サノフィ株式会社

モゾビル皮下注 24 mg

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.4 非臨床試験の概括評価

Total number of pages: 60

目　　次

略号と用語の定義 5

1　非臨床試験計画概略 7

1.1　開発の経緯 15

1.2　薬理試験計画概略 15

1.3　薬物動態試験計画概略 17

1.4　毒性試験計画概略 17

1.5　非臨床試験で用いた plerixafor の品質特性 19

1.5.1　不純物 21

1.6　非臨床評価における重要事項 22

1.6.1　薬理試験 22

1.6.2　薬物動態試験 23

1.6.3　毒性試験 23

2　薬理試験 26

2.1　効力を裏付ける試験 26

2.2　副次的薬理試験 29

2.3　安全性薬理試験 31

3　薬物動態試験 36

4　毒性試験 38

5　総括及び結論 43

5.1 In vitro 結合試験 43

5.2 In vivo 試験 44

5.3 CXCR4 及び造血細胞の保持、動員 44

5.4 薬物動態試験 45

5.5 薬理試験／毒性試験 46

5.5.1 造血系／免疫系 46

5.5.2 生殖系 49

5.5.3 神経筋系 50

5.5.4 消化管系 51

5.5.5 呼吸系 51

5.5.6 心血管系 51

5.5.7 泌尿器系 53

5.5.8 局所刺激 53

5.5.9 まとめ及び関連するリスク評価 54

5.6 結論 56

6 参考文献一覧 58

表　目　次

表 1 - 本製造販売承認申請の Module 4.2 に含まれる非臨床試験の一覧表 9

表 2 - 主要な毒性試験で使用した原薬及びバッチ 20

表 3 - 非臨床毒性試験報告書にみられた欠陥 25

表 4 - SpectrumScreen でみられた plerixafor の有意な受容体結合（50%以上）の要約 34

表 5 - Plerixafor の結合によるアゴニスト又はアンタゴニスト活性を評価した機能アッセイの要約 35

図　目　次

図 1 - Plerixafor の構造 43

略号と用語の定義

ACE	Angiotensin converting enzyme（アンジオテンシン変換酵素）
ALL	Acute lymphocytic leukemia or（急性リンパ性白血病）
ALT	Alanine aminotransferase（アラニンアミノトランスフェラーゼ）
AUC	Area under the plasma concentration time curve（血漿中濃度－時間曲線下面積）
BFU-E	Burst forming units-erythroid（赤芽球バースト形成細胞）
BID	Twice daily dosing（1 日 2 回投与）
Ca	Calcium（カルシウム）
C_{max}	Maximal concentration in plasma（最高血漿中濃度）
CFU-GEMM	colony forming units-granulocyte, erythroid, megakaryocyte, macrophage（顆粒球・赤芽球・巨核球・マクロファージコロニー形成細胞）
CFU-GM	Colony forming units-granulocyte macrophage（顆粒球・マクロファージコロニー形成細胞）
CHO	Chinese hamster ovary（チャイニーズハムスター卵巣）
CNS	Central nervous system（中枢神経系）
Cu	Copper（銅）
CV	Cardiovascular（心血管系）
CYP	Cytochrome P450（シトクロム P450）
DLA	Dog leukocyte antigen（イヌ白血球抗原）
ECG	Electrocardiogram（心電図）
EPC	Endothelial progenitor cell（血管内皮前駆細胞）
G-CSF	Granulocyte colony stimulating factor（顆粒球コロニー刺激因子）
GLP	Good Laboratory Practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準）
hERG	Human ether-a-go-go-related gene（ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子）
HIV	Human immunodeficiency virus（ヒト免疫不全ウイルス）
HPC	Haematopoietic progenitor cell（循環血中造血前駆細胞）
HSC	Haematopoietic stem cell（造血幹細胞）
ICH	International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use（日米 EU 医薬品規制調和国際会議）
IP	Intraperitoneal（腹腔内）

IV	Intravenous（静脈内）
Mg	Magnesium（マグネシウム）
MI	Myocardial infarction（心筋梗塞）
MTD	Maximum tolerated dose（最大耐量）
NHL	Non-Hodgkin's lymphoma（非ホジキンリンパ腫）
NOAEL	No observed adverse effect level（無毒性量）
NOD/SCID	Non-obese diabetic/severe combined immunodeficient（非肥満糖尿病／重症複合免疫不全）
Oab	On an anhydrous basis（無水物換算）
PK	Pharmacokinetic（薬物動態）
PVC	Premature ventricular contraction（心室性期外収縮）
SC	Subcutaneous（皮下）
SDF-1	Stromal cell derived factor-1（ストローマ細胞由来因子-1）
$t_{1/2}$	Elimination half-life（消失半減期）
TK	Toxicokinetics（トキシコキネティクス）
WBC	White blood cell（白血球）
Zn	Zinc（亜鉛）

1　非臨床試験計画概略

Plerixafor（プレリキサホル、AMD3100、GZ316455）はファースト・イン・クラスの CXCR4 ケモカイン受容体の低分子拮抗薬であり、その特異的ペプチドリガンドであるストローマ細胞由来因子-1α（SDF-1α）の結合及びシグナル伝達を阻害する。SDF-1（別名 CXCL12）は極めて有効なリンパ球及び単球の化学誘引物質であり、脳、神経、胸腺、心臓、肺、肝臓、膵臓、腎臓、脾臓及び消化管といった広範囲の組織に恒常的に発現し、催炎症性刺激因子による調節を受けないと考えられる(1),(2)。CXCR4 受容体は 7 回膜貫通型 G タンパク質であり、多くの造血幹細胞（HSC）、造血前駆細胞（HPC）、血管内皮前駆細胞（EPC）、数種類のがん細胞、大部分の T リンパ球サブセット、すべての B 細胞及び単球の表面上に発現するが、ナチュラルキラー細胞上には弱い発現がみられるのみである。免疫調節サイトカインのいくつかは、T 細胞上における CXCR4 の発現レベルに影響を及ぼす可能性があり、炎症性サイトカイン IL-4 は CXCR4 の発現を上昇させるが、免疫抑制性サイトカイン IL-10 は CXCR4 の発現を低下させる。

幹細胞は自己再生能及び特殊な細胞への分化能を有する uncommitted cell と定義される。HSC は、骨髄破壊治療を受けた患者への投与により、骨髄に生着して再構成する能力がある。HSC の共通した特徴は、細胞表面タンパク質、特に CD34 抗原の発現である。造血の初期段階は HSC の HPC への分化であり、それがさらに特定の造血細胞系列に分化する。HPC を培養中に特定の造血細胞を分離し分析すること及びコロニー形成アッセイにより定量を行うことが可能である [例：顆粒球・マクロファージコロニー形成細胞（CFU-GM）、赤芽球バースト形成細胞（BFU-E）、顆粒球・赤芽球・巨核球・マクロファージコロニー形成細胞（CFU-GEMM）]。

骨髄のストローマ細胞上に発現する SDF-1 と CXCR4 の間の相互作用は、CD34 陽性幹細胞及び成熟造血細胞が骨髄中に留まる重要な要因であることが示されている (3),(4)。Plerixafor により SDF-1/CXCR4 相互作用が阻害されると、成熟型白血球及びより未熟な CD34 陽性細胞が骨髄から末梢循環血中に放出される。これは「動員」と呼ばれる作用である。骨髄から放出された HSC、HPC、EPC 及び CD34 陽性細胞は、plerixafor が消失した状態では骨髄又は他の組織部位に戻ると考えられるが、アフェレーシス又は白血球除去療法により回収され、その後の移植に使用される。

Plerixafor は単剤投与により CD34 陽性細胞を動員する作用があることから、骨髄増殖因子である顆粒球コロニー刺激因子遺伝子組換え製剤（以下、G-CSF）の投与後に使用して、移植のための細胞収率を最大化する目的で開発されている。患者における細胞生着及び再構成が成功するかどうかは、移植した CD34 陽性細胞の数により推定できるとされている(5)。なお、CD34 陽性発現細胞は性質の異なる細胞の集団であり、真の幹細胞画分はその一部分である(6),(7)。

Plerixafor は CXCR4 受容体において可逆的低分子拮抗薬として作用し、骨髄からの一時的な細胞放出を誘発するが、G-CSF は遺伝子組換え骨髄増殖因子製剤であり、CD34 陽性幹細胞を含む造血細胞の増殖及び末梢血への放出を刺激する。Plerixafor の投与は、G-CSF を 3 日間又は 4 日間連日投与した後、各末梢血幹細胞採取実施 6～12 時間前に行う。Plerixafor の製剤は 20 mg/mL の濃度の水溶液であり、ヒトには 240 µg/kg の用量で 1 日 1 回、皮下投与する。日本人では最大投与期間は 4 日間としている。

G-CSF のみでの動員、化学療法を併用した動員など、全ての造血幹細胞動員手法において腫瘍細胞も動員されることが報告されている(8),(9),(10),(11)。現在、多発性骨髄腫及びリンパ腫の患者において、plerixafor が G-CSF による腫瘍細胞動員作用を増強することを示唆するデータはない。

Plerixafor の非臨床薬理試験、薬物動態（PK）試験及び安全性評価試験は主にマウス、ラット及びイヌで実施し、数は少ないがウサギ、ブタ及びサルを用いた試験も実施した。CXCR4 受容体は、マウス及びイヌの細胞を用いた in vitro 受容体試験並びにマウス、ラット、イヌ及びサルを用いた in vivo 試験における CXCR4 関連活性に示されるように、哺乳類全体で高度に保存されている。これを反映する in vivo 所見として、plerixafor 誘発性の一過性の循環血中白血球数増加が、非臨床試験で検討したすべての動物種でみられており、それらは CXCR4 受容体との相互作用に起因するものと推察されている。したがって、非臨床試験の結果から plerixafor の CXCR4 受容体阻害作用に起因する有益作用又は有害作用を推測することができると考えられた。Plerixafor と G-CSF の併用投与の影響を、いくつかの効力を裏付ける試験で評価した。安全性薬理試験及び毒性試験では、plerixafor 単剤投与の影響のみを検討することとし、G-CSF との併用毒性試験は実施しなかった。その主な理由は G-CSF 単独投与による毒性プロファイルはすでに明らかにされており、作用機序が異なるため安全性上の相互作用の懸念は少ないと考えられること、またこれら 2 つの薬剤の投与は時間的に異なることによるものである。

非臨床試験パッケージ（社内及び CRO 実施試験）を表 1に示す。非臨床試験情報がない場合にはその理由を記載した。

表 1 - 本製造販売承認申請の Module 4.2 に含まれる非臨床試験の一覧表

試験番号	GLP	試験表題
4.2.1.1 効力を裏付ける試験		
AOM0051 [Module 4.2.1.1-1]	非適	Cross Screening AMD3100 for CCR4 and CCR7
AOM0052 [Module 4.2.1.1-2]	非適	Inhibition of LTB_4 Ligand Binding to the Receptor by AMD3100
AOM0053 [Module 4.2.1.1-3]	非適	Inhibition of SDF-1 Ligand Binding to CXCR4 by AMD3100
AOM0054 [Module 4.2.1.1-4]	非適	Inhibition of SDF-1 Stimulated Calcium Flux by AMD3100
AOM0055 [Module 4.2.1.1-5]	非適	Inhibition of SDF-1 Stimulated Chemotaxis by AMD3100
AOM0056 [Module 4.2.1.1-6]	非適	Inhibition of SDF-1 Stimulated GTPγS Binding by AMD3100
AOM0057 [Module 4.2.1.1-7]	非適	The Effects of AMD3100 on IP10 Stimulated Calcium Flux
AOM0058 [Module 4.2.1.1-8]	非適	The Effects of AMD3100 on MCP-1 Stimulated Calcium Flux
AOM0059 [Module 4.2.1.1-9]	非適	AMD3100 Has No Significant Effect on CCR5 Mediated Calcium Flux
AOM0064 [Module 4.2.1.1-10]	非適	The Effects of AMD3100 on MIP-1α Stimulated Calcium Flux
AOM0075 [Module 4.2.1.1-11]	非適	Investigation of the Cross-reactivity of AMD3100 with CXCR7
AOM0070 [Module 4.2.1.1-12]	非適	Structural Analogues of AMD3100 Mobilise Progenitor Cells from Bone Marrow In Vivo According to their Ability to Inhibit CXCL12 Binding to CXCR4 In Vitro
AOM0033 [Module 4.2.1.1-13]	非適	Hematological Effects of AMD11070 in Mice
AOM0045 [Module 4.2.1.1-14]	非適	AMD3100 for Hematopoietic Stem Cell Mobilisation in a Canine Autologous Transplantation Model
AOM0049 [Module 4.2.1.1-15]	非適	AMD3100 Antagonism of CXCR4 Expressed on Cultured Canine PBMCs
AOM0046 [Module 4.2.1.1-16]	非適	AMD3100 for Hematopoietic Stem Cell Mobilisation in a Canine Allogeneic Transplantation Model: Follow-up Report
4.2.1.2 副次的薬理試験		
AOM0048 [Module 4.2.1.2-1]	非適	AMD3100, a CXCR4 Antagonist, Augments Mobilisation and Incorporation of Bone Marrow-Derived Endothelial Progenitor Cells into Sites of Myocardial Neovascularization

試験番号	GLP	試験表題
AOM0072 [Module 4.2.1.2-2]	非適	AMD 3100 Administration in a Porcine Model of Myocardial Ischemia Reperfusion Injury
GT-249-EF-1 [Module 4.2.1.2-3]	非適	AMD3100 Rapidly Mobilised Stem Cells after Myocardial Infarction in Nonhuman Primates but Does Not Improve Left Ventricular Remodeling or Function
AOM0047 [Module 4.2.1.2-4]	非適	Direct Injection of AMD3100 Improves Blood Flow to the Diabetic Mouse Hind Limb after Induction of Hindlimb Ischemia
4.2.1.3 安全性薬理試験		
107-031 [Module 4.2.1.3-1]	非適	Receptor Affinities (Binding) of [redacted] SID 791
AOM0071 [Module 4.2.1.3-2]	非適	Affinity of [redacted] 282 791 ([redacted] SID 791) for 5-HT Receptor Binding Sites
1009304-2NOV20[redacted] [Module 4.2.1.3-3]	非適	Receptor Binding (Adrenergic, GABA)
POT-M-92-10 [Module 4.2.1.3-4]	非適	The Effects of [redacted] 282-791 in the Primary Observation Test in Mice
POT-R-94-5 [Module 4.2.1.3-5]	非適	The Investigation of Potential CNS Effects of Subcutaneously Administered SID 791 Using the Rat Primary Observation Test
GT-249-TX-1 [Module 4.2.1.3-6]	適	Effects of Plerixafor in the Irwin Test in Rats
GT-249-TX-2 [Module 4.2.1.3-7]	適	Effects of Plerixafor on Respiration Rate and Tidal Volume in Conscious Rats
051128-BOP [Module 4.2.1.3-8]	適	Effects of AMD3100 on Cloned hERG Potassium Channels Expressed in Mammalian Cells
1009304-14DEC20[redacted] [Module 4.2.1.3-9]	非適	Angiotensin Converting Enzyme (ACE) and Neutral Endopeptidase Enzyme Assays
1009304-15DEC20[redacted] [Module 4.2.1.3-10]	非適	Neuropeptide Y Receptor Functional Assays (agonist and antagonist activity)
107-028 [Module 4.2.1.3-11]	非適	Cardiovascular Effects of [redacted] SID 791 (282-791) in Anaesthetized Rats after Intravenous and Subcutaneous Administration
[redacted]-93226 [Module 4.2.1.3-12]	非適	A Pilot Cardiovascular Profile Study Following a Single Intravenous Infusion of AMD3100 Free Base in the Conscious Restrained Beagle Dog
[redacted]-93227 [Module 4.2.1.3-13]	適	A Cardiovascular Profile Study Following an Intravenous Infusion of AMD3100 Free Base in the Conscious Unrestrained Beagle Dog
9608-0228-01 [Module 4.2.1.3-14]	非適	Dilatation of Rat Aortic Smooth Muscle Cells, Possible Implication of Free Calcium
107-029 [Module 4.2.1.3-15]	非適	Effect of [redacted] 282-791 on Different Endocrine Parameters in Male Rats
AA80066-30DEC20[redacted] [Module 4.2.1.3-17]	非適	General Receptor Radioligand Binding and Enzyme Assays

試験番号	GLP	試験表題
AA81111-01DEC20[redacted] [Module 4.2.1.3-16]	非適	Selected Receptor Radioligand Binding, Cellular and Tissue Assays
GT-249-TX-6 [Module 4.2.1.3-18]	非適	Effects of Plerixafor on Calcium Channels Expressed in Manmmalian Cells.
4.2.1.4 薬力学的薬物相互作用試験		
Plerixafor を G-CSF と併用したときの影響について、参考文献(12)においてマウスで検討されている。4.3 項を参照のこと。		
4.2.2.1 分析法及びバリデーション報告書		
993593/MRG 試験 [Module 4.2.2.1-1]	非適	Validation of a High Performance Liquid Chromatographic Method Using Electrochemical Detection for the Determination of AMD3100 in Rat Plasma
282-791 試験 [Module 4.2.2.1-2]	非適	[redacted] SID 791: Liquid Chromatography-reverse Isotope Dilution Method (LC-RID) for the Determination of [^{14}C][redacted] SID 791 in Biological Samples
993596/NGM 試験 [Module 4.2.2.1-3]	非適	Validation of a High Performance Liquid Chromatographic Method Using Electrochemical Detection for the Determination of AMD3100 in Dog Plasma
4.2.2.2 吸収		
AOM0069 試験 [Module 4.2.2.2-1]	非適	Pharmacokinetics of AMD3100 Following a Single 5 mg/kg Subcutaneous Injection in Mice
3167/DrCH 試験 [Module 4.2.2.2-2]	非適	[redacted] 282-791: Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion Following Single 20 mg/kg Subcutaneous Doses of [^{14}C][redacted] 282-791-ch in Rat
9608.0258 試験 [Module 4.2.2.2-3]	非適	[redacted] SID 791: Absorption and Disposition in Rats Following Single and Multiple Subcutaneous Doses of [^{14}C][redacted] SID 791-ch
9608.026 試験 [Module 4.2.2.2-4]	非適	[redacted] 282-791: Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion Following Single 20 mg/kg Oral and 2 mg/kg Intravenous Doses of [^{14}C][redacted] 282-791-ch in Rat
AOM0073 試験 [Module 4.2.2.2-5]	非適	Noncompartmental Pharmacokinetic Analysis of Plasma Concentration Versus Time Data for AMD3100 and Radioactivity in Rats from [redacted] Studies 3167/DrCH, 9608.0258, and 9608.026
9608.0256 試験 [Module 4.2.2.2-6]	非適	[redacted] SID 791: Absorption and Disposition in Dogs Following Single Subcutaneous and Intravenous Doses of [^{14}C][redacted] SID 791-ch
AOM0074 試験 [Module 4.2.2.2-7]	非適	Noncompartmental Pharmacokinetic Analysis of Plasma Concentration Versus Time Data for AMD3100 and Radioactivity in Dogs from [redacted] Study 9608.0256
4.2.2.3 分布		
9608.0251 試験 [Module 4.2.2.3-1]	非適	[redacted] SID 791 ([redacted] 282-791): Whole-body Autoradiography in Rats Following Single and Multiple Subcutaneous Doses of [^{14}C][redacted] SID 791-ch

