2.4 非臨床試験の概括評価

小野薬品工業株式会社

目次

用語及び略号一覧 3
2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 5
2.4.2 薬理試験 6
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 6
2.4.2.2 副次的薬理試験 8
2.4.2.3 安全性薬理試験 9
2.4.3 薬物動態試験 10
2.4.3.1 吸収 10
2.4.3.2 分布 10
2.4.3.3 代謝 11
2.4.3.4 排泄 12
2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用 12
2.4.4 毒性試験 13
2.4.4.1 単回投与毒性試験 13
2.4.4.2 反復投与毒性試験 13
2.4.4.3 遺伝毒性試験 14
2.4.4.4 がん原性試験 14
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 14
2.4.4.6 局所刺激性試験 15
2.4.4.7 その他の毒性試験 15
2.4.5 総括及び結論 17
2.4.6 参考文献一覧 20

用語及び略号一覧

用語及び略号	内容又は日本語名称
^{3}H	トリチウム
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
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUCinf	投与後無限大時間まで外挿した AUC
AUClast	時間 0 から濃度定量可能最終時点までの AUC
CD138	別名 syndecan 1，膜貫通ヘパラン硫酸プロテオグリカンの 1 つ
CK	クレアチンキナーゼ
CL	クリアランス
Cmax	最高血漿中濃度
CRP	C 反応性タンパク
CYP	チトクロム P450
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hERG	ヒト Ether-a-go-go 関連遺伝子
HS-Sultan	ヒトバーキットリンパ腫細胞株
HT-29	ヒト大腸がん細胞株
HT-29 PS 300	ボルテゾミブ耐性ヒト大腸がん細胞株
HtrA2/Omi	HtrA serine peptidase 2/Omi stress-regulated endopeptidase
IC_{50}	50%阻害濃度
IL	インターロイキン
Ki	阻害定数
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィータンデム型質量分析
LPS	リポ多糖
LSC	液体シンチレーションカウンター
MTD	最大耐量
MM1.S	ヒト多発性骨髄腫細胞株
NK_1	ニューロキニン-1
NK_2	ニューロキニン-2
P-gp	P-糖タンパク質
QTc	心拍数で補正した QT
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィ
radio-HPLC	放射能検出器を接続した高速液体クロマトグラフィー
RL	ヒト非ホジキンリンパ腫細胞株
SD	Sprague Dawley
SBECD	スルホブチルエーテル-β-シクロデキストリンナトリウム
SH-SY5Y	ヒト神経芽細胞腫細胞株
T1/2	消失半減期
TNF	腫瘍壊死因子

2.4 非臨床試験の概括評価

カルフィルゾミブはテトラペプチドエポキシケトン骨格を有するプロテアソーム阻害剤であり，20S プロテアソームのキモトリプシン様活性を選択的かつ不可逆的に阻害する．

プロテアソームは細胞内に存在する酵素複合体であり，3 種類の酵素活性（キモトリプシン様活性，トリプシン様活性及びカスパーゼ様活性）により，ポリユビキチン化されたタンパクを選択的に分解する．また，プロテアソームはポリユビキチン化されたタンパク（細胞周期制御因子，シグナル伝達因子及び転写因子など細胞の増殖及び分化に係るタンパク）の分解を介して，細胞の増殖，分化及びアポトーシスを制御している[1)]．腫瘍細胞ではプロテアソームの阻害によりアポトーシスが誘導されることから，プロテアソームを阻害する薬剤は抗腫瘍効果が期待できる．また，既にプロテアソームを阻害するボルテゾミブが，再発又は難治性の多発性骨髄腫，及び未治療の多発性骨髄腫を対象に上市されている．

多発性骨髄腫は B リンパ球から分化した形質細胞が骨髄中で単クローン性（腫瘍性）に増殖する造血腫瘍である[2) 3)]．多発性骨髄腫の初期治療では，多剤併用化学療法及び造血幹細胞移植を伴う大量化学療法などが施行されている[2) 3)]．しかし，治療の効果は一時的で，鎮静化した患者でも多くは再発（又は再燃）と寛解を繰り返しながら進行する[2) 4)]．再発後の治療を繰り返すごとに奏効期間が短くなり[4)]，やがてはいずれの治療法も効かない難治性（治療抵抗性）の病状に進行する．現在，日本における多発性骨髄腫に対する薬物療法は，新規薬剤であるボルテゾミブ[5)~8)]，サリドマイド[9)~11)]及びレナリドミド[12)~14)]が主に用いられるが，末梢神経障害，血液毒性，感染症，肺障害などの副作用が認められ[5) 9) 12)]，治療に苦慮する場合がある．よって，再発又は難治性の多発性骨髄腫に対して，治療効果の向上のみならず副作用も軽減した，新たな薬物療法を提示する臨床的意義は大きい[15)]．

カルフィルゾミブはプロテアソームのキモトリプシン様活性部位の N 末端スレオニン残基と不可逆的な共有結合を形成することにより，プロテアソームの同活性を強力に阻害する[16)~20)]．カルフィルゾミブは骨髄腫細胞株を含む各種腫瘍細胞株において，細胞内にポリユビキチン化タンパクを蓄積させ，腫瘍細胞のアポトーシスを誘導する[17)~19)]．また，カルフィルゾミブはボルテゾミブに耐性を示す腫瘍細胞株に対しても細胞傷害作用を示す[21)]．更に，ボルテゾミブが神経細胞の生存促進性プロテアーゼである HtrA2/Omi を含む数種類のセリンプロテアーゼを阻害するのに対し，カルフィルゾミブはプロテアソームのキモトリプシン様活性を選択性に阻害する[22)]．この選択性の相違は，カルフィルゾミブの臨床試験や非臨床試験における骨髄抑制及び末梢神経障害が軽度であることに関連している可能性がある．

以上のことから，プロテアソームのキモトリプシン様活性を選択的かつ不可逆的に阻害するカルフィルゾミブは，ボルテゾミブと比較して安全性に優れかつ効果の高い新たな多発性骨髄腫の治療薬になり得ると考えた．

2.4.1 非臨床試験計画概略

カルフィルゾミブの非臨床試験は，「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」（薬食審査発 0219 第 4 号，平成 22 年 2 月 19 日）又は「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」（薬食審査発 0604 第 1 号，平成 22 年 6 月 4 日）に基づいて実施した．したがって，がん原性試験や生殖発生毒性試験の一部は実施しなかった．

薬理試験

効力を裏付ける試験として *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験を実施した．*In vitro* 試験では，プロテアソーム活性の阻害作用及び腫瘍細胞に対する細胞傷害作用を検討した．プロテアソーム活性の阻害作用の試験では，精製ヒトプロテアソーム及び細胞中プロテアソームの酵素活性に対する阻害作用を，細胞傷害作用の試験では，腫瘍細胞株に対する細胞傷害作用を検討した．*In vivo* 試験では，ヒト腫瘍細胞株をマウスに移植した担がんモデルを用いた抗腫瘍効果及びマウス，ラット及びサルにおける血中又は組織中プロテアソームの酵素活性を検討した．

