

アボルブ カプセル 0.5mg

製造販売承認申請書添付資料

第2部（モジュール2） CTDの概要（サマリー）

2.4. 非臨床試験の概括評価

グラクソ・スミスクライン株式会社

## 非臨床試験の概括評価の目次

	頁
2.4. 非臨床試験の概括評価.....	1
2.4.1. 非臨床試験概略.....	1
2.4.2. 薬理試験.....	1
2.4.2.1. 効力を裏付ける薬理試験.....	1
2.4.2.2. 副次的薬理試験.....	2
2.4.2.3. 安全性薬理試験.....	3
2.4.3. 薬物動態試験.....	3
2.4.3.1. 吸収.....	3
2.4.3.2. 分布.....	3
2.4.3.3. 代謝.....	4
2.4.3.4. 排泄.....	4
2.4.3.5. 薬物動態学的薬物相互作用.....	4
2.4.4. 毒性試験.....	4
2.4.4.1. 単回投与毒性試験.....	5
2.4.4.2. 反復投与毒性試験.....	5
2.4.4.3. 遺伝毒性試験.....	7
2.4.4.4. がん原性試験.....	7
2.4.4.5. 生殖発生毒性試験.....	7
2.4.4.6. 代謝物および不純物の毒性.....	8
2.4.5. 総括および結論.....	9
2.4.6. 参考文献一覧.....	12

## 2.4 の略号等一覧

略語 (略称)	定義・省略されていない名称
5AR	5 $\alpha$ -reductase (5 $\alpha$ 還元酵素)
AUC	Area under the concentration-time curve (血清中濃度-時間曲線下面積)
3 $\beta$ -HSD	3 $\beta$ -hydroxy- $\Delta^5$ -steroid dehydrogenase/3-keto- $\Delta^5$ -steroid isomerase
C <sub>27</sub> -HSD	3 $\beta$ -hydroxy- $\Delta^5$ -C <sub>27</sub> -steroid oxido-reductase
CYP	Cytochrome P450 (チトクローム P450)
C <sub>24</sub>	Concentration at 24 hours after dosing (投与 24 時間後の血清中濃度)
C <sub>max</sub>	Maximum observed drug concentration in blood (最高血清中濃度)
C <sub>ss</sub>	Concentration at steady state (定常状態における血清中濃度)
DHT	Dihydrotestosterone (ジヒドロテストステロン)
ED <sub>30</sub>	前立腺重量を 30% 低下させる用量
GLP	Good Laboratory Practice (医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (高速液体クロマトグラフィー)
HPLC/MS	高速液体クロマトグラフ-質量分析法
IC <sub>50</sub>	50% inhibitory concentration (酵素活性を 50% 阻害する薬物濃度)
k <sub>3</sub> /K <sub>i</sub>	見かけの二次反応速度定数
K <sub>i</sub>	5AR と被験物質の結合反応の第 1 ステップの阻害定数
LH	Luteinising Hormone (黄体形成ホルモン)
t <sub>1/2</sub>	Apparent half life on terminal phase (消失半減期)
t <sub>max</sub>	Time to maximum observed drug concentrations in blood (最高血清中濃度到達時間)

## 2.4. 非臨床試験の概括評価

### 2.4.1. 非臨床試験概略

デュタステリドは、5 $\alpha$ 還元酵素（5 $\alpha$ -reductase、以下 5AR）阻害を作用機序とする新規の前立腺肥大症治療薬である。非臨床試験ではデュタステリドの薬理、薬物動態および毒性評価を行った。なお、安全性薬理試験の一部および毒性試験は GLP に準拠して実施した。

効力を裏付ける薬理試験として *in vitro* 試験および *in vivo* 試験における 5AR 阻害作用、前立腺におけるジヒドロテストステロン（DHT）濃度の低下作用、および前立腺重量の低下作用に関する試験を実施した。また、*in vitro* 試験における代謝物の 5AR 阻害作用に関する試験、ならびに副次的薬理試験として、各種受容体、酵素、イオンチャネルなどに対する親和性に関する試験を実施した。さらに、安全性薬理試験として、中枢神経系、心血管系および呼吸系に及ぼす影響を検討する試験を実施した。

薬物動態試験としてデュタステリドの吸収、分布、代謝および排泄を毒性試験で用いたマウス、ラット、イヌ、ウサギおよびサルにより検討した。試験はおもに臨床投与経路である経口投与で、一部の試験では静脈内および経皮投与も実施した。

なお、本申請の適応症は前立腺肥大症であり、男性のみの適用で女性に対しては禁忌であることから、動物での胎盤通過性試験および乳汁移行試験は実施しなかった。

毒性試験として、単回および反復経口投与毒性、遺伝毒性、がん原性、生殖発生毒性ならびに代謝物および不純物の毒性について検討した。

### 2.4.2. 薬理試験

効力を裏付ける薬理試験として、5AR 阻害作用のプロファイルを明らかにするため、組換えヒト 5AR を含む各種動物由来の 5AR に対する阻害作用を *in vitro* 試験において検討し、*in vivo* での 5AR 阻害作用を確認するため、去勢ラットにおけるテストステロン投与後の前立腺組織中 DHT 濃度に及ぼす影響を検討した。また、前立腺肥大症治療薬としての効力を確認するため、前立腺重量に及ぼす影響を検討し、前立腺重量の低下作用が DHT 濃度の低下を伴うものであることを確認するため、前立腺組織中および血清中の DHT およびテストステロン濃度を測定した。さらに、デュタステリドのヒト血清中代謝物に薬理活性があるか否かを検討するため、5AR 阻害作用を *in vitro* 試験により検討した。

副次的薬理試験として、5AR 阻害作用以外の薬理活性を示すか否かを確認するために、ステロイド代謝酵素および胆汁酸合成系酵素に対する影響を検討し、さらに、各種受容体、イオンチャネル、モノアミン再取り込み部位および細胞内情報伝達系に関与する酵素あるいは受容体への親和性を *in vitro* 試験により検討した。

安全性薬理試験として、中枢神経系、心血管系および呼吸系に及ぼす影響を検討した。

#### 2.4.2.1. 効力を裏付ける薬理試験

デュタステリドは、*in vitro* 試験においてヒト 1 型および 2 型 5AR に対して時間依存的な阻害作用を有し、その阻害作用の指標である  $k_3/K_i$  値はフィナステリドのそれぞれ約 45 倍および約 2.5 倍であった。また、デュタステリドのヒト 2 型 5AR に対する阻害作用はヒト 1 型

