

ポマリストカプセル 1mg
ポマリストカプセル 2mg
ポマリストカプセル 3mg
ポマリストカプセル 4mg

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

セルジーン株式会社

目次

2.4.1	背景	6
2.4.2	非臨床試験計画概略	6
2.4.3	薬理試験	7
2.4.3.1	効力を裏付ける試験	7
2.4.3.1.1	<i>in vitro</i> 試験	7
2.4.3.1.1.1	分子作用機序	7
2.4.3.1.1.2	腫瘍細胞増殖阻害作用	7
2.4.3.1.1.3	免疫調節作用	7
2.4.3.1.1.4	血管新生阻害作用	8
2.4.3.1.1.5	赤血球及び顆粒球前駆細胞に対する作用	8
2.4.3.1.1.6	サイトカイン産生制御作用	9
2.4.3.1.1.7	シクロオキシゲナーゼ発現阻害作用	9
2.4.3.1.1.8	正常B細胞に対する作用	9
2.4.3.1.1.9	ポマリドミド代謝物の薬理活性	10
2.4.3.1.2	<i>in vivo</i> 試験	10
2.4.3.2	副次的薬理試験	10
2.4.3.3	安全性薬理試験	11
2.4.3.4	薬力学的薬物相互作用試験	12
2.4.4	薬物動態試験	13
2.4.4.1	分析法	13
2.4.4.2	吸収	13
2.4.4.3	分布	14
2.4.4.4	代謝	14
2.4.4.5	排泄	15
2.4.4.6	薬物動態学的薬物相互作用	15
2.4.4.7	その他の薬物動態試験	16
2.4.5	毒性試験	17
2.4.5.1	単回投与毒性試験	17
2.4.5.2	反復投与毒性試験	17
2.4.5.3	遺伝毒性試験	18
2.4.5.4	がん原性試験	18
2.4.5.5	生殖発生毒性試験	18
2.4.5.5.1	受胎能及び初期胚発生に関する試験	18

2.4.5.5.2	胚・胎児発生に関する試験	19
2.4.5.5.3	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.....	19
2.4.5.6	その他の毒性試験	20
2.4.5.6.1	免疫毒性試験	20
2.4.6	総括及び結論	21
2.4.7	参考文献.....	23

略号一覧表

略号	説明
ADCC	Antibody dependent cellular cytotoxicity 抗体依存性細胞障害
AML	Acute myeloid leukemia 急性骨髄性白血病
AUC	Area under the concentration-time curve 濃度時間曲線下面積
AUC _t	Area under the concentration-time curve from 0 to t hours 時間0から血漿中濃度測定可能最終時点 (t) までの濃度時間曲線下面積
AUC _{24h}	Area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours 時間0から24時間までの濃度時間曲線下面積
AUC _{inf}	Area under the concentration-time curve from 0 to infinity 時間0から無限時間までの濃度時間曲線下面積
BAFF	B cell activating factor B細胞活性化因子
BCRP	Breast cancer resistance protein 乳がん耐性タンパク
bFGF	Basic fibroblast growth factor 塩基性線維芽細胞増殖因子
BFU-E	Burst-forming unit-erythroid 赤芽球バースト形成細胞 (赤血球前駆細胞)
BNX	Beige-nude-xid
CC-4047	ポマリドミド (ラセミ体) の開発コード番号
CFU-E	Colony forming unit-erythroid 赤芽球コロニー形成細胞
CFU-GM	Colony forming unit-granulocyte, monocyte 顆粒球コロニー形成細胞
CFU-MK	Colony forming unit-megakaryocyte 巨核球コロニー形成細胞
Con A	Concanavalin A コンカナバリン A
COX	Cyclooxygenase シクロオキシゲナーゼ
C _{max}	Peak plasma concentration of the drug 最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P450 チトクローム P450
Dex	Dexamethasone デキサメタゾン
ECG	Electrocardiogram 心電図
F	Absolute bioavailability 絶対的バイオアベイラビリティ
G-CSF	Granulocyte colony-stimulating factor 顆粒球コロニー刺激因子
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
GM-CSF	Granulocyte macrophage colony-stimulating factor 顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
HbF	Fetal hemoglobin 胎児ヘモグロビン
hERG	Human ether-a-go-go-related gene ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HUVEC	Human umbilical vein endothelial cell ヒト臍帯静脈内皮細胞
IC ₅₀	Concentration of drug producing 50% inhibition 50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use 日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IFN	Interferon インターフェロン
Ig	Immunoglobulin 免疫グロブリン
IL	Interleukin インターロイキン
IMiD	A proprietary series of drugs with immunomodulatory and other properties 免疫調節薬
LC-MS/MS	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry 液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析
LPS	Lipopolysaccharide リポ多糖
MCP	Monocyte chemoattractant protein 単球遊走因子
MDS	Myelodysplastic syndrmpes 骨髄異形成症候群
MIP	Macrophage inflammatory protein マクロファージ炎症性タンパク
MM	Multiple myeloma 多発性骨髄腫
NK	Natural killer ナチュラルキラー
NOAEL	No-observed-adverse-effect level 無毒性量
NOEL	No-observed-effect level 無影響量
NOD	Non Obese Diabetes 非肥満性糖尿病
OAT	Organic anion transporter 有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporter protein 有機アニオントランスポータータンパク
OCT	Organic cation transporter 有機カチオントランスポーター
PBMC	Peripheral blood mononuclear cell 末梢血単核球
PBS	Phosphate buffered-saline リン酸緩衝液
P-gp	P-glycoprotein P-糖タンパク

略号	説明
PHA	Phytohaemagglutinin フィトヘマグルチニン
PK	Pharmacokinetics 薬物動態
QTc	Corrected QT interval 補正 QT 間隔
RANTES	Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted 血小板や T 細胞由来の好酸球走化性物質
SCID	Severe combined immunodeficiency 重症複合免疫不全
SSc	Systemic sclerosis 全身性強皮症
$t_{1/2}$	Apparent terminal elimination half-life 消失半減期
Th1	T helper cell type 1 1 型ヘルパー T 細胞
Th2	T helper cell type 2 2 型ヘルパー T 細胞
TK	Toxicokinetics トキシコキネティクス
TLR	Toll-like receptor Toll 様受容体
TNF	Tumor necrosis factor 腫瘍壊死因子
VEGF	Vascular endothelial growth factor 血管内皮細胞増殖因子

2.4.1 背景

ポマリドミド（開発番号：CC-4047，ラセミ体）は，サリドマイドの構造類似体であり，IMiD[®]化合物として知られる免疫調節薬に属する新規化合物である。ポマリドミドの薬理学的特性から，多発性骨髄腫（Multiple myeloma, MM）及び骨髄増殖性腫瘍関連の骨髄線維症などの様々な造血器腫瘍，軟部組織肉腫，肺がん及び結腸直腸がんなどの固形腫瘍，並びにβ-サラセミア及び鎌状赤血球症などの非腫瘍性血液疾患，さらには全身性強皮症などの自己免疫性炎症性疾患の治療に有用であることが期待されている。

またポマリドミドは，非臨床試験において，レナリドミドに抵抗性を獲得したMM細胞に対しても，高い抗腫瘍活性を有し，さらに臨床試験においてもボルテゾミブやレナリドミドに耐性となったMMに対し良好な結果が認められていることから，再発又は難治性に移行したMMに対して有効であることが期待されている。

ポマリドミドは，ボルテゾミブ及びレナリドミドを含む2種類以上の治療歴があるMMを適応症として2012年4月に米国で承認申請され，2013年2月に承認された。欧州では同適応症で2012年5月に承認申請され，2013年8月承認された。国内では，セルジーン株式会社が同MMを対象に，デキサメタゾンとの併用投与として臨床開発を進めてきた。投与経路は経口である。臨床での用法・用量は，治療の1サイクルを28日間（4mgを1日1回21日間連日投与し，その後7日間を休薬期間と設定）としている。

