

ラパリムス錠 1 mg

製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2. 4 非臨床試験の概括評価

ノーベルファーマ株式会社

目次

略語・略号一覧	3
2.4 非臨床試験の概括評価	4
2.4.1 非臨床試験計画概略	4
2.4.2 薬理試験	4
2.4.2.1.1 効力を裏付ける試験	4
2.4.2.2 副次的薬理試験	6
2.4.2.3 安全性薬理試験	7
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験	8
2.4.3 薬物動態試験	8
2.4.3.1 吸収	8
2.4.3.2 分布	11
2.4.3.3 代謝	12
2.4.3.4 排泄	13
2.4.3.5 薬物動態的薬物相互作用	14
2.4.4 毒性試験	14
2.4.4.1 単回投与毒性試験	14
2.4.4.2 反復投与毒性試験	15
2.4.4.3 遺伝毒性試験	15
2.4.4.4 がん原性試験	16
2.4.4.5 生殖発生毒性試験	16
2.4.4.6 局所刺激性試験	17
2.4.4.7 その他の毒性試験	17
2.4.5 総括及び結論	17
2.4.6 参考文献一覧	24

略語・略号一覧

略語・略号	内容
ADI	一日摂取許容量 (Acceptable Daily Intake)
$AUC_{0-t_{hr}}$	最終測定可能時点までの血中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}$	無限大時間までの血中濃度-時間曲線下面積
BP	血圧
C_{max}	最高血中（血液、血漿、血清）濃度
CK	クレアチンキナーゼ
Cl	クリアランス
EFSA	欧州食品安全機関 (European Food Safety Authority)
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験実施基準 (Good Laboratory Practice)
GLUC	グルコース
Hb	ヘモグロビン濃度
Hr	時間
HR	心拍数
Ht	ヘマトクリット値
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives)
LAM	リンパ脈管筋腫症 (Lymphangioleiomyomatosis)
LAMD-SM	ヒトリンパ脈管筋腫症由来の平滑筋
LH	黄体形成ホルモン
LHRH	黄体形成ホルモン放出ホルモン
MMP	マトリックスメタロプロテアーゼ (Matrix Metalloproteinase)
MRT	滞留時間
mTOR	哺乳類ラパマイシン標的タンパク質 (Mammalian Target of Rapamycin)
NADPH	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate)
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDGF	血小板由来成長因子 (Platelet-Derived Growth Factor)
SHR	自然発症高血圧ラット (Spontaneously hypertensive rat)
SLE	全身性エリテマトーデス (Systemic Lupus Erythematosus)
$T_{1/2}$	消失半減期
Thr	スレオニン
TK	トキシコキネティクス
T_{max}	最高血中（血液、血漿、血清）濃度到達時間 (C_{max} 到達時間)
TP	総タンパク
TSC	結節性硬化症 (Tuberous Sclerosis Complex)
V_d	分布容積
VEGF	血管内皮細胞成長因子 (Vascular Endothelial Growth Factor)
V_{ss}	定常状態の分布容積
V_{max}	最大反応速度

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

本剤はリンパ脈管筋腫症 (Lymphangiomyomatosis; LAM) の治療薬として開発した薬剤である。本剤は 1 錠中に新有効成分としてシロリムス (別名ラパマイシン) 1 mg、添加物としてマクロゴール 8000 を ■■■■ mg 含有した製剤である。シロリムスは強力な免疫抑制作用を有することから、すでに 1999 年に米国を初めとして、2000 年以降世界 97 カ国において、免疫抑制薬として腎移植における拒絶反応の抑制を効能・効果として承認されている。

本剤の非臨床試験成績資料は、薬理試験に関し、効力を裏付ける試験では公表論文 (MEDLINE を用いて検索) の中から LAM 動物モデルで検討したものを選択して纏め、副次的薬理試験及び安全性薬理試験についてはファイザー社が 1999 年に米国で免疫抑制薬として腎移植における拒絶反応の抑制を効能・効果として申請した資料を用いて CTD 様式として編集した。薬物動態試験に関しても、ファイザー社より米国申請時に提出された資料及び PubMed 検索により収集した公表論文を用いて CTD 様式に編集した。毒性試験では、米国での承認申請用資料に基づき、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、細菌、培養細胞及びマウスを用いた遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験及びその他の試験 (不純物、分解物に関する試験) の毒性試験成績を用いて非臨床における安全性を評価した。いずれの試験も GLP (Good Laboratory Practice) に準拠して ■■■■ 社及び受託研究機関 ■■■■ において実施された。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1.1 効力を裏付ける試験

(1) 効力を裏付ける試験 (in vitro)

＜添付資料 4.2.1.1-1 参＞

ヒト LAM 患者から採取した LAMD-SM (ヒトリンパ脈管筋腫症由来の平滑筋) 及び EKer ラットの TSC2 遺伝子欠損 ELT3 及び ERC15 細胞は正常なヒト気管平滑筋細胞に比べて Mitotic Index は有意に高かったが、シロリムスは濃度依存性に LAMD-SM 細胞の Mitotic Index を抑制した。

(2) 効力を裏付ける試験 (in vivo)

＜添付資料 4.2.1.1-2～6 参＞

ヌードマウスに NTC/T2null (TSC2^{-/-}, Trp53^{-/-}) 細胞を皮下投与 (TSC2 遺伝子欠損腫瘍細胞) した実験では、腫瘍サイズが～150 mm³ に達してからシロリムス 8 mg/kg を腹腔内投与し、腫瘍サイズが～3000 mm³ になるまで投与を継続した結果、シロリムスは腫瘍サイズを縮小し、マウスの生存日数中央値を有意に延長した。ヌードマウスに ELT3 細胞 (TSC2 遺伝子欠損腫瘍細胞) を移植し、腫瘍サイズの径が 5 mm に達してからシロリムスを投与したとき、シロリムスは投与開始後 10～41 日にかけて腫瘍細胞の成長を有意に抑制した。マウスの生存率は腫瘍径が 10 mm に達するまで観察し、投与開始後 50 日では、Control マウスの生存率は 15%であったが、シロ

リムス投与のマウスは50%が生存していた。また、5匹のEkerラット（TSC2遺伝子変異を有するラット）を用い、4匹のラットにシロリムス0.2 mg/kgを、1匹に1 mg/kgを投与した。投与期間は、0.2 mg/kg投与ラット4匹のうち2匹は2週間、1匹は4週間、1匹は7週間投与とし、1 mg/kg投与ラットは8週間投与とした。その結果、5匹のラットの腎腫瘍体積は縮小した。特にシロリムス1 mg/kg、8週間投与ラットでの腎腫瘍縮小率は98%であった。

TSC1遺伝子欠損マウスの生存率に対するシロリムスの影響を検討するため、GenotypeTSC1^{cc}とTSC1^{+/+}SynICre⁺、TSC1^{+/+}SynICre⁺⁺又はTSC1^{+/+}SynICre⁺のマウスを交配させて神経特異的TSC1欠損マウス（TSC1^{null-neuron}マウス）を作製した。シロリムスは生後7～9日のマウスに1日おきに投与し、生後100日まで投与を継続した群と生後30日まで投与するが、生後30日から100日まで投与しなかった群に分けて生存率を観察した。シロリムスを生後7～9日から100日まで投与した群では生後80日の時点で90～100%のマウスが生存していた。シロリムスの投与を生後30日で中止した群では投与終了後1～2週間まではすべてのマウスは生存していたが、その後徐々に生存率は減少し、生存日数中央値は79日であった。

TSC患者でみられる主要な症状のひとつにけいれん発作が認められている。そこでTSC1欠損結節性硬化症モデルマウスにみられるけいれんに対するシロリムスの作用を検討した。生後1～2ヵ月にけいれんを発症するTSC1^{GFAP}ノックアウトマウスに、発症前の生後14日からシロリムス（3 mg/kg 腹腔内投与）を投与した実験では、シロリムスはけいれん発症頻度を完全に抑制した。けいれん発症後の生後6週からシロリムスを投与した実験でも、シロリムスは投与開始後1週間の時点でけいれん頻度を有意に抑制し、投与開始後3週間では実験に用いたマウスの半数でけいれん発作はまったく観察されなかった。

(3) 作用機序

<添付資料 4.2.1.1-1 参、4.2.1.1-3 参、4.2.1.1-7～9 参>

シロリムスは、ヒトLAM患者から採取したLAM細胞のDNA合成に対して濃度依存性に抑制した。シロリムスはPDGF（血小板由来成長因子）刺激の条件下で細胞周期のS期を減少し、G0/G1期を増加した。血清フリー条件下ではシロリムスはS期を減少し、G0/G1期には影響を与えなかった。LAM細胞のアポトーシス誘導に対して、シロリムスはアポトーシスの誘導を惹起した。

シロリムスにより気管支肺胞のマトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）-2は有意に抑制し、MMP-3及びMMP-9は有意ではないが減少傾向を示した。シロリムスの肺障害抑制作用については、対照（Control）マウスでは腫瘍の発生は観察されなかったが、腫瘍投与されたマウスでは、溶媒投与後20日に肺実質周辺の肺胞空間の増大を伴った肺の破壊（病変）の拡大が観察された。この肺病変の拡大はシロリムス投与により有意に抑制された。シロリムスは病態進行に伴う肺胞空域面積の増加もほぼ完全に抑制した。

TSC1又はTSC2遺伝子欠損細胞のVEGF含量は、TSC遺伝子を有する細胞のVEGF含量に比べ顕著に増加していた。シロリムスは、0.5～10 nMにおいて濃度依存性にTSC2遺伝子欠損細胞のVEGF含量を低下させた。TSC1又はTSC2遺伝子欠損細胞では、遺伝子保持細胞に比べてVEGF含量が顕著に増加しているばかりでなく、時間経過とともにさらにVEGFの増加がみられた。24