5AR に対する作用の約 4 倍であった (2.6.2.2.1.2 参照)。このことから、デュタステリドは 1 型および 2 型 5AR を阻害し、いずれのアイソザイムに対する阻害作用もフィナステリドより強力であることが示唆された。また、デュタステリドは経口投与により、外因性に投与されたテストステロンの DHT への変換を前立腺組織において阻害し、デュタステリドの 5AR 阻害作用はフィナステリドよりも長時間持続したことから (2.6.2.2.2 参照)、*in vivo* においてもデュタステリドは 5AR を阻害することが示された。ラットにデュタステリド 2mg/kg を経口投与すると 7.49 時間で  $t_{max}$  となり、15.8 時間の  $t_{1/2}$  で消失するのに対し (2.6.4.3.2.1.1 参照)、フィナステリド 5mg/kg を経口投与した場合には、2.0 時間で  $t_{max}$  となり、0.72 時間の  $t_{1/2}$  で消失することが報告されており [石井, 1994]、*in vivo* 試験におけるデュタステリドの 5AR 阻害作用がフィナステリドより長く持続したことは、血中濃度推移の違いに起因する可能性が示唆された。

デュタステリドはラットに反復経口投与することにより前立腺重量を低下させ、その作用の強さは  $ED_{30}$  値 (前立腺重量を 30% 低下させる用量) の比較によりフィナステリドの約 20 倍であることが示された (2.6.2.2.3.1 参照)。 *In vitro* 試験におけるラット 1 型および 2 型 5AR に対するデュタステリドの阻害活性は、フィナステリドのそれぞれ約 20 倍および約 10 倍強力であり (2.6.2.2.1.3 参照)、*in vivo* 試験における前立腺重量低下作用の違いは、*in vitro* 試験での 5AR 阻害活性の差に起因すると考えられた。また、前立腺には 1 型および 2 型 5AR の両アイソザイムの存在が報告されており [Normington, 1992; Torres, 2003]、デュタステリドはフィナステリドと異なり両アイソザイムに対して同程度の阻害作用を示すことから、より強力な前立腺重量低下作用を発現した可能性も考えられた。さらに、デュタステリド投与ラットの前立腺組織中 DHT 濃度は低下しており (2.6.2.2.4.1 参照)、前立腺重量の低下は前立腺組織における DHT 濃度の低下に起因する可能性が示唆された。なお、前立腺重量の低下作用を示したものの、精巣、肝臓および副腎重量に対しては影響を示さなかった

(2.6.2.2.3.2 参照)。また、デュタステリドは去勢ラットにおけるテストステロン誘発前立腺重量増加も抑制した (2.6.2.2.3.3 参照)。これらのことから、デュタステリドは 1 型および 2 型 5AR を阻害し、前立腺中の DHT 濃度を低下させることにより、前立腺重量を低下させると考えられた。

*In vitro* 試験において、デュタステリドのヒト血清中主代謝物である 4'-水酸化体、6-水酸化体および 1,2-二水素化体 (2.5.3.2.1.1 参照) は 5AR 阻害作用を示した。4'-水酸化体の活性はデュタステリドの約 1/10 の活性であり、6-水酸化体の活性はデュタステリドと同程度であった。これらの代謝物はデュタステリド同様、時間依存的な 5AR 阻害作用を示した。また、1,2-二水素化体は 5AR に対して時間依存的な阻害作用を示さなかったものの、デュタステリドと同程度の  $IC_{50}$  値で抑制した (2.6.2.2.5 参照)。

#### 2.4.2.2. 副次的薬理試験

デュタステリドは、ステロイド代謝酵素である  $3\beta$ -hydroxy- $\Delta^5$ -steroid dehydrogenase/3-keto- $\Delta^5$ -steroid isomerase ( $3\beta$ -HSD) および胆汁酸合成系酵素の一つである  $3\beta$ -hydroxy- $\Delta^5$ -C<sub>27</sub>-steroid oxido-reductase (C<sub>27</sub>-HSD) に対して、ほとんど阻害作用を示さなかった (2.6.2.3.1.1 参照)。また、デュタステリドはアンドロゲン、エストロゲンおよびプロゲステロンの 3 種

の性ホルモン受容体への親和性を示さず、37種の各種受容体、イオンチャネル、モノアミン再取り込み部位および細胞内情報伝達系に関与する酵素あるいは受容体に対しても親和性を示さなかった（2.6.2.3.1.2 および 2.6.2.3.1.3 参照）。

#### 2.4.2.3. 安全性薬理試験

デュタステリドは中枢神経系、心血管系および呼吸系に対して、*in vivo* 試験では影響を示さなかった。イヌのプルキンエ線維を用いた検討で、3.3 $\mu$ g/mL で活動電位持続時間の短縮および最大脱分極速度の低下が認められた（2.6.2.4 参照）。

#### 2.4.3. 薬物動態試験

デュタステリドの薬物動態試験を毒性試験に用いたマウス、ラット、イヌ、ウサギおよびサルで実施した。試験はおもに臨床投与経路である経口投与で、一部の試験は静脈内および経皮投与で実施した。血清中デュタステリド濃度は、UV 検出器または MS 検出器を装備した HPLC 法で測定した。代謝物の分析はおもに HPLC/MS/MS 法で、一部の試験では radio-HPLC 法で行った。また、動物での代謝物をヒトと比較する試験では  $^{19}\text{F}$ -NMR、 $^1\text{H}$ -NMR、HPLC/MS 法および HPLC/MS/MS 法を用いた（2.6.4.2 参照）。