2.4.2 非臨床試験計画概略

薬理試験では，効力を裏付ける試験として造血器腫瘍の治療に関連したポマリドミドの効果を，副次的薬理試験として固形腫瘍，非腫瘍性の血液・造血器疾患及び自己免疫性炎症性疾患の治療に関連したポマリドミドの薬理作用を評価した。また，安全性薬理試験は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice, GLP）遵守下で実施し，中枢神経系・循環器系（心機能・血行動態を含む）・呼吸器系に対する影響を検討している。さらに，薬力学的薬物相互作用試験として他剤，特にデキサメタゾン（Dexamethasone, Dex）との併用による効果を評価した。

薬物動態（Pharmacokinetics, PK）試験では，マウス，ラット，ウサギ及びサルを用いて血漿中薬物動態，絶対的バイオアベイラビリティ（Absolute bioavailability, F），組織内分布，乳汁移行性，血球移行性，代謝及び排泄，中枢移行性並びに胎盤透過性を*in vivo*試験で評価した。また，ポマリドミドの代謝，血漿タンパク結合，代謝に関与するチトクロームP450（Cytochrome P450, CYP）分子種の同定と，それらに対する阻害又は誘導活性，P-糖タンパク（P-glycoprotein, P-gp）に対する基質又は阻害活性及び各種薬物トランスポーターに対する阻害活性を*in vitro*試験で評価した。さらに，エナンチオマーの異性化を*in vitro*及び*in vivo*試験で評価した。

毒性試験では，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験（マウスで13週，ラットで6ヵ月，サルで9ヵ月まで），*in vitro*及び*in vivo*遺伝毒性試験，ラット受胎能及び初期胚発生試験，ラット及びウサギ胚・胎児発生毒性試験並びにサル免疫毒性試験でポマリドミドの毒性を評価した。すべての重要な毒性試験は，GLP管理下で行った。

2.4.3 薬理試験

2.4.3.1 効力を裏付ける試験

2.4.3.1.1 *in vitro* 試験

2.4.3.1.1.1 分子作用機序

ポマリドミドは、MM 細胞に対する直接的な抗腫瘍作用、並びに T 細胞及びナチュラルキラー (Natural killer, NK) 細胞性免疫に対する直接的な免疫調節作用を併せ持つ。MM 細胞及び T 細胞を用いた *in vitro* 試験を実施し、ポマリドミドの持つ多面的な作用機序の一部を明らかにした。

またポマリドミドは、ユビキチン E3 リガーゼ複合体の構成タンパクである CRBN (別名 Cereblon) を標的分子とし、結合により複合体機能を阻害する。さらに、CRBN の発現量が MM 細胞のポマリドミド感受性に重要であることも明らかにした。

(2.6.2.2.1.1 項参照)

2.4.3.1.1.2 腫瘍細胞増殖阻害作用

ポマリドミドは、MM 細胞に対して細胞増殖を阻害 (G1 期細胞周期停止)、さらに細胞死を誘導した。また MM 細胞 (H929 細胞) に対するポマリドミドの最大の細胞増殖阻害活性は、48 時間以上の処理により得られた。さらに、レナリドミドに耐性を示す細胞亜株を調製し (H929 細胞及び KMS-12-BM 細胞を使用)、ポマリドミドを作用させたところ、増殖阻害が認められた。

急性骨髄性白血病 (Acute myeloid leukemia, AML) 細胞 (HNT-34, KG-1a, MOLM-13, OCI-AML3, THP-1, HL-60, KASUMI-3)、骨髄異形成症候群 (Myelodysplastic syndromes, MDS) 細胞 (MDS-L) 及び MM 細胞 (U266) に対しポマリドミドを作用させた結果、AML 細胞では HL-60, KG-1a 及び OCI-AML3 細胞で細胞障害が認められた (それぞれの細胞の生存率は 70%未満)。また、MDS-L 細胞及び U266 細胞に対する効果はさらに強く、細胞生存率はそれぞれ約 40%及び 21%であった。なお、AML 細胞の CRBN 発現量とポマリドミドに対する感受性との間に明らかな相関性は認められなかった。

5 番染色体長腕部 (5q) 欠損とポマリドミドに対する感受性との関連性を検討するため、5q 欠損型の Namalwa 細胞 (バーキットリンパ腫細胞) 及び KG-1 細胞 (AML 細胞) に対するポマリドミドの細胞増殖阻害作用を評価した。また、Namalwa 細胞及び KG-1 細胞の対照として、それぞれ MUTZ-5 細胞 (急性リンパ芽球性白血病細胞; 5 番染色体正常) 及び UT-7 細胞 (AML 細胞; 5q13 遺伝子座欠損) を用いた。その結果、ポマリドミドは 5q 欠損型の Namalwa 細胞及び KG-1 細胞に対し増殖阻害活性を示したが、それぞれの対照である MUTZ-5 細胞及び UT-7 細胞の増殖に対しては効果を示さなかった。

(2.6.2.2.1.2 項参照)

2.4.3.1.1.3 免疫調節作用

ポマリドミドは、CD3 抗体で刺激した CD4⁺T 細胞でのインターフェロン (Interferon, IFN) - γ 、インターロイキン (Interleukin, IL) -2 及び血小板や T 細胞由来の好酸球走化性物質 (Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted, RANTES) の産生を促進し、IL-10 の産生を抑制する

ことでT細胞活性を増強した。またポマリドミドは、フィトヘマグルチニン(Phytohaemagglutinin, PHA) 又はコンカナバリン A (Concanavalin A, Con A) で刺激したヒト末梢血中T細胞でのIL-2産生も促進した。さらに、IL-2の産生促進はCD4⁺及びCD8⁺T細胞の両サブセットでも認められた(Schafer, 2003)。ポマリドミドは、CD3抗体で刺激したヒト末梢血での1型ヘルパーT細胞(T helper cell type 1, Th1)性サイトカイン[顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(Granulocyte macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF), IFN- γ , 腫瘍壊死因子(Tumor necrosis factor, TNF)- α 及びIL-2]産生を促進し、その作用は0.029~0.116 $\mu\text{mol/L}$ の範囲で濃度依存的であった。またポマリドミドは、IL-10以外の2型ヘルパーT細胞(T helper cell type 2, Th2)性サイトカイン(IL-4, IL-5及びIL-13)産生を有意に促進した。さらにポマリドミドは、Th1分化のマスター転写因子であるT-betの発現を促進させることを明らかにした。この結果、IFN- γ , TNF- α 及びIL-12R β 2の産生が促進され、Th1細胞へ分化誘導すると考えられる。

ヒト末梢血単核球(Peripheral blood mononuclear cell, PBMC)共培養系を用いた試験から、ポマリドミドが様々な腫瘍細胞に対してNK細胞介在性の細胞障害を促進することが示された。

さらにポマリドミドは、腫瘍特異表面抗原に対する抗体治療薬との併用により、標的腫瘍細胞に対する抗体依存性細胞障害(Antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC)活性を促進することが示唆された。

(2.6.2.2.1.3 項参照)

2.4.3.1.1.4 血管新生阻害作用

ヒト臍帯動脈リング標本を用いた試験でポマリドミドは、微小血管形成を有意かつ用量依存的に阻害した[50%阻害濃度(Concentration of drug producing 50% inhibition, IC₅₀)値:0.33 $\mu\text{mol/L}$]。また、ヒト臍帯静脈内皮細胞(Human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)を用いた細胞浸潤試験(フィブロネクチン・コート系)から、血管内皮細胞増殖因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF), 塩基性線維芽細胞増殖因子(Basic fibroblast growth factor, bFGF)及びTNF- α による血管内皮細胞の浸潤が、ポマリドミドにより抑制されることが明らかとなった。

(2.6.2.2.1.4 項参照)

