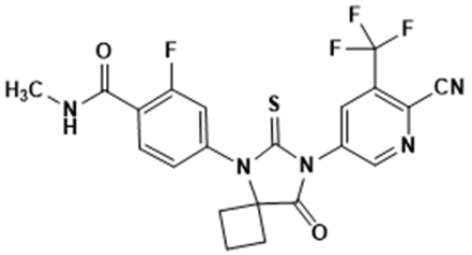
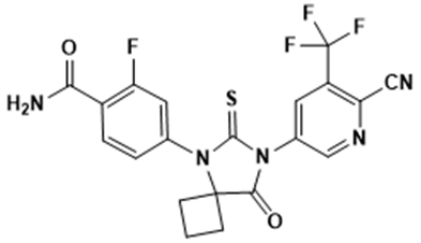
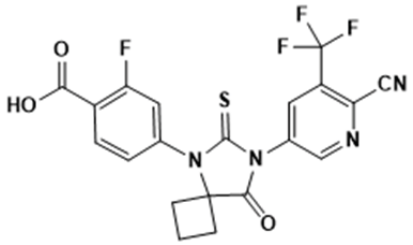
目次

2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.1.1 薬理試験 4
2.4.1.2 薬物動態試験 4
2.4.1.3 毒性試験 6
2.4.2 薬理試験 8
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 8
2.4.2.2 副次的及び安全性薬理試験 9
2.4.2.3 薬力学的薬物相互作用試験 11
2.4.3 薬物動態試験 12
2.4.3.1 分析法 12
2.4.3.2 吸収 12
2.4.3.3 組織分布 14
2.4.3.4 血漿タンパク結合及び血球移行 14
2.4.3.5 代謝 15
2.4.3.6 排泄 16
2.4.3.7 薬物動態学的薬物相互作用の可能性 17
2.4.3.8 毒性試験における動物の曝露量とヒト曝露量の比較 19
2.4.4 毒性試験 20
2.4.4.1 単回及び反復投与毒性試験 20
2.4.4.2 遺伝毒性 30
2.4.4.3 光毒性 30
2.4.4.4 不純物の安全性評価 31
2.4.4.5 毒性評価 32
2.4.5 総括及び結論 34
2.4.6 参考文献 35

略号一覧表

略号又は略称	化学名又は一般名	構造式	由来
アパルタミド（JNJ-56021927, ARN-509）	4-{7-[6-Cyano-5-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl]-8-oxo-6-thioxo-5,7-diazaspiro[3.4]octan-5-yl}-2-fluoro-*N*-methylbenzamide		主薬
JNJ-56142060（ARN000308, ARN-308）	*N*-脱メチル体（M3）		代謝物
JNJ-56142021（ARN000066, ARN-66）	アミド加水分解体（カルボン酸）（M4）		代謝物

略号又は略称	名称及び内容
ACTH	副腎皮質刺激ホルモン（adrenocorticotropic hormone）
ALP	アルカリホスファターゼ（alkaline phosphatase）
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ（alanine aminotransferase）
AR	アンドロゲン受容体［androgen receptor(s)］
ARKO	アンドロゲン受容体ノックアウト（androgen receptor knockout）
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve）
$AUC_{0\text{-}24h}$	0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve from time zero to 24 hours）
AUC_{last}	0 時間から最終定量可能時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve from time zero to the last quantifiable time）
BCRP	乳癌耐性タンパク質（breast cancer resistance protein）
BNPP	ビスニトロフェニルリン酸（bis-nitrophenyl phosphate）
Caco-2	human colon adenocarcinoma-2
CBG	コルチコステロイド結合グロブリン（corticosteroid binding globurin）
C_{max}	最高血漿中濃度（maximum plasma concentration）
CNS	中枢神経系（central nervous system）
CRPC	去勢抵抗性前立腺癌（castration-resistant prostate cancer）
CYP	チトクローム P450（cytochrome P450）
DDI	薬物相互作用（drug-drug interaction）

略号又は略称	名称及び内容
ECG	心電図（electrocardiography）
FOB	機能観察総合評価法（functional observational battery）
GABA	γ-アミノ酪酸（γ-aminobutyric acid）
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）
hERG	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子 （human ether-à-go-go-related gene）
HPA	視床下部－下垂体－副腎（hypothalamic-pituitary-adrenal）
HR	ホルモン受容体［hormone receptor(s)］
[I]	阻害薬の濃度（inhibitor concentration）
IC_{50}	50%阻害濃度（half-maximal inhibitory concentration）
ICH	医薬品規制調和国際会議（International counsil for harmonisation）
LH	黄体形成ホルモン（luteinizing hormone）
LLC-PK	Lilly Laboratories cell-porcine kidney
LNCaP	リンパ節由来前立腺癌（lymph node-derived carcinoma of the prostate）
LNCaP/AR(cs)	AR（コドンスイッチ置換）を遺伝子導入した LNCaP 細胞 ［LNCaP cells transfected with androgen receptor (codon switch)］
LNCaP/AR-Luc	ルシフェラーゼ遺伝子を導入した LNCaP/AR 細胞 （LNCaP/AR cells with integrated androgen receptor-driven luciferase reporter construct）
MATE	多剤・毒性化合物排出タンパク質（multidrug and toxin extrusion protein）
MDCKII	Madin-Darby canine kidney strain II
MDR	多剤耐性タンパク質（multidrug-resistance protein）
MTD	最大耐量（maximum tolerated dose）
NOAEL	無毒性量（no-observed-adverse-effect level）
OAT	有機アニオントランスポーター（organic anion transporter）
OATP	有機アニオン輸送ポリペプチド（organic anion-transporting polypeptide）
OCT	有機カチオントランスポーター（organic cation transporter）
PBPK	生理学的薬物速度論（physiologically-based pharmacokinetics）
P-gp	P-糖タンパク質（P-glycoprotein）
QTc	補正 QT（corrected QT）
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィー（quantitative whole-body autoradiography）
TK	トキシコキネティクス（toxicokinetics）
VitE-TPGS	水溶性ビタミン E（D-α-トコフェロール・ポリエチレングリコール・コハク酸エステル） ［water-soluble vitamin E (D-α-tocopherol polyethylene glycol succinate conjugate)］

2.4.1 非臨床試験計画概略

本項ではアパルタミド（JNJ-56021927，ARN-509）の非臨床試験における主要な評価結果について記載した。アパルタミドは経口投与可能な選択的アンドロゲン受容体（AR）阻害薬であり，前立腺癌の治療を目的として開発された。

抗悪性腫瘍薬であるアパルタミドの開発にあたっては，医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」に従って非臨床試験を計画した。なお，毒性試験では，ICH S9 ガイドラインの要件に加え，非臨床安全性パッケージを拡大して，長期投与による反復投与毒性試験及び雄受胎能試験を実施した。実験動物種及びヒトにおける *in vitro* 及び *in vivo* 代謝プロファイルの類似性に基づき，ラット及びイヌを非臨床安全性薬理及び反復投与毒性の評価に用いる動物種として選択した。成熟雄動物の生殖器における明確なアンドロゲン依存性の薬理学的／毒性学的作用からも，薬力学的及び安全性評価のための動物種選択の適切性が裏付けられた。

2.4.1.1 薬理試験

効力を裏付ける試験

In vitro 試験において，アパルタミドの AR リガンド結合部位に対する結合親和性及び核内ホルモン受容体（HR）との結合選択性，並びに AR の核内移行，AR 標的遺伝子のエンハンサー領域への AR 結合，AR 依存性遺伝子の転写活性化に対するアパルタミドの阻害作用を検討した。*In vivo* 試験において，ルシフェラーゼレポーターモデルでの AR 依存性遺伝子転写に対するアパルタミドの阻害作用を検討し，AR を高発現させたリンパ節由来前立腺癌細胞［LNCaP/AR(cs)］異種移植マウスモデルでのアパルタミドの抗腫瘍効果を検討した。また，ヒト血漿中主代謝物である JNJ-56142060（M3）並びに他の代謝物である M1，JNJ-56142047（M2）及び JNJ-56142021（M4）の AR への結合を検討した。効力を裏付ける試験は薬理の概要表【2.6.3.1】にまとめた。

