ヨンデリス点滴静注用 0.25 mg

ヨンデリス点滴静注用 1 mg

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....4
2.4.1　非臨床試験計画概略....4
2.4.1.1　薬理試験....4
2.4.1.2　薬物動態試験....4
2.4.1.3　毒性試験....4
2.4.2　薬理試験....5
2.4.2.1　効力を裏付ける試験....5
2.4.2.2　副次的薬理試験....6
2.4.2.3　安全性薬理試験....6
2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用試験....7
2.4.3　薬物動態試験....7
2.4.3.1　分析法....7
2.4.3.2　吸収....8
2.4.3.3　分布....8
2.4.3.4　代謝....9
2.4.3.5　排泄....10
2.4.3.6　薬物相互作用....10
2.4.3.7　薬物代謝及び薬物動態の評価....11
2.4.4　毒性試験....11
2.4.4.1　単回投与毒性試験....13
2.4.4.2　ラット及びサルの反復投与毒性試験....13
2.4.4.3　毒性所見の考察....14
2.4.5　総括及び結論....21
2.4.6　参考文献一覧....23

図一覧

図 2.4.3.1-1　^{14}C-トラベクテジン....8

表一覧

表 2.4.4-1　毒性試験一覧表....12

略号一覧表

略号	内容
ALP	alkaline phosphatase：アルカリホスファターゼ
AUC	area under the concentration-time curve：血漿中濃度－時間曲線下面積
BUN	blood urea nitrogen：尿素窒素
CFU-Meg	megakaryocytic colony-forming units：巨核球コロニー形成細胞
CL	total body clearance：全身クリアランス
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中薬物濃度
CPK	creatine phosphokinase：クレアチンホスホキナーゼ
CYP	cytochrome P450：チトクローム P450
ECG	electrocardiogram：心電図
G2	cellular phase between DNA synthesis and mitosis：細胞周期における DNA 合成から有糸分裂が起こるまでの期間
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
HR	homologous recombination：相同組換え
ICH	International Conference on Harmonization：日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IKr	rapidly activating delayed rectifier K+：膜 K+電流
LC/MS/MS	liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry：液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法
M	cellular phase for mitotic : 細胞周期における有糸分裂と細胞質分裂が起こる期間
MTD	maximum tolerated dose：最大耐量
P-gp	P-glycoprotein：P 糖蛋白
QTcF	Fridericia's corrected QT：Fridericia 補正式を用いた QT
QTcV	Van de Water’s corrected QT：Van de Water 補正式を用いた QT
S	cellular phase for DNA synthesis and replication : 細胞周期における DNA 合成や複製が行われる時期
SXR	steroid and xenobiotic receptor：ステロイド及び生体異物受容体
$t_{1/2}$	terminal elimination half-life：最終相の消失半減期
TC-NER	transcription-coupled nucleotide excision repair : 転写と共役したヌクレオチド除去修復
UDPGA	uridine diphosphate glucuronic acid：ウリジン二リン酸グルクロン酸
V_Z	volume of distribution related to the terminal-phase elimination rate constant : 最終相における見かけの分布容積
Vd_{ss}	volume of distribution at steady state：定常状態分布容積

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

トラベクテジンは，Pharma Mar, S.A.により創製されたカリブ海産のホヤの一種 *Ecteinascidia turbinata* から単離された 3 つのテトラヒドロイソキノリンサブユニットによって構成される化合物である．現在は，微生物で産生されたシアノサフラシン B を用いた合成法が確立されている．トラベクテジンの抗腫瘍効果発現に関する複雑な機序は完全には解明されていないが，DNA の主溝部分と結合する従来のアルキル化剤とは異なり，トラベクテジンが DNA の副溝部分と結合することが抗腫瘍効果を発揮するための最も重要な薬理作用であると考えられる．トラベクテジンはアントラサイクリン系薬剤及びイホスファミドに無効，又はこれらの薬剤の投与に適さない進行悪性軟部腫瘍を適応症として，2007 年 9 月 17 日に European Medicines Agency より exceptional circumstances で承認を取得した．

本項では，トラベクテジンの薬理，薬物動態及び毒性について検討した非臨床試験の概要を示した．

トラベクテジンの非臨床試験では，日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン S1A「医薬品におけるがん原性試験の必要性に関するガイダンス」又は ICH ガイドライン S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」に従って，雌雄の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験，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，乳汁移行試験及びがん原性試験は実施していない．

2.4.1.1　薬理試験

In vitro において様々なヒト腫瘍細胞に対する増殖抑制効果を検討した．染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株と染色体転座陰性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株について増殖抑制効果を比較した．*In vivo* においては染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株を含むヒト腫瘍細胞株のヌードマウス皮下移植モデルにおいてトラベクテジンの抗腫瘍効果及び用量反応性を検討した．また，トラベクテジンを他の抗悪性腫瘍剤と併用する可能性を考慮し，*in vitro* 及び *in vivo* においてトラベクテジンとドキソルビシンとの併用による増殖抑制効果及び抗腫瘍効果を検討した．

副次的薬理試験では，骨髄/血液毒性の可能性を評価した．

安全性薬理試験では，主要な器官系として，中枢神経系，心血管及び呼吸器系にトラベクテジンが影響を及ぼす可能性を検討した．

2.4.1.2　薬物動態試験

静脈内投与したトラベクテジンの薬物動態について，その血漿中濃度，組織内分布，血漿蛋白結合，代謝，排泄及び薬物相互作用を含め，げっ歯類及び非げっ歯類の動物種で検討し，これらに対応するヒトのデータと比較した．また，トラベクテジンによる肝酵素活性の誘導又は阻害に関して，げっ歯類及び非げっ歯類（ヒトを含む）で評価した．動物種及び系統は非臨床の毒性及び薬理試験と同一種及び系統を使用し，急速又は持続投与による単回静脈内投与及び持続投与による反復静脈内投与後のトラベクテジンの薬物動態を評価した．

2.4.1.3　毒性試験

単回投与毒性試験は急速静脈内投与若しくは 3 時間又は 24 時間の持続静脈内投与について，マウス，ラット及びイヌで検討した．臨床の投与スケジュールを考慮した反復投与毒性試験は，3

週間ごとに 1 回の静脈内投与（急速，3 時間又は 24 時間）を 1 サイクルとして，ラット及びサルでそれぞれ 3 サイクル又は 8 サイクル以内の投与期間で検討した．トキシコキネティクスは，トラベクテジンの反復静脈内投与毒性試験に関連してラット及びサルで評価した．

カニクイザルは毒性試験に広く使用される動物種であり，更にトラベクテジンの薬物動態及び代謝データに基づくと，カニクイザルはヒトでのトラベクテジンの毒性評価に対する外挿性が優れているものと考えた．

毒性の標的器官を特定し，複数の投与スケジュールを用いて長期投与の可能性及び毒性の回復性についても評価した．トラベクテジンの臨床製剤による投与部位の刺激性は，静脈内又は静脈傍組織内に単回及び反復投与した雄又は雌のニュージーランドホワイトウサギで検討した．トラベクテジンの遺伝子変異誘発能及び染色体異常誘発能を検討するため，微生物（ネズミチフス菌株及び大腸菌株）を用いる復帰突然変異試験，*in vitro* 染色体異常試験，*in vivo* マウス小核試験を行った．生殖発生毒性試験として，ラット又はウサギを用いて胚毒性及び催奇形性を検討した．更に，[redacted]又は[redacted]トラベクテジン原薬を用いた製剤による毒性プロファイルの比較，代謝物及び不純物の安全性を評価した．

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験はすべて非 GLP 下で実施された．

2.4.2.1.1　作用機序

トラベクテジンはカルビノールアミンを含有するアルカロイドであり，3 つのテトラヒドロイソキノリンサブユニット（サブユニット A，B 及び C）によって構成される化合物である．そのサブユニット A 及び B が DNA の副溝部分に結合し，DNA を主溝側へ屈曲させる[1, 2, 3]．また，サブユニット C が DNA 二本鎖から突き出る形で存在できることで近傍に存在するタンパク質群との相互作用が可能となる．

このトラベクテジンと DNA との相互作用による影響から様々なヌクレアーゼの活性が制御され，転写と共役したヌクレオチド除去修復（TC-NER）機構の抑制が生じる[4, 5]．その結果，DNA の一本鎖切断部分の蓄積を誘発し，アポトーシスが誘導されると考えられる．更に，トラベクテジンが RNA ポリメラーゼ II の機能にも影響を及ぼすことで TC-NER の異常が生じることが認められている[6, 7]．また，トラベクテジンの DNA 修復機能に対する作用には，TC-NER だけでなく DNA 二本鎖切断修復時に起こる相同組換え（HR）反応も重要な役割を果たすと考えられる[8, 9]．

トラベクテジンは細胞増殖に関わる遺伝子群の転写を制御することが認められている[10, 11, 12]．染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍では，染色体転座の結果生じる融合遺伝子産物の多くが転写因子として機能することが認められているが，トラベクテジンはこれらの転写因子の機能を阻害することで，結果として細胞増殖に関わる遺伝子群の発現を制御することが一部の融合遺伝子で報告されている[13, 14]．

トラベクテジンの細胞周期への影響として，細胞周期の S 期中における進行遅延及び G2/M 期での停止が誘導されることが報告されている[15]．

トラベクテジンは腫瘍中の癌細胞，単球，マクロファージ及び腫瘍関連マクロファージからのサイトカインの産生を抑制し，また，腫瘍中に含まれる単核食細胞系に作用してアポトーシスを誘導することから，癌細胞だけでなく腫瘍の微小環境にも作用することが示唆されている[16, 17]．

同様の現象がトラベクテジン投与を受けた悪性軟部腫瘍患者由来の腫瘍組織においても観察されたことから[17]，トラベクテジンの有用性を示す作用機序の一つである可能性が示唆された．

2.4.2.1.2 *In vitro*薬理試験

様々なヒト腫瘍細胞株を用いた *in vitro* 試験において，トラベクテジンは増殖抑制効果を示した[18, 19]．

ヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株に対するトラベクテジンの増殖抑制効果を検討した結果，評価したすべての細胞株に対してトラベクテジンは増殖抑制効果を示した（第 4.2.1.1.1 項）．また，トラベクテジンは染色体転座陰性よりも陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株で有意に高い増殖抑制効果を示した（第 4.2.1.1.1 項）．

