2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言
2.6.2 薬理試験の概要文
2.6.3 薬理試験概要表

2.6.1　緒言

目次

2.6.1 緒言 2
2.6.1.1 参考文献 3

図表目次

図 2.6.1.1 クリサンタスパーゼのアミノ酸配列 3

2.6.1 緒言

クリサンタスパーゼは，*Erwinia chrysanthemi*（*Er chrysanthemi*）菌から生産されるL-アスパラギナーゼ（EC 3.5.1.1）である．L-アスパラギナーゼの抗腫瘍活性は，約60年前に発見されており，正常モルモット血清をマウス及びラットに腹腔内投与した場合に，ある種の腫瘍細胞に対して抗腫瘍効果があることが示されていた．その現象はウマあるいはウサギ血清では再現することはできなかった（Kidd 1953a，Kidd 1953b）[5,6]．そのため，当時はこれら腫瘍退縮は免疫学的な反応であると考えられた．その後，L-アスパラギナーゼがモルモット血清の抗腫瘍作用の活性因子であることが報告された（Broome 1963a, Broome 1963b, Broome 1968，Broome 1981）[1,2,3,4]．

L-アスパラギナーゼは，急性リンパ性白血病（ALL）の治療薬として1970年代から広く国内外で使用されている．特に小児のALLに対して優れた効果を示す．その抗腫瘍作用は，アスパラギンを必須とする白血病細胞の増殖に対し，宿主の血中L-アスパラギンを分解・枯渇することによって腫瘍細胞のたん白合成を阻害し，細胞増殖を抑制すると考えられている．一方，アスパラギンをde novo経路で合成できる正常細胞は影響を受けない．

本邦では大腸菌由来L-アスパラギナーゼ製剤が1970年代から市販されているが，たん白製剤であることから使用中にアレルギー反応が生じる事が報告されており，使用ができなくなった患者では新たな薬剤が必要とされている．クリサンタスパーゼは，大腸菌由来L-アスパラギナーゼとは免疫学的交差反応性が低く，大腸菌由来L-アスパラギナーゼの重要な代替製剤となると考えられる．本邦における本剤の開発は，「医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議」において，専門作業班（WG）の評価 ＜抗がん WG＞の評価結果として医療上，必要性の基準に該当すると判断され，2010年12月に厚生労働省から開発要請を受けて開発に着手したものである．公表科学論文を用いて，クリサンタスパーゼの薬効を裏付ける試験成績について総括的に評価した．その結果，クリサンタスパーゼには大腸菌由来 L-アスパラギナーゼ製剤と同様に抗腫瘍効果が期待できると考えられた．また国内臨床試験でもその有効性及び安全性が示されたことから，下記の効能・効果で申請を行うこととした．

【効能·効果（案）】

急性白血病（慢性白血病の急性転化例を含む），悪性リンパ腫

ただし，L-アスパラギナーゼ製剤に過敏症を示した場合に限る．

【用法·用量（案）】

他の抗悪性腫瘍剤との併用において，通常，1日1回 体表面積1 m^2 あたり25,000 Uを週3回，筋肉内投与する．

クリサンタスパーゼは4箇所の活性部位を持つホモ四量体である．それぞれの四量体は327個のアミノ酸から構成されている．クリサンタスパーゼのアミノ酸配列は下記のとおりである．

ADKLPNIVIL ATGGTIAGSA ATGTQTTGYK AGALGVDTLI NAVPEVKKLA
NVKGEQFSNM ASENMTGDVV LKLSQRVNEL LARDDVDGVV ITHGTDTVEE
SAYFLHLTVK SDKPVVFVAA MRPATAISAD GPMNLLEAVR VAGDKQSRGR
GVMVVLNDRI GSARYITKTN ASTLDTFKAN EEGYLGVIIG NRIYYQNRID
KLHTTRSVFD VRGLTSLPKV DILYGYQDDP EYLYDAAIQH GVKGIVYAGM
GAGSVSVRGI AGMRKAMEKG VVVIRSTRTG NGIVPPDEEL PGLVSDSLNP
AHARILLMLA LTRTSDPKVI QEYFHTY

図 2.6.1.1 クリサンタスパーゼのアミノ酸配列

なお，本剤の添加物の一つであるブドウ糖水和物は新添加物に該当する．本剤は薬液にブドウ糖水和物を添加し溶解した後に凍結乾燥し製造される．投与時には生理食塩水 1～2 mL に溶解することから，溶液中ではブドウ糖水和物とブドウ糖（無水物）を区別することができない．ブドウ糖の筋肉内注射における使用前例では 1 日最大投与量は 528 mg であり，本剤のブドウ糖水和物の 1 日最大投与量 20.625 mg を大きく上回る．

このことから，本剤の添加物であるブドウ糖水和物の安全性は問題ないと考える．

2.6.1.1 参考文献

1. Broome JD. (1963a) Evidence that the L-asparaginase of guinea pig serum is responsible for its antilymphoma effects. I. Properties of the L-asparaginase of guinea pig serum in relation to those of the antilymphoma substance. J.Exp.Med. 118:99-120.
2. Broome JD. (1963b) Evidence that the L-asparaginase of guinea pig serum is responsible for its antilymphoma effects. II. Lymphoma 6C3HED cells cultured in a medium devoid of L-asparagine lose their susceptibility to the effects of guinea pig serum *in vivo*. J Exp Med. 118:121-48.
3. Broome JD. (1968) Studies on the mechanism of tumor inhibition by L-asparaginase. Effects of the enzyme on asparagine levels in the blood, normal tissues, and 6C3HED lymphomas of mice: differences in asparagine formation and utilization in asparaginase-sensitive and -resistant lymphoma cells. J Exp Med. 127(6):1055-72.
4. Broome JD. (1981) L-Asparaginase: Discovery and development as a tumor-inhibitory agent. Cancer Treat Rep. 65(Suppl 4):111-4.
5. Kidd JG. (1953a) Regression of transplanted lymphomas induced *in vivo* by means of normal guinea pig serum. I. Course of transplanted cancers of various kinds in mice and rats given guinea pig serum, horse serum, or rabbit serum. J Exp Med. 98:565-83.
6. Kidd JG. (1953b) Regression of transplanted lymphomas induced *in vivo* by means of normal guinea pig serum. II. Studies on the nature of the active serum constituent: Histological mechanism of the regression: Tests for effects of guinea pig serum on lymphoma cells *in vitro*: Discussion. J Exp Med. 98:583-611.

