

ロンサーフ配合錠 T15, ロンサーフ配合錠 T20

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

大鵬薬品工業株式会社

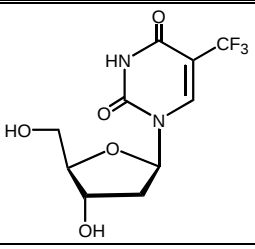
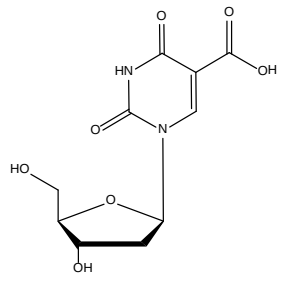
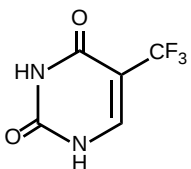
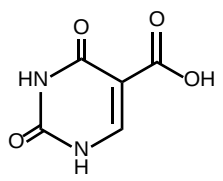
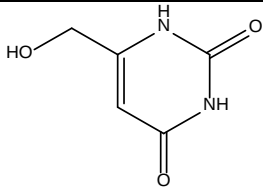
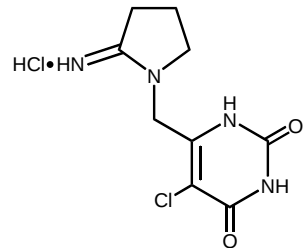
目次

2.4	非臨床試験の概括評価.....	1
2.4.1	非臨床試験計画概略.....	1
2.4.1.1	薬理試験.....	1
2.4.1.2	薬物動態試験.....	1
2.4.1.3	毒性試験.....	2
2.4.2	薬理試験.....	2
2.4.2.1	FTD の作用機序.....	2
2.4.2.2	TPI の配合意義.....	3
2.4.2.3	効力を裏付ける試験.....	3
2.4.2.4	安全性薬理試験.....	4
2.4.3	薬物動態試験.....	5
2.4.3.1	吸収.....	5
2.4.3.2	分布.....	5
2.4.3.3	代謝.....	6
2.4.3.4	排泄.....	6
2.4.3.5	相互作用.....	7
2.4.4	毒性試験.....	7
2.4.4.1	毒性試験プログラム.....	7
2.4.4.2	単回投与毒性試験.....	9
2.4.4.3	反復投与毒性試験.....	10
2.4.4.4	遺伝毒性試験.....	14
2.4.4.5	がん原性試験.....	15
2.4.4.6	生殖発生毒性試験.....	15
2.4.4.7	局所刺激性試験.....	15
2.4.4.8	その他の毒性試験.....	15
2.4.4.9	トキシコキネティクス.....	16
2.4.5	総括及び結論.....	18
2.4.5.1	薬理試験.....	18
2.4.5.2	薬物動態試験.....	19
2.4.5.3	毒性試験.....	20
2.4.5.4	結論.....	22
2.4.6	参考文献一覧.....	22

略号一覧表

略号	内容
5-CU	5-carboxyuracil : 5-カルボキシウラシル
5-CdUrd	5-carboxy-2'-deoxyuridine : 5-カルボキシ-2'-デオキシウリジン
5-FU	5-fluorouracil : 5-フルオロウラシル
6-HMU	6-hydroxymethyluracil : 6-ヒドロキシメチルウラシル
ALT	alanine aminotransferase : アラニン・アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the concentration-time curve : 血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC ₀₋₁₀	area under the concentration-time curve from time 0 to 10 hr : 投与後 10 時間までの AUC
AUC ₀₋₂₄	area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hr : 投与後 24 時間までの AUC
AUC _{inf}	area under the concentration-time curve from time 0 to infinity : 無限大時間までの AUC
C _{max}	maximum plasma concentration : 最高血漿中濃度
CPT-11	irinotecan hydrochloride : イリノテカン塩酸塩
CYP	cytochrome P450 : シトクロム P450
F ₃ TMP	α,α,α -trifluorothymidine-5'-monophosphate : トリフルオロチミジン一リン酸
F ₃ TTP	α,α,α -trifluorothymidine-5'-triphosphate : トリフルオロチミジン三リン酸
FdUMP	2'-deoxy-5-fluorouridine-5'-monophosphate : 5-フルオロデオキシウリジン一リン酸
FdUrd	2'-deoxy-5-fluorouridine : 5-フルオロデオキシウリジン
FTD	trifluridine : トリフルリジン
FTY	5-(trifluoromethyl)uracil : トリフルオロチミン
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
hERG	human ether-a-go-go related gene : ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子
HPLC	high performance liquid chromatography : 高速液体クロマトグラフィー
IC ₅₀	50% inhibitory concentration : 50%細胞増殖抑制濃度
KRAS	v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
MDR	multidrug resistance protein : 多剤耐性タンパク
P-gp	P-glycoprotein : P 糖タンパク質
Rb	blood/plasma concentration ratio : 血液/血漿濃度比
TK	thymidine kinase : チミジンキナーゼ
TPase	thymidine phosphorylase : チミジンホスホリラーゼ
TPI	tipiracil (thymidine phosphorylase inhibitor) : チピラシル塩酸塩
TS	thymidylate synthase : チミジル酸合成酵素
TS-1	tegafur/gimeracil/oteracil potassium (molar ratio 1 : 0.4 : 1) : ティーエスワン

化学名及び構造式

略号	化学名	構造式
FTD	一般名 : trifluridine 2'-deoxy-5-(trifluoromethyl)uridine	
5-CdUrd	5-carboxy-2'-deoxyuridine	
FTY	5-(trifluoromethyl)uracil	
5-CU	5-carboxyuracil	
6-HMU	6-hydroxymethyluracil	
TPI	一般名 : tipiracil hydrochloride 5-chloro-6-[(2-iminopyrrolidin-1-yl)methyl]pyrimidine-2,4-(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-dione monohydrochloride	

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

TAS-102 は、トリフルリジン (FTD) とチピラシル塩酸塩 (TPI) をモル比 1 : 0.5 (重量比 1 : 0.471) で配合した新規抗悪性腫瘍剤である。FTDはTAS-102 の抗癌活性成分であり、癌細胞内に取り込まれた後、チミジンキナーゼ (TK) によってリン酸化され、細胞内で更にDNAの基質へと代謝される。FTDはDNAに取り込まれることによって抗腫瘍効果を発揮することが示唆されており、既存抗癌剤とは異なる作用機序を有している。しかし、サルやヒトではFTDの分解酵素であるチミジンホスホリラーゼ (TPase) 活性が高く^{1,2}、特に経口投与の場合、FTDは初回通過効果により容易に代謝されるため、TPase阻害剤であるTPIの配合が必要である。

以上のように、FTD と TPI の配合剤である TAS-102 は既存抗癌剤とは異なる特徴を有し、既存抗癌剤が有効性を示さない腫瘍に対しても抗腫瘍効果を発揮することが期待され、薬理、薬物動態及び安全性について検討した。

2.4.1.1 薬理試験

TAS-102 の薬効薬理試験では、FTDの作用機序、TPIの配合意義、抗腫瘍効果について検討した。TAS-102 の抗癌活性成分であるFTDは、チミジル酸合成酵素 (TS) 阻害活性を示す一リン酸体のトリフルオロチミジン一リン酸 (F_3TMP)³及びDNA基質である三リン酸体のトリフルオロチミジン三リン酸 (F_3TTP) に代謝され⁴、TS阻害作用及びDNAへ取り込まれるという 2 つの特徴を有している。しかしながら、 F_3TMP は、5-フルオロデオキシウリジン一リン酸 (FdUMP) と異なり、TSと共有結合しないことから、FTDのTS阻害様式を解析して、TAS-102 の作用機序を検討した。TPIの配合意義に関しては、FTDに対するTPase阻害剤の必要性について解析した後、FTDとTPIの配合比の決定とTPIの薬理作用について評価した。抗腫瘍効果に関しては、*in vitro*において種々のヒト腫瘍株に対するFTDの抗癌活性を評価した。*In vivo*においてはTAS-102 の投与スケジュール・投与量及び既存抗癌剤に低感受性を示すヒト腫瘍株に対する有効性を評価した。また、TAS-102 の延命効果についてヒト大腸癌腹腔内移植モデルを用いて検討した。

安全性薬理コアバッテリーに関する試験では、心血管系、中枢神経系及び呼吸器系に及ぼすTAS-102 の影響を評価した。また、TAS-102 の構成成分である FTD 及び TPI の影響も評価した。

2.4.1.2 薬物動態試験

標識化合物 (^{14}C -FTD 及び ^{14}C -TPI) 又は非標識化合物 (FTD 及び TPI) を用いて、TAS-102 として投与したときの吸収、分布、代謝、排泄及び薬物動態学的相互作用を検討した。

吸収に関しては、マウス、ラット、イヌ及びサルを用いて FTD、FTD の代謝物であるトリフルオロチミン (FTY) 及び TPI の血漿中濃度を、ラット及びサルを用いて吸収率を検討した。また、ラットを用いて吸収部位を検討した。更に、Caco-2 細胞を用いて膜透過性を *in vitro* で検討した。分布に関しては、ラットを用いて組織分布、胎盤移行及び乳汁移行を検討した。また、ラット、マウス、イヌ、サル及びヒトの血漿蛋白結合、並びにラット、サル及びヒトの血球移行を *in vitro* で検討した。代謝に関しては、ラット、サル及びヒトの血漿及び排泄物中の代謝物を分析した。ヒト TPase、ヒト肝細胞及び動物組織抽出物を用いて代謝試験を *in vitro* で実施した。排泄に関しては、ラットを用いて尿、糞、胆汁及び呼気中への排泄を検討した。また、サルでは尿及び糞中、ヒトでは尿中への排泄を検討した。薬物動態学的相互作用に関しては、ヒト肝ミクロソーム及びヒト肝細胞を用いてシトクロム P450 (CYP) 分子種に対する阻害作用並びに誘導作用を検討した。

ヒト血漿を用いて FTD の蛋白結合を介した相互作用を検討した。ヒト P 糖タンパク質 (P-gp) を発現させた形質膜ベシクル [ヒト多剤耐性タンパク (MDR) 1 膜ベシクル] を用いて P-gp による輸送及び P-gp に対する阻害作用を検討した。ヒト Organic cation transporter (OCT) 2 の安定発現細胞を用いて TPI の OCT2 による輸送及び OCT2 に対する阻害作用を検討した。

2.4.1.3 毒性試験

TAS-102 の安全性を評価するために、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験及び光安全性試験を実施した。被験物質は、光安全性試験を除く全試験種で TAS-102 を用いた。更に TAS-102 の構成成分である FTD 及び TPI についても、生殖発生毒性試験を除く全試験種でその毒性を評価した。トキシコキネティクスを評価するために、反復投与毒性試験で FTD 及び TPI 並びに FTD の主代謝物である FTY の血漿中濃度を測定した。

反復投与試験では、TAS-102、FTD 及び TPI の各被験物質は 2 週間及び 4 週間、更に TAS-102 は 13 週間投与した際の毒性を評価した。投与経路は臨床適用経路と同じ経口投与とした。動物種は、単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験でげっ歯類としてラットを用いた。非げっ歯類については、単回投与ではイヌ、2 週間投与ではイヌ及びサル、4 週間以上の投与ではサルを用いた。

遺伝毒性試験では、TAS-102、FTD 及び TPI について *in vitro* 試験として復帰突然変異試験及び染色体異常試験並びに *in vivo* 試験としてマウスを用いた小核試験を実施した。生殖発生毒性試験では、ラットを用いて TAS-102 の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験並びに胚・胎児発生に関する試験を実施した。光安全性試験に関しては、FTD 及び TPI の 3T3 線維芽細胞ニューラルレッド取込み試験を実施した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 FTD の作用機序

