junction）を解離させる EDTA の添加による影響を受けなかった。一方，ボルテゾミブは，100 μmol/L の濃度で P-gp の基質であるビンブラスチンの輸送を低下させた（表 2.6.4-50）。ビンブラスチンの輸送に対する K_i 値は 13 μmol/L であった。

これらの結果から，本薬は P-gp 及び MRP2 の基質ではないと考えられたが，B→A/A→B 比が 1.7 であったことから，P-gp あるいは MRP2 以外に何らかの排出トランスポーターが関与している可能性が示唆された。また，本薬は，P-gp によるビンブラスチンの輸送を阻害したが，その K_i 値は，ボルテゾミブの治療濃度 1 μmol/L (384 ng/mL)よりも約 13 倍高かった。

表 2.6.4-50　Caco-2 単層膜を用いたボルテゾミブあるいはビンブラスチンの輸送に及ぼす各種阻害剤の影響

化合物	阻害剤	P_{app} (nm/s)		B→A/A→B 比
		A→B	B→A	
0.5 μmol/L ボルテゾミブ	なし	7.3 ± 0.8	12.6 ± 1.9	1.7
	+ 50 μmol/L MK571	11.4 ± 2.6	7.5 ± 2.1	0.7
	+ 2 μmol/L GF918	11.2 ± 1.4	8.6 ± 0.6	0.8
	+5 mmol/L EDTA	9.8 ± 1.6	10.6 ± 0.8	0.8
	+ 10 mmol/L NaN_3	10.0 ± 1.9	9.0 ± 0.9	0.9
0.5 μmol/L ビンブラスチン [a)]	なし	0.15 ± 0.14	3.89 ± 0.13	25.9
	+ 2 μmol/L GF918	0.39 ± 0.09	1.88 ± 0.63	4.8
	+ 50 μmol/L MK571	0.58 ± 0.33	2.23 ± 0.39	3.8
	+ 50 μmol/L シクロスポリン A	0.91 ± 0.06	1.27 ± 0.09	1.4
	+ 100 μmol/L ボルテゾミブ	0.38 ± 0.12	1.57 ± 0.16	4.1
0.5 μmol/L ビンブラスチン [a)]	なし	0.12 ± 0.07	5.36 ± 0.14	45.6
	+ 1 μmol/L ボルテゾミブ	0.12 ± 0.04	4.43 ± 0.55	37.9
	+ 100 μmol/L ボルテゾミブ	0.21 ± 0.03	2.67 ± 0.05	12.8
	+ 2 μmol/L GF918	0.26 ± 0.04	3.25 ± 0.22	12.6
	+ 50 μmol/L MK571	0.37 ± 0.05	3.01 ± 0.23	8.1

見かけの透過係数は，平均値±標準誤差，n=3
B→A/A→B 比は n=3 の平均値
a)：2 回の異なる実験でのデータ

2.6.4.8　その他の薬物動態試験

(1) 薬力学

1)　20S プロテアソーム活性測定法

26S プロテアソームは，触媒ユニットである 20S プロテアソームの両端に調節ユニットである 19S（PA700）が会合した分子複合体である[14), 15)]。20S プロテアソームは，正常な立体構造や会合体を形成できない蛋白質やペプチドを分解することができるが，ユビキチン化された基質蛋白の認識及び ATP 依存性の蛋白分解活性の調節に 19S との複合体形成が必要となる[16)]。20S プロテアソームには，β1，β2 及び β5 の触媒サブユニットがあり，それぞれカスパーゼ，トリプシン及びキモトリプシン様活性を示す[15)]。ボルテゾミブは，キモトリプシン様活性（ChT）部位に特異的かつ可逆的に結合することでプロテアソーム活性を阻害する。一方，プロテアソーム中のトリプシン様活性（T）は，本薬の添加によってむしろ活性が上昇する[17)]。これは，本薬のホウ酸基がプロテアソームの活性部位であるスレオニンと相互作用した結果，トリプシン様の β2 サブユニットの高次構造が変化して，活性が上昇すると考えられている[17)]。初期の試験では ChT を測定することで，プロテアソーム阻害活性を評価した。しかし，試料中のプロテアソーム/蛋白比は，細胞によって変動するため，試料中の蛋白濃度で補正した比活性では，プロテアソーム阻害の程度を正確に評価することが困難になる。そこで，プロテアソーム内に存在する別の酵素活性を測定することで，プロテアソーム阻害の程度を正確に評価できると考えた。本薬はプロテアソームのトリ

プシン様活性を阻害しないため，プロテアソームのトリプシン様活性を測定することで，細胞内のプロテアソーム含有量を正確に評価できると考えた。そこで，プロテアソームのトリプシン様活性及びキモトリプシン様活性を，それぞれ合成基質 Bz-Val-Gly-Arg-AMC 及び Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC を用いて測定し，ChT：T 比から，20S プロテアソーム活性阻害を評価した。

なお，各報告書において，対照群に対するボルテゾミブ投与時のプロテアソーム活性の表記がまちまちであったため，対照群の各時点におけるプロテアソーム活性を 100%として，記載を統一した。

2) キモトリプシン様活性によるプロテアソーム阻害活性

① ラット 2 週間反復静脈内投与　評価資料 4.2.2.7.1

雌雄 Sprague-Dawley ラットにボルテゾミブ 0.1，0.2 及び 0.25 mg/kg を試験 1，5，8 及び 12 日目に静脈内投与した。試験 1 及び 8 日目では投与後約 1 時間，試験 5 及び 12 日目では投与前約 1 時間，試験 12 日目の投与後 96 時間（試験 16 日目）に採血して，網状赤血球中の ChT を測定し，20S プロテアソームに対する阻害能を検討した。

ボルテゾミブの投与により，試験 1 及び 8 日目の ChT は，用量依存的に阻害された。投与後 4 日目（試験 5 及び 12 日目の投与前 1 時間，試験 16 日目）の ChT は，0.1 mg/kg 投与群では，対照群と同程度であったが，0.2 及び 0.25 mg/kg 投与群では，対照群の約 50～70%までしか回復しなかった。また，プロテアソーム活性阻害に顕著な性差はみられなかった（表 2.6.4-51）。

表 2.6.4-51　雌雄ラットにボルテゾミブ 0.1，0.2 及び 0.25 mg/kg を試験 1，5，8 及び 12 日目に反復静脈内投与したときの血球におけるプロテアソーム活性

投与量 (mg/kg)	性別	ChT（対照群の値に対する%）				
		試験日（d）				
		1	5	8	12	16
0	雄	100	100	100	100	100
0.1		63.5	101.9	17.6	106.5	90.8
0.2		20.3	74.1	8.5	95.5	56.8
0.25		13.1	75.8	5.3	74.4	69.0
0	雌	100	100	100	100	100
0.1		50.7	110.8	29.5	67.3	105.9
0.2		29.2	130.1	8.8	48.8	51.7
0.25		26.6	102.2	5.3	41.6	66.5

プロテアソーム活性は，平均値，n=3

② 妊娠ラット　評価資料 4.2.2.7.2

妊娠した Sprague-Dawley ラットに，妊娠 6 日から 17 日まで，ボルテゾミブ 0.05，0.1，0.15 及び 0.2 mg/kg を 1 日 1 回静脈内投与し，妊娠 6 日及び 17 日における母動物の血液中 ChT を測定して 20S プロテアソームに対する阻害能を検討した。

プロテアソーム活性は，用量依存的に阻害された。プロテアソーム活性阻害は，投与後 0.5 時間で最大となった。プロテアソーム阻害作用は，0.05 mg/kg 投与群では投与後 24 時間までに回復したが，0.1 mg/kg 以上の群では，十分に回復しなかった（表 2.6.4-52）。

表 2.6.4-52　妊娠ラットにボルテゾミブ 0.05，0.1，0.15 及び 0.2 mg/kg を 1 日 1 回反復静脈内投与したときの妊娠 6 日及び 17 日における母動物の血液中プロテアソーム活性

投与量 (mg/kg)	試験日	ChT（対照群の値に対する%）				
		時間 (h)				
		投与前	0.5	1	6	24
0	妊娠 6 日	100	100	100	100	100
0.05		104	34	43	130	103
0.1		121	27	30	98	74
0.15		95	19	20	92	63
0.2		86	15	18	74	50
0	妊娠 17 日	100	100	100	100	100
0.05		64	18	29	43	65
0.1		—	—	—	—	—
0.15		—	—	—	—	—
0.2		—	—	—	—	—

—：死亡又は 1 例のみのデータしか得られなかったためデータなし
プロテアソーム活性は，平均値，n=3

③　サル 4 週間反復静脈内投与　　**評価資料** 4.2.2.7.3

雌雄カニクイザルにボルテゾミブ 0.045，0.067 及び 0.1 mg/kg を週 2 回 4 週間（試験 1，5，8，12，15，19，22 及び 26 日目）静脈内投与し，試験 1 日目の投与後 1 時間及び試験 5 日目の投与前に採血して，白血球中の ChT を測定して 20S プロテアソームに対する阻害能を検討した。

投与後 1 時間において, プロテアソーム活性は, 用量依存的に阻害された。投与後 96 時間では, プロテアソーム活性は，対照群と同程度まで回復した（図 2.6.4-31）。

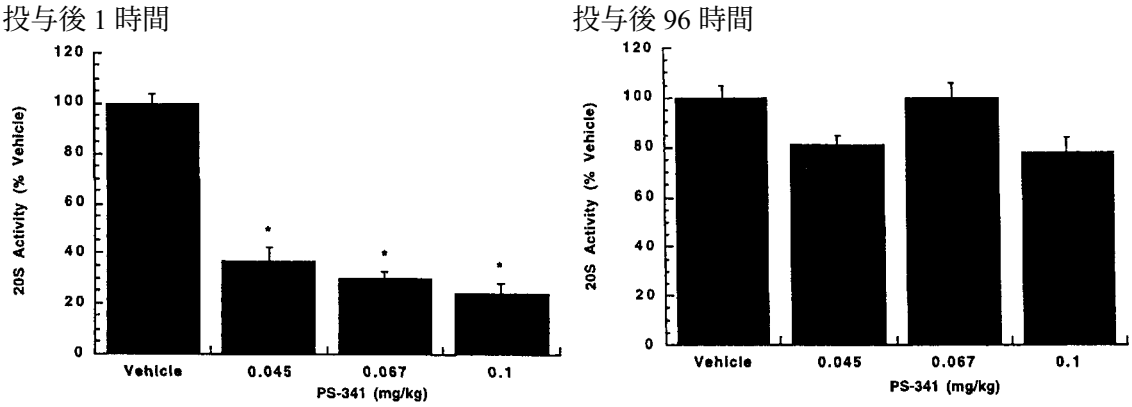


図 2.6.4-31　雌雄サルにボルテゾミブ 0.045，0.067 及び 0.1 mg/kg を週 2 回 4 週間静脈内投与したときの白血球中プロテアソーム活性（平均値+標準誤差，n=10）

3)　ChT：T 比によるプロテアソーム阻害活性

①　ラット 26 週間反復静脈内投与（トキシコキネティクス試験）　　評価資料 4.2.2.7.4

雌雄 Sprague-Dawley ラットに 3 週間を 1 サイクル（2 週間にわたり週 2 回投与した後，1 週間の休薬期間を設定）としてボルテゾミブ 0.05，0.1 及び 0.2 mg/kg を 9 サイクル（26 週間）静脈内投与したときの 1，14 及び 26 週目の血液中の ChT：T 比からプロテアソーム活性を評価した。なお，0.2 mg/kg は毒性のため，2 サイクル目から投与量を 0.15 mg/kg に減量した。

プロテアソーム活性は，用量依存的に阻害された。最大阻害は投与後 0.5 又は 1 時間で認められた。投与回数による最大阻害率の違いはなく，性差も認められなかった（表 2.6.4-53）。

表 2.6.4-53　雌雄ラットにボルテゾミブ 0.05，0.1 及び 0.2 mg/kg を反復静脈内投与したときの血液におけるプロテアソーム活性

投与量 (mg/kg)	投与日 (w)	性別	ChT：T 比（対照群の値に対する%）						
			時間 (h)						
			投与前	0.5	1	6	24	48	72
0	1	雄	100	100	100	100	100	100	100
0.05			122	58	49	56	75	75	87
0.1			132	36	42	49	68	63	78
0.2/0.15 a)			127	22	23	40	56	50	64
0		雌	100	100	100	100	100	100	100
0.05			113	50	44	64	66	81	86
0.1			116	27	31	48	59	64	77
0.2/0.15 a)			115	21	24	34	49	69	67
0	14	雄	100	100	100	100	100	100	100
0.05			55	26	23	29	61	85	61
0.1			47	10	10	19	37	51	44
0.2/0.15 a)			49	9	11	13	34	44	44
0		雌	100	100	100	100	100	100	100
0.05			62	25	19	33	46	61	67
0.1			57	16	12	23	39	48	57
0.2/0.15 a)			50	13	9	16	28	44	46
0	26	雄	100	100	100	100	100	100	100
0.05			66	22	25	42	64	71	71
0.1			79	17	19	35	50	63	71
0.2/0.15 a)			70	13	17	26	51	63	68
0		雌	100	100	100	100	100	100	100
0.05			64	33	28	43	47	61	80
0.1			73	20	16	32	51	53	72
0.2/0.15 a)			74	26	15	27	40	56	60

a)：0.2 mg/kg は毒性のため，2 サイクル目から投与量を 0.15 mg/kg に減量した。
プロテアソーム活性は，平均値，n=3

② 妊娠ウサギ　**評価資料** 4.2.2.7.5

妊娠した New Zealand White ウサギに，妊娠 7 日から 19 日までボルテゾミブ 0.01，0.025，0.04 及び 0.05 mg/kg を 1 日 1 回静脈内投与し，血液中の ChT：T 比からプロテアソーム活性を評価した。