2.6.2　薬理試験の概要文

目次

2.6.2.1　まとめ 3
2.6.2.2　効力を裏付ける試験 3
2.6.2.3　副次的薬理試験 11
2.6.2.4　安全性薬理試験 13
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験 14
2.6.2.6　考察及び結論 14
2.6.2.7　図表 14
2.6.2.8　参考文献 14

図表目次

表 2.6.2.1　*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼの抗腫瘍活性 4
表 2.6.2.2　血液中アスパラギン濃度 5
表 2.6.2.3　大腸菌由来及び *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼのマウスにおける腫瘍増殖に対する作用 6
表 2.6.2.4　マイトジェン及び抗原刺激によって誘導したヒトリンパ球幼若化反応における ^{3}H-チミジン取り込みに対する *Er carotovora* 菌由来及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼの抑制作用の比較 7
表 2.6.2.5　*Er carotovora* 菌及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼをマウスに単回投与したときのヒツジ赤血球に対する免疫反応 8
表 2.6.2.6　*Er carotovora* 菌及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼをマウスに 4 日間反復投与したときのヒツジ赤血球に対する免疫反応 9
表 2.6.2.7　*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼに対する遅延型皮膚反応 11
表 2.6.2.8　モルモットにおけるアナフィラキシー反応 11
表 2.6.2.9　*Er chrysanthemi* 菌由来 L-アスパラギナーゼの酵素反応速度 12
表 2.6.2.10　*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼの酵素反応速度 12

略語・用語の定義一覧

略語・用語	省略していない表現または定義	日本語名称
ALL	Acute lymphoblastic leukemia	急性リンパ性白血病
Er	*Erwinia*	エルウィニア
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

2.6.2.1 まとめ

L-アスパラギナーゼ製剤としては，大腸菌由来のL-アスパラギナーゼが本邦において急性リンパ性白血病（ALL）の治療薬として承認されており，約40年にわたり臨床使用されている．今回，製造販売承認申請するクリサンタスパーゼは *Erwinia chrysanthemi*（*Er chrysanthemi*）から生産されるL-アスパラギナーゼであり，大腸菌由来L-アスパラギナーゼの使用によりアレルギー反応を起こした患者に対する，免疫学的交差反応性が低い代替薬である．*Erwinia* 菌由来及び大腸菌由来L-アスパラギナーゼの薬理作用については多くの公表論文で報告されていることから，本製造販売承認申請においてはクリサンタスパーゼのL-アスパラギナーゼとしての効力を裏付ける試験，副次的薬理試験及び薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった．安全性薬理試験として，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠したサルの心血管系に対する試験を実施し，その成績を 2.6.2.4 項に記載した．公表論文による薬理試験成績については 2.6.2.2 項及び 2.6.2.3 項に記載した。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験は実施していない．本項では公表論文を引用してL-アスパラギナーゼの抗腫瘍作用を取り纏めて記載した．

2.6.2.2.1 L-アスパラギナーゼの抗腫瘍の作用機序

L-アスパラギナーゼの抗腫瘍作用は約60年前に発見されており，正常モルモット血清をマウス及びラットに腹腔内投与した場合に，ある種の腫瘍細胞に対して抗腫瘍作用があることが示されていた．その現象はウマあるいはウサギ血清では再現することはできなかった（Kidd 1953a，Kidd 1953b）[17,18]．そのため，当時はこれらの腫瘍退縮は免疫学的な反応であると考えられていた．

その後，L-アスパラギナーゼがモルモット血清の抗腫瘍作用の活性因子であることが報告された（Broome 1963a，Broome 1963b，Broome 1968，Broome 1981）[4,5,6,7]．さらに，他の生物種から分離されたL-アスパラギナーゼにも同様に効果があることが示され，2種類（P1534白血病及びガードナーリンパ肉腫）のリンパ性白血病細胞を移植したマウスに大腸菌由来L-アスパラギナーゼを腹腔内投与すると，P1534白血病及びガードナーリンパ肉腫細胞の増殖を抑制した．しかし，別の腫瘍細胞タイプ（BW5147；マウスリンパ腫・T細胞リンパ芽球）に対する効果はみられなかった．この試験では，*Bacillus coagulans*菌由来L-アスパラギナーゼの効果はみられなかった（Mashburn 1964）[23]．

初期のL-アスパラギナーゼの抗腫瘍作用に関する試験はモルモット血清，ニワトリ肝臓及び大腸菌から遊離したL-アスパラギナーゼで実施された．1968年に，*Er carotovora*がL-アスパラギナーゼ生成に適した菌であることが示唆された（Wade 1968）[27]．C3Hマウスに*Er carotovora*菌由来L-アスパラギナーゼを500～600 U/kgの用量で腹腔内投与すると，リンパ腫

6C3HED細胞を事前に移植したC3Hマウスの腫瘍形成を効果的に抑制した.

初期の*in vitro*試験で腫瘍細胞の増殖にはアスパラギンを必要とすることが示された．アスパラギンは正常な哺乳類の培養細胞の増殖には必ずしも必要ではないが，悪性腫瘍由来細胞株のWalker Carcinosarcoma 256では，その増殖にはアスパラギンを必要とすることが報告されている（Neuman 1956）[25]．同様の結果は，マウスリンパ腫 L5178Y細胞でもみられた（Haley 1961）[11]．アスパラギンはほとんどのたん白質の構成成分であり，アスパラギンが欠如している状況では，たん白質合成はできなくなることが示唆されている（Cooney 1970a）[9]．アスパラギナーゼはアスパラギンをアスパラギン酸とアンモニアに加水分解する酵素として作用し，正常細胞に対してはその影響を及ぼさずに，悪性腫瘍細胞から必須アミノ酸を効果的に欠乏させる.