FTD を用いた臨床試験は過去に行われており、Ansfield らは 2 通りの投与法による FTD の臨床試験結果を報告している。主に乳癌及び大腸癌患者に対して、FTD の静脈内投与を 5 日間行った場合には抗腫瘍効果は認められなかったが、3 時間ごとの静脈内投与を 8~13 日間行った結果、腫瘍縮小が認められ⁵、FTD の抗腫瘍効果は投与法に大きく左右されることが示唆された。FTD の活性代謝物は 2 つあり、一リン酸体である F₃TMP は TS 阻害作用を示し³、三リン酸体の F₃TTP は DNA に取り込まれて抗腫瘍効果を発揮する⁴。FTD の抗腫瘍効果は、投与法によって異なることから、これら 2 つの作用機序と投与法の関係については解析が必要と考えられ、主に FTD の TS 阻害様式及び FTD の DNA への取り込みと抗腫瘍効果の関連について検討した。詳細は第 4.2.1.1.1 項及び第 4.2.1.1.2 項に記載した。5-フルオロウラシル (5-FU) の活性代謝物 FdUMP が TS と共有結合することに対して、F₃TMP は共有結合をしないことが報告されている⁶。そこで、ヒト子宮癌株 HeLa に FTD を接触し、薬剤除去後の TS 阻害作用の持続性を評価した。その結果、5-フルオロデオキシウリジン (FdUrd) の TS 阻害作用が FdUrd の除去後も持続するのに対して、FTD の TS 阻害作用は FTD の除去後に速やかに消失し、FTD の TS 阻害様式が 5-FU 系抗癌剤と異なることが確認された。この結果から、経口投与では、投与後の薬剤消失とともに TS 阻害作用も消失するため、FTD の TS 阻害作用は発揮されにくいと考えられた。また、持続投与時と比較して、経口投与時の DNA に取り込まれる FTD の量が多くなることから、経口投与した場合、FTD の抗腫瘍効果は主に FTD の DNA への取り込みによって発揮されていると考えられた。そこで FTD の DNA への取り込みと抗腫瘍効果の関係を明らかにするため、ヒト乳癌株 MX-1 を皮下移植したマウスに、FTD を持続投与又は 1

日 2 回、連日経口投与して、それぞれの投与法による FTD の抗腫瘍効果を比較した。最大耐量付近の FTD を投与した結果、経口投与時の方が持続投与時よりも有意に高い抗腫瘍効果が認められた。以上の結果から、FTD は投与法により作用機序が変わり、経口投与時は FTD の DNA への取り込みによって抗腫瘍効果を発揮していることが示唆された。

2.4.2.2 TPI の配合意義

FTD の DNA への取り込みを作用機序として発揮させるためには、経口投与が適していることが明らかとなった。しかし、TPase 活性の高いサルに FTD を経口投与した結果、消化管から吸収され肝臓を経由するため初回通過効果によりバイオアベイラビリティは非常に低くなることが明らかとなった（第 4.2.1.1.3 項）。ヒトもサルと同様に TPase 活性が高いことが報告されており^{1,2}、FTD を経口剤として開発するためには、TPase 阻害剤の配合が必要であり、阻害定数が $0.017 \mu\text{mol/L}$ である TPase 阻害剤の TPI が開発された²。FTD と TPI の配合比については、ヒトと同様に TPase 活性の高いサルを用いて検討され、1 モルの FTD に 0.5 モル以上の TPI を併用した場合、FTD の血中濃度が高いレベルに達したことから、FTD と TPI をモル比 1 : 0.5 に配合した薬剤を TAS-102 とした。また、TPase が血管新生に関係する血小板由来内皮細胞増殖因子と同一であることが報告されたことから⁷、TPI 単剤の抗腫瘍効果についても評価した。3 種類のヒト腫瘍株を皮下移植したマウスに TPI 及び TAS-102 を投与し、それぞれの抗腫瘍効果を評価した結果、TAS-102 はすべての株に対して有意な抗腫瘍効果を示したが、TPI は抗腫瘍効果を示さなかった。TAS-102 の抗腫瘍効果に対する TPI の寄与はほとんどないことが示唆され、TPI は主に FTD の分解阻害剤として作用していると考えられた（第 4.2.1.1.3 項～第 4.2.1.1.5 項）。

2.4.2.3 効力を裏付ける試験

2.4.2.3.1 *In vitro* 薬理試験

TAS-102 の抗癌活性成分である FTD の *in vitro* における抗癌活性を評価するために、種々の培養癌細胞に FTD 又は対照薬の 5-FU を 3 日間接触させて、50% 細胞増殖抑制濃度 (IC_{50}) を算出した。5-FU の IC_{50} は $3.18 \sim 17.7 \mu\text{mol/L}$ 、FTD の IC_{50} は $0.214 \sim 24.4 \mu\text{mol/L}$ であり、FTD は *in vitro* において、既存抗癌剤と同等の抗癌活性を示すことが確認された（第 4.2.1.1.6 項）。

2.4.2.3.2 *In vivo* 薬理試験

In vivo 薬理試験では、投与スケジュール及び投与量の検討、他剤を対照薬に用いた種々の腫瘍株に対する有効性及び TAS-102 の延命効果を評価した（第 4.2.1.1.7 項～第 4.2.1.1.11 項）。

2.4.2.3.2.1 投与スケジュール及び投与量の検討

FTD の DNA への取り込み量は、FTD の投与法により大きく異なることから、TAS-102 については、投与法の検討は重要であると考えられた。よって、TAS-102 の投与スケジュール及び投与量を検討した。

DNA 複製が行われるのは細胞周期のうち、S 期のみであるため、FTD が DNA に取り込まれるのは主に S 期と考えられる。腫瘍細胞のうち、S 期にある細胞は一部であるため、腫瘍全体の細胞に取り込ませるためには、連日投与が適していると考えられた。また、*in vitro* の検討から、DNA に取り込まれる FTD の量には濃度依存性があるものの、頭打ちが認められることから⁴、1 度の大量投与よりも分割した方が DNA に取り込まれる FTD 量が多くなる可能性が考えられた。よって、1 日 1 回及び 1 日 2 回投与による連日投与の抗腫瘍効果を比較した。ヒト乳癌株 MX-1 を皮

下移植したマウスに、150 mg/kg/day の TAS-102 を 1 日 1 回又は 1 日 2 回、14 日間連日投与した結果、1 日 2 回投与の方が 1 日 1 回投与と比較して有意に高い抗腫瘍効果を示した。この他に、TAS-102 を 1 日 3 回に分割投与することにより、抗腫瘍効果が高まることが確認されており⁴、これらの知見は TAS102-9804 試験以降の臨床試験に反映された。

ヒト胃癌株 SC-2 皮下移植マウスを用いた TAS-102 の有効用量の検討の結果、TAS-102 は 31 mg/kg/day 以上で有意な抗腫瘍効果を示し、薬効用量を投与した場合の FTD の血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) は、ヒトとマウスでおおむね類似することが確認された。

2.4.2.3.2.2 種々の腫瘍株に対する抗腫瘍効果

癌の治療では、5-FU 系抗癌剤、プラチナ製剤、トポイソメラーゼ阻害剤、分子標的薬などの様々な抗癌剤が使用されているが、これらの抗癌剤が無効になった癌に有効な薬剤が必要とされている。TAS-102 の作用機序は既存抗癌剤とは異なるため、既存抗癌剤が無効である腫瘍に対する TAS-102 の有効性が期待された。そこで種々の腫瘍株を皮下移植したマウスを用いて TAS-102 の抗腫瘍効果を評価した結果、5-FU 系抗癌剤のティーエスワン (TS-1) に低感受性を示すヒト乳癌株 MX-1 及びセツキシマブが無効である変異型 *KRAS* 遺伝子を有するヒト大腸癌株 HCT-116 に対して TAS-102 は有意な抗腫瘍効果を示した。

2.4.2.3.2.3 FTDのDNAへの取り込みに基づく特徴的な抗腫瘍効果

培養細胞を用いた試験結果から、FTDはDNAに取り込まれた後、簡単には除去されずにDNA中に留まることが報告されている⁴。このようなFTDの性質から、TAS-102 の場合、薬剤投与終了後もDNAに留まるFTDの作用によって、腫瘍の増殖が抑制されることが報告されている⁸。癌治療でこのTAS-102 の特徴がどのような利点につながるかを明らかにするため、ヒト大腸癌株KM20Cの延命モデル（腹腔内移植モデル）を用いて、TAS-102、TS-1 及びイリノテカン塩酸塩 (CPT-11) の抗腫瘍効果を評価した。TAS-102 はTS-1 及びCPT-11 と比較して有意に高い延命効果を示した。この結果は、薬剤の投与が終了した後も腫瘍の増殖を抑制するTAS-102 の特徴が反映されたものであると考えられ、TAS-102 は生存期間の延長に寄与する薬剤であることが示唆された。

2.4.2.4 安全性薬理試験

2.4.2.4.1 コアバッテリー試験

安全性薬理コアバッテリーに関する試験として、心血管系、中枢神経系及び呼吸器系に及ぼす TAS-102、FTD 及び TPI の影響を評価した。これらの安全性薬理試験は、「安全性薬理試験ガイドラインについて」(平成 13 年 6 月 21 日 医薬審発第 902 号)に準拠し、「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 (GLP)」を遵守して実施した。TAS-102 は FTD と TPI をモル比 1 : 0.5 (重量比 1 : 0.471) で配合した経口剤であり、一連の安全性薬理試験での TAS-102 の投与量は FTD 量として記載した。

心血管系に関する試験では、無麻酔サルに TAS-102 (6.8, 27.2 及び 108.8 mg/kg)、FTD (6.8, 27.2 及び 108.8 mg/kg) 及び TPI (62.5, 250 及び 1000 mg/kg) を単回経口投与した際に、血圧、心拍数、PR 間隔、QRS 時間、QT 間隔及び補正 QT 間隔に影響はなかった (第 4.2.1.3.1 項、第 4.2.1.3.2 項及び第 4.2.1.3.3 項)。また、*in vitro* 試験として、FTD を 3, 30 及び 300 µmol/L の用量にて、TPI を 1, 10 及び 100 µmol/L の用量にてヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子 (hERG) 電流に及ぼす影響を確認した結果、いずれも影響はなかった (第 4.2.1.3.4 項及び第 4.2.1.3.5 項)。

中枢神経系及び呼吸器系に関する試験では、無麻酔ラットに TAS-102 (27.2, 108.8 及び 435 mg/kg), FTD (27.2, 108.8 及び 435 mg/kg) 及び TPI (125, 500 及び 2000 mg/kg) を単回経口投与した。中枢神経系に関する試験では、Irwin の多次元観察法を用いて観察した結果、一般状態及び行動に影響はなかった (第 4.2.1.3.6 項, 第 4.2.1.3.7 項及び第 4.2.1.3.8 項)。呼吸器系に関する試験においても、呼吸数, 1 回換気量及び分時換気量に影響はなかった (第 4.2.1.3.9 項, 第 4.2.1.3.10 項及び第 4.2.1.3.11 項)。

2.4.3 薬物動態試験

TAS-102, [¹⁴C-FTD]TAS-102 又は [¹⁴C-TPI]TAS-102 の *in vivo* 非臨床薬物動態試験は、主として薬理試験及び毒性試験で用いた動物種である、マウス, ラット, イヌ及びサルを用いて実施した。投与媒体は 0.5% ヒドロキシプロピルメチルセルロースを用いた。吸収, 分布及び代謝の検討には目的に応じて *in vitro* 試験系 (Caco-2 細胞, ヒト肝細胞及びヒト肝ミクロソームなど) を用いた。生体試料及び *in vitro* 試験系で得られた反応液中の放射能は液体シンチレーションカウンター又は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) /オンラインフローシンチレーションアナライザーを用いて測定した。生体試料中の FTD, TPI 及びそれらの代謝物の測定は HPLC 又は高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法を用いた。