副次的薬理試験として，プロテアソーム以外の酵素及び受容体／リガンドに対する作用並びに神経細胞に対する作用を検討した．

安全性薬理試験として，培養細胞を用いて hERG チャネル電流に対する作用並びにサルを用いて中枢神経系，心血管系及び呼吸系に対する作用を評価した．また，中枢神経系に対する作用は，ラット及びサルの反復投与毒性試験でも評価した．

薬物動態試験

カルフィルゾミブの薬物動態は，薬理試験及び毒性試験と同種同系統の BALB/c 系マウス，SD 系ラット及びサルを用いて，カルフィルゾミブ又は ^{3}H-カルフィルゾミブを臨床の投与経路である静脈内投与で評価した．また，ラット，サル及びヒトにおける血漿タンパク結合並びに *in vitro* での代謝を検討した．生体試料中放射能濃度の測定には LSC を，試料中放射能の組成分析には radio-HPLC を用いた．また，血漿中カルフィルゾミブ濃度の分析には LC/MS/MS を，組織分布試験の分析には QWBA を用いた．

毒性試験

カルフィルゾミブの安全性は，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，生殖発生毒性試験及びその他の毒性試験にて評価した．*In vivo* 試験は臨床の投与経路である静脈内投与にて実施した．単回及び反復投与毒性試験では，カルフィルゾミブがプロテアソーム阻害作用を示す動物種であるラット及びサルを用いた．用量設定試験を除く反復投与毒性試験，遺伝毒性試験及び生殖発生毒性試験は，GLP を遵守して実施した．

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 *In vitro* 試験

カルフィルゾミブはヒト 20S プロテアソームのキモトリプシン様活性を不可逆的に阻害し [17)]，精製ヒト構成プロテアソーム及び免疫プロテアソームのキモトリプシン様活性に対する IC_{50}値は 10 nmol/L 未満であった［2.6.2.2.1.1，2.6.2.2.1.2］．また，プロテアソームの他のサブユニットの活性（カスパーゼ様活性及びトリプシン様活性）に対して 300 倍以上の選択性を示した［2.6.2.2.1.2］．一方，公知のプロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブは，プロテアソームのキモトリプシン様活性をカルフィルゾミブと同程度に阻害したが，プロテアソームのカスパーゼ様活性も阻害した［2.6.2.2.1.2，2.6.2.2.1.3］．カルフィルゾミブは公知のプロテアソーム阻害剤である epoxomicin と同じα，βエポキシケトン骨格を有し，不可逆的な阻害様式を示すことから，α，βエポキシケトンがプロテアソームの N-末端スレオニン残基のα-アミノ基及び側鎖γ位の酸素の両方と共有結合したモルホリノ付加体を形成すると考えられた [16) 17)]．一方，ボルテゾミブはボロン酸がプロテアソームの N-末端スレオニン残基のα-アミノ基の水酸基と共有結合した可逆的なボロン酸誘導体を形成すると考えられた [23)]．したがって，カルフィルゾミブの阻害様式はボルテゾミブの阻害様式と異なった．

カルフィルゾミブは腫瘍細胞においてプロテアソームのキモトリプシン様活性を強力に阻害し，腫瘍細胞の細胞溶解液中での IC_{50} 値は 10 nmol/L 未満であった［2.6.2.2.1.4，2.6.2.2.1.5］．また，腫瘍細胞株をカルフィルゾミブを含む培地で 1 時間培養したとき，カルフィルゾミブはプロテアソームのキモトリプシン様活性を速やかに阻害し，続いてポリユビキチン化タンパクを蓄積させ，アポトーシスを誘導した［2.6.2.2.1.6，2.6.2.2.2.1］．

カルフィルゾミブは多発性骨髄腫細胞を含む各種の腫瘍細胞に対して細胞傷害作用を示した［2.6.2.2.2.1，2.6.2.2.2.2，2.6.2.2.2.3，2.6.2.2.2.4，2.6.2.2.2.5］．各種の腫瘍細胞をカルフィルゾミブを含む培地で 72 時間培養したとき，カルフィルゾミブの細胞生存に対する IC_{50} 値は 2.4～20 nmol/L であり，その細胞傷害作用はボルテゾミブと同程度であった

［2.6.2.2.2.3］．一方，血液腫瘍細胞株及び固形腫瘍細胞株をカルフィルゾミブ又はボルテゾミブを含む培地で 1 時間培養し，その後化合物を含まない培地で 72 時間培養したとき，カルフィルゾミブの細胞傷害作用はボルテゾミブと比較してより強力であった［2.6.2.2.2.3］．また，本条件において，カルフィルゾミブの細胞生存に対する IC_{50} 値は，固形腫瘍細胞株及び正常細胞に比べて血液腫瘍細胞株で低濃度であり，血液腫瘍細胞株はカルフィルゾミブに対する感受性が高かった［2.6.2.2.2.3］．更に，アポトーシス誘導に要する時間は，固形腫瘍細胞株に比べて血液腫瘍細胞株で短時間であった［2.6.2.2.2.1］．カルフィルゾミブ及びボルテゾミブは，いずれも時間依存的な阻害作用を示し，また血漿中から速やかに消失することから，薬物の短時間曝露試験などにより血液及び固形腫瘍細胞株の感受性の差異に係る作用機序やプロテアソーム活性の阻害後に発生する事象を詳細に検討した．その結果，腫瘍細胞に対するカルフィルゾミブ又はボルテゾミブの細胞傷害作用は，プロテアソーム活性の阻害の程度及び持続時間に依存することが明らかになり，臨床での効果発現にはプロテアソームの強力かつ持続的な阻害が必要と考えられた．

カルフィルゾミブは各種薬剤に耐性を有する細胞に対して細胞傷害作用を示した［2.6.2.2.2.4，2.6.2.2.2.5］．ヒト大腸がん細胞株 HT-29 に比較し，ボルテゾミブに対する耐性を獲得させた HT-29 PS 300 では，ボルテゾミブに対する感受性が 100 分の 1 未満に低下したが，カルフィルゾミブに対する感受性は 4 分の 1 に低下するに留まった［2.6.2.2.2.4］．また，カルフィルゾミブはボルテゾミブ非奏効の多発性骨髄腫患者由来の CD138 陽性細胞，ボルテゾミブの治療中に進行した多発性骨髄腫患者由来の CD138 陽性細胞に対しても細胞傷害作用を示した［2.6.2.2.2.5］．したがって，カルフィルゾミブはボルテゾミブに耐性となった患者及び他の抗がん剤に耐性になった患者において有効性を示す可能性があると考えられた．

