ムンデシンカプセル 100mg

第 2 部（モジュール 2）: CTD の概要（サマリー）

2.4　非臨床試験の概括評価

ムンディファーマ株式会社

目次

1　非臨床試験計画概要 8
2　薬理試験 10
2.1　効力を裏付ける試験 10
2.1.1　*In vitro* 試験 10
2.1.2　*In vivo* 試験 11
2.2　副次的薬理試験 11
2.3　安全性薬理試験 11
2.4　薬力学的薬物相互作用 12
3　薬物動態 12
3.1　分析法 12
3.1.1　生体試料分析法 12
3.2　吸収 13
3.3　分布 14
3.4　代謝 14
3.5　排泄 14
3.6　薬物動態学的薬物相互作用 15
4　毒性試験 15
4.1　単回投与毒性試験 15
4.2　反復投与毒性試験 15
4.2.1　マウスでの反復投与毒性試験 15
4.2.2　ラットでの反復投与毒性試験 15
4.2.2.1　28 日間反復静脈内投与試験 15
4.2.2.2　6 ヵ月間反復経口投与試験 16
4.2.3　サルでの反復投与毒性試験 16
4.2.3.1　28 日間反復経口及び静脈内投与試験 16
4.2.3.2　6 ヵ月間反復経口投与試験 16

4.2.3.3 13 週間反復経口投与試験（追加試験） 17
4.3 遺伝毒性試験 17
4.4 がん原性試験 18
4.5 生殖発生毒性試験 18
4.5.1 受胎能及び初期胚発生試験 18
4.5.2 胚・胎児発生に関する試験 18
4.5.2.1 ラット胚・胎児発生に関する試験 18
4.5.2.2 ウサギ胚・胎児発生に関する試験 19
4.5.3 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 19
4.6 幼若動物における試験 19
4.7 その他の毒性試験 19
4.7.1 免疫毒性試験 19
4.7.2 代謝物の毒性試験 19
4.7.3 不純物及び分解生成物の評価 19
4.7.4 光安全性に関する評価 20
4.7.5 フォロデシンのベンダムスチン及びリツキシマブとの併用投与試験 20
4.8 全身曝露 20
5 考察及び結論 22
6 参考文献 25

表目次

表 2.4- 1　フォロデシン塩酸塩のラット及びサル反復経口投与試験並びに臨床試験における PK パラメーターの比較 21

図目次

図 2.4- 1　フォロデシン塩酸塩の構造式 8

図 2.4- 2　PNP 阻害による T 細胞増殖抑制機構 10

略号一覧

略号	日本語	英語
AUC	濃度－時間曲線下面積	area under the concentration time curve
$AUC_{0\text{-}24h}$	時間 0 から 24 時間までの濃度－時間曲線下面積	area under the concentration time curve from time 0 to 24 hour
AUC_{last}	時間 0 から濃度定量可能最終時点までの濃度－時間曲線下面積	area under the concentration time curve from time 0 to the last quantifiable time point
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	aspartate aminotransferase
B-CLL	B 細胞性慢性リンパ球性白血病	B-cell chronic lymphocytic leukemia
Caco-2 細胞	ヒト結腸がん由来の細胞株	Caco-2 cell line
CHO	チャイニーズハムスター卵巣	Chinese hamster ovary
C_{max}	最高血漿中濃度	maximum plasma concentration
CMC	カルボキシメチルセルロース	carboxymethyl cellulose
CYP	シトクロム P450	cytochrome P450
dATP	2'-デオキシアデノシン三リン酸	2'-deoxyadenosine triphosphate
dCK	2'-デオキシシチジンキナーゼ	2'-deoxycytidine kinase
dCyt	2'-デオキシシチジン	2'-deoxycytidine
dGMP	2'-デオキシグアノシンン一リン酸	2'-deoxyguanosine monophosphate
dGTP	2'-デオキシグアノシン三リン酸	2'-deoxyguanosine triphosphate
dGuo	2'-デオキシグアノシン	2'-deoxyguanosine
DNFB	2, 4-ジニトロフルオロベンゼン	2, 4-dinitrofluorobenzene
dNTP	2'-デオキシヌクレオチド三リン酸	2'-deoxynucleotide triphosphate
ECG	心電図	electrocardiogram
F	絶対的バイオアベイラビリティ	absolute bioavailability
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準	Good Laboratory Practice
GVH	移植片対宿主	graft-versus-host
hERG	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子	human ether-a-go-go-related gene
IC_{50}	50%阻害濃度	half maximum inhibitory concentration
IL	インターロイキン	interleukin
ISR	-	Incurred Sample Reanalysis
LC/MS/MS	高速液体クロマトグラフィー・タンデムマススペクトロメトリー	high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry
LE	-	Long-Evans
MEC	モル吸光度係数	molar extinction coefficient
MLR	混合リンパ球反応	mixed lymphocyte reaction
MPCE	小核を有する多染性赤血球	micronucleated polychromatic erythrocyte
MRT	平均滞留時間	mean residence time

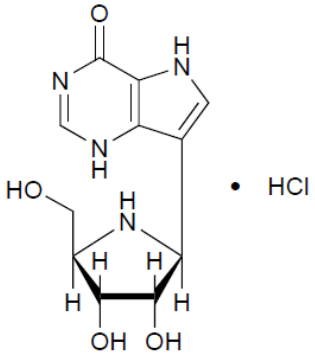
略号一覧（続き）

略号	日本語	英語
MTD	最大耐量	maximum tolerated dose
NOAEL	無毒性量	no-observed adverse effect level
PBL	末梢血リンパ球	peripheral blood lymphocytes
PHA	フィトヘマグルチニン	phytohemaglutinin
PD	薬力学	pharmacodynamic
PK	薬物動態	pharmacokinetic(s)
PNP	プリンヌクレオシドホスホリラーゼ	purine nucleoside phosphorylase
PTCL	末梢性 T 細胞リンパ腫	peripheral T-cell lymphoma
SCID	重症複合型免疫不全	severe combined immunodeficient
SD	-	Sprague-Dawley
T-ALL	T 細胞性急性リンパ芽球性白血病	T-cell acute lymphoblastic leukemia
TK	トキシコキネティクス	toxicokinetics
Vd	分布容積	volume of distribution
x-GVHD	異種移植片対宿主病	xenograft graft-versus-host disease

1　非臨床試験計画概要

フォロデシン塩酸塩（開発番号：BCX-1777、7-[(2*S*,3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-Dihydroxy-5-(hydroxymethyl) pyrrolidin-2-yl]-1,5-dihydro-4*H*-pyrrolo[3,2-*d*] pyrimidin-4-one monohydrochloride）は強力なプリンヌクレオシドホスホリラーゼ（PNP）の新規アナログ阻害剤であり、PNP の遷移状態構造を元にデザインされた［1］。フォロデシン塩酸塩は再発又は難治性の末梢性 T 細胞リンパ腫（PTCL）治療薬で、フォロデシンとして 1 回 300 mg を 1 日 2 回経口投与する。フォロデシン塩酸塩の構造式を図 2.4- 1 に示す。