副次的及び安全性薬理試験

副次的薬理試験では，種々の受容体，イオンチャネル及びトランスポーターに対するアパルタミドの阻害作用を *in vitro* で検討した。アパルタミドに加えて，ヒト主要代謝物 M3，並びにその他の代謝物 M1，M2 及び M4 についても，γ-アミノ酪酸（GABA）開口性クロライドチャネルを含む GABA 受容体に対する作用を検討した。アパルタミド及び代謝物 M3 の主な器官系に及ぼす影響を，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を遵守した *in vitro*（心血管系）及び *in vivo*［中枢神経系（CNS），心血管系及び呼吸系）］の安全性薬理試験で検討した。

2.4.1.2 薬物動態試験

アパルタミドの *in vitro* 透過性は，human colon adenocarcinoma-2（Caco-2）細胞，多剤耐性タンパク質（MDR）1 を発現させた Lilly Laboratories cell-porcine kidney（LLC-PK）1 細胞及び乳癌耐性タンパク質（BCRP）を発現させた Madin-Darby canine kidney strain II（MDCKII）細胞の単層膜を用いて検討した。アパルタミドの単回投与後の薬物動態は，マウス，ラット及びイヌに経口又

は静脈内投与することにより評価した。アパルタミドの単回及び反復投与後のトキシコキネティクス（TK）解析は，マウス，ラット及びイヌを用いた毒性試験で実施された。これらの試験を実施するにあたり，血漿中のアパルタミド並びにその代謝物である M3 及び M4 を定量するための液体クロマトグラフィー－タンデム質量分析（LC-MS/MS）法が開発され，ラット及びイヌの GLP 試験に適用するために分析法バリデーションが行われた。

患者にアパルタミドを臨床推奨用法・用量（240 mg/日を経口投与）で投与したときの定常状態の曝露量から判断すると，活性代謝物 M3 は未変化体とほぼ同程度の曝露量で存在した。したがって，M3 の血漿タンパク結合，代謝酵素，薬物相互作用（DDI）の可能性及び毒性試験における曝露量範囲についてもアパルタミドと同様に評価した。

^{14}C-アパルタミドを用いて，アパルタミドの分布，代謝及び排泄を評価した。定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）による組織分布は，Sprague-Dawley（白色）及び Lister Hooded（有色）ラットに ^{14}C-アパルタミドを投与して評価した。マウス，ラット，イヌ及びヒトにおけるアパルタミド及び M3 の血漿タンパク結合は *in vitro* で評価した。アパルタミドの *in vitro* 代謝は，ラット，イヌ及びヒトの肝 S9 画分及びミクロソームを用いて比較し，*in vivo* 代謝は，無処置及び胆管カニュレーションしたラット並びに無処置のイヌに ^{14}C-アパルタミドを単回経口投与して評価した。動物と比較可能なヒトの代謝に関するデータは，ヒト健康被験者に ^{14}C-アパルタミドを単回経口投与した試験から得られた。ヒト血漿中代謝物の存在量は，健康被験者にアパルタミドを単回投与したとき並びに患者に単回及び反復投与したときの血漿試料を用いて評価した。患者にアパルタミドを臨床推奨用法・用量で投与したときの定常状態の血漿中アパルタミド及び主要活性代謝物 M3 の曝露量を，マウス，ラット及びイヌの反復投与毒性試験の血漿試料中の曝露量と比較した。なお，M3 の曝露量は，ラット及びイヌにおける 13 週間，ラットにおける 26 週間並びにイヌにおける 39 週間反復投与毒性試験から得られた。

アパルタミド及び M3 の代謝に関与するチトクローム P450（CYP）分子種の同定は，CYP 及びエステラーゼの特異的阻害薬の存在下において，ヒト肝細胞を用いて *in vitro* で評価した。

CYP 分子種に対するアパルタミド及び M3 の阻害作用は，ヒト肝ミクロソームを用いて *in vitro* で評価した。CYP 分子種に対するアパルタミド及び M3 の誘導作用は，ヒト肝細胞を用いて評価した。アパルタミド及び M3 が排出トランスポーターである MDR1［P-糖タンパク質（P-gp）］及び BCRP，並びに取り込みトランスポーターである有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1 及び OATP1B3 の基質となるかについては，トランスポーター発現細胞株を用いて *in vitro* で評価した。同様に，取り込みトランスポーターである OATP1B1，OATP1B3，有機カチオントランスポーター（OCT）2，有機アニオントランスポーター（OAT）1 及び OAT3，並びに排出トランスポーターである MDR1（P-gp），BCRP，多剤・毒性化合物排出タンパク質（MATE）-1 及び MATE-2K に対する阻害作用を，トランスポーター発現細胞株を用いて *in vitro* で評価した。

すべての非臨床薬物動態試験は，それぞれの試験施設の適用可能な標準操作手順書に従って実施した。アパルタミド及び M3 の薬物動態試験の一覧を，薬物動態試験概要表【2.6.5.1 参照】に示す。

2.4.1.3　毒性試験

アパルタミドの経口投与による単回及び反復投与毒性を検討するために非臨床毒性試験を実施した。独立した単回投与試験は実施していないが，急性毒性については，単回投与による雄ラットを用いた小核試験，雌雄イヌを用いた心血管テレメトリー試験，雌雄イヌを用いた反復投与毒性試験における初回投与，並びに単回投与による雌雄マウス，雌ラット及び雌イヌを用いた忍容性試験の成績に基づき評価した。反復投与毒性試験として，雄ラットを用いた最長 26 週間及び雄イヌを用いた最長 39 週間反復投与毒性試験を実施し，無毒性量（NOAEL）及び最大耐量（MTD）を求め，標的器官を特定した。同時にアパルタミド及びヒト主要代謝物 M3 の TK 評価を行った。雄ラットの 26 週間及び雄イヌの 39 週間反復投与毒性試験の NOAEL 及び MTD におけるアパルタミドと M3 の曝露量（C_{max} 及び AUC）を算出し，海外臨床試験（56021927PCR1019 試験）及び国内臨床試験（56021927PCR1008 試験）におけるアパルタミド及び M3 の曝露量と比較した（表 2.4.1-1 及び表 2.4.1-2）。アパルタミドに関連した毒性の回復性を評価するために，雄ラット 13 週間反復投与毒性試験では 30 日間，雄イヌ 13 週間反復投与毒性試験では 60 日間の休薬期間を設定した。

雄ラットを用いた 4 週間投与による受胎能試験（8 週間回復性試験を含む）を実施した。経口投与による局所刺激性をラット及びイヌを用いた一般毒性試験の一部として評価した。将来的な，がん原性試験の実施に備えて，マウスを用いて用量設定試験を実施した。また，現時点で予定されている適応症は前立腺癌であるが，適応拡大の可能性を考慮し，雌動物を用いた毒性試験も実施した。

表 2.4.1-1 去勢抵抗性前立腺癌男性患者にアパルタミドの 240 mg/日の用量を投与した時の定常状態でのアパルタミド及び代謝物 M3 の平均薬物動態パラメータ（海外臨床試験）

	Apalutamide		Metabolite JNJ-56142060 (M3)	
Clinical Dose	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)
240 mg/day	5.95	100	5.85	124

Phase 1b QT/QTc Study, 240 mg/day, Cycle 3, Day 1, N=43 (56021927PCR1019)

表 2.4.1-2 去勢抵抗性前立腺癌男性患者にアパルタミドの 240 mg/日の用量を投与した時の定常状態でのアパルタミド及び代謝物 M3 の平均薬物動態パラメータ（国内臨床試験）

	Apalutamide		Metabolite JNJ-56142060 (M3)	
Clinical Dose	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)
240 mg/day	7.57	122	7.11	150