2.4.3.1 吸収

Caco-2 細胞を用いて FTD 及び TPI の膜透過性を検討した結果、いずれの化合物も膜透過性は低く、マンニトールと同程度であった。マウス, ラット, イヌ及びサルに TAS-102 を経口投与したとき、FTD 及び TPI の血漿中濃度は用量の増加に伴って上昇した。また、ラット及びサルでは反復投与による FTD, FTY 又は TPI の血漿中濃度の変化は認められなかった。イヌでは反復投与により FTD, FTY 又は TPI の t_{max} が延長する傾向が認められたものの、血漿中濃度に明らかな変化は認められなかった。ラットを用いて食餌の影響を検討した結果、食餌による血漿中 FTD 濃度の明らかな変化は認められなかった。一方、TPI に関しては、食餌により、最高血漿中濃度 (C_{max}) は減少するものの、 AUC_{inf} に明らかな影響はなかった。ラットに TAS-102 を投与したときに胆汁排泄は認められなかったため、尿及び呼気中排泄率より、FTD 及び TPI の吸収率はそれぞれ投与量の 76.4% 以上及び 14.7% 以上と考えられた。サルでの FTD 及び TPI の吸収率は尿中排泄率よりそれぞれ投与量の 79.4% 以上及び 27.3% 以上と考えられた。ラットの消化管 *in situ* loop 法により、FTD 及び TPI の消化管吸収部位を検討した結果、FTD の吸収は消化管全域で認められ、特に小腸中部から下部にかけて高く、TPI の吸収は小腸全域で認められた。

2.4.3.2 分布

ラットに [¹⁴C-FTD]TAS-102 又は [¹⁴C-TPI]TAS-102 を 50 mg/kg で経口投与した後の放射能は速やかに組織に分布し、多くの組織で投与後 1 時間に最高濃度に達した。その後組織に分布した放射能は、血漿中放射能濃度の減少に伴い消失した。全身オートラジオグラフィーでは、[¹⁴C-FTD]TAS-102 又は [¹⁴C-TPI]TAS-102 投与後 72 時間で胸腺又は腸内容物に低い放射能が認められた以外に、いずれの組織にも放射能は認められず、顕著な残留性を示す組織はなかった。また、有色ラットを用いて同様に組織分布を検討した結果、メラニン色素含有組織に放射能の残留は認められなかった。

¹⁴C-FTD の血漿蛋白結合率は、ラットが 57.1%~72.3%, マウスが 70.0%~82.5%, イヌが 37.8%~45.4%, サルが 87.8%~91.5%, ヒトが 96.7%~97.3% であり、結合率に濃度依存性は認められな

かった。また、FTD の主なヒト血漿結合蛋白画分はアルブミンと考えられた。一方、TPI の血漿蛋白結合率はすべての種で 8%以下と低かった。更に、ラット、サル及びヒトの FTD の血液/血漿濃度比 (Rb) はそれぞれ 0.701~0.788, 0.628~0.678 及び 0.596~0.619 であった。また、TPI の Rb はそれぞれ 0.776~0.865, 0.634~0.680 及び 0.581~0.661 であった。FTD 及び TPI 共に Rb に明らかな種差及び濃度依存性は認められなかった。

胎盤移行に関しては、妊娠ラットで FTD, TPI 及びその代謝物の胎盤を介した胎児への移行が認められた。また、乳汁移行に関しては、授乳期のラットで FTD, TPI 及びその代謝物の乳汁中への移行が認められた。

2.4.3.3 代謝

ラット及びサルに¹⁴C-FTD]TAS-102 を経口投与した後の血漿中に、未変化体の他に代謝物としてラットでは FTY 及び未知代謝物 HFP1 が、サルでは FTY, FTD のグルクロン酸抱合体, α -trifluoromethyl- β -ureidopropionic acid 及び α -trifluoromethyl- β -alanine が認められた。ヒト TPase に対する TPI の阻害様式は競合阻害であり、その代謝に対する TPI の阻害定数値は 0.017 μ mol/L であった⁶。また、ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験では ¹⁴C-FTD の代謝物として FTY, 5-カルボキシ-2'-デオキシウリジン (5-CdUrd) 及び 5-カルボキシウラシル (5-CU) が認められた。5-CdUrd は FTD から非酵素的に生成すると考えられた。ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験で ¹⁴C-FTD の代謝が TPI の添加により 80%程度阻害されたことから、FTD は主に TPase により代謝されると考えられた。更に、固形癌患者に TAS-102 を経口投与した後の血漿中には、FTD, FTY 及び 5-CU 以外に 5-CdUrd も認められた。ヒトでは、FTD の AUC_{inf} に対する FTY 及び 5-CU の AUC_{inf} はそれぞれ約 30%及び約 0.3%であり、また、5-CdUrd は微量であった。これらの結果から、いずれの種でも FTY が FTD の主な代謝物であり、更に FTY から 5-CU が生成すると考えられた。

ラット及びサルに¹⁴C-TPI]TAS-102 を経口投与した後の血漿中では、未変化体の他に代謝物が認められたが、それらの代謝物は微量であった。また、ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験では ¹⁴C-TPI の代謝物は認められなかった。固形癌患者に TAS-102 を経口投与した後の血漿及び尿中には、主に TPI が認められ、それ以外に 6-ヒドロキシメチルウラシル (6-HMU) が認められた。これらの結果から、いずれの種でも TPI の主な代謝物は 6-HMU であると考えられた。

マウス及びラットの肝臓の組織抽出液での FTD の代謝は TPI により阻害されたが、小腸の組織抽出物では阻害されなかった⁶。また、イヌでは、肝臓及び小腸共に TPI による FTD の代謝阻害は認められなかった。一方、サル及びヒトの肝臓及び小腸では、共に FTD の代謝は TPI により阻害された。このように、肝臓及び小腸での FTD 代謝に及ぼす TPI の影響には種差が認められた。ヒトの FTD 代謝に及ぼす TPI の効果が類似している動物種はサルであった。

2.4.3.4 排泄

[¹⁴C-FTD]TAS-102 を経口投与したラットでの総放射能の尿、糞及び呼気中排泄量はそれぞれ投与量の 60.6%, 20.6%及び 15.8%であった。胆管にカニューレを施したラットに¹⁴C-FTD]TAS-102 を投与したところ胆汁中への排泄は認められなかった。[¹⁴C-FTD]TAS-102 を経口投与したサルの総放射能の尿及び糞中排泄量はそれぞれ投与量の 79.4%及び 3.8%であった。投与後 24 時間までの尿中の組成は FTY が最も多かった。したがって、吸収された FTD は FTY へと代謝され主に代謝物として尿中に排泄されると考えられた。[¹⁴C-TPI]TAS-102 を経口投与したラットの総放射能の尿、糞及び呼気中排泄量は、それぞれ投与量の 14.3%, 83.4%及び 0.4%であった。胆管にカニューレを施したラットに¹⁴C-TPI]TAS-102 を投与したところ胆汁中への排泄は認められなかった。

[¹⁴C-TPI]TAS-102 を経口投与したサルでの総放射能の尿及び糞中排泄量は、それぞれ投与量の 27.3% 及び 68.1% であった。投与後 24 時間までの尿中の組成は TPI が最も多かった。固形癌患者に TAS-102 を経口投与した後の血漿及び尿には、主に TPI が認められ、それ以外に 6-HMU が認められた。TPI の C_{max} が 25.8~136 ng/mL であったのに対し、6-HMU の血漿中濃度は約 1~2 ng/mL と低かった。また、投与後 10 時間までの蓄積尿中の TPI の濃度は 465 ng/mL 以上であったが、6-HMU の濃度は定量下限値である 50 ng/mL 以下であった。これらの結果から、いずれの種でも吸収された TPI はほとんど代謝されずに主に未変化体として尿中に排泄されることが推察された。

2.4.3.5 相互作用

ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験により、FTD は主に TPase により代謝されると考えられた。ヒト肝細胞を用いた酵素誘導試験では、FTD 及び TPI による CYP1A2 及び CYP3A4/5 の誘導作用は認められなかった。ヒト肝ミクロソームでの FTD 及び TPI による各 CYP 分子種 (CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 及び CYP3A4/5) の阻害作用は認められなかった。FTD の血漿蛋白結合率は 96% 以上と高かったが、アルブミンに結合する典型薬剤であるワルファリンの血漿蛋白結合率に FTD は影響を及ぼさなかった。また、FTD の血漿蛋白結合率に対してワルファリン、ジアゼパム及びジギトキシンは影響を及ぼさなかった。したがって、アルブミンに結合する薬剤が FTD の血漿蛋白結合率に及ぼす影響はないと考えられた。ヒト MDR1 膜ベシクルで P-gp に対する FTD 及び TPI の阻害作用は認められなかった。更に、P-gp を介した FTD 及び TPI の輸送も認められなかった。したがって、FTD 及び TPI は P-gp の基質及び阻害剤ではないことが示唆された。ヒト OCT2 の安定発現細胞で TPI の取り込みが認められ、TPI の尿細管分泌に OCT2 が寄与している可能性が考えられた。OCT2 に対する TPI の 50% 阻害濃度はヒトでの TPI の最高血漿中濃度よりも 100 倍以上高かったことから、臨床で TPI が OCT2 を阻害する可能性は低いと考えられた。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 毒性試験プログラム

TAS-102 は FTD と TPI をモル比 1 : 0.5 (重量比 1 : 0.471) で配合した経口抗癌剤である。FTD は TAS-102 の抗癌活性成分であり、分解酵素である TPase 活性により容易に分解される。TPI はこの TPase を阻害するため、配合が必要である。

TAS-102 の非臨床における安全性を評価する目的で、表 2.4.4.1-1 に示す単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験及び光安全性試験を実施した。各試験種について、光安全性試験を除き、被験物質として TAS-102 を用いて評価し、また、生殖発生毒性試験を除き、TAS-102 の構成成分である FTD 及び TPI についても評価した。

これらの試験を評価するに当たり、「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンスについて」(平成 22 年 2 月 19 日 薬食審査発 0219 第 4 号)、「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインについて」(平成 22 年 6 月 4 日 薬食審査発 0604 第 1 号)、「単回及び反復投与毒性試験ガイドラインの改正について」(平成 5 年 8 月 10 日 薬新薬第 88 号)、「反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正について」(平成 11 年 4 月 5 日 医薬審第 655 号)、「トキシコキネティクス (毒性試験における全身的暴露の評価) に関するガイダンスについて」(平成 8 年 7 月 2 日 薬審第 443 号)、「医薬品の遺伝毒性試験に関するガイドラインについて」(平成 11 年 11 月 1 日 医薬審第 1604 号) 及び「医薬品の生殖発生毒性試験に係る

ガイドラインの改定について」(平成9年4月14日 薬審第316号)などを参考にした。なお、一連の毒性試験での TAS-102 の投与量は FTD 量として示した。

トキシコキネティクスを評価するために、反復投与毒性試験では TAS-102 の構成成分である FTD 及び TPI 並びに FTD の主代謝物である FTY の血漿中濃度を測定した。

投与期間について、臨床では1コースを28日とし、TAS-102を1日2回5日間連続経口投与した後2日間休薬、これを2回繰り返した後14日間休薬するとしている。TAS-102、FTD 及び TPI の各被験物質の反復投与毒性試験では、臨床での1コースの投与期間を越える2週間及び4週間反復投与した際の毒性を評価し、更に TAS-102 では13週間反復投与した際の毒性も評価した。投与経路は経口投与とした。

