タルグレチンカプセル75mg

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

株式会社ミノファーゲン製薬

目次

略号一覧....4
2.4 非臨床試験の概括評価....7
2.4.1 非臨床試験計画概略....7
2.4.1.1 薬理試験....7
2.4.1.2 薬物動態試験....7
2.4.1.3 毒性試験....7
2.4.2 薬理試験....10
2.4.2.1 効力を裏付ける試験....10
2.4.2.1.1 RXR に対する作用....10
2.4.2.1.2 細胞増殖に対する作用....10
2.4.2.1.3 CTCL 由来細胞に対する効果....11
2.4.2.1.4 化学予防効果....11
2.4.2.1.5 その他の抗腫瘍作用....11
2.4.2.1.6 代謝物の薬理作用....11
2.4.2.1.7 その他の薬理試験....12
2.4.2.1.8 副次的薬理作用....12
2.4.2.1.9 安全性薬理試験....12
2.4.3 薬物動態試験....13
2.4.3.1 吸収....13
2.4.3.2 分布....13
2.4.3.3 代謝....14
2.4.3.4 排泄....15
2.4.4 毒性試験....16
2.4.4.1 単回投与毒性試験....16
2.4.4.2 反復投与毒性試験....16
2.4.4.3 遺伝毒性試験....19
2.4.4.4 がん原性試験....20
2.4.4.5 生殖発生毒性試験....20
2.4.4.6 その他の毒性試験....20
2.4.4.6.1 不純物の毒性評価....20
2.4.4.6.2 添加物の安全性評価....21
2.4.4.6.3 光毒性試験....21
2.4.5 総括及び結論....22
2.4.5.1 薬理試験....22
2.4.5.2 薬物動態試験....23

2.4.5.3 毒性試験.....24
2.4.6 参考文献一覧.....24

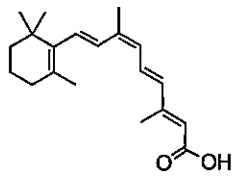
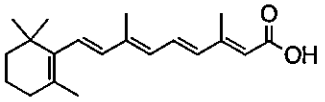
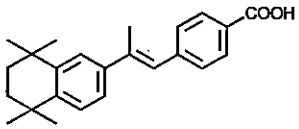
略号一覧

略号	略していない表現(英語)	略していない表現(日本語)
ALT	Alanine transaminase	アラニントランスアミナーゼ
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
AML	Acute Myeloid Leukemia	急性骨髄性白血病
AST	Aspartate transaminase	アスパラギン酸トランスアミナーゼ
AUC	Area under the plasma concentration versus time curve	血漿中濃度時間曲線下面積
AUC_{0-24}	Area under the plasma concentration-time curve from time-zero to 24 hours postdose	投与時から投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{inf}	Area under the plasma concentration versus time curve from time-zero to infinity	投与時から無限大時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積
APTT	Activated Partial Thromboplastin Time	活性化部分トロンボプラスチン時間
BA	Bioavailability	バイオアベイラビリティ
CD38	Cluster of Differentiation 38	---
cDNA	Complementary DNA	相補的 DNA
C_{max}	Maximum drug concentration	最高薬物濃度
CTCL	Cutaneous T-Cell Lymphomas	皮膚 T 細胞性リンパ腫
CYP	Cytochrome P450	チトクロム P450
db/db マウス	---	diabetic 肥満マウス
ER	Estrogen Receptor	エストロゲン受容体
G1 期停止	---	細胞周期の G1 期に停止
HDL	High-Density Lipoprotein	高密度リポ蛋白質
HepG2	---	ヒト肝がん由来細胞株
Kd	Coefficient of Dissociation	結合定数
Ki	Coefficient of inhibition	阻害定数
LDL	Low-Density Lipoprotein	低密度リポ蛋白質
LXR	Liver X Receptor	肝臓 X 受容体
MTT	Methylthiazole tetrazolium	メチルチアゾールテトラゾリウム
NGFI-B	Nerve Growth Factor Induced gene-B	神経成長因子誘導遺伝子-B
NMU	N-Nitroso-N-Methylurea	N-ニトロソ-N-メチル尿素
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell	末梢血単核球
PK	Pharmacokinetics	薬物動態
PPAR	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor	ペルオキシゾーム増殖剤応答性受容体
PT	Prothrombin Time	プロトロンビン時間

略号一覧(続き)

略号	略していない表現(英語)	略していない表現(日本語)
RAR	Retinoic Acid Receptor	レチノイン酸受容体
RXR	Retinoid X receptor	レチノイドX受容体
SD ラット	Sprague-Dawley Rat	Sprague-Dawley ラット
$t_{1/2}$	Elimination half life	消失半減期
t_{max}	Time taken to reach maximum drug concentration	最高薬物濃度到達時間

略号一覧(続き)

略号	一般名(略称)	化学構造式
9-cis	9-cis-レチノイン酸	
ATRA	All-trans-レチノイン酸	
TTNPB	4-[(E)-2-(5,6,7,8-テトラヒドロ-5,5,8,8-テトラメチル-2-ナフタレニル)-1-プロペニル]安息香酸	

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

2.4.1.1 薬理試験

ベキサロテンの薬理作用を評価するために、一連の *in vitro* 及び *in vivo* 試験系を用いて、効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験を実施した。さらに、代謝物(6-/7-水酸化体、6-/7-オキソ体)についても *in vitro* 薬理作用を評価した。

安全性薬理試験として、ラット及びイヌを用いて中枢神経系、心血管系及び呼吸器系への影響の有無について検討した。(表 2.4.1-1)。

表 2.4.1-1 安全性薬理試験プログラム

試験の種類	試験系	投与方法	試験番号	記載箇所
ラットの中枢神経系に及ぼす影響	ラット	経口	B120666	4.2.1.3-1
ラットの中枢神経系に及ぼす影響	ラット	経口	RR-740-93-007	4.2.1.3-2
hERG 電流に及ぼす影響	HEK293 細胞	*in vitro*	B120664	4.2.1.3-3
無麻酔イヌの心血管系に及ぼす影響	イヌ	経口	B120662	4.2.1.3-4
ラットの心血管系に及ぼす影響	ラット	経口	RR-740-93-006	4.2.1.3-5
ラットの呼吸器系に及ぼす影響	ラット	経口	B121250	4.2.1.3-6

2.4.1.2 薬物動態試験

ラット及びイヌを用いてベキサロテンの吸収、分布、代謝及び排泄の薬物動態を明らかにするために、放射能で標識したベキサロテン又は非標識のベキサロテンを用いて、血漿中ベキサロテン及びその代謝物濃度、体内分布、*in vitro* 及び *in vivo* での代謝、尿及び糞中排泄率などの検討を行った。薬物代謝酵素の誘導及び阻害は主に *in vitro* で検討を行った。

2.4.1.3 毒性試験

毒性評価のための試験として、ラット単回投与毒性試験、イヌ単回投与毒性試験、ラット反復投与毒性試験 (28 日間、37 日間、5 週間、92 日間、3 ヵ月間、6 ヵ月間及び 26 週間試験)、イヌ反復投与毒性試験 (28 日間、30 日間、91 日間、26 週間及び 39 週間試験)、遺伝毒性試験(復帰突然変異試験、染色体異常試験、マウスリンフォーマ TK 試験及びマウス小核試験)、遺伝子改変マウス 26 週間がん原性試験、生殖発生毒性試験 (ラット胚・胎児発生試験)、及び光毒性試験を実施した。また、その他の試験として、不純物 [■■■ (不純物A*)、■■■ 不純物 (不純物B*) 及び■■■■ 不純物 (不純物C*)] のそれぞれについて 4 週間反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験を実施した (表 2.4.1-2)。

