
2.4 非臨床試験の概括評価

フェソロデックス®

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次	頁
略語及び専門用語一覧表	4
2.4 非臨床試験の概括評価	5
2.4.1 非臨床試験計画概略	5
2.4.1.1 薬理試験	6
2.4.1.2 薬物動態試験	6
2.4.1.3 毒性試験	7
2.4.2 薬理試験	7
2.4.2.1 効力を裏付ける試験	7
2.4.2.1.1 作用機序	7
2.4.2.1.2 In vitro 抗腫瘍効果	7
2.4.2.1.3 In vivo 抗腫瘍効果	7
2.4.2.1.4 ジアステレオマーの薬理作用	8
2.4.2.1.5 代謝物の薬理作用	8
2.4.2.1.6 製剤間の薬理作用の比較	8
2.4.2.2 副次的薬理試験	9
2.4.2.3 安全性薬理試験	9
2.4.2.4 薬理試験の結論	9
2.4.3 薬物動態試験	10
2.4.3.1 分析法	10
2.4.3.2 吸収	10
2.4.3.3 分布	11
2.4.3.4 代謝	11
2.4.3.5 排泄	12
2.4.4 毒性試験	12
2.4.4.1 単回投与毒性	12
2.4.4.2 反復投与毒性	12
2.4.4.3 遺伝毒性	13
2.4.4.4 がん原性	13
2.4.4.5 生殖発生毒性	13
2.4.4.6 その他の毒性試験	14
2.4.4.6.1 光毒性	14
2.4.4.6.2 局所刺激性	14
2.4.4.6.3 抗原性	14

2.4 非臨床試験の概括評価
一般名：フルベストラント

2.4.4.6.4	不純物及び代謝物の毒性	14
2.4.4.6.5	製剤中添加物の毒性	15
2.4.4.7	毒性試験の結論	15
2.4.5	概括及び結論	15
2.4.6	参考文献	16

略語及び専門用語一覧表

本概括評価で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
C_{max}	最高血漿中薬物濃度
ED ₅₀	Administered dose of drug that produces 50% effect in vivo : 50% 有効用量
ER	Estrogen receptor : エストロゲン受容体
GLP	Good Laboratory Practice : 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施に関する基準
HDL	High density lipoprotein : 高比重リポ蛋白
HPLC	High performance liquid chromatography : 高速液体クロマトグラフィー
IC ₅₀	Concentration of drug that produces 50% inhibition : 50 % 阻害濃度
Im	Intramuscular : 筋肉内
Iv	Intravenous : 静脈内
LA	Long-acting : 長時間作用性
LC-MS/MS	Liquid chromatography- tandem mass spectrometry : 高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析
LDL	Low density lipoprotein : 低比重リポ蛋白
Po	Orally : 経口
RIA	Radioimmunoassay : ラジオイムノアッセイ
SA	Short-acting : 短時間作用性
Sc	Subcutaneous : 皮下
TK	Toxicokinetic : トキシコキネティクス
TLC	Thin Layer Chromatography : 薄層クロマトグラフィー
VLDL	Very low density lipoprotein : 超低比重リポ蛋白

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

フルベストラントは、エストロゲン受容体（ER）のダウンレギュレーターとして作用する、アゴニスト様作用のない新しいタイプのステロイド性抗エストロゲン剤である。

エストロゲンは、乳癌患者の少なくとも 3 分の 1 において内分泌性増殖因子として作用するため、腫瘍からエストロゲンを除去することは、進行・再発乳癌の広く認められた治療法である¹。閉経後女性ではアロマターゼ阻害剤の使用又は抗エストロゲン剤によるエストロゲンとの拮抗によって、エストロゲンの作用を除去することができる。

抗エストロゲン剤は、エストロゲン反応性組織の核内に存在する ER と結合し競合する薬剤である。タモキシフェンのような従来の非ステロイド性抗エストロゲン剤は、ER 結合において効果的にエストロゲンと競合するが、部分アゴニスト活性を示すことによって効果が制限され、結果としてエストロゲンが介在する作用の障害が不完全となると考えられている^{2,3}。また、このアゴニスト活性は、長期間投与したとき望ましくない副作用を伴う^{4,5}。これらのことから、エストロゲンによる正常な転写反応及びそれに続く作用発現をいずれも活性化することなく、ER に高い親和性で結合する新規化合物の探索が行われた。その結果、7 α 位にアルキルスルフィニル側鎖を有するエストラジオールのステロイド性類縁体が、アゴニスト作用のない初めての化合物として 19 年⁶に発見された。ICI182,780（フルベストラント）はこれら化合物の 1 つであり、非臨床モデルにおいてアゴニスト作用がなく既存の抗エストロゲン剤より強い抗エストロゲン作用を示したことから研究の対象として選択された。実施した非臨床試験等の知見により、フルベストラントはエストロゲン受容体をダウンレギュレートさせる新規の作用機序をもつ初めての薬剤であることが示唆され、その後、本薬の GLP 毒性試験は英国アストラゼネカ社により 19 年⁷に開始された。これらの非臨床試験の結果から、本薬の臨床試験を 19 年⁸に開始し、乳癌のようなエストロゲン依存性疾患に対する治療薬として、現在の長時間作用性筋肉注射剤の開発のための第 III 相臨床試験の開始を 19 年⁹に決定した。