Open-label, multicenter, Phase 1 study, 240 mg/day, Cycle1, Day 22, N=6 (56021927PCR1008)

アパルタミド及びヒトの主要な活性代謝物 M3 の変異原性を評価した。ヒト血漿中の微量代謝物 M4 については，米国食品医薬品局（FDA）との合意に基づいて遺伝毒性を評価した。また，合成不純物及び分解物の変異原性も検討した。アパルタミド及び代謝物 M3 の光毒性を *in vitro* で評価した。

ICH S9 ガイドラインに基づいてがん原性の評価は実施していない。予定されるアパルタミドの適応症が去勢抵抗性前立腺癌（CRPC）に罹患した成人男性であることから，雌受胎能，胚･胎

児発生，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又は幼若動物を用いた試験は実施していない。

重要な毒性試験は FDA GLP 基準及び OECD ガイドラインに従って実施した。アパルタミドの毒性試験一覧表を概要表【2.6.7.1】に示す。

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

In vitro の効力を裏付ける試験として，AR（コドンスイッチ置換[1]）を遺伝子導入したリンパ節由来前立腺癌［LNCaP/AR(cs)］細胞を用いて競合的結合試験を実施した。アパルタミドは，第一世代の AR 阻害薬であるビカルタミドの約 10 倍の結合親和性で AR に直接結合し，エンザルタミド（MDV3100）と同等の効力を示した【2.6.2.2.1 参照】。代謝物 M3 も AR に結合したが，作用はアパルタミドの約 1/3 であった。M1，M2 及び M4 の AR に対する作用は非常に低く，アパルタミドの約 1/30 以下であった【2.6.2.2.10 参照】。アパルタミドは，他の HR であるグルココルチコイド受容体，プロゲステロン受容体及びエストロゲン受容体 α と比較して，AR に選択的に結合した【2.6.2.2.2 参照】。ビカルタミドと異なり，アパルタミドはアンドロゲン非存在下で AR に対するアゴニスト活性を示さなかった【2.6.2.2.3 参照】。LNCaP 細胞において，アパルタミドによる AR の核内移行はほとんど認めず【2.6.2.2.4 参照】，LNCaP/AR(cs)細胞において，アパルタミドは AR 依存性遺伝子エンハンサー領域への AR の結合を阻害した【2.6.2.2.5 参照】。さらに，ルシフェラーゼレポーターコンストラクトを用いた試験において，アパルタミドは AR 依存性遺伝子転写を抑制した【2.6.2.2.6 参照】。

In vivo の効力を裏付ける試験をマウスで実施した。ルシフェラーゼレポーターを発現させた LNCaP/AR-Luc 細胞の異種移植マウスモデルにおいて，アパルタミドは *in vivo* での AR 依存性遺伝子転写を阻害した【2.6.2.2.7 参照】。また，LNCaP/AR(cs)細胞の異種移植マウスモデルにおいて，アパルタミドは強い抗腫瘍効果を示した。ビカルタミドの抗腫瘍効果が腫瘍退縮よりも主に増殖抑制に限定されたものであったのに対して，アパルタミドは大部分の動物において 50%を超える腫瘍退縮効果を示した。LNCaP/AR(cs)細胞の異種移植マウスモデルでの複数の独立した試験において，複数用量（1，10，30 及び 100 mg/kg/日）の検討を行い，アパルタミドの抗腫瘍効果を確認した。これら試験においてエンザルタミドと比較した結果，両薬物とも抗腫瘍効果を示したが，50%を超える腫瘍退縮効果がみられる動物の割合を指標としたときに，30 mg/kg/日での直接比較でアパルタミドはエンザルタミドより高い効力を示した【2.6.2.2.8 参照】。

非去勢の雄ラット及び雄イヌの毒性試験において，アパルタミドの投与により前立腺及び精巣上体の萎縮，精細管の変性／萎縮（精子低形成を含む）及び精細管細胞肥大がみられた【2.6.2.2.9 参照】。

以上のように，*in vitro* 及び *in vivo* 効力を裏付ける試験での評価により，アパルタミドは AR のリガンド結合部位に直接結合する AR 選択的阻害薬であることが明らかになった。アパルタミドは AR の核内移行を阻害し，AR の DNA への結合を阻害して AR を介する転写を抑制する。*In vitro* 試験において，アパルタミドは AR に対するアゴニスト活性を示さず，*in vivo* 前立腺癌モデルにおいて，癌細胞の増殖を抑制し，アポトーシスを促進することにより強い抗腫瘍効果を示す。これらの試験結果から，アパルタミドの前立腺癌に対する治療の有用性が示唆される。

[1] 内因性T877A変異ARを発現するLNCaP細胞に，野生型ARを外因性に発現させる。

2.4.2.2 副次的及び安全性薬理試験

2.4.2.2.1 中枢神経系の評価

アパルタミド及び代謝物 M3 は，放射性標識リガンドの結合をそれぞれ 3.0 及び 3.2 μmol/L の IC_{50} で阻害する，GABA 開口性クロライドチャネルの阻害物質であることが示された。組織を用いた $GABA_A$ 受容体の機能性試験でのアパルタミドの IC_{50} は 0.88 μmol/L であった。他の代謝物，M1，M2 及び M4 は $GABA_A$ 受容体に対する作用はないと考えられた【2.6.2.3.1 参照】。

痙攣はイヌ及びマウスの反復投与毒性試験におけるアパルタミドの高用量群でみられており（それぞれ，≥ 25 mg/kg/日【2.6.6.3.3 参照】及び≥ 175 mg/kg/日【2.6.6.5.2 参照】），$GABA_A$ 受容体に対する阻害を介するものと考えられている。痙攣は C_{max} に依存すると考えられる。イヌ 28 日間反復経口投与毒性試験において，25 mg/kg/日投与群の雄イヌ 3 例で最初に中枢神経系の毒性がみられる時点でのアパルタミドの平均血漿中濃度は 30.2 μg/mL であり，外国人 CRPC 患者に 240 mg/日を投与したときの定常状態での平均 C_{max} の約 5 倍の濃度である。曝露量をイヌとヒトのタンパク結合率で補正したときに，イヌで痙攣がみられたときのアパルタミドの非結合型濃度は，外国人 CRPC 患者に 240 mg/日を投与したときの定常状態での非結合型濃度の C_{max} の約 8 倍であった【2.6.2.6.2.2 参照】。痙攣がみられた 3 例のイヌで代謝物 M3 の濃度は測定しなかったが，定常状態での代謝物と親化合物の比は，5 及び 10 mg/kg/日投与群での投与 28 日の血漿サンプルに基づくと 59.9～77.6%の間であった【2.6.4.3.1.3 参照】。

その他，雌雄イヌの 20 mg/kg/日以上の反復投与で認められた CNS 関連の所見は振戦，歩行異常，運動失調等であった。雌イヌの 21 日間反復経口投与毒性試験において，20 mg/kg/日の投与後に運動失調及び振戦がみられた雌イヌ 1 例を安楽死させた日（この日は未投与）のアパルタミド及び代謝物 M3 濃度は，それぞれ 35.3 及び 19.8 μg/mL であった【2.6.6.3.4.1 参照】。

マウスにおいて，痙攣がみられた 175 mg/kg 投与におけるアパルタミドの平均 C_{max}（雌雄を合わせた数値）は単回投与で 50.5 μg/mL，反復投与で 31.1 μg/mL であり，外国人 CRPC 患者に 240 mg/日を投与したときの定常状態でのアパルタミドの平均 C_{max} のそれぞれ約 8 及び 5 倍であった。175 mg/kg 投与での代謝物 M3 の平均 C_{max}（雌雄を合わせた数値）は単回投与で 16.3 μg/mL，反復投与で 18.0 μg/mL であり，いずれも外国人 CRPC 患者における定常状態での代謝物 M3 の C_{max}（5.85 μg/mL）の少なくとも 2 倍であった。マウス血漿におけるアパルタミド及び代謝物 M3 の非結合型分率はヒト血漿の約 2 倍高いため【2.6.4.4.2.1 参照】，非結合型濃度に基づく曝露量比は 2 倍よりもやや高いと考えられる。