図 2.4- 1　フォロデシン塩酸塩の構造式



生体内で 2’-デオキシグアノシン（dGuo）を基質とする酵素には、PNP 及び 2’-デオキシシチジンキナーゼ（dCK）の 2 つがある。PNP は dGuo の加リン酸分解を触媒し、グアニンとデオキシリボース-1-リン酸に代謝する。dCK は dGuo を 2'-デオキシグアノシン一リン酸（dGMP）に変換する。dGMP はキナーゼによってリン酸化され、最終的には 2'-デオキシグアノシン三リン酸（dGTP）になる（図 2.4- 2）。なお、dGuo は dCK よりも PNP に対して高い親和性を示すため、主に PNP によりリン酸化される［2］。

PNP 欠損症の小児患者では、PNP がほぼ皆無（<5%）であるため、血漿中 dGuo（2～14 μmol/L）の蓄積とともに赤血球中 dGTP 濃度の上昇が認められ、T 細胞の枯渇が生じることから［3］、正常なヒト T 細胞増殖には PNP が必要であることが示唆される。

フォロデシンによる PNP 阻害により、血漿中及び T 細胞内 dGuo 濃度が増加し、dGTP が T 細胞内に蓄積すると 2’-デオキシヌクレオチド三リン酸（dNTP）プールの不均衡が生じ、アポトーシスによる細胞死が生じる。（図 2.4- 2）。T 細胞は他の細胞と比較して細胞内キナーゼ活性が高く、ヌクレオチダーゼ活性が低いことから、細胞内で dGuo のリン酸化を行う細胞の大部分は T 細胞である。このように、フォロデシンは選択的に T 細胞増殖を抑制することから、T 細胞に起因する疾患である T 細胞白血病または T 細胞リンパ腫に対して有効性を示すことが期待されている。

フォロデシンの T 細胞増殖抑制に対する効力は、これまでに報告されている PNP 阻害剤の 10～100 倍強力であり［2］、PNP をほぼ完全に阻害して T 細胞増殖抑制に必要なプリン代謝経路の変化をもたらすと考えられる。

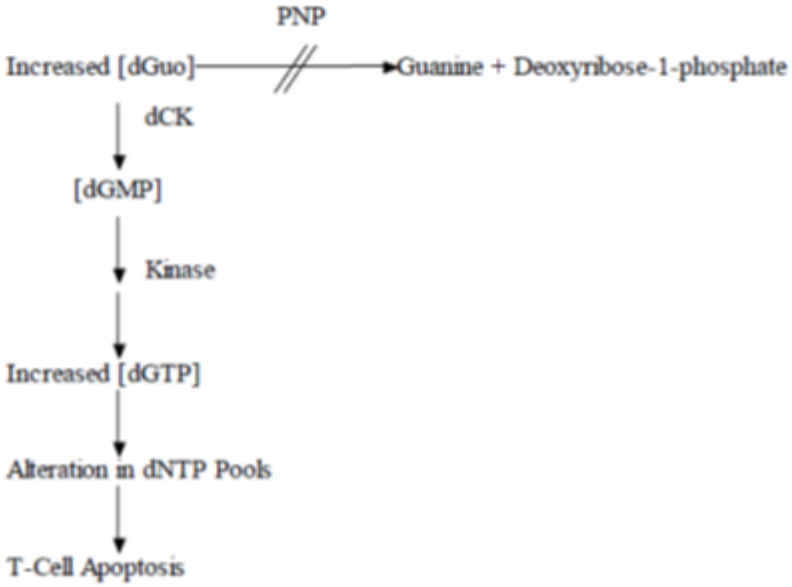
非臨床試験では、薬理学的、薬物動態（PK）学的及び毒性学的データを得るために *in vitro* 及び *in vivo* 試験を行った。なお、本項に示す各試験での投与量は特に記載のない限り、フォロデシン塩酸塩としての投与量を記載した。

効力を裏付ける試験では、主にフォロデシンの T 細胞増殖阻害作用を各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験系で検討した（本項 2.1 章）。安全性薬理試験では、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従い、フォロデシンの中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に対する影響を検討した。（本項 2.2 章）。

非臨床 PK 試験では、マウス、ラット及びサルでの経口又は静脈内投与後の吸収、分布、代謝及び排泄を検討した（本項 3.2、3.3、3.4 及び 3.5 章）。また、ラット、サル及びヒト肝ミクロソームを用いた代謝安定性試験を実施し（本項 3.4 章）、さらにヒト肝ミクロソーム又は肝細胞を用いた薬物動態学的薬物相互作用試験、Caco-2 細胞を用いた膜透過性及び阻害試験を実施した（本項 3.6 章）。

フォロデシン塩酸塩の開発は、当初静脈内投与で進められていたことから、初期の毒性試験は静脈内投与で実施され、経口剤での開発に伴い、経口投与で実施された。毒性試験として GLP 下でのマウス、ラット及びサルを用いた静脈内（1 日 1 回又は 1 日 2 回投与）及び経口投与（1 日 1 回投与）による反復投与毒性試験（本項 4.2 章）、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験（本項 4.5.2 章）、*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験（本項 4.3 章）を実施した。また、追加試験としてサルを用いた 1 日 2 回経口投与での最大耐量（MTD）試験及び 13 週間反復投与毒性試験並びにサルを用いたベンダムスチン及びリツキシマブとの併用投与毒性試験を実施した（本項 4.2.3.3 及び 4.7.5 章）。

図 2.4- 2　PNP 阻害による T 細胞増殖抑制機構



2　薬理試験

一連の *in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施して、フォロデシンの薬理学的特性について検討した。効力を裏付ける試験では、フォロデシンの赤血球由来 PNP に対する阻害作用並びにヒト T リンパ球、T-ALL 由来 CEM 細胞、非 T 細胞株、B-CLL 初代培養リンパ球及び非ヒトリンパ球に対するフォロデシンの細胞増殖阻害作用を評価した。また、ヒト末梢血リンパ球移植重症複合型免疫不全（hu-PBL-SCID）、2, 4-ジニトロフルオロベンゼン（DNFB）誘発接触性遅延型過敏症及び移植片対宿主（GVH）反応誘発性脾腫マウスモデルを用いて、フォロデシンの *in vivo* 作用を評価した。安全性薬理試験では、ラットの中枢神経系に対する作用、ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）のカリウム電流に対する作用、ラット及びサルでの心血管系に対する作用並びにラットの呼吸器系に対する作用について GLP 下で検討した。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。

2.1　効力を裏付ける試験

2.1.1　*In vitro* 試験

フォロデシンはヒト、マウス、ラット、イヌ及びサルの赤血球由来 PNP をいずれも 0.48～1.57 nmol/L の 50%阻害濃度（IC_{50}）で阻害した（試験番号 P98-1777-001；2.6.2.2.1.1 項）。フォロデシンは dGuo 存在下、インターロイキン（IL）-2 刺激、混合リンパ球反応（MLR）を用いた同種抗原刺激及びフィトヘマグルチニン（PHA）刺激による末梢血リンパ球（PBL）増殖を 0.05～0.39 µmol/L の IC_{50} 値で抑制した。またフォロデシンは dGuo 存在下、IL-2 刺激による PBL 細胞内の dGTP 濃度を増加させた（試験番号 P99-1777-001；2.6.2.2.2.1 項）。フォロデシン及び dGuo によ