##### 2.4.3.1. 吸収

マウスに本薬の 1~500mg/kg、ラットに 2~500mg/kg およびイヌに 0.5~50mg/kg を単回経口投与したときの血清中未変化体の  $t_{\text{max}}$  はマウスで 8~12 時間、ラットで 7.49~31.2 時間、イヌで 4.0~8.7 時間であり、 $t_{1/2}$  はマウスで 42.5~62.6 時間、ラットで 15.8~35.9 時間、イヌで 52.3~151 時間であったことから、本薬の吸収および消失は緩やかであると考えられた。ラットに 2mg/kg、イヌに 0.5mg/kg を経口投与したときのバイオアベイラビリティはそれぞれ 58 および 2.38% であったが、ラットに 500mg/kg、イヌに 50mg/kg を経口投与したときのバイオアベイラビリティはそれぞれ 7 および 0.80% と投与量増加に伴い低下した。また、ラットに 1mg/kg、イヌに 0.1mg/kg を単回静脈内投与したときの血清クリアランスはそれぞれ 348 および 5.00mL/hr/kg、分布容積はそれぞれ 6055 および 639mL/kg であった。マウスに 1~500mg/kg/日を 82 日間、ラットに 0.5~500mg/kg/日を 30~90 日間、イヌに 0.5~50mg/kg/日を 26 週間経口投与したときの血清中未変化体濃度は投与量増加の割合を下回って増加し、薬物動態の非線型が確認されたが、本薬が難水溶性化合物（2.3.S.1.3 参照）であり、高用量群では消化管内で完全に溶解しなかったことに起因すると考えられた。いずれの動物種でも低いクリアランスおよび長い半減期に起因した蓄積性が確認された。雌ラットの曝露量は雄よりも高く、性差がみられたが、マウスおよびイヌで性差は確認されなかった。また、ウサギに 0.1~40mg/kg を単回経皮投与したときの血清中には未変化体が検出されたことから、本薬はヒトでも皮膚を介して体内に吸収されると考えられた（2.6.4.3 参照）。

##### 2.4.3.2. 分布

有色マウスに  $^{14}\text{C}$ -デュタステリドの 3.3mg/kg/日を単回および 7 日間経口投与したときの放射能は広く組織に分布した。単回経口投与後の放射能は大部分の組織で投与 8 時間後に最

大となり、その後、緩やかに体内から消失した。反復経口投与後の組織内放射能は副腎髄質および消化管内容物などで単回投与よりも低くなり、ほとんどの組織で単回投与の約4倍以内であったが、精巢、骨、水晶体およびブドウ膜の一部の時点では6倍以上であった。ラットに<sup>3</sup>H-デュタステリドの2mg/kgを単回経口投与したときの放射能はマウスと同様に広く組織に分布したが、投与14日後にはいずれの組織においても放射能は検出されなかった

(2.6.4.4.1 参照)。また、ラット、イヌおよびヒトでの血漿蛋白結合率はいずれも99.5%超であり、雄ラットを除いて、本薬は血球中よりも血漿中に分布した(2.6.4.4.2 参照)。

#### 2.4.3.3. 代謝

ラットおよびイヌに単回経口投与したときの血清および糞中にはおもに未変化体が検出された。反復投与後のヒト糞中にはおもに4種類の代謝物が確認されたことから、動物でも反復投与後の代謝物を検討した。その結果、ラットでもヒト糞中に検出された4種類の代謝物が確認された。マウス、ラットおよびイヌの血清中にはヒト血清中と同様にアニリン環の4'位が水酸化された4'-水酸化体がおもに検出され、ラット血清中ではステロイド環の6位が水酸化された6-水酸化体、マウス、ラットおよびイヌの血清中にはステロイド環の1,2位が水素化された1,2-二水素化体、アニリン環の4'位およびステロイド環の6位が水酸化された6,4'-二水酸化体、もわずかに検出されたことから、本薬の代謝に種差はないものと考えられた(2.6.4.5.2 参照)。雌ラットに30mg/kg/日、雄ラットに500mg/kg/日、雌雄イヌに50mg/kg/日まで26週間経口投与したときの肝薬物代謝酵素に誘導はみられなかった(2.6.4.5.2.5 参照)。

#### 2.4.3.4. 排泄

ラットに<sup>14</sup>C-デュタステリドの10mg/kgおよび<sup>3</sup>H-デュタステリドの13mg/kg、イヌに<sup>14</sup>C-デュタステリドの0.5および50mg/kgを単回経口投与したときの放射能は大部分(それぞれ約75および79~86%)が糞中に排泄され、放射能の主排泄経路は糞であることが示された。また、胆管カニュレーション処置したラットに<sup>14</sup>C-デュタステリドの1mg/kg、イヌに0.1mg/kgを単回静脈内投与したときの放射能は胆汁中にそれぞれ32.2および24.2%排泄された。また、胆管カニュレーション処置したラットおよびイヌに静脈内投与したときの糞中にそれぞれ28.0および65.6%の放射能が検出されたことから、放射能は消化管分泌すると考えられた(2.6.4.6 参照)。

#### 2.4.3.5. 薬物動態学的薬物相互作用

イヌにデュタステリドとカルシウムチャネル遮断薬であるベラパミルを併用投与した際にデュタステリドの薬物動態は併用による影響を受けなかった(2.6.4.7 参照)。

#### 2.4.4. 毒性試験

単回および反復投与毒性、*in vivo* 遺伝毒性、がん原性、生殖発生毒性試験はマウス、ラット、ウサギまたはイヌを用い、臨床適用経路である経口投与により実施した。また、ヒト精

液を介して妊婦が曝露された際の胚・胎児発生に対する影響を検討するため、サルを用いて静脈内投与により試験を実施した。

#### 2.4.4.1. 単回投与毒性試験

マウス (2.6.6.2.1 参照) およびラット (2.6.6.2.2 参照) における単回経口投与時の概略の致死量はそれぞれ 2000 および 1500mg/kg 超であった。イヌに 8 日間反復経口投与した際の本薬の急性毒性を評価した結果 (2.6.6.2.3 参照)、概略の致死量は 100mg/kg/日超であった。

#### 2.4.4.2. 反復投与毒性試験

本薬をラットに 26 週間まで (2.6.6.3.1 および 2.6.6.3.2 参照)、イヌに 53 週間まで反復経口投与した結果 (2.6.6.3.3 および 2.6.6.3.4 参照)、投与 2 週以降よりラット (雄 500mg/kg/日、雌 100mg/kg/日) およびイヌ ( $\geq 10$ mg/kg/日) とともに自発運動低下、協調運動性失調、振戦あるいは痙攣などの中枢神経系の症状が観察され、切迫屠殺例も散見された。これら中枢神経系の症状は可逆的であり、関連する器官・組織の病理組織学的変化を伴わず、高曝露時に (ラット: 17000ng/mL 以上、イヌ: 12600ng/mL 以上) 観察されたことから、非特異的の反応と考えられた。