雄ラットの 28 日間反復経口投与毒性試験において，最高 150 mg/kg/日までの投与群で投与最終週に実施した機能観察総合評価（FOB）検査では，アパルタミド投与に関連した CNS への影響はみられなかった。評価実施時期と同じ最終週に測定した 150 mg/kg/日投与群での定常状態（投与 28 日目）でのアパルタミドの C_{max} は 31.5 μg/mL であり，これは外国人 CRPC 患者に 240 mg/日を投与したときの定常状態での C_{max} より約 5 倍高かった。本試験において，代謝物 M3 の TK は検討しなかった。250 mg/kg/日の高用量群におけるアパルタミドの単回投与後の C_{max} は 41.7 μg/mL であった。この用量では，痙攣のような CNS への影響は報告されていないが，夜間に死亡した動物では観察を実施していなかったため，死亡につながった CNS への影響を検出できなかった可能性は否定できない【2.6.2.4.1 参照】。

26 週間の雌雄ラットの 150 mg/kg/日までの反復投与毒性試験では，いずれも 10 mg/kg/日の雄イヌの 13 週間及び 39 週間，並びに雌イヌの 13 週間の反復投与毒性試験【2.6.2.3.2 参照】と同様に，アパルタミドの投与に関連する CNS 作用は認められなかった。ラット及びイヌの毒性試験でのアパルタミドの曝露量及びイヌの毒性試験での代謝物 M3 の曝露量は，ヒトでの曝露量を上回っていた。

結論として，$GABA_A$阻害作用はアパルタミド及び代謝物 M3 のオフターゲット作用であり，この作用が，マウス及びイヌ反復投与毒性試験の高用量群でみられた痙攣の作用機序であると考えられる。エンザルタミドにおいても痙攣はみられ，その作用機序は脳内の GABA 受容体の阻害と関連すると考えられている[3)]。

ARN-509-003 試験（N=803）において，アパルタミド投与群の 2 症例で痙攣が報告されている。ARN-509-001 試験（N=127），56021927PCR1019 試験（N=45），56021927PCR1008 試験（N=6）及び 56021927PCR1021 試験（N=18）では，プラセボ及びアパルタミド投与群のいずれにも痙攣の報告はなかった。

2.4.2.2.2　心血管系及び呼吸系の評価

In vitro ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子（hERG）試験において，アパルタミド及び代謝物 M3 は，実測濃度でそれぞれ 6.17 及び 4.56 μmol/L の IC_{50} で hERG チャネルを阻害した【2.6.2.4.2.1 (1)参照】。これら濃度は，外国人 CRPC 患者にアパルタミド 240 mg/日を投与したときの定常状態での非結合型の曝露量（血漿中 C_{max}）と比べて，アパルタミド及び代謝物 M3 でともに少なくとも 7 倍高かった（表 2.4.2-1）。

表 2.4.2-1 アパルタミド及び代謝物 M3 の非結合型臨床曝露量及び hERG 阻害濃度の比較

	hERG IC_{50} (μmol/L)	Clinical Total C_{max} (μg/mL) [(a)]	Clinical Unbound C_{max} (μg/mL) [(b)]	Clinical Unbound C_{max} (μmol/L) [(c)]	Exposure Ratio[(d)]
Apalutamide	6.17	5.95	0.250	0.52	12
JNJ-56142060 (M3)	4.56	5.85	0.298	0.64	7

[a] Mean steady-state apalutamide and JNJ-56142060 (M3) C_{max} in men with CRPC treated with apalutamide at 240 mg/day (Table 2.4.1-1)
[b] Mean unbound fraction of apalutamide and M3 is 4.2% and 5.1%, respectively, in human plasma (Table2.4.3-3)
[c] Molecular weight for apalutamide and M3 is 477.44 and is 463.41 Dalton, respectively
[d] Exposure ratio = hERG IC_{50} (μmol/L) divided by clinical unbound C_{max} (μmol/L)

アパルタミド及び主代謝物 M3 は最高 30 μmol/L の濃度まで，摘出イヌプルキンエ線維において活動電位の再分極を延長しなかった【2.6.2.4.2.1 (2)参照】。30 μmol/L の濃度は，外国人 CRPC 患者に 240 mg/日を投与したときのアパルタミド及び代謝物 M3 の非結合型の曝露量（血漿中 C_{max}）に比べて約 50 倍高かった。

アパルタミドを雌雄覚醒イヌに投与したときに，40 mg/kg まで心血管及び ECG パラメータに有害な影響を及ぼさなかった。アパルタミド 40 mg/kg 投与時の平均 C_{5h} は雄イヌで 10.2 μg/mL，雌イヌで 7.19 μg/mL であり，外国人 CRPC 患者に臨床推奨用量である 240 mg/日を投与したときの定常状態での曝露量を上回っていた。また，投与 5 及び 25 時間後（代謝物 M3 濃度が最高値を示した一番遅い採血時点）の代謝物 M3 の血漿中曝露量は雄イヌでそれぞれ 0.512 及び 2.12 μg/mL，雌イヌでそれぞれ 0.565 及び 1.73 μg/mL であった【2.6.2.4.2.2 (1)参照】。曝露量を

イヌとヒトのタンパク結合率で補正すると，投与 25 時間後の代謝物 M3 の非結合型濃度は，外国人 CRPC 患者に 240 mg/日を投与したときの代謝物 M3 の定常状態での非結合型 C_{max} の約 1/2 であった。

雄イヌの 28 日間，13 及び 39 週間反復経口投与毒性試験，並びに雌イヌの 13 週間反復経口投与毒性試験において，アパルタミドの最高 10 mg/kg/日までの投与により ECG パラメータに対してアパルタミドの投与に関連した影響はみられなかった。雄イヌの 13 週間反復経口投与毒性試験において 10 mg/kg/日投与群の投与 91 日目の C_{max} は，アパルタミドで 19.6 μg/mL，代謝物 M3 で 8.93 μg/mL であり，いずれも臨床推奨用量での曝露量（外国人 CRPC 患者）を上回っていた。

ラットの呼吸系に関する安全性薬理試験では，アパルタミド又は代謝物 M3 の最高 100 mg/kg までの単回投与で，投与に関連した影響はみられなかった【2.6.2.4.3 参照】。雄ラットの 13 週間反復経口投与毒性試験の 1 日目の TK データに基づくと，アパルタミドの 100 mg/kg 投与時の C_{max} は 15.5 μg/mL であり，臨床推奨用量での曝露量を上回っていた。

安全性薬理試験及び毒性試験の結果から，臨床推奨用量である 240 mg/日の曝露量により心血管系及び呼吸系にアパルタミドの投与に関連した影響が生じる懸念はないものと考えられる。

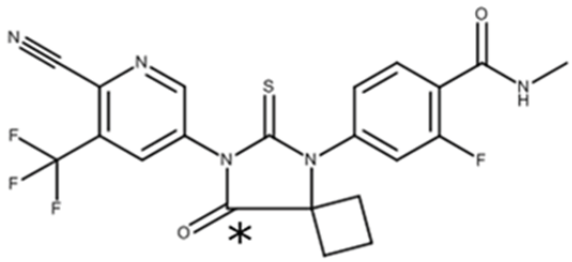
2.4.2.3　薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法

アパルタミドの薬物動態試験（*in vitro* 及び *in vivo*）は ^{14}C 標識したアパルタミド（^{14}C-アパルタミド）を用いて実施した（図 2.4.3-1）。^{14}C-アパルタミド中の ^{14}C 標識位置は安定であり，代謝経路の検討に適していることが示された【2.6.4.5.1 参照】。