表 2.4.1-2 毒性試験プログラム

試験の種類	試験系（性別）	投与方法	被験物質	GLP適用	記載箇所
単回投与毒性					
	ラット	経口	ベキサロテン	不適	4.2.3.1-1
	ラット	経口	ベキサロテン	適	4.2.3.1-2
	イヌ	経口	ベキサロテン	適	4.2.3.1-3
反復投与毒性					
28 日間	ラット	経口	ベキサロテン	適	4.2.3.2-1
28 日間	ラット（雄）	経口	ベキサロテン	適	4.2.3.2-3
5 週間	ラット（雌）	経口	ベキサロテン	不適	4.2.3.2-4
37 日間	ラット（雄）	経口（混餌）	ベキサロテン	不適	4.2.3.2-5
92 日間	ラット	経口	ベキサロテン	不適	4.2.3.2-6
3 ヵ月間	ラット	経口	ベキサロテン	適	4.2.3.2-7
26 週間	ラット	経口	ベキサロテン	適	4.2.3.2-8
6 ヵ月間	ラット	経口	ベキサロテン	適	4.2.3.2-9
28 日間	イヌ	経口	ベキサロテン	適	4.2.3.2-10
30 日間	イヌ	経口	ベキサロテン	不適	4.2.3.2-11
91 日間	イヌ	経口	ベキサロテン	適	4.2.3.2-12
26 週間	イヌ	経口	ベキサロテン	適	4.2.3.2-13
39 週間	イヌ	経口	ベキサロテン	適	4.2.3.2-14
遺伝毒性					
細菌を用いる復帰突然変異試験	ネズミチフス菌 [a]	*in vitro*	ベキサロテン	適	4.2.3.3.1-1
	大腸菌 [b]	*in vitro*	ベキサロテン	適	4.2.3.3.1-2
細胞遺伝学的試験（染色体異常試験）	CHO 細胞 [c]	*in vitro*	ベキサロテン	適	4.2.3.3.1-3
細胞遺伝学的試験（マウスリンフォーマ TK 試験）	L5178Y マウスリンパ腫細胞	*in vitro*	ベキサロテン	適	4.2.3.3.1-4
染色体損傷の検出のための *in vivo* 試験	マウス	*in vivo*	ベキサロテン	適	4.2.3.3.2-1
がん原性試験					
4 週間がん原性予備試験	CB6F1-nonTg rasH2 マウス	経口	ベキサロテン	不適	4.2.3.4.2-1
26 週間がん原性試験	CB6F1-Tg rasH2 マウス	経口	ベキサロテン	適	4.2.3.4.2-2
生殖発生毒性					
胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験	ラット	経口	ベキサロテン	適	4.2.3.5.2-1
胚・胎児発生に関する試験	ラット	経口	ベキサロテン	適	4.2.3.5.2-2

表 2.4.1-2 毒性試験プログラム（続き）

試験の種類		試験系（性別）	投与方法	被験物質	GLP適用	記載箇所
その他の試験						
不純物の毒性試験	1週間反復（用量設定）	マウス	経口	[redacted]: 不純物A*	不適	4.2.3.7.6-1
		マウス	経口	[redacted] 不純物: 不純物B*	不適	4.2.3.7.6-3
		マウス	経口	[redacted] 不純物: 不純物C*	不適	4.2.3.7.6-5
	4週間反復	マウス	経口	[redacted]: 不純物A*	適	4.2.3.7.6-2
		マウス	経口	[redacted] 不純物: 不純物B*	適	4.2.3.7.6-4
		マウス	経口	[redacted] 不純物: 不純物C*	適	4.2.3.7.6-6
	細菌を用いる復帰突然変異試験	ネズミチフス菌[d] 大腸菌[b]	*in vitro*	[redacted]: 不純物A*	適	4.2.3.7.6-7
			in vitro	[redacted] 不純物: 不純物B*	適	4.2.3.7.6-8
			in vitro	[redacted] 不純物: 不純物C*	適	4.2.3.7.6-9
	哺乳類細胞を用いる染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来細胞株（CHL/IU）	*in vitro*	[redacted]: 不純物A*	適	4.2.3.7.6-10
			in vitro	[redacted] 不純物: 不純物B*	適	4.2.3.7.6-11
			in vitro	[redacted] 不純物: 不純物C*	適	4.2.3.7.6-12
光毒性試験	MTT試験	EpiDerm® skin model	*in vitro*	ベキサロテン	不適	4.2.3.7.7-1
	光溶血性試験	ヒト赤血球	*in vitro*	ベキサロテン	不適	
	ヒスチジン光酸化反応	ヒスチジン溶液	*in vitro*	ベキサロテン	不適	

a) ネズミチフス菌：TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538
b) 大腸菌：WP2 *uvrA*
c) チャイニーズハムスター卵巣細胞
d) TA98、TA100、TA1535、TA1537

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 RXR に対する作用

ベキサロテンは、*in vitro* 試験系（受容体発現系及びレポーター遺伝子試験系）において、RXR_{α}、RXR_{β}、RXR_{γ}に対し結合して転写活性化した。一方、RAR_{α}、RAR_{β}、RAR_{γ}に対しては、RXR に比べて弱い親和性しか示さず、ほとんど転写活性化しなかった。また、9-cis が RXR、RAR 双方を、ATRA が RAR のみを転写活性化するのに対して、ベキサロテンは RXR に選択的に結合ー転写活性化した。

表 2.4.2.1-1 ベキサロテンの RXR、RAR サブタイプに対する Kd 及び転写活性化 EC50

レチノイド受容体サブタイプ	Kd (nM)	転写活性化 EC50 (nM)
RXR_{α}	30	25
RXR_{β}	14	27
RXR_{γ}	15	19
RAR_{α}	6928	>10000
RAR_{β}	>10000	>10000
RAR_{γ}	4804	>10000

各数値は平均値

RXR と他の核内受容体を導入したレポーター遺伝子試験系において、ベキサロテンは RXR:$PPAR_{\alpha}$、RXR:$PPAR_{\gamma}$、RXR:NGFI-B、RXR:LXR、RXR:PXR を顕著に転写活性化した。一方、RXR:RAR_{α}、RXR:RAR_{β}、RXR:RAR_{γ}、RXR:VDR、RXR:TR では、強い活性化は見られず、これらの組合せが RXR 非許容的であるという知見と矛盾しなかった。RXR:PPAR の場合には、ベキサロテンと共に PPAR 基質が作用すると、より強い転写活性化を示した。

2.4.2.1.2 細胞増殖に対する作用

種々の増殖性細胞の *in vitro* 培養試験系を用いて、ベキサロテンの DNA 合成、細胞数、生細胞数、アポトーシス誘導、細胞周期に対する作用を検討した。

AIDS-カポジ肉腫由来細胞培養系にベキサロテンを作用させたとき、ベキサロテン濃度依存的な DNA 合成の低下が観察された。また、ヒト卵巣癌及び AML から採取した細胞の初代培養系にベキサロテンを作用させたとき、ベキサロテン添加群では対照群と比べて、ベキサロテン濃度依存的な生細胞数の減少が認められた。同様に、ヒト多発性骨髄腫由来 RPMI8226 細胞及びヒト子宮頸癌由来 ME180 細胞の培養系にベキサロテンを作用させたとき、ベキサロテン濃度依存的な細胞数の減少が認められた。このとき、ME180 細胞で DNA 断片化が観察され、細胞数の減少にアポトーシスが関与している可能性が示唆された。

ヒト前骨髄球性白血病由来 HL60 細胞の培養系に RAR を選択的に転写活性化するレチノイド ATRA を作用させたとき、DNA 合成の低下及び濃度依存的な細胞分化誘導が認められた。一方、ベキサロテンを作用させた場合には、DNA 合成の低下及び細胞分化の誘導は観察され

なかった。一方、ベキサロテン濃度依存的なアポトーシス誘導が認められた。それに対し、RAR を選択的に転写活性化するレチノイド TTNPB では、アポトーシス誘導作用は認められなかった。

ヒト正常乳腺上皮由来 184 細胞及び乳癌由来 T47D 細胞の培養系にベキサロテンを作用させたとき、対照に比べて DNA 合成及び細胞数が減少しており、細胞増殖の阻害が認められた。184 細胞ではアポトーシス誘導が観察されておらず、細胞周期の G1 期停止が認められ、ベキサロテンの細胞周期への作用が示唆された。

2.4.2.1.3 CTCL 由来細胞に対する効果

CTCL 由来の HH（菌状息肉症/セザリー症候群以外の CTCL 由来）及び HuT78（セザリー症候群由来）細胞の培養系にベキサロテンを作用させると、濃度依存的な生細胞率の減少が認められた。