2.4.2.1.2 *In vivo* 試験

上記の *in vitro* 試験の結果より，カルフィルゾミブはプロテアソーム活性を持続的に阻害することで最大の細胞傷害作用を示すと考えられたため，*in vivo* での抗腫瘍作用においてもプロテアソーム阻害の持続性の影響を検討した．その結果，免疫不全マウスにヒト大腸がん細胞株 HT-29 を移植した担がんモデルにおいて，カルフィルゾミブは 10 mg/kg を週 1 回投与したとき腫瘍の増大を抑制しなかったが，標的細胞内のプロテアソーム活性をより持続的に阻害できるように 5 mg/kg を週 2 回連日投与（週の 1 及び 2 日目）したとき有意な抗腫瘍効果を示した［2.6.2.2.3.1-2，2.6.2.2.3.1-3］．一方，ボルテゾミブはカルフィルゾミブと同じ投与スケジュールに忍容性がなく [24)]，臨床レジメンと同じ投与間隔の週 2 回間歇投与（週の 1 及び 4 日目）したとき腫瘍の増大を抑制しなかった［2.6.2.2.3.1-2，2.6.2.2.3.1-3］．

これらの *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果より，カルフィルゾミブはプロテアソーム活性を持続的に阻害することで，臨床でも強力な抗腫瘍効果が得られる可能性が示唆された．更に，カルフィルゾミブはヒト多発性骨髄腫細胞株 MM.1S，ヒト非ホジキンリンパ腫細胞株 RL，ヒトバーキットリンパ腫 HS-Sultan など幅広い腫瘍細胞株の担がんモデルで，有意な抗腫瘍効果を示した［2.6.2.2.3.1-1，2.6.2.2.3.1-3］．以上の結果より，カルフィルゾミブは非臨床試験において多発性骨髄腫を含む血液腫瘍及び固形腫瘍に対して抗腫瘍効果を示したことから，幅広いがん腫に対して効果を示すと考えられた．

マウス，ラット及びサルにおいて，カルフィルゾミブは脳を除く組織でプロテアソーム活性を阻害した［2.6.2.2.3.2］．また，反復投与後の組織におけるプロテアソーム活性の回復は単回投与後と同様であった［2.6.2.2.3.2］．なお，全血（主成分は脱核した赤血球）ではプロテアソーム活性の回復は他組織に比べ緩やかであった．これはカルフィルゾミブがプロテアソームを不可逆的に阻害し，プロテアソーム合成能がない赤血球においては，その回復性が赤血球の代謝回転に依存することに起因すると考えられた[25)]．

カルフィルゾミブは同じ投与量を静脈内急速投与若しくは 30 分間静脈内持続投与したとき，プロテアソーム活性を同程度に阻害したことから［2.6.2.2.3.2］，その薬力学は Cmax ではなく投与量及び AUC と相関することが示唆された[20)]．一方，急性毒性はカルフィルゾミブを 30 分間静脈内持続投与した方が静脈内急速投与に比べ軽度であった［2.6.6.2.2］．

したがって，カルフィルゾミブはマウス，ラット及びサルの *in vivo* においてプロテアソームのキモトリプシン様活性を種差なく阻害した．また，カルフィルゾミブはヒトにおいてもプロテアソームのキモトリプシン様活性を阻害した［2.7.3.4.5］．

2.4.2.2 副次的薬理試験

プロテアソーム以外の 21 種のプロテアーゼに対する阻害作用を検討した結果，カルフィルゾミブは 10 μmol/L で異なるプロテアーゼ（セリンプロテアーゼ，メタロプロテアーゼ，システインプロテアーゼ及びアスパラギン酸プロテアーゼ）類に対して明らかな阻害作用を示さなかった［2.6.2.3.1］．一方，ボルテゾミブは 10 μmol/L でセリンプロテアーゼのカテプシン G，キマーゼ及びヒト膵臓キモトリプシンに対して 90%を超える阻害率を示した［2.6.2.3.1，2.6.2.3.3］．また，67 種類の受容体／リガンド結合及び 16 種類の酵素に対する活性阻害を検討した結果，カルフィルゾミブは 10 μmol/L で NK_1及び NK_2受容体並びにナトリウムチャネル（Site 2）に対し阻害率 50%を超えるリガンド結合阻害を示し，*in vitro* ウサギ肺動脈収縮試験により NK_2受容体に対する拮抗作用が示された（1 μmol/L で 41%阻害）［2.6.2.3.2］．しかし，カルフィルゾミブは血中から速やかに消失することから，生体内で

NK_2受容体に拮抗し，薬理作用を示すとは考え難い．したがって，カルフィルゾミブはプロテアソーム以外の標的に明らかな作用を示さないと考えられた．

カルフィルゾミブはセリン・システインプロテアーゼに対して有意な阻害を示さなかったが，ボルテゾミブはカテプシン A，カテプシン G，ジペプチジルペプチダーゼⅡ，キマーゼ及び神経細胞の生存促進性プロテアーゼである HtrA2/Omi を阻害した．カルフィルゾミブを投与したラット脾細胞のカテプシン G 活性は低下しなかったが，ボルテゾミブを投与したラットの脾細胞のカテプシン G 活性は低下した［2.6.2.3.3］．神経細胞へ分化させた SH-SY5Y 細胞（神経芽細胞腫）において，カルフィルゾミブ及びボルテゾミブは，同程度のプロテアソーム活性の阻害作用を示す一方で，ボルテゾミブにのみ神経突起の退縮作用が認められた［2.6.2.3.3］．以上，カルフィルゾミブはプロテアソームに高い選択性を有し，ボルテゾミブと異なり神経細胞突起への影響が認められなかった．この結果は，カルフィルゾミブが臨床において末梢神経障害の発現が低いことと関連すると考えられた．

2.4.2.3　　安全性薬理試験

中枢神経系に対する作用について，サルを用いて神経行動学的検査により評価した結果［2.6.2.4.1］，カルフィルゾミブは最高投与量である 3 mg/kg（36 mg/m^2）まで中枢神経系に影響しなかった．また，ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験において機能観察総合評価（FOB）又は神経行動学的検査を実施した結果［2.6.6.3.4，2.6.6.3.5，2.6.6.3.7，2.6.6.3.8］，それぞれ最高用量である 6 mg/kg（36 mg/m^2）及び 2 mg/kg（24 mg/m^2）まで中枢神経系に対して影響しなかった．無影響量でのカルフィルゾミブの曝露量は，ラットでは臨床の用法・用量における曝露量と同程度であったが，サルでは臨床の曝露量未満であった［2.6.2.6，表 2.6.2.6-1］．

心血管系に対する作用について，*in vitro* で hERG 遺伝子を導入した HEK293 細胞を用い，hERG チャネル電流に対する影響を評価した［2.6.2.4.2.1］．また，サルを用いて血圧（収縮期，拡張期及び平均血圧），心拍数並びに心電図（PR，QRS，RR，QT 及び QTc 間隔）に対する影響をテレメトリーシステムにより評価した［2.6.2.4.2.2］．その結果，カルフィルゾミブは濃度増加に応じて hERG チャネル電流を阻害し，その IC_{50}値は 2.1 μmol/L（1500 ng/mL）であった．IC_{50}値と臨床の用法・用量におけるカルフィルゾミブのタンパク非結合型血漿中濃度との間には 22 倍の乖離があることから，臨床では hERG 阻害を介した心血管系への影響は生じないと考えられた．一方，カルフィルゾミブはサルで心電図の QT 間隔を延長させなかったが，3 mg/kg で血圧低下，ST 上昇及び T 波増高の虚血性の心電図変化並びに心室性期外収縮の発現頻度を上昇させた．一般状態の悪化により切迫剖検した例では，トロポニン T の高値並びに心室及び心室中隔の赤色化などの肉眼病変が認められた．また，サ