本薬の薬理作用による DHT 低下に起因すると考えられる雄性副生殖器の変化が、雄ラットの受胎能試験 (2.6.6.6.1 参照) を含むすべての反復投与試験で観察され (表 2.4.4-1)、ラットの 0.05mg/kg/日以上およびイヌの 0.5mg/kg/日以上で前立腺および精巣上体の萎縮がみられ、ラットでは精嚢萎縮も認められた。ラットおよびイヌの前立腺ならびにイヌの精巣上体 (50mg/kg/日) の変化以外については、休薬により回復性あるいは回復傾向を示した。ラットおよびイヌとともに、精巣には特記すべき変化は認められなかった。雌では、ラットの 2.5mg/kg/日以上で子宮重量の低値傾向または低値、10mg/kg/日以上で卵巣の重量低値および萎縮、卵胞嚢胞数および発情間期動物数の増加がみられ、イヌでは 0.5mg/kg/日以上で黄体期への移行動物数の増加ならびに乳腺発達および分泌物増加、3mg/kg/日以上で子宮粘膜上皮空胞化、内膜過形成および嚢胞形成が認められた。

また、イヌでは 0.5mg/kg/日以上で可逆的な下垂体 (前葉色素嫌性細胞肥大)、甲状腺 (重量増加、C 細胞過形成あるいは濾胞上皮細胞空胞化) および副腎 (皮質細胞肥大およびリポフスチン様色素沈着) の変化が認められた (表 2.4.4-1)。内分泌器官に対する影響は、 $\Delta^{4,5},3\text{-oxo}$  構造を有する糖質・鉱質コルチコイド、プロゲステロンおよびアンドロゲンなどのステロイドホルモンも 5AR の基質となることから [Russell, 1994]、高濃度の本薬の長期曝露によるステロイド合成組織に対する影響および視床下部-下垂体-性腺/副腎軸に対する影響による生理的変動に適応した二次的变化と考えられた。

薬理作用に起因する生殖器の変化および軽度で可逆的な内分泌器官の変化以外に特記すべき所見が認められなかった用量を無毒性量とすると、長期反復投与毒性試験における雄ラットおよび雄イヌの無毒性量はそれぞれ 50 および 3mg/kg/日と推定された。

表 2.4.4-1 雄ラットおよび雄イヌに認められた薬理作用による直接的および二次変化とその発現用量

動物種	ラット			イヌ	
	5 週間	26 週間	31 週間 (雄受胎能試験)	26 週間	53 週間
投与期間	5 週間	26 週間	31 週間 (雄受胎能試験)	26 週間	53 週間
投与量 (mg/kg/日)	2, 10, 500	10, 50, 500	0.05, 10, 50, 500	0.5, 5, 50	0.5, 3, 50 <sup>a</sup>
前立腺萎縮	2	10	0.05	0.5	0.5
精囊萎縮	2	10	0.05	該当せず	該当せず
精巣上部萎縮	-	10	0.05	-	0.5
下垂体色素嫌性 細胞肥大	-	-	ND	-	0.5
甲状腺重量増加、 C 細胞過形成等	-	-	ND	50	0.5
副腎細胞肥大等	-	-	ND	-	0.5

a : 投与 43 日より 10mg/kg/日に減量、ND : 検討せず、- : 対照群との間に有意な差なし  
萎縮 : 重量低値、小型化、上皮萎縮および分泌物減少含む

ラットおよびイヌともに、反復経口投与により曝露量は概して投与量増加の割合を下回って増加し、ラットでは雌の方が高い曝露量を示したが、イヌでは明らかな性差は認められなかった。また、本薬は反復投与により血清中未変化体は蓄積性を示すが、投与 4 週までには定常状態に達することから、ラットについては定常状態における血清中未変化体濃度 ( $C_{ss}$ )、イヌについては 370 日投与後 24 時間の血清中未変化体濃度 ( $C_{24}$ ) と、臨床用量 (0.5mg/日) をヒト (日本人前立腺肥大症患者) に反復投与した際の血清中濃度 ( $C_{ss}$  : 約 45ng/mL) を比較した。その結果 (表 2.4.4-2)、長期反復投与における雄ラットおよび雄イヌの無毒性量での曝露量は、臨床曝露量のそれぞれ約 16 および 104 倍に相当した。

表 2.4.4-2 長期反復経口投与試験における動物の曝露量とヒト曝露量の比較

動物種	性別	投与量 (mg/kg/日)	$C_{24}$ (ng/mL) <sup>a</sup>	ヒト $C_{ss}$ 比
ラット (26 週間)	♂	10	267	5.9
		50 <sup>#</sup>	714	15.9
		500	1672	37.2
	♀	2.5	347	7.7
		12.5	1940	43.1
		30 <sup>#</sup>	3729	82.9
イヌ (53 週間)	♂	0.5	2210	49.1
		3 <sup>#</sup>	4670	103.8
		50/10 <sup>b</sup>	9770	217.1
	♀	0.5	2700	60.0
		3 <sup>#</sup>	8130	180.7
		50/10 <sup>b</sup>	12700	282.2
ヒト	♂	0.01 (0.5mg/日)	45	

# : 無毒性量

a : 最終測定時の値、ラットおよびヒト (2.5.3.2.2.2 参照) は  $C_{ss}$

b : 一般状態悪化のため、投与 43 日目より 10mg/kg/日に減量

#### 2.4.4.3. 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験およびラットを用いた骨髄小核試験により遺伝毒性を検討した結果（2.6.6.4 参照）、いずれの試験においても陰性を示したことから、本薬は遺伝毒性を有していないと考えられた。

#### 2.4.4.4. がん原性試験

マウスおよびラットの2年間経口投与によるがん原性試験を実施した（2.6.6.5 参照）。マウスでは、500mg/kg/日まで本薬に起因すると考えられる腫瘍および過形成の発現頻度の増加は認められなかった。ラットでは、7.5mg/kg/日まで有意な発現頻度の増加はみられなかったが、53mg/kg/日で精巣間細胞腫の発現頻度の増加が認められた。しかしながら、本薬は遺伝毒性を有しておらず、精巣間細胞腫の発現は、視床下部-下垂体-精巣軸を介した循環黄体形成ホルモン（LH）量の上昇に起因した二次的影響によると考えられた[Prahalada, 1994]。