2.4.3.1.1.5 赤血球及び顆粒球前駆細胞に対する作用

ヒト正常骨髄由来の低密度骨髄細胞を用いた試験でポマリドミドは、ヒト赤血球前駆細胞[赤芽球バースト形成細胞(Burst-forming unit-erythroid, BFU-E), 赤芽球コロニー形成細胞(Colony forming unit-erythroid, CFU-E)]の増殖を阻害したが(IC₅₀値:0.07 $\mu\text{mol/L}$)、顆粒球前駆細胞(Colony forming unit-granulocyte, monocyte, CFU-GM)の増殖には影響しなかった。またポマリドミドは、初期段階の巨核球前駆細胞(Colony forming unit-megakaryocyte, CFU-MK)の増殖を1.0及び10 $\mu\text{mol/L}$ で有意に阻害したが、IC₅₀値は10 $\mu\text{mol/L}$ を超えた。異なる3例のドナーから採取した正常骨髄細胞を用いた別試験でポマリドミドは、3例中1例のサンプルで初期段階のCFU-MKの増殖を有意に阻害した(IC₅₀値:0.35 $\mu\text{mol/L}$)。

さらに、ヒト骨髄由来 CD34⁺造血幹細胞を用いた試験でポマリドミドは、初期段階の造血幹細胞 (CD34⁺CD38⁻) を増加させ、CD34⁺細胞の樹状細胞への分化を阻害、顆粒球細胞系への分化を促進した。

(2.6.2.2.1.5 項参照)

2.4.3.1.1.6 サイトカイン産生制御作用

ポマリドミドは、リポ多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) で刺激したヒト PBMC での IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α , 単球遊走因子 (Monocyte chemoattractant protein, MCP) -1, マクロファージ炎症性タンパク (Macrophage inflammatory protein, MIP) -1 α 等の炎症性サイトカインやケモカインの産生を阻害し、抗炎症性サイトカインである IL-10 の産生を促進した。別試験でもポマリドミドは、LPS 刺激ヒト PBMC での顆粒球コロニー刺激因子 (Granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF) 産生を阻害し、IL-10 産生を濃度依存的に増強した。

ラット及びヒトから採取したヘパリン処理末梢血 (粗血球群) に対しポマリドミドは、LPS 刺激による TNF- α 産生を濃度依存的に阻害した (ラット IC₅₀ 値: 12 μ mol/L; ヒト IC₅₀ 値: 0.14 μ mol/L)。特にヒト末梢血に対する TNF- α の産生阻害活性は、ラットに対する活性と比較し約 86 倍強いものであった。

(2.6.2.2.1.6 項参照)

2.4.3.1.1.7 シクロオキシゲナーゼ発現阻害作用

ポマリドミドは、LPS で刺激した PBMC でのシクロオキシゲナーゼ (Cyclooxygenase, COX) -2 発現 (10 μ mol/L で 64%阻害) 及びプロスタグランジン (Prostaglandin, PG) E2 産生 (IC₅₀ 値: 50 μ mol/L) を阻害した。またポマリドミドは、COX-2 mRNA の安定性維持を阻害することで、COX-2 の発現そのものを抑制していることが示唆された。

一方ポマリドミドは、COX-1 及び COX-2 いずれの酵素活性も阻害しなかった。

(2.6.2.2.1.7 項参照)

2.4.3.1.1.8 正常 B 細胞に対する作用

ポマリドミドは、B 細胞抗原受容体 (B cell antigen receptor, BCR) や CD40 の刺激を介した CD69 及び Toll 様受容体 (Toll-like receptor, TLR) 9 の発現、TNF- α 及び IL-6 の産生並びに CD19⁺B 細胞の増殖を促進した。またポマリドミドは、LPS や B 細胞活性化因子 (B cell activating factor, BAFF) で刺激した CD19⁺B 細胞の増殖も促進した。一方、CD19⁺B 細胞を IL-4 (及び CD40 抗体) で刺激した場合、ポマリドミドはシグナル伝達兼転写活性化因子 (Signal transducers and activator of transcription, STAT) 6 のリン酸化を抑制し、細胞増殖や IgG₁ 及び IgE を含む免疫グロブリンの産生を減少させた。

以上の結果より、ポマリドミドは B 細胞の活性化、増殖及びクラススイッチを惹起する様々な B 細胞刺激因子との併用で免疫調節作用を発揮すると考えられる。

(2.6.2.2.1.8 項参照)

2.4.3.1.1.9 ポマリドミド代謝物の薬理活性

ポマリドミドの代謝物である水酸化体、加水分解物及びN-アセチル化体のMM細胞増殖、T細胞でのIL-2産生及びLPS刺激PBMCでのTNF- α 産生に対する効果を検討し、ポマリドミドと比較した。その結果、いずれの代謝物もMM細胞増殖に対する阻害活性並びにT細胞及びPBMCに対する免疫調節活性は、ポマリドミド本体と比較して非常に弱いものであった。したがって、ポマリドミドの薬理活性に代謝物は関与しないと考えられる。

(2.6.2.2.1.9 項参照)

2.4.3.1.2 *in vivo* 試験

各種腫瘍細胞を移植したマウスにポマリドミドを腹腔内又は経口投与したところ、抗腫瘍活性、血管新生阻害活性及び生存期間延長活性が認められた。

MM細胞（レナリドミド感受性又は耐性H929細胞）を移植した重症複合免疫不全（Severe combined immunodeficiency, SCID）マウスに対しポマリドミド（0.003～10 mg/kg/day）を経口投与した結果、両系統（レナリドミド感受性及び耐性H929細胞移植マウス）で用量依存的な抗腫瘍活性が認められた。感受性細胞移植マウスでは0.1 mg/kg、耐性細胞移植マウスでは3 mg/kgを、1日1回14日間経口投与することで、腫瘍体積がそれぞれ41.5%及び37.9%減少した。また、各種MM細胞（LAG κ -1A, LAG κ -1B又はLAG λ -1）をSCIDマウスに移植し、ポマリドミド（0.3, 1, 3及び10 mg/kg, 経口投与）の効果を検討した結果、LAG κ -1B及びLAG λ -1細胞移植マウスでは、いずれも有意な効果が認められなかった。また、LAG κ -1A細胞を移植したマウスにポマリドミド10 mg/kgを投与すると、腫瘍体積減少及びIgG量の低下傾向が認められたが、これらの効果は溶媒投与群と比較して統計学的に有意ではなかった。

Hs Sultan細胞（バーキットリンパ腫細胞）を移植したbeige-nude-xid（BNX）マウスでポマリドミド（50 mg/kg/day, 腹腔内投与）は、抗腫瘍活性及び血管新生阻害活性を示した（Lentzsch, 2003）。また、Raji細胞（バーキットリンパ腫細胞）を移植したSCIDマウスでは、ポマリドミドの投与（0.5 mg/kg, 腹腔内投与；又は0.5及び5 mg/kg, 経口投与）により、生存期間の延長が認められた。さらに、ポマリドミドとリツキシマブとの併用投与により、同マウスの生存期間がリツキシマブ単独と比較して有意に延長した（Hernandez-Ilizaliturri, 2005）。

白血病患者由来のリンパ球性白血病細胞を移植した非肥満性糖尿病（Non Obese Diabetes, NOD）/SCIDマウスでポマリドミド（50 mg/kg/day, 腹腔内投与）は、抗腫瘍活性及び血管新生阻害活性を示した（Shalpour, 2006）。

マウスMatrigel plugアッセイを用い、ポマリドミドの*in vivo*微小血管形成阻害効果を評価した結果、ポマリドミド（30 mg/kg/day, 経口投与）は血管新生を有意に阻害した。

(2.6.2.2.2 項参照)

2.4.3.2 副次的薬理試験

固形腫瘍、非腫瘍性の血液・造血器疾患、皮膚線維化、内皮前駆細胞の分化、自己免疫性炎症性疾患、ミクログリア及びアストロサイトでのサイトカイン産生並びに紫外線B波（Ultraviolet B, UVB）照射によるケラチノサイトでのTNF- α 産生に対するポマリドミドの効果を評価した。