トラベクテジンはナノモル濃度という低濃度で様々なヒト腫瘍細胞に対する増殖抑制効果を示し，他の抗悪性腫瘍剤と比較してその高い効果が示唆された[18, 20, 21]．

トラベクテジンとドキソルビシンとの併用効果については，ヒト悪性軟部腫瘍細胞株に対して，両剤の併用による増殖抑制作用の相加又は相乗効果が報告されている[22, 23]．

2.4.2.1.3 *In vivo*薬理試験

様々なヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株を用いた *in vivo* 試験において，トラベクテジンは抗腫瘍効果を示した[24, 25]（第 4.2.1.1.2 項，第 4.2.1.1.3 項，第 4.2.1.1.4 項，第 4.2.1.1.5 項，第 4.2.1.1.6 項，及び第 4.2.1.1.7 項）．

染色体転座陽性のヒト滑膜肉腫細胞株のヌードマウス皮下移植モデルを用いた評価においては，トラベクテジンは用量依存的な抗腫瘍効果を示した（第 4.2.1.1.2 項）．また，染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株を含む複数のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株のヌードマウス皮下移植モデルを用いた評価においては，トラベクテジンは評価に用いたすべての細胞株に対して高い抗腫瘍効果を示した（第 4.2.1.1.2 項，第 4.2.1.1.3 項，第 4.2.1.1.4 項，第 4.2.1.1.5 項，第 4.2.1.1.6 項，及び第 4.2.1.1.7 項）．また，トラベクテジンとドキソルビシンとの併用効果については，マウス及びヒト腫瘍細胞株のヌードマウス皮下移植モデルにおいて両剤の併用による抗腫瘍効果の増強が報告されている[23]．

2.4.2.2 副次的薬理試験

トラベクテジンの骨髄/血液毒性の可能性を評価するため，種々の処理スケジュールを用いて，マウス[26]及びヒト[27]造血前駆細胞に関する試験を実施した．幹細胞コロニー形成アッセイ法を用いた顆粒球マクロファージ系細胞，赤芽球バースト形成細胞，巨核球コロニー形成細胞及び多能性前駆細胞にトラベクテジンを処理した．マウス前駆細胞及びヒト前駆細胞で増殖阻害を認めた．この効果はすべての細胞種で処理時間が長いほど顕著であり，細胞毒性を高めるためには長時間処理が重要であることを示している．巨核球コロニー形成細胞（CFU-Meg）は他の前駆細胞よりトラベクテジンへの感受性が高かった．これは，トラベクテジンが投与された癌患者で血小板数減少が発現する可能性があることを示唆している．

2.4.2.3 安全性薬理試験

中枢神経系，心血管系及び呼吸器系の安全性評価項目は，「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）」下で一連の *in vivo* の安全性薬理試験として実施し，*in vitro* の安全性薬理試験は非 GLP として実施した．これらの結果と毒性試験で行った評価を併せ，トラベクテジン

は臨床用量では，心血管系，呼吸器系及び中枢神経系に明らかな影響を及ぼさないことが示された．

2.4.2.3.1　中枢神経系及び一般行動

Irwin の変法による試験では雄性ラットに 50 μg/kg/day 以下のトラベクテジンを単回静脈内投与した．その結果，行動に及ぼす有害な影響，神経学的障害及び自律神経に対する有害な影響を認めなかった．

2.4.2.3.2　心血管系及び呼吸器系

トラベクテジン 3 μmol/L 濃度以下ではヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）をトランスフェクトした HEK293 細胞の膜 K+電流（IKr）に有意な影響を及ぼさなかった．トラベクテジン 10 μmol/L では，溶媒対照と比較して IKr は約 10%減少した．

トラベクテジンの心血管系及び呼吸器系に及ぼす影響を検討するために，麻酔したカニクイザルに 90 μg/kg/day の 1 時間持続静脈内投与を行った．トラベクテジンは，心拍数，第 II 誘導心電図（ECG）変数［RR 間隔，PR 間隔，QT 間隔，Fridericia 補正式を用いた QT（QTcF）間隔，Van de Water 補正式を用いた QT（QTcV）間隔及び QRS 時間］，ECG 波形及び調律，左心室の変数である心拍出量，一回心拍出量及び呼吸機能に影響を及ぼさなかったが，投与開始後 60～240 分に動脈血圧（平均，収縮期及び拡張期）の低下を認めた．しかし，ペントバルビタールナトリウム麻酔では圧受容器反射が低下することが知られていることから，圧受容器反射が正常である無麻酔の動物及びヒトでは，同様の曝露で麻酔下のサルでみられた明らかな血圧低下は生じない又は認められない可能性が高い．この安全性薬理試験で測定されたトラベクテジンの血漿中濃度［最高血漿中薬物濃度（C_{max}）：10.6 ± 5.4 ng/mL］は，トラベクテジン 1.2 mg/m^2 の 24 時間持続静脈内投与を受けた患者で達した濃度より高かった．

更に，トラベクテジンを反復投与したサルの毒性試験では ECG 検査で影響を認めなかった．

2.4.2.3.3　薬力学的評価及び特定の検討事項

該当なし．

2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用試験

該当なし．

2.4.3　薬物動態試験

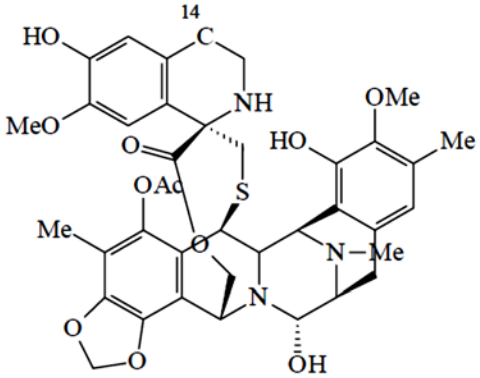
本剤の臨床投与経路は静脈内投与であることから，トラベクテジンの吸収，分布，代謝及び排泄の特徴を明らかにすることを目的とした非臨床試験はすべて，この投与法で実施した．特に明記していない限り，[redacted]トラベクテジン（[redacted]を用いた製剤）を用いた．^{14}C 標識トラベクテジン（^{14}C-トラベクテジン）はリン酸緩衝液で pH 4 にし，微量のエタノールを添加した溶媒に溶解して，標識体の投与試験に用いた．

トラベクテジンの非臨床薬物動態試験は，毒性及び薬理試験と同じ動物種及び系統を用いて実施した．主要なトキシコキネティクス試験と酵素誘導及び阻害に関する *ex vivo* 試験については，経済協力開発機構の GLP に従って実施した．

2.4.3.1　分析法

^{14}C-トラベクテジン（図 2.4.3.1-1）を投与した薬物動態試験では，切除した組織，器官及び排泄された試料中の放射能を液体シンチレーションカウンターで測定することにより放射能の組織

内分布，マスバランスを検討した．生体試料中のトラベクテジン及び代謝物は，紫外線検出器による高速液体クロマトグラフィーで検出し，液体クロマトグラフィー・質量分析法（LC/MS）又は液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（LC/MS/MS）法を用いて代謝物の構造確認及び解析を実施した（第 2.6.4.2 項）．



第 5.3.3.3.1 項 ET-A-013-01 CSR ANNEX 2 Final Report [redacted] Appendix 1

図 2.4.3.1-1 ^{14}C-トラベクテジン

マウス，ラット及びサルの血漿中トラベクテジン濃度の測定は，バリデーションされた高感度 LC/MS/MS 法を用いた．更に，サルの肝臓，腎臓，筋肉及び骨髄試料中のトラベクテジンは，バリデーションされた LC/MS/MS 法を用いて測定した（第 2.6.4.2.1 項）．

2.4.3.2　　吸収

トラベクテジンの薬物動態試験は，マウス，ラット，イヌ及びサルで実施した．

マウス及びラットに単回急速静脈内投与した場合，トラベクテジンの血漿中濃度は多相性を示して消失し，明らかな性差は認められなかった．持続静脈内投与の終了時に C_{max} に到達した後，血漿中濃度は急速に減少し，その後緩除な消失を示した．動物における全身クリアランス（CL）は肝血流量と比較して 1/3 程度から高い値であり，また最終相における分布容積（V_Z）又は定常状態における分布容積（Vd_{ss}）は大きく，広範囲の組織に分布していることが示唆された．最終相の消失半減期（$t_{1/2}$）は長く，サルでは約 2～10 日の範囲であった．間欠投与時の薬物動態は，ラット及びサルで，単回投与時と大きな差が無く，両動物種とも，血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）値が投与時期に依存していないことが示された．MTD までの曝露量は用量に依存して増加した（第 2.6.4.3 項）．ヒトのトラベクテジンの薬物動態は，これらの動物と類似しており，肝血流量の半分程度の CL，大きな Vd_{ss}，長い $t_{1/2}$ であった（第 2.7.2.3.2 項）．

2.4.3.3　　分布

ラットに ^{14}C-トラベクテジンの単回静脈内投与後，血漿中放射能濃度は最初に急速に低下し，その後緩除に減少した．血漿中の放射能に占めるトラベクテジンの割合は小さく，代謝物が多いことが示唆された．放射能の組織への分布は速やかで，脳及び精巣組織を除く大部分の組織へと広範囲に分布した．組織中の放射能はピークに達した後，緩除に減少した．最も高い放射能は消化管内容物及び肝臓で認められ，次いで脾臓，肺，腺組織，リンパ節，骨髄及び腎臓で高かった．単回静脈内投与後に組織中放射能の低下が緩除であったこと，及び ^{14}C-トラベクテジン投与後 7 日間においても雄及び雌の屍体中に投与放射能のそれぞれ 17.00%及び 42.10%残存していたことは，トラベクテジン及び（又は）その代謝物の消失が遅いことを示している．残存率の高さは雄

より雌のラットで顕著であり，雄と比較して雌のラットで強い全身毒性がみられた毒性所見と一致していた（第 2.6.6.3.2 項）.

担癌ヌードマウスでは，放射能は筋肉より乳腺及び乳腺に移植した MCF7（ヒト乳癌細胞株）腫瘍に高く分布し，滞留した．また，反復投与後のサルでは，肝臓，腎臓及び骨髄中のトラベクテジン濃度は血漿中濃度より高かった.