る T 細胞性急性リンパ芽球性白血病（T-ALL）由来リンパ芽球様細胞株（CEM）の増殖抑制作用を検討した結果、フォロデシンは dGuo 存在下で CEM 細胞増殖を抑制し、その IC_{50} 値は 0.015 µmol/L であった。フォロデシン及び dGuo で併用処理した CEM 細胞では有意な dGTP（154 倍）及び 2'-デオキシアデノシン三リン酸（dATP）（8 倍）濃度の増加が認められた。これらのフォロデシンの dGuo 存在下での作用は、dGuo から dGMP への変換を阻害する 2'-デオキシシチジン（dCyt）により阻害された（試験番号 P99-1777-003；2.6.2.2.2.2 項）。乳腺腺がん、結腸腺がん、腎臓がん、前骨髄球性白血病、リンパ腫、黒色腫、前立腺腺がん、扁平上皮がん、肝臓がん及び B リンパ芽球様細胞株を含む非 T 細胞性ヒトがん細胞株に対するフォロデシンの増殖抑制作用を評価した結果、dGuo 存在下／非存在下にかかわらず、フォロデシンはいずれの非 T 細胞性がん細胞株に対しても増殖抑制作用を示さなかった（試験番号 P99-1777-002 及び 1009704；2.6.2.2.2.3 項）。フォロデシンは dGuo 存在下、B-CLL 初代培養リンパ球に対して有意な細胞障害作用を示すと共に、有意に細胞内 dGTP 濃度を増加させた（96 倍）（Alonso et al 2009；2.6.2.2.2.4 項）。一方、マウス及びラット脾細胞並びにイヌ及びサル PBL 細胞においては、フォロデシン及び dGuo 存在下で増殖は阻害されず（IC_{50} 値はいずれも>100 µmol/L）、dGTP の蓄積も認められなかった（試験番号 P99-1777-004；2.6.2.2.2.5 項）。

2.1.2　*In vivo* 試験

重篤な異種移植片対宿主病（x-GVHD）を発症する hu-PBL-SCID マウスモデルにおいて、フォロデシン塩酸塩（20 mg/kg/日、経口投与）は溶媒投与群と比較して有意に平均生存期間を延長した。また、同モデルにおけるフォロデシン塩酸塩（20 mg/kg/日、腹腔内投与）の効果は免疫抑制剤であるシクロスポリン（20 mg/kg/日、腹腔内投与）と同程度であり、フォロデシン塩酸塩及びシクロスポリンの併用投与でシクロスポリン単独投与と比較して、生存期間の延長傾向がみられた（試験番号 P98-1777-05；2.6.2.2.3.1 項）。一方、マウス T 細胞モデルである DNFB 誘発接触性遅延型過敏症（試験番号 P98-1777-003；2.6.2.2.3.2 項）及び GVH 反応誘発性脾腫モデル（試験番号 P98-1777-004；2.6.2.2.3.3 項）においては、フォロデシン塩酸塩はいずれも効果を示さなかった。

2.2　副次的薬理試験

該当する資料はない。

2.3　安全性薬理試験

フォロデシンの中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に対する影響を検討するため、安全性薬理コアバッテリー試験を実施した。

フォロデシン塩酸塩（10、30 及び 100 mg/kg、静脈内投与）の中枢神経系に対する影響を、ラットを用いた Irwin 法により評価した結果、用量依存的で一過性の軽度な皮膚潮紅が認められたが、10 及び 30 mg/kg 投与群では投与 360 分後までに、100 mg/kg 投与群では投与 24 時間後までに消失した（試験番号 FDS-SPHARM-002；2.6.2.4.1 項）。心血管系においては、フォロデシンは 300 µmol/L

まで hERG カリウム電流を阻害せず、IC_{50} 値は 3000 μmol/L を超えると推察された（試験番号 FDS-SPHARM-001；2.6.2.4.2.1 項）。また、フォロデシン塩酸塩の単回静脈内投与は、覚醒ラット（50 及び 150 mg/kg）及びサル（10、30 及び 90 mg/kg）を用いたテレメトリー法において動脈圧、心拍数、心電図（ECG）パラメーターに影響しなかった（試験番号 1440/BCX/01 及び FDS-SPHARM-004；2.6.2.4.2.2 項）。さらに、ラットを用いたフォロデシン塩酸塩（10、30 及び 100 mg/kg、静脈内投与）の呼吸器系への影響を、覚醒・非拘束下で全身プレチスモグラフィーにより評価した結果、フォロデシンによる呼吸器系に対する影響は認められなかった（試験番号 FDS-SPHARM-003；2.6.2.4.3 項）。

2.4　薬力学的薬物相互作用

該当する資料はない。

3　薬物動態

フォロデシン塩酸塩の PK は、マウス、ラット及びサルにおいて経口又は静脈内投与による単回投与試験及び反復投与毒性試験でのトキシコキネティクス（TK）試験で検討した。組織内分布についてはラットで単回静脈内投与により、血球移行性並びに排泄についてはラット及びサルで単回経口及び静脈内投与により評価した。血漿タンパク結合、並びに代謝についてはヒト生体試料を用いて検討した。また、経口及び静脈内投与後の血漿中代謝物をラット及びサルで検討した。さらに、ヒト肝ミクロソーム又は肝細胞を用いた薬物相互作用試験、ヒト結腸がん由来の細胞株（Caco-2 細胞）を用いた膜透過性及び阻害試験を実施した。

3.1　分析法

3.1.1　生体試料分析法

高速液体クロマトグラフィー・タンデムマススペクトロメトリー（LC/MS/MS）法を用いたラット、ウサギ及びサル血漿中フォロデシン濃度定量法を開発し、バリデーション試験を実施した（試験番号 VR-1777-RP-BTMBA017、VR-1777-RbP-BTMBA046、VR-1777-PP-BTMBA017 及び 8214580；2.6.4.2.1.1 項)。

定量範囲はラットで 10～1000 ng/mL、ウサギで 5～5000 ng/mL であった。サルでは 10～1000 ng/mL（試験番号 VR-1777-PP-BTMBA017）及び 25～50000 ng/mL（試験番号 8214580）であった。フォロデシンはラット及びサル血漿中で 1 年間、ウサギ血漿中で 17 ヵ月間安定であった（いずれも-80ºC 保存）。また、ウサギ及びサル血漿では凍結融解 3 回まで安定であった。ウサギ血漿中定量法を用いて実施した Incurred sample reanalysis（ISR）の結果は許容基準を満たしていた（試験番号 VR-1777-RbP-BTMBA046-KRS00003-ISR；2.6.4.2.1.1 項）。

また、LC/MS/MS 法を用いたラット、ウサギ及びサル血漿中 dGuo 濃度定量法を開発し、バリデーション試験を実施した（試験番号 VR-dGuo-RP-BTMBA016、VR-dGuo-RbP-BTMBA047 及び VR-dGuo-PP-BTMBA016；2.6.4.2.1.2 項）。

定量範囲はラット及びサルで 5～4000 ng/mL、ウサギで 5～2500 ng/mL であった。dGuo はラット及びサル血漿中で 1 年間、ウサギ血漿中で 16 ヵ月間安定であった（いずれも-80ºC 保存）。ウサギ血漿中定量法を用いて実施した ISR の結果は、許容基準を満たしていた（試験番号 VR-dGuo-RbP-BTMBA047-KRS00003-ISR；2.6.4.2.1.2 項）。