CTCL 由来の HH（菌状息肉症/セザリー症候群以外の CTCL 由来）細胞を異種移植したマウスに、ベキサロテンを経口投与したとき、腫瘍組織の成長（異種移植後の腫瘍容積及び腫瘍重量）を対照群に比べて有意に抑制した。

2.4.2.1.4 化学予防効果

ベキサロテンは、NMU 誘導-ラット乳癌モデルに経口投与したとき、対照群と比べて統計的に有意に 1 次腫瘍を完全退縮させた。この作用は、陽性対照のタモキシフェン皮下投与よりも強かった。また、ベキサロテンは 2 次腫瘍の予防・遅延に対しても効果を示した。また、タモキシフェン耐性腫瘍を持つ NMU 誘導-乳癌モデルに、タモキシフェンとベキサロテンを併用投与したとき、タモキシフェン単独投与に比べて有意な完全退縮の比率の上昇が認められた。また、ベキサロテンは、NMU 誘導-ラット乳癌モデルにおいて、腫瘍発生率及び腫瘍個数を有意に抑制し、化学予防効果を示した。同様に、Sencar マウス 2 段階発癌モデルにおいても化学予防効果を示した。

2.4.2.1.5 その他の抗腫瘍作用

ヒト頭頸部扁平上皮癌細胞の異種移植モデルに対して、抗腫瘍効果を示した。また、ヒト頭頸部扁平上皮癌細胞及び乳癌細胞に対して、*in vitro* で細胞増殖阻害効果を示した。一方、ヒト肺癌由来細胞については、*in vitro* での細胞増殖阻害効果は認められたが、異種移植動物では腫瘍に対する効果は認められなかった。また、前立腺癌動物モデルでは、抗腫瘍効果は認められなかった。

2.4.2.1.6 代謝物の薬理作用

動物、ヒトでの主要な酸化的代謝物である 6-/7-水酸化体、6-/7-オキソ体のレチノイド受容体（RAR、RXR 各サブタイプ）に対する結合定数及び転写活性化活性を検討した。検討した

代謝物のいずれも、RAR、RXR に対してベキサロテンよりも弱い薬理作用しか持たず、薬効への寄与は低いと考えられた。

2.4.2.1.7 その他の薬理試験

急性前骨髄球性白血病（APL）由来細胞及びヒト末梢血単核細胞（PBMC）における CD38 mRNA 発現に対する効果を検討したところ、ベキサロテンはレチノイド応答遺伝子の CD38 mRNA 発現を誘導していた。臨床試験から得られた PBMC における CD38 mRNA 発現量の結果を併せて考えると、臨床での投与量ではレチノイド応答遺伝子である CD38 mRNA を動かすのに十分な血中濃度が得られていると考えられた。

2.4.2.1.8 副次的薬理作用

ニュージーランドウサギにベキサロテンを投与したとき、血漿中の総コレステロール濃度、トリグリセリド濃度は上昇し、一方、HDL-及び LDL-コレステロール濃度に関しては変化がなかった。SD ラットにベキサロテンを投与したとき、血漿中 HDL-コレステロール濃度は上昇し、一方、他のコレステロール画分では変化はなかった。また、HepG2 細胞を用いたレポーター遺伝子試験系では、ベキサロテンは濃度依存的、かつ RXR 依存的に ApoA1 プロモーターを転写活性化した。ベキサロテンは、RXR_{α} を介して *in vitro* 及び *in vivo* で $PPAR_{\alpha}$ を転写活性化した。また、この経路を介して db/db マウスの血漿中トリグリセリド濃度を低下させることが示唆された。HSD ラットで、ベキサロテン投与によって上昇した血漿中トリグリセリド濃度は、フェノフィブラートを用いることにより改善したが、ナイアシン及びロバスタチンでは、有意な改善は認められなかった。また、ZDF ラットでは、ベキサロテンによるトリグリセリド濃度上昇にトリグリセリドのクリアランス低下が関与していることが示唆された。また、ベキサロテンは、SD ラットの血液凝固能に対して影響する可能性が示唆された。

2.4.2.1.9 安全性薬理試験

安全性薬理試験として、ラット及びイヌを用いて中枢神経系、心血管系及び呼吸器系への影響の有無について検討した。ベキサロテンの QT 間隔に対する影響の有無についてはヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）を安定的に導入したヒト胎児腎臓由来（HEK）293 細胞を用いてホールセルクランプ法で評価した。

ベキサロテンを 100 mg/kg までラットに単回投与又は 4 日間連続投与しても中枢神経系及び呼吸器系機能への影響は見られず、ベキサロテンを 60 mg/kg までラットに 4 日間連続投与しても血圧及び心拍数に影響は認められなかった。ベキサロテンを 10 mg/kg までをイヌに単回投与しても心血管系機能への影響は見られなかった。hERG 試験ではベキサロテンは 0.3 μM（灌流後濃度：0.171 μM）まで hERG 電流に影響を及ぼさなかった。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 吸収

ベキサロテンをラット（雄）に経口投与（100 mg/kg）すると、未変化体の血漿中濃度は2.7 時間（t_{max}）で 8.69 μM（C_{max}）に達し、AUC_{inf}は 88.7μM·h であった。イヌにおける経口投与（25 mg/kg）後の未変化体の血漿中濃度は 1.63 時間（t_{max}）で 35.5 μM（C_{max}）に達し、AUC_{inf}は 140 μM·h であった。主な代謝物である 6-/7-水酸化体、及び 6-/7-オキソ体は、ラット、イヌ共に認められた。経口及び静脈内投与した際のベキサロテン血漿中濃度の AUC 比から算出したバイオアベイラビリティ（BA） は、雄雌ラットそれぞれで、28.7%及び 41.0%、イヌで 36.7%であり、ラット及びイヌ共に良好な経口吸収性を示した。検討した薬物動態データから、ラット及びイヌにおいて、ベキサロテンの吸収は速やかであり、BA は良好であり、結晶の微粒化が行われていない非微粉化原薬と比較して微粉化原薬の BA が高いことが明らかとなった。微粉化による BA の上昇は、比表面積の増大により消化管内での溶解が進みやすくなったためと推察された。

ベキサロテンをラットに経口投与（3～100 mg/kg）すると、AUC は投与量の増加と共に上昇し、投与量と AUC 間にほぼ比例関係が認められた。高用量における AUC の上昇率は、投与量の増加率よりも若干低く飽和する傾向が見られた。イヌにおいても、経口投与（1～10 mg/kg）後の AUC は、投与量の増加と共に上昇し、投与量と AUC 間にほぼ比例関係が認められた。ラットと同様に高用量における AUC の上昇率は、投与量の増加率よりも若干低く飽和する傾向が見られた。イヌ、ラット共に吸収が飽和する原因の一つとして、投与懸濁液中で溶解している比率が低用量ほど高いことが推察された。これらの結果から、ベキサロテンの単回投与後の薬物動態は、ほぼ線形であると考えられた。

ベキサロテンをラットに反復経口投与（10～100 mg/kg/day、15 日間）すると、反復投与後の AUC は単回投与の場合と比べて低下し、高用量で顕著な低下が認められた。イヌにおいてもベキサロテンの反復投与により、AUC が低下することが認められた。こうした低下がベキサロテンの酵素誘導作用に起因する可能性が考えられた。反復投与後のラット肝における CYP3A 分子種の蛋白量及び肝ミクロソームでのベキサロテン代謝速度は、対照に比べて上昇していた。

吸収に対する食餌の影響についてイヌを用いて検討した。食後投与では絶食投与時よりも速やかな吸収が示唆されたが、AUC に関しては絶食投与時と差がなかった。イヌにおいては、BA 及び吸収量は食餌による影響を受けないと考えられた。

2.4.3.2 分布

[^{14}C]ベキサロテンをラットに経口投与すると、血漿を含むほとんどの組織中の ^{14}C 濃度は投与後 4 時間で C_{max}に達した。雄ラットでは、投与後 4 時間での組織内 ^{14}C 濃度は、消化管を除き、肝臓で最も高い値を示し、次いで副腎、膵臓、腎臓、白色脂肪、腸間膜リンパ節、心臓、脾臓、肺、顎下腺、血漿、精巣上体、脳、精巣、全血、大動脈、皮膚、骨格筋、胸腺、前立腺の順であった。[^{14}C]ベキサロテン及びその由来成分は広く組織に分布し、

