メキニスト錠0.5mg
メキニスト錠2mg

製造販売承認申請書添付資料

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

ノバルティスファーマ株式会社

非臨床試験の概括評価の目次

頁

2.4. 非臨床試験の概括評価 1

2.4.1. 非臨床試験計画概略 1

2.4.2. 薬理試験 2

2.4.2.1. 効力を裏付ける試験 2

2.4.2.2. 副次的薬理試験 7

2.4.2.3. 安全性薬理試験 7

2.4.2.4. 薬力学的薬物相互作用試験 8

2.4.3. 薬物動態 9

2.4.3.1. 吸収 9

2.4.3.2. 分布 9

2.4.3.3. 代謝 10

2.4.3.4. 排泄 10

2.4.3.5. 薬物動態学的薬物相互作用 11

2.4.4. 毒性試験 12

2.4.4.1. 急性毒性 12

2.4.4.2. 反復投与毒性 12

2.4.4.3. 遺伝毒性 17

2.4.4.4. 生殖発生毒性 18

2.4.4.5. その他の毒性 19

2.4.5. 総括及び結論 21

2.4.5.1. 図表 22

2.4.5.2. 参考文献 22

2.4 の略号等一覧

略語（略称）	内　容
AAG	α1-酸性糖蛋白質
AChE	アセチルコリンエステラーゼ
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ATP	アデノシン三リン酸
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
BChE	ブチリルコリンエステラーゼ
BCRP	ヒト breast cancer resistance protein
BDC	胆管カニュレーション処置
BSEP	ヒト bile salt export pump
CDK	サイクリン依存性キナーゼ
cDNA	相補的 DNA
Cmax	最高血漿中濃度
CLb	血液クリアランス
CLp	血漿クリアランス
CYP	チトクローム P450
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole
DNA	デオキシリボ核酸
EC50	50%有効濃度
ECG	心電図
ERK	Extracellular signal-regulated kinase
F	経口バイオアベイラビリティ
FGF	線維芽細胞増殖因子
FGFR	線維芽細胞増殖因子受容体
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hCES	ヒトカルボキシルエステラーゼ
HEK293	Human embryonic kidney 293
hERG	Human ether-a-go-go related gene
HSA	ヒト血清アルブミン
HUVEC	ヒト臍帯静脈血管内皮細胞
IC50	50%阻害濃度
LOEL	最小影響量
MAPK	Mitogen-activated protein kinase
MATE1	Multidrug and toxin extrusion 1
MEK	Mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase
mRNA	メッセンジャーRNA
MRP2	ヒト multidrug resistance associated protein 2
NOEL	無影響量
NRU	ニュートラルレッド取り込み
OAT	ヒト organic anion transporter
OATP	ヒト organic anion transporting polypeptide
OCT	ヒト organic cation transporter

2.4 の略号等一覧（続き）

略語（略称）	内　容
PARP	Poly (ADP-ribose) polymerase
PBMC	末梢血単核細胞
Pgp	P-糖蛋白質
PIF	Photo-irritation factor（光毒性試験で算出する指標：薬物処理群の UV 非照射時と照射時の IC50 の比）
PMA	Phorbol 12-myristate 13-acetate
P-MEK	活性型 MEK
PXR	Pregnane X receptor
RB	Retinoblastoma
RNA	リボ核酸
SD ラット	Sprague Dawley ラット
siRNA	small interfering RNA
t1/2	消失半減期
Tp-e	貫壁性再分極相のばらつき
U-MEK	不活性型 MEK
UV	紫外線
Vdss	定常状態における分布容積

2.4.　非臨床試験の概括評価

2.4.1.　非臨床試験計画概略

トラメチニブ　ジメチルスルホキシド付加物（GSK1120212B）は、強力かつ選択的なMEK 阻害薬である。GSK1120212B は MEK1/2 を阻害し、ERK リン酸化を阻害することにより、腫瘍細胞に対して増殖抑制作用を示す。悪性黒色腫では BRAF V600 変異が高頻度でみられ、本変異により MAPK シグナル伝達経路が恒常的に活性化することから、RAF の下流に存在する MEK を阻害する GSK1120212B の BRAF V600 変異を有する悪性黒色腫に対する有効性が期待される。GSK1120212B は選択的 RAF 阻害薬である GSK2118436 との併用により、BRAF V600 変異を有するヒト悪性黒色腫細胞株を用いた in vitro 及び in vivo 試験で相加又は相乗的な腫瘍増殖抑制作用を示し、RAF 阻害薬の副作用として知られる皮膚の増殖性病変（扁平上皮癌等）の発現を軽減できる可能性が示唆されることから、「BRAF V600 遺伝子変異を有する悪性黒色腫」の治療を目的として、GSK2118436 との併用での開発が進められた。以下に、GSK1120212B 単独の薬理、薬物動態及び毒性試験成績に加え、GSK2118436 との併用による試験計画についても記載する。なお、非臨床試験における投与量及び濃度はすべて遊離塩基に換算して記載し、試験には主に GSK1120212B を、一部の試験には GSK1120212A（遊離塩基）及び GSK1120212H（酢酸付加物）を使用した。

薬理試験では、GSK1120212B の悪性黒色腫に対する効力を裏付ける試験として、in vitro における MEK 阻害作用、各種キナーゼに及ぼす影響、BRAF V600 遺伝子変異陽性（以下、BRAF V600 変異陽性）の悪性黒色腫を含む各種ヒト腫瘍由来細胞株に対する増殖抑制作用及び ERK リン酸化阻害作用、細胞周期に及ぼす影響、アポトーシス誘導作用、耐性獲得メカニズム、代謝物の薬理活性並びにサロゲートマーカーに関する試験、in vivo における BRAF V600E 変異陽性のヒト悪性黒色腫由来細胞株を用いたマウス異種移植モデルでの試験及びサロゲートマーカーに関する試験を実施した。副次的薬理試験として、各種受容体、チャネル、酵素及びキナーゼに及ぼす影響、in vitro におけるヒト正常細胞の増殖に及ぼす影響を検討した。安全性薬理試験として、中枢神経系、心血管系及び呼吸系に対する影響を検討する試験を実施した。

GSK2118436 との併用での効力を裏付ける試験として、in vitro における BRAF V600 変異陽性のヒト悪性黒色腫由来細胞株に対する増殖抑制作用並びに BRAF V600 変異陽性のヒト悪性黒色腫由来細胞株より単離した GSK2118436 耐性細胞クローンの増殖に対する併用効果について検討した。また、BRAF V600E 変異陽性のヒト悪性黒色腫由来細胞株を用いたマウス異種移植モデルを用いて、GSK2118436 及び GSK1120212B を種々の投与スケジュールで併用投与したときの腫瘍増殖抑制作用についても検討した。また、臨床試験において GSK2118436 及び GSK1120212B を併用投与することにより発熱の発現頻度の増加がみられたことから、発熱の機序を検討するためのフォローアップ試験の一環として、GSK2118436 及び GSK1120212B を併用処理したときのサイトカイン遊離に及ぼす影響についても検討した。併用試験には、GSK2118436A 及び GSK1120212B を使用し、投与量及び濃度はすべて遊離塩基に換算して記載した。

GSK1120212B の薬物動態試験は薬理試験及び毒性試験で用いたマウス、ラット、イヌ及びサルで行った。動物の系統としては、Balb/c-nu/nu（アルビノ）マウス、SD（アルビノ）及び Long Evans（有色）ラット、ビーグル犬並びにカニクイザルを使用した。

GSK1120212B のイヌの急性毒性試験（単回漸増経口投与試験）、マウス、ラット及びイヌを用いたそれぞれ最長 26、13 及び 13 週間反復経口投与毒性試験、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、並びにラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験を実施した。その他の毒性試験として、心臓への影響に関する検討、in vitro 光毒性試験及びイヌを用いた BRAF 阻害薬である GSK2118436B（臨床使用時の併用薬）との併用投与試験を実施した。なお、ラットの急性毒性は短期反復投与毒性試験により評価した。

GSK1120212B の対象疾患が悪性黒色腫であることから、「がん原性試験ガイドライン」[薬食審査発第 1127001 号通知, 2008]及び「抗悪性腫瘍薬の非臨床試験に関するガイドライン」[薬食審査発 0604 第 1 号通知, 2010]に基づき、がん原性試験、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、並びに出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験は実施していない。

毒性試験では、GSK1120212B の被験物質として、開発初期の試験（in vitro 遺伝毒性試験、イヌの急性毒性試験並びにラット及びイヌの短期反復投与毒性試験）では未微粉化原薬を使用したが、それ以外の試験では微粉化原薬を使用した。

重要な試験のほとんどは GLP 適用試験として実施した。

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.　GSK1120212B の薬理作用

2.4.2.1.1.1.　In vitro 試験

MEK 阻害作用

GSK1120212B は不活性型の U-MEK1 及び U-MEK2 の活性化（キナーゼ活性の発現）を阻害し、IC50 はそれぞれ 0.7 及び 0.9 nM であった（2.6.2.2.1.1.1.）。U-MEK1 のキナーゼ活性の発現に必要な Ser218 及び Ser222 のリン酸化のうち、GSK1120212B は Ser218 のリン酸化を阻害したが、Ser222 のリン酸化には影響を及ぼさなかった（2.6.2.2.1.1.2.）。U-MEK1 に対する結合動態パラメータ（k(off)）から、GSK1120212A の解離は ATP 非競合的なアロステリック阻害薬である PD0325901 と比較して極めて遅いことが示された（2.6.2.2.1.1.3.）。また、GSK1120212B は活性型の P-MEK1 及び P-MEK2 活性（ERK をリン酸化するキナーゼ活性）を阻害し、IC50 はそれぞれ 13.2 及び 10.7 nM であった（2.6.2.2.1.1.4.）。P-MEK1 に対する阻害様式は、ATP との非競合的阻害であった（2.6.2.2.1.1.5.）。GSK1120212B は PD0325901 と P-MEK1 の結合部位において、競合的に結合を阻害した（2.6.2.2.1.1.6.）。GSK1120212B の MEK1/2 以外の各種キナーゼ（43 及び 171 種類のパネル）に対する阻害作用は弱く、MEK1/2 と最も相同性の高い MEK5 のリン酸化に対しても阻害作用を示さなかったことから、MEK1/2 に対する高い選択性が示された（2.6.2.2.1.2.）。