乳がん細胞 6 種 (SKBR3, ZR-75-1, MDA-MB-231, MDA-MB-468, MCF-7 及び BT-474) 及び肺がん細胞 (非小細胞性) 2 種 (NCI-H460 及び A549) を用いて検討した。その結果、ポマリドミドは乳がん細胞 2 種 (MDA-MB-468 及び MCF-7) に対し、造血器腫瘍細胞と比較すると感受性は低いものの、細胞増殖阻害活性を示した。他の細胞に対する IC₅₀ 値は、> 100 µmol/L であった。また、5q 欠損型の固形腫瘍細胞 5 種 (PC-3, HN, LCLC103H, SW480 及び SK-MES-1) では、ポマリドミド 100 µmol/L までの濃度で明らかな増殖阻害は認められなかった。

CD34⁺細胞の赤血球分化実験系を用い、胎児ヘモグロビン (Fetal hemoglobin, HbF) 産生促進に対するポマリドミドの効果を検討した。その結果、ポマリドミドは HbF 発現を濃度依存的に促進し、赤血球生成を制御することが示された。したがって、ポマリドミドが鎌状赤血球症や β-サラセミアに関連する疾患に対する予防又は治療に有効である可能性が示唆される。

また 2 種類の皮膚線維化モデルを用い、ポマリドミドの効果を検討した。ブレオマイシン誘発性皮膚線維症モデルでポマリドミド (3 及び 30 mg/kg/day, 経口投与) は、強力な抗線維化効果を発揮した。さらに、線維化の進行を抑制するだけでなく、既に発症している線維化をも退縮させた。また、全身性強皮症モデル動物である Tsk-1 マウスを用いた試験でポマリドミド (0.3, 3 及び 30 mg/kg, 経口投与) は、皮膚肥厚を減少させるだけでなく、線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化を抑制し、皮膚中のヒドロキシプロリン量を減少させた。

血管内皮前駆細胞の分化に対するポマリドミドの効果を検討した結果、ポマリドミド (1 µmol/L) 存在下で CD133⁺造血幹細胞が、血管内皮細胞系列へ分化した。

ポマリドミドの抗炎症効果を、カラゲニン誘発性痛覚過敏足浮腫ラットモデルを用いて検討した結果、ポマリドミド (50 mg/kg, 腹腔内投与) は足浮腫に対して有効であった。しかしながら、熱性及び機械的刺激による痛覚過敏に対しては、明らかな効果が認められなかった。

中枢神経系疾患を対象とし、グリア細胞でのサイトカイン産生に対するポマリドミドの効果を検討した。ポマリドミドは、IL-1β で刺激したヒトアストロサイトでの RANTES 産生を促進し、LPS で刺激したヒトミクログリアでの TNF-α 産生を阻害した。また、LPS で刺激したマウスミクログリアでの IL-6, TNF-α 及び RANTES 産生、並びに TNF-α・IFN-γ の共刺激によるヒトアストロサイトでの IL-6 及び RANTES 産生のいずれも阻害した。

ポマリドミド (0.1 及び 1 µmol/L) は、UVB 照射によるケラチノサイトでの TNF-α 産生を阻害した。

(2.6.2.3 項参照)

2.4.3.3 安全性薬理試験

安全性薬理試験を実施し、中枢神経系、ヒト ether a go go 関連遺伝子 (human ether-a-go-go-related gene, hERG) カリウムチャンネル電流、循環器系 (心機能及び血行動態評価を含む) 及び呼吸器系に対するポマリドミドの影響を検討した。

ポマリドミド (250, 1000 及び 2000 mg/kg) を経口投与しても、雌雄ラットの行動、自律神経性機能、外観及び握力に対し、有害な影響は認められなかった。したがって、本試験での無影響量 (No-observed-effect level, NOEL) は最高投与量である 2000 mg/kg と判断した。

hERG チャンネルを発現するヒト胎児腎臓 (Human embryonic kidney, HEK) -293 細胞をポマリドミドで処理したとき、最大 87.5 µmol/L までの濃度で統計学的に有意な hERG 電流の阻害は認め

られなかった。この結果から、*in vitro* でポマリドミドが心筋遅延整流性カリウムイオンチャンネル電流を阻害することで心筋細胞の電気生理学的機能に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

さらに、雌雄の麻酔イヌにポマリドミド (2.5, 10 及び 25 mg/kg) を静脈内投与したとき、補正 QT 間隔 (Corrected QT interval, QTc) に影響は認められなかったが、25 mg/kg 群の 4 匹中 1 匹で呼吸数及び血圧に変化が認められた。したがって、本試験での NOEL は 10 mg/kg と判断した。

テレメトリーを装着した覚醒雄サルを用いた試験では、ポマリドミド (0.2, 2.0 及び 10 mg/kg) を経口投与しても、血管系、心電図 (Electrocardiogram, ECG) で評価した心機能系、血行動態パラメータ及び呼吸器系に影響は認められなかった。

また雄ラットを用い、呼吸器系 (呼吸数, 1 回換気量, 分時換気量) に対する影響を検討した結果、ポマリドミド (250, 1000 及び 2000 mg/kg, 経口投与) による有害な影響は認められなかった。したがって、本試験での NOEL も最高投与量である 2000 mg/kg と判断した。

(2.6.2.4 項参照)

2.4.3.4 薬力学的薬物相互作用試験

各種 MM 細胞に対し、Dex 併用下でのポマリドミドによる細胞増殖及びシグナル伝達に対する効果を検討した結果、H929, LP-1 及び OPM-2 細胞に対し、ポマリドミドと Dex との併用で相乗的な増殖阻害が認められた。また Dex との相乗効果は、レナリドミドに耐性を有する MM 細胞でも認められている。さらにこれらの試験では、細胞死や細胞増殖に関与する因子の解析も行なわれている。ポマリドミドと Dex との併用により、癌遺伝子 c-Myc 及び骨髄腫細胞生存因子 IRF-4 の発現低下に加え、細胞周期停止に関与する反応 (Rb のリン酸化抑制, p21^{WAF1} 及び p27^{Kip1} の発現増加) や細胞生存活性に対する阻害反応 (細胞死抑制因子 Bcl-2 及び Survivin の発現低下や細胞死促進因子 Bim の発現増加) に対する相乗効果が認められている。

H929 細胞 (レナリドミド感受性又は耐性 MM 細胞) 移植 SCID マウスに対し、Dex とポマリドミドの併用効果を検討した結果、レナリドミド耐性 H929 細胞を移植したマウスでは、ポマリドミド (3 mg/kg) と Dex (5 mg/kg) の併用投与による相乗効果が認められた。

MM 細胞移植 SCID マウスを用いて、ポマリドミド単独あるいはポマリドミドと Dex 又はボルテゾミブとの併用投与による MM.1S 細胞増殖に対する効果を検討した結果、ポマリドミドの抗腫瘍活性は、ボルテゾミブ併用、Dex 併用又は Dex とボルテゾミブの両併用によりさらに増強した。

(2.6.2.5 項参照)

2.4.4 薬物動態試験

2.4.4.1 分析法

PK 及びトキシコキネティクス (Toxicokinetics, TK) 試験でのポマリドミド及び各エナンチオマーの濃度測定のため、正確かつ再現性のある測定系を液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析 (Liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS) 法を用いて確立した。すべてのバリデーション試験は GLP 管理下で実施した。すべての測定法で、直線性、感度、回収率、精度、真度、安定性及び希釈精度は許容基準内であり、またポマリドミド及び各エナンチオマーに特異的なものであった。

(2.6.4.2 項参照)

2.4.4.2 吸収

ラット及びサルを用い、ポマリドミド経口及び静脈内投与後の血漿中薬物動態を解析した。ラットに 2.5 mg/kg、サルに 10 mg/kg を静脈内単回投与した際の全身クリアランスは、いずれも肝血流量の 1/6 未満と低く、みかけの分布容積は体液量の 2~4 倍で良好な組織内分布を示唆した。消失半減期 (Elimination half-life, $t_{1/2}$) はラット及びサルでそれぞれ約 6 時間及び 6.7~25 時間であった。100 mg/kg 経口投与後の F はいずれも 20% 未満であった。ただし、2 mg/kg のポマリドミドを経口投与したサルでの F は約 100% と極めて良好な吸収性が認められている。