肝臓、副腎、膵臓、腎臓、白色脂肪、腸間膜リンパ節、心臓、脾臓、肺、顎下腺では、血漿中よりも高い ^{14}C 濃度が認められた。これに対して、精巣上体、脳、精巣、全血、大動脈、皮膚、骨格筋、胸腺、前立腺では、血漿中よりも低い濃度であった。雌ラットでも、雄と同様に ^{14}C 濃度は肝臓で最も高く、以下、肺、副腎、腎臓、膵臓、白色脂肪、大動脈、心臓、腸間膜リンパ節、顎下腺、卵巣、脾臓、脳、血漿、子宮、皮膚、胸腺、全血、骨格筋の順であり、ほぼ同様の結果であった。いずれにおいても、^{14}C が残留傾向を示す組織は認められなかった。

2.4.3.3 代謝

ベキサロテンはラット肝ミクロソーム中では C-6 位及び C-7 位にそれぞれ水酸基又はカルボニル基を有する 4 種類の第 1 相代謝物（6-水酸化体、7-水酸化体、6-オキソ体、7-オキソ体）が生成し、このうち 6-水酸化体が主代謝物であった。ベキサロテンは、ラット体内に吸収された後、6-/7-水酸化体、6-/7-オキソ体に酸化的代謝され、これらが血漿中に認められ、血漿中の主代謝物は 6-/7-水酸化体であった。また、胆汁排泄された代謝物及び肝スライス代謝産物から、未変化体及びこれらの酸化的代謝物のグルクロン酸抱合体、及びタウリン抱合体が第 2 相代謝反応生成物として認められた。抱合体の中では、未変化体のアシルグルクロン酸抱合体が胆汁中主代謝物であった。

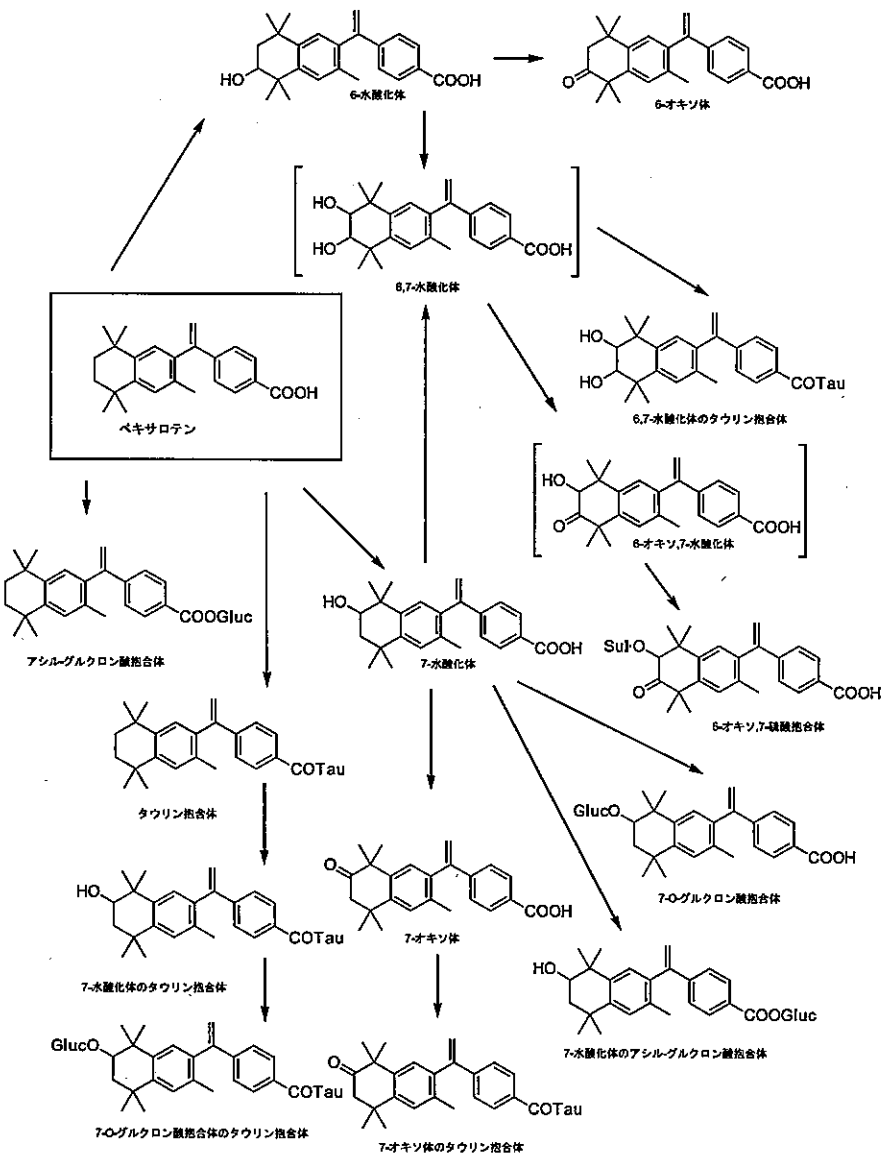
イヌでも同様に、血漿中で 6-/7-水酸化体及び 6-/7-オキソ体が酸化的代謝物として認められ、6-//7-水酸化体が主代謝物であった。また、胆汁には、非抱合体は存在せず、胆汁中主代謝物は水酸化体のアシルグルクロン酸抱合体であり、次いで未変化体のアシルグルクロン酸抱合体が確認された。代謝物の組成に量的な差はあるものの、定性的にはラットと類似した代謝プロファイルであり、イヌにおいてもラットとほぼ同様の代謝経路で代謝されたと推定された。

個体別ヒト肝ミクロソームでの CYP 分子種特異的代謝との相関、及び CYP 分子種特異的阻害剤を用いた検討から、ベキサロテンの酸化的代謝には主に CYP3A4 が関与すると考えられた。

ヒト肝ミクロソームを用いて、各種 CYP 分子種（CYP 1A2、CYP2A6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A4） に対するベキサロテンの阻害作用を調べた結果、ベキサロテンは CYP2C8 を強く、CYP2C9 を弱く阻害し、Ki はそれぞれ 1.43 μM、29 μM であった。

ヒト初代肝細胞を用い、ベキサロテンの各種 CYP 分子種（CYP 1A2、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4）誘導作用を調べた結果、ベキサロテンは CYP3A4 に対してリファンピシンよりも弱い誘導作用を持つと考えられたが、その他の CYP 分子種への誘導作用は認められなかった。

図 2.4.3-1 ベキサロテンの推定代謝経路



Gluc:グルクロン酸抱合、Tau：タウリン抱合、Sul: 硫酸抱合、[ ]：推定中間代謝物

2.4.3.4 排泄

[^{14}C]ベキサロテンをラットに経口投与（100 mg/kg）すると、ベキサロテン由来成分の排泄はほぼ定量的であり、主排泄経路は糞中（雄 91.1%、雌 108.6%）であり、尿中には僅か（雄 0.14%、雌 0.59%）しか排泄されなかった。イヌにおいても静脈内及び経口投与後に糞中に代謝物が認められ、尿中には僅か（0.036%）しか排泄されなかった。

2.4.4 毒性試験

毒性評価のための試験として、ラット単回投与毒性試験、イヌ単回投与毒性試験、ラット反復投与毒性試験（28 日間、37 日間、5 週間、92 日間、3 ヵ月間、6 ヵ月間及び 26 週間試験）、イヌ反復投与毒性試験（28 日間、30 日間、91 日間、26 週間及び 39 週間試験）、遺伝毒性試験（復帰突然変異試験、染色体異常試験、マウスリンフォーマ TK 試験及びマウス小核試験）、遺伝子改変マウス 26 週間がん原性試験、生殖発生毒性試験（ラット胚・胎児発生試験）、及び光毒性試験を実施した。また、その他の試験として、不純物 [■■■ (不純物A*)、■■■■ 不純物（不純物B*）及び■■■■■ 不純物（不純物C*）] のそれぞれについて 4 週間反復投与毒性試験を実施した（表 2.4.1-2）。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