3.2　吸収

Caco-2 単層膜細胞を用いた *in vitro* 試験の結果から、フォロデシンの低い膜透過性が示唆された（試験番号 6425-128；2.6.4.3.1 項）。また、PK の評価は、非標識体を用いたマウスでの単回投与試験（試験番号 P98-1777-002；2.6.4.3.2.1 項）、標識体を用いたラット及びサルでの単回投与試験（試験番号 WIL-196049 及び WIL-196050；2.6.4.3.2.2 及び 2.6.4.3.2.4 項）並びに TK 試験（試験番号 WIL-196041 及び WIL-196042；2.6.4.3.3 項）で実施した。また、投与媒体及び食事の影響をラットで検討した（試験番号 P00-001-007；2.6.4.3.2.3 項）。さらに、サルでの投与媒体の検討及び絶対的バイオアベイラビリティ（F）の算出も行った（試験番号 P00-001-003；2.6.4.3.2.5 項）。

マウスにおける単回経口（1～100 mg/kg）及び単回静脈内投与（30 及び 100 mg/kg）後の血漿中フォロデシンの曝露は用量依存的に増加した。血漿中 dGuo は血漿中フォロデシンよりも遅れて最高濃度に達した。経口投与後の血漿中 dGuo 濃度は 30 mg/kg でプラトーに達した。マウスにおける 10 mg/kg 経口投与時の F は 63%であった（試験番号 P98-1777-002；2.6.4.3.2.1 項）。雌雄ラット（雌は非妊娠及び妊娠）及びサルにおける[^{14}C]-フォロデシン塩酸塩単回経口及び単回静脈内投与後の血漿中放射能濃度推移は二相性又は多相性の分布／消失を示した。ラット及びサルの PK パラメーターは各個体及び雌雄で類似していた。ラットでは妊娠の有無による PK パラメーターの差もみられなかった。ラット及びサルともに血漿中よりも血液中放射能の平均滞留時間（MRT）が長いことから、放射能が血漿中よりも血球中に長く存在することが示された。また、ラット及びサルでの血漿中放射能の分布容積（Vd）がそれぞれ 7000 g/kg 及び 45000 g/kg 超であることから、放射能の広範な組織への分布／結合が示唆された。投与媒体に生理食塩液及び水の混液を用いたときのラットの F は 4.7%～6.5%であった（試験番号 WIL-196049 及び WIL-196050；2.6.4.3.2.2 及び 2.6.4.3.2.4 項）。ラットでの F に対する投与媒体の検討では、投与媒体に乳酸加リンゲル液、1%w/w カルボキシメチルセルロース（CMC）及び自己乳化型システムを用いて検討を行った。検討した投与媒体の中では乳酸加リンゲル液で最も高い F が得られた（11.17%）。また、投与媒体に乳酸加リンゲル液を用いて食事の影響を検討したところ、絶食時の F は 2.42%であり、食事による F の上昇が示唆された（試験番号 P00-001-007；2.6.4.3.2.3 項）。サルでの投与媒体の検討では、投与媒体に乳酸加リンゲル液を用いたときの F が 12.97%、ラウリル硫酸ナトリウムを用いたときの F が 16.52%であった（試験番号 P00-001-003；2.6.4.3.2.5 項）。

ラット及びサルでの 6 ヵ月反復経口投与毒性試験で TK 及び薬力学（PD）評価を実施した。ラット及びサルともに血漿中フォロデシン及び血漿中 dGuo の最高血漿中濃度（C_{max}）並びに濃度－

時間曲線下面積（AUC）は用量依存的に増加したが、増加の割合は用量の増加比を下回っていた。性差は 2 倍未満で蓄積性もみられなかった（試験番号 WIL-196041 及び WIL-196042；2.6.4.3.3 項）。

3.3　分布

Sprague-Dawley（SD）及び Long-Evans（LE）ラットにおける[^{14}C]-フォロデシン塩酸塩静脈内投与後の放射能は、各組織でほぼ同様の濃度推移を示し、性差もみられなかった。最も高い放射能を示したのは投与 2 時間後の膀胱、次いで同じく投与 2 時間後の腎臓であり、フォロデシンの主要排泄経路が尿中であることと一致した。LE ラットでの各組織中放射能濃度推移は SD ラットと同様であった（試験番号 WIL-196049；2.6.4.4.1 項）。タンパク結合率はラット、イヌ、サル及びヒトで 0%～28%、1.1%～38%、0%～61%及び 0.2%～32%と低かった（試験番号 00-BIOC.P01R2；2.6.4.4.2 項）。SD ラットにおける[^{14}C]-フォロデシン塩酸塩経口投与後の血液／血漿中濃度比は投与 8 時間後まではほぼ 1 を示したが、72 時間後に 3.81～9.43 まで上昇した。また、サルにおける[^{14}C]-フォロデシン塩酸塩経口投与後の血液／血漿中濃度比は投与 4 時間後まで 1.3 以下であったが、投与 96 時間後までに約 4 に上昇し定常状態に達した。静脈内投与後の血液／血漿中濃度比も同様の上昇がみられたことから、放射能の血漿中からの消失が血液中よりも速いことが示唆された（試験番号 WIL-196049 及び WIL-196050；2.6.4.4.3 項）。

3.4　代謝

フォロデシン塩酸塩をラット、サル及びヒト肝ミクロソームに添加し、インキュベートしたところ、フォロデシンはこれら肝ミクロソーム中で安定であることが示された（試験番号 00-BIOC.P01R2；2.6.4.5.1.1 項）。また、ラット及びサルでの[^{14}C]-フォロデシン塩酸塩経口投与後の血漿試料を用いた代謝物同定では未変化体以外のピークは検出されなかった（試験番号 WIL-196049 及び WIL-196050；2.6.4.5.2 項）。

3.5　排泄

ラット及びサルにおける[^{14}C]-フォロデシン塩酸塩単回経口及び静脈内投与後の排泄試験を実施した。経口投与後の主要排泄経路は糞中であった。ラットでは投与 72 時間後までに雌雄で投与量の 86.4%及び 93.6%が糞中に排泄された。サルでは投与 168 時間後までに雌雄で投与量の 78.8%及び 82.5%が糞中に排泄された。静脈内投与後の主要排泄経路は尿中で、雌雄ラットでの尿中排泄率は投与量の 87.6%及び 84.3%、糞中排泄率は 2.49%及び 2.61%であった。また、雌雄サルでの尿中排泄率は雌雄で投与量の 23.9%及び 7.25%、糞中排泄率は 4.34%及び 4.47%であった（試験番号 WIL-196049 及び WIL-196050；2.6.4.6 項）。

3.6　薬物動態学的薬物相互作用

フォロデシンはシトクロム P450（CYP）阻害作用及び誘導作用を示さなかった（試験番号 6BIOCP18 及び 6BIOCP17R1；2.6.4.7.1 及び 2.6.4.7.2 項）。また、Caco-2 細胞を用いた検討ではフォロデシンは P-糖タンパク質（P-gp）の基質／阻害剤ではないことが示唆された（試験番号 6425-128 及び 00-BIOC.P01R2；2.6.4.3 及び 2.6.4.7.3 項）。

4　毒性試験

4.1　単回投与毒性試験

独立した試験は実施していない。しかし、ラット 6 ヵ月間及びサル 13 週間反復経口投与毒性試験において、それぞれ最高用量である 270 mg/kg/日（1 日 1 回）及び 1440 mg/kg/日（1 日 2 回）投与で投薬に関連した死亡は認められなかった。したがって、ラット及びサルにおける経口投与での概略の致死量はそれぞれ 270 mg/kg 及び 720 mg/kg を超えると考えられた。