時間培養及び 48 時間培養による VEGF の増加に対して、10 nM シロリムスは VEGF の増加を抑制した。

シロリムスは、LAMD-SM 細胞、ELT3 及び ERC15 細胞の p70S6K のスレオニン (Thr) -389 部位のリン酸化を著しく抑制した。

シロリムスは、TSC2 遺伝子欠損腫瘍細胞の S6 のリン酸化を抑制した。シロリムスの作用は時間依存性であった。

2.4.2.2 副次的薬理試験

シロリムスが免疫抑制作用及び平滑筋増殖抑制作用を有することから、各種自己免疫疾患モデル動物及び血管平滑筋肥厚モデル動物を用いて、それぞれシロリムスの作用を検討した。

(1) マウスの全身性エリテマトーデス (SLE) モデルにおける作用

＜添付資料 4.2.1.2-1 参＞

ヒトの自己免疫疾患である SLE につきマウス病態モデルを用いて、シロリムスの SLE に対する作用を検討した。シロリムス 12.5 及び 25 mg/kg はマウスが死亡するまで 3 回/週、経口投与した。シロリムスはマウスの生存日数中央値を延長し、血中抗 DNA 抗体及び尿中アルブミン量の増加を抑制した。

(2) ラットアジュバント関節炎モデルに対するシロリムスの作用

＜添付資料 4.2.1.2-2 参＞

ラットの関節炎はアジュバントとして、加熱処理した *Mycobacterium butyricum* 0.5 mg を含む軽鉱油懸濁液を用い、右後肢足蹠内に投与してアジュバント関節炎モデルを作製した。腫脹の大きさは投与しなかった左後肢足蹠と比較した。予防効果観察試験では、シロリムス (2.5、5、10 mg/kg) の初回経口投与はアジュバントと同日に実施し、以降は 3 回/週、合計 7 回を投与した。アジュバントによる後肢の腫脹はシロリムスにより有意に抑制された。治療効果観察試験では、シロリムスをアジュバント投与後 6～29 日にかけて連日投与した。両観察試験いずれの場合でも、シロリムス投与後 1 週間では効果が認められなかったが、投与後 2 週間では効果が認められた。

(3) ラットコラーゲン誘発関節炎発症に対するシロリムスの作用

＜添付資料 4.2.1.2-3 参＞

ラットの関節炎モデルはコラーゲン II を投与して作製した。シロリムスは関節炎モデル作成日に単回投与した。シロリムス (3.3、10、30 mg/kg、皮下投与) は用量依存性にコラーゲン誘発関節炎の発症を抑制した。

(4) インスリン依存性糖尿病マウスに対するシロリムスの作用

＜添付資料 4.2.1.2-4 参＞

シロリムスも溶媒も投与しない Naive control 及び溶媒のみ投与の Vehicle control マウスの糖尿病発症率は生後 176 日目においてはいずれも 60%であったが、シロリムス 0.6 又は 6 mg/kg (投与期間は生後 64 日から 176 日まで) を経口投与したラットの糖尿病発症率はそれぞれ 10 及び 0%であった。また、176 日でシロリムスの投与を終了し、その後 41 週においてもシロリムスの糖尿病発症予防効果は継続した。シロリムスの抗糖尿病作用は、血清グルコース濃度の増加抑制作用と一致していた。

(5) バルーンカテーテルによる総頸動脈損傷ラットに対するシロリムスの作用

＜添付資料 4.2.1.2-5 参＞

バルーンカテーテルの擦過により頸動脈内皮細胞の消失と内膜肥厚が認められたが、シロリムス (1.5 mg/kg/day を 2 週間、腹腔内投与) 単独、Mycophenolic acid (MPA) (40 mg/kg/day を 2 週間、経口投与) 単独、及びこれらの併用により、それぞれ 45、52 及び 97%の内膜肥厚の減少が認められた。

2.4.2.3 安全性薬理試験

(1) 一般症状及び行動、自発運動量に対する影響

＜添付資料 4.2.1.3-1 参＞

シロリムスの 0.5 mg/kg、腹腔内投与で軽度の運動低下がみられたが、その他の一般症状、行動に対し影響は認められなかった。シロリムスの 2.5 mg/kg、腹腔内投与では何ら影響は認められなかった。

(2) 循環器及び呼吸器系に対する作用

＜添付資料 4.2.1.3-2 参、4.2.3.2-10、4.2.1.3-4 参＞

自然発症高血圧ラット (SHR) の血圧 (BP) 及び心拍数 (HR) に対して、シロリムス 3 mg/kg、経口投与は影響を与えなかった。無麻酔サル心電図 (心拍数、リズム、P、Q、R、S、ST 波及び T 波の amplitude 及び P、PR、QRS 及び QT 延長時間) に対するシロリムス 3 ヶ月間、p.o. の影響を検討した実験では、シロリムス (0.5~10 mg/kg) 投与前、投与後 1、6 及び 13 週の心電図を 10 誘導 (I、II、III、aVR、aVL、aVF、MV1、MV2、MV3、V10) から記録し、HR、リズム、P、Q、R、S、ST 及び T 波の amplitude、P、PR、QRS 及び QT 延長時間を解析した。シロリムスの 3 ヶ月間投与は、心電図に対して影響を与えなかった。モルモットの肺循環抵抗、肺コンプライアンス、BP 及び HR に対してシロリムス 3 mg/kg、腹腔内投与は影響を与えなかった。

(3) 消化器系に対する作用

＜添付資料 4.2.1.3-5 参＞

ラット胃酸分泌量及び胃排泄に対してシロリムス 3 mg/kg、経口投与は影響を与えなかった。さらに、シロリムスは胃粘膜及び小腸粘膜に対しても損傷や刺激を生じなかった。

(4) 腎機能に対する作用

＜添付資料 4.2.1.3-6～7 参＞

ラットの腎機能に対するシロリムス 14 日間投与の作用について検討した。ラット腎機能（尿量、血漿クレアチニン、クレアチニンクリアランス、腎重量）及び体重に対して、シロリムス 1.0 mg/kg は影響を与えなかったが、10 mg/kg では尿量の増加と体重減少が認められた。その他のパラメーターに対しては影響を与えなかった。また、生理食塩水負荷ラットに対する影響を検討したとき、シロリムス 1 及び 3 mg/kg は尿量、尿中 Na 及び K 排泄量、尿浸透圧に対して影響を与えなかったが、尿 pH に対し 3 mg/kg でのみ軽度低下させた。

(5) 骨形成に対する作用

＜添付資料 4.2.1.3-8 参＞

シロリムス（2.5 mg/kg を 28 日間、経口投与）は骨梁容量に対して影響を与えなかったが、骨のリモデリング増加が認められた。

(6) 各種受容体結合に対する作用

＜添付資料 4.2.1.3-9 参＞

シロリムスは、アデノシン系（1 及び 2）、アドレナリン作動性（ α 、 β ）、生体アミン（ドーパミン、セロトニン）、コリン作動性、オピエート系、Ca チャンネル、プロスタノイド系、興奮性及び抑制性アミノ酸の各種受容体に対して影響を及ぼさなかった。また、アデニル酸シクラーゼ及びプロテインキナーゼの結合に対しても影響しなかった。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

該当する試験を実施しなかった。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 吸収

＜添付資料 4.2.2.2-1～13 参＞

(1) 単回投与

ラットにシロリムス 2 mg/kg を経口投与したとき、シロリムスの血漿中濃度は血液中濃度よりも低く、 C_{max} 値はそれぞれ 1.5 及び 12 ng/mL で、いずれも投与後 2 時間に到達した。 $AUC_{0-48\text{ hr}}$ 値は、それぞれ 27 及び 93 ng・hr/mL で、両者で著しい差異があった ($P < 0.001$)。 $T_{1/2}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 値は、それぞれ 16 時間及び 103 ng・hr/mL であった。

ラットにシロリムス 0.05 mg/kg 及び 0.1 mg/kg 経口投与したときの血液中シロリムス濃度は両者でほぼ同等であった（ C_{max} 値：259 及び 241 pg/mL、 $AUC_{0-\infty}$ 値：3874 及び 4257 pg・hr/mL）。また、シロリムス 0.5 mg/kg 経口投与における C_{max} 値及び $AUC_{0-\infty}$ 値は、それぞれ 1444 pg/mL 及

び 34114 pg・hr/mL であった。 $C_{\max}$ 値の増加は投与量比よりも小さかったが、 $AUC_{0-\infty}$ 値は 0.05 ~ 0.5 mg/kg の投与量間でおおよそ投与量に比例して増加した。投与量の増加に伴いシロリムスの経口吸収は遅延し、 $T_{\max}$ 値は、0.05 mg/kg 投与では 3 時間、0.5 mg/kg 投与では 8 時間であった。但し 0.5 mg/kg 投与時の血液中シロリムス濃度は、投与後 2 時間及び 8 時間 (1430 pg/mL 及び 1444 pg/mL) で著しい差異はなかった。シロリムスの $T_{1/2}$ は、0.05、0.1 及び 0.5 mg/kg 投与で、それぞれ 7.2、13.7 及び 18.4 時間と投与量の増加とともに増加した。

ラットに [^3H]-シロリムス 1 又は 5 mg/kg を静脈内又は経口投与して血液中放射能濃度から算出した経口投与時の生物学的利用率は 6.2% であった。

また、ラットにシロリムス 0.25 mg/kg 静脈内又は経口投与して算出した経口投与時の血液中未変化シロリムスの生物学的利用率は 1.9% であった。

マウスに [^{14}C]-シロリムス 20 mg/kg 経口投与したときの血液及び血漿中総放射能は、最初の測定時点である投与後 0.5 時間にそれぞれ 4.86 及び 7.54 $\mu\text{g/mL}$ を示し、投与後 1 時間に $C_{\max}$ 値 (5.3 $\mu\text{g/mL}$ 及び 8.2 $\mu\text{g/mL}$) に、それぞれ到達した。血液及び血漿における $AUC_{0-6\text{ hr}}$ 値は、それぞれ 18.7 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$ 及び 29.1 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$ であった。放射能濃度の血液/血漿比は、検討したすべての時点において 0.64~0.65 の範囲内であった。