妊娠 7 日におけるプロテアソーム活性阻害作用は，投与後 0.5 又は 1 時間で最大となった。0.04 及び 0.05 mg/kg 投与時のプロテアソーム活性阻害率は同程度であった。投与後 24 時間のプロテアソーム活性阻害率は，39～45%であった。妊娠 19 日におけるプロテアソーム活性阻害作用は，投与後 0.5 又は 1 時間で最大となった。投与後 24 時間のプロテアソーム活性阻害率は 31～54%であった（表 2.6.4-54）。妊娠 19 日の母動物における投与後 5～60 分のプロテアソーム活性阻害率はほぼ一定であった。胎児における投与後 60 分のプロテアソーム活性阻害率は 37%であった（表 2.6.4-55）。

ボルテゾミブの投与により，胎児血液において母動物と比較して顕著ではなかったものの，プロテアソーム活性の低下が認められたことから，本薬は胎盤を通過し，胎児に移行している可能性が示唆された。

表 2.6.4-54　妊娠ウサギにボルテゾミブ 0.01，0.025，0.04 及び 0.05 mg/kg を妊娠 7 日から 19 日まで 1 日 1 回反復静脈内投与したときの血液におけるプロテアソーム活性

投与量 (mg/kg)	試験日	ChT：T 比（対照群の値に対する%）				
		時間 (h)				
		投与前	0.5	1	6	24
0	妊娠 7 日	100	100	100	100	100
0.01		89	61	58	65	61
0.025		74	40	43	52	55
0.04		91	32	34	50	61
0.05		95	30	32	45	57
0	妊娠 19 日	100	100	100	100	100
0.01		45	49	45	59	69
0.025		35	24	25	39	46
0.04		35	19	19	35	52
0.05		34	18	16	29	50

プロテアソーム活性は，平均値，n=5

表 2.6.4-55　妊娠ウサギにボルテゾミブ 0.05 mg/kg を妊娠 7 日から 19 日まで 1 日 1 回反復静脈内投与したときの妊娠 19 日の母動物及び胎児血液におけるプロテアソーム活性

投与量 (mg/kg)	試料	ChT：T 比（対照群の値に対する%）				
		時間 (min)				
		5	10	15	30	60
0	母動物	100	100	100	100	100
0.05		18	21	18	17	15
0	胎児	—	—	—	—	100
0.05		—	—	—	—	63

プロテアソーム活性は，平均値，n=3
—：採取せず

③　サル 2 週間反復静脈内投与　　**評価資料** 4.2.2.7.6

雄カニクイザルにボルテゾミブ 0.1 mg/kg を試験 1，4，8 及び 11 日目に静脈内投与したの血液中の ChT：T 比からプロテアソーム活性を評価した。

プロテアソーム阻害活性は，全ての投与量で認められた。最大阻害は，いずれの投与量においても投与後 1 時間以内でみられた。プロテアソーム活性阻害は，血漿中濃度推移にほぼ平行していた。また，プロテアソーム活性阻害は，血漿中ボルテゾミブ濃度が 5 ng/mL 未満に低下するにつれて回復したが，次の投与までに完全に回復はしなかった（図 2.6.4-32，図 2.6.4-33）。プロテアソーム阻害率と血漿，血液及び血球中ボルテゾミブ濃度との相関を図 2.6.4-34 に示す。プロテアソーム活性阻害率は血漿中ボルテゾミブ濃度 0.5～5 ng/mL の範囲から急速に 80%まで上昇し，10～60 ng/mL ではプラトーになった。プロテアソーム活性阻害率と血液及び血球中ボルテゾミブ濃度との相関は，血漿中ボルテゾミブ濃度と比較して，ばらつきが大きく，濃度との関係が右にシフトした（図 2.6.4-34）。

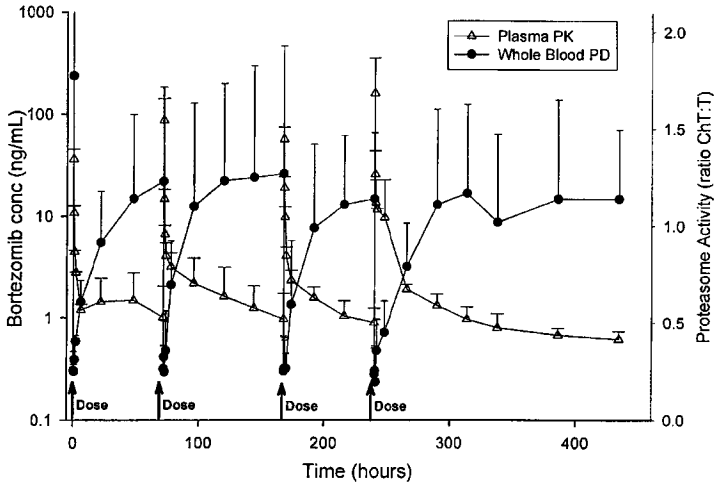


図 2.6.4-32　雄ザルにボルテゾミブ 0.1 mg/kg を 4 回静脈内投与したときの血漿中ボルテゾミブ濃度とプロテアソーム活性（ChT：T 比）との関係（平均値+標準偏差，n=3）

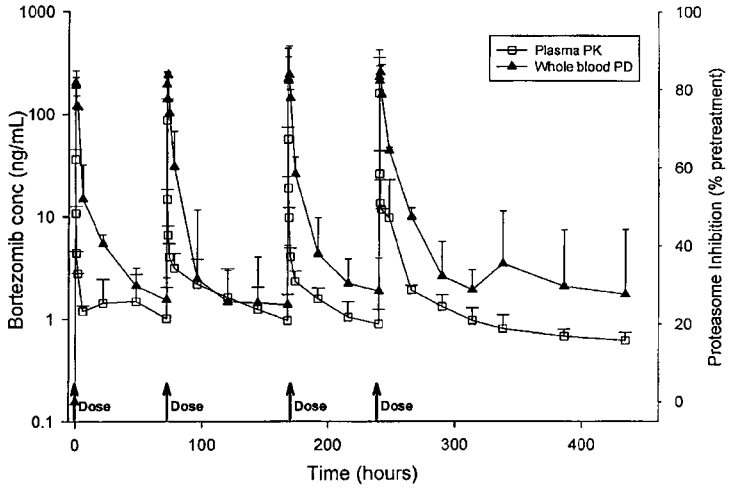


図 2.6.4-33　雄ザルにボルテゾミブ 0.1 mg/kg を 4 回静脈内投与したときの血漿中ボルテゾミブ濃度とプロテアソーム活性阻害率との関係（平均値+標準偏差，n=3）

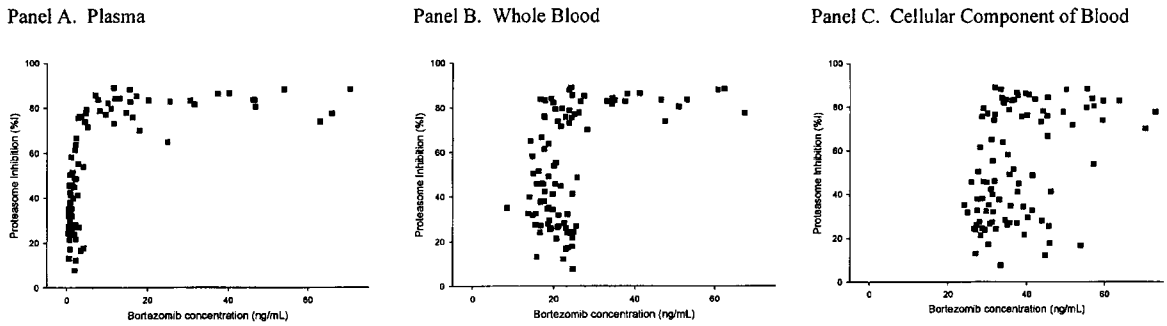


図 2.6.4-34　プロテアソーム活性阻害率と血漿，血液及び血球中ボルテゾミブ濃度との相関

④　サル 38 週間反復静脈内投与（トキシコキネティクス試験）　　評価資料 4.2.2.7.7

雌雄カニクイザルに 3 週間を 1 サイクル（2 週間にわたり週 2 回投与した後，1 週間の休薬期間を設定）としてボルテゾミブ 0.05，0.075 及び 0.1 mg/kg を 13 サイクル（38 週間）静脈内投与したときの 1，5，37 及び 38 週目目の血液中の ChT：T 比からプロテアソーム活性を評価した。

プロテアソーム活性は, 用量依存的に阻害された。最大阻害は投与後 1 時間以内に認められた。プロテアソーム活性阻害に性差は認められず，最大阻害率には投与回数による違いはみられなかった（図 2.6.4-35）。

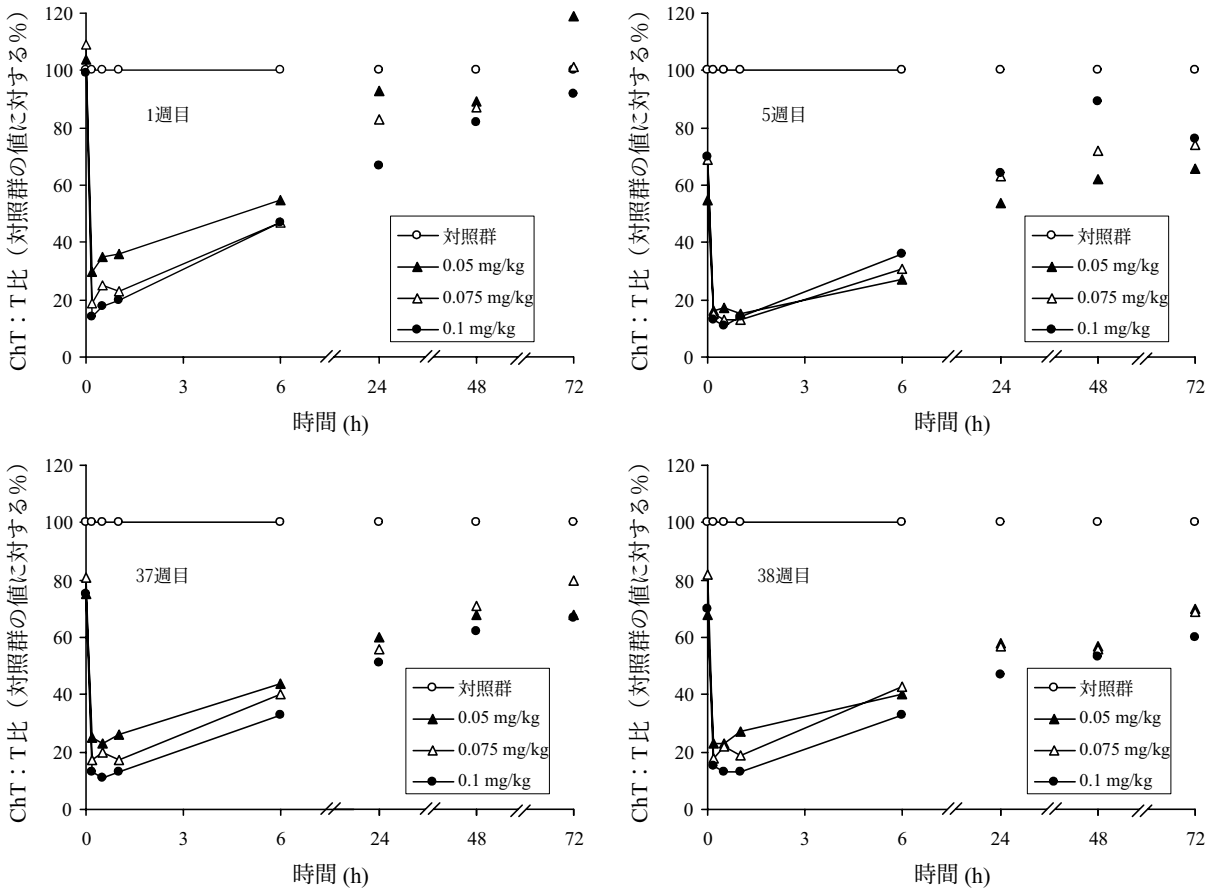


図 2.6.4-35　**雌雄サルにボルテゾミブ** 0.05, 0.075 **及び** 0.1 mg/kg **を反復静脈内投与したときの血液中のプロテアソーム活性（平均値，**n=6～12）

2.6.4.9　考察及び結論

(1) 有機ホウ素化合物

本邦では，これまでに，有機ホウ素化合物に相当する医薬品は承認されていない。20～30 数年前に，アルキルホウ酸化合物に，セリンプロテアーゼ活性阻害作用が見出されて以来，有機ホウ素化合物はペプチダーゼ/プロテアーゼ，プロテアソーム，アルギナーゼ，NO 合成阻害剤として開発されている[18)]。一方で，有機ホウ素化合物は，ホウ素中性子捕獲療法（以下，BNCT）として，がんの治療にも利用されている[18)]。BNCT では，ホウ素を効率的にがん細胞に取り込ませるために，核酸前駆体，アミノ酸にホウ素を導入した化合物が合成されている[18)]。また，ホウ酸がジオールと反応する性質を利用して，ポリマーにホウ酸を導入し，グルコース濃度に反応してインスリンを放出する薬物送達システム（DDS）としての研究も進められている[18)]。更に，一部では，ペプチド類似薬の消化管吸収を改善する目的でのホウ素の導入[19)]も試みられている。