ルを用いた反復投与毒性試験［2.6.6.3.6，2.6.6.3.7，2.6.6.3.8］では心筋毒性が認められたことから，カルフィルゾミブの心血管系への影響は心筋毒性に起因して発現したものと考えられた．心血管系に対する無影響量である 2 mg/kg（24 mg/m^2）におけるカルフィルゾミブの曝露量は，臨床の用法･用量における曝露量未満であった［2.6.2.6，表 2.6.2.6-1］．

呼吸系に対する作用について，サルを用いて呼吸数，1 回換気量及び分時換気量に対する作用を評価した結果［2.6.2.4.3］，カルフィルゾミブは最高投与量である 3 mg/kg（36 mg/m^2）まで呼吸系に影響しなかった．無影響量でのカルフィルゾミブの曝露量は，臨床の用法･用量における曝露量未満であった［2.6.2.6，表 2.6.2.6-1］．

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 吸収

マウス，ラット及びサルに単回静脈内急速投与したとき，カルフィルゾミブは血漿中から速やかに消失し，T1/2 は全動物種で概ね 20 分未満であった［2.6.4.3.1］．CL はマウスでは肝血流量 [26] と同程度で，ラット及びサルではそれを上回った．ヒトに 20 又は 27 mg/m^{2}で投与したときの血漿 CL は約 100 L/h［2.7.2.2.2.1］であり，血液／血漿中濃度比は 0.408～0.621 であったことから，カルフィルゾミブの血液 CL は肝血流（75 L/h）[26] を超える．ヒトでは，ラット及びサルと同様に肝外消失が関与すると考えられた．

ラットに 8 mg/kg を 30 分間静脈内持続投与したとき，概ね 15 分以内に定常状態に達した．このときの Cmax（1.55 μmol/L）は，8 mg/kg を静脈内急速投与したときの投与直後（0.1 分）における血漿中濃度（42.94 μmol/L）の約 28 分の 1 であった．AUCinf，CL 及び T1/2 は両投与方法間で同程度であった［2.6.4.3.1.2.2］．

ラット及びサルに反復静脈内急速投与したとき，血漿中カルフィルゾミブ濃度は単回投与と同様に投与後速やかに低下した．いずれの動物種においても，血漿中濃度推移に蓄積性及び雌雄差は認められなかった［2.6.4.3.2］．ラットでは 1～4 mg/kg でカルフィルゾミブの Cmax 及び AUC は投与量に応じて増加した．サルでは 0.5～2 mg/kg でカルフィルゾミブの Cmax 及び AUC は投与量比未満の増加を示した．

2.4.3.2 分布

ラットに ^{3}H-カルフィルゾミブを静脈内急速投与したとき，放射能は広範な組織分布を示し，多くの組織で血漿に対する濃度比は 1 を超えたが，脳内への移行性は他の組織と比較して低かった［2.6.4.4.1］．脳のプロテアソーム活性がカルフィルゾミブの投与により阻害されなかった［2.6.2.2.3.2］ため，中枢に移行した放射能は主に代謝物由来であると考えられた．また，ほとんどの組織で投与後 168 時間まで放射能が認められた．^{3}H-カルフィルゾミ

ブの標識部位はフェニルアラニン上にあり，カルフィルゾミブの代謝によって ^{3}H-フェニルアラニンが生成する．^{3}H-フェニルアラニン及びその代謝物が組織内へ取り込まれるか，生成したトリチウム水が残留することにより，組織中放射能が長時間維持されている可能性が考えられた．

カルフィルゾミブ（0.4 及び 4 μ mol/L）の血漿タンパク結合率は，ラットで 97.6 及び 96.6%，サルで 94.4 及び 94.4%，ヒトで 97.3 及び 96.9%であった［2.6.4.4.2］．ヒト血漿における主結合タンパクは HSA であった［2.6.4.4.2］．

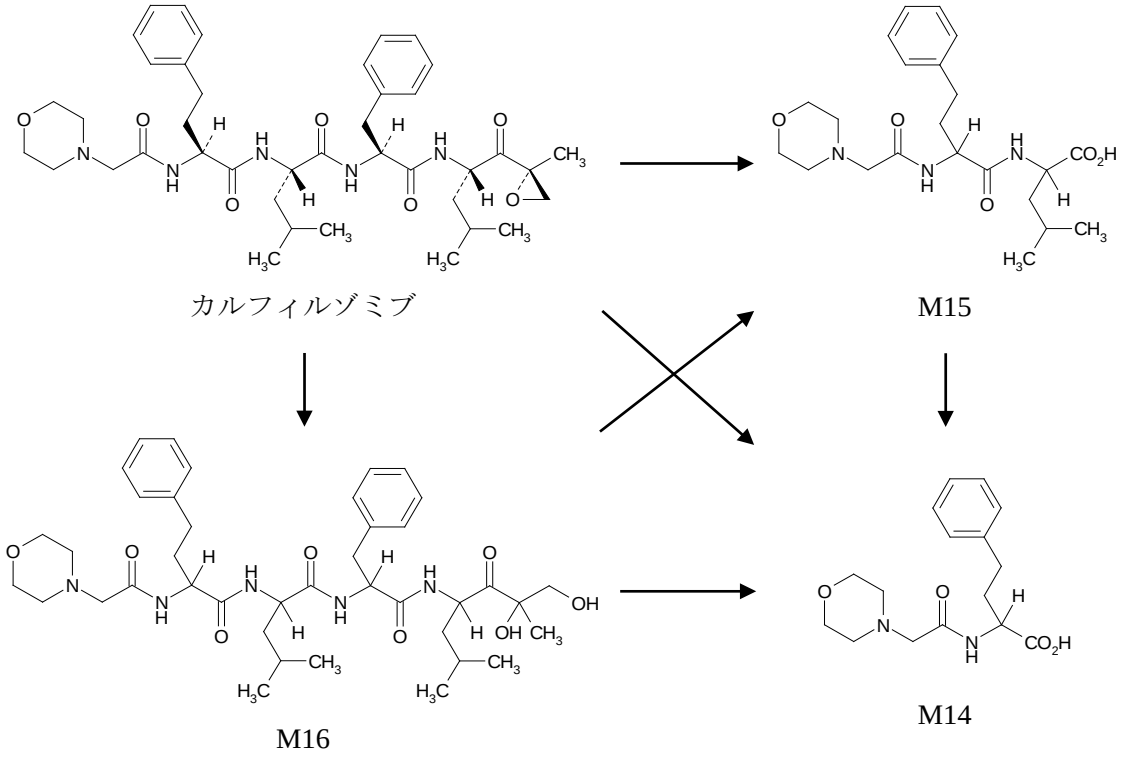
妊娠ラットに静脈内投与したとき，カルフィルゾミブの胎児への移行性は低いことが示唆された［2.6.4.4.4］．