動物種は、単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験にげっ歯類としてラットを用いた。非げっ歯類では、開発初期の単回投与毒性試験にはイヌ、2週反復投与毒性試験にはイヌ及びサルを用いた。その後、4週間以上の反復投与毒性試験では、サルの肝臓や腸管での FTD の主代謝酵素である TPase 活性がヒトに近いことから^{1,2}、サルを用いた。非げっ歯類を用いた TPI の単回投与毒性については、サルを用いた4週間反復投与試験で技術的に投与可能な最大量と考えられる 1000 mg/kg を設定していることから、その試験にて評価した。

遺伝毒性については、細菌及び培養細胞を用いた *in vitro* 試験並びにマウスを用いた *in vivo* 試験を実施した。がん原性については、TAS-102 の対象疾患が進行・再発癌であることから試験の実施は必要ないと判断した。生殖発生毒性については、ラットを用いて TAS-102 の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験並びに胚・胎児発生に関する試験を実施した。このラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では、着床後死亡率の増加及び催奇形性がみられたため、ウサギを用いた試験は実施しなかった。また、出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験は、TAS-102 の対象疾患が進行・再発癌であることから必要ないと判断した。局所刺激性については、TAS-102 の臨床適用経路は経口投与であるため、実施しなかった。

その他の毒性試験として、免疫毒性については、TAS-102 の反復投与毒性試験で得られた変化から、免疫系への影響が認められたため、独立した試験は実施しなかった。光安全性については、培養細胞を用いて FTD 及び TPI の *in vitro* 試験を実施した。また、不純物の毒性試験については、原薬及び製剤の類縁物質が安全性確認の必要な閾値を超えていないことから(第2.3.S.4.4項 トリフルリジン、第2.3.S.4.4項 チピラシル塩酸塩及び第2.3.P.5.4項 ロンサーフ)、実施しなかった。

上記の主要な毒性試験は GLP を遵守して実施した。なお、重要な試験以外である用量設定試験は GLP に準拠しなかった。

表 2.4.4.1-1 毒性試験プログラム

試験の種類	動物種/系統/試験系、 性	投与方法	被験物質	GLP 適用	試験番号	記載箇所
単回投与毒性試験						
	ラット/SD, 雌雄	強制経口	TAS-102	適		4.2.3.1.1
	イヌ/ビーグル, 雌雄	強制経口	TAS-102	適		4.2.3.1.2
	ラット/SD, 雌雄	強制経口	FTD	適		4.2.3.1.3
	イヌ/ビーグル, 雌雄	強制経口	FTD	適		4.2.3.1.4
	ラット/SD, 雌雄	強制経口	TPI	適		4.2.3.1.5
げっ歯類を用いた 反復投与毒性試験						
2 週	ラット/SD, 雄	強制経口	TAS-102	適		4.2.3.2.1
4 週	ラット/SD, 雌雄	強制経口	TAS-102	適		4.2.3.2.2
13 週	ラット/SD, 雌雄	強制経口	TAS-102	適		4.2.3.2.3
2 週	ラット/SD, 雄	強制経口	FTD	適		4.2.3.2.4
4 週	ラット/SD, 雌雄	強制経口	FTD	適		4.2.3.2.5
2 週	ラット/SD, 雄	強制経口	TPI	適		4.2.3.2.6
4 週	ラット/SD, 雌雄	強制経口	TPI	適		4.2.3.2.7
非げっ歯類を用いた 反復投与毒性試験						
2 週	サル/カニクイ, 雌雄	強制経口	TAS-102	適		4.2.3.2.8
4 週	サル/カニクイ, 雌雄	強制経口	TAS-102	適		4.2.3.2.9
13 週	サル/カニクイ, 雌雄	強制経口	TAS-102	適		4.2.3.2.10
2 週	イヌ/ビーグル, 雄	強制経口	TAS-102	適		4.2.3.2.11
4 週	サル/カニクイ, 雌雄	強制経口	FTD	適		4.2.3.2.12
4 週 (重要な試験以外)	サル/カニクイ, 雄	強制経口	FTD	不適		4.2.3.2.13
2 週	イヌ/ビーグル, 雄	強制経口	FTD	適		4.2.3.2.14
4 週	サル/カニクイ, 雌雄	強制経口	TPI	適		4.2.3.2.15
遺伝毒性試験						
<i>in vitro</i> 遺伝毒性試験						
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	<i>in vitro</i>	TAS-102	適		4.2.3.3.1.1
染色体異常試験	CHL/IU*	<i>in vitro</i>	TAS-102	適		4.2.3.3.1.2
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	<i>in vitro</i>	FTD	適		4.2.3.3.1.3
染色体異常試験	CHL/IU*	<i>in vitro</i>	FTD	適		4.2.3.3.1.4
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	<i>in vitro</i>	TPI	適		4.2.3.3.1.5
染色体異常試験	CHL/IU*	<i>in vitro</i>	TPI	適		4.2.3.3.1.6
<i>in vivo</i> 遺伝毒性試験						
小核試験	マウス/ddy	強制経口	TAS-102	適		4.2.3.3.2.1
小核試験	マウス/ddy	強制経口	FTD	適		4.2.3.3.2.2
小核試験	マウス/ICR	強制経口	TPI	適		4.2.3.3.2.3
生殖発生毒性試験						
雄性受胎能及び着床までの 初期胚に関する試験	ラット/SD	強制経口	TAS-102	適		4.2.3.5.1.1
雌性受胎能及び着床までの 初期胚に関する試験	ラット/SD	強制経口	TAS-102	適		4.2.3.5.1.2
胚胎児発生に関する用量 設定試験 (重要な試験以外)	ラット/SD	強制経口	TAS-102	不適		4.2.3.5.2.1
胚胎児発生に関する試験	ラット/SD	強制経口	TAS-102	適		4.2.3.5.2.2
その他の毒性試験						
光安全性試験	Balb/3T3 細胞	<i>in vitro</i>	FTD	適		4.2.3.7.7.1
光安全性試験	Balb/3T3 細胞	<i>in vitro</i>	TPI	適		4.2.3.7.7.2

S. typhimurium: *Salmonella typhimurium*

E. coli: *Escherichia coli*

*: チャイニーズハムスター肺由来培養細胞

2.4.4.2 単回投与毒性試験

TAS-102 の単回経口投与毒性を、ラット及びイヌを用いて投与量は FTD 量として 250, 500, 1000 及び 2000 mg/kg にて検討した。TAS-102 の概略の致死量は 2 つの動物種ともに 2000 mg/kg

であった（第 4.2.3.1.1 項及び第 4.2.3.1.2 項）。ラットでは 2000 mg/kg で投与翌日又は投与後 2 日に死亡が確認され、病理組織学的変化として胃及び腸管の陰窩上皮の壊死、腺胃のびらん並びに腸管の粘膜表層上皮細胞の壊死などがみられた。一般症状として下痢が 250 mg/kg 以上で投与日に、体重増加抑制が 1000 mg/kg、体重減少が 2000 mg/kg で投与翌日にみられたが、その後回復した。イヌでは、2000 mg/kg の雄 1 匹が投与後 7 日に瀕死状態となり安楽死させた。この瀕死動物の剖検では、肺の暗色及び硬化、十二指腸及び空腸の腸壁の肥厚、回腸の暗色及び褪色並びに結腸の多発性暗色斑がみられた。一般症状として 250 mg/kg 以上で嘔吐が投与後 4 時間まで、軟便が投与後 1 週目にみられ、500 mg/kg 以上で体重及び摂餌量の減少が主に投与後 1 週目にみられた。

FTD の単回経口投与毒性を、ラット及びイヌを用いて 250, 500, 1000 及び 2000 mg/kg にて検討した。FTD の概略の致死量はラットで 2000 mg/kg 及びイヌで 2000 mg/kg 以上であった（第 4.2.3.1.3 項及び第 4.2.3.1.4 項）。ラットでは、2000 mg/kg で投与翌日から投与後 4 日に死亡が確認され、病理組織学検査で胃及び腸管の陰窩上皮の壊死並びに腸管の粘膜表層上皮細胞の壊死などがみられた。一般症状として 250 mg/kg 以上で下痢が投与日に、1000 mg/kg 以上で体重の減少が投与翌日にみられたが、その後回復した。イヌでは、死亡はなかったが、250 mg/kg 以上で嘔吐が投与後 4 時間まで、軟便、水様便、少量便又は無便などの便異常が投与後 1 週目まで、2000 mg/kg でこれらの便異常が投与後 2 週目までみられた。また、250 mg/kg 以上で体重及び摂餌量の減少並びに 500 mg/kg 以上で盲腸粘膜の暗色がみられ、更に 2000 mg/kg で結腸及び直腸粘膜の暗色もみられた。

TPI の単回経口投与毒性を、ラットを用いて 2000 mg/kg にて検討した。観察期間中に死亡動物はみられなかった。一般症状として投与後 30 分以内に流涎が、投与後 5 時間から翌日まで検体様色（白色）便がみられたが、その他に症状、体重及び剖検で特記すべき変化はみられなかった（第 4.2.3.1.5 項）。非げっ歯類では単回投与毒性試験は実施していないが、サルを用いた 4 週間反復投与試験では最高投与量の 1000 mg/kg に死亡はなく、体重及び摂餌量の減少もなかった。一般症状として軟便及び水様便がみられるものの投与 7 又は 9 日目以降の変化であり、これらは単回投与に起因する急性症状ではないと考えられた（第 4.2.3.2.15 項）。

以上、TAS-102 及び FTD の概略の致死量は、ラットではともに 2000 mg/kg であった。イヌでは TAS-102 の概略の致死量は 2000 mg/kg であったが、FTD では 2000 mg/kg で死亡はなかった。しかし、TAS-102 及び FTD とともに同様な便異常が同時期にみられ、体重及び摂餌量の減少並びに剖検で消化管に同様な病変がみられた。したがって、TAS-102 と FTD の単回投与毒性は同じと考えられた。一方、TPI では、ラットでの 2000 mg/kg で検体様色便のほかに特記すべき変化はなく、死亡などの重篤な変化はなかった。

2.4.4.3 反復投与毒性試験

2.4.4.3.1 げっ歯類を用いた反復投与毒性試験

2.4.4.3.1.1 TAS-102

TAS-102 のげっ歯類を用いた反復経口投与毒性試験として、ラットを用いた 2 週間（雄；FTD 量として 15, 50, 150 及び 450 mg/kg/day）、4 週間（雌雄；50, 150 及び 450 mg/kg/day）及び 13 週間（雌雄；5, 15, 50 及び 150 mg/kg/day）の試験を実施した。

TAS-102 試験では投与期間中に死亡はなかった。また、無毒性量は 2 週間及び 4 週間試験で 50 mg/kg/day 並びに 13 週間試験で 15 mg/kg/day であった。