ベキサロテンの急性毒性に関しては、単回投与毒性試験では、ベキサロテンをラットに投与量 1500 mg/kg まで、イヌに投与量 720 mg/kg で経口投与した結果、体重増加抑制、一部の血液生化学的検査値の変動（イヌのみ）が見られたが、死亡及び毒性徴候は観察されず、剖検でも異常は認められなかった。

また、Swiss-Webster 系マウスに最高 1000 mg/kg まで単回投与した小核試験において、死亡例は見られなかったが、250 及び 500 mg/kg/日群の雄各 1 例で被毛の乱れ、250 mg/kg/日群の雌雄各 1 例で一時的な過敏状態、並びに 250 mg/kg/日群の雌 1 例で活動性低下、円背位、体温低下、被毛の乱れ、呼吸困難／喘ぎ呼吸などの症状が認められたことから、マウスの概略の致死量は 1000 mg/kg を超えると考えられた。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験として、ラットを用いた 28 日間反復投与試験、5 週間反復投与試験、37 日間反復投与試験、92 日間反復投与試験、3 ヵ月間反復投与試験、26 週間反復投与試験及び 6 ヵ月間反復投与試験、並びにイヌを用いた 28 日間反復投与試験、30 日間反復投与試験、91 日間反復投与試験、26 週間反復投与試験及び 39 週間反復投与試験を実施した。ラット 37 日間反復投与試験は混餌投与で行い、それ以外の反復投与試験は強制経口投与で実施した。そのうち、主要な試験の成績は以下のとおりである。

ラットを用いた 28 日間反復投与試験［1 回目試験（雌雄）の投与量：30、100、150 mg/kg/日、2 回目試験（雄のみ）の投与量：3、10、30、100 mg/kg/日］では、雌雄ラットの血漿中濃度は投与量の増加に伴い高値を示したが、28 日目の曝露量は初回投与時と比較して低値を示した。投与量 10 mg/kg/日（投与 28 日目の血漿中濃度：578 ng/mL）以上の雄で用量依存的に死亡例が増加し、粘膜蒼白、努力呼吸、ラ音、円背位などが観察された。投与量 3 mg/kg/日以上で肝臓への影響［アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）・アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）上昇、肝臓重量増加、肝細胞のグリコーゲン増加］、皮膚障害、血中脂質の変動［総コレステロール及び高比重リポ蛋白（HDL）の上昇］及びクレアチニンキナーゼの上昇並びに血液凝固能への影響［血小板数及びフィブリノーゲンの増加、プロト

ロンビン時間（PT）・活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）延長］が認められた。投与量 10 mg/kg/日（投与 28 日目の血漿中濃度：578 ng/mL）以上でアルカリフォスファターゼ（ALP）上昇、血中脂質の変動［トリグリセリド上昇、低比重リポ蛋白（LDL）低下］、前胃への影響（扁平上皮過形成、過角化）、副腎への影響（皮質肥大）、骨への影響（骨内膜増殖、一次及び二次海綿骨内の軟骨の肥厚など）、食道の炎症並びに胸腺のリンパ球減少などが観察された。投与量 30 mg/kg/日（投与 28 日目の血漿中濃度：1129 ng/mL）以上で赤血球パラメータの変動（赤血球数、血色素量及びヘマトクリット値の減少）並びに脾臓への影響（リンパ系細胞枯渇、赤血球減少及び髄外造血亢進）が認められた。これらの変化は、28 日間の休薬期間には一部を除き観察されず、回復性が認められた。ラット 28 日間反復投与毒性試験（1）における NOAEL は雌雄とも 30 mg/kg/日未満、ラット 28 日間反復投与毒性試験（2）における雄の NOAEL は 3 mg/kg/日未満であると考えられた。

ラットを用いた 3 ヵ月間反復投与試験（投与量：3、30、100、300 mg/kg/日）では、全投与群で死亡が見られ、雄の死亡数に時間及び用量相関性が認められた。300 mg/kg/日群では、雄で死亡例が 52 例中 13 例に認められたため、投与 8 週目で終了させた。投与量 3 mg/kg/日（雄 $AUC_{0\text{-}12}$：1560 ng·h/mL、雌 $AUC_{0\text{-}12}$：4040 ng·h/mL）以上で血液凝固能への影響（PT の延長）、赤血球パラメータ（血色素量又はヘマトクリット値）の減少、血中脂質（トリグリセリド・コレステロール・HDL）の上昇、副腎重量増加（雄のみ）などが認められた。投与量 30 mg/kg/日（雄 $AUC_{0\text{-}12}$：9050 ng·h/mL、雌 $AUC_{0\text{-}12}$：11400 ng·h/mL）以上で血液凝固能への影響（APTT 延長、血小板数増加）、肝臓への影響（ALT・ALP 上昇、肝臓重量増加、肝細胞肥大）、眼球への影響（白内障）、皮膚への影響（毛包萎縮、表皮肥厚）などが観察された。投与量 100 mg/kg/日（雄 $AUC_{0\text{-}12}$：13800 ng·h/mL、雌 $AUC_{0\text{-}12}$：24200 ng·h/mL）以上で体重減少、肝臓への影響（AST 上昇）、食道（過角化）及び前胃（過角化、有棘層増殖）に変化が認められた。28 日間の休薬期間後には、白内障を除くいずれの変化も回復又は回復の傾向が認められた。これらの試験結果より、ラットの 3 ヵ月間反復投与試験における NOAEL は雌雄とも 3 mg/kg/日未満と考えられた。

本邦で実施したラットを用いた 26 週間反復投与試験（投与量：3、30、100 mg/kg/日）の主試験群では、30 mg/kg/日以上の投与群の雄各 1 例でベキサロテン投与によると考えられる死亡が認められた。雌雄ラットの曝露量は投与量の増加に伴って上昇し、明らかな雌雄差は見られなかった。投与量 3 mg/kg/日（雄 $AUC_{0\text{-}24}$：3920 ng·h/mL、雌 $AUC_{0\text{-}24}$：3490 ng·h/mL）以上で水晶体混濁又は白内障が認められ、血液凝固能への影響（APTT・PT の延長、フィブリノーゲン量の増加）、赤血球パラメータの減少、HDL-コレステロールの上昇、肝臓への影響（肝臓重量増加、肝臓腫大、小葉中心性の肝細胞肥大、ALP などの肝機能パラメータ及びアルブミンなどの血清蛋白パラメータの変動）、前胃の扁平上皮の肥厚、下垂体中間葉の肥大及び副腎皮質細胞の肥大などが認められた。投与量 30 mg/kg/日（雄 $AUC_{0\text{-}24}$：20500 ng·h/mL、雌 $AUC_{0\text{-}24}$：21000 ng·h/mL）以上で血液凝固能への影響（血小板数の増加）、皮膚の表皮肥厚、消化管への影響（舌の扁平上皮の肥厚、食道の扁平上皮の肥厚、前胃境界縁のびらんなど）、胸腺重量の減少、腎臓への影響［腎尿細管上皮の褐色色素沈着、皮質の鉱質沈着（雄のみ）］、

下垂体重量の増加（雄のみ）、大腿骨及び胸骨の軟骨肥大などが認められた。100 mg/kg/日（雄 AUC_{0-24}：37400 ng·h/mL、雌 AUC_{0-24}：35300 ng·h/mL）で脱毛、体重増加抑制及び腺胃粘膜上皮のびらん（雄のみ）が認められた。28 日間の回復期間終了時検査では、白内障、下垂体重量の増加（雄のみ）、下垂体の中間葉の肥大、大腿骨及び胸骨軟骨の肥大、並びに胸腺重量の減少は、投与期間終了時とほぼ同様であった。しかし、肝臓、腎臓及び消化管などで見られた変化には休薬による回復性又は回復傾向が見られた。これらの試験結果より、ラットの 26 週間反復投与試験における無毒性量（NOAEL）は雌雄とも 3 mg/kg/日未満と考えられた。