2.4.3.3 代謝

カルフィルゾミブの主な代謝経路を図 2.4.3.3-1 に示した．カルフィルゾミブは *in vitro* においてラットの血液中並びに肝，肺及び腎ホモジネート中で速やかに代謝され，その主代謝物はペプチド結合の加水分解により生じる M14 及び M15 であった［2.6.4.5.2］．ラット，サル及びヒトの肝細胞では，主代謝物としてエポキシドの加水分解により生じる M16 が検出された．アミノ酸であるフェニルアラニンやチロシンも代謝物として認められ，ヒトに特異的な代謝物は認められなかった［2.6.4.5.4］．カルフィルゾミブは CYP の基質であったが，ヒト肝細胞での代謝における CYP の寄与はわずかであった［2.6.4.5.5］．

ラット及びサルにカルフィルゾミブを反復静脈内急速投与したとき，血漿中の主な代謝物は M14 及び M16 であった［2.6.4.3.2.1，2.6.4.3.2.3］．カルフィルゾミブは主にペプチド結合及びエポキシドの加水分解によって代謝されると考えられ，加水分解によって生じた代謝物はいずれもプロテアソーム活性を阻害しなかった [20)]．

図 2.4.3.3-1　カルフィルゾミブの主な代謝経路



2.4.3.4　　排泄

ラットに ^{3}H-カルフィルゾミブを静脈内急速投与したとき，投与後 168 時間までに投与放射能量の 12.0%が尿中に，16.7%が糞中に，4.69%が呼気中に排泄され，51.2%が屍骸中に残存した［2.6.4.6.1］．屍骸中への残存は，代謝物である ^{3}H-フェニルアラニン及びその代謝物として組織に取り込まれるか，トリチウム水として残留するためと考えられた．また，トリチウム水やトリチウム標識を持った揮発性の代謝物が呼気中に排泄されると考えられた．ラットに静脈内急速投与したとき，胆汁及び尿中への未変化体の排泄率は 1%未満であり，投与後 24 時間までの胆汁及び尿中に排泄されたカルフィルゾミブ，M14，M15 及び M16 の総回収率は，投与量の 56.7%であった．カルフィルゾミブの排泄率は 1%未満であり，M14 及び M15 が胆汁及び尿中の主な代謝物であった［2.6.4.6.2］．

カルフィルゾミブの乳汁排泄試験を実施しなかったため，授乳婦にやむを得ず投与する場合には授乳を中止させるべきである．

2.4.3.5　　薬物動態学的薬物相互作用

カルフィルゾミブ（10 μ mol/L）はヒト肝ミクロソームにおいて CYP1A2，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP2D6 を阻害しなかったが，CYP3A4/5 を競合的（Ki 値：1.7 μ

mol/L）及び時間依存的に阻害した［2.6.4.7.1］．カルフィルゾミブ（2.5 μmol/L）は CYP1A2 及び 3A4 の酵素活性を誘導しなかった［2.6.4.7.2］．また，カルフィルゾミブは P-gp の基質であり，3 μmol/L の濃度において P-gp の輸送活性を 25%，BCRP の輸送活性を 22.9%阻害した［2.6.4.7.3，2.6.4.7.4］．

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

カルフィルゾミブの単回静脈内急速投与による概略の致死量は，雄ラットで 8 mg/kg（48 mg/m^2）［2.6.6.2.1，2.6.6.2.2］，雄サルで 4 mg/kg（48 mg/m^2）［2.6.6.2.3］であった．静脈内急速投与の概略の致死量である 8 mg/kg（48 mg/m^2）をラットに 30 分間かけて静脈内持続投与したとき，死亡例は認められず［2.6.6.2.2］，持続投与によりカルフィルゾミブの急性毒性は軽減した．

2.4.4.2 反復投与毒性試験

カルフィルゾミブの反復投与毒性試験は，雌雄のラット及びカニクイザルを用いて静脈内急速投与で実施した．ラット及びサルの 1 カ月間反復投与毒性試験［2.6.6.3.4，2.6.6.3.7］は臨床投与スケジュールよりも高頻度の投与スケジュールで，ラットの 6 カ月間［2.6.6.3.5］及びサルの 9 カ月間［2.6.6.3.8］反復投与毒性試験は臨床と同じ投与スケジュールで実施した．

ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験（投与量：0.5，1，2，4 及び 6 mg/kg）では，死亡例が 1 mg/kg（6 mg/m^2）以上で認められ，MTD（死亡が認められず，忍容性のある最大投与量）は 0.5 mg/kg（3 mg/m^2）であった．ラットの 6 カ月間反復投与毒性試験（投与量：1，2 及び 4 mg/kg）では，死亡又は切迫剖検例が 2 mg/kg（12 mg/m^2）以上で認められ，MTD は 1 mg/kg（6 mg/m^2）であった．サルの 1 カ月間反復投与毒性試験（投与量：0.5，1 及び 2 mg/kg）及び 9 カ月間反復投与毒性試験（投与量：0.5，1 及び 2 mg/kg）では，いずれの試験でも死亡又は切迫剖検例が 2 mg/kg（24 mg/m^2）で認められ，MTD は 1 mg/kg（12 mg/m^2）であった．カルフィルゾミブの主要な毒性標的器官は，ラット及びサルともに心臓，肺，腎臓，胃腸管及び血液であった．心臓では心筋のうっ血，出血，炎症，変性，壊死，線維化及び肥大など，肺では炎症，出血及び水腫など，腎臓では糸球体の肥大，メサンギウムの肥厚，ボーマン嚢の肥厚，慢性進行性腎症の発現頻度の上昇，間質性炎症，線維化，尿細管壊死，尿細管の萎縮及び拡張など，胃腸管ではうっ血，出血，壊死及び上皮過形成など，血液では赤血球系パラメータの変動（赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値）及び血小板数の低値などが認められ，心臓，肺，腎臓及び胃腸管への影響が死因と考えられた．

生存例では，これらの毒性は休薬により回復又は回復傾向を示した．カルフィルゾミブの毒性発現及び全身曝露に明らかな性差は認められなかった．また，ラットとサルで毒性発現に明らかな種差は認められなかった．

ユビキチンープロテアソーム系は広く細胞の増殖，分化及びアポトーシスを制御していること[1)]，カルフィルゾミブの反復投与毒性試験はプロテアソーム活性を阻害する投与量で実施されたこと及び上述した毒性変化は公知のプロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブでも同様に認められる[24)]ことから，カルフィルゾミブの反復投与毒性試験で認められた毒性変化はプロテアソーム活性の阻害に基づいて発現した可能性が考えられた．なお，カルフィルゾミブの反復投与毒性試験では，ボルテゾミブで認められた末梢神経の変性[24)]は認められなかった．

