2.6.6 毒性試験の概要文

小野薬品工業株式会社

目次

2.6.6 毒性試験の概要文 3
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 9
2.6.6.3 反復投与毒性試験 11
2.6.6.4 遺伝毒性試験 25
2.6.6.5 がん原性試験 26
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 26
2.6.6.7 局所刺激性試験 29
2.6.6.8 その他の毒性試験 29
2.6.6.9 考察及び結論 35
2.6.6.10 図表 46
2.6.6.11 参考文献 47

2.6.6 毒性試験の概要文

本項で使用した用語及び略号を表 2.6.6-1 に示す.

表 2.6.6-1 用語及び略語一覧

用語及び略号	内容又は日本語名称
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
ALP	アルカリホスファターゼ
AUClast	時間 0 から濃度定量可能最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BIW	週 2 回の投与
BIW×2	週 2 回，2 週間（1，4，8 及び 11 日目）の投与
CK	クレアチンキナーゼ
Cmax	最高血漿中濃度
CRP	C 反応性タンパク
CYP	チトクロム P450
DMSO	ジメチルスルホキシド
GM-CSF	顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
FOB	機能観察総合評価
HP-β-CD	ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
IFN	インターフェロン
IL	インターロイキン
IP	インターフェロン誘導タンパク質
KC	ケラチノサイト由来ケモカイン 1，マウスケモカイン（CXCL1 の相同分子種）
LDH	乳酸脱水素酵素
LPS	リポ多糖
MTD	最大耐量
mRNA	メッセンジャーリボ核酸
NZW	New Zealand White
PBMC	末梢血単核球
PD	Pharmacodynamics
PK	Pharmacokinetics
QD	1 日 1 回投与
QD×5	1 週間あたり 5 日間連日投与
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
TK	Toxicokinetics
TNF	腫瘍壊死因子

2.6.6.1 まとめ

カルフィルゾミブの静脈内投与製剤を多発性骨髄腫の治療薬として承認申請するにあたり，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を実施した．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カニクイザルを用いた．実施した毒性試験の一覧を表 2.6.6.1-1 に示す．GLP を適用した試験では，カルフィルゾミブは臨床製剤の製剤溶媒と同一の 10w/v% SBECD 含有 10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）に溶解し，臨床の投与経路である静脈内に投与した．GLP を適用しなかった試験では，SBECD 又は HP-β-CD を含む媒体に溶解した．

表 2.6.6.1-1　毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	GLP 適用
単回投与毒性試験			
	静脈内急速	ラット	不適
	静脈内急速	ラット	不適
	静脈内急速及び静脈内持続	ラット	不適
（反復投与を含む）	静脈内急速	カニクイザル	不適
反復投与毒性試験			
2 週間（5 日間投与）	静脈内急速	ラット	不適
2 週間（5 日間又は週 2 回投与）	静脈内急速	ラット	不適
3 週間（週 5 日間投与）	静脈内急速	ラット	不適
1 カ月間 [a]	静脈内急速	ラット	適 [d]
6 カ月間 [b]	静脈内急速	ラット	適 [e]
7 日間（2 日間投与）	静脈内急速	カニクイザル	適 [f]
1 カ月間 [a]	静脈内急速	カニクイザル	適 [d]
9 カ月間 [b]	静脈内急速	カニクイザル	適 [e]
遺伝毒性試験			
復帰突然変異試験	*In vitro*	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	適
染色体異常試験	*In vitro*	ヒトリンパ球	適
小核試験	静脈内急速	マウス	適
生殖発生毒性試験			
胚・胎児用量設定試験	静脈内急速	ラット	不適
胚・胎児試験	静脈内急速	ラット	適 [g]
胚・胎児用量設定試験	静脈内急速	ウサギ	不適
その他の毒性試験			
リポ多糖の忍容性に及ぼす影響	静脈内急速	マウス	不適
復帰突然変異試験 [c]	*In vitro*	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	適
染色体異常試験 [c]	*In vitro*	ヒトリンパ球	適
小核試験 [c]	静脈内急速	マウス	適
神経毒性試験	静脈内急速	ラット	不適

a：5 日間連日投与後 9 日間休薬するサイクルを 2 回繰り返し
b：週 2 回（週の 1 及び 2 日目）の 3 週間投与後，1 週間休薬するサイクルを 6／9 回繰り返し
c：不純物を含有した原薬又は製剤を用いた試験
d：TK，PD，CYP 含量及び CYP 活性測定は GLP 不適
e：獣医神経病理学者による末梢神経の病理組織学的レビュー，PD，CYP 活性及び CYPmRNA 発現量測定，PK パラメータ算出並びに代謝物検索は GLP 不適
f：血小板指数，CRP 及びトロポニン I の統計解析，投与前検査並びに PD 測定は GLP 不適
g：PK パラメータ算出及び PD 測定は GLP 不適

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は雄のラット及びサルを用いて実施した．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．なお，カルフィルゾミブの急性毒性は，急速投与に比べ持続投与により軽減した．

2.6.6.1.2 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験は雌雄のラット及びサルを用いて静脈内急速投与により実施した．

ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験（5 日間連日投与後，9 日間休薬するサイクルを 2 回繰り返し）は，0.5，1，2，4 及び 6 mg/kg で実施した．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．死因は心筋症（心外膜及び心筋のうっ血，出血，壊死，鉱質沈着）及び肺の間質性炎症と考えられた．生存例では，心筋症，肺の間質性炎症のほか，小腸及び大腸の上皮過形成，肝細胞の肥大並びに骨髄の巨核球増加などが認められた．ラットの 6 カ月間反復投与毒性試験（週 2 回（週の 1 及び 2 日目）の 3 週間投与後，1 週間休薬するサイクルを 6 回繰り返し）は，1，2 及び 4 mg/kg で実施した．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．死因は心臓の線維化，うっ血，出血，心筋の変性及び壊死，尿細管壊死及び糸球体腎症（糸球体の肥大，メサンギウムの肥厚，尿細管の拡張及び好塩基性変化）並びに胃腸管の出血及び壊死と考えられた．生存例では，糸球体腎症，慢性進行性腎症の発現頻度の上昇，肝細胞の肥大及び空胞化並びに骨髄の細胞密度増加などが認められた．

サルの 1 カ月間反復投与毒性試験（5 日間連日投与後，9 日間休薬するサイクルを 2 回繰り返し）は，0.5，1 及び 2 mg/kg で実施した．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．死因は心臓の炎症及び出血並びに肺の出血及び水腫と考えられた．生存例では，心筋の肥大及び線維化，心外膜下の炎症細胞浸潤，肺胞内の出血，フィブリン析出又は水腫，骨髄の巨核球増加並びに投与部位の炎症細胞浸潤などが認められた．サルの 9 カ月間反復投与毒性試験（週 2 回（週の 1 及び 2 日目）の 3 週間投与後，1 週間休薬するサイクルを 9 回繰り返し）は，0.5，1 及び 2 mg/kg で実施した．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．死因は心臓の炎症，肺の炎症及び水腫並びに腎機能障害を含む多臓器に対する毒性と考えられた．切迫剖検例では，骨髄の細胞密度減少を伴うヘマトクリット値の顕著な低値及び皮下浮腫を伴うアルブミンの顕著な低値などが認められた．生存例では，心臓の炎症細胞浸潤，心筋の変性及び肥大，肺の間質性炎症，腎臓の間質性炎症，糸球体腎症（糸球体の

肥大，細胞数の増加及びボーマン嚢の肥厚），尿細管サイズの変化，骨髄の細胞密度増加並びに投与部位の炎症細胞浸潤などが認められた．

また，これらの反復投与毒性試験において，赤血球パラメータの低値（赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット）及び網赤血球数の高値，血小板数及びアルブミンの低値，好中球数，単球数，フィブリノーゲン，血中尿素窒素及びクレアチニンの高値などが認められたが，各サイクルの休薬又は回復期間中に回復又は回復傾向を示した．

2.6.6.1.3 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験は細菌を用いた復帰突然変異試験，ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験を実施した．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，染色体異常試験では染色体異常誘発性（染色体構造異常の増加）を示した．

2.6.6.1.4 がん原性試験

カルフィルゾミブは進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，「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）に基づき，がん原性試験は実施しなかった．

2.6.6.1.5 生殖発生毒性試験

胚・胎児発生に関する試験はラット及びウサギを用いて実施した．ラットでは 2 mg/kg で母体の死亡が認められたが，胚・胎児発生に対する影響は認められなかった．ウサギでは 0.8 mg/kg で母体の死亡，体重及び摂餌量の減少が認められ，同用量において胚・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．

カルフィルゾミブは進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，「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）に基づき，雌雄の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験及び出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施しなかった．

2.6.6.1.6 局所刺激性試験

カルフィルゾミブの独立した局所刺激性試験は実施していないが，反復投与毒性試験で投与部位局所における刺激性を評価した．ラットでは反復投与毒性試験の最高投与液濃度 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．サルの 1 カ月間及び 9 カ月間反復投与毒性試験において，投与液濃度 0.5 mg/mL（投与量 0.5

mg/kg）では投与部位及びその周囲組織への影響はなかったが，1 mg/mL（投与量 1 mg/kg）以上で刺激性変化（炎症細胞浸潤，浮腫，壊死など）が認められた．

2.6.6.1.7 その他の毒性試験

カルフィルゾミブは化学物質が光毒性や光アレルギーを示すために重要である太陽光の波長内（290～700 nm）の 295 nm で最大の光吸収を示したが，そのモル吸光係数は 1000 L mol^{-1} cm^{-1} を超えず，光毒性は発現しないと考えられるため，「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）に基づき，光毒性試験は実施しなかった．

カルフィルゾミブの毒性試験で急性期反応（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及び総タンパクの低値）及び腎臓への血流低下による腎前性高窒素血症（クレアチニンに比べ血中尿素窒素の高値，尿比重の増加）と考えられる変化が認められた．これらの変化とサイトカイン産生との関連性を検討するため，探索的試験としてマウスを用いて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．カルフィルゾミブの単独投与では，ALT，AST，CK 及び血中尿素窒素の高値が認められたが，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なかった．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，LPS により誘導される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，マウスは 24 時間までに死亡した．

カルフィルゾミブに含有される不純物について，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を実施することにより安全性を確認した．また，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，染色体異常試験及び小核試験を実施し，不純物を添加せずに実施した試験結果と比較して不純物の影響がないことを確認した．

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及び胚・胎児発生に関する試験では，SBECD を含有する臨床製剤と同一の媒体を使用し，媒体対照群において臨床投与時の 2.7 倍から 14 倍量の SBECD が投与されたが，媒体対照群で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．

2.6.6.2 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験はラット及びサルを用いて静脈内急速投与により実施した．また，静脈内急速投与と静脈内持続投与による急性毒性の違いについて，ラットを用いて検討した．

2.6.6.2.1 ラットにおける単回静脈内投与毒性試験

［参考資料：4.2.3.1-1，4.2.3.1-2］

SD 系ラット（雄 3～15 例／群）にカルフィルゾミブを 0.5，1，1.5，2，3，4.5，7，9，10，15 及び 25 mg/kg で単回静脈内急速投与し，急性毒性を評価した．また，その際の血漿中カルフィルゾミブ濃度並びに血中及び組織中のプロテアソーム活性を測定し，結果は［2.6.4.3.1.2，2.6.2.2.3.2］に記載した．

その結果，カルフィルゾミブをラットに単回静脈内急速投与したとき 9 mg/kg 以上で死亡例が認められ，概略の致死量は 9 mg/kg（54 mg/m^2）であった．

2.6.6.2.2 ラットにおける単回投与毒性試験：静脈内急速投与と静脈内持続投与との比較

［参考資料：4.2.3.1-3］

SD 系ラット（雄 8～32 例／群）にカルフィルゾミブを 8 mg/kg で単回静脈内急速投与したときと同投与量を 10 又は 30 分間かけて静脈内持続投与したときの急性毒性を比較した．また，SD 系ラット（雄 6 例／群）にカルフィルゾミブを 10 及び 12 mg/kg で 30 分間かけて静脈内持続投与したときの毒性を評価した．更に，SD 系ラット（雄 13～15 例／群）にカルフィルゾミブを 8 mg/kg で静脈内急速投与又は 30 分間かけて静脈内持続投与したときの血中及び組織中のプロテアソーム活性を測定し，結果は［2.6.2.2.3.2］に記載した．

その結果，8 mg/kg を静脈内急速投与したときに 32 例中 14 例が死亡したが，10 分間かけて静脈内持続投与したときには 8 例中 1 例のみが死亡し，30 分間かけて静脈内持続投与したときには 24 例中死亡例は認められなかった．10 及び 12 mg/kg を 30 分間かけて静脈内持続投与したときには，それぞれ 6 例中 1 例及び 6 例中 4 例が死亡した．

一般状態観察では，8 mg/kg を静脈内急速投与したときに被毛の乱れ，耳介蒼白，呼吸困難及び嗜眠が認められたが，10 又は 30 分間かけて静脈内持続投与したときには被毛の乱れあるいは耳介蒼白が認められたのみであった．

血液学的検査では，8 mg/kg を静脈内急速投与したときに血小板数の低値及び好中球数の高値が認められ，10 又は 30 分間かけて静脈内持続投与したときにもこれらの変化は同程度に認められた．

血液化学的検査では，8 mg/kg を静脈内急速投与したときに対照群と比べ血中尿素窒素は 4 倍，クレアチニンは 2 倍及び ALT は 4 倍の高値を示したが，静脈内持続投与によりこれらの変化は軽減し，30 分間かけて投与したときには血中尿素窒素と ALT の高値は 2 倍に留まり，クレアチニンの高値は認められなかった．

剖検では，8 mg/kg を静脈内急速投与したときに胃の拡張及び内容物充満，肝臓の退色並びに副腎，腸管，腎臓及び肺のうっ血が認められたが，10 又は 30 分間かけて静脈内持続投与したときには軽度の胃内容物充満及び肝臓の退色が認められたのみであった．

なお，10 又は 12 mg/kg を 30 分間かけて静脈内持続投与したときは，8 mg/kg を静脈内急速投与したときと同等又はそれより強い変化が一般状態観察，血液化学的検査及び剖検で認められた．

以上より，カルフィルゾミブをラットに単回静脈内急速投与したとき，8 mg/kg（48 mg/m^2）は致死量であった．しかし，急性症状は静脈内持続投与により軽減し，30 分間かけて静脈内持続投与したときの概略の致死量は 10 mg/kg（60 mg/m^2）であった．

2.6.6.2.3 サルにおける単回静脈内投与毒性試験及び用量設定試験

［参考資料：4.2.3.1-4］

カニクイザル（雄 2～3 例／群）にカルフィルゾミブを 1，1.16，2 及び 4 mg/kg で単回静脈内急速投与し，急性毒性を評価した．また，その際の血漿中カルフィルゾミブ濃度並びに血中及び骨髄のプロテアソーム活性を測定し，結果は［2.6.4.3.1.3，2.6.2.2.3.2］に記載した．更に，雄 3 例にカルフィルゾミブを 1 mg/kg で 5 日間連日静脈内急速投与し，忍容性を確認した．その際の血中のプロテアソーム活性を測定し，結果は［2.6.2.2.3.2］に記載した．

その結果，単回静脈内急速投与では 4 mg/kg の 3 例中 1 例が投与後 1 日に死亡した．死亡例では投与日から円背，投与後 1 日に嘔吐が認められ，剖検で心嚢液の貯留，肝臓及び腎臓のうっ血並びに胃腸管粘膜の色調変化が，病理組織学的検査で心筋の変性と考えられる心筋細胞の好酸性変化及び核濃縮，胃粘膜の出血及び壊死並びに結腸の粘膜下リンパ組織の壊死が認められた．なお，1 mg/kg の 3 例中 1 例が投与後 2 日に死亡したが，死因として骨髄穿刺時に用いた麻酔薬の影響が考えられた．このため，麻酔薬を使用せず（骨髄穿刺せず）に 1.16 mg/kg 以上を投与したところ，2 mg/kg まで死亡例は認められなかったことから，1 mg/kg での死亡は麻酔薬の投与が原因と考えられた．

1 mg/kg の 5 日間連日静脈内急速投与では死亡例は認められず，一般状態にカルフィルゾミブ投与に関連した変化も認められなかった．

以上より，カルフィルゾミブをサルに単回静脈内急速投与したときの概略の致死量は，4 mg/kg（48 mg/m^2）であった．また，5 日間連日静脈内急速投与したとき，1 mg/kg の忍容性が確認された．

2.6.6.3 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験はラット及びサルを用いて静脈内急速投与により実施した．

2.6.6.3.1 ラットにおける 2 週間反復静脈内投与用量設定試験（5 日間連日投与）

［参考資料：4.2.3.2-1］

SD 系ラット（雄 4 例／群）にカルフィルゾミブを 4 及び 5 mg/kg で 5 日間連日静脈内急速投与したときの毒性を評価した．また，SD 系ラット雄 3 例にカルフィルゾミブを 4 mg/kg で単回静脈内急速投与し，血中及び組織中のプロテアソーム活性を測定した．プロテアソーム活性の結果は［2.6.2.2.3.2］に記載した．

その結果，死亡例は認められなかったが，一般状態観察では 4 mg/kg 以上で投与中の異常発声が，5 mg/kg で一過性の呼吸困難が認められ，投与期間中に体重減少が認められた．

血液学的検査では，4 mg/kg で単球数の高値，5 mg/kg で好中球数の高値が認められ，4 mg/kg 以上で網赤血球数の高値が認められた．血液化学的検査では，4 mg/kg 以上でアルブミン，カルシウム及び無機リンの低値，5 mg/kg で総コレステロールの高値などが認められた．

以上より，カルフィルゾミブをラットに 5 日間連日静脈内急速投与したとき，5 mg/kg までの忍容性が確認された．

2.6.6.3.2 ラットにおける 2 週間反復静脈内投与用量設定試験（5 日間連日投与又は週 2 回投与）

［参考資料：4.2.3.2-2］

SD 系ラット（雄 4 例／群）にカルフィルゾミブを 1，2 及び 4.5 mg/kg で 5 日間連日静脈内急速投与したとき（QD×5）並びに 2，4.5 及び 9 mg/kg で週 2 回（週の 1 及び 4 日目）の静脈内急速投与を 2 週繰り返したとき（BIW×2）の毒性を評価した．また，その際の血中のプロテアソーム活性を測定し，結果は［2.6.2.2.3.2］に記載した．

その結果，QD×5 で投与したときに死亡例は認められず，体重推移に変化は認められなかった．一般状態観察では，4.5 mg/kg で立毛及び蒼白が認められた．血液学的検査では，4.5 mg/kg でヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値並びに好中球数，単球数及び網

赤血球数の高値が認められた．血液化学的検査では，2 mg/kg 以上で ALP の低値，4.5 mg/kg でアルブミンの低値並びに総コレステロール，AST 及び LDH の高値などが認められた．

BIW×2 で投与したときに死亡例は認められず，体重推移に変化は認められなかった．一般状態観察では，4.5 mg/kg 以上で立毛が，9 mg/kg で呼吸困難及び呼吸促迫などが認められた．血液学的検査では，4.5 mg/kg で単球数の高値が，4.5 mg/kg 以上で好中球数の高値が，9 mg/kg で赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値が認められた．血液化学的検査では，2 mg/kg 以上でアルブミンの低値，9 mg/kg で血中尿素窒素及びクレアチニンの高値並びに ALP，カルシウム及び無機リンの低値などが認められた．

以上より，カルフィルゾミブをラットに 5 日間連日静脈内急速投与したときは 4.5 mg/kg までの，週 2 回（週の 1 及び 4 日目）静脈内急速投与したときは 9 mg/kg までの忍容性が確認された．

2.6.6.3.3 ラットにおける 3 週間反復静脈内投与用量設定試験（週 5 日間連日投与）

［参考資料：4.2.3.2-3］

SD 系ラット（雄 4 例／群）にカルフィルゾミブを 2，4 及び 6 mg/kg で週 5 日間連日静脈内急速投与を 3 週繰り返したときの毒性を評価した．6 mg/kg では 4 例中 1 例が 2 回目投与後に死亡したため，6 mg/kg の投与は投与 1 週目には 3 日間，投与 2 及び 3 週目には 2 日間とした．

その結果，2 mg/kg 以上で投与期間中に体重減少が認められ，一般状態観察では 4 mg/kg で立毛，蒼白及び一過性の呼吸困難が，6 mg/kg で嗜眠及び脱水症状などが認められた．

血液学的検査では，2 及び 4 mg/kg で血小板数の低値及び網赤血球数の高値が，4 mg/kg で赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値並びに好中球数の高値が認められた．6 mg/kg では赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値及び血小板数の低値が認められた．

病理組織学的検査では，2 mg/kg 以上で筋原線維の萎縮を伴う心筋の細胞密度増加，肺，投与部位及び腸間膜脂肪の炎症並びに膵臓の腺房細胞壊死が，4 mg/kg 以上で腸間膜脂肪及び脂肪髄の脂肪細胞変性を伴う炎症が認められた．6 mg/kg では骨髄の血管内フィブリン血栓を伴う脂肪髄の炎症，壊死性動脈炎及び多巣性から融合性の肝細胞壊死を伴う肝臓の炎症並びに大腸粘膜固有層の炎症が認められた．

血液化学的検査にカルフィルゾミブ投与に起因した明らかな変化は認められなかった．

以上より，カルフィルゾミブをラットに週 5 日間（6 mg/kg のみ 1 週目 3 日間，2 及び 3 週目 2 日間）連日静脈内急速投与で 3 週間反復投与したとき 6 mg/kg で死亡例が認められ，4 mg/kg までの忍容性が確認された．

2.6.6.3.4 ラットにおける 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.2-4］

SD 系ラット（雌雄各 10～13 例／群）にカルフィルゾミブを 0.5，1，2，4 及び 6 mg/kg で 1 カ月間静脈内急速投与（5 日間連日投与後，9 日間休薬するサイクルを 2 回繰り返し）し，毒性を評価した．投与容量は 5 mL/kg とし，対照群には媒体である 10 w/v% SBECD 含有 10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）を投与した．2 サイクル目の最終投与後に雌雄各 5 例／群及び 2 サイクルの終了後に雌雄各 4～5 例／群を剖検し，対照群，2，4 及び 6 mg/kg については 2 週間の回復期間後に雌雄各 2～3 例／群を剖検した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，FOB，眼科学的検査，血液学的検査（血液凝固検査含む），血液化学的検査，尿検査，器官重量測定，剖検及び病理組織学的検査を実施した．また，TK 及び PD 測定用にサテライト動物（雌雄各 8 例／群）を設け，血漿中カルフィルゾミブ濃度，血中及び組織中のプロテアソーム活性並びに肝ミクロソーム中の CYP 含量及び CYP 活性を測定した．プロテアソーム活性の結果は［2.6.2.2.3.2］に，CYP 含量及び CYP 活性の結果は［2.6.4.7.5］に記載した．

その結果，死亡例が 1 mg/kg の雄 1 例，2 mg/kg の雌 1 例，4 mg/kg の雄 2 例及び雌 1 例並びに 6 mg/kg の雌雄各 1 例に認められた．1 mg/kg の 1 例は 2 サイクル目に，2 mg/kg 以上の 6 例は 1 サイクル目に死亡した．これらの例では剖検で心臓の退色，肺の赤色化，心嚢液又は胸水の貯留あるいは心膜肥厚が認められ，病理組織学的検査で心筋症（心外膜及び心筋のうっ血，出血，壊死，鉱質沈着），肺の出血及び間質性炎症などが認められたことから，死因は心筋症及び肺の間質性炎症と考えられた．死亡又は切迫剖検例はサテライト動物においても 2 mg/kg の雌 1 例，4 mg/kg の雄 2 例及び雌 3 例並びに 6 mg/kg の雄 3 例及び雌 5 例に認められ，4 及び 6 mg/kg での高い死亡率はカルフィルゾミブの毒性に頻回採血の影響が加味されたものと考えられた．

一般状態観察では，4 mg/kg 以上で糞量減少及び会陰部汚染が認められ，自発運動減少及び呼吸促迫も認められた．また，4 mg/kg 以上で摂餌量及び体重の減少が認められた．これらの変化はいずれも各サイクルの終了までに回復した．

血液学的検査では，2 サイクル目の最終投与後に 2 mg/kg 以上の雄及び 4 mg/kg 以上の雌で血小板数の低値が，2 mg/kg 以上で平均血小板容積の高値が認められた．4 mg/kg 以上で赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値又は MCHC の低値，MCV 及び赤血球分布幅の高値並びに好酸球数の低値が，6 mg/kg で単球数の高値が認められた．血液凝固検査では，4 mg/kg 以上の雄及び 6 mg/kg の雌でフィブリノーゲンの高値が認められた．2 サイクルの終了後には血小板数の低値は回復し，赤血球数の低値は 2 mg/kg 以上で認められた網赤血球数

の高値を伴い回復傾向を示した．その他の変化は 2 サイクルの終了後又は 2 週間の回復期間後に回復した．

血液化学的検査では，2 サイクル目の最終投与後に 2 mg/kg 以上で総コレステロールの高値並びに ALP，AST あるいは ALT の低値が，4 mg/kg 以上の雄で血中尿素窒素の高値が，6 mg/kg でトリグリセリドの高値が認められた．6 mg/kg の雄 1 例では血中尿素窒素及びトリグリセリドの高値のほか，AST の高値並びにアルブミン及びグロブリンの低値が認められた．2 サイクルの終了後にこれらの変化は回復した．

器官重量測定では，2 サイクル目の最終投与後に 4 mg/kg 以上で胸腺重量の低値が，4 mg/kg 以上の雌及び 6 mg/kg の雄で肝臓重量の高値が認められた．2 サイクルの終了後にこれらの変化は回復又は回復傾向を示した．また，2 サイクルの終了後に 4 mg/kg 以上で脾臓重量の高値が認められたが，2 週間の回復期間後に回復した．

剖検では，2 サイクル目の最終投与後に 1 mg/kg の雄 2 例及び雌 1 例，4 mg/kg の雄 1 例並びに 6 mg/kg の雄 4 例及び雌 1 例で肺の赤色化が認められた．また，6 mg/kg の雌雄各 1 例で心臓の赤色化，雄 1 例で胃の赤色化，雄 1 例で肝臓の腫大及び胸水貯留並びに雌 1 例で脾臓の腫大が認められた．2 サイクルの終了後には 4 mg/kg の雌 1 例で心臓の白色化が，4 mg/kg の雌 1 例及び 6 mg/kg の雄 1 例で脾臓の腫大が認められたが，2 週間の回復期間後ではカルフィルゾミブ投与に関連した変化は認められなかった．

病理組織学的検査では，2 サイクル目の最終投与後に心臓（4 mg/kg の雌 1 例で心臓の線維化，4 mg/kg の雌 1 例及び 6 mg/kg で心筋症，6 mg/kg の雌 1 例で心筋の萎縮又は菲薄，4 mg/kg の雌雄各 1 例及び 6 mg/kg の雄 1 例で弁細胞密度増加），肺（1 mg/kg 以上で間質性炎症，4 mg/kg 以上の雄で出血），肝臓（4 mg/kg 以上の雌及び 6 mg/kg の雄で小葉周辺性肝細胞肥大，4 mg/kg 以上の雄及び 6 mg/kg の雌で肝細胞分裂像の増加，6 mg/kg の雌で肝細胞アポトーシス），脾臓（2 mg/kg 以上で辺縁帯の減少あるいはその細胞密度の変化，4 mg/kg 以上の雄で髄外造血亢進），胸腺（4 mg/kg の雄 1 例及び 6 mg/kg でリンパ球枯渇），胃腸管（4 mg/kg の雄 1 例で腺胃の潰瘍，6 mg/kg の雄 1 例で腺胃の粘膜壊死及び出血，6 mg/kg の雌雄各 1 例で腺胃の再生性上皮過形成，炎症細胞浸潤及び腺拡張，4 mg/kg 以上の雄及び 6 mg/kg の雌で十二指腸，空腸又は回腸の上皮過形成，4 mg/kg 以上で結腸，盲腸又は直腸の上皮過形成（6 mg/kg の雄 1 例は結腸の出血を伴う）），骨髄（1 mg/kg 以上で胸骨骨髄及び 6 mg/kg で大腿骨骨髄の巨核球増加）及び膵臓（4 mg/kg 以上の雌でアポトーシスの増加，4 mg/kg 以上の雄及び 6 mg/kg の雌で腺房萎縮）に変化が認められた．2 サイクルの終了後には心臓（4 mg/kg 以上の雌で心臓の線維化，4 mg/kg の雌及び 6 mg/kg の雄各 1 例で弁細胞密度増加，6 mg/kg の雌 1 例で心筋の萎縮又は菲薄，6 mg/kg の雌 1 例で心筋の肥大及び浮腫），脾臓（2 mg/kg 以上の雄及び 6 mg/kg の雌で辺縁帯の減少あるいはその細胞密度の変化，6

mg/kg の雄で髄外造血の亢進），胸腺（6 mg/kg の雄でごく軽度のリンパ球融解）及び膵臓（4 mg/kg の雌 1 例で腺房萎縮，6 mg/kg の雌 1 例でアポトーシスの増加）に変化が認められたが，肝臓，胃腸管及び骨髄にカルフィルゾミブ投与に関連した変化は認められなかった．2 週間の回復期間後では脾臓の辺縁帯の減少あるいはその細胞密度の変化が認められたが，その程度は減弱し，その他の変化は回復した．

投与期間中，一般状態に変化が認められたが，FOB ではカルフィルゾミブ投与に関連した神経毒性学的変化は認められなかった．また，眼科学的検査及び尿検査においてカルフィルゾミブ投与に関連した変化は認められなかった．

TK 測定では，投与後 15 分の血漿中カルフィルゾミブ濃度は，投与量の増加に伴い増加した．血漿中カルフィルゾミブ濃度は投与後速やかに低下し，0.5 及び 1 mg/kg では投与後 1 時間までに定量下限未満に減少した．いずれの投与量においても 2 サイクル目の最終投与前の血漿中カルフィルゾミブ濃度は定量下限未満であったことから，反復投与によりカルフィルゾミブは蓄積しないことが示唆された．

以上より，カフィルゾミブをラットに 1 カ月間静脈内急速投与（5 日間連日投与後，9 日間休薬するサイクルを 2 回繰り返し）したとき，0.5 mg/kg では死亡例は認められず忍容性が確認された．したがって，MTD は 0.5 mg/kg（3 mg/m^2）と考えられた．

2.6.6.3.5 ラットにおける 6 カ月間反復静脈内投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.2-5］

SD 系ラット（雌雄各 25 例／群）にカルフィルゾミブを 1，2 及び 4 mg/kg で 6 カ月間静脈内急速投与（週 2 回（週の 1 及び 2 日目）の 3 週間投与後，1 週間休薬するサイクルを 6 回繰り返し）し，毒性を評価した．投与容量は 2 mL/kg とし，対照群には媒体である 10 w/v% SBECD 含有 10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）を投与した．3 サイクルの終了後に雌雄各 8～10 例／群を，6 サイクル目の最終投与後に雌雄各 3～10 例／群及び 8 週間の回復期間後に雌雄各 3～5 例／群を剖検した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，FOB，眼科学的検査，血液学的検査（血液凝固検査含む），血液化学的検査，尿検査，器官重量測定，剖検及び病理組織学的検査（末梢神経の病理組織学的レビューを含む）を実施した．また，TK 及び PD 測定用にサテライト動物（雌雄各 8 例／群）を設け，血漿中カルフィルゾミブ及びその代謝物（M14，M15 及び M16）濃度，血中のプロテアソーム活性並びに肝ミクロソーム中の CYP 活性及び CYPmRNA 発現量を測定し，PK パラメータの算出及び血漿中の代謝物検索を実施した．プロテアソーム活性の結果は［2.6.2.2.3.2］に，CYP 活性及び CYPmRNA 発現量の結果は［2.6.4.7.6］に，PK パラメータは［2.6.4.3.2.1］に，代謝物検索の結果は［2.6.4.5.1］にそれぞれ記載した．

その結果，死亡又は切迫剖検例が 2 mg/kg の雄 3 例並びに 4 mg/kg の雄 10 例及び雌 6 例に，1 から 6 サイクルにかけて主に投与日又はその翌日に認められた．これらの例の一般状態観察では糞量減少，会陰部汚染，自発運動減少，円背，嗜眠及び労作性呼吸などが認められた．剖検では 2 mg/kg 以上の雄で腎臓の腫大及び退色が，4 mg/kg の雄で胃腸管の赤色化及び雌で脂肪組織の黄色化（黄疸）などが散見された．病理組織学的検査では 2 mg/kg の雄で心臓の線維化及び糸球体腎症（糸球体の肥大，メサンギウムの肥厚，尿細管の拡張及び好塩基性変化）が，4 mg/kg の雄あるいは雌で心臓の線維化，うっ血又は出血，心筋の変性又は壊死，炎症細胞浸潤及び血栓，腎臓の糸球体腎症，急性尿細管壊死及び血栓，胃腸管の出血又はうっ血，壊死及びびらん又は潰瘍並びに肝臓の小葉中心性肝細胞壊死などが認められた．これらのことから，死因は心臓の線維化，うっ血，出血，心筋の変性及び壊死，腎臓の尿細管壊死及び糸球体腎症並びに胃腸管の出血及び壊死と考えられた．

死亡及び切迫剖検例で認められた胃腸管の変化はカルフィルゾミブの直接的な影響による可能性が考えられたが，4 mg/kg では諸器官に血栓又は梗塞が散見されたことから，心血管系の障害に伴って胃腸管にうっ血，出血あるいは潰瘍を生じた可能性も考えられた．小葉中心性肝細胞壊死は肝小葉内で酸素分圧が最も低く血流の減少あるいは酸素欠乏の影響を最も受けやすい領域の変化であること，また生存例では認められない変化であったことから，心血管系の障害に伴う変化の可能性が考えられた．また，腎臓の急性尿細管壊死は 3 例中 2 例に心臓のうっ血，出血又は血栓を伴っていたことから，急性心血管不全（虚血）に伴う二次的な変化の可能性が考えられた．

生存例の一般状態観察では，2 mg/kg 以上で立毛が，4 mg/kg で糞量減少，会陰部汚染，自発運動減少，色素涙及び削痩などが認められ，雄では不規則歩行及び嗜眠も認められたが，回復期間中にはカルフィルゾミブ投与に関連した変化は認められなかった．

体重では，1 mg/kg 以上の雄で体重減少が認められ，各サイクルの終了時には回復傾向を示したが，投与期間中の体重増加量は対照群に比べ低値であった．4 mg/kg の雌で 6 サイクル終了時の体重が低値であったが，体重増加量に統計学的な差は認められなかった．また，摂餌量の減少が 1 mg/kg 以上の雄及び 2 mg/kg 以上の雌で認められたが，各サイクルの終了時には回復した．

血液学的検査では，3 サイクルの終了後に 2 mg/kg 以上の雌及び 4 mg/kg の雄で赤血球数の低値が認められた．赤血球数の低値に対する反応性の変化と考えられる網赤血球数の高値が 1 mg/kg 以上で認められ，2 mg/kg 以上の雄あるいは雌で MCV の高値及び MCHC の低値が認められた．6 サイクル目の最終投与後には 4 mg/kg で赤血球数の低値が認められたが，2 mg/kg 以上の雄及び 4 mg/kg の雌で網赤血球数の高値が認められ，1 mg/kg 以上の雄あるいは雌でヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値及び MCV の高値並びに MCHC の低値が認め

られた．また，1 mg/kg 以上で血小板数の低値並びに好中球数及び単球数の高値が，1 mg/kg 以上の雄及び 2 mg/kg 以上の雌でフィブリノーゲンの高値が認められた．8 週間の回復期間後では 1 mg/kg 以上の雌で赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の高値並びに網赤血球数の低値が認められ，その他の変化は回復又は回復傾向を示した．

血液化学的検査では，3 サイクルの終了後に 1 mg/kg 以上で無機リンの高値及び AST の低値が，1 mg/kg 以上の雌で ALT の低値が，2 mg/kg 以上の雄でグルコースの低値が認められた．また，4 mg/kg の雌雄で総ビリルビンの高値，雄で ALT の低値，雌で総タンパク及びアルブミンの低値がそれぞれ認められた．6 サイクル目の最終投与後には 1 mg/kg 以上で AST 及び ALT の低値が，2 mg/kg 以上でアルブミンの低値が，4 mg/kg で総タンパク及びグロブリンの低値が認められた．また，1 mg/kg 以上の雌で総コレステロールの高値が，2 mg/kg 以上でクロールの高値又は低値が，4 mg/kg の雌雄でカリウムの低値，トリグリセリド，血中尿素窒素及び無機リンの高値，雄でクレアチニンの高値，雌で ALP の高値がそれぞれ認められた．アルブミンの低値は好中球数，単球数及びフィブリノーゲンの高値を伴っていたことから，急性期反応が示唆された．8 週間の回復期間後では 2 mg/kg 以上の雄でグルコースの低値並びに 4 mg/kg の雌で総ビリルビン，AST 及び ALT の高値が認められたが，その他の変化は回復又は回復傾向を示した．

尿検査では，8 週間の回復期間後に 4 mg/kg の雌 1 例で慢性進行性腎症に伴うタンパク尿及び顆粒円柱が認められた．

器官重量測定では，3 サイクルの終了後に 2 mg/kg 以上の雌及び 4 mg/kg の雄で脾臓重量の高値が，4 mg/kg の雌雄で心臓重量の高値，雄で腎臓重量の高値が認められた．6 サイクル目の最終投与後には 2 mg/kg 以上で脾臓重量の高値が，4 mg/kg の雌雄で心臓重量の高値，雌で腎臓重量の高値が認められた．また，1 mg/kg 以上の雌及び 4 mg/kg の雄で肝臓重量の高値が認められた．その他，1 mg/kg 以上の雌で下垂体重量の低値が，4 mg/kg の雄で副腎重量の高値，雌で卵巣重量の高値及び子宮重量の低値が認められたが，いずれも関連した病理組織学的変化は伴っていなかった．8 週間の回復期間後では 4 mg/kg の雄で腎臓重量の高値が認められたが，関連した病理組織学的変化は伴っていなかった．その他の変化はいずれも回復した．