試験番号	GLP	試験表題
[redacted]7686-108 CMS 81280A 試験 [Module 4.2.2.3-2]	非適	Pharmacokinetics, Excretion, Mass Balance, and Quantitative Whole-Body Autoradiography Following Subcutaneous Administration of ^{14}C-AMD3100 to Rats
AOM0036 試験 [Module 4.2.2.3-3]	非適	Interspecies Protein Binding of AMD3100 Using Ultrafiltration Analysis
GT-249-PK-4 試験 [Module 4.2.2.3-4]	非適	Determination of Red Blood Cell Partitioning of Plerixafor in Rat, Dog and Human Whole Blood
4.2.2.4 代謝		
GT-249-PK-1 試験 [Module 4.2.2.4-1]	非適	In Vitro Metabolic Stability of Plerixafor in Rat, Dog and Human Liver Microsomes
AOM0038 試験 [Module 4.2.2.4-2]	非適	In Vitro Interspecies Metabolism Profile of AMD3100
GT-249-PK-2 試験 [Module 4.2.2.4-3]	非適	In Vitro Metabolic Stability of Plerixafor in Rat, Dog and Human Hepatocytes
GT-249-PK-3 試験 [Module 4.2.2.4-4]	非適	Stability of Plerixafor in Human, Dog and Rat Whole Blood
GT-249-PK-5 試験 [Module 4.2.2.4-5]	非適	Metabolite Profile of Plerixafor in Plasma and Urine Following Subcutaneous Administration to Rats
4.2.2.5 排泄 Plerixafor の排泄試験は、4.2.2.2 吸収及び 4.2.2.3 分布試験の一部として実施した。		
4.2.2.6 薬物動態学的薬物相互作用 ヒト組織等の試料を用いて薬物動態学的薬物相互作用の可能性について検討した5.3.2.2 In vitro試験については、[Module 2.7.2 の 2.2 項]に記載した。		
4.2.2.7 その他の薬物動態試験 その他の薬物動態試験は実施しなかった。		
4.2.3.1 単回投与毒性試験		
[redacted] 380586 [Module 4.2.3.1-1]	適	[redacted] SID 791: Acute Subcutaneous Toxicity Study in Mice
[redacted] 380564 [Module 4.2.3.1-2]	適	[redacted] SID 791: Acute Intravenous Toxicity Study in Mice
[redacted] 380575 [Module 4.2.3.1-3]	適	[redacted] SID 791: Acute Subcutaneous Toxicity Study in Rats
[redacted] 379787 [Module 4.2.3.1-4]	適	[redacted] SID 791: Acute Intravenous Toxicity Study in Rats
0835RA69-008 [Module 4.2.3.1-5]	非適	Hematology Study in Rats Administered A Single Subcutaneous Dose
GT-249-TX-3 [Module 4.2.3.1-6]	適	Correlation of Plasma Electrolyte Changes and Clinical Signs Following a Single Subcutaneous Administration of Plerixafor in Rats

試験番号	GLP	試験表題
AOM0032 [Module 4.2.3.1-7]	非適	AMD 3100: A Single and Repeated-Dose Range Finding Study in Male Yorkshire Pigs
4.2.3.2 反復投与毒性試験		
GT-249-TX-4 [Module 4.2.3.2-1]	非適	Study of Metal Homeostasis upon Daily Dosing with SID 791
189DFR-tox [Module 4.2.3.2-2] 189DFR-tk [Module 4.2.3.2-3]	非適	[redacted] SID 791 ([redacted] 282-791): A 2-Week Subcutaneous Dose-range-finding Study in Rats
428R-tox [Module 4.2.3.2-4] 428R-tk [Module 4.2.3.2-5]	適	[redacted] SID 791: A 4-Week Subcutaneous Toxicity Study in Rats
432R [Module 4.2.3.2-6]	適	[redacted] SID 791: An Additional 4-Week Subcutaneous Toxicity Study in Rats
189DFD-tox [Module 4.2.3.2-7] 189DFD-tk [Module 4.2.3.2-8]	非適	[redacted] SID 791 ([redacted] 282-791): A 2-Week Subcutaneous Dose-Range-Finding Study in Dogs
[redacted]/SPM030/0883 [Module 4.2.3.2-9]	非適	[redacted] SID 791: Dose Range Finding-Study by Subcutaneous Administration to Beagle Dogs
[redacted] [redacted]/SPM028/0891-tox [Module 4.2.3.2-10] [redacted]/SPM028/0891-tk [Module 4.2.3.2-11]	適	[redacted] SID 791: Toxicity Study by Subcutaneous Administration to Beagle Dogs for 4 Weeks followed by a 2 Week Reversibility Period
[redacted] 89342 [Module 4.2.3.2-12]	非適	A Range Finding Subcutaneous Injection (Twice Daily) Toxicity Study of AMD-3100 Free Base in the Albino Rat
[redacted] 1663 [Module 4.2.3.2-13]	非適	AMD 3100: A 14 Day Dosing Schedule Dependency (Once vs. Twice Daily) Study in Female Sprague-Dawley Rats
[redacted] 89289 [Module 4.2.3.2-14]	適	A 28-Day Twice Daily Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMD3100 Free Base in the Albino Rat with a 14-Day Recovery Period
[redacted] 89349 [Module 4.2.3.2-15]	非適	A Range Finding Subcutaneous Injection (Twice Daily) Toxicity Study of AMD3100 Free Base in the Beagle Dog
[redacted] 89290 [Module 4.2.3.2-16]	適	A 28-Day Twice Daily Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMD-3100 Free Base in the Beagle Dog with a 14-Day Recovery
4.2.3.3 遺伝毒性試験		
4.2.3.3.1 In vitro 遺伝毒性試験		
Mut.Bakt.15/[redacted] [Module 4.2.3.3.1-1]	適	[redacted] SID 791: Mutagenicity Test Using *Salmonella Typhimurium*

試験番号	GLP	試験表題
Z48 [Module 4.2.3.3.1-2]	適	[redacted] SID 791: Chromosomal Aberration Test with V79 Chinese Hamster Cells
4.2.3.3.2 In vivo 遺伝毒性試験		
[redacted] 960379 [Module 4.2.3.3.2-1]	適	AMD 3100 Free Base Rat Micronucleus Test
4.2.3.4 がん原性試験 がん原性試験は実施しなかった。予定連続臨床使用期間が 3 ヵ月未満の医薬品については、通常がん原性試験は必要とされない（ICH S1A「医薬品におけるがん原性試験の必要性に関するガイダンス」、1997 年 4 月）。		
4.2.3.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 Plerixafor は、化学療法を受ける患者への短期投与を予定しているため、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する評価は実施しなかった （ICH-S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」、2010 年 6 月）。 休薬後の残存 plerixafor による雌受胎能及び胚・胎児発生に対する影響を検討するため、探索的試験を実施した。		
FER0501 [Module 4.2.3.5.1-1]	適	Investigative subcutaneous fertility and embryo-fetal development toxicity study in female rats with GZ316455
4.2.3.5.2 胚・胎児発生に関する試験		
[redacted] 900518 [Module 4.2.3.5.2-1]	非適	AMD 3100: A Subcutaneous Injection Range-finding Teratology Study in the Rat
[redacted] 900519 [Module 4.2.3.5.2-2]	適	AMD 3100: A Subcutaneous Injection Teratology Study in the Rat
6045K [Module 4.2.3.5.2-3]	非適	[redacted] SID 791: Subcutaneous Embryo–foetal Development Dose Range Finding Study in Rabbits with Toxicokinetics and Placental Transfer
4.2.3.5.3 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 Plerixafor は、化学療法を受ける患者への短期投与を予定しているため、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（ICH-S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」、2010 年 6 月）。		
4.2.3.5.4 幼若動物を用いた試験 予定対象患者に小児は含まれていないため、幼若動物における毒性評価は必要ないと判断した。		
4.2.3.6 局所刺激性試験		
[redacted] 89679 [Module 4.2.3.6-1]	非適	A Comparative Intracutaneous (Intradermal) Irritation Study with Two Formulations of AMD 3100 in the New Zealand White Rabbit
4.2.3.7 その他の毒性試験		
107-025 [Module 4.2.3.7.2-1]	非適	Effect of [redacted] 282-791 on in vivo Antibody Formation (Rat)
[redacted] 60101 [Module 4.2.3.7.7-1]	適	In Vitro Evaluation of the Influence of AMD3100 on Human Whole Blood Hemolysis

試験番号	GLP	試験表題

注：試験報告書中で、本薬に対し次の種々の名称（コード）が用いられている。
・Plerixafor 又は AMD3100（[redacted] SID-791 又は [redacted] 282-791）：本薬の遊離塩基を指す
・Plerixafor 八塩酸塩又は plerixafor 八塩酸塩・2 水和物（[redacted] SID-791-ch 又は [redacted] 282-791-ch）：本薬の塩酸塩を指す

1.1 開発の経緯

Plerixafor は当初[redacted]社により合成され、成人のヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染症の治療目的で[redacted]（以下、[redacted]社）に開発権が譲渡された。[redacted]社は臨床試験開始に必要な一連の初期の非臨床試験を実施した。しかし、[redacted]社の決定により、臨床試験開始前に plerixafor の開発権は[redacted]社に返却された。1996 年に創業した AnorMED Inc.（AnorMED 社）が plerixafor の開発権を取得し、plerixafor の臨床開発を開始した。HIV の治療目的での plerixafor の開発は 20[redacted]年 5 月に中止されたものの、第 I 相臨床試験でみられた一過性の白血球数上昇の所見に関する追跡調査試験において、上昇した細胞集団は CD34 陽性幹細胞並びに CFU-GEMM、CFU-GM 及び BFU-E 前駆細胞であることが確認されたため、plerixafor を幹細胞動員剤として開発することが決定された。2006 年 11 月に Genzyme Corporation（Genzyme 社）が AnorMED 社を買収し、plerixafor の開発権を獲得した。

臨床試験開始時に提出された当初の非臨床試験は、いずれも[redacted]社により 19[redacted]年以前に実施されたが、例外として in vitro 赤血球溶血試験は AnorMED 社により実施された。この試験は、初回第 I 相試験及びその後の臨床試験における静脈内投与時の安全性を担保するために実施された。その後の薬理試験、PK 試験並びに毒性試験は、いずれも AnorMED 社又は Genzyme 社により実施された。

1.2 薬理試験計画概略

In vitro における効力を裏付ける試験の目的は、plerixafor が、他のケモカイン受容体と比較して、ケモカイン受容体 CXCR4 に選択的に結合し、アゴニストよりもアンタゴニストとして作用することを示すとともに、その結合が CXCR4 受容体上の特定の部分で起こることを確認することであった。In vivo における効力を裏付ける試験の目的は、plerixafor の投与により、HSC 及び HPC が骨髄から循環血中に動員されることを示し、動員の用量依存性及び経時変化を検討するとともに、放出された HSC 及び HPC が骨髄へのホーミング及びドナー動物の免疫系を再構築する機能的能力を有していることを確認することであった。副次的薬理試験では、種々の疾患動物モデルにおける CXCR4 阻害の影響を検討した。また、in vivo 及び in vivo における安全性薬理試験を実施し、plerixafor の中枢神経系、呼吸系及び心血管系機能への影響を検討した。

ヒト CXCR4 受容体における plerixafor の活性を検討するため、一連の in vitro 受容体結合試験を実施した。別の受容体結合試験において、plerixafor の CXCR4 への受容体結合選択性を検討し、他のケモ

カイン受容体には結合せず、他の標的外活性がないことを確認した。後者の試験は、主に中枢神経系及び心血管系の安全性薬理試験をサポートするために実施した。

受容体部位特異的突然変異誘発試験により、plerixafor とケモカイン受容体 CXCR4 との分子間相互作用を検討した。

マウスを用いて plerixafor の HPC 及び HSC 動員能を検討した。CD45 陽性コンジェニックマウスを用いた競合的骨髄再構築アッセイにより、plerixafor によって動員されたマウス HSC が骨髄に長期間生着する可能性を検討した。非肥満糖尿病／重症複合免疫不全（NOD/SCID）マウス骨髄再構築アッセイにより、plerixafor 動員ヒト HSC の自己複製能を検討した。イヌ及びサルを用いて、plerixafor によって動員された CD34 陽性幹細胞について、移植後早期から長期にわたって生着し骨髄を再構築する能力の有無を検討した。イヌでは自家移植及び同種移植（イヌ白血球抗原［DLA］同型同腹子）の両方を行った。

副次的薬理試験は、in vitro において plerixafor の HIV の細胞内への侵入に対する阻害作用、組織修復部位への多能性幹細胞の動員作用、炎症部位における炎症細胞化学誘引阻害作用、並びに腫瘍細胞の動員及び増殖に対する阻害作用を検討するために実施した。

GLP 適用のコアバッテリー安全性薬理試験を実施し、plerixafor の中枢神経系（ラット Irwin 試験）、心血管系（無麻酔イヌ）及び呼吸系（ラット全身プレチスモグラフィー）に対する影響を検討した。これらの試験は日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）S7A「安全性薬理試験ガイドライン」（2001 年 6 月）に従って実施した。Plerixafor の投与は、ラットを用いた中枢神経系及び呼吸系に関する安全性試験では皮下投与､イヌを用いた心血管系に関する安全性試験では 8 時間の持続静脈内投与とした。また、全般的な受容体スクリーニング（SpectrumScreen）を実施し、受容体結合及び CXCR4 以外の受容体（ノルアドレナリン、ドパミン、5-HT 及びその他の受容体、並びに酵素に対する作用）が動物における急性毒性と関連する可能性について検討した。

Plerixafor が心室再分極遅延（QT 間隔延長）作用を有する可能性について、ICH S7B ガイダンス「ヒト用医薬品の心室再分極遅延（QT 間隔延長）の潜在的可能性に関する非臨床的評価」（2009 年 10 月）に従い、in vitro 及び in vivo 試験の両方で検討した。In vitro 試験では、plerixafor がヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）カリウムチャネルを阻害する可能性について、ヒト胎児腎由来細胞を用いて検討した。In vivo 試験では、plerixafor が QT 間隔延長を誘発する可能性について、plerixafor をイヌに持続静脈内投与（安全性薬理試験）及び皮下投与（GLP 適用毒性試験）し、投与前及び投与開始後の所定の時間に記録した心電図（ECG）波形を定量的に評価することにより検討した。

1.3 薬物動態試験計画概略

PK 試験の目的は、複数の動物種における plerixafor の吸収、分布、代謝及び排泄を評価することであった。マウス、ラット及びイヌを用いて、静脈内及び皮下投与による単回投与 PK 試験を実施した。また、ラットを用いて反復（7 日間）皮下投与 PK 試験を実施した。毒性試験における plerixafor の全身的曝露を評価するため、ラット及びイヌを用いた 1 日 1 回及び 1 日 2 回投与による 28 日間の GLP 適用毒性試験の一部として、トキシコキネティクス（TK）評価を実施した。これらの試験は ICH S3A「トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンス（1994 年 10 月）」に準拠して実施した。ラット及びイヌにおけるマスバランス試験は ^{14}C- plerixafor を用いて実施した。組織分布試験はラットを用いて単回及び反復（7 日間）投与により実施した。後者の試験は ICH S3B ガイダンス「反復投与組織分布試験ガイダンス（1994 年 10 月）」に準拠して実施した。さらに、ラット、イヌ及びヒトにおける plerixafor の血漿タンパク結合、血球への分配、全血中での安定性、肝ミクロソーム及び肝細胞を用いた代謝について、in vitro 試験により評価した。また、ラット及びイヌの血漿及び尿中における plerixafor の代謝物プロファイルを検討した。なお、ヒトの組織試料を用いて実施した in vitro 試験（plerixafor によるヒトシトクロム P450 [CYP]酵素の阻害又は誘導、並びに plerixafor が P-糖タンパク質 [P-gp]の基質又は阻害剤となる可能性について評価した試験）については [Module 2.7.2 の 2.2 項]に記載した。

1.4 毒性試験計画概略

毒性試験の目的は、臨床試験及び製造販売承認申請のサポートであり、plerixafor を多発性骨髄腫及びリンパ腫の患者に 240 µg/kg/日の用量で最大 4 日間、連日皮下投与するための非臨床安全性データを提供することであった。Plerixafor の毒性試験は、ICH M3(R2)ガイダンス「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験についてのガイダンス」（2010 年 2 月）に従った。GLP 適用の主要な非臨床毒性試験を以下に示す。

- マウスを用いた単回投与毒性試験（皮下及び静脈内）
- ラットを用いた単回投与毒性試験（皮下及び静脈内）
- ラットを用いた 1 日 1 回 4 週間反復皮下投与毒性試験
- イヌを用いた 1 日 1 回 4 週間反復皮下投与毒性試験
- ラットを用いた 1 日 2 回 4 週間反復皮下投与毒性試験
- イヌを用いた 1 日 2 回 4 週間反復皮下投与毒性試験
- ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験
- 一連の遺伝毒性試験

GLP 適用の単回投与及び 4 週間反復投与毒性試験は、3 種の哺乳類動物種を用いて予定臨床投与経路である皮下投与により実施した。これらの試験デザイン及び実施は、当時の科学的標準及び GLP ガイドラインに準拠した。単回投与毒性試験では、最大の全身曝露量を得るため静脈内投与も使用した。4 週間反復投与毒性試験では、TK 評価を実施した。

Plerixafor の遺伝毒性試験として、(1) ネズミチフス菌を用いる遺伝子突然変異試験、(2) 哺乳類細胞（チャイニーズハムスターV79 細胞）を用いる in vitro 染色体異常試験及び (3) げっ歯類（Sprague-Dawley ラット）の造血細胞を用いる in vivo 染色体異常試験を実施した。これらの試験は、ICH S2B「遺伝毒性試験：医薬品の遺伝毒性試験の標準的組合せ」（1998 年 7 月）で推奨される遺伝毒性試験のバッテリーに従って実施した。これらの遺伝毒性試験は、全体として ICH S2A「医薬品のための遺伝毒性試験の特定項目に関するガイダンスについて」（1996 年 7 月）に合致するものであった。

非臨床試験の実施に関するガイダンス（ICH M3(R2)）では、生殖発生毒性試験は患者集団を考慮し必要に応じて実施することが推奨されている。Plerixafor は、骨髄破壊性薬剤又は抗がん剤による治療を受けている多発性骨髄腫の患者を対象として、幹細胞動員及びその後の造血幹細胞移植処置の目的での短期投与（最大 4 日間）を予定していることから、生殖発生毒性の評価は、ステージ C～D（着床から硬口蓋閉鎖まで）における GLP 適用の胚・胎児発生に関する試験を実施した（ICH-S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」、2010 年 6 月）。ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験のデザイン及び実施は、ICH S5(R2)「医薬品の生殖発生毒性試験についてのガイドラインの改正」（2005 年 11 月）に従った。ラットの試験で催奇形性がみられたこと、また初期胎児発生において CXCR4 が不可欠な役割を有することから(2),(13),(14),(15),(16),(17)、ウサギを用いた GLP 適用の胚・胎児発生に関する試験は実施しなかった。また、雌雄受胎能、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、この患者集団において評価の必要がないと判断し、実施しなかった。なお、投与終了後の残存 plerixafor による影響を検討するため、休薬後の雌ラットを用いた受胎能及び胚・胎児発生に関する探索的試験を実施した。

がん原性試験は実施しなかった。通常、がん原性試験は、臨床における連続使用期間が 3 ヵ月未満の医薬品については必要とされない（ICH S1A「医薬品におけるがん原性試験の必要性に関するガイダンス」、1995 年 11 月）。

Plerixafor の光毒性の有無を検討するため、290～700 nm の範囲における plerixafor の光吸収試験を実施した。そのスペクトルにおいて、plerixafor は可視光線の範囲で明らかな吸収を示さなかった。これは強い吸収を示すクロモフォアがない plerixafor の構造と一致するものである。このため、ICH S10「医薬品の光安全性評価ガイドライン」（2014 年 5 月）に従って、光毒性試験は実施しなかった。