ウサギにシロリムスを 0.05 及び 0.5 mg/kg 静脈内投与したときの血液中シロリムス濃度の分布容積及び総クリアランスは、投与量の増加に伴いいずれも著しく増加し、シロリムスの薬物動態が投与量に対して非線形であることが示唆された。両投与量における $T_{1/2}$ には有意な差異は認められなかった。

サルにシロリムスを 0.25、0.75 及び 2.5 mg/kg 静脈内投与したとき、血清中シロリムスの $T_{1/2}$ は、それぞれ 1.8、1.9 及び 1.4 時間、血清クリアランス (Cl) 値は、それぞれ 11.9、14.3 及び 2.6 L・hr/kg、 V_d 値は、それぞれ 29.7、39.2 及び 4.0 L/kg、及び $AUC_{0-\infty}$ 値はそれぞれ 22、53 及び 971 ng・hr/mL であった。 Cl 値と V_d 値は 2.5 mg/kg 投与後で著しく低かった。投与量を 1 mg/kg に標準化した $AUC_{0-\infty}$ 値は、0.25、0.75 及び 2.5 mg/kg 投与でそれぞれ 89、71、及び 388 ng・hr/mL であり、サルにシロリムスを静脈内投与したときは、0.25~0.75 mg/kg の用量範囲において用量依存的な薬物動態を示すものと推察された。

サルにシロリムスを 0.5 mg/kg 経口投与したとき、血液中シロリムス濃度は速やかに上昇し、投与後 1 時間 ($T_{\max}$ 値) には $C_{\max}$ に達した。血液中シロリムスの $C_{\max}$ 値及び $AUC_{0-\infty}$ 値は、それぞれ 25 ng/mL 及び 253 ng・hr/mL であった。 $T_{1/2}$ は 32 時間と長く、シロリムスは循環血流からゆっくりと消失するものと推察された。

また、サルにシロリムスを 0.25 mg/kg 静脈内及び経口投与したとき、経口投与後の血液中シロリムス濃度 ($C_{\max}$ 値: 13 ng/mL、 $AUC_{0-\infty}$ 値: 65 ng・hr/mL) は静脈内投与後 ($AUC_{0-\infty}$ 値: 1812 ng・hr/mL) のそれよりも低く、経口投与したときの未変化シロリムスの生物学的利用率は 3.7% であった。

(2) 反復投与

ラットにシロリムスを 1.5 mg/kg 単回及び 7 日間反復静脈内投与したとき、血清中シロリムス濃度の C_1 値及び V_{ss} 値は、反復投与で単回投与に比べ 25% 及び 32% それぞれ減少し、 $AUC_{0-\infty}$ 値は、反復投与で 34% 増大したが、 $T_{1/2}$ には、大きな変動は認められなかった。

ラットにシロリムスを 0.25 mg/kg 単回又は 14 日間反復経口投与したとき、シロリムスの C_{max} 値には両投与で著しい差異はなかった（単回投与：707 pg/mL、反復投与：629 pg/mL）。 T_{max} 値は、反復投与で単回投与よりも遅延したが、反復投与後 0.5～8 時間の血液中濃度は、ほぼ定常状態を示し、この間において著しい差異はなかった。 AUC 値は反復投与によって変動しなかった（単回投与：10222 pg/mL、反復投与：10090 pg/mL）。 $T_{1/2}$ は、データのバラツキが大きく、また、低い試験の検出力のため統計的に有意な差ではなかった（単回投与：14.6 時間、反復投与：64.8 時間、 $p=0.11$ ）。平均 MRT_{0-60} hr は、反復投与で著しく大きかった（単回投与：17.2 時間、反復投与：24.4 時間、 $p<0.001$ ）。

ラットにシロリムス 2 mg/kg を単回及び 0.2、2 又は 6 mg/kg を 14 日間反復経口投与したときの血漿及び血液中シロリムス濃度は、 C_{max} 値及び AUC 値のいずれにも単回投与と反復投与の間で著しい差異が認められなかった（ $p>0.05$ ）。また、反復投与時の血液中シロリムス濃度は投与量の増加とともに増加し、 C_{max} 値及び AUC 値はほぼ投与量に比例して増加した。

サルにシロリムスを 1.5 mg/kg 単回及び 7 日間反復静脈内投与したとき、最高血清中シロリムス濃度は最初の測定時点である投与後 7.5 分に認められ、両投与で差異はなかった（単回投与：147 ng/mL、反復投与：149 ng/mL）。単回静脈内投与と反復静脈内投与の間で薬物動態パラメーターには著しい変化が認められ、反復投与によって C_1 値及び V_{ss} 値は、それぞれ 62% 及び 39% 減少し、 $T_{1/2}$ は、反復投与によって 67% 長くなった。また、 $AUC_{0-t_{hr}}$ 値及び $AUC_{0-\infty}$ 値は反復投与によって 190% 及び 183% それぞれ増加した。

サルにシロリムスを 0.1 mg/kg/日単回及び 7 日間反復経口投与したとき、単回経口投与後の C_{max} 値、 T_{max} 値、 $T_{1/2}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 値は、それぞれ 9.62 ng/mL、1.3 時間、11.2 時間及び 64.18 ng・hr/mL であった。反復経口投与後の C_{max} 値、 T_{max} 値、 $T_{1/2}$ 及び $AUC_{0-24\text{ hr}}$ 値は、それぞれ 9.87 ng/mL、1.1 時間、29.4 時間及び 78.3 ng・hr/mL であった。また、サルにシロリムス 0.5 mg/kg を単回及び 14 日間反復経口投与したとき、単回投与後の血液中シロリムスの C_{max} 値、 $AUC_{0-\infty}$ 値及び T_{max} 値は、それぞれ 25 ng/mL、253 ng・hr/mL 及び 1 時間であった。反復経口投与後の血液中シロリムス濃度の C_{max} 値、 $AUC_{0-24\text{ hr}}$ 値及び T_{max} 値は、それぞれ 22 ng/mL、218 ng・hr/mL 及び 0.75 時間であった。これらのように、サルにシロリムスを単回及び反復経口投与したときの薬物動態パラメーターには、両者間に大きな差異は認められなかった。

(3) 血球移行性

ラットにシロリムスを 1.0 mg/kg 静脈内投与したときの、シロリムスの血漿中濃度に対する赤血球中濃度の比は 4.91 であり、シロリムスの高い赤血球への移行性が示された。

ラットにシロリムスを 0.2、2 及び 6 mg/kg 14 日間反復経口投与したときのシロリムス濃度の血液/血漿比は、いずれの投与量においても 1～13 の範囲であり、また、 C_{max} 値及び AUC 値の血液/血漿比は 2.2～10.2 の範囲であったことから、シロリムスの血球移行性は投与量にかかわらず反復経口投与においても高いことが示唆された。

サルにシロリムスを 0.5 mg/kg 単回及び 14 日間反復経口投与したとき、血漿中シロリムス濃度は血液中濃度に比べて低く、単回及び反復経口投与における血液/血漿比の中央値は、それぞれ 24 及び 53 であり、シロリムスの血球移行性はラットに比べてより高いことが示された。

マウスに ^{14}C -シロリムスを 20 mg/kg 経口投与したときの放射能濃度の血液/血漿比は、検討したすべての時点において 0.64~0.65 の範囲内であり、シロリムス又はその代謝物の血球への移行性はラット及びサルよりも低いか、又は、高い投与量による血球移行性の飽和が推察された。

(4) 代謝物の薬物動態

ラットにシロリムスを 9.5 mg/kg 経口投与し、血漿中のシロリムス及びその代謝物 M2 (hydroxy sirolimus)、M3 (seco-sirolimus) 及び M5 (41-O-demethyl sirolimus) 濃度を測定した。シロリムスは、投与 0.5 時間後に $C_{\max}$ 値 361 ng/mL (平均値) を示した。M2、M3 及び M5 の $C_{\max}$ 値及び $T_{\max}$ 値は、それぞれ 113 ng/mL 及び 0.5 時間、46 ng/mL 及び 1.0 時間、及び 62 ng/mL 及び 1.0 時間であった。各代謝物の $C_{\max}$ 値はシロリムスのその 30% 以下であった。血漿中のシロリムス、M2、M3 及び M5 の $T_{1/2}$ は、それぞれ 2.8、2.7、1.8 及び 2.4 時間であり、投与 24 時間後の血漿中にはいずれも検出されなかった。シロリムス、M2、M3 及び M5 の $\text{AUC}_{0-\infty}$ 値は、それぞれ 1325、245、241 及び 227 ng・hr/mL であり、シロリムスの $\text{AUC}_{0-\infty}$ 値は、代謝物のそれよりも 5~6 倍大きかった。

2.4.3.2 分布

＜添付資料 4.2.2.3-1~4 参＞

(1) 組織中濃度

ラットに ^{14}C -シロリムスを 0.5 mg/kg 静脈内投与したとき、組織中最高放射能濃度は、投与後 6 時間又は 12 時間に観察された。投与後 6 時間で最も高い放射能濃度を示した組織は、肝臓であり、次いで肺、唾液腺、及び脾臓の順であった。消化管組織（胃、小腸及び大腸）には中程度の放射能の分布が認められた。投与後 12 時間では最も高い放射能濃度を示した組織は肺であり、次いで肝臓、唾液腺、脳下垂体及び脾臓の順であった。投与後 168 時間では、膀胱、胸腺、肝臓、肺及び唾液腺に相対的に高い放射能濃度が認められた。投与後 168 時間の全組織及び消化管内容物中に残存した放射能の総量は、投与量の $1.99 \pm 0.29\%$ であった。