2.6.2.2.2　*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼの抗腫瘍作用（Wade 1968）[27]

*In vitro*試験では，*Er carotovora*菌由来L-アスパラギナーゼ及び大腸菌由来L-アスパラギナーゼの酵素活性を比較した．アンモニア生成量を酵素活性の指標とすると，*Er carotovora*菌由来L-アスパラギナーゼの活性は0.5～6 U/mg proteinであり，大腸菌由来L-アスパラギナーゼの酵素活性（0.2～0.6 U/mg protein）に比べて高いことが示された．また，6C3HEDリンパ腫細胞（2×10^4個）を移植したC3Hマウスに，*Er carotovora*菌由来L-アスパラギナーゼ500～600 U/kgを4日間腹腔内投与すると，マウスの腫瘍形成が抑制された．マウスで実施した追加の安全性試験では，*Er* carotovora菌由来L-アスパラギナーゼを200,000 U/kgの用量で投与したとき，有害な毒性所見はみられなかった（表2.6.2.1）.

表 2.6.1.1　*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼの抗腫瘍活性

測定項目	*Er carotovora*菌由来L-アスパラギナーゼ	大腸菌由来L-アスパラギナーゼ
酵素活性*	0.5～6 U/mg protein	0.2～0.6 U/mg protein
マウスにおける抗腫瘍活性	500～600 U/kg	-
マウスにおける安全性	200,000 U/kgの用量で毒性所見なし	-

*：1 Uは1分間にアンモニアを1 μmol生成する活性
-：データなし

（Wade 1968から作成）[27]

2.6.2.2.3　L-アスパラギナーゼのマウス白血病細胞における増殖抑制作用（Nakashima 1976）[24]

In vitro 試験で，細胞増殖がアスパラギンに依存しているマウス白血病L5178Y細胞及びアスパラギン非依存性のL5178Y-R細胞を用いて，大腸菌由来L-アスパラギナーゼのRNA及びたん白質合成に対する作用より細胞増殖抑制作用を検討した．たん白質合成阻害については，L-アスパラギナーゼ（10 U/mL）を両細胞に処理し，^{3}H-ロイシン（1 μCi/mLを60分間インキュベーション）の細胞への取り込み量を指標として，たん白質合成阻害能を測定し

た.

細胞培養液からアスパラギンを除去した試験では，L5178Y細胞はコントロール値に対して細胞内たん白質合成が30～40%阻害され，L5178Y細胞ではリボゾームRNA産生量も同時に減少していたが，L5178Y-R細胞ではたん白質合成は阻害を受けなかった．L-アスパラギナーゼで処理したL5178Y細胞及びL5178Y-R細胞では，たん白質合成はともに80%以上阻害され，リボゾームRNA産生もまた両細胞で顕著に阻害された．したがって，L-アスパラギナーゼ処理によってアスパラギンの除去と同様にRNA及びたん白質合成が阻害され，細胞増殖が抑制されたと考えられたことから，L-アスパラギナーゼの治療効果は，アスパラギンの枯渇によることが示唆された.

2.6.2.2.4　ヒト及び動物のアスパラギン濃度と抗腫瘍作用（Cooney 1970b）[10]

動物及びヒトの血漿及び赤血球のアスパラギン濃度を測定した（表2.6.2.2）．ヒトの血漿中アスパラギン濃度は7.3 μg/mLであった．ウサギの血漿中濃度は他の動物及びヒトに比べて最も高かった．組織球性白血病患者の血漿中アスパラギン濃度は3.2 μg/mLで，健常人に比べて4.1 μg/mL低かった．自然発症した未分化リンパ肉腫を有する雌DachshundイヌにL-アスパラギナーゼ（10 U/kg）を静脈内投与すると，急速かつ持続性の血漿中アスパラギン濃度の減少及びアスパラギン酸濃度の増加がみられた．また，腫瘍容積はアスパラギン濃度の顕著な減少とともに減少した．L-アスパラギナーゼの投与中止により，血漿中アスパラギン濃度は回復し，アスパラギン酸濃度の減少に伴い，腫瘍の再増殖がみられた.

表 2.6.2.2　血液中アスパラギン濃度

動物種	血漿（μg/mL）	赤血球（μg/mL）
マウス[A]	3.8 ± 0.1	6.3 ± 0.7
ラット[A]	10.2 ± 0.5	12.8 ± 0.9
ウサギ[B]	24 ± 9	ND
イヌ[A]	7.4 ± 0.5	5.8 ± 0.3
ヒト[A]	7.3 ± 1.6	14.7 ± 0.7

平均値 ± 標準誤差，[A]：Cooney 1970b表2から引用（表中の血液中濃度の単位は 原著のnmol/mLからμg/mLに変換して表記した）[10]，[B]：Ho 1988 から引用[13]
ND：実施していない

2.6.2.2.5　大腸菌由来及び *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼの抗腫瘍作用の比較（Roberts 1976）[26]

大腸菌由来及び*Er carotovora*菌由来L-アスパラギナーゼのリンパ性白血病細胞EARAD-1及びL5178Y/CA55に対する抗腫瘍作用をそれぞれB6AF1/J系マウス又はBDF_1系マウスで比較した．EARAD-1細胞をマウスの皮下に移植し，移植後1日及び11日からL-アスパラギナーゼの0，125又は250 U/kgを5日間腹腔内投与した．また，L5178Y/CA55細胞を移植した試験では，移植後9日からL-アスパラギナーゼの0，250又は500 U/kgを5日間腹腔内投与した．大

腸菌由来及び*Er carotovora*菌由来L-アスパラギナーゼともに対照群に比べて明らかな生存期間の延長がみられたが，大腸菌由来L-アスパラギナーゼは*Er carotovora*菌由来L-アスパラギナーゼより強い作用を示した（表2.6.2.3）．一方，本試験における大腸菌由来L-アスパラギナーゼ及び*Er carotovora*菌由来L-アスパラギナーゼの250 U/kgを腹腔内投与したときの血漿中消失半減期はそれぞれ，28時間及び24時間であり，大腸菌由来L-アスパラギナーゼの血漿中消失半減期の方がやや長かったが，投与後24時間の血漿中アスパラギン濃度はともに検出下限未満（<2 nmol/mL）であった．したがって，大腸菌由来L-アスパラギナーゼ及び*Er carotovora*菌由来L-アスパラギナーゼの生存期間に対する作用の違いの原因は明らかではなかったが，著者らは大腸菌由来のアスパラギナーゼの方が血管外領域への分布がより大きいことが原因である可能性を推察している．