また、サルを用い、各エナンチオマーを経口 (1 mg/kg) 及び静脈内 (0.5 mg/kg) 投与後の血漿中薬物動態を解析した。各エナンチオマーは、経口及び静脈内投与後、生体内で異性化を起こす。S 体から R 体への異性化率は、濃度時間曲線下面積 (Area under the concentration-time curve from zero to infinity, AUC_{inf}) 比で、経口及び静脈内投与でそれぞれ 26% 及び 32%、R 体から S 体への異性化率は AUC_{inf} 比でともに 18% であった。

ラットでの 6 ヶ月間経口反復投与毒性試験で実施した TK 試験 (50~1000 mg/kg/day) では、投与用量の増加に伴い AUC_t も増加したが、各増加率に相関性は認められなかった。蓄積率 (R_c) を算出した結果、雄ラットでは蓄積性が認められず、雌ラットで軽度の蓄積が認められたが、 R_c 値は 1.6 未満であった。なお、雌ラットの全身曝露量は雄ラットの 1.4~2.7 倍であった。経口反復投与時の各エナンチオマーの AUC_t 比 (S 体/R 体比) は 0.43~0.57 であった。

サルでの 28 日間経口反復投与毒性試験で実施した TK 試験 (30~300 mg/kg/day) では、投与量の増加に伴い AUC_t も増加したが、その増加率は投与量の増加率を下回るものであった。また、反復投与による蓄積性が認められた (最大で約 3 倍の上昇)。サルでの 9 ヶ月間経口反復投与毒性試験で実施した TK 試験 (0.05~1.0 mg/kg/day) では、 AUC_t が投与用量の増加に伴い増加した。0.05 及び 0.1 mg/kg/day では反復投与による蓄積性は認められなかったが、1 mg/kg では雌雄ともに蓄積性が認められた。曝露量に性差は認められず、反復投与後の各エナンチオマーの AUC_t 比 (S 体/R 体比) は 0.73~1.07 であった。

(2.6.4.3 項参照)

2.4.4.3 分布

有色ラットに $[^{14}\text{C}]$ -ポマリドミド 100 mg/kg を経口単回投与し、組織分布を検討した。投与後、様々な組織で放射活性が認められたことから、各組織に広範に分布すると考えられる。多くの組織では、投与 3 時間後で最高濃度に達し、12 時間後には定量限界 (0.418 $\mu\text{g equiv./g}$) 未満にまで減少した。この結果から、経口投与した $[^{14}\text{C}]$ -ポマリドミドは、生体内で広範に分布するものの、全身及び組織からの消失は速やかであり、蓄積性は少ないと考えられた。最も高い放射活性が認められた組織は盲腸であり、次いで膀胱、小腸、胃及び腎臓であった。さらに、メラニン含有組織でも放射活性が検出されたが、投与 12 時間後に定量限界未満となったことから、メラニンへの結合性は弱いと考えられた。投与 3 時間後での放射活性に基づく脊髄及び脳内濃度と血液中濃度比は、0.43 及び 0.27 であった。

またマウス (投与用量 : 10 及び 50 mg/kg) 及びラット (投与用量 : 50 mg/kg) を用い、ポマリドミドの経口投与による中枢移行性を検討した。10 及び 50 mg/kg 投与でのマウス脊髄/血漿中濃度比はいずれも 0.34、脳/血漿中濃度比はそれぞれ 0.49 及び 0.46、ラットでの脳/血液中濃度 AUC_{0-12h} 比は 0.39 であり、いずれの動物種でも中枢神経系への中等度の移行性が認められた。

動物及びヒト血漿を用いてポマリドミドのタンパク結合性を検討した。動物及びヒトの血漿タンパクに対する結合率は、ポマリドミド 30~1000 ng/mL の範囲で 12%~59%であった。また、この濃度範囲でのヒト血漿タンパクに対する結合率に濃度依存性は認められなかった。

妊娠ウサギ (妊娠 7~20 日まで投与) を用い胎盤透過性を検討した結果、ポマリドミド 5~250 mg/kg/day 経口投与後の胎児血漿中ポマリドミド濃度 (妊娠 20 日) は、母体 (妊娠 19 日) の最高血漿中濃度 (Peak maximum plasma concentration of the drug, C_{max}) の約 50%であった。したがって、ポマリドミドは胎盤透過性を有する。また、分娩後 14 日目の授乳ラットにポマリドミド 10 mg/kg を経口単回投与した乳汁移行性試験では、ポマリドミドの乳汁移行が認められ、乳汁/血漿中濃度比は 0.63~1.5 であった。

サルを用いた $[^{14}\text{C}]$ -ポマリドミド経口 (10 mg/kg) 及び静脈内投与 (1 mg/kg) 試験での投与後 10 時間以内に採取した試料から算出した血液/血漿中濃度比は 0.89~1.11 であり、放射性同位体 (ポマリドミド又は代謝物に由来する) が血球に移行することが示唆された。

(2.6.4.4 項参照)

2.4.4.4 代謝

ラット及びサルを用い、 $[^{14}\text{C}]$ -ポマリドミド経口 (10 mg/kg) 及び静脈内 (1 mg/kg) 単回投与後の血漿、尿、胆汁及び糞中代謝物を解析した。ラット及びサルに対する経口投与後の血漿中放射活性は、約 80%以上が未変化体に起因するものであった。雄ラットで検出された水酸化体を除き、血漿中での各代謝物の割合はいずれも未変化体の 10%未満であった。ラットでの経口投与後の吸収性は低く、糞中には未吸収の未変化体が多く検出された。また、サルでの糞中未変化体の排泄率は投与量の 5%未満であった。一方、ラット及びサルの尿中に排泄された放射活性の大部分は代謝物に起因するものであり、尿中に未変化体はほとんど認められなかった。ラット及びサルでのポマリドミド主要代謝経路は、フタルイミド環の水酸化、水酸化体のグルクロン酸抱合化並びにグルタルイミド環及びフタルイミド環の加水分解であった。いずれの動物種でも、ポマリドミドの代謝プロファイルに、投与経路による違いは認められなかった。

健康成人男性に $[^{14}\text{C}]$ -ポマリドミド 2 mg を経口単回投与したところ、血漿中放射活性の約 70% が未変化体であった。また、エナンチオマーの AUC_t 比 (S 体/R 体比) は平均で 1.0 であった。ヒトでの代謝経路はラット及びサルと同様であり、代謝物の割合は総放射活性の 10%未満であり、かつ未変化体の 10%未満であった。ラット、サル及びヒトに対する *in vivo* 代謝分析の結果から、ヒトに特有な代謝物はないと考えられる。

ウサギ及びヒト凍結肝細胞を用い、ポマリドミドの代謝安定性及び代謝プロファイルを検討した。肝細胞非存在下での $[^{14}\text{C}]$ -ポマリドミド処理で、グルタルイミド環及びフタルイミド環の非酵素的加水分解による多数の分解物が生成された。加水分解物のいくつかは、肝細胞存在下で生成量が増加した。したがって、これらの加水分解物は酵素的及び非酵素的に生成されることが考えられた。ポマリドミドの代謝の程度は、ヒト肝細胞で低く、ウサギ肝細胞では高かった。ヒト及びウサギ肝細胞での *in vitro* 試験で検出された代謝物は、フタルイミド環の水酸化体と水酸化体のグルクロン酸抱合体であった。

ポマリドミドの代謝に関与する CYP 分子種を同定するため、ヒト CYP 分子種 (CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4 及び CYP3A5) を用いた *in vitro* 試験を実施した。ポマリドミドの代謝に関与する主な CYP 分子種は CYP1A2 及び CYP3A4 であり、この他に CYP2C19 及び CYP2D6 も関与しうることが考えられた。

(2.6.4.5 項参照)