ラットに ^{14}C -シロリムスを 0.5 mg/kg 経口投与したときの組織中放射能濃度は低く、放射能の大部分は消化管内容物中に認められ、シロリムスの経口吸収が低いことが示された。大部分の組織において組織中最高放射能濃度は投与後 12 時間で認められた。投与後 168 時間の全組織及び消化管内容物中に残存した放射能の総量は、投与量の $0.05 \pm 0.01\%$ であった。

有色ラット (Long-Evans 系) に ^{14}C -シロリムスを 2 mg/kg 経口投与したときのメラニン含有組織であるブドウ膜又は皮膚における放射能の分布は、白色ラットのそれと同様であり、シロリムス及び/又は代謝物はメラニンとは結合しないことが示唆された。

(2) 胎児移行性

妊娠 15 日目のラットに $[^{14}\text{C}]$ -シロリムスを 0.5 mg/kg 経口投与したとき、母獣血漿、母獣血液、羊水、胎盤及び胎児中に放射能が検出され、母獣血漿、母獣血液、羊水、胎盤及び胎児中放射能濃度の $\text{AUC}_{0-\infty}$ 値は、それぞれ 81.6、111、59.4、691 及び 161 ng/equiv.・hr/mL であり、胎盤及び胎児中放射能濃度の $\text{AUC}_{0-\infty}$ 値は、母獣血液のそれよりもそれぞれ 6.2 倍及び 1.5 倍高値であった。これらの結果は、シロリムス及び/又はその代謝物が血液—胎盤関門を通過し胎児に移行することを示唆した。

(3) タンパク質との結合性

マウス、ラット、サル及びヒトのそれぞれの血漿タンパクに対するシロリムス (約 200 ng/mL) の結合率 (平均値) につき超遠心法を用いて検討した。血漿中遊離シロリムスは、それぞれマウスでは 1.2%、ラットでは 6.5%、サルでは 8.4%、及びヒト血漿では 8.3 であり、シロリムスの血漿タンパク質との結合率は 91.6~98.8% であった。

2.4.3.3 代謝

＜添付資料 4.2.2.4-1~8 参＞

(1) 代謝物の検索及び構造

ラット、マウス、サル及びヒトにおいて、シロリムスは広範囲に代謝された。主要な代謝物は、7-O-demethyl sirolimus、32-O-demethyl sirolimus、41-O-demethyl sirolimus、‘southern’ 部分において水酸化代謝を受けた数種の hydroxy sirolimus 及び大環状の環が開環した異性体 seco-sirolimus と推定した。

(2) 代謝酵素

シロリムスは、ラット肝ミクロソームにおいては CYP3A1 によって、またヒト肝ミクロソームにおいては CYP3A4 によって、それぞれ主に代謝されるものと推察された。

(3) 動物間種差

シロリムスをイヌ、サル及びヒト肝ミクロソーム及びそれぞれの加熱処理ミクロソームと NADPH generating system 存在下又は非存在下にインキュベートして、シロリムスの in vitro 代謝の動物間種差について HPLC クロマトグラムで検討した。検討に用いたすべての動物種において、シロリムスは、NADPH generating system 存在下にチトクローム P-450 依存酸素添加酵素及び非酵素的分解によって代謝された。非酵素的分解により生成物 A 及び E と代謝物 C、D、G 及び H はすべての動物種において生成したが、イヌ肝ミクロソームでは、ラット肝ミクロソームで生成された代謝物 B の生成は認められず、イヌに特異的な少なくとも 2 種のシロリムス代謝物が生成した。サル肝ミクロソームでは、ラット肝ミクロソームで生成された代謝物 F の生成は認められなかった。ヒト肝ミクロソームでは、ラット肝ミクロソームで生成した A~H

のすべてが認められた。また、サルとヒト肝ミクロソームでは、より極性の高い代謝物が多く生成した。

2.4.3.4 排泄

＜添付資料 4.2.2.5-1～9 参＞

(1) 尿、糞及び呼気中排泄

ラットに ^3H -シロリムス 1.1 mg/kg 又は 6.1 mg/kg 静脈内又は経口投与したとき、投与後 72 時間までの放射能の総排泄量は、静脈内及び経口投与ではそれぞれ 79.7% 及び 60.9% であり、いずれの投与においても排泄された放射能の 98～99% は糞中に認められ、約 50% が投与後 24 時間までに排泄された。尿中排泄は僅かであった。

また、ラットに ^{14}C -シロリムスを 0.5 mg/kg 静脈内及び経口投与したとき、投与後 14 日間の尿及び糞中への放射能の総排泄率は、それぞれ静脈内投与では 98.0%、経口投与では 98.5% であり、それらの 94～96% は糞中に認められ、その大部分が投与後 24 時間までに排泄された。尿中排泄は僅かであった。

ラットにシロリムスの 2,6-pipecolic acid 位に ^{14}C 標識した ^{14}C -シロリムスを 5.0 mg/kg 経口投与したとき、投与後 24 時間までの呼気中には投与放射能の 0.03% 以下が排泄された。

マウスに ^{14}C -シロリムスを 20 mg/kg 経口投与したとき、投与後 7 日までの尿及び糞中への放射能の総排泄は、投与量の 97.7% であり、大部分は糞中に排泄され (90.1%)、尿中への排泄は 8.1% であった。これら尿及び糞中排泄は、大部分 (>90%) が投与後 24 時間までに認められた。

サルに ^3H -シロリムスを静脈内投与 (146 μCi /0.85 mg/kg) 又は経口投与 (76.1 μCi /3.4mg/kg) したとき、放射能の総排泄率は、静脈内及び経口投与後で、それぞれ 66.9% 及び 77.2% であり、排泄された放射能の 93～97% が糞中に認められた。放射能の尿中排泄は僅かであった。

サルに ^3H -シロリムスを 7.2 mg/kg/日 (185 μCi /kg/日) 7 日間反復経口投与したとき、7 日間反復経口投与終了後の総排泄量は、総投与量の 64% であった。総排泄放射能の 89.7% が糞中に、また 10.3% が尿中に認められ、37 日間の総排泄量の 98.3% が反復投与終了後の 3 日間で排泄された。

(2) 胆汁中排泄

胆管カニューレ挿入及び胆管カニューレ未挿入ラットに、それぞれ ^3H -シロリムス 0.75 mg/kg 静脈内投与したとき、胆管カニューレ挿入ラットにおいて、投与放射能の 45% が投与後 72 時間までの胆汁中に排泄された。カニューレ未挿入ラットにおいて、投与放射能の 58% が投与後 72 時間までの糞中に排泄された。

また、胆管にカニューレを挿入したラットに ^{14}C -シロリムス 1 mg/kg 経口投与したとき、胆汁及び糞中に、それぞれ投与放射能の 12.7% 及び 76.2% が排泄された。

(3) 乳汁移行性

授乳期のラット（分娩後 10 日目）に ^{14}C -シロリムス 0.5 mg/kg 経口投与したとき、乳汁中に放射能が検出され、シロリムス及び/又は代謝物が乳汁中に移行することが示された。授乳期のラット（分娩後 10 日目）に ^{14}C -シロリムス 0.5 mg/kg 経口投与したとき、母獣ラットの血液中放射能濃度及び未変化体シロリムス濃度は投与後 1 時間及び 0.5 時間に、それぞれ最高濃度 9.30 ng equiv. /mL 及び 1.2 ng/mL を示したが、乳児ラットの血液中には、投与後 4 時間の 1 例（n=3）を除いて、測定したいずれにおいても放射能及び未変化体シロリムス濃度は定量限界以下であった。これらの結果から、乳汁を経由した乳児ラットへのシロリムスの全身曝露は僅か又ははないものと推察された。

2.4.3.5 薬物動態的薬物相互作用

<添付資料 4.2.2.6-1～4 参>

ラットにシロリムスを 7 日間反復静脈内投与 (0.025、0.2 及び 0.5 mg/kg) 及び経口投与 (0.1、0.5 及び 2.0 mg/kg) したとき、シロリムスの反復投与による肝薬物代謝酵素への明確な影響は認められず、少なくともシロリムスの薬物代謝酵素の誘導又は阻害作用を介した併用薬との薬物相互作用はないものと推察される。

一方、ラット及びヒトでのシロリムスの代謝には、CYP3A1 及び CYP3A4 が関与している。これらのチトクローム P-450 分子種の阻害剤又は基質となる薬物がシロリムスと同時に投与されたときには、シロリムス及び/又は併用薬の薬物動態に強く影響し、シロリムス及び併用薬の有効性や安全性に影響を与えることが考えられる。

またヒト、サル、ラット及びマウスの血漿タンパク質とシロリムスの結合率は平均 91.6～98.8% と高く、蛋白結合を介した併用薬との薬物相互作用が推察される。これらのことから、特に、臨床において、シロリムスと CYP3A4 の基質となる薬剤及び蛋白結合率の高い薬剤との併用には注意が必要と考えられる。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

<添付資料 : 4.2.3.1-1、4.2.3.1-2 参、4.2.3.1-3～4>

単回投与毒性は、マウス及びラットを用いて検討した。経口投与においては、投与限界量である 800 mg/kg でも死亡並びに重篤な毒性は観察されなかった。静脈内投与においては、投与限界量である 250 mg/kg で 1/5 匹の死亡が観察され、ラットで歩行失調、頻呼吸、尾の退色などが観察された。経口投与による LD_{50} はマウス及びラットとも 800 mg/kg 以上、静脈内投与による LD_{50} はマウスで 250 mg/kg 以上、ラットの雄で 250 mg/kg 付近、雌で 250 mg/kg 以上であった。なお、サルに本薬の 2.5～25 mg/kg を 2～26 日間経口投与した用量設定試験<4.2.3.2-7 参>においては、2.5 mg/kg で嘔吐、10 mg/kg で下痢/軟便、20 mg/kg 以上で軽度の体重減少及び摂餌量の減少がそれぞれみられたが、本薬による死亡は観察されなかった。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