表 2.6.2.3　大腸菌由来及び *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼのマウスにおける腫瘍増殖に対する作用

由来菌・投与量（U/kg）	EARAD-1 細胞				L5178Y/CA 55細胞	
	投与期間；1～5 日		投与期間；11～15 日		投与期間；9～13 日	
	生存期間（日）[A]	90日生存数	生存期間（日）[A]	90日生存数	生存期間（日）[A]	90日生存数
生理食塩液	16 ± 0.8	0/10	16 ± 0.8	0/5	28 ± 2.4	0/5
大腸菌 125	>90	9/10	29 ± 2.1	0/5	ND	ND
大腸菌 250	>90	10/10	41 ± 2.9	2/5	>90	3/5
Erwinia 菌 125	32 ± 3.2	2/10	23 ± 1.0	0/5	ND	ND
Erwinia 菌 250	48 ± 2.0	5/10	29 ± 2.4	0/5	37 ± 2.4	0/5
Erwinia 菌 500	ND	ND	ND	ND	40 ± 2.2	0/5

[A]：中央値 ± 標準誤差，ND：実施していない　　(Roberts 1976 表 2 を改編[26])

2.6.2.2.6　*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼによる幼若化反応の抑制作用（Han 1972）[12]

本試験ではヒト培養リンパ球を用い，マイトジェン及び抗原の刺激による幼若化反応について，*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼを比較検討した．両 L-アスパラギナーゼの濃度は 0.001～1.0 U/mL とした．ヒトリンパ球にそれぞれの L-アスパラギナーゼとマイトジェン及び抗原を加えて 37°C で，それぞれ 5～6 日間及び 7～8 日間インキュベーション後，^{3}H-チミジン（1 μCi/tube）を添加し，24 時間後にリンパ球への ^{3}H-チミジン取り込み量を測定した（表 2.6.2.4）．

その結果，*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼは，0.1 U/mL 以上の用量でマイトジェン及び抗原による幼若化反応を抑制した．*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼでは，大腸菌由来 L-アスパラギナーゼに比べて強い抑制がみられた．また，フィトヘマグルチニン（PHA）で刺激した細胞の DNA 合成及び

RNA 合成について，^{3}H-チミジン（DNA 合成）及び ^{3}H-ウリジン（RNA 合成）の細胞への取り込み量を比較検討した．両 L-アスパラギナーゼの濃度は 0.01～0.1 U/mL とした．その結果，*Er carotovora* 菌由来及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼともに DNA 合成及び RNA 合成を同程度抑制することが示された．この試験では，両 L-アスパラギナーゼは 100°C で 10 分間，加熱処理をすると酵素活性は消失した．また，大腸菌由来 L-アスパラギナーゼに比べ *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼの方が幼若化反応の抑制作用は強かったことより，その原因を検討するために，両酵素の培養液中での安定性及びリンパ球への ^{3}H-ウリジン取り込み量を比較検討した．その結果，培養液中でのインキュベーションでは，両酵素とも 5 日間にわたり安定に維持されていた．リンパ球への ^{3}H-ウリジン取り込みに対する比較試験では，6C3HED マウスリンパ腫及びヒト ALL 患者（2 例）から採取したリンパ球を用いて，両 L-アスパラギナーゼ（0.002～0.2 U/mL）の細胞への ^{3}H-ウリジン（1 μCi/tube）の取り込み量に対する作用を検討した結果，両 L-アスパラギナーゼの ^{3}H-ウリジン取り込み阻害作用は同程度であった．*Er carotovora* 菌由来及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼの L-グルタミナーゼ作用は，L-アスパラギナーゼの作用のそれぞれ 10.4 及び 2.5%であった．

アスパラギナーゼの免疫抑制の作用機序については，まだ，明確になっていない（Kafkewitz 1984）[16].

表 2.6.2.4　マイトジェン及び抗原刺激によって誘導したヒトリンパ球幼若化反応における ^{3}H-チミジン取り込みに対する *Er carotovora* 菌由来及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼの抑制作用の比較

マイトジェン及び抗原	試験数	対照	^{3}H-チミジン取り込み ×10^{3} DPM							
			Er carotovora 菌由来 L-アスパラギナーゼ (U/mL)				大腸菌由来 L-アスパラギナーゼ (U/mL)			
			0.001	0.01	0.1	1.0	0.001	0.01	0.1	1.0
PHA	13	122 (16)	98 (23)	53 (16)*	0.8 (0.4)*	0.1 (0.05)	100 (18)	100 (21)*	29 (7.1)**	0.2 (0.09)
CCA	3	49 (20)	13 (6.0)	2 (0.2)*	0.6 (0.04)*	0.7 (0.03)	28 (6.0)	18 (7.4)*	12 (6.0)*	0.9 (0.2)
PWM	7	109 (22)	80 (12)	34 (14)	0.3 (0.1)*	0.1 (0.04)	90 (16)	67 (13)	13 (1.9)*	0.2 (0.09)
SF	3	74 (12)	60 (15)	16 (7.0)	0.9 (0.3)*	0.6 (0.1)	65 (9.2)	40 (16)	15 (4.5)*	0.8 (0.07)
2-way MLC	4	104 (25)	50 (12)	13 (5.2)*	2 (0.8)*	1 (0.2)	70 (12)	61 (13)*	27 (3.9)*	1 (0.04)
Varidase	3	30 (5.5)	20 (6)	8 (5.1)	0.2 (0.09)*	0.3 (0.1)	23 (8.4)	24 (6.5)	6 (0.2)*	0.1 (0.04)
PPD	1	56	9	0.4	0.3	0.3	25	20	4	0.3

数値は平均値（標準誤差），* : P<0.05，** : P<0.01（Wilcoxon t test，原著で 1.0 U/mL に有意差は記載されていない）.

PHA : phytohaemagglutinin, CCA : concanavalin A, PWM : pokeweed mitogen, SF : staphylococcal filtrate, 2-way MLC : two- way mixed lymphocyte culture, Varidase : streptokinase/streptdornase, PPD : purified protein derivatives.