2.4.4.5 排泄

ラット及びサルに対し $[^{14}\text{C}]$ -ポマリドミドを経口 (10 mg/kg) 及び静脈内 (1 mg/kg) 単回投与し、尿、糞及び胆汁中への排泄を検討した。ラット及びサルでは、経口及び静脈内投与後の排泄は速やかであり、投与後 168 時間での回収率は 90%以上であった。ラットでの経口及び静脈内投与後の主要排泄経路は、それぞれ糞及び尿中であった。ただし、ラットでの経口投与による吸収性は低く、経口投与後の糞中に認められた放射活性は未吸収体によるものと考えられる。実際、胆管カニューレ手術ラットに $[^{14}\text{C}]$ -ポマリドミドを経口投与し、尿、糞及び胆汁中への排泄を解析した結果、経口投与した際の吸収性は約 28%程度であった。サルでの経口及び静脈内投与後の主要排泄経路は尿中である。また、投与した放射活性の約 72%が尿から検出されたことから、少なくとも 72%が経口投与後に吸収されたと考えられる。以上の結果から、ラット及びサルでの主要排泄経路は尿中であり、その大部分は代謝物であると考えられた。

健康成人男性に $[^{14}\text{C}]$ -ポマリドミドを経口単回投与した際の排泄プロファイルは、サルと同様であり、投与した放射活性の 72%が尿で検出された。また、尿中に検出された未変化体の割合は 3%未満であった。

(2.6.4.6 項参照)

2.4.4.6 薬物動態学的薬物相互作用

ポマリドミドの代謝には、CYP1A2, CYP3A4, CYP2C19 及び CYP2D6 など複数の CYP 分子種が関与している。したがって、臨床で各 CYP 分子種に対する阻害薬とポマリドミドを併用しても、ポマリドミドの薬物動態が大きく影響を受ける可能性はないと考えられる。

ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験でポマリドミドは、CYP の酵素活性を阻害することはない、また誘導もしなかった。したがって、CYP 基質との併用でポマリドミドが、臨床で酵素阻害又は誘導効果による薬物間相互作用を発現する可能性は低いと考えられる。

in vitro でポマリドミドは、P-gp, 乳がん耐性タンパク (Breast cancer resistance protein, BCRP), 有機アニオントランスポータータンパク (Organic anion transporting polypeptide, OATP) 1B1, OATP1B3 及び有機カチオントランスポーター (Organic cation transporter, OCT) 2 を阻害しなかった。有機アニオントランスポーター (Organic anion transporter, OAT) 1 及び 3 に対する阻害が認められたが、軽度 (20 $\mu\text{mol/L}$ で 30%阻害) であった。したがって、これらトランスポーターの基質との併用でポマリドミドが臨床用量 (MM 患者での 5 mg 投与で C_{max} は約 50 ng/mL) で薬物間相互作用を発現する可能性はないと考えられる。

in vitro でポマリドミドは、P-gp の基質となりうる可能性が示唆されたが、少なくともヒトでは、投与量の 70%が吸収されている。したがって、ポマリドミドの消化管吸収が P-gp によって大きく制限されることはなく、ポマリドミドと P-gp 阻害薬との併用で P-gp 阻害による薬物相互作用発現の可能性は低いと考えられた。

(2.6.4.7 項参照)

2.4.4.7 その他の薬物動態試験

in vitro 試験でエナンチオマーの異性化を評価したところ、リン酸緩衝液 (Phosphate buffered saline, PBS) 中での緩慢な分解 ($t_{1/2}$ =約 24 時間) 及び異性化が認められた。またサル及びヒト血漿中では、PBS 中よりも速い速度での分解 ($t_{1/2}$ =約 3~4 時間) 及び異性化 (4 時間で約 1:1) が認められた。ポマリドミドの分解及び異性化は、酵素的及び非酵素的に行われると考えられた。異性化はサルを用いた *in vivo* 試験でも確認されており、各エナンチオマーの PBS 並びにサル及びヒト血漿中での分解及び異性化の *in vitro* 試験結果と差は認められなかった。

(2.6.4.8 項参照)

2.4.5 毒性試験

2.4.5.1 単回投与毒性試験

マウス及びラットでの経口及び静脈内単回投与試験では、両動物種ともにポマリドミドの忍容性は良好であった。概略の致死量は、経口投与で 2000 mg/kg (マウス及びラット) を超え、静脈内投与で 80 (マウス) または 50 (ラット) mg/kg を超えた。

(2.6.6.2 項参照)

2.4.5.2 反復投与毒性試験

マウス 13 週間経口反復投与試験でポマリドミドは、250 mg/kg/day までの投与量で投薬に関連した所見は認められなかった。投与期間 7 日間～6 ヶ月間のいずれのラット経口反復投与試験でも、用いた最高投与量(7 日間投与試験では 5000 mg/kg/day, 28 日間投与試験では 2000 mg/kg/day, 90 日間投与試験では 1500 mg/kg/day, 6 ヶ月間投与試験では 1000 mg/kg/day) までで、投薬に関連する毒性は認められなかった。6 ヶ月間投与試験の投与 180 日目に実施した TK 試験では、24 時間までの AUC (AUC_{24h}) が 1000 mg/kg/day で雌雄それぞれ 98010 及び 42530 ng•h/mL であった。これは、日本人 MM 患者での 4 mg 投与時曝露量 (AUC_{24h}: 713.8 ng•h/mL : MM-004 試験) のそれぞれ約 137 倍及び約 60 倍であった。

サルを用いた経口反復投与試験として、投与量 50～1200 mg/kg/day での 14 日間投与試験 (最大耐量試験), 30～300 mg/kg/day での 28 日間投与試験, 0.2～2 mg/kg/day での 28 日間投与試験, 0.05～10 mg/kg/day での 13 週間投与試験及び 0.05～1 mg/kg/day での 9 ヶ月間投与試験が実施されている。これらの試験では、一般状態悪化や死亡が 13 週間投与試験の 10 mg/kg/day 及び 9 ヶ月投与試験の 1 mg/kg/day で認められた。ラットと比較してサルは、全般的にポマリドミドに対する感受性が高いと考えられる。

サルで認められた主な毒性は、造血器・リンパ細網系障害に起因するものであり、赤血球パラメータ (赤血球数, ヘモグロビン及びヘマトクリット) の減少, 白血球数 (好中球, リンパ球及び単核球) の減少及び組織リンパ球枯渇 (リンパ節, 脾臓, 胸腺及び腸管関連リンパ組織) が認められた。さらに、体重減少をもたらす軟便及び水様便の発現が頻繁に認められ、その結果と思われる一般状態の悪化が認められた。特に最長曝露期間となる 9 ヶ月間投与試験では、ポマリドミド 0.05, 0.1 及び 1 mg/kg/day を投与した結果、投薬に関連した一般状態不良による切迫屠殺例 (雌雄各 3 匹) が 1 mg/kg/day 群で認められた。これらは、ポマリドミドの薬理作用の一つである免疫調節/免疫抑制活性 (末梢血リンパ球数減少, 組織リンパ球枯渇及び骨髓細胞充実性低下) に関連すると考えられた。この他、ブドウ球菌感染及び大腸の慢性炎症も、ポマリドミドの免疫抑制活性に関連すると考えられた。また、小腸の絨毛萎縮及び軽度の胆管増殖が認められた。さらに、投与 253 日目に切迫屠殺した 1 mg/kg/day 群の雌 1 匹では、急性骨髓性白血病 (AML; 異常な白血球増加, 多臓器浸潤及び骨髓芽球浸潤) 様所見が認められた。ヒトでは、AML が免疫抑制に関連することが知られている。また、サルではその様な腫瘍性病変の発現頻度は低い。したがって、この AML 様所見は投薬に関連するものと判断した。投与 272 日目に実施した TK 試験では、1 mg/kg/day 群雌の平均 AUC_{24h} は 6540 ng•h/mL であった。これは、日本人 MM 患者での 4 mg 投与時曝露量 (713.8 ng•h/mL) の約 9.2 倍であった。生存動物では、体重, 心電図, 血圧, 眼科学

的検査及び尿検査で投薬に関連する変化は認められなかった。8週間の休薬期間（回復群）終了後の動物では、1 mg/kg/day 投与群の1匹で肝内胆管増殖が認められた以外、投薬に関連する所見は回復していた。これらの結果から、サル9ヵ月間経口反復毒性試験の無毒性量