これらのラットを用いた TAS-102 反復投与試験では、主にリンパ・造血組織及び消化管の障害を示唆する変化がみられ、更に 4 週間試験では卵巣にも変化がみられた。すなわち、2 週間試験では、150 mg/kg/day 以上で小腸の陰窩上皮の壊死及びリンパ節の濾胞萎縮、450 mg/kg/day で体重の増加抑制、摂餌量の減少、白血球数及び網状赤血球率の減少、脾臓重量及び胸腺重量の減少並びに胸腺の萎縮がみられた（第 4.2.3.2.1 項）。4 週間試験では、150 mg/kg/day 以上で体重の増加抑制、摂餌量の減少、腺胃にびらん、小腸の陰窩上皮の壊死、脾臓に髄外造血の亢進、卵巣重量及び小型黄体数の増加がみられた。更に 450 mg/kg/day では、血液学的変化として白血球数、赤血球数、網状赤血球率、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値及びフィブリノーゲン量の減少並びに平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビン量の増加、血液化学的变化として総蛋白及び γ -グロブリン分画比率の減少並びに総コレステロール及び総ビリルビンの増加、病理学的変化として胸腺、脾臓及びリンパ節の萎縮並びに骨髄の造血細胞の減少がみられた（第 4.2.3.2.2 項）。13 週間試験では、50 mg/kg/day 以上で白血球数の減少、平均赤血球ヘモグロビン量の増加、小腸の陰窩上皮にアポトーシス小体の増加及び骨髄に脂肪浸潤、更に 150 mg/kg/day で赤血球数の減少、平均赤血球容積の増加及び胸腺の萎縮もみられた（第 4.2.3.2.3 項）。これらのリンパ・造血組織、消化管及び卵巣の変化には、回復性が認められた。

ラットに特異的な変化として、TAS-102 の 4 週間及び 13 週間試験では、終生成長する常生歯である切歯の異常が投与開始後 5 週から 7 週の間にみられ始めた。この切歯の異常は、白色化、破損、不正咬合並びにエナメル芽細胞、乳頭層細胞及び象牙芽細胞の変性や配列不整などであり、13 週間試験では 9 週間の休薬により回復性が認められた。上述の TAS-102 の 4 週間試験では、回復期間中に 450 mg/kg/day の雄 1 匹が死亡した。このラットの死亡は、切歯の破損や不正咬合により固形飼料の摂食が困難となり、栄養状態の悪化が招いた結果と考えられた。その他、尿沈渣に薬剤性結晶の出現、尿浸透圧の低下及び尿中電解質排泄量の減少などがみられたが、腎臓に病理組織学的変化はなかった。

トキシコキネティクスについて、FTD、FTY 及び TPI の血漿中濃度は、投与量増加に伴って増加し、性差もなかった。また、2 週間及び 4 週間投与での反復投与による全身的曝露の変化は認められなかったが、13 週間投与では反復投与後の FTD 及び FTY の血漿中濃度が初回投与に比べてやや高かった。

2.4.4.3.1.2 FTD

FTD のげっ歯類を用いた反復経口投与毒性試験として、ラットを用いた 2 週間（雄；15, 50, 150 及び 450 mg/kg/day）及び 4 週間（雌雄；15, 50 及び 150 mg/kg/day）の試験を実施した。

FTD の 2 週間試験では 450 mg/kg/day で投与 11 日から投与期間終了時にかけて死亡がみられた。一方、4 週間試験では最高投与量の 150 mg/kg/day でも死亡はなかった。また、無毒性量は 2 週間試験で 50 mg/kg/day、4 週間試験で 15 mg/kg/day であった。なお、ラット特有の変化である切歯の変化を除いた場合の 4 週間試験の無毒性量は 50 mg/kg/day であった。

これらのラットを用いた FTD の反復投与試験では、TAS-102 と同様に主にリンパ・造血組織及び消化管の障害を示唆する変化がみられ、精巣及び卵巣にも変化がみられた。すなわち、2 週間試験では、150 mg/kg/day 以上で体重の増加抑制及びリンパ節の萎縮、450 mg/kg/day で摂餌量の減少、血液学的変化として白血球数及び網状赤血球率の減少、血液化学的变化として中性脂肪、カリウム及び総蛋白質の減少並びに尿素窒素の増加、病理学的変化として胸腺重量及び脾臓重量の減少、腸管に粘膜萎縮及び陰窩上皮の壊死並びに精巣に精細管萎縮などがみられた。450 mg/kg/day

での死亡動物には、これらの変化に加えて軟便及び下痢などもみられた（第 4.2.3.2.4 項）。4 週間試験では、150 mg/kg/day で体重の増加抑制、摂餌量の減少、白血球数の減少、フィブリノーゲン量の減少、中性脂肪の減少、カリウムの増加、胸腺重量の減少、卵巣重量の増加、腺胃のびらん、小腸の陰窩上皮の壊死及び切歯の異常などがみられた。4 週間の休薬による回復性については、切歯の異常が投与期間終了時よりも増強してみられ、それに伴う低栄養状態を反映した変化がみられた。しかし、その他の障害は認められなかったことから、FTD による毒性は本質的に可逆的であると考えられた（第 4.2.3.2.5 項）。その他の変化として、尿検査でグルコース及びビリルビンの陽性、尿沈渣に薬剤性結晶の出現並びに尿中電解質排泄量の減少などがみられたが、腎臓に病理組織学的変化はなかった。

トキシコキネティクスについて、FTD 及び FTY の血漿中濃度は、投与量増加に伴って増加し、性差もなかった。また、150 mg/kg/day 以下の 2 週間及び 4 週間投与での反復投与による全身曝露の変化は認められなかったが、450 mg/kg/day の 2 週間投与では反復投与後の FTD の血漿中濃度が初回投与に比べて高値を示した。

2.4.4.3.1.3 TPI

TPI のげっ歯類を用いた反復経口投与毒性試験として、ラットを用いた 2 週間（雄；80, 400 及び 2000 mg/kg/day）及び 4 週間（雌雄；80, 400 及び 2000 mg/kg/day）の試験を実施した。

これらの TPI 試験では死亡はなく、また、2 週間試験の 80 mg/kg/day 及び 4 週間試験の 400 mg/kg/day 以下の投与量で TPI 投与に起因した変化はなかった。2 週間試験では、400 mg/kg/day 以上で流涎及び血液化学的検査で中性脂肪の減少がみられたが（第 4.2.3.2.6 項）、4 週間試験では同じ投与量でこれらの変化はみられず、毒性学的に重要な変化ではないと考えられた。また、4 週間試験では、尿に薬剤性結晶性沈渣の出現とそれに伴う色調異常（白色）がみられたが、病理組織学的変化はなかった（第 4.2.3.2.7 項）。したがって、ラットを用いた TPI の 2 週間及び 4 週間反復投与試験での無毒性量は 2000 mg/kg/day であると考えられた。

トキシコキネティクスについて、TPI の血漿中濃度は、投与量増加に伴って増加し、性差もなかった。また、反復投与による全身曝露の変化は認められなかった。

2.4.4.3.1.4 げっ歯類を用いた反復投与毒性試験のまとめ

TAS-102 及び FTD のラットを用いた反復経口投与毒性試験では、主な標的器官はリンパ・造血組織及び消化管であり、生殖器にも変化がみられた。一方、TPI では、ラットを用いた反復投与試験で最高投与量の 2000 mg/kg/day にも毒性学的意義のある変化はみられなかった。

2.4.4.3.2 非げっ歯類を用いた反復投与毒性試験

2.4.4.3.2.1 TAS-102

TAS-102 の非げっ歯類を用いた反復経口投与毒性試験として、サルを用いた 2 週間（雌雄；FTD 量として 1.9, 7.5, 30 及び 120 mg/kg/day）、4 週間（雌雄；6.25, 25 及び 100 mg/kg/day）及び 13 週間（雌雄；1.25, 5 及び 20 mg/kg/day）の試験、並びにイヌを用いた 2 週間試験（雄；17, 50 及び 150 mg/kg/day）を実施した。加えて、サル 13 週間試験では FTD 単剤の 20 mg/kg/day も投与した。

TAS-102 のサルを用いた 2 週間試験で 120 mg/kg/day の雄 1 匹が投与 8 日に、13 週間試験で 20 mg/kg/day の雌 1 匹が投与 85 日に瀕死状態になり、安楽死させた。一方、4 週間試験では死亡はなかった。また、4 週間試験の 6.25 mg/kg/day 及び 13 週間試験の 1.25 mg/kg/day で TAS-102 投与

に起因した変化はなかった。2週間試験の 1.9 mg/kg/day で雄に投与に起因した変化はなかったが、雌に白血球数の減少がみられた。しかし、この変化は軽微であり、その他に特記すべき変化はなかった。したがって、TAS-102 の無毒性量は 2 週間試験で 1.9 mg/kg/day、4 週間試験で 6.25 mg/kg/day 及び 13 週間試験で 1.25 mg/kg/day であると考えられた。また、FTD 単剤 20 mg/kg/day の 13 週間投与で投与に起因した変化はなかった。

これらのサルを用いた TAS-102 反復投与試験では、主にリンパ・造血組織及び消化管の障害を示唆する変化がみられた。すなわち、2 週間試験では 7.5 mg/kg/day 以上で白血球数及びリンパ球数の減少、30 mg/kg/day 以上で軟便、水様便及び流涎、盲腸及び結腸に炎症や陰窩上皮の壊死並びに脾臓での胚中心の萎縮など、更に 120 mg/kg/day で嘔吐、大腸に水様性内容物、小腸絨毛の萎縮、腸間膜リンパ節の萎縮及び骨髄の造血細胞の減少などがみられた（第 4.2.3.2.8 項）。4 週間試験では 25 mg/kg/day 以上で、軟便、水様便、嘔吐及び脱水、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少、胸腺の小型、盲腸の粘膜多発性青白色及び回盲部の多発性暗色、リンパ組織の萎縮並びに消化管に炎症などがみられた。更に 100 mg/kg/day で体重の減少及び食欲の低下、平均赤血球ヘモグロビン濃度及び血小板数の増加並びに平均血小板容積の減少、小腸に絨毛萎縮及び陰窩上皮の変性・壊死、骨髄に造血細胞の減少並びに骨髄塗抹検査での骨髄系/赤血球系細胞比の減少などもみられた（第 4.2.3.2.9 項）。加えて、血液化学的検査で尿素窒素、クレアチニン及びアラニン・アミノトランスフェラーゼ（ALT）の増加並びに尿検査でクレアチニン、カリウム及び塩素イオンの増加がみられた。13 週間試験では、5 mg/kg/day 以上で体重の減少及び赤血球数の減少など、20 mg/kg/day で軟便及び水様便、摂餌量の減少、白血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少、直腸に炎症並びに脾臓の萎縮などがみられた（第 4.2.3.2.10 項）。これらの試験でみられた瀕死動物では、リンパ・造血組織及び消化管の障害を示唆する変化は著しかった。また、生存動物ではリンパ・造血組織及び消化管の変化に、回復性が認められた。

サルでのトキシコキネティクスについて、FTD、FTY 及び TPI の血漿中濃度は、投与量増加に伴って増加し、性差もなかった。また、2 週間投与では反復投与後に FTD の血漿中濃度が初回投与に比べて高い傾向であったが、4 週間及び 13 週間投与での反復投与による全身曝露の変化は認められなかった。また、13 週間試験では、FTD の全身曝露が TAS-102 投与で同一用量（20 mg/kg/day）の FTD 単剤投与よりも高く（AUC で約 60～120 倍）、一方、FTY の全身曝露は低かった（AUC で約 0.4～0.9 倍）。

TAS-102 のイヌを用いた 2 週間反復投与試験（第 4.2.3.2.11 項）では、低用量である 17 mg/kg/day から嘔吐、軟便、水様便、少量便、体重の減少、摂餌量の低下、白血球数の減少、腸管の陰窩上皮に壊死、骨髄細胞の減少並びに胸腺、リンパ節、脾臓及び腸管リンパに萎縮がみられた。これらのリンパ・造血組織及び消化管の障害を示唆する変化は 50 mg/kg/day 以上の高用量ほど重度であり、更に自発運動の低下、振戦、皮温低下及び状態悪化に伴った血液化学的検査の異常もみられた。これらの 50 mg/kg/day 以上では、投与 5～8 日に死亡が確認、又は瀕死状態になり安楽死させた。トキシコキネティクスについて、FTD、FTY 及び TPI の血漿中濃度は投与量増加に伴って増加した。