臨床と同じ投与スケジュールで実施したラットの 6 カ月間及びサルの 9 カ月間反復投与毒性試験の MTD におけるカルフィルゾミブの曝露量（AUClast）は，臨床の用法・用量における曝露量の 0.05 から 0.18 倍と小さかった［表 2.6.6.9-1］．一方，毒性試験において MTD を投与された動物及び臨床の用法･用量で投与された被験者において，カルフィルゾミブは全血のプロテアソーム活性をいずれも 80%以上阻害した［2.6.2.2.3.2，2.7.3.4.5］．

2.4.4.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験［2.6.6.4.1.1］，ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験［2.6.6.4.2.1］及びマウス小核試験［2.6.6.4.3.1］により，カルフィルゾミブの遺伝毒性を評価した．その結果，復帰突然変異試験及び小核試験は陰性であったが，染色体異常試験においてカルフィルゾミブは染色体異常誘発性（染色体構造異常）を示した．染色体構造異常の誘発は，ボルテゾミブでも報告されており[24)]，プロテアソーム活性の阻害による細胞周期タンパク質に対する影響[1)]により発現したものと考えられた．

2.4.4.4 がん原性試験

「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」（薬食審査発 0604 第 1 号，平成 22 年 6 月 4 日）において，進行がんの患者の治療を目的とした医薬品の製造販売承認申請にはがん原性試験は必要とされていないことから，がん原性試験は実施していない．

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」（薬食審査発 0604 第 1 号，平成 22 年 6 月 4 日）において，進行がんの患者の治療を目的とした医薬品の製造販売承認申請には雌雄の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は必要でないとされていること，並び

に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は通常必要ないとされていることから，これらの試験は実施していない．したがって，カルフィルゾミブの生殖発生毒性試験としては，胚・胎児発生に関する試験のみを実施した．

ラットにおける胚・胎児発生に関する主試験は，0.5，1 及び 2 mg/kg で実施した［2.6.6.6.2.2］．2 mg/kg の母体 2 例が死亡し，1 mg/kg 以上で体重及び摂餌量の減少が認められた．胚・胎児死亡率，性比，生存胎児体重及び胎盤重量並びに胎児の外表，内臓及び骨格検査においてカルフィルゾミブの影響は認められなかった．以上より，母体の一般毒性に関する無毒性量は 0.5 mg/kg（3 mg/m^2），胚・胎児発生に関する無毒性量は 2 mg/kg（12 mg/m^2）と判断した．

ウサギにおける胚・胎児発生に関する用量設定試験は，0.2，0.4 及び 0.8 mg/kg で実施した［2.6.6.6.2.3］．0.8 mg/kg の母体 1 例が死亡した．また，0.8 mg/kg で胚・胎児死亡率の上昇及び生存胎児体重の低値が認められた．以上より，母体の一般毒性及び胚・胎児発生に関する無毒性量は，いずれも 0.4 mg/kg（4.8 mg/m^2）と判断した．カルフィルゾミブは細胞毒性を有する抗がん剤であることを踏まえ，用量設定試験の結果のみから胚・胎児発生に影響を及ぼすと判断し，主試験は実施しなかった．

カルフィルゾミブの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が，ラット及びサルの反復投与毒性試験で雌雄生殖器に影響は認められなかった．

2.4.4.6　局所刺激性試験

独立した局所刺激性試験は実施せず，反復投与毒性試験において投与部位及びその周囲組織への影響を評価した．ラットでは投与液濃度 2 mg/mL（投与量 4 mg/kg）まで投与部位及びその周囲組織への影響は認められなかった［2.6.6.3.4，2.6.6.3.5］．一方，サルでは投与液濃度 0.5 mg/mL（投与量 0.5 mg/kg）で影響は認められなかったが，1 mg/mL（投与量 1 mg/kg）以上で投与部位及びその周囲組織に刺激性変化（炎症細胞浸潤，浮腫，壊死など）が認められた［2.6.6.3.7，2.6.6.3.8］．

2.4.4.7　その他の毒性試験

2.4.4.7.1　光毒性

「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，平成 26 年 5 月 21 日）において，その物質のモル吸光係数が 1000 L mol^{-1} cm^{-1}（290-700 nm）を超えない場合，光安全性試験の実施は推奨されず，ヒトにおいて直接的光毒性は発現しないものと考えられるとされており，カルフィルゾミブのモル吸光係数は 98.7 L mol^{-1} cm^{-1}［2.3.S.3.1.3］であったことから，光毒性試験は実施しなかった．

2.4.4.7.2 サイトカイン産生誘導

カルフィルゾミブの毒性試験でCRP，フィブリノーゲン及び好中球数の高値並びに血清アルブミンの低値など急性期反応と考えられる変化や腎臓への血流低下によって血中尿素窒素が上昇する状態である腎前性高窒素血症と考えられる変化が認められた．急性期反応は，その成因の一つとして炎症性サイトカインが肝臓に作用して急性期タンパクを誘導することで生じることが知られている[27)]．また，腎前性高窒素血症は高サイトカイン血症に伴って腎血流が低下して発現する可能性があることから，探索的試験としてマウスを用いて *in vivo* でのサイトカインの産生に及ぼすカルフィルゾミブの影響を検討した［2.6.6.8.2.1］．

カルフィルゾミブの単独投与により，ALT，AST，CK 及び血中尿素窒素の高値が認められたが，血漿中に TNF-α や IL-6 などの炎症性サイトカインの産生誘導は認められず，毒性試験で認められた急性期反応及び腎前性高窒素血症と考えられる変化は炎症性サイトカインの産生誘導により生じたものではないと考えられた．

一方，亜致死量の LPS 処置下でカルフィルゾミブを投与すると，マウスは死亡した．このとき，LPS により誘導される炎症性サイトカインの産生並びに ALT，AST，CK 及び血中尿素窒素の上昇が増強されたことから，炎症性サイトカインの産生誘導に伴う肝臓や腎臓への影響により死亡したと考えられた．このように，カルフィルゾミブはエンドトキシンの作用を増強することが示された．

2.4.4.7.3 不純物の安全性評価

「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン」（医薬審発第1216001 号，平成 14 年 12 月 16 日）及び「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン」（医薬審発第 0624001 号，平成 15 年 6 月 24 日）における安全性確認の必要な閾値を超える規格値が設定された原薬及び製剤中の不純物は，*不純物Ｂ，*不純物Ｃ，*不純物Ａ,*不純物Ｄ,*不純物Ｅ,*不純物Ｆ及び*不純物Ｇである．一般毒性については，不純物を含有した原薬又は製剤を用いてラット及びサルの反復投与毒性試験［2.6.6.3.4，2.6.6.3.5，2.6.6.3.7，2.6.6.3.8］を実施することにより不純物の安全性を確認した．遺伝毒性については，不純物を添加した原薬又は製剤を用いて復帰突然変異試験［2.6.6.8.3.1］，染色体異常試験［2.6.6.8.3.2］又は小核試験［2.6.6.8.3.3］を実施し，不純物を添加せずに実施した試験の結果と比較し，不純物の影響がないことを確認した．なお，ICH M7 ガイドライン「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理」において，細菌を用いる変異原性試験の予測を目的とした相補的な 2 つの構造活性相関の評価にて警告構造がなく，不純物の 1 日量が 1 mg 未満の場合，他で規定されている安全性確認

