

2.6.6. 毒性試験の概要文

2.6.6.1. まとめ

ネララビン（506U78）のマウス及びカニクイザルを用いた単回及び反復静脈内投与毒性試験（最長 30 日間）、遺伝毒性試験（マウスリンフォーマ TK 試験）、生殖発生毒性試験（ウサギ胚・胎児発生に関する試験）、リン酸フルダラビンとの併用毒性試験及び血液適合性に関する試験を実施した（表 2.6.6-1）。また、局所刺激性、免疫毒性及び不純物の毒性について評価した。なお、単回投与試験のうち、非げっ歯類の急性毒性は、サル の 5 日間投与試験成績を基に評価した。投与経路は予定臨床投与経路である静脈内投与とした。

表 2.6.6-1 毒性試験一覧

試験項目及び期間	投与経路	動物種など	被験物質
単回投与毒性試験	静脈内	マウス	ネララビン
反復投与毒性試験			
5 日間	静脈内	マウス	ネララビン
5 日間	静脈内	カニクイザル	ネララビン
30 日間	静脈内	カニクイザル	ネララビン
遺伝毒性試験 マウスリンフォーマ TK	<i>in vitro</i>	マウスリンパ腫細胞	ネララビン
生殖発生毒性試験 胚・胎児発生	静脈内	ウサギ	ネララビン
その他の毒性試験 併用毒性	静脈内	カニクイザル	リン酸フルダラビン /ネララビン
血液適合性(溶血性・ 血漿蛋白凝固性)	<i>in vitro</i>	ヒト血液	ネララビン

以下、各試験で観察された主な所見及び検討結果について示す。

単回投与毒性

マウスの単回静脈内投与試験における概略の致死量は $1800\text{mg}/\text{m}^2$ ($600\text{mg}/\text{kg}$) を超える量と推察された。また、サル の 5 日間静脈内投与時の急性毒性を評価した結果、神経症状に関連すると考えられる死亡がみられ、概略の致死量は $3600\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$ ($300\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$) と推定された。

反復投与毒性

マウス 5 日間静脈内投与試験では、 $1500\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$ ($500\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$) 以上の群で、活動性低下、浅呼吸、眼瞼下垂がみられ、休薬 5~8 日に死亡が認められたが、死因は不明であった。

サル の 5 及び 30 日間静脈内投与試験では、それぞれ $3600\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$ ($300\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$) 群及び $240\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$ ($20\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$) 以上の群で死亡（切迫と殺例含む）がみられた。神経系に対する影響として、振戦、痙攣、筋痙縮、協調運動障害、運動失調などの神経症状がみられ、高用量では非可逆的な脳・脊髄白質の変性及び空胞化並びに脳組織のミトコンドリア DNA 量の低下がみられた。神経症状は用量/時間相関的で用量が高いほど早期に発現したが、休薬

により軽減した。また、投与期間あるいは休薬期間に麻酔薬のケタミン塩酸塩を投与したところ、麻酔作用の増強あるいは痙攣・筋痙縮・振戦の発現がみられた。造血器及び胃腸管への影響として、頸部・腸間膜リンパ節のリンパ球枯渇、脾臓萎縮、骨髓低形成及び胸腺重量の低値あるいは腸管粘膜上皮の成熟抑制がみられ、白血球数（主に好中球数及び単球数）、赤血球数及び血小板数の減少も認められたが、休薬により消失した。

トキシコキネティクスでは、ネララビン及び活性代謝物である ara-G の AUC_{0-t} は投与量に比例して増加し、性差及び反復投与による蓄積は認められなかった。

無毒性量は、マウス 5 日間静脈内投与試験では $600\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$ ($200\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$) と推定されたが、サル の 5 及び 30 日間静脈内投与試験ではそれぞれ 720 及び $120\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$ (60 及び $10\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$) 未満であった。しかしながら、予定臨床投与期間に相当する 5 日間のマウス及びサル の反復静脈内投与試験では、それぞれ 1200 及び $1800\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$ (400 及び $150\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$) まで死亡は認められなかった。サルに $1800\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$ ($150\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$) を投与したときの活性代謝物である ara-G の C_{max} 及び AUC_{0-t} はヒト（成人）に $1500\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$ を隔日 3 回投与したときの約 2~3 倍であった。

遺伝毒性

ネララビンはマウスリンフォーマ TK 試験で陽性を示し、DNA 合成抑制作用を有することから、遺伝毒性を有すると考えられる。

がん原性

ネララビンは前述のとおり遺伝毒性を有することから、がん原性を有すると考えられる。

生殖発生毒性

ウサギの胚・胎児発生に関する試験では、母動物の $3540\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$ ($300\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$) 群で流産及び一般状態の悪化に伴う死亡（切迫と殺）がみられた。胎児で、胆嚢無発生、肺分葉異常、口蓋裂などが認められたことから、ネララビンは催奇形性を有すると考えられる。

局所刺激性

静脈内投与により投与部位の局所反応性変化（紅斑、発赤、腫脹など）及びネララビンに関連する炎症細胞浸潤などの病理組織所見が認められなかったことから、ネララビンは局所刺激性を有していないと考えられる。

併用毒性

サルにネララビンとリン酸フルダラビンを併用静脈内投与したところ、骨髓抑制の増強（敗血症による死亡）がみられたが、ネララビンの神経毒性の増強は認められなかった。また、ネララビンの単独・併用群において、可逆的な肝臓に対する影響（ALT、総ビリルビンの高値など）がみられたが、併用投与による増強は認められなかった。

血液適合性（溶血性及び血漿蛋白凝固性）

ネララビンの 10mg/mL 溶液（媒体：0.9%塩化ナトリウムあるいは 5%デキストリン溶液）の溶血性及び血漿蛋白凝固性は認められなかったことから、ネララビンの血液適合性に問題はないと考えられる。

免疫毒性

反復静脈内投与試験において、白血球数の減少、リンパ節のリンパ球枯渇などがみられたことから、ネララビンは免疫抑制作用を有すると考えられる。また、ネララビンは低分子医薬品（分子量 297.27）であることから完全抗原とはなり難いと考えられること、ネララビン及びその代謝物は生体内のグアニン誘導体であり、ネララビンと ara-G の血漿蛋白結合率も低い（25%未満）ことからハプテンとして機能する可能性が低いこと、海外臨床試験では顕著なリンパ球数の減少がみられたことから、抗原性を示す可能性は低いと考えられる。

不純物の毒性

原薬又は製剤で安全性評価が必要な閾値を超えて個別に規格値が設定されている不純物は 4 種類であった。これらの不純物を含む原薬が 5 日間あるいは隔日 7 回投与されたサルでの反復静脈内投与試験から安全係数を算出した結果、3 種は 2.6～23 倍であった。残りの 1 種の安全係数は 0.4 倍であったが、この不純物はネララビンの 2 位アミノ基にピラン環が結合した化合物であり、ネララビンと類似していた。これらのことと、推定臨床投与期間が短期間（実質投与期間 9～20 日間）であることを考慮すると、臨床使用において危惧すべき新たな毒性が発現する可能性は低いと考えられる。

2.6.6.2. 単回投与毒性試験

マウスの単回静脈内投与試験を実施した。また、サルの急性毒性の評価には、5日間静脈内投与試験を使用した（表 2.6.6-2）。

表 2.6.6-2 単回投与毒性試験一覧

動物種/系統	投与経路	動物数/性/群	投与量 (mg/m ²) [mg/kg]	観察期間(日)	GLP適用	実施施設	資料番号
CD-1 マウス	静脈内	6	0 (媒体)	14	適	BW	4.2.3.1.1
		6	900 [300]				
		6	1200 [400]				
		6	1500 [500]				
		6	1800 [600]				
カニクイザル	静脈内 ^{#1}	2	0 (媒体)	7, 59, 62 ^{#2}	適	■■■■	4.2.3.2.2
		2	720 [60]				
		2	1800 [150]				
		2	3600 [300]				

媒体：0.9%塩化ナトリウム水溶液

#1：速度；10mL/min、容量；6～30mL/kg/日

#2：5日間投与後の休薬期間(対照群及び1800mg/m²/日の雌雄各1例は7日間、その他は59又は62日間)

実施施設：BW = Burroughs Wellcome (米国)、

■■■■ (米国)

2.6.6.2.1. マウス

4.2.3.1.1

ネララビンの900、1200、1500及び1800mg/m²（それぞれ300、400、500及び600mg/kg）を各群雌雄各6匹のCD-1マウスに単回静脈内投与した。対照群には媒体（0.9%塩化ナトリウム水溶液）を同様に投与した。その後、14日間の観察を行い剖検した。

試験成績の概要を2.6.7.5に示した。いずれの群においても死亡はみられず、1800mg/m²群で活動性低下及び眼瞼下垂（投与後6分～1時間）、雌の1200mg/m²以上の群では体重増加量の低値が認められた。

以上より、概略の致死量は1800mg/m²を超える量と推定された。

2.6.6.2.2. サル

4.2.3.2.2 及び 4.2.3.2.4/ref

5日間静脈内投与試験の成績からサルの急性毒性を評価した。以下に本試験で観察された主な毒性所見を示す。なお、試験の詳細については、反復投与毒性試験の項（2.6.6.3.2）に記載した。本試験では、ネララビンの720、1800及び3600mg/m²/日（それぞれ60、150及び300mg/kg/日）を各群雌雄各2匹のカニクイザルにケタミン塩酸塩麻酔下で5日間静脈内投与し、7、59又は62日間の休薬期間を設けた。対照群には媒体（0.9%塩化ナトリウム水溶液）を同様に投与した。

3600mg/m²/日群では、最終投与終了後（投与5日）、心電図検査のために再度、麻酔薬のケタミン塩酸塩を投与したところ、雌雄各1例で衰弱、横臥位、振戦などが観察され、投与

終了後 27 又は 76 時間に瀕死状態を呈したため、切迫と殺した。また、休薬 7 日に雄 1 例が円背位、協調運動障害及び前腕運動障害を呈し、翌日死亡した。これらの死亡例では、頸部・腸間膜リンパ節のリンパ球枯渇、脾臓萎縮、骨髓低形成あるいは腸管粘膜上皮の成熟抑制が認められた。また、1800 及び 720mg/m²/日の群においても、休薬 5 日以降に振戦、痙攣、運動失調などの神経症状が発現した。神経症状は休薬により軽減したが、筋痙攣などの症状は休薬期間中においてもケタミン塩酸塩の投与（剖検あるいは心電図検査時）により発現した。

以上のことから、概略の致死量は 3600mg/m²/日（300mg/kg/日）と推定された。

なお、用量設定試験の 1 つとして実施した単回静脈内投与試験（非 GLP 試験）では、本試験と同様にケタミン塩酸塩麻醉下で 6000mg/m²/日（500mg/kg/日）まで静脈内投与したところ、死亡は認められず、4800mg/m²/日（400mg/kg/日）以上の群では、深い麻醉状態を示す眼瞼・後肢撤去反射の消失などがみられたが、投与後 24 時間に異常は認められなかった（2.6.7.6.参照）。