フルベストラントの化学名は 7 α -[9-(4,4,5,5,5-Pentafluoropentylsulphinyl)nonyl]estra-1,3,5(10)-triene-3,17 β -diol である。フルベストラントの化学構造式を図 1 に示す。

一般名：フルベストラント

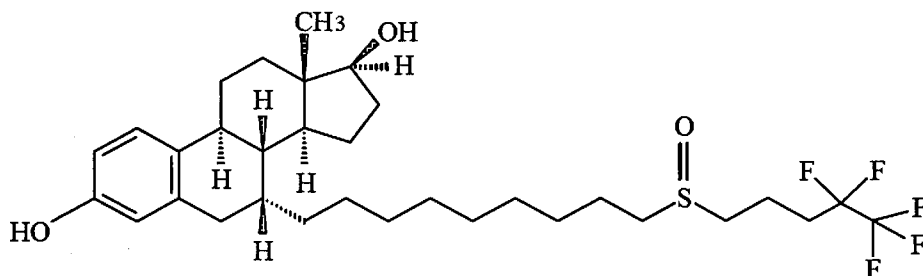


図 1 フルベストラントの化学構造式

フルベストラントの長時間作用性筋肉注射剤は、閉経後進行・再発乳癌を適応として、2002 年以降世界各国で承認を取得している。

本概括評価で報告した試験では、特記しない限り、フルベストラントのラセミ体を用いている。

2.4.1.1 薬理試験

本邦で臨床試験が開始される前に、効力を裏付ける試験として、エストロゲン受容体に対する結合親和性及び腫瘍細胞増殖抑制作用を *in vitro* で、外因性又は内因性のエストロゲンによる子宮重量増加作用を指標とした抗エストロゲン作用の検討及び各種ヒト乳癌細胞移植マウスを用いた抗腫瘍効果の検討を *in vivo* で実施した。また、*in vitro* 及び *in vivo* での一般薬理試験を実施した。

本邦での臨床試験開始後、「安全性薬理試験ガイドラインについて」（医薬審第 902 号、平成 13 年 6 月 21 日）及び「ヒト用医薬品の心室再分極遅延（QT 間隔延長）の潜在的可能性に関する非臨床の評価」（薬食審査発 1023 第 4 号、平成 21 年 10 月 23 日）に準拠した *in vitro* 及び *in vivo* での安全性薬理試験、並びに副次的薬理試験を実施した。

2.4.1.2 藥物動態試驗

フルベストラントの非臨床薬物動態試験として、毒性試験で用いられた動物種（主にラット及びイヌ）において、吸収、分布、代謝及び排泄に関する試験を実施した。また、*in vitro* 及び *in vivo* で生成する代謝物を分析し、ヒトでの試験結果と比較した。主要な非臨床薬物動態試験では、代謝的に安定な位置を放射能で標識したフルベストラントを用い、SA 製剤を筋肉内投与して、フルベストラントの体内動態を検討した。また、投与間隔を 1 カ月 1 回とするために開発した LA 製剤を用いて、ラット及びイヌにおける筋肉内投与後の血漿中濃度を測定し、LA 製剤で投与されたフルベストラントの体内動態を検討した。

2.4.1.3 毒性試験

フルベストラントの非臨床における安全性は、マウス、ラット及びイヌを用いた単回投与毒性試験、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験、細菌、マウスリンフォーマ細胞、ヒトリンパ球及びラットを用いた遺伝毒性試験、マウス及びラットを用いたがん原性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験、Balb/c 3T3 細胞を用いた光毒性試験、ウサギを用いた局所刺激性試験、並びにマウス、ラット及びモルモットを用いた抗原性試験により評価した。また、ラットを用いた原薬中不純物の毒性評価試験、並びにウサギを用いた製剤中添加物（ヒマシ油）の筋肉刺激性試験を実施した。主な毒性試験臨床投与経路である im 投与で実施し、すべての重要な毒性試験は GLP 適合試験として実施した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 作用機序