剖検では，3 サイクルの終了後に 4 mg/kg の雄 1 例に腎臓の腫大及び退色が認められた．6 サイクル目の最終投与後にも 4 mg/kg の雄 2 例に腎臓の腫大が認められ，そのうち 1 例に腎臓の退色が認められた．また，4 mg/kg の雄 1 例に心臓の腫大，雌 1 例に肝臓の腫大が認められた．8 週間の回復期間後にこれらの変化はいずれも回復した．

病理組織学的検査では，3 サイクルの終了後に腎臓（2 mg/kg の雄で糸球体腎症，4 mg/kg の雄で慢性進行性腎症の発現頻度の上昇），肝臓（4 mg/kg の雌で小葉周辺性肝細胞肥大，4

mg/kg で小葉周辺性肝細胞空胞化の発現頻度の上昇及びクッパー細胞色素（ヘモジデリン）沈着），骨髄（1 mg/kg 以上の雌及び 2 mg/kg 以上の雄で大腿骨骨髄の細胞密度増加の発現頻度の上昇），脾臓（2 mg/kg 以上で辺縁帯あるいはその細胞密度の減少），リンパ節（1 mg/kg 以上の雌及び 2 mg/kg 以上の雄で腸間膜又は縦隔リンパ節の肥満細胞増加）及び副腎（4 mg/kg の雄で皮質空胞化）に変化が認められた．6 サイクル目の最終投与後では，心筋の変性又は壊死が 2 mg/kg の雄で，心筋の肥大が 4 mg/kg の雄で認められた．腎臓では慢性進行性腎症の発現頻度の上昇が 1 mg/kg 以上で認められ，3 サイクルの終了後に比べその発現用量が低下した．糸球体腎症は 6 サイクル目の最終投与後には 4 mg/kg の雄でのみ認められたが，4 サイクル目以降の死亡及び切迫剖検例を含めると，3 サイクルの終了後に比べその発現頻度は上昇し，程度は増悪した．肝臓では 3 サイクルの終了後と同じ変化が認められたが，小葉周辺性肝細胞肥大は 2 mg/kg の雌でも認められた．脾臓では辺縁帯あるいはその細胞密度の減少の発現頻度の上昇が 1 mg/kg 以上で認められ，3 サイクルの終了後に比べその発現用量が低下した．リンパ節の肥満細胞増加は 3 サイクルの終了後に比べ雌で高い発現頻度で認められ，ヘモジデリンと考えられる褐色色素沈着も認められた．大腿骨骨髄の細胞密度増加の発現頻度は，3 サイクルの終了後と同程度であった．副腎の皮質空胞化は認められなかった．8 週間の回復期間後では，2 mg/kg 以上の雌で小葉周辺性肝細胞肥大が，4 mg/kg の雌で肝臓のクッパー細胞色素沈着が認められたが，その他の変化は回復又は回復傾向を示した．

投与期間中，一般状態に変化が認められたが，FOB ではカルフィルゾミブ投与に関連した神経毒性学的変化は認められず，末梢神経系の病理組織学的検査（近位及び遠位の坐骨神経，腓腹神経並びに腓骨神経）においてもカルフィルゾミブ投与に関連した変化は認められなかった．また，眼科学的検査においてカルフィルゾミブ投与に関連した変化は認められなかった．

TK 測定では，血漿中カルフィルゾミブ並びにその代謝物である M14，M15 及び M16 の曝露量は，雌雄とも投与量の増加に伴い増加した．血漿中カルフィルゾミブの曝露量に雌雄差は認められなかった．

以上より，カルフィルゾミブをラットに 6 カ月間静脈内急速投与（週 2 回（週の 1 及び 2 日目）の 3 週間投与後，1 週間休薬するサイクルを 6 回繰り返し）したとき，1 mg/kg では死亡例は認められず忍容性が確認された．したがって，MTD は 1 mg/kg（6 mg/m^2）と考えられた．

2.6.6.3.6 サルにおける 7 日間反復静脈内投与毒性試験（2 日間連日投与）

［評価資料：4.2.3.2-6］

カニクイザル（雄 6 例／群）にカルフィルゾミブを 2 mg/kg で 2 日間連日静脈内急速投与し，毒性を評価した．投与容量は 1 mL/kg とし，対照群には媒体である 10 w/v% SBECD 含有 10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）を投与した．一般状態観察（摂餌状況含む），体重測定，眼科学的検査，血液学的検査（血液凝固検査含む），血液化学的検査（CRP 及びトロポニン I の測定を含む）並びに尿検査を実施し，投与 7 日（2 回目投与後 5 日）に剖検して器官重量測定及び病理組織学的検査（骨髄検査を含む）を実施した．また，血中のプロテアソーム活性を測定し，結果は［2.6.2.2.3.2］に記載した．

その結果，死亡及び切迫剖検例は認められなかった．

一般状態観察では，2 mg/kg の 1 例で投与 2 日（2 回目投与）の投与後 2 時間に軽度の振戦及び投与後 4 時間に自発運動減少が認められた．また，他の 1 例で投与 1 日（1 回目投与）の投与後 2 時間に両肢の引っ掻き及び持続的な運動が認められた．

血液学的検査では，血小板数の低値が投与 2 日の投与前から認められ，投与 4 日（2 回目投与後 2 日）に投与前値に比べ 80%減少したが，投与 5 日に回復傾向を示し投与 7 日に回復した．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が投与 4 日から認められた．網赤血球数の低値も投与 4 日に認められたが，投与 7 日までに回復した．好中球数及び単球数の高値が投与 2 日の投与前に認められ，好中球数の高値は投与 3 日に回復したが，単球数の高値は投与 7 日も認められた．また，多くの炎症性疾患で好中球増加時に好中球細胞質異常の一つとしてみられるデーレ小体や分類不能の細胞数の高値も認められた．血液学的検査では血小板数の低値が認められたが，骨髄検査では骨髄巨核球の形態あるいは成熟度に変化は認められなかった．一方，骨髄赤芽球系細胞に対するリンパ球比率の低下が認められたが，末梢血のリンパ球数に変化は認められなかった．血液凝固検査では，フィブリノーゲンの高値が投与 2 日の投与前から認められたが，投与 7 日までに回復した．

血液化学的検査では，血中尿素窒素及びクレアチニンの高値並びに尿検査でそれらに関連すると考えられる尿比重の高値が投与 2 日の投与前に認められ，腎前性高窒素血症が示唆されたが，投与 3 日に回復した．アルブミンの低値及び CRP の高値が投与 2 日の投与前から認められ，CRP は投与 3 日に投与開始前に比べ 100 倍を超えたが，いずれの変化も投与 7 日までに回復又は回復傾向を示した．これらの変化及びフィブリノーゲンの変化から急性期反応が示唆された．アルブミンの低値に伴い総タンパク，A/G 比又はカルシウムの低値も認められた．また，トロポニン I の高値及び無機リンの低値が投与 3 日から認められたが，投与 7 日までに回復した．振戦を示した例では，AST 及び ALT の高値が認められ，トロポニン I の高値は持続的に認められた．

剖検では，振戦を示した例で心臓左室の赤色化が認められ，病理組織学的検査では，心筋の変性及びうっ血が認められた．また，6 例中 4 例に腎臓の単核球浸潤及びメサンギウム基質の増加が認められた．

体重，眼科学的検査及び器官重量においてカルフィルゾミブ投与に関連した変化は認められなかった．

以上より，カルフィルゾミブをサルに 2 日間連日静脈内急速投与したとき，2 mg/kg の忍容性が確認された．

2.6.6.3.7 サルにおける 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.2-7］

カニクイザル（雌雄各 5 例／群）にカルフィルゾミブを 0.5，1 及び 2 mg/kg で 1 カ月間静脈内急速投与（5 日間連日投与後，9 日間休薬するサイクルを 2 回繰り返し）した．投与容量は 1 mL/kg とし，対照群には媒体である 10 w/v% SBECD 含有 10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）を投与した．2 サイクル目の最終投与後に雌雄各 3 例／群を，2 サイクルの終了後（投与 29 日；初回投与後 28 日）に雌雄各 2 例／群を剖検した．2 mg/kg では死亡例が認められたため，1 サイクル目のみ投与し，投与 29 日に剖検した．一般状態観察，神経行動学的検査，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，血液学的検査（血液凝固検査含む），血液化学的検査，尿検査，器官重量測定，剖検及び病理組織学的検査を実施した．また，血漿中カルフィルゾミブ濃度，血中及び組織中のプロテアソーム活性並びに肝ミクロソーム中の CYP 含量及び CYP 活性を測定した．プロテアソーム活性の結果は［2.6.2.2.3.2］に，CYP 含量及び CYP 活性の結果は［2.6.4.7.7］に記載した．

その結果，死亡又は切迫剖検例が 2 mg/kg の雌雄各 3 例で 1 サイクル目の 3～5 回投与後に認められた．これらの例では一般状態観察で呼吸困難，自発運動減少，円背，赤色鼻汁及び糞量減少などが認められ，血液学的検査及び血液化学的検査で赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値，総タンパク，アルブミン及びグロブリンの低値，単球数，血中尿素窒素及びフィブリノーゲンの高値並びに APTT の延長が認められた．また，剖検で心臓の赤色化，心膜の水腫及び肥厚，心嚢液及び胸水の貯留並びに肺の赤色化，液貯留及び気管の泡沫液貯留が認められ，病理組織学的検査で心筋の急性炎症，出血，壊死及び浮腫，肺胞内の出血，フィブリン析出又は水腫，肺の炎症細胞浸潤，壊死，胸膜及び肺胞中隔の水腫，縦隔リンパ節の赤血球増加症又は赤血球貪食，炎症及び浮腫，腎臓の急性炎症細胞浸潤を伴う皮質鉱質沈着並びに投与部位静脈の炎症細胞浸潤及び血管周囲組織の壊死，浮腫又は線維増生を伴う炎症細胞浸潤などが認められた．これらのことから，死因は肺の出血及び水腫並びに心臓の炎症及び出血と考えられた．

生存例の一般状態観察及び神経行動学的検査では，カルフィルゾミブ投与に関連した変化は認められなかった．

血液学的検査では，1 mg/kg で血小板数及び網赤血球数の低値が 1 及び 2 サイクル目の最終投与後に認められたが，各サイクルの終了時に回復した．2 mg/kg では血小板数及び網赤血球数の顕著な低値並びに単球数の高値が 1 サイクル目の最終投与後に認められたが，そのサイクルの終了時に回復した．また，2 mg/kg で赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値及びリンパ球数の低値が 1 サイクル目の最終投与後及びそのサイクルの終了時に認められたが，投与 29 日までに回復した．

血液化学的検査では，1 mg/kg の雌雄で血中尿素窒素及び総ビリルビンの高値，雌で総タンパク及びグロブリンの低値が 2 サイクル目の最終投与後に認められたが，そのサイクルの終了時に回復した．2 mg/kg の雌では総タンパク及びグロブリンの低値が 1 サイクルの終了時に認められたが，投与 29 日までに回復した．

器官重量では，2 サイクル目の最終投与後に 1 mg/kg の雄で肺重量の高値及び胸腺重量の低値が認められたが，病理組織学的変化は伴わず，そのサイクルの終了後には対照群と差は認められなかった．2 mg/kg では投与 29 日に変化は認められなかった．

剖検では，2 サイクル目の最終投与後に 1 mg/kg の雌雄各 1 例で心臓の白色化が認められたが，そのサイクルの終了後には認められなかった．2 mg/kg では投与 29 日に変化は認められなかった．

病理組織学的検査では，2 サイクル目の最終投与後に 1 mg/kg で心臓（雄で心筋の肥大及び心外膜下の炎症細胞浸潤），肺（雌雄で肺胞内の出血，フィブリン析出又は水腫，雌で炎症細胞浸潤，胸膜及び肺胞中隔の水腫），骨髄（胸骨骨髄の巨核球増加）及び投与部位（雌雄で血管周囲組織の壊死，浮腫又は線維増生を伴う炎症細胞浸潤，雄で静脈の炎症細胞浸潤）に変化が認められ，そのサイクルの終了後には 1 mg/kg で心臓（雌雄で心筋肥大，雄で心筋の細胞密度増加）に変化が認められた．2 mg/kg では投与 29 日に心臓（雌雄で心筋の肥大及び細胞密度増加，雌で心筋の線維化）に変化が認められた．

体重，摂餌量，眼科学的検査，心電図検査及び尿検査においてカルフィルゾミブ投与に関連した変化は認められなかった．

TK 測定では，血漿中カルフィルゾミブ濃度は投与後速やかに低下し，投与後 60 分までに 1 及び 2 mg/kg の一部の例を除き定量下限未満に減少した．いずれの投与量においても 2 サイクル目の初回投与前及び投与後 24 時間の血漿中カルフィルゾミブ濃度は定量下限未満であったことから，反復投与によりカルフィルゾミブは蓄積しないことが示唆された．

以上より，カルフィルゾミブをサルに 1 カ月間静脈内急速投与（5 日間連日投与後，9 日間休薬するサイクルを 2 回繰り返し）したとき，1 mg/kg まで死亡例は認められず忍容性が確認された．したがって，MTD は 1 mg/kg（12 mg/m^2）と考えられた．

2.6.6.3.8 サルにおける 9 カ月間反復静脈内投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.2-8］

カニクイザル（雌雄各 4～6 例／群）にカルフィルゾミブを 0.5，1 及び 2 mg/kg で 9 カ月間静脈内急速投与（週 2 回（週の 1 及び 2 日目）の 3 週間投与後，1 週間休薬するサイクルを 9 回繰り返し）した．投与容量は 1 mL/kg とし，対照群には媒体である 10 w/v% SBECD 含有 10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）を投与した．9 サイクル目の最終投与後に雌雄各 3 又は 4 例／群を，8 週間の回復期間後に対照群及び 2 mg/kg 群の雌雄各 2 例を剖検した．一般状態観察，神経行動学的検査，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，血液学的検査（血液凝固検査含む），血液化学的検査，尿検査（剖検時の膀胱尿），器官重量測定，剖検及び病理組織学的検査（末梢神経の病理組織学的レビューを含む）を実施した．また，血漿中カルフィルゾミブ濃度，その代謝物（M14，M15 及び M16）濃度，血中のプロテアソーム活性並びに肝ミクロソーム中の CYP 活性及び CYPmRNA 発現量を測定し，PK パラメータの算出及び血漿中の代謝物検索を実施した．プロテアソーム活性の結果は［2.6.2.2.3.2］に，CYP 活性及び CYPmRNA 発現量の結果は［2.6.4.7.8］に，PK パラメータは［2.6.4.3.2.3］に，代謝物検索の結果は［2.6.4.5.1］にそれぞれ記載した．

その結果，死亡又は切迫剖検例が 2 mg/kg の雌雄各 1 例に認められた．雄では 6 サイクル目の最終投与後 1 日に死亡が発見された．この例は 2 サイクル目の最終投与後に横臥，自発運動減少及び蒼白を示したが，その翌日から死亡前日まで一般状態に異常は認められなかった．剖検では肺の赤色斑並びに腎臓及び肝臓の退色が認められ，病理組織学的検査では心筋の肥大及び変性を伴う心臓の炎症細胞浸潤，肺の間質性炎症及び肺胞水腫並びに腎臓の間質性炎症又は線維化，尿細管サイズ又は細胞密度の変化及び糸球体腎症（糸球体の肥大及び細胞数の増加，ボーマン嚢の肥厚）が認められた．死因は心臓の炎症，肺の炎症及び水腫並びに腎機能障害を含む多臓器に対する毒性と考えられた．雌では体重及び摂餌量減少，ヘマトクリット値の顕著な低値，皮下浮腫を伴うアルブミンの顕著な低値並びに ALT 及び ALP の高値を呈し全身状態が悪化したため，5 サイクル目に切迫剖検した．病理組織学的検査ではヘマトクリット値の顕著な低値と関連した胸骨骨髄の細胞密度減少，摂餌量の減少及びアルブミンの顕著な低値と関連した諸器官の萎縮並びに高度なびまん性肝細胞グリコーゲン変性が認められた．

生存例の一般状態観察では，1 mg/kg 以上で嘔吐が，1 mg/kg 以上の雌及び 2 mg/kg の雄で円背及び自発運動減少が認められた．2 mg/kg では投与期間中に体重減少を伴わない摂餌量の散発的な減少も認められた．

心電図検査では，2 mg/kg の雄 1 例で R 波増高が 3 サイクル目から認められ，6 及び 9 サイクル目にその程度は増強した．R 波増高は本例で認められた心臓重量の高値及び心筋の肥大と関連した変化と考えられた．

血液学的検査では，0.5 及び 1 mg/kg の雄で赤血球数の低値が 1 サイクル目から，1 mg/kg の雌で赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値が 3 サイクル目から認められたが，赤血球数の低値に対する反応性変化と考えられる網赤血球数の高値を伴い，9 サイクル目まで赤血球系パラメータ低値の程度に増悪は認められなかった．2 mg/kg では赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクイリット値の低値が 1 サイクル目から認められ，各サイクルの終了時に網赤血球数の高値を伴い回復傾向を示したが，赤血球系パラメータ低値の程度はサイクル数の増加に伴って増悪した．1 mg/kg 以上の雌及び 2 mg/kg の雄では血小板数の高値が各サイクルの終了時に認められたが，8 サイクルの終了時に比べ 9 サイクル目の初回投与後 1 日の血小板数が低値であったことから，血小板数は投薬により減少し各サイクルの休薬中に回復することが示唆された．また，1 mg/kg 以上で好中球数又は単球数の高値が各サイクルの初回又は最終投与後に認められたが，1 サイクル目の雄を除き各サイクルの終了時に回復した．好中球数及び単球数の高値はフィブリノーゲンの高値，総タンパク及びアルブミンの低値を伴っていたことから，急性期反応が示唆された．好中球数及び単球数の散発的な高値は 0.5 mg/kg の雌，フィブリノーゲンの高値は 0.5 mg/kg でも認められた．

血液化学的検査では，総タンパク及びアルブミンの低値のほか，血中尿素窒素の高値が 1 mg/kg の雄では 6 サイクル目から，雌では 9 サイクル目に認められ，2 mg/kg では 1 サイクル目の初回投与後 1 日からクレアチニンの高値を伴って認められた．2 mg/kg の雄の血中尿素窒素の高値は 1 及び 3 サイクル目ではそのサイクルの終了時に回復し，6 及び 9 サイクル目ではそのサイクルの終了時に回復傾向を示した．2 mg/kg の雌の血中尿素窒素の高値は各サイクルの終了時に回復した．また，各サイクルの最終投与後に 1 mg/kg 以上で ALT の低値がしばしば AST 及び LDH の低値を伴って認められ，9 サイクル目の最終投与後では 1 mg/kg 以上の雄でカリウムの高値，雌で総コレステロールの低値，2 mg/kg の雄で無機リンの低値，雌でカルシウムの低値も認められた．8 週間の回復期間後に 2 mg/kg の雄 1 例でアルブミンの低値が認められたが，その他の変化は回復した．

尿検査では，9 サイクル目の最終投与後に 1 mg/kg 以上でタンパク尿及び血尿が認められた．8 週間の回復期間後でも 2 mg/kg の雄 1 例でタンパク尿及び血尿が認められ，同例は血液化学的検査でアルブミンが低値を示した例であった．

器官重量では，9 サイクル目の最終投与後に 1 mg/kg 以上で腎臓重量の高値が，1 mg/kg 以上の雌及び 2 mg/kg の雄で心臓重量の高値が，1 mg/kg 以上の雄及び 2 mg/kg の雌で脾臓重量の高値が，2 mg/kg で肝臓及び副腎重量の高値が認められた．8 週間の回復期間後では 2 mg/kg の雌雄で腎臓重量の高値，雄で心臓重量の高値が認められたが，いずれも重量高値の程度は減弱した．

剖検では，9 サイクル目の最終投与後に 1 mg/kg の雄及び 1 mg/kg 以上の雌で腎臓の腫大が，1 mg/kg 以上の雄及び 2 mg/kg の雌で腎臓の退色が，1 mg/kg 以上で腎臓の赤色巣が認められた．8 週間の回復期間後では 2 mg/kg の雌雄で腎臓の腫大，雄で腎臓の退色が認められたが，赤色巣は認められなかった．

病理組織学的検査では，9 サイクル目の最終投与後に腎臓（0.5 mg/kg 以上の雌及び 1 mg/kg 以上の雄で尿細管サイズ又は細胞密度の変化，0.5 mg/kg 以上で糸球体腎症，間質性炎症又は線維化，赤血球円柱），心臓（0.5 mg/kg 以上で炎症細胞浸潤，0.5 mg/kg の雌及び 1 mg/kg 以上の雄で心筋の変性，2 mg/kg で心筋の肥大），肺（1 mg/kg 以上の雄及び 2 mg/kg の雌で間質性炎症），骨髄（0.5 mg/kg 以上の雌及び 1 mg/kg 以上の雄で大腿骨骨髄の細胞密度増加）及びリンパ節（2 mg/kg で縦隔リンパ節の髄質内顆粒球又は顆粒球造血）に変化が認められた．また，投与部位への影響として，1 mg/kg 以上で投与部位の炎症細胞浸潤，浮腫及び血管周囲組織の出血が，2 mg/kg の雌で壊死が認められた．8 週間の回復期間後では腎臓，心臓，肺に 9 サイクル目の最終投与後と同じ変化が認められたが，その程度は減弱した．

投与期間中，一般状態に変化が認められたが，神経行動学的検査ではカルフィルゾミブ投与に関連した神経毒性学的変化は認められず，末梢神経系の病理組織学的検査（近位及び遠位の坐骨神経，腓腹神経並びに腓骨神経）においてもカルフィルゾミブ投与に関連した変化は認められなかった．また，眼科学的検査においてカルフィルゾミブ投与に関連した変化は認められなかった．

TK 測定では，血漿中カルフィルゾミブ及びその代謝物である M14，M15 及び M16 の曝露量は，雌雄とも投与量の増加に伴い増加した．血漿中カルフィルゾミブの曝露量に雌雄差及び反復投与による影響は認められなかった．

以上より，カルフィルゾミブをサルに 9 カ月間静脈内急速投与（週 2 回（週の 1 及び 2 日目）の 3 週間投与後，1 週間休薬するサイクルを 9 回繰り返し）したとき，1 mg/kg まで死亡例は認められず忍容性が確認された．したがって，MTD は 1 mg/kg（12 mg/m^2）と考えられた．

2.6.6.4 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験は，細菌を用いた復帰突然変異試験，ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験を実施した.

2.6.6.4.1 非哺乳動物細胞系での *In vitro* 試験

2.6.6.4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

［評価資料：4.2.3.3.1-1］

Salmonella typhimurium TA98，TA100，TA1535，TA1537 及び *Escherichia coli* WP2*uvrA*（pKM101）を用い，プレート法及びプレインキュベーション法でそれぞれ代謝活性化による場合（S9mix 存在下）及び代謝活性化によらない場合（S9mix 非存在下）について試験を行った．カルフィルゾミブは DMSO に溶解し，5～5000 μg/plate の用量で実施した.

その結果，全菌株ともにプレインキュベーション及び代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの用量においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかったことから，カルフィルゾミブは遺伝子突然変異誘発性を有さないと判断した.

2.6.6.4.2 哺乳動物細胞系での *In vitro* 試験

2.6.6.4.2.1 ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験

［評価資料：4.2.3.3.1-2］

非喫煙健常成人男性より得られた末梢血リンパ球を用い，短時間処理（S9mix 非存在下又は S9mix 存在下でカルフィルゾミブを 3 時間処理後，新鮮培養液で 18 時間培養）及び連続処理（S9mix 非存在下でカルフィルゾミブを 21 時間連続処理）で染色体異常試験を実施した．カルフィルゾミブは DMSO に溶解して培養液に添加し，短時間処理では S9mix 非存在下で 0.078，0.156 及び 0.313 μg/mL，S9mix 存在下で 0.625，1.25 及び 2.5 μg/mL（培養液中の S9mix 濃度 2%）並びに 2.5，4.5 及び 5.5 μg/mL（同 5%），連続処理では 0.0156，0.0313 及び 0.0625 μg/mL の濃度で試験を実施した.

その結果，短時間処理では S9mix 非存在下で 0.078 μg/mL 以上，S9mix 存在下で 2.5 μg/mL 以上，また連続処理では 0.0625 μg/mL で染色体構造異常の発現頻度の上昇が認められたことから，カルフィルゾミブはヒトリンパ球において染色体異常誘発性を有すると判断した.

2.6.6.4.3 哺乳動物系での *In vivo* 試験

2.6.6.4.3.1 マウス小核試験

［評価資料：4.2.3.3.2-1］

CD-1 系マウス（雌雄各 6 例／群）を用い，カルフィルゾミブの 2 日間連日静脈内急速投与による小核試験を行った．用量設定試験において，雄では 7.5 mg/kg，雌では 2.5 mg/kg で死亡又は切迫剖検例が認められたことから，本試験におけるカルフィルゾミブの投与量は，雄では 1.25，2.5 及び 5 mg/kg，雌では 0.31，0.63 及び 1.25 mg/kg とした．投与容量は 10 mL/kg とし，陰性対照群には媒体である 10 w/v% SBECD 含有 10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）を投与した．最終投与後 24 時間に骨髄塗抹標本を作製し，小核を有する幼若赤血球の観察を行った．ただし，死亡例が 2.5 mg/kg の雄 1 例，5 mg/kg の雄 2 例に認められ，評価例数が 5 例に満たなかった 5 mg/kg の雄については骨髄塗抹標本は作製しなかった．

その結果，雌雄ともに 1.25 mg/kg 以上で自発運動減少，不規則呼吸及び立毛等が認められ，評価したいずれの投与量（雄：1.25，2.5 mg/kg，雌：0.31，0.63，1.25 mg/kg）においても小核を有する幼若赤血球の出現頻度の上昇は認められなかった．

以上より，カルフィルゾミブはマウスにおいて小核誘発能を有さないと判断した．

2.6.6.5 がん原性試験

カルフィルゾミブは進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，「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）に基づき，がん原性試験は実施しなかった．

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験は，ラット及びウサギを用いて胚・胎児発生に関する試験を実施した．

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

カルフィルゾミブは進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，「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）に基づき，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なかったが，ラット及びサルの反復投与毒性試験において雌雄生殖器に対する影響は認められなかった．

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 ラットにおける胚・胎児発生に関する静脈内投与用量設定試験

［参考資料：4.2.3.5.2-1］

SD 系妊娠ラット（8 例／群）にカルフィルゾミブを 0.5，1 及び 2 mg/kg で妊娠 6 日から 17 日まで連日静脈内急速投与した．投与容量は 1 mL/kg とし，対照群には媒体である 10 w/v% SBECD 含有 10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）を投与した．妊娠 20 日に帝王切開し，母体の剖検及び胎児の観察を実施した．

その結果，母体の死亡は認められず，一般状態観察でカルフィルゾミブ投与に関連した変化も認められなかった．体重では 0.5 mg/kg で投与初期に体重増加抑制が認められ，1 mg/kg 以上で摂餌量減少を伴う投与初期の体重減少及び 2 mg/kg でその後の体重増加抑制が認められた．母体の剖検では異常は認められなかった．

胚・胎児に対しては，胚・胎児死亡率，生存胎児体重及び胎盤重量並びに胎児外表検査でカルフィルゾミブの影響は認められなかった．

以上より，カルフィルゾミブを妊娠ラットに 0.5，1 及び 2 mg/kg で胚・胎児の器官形成期に連日静脈内急速投与したとき，1 mg/kg 以上で母体に体重及び摂餌量の減少が認められたが，いずれの投与量も死亡例は認められず，2 mg/kg までの忍容性が確認された．したがって，ラットの胚・胎児発生に関する試験では 2 mg/kg を最高投与量に設定した．

2.6.6.6.2.2 ラットにおける胚・胎児発生に関する静脈内投与試験

［評価資料：4.2.3.5.2-2］

SD 系妊娠ラット（22 例／群）にカルフィルゾミブを 0.5，1 及び 2 mg/kg で妊娠 6 日から 17 日まで連日静脈内急速投与した．投与容量は 1 mL/kg とし，対照群には媒体である 10 w/v% SBECD 含有 10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）を投与した．妊娠 20 日に帝王切開し，母体の剖検及び胎児の観察を実施した．また，TK 及び PD 測定用としてサテライト動物（各群 6 例）を設け，血漿中カルフィルゾミブ濃度及びその代謝物（M14，M15 及び M16）濃度並びに血中のプロテアソーム活性を測定した．

その結果，2 mg/kg の母体 2 例がそれぞれ妊娠 9 日及び 15 日に死亡した．これらの例では一般状態観察で円背，自発運動減少，労作性呼吸及び立毛が認められ，剖検では胸水貯留が認められた．妊娠 15 日に死亡した例では蒼白，削痩，会陰部汚染，糞量減少並びに体重及び摂餌量の減少も認められ，剖検では結腸の拡張，空腸漿膜の赤色化，脾臓の小型及び心臓の腫大が認められた．

生存母体の一般状態観察では，1 mg/kg で一過性の立毛及び円背が，2 mg/kg で立毛，円背，自発運動減少，会陰部汚染，蒼白及び労作性呼吸が認められた．体重では 1 mg/kg 以上で摂

餌量減少を伴う体重減少又は体重増加抑制が認められた．なお，0.5 mg/kg で投与初期に摂餌量減少を伴う体重増加抑制が認められたが，投与期間中及び剖検までの体重増加量は対照群と同等であり毒性学的意義はないと考えられた．生存母体の剖検では異常は認められなかった．

胚・胎児に対しては，いずれの用量においても胚・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，内臓及び骨格検査でカルフィルゾミブの影響は認められなかった．

TK 測定では，血漿中カルフィルゾミブ並びにその代謝物である M14，M15 及び M16 の曝露量は，投与量の増加に伴い増加した．反復投与後のカルフィルゾミブの曝露量は，2 mg/kg において初回投与時と比較して減少した．

全血のプロテアソーム活性はいずれの用量においても 60%以上阻害され，カルフィルゾミブは妊娠ラットにおいてもプロテアソーム阻害作用を示した．

以上より，カルフィルゾミブを妊娠ラットに 0.5，1 及び 2 mg/kg で胚・胎児の器官形成期に連日静脈内急速投与したとき，1 mg/kg 以上で母体の体重及び摂餌量の減少が認められたことから，母体の一般毒性に関する無毒性量は 0.5 mg/kg（3 mg/m^2）と判断した．胚・胎児に対してはいずれの投与量においても影響は認められず，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．

2.6.6.6.2.3 ウサギにおける胚・胎児発生に関する静脈内投与用量設定試験

［参考資料：4.2.3.5.2-3］

NZW 系妊娠ウサギ（8 例／群）にカルフィルゾミブを 0.2，0.4 及び 0.8 mg/kg で妊娠 6 日から 19 日まで連日静脈内急速投与した．投与容量は 1 mL/kg とし，対照群には媒体である 10 w/v% SBECD 含有 10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）を投与した．妊娠 29 日に帝王切開し，母体の剖検及び胎児の観察を実施した．

その結果，0.8 mg/kg の母体 1 例が妊娠 8 日に死亡した．この例は摂餌量の減少を示し，剖検では心嚢液及び胸水の貯留，心膜水腫，縦隔リンパ節の腫大並びに胸腺の浮腫が認められた．

生存母体では，0.8 mg/kg で摂餌量及び糞量の減少を伴う体重減少が認められ，0.8 mg/kg の 1 例では投与期間中に蒼白及び摂餌の廃絶を伴う体重減少が認められた．なお，0.4 mg/kg で摂餌量減少を伴う体重増加抑制が認められたが，一過性の変化であり毒性学的意義はないと判断した．生存母体の剖検では異常は認められなかった．

胚・胎児に対しては，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．胎盤重量及び胎児の外表検査では，カルフィルゾミブの影響は認められなかった．

以上より，カルフィルゾミブを妊娠ウサギに 0.2，0.4 及び 0.8 mg/kg で胚・胎児の器官形成期に連日静脈内急速投与したとき，0.8 mg/kg で母体の死亡並びに体重及び摂餌量の減少が認められたことから，母体の一般毒性に関する無毒性量は 0.4 mg/kg（4.8 mg/m^2）と判断した．胚・胎児に対しては 0.8 mg/kg で胚・胎児に対する毒性が認められたことから，胚・胎児発生に関する無毒性量は 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り，また用量設定試験の結果から胚・胎児発生に影響を及ぼすことが明らかであったため，ウサギを用いた胚・胎児発生に関する主試験は実施しなかった．

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

カルフィルゾミブは進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，「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）に基づき，出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施しなかった．

2.6.6.7 局所刺激性試験

カルフィルゾミブの投与部位局所における刺激性を検討する独立した試験は実施していないが，ラット及びサルにおける反復投与毒性試験で投与部位局所における刺激性を評価した．

ラットにおける 1 カ月間（2.6.6.3.4）及び 6 カ月間（2.6.6.3.5）の反復投与毒性試験では，それぞれ投与液濃度 1.2 mg/mL（投与量 6 mg/kg）及び 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．サルにおける 1 カ月間（2.6.6.3.7）及び 9 カ月間（2.6.6.3.8）の反復投与毒性試験では，投与液濃度 0.5 mg/mL（投与量 0.5 mg/kg）では影響はなかったが，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．

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 光毒性試験

化学物質が光毒性や光アレルギーを示すために重要である太陽光の波長内（290～700 nm）でカルフィルゾミブは 295 nm で最大の光吸収を示し，そのモル吸光係数は 98.7 L mol^{-1} cm^{-1}［2.3.S.3.1.3］であった．「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）では，モル吸光係数が 1000 L mol^{-1} cm^{-1} 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とされているため，カルフィルゾミブの光毒性試験は実施しなかった．

2.6.6.8.2 毒性発現の機序に関する試験

カルフィルゾミブを投与したラット及びサルで急性期反応（CRP，フィブリノーゲン及び好中球数の高値，血清アルブミン及び総タンパクの低値）並びに腎臓への血流低下による腎前性高窒素血症（クレアチニンに比べ血中尿素窒素の高値，尿比重の増加）と考えられる変化が認められた．これらの変化とサイトカイン産生との関連性を検討するため，探索的試験としてマウスを用いてエンドトキシンである LPS を処置したときの生存率，血液化学検査項目及びサイトカイン産生に対するカルフィルゾミブの影響を検討した．

2.6.6.8.2.1 マウスにおけるリポ多糖処置のカルフィルゾミブの忍容性に及ぼす影響

［参考資料：4.2.3.7.3-1］

BALB/c 系マウス（雌 5 例／群）に亜致死量（50μg）の LPS（大腸菌株 0111:B4）を腹腔内投与し，LPS 処置前 1 時間，処置後 1，24 又は 48 時間のいずれかにカルフィルゾミブを 3 mg/kg で単回静脈内急速投与したときの LPS 処置後 96 時間までの生存率を求めた．血液化学的検査のために，同系マウス（雌 5 例／群）にカルフィルゾミブ 3 及び 5 mg/kg 又はボルテゾミブ 1 mg/kg を単独あるいは LPS 処置後 1 時間に投与し，LPS 処置後 12 時間に採血して検査した．また，カルフィルゾミブ 10 mg/kg を単独投与し同様に検査した．サイトカイン測定のために，同系マウス（雌 5 例／群／時点）にカルフィルゾミブ 5 及び 10 mg/kg を単独投与あるいはカルフィルゾミブ 5 mg/kg の投与後 1 時間に LPS 処置し，LPS 処置後 1.5，6 及び 12 時間後に採血して ELISA 法により血漿中の 22 種類のサイトカインを測定した．いずれの試験においても，対照群には媒体である 10 w/v% SBECD 含有 10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）を投与した．

その結果，LPS 処置による生存率評価では，LPS 処置前又は処置後の 1 時間にカルフィルゾミブを投与した動物の全例（各 5 例）が，LPS 処置後 24 時間までに死亡した．LPS 処置後 24 又は 48 時間にカルフィルゾミブを投与した動物では死亡例は認められなかった．

血液化学的検査では，カルフィルゾミブ 3 及び 5 mg/kg の単独投与，ボルテゾミブ 1 mg/kg の単独投与及び LPS 処置のみで，アルブミンの低値が認められた．カルフィルゾミブ 10 mg/kg の単独投与では，アルブミンの低値，ALT，AST，CK，血中尿素窒素及び無機リンの高値が認められた．LPS 処置後 1 時間にカルフィルゾミブ 3 及び 5 mg/kg 又はボルテゾミブ 1 mg/kg を投与したとき，カルフィルゾミブ又はボルテゾミブの単独投与に比べ ALT，AST，CK，血中尿素窒素及び無機リンの高値が認められた．

サイトカイン測定では，カルフィルゾミブ 5 及び 10 mg/kg の単独投与で GM-CSF 及び IL-1α，ケモカインの KC 及び IP-10 のわずかな高値が認められたが，その程度は LPS 処置と比較して 1/10～1/100 であった．TNF-α，IL-1β，IFN-γ及び IL-6 に変動は認められなかった．カルフィルゾミブ 5 mg/kg の投与後 1 時間に LPS 処置したとき，LPS 処置のみと比べ RANTES，MCP-1，IL-6，IL-1β，IFN-γ及び IL-17 の高値が LPS 処置後 6 又は 12 時間に認められた．

以上より，カルフィルゾミブは単独投与で ALT，AST，CK，血中尿素窒素及び無機リンの高値を示したが，血漿中に TNF-α や IL-6 などの炎症性サイトカインの産生を誘導しなかった．一方，LPS 処置下でカルフィルゾミブを投与したとき，LPS 処置による炎症性サイトカインの産生並びに ALT，AST，CK，血中尿素窒素及び無機リンの上昇が増強され，マウスは 24 時間までに死亡した．

2.6.6.8.3 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，染色体異常試験及び小核試験を実施し，不純物を添加せずに実施した試験結果と比較して不純物の影響がないことを確認した．

2.6.6.8.3.1 不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験

［評価資料：4.2.3.7.6-1］

Salmonella typhimurium TA98，TA100，TA1535，TA1537 及び *Escherichia coli* WP2*uvrA*（pKM101）を用い，プレート法及びプレインキュベーション法でそれぞれ代謝活性化による場合（S9mix 存在下）及び代謝活性化によらない場合（S9mix 非存在下）について試験を行った．試験には，不純物 *不純物B， *不純物C，*不純物A 及び *不純物D を添加によりそれぞれ [redacted]，[redacted]，[redacted] 及び [redacted]%含有したカルフィルゾミブ（原薬，ロット番号 [redacted]）を用い，DMSO に溶解して，1.5～5000μg/plate の用量で実施した．

その結果，全菌株ともにプレインキュベーション及び代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの用量においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかったことから，上記 4 種類の不純物を添加したカルフィルゾミブは遺伝子突然変異誘発性を有さないと判断した.