2.6.6.3. 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験として、マウス及びサルの5日間静脈内投与試験を実施した。また、その後実施した臨床薬理試験（5.3.3.2.1参照）で用量制限毒性と考えられた神経症状はサルでのみ観察されたこと、サルの薬物動態はヒトに類似していたこと（2.6.4.9参照）、臨床では5日間投与後に休薬期間を設け、これを1サイクルとして繰り返すことを予定していることから、ヒトと同様の神経症状を示したサルを用いて、1サイクルあたりの投与期間（5日間）の6倍に相当する30日間の静脈内投与試験を実施した（表2.6.6-3）。

表 2.6.6-3 反復投与毒性試験一覧

動物種/系統	投与経路	投与+休薬期間(日)	投与量 (mg/m ² /日) [mg/kg/日]	動物数/ 性/群	GLP 適用	実施 施設	資料番号
CD-1 マウス	静脈内	5+14	0 (媒体)	6	適	BW	4.2.3.2.1
			600 [200]	6			
			900 [300]	6			
			1200 [400]	6			
			1500 [500]	6			
			1800 [600]	6			
カニクイザル	静脈内 ^{#1}	5 + 7, 59, 62	0 (媒体)	2	適	■■■	4.2.3.2.2
			720 [60]	2			
			1800 [150]	2			
			3600 [300]	2			
カニクイザル	静脈内 ^{#2}	23 ^{#3} , 30/31 +62~70 ^{#4}	0 (媒体)	5	適	■■■	4.2.3.2.3
			120 [10]	3			
			240 [20]	3			
			480 [40]	5			

媒体：0.9%塩化ナトリウム水溶液

#1：速度；10mL/min、容量；6~30mL/kg/日

#2：速度；6mL/min、容量；4mL/kg/日

#3：480mg/m²/日群は神経症状の発現により試験24日以降の投与を中止(それ以外は30又は31日間投与)

#4：対照群は62~63日間、480mg/m²/日群は70日間

実施施設：BW = Burroughs Wellcome (米国)、

■■■■ (米国)

2.6.6.3.1. マウス5日間静脈内投与試験

4.2.3.2.1

本試験は、5日間静脈内投与時の致死量を求めるために実施したが、最初の検討で雄の死亡が認められなかったため、追加検討を行った。最初の検討では、ネララビンの600、900、1200及び1500mg/m²/日（それぞれ200、300、400及び500mg/kg/日）を各群雌雄各6匹のCD-1マウスに5日間静脈内投与し、14日間の休薬期間を設けた。対照群には媒体（0.9%塩化ナトリウム水溶液）を同様に投与した。高用量は、単回静脈内投与試験（2.6.6.2.1）の1800mg/m²/日（600mg/kg/日）群で毒性所見（活動性低下及び眼瞼下垂）が観察されたことから、1500mg/m²/日に設定した。しかしながら、雄で死亡が認められなかったことから、追加検討では、単回静脈内投与試験で毒性所見が観察された高用量と同じ1800mg/m²/日

（600mg/kg/日）及び媒体（0.9%塩化ナトリウム水溶液、対照群）を各群雌雄各6匹に同様に5日間静脈内投与し、14日間の休薬期間を設けた。

試験成績の概要を 2.6.7.7.1 に示した。投与期間中、1800mg/m²/日群では、活動性低下、浅呼吸及び眼瞼下垂がみられた。これらの症状は投与後 3～26 分より発現が始まり、投与後 1～5 時間には消失した。また、雄 1 例に低体温及び振戦が観察された。

休薬 5～8 日に 1500 及び 1800mg/m²/日群の各群雌 1 及び 2 例が脱水症状、円背位、半閉眼を呈した後に死亡した。死亡例の剖検では、休薬 5 日に死亡した 1800mg/m²/日群の雌 1 例のみに、死後変化と考えられる肺赤色化及び胃・十二指腸・空腸・回腸・盲腸・結腸内にタール状物質の貯留が観察された。それ以外の動物では、休薬 3 日以降に 1800mg/m²/日群の数例で閉眼あるいは脱水症状、雌 1 例で振戦あるいは活動性低下（休薬 6 日）が観察されたが、いずれの症状も休薬 14 日には観察されず、剖検でも異常は認められなかった。

雄の 1200mg/m²/日以上群及び雌の 900mg/m²/日以上群で軽度な体重増加量の低値がみられた。雄の 1800mg/m²/日群及び雌の 1500mg/m²/日以上群では、投与期間より休薬 1 週まで摂餌量の低値がみられたが、休薬 2 週では対照群と同程度であった。

以上より、無毒性量は 600mg/m²/日（200mg/kg/日）と推定されたが、1200mg/m²/日（400mg/kg/日）までの投与において死亡は認められなかった。

2.6.6.3.2. サル 5 日間静脈内投与試験

4.2.3.2.2 及び 4.2.3.2.4/ref～4.2.3.2.6/ref

本試験は 2 段階に分けて実施した。第 1 段階では、ネララビンの 1800 及び 3600mg/m²/日（それぞれ 150 及び 300mg/kg/日）をケタミン塩酸塩麻酔下で各群雌雄各 2 匹のカニクイザルに静脈内持続投与した。投与期間は 5 日間として、最終投与後に休薬期間を設け、剖検した。休薬期間は 1800mg/m²/日群は 7 及び 62 日間（それぞれ、雌雄各 1 匹）、3600mg/m²/日群は 62 日間とした。雌雄各 2 匹の対照群には、媒体（0.9%塩化ナトリウム水溶液）を同様に 5 日間投与した後に 7 及び 62 日間（それぞれ、雌雄各 1 匹）の休薬期間を設け、剖検した。なお、本試験の高用量は用量設定試験として実施した雌カニクイザルの 1～4 日間静脈内投与試験（計 3 試験）（2.6.7.6 参照）において、4800mg/m²/日（400mg/kg/日）以上の群で投与 2 日までに死亡がみられたが、3600mg/m²/日の 4 日間投与では摂餌量の減少及び時に嘔吐が観察されたのみであったことから、3600mg/m²/日に設定した。

第 2 段階では、第 1 段階の 3600mg/m²/日群で死亡がみられたことから、720mg/m²/日（60mg/kg/日）をケタミン塩酸塩麻酔下でそれぞれ雌雄各 2 匹に 5 日間静脈内持続投与した。また、雌雄各 2 匹の対照群にも同様に媒体（0.9%塩化ナトリウム水溶液）を投与した。最終投与終了後、対照群及び 720mg/m²/日群のいずれの群にも 59 日間の休薬期間を設けたが、剖検は実施しなかった。

試験成績の概要を 2.6.7.7.2 に示した。ネララビン及び ara-G の AUC は投与量に比例して増加し、性差及び反復投与による蓄積は認められなかった。

720mg/m²/日群では、雄 1 例で休薬 9～57 日に振戦がみられ、特に動物への刺激時あるいは取り扱い時に顕著であった。雌は 2 例とも、休薬 10 日に運動失調及び奥行き知覚の障害がみられたが、休薬 21 又は 36 日には消失した。また、これら 3 例の動物のうち、休薬 21 日に症状が消失した雌 1 例を除いては、心電図検査（休薬 30 日）のケタミン塩酸塩麻酔時に筋痙縮が認められた。

1800mg/m²/日群では、雌1例で休薬5及び6日に短時間の痙攣及び衰弱がみられ、休薬7日の剖検時にケタミン塩酸塩を投与したところ、痙攣が認められた。雄1例では、休薬13～16日に、上部呼吸器症状（鼻汁及び異常呼吸音）、衰弱、動きの鈍さ、軽度協調運動障害及び振戦がみられ、心電図検査（休薬58日）及び剖検時（休薬62日）のケタミン塩酸塩麻酔時に痙攣及び全身性の筋痙縮が認められた。

3600mg/m²/日群では、最終投与終了後（投与5日）、心電図検査のために再度、麻酔薬のケタミン塩酸塩を投与したところ、雌雄各1例で衰弱、横臥位、振戦などが観察され、投与終了後27又は76時間に瀕死状態を呈したため、切迫と殺した。また、休薬7日に雄1例が円背位、協調運動障害及び前腕運動障害を呈し、翌日死亡した。残り雌1例では、休薬7～9日に筋痙縮（刺激時）、重度協調運動障害及び奥行き知覚の障害がみられ、休薬10日に痙攣が認められた。また、休薬期間の心電図検査（休薬58日）及び剖検時（休薬62日）のケタミン塩酸塩麻酔時に痙攣が観察された。

その他、投与期間中に1800及び3600mg/m²/日群では、各群2例において静脈内持続投与中あるいは投与終了後15分以内に嘔吐の発現がみられたが、発現日数は1800mg/m²/日群でそれぞれ4及び5日間、3600mg/m²/日群ではそれぞれ1及び2日間であり、用量に応じたものではなかった。

対照群を含む全群で主に投与5日～休薬21日に体重及び摂餌量の減少がみられたが、休薬が進むにつれて回復傾向を示した。投薬群では、特に神経症状が観察された動物で摂餌量の減少が目立ち、神経症状により摂食行動が阻害されたためと考えられる。

全投薬群で休薬1日から赤血球系パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）、血小板数減少あるいは白血球数の減少がみられ、休薬14又は15日には回復が認められなかったが、休薬56又は57日（休薬期間終了時）にはおおむね回復した。また、リバウンドによると考えられる血小板増多あるいは白血球増多が認められた。

720mg/m²/日群では、神経症状を呈した雄1例でAST（休薬1及び9日）及びLDH（休薬22日）の軽度上昇及びリパーゼ活性（休薬1～36日）の軽度低下がみられ、1800mg/m²/日以上の群でも、軽度なAST、ALT、LDHなどの血液生化学的パラメータの変動が認められた。病理組織学的検査で、肝臓、筋肉などの関連器官・組織に異常は認められなかったことから、血液生化学的パラメータの変動は、振戦に伴う筋運動量の増加、あるいは嘔吐・下痢及び神経症状による摂餌・飲水行動の障害などに関連したものと考えられる。

器官重量及び剖検ではネララビンに関連すると考えられる変化は認められなかった。病理組織学的検査では、3600mg/m²/日群の途中と殺あるいは死亡例において、頸部・腸間膜リンパ節のリンパ球枯渇、脾臓萎縮、骨髓低形成及び腸管粘膜上皮の成熟抑制が観察された。一方、休薬62日まで生存した残り雌1例において、ネララビンに関連すると考えられる変化は認められなかった。

以上より、無毒性量は720mg/m²/日（60mg/kg/日）未満であったが、1800mg/m²/日までの投与において死亡は認められなかった。

2.6.6.3.3. サル 30 日間静脈内投与試験

4.2.3.2.3 及び 4.2.3.2.7/ref

ネララビンの 120、240 及び 480mg/m²/日（それぞれ 10、20 及び 40mg/kg/日）をそれぞれ雌雄各 3、3 及び 5 匹のカニクイザルに静脈内持続投与した。高用量は、5 日間静脈内投与試験の 720mg/m²/日以上で観察された神経症状を考慮して、480mg/m²/日に設定した。投与期間は 120 及び 240mg/m²/日群は 30～31 日間として、最終投与後剖検した。高用量群である 480mg/m²/日は神経症状に伴う一般状態悪化のため、23 日間投与後、70 日間休薬させて剖検した（雄 2 例及び雌 3 例）。なお、同群では休薬期間中に症状悪化による死亡・切迫と殺例がみられたことから、これらの動物との比較を行うために神経症状が認められなかった雌雄各 1 例を休薬 1 日に安楽死させた。雌雄各 5 匹の対照群には、媒体（0.9%塩化ナトリウム水溶液）を同様に 30～31 日間投与し、最終投与後（雌雄各 3 匹）あるいは 62～63 日間休薬後（雌雄各 2 匹）に剖検した。