#### 2.4.4.5. 生殖発生毒性試験

本薬の薬理作用に起因する影響が、雄受胎能および胎児発生（雄性次世代の雌性化）に認められた。

雄ラットの受胎能試験（交配3、6、12または24週前より最長31週間経口投与）では（2.6.6.6.1 参照）、0.05mg/kg/日以上すべての本薬投与群に用量および投与期間に応じた受胎率の低下がみられ、副生殖器の萎縮を伴ったが、いずれの変化も回復性または回復傾向を示した。また、10mg/kg/日以上投与群では交尾率の低下が投与24週の交配時に認められた。精巣および精子濃度・運動性に本薬投与による影響は認められなかった。本薬投与雄と交配させた無処置雌の血清中に低濃度ではあるが未変化体が検出され、本薬が精液を介して雌に移行した可能性が考えられた。雄親動物に対する無毒性量は0.05mg/kg/日未満であった。受胎率の低下は膣栓数の減少を伴ったことから、前立腺および精嚢液分泌減少による膣栓形成不全に起因する変化と考えられ、この影響は、膣栓の形成が受胎率に関係するげっ歯類に特異的な影響[Cukierski, 1991; Sofikitis, 1992; Carballada, 1992]と考えられた。

雌受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験では（2.6.6.6.2 参照）、2.5mg/kg/日以上の投与群で雌親動物の体重増加量の低値および雄胎児の雌性化（肛門生殖結節間距離の短縮）がみられ、0.05mg/kg/日以上の投与群では胎児体重の低値が認められた。雌親動物に対する無毒性量は0.05mg/kg/日、胚・胎児に対する無毒性量は0.05mg/kg/日未満であった。

ラットの胚・胎児発生に関する試験では（2.6.6.6.3.1 参照）、母動物の体重増加量の低値が2.5mg/kg/日以上の投与群に、摂餌量の低値および妊娠期間の延長が12.5mg/kg/日以上の投与群に認められた。また、妊娠期間の延長がみられたが、1型5AR欠損マウスで妊娠末期子宮頸におけるプロゲステロン代謝阻害によると考えられる分娩障害がみられていることから[Mahendroo, 1999]、本薬の1型5AR阻害作用に起因した影響と考えられた。次世代では、0.05mg/kg/日以上の投与群で雄胎児・出生児の外生殖器の雌性化（肛門生殖結節間距離の短縮、尿道下裂あるいは包皮腺拡張）および乳頭発達がみられたが、DHTは尿生殖洞および生殖結節の雄性化に必要なアンドロゲンであり[McPhaul, 1998; George, 1994]、乳頭発達抑制にも寄与していることが示唆されている[Imperato-McGinley, 1986]ことから、予測された影響

であった。また、2.5mg/kg/日以上との投与群では胎児体重の低値、母動物の体重増加抑制に起因した骨化遅延が認められた。母動物に対する無毒性量は0.05mg/kg/日、次世代に対する無毒性量は0.05mg/kg/日未満であった。一方、ウサギの胚・胎児発生に関する試験では

(2.6.6.6.3.2 および 2.6.6.6.3.3 参照)、200mg/kg/日においても母動物に本薬投与に起因すると考える影響は認められなかった。胎児では、頬骨癒合が30mg/kg/日以上の高用量群でみられた。0.05mg/kg/日以上との投与群では、雄胎児に尿道会陰側拡張・偏在および腺包皮層板腹側部開口を特徴とした外生殖器の雌性化が観察され、数例では雌性化のより重度な変化として尿道下裂が認められた。母動物に対する無毒性量は200mg/kg/日、胎児に対する無毒性量は0.05mg/kg/日未満であった。しかしながら、サル胚・胎児発生に関する静脈内投与試験では(2.6.6.6.3.4 参照)、2010ng/匹/日においても母動物および胎児毒性は発現しなかった。

ラットの出生前および出生後発生ならびに母体の機能に関する試験では(2.6.6.6.4 参照)、F<sub>0</sub>母動物の体重増加量の低値および妊娠期間の延長が2.5mg/kg/日以上との投与群で認められた。F<sub>1</sub>出生児では0.05mg/kg/日以上との雄に外生殖器の雌性化(肛門生殖結節間距離短縮)がみられ、2.5mg/kg/日以上では尿道下裂の増加、尿道下裂が原因と考えられる交尾率および胎率の低下、ならびに精囊および前立腺の慢性炎症の発現率増加が認められた。また、2.5mg/kg/日以上では、乳頭発達、精囊および前立腺の小型化・重量低値も観察され、DHTに依存した前立腺の分化と精囊の生後発育が抑制されたため[Imperato-McGinley, 1992; Shima, 1990]と考えられた。母動物およびF<sub>1</sub>雌出生児に対する無毒性量は0.05mg/kg/日、F<sub>1</sub>雄出生児に対する無毒性量は0.05mg/kg/日未満であった。

#### 2.4.4.6. 代謝物および不純物の毒性

本薬のヒト血清中主代謝物である4'-水酸化体および1,2-二水素化体について細菌を用いた復帰突然変異試験を実施した結果(2.6.6.8.1 参照)、代謝活性化の有無にかかわらず復帰突然変異誘発能を示さなかった。また、定常状態における4'-水酸化体の血清中濃度は、ラットの15mg/kg/日(雌)および53mg/kg/日(雄)ではヒトを上回り、ラットの53mg/kg/日(雄)での血清中主代謝物(1,2-二水素化体および6-水酸化体)濃度は、いずれもヒトでの血清中濃度よりも高いと推察された。さらに、ラット26週間投与毒性試験の雄の50mg/kg/日群にみられた変化は、本薬の薬理作用に起因した生殖器の変化のみであったことから、いずれの代謝物の安全性も評価されており、主代謝物による新たな毒性変化はないと考えられた。