2.4.4.3.2.2 FTD

FTD の非げっ歯類を用いた反復経口投与毒性試験として、サルを用いた 4 週間試験（雌雄；1.56, 6.25 及び 25 mg/kg/day）及びイヌを用いた 2 週間試験（雄；2, 6 及び 17 mg/kg/day）を実施した。

また、サルでは最高投与量の 25 mg/kg/day でも毒性がみられなかったため、4 週間追加試験（雄；50, 100 及び 150 mg/kg/day）を実施した。

FTD のサルを用いた 4 週間反復投与試験で 100 mg/kg/day 以上の全動物（各群 2 匹）が投与 13 ～23 日に瀕死状態となり、安楽死させた（第 4.2.3.2.13 項）。また、無毒性量は 25 mg/kg/day であった（第 4.2.3.2.12 項）。

このサルを用いた FTD 反復投与試験では、主にリンパ・造血組織及び消化管の障害を示唆する変化がみられた。すなわち、50 mg/kg/day 以上で下痢、体重及び摂餌量の減少、白血球数及び網状赤血球数の減少、胸腺のリンパ球減少、脾臓の白脾髄萎縮、骨髓細胞の減少又は増加並びに消化管に炎症細胞浸潤、粘膜アポトーシス小体の増加及び粘膜萎縮などがみられた。これらの変化は 100 mg/kg/day 以上で強く、更に血液便や血液化学的検査で全身状態や栄養状態の悪化に伴う異常、病理組織学的に肝細胞グリコーゲン野の減少、腎尿細管の拡張、副腎の細胞質内空胞減少及び皮質肥大、精巣の精細管上皮変性・壊死、皮下に炎症性細胞浸潤並びに表皮に肥厚及び潰瘍などがみられた。トキシコキネティクスについて、FTD 及び FTY の血漿中濃度は投与量増加に伴って増加した。

FTD のイヌを用いた 2 週間反復投与試験（第 4.2.3.2.14 項）では、2 mg/kg/day で十二指腸及び盲腸の陰窩上皮の壊死並びに骨髓細胞の減少がみられたが、軽微な変化であった。6 mg/kg/day 以上では、投与量増加に伴い、消化管障害の部位が広がり、また、骨髓細胞の減少の程度は強くなり、白血球数の減少もみられた。17 mg/kg/day では、リンパ組織の萎縮、血小板数の減少及び状態悪化に伴う血液化学的検査での異常もみられ、投与 12 日又は 13 日に死亡が確認、又は瀕死状態となり安楽死させた。トキシコキネティクスについて、FTD 及び FTY の血漿中濃度は投与量増加に伴って増加した。

2.4.4.3.2.3 TPI

TPI の非げっ歯類を用いた反復経口投与毒性試験として、サルを用いた 4 週間試験（100, 300 及び 1000 mg/kg/day）を実施した。

このサルを用いた TPI の 4 週間試験（第 4.2.3.2.15 項）では死亡はなかった。また、無毒性量は 100 mg/kg/day であった。300 mg/kg/day 以上で軟便、病理組織学的検査で大腸に粘膜過形成を伴う炎症及び胸腺にリンパ系の萎縮がみられたが、体重や摂餌量には変化がなかった。これらに加えて、高用量の 1000 mg/kg/day で水様便、胃炎、胃粘膜の出血、脾臓にリンパ系の萎縮及び腸間膜リンパ節にリンパ系過形成がみられた。トキシコキネティクスについては、TPI の血漿中濃度は投与量増加に伴って増加し、性差もなかった。また、4 週間反復投与による全身的曝露の変化は認められなかった。

2.4.4.3.2.4 非げっ歯類を用いた反復投与毒性試験のまとめ

TAS-102 及び FTD のサル及びイヌを用いた反復投与試験では、主な標的器官はリンパ・造血組織及び消化管であった。TPI のサルを用いた 4 週間投与では、300 mg/kg/day 以上で消化管に炎症がみられた。また、TPI の無毒性量である 100 mg/kg/day は、TAS-102 のいずれの反復投与試験での最高投与量に含まれる TPI より高かった。

2.4.4.4 遺伝毒性試験

TAS-102, FTD 及び TPI の遺伝毒性を、*in vitro* 試験（復帰突然変異試験、染色体異常試験）及び *in vivo* 試験（マウス小核試験）にて検討した。

TAS-102 及び FTD とともに、復帰突然変異誘発能、染色体異常誘発能及び小核誘発能が認められた（第 4.2.3.3.1.1～4.2.3.3.1.4 項，第 4.2.3.3.2.1 項及び第 4.2.3.3.2.2 項）。一方，TPI では，いずれの試験も陰性であった（第 4.2.3.3.1.5 項，第 4.2.3.3.1.6 項及び第 4.2.3.3.2.3 項）。

2.4.4.5 がん原性試験

TAS-102 の適用対象とする患者集団（進行・再発癌）を考慮し，「医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの改正について」（平成 20 年 11 月 27 日 薬食審査発第 1127001 号）及び「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインについて」（平成 22 年 6 月 4 日 薬食審査発 0604 第 1 号）に基づいて，がん原性試験は実施しなかった。

2.4.4.6 生殖発生毒性試験

TAS-102 について，ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚に関する試験並びに胚・胎児発生に関する試験を実施した。投与量は，雄性受胎能試験では FTD 量として 50，150 及び 450 mg/kg/day を，雌性受胎能試験及び胚・胎児発生試験では 15，50 及び 150 mg/kg/day を設定した。

雄性ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚に関する試験では，最高投与量で受胎能及び初期胚発生に影響はなく，無毒性量は 450 mg/kg/day であった（第 4.2.3.5.1.1 項）。一方，雌性ラットを用いた試験では，150 mg/kg/day で黄体数，着床数及び着床後死亡率の増加がみられ，受胎能及び初期胚発生に対する無毒性量は 50 mg/kg/day であった（第 4.2.3.5.1.2 項）。

胚・胎児発生に関する試験では，50 mg/kg/day 以上で雌親動物の体重の増加抑制，胎児体重の減少及び骨化の遅延，150 mg/kg/day で雌親動物の摂餌量の減少，着床後死亡率の増加並びに外表異常，内臓異常又は骨格異常を有する胎児の発現率の増加がみられ，雌親動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量は 15 mg/kg/day であった（第 4.2.3.5.2.2 項）。

2.4.4.7 局所刺激性試験

本剤の臨床適用経路は経口投与であるため，局所刺激性については評価しなかった。

2.4.4.8 その他の毒性試験

2.4.4.8.1 免疫毒性試験

「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドラインについて」（平成 18 年 4 月 18 日 薬食審査発第 0418001 号）に基づいて，TAS-102 の反復投与毒性試験で得られた変化から，TAS-102 の免疫毒性を評価した。反復投与毒性試験では，白血球数の減少，骨髄の造血細胞の減少及びリンパ組織に萎縮性変化などが認められたことから，TAS-102 は免疫系に影響を及ぼすと考えられた。これらの結果及び TAS-102 は細胞増殖阻害を示す抗悪性腫瘍剤であることから，独立した免疫毒性試験は実施しなかった。

2.4.4.8.2 光安全性試験

3T3 線維芽細胞ニュートラルレッド取込みの *in vitro* 光安全性試験では，FTD 及び TPI とともに光毒性を示さなかった（第 4.2.3.7.7.1 項及び第 4.2.3.7.7.2 項）。

2.4.4.8.3 不純物の毒性試験

TAS-102 の原薬及び製剤の類縁物質について，「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の改定について」（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の改定について」(平成 15 年 6 月 24 日 医薬審発第 0624001 号)に規定されている安全性確認が必要な含量閾値を越えていないことから(第 2.3.S.4.4 項 トリフルリジン, 第 2.3.S.4.4 項 チピラシル塩酸塩及び第 2.3.P.5.4 項 ロンサーフ), 不純物の毒性試験は実施しなかった。

2.4.4.9 トキシコキネティクス

トキシコキネティクスは, ラット, サル及びイヌを用いた反復投与毒性の一環として実施した。トキシコキネティクス試験が実施された毒性試験の一覧を第 2.6.7.2 項に示した。トキシコキネティクス試験成績については, 血漿中 FTD 濃度を第 2.6.7.3.1 項に, 血漿中 FTY 濃度を第 2.6.7.3.2 項に, 血漿中 TPI 濃度を第 2.6.7.3.3 項に示した。また, TAS-102 の 2 週間反復投与毒性試験及び臨床試験での反復投与後の FTD, FTY 及び TPI の曝露量一覧を表 2.4.4.9-1～表 2.4.4.9-3 に示した。

TAS-102 の反復投与毒性試験での FTD, FTY 及び TPI の曝露量は, 投与量増加に伴って増加した。

FTD の曝露量 (AUC_{0-24}) は, ラットでの中用量 (150 mg/kg/day) 及びサルでの低用量 (7.5 mg/kg/day) でヒトの臨床推奨用量 (35 mg/m², 1 日 2 回) での曝露量 (AUC_{0-10}) と比較して同等又は低く, ラットでの高用量 (450 mg/kg/day) 及びサルでの中用量 (30 mg/kg/day) でヒトでの曝露の 2 倍以上高かった。これらの用量では, リンパ・造血組織及び消化管の障害がみられたが, 死亡はなかった。イヌでは, 死亡がなかった 17 mg/kg/day で臨床よりも曝露が低かったが, 死亡がみられた 50 mg/kg/day でヒトでの曝露量の約 5 倍であった。

FTD の主代謝物である FTY の曝露量 (AUC_{0-24}) は, ラットでの低用量 (50 mg/kg/day), サルでの中用量 (30 mg/kg/day) 及びイヌでの低用量 (17 mg/kg/day) でヒトでの曝露の 5～16 倍であった。これらの用量のうち, ラットでの 50 mg/kg/day は無毒性量であった。また, サルを用いた FTD の 4 週間反復投与試験での無毒性量 (25 mg/kg/day) における FTY の曝露量 (第 2.6.7.3.2 項) は, ヒトでの曝露の約 10 倍であった。

TPI の曝露量 (AUC_{0-24}) は, ラットでの低用量 (50 mg/kg/day), サルでの中用量 (30 mg/kg/day) 及びイヌでの低用量 (17 mg/kg/day) でヒトでの曝露量の 4～10 倍であった。また, TPI の 4 週間反復投与試験での無毒性量における TPI の曝露量 (第 2.6.7.3.3 項) は, ラット (2000 mg/kg/day) 及びサル (100 mg/kg/day) でヒトでの曝露の約 30～90 倍であった。