試験成績の概要を 2.6.7.7.3 に示した。ネララビン及び ara-G の AUC は投与量に比例して増加し、性差及び反復投与による蓄積は認められなかった。

120mg/m²/日群では、投与 30 日の身体検査（心拍数・呼吸数・体温測定、聴診、一般状態観察）の際、ケタミン塩酸塩により麻酔したところ、雌 1 例で麻酔後に粗大振戦及び痙攣がみられたが、それ以外にネララビンに関連すると考えられる一般状態の変化は認められなかった。

240mg/m²/日群では、投与 19 及び 23 日に雄 1 例で粗大振戦がみられ、投与 28 日に一般状態悪化のため、切迫と殺した。また、投与 24 日に雄 1 例で痙攣発作（30 秒間持続）がみられた。投与 30 日の身体検査において、雌雄各 1 例で麻酔後に粗大振戦あるいは痙攣が認められた。

480mg/m²/日群では、投与 19 日以降に雄 3 例及び雌 3 例で粗大振戦、投与 21 及び 23 日にそれぞれ雄 1 例及び雌 1 例で痙攣発作（30 秒間持続）がみられ、投与 23 日に雄 1 例を一般状態悪化のため、切迫と殺した。そのため、試験 24 日以降の投与を中止し、休薬させた。休薬期間中、神経症状がみられた雌雄各 1 例で一般状態が悪化したため、休薬 2 又は 5 日に切迫と殺した。投与期間中に粗大振戦がみられた雌雄各 1 例では、休薬 21 日以降、振戦は微細振戦となり軽減がみられたが、休薬 70 日（剖検時）まで消失することはなかった。また、休薬 7 及び 64 日の検査において 2 例で麻酔後に粗大振戦あるいは痙攣が認められた。

投与期間中、全投薬群で体重の増加抑制あるいは減少傾向がみられ、480mg/m²/日群では休薬 5 日の雌に体重減少が認められたが、雌雄それぞれ、休薬 33 及び 40 日には投与開始前の体重と同程度まで回復した。神経症状が観察された動物では、わずかに摂餌量の低下がみられたが、摂食行動は観察されたことから、食欲低下によるものではなく、神経症状により摂食行動が阻害されたためと考えられる。

全投薬群で赤血球系パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）及び好中球数・単球数の減少による白血球数の減少、480mg/m²/日群の雄で血小板数の減少がみられたが、骨髄に組織学的変化は認められず、休薬により回復した。また、480mg/m²/日群では休薬期間中にリバウンドによると考えられる血小板増多あるいは白血球増多が認められた。

120 及び 240mg/m²/日の群の雌で A/G 比の低値がみられたが、投与開始前の値と比べて明らかな差は認められなかった。また、240mg/m²/日群の雄では、血清カリウムの高値がみられた。480mg/m²/日群では、最終投与日（投与 23 日）より休薬 5 日までに切迫と殺した動物のと殺時に採取した血液サンプルにおいて、雄 1 例（と殺日：投与 23 日）で総ビリルビンの増加、雌 1 例（休薬 5 日）で AST、BUN 及び総ビリルビンの増加がみられ、それ以外の回復群に割り当てた生存例では、休薬 7 又は 8 日にコレステロール、グルコース及びクレアチニンの低値が認められた。しかしながら、いずれの動物においても、肝臓あるいは腎臓などの関連器官に病理組織学的変化は認められなかったことから、一般状態の悪化に伴う変化と考えられる。

剖検では、ネララビンに関連すると考えられる変化は認められなかった。

最終投与後（投与 30 又は 31 日）に剖検した雌の 120 及び 240mg/m²/日群では胸腺重量の低値がみられたが、休薬 70 日に剖検した 480mg/m²/日群の回復群では、雄の胸腺重量は低値傾向であったものの、雌の胸腺重量を含めそれ以外の器官重量は対照群と同程度であった。

480mg/m²/日群では、神経症状が観察された雌雄各 3 例のうち、70 日間の休薬期間を設けた後に剖検した雄 1 例で軽微～軽度な小脳・大脳白質空胞化及び中等度の小脳白質変性、中等度の脊髄白質のミエリン変性及び空胞化、雌 1 例で軽度の脊髄白質空胞化がみられた。また、神経症状は観察されなかったが比較のために休薬 1 日に安楽死させた雄 1 例で軽度の小脳白質変性及び軽微な脊髄白質空胞化が認められた。

なお、480mg/kg/日群の脳組織（小脳・大脳前頭皮質・大脳/海馬・大脳/視床）に含まれるミトコンドリア DNA 量を PCR 法（TaqMan Real-Time PCR）により定量した結果、休薬 5 日までの剖検例（雄 3 例及び雌 2 例）及び休薬 70 日の剖検例（定量可能であった雄 2 例）において、ミトコンドリア DNA 量の低下（それぞれ、対照群の 8～51%及び 26～69%）がみられた。

以上より、無毒性量は 120mg/m²/日（10mg/kg/日）未満であったが、120mg/m²/日までの投与において死亡は認められなかった。

2.6.6.4. 遺伝毒性試験

ネララビンの遺伝毒性を評価するためにマウスリンフォーマ TK 試験を実施した結果（表 2.6.6-4）、ネララビンは陽性を示し、また、各種 DNA ポリメラーゼ活性（2.6.2.2.4.6 参照）及び DNA 鎖伸長反応（4.2.1.1.5/ref 参照）を阻害するなどの作用機序を考え合わせると、ネララビンは遺伝毒性を有すると考えられることから、それ以外の標準的組み合わせによる遺伝毒性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験及びげっ歯類を用いる小核試験）は実施しなかった。

表 2.6.6-4 遺伝毒性試験一覧

試験系	動物種など	処置濃度 (µg/mL)	GLP 適用	実施施設	資料番号
マウスリンフォーマ TK 試験	L5178Y マウスリンパ腫細胞	100～5000 (±S9)	適	GW	4.2.3.3.1.1

実施施設：GW = Glaxo Wellcome (米国)

2.6.6.4.1. マウスリンフォーマ TK 試験

4.2.3.3.1.1 及び 4.2.3.3.1.2/ref

マウスリンパ腫 L5178Y 細胞を用いて、代謝活性化系非存在下及び存在下で 100～5000µg/mL の 3 時間処理により検討した。最高濃度は、本試験方法における推奨最高濃度である 5000µg/mL とした。

試験成績の概要を 2.6.7.8.2 に示した。代謝活性化系非存在下及び存在下とも、500µg/mL 以上において、tk 遺伝子に限局された変異によると考えられる大コロニー数の高値（対照群に比べて最大 9 倍）及び tk 遺伝子を含む染色体領域の消失などの染色体レベルでの異常を示唆する小コロニー数の高値（最大 5 倍）がみられ、陽性を示した。なお、5000µg/mL での相対増殖率（RTG）はそれぞれ 14 及び 11% であった。また、本試験結果は代謝活性化系非存在下で実施した用量設定試験（2.6.7.8.1 参照）において陽性（≥500µg/mL）であったことと一致していた。

以上のことから、遺伝子突然変異誘発能及び染色体異常誘発能を有すると判断した。

2.6.6.5. がん原性試験

ネララビンは遺伝毒性を示すことからがん原性を有すると考えられること、効能・効果は小児及び成人における T 細胞急性リンパ芽球性白血病及び T 細胞リンパ芽球性リンパ腫であり、ネララビンはこれらの難治性の進行がんの治療を目的とした抗悪性腫瘍剤であることから、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

類薬（シタラビン、リン酸フルダラビン、クラドリビン）では精巣毒性（精巣萎縮・変性など）及び胚致死作用が認められており[新薬の承認に関する情報]、ネララビンは受胎能及び初期胚発生に対して悪影響を及ぼすと考えられる。また、ネララビンはウサギにおいて催奇形性を示し（2.6.6.6.1 参照）、出生後の検討のための次世代児は得難いと考えられる。これらのことから、「受胎能及び着床までの初期胚発生」、「げっ歯類を用いた胚・胎児発生」及び「出生前及び出生後の発生並びに母体の機能」に関する試験は実施しなかった（2.4.1 参照）。

小児における一般毒性学的データとしては、海外臨床試験において臨床用法・用量よりも高用量・長期間投与時の安全性データが得られている。また、発達に及ぼす影響については、薬理学的特性（DNA 合成抑制作用）及び血液 - 脳・精巣関門の形成時期を考慮すると、ネララビンは性腺及び神経系の発達に悪影響を及ぼす可能性が考えられる。

これらのことから、小児の安全性を考察する上で必要な情報は得られていると考えられるため、幼若動物を用いた検討は実施しなかった（2.4.1 参照）。

表 2.6.6-5 生殖発生毒性試験一覧

試験系	動物種/ 系統	投与経路 (投与期間)	投与量 (mg/m ² /日) [mg/kg/日]	動物数 ^{#2}	GLP 適用	実施 施設	資料番号
胚・胎児 発生	NZW ウサギ	静脈内 ^{#1} (妊娠 7 ～19 日)	0(媒体) 354 [30] 1180 [100] 3540 [300]	♀17～22	適	■■■■■	4.2.3.5.2.1

媒体：0.45%塩化ナトリウム水溶液、妊娠 0 日=交尾確認日

#1：持続投与時間；1 日 8 時間、速度；0.75～7.5mL/kg/時、#2：妊娠動物数

実施施設：■■■■■(カナダ)

2.6.6.6.1. ウサギの胚・胎児発生に関する試験

4.2.3.5.2.1 及び 4.2.3.5.2.2/ref～4.2.3.5.2.5/ref

ネララビンの 354、1180 及び 3540mg/m²/日（それぞれ 30、100 及び 300mg/kg/日）を各群 17～22 匹の NZW ウサギに妊娠 7～19 日（妊娠 0 日=交尾確認日）に静脈内持続投与し、妊娠 29 日に帝王切開した。対照群には媒体（0.45%塩化ナトリウム水溶液）を同様に投与した。

高用量は、非妊娠動物及び妊娠動物を用いた静脈内持続投与による用量設定試験の結果（2.6.7.11 参照）を基に設定した。すなわち、非妊娠動物を用いた検討（1 日 8 あるいは 24 時間の持続静脈内投与）では、3540mg/m²/日（300mg/kg/日）以上で、体重減少、摂餌量及び排便回数の低下、白血球数、リンパ球数、好中球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット及び網状赤血球数の低値がみられたことから、3540mg/m²/日（300mg/kg/日）に設定した。

試験成績の概要を 2.6.7.13 に示した。妊娠 11 日におけるネララビン及び ara-G の C_{max} 及び AUC は投与量に比例して増加し、反復投与による蓄積は認められなかった。