腫瘍細胞増殖抑制作用

計 320 種類（CellTiterGlo アッセイ及び核を 4',6-diamidino-2-phenylindole（DAPI）染色し、リアルタイムイメージ法で解析した細胞株数の合計）のヒト腫瘍細胞株パネルを用いた網羅的解析において、BRAF 変異陽性細胞株の 88%及び RAS 変異陽性細胞株の 72%の細胞株が GSK1120212B に高い感受性を示した（2.6.2.2.1.3.1.）。一方、野生型 BRAF 及び RAS を有する細胞株では、28%の細胞株だけが高い感受性を示した（2.6.2.2.1.3.1.）。また、218 種類のヒト腫瘍細胞株パネル（固形癌由来）を用いた網羅的解析においても、BRAF 及び RAS 変異陽性細胞株の 80%を超える細胞株が GSK1120212B に対して高い感受性を示した（2.6.2.2.1.3.3.）。一方、野性型 BRAF 及び RAS を有する細胞株では、高い感受性を示した細胞株は 40%未満であった（2.6.2.2.1.3.3.）。また、組織別では、特に、悪性黒色腫、膵臓癌及び結腸癌由来の 80%を超える細胞株が GSK1120212B に対して高い感受性を示した。

ERK リン酸化レベルと GSK1120212B に対する感受性との間に完全な関連性は認められなかったが、21 株中 ERK リン酸化（Thr202/Tyr204）レベルの高い 5 株のうち 4 株は GSK1120212B に感受性を示した（2.6.2.2.1.3.2.）。その他の 16 株については、ERK リン酸化（Thr202/Tyr204）レベルと GSK1120212B に対する感受性との間に関連性は認められなかった。また、DUSP6（ERK を不活性化させる働きを有している）mRNA を発現している細胞株の多くは GSK1120212B に対して高い感受性を示し、DUSP6 mRNA を発現していない細胞株の多くは GSK1120212B に対する感受性が低かった（2.6.2.2.1.3.4.）。BRAF V600 変異陽性の 17 種類のヒト悪性黒色腫細胞株のうち、14 種類の細胞株は GSK1120212B に対して高い感受性を示し、増殖抑制作用の IC50 は 0.3～9.5 nM であった（2.6.2.2.1.3.5.）。BRAF V600E 変異陽性のヒト悪性黒色腫由来 A375P F11 細胞株に対する GSK1120212B の増殖抑制作用の可逆性を検討した結果、増殖抑制作用はウォッシュアウトすることにより減弱することが示された（2.6.2.2.1.3.6.）。

BRAF V600E 又は V600K 変異陽性のヒト悪性黒色腫由来のそれぞれ A375P F11 又は YUSIT1 細胞株を高濃度の GSK2118436（RAF 阻害薬）存在下で 1 週間以上培養し、その中から単離した GSK2118436 に対して耐性を獲得した耐性細胞クローンでは NRAS 又は MEK1 あるいはその両方に変異（NRAS：Q61K 及び A146T 変異、MEK1：K59 の欠失（インフレーム変異；K59del）又は P387S のミスセンス変異）が検出された（2.6.2.2.1.3.7.1.）。これらの耐性細胞クローンは、GSK1120212B に対する感受性も 1/200 未満～約 1/3 に低下した（2.6.2.2.1.3.7.）。

細胞周期に及ぼす影響及びアポトーシス誘導作用

BRAF V600E 変異陽性のヒト結腸直腸癌由来 HT29 細胞株において、GSK1120212A は MEK 及び ERK のリン酸化レベルを低下させ、細胞周期抑制因子である p15 及び p27 蛋白レベルの増加並びに細胞周期促進因子である c-Myc、サイクリン A、D1 及び D2 蛋白レベルの低下を誘導した（2.6.2.2.1.4.）。また、サイクリン E、CDK2、CDK4 及び retinoblastoma（RB）の蛋白レベルをわずかに低下させ、細胞周期の停止にかかわる RB リン酸化レベルを低下させた（2.6.2.2.1.4.）。ヒト結腸直腸癌由来 HT29 及び Colo205 細胞株（BRAF V600E 変異陽性）において、GSK1120212A は G0/G1 期の分画を増加させ細胞周期の停止を誘導し

た後、サブ G1 分画（DNA の断片化を検出）を増加させた。また、GSK1120212A はカスパーゼ 3、7 及び 9 並びに PARP の切断（活性化）を誘導し、カスパーゼの活性化は、サブ G1 分画の増加と関連していた（2.6.2.2.1.5.）。これらのことから、GSK1120212A のアポトーシス誘導作用は、G0/G1 期停止後のカスパーゼの活性化と関連しており、GSK1120212A の細胞増殖抑制作用には、アポトーシス誘導作用が関与していると考えられる。

GSK1120212B に対する獲得耐性に関する検討

KRAS 変異陽性のヒト結腸直腸癌由来 HCT116 細胞株を高濃度の GSK1120212B で 2 週間以上曝露し、GSK1120212B に耐性を獲得した HCT116（212-Res）細胞株に対する GSK1120212B の増殖抑制作用の IC50 は 3.3 μM であり、親細胞株（HCT116 細胞株）に対する IC50（2 nM）と比較して感受性は 1/1650 に低下した（2.6.2.2.1.6.1.）。HCT116（212-Res）細胞株から単離した GSK1120212B 耐性細胞クローンの遺伝子配列解析を行った結果、MEK2 における L119P のアミノ酸置換を起こす単一点突然変異がみられた（2.6.2.2.1.6.1.）。GSK1120212B 耐性細胞クローンに non-silencing small interfering RNA（siRNA）を処理しても、GSK1120212B に対する耐性は維持されたままであったが（IC50＝2565 nM）、MEK2 をノックダウンさせる siRNA を導入することにより、GSK1120212B に対する感受性は回復（IC50＝72 nM）することから（2.6.2.2.1.6.2.）、GSK1120212B に対する耐性発現メカニズムには MEK2 における L119P の単一点突然変異が関与していることが示された。

代謝物の薬理活性

ヒトでの主な血漿中代謝物は GSK1790627（M5：脱アセチル体）及び GSK3002415A（M7：M5 の酸化体）である（2.6.4.1.及び 5.3.3.2.：2012N134931_00）。M5 の in vitro における U-MEK1 の活性化（キナーゼ活性の発現）に対する阻害作用、P-MEK1 活性（ERK をリン酸化する活性）に対する阻害作用、BRAF V600E 変異陽性のヒト悪性黒色腫由来 SK-MEL-28 細胞株における ERK リン酸化阻害作用及び増殖抑制作用は、GSK1120212B と同程度であった（2.6.2.2.1.7.1.）。また、M7 の P-MEK1 活性に対する阻害作用の IC50 は 73 nM であり、阻害活性は未変化体（GSK1120212B：IC50＝7.0 nM）の約 1/10 と弱かった（2.6.2.2.1.7.2.）。ヒトにおける M5 及び M7 の薬理活性はそれぞれ同程度及び約 1/10 であったが、それぞれの血漿中濃度はいずれも未変化体の約 1/7 以下であることから（5.3.3.2.：2012N134931_00）、GSK1120212B の薬効における M5 及び M7 の寄与の程度は低いと考えられる。

サロゲートマーカーの検討

GSK1120212B は phorbol 12-myristate 13-acetate（PMA）刺激ヒト PBMC における ERK リン酸化を濃度依存的に阻害した。同様にイヌ及びラットの PBMC（PMA 刺激）においても ERK リン酸化を阻害し、IC50 はヒト及びラットは同程度であり、イヌではヒトと比較して低値であった（2.6.2.2.1.8.）。

2.4.2.1.1.2.　In vivo 試験

ERK リン酸化阻害作用

GSK1120212B（0.1～3 mg/kg、単回～14 日間経口投与）は BRAF V600E 変異陽性のヒト悪性黒色腫由来 A375P F11 細胞株を用いたマウス異種移植モデルの腫瘍組織において、ERK のリン酸化を用量依存的に阻害することが示された（2.6.2.2.2.1.）。また、ERK リン酸化阻害作用の持続がみられた 8 時間後の血中未変化体濃度は 100 nM を超えており、作用がみられなかった 24 時間後では 100 nM を下回っていた（2.6.2.2.2.1.1.）。更に、GSK1120212B の ERK リン酸化阻害作用は 14 日間経口投与しても、減弱しないことが示された（2.6.2.2.2.1.3.）。

p27 蛋白レベル増加作用

BRAF V600E 変異陽性のヒト悪性黒色腫由来 A375P F11 細胞株を用いたマウス異種移植モデルにおいて、GSK1120212B は 3 mg/kg の 1 日 1 回 7 日間経口投与により、腫瘍組織において G1 期停止のマーカーである p27 蛋白レベルを増加させた（2.6.2.2.2.2.）。本試験成績は、in vitro 試験成績（2.6.2.2.1.4.）と一致しており、GSK1120212A 及び GSK1120212B は MEK を阻害し、p27 及びサイクリン D1 等の細胞周期調節因子の発現を調節し、RB の機能を阻害して細胞周期を G1 期で停止させ、カスパーゼ 3 等の活性化を誘導してアポトーシスを誘導することが示唆された。

腫瘍増殖抑制作用

BRAF V600E 変異陽性のヒト悪性黒色腫由来 A375P F11 細胞株を用いたマウス異種移植モデルにおいて、GSK1120212B は 1 及び 3 mg/kg の 1 日 1 回 14 日間経口投与により、腫瘍増殖を有意に抑制した（2.6.2.2.2.3.）。

サロゲートマーカーの検討

GSK1120212B を経口投与したマウスから単離した PBMC の ERK リン酸化レベルは、用量（0.03～3 mg/kg）に依存して低下した（2.6.2.2.2.4.）。GSK1120212B は in vitro において PMA 刺激ヒト、イヌ及びラット PBMC における ERK リン酸化を濃度依存的に阻害し（2.6.2.2.1.8.）、GSK1120212B を経口投与したマウスから単離した PBMC における ERK リン酸化レベルは、用量（0.03～3 mg/kg）に依存して低下した（2.6.2.2.2.4.）。GSK1120212B は BRAF V600E 変異陽性のヒト悪性黒色腫由来細胞株 A375P F11 を用いたマウス異種移植モデルで腫瘍増殖抑制作用を示した用量（1 及び 3 mg/kg）で PBMC における ERK 阻害作用を示したことから、臨床において血液サンプル中の PBMC の ERK リン酸化レベルは、GSK1120212B の MEK 阻害作用を評価するサロゲートマーカーとして有用であると考えられる。

2.4.2.1.2.　GSK2118436／GSK1120212B 併用試験

RAF 阻害薬及び MEK 阻害薬を併用投与して BRAF/MEK を同時に阻害することで、腫瘍細胞に対する増殖抑制作用が増強されるとともに、RAF 阻害薬の耐性発現機序の一つと考