フルベストラントは ER へのエストラジオールの結合を競合的に阻害し（IC₅₀ 値 9.35 nM）、エストラジオールを 1 としたときの相対的結合親和性は 0.89 であった。

フルベストラントは、外因性又は内因性のエストロゲンによる子宮重量増加作用を卵巣摘除マウス（ED₅₀ 値 0.36 mg/kg）、幼若ラット（ED₅₀ 値 0.066 mg/kg）、卵巣摘除ラット（ED₅₀ 値 0.07 mg/kg）、成熟ラット（ED₅₀ 値 0.12 mg/kg）及び卵巣摘除サルにおいて抑制した。卵巣摘除サルにおいて、子宮重量増加を 4 週間完全に抑制する用量は 4 mg/kg（LA 製剤）であった。また、検討した全ての種において単独では子宮重量増加作用を示さず、幼若ラットにおいてタモキシフェンによる子宮重量増加を抑制したことから、フルベストラントはエストロゲン様作用を有さない抗エストロゲン剤であることが示唆された。

2.4.2.1.2 In vitro 抗腫瘍効果

フルベストラントは ER を発現しているヒト乳癌細胞株 MCF-7 細胞の増殖を濃度依存的かつ強力に抑制した（概略の IC₅₀ 値 0.31 nM）が、ER を発現しないヒト乳癌細胞株 BT20 細胞の増殖は検討した最高濃度（10 μM）でのみ軽度な抑制が認められた。MCF-7 細胞に対する増殖抑制作用は、タモキシフェン及び 4-ヒドロキシタモキシフェンよりも強かった。

フルベストラント 10 nM による MCF-7 細胞増殖抑制作用は、エストラジオール（0.1～10 nM）添加により濃度依存的かつ完全に回復した。

MCF-7 細胞を用いた検討で、フルベストラント処置により G₀/G₁ 期の細胞が蓄積し、DNA 合成能を維持している細胞の割合が減少し、その程度はタモキシフェンよりも大であった。

2.4.2.1.3 In vivo 抗腫瘍効果

フルベストラントは、5 mg/マウスの単回 sc 投与で、ヌードマウスにおけるヒト乳癌細胞株 MCF-7 細胞由来腫瘍及びヒト乳癌由来固形腫瘍 Br10 の増殖を 4 週間完全に抑制した。

フルベストラントは、ヌードマウスにおいてタモキシフェン及びトレミフェン耐性腫瘍の増殖を 5 mg/マウス/週 (sc) で抑制した。フルベストラント単独ではこの腫瘍に対する増殖刺激は認められなかった。

フルベストラント (5 mg/マウス/週、sc) は、MCF-7 細胞を移植した卵巣摘除ヌードマウスにおいてエストラジオール処置により形成された腫瘍の増殖を抑制し、その効果の持続はタモキシフェン (中央値 104 日) の約 2 倍 (中央値 200 日) であった。また、フルベストラントは同じ系でエストロゲン処置による腫瘍形成を顕著に抑制した。

MCF-7Ca 細胞を移植したモデルで、フルベストラントは単独又はアロマターゼ阻害剤アナストロゾールとの併用により、腫瘍の増殖を対照群と比較して有意に抑制した。併用による効果は、フルベストラント又はアナストロゾール単独と比較して優れたものであった。

2.4.2.1.4 ジアステレオマーの薬理作用

フルベストラントはジアステレオマー (フルベストラントスルホキシド A 及びフルベストラントスルホキシド B) の混合物 (フルベストラントスルホキシド A : フルベストラントスルホキシド B = 45 : 55) である。フルベストラントと各ジアステレオマーの活性をエストロゲン受容体に対する結合、乳癌細胞株増殖抑制作用及びラットにおける抗エストロゲン作用で比較したところ、フルベストラントスルホキシド B の乳癌細胞増殖抑制作用はフルベストラントよりも若干強く、統計学的な有意差が認められたが、その他のいずれの作用に対しても両ジアステレオマーともにフルベストラントと比較して有意な差は認められなかった。

2.4.2.1.5 代謝物の薬理作用

非臨床薬物動態試験において同定されたフルベストラントの 5 種の代謝物について、ラットにおけるエストロゲン様作用及び抗エストロゲン作用を検討した。9'-スルホン体は、0.2 mg/kg の sc 投与でエストロゲン作用を示さなかったが、未変化体と同程度の抗エストロゲン作用を示した。他の代謝物もエストロゲン様作用を示さず、17-ケトン体のみがフルベストラントの約 1/4 の効力の抗エストロゲン作用を示したが、その他の代謝物の抗エストロゲン作用の効力はフルベストラントの 1/10 以下であった。これらの代謝物のうち、17-ケトン体が一部のヒト血漿中から検出されているが、フルベストラントに対する血漿中濃度比は最大で 48.9%であったことから (2.6.2.2.5 及び 2.7.2.2.6.9 参照)、概略の ED₅₀ 値の比を考慮すると、ヒトにおける抗エストロゲン作用への寄与は最大でフルベストラントの約 11%となる。また、9'-スルホン体はヒト血漿中からは検出されていない (2.7.2.2.6.9 参照)。したがって、フルベストラントの代謝物の薬効への寄与は小さいものと考えられた。