母動物では、3540mg/m²/日群の 1 例で流産（妊娠 22 日）がみられ、更にもう 1 例で円背位、食欲低下、活動性低下、努力呼吸などの一般状態の悪化（妊娠 11 日）が観察されたため、切迫と殺した。その他、努力呼吸、食欲低下、消瘦、排便回数の低下が 1～3 例にみられた。また、妊娠 7～25 あるいは 7～29 日の体重増加量の低値（最大で対照群の 48%の値まで減少）がみられた。

胎児では、全投薬群で骨化遅延（舌骨など）、胆嚢無発生、肺分葉異常及び胸骨分節過剰・癒合、1180mg/m²/日以上群で欠指（第一指）、3540mg/m²/日群では口蓋裂など、用量に応じた奇形及び変異の発生頻度の増加が認められた。

以上のことから、ネララビンは催奇形性を有していると考えられ、無毒性量は母動物に対しては 1180mg/m²/日（100mg/kg/日）、胎児に対しては 354mg/m²/日（30mg/kg/日）未満と推定された。

2.6.6.7. 局所刺激性試験

静脈内投与による反復投与毒性試験において（2.6.6.3）、投与部位の局所反応性変化（紅斑、発赤、腫脹など）はみられず、組織学的にもネララビンに関連すると考えられる炎症細胞浸潤などの病理組織学的変化は認められなかったことから、ネララビンは局所刺激性を有していないと考えられる。

2.6.6.8. その他の毒性試験

臨床使用においてネララビンはリン酸フルダラビンと併用される可能性が想定されたこと、及びネララビンは静脈内投与での臨床使用を予定していることから、リン酸フルダラビンとの併用静脈内投与試験及び血液適合性（溶血性及び血漿蛋白凝固性）に関する試験（表 2.6.6-6 及び表 2.6.6-7）を実施した。また、免疫毒性並びに原薬又は製剤に含まれる不純物の毒性に関する検討を行った。

表 2.6.6-6 その他の毒性試験一覧（1）

動物種/系統	投与経路	投与+休薬期間(日)	投与量 (mg/m ² /回) [mg/kg/回]		動物数/ 性/群	GLP 適用	実施 施設	資料番号
カニクイザル	静脈内 ^{#1}	14 ^{#2} + 45	F:	N:	2	適	■	4.2.3.7.7.1
			0(媒体)	0(媒体)	2			
			60 [5]	0(媒体)	2			
			0(媒体)	2400 [200]	2			
			60 [5]	600 [50]	2			
			60 [5]	1200 [100]	2			
			60 [5]	2400 [200]	2			

媒体：0.9%塩化ナトリウム水溶液、F：リン酸フルダラビン、N：ネララビン

#1：媒体及びネララビンは持続投与（速度；10mL/min、容量；40mL/kg/日）

#2：隔日投与（試験 1、3、5、7、9、11 及び 13 日）

実施施設：■（米国）

表 2.6.6-7 その他の毒性試験一覧（2）

試験種	動物種など	処置濃度	GLP 適用	実施施設	資料番号
血液適合性(溶血性・ 血漿蛋白凝固性)	<i>In vitro</i>	10mg/mL	適	BW	4.2.3.7.7.2

実施施設：BW = Burroughs Wellcome (米国)

2.6.6.8.1. サルにおけるリン酸フルダラビンとの併用静脈内投与試験

4.2.3.7.7.1

リン酸フルダラビンの 60mg/m²/回（5mg/kg/回）を各群雌雄各 2 匹のカニクイザルに静脈内投与し、4 時間後にネララビンの 600、1200 及び 2400mg/m²/回（それぞれ 50、100 及び 200mg/kg/回）を隔日に 7 回静脈内持続投与し、45 日間の休薬期間を設けた。対照群には媒体（0.9%塩化ナトリウム水溶液）を同様に投与した。更に、単独投与群として各群雌雄各 2 匹にリン酸フルダラビンの 60mg/m²/回（5mg/kg/回）あるいはネララビンの 2400mg/m²/回（200mg/kg/回）を同様に投与した。なお、剖検及び病理組織学的検査は死亡及び切迫と殺例のみを対象として実施した。

試験成績の概要を 2.6.7.17.1 に示した。ネララビン及び ara-G の曝露量は、リン酸フルダラビン併用により変化しなかった。また、ネララビン併用により血漿中フルダラビン濃度も変化しなかった。これらのことから、いずれの薬剤の薬物動態も併用投与により影響を受けないものと考えられる（2.6.4.7.2 参照）

休薬期間中（試験 15～19 日）、1200mg/m²/回併用群の雌 1 例及び 2400mg/m²/回併用群の雌雄各 1 例が死亡し、更に 1200mg/m²/回併用群の雄 1 例を瀕死状態のため切迫と殺した。死

因については、全例で大腿骨・胸骨の骨髓低形成又は消失並びに敗血症を示唆する所見が複数の器官（肝臓、腎臓、脾臓、心臓）で観察されたことから、骨髓抑制の二次的な影響として生じた敗血症によるものと考えられる。また、これらの死亡・切迫と殺例の病理組織学的検査において、1200mg/m²/回併用群の1例に小脳白質の空胞化がみられたが、2400mg/m²/回群も含め、それ以外の動物では観察されなかったことから、ネララビンに関連したものではないと考えられる。

最終投与日（試験13日）以降、単独及び併用群とも2400mg/m²/回以上の群で、痙攣、運動失調、痙縮及び協調運動障害が発現し、これらの症状は休薬により軽減したが完全には消失しなかった。また、投与期間後半には、単独及び併用群にかかわらず、ネララビンの全投与群で体重減少がみられたが、休薬期間中に体重は増加し、回復傾向を示した。

単独及び併用群ともネララビンの全投与群で、赤血球系パラメータ、白血球数及び分葉好中球数の低値並びに血小板数及び総ビリルビンの高値、1200mg/m²/回以上の群ではAST及びALTの高値（投与開始前に比べて約4～9倍の増加）がみられたが、いずれも休薬により消失した。一方、リン酸フルダラビンの単独投与群で投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

以上のように、リン酸フルダラビン併用群で観察された神経症状はネララビン単独投与時に観察されたものと類似していたが、併用群では骨髓抑制の増強に起因すると考えられる敗血症による死亡も観察されたことから、リン酸フルダラビンの併用投与により骨髓抑制は増強するものと考えられる。

2.6.6.8.2. 血液適合性（溶血性及び血漿蛋白凝固性）に関する試験

4.2.3.7.7.2

ネララビンの溶血性及び血漿蛋白凝固性の有無について、ヒトの血液及び血漿を用いて検討した。検討では、ヒトの赤血球懸濁液（0.9%塩化ナトリウム水溶液に懸濁して調製）及び血漿、ネララビンの10mg/mL溶液（媒体；0.9%塩化ナトリウム水溶液あるいは5%デキストリン溶液）を用いた。

溶血性に関する検討では、37℃条件下、0.1あるいは0.4mLの媒体、陽性対照液（水）及び被験物質溶液に2mLの50%赤血球懸濁液を混合した。被験物質溶液の調整比（被験物質溶液：赤血球懸濁液）は、ネララビン曝露量の全血量に対する比率がヒトに35及び140mg/kg/日を静脈内投与したときと同じと推定される（ヒトの血液量を70mL/kgと仮定した場合）それぞれ1：20及び1：5とした。遠心分離後の上清を目視して溶血の有無を確認し、吸光度（540nm）測定により遊離ヘモグロビン濃度を測定した。その結果、溶血及び遊離ヘモグロビン濃度の上昇は認められなかった（2.6.7.17.2参照）ことから、ネララビンに溶血性はないものと考えられる。

血漿蛋白凝固性に関する検討では、37℃条件下、0.4あるいは1.0mLの媒体対照液及び被験物質溶液に4mLの血漿を混合して、30分間インキュベートした。被験物質溶液の調整比（被験物質溶液：血漿）は、ネララビン曝露量の全血漿量に対する比率がヒトに40及び100mg/kg/日を静脈内投与したときと同じと推定される（ヒトの血漿量を40mL/kgと仮定した場合）それぞれ1：10及び1：4とした。その後、目視での観察を行い、比濁計を用いて

濁度を測定した。その結果、蛋白凝集及び濁度の上昇は認められなかった（2.6.7.17.2 参照）ことから、ネララビンに血漿蛋白凝固性はないものと考えられる。

以上のことから、10mg/mL 溶液（媒体：0.9%塩化ナトリウムあるいは5%デキストリン溶液）に溶血性及び血漿蛋白凝固性はみられず、ネララビンの血液適合性に問題はないと考えられる。

2.6.6.8.3. 免疫毒性

ネララビンの免疫機能に対する有害作用について、「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン」（平成 18 年 4 月 18 日、薬食審査発第 0418001 号）を参考に検討した結果、ネララビンは、反復静脈内投与試験において、白血球数、好中球数及び単球数の減少、頸部及び腸間膜リンパ節のリンパ球枯渇あるいは胸腺重量の減少などが観察されたことから、免疫抑制作用を有すると考えられる。

低分子医薬品（分子量 6000 以下）は免疫原性が低く、完全抗原にはならないとされている[Amos, 1978]。ネララビンの分子量は 297.27 である（2.3.S.1.2 参照）ことから、完全抗原とはなり得ないと考えられる。ネララビン及びその代謝物は、生体内の核酸構成成分であるグアニンの誘導体であり（2.6.4.5.3 参照）、ネララビン及び ara-G の血漿蛋白結合率は 25% 未満と非常に低い（2.6.4.4.2 参照）ため、ハプテンとして機能する可能性は低いと考えられる。また、海外臨床試験（PGAA1001、PGAA1005、PGAA2001、PGAA2002）では、グレード 3/4 のリンパ球数の減少がみられた（2.7.6.1.1.1、2.7.6.1.1.4、2.7.6.3.1 及び 5.3.5.2.2 参照）。これらのことから、ネララビンが抗原性を示す可能性は低いと考えられる。

2.6.6.8.4. 不純物の毒性

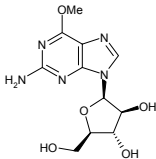
原薬又は製剤で安全性評価が必要な閾値（原薬：0.05%、製剤：0.15% [本剤の成人 1 日用量 1500mg/m²＝約 2g]）を超えて個別に規格値が設定されている不純物は、179U60（ %）、GSK655640A（ %）、GSK560423A（ %）及び GW460688X/MW=315d（ %）の計 4 種類である。なお、144U51（ %）及び GI186898X（ %）については、それぞれ生体内物質のウラシル及び活性代謝物の ara-G であり、不純物としての安全性評価は不要と考え、検討対象外とした。

「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン」（平成 14 年 12 月 16 日、医薬審発第 1216001 号）及び「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン」（平成 15 年 6 月 24 日、医薬審発第 0624001 号）によると、不純物の安全性評価のために遺伝毒性試験及び一般毒性試験が必要とされている。遺伝毒性試験については、ネララビンは遺伝毒性を有していることから、原薬に不純物を添加して遺伝毒性試験を実施しても陽性の結果が得られることが予想されたため、実施しなかった。また、一般毒性試験については、これらの不純物が含まれているバッチを用いたサル 5 日間静脈内投与試験又はサルにおけるリン酸フルダラビンとの併用静脈内投与試験（ネララビン単独投与群）の成績より、不純物の安全性を評価した。