＜添付資料：4.2.3.2-3～5、4.2.3.2-6 参、4.2.3.2.10～11＞

反復投与毒性では、ラット 3 ヶ月経口投与において、雄で 0.5 mg/kg/日から体重増加の減少がみられ、2 mg/kg/日以上で白内障が観察された。また、0.5 mg/kg/日以上で Hb と Ht の増加、並びに好中球比の増加とリンパ球比の減少がみられ、2 mg/kg/日以上で GLUC の増加がみられた。剖検では、2 mg/kg/日以上で精巣の小型化と精巣重量の低値がみられた。そのほか、体重減少に伴う肝臓、子宮などの重量低値がみられた。病理組織学的検査では、2 mg/kg/日以上の雄で精細管の萎縮と睪島細胞の空胞変性がみられた。そのほか、肺泡マクロファージの集簇、心筋変性、腎臓のミネラル沈着などの自然発生病変が高頻度に及び/又は重度に認められ、薬物投与に関連して増悪したものと考えられた。これらの変化は、4 週の休薬により改善した。本試験において無毒性量は、0.5 mg/kg/日未満であった。

ラット 6 ヶ月及び 12 ヶ月経口投与においても、ラット 3 ヶ月経口投与とほぼ同様な変化が観察され、特に 12 ヶ月経口投与での 0.20 mg/kg/日以上で体重減少、骨量減少、造血、卵巣萎縮、肺泡マクロファージの集簇がみられ、さらに 0.65 mg/kg/日以上では、心筋変性、リンパ萎縮、精細管萎縮、睪島細胞の空胞化がみられた。本試験における無毒性量は、6 ヶ月経口投与で 0.05 mg/kg/日、12 ヶ月経口投与では 0.20 mg/kg/日未満であった。

サル 3 ヶ月経口投与においては、0.5、5、10 mg/kg/日で大腸炎による激しい下痢が繰り返し観察され、死亡/瀕死期殺がそれぞれ 1 例、2 例、3 例みられた。5 mg/kg/日以上では、体重増加の抑制又は減少、フィブリノーゲンの増加、CK の増加、TP 及び Alb の減少がみられた。病理組織学的検査では、5 mg/kg/日以上の大部分の動物に大腸炎又は盲腸炎並びに脾臓、胸腺、リンパ節でのリンパ萎縮がみられた。無毒性量は、0.5 mg/kg/日未満であった。サル 6 ヶ月経口投与においても、0.25 mg/kg/日から慢性的な下痢、軟便を伴い、0.50 mg/kg/日で 2 例が瀕死期殺された。生存動物でも下痢又は軟便が用量に依存して発現した。そのほか、0.25 mg/kg/日以上においてフィブリノーゲンの増加が、病理組織学的検査では大腸炎又は盲腸炎がみられたが、3 ヶ月の休薬後には改善した。また、リンパ節、胸腺、脾臓のリンパ萎縮がみられた。本試験での無毒性量は 0.05 mg/kg/日であった。なお、サルの 6 ヶ月を超える毒性試験は実施しなかった。その理由として、6 ヶ月を超える反復投与毒性試験を実施した場合、慢性的な大腸炎に伴う一般状態の悪化により衰弱及び死亡を招くことが想定される。また、サル 6 ヶ月投与試験の無毒性量と臨床用量との曝露量比は 1 倍未満であり、より長期の毒性試験ではそれがさらに低下すると推察される。大腸炎に関しては、ヒトでの報告がなく、サルでの特異性が高いものと考えられることから、6 ヶ月を超えるサル試験の実施の意義は少ないと考え実施しなかった。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

＜添付資料：4.2.3.3.1-1 参、4.2.3.3.1-2～3、4.2.3.3.2-1＞

遺伝毒性では、本薬は *in vitro* 試験（細菌を用いる復帰突然変異試験、マウスリンフォーマ TK 試験、染色体異常試験）及び *in vivo* 試験（マウス小核試験）において、いずれも遺伝毒性を示さなかった。

2.4.4.4 がん原性試験

＜添付資料：4.2.3.4-2、4.2.3.4-3 参、4.2.3.4-4、4.2.3.4-5 参＞

がん原性では、マウス経口投与において耳介の皮膚病変が用量依存的に観察され、雌より雄が高頻度であった。この皮膚病変の進行により動物の健康と生存が危ぶまれたため、6 mg/kg/日の雄は 85 週間で、雌は 97 週間で投与を終了した。平均体重は対照群に比べ低値を示した。病理組織学的検査では、腫瘍性の変化として 1 mg/kg/日以上で雄で肝細胞腺腫及び肝細胞癌が、6 mg/kg/日の雌で顆粒球性白血病が増加傾向を示した。これらは、免疫機能の抑制及び自然発生性の腫瘍の増加に関連するものであった。

ラット経口投与においては、平均体重が 33 週以降で抑制傾向を示し、雄で歩行異常、消瘦、眼球混濁が観察された。病理組織学的検査では、腫瘍性の変化として 0.1 mg/kg/日以上で精巢の間細胞腺腫の増加がみられた。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

＜添付資料：4.2.3.5.1-2、4.2.3.5.2-2、4.2.3.5.2-3 参、4.2.3.5.2-5、4.2.3.5.2-6 参、4.2.3.5.3-1＞

生殖発生毒性では、ラット受胎能及び着床までの初期胚の発生に関する試験において、雄動物の 0.5 mg/kg/日以上で体重増加の抑制、摂餌量の低値、生殖器の重量減少がみられたものの、交尾能、受胎能への影響はなかった。雌動物では、0.5 mg/kg/日で体重増加の抑制、摂餌量の低値、妊娠子宮の重量減少がみられたが、性周期、交尾率、妊娠率、哺育行動などへの影響はなかった。胎児では、0.1 mg/kg/日以上で胎児体重の低値が、0.5 mg/kg/日で生存胎児数及び生存児数の減少がみられた。雌雄ラットの一般毒性・生殖機能に対する無毒性量は 0.1 mg/kg/日、胚・胎児に対する無毒性量は 0.05 mg/kg/日であった。ラット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において、母動物の 0.5 mg/kg/日で体重増加抑制及び摂餌量の低値が、出生児では死亡児数の増加及び生存児数の減少がみられた。その他、反射・身体発達、学習・記憶機能、生殖機能などへの影響はなかった。母動物の一般毒性・生殖機能に対する無毒性量は 0.1 mg/kg/日、次世代に対する無毒性量は 0.1 mg/kg/日であった。

ラット胚・胎児発生に関する試験において、母動物の 0.5 mg/kg/日以上で体重増加の抑制及び妊娠子宮重量の減少が、さらに 1.0 mg/kg/日で摂餌量の低値がみられた。胎児では、0.5 mg/kg/日以上で吸収胚数及び死亡胎児数の増加並びに生存胎児数の減少がみられ、胎児体重の低値及び椎骨の骨化遅延がみられた。その他、胎児の形態異常はみられなかった。母動物の一般毒性に対する無毒性量は 0.1 mg/kg/日、胚・胎児に対する無毒性量は 0.1 mg/kg/日であった。

ウサギ胚・胎児発生に関する試験において、母動物の 0.05 mg/kg/日で体重増加抑制及び摂餌量の低値がみられたが、胎児への影響はなかった。母動物の一般毒性に対する無毒性量は 0.025 mg/kg/日であり、胚・胎児に対する無毒性量は 0.05 mg/kg/日であった。

2.4.4.6 局所刺激性試験

該当する試験を実施しなかった。

2.4.4.7 その他の毒性試験

＜添付資料：4.2.3.7-1～2 参、4.2.3.7-3、4.2.3.7-4 参、4.2.3.7-12＞

不純物及び分解物の毒性試験では、ラットを用いて本薬に不純物を 3%及び 10%添加、あるいは分解物を 5%及び 12%添加して、それぞれの毒性を検討したが、観察された変化はほかの本薬のみを投与したラットの試験で報告されたものと同じであり、新たな毒性は認められず、いずれも本薬の毒性プロファイルに変化はなかった。

ウサギを用いて本薬の 25 mg/kg を経口投与した光毒性試験では、光毒性反応は認められなかった。

2.4.5 総括及び結論

(1) 薬理試験

LAM の発症は、TSC の原因遺伝子である腫瘍抑制性遺伝子 TSC1 又は TSC2 の機能消失型の点変異が原因で起こるが、その結果として LAM 細胞の特性がリンパ管の増生及び遠隔転移を惹起し、転移した組織の破壊を引き起こす¹⁾。TSC1 及び TSC2 遺伝子はそれぞれ Hamartin 及び Tuberin をコードし、Hamartin/Tuberin complex を形成しており、この複合体はシロリムスの作用タンパク質である mTOR の活性を制御して細胞増殖をコントロールしている。TSC 遺伝子異常の LAM 細胞は、血管新生を誘導する血管内皮細胞増殖因子 (VEGF:Vascular Endothelial Growth Factor) 及びマトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) を産生することを介して肺の破壊、嚢胞形成を惹起している。

シロリムスの LAM に対する薬理作用に関し、TSC1 又は TSC2 遺伝子変異を有する種々の TSC モデル動物を用いて検討した成績を記載した。シロリムスは、腫瘍細胞増殖抑制作用、腫瘍サイズ縮小作用及び生存率増加作用を示した。また、TSC 患者でみられる主要な症状のひとつにけいれん発作が認められているが、シロリムスは、TSC1 遺伝子欠損マウスに生じるけいれん発作に対し、けいれん発作予防作用及びけいれん発作抑制作用を示した。