（Han 1972 表 1 から引用）[12]

2.6.2.2.7 *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼの免疫抑制作用の比較（Ashworth 1974）[1]

1)　L-アスパラギナーゼの単回投与によるマウスの免疫反応に対する作用

Er carotovora 菌由来 L-アスパラギナーゼ及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼをヒツジ赤血球とともに 1 群 10 例の C57BL 系マウスに 0，2，10，50 及び 250 U/動物の用量で単回腹腔内投与し，投与後 4 日に血清を採取し，ヘマグルチニンに対する抗体価を測定した．

その結果，大腸菌由来 L-アスパラギナーゼでは 2 U/動物以上の全ての用量で抗体産生を抑制したが，*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼでは 250 U/動物の用量でのみ抗体産生を抑制した．250 U/動物の用量では両 L-アスパラギナーゼ間の抗体価抑制作用に違いはみられなかった（表 2.6.2.5）．

表 2.6.2.5　*Er carotovora* 菌及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼをマウスに単回投与したときのヒツジ赤血球に対する免疫反応

酵素投与量 (U/動物)	ヘマグルチニン抗体価	
	Er carotovora 菌由来 L-アスパラギナーゼ	大腸菌由来 L-アスパラギナーゼ
0	5.2（4.3～6.1）	
2	4.7（3.7～5.6）	1.5（0.9～2.2）
10	3.3（2.2～4.4）	1.4（0.5～2.3）
50	3.4（2.5～4.3）	0.7（0.2～1.2）
250	0.9（0.4～1.4）	0.8（0.04～1.5）

（）：95%信頼限界　　（Ashworth 1974 表 1 から引用）[1]

2)　L-アスパラギナーゼの反復投与によるマウスの免疫反応に対する作用

1 群 20 例の C3H 系マウスに大腸菌由来 L-アスパラギナーゼ及び *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼをヒツジ赤血球とともに 0，2，10，50，250 及び 1,250 U/動物/日の用量で 4 日間腹腔内投与した．投与終了後 1 日及び 2 日にそれぞれ 1 群 10 例より血液を採取し，ヘマグルチニンに対する抗体価を測定した．

反復投与では，*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ投与群の抗体価は，大腸菌由来 L-アスパラギナーゼ投与群の抗体価に比べて低かった（表 2.6.2.6）．

表 2.6.2.6　*Er carotovora* 菌及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼをマウスに 4 日間反復投与したときのヒツジ赤血球に対する免疫反応

酵素投与量 (U/動物/日)	ヘマグルチニン抗体価	
	Er carotovora 菌由来 L-アスパラギナーゼ	大腸菌由来 L-アスパラギナーゼ
0	6.6（6.1～7.1）	
2	3.9（3.2～4.7）	2.4（1.6～3.1）
10	2.3（1.4～3.1）	2.4（1.4～3.4）
50	1.7（1.0～2.3）	1.9（1.0～2.8）
250	0.6（-0.01～1.1）	1.5（0.6～2.3）
1,250	0.2（～0.7）	2.0（1.2～2.8）

（）：95%信頼限界　　（Ashworth 1974 表 2 から引用）[1]

3)　L-アスパラギナーゼの *in vitro* ウサギ白血球の幼若化反応に対する作用

*In vitro*試験ではフィトヘマグルチニンで刺激したウサギ白血球のリンパ球の幼若化反応について，^{3}H-チミジンの取り込みを指標として検討した．

その結果，フィトヘマグルチニンで刺激したウサギ白血球リンパ球の幼若化反応の抑制に対して，*Er carotovora*菌由来L-アスパラギナーゼは，大腸菌由来L-アスパラギナーゼより10倍強い抑制作用を示した．

2.6.2.2.8　*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼの免疫抑制作用（Cavanna 1976）[8]

ラットのヒツジ赤血球（SRBC）に対する免疫反応における L-アスパラギナーゼの短期及び長期反復投与の抑制作用について脾臓内溶血斑形成細胞（HPFC）数の測定により検討した．

短期反復投与では Wistar 系ラット（雌雄各 9 例/群）に *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼの 3,200 U/kg/日を SRBC で免疫する 2 日前から免疫後 4 日まで 7 日間腹腔内投与し，SRBC で免疫後 5 日に HPFC 数を測定した．その結果，対照群（生理食塩液）に比べ，HPFC 数はそれぞれ 90.7%及び 93.8%減少した．

また，長期反復投与では Wistar 系ラット（雌雄各 12 例/群）に *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼの 0，800 及び 3,200 U/kg/日を 1 週間に 5 日間，3 ヶ月間反復腹腔内投与し，投与期間中に 15 日間隔で各群雌雄それぞれ 2 例に SRBC を投与し，SRBC 投与後 5 日に HPFC 数を測定した．その結果，*Er carotovora* 菌由来及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼの 3,200 U/kg/日投与により HPFC 数は著しく減少した（約 90%減少）．HPFC 数は両 L-アスパラギナーゼとも性差はなく，概ね用量に依存していた．

2.6.2.2.9 *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼに対する免疫寛容（Ashworth 1973）[2]

*Er carotovora*菌由来L-アスパラギナーゼの免疫原性についてマウス及びウサギで検討した.