179U60、GSK655640A、GSK560423A 及び GW460688X/MW=315d の化学構造を表 2.6.6-8 に示した。なお、MW=315d については、化学構造は特定されていないが、ネララビンから

GW460688X が生成される過程で生じる中間体と考えられており、このことから推定される構造について記載した。これらの不純物は、いずれもネアラビンと構造が類似していた。

表 2.6.6-8 ネアラビン及び不純物の化学構造

化合物 ^{#1} (規格値)	構造式
ネアラビン	
179U60 (████ %)	A
GSK655640A (████ %)	B
GSK560423A (████ %)	C
GW460688X (GW460688X/MW=315d とし て ████ %)	D
MW=315d (GW460688X/MW=315d とし て ████ %)	GW460688X 及び/又はその異性体 +アラビノース(推定構造)

#1：原薬及び製剤でそれぞれ 0.15 及び 0.05% を超える規格値が個別に設定されている不純物 (原薬及び製剤に含まれて規格値が両基準に該当する不純物の規格値についてはいずれか高い方を記載)

新薬承認情報提供時に置き換え

179U60、GSK655640A 及び GSK560423A はサル 5 日間静脈内投与試験、GW460688X/MW=315d はリン酸フルダラビンとの併用静脈内投与試験（1 日 1 回の隔日 7 回投与）に用いたバッチに含まれており、これらの試験から算出した安全係数（[最大耐量：死亡が認められない用量] ÷ [予定臨床最大用量]）は、GSK655640A で 0.4 倍、それ以外では 2.6～23 倍であった（表 2.6.6-9）。更に、179U60 については、マウスにおいて 0.28% の割合で生成される代謝物であり（図 2.6.4-2 参照）、マウス 5 日間静脈内投与試験における無毒性量が 200mg/kg/日であったことから、0.56mg/kg/日（予定最大臨床用量の約 5 倍）まで安全性は確認されている。GSK655640A の安全係数は 0.4 倍であったが、この不純物はネララビンの 2 位アミノ基にピラン環が結合した化合物であり、ネララビンと構造が類似していた（表 2.6.6-8）。

これらのことと、本邦での推定臨床投与期間は 3～4 サイクル（実質投与期間：9～20 日間）と短期間であること（2.4.1 参照）を考え合わせると、臨床使用において危惧すべき新たな毒性が発現する可能性は低いと考えられる。

表 2.6.6-9 不純物の安全係数

不純物		179U60	GSK655640A	GSK560423A	GW460688X /MW=315d
不純物の規格値(%)		■	■	■	■
試験	使用ロット	各不純物含量(%)			
サル 5 日間 [最大耐量：150mg/kg]	506U78UE	■	■	■	■
サル併用毒性 [最大耐量：200mg/kg] ^{#1}	7A2793 /13297-026	■	■	■	■
安全係数 ^{#2}		3.5	0.4	23	2.6

最大耐量：死亡が認められない用量、-：不明又は未検出

#1：ネララビン単独投与群

#2：安全係数= [(最大耐量 mg/kg)(不純物含量%) ÷ 100] ÷ [(規格値%)(成人 40mg/kg) ÷ 100]

2.6.6.9. 考察及び結論

単回投与毒性

マウスでは単回静脈内投与試験における概略の致死量は 1800mg/m² (600mg/kg) を超える量と推定された。また、サル の 5 日間静脈内投与時の急性毒性を評価した結果、3600mg/m²/日群で死亡がみられたことから、概略の致死量は 3600mg/m²/日 (300mg/kg/日) と推定された。

反復投与毒性

マウス及びサル の反復静脈内投与試験で観察された主な毒性所見を表 2.6.6-10 に示した。

表 2.6.6-10 反復静脈内投与試験で観察された主な毒性所見

試験	マウス 5 日間		サル 5 日間		サル 30 日間	
	600~1800mg/m ² /日 [200~600mg/kg/日]		720,1800,3600mg/m ² /日 [60, 150, 300mg/kg/日]		120, 240, 480mg/m ² /日 [10, 20, 40mg/kg/日]	
所見	LOEL	NOEL	LOEL	NOEL	LOEL	NOEL
死亡 (切迫と殺含む)	1500 [500]	1200 [400]	3600 [300]	1800 [150]	240 [20]	120 [10]
神経症状 (振戦、痙攣など)	-		720 [60]	<720 [<60]	120 [10]	<120 [<10]
脳・脊髄白質変性・空胞化	NA		-		480 [40]	240 [20]
赤血球パラメータの減少	NA		720 [60]	<720 [<60]	120 [10]	<120 [<10]
血小板数減少	NA		720 [60]	<720 [<60]	♂480 [♂40]	♂240 [♂20]
白血球数・好中球数・ 単球数減少	NA		720 [60]	<720 [<60]	120 [10]	<120 [<10]
頸部・腸間膜リンパ節のリンパ球枯渇、 脾臓萎縮、 骨髓低形成	NA		3600 [300]	1800 [150]	-	
胸腺重量低値	NA		-		120 [10]	<120 [<10]
腸管粘膜上皮の成熟抑制	NA		3600 [300]	1800 [150]	-	
嘔吐	-		1800 [150]	720 [60]	-	

- : 観察されず、LOEL : 最小影響量 (mg/m²/日[mg/kg/日])、NOEL : 無影響量 (mg/m²/日[mg/kg/日])

NA : 該当せず(器官重量測定、病理組織学的検査及び血液学的検査 ; 未実施)

1) 死亡

マウス 5 日間静脈内投与試験では、1500mg/m²/日 (500mg/kg/日) 以上の群で活動性低下、浅呼吸、眼瞼下垂などがみられ、休薬 5~8 日に死亡が認められたが、死因は不明であった。

サル の 5 及び 30 日間静脈内投与試験では、それぞれ 3600mg/m²/日 (300mg/kg/日) 群及び 240mg/m²/日 (20mg/kg/日) 以上の群で死亡 (切迫と殺例含む) がみられた。死亡例では痙攣などの神経症状が重度に観察されていたことから、死因はこれらの神経症状の発現に関連したものと考えられる。

2) 神経毒性

神経症状としては、振戦、痙攣、筋痙縮、協調運動障害、運動失調、奥行き知覚の障害などが観察されており、高用量群では上記のように死亡も認められた。これらの症状は投与開始から数日あるいは数週間（休薬期間含む）経過してから発現が始まり、用量が高いほど早期に発現した。また、病理組織学的検査では、脳・脊髄白質の変性及び空胞化が 480mg/m²/日の 23 日間投与でみられたが 3600mg/m²/日の 5 日間投与では認められなかった。末梢神経組織（橈骨神経及び坐骨神経）に病理組織学的変化は認められなかった。神経症状は休薬により軽減したが、脳・脊髄白質の所見は消失しなかった。これらのことから、神経症状の発現時期は遅発性で、神経症状の程度は用量／時間相関的であり、休薬により症状は軽減するものの、病理組織学的所見は非可逆的と考えられる。

神経毒性が発現したサルの 480mg/m²/日群（23 日間投与）では、試験 23～28 日剖検例で脳組織（小脳・大脳前頭皮質・大脳/海馬・大脳/視床）のミトコンドリア DNA 量が対照群と比べて最大 92%減少した。70 日間休薬後の剖検例でも最大 74%減少しており、回復性は認められなかった。これらのことから、神経毒性の発現には神経組織におけるミトコンドリア障害が関与しており、回復性は乏しいと考えられる。

ネララビンと同様にミトコンドリアの障害により神経毒性を発現する薬剤としては、ヌクレオシド誘導体の抗ウイルス薬（ザルシタビン、ジダノシン、スタブジンなど）が知られている。これらの薬剤では、ラットの坐骨神経で軸索変性及びミエリン崩壊、サルで軸索変性、ウサギの髄鞘でシュワン細胞及び髄鞘の障害、ヒトで軸索変性及びミエリン構造の変性がみられ、臨床症状としては、四肢の灼熱感、うずくような痛み、足の引きつりなどの末梢性神経障害がみられている[Peltier, 2002; Dalakas, 2001]。

ネララビンとこれらの抗ウイルス薬を比較すると、ネララビンでもヒトにおいて抗ウイルス薬で観察されたような末梢性神経障害がみられたが、それ以外にも中枢神経系障害も高頻度に認められた（後述）。また、実験動物において、ネララビンで観察されなかった末梢神経組織の形態学的変化が抗ウイルス薬では認められている。このように、ネララビンと抗ウイルス薬の神経毒性はともにミトコンドリア障害により発現するものと考えられるが、発現症状と形態学的変化に違いが認められた。

静脈内投与あるいは検査時に動物を鎮静化するために、NMDA 受容体拮抗薬で低頻度（ネコでは約 5%、イヌでは約 3%以下）ながら痙攣などを発現する麻酔剤のケタミン塩酸塩[動物医薬品協同組合]を用いたところ、麻酔作用の増強及び痙攣・筋痙縮・振戦が発現し、休薬期間に神経症状が消失していた動物においても、ケタミン塩酸塩の投与により痙攣などが発現した。ケタミン塩酸塩はラットでは反復投与により神経細胞のアポトーシスを誘導する。また、単回投与でも投与 2 時間後に視床において炎症、酸化ストレス、ミトコンドリア機能の低下などの異常を示唆する遺伝子の発現がみられ、24 時間後には前頭葉で神経細胞の壊死が認められる[Wright, 2005]。これらのことから、ケタミン塩酸塩により誘発された神経症状は、脳神経組織におけるミトコンドリア障害の増強により発現した可能性が考えられる。

臨床経験が少ない開発前期の海外第 I 相臨床試験 (2.7.2.2.1 参照) では、グレード 3 以上の発作、錯乱、四肢痛、末梢性ニューロパシー、ギランバレー症候群様の症状、失調など、重度な神経系障害の有害事象が観察されており、ネララビンの用量制限毒性は神経毒性と判断されている。また、前述のサル反復投与毒性試験で観察された神経毒性 (脳・脊髄の病理組織学的変化、脳組織におけるミトコンドリア障害) と同様に、海外第 II 相臨床試験の約 3 割の被験者で投与中止後も神経症状は完全に回復しなかった (2.5.5.11 参照)。これらのことから、臨床使用において重度の神経毒性の特徴を明らかにするために、非臨床試験及び臨床試験で観察された神経毒性の種類 - 用量 / 発現順序の関連性について検討した。