In vitro 試験の結果から，トラベクテジンは P 糖蛋白（P-gp）の基質であることが示された．P-gp ノックアウト［*mdr1a/1b*(-/-)］マウスによる試験では，脳中の放射能濃度は野生型（wt）と比較して 13 倍高かった．また，精巣，小腸，心臓などの放射能濃度も有意に高かった．更に，未変化体の濃度は *mdr1a/1b*(-/-)マウスの脳及び精巣で wt よりも高かったが，血漿又は肝臓では差はなかった．これらのデータは，トラベクテジン及びその代謝物の組織内分布に対する P-gp の関与を示唆している.

トラベクテジンの *in vitro* 血漿蛋白結合率は，検討したすべての動物種で高く，90～99%の範囲であった．ヒトにおける血漿蛋白結合率は，10～100 ng/mL の濃度範囲において 97.28～97.77%であり，濃度依存性は認められなかった．また，トラベクテジンの結合率はアルブミンで 86.03%，α1-酸性糖蛋白では 50 mg/dL で 90.06%，100 mg/dL で 96.67%であった．血液/血漿中濃度比は，各動物種で 0.69～1.51 の範囲（ヒトでは 0.89）であり，トラベクテジンは血球に分布することが示された.

妊娠ラットに投与された ^{14}C-トラベクテジン由来の放射能が胎盤を通過して胎児への移行が明らかとなった（第 2.6.4.4 項）.

2.4.3.4　　代謝

種々の動物の肝試料を用いたトラベクテジンの *in vitro* 代謝試験では，多くの代謝物の生成が確認された. ^{14}C-トラベクテジンの *in vitro* 代謝プロファイルは, サルがヒトと最も類似しており，ラットやイヌを含む他の動物種とは明らかに異なっていた．ヒトの代謝物はすべてサルでも認められた．同定された代謝物は，N-脱メチル体（ET-729），O-脱メチル体，酸素付加を伴ったものと伴わないカルボン酸体，1 個又は 2 個の酸素付加体，脂肪族開環体及び 1 個又は 2 個の酸素付加を伴った脱メチル体であった．臨床濃度のトラベクテジンの代謝に関与する主たるチトクローム P450（CYP）分子種は CYP3A4 であることが示された．ウリジン二リン酸グルクロン酸（UDPGA）を添加したサル及びヒトの肝ミクロソームでは，トラベクテジンはグルクロン酸抱合を受けなかった.

ET-729 は，マウスの血漿中の主要代謝物であった．また，ラットの胆汁中では，トラベクテジン及び ET-729 の排泄率は極めて低かったが, 雌性ラットの胆汁では雄性ラットよりも 5 倍高い量の ET-729 が確認された．更に，ラットの胆汁中にはトラベクテジンのグルクロン酸抱合体が確認された.

トラベクテジンを反復投与したラット及びサルの肝臓を用いた *ex vivo* 試験において, いずれの CYP 分子種についても酵素活性の誘導は認められず，逆に数種の代謝活性が両動物種で低下した（第 2.6.4.5 項）.

トラベクテジンの *in vitro* 代謝プロファイルがサルとヒトで類似していることから，ヒトにおけるトラベクテジン及びその代謝物の毒性を評価するために，最も適切で予測可能な動物種としてサルを選択した（第 2.6.6.3.4 項及び第 2.6.4.5.1 項）.

2.4.3.5　排泄

雄性ラットでは，^{14}C-トラベクテジン単回静脈内投与後 7 日間において糞中に投与放射能の 71.01%，尿中へ 2.01%排泄され，体内残存率は 17.00%であり，放射能の排泄は遅かった．雄性ラットと比較して，雌性ラットは更に遅い排泄を示し，投与後 7 日に投与量の 42.10%が体内に残存していた．胆管カニューレを施した雄性ラットにおける，^{14}C-トラベクテジン投与後の放射能の胆汁中排泄は 48 時間で 44%であり，上述の主排泄経路が糞中であることと一致した．マウスでも，^{14}C-トラベクテジン投与後の放射能は主として糞中に排泄された．特に，wt と *mdr1a/1b*(-/-)マウスとの間で尿中，糞中における総排泄量の差を認められず，トラベクテジン及び（又は）代謝物の排泄における P-gp の寄与は少ないことが示唆された（第 2.6.4.6 項）．

ヒトにおける ^{14}C-トラベクテジン投与後の放射能は投与後 17 日までに，糞中に 57.6%，尿中に 5.80%排泄され，動物の結果と同様に主排泄経路は糞中であった．尿及び糞中の未変化体は微量であった（第 2.7.2.2.2 項）．

トラベクテジンの乳汁中排泄試験は実施していない．

2.4.3.6　薬物相互作用

In vitro の蛋白結合実験の結果，アルブミン及び α1-酸性糖蛋白と結合する典型的な薬剤はその臨床濃度ではトラベクテジンの非結合率に影響を与えなかった．このことから，*in vivo* においても蛋白結合したトラベクテジンのこれらの薬剤による置換現象が生じる可能性は低いことが示唆された．血漿蛋白結合した他の薬剤に対するトラベクテジンによる置換についても，結合する血漿蛋白質の生理的濃度と比べて血漿中トラベクテジン濃度が低いことから，その可能性は低いと考えた．

In vitro 代謝の結果から，トラベクテジンの臨床濃度では，CYP3A4 がトラベクテジンの肝代謝に関与する主たる CYP 分子種であることが示された．臨床において，トラベクテジンと CYP3A 誘導剤又は阻害剤をそれぞれ併用投与した場合，血漿中トラベクテジン濃度がそれぞれ減少又は増加した（第 2.7.2.2.2.6 項及び第 2.7.2.2.2.7 項）．

In vitro で推定された，トラベクテジンの主要な CYP 分子種の酵素活性に対する最低阻害定数（K_i）値（約 0.75 μmol/L）は，癌患者における C_{max} 値（10 ng/mL 又は 13 nmol/L 未満）より極めて大きな値であることから，臨床においてトラベクテジンが主要な CYP 酵素の阻害を示す可能性は低いと考えられた．

ヒト初代培養肝細胞において，トラベクテジン（10 nmol/L）による主要なヒト CYP の mRNA の明らかな上昇は認められず，主要な CYP について酵素誘導を引き起こす可能性は低いと考えられた（第 2.6.4.5.3 項）．

また，トラベクテジンの臨床濃度を用いた *in vitro* 試験においてステロイド及び生体異物受容体（SXR）が拮抗されることから [28]，SXR に調節された代謝（例えば CYP3A4，UGT1A1）に対してトラベクテジンが *in vivo* で影響を及ぼす可能性については，現時点では否定できない．

mdr1a/1b(-/-)マウスでの組織分布の結果から，P-gp 阻害剤/誘導剤がヒトにおけるトラベクテジン及び（又は）その代謝物の体内分布に影響を及ぼす可能性については否定できない．P-gp 又は他のトランスポーター［例えば多剤耐性関連蛋白質 2（MRP2），胆汁酸トランスポーター（BSEP），乳癌耐性蛋白質（BCRP）など］に及ぼすトラベクテジンの影響は，現在のところ検討されていない（第 2.6.4.7 項）．

2.4.3.7 薬物代謝及び薬物動態の評価

In vitro 代謝データから，ヒトにおけるトラベクテジンの代謝プロファイルはラット及びイヌを含む他の動物種とは異なり，サルと類似していた．更に，*in vitro* においてヒト肝試料により生成するすべての代謝物はサルでも生成されることが示された（第 2.6.4.5.1 項）．これらの結果から，ヒトにおけるトラベクテジンの毒性を評価するのに最も予測可能な動物種としてサルを選択した．

トラベクテジンは，主として肝臓の CYP3A4 によって代謝される（第 2.6.4.5.1 項）．臨床において CYP3A の誘導剤又は阻害剤はトラベクテジンの曝露量を減少又は増加させること（第 2.7.2.2.2.6 項及び第 2.7.2.2.2.7 項）から，これらの薬剤とトラベクテジンを併用投与する場合には注意する必要がある．また，トラベクテジンは臨床で CYP を阻害する可能性が低いことが示されている．

2.4.4 毒性試験

すべての毒性試験は，それぞれの試験施設の関連する標準作業手順書に従って実施した．主要な試験は GLP に従って実施した．試験に関する情報を，毒性試験一覧表（表 2.4.4-1）に示した．