2.6.6.8.3.2 不純物のヒトリンパ球を用いた染色体異常試験

［評価資料：4.2.3.7.6-2］

非喫煙健常成人男性より得られた末梢血リンパ球を用い，短時間処理（S9mix 非存在下又は S9mix 存在下でカルフィルゾミブを 3 時間処理後，新鮮培養液で 18 時間培養）で染色体異常試験を実施した．試験には，不純物 *不純物B，*不純物C，*不純物A 及び *不純物D を添加によりそれぞれ [redacted]，[redacted]，[redacted] 及び [redacted]%含有したカルフィルゾミブ（原薬，ロット番号 [redacted]）を用いた．カルフィルゾミブは DMSO に溶解して培養液に添加し，S9mix 非存在下で 0.04，0.08 及び 0.12 μg/mL，S9mix 存在下（培養液中の S9mix 濃度 2%）で 1，2 及び 3 μg/mL の濃度で試験を実施した.

その結果，S9mix 非存在下で 0.04 μg/mL 以上，S9mix 存在下で 3 μg/mL で染色体構造異常の発現頻度の上昇が認められたことから，上記 4 種類の不純物を添加したカルフィルゾミブはヒトリンパ球において染色体異常誘発性を有すると判断した.

2.6.6.8.3.3 不純物のマウス小核試験

［評価資料：4.2.3.7.6-3］

CD-1 系マウス（雌雄各 5 例／群）を用い，カルフィルゾミブの 2 日間連日静脈内急速投与による小核試験を行った．試験には，加速分解条件に置くことで[redacted]分解物*不純物J, 不純物E~不純物Gをそれぞれ [redacted]，[redacted]，[redacted] 及び [redacted]%含有し，かつ不純物 *不純物B，*不純物A 及び *不純物D を添加によりそれぞれ [redacted]，[redacted] 及び [redacted]%含有したカルフィルゾミブ（製剤，ロット番号 [redacted]）を用いた．用量設定試験において，雌雄ともに 5 mg/kg で切迫剖検例が認められたことから，本試験におけるカルフィルゾミブの投与量は，雌雄ともに 0.625，1.25 及び 2.5 mg/kg とした．投与容量は 10 mL/kg とし，陰性対照群には媒体である 10 w/v% SBECD 含有 10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）を投与した．最終投与後 24 時間に骨髄塗抹標本を作製し，小核を有する幼若赤血球の観察を行った．ただし，死亡例が 2.5 mg/kg の雄 1 例に認められ，評価例数が 5 例に満たなかった 2.5 mg/kg の雄については骨髄塗抹標本の作製は実施しなかった.

その結果，雌雄ともに 2.5 mg/kg 以上で自発運動減少，呼吸深大及び立毛等が認められ，評価したいずれの投与量（雄：0.625，1.25 mg/kg，雌：0.625，1.25，2.5 mg/kg）においても小核を有する幼若赤血球の出現頻度の上昇は認められなかった.

以上より，上記 4 種類の製剤分解物と 3 種類の不純物を含有したカルフィルゾミブは，マウスにおいて小核誘発能を有さないと判断した．

2.6.6.8.4 添加剤の安全性評価

カルフィルゾミブの臨床製剤は，添加剤として 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及び胚・胎児発生に関する試験では，SBECD を含有する臨床製剤と同一の媒体を使用し，これらの毒性試験の媒体対照群において臨床投与時の 2.7 倍から 14 倍量の SBECD（表 2.6.6.8.4-1）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．

表 2.6.6.8.4-1 毒性試験と臨床の用法・用量における SBECD の曝露比較

ヒトの投与量			
カルフルゾミブ投与量 27 mg/m^2	**SBECD 投与量（mg/kg）[a]** 36.5		
毒性試験	**媒体対照群**		
	投与容量（mL/kg）	**SBECD 投与量[b]（mg/kg）**	**ヒトの投与量に対する倍数**
ラット 1 カ月間 反復投与毒性試験	5	500	14
ラット 6 カ月間 反復投与毒性試験	2	200	5.5
サル 1 カ月間 反復投与毒性試験	1	100	2.7
サル 9 カ月間 反復投与毒性試験	1	100	2.7
ラット胚・胎児発生試験	1	100	2.7
ウサギ胚・胎児発生 用量設定試験	1	100	2.7

a：カルフィルゾミブに対する SBECD の製剤中含有量（カルフィルゾミブの 50 倍量）から算出.

b：毒性試験の投与容量及び媒体の SBECD 濃度 10 w/v%から算出.

2.6.6.8.5 その他の試験

神経毒性発現について，雄のラットにカルフィルゾミブ及びボルテゾミブを反復静脈内投与し，検討した．

2.6.6.8.5.1 ラットにおける 1 カ月間反復静脈内投与及び 1 カ月間回復期間によるカルフィルゾミブとボルテゾミブの神経毒性試験

［参考資料：4.2.3.7.7-1］

SD 系ラット（雄 20 例／群）にカルフィルゾミブを 2 mg/kg，ボルテゾミブを 0.2 mg/kg で静脈内急速投与したときの神経毒性を検討した．カルフィルゾミブは週 2 回（週の 1 及び 2 日目），ボルテゾミブは週 2 回（週の 1 及び 4 日目）の投与スケジュールを 4 週間繰り返した．対照群には生理食塩液を投与した．4 週間の投与期間後に雄 10 例／群を剖検し，4 週間の回復期間後に残りの動物を剖検した．神経毒性評価のため，FOB，機械刺激反射（Von Frey 法），熱刺激反射（ホットプレート法及びテールフリック法），神経伝導速度測定（尾神経及び趾神経）及び遠位運動機能評価（脛骨神経）を実施し，ボルテゾミブについて神経の病理組織学的検査（中枢神経及び末梢神経）を実施した．

その結果，カルフィルゾミブでは，投与期間中に立毛，テールピンチ反射の亢進，筋緊張低下，立ち上がり回数の増加，Von Frey 閾値の低下及びホットプレート反応潜時の短縮が認められた．テールフリック反射時間及び神経伝導速度に影響は認められなかったが，尾神経反応の平均振幅のわずかな低下が認められた．4 週間の回復期間に立ち上がり回数の増加及び Von Frey 閾値の低下が投与期間と同程度に認められたが，ホットプレート反応潜時の短縮は回復傾向を示した．

ボルテゾミブでは，投与期間中に立毛，テールピンチ反射の亢進，部分的閉眼，覚醒反応の顕著な低下及び縮瞳が認められた．また，Von Frey 閾値の低下はカルフィルゾミブに比べ強く認められ，ホットプレート反応潜時の短縮はカルフィルゾミブと同程度に認められた．テールフリック反射時間及び神経伝導速度に影響は認められなかったが，尾神経反応の平均振幅のわずかな低下が認められた．4 週間の回復期間に部分的閉眼が 1 例に認められたが，Von Frey 閾値の低下及ホットプレート反応潜時の短縮は回復した．病理組織学的検査では中枢神経（頸髄及び腰髄）及び末梢神経（坐骨，腓腹，腓骨及び趾神経）にボルテゾミブ投与に起因した変化は認められなかった．

以上より，カルフィルゾミブ及びボルテゾミブともにラットにおいて軽度な痛覚過敏が認められたものの，両化合物間で神経学的な影響に差は認められなかった．Wistar 系ラットでは，ボルテゾミブ投与により神経伝導速度の低下，神経軸索の変性などが報告されているこ

とから [1]，本試験でボルテゾミブの神経毒性が再現できなかった原因として，ラットの系統差による可能性が考えられた．

2.6.6.9 考察及び結論

1）急性毒性

カルフィルゾミブの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．一般状態の変化として，ラットで被毛の乱れ，耳介蒼白，呼吸困難及び嗜眠が，サルで円背及び嘔吐が認められた．また，血液学的検査及び血液化学的検査で，血小板数の低値並びに好中球数，血中尿素窒素，クレアチニン及び ALT の高値などが認められた．

静脈内急速投与の致死量である 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，一般状態及び血液化学的検査値の変化も投与速度を遅くすることで軽減されたことから，カルフィルゾミブの急性毒性発現には Cmax が関与することが示唆される．一方，プロテアソーム活性の阻害［2.6.2.2.3.2］は急速投与と持続投与で同程度に認められたことから，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る．

2）反復投与毒性

ラット及びサルを用いて実施したカルフィルゾミブの反復投与毒性試験において，心臓，腎臓，肺，胃腸管及び血液に対して主要な毒性が認められ，これらについて以下に詳細に記載した．なお，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雌雄差は認められず，ラットとサルで毒性発現に明らかな種差も認められなかった．臨床と同じ投与スケジュールで実施した反復投与毒性試験における MTD は，ラット（6 カ月間）で 1 mg/kg（6 mg/m^2），サル（9 カ月間）で 1 mg/kg（12 mg/m^2）であった．これら反復投与毒性試験の最高投与量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よりも小さかった（表 2.6.6.9-1）．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 [2]，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を阻害する投与量で実施されたこと［2.6.2.2.3.2］及び公知のプロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブ [3] でもカルフィルゾミブと同様な毒性変化が報告されていることから，カルフィルゾミブ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可能性が考えられた．

表 2.6.6.9-1　毒性試験と臨床の用法・用量における血漿中カルフィルゾミブ曝露の比較

種	投与量	性	AUClast (ng･min/mL)	AUC 比 (動物／ヒト)
ヒト [a]	27 mg/m^2	-	26160	-
ラット [b]	1 mg/kg（6 mg/m^2）[d]	雄 雌	4741 4027	0.18 0.15
	2 mg/kg（12 mg/m^2）	雄 雌	10215 9281	0.39 0.35
	4 mg/kg（24 mg/m^2）	雄 雌	12262 11318	0.47 0.43
サル [c]	0.5 mg/kg（6 mg/m^2）	雄 雌	804 886	0.03 0.03
	1 mg/kg（12 mg/m^2）[d]	雄 雌	1237 1449	0.05 0.06
	2 mg/kg（24 mg/m^2）	雄 雌	1624 2129	0.06 0.08

a：日本人の再発又は難治性の多発性骨髄腫患者にカルフィルゾミブを 20/27 mg/m^2 で 10 分間かけて静脈内持続投与したときの第 1 サイクル 16 日目（27 mg/m^2）のカルフィルゾミブの AUC［2.7.2.2.2.1］
b：ラットの 6 カ月間反復投与毒性試験における 142 日目（6 サイクル目の初回投与）のカルフィルゾミブの AUC［2.6.7.7B］
c：サルの 9 カ月間反復投与毒性試験における 225 日目（9 サイクル目の初回投与）のカルフィルゾミブの AUC［2.6.7.7E］
d：MTD

心臓に対する影響

カルフィルゾミブを投与したラット及びサルでは，心筋のうっ血，出血，炎症，変性，壊死，線維化及び肥大などが認められた．心臓に対する影響は死亡例における死因の一つと考えられた．

ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.4）の 4 mg/kg 以上で心筋症（心外膜及び心筋のうっ血，出血，壊死，鉱質沈着）及び線維化，6 mg/kg で心筋の肥大及び浮腫が，臨床と同じ投与スケジュールで実施した 6 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5）の 2 mg/kg 以上で心臓の線維化，心筋の変性及び壊死，4 mg/kg で心筋の肥大が認められた．サルの 1 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.7）の 1 mg/kg で心筋の肥大，2 mg/kg で心筋の炎症，出血，壊死，浮腫及び線維化が，臨床と同じ投与スケジュールで実施した 9 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.8）の 0.5 mg/kg 以上で心臓の炎症細胞浸潤及び心筋の変性，2 mg/kg で心筋の肥大が認められた．

ユビキチン－プロテアソーム系は，心臓でタンパク質の恒常性に重要な役割を果たしているとの報告 [4] がある．また，公知のプロテアソーム阻害剤（ボルテゾミブ，MG132，epoxomycin 及び carbobenzoxyl-lle-Glu-(O-t-butyl)-Ala-Leucinal）は，腫瘍細胞に細胞毒性を示す濃度範囲で培養ラット心筋芽細胞株に対しても細胞毒性を示すことが報告されている [5]．

更に，ボルテゾミブの毒性試験でも心筋の炎症，出血及び変性などの心臓病変が報告されている [3] ことから，カルフィルゾミブの心臓に対する毒性はプロテアソーム活性の阻害に基づいて発現したものと考えられる．

サルにおける 7 日間反復投与毒性試験（2.6.6.3.6）でカルフィルゾミブ投与により血清トロポニン I の高値が認められ，心筋の変性が認められた 1 例では持続的に高値を示した．また，安全性薬理試験［2.6.2.4.2.2］で心臓の赤色化及び心電図異常などが認められたサルにおいて血清トロポニン T の高値が認められたことから，トロポニン I 及びトロポニン T は臨床においてカルフィルゾミブによる心筋毒性の指標となると考えられる．

このように，カルフィルゾミブの反復投与毒性試験及び安全性薬理試験において心筋毒性と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ことから，臨床使用に際しては心障害の発現に留意すべきである．

腎臓に対する影響

カルフィルゾミブを投与したラット及びサルでは，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，尿細管壊死並びに尿細管の萎縮及び拡張などが認められた．腎臓に対する影響は死亡例における死因の一つと考えられた．

ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.4）では，腎病変を伴わない血中尿素窒素の高値が 4 mg/kg 以上で認められた．ラットの 6 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5）では，1 mg/kg 以上で慢性進行性腎症の発現頻度の上昇が認められた．慢性進行性腎症は，尿細管の好塩基性変化，基底膜の肥厚，硝子様円柱の形成及び糸球体の硬化などを特徴としたラットの加齢に伴い自然発症する病変であり，げっ歯類に特異的にみられることが知られている [6] ．本試験の対照群においても慢性進行性腎症は散見されたが，カルフィルゾミブ投与群で発現頻度の上昇が認められたことから，カルフィルゾミブは慢性進行性腎症の発生に影響を及ぼすと考えられた．更に，2 mg/kg 以上で糸球体腎症（糸球体の肥大，メサンギウムの肥厚，尿細管の拡張及び好塩基性変化），4 mg/kg で血中尿素窒素及びクレアチニンの高値が認められ，4 mg/kg の死亡例では急性尿細管壊死が認められた．死亡例では心臓のうっ血又は出血，血栓，心筋の変性又は壊死が認められたことから，急性尿細管壊死は心不全又は血栓に続発した急性心血管不全（虚血）により生じた可能性が考えられた．サルの 7 日間反復投与毒性試験（2.6.6.3.6）では 2 mg/kg で一過性に血中尿素窒素及びクレアチニンの高値並びに尿の濃縮（尿比重の高値）が認められ，サルの 1 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.7）では 1 mg/kg 以上で血中尿素窒素の高値，2 mg/kg の死亡例に腎臓の急性炎症細胞浸潤を伴う皮質鉱質沈着が認められた．また，サルの 9 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.8）では，

0.5 mg/kg 以上で糸球体腎症（糸球体の肥大及び細胞数の増加，ボーマン嚢の肥厚），腎臓の間質性炎症又は線維化，尿細管サイズの変化並びに赤血球円柱，1 mg/kg 以上で血中尿素窒素の高値，タンパク尿及び血尿，2 mg/kg でクレアチニンの高値がそれぞれ認められた．

ユビキチンープロテアソーム系は腎臓でタンパク質の恒常性に重要な役割を果たしているとの報告 [7] があること，ボルテゾミブの毒性試験でも腎臓に炎症，尿細管拡張及び糸球体腎炎などの病変が報告されている [3] ことから，カルフィルゾミブの腎臓に対する毒性はプロテアソーム活性の阻害に基づいて発現したものと考えられる．また，上述したように，急性尿細管壊死は急性心血管不全（虚血）に伴って二次的に生じた可能性が考えられた．毒性試験において糸球体及び尿細管に病変が認められ，それに伴って血中尿素窒素及びクレアチニンの高値やタンパク尿などの尿検査値に異常が認められたことから，これらの腎機能マーカーは臨床においてカルフィルゾミブによる腎毒性の指標となると考えられる．

肺に対する影響

カルフィルゾミブを投与したラット及びサルでは，肺に炎症，出血及び水腫などが認められた．肺に対する影響は死亡例における死因の一つと考えられた．

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）並びにサルの 9 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.8）において，1 mg/kg 以上で間質性炎症，出血及び水腫を特徴とした肺病変が認められた．

多くの分子標的治療薬が臨床で肺障害を起こすことが知られているが，ボルテゾミブでも間質性肺炎などの肺障害の発現が報告されている [8] ことから，カルフィルゾミブの毒性試験で認められた肺障害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る．一方，カルフィルゾミブ投与により肺に影響がみられた用量付近では心筋の出血，炎症及び変性などの心臓への影響が認められることから，毒性試験で認められた肺水腫は心機能低下に伴って二次的に生じた心原性肺水腫の可能性も考えられる．

胃腸管に対する影響

カルフィルゾミブを投与したラット及びサルでは，胃及び腸管にうっ血，出血，壊死及び上皮過形成などの病変が認められた．胃腸管に対する影響は死亡例における死因の一つと考えられた．

ラットの 1 カ月間（2.6.6.3.4）あるいは 6 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5）において，4 mg/kg 以上でうっ血，出血，壊死及び上皮過形成などを特徴とした胃腸管の変化が認められた．また，サルにおける単回投与毒性試験（2.6.6.2.3）でも，4 mg/kg の死亡例で胃粘膜の出血及び壊死などが認められた．

ボルテゾミブの毒性試験でも胃腸管の壊死及び過形成などの病変が報告されており[3)]，カルフィルゾミブによる胃腸管の病変は胃腸管粘膜の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るが，腸管の病変には血栓を伴っていたことから，心血管系の障害に続発して発現した可能性も考えられる．

血液に対する影響

カルフィルゾミブを投与したラット及びサルで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など）及び血小板数の低値が認められた．

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）では，赤血球数の低値がそれぞれ 4 及び 2 mg/kg で認められた．ラットの 6 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5）及びサルの 9 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.8）では，赤血球数の低値がそれぞれ 2 及び 0.5 mg/kg 以上で認められた．赤血球数の低値に反応して網赤血球数は高値となり，骨髄の細胞密度増加も認められた．また，休薬による回復も認められる一過性の変動であることから，骨髄の造血機能は保持されていると考えられた．なお，サルの 9 カ月間反復投与毒性試験での切迫剖検例（2 mg/kg の 1 例）で骨髄の細胞密度減少を伴ったヘマトクリット値の低値が認められたが，本例では摂餌量の減少及び低アルブミン血症を伴った低栄養状態にあったことから，その二次的な影響により骨髄の細胞密度減少が認められた可能性が考えられた．

カルフィルゾミブを投与したラット及びサルでは血小板数の低値も認められた．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）では，それぞれ 2 及び 1 mg/kg 以上で血小板数の低値が認められた．ラットの 6 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5）では最低用量の 1 mg/kg でも影響が認められた．しかし，血小板数の低値に反応して骨髄の巨核球の増加が認められ，血小板数の低値は休薬により回復する一過性の変化であることから，骨髄中の血小板前駆細胞の損失はなく，造血機能は保持されていると考えられた．

ユビキチンープロテアソーム系は骨髄幹細胞でタンパク質の恒常性に重要な役割を果たしているとの報告[9)]があり，ボルテゾミブの毒性試験でも赤血球数及び血小板数の低値が報告されている[3)]．したがって，カルフィルゾミブの血液に対する影響はプロテアソーム活性の阻害に基づいて発現したものと考えられる．

神経に対する影響

カルフィルゾミブの反復投与毒性試験（ラット：1 及び 6 カ月間（2.6.6.3.4，2.6.6.3.5），サル：1 及び 9 カ月間（2.6.6.3.7，2.6.6.3.8））では，末梢神経系について病理組織学的検査を実施したが異常は認められず，FOB 又は神経行動学的観察においても異常は認められなかった．一方，ボルテゾミブの反復投与毒性試験（ラット：6 カ月間，サル：9 カ月間）で

は，ラット及びサルで後根神経節，末梢神経及び脊髄などに神経変性が認められている[3]．また，ラットを用いてボルテゾミブの神経毒性を検討した報告では，感覚神経伝導速度の低下，坐骨神経の病理組織学的検査でシュワン細胞やミエリンの形態変化及び軸索の変性などが報告されている[1]．更に，*in vitro* モデルではボルテゾミブは神経突起長を減少させ，神経細胞の生存促進性セリンプロテアーゼである HtrA2/Omi を阻害したが，カルフィルゾミブではこれらの影響は認められなかった［2.6.2.3.3[10]］ことから，ボルテゾミブによる神経毒性の発現には神経細胞生存に関与するセリンプロテアーゼに対する非選択的な阻害が関連する可能性が考えられる．

ラットを用いた 1 カ月間反復投与による神経毒性試験（2.6.6.8.5.1）では，カルフィルゾミブ及びボルテゾミブのいずれも軽度な痛覚過敏（テールピンチ反射の亢進，Von Frey 閾値の低下及びホットプレート反応潜時の短縮など）が認められたが，神経伝導速度に影響は認められなかった．

以上，カルフィルゾミブとボルテゾミブのいずれにおいてもラットの神経毒性試験で痛覚過敏が認められたものの，ボルテゾミブの反復投与毒性試験で報告されている神経組織の変性及び神経毒性に関連する症状変化はカルフィルゾミブでは認められなかった．更に，ボルテゾミブでは *in vitro* モデルで神経突起長の減少が認められたが，カルフィルゾミブでは影響は認められなかった．したがって，カルフィルゾミブはボルテゾミブに比べ神経系に対する影響は弱いと考えられる．

投与量，全身曝露及び薬力学的作用の臨床の用量・用法との比較

臨床と同じ投与スケジュールで実施したカルフィルゾミブの反復投与毒性試験（2.6.6.3.5, 2.6.6.3.8）における MTD は，ラットで 1 mg/kg（6 mg/m^2），サルで 1 mg/kg（12 mg/m^2）であった．これらの投与量はヒトで忍容性が認められる臨床推奨用量（20/27 mg/m^2）よりも低用量であり，体表面積あたりの投与量で比較したとき，動物での忍容性はヒトほど高くないことが示唆された．また，ラット及びサルの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（表 2.6.6.9-1）は，臨床の用法・用量における曝露量より小さかった．

一方，反復投与毒性試験の MTD における全血のプロテアソーム活性は，ラット及びサルともに 80%を超えて阻害された［2.6.2.2.3.2，表 2.6.2.2.3.2-1，表 2.6.2.2.3.2-2］．臨床の用法･用量（20/27 mg/m^2）においても全血のプロテアソーム活性は 80%以上阻害されており［2.7.3.4.5］，動物及びヒトにおいて強力にプロテアソーム活性を阻害する投与量での忍容性が認められた．カルフィルゾミブの血中からの消失は速やかであるが，不可逆的な共有結合型のプロテアソーム活性阻害剤[11]であるため，血中からの消失後もプロテアソーム阻害作用は長時間持続する［2.6.2.2.3.2，表 2.6.2.2.3.2-1，表 2.6.2.2.3.2-2］．また，上述したよう

にカルフィルゾミブ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ることから，血漿中のカルフィルゾミブ濃度より，薬力学的作用の強度の方が毒性発現に関与すると考えられる．

3）遺伝毒性

カルフィルゾミブは細菌を用いた復帰突然変異試験において遺伝子突然変異誘発性を示さず（2.6.6.4.1.1），マウス小核試験においても小核誘発性を示さなかった（2.6.6.4.3.1）．一方，染色体異常試験でカルフィルゾミブはヒトリンパ球における染色体構造異常の頻度を上昇させた（2.6.6.4.2.1）．ボルテゾミブでも染色体構造異常を誘発することが報告されており [3)]，カルフィルゾミブによる染色体構造異常の誘発は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が関与すると考えられる．

4）生殖発生毒性

カルフィルゾミブは妊娠ラット（2.6.6.6.2.2）において，最高投与量の 2 mg/kg（12 mg/m^2）まで胚・胎児発生に対する影響を示さなかった．一方，妊娠ウサギ（2.6.6.6.2.3）では最高投与量の 0.8 mg/kg（9.6 mg/m^2）で胚・胎児死亡率の上昇及び生存胎児体重の低値を示した．なお，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なかったが，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）では雌雄生殖器に影響は認められなかった．

5）局所刺激性

カルフィルゾミブのラットにおける反復投与毒性試験（2.6.6.3.4，2.6.6.3.5）では最高投与液濃度 2 mg/mL（投与量 4 mg/kg）まで投与部位への影響は認められなかった．一方，サルの 1 及び 9 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.7，2.6.6.3.8）では，投与液濃度 0.5 mg/mL（投与量 0.5 mg/kg）では影響はなかったが，1 mg/mL（投与量 1 mg/kg）以上では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．以上のことから，カルフィルゾミブは 1 mg/mL 以上の投与液濃度で局所刺激性を示すと考えられた．

6）不純物

「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，

＊新薬情報提供時に置換えた

*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．これらのうち，*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 ■%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．また，*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代謝物（M16）と同一であることから，上記の不純物に関するガイドラインに記載されているように，安全性が確認されたものと考えられた．

不純物の安全性は，一般毒性試験として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確認した．また，遺伝毒性試験として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）及び小核試験（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結果と比較して，不純物の影響がないことを確認した．

カルフィルゾミブによるプロテアソーム活性の阻害は，ファーマコフォアである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ことにより発揮されると考えられているが[11) 12)]，*不純物A,*不純物D,*不純物E,*不純物F及び*不純物G は，α，βエポキシケトンを持たないことから，プロテアソーム活性の阻害作用を持たないと考えられる．一方，*不純物B はカルフィルゾミブのジアステレオマーであり，α，βエポキシケトンを持つためプロテアソーム活性を阻害すると考えられるが，反復投与毒性試験に用いた原薬又は製剤中の *不純物B の含量は ■～■%に過ぎないため，反復投与毒性試験においてカルフィルゾミブのプロテアソーム活性の阻害に影響する可能性は低いと考えられた．上述したように，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，いずれもプロテアソーム活性の阻害に基づくものであると考えられた．したがって，これらの不純物は反復投与毒性試験において試験された最高投与量まで毒性発現には寄与しないと考えられた．カルフィルゾミブの反復投与毒性試験における *不純物B,*不純物D,*不純物E,*不純物F及び*不純物G は，いずれの不純物についても規格値上限におけるヒト曝露量以上で試験されていることから（表 2.6.6.9-2），これらの不純物の一般毒性については規格値上限までの安全性が確認されたものと考えられた．

遺伝毒性については，*不純物B 及び *不純物D は，不純物を添加して実施した復帰突然変異試験，染色体異常試験及び小核試験と不純物を添加せずに実施したこれらの試験の結果に相違がなかった．また，*不純物E,*不純物F及び*不純物G については，不純物を添加して実施した小核試験と不純物を添加せずに実施した小核試験の結果に相違がなかった．更に，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(Q)SAR 法（専門的経験に基づくルールベースの方法及び統計ベースの方法）において警告

＊新薬情報提供時に置換えた

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いる．*不純物E,*不純物F及び*不純物G には警告構造がなく（Derek, version [redacted]及び Leadscope Model Applier, version [redacted]）［4.2.3.7.6-4］，不純物の 1 日量が 1 mg 未満であることから，更なる遺伝毒性試験は必要ないと判断した．以上のことから，これらの不純物の遺伝毒性に問題はないと考えられた．

＊新薬情報提供時に置換えた

表 2.6.6.9-2　不純物の曝露比較

不純物		[redacted][a]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
申請規格（%）	原薬	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
	製剤	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
ヒト最高投与量： 27 mg/m^2	規格値上限における不純物曝露量（mg/kg）［A］	[redacted]				
ラット 1 カ月間 反復投与毒性試験 最高投与量： 6 mg/kg Lot No.：[redacted][b]	不純物含量（%）					
	不純物最大曝露量（mg/kg）［B］					
	ヒト投与量に対する倍数［B÷A］					
サル 1 カ月間 反復投与毒性試験 最高投与量： 2 mg/kg Lot No.：[redacted][b]	不純物含量（%）					
	不純物最大曝露量（mg/kg）［B］					
	ヒト投与量に対する倍数［B÷A］					
ラット 6 カ月間 反復投与毒性試験 最高投与量： 4 mg/kg Lot No.：[redacted][c], [redacted][d]	不純物含量（%）					
	不純物最大曝露量（mg/kg）［B］					
	ヒト投与量に対する倍数［B÷A］					
サル 9 カ月間 反復投与毒性試験 最高投与量： 2 mg/kg Lot No.：[redacted][c], [redacted][d]	不純物含量（%）					
	不純物最大曝露量（mg/kg）［B］					
	ヒト投与量に対する倍数［B÷A］					
In vitro 復帰突然変異試験 Lot No.：[redacted][e]	不純物含量（%）					
In vitro 染色体異常試験 Lot No.：[redacted][e]	不純物含量（%）					
In vivo マウス小核試験 Lot No.：[redacted][f]	不純物含量（%）					
In silico による構造アラート評価						
Derek		NE	NE	陰性	陰性	陰性
Leadscope Model Applier		NE	NE	陰性	陰性	陰性

-：検出限界未満又は算出できなかった.　　NE：評価しなかった.
a：規格試験分析条件では *不純物B と *不純物C が共溶出されるため，その合算値として [redacted]%の規格値が設定されている.
b：原薬
c：加速（熱）分解条件下に 5 週間おいた凍結乾燥製剤
d：加速（熱）分解条件下に 9 週間おいた凍結乾燥製剤
e：*不純物B, *不純物C，*不純物A 及び *不純物D を添加した原薬
f：加速（熱）分解条件下におき，*不純物B, *不純物A 及び *不純物D を添加した凍結乾燥製剤

7）サイトカイン産生誘導

カルフィルゾミブを投与したラット及びサルで，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 [13]．また，高サイトカイン血症によって，腎血流が低下して腎前性高窒素血症が発現する可能性も推測される．更に，ボルテゾミブはマウスに対する LPS の致死作用を増強することが報告されている [14]．そこで，これらを検証する目的で，マウスを用いて *in vivo* でのサイトカインの産生などに及ぼすカルフィルゾミブの影響を亜致死量の LPS 処置下及び非処置下において検討した（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 IL-6，TNF-α，IL-1β及び IFN-γ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，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マウスが死亡したと考えられた．このように，カルフィルゾミブがエンドトキシンの作用を増強することが示されたため，カルフィルゾミブの臨床使用に際しては，感染症が活動期にある患者に対して投与しない注意が必要と考えられる．

8）結論

カルフィルゾミブによる主要な毒性として，心毒性（心筋のうっ血，出血，炎症，変性，壊死，線維化及び肥大など），腎毒性（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，尿細管の萎縮及び拡張など），肺毒性（炎症，出血及び水腫など），胃腸管毒性（うっ血，出血，壊死及び上皮過形成など）及び血液毒性（赤血球系パラメータ及び血小板数の低値）が認められた．カルフィルゾミブの毒性試験はプロテアソームを阻害する投与量で実施されたこと及び公知のプロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブでもカルフィルゾミブと同様な毒性変化が認められることから，カルフィルゾミブの毒性はいずれも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．反復投与毒性試験におけるカルフィルゾミブの投与量（体表面積換算）及び曝露量（AUClast）は，臨床の用法・用量における投与量及び曝露量を下回るものの，動物及びヒトのいずれにおいても全血のプロテアソーム活性を 80%以上阻害する投与量におい

て，動物及びヒトで忍容性が認められた．カルフィルゾミブとボルテゾミブとの相違点として，ボルテゾミブの毒性試験で報告されているような末梢神経の変性が，カルフィルゾミブでは認められなかった．

以上の非臨床毒性試験成績より，カルフィルゾミブは再発及び難治性多発性骨髄腫の治療薬として，忍容可能な安全性プロファイルを有すると考えられる．

2.6.6.10 図表

図表は本文中に記載した．

2.6.6.11 参考文献

1） 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.

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

3） 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;10:3954-64.

4） Pagan J, Seto T, Pagano M, Cittadini A. Role of the ubiquitin proteasome system in the heart. Circ Res. 2013;112:1046-58.

5） Nowis D, Maczewski M, Mackiewicz U, Kujawa M, Ratajska A, Wieckowski MR, et al. Cardiotoxicity of the anticancer therapeutic agent bortezomib. Am J Pathol. 2010;176:2658-68.

6） Hard GC, Khan KN. A contemporary overview of chronic progressive nephropathy in the laboratory rat, and its significance for human risk assessment. Toxicol Pathol. 2004;32:171-80.

7） Chade AR, Herrmann J, Zhu X, Krier JD, Lerman A, Lerman LO. Effects of proteasome inhibition on the kidney in experimental hypercholesterolemia. J Am Soc Nephrol. 2005;16:1005-12.

8） 齋藤好信，弦間昭彦．分子標的治療薬による薬剤性肺障害．医学のあゆみ 2014;248:103-7.

9） Crusio KM, Reavie LB, Aifantis I. Regulation of hematopoietic stem cell fate by the ubiquitin proteasome system. Trends Immunol. 2012;33:357-63.

10） 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;17:2734-43

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

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

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

14） Tilahun AY, Theuer JE, Patel R, et al.Detrimental effect of the proteasome inhibitor, bortezomib in bacterial superantigen- and lipopolysaccharide-induced systemic inflammation. Mol Ther. 2010;18:1143-54.

2.6.7 毒性試験の概要表

小野薬品工業株式会社

目次

2.6.7 毒性試験の概要表 3
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 3
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 6
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 7
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（ロット）一覧 8
2.6.7.5 単回投与毒性試験 10
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 16
2.6.7.7 反復投与毒性試験 21
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 73
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 78
2.6.7.10 がん原性試験 79
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 80
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 82
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 83
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 86
2.6.7.15 新生児を用いた試験 86
2.6.7.16 局所刺激性試験 86
2.6.7.17 その他の毒性試験 87

2.6.7 毒性試験の概要表

2.6.7.1 毒性試験 一覧表 被験物質：カルフィルゾミブ

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	試験番号	CTDにおける記載箇所
単回投与毒性試験	ラット／SD	静脈内急速	単回	0，0.5，1，1.5，3，4.5，7，9	不適	[redacted]	TR-0006-171	［4.2.3.1-1］
	ラット／SD	静脈内急速	単回	0，2，4.5，9，10，15，25	不適	[redacted]	TR-0010-171	［4.2.3.1-2］
	ラット／SD	静脈内急速 10分間静脈内持続 30分間静脈内持続	単回	急速：0，8 10分間：8 30分間：8，10，12	不適	Onyx Pharmaceuticals, Inc.	TR-0356-171	［4.2.3.1-3］
（反復投与を含む）	カニクイザル	静脈内急速	単回 5日間連日	単回：0，1，1.16，2，4 5日間連日：1	不適	[redacted]	TR-0008-171	［4.2.3.1-4］
反復投与毒性試験	ラット／SD	静脈内急速	2週間 5日間連日投与後7日間休薬	0，4，5	不適	[redacted]	TR-0009-171	［4.2.3.2-1］
	ラット／SD	静脈内急速	2週間 QD×5：5日間連日投与後7日間休薬 BIW×2：週2回（週の1及び4日目）投与を2週	QD×5：0，1，2，4.5 BIW×2：0，2，4.5，9	不適	[redacted]	TR-0020-171	［4.2.3.2-2］
	ラット／SD	静脈内急速	3週間 週5日間連日投与を3週	0，2，<u>4</u>，6	不適	[redacted]	TR-0007-171	［4.2.3.2-3］

下線は，反復投与毒性試験における MTD（最大耐量）を示す.