サル 5 及び 30 日間静脈内投与試験で観察された主な神経症状を表 2.6.6-11 及び表 2.6.6-12 に示した。ケタミン塩酸塩投与時に発現した症状を除いた場合、240mg/m²/日以上以上の群の計 17 例で神経症状の発現がみられ、720mg/m²/日以上以上の群では発現初日に複数の症状が認められた。これらの神経症状のうち発現初日に観察された症状は、振戦が 240mg/m²/日以上以上の計 10 例で、筋痙縮が 720 及び 3600mg/m²/日群の各 1 例の計 2 例で、協調運動障害が 1800 及び 3600mg/m²/日群のそれぞれ 1 及び 2 例の計 3 例で、奥行き知覚障害が 720 及び 3600mg/m²/日群のそれぞれ 2 及び 1 例の計 3 例で、運動失調が 720mg/m²/日群の 2 例で、痙攣が 240 及び 1800mg/m²/日群の各 1 例の計 2 例にみられた。発現初日以降も神経症状がみられた 5/11 例では、発現初日に個々の動物でみられた症状 (240mg/m²/日の 3M03 : 粗大振戦、720mg/m²/日の 2M02 : 筋痙縮、720mg/m²/日群の 2F01 及び 2F02 : 運動失調、1800mg/m²/日群の 2F02 : 痙攣) が繰り返し発現した。このように、発現初日の症状として多くの動物で振戦がみられたが、神経症状の発現様式 (種類と順序) に一定の傾向は認められなかった。

30 日間静脈内投与試験では、末梢神経組織の病理組織学的変化はみられなかったが、脳・脊髄白質部の空胞化及び変性が認められた。上記の振戦あるいは筋痙縮などの不随意運動、運動失調などの神経症状は、小脳障害、脊髄小脳変性症、中枢神経系の脱髄疾患などの神経疾患で発現することが知られている [和田, 1995, p28~31, p156~7, p124~5]。特に、3600mg/m²/日群で観察された振戦は動作時に発現しており、小脳性失調で特徴的に観察される症状と類似していた [和田, 1995, p28~9]。これらのことから、ネララビンの神経毒性は中枢神経系障害に起因して発現するものと考えられる。

表 2.6.6-11 サル 30 日間静脈内投与試験で観察された主な神経症状

4.2.3.2.3 の APPENDIXII より作成

用量 (mg/m ²)	動物番号	所見	発現日		
120	2F02	粗大振戦・痙攣	D30 ^{#1}		
240	3M01	痙攣	D24	D30 ^{#1}	
		粗大振戦	D30 ^{#1}		
	3M03	粗大振戦	D19	D23	
		切迫と殺	D28		
3F02	粗大振戦・痙攣	D30 ^{#1}			
480	4M01	粗大振戦	D21	PD21	
		微細振戦	PD21 (~PD70)		
		痙攣	PD64 ^{#1}		
	4M02	粗大振戦	D19	D21	
		痙攣	D21 PD1 PD2		
		切迫と殺	PD2		
	4M03	粗大振戦	D19		
		起立不能	D23		
		切迫と殺	D23		
	4F01	粗大振戦	D22	D23	
		痙攣	D23		
		切迫と殺	PD5		
	4F02	粗大振戦	D20	PD7 ^{#1}	PD21
		痙攣	PD7 ^{#1} PD64 ^{#1}		
		微細振戦	PD21 (~PD70)		
	4F04	粗大振戦	PD1	PD7 ^{#1}	
痙攣		PD7 ^{#1} PD64 ^{#1}			

投与1日=D1、休薬1日=PD1（休薬期間は網掛け）、#1：塩酸ケタミン投与後に発現した症状

海外臨床試験データの併合解析で神経系障害の有害事象と累積投与量との間に関連性がみられなかった（2.7.4.2.1.1.1 参照）ことから、神経系障害の有害事象の種類と用量との関連性について、5mg/kg～2900mg/m²（最高用量）までの幅広い用量でネララビンを単独投与した海外第I相臨床試験（PGAA1001、PGAA1002 及び PGAA1003）（表 2.7.2-5 参照）の結果を用いて検討した。

これらの試験において、最大耐量（MTD）に近い用量で発現したグレード 3/4 の神経系障害の有害事象のうち、5例（5%）以上の有害事象（ネララビンとの因果関係が否定できない）は、歩行異常、末梢性ニューロパシー、錯乱状態、失調、傾眠及び感覚減退であった。個々の神経系障害の有害事象の発現頻度に用量依存性はみられず、高用量で特異的に発現する有害事象も認められなかった（表 2.6.6-13 参照）。また、これらの神経系障害の有害事象は、中枢神経系（錯乱状態、傾眠など）と末梢神経系（末梢性ニューロパシーなど）の双方への影響を示唆するものであった。

これらのことから、ヒトでは神経症状の種類と用量との間に関連性はみられず、ネララビンの神経毒性は神経系の特定部位の障害によるものではないと考えられる。

表 2.6.6-12 サル 5 日間静脈内投与試験で観察された主な神経症状

4.2.3.2.2 の TABLE 3D (p56~8) 及び TABLE 3C (p254~5) より作成

用量 (mg/m ²)	動物 番号	所見	発現日
720	2M02	筋痙縮	P9 P10 P15 P21 P22 P27 P30 ^{#1} P43 P50 ^{#2}
		運動失調	P10 P15 P21 P27 ^{#3}
		奥行き知覚障害	P10
	2F01	筋痙縮	P30 ^{#1}
		運動失調	P10 P15 ^{#3}
		奥行き知覚障害	P10
1800	2M02	振戦	P16
		協調運動障害	P16
		痙攣	P58 ^{#1}
		筋痙縮	P62 ^{#1}
	2F02	痙攣	P5 P6 P7 ^{#1}
3600	3M01	前腕運動障害	P7
		協調運動障害	P7
		死亡	P8
	3M02	動作時振戦	P1
		切迫と殺	P1
	3F01	筋痙縮	P7 P8
		奥行き知覚障害	P7
		協調運動障害	P7 P16
		振戦	P8 P9 P16
		警戒	P8 P10
		痙攣	P10 P58 ^{#1} P62 ^{#1}
	3F02	動作時振戦	P1 P2 P3
		警戒	P1 P2
		切迫と殺	P3

休薬 1 日 = P1、#1：塩酸ケタミン投与後に発現した症状

#2：720mg/m² 群の 2M02 で観察された筋痙縮は休薬 57 日に消失#3：720mg/m² 群の 2F01 及び 2F02 で観察された運動失調はそれぞれ休薬 36 及び 21 日に消失

神経系障害の有害事象の種類と発現順序について、次の症例（計 8 例）を対象に検討した。

- i) 最高用量の 2900mg/m² を投与した海外臨床第 I 相臨床試験（PGAA1003 試験）において神経系障害の有害事象の発現により投与を中止した症例（計 4 例）
- ii) 臨床用法で 1500（臨床用量）及び 2200mg/m² を投与した海外臨床第 II 相臨床試験（PGAA2002）において、神経系障害の有害事象の発現により投与を中止した症例及び重度の神経系障害の有害事象が発現した症例（計 4 例）

PGAA1003 試験（5.3.3.2.3 参照）で神経系障害の有害事象による投与中止例は、2900mg/m² 群の 2 例（被験者識別番号：495、496）及び 2200mg/m² 群の 2 例（507、508）であった。これらの 4 例では、傾眠（全例）、反射減弱（3 例）、失調及び末梢性ニューロパシー（各 2 例）などがみられ、観察された神経系障害の有害事象は類似していたが、個々の患者における神経系障害の有害事象の発現順序に一定の傾向は認められなかった（表 2.6.6-14 参照）。

PGAA2002 試験（5.3.5.2.2 参照）では、神経系障害の有害事象による投与中止例は 1500mg/m² 群の 2 例（被験者識別番号：82761、78326）、重度の神経系障害の有害事象が発現した症例は 2 例（84144、86748）であった。これらの 4 例では、末梢性感覚ニューロパシ

一（3例）、会話障害あるいは失語症（2例）、錯乱状態（2例）などがみられ、観察された神経系障害の有害事象は類似していた。これらの症例のうち2例では、末梢性感覚ニューロパシー以外の神経系障害の有害事象は認められなかった。残りの2例では、発現初日に複数の神経系障害の有害事象がみられ、錯乱状態が発現した点で類似していたが、それ以降の症状は、各々、痙攣あるいは失語症で、有害事象の種類と発現順序に一定の傾向は認められなかった（表 2.6.6-15 参照）。

上記のとおり、海外臨床試験で観察された神経系障害の有害事象は、中枢神経系障害（痙攣、会話障害、失語症など）、精神状態変化（錯乱状態、傾眠）、末梢神経系障害（末梢性ニューロパシー、感覚減退、錯感覚など）あるいはその他に分類される事象（歩行障害、失調など）[5.3.5.3.2/refで規定された分類（Table 3～Table 6 参照）]であり、発現する神経系障害の有害事象の種類に用量との関連性はみられず、発現順序にも一定の傾向も認められなかった。

以上、神経毒性の発現様式に関する検討結果をまとめると、サル反復静脈内投与試験でみられた神経症状（不随意運動、運動失調など）は、末梢及び中枢神経系のいずれの障害でも発現するが[和田, 1995, p30～1]、病理組織学的検査において、末梢神経組織の変化はみられなかったが、脳・脊髄の空胞化及び変性が認められたことから、中枢神経系障害に起因したものと考えられる。しかしながら、海外臨床試験では、中枢神経系障害（痙攣、会話障害など）だけではなく、末梢神経系障害（末梢性ニューロパシーなど）も高頻度に観察された。

サル反復静脈内投与試験及び海外臨床試験成績を基に神経症状の種類 - 用量／発現順序の関連性について検討した結果、サルでは低用量から振戦、痙縮などの症状がみられ、高用量群では協調運動障害などの所見を伴い、死亡が発現するなど、神経症状の程度に用量相関性が認められたが、ヒトでは神経症状の種類と用量との間に関連性はみられず、サル及びヒトで神経症状の発現順序に一定の傾向は認められなかった。

また、ネララビンと同様にミトコンドリア障害により神経毒性が発現するヌクレオシド誘導体の抗ウイルス薬との比較では、末梢神経系障害がともにみられたが、ネララビンでは中枢神経系障害も高頻度に認められた。また、実験動物では、ネララビンでみられなかった末梢神経組織の形態学的変化が抗ウイルス薬では認められるなど、ネララビンと神経毒性の特性に違いが認められた。

このように、非可逆的となる可能性がある神経毒性の発現様式に一定の傾向が認められなかったことから、臨床使用においては、神経系障害（1.8.1 参照）[特に高頻度で観察された神経系障害の有害事象]の徴候及び症状の有無を全般的に注意深く観察することが必要と考えられる。

表 2.6.6-13 成人を対象とした海外第 I 相臨床試験 (PGAA1001、PGAA1002 及び PGAA1003) :
 グレード 3/4 のネララビンとの因果関係が否定できない神経系障害の有害事象 (MTD に近い用量のみ表示, N=110)