雄 C3H 系マウスに L-アスパラギナーゼを 0，1.6，10.4，54 及び 310 μg/動物（それぞれ 0，56，364，1,890 及び 10,850 U/kg）の用量で，1 週間に 3 日間，10 週間腹腔内投与し，各群の半数例に最終投与後 11 日に L-アスパラギナーゼ 1.8 mg を投与し，残りの半数例にはフロイント完全アジュバント（FCA）と混和した L-アスパラギナーゼ（50 μg）を投与した．その結果，L-アスパラギナーゼ最終投与後 10 日では，わずかな抗体価がみられ，310 μg/動物群では低用量群に比べて明らかに低い力価がみられたが，これは免疫寛容というよりむしろ免疫抑制の結果であると考えられた．この試験では特異的な免疫寛容が示され，血液クリアランスが血清抗体価の産生よりも早急に起こったことによると考えられた．

New Zealand White 系ウサギ（雄，対照群 8 例，被験物質及び薬剤投与群 14 例）に L-アスパラギナーゼを 0.6～0.7 mg/kg（420～490 U/kg）及びシクロホスファミドを 20 mg/kg の用量で 3 日間連日静脈内投与し，さらに L-アスパラギナーゼを 2～3 日毎に 10 回静脈内投与後，免疫原性について検討した．その結果，L-アスパラギナーゼ及びシクロホスファミドによる免疫寛容誘導においても免疫原性の低下はみられなかった．

2.6.2.2.10 *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼの免疫学的特性（MacLennan 1971）[22]

1） 遅延型アレルギー反応

Dunkin-Hartley 系モルモット（300～400 g）で，FCA を用いて *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼで感作した遅延型アレルギー反応における免疫交差性について検討した．1 群 6 例のモルモットの四肢に *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ又は大腸菌由来 L-アスパラギナーゼを FCA とともに皮下投与した．2 週間後に，それぞれ 6 例に *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ又は大腸菌由来 L-アスパラギナーゼ 10 μg 及び精製ツベルクリンたん白質（0.1 mL 生理食塩液）を皮内投与した．

その結果，*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ又は大腸菌由来 L-アスパラギナーゼで感作されたモルモットは，ともに同一 L-アスパアラギナーゼ投与では皮膚に炎症反応がみられたが，遅延型アレルギー反応における免疫交差性はみられなかった（表 2.6.2.7）．

表 2.6.2.7　*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼに対する遅延型皮膚反応

感作抗原	誘発後 24 時間での皮膚の厚さの増加（%）		
	精製ツベルクリンたん白質	*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ	大腸菌由来 L-アスパラギナーゼ
対照群（生理食塩液）：FCA	71	0	0
Er carotovora 菌由来 L-アスパラギナーゼ：FCA	35	69	0
大腸菌由来 L-アスパラギナーゼ：FCA	29	0	66

（MacLennan 1971 表 2 から引用）[22]

2）即時型アレルギー反応（アナフィラキシー反応）

Dunkin-Hartley 系モルモット（400～500 g）で，*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ（600 U/動物）又は大腸菌由来 L-アスパラギナーゼ（600 U/動物）を 2～3 日間隔で 4 回皮下投与し，その 5 週間後に同用量の *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ又は大腸菌由来 L-アスパラギナーゼを静脈内投与して，免疫交差性について検討した（アナフィラキシー反応）．

即時型アレルギー反応においても，*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼともに同一 L-アスパラギナーゼ投与ではアナフィラキシー反応により死亡例がみられたが，*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼ投与動物に大腸菌由来 L-アスパラギナーゼを投与，又は大腸菌由来 L-アスパラギナーゼ投与動物に *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼを投与したときにはアナフィラキシーはみられなかったことより，免疫交差性は示さないものと考えられた（表 2.6.2.8）．

表 2.6.2.8　モルモットにおけるアナフィラキシー反応

感作抗原	誘発後 5 分以内の死亡動物数／感作動物数	
	Er carotovora 菌由来 L-アスパラギナーゼ	大腸菌由来 L-アスパラギナーゼ
Er carotovora 菌由来 L-アスパラギナーゼ	4/9	0/8
大腸菌由来 L-アスパラギナーゼ	0/8	8/8

（MacLennan 1971 表 1 から引用）[22]

2.6.2.3　副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施していない．公表論文より *Er carotovora* 菌由来及び *Er chrysanthemi* 菌由来 L-アスパラギナーゼの基質特異性及び酵素特性について下記に引用した．

Er chrysanthemi 菌由来 L-アスパラギナーゼはアスパラギンの他にアスパラギン類似物を加水分解するが，L-アスパラギンへの特異性が高く，L-アスパラギンに対する K_m 値はグルタミンに対する K_m 値に比べ 1/116 であった（表 2.6.2.9）（Kotzia 2007）[20]．また，*Er chrysanthemi*

菌由来 L-アスパラギナーゼの L-アスパラギンに対する K_m 値は *Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼの L-アスパラギンに対する K_m 値より低かった（Howard 1972, Krasotkina 2004, Kotzia 2005）[15,21,19]．一方，*Er chrysanthemi* 菌由来 L-アスパラギナーゼのグルタミンに対する K_m 値は，*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼより高かった（Krasotkina 2004）[21]．

L-アスパラギナーゼの毒性は，部分的には L-グルタミナーゼ活性に起因しているとも考えられており，L-グルタミンへの低親和性は重要であると考えられる（Howard 1972）[15]．L-アスパラギナーゼが L-アスパラギンに高親和性を示し，L-グルタミンには低親和性を示していることから，がん治療においては副作用は少なくなることが示唆される（Hawkins 2004）[14]．しかし，L-グルタミナーゼ活性が L-アスパラギナーゼの臨床効果に寄与するとの報告もあり（Avramis 2005）[3]，*Er chrysanthemi* 菌由来 L-アスパラギナーゼによる治療において，L-グルタミンへの低親和性が果たす役割については明らかではない．

表 2.6.2.9　*Er chrysanthemi* 菌由来 L-アスパラギナーゼの酵素反応速度

基質	K_m (mM)	k_{cat} ($\times 10^3$ s^{-1})	k_{cat}/K_m ($\times 10^3$ mM^{-1} s^{-1})
L-アスパラギン	0.058 ± 0.0131	23.8 ± 1.1	411.8
L-グルタミン	6.7 ± 1.1	4.3 ± 0.5	0.6
スクシンアミド酸	18.8 ± 4.8	23.9 ± 4.5	1.3
N^{α}-アセチル-L-アスパラギン	0.80 ± 0.09	10.8 ± 0.2	13.4
ß-アラニンアミド	ND	ND	ND

ND：活性は認められない　　（Kotzia 2007表2から引用）[20]

Er carotovora 菌由来 L-アスパラギナーゼの基質特異性及び酵素プロファイルを検討した結果を表 2.6.2.10 に示した．L-アスパラギンへの K_m 値（0.01 mM）は，*Er chrysanthemi* 菌由来 L-アスパラギナーゼ（0.058 mM）よりも低く，スクシンアミド酸に対する K_m 値は *Er carotovora* 菌由来及び *Er chrysanthemi* 菌由来 L-アスパラギナーゼでほぼ同じであった．