1.5 非臨床試験で用いた plerixafor の品質特性

Plerixaforは高度の化学的安定性を示すアキラル分子である。Plerixaforは中性条件で水に溶けるため、皮下投与製剤として開発されてきた。Plerixafor 又は plerixafor 八塩酸塩の非臨床試験は、水溶液を用いて皮下投与又は静脈内投与により実施した。臨床用製剤の plerixafor 注射液は、無色澄明～淡黄色の保存剤を含まない皮下注射用の等張の無菌水溶液（20 mg/mL）である。

多くの初期試験で使用した原薬は、plerixafor 八塩酸塩であった。遊離塩基型の合成及び製剤化における不純物プロファイルが改善されたため、八塩酸塩型の使用を中止して遊離塩基型を使用することに決定した。初期の一連の試験以降に実施した大部分の非臨床試験及びすべての臨床試験においては、遊離塩基型を使用した。水溶液を中性化するために pH 調節を行うと、plerixafor 遊離塩基及び plerixafor 八塩酸塩は、いずれも部分的にプロトン付加されて+4 価状態となるため等価である。[redacted]社及び AnorMED/Genzyme 社で実施した主要な非臨床試験の一覧については、表 2を参照のこと。

探索的生殖発生毒性試験の 1 試験を除き、いずれの非臨床試験においても、最終市販用製剤の plerixafor 注射液 20 mg/mL をそのまま用いて実施したものはない。しかし、一部の試験では、臨床用 10 mg/mL 製剤の希釈液や、市販用製剤と同様の方法（原薬の遊離塩基粉末を塩酸で溶解させ、注射用水で希釈して pH 6.0～7.5 の妥当な浸透圧を有する保存溶液を調製）で原薬から溶液を調製したものを使用した。

表 2 - 主要な毒性試験で使用した原薬及びバッチ

試験の種類及び期間	動物種（系統）	経路	試験番号	GLP	原薬（提供時）	バッチ番号
単回投与毒性試験	マウス (NMRI)	皮下	[redacted] 380586 [Module 4.2.3.1-1]	適	八塩酸塩	[redacted][a]
	マウス (NMRI)	静脈内	[redacted] 380564 [Module 4.2.3.1-2]	適	八塩酸塩	[redacted]
	ラット (Wistar)	皮下	[redacted] 380575 [Module 4.2.3.1-3]	適	八塩酸塩	[redacted]
	ラット (Wistar)	静脈内	[redacted] 379787 [Module 4.2.3.1-4]	適	八塩酸塩	[redacted]
1 日 1 回反復投与毒性試験						
4 週間	ラット (Wistar)	皮下	428R-tox [Module 4.2.3.2-4]	適	八塩酸塩	[redacted]
4 週間	ラット (Wistar)	皮下	432R [Module 4.2.3.2-6]	適	八塩酸塩	[redacted]
4 週間	イヌ（ビーグル）	皮下	[redacted]/SPM028/0891-tox [Module 4.2.3.2-10]	適	八塩酸塩	[redacted]
1 日 2 回反復投与毒性試験						
4 週間	ラット (Wistar)	皮下	[redacted] 89289 [Module 4.2.3.2-14]	適	遊離塩基	[redacted]
4 週間	イヌ（ビーグル）	皮下	[redacted] 89290 [Module 4.2.3.2-16]	適	遊離塩基	[redacted]
遺伝毒性試験						
変異原性試験	ネズミチフス菌	In vitro	Mut.Bakt.15/[redacted] [Module 4.2.3.3.1-1]	適	八塩酸塩	[redacted]
染色体異常試験	V79 細胞	In vitro	Z48 [Module 4.2.3.3.1-2]	適	八塩酸塩	[redacted]
小核試験	ラット (Sprague-Dawley)	皮下	[redacted] 960379 [Module 4.2.3.3.2-1]	適	遊離塩基	[redacted]
生殖発生毒性試験						
胚・胎児試験	ラット (Sprague-Dawley)	皮下	[redacted] 900519 [Module 4.2.3.5.2-2]	適	遊離塩基	[redacted]

a 一部の毒性報告では、バッチ [redacted] の一定分量の凍結乾燥により製造し、バイアルに充填して毒性試験機関での取扱いをしやすくしたバッチ [redacted] を使用した（[Module 3.2.S の 2.6.2 項]）。

1.5.1 不純物

Plerixafor は比較的単純な [redacted] 段階の合成過程に従って合成される[Module 2.3.S の 2 項]。開発を通して合成経路の最適化を行い、八塩酸塩から遊離塩基型への製造の変更及び合成経路の改善を実施した結果、特定された不純物及び未特定の不純物の濃度は、いずれも全体的に低下した。

すべての特定及び未特定不純物の安全性確認は非臨床試験で使用した plerixafor 及び plerixafor 八塩酸塩の種々のバッチで測定された濃度に基づいて実施されている。不純物の毒性評価は各 GLP 適用毒性試験での評価に含まれていることから、個々の不純物についての毒性試験は実施しなかった（[Module 3.2.S の 3.2.2.2.2 項]）。

1.6　非臨床評価における重要事項

1.6.1　薬理試験

効力を裏付ける試験は、社内試験又は学術研究機関での委託試験として実施した。Plerixafor のケモカイン受容体 CXCR4 への結合特性を検討する in vitro 試験の多くは社内試験として実施しており、その結果は署名入りの最終報告書で報告した。動員された細胞の機能を検討した in vivo 試験は学術研究者により実施されており、その結果はピアレビューを受けた科学雑誌の公表論文として報告した。これらの試験から、plerixafor の CXCR4 への in vitro 結合選択性、plerixafor の in vivo 薬理作用及び動員された細胞の機能活性について十分に解明されている。

副次的薬理試験は、臨床で予定されている適応症以外の疾患モデルを用いて実施し、新規適応症や安全性上の懸念の可能性について検討するのに有用と考えられる補足的情報を得ている。これらの試験の多くは、学術研究機関で実施された委託試験である。試験結果は署名入り最終報告書又はピアレビューを受けた科学雑誌の公表論文として報告した。これらの試験の計画、実施及び報告には概して問題はなかったが、ブタを用いて心筋梗塞を検討した 1 試験（[AOM0072]）においては、実験的矛盾が生じたため、結果の適切な解釈を行うことができなかった。

GLP 適用の重要な安全性薬理試験 3 試験は委託研究機関で実施した。

イヌを用いた心血管系に関する安全性試験における投与経路は、臨床で予定されている投与経路（皮下投与）とは異なる 8 時間持続静脈内投与であった。2 名の HIV 患者を用いた臨床試験において、長時間の持続静脈内投与により plerixafor の血漿中濃度が持続的に高くなっている間に心不整脈の疑い（心室性期外収縮［PVC］）がみられたことから、その状況をより厳密に再現するため、この投与方法を選択した。このイヌを用いた心血管系に関する安全性試験において、plerixafor の血漿中濃度と心血管機能における有害な変化との関連性がみられた。用いられた持続静脈内投与では、臨床で予定されている投与経路である皮下投与による plerixafor の血漿中濃度の速やかな増加及び速やかな減少は模倣できていないが、plerixafor の血中濃度はヒトに推奨用量 240 μg/kg（8.9 mg/m^2）を投与したときの最高血漿中濃度の 6.0～7.4 倍に 8 時間にわたり維持されたことから、この試験はヒトで想定されるワーストケースシナリオ（最悪の事態）に相当するものと考えられた。一方、plerixafor を皮下投与したときの所定の時点における血圧及び心拍数に対する影響は、イヌを用いた GLP 適用の 1 日 1 回 4 週間反復皮下投与毒性試験で十分に検討されている。plerixafor が QT 間隔延長作用を示す可能性については、in vitro での hERG カリウムチャネル阻害試験及びイヌを用いた 2 種類の GLP 適用試験（心血管系安全性試験及び 1 日 1 回 4 週間反復投与毒性試験）における投与後所定の時点で記録した ECG 間隔の定量的測定で検討した。心血管系に関する試験の結果において、QT 間隔の延長を示すエビデンスはなかった。

さらに、補足的な安全性薬理試験として、ラットを用いた GLP 非適用の中枢神経系安全性試験及び GLP 適用の呼吸系安全性試験、イヌを用いた用量設定心血管系安全性試験、並びに麻酔ラットを用いた GLP 適用の心血管系安全性試験（麻酔により結果の解釈は困難と考えられる）を実施した。毒性試験でみられた急性毒性の機序を推定するため、受容体結合アッセイ及び機能アッセイも実施した。

1.6.2 薬物動態試験

吸収、分布、代謝及び排泄試験は、社内又は委託研究機関で実施した。これらの試験は適切に計画、実施及び報告された。

ラット及びイヌにおいて ^{14}C- plerixafor を用いて実施した試験では、高速液体クロマトグラフィーにより、尿中に未変化体と異なる溶出位置にピークが確認された。これらの被験物質由来成分は、ラット及びイヌの尿中に排泄された総放射能の約 30～38%を占めた。当初、これらのピークは代謝物によるものと推定されていた。しかし、ラットにおけるマスバランス試験の試料について高速液体クロマトグラフィー／質量分析法で検討した結果、これらのピークは plerixafor の Cu^{2+}錯体と同定された（[Module 2.6.4 の 5.2 項]）。これらの plerixafor の Cu^{2+}錯体に関する定量的評価は実施しなかった。

1.6.3 毒性試験

GLP 適用の主要な毒性試験として、ラット及びマウスを用いた単回投与毒性試験、ラット及びイヌを用いた 1 日 1 回（QD）及び 1 日 2 回（BID）投与による 4 週間反復投与毒性試験、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験並びに一連の遺伝毒性試験を実施した。これらの試験は、社内施設又は GLP 準拠可能な委託試験機関において、すべて適切に計画、実施及び報告された。

これらの試験では、2 つの異なる被験物質の型、すなわち plerixafor 八塩酸塩及び plerixafor 遊離塩基を使用した。Plerixafor 八塩酸塩は初期の一連の毒性試験で使用したのに対し、plerixafor 遊離塩基は、製造販売承認申請をサポートするための後期毒性試験及び臨床試験で使用した。Plerixafor 投与液の主な媒体として、plerixafor 八塩酸塩ではリン酸緩衝液を、plerixafor 遊離塩基については pH 調整した生理食塩液を使用した。pH を中性に調整した投与液中では、いずれの型の plerixafor もプロトン付加されて+4 状態になるため、溶液の化学的組成は同じである。いずれの型の plerixafor もラット及びイヌに皮下投与すると速やかかつほぼ完全に吸収され、t_{max} は 30 分から 1.5 時間であった。

ラット及びイヌを用いて実施したすべての GLP 適用の主要な反復投与毒性試験には、TK 試験が含まれていた。全体として、試験結果は動物種内及び動物種間で一致していた。しかし、ラットの 1 日 1 回投与試験でみられた最高血漿中濃度は、PK 試験、1 日 1 回及び 2 回投与によるイヌ 4 週間反復投与毒性試験又は 1 日 2 回投与によるラット 4 週間反復投与毒性試験の結果から予測される値よりも高かった。これらの値が予測値よりも高かった理由は不明である。

局所刺激性及び免疫毒性を評価するための独立した GLP 適用試験は実施していない。局所刺激性の有無については、GLP 非適用のウサギを用いた皮内投与刺激性試験並びにラット及びイヌを用いた GLP 適用の反復皮下投与毒性試験で評価しており、さらに GLP 適用の局所刺激性試験を実施しても新たな情報が得られる可能性はないと考えられる。ICH S8「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン」（2006 年 4 月）によると、免疫毒性試験の実施は、意図しない免疫抑制又は免疫亢進を誘発する開発候補品に限定される。自然免疫に対する plerixafor の増強作用（HSC、HPC 及び白血球の動員増加）は本薬の意図する薬理作用であり、効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び毒性試験で十分に検討されている。また、ラットを用いた抗体形成に対する影響に関する GLP 非適用の ex vivo 試験が実施されており、免疫毒性に関する情報が提供されると考えられる。このため、更なる免疫毒性試験は実施しなかった。

以下に示す GLP 非適用試験は、デザイン及び試験実施は適切であったと考えるが、最終試験報告書の署名や文書作成の欠陥が一部にみられたり、あるいは試験結果がメモや要約報告書として提示されている。これらの欠陥について表 3に示す。

毒性機序を検討する試験として、反復投与による遷移金属（Ni、Co、Mo、Zn、Fe、Mn、Cu、Ca 及び Mg）の金属ホメオスタシスへの影響を検討する試験、並びに単回皮下投与後の白血球の動員を検討する試験を実施した。GLP 非適用の単回投与又は反復投与による一般毒性あるいは生殖発生毒性の用量設定試験は明らかな毒性がみられる用量で実施しており、その後の GLP 適用試験で使用した用量が、plerixafor の全体的な毒性プロファイルを特徴づけるのに十分な量であったことを裏付けるものであった。初期の GLP 非適用の用量設定試験では、用量設定の情報を得るためのみならず、通常は用量設定試験では測定しないパラメータ（内分泌機能並びに血清中及び尿中 Ca 及び Mg の定期的な測定等）の変化も評価するようデザインした。開発の後期に実施した用量設定試験は、主として GLP 適用毒性試験における適切な用量を確認することに焦点を当てて実施した。

表 3 - 非臨床毒性試験報告書にみられた欠陥

試験の種類	試験番号	コメント
ラットを用いた毒性用量設定試験	[redacted] 1663 [Module 4.2.3.2-13]	最終報告書が作成されていない。
ラットを用いた 1 日 1 回、28 日間反復投与毒性試験	428R-tox [Module 4.2.3.2-4] 428R-tk [Module 4.2.3.2-5]	TK 試験報告書に署名がなく、主試験の報告書中にのみ TK 担当者の署名がある。
イヌを用いた毒性用量設定試験	[redacted]/SPM030/0883 [Module 4.2.3.2-9]	最終報告書の署名がない。
ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験	6045K [Module 4.2.3.5.2-3]	TK 試験報告書を除き、試験結果に関する文書が最終化されておらず、署名がない。
ラットを用いた金属ホメオスタシス試験	GT-249-TX-4 [Module 4.2.3.2-1]	最終報告書が作成されておらず、文書に署名がない。

全体として、本毒性試験計画に含まれた主要な GLP 適用毒性試験で得られた結果は、plerixafor の毒性を十分に明らかにするものであり、申請適応症を対象とした plerixafor の製造販売承認申請をサポートするには十分なものと考えられる。

2 薬理試験

2.1 効力を裏付ける試験

In vitro 試験

一連の in vitro 試験（[Module 2.6.2 の 2.1.2 項]）により、ヒト CXCR4 での plerixafor の薬理作用が確認された。内因性に CXCR4 を発現する CCRF-CEM 細胞株を用いた試験では、plerixafor により SDF-1 リガンドの CXCR4 への結合が阻害されるとともに、SDF-1 介在性カルシウム流入、G タンパク質の活性化及び走化性が阻害され、IC_{50} はそれぞれ 651 ± 37、572 ± 190、15.4 ± 4.4 及び 51 ± 17 nmol/L であった。異なるケモカイン受容体を発現する細胞を用いた同様の試験で、plerixafor の阻害活性に選択性が認められた（[Module 2.6.2 の 2.1.3 項]）。これらの試験において、plerixafor は以下の受容体に対してカルシウム流入を阻害しなかった：CXCR1、CXCR2、CXCR3、CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8 及び CCR9。さらに、plerixafor はロイコトリエン B4（顆粒球走化性因子）の受容体（BLTR）への結合を阻害しなかった。放射能標識 SDF-1 リガンド結合試験において、plerixafor は CXCR7 に結合しないことも示された。

受容体部位特異的突然変異誘発試験により、plerixafor とケモカイン受容体 CXCR4 との分子間相互作用を検討した（[Module 2.6.2 の 2.1.4 項]及び[Module 2.6.2 の 2.1.5 項]）。その結果、Asp171 及び Asp262 が plerixafor の受容体阻害作用に必須であることが確認された。これらの試験により、plerixafor は、CXCR4 上の負に荷電したアミノ酸 Asp171 及び Asp262 に、plerixafor のシクラム環のそれぞれが結合することにより作用することが示された。

In vivo 試験

Plerixafor が骨髄から血中に HPC を動員することが、BALB/c マウス大腿骨骨髄の in situ 灌流試験で証明された（[Module 2.6.2 の 2.2.2 項]）。C3H/HeJ マウスに plerixafor（5 mg/kg）を単回皮下投与したところ、HPC の血中への速やかで用量依存的な動員が誘導され、投与 1 時間後には動員のピークに達した。また、plerixafor を連日反復皮下投与（3 日間）したところ、各投与後に一貫した HPC 動員が得られ、反復投与に伴う感受性の減弱は認められなかった（[Module 2.6.2 の 2.2.3.1 項]）。G-CSF による HPC 動員が弱い DBA/2 及び $Fancc^{-/-}$ といったマウスの他の系統において、plerixafor は強力な HPC 動員促進剤であることが示された。また、DBA/2、C57Bl/6 及び C3H/HeJ マウスにおいて、G-CSF による動員が plerixafor により増強することも示された（[Module 2.6.2 の 2.2.3.2 項]）。

CD45 陽性コンジェニックマウスを用いた競合的骨髄再構築アッセイにより、plerixafor によって動員されたマウス HSC が骨髄に長期間生着することが示された。本アッセイでは、plerixafor を投与し

た C57B1/6（CD45.2 陽性）マウスからドナー血液細胞を採取し、致死量放射線照射した移植レシピエントの B6.BoyJ（CD45.1 陽性）マウスのレシピエント骨髄細胞と生着を競合させた。Plerixafor により動員されたドナー細胞を用いた場合、対照とした生理食塩液を用いた場合の 8 倍を超えるキメリズム（ドナー細胞：レシピエント細胞の比）が確認された。競合的に生着させたマウスからドナー血液細胞を採取し、致死量放射線照射後の二次移植マウスに再投与する二次骨髄再構築アッセイを用いて plerixafor 動員 HSC の自己複製が認められた。すべての二次移植マウスは生存し、ドナー由来生着細胞が 50%以上であった（[Module 2.6.2 の 2.2.3.3 項]）。

NOD/SCID マウス骨髄再構築アッセイにより、plerixafor 動員ヒト HSC の自己複製能を検討した。Plerixafor、G-CSF 又は plerixafor + G-CSF を投与した健康被験者からアフェレーシスにより採取した CD34 陽性血液細胞を用いると、致死量放射線照射後の NOD/SCID マウスの骨髄が再構築された。再構築は、8 週間後の骨髄のキメリズム（ヒト CD45 陽性細胞が存在すること）により確認された（[Module 2.6.2 の 2.2.3.4 項]）。

以上の結果より、plerixafor はマウスの HSC 及び HPC を速やかに動員することができ、また、ヒト及びマウスで plerixafor により動員された細胞は移植後にレシピエント骨髄を再構築しながら長期自己複製することが示された。

表現型及び遺伝型解析

動物及び ex vivo で実施した多くの試験において、様々な方法で動員された細胞の表現型を解析した。重要なこととして、plerixafor + G-CSF により動員された CD34 陽性細胞は、高度に生着したマウス骨髄細胞の CD34 陽性細胞と抗原発現プロファイルが類似していた(18)。非ヒト霊長類モデルでも同様の結果が得られている(19)。霊長類において、plerixafor により動員された細胞は、G-CSF により動員された細胞とは異なる表現型を有することが確認され、より強力な長期自己複製能を有すると考えられた。

別の試験において、plerixafor + G-CSF 又は G-CSF 単独により動員された細胞間で抗原 CD62L 及び CD49e の発現に差がみられた(12)。CD49d 及び CXCR4 の発現については、2 種類の方法で動員された細胞間で有意な差がみられなかった。