えられている MAPK 経路の再活性化[Alcala, 2012; Lito, 2013]を抑制し、耐性の発現を遅延させる可能性が考えられる。そこで、GSK2118436 及び GSK1120212B を併用投与したときの腫瘍増殖抑制作用を in vitro 及び in vivo で検討した。

2.4.2.1.2.1.　In vitro 試験

BRAF V600 変異陽性（V600E、V600K 又は V600D）の 17 種類のヒト悪性黒色腫由来細胞株を用いて GSK2118436 及び GSK1120212B の併用効果を検討したところ、GSK2118436 及び GSK1120212B のいずれに対しても感受性を示す 14 株中 13 株に対して、両被験物質を併用すると 2 種類の評価法のいずれにおいても併用効果が認められた（2.6.2.2.1.1.タフィンラー／メキニスト併用）。両被験物質の単独処理に対して感受性を示さなかった 2 株では、併用処理しても増殖抑制作用はほとんど認められなかったが、GSK2118436 に耐性（IC50＞10000 nM）／GSK1120212B に低感受性（IC50＝45.4 nM）であった 1 株では、併用により増殖抑制作用がわずかに増強された。

高濃度の GSK2118436 で 1 週間以上培養することにより GSK2118436 に対して耐性を獲得した BRAF V600E 変異陽性のヒト悪性黒色腫由来の細胞クローンを GSK2118436 及び GSK1120212B で併用処理すると、検討したすべての耐性細胞クローンにおいて併用効果が認められた（2.6.2.2.1.2.1.タフィンラー／メキニスト併用）。耐性細胞クローンの細胞内シグナル伝達について検討した結果、GSK2118436 の単独処理では ERK リン酸化レベル並びにサイクリン D1 及び p27 蛋白レベルに変化はみられなかったが、GSK2118436 と GSK1120212B で併用処理すると、ERK のリン酸化レベル及び G1 期停止のマーカーとなるサイクリン D1 蛋白レベルの低下及び p27 蛋白レベルの増加が認められた（2.6.2.2.1.2.2.タフィンラー／メキニスト併用）。また、GSK2118436 に対する耐性を獲得した BRAF V600K 変異陽性のヒト悪性黒色腫由来の細胞クローンにおいても、検討したすべての耐性細胞クローンにおいて併用効果が認められた（2.6.2.2.1.3.タフィンラー／メキニスト併用）。

GSK2118436 又は GSK1120212B の単独投与により腫瘍増殖抑制作用を示すことが確認されている BRAF V600E 変異陽性のヒト悪性黒色腫由来細胞株を用いたマウス異種移植モデルにおいて、in vivo における GSK2118436 及び GSK1120212B の併用効果を検討した（試験 1～7）（2.6.2.2.2.タフィンラー／メキニスト併用）。その結果、各被験物質の単独投与での最大効果発現用量未満の用量の GSK2118436（10 又は 30 mg/kg）及び GSK1120212B（0.1 又は 0.3 mg/kg）を 56 又は 90 日間併用投与することにより、各被験物質の単独投与と比較して増殖抑制作用は増強され、より長期間持続した。生存について検討した試験では、GSK2118436 の 100 mg/kg 及び GSK1120212B の 1 mg/kg の単独投与群並びに併用投与群の生存率は媒体群と比較して有意に高かった。各単独投与群では試験終了までに 10 例中 2～5 例が死亡したのに対し、いずれの併用投与群も試験終了時点まで全例が生存した。試験 1～7 のいずれの試験においても、併用投与の忍容性は良好であった。BRAF V600E 変異陽性のヒト悪性黒色腫由来細胞株を用いたマウス異種移植モデルにおいて GSK2118436 及び GSK1120212B の併用投与により認められたこれらの強力かつ持続的な腫瘍増殖抑制作用の成績から、BRAF V600 変異陽性の悪性黒色腫患者における GSK2118436 及び GSK1120212B の併用療法の妥当性が支持された。

2.4.2.2.　副次的薬理試験

23 種類の各種受容体及びチャネル並びに 7 種類の各種酵素に対し、GSK1120212A は 10 μM で 50%を超える阻害作用を示さなかった。各種キナーゼ（43 及び 171 種類のパネル）に及ぼす影響を検討した結果、GSK1120212A 及び GSK1120212B は 10 μM で 50%を超える阻害作用を示さなかった（2.6.2.3.1.）。これらの結果から、GSK1120212B は選択的な MEK 阻害薬であることが示された。

GSK1120212B は増殖因子非存在下の HUVEC（正常細胞）の細胞数に影響を及ぼさなかった（IC50＝10000 nM）（2.6.2.3.2.）。BRAF V600 変異を有するヒト腫瘍細胞株に対する増殖抑制作用の IC50 は 0.3～9.5 nM であり（2.6.2.2.1.3.5.）、正常細胞の増殖に及ぼす影響の代表として検討した増殖因子非存在下の HUVEC に対する IC50（10000 nM）と比較すると 1053～33333 倍の乖離がみられたことから、高い腫瘍選択性を有することが示唆された。

2.4.2.3.　安全性薬理試験

雄 SD ラットにおいて、GSK1120212B の 100 mg/kg の単回経口投与により、体重増加の抑制、自発運動量の減少、腹臥位、眼瞼下垂、下痢、立毛及び散瞳が認められた（2.6.2.4.1.）。

覚醒雄 SD ラットにおいて、GSK1120212B の 0.016、0.0625 及び 0.125 mg/kg（0.125、0.5 及び 1 mg/m^2）の単回経口投与により、0.125 mg/kg で軽度で一過性の体温低下（最大で 0.8°C、投与 1 時間後）がみられた。換気機能及び気道抵抗に影響は認められなかった（2.6.2.4.2.）。

GSK1120212B は hERG cDNA を導入した HEK293 細胞において、hERG チャネルテール電流を抑制し、IC25、IC50 及び IC75 はそれぞれ 0.448、1.54 及び 5.30 μM（275.7、947.7 及び 3261.7 ng/mL）であった（2.6.2.4.3.1.）。

ウサギ左心室ウェッジ標本において、GSK1120212B は 0.3、1、10 及び 30 μM（180、620、6150 及び 18450 ng/mL）の濃度で（18450 ng/mL は溶解限界濃度）、QT 間隔に影響を及ぼさなかった。GSK1120212B は 10 及び 30 μM で等尺性収縮力をそれぞれ 16.3 及び 64.8%低下させ、30 μM で Tp-e 間隔を約 26%短縮させた（2.6.2.4.3.2.）。

麻酔雄ビーグル犬において（非 GLP 試験）、GSK1120212A は 1 mg/kg の静脈内投与（10 分間持続投与）により心電図パラメータ、血圧及び心拍数に影響を及ぼさなかった（2.6.2.4.3.3.1.）。血漿中 GSK1120212 濃度は投与開始 10 分後まで増加し、最高血漿中 GSK1120212 濃度は 2.5 μM（約 1500 ng/mL）であった（2.6.2.4.3.3.1.）。覚醒雄ビーグル犬において（GLP 試験）、GSK1120212B は 0.025、0.038 及び 0.075 mg/kg（0.5、0.75 及び 1.5 mg/m^2）の単回経口投与により、動脈圧、心拍数、ECG パラメータ（波形異常、不整脈及び間隔）及び体温に影響を及ぼさなかった（2.6.2.4.3.3.2.）。

心血管系への影響を検討した試験において、in vitro の電気生理学的試験である hERG アッセイでは IC50＝1.54 μM（947.7 ng/mL）で阻害作用がみられ、ウサギ左心室ウェッジ標本を用いた試験では、10 μM 以上で影響が認められた。これらの影響がみられた 1.54 μM（947.7 ng/mL）及び 10 μM（6154 ng/mL）は日本人患者に GSK1120212B の予定臨床用量である 2 mg を 1 日 1 回 15 日間経口投与（n=5）したときの Cmax（25.5 ng/mL）（表 2.7.2.3-16）及びヒトにおける血漿蛋白結合率（97.4% ; 2.6.4.4.2.1.1.）から推定される非結合型

GSK1120212 濃度である 0.66 ng/mL の 1400 倍超であると推定されることから、ヒトで QT 延長を含む心臓の伝導異常を誘発する可能性は低いと考えられた。また、イヌの in vivo 試験では、最高血漿中 GSK1120212 濃度が 2.5 μM（約 1500 ng/mL）に達する 1 mg/kg の静脈内投与（10 分間持続投与）でも影響は認められなかった。このイヌにおける最高血漿中 GSK1120212 濃度である 2.5 μM（約 1500 ng/mL）は日本人患者に予定臨床用量である 2 mg を 1 日 1 回経口投与したときの最高血漿中 GSK1120212 濃度（25.5 ng/mL）（表 2.7.2.3-16）の約 60 倍であった。一方、イヌの in vivo 試験では影響は認められなかったが、臨床試験において観察された左室駆出率低下（2.5.5.2.2.4.）のメカニズムを検討するための毒性試験において左室機能（心拍出量、1 回拍出量、駆出率、左室内腔面積変化率及び左室内径短縮率）の低下がみられた（2.6.6.8.1.2.）。

GSK2118436 でみられる発熱に対する GSK1120212B の影響

臨床試験において GSK2118436 を投与した一部の患者で発熱が認められており、GSK2118436 及び GSK1120212B を併用投与することにより発現頻度の増加がみられたことから（2.5.6.2.）、発熱の機序を検討するためのフォローアップ試験の一環として、GSK2118436 及び GSK1120212B を併用処理したときのサイトカイン遊離に及ぼす影響を検討した（2.6.2.4.1.タフィンラー／メキニスト併用）。その結果、GSK2118436 及び GSK1120212B を併用処理したときに、それぞれを単独処理したときと同様に PBMC からのサイトカイン遊離量及び血漿中サイトカイン濃度の上昇は認められなかった。

2.4.2.4.　　薬力学的薬物相互作用試験

臨床において併用される GSK2118436 との併用による薬理作用を検討した in vitro 及び in vivo の試験成績は CTD 併用パートの 2.6.2（2.6.2.タフィンラー／メキニスト併用）に記載した。