＊新薬情報提供時に置換えた

の必要な閾値に関わらず，更なる遺伝毒性試験は必要ないとされており，*不純物E,*不純物F及び*不純物Gはこれに該当することから，更なる遺伝毒性試験は必要ないと判断した．

*不純物A はラット，サル及びヒトにおけるカルフィルゾミブの主要代謝物（M16）と同一であるため，安全性が確認された不純物と考えられた．また，*不純物C は分析ピークが*不純物B と分離しないために *不純物B との合算ピークを [redacted]%以下として規格値が設定されているが，原薬及び製剤中における *不純物C の含量は安全性確認の必要な閾値以下に管理されていることから，安全性評価は必要ないと判断した．

2.4.4.7.4 添加物の安全性評価

カルフィルゾミブの臨床製剤は，添加物として SBECD を含有している．カルフィルゾミブの反復投与毒性試験［2.6.6.3.4，2.6.6.3.5，2.6.6.3.6，2.6.6.3.7，2.6.6.3.8］及び胚・胎児発生に関する試験［2.6.6.6.2.1，2.6.6.6.2.2，2.6.6.6.2.3］では，SBECD を含有する臨床製剤と同一の媒体を使用した．これらの毒性試験の媒体対照群には，臨床投与時に比べ 2.7 から 14 倍量の SBECD が投与されたが，明らかな毒性は認められなかった．

なお，SBECD の安全性評価結果は，原薬等登録原簿に記載されている．

2.4.5 総括及び結論

カルフィルゾミブはヒト精製プロテアソームのキモトリプシン様活性を選択的かつ強力に阻害した．また，カルフィルゾミブは腫瘍細胞中のプロテアソームのキモトリプシン様活性を阻害することで，抗がん剤に耐性を示す腫瘍細胞を含む各種腫瘍細胞に対して細胞傷害作用を示した．更に，カルフィルゾミブは多発性骨髄腫細胞株を含む各種ヒト腫瘍細胞株を移植した免疫不全マウスのプロテアソーム活性を持続的に阻害することにより，より強力な抗腫瘍効果を示した．したがって，カルフィルゾミブは臨床においてもプロテアソーム活性を持続的に阻害することで，より強力な抗腫瘍効果が得られると考えられた．

カルフィルゾミブによるプロテアソームのキモトリプシン様活性の阻害及びカルフィルゾミブの AUC は静脈内急速投与と静脈内持続投与で同程度であったが，Cmax は急速投与に比べ持続投与の方が小さく，それに伴い急性毒性は持続投与により軽減した．静脈内持続投与は薬効を保持しながら，急性毒性を軽減し得るカルフィルゾミブの投与方法であると考えられた．

安全性薬理試験では，カルフィルゾミブは中枢神経系及び呼吸系に作用しなかった．一方，心血管系に対して，カルフィルゾミブは hERG チャネル電流を阻害したが，その IC_{50}値と臨

床血漿中濃度とは乖離があることから，臨床では hERG 阻害を介した影響は生じないと考えられた．サルで血圧低下や心電図変化が認められたが，これらの変化は hERG を介した変化ではなく，カルフィルゾミブの心筋毒性に起因すると考えられた．

カルフィルゾミブは CYP の基質であるが，肝細胞での代謝には主にペプチド結合及びエポキシドの加水分解が関与しており，CYP 阻害薬及び誘導薬の影響を受けないと考えられた．また，ペプチド結合及びエポキシドの加水分解に関与するペプチダーゼやエポキシドヒドロラーゼに関連する薬物動態学的薬物相互作用の報告はない．

カルフィルゾミブは CYP3A4 に対して競合的及び時間依存的阻害作用を示し，競合阻害の Ki 値は 1.7 μmol/L であった．また，カルフィルゾミブはヒト肝細胞を用いた検討で CYP1A2 及び CYP3A4 を誘導しなかったものの，各活性を低下させた．一方，カルフィルゾミブと CYP3A4 の基質であるミダゾラムとの薬物動態学的薬物相互作用試験の結果，カルフィルゾミブの単回投与及び反復投与は臨床的に意味のある CYP3A4 阻害作用を示さないと考えられた［2.7.2.2.2.10］．

カルフィルゾミブは P-gp 及び BCRP に対して阻害作用を示したものの，3 μmol/L における阻害率はそれぞれ 25 及び 22.9%であった．カルフィルゾミブの P-gp 及び BCRP に対する阻害率は，同濃度での CYP3A4 に対する阻害率よりも低い．カルフィルゾミブが高いタンパク結合率を示すこと，また速やかに血漿中から消失することから，臨床で P-gp 及び BCRP 阻害の影響が生じる可能性は極めて低いと考えられた．

カルフィルゾミブの単回静脈内急速投与による概略の致死量は，ラットで 8 mg/kg（48 mg/m^2），サルで 4 mg/kg（48 mg/m^2）であった．

反復投与毒性試験では，カルフィルゾミブの主要な毒性標的器官として心臓，肺，腎臓，胃腸管及び血液に影響が認められた．心臓では心筋のうっ血，出血，炎症，変性，壊死，線維化及び肥大など，肺では炎症，出血及び水腫など，腎臓では糸球体の肥大，メサンギウムの肥厚，ボーマン嚢の肥厚，慢性進行性腎症の発現頻度の上昇，間質性炎症，線維化，尿細管壊死，尿細管の萎縮及び拡張など，胃腸管ではうっ血，出血，壊死及び上皮過形成など，血液では赤血球系パラメータ及び血小板数の低値などが認められた．これらの毒性は休薬することにより回復又は回復傾向が認められた．また，これらの毒性はプロテアソーム活性の阻害に基づいて発現すると考えられた．臨床と同じ投与スケジュールで実施した反復投与毒性試験における MTD は，ラット，サルともに 1 mg/kg（それぞれ 6 mg/m^2，12 mg/m^2）であり，MTD を投与された動物の全血のプロテアソーム活性の阻害率はいずれも 80%以上で

あった．一方，MTD におけるカルフィルゾミブの曝露量は，臨床の用法・用量における曝露量よりも小さかった．

反復投与毒性試験及び安全性薬理試験では，心筋毒性及びそれに起因すると考えられる心電図異常などが認められたため，臨床では心障害の発現に留意すべきである．

カルフィルゾミブは細菌を用いた復帰突然変異原性試験及びマウスを用いた *in vivo* 小核試験が陰性であったが，ヒト末梢血リンパ球において染色体異常（染色体構造異常）を誘発し，遺伝毒性を示した．