2.4.2.1.6 製剤間の薬理作用の比較

薬効薬理試験において用いられた落花生油溶液の sc 投与と、SA 製剤の sc 又は im 投与時の抗エストロゲン作用を幼若ラットにおいて比較した。製剤間で抗エストロゲン作用の効力に差は認められず、また、sc 及び im 投与時の効力は同程度であった。

2.4.2.2 副次的薬理試験

フルベストラントは *in vitro* リガンド結合試験で、ER α に対し高い親和性を示したが (IC₅₀ 値 39 nM、K_i 値 31 nM)、アンドロゲン受容体に対しては極めて低い親和性を示した (300 μ M で 50%未満の結合阻害)。

2.4.2.3 安全性薬理試験

In vitro 試験において、フルベストラントは 0.1 又は 1 μ M でムスカリン受容体及び H₁ 受容体 (モルモット摘出回腸) 及び α_1 受容体 (マウス摘出輸精管) に対し拮抗作用を示した。その他の検討した受容体では拮抗作用は認められず、また、検討した全ての受容体でアゴニスト作用は認められなかった。

In vivo 試験では、ラットにフルベストラント 20 mg/kg を im 投与したとき、自発運動量の有意な増加が認められたが、5 mg/kg ではこの作用は認められなかった。また、フルベストラントは 0.1 mg/kg 以上の膝窩内投与で、局所麻酔作用を示した。

その他、一般症状及び行動、呼吸系、心血管系、胃腸管系、腎/泌尿器系、血液凝固系、内分泌系 (抗エストロゲン作用以外)、炎症及び免疫応答に対する作用は認められなかった。

2.4.2.4 薬理試験の結論

フルベストラントの ER に対する親和性は、タモキシフェンよりも高く、*in vitro* でのヒト乳癌細胞増殖抑制作用はタモキシフェンよりも強かった。また、フルベストラントはエストロゲン感受性遺伝子の転写活性化能を示さず、子宮以外のこれまでに検討されているいずれの組織においても、単独では作用を示さないが、タモキシフェンは転写活性化作用を有し、骨、子宮等ではアゴニスト作用を示す。さらに、フルベストラントは *in vitro* においてタモキシフェン耐性乳癌細胞の増殖を抑制し、*in vivo* においてタモキシフェン耐性腫瘍の増殖を抑制する (2.6.2.3.1.3 参照)。一方、フルベストラント耐性乳癌細胞は、タモキシフェンにも耐性を示す。

ラット及びサルで抗エストロゲン作用が認められる血漿 (血清) 中フルベストラント濃度 (C_{max}) の推定値はエストラジオール濃度の約 10 倍であり、MCF-7 細胞増殖抑制作用の濃度とエストラジオール濃度との関係、あるいは閉経後女性における血漿中フルベストラント濃度と腫瘍内エストロゲン濃度との関係 (2.6.2.6.1.2 参照) に類似していた。フルベストラントの sc 投与時と im 投与時の薬理作用は類似したものであったことから、本概要に記載した動物モデルにおける投与経路 (sc) 及び用量でも、フルベストラントの im 投与時の抗腫瘍効果を評価することは

2.4 非臨床試験の概括評価

一般名：フルベストラント

妥当であると考えられる。さらに、*in vitro* 試験の結果と、臨床用量 (500 mg/月 im、HD レジメン) での血漿中フルベストラント濃度の値からも、HD レジメンは、臨床で乳癌細胞の増殖抑制作用を示すのには十分な用量であると考えられる。

以上の非臨床試験成績から、臨床において、フルベストラントはタモキシフェンとは異なり、子宮に対して作動作用を示さないこと、タモキシフェン無効の乳癌に対しても有効であることが期待される。

安全性薬理試験では、フルベストラントは 20 mg/kg の sc 投与でラットの自発運動量を有意に増加させたが、5 mg/kg では作用を示さなかった。フルベストラントは 0.1 mg/kg 以上を膝窩内投与したとき局所麻酔作用を示した。一般症状及び行動、呼吸系、心血管系、胃腸管系、腎/泌尿器系、血液凝固系、内分泌系（抗エストロゲン作用以外）、炎症及び免疫応答に対する作用の検討では、フルベストラントは作用を示さなかった。