酵素阻害剤におけるホウ素の導入は，阻害作用をより強力で選択的なものにすることを目的としている。本薬の場合も同様に，ホウ素は，プロテアソームをより強力かつ選択的に阻害する目的で導入されている。^{14}C-ボルテゾミブを Lewis 肺がん細胞担癌マウスに単回静脈内投与したときの組織内分布試験の結果から，BNCT を目的とした化合物のように，がん細胞に効率的に取り込まれるような性質はないものと考えられる。また，脱ホウ素化された代謝物 M1（分解生成物 A）の 20S プロテアソーム阻害活性は，未変化体の 0.0004 未満であった（2.6.2.2,(5)項参照）ことから，他の脱ホウ素化された代謝物についても，プロテアソーム阻害活性は未変化体と比較して極めて弱いものと推察される。

ボルテゾミブの一連の薬物動態試験において，ホウ素に関する薬物動態は検討されていない。文献調査により，本薬の代謝により生じると考えられるホウ酸は，ホウ砂あるいはホウ酸として投与したときと同様に，骨，腎臓などの組織に分布し，ホウ酸のまま尿中に排泄されるものと考えられた。

(2) 血漿中濃度

ラット，ウサギ及びサルに本薬を静脈内投与したとき，血漿中ボルテゾミブは，速やかな分布相の後，緩慢な消失相からなる 2 相性の消失を示した。しかし，投与後 4～6 時間以降では，血漿中ボルテゾミブ濃度はほぼ一定，あるいは，投与後 24 時間の濃度の方が，投与後 4～6 時間の濃度よりも高くなる現象がみられた。また，投与量の増加あるいは反復投与による $t_{1/2}$ の遅延及び CL の低下（又は AUC の増大）が認められ，本薬の薬物動態は非線形であった。本薬は，主として CYP3A によって代謝されると考えられるが，ボルテゾミブ自身あるいはその主要な代謝物には，CYP3A に対する阻害能はほとんどなかった。プロテアソーム阻害剤をラット及びヒト初代培養肝細胞に添加したとき，細胞内の CYP3A 含量が低下することが報告されている[10)]。この現象は，β-ラクトン類の lactacystin 及びペプチドアルデヒド類の MG132 においても認められている[10)]ことから，化合物の構造とは無関係に，プロテアソーム阻害作用に起因するものと考えられる。本薬に関しても初代培養ヒト肝細胞を用いた試験において，濃度依存的な CYP3A4 活性の低下が認められ，また，ラットにおける *ex vivo* での酵素誘導試験において CYP3A1/2 含量の減少が認められた。

このことから，Zangar ら[10]が考察しているように，CYP3A の転写を阻害するプロテアソームによって分解される蛋白質が存在し，プロテアソーム阻害によって，その蛋白質の細胞内濃度が上昇し，CYP3A の転写が抑制されて，結果的に CYP3A 含量が低下するものと考えられた。CYP3A は本薬の代謝に関与する主要な CYP 分子種の 1 つであると考えられるため，本薬の投与によって，プロテアソーム阻害に起因する CYP3A 含量の減少が起こり，本薬の CL が低下し，$t_{1/2}$ が遅延したものと考えられた。Zangar らの報告では，初代培養肝細胞における CYP3A の低下は，プロテアソーム阻害剤添加後 6 時間までに認められていた[10]ことから，ボルテゾミブ投与後 4～6 時間以降，血漿中ボルテゾミブ濃度が低下せず，ほぼ一定に推移する現象は，CYP3A 含量の減少とも符合する。一方，血漿中ボルテゾミブ濃度が一時的に上昇した原因は，以下のように考えられた。ラット及びサルにおける組織内分布試験の結果，消化管内容物に高濃度の放射能が認められた。胆汁中排泄試験の結果から，胆管カニュレーションを施した動物において，胆汁中に排泄された放射能は比較的多かったものの，胆汁中には未変化体は検出されなかった。また，胆管カニュレーションを施した動物において，糞中への放射能排泄がみられたことから，本薬あるいは代謝物は，消化管から分泌されていることが示唆された。Caco-2 単層膜を用いた結果から，Caco-2 細胞における本薬の透過性は比較的良好であった。サルに本薬 0.1～0.7 mg を単回又は反復経口投与したときの血漿中ボルテゾミブ濃度の t_{max} は 0.5 又は 1 時間，絶対バイオアベイラビリティは 6.15～83.5%であり[20]，本薬を経口投与したとき，本薬は消化管から吸収されることが確認されている。したがって，本薬を静脈内投与したとき，血漿中ボルテゾミブ濃度が上昇した原因として，消化管内に分泌されたボルテゾミブが，消化管から吸収されたことによる可能性が考えられた。また，この血漿中濃度の上昇のために，特に $t_{1/2}$ などの薬物動態パラメータにばらつきが生じたものと考えられた。

(3) 分布

サルに本薬を静脈内投与したときの血漿中濃度測定結果から，1 週目投与時の V_z は，13.7～22.2 L/kg と大きく，組織内分布試験結果からも，本薬の広範な組織への分布が確認された。しかし，担癌マウスを用いた試験では，^{14}C-ボルテゾミブの腫瘍組織への移行がみられたが，腫瘍内放射能濃度は血液中濃度と同程度であった。カルボニル ^{14}C-標識ボルテゾミブを投与したとき，小脳及び大脳には放射能は検出されなかった。また，脊髄，房水及び硝子体においても放射能は検出されず，精巣においても他の組織と比較して，^{14}C-ボルテゾミブ濃度は低値であった。これらの組織では，血液と組織との間に関門（血液－脳関門，血液－房水関門，血液－網膜関門及び血液－精巣関門）が存在している。一方，本薬は，P-gp 及び MRP2 の基質ではないことが示唆されている。本薬の分子量は 384.24，pKa_1＝0.7，pKa_2＝8.6，非イオン形の分配係数は 100.87，イオン形の分配係数は<0.1 である（2.3.S.1.3，表 2.3.S.1-1 参照）。生体内では本薬は，大部分が非イオン形として存在しているため，広範な組織内分布を示すが，血液と組織との間に関門が存在する組織では，ほとんど移行しなかった。そのため，詳細は不明であるが P-gp 及び MRP2 以外の何らかの排出トランスポーターによって，これらの組織から排出されているものと推察された。胎盤胎児移行に関する試験は実施していないが，妊娠ウサギを用いた薬力学的試験において，投与後 1 時間の胎児血液中のプロテアソーム活性に低下が認められた。構造活性相関から，脱ホウ素化された化合

物には，プロテアソーム阻害活性はないと考えられることから（2.6.2.2,(5)項参照），ボルテゾミブは未変化体として胎盤関門を通過し，胎児血液中に移行している可能性が示唆された。胎盤にも，血液－胎盤関門が存在するが，胎盤は胎児の発育のため，栄養素の供給が盛んである。本薬は，ペプチド構造を有するため，受動輸送以外に血液－胎盤関門に存在するペプチド系トランスポーターによって胎盤を通過し，胎児に移行した可能性も考えられた。なお，サルに ^{14}C-ボルテゾミブとしてフェニルアラニン標識体を投与した分布試験では，脳に放射能の移行が認められたが，本薬が代謝され生成したフェニルアラニンが移行した可能性があり，投与後長時間経過した時点では，本薬ではなく，フェニルアラニンの分布をみている可能性があると考えられた。一方，ラットにフェニルアラニン標識体を投与した分布試験では，脳における組織内放射能濃度は，定量下限未満であった。ラット及びサルに投与した ^{14}C-ボルテゾミブの比放射能は等しかった（約 1 MBq/mg）ことから，後述するように，本薬がラットよりもサルにおいて代謝され易いことが，ラットで脳内に放射能が検出されなかった理由として考えられた。^{14}C-ボルテゾミブを 4 回反復静脈内投与したとき，組織内放射能濃度は，3 回目の投与でほぼ定常状態に到達したと判断された。反復静脈内投与時においても，放射能は広範な組織に分布することが確認された。一方，中枢神経系における組織内放射能濃度は低く，反復静脈内投与後も同様であった。多発性骨髄腫の標的組織である骨髄中放射能濃度は，血液中放射能濃度と同程度か血液中放射濃度を上回った。

本薬のラット，イヌ，サル及びヒトにおける血漿蛋白結合率は，それぞれ 80.8～87.4%，80.2～84.4%，67.2～84.8%及び 78.9～85.7%であり，血漿蛋白結合率は 90%未満であったことから，結合蛋白種の同定は実施しなかった。ラット及びサルに ^{14}C-ボルテゾミブを静脈内投与したとき，血液中放射能濃度は，血漿中濃度よりも 2 倍以上高かったが，*in vitro* でラット，サル及びヒトにおける血漿/血球中濃度比は 1.15～1.43 であったことから，未変化体以外に代謝物が血球中に移行していることが示唆された。血球中放射能成分を検討した結果，未変化体の他に，M1，M2 及び M3 が検出された。

(4) 代謝

本薬の主代謝経路は，ホウ素の脱離であった。その際，ケト－エノールの互変異性を介するため，立体構造の異なる M1 と M2 が生成した。M1 及び M2 は，更に水酸化され M5，M6 及び M8 などが生じた。また，M1 及び M2 は，脱アルキル化され M3 が生成し，更に，酸アミド結合が加水分解されて M4 が生じた。ラット，カニクイザル及びヒトにおける本薬の代謝パターンは定性的には類似していた。ヒトにおける主要な代謝物は，ラットあるいはサルにおいて，全て認められた。ラット及びサルにおける血漿中主代謝物は，M4 であり，ヒトでは M2，M4 及び M1 であった。尿中には未知の高極性代謝物が多く排泄され，その他にラットでは，M1 及び M4 が多かった。糞中には，M1，M2 及び M15 が排泄された。胆汁中の主代謝物は M10，M14 及び M15 であった。未変化体は，尿，糞及び胆汁には検出されなかった。ラットに ^{14}C-ボルテゾミブを反復静脈内投与したとき，肝臓を除いて，組織内放射能濃度の大部分を未変化体が占めた。サルに ^{14}C-ボルテゾミブを単回静脈内投与したとき，組織内には未変化体以外に，M1，M2，M3 あるいは未同定の極性代謝物が認められた。この組織内放射能に占める未変化体の割合の違いは，ラット及びサルの臓器において発現している CYP 分子種の発現量及びそれらの基質特異性の違いによるも

のであると考えられた。サルの肝臓におけるニフェジピンの酸化活性又はミダゾラム 1'水酸化活性及びテストステロン 6β-水酸化（ヒトでは CYP3A4 が関与）あるいは *S*-mephenytoin 4'-水酸化活性（ヒトでは CYP2C19 が関与）は，ラット又はヒトよりも活性が高いことが報告されており[21),22),23),24)]，サルにおいて本薬が代謝される割合が高くなり，組織内放射能に占める未変化体の割合が，ラットよりも低くなったものと推察された。

ヒト発現系 CYP 分子種及びヒト肝ミクロソームを用いた試験から，本薬の代謝に関与する分子種は主として CYP3A4 であり，次いで CYP2C19 の寄与が高いと考えられた。

未変化体，主代謝物である M1 及び M2 には，CYP2C19 に対する中程度の阻害がみられたが，他の CYP 分子種に対する阻害は弱かった。したがって，本薬の CL の低下（又は AUC の増大）は，CYP 分子種の代謝阻害によるものではなく，プロテアソーム阻害に起因する CYP3A 含量の低下及び消化管に分泌された本薬が消化管から吸収されたことによる血漿中濃度の上昇による可能性が考えられた。

(5) 排泄

L-フェニルアラニンの炭素を ^{14}C-標識したボルテゾミブを投与したとき，尿糞中に排泄された放射能の割合が少なく，多くがカーカスに残存した。そのため，ピラジン環に隣接するカルボニル基の炭素を標識した化合物を用いて排泄を検討した。カルボニル基を標識した ^{14}C-ボルテゾミブをラットに単回静脈内投与したとき，投与後 72 時間までに尿及び糞中に，投与量のそれぞれ 21.10%及び 38.61%が排泄された。また，投与量の 6.12%が呼気中へ排泄された。一方，サルにカルボニル基を標識した ^{14}C-ボルテゾミブを単回静脈内投与したとき，投与後 144 時間までに尿及び糞中に，投与量のそれぞれ 10.59～25.34%及び 12.96～14.94%が排泄されたが，尿及び糞を回収後，摘出した組織及びカーカスを含めた放射能の総回収率は 65.04～79.60%と低値であった。サルの場合，呼気を採取していないため，残りの放射能は呼気中に排泄された可能性もあるが，ラットにおける呼気中排泄率は約 6%であったため，未回収の放射能が全て呼気中に排泄された可能性は少ないと考えられる。また，サルにおいて放射能の回収率が低かった理由については不明である。

カルボニル基を標識した ^{14}C-ボルテゾミブをラットに単回静脈内投与して胆汁中排泄を検討した結果，投与後 72 時間までに投与量の 35.10%が胆汁中に排泄され，尿及び糞中排泄率は，それぞれ 16.16%及び 7.75%であった。胆汁中の主代謝物は M10，M14 及び M15 であり，ホウ素を含む未変化体あるいは代謝物は検出されなかったことから，ラットに本薬を静脈内投与したとき，ボルテゾミブはほぼ完全に代謝され，主として胆汁を介して糞中に排泄されると考えられた。また，胆汁中排泄試験及び組織内分布試験において，糞中あるいは消化管内容物中に比較的多くの放射能が検出されたことから，本薬あるいはその代謝物は，消化管に分泌されている可能性が考えられた。

(6) 薬物動態学的薬物相互作用

Caco-2 単層膜を用いた試験結果から，Caco-2 細胞における本薬の透過性は，比較的良好であっ

た。また, 本薬は排出トランスポーターである P-gp 及び MRP2 の基質ではないことが示唆された。一方，ボルテゾミブ 100 μmol/L を添加したとき，P-gp の基質であるビンブラスチンの輸送が阻害されたことから，本薬は P-gp を阻害することが示唆されたが，推定された K_i 値は 13 μmol/L であり，本薬の推定治療濃度 1 μmol/L（384 ng/mL）よりも約 13 倍高かった。