原薬に安全性の確認が必要となる閾値(0.15%)を超えて含まれる9種類の不純物(2.3.S.4.1 参照)の安全性について、イヌの長期反復投与毒性試験、マウスがん原性試験および遺伝毒性(小核)試験に使用されたバッチに含まれている不純物含量を基に各不純物の安全性を評価した結果(2.6.6.8.2 参照)、イヌの53週間反復投与毒性試験の無毒性量における各不純物の推定曝露量は、最大臨床用量(0.5mg/日=0.01mg/kg/日)における各不純物の推定最大曝露量(それぞれの規格値の上限が含まれていると仮定した場合)の少なくとも15倍以上であり、マウスがん原性試験および小核試験における陰性用量での各不純物の推定曝露量は、最大臨床用量での推定最大曝露量の3000倍以上となることから、いずれの不純物についても安全性が確認されていると判断した。

### 2.4.5. 総括および結論

非臨床試験成績により、デュタステリドの薬理、薬物動態および毒性評価を行った。

*In vitro* 試験において、デュタステリドはヒト 1 型および 2 型 5AR を時間依存的に阻害し、ラット 1 型および 2 型 5AR、ならびにサル前立腺 5AR を阻害した。*In vivo* 試験において、デュタステリドは外因性に投与したテストステロンの前立腺における DHT への変換を阻害した。デュタステリドは経口投与によりラットの前立腺組織中 DHT 濃度を低下させ、前立腺重量を低下させた。また、ラットの前立腺重量を低下させた用量で、精嚢重量を低下させたものの、精巣、肝臓および副腎重量には影響を示さなかった。さらに、デュタステリドは去勢ラットにおけるテストステロン誘発前立腺重量増加を抑制した。これらのことから、デュタステリドは経口投与により 1 型および 2 型 5AR を阻害し、前立腺中の DHT 濃度を低下させることにより、前立腺重量を低下させると考えられた。

また、デュタステリドは類薬であるフィナステリドに比べて、*in vitro* 試験においてより強い 5AR 阻害活性を示し、*in vivo* 試験においてより持続的な 5AR 阻害作用を示した。さらに、ラットにおけるデュタステリドの前立腺重量低下作用の強さは ED<sub>30</sub> 値で比較すると、フィナステリドの約 20 倍であった。

臨床用量 (0.5mg/日) をヒト (日本人前立腺肥大症患者) に反復投与した際の未変化体の C<sub>ss</sub> (臨床曝露量) は、約 45ng/mL であることが示されている (2.5.3.2.2.2 参照)。ヒトの 5AR に対するデュタステリドの阻害定数 (K<sub>i</sub> 値) は 1 型 5AR に対しては 3.2ng/mL (6nM)、2 型 5AR に対しては 3.7ng/mL (7nM) であった。この K<sub>i</sub> 値は臨床曝露量よりもはるかに低いことから、ヒトに臨床用量を投与した際に 1 型および 2 型 5AR を十分に阻害する可能性が示された。さらに、デュタステリドは不可逆的な時間依存的酵素阻害作用を有するため、K<sub>i</sub> 値から予想されるよりも、より強い阻害作用を示す可能性があると考えられる。また、デュタステリドの 5AR 阻害活性はヒトとラットで異なっており、ラットの 5AR に対してヒトよりも約 25 倍 (1 型 5AR に対しては約 20 倍 (K<sub>i</sub> 値)、2 型 5AR に対しては約 30 倍 (k<sub>3</sub>/K<sub>i</sub> 値)) 高い阻害活性を有することが示されている。この阻害活性の違いを考慮すると、臨床曝露量に相当するラットにおける血中濃度は 1.8ng/mL (45÷25ng/mL) と考えられる。ラットにデュタステリドの 0.05mg/kg/日を 21 日間反復経口投与した際の C<sub>24</sub> は 1.78ng/mL であることから (2.6.7.12.1 参照)、ヒトとラットに対する阻害活性の違いを考慮すると、臨床曝露量に相当する血中濃度となるようなラットでの用量は 0.05mg/kg に近い値であることが推定された。デュタステリドは 0.01~1mg/kg/日をラットに 14 日間反復経口投与することにより前立腺重量を低下させ、その ED<sub>30</sub> 値は 0.19mg/kg/日であることが示されており、臨床曝露量に相当するラットでの用量において前立腺重量を低下させる可能性が示唆された。

一方、デュタステリドのヒト血清中主代謝物である 4'-水酸化体、6-水酸化体および 1,2-二水酸化体は 5AR 阻害作用を示した。4'-水酸化体および 6-水酸化体は時間依存的な 5AR 阻害作用を示し、その活性はそれぞれデュタステリドの約 1/10 および同程度であった。また、1,2-二水酸化体は 5AR に対して時間依存的な阻害作用を示さなかったものの、その IC<sub>50</sub> 値はデュタステリドと同程度であった。しかしながら、ヒトにおける 4'-水酸化体、6-水酸化体および 1,2-二水酸化体の曝露量 (C<sub>ss</sub>) は、血清中デュタステリド濃度の約 1/10 であったこ

とから (2.7.2.2.2.1 参照)、デュタステリドの臨床効果に寄与する割合は低いと考えられた。

副次的薬理試験において、デュタステリドは 10 $\mu$ M の濃度においても、ステロイド代謝系酵素、胆汁酸合成系酵素および性ホルモン受容体を含む各種受容体、酵素などに対してほとんど作用を示さず、5AR を選択的に阻害することが示唆された。デュタステリドの 10 $\mu$ M は臨床曝露量の 200 倍以上であり、デュタステリドは臨床使用において、5AR 阻害作用以外の作用に起因する重篤な副作用を発現する可能性は低いものと考えられた。

安全性薬理試験の結果、中枢神経系、心血管系および呼吸系に対して *in vivo* では影響が認められず、*in vitro* において、3.3 $\mu$ g/mL でイヌのプルキンエ線維の活動電位に影響が認められたものの、この薬物濃度は臨床曝露量の約 70 倍であることから、臨床上、重篤な有害事象が発現する可能性は低いと考えられた。

以上をまとめると、デュタステリドは 5AR を選択的に阻害することにより前立腺重量を低下させ、その作用は類薬であるフィナステリドより強く、また、安全性薬理試験においても臨床上問題となるような影響を示さなかったことから、前立腺肥大症の治療薬としての高い有用性が期待される。