（No-observed-adverse-effect level, NOAEL）は0.1 mg/kg/day と判断した。この用量での AUC_{24h} は雌雄でそれぞれ 211 及び 227 ng•h/mL であり、日本人 MM 患者での 4 mg 投与時曝露量 713.8 ng•h/mL の約 0.3 倍であった。

サルでの 28 日間、13 週間及び 9 ヶ月間毒性試験で実施した心血管系への影響評価（バイタルサイン、心電図、呼吸及び心拍数）では、2 mg/kg/day の 13 週間投与及び 1 mg/kg/day の 9 ヶ月間投与までで、投薬に関連した変化は認められなかった（投与 13 週目の 2 mg/kg/day での C_{max} は 1249 ng/mL、投与 39 週目の 1 mg/kg/day での C_{max} は 653 ng/mL で、日本人 MM 患者に対する臨床使用時の C_{max} 71.2 ng/mL のそれぞれ約 18 倍及び約 9 倍）。

(2.6.6.3 項参照)

2.4.5.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ tk 試験でポマリドミドの変異原性は陰性であり、ヒト末梢血リンパ球での染色体異常試験でも陰性であった。また、ラットに対し、ポマリドミドを 2000 mg/kg/day まで経口投与し、骨髄小核試験を実施したが、結果は陰性であった。したがって、ポマリドミドは遺伝毒性を有さないと考えられる。

(2.6.6.4 項参照)

2.4.5.4 がん原性試験

日米 EU 医薬品規制調和国際会議（International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH）S9 ガイドライン「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」（薬食審査発 0604 第 1 号、平成 22 年 6 月 4 日付）では、進行がん患者の治療を目的とする医薬品の製造販売承認申請に際して、がん原性試験は必要とされていない。したがって、当該試験は実施していない。

(2.6.6.5 項参照)

2.4.5.5 生殖発生毒性試験

2.4.5.5.1 受胎能及び初期胚発生に関する試験

ラットを用いた受胎能及び初期胚発生試験では、ポマリドミドを 25、250 及び 1000 mg/kg/day の用量で経口投与した。雄ラットには交配前 28 日から屠殺時まで、雌ラットには交配前 14 日から交配期間中及び妊娠 7 日まで 1 日 1 回投与した。妊娠 13 日目に実施した子宮内検査では、全投薬群で平均生存胚数の低下及び着床後胚損失率の増加が認められた。したがって、受胎能に関する NOAEL は 25 mg/kg/day 未満（25 mg/kg/day 投与時の AUC_{24h} は 39960 ng•h/mL で、日本人 MM 患者での 4 mg 投与時曝露量 713.8 ng•h/mL の約 56 倍）であった。

また、投薬雄ラットと無投与雌ラットを交配させたところ、すべての子宮内検査パラメータで、対照群との間に差が認められなかった。これらの結果から、本試験での異常所見は、雄への投与に関連するものではなく、雌への投与によるものと判断した。

(2.6.6.6.1 項参照)

2.4.5.5.2 胚・胎児発生に関する試験

ラット及びウサギに対し、妊娠後の主な器官形成期にポマリドミドを経口投与したところ、両種で催奇形性が認められた。

ラットの胚・胎児発生毒性試験では、膀胱欠損、甲状腺欠損並びに腰椎及び胸椎（椎体及び椎弓）の癒合及び異常配列の頻度増加が、全投薬群（25, 250 及び 1000 mg/kg/day）で認められた。本試験では、母体毒性は認められなかった。したがって、母体毒性に対する NOAEL は 1000 mg/kg/day、発生毒性に対する NOAEL は 25 mg/kg/day 未満（25 mg/kg/day での妊娠 17 日目 AUC_{24h} は 34340 ng•h/mL で、日本人 MM 患者での 4 mg 投与時曝露量 713.8 ng•h/mL の約 48 倍）と判断した。

ウサギでは、ポマリドミド 10~250 mg/kg/day でサリドマイドと同様の催奇形性が認められた。心臓の形成異常頻度の増加傾向が全投薬群（10, 100 及び 250 mg/kg/day）で認められ、特に 250 mg/kg/day 投与で統計学的有意な差が認められた。また、着床後胚損失率の軽度増加及び胎児体重の軽度低下が 100 及び 250 mg/kg/day 投与群で認められた。250 mg/kg/day 投与群の胎児奇形には、四肢異常（前肢又は後肢の屈曲又は回転、指の未結合又は欠損）及びそれに関連する骨格異常（中手骨の未骨化、指骨及び中手骨の異常配列、指の欠損、指骨の未骨化及び脛骨の短縮、未骨化又は弯曲）、中等度の側脳室拡大、右鎖骨下動脈の位置異常、肺中葉欠損、低位腎、肝臓の形態異常、骨盤の骨化遅延又は未骨化、過剰肋及び骨化足根骨減少が認められた。母体では、軽度の体重増加量抑制、トリグリセリド値の有意な低下並びに脾臓重量（絶対値及び対体重相対値）の有意な低下が 100 及び 250 mg/kg/day 投与群で認められた。母体に対する NOAEL は 10 mg/kg/day、胚・胎児発生に関する NOAEL は 10 mg/kg/day 未満（10 mg/kg/day での妊娠 19 日目 AUC_{24h} は 418 ng•h/mL で、日本人 MM 患者での 4 mg 投与時曝露量 713.8 ng•h/mL の約 0.6 倍）であった。

(2.6.6.6.2 項参照)

2.4.5.5.3 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

ICH S9 ガイドライン「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」（薬食審査発 0604 第 1 号、平成 22 年 6 月 4 日付）では、進行がん患者の治療を目的とする医薬品の製造販売承認申請に際して、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は必要とされていない。したがって、当該試験は実施していない。

(2.6.6.6.3 項参照)

2.4.5.6 その他の毒性試験

2.4.5.6.1 免疫毒性試験

ポマリドミドの免疫毒性を、サルを用いた 2 mg/kg/day の 28 日間経口投与試験で評価した。ポマリドミド投与に関連する免疫毒性所見として、末梢血リンパ球比率低下（骨髄細胞充実性低下に関連）、一次及び二次液性免疫反応の変化、胸腺重量減少（胸腺萎縮）が認められた。また、病理組織学的検査では胸腺、脾臓、リンパ節（下顎及び腸間膜）でのリンパ球枯渇が認められた。

顆粒球、単球及びNK細胞の機能に影響は認められなかった。CD20⁺Bリンパ球数低下（部分的に回復）、胸腺重量減少及び軽度の病理組織学的なリンパ節の変化を除き、2 mg/kg/day で認められたすべての所見は 30 日間の休薬により完全に回復した。

(2.6.6.8.1 項参照)

2.4.6 総括及び結論

ポマリドミドは、IMiD 化合物に分類されるサリドマイドの構造類似体である。サリドマイドや同じサリドマイド構造類似体であるレナリドミドと同様に様々な細胞種に対し多彩な生理活性を有する。本申請書でも明らかにしたように、ポマリドミドは（１）腫瘍細胞の増殖を抑制（２）免疫反応を促進（３）血管新生を阻害するなど、様々な種類の細胞反応に関与することで MM に対する抗腫瘍効果を発揮する。これらの活性は、細胞の種類や状況に依存しているため (Bartlett, 2004 ; Davies, 2001 ; Dredge, 2002 ; Escoubet-Lozach, 2009 ; Teo, 2005 ; Xu, 2009), 複数の標的分子が存在し、かつ複数の細胞内シグナル伝達に影響すると考えられる。現在、抗腫瘍活性に関与する作用として、細胞周期停止因子 p21^{WAF-1} の増加による G1 期細胞周期停止 (Escoubet-Lozach, 2009), MM 細胞での骨髓腫生存因子 IRF-4 の抑制 (Li, 2011), アクチンの過重合と免疫シナプスの形成に重要な Rho GTPase の制御 (Xu, 2009) など、主に細胞周期停止に関連するものが挙げられる。また近年、腫瘍細胞の増殖阻害や細胞死誘導、さらに免疫エフェクター細胞の活性化など、異なるシステムに共通する分子やシグナル伝達の存在が示唆されており、サリドマイドを用いた研究から、CRBN が標的となる共通分子として同定された。ポマリドミド及びレナリドミドはいずれもヒト CRBN に対し親和性を有する。さらに、MM 細胞内の CRBN 量がポマリドミドの増殖阻害活性に関与することや、ポマリドミドの免疫調節作用の少なくとも一部に CRBN との相互作用が関与する可能性が示された。