全体として、これらの結果から、plerixafor + G-CSF により動員された CD34 陽性細胞は、G-CSF 単独により動員された細胞とは異なる表現型を有することが示唆される。表現型マーカーから細胞の機能性を予測することが可能ではあるものの、動員された細胞の機能的特性が臨床における移植に関して最も重要で意味のあるものである。

Broxmeyer らは、これらの表現型の違いが HCS のホーミング及び生着に影響を及ぼす可能性について検討するため、動員されたマウス Sca 陽性 Lin 陰性（C57Bl/6）細胞の、致死量放射線照射 B6.BoyJ マウスへのホーミングを測定した(12)。plerixafor＋G-CSF により動員された細胞は、G-CSF 単独により動員された細胞よりもホーミング能が低かった。しかし、plerixafor＋G-CSF 又は G-CSF 単独により動員され、ホーミング後に回収された細胞の競合的自己複製能には差がみられなかった。実際、血液 1 mL あたりの Sca1 陽性 c-kit 陽性 Lin 細胞数は、plerixafor＋G-CSF により動員された細胞の方が G-CSF 単独より 3 倍多かった。したがって、SCID マウスにおいて、plerixafor＋G-CSF により動員された細胞の生着能が高かったことは、ホーミング能の高低では説明できず、動物を用いた試験及び臨床のいずれにおいても、CD34 陽性細胞の表現型の違いが生着に関する機能に影響を及ぼすことはないと考えられる。

Plerixafor 動員 HSC の長期生着能

ヒト HSC の機能を特徴づけるアッセイとして最も認識されているものに、NOD/SCID マウスなどの亜致死量放射線照射免疫不全マウスのヒト細胞生着検討試験がある(20)。NOD/SCID SID 再構築細胞（SRC）アッセイで評価したところ、plerixafor＋G-CSF の併用で動員されたヒト細胞は、G-CSF 単独で動員された細胞よりも長期生着能が高いと考えられた(12)。

移植後早期かつ長期にわたって生着し骨髄を再構築する CD34 陽性幹細胞を plerixafor が動員することが、イヌ（自家移植試験[Module 2.6.2 の 2.2.4 項]及び同種移植試験[Module 2.6.2 の 2.2.5 項]）及びサル（[Module 2.6.2 の 2.2.6 項]）で示された。これらの試験では、移植前に、plerixafor を投与した動物からアフェレーシスにより CD34 陽性細胞を採取した。その後、レシピエント動物に移植前に骨髄破壊的な全身放射線照射を行い、次いで自家又は同種移植のために plerixafor により動員した末梢血単核球を輸注した。生着は末梢血の血球数により評価した。イヌにおいて、好中球及び血小板が生着するまでの時間（日）の中央値は、自家移植試験では 9 及び 25 日、同種移植試験では 8 及び 26 日であった。アカゲザルにおいて、早期の生着（遺伝子マーキングにより測定）が 7～14 日以内に確認され、レトロウイルスでマーキングされた骨髄性及びリンパ性細胞の長期間持続が移植 32 ヵ月後まで認められた。

Plerixafor に誘導された HSC が骨髄から放出されることにより、骨髄内でドナー細胞が生着するための空のニッチが増加し、このため同種移植におけるドナー細胞の生着率が上がる可能性がある（[Module 2.6.2 の 2.2.7 項]）。並体結合マウスモデルを用いて plerixafor 5 mg/kg を皮下投与したとき、骨髄細胞が一方のマウスの骨髄から他方のマウス骨髄に移行することが示された。さらに、移植前にレシピエントマウスに plerixafor を投与した移植試験では、ドナー細胞の生着率は plerixafor を投与したレシピエントで対照と比較して高かった。

2.2 副次的薬理試験

CXCR4 阻害の影響を評価するため、種々の動物モデルで副次的薬理試験を実施した。これらの試験には、1）抗 HIV ウイルス活性、2）修復及び血管新生が起きている組織傷害部位への多能性幹細胞、EPC 及び循環血中血管新生細胞の動員の増加、3）炎症細胞の自己免疫疾患部位へのホーミングの阻害、4）腫瘍増殖及び腫瘍細胞の転移の阻害が含まれる。

抗 HIV ウィルス活性

Plerixafor は T 細胞指向性 HIV-1 株及び HIV-2 株に対して強力な阻害作用を示し、その EC_{50} 値は 2～7 ng/mL であった。しかし、plerixafor はマクロファージ指向性 HIV-1 株に対して活性を示さなかった。添加時期についての検討では、plerixafor はウイルス感染の時点で添加した場合にのみウイルスの複製を阻害し、ウイルス感染後に添加した場合には阻害は認められなかった。Plerixafor の抗ウイルス活性のメカニズムに関する試験では、plerixafor は CXCR4 と相互作用することにより抗ウイルス活性を発揮することが示された。

血管新生モデル

FVB マウスの心筋梗塞（MI）モデルに plerixafor（125 µg /body [体重 20 g と仮定した場合 6.25 mg/kg ; 18.8 mg/m^2）]を皮下投与すると、骨髄由来の EPC が動員され、心筋の血管新生部位への EPC の取り込みが増加し、心機能及び生存期間が改善した（[Module 2.6.2 の 3.3 項]）。なお、心筋血管新生の改善、又は心機能及び生存期間の改善は、ブタ（240 µg/kg 又は 4 mg/kg [約 6.5 又は 108 mg/m^2]）（[Module 2.6.2 の 3.4 項]）又はサル（1 mg/kg [12 mg/m^2]）（[Module 2.6.2 の 3.5 項]）を用いた MI 試験ではみられなかった。ブタを用いた試験では、実験的矛盾が生じたため、結果の適切な解釈を行うことができなかった。特記すべきこととして、plerixafor をヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 12.1 倍の用量で単回又は反復投与したブタでは、病理組織学的検査により MI 領域のわずかな増加がみられた。本所見により、MI 後の患者を対象とした plerixafor の臨床試験計画は実行されなかった。マウス及びサルの MI 試験では、いずれも病理組織学的検査において、MI 領域の増加はみられなかった。マウス、ブタ及びサルの MI 試験で使用した plerixafor の用量は、ヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 2.1、0.7 又は 12.1、及び 1.3 倍であった。

末梢血管閉塞疾患モデル（Hfh11 糖尿病マウス[Module 2.6.2 の 3.6 項]及び C57Bl/6 マウス[Module 2.6.2 の 3.7 項]を用いた 2 つの後肢虚血モデル）において、plerixafor の 1 日 1 回 3 日間の連日皮下投与（5 mg/kg [15 mg/m^2]）により血流が改善した。

炎症細胞の自己免疫疾患部位へのホーミング

T 細胞及び単球の遊走及び炎症部位への動員（すなわち、SDF-1 が介する走化性）の阻害が、アレルギー性気道炎症及び関節リウマチの動物モデルでの plerixafor の抗炎症活性の基本原理となる。

ゴキブリアレルゲン誘発喘息マウスモデルでは、plerixafor を単回腹腔内投与（0.1～10 mg/kg [0.3～30 mg/m^2]、投与は抗原惹起直前）あるいは浸透圧ポンプを用いて 3 日間持続腹腔内投与（6 mg/kg/日 [18 mg/m^2/日]、投与開始は抗原惹起 1 時間前）した。Plerixafor の投与により、気道反応性亢進及び気道抵抗が低減し、免疫応答が Th2 型（IL-4、IL-5）から Th1 型（IL-12、インターフェロン-γ [IFN-γ]）に移行した。胆管及び持続投与での plerixafor の用量は、ヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）のそれぞれ約 0.03～3.4、2 倍であった[Module 2.6.2 の 3.8 項]）。

Plerixafor の抗炎症活性は、IFN-γ 受容体ノックアウトマウス（[Module 2.6.2 の 3.9 項]）及び DBA/1 マウス（[Module 2.6.2 の 3.10 項]）のいずれのコラーゲン誘発関節炎マウスモデルでも認められた。Plerixafor は 14 日間持続皮下投与（約 30 mg/kg/日 [約 90 mg/m^2/日]）し、コラーゲン免疫処置前後の様々な時点で投与を開始した。Plerixafor の投与により、IFN-γ 受容体ノックアウトモデルでは、疾患及びコラーゲンに対する遅発性過敏症反応の重症度が軽減し、野生型モデルでは、SDF-1 介在性破骨細胞分化が阻害された。両モデルで白血球浸潤が抑制された。本試験で使用した plerixafor の用量は、ヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 10.1 倍であった。

腫瘍における CXCR4 の生物学的性質

Plerixafor による腫瘍増殖阻害

CXCR4 は血液細胞由来のがん細胞（AML、B-CLL）及び膵臓がん、前立腺がんといった様々な固形がんの細胞表面に発現している (21)。SDF-1/CXCR4 axis は血管新生、転移、及び生存などのがんの生物学的性質や進行に関する多くの役割を果たしているとの仮説があり、様々な腫瘍モデルを用いた plerixafor の試験が数多く実施されている。In vitro では、plerixafor は多くの腫瘍細胞株の SDF-1 に誘発された遊走を阻害することが示され、抗増殖作用を有することが認められている（[Module 2.6.2 の 3.11 項]）。In vivo では、plerixafor が非ホジキンリンパ腫（NHL）（[Module 2.6.2 の 3.12 項]）、神経膠芽細胞腫、及び髄芽腫のモデル（0.24～0.36 mg/body/日[36～54 mg/m^2/日] の用量で 21 日間持続皮下投与）（[Module 2.6.2 の 3.15 項]）、並びに急性リンパ性白血病モデル（200 µg/body/日 [30 mg/m^2/日] の用量で 20 日間持続皮下投与又は連日皮下投与）（[Module 2.6.2 の 3.13 項]）の腫瘍増殖を阻害することも示された。急性前骨髄球性白血病のトランスジェニックマウスモデルでは、plerixafor の皮下投与（5 mg/kg [15 mg/m^2]）によりシタラビン（AraC）の抗腫瘍作用が増強された（[Module 2.6.2 の 3.14 項]）。一方、NOD/SCID マウスに Namalwa B リンパ芽球様細胞を腹腔内投与した NHL マウスモデルに、plerixafor（2.5 又は 12 mg/kg/日 [7.5 又は 36 mg/m^2/日]）を 28 日間持続皮下投与すると、肉眼観察において腫瘍サイズが増加した。この腫瘍サイズの増加は、血管新生の増加に関連していると考えられた。しかし、plerixafor を別の投与スケジュール（10 mg/kg [30 mg/m^2/日] を 3、7 及び 10 日目に 1 回ずつ皮下投与）で投与すると、30 日間の観察期間にわたり統計学的有意な腫瘍サイズの減少が認められた（[Module 2.6.2 の 3.12 項]）。これらの試験で使用した plerixafor の 1 日用量は、ヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の 0.8～6.1 倍であった。以上のように、CXCR4 阻害作用による腫瘍増殖への影響は plerixafor の投与量により異なっていた。

2.3 安全性薬理試験

Plerixaforが心血管系、中枢神経系及び呼吸系に有害な薬理学的影響を及ぼす可能性を評価するため、in vivo の安全性薬理試験を実施した。また、plerixafor による急性毒性発現に CXCR4 以外の受容体への結合が関与する可能性を検討するため、in vitro の受容体結合及び機能アッセイを実施した。

中枢神経系：中枢神経系に関与することが知られている受容体を選択し、多数の in vitro 結合試験を実施した（[Module 2.6.2 の 4.1.1 項]）。Plerixafor はウシのアドレナリン α_1 及び α_2 受容体、並びにウシドパミン D_2 受容体に対して中等度の親和性を示し、pKi 値はそれぞれ 6.2、5.9 及び 5.5 であった。Plerixafor を単一濃度（6 µmol/L [3 µg/mL]）で検討したとき、ラットアドレナリン受容体との相互作用もみられ、α_1 及び α_2 受容体に対してそれぞれ 40 及び 41%の結合阻害を示した。

Plerixafor が中枢神経系機能に影響を及ぼす可能性について、ラットを用いた GLP 適用の Primary Observation Test（Irwin 法）で評価した（[Module 2.6.2 の 4.1.2.3 項]）。1 群 6 匹からなる雄の Sprague-Dawley ラットに、plerixafor を 2～20 mg/kg（12～120 mg/m^2）の用量で単回皮下投与した。20 mg/kg の投与 30 分後において、刺激なしでは中枢神経系抑制物質様作用（自発運動の低下、無関心、警戒性低下、驚愕反応の低下、異常姿勢［腹臥位］など）、ハンドリング時には中枢神経系刺激物質様作用（呼吸数増加、恐怖心増加、攻撃性など）がみられた。これらの一過性の一般状態の変化は、plerixafor のヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の 13.5 倍の用量において、投与 30 分後～2 時間後の間に認められた。マウス（[Module 2.6.2 の 4.1.2.1 項]）及びラット（[Module 2.6.2 の 4.1.2.2 項]）を用いて中枢神経系への安全性を検討した GLP 非適用の試験においても、同様の結果が報告されている。

呼吸系：Plerixafor が呼吸機能に影響を及ぼす可能性について、プレチスモグラフィーチャンバーに拘束した無麻酔ラットを用いて評価した（[Module 2.6.2 の 4.2.1 項]）。1 群 8 匹からなる雄の Sprague-Dawley ラットに、plerixafor を 2～20 mg/kg（12～120 mg/m^2）の用量で単回皮下投与した。10 mg/kg（60 mg/m^2）では 1 回換気量の有意な減少が投与 30 分後に一過性にみられ、20 mg/kg では呼吸数の有意な減少が投与 30 分後及び 120 分後に、1 回換気量の有意な減少が投与 30 分後のみに認められた。これらの一過性の呼吸抑制作用は、plerixafor のヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 6.7 倍の用量において、投与 30 分後～2 時間後の間に認められた。

心血管系：Plerixafor が hERG カリウムチャネルを阻害する可能性について検討したところ（[Module 2.6.2 の 4.3.1.1 項]）、5 及び 50 µg/mL（ヒトに臨床推奨用量を投与したときに得られる最高血漿中濃度［C_{max}、約 1 µg/mL］の 50 倍）で阻害は認められなかった。

心血管系に関与することが知られている受容体及び酵素を選択し、多数の in vitro 結合試験及び阻害試験を実施した（[Module 2.6.2 の 4.3.1.2 項]）。これらの試験において、アンジオテンシン変換酵素（ACE）の阻害に関する IC_{50} は 2.5 µmol/L（1.3 µg/mL）であり、ニューロペプチド Y Y_2 及び Y_3 受容体のアッ

セイでは、6 µmol/L（3.0 µg/mL）の濃度で引き起こされるアゴニスト反応は 50 %未満であった。その後に実施した in vitro 試験（[Module 2.6.2 の 4.4.1 項]）では、大動脈平滑筋標本のアンジオテンシン II 誘発性収縮に対して、plerixafor は 2 及び 20 µg/mL で用量依存的な阻害作用を示した。遊離 Ca^{2+}を添加すると収縮が減弱し、終濃度 4 mmol/L では収縮反応が完全に消失した。

心血管系への安全性を検討した GLP 適用試験（[Module 2.6.2 の 4.3.2.3 項]）では、1 群 2 匹からなる 2 群の無麻酔ビーグル犬に、定常状態での血漿中 plerixafor 濃度が 7.5 又は 15 µg/mL となるような投与速度で plerixafor を 8 時間持続静脈内投与した。Plerixafor を低投与速度で投与したイヌ（実際の血漿中濃度：6.0～7.4 µg/mL）において、本薬による ECG、心拍数、血圧及び心機能の変化はみられなかった。この血漿中濃度は、ヒトに推奨用量の 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）を投与したときに得られるおよその最高血漿中濃度（約 1 µg/mL）の約 6～7.4 倍である。高投与速度で持続静脈内投与したとき（実際の血漿中濃度：10.9～14.3 µg/mL）、心拍数の増加が投与開始直後からみられたが、血圧の上昇は投与開始約 3.25 時間後まで認められず、有害な一般状態の変化（活動性低下、振戦、運動協調性の欠如、横臥位、努力性呼吸など）の発現に伴って認められた。本用量群のイヌ 2 匹中 1 匹でみられた一般状態の変化が非常に重篤であったため、予定していた持続投与期間の半分に満たない時点で投与を早期中止した。そのイヌでは、肺動脈圧の一過性の上昇が投与中止後約 1.75 時間にわたり認められた。Plerixafor の持続静脈内投与に起因する ECG の質的異常はみられなかった。ECG 波形の定量的評価では、心拍数の軽度増加及び心拍数増加に対する正常な生理的反応として PR 間隔の短縮が認められ、plerixafor の持続静脈内投与に起因すると考えられた。QRS 時間及び QTc 間隔に対する影響はみられなかった。

また、GLP 非適用の心血管系安全性薬理試験として、ペントタール麻酔ラットを用いた静脈内及び皮下投与試験（[Module 2.6.2 の 4.3.2.1 項]）、並びに無麻酔イヌを用いた 1 時間持続静脈内投与漸増用量設定試験（[Module 2.6.2 の 4.3.2.2 項]）の 2 試験を実施した。麻酔ラットに plerixafor を 20 mg/kg の用量で皮下投与すると、中等度の心筋抑制作用がみられ、ECG 測定において P 波の平坦化が認められた。この試験ではペントタール麻酔を行っていたため、心血管系の変化との本薬の生物学的関連性の解釈は難しい。イヌ静脈内投与用量設定試験の結果は、イヌを用いた GLP 適用の安全性薬理試験の用量設定に使用した。

受容体結合試験及び機能試験：Plerixafor による動物での急性毒性発現に CXCR4 以外の受容体への結合の関与の有無を検討するため、SpectrumScreen において、plerixafor を 5 µg/mL（10 µmol/L）の濃度で評価した。動物を用いた毒性試験において、plerixafor をラット及びイヌに皮下投与したときに得られている血漿中濃度は 5 µg/mL 以上である。この濃度は、ヒトに推奨用量 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）を投与したときに得られる最高血漿中濃度の約 5 倍である。

全般的な受容体スクリーニング（[AA81111-1DEC20[redacted]及び[AA80066-30DEC20[redacted]）でみられた有意な変化（10 µmol/L で 50%以上の結合阻害）を表 4に示す。種々のアンジオテンシン、ドパミン及び 5-HT 受容体に対する結合性は低いか、ごくわずかであった。

表 4 - SpectrumScreen でみられた plerixafor の有意な受容体結合（50%以上）の要約

受容体 [a]	動物種	濃度 µg/mL (µmol/L)	阻害率	IC_{50} [b] µg/mL
N 型カルシウムチャネル	ラット	5.0 (10.0)	100	0.55
カリウムチャネル [SK_{CA}]	ラット	5.0 (10.0)	81	---
ヒスタミン H_3	ヒト	5.0 (10.0)	99	0.06
ムスカリン M_1	ヒト	5.0 (10.0)	73	---
ムスカリン M_2	ヒト	5.0 (10.0)	65	---
アドレナリン α_{1B}	ラット	5.0 (10.0)	66	---
アドレナリン α_{2C}	ヒト	5.0 (10.0)	58	---
ニューロペプチド Y Y1	ヒト	5.0 (10.0)	54	---
グルタミン酸 NMDA、ポリアミン	ラット	5.0 (10.0)	53	---

[a] 注：コルヒチン受容体で測定された-71%の結合は、plerixafor でみられる毒性所見との関連性がないと考えられるため、記載していない。
[b] 別の試験（AA8111-01DEC20[redacted]）において、一部の受容体について測定した IC_{50}