マウス、ラットおよびイヌに本薬を経口投与したときの吸収および消失は緩やかであった。本薬の分布容積はラットでは総体液量よりも大きく、イヌでは総体液量と同程度であったことから、本薬は広く組織に分布すると考えられた。いずれの動物種においても、低いクリアランスおよび長い半減期に起因した蓄積性が確認された。また、マウスおよびイヌでの血清中未変化体濃度は雌雄で同程度であったが、雌ラットでの血清中未変化体濃度は雄よりも高く、性差が確認された。また、ウサギに本薬を経皮投与したときの血清中に未変化体が検出されたことから、本薬はヒトでも皮膚を介して体内に吸収されると考えられた。

マウスおよびラットで本薬は広く組織に分布し、マウスに反復投与したときの組織内放射能の分布特性は単回投与と類似しており、ほとんどの組織で単回投与の約 4 倍以内であった。ラット、イヌおよびヒトでの本薬の血漿蛋白結合率はいずれも 99.5% 超であった。本薬は雌ラット、雄イヌおよびヒト (男性) では血球中よりも血漿中に分布したが、雄ラットでは血漿中よりも血球中に分布した。なお、本申請の適応症は前立腺肥大症であり、男性のみの適用で女性に対しては禁忌であることから、動物での胎盤通過性試験および乳汁移行試験は実施しなかった。

ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝試験では、本薬はほとんど代謝されなかった (2.7.2.2.1.3 参照)。ラットおよびイヌでの単回経口投与後の血清および糞中にはおもに未変化体が検出されたが、代謝物の存在もわずかに確認された。反復経口投与後のヒト糞中には 4 種類の主代謝物 (このうちの 2 種類は 4'-水酸化体および 6-水酸化体)、その他に 6 種類の代謝物 (未同定) が少量検出されたこと (2.7.2.2.1.4 参照) から、マウス、ラットおよびイヌの定常状態における代謝物を分析した。その結果、動物およびヒトでの血清中主代謝物は 4'-水酸化体であり、ラットでは 6-水酸化体、マウス、ラットおよびイヌでは 6,4'-二水酸化体および 1,2-二水酸化体もわずかに検出された。ヒトで検出された代謝物はいずれも動物で存在が確認されたことから、本薬の代謝に種差はないと考えられた。また、ラットお

よびイヌに高用量のデュタステリドを 26 週間経口投与したときの肝薬物代謝酵素に誘導がみられなかったことから、本薬が臨床で肝薬物代謝酵素を誘導する可能性は低いと考えられた。

ラットおよびイヌに本薬を単回経口投与したときの主排泄経路は糞であることが示され、胆汁排泄および消化管分泌も確認された。

イヌにデュタステリドと CYP3A および P 糖蛋白質の基質であるベラパミルを併用した際の本薬の薬物動態に変化は認められなかったことから、本薬を CYP3A および P 糖蛋白質の基質と併用投与した際に薬物動態学的薬物相互作用が起こる可能性は低いと考えられた。

以上のことから、デュタステリドの動物における吸収、分布、代謝および排泄はヒトと類似していると考えられた。

反復経口投与により、臨床曝露量のラットで約 378 倍以上、イヌで約 280 倍以上の曝露で中枢神経系に対する可逆的な影響がみられたが、高濃度曝露による非特異的反応と考えられ、臨床用量で発現する可能性は低いと考える。ラット、イヌともに雄性副生殖器（前立腺、精囊および精巣上体）に薬理作用に起因した変化がみられ、ラットではげっ歯類に特異的である前立腺および精囊液分泌減少による膣栓形成不全に起因すると考えられる可逆的な受胎率の低下が認められた。受胎率の低下は精子形成および運動性の影響を伴っておらず、健康成人男性に本剤 0.5mg/日を 1 年間投与した海外臨床試験（ARIA1009 試験）においても、いずれの精液パラメータの平均値も基準範囲内であり、試験開始前に設定した臨床的に重要な変動は認められなかったことから（2.5.5.12 参照）、臨床用量でヒトの精子形成能および受胎能に影響する可能性は低いと考える。イヌでは、下垂体、甲状腺および副腎において軽度な組織学的変化を伴う影響がみられたが、これらの影響は、高濃度（臨床曝露量の約 49 倍以上）での長期曝露によるステロイド合成組織に対する影響および視床下部－下垂体－性腺／副腎軸を介したホルモン状態の生理的変動に適応した変化であると考えられ、臨床用量でヒトの内分泌器官に影響を及ぼす可能性は低いと考える。なお、健康成人男性に本剤 20mg を 7 日間投与した時（ARIA1001 試験）のコルチゾール濃度（2.5.5.10.3 参照）、ならびに本剤 0.5mg/日を 1 年間投与した時（ARIA1009 試験）のサイロキシシン、甲状腺刺激ホルモン、卵胞刺激ホルモン（2.5.5.10.3 参照）および LH（2.5.5.10.2 参照）濃度に臨床的に意義のある影響は認められていない。長期反復投与毒性試験における雄ラットおよび雄イヌの無毒性量はそれぞれ 50 および 3mg/kg/日であり、それぞれの曝露量は臨床曝露量の約 16 および 104 倍に相当する。

雌性生殖器においても 5AR 阻害に起因すると考えられる影響がみられたが、本申請の適応症は前立腺肥大症で、男性のみの適応であり、女性に対しては禁忌であることから、臨床使用において危惧される所見ではないと考えられた。

マウスのがん原性試験においては、臨床曝露量の約 261 倍まで本薬に関連すると考えられる腫瘍の発現は認められなかった。ラットのがん原性試験では、臨床曝露量の約 69 倍まで本薬に関連すると考えられる腫瘍の発現はみられなかったが、臨床曝露量の約 141 倍で精巣間細胞腫の発現頻度の増加が認められた。しかしながら、本薬は遺伝毒性を有しておらず、視床下部－下垂体－精巣軸に対する影響を介した循環 LH 量の上昇に起因した二次的影響に

よると考えられること、また、この影響はヒトへの外挿性が低いと判断されていることから [Capen, 2001; Alison, 1994; Clegg, 1997; Cook, 1999]、ヒトに精巣間細胞腫を発現させる可能性は低いと考える。