2.6.7.1 毒性試験 一覧表（続き）

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	試験番号	CTDにおける記載箇所
反復投与毒性試験	ラット／SD	静脈内急速	1カ月間 5日間連日投与後9日間休薬するサイクルを2回繰り返し	0，0.5，1，2，4，6	適 [a]	[redacted]	TR-0014-171	［4.2.3.2-4］
	ラット／SD	静脈内急速	6カ月間 週2回（週の1及び2日目）の3週間投与後，1週間休薬するサイクルを6回繰り返し	0，1，2，4	適 [b]	[redacted]	TR-0072-171	［4.2.3.2-5］
	カニクイザル	静脈内急速	7日間 2日間連日投与後5日間休薬	0，2	適 [c]	[redacted]	TR-0157-171	［4.2.3.2-6］
	カニクイザル	静脈内急速	1カ月間 5日間連日投与後9日間休薬するサイクルを2回繰り返し	0，0.5，1，2	適 [a]	[redacted]	TR-0017-171	［4.2.3.2-7］
	カニクイザル	静脈内急速	9カ月間 週2回（週の1及び2日目）の3週間投与後，1週間休薬するサイクルを9回繰り返し	0，0.5，1，2	適 [b]	[redacted]	TR-0073-171	［4.2.3.2-8］
遺伝毒性試験	*S. typhimurium* *E. coli*	*In Vitro*	-	S9mix＋/-： 5～5000 μg/プレート	適	[redacted]	TR-0069-171	［4.2.3.3.1-1］

下線は，反復投与毒性試験における MTD（最大耐量）を示す.
a：TK，PD，CYP 含量及び CYP 活性測定は GLP 不適.
b：獣医神経病理学者による末梢神経の病理学的レビュー，PD，CYP 活性及び CYPmRNA 発現量測定，PK パラメータ算出並びに代謝物検索は GLP 不適.
c：血小板指数，CRP 及びトロポニン I の統計解析，投与前検査並びに PD 測定は GLP 不適.

2.6.7.1 毒性試験 一覧表（続き）

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	試験番号	CTDにおける記載箇所
遺伝毒性試験	ヒト末梢血リンパ球	*In Vitro*	-	短時間処理 S9mix-：0.078～0.313μg/mL S9mix+：0.625～5.5μg/mL 連続処理 S9mix-：0.0156～0.0625μg/mL	適	[redacted]	TR-0070-171	［4.2.3.3.1-2］
	マウス／CD-1	静脈内急速	2回	雄：0，1.25，2.5，5 雌：0，0.31，0.63，1.25	適		TR-0071-171	［4.2.3.3.2-1］
生殖発生毒性試験	ラット／SD	静脈内急速	GD 6 - 17[a]	0，0.5，1，2	不適	[redacted]	TR-0074-171	［4.2.3.5.2-1］
	ラット／SD	静脈内急速	GD 6 - 17[a]	0，0.5，1，2	適		TR-0075-171	［4.2.3.5.2-2］
	ウサギ／NZW	静脈内急速	GD 6 - 19[a]	0，0.2，0.4，0.8	不適		TR-0123-171	［4.2.3.5.2-3］
その他の毒性試験（エンドトキシンチャレンジ）	マウス／BALB/c	静脈内急速	単回	0，3，5，10 （ボルテゾミブ：1， LPS：50μg/body）	不適	Onyx Pharmaceuticals, Inc.	TR-0424-171	［4.2.3.7.3-1］
その他の毒性試験（不純物の遺伝毒性試験）	*S. typhimurium* *E. coli*	*In Vitro*	-	S9mix＋/-： 1.5～5000μg/プレート	適	[redacted]	TR-0425-171	［4.2.3.7.6-1］
	ヒト末梢血リンパ球	*In Vitro*	-	短時間処理 S9mix-：0.04～0.12μg/mL S9mix+：1～3μg/mL	適		TR-0426-171	［4.2.3.7.6-2］
	マウス／CD-1	静脈内急速	2回	雄：0，0.625，1.25，2.5 雌：0，0.625，1.25，2.5	適		TR-0422-171	［4.2.3.7.6-3］
その他の毒性試験（神経毒性試験）	ラット／SD	静脈内急速	1カ月間 週2回（週の1及び2日目）投与 （ボルテゾミブ： 週2回（週の1及び4日目）投与）	0，2 （ボルテゾミブ：0.2）	不適	[redacted]	TR-0297-171	［4.2.3.7.7-1］

a：妊娠日齢

2.6.7.2　トキシコキネティクス　トキシコキネティクス試験の一覧表　被験物質：カルフィルゾミブ

試験の種類	試験系／系統	投与方法	投与量（mg/kg）	GLP 適用	CTD における記載箇所
反復投与毒性試験（1 カ月間）	ラット／SD	静脈内急速	0.5，1，2，4，6	不適	［4.2.3.2-4］
反復投与毒性試験（6 カ月間）	ラット／SD	静脈内急速	1，2，4	適	［4.2.3.2-5］
反復投与毒性試験（1 カ月間）	カニクイザル	静脈内急速	0.5，1，2	不適	［4.2.3.2-7］
反復投与毒性試験（9 カ月間）	カニクイザル	静脈内急速	0.5，1，2	適	［4.2.3.2-8］
生殖発生毒性試験（胚・胎児毒性試験）	ラット／SD	静脈内急速	0.5，1，2	適	［4.2.3.5.2-2］

2.6.7.3　トキシコキネティクス　トキシコキネティクス試験成績の一覧　被験物質：カルフィルゾミブ

最高血漿中濃度（Cmax）及び全身曝露量（AUClast）に関する
動物の MTD（最大耐量）とヒトとの比較

動物種	投与量	パラメータ	カルフィルゾミブ	M14	M15	M16
ラット	1 mg/kg[a] (6 mg/m^2)	Cmax[b] (ng/mL)	258 (204)[e]	213 (218)	108 (55.6)	156 (120)
		AUClast[b] (ng·min/mL)	4741 (4027)	8183 (7600)	1942 (943)	2203 (1487)
カニクイザル	1 mg/kg[a] (12 mg/m^2)	Cmax[b] (ng/mL)	66.8 (69.1)[e]	175 (183)	46 (42)	507 (464)
		AUClast[b] (ng·min/mL)	1237 (1449)	7769 (7305)	1623 (1375)	7185 (6788)
ヒト	20/27 mg/m^2	Cmax[c] (ng/mL)	1530/2300	NE	NE	NE
		AUClast[c] (ng·min/mL)	18360/26160	NE	NE	NE
ヒト	15/15 mg/m^2	Cmax[d] (ng/mL)	2546/2550	92/106	15/17	151/179
		AUClast[d] (ng·min/mL)	13181/13673	16500/21498	1510/1577	4011/4537

NE：評価せず.
a：6 又は 9 カ月間反復投与毒性試験における MTD（最大耐量）
b：6 又は 9 カ月間反復投与毒性試験における 6 又は 9 サイクル目（最終サイクル）の初回投与時の雄の平均値（雌の平均値）
c：日本第Ⅰ／Ⅱ相試験（ONO-7057-01）の第 1 サイクル 1 日目（20 mg/m^2）／16 日目（27 mg/m^2）の値（平均値）［2.7.2.2.2.1］
d：海外第Ⅱ相試験（PX-171-005）の腎機能正常患者における第 1 サイクル 1 日目（15 mg/m^2）の平均値／15 日目（15 mg/m^2）の値（平均値）［2.7.2.2.2.7］
e：C5min 値

2.6.7.4 毒性試験　　被験物質（ロット）一覧　　被験物質：カルフィルゾミブ

バッチ番号	純度（%）	規格設定された不純物	試験番号	試験の種類
申請規格	原薬	[redacted]		
	製剤			
[redacted]			TR-0008-171	サル単回投与毒性試験（反復投与を含む）
			TR-0006-171	ラット単回投与毒性試験
			TR-0007-171	ラット 3 週間反復投与毒性試験（週 5 日間連日投与を 3 週）
			TR-0009-171	ラット 2 週間反復投与毒性試験（5 日間連日投与後 7 日間休薬）
			TR-0014-171	ラット 1 カ月間反復投与毒性試験（5 日間連日投与後 9 日間休薬するサイクルを 2 回繰り返し）
			TR-0020-171	ラット 2 週間反復投与毒性試験（5 日間連日投与後 7 日間休薬, 週 2 回投与を 2 週）
			TR-0017-171	サル 1 カ月間反復投与毒性試験（5 日間連日投与後 9 日間休薬するサイクルを 2 回繰り返し）
			TR-0069-171	*In vitro* 細菌復帰突然変異試験
			TR-0070-171	*In vitro* 染色体異常試験
			TR-0071-171	*In vivo* マウス小核試験
			TR-0010-171	ラット単回投与毒性試験
			TR-0074-171	ラット胚・胎児毒性試験（用量設定試験）
			TR-0075-171	ラット胚・胎児毒性試験
			TR-0123-171	ウサギ胚・胎児毒性試験（用量設定試験）

a：規格試験分析条件では *不純物B と共溶出されるが, [redacted]%以下に制御されている.　　b：原薬　　c：製剤
d：加速（熱）分解条件下に 5 週間おいた凍結乾燥製剤　　e：加速（熱）分解条件下に 9 週間おいた凍結乾燥製剤

＊新薬情報提供時に置換えた

2.6.7.4　毒性試験　　被験物質（ロット）一覧（続き）

バッチ番号	純度（%）	規格設定された不純物	試験番号	試験の種類
申請規格	原薬	[redacted]		
	製剤			
[redacted]			TR-0157-171	サル 7 日間反復投与毒性試験（2 日間連日投与後 5 日間休薬）
			TR-0297-171	ラット神経毒性試験
			TR-0356-171	ラット単回投与毒性試験（急速投与，10 又は 30 分間の持続投与）
			TR-0072-171	ラット 6 カ月間反復投与毒性試験 週 2 回（週の 1 及び 2 日目）の 3 週間投与後，1 週間休薬するサイクルを 6 回繰り返し
			TR-0073-171	サル 9 カ月間反復投与毒性試験 週 2 回（週の 1 及び 2 日目）の 3 週間投与後，1 週間休薬するサイクルを 9 回繰り返し
			TR-0425-171	不純物の *in vitro* 細菌復帰突然変異試験
			TR-0426-171	不純物の *in vitro* 染色体異常試験
			TR-0422-171	不純物の *in vivo* マウス小核試験

a：規格試験分析条件では *不純物B と共溶出されるが，[redacted]%以下に制御されている．
b：製剤
c：加速（熱）分解条件下に 5 週間おいた凍結乾燥製剤
d：加速（熱）分解条件下に 9 週間おいた凍結乾燥製剤
e：*不純物B，*不純物C，*不純物A 及び *不純物D を添加した原薬
f：加速（熱）分解条件下におき，*不純物B，*不純物A 及び *不純物D を添加した凍結乾燥製剤

＊新薬情報提供時に置換えた

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：カルフィルゾミブ

<table>
<tr><th>動物種／系統</th><th>投与方法（溶媒／投与形態）</th><th>投与量（mg/kg）</th><th>性別及び動物数／群</th><th>最大非致死量（mg/kg）</th><th>概略の致死量（mg/kg）</th><th>特記すべき所見</th><th>試験番号</th></tr>
<tr><td rowspan="2">ラット／SD</td><td>静脈内急速（5 w/v% HP-β-CD／溶液）</td><td>0，0.5，1.5，4.5，7</td><td>雄 3</td><td rowspan="2">7</td><td rowspan="2">9</td><td>死亡例：なし.
一般状態：4.5 mg/kg で投与後 1 及び 4 時間に嗜眠及び立毛，7 mg/kg で投与後 4 時間に立毛，いずれも投与後 3 日までに回復.
体重（投与後 7 日に評価）：影響なし.
血液学的検査（投与後 7 日に評価）：4.5 mg/kg 以上で網赤血球数の高値が認められた.
<table>
<tr><td>投与量（mg/kg）</td><td>0</td><td>0.5</td><td>1.5</td><td>4.5</td><td>7</td></tr>
<tr><td>網赤血球数（$10^6/\mu$ L）</td><td>0.22</td><td>0.18</td><td>0.22</td><td>0.37*</td><td>0.46**</td></tr>
</table>
血液化学的検査（投与後 1 及び 7 日に評価）：投与後 1 日に 4.5 mg/kg 以上でアルブミンの低値，7 mg/kg で無機リンの低値が認められた.
<table>
<tr><td>投与量（mg/kg）</td><td>0</td><td>0.5</td><td>1.5</td><td>4.5</td><td>7</td></tr>
<tr><td>アルブミン（g/dL）
投与後 1 日</td><td>3.9</td><td>4.0</td><td>4.1</td><td>3.2**</td><td>3.3**</td></tr>
<tr><td>無機リン（mg/dL）
投与後 1 日</td><td>9.4</td><td>9.1</td><td>8.8</td><td>8.9</td><td>6.5**</td></tr>
</table>
プロテアソーム活性：
［2.6.3.2］に記載した.</td><td rowspan="2">TR-0006-171</td></tr>
<tr><td>静脈内急速（10 mmol/L クエン酸ナトリウムに溶解した 10 w/v% SBECD／溶液）</td><td>0，1，3，9</td><td>雄 12</td><td>死亡例：9 mg/kg の 2/9 例[a]（投与後 1 から 2 日に死亡）
一般状態：評価せず.
体重（投与後 3 及び 7 日に評価）：投与後 3 及び 7 日に 9 mg/kg で体重減少が認められた.
<table>
<tr><td>投与量（mg/kg）</td><td>0</td><td>1</td><td>3</td><td>9</td></tr>
<tr><td>投与後 3 日（%[b]）</td><td>253.5 g</td><td>+2</td><td>+5</td><td>-11***</td></tr>
<tr><td>投与後 7 日（%[b]）</td><td>281.2 g</td><td>+3</td><td>0</td><td>-11**</td></tr>
</table>
血液学的検査（投与後 3 及び 7 日に評価）：投与後 3 日に 3 mg/kg 以上で血小板数の低値が認められた.
<table>
<tr><td>投与量（mg/kg）</td><td>0</td><td>1</td><td>3</td><td>9</td></tr>
<tr><td>血小板数（$10^3/\mu$ L）
投与後 3 日</td><td>980</td><td>865</td><td>611**</td><td>386***</td></tr>
</table>
血液化学的検査（投与後 1 及び 3 日に評価）：影響なし.
プロテアソーム活性：
［2.6.3.2］に記載した.</td></tr>
</table>

*p<0.05，**p<0.01，***p<0.001：対照群に対する Bonferroni 検定

a：プロテアソーム活性の測定のために投与後 1 時間に屠殺した 3 例を除いて評価.

b：対照群は平均値を示す．投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）.

2.6.7.5 単回投与毒性試験 （続き）

動物種／系統	投与方法（溶媒／投与形態）	投与量（mg/kg）	性別及び動物数／群	最大非致死量（mg/kg）	概略の致死量（mg/kg）	特記すべき所見	試験番号
ラット／SD	静脈内急速（5 w/v% HP-β-CD／溶液）	0，10，15，25	雄 15	<10[a]	10	死亡例：10 mg/kg の 2/12 例[b]，15 及び 25 mg/kg の全動物（各 12 例[b]）が投与後 24 時間以内に死亡. 一般状態（10 mg/kg 生存例）：投与後 1 時間までに呼吸困難，被毛の乱れ，嗜眠が認められたが，投与後 4 日までに回復. 体重（10 mg/kg 生存例）：体重減少が認められたが，投与後 10 日以降は対照群と比較して差は認められなかった. 血液学的検査（投与後 7 及び 14 日に評価）：10 mg/kg で投与後 7 日に血小板数の低値が認められた.	TR-0010-171

投与量（mg/kg）		0	10
血小板数（$10^3/\mu$ L）	投与後 7 日	1102	1623*

血液化学的検査（投与後 1，2，7 及び 14 日に評価）：10 mg/kg で投与後 1 日に血中尿素窒素，クレアチニン及び AST の高値，カルシウム及びグルコースの低値，投与後 1 及び 2 日にアルブミンの低値などが認められた.

投与量（mg/kg）		0	10
血中尿素窒素（mg/dL）	投与後 1 日	14	84**
クレアチニン（mg/dL）	投与後 1 日	0.18	0.42**
AST（U/L）	投与後 1 日	109	184**
カルシウム（mg/dL）	投与後 1 日	13.2	10.6**
グルコース（mg/dL）	投与後 1 日	209	103*
アルブミン（g/dL）	投与後 1 日	4.3	3.0***
	投与後 2 日	4.2	3.1**
A/G 比	投与後 1 日	2.3	1.7***
	投与後 2 日	2.1	1.6**
ALP（U/L）	投与後 1 日	337	173***
	投与後 2 日	325	196**
	投与後 7 日	346	222**

プロテアソーム活性：
［2.6.3.2］に記載した.

	静脈内急速（50 mmol/L クエン酸ナトリウム（pH 3.55）に溶解した 5 w/v% HP-β-CD／溶液）	2，4.5，9	雄 3			プロテアソーム活性: ［2.6.3.2］に記載した. 薬物動態： ［2.6.5.3.2］に記載した.	

*p<0.05，**p<0.01，***p<0.001：対照群に対する検定　　a：9 mg/kg 以下の用量はプロテアソーム活性の測定及び薬物動態評価に用い，毒性評価には用いなかった.
b：プロテアソーム活性の測定のために投与後 1 時間に屠殺した 3 例を除いて評価.

2.6.7.5 単回投与毒性試験 （続き）

<table>
<tr><th>動物種／系統</th><th>投与方法（溶媒／投与形態）</th><th>投与量（mg/kg）</th><th>性別及び動物数／群</th><th>最大非致死量（mg/kg）</th><th>概略の致死量（mg/kg）</th><th>特記すべき所見</th><th>試験番号</th></tr>
<tr><td>ラット／SD</td><td>静脈内急速

10 分間静脈内持続

30 分間静脈内持続

（10 mmol/L クエン酸（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液）</td><td>0，8

8

8，10，12</td><td>雄 6～32</td><td>急速及び 10 分間投与：<8

30 分間投与：8</td><td>急速及び 10 分間投与：8

30 分間投与：10</td><td>死亡例：
8 mg/kg 急速投与の 14/32 例，8 mg/kg10 分間投与の 1/8 例が死亡．
8 mg/kg 30 分間投与では 24 例中死亡例なし．
10 mg/kg 30 分間投与の 1/6 例，12 mg/kg 30 分間投与の 4/6 例が死亡．
一般状態：
8 mg/kg 急速投与；被毛の乱れ，耳介蒼白，呼吸困難，嗜眠．
8 mg/kg 10 分間投与；被毛の乱れ，耳介蒼白．
8 mg/kg 30 分間投与；被毛の乱れ．
12 mg/kg 30 分間投与；8 mg/kg 急速投与と同様の所見に加え，皮膚温低下
体重（8 mg/kg 急速投与と 30 分間投与について投与後 1 及び 3 日に評価）：投与後 3 日に対照群と比較して 8 mg/kg 急速投与で 10.6%の減少，8 mg/kg 30 分間投与で 6%の減少が認められた．
血液学的検査（投与後 1 及び 3 日に評価）：投与後 1 及び 3 日に 8 mg/kg 急速投与で血小板数の低値及び好中球数の高値が認められ，8 mg/kg 10 又は 30 分間でもこれらの変化は同程度に認められた．
<table>
<tr><th colspan="2">投与量（mg/kg）
投与時間</th><th>0</th><th>8
急速</th><th>8
10 分</th><th>8
30 分</th></tr>
<tr><td rowspan="2">血小板数
（$10^3/\mu$ L）</td><td>投与後 1 日</td><td>1005</td><td>825</td><td>625</td><td>771</td></tr>
<tr><td>投与後 3 日</td><td>831</td><td>403</td><td>NA</td><td>466</td></tr>
<tr><td rowspan="2">好中球数
（$10^3/\mu$ L）</td><td>投与後 1 日</td><td>2.40</td><td>8.51</td><td>6.55</td><td>8.06</td></tr>
<tr><td>投与後 3 日</td><td>2.10</td><td>5.29</td><td>NA</td><td>4.25</td></tr>
</table>
血液化学的検査（投与後 1 及び 3 日に評価）：投与後 1 日に 8 mg/kg 急速投与で血中尿素窒素，クレアチニン及び ALT の高値が認められたが，8 mg/kg の 10 及び 30 分間投与でこれらの変化は軽減した．10 及び 12 mg/kg の 30 分間投与では 8 mg/kg 急速投与と同等又はそれより強い変化が認められた．
<table>
<tr><th>投与量（mg/kg）
投与時間</th><th>0</th><th>8
急速</th><th>8
10 分</th><th>8
30 分</th><th>10
30 分</th><th>12
30 分</th></tr>
<tr><td>血中尿素窒素 [a]</td><td>21</td><td>90</td><td>50</td><td>37</td><td>67</td><td>88</td></tr>
<tr><td>クレアチニン [a]</td><td>0.30</td><td>0.66</td><td>0.40</td><td>0.31</td><td>0.69</td><td>0.94</td></tr>
<tr><td>ALT（U/L）</td><td>55</td><td>224</td><td>189</td><td>134</td><td>315</td><td>358</td></tr>
<tr><td>総ビリルビン [a]</td><td>0.11</td><td>0.12</td><td>0.11</td><td>0.15</td><td>0.22</td><td>0.17</td></tr>
</table>
ミオグロビン及びトロポニン I（8 mg/kg 急速投与と 30 分間投与について投与後 2 時間及び 1 日に評価）：影響なし．</td><td>TR-0356-171</td></tr>
</table>

NA：評価対象なし．　　a：mg/dL

2.6.7.5　単回投与毒性試験　（続き）

動物種／系統	投与方法（溶媒／投与形態）	投与量（mg/kg）	性別及び動物数／群	最大非致死量（mg/kg）	概略の致死量（mg/kg）	特記すべき所見	試験番号
（続き） ラット／SD	静脈内急速 10 分間静脈内持続 30 分間静脈内持続 （10 mmol/L クエン酸（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液）	0，8 8 8，10，12	雄 6～32			剖検： 8 mg/kg 急速投与；胃の拡張及び内容物充満，肝臓の退色，副腎，腸管，腎臓及び肺のうっ血. 8 mg/kg 10 及び 30 分間投与；軽度の胃の内容物充満及び肝臓の退色. 12 mg/kg 30 分間投与；8 mg/kg 急速投与と同様の所見.	TR-0356-171
	静脈内急速 30 分間静脈内持続 （10 mmol/L クエン酸（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液）	0，8 8	雄 8～15			プロテアソーム活性： ［2.6.3.2］に記載した.	

2.6.7.5 単回投与毒性試験 （続き）

動物種／系統	投与方法（溶媒／投与形態）	投与量（mg/kg）	性別及び動物数／群	最大非致死量（mg/kg）	概略の致死量（mg/kg）	特記すべき所見	試験番号
カニクイザル	静脈内急速（50 mmol/L クエン酸ナトリウム（pH 3.35）に溶解した 5 w/v% HP-β-CD／溶液）	単回投与 0，1，1.16，2，4	雄 3[a]	2	4	死亡例： 1 mg/kg；1/3 例（投与後 2 日に死亡したが，骨髄中のプロテアソーム活性測定のための骨髄穿刺時に使用した麻酔薬による影響と考えられた．） 4 mg/k；1/3 例（投与日から円背，投与後 1 日に嘔吐が認められ，投与後 1 日に死亡した．） 死亡例の剖検及び病理組織学的検査： 1 mg/kg；剖検で胸水及び心嚢液貯留並びに肺の虚脱，病理組織学的検で心筋変性と考えられるごく軽度の心筋細胞質好酸性変化及び核濃縮，初期の気管支肺炎を示唆する細気管支の中等度のフィブリン析出及び多形核白血球の集簇． 4 mg/kg；剖検で軽度の心嚢液貯留，肝臓及び腎臓の中等度のうっ血，胃粘膜の暗赤色化，十二指腸，空腸及び回腸粘膜の薄褐色化，盲腸及び結腸粘膜の淡赤色化，病理組織学的検査で心筋変性と考えられるごく軽度の心筋細胞質好酸性変化，核濃縮及びうっ血，胃粘膜の中等度の出血及び壊死，軽度の腺の減少，結腸粘膜下リンパ組織の軽度の壊死． 生存例の一般状態： 1 mg/kg；嘔吐（投与後 1 日），2 mg/kg；嘔吐（投与日），4 mg/kg；嘔吐（投与日～投与後 2 日），円背（投与日～投与後 5 日）． 体重：影響なし． 血液学的検査（投与前，投与後 3，7 及び 14 日に評価，1.16 mg/kg については投与前及び投与後 3 日に評価）：投与後 3 日に 1.16 mg/kg 以上で単球数の高値が認められ，4 mg/kg で顕著な血小板数の低値が認められた．	TR-0008-171

投与量（mg/kg）		0	1	1.16	2	4
単球数（$10^3/\mu L$）	投与前	0.513	0.413	0.540	0.377	0.687
	投与後 3 日	0.383	0.620	1.210	0.633	1.525
血小板数（$10^3/\mu L$）	投与前	367.3	408.3	292.5	301.3	382.7
	投与後 3 日	397.0	304.5	245.5	195.0	117.0
	投与後 7 日	463.3	505.0	NA	407.7	698.0

血液生化学的検査（投与前，投与後 1，3 及び 7 日に評価，1.16 mg/kg については投与前，投与後 1 及び 3 日に評価）：投与後 1 日に 1 mg/kg 以上でアルブミンの低値，4 mg/kg で血中尿素窒素及びクレアチニンの高値が認められた．

NA：評価対象なし．
a：1.16 mg/kg のみ 2 例．

2.6.7.5 単回投与毒性試験 （続き）

<table>
<tr><th>動物種／
系統</th><th>投与方法
（溶媒／投与形態）</th><th>投与量
（mg/kg）</th><th>性別及び
動物数／群</th><th>最大
非致死量
（mg/kg）</th><th>概略の
致死量
（mg/kg）</th><th>特記すべき所見</th><th>試験
番号</th></tr>
<tr><td>（続き）
カニクイザル</td><td>静脈内急速
（50 mmol/L クエン酸ナトリウム（pH 3.35）に溶解した 5 w/v% HP-β-CD／溶液）</td><td>単回投与
0，1，1.16，2，4</td><td>雄 3[a]</td><td></td><td></td><td>血液生化学的検査（続き）：
<table>
<tr><th>投与量（mg/kg）</th><th></th><th>0</th><th>1</th><th>1.16</th><th>2</th><th>4</th></tr>
<tr><td>アルブミン</td><td>投与前</td><td>4.30</td><td>4.17</td><td>4.40</td><td>4.40</td><td>4.67</td></tr>
<tr><td>（g/dL）</td><td>投与後 1 日</td><td>4.17</td><td>3.77</td><td>4.05</td><td>3.93</td><td>3.43</td></tr>
<tr><td></td><td>投与後 3 日</td><td>4.13</td><td>3.75</td><td>4.25</td><td>3.70</td><td>3.05</td></tr>
<tr><td></td><td>投与後 7 日</td><td>4.23</td><td>4.15</td><td>NA</td><td>4.10</td><td>3.45</td></tr>
<tr><td>血中尿素窒素</td><td>投与前</td><td>20.7</td><td>20.3</td><td>19.5</td><td>18.7</td><td>17.7</td></tr>
<tr><td>（mg/dL）</td><td>投与後 1 日</td><td>16.0</td><td>27.0</td><td>22.5</td><td>35.0</td><td>64.3</td></tr>
<tr><td>クレアチニン</td><td>投与前</td><td>0.67</td><td>0.70</td><td>0.80</td><td>0.57</td><td>0.63</td></tr>
<tr><td>（mg/dL）</td><td>投与後 1 日</td><td>0.70</td><td>0.90</td><td>0.95</td><td>0.90</td><td>2.23</td></tr>
</table>
血清トロポニン I（1.16 mg/kg について，投与前，投与後 1 及び 3 日に評価）：影響なし.
プロテアソーム活性：
試験番号 TR-0011-171 にて測定し，［2.6.3.2］に記載した.
薬物動態：
試験番号 TR-0012-171 にて測定し，［2.6.5.3.4］に記載した.</td><td>TR-0008-171</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td>反復投与（5 日間連日）
1</td><td>3[b]</td><td>1</td><td>>1</td><td>死亡例：なし.
一般状態及び体重：影響なし.
血液学的検査及び血液化学的検査（投与前，3 及び 5 回目投与後 1 時間，最終投与後 7 及び 14 日に評価）：3 及び 5 回目投与後に単球数の高値，5 回目投与後に血小板数の低値が認められた.
<table>
<tr><th>投与量（mg/kg）</th><th></th><th>1</th></tr>
<tr><td>単球数</td><td>投与前</td><td>0.367</td></tr>
<tr><td>（$10^3/\mu L$）</td><td>3 回目投与後</td><td>0.507</td></tr>
<tr><td></td><td>5 回目投与後</td><td>0.820</td></tr>
<tr><td>血小板数</td><td>投与前</td><td>459.3</td></tr>
<tr><td>（$10^3/\mu L$）</td><td>5 回目投与後</td><td>157.3</td></tr>
</table>
プロテアソーム活性：
試験番号 TR-0011-171 にて測定し，［2.6.3.2］に記載した.</td><td></td></tr>
</table>

NA：評価対象なし.
a：1.16 mg/kg のみ 2 例.
b：媒体を単回投与した対照群の動物を用いた.

2.6.7.6　反復投与毒性試験　　重要な試験以外の試験　　被験物質：カルフィルゾミブ

動物種／系統	投与方法（溶媒／投与形態）	投与期間	投与量（mg/kg）	性別及び動物数／群	MTD（mg/kg）	特記すべき所見	試験番号
ラット／SD	静脈内急速（50 mmol/L クエン酸ナトリウム（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液）	5 日間連日投与後 7 日間休薬（QD×5）	0，4，5	雄 4	≥5	一般状態：4 mg/kg 以上の全例で投与中に異常発声，5 mg/kg の 1 例で投与後に一過性の呼吸困難. 体重：投与 5 日に 4 mg/kg 以上で体重減少が認められたが，いずれも回復した. 投与量（mg/kg）／0／4／5 投与 5 日（%[a]）／290.4 g／-9*／-10** 血液学的検査（最終投与後（投与 5 日）1 時間及び休薬後（投与 12 日）に評価）：投与 5 日に 4 mg/kg で単球数の高値，5 mg/kg で好中球数の高値が認められた．また，投与 12 日に 4 mg/kg 以上で網赤血球数の高値が認められた. 投与量（mg/kg）／0／4／5 好中球数（$10^3/\mu$L）投与 5 日／0.85／2.49／4.91** 単球数（$10^3/\mu$L）投与 5 日／0.14／0.80*／0.42 網赤血球比率（%）投与 12 日／3.8／6.2**／7.7*** 網赤血球数（$10^6/\mu$L）投与 12 日／0.27／0.40／0.45* 血液化学的検査（最終投与（投与 5 日）後 1 時間及び休薬後（投与 12 日）に評価）：投与 5 日に 4 mg/kg 以上でアルブミン，カルシウム及び無機リンの低値，5 mg/kg で総コレステロールの高値が認められた．投与 12 日に 5 mg/kg でカルシウム及びグルコースの低値が認められた. 投与量（mg/kg）／0／4／5 アルブミン（g/dL）投与 5 日／4.0／3.2**／3.0*** A/G 比（%）投与 5 日／2.0／1.3**／1.1** 総コレステロール（mg/dL）投与 5 日／65／94／118* 無機リン（mg/dL）投与 5 日／9.4／7.6*／7.5* カルシウム（mg/dL）投与 5 日／11.2／10.5**／10.0** 投与 12 日／13.0／12.8／12.3* グルコース（mg/dL）投与 12 日／218／178／153*	TR-0009-171
		単回投与	4	雄 3	NA	プロテアソーム活性：［2.6.3.2］に記載した.	

NA：評価対象なし.　　*p<0.05，**p<0.01，***p<0.001：対照群に対する Bonferroni 検定
a：対照群は平均値を示す．投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）.

2.6.7.6 反復投与毒性試験　重要な試験以外の試験（続き）

<table>
<tr><th>動物種／
系統</th><th>投与方法
（溶媒／投与形態）</th><th>投与期間</th><th>投与量
（mg/kg）</th><th>性別及び
動物数／群</th><th>MTD
（mg/kg）</th><th>特記すべき所見</th><th>試験
番号</th></tr>
<tr><td>ラット／
SD</td><td>静脈内急速
（5 w/v% HP-β-CD
／溶液）</td><td>5 日間連日
投与後 7 日
間休薬
（QD×5）</td><td>0，1，2，
4.5</td><td>雄 4</td><td>≥4.5</td><td>一般状態：4.5 mg/kg で投与 4 及び 5 日に立毛及び蒼白（投与 6 日までに回復）．
体重：影響なし．
血液学的検査（最終投与（投与 5 日）後 1 時間及び休薬後（投与 12 日）に評価）：投与 5 日に 4.5 mg/kg でヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値並びに好中球数及び単球数の高値が，投与 12 日に 4.5 mg/kg で網赤血球数の高値が認められた．
<table>
<tr><th>投与量（mg/kg）</th><th></th><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>4.5</th></tr>
<tr><td>ヘモグロビン（g/dL）</td><td>投与 5 日</td><td>15.1</td><td>15.3</td><td>14.4</td><td>13.3*</td></tr>
<tr><td>ヘマトクリット（%）</td><td>投与 5 日</td><td>41.5</td><td>42.8</td><td>39.6</td><td>36.8*</td></tr>
<tr><td>好中球数（$10^3/\mu$ L）</td><td>投与 5 日</td><td>1.41</td><td>2.62</td><td>2.48</td><td>5.81**</td></tr>
<tr><td>単球数（$10^3/\mu$ L）</td><td>投与 5 日</td><td>0.26</td><td>0.27</td><td>0.42</td><td>0.95*</td></tr>
<tr><td>網赤血球数（$10^6/\mu$ L）</td><td>投与 12 日</td><td>0.22</td><td>0.24</td><td>0.26</td><td>0.33*</td></tr>
</table>
血液化学的検査（最終投与（投与 5 日）後 1 時間及び休薬後（投与 12 日）に評価）：投与 5 日に 2 mg/kg 以上で ALP の低値，4.5 mg/kg でアルブミンの低値及び総コレステロールの高値が，投与 12 日に 2 mg/kg で ALP の低値，4.5 mg/kg で総コレステロール，AST 及び LDH の高値が認められた．
<table>
<tr><th>投与量（mg/kg）</th><th></th><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>4.5</th></tr>
<tr><td>アルブミン（g/dL）</td><td>投与 5 日</td><td>4.2</td><td>4.1</td><td>3.9</td><td>3.3</td></tr>
<tr><td>A/G 比</td><td>投与 5 日</td><td>2.2</td><td>1.8</td><td>1.7</td><td>1.4</td></tr>
<tr><td>総コレステロール（mg/dL）</td><td>投与 5 日</td><td>53</td><td>56</td><td>69</td><td>105</td></tr>
<tr><td></td><td>投与 12 日</td><td>66</td><td>63</td><td>63</td><td>86</td></tr>
<tr><td>ALP（U/L）</td><td>投与 5 日</td><td>289</td><td>244</td><td>185</td><td>114</td></tr>
<tr><td></td><td>投与 12 日</td><td>323</td><td>265</td><td>224</td><td>255</td></tr>
<tr><td>AST（U/L）</td><td>投与 12 日</td><td>89</td><td>92</td><td>121</td><td>567</td></tr>
<tr><td>LDH（U/L）</td><td>投与 12 日</td><td>456</td><td>388</td><td>536</td><td>3495</td></tr>
</table>
プロテアソーム活性：
［2.6.3.2］に記載した．</td><td>TR-
0020-
171</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td>週 2 回（週
の 1 及び 4
日目）投与
を 2 週
（BIW×2）</td><td>0，2
4.5，9</td><td>雄 4</td><td>≥9</td><td>一般状態：投与 4 日；9 mg/kg の 1 例で呼吸困難を伴う眼及び鼻周囲赤色汚染（投与 6 日までに回復），投与 8 日；4.5 mg/kg 以上で立毛，9 mg/kg の 1 例で被毛の乱れ，投与 11 日；9 mg/kg で呼吸促迫．
体重：影響なし．</td><td></td></tr>
</table>