シロリムスは、LAM 患者から採取した LAM 細胞増殖抑制作用やアポトーシス誘導作用を示した。シロリムスの LAM 細胞を用いた細胞周期に対する作用は、G0/G1 期を増加、S 期を減少させることから、シロリムスの LAM 細胞に対する作用は細胞周期の G0/G1 から S 期への進行を抑制した結果であると推察される。

ヒト LAM に類似したマウス LAM モデルにおいて、シロリムスは肺組織の破壊及び肺胞空胞面積の拡大を抑制するとともに、タンパク分解酵素である MMP-2 の発現量を抑制した。MMP-3 及び MMP-9 に対してもシロリムスは、これらの MMPs を、有意ではないが減少した。LAM では、LAM 細胞が産生する VEGF によりリンパ管新生が惹起されるが、シロリムスは TSC1 及び TSC2 遺伝子欠損細胞において VEGF 産生量を抑制させた。そこで MMPs や VEGF の産生増加は mTOR の活性化が関与していることから、mTOR の活性化の指標である S6K のリン酸化に対するシロリムスの作用を検討した。その結果、ヒト LAM 細胞、TSC2 遺伝子欠損細胞 ELT3 及び ERC15 の S6K のリン酸化はシロリムスにより抑制された。このシロリムスの S6K リン酸化抑制作用は TSC2 遺伝子を欠損した細胞を移植したヌードマウスを用いた *ex vivo* の実験においても確認された。

安全性薬理作用の一環として検討した試験において、シロリムスは中枢系、心血管系、呼吸器系、消化器系、腎機能及び骨梁用量に対してほとんど影響を与えなかった。また、各種受容体に対する評価では、アデノシン、アドレナリン作動性、生体アミン（ドーパミン系及びセロトニン系）、コリン作動性、Ca チャンネル、オピエート系、プロスタノイド系興奮性アミノ酸及び抑制性アミノ酸の各受容体やセカンドメッセンジャーに対しても影響を与えなかった。

以上の結果をまとめると、種々の LAM 動物モデルにおいて、シロリムスの有効性が認められ、TSC1 又は TSC2 遺伝子異常を有する LAM 細胞において、活性が亢進している mTOR 活性の抑制を介して細胞周期の G1 期から S 期への進行を遮断することにより、シロリムスは LAM 細胞増殖を抑制していると推察される。さらに LAM 細胞の VEGF 産生抑制によるリンパ管新生の抑制、MMPs 産生の抑制による肺組織の破壊を防御することにより、LAM の病態進行を抑制すると考えられる。従って、現在有効な治療薬が存在しない LAM 治療において、シロリムスは治療効果が期待できる薬剤であり、医療上の必要性が高い薬剤と考えられる。

(2) 薬動動態試験

ラットにシロリムスを 2 mg/kg 単回経口投与したときの血漿及び血液中シロリムス濃度の C_{max} 値は、いずれも投与後 2 時間に到達した。血漿及び血液中シロリムスの $AUC_{0-48 \text{ hr}}$ 値は、血液において血漿よりも著しく大きい値を示し、シロリムスが血球に移行し易いことが示された。血液中シロリムスの消失半減期は 16 時間であり、ラットにおいてシロリムスは循環血流からゆっくりと消失するものと推察された。また、ラットにシロリムスを 0.05、0.1 及び 0.5 mg/kg 単回経口投与したとき、 $AUC_{0-\infty}$ 値は 0.05～0.5 mg/kg の投与量間でほぼ投与量に比例して増加したことから、シロリムスの血液中濃度は、この投与量範囲において概ね線形性を示すものと推察された。

サルにシロリムスを 0.5 mg/kg 単回経口投与したとき、血液中シロリムス濃度は速やかに上昇し、投与後 1 時間には最高濃度に達した。 $T_{1/2}$ は 32 時間と長く、シロリムスは循環血流からゆっくりと消失するものと推察された。また、サルにシロリムスを 0.25、0.75 及び 2.5 mg/kg 単回静脈内投与したときの、投与量を 1 mg/kg に標準化した $AUC_{0-\infty}$ 値は、0.25、0.75 及び 2.5 mg/kg 投与でそれぞれ 89、71、及び 388 ng・hr/mL であり、サルに静脈内投与したときシロリムスの薬物動態は、0.75 mg/kg より大きい用量において非線形性を示すものと推察された。

一方、ウサギにシロリムス 0.05 及び 0.5 mg/kg 単回静脈内投与したときの血液中シロリムス濃度の分布容積及び総 C1 は投与量の増加に伴いいずれも著しく増加し、ウサギにおけるシロリムスの薬物動態は投与量に対して非線形であることが示唆された。このようなシロリムスを単回静脈内投与したときの薬物動態の非線形性は、後述するようにシロリムスは高い血球移行性を示したことから、シロリムスの単回静脈内投与によってシロリムスの血球移行が飽和したことによって生じたものと推察する。

ラット及びサルに ^3H -シロリムス又シロリムスを経口投与したとき、放射能及び未変化シロリムスの生物学的利用率は、いずれも 7%以下と低値であったことから、ラット及びサルのいずれにおいてもシロリムスの経口吸収が低く、また、肝臓及び消化管での初回通過効果が高いことが示唆された。

ラットにシロリムスを 1.0 mg/kg 単回静脈内投与したときの、シロリムスの血漿及び赤血球中濃度の赤血球/血漿比は 4.91 であり、シロリムスの高い血球移行性が示された。また、ラットにシロリムスを 0.2、2 及び 6 mg/kg 14 日間反復経口投与したときのシロリムス濃度の $C_{\max}$ 値及び AUC 値の血液/血漿比は 2.2~10.2 の範囲であり、さらに、サルにシロリムスを 0.5 mg/kg 単回及び 14 日間反復経口投与したとき、血漿中シロリムス濃度は血液中濃度に比べて低く、単回及び反復経口投与における血液/血漿比の中央値は、それぞれ 24 及び 53 であり、シロリムスの血球移行性は、投与量及び投与回数にかかわらず高いことが示唆された。一方、マウスでは、 ^{14}C -シロリムスを 20 mg/kg 単回投与したときの放射能濃度の血液/血漿比は、検討したすべての時点において 0.64~0.65 であり、シロリムス又はその代謝物の血球への移行性が低いか、又は、高い投与量による血球移行性の飽和が推察された。また、CTD2.7.2 に記載したように、ヒトにおけるシロリムスの血液/血漿比は約 12 であり、シロリムスの血球への移行性は、サル>ヒト>ラット>マウスの順であった。

ラットにシロリムスを 1.5 mg/kg 単回及び 7 日間反復静脈内投与したとき、血清中シロリムスの C1 値及び定常状態の分布容積は、反復投与で減少し、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 値は、反復投与で増大したが、消失半減期には、大きな変動は認められなかった。また、サルにシロリムスを 1.5 mg/kg 単回及び 7 日間反復静脈内投与したとき、反復投与によって血清 C1 及び定常状態の分布容積は、減少し、 $\text{AUC}_{0-t_{\text{hr}}}$ 値及び $\text{AUC}_{0-\infty}$ 値は増加した。半減期は、反復投与によって長くなった。

これらの血清中シロリムスの薬物動態パラメーターの変動は、本薬の消失半減期（ラット：4.3 時間、サル：4.6 時間）及び 24 時間の投与間隔を考慮すると、本薬の蓄積性を示唆するものとは考え難く、本薬の高い血球移行性に伴う変動と考える。すなわち、前述したようにシロリムスは高い血球移行性を示したことから、シロリムスを反復静脈内投与したラット及びサルにおいては血球移行が飽和し、血清中シロリムスの増加がもたらされた結果として、代謝クリアランス及び定常状態の分布容積の見かけの値が変化したものと推察する。

ラット及びサルにシロリムスを反復経口投与したときのシロリムスの薬物動態パラメーターは、いずれにおいても単回経口投与したときと大きな差異は認められず、蓄積性を示唆するものではなかった。また、前述したように、シロリムスを経口投与したときのラット及びサルにおける生物学的利用率は低く、シロリムスの経口吸収は低いものと推察され、反復経口投与によってシロリムスの血球移行は、反復静脈内投与時とは異なり飽和しなかったものと考えられ

ることから、ラット及びサルにおいて反復経口投与したときのシロリムスの薬物動態は、反復静脈内投与時に比べ、大きく変動しなかったものと推察される。

ラットに $[^{14}\text{C}]$ -シロリムスを 0.5 mg/kg 単回経口投与したときの組織中放射能濃度は低く、放射能の大部分は消化管内容物中に認められ、大部分の組織において組織中最高放射能濃度は投与後 12 時間で認められた。投与後 168 時間の全組織及び消化管内容物中に残存した放射能の総量は、投与量の 0.05% であった。

また、ラットに $[^{14}\text{C}]$ -シロリムスを 0.5 mg/kg 静脈内投与後の組織/血液濃度比は、脳、血漿、胃内容物及び睾丸を除いた組織では 1 より大きく、投与後 72 時間の組織/血液濃度比は、肝臓、肺、脳下垂体、胸腺、膀胱及び唾液腺では高値であった。また、組織における消失半減期は長く、25.4 時間（バッフィーコート）～351 時間（睾丸）の範囲であり、本薬及び/又は代謝物の組織残留性が示唆された。

妊娠 15 日目のラットに $[^{14}\text{C}]$ -シロリムスを 0.5 mg/kg 経口投与したとき、母獣血漿、母獣血液、羊水、胎盤及び胎児中に放射能が検出され、胎盤及び胎児中放射能濃度の $\text{AUC}_{0-\infty}$ 値は、母獣血液のそれよりもそれぞれ 6.2 倍及び 1.5 倍高値であり、シロリムス及び/又はその代謝物が血液—胎盤関門を通過し胎児に移行することが示唆された。