スクリーニングで特定された受容体への plerixafor の結合の意義について更に検討するため、追加の機能アッセイを実施し、plerixafor の結合により受容体のアゴニスト又はアンタゴニスト活性が誘導されるか否かを調べた。本アッセイにおいて、plerixafor は N 型カルシウムチャネル、ムスカリン M_1 及び M_2 受容体、並びにアドレナリン α_{1B} 及び α_{2C} 受容体に対してアンタゴニスト活性を示した。また、plerixafor はヒスタミン H_3 受容体に対して逆アゴニスト活性を示した。本アッセイの結果に基づき、N 型カルシウムチャネルへの作用を検討するため、パッチクランプアッセイを実施した。パッチクランプアッセイの結果は予想に反して陰性であった。以下の表 5に機能アッセイ及びパッチクランプアッセイの結果概要を示す。

表 5 - Plerixafor の結合によるアゴニスト又はアンタゴニスト活性を評価した機能アッセイの要約

アッセイ名	組織、細胞、動物種など	濃度	反応率 %	
		μg/mL	アゴニスト	アンタゴニスト
N 型カルシウムチャネル、収縮性	回腸、モルモット	15	0	30
N 型カルシウムチャネル、パッチクランプ	哺乳類細胞、ヒト	15	---	2
ヒスタミン H_3 GTPγS 結合	CHO-K1 細胞、ヒト	5	-46[a]	145[a]
ムスカリン M_1 GTPγS 結合	CHO 細胞、ヒト	5	2	71
ムスカリン M_2 収縮性	心房、モルモット	15	0	33
アドレナリン α_{1B} 収縮性	脾臓、ラット	15	0	28
アドレナリン α_{2C} GTPγS 結合	昆虫 Sf9 細胞、ヒト	5	-1	28

[a] 逆アゴニスト活性を示した。

3　薬物動態試験

吸収及び血漿中動態：Plerixafor を単回皮下投与したときの血漿中動態の特徴はマウス、ラット、イヌ及びヒトで類似しており（[Module 2.6.4 の 9 項]）、検討したすべての動物種及びヒトで、plerixafor の見かけのクリアランスは低く、見かけの分布容積は中等度であった。消失半減期（$t_{1/2}$）は、マウスで 0.75 時間、ラットで 0.90～1.16 時間、イヌで 1.58 時間、ヒトで 4.83 時間であり、これらの値の関係はアニマルスケーリング（アロメトリーに基づく体重との関係）と一致していた。検討したいずれの動物種においても、皮下投与後の plerixafor の吸収は速やかかつほぼ完全であった。ラットに皮下投与した後の plerixafor の曝露量は用量に比例した。また、ラットに 1 日 1 回 7 日間反復皮下投与したとき、血漿中に plerixafor の顕著な蓄積は認められなかった。

分布：ラットを用いた組織分布試験（[Module 2.6.4 の 4.1 項]）において、^{14}C- plerixafor を単回皮下投与したとき、放射能は脳、筋肉、膵臓、腎周囲脂肪組織、唾液腺、脊髄及び精巣を除き、検討したほとんどの組織に速やかに分布した。多くの組織で放射能濃度は投与後 4～24 時間までに低下した。脾臓、肝臓及び腎臓では皮下投与後 144 時間においても放射能が持続的に認められた。ラット及びイヌでは、皮下投与後 168 時間に投与放射能の最大約 30%が体内に残存していた。ラットに ^{14}C- plerixafor を 1 日 1 回 7 日間反復皮下投与したとき、一部の組織（腎臓、肝臓、軟骨、骨髄及び脾臓）に放射能の蓄積が認められた。

ラット、イヌ及びヒトにおける plerixafor の血漿タンパク結合率は中等度（33～58%）であった（[Module 2.6.4 の 4.2 項]）。In vitro 試験の結果、plerixafor のラット、イヌ及びヒトの血球への分配はわずかであった（[Module 2.6.4 の 4.3 項]）。

妊娠ウサギを用いた TK 試験において、人工受精後 6～18 日目に 1 日 1 回反復皮下投与したとき、胎児組織への plerixafor の移行が認められた（[Module 2.6.6 の 6.4 項]）。

代謝：マウス、ラット、イヌ及びヒトの肝ミクロソーム並びにラット、イヌ及びヒトの肝細胞を用いた in vitro 代謝試験（[Module 2.6.4 の 5.1 項]）において、plerixafor は代謝的安定性が高く、肝臓で代謝されないことが示された。さらに、plerixafor はラット、イヌ及びヒト全血中でも安定であることが確認された。ラット及びイヌを用いた ^{14}C- plerixafor の in vivo 試験（[Module 2.6.4 の 5.2 項]）において、血漿中及び尿中に plerixafor の Cu^{2+}錯体の存在が確認された。Plerixafor は潜在的なキレート部位であるシクラム環を 2 つ有しており、このことと一致して Cu^{2+}と plerixafor の組成比が 1：1 及び 2：1 の錯体が認められた。In vitro 及び in vivo 代謝試験から導かれる全般的結論として、plerixafor の代謝を裏付けるデータは確認されなかった。

排泄：ラット及びイヌにおける主要な消失経路は腎排泄であった（[Module 2.6.4 の 6 項]）。ラット及びイヌに ^{14}C- plerixafor を皮下及び静脈内投与したとき、放射能の大部分（投与放射能の 63～72%）が投与後 168 時間以内に尿中に排泄された。両動物種における糞中への排泄率は総放射能の 12%未満であった。

4　毒性試験

単回投与毒性試験

Plerixaforについてマウスを用いた皮下投与試験（[Module 2.6.6 の 2.1 項]）及び静脈内投与試験（[Module 2.6.6 の 2.2 項]）並びにラットを用いた皮下投与試験（[Module 2.6.6 の 2.3 項]）及び静脈内投与試験（[Module 2.6.6 の 2.4 項]）の、GLP 適用の単回投与毒性試験を 4 試験実施した。

Plerixafor を 1 群雌雄各 5 匹の NMRI マウス及び 1 群雌雄各 5 匹の Wistar ラットに単回静脈内又は皮下投与したところ、一過性であるが重度の神経筋関連の徴候が、投与後短時間（多くは約 30 分から 1 時間）に発現した。静脈内及び皮下投与後にみられた徴候はマウスとラットで同様であり、所見としては鎮静、呼吸困難、痙攣、腹臥位、異常姿勢及び非協調運動などが認められた。一般状態の変化の多くは、plerixafor 投与後 4 時間以内に完全に回復した。死亡は、マウスでは 14 mg/kg（42 mg/m^2）以上の皮下投与及び 5 mg/kg 以上の静脈内投与で、ラットでは 40 mg/kg（240 mg/m^2）以上の皮下投与及び 5 mg/kg 以上の静脈内投与で認められた。マウス及びラットの皮下投与では 2 mg/kg が無毒性量（NOAEL）であったが、同じ 2 mg/kg の静脈内投与ではマウス及びラットとも一般状態の変化が認められた。マウス及びラットで皮下投与により死亡がみられた最低用量は、ヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）と比較すると、それぞれ 4.7 倍及び 27 倍であった。

さらなる情報を得る目的で、ラットにおける血中白血球数増加を検討する試験（[Module 2.6.6 の 2.5 項]）、ラットの毒性試験における血漿 Ca 及び Mg の変化と一般状態の変化の関連性を検討する試験（[Module 2.6.6 の 2.6 項]）、またブタを用いた用量設定及び最大耐量（MTD）の検討試験（[Module 2.6.6 の 2.7 項]）を単回投与で実施した。Wistar ラットに plerixafor の 10 mg/kg を単回皮下投与したところ、投与 6 時間後に血中白血球数増加のピークが認められた。この増加は主として骨髄球系細胞（好中球、単球、好酸球及び好塩基球）によるものであり、リンパ球数増加の傾向もみられた。次の Wistar ラットを用いた試験では、plerixafor の 10～40 mg/kg を皮下投与したところ、血漿中総 Ca 及びイオン化 Ca の有意な増加は認められなかったが、血漿 Ca のホメオスタシス維持において重要な血液生化学的パラメータ（血液 pH、アルブミン及び無機リン）には、用量及び時間に関連した変化がみられた。血漿中 Mg は投与 1 時間後に有意な増加がみられ、投与 2 及び 4 時間後に減少が認められた。ブタに 6 mg/kg を皮下投与したところ良好な忍容性がみられたが、12 及び 8 mg/kg を投与すると、それぞれ死亡及び横臥位が認められた。

ラットを用いた反復皮下投与毒性試験

GLP 適用の 4 週間反復皮下投与毒性試験を 3 試験実施した。このうち 2 試験は 1 日 1 回投与で実施し、1 試験は 1 日 2 回投与で実施した。

1 日 1 回投与による 2 つの 4 週間反復投与毒性試験（[Module 2.6.6 の 3.1.3 項]、[Module 2.6.6 の 3.1.4 項]）において、1 群雌雄各 10 匹の Wistar ラットに、plerixafor を 0.6～15.2 mg/kg/日の範囲で 1 日 1 回皮下投与した。15.2 mg/kg/日群では、試験の 1～4 週目に死亡が発現した。7.6 mg/kg/日以上の群で、重度の毒性徴候が、投与の 15 分後から 1 時間後にかけて観察された。これらの毒性徴候は、攣縮、ラッセル音又は努力性呼吸、腹臥位及び過興奮性であった。用量依存的な白血球数の増加が、1.9 mg/kg/日以上の群で認められた。血清 Mg 減少並びに尿 Ca 及び Mg の増加が、7.6 mg/kg/日以上の群で認められた。骨密度検査では、骨塩量及び X 線撮影による密度の低下が、11.4 mg/kg/日以上の群でみられた。脾重量増加（1.9 mg/kg/日以上）及び肝重量増加（7.6 mg/kg/日群の雌のみ）並びに胸腺重量減少（11.4 mg/kg/日以上）が認められた。病理組織学的検査では、肝臓及び脾臓の髄外造血並びに胸腺のリンパ組織萎縮が示された。注射部位の刺激性変化を除いて、他にはいずれの器官系の毒性変化を示唆する病理組織学的所見も認められなかった。すべての毒性所見について、休薬期間中に回復がみられた。

GLP 適用の 4 週間反復投与毒性試験（[Module 2.6.6 の 3.2.3 項]）を、1 日 2 回投与で実施した。1 群雌雄各 10 匹のラットに、plerixafor を 0.3～12 mg/kg BID の用量範囲で皮下投与した。本試験で使用した 1 日 2 回投与による plerixafor の総 1 日用量は、1 日 1 回投与での試験で使用する用量の 2 倍であり、本薬の半減期が短く毒性からの回復が速やかである（約 4 時間）ことと一致した。12 mg/kg BID（24 mg/kg/日）以下では死亡及び明らかな一般状態の変化は認められなかった。用量依存的な白血球数の増加が、2 mg/kg BID 以上の群でみられた。ごく軽度の血清 Mg 減少及びごく軽度の尿 Ca 増加が、12 mg/kg BID 群で認められた。血清アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の増加が、12 mg/kg BID 群（雄のみ）でみられた。注射部位の刺激性変化を除いて、いずれの器官系においても病理組織学的所見は認められなかった。

1 日 1 回及び 1 日 2 回皮下投与による GLP 適用の 4 週間反復投与毒性試験で設定された MTD は、それぞれ 11.4 mg/kg/日（68.4 mg/m^2/日）及び 12 mg/kg BID（72 mg/m^2 BID）であった。これらの用量は、それぞれヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の 7.7 倍及び 8.0 倍であった。

さらなる情報を得るため、1 日 1 回 1 週間投与したときの金属ホメオスタシスを評価した（[Module 2.6.6 の 3.1.1 項]）。また 1 日 1 回投与（[Module 2.6.6 の 3.1.2 項]）及び 1 日 2 回投与（[Module 2.6.6 の 3.2.2 項]）での 2 週間反復投与用量設定試験においては MTD を設定した。金属ホメオスタシス試験の結果において、反復投与（9.49 mg/kg/日；56.9 mg/m^2/日）による尿中 Zn 及び Cu 排泄の大幅な増加が示された。また、血漿 Ca 及び Mg の減少がみられた。尿 Ca は投与期間を通して一貫して増加し、14 日目には 2 倍の増加がみられた。1 日 1 回投与による 2 週間用量設定試験では、9 及び 12 mg/kg/日群で 7 又は 8 日目に死亡が発現した。本試験で死亡が発現した用量は、その後に実施したより長期間の GLP 適用反復投与毒性試験で死亡がみられた用量より低かった。より低い用量で死亡がみられた理

由は不明であるが、plerixafor の血中濃度が他試験に比べて高かったというわけではなかった。これらの所見から、これら初期の GLP 適用毒性試験で使用した用量では、plerixafor 誘発性の毒性の全体像が十分に特徴づけられなかったと考えられる。このため、追加の GLP 適用試験をより高い用量で実施した。1 日 2 回投与で実施した 2 つの 2 週間反復投与用量設定試験において、MTD は 12 mg/kg BID（24 mg/kg/日）と設定された。24 mg/kg BID（48 mg/kg/日）群の 1 匹のラットで 7 日目に死亡が認められた。

イヌを用いた反復投与毒性試験

GLP 適用の主要な 4 週間連日反復皮下投与毒性試験を 2 試験実施した。このうち 1 試験は 1 日 1 回投与で実施し、1 試験は 1 日 2 回投与で実施した。

GLP 適用の 4 週間反復投与毒性試験（[Module 2.6.6 の 3.1.7 項]）を、1 群雌雄各 3 匹のビーグル犬を用いて、0.25～4.0 mg/kg/日の 1 日 1 回皮下投与で実施した。本試験では死亡はみられなかった。一般状態の変化として下痢が 1.0 mg/kg/日以上の群の大部分のイヌにみられ、散発的に活動性低下（雄のみ）及び削痩（雌 1 匹）が 4.0 mg/kg/日群で認められた。摂餌量の低値が 1.0 mg/kg/日以上の群でみられ、体重増加量減少がすべての投与群で認められた。4.0 mg/kg/日群の雄では尿比重低下及び尿量増加がみられた。ごく軽度の心拍数の増加が、1 及び 22 日目に 1.0 mg/kg/日以上の群の雌雄で投与後 4 時間まで認められた。4.0 mg/kg/日群では心拍数の増加に伴って QT 間隔短縮がみられた。注射部位の皮膚肥厚は 1 mg/kg/日以上で出現頻度が増加した。投与関連の変化は、いずれも 2 週間の休薬期間中に対照値にまで戻った。摂水量、神経学的検査、眼科学的検査、血液学的検査、血清生化学的検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査においては、被験物質関連の変化は認められなかった。

GLP 適用の 1 日 2 回 4 週間反復投与毒性試験（[Module 2.6.6 の 3.2.5 項]）を、1 群雌雄各 3 匹のビーグル犬を用いて、0.15～4.0 mg/kg BID（0.3～8.0 mg/kg/日）の皮下投与で実施した。本試験では死亡はみられなかった。ごく軽度の流涎が 1 日目に 4.0 mg/kg BID 群でみられ、削痩が 8～15 日目に 0.75 mg/kg BID 群で認められた。摂餌量の低値及び体重増加量減少が、0.75 mg/kg BID 以上の群で投与 1 週目にみられた。投与期間終了時（4 週目）に、白血球数増加（主として分節核好中球）が 0.75 及び 4 mg/kg BID 群で認められた。血清 Mg 濃度減少及び尿 Ca 濃度増加が、0.75 mg/kg BID 以上の群で投与終了時にみられた。ごく軽度のグロブリン及びアルブミン／グロブリン比の低下も、0.15 mg/kg BID 以上の群（雌）で認められた。投与関連の変化は、いずれも 2 週間の休薬期間中に対照値にまで戻った。心電図検査、摂水量、神経学的検査、眼科学的検査、器官重量、骨髄検査、剖検及び病理組織学的検査においては、被験物質関連の変化は認められなかった。

1 日 1 回及び 1 日 2 回皮下投与による GLP 適用の 4 週間反復投与毒性試験における MTD は、それぞれ 4 mg/kg/日（80 mg/m^2/日）及び 4 mg/kg BID（80 mg/m^2 BID）であった。これらの用量は、ヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）と比較すると 9.0 倍であった。

予備試験として、ビーグル犬を用いて反復皮下投与毒性用量設定試験を 3 試験実施し、MTD を検討した。このうち 2 試験（[Module 2.6.6 の 3.1.5 項]及び[Module 2.6.6 の 3.1.6 項]）は 1 日 1 回投与で実施し、1 試験（[Module 2.6.6 の 3.2.4 項]）は 1 日 2 回投与で実施した。1 日 1 回投与による 2 週間試験では、6 mg/kg/日群の 2 匹のイヌで重度の一般状態の変化がみられたため、10 日目に途中安楽殺した。6 mg/kg/日群の雌 1 匹では心筋血管に中等度のフィブリノイド壊死がみられ、これに伴って隣接する心筋に軽微な二次的壊死及び線維化が認められた。この所見は 1 例のみに認められたもので、毒性学的意義は不明であるが、他のいずれのイヌにも認められず、かついずれのラットの試験でもみられていないことから、この所見は偶発的なものと考えられた。1 日 2 回投与による 7 日間用量設定試験では、9 mg/kg BID 群のイヌが 1 日目の初回投与後間もなく死亡した。6 mg/kg BID 群の 2 匹では 5 日目に重度の神経筋関連の徴候がみられ、7 日目の試験終了時まで持続的に認められた。これらの試験に基づき、重要な GLP 適用の 4 週間反復投与毒性試験の高用量として、1 日 1 回投与については 4 mg/kg/日を、1 日 2 回投与については 4 mg/kg BID を設定した。

生殖発生毒性試験

GLP 適用の胚・胎児発生に関する試験（[Module 2.6.6 の 6.3 項]）を実施した。1 群 22 匹の妊娠 Sprague-Dawley ラットに plerixafor を 0、0.5、3 又は 15 mg/kg/日の用量で、妊娠 6 日から 17 日までの 12 日間皮下投与した。Plerixafor の皮下投与により、15 mg/kg/日群の母動物に摂餌量減少、体重増加量減少及び体重減少が認められた。15 mg/kg/日群ではさらに、吸収胚増加、胎児体重の減少、骨格発達遅延及び胎児異常の発現頻度増加がみられた。胚・胎児発生に関する NOAEL は 3 mg/kg/日（18 mg/m^2/日）と判断された。母動物毒性に関する NOAEL は決定しなかった。胚・胎児発生に関する NOAEL は、ヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）と比較すると 2.0 倍であった。

予備試験として、GLP 非適用の胚・胎児発生に関する用量設定試験を 2 試験実施した。このうち 1 試験は、Sprague-Dawley ラットを用いて実施し（[Module 2.6.6 の 6.2 項]）、他の 1 試験はニュージーランドホワイトウサギを用いて実施した（[Module 2.6.6 の 6.4 項]）。ラット試験の結果は、GLP 適用のラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定に使用した。ウサギの試験では、母動物毒性及び奇形胎児の発現頻度増加が、それぞれ 0.6 mg/kg/日以上の群及び 1.8 mg/kg/日以上の群で認められた。GLP 適用のラットを用いた胚・胎児発生に関する試験で催奇形性がみられたことから、ウサギを用いた GLP 適用の胚・胎児発生に関する試験は実施しなかった。

本剤は化学療法を受ける患者への短期投与を予定しているため、受胎能、並びに出生前及び出生後の発生に及ぼす plerixafor の影響の有無については、評価は必要ないと判断し実施しなかった。なお、GLP 適用の毒性試験におけるラット精巣の組織学的検査では、精子形成サイクルへの影響は示されなかった。いずれの GLP 適用反復投与毒性試験においても、病理組織学的検査で雌雄生殖器官への毒性は認められなかった。