*p<0.05，**p<0.01：対照群に対する検定

2.6.7.6 反復投与毒性試験　　重要な試験以外の試験（続き）

<table>
<tr><th>動物種／
系統</th><th>投与方法
（溶媒／投与形態）</th><th>投与期間</th><th>投与量
（mg/kg）</th><th>性別及び
動物数／群</th><th>MTD
（mg/kg）</th><th>特記すべき所見</th><th>試験
番号</th></tr>
<tr><td>（続き）
ラット／
SD</td><td>静脈内急速
（5 w/v% HP-β-CD
／溶液）</td><td>週 2 回（週の 1 及び 4 日目）投与を 2 週
（BIW×2）</td><td>0，2
4.5，9</td><td>雄 4</td><td></td><td>血液学的検査（2 回目投与後 1 日（投与 5 日）と最終投与後 1 日（投与 12 日）に評価）：投与 5 及び 12 日に 9 mg/kg で赤血球数及びヘモグロビン濃度の低値が認められ，投与 12 日にヘマトクリット値の低値も認められた．また，4.5 mg/kg で単球数の高値が，4.5 mg/kg 以上で好中球数の高値が認められた．
<table>
<tr><th>投与量（mg/kg）</th><th></th><th>0</th><th>2</th><th>4.5</th><th>9</th></tr>
<tr><td>赤血球数（$10^6/\mu L$）</td><td>投与 5 日</td><td>6.57</td><td>6.60</td><td>6.37</td><td>5.67*</td></tr>
<tr><td></td><td>投与 12 日</td><td>7.24</td><td>7.17</td><td>6.59</td><td>5.54***</td></tr>
<tr><td>ヘモグロビン（g/dL）</td><td>投与 5 日</td><td>13.8</td><td>13.6</td><td>13.5</td><td>11.8**</td></tr>
<tr><td></td><td>投与 12 日</td><td>14.7</td><td>14.6</td><td>13.5</td><td>11.3***</td></tr>
<tr><td>ヘマトクリット（%）</td><td>投与 12 日</td><td>40.4</td><td>40.4</td><td>37.9</td><td>32.2**</td></tr>
<tr><td>好中球数（$10^3/\mu L$）</td><td>投与 5 日</td><td>0.82</td><td>3.03</td><td>6.15***</td><td>5.41**</td></tr>
<tr><td>単球数（$10^3/\mu L$）</td><td>投与 5 日</td><td>0.10</td><td>0.53</td><td>0.89*</td><td>0.51</td></tr>
</table>
血液化学的検査（2 回目投与後 1 日（投与 5 日）と最終投与後 1 日（投与 12 日）に評価）：投与 5 日に 2 mg/kg 以上でアルブミンの低値，9 mg/kg で血中尿素窒素及びクレアチニンの高値，ALP 及びカルシウムの低値が，投与 12 日に 9 mg/kg でアルブミン，ALP，カルシウム及び無機リンの低値が認められた．
<table>
<tr><th>投与量（mg/kg）</th><th></th><th>0</th><th>2</th><th>4.5</th><th>9</th></tr>
<tr><td>アルブミン（g/dL）</td><td>投与 5 日</td><td>4.1</td><td>3.8</td><td>3.5</td><td>3.1</td></tr>
<tr><td></td><td>投与 12 日</td><td>4.2</td><td>4.3</td><td>4.2</td><td>3.1</td></tr>
<tr><td>A/G 比</td><td>投与 5 日</td><td>1.9</td><td>1.8</td><td>1.5</td><td>1.6</td></tr>
<tr><td>血中尿素窒素（mg/dL）</td><td>投与 5 日</td><td>18</td><td>15</td><td>16</td><td>54</td></tr>
<tr><td>クレアチニン（mg/dL）</td><td>投与 5 日</td><td>0.12</td><td>0.11</td><td>0.15</td><td>0.25</td></tr>
<tr><td>ALP（U/L）</td><td>投与 5 日</td><td>240</td><td>181</td><td>186</td><td>120</td></tr>
<tr><td></td><td>投与 12 日</td><td>241</td><td>226</td><td>204</td><td>127</td></tr>
<tr><td>カルシウム（mg/dL）</td><td>投与 5 日</td><td>10.0</td><td>9.9</td><td>9.8</td><td>8.9</td></tr>
<tr><td></td><td>投与 12 日</td><td>12.6</td><td>13.3</td><td>12.5</td><td>11.7</td></tr>
<tr><td>無機リン（mg/dL）</td><td>投与 12 日</td><td>10.8</td><td>11.6</td><td>9.7</td><td>8.5</td></tr>
</table>
プロテアソーム活性：
［2.6.3.2］に記載した．</td><td>TR-0020-171</td></tr>
</table>

*p<0.05，**p<0.01，***p<0.001：対照群に対する検定

2.6.7.6 反復投与毒性試験　　重要な試験以外の試験（続き）

<table>
<tr><th>動物種／系統</th><th>投与方法（溶媒／投与形態）</th><th>投与期間</th><th>投与量（mg/kg）</th><th>性別及び動物数／群</th><th>MTD（mg/kg）</th><th>特記すべき所見</th><th>試験番号</th></tr>
<tr><td>ラット／SD</td><td>静脈内急速（50 mmol/L クエン酸ナトリウム（pH 3.05）に溶解した 10 w/v%HP-β-CD／溶液）</td><td>週 5 日間連日投与（QD×5）を 3 週 [a]</td><td>0，2，4，6</td><td>雄 4</td><td>4</td><td>
死亡例：6 mg/kg で 2 回目投与後に 1/4 例死亡．
一般状態：4 mg/kg で被毛の乱れ，立毛，蒼白及び一過性の呼吸困難，6 mg/kg では，立毛，蒼白，嗜眠及び脱水症状が認められた．
体重：2 mg/kg 以上で投与期間中に減少したが，減少量は投与開始時体重の 10%を超えず，各週の投与期間終了後に回復した．
<table>
<tr><td>投与量（mg/kg）</td><td>0</td><td>2</td><td>4</td><td>6</td></tr>
<tr><td>投与 19 日（%[b]）</td><td>349.6 g</td><td>-19***</td><td>-21***</td><td>-20***</td></tr>
</table>
血液学的検査（投与 12 日と投与 19 日に評価）：投与 12 及び 19 日に 2 及び 4 mg/kg で血小板数の低値，4 mg/kg で赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値並びに網赤血球数の高値が，投与 19 日に 2 mg/kg で網赤血球数の高値，4 mg/kg で好中球数の高値が認められた．6 mg/kg では投与 12 及び 19 日に赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値，投与 19 日に血小板数の低値も認められた．
<table>
<tr><td>投与量（mg/kg）</td><td></td><td>0</td><td>2</td><td>4</td><td>6</td></tr>
<tr><td>赤血球数（$10^6/\mu L$）</td><td>投与 12 日</td><td>7.16</td><td>7.01</td><td>6.19**</td><td>5.78***</td></tr>
<tr><td></td><td>投与 19 日</td><td>7.13</td><td>6.62</td><td>5.48***</td><td>5.36***</td></tr>
<tr><td>ヘモグロビン（g/dL）</td><td>投与 12 日</td><td>16.0</td><td>15.0</td><td>13.7***</td><td>12.7***</td></tr>
<tr><td></td><td>投与 19 日</td><td>15.0</td><td>14.0</td><td>12.6***</td><td>12.0***</td></tr>
<tr><td>ヘマトクリット（%）</td><td>投与 12 日</td><td>42.4</td><td>41.0</td><td>38.1*</td><td>34.8***</td></tr>
<tr><td></td><td>投与 19 日</td><td>41.2</td><td>38.8</td><td>35.1***</td><td>32.6***</td></tr>
<tr><td>網赤血球数（$10^6/\mu L$）</td><td>投与 12 日</td><td>0.22</td><td>0.29</td><td>0.57***</td><td>0.32</td></tr>
<tr><td></td><td>投与 19 日</td><td>1.24</td><td>2.88***</td><td>5.20***</td><td>1.74</td></tr>
<tr><td>血小板数（$10^3/\mu L$）</td><td>投与 12 日</td><td>659</td><td>261*</td><td>219*</td><td>938</td></tr>
<tr><td></td><td>投与 19 日</td><td>1089</td><td>389***</td><td>178***</td><td>614*</td></tr>
<tr><td>好中球数（$10^3/\mu L$）</td><td>投与 19 日</td><td>0.49</td><td>0.56</td><td>0.64*</td><td>0.49</td></tr>
</table>
血液化学的検査（投与 12 日と投与 19 日に評価）：影響なし．
</td><td>TR-0007-171</td></tr>
</table>

*p<0.05，**p<0.01，***p<0.001：対照群に対する Bonferroni 検定

a：6 mg/kg については，死亡例がみとめられたため，投与 1 週目は 3 日間，投与 2 及び 3 週目は 2 日間の投与とした．

b：対照群は平均値を示す．投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）．

2.6.7.6 反復投与毒性試験 重要な試験以外の試験（続き）

動物種／系統	投与方法（溶媒／投与形態）	投与期間	投与量（mg/kg）	性別及び動物数／群	MTD（mg/kg）	特記すべき所見	試験番号
（続き） ラット／SD	静脈内急速（50 mmol/L クエン酸ナトリウム（pH 3.05）に溶解した 10 w/v%HP-β-CD／溶液）	週 5 日間連日投与（QD ×5）を 3 週 [a]	0，2，4，6	雄 4		病理組織学的検査： 2 mg/kg 以上；筋原線維の萎縮を伴う心筋の細胞密度増加，肺，投与部位及び腸間膜脂肪の炎症. 4 mg/kg 以上；腸間膜脂肪及び脂肪髄の脂肪細胞変性を伴う炎症 6 mg/kg；骨髄の血管内フィブリン血栓を伴う脂肪髄の炎症，壊死性動脈炎及び多巣性から融合性の肝細胞壊死を伴う肝臓の好中球性-単核球性炎症，大腸粘膜固有層の好中球性-単核球性炎症. 2 及び 4 mg/kg；膵臓の腺房細胞壊死.	TR-0007-171

a：6 mg/kg については，死亡例がみとめられたため，投与 1 週目は 3 日間，投与 2 及び 3 週目は 2 日間の投与とした.

2.6.7.7　反復投与毒性試験

2.6.7.7A　1カ月間反復投与毒性試験　　被験物質：カルフィルゾミブ

報告書の題名：A 4-Week Repeat Dose Intravenous Toxicity Study of PR-171 in Rats

動物種／系統：ラット／SD
試験開始年齢：7～10 週齢
初回投与年月日：20[redacted] 年 1 月 20 日
（対照，2，4 及び 6 mg/kg）
20[redacted] 年 3 月 21 日
（0.5 及び 1 mg/kg）

投与期間：1 カ月間（5 日間連日投与後，9 日間休薬するサイクルを 2 回繰り返し）
休薬期間：2 サイクル終了後に 2 週間の回復期間
投与方法：静脈内急速
溶媒／投与形態：10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液

試験番号：TR-0014-171
CTD における記載箇所：［4.2.3.2-4］
GLP 適用：適

特記事項：・2 サイクル目の最終投与後及び 2 サイクル終了後に剖検し，対照，2，4 及び 6 mg/kg については 2 サイクル終了後の 2 週間回復期間後にも剖検した．
・サテライト動物を用いて血漿中カルフィルゾミブ濃度（投与 1 及び 19 日（2 サイクル目の最終投与日）：投与前，投与後 15 分，1 及び 24 時間）を試験番号 TR-0016-171 にて測定した．
・サテライト動物を用いて血中及び組織中のプロテアソーム活性を TR-0015-171 にて測定し，その結果は［2.6.3.2］に記載した．また，肝ミクロソーム中の CYP 含量及び CYP 活性を試験番号 TR-0042-171 にて測定し，その結果は［2.6.5.14.5］に記載した．

MTD：0.5 mg/kg

投与量（mg/kg）	0（対照）		0.5		1		2		4		6	
動物数　サテライト動物	M:8	F:8	M:8	F:8	M:8	F:8	M:8	F:8	M:8	F:8	M:8	F:8
トキシコキネティクス												
C15min（ng/mL）[a]												
投与 1 日（初回投与）			2	2	4	5	21	20	59	40	74	52
投与 19 日（2 サイクル目の最終投与）			3	2	6	6	10	8	17	13	19	18
死亡又は切迫剖検例	0	0	0	0	1[c]	0	0	1	2	3	3	5
剖検[b]　心臓：変色（又は退色）								0	2	3	3	2
心膜：肥厚								0	1	0	0	0
心嚢液貯留								0	0	2	0	0
肺：　変色（又は赤色化）								1	1	2	2	0
液貯留								0	1	1	0	0
胸腔：胸水貯留								1	1	3	3	3

a：血漿中カルフィルゾミブ濃度は投与後速やかに低下したため，AUC は算出しなかった．
b：所見の認められた動物数　　c：眼球（眼窩採血部位）傷害のため投与 12 日に安楽死させ，剖検は実施しなかった．

2.6.7.7A　　1カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0014-171（続き）

投与量（mg/kg）	0（対照）		0.5		1		2		4		6	
動物数　毒性群（主群+回復群）	M:13	F:13	M:10	F:10	M:10	F:10	M:13	F:13	M:13	F:13	M:13	F:13
特記すべき所見												
死亡例	0	0	0	0	1	0	0	1	2	1	1	1
投与5日[a]の生存例	13	13	10	10	10	10	13	12	11	13	12	12
一般状態[bc]												
摂餌減少	0	0	0	0	0	0	0	1	7	4	12	12
糞量減少	0	0	0	0	0	0	0	0	8	4	12	11
会陰部汚染	0	0	0	0	0	0	0	0	7	2	12	12
体重（%[d]）												
投与5日　1サイクル目の最終投与時	282 g	200 g	-	-	-	-	-	-	-15**	-10**	-21**	-13**
投与14日　1サイクル終了時	336 g	225 g	-	-	-	-	-	-	-	-	-10**	-
投与19日　2サイクル目の最終投与時	358 g	238 g	-	-	-	-	-	-	-10*	-5	-20**	-9**
投与26日　2サイクル終了時	391 g	258 g	-	-	-	-	-	-	-	-	-10*	-
摂餌量（%[d]）												
投与1～8日　1サイクル目	103 g/kg/day	106 g/kg/day	-	-	-	-	-	-	-32**	-40**	-40**	-38**
投与8～14日　1サイクル終了時	83 g/kg/day	84 g/kg/day	-	-	-	-	-	-	+22**	+19*	+28**	+32**
投与14～22日　2サイクル目	63 g/kg/day	78 g/kg/day	-	-	-	-	-	-	-16*	-18*	-21*	-21*
投与22～29日　2サイクル終了時	81 g/kg/day	86 g/kg/day	-	-	-	-	-	-	-9	+15*	+27	+20**
FOB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし.
*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel／Bonferroni 検定
a：1サイクル目の最終投与時
b：所見の認められた動物数
c：1サイクル目に一部の動物で自発運動減少及び呼吸促迫も認められた.
d：対照群は平均値を示す．投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）.

2.6.7.7A　　1カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0014-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2		4		6	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:13	F:13	M:10	F:10	M:10	F:10	M:13	F:13	M:13	F:13	M:13	F:13
血液学的検査													
2サイクル目の最終投与後	評価動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	5	5
赤血球数（$10^6/\mu L$）		7.89	8.02	-	-	-	-	-	-	6.86*	6.93**	5.75**	5.93**
ヘモグロビン（g/dL）		15.6	15.4	-	-	-	-	-	-	13.9*	13.9*	11.7**	12.4**
ヘマトクリット（%）		48.8	47.5	-	-	-	-	-	-	44.7	43.9	38.0**	39.6**
MCV（fL）		61.8	59.2	-	-	-	-	-	-	65.3*	63.5**	66.6**	66.7**
MCH（pg）		19.8	19.2	-	-	-	-	-	-	20.2	20.1	20.5	20.8**
MCHC（g/dL）		32.1	32.5	-	-	-	-	-	-	31.0*	31.7*	30.7**	31.2**
赤血球分布幅（%）		12.5	12.0	-	-	-	-	-	-	14.6**	14.8**	16.4**	17.5**
血小板数（$10^3/\mu L$）		866	758	-	-	-	-	645**	-	597**	648	359**	530*
平均血小板容積（fL）		8.2	8.6	-	-	-	-	11.0	10.1**	13.4**	12.1**	16.6**	12.5**
単球数（$10^3/\mu L$）		0.23	0.17	-	-	-	-	-	-	-	-	0.60**	0.48**
好酸球数（$10^3/\mu L$）		0.12	0.24	-	-	-	-	-	-	0.02**	0.04**	0.03**	0.03**
2サイクル終了後	評価動物数	5	5	5	5	4	5	5	4	4	5	5	5
赤血球数（$10^6/\mu L$）		8.46	8.46	-	-	-	-	-	-	7.32**	6.99**	7.27**	7.28**
MCV（fL）		57.4	56.8	-	-	-	-	59.9*	-	66.6**	66.0**	66.7**	64.6**
MCH（pg）		18.8	18.8	-	-	-	-	-	-	20.8**	21.3**	20.7**	21.0**
MCHC（g/dL）		32.8	33.0	-	-	-	-	32.1*	-	31.2**	32.2*	31.0**	32.5*
赤血球分布幅（%）		12.8	12.2	-	-	-	-	13.9**	13.3*	15.2**	14.2**	15.6**	14.5**
平均血小板容積（fL）		7.9	7.9	-	-	-	-	-	-	8.8**	8.5**	9.1**	8.8**
網赤血球数（$10^9/L$）		168.0	166.9	-	-	-	-	333.9**	257.7	475.7**	438.4**	476.6**	273.7
回復群	評価動物数	3	3	NA	NA	NA	NA	3	2	2	2	2	2
		-	-					-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし.　　NA：評価対象動物なし.

*p≤0.05,　**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel／Bonferroni 検定

2.6.7.7A　　1カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0014-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2		4		6	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:13	F:13	M:10	F:10	M:10	F:10	M:13	F:13	M:13	F:13	M:13	F:13
血液凝固検査													
2サイクル目の最終投与後	評価動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	5	4
フィブリノーゲン（mg/dL）		310	250	-	-	-	-	-	-	504*	-	455*	487**
2サイクル終了後	評価動物数	5	5	5	5	4	5	5	3	4	5	5	5
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
回復群	評価動物数	3	3	NA	NA	NA	NA	3	2	2	2	2	2
		-	-					-	-	-	-	-	-
血液化学的検査													
2サイクル目の最終投与後	評価動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	5	5
アルブミン（g/dL）		3.7	3.9	-	-	-	-	-	-	-	-	3.3*[a]	-
グロブリン（g/dL）		2.6	2.8	-	-	-	-	-	-	-	-	2.5[a]	-
血中尿素窒素（mg/dL）		12.2	15.1	-	-	-	-	-	-	16.8*	-	38.2**[a]	-
総コレステロール（mg/dL）		45	60	-	-	-	-	77**	117**	72**	103**	101**	123**
トリグリセリド（mg/dL）		31	22	-	-	-	-	-	-	-	-	153*[a]	48**
ALP（U/L）		234	117	-	-	-	-	185**	-	165**	86*	133**	88*
AST（U/L）		104	109	-	-	-	-	-	79*	63*	68**	161*[a]	58**
ALT（U/L）		49	81	-	-	-	-	-	-	28*	30*	38*	24**
2サイクル終了後	評価動物数	5	5	5	5	4	5	5	5	4	5	5	5
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
回復群	評価動物数	3	3	NA	NA	NA	NA	3	2	2	2	2	2
		-	-					-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし.　　NA：評価対象動物なし.

*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel／Bonferroni 検定

a：1例に中等度の AST の高値，高度な血中尿素窒素の高値，トリグリセリドの高値並びにアルブミン及びグロブリンの低値が認められた.

2.6.7.7A　　1 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0014-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2		4		6	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:13	F:13	M:10	F:10	M:10	F:10	M:13	F:13	M:13	F:13	M:13	F:13
尿検査													
2 サイクル目の最終投与後	評価動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 サイクル終了後	評価動物数	5	5	5	5	4	5	5	5	3	5	5	5
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
回復群	評価動物数	3	3	NA	NA	NA	NA	3	2	2	2	2	2
		-	-					-	-	-	-	-	-
器官重量（%[a]）													
2 サイクル目の最終投与後	評価動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
肝臓													
実重量		11.2837 g	7.1996 g	-	-	-	-	-	-	-	+32*	+26	+68**
体重に対する相対重量		3.2932%	3.3754%	-	-	-	-	-	-	-	+37**	+60**	+76**
胸腺													
実重量		0.4938 g	0.5396 g	-	-	-	-	-	-	-27	-35**	-62**	-54**
体重に対する相対重量		0.1435%	0.2535%	-	-	-	-	-	-	-17	-32*	-51**	-53**
2 サイクル終了後	評価動物数	5	5	5	5	4	5	5	5	4	5	5	5
脾臓													
実重量		0.7101 g	0.4903 g	-	-	-	-	-	-	+52**	+59**	+46**	+27*
体重に対する相対重量		0.1926%	0.2078%	-	-	-	-	-	-	+64**	+54**	+64**	+36**
回復群	評価動物数	3	3	NA	NA	NA	NA	3	2	2	2	2	2
		-	-					-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし.　　NA：評価対象動物なし.

*p≤0.05, **p≤0.01：対照群に対する Dunnett 検定

a：対照群は平均値を示す．投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値又は相対重量に基づく（%ではない）.

2.6.7.7A　　1カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0014-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2		4		6	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:13	F:13	M:10	F:10	M:10	F:10	M:13	F:13	M:13	F:13	M:13	F:13
剖検 [a]													
死亡例	評価動物数					1			1	2	1	1	1
心臓：退色						0			0	0	1	0	0
心膜：赤色化						0			0	0	0	0	1
肥厚						0			0	0	0	0	1
心嚢液貯留						0			0	1	0	0	0
肺：　赤色化						1			0	0	0	0	1
胸腔：胸水貯留						0			0	2	1	0	1
2サイクル目の最終投与後	評価動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
心臓：赤色化		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
肺：　赤色化		0	0	0	0	2	1	0	0	1	0	4	1
胸腔：胸水貯留		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
脾臓：腫大		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
胃：　赤色化		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
肝臓：腫大		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
2サイクル終了後	評価動物数	5	5	5	5	4	5	5	5	4	5	5	5
心臓：白色化		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
脾臓：腫大		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
回復群	評価動物数	3	3	NA	NA	NA	NA	3	2	2	2	2	2
		-	-					-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし.　　NA：評価対象動物なし.
a：所見の認められた動物数

2.6.7.7A　　1カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0014-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2		4		6	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:13	F:13	M:10	F:10	M:10	F:10	M:13	F:13	M:13	F:13	M:13	F:13
病理組織学的検査 [a]													
死亡例	評価動物数					1			1	2	1	1	1
心臓													
心筋症 [b]	2～3+					0			0	1	1	0	1
心筋のうっ血	1+					0			0	1	0	0	0
心外膜のうっ血あるいは出血	3+					0			0	1	0	0	0
弁細胞密度増加	1+					1			0	0	0	0	1
肺													
間質性炎症	1+					1			1	1	0	1	0
出血	1+					0			0	1	0	1	0
2サイクル目の最終投与後	評価動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
心臓													
心筋症 [b]	±～3+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	1	2	3
心筋萎縮／菲薄	1+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	0	0	1
線維化	1+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	1	0	0
弁細胞密度増加	1+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	1	1	1	0
肺													
間質性炎症	±～1+	0	0	0	0	1	3	2	4	5	5	5	5
出血	1+	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0
	2+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
胃													
潰瘍	1+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	1	0	0	0
腺胃の粘膜壊死（出血を伴う）	3+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	0	1	0
腺胃の再生性上皮過形成（炎症細胞浸潤，腺拡張を伴う）	2+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	0	1	1

±：ごく軽度，1+：軽度，2+：中等度，3+：高度　　NE：評価せず.

a：所見の認められた動物数

b：心筋症（心外膜及び心筋のうっ血，出血，壊死，鉱質沈着）

2.6.7.7A　　1カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0014-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2		4		6	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:13	F:13	M:10	F:10	M:10	F:10	M:13	F:13	M:13	F:13	M:13	F:13
病理組織学的検査 [a]													
2サイクル目の最終投与後	評価動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
小腸（十二指腸，空腸又は回腸）													
上皮過形成	±～1+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	3	0	5	5
大腸（結腸，盲腸又は直腸）													
上皮過形成	±～2+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	1	4	5	5
粘膜のうっ血あるいは出血	1+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	0	1	0
粘膜下／粘膜出血	±	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	0	1	0
肝臓													
小葉周辺性肝細胞肥大	±～1+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	5	5	5
肝細胞分裂像の増加	±～2+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	2	0	2	4
肝細胞アポトーシス	±	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	0	0	3
膵臓													
腺房萎縮	±～1+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	4	0	5	3
アポトーシス増加	±～2+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	2	0	3
脾臓													
辺縁帯の減少あるいは	±	0	0	NE	NE	0	0	3	2	2	4	0	2
その細胞密度の変化	1+	0	0	NE	NE	0	0	0	0	3	0	2	3
	2+	0	0	NE	NE	0	0	0	0	0	0	3	0
髄外造血亢進	±～3+	0	0	NE	NE	0	0	0	0	3	0	2	0
胸骨骨髄													
巨核球増加	±～1+	0	0	0	0	4	5	5	5	5	5	5	5
大腿骨骨髄													
巨核球増加	±～1+	0	0	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	5	5
胸腺													
リンパ球枯渇	±～3+	0	0	NE	NE	NE	NE	NE	NE	1	0	5	3

±：ごく軽度，1+：軽度，2+：中等度，3+：高度　　NE：評価せず.
a：所見の認められた動物数

2.6.7.7A　　1カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0014-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2		4		6	
動物数（毒性群）（主群+回復群）		M:13	F:13	M:10	F:10	M:10	F:10	M:13	F:13	M:13	F:13	M:13	F:13
病理組織学的検査[a]（続き）													
2サイクル終了後	評価動物数	5	5	5	5	4	5	5	5	4	5	5	5
心臓													
心筋萎縮／菲薄	1+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	0	0	1
線維化	1+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	3	0	1
弁細胞密度増加	1+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	1	1	0
心筋肥大	1+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	0	0	1
心筋浮腫	±	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	0	0	1
膵臓													
腺房萎縮	1+	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	1	0	0
アポトーシス増加	±	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0	0	0	0	1
脾臓													
辺縁帯の減少あるいは	±	0	0	NE	NE	0	0	1	0	1	0	0	3
その細胞密度の変化	1+	0	0	NE	NE	0	0	0	0	2	0	4	0
	2+	0	0	NE	NE	0	0	0	0	0	0	0	1
髄外造血亢進	±～2+	0	0	NE	NE	0	0	0	0	0	0	3	0
胸腺													
リンパ球融解	±	0	0	NE	NE	NE	NE	NE	NE	0	0	2	0
回復群	評価動物数	3	3	NA	NA	NA	NA	3	2	2	2	2	2
脾臓													
辺縁帯の減少あるいは	±	0	0					3	1	1	0	0	2
その細胞密度の変化	1+	0	0					0	0	0	0	1	0

±：ごく軽度，1+：軽度，2+：中等度　　NA：評価対象動物なし.　　NE：評価せず.

a：所見の認められた動物数

2.6.7.7B　　6 カ月間反復投与毒性試験　　被験物質：カルフィルゾミブ

報告書の題名：A 3/6 Month Intravenous Toxicity Study of Carfilzomib in Rats with an 8-Week Recovery Period

動物種／系統：ラット／SD
試験開始年齢：約 8 週齢
初回投与年月日：20[redacted] 年 9 月 11 日

投与期間：6 カ月間（週 2 回（週の 1 及び 2 日目）の 3 週間投与後，1 週間休薬[a]するサイクルを 6 回繰り返し）
休薬期間：6 サイクル終了後に 8 週間の回復期間
投与方法：静脈内急速
溶媒／投与形態：10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液

試験番号：TR-0072-171
CTD における記載箇所：［4.2.3.2-5］
GLP 適用：適

特記事項：・3 サイクル終了後，6 サイクル目の最終投与後及び 6 サイクル終了後の 8 週間回復期間後に剖検した．
・サテライト動物を用いて血漿中カルフィルゾミブ，代謝物 M14，M15 及び M16 濃度（投与 1，57（3 サイクル目の初回投与日）及び 142 日（6 サイクル目の初回投与日[a]）：投与前，投与後 5，15，30 分及び 1 時間）を測定した．
・サテライト動物を用いて血中のプロテアソーム活性を測定し，その結果は［2.6.3.2］に記載した．肝ミクロソーム中の CYP 活性及び CYP mRNA 発現量を試験番号 TR-0196-171 にて測定し，その結果は［2.6.5.14.6］に記載した．薬物動態パラメータを試験番号 TR-0251-171 にて算出し，その結果は［2.6.5.4.2］に記載した．また，血漿中の代謝物を試験番号 TR-0271-171 にて検索し，その結果は［2.6.5.9］に記載した．

MTD：1 mg/kg

投与量（mg/kg）	0（対照）		1		2		4	
動物数　サテライト動物	M:0	F:0	M:8	F:8	M:8	F:8	M:8[c]	F:8[c]
トキシコキネティクス								
C0（ng/mL）[b]								
投与 1 日（初回投与）			527	489	1319	1081	3024	2915
投与 142 日（6 サイクル目の初回投与）			996	908	2301	2116	1921	2171
C5min（ng/mL）								
投与 1 日			146	128	341	278	809	721
投与 142 日			258	204	519	466	729	636
C15min（ng/mL）								
投与 1 日			11.2	8.77	22.8	18.4	57.9	44.1
投与 142 日			18.4	10.3	26.4	22.6	105	54.6
AUClast（ng·min/mL）								
投与 1 日			2637	2311	6360	5178	14728	13599
投与 142 日			4741	4027	10215	9281	12262	11318

a：5 サイクル目の休薬期間を 1 週間から 8 日間に変更し，6 サイクル目の初回投与日を投与 141 日から投与 142 日に，最終投与後の剖検日を投与 157 日から投与 158 日に変更した．　b：計算値　c：3 から 5 サイクル目に雄 2 例及び雌 1 例が死亡，雄 1 例を切迫剖検したため，投与 142 日は雄 5 例及び雌 7 例での評価．

2.6.7.7B　　6 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0072-171（続き）

投与量（mg/kg）	0（対照）		1		2		4	
動物数　毒性群（主群+回復群）	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
特記すべき所見								
死亡又は切迫剖検例数	0	0	1[d]	0	3	0	10	6
一般状態[a]								
摂餌減少	0	0	1	0	1	0	25	25
糞量減少	0	1	1	2	3	1	25	25
会陰部汚染	0	0	1	0	1	0	13	7
自発運動減少	0	0	0	0	4	2	24	23
色素涙	1	0	1	0	1	0	6	23
削痩	0	0	0	0	1	0	5	4
円背	0	0	0	0	3	5	3	5
立毛	0	0	1	0	25	24	23	23
不規則歩行	0	0	0	0	0	0	1	0
嗜眠	0	0	0	0	0	0	4	0
労作性呼吸	0	0	0	0	1	0	3	1
体重（%[b]）								
投与 74 日（3 サイクル目）	559.2 g	289.3 g	-11**	-	-12**	-	-14**	-
投与 84 日（3 サイクル終了時）	583.2 g	295.9 g	-9**	-	-10**	-	-9**	-
投与 158 日（6 サイクル目）	713.7 g	355.7 g	-16	-	-27**	-	-20	-16
投与 168 日（6 サイクル終了時）[c]	733.2 g	366.4 g	-14	-	-20*	-	-14	-14
投与 223 日（8 週間回復期間終了時）[c]	809.8 g	416.2 g	-11	-	-19	-	-8	-19
体重増加量（%[b]）								
投与開始前～投与 168 日（6 サイクル終了時）[c]	428.7 g	164.8 g	-24*	-	-33*	-	-27*	-22

-：特記すべき所見なし.
*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定
a：所見の認められた動物数
b：対照群は平均値を示す．投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）.
c：3～5 例での評価　　d：外傷性の骨折（上顎及び口蓋骨）のため投与 77 日に切迫剖検.

2.6.7.7B　　6 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0072-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		1		2		4	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
摂餌量（%[a]）									
投与 57～63 日（3 サイクル目）		31.5 g/day	21.1 g/day	-9*	-	-18**	-10**	-32**	-9**
投与 78～84 日（3 サイクル終了時）		33.8 g/day	23.3 g/day	-2	-	+1	+6	+10**	+11*
投与 148～154 日（6 サイクル目）		31.9 g/day	22.6 g/day	-11*	-	-8*	-6	-13*	-1
投与 162～168 日（6 サイクル終了時）[b]		34.9 g/day	26.4 g/day	-3	-	+1	0	+13	-4
FOB		-	-	-	-	-	-	-	-
眼科学的検査		-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査									
3 サイクル終了後	評価動物数	10	10	9	8	9	10	9	8
赤血球数（$10^6/\mu L$）		8.30	7.60	-	-	-	7.20*	7.11**	6.76**
MCV（fL）		51.6	53.4	-	-	54.3**	56.7**	61.2**	60.7**
MCH（pg）		18.3	19.2	-	-	-	20.2**	21.0**	21.4**
MCHC（g/dL）		35.5	36.0	-	-	34.7**	-	34.3**	35.2**
網赤血球数（10^9/L）		222.2	154.2	292.6*	228.9**	263.5*	203.6**	304.3**	254.6**
6 サイクル目の最終投与後	評価動物数	10	10	10	10	10	10	3	8
赤血球数（$10^6/\mu L$）		8.25	7.51	-	-	-	-	6.91**	6.93**
ヘモグロビン（g/dL）		14.2	14.1	15.0*	-	15.1*	-	-	-
ヘマトクリット（%）		40.8	40.0	44.0**	-	45.3**	-	-	42.1*
MCV（fL）		49.5	53.3	52.1*	55.0*	54.9**	56.4**	58.3**	60.8**
MCH（pg）		17.2	18.8	17.8*	-	18.3**	-	19.4**	20.5**
MCHC（g/dL）		34.7	35.3	34.2*	34.4**	33.4**	33.9**	33.3**	33.7**
網赤血球数（10^9/L）		262.1	193.6	-	-	340.1**	-	400.6**	328.5**
血小板数（$10^3/\mu L$）		1282	1102	922**	909*	1020**	629**	607**	570**

-：特記すべき所見なし.
*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel 検定
a：対照群は平均値を示す．投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）.
b：3～5 例での評価.

2.6.7.7B　　6 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0072-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		1		2		4	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
血液学的検査（続き）									
6 サイクル目の最終投与後	評価動物数	10	10	10	10	10	10	3	8
白血球数（$10^3/\mu L$）		9.61	6.39	-	-	-	-	15.90**	9.07*
好中球数（$10^3/\mu L$）		1.67	1.04	3.36**	1.92**	2.95**	1.82**	8.67**	3.07**
単球数（$10^3/\mu L$）		0.31	0.21	0.57**	0.44**	0.95**	0.56**	1.06**	0.83**
好酸球数（$10^3/\mu L$）		0.17	0.11	0.12**	-	0.10**	-	0.01**	0.06*
回復群	評価動物数	5	5	5	5	3	5	3	3
赤血球数（$10^6/\mu L$）		8.05	7.55	-	8.08*	-	8.28*	-	7.98*
ヘモグロビン（g/dL）		14.6	14.1	-	14.7*	-	15.3**	-	14.9**
ヘマトクリット（%）		43.2	41.1	-	43.1*	-	44.0*	-	42.4*
網赤血球数（10^9/L）		278.6	189.2	-	129.2**	-	123.5**	-	131.5**
好中球数（$10^3/\mu L$）		2.00	1.33	-	-	-	-	-	2.34*
単球数（$10^3/\mu L$）		0.46	0.29	-	0.40	-	0.40	-	0.51
血液凝固検査									
3 サイクル終了後	評価動物数	10	10	9	7	9	10	9	8
		-	-	-	-	-	-	-	-
6 サイクル目の最終投与後	評価動物数	10	10	10	10	10	10	3	7
フィブリノーゲン（mg/dL）		306	207	375**	-	497**	295**	650**	433**
回復群	評価動物数	4	5	5	5	3	5	3	3
		-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし.
*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel 検定

2.6.7.7B　　6 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0072-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		1		2		4	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
血液化学的検査									
3 サイクル終了後	評価動物数	10	10	9	10	9	10	9	8
総タンパク（g/dL）		6.5	7.2	-	-	-	-	-	6.8*
アルブミン（g/dL）		3.6	4.2	-	-	-	-	-	3.9*
無機リン（mg/dL）		6.8	6.1	7.7*	7.1*	7.9**	7.0*	8.5**	7.6**
グルコース（mg/dL）		126	118	-	-	102*	-	96**	-
総ビリルビン（mg/dL）		0.13	0.17	-	-	-	-	0.16*	0.22*
AST（U/L）		162	175	127*	120*	130*	110*	120*	144*
ALT（U/L）		35	47	-	39	-	32	28*	32
6 サイクル目の最終投与後	評価動物数	10	10	10	10	10	10	3	8
総タンパク（g/dL）		6.3	7.4	-	-	-	-	5.0**	5.9**
アルブミン（g/dL）		3.6	4.3	-	-	3.3**	4.0	2.8**	3.4**
グロブリン（g/dL）		2.7	3.1	-	-	-	-	2.2**	2.5**
血中尿素窒素（mg/dL）		13	13	-	-	-	-	79**	18**
クレアチニン（mg/dL）		0.3	0.3	-	-	-	-	0.7**	-
無機リン（mg/dL）		6.4	5.7	-	-	-	-	8.5**	6.6**
カリウム（mEq/L）		5.0	4.2	-	-	-	-	3.8**	3.7*
クロール（mEq/L）		103	102	-	-	105**	104**	100**	105**
AST（U/L）		124	167	93	114*	102	81**	70**	81**
ALT（U/L）		42	65	28	38**	28	24**	32	37**
ALP（U/L）		66	28	-	-	-	-	-	43*
総コレステロール（mg/dL）		76	119	-	159*	-	156*	-	147*
トリグリセライド（mg/dL）		114	72	-	-	-	-	287**	484**

-：特記すべき所見なし.
*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel 検定

2.6.7.7B　　6 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0072-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		1		2		4	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
血液化学的検査（続き）									
回復群	評価動物数	5	5	5	5	3	5	3	3
総タンパク（g/dL）		6.7	7.5	-	-	-	-	6.0**	-
アルブミン（g/dL）		3.3	3.9	-	-	-	-	3.1	-
グロブリン（g/dL）		3.4	3.5	-	-	-	-	2.9**	-
血中尿素窒素（mg/dL）		13	13	-	-	-	-	-	16*
グルコース（mg/dL）		166	126	-	-	133	-	135	-
総ビリルビン（mg/dL）		0.16	0.18	-	-	-	-	-	0.30*
AST（U/L）		136	162	-	-	-	-	-	861**
ALT（U/L）		65	56	-	-	-	-	-	508**
尿検査									
3 サイクル終了後	評価動物数	10	9	9	10	9	10	9	8
		-	-	-	-	-	-	-	-
6 サイクル目の最終投与後	評価動物数	10	10	10	9	9	8	1	7
		-	-	-	-	-	-	-	-
回復群	評価動物数	5	5	5	5	3	5	3	3
尿タンパク（>2000 mg/dL）									
及び顆粒円柱 [a]		0	0	0	0	0	0	0	1

-：特記すべき所見なし.
*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel 検定
a：所見の認められた動物数

2.6.7.7B　　6 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0072-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		1		2		4	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
器官重量（g）（%[a]）									
3 サイクル終了後	評価動物数	10	10	9	10	9	10	9	8
心臓									
実重量		1.5269 g	0.9739 g	-	-	-	-	+11	+12
体重に対する相対重量		0.2787%	0.3644%	-	-	-	-	+19*	+12**
脾臓									
実重量		0.8518 g	0.4985 g	-	-	-	+22**	+44**	+36**
体重に対する相対重量		0.1547%	0.1862%	-	-	-	+22**	+55**	+38**
腎臓									
実重量		2.9987 g	1.7939 g	-	-	-	-	+22*	-
体重に対する相対重量		0.5481%	0.6733%	-	-	-	-	+29**	-
6 サイクル目の最終投与後	評価動物数	10	10	10	10	10	10	3	8
心臓									
実重量		1.6037 g	1.0683 g	-	-	-	-	+35**	+20**
体重に対する相対重量		0.2535%	0.3297%	-	-	-	-	+53**	+28**
脾臓									
実重量		0.9255 g	0.5427 g	-	-	+16	+22*	+44	+56**
体重に対する相対重量		0.1453%	0.1678%	-	-	+33**	+44**	+65**	+65**
腎臓									
実重量		3.3084 g	1.9830 g	-	-	-	-	-	+19*
体重に対する相対重量		0.5226%	0.6136%	-	-	-	-	-	+27**
肝臓									
実重量		14.5111 g	7.7890 g	-	+25*	-	+20**	+26*	+58**
体重に対する相対重量		2.2779%	2.3984%	-	+29**	-	+41**	+44**	+67**
副腎									
実重量		0.0645 g	0.0738 g	-	-	-	-	+23	-
体重に対する相対重量		0.0103%	0.0229%	-	-	-	-	+39*	-

-：特記すべき所見なし.　　NA：評価対象なし.　　*p≤0.05, **p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定

a：対照群は平均値を示す．投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値又は相対重量に基づく（%ではない）.