*：^{14}C 標識部位

図 2.4.3-1 ^{14}C-アパルタミドの化学構造式

^{14}C-アパルタミドを用いて，QWBA により Sprague-Dawley（白色）及び Lister Hooded（有色）ラットの組織分布を評価した。^{14}C-アパルタミドは，血球，血漿タンパク質，ヒト血清アルブミン及び α_1-酸性糖タンパク質に対する結合性の評価，ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験，並びにラット，イヌ及びヒトで実施された *in vivo* マスバランス及び代謝試験においても用いられた。さらに，トランスポーターに関する *in vitro* 薬物相互作用の検討にも ^{14}C-アパルタミドが用いられた。

アパルタミド及び代謝物の相対量及び絶対量を測定するための代謝試験（*in vitro* 及び *in vivo*）は，代謝物を定量及び同定するために，放射能検出器又は質量分析計を接続した液体クロマトグラフィーを用いて実施された。

マスバランス試験では，雄 Sprague-Dawley（白色）ラット，雄ビーグル犬及び健康男性被験者から得られた試料（尿及び糞）中放射能を液体シンチレーションカウンタ又は加速器質量分析法により測定した。

各動物種の血漿中及び組織内のアパルタミド，M3 及び M4 の濃度分析法は【2.6.4.2】に示す。また，ヒト血漿中濃度の分析法は【2.7.1.1.3】に示す。

2.4.3.2 吸収

Caco-2 細胞単層膜を用いた透過試験において，アパルタミドは双方向に高い透過性を示し，排出トランスポーターの基質である可能性は示されなかった。しかし，MDR1（P-gp）を発現させた LLC-PK1 細胞において，アパルタミド及び M3 は MDR1（P-gp）の基質であることが示された【2.6.4.7 参照】。

マウス，ラット及びイヌにアパルタミドを静脈内及び経口投与したときの薬物動態に関する情報を【2.6.4.3】に示す。反復経口投与毒性試験内で実施された TK 試験は，雄 Sprague-Dawley ラットでは最大 26 週間【2.6.4.3.1.2 (2)】，雄ビーグル犬では最大 39 週間【2.6.4.3.1.3 (2)】まで実

施した。ヒト血漿中主要代謝物である M3 の曝露量は 13 週間反復投与毒性試験以降の試験において測定した。イヌの 13 週間反復投与毒性試験の終了時に，アパルタミド，M3 及び M4 の脳及び脳脊髄液中濃度を測定した。

ラットでは（表 2.4.3-1），Day 182 におけるアパルタミド及び M3 の曝露量は，おおむね 25～75 mg/kg/日の範囲で用量に比例して増加し，75～150 mg/kg/日の範囲では用量比例を下回って増加した。アパルタミド及び M3 の C_{max} は，おおむね投与 4～12 時間後に認められた。反復投与によるアパルタミド及び M3 の累積が認められた。M3 の 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24h}$）はアパルタミドの 3～5%であった。

イヌでは（表 2.4.3-2），2.5～25 mg/kg/日の範囲において，アパルタミドの曝露量は用量の増加とともに用量比例をわずかに上回って増加し，M3 の曝露量は用量比例をわずかに下回って増加した。例外は，13 週間反復投与試験の Day 1 において，M3 の曝露量が 2.5 及び 10 mg/kg/日の用量間で用量比例をわずかに上回って増加したことであった。アパルタミド及び M3 の C_{max} は，おおむね投与 2～24 時間後の間に認められた。39 週間反復投与毒性試験において，アパルタミド及び M3 は Day 28 までに定常状態に達した。M3 の $AUC_{0\text{-}24h}$ はアパルタミドの 14～80%の範囲であった。

表 2.4.3-1 雄ラットにおける TK パラメータ

Study 【Study Reference】	Day	Dose (mg/kg)	C_{max} (µg/mL)		$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg·h/mL)	
			Apalutamide	M3	Apalutamide	M3
28-day study[a] 【4.2.3.2.2】	1	50	8.37	N/A	138	N/A
		150	23.3	N/A	430	N/A
		250	41.7	N/A	688	N/A
	28	50	11.9	N/A	201	N/A
		150	31.5	N/A	572	N/A
		250[b]	N/A	N/A	N/A	N/A
13-week study 【4.2.3.2.3】	1	25	4.12	0.152	67.9	2.37
		50	7.49	0.252	128	4.07
		100	15.5	0.554	272	9.68
	91	25	7.48	0.200	136	3.86
		50	11.9	0.413	240	8.57
		100	30.1	1.49	521	28.5
26-week study 【4.2.3.2.4】	182	25	7.20	0.228	135	4.58
		75	20.4	1.10	389	20.6
		150	27.7	1.40	508	27.7

N/A = not available
[a] TK parameters of metabolite JNJ-56142060 (M3) were not evaluated in this study
[b] High-dose animals were euthanized on Day 3 and Day 4

表 2.4.3-2 雄イヌにおける TK パラメータ

Study 【Study Reference】	Day	Dose (mg/kg)	C_{max} (μg/mL)		AUC_{0-24h} (μg·h/mL)	
			Apalutamide	M3	Apalutamide	M3
28-day study[a] 【4.2.3.2.8】	1	5	1.26	NA	21.0	NA
		10	2.68	NA	47.4	NA
		25	6.77	NA	127	NA
	28	5	5.97	NA	116	NA
		10	13.2	NA	290	NA
		25[b]	NA	NA	NA	NA
13-week study 【4.2.3.2.10】	1	2.5	0.558	0.127	10.6	1.51
		5	1.56	0.459	31.9	5.77
		10	2.85	0.588	56.2	8.01
	91	2.5	3.78	2.55	84.2	57.4
		5	10.3	4.63	202	100
		10	19.6	8.93	419	196
39-week study 【4.2.3.2.11】	273	2.5	3.82	2.99	86.6	69.7
		5	8.60	5.04	197	116
		10	18.7	8.32	427	189

N/A = not available
[a] TK parameters of metabolite JNJ-56142060 (M3) on Day 1 were not evaluated
[b] High-dose animals were placed on a dosing holiday beginning on Day 9

GLP 適用の TK 試験において，溶媒対照動物の適切な試料（アパルタミド投与動物の最高血漿中濃度到達時間付近に相当）の分析により，これらの動物へのアパルタミドによる予期しない曝露が起こらなかったことを確認した。

2.4.3.3　組織分布

雄の白色及び有色ラットに ^{14}C-アパルタミドを 50 mg/kg の用量で単回経口投与し，QWBA によりアパルタミドの組織分布を評価したところ，放射能は広範な組織に分布した。放射能濃度は大部分の組織で投与 4～12 時間後に最高濃度を示し，最も高い濃度を示した組織は，腹部及び褐色脂肪，肝臓，腎皮質及び髄質，副腎皮質，膵臓並びにハーダー腺であった。最も低い濃度を示した組織は，水晶体，脳及び骨表面であった。組織内放射能濃度は最高濃度に到達後低下し，投与 168 時間後においては，水晶体，皮膚（白色及び有色），ハーダー腺，肝臓並びに有色ラットの大腸壁及び膀胱壁を除くすべての組織で定量下限未満となった。投与 504 時間後においては，放射能濃度は有色及び白色皮膚を除くすべての組織で定量下限未満となった。微量の放射能が皮膚に残存したが，有色及び白色皮膚における放射能の分布が同程度であり，ブドウ膜への放射能の残存も認められなかったことから，薬物由来物質のメラニンへの結合はほとんどないと考えられる【2.6.4.4.1 参照】。

2.4.3.4　血漿タンパク結合及び血球移行

アパルタミド及び M3 の血漿タンパク非結合型分率は検討した動物種内で類似しており，動物及びヒトでは最大 2.7 倍（アパルタミド）及び 2.6 倍（M3）の違いが認められた（表 2.4.3-3）。ヒトの血漿では，アパルタミドの非結合型分率は 4.2%であった。アパルタミドの血漿タンパク結合率は，軽度及び中等度の肝機能障害を有する患者においても同程度であった【2.7.2.2.2.1 (1) 参照】。0.1～30 μg/mL の濃度範囲において，アパルタミド及び M3 のヒト及び動物の血漿タン