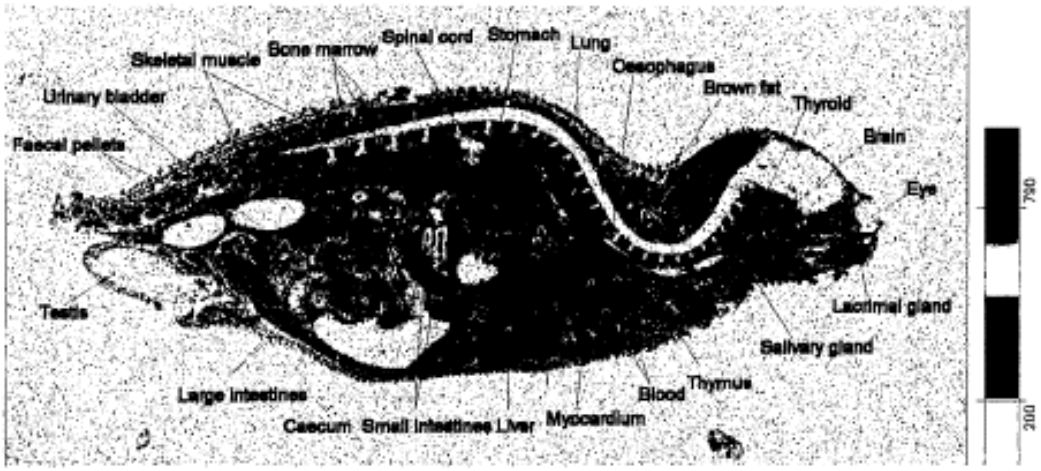
本薬及びその主要な代謝物の CYP 分子種に対する阻害能は，M1 に関しては CYP2C9 及び CYP2C19 に対して, それぞれ IC_{50} 11.5 及び 10.0 μmol/L, M2 に関しては CYP2C19 に対して IC_{50} 13.2 μmol/L で中程度の阻害が認められたが，他の分子種に対する阻害はみられなかった。そのため，CYP 分子種の阻害による薬物動態学的相互作用の可能性は低いと考えられた。しかし，本薬を CYP3A4 のみによって代謝される薬物と併用した際には, プロテアソーム阻害に起因する CYP3A4 含量の減少に伴う CL の低下によって, 併用薬の AUC が増大し，$t_{1/2}$ が遅延する可能性が示唆された。

(7) プロテアソーム活性

ラット，ウサギ及びサルに本薬を静脈内投与したとき，用量依存的なプロテアソーム活性の阻害がみられた。プロテアソーム活性阻害は投与後 5 分～1 時間で最大となった。サルにおいて，血漿中ボルテゾミブ濃度推移とほぼ平行していた。プロテアソーム活性阻害率は血漿中ボルテゾミブ濃度 0.5～5 ng/mL の範囲から急速に 80%まで上昇し，10～60 ng/mL ではプラトーになった。ラット及びサルにおいて，プロテアソーム活性阻害に性差はなく，最大阻害率には投与回数による違いはみられなかった。ラット及びサルに本薬を単回静脈内投与したとき，0.1 mg/kg までの投与量では, 投与後 72～96 時間までにプロテアソーム活性は, 対照群とほぼ同程度まで回復したが, 0.1 mg/kg を超える投与量あるいは反復静脈内投与した場合では，対照群の水準まで回復しなかった。この理由として, 本薬の投与によるプロテアソーム阻害に起因する CYP3A 含量の減少によって，本薬の CL が低下すること及び消化管に分泌された本薬が消化管から吸収された結果，プロテアソーム阻害作用が持続するためであると考えられた。

2.6.4.10　**図表**

0.167 h after administration



1 h after administration

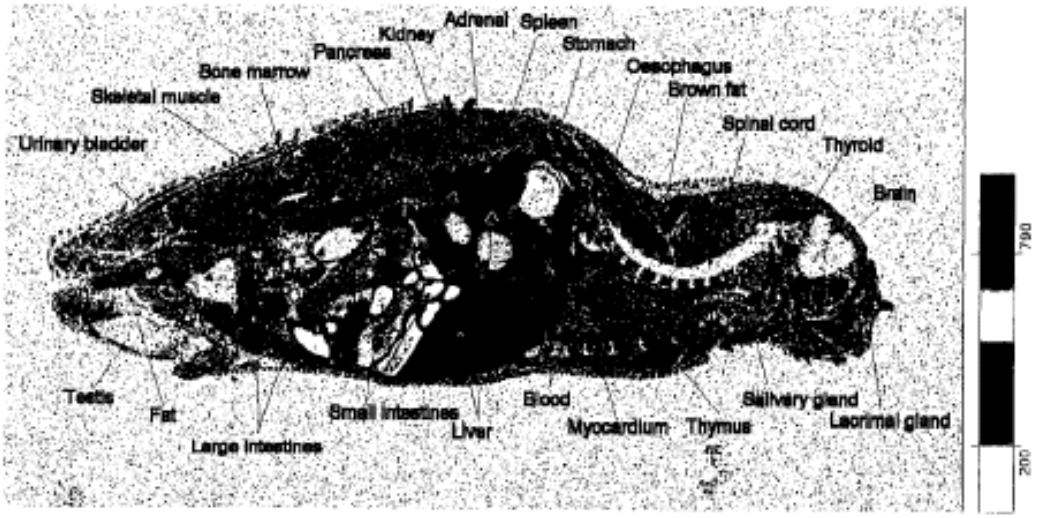
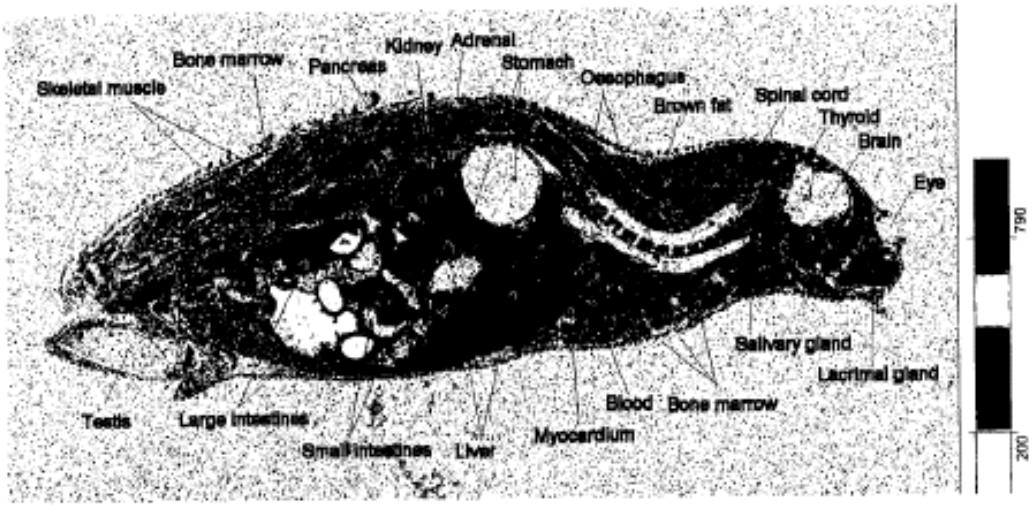


図 2.6.4-36　**雄ラットに** L-**フェニルアラニンのフェニル基を** ^{14}C-**標識したボルテゾミブ約** 0.3 mg/kg **を単回静脈内投与したときの全身オートラジオグラム（露光時間：**96 h**）**

3 h after administration



6 h after administration

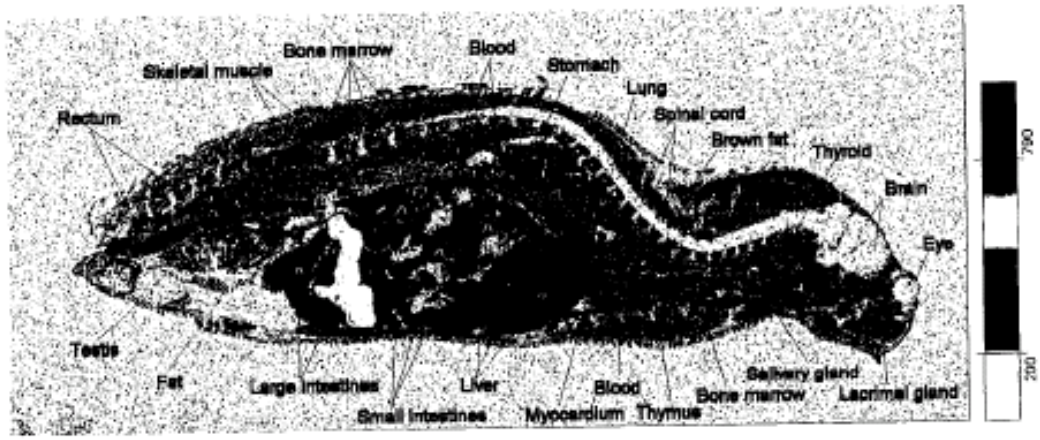


図 2.6.4-37　**雄ラットに** L-**フェニルアラニンのフェニル基を** ^{14}C-**標識したボルテゾミブ約** 0.3 mg/kg **を単回静脈内投与したときの全身オートラジオグラム（露光時間：**96 h**）**

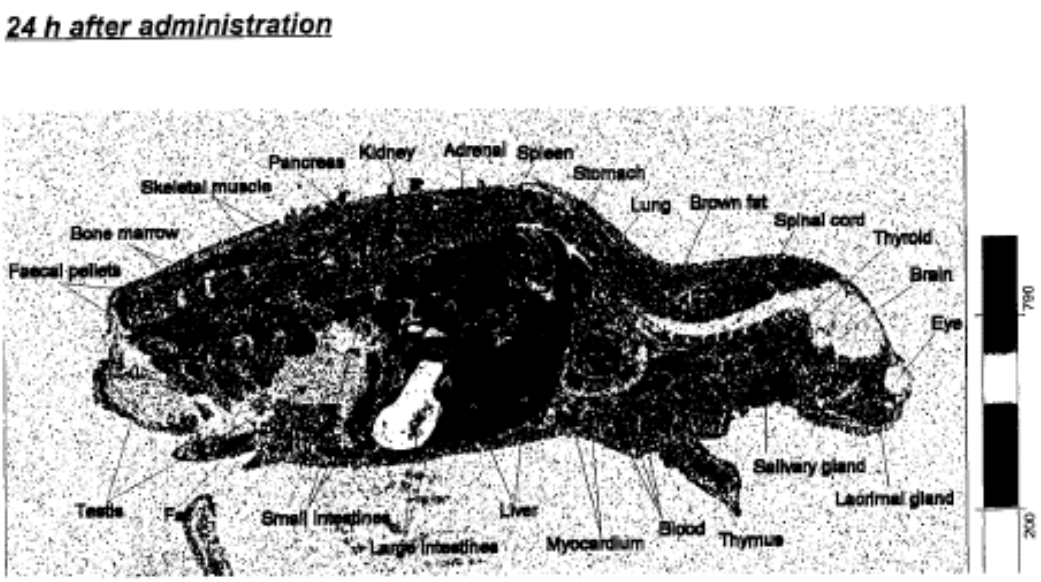


図 2.6.4-38　**雄ラットに** L-**フェニルアラニンのフェニル基を** ^{14}C-**標識したボルテゾミブ約** 0.3 mg/kg **を単回静脈内投与したときの全身オートラジオグラム（露光時間：**96 h**）**

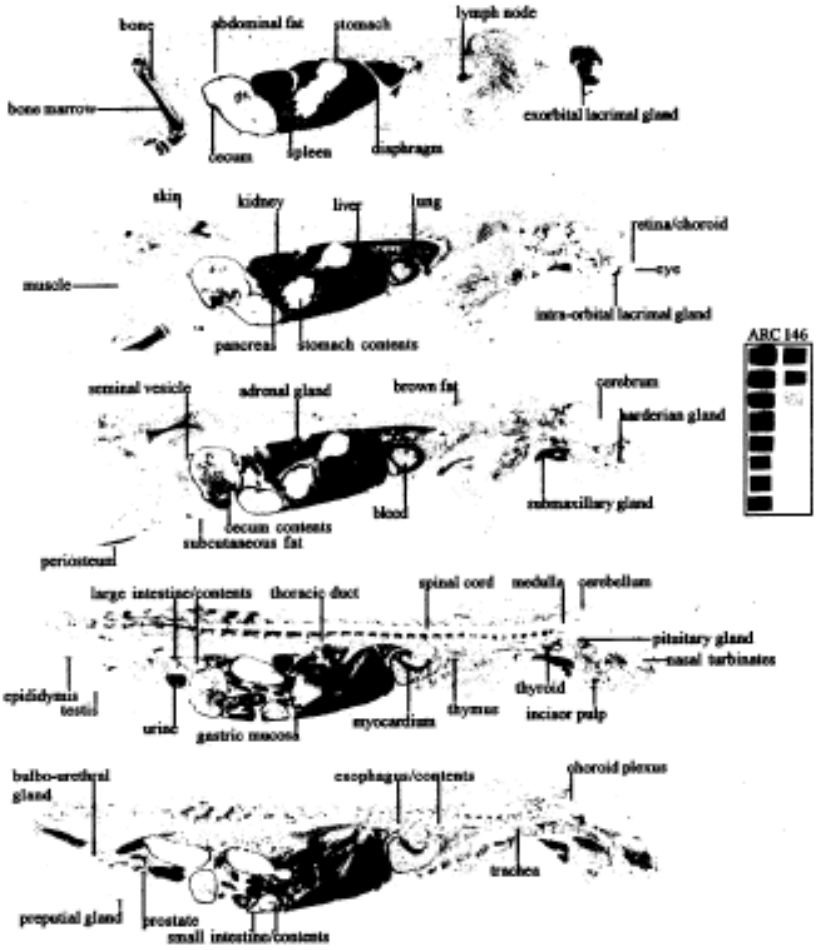


図 2.6.4-39　雄ラットにカルボニル基を ^{14}C-標識したボルテゾミブ 0.25 mg/kg を単回静脈内投与したときの投与後 1 時間の全身オートラジオグラム