カルフィルゾミブはラットでは胚・胎児発生に対して影響しなかったが，ウサギでは胚・胎児死亡率の上昇及び生存胎児体重の低値が認められ，胚・胎児発生に影響を及ぼした．したがって，カルフィルゾミブは妊娠又は妊娠している可能性のある婦人には原則として投与すべきではない．

カルフィルゾミブは LPS による炎症性サイトカイン産生及び致死性を増強したため，感染症が活動期にある患者にはカルフィルゾミブを投与すべきではない．

カルフィルゾミブはプロテアソーム活性を阻害しつつ，神経細胞における神経突起長に影響しなかった．また，カルフィルゾミブを投与したラット及びサルの末梢神経組織の病理組織学的検査を広範に実施したが，異常は認められなかった．更に，脳のプロテアソームはカルフィルゾミブの投与により阻害されなかった．一方，ボルテゾミブは *in vitro* モデルで神経突起長を減少させた [22)]．また，ボルテゾミブはラット及びサルで神経変性を引き起こし，感覚神経伝導速度の低下などの神経系への影響が認められた [24) 28)]．これらの結果は，カルフィルゾミブの臨床での末梢神経障害の発現率及び程度がボルテゾミブに比べ低いことを支持していると考えられた．

以上のように，カルフィルゾミブは強力で選択性が高いプロテアソーム阻害剤であり，ボルテゾミブとは異なるプロファイルを有する．

これまでに得られている非臨床試験成績から，カルフィルゾミブは多発性骨髄腫に対する新たな治療薬になり得ると考えられた．

2.4.6 参考文献一覧

1） Konstantinova IM, Tsimokha AS, Mittenberg AG. Role of proteasomes in cellular regulation. Int Rev Cell Mol Biol. 2008;267:59-124.

2） 日本骨髄腫学会［編］.多発性骨髄腫の診療指針. 第 3 版.文光堂; 2012.

3） 日本血液学会［編］.造血器腫瘍診療ガイドライン. 2013 年版.金原出版; 2013.

4） Kumar SK, Therneau TM, Gertz MA, Lacy MQ, Dispenzieri A, Rajkumar SV, et al. Clinical course of patients with relapsed multiple myeloma. Mayo Clin Proc. 2004;79(7):867-74.

5） ボルテゾミブ（ベルケイド注射用 3mg，ヤンセンファーマ株式会社）医薬品添付文書

6） Richardson PG, Barlogie B, Berenson J, Singhal S, Jagannath S, Irwin D, et al. A phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma. N Engl J Med. 2003;348(26):2609-17.

7） Jagannath S, Barlogie B, Berenson J, Siegel D, Irwin D, Richardson PG, et al. A phase 2 study of two doses of bortezomib in relapsed or refractory myeloma. Br J Haematol. 2004;127(2):165-72.

8） Richardson PG, Sonneveld P, Schuster MW, Irwin D, Stadtmauer EA, Facon T, et al. Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. N Engl J Med. 2005;352(24):2487-98.

9） サリドマイド（サレドカプセル 50・100，藤本製薬株式会社）医薬品添付文書

10） Singhal S, Mehta J, Desikan R, Ayers D, Roberson P, Eddlemon P, et al. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. N Engl J Med. 1999;341(21):1565-71.

11） Glasmacher A, Hahn C, Hoffmann F, Naumann R, Goldschmidt H, von Lilienfeld-Toal M, et al. A systematic review of phase-II trials of thalidomide monotherapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma. Br J Haematol. 2006;132(5):584-93.

12） レナリドミド（レブラミドカプセル 5mg，セルジーン株式会社）医薬品添付文書

13） Wang M, Dimopoulos MA, Chen C, Cibeira MT, Attal M, Spencer A, et al. Lenalidomide plus dexamethasone is more effective than dexamethasone alone in patients with relapsed or refractory multiple myeloma regardless of prior thalidomide exposure. Blood. 2008;112(12):4445-51.

14） Kumar SK, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. Blood. 2008;111(5):2516-20.

15） Stewart AK. Novel therapies for relapsed myeloma. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2009:578-86.

16） Bennett MK, Kirk CJ. Development of proteasome inhibitors in oncology and autoimmune diseases. Curr Opin Drug Discov Devel. 2008;11(5):616-25.

17） Demo SD, Kirk CJ, Aujay MA, Buchholz TJ, Dajee M, Ho MN, et al. Antitumor activity of PR-171, a novel irreversible inhibitor of the proteasome. Cancer Res. 2007;67(13):6383-91.

18） Kuhn DJ, Chen Q, Voorhees PM, Strader JS, Shenk KD, Sun CM, et al. Potent activity of carfilzomib, a novel, irreversible inhibitor of the ubiquitin-proteasome pathway, against preclinical models of multiple myeloma. Blood. 2007;110(9):3281-90.

19） Parlati F, Lee SJ, Aujay M, Suzuki E, Levitsky K, Lorens JB, et al. Carfilzomib can induce tumor cell death through selective inhibition of the chymotrypsin-like activity of the proteasome. Blood. 2009;114(16):3439-47.

20） Yang J, Wang Z, Fang Y, Jiang J, Zhao F, Wong H, et al. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, metabolism, distribution, and excretion of carfilzomib in rats. Drug Metab Dispos. 2011 Oct;39(10):1873-82.

21） Suzuki E, Demo S, Deu E, Keats J, Arastu-Kapur S, Bergsagel PL, et al. Molecular mechanisms of bortezomib resistant adenocarcinoma cells.. PLoS One. 2011 Dec 22;6(12):e27996.

22） Arastu-Kapur S, Anderl JL, Kraus M, Parlati F, Shenk KD, Lee SJ, et al. Nonproteasomal Targets of the Proteasome Inhibitors Bortezomib and Carfilzomib: a Link to Clinical Adverse Events. Clin Cancer Res, 2011;17:2734–2743.

23） Groll M, Berkers CR, Ploegh HL, Ovaa H. Crystal structure of the boronic acid-based proteasome inhibitor bortezomib in complex with the yeast 20S proteasome. Structure. 2006;14(3):451-6.

24） Bross PF, Kane R, Farrell AT, Abraham S, Benson K, Brower ME, et al. Approval summary for bortezomib for injection in the treatment of multiple myeloma. Clin Cancer Res. 2004;10(12 Pt 1):3954-64.

25） Meiners S, Heyken D, Weller A, Ludwig A, Stangl K, Kloetzel PM, et al. Inhibition of proteasome activity induces concerted expression of proteasome genes and de novo formation of Mammalian proteasomes. J Biol Chem. 2003;278(24):21517-25.

26） Davies B, Morris T. Physiological Parameters in Laboratory Animals and Humans. Pharm Res. 1993;10(7):1093-1095.

27） Moshage H. Cytokines and the hepatic acute phase response. J Pathol. 1997;181:257-66.

28） Cavaletti G, Gilardini A, Canta A, Rigamonti L, Rodriguez-Menendez V, Ceresa C, et al. Bortezomib-induced peripheral neurotoxicity: a neurophysiological and pathological study in the rat. Exp Neurol. 2007;204:317-25.