ラット、マウス、サル及びヒトにおいて、シロリムスは広範囲に代謝された。主要な代謝物は、7-O-demethyl sirolimus (C)、32-O-demethyl sirolimus (I)、41-O-demethyl sirolimus (H)、『southern』部分において水酸化代謝を受けた数種の hydroxy sirolimus (A、B 及び C'、D、E'、F 及び G) 及び大環状の環が開環した異性体 seco-sirolimus (E) と推定した。その他、didemethyl sirolimus、hydroxy-demethyl sirolimus 及び dihydroxy sirolimus が推定された。また、ラット肝ミクロソームとのインキュベーションにより 11-hydroxy sirolimus、3,4-dihydrodiol sirolimus 及び 5,6-dihydrodiol sirolimus が同定及び推定された。

シロリムスをイヌ、サル及びヒト肝ミクロソーム及びそれぞれの加熱処理ミクロソームと NADPH generating system 存在下又は非存在下にインキュベートして、シロリムスの in vitro 代謝の動物間種差について検討したところ、検討したすべての動物種において、シロリムスは、NADPH generating system 存在下にチトクローム P-450 依存酸素添加酵素及び非酵素的分解によって代謝された。非酵素的分解による生成物 A (hydroxy sirolimus) 及び E (seco-sirolimus) と代謝物 C (7-O-demethyl sirolimus)、D (hydroxy sirolimus)、G (hydroxy sirolimus) 及び H (41-O-demethyl sirolimus) はすべての動物種において生成した。イヌ肝ミクロソームでは、ラット肝ミクロソームで生成された代謝物 B (hydroxy sirolimus) の生成は認められず、イヌに特異的な少なくとも 2 種のシロリムス代謝物が生成した。サル肝ミクロソームでは、ラット肝ミクロソームで生成された代謝物 F (hydroxy sirolimus) の生成は認められなかった。ヒト肝ミクロソームでは、ラット肝ミクロソームで生成した A～H のすべてが認められた。また、サルと半数のヒト肝ミクロソームでは、より極性の高い代謝物が多く生成した。

肝ミクロソーム代謝酵素に対する種々の誘導剤、阻害剤及び抗 P-450 抗体のシロリムス代謝への影響から、シロリムスは、ラットでは CYP3A1 によって、ヒトでは CYP3A4 によって、それぞれ主に代謝されるものと推察された。

ラット、マウス及びサルにおける主要排泄経路は、糞中であり、尿中排泄はわずかであった。また、胆管カニューレ挿入ラットを用いた試験の結果から、シロリムスは、主に代謝物としては胆汁を介して糞中に排泄されるものと推察された。なお、ラットに $[^{14}\text{C}]$ -シロリムスを単回経口投与したときの呼気中への放射能の平均排泄率は0.03%以下であった。

授乳期のラットに $[^{14}\text{C}]$ -シロリムスを0.5 mg/kg 単回経口投与したとき、乳汁中に放射能が検出され、シロリムス及び/又は代謝物が乳汁中に移行することが示された。しかしながら、母獣ラットの血液中放射能濃度及び未変化シロリムス濃度は、投与後1時間及び0.5時間に、それぞれ最高濃度を示したが、乳児ラットの血液中では、投与後4時間の1例(n=3)を除いて、測定したいずれにおいても放射能及び未変化シロリムス濃度は定量限界以下であり、乳汁を経由したシロリムスの乳児ラットへの全身曝露は、僅か又ははないものと推察された。

ラットにシロリムスを7日間反復静脈内投与(0.025~1.5 mg/kg)及び7日間反復経口投与(0.1~2.0 mg/kg)したとき、シロリムスの反復投与による肝薬物代謝酵素への明確な影響は認められず、シロリムスと併用薬の薬物代謝酵素の誘導又は阻害を介した薬物相互作用はないものと推察される。

ラット及びヒトでのシロリムスの代謝には、CYP3A1 及び CYP3A4 が関与している。これらのP-450 分子種の基質又は阻害剤となる薬物が、シロリムスと同時に投与されたとき、シロリムス及び/又は併用薬の薬物動態に強く影響し、シロリムス及び併用薬の有効性や安全性に影響を与えることが考えられる。また、ヒト、サル、ラット及びマウスの血漿タンパク質とシロリムスの結合率は平均91.6~98.8%と高く、タンパク結合を介した併用薬との薬物相互作用が推察される。これらのことから、特に、臨床において、シロリムスとCYP3A4の基質又は阻害剤となる薬剤及びタンパク結合率の高い薬剤との併用には注意が必要と考える。

(3) 毒性試験

反復投与毒性試験では、シロリムス投与により、ラット及びサルではリンパ組織への影響が両者に共通してみられた。ラットでは、リンパ球比の減少、胸腺の小型化、リンパ節の萎縮が、サルでは脾臓、胸腺及びリンパ節の萎縮が認められた。これらの所見は、シロリムスの過剰な免疫抑制作用により発現されたものと考えられた。事実、免疫抑制薬であるシクロスポリン(10 mg/kg/日)及びタクロリムス(0.32、1.0、3.2 mg/kg/日)を用いたラット13週経口投与毒性試験においてもリンパ組織の萎縮がみられている²⁾。

腸管に対する影響に関して、サルにおける3ヵ月及び6ヵ月反復投与毒性試験では、大腸炎及び盲腸炎がみられ、それらに関連して慢性的な下痢/軟便が認められた。病理専門家のピアレビューによれば<4.2.3.2-10 Appendix 19>、3ヵ月反復投与の大腸炎の病理組織学的所見は、粘膜の間質性炎症部位に形質芽細胞及び形質細胞が浸潤した慢性炎症像で、病原性を有する細菌叢の内毒素による可能性が高いとの見解が示された。一方、ラットでは大腸炎などの所見は認められていないことから、サルにおいては本薬の感受性が大腸で高く、サルでの大腸炎は免疫抑制作用の二次的な変化によるものであり、慢性的な下痢/軟便により多数の死亡又は瀕死期殺が発現したものと考えられた。また、ヒトにおいてはシロリムス<2.7.4.2>及び類似構造のテムシロリムス³⁾、エベロリムス⁴⁾などに大腸炎の報告はなく、本薬の臨床投与において重篤な胃腸障害が発現する可能性は低いものと考えられた。

生殖器官に対する影響では、雄ラットにおいて精巣の重量低下、精細管内に巨細胞を伴う精細管の萎縮、血清テストステロンの減少がみられた。雄ラットにシロリムス 2 又は 6 mg/kg/日を 13 週間経口投与し、その回復性について検討したとき、6 mg/kg/日で精細管の萎縮、精子数の減少がみられ、1、3、6 ヶ月間の休薬期間に応じて、精巣及び精子数の回復が認められたが、完全には回復していなかった<4.2.3.7-5>。若齢（約 8 週齢）及び老齢（約 9 ヶ月齢）の雄ラットにシロリムス 2、6 mg/kg/日を 21 日間経口投与し、その週齢差について検討した結果でも精巣への影響は両者で同様であった<4.2.3.7-6>。また、雄ラットの精巣のステロイド合成酵素に対するシロリムス 6 mg/kg/日及びシクロスポリン 20 mg/kg/日（28 日間経口投与）の影響を検討した試験において、シロリムスは精巣ミトコンドリアでのステロイド側鎖の切断酵素の活性を著しく低下させ、ステロイドホルモンの生合成系が抑制された<4.2.3.7-7 参>ことから、血清テストステロンの減少には、シロリムスの精巣への直接的な影響が関与していると推察される。本変化は、シクロスポリンにも同様にみられている⁵⁾ <4.2.3.7-7 参>。雌においては、卵巣の重量低下及び萎縮がみられた。

シロリムスの骨に対する影響については、歩行異常及び骨折に関連する骨量減少がラットの雄で観察され、その影響は皮質骨及び海綿質骨にみられ、高用量ほど影響は大きかった。若齢（約 8 週齢）及び老齢（約 9 ヶ月齢）の雄ラットを用いて、シロリムス 2 又は 6 mg/kg/日を 21 日間経口投与して、その週齢差について検討した試験では、骨への影響は老齢ラットより若齢ラットの方が大きかった<4.2.3.7-6>。また、雄ラットにシロリムス 2 又は 6 mg/kg/日を 13 週間経口投与して、その回復性について検討した結果では、2 mg/kg/日以上でみられた骨量減少は 1、3、6 ヶ月間の休薬により緩やかな改善を示したが、完全には回復しなかった<4.2.3.7-5>。ただし、皮質骨の厚さは回復した。雄ラットにシロリムス 6 mg/kg/日を 7、14、21 日間経口投与して、骨及び血清テストステロン濃度への影響につき検討した試験では、骨量が減少するとともに、血清テストステロン濃度も低下していた<4.2.3.7-8 参>。また、テストステロン約 20 mg を皮下に埋植した雄ラットにシロリムス 6 mg/kg/日を 21 日間経口投与したときに大腿骨の骨量減少を減弱させた<4.2.3.7-9 参>結果と考え合わせると、骨量減少には、シロリムスによるテストステロン濃度の低下が関連していると考えられる。シクロスポリン 1.5 及び 7.5 mg/kg/日を 84 日間経口投与した雄ラットでも、骨量減少が報告されている⁶⁾。

シロリムスにより膵島細胞の空胞化がラットでみられ、その結果として高血糖、白内障及び摂餌量増加と関連する体重増加量の減少を特徴とする糖尿病様状態が認められた。シクロスポリン 50 mg/kg/日を 7 日間経口投与及び 10、20、25、50 mg/kg/日を 84 日間経口投与した雄ラットでも、同様の变化が認められている^{7,8)}。高血糖状態に続いて、血液濃縮（赤血球数、Hb 及び Ht の特徴的な増加）を反映する臨床病理学的変化がみられた。