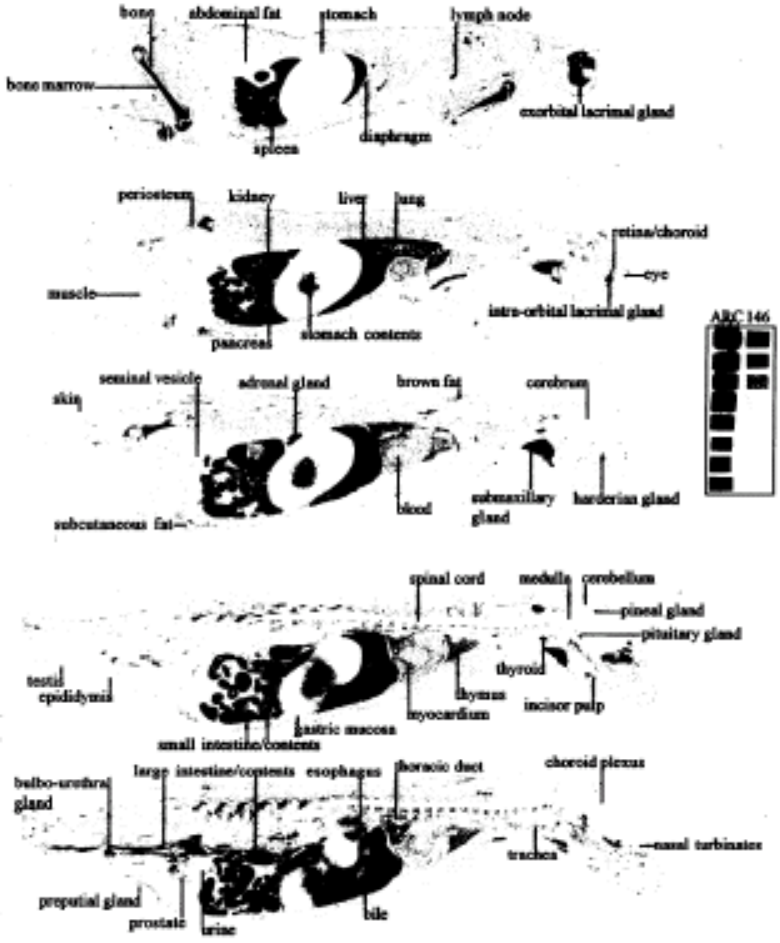


図 2.6.4-40　雄ラットにカルボニル基を ^{14}C-標識したボルテゾミブ 0.25 mg/kg を単回静脈内投与したときの投与後 24 時間の全身オートラジオグラム

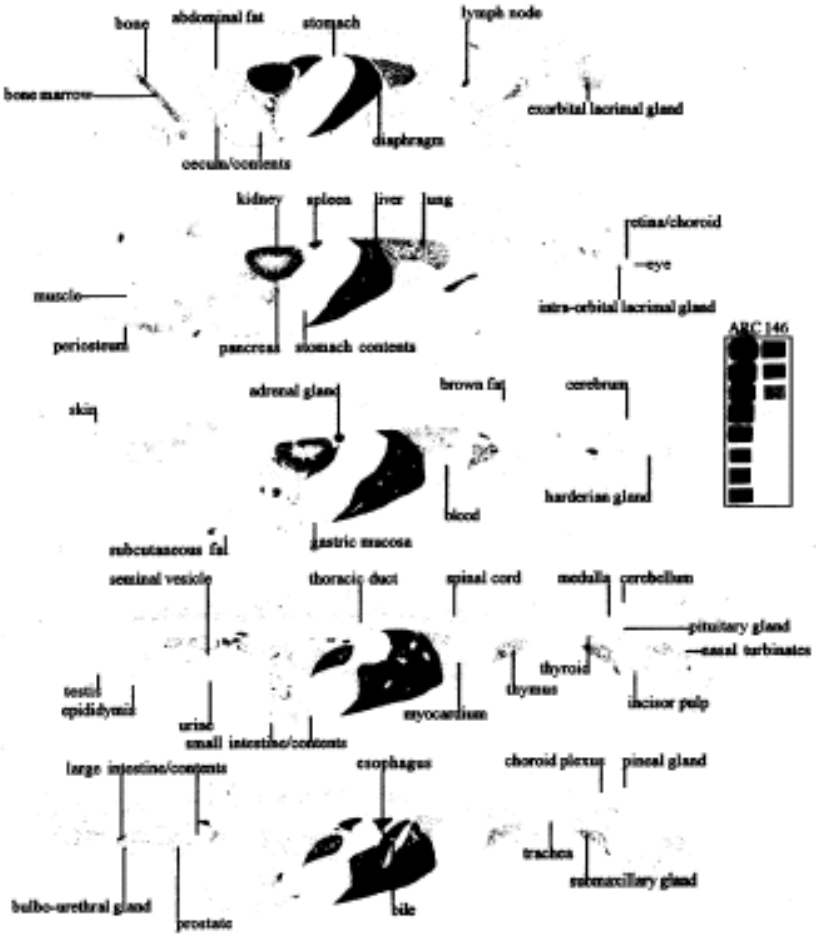


図 2.6.4-41　雄ラットにカルボニル基を ^{14}C-標識したボルテゾミブ 0.25 mg/kg を単回静脈内投与したときの投与後 72 時間の全身オートラジオグラム

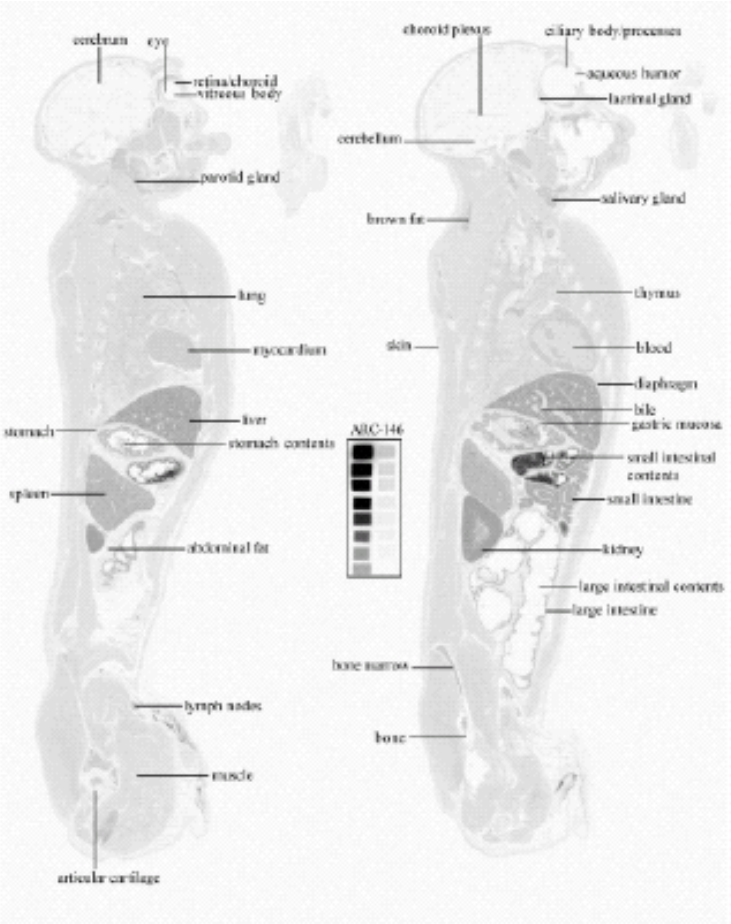


図 2.6.4-42　**雄ザルにカルボニル基を** ^{14}C**-標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 1 **時間の全身オートラジオグラム（その** 1**）**

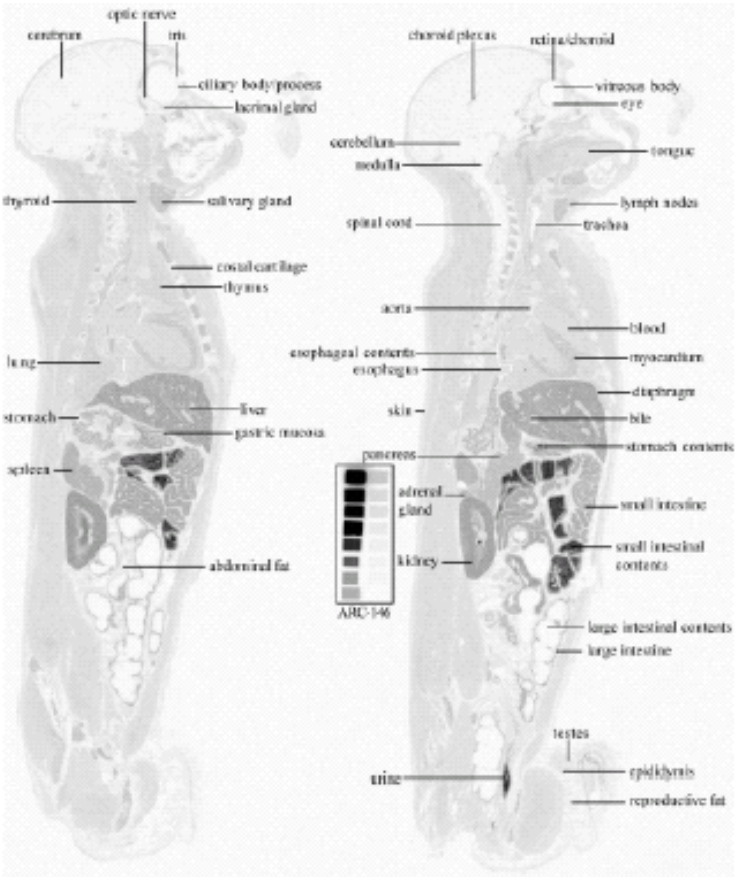


図 2.6.4-43　**雄ザルにカルボニル基を** ^{14}C-**標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 1 **時間の全身オートラジオグラム（その** 2**）**

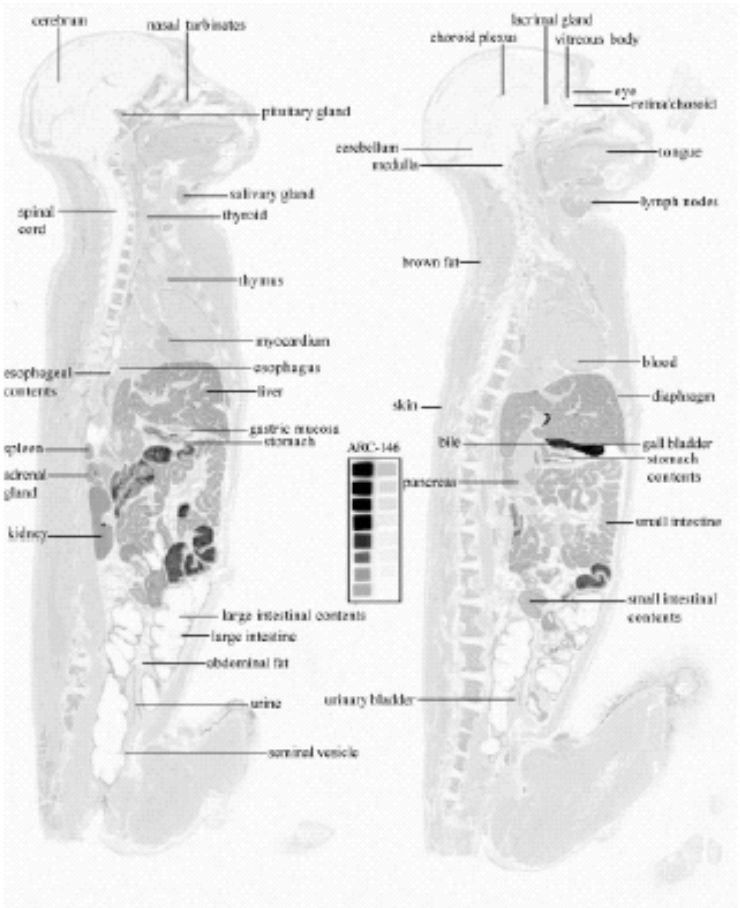


図 2.6.4-44　**雄ザルにカルボニル基を** ^{14}C-**標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 1 **時間の全身オートラジオグラム（その** 3**）**