ラットを用いた 6 ヵ月間反復投与試験（投与量：3、30、100、300 mg/kg/日）では、全投与群で死亡が見られ、雄の死亡数に用量相関性が認められた。300 mg/kg/日群への投与は 8 週目で終了させたため、以下にはこの高用量群は含まない。雌雄ラットの曝露量は投与量にほぼ比例して増加し、雄の曝露量は雌よりも低く、また投与期間の延長に伴い曝露量の減少傾向が見られた。投与量 3 mg/kg/日（雄 AUC_{0-12}：1650 ng·h/mL、雌 AUC_{0-12}：2840 ng·h/mL）以上でコレステロール、HDL 及びトリグリセリドの上昇、肝臓への影響（肝臓重量増加、肝細胞空胞化）、副腎重量増加及び白内障が認められた。投与量 30 mg/kg/日（雄 AUC_{0-12}：8990 ng·h/mL、雌 AUC_{0-12}：11000 ng·h/mL）以上で血液凝固能への影響（PT・APTT 延長、血小板数増加）、赤血球パラメータ（赤血球数、血色素量及びヘマトクリット値）の減少、肝機能パラメータ（ALT・AST・ALP）上昇、胸腺重量の減少、皮膚（表皮肥厚）などが観察された。投与量 100 mg/kg/日（雄 AUC_{0-12}：12400 ng·h/mL、雌 AUC_{0-12}：21400 ng·h/mL）で体重増加抑制、皮膚（膿瘍）及び前胃（過角化、有棘層増殖）への影響が観察された。28 日間の休薬期間後には白内障を除くいずれの変化も回復又は回復傾向が認められた。以上の結果より、ラットの 6 ヵ月間反復投与試験における NOAEL は雌雄ともに 3 mg/kg/日未満と推察された。

イヌを用いた 28 日間反復投与試験（投与量：10、30、100、200 mg/kg/日）では、100 及び 200 mg/kg/日群で重篤な毒性を発現し瀕死動物が認められたため、21 日目で投与を中断し、生存例の半数は 22 日目に剖検し、残りの半数は 28 日間の回復性試験に供した。雌雄イヌの曝露量は投与量に比例して増加し、28 日目の曝露量は 1 日目と比較して低値を示した。投与量 10 mg/kg/日（雄 AUC_{0-24}：640 ng·h/mL、雌 AUC_{0-24}：444 ng·h/mL）以上で鱗屑皮膚、削痩などの症状が認められ、肝臓への影響［肝臓重量増加、ALT・AST・ALP・γ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT）の上昇］、血中脂質（コレステロール・HDL）の低下及び皮膚への影響（ケラトヒアリン顆粒増加）が観察された。投与量 30 mg/kg/日（雄 AUC：583 ng·h/mL、雌 AUC：618 ng·h/mL）以上で赤血球パラメータ（赤血球数及び血色素量）の減少、肝臓への影響（肝細胞の空胞化、肝細胞の変性及び色素沈着）、消化管への影響（鬱血、出血、変性及び粘液細胞増加）、精巣の精子形成不全などが認められた。投与量 200 mg/kg/日で PT 及び APTT の延長傾向が見られた。肝細胞の色素沈着を除き、これらのいずれの変化も 28 日間の休薬で回復した。以上の結果より、イヌの 28 日間反復投与試験における NOAEL は 10 mg/kg/日未満と推察された。

イヌを用いた 91 日間反復投与試験（投与量：0.1、0.3、1.5 mg/kg/日）では、投与量 0.1 mg/kg/日以上の雄で精巣の精細管変性が観察され、投与量 0.3 mg/kg/日以上の雌で副腎相対重量の

増加、投与量 1.5 mg/kg/日の雄で精巣の相対重量の減少が認められた。28 日間の休薬期間後には変化は見られなかった。以上の結果より、イヌの 91 日間反復投与試験における NOAEL は雄で 0.1 mg/kg/日未満、雌では 1.5 mg/kg/日を超えると推測された。

イヌを用いた 26 週間反復投与試験（投与量：1、3、10 mg/kg/日）では、雌雄動物の曝露量は投与量に応じて増加し、26 週目の曝露量は初回投与時と比較して低値を示した。投与量 3 mg/kg/日（雄 $AUC_{0\text{-}12}$：3390 ng·h/mL、雌 $AUC_{0\text{-}12}$：3460 ng·h/mL）以上で肝機能パラメータ（ALP 上昇、肝臓重量増加、肝細胞肥大）、副腎（皮質細胞の空胞化）への影響及び白内障が認められた。投与量 10 mg/kg/日（雄 $AUC_{0\text{-}12}$：7590 ng·h/mL、雌 $AUC_{0\text{-}12}$：7890 ng·h/mL）で肝機能パラメータ（ALT・AST・ALP・GGT）上昇、赤血球パラメータ（赤血球数及び血色素量）の減少、血液凝固能への影響（血小板数及びフィブリノーゲンの増加）、副腎重量の増加などが観察された。白内障及び肝細胞及びクッパー細胞の褐色色素沈着並びに副腎皮質細胞の空胞化の所見以外は 28 日間の休薬期間により回復又は回復の傾向を示した。これらの試験結果より、イヌ 26 週間反復投与試験における NOAEL は雌雄ともに 1 mg/kg/日と推定された。

本邦で実施したイヌを用いた 39 週間反復投与試験（投与量：1、3、10 mg/kg/日）では、雌雄動物の曝露量は投与量の増加に伴って上昇し、明らかな雌雄差は見られなかった。3 及び 10 mg/kg/日群では反復投与により全身曝露の低下が見られた。投与量 1 mg/kg/日（雄 $AUC_{0\text{-}24}$：7130 ng·h/mL、雌 $AUC_{0\text{-}24}$：7430 ng·h/mL）以上で肝臓［小葉中心性肝細胞のグリコーゲンの増加（1 mg/kg/日群では雌のみ）］、副腎（束状帯皮質細胞の脂肪滴の増加）及び生殖器（精巣における限局性の精細管上皮の変性及びセルトリ細胞の空胞化、精巣上体における管腔内細胞残屑）への影響が認められた。投与量 3 mg/kg/日（雄 $AUC_{0\text{-}24}$：12900 ng·h/mL、雌 $AUC_{0\text{-}24}$：14300 ng·h/mL）以上で血液凝固能への影響（フィブリノーゲン量の上昇）、肝臓への影響［肝臓重量の増加、肝臓腫大、血清蛋白パラメータへの影響（アルブミンなど）の変動］及び生殖器への影響（精巣上体における管腔内精子減少）が認められた。投与量 10 mg/kg/日（雄 $AUC_{0\text{-}24}$：25300 ng·h/mL、雌 $AUC_{0\text{-}24}$：29200 ng·h/mL）で白内障（雄のみ）、血液凝固能への影響（血小板数の上昇）及び生殖器への影響（精巣における間細胞過形成）などが観察された。白内障を除くこれらの影響は 28 日間の休薬期間により回復した。これらの試験結果より、イヌの 39 週間反復投与試験における NOAEL は雌雄ともに 1 mg/kg/日未満と推定された。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

細菌を用いる復帰突然変異試験では、ベキサロテンの濃度 1000 μg/plate まで変異原性を示さなかった。チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いる染色体異常試験において、ベキサロテンは S9 mix 存在下で濃度 60 μg/mL まで、S9 mix 非存在下で濃度 5 μg/mL まで染色体異常を誘発しなかった。マウスリンフォーマ TK 試験では、S9 mix 存在下及び非存在下で濃度 40 μg/mL まで遺伝子変異は認められなかった。マウス骨髄を用いる小核試験では、ベキサロテンは投与量 1000 mg/kg まで遺伝毒性を示さなかった。