表 2.4.4-1　毒性試験一覧表

試験の種類	動物種/系統/ 試験系，性	投与方法	GLP 適用	試験番号	記載箇所
単回投与毒性試験					
単回	マウス/MF1，雄	静脈内投与	適	[redacted]	4.2.3.1.1
	ラット/Fischer 344，雌雄	静脈内投与	適	[redacted]	4.2.3.1.2
	ラット/SD，雌雄	静脈内投与	適用外	[redacted]	4.2.3.1.3
	ラット/SD，雌雄	静脈内投与	適	[redacted]	4.2.3.1.4 4.2.3.1.5
	イヌ/ビーグル，雌雄	静脈内投与	適	[redacted]	4.2.3.1.6
げっ歯類を用いた反復投与毒性試験					
5 日間	マウス/CD_2F_1，雌雄	静脈内投与	適	[redacted]	4.2.3.2.1
1 回/3 週，3 サイクル	ラット/SD，雌雄	静脈内投与	適	[redacted]	4.2.3.2.2 4.2.3.2.3
非げっ歯類を用いた反復投与毒性試験					
5 日間	イヌ/ビーグル，雌雄	静脈内投与	適用外	[redacted]	4.2.3.2.4
1 回/3 週，4 サイクル	サル/カニクイ，雌雄	静脈内投与	適	[redacted]	4.2.3.2.5
			適用外	[redacted]	4.2.3.2.6
1 回/1 週×3 回，3 サイクル 1 回/3 週，4 サイクル	サル/カニクイ，雌雄	静脈内投与	適	[redacted]	4.2.3.2.7 4.2.3.2.8
1 回/3 週，4 サイクル	サル/カニクイ，雌雄	静脈内投与	適用外	[redacted]	4.2.3.2.9
1 回/3 週，4～8 サイクル	サル/カニクイ，雌雄	静脈内投与	適	[redacted]	4.2.3.2.10
遺伝毒性試験					
In vitro 遺伝毒性試験					
復帰突然変異試験	ネズミチフス菌株，大腸菌株	*in vitro*	適	[redacted]	4.2.3.3.1.1
染色体異常試験	CHO 細胞	*in vitro*	適	[redacted]	4.2.3.3.1.2
In vivo 遺伝毒性試験					
小核試験	マウス/ICR，雌雄	静脈内投与	適	[redacted]	4.2.3.3.2.1
生殖発生毒性試験					
胚・胎児発生に関する試験	ラット/SD，雌	静脈内投与	適用外	[redacted]	4.2.3.5.2.1
	ラット/SD，雌	静脈内投与	適用外	[redacted]	4.2.3.5.2.2
	ウサギ/NZW，雌	静脈内投与	適用外	[redacted]	4.2.3.5.2.3
	ウサギ/NZW，雌	静脈内投与	適用外	[redacted]	4.2.3.5.2.4
局所刺激性試験					
血管刺激性に関する試験	ウサギ/NZW，雄	静脈内投与 静脈傍投与	適	[redacted]	4.2.3.6.1
	ウサギ/NZW，雌	静脈内投与	適	[redacted]	4.2.3.6.2
その他の毒性試験					
肝細胞に対する検討	マウス，ラット，サル及びヒトの肝初代培養細胞	*in vitro*	適用外	[redacted]	4.2.3.7.3.1
肝細胞に対する検討	マウス，ラット，サル及びヒトの肝初代培養細胞	*in vitro*	適用外	[redacted]	4.2.3.7.3.2
代謝物の毒性試験	マウス/CD-1，雌雄	静脈内投与	適用外	[redacted]	4.2.3.7.5.1
不純物の毒性試験	ラット/SD，雌雄	静脈内投与	適	[redacted]	4.2.3.1.4 4.2.3.1.5
不純物の毒性試験	ラット/SD，雌雄	静脈内投与	適	[redacted]	4.2.3.7.6.1
不純物の毒性試験	ラット/SD，雌雄	静脈内投与	適	[redacted]	4.2.3.7.6.2
不純物の毒性試験 製剤の毒性試験	ラット/SD，雌雄	静脈内投与	適用外	[redacted]	4.2.3.7.6.3

CHO 細胞：チャイニーズハムスター卵巣細胞，NZW：ニュージーランドホワイト

2.4.4.1　単回投与毒性試験

トラベクテジンをマウス，ラット及びイヌに単回静脈内投与し，毒性プロファイルを精査し，MTD を決定した．トラベクテジンは単回急速静脈内投与若しくは 3 時間又は 24 時間の持続静脈内投与として投与した．

単回投与後の MTD は，雄性マウスでは 100 µg/kg/day，雄性ラットでは 75 µg/kg/day，雌性ラットでは 50 µg/kg/day，雌雄のイヌではいずれも 27 µg/kg/day であった．

一般状態の変化として，下痢，嘔吐，食欲不振，嗜眠，体重減少などを認めた．トラベクテジンの主要な毒性は骨髄抑制であり，すべての動物種で骨髄細胞減少に関連した好中球数，血小板数及び白血球数減少又はリンパ系組織の萎縮が認められた．更にトランスアミナーゼ値の増加や限局性肝細胞壊死を特徴とする肝毒性も認め，げっ歯類及びイヌでは，急性胆管炎及び胆管上皮増殖などを認めた．この毒性はラットでは不可逆的で，特に雌性ラットでその程度は強かった．種差及び性差は，トラベクテジンの細胞毒性に対する感受性の差に関連している可能性があるが，代謝プロファイル，トラベクテジン関連物質の（肝胆道系の）排出率や体内残留の差，又はこれらの要因が複合的に影響する可能性があると考えた．げっ歯類では，病理組織学的検査で消化管の壊死又は萎縮及び潰瘍，膵腺房の単細胞壊死及び投与部位の炎症を認めた．

2.4.4.2　ラット及びサルの反復投与毒性試験

カニクイザルの *in vitro* 代謝プロファイルは，ヒトと質的に類似しており，ラット及びイヌとは著しく異なっていることから，主要な毒性試験としてサルの毒性試験を設定した．更に，サルの一般毒性プロファイルは，げっ歯類及びイヌよりヒトに類似していることが示された．サルでの用量制限毒性は，主として骨髄抑制であり，可逆的及び非蓄積的な肝毒性を伴い，また胆管障害を伴う場合でも限定的であった．

臨床の投与スケジュールであるトラベクテジンを 3 週間ごとに 1 回の反復静脈内投与（急速投与，3 時間又は 24 時間持続投与）試験は，ラット及びサルでそれぞれ 6 週間及び 21 週間以内の投与期間で行った．

ラットでは，50 µg/kg/day の用量で死亡し雄より雌で高い発生率であった．雌雄の反復投与による MTD は 25 µg/kg/day であった．また，体重減少も認められた．トラベクテジン投与により用量依存的な肝毒性を認め，その特徴はトランスアミナーゼ値，アルカリホスファターゼ（ALP）値及びビリルビン値の増加，限局性の肝細胞壊死，胆管の炎症及び増殖などであった．これらの変化の大部分は最終投与の 3 週間後でも回復性を示さず，雌では顕著に認められた．骨髄抑制の特徴は，骨髄細胞減少及びリンパ系組織のび漫性萎縮であった．これらの変化は，各投与サイクルの終了後に回復性を示した．更に，注射部位の炎症及び壊死，消化管の単細胞壊死，潰瘍及び上皮萎縮を認めた．

サルの 3 週間ごとの反復静脈内投与では，35 µg/kg/day 以上の用量で死亡し，MTD は雌雄とも 25 µg/kg/day であった．骨髄抑制の特徴は，リンパ系器官の細胞減少及び骨髄の細胞減少を伴った貧血，好中球数，血小板数及び白血球数減少であった．わずかに蓄積的であった貧血以外では，これらの変化のほとんどは次回の投与サイクルまでに少なくとも部分的に回復した．投与部位の用量依存的な局所刺激性により，隣接組織に及ぶ重度の血栓性静脈炎を認めた．サルの肝毒性はラットよりも明らかに軽度であり，系統だった肝毒性の変化も認めなかった．更に，サルでの肝毒性は可逆的で非蓄積的であり，その特徴はトランスアミナーゼ値の一過性の増加，まれにみられた ALP 値の増加，肝細胞肥大，肝細胞変性及び壊死，類洞及び門脈域の混合性の炎症性細胞浸

潤などであり胆道系の障害は伴っていなかった．腎臓の尿細管拡張は，上皮の扁平化及び軽度の上皮変性又は壊死を伴い，高用量の一部の動物で認めた．結腸・直腸の限局性の壊死性潰瘍も認められ，最初の投与サイクル後に安楽死させるか，死亡が発見された動物では，腸管の細菌媒介性の炎症，出血及び壊死性病変を伴うこともあった．

カニクイザルで認められた毒性はモニタリングすることができ，用量反応関係がみられ，また投与中止後に回復性を示した．

トキシコキネティクス評価は，トラベクテジンの反復静脈内投与毒性試験に関連してラット及びサルで行った．ラットとサルの遊離未変化体の曝露を比較するとサルの曝露の方が高かった．ラット及びサルのいずれにも，トラベクテジンの C_{max} 及び AUC に明らかな性差はみられなかった．ラットでみられたトラベクテジンの代謝及び肝胆道系排泄における明らかな性差は未変化体の血漿中曝露に関連していなかった．動物の MTD での曝露量と臨床用量の曝露量を比較した場合，トラベクテジンの曝露はヒトよりも動物の方が低かった．動物の曝露がヒトの曝露より低いことは抗悪性腫瘍剤ではまれな所見ではない [29]．

トラベクテジンの主要な毒性学的変化と臨床の安全性データとの関連性を評価し，以下の項で考察した．

2.4.4.3　毒性所見の考察

2.4.4.3.1　死亡及び安全域

すべての動物種で単回静脈内投与後 3～11 日の期間内に死亡を認めた．死亡原因は，主として顕著な好中球数減少，胃腸及び肝臓の毒性に関連していた．特に雌性ラットで肝臓に顕著な影響を認めた．静脈内投与の投与時間（急速，3 時間又は 24 時間持続静脈内投与）は，MTD に影響を及ぼさなかった．

反復投与毒性試験の投与スケジュールは臨床での投与スケジュールにあわせ，3 週間ごとに 3 時間又は 24 時間の持続静脈内投与とした．トラベクテジン 50 μg/kg/day をラットに反復投与した結果，3 サイクル中のサイクル 2 以降に死亡を認め，骨髄抑制，肝細胞壊死，腸管上皮の潰瘍，一部の組織の出血などを認めた．サルでは，35 μg/kg/day 以上の投与群で認めた死亡（又は倫理的な理由による安楽死）は，主として 2 つの原因に関連していた．死亡原因の 1 つは，2 回又は 3 回投与後に認めた重度な好中球数減少で，通常は食欲不振，嗜眠，貧血を伴い，更に腸管，時には肺，肝臓及び心臓を含めた細菌性の出血性病変及び壊死性病変であった．もう一方の死亡原因としては，その後の投与でみられた投与部位局所の顕著な炎症及び壊死（周囲組織に影響が及ぶ皮膚潰瘍又は重度の深部静脈血栓症など）並びに（又は）投与部位における炎症性変化の二次的変化である水腎症などにより死亡した，又は安楽死させた．マウス，ラット及びサルでは，無毒性量を決定することができなかった．

毒性試験での投与用量は臨床用量よりも低く，非臨床での動物の MTD での曝露量と臨床用量の曝露量を比較した場合，トラベクテジンの曝露はヒトよりも動物の方が低かった（表 2.6.6.9-1）．

2.4.4.3.2　一般状態及び体重

ラットでは体重及び摂餌量の減少を認め，消化管及び造血器系の毒性に関連している可能性が高いと考えた．

サルにトラベクテジンを単回投与したところ，MTD 以上の用量で嘔吐，下痢及び自発運動の低下を認めた．同様に反復投与したところ MTD 以上の用量で，安楽死の前に嗜眠，下痢及び食欲不振を認めた．

患者ではこれらに対応する有害事象として，疲労などの全身症状や下痢，嘔吐及び食欲不振といった消化器症状が報告されている．

2.4.4.3.3　生化学的検査

ラット及びサルで認められた生化学的変化の大部分は，肝毒性（肝機能検査，脂質）又は腎臓を含む局所刺激性［アルブミン値及び無機リン値の減少，尿素窒素（BUN）値及びクレアチニン値の増加］と関連している．