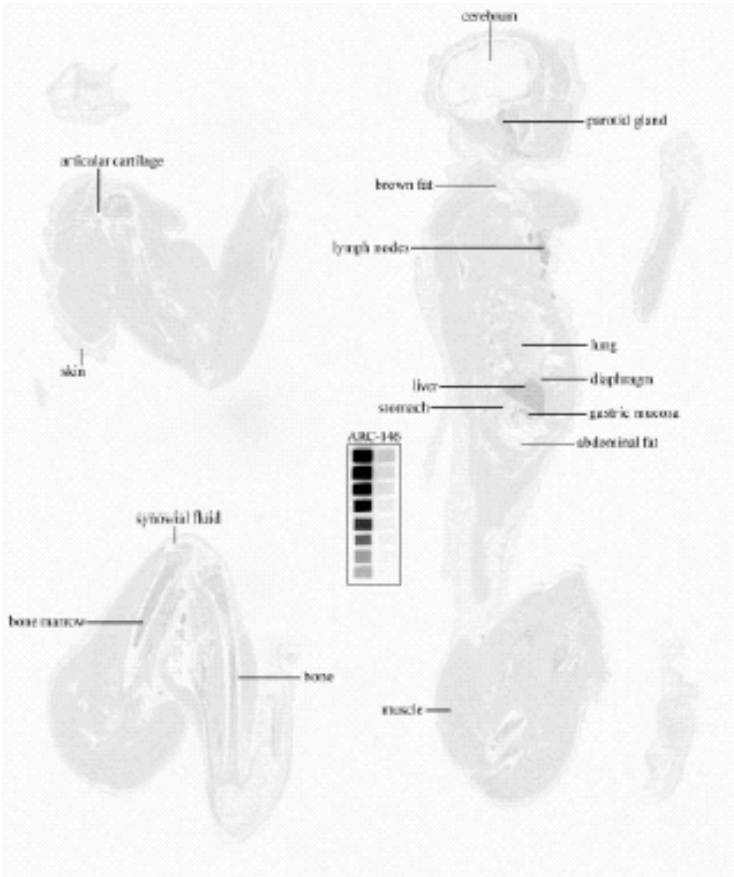


図 2.6.4-45　**雄ザルにカルボニル基を** ^{14}C**-標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 24 **時間の全身オートラジオグラム（その** 1**）**

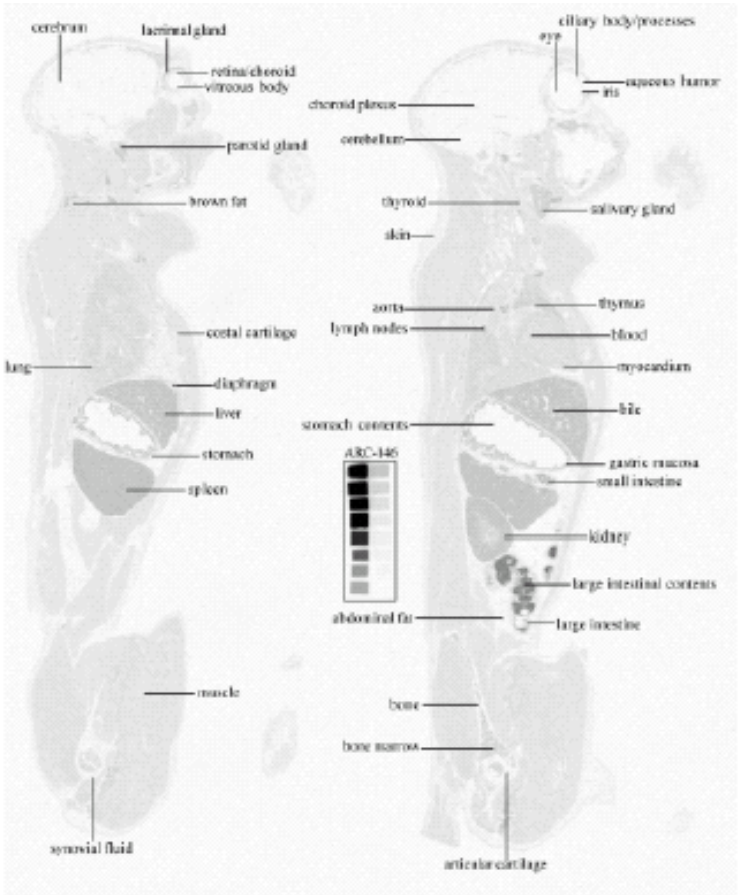


図 2.6.4-46　**雄ザルにカルボニル基を** ^{14}C-**標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 24 **時間の全身オートラジオグラム（その** 2**）**

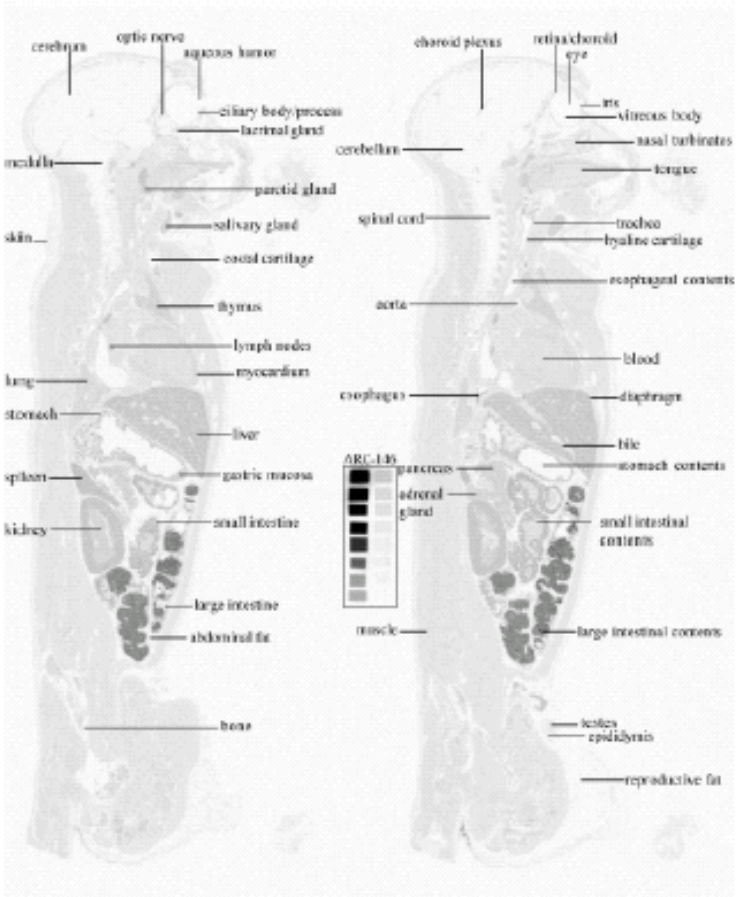


図 2.6.4-47　**雄ザルにカルボニル基を** ^{14}C**-標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 24 **時間の全身オートラジオグラム（その** 3**）**

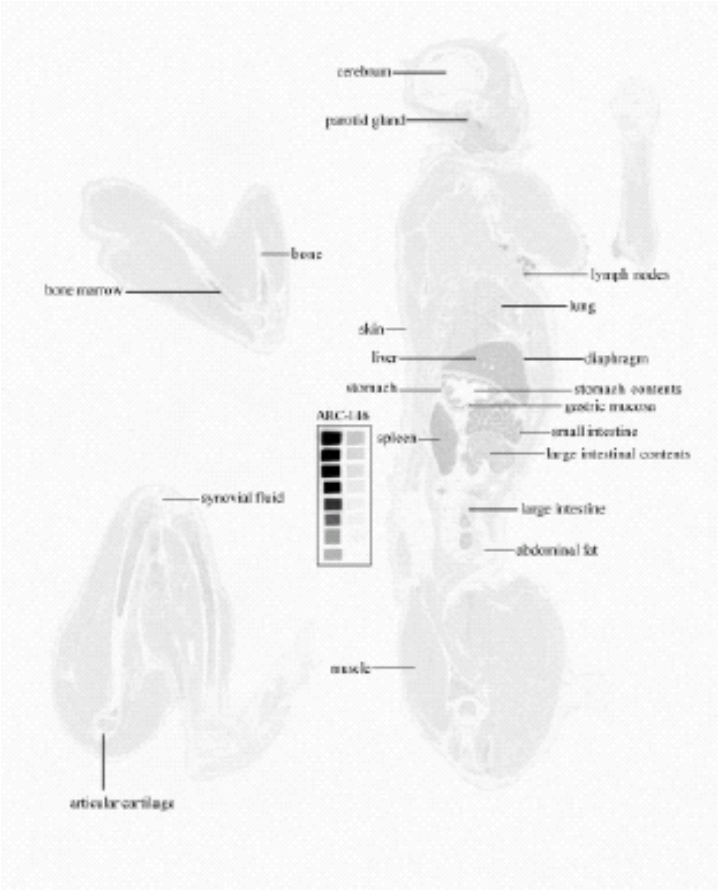


図 2.6.4-48　**雄ザルにカルボニル基を** ^{14}C-**標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 72 **時間の全身オートラジオグラム（その** 1**）**

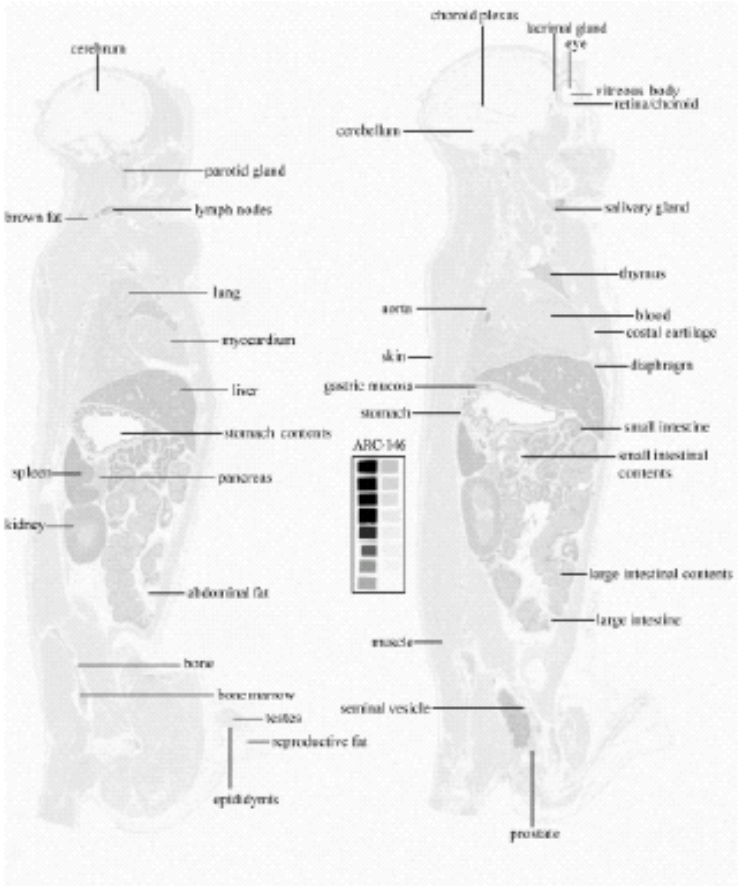


図 2.6.4-49　**雄ザルにカルボニル基を** ^{14}C-**標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 72 **時間の全身オートラジオグラム（その** 2**）**

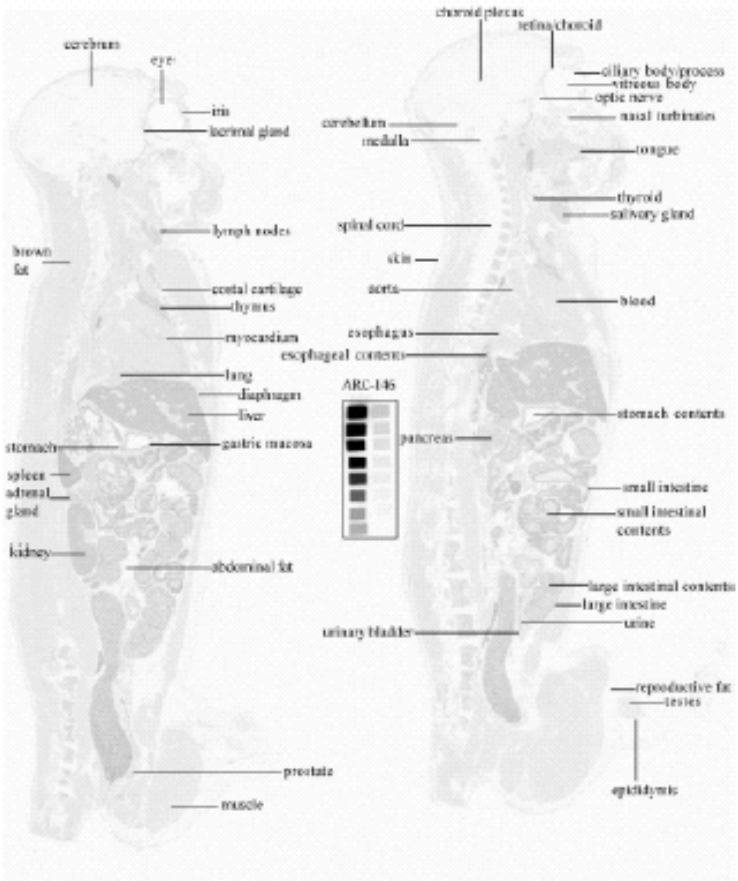


図 2.6.4-50　**雄ザルにカルボニル基を** ^{14}C-**標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 72 **時間の全身オートラジオグラム（その** 3**）**