以上の結果並びに ER α 及び β 遺伝子欠損マウスで認められた所見から、フルベストラントが閉経後女性において薬理作用（抗エストロゲン作用）の過剰発現に起因する重篤な有害事象を発症する可能性は低いものと考えられた。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法

フルベストラントの血漿中濃度又は血清中濃度を測定するために、ラジオイムノアッセイ (RIA) あるいは高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析 (LC-MS/MS) を用いる定量法を開発した。RIA 法の定量限界は 3.5~6 ng/mL であり、LC-MS/MS 法の定量限界は 1~2 ng/mL であった。

フルベストラントは、側鎖硫黄原子における立体配置に基づくジアステレオマー、すなわちスルホキシド A 及びスルホキシド B の混合物であり、フルベストラントに含まれるジアステレオマーの組成比は約 45 : 55 (A : B) である。ジアステレオマーの生体内相互変換の有無を検討するために、順相系カラムを用いる LC-MS/MS 法を開発し、スルホキシド A 及び B を分離定量した。各ジアステレオマーの定量限界は 0.5 ng/mL であった。

フルベストラントの放射能標識体を調製するために、フルベストラントの側鎖がステロイド骨格に結合する α 位を ^{14}C で標識した。非臨床薬物動態試験に用いた ^{14}C 標識体の放射化学的純度は 97%以上であった。

2.4.3.2 吸収

ラット及びイヌにフルベストラント LA 製剤を筋肉内投与したときの吸収は良好であり、フルベストラントの生物学的利用率は 65~84%であった。また、筋肉内投与後の C_{max} は、ラットで

は投与後 1 日に、イヌでは投与後 1～9 日に認められた。その後、血漿中フルベストラント濃度は緩やかに低下し、ラット及びイヌにおける消失半減期はそれぞれ 9.1～10.8 日及び 13.1～27.2 日であった。さらに、イヌにおいて 2 つのジアステレオマーの血漿中濃度を測定したところ、各々のジアステレオマー濃度は同程度であった。

一方、静脈内投与試験の結果から、フルベストラントの全身クリアランスは肝血漿流量と同程度であり、フルベストラントの体内からの消失は速やかであると考えられた。従って、LA 製剤を筋肉内投与したときの長い消失半減期は製剤からのフルベストラントの持続的な放出によるものであると推察された。

2.4.3.3 分布

ラットに ^{14}C -フルベストラント SA 製剤を単回筋肉内投与したところ、放射能は脳及び脊髄を除く全身に広く分布し、胃粘膜、肝臓、副腎、腎臓、肺、褐色脂肪及び下垂体に高い放射能が認められた。全身組織からの放射能の消失は速やかであり、投与後 24 時間では肝臓、腎臓、褐色脂肪及び消化管内容物のみで放射能が検出された。また、放射能の分布像に明らかな性差は認められず、メラニン含有組織に対する特異的な結合も示唆されなかった。さらに、血漿中放射能濃度は投与部位の筋肉内放射能濃度の減少に伴って同様の減衰を示し、投与部位に残存する放射能は投与量の約 1%であった。

妊娠ラット及び妊娠ウサギに ^{14}C -フルベストラント SA 製剤を単回筋肉内投与したところ、放射能の胎盤通過が認められ、胎児中放射能濃度は母体の血漿中放射能濃度の 77～97%であった。

ラット、イヌ、ウサギ及びヒトの血漿におけるフルベストラントの血漿蛋白結合率は 98.8～99.95%と高く、ヒト血漿における主な結合蛋白はリポ蛋白 (LDL、VLDL 及び HDL) であった。また、ラット、イヌ及びヒトに ^{14}C -フルベストラント SA 製剤を単回筋肉内投与したところ、放射能の血球分配率は 30.7%以下であり、主に血漿中に存在すると考えられた。

2.4.3.4 代謝

ラット、イヌ及びヒトにおけるフルベストラントの代謝経路は、側鎖の硫黄原子の酸化（スルホン体化）及びエストラジオールと同様の代謝経路（17-酸化、3-硫酸抱合、3-グルクロン酸抱合、17-グルクロン酸抱合、2-メトキシ化、4-水酸化、4-グルクロン酸抱合、10-水酸化、3-酸化、2-水酸化及び 2-グルクロン酸抱合）であった。各々の種において、同様の代謝物が認められたが、生成量にはわずかながら種差がみられた。また、ラット及びイヌの胆汁中の主代謝物は硫酸抱合あるいはグルクロン酸抱合を受けた第Ⅱ相抱合化代謝物であったが、糞中の主代謝物は硫酸抱合体及び 17-酸化あるいは側鎖スルホン体化を受けて生成する代謝物であり、消化管におけるグルクロン酸抱合体の加水分解が示唆された。