ラットおよびウサギにおいて、雄胎児の外生殖器の雌性化が試験したすべての用量 ( $\geq 0.05\text{mg/kg/日}$ ) で認められた。本薬は女性に適応される薬物ではないが、ウサギで経皮吸収することが確認されていること、臨床用量でヒト精液中に最高  $14\text{ng/mL}$  の濃度で検出されていることから (ARIA1009 試験、2.7.2.2.2.1.3 参照)、妊娠初期あるいは妊娠している可能性のある女性が、カプセルから漏れた本薬に接触あるいは精液を介して単発・偶発的に曝露された場合、男児外生殖器の発達が阻害される可能性がある。しかしながら、精液を介した曝露に関しては、精液中 (精液量:  $5\text{mL}$ ) の未変化体が子宮および膈粘膜より  $100\%$  吸収されると仮定した際の女性 ( $50\text{kg}$ ) における曝露量 ( $1.4\text{ng/kg}$ ) の約  $186$  倍 ( $260\text{ng/kg/日}$ :  $2010\text{ng/匹/日}$  を体重 (妊娠 97 日の平均体重  $7.73\text{kg}$ ) で換算) を、5AR のアミノ酸配列および生化学的特性がヒトと類似しているアカゲザル [Ellsworth, 1998] の器官形成期に静脈内投与しても、雄胎児の雌性化は認められなかった。また、本薬はヒト血漿中および精液中蛋白との結合率が高く ( $>96\%$ 、2.7.2.2.1.2 参照)、子宮・膈からの吸収量が低下することが考えられることから、精液を介した子宮曝露によりヒト男児外生殖器の発達に影響を及ぼす可能性は低いと考える。

ヒトにおける血清中主代謝物が新たな毒性変化を引き起こす可能性は低いと考えられ、不純物についても安全性が確認されていると判断した。

以上の非臨床試験成績から、臨床用量の  $0.5\text{mg/日}$  を投与することにより前立腺肥大症患者の前立腺を縮小させることが期待され、長期にわたり投与しても重篤な有害事象が生じる可能性は低いと考えられた。ただし、本薬は経皮吸収され、消失半減期が長いことから、小児および妊娠初期あるいは妊娠している可能性のある女性 (男子胎児の外生殖器の発達に対する影響を避けるため) は、カプセルから漏れた本薬に直接触れないよう注意する必要があると考えられた。

#### 2.4.6. 参考文献一覧

Alison RH, Capen CC, Prentice DE. Neoplastic lesions of questionable significance to humans. *Toxicol Pathol.* 1994;22:179-86.

Capen CC. Toxic responses of the endocrine system. In: Klaassen CD, editor. *Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poison, 6th edition.* New York: The McGraw-Hill Companies, Inc., 2001:711-759.

Carballada R, Esponda P. Role of fluid from seminal vesicles and coagulating glands in sperm transport into the uterus and fertility in rats. *J Reprod Fertil.* 1992;95:639-48.

- Clegg ED, Cook JC, Chapin RE, et al. Leydig cell hyperplasia and adenoma formation: mechanisms and relevance to humans. *Reprod Toxicol.* 1997;11:107-21.
- Cook JC, Klinefelter GR, Hardisty JF, et al. Rodent Leydig cell tumorigenesis: a review of the physiology, pathology, mechanisms, and relevance to humans. *Crit Rev Toxicol.* 1999;29:169-261.
- Cukierski MA, Sina JL, Prahalada S, et al. Effects of seminal vesicle and coagulating gland ablation on fertility in rats. *Reprod Toxicol.* 1991;5:347-52.
- Ellsworth KP, Azzolina BA, Cimisi G, et al. Cloning, expression and characterization of rhesus macaque types 1 and 2 5 $\alpha$ -reductase: evidence for mechanism-based inhibition by finasteride. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1998;66:271-9.
- George FW, Wilson JD. In: Knobil E and Neill JD, editor. *Sex determination and differentiation. The physiology and reproduction, 2nd edition.* New York:Raven Press, Ltd, 1994:3-28.
- Imperato-McGinley J, Binienda Z, Gedney J, et al. Nipple differentiation in fetal male rats treated with an inhibitor of the enzyme 5 $\alpha$ -reductase: definition of a selective role for dihydrotestosterone. *Endocrinology.* 1986;118:132-7.
- Imperato-McGinley J, Sanchez RS, Spencer JR, et al. Comparison of the effects of the 5 $\alpha$ -reductase inhibitor finasteride and the antiandrogen flutamide on prostate and genital differentiation: dose-response studies. *Endocrinology.* 1992;131:1149-56.
- Mahendroo MS, Russell DW. Male and female isoenzymes of steroid 5 $\alpha$ -reductase. *Rev Reprod.* 1999;4:179-83.
- McPhaul MJ. The biology of the male reproductive tract. In: Korach KS, editor. *Reproductive and developmental toxicology.* New York:Marcel Dekker, Inc, 1998:475-508.
- Normington K, Russell DW. Tissue distribution and kinetic characteristics of rat steroid 5 $\alpha$ -reductase isozymes. Evidence for distinct physiological functions. *J Biol Chem.* 1992;267:19548-54.
- Prahalada S, Majka JA, Soper KA, et al. Leydig cell hyperplasia and adenomas in mice treated with finasteride, a 5 $\alpha$ -reductase inhibitor: a possible mechanism. *Fundam Appl Toxicol.* 1994;22:211-9.
- Russell DW, Wilson JD. Steroid 5 $\alpha$ -reductase: two genes/two enzymes. *Annu Rev Biochem.* 1994;63:25-61.
- Shima H, Tsuji M, Young P, et al. Postnatal growth of mouse seminal vesicle is dependent on 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone. *Endocrinology.* 1990;127:3222-33.
- Sofikitis N, Takahashi C, Kadowaki H, et al. The role of the seminal vesicles and coagulating glands in fertilization in the rat. *Int J Androl.* 1992;15:54-61.

Torres JM, Ruiz E, Ortega E. Development of a quantitative RT-PCR method to study 5 $\alpha$ -reductase mRNA isozymes in rat prostate in different androgen status. *Prostate*. 2003;56:74-9.

石井 康行, 石井美樹夫, 向山裕子ら. フィナステリドの体内動態(I):ラットにおける単回投与後の吸収、分布および排泄. *薬物動態*. 1994;9:848-66.