サルで散見されたクレアチンホスホキナーゼ（CPK）値の増加は，採血に必要であった拘束処置[30]及び（若しくは）MTD 以上の用量による投与部位の筋肉壊死又は瀕死前の状態に関連していると考えた．ラット又はサルでは投与部位から離れた筋肉に横紋筋融解を示唆する病理組織学的変化は認めなかった．

患者では肝機能検査値異常及び横紋筋融解症が報告されている．横紋筋融解は不可逆的な状態となるリスクがあるため，CPK 値の適切なモニタリングが必要である．

2.4.4.3.4　造血器系

DNA と作用する多くの薬剤と同様に，骨髄抑制がトラベクテジンの主な毒性であり，またラット及びサルで確認された主要な死亡原因の 1 つである．*In vitro* では，トラベクテジンは造血前駆細胞の増殖を抑制し，血小板数減少を示唆する CFU-Meg に対する細胞毒性も高く，*in vivo* の観察所見と一致する．更に，好中球数，白血球数及び血小板数減少は，サルではトラベクテジン投与後 3 日以内に認められ，投与後 7～10 日にそれぞれの検査値が最も低値を示した．非致死用量では，3 週間以内に回復傾向を認めた．サルでは蓄積的な貧血も報告された．

反復投与後に，数匹のサルは顕著な好中球数減少，貧血，全身状態の不良，嗜眠，胃腸の潰瘍を伴って死亡し（又は瀕死により安楽死させ），発熱を伴っている場合もあった．病理組織学的検査では，胃腸の炎症及び壊死を認め，これによって細菌性腹膜炎を起こし，他の器官（肝臓，肺）に多発性の細菌塊を伴う場合もあった．これらの死亡は，主としてサイクル 1～3 の投与期間内にみられ，顕著な好中球数減少による二次的な全身性細菌感染によるものと考えた．

ラットの単回投与又は反復投与毒性試験において，トラベクテジンの造血器系に対する毒性は雄よりも雌の方がその程度は強かった．ラットにおいてトラベクテジンの血漿中の曝露量に明らかな性差はなかった．一方，ラットにおいてトラベクテジン及び代謝物が各組織に分布することが示されており，消化管内容物及び肝臓，脾臓，肺，腺組織，リンパ節，骨髄及び腎臓の順でその程度が高く，残存率の高さは雄より雌で顕著であった．造血器系に対する毒性の性差はトラベクテジン及び代謝物の組織内の残存率の差による可能性も考えられたが，詳細は不明であった．

患者では，好中球数減少，血小板数減少，貧血及び発熱性好中球減少症が報告されており，好中球数減少による二次的な全身性細菌感染のリスクもあるため十分に注意すべきである．

2.4.4.3.5　肝臓

トラベクテジンは，ヒトを含め，毒性試験に使用したすべての動物種で肝毒性を誘発する．しかし，肝毒性のパターンは，肝胆道系における持続的及び蓄積的な肝細胞障害を示すげっ歯類及

びイヌから，可逆的なトランスアミナーゼ値の増加及び限定された肝細胞障害を示すサルまで，肝毒性の程度に差が認められた．

In vitro では，マウスの細胞はラット及びサルの肝細胞より感受性があり，また雌性ラットの細胞は雄性ラットから分離した細胞より感受性が高かった．ヒトの肝細胞での細胞毒性は変動が大きかった．

ラットでは，生化学的変化は特に雌でその程度が強く，また，反復投与によって増強した．肝胆道系の病理組織学的変化は持続的であり，ラットでは肝臓及び胆道系の障害は蓄積的で不可逆的であることを示唆している．

マウス及びイヌでは，肝臓及び胆道系の変化を認め，マウスでは病理組織学的変化は可逆的であったが，イヌでは臨床検査値の変化及び一部の肝臓病変は投与後 36 日でも認めた．

サルでは，主として MTD 以上の用量で一過性のトランスアミナーゼ値の増加及び軽度な限局性の肝臓壊死（肝細胞肥大，胆道系障害を伴わない）を認めたが，低用量の反復投与後ではごく散発的であり，またいずれの試験でも肝毒性の変化は系統だって認められなかった．トランスアミナーゼ値が増加した場合でも，投与サイクルの反復によって低下傾向を示した．65 μg/kg/day 投与群の雌雄各 1 匹で，背景データの変動を越えた ALP 値の増加を認めたが，相関する肝胆道系の病理組織学的変化を伴っていなかった．

ラットでは，トラベクテジンによる不可逆的で蓄積的であり重篤な胆道系の組織の障害を認めたが，サルでの肝毒性は可逆的で蓄積性を認めず，胆道系障害がみられた場合でも限定的であった．これは，トラベクテジンによる肝毒性の発現には，大きな種差があることを示している．更に，肝毒性の明らかな性差がラットでみられ，雌性ラットは感受性が強かった．サルではそのような性差はみられなかった．

肝毒性の *in vivo* プロファイル及び *in vitro* 肝臓代謝との類似性を考慮すると，トラベクテジンの毒性を評価するためには，カニクイザルが最も適切で外挿性のある動物種と考えた．

患者では，トラベクテジン投与による肝機能検査値の異常は主として可逆的で非蓄積的なトランスアミナーゼ値の増加であった．適切な患者を選択し，肝機能検査のモニタリング及び必要に応じてトラベクテジンの減量や次サイクルまでのインターバルを延長することで安全にトラベクテジンを投与できると考えた．

2.4.4.3.5.1　　肝毒性の種差及び性差

トラベクテジンによる肝毒性には種差，更にラットでは性差を認めた．

In vitro 代謝プロファイルの質的な差に加えて，ある種の CYP 酵素の *in vivo* 発現量はラットでは性差があることが知られている．このため雌と比較して雄で高い CYP3A2（ヒト CYP3A4 のげっ歯類での相同体）の発現が影響している可能性があると考えた．トラベクテジンの代謝では CYP3A が顕著な役割を果たすことから，ラットでは *in vivo* の CYP3A 発現における性差[31]が，肝毒性プロファイルの性差の一因になっている可能性もある．

トラベクテジンの代謝物 ET-729 は，トラベクテジンによる肝毒性で認められた種差及び（又は）性差に関与する主要な肝毒性物質の可能性が考えられる[32]．しかし，ET-729 は雌雄のマウスの重要な代謝物であるが，雌雄ともにマウスでは不可逆的な肝毒性を生じないため，ET-729 がラットの肝毒性に対する主要な原因物質とは考えにくい．更に *in vitro* 試験では，ET-729 及びトラベクテジンは類似した細胞毒性を示す．これらのことより ET-729 はトラベクテジンによる肝毒性に重要な役割を果たしているかは不明である．

ラットを含め検討した動物種のいずれでも，トラベクテジンの全身曝露量に顕著な性差はみられなかった．しかし，血漿及び組織中の薬物関連物質のうち未変化体の分画はわずかであるため，未変化体の全身曝露量にはトラベクテジンの代謝や組織内分布の差が正確に反映されていない可能性もある．

代謝に加えて，肝臓の取込みや肝胆道系の排泄などの他の要因が，トラベクテジンによる肝毒性で認められた種差及び（又は）性差と関係している可能性がある．ラットのデータから，雌は雄と比べて肝臓に高い割合でトラベクテジン及び代謝物が分布することが示された．また，雌ではトラベクテジン関連物質の排泄の程度が低いことが示された．薬物の取込み及び排出に関係する重要なトランスポーターは，雌雄のラットで発現に差があることが知られている[33, 34]．雌性ラットではP-gp発現量が低いため，排泄で認められた性差と関係していることが示唆されている[32]．しかし，トラベクテジン及びその代謝物の（肝胆道系）排泄におけるP-gpトランスポーターの役割が小さいことを考慮するとP-gp発現の性差はおそらく大きな影響はないと考えた．

トラベクテジンによる肝毒性の種差，更にラットにおける性差の原因は明らかになっていないが，トラベクテジンとその代謝物の代謝及び（又は）排泄における種差及び（又は）性差を含め，いくつかの要因に関連している可能性がある．

2.4.4.3.5.2　デキサメタゾンの肝毒性軽減作用

雌性ラットでは，デキサメタゾン（5～10及び20 mg/kg，経口投与）の前投与（24時間前）によってトラベクテジンによる肝毒性が軽減した[35]．

デキサメタゾンの前投与では肝臓のトラベクテジン濃度が明らかに減少した（10 mg/kgで約1/5）が，血漿中のトラベクテジン濃度は変化しなかった．これらのことから雌性ラットにおけるデキサメタゾンの肝毒性軽減作用は，血漿又は肝臓のトラベクテジン濃度と明確な関連性はないと考えられた．更に，デキサメタゾンの投与によってもトラベクテジンの抗腫瘍作用は妨げられなかった[35]．

デキサメタゾンの肝毒性軽減作用は現在，十分には解明されておらず，その作用は，用量，投与スケジュールや経路，動物種などを含む様々な要因に依存している可能性がある．デキサメタゾンは，酵素又はトランスポーターに及ぼす作用，転写因子の活性化，抗炎症作用などを含む多面的な薬理活性を有しており，それらのいずれもトラベクテジンの肝毒性作用に対するラット及びヒトの肝臓の保護能に関与している可能性がある．

デキサメタゾンの事前投与は嘔吐予防のために臨床でも一般的に使用するレジメンであり，非臨床試験の結果からデキサメタゾンの前投与はトラベクテジンの肝毒性を軽減する可能性も考えられた．

2.4.4.3.6　腎臓

サルでは末梢静脈からトラベクテジンを反復投与した数匹に，軽度の尿細管上皮の変性又は壊死を伴ったごく軽微から中等度の腎尿細管の拡張を認めた．一方，トラベクテジンを中心静脈カテーテル（カテーテル留置部：大腿静脈から腎臓近辺の下大静脈）によって投与した動物では，線維化を伴った顕著な間質性炎が片側性に，時には両側性に認められ，尿細管上皮の好塩基性化及び腎盂拡張を伴っていた．尿管の拡張と尿管及び腎盂移行上皮の過形成は，これに関連したものと考えた．しかし，投与経路を大腿静脈から行った場合にはこれらの病変は主として片側性であり，投与部位と同側の腎臓に病変を認めたことから，カニューレを挿入した静脈に発現した重