ラットにおける薬物代謝酵素系に及ぼす影響を検討したところ、雄のエトキシレゾルフィン O-脱エチル化酵素活性及び雌のテストステロン 6 β -水酸化酵素活性に有意な増加（1.4 倍）がみられ

2.4 非臨床試験の概括評価 一般名：フルベストラント

たが、その他の酵素活性に有意な増加は認められず、フルベストラントの酵素誘導作用は非常に弱いと考えられた。

2.4.3.5 排泄

ラット及びイヌに ^{14}C -フルベストラント SA 製剤を単回筋肉内投与したところ、投与された放射能のほとんどが糞中に排泄され、尿中放射能排泄率はラットでは 0.1%以下であり、イヌでは 1.7%であった。また、胆汁排泄試験の結果から、フルベストラント及びその代謝物は胆汁を介して糞中に排泄されると考えられた。

分娩後哺育中ラットに ^{14}C -フルベストラント SA 製剤を単回筋肉内投与したところ、フルベストラント及び代謝物（スルホン体及び 17-ケトン体）の乳汁移行性が明らかとなった。

2.4.4 毒性試験

本薬の標的器官の特定、毒性所見の回復性、曝露と毒性所見の関連性、遺伝毒性、生殖発生毒性、がん原性、刺激性、抗原性、並びに原薬中不純物及び製剤中添加物の毒性の評価を目的とし、種々の毒性試験を実施した。主な毒性試験は筋肉内投与で実施し、重要な試験は GLP 適合試験として実施した。

2.4.4.1 単回投与毒性

単回投与毒性試験をマウス、ラット及びイヌを用いて実施した。

ラット SA 製剤の単回 im 投与による概略致死量はマウスで $>200\text{ mg/kg}$ 、ラットで $>70\text{ mg/kg}$ であった。製剤中のフルベストラント含有の有無にかかわらず、大部分の動物の投与部位で浮腫、挫傷が認められた。さらにマウスにおいては後肢の硬直による歩行異常、沈静、円背位、半眼等も認められた。

フルベストラントを 0.13 mg/kg あるいは 9.0 mg/kg の用量で自己血漿とともにイヌに単回 iv 投与したときに死亡はみられず、投与部位の忍容性も良好であった。投与中に心血管への影響（洞停止、心拍数の減少）が一過性にみられ 9.0 mg/kg のイヌにおいて顕著であった。

2.4.4.2 反復投与毒性

反復投与毒性試験はラット及びイヌを用い、主に im 投与で実施した。

ラットの非経口投与による 1 カ月反復投与試験（SA 製剤）及び im 投与による 6 カ月反復投与試験（LA 製剤）の無毒性量はそれぞれ高用量の 10 mg/kg/日 及び 10 mg/ラット/15 日 であった。またイヌの非経口投与経路による 1 カ月反復投与試験（SA 製剤）、im 投与による 6 カ月反復投与試験（LA 製剤）並びに 12 カ月反復投与試験（LA 製剤）の無毒性量はそれぞれ高用量の 4 mg/kg/日 、 30 mg/kg/28 日 及び 40 mg/kg/28 日 であった。

全ての試験で雌の生殖器並びに性ホルモンに感受性の高い臓器において薬理作用に起因すると考えられる可逆的な所見（雌では子宮、子宮頸及び膣の萎縮、卵巣での成熟グラーフ卵胞及び嚢胞性グラーフ卵胞の増加、成熟黄体の減少等。雄では精細管の拡張あるいは萎縮、ライディヒ細胞の過形成等）が認められた。ラットにおいては 10 mg/kg/日の 1 カ月間投与あるいは 10 mg/ラット/15 日の 6 カ月間投与においても全身的な毒性はみられなかった。イヌにおいては、1 カ月反復経口（po）投与試験の高用量群 200 mg/kg/日において、半数の動物で ST 上昇が認められたが、4 mg/kg/日の 1 カ月間 im 及び皮下（sc）投与、30 mg/kg/28 日の 6 カ月間投与あるいは 40 mg/kg/28 日の 12 カ月間 im 投与においても毒性学的に問題となる変化は認められなかった。

LA 製剤を用いた im 投与試験の投与部位において、製剤中添加物によると考えられる筋炎、壊死、線維化及び肉芽腫がイヌで、炎症を伴う線維嚢胞がラットで認められた。

2.4.4.3 遺伝毒性

細菌を用いる復帰突然変異試験、マウスリンフォーマ遺伝子突然変異試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験、ラットを用いた小核試験を実施し、全ての試験において陰性であった。