2.4.3.　薬物動態

2.4.3.1.　吸収

マウス、ラット、イヌ及びサルに GSK1120212H 又は GSK1120212B を単回経口投与したときの F はいずれの動物でも 40%超であり、吸収は良好であると考えられた。また、マウス、ラット、イヌ及びサルに GSK1120212A 又は GSK1120212B を単回静脈内投与したとき、血漿（サル：血液）中未変化体の t1/2 は 3.7～14.5 時間であり、CLp（サル：CLb）は 2.5～14.5 mL/min/kg と各動物の肝血漿流量（サル：肝血流量）よりも低く、Vdss は 0.9～5.1 L/kg と各動物の総体液量に比べ同程度～高かったことから、組織移行性は良好であると考えられた。更に、マウスに GSK1120212H の 0.3～3 mg/kg を単回経口投与したときの曝露量は、0.3 と 1 mg/kg の間では投与量増加の割合を上回って増加したが、1 と 3 mg/kg の間ではおおむね投与量増加に比例して増加した。ラットに GSK1120212H の 0.1～3 mg/kg を単回経口投与したときの曝露量は、0.1～3 mg/kg の範囲で投与量増加の割合を上回って増加した（2.6.4.3.1.1.）。

マウス、ラット及びイヌに GSK1120212B のそれぞれ 0.1～1、0.016～0.125 及び 0.0075～0.030 mg/kg/日を最長 13 週間反復経口投与したときの曝露量は投与量増加に伴い増加し、マウスでは少なくとも投与 7 日、ラットではおおむね投与 3 週、イヌでは少なくとも投与 4 週で定常状態に達すると考えられた。また、ラット及びイヌの曝露量に明らかな性差はみられなかった（2.6.4.3.1.2.）。

雌雄イヌに GSK1120212B と GSK2118436B を 4 週間併用反復経口投与したときの GSK1120212、GSK2118436 及び GSK2118436 の代謝物の曝露量にそれぞれを単独投与したときと比べて明らかな差はみられなかったことから、併用投与しても互いの曝露量及び GSK2118436 の代謝物の曝露量に影響しないと考えられた（2.6.4.3.2.）。

2.4.3.2.　分布

有色ラットに[^{14}C]GSK1120212B を単回経口投与したとき、薬物関連物質は広く組織に分布し、ほとんどの組織で薬物関連物質濃度が投与 2 又は 4 時間後に最も高く、おおむね血液中よりも高かった。その後緩やかに組織から消失し、投与 35 日後にはすべての組織で定量下限未満であった。GSK1120212 はわずかに脳内へ移行すると考えられ、メラニン含有組織と特異的な結合はしないと考えられた（2.6.4.4.1.）。

GSK1120212B の in vitro 血漿蛋白結合率は動物及びヒトで高く、濃度に関わらず一定であった。また、ヒト血漿蛋白結合率は 97.4%であり、AAG 及び HSA への結合率はそれぞれ約 13～20 及び約 96～98%であったことから、GSK1120212 は主に HSA に結合すると考えられた。また、ヒト血漿中の主な代謝物である M5 のヒト血漿蛋白結合率は 97.8%以上と高く、濃度に関わらずほぼ一定であった（2.6.4.4.2.）。更に、in vitro でのマウス、ラット、イヌ、サル及びヒトでの GSK1120212B（0.5 及び 5 μg/mL）の血液／血漿比は 0.50～0.89 と低かった。また、健康成人及び癌患者の血球移行率（それぞれ 48～83 及び 49～92%）に明らかな差はみられなかったことから、血球への分布は疾患の影響を受けないと考えられた（2.6.4.4.3.）。

2.4.3.3.　代謝

In vitro 及び in vivo 試験の成績より、GSK1120212 は動物（サルを除く）及びヒトで肝代謝を受けにくいと考えられた（2.6.4.5.1.及び 2.6.4.5.2.）。また、ヒト肝ミクロソームで GSK1120212 から反応性代謝物が生成される可能性は低かったこと（2.6.4.5.1.3.）から、臨床で反応性代謝物により予期せぬ有害事象が起こる可能性は低いと考えられた。

動物及びヒトの肝細胞での試験で、未変化体の他に代謝物（M5、M6 及び M7 等）の生成がみられ、ヒトでみられたこれらの代謝物はいずれかの動物で生成が確認された（2.6.4.5.1.2.）。

ラット及びイヌに[^{14}C]GSK1120212B を単回経口投与したとき、血漿中の主な成分は未変化体であった（2.6.4.5.2.1.）。ラットでは GSK1120212 は主に未変化体として糞中に排泄された（2.6.4.5.2.2.1.）。また、ラット胆汁中では未変化体は少量であり、代謝物（酸化体及び脱アセチル体）が多く検出されたこと（2.6.4.5.2.3.）から、GSK1120212 は肝で代謝を受けたのち、胆汁中に排泄されると考えられた。また、イヌでは未変化体及び代謝物として糞中に排泄されると考えられた（2.6.4.5.2.2.2.）。更に、ラット及びイヌの血漿及び尿糞中プロファイルに性差はみられなかった（2.6.4.5.2.）。

In vitro での GSK1120212 の主な代謝経路は脱アセチル化（M5）及び M5 のグルクロン酸抱合（M6）又は M5 の酸化（M7）であると考えられた（2.6.4.5.1.2.）。

In vitro で M7、M12、M17 及び M22 の生成には CYP3A4 が関与している可能性が考えられ、CYP に依存しない代謝物（M5、M10、M15、M20 及び M21）の生成がみられたことから、他の代謝経路が関与している可能性が考えられた（2.6.4.5.3.1.）。また、GSK1120212 は hCES1b、hCES1c 及び hCES2 で M5 へ代謝され、この代謝は CES 及び CES2 の阻害薬により阻害されたこと（2.6.4.5.3.2.）から、in vitro では M5 の生成には hCES1b、hCES1c 及び hCES2 が関与していると考えられた。なお、AChE 及び BChE でもわずかに代謝されたが、明らかな関与は示されなかった（2.6.4.5.3.2.）。一般的に、CES やアミダーゼ等の加水分解酵素に関連した薬物相互作用を起こす可能性はないことが知られている[Madan, 2007]ため、GSK1120212 が CES に関連した薬物相互作用を起こす可能性は低いと考えられた。また、M7 の生成には CYP3A4 の関与が考えられたが、M7 の生成経路には GSK1120212 から直接 M7 が生成される経路と M5 を経て M7 へ代謝される経路の 2 種類があること、M5 への代謝には CES が関与していると考えられたことから、CYP3A4 の阻害剤と併用投与しても薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

2.4.3.4.　排泄

雌雄ラット及びイヌに[^{14}C]GSK1120212B を経口投与したとき、主な排泄経路は糞中であり、排泄に明らかな性差はみられなかった（2.6.4.6.1.）。排泄は、ラットでは比較的速やかであり、イヌでは緩やかであると考えられた。

雄 BDC ラットに[^{14}C]GSK1120212B を単回経口投与したとき、吸収された薬物関連物質の大部分は胆汁を介して糞中に排泄され、尿中排泄はわずかであると考えられた（2.6.4.6.2.）。吸収された GSK1120212 は肝臓で主に脱アセチル化、酸化やグルクロン酸抱合を受けたのち

に、胆汁中に移行し、糞中に排泄されると考えられた。また、胆汁及び尿中排泄率から、投与量の少なくとも約 41%が吸収されると考えられた。

2.4.3.5.　　薬物動態学的薬物相互作用

GSK1120212B（10 μM）の PXR を介した転写活性化能は中程度であり、CYP3A4 の mRNA 量を増加させた（EC50：1.7 μM）ことから、CYP3A4 を誘導する可能性が考えられた（2.6.4.5.5.1.）。また、GSK1120212B は 10 μM で CYP2B6 の mRNA 量を増加させた（EC50 は算出できず）ことから、CYP2B6 を誘導する可能性も考えられた（2.6.4.5.5.1.）。しかしながら、これらの濃度は、BRAF 遺伝子変異黒色腫を有する患者（BRF113220 試験）に GSK1120212B の 2 mg/日を反復投与したときの定常状態における Cmax（22.4～22.6 ng/mL、0.04 μM）（2.7.2.3.2.1.1.）の 100 倍以上であることから、臨床で CYP3A4 及び 2B6 の誘導により薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。なお、CYP1A2 は誘導しないと考えられた（2.6.4.5.5.1.）。

GSK1120212 は in vitro で CYP2C8、2C9 及び 2C19 を阻害し、IC50 はそれぞれ 0.34、4.1 及び 5.0 μM であった（2.6.4.5.5.2.）。CYP2C8 を最も強く阻害したが、その IC50（0.34 μM）は癌患者（BRF113220 試験）の Cmax（0.04 μM、2.7.2.3.2.1.1.）の 8 倍以上であることから、臨床で GSK1120212 がこれら CYP を阻害することにより薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。また、CYP1A2、2A6、2B6、2D6 及び 3A4 を阻害せず、CYP1A2、2A6、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A4 のいずれに対しても、代謝依存的な阻害を示さなかった（2.6.4.5.5.2.）。

GSK1120212 は Pgp の基質であった（2.6.4.4.6.1.）が、受動的膜透過性が高く（2.6.4.4.5.）、F は大きかったことから、Pgp 阻害薬と併用投与しても薬物動態学的相互作用を起こす可能性は低いと考えられた。また、BSEP の基質であったが、BCRP、MRP2、MATE1、OATP1B1、OATP1B3、OATP2B1 及び OCT1 の基質ではなかったこと（2.6.4.4.6.2.～2.6.4.4.6.4.）から、これらのトランスポーターの阻害薬と併用投与しても薬物動態学的相互作用を起こす可能性は低いと考えられた。

GSK1120212 は、Pgp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び MATE1 を阻害し、IC50 はそれぞれ 5.5、1.1、1.3、0.94、1.34、2.58 及び 0.0609 μM であった（2.6.4.4.7.1.～2.6.4.4.7.4.）。MATE1 に関し、本薬は最も強い阻害作用を示したが、癌患者（BRF113220 試験，2.7.2.2.1.3.1.1.）に本薬の 2 mg を反復投与した際の定常状態における Cmax は 22.4 ng/mL（0.04 μM）であり、ヒトでの血漿蛋白結合率（97.4%）から算出した非結合型 Cmax は 0.00104 μM と IC50 よりも 50 倍以上低かった。このことから、本薬の MATE1 の阻害を介した薬物動態学的相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。なお、GSK1120212 は BSEP 及び MRP2 を阻害しなかった（2.6.4.4.7.4.）

2.4.4.　毒性試験

GSK1120212B のイヌの急性毒性試験（単回漸増経口投与試験）、マウス、ラット及びイヌを用いた最長それぞれ 26、13 及び 13 週間反復経口投与試験、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験、心臓への影響に関する検討、in vitro 光毒性試験、並びにイヌを用いた BRAF 阻害薬である GSK2118436B（臨床使用時の併用薬）との併用投与試験を実施した。なお、ラットの急性毒性は短期反復投与試験により評価した。