2.6.7.7B　　6 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0072-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		1		2		4	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
器官重量（%[a]）（続き）									
6 サイクル目の最終投与後	評価動物数	10	10	10	10	10	10	3	8
卵巣									
実重量		NA	0.0683 g	NA	-	NA	-	NA	+41**
体重に対する相対重量		NA	0.0208%	NA	-	NA	-	NA	+53**
子宮									
実重量		NA	0.9924 g	NA	-	NA	-	NA	-44**
体重に対する相対重量		NA	0.3101%	NA	-	NA	-	NA	-41*
下垂体									
実重量		0.0128 g	0.0252 g	-	-19	-	-19*	-	-25**
体重に対する相対重量		0.0020%	0.0079%	-	-18	-	-6	-	-20
回復群	評価動物数	5	5	5	5	3	5	3	3
腎臓									
実重量		3.4916 g	2.2973 g	-	-	-	-	+48**	-
体重に対する相対重量		0.4476%	0.5799%	-	-	-	-	+60**	-

-：特記すべき所見なし．　　NA：評価対象なし．　　*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定

a：対照群は平均値を示す．投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値又は相対重量に基づく（%ではない）．

2.6.7.7B　　6 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0072-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		1		2		4	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
剖検									
死亡又は切迫剖検例 [a]	評価動物数	0	0	1/0	0	1/2	0	4/6	4/2
胃腸管：赤色化				0/0		0/0		1/1	0/0
黒色内容物				0/0		0/0		1/0	1/0
脂肪組織：黄色化（黄疸）				0/0		0/0		0/0	2/0
腎臓：腫大				0/0		0/2		0/0	0/0
退色				0/0		0/1		1/0	0/0
3 サイクル終了後 [b]	評価動物数	10	10	9	10	9	10	9	8
腎臓：腫大		0	-	0	-	0	-	1	-
退色		0	-	0	-	0	-	1	-
6 サイクル目の最終投与後 [b]	評価動物数	10	10	10	10	10	10	3	8
心臓：腫大		0	0	0	0	0	0	1	0
腎臓：腫大		0	0	0	0	0	0	2	0
退色		0	0	0	0	0	0	1	0
肝臓：腫大		0	0	0	0	0	0	0	1
回復群	評価動物数	5	5	5	5	3	5	3	3
		-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし.
a：所見の認められた動物数（3 サイクル目までの動物数／4 サイクル目以降の動物数）
b：所見の認められた動物数

2.6.7.7B　　6 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0072-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		1		2		4	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
病理組織学的検査									
死亡又は切迫剖検例 [a]	評価動物数			1/0		1/2		4/6	4/2
心臓									
心筋変性／壊死	±～2+			0/0		0/0		2/2	1/0
線維化	2～3+			0/0		0/1		0/2	0/1
うっ血／出血	1+			0/0		0/0		1/2	2/0
急性／亜急性炎症細胞浸潤	±～2+			0/0		0/0		3/2	1/0
血栓	1～2+			0/0		0/0		1/0	1/0
肺									
血栓	±～1+			0/0		0/0		0/1	1/0
腎臓									
糸球体腎症 [b]	±～1+			0/0		0/0		1/4	0/0
	2～4+			0/0		0/2		0/0	0/0
慢性進行性腎症	±～1+			1/0		0/0		1/0	0/2
急性尿細管壊死	2～3+			0/0		0/0		0/0	3/0
血栓	±～1+			0/0		0/0		0/0	2/0
急性梗塞	1+			0/0		0/0		0/1	0/0
胃									
出血／うっ血	±			0/0		0/0		1/0	0/0
壊死	1+			0/0		0/0		1/0	0/0
小腸（十二指腸，空腸又は回腸）									
出血／うっ血	±～2+			0/0		0/0		3/3	0/0
びらん／潰瘍	±～2+			0/0		0/0		1/1	0/0
急性／亜急性炎症細胞浸潤	±～1+			0/0		0/0		1/1	0/0
血栓	P			0/0		0/0		1/0	0/0

P：所見あり，±：ごく軽度，1+：軽度，2+：中等度，3+：高度，4+：非常に高度
a：所見の認められた動物数（3 サイクル目までの動物数／4 サイクル目以降の動物数）
b：糸球体の肥大，メサンギウムの肥厚，尿細管の拡張及び好塩基性変化

2.6.7.7B　　6 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0072-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		1		2		4	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
病理組織学的検査（続き）									
死亡又は切迫剖検例 [a]	評価動物数			1/0		1/2		4/6	4/2
大腸（盲腸，結腸又は直腸）									
出血／うっ血	±～3+			0/0		0/0		2/1	0/1
びらん／潰瘍	1+			0/0		0/0		0/1	0/0
急性／亜急性炎症細胞浸潤	1～2+			0/0		0/0		0/2	0/1
血栓	P			0/0		0/0		1/0	0/0
肝臓									
小葉周辺性肝細胞肥大	1～2+			0/0		0/0		0/0	2/2
小葉周辺性肝細胞空胞化	±～1+			0/0		1/0		1/3	2/1
クッパー細胞色素沈着 [b]	±			0/0		0/0		0/1	2/0
小葉中心性肝細胞壊死	2+			0/0		0/0		0/1	1/0
副腎									
皮質空胞化	±～2+			0/0		0/1		1/0	0/0
梗塞	3+			0/0		0/0		0/1	0/0
精巣									
梗塞	3+			0/0		0/0		0/2	NA
大腿骨骨髄									
細胞密度増加	±～1+			0/0		1/2		4/6	4/2
脾臓									
辺縁帯あるいは	±			0/0		1/0		0/0	0/0
その細胞密度の減少	1+			0/0		0/1		0/0	0/1
	2～4+			0/0		0/0		4/6	3/1
褐色色素沈着	P			0/0		0/1		0/3	0/0
腸間膜リンパ節									
肥満細胞増加	1～2+			0/0		0/0		0/1	2/1
縦隔リンパ節									
肥満細胞増加	±～1+			0/0		0/2		1/1	2/1

P：所見あり，±：ごく軽度，1+：軽度，2+：中等度，3+：高度，4+：非常に高度
a：所見の認められた動物数（3 サイクル目までの動物数／4 サイクル目以降の動物数）　　b：ヘモジデリン沈着

2.6.7.7B　　6 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0072-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		1		2		4	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
病理組織学的検査（続き）									
3 サイクル終了後 [a]	評価動物数	10	10	9	10	9	10	9	8
腎臓									
糸球体腎症 [b]	1+	0	0	0	0	1	0	0	0
慢性進行性腎症	±～2+	2	1	2	1	3	3	4	2
肝臓									
小葉周辺性肝細胞肥大	1+	0	0	0	0	0	0	0	5
小葉周辺性肝細胞空胞化	±～1+	2	1	4	0	1	1	8	5
クッパー細胞色素沈着 [c]	±～1+	0	0	0	0	0	0	2	8
副腎									
皮質空胞化	±～1+	0	0	0	0	0	0	4	0
大腿骨骨髄									
細胞密度増加	±～1+	0	4	0	8	5	9	9	7
脾臓									
辺縁帯あるいは	±	0	0	0	0	3	2	1	3
その細胞密度の減少	1+	0	0	0	0	1	0	1	2
腸間膜リンパ節									
肥満細胞増加	1+	0	0	0	1	1	1	3	2
	2+	0	0	0	0	1	0	0	0
褐色色素沈着	1+	0	0	0	0	0	0	0	1
縦隔リンパ節									
肥満細胞増加	1+	0	1	NE	NE	NE	NE	7	3

P：所見あり，±：ごく軽度，1+：軽度，2+：中等度　　NE：評価せず.
a：所見の認められた動物数
b：糸球体の肥大，メサンギウムの肥厚，尿細管の拡張及び好塩基性変化
c：ヘモジデリン沈着

2.6.7.7B　　6カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0072-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		1		2		4	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
病理組織学的検査（続き）									
6サイクル目の最終投与後[a]	評価動物数	10	10	10	10	10	10	3	8
心臓									
心筋変性／壊死	±	0	0	0	0	2	0	0	0
心筋肥大	2+	0	0	0	0	0	0	1	0
腎臓									
糸球体腎症[b]	2+	0	0	0	0	0	0	2	0
慢性進行性腎症	±～2+	1	2	3	4	4	6	0	4
肝臓									
小葉周辺性肝細胞肥大	1～2+	0	0	0	0	0	8	0	8
小葉周辺性肝細胞空胞化	±～1+	1	0	3	0	3	5	2	6
クッパー細胞色素沈着[c]	±～1+	1	0	1	0	0	0	1	8
大腿骨骨髄									
細胞密度増加	±～1+	0	4	1	5	5	8	2	8
脾臓									
辺縁帯あるいは	±	0	0	5	1	6	1	0	3
その細胞密度の減少	1+	0	0	1	3	4	4	1	4
	2+	0	0	0	0	0	0	2	1
腸間膜リンパ節									
肥満細胞増加	±	0	0	0	2	2	0	0	2
	1+	0	0	0	3	0	3	0	1
	2+	0	0	0	2	1	3	0	2
褐色色素沈着	±	0	0	0	0	4	2	0	2
縦隔リンパ節									
肥満細胞増加	1+	0	0	0	0	0	0	0	1

P：所見あり，±：ごく軽度，1+：軽度，2+：中等度
a：所見の認められた動物数
b：糸球体の肥大，メサンギウムの肥厚，尿細管の拡張及び好塩基性変化
c：ヘモジデリン沈着

2.6.7.7B　　6 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0072-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		1		2		4	
動物数　毒性群（主群+回復群）		M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
病理組織学的検査（続き）									
回復群 [a]	評価動物数	5	5	5	5	3	5	3	3
肝臓									
小葉周辺性肝細胞肥大	1～2+	0	0	0	0	0	5	0	3
クッパー細胞色素沈着 [b]	±	0	0	0	0	0	0	0	2
脾臓									
辺縁帯あるいは	±	0	0	2	1	0	1	3	2
その細胞密度の減少	1+	0	0	0	0	0	2	0	0
腸間膜リンパ節									
肥満細胞増加	±	0	0	0	0	3	1	0	0
	1+	0	0	0	2	0	1	0	0

±：ごく軽度，1+：軽度，2+：中等度　　NE：評価せず.
a：所見の認められた動物数
b：ヘモジデリン沈着

2.6.7.7B　　6 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0072-171（続き）

投与量（mg/kg）	0（対照）		1		2		4	
動物数　サテライト動物	M:0	F:0	M:8	F:8	M:8	F:8	M:8[a]	F:8[a]
トキシコキネティクス								
M14								
Cmax（ng/mL）								
投与 1 日（初回投与）			157	180	336	371	792	810
投与 142 日（6 サイクル目の初回投与）			213	218	432	479	939	867
AUClast（ng·min/mL）								
投与 1 日			5812	5827	13448	13628	32393	28730
投与 142 日			8183	7600	18218	16960	41760	33148
M15								
Cmax（ng/mL）								
投与 1 日			55.5	44.1	129	96.8	309	260
投与 142 日			108	55.6	196	132	412	243
AUClast（ng·min/mL）								
投与 1 日			999	569	2493	1651	6310	4247
投与 142 日			1942	943	3903	2283	8664	4957
M16								
Cmax（ng/mL）								
投与 1 日			62.2	77.5	133	151	271	319
投与 142 日			156	120	282	273	437	339
AUClast（ng·min/mL）								
投与 1 日			821	854	2001	2042	4005	4310
投与 142 日			2203	1487	4003	3426	7080	4619

a：3 から 5 サイクル目に雄 2 例及び雌 1 例が死亡，雄 1 例を切迫剖検したため，投与 142 日は雄 5 例及び雌 7 例での評価.

2.6.7.7C　　7 日間反復投与毒性試験　　被験物質：カルフィルゾミブ

報告書の題名：A Two Dose, Seven Day Intravenous Toxicity Study of Carfilzomib in Cynomolgus Monkeys

動物種／系統：カニクイザル　　投与期間：2 日間連日投与　　試験番号：TR-0157-171

試験開始年齢：2.8～6 歳　　休薬期間：5 日間　　CTD における記載箇所：［4.2.3.2-6］

初回投与年月日：20[redacted] 年　　投与方法：静脈内急速　　GLP 適用：適

対照；4 月 9 日　　溶媒／投与形態：10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液

2 mg/kg；4 月 8 日

特記事項：血中のプロテアソーム活性を測定し，その結果は［2.6.3.2］に記載した.

忍容用量：2 mg/kg

投与量（mg/kg）	0（対照）	2
動物数	M:6	M:6
特記すべき所見		
死亡又は切迫剖検例	0	0
一般状態 [a]		
投与 1 日（1 回目投与）		
両肢の引っ掻き：投与後 2 時間	0	1
持続的な運動：投与後 2 時間	0	1
投与 2 日（2 回目投与）		
軽度の振戦：投与後 2 時間	0	1[b]
自発運動減少：投与後 4 時間	0	1[b]
摂餌状況	-	-
体重	-	-
眼科学的検査	-	-

-：特記すべき所見なし.

a：所見の認められた動物数

b：この例では，トロポニン I 及び C 反応性タンパクの高値，心筋の変性，ALT 及び AST の高値が認められた.

2.6.7.7C　　7 日間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0157-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）	2
動物数		M:6	M:6
血液学的検査			
赤血球数（$10^6/\mu L$）	投与 4 日 [c]	4.52	4.45
	投与 5 日 [d]	4.52	4.30
ヘモグロビン（g/dL）	投与 2 日 [a]	12.8	12.1
	投与 3 日 [b]	11.9	11.4
	投与 4 日 [c]	11.4	10.6
	投与 5 日 [d]	11.4	10.1
ヘマトクリット（%）	投与 2 日 [a]	39.3	38.2
	投与 3 日 [b]	36.7	35.7
	投与 4 日 [c]	35.2	33.3
	投与 5 日 [d]	35.4	32.0
網赤血球数（$10^5/\mu L$）	投与 4 日 [c]	1.13	0.47
	投与 5 日 [d]	1.55	0.52
血小板数（$10^3/\mu L$）	投与 2 日 [a]	400	327
	投与 3 日 [b]	408	121
	投与 4 日 [c]	392	72
	投与 5 日 [d]	438	156
白血球数（$10^3/\mu L$）	投与 2 日 [a]	8.0	21.5[f]
好中球数（/μL）	投与 2 日 [a]	2957	16979[g]
単球数（/μL）	投与 2 日 [a]	256	533
	投与 3 日 [b]	280	393
	投与 4 日 [c]	292	593
	投与 5 日 [d]	276	775
	投与 7 日 [e]	356	958

-：特記すべき所見なし.　　a：2 回目投与前　　b：2 回目投与後 1 日　　c：2 回目投与後 2 日　　d：2 回目投与後 3 日　　e：2 回目投与後 5 日
f：分類不能の細胞数の高値が認められた.　　g：血液塗抹標本観察において，デーレ小体が投与 2，3 及び 4 日にそれぞれ 1，2 及び 1 例に認められた.

2.6.7.7C　　7 日間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0157-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）	2
動物数		M:6	M:6
血液凝固検査			
フィブリノーゲン（mg/dL）	投与 2 日 [a]	247	314
	投与 3 日 [b]	230	392
	投与 4 日 [c]	213	394
	投与 5 日 [d]	221	359
血液化学的検査			
血中尿素窒素（mg/dL）	投与 2 日 [a]	24	42
クレアチニン（mg/dL）	投与 2 日 [a]	0.7	1.2[g]
リン（mg/dL）	投与 3 日 [b]	5.0	3.7
	投与 4 日 [c]	5.1	3.5
	投与 5 日 [d]	5.6	3.8
アルブミン（g/dL）	投与 2 日 [a]	3.3	2.8[h]
	投与 3 日 [b]	3.2	2.6[h]
	投与 4 日 [c]	3.2	2.6[h]
	投与 5 日 [d]	3.2	2.6[h]
C 反応性タンパク（μg/mL）	投与 2 日 [a]	28.4	1801.8
	投与 3 日 [b]	26.1	2659.2
	投与 4 日 [c]	31.8	937.0
	投与 5 日 [d]	27.1	152.0
トロポニン I[f]	投与 3 日 [b]	0	3
	投与 4 日 [c]	0	4
	投与 5 日 [d]	0	3
	投与 7 日 [e]	0	1

a：2 回目投与前　　b：2 回目投与後 1 日　　c：2 回目投与後 2 日　　d：2 回目投与後 3 日　　e：2 回目投与後 5 日　　f：定量下限 0.2 ng/mL 以上を示した動物数　　g：2 例が高値を示した.　　h：アルブミンの低値に伴うと考えられる総タンパク，A/G 比又はカルシウムの低値が認められた.

2.6.7.7C　　7 日間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0157-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）	2
動物数		M:6	M:6
尿検査			
比重	投与 2 日 [a]	1.021	1.024
器官重量		-	-
剖検 [b]			
心臓：左室赤色化		0	1
骨髄検査			
赤芽球系細胞／リンパ球比率		1/0.5	1/0.2
病理組織学的検査 [b]			
心臓			
左室心筋変性	2+	0	1[c]
腎臓			
単核球浸潤	±	0	3
	2+	0	1
メサンギウム基質の増加	±	0	1
	1+	1	3

-：特記すべき所見なし.　　±：ごく軽度，1+：軽度，2+：中等度
a：2 回目投与前
b：所見の認められた動物数
c：左室血管のうっ血を伴う.

2.6.7.7D　　1 カ月間反復投与毒性試験　　被験物質：カルフィルゾミブ

報告書の題名：A 4-Week Repeat Dose Intravenous Toxicity Study of PR-171 in Cynomolgus Momkeys

動物種／系統：カニクイザル
試験開始年齢：3～5.5 歳
初回投与年月日：20[redacted] 年
対照と 0.5 mg/kg；2 月 9 日
1 mg/kg；2 月 16 日
2 mg/kg；2 月 23 日

投与期間：1 カ月間（5 日間連日投与後，9 日間休薬するサイクルを 2 回繰り返し[a]）
休薬期間：なし
投与方法：静脈内急速
溶媒／投与形態：10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液

試験番号：TR-0017-171
CTD における記載箇所：［4.2.3.2-7］
GLP 適用：適

特記事項：・対照，0.5 及び 1 mg/kg は 2 サイクル目の最終投与後及び 2 サイクル終了後に剖検した．2 mg/kg は 2 サイクル終了後に相当する日に剖検した．
・血漿中カルフィルゾミブ濃度（投与 1 及び 15 日（2 サイクル目の初回投与日）：投与前，投与後 15 分，1 及び 24 時間）を測定した．
・血中及び組織中のプロテソーム活性を試験番号 TR-0018-171 にて測定し，その結果は［2.6.3.2］に記載した．また，肝ミクロソーム中の CYP 含量及び CYP 活性を試験番号 TR-0043-171 にて測定し，その結果は［2.6.5.14.7］に記載した．

MTD：1 mg/kg

投与量（mg/kg）	0（対照）		0.5		1		2	
動物数	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5[a]	F:5[a]
トキシコキネティクス[b]								
C15min（ng/mL）								
投与 1 日（初回投与）			9	11	10	5	18	15
投与 15 日（2 サイクル目の初回投与）			10	9	11	4	NE	NE

NE：測定／評価せず．
a：1 サイクル目の 3 から 5 回目投与後に雌雄各 3 例が死亡又は切迫剖検となったため，2 サイクル目は休薬（計 5 回投与）とした．
b：血漿中カルフィルゾミブ濃度は投与後速やかに低下したため，AUC は算出しなかった．

2.6.7.7D　　1カ月反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0017-171（続き）

投与量（mg/kg）	0（対照）		0.5		1		2	
動物数	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5[a]	F:5[a]
特記すべき所見								
死亡又は切迫剖検例	0	0	0	0	0	0	3[c]	3[c]
一般状態[b]								
呼吸困難	0	0	0	0	0	0	0	2
自発運動減少	0	0	0	0	0	0	2	0
円背	0	0	0	0	0	0	1	0
赤色鼻汁	0	0	0	0	0	0	1	0
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-	-	-	-	-
神経行動学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査								
1サイクル目の最終投与後（投与6日）								
赤血球数（$10^6/\mu L$）	7.14	6.24	-	-	-	-	5.96	5.21
ヘモグロビン（g/dL）	12.0	10.7	-	-	-	-	10.9	9.3
ヘマトクリット（%）	42.4	38.3	-	-	-	-	37.3	32.8
網赤血球数（$10^9/L$）	44.9	88.0	-	-	20.5	28.2*	5.9	5.3
血小板数（$10^3/\mu L$）	385	365	-	-	157**	189**	65	41

-：特記すべき所見なし.　　*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel 検定

a：1サイクル目の3から5回目投与後に雌雄各3例が死亡又は切迫剖検となったため，2サイクル目は休薬（雌雄各2例での評価）とした.

b：所見の認められた動物数

c：これらの例で呼吸困難，自発運動減少，円背，赤色鼻汁及び糞量減少，赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値，総タンパク，アルブミン及びグロブリンの低値，単球数，血中尿素窒素及びフィブリノーゲンの高値，APTT の延長などが認められた.

2.6.7.7D　　1カ月反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0017-171（続き）

投与量（mg/kg）	0（対照）		0.5		1		2	
動物数	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5[a]	F:5[a]
血液学的検査（続き）								
1サイクル目の最終投与後（投与6日）								
平均血小板容積（fL）	9.3	9.0	-	-	10.1	10.0	12.9	14.7
単球数（$10^3/\mu L$）	0.54	0.42	-	-	-	-	0.97	1.61
リンパ球数（$10^3/\mu L$）	7.83	6.88	-	-	-	-	4.70	6.16
1サイクル終了時（投与14日）[b]								
赤血球数（$10^6/\mu L$）	7.07	6.44	-	-	-	-	6.05	5.66
ヘモグロビン（g/dL）	12.0	11.2	-	-	-	-	11.0	10.4
ヘマトクリット（%）	41.6	39.9	-	-	-	-	37.8	36.4
網赤血球数（10^9/L）	46.3	73.9	-	-	84.6*	110.2	60.2	112.2
血小板数（$10^3/\mu L$）	298	382	-	-	562**	617*	572	453
平均血小板容積（fL）	9.4	9.2	-	-	8.3	8.6	7.6	8.6
リンパ球数（$10^3/\mu L$）	7.32	5.91	-	-	-	-	3.85	4.56
2サイクル目の最終投与後（投与20日）								
網赤血球数（10^9/L）	75.4	120.3	-	-	39.6	41.1*	NE	NE
血小板数（$10^3/\mu L$）	395	357	-	-	201**	188*	NE	NE
平均血小板容積（fL）	9.2	9.3	-	-	9.7	10.0	NE	NE
2サイクル終了後（投与29日）								
網赤血球数（10^9/L）	43.9	86.1	-	-	94.0	107.5	27.8	50.2
血小板数（$10^3/\mu L$）	329	389	-	-	608	458	319	328
平均血小板容積（fL）	8.6	8.9	-	-	7.7	8.4	8.3	8.8
血液凝固検査	-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし.　　NE：測定／評価せず.

*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel 検定

a：1サイクル目の3から5回目投与後に雌雄各3例が死亡又は切迫剖検となったため，2サイクル目は休薬（雌雄各2例での評価）とした.

b：0.5及び1 mg/kgは投与14日，2 mg/kgは投与15日.

2.6.7.7D　　1カ月反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0017-171（続き）

投与量（mg/kg）	0（対照）		0.5		1		2	
動物数	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5[a]	F:5[a]
血液化学的検査								
1サイクル終了時（投与14日）[b]								
総タンパク（g/dL）	8.0	8.5	-	-	-	-	-	7.5
グロブリン（g/dL）	3.4	4.0	-	-	-	-	-	3.4
2サイクル目の最終投与後（投与20日）								
総タンパク（g/dL）	7.8	8.3	-	-	-	7.4**	NE	NE
グロブリン（g/dL）	3.3	3.8	-	-	-	3.4*	NE	NE
血中尿素窒素（mg/dL）	14.6	18.4	-	-	27.5**	23.9*	NE	NE
総ビリルビン（mg/dL）	0.22	0.49	-	-	0.46*	0.55	NE	NE
2サイクル終了後（投与29日）	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-		-	-	-	-
器官重量（%[c]）								
2サイクル目の最終投与後　評価動物数	3	3	3	3	3	3	NA	NA
肺								
実重量	14.057 g	15.276 g	-	-	+55*	-		
体重に対する相対重量	0.543%	0.647%	-	-	+39*	-		
胸腺								
実重量	7.428 g	2.063 g	-	-	-65	-		
体重に対する相対重量	0.290%	0.089%	-	-	-68	-		
2サイクル終了後　評価動物数	2	2	2	2	2	2	2	2
	-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし．　　NE：測定／評価せず．　　NA：評価対象動物なし．

*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel 検定

a：1サイクル目の3から5回目投与後に雌雄各3例が死亡又は切迫剖検となったため，2サイクル目は休薬（雌雄各2例での評価）とした．生存例は2サイクル終了後に相当する日（投与29日）に剖検した．

b：2 mg/kg は投与15日．　　c：対照群は平均値を示す．投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値又は相対重量に基づく（%ではない）．

2.6.7.7D　　1 カ月反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0017-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数		M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5[a]	F:5[a]
剖検[b]									
死亡又は切迫剖検例	評価動物数	0	0	0	0	0	0	3	3
心臓：赤色化								3	3
心膜：水腫								1	0
肥厚								0	1
心嚢液貯留								2	2
胸腔：胸水貯留								1	2
気管：泡沫液貯留								2	2
肺：赤色化								2	3
液貯留								1	1
2 サイクル目の最終投与後	評価動物数	3	3	3	3	3	3	NA	NA
心臓：白色化		0	0	0	0	1	1		
2 サイクル終了後	評価動物数	2	2	2	2	2	2	2	2
		-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし．　　NA：評価対象動物なし．
a：1 サイクル目の 3 から 5 回目投与後に雌雄各 3 例が死亡又は切迫剖検となったため，2 サイクル目は休薬とした．生存例は 2 サイクル終了後に相当する日に剖検した．
b：所見の認められた動物数

2.6.7.7D　　1 カ月反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0017-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数		M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5[a]	F:5[a]
病理組織学的検査[b]									
死亡又は切迫剖検例	評価動物数							3	3
心臓									
心筋の急性炎症，出血，壊死及び浮腫	±～2+							2	2
心筋の細胞密度増加	±～1+							2	0
心外膜下の炎症細胞浸潤／巣	±							1	0
	1+							1	0
心外膜下の出血	±～1+							2	3
心外膜の水腫	1+							0	3
心内膜の出血	±～1+							0	2
腎臓									
皮質鉱質沈着	±～1+							1	3[c]
肺									
間質／肺胞内の急性／亜急性炎症細胞浸潤	±～1+							2	2
肺胞内の出血／フィブリン析出／水腫	±～2+							2	3
壊死	3+							0	1
肺胞の慢性炎症細胞浸潤巣	±～1+							2	1
胸膜水腫	±							0	2
胸膜うっ血及び出血	1+							1	0
肺胞中隔水腫	±～1+							0	2
肺胞中隔出血	3+							1	0
縦隔リンパ節									
赤血球増加症／赤血球貪食	P							3	1
急性／亜急性炎症	±～2+							2	0
浮腫	2+							0	1

P：所見あり，±：ごく軽度，1+：軽度，2+：中等度，3+：高度
a：1 サイクル目の 3 から 5 回目投与後に雌雄各 3 例が死亡又は切迫剖検となったため，2 サイクル目は休薬とした．生存例は 2 サイクル終了後に相当する日に剖検した．
b：所見の認められた動物数
c：1 例は急性炎症細胞浸潤を伴う．

2.6.7.7D　　1カ月反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0017-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数		M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5[a]	F:5[a]
病理組織学的検査[b]（続き）									
死亡又は切迫剖検例	評価動物数							3	3
胸骨骨髄									
巨核球増加	±～2+							3	3
投与部位									
急性炎症細胞浸潤（壊死／浮腫／	1+							1	1
線維増生を伴う又は伴わない）	2+							1	1
静脈の急性炎症細胞浸潤	1～2+							1	2
2サイクル目の最終投与後	評価動物数	3	3	3	3	3	3	NA	NA
心臓									
心筋肥大	1+	0	0	0	0	1	0		
心外膜下の炎症細胞浸潤／巣	±	1	1	0	0	1	1		
	1+	0	0	0	0	1	0		
肺									
間質／肺胞内の急性／									
亜急性炎症細胞浸潤	±	0	0	0	0	0	1		
肺胞内の出血／フィブリン析出／水腫	±	0	0	0	0	1	2		
胸膜水腫	1+	0	0	0	0	0	2		
肺胞中隔水腫	1+	0	0	0	0	0	1		
胸骨骨髄									
巨核球増加	±	0	0	0	0	3	3		
投与部位									
急性炎症細胞浸潤（壊死／浮腫／	±	2	2	0	1	0	0		
線維増生を伴う又は伴わない）	1+	0	0	2	0	2	1		
	2+	0	0	0	0	0	1		
静脈の急性炎症細胞浸潤	1+	0	0	0	0	1	0		

±：ごく軽度，1+：軽度，2+：中等度　　NA：評価対象動物なし．

a：1サイクル目の3から5回目投与後に雌雄各3例が死亡又は切迫剖検となったため，2サイクル目は休薬とした．生存例は2サイクル終了後に相当する日に剖検した．

b：所見の認められた動物数

2.6.7.7D　　1 カ月反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0017-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数		M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5[a]	F:5[a]
病理組織学的検査[b]（続き）									
2 サイクル終了後	評価動物数	2	2	2	2	2	2	2	2
心臓									
心筋の細胞密度増加	±～1+	0	0	0	0	1	0	1	1
心筋の線維化	1+	0	0	0	0	0	0	0	1
心筋肥大	±～1+	0	0	0	0	1	1	2	2

±：ごく軽度，1+：軽度
a：1 サイクル目の 3 から 5 回目投与後に雌雄各 3 例が死亡又は切迫剖検となったため，2 サイクル目は休薬とした．生存例は 2 サイクル終了後に相当する日に剖検した．
b：所見の認められた動物数

2.6.7.7E　　9 カ月間反復投与毒性試験　　被験物質：カルフィルゾミブ

報告書の題名：A 9-Month Intravenous Toxicity Study of Carfilzomib in Cynomolgus Monkeys with an 8-Week Recovery Period

動物種／系統：カニクイザル
試験開始年齢：Young adult
初回投与年月日：20[redacted] 年 9 月 19 日

投与期間：9 カ月間（週 2 回（週の 1 及び 2 日目）の 3 週間投与後，1 週間休薬するサイクルを 9 回繰り返し
休薬期間：9 サイクル終了後に 8 週間の回復期間
投与方法：静脈内急速
溶媒／投与形態：10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液

試験番号：TR-0073-171
CTD における記載箇所：［4.2.3.2-8］
GLP 適用：適

特記事項：・9 サイクル目の最終投与後及び 9 サイクル終了後の 8 週間回復期間後に剖検した．
・血漿中カルフィルゾミブ，代謝物 M14，M15 及び M16 濃度（投与 1，57（3 サイクル目の初回投与日），141（6 サイクル目の初回投与日）及び 225 日（9 サイクル目の初回投与日）：投与前，投与後 5，15，30 分及び 1 時間）を測定した．
・血中のプロテアソーム活性を測定し，その測定結果は［2.6.3.2］に記載した．肝ミクロソーム中の CYP 活性及び CYPmRNA 発現量を試験番号 TR-0197-171 にて測定し，その結果は［2.6.5.14.8］に記載した．薬物動態パラメータを試験番号 TR-0252-171 にて算出し，その結果は［2.6.5.4.5］に記載した．血漿中の代謝物を試験番号 TR-0271-171 にて検索し，その結果は［2.6.5.9］に記載した．

MTD：1 mg/kg

投与量（mg/kg）	0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）	M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2[b]	F:4+2[b]
トキシコキネティクス								
C0min（ng/mL）[a]								
投与 1 日（初回投与）			70.1	80.3	111	92.0	202	151
投与 225 日（9 サイクル目の初回投与）			74.5	83.4	133	110	158	209
C5min（ng/mL）								
投与 1 日			41.2	45.7	62.3	51.6	103	86.9
投与 225 日			43.1	47.5	66.8	69.1	85.0	114
C15min（ng/mL）								
投与 1 日			14.3	14.9	19.9	18.7	30.1	28.9
投与 225 日			16.6	19.1	21.1	36.0	29.9	34.0
AUClast（ng·min/mL）								
投与 1 日			785	890	1163	1047	1934	1692
投与 225 日			804	886	1237	1449	1624	2129

a：計算値
b：6 サイクル目に雄 1 例が死亡，5 サイクル目に雌 1 例を切迫剖検したため，投与 225 日は雌雄各 5 例での評価．

2.6.7.7E　　9 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0073-171（続き）

投与量（mg/kg）	0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）	M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2	F:4+2
特記すべき所見								
死亡又は切迫剖検例	0	0	0	0	0	0	1[d]	1[e]
一般状態								
嘔吐[a]	4/2	6/4	1/1	2/2	18/4	13/4	23/6	65/6
自発運動減少[a]	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	6/2	20/3	26/4
円背[a]	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/1	8/2	26/4
痩せ[b]	0	0	0	0	0	0	0	2
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量[c]	0/0	62/6	10/4	16/4	6/2	8/4	81/6	200/6
神経行動学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査[b]								
R 波増高	0	0	0	0	0	0	1[f]	0

-：特記すべき所見なし.
a：所見の延べ発現数／所見の認められた動物数
b：所見の認められた動物数
c：摂餌量の減少（給餌量の 50%未満）の延べ発現数／摂餌量の減少が認められた動物数
d：6 サイクル目の最終投与後 1 日に死亡が発見された．本例は 2 サイクル目の最終投与後に横臥，自発運動減少及び蒼白を示したが，その翌日から一般状態に異常は認められなかった.
e：体重及び摂餌量減少，ヘマトクリット値の顕著な低値，皮下浮腫を伴うアルブミンの顕著な低値並びに ALT 及び ALP の高値が認められ，全身状態が悪化したため，5 サイクル目に切迫剖検した.
f：1 例に 3 サイクル目から継続して認められた（投与前 3.0 mV，3 サイクル目 3.6 mV，6 サイクル目 3.9 mV，9 サイクル目 4.5 mV）.