4.2　反復投与毒性試験

フォロデシン塩酸塩の反復投与毒性は、1 日 1 回経口投与によるマウスでの 21 日間反復投与毒性試験、ラットでの 6 ヵ月間反復投与毒性試験及びサルでの 6 ヵ月間反復投与毒性試験、また、1 日 2 回経口投与によるサルでの 13 週間反復投与毒性試験で評価した。これらの試験に先立ち、ラットでの 14 日間及び 28 日間反復静脈内投与毒性試験、サルでの 14 日間及び 28 日間反復静脈内又は経口投与毒性試験並びにサルを用いた経口投与での用量漸増及び 7 日間投与試験（MTD 試験）を実施した。

4.2.1　マウスでの反復投与毒性試験

CD-1 マウスにフォロデシン塩酸塩 0（0.5%CMC）、5 及び 50 mg/kg/日を 1 日 1 回 21 日間経口投与し、毒性を検討した。対照群及び高用量群では、14 日間の休薬期間後の回復性を検討した（試験番号 806-010；2.6.6.3.1.1 項）。

投薬に関連した明らかな毒性は観察されず、無毒性量（NOAEL）は 50 mg/kg/日であった。

4.2.2　ラットでの反復投与毒性試験

4.2.2.1　28 日間反復静脈内投与試験

Wistar ラットにフォロデシン塩酸塩 0（乳酸加リンゲル液）、10、30 及び 100 mg/kg/日を約 12 時間間隔で 1 日 2 回 28 日間静脈内投与し、毒性を検討した。対照群及び高用量群では 21 日間の休薬期間後の回復性を検討した（試験番号 708D-101-530-03；2.6.6.3.2.2 項）。

投薬に関連した死亡はみられなかった。全投薬群の雄で総タンパク質及びグロブリン濃度の低値が、高用量群の雄でヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値がみられた。血清アスパラ

ギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）の高値及びコレステロールの低値が高用量群で認められた。剖検に投薬に関連した所見は観察されなかった。高用量群の雄で腎臓、肝臓、肺及び甲状腺／副甲状腺重量の増加が認められた。病理組織学的検査では、膵臓及び腎臓の間質での間質細胞浸潤及び肝臓のクッパー細胞突出が用量に依存して観察された。観察された所見はいずれも回復性を示した。NOAEL は 30 mg/kg/日と判断した。

4.2.2.2　　6 ヵ月間反復経口投与試験

SD ラットにフォロデシン塩酸塩 0（脱イオン水）、30、90 及び 270 mg/kg/日を 1 日 1 回 6 ヵ月間経口投与し、毒性を検討した。対照群及び高用量群では 28 日間の休薬期間後の回復性を検討した（試験番号 WIL-196041；2.6.6.3.2.3 項）。

30 mg/kg/日群以上で、胸腺のリンパ球壊死（雌）、骨髄細胞充実性亢進、脾臓重量高値を伴う脾臓のリンパ球過形成、腎臓（雌）及び尾部の炎症性変化、副腎重量高値を伴う副腎皮質過形成及び褐色色素沈着（雌）が認められ、NOAEL は 30 mg/kg/日未満であった。その他、90 mg/kg/日群以上で肝臓、肺及び耳介部の炎症性変化並びに肝臓のうっ血が、270 mg/kg/日では胸腺萎縮、心臓及び膵臓の炎症性変化並びに甲状腺の C 細胞過形成が観察され、これらに関連した臨床検査値及び臓器重量の変動が観察された。これらの所見は休薬期間後、回復又は部分的に回復した。TK 試験では、フォロデシン曝露量は投与量増加に伴い投与量比を下回る増加を示し、概して雄より雌で高値であったが、性差及び反復投与による蓄積性は 2 倍未満であった。30 mg/kg/日投与時の時間 0 から濃度定量可能最終時点までの濃度－時間曲線下面積（AUC_{last}）は雄で 3291 ng· h/mL、雌で 3498 ng· h/mL（試験第 179 日）であった。

4.2.3　サルでの反復投与毒性試験

4.2.3.1　　28 日間反復経口及び静脈内投与試験

カニクイザルに 1 日 1 回 28 日間、フォロデシン塩酸塩 0（乳酸加リンゲル液及び注射用滅菌水）、10、30 及び 90 mg/kg/日を静脈内投与又は 90 mg/kg/日を経口投与し、毒性を検討した。90 mg/kg/日の静脈内投与及び経口投与群では 2 週間の休薬期間後の回復性を検討した（試験番号 806-017；2.6.6.3.3.2 項）。

静脈内投与では、90 mg/kg/日群で軽度の臨床検査値変動及び重度の胸腺のリンパ球枯渇が胸腺重量減少と共に観察されたことから、NOAEL は 30 mg/kg/日と判断した。90 mg/kg/日の経口投与でも同様の所見を認めた。90 mg/kg/日経口投与後の F は約 6%であり、経口投与と比較して静脈内投与後の C_{max} は 100 倍以上高値であった。

4.2.3.2　　6 ヵ月間反復経口投与試験

カニクイザルにフォロデシン塩酸塩 0（脱イオン水）、13、39 及び 117 mg/kg/日を 1 日 1 回 6 ヵ月間経口投与し、毒性を検討した。対照群及び高用量群では、28 日間の休薬期間後の回復性を検討した（試験番号 WIL-196042；2.6.6.3.3.3 項）。

全投薬群で胸腺重量の低値、胸腺のリンパ球枯渇及び胸腺細胞のアポトーシス増加が認められ、39 mg/kg/日群以上の雌及び 117 mg/kg/日群の雄でリンパ球数の低値が観察されたが、これらの所見のほとんどは 28 日間の休薬により回復し、全ての所見はフォロデシン塩酸塩の薬理作用によるものであったことから、NOAEL は 117 mg/kg/日と判断した。フォロデシン曝露量は、投与量増加に伴い投与量比を下回る増加を示した。反復投与による蓄積性はなく、明らかな性差もなかった。NOAEL（117 mg/kg/日）での試験第 175 日の AUC_{last} は雌雄それぞれ 6964 及び 5457 ng· h/mL であった。

4.2.3.3　　13 週間反復経口投与試験（追加試験）

カニクイザルにフォロデシン塩酸塩を 0（精製水）、240、600 及び 1440 mg/kg/日の用量で、1 日 2 回 13 週間経口投与し、毒性を検討した。対照群及び高用量群では、4 週間の休薬期間後の回復性を検討した（試験番号 FDS-TOXICOL-002；2.6.6.3.3.5 項）。投与量は先に実施した MTD 試験（用量漸増及び 7 日間投与毒性試験、試験番号 FDS-TOXICOL-001；2.6.6.3.3.4 項）に基づいて設定した。