表 2.6.2.10　*Er carotovora* 菌由来 L-アスパラギナーゼの酵素反応速度

基質	K_m (mM)	V_{max} (μmol/min/unit)
L-アスパラギン	0.01	0.923
D-アスパラギン	62	0.177
L-グルタミン	1.1	0.09
D-グルタミン	180	0.002
スクシンアミド酸	15	0.24

V_{max}：最大速度　　（Howard 1972 表 3 から引用）[15]

2.6.2.4　安全性薬理試験

2.6.2.4.1　クリサンタスパーゼのサルの心血管系に対する作用

（添付資料：4.2.1.3.1）

安全性薬理試験では，クリサンタスパーゼ（*Er chrysanthemi* 菌由来 L-アスパラギナーゼの凍結乾燥粉末製剤，Erwinase）を使用し，被験物質の名称としてはクリサンタスパーゼと記載した．

カニクイザル雄 4 例（体重：3.65～4.85 kg）を用いて，クリサンタスパーゼの心血管系に対する作用を，テレメトリー法（生体信号測定装置，[redacted]社製）を用いて記録した（OD12311 試験）．サルをケタミン塩酸塩及びキシラジン塩酸塩で麻酔後，送信機（[redacted]，[redacted].製）を腹腔内に留置し，血圧測定用のカテーテルを左大腿動脈から腹大動脈まで挿入した．さらに，心電図測定用の生体電位電極を右鎖骨下部（胸上部）及び左腹部の皮下に留置した．3 週間以上の術後の回復期間をおき，全ての動物が送信器留置手術から順調に回復したことを確認し，試験を実施した．心血管系パラメータとして，心拍数，血圧（収縮期血圧，拡張期血圧及び平均血圧）並びに心電図（PR 間隔，QRS 時間，QT 間隔及び QTc 間隔）を測定した．測定ポイントは，各投与日の投与前，投与後 1，2，4，8 及び 24 時間（6 ポイント）とした．媒体（生理食塩液），クリサンタスパーゼ 2,000 及び 5,000 U/kg を 7 日間間隔で漸増筋肉内投与した．一般状態の観察は，初回投与から最終観察日まで，各投与日は測定ポイントで，その他の期間は 1 日 1 回観察した．試験で得られた各投与群の結果から，平均値及び標準偏差を算出した．

結果：

1. 投与後 24 時間まで心拍数，血圧（収縮期，拡張期及び平均血圧），心電図パラメータ（PR 間隔，QRS 時間，QT 間隔及び QTc 間隔）に，クリサンタスパーゼの投与に起因すると考えられる変化は認められなかった．
2. 一般状態では，2,000 U/kg の 4 例中 1 例に投与後 8 時間の採血時に少量の嘔吐物（白色泡沫液）が認められた．5,000 U/kg の 4 例中 1 例に投与後 2～8 時間にうずくまり，4 例中 2 例で投与後 4 及び 8 時間，4 例中 1 例で投与後 4 及び 24 時間，他 1 例で投与後 24 時間の採血時に，中等量から多量の嘔吐物が認められた．

結論：

クリサンタスパーゼをサルに臨床用量の 2.5 倍量（5,000 U/kg）まで投与しても心血管系に影響は及ぼさなかった．

2.6.2.4.2　クリサンタスパーゼの中枢神経系及び呼吸系に対する作用

中枢神経系及び呼吸系に対する作用を検討する試験は実施していないが，反復投与毒性試験において，イヌの 28 日間反復投与毒性試験（5,000 U/kg/日）で嘔吐が認められた以外には，中枢神経系に起因すると考えられる行動に対する異常所見や呼吸数の増加などが確認されていないこと，また，剖検所見及び病理組織所見でも，中枢神経系，肺・気管に異

常所見は認められていないことから，中枢神経系及び呼吸系に対する影響はないものと考えられた．

2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験

実施していない．

2.6.2.6　考察及び結論

クリサンタスパーゼは *Er chrysanthemi* 菌から生産される L-アスパラギナーゼである．L-アスパラギナーゼは，ALL の治療薬として広く国内外で使用されている．その作用機序は L-アスパラギンを必要とする白血病細胞の増殖に対し，血中 L-アスパラギンを分解・枯渇することによって腫瘍細胞のたん白合成を阻害し，細胞増殖を抑制すると考えられている．*Erwinia* 菌由来及び大腸菌由来 L-アスパラギナーゼの ALL に対する薬理効果については，既に多くの公表論文で報告されている．今回の本邦における製造販売承認申請における安全性薬理試験として，クリサンタスパーゼを臨床用量の 2.5 倍量（5,000 U/kg）まで，臨床投与経路である筋肉内投与でサルに投与して心血管系に対する影響を検討したが，サルの心血管系に対する影響はみられなかった．また，中枢神経系及び呼吸系に対する試験は実施していないが，他の毒性試験の成績より中枢神経系及び呼吸器系に対する影響はないものと考えられた．

2.6.2.7　図表

表は本文中に含めた．

2.6.2.8　参考文献

1. Ashworth LA, MacLennan AP. (1974) Comparison of the L-asparaginases from *Escherichia coli* and *Erwinia carotovora* as immunosuppressants. Cancer Res. 34(6):1353-9.
2. Ashworth LA, MacLennan AP. (1973) Immunological tolerance to *Erwinia carotovora* L-asparaginase. Int Arch Allergy. 45: 915-29.
3. Avramis VI, Panosyan EH. (2005) Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of asparaginase formulations: The past, the present and recommendations for the future. Clin Pharmacokinet. 44(4):367-93.
4. Broome JD. (1963a) Evidence that the L-asparaginase of guinea pig serum is responsible for its antilymphoma effects. I. Properties of the L-asparaginase of guinea pig serum in relation to those of the antilymphoma substance. J Exp Med. 118:99-120.
5. Broome JD. (1963b) Evidence that the L-asparaginase of guinea pig serum is responsible for its antilymphoma effects. II. Lymphoma 6C3HED cells cultured in a medium devoid of L-asparagine lose their susceptibility to the effects of guinea pig serum *in vivo*. J Exp Med. 118:121-48.