2.6.7.7E　　9 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0073-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）		M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2[a]	F:4+2[a]
血液学的検査									
赤血球数（$10^6/\mu L$）	1 サイクル[b]	5.62	5.33	-	-	-	-	4.73**	4.48**
	1 サイクル[c]	5.85	5.42	5.01**	-	5.37**	-	5.11**	4.63**
	3 サイクル[d]	5.65	5.48	4.96**	-	5.08**	4.75**	4.43**	4.20**
	3 サイクル[e]	5.79	5.47	4.92**	-	5.31**	-	4.74**	4.54**
	6 サイクル[f]	5.79	5.44	5.06**	-	4.97**	4.78*	4.15**	3.95**
	8 サイクル[g]	5.98	5.58	5.32*	-	5.29**	-	4.86**	4.44**
	9 サイクル[h]	5.66	5.45	4.99*	-	5.04*	4.83*	4.29**	3.88**
ヘモグロビン（g/dL）	1 サイクル[b]	12.9	12.3	-	-	-	-	10.8**	10.6**
	1 サイクル[c]	13.4	12.5	-	-	-	-	11.7**	11.1**
	3 サイクル[d]	13.3	13.0	-	-	-	11.6**	10.5**	10.5**
	3 サイクル[e]	13.7	12.9	-	-	-	-	11.3**	11.3**
	6 サイクル[f]	13.7	12.9	-	-	12.2*	11.5*	9.8**	10.1**
	8 サイクル[g]	14.0	13.2	-	-	-	-	11.3**	11.2**
	9 サイクル[h]	13.5	12.8	-	-	-	11.7*	10.1**	9.9**
ヘマトクリット（%）	1 サイクル[b]	42.0	40.8	-	-	-	-	35.3**	35.3**
	1 サイクル[c]	43.7	41.2	-	-	-	-	38.6**	36.7**
	3 サイクル[d]	41.0	41.2	-	-	-	37.5	33.8**	34.0**
	3 サイクル[e]	42.6	40.9	-	-	-	-	35.7**	37.1*
	6 サイクル[f]	43.0	41.1	-	-	38.3*	37.8	31.5**	32.8**
	8 サイクル[g]	43.8	41.6	-	-	-	-	36.2**	35.8**
	9 サイクル[h]	42.1	41.2	-	-	-	38.1	32.5**	31.9**

-：特記すべき所見なし.
*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel 検定
a：6 サイクル目に雄 1 例が死亡，5 サイクル目に雌 1 例を切迫剖検したため，雄の 8 サイクル以降及び雌の 6 サイクル以降は各 5 例での評価.
b：1 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 17 日）　c：1 サイクル終了時（投与 28 日）　d：3 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 73 日）
e：3 サイクル終了時（投与 84 日）　f：6 サイクル目の最終投与日（投与 156 日）　g：8 サイクル終了時（投与 224 日）
h：9 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 241 日）

2.6.7.7E　　9 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0073-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）		M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2[a]	F:4+2[a]
血液学的検査									
MCV（fL）	3 サイクル[b]	72.8	75.5	-	-	-	-	-	81.1*
	3 サイクル[c]	73.6	75.0	-	-	-	80.2*	-	81.7**
	6 サイクル[d]	74.5	75.7	-	-	-	-	-	83.0**
	8 サイクル[e]	73.3	74.7	-	-	-	-	-	80.7*
	9 サイクル[f]	74.3	75.5	-	-	-	-	-	81.7*
	9 サイクル[g]	74.5	75.8	-	-	-	-	-	82.0*
MCH（pg）	3 サイクル[b]	23.7	23.8	-	-	-	-	-	25.0*
	3 サイクル[c]	23.7	23.8	-	-	-	-	-	25.0*
	6 サイクル[d]	23.8	23.8	-	-	-	-	-	25.5**
	8 サイクル[e]	23.4	23.8	-	-	-	-	-	25.2**
	9 サイクル[f]	24.0	23.9	-	-	-	-	-	25.3*
	9 サイクル[g]	23.9	23.5	-	-	-	-	-	25.5**
MCHC（g/dL）	3 サイクル[b]	32.5	31.6	-	-	-	-	31.1*	-
	3 サイクル[c]	32.2	31.7	-	-	-	-	-	30.6*
	9 サイクル[f]	32.2	31.7	-	-	-	-	30.8*	-

-：特記すべき所見なし.
*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel 検定
a：6 サイクル目に雄 1 例が死亡，5 サイクル目に雌 1 例を切迫剖検したため，雄の 8 サイクル以降及び雌の 6 サイクル以降は各 5 例での評価.
b：3 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 73 日）　c：3 サイクル終了時（投与 84 日）　d：6 サイクル目の最終投与日（投与 156 日）
e：8 サイクル終了時（投与 224 日）　f：9 サイクル目の初回投与後 1 日（投与 226 日）　g：9 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 241 日）

2.6.7.7E　　9 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0073-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）		M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2[a]	F:4+2[a]
血液学的検査（続き）									
網赤血球数（10^9/L）	1 サイクル[d]	81.8	71.1	-	-	-	-	120.2*	105.7**
	3 サイクル[e]	56.6	59.6	107.6*	-	92.6*	-	105.2**	96.5*
	3 サイクル[f]	59.4	55.6	86.1*	-	97.2**	95.3*	104.7**	93.8*
	6 サイクル[g]	74.9	56.8	-	96.6*	-	129.7**	-	117.9**
	8 サイクル[h]	67.9	54.6	-	-	-	-	120.1**	111.1**
	9 サイクル[i]	67.2	58.4	-	-	124.4**	-	119.8**	122.8**
	9 サイクル[j]	79.1	77.0	-	-	-	148.1**	-	125.3**
血小板数（$10^3/\mu$ L）	1 サイクル[d]	507	513	-	-	-	-	796**	747**
	3 サイクル[f]	489	491	-	-	-	682*	823**	744**
	6 サイクル[g]	468	468	-	-	-	-	724**	-
	8 サイクル[h]	484	475	-	-	-	659*	735**	660*
	9 サイクル[i]	421	412	-	-	-	-	-	-
白血球数（$10^3/\mu$ L）	1 サイクル[b]	11.49	13.93	-	-	-	-	22.49**	25.96**
	1 サイクル[c]	10.96	11.09	-	-	18.88**	-	-	-
	3 サイクル[e]	10.89	9.19	-	-	18.00*	25.66*	16.85*	16.56**
	6 サイクル[g]	11.11	7.78	-	-	-	17.12*	23.44**	23.77**
	9 サイクル[i]	12.85	11.64	-	-	-	-	23.77**	29.91**
	9 サイクル[j]	11.19	11.89	-	-	20.00*	-	18.55*	20.76*

-：特記すべき所見なし.
*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel 検定
a：6 サイクル目に雄 1 例が死亡，5 サイクル目に雌 1 例を切迫剖検したため，雄の 8 サイクル以降及び雌の 6 サイクル以降は各 5 例での評価.
b：1 サイクル目の初回投与後 1 日（投与 2 日）　c：1 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 17 日）　d：1 サイクル終了時（投与 28 日）
e：3 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 73 日）　f：3 サイクル終了時（投与 84 日）　g：6 サイクル目の最終投与日（投与 156 日）
h：8 サイクル終了時（投与 224 日）　i：9 サイクル目の初回投与後 1 日（投与 226 日）　j：9 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 241 日）

2.6.7.7E　　9 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0073-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）		M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2[a]	F:4+2[a]
血液学的検査（続き）									
好中球数（$10^3/\mu$ L）	1 サイクル[b]	4.45	5.77	-	-	-	-	17.70**	21.33**
	1 サイクル[c]	3.71	4.20	-	-	-	13.24*	6.35*	11.30*
	1 サイクル[d]	2.22	4.08	-	-	5.83*	-	5.39*	-
	3 サイクル[e]	3.51	2.72	-	-	8.88*	17.03**	10.47**	11.45**
	6 サイクル[f]	4.16	2.63	-	7.59**	-	9.37**	14.47**	17.89**
	9 サイクル[g]	4.91	5.03	-	-	-	10.64*	14.56**	22.77**
	9 サイクル[h]	4.32	3.44	-	-	10.03*	13.83**	10.85*	13.86**
単球数（$10^3/\mu$ L）	1 サイクル[b]	0.48	0.61	-	-	-	-	0.95*	-
	1 サイクル[c]	0.53	0.36	-	-	1.08**	1.07**	-	-
	3 サイクル[e]	0.38	0.24	-	-	0.98**	1.23**	-	-
	6 サイクル[f]	0.39	0.19	-	0.61**	0.90**	0.87**	0.83**	0.80**
	9 サイクル[g]	0.50	0.24	-	0.51**	1.07*	0.94**	0.83*	0.86**
	9 サイクル[h]	0.39	0.36	-	-	1.06**	1.20**	-	-
血液凝固検査									
フィブリノーゲン（mg/dL）	1 サイクル[b]	278	332	-	-	-	-	390*	-
	1 サイクル[c]	240	239	-	382**	381**	383**	505**	505**
	3 サイクル[e]	217	233	318*	-	354**	442**	471**	454**
	6 サイクル[f]	274	251	-	-	366*	-	365*	394**
	9 サイクル[h]	251	250	-	-	414**	361*	434**	514**

-：特記すべき所見なし.
*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel 検定
a：6 サイクル目に雄 1 例が死亡，5 サイクル目に雌 1 例を切迫剖検したため，雄の 8 サイクル以降及び雌の 6 サイクル以降は各 5 例での評価.
b：1 サイクル目の初回投与後 1 日（投与 2 日）　c：1 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 17 日）　d：1 サイクル終了時（投与 28 日）
e：3 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 73 日）　f：6 サイクル目の最終投与日（投与 156 日）　g：9 サイクル目の初回投与後 1 日（投与 226 日）
h：9 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 241 日）

2.6.7.7E　　9 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0073-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）		M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2[a]	F:4+2[a]
血液化学的検査									
総タンパク質（g/dL）	1 サイクル[b]	7.1	7.1	-	-	-	-	-	6.2**
	1 サイクル[c]	7.4	7.2	-	-	-	-	6.6**	6.2**
	3 サイクル[d]	7.1	7.1	-	-	-	-	-	6.1**
	6 サイクル[e]	7.0	7.1	-	-	-	6.5*	-	6.3**
	8 サイクル[f]	7.0	7.1	-	-	-	-	-	6.3*
	9 サイクル[g]	7.0	6.8	-	-	-	-	6.2*	5.9*
	9 サイクル[h]	7.0	7.3	-	-	6.2	6.5*	6.0*	5.7**
アルブミン（g/dL）	1 サイクル[c]	4.4	4.2	-	-	-	-	3.7**	3.3**
	3 サイクル[d]	4.3	4.2	-	-	-	-	3.8**	3.2**
	6 サイクル[e]	4.3	4.2	-	-	-	-	-	3.6*
	8 サイクル[f]	4.1	3.9	-	-		-	-	3.4*
	9 サイクル[g]	4.0	3.7	-	-	3.5*	-	3.5*	-
	9 サイクル[h]	4.1	4.0	-	-	3.3**	3.5*	3.3**	2.9**
	回復群[i]	4.1	3.8	NA	NA	NA	NA	3.6[j]	-
A/G 比	1 サイクル[c]	1.5	1.4	-	-	-	-	1.3*	-
	3 サイクル[d]	1.6	1.5	-	-	1.4*	-	1.3**	-
	9 サイクル[h]	1.4	1.3	-	-	1.1*	-	1.3*	1.1

-：特記すべき所見なし.　　NA：評価対象動物なし.

*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel 検定

a：6 サイクル目に雄 1 例が死亡，5 サイクル目に雌 1 例を切迫剖検したため，雄の 8 サイクル以降及び雌の 6 サイクル以降は各 5 例での評価，回復群は各 2 例での評価.

b：1 サイクル目の初回投与後 1 日（投与 2 日）　　c：1 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 17 日）　　d：3 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 73 日）

e：6 サイクル目の最終投与日（投与 156 日）　　f：8 サイクル終了時（投与 224 日）　　g：9 サイクル目の初回投与後 1 日（投与 226）

h：9 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 241 日）　　i：回復群（投与 308 日）　　j：尿タンパクが認められた 1 例が低値を示した.

2.6.7.7E　　9 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0073-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）		M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2[a]	F:4+2[a]
血液化学的検査（続き）									
血中尿素窒素（mg/dL）	1 サイクル[b]	21	25	-	-	-	-	50**	44**
	1 サイクル[c]	19	21	-	-	-	-	39**	-
	1 サイクル[d]	20	19	-	-	-	-	-	-
	3 サイクル[e]	22	23	-	-	-	-	58**	40**
	3 サイクル[f]	22	23	-	-	-	-	-	-
	6 サイクル[g]	20	26	-	-	33**	-	62**	43**
	8 サイクル[h]	20	20	-	-	29*	-	28*	-
	9 サイクル[i]	22	22	-	-	36*	-	46**	44**
	9 サイクル[j]	15	15	-	-	32**	23**	42**	34**
	9 サイクル[k]	16	17	NA	NA	NA	NA	25	-
クレアチニン（mg/dL）	1 サイクル[b]	0.6	0.6	-	-	-	-	2.1**	1.5**
	1 サイクル[c]	0.6	0.6	-	-	-	-	-	-
	1 サイクル[d]	0.6	0.6		-	-	-	-	-
	3 サイクル[e]	0.6	0.6	-	-	-	-	1.2**	-
	3 サイクル[f]	0.6	0.6	-	-	-	-	-	-
	6 サイクル[g]	0.5	0.6	-	-	-	-	1.8**	1.1**
	8 サイクル[h]	0.7	0.7	-	-	-	-	-	-
	9 サイクル[i]	0.6	0.6	-	-	-	-	1.5**	1.4**
	9 サイクル[j]	0.6	0.5	-	-	-	-	1.6**	1.2*
	9 サイクル[k]	0.5	0.5	NA	NA	NA	NA	-	-

-：特記すべき所見なし.　　NA：評価対象動物なし.

*p≤0.05, **p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel 検定

a：6 サイクル目に雄 1 例が死亡，5 サイクル目に雌 1 例を切迫剖検したため，雄の 8 サイクル以降及び雌の 6 サイクル以降は各 5 例での評価.

b：1 サイクル目の初回投与後 1 日（投与 2 日）　　c：1 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 17 日）　　d：1 サイクル終了時（投与 28 日）

e：3 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 73 日）　　f：3 サイクル終了時（投与 84 日）　　g：6 サイクル目の最終投与日（投与 156 日）

h：8 サイクル終了時（投与 224 日）　　i：9 サイクル目の初回投与後 1 日（投与 226 日）　　j：9 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 241 日）

k：9 サイクル終了時（投与 252 日）

2.6.7.7E　　9 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0073-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）		M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2[a]	F:4+2[a]
血液化学的検査（続き）									
ALT（U/L）	1 サイクル[c]	48	52	-	-	-	31*	-	33*
	3 サイクル[d]	50	48	-	-	-	28**	-	28**
	6 サイクル[e]	47	46	-	-	-	-	30*	26*
	9 サイクル[f]	57	70	-	-	-	-	-	35*
	9 サイクル[g]	45	49	-	-	31*	-	26**	25*
AST（U/L）	1 サイクル[c]	47	48	-	-	-	-	-	33*
	3 サイクル[d]	54	42	-	-	38*	-	35*	31
	9 サイクル[g]	48	40	-	-	-	-	-	29
LDH（U/L）	9 サイクル[f]	857	626	-	-	-	-	-	393*
カリウム（mEq/L）	9 サイクル[g]	4.4	4.9	-	-	5.1*	-	5.2**	-
カルシウム（mg/dL）	9 サイクル[g]	10.2	10.3	-	-	-	-	-	9.5*
無機リン（mg/dL）	9 サイクル[g]	6.9	6.3	-	-	-	-	5.2*	-
総コレステロール（mg/dL）	9 サイクル[g]	126	160	-	-	-	107*	-	141*
尿検査[b]									
9 サイクル目の最終投与後（主群）　評価動物数		4	4	4	4	4	4	3	2
尿タンパク（≥100 mg/dL）		0	1	0	0	3	1	3	2
潜血陽性（高度）		0	0	2	1	4	4	3	2
赤血球（尿沈渣）[h]		0	0	0	0	3	1	0	1
回復群　評価動物数		2	2	NA	NA	NA	NA	2	2
尿タンパク（≥100 mg/dL）		0	NE					1	NE
潜血陽性（高度）		0	NE					2	NE
赤血球（尿沈渣）[h]		0	NE					1	NE

-：特記すべき所見なし.　　NA：評価対象動物なし.　　NE：尿が採取できなかった又は尿量不十分のため，測定／評価せず.

*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する DunnettDunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定又は Shirley／Steel 検定

a：6 サイクル目に雄 1 例が死亡，5 サイクル目に雌 1 例を切迫剖検したため，雄の 8 サイクル以降及び雌の 6 サイクル以降は各 5 例での評価.　　b：剖検時の膀胱尿

c：1 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 17 日）　　d：3 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 73 日）　　e：6 サイクル目の最終投与日（投与 156 日）

f：9 サイクル目の初回投与後 1 日（投与 226 日）　　g：9 サイクル目の最終投与後 1 日（投与 241 日）　　h：顕微鏡 400 倍 1 視野に赤血球 16 個以上を認めた例数.

2.6.7.7E　　9 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0073-171（続き）

投与量（mg/kg）	0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）	M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2	F:4+2
器官重量（%[a]）								
9 サイクル目の最終投与後（主群）　評価動物数	4	4	4	4	4	4	3	3
心臓								
実重量	15.804 g	9.243 g	-	-	-	+35	+120	+52*
体重に対する相対重量	0.371%	0.329%	-	-	-	+27*	+105	+41**
腎臓								
実重量	16.348 g	12.536 g	-	-	+82*	+59	+139	+117*
体重に対する相対重量	0.389%	0.447%	-	-	+103**	+47	+131**	+98**
肝臓								
実重量	74.004 g	61.512 g	-	-	-	-	+39	+56**
体重に対する相対重量	1.757%	2.196%	-	-	-	-	+36**	+44**
脾臓								
実重量	4.454 g	3.430 g	-	-	+47	-	+68	+84*
体重に対する相対重量	0.107%	0.124%	-	-	+59	-	+64	+71*
副腎								
実重量	0.657 g	0.501 g	-	-	-	-	+11	+49**
体重に対する相対重量	0.016%	0.018%	-	-	-	-	+6	+39
回復群　評価動物数	2	2	NA	NA	NA	NA	2	2
心臓								
実重量	14.055 g	10.540 g					+22	-
体重に対する相対重量	0.364%	0.368%					+30	-
腎臓								
実重量	16.078 g	12.085 g					+61	+68
体重に対する相対重量	0.415%	0.423%					+70	+57

-：特記すべき所見なし．　　NA：評価対象動物なし．

*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams／Cochran-Cox modified t 検定

a：対照群は実重量又は体重に対する相対重量の平均値を示す．投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値又は相対重量に基づく（%ではない）．

2.6.7.7E　　9 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0073-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）		M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2	F:4+2
剖検 [a]									
死亡又は切迫剖検例	評価動物数							1	1
腎臓：腫大								1	0
退色								1	0
肝臓：退色								1	0
肺：赤色斑								1	0
9 サイクル目の最終投与後（主群）	評価動物数	4	4	4	4	4	4	3	3
腎臓：腫大		0	0	0	0	1	1	0	2
退色		0	0	0	0	4	0	2	2
赤色巣		0	0	0	0	4	4	1	2
回復群	評価動物数	2	2	NA	NA	NA	NA	2	2
腎臓：腫大		0	0					1	1
退色		0	0					1	0

NA：評価対象動物なし.
a：所見の認められた動物数

2.6.7.7E　　9 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0073-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）		M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2	F:4+2
病理組織学的検査 [a]									
死亡又は切迫剖検例	評価動物数							1	1
心臓									
亜急性／慢性炎症細胞浸潤	±～2+							1	1
心筋変性	1+							1	0
心筋肥大	±							1	0
腎臓									
糸球体腎症 [b]	1+							1	0
尿細管サイズ／細胞密度の変化 [c]	1～2+							1	1
慢性間質性炎症／線維化	2+							1	0
肺									
間質性炎症	2+							1	0
肺胞水腫（出血を伴う／伴わない）	2+							1	0
胸骨骨髄									
細胞密度減少	2+							0	1
大腿骨骨髄									
細胞密度増加	±							0	1
	2+							1	0
肝臓									
びまん性肝細胞グリコーゲン変性	3+							0	1
諸器官									
萎縮								0	1

±：ごく軽度，1+：軽度，2+：中等度，3+：高度
a：所見の認められた動物数　　b：糸球体の肥大，細胞数の増加及びボーマン嚢の肥厚
c：間質線維化による圧迫に伴う尿細管の萎縮，尿細管の拡張，壁の菲薄化，細胞密度増加及び核・細胞質比の増加

2.6.7.7E　　9カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0073-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）		M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2	F:4+2
病理組織学的検査[a]（続き）									
9サイクル目の最終投与後（主群）　評価動物数		4	4	4	4	4	4	3	3
心臓									
亜急性／慢性炎症性細胞浸潤	±	1	3	1	2	1	2	0	0
	1+	0	0	3	2	2	2	2	3
	2+	0	0	0	0	1	0	1	0
心筋変性	±	0	0	0	1	1	0	2	0
心筋肥大	±	0	0	0	0	0	0	2	0
	1+	0	0	0	0	0	0	0	1
	2+	0	0	0	0	0	0	1	0
腎臓									
糸球体腎症[b]	1+	0	0	2	1	0	2	1	0
	2+	0	0	0	0	3	2	1	0
	3+	0	0	0	0	1	0	0	2
	4+	0	0	0	0	0	0	1	1
尿細管サイズ／細胞密度の変化[c]	±	0	0	0	1	0	1	0	0
	1+	0	0	0	0	1	3	1	1
	2+	0	0	0	0	2	0	1	1
	3+	0	0	0	0	1	0	1	1
慢性間質性炎症／線維化	±	2	0	3	4	0	1	0	0
	1+	0	0	0	0	2	3	2	1
	2+	0	0	0	0	2	0	1	2
赤血球円柱	±	0	0	1	1	1	1	1	3
	1+	0	0	0	0	3	3	1	0

±：ごく軽度，1+：軽度，2+：中等度，3+：高度，4+：極めて高度
a：所見の認められた動物数
b：糸球体の肥大，細胞数の増加及びボーマン嚢の肥厚
c：間質線維化による圧迫に伴う尿細管の萎縮，尿細管の拡張，壁の菲薄化，細胞密度増加及び核・細胞質比の増加

2.6.7.7E　　9カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0073-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）		M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2	F:4+2
病理組織学的検査[a]（続き）									
9サイクル目の最終投与後（主群）　評価動物数		4	4	4	4	4	4	3	3
肺									
間質性炎症	±	0	0	0	1	3	1	2	3
	1+	0	1	0	0	0	0	1	0
縦隔リンパ節：									
髄質内顆粒球又は顆粒球造血	1+	0	0	0	0	0	0	1	1
	3+	0	0	0	0	0	0	1	1
大腿骨骨髄									
細胞密度増加	±	1	1	1	0	0	1	0	0
	1+	2	1	2	1	2	0	1	0
	2+	1	2	1	1	2	1	2	0
	3+	0	0	0	2	0	2	0	3
投与部位（最終投与部位）									
表皮過形成	±～1+	0	0	0	0	1	1	0	0
急性／亜急性炎症細胞浸潤	±～2+	0	0	0	0	2	2	1	1
浮腫	±～2+	0	0	0	0	1	1	0	0
血管周囲の出血	±～2+	0	0	1	0	2	1	1	1
投与部位（頻度の高い投与部位）									
表皮過形成	2+	0	0	0	0	1	0	0	0
血管周囲の出血	1～2+	0	1	1	2	0	1	0	1
壊死	1+	0	0	0	0	0	0	0	1

±：ごく軽度，1+：軽度，2+：中等度，3+：高度
a：所見の認められた動物数

2.6.7.7E　　9 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0073-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）		M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2	F:4+2
病理組織学的検査[a]（続き）									
回復群	評価動物数	2	2	NA	NA	NA	NA	2	2
心臓									
亜急性／慢性炎症性細胞浸潤	±	1	1					0	1
	1+	0	0					2	0
心筋変性	±	0	0					1	0
心筋肥大	±	0	0					1	1
腎臓									
糸球体腎症[b]	1+	0	0					1	2
	3+	0	0					1	0
尿細管サイズ／細胞密度の変化[c]	±	0	0					1	1
慢性間質性炎症／線維化	±	0	2					1	1
	1+	0	0					1	0
赤血球円柱	±	0	0					2	1
肺									
間質性炎症	±	0	0					2	1
大腿骨骨髄									
細胞密度増加	±	1	1					0	1
	1+	0	1					2	0
	2+	0	0					0	1
	3+	1	0					0	0

±：ごく軽度，1+：軽度，2+：中等度，3+：高度　　NA：評価対象動物なし.

a：所見の認められた動物数

b：糸球体の肥大，細胞数の増加及びボーマン嚢の肥厚

c：間質線維化による圧迫に伴う尿細管の萎縮，尿細管の拡張，壁の菲薄化，細胞密度増加及び核・細胞質比の増加

2.6.7.7E　　9 カ月間反復投与毒性試験　　試験番号 TR-0073-171（続き）

投与量（mg/kg）	0（対照）		0.5		1		2	
動物数（主群+回復群）	M:4+2	F:4+2	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4+2[a]	F:4+2[a]
トキシコキネティクス								
M14								
Cmax（ng/mL）								
投与 1 日（初回投与）			82.1	72.3	170	129	343	305
投与 225 日（9 サイクル目の初回投与）			113	98.9	175	183	456	417
AUClast（ng·min/mL）								
投与 1 日			3648	3133	7231	5497	14213	13867
投与 225 日			4943	3957	7769	7305	19454	18119
M15								
Cmax（ng/mL）								
投与 1 日			29.1	19.5	42.9	31.9	87.4	70.1
投与 225 日			35.1	26.0	45.9	42.4	106	88.5
AUClast（ng·min/mL）								
投与 1 日			942	647	1537	1121	3030	2556
投与 225 日			1216	778	1623	1375	3603	3006
M16								
Cmax（ng/mL）								
投与 1 日（初回投与）			210	178	396	322	807	682
投与 225 日			276	207	507	464	849	781
AUClast（ng·min/mL）								
投与 1 日			3168	2742	6016	5137	12593	10771
投与 225 日			4020	2882	7185	6788	13161	12051

a：6 サイクル目に雄 1 例が死亡，5 サイクル目に雌 1 例を切迫剖検したため，投与 225 日は雌雄各 5 例での評価.

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8A 復帰突然変異試験

被験物質：カルフィルゾミブ

報告書の題名：Carfilzomib: Bacterial Reverse Mutation Test
試験番号：TR-0069-171
試験の種類：細菌を用いた復帰突然変異試験
CTD における記載箇所：［4.2.3.3.1-1］
菌株：*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 及び *Escherichia coli* WP2 *uvr*A(pKM101)
GLP 適用：適
独立した試験数：2　　プレート数：3
処理年月：20[redacted] 年 10 月
代謝活性化系：ラット肝 S9mix　　分析細胞数／培養：該当せず
被験物質：カルフィルゾミブ　　溶媒：DMSO
陽性対照：2-ニトロフルオレン，アジ化ナトリウム，9-アミノアクリジン，4-ニトロキノリン-1-オキシド，ベンゾ［a］ピレン，2-アミノアントラセン
処理：1 回目の試験：S9mix 非存在下又は S9mix 存在下，37℃で 72 時間のインキュベーション．2 回目の試験：S9mix 非存在下又は S9mix 存在下，37℃で 30 分間のプレインキュベーション実施後に 37℃で 72 時間のインキュベーション．
細胞毒性：なし．　　遺伝毒性：突然変異誘発性なし．

1 回目の試験

代謝活性化	被験物質	用量レベル（μg/プレート）	平均コロニー数/プレート（平均±SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A(pKM101)
代謝活性化なし	DMSO	-	37.0 ± 3.0	159.0 ± 15.1	20.3 ± 0.6	13.0 ± 3.0	117.7 ± 21.1
	カルフィルゾミブ	5	40.3 ± 4.7	188.7 ± 17.8	13.7 ± 3.2	14.0 ± 2.6	136.6 ± 3.1
		15	39.0 ± 5.3	160.3 ± 5.5	18.0 ± 2.0	10.7 ± 0.6	140.7 ± 5.5
		50	37.0 ± 0.0	127.3 ± 10.7	18.0 ± 2.0	11.3 ± 1.2	121.3 ± 18.6
		150	39.0 ± 1.0	139.7 ± 10.2	20.3 ± 3.5	15.3 ± 2.1	118.7 ± 8.5
		500[a]	37.3 ± 1.2	149.3 ± 5.9	16.3 ± 2.5	15.3 ± 1.5	122.3 ± 19.5
		1500[a]	36.3 ± 6.8	144.0 ± 15.7	19.3 ± 2.1	12.0 ± 1.7	111.7 ± 10.6
		5000[a]	28.7 ± 2.5	116.3 ± 10.4	13.3 ± 2.5	9.3 ± 1.5	89.3 ± 4.7
	2-ニトロフルオレン	2	257.3 ± 5.9	-	-	-	-
	アジ化ナトリウム	2	-	561.3 ± 60.1	963.0 ± 81.2	-	-
	9-アミノアクリジン	50	-	-	-	697.3 ± 20.4	-
	4-ニトロキノリン-1-オキシド	2	-	-	-	-	2154.7 ± 247.3

a：沈殿あり．

2.6.7.8A　　復帰突然変異試験　　試験番号：TR-0069-171（続き）

1回目の試験							
代謝活性化	被験物質	用量レベル（μg/プレート）	平均コロニー数/プレート（平均±SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A(pKM101)
代謝活性化あり	DMSO	-	61.3 ± 5.5	178.3 ± 17.2	17.0 ± 1.0	26.0 ± 3.6	139.0 ± 12.3
	カルフィルゾミブ	5	54.3 ± 1.5	148.3 ± 24.4	14.3 ± 2.3	24.3 ± 4.5	140.3 ± 2.1
		15	48.7 ± 9.1	183.0 ± 13.9	14.0 ± 1.7	24.3 ± 1.5	142.3 ± 14.6
		50	51.0 ± 11.4	181.0 ± 2.6	18.7 ± 1.2	29.0 ± 4.4	140.3 ± 15.0
		150	49.0 ± 4.6	184.7 ± 12.2	13.3 ± 2.5	25.0 ± 4.4	154.0 ± 15.4
		500	50.3 ± 5.5	178.0 ± 12.8	16.0 ± 2.6	23.3 ± 3.1	117.7 ± 2.1
		1500[a]	46.7 ± 1.2	171.3 ± 8.5	16.3 ± 0.6	26.7 ± 2.3	121.0 ± 13.1
		5000[a]	41.7 ± 5.5	153.0 ± 16.6	13.7 ± 2.1	21.0 ± 2.0	103.7 ± 7.4
	ベンゾ［a］ピレン	5	374.7 ± 33.3	-	-	120.3 ± 17.9	-
	2-アミノアントラセン	5	-	1705.0 ± 345.8	287.7 ± 41.6	-	-
		10	-	-	-	-	456.3 ± 33.0

a：沈殿あり.

2.6.7.8A　　復帰突然変異試験　　試験番号：TR-0069-171（続き）

2回目の試験							
代謝活性化	被験物質	用量レベル（μg/プレート）	平均コロニー数/プレート（平均±SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A(pKM101)
代謝活性化なし	DMSO	-	37.0 ± 3.5	168.7 ± 12.1	23.7 ± 2.1	11.0 ± 0.0	136.0 ± 6.9
	カルフィルゾミブ	5	40.0 ± 2.0	180.3 ± 35.2	17.3 ± 4.0	14.0 ± 2.6	116.3 ± 6.5
		15	47.7 ± 3.5	187.3 ± 28.0	21.0 ± 9.5	13.0 ± 4.6	130.3 ± 15.9
		50	32.3 ± 2.3	176.3 ± 18.0	27.7 ± 4.7	10.0 ± 0.0	133.7 ± 6.7
		150	43.0 ± 4.6	184.0 ± 14.7	26.7 ± 3.2	12.3 ± 3.2	148.3 ± 8.6
		500[a]	34.0 ± 3.0	186.7 ± 18.6	22.3 ± 3.5	10.7 ± 2.9	132.7 ± 8.5
		1500[a]	31.3 ± 4.9	164.7 ± 15.6	23.7 ± 1.5	11.0 ± 2.6	132.0 ± 3.6
		5000[a]	25.3 ± 1.2	149.0 ± 6.6	17.3 ± 1.5	7.3 ± 1.5	107.3 ± 9.6
	2-ニトロフルオレン	2	319.3 ± 32.5	-	-	-	-
	アジ化ナトリウム	2	-	748.0 ± 49.2	973.3 ± 75.0	-	-
	9-アミノアクリジン	50	-	-	-	424.7 ± 132.3	-
	4-ニトロキノリン-1-オキシド	2	-	-	-	-	1934.3 ± 336.0
代謝活性化あり	DMSO	-	46.0 ± 3.6	185.3 ± 11.6	19.7 ± 5.7	31.3 ± 7.0	146.3 ± 22.1
	カルフィルゾミブ	5	46.7 ± 7.1	216.7 ± 26.3	18.7 ± 2.1	29.3 ± 2.9	173.0 ± 22.6
		15	51.3 ± 3.5	181.3 ± 21.0	14.3 ± 3.8	30.3 ± 6.4	144.0 ± 18.7
		50	56.7 ± 8.0	207.7 ± 22.0	21.0 ± 6.1	30.7 ± 1.5	152.7 ± 7.5
		150	51.3 ± 1.5	183.3 ± 14.6	22.3 ± 7.0	24.0 ± 3.6	143.7 ± 17.9
		500	49.0 ± 4.6	201.3 ± 11.4	14.7 ± 1.5	29.7 ± 2.1	167.7 ± 15.0
		1500[a]	47.7 ± 4.0	178.3 ± 7.5	18.7 ± 4.2	24.0 ± 2.0	162.3 ± 7.5
		5000[a]	42.7 ± 3.5	174.0 ± 9.5	16.0 ± 2.6	23.0 ± 3.5	136.0 ± 8.2
	ベンゾ［a］ピレン	5	306.7 ± 35.8	-	-	216.0 ± 65.3	-
	2-アミノアントラセン	5	-	3158.3 ± 1117.7	188.7 ± 22.1	-	-
		10	-	-	-	-	766.3 ± 92.4

a：沈殿あり.

2.6.7.8B　　**染色体異常試験**　　**被験物質：カルフィルゾミブ**

報告書の題名：Carfilzomib: *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test in Human Lymphocytes　　試験番号：TR-0070-171

試験の種類：染色体異常試験　　CTD における記載箇所：［4.2.3.3.1-2］

細胞：ヒト末梢血リンパ球　　GLP 適用：適

独立した試験数：2　　プレート数：2　　処理年月：20[redacted] 年 9 月～12 月

代謝活性化系：ラット肝 S9mix　　分析細胞数／培養：分裂指数については 1000 個，染色体異常については 100 個.

被験物質：カルフィルゾミブ　　溶媒：DMSO

陽性対照：マイトマイシン C，シクロホスファミド

処理：短時間処理（S9mix 非存在下又は S9mix 存在下，被験物質で 3 時間処理後，新鮮培養液で 18 時間培養）及び連続処理（S9mix 非存在下，被験物質で 21 時間連続処理）

細胞毒性：短時間処理及び連続処理ともに細胞毒性あり.

遺伝毒性：短時間処理では S9mix 非存在下 0.078 μg/mL 以上，S9mix 存在下 2.5 μg/mL 以上，また連続処理では 0.0625 μg/mL で染色体構造異常の発現頻度の上昇が認められたことから，染色体異常誘発性を有すると判断した.

代謝活性化	処理方法	被験物質	処理濃度（μg/mL）	相対分裂指数（%）	染色体構造異常細胞発現頻度（%）	倍数体発現頻度（%）
代謝活性化なし	短時間処理	DMSO	-	100	0.5	0.0
		カルフィルゾミブ	0.078	92	6.0***	2.0
			0.156	74	6.5***	0.5
			0.313	55	17.0***	0.5
		マイトマイシン C	0.2	-	24.0***	0.5
代謝活性化あり S9mix 濃度 2%	短時間処理	DMSO	-	100	2.0	0.5
		カルフィルゾミブ	0.625	106	3.0	0.0
			1.25	89	2.0	1.0
			2.5	55	12.0***	1.0
		シクロホスファミド	5	-	16.5***	0.0
代謝活性化あり S9mix 濃度 5%	短時間処理	DMSO	-	100	0.5	1.5
		カルフィルゾミブ	2.5	97	4.0	0.5
			4.5	72	5.5**	2.0
			5.5	52	14.0***	1.0
		シクロホスファミド	5	-	19.0***	0.0

p<0.01，*p<0.001：対照群に対する Fisher の直接確率検定（片側）

2.6.7.8B　　染色体異常試験　　試験番号：TR-0070-171（続き）

代謝活性化	処理方法	被験物質	処理濃度（μg/mL）	相対分裂指数（%）	染色体構造異常細胞発現頻度（%）	倍数体発現頻度（%）
代謝活性化なし	連続処理	DMSO	-	100	0.5	0.0
		カルフィルゾミブ	0.0156	82	1.5	0.5
			0.0313	62	2.0	1.5
			0.0625	49	9.0***	3.5**
		マイトマイシン C	0.1	-	12.0***	0.0

p<0.01，*p<0.001：対照群に対する Fisher の直接確率検定（片側）

2.6.7.9　　*In Vivo*遺伝毒性試験：マウス小核試験　　被験物質：カルフィルゾミブ

報告書の題名：Carfilzomib: Mouse Micronucleus Test　　試験番号：TR-0071-171

試験方法：被験物質をマウスに投与し，骨髄中の幼若赤血球における小核誘発能を調べる．　　CTD における記載箇所：［4.2.3.3.2-1］

動物種／系統：マウス／CD-1　　週齢：約 6 週齢　　GLP 適用：適

投与方法：静脈内急速　　投与年月：20[redacted] 年 10 月

被験物質：カルフィルゾミブ

媒体／投与形態：10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液

処理計画：24 時間間隔で 2 回の投与．陽性対照は 1 回のみ投与．

計測時間：最終投与の 24 時間後に骨髄塗抹標本を作製

評価した細胞：多染性赤血球（PCE）　　分析細胞数／動物：PCE については 1000 個の赤血球，小核については 2000 個の PCE．

特記事項：雌雄のマウスを用いて実施した．2.5 mg/kg 以上の雄で死亡例が認められた．また，評価例数が 5 例に満たなかった 5 mg/kg の雄については骨髄塗抹標本は作製しなかった．

毒性／細胞毒性：雌雄ともに 1.25 mg/kg 以上で自発運動減少，不規則呼吸及び立毛等が認められ，雄では 2.5 mg/kg で 1 例，5 mg/kg で 2 例の死亡例が認められた．

遺伝毒性：小核誘発能なし．

曝露証明：静脈内投与であり，投与による一般状態の変化が認められたことで全身曝露を確認．

性	被験物質	投与量（mg/kg）	動物数	1000 個の赤血球における PCE の割合（%）	2000 個の PCE における小核を有する細胞の個数
雄	媒体	0	6	40.7	0.3
	カルフィルゾミブ	1.25	6	38.5	0.8
		2.5	5	42.1	0.6
	マイトマイシン C	12	5	41.9	54.4**
雌	媒体	0	6	42.1	0.3
	カルフィルゾミブ	0.31	6	43.3	0.3
		0.63	6	39.9	0.2
		1.25	6	44.7	0.3
	マイトマイシン C	12	5	45.7	66.0**

**p<0.01：対照群に対する Permutation 検定（片側）

2.6.7.10 がん原性試験

がん原性試験は実施しなかった.