表 2.7.2-6 を一部改変

有害事象, n(%)	20 mg/kg (N=5)	900 mg/m ² (N=9)	1200 mg/m ² (N=16)	1200 mg/m ² (N=7)	1500 mg/m ² (N=1)	40 mg/kg (N=30)	60 mg/kg (N=5)	1800 mg/m ² (N=4)	2200 mg/m ² (N=20)	2500 mg/m ² (N=11)	2900 mg/m ² (N=2)	合計 (N=110)
歩行異常			1 (6)			3 (10)	3 (60)					7 (6)
末梢性ニューロパシー			1 (6)			2 (7)	1 (20)		2 (10)			6 (5)
錯乱状態				1 (14)		3 (10)	1 (20)		1 (5)			6 (5)
失調			3 (19)								2 (100)	5 (5)
傾眠	1 (20)				1 (100)	1 (3)			1 (5)	1 (9)		5 (5)
感覚減退			1 (6)	1 (14)		2 (7)	1 (20)					5 (5)
精神状態変化	1 (20)					2 (7)						3 (3)
嗜眠						1 (3)				1 (9)		2 (2)
錯感覚						1 (3)			1 (5)			2 (2)
痙攣		1 (11)				1 (3)						2 (2)
筋力低下						1 (3)			1 (5)			2 (2)
筋痛									1 (5)			1 (1)
失語症									1 (5)			1 (1)
平衡障害									1 (5)			1 (1)
ニューロミオパシー									1 (5)			1 (1)
会話障害									1 (5)			1 (1)
神経毒性						1 (3)						1 (1)
視覚障害						1 (3)						1 (1)
歩行困難						1 (3)						1 (1)
脳症						1 (3)						1 (1)
反射減弱						1 (3)						1 (1)
弛緩性麻痺						1 (3)						1 (1)
ミオクローヌス							1 (20)					1 (1)
幻覚			1 (6)									1 (1)
幻視							1 (20)					1 (1)
腓骨神経麻痺							1 (20)					1 (1)
四肢痛			1 (6)									1 (1)

表 2.6.6-14 神経系障害の有害事象の発現様式 (PGAA1003 試験)

5.3.3.2.3 の Table15.9、Table15.14 より作成

識別番号	用量 (mg/m ²)	神経学的有害事象名 ^{#1}	グレード (発現日 ^{#2})
495	2900	傾眠	1 (C1/D6) 1 (C1/D38)
		失調	3* (C1/D8)
496	2900	失調	3* (C1/D8)
		錯感覚	1 (C1/D11)
		傾眠	1 (C1/D12)
		反射減弱	1 (C1/D29)
507	2200	傾眠	1 (C1/D8)
		歩行障害	2 (C2/D8)
		平衡障害	2 (C2/D11)
		末梢性ニューロパシー	3* (C5/D22)
		反射減弱	1 (C5/D44)
508	2200	錯乱状態	3 (C1/D3)
		傾眠	4 (C1/D4)
		反射減弱	1/2 (C1/D7)
		末梢性ニューロパシー	3* (C1/D28)

* : 投与中止の原因となった有害事象

#1 : ネララビンとの因果関係が否定できない有害事象 [MedDRA/J (version 8.1)を用いて翻訳]

#2 : サイクル数/各サイクル開始後の経過日数 (C/D)、最終投与日以降は網掛け

3) その他の毒性

造血器及び胃腸管への影響として、頸部・腸間膜リンパ節のリンパ球枯渇、脾臓萎縮、骨髓低形成及び腸管粘膜上皮の成熟抑制が 3600mg/m²/日の 5 日間静脈内投与でみられ、胸腺重量の低値が 120mg/m²/日の 30 日間静脈内投与で認められた。これらの造血器に対する影響に関連すると考えられる血液学的影響として、主に好中球数・単球数の減少に伴う白血球数の減少並びに赤血球数及び血小板数の減少がみられた。これらの変化はいずれも休薬により消失し、リバウンドによる血小板あるいは白血球増多も観察されたことから、可逆的なものと考えられる。造血器あるいは胃腸管などの細胞増殖が活発な器官に対する作用は、ネララビンと同様の細胞毒性型の抗癌剤では一般的に観察される副作用であり、細胞増殖抑制作用に関連したものと考えられる。

その他、嘔吐が 1800mg/m²/日以上静脈内投与中あるいは投与終了後 15 分以内にみられたが、発現頻度は用量に応じたものではなかった。また、肝臓への影響を示唆する可逆的な ALT、AST 及び総ビリルビンの高値が 2400mg/m²/日 (200mg/kg/日、リン酸フルダラビンとの併用毒性試験のネララビン単独投与群) で認められた。

表 2.6.6-15 神経系障害の有害事象の発現様式 (PGAA2002 試験)

5.3.5.2.2 の Section 8.5、Listing 16.23 及び 5.3.7.2 より作成

識別番号	用量 (mg/m ²)	神経学的有害事象名 ^{#1}	グレード (発現日 ^{#2})					
			1 (D1)	1 (D30)	1 (D62)	1 (D90)	2* (D132)	1 (D149)
82761	1500	末梢性感覚ニューロパシー	1 (D1)	1 (D30)	1 (D62)	1 (D90)	2* (D132)	1 (D149)
78326	1500	末梢性感覚ニューロパシー	1 (D1)	1 (D27)	2* (D53)			
84144	1500	末梢性感覚ニューロパシー	1 (D1)					
		健忘	1 (D1)					
		失調	1 (D1)					
		錯乱状態	3 (D1)					
		末梢性運動ニューロパシー	1 (D1)					
		会話障害	2 (D1)					
		痙攣		3 (D8)				
86748	1500	錯乱状態	3 (D1)					
		眼振	1 (D1)					
		失語症		3 (D6)				

* : 投与中止の原因となった有害事象

#1 : ネララビンとの因果関係にかかわらず発現した有害事象 [MedDRA/J (version 8.1)を用いて翻訳]

#2 : 投与開始日=D1、最終投与日以降は網掛け

4) トキシコキネティクス

ネララビン及び活性代謝物である ara-G の C_{max} 及び AUC_{0-t} は投与量に比例して増加し、性差及び反復投与による蓄積は認められなかった (表 2.6.6-16)。

5) 無毒性量・死亡が認められなかった用量・曝露量

無毒性量は、マウスの 5 日間静脈内投与試験では 600mg/m²/日 (200mg/kg/日) と推定されたが、サルの 5 及び 30 日間静脈内投与試験ではそれぞれ 720 及び 120mg/m²/日 (60 及び 10mg/kg/日) 未満であった。しかしながら、予定臨床投与期間に相当する 5 日間のマウス及びサルの反復静脈内投与試験では、それぞれ 1200 及び 1800mg/m²/日 (400 及び 150mg/kg/日) までの投与において死亡はみられず、いずれの所見も休薬により軽減が認められた。サルの 1800mg/m²/日を投与したときの ara-G の C_{max} 及び AUC_{0-t} は、ヒト (成人) の約 2 倍であった (表 2.6.6-16)。

6) 毒性所見と臨床で観察された有害事象

なお、臨床試験 (2.5.5.11 参照) で高頻度に発現した有害事象は、神経毒性、血液毒性 (貧血、白血球数・血小板数減少)、胃腸管毒性 (下痢、嘔吐、便秘) であり、サルで観察された毒性所見と類似していた。

表 2.6.6-16 サルの反復投与毒性試験における ara-G の曝露量とヒト曝露量との比較

動物種 (投与期間)	性別	投与量 (mg/m ² /日) [mg/kg/日]	C _{max} (μM)	ヒト(成人) C _{max} 比	AUC _{0-t} (μM·hr)	ヒト(成人) AUC _{0-t} 比
サル (5日間)	♂	720 [60]	138	1.2	727	1.4
		1800 [150]	253	2.2	1032	1.9
		3600 [300]	446	3.9	2819	5.3
	♀	720 [60]	112	1.0	436	0.8
		1800 [150]	273	2.4	1053	2.0
		3600 [300]	544	4.7	3822	7.1
サル (28日間)	♂	120 [10]	23	0.2	68	0.1
		240 [20]	52	0.5	167	0.3
		480 [40]	90 ^{#1}	0.8	294 ^{#1}	0.5
	♀	120 [10]	25	0.2	71	0.1
		240 [20]	51	0.4	158	0.3
		480 [40]	96 ^{#1}	0.8	321 ^{#1}	0.6
ヒト	成人 ^{#2}	1500 [40]	115	NA	535	NA

NA：該当せず

#1：投与3日（神経症状により投与24日以降の投与を中止したため、投与3日のデータ）

#2：5.3.5.3.1 Table 7 参照

遺伝毒性

ネララビンはマウスリンフォーマ TK 試験で遺伝子突然変異誘発能及び染色体異常誘発能を示し、各種 DNA ポリメラーゼ活性及び DNA 鎖伸長反応を阻害することから、遺伝毒性を有すると考えられる。

なお、本薬の遺伝毒性の強度について、マウスリンフォーマ TK 試験で陽性を示した最小影響量を指標として比較した結果、他の抗がん剤と比べて遺伝毒性は弱いと考えられる（表 2.6.6-17）。

表 2.6.6-17 ネララビンと類薬のマウスリンフォーマ TK 試験成績の比較

分類	代謝拮抗剤			アルキル化剤		抗生物質		トポイソメラーゼ阻害剤	
	506U78	Ara-C ^{#1}	MTX ^{#2}	CP ^{#2}	BUS ^{#2}	MMC ^{#2}	MIT ^{#3}	VP-16 ^{#4}	m-AMSA ^{#5}
最小影響量 (μg/mL)	500	1.25	0.15	1	3	0.02	0.0003	0.02	0.001

506U78：ネララビン、Ara-C：シタラビン、MTX：メトトレキサート、CP：シクロフオスファミド、BUS：ブスルファン、MMC：マイトマイシン C、MIT：ミトキサントロン、VP-16：エトポシド、m-AMSA：Amsacrine (国内未承認薬)

#1：[McGregor, 1989]、#2：[Clive, 1979]、#3：[Manandhar, 1986]、#4：[Ashby, 1994]、#5：[Backer, 1990]

がん原性

遺伝毒性を有する化学物質は極少量でも発がん性の可能性が考えられており、本薬と同様に DNA 合成を阻害し遺伝毒性を有する代表的な抗がん剤であるシタラビン、リン酸フルダラビンあるいはメトトレキサートでも、二次悪性腫瘍（急性白血病、骨髄異形成症候群、悪性リンパ腫など）の発生する可能性が示唆されている[キロサイド N 注 Package Insert, 1999; フルダラ静注用 50MG Package Insert, 2005; メソトレキサート錠 2.5MG Package Insert, 2005]。

ネララビンについては、がん原性試験を実施していないため明らかではないが、前述の遺伝毒性の特性及び類薬の情報を考慮すると、がん原性を有する可能性は否定できないものと考えられる。

生殖発生毒性

ウサギの胚・胎児発生に関する試験では、母動物の 3540mg/m²/日 (300mg/kg/日) 群で流産及び一般状態の悪化に伴う死亡 (切迫と殺) がみられた。胎児では、低用量の 354mg/m²/日 (30mg/kg/日) 以上の群で、胆嚢無発生、肺分葉異常、胸骨分節過剰・癒合、欠指、口蓋裂などが認められたことから、ネララビンは催奇形性を有すると考えられる。

類薬 (シタラビン、リン酸フルダラビン、クラドリビン) では精巣毒性 (精巣萎縮・変性など) あるいは胚致死作用が報告されている[新薬の承認に関する情報]ことから、ネララビンは受胎能及び初期胚発生に対して悪影響を及ぼすと考えられる。

ネララビンは DNA 合成抑制作用を有するため、血液 - 脳・精巣関門 (完成時期: それぞれ生後 6 ヶ月及び思春期) [加藤, 2003; Marty, 2006] が未熟な小児では、性腺及び神経系の発達に悪影響を及ぼす可能性が考えられる。