6. Broome JD. (1968) Studies on the mechanism of tumor inhibition by L-asparaginase. Effects of the enzyme on asparagine levels in the blood, normal tissues, and 6C3HED lymphomas of mice: differences in asparagine formation and utilization in asparaginase-sensitive and -resistant lymphoma cells. J Exp Med. 127(6):1055-72.
7. Broome JD. (1981) L-Asparaginase: Discovery and development as a tumor-inhibitory agent. Cancer Treat Rep. 65(Suppl 4):111-4.
8. Cavanna M, Celle G, Dodero M, Picciotto A, Pannacciulli I, Brambilla G. (1976) Comparative experimental evaluation of immunodepressive and toxic effects of L-asparaginase (NSC-109229) from *Escherichia coli* and from *Erwinia carotovora*. Cancer Treat Rep. 60(3):255-7.
9. Cooney DA, Handschumacher RE. (1970a) L-Asparaginase and L-asparagine metabolism. Annu Rev Pharmacol. 10:421-40.
10. Cooney DA, Capizzi RL, Handschumacher RE. (1970b) Evaluation of L-asparagine metabolism in animals and man. Cancer Res. 30(4):929-35.
11. Haley EE, Fischer GA, Welch AD. (1961) The requirement for L-asparagine of mouse leukemia cells L5178Y in culture. Cancer Res. 21:532-6.
12. Han T, Onuma T. (1972) *In vitro* blastogenesis inhibited by *Erwinia carotovora* L-asparaginase. Nature New Biol. 239:50-1.
13. Ho DHW, Wang CY, Lin JR, Brown N, Newman RA, Krakoff IH. (1988) Polyethylene glycol-L-asparaginase and L-asparaginase studies in rabbits. Drug Metab Dispos. 16(1):27-9.
14. Hawkins DS, Park JR, Thomson BG, Felgenhauer JL, Holcenberg JS, Panosyan EH, Avramis VI. (2004) Asparaginase pharmacokinetics after intensive polyethylene glycol-conjugated L-asparaginase therapy for children with relapsed acute lymphoblastic leukemia. Clin Cancer Res. 10:5335-41.
15. Howard JB, Carpenter FH. (1972) L-Asparaginase from *Erwinia carotovora*. Substrate specificity and enzymatic properties. J Biol Chem. 247(4):1020-30.
16. Kafkewitz D, Bendich A. (1984) The inhibition of lymphocyte mitogenesis by asparaginase: A still unexplained phenomenon. Experientia. 40:1173-7.
17. Kidd JG. (1953a) Regression of transplanted lymphomas induced *in vivo* by means of normal guinea pig serum. I. Course of transplanted cancers of various kinds in mice and rats given guinea pig serum, horse serum, or rabbit serum. J Exp Med. 98:565-83.
18. Kidd JG. (1953b) Regression of transplanted lymphomas induced *in vivo* by means of normal guinea pig serum. II. Studies on the nature of the active serum constituent: Histological mechanism of the regression: Tests for effects of guinea pig serum on lymphoma cells *in vitro*: Discussion. J Exp Med. 98:583-611.
19. Kotzia GA, Labrou NE. (2005) Cloning, expression and characterisation of *Erwinia carotovora* L-asparaginase. J Biotechnol. 119:309-23.

20. Kotzia GA, Labrou NE. (2007) L-Asparaginase from *Erwinia chrysanthemi* 3937: Cloning, expression and characterization. J Biotechnol. 127:657-69.
21. Krasotkina J, Borisova AA, Gervaziev YV, Sokolov NN. (2004) One-step purification and kinetic properties of the recombinant L-asparaginase from *Erwinia carotovora*. Biotechnol Appl Biochem. 39:215-21.
22. MacLennan AP, Wade HE, Hawkins DC. (1971) The immunological specificity of bacterial L-asparaginases. Colloq Internat CNRS. 197:409-24.
23. Mashburn LT, Wriston JC. (1964) Tumor inhibitory effect of L-asparaginase from *Escherichia coli*. Arch Biochem Biophys. 105:450-2.
24. Nakashima T, Kuwano M, Akiyama S, Endo H. (1976) Effect of L-asparaginase and asparagine deprivation on RNA metabolism in mouse leukemia L5178Y cells in suspension culture. Cancer Res. 36:3616-21.
25. Neuman RE, McCoy TA. (1956) Dual requirement of Walker carcinosarcoma 256 *in vitro* for asparagine and glutamine. Science. 124:124-5.
26. Roberts J, Schmid FA, Old LJ, Stockert E. (1976) A comparative study of the antitumor effectiveness of *E. coli* and *Erwinia* asparaginases. Cancer Biochem Biophys. 1:175-8.
27. Wade HE, Elsworth R, Herbert D, Keppie J, Sargeant K. (1968) A new L-asparaginase with antitumour activity. Lancet. 2(7571):776-7.

2.6.3　薬理試験概要表

目次

2.6.3.1 薬理試験：一覧表 2
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 2
2.6.3.3 副次的薬理試験 2
2.6.3.4 安全性薬理試験 3
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 3

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Primary Pharmacodynamics	Not Applicable				
Secondary Pharmacodynamics	Not Applicable				
Safety Pharmacology Effects on cardiovascular system [a]	Monkey	Intramuscular	[redacted], Japan	OD12311	4.2.1.3.1
Pharmacodynamic Drug Interactions	Not Applicable				

a: Report contains a GLP Compliance Statement.

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

該当する表はない.

2.6.3.3 副次的薬理試験

該当する表はない.

2.6.3.4 安全性薬理試験

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses (U/kg)	Gender and No. / Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number
Cardiovascular System (heart rate, blood pressure, electrocardiogram: radiotelemetry method)	Monkey/ Cynomolgus	Intramuscular (single, rising-dose)	2,000, 5,000	4 Males	No treatment-related effects on heart rate, blood pressure (systolic, diastolic and mean blood pressure) and electrocardiographic parameters (PR, QRS, QT and QTc) were observed until 24 hours after dose.	Yes	OD12311

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当する表はない.