パク結合率は濃度に依存しなかった。アパルタミド及び M3 の結合率は α_1-酸性糖タンパク質よりもアルブミンの方が高かった【2.6.4.4.2.1 参照】。

表 2.4.3-3 ヒト及び動物における血漿中のアパルタミド及び代謝物 M3 の非結合型分率

（%）

Species (Sex)	Apalutamide	JNJ-56142060 (M3)
Human (M)	4.18	5.11
Mouse (M+F)	8.21	9.44
Rat (M+F)	7.16	8.55
Dog (M+F)	6.30	8.24
Rabbit (F)	11.4	13.2

Average percentage of free compound at 10 µg/mL is shown
F = female; M=male

In vitro において，^{14}C-アパルタミド及び ^{14}C-JNJ-56142060（M3）の血液における分布は，すべての動物種で類似しており，大部分は血漿タンパク質に結合したが，血球にもかなりの割合で分布した（表 2.4.3-4）【2.6.4.4.2.2 参照】。

表 2.4.3-4 ヒト及び動物の血液におけるアパルタミド及び代謝物 M3 の分布

Species (Sex)	Apalutamide				JNJ-56142060 (M3)			
	$R_{bl/pl}$	λ_{pw}	λ_{pp}	λ_{bc}	$R_{bl/pl}$	λ_{pw}	λ_{pp}	λ_{bc}
Human (M)	0.79	0.0229	0.685	0.285	0.78	0.0364	0.675	0.288
Mouse (M+F)	0.83	0.0555	0.620	0.324	0.89	0.0596	0.572	0.369
Rat (M+F)	0.86	0.0497	0.645	0.305	0.92	0.0552	0.591	0.354
Dog (M+F)	0.85	0.0371	0.551	0.412	0.86	0.0480	0.535	0.417
Rabbit (F)	0.96	0.0665	0.519	0.414	0.97	0.0759	0.500	0.424

F = female; M=male; $R_{bl/pl:}$ = blood-to-plasma concentration ratio; λ_{pw} = fraction in blood present in the plasma water; λ_{pp} = fraction in blood bound to the plasma proteins; λ_{bc} = fraction in blood bound to the blood cells

In vivo において，ラットに ^{14}C-アパルタミドを経口投与したときの放射能の血液／血漿中濃度比は，投与 12 及び 24 時間後で類似していた（それぞれ 0.76 及び 0.75）【4.2.2.4.2 参照】。イヌに ^{14}C-アパルタミドを経口投与したときの放射能の血液／血漿中濃度比は投与 1，4，24 及び 72 時間後でそれぞれ 0.69，0.66，0.65 及び 0.66 であった【4.2.2.4.3 参照】。これらの結果から，アパルタミド及び代謝物の一部が血球に分布することが示唆された。イヌの投与 72 時間後では，M3 は血漿中放射能の約 50%を占め，残りの約 50%はアパルタミドであった。血液／血漿中濃度比が時間の影響を受けなかったことから，M3 の分布はアパルタミドと類似していることが示された。ヒト健康被験者の血液／血漿中濃度比は 0.91～0.98 の範囲であり，放射能が血漿及び血球へ同程度分布していることが示された【5.3.1.1.1 参照】。

2.4.3.5　代謝

アパルタミドの代謝速度は非常に遅いため，ヒト肝細胞を用いた *in vitro* リレー法 [12)] により，M3 及び M4 の生成に関与する CYP 分子種及びエステラーゼを検討した。本試験では，カルボキシエステラーゼ阻害薬であるビスニトロフェニルリン酸（BNPP），又は各種 CYP 阻害薬［すなわち，ゲムフィブロジル（CYP2C8 阻害），イトラコナゾール及びトロレアンドマイシン（CYP3A4 阻害）並びにアミノベンゾトリアゾール（複数の CYP 分子種阻害）］添加／非添加条件下で実施した。その結果，M3 は主に CYP2C8 を介して生成し，それより若干程度は小さい

が CYP3A4 を介しても生成した。M4 の生成は，BNPP によって完全に阻害された。引き続き実施した M3 の肝細胞リレー試験において，BNPP は M3 から M4 への代謝を完全に阻害したため，M4 の生成にはエステラーゼ（おそらくカルボキシエステラーゼ）のみが関与することが示された【2.6.4.5.3 参照】。

無処置及び胆管カニュレーションした雄ラット（50 mg/kg），雄ビーグル犬（10 mg/kg）並びにヒト健康被験者（240 mg）に ^{14}C-アパルタミドを単回経口投与し，定量的な代謝試験を実施した【2.6.4.5.1 参照】。

ラット血漿中では，試料中放射能の大部分がアパルタミド及び M4 であり，その他に試料中放射能の 10%を超える代謝物は検出されなかった。イヌの血漿では，アパルタミド，M3 及び M4 の存在量は，血漿中放射能のそれぞれ 41，51 及び 4%であった。ヒトでは，0 時間から最終定量可能時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{last}）で評価したときの主要な血漿中成分は，アパルタミド（175 μg·h/mL）及び M3（169 μg·h/mL）であり，いずれも M4（11.1 μg·h/mL）よりも 15 倍以上高かった。したがって，ヒトでは M3 が血漿中の主要代謝物であり M4 はマイナーな代謝物であると考えられる。アパルタミド，M3 及び M4 の AUC_{last} の合計は，血漿中放射能の値（413 μg eq·h/mL）に近かった。したがって，血漿中放射能に対する他の代謝物の寄与は極めて限定的と考えられる。

M4 はラット，イヌ及びヒトの尿中の主要な代謝物であり，投与放射能に対する割合は，それぞれ 26，16 及び 31%であった。M5（M4 の酸化的脱硫化体）は，ラット（2.8%）及びイヌ（0.16%）の尿中にのみ存在した。イヌ及びヒトの尿中では，M4 以外に投与量の 2%を超える代謝物として M3，M19（ジアゾスピロ環の開環及び置換ピリジニル基の脱離体）並びに M20（M19 の *N*-脱メチル体）が認められた。未変化体は，イヌ（2.7%）及びヒト（1.2%）の尿中ではマイナーな成分であった。

M4 はラット及びイヌの糞中の主要な代謝物であり，投与放射能に対する割合は，それぞれ 26 及び 19%であった。M5 はラットの糞中で 2 番目に多い代謝物であった（投与量の 8%）。投与量の 2%以上を占める糞中のマイナーな代謝物として，ラットでは M2（2%）及びシステイン縮合体 M9（2%），イヌでは M3（3%）及びそのグリシル-システイン縮合体 M12（2%），ヒトでは M3（2%）及び M4（2%）が認められた。糞中の未変化体はラット，イヌ及びヒトにおいて，それぞれ投与量の 8，5 及び 2%であった。

ラット胆汁中に排泄された主要成分は，M4，未変化体及び M9 であり，投与放射能に対する割合はそれぞれ 22，10 及び 4%であった。

比較に用いたヒトの代謝に関する情報は，ヒト健康被験者に ^{14}C-アパルタミドを単回経口投与したときに得られた結果である。ヒトにおける代謝物の存在量の測定は，健康被験者に単回投与したとき，並びに患者に単回及び反復投与したときの血漿試料を用いて実施した【2.7.2 参照】。

2.4.3.6 排泄

無処置及び胆管カニュレーションした雄ラットに ^{14}C-アパルタミドを 50 mg/kg の用量で単回経口投与したときの放射能の排泄を評価した。無処置ラットでは，投与量に対する放射能の累積排泄率は尿で 34.2%，糞で 58.2%であった。胆管カニュレーションしたラットでは，投与量の 50%

が胆汁中に排泄され，尿及び糞中にはそれぞれ 30 及び 11%が排泄された。呼気中に回収された放射能は無視できる程度であった（投与量の 0.03%）【2.6.4.6.1.1 参照】。