2.6.7.11　生殖発生毒性試験　重要な試験以外の試験

2.6.7.11A　ラットにおける胚・胎児発生に関する静脈内投与用量設定試験　被験物質：カルフィルゾミブ

動物種／系統	投与方法（溶媒／投与形態）	投与期間	投与量（mg/kg）	一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ラット／SD	静脈内急速（10 mmol/L クエン酸（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液）	GD 6 - GD 17	0，0.5，1，2	妊娠雌 8 例	母体／雌動物： 一般状態の変化なし. 体重及び摂餌量；0.5 mg/kg：投与初期に体重増加抑制. 1 mg/kg：摂餌量減少を伴う投与初期の体重減少 2 mg/kg：摂餌量減少を伴う投与初期の体重減少，その後に体重増加抑制. 剖検に異常なし. 胎児： 胚・胎児死亡率，性比，生存胎児体重，胎盤重量，胎児外表検査に影響なし.	TR-0074-171

GD：妊娠日齢

2.6.7.11B　　ウサギにおける胚・胎児発生に関する静脈内投与用量設定試験　　被験物質：カルフィルゾミブ

報告書の題名：Carfilzomib: Preliminary Intravenous Embryofetal Toxicity Study in Rabbits (non GLP)

動物種／系統：ウサギ／NZW　　投与期間：GD 6 - GD 19　　試験番号：TR-0123-171

試験開始月齢：約 5 カ月週齢　　投与方法：静脈内急速　　CTD における記載箇所：［4.2.3.5.2-3］

溶媒／投与形態：10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液

無毒性量：F_0 雌：0.4 mg/kg，F_1 胎児：0.4 mg/kg

投与量（mg/kg）		0（対照）	0.2	0.4	0.8
動物数		8	8	8	8
妊娠動物数		7	7	8	7
死亡例		0	0	0	1（GD 8）
一般状態		-	-	-	糞量減少
母体／雌動物：					
剖検		-	-	-	死亡例：心嚢液及び胸水貯留，心膜水腫，縦隔リンパ節の腫大及び胸腺の浮腫 生存例：膣内淡緑色内容物（1 例）
体重	GD 20（%[a]）	3625.9 g	+2.7	-2.1	-7.6*
摂餌量	GD 6 - GD 7（%[a]）	174.0 g/day	+0.2	-7.8	-24.6**
	GD 19 - GD 20（%[a]）	184.6 g/day	+0.8	-3.2	-31.8*
胎児：					
評価母体数		7	7	8	6
生存胎児数		8.9	9.0	7.1	6.8
平均吸収胚数		0.6	0.7	0.4	1.5
死亡胎児数		0	0	0	0
平均着床後死亡率（%）		5.8	8.0	4.9	16.1
平均胎児体重（g）		41.7	42.0	44.3	37.9
胎児の外表異常		-	-	-	-

GD：妊娠日齢

-：特筆すべき所見なし．

*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams 検定又は Shirley／Steel 検定

a：対照群は平均値を示す．投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）．

2.6.7.12　　生殖発生毒性試験　　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

試験は実施しなかった.

2.6.7.13　生殖発生毒性試験　胚・胎児発生に関する試験　被験物質：カルフィルゾミブ

報告書の題名：Carfilzomib: An Intravenous Embryo-Fetal Toxicity Study in Rats (GLP)

試験計画：ICH 4.1.3 準拠　適　投与期間：GD 6 - GD 17　試験番号：TR-0075-171

動物種／系統：ラット／SD　交尾成立日：GD 0　CTD における記載箇所：［4.2.3.5.2-2］

試験開始年齢：10～12 週齢　帝王切開日：GD 20　GLP 適用：適

初回投与年月日：20[redacted] 年 1 月 14 日　投与方法：静脈内急速

溶媒／投与形態：10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液

特記事項：サテライト動物を用いて血漿中のカルフィルゾミブ，代謝物 M14，M15 及び M16 濃度（GD 6 及び GD 17 の投与前，投与後 5，15，30 分及び 1 時間）並びに血中のプロテアソーム活性（GD 6 の投与前及び投与後 1 時間）を測定した．薬物動態パラメータを試験番号 TR-0250-171 にて算出し，その結果は［2.6.5.4.3］に記載した．

無毒性量：F_0 雌：0.5 mg/kg，F_1 胎児：2 mg/kg

投与量（mg/kg）		0（対照）	0.5	1	2
動物数　毒性群／サテライト動物		22/0	22/6[a]	22/6[a]	22/6[a]
母体／雌動物：					
トキシコキネティクス					
C0（ng/mL）[b]	GD 6		393	502	3122
	GD 17		381	639	888
C5min（ng/mL）	GD 6		95.1	170	536
	GD 17		85.5	173	246
AUClast（ng･min/mL）	GD 6		1778	2860	12296
	GD 17		1657	3141	4474
全血のプロテアソーム活性（%[c]）					
	GD 6		20.7	37.1	37.2
妊娠動物数		22	22	22	22
死亡例		0	0	0	2[d]
全胚吸収母体例		0	0	0	1
一般状態		-	-	一過性の立毛及び円背	立毛，円背，自発運動減少，会陰部汚染，蒼白，労作性呼吸

GD：妊娠日齢　-：特筆すべき所見なし．

a：3 例から投与前，投与後 15 分及び 1 時間の採血を行い，残りの 3 例から投与後 5 及び 30 分の採血を行った．

b：計算値　c：投与前に対する投与後 1 時間の活性比　d：妊娠 9 日及び 15 日に死亡

2.6.7.13　　生殖発生毒性試験　　試験番号 TR-0075-171（続き）

投与量（mg/kg）	0（対照）	0.5	1	2
母体／雌動物：				
剖検	-	-	-	胸水貯留，結腸の拡張，空腸漿膜の赤色化，脾臓の小型，心臓の腫大（いずれも死亡例のみ）
体重　GD 18（%）[a]	329.7 g	+1.5	-1.1	-6.8**
摂餌量　GD 6 – GD 18（%）[a]	23.4 g/day	-2.1	-12.0**	-25.2**
平均黄体数	13.9	13.8	14.0	14.5
平均着床数	13.3	13.4	13.5	14.2
平均着床前死亡率（%）	5.0	3.1	2.8	2.1
胎児：				
評価母体数	22	22	22	19
生存胎児数	274	279	277	248
平均吸収胚数	0.8	0.7	1.0	1.5[b]
死亡胎児数	0	0	0	0
平均着床後死亡率（%）	6.7	5.1	7.5	5.4
平均胎児体重（g）	4.0	4.0	4.1	4.1
平均胎盤重量（g）	0.54	0.53	0.55	0.59*
胎児の性比（% 雄）	46.2	44.7	54.7	50.8
胎児の異常				
外表異常（%）	-	-	-	-
内臓異常（%）	-	-	-	-
骨格異常（%）	-	-	-	-
骨化進行度	-	-	-	-

GD：妊娠日齢　　*p≤0.05，**p≤0.01：対照群に対する Dunnett／Williams 又は Shirley／Steel 検定

-：特筆すべき所見なし／被験物質と関連した所見なし．

a：対照群は平均値を示す．投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）．

b：全胚吸収母体を含めた 20 例での評価．

2.6.7.13 生殖発生毒性試験 試験番号 TR-0075-171（続き）

投与量（mg/kg）		0（対照）	0.5	1	2
動物数　サテライト動物		0	6[a]	6[a]	6[a]
母体／雌動物：					
トキシコキネティクス					
M14					
Cmax（ng/mL）	GD 6		95.6	183	347
	GD 17		103	188	464
AUClast（ng･min/mL）	GD 6		2945	5847	11677
	GD 17		3723	7177	14495
M15					
Cmax（ng/mL）	GD 6		28.0	52.4	112
	GD 17		26.7	50.7	109
AUClast（ng･min/mL）	GD 6		356	735	1476
	GD 17		442	919	1671
M16					
Cmax（ng/mL）	GD 6		59.8	107	227
	GD 17		40.9	60.0	119
AUClast（ng･min/mL）	GD 6		689	1381	2538
	GD 17		446	829	1432

GD：妊娠日齢
a：3 例から投与前，投与後 15 分及び 1 時間の採血を行い，残りの 3 例から投与後 5 及び 30 分の採血を行った.

2.6.7.14　生殖発生毒性試験　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

本薬の臨床適用を考慮し，実施しなかった.

2.6.7.15　新生児を用いた試験

本薬の臨床適用を考慮し，実施しなかった.

2.6.7.16　局所刺激性試験

静脈への刺激性を検討する独立した試験は実施しなかった.

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17A リポ多糖の忍容性に及ぼす影響

被験物質：カルフィルゾミブ

<table>
<tr><th>動物種／系統</th><th>投与方法（溶媒／投与形態）</th><th>投与期間</th><th>投与量（mg/kg）</th><th>性別及び一群の動物数</th><th>特記すべき所見</th><th>試験番号</th></tr>
<tr><td rowspan="2">マウス／BALB/c</td><td rowspan="2">静脈内急速（10 mmol/L クエン酸（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液）</td><td rowspan="2">単回投与</td><td>0，3

LPS：
50 μ g/body</td><td>致死性評価：
雌 5</td><td>LPS 腹腔内処置前後にカルフィルゾミブを投与
LPS 処置後 96 時間までの死亡率
<table>
<tr><td rowspan="2">投与量（mg/kg）</td><td>0</td><td colspan="4">3</td></tr>
<tr><td>-</td><td>LPS 処置前 1h</td><td>LPS 処置後 1h</td><td>LPS 処置後 24h</td><td>LPS 処置後 48h</td></tr>
<tr><td>死亡率</td><td>0/5</td><td>5/5</td><td>5/5</td><td>0/5</td><td>0/5</td></tr>
</table></td><td rowspan="2">TR-0424-171</td></tr>
<tr><td>3，5，10

ボルテゾミブ（BTZ）：
1

LPS：
50 μ g/body</td><td>血液化学的検査：
雌 5</td><td>LPS 処置後 12 時間に評価：カルフィルゾミブ 3 及び 5 mg/kg の単独投与，ボルテゾミブ 1 mg/kg の単独投与及び LPS 処置のみで，アルブミンの低値が認められた．カルフィルゾミブ 10 mg/kg の単独投与では，アルブミンの低値，ALT，AST，CK，血中尿素窒素及び無機リンの高値が認められた．LPS 処置後 1 時間にカルフィルゾミブ 3 及び 5 mg/kg 又はボルテゾミブ 1 mg/kg を投与したとき，カルフィルゾミブ又はボルテゾミブの単独投与に比べ ALT，AST，CK，血中尿素窒素及び無機リンの高値が認められた．
<table>
<tr><td rowspan="2">投与量（mg/kg）</td><td colspan="5">LPS 無処置（単独投与）</td></tr>
<tr><td>0</td><td>3</td><td>5</td><td>10</td><td>BTZ 1</td></tr>
<tr><td>アルブミン（g/dL）</td><td>4.0</td><td>3.5</td><td>3.2</td><td>3.3</td><td>3.2</td></tr>
<tr><td>ALT（U/L）</td><td>83</td><td>40</td><td>63</td><td>142</td><td>34</td></tr>
<tr><td>AST（U/L）</td><td>104</td><td>81</td><td>76</td><td>254</td><td>81</td></tr>
<tr><td>クレアチンキナーゼ（U/L）</td><td>392</td><td>268</td><td>135</td><td>593</td><td>240</td></tr>
<tr><td>血中尿素窒素（mg/dL）</td><td>25</td><td>15</td><td>16</td><td>54</td><td>17</td></tr>
<tr><td>無機リン（mg/dL）</td><td>10.6</td><td>10.6</td><td>11.0</td><td>19.5</td><td>11.4</td></tr>
<tr><td rowspan="2">投与量（mg/kg）</td><td colspan="5">LPS 処置後 1 時間</td></tr>
<tr><td>0</td><td>3</td><td>5</td><td>10</td><td>BTZ 1</td></tr>
<tr><td>アルブミン（g/dL）</td><td>3.4</td><td>3.2</td><td>3.5</td><td>-</td><td>3.3</td></tr>
<tr><td>ALT（U/L）</td><td>74</td><td>314</td><td>251</td><td>-</td><td>216</td></tr>
<tr><td>AST（U/L）</td><td>117</td><td>374</td><td>246</td><td>-</td><td>253</td></tr>
<tr><td>クレアチンキナーゼ（U/L）</td><td>281</td><td>1521</td><td>1305</td><td>-</td><td>1577</td></tr>
<tr><td>血中尿素窒素（mg/dL）</td><td>45</td><td>66</td><td>81</td><td>-</td><td>60</td></tr>
<tr><td>無機リン（mg/dL）</td><td>10.7</td><td>21.1</td><td>23.1</td><td>-</td><td>21.0</td></tr>
</table></td></tr>
</table>

2.6.7.17A　　リポ多糖の忍容性に及ぼす影響　　（続き）

<table>
<tr><th>動物種／
系統</th><th>投与方法
（溶媒／投与形態）</th><th>投与期間</th><th>投与量
（mg/kg）</th><th>性別及び
一群の動物数</th><th>特記すべき所見</th><th>試験
番号</th></tr>
<tr><td>（続き）
マウス／
BALB/c</td><td>静脈内急速
（10 mmol/L クエン酸（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液）</td><td>単回投与</td><td>5，10

LPS：
50 μg/body</td><td>サイトカイン測定：
雌 5／時点</td><td>LPS 処置後 1.5，6 及び 12 時間に評価：
<table>
<tr><td rowspan="2">投与量（mg/kg）</td><td colspan="3">LPS 無処置（単独投与）</td><td colspan="2">LPS 処置前 1 時間</td></tr>
<tr><td>0</td><td>5</td><td>10</td><td>0</td><td>5</td></tr>
<tr><td colspan="5">カルフィルゾミブ 5 及び 10 mg/kg の単独投与で GM-CSF，IL-1α，ケモカイン KC，IP-10 のわずかな高値が認められたが，その程度は LPS 処置と比較して 1/10～1/100 程度であった．カルフィルゾミブ 5 mg/kg の投与後 1 時間に LPS 処置したとき，LPS 処置のみと比べ RANTES，MCP-1，IL-6，IL-1β，IFN-γ 及び IL-17 の顕著な高値が LPS 処置後 6 又は 12 時間に認められた．</td></tr>
</table></td><td>TR-
0424-
171</td></tr>
</table>

2.6.7.17B　　*In Vitro*遺伝毒性試験：不純物の復帰突然変異試験　　被験物質：カルフィルゾミブ

報告書の題名：Carfilzomib: Bacterial Reverse Mutation Test　　試験番号：TR-0425-171

試験の種類：細菌を用いた復帰突然変異試験　　CTD における記載箇所：［4.2.3.7.6-1］

菌株：*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 及び *Escherichia coli* WP2 *uvr*A(pKM101)　　GLP 適用：適

独立した試験数：2　　プレート数：3　　処理年月：20[redacted] 年 5 月

代謝活性化系：ラット肝 S9mix　　分析細胞数／培養：該当せず

被験物質：*不純物B, *不純物C，*不純物A 及び *不純物D を添加によりそれぞれ[redacted], [redacted], [redacted] 及び [redacted]%含有した原薬

溶媒：DMSO

陽性対照：2-ニトロフルオレン，アジ化ナトリウム，9-アミノアクリジン，4-ニトロキノリン-1-オキシド，ベンゾ［a］ピレン，2-アミノアントラセン

処理：1 回目の試験：S9mix 非存在下又は S9mix 存在下，37℃で 72 時間のインキュベーション．2 回目の試験：S9mix 非存在下又は S9mix 存在下，37℃で 30 分間のプレインキュベーション実施後に 37℃で 72 時間のインキュベーション

細胞毒性：なし.　　遺伝毒性：突然変異誘発性なし.

1 回目の試験

代謝活性化	被験物質	用量レベル（μg/プレート）	平均コロニー数/プレート（平均±SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A(pKM101)
代謝活性化なし	DMSO	-	34.3 ± 1.2	146.0 ± 10.4	19.0 ± 3.6	9.7 ± 0.6	104.3 ± 4.7
	カルフィルゾミブ	1.5	32.7 ± 1.5	127.3 ± 11.1	17.7 ± 3.1	8.0 ± 1.7	108.0 ± 8.5
		5	35.0 ± 2.0	126.0 ± 13.1	18.3 ± 4.7	10.0 ± 0.0	114.0 ± 8.2
		15	33.0 ± 6.6	143.3 ± 2.1	15.7 ± 3.2	9.3 ± 3.1	102.3 ± 2.1
		50	39.3 ± 4.0	138.0 ± 5.2	18.7 ± 2.1	9.3 ± 0.6	95.3 ± 9.5
		150	34.0 ± 5.6	134.7 ± 18.7	17.7 ± 0.6	9.7 ± 0.6	100.0 ± 19.9
		500[a]	32.3 ± 2.9	141.0 ± 14.5	17.7 ± 2.1	9.7 ± 0.6	79.7 ± 4.0
		1500[a]	28.7 ± 2.1	125.0 ± 16.1	13.0 ± 2.6	7.3 ± 1.5	89.3 ± 1.5
	2-ニトロフルオレン	2	293.7 ± 3.8	-	-	-	-
	アジ化ナトリウム	2	-	817.3 ± 46.4	232.7 ± 13.3	-	-
	9-アミノアクリジン	50	-	-	-	450.0 ± 75.3	-
	4-ニトロキノリン-1-オキシド	2	-	-	-	-	3033.7 ± 101.6

a：沈殿あり.

2.6.7.17B　　*In Vitro*遺伝毒性試験：不純物の復帰突然変異試験　　試験番号：TR-0425-171（続き）

1回目の試験							
代謝活性化	被験物質	用量レベル（μg/プレート）	平均コロニー数/プレート（平均±SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A(pKM101)
代謝活性化あり	DMSO	-	50.0 ± 2.6	149.3 ± 0.6	26.7 ± 5.0	31.7 ± 2.5	125.0 ± 7.2
	カルフィルゾミブ	5	49.3 ± 6.4	149.0 ± 4.0	25.7 ± 7.5	24.7 ± 3.2	125.7 ± 23.9
		15	46.0 ± 9.8	147.7 ± 33.5	22.7 ± 0.6	30.7 ± 4.5	124.3 ± 3.8
		50	50.0 ± 11.3	145.7 ± 19.0	22.3 ± 5.5	28.3 ± 6.4	125.0 ± 14.0
		150	46.7 ± 7.0	159.0 ± 12.5	22.7 ± 2.9	27.7 ± 5.8	128.7 ± 24.1
		500	53.7 ± 8.7	147.3 ± 17.7	19.3 ± 4.0	28.0 ± 6.2	100.7 ± 10.2
		1500[a]	43.0 ± 12.2	142.0 ± 10.4	23.7 ± 0.6	23.3 ± 4.9	106.0 ± 12.3
		5000[a]	44.0 ± 5.0	127.3 ± 14.6	21.3 ± 2.5	22.7 ± 1.2	92.3 ± 16.3
	ベンゾ［a］ピレン	5	298.0 ± 43.1	-	-	174.0 ± 23.4	-
	2-アミノアントラセン	5	-	2784.7 ± 174.5	135.7 ± 25.9	-	-
		10	-	-	-	-	523.7 ± 21.6

a：沈殿あり.

2.6.7.17B　　*In Vitro*遺伝毒性試験：不純物の復帰突然変異試験　　試験番号：TR-0425-171（続き）

2回目の試験							
代謝活性化	被験物質	用量レベル（μg/プレート）	平均コロニー数/プレート（平均±SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A(pKM101)
代謝活性化なし	DMSO	-	31.7 ± 7.1	150.0 ± 15.4	24.7 ± 2.9	11.0 ± 1.7	117.0 ± 11.5
	カルフィルゾミブ	1.5	28.7 ± 2.5	154.7 ± 31.1	23.0 ± 3.0	11.3 ± 4.0	122.7 ± 8.5
		5	28.3 ± 5.5	146.3 ± 8.3	22.7 ± 3.8	12.3 ± 4.2	113.7 ± 10.8
		15	30.0 ± 4.6	146.7 ± 15.6	26.7 ± 5.1	12.0 ± 1.0	117.7 ± 12.9
		50	32.0 ± 1.7	161.0 ± 20.0	24.0 ± 3.0	10.3 ± 1.2	133.3 ± 18.5
		150	30.0 ± 2.6	160.3 ± 24.4	25.3 ± 2.3	10.7 ± 2.1	125.0 ± 11.4
		500[a]	30.0 ± 2.6	156.0 ± 3.5	25.3 ± 2.3	8.7 ± 1.5	130.3 ± 8.0
		1500[a]	26.7 ± 3.2	140.3 ± 7.1	22.7 ± 3.1	8.7 ± 2.1	118.7 ± 14.2
	2-ニトロフルオレン	2	281.7 ± 5.0	-	-	-	-
	アジ化ナトリウム	2	-	648.0 ± 71.6	931.7 ± 45.9	-	-
	9-アミノアクリジン	50	-	-	-	591.3 ± 13.1	-
	4-ニトロキノリン-1-オキシド	2	-	-	-	-	2883.7 ± 190.1
代謝活性化あり	DMSO	-	46.0 ± 6.6	173.0 ± 15.6	27.3 ± 4.0	25.3 ± 3.1	146.7 ± 14.3
	カルフィルゾミブ	5	48.3 ± 9.0	172.3 ± 28.9	22.7 ± 3.1	23.7 ± 7.6	165.3 ± 16.3
		15	41.7 ± 6.4	182.3 ± 26.7	24.0 ± 2.0	25.0 ± 7.0	142.0 ± 5.0
		50	40.7 ± 4.0	176.7 ± 30.4	23.3 ± 2.5	25.3 ± 4.0	150.0 ± 15.6
		150	37.7 ± 0.6	154.7 ± 10.1	25.7 ± 1.5	26.3 ± 2.9	159.7 ± 20.3
		500	42.0 ± 6.1	161.0 ± 9.8	19.3 ± 2.3	26.0 ± 4.4	158.3 ± 4.0
		1500[a]	40.7 ± 7.6	163.0 ± 12.8	19.3 ± 1.2	24.7 ± 2.3	140.7 ± 6.4
		5000[a]	30.7 ± 8.5	148.0 ± 9.6	18.3 ± 3.1	23.7 ± 3.8	136.7 ± 7.5
	ベンゾ［a］ピレン	5	212.7 ± 16.2	-	-	133.3 ± 22.0	-
	2-アミノアントラセン	5	-	3503.0 ± 248.2	512.7 ± 13.3	-	-
		10	-	-	-	-	510.0 ± 45.6

a：沈殿あり.

2.6.7.17C　　*In Vitro*遺伝毒性試験：不純物の染色体異常試験　　被験物質：カルフィルゾミブ

報告書の題名：Carfilzomib: *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test in Human Lymphocytes　　試験番号：TR-0426-171

試験の種類：染色体異常試験　　CTD における記載箇所：［4.2.3.7.6-2］

細胞：ヒト末梢血リンパ球　　GLP 適用：適

独立した試験数：1　　プレート数：2　　処理年月：20[redacted] 年 3 月～4 月

代謝活性化系：ラット肝 S9mix　　分析細胞数／培養：分裂指数については 1000 個，染色体異常については 100 個.

被験物質：*不純物B，*不純物C，*不純物A 及び *不純物D を添加によりそれぞれ [redacted]，[redacted]，[redacted] 及び [redacted]%含有した原薬

溶媒：DMSO

陽性対照：マイトマイシン C，シクロホスファミド

処理：短時間処理（S9mix 非存在下又は S9mix 存在下，被験物質で 3 時間処理後，新鮮培養液で 18 時間培養）

細胞毒性：細胞毒性あり.

遺伝毒性：S9mix 非存在下 0.04μg/mL 以上，S9mix 存在下 3μg/mL で染色体構造異常の発現頻度の上昇が認められたことから，染色体異常誘発性を有すると判断した.

代謝活性化	処理方法	被験物質	処理濃度（μg/mL）	相対分裂指数（%）	染色体構造異常細胞発現頻度（%）	倍数体発現頻度（%）
代謝活性化なし	短時間処理	DMSO	-	100	0.5	0.5
		カルフィルゾミブ [a]	0.04	97	13.9***	2.1
			0.08	87	30.3***	0.0
			0.12	49	34.5***	0.0
		マイトマイシン C	0.2	-	69.0***	0.0
代謝活性化あり S9mix 濃度 2%	短時間処理	DMSO	-	100	2.0	0.0
		カルフィルゾミブ	1	93	3.0	0.0
			2	81	5.0	0.5
			3	49	15.2***	0.0
		シクロホスファミド	5	-	28.6***	0.0

***p<0.001：対照群に対する Fisher の直接確率検定（片側）

[a]：実際の濃度は表記の値より 40～50%高かった.

2.6.7.17D　　*In Vivo*遺伝毒性試験：不純物のマウス小核試験　　被験物質：カルフィルゾミブ

報告書の題名：Carfilzomib: Mouse *in vivo* Micronucleus Test　　試験番号：TR-0422-171

試験方法：被験物質をマウスに投与し，骨髄中の幼若赤血球における小核誘発能を調べる．　　CTD における記載箇所：［4.2.3.7.6-3］

動物種／系統：マウス／CD-1　　週齢：約 6 週齢　　GLP 適用：適

投与方法：静脈内急速投　　投与年月：20[redacted] 年 4 月

被験物質：[redacted]分解物ｱ不純物J, 不純物E~不純物Cをそれぞれ [redacted]，[redacted]，[redacted]及び [redacted]%含有し，*不純物B，*不純物A 及び *不純物D を添加によりそれぞれ [redacted]，[redacted] 及び [redacted]%含有した製剤

媒体／投与形態：10 mmol/L クエン酸溶液（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液

処理計画：24 時間間隔で 2 回の投与．陽性対照は 1 回のみ投与．

計測時間：最終投与の 24 時間後に骨髄塗抹標本を作製

評価した細胞：多染性赤血球（PCE）　　分析細胞数/動物：PCE については 1000 個の赤血球，小核については 2000 個の PCE．

特記事項：雌雄のマウスを用いて実施した．2.5 mg/kg の雄で死亡例が認められた．また，評価例数が 5 例に満たなかった 2.5 mg/kg の雄については骨髄塗抹標本は作製しなかった．

毒性/細胞毒性：雌雄ともに 2.5 mg/kg 以上で自発運動減少，呼吸深大及び立毛等が認められ，雄では 2.5 mg/kg で 1 例の死亡例が認められた．

遺伝毒性：小核誘発能なし．

曝露証明：静脈内投与であり，投与による一般状態の変化が認められたことで全身曝露を確認．

性	被験物質	投与量（mg/kg）	動物数	1000 個の赤血球における PCE の割合（%）	2000 個の PCE における小核を有する細胞の個数
雄	媒体	0	5	51.5	1.4
	カルフィルゾミブ	0.625	5	50.4	0.8
		1.25	5	54.3	1.0
	マイトマイシン C	12	5	37.5**	79.2**
雌	媒体	0	5	53.7	1.2
	カルフィルゾミブ	0.625	5	54.3	0.6
		1.25	5	51.7	1.4
		2.5	5	50.8	0.6
	マイトマイシン C	12	5	38.4**	65.2**

**p<0.01：対照群に対する Wilcoxon 順位和検定（片側）又は Permutation 検定（片側）

2.6.7.17E　神経毒性試験　　被験物質：カルフィルゾミブ

<table>
<tr><th>動物種／系統</th><th>投与方法（溶媒／投与形態）</th><th>投与期間</th><th>投与量（mg/kg）</th><th>性別及び一群の動物数</th><th>特記すべき所見</th><th>試験番号</th></tr>
<tr><td>ラット／SD</td><td>静脈内急速（生理食塩液，又は 10 mmol/L クエン酸（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液）</td><td>週 2 回（週の 1 及び 2 日目）投与を 4 週</td><td>2</td><td>雄 20</td><td rowspan="2">一般状態：
<table>
<tr><td>投与量（mg/kg）</td><td>0</td><td>2</td><td>BTZ 0.2</td></tr>
<tr><td>粗毛</td><td>3/20 例</td><td>5/20 例</td><td>2/20 例</td></tr>
<tr><td>皮膚紅斑</td><td>0/20 例</td><td>3/20 例</td><td>1/20 例</td></tr>
<tr><td>痂疲</td><td>1/20 例</td><td>3/20 例</td><td>2/20 例</td></tr>
<tr><td>つまみ反射無し</td><td>0/20 例</td><td>0/20 例</td><td>1/20 例</td></tr>
</table>
体重増加量：
<table>
<tr><td>投与量（mg/kg）</td><td>0</td><td>2</td><td>BTZ 0.2</td></tr>
<tr><td>体重増加量（%[b]）　投与前日～28 日</td><td>140.7 g</td><td>-21***</td><td>-37***</td></tr>
<tr><td>投与 28～56 日</td><td>109.4 g</td><td>+27*</td><td>+8</td></tr>
<tr><td>平均摂餌量（%[b]）　投与 21～28 日</td><td>31.7 g/day</td><td>-8**</td><td>-15***</td></tr>
<tr><td>投与 49～56 日</td><td>33.3 g/day</td><td>+8</td><td>0</td></tr>
</table>
神経学的検査：投与前（2 回），投与期間（4 回）及び回復期間（2 回）に評価
投与期間；カルフィルゾミブでは，立毛，テールピンチ反射の亢進，筋緊張低下，立ち上がり回数の増加，Von Frey 閾値の低下及びホットプレート反応潜時の短縮が認められた．ボルテゾミブでは，立毛，テールピンチ反射の亢進，部分的閉眼，覚醒反応の顕著な低下及び縮瞳が認められ，Von Frey 閾値の低下はカルフィルゾミブに比べ強く認められ，ホットプレート反応潜時の短縮はカルフィルゾミブと同程度に認められた．いずれもテールフリック反射時間及び神経伝導速度に影響は認められなかったが，尾神経反応の平均振幅のわずかな低下が認められた．
<table>
<tr><td>投与量（mg/kg）</td><td colspan="4">0</td><td colspan="4">2</td><td colspan="4">BTZ 0.2</td></tr>
<tr><td>検査週</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td></tr>
<tr><td>立毛[c]</td><td>6</td><td>5</td><td>6</td><td>2</td><td>5</td><td>8</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>10</td><td>12</td><td>2</td></tr>
<tr><td>テールピンチ反射亢進[c]</td><td>2</td><td>4</td><td>1</td><td>3</td><td>6</td><td>7</td><td>5</td><td>4</td><td>2</td><td>5</td><td>8#</td><td>3</td></tr>
<tr><td>筋緊張低下[c]</td><td>1</td><td>1</td><td>3</td><td>3</td><td>9##</td><td>10##</td><td>7</td><td>4</td><td>3</td><td>5</td><td>2</td><td>3</td></tr>
<tr><td>立ち上がり回数[d]</td><td>2.3</td><td>2.0</td><td>3.6</td><td>5.4</td><td>2.9</td><td>3.2</td><td>5.8$$</td><td>6.1</td><td>2.9</td><td>1.9</td><td>1.8</td><td>4.4</td></tr>
<tr><td>覚醒反応低下（Severely）[c]</td><td>9</td><td>5</td><td>2</td><td>1</td><td>6</td><td>2</td><td>0&</td><td>0</td><td>7</td><td>3</td><td>6</td><td>1</td></tr>
<tr><td>部分的閉眼[c]</td><td>1</td><td>1</td><td>2</td><td>1</td><td>2</td><td>2</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>5</td><td>5</td><td>0</td></tr>
<tr><td>縮瞳[c]</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>2</td><td>2</td><td>1</td><td>3&</td><td>0</td><td>5</td><td>3</td><td>11</td><td>2</td></tr>
</table></td><td>TR-0297-171</td></tr>
<tr><td>ボルテゾミブ（BTZ）：週 2 回（週の 1 及び 4 日目）投与を 4 週</td><td>0[a]，0.2</td></tr>
</table>

* p ≤0.05，**p≤0.01，***p≤0.001：対照群に対する Dunnett 検定　　#p ≤0.05，##p≤0.01：対照群に対する Fisher の直接確率検定
$$P≤0.01：BTZ に対する t 検定　　&p≤0.05：BTZ に対する Fisher の直接確率検定
a：生理食塩液　　b：投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）．
c：所見の認められた動物数　　d：平均値を示す．　　e：投与前値との差を%で示す．　　f：対照群との差を%で示す．

2.6.7.17E 神経毒性比較 （続き）

<table>
<tr><th>動物種／系統</th><th>投与方法（溶媒／投与形態）</th><th>投与期間</th><th>投与量（mg/kg）</th><th>性別及び一群の動物数</th><th>特記すべき所見</th><th>試験番号</th></tr>
<tr><td>（続き）
ラット／SD</td><td>静脈内急速（生理食塩液，又は 10 mmol/L クエン酸（pH 3.5）に溶解した 10 w/v% SBECD／溶液）</td><td>週 2 回（週の 1 及び 2 日目）投与を 4 週間
ボルテゾミブ(BTZ)：週 2 回（週の 1 及び 4 日目）投与を 4 週間</td><td>2
0[a]，0.2</td><td>雄 20</td><td>神経学的検査：（続き）
投与期間：
<table>
<tr><th>投与量（mg/kg）</th><th></th><th colspan="4">0</th><th colspan="4">2</th><th colspan="4">BTZ 0.2</th></tr>
<tr><th>検査週</th><th></th><th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th><th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th><th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th></tr>
<tr><td rowspan="2">Von Frey 閾値</td><td>(%[d])</td><td>-11</td><td>-2</td><td>-22</td><td>-16</td><td>-26</td><td>-13</td><td>-12</td><td>-21</td><td>-35</td><td>-35</td><td>-35</td><td>-38</td></tr>
<tr><td>(%[e])</td><td colspan="4">NA</td><td>-16</td><td>-10</td><td>+14</td><td>-6</td><td>-18</td><td>-25</td><td>-6</td><td>-17</td></tr>
<tr><td rowspan="2">ホットプレート反応潜時</td><td>(%[d])</td><td>+11</td><td>-21</td><td>-17</td><td>-28</td><td>-15</td><td>-28</td><td>-26</td><td>-37</td><td>-22</td><td>-20</td><td>-5</td><td>-23</td></tr>
<tr><td>(%[e])</td><td colspan="4">NA</td><td>-24</td><td>-9</td><td>-11</td><td>-14</td><td>-41</td><td>-14</td><td>-3</td><td>-10</td></tr>
<tr><td colspan="2">神経伝導速度</td><td colspan="4">-</td><td colspan="8">影響なし（投与 4 週に尾神経反応の平均振幅がわずかに低下）</td></tr>
</table>
回復期間：カルフィルゾミブでは，4 週間の回復期間後に立ち上がり回数の増加及び Von Frey 閾値の低下が投与期間と同程度に認められたが，ホットプレート反射潜時の短縮は回復傾向を示した．ボルテゾミブでは，4 週間の回復期間後に部分的閉眼が 1 例に認められたが，Von Frey 閾値の低下及ホットプレート反射潜時の短縮は回復した．
<table>
<tr><th>投与量（mg/kg）</th><th></th><th colspan="2">0</th><th colspan="2">2</th><th colspan="2">BTZ 0.2</th></tr>
<tr><th>検査週</th><th></th><th>5 - 6</th><th>8</th><th>5 - 6</th><th>8</th><th>5 - 6</th><th>8</th></tr>
<tr><td colspan="2">立ち上がり回数[b]</td><td>3.4</td><td>4.1</td><td>7.3[$]</td><td>7.3</td><td>2.7</td><td>3.1</td></tr>
<tr><td colspan="2">部分的閉眼[c]</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>2</td><td>1</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Von Frey 閾値</td><td>(%[d])</td><td>-7</td><td>+17</td><td>-17</td><td>-15</td><td>-20</td><td>-5</td></tr>
<tr><td>(%[e])</td><td colspan="2">NA</td><td>-10</td><td>-27</td><td>-3</td><td>-8</td></tr>
<tr><td rowspan="2">ホットプレート反応潜時</td><td>(%[d])</td><td>-46</td><td>-37</td><td>-50</td><td>-48</td><td>-45</td><td>-28</td></tr>
<tr><td>(%[e])</td><td colspan="2">NA</td><td>-9</td><td>-19</td><td>-13</td><td>-3</td></tr>
</table>
病理組織学的検査：中枢神経（頸髄及び腰髄）及び末梢神経（坐骨，腓腹，腓骨及び趾神経）にボルテゾミブ投与に起因した変化は認められなかった．
<table>
<tr><th>投与量（mg/kg）</th><th>0</th><th>2</th><th>BTZ 0.2</th></tr>
<tr><td>中枢神経及び末梢神経</td><td>-</td><td>NE</td><td>-</td></tr>
</table></td><td>TR-0297-171</td></tr>
</table>

-：特筆すべき所見なし． NA：評価対象なし． NE：評価せず．
[$]P≤0.05：BTZ に対する t 検定
a：生理食塩液 b：平均値を示す． c：所見の認められた動物数 d：投与前値との差を%で示す． e：対照群との差を%で示す．