局所刺激性

静脈内投与による反復投与毒性試験において、投与部位の局所反応性変化 (紅斑、発赤、腫脹など) もみられず、ネララビンに関連すると考えられる炎症細胞浸潤などの病理組織学的変化は認められなかったことから、ネララビンは局所刺激性を有していないと考えられる。

併用毒性

サルにおけるリン酸フルダラビン併用静脈内投与試験では、いずれの薬剤も併用時に単独投与時と比べて曝露量の増大は認められなかったが、併用群では骨髄抑制の増強に伴う敗血症による死亡が観察された。リン酸フルダラビンはネララビンと同じプリン誘導体で、主な副作用として骨髄抑制が知られている[フルダラ静注用 50MG Package Insert, 2005]。これらのことから、ネララビンと骨髄抑制を示す薬剤との併用により、骨髄抑制が増強される可能性が示唆された。なお、ネララビンの神経毒性に併用投与による影響は認められなかった。また、本試験ではネララビン単独及び併用群において、ALT、AST 及び総ビリルビンの高値などの肝臓に対する影響がみられたが、併用投与による増強は認められなかった。

血液適合性 (溶血性及び血漿蛋白凝固性)

ネララビンの 10mg/mL 溶液 (媒体; 5%デキストリン溶液あるいは 0.9%塩化ナトリウム水溶液) の血液適合性について、溶血性及び血漿蛋白凝固性に関する試験を実施した。ヒトに 35~140mg/kg/日を静脈内投与したときと同じと推定される条件下で検討したところ、溶血性及び血漿蛋白凝固性は認められず、ネララビンの血液適合性に問題はないと判断された。

免疫毒性

ネララビンの免疫機能に対する作用を検討した結果、反復静脈内投与試験において、白血球数、好中球数及び単球数の減少、頸部及び腸間膜リンパ節のリンパ球枯渇あるいは胸腺重量の減少などが観察されたことから、ネララビンは免疫抑制作用を有すると考えられる。

ネララビンの分子量は 297.27 (2.3.S.1.2 参照) で完全抗原とはなり難く [Amos, 1978]、ネララビン及びその代謝物は生体内の核酸構成成分であるグアニンの誘導体 (2.6.4.5.3 参照) であり、ネララビン及び ara-G の血漿蛋白結合率は 25%未満と非常に低い (2.6.4.4.2 参照) ため、ハプテンとして機能する可能性は低いと考えられる。また、海外臨床試験では、顕著なリンパ球数の減少がみられた (2.7.6.1.1.1、2.7.6.1.1.4、2.7.6.3.1 及び 5.3.5.2.2 参照)。これらのことから、ネララビンが抗原性を示す可能性は低いと考えられる。

不純物の毒性

原薬又は製剤で安全性評価が必要な閾値を越えて個別に規格値が設定されている不純物は 4 種類であった。これらの不純物を含む原薬が投与されたサル 5 日間静脈内投与試験又はサルにおけるリン酸フルダラビンとの併用静脈内投与試験 (1 日 1 回の隔日 7 回投与、ネララビン単独投与群) の成績を用いて検討した結果、安全係数 ([最大耐量：死亡が認められない用量] ÷ [予定臨床最大用量]) は、3 種で 2.6~23 倍であった。残りの 1 種の安全係数は 0.4 倍であったが、この不純物はネララビンの 2 位アミノ基にピラン環が結合した化合物であり、ネララビンと構造が類似していた。これらのことと、推定臨床投与期間が 3~4 サイクル (実質投与期間：9~20 日間) と短期間であることを考慮すると、臨床使用において危惧すべき新たな毒性が発現する可能性は低いと考えられる。

ネララビンの毒性学的特徴と同種同効薬であるシタラビン (キロサイド N 注) との比較

ネララビンで観察された主な毒性所見について、同種同効薬で薬理作用が類似しているシタラビン (キロサイド N 注) [新薬の承認に関する情報] と比較した。

ネララビンでは、反復投与毒性試験においてサルで神経毒性 (振戦、痙攣、運動失調、奥行き知覚の障害などの神経症状、脳・脊髄白質の変性及び空胞化) 及び血液毒性 (骨髓低形成及びリンパ組織・脾臓の萎縮を伴う赤血球数、白血球数及び血小板数の減少) がみられ、腸管粘膜上皮の成熟抑制も観察された。一方、シタラビンでもラット及びマウスにおいて類似の血液毒性がみられ、精巣の萎縮が観察されているが、神経毒性はシタラビンでは観察されていない。両薬剤で共通に観察された血液毒性及びそれぞれの薬剤で観察された腸上皮あるいは精巣に対する影響については、いずれも細胞増殖が活発な組織・器官に対する影響であることから、両薬剤で共通する細胞増殖抑制作用に関連するものと考えられる。また、ネララビンの高用量で観察された神経毒性を除き、いずれも休薬により消失するものと考えられる。更に、いずれの薬剤も遺伝毒性及び催奇形性が認められている。

以上のことから、ネララビンの毒性学的特徴は神経毒性を除きシタラビンと類似しているものと考えられる。

結 論

単回及び反復静脈内投与毒性試験（最長 30 日間）、遺伝毒性試験（マウスリンフォーマ TK 試験）、生殖発生毒性試験（胚・胎児発生に関する試験）及びその他の毒性試験（血液適合性に関する検討及びリン酸フルダラビンとの併用毒性試験）を実施した。また、局所刺激性、免疫毒性及び不純物の毒性に関して評価した。

サルの反復静脈内投与試験では、用量／時間相関的な神経症状（振戦、痙攣、運動失調、奥行き知覚の障害）がみられ、高用量では死亡及び非可逆的な脳・脊髄白質の変性及び空胞化が認められた。神経症状は休薬により軽減したが、ケタミン塩酸塩の併用により神経症状の増強あるいは誘発が観察された。神経毒性の発現には、脳組織でのミトコンドリアの障害が関与している可能性が考えられる。非臨床及び臨床試験で観察された神経毒性の発現様式について検討した結果、神経症状の発現順序に一定の傾向は認められなかった。その他、可逆的な骨髄抑制、リンパ組織におけるリンパ球枯渇及び腸管粘膜上皮の成熟抑制などが観察された。また、リン酸フルダラビンとの併用では骨髄抑制の増強が認められた。反復静脈内投与試験の結果からネララビンは免疫抑制作用を有すると考えられる。ネララビンは遺伝毒性及び催奇形性を有すると考えられるが、静脈内反復投与において局所刺激性を示唆する所見はみられず、血液適合性（溶血性及び血漿蛋白凝固性）に問題は認められなかった。設定規格値内の不純物により、臨床使用において危惧すべき新たな毒性が発現する可能性は低いと考えられる。サルの 5 日間静脈内投与試験で死亡が認められなかった用量での曝露量は臨床曝露量の約 2 倍であった。

以上より、成人の用法・用量（1500mg/m²/回を隔日に 3 回投与後、16 日間の休薬期間を設け、これを 1 サイクルとして繰り返し投与）で、予期しない重篤な副作用が発現する可能性は低いものと考えられる。ただし、上記毒性試験成績に加えて、薬理学的特性（DNA 合成抑制作用）、類薬情報などを考慮すると、次の点については特に注意すべきと考えられる。

- 1) 神経毒性は非可逆的となる可能性があり、神経毒性の発現様式（種類とその発現順序）に特定の傾向が認められなかったことから、神経系障害の徴候及び症状の有無を全般的に注意深く観察すること。
- 2) 催奇形性を有することから、妊婦又は妊娠している可能性がある女性に対する投与は避けるべきである。
- 3) 神経毒性及び骨髄抑制は、投与量及び投与期間に応じて増強し、ケタミンのような神経系作用薬及び骨髄抑制を示す薬剤との併用により、それぞれの作用が増強する可能性が懸念されるため、これらの点に注意する。
- 4) 遺伝毒性を有することから、がん原性を有する可能性は否定できない。
- 5) 細胞毒性型の抗がん剤であることから、受胎能及び初期胚発生に対して悪影響を及ぼす可能性がある。
- 6) 小児では、血液 - 脳・精巣関門が未熟であることを考慮すると、性腺及び神経系の発達に悪影響を及ぼす可能性がある。

2.6.6.10. 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.6.11. 参考文献

Amos HE. 薬剤によるアレルギー性反応. 東京:近代出版; 1978. p58-9.

Ashby J, Tinwell H, Glover P, Poorman-Allen P, Krehl R, Callander RD, Clive D. Potent clastogenicity of the human carcinogen etoposide to the mouse bone marrow and mouse lymphoma L5178Y cells: comparison to Salmonella responses. *Environ Mol Mutagen.* 1994;24:51-60.

Backer LC, Allen JW, Harrington-Brock K, Campbell JA, DeMarini DM, Doerr CL, Howard DR, Kligerman AD, Moore MM. Genotoxicity of inhibitors of DNA topoisomerases I (camptothecin) and II (m-AMSA) in vivo and in vitro. *Mutagenesis.* 1990;5:541-7.

Clive D, Johnson KO, Spector JF, Batson AG, Brown MM. Validation and characterization of the L5178Y/TK+/- mouse lymphoma mutagen assay system. *Mutat Res.* 1979;59:61-108.

Dalakas MC. Peripheral neuropathy and antiretroviral drugs. *J Peripher Nerv Syst.* 2001;6:14-20.

Manandhar M, Cheng M, Iatropoulos MJ, Noble JF. Genetic toxicology profile of the new antineoplastic drug mitoxantrone in the mammalian test systems. *Arzneimittelforschung.* 1986;36:1375-9.

McGregor DB, Brown AG, Cattanach P, Shepherd W, Riach C, Daston DS, Caspary WJ. TFT and 6TG resistance of mouse lymphoma cells to analogs of azacytidine. *Carcinogenesis.* 1989;10:2003-8.

Marty MS, Chapin RE, Parks LG, Thorsrud BA.. Appendix C-4* Development and Maturation of the Male Reproductive System. In: Hood RD, editor. *Developmental and reproductive Toxicology.* Boca Raton:CRC Press, 2006:1024-47.

Peltier AC, Russell JW. Recent advances in drug-induced neuropathies. *Curr Opin Neurol.* 2002;15:633-8.

Wright LKM, Twaddle N, Branham W, Wang C, Schmued LC, Patterson TA, et al. A single administration of ketamine produces an inflammatory response in the developing rat brain. NBTS 2005 Abstract. *Neurotoxicology and Teratology.* 2005;27:380.

キロサイドN注(シタラビン) Product Information. 11, 1999.

フルダラ静注用 50MG (リン酸フルダラビン) Product Information. 6, 2005.

メソトレキセート錠 2.5MG (メソトレキサート) Product Information. 5, 2005.

加藤 隆一. 臨床薬物動態学. 3rd ed. 東京:株式会社 南江堂; 2003. p37-9.

新薬の承認に関する情報. Available from URL: http://211.132.8.246/shinyaku/shinyaku_index.html

動物用医薬品副作用等情報集. 動物医薬品共同組合. Available from URL:
<http://www.nval.go.jp/vet-cop/index.htm>

和田 攻. イラスト神経内科. 第1版. 東京:株式会社 文光堂; 1995.