2.4.4.1.　急性毒性

GSK1120212B（3 mg/kg/日まで）をラット及びイヌにそれぞれ最長 2 週間及び単回（漸増）経口投与した。ラットでは、1 mg/kg/日以上の群で投与 5 日以降に浸出性皮膚病変、体重減少、摂餌量低値等がみられ、2 mg/kg/日以上の群では、半数以上が瀕死状態を呈したため、全例を試験 6 日に切迫屠殺した。また、未微粉化原薬よりも曝露量が高い微粉化原薬（2.6.6.3.2.）を投与したラット骨髄小核試験では（2.6.6.4.3.）、1.5 mg/kg/日以上の群で軟／液状便、立毛又は活動性低下、雌雄のそれぞれ 0.5 及び 1 mg/kg/日以上の群で体重減少がみられ、最終投与翌日（試験 3 日）に雄の 2.5 mg/kg/日以上の群及び雌の 3 mg/kg/日群に死亡がみられた。イヌでは、3 mg/kg/日群で軟／液状便、体重減少等がみられ、雌雄をそれぞれ投与後 5 及び 1 日に切迫屠殺した。単回経口投与時の概略の致死量は、雌雄のラットでそれぞれ 3 及び 2.5 mg/kg/日、雌雄イヌでは 0.5～3 mg/kg/日であった。

2.4.4.2.　反復投与毒性

GSK1120212B をマウス（最長 26 週間）、ラット（最長 13 週間）及びイヌ（最長 13 週間）に経口投与して反復投与毒性を評価した。これらの動物の投与期間が 3 ヵ月間以上の試験で観察された主要所見は、死亡並びに皮膚、乳腺、消化管、リン恒常性、造血器、肝臓、骨及び雌生殖器（卵巣）に対する悪影響であった（表 2.4.4-1）。以下に反復投与試験で観察された毒性所見について考察する。

表 2.4.4-1　　反復投与試験で観察された主要所見

動物種	マウス[a]		ラット[a]		イヌ[a]	
投与量 (mg/kg/日)	♂0.1～1.0; ♀0.1～1.0/0.6		0.016～3		0.0075～0.5	
	LOEL	NOEL	LOEL	NOEL	LOEL	NOEL
死亡						
皮膚/消化管障害	0.3	0.1	0.0625	0.031	0.030	0.023
皮膚/乳腺						
表皮肥厚, 潰瘍, 浸出性炎症	0.1	ND	0.031	0.016	0.030[c]	0.023
乳腺腺房上皮細胞壊死	NO	NA	1.0[b]	0.3[b]	NO	NA
消化管						
異常便, 嘔吐	NO	NA	1.0[b]	0.3[b]	0.030	0.023
びらん, 潰瘍	0.1	ND	0.031	0.016	0.030	0.023
結腸穿孔	0.3	0.1	NO	NA	NO	NA
リン恒常性						
血清リン高値	NO	NA	0.016	ND	0.25[b]	0.125[b]
鉱質沈着 (軟部組織)	NO	NA	0.016	ND	NO	NA
造血器						
リンパ節/胸腺リンパ球減少	NO	NA	NO	NA	0.075	0.038
リンパ節/脾臓リンパ球壊死	0.1	ND	NO	NA	0.25[b]	0.125[b]
骨髄：赤血球系前駆細胞減少	NO	NA	NO	NA	0.125[b]	0.075
骨髄造血細胞壊死	1.0	0.3	0.0625	0.031	NO	NA
リンパ球数低値	NO	NA	1.0[b]	0.3[b]	0.25[b]	0.125[b]
赤血球系パラメータ低値	NO	NA	0.0625	0.031	0.0075	ND
網状赤血球数低値	NO	NA	0.016	ND	0.015	0.0075
骨髄過形成	0.1	ND	0.031	0.016	0.03	0.023
リンパ節：形質細胞/リンパ形質細胞増加	0.1	ND	0.031	0.016	NO	NA
脾臓赤脾髄類洞内好中球数	NO	NA	NO	NA	0.038	0.025
脾臓髄外造血	0.1	ND	0.031	0.016	NO	NA
肝臓						
肝細胞壊死	1.0	0.3	0.0625	0.031	NO	NA
肝細胞空胞化	NO	NA	0.016	ND	NO	NA
髄外造血/類洞内好中球増加	0.1	ND	NO	NA	NO	NA
骨						
骨端板肥厚	NO	NA	0.125	0.0625	NO	NA
軟骨下骨梗塞	NO	NA	1.0[b]	0.3[b]	NO	NA
卵巣						
卵巣卵胞嚢胞, 黄体数減少	NO	NA	0.016	ND	NO	NA

a=　特記しない限り、GSK1120212B (微粉化最終原薬) を用いたマウス 26 週間経口投与試験 (2.6.6.3.1.)、ラット 3 及び 13 週間経口投与試験 (2.6.6.3.2.及び 2.6.6.3.3.) 並びにイヌ 3 及び 13 週間経口投与試験 (2.6.6.3.4. 及び 2.6.6.3.5..) の結果に基づく評価.

b =　GSK1120212B (未微粉化) のラット 2 週間経口投与試験又はイヌ 10 日間経口投与試験 (2.6.7.6.) で観察された所見.

c =　イヌ 13 週間経口投与試験の一般状態変化として観察された重度皮膚病変 (痂皮等) に基づく評価.

LOEL = 最小影響量 (mg/kg/日).　NOEL = 無影響量 (mg/kg/日).

ND = 推定できず.　NO = 観察されず.　NA = 該当せず.

2.4.4.2.1.　　死亡

マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.3、0.0625 及び 0.030 mg/kg/日以上の群で GSK1120212B に関連する死亡（切迫屠殺を含む）がみられた。主な死因は、重度の皮膚／消化管障害（びらん、潰瘍等）による一般状態の悪化によるものと考えられる。いずれの動物種においても、死亡例の病理組織学的変化は生存例と類似していた。

2.4.4.2.2.　　上皮（皮膚／乳腺）への影響

マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.1、0.031 及び 0.030 mg/kg/日以上の群で用量依存的な皮膚病変がみられた。その程度はラットで最も顕著であり、痂皮、赤色化、表皮肥厚、びらん及び潰瘍がみられ、重症例では、付属リンパ節（下顎、頸部又は腋窩）の細胞密度増加（リンパ形質細胞）及び骨髄過形成を伴っていた。マウスでは潰瘍、イヌでは赤色化、痂皮等がみられた。また、ラット 2 週間投与試験の致死量に相当する 1.0 mg/kg/日以上の群では、乳腺腺房上皮細胞壊死もみられた。類薬の MEK 阻害薬（PD325901）でも、ラットに皮膚の赤色発疹、びらん、潰瘍等の類似所見が観察されている[CD2008/00267/00]。また、MEK1/2 欠損マウスでは、皮膚増殖抑制、アポトーシス及び皮膚バリア障害が発現することが報告されている[Scholl, 2007]。これらのことから、GSK1120212B の皮膚障害は、標的分子である MEK の阻害によるものと考えられる。

なお、GSK1120212B（2.5.5.2.2.2.）を含む MEK 阻害薬[Balagula, 2011; Haura, 2010]を投与した患者では、発疹が高頻度に発現している。

2.4.4.2.3.　　消化管への影響

マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.1、0.031 及び 0.030 mg/kg/日以上の群で用量依存的な消化管障害がみられた。その程度はイヌで最も顕著であり、軟／粘液／液状便、糞量減少等の症状に加え、体重減少及び摂餌量の低値がみられた。病理組織学的検査では、消化管（舌、食道、胃、小腸又は大腸）のびらん及び好中球浸潤を主体とする炎症がみられた。マウスでは、腹部膨満、結腸のびらん、潰瘍及び炎症、並びに結腸穿孔による腹膜炎、ラットでは、胃のびらん、炎症及び過形成がみられた。類薬の MEK 阻害薬（PD325901）でもラットで盲腸のびらん、潰瘍及び過形成並びに胃粘膜過形成が観察されている[CD2008/00267/00]。このことから、GSK1120212B の消化管障害は、標的分子である MEK の阻害によるものと考えられる。

なお、臨床試験において、GSK1120212B に関連すると考えられる下痢、悪心、嘔吐及び便秘が高頻度に観察されている（2.7.4.2.1.1.2.）。

2.4.4.2.4.　　リン恒常性への影響

ラットの 0.016 mg/kg/日以上の群において、血清リン恒常性の異常を示唆する血清リン高値及び胃鉱質沈着が用量依存的にみられた。鉱質沈着は 2 週間投与試験の致死量に相当する 1 mg/kg/日（未微粉化）以上の群でも複数の器官（胃、腎臓、心筋又は大動脈）にみられた。また、本所見は腎尿細管変性及び心筋壊死を伴っていた。いずれの所見もマウス及びイヌの 3 週間以上の投与試験では観察されなかったが、血清リン高値はイヌ 10 日間投与試験の 0.25 mg/kg/日（未微粉化）以上の群でもみられた。

MEK 阻害薬（PD325901）及び MEK1/2 シグナル伝達系の上流に位置する FGFR チロシンキナーゼの阻害薬である PD176067 を投与したラットでも、血清リン高値及び複数の器官における鉱質沈着が観察されている[CD2008/00267/00; Brown, 2005]。また、X 連鎖性低リン血症性マウスを用いた検討では、循環血中 FGF-23 上昇に伴い活性化した MEK/ERK1/2 シグナル伝達系を MEK 阻害薬（PD325901）で阻害することにより、近位尿細管リン酸輸送担体

Npt2a 発現量及び血清リンの増加がみられる[Ranch, 2011]。これらのことから、GSK1120212B のリン恒常性の異常は、標的分子である MEK の阻害により、FGF シグナル伝達経路が遮断されることに起因すると考えられる。

なお、臨床試験において問題となるような血清リン上昇は認められていない（2.5.5.2.2.3.）。

2.4.4.2.5.　造血器への影響

マウス及びイヌのそれぞれ 0.1 及び 0.075 mg/kg/日以上の群で脾臓リンパ球壊死及びリンパ節のリンパ球減少／壊死がみられたが、ラットでこれらの所見は認められなかった。また、マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 1.0、0.0625 及び 0.125 mg/kg/日以上の群で骨髄細胞壊死／赤血球前駆細胞減少、更にラット及びイヌのそれぞれ 0.016 及び 0.0075 mg/kg/日以上の群では赤血球数及び網状赤血球数の低値がみられた。更に、最長 2 週間の試験において、ラット及びイヌのそれぞれ 1.0 及び 0.25 mg/kg/日以上の群でリンパ球数の低値もみられた。類薬の MEK 阻害薬（PD325901）を投与したラットでも、骨髄細胞壊死、脾臓リンパ球壊死、赤血球系パラメータの低値等の類似所見が観察されている[CD2008/00267/00]。これらのことから、GSK1120212B によるリンパ系器官及び造血系に対する影響は、標的分子である MEK の阻害によるものと考えられる。