度の血栓性静脈炎による二次的なものであるか，又はカテーテルを中心静脈に留置した場合は下大静脈の血栓性静脈炎によって生じた炎症に起因するものであった．

患者では，トラベクテジンによる腎障害に関連する副作用は軽度のクレアチニン値の増加及びクレアチニン・クリアランス減少が報告されている．

2.4.4.3.7　消化管

ラット，イヌ及び（又は）サルで，下痢，消化管の単細胞壊死，潰瘍及び上皮萎縮を認めた．安楽死させた動物又は瀕死の動物では，これらの所見は顕著で，腹膜炎にまで及んでいた．

患者では，主な消化管障害として便秘，下痢，悪心，口内炎及び嘔吐が報告されている．

2.4.4.3.8　その他の毒性

ラット，イヌ又はサルでは，ごく軽微な膵腺房の脱顆粒，壊死又はアポトーシスを主として単回投与後に認めた．これらの所見の臨床的意義は不明である．これまでのところ，膵臓の機能障害に関連した副作用は，国内臨床試験では報告されていないが，海外の臨床使用下では例数は少ないものの報告されている．毒性試験で認めた膵臓の変化は膵腺房細胞の萎縮，壊死又はアポトーシスといった退行性変化であったため，臨床で認めた膵臓の変化（膵炎など）は毒性試験でみられた変化とは異質なものと考えた．

2.4.4.3.9　局所刺激性

トラベクテジンの臨床製剤による投与部位の刺激性は，静脈内又は静脈傍組織内に単回及び反復投与した雄又は雌のニュージーランドホワイトウサギで検討した．単回静脈内投与では，限局性の類線維素壊死及び上皮の壊死を伴った用量依存的な亜急性炎症及び浮腫を認めた．反復静脈内投与（4 回）では，局所刺激性が増強した．静脈内投与後では潰瘍は認めなかった．1 及び 10 μg/kg/day（総容量 0.3 mL で 2.5 及び 25 μg/mL に相当する濃度）のトラベクテジンを静脈傍組織に単回投与した場合，顕著な刺激性（投与部位の腫脹，軽度から重度の紅斑，血腫及び血管拡張）を認め，病理組織学的には潰瘍，限局性の類線維素壊死，皮膚上皮の壊死，亜急性炎症，浮腫などを認めた．

マウス，ラット及びサルで行った一般毒性試験においても，静脈内投与の反復後に投与部位の用量依存的な限局性の炎症を認めた．

サルにおける 4 サイクル以下の反復投与毒性試験（大腿静脈の血管アクセスポートによる 3 週間ごと又は週 1 回投与）では，末梢カテーテルを用いたが，投与部位に重度の限局性の炎症反応を認めた．サイクル 3 及び（又は）4 の投与後では，数匹のサルに投与部位の腫脹，発赤，硬化などを認め，これは最終的に有痛性の壊死性病変をもたらした．3 週間ごとに 50 及び 70 μg/kg/day を 1 回投与したサル 16 匹中 7 匹は，サイクル 3 又は 4 の投与後に死亡した．血管アクセスポートの部位又は投与部位に不耐性変化（医学的問題となるような変化）がみられる前に，通常軽度な体温上昇を認めた．また，用量依存的な腎症も報告された（主として片側性であったことから，おそらくカニューレを挿入した静脈で認めた重度の血栓性静脈炎による二次的なものと考えた）．

大静脈に留置した中心静脈カテーテルを用いたサルの反復投与毒性試験（3 週間ごとの 3 時間静脈内投与）では，50 及び 65 μg/kg/day 投与群において 16 匹中 8 匹は一般状態の変化（後肢や仙骨部などの下半身の腫脹，自発運動の減少及び食欲減退）を伴い，4 回目投与時又は投与直後に死亡した．血液学的及び生化学的検査では，白血球数と好中球数，BUN 値及びクレアチニン値の増加並びにアルブミン値の中等度の減少を認めた．これらの動物では，カテーテル先端部とその

上方及び下方に，顕著な血栓症による血管内腔の閉塞を多く認め，また顕著な壊死とともに著しく広範性の血管周囲炎及び線維化を伴い，尿管，腎臓，肝臓，腹筋，横隔膜，神経及び血管などを含む周囲組織にも影響を認めた．

上記の死亡原因は主として周囲組織（腎臓）の重度な障害を伴った投与部位の局所刺激性に関連するものと考えた．

トラベクテジンが静脈内腔から血管周囲組織に漏出すると，他の DNA 作用薬（例えばマイトマイシン C，ダウノルビシンなど）と同様に，物理化学的特性に関連した直接損傷を引き起こすだけでなく，組織内に滞留し DNA と結合することによって持続的な組織障害をもたらす可能性があると考えた[36]．ほとんどの場合，重度の血栓性静脈炎及び浮腫は時間経過とともに悪化する進行性の潰瘍をもたらした．

反復投与毒性試験に供したカニクイザルの体重は約 2～3 kg であったことから，トラベクテジンに対する局所の炎症反応の重症度が，成人の臨床試験で認めたものより強い可能性もある．

患者では，トラベクテジンは中心静脈カテーテルを用いて上大静脈内に直接投与される．血管外漏出に関連した有害事象に注意する必要がある．

2.4.4.3.10　遺伝毒性試験

トラベクテジンの遺伝子変異誘発能及び染色体異常誘発能を検討するため，微生物（ネズミチフス菌株及び大腸菌株）を用いる復帰突然変異試験，*in vitro* 染色体異常試験，*in vivo* マウス小核試験を行った．その結果，トラベクテジンは *in vitro* 及び *in vivo* 試験系で遺伝毒性を示した．

遺伝毒性試験の陽性結果は細胞障害性化学療法剤では予想されることであり，また一般的にがんの治療を目的とした薬剤では慎重に用いれば許容できると考え，特に前治療が無効であった進行又は転移病変がみらるような予後がきわめて限られた患者では許容できると考えた．

2.4.4.3.11　生殖発生毒性試験

2.4.4.3.11.1　催奇形性

トラベクテジンは，ラット又はウサギでは胚毒性又は催奇形を示さなかった．母体毒性の無毒性量は，ラットでは 0.5 μg/kg/day，ウサギでは 0.3 μg/kg/day であった．用量依存的な毒性は，ラットでは 2.5 μg/kg/day からみられ（すなわち体重又は体重増加量若しくは両方の明らかな減少），ウサギでは 0.75 μg/kg/day からみられた（注射部位の刺激性）．胎児におけるトラベクテジンの無毒性量は，ラットでは 0.1 μg/kg/day，ウサギでは 2 μg/kg/day であった．

母体に対する毒性のために，生殖発生毒性試験で用いた投与量は体表面積に基づいた国内の臨床用量の 1.2 mg/m^2 より低い用量が投与の限界であった．ラットの生殖毒性試験の最高用量は 15 μg/m^2（2.5 μg/kg/day）であったが，ラットの反復投与毒性試験の同用量のトキシコキネティクス結果より C_{max} は 0.154 ng/mL，AUC はほとんどの計測時点で検出限界以下であったため計算できなかった（表 2.6.6.3.2.1-2）．一方，国内の臨床用量（1.2 mg/m^2）の曝露量（C_{max}：1.66 ng/mL，AUC：66.0 ng•h/mL）（表 2.6.6.9-1）と比較すると，ラットの胚・胎児発生に関する試験でのトラベクテジン曝露量は，臨床曝露量と比較してはるかに低かった．一方，ウサギの血漿中濃度は測定していないが，3 週間ごと 1 回投与である臨床用量（1.2 mg/m^2）と比較して器官形成期（妊娠 7 日～20 日）の連日投与したウサギの投与量は 24 μg/m^2（2 μg/kg/day）と著しい低値であった．したがって，これらの試験の結果はトラベクテジンのヒトの妊娠に対する危険性を適切に評価できていない可能性が高い．

2.4.4.3.11.2　雄及び雌の受胎能，出生前及び出生後の発生に及ぼす影響

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施していない．しかし，反復投与毒性試験で認めた生殖腺の病理組織学的変化は限定的［雄性ラットの精巣上体の細胞残屑，精上皮の変性及び精子巨細胞の出現，雌性ラットの性周期の若干の遅延（周期性のわずかな低下）並びに雄性サルの未熟精巣］であったが，トラベクテジンの細胞障害性及び遺伝毒性により生殖能が影響を受ける可能性が高い．したがって，臨床使用では適切な注意を払う必要がある．

出生前及び出生後の発生に関する試験は実施しなかった．

2.4.4.3.12　[redacted]及び[redacted]原薬の安全性評価

[redacted]又は[redacted]トラベクテジン原薬を用いた製剤による作用を比較するために，ラットの毒性試験を行った．トラベクテジンの[redacted]物及び[redacted]物を 300 μg/m^2（50 μg/kg）用量で 3 時間持続静脈内投与によって単回投与した結果，類似した毒性プロファイルを示した．

2.4.4.3.13　代謝物ET-729 及び不純物の安全性評価

CD-1 マウスでのトラベクテジンとその代謝物 ET-729 の単回静脈内投与による比較試験の結果より，マウスは代謝物に対してわずかに強い感受性を有していると考えた．ET-729 の MTD は，雄及び雌で 100 μg/kg/day であり，トラベクテジンの MTD は雄で 225 μg/kg/day，雌で 250 μg/kg/day であった．CD-1 マウスの単回急速静脈内投与による薬物動態試験では，血漿中薬物動態は ET-729 とトラベクテジンは類似し顕著な性差を認めなかった．なお，海外臨床試験ではトラベクテジン投与患者の血漿中 ET-729 濃度は定量下限未満であった．

一般状態，血液学的及び病理組織学的変化は，[redacted]トラベクテジン製剤を投与したラットと不純物 B*（[redacted]%）を添加した[redacted]トラベクテジン製剤を投与したラットで類似していた．同様に，[redacted]トラベクテジンの毒性プロファイルと不純物 C*（[redacted]%）及び不純物 F*（[redacted]%）を添加した[redacted]トラベクテジン製剤，不純物 D*（[redacted]%）及び不純物 E*（[redacted]%）又は不純物 A*（[redacted]%）を添加した[redacted]トラベクテジン製剤の毒性プロファイルは概ね類似していた．