ポマリドミドは、*in vitro* で各種 MM 細胞の増殖を強力に阻害し、さらに *in vivo* 腫瘍モデル (移植モデル) でも抗腫瘍活性を発揮した。ポマリドミドの抗腫瘍機序の一つとして、p21^{WAF-1}/p27^{Kip-1} 発現増加による G1 期細胞周期停止作用が挙げられるが、Dex との併用による相乗効果が認められている。さらに、ポマリドミドはレナリドミドに対し耐性を獲得した細胞に対しても増殖阻害活性を有し、Dex 併用による相乗効果も認められた。

ポマリドミドは T 細胞の増殖を促進し、CD3 抗体で刺激した CD4⁺T 細胞からの Th1 サイトカイン (IL-2 及び IFN- γ) 産生を増強、また Th2 サイトカイン (IL-10) 産生を抑制した。ポマリドミドは、T-bet を増加し、GATA-3 を減少させる。また、Th1 サイトカイン (IFN- γ , TNF- α , IL-12R β 2) 産生の増強が T-bet 発現と一致していた。したがって、ポマリドミドは T-bet の発現を亢進し、Th1 による T 細胞応答を増強する可能性が示唆された。

また、上述のような T 細胞増殖やサイトカイン産生に加え、ポマリドミドが腫瘍細胞に対し NK 細胞介在性の細胞障害を増強することが明らかとなった。

これら（１）p21^{WAF-1}/p27^{Kip-1} 発現増加による G1 期細胞周期停止（２）サイトカイン産生促進や NK 細胞介在性の腫瘍細胞障害促進など免疫応答増強に加え（３）血管新生阻害がポマリドミドの有する抗腫瘍活性の重要な機序であり、少なくともいくつかの細胞反応が CRBN との結合を介して誘起されている。

ポマリドミドの安全性薬理試験データからは、QTc 延長の可能性を示す兆候は認められなかった。hERG カリウムチャンネルに対する影響も認められていないことから、ポマリドミドが心筋細胞の電気生理学的機能に影響する可能性は低いと考えられる。また、中枢神経系及び呼吸器系に対してもポマリドミドによる有害な影響は認められなかった。

ポマリドミドは、サル及びヒトで良好な経口吸収性を示し、タンパクへの結合性は、種にかかわらず低～中程度であった。ポマリドミドの各エナンチオマーは *in vitro* (緩衝液及び血漿中) 及

び *in vivo* で容易に相互変換することからポマリドミドをエナンチオマーとして開発する意義はないと考えられた。ポマリドミドの代謝は、ラット、サル及びヒトで類似し、ヒトに特有の代謝物は認められなかった。*in vitro* 及び *in vivo* データから、ポマリドミドと CYP 酵素阻害薬、P-gp 阻害薬、又は CYP 酵素、P-gp, BCRP, OAT1, OAT3, OATP1B1, OATP1B3 及び OCT2 の基質との併用で、薬物間相互作用発現の可能性は低いと考えられた。

毒性試験では、主に造血器・リンパ細網系に対する影響、受胎能及び初期胚発生並びに催奇形性に関する所見が認められた。マウス及びラットと比較して、サルはポマリドミドに対する感受性が高い。サル反復投与毒性試験では、薬理作用（免疫抑制活性）に関連する所見以外、毒性所見は認められなかった。サル免疫毒性試験では、獲得免疫に対し影響（T 細胞依存性反応及びリンパ球減少）が認められ、自然免疫（顆粒球、単球及び NK 細胞機能）には影響しなかった。ラットでの受胎能及び初期胚発生試験では、雌ラットへのポマリドミド投与により、生存胚数の減少及び着床後胚損失率の増加が認められた。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験から、ポマリドミドの催奇形性が明らかになった。ポマリドミドは *in vitro* 及び *in vivo* で遺伝毒性を有さなかった。

サルは、マウス及びラットよりポマリドミドに対する感受性の高い動物種である。サル 9 ヶ月間投与試験の NOAEL である 0.1 mg/kg/day での曝露量（AUC_{24h}：雌雄で 211 及び 227 ng•h/mL）は、日本人 MM 患者に対する 4 mg/day 投与時曝露量 713.8 ng•h/mL の約 0.3 倍、催奇形性を認められたウサギ 10 mg/kg/day での曝露量（AUC_{24h}：418 ng•h/mL）は上記臨床使用時の曝露量の約 0.6 倍であった。

以上に示したとおり、ポマリドミドの非臨床薬理、薬物動態及び毒性プロファイルは適切に評価されており、MM の治療に対して国内で予定される用法・用量を用いた際の有効性及び安全性を支持するものと考えられる。

2.4.7 参考文献

- Bartlett JB, Dredge K and Dalglish AG. The evolution of thalidomide and its IMiD derivatives as anticancer agents. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(4):314-22.
- Davies FE, Raje N, Hideshima T, Lentzsch S, Young G, Tai YT, et al. Thalidomide and immunomodulatory derivatives augment natural killer cell cytotoxicity in multiple myeloma. *Blood*. 2001;98(1):210-6.
- Dredge K, Marriott JB, Macdonald CD, Man HW, Chen R, Muller GW, et al. Novel thalidomide analogues display anti-angiogenic activity independently of immunomodulatory effects. *Br J Cancer*. 2002;87(10):1166-72.
- Escoubet-Lozach L, Lin IL, Jensen-Pergakes K, Brady HA, Gandhi AK, Schafer PH, et al. Pomalidomide and lenalidomide induce p21^{WAF-1} expression in both lymphoma and multiple myeloma through a LSD1-mediated epigenetic mechanism. *Cancer Res*. 2009;69(18):7347-56.
- Hernandez-Ilizaliturri FJ, Reddy N, Holkova B, Ottman E and Czuczman MS. Immunomodulatory drug CC-5013 or CC-4047 and rituximab enhance antitumor activity in a severe combined immunodeficient mouse lymphoma model. *Clin Cancer Res*. 2005;11(16):5984-92.
- Lentzsch S, LeBlanc R, Podar K, Davies F, Lin B, Hideshima T, et al. Immunomodulatory analogs of thalidomide inhibit growth of Hs Sultan cells and angiogenesis in vivo. *Leukemia*. 2003;17(1):41-4.
- Li S, Pal R, Monaghan SA, Schafer P, Ouyang H, Mapara M, et al. IMiD immunomodulatory compounds block C/EBP β translation through eIF4E down-regulation resulting in inhibition of MM. *Blood*. 2011;117(19):5157-65.
- Schafer PH, Gandhi AK, Loveland MA, Chen RS, Man HW, Schnetkamp PP, et al. Enhancement of cytokine production and AP-1 transcriptional activity in T cells by thalidomide-related immunomodulatory drugs. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;305(3):1222-32.
- Shalapour S, Zelmer A, Pfau M, Moderegger E, Costa-Blechsmidt C, van Landeghem FK, et al. The thalidomide analogue, CC-4047, induces apoptosis signaling and growth arrest in childhood acute lymphoblastic leukemia cells in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res*. 2006;12(18):5526-32.
- Teo SK. Properties of thalidomide and its analogues: Implications for anticancer therapy. *AAPS J*. 2005;7(1):E14-9.
- Xu Y, Li J, Ferguson GD, Mercurio F, Khambatta G, Morrison L, et al. Immunomodulatory drugs reorganize cytoskeleton by modulating Rho GTPases. *Blood*. 2009;114(2):338-45.