一方、これらの所見とは対照的に、マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.1、0.031 及び 0.03 mg/kg/日以上の群で骨髄過形成、ラットの 0.031 mg/kg/日以上の群で脾臓髄外造血、マウス及びラットのそれぞれ 0.1 及び 0.031 mg/kg/日以上の群でリンパ節における形質細胞／リンパ形質細胞増加、イヌの 0.038 mg/kg/日以上の群では脾臓赤脾髄類洞内の好中球数増加がみられた。また、マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.1、0.016 及び 0.030 mg/kg/日以上の群で白血球数、好中球数又は血小板数の高値もみられた。これらの所見は、マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.1、0.031 及び 0.0075 mg/kg/日以上の群で観察された赤血球系パラメータの低値、又は皮膚／消化管のびらん、潰瘍もしくは炎症（2.4.4.2.2.及び 2.4.4.2.3.）に関連した反応と考えられる。同様に、MEK 阻害薬（PD325901）を投与したラットでも、赤血球パラメータの低値、並びに皮膚潰瘍及び炎症に関連した反応と考えられる血小板数及び好中球数の高値が観察されている[CD2008/00267/00]。

なお、臨床試験において一部の被験者で貧血がみられたが、その大半がグレード 1 又は 2 であった（2.5.5.2.2.2.）。

2.4.4.2.6.　肝臓への影響

マウスの 1.0 mg/kg/日群及びラットの 0.0625 mg/kg/日以上の群で肝細胞壊死、更にラットの 0.016 mg/kg/日以上の群で肝細胞空胞化がみられた。また、ラットの 0.016 mg/kg/日以上の群で血清 AST 及び ALT の高値もみられた。MEK 阻害薬（PD325901）を投与したラットでも、血清 AST 及び ALT の高値を伴う肝細胞壊死が観察されている[CD2008/00267/00]。このことから、GSK1120212B の肝臓に対する影響は、標的分子である MEK の阻害によるものと考えられる。

一方、イヌではこれらの肝臓の病理組織学的変化は認められなかった。しかしながら、イヌ 3 週間投与試験では、胆汁うっ滞を示唆する所見として、0.038mg/kg/日以上の群で血清 ALP 及びコレステロールの高値、0.075 mg/kg/日群で血清総ビリルビン及びトリグリセリドの高値、同群の死亡例 1 例で胆管過形成及びビリルビン沈着がみられた。同試験では、0.038mg/kg/日以上の群で白血球数、好中球数もしくは単球数の高値、同群の死亡例では広範な消化管障害（びらん）及び炎症、又は肝クッパー細胞活性化が認められた。また、炎症反応によって胆汁うっ滞が発現することが知られている[Kosters, 2010]。これらのことから、イヌでみられた胆汁うっ滞を示唆する所見は、同時に観察された消化管障害に伴う炎症に関連した変化と考えられる。

なお、臨床試験において、AST 増加及び ALT 増加が高頻度にみられたが、その多くはグレード 1 又は 2 であり（2.5.5.2.2.2.及び 2.5.5.2.2.3.）、黄疸及び肝機能不全の有害事象の発現は稀であった（2.7.4.2.1.5.12.）。GSK1120212B の単独投与の海外 3 試験併合解析において Hy's law（薬物性肝障害に対する概念）に該当する事象の発現は認められていない（2.7.4.3.2.3.）。

2.4.4.2.7.　　骨への影響

ラットの 0.125 mg/kg/日群において骨端板肥厚がみられた。また、ラット 2 週間投与試験の致死量に相当する 1.0 mg/kg/日以上の群では軟骨下骨梗塞もみられた。骨端板肥厚は、MEK 阻害薬（PD325901）[CD2008/00267/00]及び FGFR チロシンキナーゼ阻害薬 PD176067[Brown, 2005]を投与したラット、並びに FGFR-3 欠損マウス[Deng , 1996]においても観察されている。このことから、骨端板肥厚は、標的分子である MEK の阻害により、FGF シグナル伝達経路が遮断されることに起因すると考えられる。

骨に対する影響はマウス及びイヌでは認められなかった。マウス及びイヌの骨端はそれぞれ生後 5 及び 11 ヵ月までに閉鎖するが、ラットでは生後 29 ヵ月においても閉鎖は認められない[Kilborn, 2002]。イヌの反復投与試験における投与開始時の月齢は、閉鎖後の生後 11～21 ヵ月であった。一方、マウス及びラットの反復投与試験における投与開始時の週齢は、閉鎖前の生後 6 及び 10～12 週であった。これらのことから、GSK1120212B の骨端板に対する影響は、成長過程の骨に発現するラットに特異的な所見と考えられる。

なお、臨床試験において問題となるような骨関連有害事象の発現は認められなかった（2.5.5.2.2.2.）。

2.4.4.2.8.　　卵巣への影響

ラットの 0.016 mg/kg/日以上の群において卵胞嚢胞増加及び黄体数減少がみられた。これらの所見はマウス及びイヌでは認められなかった。卵胞は、卵子、顆粒膜細胞及び莢膜細胞から構成されており、相互コミュニケーションにより、卵胞の発育・発達は制御されている。MEK-ERK シグナル伝達経路の阻害は、顆粒膜細胞の生存性低下／アポトーシス誘導[Shiota, 2003]、並びに卵胞刺激ホルモンの放出を抑制するフォリスタチン及び排卵を促す遺伝子の転写活性を低下させる可能性が示唆されている[Kihara, 2006; Sriraman, 2008]。また、多嚢胞性卵巣症候群の患者から採取した莢膜細胞では MEK-ERK シグナル伝達経路の抑制がみられ

る[Nelson-Degrave, 2005]。更に、MEK シグナル伝達系の上流に位置する VEGF は、卵胞形成、黄体形成及び黄体機能に重要な役割を果たす[Ferrara, 1998]。これらのことから、GSK1120212B の卵巣所見は標的分子である MEK の阻害に関連しているものと考えられる。

2.4.4.2.9.　回復性

回復群を設けたラット及びイヌの 3 及び 13 週間投与試験の結果を基に、これらの試験で観察された主要所見の回復性を検討した。ラット 13 週間投与試験の高用量群（回復群を含め投与期間中に全例切迫屠殺して試験を終了）及びイヌ 3 週間試験の高用量の回復群のみでそれぞれ観察された膝関節骨端板肥厚及び胸腺リンパ球減少については、死亡又は切迫屠殺したため、回復性を検討することができなかったが、致死量以上を投与した群で観察された所見であり、最大耐量（死亡／瀕死が発現しない最も高い用量）を投与した回復群では認められなかった。骨端板肥厚については、GSK1120212H（酢酸付加物：JTP-74057）のラット 2 週間経口投与試験でも 0.1 mg/kg/日以上の群でみられたが、回復性が認められた[CD2008/00267/00; CD2008/00141/00]。胸腺リンパ球減少については、ストレスによるグルココルチコイド上昇等でも発現するが、通常その要因を取り除くことにより回復する[Pearse, 2006]。各群で観察されたその他の所見は、おおむね回復性を示した。

以上のことから、ラット及びイヌを用いた 3 週間以上の反復投与試験で観察された主要所見は、休薬により回復傾向を示すと考えられる。

2.4.4.2.10.　無毒性量／最大耐量

各動物種を用いた最長の反復投与試験における無毒性量は、イヌ（13 週間）では 0.023 mg/kg/日と推定されたが、マウス（26 週間）及びラット（13 週間）では求められなかった。イヌの 0.023 mg/kg/日群における AUC は、臨床曝露量（日本人患者に 1 日 1 回 2 mg を 15 日間投与したときの AUC）の 0.4 倍であった（2.6.7.3.）。なお、マウス及び雌雄ラットの試験における最低用量はそれぞれ 0.1、0.016 及び 0.031 mg/kg/日であり、これらの用量における AUC は臨床曝露量のそれぞれ 1.2、0.3 及び 0.3 倍であった（2.6.7.3.）。

また、これらの試験の最大耐量は、マウスで 0.1 mg/kg/日、ラットで 0.031 mg/kg/日、イヌで 0.023 mg/kg/日と推定された。各用量の AUC（2.6.7.3.）は、臨床曝露量のそれぞれ 1.2、0.3 及び 0.4 倍であった（2.6.7.3.）。

2.4.4.3.　遺伝毒性

GSK1120212B の細菌を用いる試験、マウスリンフォーマ TK 試験及びラット小核試験の結果はいずれも陰性であったことから、GSK1120212B は遺伝毒性を有していないと考えられる。

製造工程における遺伝毒性不純物の有無について評価した結果、化合物A*、不純物A*及び不純物B* は潜在的遺伝毒性物質として取り扱うべきと考えられたが、その総量は毒性学的懸念の閾値（750 ppm/日; ICH M7 Step4（2014）に従い算出）未満で適切に管理されるため、原薬の規格に設定する必要はないと判断した。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた

2.4.4.4.　　生殖発生毒性

2.4.4.4.1.　　受胎能への影響

GSK1120212B の雌雄受胎能に関する試験は実施していないが、マウス、ラット及びイヌの反復投与試験における雌雄生殖器の病理組織学的検査の結果を基に評価した。マウス、ラット及びイヌの最長それぞれ 26、13 及び 13 週間投与試験において、雄生殖器に対する影響は観察されなかったことから、GSK1120212B は雄受胎能に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。一方、雌生殖器については、マウス及びイヌで影響はみられなかったが、ラットの 0.016 mg/kg/日以上の群で GSK1120212B の標的分子である MEK の阻害によると考えられる卵胞嚢胞増加及び黄体数減少がみられた（2.4.4.2.8.）ことから、GSK1120212B は雌受胎能に悪影響を及ぼす可能性を有すると考えられる。

2.4.4.4.2.　　胚・胎児発生への影響

ラットの胚・胎児発生に関する試験では、0.125/0.062 mg/kg/日（初回/2 回目以降の投与量）以上の群において母動物で痂皮、0.062/0.016 mg/kg/日（妊娠 6～9 日）及び 0.375/0.125 mg/kg/日群（妊娠 12～15 日）で母動物の体重増加量の低値、0.094/0.031 mg/kg/日以上の群で胎児体重の低値、0.375/0.125 mg/kg/日群で着床後死亡率の高値傾向がみられた。母動物に関する無毒性量は 0.094/0.031 mg/kg/日、胚・胎児発生に関する無毒性量は 0.062/0.016 mg/kg/日と推定された。これらの群の AUC は臨床曝露量のそれぞれ 0.3 及び 0.14 倍であった（2.6.7.3.）。