^{14}C-plerixafor を雄ラットに皮下投与したとき、336 時間後における ^{14}C-plerixafor の循環血中濃度は、約 2 ng-eq/g 血液であった。ラットの精巣組織への ^{14}C-plerixafor 取り込みは比較的低く、投与 336 時間後における精巣中濃度は 30 ng-eq/g 組織であった（[redacted] 7686-108 CMS81280A 試験）。また、9608.0251 試験において、1 mg/kg/日の plerixafor を 1 日 1 回 7 日間皮下投与したとき、最終投与後 24 時間以降における精巣及び精巣上体中 plerixafor 濃度は定量下限（79 ng-eq/g）未満であった（[Module 2.6.4 の 4.1 項]）。このように、投与終了 2 週間後のこれらの組織における plerixafor の曝露量は低いと考えられる。したがって、反復投与毒性試験において精子形成サイクルを含む雄性生殖器への影響が認められなかったこととあわせると、残留 plerixafor による雄受胎能へ影響を及ぼすリスクは低いと考えられる。

休薬後の残存 plerixafor による影響を検討するため、雌受胎能及び胚・胎児発生に関する探索的試験を実施した（[Module 2.6.6 の 6.1 項]）。雌ラットに plerixafor を 14 日間皮下投与し、2 週間の休薬期間をおいてから交配させ、妊娠 21 日で帝王切開したところ、投与期間中に 15 mg/kg/日の TK サテライト群に死亡がみられ、主試験群でも一般状態変化が認められた。性周期及び生殖パラメータへの影響、剖検所見、帝王切開時検査パラメータ並びに胎児の成長及び発達に対する影響はいずれの用量においても認められなかった。Plerixafor の卵巣中濃度は、交配期間最終日まで検出可能であった。

遺伝毒性試験

標準的バッテリー試験を実施し、plerixafor は、in vitro でのネズミチフス菌を用いる変異原性試験（[Module 2.6.6 の 4.1.1 項]）及び V79 細胞を用いる染色体異常試験（[Module 2.6.6 の 4.1.2 項]）並びに in vivo でのラット小核試験（[Module 2.6.6 の 4.2.1 項]）で遺伝毒性を示さなかった。

がん原性試験

がん原性試験は実施しなかった。予定連続臨床使用期間が 3 ヵ月未満の医薬品については、通常がん原性試験は必要とされない（ICH S1A 医薬品のがん原性試験の必要性に関するガイダンス、1995 年 11 月）。

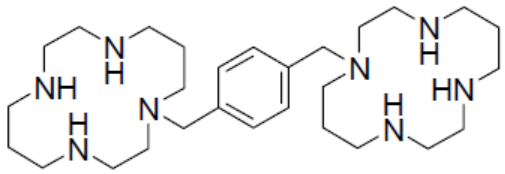
その他の毒性試験

ウサギを用いた GLP 非適用の皮内投与局所刺激性試験において（[Module 2.6.6 の 7.1 項]）、plerixafor は塩酸調製液では 3 mg/mL 以上、クエン酸調製液では 25 mg/mL 以上の濃度で、軽度の刺激性が認められた。反復皮下投与毒性試験でも局所刺激性が観察された。GLP 非適用の脾臓プラーク形成細胞を測定した試験（[Module 2.6.6 の 8.1 項]）では、plerixafor を 5.1 及び 12.7 mg/kg/日の用量で 4 日間皮下投与したラットから採取した脾細胞において、ヒツジ赤血球への一次 IgM 抗体に対する阻害作用は認められなかった。GLP 適用の in vitro 溶血性試験（[Module 2.6.6 の 8.2 項]）において、plerixafor を 0.2 µg/mL の最終濃度でヒト全血と共にインキュベートしたところ、明らかな溶血及び凝集は認められなかった。

5　総括及び結論

Plerixafor はケモカイン受容体 CXCR4 の選択的拮抗薬であり、その特異的リガンドである SDF-1 の結合を阻害する。構造的に、plerixafor は 1,4 フェニレンビス（メチレン）リンカーで分離された 2 つのシクラム環を含有する大環状ポリアミン化合物である。

図 1 - Plerixafor の構造



（分子式）$C_{28}H_{54}N_8$　　（分子量）502.78

Plerixafor 分子の 2 つの構造的特徴（アミンのプロトン付加並びに遷移及び他の金属との錯体形成）は、非臨床試験で得られた結果の一部を理解する上で重要である。In vivo での生理的条件下（pH 7.4）及び pH が中性に調節された水溶液中において、plerixafor はプロトン付加されて+4 状態になる。ビシクラムのプロトン付加型は、CXCR4 の負に荷電されたドメインのアスパラギン酸残基上の側鎖カルボン酸基に直接結合する活性型と考えられている。また、plerixafor 及びその他の大環状ポリアミンは、広範囲の遷移金属イオン（例：Cu^{2+}、Ni^{2+}、Zn^{2+}、Co^{2+}、Cd^{2+}、Hg^{2+}、Pb^{2+}）に対して顕著な結合能を有し、より軽度ではあるが他の二価陽イオン（例：Ca^{2+}、Mg^{2+}）に対する結合能もあり、多くの場合、結合中に立体構造の変化を生じる(22)。Plerixafor のビス遷移金属錯体は、受容体又は酵素のタンパク質表面上におけるアミノ酸残基（例：ヒスチジン）に相補的配位を提供する可能性があり、plerixafor の Zn 錯体は CXCR4 受容体への結合が亢進している(23)。しかし、金属錯体が plerixafor の活性型であることを示唆するエビデンスはない。

5.1　In vitro 結合試験

Plerixafor の CXCR4 受容体への結合及び選択性、並びに動員された CXCR4 細胞の機能的特性を検討するため、多数の in vitro 非臨床薬理試験を実施した。Plerixafor の CXCR4 受容体への結合特性を受容体部位特異的突然変異誘発法により検討した結果、plerixafor の CXCR4 受容体への結合における重要な決定因子は、CXCR4 の Asp171 及び Asp262 残基であることが示された。Plerixafor の CXCR4 アンタゴニスト活性の選択性は、遺伝子導入細胞を用いて他の既知のケモカイン受容体の既知のリガンドへの結合に対するアンタゴニスト活性を測定することにより評価した。3 種類の実験手法（受容体結合アッセイ、カルシウム流入アッセイ及び GTP 結合アッセイ）を用いて、plerixafor の種々のケモカイ

ン受容体と標準リガンドとの相互作用に対するアンタゴニスト活性を測定した。その結果、plerixaforはCXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR7、CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8及びCCR9のケモカインとリガンドとの相互作用に対してアンタゴニスト活性を示さなかった。他の研究者はplerixaforが恒常的活性化変異型CXCR4受容体の部分アゴニストであり、野生型受容体には高濃度で活性を示す可能性を報告している(24)。しかし、アゴニストであることを示す所見が当社では確認できなかったため、本所見の再現性は疑わしく、本測定系に起因するものと考えられる。なお、文献ではSDF-1がCXCR7（RDC1）のリガンドでもあることが報告されているが(25)、前述のようにリガンド結合試験では、plerixaforはSDF-1リガンドのCXCR7への結合を阻害しないことが示されている。

中枢神経系及び心血管系に関する安全性薬理試験を支持するために、多数の所定の受容体及び酵素に対するplerixaforのin vitro結合アッセイ及び機能アッセイも実施した。中枢神経系に関するアドレナリンα_1及びα_2受容体並びにドパミンD_2受容体、心血管系に関するACE並びにニューロペプチドY Y_2及びY_3受容体に対して、plerixaforの低～中等度の結合が認められた。受容体結合アッセイにおけるIC_{50}又は機能アッセイにおける有効用量は、ヒトにplerixaforの推奨用量である240 µg/kg（8.9 mg/m^2）を投与したときに得られる血漿中C_{max}（約1 µg/mL）より高い濃度であったため、ヒトにおいてこれらの受容体又は酵素との相互作用による生理的影響が生じる可能性は低いと考えられる。

5.2 In vivo試験

動物にplerixaforを投与したときのin vivo作用を検討する一連の試験を実施した。薬理試験により、組織から循環血中にCD34陽性細胞が動員されること、及び放出されたこれらの細胞が骨髄又は他の組織にホーミングすることが確認され、その特性が明らかになるとともに、ホーミングした細胞が免疫系の長期自己複製能などの機能を保持していることが確認された。一連の薬物動態試験により、plerixaforの動物体内における挙動が明らかにされ、plerixaforの吸収、分布、代謝及び排泄が薬理所見及び毒性所見にどのように関与しているかについて、より詳細な知見が得られた。一連の毒性試験では、plerixaforの単回及び反復投与毒性試験、遺伝毒性試験及び胚・胎児発生に関する試験におけるplerixaforの毒性を評価し、特性を検討した。可能な限り、本概要では他の科学分野の知見を盛り込み、plerixaforのin vivo作用をより総合的に考察した。

5.3 CXCR4及び造血細胞の保持、動員

骨髄は未熟及び成熟途中の造血細胞（CXCR4受容体を有するCD34陽性細胞など）の貯蔵器官であり、造血細胞はストレスシグナルに応答して循環血中に放出された後、傷害部位に動員され、そこで生体防御及び組織修復に関与すると報告されている(26)。定常状態により恒常性が維持されている場合には、これらの骨髄性細胞及びリンパ性細胞は貯蔵器官である骨髄から循環血中に持続的に放出され、生涯にわたって、寿命のある新鮮細胞が血液中に補充される。炎症、感染、放射線照射、組織傷

害、化学療法及び G-CSF 投与といったストレスシグナルによって、定常状態での恒常性に不均衡が生じ、幹細胞及び前駆細胞の増殖及び分化が誘導され、これらの細胞が成熟白血球とともに循環血中に動員される(27)。動員されたこれらの細胞は、その後、骨髄又はその他の組織（脾臓やストレスを受けている組織など）にホーミングすると考えられる(28),(29)。

CXCR4/SDF-1 axis は、これらの造血細胞及び他の種類の CXCR4 細胞の保持、動員及び局在化の制御に不可欠である(27)。ケモカイン受容体 CXCR4 は、骨髄中の未熟及び成熟途中の造血細胞（CD34 陽性細胞）、並びに内皮細胞、上皮細胞、及びがん細胞といった種々の細胞上に広く発現している。細胞上の CXCR4 の発現は、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインを含む多くの因子によって影響を受ける(1),(26),(30),(31)。SDF-1 は骨髄のほか、脾臓、肝臓、肺及び皮膚といった多くの組織で恒常的に発現している。骨髄において、SDF-1 は主に骨芽細胞により産生され、SDF-1 の濃度勾配が駆動力となって、骨髄中細胞の動員及び保持が誘発される。循環血中 CXCR4 細胞の別の組織部位への動員もその組織における SDF-1 の濃度勾配により制御される。多くの腫瘍細胞（卵巣がん、乳がん、前立腺がん、AML）、病的状態（多発性硬化症の血管、関節リウマチの内皮、喘息の内皮、アテローム硬化のプラーク）、及び傷害を受けた組織（心筋梗塞、糖尿病性網膜症、肝障害、虚血腎、放射線照射骨髄）において、SDF-1 発現の上昇が認められている(32)。

5.4　薬物動態試験

皮下投与したとき、plerixafor は速やかかつほぼ完全に吸収された。Plerixafor の血漿中からの消失は速やかで、$t_{1/2}$ はマウスで 0.75 時間、ラットで 0.90～1.16 時間、イヌで 1.58 時間であった。ヒトにおける $t_{1/2}$ は 4.83 時間であった。肝ミクロソーム及び肝細胞を用いた in vitro 試験、並びにラット及びイヌでの in vivo 試験において、plerixafor は代謝されないことが示された。ラット及びイヌでの in vivo 試験において血漿及び尿中に plerixafor の Cu^{2+}錯体の存在が確認された。このことは、上述の plerixafor 分子が有する Cu^{2+}などの遷移金属に対する強い親和性と一致している。

組織分布試験において、ラットに ^{14}C-plerixafor を単回皮下投与したとき、放射能は脳、筋肉、膵臓、腎周囲脂肪組織、唾液腺、脊髄及び精巣を除き、検討したほとんどの組織に速やかに分布した。Plerixafor の物理化学的性質（すなわち、分子量が約 500 であること、荷電分子であること、及び水溶性であること）を考慮すると、脂肪、中枢神経系及び精巣への分布が低いことは予想外ではない。In vitro データによって、plerixafor は P-gp の基質及び阻害剤のいずれでもないことが示唆された（[Module 2.7.2 の 2.2 項]）。ラットに ^{14}C-plerixafor を投与したとき、多くの組織で放射能は投与後 4～24 時間までに低下した。脾臓、肝臓及び腎臓では皮下投与後 144 時間においても放射能が持続的に認められた。ラット及びイヌのマスバランス試験では、皮下投与後 168 時間に投与放射能の最大約 30%が体内に残存していた。ラットに 1 日 1 回 7 日間反復皮下投与したとき、一部の組織（腎臓、肝臓、軟骨、骨髄及び脾臓）中に放射能の蓄積が認められた。骨髄やこれらの組織における ^{14}C-plerixafor の残存は、CXCR4

及び SDF-1 を介した plerixafor の薬理作用（[Module 2.6.2 の 6 項]）と関連していることが考えられる。また、肝臓及び脾臓は骨髄とともに plerixafor 投与後に動員された造血細胞がホーミング又はトラフィッキングする組織部位であることが示唆されている（[Module 2.6.2 の 6 項]、[Module 2.6.6 の 9 項]）。Plerixafor は一部の組織中に長期に残存するが毒性は示さず、皮下投与部位周辺組織における局所刺激を示す組織学的所見を除き、標的組織及びその他の組織中での plerixafor の直接作用を示唆する病理組織学的所見は認められなかった（[Module 2.6.6 の 9 項]）。

5.5　薬理試験／毒性試験

マウス、ラット及びイヌを用いた薬理試験、安全性薬理試験及び毒性試験でみられた主要な plerixafor 誘発性所見は、1）種々の CD34 陽性及び CXCR4 細胞集団の動員、2）皮下投与直後の一過性ではあるが重度の神経筋関連徴候の誘発、並びに 3）Ca、Mg 及びその他の二価金属の尿中排泄であった。イヌの試験では心拍数増加及び下痢も高頻度に観察された。覚醒下のイヌにおける有意な血圧上昇並びにラット及びイヌにおける痙攣が、MTD を上回る用量で認められた。種々の非臨床試験でみられた明らかな薬理及び毒性の所見について、器官系別に総括する。

5.5.1　造血系／免疫系

効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び毒性試験では、いくつかの動物モデルにおいて、様々な種類の CXCR4 細胞の動員、それらの細胞の骨髄又は組織の炎症及び傷害部位への移動の調節における CXCR4 及び SDF-1 axis の重要な役割が明らかになった。

造血細胞（HSC、HPC 及び CD34 陽性細胞）：効力を裏付ける試験において、plerixafor をマウス、イヌ及びサルにそれぞれ 5、4 及び 1 mg/kg（15、80 及び 12 mg/m^2）の用量で皮下投与したところ、HSC 及び HPC が動員された。マウスにおける HPC の動員は用量及び時間に依存して認められ、動員のピークは投与 1 時間後にみられた。Plerixafor により動員された HSC により、マウス、イヌ及びサルでの自家移植条件下並びにイヌでの同種移植条件下のいずれにおいても、骨髄が破壊されたレシピエントの骨髄再構築能が示された。マウス、イヌ及びサルを用いたこれらの試験で使用した plerixafor の用量は、それぞれヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 1.7 倍、9 倍及び 1.3 倍であった。

血管新生細胞（EPC、PBMC、単球及び／又は CD34 陽性細胞）：後肢虚血の C57BL/6 及び HFh11^{nu} マウスモデルでは、plerixafor の皮下投与により、血管新生促進細胞（PBMC 及び／又は単球）が動員され、血流が回復した（新血管形成）。これらの試験では、plerixafor を 5 mg/kg（15 mg/m^2）の用量で、手術日及びその後 2 日間にわたり 1 日 1 回皮下投与した。これらの試験で使用した用量は、ヒトでの推奨用量である 240 µg/kg（8.9 mg/m^2）の約 1.7 倍であった。

FVB/N マウスを用いた MI モデルでは、MI の 1 時間後に plerixafor（6.25 mg/kg；18.8 mg/m^2）を単回皮下投与したところ血管新生促進細胞（EPC）が動員され、梗塞巣の毛細血管密度が増加し、心機能が改善された。しかし、アカゲザルを用いた MI のモデルでは、plerixafor の静脈内投与により CD34 陽性細胞が動員されたものの、心機能の改善、心組織損傷の減少又は増加及び心筋再生の増加は認められなかった（[Module 2.6.2 の 3.5 項]）。このサル試験では梗塞の 2～5 日後に plerixafor を 1 mg/kg（12 mg/m^2）の用量で静脈内投与した。ブタの MI モデルでは、EPC の動員、心筋新血管形成の改善及び心機能の改善は認められなかった。MI の直後に、plerixafor を 240 µg/kg 若しくは 4 mg/kg（6.5 若しくは 108 mg/m^2）の用量で単回皮下投与又は 4 mg/kg の用量で 7 日間連日皮下投与したが、最高用量を投与したブタでは梗塞の面積が増加した。しかし、本試験では実験的一貫性がみられなかったことから、結果をどのように解釈しても疑問が生じる（[Module 2.6.2 の 3.4 項]）。マウス、サル及びブタを用いたこれらの試験における plerixafor の用量は、それぞれヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 1.7～2.1 倍、1.3 倍及び 0.7 又は 12 倍であった。

免疫調節細胞：ゴキブリアレルゲン誘発喘息マウスモデルにおいて、plerixafor の腹腔内投与により、気管支周囲好酸球増加、気道反応性亢進及び全体の炎症反応が明らかに抑制された（[Module 2.6.2 の 3.8 項]）。Plerixafor は単回腹腔内投与（0.1～10 mg/kg；0.3～30 mg/m^2）又は 72 時間持続腹腔内投与（6 mg/kg/日；18 mg/m^2/日）した。腹腔内ボーラス投与及び持続投与の用量は、それぞれヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 0.03～3.4 倍又は 2 倍であった。

コラーゲン誘発性関節炎の 2 つのマウスモデル（IFN-γR 受容体ノックアウトマウス及び DBA/1 マウス）において、plerixafor の皮下投与により、炎症のみられる関節への単球及び好中球浸潤の減少並びにそれに伴う関節炎重症度の低下が認められた。コラーゲン免疫の前又は後の様々な時点から 14 日間にわたり、plerixafor を 600 µg/日（約 30 mg/kg/日；約 90 mg/m^2/日）の用量で持続皮下投与した。これらの試験における plerixafor の用量は、ヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 10.1 倍であった。

公表文献(33)によると、C57BL/6 マウスを用いて plerixafor の皮下投与をブレオマイシンと同時に開始したところ、肺における好中球及びその他の炎症細胞の動員が減少し、ブレオマイシン誘発性の肺の炎症が明らかに軽減した。対照的に、plerixafor 投与をブレオマイシンの 1 日後に開始したところ、炎症性細胞の動員が増加し、好中球が顕著に活性化され、重度の肺線維化が認められた。Plerixafor は 10 mg/kg/日（30 mg/m^2/日）の用量で 0 日目（ブレオマイシン投与日）又は 1 日目から 10 日間投与した。この試験における plerixafor の用量は、ヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 3.4 倍であった。

血液学的試験において Wistar ラットに plerixafor を 10 mg/kg（60 mg/m^2）の用量で単回皮下投与したところ、投与 6 時間後に白血球数増加のピークが認められた。ラットにおけるこの白血球の増加は