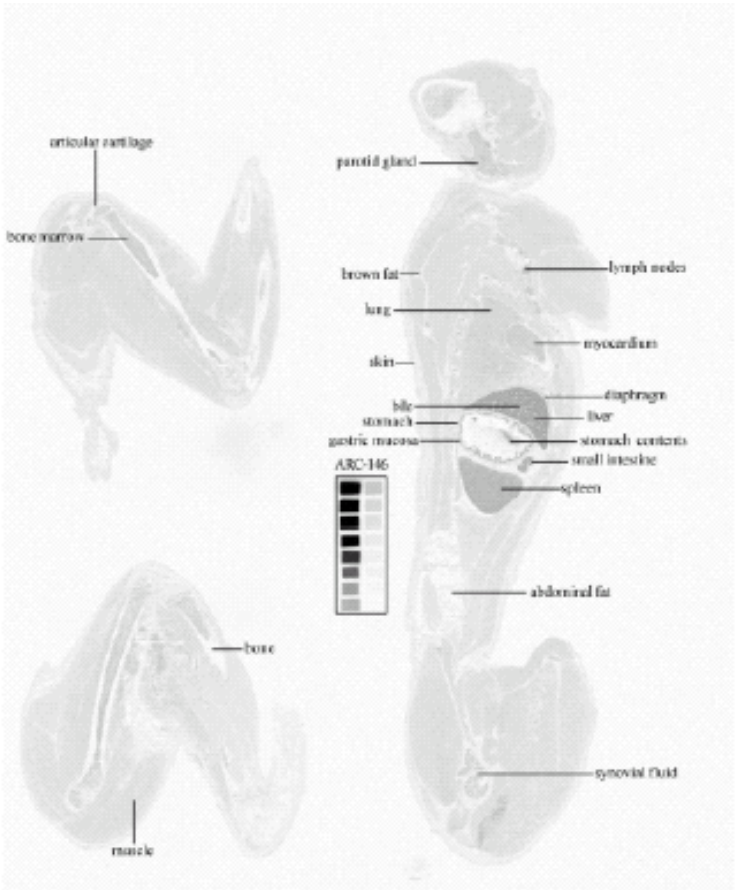


図 2.6.4-51　**雌ザルにカルボニル基を** ^{14}C**-標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 1 **時間の全身オートラジオグラム（その** 1**）**

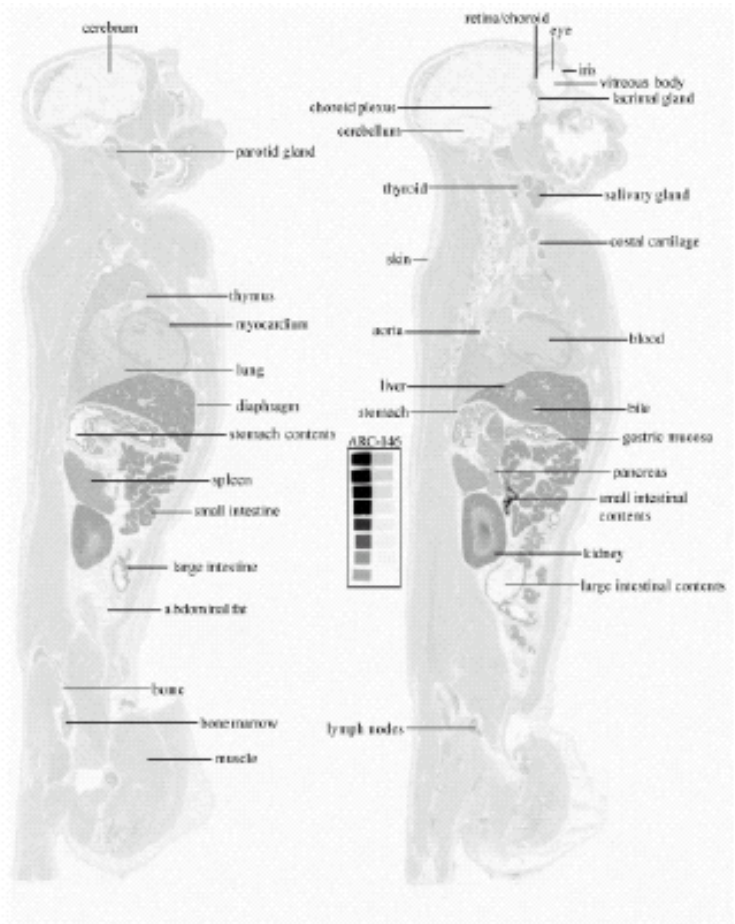


図 2.6.4-52　**雌ザルにカルボニル基を** ^{14}C**-標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 1 **時間の全身オートラジオグラム（その** 2**）**

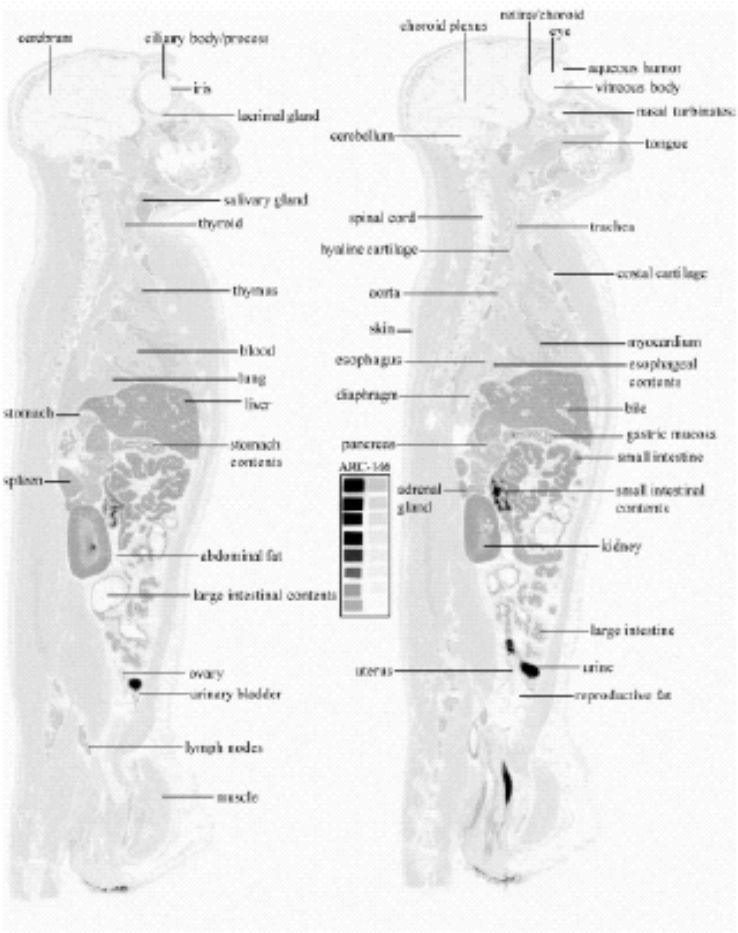


図 2.6.4-53　雌ザルにカルボニル基を ^{14}C-標識したボルテゾミブ 0.2 mg/kg を単回静脈内投与したときの投与後 1 時間の全身オートラジオグラム（その 3）

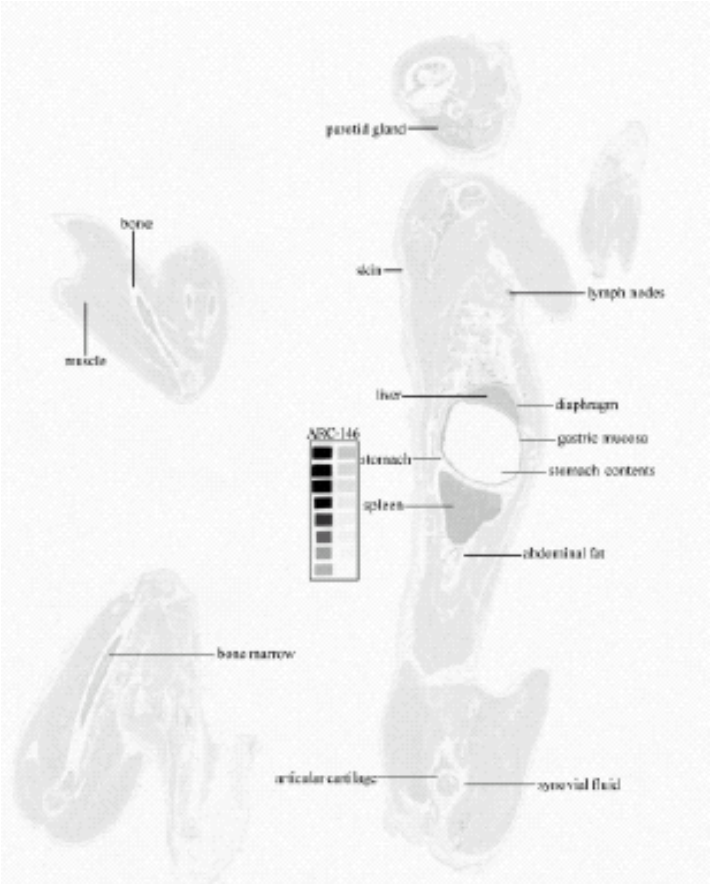


図 2.6.4-54　**雌ザルにカルボニル基を** ^{14}C**-標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 24 **時間の全身オートラジオグラム（その** 1**）**

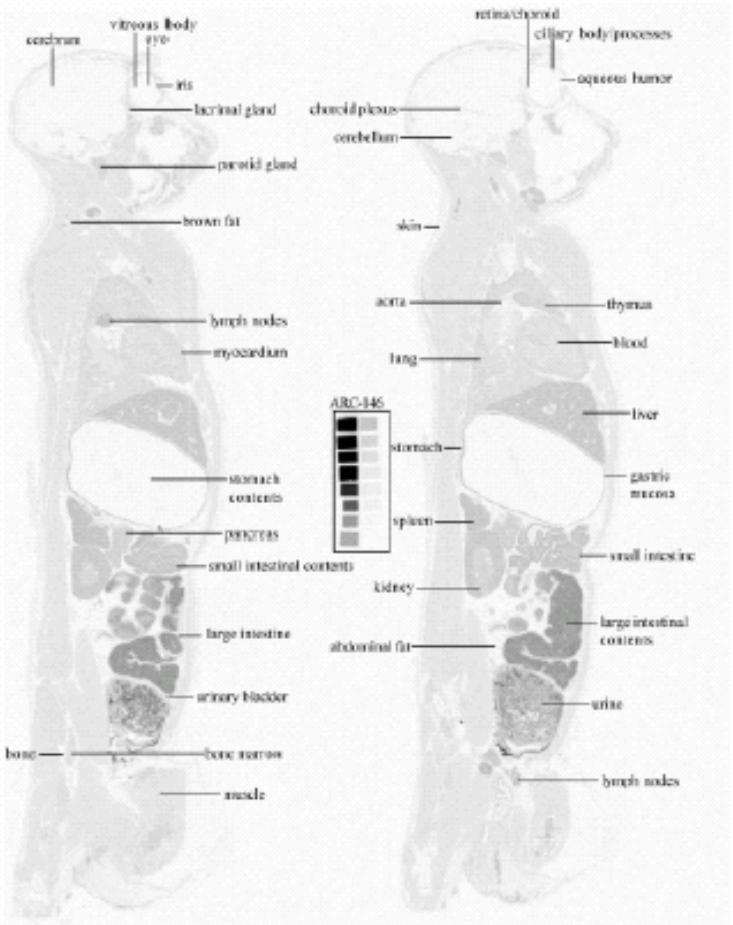


図 2.6.4-55　**雌ザルにカルボニル基を** ^{14}C**-標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 24 **時間の全身オートラジオグラム（その** 2**）**

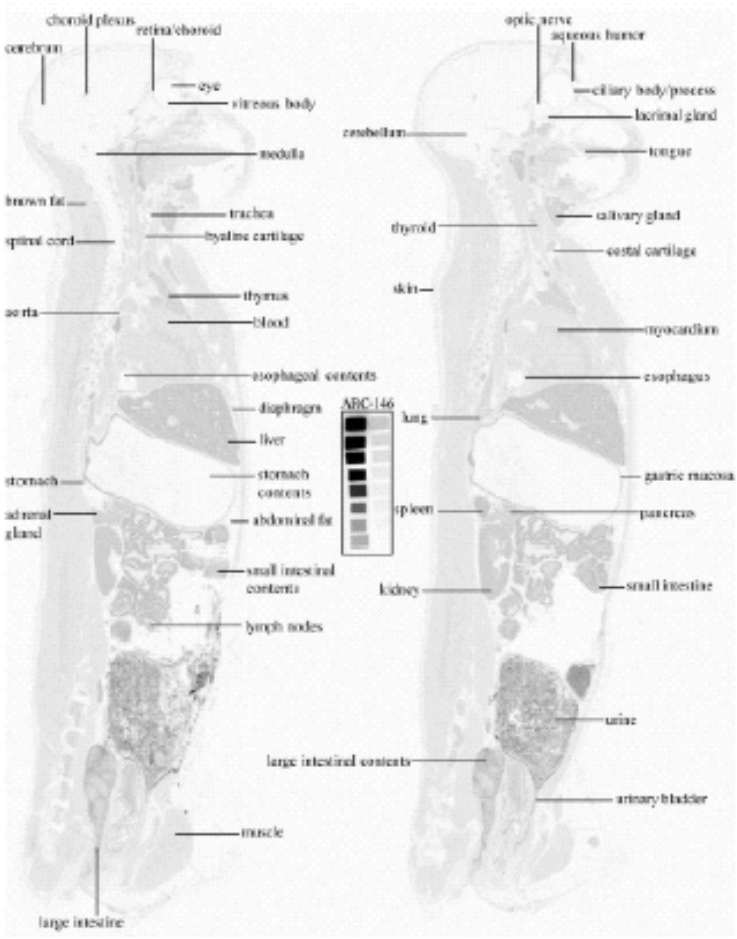


図 2.6.4-56　**雌ザルにカルボニル基を** ^{14}C**-標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 24 **時間の全身オートラジオグラム（その** 3**）**