ウサギの胚・胎児発生に関する試験では、0.077/0.0385 mg/kg/日以上の群で妊娠 20 日以降に母動物の体重増加量の低値、0.308/0.154 mg/kg/日群で流産（1 例）がみられた。また、0.077/0.0385 mg/kg/日以上の群では、中手骨、頭頂骨、舌骨不完全骨化等の骨格異常の発現頻度の増加がみられたが、同時に観察された胎児体重の低値との関連性が認められたことから、これらの所見は胎児の成長抑制に伴う骨化遅延[Cappon, 2005]によるものと考えられる。母動物及び胚・胎児発生に関する無毒性量はともに 0.077/0.0385 mg/kg/日未満と推定された。最低用量である 0.077/0.0385 mg/kg/日群の AUC は臨床曝露量の 0.09 倍であった（2.6.7.3.）。

MEK-ERK シグナル伝達経路は胚・胎児発生に重要な役割を果たしており、MEK1 及び ERK2 の欠損はそれぞれ胎盤及び胚体外組織の形成異常を引き起こし、いずれも妊娠初期～中期に胚・胎児死亡を誘発する[Bissonauth, 2006; Giroux, 1999; Hatano, 2003; Saba-El-Leil, 2003]。更に、MEK1 及び MEK2 の両遺伝子を皮膚特異的に欠損させると、皮膚の低形成に伴う表皮バリア機能の破綻により、胎児の小型化及び死亡が認められる[Scholl, 2007]。実際に、GSK1120212B のラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験でも、着床後死亡率の増加及び胎児体重の低値が認められた。

以上のことから、GSK1120212B は胚・胎児発生に悪影響を及ぼす可能性を有すると考えられる。

2.4.4.5.　その他の毒性

2.4.4.5.1.　心臓への影響

GSK1120212B の臨床試験において観察された左室駆出率低下のメカニズムを検討するために、初代培養ラット心筋細胞を用いた in vitro 試験及びマウスの心臓に及ぼす影響を評価する in vivo 試験を実施した。

初代培養ラット心筋細胞を用いた試験では、後述のマウスの試験において心機能に対する影響がみられた 0.5 mg/kg/日群の Cmax とほぼ同じ 0.5 μM［臨床曝露量（Cmax = 0.041 μM; 2.7.2.2.1.2.2.3.）の約 12 倍］までの濃度で、細胞生存性（細胞内 ATP 含量）及びミトコンドリア機能（酸素消費量及び細胞外酸性化速度）に及ぼす影響を検討した結果、これらのパラメータに影響は認められなかった。

マウスの心臓に及ぼす影響を検討した試験では、0.25 及び 0.5 mg/kg/日［定常状態での臨床曝露量（AUC; 2.6.7.3.）のそれぞれ 3 及び 7 倍（2.6.7.17.1.）］を 21 日間経口投与した結果、左室機能（心拍出量、1 回拍出量、駆出率、左室内腔面積変化率及び左室内径短縮率）の低下がみられたが、ドブタミン負荷試験の結果からいずれの群においても心収縮予備能は保持されていることが確認された。また、0.25 mg/kg/日以上の群では心拍数及び心重量の低値がみられたが、同試験並びに 0.3 mg/kg/日を 93 日間経口投与したマウス 26 週間投与試験（2012N150025_00）で心臓の病理組織学的変化は認められなかった。

これらのことから、臨床試験で観察された左室駆出率の低下は、GSK1120212B の心筋細胞に対する直接的な細胞毒性及びミトコンドリア障害によるものではないと考えられる。

2.4.4.5.2.　免疫系への影響

MAPK シグナル伝達経路の阻害によって免疫抑制が生じることが報告されている[Downey , 1998; O'Reilly, 2009; DeSilva, 1998]。前述したように、GSK1120212B でもリンパ節／脾臓のリンパ球減少／壊死等の免疫抑制を示唆する所見がみられた（2.4.4.2.5.）。しかしながら、これらの所見は概して致死量以上で観察されたものであり、最大耐量以下の用量では、皮膚及び胃腸障害によると考えられる反応性の白血球数の高値が確認された。このことから、GSK1120212B の臨床使用により重度の免疫抑制が発現する可能性は低いと考えられる。

なお、臨床試験では、臨床検査値異常として白血球数減少及びリンパ球数減少が一部の被験者で認められたが、これらのほとんどはグレード 1 又は 2 であった（2.7.4.3.2.）。

2.4.4.5.3.　光毒性

GSK1120212B の吸収極大波長が 249、316 及び 336 nm であること（2.3.S.3.1.2.）から、3T3 NRU 光毒性試験を実施した結果、GSK1120212B は光毒性を有する可能性（PIF = 6.5）が示唆された。

GSK1120212B（標識体）を投与した有色ラットの組織内分布試験（2.6.5.5.1.）において、皮膚中及びブドウ膜中の薬物関連物質濃度は血液中濃度に比べて高い値を示した。しかしながら、これらの組織において薬物関連物質は投与 72 時間後には定量下限未満であり、メラニン含有組織へ特異的に結合しないと考えられる。有色ラットの組織内分布試験の結果から推定される皮膚中及びブドウ膜中の未変化体の濃度は、それぞれ血液中濃度の約 1.77 及び

2.80 倍であった。これらの値と臨床曝露量（Cmax = 25.5 ng/mL; 2.7.2.2.1.2.2.3.）を基に推定したヒトの皮膚中及びブドウ膜中の未変化体の最大濃度はそれぞれ 45.1 及び 71.4 ng/mL であり、これらの値と比べて in vitro 3T3 NRU 光毒性試験の IC50（2.92 μg/mL; UV 照射時）はそれぞれ約 65 及び 41 倍に相当した。

このように、組織中濃度と in vitro 光毒性試験の IC50 との間に約 41～65 倍の乖離があると推定されることから、「医薬品の光安全性評価ガイドライン」[薬食審査発 0521 第 1 号通知, 2014]で述べられているように、臨床使用において GSK1120212B が光毒性を発現する可能性は低いと考えられる。

なお、臨床試験において、GSK1120212B 単剤療法で認められた光線過敏性反応の発現率は化学療法と同程度であった（MEK114276 試験）。また、GSK2118436B と GSK1120212B の併用時に認められた光線過敏性反応の発現率は GSK2118436B 単剤療法と同程度であった（MEK115306 試験）ことから、本事象の発現に GSK1120212B が関与している可能性は低いと考えられた。これらのことからも、GSK1120212B が光線過敏性反応を発現するリスクは低いと考える。

2.4.4.5.4.　GSK2118436B（BRAF 阻害薬）との併用投与による影響

臨床において GSK1120212B は BRAF 阻害薬である GSK2118436B と併用投与されることから、イヌを用いた 4 週間併用経口投与試験を実施して、併用投与による各薬物単独投与時の毒性に対する影響の有無について検討した。

併用投与試験で GSK1120212B（0.0225 mg/kg/日）及び GSK2118436B（20 mg/kg/日）を 28 日間併用経口投与したときの AUC は、それぞれ 202.5 ng·hr/mL 及び 82.35 μg·hr/mL であった（2.6.7.17.3.）。一方、ほぼ同用量の GSK1120212B（0.025 mg/kg/日）及び GSK2118436B（20 mg/kg/日）を単独でそれぞれ 21 及び 28 日間投与したときの AUC はそれぞれ 182 ng·hr/mL（2.6.7.7.4.）及び 81.8 μg·hr/mL（タフィンラーCTD 2.6.7.7.4.）であった。このことから、併用投与により各薬物の曝露量が影響を受ける可能性は低いと考えられる。

病理組織学的検査で観察された主要所見について、GSK1120212B 及び GSK2118436B（タフィンラーCTD 2.6.6.9.2.）を単独で反復投与したときの所見と比較した結果、結腸及び直腸粘膜の好中球性炎症は GSK1120212B 単独投与での既知所見、貫壁性・血管周囲性の好中球性・組織球性炎症を伴う右冠動脈外膜変性／壊死、精巣上皮変性、並びに精巣上体精子数減少及び管腔内変性精巣胚細胞は GSK2118436B 単独投与での既知所見、胸腺リンパ球減少は両薬物での既知所見であった。しかしながら、胃幽門部粘膜上皮で観察された肉芽腫性炎症（ときに好酸球浸潤及び多核巨細胞内異物蓄積を伴う）、並びに腸間膜リンパ節の組織球症及び組織球内異物蓄積は、併用投与時にのみ発現したもので、白血球数、好中球数及び単球数の高値を伴っていた。肉芽腫性胃炎の原因は不明だが、本所見は生存例での所見であり、後述の切迫屠殺例における一般状態悪化の原因ではなく、GSK1120212B の単独投与で観察された胃腸管の病理組織学的変化とも形態的に異なっていた。

併用投与試験では GSK1120212B/GSK2118436B の 0.0225/20 mg/kg/日を投与した雄 1 例を切迫屠殺したが、ほぼ同用量の GSK1120212B（0.023 mg/kg/日）及び GSK2118436B（20 mg/kg/日; タフィンラーCTD 2.6.6.3.3.2.）のそれぞれ 10 及び 13 週間の単独経口投与に

おいて死亡は認められなかった。また、併用投与試験においてGSK1120212Bによると考えられる大腸の好中球性炎症は0.0225/20 mg/kg/日群で観察されたが、GSK1120212Bの13週間経口投与試験においてほぼ同用量の 0.023 mg/kg/日群では認められなかった（2.6.6.3.5.）。一方、GSK2118436A（GSK2118436Bの遊離塩基）を投与した4週間経口投与試験では、50 mg/kg/日群（投与28日のAUCは42.7 μg·hr/mL）で皮膚病変（乳頭腫、表皮肥厚、角化亢進）が観察されたが（タフィンラーCTD 2.6.7.7.4.）、併用投与試験ではその約2倍のAUC を示した 0.0225/20 mg/kg/日群においても皮膚の病理組織学的変化は認められなかった。

以上のように、GSK1120212B及びGSK2118436Bの併用経口投与により、全身毒性及び大腸の好中球性炎症の増強、並びに新たな所見として肉芽腫性胃炎が発現したが、GSK2118436Bで既知の皮膚障害は認められなかった。

なお、GSK2118436Bを単独投与又はGSK1120212Bと併用投与した臨床試験（MEK115306試験；2.7.4.2.1.1.3.3.）では、単独投与群と併用投与群で胃炎との関連性が示唆される悪心や嘔吐の発現率に大きな差はみられず、GSK1120212Bの併用投与によるこれらの所見の増悪は認められていないが、併用投与により過角化、皮膚乳頭腫及び掌蹠角皮症の発現率の低下が認められている。