表 2.4.4.9-1 TAS-102 反復投与後の FTD の曝露量比較

試験	TAS-102 投与量 (mg/kg/day)	FTD: AUC ₀₋₂₄ ^{c)} (ng・hr/mL)	FTD: C _{max} (ng/mL)	試験番号	記載箇所
雄性ラット	50 ^{a)}	6186	5646		4.2.3.2.1
2 週間	150	18601	9201		
	450	62410	15940		
雌雄サル		雄 雌	雄 雌		4.2.3.2.8
2 週間	1.9 ^{a)}	1148.75 1308.90	459.96 659.20		
	7.5	14461.24 18305.97	7137.11 8880.12		
	30	57698.37 73904.18	15046.13 19402.65		
	120 ^{b)}	126128.71 161077.19	34342.66 41854.19		
雄性イヌ	17	11528.21	9154.53		4.2.3.2.11
2 週間	50 ^{b)}	100203.17*	55491.00*		
	150 ^{b)}	388720.44*	132762.40*		
ヒト	70 mg/m ² /day (35 mg/m ² b.i.d.)	AUC ₀₋₁₀ ^{d)} 20950 ng・hr/mL	C _{max} 4752 ng/mL	TAS102-J001	5.3.3.2.1

a): 無毒性量

b): 死亡発現量

c): 0 から 24 時間までの AUC

d): 0 から 10 時間までの AUC

*: 初回投与での曝露

表 2.4.4.9-2 TAS-102 反復投与時の FTY の曝露量比較

試験	TAS-102 投与量 (mg/kg/day)	FTY: AUC ₀₋₂₄ ^{c)} (ng・hr/mL)	FTY: C _{max} (ng/mL)	試験番号	記載箇所
雄性ラット	50 ^{a)}	43686	18256		4.2.3.2.1
2 週間	150	124753	24303		
	450	398401	42730		
雌雄サル		雄 雌	雄 雌		4.2.3.2.8
2 週間	1.9 ^{a)}	997.22 1528.41	345.33 527.32		
	7.5	4851.25 5147.22	1551.71 1813.38		
	30	18176.37 18946.26	2711.61 3171.27		
	120 ^{b)}	104204.32 93082.71	8629.45 7867.53		
雄性イヌ	17	58783.49	12926.42		4.2.3.2.11
2 週間	50 ^{b)}	85793.85*	16381.05*		
	150 ^{b)}	315115.04*	34174.70*		
ヒト	70 mg/m ² /day (35 mg/m ² b.i.d.)	AUC ₀₋₁₀ ^{d)} 3622 ng・hr/mL	C _{max} 560 ng/mL	TAS102-J001	5.3.3.2.1

a): 無毒性量

b): 死亡発現量

c): 0 から 24 時間までの AUC

d): 0 から 10 時間までの AUC

*: 初回投与での曝露

表 2.4.4.9-3 TAS-102 反復投与時の TPI の曝露量比較

試験	TAS-102 投与量 (mg/kg/day)	TPI: AUC ₀₋₂₄ ^{c)} (ng・hr/mL)	TPI: C _{max} (ng/mL)	試験番号	記載箇所
雄性ラット	50 ^{a)}	1405	535		4.2.3.2.1
2 週間	150	3028	746		
	450	9892	1694		
雌雄サル		雄 雌	雄 雌		4.2.3.2.8
2 週間	1.9 ^{a)}	41.56 31.12	14.69 34.20		
	7.5	324.39 309.87	104.94 117.92		
	30	1114.82 1456.98	176.11 173.28		
	120 ^{b)}	3923.29 5040.62	627.38 948.38		
雄性イヌ	17	3253.47	670.25		4.2.3.2.11
2 週間	50 ^{b)}	14612.68*	4277.84*		
	150 ^{b)}	38783.77*	11635.91*		
ヒト	70 mg/m ² /day	AUC ₀₋₁₀ ^{d)}	C _{max}	TAS102-J001	5.3.3.2.1
5 投 2 休	(35 mg/m ² b.i.d.)	317 ng・hr/mL	70.0 ng/mL		
2 週間					

a): 無毒性量

b): 死亡発現量

c): 0 から 24 時間までの AUC

d): 0 から 10 時間までの AUC

*: 初回投与での曝露

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 薬理試験

癌細胞は DNA に変異が生じ、癌細胞の増殖にとって有利なように種々の遺伝子の発現が変化していると考えられる。また、癌細胞は増殖が速いため、DNA の合成が活発である。このような癌細胞の特徴から、核酸アナログを癌細胞の DNA に取り込ませることは、DNA の機能に影響を与えて癌細胞の増殖に有利となっている遺伝子発現のバランスを崩せること、正常細胞より増殖が速くなっている癌細胞に選択的に作用させることができるなど、新たな抗悪性腫瘍剤の開発にとっては有用なコンセプトであると考えられた。しかし、このコンセプトを満たす核酸アナログの実現は厳しく、(1) DNA 基質であるヌクレオシド三リン酸体に活性化されにくい、(2) 代謝物に核酸代謝酵素の阻害作用があるため核酸代謝を止める、(3) DNA ポリメラーゼへの基質性が低い、(4) DNA 修復を受けやすいといういずれかの特徴を有した場合、DNA に取り込まれて作用することは困難である。したがって、TAS-102 の抗癌活性成分である FTD について、これまで報告されている情報を得るとともに、作用機序に関して検討した。FTD は DNA に取り込まれることが明らかとされているが、FTD は TS 阻害作用を示すことも報告されており、5-FU と同様に DNA 合成阻害剤の特徴を持っている。しかし、FTD の TS 阻害様式を解析した結果、F₃TMP には TS 阻害作用があるものの、TS と共有結合していないことから、経口投与の場合、薬剤の投与後の薬剤消失とともに TS 阻害作用も消失して TS 阻害作用は発揮されにくいことが示唆された。また、分割・連日経口投与することで、FTD の DNA への取り込み量が最大化することも報告されている。以上のように、FTD は TS 阻害作用を有するものの、投与方法によって作用機序は変化し、分割・連日経口投与することで、FTD は上記の (1) ~ (4) に当てはまらなくなり、DNA に取り込まれて抗腫瘍効果を発揮することが明らかになった。また、頻回投与による患者の負担を減ら

すことを考慮に入れると、FTD の投与は経口投与がふさわしいと考えられた。しかし、サルを用いた代謝試験の結果、FTD の分解酵素 TPase の活性が高い動物種では、経口投与後の初回通過効果を受けるため、FTD が速やかに分解されることが明らかとなり、TPase 阻害剤の必要性が示唆された。そこで、TPase の阻害剤である TPI を見出し、FTD と TPI の配合比をモル比で 1 : 0.5 に配合してサルに経口投与した結果、高い FTD 血中濃度が達成できることが確認され、FTD を抗癌活性成分に含む経口剤 TAS-102 の開発が可能となった。

投与スケジュールの検討の結果、TAS-102 の至適投与スケジュールは、分割・連日投与であったことから、TAS-102 の *in vivo* 効力試験は、1 日 2 回連日経口投与で行った。また、TAS-102 の作用機序は既存抗癌性腫瘍剤と大きく異なることから、既存抗癌性腫瘍剤に抵抗性を示す腫瘍への有効性が期待されたため、既存抗癌性腫瘍剤に低感受性を示す腫瘍に対する TAS-102 の抗腫瘍効果を評価した。5-FU 系抗癌性腫瘍剤や分子標的薬に対して低感受性を示す腫瘍に対して TAS-102 は有意な抗腫瘍効果を示し、大腸癌治療の新たな治療薬になる可能性が示唆された。FTD は DNA に取り込まれた後、容易には修復されず、DNA に留まることが確認されており、FTD の作用は薬剤投与終了後も維持されることが報告されている。この特徴から生じる利点を明らかにするために、他剤との延命効果を比較した結果、他剤に比較して TAS-102 は高い延命効果を示した。以上の効力試験の結果から、TAS-102 は既存抗癌性腫瘍剤と異なる特徴を持ち、患者の生存期間の延長に貢献することが期待された。

安全性薬理コアバッテリーに関する試験では、心血管系、中枢神経系及び呼吸器系に対して、TAS-102、FTD 及び TPI とともに投与に起因した影響はなかった。

2.4.5.2 薬物動態試験

Caco-2 細胞を用いた検討から FTD 及び TPI の膜透過性はともに低いと考えられた。ラット及びサルに TAS-102 を経口投与したときの FTD、FTY 及び TPI の血漿中濃度に反復投与による変化は認められなかった。TAS-102 を経口投与後の FTD 及び TPI の吸収率は、ラットでそれぞれ投与量の 76.4%以上及び 14.7%以上、サルでそれぞれ 79.4%以上及び 27.3%以上と考えられた。ラットでは、FTD の吸収は消化管全域で認められ、特に小腸中部から下部にかけて高く、TPI の吸収は小腸全域で認められた。

ラットに¹⁴C-FTD]TAS-102 又は¹⁴C-TPI]TAS-102 を経口投与した後の放射能は速やかに組織に分布し、多くの組織で投与後 1 時間に最高濃度に達した。顕著な残留性を示す組織はなかった。メラニン色素含有組織に放射能の残留は認められなかった。マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの¹⁴C-FTD の血漿蛋白結合率は、マウス以外で高く、濃度依存性を示さなかった。FTD の主なヒト血漿結合蛋白画分はアルブミンと考えられた。一方、TPI の血漿蛋白結合率はすべての種で 8%以下と低かった。ラット、サル及びヒト血液で FTD 及び TPI は主に血漿に分布すると考えられた。FTD 及び TPI とともに Rb に明らかな種差及び濃度依存性は認められなかった。妊娠ラットでは FTD、TPI 及びその代謝物の胎盤を介した胎児への移行が認められた。また、授乳期のラットでは FTD、TPI 及びその代謝物の乳汁中への移行が認められた。

[¹⁴C-FTD]TAS-102 を経口投与した後の血漿中に、FTD の代謝物としてラットでは FTY 及び未知代謝物 HFP1 が、サルでは FTY、FTD のグルクロン酸抱合体、 α -trifluoromethyl- β -ureidopropionic acid 及び α -trifluoromethyl- β -alanine が認められた。ヒト TPase に対する TPI の阻害様式は競合阻害であり、その代謝に対する TPI の阻害定数値は 0.017 $\mu\text{mol/L}$ であった。ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験で、¹⁴C-FTD の代謝物として FTY、5-CdUrd 及び 5-CU が認められ、FTD が主に TPase

により代謝されることが示された。TAS-102 を経口投与後のヒトの血漿中に、FTD, FTY, 5-CU 及び 5-CdUrd が認められた。これらのうち 5-CdUrd は微量であった。いずれの種でも FTY が FTD の主な代謝物であり、更に FTY から 5-CU が生成すると考えられた。

ラットに¹⁴C-TPI]TAS-102 を経口投与した後の血漿中に、TPI 及び 6-HMU が認められた。ラット及びサル尿中に TPI 及び 6-HMU が認められた。TAS-102 を経口投与した後のヒトの血漿及び尿中に、TPI 及び 6-HMU が認められた。いずれの種でも TPI の主な代謝物は 6-HMU であり、それ以外はほとんど認められなかった。

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝臓及び小腸組織抽出液での FTD 代謝に及ぼす TPI の影響には種差が認められ、ヒトの結果に類似している動物種はサルであった。

[¹⁴C-FTD]TAS-102 を経口投与したラットでの総放射能の尿、糞及び呼気中排泄量は、それぞれ投与量の 60.6%, 20.6%及び 15.8%であり、胆汁中への排泄は認められなかった。¹⁴C-FTD]TAS-102 を経口投与したサルでの総放射能の尿及び糞中排泄量は、それぞれ投与量の 79.4%及び 3.8%であった。投与後 24 時間までの尿中の組成は FTY が最も多かった。したがって、吸収された FTD は FTY へと代謝され、主に代謝物として尿中に排泄されることが考えられた。¹⁴C-TPI]TAS-102 を経口投与したラットでの総放射能の尿、糞及び呼気中排泄量は、それぞれ投与量の 14.3%, 83.4%及び 0.4%であり、胆汁中への排泄は認められなかった。¹⁴C-TPI]TAS-102 を経口投与したサルでの総放射能の尿及び糞中排泄量は、それぞれ投与量の 27.3%及び 68.1%であった。投与後 24 時間までの尿中の組成は TPI が最も多かった。TAS-102 を経口投与した後のヒトの血漿及び尿中に、TPI が主に認められ、それ以外に 6-HMU が認められた。いずれの種でも吸収された TPI はほとんど代謝されずに主に未変化体として尿中に排泄されることが推察された。

ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験により、FTD は主に TPase により代謝されることが考えられた。ヒト肝細胞及びヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験で、FTD 及び TPI による CYP 分子種の誘導作用及び阻害作用は認められなかった。ヒト血漿を用いた *in vitro* 試験で、アルブミンに結合する薬剤（ワルファリン、ジアゼパム、ジギトキシン）と FTD の血漿蛋白結合を介した相互作用は認められなかった。ヒト MDR1 膜ベシクルを用いた *in vitro* 試験で、FTD 及び TPI は P-gp の基質及び阻害剤ではないと考えられた。ヒト OCT2 安定発現細胞を用いた *in vitro* 試験で、TPI が OCT2 の基質及び阻害剤であることが明らかになった。臨床で TPI の尿細管分泌に OCT2 の関与が考えられるが、TPI が OCT2 を阻害する可能性は低いと考えられた。

2.4.5.3 毒性試験

毒性試験では、げっ歯類として小核試験に用いたマウスを除きラットを用いた。非げっ歯類は、開発初期の単回投与毒性試験にはイヌ、2 週反復投与毒性試験にはイヌ及びサルを用いた。その後は肝臓や腸管での FTD の主代謝酵素である TPase 活性がヒトに近いサルを用いた。

TAS-102 の単回投与毒性試験では、概略の致死量はラット及びイヌともに 2000 mg/kg であった。TAS-102 単回投与時の主な標的器官は消化管であると考えられ、体重及び摂餌量の減少並びに嘔吐や便異常（軟便、下痢）の消化管症状がみられた。概略の致死量では、胃及び腸管の陰窩上皮並びに腸管の粘膜表層上皮細胞の壊死、小腸壁の肥厚及び腸管の変色などがみられた。FTD の単回投与試験では、TAS-102 と同様に便異常、体重及び摂餌量の減少並びに消化管病変がみられた。FTD の概略の致死量はラットで 2000 mg/kg であった。イヌでは 2000 mg/kg に死亡はなかったものの、便異常は投与後 2 週目まで続き、低用量に比べて強い消化管毒性がみられた。TPI の単回投与試験では、ラットの 2000 mg/kg にも重篤な毒性はなかった。また、非げっ歯類を用いた TPI

の単回投与試験は実施していないが、サルを用いた4週間反復投与試験で最高投与量である1000 mg/kg/dayにも死亡はなく、体重及び摂餌量の減少もなかった。

TAS-102の反復投与毒性試験では、ラット、サル及びイヌともに主な標的器官はリンパ・造血組織及び消化管であった。これらは、細胞毒性を有する抗悪性腫瘍剤投与に関連した変化であると考えられた。死亡発現用量は、サルの2週間反復投与試験で120 mg/kg/day及び13週間反復投与試験で20 mg/kg/day並びにイヌの2週間反復投与試験で50 mg/kg/dayであった。死亡発現用量でのリンパ・造血組織及び消化管障害を示唆する変化は著しく、死因はこれらの影響とそれに続く一般状態及び栄養状態の悪化が考えられた。

リンパ・造血組織障害として、白血球数、赤血球数、網状赤血球率、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少、胸腺、脾臓及びリンパ節の萎縮、脾臓での髄外造血の亢進並びに骨髓の造血細胞の減少などがみられた。動物実験における毒性発現用量でのFTDの曝露量(AUC₀₋₂₄)と比較して、ヒトにおける臨床推奨用量(35 mg/m², 1日2回)での曝露量(AUC₀₋₁₀)は同等又は高かった。これは、非臨床試験でみられたリンパ・造血組織障害がヒトで発現する可能性が高いことを示しており、実際に臨床試験での用量制限毒性は白血球数又は好中球数の減少であった。

消化管障害として、軟便などの便異常、嘔吐、腺胃にびらん、腸管に陰窩上皮の壊死及びアポトーシス小体増加、絨毛の萎縮並びに炎症細胞浸潤などがみられた。臨床試験でのTAS-102と関連性ある有害事象として、消化管障害は白血球数又は好中球数の減少などのリンパ・造血組織障害の次に多く報告されており、非臨床試験の毒性プロファイルと同様であった。

FTDのラット、サル及びイヌを用いた反復投与試験では、TAS-102と同様にリンパ・造血組織及び消化管毒性がみられた。

TPIの反復投与試験ではラットに重篤な毒性はなかった。一方、サルを用いた4週間投与では、消化管に炎症及びリンパ組織の萎縮がみられたが、体重や摂餌量には変化がなかった。また、無毒性量である100 mg/kg/dayは、TAS-102のいずれの反復投与試験での最高投与量に含まれるTPIより高かった。これらのことから、TAS-102の毒性の主因はFTDによるものと考えられた。

リンパ・造血組織及び消化管障害に加えて、TAS-102又はFTDのラットを用いた反復投与試験では卵巣重量及び小型黄体数の増加並びに精細管の萎縮がみられた。また、ラットに特異的な変化として、切歯に白色化、破損及び不正咬合などがみられた。切歯の異常は、ヒトと異なり終生成長する常生歯を有するげっ歯類に特異的に発生したものと考えられた。

上記の反復投与試験におけるリンパ・造血組織、消化管及び生殖器の障害は、4週間の休薬により回復性がみられた。

トキシコキネティクスでは、FTDの他に、主代謝物であるFTY及びTAS-102のもう一つの構成成分であるTPIの血漿中濃度を測定した。FTD及びTPIの各反復投与試験でのFTY及びTPIの曝露量(AUC₀₋₂₄)は、無毒性量においてもヒトでの曝露量(AUC₀₋₁₀)の10倍以上であった。

遺伝毒性に関しては、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染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験を実施した。その結果、TAS-102及びFTDともに復帰突然変異誘発能及び染色体異常誘発能(*in vitro*, *in vivo*)を有することが示された。一方、TPIではいずれの試験も遺伝毒性は陰性であった。

がん原性試験は、TAS-102の対象疾患が進行・再発癌であることから実施しなかった。

TAS-102の生殖発生毒性試験はラットを用いて実施した。雄性ラットを用いた受胎能試験では受胎能及び初期胚発生に影響はなかった。一方、雌性ラットを用いた受胎能試験では、黄体数、着床数及び着床後死亡率の増加がみられた。また、胚・胎児発生に関する試験では、胎児体重の

減少，骨化の遅延，着床後死亡率の増加及び外表異常，内臓異常又は骨格異常を有する胎児の発現率の増加がみられ，催奇形性が確認された．ヒトにおける FTD の曝露量は，ラットで初期胚や胎児への影響及び催奇形性が認められた用量での FTD の曝露量と比較して，同等又は高く，妊婦及び授乳婦への服用はリスクが高いと考えられた．

局所刺激性については，TAS-102 の臨床適用経路は経口投与であるため，評価しなかった．

その他，免疫毒性について，独立した試験は実施しなかったが，反復投与毒性試験では，白血球数の減少，骨髄の造血細胞の減少及びリンパ組織に萎縮性変化などが認められたことから，TAS-102 は免疫系に影響を及ぼすと考えられた．一方，光安全性について，*in vitro* 3T3 線維芽細胞ニュートラルレッド取込み試験では，光毒性を示さなかった．また，TAS-102 の原薬及び製剤の類縁物質について，安全性確認の必要な含量閾値を越えていないことから，不純物の毒性試験は実施しなかった．

2.4.5.4 結論

培養細胞やモデル動物等を用いた薬理試験で，細胞増殖時に FTD が DNA に取り込まれ，DNA の機能障害を惹起することが明らかになり，TAS-102 は新たな作用機序を有した抗悪性腫瘍剤であることが示唆された．経口投与された FTD は初回通過効果によりバイオアベイラビリティが低いため，TPI との併用が不可欠であることが示された．サルを用いた薬物動態試験で TAS-102 における FTD と TPI の配合比 1:0.5 で FTD の高い血中濃度を達成できることが確認された．また，ラットを用いた薬物動態試験で，FTD の経口吸収性は良好であり，主代謝物 FTY に代謝され，主に尿中に排泄されることが示された．一方，TPI の吸収率はやや低く，未変化体としてほとんど尿中に排泄された．いずれの構成成分も CYP に対する阻害能，誘導能は認められなかった．TAS-102 の作用機序は既存の抗悪性腫瘍剤とは異なる新規作用と考えられるが，ラット，イヌ，サルを用いた TAS-102 の反復投与毒性試験では，主な標的器官はラット，サル及びイヌともにリンパ・造血組織及び消化管であり，細胞毒性を有する既存の抗悪性腫瘍剤投与と同様の变化であった．一方，遺伝毒性に関しては TAS-102 及び FTD とともに復帰突然変異誘発能及び染色体異常誘発能を有することが示された．また，生殖発生毒性試験のうち，雄の受胎能試験では受胎能及び初期胚発生に影響はみられなかったが，雌の受胎能試験では初期胚や胎児への影響及び催奇形性が認められた．ヒトにおける FTD の曝露量は，これらの生殖発生毒性が認められた用量における FTD の曝露量に比べ同等又は高いことから，妊婦及び授乳婦に対するリスクは高く，本薬の服用は制限すべきものと考えられた．

以上の非臨床試験結果から，TAS-102 は既存の抗悪性腫瘍剤が無効である腫瘍に対しても有効であり，また，薬理作用機序に基づく副作用（リンパ・造血組織及び消化管毒性）や生殖発生毒性などの有害作用があるものの，これらのリスクに注意して使用することで癌治療に大きく貢献するものと判断した．

2.4.6 参考文献一覧

- 1 Shindoh H, Nakano K, Yoshida T, Ishigai M. Comparison of *in vitro* metabolic conversion of capecitabine to 5-FU in rats, mice, monkeys and humans – toxicological implications. J Toxicol Sci. 2011;36:411-422. (第 4.3.3 項)
- 2 Fukushima M, Suzuki N, Emura T, Yano S, Kazuno H, Tada Y, et al. Structure and activity of specific inhibitors of thymidine phosphorylase to potentiate the function of antitumor 2'-deoxyribonucleosides. Biochem Pharmacol. 2000;59:1227-1236. (第 4.3.4 項)

- 3 Wataya Y, Santi DV, Hansch C. Inhibition of *Lactobacillus casei* thymidylate synthetase by 5-substituted 2'-deoxyuridylates. Preliminary quantitative structure-activity relationship. J Med Chem. 1977;20:1469-1473. (第 4.3.2 項)
- 4 Emura T, Nakagawa F, Fujioka A, Ohshimo H, Yokogawa T, Okabe H, et al. An optimal dosing schedule for a novel combination antimetabolite, TAS-102, based on its intracellular metabolism and its incorporation into DNA. Int J Mol Med. 2004;13:249-255. (第 4.3.1 項)
- 5 Ansfield FJ, Ramirez G. Phase I and II studies of 2'-deoxy-5-(trifluoromethyl)-uridine (NSC-75520). Cancer Chemother Rep. 1971;55:205-208. (第 4.3.5 項)
- 6 Langenbach RJ, Danenberg PV, Heidelberger C. Thymidylate synthetase: mechanism of inhibition by 5-fluoro-2'-deoxyuridylate. Biochem Biophys Res Commun. 1972;48:1565-1571. (第 4.3.6 項)
- 7 Maeda K, Chung YS, Ogawa Y, Takatsuka S, Kang SM, Ogawa M, et al. Thymidine phosphorylase/platelet-derived endothelial cell growth factor expression associated with hepatic metastasis in gastric carcinoma. Br J Cancer. 1996;73:884-888. (第 4.3.7 項)
- 8 田中望, 藤岡秋生, 小口颯, 坂本一樹, 岡部博之, 松尾憲一. Trifluorothymidine (FTD)の DNA 取り込みによる TAS-102 の著明な延命効果. 日本癌学会学術総会, 2012. p330 (abst#P-2074). (第 4.3.8 項)