循環器系に対して、心筋の変性がラットのみでみられた。ラットの心筋変性は自然発生病変としてよくみられており^{9,10)}、また、本薬の毒性試験に用いたラットはパルボウイルスへの感染が知られている。ラットに本薬の 0.05、5.0 mg/kg/日を 13 週間経口投与し、心筋変性につき検討した結果において、心筋組織を用いた PCR 法では、ラットパルボウイルスのバンドを有する動物数が対照群に比し増加し、また、心筋の凍結切片を用いたペルオキシダーゼ染色によりパルボウイルス感染細胞と心筋病変部位が一致していた<4.2.3.7-10 参>。これらの結果が

ら、心筋変性は自然発生病変に加えてラットパルボウイルスに関連する病変が本薬の免疫抑制作用により悪化したことによるもので、ヒトへの外挿性は低いと考えられる。

肺では肺胞マクロファージの集簇がラットでみられた。雄ラットにシロリムス 6 mg/kg/日を 13 週間経口投与し、その蓄積性と回復性について検討した結果では、肺胞マクロファージにシロリムスの存在とリン脂質の総含量の増加がみられ、電顕検査からリン脂質症の特徴である大量のラメラ体が確認されている。これらの変化は 4 週間の休薬により部分的に回復していた<4.2.3.7-11>。ラットにおける肺胞マクロファージへのリン脂質の蓄積は種々の薬効分野の様々な化合物でみられているが、ヒトでの報告はほとんどなく、動物でのリン脂質症は、ヒトにおける肺機能障害を予見するものでないと考えられる¹¹⁾。サルでは、肺のリン脂質症を示す所見は得られなかった。なお、臨床試験では間質性肺炎がみられているが<2.7.4.2>、これは肺胞の間質を主とした慢性の炎症疾患であり、その病理組織学的所見は小葉間隔壁及び胸膜直下組織の線維化病変を示す。このような病理所見はラットでは認められていない。従って、肺胞マクロファージの集簇は、ヒトの間質性肺炎とは異なることから、ヒトへの外挿性を有する所見とは考えられない。

遺伝毒性及びがん原性に対しては、シロリムスの突然変異誘発性及び染色体異常誘発性はいずれも陰性であり、ヒトに対して遺伝毒性を示す可能性はないと考えられる。

がん原性試験においては、マウスの雄に肝細胞腺腫、マウスの雌に顆粒球性白血病、ラットの雄に精巢の間細胞腺腫の発現率の増加がみられた。マウスの雄でみられた肝細胞腫瘍（腺腫及び癌）並びに雌マウスでみられた顆粒球性白血病は、マウスに自然発生する知られた腫瘍である。これらの腫瘍の発現率は、本試験の対照群及び過去の試験の対照群並びに動物業者での背景データ¹²⁾でみられた自然発生腫瘍の発現率と同様であった。ラットの雄でみられた精巢の間細胞腺腫は、ラットでは自然発生腫瘍としてよく知られた腫瘍であり、加齢とともにその発現率は増加する。また、精巢の間質細胞の過形成が同様に増加した。これらの所見は、シロリムスの反復経口投与毒性試験において血清テストステロンの低下及び黄体形成ホルモン（LH）の上昇がみられていることから、テストステロン濃度の減少に伴う LH の濃度変化に対する反応と考えられる。しかしながら、ラットでは、LH の受容体数がヒトの約 14 倍多く、循環血中の LH 量の変化に感受性が高い¹³⁾。また、ラットの精巢間質細胞は LH 放出ホルモン（LHRH）の受容体を持つが、マウス、サルやヒトでは存在していないし、シロリムスにより、ラットでみられた精巢の間細胞腺腫の増加はヒトでの発症を予見するものではないと考えられる^{13, 14)}。

上述のごとく、マウス及びラットでみられた腫瘍の増加は自然発生腫瘍としてよく知られた腫瘍であり、本薬の免疫抑制作用により増強されたものと考えられる。本薬には、遺伝毒性がないことから、これらの腫瘍の増加はヒトへの外挿性を有する所見とは考えられない。

生殖発生毒性について、ラットの受胎能及び着床までの初期胚の発生に関する試験、胚・胎児発生に関する試験及び出生前及び出生後の発生並びに母体に関する試験における親動物への毒性所見としては、反復投与毒性試験と同様に、体重増加の抑制、摂餌量の低値、妊娠子宮の重量の低値がみられた。胎児への影響としては、生存胎児数の減少、胎児体重の減少及び椎骨の骨化遅延がみられ、出生児では死亡児数の増加及び生存出生児数の減少がみられた。一方、ウサギの胚・胎児に関する試験では、母動物の毒性用量においても胎児の異常はみられなかつ

た。従って、シロリムスには催奇形性はなかったが、胎児体重の低値及び胎児死亡が認められたため、妊婦への使用には注意が必要であると考えられる。

全身曝露量の比較について、動物における曝露量は、ラットにシロリムス 0.2 mg/kg/日を 12 ヶ月間経口投与した場合、 AUC_{0-24h} は 7.1～10.7 ng・hr/mL であり、ヒトとの曝露量比は 0.16～0.24 倍であった。サルにおいては、シロリムス 0.5 mg/kg を単回経口投与した場合、 $AUC_{0-\infty}$ は 253 ng・hr/mL であり<2.6.4.3.2>、ヒト臨床推奨用量 (0.04 mg/kg) の曝露量が 120 ng・hr/mL である<2.7.2.2.1.2>ことを考慮すると、無毒性量における曝露量比は 1 倍未満と推察される。ラット及びサルいずれもヒトに対する曝露量比が 1 倍未満であることから、本剤投与の副作用を最小限に抑えるためには、臨床症状、臨床検査などをモニタリングすることが望ましい。

本剤に添加物として含まれる PEG8000 は、急性及び反復投与毒性が極めて低く、遺伝毒性及び生殖発生毒性の懸念もなく、経口吸収はほとんどないことが報告されている。これらの安全性情報に基づく EFSA による評価を踏まえると、PEG8000 の安全性は確認されており、また本剤に含有される用量は JECFA の一日摂取許容量 (ADI、0～10 mg/kg) 以下であることを考慮するとヒトへの安全性は確保されていると考えられる<2.6.6.8.4>。

以上の結果をまとめると、ラット及びサル反復投与毒性試験において、リンパ組織の萎縮が共通して認められた。このほか、ラットでは雄性生殖器の萎縮、骨への影響、高血糖及びその関連所見、心筋変性及びリン脂質症が、サルでは腸管への影響がみられた。これらの変化の多くは、ほかの免疫抑制薬でみられた所見と類似しており、長期間の免疫抑制に基づく二次的な変化であると考えられた。無毒性量は、ラット 6 ヶ月反復投与毒性試験で 0.05 mg/kg/日と最も低く、サル 6 ヶ月反復投与毒性試験では、0.05 mg/kg/日であった。従って、動物での無毒性量における曝露量がヒトでの曝露量より低いと考えられることから、シロリムスがヒトの感染に対する感受性を上昇させる可能性が考えられる。シロリムスには、突然変異誘発性及び染色体異常誘発性はなかった。がん原性については、自然発生腫瘍として知られた雄マウスの肝細胞腫瘍、雌マウスの顆粒球性白血病、ラットの精巣間細胞腺腫の発現率が増加したが、これらの腫瘍発現の増加は、シロリムスに遺伝毒性がないことから、免疫抑制に関連する変化と考えられる。また、シロリムスには催奇形性はなかったが、胎児体重の低値及び胎児死亡が認められたため、胚・胎児毒性があるため、妊婦への使用には注意が必要であると考えられる。

2.4.6 参考文献一覧

- 1) 井上義一ら、特集：リンパ脈管筋腫症 (LAM) の最前線、LAM とその周辺に対する新規分子標的治療薬の展望、日本胸部臨床、2011;70(10):1031-9
- 2) Ohara, K., et al. Toxicologic evaluation of FK 506. Transplant Proc 1990;22(1):83-86
- 3) トーリセル点滴静注液 25 mg (テムシロリムス点滴静注液)、添付文書、2012 年 7 月改訂 (第 2 版)、ファイザー株式会社
- 4) アフィニトール錠 2.5 mg、5 mg (エベロリムス錠)、添付文書、2013 年 2 月改訂 (第 7 版)、ノバルティスファーマ株式会社

- 5) Rajfer, J., et al., Cyclosporine inhibits testosterone biosynthesis in the rat testis. *Endocrinology* 1987;121:586-589
- 6) Goodman, G.R., et al. Immunosuppressant use without bone loss - Implications for bone loss after transplantation. *J. Bone Miner. Res.* 2001;16:72-78
- 7) Helmchen, U., et al. Morphological and functional changes of pancreatic B cells in cyclosporin A-treated rats. *Diabetologia* 1984;27:416-418
- 8) Whiting, P.H., et al. The effects of cyclosporin A on glucose homeostasis and the kidney in the normal rat. *J. Exp. Path.* 1990;71:245-255
- 9) Greaves, P., Faccini, J.M. Cardiovascular system. *Rat histopathology: A glossary for use in toxicity and carcinogenicity studies.* New York, NY: Elsevier 1992;91-104
- 10) MacKenzie, W.F. and Alison, R. Heart. In: Boorman, G.A., et al. eds. *Pathology of the Fischer rat: Reference and atlas.* New York, NY: Academic Press 1990;461-472
- 11) Reasor, M.J., Cationic amphiphilic drugs, in *Comprehensive Toxicology*, I.G. Sipes, C.A. McQueen, and A.J. Gandolfi, Editors. 1997, Elsevier Science, Inc.:New York. 555-566
- 12) Lang, P.L, Spontaneous neoplastic lesions in the Crl:CD-1 BR mouse. Charles River Laboratories 1995
- 13) Prentice, D.E., et al. A review of drug-induced Leydig cell hyperplasia and neoplasia in the rat and some comparisons with man. *Human & Experimental Toxicology* 1995;14:562-572
- 14) Hamada, Y., et al. Induction of Leydig cell tumors by Lacidipine via up-regulation of the LHRH receptor on Leydig cells in rats. *The Journal of Toxicological Sciences* 1998;23(1):35-52