雄ビーグル犬に ^{14}C-アパルタミドを 10 mg/kg の用量で単回経口投与したとき，放射能は投与 360 時間後までに尿及び糞中に同程度排泄された（それぞれ投与量の 41.8 及び 40.2%）。不完全な回収率（投与量の 83.0%）は，薬物由来物質の放射能の排泄が遅いことに起因している可能性が考えられる【2.6.4.6.1.2 参照】。

ヒト健康被験者に ^{14}C-アパルタミドを投与したときに排泄された放射能は，尿及び糞並びに呼気中でそれぞれ投与量の 64.6 及び 24.3%並びに 0.06%未満であった。放射能の総回収率は 88.9%であった【2.6.4.6.1.3 参照】。

2.4.3.7　薬物動態学的薬物相互作用の可能性

In vitro において，アパルタミドの活性代謝物 M3 は，主に CYP2C8 を介して生成し，それよりも若干程度は小さいが CYP3A4 を介しても生成した。アパルタミド及び M3 から不活性代謝物 M4 への代謝はエステラーゼ（おそらくカルボキシエステラーゼ）のみが関与した【2.6.4.5.3 参照】。現状，カルボキシエステラーゼの阻害による臨床的に重要な薬物相互作用の報告は限定的である [21)]。臨床薬物相互作用試験（56021927PCR1012 試験）及び生理学的薬物速度論（PBPK）モデリング&シミュレーション解析により評価したところ，CYP2C8 及び CYP3A4 は定常状態でのアパルタミドの代謝に同程度関与し，強い CYP2C8 又は CYP3A4 阻害薬と併用投与された場合でも，アパルタミドの用量の調整は必要ないと考えられる【2.7.2.3.4.1 (1)参照】。

アパルタミド及びその主要活性代謝物 M3 は CYP1A2 を誘導しなかったが，CYP2B6 及び CYP3A4 に対しては濃度依存的な誘導が認められた（最高試験濃度：30 μmol/L）。30 μmol/L における CYP2B6 及び CYP3A4 に対する最大誘導倍率（陽性対照に対する比率）は，アパルタミドでそれぞれ 117 及び 137%，M3 で 88 及び 72%であった【2.6.4.5.4.1 参照】。アパルタミド及び M3 が CYP3A4 を誘導することから，プレグナン X 受容体の活性化を介して，他の CYP 分子種及びトランスポーター［例えば，CYP2C 及び MDR1（P-gp）］を誘導する可能性も示唆された。

アパルタミドは CYP2B6 及び CYP2C8 の中程度の阻害薬であり，IC_{50} はそれぞれ 36 及び 13.9 μmol/L であった。アパルタミドは CYP2C9，CYP2C19 及び CYP3A4 の弱い阻害薬であり（IC_{50}：54～67 μmol/L），75 μmol/L における CYP1A2，CYP2A6，CYP2D6 及び CYP2E1 の阻害率は 25%未満であった。M3 は CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9 及び CYP3A4 の中程度又は弱い阻害薬であった（IC_{50}：38～69 μmol/L）。また，75 μmol/L における CYP2C19 の阻害率は 50%，CYP1A2，CYP2A6，CYP2D6 及び CYP2E1 の阻害率は 16%未満であった【2.6.4.5.4.2 参照】。

以上のことから，アパルタミド及び M3 は酵素誘導又は阻害を介して複数の CYP 分子種（CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP3A4 等）に影響を及ぼす可能性がある。これらの *in vitro* での知見の臨床的重要性は，カクテル投与による臨床薬物相互作用試験で評価されている【2.7.2.2.3.2 (1)参照】。

MDR1（P-gp）発現細胞を用いたときのアパルタミド及び M3 の efflux ratio は 1.32～1.97 の範囲であった。MDR1（P-gp）の阻害薬である GF120918 は，MDR1（P-gp）発現細胞におけるアパルタミド及び M3 の排出を完全に阻害した【2.6.4.7 参照】。これらの結果から，アパルタミド及び M3 は MDR1（P-gp）の基質であることが示唆された。しかし，ヒトに 240 mg のアパルタミ

ドを単回経口投与したときの絶対的バイオアベイラビリティは約 100%であったことから【2.7.1.2.1 参照】，アパルタミドの吸収は MDR1（P-gp）により制限されておらず，臨床使用時に MDR1（P-gp）の誘導又は阻害によって，アパルタミドの薬物動態が変化する可能性は低いと考えられる。

MDR1（P-gp）発現細胞を用いたとき，アパルタミド及び M3 はジゴキシンの輸送を阻害し，30 μmol/L において，それぞれ最大阻害率 56 及び 42%を示した（2.6.4.7 参照）。これらの結果から，アパルタミド及び M3 は MDR1（P-gp）の弱い阻害薬であり，アパルタミドは消化管内での[I]/IC_{50}値（[I]は阻害薬の濃度）[2]が 10 以上であることから，臨床的に影響する可能性が考えられた。そのため，MDR1（P-gp）に対するアパルタミドの影響は，カクテル投与による臨床薬物相互作用試験において，フェキソフェナジンを用いて評価された（2.7.2.2.3.2 (1)参照）。

BCRP 発現細胞を用いたとき，アパルタミド及び M3（それぞれ 1 及び 5 μmol/L）の透過性は高く，親細胞でも同程度であった。BCRP 阻害薬である KO143 の存在下でも透過性の低下が認められなかったことから，アパルタミド及び M3 は BCRP の基質ではないことが示唆される（2.6.4.7 参照）。

BCRP 発現細胞を用いたとき，アパルタミド及び M3 はトポテカンの輸送を阻害し，30 μmol/L において，それぞれ最大阻害率 45 及び 33%を示した（2.6.4.7 参照）。これらの結果から，アパルタミド及び M3 は BCRP の弱い阻害薬であり，アパルタミドは消化管内での[I]/IC_{50}値[2]が 10 以上であることから，臨床的に影響する可能性が考えられた。そのため，BCRP に対するアパルタミドの影響は，カクテル投与による臨床薬物相互作用試験において，ロスバスタチンを用いて評価された（2.7.2.2.3.2 (1)参照）。

OATP1B1 又は OATP1B3 の発現細胞を用いたとき，アパルタミド及び M3 の取り込みは，親細胞と同程度であり，OATP 阻害薬であるリファンピシンの存在下でも取り込みの低下は認められなかった（2.6.4.7 参照）。したがって，アパルタミド及び M3 は OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではないことが示唆された。

OATP1B1 又は OATP1B3 の発現細胞を用いたとき，^{3}H-エストラジオール-17β-グルクロン酸抱合体の OATP1B1 及び OATP1B3 を介した取り込みは，検討した最高濃度である 30 μmol/L において，アパルタミド（それぞれ阻害率 33 及び 52%）並びに M3（それぞれ阻害率 42 及び 38%）によって阻害された（2.6.4.7 参照）。非結合型分率（u）で補正した値で評価すると，アパルタミドに関しては 1+$[I]_{in,\,max,\,u}$/IC_{50}値[2]が 1.25 より小さく，M3 に関しては $C_{max,\,u}$×50 値が IC_{50} よりも小さいことから，アパルタミド及び M3 による OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害により，臨床的に意味のある薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。

OCT2，OAT3，MATE-1 及び MATE-2K による基質輸送に対するアパルタミドの IC_{50} は，それぞれ 27.2，12.0，13.8 及び 37.9 μmol/L であった。また，OCT2，OAT3 及び MATE-1 による基質輸送に対する M3 の IC_{50} は，それぞれ 4.8，7.6 及び 17.6 μmol/L であった。検討した最高濃度である 50 μmol/L において，M3 は MATE-2K による基質輸送に対してわずかな阻害（32%）を示した。OAT1 による基質取り込みに対するアパルタミド及び M3 の阻害は認められなかった

[2] Guidance for Industry：Drug Interaction Studies - Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations. Draft Guidance, Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER), February 2012.