2.4.4.4 がん原性

予定している進行・再発乳癌の適応症においてがん原性の評価は必要ないが、将来の適応症追加の目的でマウスの 2 年間 po 投与、及びラットの 2 年間 im 投与がん原性試験を実施した。

マウスの 2 年間 po 投与がん原性試験では、マウスに 20、150 及び 500 mg/kg/日の用量を投与した。その結果、フルベストラントの薬理作用に関連すると考えられる性索間質腫瘍、顆粒膜細胞腫、黄体腫の発生増加が 150 及び 500 mg/kg/日投与群において認められた。

ラットの 2 年間 im 投与癌原性試験ではラットに 15 mg/kg/30 日、10 mg/ラット/30 日、あるいは 10 mg/ラット/15 日の用量を投与した。その結果フルベストラントの薬理作用から予測される LH 上昇によると考えられる卵巣の良性顆粒膜細胞腫及び精巣の良性ライディヒ細胞腫が増加した。上記以外の腫瘍の増加はなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性

ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生、並びに胚・胎児発生に関する試験及び周産期及び授乳期投与予備試験を SA 製剤で、授乳期投与試験を LA 製剤で、ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験を SA 製剤で実施した。

フルベストラントは抗エストロゲン活性による発情周期への影響をもたらした。雌ラットによる受胎能及び着床までの初期胚発生試験では、胎児の生存への影響（0.1 mg/kg/日）がみられた。ラットの胚・胎児発生に関する試験においては、足根骨湾曲発現頻度の増加（2 mg/kg/日）が認められた。

2.4 非臨床試験の概括評価
一般名：フルベストラント

ウサギの胚・胎児発生に関する試験において、胎盤重量の増加及び着床後死亡率の増加 (0.25 mg/kg/日) がみられたが、胎児の発育には影響は認められなかった。

ラットの周産期・授乳期投与予備試験においては、胎児の子宮内での死亡増加並びに生存胎児・出生児数の減少を伴う膣出血、分娩遅延・遷延が認められた (2 mg/kg/日)。

分娩後授乳中の雌ラットにフルベストラントを投与した試験では、母動物へフルベストラントを投与した群では出生児の生存率がわずかに低値を示した。授乳中に母動物が 15 mg/kg を投与された F1 雌でみられた軽度の着床前死亡率の増加及び生存胎児数の減少を除き、F1 雌では明らかな影響はみられなかった。母動物への最高 10 mg/ラットまでの用量でのフルベストラント投与は F1 雄の受精率、精子数、性腺組織に影響をもたらさなかった。

2.4.4.6 その他の毒性試験

2.4.4.6.1 光毒性

Balb/c 3T3 細胞を用いる光毒性試験の結果、フルベストラントは光毒性をもたらさないと考えられた。

2.4.4.6.2 局所刺激性

SA 製剤によるウサギを用いた局所刺激性試験では、添加物に起因すると考えられる皮膚への軽度な刺激性 (紅斑) がみられた。

LA 製剤の im 投与では、添加物に起因すると考えられる筋炎、壊死及び肉芽腫がウサギで認められた。これらの所見には回復傾向が認められた。

2.4.4.6.3 抗原性

モルモットにおける能動全身アナフィラキシー試験及び接触皮膚感作性試験並びにマウス/ラットにおける異種受動皮膚アナフィラキシー試験において、抗原性は認められなかった。

2.4.4.6.4 不純物及び代謝物の毒性

主な不純物を含むロットを用いて実施した毒性試験において、これらの不純物に明らかに起因すると考えられる毒性所見は認められなかった。さらに、規格上限値の不純物を含有したフルベストラントを投与した場合においても十分な安全域が得られると考えられた。したがって、原薬中の不純物は規格値に設定した範囲内で毒性学的に問題はないと考えられた。

また、製剤中で安全性確認の必要な新たな類縁物質は認められなかった。

ヒトにおけるフルベストラントの代謝物は毒性試験に用いたいずれかの動物において認められており、ヒトに特有の代謝物は確認されていない。したがって、フルベストラントの代謝物を用いての毒性試験は実施しなかった。

2.4.4.6.5 製剤中添加物の毒性

LA 製剤中の添加物の 1 つであるヒマシ油について、ウサギを用いた *im* 投与による局所刺激性試験を実施した。認められた肉眼的変化は、ごく軽度から軽度の暗赤色化で、病理組織学的には軽度の出血、軽度から中等度の偽好酸球の細胞浸潤、軽度の組織球の細胞浸潤あるいはごく軽度の筋線維の変性／壊死であり、ヒマシ油の刺激性は軽度で、重篤な刺激性を有しないと考えられた。