2.4.4.4 がん原性試験

本邦で実施した CB6F1-Tg rasH2 マウスを用いた 26 週間投与がん原性試験（投与量：30、100、300 mg/kg/日）では、雄の 100 mg/kg/日以上の投与群で投与 7 週（TK 群は投与 5 週）以降に死亡及び瀕死が頻発したため投与期間の途中で投与を中止した。したがって、雄については低用量群の成績に基づいてベキサロテンのがん原性の有無を評価した。雌雄動物のベキサロテン曝露量は投与量の増加に伴って上昇し、明らかな雌雄差は見られなかった。反復投与後の曝露量は初回投与時と比較して低値を示した。26 週間の投与終了時の生存率は、雄の 30 mg/kg/日群及び雌のベキサロテン投与全群で対照群と比べて有意な差は認められず、腫瘍発現に起因した死亡又は衰弱例は、雌雄いずれのベキサロテン投与群にも認められなかった。腫瘍発生率に、雄の 30 mg/kg/日群及び雌全群で対照群と比べて有意な差は認められなかった。ベキサロテン投与によると考えられる死亡・衰弱の原因は出血性心筋症及び肝臓からの出血が主因と考えられた。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験として、ラットを用いた胚・胎児発生に関する経口投与試験（投与量：1、4、16 mg/kg/日、投与期間：妊娠 7～17 日）を実施した。4 mg/kg/日以上の投与群で母動物に体重増加抑制及び 16 mg/kg/日群で摂餌量減少が認められ、4 mg/kg/日以上の投与群で骨化遅延などの胎児の形態変異、16 mg/kg/日群で早期及び後期吸収胚、並びに胎児の外表異常（口蓋裂、眼球膨隆部の陥凹など）及び小眼球の発現頻度が有意に増加した。母動物及び胚・胎児発生に関する NOAEL は 1 mg/kg/日と推定された。

2.4.4.6 その他の毒性試験

2.4.4.6.1 不純物の毒性評価

ベキサロテンの原薬中に含まれる不純物のうち、[redacted]（不純物A*）、[redacted] 不純物（不純物B*）及び[redacted] 不純物（不純物C*）の申請規格値はそれぞれ[redacted]%以下 [redacted]%以下及び[redacted]%以下であり、ICH ガイドライン Q3A（R2）において安全性確認が必要とされている閾値（0.15%）を超えて規格が設定されているため、これらの 3 種の不純物に関するマウスを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験並びに遺伝毒性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験及び哺乳類細胞を用いる染色体異常試験）を実施した。[redacted]及び[redacted] 不純物のマウスにおける NOAEL は雌雄ともに 6 mg/kg/日［それぞれの不純物の規格限度値（[redacted]%）の約[redacted]倍の含有率に相当］であり [redacted] 不純物の NOAEL は雄で 2 mg/kg/日、雌で 6 mg/kg/日［雄で規格限度値（[redacted]%）の約[redacted]倍、雌で約[redacted]倍の含有率に相当］であった。

細菌を用いる復帰突然変異試験では、ベキサロテン処理用量を 5000 μg/プレートとした場合の[redacted]%相当を[redacted]及び[redacted] 不純物の処理用量とし、S9 代謝活性化系の非存在下及び存在下で 25 μg/プレートを最高用量として以下公比 2 で、12.5、6.25、3.13、及び 1.56 μg/プレート（すべての試験菌株、）をそれぞれ設定した。[redacted] 不純物ではベキサロテン処理

用量を 5000 μg/プレートとした場合の[redacted]%相当を処理用量とし、S9 代謝活性化系の非存在下及び存在下で 15 μg/プレートを最高用量として以下公比 2 で、7.5、3.75、1.88、及び 0.938 μg/プレート（すべての試験菌株）を設定した。ベキサロテンの原薬中に含まれる不純物[redacted]（不純物A*）、[redacted]不純物（不純物B*）及び[redacted]不純物（不純物C*）は変異原性を示さなかった。

哺乳類細胞を用いる染色体異常試験では、ベキサロテンのチャイニーズハムスター肺由来の細胞株（CHL/IU）に対する細胞毒性を確認し、ベキサロテン処理で 50%以上の細胞増殖抑制が認められると考えられる用量は、6 時間処理では S9 代謝活性化系の非存在下で 40 μg/mL、S9 代謝活性化系の存在下で 90 μg/mL、24 時間処理で 50 μg/mL であった。この結果から、CHL/IU 細胞を用いたベキサロテン処理用量の[redacted]%相当を[redacted]及び[redacted]不純物の処理用量とし、6 時間処理では S9 代謝活性化系の非存在下で 0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125 μg/mL、S9 代謝活性化系の存在下で 0.45、0.225、0.113、0.0563、0.0281 μg/mL、24 時間処理では 0.25、0.125、0.0625、0.0313、0.0156 μg/mL を設定した。[redacted]不純物では処理用量の[redacted]%相当を[redacted]不純物の処理用量とし、6 時間処理では S9 代謝活性化系の非存在下で 0.12、0.06、0.03、0.015、0.0075 μg/mL、S9 代謝活性化系の存在下で 0.27、0.135、0.0675、0.0338、0.0169 μg/mL、24 時間処理では 0.15、0.075、0.0375、0.0188、0.00938 μg/mL を設定した。

CHL/IU 細胞を用いる染色体異常試験において、[redacted]（不純物A*）、[redacted]不純物（不純物B*）及び[redacted]不純物（不純物C*）は染色体異常を誘発しなかった。

2.4.4.6.2 添加物の安全性評価

ベキサロテン製剤の軟カプセル剤皮軟カプセルに使用されている D-ソルビトール・ソルビタン液－グリセリン混液に含まれる D-ソルビトールと 1,4-ソルビタン及び製剤中に含まれるポリソルベート 20 の安全性について、主として公表されている文献情報に基づき評価した結果、いずれの添加物も毒性は低く、ヒトへの投与に際して安全性は高いと考えられた。

2.4.4.6.3 光毒性試験

in vitro 光毒性試験として、MTT 試験、光溶血性試験及びヒスチジン光酸化反応を実施した。MTT 試験では、MatTeck EpiDerm® skin model にベキサロテンを 3000 μg/mL までの濃度で UVA 照射しても、UVA 非照射の場合と比較して細胞生存率に差は認められなかった。光溶血性試験では、ヒト赤血球にベキサロテンを濃度 300 μg/mL で添加し UVA 照射すると、UVA 非照射の場合と比較して溶血性は有意に増加した。ヒスチジン光酸化反応では、ヒスチジン溶液にベキサロテンを濃度 300 及び 3000 μg/mL で添加し UVA 照射すると、UVA 非照射の場合と比較してヒスチジン含量は有意に減少した。以上、MTT 試験を除き、2 つの *in vitro* 試験で光毒性陽性の結果が得られたことから、ベキサロテンは *in vitro* 条件下で光毒性を示す可能性があると考えられた。

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 薬理試験

(1) 効力を裏付ける試験

ベキサロテンは、RXR と選択的に結合し、RXR ホモ二量体及び他の核内受容体とのヘテロ二量体を転写活性化した。他のレチノイドが、RAR 選択的、又は RAR 及び RXR を共に転写活性化するのに対して、ベキサロテンは RXR 選択的であった。種々の増殖性の細胞を用いた *in vitro* 培養系にベキサロテンを作用させると、対照に比べて細胞数/生細胞数/DNA 合成が低下し、ベキサロテンが細胞増殖を阻害することを示した。このとき、アポトーシス誘導が観察され、ベキサロテンがアポトーシス誘導を介して細胞増殖を阻害する可能性が考えられた。

ベキサロテンは、CTCL 由来の HH（菌状息肉症/セザリー症候群以外の CTCL 由来）及び HuT78（セザリー症候群由来）細胞に対して、*in vitro* で濃度依存的な抗腫瘍効果を示した。また、ベキサロテンは、CTCL 由来の HH（菌状息肉症/セザリー症候群以外の CTCL 由来）細胞異種移植動物において、有意な抗腫瘍効果を示した。

ベキサロテンは、NMU-誘導ラット乳癌モデル動物の一次及び二次腫瘍に対して、陽性対照であるタモキシフェンよりも強い腫瘍退縮作用を有していた。また、同モデルで腫瘍発生率と腫瘍個数をタモキシフェンに比べて有意に抑制し、化学予防効果を発揮した。タモキシフェン耐性腫瘍において、タモキシフェンとの併用効果を有することから、タモキシフェンの ER を介した効果とは異なる経路（おそらくは RXR を介した経路）で化学予防効果をベキサロテンが発揮していることが示唆された。

以上のように、ベキサロテンは RXR と選択的に結合し、RXR のホモ/ヘテロ二量体形成を介して、その下流経路を転写活性化し、アポトーシス誘導及び G1 期停止を伴う細胞増殖阻害作用、化学予防作用などが複合的に作用して、CTCL に対して抗腫瘍効果を発揮すると推定される。