主として骨髄球系細胞（単球、好中球、好酸球及び好塩基球）によるものであり、リンパ球の増加傾向もみられた。ラット及びイヌの反復投与毒性試験では、それぞれ 1.9 mg/kg（11.4 mg/m^2）及び 0.75 mg/kg（15 mg/m^2）以上の用量で、循環血中白血球の増加も認められた。ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験の骨髄塗抹検査においては、全体に特記すべき変化は認められなかった。ラットの血液学的試験で使用した用量は、ヒトでの推奨用量の約 6.7 倍であった。ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験において白血球数増加がみられた plerixafor の用量は、それぞれヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 1.3～1.7 倍であった。

ラットの 2 週間及び 4 週間反復投与毒性試験では、6 mg/kg/日（36 mg/m^2/日）以上で脾重量増加が認められた。ラットにおける脾臓の髄外造血が、2 週間反復投与毒性試験では 3 mg/kg/日（18 mg/m^2/日）以上、GLP 適用 4 週間反復投与毒性試験では MTD である 11.4 mg/kg/日（68.4 mg/m^2/日）でみられたが、イヌを用いたいずれの試験においても、脾重量増加及び脾臓の髄外造血は認められなかった。髄外造血は、ラット及びイヌを用いた 2 週間又は 4 週間反復投与毒性試験において肝臓にもみられた。試験間で比較すると、肝臓における髄外造血には明らかな用量反応関係はないと考えられた。しかし脾重量及び肝重量の増加並びに脾臓及び肝臓における髄外造血は、plerixafor の薬理作用（造血幹細胞及び白血球の動員と移動）と直接的又は間接的に関連していると考えられる。脾重量及び肝重量増加は過剰に放出された白血球の脾臓内又は肝臓内捕捉及び蓄積によるものと考えられ、髄外造血は、plerixafor により動員された多数の造血幹細胞が肝臓及び脾臓へ移動し、そこでの造血が誘発された可能性が考えられる。脾重量増加がみられた用量は、ヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 4 倍であった。脾臓の髄外造血の所見は、2 週間反復投与用量設定試験ではヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 2 倍、4 週間反復投与毒性試験では約 8 倍の用量で認められた。

Plerixafor をラットに 5.1 及び 12.7 mg/kg（30.6 及び 76.2 mg/m^2）の用量で皮下投与したところ、ヒツジ赤血球への抗体反応の抑制は認められなかった。これらの用量は、それぞれヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 3.4 倍及び 8.6 倍であった。

腫瘍細胞 : CXCR4 は、種々の組織に由来する様々な固形がん並びに骨髄腫及びリンパ腫を含む血液細胞由来のがんの細胞に発現することが示されている(21),(34)。

Plerixafor は in vitro において、MDA-MB-231（乳がん）、SK-N-SH（神経芽細胞腫）、IGROV（卵巣がん）、髄芽細胞腫細胞及び Namalwa リンパ芽球様細胞といった多数の腫瘍細胞株の SDF-1 誘発性移動を抑制した。Plerixafor は慢性リンパ性白血病（CLL）B 細胞のストローマ細胞下への移動を抑制し、急性骨髄性白血病（AML）細胞の遊出活性を抑制した（[Module 2.6.2 の 3.11 項]及び[Module 2.6.2 の 3.12 項]）。また、plerixafor はこれらの細胞株の多くにおいて、抗増殖活性及びアポトーシス亢進を示した。

同一遺伝子型マウスに APL 細胞を移植し、その 11 日後に plerixafor を 5 mg/kg（15 mg/m^2）の用量で皮下投与したところ、骨から速やかに移植 APL 細胞が動員され、11 日目に plerixafor とシタラビン（200 mg/kg）を併用投与したところ、生存期間が有意に延長した（[Module 2.6.2 の 3.14 項]）。急性リンパ性白血病（ALL）のマウスモデルである白血病性 NOD/SCID マウスモデルにおいて、plerixafor（10 mg/kg/日；30 mg/m^2/日）の皮下投与により、ヒト及びマウス B 細胞前駆細胞の特徴を持つ ALL 細胞の末梢血への動員が誘導された（[Module 2.6.2 の 3.13 項]）。さらに plerixafor（10 mg/kg/日；30 mg/m^2/日）を連日単回皮下投与又は 20 日間持続皮下投与したところ、骨髄及び肝臓において ALL 細胞の減少が認められた。Namalwa 細胞を腹腔内注入した 1 つの NHL マウスモデルにおいて、plerixafor（12 又は 2.5 mg/kg/日：36 又は 7.5 mg/m^2/日）を NOD/SCID マウスに 28 日間持続皮下投与したところ、肉眼観察で腫瘍サイズの増加が認められた。この増加は血管新生の増加に伴うものと考えられた。しかし、別の投与スケジュールで 1 回当たり plerixafor 10 mg/kg（30 mg/m^2）を 3、7 及び 10 日目に皮下投与したところ、30 日間の観察期間を通して、統計学的に有意な腫瘍サイズの減少が認められた。

抗腫瘍試験で用いた plerixafor の用量は、ヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 1.7～4 倍であった。

全体として、これらの結果は、複数の動物種に plerixafor を薬理用量で投与すると様々な種類の CXCR4 細胞が動員されることを示し、申請適応症での本薬のヒトへの使用を非臨床的にサポートするものである。

5.5.2 生殖系

ラットを用いた GLP 適用の生殖発生毒性試験として、plerixafor の胚・胎児毒性の有無を検討した。15 mg/kg/日群において、胚致死性（吸収胚の増加）、胎児毒性（胎児体重減少及び骨格発生遅延）及び胎児異常（大奇形並びに外表及び内臓の軽度の異常）が認められた。ウサギを用いた GLP 非適用の胚・胎児発生に関する用量設定試験において、趾及び頭部の奇形が、1.8 mg/kg/日以上の群で観察された。ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する NOAEL は、それぞれ 3 及び 0.6 mg/kg/日（18 及び 7.2 mg/m^2/日）であった。これらの用量は、それぞれヒトでの推奨用量 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 2.0 倍及び 0.8 倍である。これらの結果に基づくと、妊娠期に plerixafor を投与した場合、胎児に影響を及ぼすリスクが存在すると考えられる。

アカゲザルの脳組織では出生時から 9 ヵ月齢にかけて CXCR4 の発現が増加することから(35)、少なくとも一部の組織においては、CXCR4 及び SDF-1 axis が出生後も発達に関与することが示唆される。新生児期の plerixafor 投与に伴う有害作用の有無については不明である。

雌雄ラットの受胎能に及ぼす plerixafor 投与の影響を評価するための試験は実施していない。なお、残存 plerixafor による影響を検討するため、雌ラットに plerixafor を 14 日間皮下投与し 2 週間の休薬期

間をおいてから交配期間を設け、雌受胎能及び胚・胎児発生に関する探索的試験を実施した。投与期間中に15 mg/kg/日のTKサテライト群に死亡がみられ、主試験群でも一般状態の変化が認められたが、性周期及び生殖パラメータへの影響、剖検所見、帝王切開時検査パラメータ並びに胎児の成長及び発達に対する影響はいずれの用量においても認められなかった。Plerixaforの卵巣中濃度は、交配期間最終日まで検出可能であったが、上記のように生殖能及び胚･胎児への影響がみられなかったことから、この残存plerixaforに起因する受胎能及び胚・胎児発生へ影響を及ぼすリスクは低いと考えられる。一方、雄ラットに^{14}C-plerixaforを投与したときの精巣への放射能の移行は比較的低く、投与後336時間の精巣中放射能濃度は約30 ng-eq/gであった。1日1回反復投与毒性試験において、15.2 mg/kg/日（91.2 mg/m^2/日）の用量で28日間投与したラットの精巣の病理組織学的検査では、精子形成サイクルにplerixafor誘発性の変化は認められなかった。1日1回及び1日2回、28日間連日投与したラット及びイヌの卵巣及び精巣において、投与関連の毒性はみられなかった。全体として、受胎能に対するplerixaforのリスクは不明であるが、上述の情報に加えて申請用法・用量での投与期間が短期間（最大4日間）であることを考慮すると、リスクは低いと考えられる。

5.5.3 神経筋系

検討したすべての動物種において、plerixaforの単回及び反復皮下投与に伴う用量制限毒性及び死因と推定される所見は、投与後短時間に発現し（多くは約30分から1時間）、一過性（4時間以内に消失）だが重度の神経筋関連徴候が観察された。低用量でみられた徴候は無関心、非協調運動、下痢、嘔吐、努力性呼吸、腹臥位、横臥位、活動性低下及び筋攣縮であり、高用量では振戦及び痙攣への進行がみられた。これらの徴候の1つ以上が、それぞれのMTDかMTDの2分の1の用量から高頻度に認められた。これらの一般状態の変化の重症度並びに発現と消失の経時変化は、plerixafor血漿中濃度の上昇及び低下を反映していたことから、これらの毒性はplerixaforの総曝露量（AUC）よりもむしろ最高血漿中濃度（C_{max}）に関連することが示唆される。単回投与毒性試験と異なり、反復投与毒性試験では、約5〜8回の連日投与後までこれらの一過性の神経筋関連徴候は認められなかった。多くの場合、上記の1つ以上の神経筋関連徴候は試験5又は8日目に最初にみられ、その後症状の数及び重症度が増加して、試験8又は10日目頃に用量制限毒性となった。これらの毒性試験ではplerixafor血漿中濃度の明らかな蓄積は認められなかった。これらの所見によって、連日反復投与によって毒性の閾値が低下することが示唆された。Plerixaforの物理化学的特性としての分子量（502.78 g/mol）、水溶性であること及び荷電した分子構造を考慮すると、本薬は容易には血液脳関門を通過しないと考えられる。これは^{14}C-plerixaforを投与したときの、脳及び脊髄における放射能分布の低さと一致する。このことから、plerixaforの薬理学的用量を上回る用量でみられた神経筋関連徴候は、中枢神経系よりもむしろ末梢神経系に起因する可能性が高いと考えられる。

血漿イオン化Ca及びMgの変化と神経筋関連徴候を関連付けるため、ラットを用いた急性毒性試験を実施したところ、この試験において、血漿イオン化Caの明らかな低下は示されなかった。しかし、

血漿 Mg 及び Ca ホメオスタシス維持に伴う生化学的パラメータ（血漿アルブミン／総タンパク質、無機リン及び pH）に一過性の変化が認められた。

全体として、これらの試験では、検討したすべての動物種において、plerixafor の薬理学的用量を上回る用量で、一過性の神経筋関連徴候が観察され、重度の場合もあった。これらの神経筋関連徴候は、それぞれの MTD か MTD の 2 分の 1 の用量から認められた。ラット及びイヌを用いた GLP 適用の 4 週間反復投与毒性試験における MTD はラットで 11.4 又は 12 mg/kg（68.4 又は 72 mg/m^2）、イヌで 4 mg/kg（80 mg/m^2）であり、これらはヒトでの推奨用量である 240 µg/kg（8.9 mg/m^2）の約 7.7～9 倍である。したがって、plerixafor を薬理作用のみられる用量で短期間投与した場合に、明らかな神経筋関連徴候がみられる可能性は低いと考えられる。

5.5.4 消化管系

マウス及びラットの毒性試験では、plerixafor 誘発性の消化管毒性は認められていない。イヌを用いた一部の反復投与毒性試験では、1～4 mg/kg/日（20～80 mg/m^2/日）の皮下投与により、plerixafor 誘発性の下痢及び嘔吐が観察された。消化管上皮には、病理組織学的変化はみられなかった。イヌで下痢が発現した用量は、ヒトでの推奨用量である 240 µg/kg（8.9 mg/m^2）の約 2.2 倍であった。

5.5.5 呼吸系

Plerixafor の呼吸系への影響を、ラットを用いた呼吸系安全性薬理試験で評価した。本試験において、plerixafor を 10 mg/kg（60 mg/m^2）の用量で単回皮下投与したところ、投与 30 分後に有意な一過性の呼吸数減少が誘発され、20 mg/kg では、投与の 30 及び 120 分後に有意な呼吸数減少が、投与 30 分後のみにおいて 1 回換気量の有意な減少が、それぞれ誘発された。マウス及びラットの単回及び反復投与毒性試験では、単回皮下又は静脈内投与による最大耐量又はそれに近い用量で、多くの場合、呼吸困難又は呼吸緩徐が認められた。これらの呼吸系の徴候は一過性で、plerixafor 投与後間もなく観察され、経時変化は神経筋関連徴候でみられたものと類似していた。このことから、これらの呼吸系の変化は plerixafor の全身曝露量（AUC）よりもむしろ最高血漿中濃度（C_{max}）に関連していると考えられる。呼吸困難はイヌの連日反復皮下投与毒性試験でも観察されたが、忍容性がみられない用量においてのみであった。ラット又はイヌを用いたいずれの毒性試験においても、plerixafor 誘発性の肺の病理組織学的変化は認められなかった。このように、plerixafor をヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 6.7 倍の用量でラットに投与したとき、明らかな一過性の呼吸抑制作用が誘発された。したがって、plerixafor を薬理作用のみられる用量で短期間皮下投与した場合には、明らかな呼吸抑制の所見が生じる可能性は低いと考えられる。

5.5.6 心血管系

In vitro hERG チャネル阻害試験では、ヒトでの推奨用量における最高血漿中濃度（1 µg/mL）の約 50 倍の濃度で、hERG 電流の明らかな阻害作用は示されなかった。これらの所見により、plerixafor は

in vivo で QT 間隔に直接影響しないと考えられる。心血管系において役割を果たすことが知られている特定の受容体又は酵素との in vitro 受容体結合及び酵素阻害試験では、数マイクロモルの範囲で、ACE 阻害作用並びにニューロペプチド Y Y_2 及び Y_3 受容体アッセイにおけるアゴニスト反応が認められた。これらの in vitro 所見の生物学的意義は不明である。

覚醒下のイヌを用いた主要な心血管系安全性試験において、plerixafor を 8 時間持続静脈内投与（定常状態の血中濃度を 7.5 μg/mL にすることが目標）したところ、心電図記録、心拍数、心機能及び血圧には投与関連の変化は示されなかった。より高い注入速度（定常状態の血漿中濃度を 15 μg/mL にすることが目標）では、2 匹中 1 匹のイヌで plerixafor 投与への忍容性が認められなかった。いずれのイヌにおいても、注入開始後間もなく心拍数の増加がみられ、数時間後の神経筋関連徴候の発現に伴って、全身血圧上昇が認められた。興味深いことに、明らかな毒性がみられたこの高い注入速度においても、心機能には投与関連の変化はみられず（1 匹のイヌで肺動脈圧の上昇がみられた）、心電図記録にみられた唯一の変化は、軽度の心拍数増加を伴う PR 間隔の短縮のみであった。QRS 間隔持続時間及び QTc 間隔には変化は認められなかった。イヌの用量設定試験では、GLP 適用の心血管系試験でみられなかった心血管系に関する追加情報は得られなかった。麻酔下のラットを用いた心臓安全性試験において、心筋抑制作用及び P 波の平坦化を伴う心電図波形が認められた。これらのラットではペントタール麻酔を行っていたため、結果の解釈は困難である。

1 日 1 回投与によるイヌの 2 週間用量設定試験及び GLP 適用の 4 週間反復投与毒性試験において、一過性の心拍数増加が認められた。これらは、plerixafor の 1 mg/kg/日（20 mg/m^2/日）以上を皮下投与した後、間もなく観察された。1 日 2 回投与による GLP 適用のイヌ 4 週間反復投与毒性試験では、同様の変化はみられなかった。1 日 1 回投与による GLP 適用のイヌ 4 週間反復投与毒性試験で 1 日目及び 22 日目に血圧及び心電図を連続的に測定したところ、4 mg/kg/日以下の群で投与関連の変化は認められなかった。1 日 2 回投与による GLP 適用のイヌ 4 週間反復投与毒性試験で得られた心電図記録の波形を定性的に評価したところ、投与関連の変化は示されなかった。心臓の病理組織学的検査では投与関連の変化は認められなかった。

全体として、これらの試験では、plerixafor のヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 μg/kg）の約 2.2 倍の用量で、イヌに一過性の心拍数増加が誘発されることが示された。皮下投与後にみられた頻脈は発現が速やかで一過性であったことから、この変化は plerixafor の全身曝露量（AUC）よりもむしろ主として最高血漿中濃度（C_{max}）に関連することが示唆される。In vitro 心伝導試験及び心電図波形間隔の定量的測定では、催不整脈作用や明らかな QT 又は QTc 間隔延長は認められなかった。心拍数増加は軽度で持続時間は短かったことから、plerixafor の薬理作用がみられる用量での皮下投与に伴う潜在的リスクは低いと考えられる。イヌの忍容量において、血圧及び心電図変化への影響の可能性は示されなかった。NHL 及び MM の患者を対象とした海外第 III 相プラセボ対照試験並びに海外 Thorough

QT/QTc（MOZ00707）試験で得られたデータによると、心臓障害及び心電図変化と plerixafor 投与との間に関連は認められない。

5.5.7 泌尿器系

非臨床毒性試験結果においては、腎臓又は膀胱の構造又は機能に対する plerixafor の影響は示されなかった。非臨床一般毒性試験では一貫してラット及びイヌにおける Ca 及び Mg の尿中排泄亢進がみられ、ラットへの反復投与による金属ホメオスタシス試験では、Cu 及び Zn といった他の二価金属の尿中排泄亢進が示された。ラット及びイヌを用いた 2 週間及び 4 週間反復投与毒性試験では、各動物種における MTD の約 2 分の 1 であり臨床用量の 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の 4 倍の用量において、尿中 Ca 及び Mg 排泄の増加が認められた。これらの試験の一部では血清 Mg 低下も認められた。ラットを用いた 2 週間反復投与（9.49 mg/kg/日又は 56.9 mg/m^2/日）金属ホメオスタシス試験では、尿中 Cu 及び Zn の大幅な増加（約 4〜8 倍）がみられ、14 日後の尿中 Ca 排泄が約 2 倍に増加し、血漿 Ca 及び Mg の減少がみられたが、血清中 Cu 及び Zn には変化は認められなかった。本試験で使用した用量は、ヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 6.4 倍であった。マスバランス試験では、plerixafor の Cu^{2+}錯体がラット及びイヌの尿中に確認された（[Module 2.6.4 の 5.2 項]）。

2 週間反復投与用量設定試験及び GLP 適用の 4 週間反復投与毒性試験では、試験デザインの一環として、Ca 及び Mg 代謝をより詳細に評価する特殊検査を実施した。これらの検討において、ラットの 1 日 1 回 4 週間反復投与毒性試験では、11.4 mg/kg（68.4 mg/m^2）の用量で骨塩量及び骨体積の減少がみられ、これらのラットでは摂餌量減少及び体重増加量減少も認められた。また、2 週間用量設定試験のイヌから連続採取した血液試料では、血漿中総 Ca の変化はみられなかったが、これらのイヌで血漿中 Mg のごく軽度の減少が認められた。これらのイヌから採取した脳脊髄液（CSF）においては、Ca 濃度が正常より 2〜3 倍高かった。この後者の所見の意義は不明である。

全体として、これらの試験では、plerixafor の薬理学的用量を上回る用量で、ラット及びイヌにおける Ca び Mg 並びにラットにおける Cu 及び Zn の尿中排泄亢進が認められた。循環血中における金属イオンの濃度は、ホメオスタシス機序により厳密に制御されている。正常な条件下においては、尿中排泄による金属の喪失は直ちに食事から補充される。臨床において plerixafor を薬理作用のみられる用量で短期間皮下投与しても、これらの金属の尿中排泄により生物学的意義のある変化が生じる可能性は低いと考えられる。