エタノール、ベンジルアルコール及びヒマシ油は最大使用前例を上回るが、各添加物の安全性に問題はなく、また、これまでの LA 製剤のヒトでの使用経験からも、500 mg/10 mL (5 mL を 2 本) 投与に安全性の懸念はないものと考えられる。

2.4.4.7 毒性試験の結論

以上の結果から、フルベストラントの非経口投与経路による毒性試験において認められた変化は、直接あるいは間接的に抗エストロゲン作用に起因すると考えられる変化であった。LA 製剤投与時に認められた局所反応はフルベストラントによるものではなく、製剤中の添加物に起因すると考えられた。毒性試験において筋肉の傷害が認められているものの、臨床使用において、LA 製剤 *im* 投与時の忍容性は高かった。日本人進行・再発乳癌患者を対象とした臨床試験 (D6997C00004) での主な有害事象は、鼻咽頭炎、注射部位痛、ほてり、悪心、注射部位硬結、疲労、便秘及び頭痛であった。注射部位に関連する有害事象は、142 例中 60 例に認められたが、有害事象共通用語規準 (CTCAE) の重症度グレード 3 (重度) 以上の有害事象は 1 例に認められたのみであった。

2.4.5 概括及び結論

フルベストラントは、ER のダウンレギュレーターとして作用する、アゴニスト様作用のない新しいタイプのステロイド性抗エストロゲン剤である。フルベストラントの ER に対する親和性は、タモキシフェンよりも高く、*in vitro* でのヒト乳癌細胞増殖抑制作用はタモキシフェンよりも強かった。また、フルベストラントはエストロゲン感受性遺伝子の転写活性化能を示さず、子宮以外のこれまでに検討されているいずれの組織においても、単独では作用を示さないが、タモキシフェンは転写活性化作用を有し、骨、子宮等では作動作用を示す。さらに、フルベストラントは *in vitro* においてタモキシフェン耐性乳癌細胞の増殖を抑制し、*in vivo* においてタモキシフェン耐性腫瘍の増殖を抑制する。一方、フルベストラント耐性乳癌細胞は、タモキシフェンにも

耐性を示す。これらの結果から、フルベストラントはタモキシフェンとは異なり、子宮に対して作動作用を示さないこと、タモキシフェン無効の乳癌に対しても有効であることが期待される。

フルベストラントの非臨床薬物動態試験として、毒性試験で用いられた動物種（主にラット及びイヌ）において、吸収、分布、代謝及び排泄に関する試験を実施した。代謝的に安定な位置を放射能で標識したフルベストラントを筋肉内投与したところ、ラット及びイヌにおけるフルベストラントの吸収は良好であり、全身に広く分布すると考えられた。また、ラット及びイヌに投与された放射能のほとんどが胆汁中に排泄された。更に、フルベストラントを投与されたラット、イヌ及びヒトの生体試料中には、同様の代謝物が検出され、ヒトに特異的な代謝物は認められなかった。フルベストラントの代謝物には未変化体と同様に活性を示すものもみられたが、それらの活性代謝物は血漿中には検出されないか、検出されても微量であった。この結果から、*in vivo*において発現するフルベストラントの薬理活性は、主に未変化体の寄与によるものであると考えられた。ラット及びイヌにおいて得られた暴露量は、ヒトとの比較に基づいて、フルベストラントの安全性を評価するために十分なものであったと推察された。

フルベストラントの非経口投与経路による毒性試験において認められた変化は、直接あるいは間接的に抗エストロゲン作用に起因すると考えられる変化であった。LA 製剤投与時に認められた局所反応はフルベストラントによるものではなく、製剤中添加物に起因する変化と考えられた。毒性試験成績から、フルベストラント LA 製剤の閉経後乳癌患者へ投与を支持する結果が得られた。

これらの試験成績は、フルベストラントの申請用法・用量での臨床使用のための有効性及び安全性を裏付けるものであると考えられる。

2.4.6 参考文献

- ¹ Muss HB. Endocrine therapy for advanced breast cancer: a review. *Breast Cancer Res Treat.* 1992;21:15-26.
- ² Furr BJ, Jordan VC. The pharmacology and clinical uses of tamoxifen. *Pharmacol Ther.* 1984;25:127-205.
- ³ May FE, Westley BR. Effects of tamoxifen and 4-hydroxytamoxifen on the pNR-1 and pNR-2 estrogen-regulated RNAs in human breast cancer cells. *J Biol Chem.* 1987;262:15894-9.
- ⁴ Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. *Lancet.* 1998;351:1451-67.
- ⁵ Fisher B, Dignam J, Wolmark N, Wickerham DL, Fisher ER, Mamounas E, et al. Tamoxifen in treatment of intraductal breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-24 randomised controlled trial. *Lancet.* 1999;353:1993-2000.