2.4.5.　総括及び結論

GSK1120212Bは強力かつ選択的なMEK阻害薬であり、BRAF V600E変異陽性のヒト悪性黒色腫由来腫瘍細胞株を用いたマウス異種移植モデルにおいて経口投与により腫瘍増殖抑制作用を示した。また、GSK2118436及びGSK1120212Bの併用効果を検討した一連のin vitro及びin vivo試験成績から、併用によりMAPK経路が強力に抑制され、BRAF V600変異陽性のヒト悪性黒色腫に対してより強力な腫瘍増殖抑制作用を発現することが示された。更に、GSK2118436耐性細胞クローンに対しても増殖抑制作用を示し、マウス異種移植モデルにおいて単独投与したときと比較して持続的な腫瘍増殖抑制作用を示したことから、併用投与によりRAF阻害薬の耐性発現を遅延させる可能性が考えられた。

マウス、ラット及びイヌにGSK1120212Bを経口投与したとき、Fは良好であり、速やかに吸収された。反復経口投与すると曝露量は投与量増加に伴い増加し、マウスでは少なくとも投与7日、ラットではおおむね投与3週、イヌでは少なくとも投与4週で定常状態に達すると考えられた。また、GSK1120212B及びGSK2118436Bを併用反復経口投与しても、互いの曝露量及びGSK2118436の代謝物の曝露量に影響を及ぼさないと考えられた。

GSK1120212Bは広く組織に分布し、その後緩やかに組織から消失すると考えられた。GSK1120212はわずかに脳内へ移行すると考えられ、メラニン含有組織と特異的な結合はしないと考えられた。動物及びヒトの血漿蛋白結合率はいずれも高く、ヒト血漿蛋白結合率は97.4%であった。

GSK1120212は代謝されにくいものの、一部は加水分解酵素（hCES1b、hCES1c及びhCES2）による脱アセチル化、その他にCYP3A4による酸化を受けると考えられた。

ラット及びイヌの主な排泄経路は胆汁を介した糞中であると考えられた。

GSK1120212 は Pgp 及び BSEP の基質であったが、臨床で薬物動態学的相互作用を起こす可能性は低いと考えられた。なお、BCRP、MRP2、MATE1、OATP1B1、OATP1B3、OATP2B1 及び OCT1 の基質ではなかった。

In vitro で GSK1120212 は CYP3A4 及び 2B6 の誘導、CYP2C8、2C9 及び 2C19 の阻害並びに Pgp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び MATE1 の阻害を示したが、臨床で薬物相互作用が起こる可能性は低いと考えられた。なお、CYP1A2 は誘導せず、CYP1A2、2A6、2B6、2D6 及び 3A4 を阻害せず、CYP1A2、2A6、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A4 のいずれに対しても、代謝依存的に阻害せず、BSEP 及び MRP2 を阻害しなかった。

GSK1120212B の毒性試験において、反復経口投与で観察された主要所見は、皮膚、消化管、リン恒常性、造血器、肝臓、骨及び卵巣に対する影響であった。いずれの所見も休薬によりおおむね回復するものと考えられ、標的分子である MEK の阻害又はその二次的変化によるものと考えられる。特に、皮膚及び消化管への影響については、ラット及びイヌの用量制限毒性であったことから、ヒトにおいても十分注意すべき事象と考える。また、心臓の病理組織学的変化を伴わない左室機能の低下並びに心拍数及び心重量の低値、血清リンの高値を伴う心筋の鉱質沈着及び壊死もみられた。

雌雄生殖器の病理組織学的検査の結果を基に評価した結果、GSK1120212B は雌受胎能に悪影響を及ぼす可能性があると考えられる。また、ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験で、流産、着床後死亡率の高値傾向、胎児体重の低値又は骨格異常がみられ、GSK1120212B は胚・胎児発生に悪影響を及ぼす可能性が考えられるため、妊婦への投与は避けるべきと考える。

GSK1120212B 及び GSK2118436B の併用経口投与により、全身毒性及び大腸好中球性炎症の増強並びに胃炎が発現する可能性が示唆された。両薬物の併用投与による臨床試験において一致する事象は報告されていないが、注意すべきと考える。

以上の非臨床試験成績から、GSK1120212B は「BRAF V600 遺伝子変異を有する悪性黒色腫」に対する治療薬として期待される。

2.4.5.1.　図表

図表は本文中に示した。

2.4.5.2.　参考文献

Alcala AM, Flaherty KT. BRAF inhibitors for the treatment of metastatic melanoma: clinical trialsand mechanisms of resistance. *Clin Cancer Res.* 2012;18:33-9.

Balagula Y, Barth Huston K, Busam KJ, et al. Dermatologic side effects associated with the MEK 1/2 inhibitor selumetinib (AZD6244, ARRY-142886). *Invest New Drugs.* 2011;29:1114-21.

Bissonauth V, Roy S, Gravel M, et al. Requirement for Map2k1 (Mek1) in extra-embryonic ectoderm during placentogenesis. *Development.* 2006;133:3429-40.

Brown AP, Courtney CL, King LM, et al. Cartilage dysplasia and tissue mineralization in the rat following administration of a FGF receptor tyrosine kinase inhibitor. *Toxicol Pathol.* 2005;33:449-55.

Cappon GD, Fleeman TL, Chapin RE, et al. Effects of feed restriction during organogenesis on embryo-fetal development in rabbit. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2005;74:424-30.

Deng C, Wynshaw-Boris A, Zhou F, et al. Fibroblast growth factor receptor 3 is a negative regulator of bone growth. *Cell.* 1996;84:911-21.

DeSilva DR, Jones EA, Favata MF, et al. Inhibition of mitogen-activated protein kinase kinase blocks T cell proliferation but does not induce or prevent anergy. *J Immunol.* 1998;160:4175-81.

Downey GP, Butler JR, Tapper H, et al. Importance of MEK in neutrophil microbicidal responsiveness. *J Immunol.* 1998;160:434-43.

Ferrara N, Chen H, Davis-Smyth T, et al. Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis. *Nat Med.* 1998;4:336-40.

Giroux S, Tremblay M, Bernard D, et al. Embryonic death of Mek1-deficient mice reveals a role for this kinase in angiogenesis in the labyrinthine region of the placenta. *Curr Biol.* 1999;9:369-72.

GlaxoSmithKline Document Number CD2008/00141/00 Study ID 05039. Two-Week Oral Dose Toxicity Study of JTP-74057 Acetic Acid Solvate in Rats with a Two-Week Recovery Period. Report Date 26-Dec-2007.

GlaxoSmithKline Document Number CD2008/00267/00 Study ID 04134. Two-Week Oral Dose Toxicity Study of JTP-74057 Acetic Acid Solvate and JTP-75201 in Rats. Report Date 26-Sep-2005.

GlaxoSmithKline Document Number 2011N123720_00 Study ID Ames-1121. 不純物B*: Bacterial Mutation Assay (Ames Test) With Salmonella typhimurium and Escherichia coli (screening study). Report Date 7-Nov-2011.

Hatano N, Mori Y, Oh-hora M, et al. Essential role for ERK2 mitogen-activated protein kinase in placental development. *Genes Cells.* 2003;8:847-56.

Haura EB, Ricart AD, Larson TG, et al. A phase II study of PD-0325901, an oral MEK inhibitor, in previously treated patients with advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2010;16:2450-7.

Kihara S, Yamamoto H, Ohba T, et al. Activation of follistatin promoter by GnRH in L beta T2 gonadotroph cells. *Endocr J.* 2006;53:225-35.

Kilborn SH, Trudel G, Uhthoff H. Review of growth plate closure compared with age at sexual maturity and lifespan in laboratory animals. *Contemp Top Lab Anim Sci.* 2002;41:21-6.

＊新薬承認情報提供時に置き換えた

Kosters A, Karpen SJ. The role of inflammation in cholestasis - clinical and basic aspects. *Semin Liver Dis.* 2010;30:186-94.

Lito P, Rosen N, Solit DB. Tumor adaptation and resistance to RAF inhibitors. *Nat Med.* 2013;19:1401-9.

Madan A, Fisher A, Jin L et al. In vitro metabolism of indiplon and an assessment of its drug interaction potential. *Xenobioticia.* 2007;37:736-52.

Nelson-Degrave VL, Wickenheisser JK, Hendricks KL, et al. Alterations in mitogen-activated protein kinase kinase and extracellular regulated kinase signaling in theca cells contribute to excessive androgen production in polycystic ovary syndrome. *Mol Endocrinol.* 2005;19:379-90.

O'Reilly LA, Kruse EA, Puthalakath H, et al. MEK/ERK-mediated phosphorylation of Bim is required to ensure survival of T and B lymphocytes during mitogenic stimulation. *J Immunol.* 2009;183:261-9.

Pearse G. Histopathology of the thymus. *Toxicol Pathol.* 2006;34:515-47.

Ranch D, Zhang MY, Portale AA, et al. Fibroblast growth factor 23 regulates renal 1,25-dihydroxyvitamin D and phosphate metabolism via the MAP kinase signaling pathway in Hyp mice. *J Bone Miner Res.* 2011;26:1883-90.

Saba-El-Leil MK, Vella FD, Vernay B, et al. An essential function of the mitogen-activated protein kinase Erk2 in mouse trophoblast development. *EMBO Rep*. 2003;4:964-8.

Scholl FA, Dumesic PA, Barragan DI, et al. Mek1/2 MAPK kinases are essential for Mammalian development, homeostasis, and Raf-induced hyperplasia. *Dev Cell.* 2007;12:615-29.

Shiota M, Sugai N, Tamura M, et al. Correlation of mitogen-activated protein kinase activities with cell survival and apoptosis in porcine granulosa cells. *Zoolog Sci.* 2003;20:193-201.

Sriraman V, Modi SR, Bodenburg Y, et al. Identification of ERK and JNK as signaling mediators on protein kinase C activation in cultured granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol.* 2008;294:52-60.

Zeiger E, Anderson B, Haworth S, et al. Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. *Environ Mol Mutagen*. 1998;11 Suppl.12:1-158.

薬食審査発 0521 第 1 号通知. 医薬品の光安全性評価ガイドラインについて. *平成 26 年 5 月 21 日付*. 2014:.

薬食審査発 0604 第 1 号通知. 抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン. *平成 22 年 6 月 4 日付*. 2010:.

薬食審査発第 1127001 号通知. 医薬品のがん原性に関するガイドライン. *平成 20 年 11 月 27 日付*. 2008:.