全投薬群でみられたリンパ球数減少は、カニクイザルを用いたこれまでの毒性試験の所見と一致しており、薬理作用に関連するものであり、毒性学的意義はないと考えられる。病理組織学的検査において、胸腺萎縮が全投薬群で認められた。高用量を投与した数例で、リンパ系組織でのリンパ過形成が認められた。リンパ過形成の意義は不明であったが、胸腺萎縮に対する二次的薬理作用の可能性が考えられた。休薬期間後の剖検に異常所見は観察されず、病理組織学的検査では部分的回復が認められた。TK 試験ではフォロデシンの全身曝露が確認され、曝露量（AUC 及び C_{max}）の増加は投与量比を下回った。フォロデシン曝露量は雄と比較して雌で高値であった。反復投与による蓄積性は認められなかった。したがって、投与に関連した所見はフォロデシン塩酸塩の想定される薬理作用に限定され、NOAEL は 1440 mg/kg/日と判断した。NOAEL におけるフォロデシンの試験第 90 日の時間 0 から 24 時間までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24h}$）は雌雄それぞれ 66178 及び 51493 ng· h/mL であった。

4.3　遺伝毒性試験

フォロデシン塩酸塩の遺伝毒性試験として、細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト PBL 及びチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた染色体異常試験、並びにラット骨髄小核試験を実施した。細菌を用いる復帰突然変異試験（試験番号 P00-001-004；2.6.6.4.1.1 項）では、フォロデシン塩酸塩 5000 µg/プレートの濃度まで代謝活性化の有無にかかわらず遺伝毒性を示さなかった。2500 µg/mL までの濃度で実施したヒト末梢リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験（試験番号 39/001；2.6.6.4.1.2 項）では、染色体異常誘発性を認めたが、本作用は、ヒトリンパ球におけるフォロデシンの選択的薬理作用、すなわち、アポトーシス誘導に関連するもので、遺伝性ではない（すなわち、致死的であり、娘細胞に遺伝しない）と考えられた。なお、CHO 細胞を用いた試験（試験番号 19046；2.6.6.4.1.2 項）では、5000 µg/mL までの濃度で、代謝活性化の有無にかかわらず染色体異常誘発性は認められなかった。*In vivo* ラット小核試験（試験番号 39/002；2.6.6.4.2.1

項）では、フォロデシン塩酸塩は、600 mg/kg/日までの 1 日 2 回 2 日間静脈内投与で小核を有する多染性赤血球（MPCE）の発現頻度上昇を認めなかった。以上の結果から、フォロデシンは遺伝毒性を示さないと考えられた。

4.4　がん原性試験

フォロデシン塩酸塩は重篤かつ生命を脅かすがんの患者の治療を目的としているため、がん原性試験は実施しなかった。

4.5　生殖発生毒性試験

4.5.1　受胎能及び初期胚発生試験

フォロデシン塩酸塩は重篤かつ生命を脅かすがんの患者の治療を目的としているため、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施しなかった。

4.5.2　胚・胎児発生に関する試験

フォロデシン塩酸塩の胚・胎児発生に関する試験を SD ラット及び New Zealand White ウサギを用いて実施した。各試験に先立ち、妊娠動物を用いた用量設定試験（ラット：試験番号 KRS00001；2.6.6.6.2.1 項、ウサギ：試験番号 KRS00003；2.6.6.6.2.3 項）を実施した。

4.5.2.1　ラット胚・胎児発生に関する試験

SD 妊娠ラットにフォロデシン塩酸塩を 0（注射用生理食塩液）、15、45 及び 120 mg/kg/日の用量で妊娠 7～17 日まで 1 日 1 回静脈内投与し、胚・胎児発生に関する試験を実施した（試験番号 KRS00002；2.6.6.6.2.2 項）。

投薬に関連した母動物死亡はみられなかった。全投薬群の母動物で、投与初日に一過性の鼻部の腫脹の有意な発現増加が観察され、45 mg/kg/日群以上の母動物で、一過性の耳介（両側又は片側）の腫脹が観察されたが、これらの作用はフォロデシン塩酸塩の薬理作用によると考えられる。45 mg/kg/日群以上で投与初期に一過性の体重増加抑制及び摂餌量低下が認められた。子宮内検査及び胎児パラメーターではいずれの群においても投薬の影響は認められなかった。120 mg/kg/日群で、尾椎及び後肢中足骨に対照群と比較して有意な骨化遅延が観察されたが、胎児の外観、内臓及び骨格に奇形や変異は観察されなかった。尾椎及び後肢の中足骨の骨化遅延は母動物毒性に関連すると推察される。

以上の結果から、母動物毒性の NOAEL は 15 mg/kg/日、胎児の発育に関する NOAEL は 45 mg/kg/日と判断した。本試験においてフォロデシンに催奇形性は認められなかった。

4.5.2.2　　ウサギ胚・胎児発生に関する試験

New Zealand White 妊娠ウサギに 0（注射用生理食塩液）、15、45 及び 120 mg/kg/日のフォロデシン塩酸塩を妊娠 7～19 日まで 1 日 1 回静脈内投与し、胚・胎児発生に関する試験を実施した（試験番号 KRS00004；2.6.6.6.2.4 項）。

投薬に関連した母動物死亡はみられなかった。120 mg/kg/日群で投与中の啼鳴並びに投与期間及び投与後の体重増加抑制及び摂餌量低下が認められた。子宮内検査及び胎児パラメーターでは投薬の影響はみられなかった。また、胎児の外観、内臓及び骨格検査でも、投薬に関連した所見（奇形及び変異）は認められなかったが、15 mg/kg/日群以上で可逆性の尾椎及び前肢中足骨及び前肢指節骨に骨化遅延が観察された。15 mg/kg/日群で認めた所見は前肢中足骨の骨化遅延のみであったことから、有害とはみなさなかった。

以上の結果から、母動物の NOAEL は 45 mg/kg/日、胎児の発育に関する NOAEL は 15 mg/kg/日と判断した。本試験においてフォロデシンに催奇形性は認められなかった。

4.5.3　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

フォロデシン塩酸塩は重篤かつ生命を脅かすがんの患者の治療を目的としているため、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。

4.6　幼若動物における試験

フォロデシン塩酸塩を用いた幼若動物における試験は実施しなかった。

4.7　その他の毒性試験

4.7.1　免疫毒性試験

フォロデシン塩酸塩の免疫毒性を検討する独立した試験は、実施しなかった。サルでの反復投与毒性試験では、免疫系に関連する所見として胸腺委縮及びリンパ球数の減少を認めた（本項 4.2.3 章）が、これらの作用はフォロデシンの薬理作用によるもので、免疫毒性を示唆するものではないと考えられる。

4.7.2　代謝物の毒性試験

ラット、サル及びヒト肝ミクロソームを用いた代謝安定性試験では、フォロデシンはこれら肝ミクロソーム中で安定であることが示された。また、フォロデシン塩酸塩経口投与後のラット及びサルの血漿試料では未変化体以外のピークは検出されなかった（本項 3.4 章）。したがって、代謝物に関する毒性試験は実施していない。

4.7.3　不純物及び分解生成物の評価

不純物に関する毒性試験は実施していない。

4.7.4　光安全性に関する評価

光安全性に関する非臨床試験は実施していない。

フォロデシン塩酸塩の波長 290～700 nm での光吸収性を検討した結果、290 nm にピーク［モル吸光係数（MEC）：91.0 L· mol^{-1}· cm^{-1}］を認めたのみであった［4］。医薬品の光安全性評価ガイドライン[薬食審査発 0521 第 1 号]に従うと 290～700 nm の波長において MEC が 1000 L· mol^{-1}· cm^{-1} を上回らない化合物は直接的光毒性を引き起こすほどの光反応性がないと考えられる。また、フォロデシン塩酸塩は、SD（白色）及び LE（有色）ラットの組織内分布に差を認めず（本項 3.3 章）、薬理学的及び毒性学的プロファイルにおいても光毒性を誘発する所見は認められていない。以上の結果から、フォロデシン塩酸塩に光毒性の懸念はないと判断される。