(2) 安全性薬理試験

安全性薬理試験として、ラット及びイヌを用いて中枢神経系、心血管系及び呼吸器系への影響の有無について検討した。ベキサロテンの QT 間隔に対する影響の有無についてはヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）を安定的に導入したヒト胎児腎臓由来（HEK）293 細胞を用いてホールセルクランプ法で評価した。

ベキサロテンを 100 mg/kg までラットに単回投与又は 4 日間連続投与しても中枢神経系及び呼吸器系機能への影響は見られず、ベキサロテンを 60 mg/kg までラットに 4 日間連続投与しても血圧及び心拍数に影響は認められなかった。ベキサロテンを 10 mg/kg までをイヌに単回投与しても心血管系機能への影響は見られなかった。hERG 試験ではベキサロテンは 0.3 μM（灌流後濃度：0.171 μM）まで hERG 電流に影響を及ぼさなかった。

2.4.5.2 薬物動態試験

非臨床試験におけるベキサロテンの薬物動態に関する試験結果は、臨床試験における結果をサポートするのに充分なものであった。また、各動物種における薬物動態試験の結果は、毒性試験に用いた動物種がベキサロテンの安全性評価に適切な動物種であったことを示唆した。

経口及び静脈内投与した際のベキサロテン血漿中濃度の AUC 比から算出した BA は、ラットで雄及び雌それぞれで、28.7%及び 41.0%、イヌで 36.7%であり、ラット及びイヌ共に経口吸収性は良好であった。これらの薬物動態データから、ラット及びイヌにおいて、ベキサロテンの吸収は速やかであり、バイオアベイラビリティは良好であり、結晶の微粒化が行われていない非微粉化ベキサロテンと比較して微粉化ベキサロテンで高いことが明らかとなった。微粉化による BA の上昇は、比表面積の増大により消化管内での溶解が進みやすくなったためと推察された。ベキサロテンをラットに経口投与(3-100 mg/kg)すると、AUC は投与量の増加と共に上昇し、投与量と AUC 間にほぼ比例関係が認められた。高用量における AUC の上昇率は、投与量の増加率よりも若干低く飽和する傾向が見られた。イヌにおいても、経口投与(1～10 mg/kg)後の AUC は、投与量の増加と共に上昇し、投与量と AUC 間にほぼ比例関係が認められた。これらの結果から、ベキサロテンの単回投与後の薬物動態は、ほぼ線形であると考えられた。ベキサロテンをラットに反復経口投与(10-100 mg/kg/day、15 日間)すると、反復投与後の未変化体 AUC は単回投与の場合と比べて低下し、高用量で顕著な低下が認められた。イヌでベキサロテンの反復投与により、未変化体 AUC が低下することが認められた。これらは、ベキサロテンが自身を代謝する薬物代謝酵素を誘導するためであると考えられた。反復投与後のラット肝における CYP3A 分子種の蛋白量及び肝ミクロソームでのベキサロテン代謝速度は、対照に比べて上昇しており、ベキサロテンにより酵素誘導されていることが確認された。イヌにおいて、吸収に対する食餌の影響は見られなかった。

[^{14}C]ベキサロテンをラットに経口投与すると、血漿を含むほとんどの組織中の ^{14}C 濃度は投与後 4 時間で C_{max} に達した。雄ラットでは、投与後 4 時間での組織内 ^{14}C 濃度は、消化管を除き、肝臓でもっとも高い値を示し、次いで副腎、膵臓、腎臓、白色脂肪、リンパ節、心臓、脾臓、肺、顎下腺、血漿、精巣上体、脳、精巣、全血、大動脈、皮膚、骨格筋、胸腺の順であった。肝臓、副腎、膵臓、腎臓、白色脂肪、リンパ節、心臓、脾臓、肺、及び顎下腺の ^{14}C 濃度は血漿よりも高く、[^{14}C]ベキサロテン及びその由来成分は広く組織に分布した。雌ラットでも同様の結果であり、いずれにおいても ^{14}C が残留傾向を示す組織は認められなかった。ラット、イヌ、及びヒトの血漿で、ベキサロテンは 99%以上の高い蛋白結合を示した。

ラット、イヌ、ヒトでの主要酸化的代謝物は、C-6 位及び C-7 位にそれぞれ水酸基又はカルボニル基を有する 4 種類の第 1 相代謝物(6-/7-水酸化体、6-/7-オキソ体)であり、6-水酸化体が主代謝物であった。また、グルクロン酸抱合、タウリン抱合、硫酸抱合も認められた。ヒトミクロソームを用いた試験から、ベキサロテンの酸化的代謝には主に CYP3A4 が

関与すると考えられた。また、ベキサロテンはCYP2C8を強く、CYP2C9を弱く阻害し、Kiはそれぞれ1.43 μM、29 μMであった。ヒト初代肝細胞を用いた試験から、ベキサロテンはCYP3A4を誘導することが確認された。この誘導作用は、典型的な酵素誘導を示すリファンピシンの1/10程度であった。

2.4.5.3 毒性試験

毒性評価のための試験として、ラット単回投与毒性試験、イヌ単回投与毒性試験、ラット反復投与毒性試験（28日間、37日間、5週間、92日間、3ヵ月間、6ヵ月間及び26週間試験）、イヌ反復投与毒性試験（28日間、30日間、91日間、26週間及び39週間試験）、遺伝毒性試験（復帰突然変異試験、染色体異常試験、マウスリンフォーマTK試験及びマウス小核試験）、遺伝子改変マウス26週間がん原性試験、生殖発生毒性試験（ラット胚・胎児発生試験）、及び光毒性試験を実施した。また、その他の試験として、不純物[■■■（不純物A*）、■■■不純物（不純物B*）及び■■■■不純物（不純物C*）]のそれぞれについて4週間反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験を実施した（表 2.4.1-2）。

ラット及びイヌの単回投与試験において、ラットではベキサロテンの投与量1500 mg/kg/日まで、イヌでは投与量720 mg/kg/日で死亡は認められなかった。また、マウスに最高1000 mg/kgまで単回投与した小核試験において、死亡例は見られなかった。以上のことから、マウスの概略の致死量は1000 mg/kgを超えると考えられた。ラットの反復投与試験では、血液凝固能への影響、赤血球パラメータの変動、肝臓への影響、血中脂質の変動、皮膚・前胃・軟骨への影響、副腎への影響及び白内障が認められた。白内障などを除くほとんどの変化は28日間の休薬により回復又は回復の傾向が認められた。ラットにおける毒性は、26週間反復投与試験における投与量3 mg/kg/日（雄 $AUC_{0\text{-}24}$：3920 ng·h/mL、雌 $AUC_{0\text{-}24}$：3490 ng·h/mL）以上で認められ、海外承認用量300 mg/m^2/日におけるヒト曝露量（AUC：10815ng·h/mL）の約32%の曝露量から発現した。イヌの反復投与試験では、血液凝固能への影響、肝臓への影響、血中脂質の変化、副腎への影響、精巣への影響及び白内障が認められた。イヌにおける毒性は、39週間反復投与試験における投与量1 mg/kg/日（雄 AUC：7130 ng·h/mL、雌 AUC：7430 ng·h/mL）以上で認められ、海外承認用量300 mg/m^2/日におけるヒト曝露量の約0.7倍の曝露量で発現した。ラットの胚・胎児発生に関する試験では、16 mg/kg/日で胎児の外表、内臓異常及び骨格異常・変異が発現した。遺伝毒性試験では、細菌を用いる復帰突然変異試験及びほ乳類細胞での *in vitro* 試験並びに *in vivo* 小核試験の評価において、いずれも陰性であり、ベキサロテンは遺伝毒性を示さないと考えられた。CB6F1-Tg rasH2系統マウスを用いたがん原性試験では、ベキサロテン投与群の腫瘍発生率に対照群と比して有意な差は認められなかった。*in vitro* 光毒性試験では、光溶血性試験及びヒスチジン光酸化反応が陽性であったため、ベキサロテンは *in vitro* 条件下で光毒性を示す可能性が示唆された。

2.4.6 参考文献一覧

該当なし