2.4.4.3.14　毒性評価

トラベクテジンの毒性は，げっ歯類及び非げっ歯類（イヌ）での単回投与毒性試験又は 9 週間及び 12 週間以下の反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，生殖発生毒性試験などを含め，包括的な一連の試験で評価した．特にラットの肝毒性を評価するために行った *in vitro* 及び *in vivo* の毒性発現機序に関する試験を追加し情報を得た．更に，不純物の毒性評価，[redacted]と[redacted]トラベクテジンの比較とともに，2 種類の製剤/原薬の局所刺激性（[redacted]を用いた製剤の[redacted]トラベクテジンと[redacted]を用いた製剤の[redacted]トラベクテジンの比較）について，非臨床の安全性試験を行った．

カニクイザルをトラベクテジンの毒性評価に対する主要な動物種として選択した．カニクイザルは毒性試験に広く使用される動物種であり，更にトラベクテジンの薬物動態及び代謝データに基づくと，カニクイザルはヒトでのトラベクテジンの毒性評価に対する外挿性が優れているものと考えた．更に，サルへの投与では単位用量当りの曝露量がラットより高値である（表 2.6.6.9-1）．したがって，サルはラットよりヒトの毒性を予測する代表的な動物モデルであると考えた．更に，胚胎児の発生に関する試験はラット及びウサギで評価し，不純物及び製剤添加物の安全性評価はラットで，代謝物及び遺伝毒性試験はマウスで試験を行った．

トラベクテジンで認められた毒性の大部分は，トラベクテジンの細胞毒性に関連している可能性が高く，動物種の感受性による差も大きいことを示唆している．毒性の標的器官を特定し，また様々な投与スケジュールを用いて長期投与の実現性への可能性を評価し，毒性の回復性についても評価した．サルの主な用量制限毒性は，好中球減少症及び投与部位の局所刺激性であった．患者では，好中球数をモニタリングし，用量減量，次サイクルまでのインターバルの延長，臨床的に必要な場合には抗生物質や他の支持療法などを含め，副作用発生の予防又は治療管理を行う．毒性試験ではこれらの処置を行わなかったため，サルの最初の投与サイクルで死亡が発生した可能性もある．サルにおける第二の用量制限毒性は投与部位における局所刺激性であり，これは主として動物の体重及び静脈径のサイズが小さいことに関連している可能性が高い．患者ではトラベクテジンを中心静脈から投与するため，投与部位の局所刺激性の発現は低いと考える．

これらの用量制限毒性のため毒性試験での投与用量は臨床用量よりも低く，非臨床での動物のMTD での曝露量と臨床用量の曝露量を比較した場合，トラベクテジンの曝露はヒトよりも動物の方が低かった（表 2.6.6.9-1）．

サルは臨床で起こり得るトラベクテジンの有害作用を推測するのに適切な外挿性を有していると考えた．毒性は用量反応関係がみられ，いずれの変化も容易にモニタリングすることができ，少なくとも部分的に回復性があることが示された．臨床試験でトラベクテジンに関連した発生頻度の高い有害事象はサルの毒性試験の結果とよく相関していた．

2.4.5　総括及び結論

トラベクテジンは，既存の抗悪性腫瘍剤とは異なる新規の DNA への結合様式を示す化合物である．トラベクテジンの抗腫瘍効果発現に関する複雑な機序は完全には解明されていないが，トラベクテジンが DNA の副溝部分と結合することが抗腫瘍効果を発揮するための最も重要な薬理作用であると考えられる．トラベクテジンは DNA と結合し，NER 及び HR 経路の制御だけでなく，染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞で認められる融合タンパク質をはじめとする様々な転写因子の機能を阻害することで，細胞増殖に関与する遺伝子群の転写制御を行うことが示唆された．これらの薬理作用を介して，細胞周期の異常を発生させ，最終的にアポトーシスを誘導し細胞死を招くと考えられた．アポトーシスの誘導は，腫瘍内の癌細胞だけでなく単核食細胞系を含む微小環境を構築する細胞に対しても認められることが併せて示唆された．

トラベクテジンは，*in vitro* で様々なヒト腫瘍細胞に対して他の抗悪性腫瘍剤よりも高い増殖抑制効果を示し，染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株に対しては，染色体転座陰性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株より高い増殖抑制効果を示した．*In vivo* では染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞株を含むヒト腫瘍細胞株のヌードマウス皮下移植モデルにおいてトラベクテジンの抗腫瘍効果を認め，更にその用量反応性を確認した．

トラベクテジンと他の抗悪性腫瘍剤との併用について，*in vitro* 及び *in vivo* においてトラベクテジンとドキソルビシンとの併用により，相加的又は相乗的な増殖抑制効果及び抗腫瘍効果の増強が期待できることが示唆された．

以上のように，トラベクテジンは従来の抗悪性腫瘍剤とは異なる作用機序を有し，染色体転座陽性のヒト悪性骨軟部腫瘍細胞をはじめ多くのヒト腫瘍細胞に対して高い増殖抑制効果及び抗腫瘍効果が得られることが示唆されたことから，トラベクテジンを用いた治療法の有用性が期待できるものと考えられた．

In vitro 及び *in vivo* 安全性薬理試験（げっ歯類及び麻酔下サル静脈内投与）において，トラベクテジンは治療曝露量で中枢神経系，心血管系及び呼吸器系に重篤な作用を及ぼさなかった．

マウス，ラット及びサルにおいて，トラベクテジンの血漿中濃度は多相性を示して消失し，明らかな性差を認めなかった．静脈内投与終了後に C_{max} に到達した後，血漿中濃度は急速に減少し，その後緩除な消失を示した．各種動物で算出された CL は肝血流量と比較して 1/3 程度から高い値であり，消失半減期は長く，組織分布は広範囲であった．反復静脈内投与時の薬物動態は，ラット及びサルで，単回投与時と大きな差が無く，両動物種とも，AUC 値が投与時間に依存していないことが示された．MTD までの曝露量は用量に依存して増加した．

ラットに ^{14}C-トラベクテジンを単回静脈内投与後，血漿中放射能濃度は急速に低下し，その後緩除に減少した．血漿中の放射能に占めるトラベクテジンの割合は小さく，代謝物が多いことが示唆された．放射能の組織への分布は速やかで，脳及び精巣組織を除く大部分の組織へと広範囲に分布した．組織中の放射能はピークに達した後，緩除に減少した．

種々の動物の肝試料を用いたトラベクテジンの *in vitro* 代謝試験では，多くの代謝物の生成が確認された．^{14}C-トラベクテジンの *in vitro* 代謝プロファイルは，サルがヒトと最も類似しており，ラットやイヌを含む他の動物種とは明らかに異なっていた．ヒトでの代謝物はすべてサルでも認められた．同定された代謝物は，ET-729，O-脱メチル体，酸素付加を伴ったものと伴わないカルボン酸体，1 個又は 2 個の酸素付加体，脂肪族開環体及び 1 個又は 2 個の酸素付加を伴った脱メチル体であった．臨床濃度のトラベクテジンの代謝に関与する主たる CYP 分子種は CYP3A4 であることが示された．UDPGA を添加したサル及びヒトの肝ミクロソームでは，トラベクテジンはグルクロン酸抱合をほとんど受けなかった．トラベクテジンを反復投与したラット及びサルの肝臓を用いた *ex vivo* 試験において，いずれの CYP 分子種についても酵素活性の誘導は認められず，逆に数種の代謝活性が両動物種で低下した．

^{14}C-トラベクテジンを投与したラット及びマウスにおいて，放射能は主として糞中に排泄され，尿中排泄は少なかった．

In vitro 代謝の結果から，トラベクテジンの臨床濃度では，CYP3A4 がトラベクテジンの肝代謝に関与する主たる CYP 分子種であることが示されており，臨床において，トラベクテジンと CYP3A 誘導剤又は阻害剤をそれぞれ併用投与した場合，血漿中トラベクテジン濃度がそれぞれ減少又は増加した（第 2.7.2.2.2.6 項及び第 2.7.2.2.2.7 項）．

主要な毒性試験のトキシコキネティックス評価（カニクイザルのものを含む）では，MTD でのトラベクテジンの曝露量はヒトの臨床用量の曝露量より低いことが示された．しかし，これは抗悪性腫瘍剤ではまれではないと考える．

ラットにおけるトラベクテジンの主な毒性は，骨髄抑制，肝毒性，腸管上皮の萎縮及び潰瘍，投与部位の刺激性であった．骨髄抑制として，好中球数減少及びリンパ系組織の萎縮又は減少を認めた．肝毒性として，トランスアミナーゼ値の増加，肝細胞壊死，胆管の炎症，線維化及び胆管上皮増生を認めた．ラットでみられた肝毒性は不可逆的で蓄積的であり，雌性ラットでその程度は強かった．ラットでの肝毒性の性差は肝臓での代謝，排泄及び（又は）未変化体/代謝物の滞留又はこれらの複数の要因が関連している可能性がある．

サルでの肝毒性は可逆的で蓄積性はなく，その程度は軽度であり，トランスアミナーゼ値の増加，肝細胞肥大，変性及び壊死を認めた．更に消化管の潰瘍も認めた．サルでは 3 週間ごとに 3 時間又は 24 時間持続静脈内投与を反復しても投与時間の差異による明らかな毒性の差はなかっ

た．サルでは，好中球数減少，投与部位の刺激性（一部は局所刺激性に伴う腎臓の変化を認めた）が用量制限毒性であった．

トラベクテジンは *in vitro* 及び *in vivo* 試験において遺伝毒性を示した．

トラベクテジンはラット及びウサギにおいて胚毒性又は催奇形を示さなかった．しかし，母体の毒性のために，生殖発生毒性試験で用いた投与量は国内の臨床用量より低い．したがって，これらの試験の結果はトラベクテジンのヒトの妊娠に対する危険性を適切に評価できていない可能性が高い．

局所刺激性試験において，トラベクテジンが局所刺激性を有していることを確認した．

各ガイダンス又はガイドラインに従い非臨床試験を実施した．トラベクテジンの薬理，代謝，薬物動態，毒性学的な特徴を明らかにし，得られた知見により臨床使用に対する評価を行った．非臨床試験の実施により，臨床でのトラベクテジンの安全な使用に寄与することができた．