4.7.5　フォロデシンのベンダムスチン及びリツキシマブとの併用投与試験

その他の毒性試験として、サルを用いて、フォロデシンを臨床で併用の可能性があるベンダムスチン及びリツキシマブと併用投与したときの機能的影響及び毒性を検討した。フォロデシン塩酸塩を 120 mg/kg の用量で 1 日 1 回 31 日間経口投与した。リツキシマブは、試験第 1 及び 29 日にそれぞれ 31.25 及び 41.66 mg/kg の用量で、ベンダムスチン塩酸塩は試験第 1、2、29 及び 30 日に 5.83 mg/kg の用量で、いずれも静脈内投与した。その結果、フォロデシン／リツキシマブ又はフォロデシン／リツキシマブ／ベンダムスチン併用投与の忍容性は良好であり、毒性学的に意義ある所見を認めなかった（試験番号 FDS-TOXICOL-004；2.6.6.8.1 項）

4.8　全身曝露

ラット 6 ヵ月間（本項 4.2.2.2 章）、サル 6 ヵ月間（本項 4.2.3.2 章）及びサル 13 週間（本項 4.2.3.3 章）反復経口投与試験並びに海外第 1 相試験（BCX-1777-116 試験；2.7.2.2.4 項）で得られた PK パラメーターを表 2.4- 1 に要約する。

ラット 6 ヵ月間投与毒性試験の NOAEL は最低用量である 30 mg/kg/日未満であった。このときの曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）は、ヒトにおける推奨臨床用量（300 mg の 1 日 2 回投与；体重 60 kg としたとき、10 mg/kg/日）の 1/3 程度であった。一方、サルでは 6 ヵ月間投与毒性試験及び追加試験として実施した 13 週間投与毒性試験のいずれにおいても最高用量でも毒性所見はなく、NOAEL はそれぞれ 117 mg/kg/日及び 1440 mg/kg/日であった。このとき、各 NOAEL での $AUC_{0\text{-}24h}$ はヒトのそれぞれ、約 1/2 及び 5 倍であった。

以上の結果から、フォロデシン塩酸塩の安全域（NOAEL での曝露量と臨床用量での曝露量比）は、ラットでは 1 以下であったが、サルでは 1 以上の値が得られるものと考えられた。

表 2.4- 1　フォロデシン塩酸塩のラット及びサル反復経口投与試験並びに臨床試験における PK パラメーターの比較

PK Parameters	Rat (WIL-196041)		Monkey (WIL-196042)		Monkey (FDS-TOXICOL-002)		Human (BCX-1777-116)
	Day179		Day175		Day90		Day7
Dose [mg/kg/day]	30[a]		117[b]		1440[b] (720 mg/kg, bid)		10[c] (300 mg, bid)
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male/Female
C_{max} [ng/mL]	439	608	565	623	3483	5041	687
$AUC_{0\text{-}24h}$ [ng·h/mL]	3291	3498	5457	6964	51493	66178	11250

PK parameters in rats were calculated from the mean plasma concentration data, while those in monkey and human were represented as arithmetic and geometric means calculated from the individual plasma concentration, respectively.

bid: Twice a day

a　The selected dose represent the low dose in this study (the NOAEL could not be determined).

b　The selected doses represent the NOAEL in these studies.

c　The selected dose represents the clinical intended dose (as free base). Study conducted in healthy subjects.

5　考察及び結論

本概括評価に示したように、非臨床 *in vitro* 及び *in vivo* 試験で得られた成績から、PTCL の治療薬としてフォロデシン塩酸塩を開発する薬理学的根拠は科学的に妥当であると考えられた。また、フォロデシン塩酸塩の PK 及び毒性学的プロファイルは、複数の動物種でその特性が確認され、PTCL 患者に対する投与を支持するものと考えられた。本概括評価に示した総括的な非臨床プログラムは、以下の点で本剤の有効性及び安全性を十分に支持するものと考えられる。

フォロデシンはヒト、マウス、ラット、イヌ及びサルの PNP 活性を強力に阻害し、その IC_{50} 値は 0.48～1.57 nmol/L であった。フォロデシンは比較的 T 細胞に選択的な刺激である IL-2、PHA、及び MLR によるヒト PBL 増殖を 0.05～0.39 μmol/L の IC_{50} 値で抑制した。他の PNP 阻害剤（BCX-34 及び PD141955）［5、6］と比較して、フォロデシンは 10～100 倍強力にヒトリンパ球の増殖を阻害することが示された。フォロデシンはヒト PBL 増殖抑制作用を示すとともに、細胞内 dGTP 濃度を上昇させ、フォロデシン及び dGuo 存在下で培養したヒト PBL では dGTP の蓄積が認められた。以上より、フォロデシンは T 細胞増殖阻害に必要な dGuo 濃度の上昇をもたらす PNP 阻害作用を有していることが示唆された。

SCID マウスにヒト PBL を移植した hu-PBL-SCID マウスで発症する x-GVHD には、移植したヒト T 細胞がエフェクターとして関与していると考えられる。同モデルにおいてフォロデシンは溶媒と比較して平均生存期間を 2 倍に延長したことから、フォロデシンは SCID マウスにおけるヒト PBL の増殖を抑制することが示唆された。一方、フォロデシンは DNFB 誘発接触性遅延型過敏症や GVH 反応誘発性脾腫マウスモデルなどのマウス T 細胞モデルで効果を示さなかった。これは、フォロデシンがマウス脾細胞増殖を抑制しなかった結果と一致する。なぜマウスでは PNP 活性阻害による dGTP 蓄積がないのか、その生化学的メカニズムは不明であるが、成熟したマウス T 細胞は、ヒト T 細胞と異なり、キナーゼ活性が低い及び／又はヌクレオチダーゼ活性が高いのかもしれない。また、フォロデシンはラット脾細胞、イヌ及びサルの PBL 細胞に対して増殖阻害作用を示さず、dGTP の蓄積も認められなかったが、これはマウスと同様の要因によるものかもしれない。

一連の非臨床安全性薬理試験において、フォロデシンによる中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に対する臨床的に意義のある影響はいずれも認められなかった。

マウス、ラット及びサルにフォロデシン塩酸塩を経口投与後の F は、それぞれ 63%、10.07%及び 8.22%であり種差がみられた。ラットでの食事の影響の検討では、絶食下よりも摂食下で高い F が得られた。なお、ヒトにフォロデシン塩酸塩（フリー体として 300 mg）を絶食下及び摂食下で経口投与後の F は 19.5%及び 23.2%であり、食事によりやや高い結果が得られている（2.7.1.2.1 項）。一般的に F の低い要因として、低膜透過性、低溶解度、消化管及び／又は肝臓での初回通過効果などが考えられる。Caco-2 単層膜細胞を用いた試験からはフォロデシンの低い膜透過性が示唆された。消化管での初回通過効果の要因としては P-gp／CYP3A4 の関与が考えられるが、Caco-2 単層膜細胞を用いた *in vitro* 試験の結果から、フォロデシンが P-gp の基質である可能性は低く、肝ミクロソームを用いた代謝安定性試験の結果から、フォロデシン塩酸塩が消化管及び肝臓で CYP3A4 を介した初回通過効果を受ける可能性は低いと考えられる。本剤の消化管での溶解性に