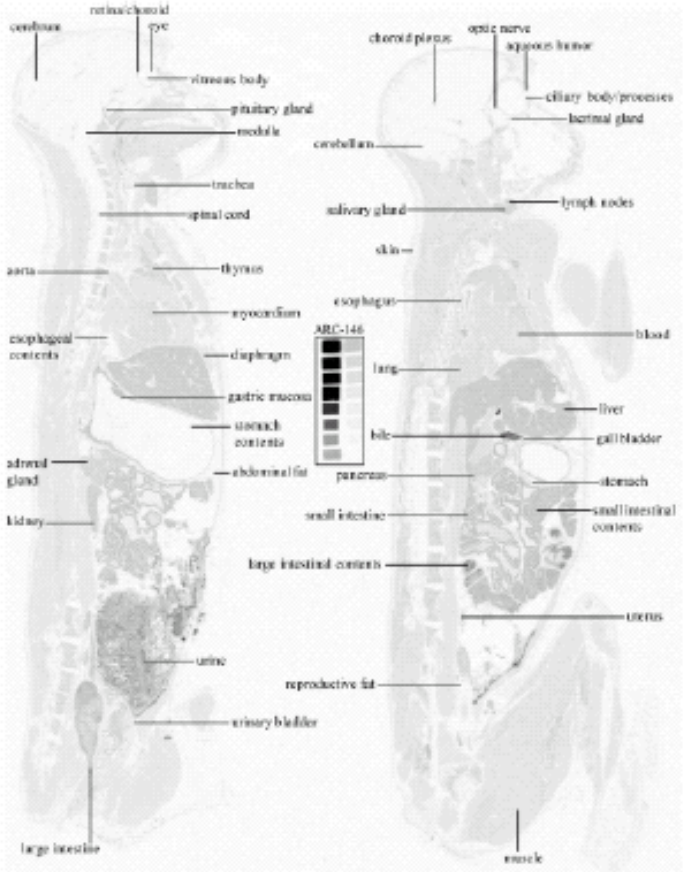


図 2.6.4-57　**雌ザルにカルボニル基を** ^{14}C**-標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 24 **時間の全身オートラジオグラム（その** 4**）**

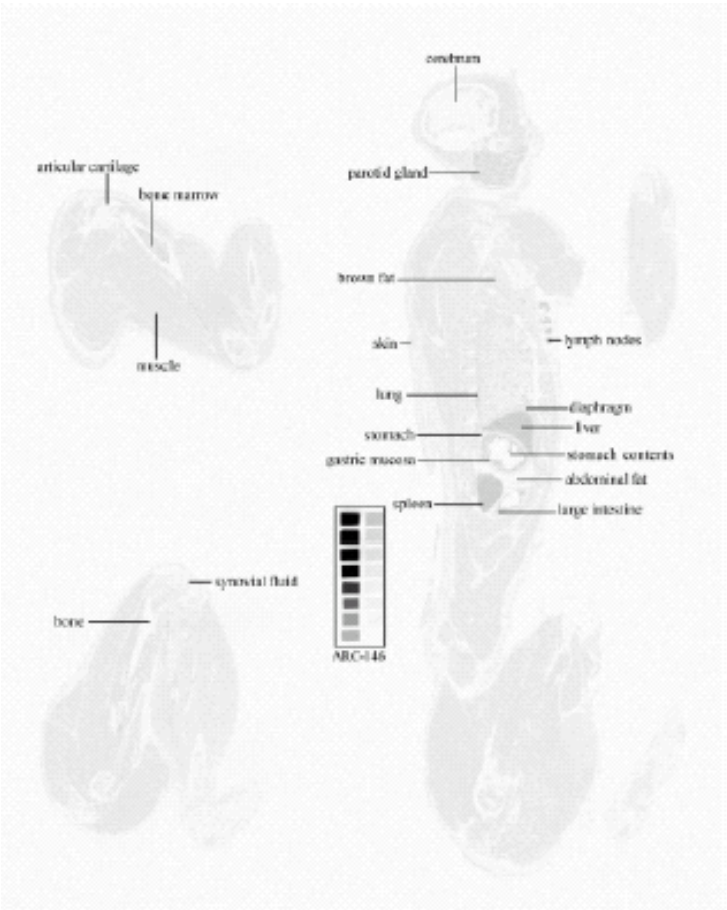


図 2.6.4-58　**雌ザルにカルボニル基を** ^{14}C**-標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 72 **時間の全身オートラジオグラム（その** 1**）**

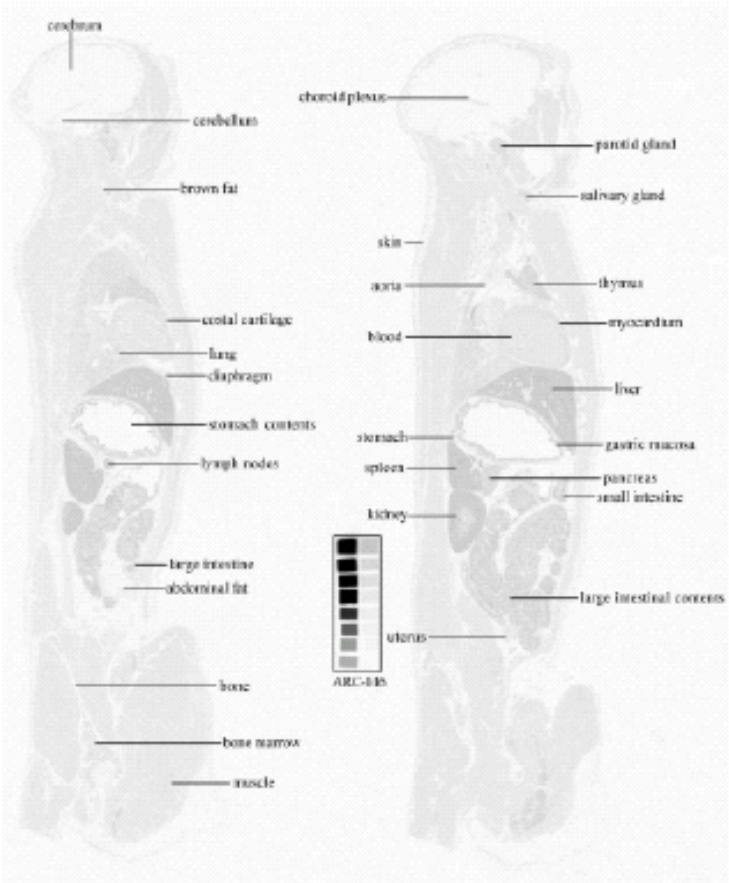


図 2.6.4-59　**雌ザルにカルボニル基を** ^{14}C**-標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 72 **時間の全身オートラジオグラム（その** 2**）**

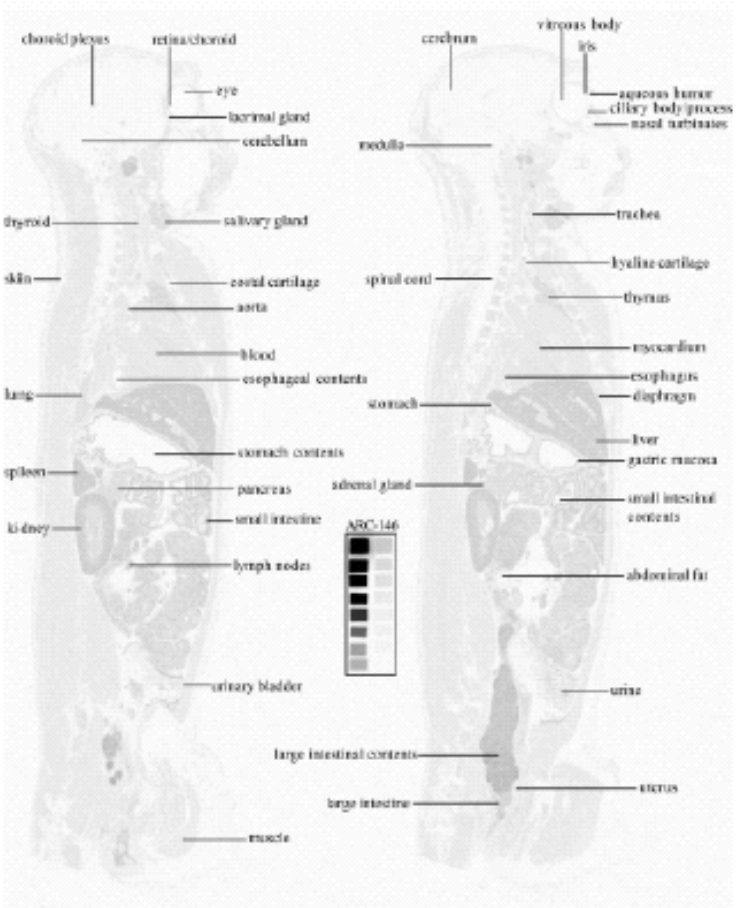


図 2.6.4-60　**雌ザルにカルボニル基を** ^{14}C**-標識したボルテゾミブ** 0.2 mg/kg **を単回静脈内投与したときの投与後** 72 **時間の全身オートラジオグラム（その** 3**）**

2.6.4.11 参考文献

1) Magour S, Schramel P, Ovcar J, Mäser H. Uptake and distribution of boron in rats: interaction with ethanol and hexobarbital in the brain. Arch Environ Contam Toxicol. 1982; 11: 521-5.
2) Ku WW, Chapin RE, Moseman RF, Brink RE, Pierce KD, Adams KY. Tissue disposition of boron in male Fischer rats. Toxicol Appl Pharmacol. 1991; 111:145-51.
3) Pekol T, Daniels JS, Labutti J, Parsons I, Nix D, Baronas E, Hsieh F, Gan LS, Miwa G.. Human metabolism of the proteasome inhibitor bortezomib: Identification of circulating metabolites. Drug Metab Dispos. 2005; 33: 771-7.
4) Clarke SE. In vitro assessment of human cytochrome P450. Xenobiotica. 1998; 28: 1167-202.
5) Venkatakrishnan K, von Moltke LL, Greenblatt DJ. Application of the relative activity factor approach in scaling from heterologously expressed cytochromes P450 to human liver microsomes: Studies on amitriptyline as a model substrate. J Pharmacol Exp Ther. 2001; 297: 326-37.
6) Venkatakrishnan K, von Moltke LL, Court MH, Harmatz JS, Crespi CL, Greenblatt DJ. Comparison between cytochrome P450 (CYP) content and relative activity approaches to scaling from cDNA-expressed CYPs to human liver microsomes: ratios of accessory proteins as sources of discrepancies between the approaches. Drug Metab Dispos. 2000; 28: 1493-504.
7) Venkatakrishnan K, von Moltke LL, Greenblatt DJ. Relative quantities of catalytically active CYP 2C9 and 2C19 in human liver microsomes: Application of the relative activity factor approach. J Pharm Sci. 1998; 87: 845-53.
8) Roberts BJ. Evidence of proteasome-mediated cytochrome P-450 degradation. J Biol Chem. 1997; 272: 9771-8.
9) Yang MX, Cederbaum AI. Role of the proteasome complex in degradation of human CYP2E1 in transfected HepG2 cells. Biochem Biophys Res Commun. 1996; 226: 711-6.
10) Zangar RC, Kocarek TA, Shen S, Bollinger N, Dahn MS, Lee DW. Suppression of cytochrome P450 3A protein levels by proteasome inhibitors. J Pharmacol Exp Ther. 2003; 305: 872-9.
11) Fleishaker JC. Models and methods for predicting drug transfer into human milk. Adv Drug Deliv Rev. 2003; 55: 643-52.
12) 赤木満州雄，三沢隆行，金島弘恭．ホウ酸塩の代謝について（第 1 報）ホウ素の尿中排泄と臓器内分布．薬学雑誌．1961；82：934-6.
13) Jansen JA, Andersen J, Schou JS. Boric acid single dose pharmacokinetics after intravenous administration to man. Arch Toxicol. 1984; 55:64-7.
14) 田中啓二．プロテアソームシステムのメカニズム．医学のあゆみ 2004；211：12-6.
15) Correia MA, Sadeghi S, Mundo-Paredes E. Cytochrome P450 ubiquitination: Branding for the proteolytic slaughter? Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2005; 45: 439-64.
16) Lupas A, Koster AJ, Baumeister W. Structural features of 26S and 20S proteasomes. Enzyme Protein. 1993; 47: 252-73.
17) Lightcap ES, McCormack TA, Pien CS, Chau V, Adams J, Elliott PJ. Proteasome inhibition measurements: Clinical application. Clin Chem. 2000; 46: 673-83.

18) Yang W, Gao X, Wang B. Boronic acid compounds as potential pharmaceutical agents. Med Res Rev. 2003; 23: 346-68.

19) Saitoh H, Aungst BJ. Improvement of the intestinal absorption of a peptidomimetic, boronic acid thrombin inhibitor possibly utilizing the oligopeptide transporter. Pharm Res. 1999; 16: 1786-9.

20) Nix D. Toxicokinetic study report supporting a combination dose range finding and repeat dose toxicity study of orally-administered PS-341 in the cynomolgus moneky. Millennium Pharmaceuticals, Inc.社内資料；2002：Report No. RPT-00038.

21) Sharer JE, Shipley LA, Vandenbranden MR, Binkley SN, Wrighton SA. Comparisons of phase I and phase II *in vitro* hepatic enzyme activities of human, dog, rhesus monkey, and cynomolgus monkey. Drug Metab Dispos. 1995; 23: 1231-41.

22) Niwa T, Kaneko H, Naritomi Y, Togawa A, Shiraga T, Iwasaki K, Tozuka Z, Hata T. Species and sex differences of testosterone and nifedipine oxidation in liver microsomes of rat, dog and monkey. Xenobiotica. 1995; 25: 1041-9.

23) Shimada T, Mimura M, Inoue K, Nakamura S, Oda H, Ohmori S, Yamazaki H. Cytochrome P450-dependent drug oxidation activities in liver microsomes of various animal species including rats, guinea pigs, dogs, monkeys, and humans. Arch Toxicol. 1997; 71: 401-8.

24) Bogaards JJP, Bertrand M, Jackson P, Oudshoorn MJ, Weaver RJ, van Bladeren PJ, Walther B. Determining the best animal model for human cytochrome P450 activities: a comparison of mouse, rat, rabbit, dog, micropig, monkey and man. Xenobiotica. 2000; 30: 1131-52.