2.4.6　参考文献一覧

1　Sakai R, Rinehart KL, Guan Y, Wang AH. Additional antitumor ecteinascidins from a Caribbean tunicate: crystal structures and activities *in vivo*. Proc Natl Acad Sci USA. 1992;89:11456-11460.（第 4.3.1 項）

2　Pommier Y, Kohlhagen G, Bailly C, Waring M, Mazumder A, Kohn KW. DNA sequence- and structure-selective alkylation of guanine N2 in the DNA minor groove by ecteinascidin 743, a potent antitumor compound from the Caribbean tunicate *Ecteinascidia turbinata*. Biochemistry. 1996;35:13303-13309.（第 4.3.2 項）

3　Zewail-Foote M, Hurley LH. Ecteinascidin 743: a minor groove alkylator that bends DNA toward the major groove. J Med Chem. 1999;42:2493-2497.（第 4.3.7 項）

4　Takebayashi Y, Pourquier P, Zimonjic DB, Nakayama K, Emmert S, Ueda T, et al. Antiproliferative activity of ecteinascidin 743 is dependent upon transcription-coupled nucleotide-excision repair. Nat Med. 2001;7:961-966.（第 4.3.8 項）

5　Zewail-Foote M, Li VS, Kohn H, Bearss D, Guzman M, Hurley LH. The inefficiency of incisions of ecteinascidin 743-DNA adducts by the UvrABC nuclease and the unique structural feature of the DNA adducts can be used to explain the repair-dependent toxicities of this antitumor agent. Chem Biol. 2001;8:1033-1049.（第 4.3.9 項）

6　Aune GJ, Takagi K, Sordet O, Guirouilh-Barbat J, Antony S, Bohr VA, et al. Von Hippel-Lindau-coupled and transcription-coupled nucleotide excision repair-dependent degradation of RNA polymerase II in response to trabectedin. Clin Cancer Res. 2008;14:6449-6455.（第 4.3.13 項）

7　Sarker AH, Tsutakawa SE, Kostek S, Ng C, Shin DS, Peris M, et al. Recognition of RNA polymerase II and transcription bubbles by XPG, CSB, and TFIIH: insights for transcription-coupled repair and Cockayne Syndrome. Mol Cell. 2005;20:187-198.（第 4.3.14 項）

8　Casado JA, Río P, Marco E, García-Hernández V, Domingo A, Pérez L, et al. Relevance of the Fanconi anemia pathway in the response of human cells to trabectedin. Mol Cancer Ther. 2008;7:1309-1318.（第 4.3.15 項）

9　Tavecchio M, Simone M, Erba E, Chiolo I, Liberi G, Foiani M, et al. Role of homologous recombination in trabectedin-induced DNA damage. Eur J Cancer. 2008;44:609-618.（第 4.3.16 項）

10 Jin S, Gorfajn B, Faircloth G, Scotto KW. Ecteinascidin 743, a transcription-targeted chemotherapeutic that inhibits MDR1 activation. Proc Natl Acad Sci USA. 2000;97:6775-6779.（第 4.3.18 項）

11 Minuzzo M, Ceribelli M, Pitarque-Martì M, Borrelli S, Erba E, DiSilvio A, et al. Selective effects of the anticancer drug Yondelis (ET-743) on cell-cycle promoters. Mol Pharmacol. 2005;68:1496-1503.（第 4.3.19 項）

12 Minuzzo M, Marchini S, Broggini M, Faircloth G, D'Incalci M, Mantovani R. Interference of transcriptional activation by the antineoplastic drug ecteinascidin-743. Proc Natl Acad Sci USA. 2000;97:6780-6784.（第 4.3.20 項）

13 Forni C, Minuzzo M, Virdis E, Tamborini E, Simone M, Tavecchio M, et al. Trabectedin (ET-743) promotes differentiation in myxoid liposarcoma tumors. Mol Cancer Ther. 2009;8:449-457.（第 4.3.23 項）

14 Grohar PJ, Griffin LB, Yeung C, Chen QR, Pommier Y, Khanna C, et al. Ecteinascidin 743 interferes with the activity of EWS-FLI1 in Ewing sarcoma cells. Neoplasia. 2011;13:145-153.（第 4.3.24 項）

15 Tavecchio M, Natoli C, Ubezio P, Erba E, D'Incalci M. Dynamics of cell cycle phase perturbations by trabectedin (ET-743) in nucleotide excision repair (NER)-deficient and NER-proficient cells, unravelled by a novel mathematical simulation approach. Cell Prolif. 2007;40:885-904.（第 4.3.11 項）

16 Allavena P, Signorelli M, Chieppa M, Erba E, Bianchi G, Marchesi F, et al. Anti-inflammatory properties of the novel antitumor agent yondelis (trabectedin): inhibition of macrophage differentiation and cytokine production. Cancer Res. 2005;65:2964-2971.（第 4.3.33 項）

17 Germano G, Frapolli R, Belgiovine C, Anselmo A, Pesce S, Liguori M, et al. Role of macrophage targeting in the antitumor activity of trabectedin. Cancer Cell. 2013;23:249-262.（第 4.3.35 項）

18 Poindessous V, Koeppel F, Raymond E, Comisso M, Waters SJ, Larsen AK. Marked activity of irofulven toward human carcinoma cells: comparison with cisplatin and ecteinascidin. Clin Cancer Res. 2003;9:2817-2825.（第 4.3.36 項）

19 Izbicka E, Lawrence R, Raymond E, Eckhardt G, Faircloth G, Jimeno J, et al. *In vitro* antitumor activity of the novel marine agent, ecteinascidin-743 (ET-743, NSC-648766) against human tumors explanted from patients. Ann Oncol. 1998;9:981-987.（第 4.3.37 項）

20 Li WW, Takahashi N, Jhanwar S, Cordon-Cardo C, Elisseyeff Y, Jimeno J, et al. Sensitivity of soft tissue sarcoma cell lines to chemotherapeutic agents: identification of ecteinascidin-743 as a potent cytotoxic agent. Clin Cancer Res. 2001;7:2908-2911.（第 4.3.38 項）

21 Takahashi N, Li W, Banerjee D, Guan Y, Wada-Takahashi Y, Brennan MF, et al. Sequence-dependent synergistic cytotoxicity of ecteinascidin-743 and paclitaxel in human breast cancer cell lines *in vitro* and *in vivo*. Cancer Res. 2002;62:6909-6915.（第 4.3.39 項）

22 Takahashi N, Li WW, Banerjee D, Scotto KW, Bertino JR. Sequence-dependent enhancement of cytotoxicity produced by ecteinascidin 743 (ET-743) with doxorubicin or paclitaxel in soft tissue sarcoma cells. Clin Cancer Res. 2001;7:3251-3257.（第 4.3.40 項）

23 Meco D, Colombo T, Ubezio P, Zucchetti M, Zaffaroni M, Riccardi A, et al. Effective combination of ET-743 and doxorubicin in sarcoma: preclinical studies. Cancer Chemother Pharmacol. 2003;52:131-138.（第 4.3.41 項）

24 Donald S, Verschoyle RD, Greaves P, Gant TW, Colombo T, Zaffaroni M, et al. Complete protection by high-dose dexamethasone against the hepatotoxicity of the novel antitumor drug yondelis (ET-743) in the rat. Cancer Res. 2003;63:5902-5908.（第 4.3.44 項）

25 Morioka H, Weissbach L, Vogel T, Nielsen GP, Faircloth GT, Shao L, et al. Antiangiogenesis treatment combined with chemotherapy produces chondrosarcoma necrosis. Clin Cancer Res. 2003;9:1211-1217.（第 4.3.45 項）

26 Gómez SG, Bueren JA, Faircloth GT, Jimeno J, Albella B. In vitro toxicity of three new antitumoral drugs (trabectedin, aplidin, and kahalalide F) on hematopoietic progenitors and stem cells. Exp Hematol. 2003;31:1104-1111.（第 4.3.47 項）

27 Albella B, Faircloth G, López-Lázaro L, Guzmán C, Jimeno J, Bueren JA. In vitro toxicity of ET-743 and aplidine, two marine-derived antineoplastics, on human bone marrow haematopoietic progenitors: comparison with the clinical results. Eur J Cancer. 2002;38:1395-1404.（第 4.3.48 項）

28 Synold TW, Dussault I, Forman BM. The orphan nuclear receptor SXR coordinately regulates drug metabolism and efflux. Nat Med. 2001;7:584-590.（第 4.3.53 項）

29 Newell DR, Silvester J, McDowell C, Burtles SS. The Cancer Research UK experience of pre-clinical toxicology studies to support early clinical trials with novel cancer therapies. Eur J Cancer. 2004;40:899-906.（第 4.3.57 項）

30 Tatsumi T, Koto M, Komatsu H, Adachi J. Effects of chair restraint on plasma enzyme values in the rhesus monkey (Macaca mulatta). Jikken Dobutsu. 1990;39:353-359.（第 4.3.58 項）

31 Gandhi M, Aweeka F, Greenblatt RM, Blaschke TF. Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2004;44:499-523.（第 4.3.59 項）

32 Beumer JH, Schellens JHM, Beijnen JH. Hepatotoxicity and metabolism of trabectedin: a literature review. Pharmacol Res. 2005;51:391-398.（第 4.3.60 項）

33 Salphati L, Benet LZ. Modulation of p-glycoprotein expression by cytochrome P450 3A inducers in male and female rat livers. Biochem Pharmacol. 1998;55:387-395.（第 4.3.61 項）

34 Rost D, Kopplow K, Gehrke S, Mueller S, Friess H, Ittrich C, et al. Gender-specific expression of liver organic anion transporters in rat. Eur J Clin Invest. 2005;35:635-643.（第 4.3.62 項）

35 Donald S, Verschoyle RD, Greaves P, Gant TW, Colombo T, Zaffaroni M, et al. Complete protection by high-dose dexamethasone against the hepatotoxicity of the novel antitumor drug Yondelis (ET-743) in the rat. Cancer Res. 2003;63:5902-5908.（第 4.3.44 項）

36 Rudolph R, Larson DL. Etiology and treatment of chemotherapeutic agent extravasation injuries: a review. J Clin Oncol. 1987;5:1116-1126.（第 4.3.63 項）