ついては不明であるが、フォロデシン塩酸塩の F が低い主な要因はその低い膜透過性にあると考えられる。

ラット及びサルにフォロデシン塩酸塩を反復経口投与後のフォロデシンの曝露量は用量依存的に上昇したが、その上昇率は用量増加比を下回っていた。ラットでは雌で雄より曝露が高かったが、その割合は 2 倍未満であった。また、ラット及びサルともに反復投与による蓄積性はみられなかった（2 倍未満）。マウス、ラット及びサルでの単回経口及び静脈内投与後の血漿中 dGuo 濃度は血漿中フォロデシンよりも遅れて C_{max} に達した。マウスでの単回投与後の血漿中フォロデシンは用量比を下回っているが用量依存的に上昇するのに対し、血漿中 dGuo はある一定の投与量でプラトーに達した。ラット及びサルでの反復経口投与後の血漿中 dGuo にも性差及び蓄積性はみられなかった（2 倍未満）。ラット及びサルでの[^{14}C]-フォロデシン塩酸塩静脈内投与後の組織内分布試験から，放射能の広範な組織への分布／結合が示された。ラットにおける[^{14}C]-フォロデシン塩酸塩単回静脈内投与で、最も高い放射能濃度を示したのは投与 2 時間後の膀胱、次いで同じく投与 2 時間後の腎臓であった。これはラット及びサルでの[^{14}C]-フォロデシン塩酸塩静脈内投与後の主要排泄経路が尿中（ラット : 84.3～87.6%、サル : 7.25～23.9%）であることと一致していた。また、血液中放射能の MRT が血漿中よりも長いことから、放射能が血漿中よりも血球中に長く存在することが示された。

ラット及びサルに[^{14}C]-フォロデシン塩酸塩単回経口投与後の尿及び糞中排泄率に種差はみられなかった（糞中：ラット 86.4%～93.6%、サル 78.8%～82.5%、尿中：ラット 6.61%～7.45%、サル 6.5%～7.5%）。

ラット、サル及びヒト肝ミクロソームを用いたフォロデシンの代謝安定性試験では、フォロデシンが各種ミクロソーム中で安定であることが示された。また、ラット及びサルでの[^{14}C]-フォロデシン塩酸塩単回経口及び静脈内投与後の血漿中には未変化体のみが検出されたことから、フォロデシンは肝で CYP を介した代謝を受けないと考えられた。ヒト肝ミクロソーム，ヒト肝細胞及び Caco-2 細胞を用いた *in vitro* 試験から、フォロデシンは検討した CYP 分子種及び P-gp との間で臨床上重要となる薬物動態学的薬物相互作用を起こさないと考えられた。

フォロデシン塩酸塩のラット、マウス及びサルを用いた種々の反復投与毒性試験では、主に高用量群で赤血球パラメーターの変動がみられたが、その程度は軽微で回復性を認めた。本所見はフォロデシンの薬理作用に基づく赤血球 PNP 阻害による二次的な赤血球代謝回転の亢進によるもので、毒性を意味するものではないと考えられた。Wistar ラット 28 日間静脈内投与試験では、可逆性の膵臓及び腎臓の間質組織の細胞浸潤及び肝臓のクッパー細胞突出が用量依存的にみられ、高用量群雄では可逆性の腎臓、肝臓、肺及び甲状腺／副甲状腺重量の増加がみられた。SD ラット 6 ヵ月間反復経口投与試験では、胸腺のリンパ球壊死、脾臓の重量増加を伴うリンパ球過形成、骨髄細胞充実性亢進、耳介、心臓、腎臓、肝臓、肺、膵臓、尾部の炎症性変化、及び副腎皮質の褐色色素を伴う過形成がみられた。これらの所見は休薬期間後、回復又は部分的に回復した。カニクイザルを用いた 28 日間反復経口及び静脈内投与試験、6 ヵ月間反復経口投与試験並びに 13 週間反復経口投与試験（追加試験）において、胸腺の小型化及び胸腺重量低下が認められ、関連した病理組織学的所見としてリンパ球減少が認められた。胸腺への影響はフォロデシンの薬理作用、すなわち、T 細胞リンパ球のアポトーシスに関連することから、毒性変化ではないと考えら

れた。フォロデシンの薬理作用にはリンパ球のアポトーシス誘導が関与することから、種々のラット毒性試験でみられた炎症性変化は、単核球／マクロファージの遊走により遊離したサイトカイン及び免疫機能の低下に伴う非特異的な影響であると考えられる。サルを用いた毒性試験では、炎症性変化は認められなかった。

フォロデシン塩酸塩の一連の標準的 *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験ではヒトリンパ球を用いた染色体異常試験で染色体異常誘発性を認めたが、本所見はヒトリンパ球におけるフォロデシンの選択的薬理作用、すなわち、アポトーシス誘導に関連するものであり、遺伝性ではない（すなわち、致死的であり、娘細胞に遺伝しない）と考えられた。CHO 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験及びラット骨髄小核試験で染色体異常誘発性が観察されなかったことから、総合的に判断して、フォロデシンに遺伝毒性はないと判断した。

ラット及びウサギ胚・胎児発生試験では、催奇形性作用は認められず、子宮内検査及び胎児パラメーターに投薬の影響は認められなかった。ラット及びウサギにおいて、骨化遅延が観察されたが、母動物毒性のみられる用量に限られた。

サルを用いたフォロデシン／リツキシマブ又はフォロデシン／リツキシマブ／ベンダムスチン併用投与試験では、忍容性は良好であり、フォロデシンの追加併用投与による毒性学的に意義ある所見を認めなかった。

一連の非臨床試験によりフォロデシン塩酸塩の特性は十分に解析され、得られた結果は PTCL を対象とした臨床開発・製造販売承認をサポートするものである。

6　参考文献

1　Miles RW, Tyler PC, Furneaux RH, Bagdassarian CK, Schramm VL. One-third-the-sites transition-state inhibitors for purine nucleoside phosphorylase. Biochemistry 1998; 37:8615–8621. (4.3.6)

2　Bantia S, Miller PJ, Parker CD, Ananth SL, Horn LL, et al. Purine nucleoside phosphorylase inhibitor BCX-1777 (Immucillin-H)-a novel potent and orally active immunosuppresive agent. Int Immunopharmacol 2001; 1:1199–1210. (4.3.2)

3　Markert ML. Purine nucleoside phosphorylase deficiency. Immunodef Rev 1991; 3:45–81.(4.3.7)

4　Memorandum: Molar Extinction Coefficient of Forodesine 6Hydrochloride (4.3.14)

5　Wilburn DJ, Dong MK, Gilbertsen RB. PD 141955 and CI-972: 9-deazaguanine analog purine nucleoside phosphorylase inhibitors: I. Suppression of the human mixed lymphocyte reaction (MLR). Agents Actions 1993; 39:C96–98 (special conference issue). (4.3.13)

6　Conry RM, Bantia S, Turner HS, Barlow DL, Allen KO, et al. Effects of a novel purine nucleoside phosphorylase inhibitor, BCX-34, on activation and proliferation of normal human lymphoid cells. Immunopharmacology 1998; 40:1–9.(4.3.4)