5.5.8 局所刺激

Plerixafor 塩酸調製液の 7 濃度について、ニュージーランドホワイトウサギを用いた皮内投与刺激性試験を実施した。この試験では、plerixafor 塩酸調製液の 3 mg/mL 以上の濃度において、軽度の刺激性変化が認められた。ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験においても、皮下注射部位の局所刺激

性変化が観察された。これらの結果に基づくと、plerixafor 溶液を 3 mg/mL 以上の濃度で投与した場合に、注射部位の局所刺激性変化が誘発される可能性がある。

5.5.9 まとめ及び関連するリスク評価

CXCR4 受容体は哺乳類動物種間で高度に保存されている。Plerixafor は、マウス及びイヌの CXCR4 に対する SDF-1 を介したカルシウム流入を阻害し、その効力はヒト受容体に対する阻害作用の効力と同程度であることが示されている(36),(37)。このため、CXCR4 受容体での阻害作用に起因する plerixafor の有益又は有害な影響は、非臨床試験の結果に反映されると考えられる。

Plerixafor の投与に伴う潜在的リスクは、以下の 2 つのカテゴリーに分けられる。すなわち、1）薬理作用のみられる用量（ヒトでの推奨用量の約 1 倍から 4 倍未満）における plerixafor の比較的短期間での使用に伴うリスク、及び 2）薬理学的用量を上回る用量（ヒトでの推奨用量の 4～10 倍以上）及び／又は長期投与レジメンでの plerixafor の使用に伴うリスクである。

Plerixafor の予定されている効能・効果は、NHL 及び MM 患者における HSC の末梢血への動員であり、それを採取して、その後の自家移植に使用する。非臨床試験及び臨床試験のいずれにおいても、plerixafor により動員された HSC は安定した長期の造血細胞生着が可能であることが示されている(38),(39)。しかし、plerixafor は HSC を選択的に動員するのではなく、plerixafor と G-CSF の併用により動員される細胞の表現型は、G-CSF 単独で動員される細胞とは異なる可能性がある。非臨床動物モデルにおいて、plerixafor は薬理作用のみられる用量で、造血細胞（HSC、HPC、CD34 陽性細胞）のみならず、その他の CXCR4 細胞集団も血中に動員した。動員されるその他の CXCR4 細胞の種類には、血管新生細胞（EPC、単球、CD34 陽性細胞）、免疫調節細胞（リンパ球、好中球、単球、好酸球）及び腫瘍細胞（ALL、APL、Namalwa B リンパ芽球）がある。Plerixafor により動員されるこれらの細胞の機能的能力は、それぞれの移植動物モデル（虚血性後肢又は心筋組織損傷、喘息又は関節リウマチ自己免疫疾患若しくは抗白血病又はリンパ腫抗腫瘍活性）で確認されている。全体として、これらの非臨床試験の結果から、申請適応症について plerixafor をヒトに使用することは妥当と考えられる。造血細胞以外の種類の CXCR4 細胞動員に伴う有益作用又は有害作用の有無については、移植モデルとの関連においては検討されていない。しかし、この動員に伴うリスクは、管理可能で低いものと考えられる。

G-CSF のみでの動員、化学療法を併用した動員など、全ての造血幹細胞動員手法において腫瘍細胞も動員されることが報告されている(8),(9),(10),(11)。CXCR4/ SDF-1 相互作用を遮断すると、間質／腫瘍相互作用に起因する保護的抗アポトーシス作用が一部消失することが非臨床データで示唆されており、このことは、CXCR4 阻害剤単剤投与での非臨床試験及び臨床試験並びにこれらの薬剤の併用で化学療法に対するがんの感受性が増加することにより証明される。CXCR4 阻害剤の間欠投与による試験において、これらの薬剤による転移性がんへの抗がん作用が示され、原発性がんへの抗がん作用もあ

る程度認められた。よって、Plerixafor の造血幹細胞動員は G-CSF 単独投与よりも腫瘍細胞動員を増加させることはなく、腫瘍細胞の生存性を高めることはないと考えられる。救命の可能性がある幹細胞移植を受けることができるベネフィットは、腫瘍細胞動員の理論上の小さなリスクを上回るものである。

薬理作用がみられる用量での plerixafor 投与による相反的な影響が、動物モデルで散見された。マウス炎症性肺モデルにおいて、plerixafor をブレオマイシンと併用投与すると抗炎症反応が誘発されたが、ブレオマイシン投与の 1 日後に投与すると催炎症反応が認められた。また、マウス NHL 抗腫瘍モデルを用いて plerixafor を間欠投与スケジュールで投与すると抗増殖作用がみられたが、持続腹腔内投与すると腫瘍サイズの増加が認められた。これらの所見の再現性を評価するための確認試験は実施していない。

CXCR4 及び SDF-1 axis は、胚・胎児発生中の細胞移動において重要な役割を果たす。ラット及びウサギを用いた plerixafor の胚・胎児発生に関する試験において、早期吸収胚、総吸収胚、着床胚損失及び大奇形を有する胎児の増加が認められた。ラット及びウサギにおける胚・胎児発生に関する NOAEL は、それぞれヒトでの推奨用量である 8.9 mg/m^2（240 µg/kg）の約 2 及び 0.8 倍であった。これらの結果に基づくと、plerixafor を薬理作用のみられる用量で妊娠期に投与した場合には、胎児へのリスクが存在すると考えられる。

アカゲザルの脳組織における CXCR4 の発現増加は出生時から 9 ヵ月齢にかけて生じることから(35)、CXCR4/SDF-1 axis は出生後も発達に関与することが示唆される。しかし、新生児発達中の CXCR4 及び SDF-1 axis 遮断に伴う何らかの有害作用又はリスクの有無については不明である。

ラットに plerixafor を長期（2～4 週間）皮下投与したとき、髄外造血を伴う又は伴わない脾重量の増加がみられたが、イヌでは認められなかった。大部分の試験において、この変化は薬理学的用量を上回る用量のみで観察され、造血細胞及び白血球の動員による二次的変化と考えられる。このため、plerixafor を薬理学的用量で短期間投与しても、脾臓の容量増加は必ずしも生じないと予想される。しかし、G-CSF との併用投与により脾臓の容量に対する影響が亢進する可能性は否定できない。

薬理学的用量を上回る用量における最も重要な毒性所見は神経筋関連徴候であり、投与後短時間で発現し、一過性で（多くは投与 30 分後から 4 時間後まで）、時に重度な場合もあった。これらの徴候は検討したいずれの動物種においても用量制限毒性であったが、plerixafor の CXCR4 細胞動員作用とは無関係と考えられた。ラット及びイヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験における MTD は、それぞれヒトでの推奨用量の約 7.7 倍及び 9.0 倍であった。これらの徴候の発現から回復までの経時変化は plerixafor 血漿中濃度の推移を反映したものであり、したがって主に plerixafor の総全身曝露量（AUC）よりもむしろ最高血漿中濃度（C_{max}）に関連すると考えられた。Plerixafor を 5 日間以上連日投与する

と、一貫して毒性の蓄積又は毒性閾値の低下が認められた。反復投与による plerixafor の血漿における明らかな蓄積はみられなかった。したがって、薬理作用がみられる用量と MTD の間の安全域に基づくと、薬理学的用量で短期間投与した場合に、臨床使用において神経筋関連徴候が発現するリスクは低いと考えられる。

安全性薬理試験及び毒性試験の薬理学的用量を上回る用量では、ラットにおいて呼吸抑制も認められた。用量反応関係及び経時変化関係は、神経筋関連徴候についてみられたものと類似していた。イヌでは薬理作用がみられる用量でごく軽度の心拍数増加がみられた。心拍数の増加は軽度で短期間であったことから、この所見に伴うリスクは低いことが示唆される。一部のイヌの試験では、薬理作用のみられる用量で嘔吐や下痢が観察された。このため、この所見は薬理学的用量でのリスクを示唆するものと考えられる。

ラット及びイヌのマスバランス試験において、^{14}C-plerixafor1 を皮下投与後 168 時間に投与放射能の最大約 30%が体内に残存していた。また、ラットの組織分布試験において、^{14}C-plerixafor を 1 日 1 回 7 日間反復皮下投与すると、一部の組織（腎臓、肝臓、軟骨、骨髄及び脾臓）に放射能の蓄積が認められた。ラット及びイヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験の病理組織学的検査では、これらの器官において直接的な毒性によると考えられる所見は認められなかった。これらの器官で病理組織学的所見がみられなかったこと、またヒトにおける plerixafor の投与期間は短いことから、組織滞留に伴う毒性のリスクは低いと考えられる。

二価金属（Zn、Cu、Ca、Mg など）の尿中排泄増加が、ラット及びイヌで認められた。申請適応症での plerixafor の投与期間は短いことから、この所見に伴うリスクは低いと考えられる。

ウサギを用いた局所刺激性試験の結果から、plerixafor 溶液を 3 mg/mL 以上の濃度で皮下投与した場合、注射部位における局所刺激性のリスクがある。

5.6 結論

Plerixafor を、薬理学的用量を上回る用量で単回高用量又は長期間連日皮下投与した場合には、重度の神経筋関連徴候が発現するリスクがあると考えられた。Plerixafor を薬理作用のみられる用量及び使用条件で妊娠期に投与すると、発生中の胎児に対する潜在的リスクが示された。薬理学的用量を推奨される使用条件下において使用した場合には、CXCR4 細胞の動員及びそれらの細胞の意図しない組織部位への移動に伴うリスクは低いと考えられる。薬理作用がみられる用量で短期間投与した場合には、

重大な plerixafor 誘発性の神経筋関連徴候、頻脈及び呼吸抑制のリスクは低いと考えられる。Plerixafor は組織内に長期間滞留するが、これらの組織に病理組織学的傷害が及ぶリスクは低いと考えられる。

全体として、各試験プログラムにおける薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験の結果は、移植処置実施中の多発性骨髄腫の患者へのplerixaforの短期投与に関する製造販売承認申請に適切かつ十分なものであると考えられる。個々の試験のデザイン、試験の実施及び各検討領域における中心的又は重要な試験の報告書の品質は、良好で現在の科学的標準内にあると考えられる。

6 参考文献一覧

1. Murdoch C. CXCR4: chemokine receptor extraordinaire. Immunol Rev. 2000;177:175-84.
2. Nagasawa T, Tachibana K, Kishimoto T. A novel CXC chemokine PBSF/SDF-1 and its receptor CXCR4; their functions in development, hematopoiesis and HIV infection. Semin Immunol. 1998;10:179-85.
3. Aiuti A, Webb IJ, Bleul C, Springer T, Gutierrez-Ramos JC. The chemokine SDF-1 is a chemoattractant for human CD34+ hematopoietic progenitor cells and provides a new mechanism to explain the mobilization of CD34+ progenitors to peripheral blood. J Exp Med. 1997;185:111-20.
4. Lapidot T. Mechanism of human stem cell migration and repopulation of NOD/SCID and B2mnull NOD/SCID mice. The role of SDF-1/CXCR4 interactions. Ann N Y Acad Sci. 2001;938:83-95.
5. Shpall EJ, Champlin R, Glaspy JA. Effect of CD34+ peripheral blood progenitor cell dose on hematopoietic recovery. Biol Blood Marrow Transplant. 1998;4:84-92.
6. Bhatia M, Wang JC, Kapp U, Bonnet D, Dick JE. Purification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating immune-deficient mice. Proc Natl Acad Sci. 1997;94:5320-5.
7. Arslan O, Moog R. Mobilization of peripheral blood stem cells. Transfusion and Apheresis Science. 2007;37:179-85.
8. Bertolini F, Lanza A, Peccatori F, Zibera C, Gibelli N, Perotti C, Da Prada GA, Torretta L, Cocorocchio E, Martinelli G, Robustelli della Cuna G. Hematopoietic progenitor cell collection and neoplastic cell contamination in breast cancer patients receiving chemotherapy plus granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) or G-CSF alone for mobilization. Ann Oncol. 1998;9:913-6.
9. Anagnostopoulos A, Aleman A, Yang Y, Donato M, Weber D, Champlin R, Smith T, Alexanian R, Giralt S. Outcomes of autologous stem cell transplantation in patients with multiple myeloma who received dexamethasone-based nonmyelosuppressive induction therapy. Bone Marrow Transplant. 2004;33:623-8.
10. Amgen Inc. Neupogen (filgrastim) Prescribing Information. 2015.
11. Kopp HG, Yildirim S, Weisel KC, Kanz L, Vogel W. Contamination of autologous peripheral blood progenitor cell grafts predicts overall survival after high-dose chemotherapy in multiple myeloma. J Cancer Res Clin Oncol. 2009;135:637-42.
12. Broxmeyer HE, Orschell CM, Clapp D, Hangoc G, Cooper S, Plett PA, Liles WC, Li X, Graham-Evans B, Campbell TB, Calandra G, Bridger G, Dale DC, Srour EF. Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist. J Exp Med. 2005;201:1307-18.
13. Ma Q, Jones D, Borghesani PR, Segal RA, Nagasawa T, Kishimoto T, Bronson RT, Springer TA. Impaired B-lymphopoiesis, myelopoiesis, and derailed cerebellar neuron migration in CXCR4- and SDF-1-deficient mice. Proc Natl Acad Sci USA. 1998;95:9448-53.

14. McGrath KE, Koniski AD, Maltby KM, McGann JK, Palis J. Embryonic expression and function of the chemokine SDF-1 and its receptor, CXCR4. Developmental Biology. 1999;213:442-56.
15. Nagasawa T, Hirota S, Tachibana K, Takakura N, Nishikawa S, Kitamura Y, Yoshida N, Kikutani H, Kishimoto T. Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1. Nature 1996;382:635-8.
16. Tachibana K, Hirota S, Iizasa H, Yoshida H, Kawabata K, Kataoka Y, Kitamura Y, Matsushima K, Yoshida N, Nishikawa S, Kishimoto T, Nagasawa T. The chemokine receptor CXCR4 is essential for vascularization of the gastrointestinal tract. Nature. 1998;393:591-4.
17. Zou YR, Kottmann AH, Kuroda M, Taniuchi I, Littman DR. Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. Nature. 1998.393:595-9.
18. Orschell-Traycoff CM, Hiatt K, Dagher RN, Rice S, Yoder MC, Srour EF. Homing and engraftment potential of Sca-1(+)lin(-) cells fractionated on the basis of adhesion molecule expression and position in cell cycle. Blood. 2000;96:1380-7.
19. Larochelle A, Krouse A, Metzger M, Orlic D, Donahue RE, Fricker S, Bridger G, Dunbar CE, Hematti P. AMD3100 mobilizes hematopoietic stem cells with long-term repopulating capacity in non-human primates. Blood. 2006;107:3772-8.
20. Dick JE, Bhatia M, Gan O, Kapp U, Wang JC. Assay of human stem cells by repopulation of NOD/SCID mice. Stem Cells. 1997;15(Suppl 1):199-207.
21. Balkwill F. The significance of cancer cell expression of the chemokine receptor CXCR4. Semin Cancer Biol. 2004;14:171-9.
22. Liang X, Sadler PJ. Cyclam complexes and their applications in medicine. Chem Soc Rev. 2004;33:246-66.
23. Gerlach LO, Jakobsen JS, Jensen KP, Rosenkilde MR, Skerlj RT, Ryde U, Bridger GJ, Schwartz TW. Metal ion enhanced binding of AMD3100 to Asp262 in the CXCR4 receptor. Biochemistry. 2003;42:710-7.
24. Zhang WB, Navenot JM, Haribabu B, Tamamura H, Hiramatu K, Omagari A, Pei G, Manfredi JP, Fujii N, Broach JR, Peiper SC. A point mutation that confers constitutive activity to CXCR4 reveals that T140 is an inverse agonist and that AMD3100 and ALX40-4C are weak partial agonists. J Biol Chem. 2002;277: 24515-21.
25. Balabanian K, Lagane B, Infantino S, Chow KY, Harriague J, Moepps B, Arenzana-Seisdedos F, Thelen M, Bachelerie F. The chemokine SDF-1/CXCL12 binds to and signals through the orphan receptor RDC1 in T lymphocytes. J Biol Chem. 2005;280:35760-6.
26. Cottler-Fox MH, Lapidot T, Petit I, Kollet O, DiPersio JF, Link D and Devine S. Stem cell mobilization. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2003;419-37.
27. Dar A, Kollet O, Lapidot T. Mutual, reciprocal SDF-1/CXCR4 interactions between hematopoietic and bone marrow stromal cells regulate human stem cell migration and development in NOD/SCID chimeric mice. Exper Hematol. 2006;34:967-75.

28. Kollet O, Spiegel A, Peled A, Petit I, Byk T, Hershkoviz R, Guetta E, Barkai G, nagler A, Lapidot T. Rapid and efficient homing of human CD34+CD38-/low CXCR4+ stem and progenitor cells to the bone marrow and spleen of NOD/SCID and NOD/SCID/B2mnull mice. Blood. 2001;97:3283-91.
29. Kollet O, Shivtiel S, Chen Y-Q, Suriawinata J, Thung SN, Dabeva MD, Kahn J, Spiegel A, Dar A, Samira S, Goichberg P, Kalinkovich A, Arenzana-Seisdedos A, Nagler A, Hardan I, Revel M, Shafritz DA, Lapidot T. HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34+ stem cell recruitment to the liver. J Clin Invest. 2003;112:160-9.
30. Lapidot T, Dar A, Kollet O. How do stem cells find their way home? Blood. 2005;106:1901-10.
31. Lapidot T, Petit I. Current understanding of stem cell mobilization: The roles of chemokines, proteolytic enzymes, adhesion molecules, cytokines, and stromal cells. Exp Hematol. 2002;30:973-81.
32. Petit I, Jin D, Rafii S. The SDF-1-CXCR4 signaling pathway: a molecular hub modulating neo-angiogenesis. Trends Immunol. 2007;28:299-307.
33. Watanabe M, Matsuyama W, Shirahama Y, Mitsuyama H, Oonakahara K-I, Noma S, Higashimoto I, Osame M, Arimura K. Dual effect of AMD3100, a CXCR4 antagonist, on bleomycin-induced lung inflammation. J Immunol. 2007;178:5888-98.
34. Juarez J, Bendall L. SDF-1 and CXCR4 in normal and malignant hematopoiesis. Histol Histopathol. 2004;19:299-309.
35. Westmoreland SV, Alvarez X, deBakker C, Aye P, Wilson ML, Williams KC, Lackner AA. Developmental expression patterns of CCR5 and CXCR4 in the rhesus macaque brain. J Neuroimmunol. 2002;122:146-58.
36. Moepps B, Braun M, Knopfle K, Dillinger K, Knochel W, Gierschik P. Characterization of a Xenopus laevis CXC cheokine receptor 4: implications for hematopoietic cell development in the vertebrate embryo. Eur J Immmunol. 2000;30:2924-34.
37. Liang TS, Hartt JK, Lu S, Martins-Green M, Gao JL, Murphy PM. Cloning, mRNA distribution, and functional expression of an avian counterpart of the chemokine receptor/HIV corecptor CXCR4. J Leukoc Biol. 2001;69:297-305.
38. Hubel K, Liles W, Broxmeyer H, Rodger E, Wood B, Cooper S, Hangoc G, Macfarland R, Bridger GJ, Henson GW, Calandra G, Dale DC. Leukocytosis and mobilization of CD34+ hematopoietic progenitor cells by AMD3100, a CXCR4 antagonist. Supportive Cancer Therapy. 2004;1:165-72.
39. Burroughs L, Mielcarek M, Little MT, Bridger G, Macfarland R, Fricker S, Labrecque J, Sandmaier BM, Storb R. Durable engraftment of AMD3100-mobilized autologous and allogeneic peripheral-blood mononuclear cells in a canine transplantation model. Blood. 2005;106:4002-8.