（2.6.4.7 参照）。腎臓におけるトランスポーターである OCT2，MATE 及び OAT3 の基質に対するアパルタミド及び M3 の影響を評価するために PBPK シミュレーションを実施したところ【2.7.2.2.3.2 (2)】，アパルタミドはメトホルミン（OCT2 及び MATE の基質）並びにベンジルペニシリン（OAT3 の基質）の曝露量に対して臨床的に意味のある変化を引き起こさないことが示唆されている。

以上のことから，アパルタミド及び M3 は，阻害又は誘導（若しくは両者）を介して複数の CYP 分子種（CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP3A4 等）並びにトランスポーターMDR1（P-gp）及び BCRP に影響を及ぼす可能性がある。これらの相互作用の臨床的意義については【2.7.2.3.4】において，さらに考察している。

2.4.3.8 毒性試験における動物の曝露量とヒト曝露量の比較

動物及びヒトにおける，アパルタミド及びヒト血漿中主要代謝物 M3 の曝露量に関する情報を表 2.4.4-1 に示す。定常状態の曝露量（C_{max} 及び AUC）を動物及びヒト被験者で比較すると，ヒトにおける M3 の曝露量を上回る曝露量がイヌで認められた。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回及び反復投与毒性試験

単回及び反復投与毒性試験の主要所見の要約を 2.4.4.1.1 に示す。主要所見の考察及びヒトへの外挿性を 2.4.4.1.2 に示す。ラット及びイヌの反復投与毒性試験で求めた NOAEL 及び MTD を 2.4.4.1.3 及び 2.4.4.1.4 に示す。また，NOAEL 及び MTD におけるアパルタミド及び M3 の曝露量を患者の曝露量と比較し，2.4.4.1.5 で考察する。

2.4.4.1.1 主要所見の要約

アパルタミドの単回経口投与における MTD 及び概略の致死量は，ラット及びイヌともに検討した最高用量を上回り，雄ラットでは 2000 mg/kg 超，雌ラットでは 250 mg/kg 超及び雌雄イヌでは 40 mg/kg 超であった。マウスでは単回投与後に，175 mg/kg の雄に振戦及び雌に痙攣，500 mg/kg の雌雄に死亡，並びに死亡前に痙攣，振戦及び活動性低下がみられ，MTD は 100 mg/kg と判断した。ラットでは反復投与後に，250 mg/kg/日の雄で本薬投与に関連した死亡がみられ，150 mg/kg/日の雌 1 例に死因不明の死亡がみられたが，その他には本薬投与に関連した死亡例は認められず，長期投与におけるラットの MTD は雌雄ともに 150 mg/kg/日と判断した。イヌでは反復投与後に，25 mg/kg/日以上の雄及び 20 mg/kg/日の雌で CNS 症状がみられ，試験途中に安楽死させた。したがって，長期投与におけるイヌの MTD は雌雄ともに 10 mg/kg/日と判断された。マウスでは 150 mg/kg/日以上の反復投与により死亡例がみられた（2.4.4.1.2.1 参照）。

一般状態の変化は，ラット及びイヌとも 28 日間までの反復投与毒性試験において，主に死亡又は安楽死例がみられた高用量で認められた。痙攣が雄イヌでは 25 mg/kg/日以上及びマウスでは 175 mg/kg 以上の高用量でみられ，これはアパルタミド及び代謝物 M3 の $GABA_A$ 受容体に対する阻害を介したものと考えられた（2.4.2.2.1 参照）。ラットでは 26 週間，イヌでは 39 週間の反復投与毒性試験において，本薬投与に関連した一般状態の変化は認められなかった（2.4.4.1.2.2 参照）。

反復投与毒性試験において体重及び体重増加量の減少が，雄のラット及びイヌではほぼすべての用量でみられ，雌イヌでは MTD を上回る用量で認められた。雌ラットでは体重増加量の増加が認められた（2.4.4.1.2.3 参照）。

毒性のほとんどは，アパルタミドによるアンドロゲンシグナル伝達の阻害に関連し，ラットでは 25 mg/kg/日以上の用量で，イヌでは 2.5 mg/kg/日以上の用量で，雌雄の生殖器，乳腺，下垂体，副腎及び胸腺への影響がみられた。ラット 26 週間反復投与毒性試験では，精巣及び卵巣に腫瘍の発生がみられた。アパルタミドの毒性プロファイルは，各試験を通じてラットとイヌでほぼ同様であったが，標的器官はイヌと比較してラットで多くみられた。これらの薬理作用に関連した変化は，30 日間又は 60 日間の休薬により回復又は回復傾向が認められた。雄ラット受胎能試験では，副生殖器及び精巣上体の重量減少，精巣上体の精子数減少，精子の運動性低下及び受胎能の低下が認められた。雄の受胎能への影響は，8 週間の休薬により回復した。

血液学的変化は主にラットでみられ，赤血球パラメータの減少，並びに血小板数及び白血球数の増加が認められた。この赤血球パラメータの減少は，網状赤血球数の代償性増加を伴い，これ

に関連した変化として骨髄細胞過形成及び脾臓の髄外造血が認められた。ラット及びイヌでコレステロールの増加が認められたが，イヌにおける変化の程度はラットと比べて軽度であった。赤血球パラメータ，血小板数，白血球数及びコレステロールの変化は，アパルタミドの薬理作用による二次的な影響であると考えられた（2.4.4.1.2.4 参照）。

肝臓の代謝酵素誘導と関連した肝細胞及び甲状腺の肥大がラットでみられ，雄イヌ 39 週間反復投与毒性試験ではアルカリホスファターゼ（ALP）の増加を伴う胆管／卵円形細胞の過形成がみられた。イヌ 39 週間反復投与毒性試験では回復性試験を設定していなかったことから，胆管／卵円形細胞の過形成の可逆性の検討はされていない。ラットでもみられた ALP 増加は，雌 13 週間反復投与毒性試験において回復性が確認された（2.4.4.1.2.5 参照）。

その他の血液学的変化及び血液生化学的変化はいずれも軽微で，ラット及びイヌの反復投与毒性試験において一貫して認められるものではなかった（2.4.4.1.2.6 参照）。

最長 14 日間のマウス反復投与用量設定試験における毒性プロファイルはラットと同様であり，その標的器官は主に生殖器，副腎，胸腺，肝臓及び脾臓であった。マウスでみられた肝細胞肥大は肝臓の代謝酵素誘導に関連しているものと考えられる。マウスではラットとは対照的に，コレステロールの減少が認められた【2.6.6.5.2 参照】。

2.4.4.1.2 主要所見の考察

2.4.4.1.2.1 死亡

アパルタミドの単回経口投与後の概略の致死量は，ラット及びイヌともに検討した最高用量を上回り，雄ラットでは 2000 mg/kg 超，雌ラットでは 250 mg/kg 超及び雌雄イヌでは 40 mg/kg 超であった。マウスでは単回経口投与後に，175 mg/kg の雌で痙攣及び雄で振戦，並びに 500 mg/kg の雌雄で死亡がみられ，死亡前には痙攣，振戦及び活動性低下が認められた【2.6.6.2.1 参照】。単回投与後の TK データをマウスでは【2.6.4.3.1.1】に，ラットでは【2.6.4.3.1.2】に，イヌでは【2.6.4.3.1.3】に示した。

ラットを用いた反復投与毒性試験【2.6.6.3.1 及び 2.6.6.3.2】では，250 mg/kg/日以上の投与群で本薬投与に関連した死亡例がみられた。雄ラット 28 日間反復投与毒性試験では 150 mg/kg/日投与群で死亡例がみられたが，より長期の雄ラット 26 週間反復投与毒性試験では 150 mg/kg/日投与群で本薬投与に関連した死亡は認められなかった。したがって，150 mg/kg/日投与群における死亡とアパルタミド投与との関連性は低く，剖検所見に基づき投与過誤や投与液の誤嚥などに起因することが示唆され，溶媒として粘性の高い脂質性エマルジョン［Acconon MC8-2 EP/NF, Capmul MCM EP，ポリエチレングリコール（PEG）400 USP 及び水溶性ビタミン E（D-α-トコフェロール・ポリエチレングリコール・コハク酸エステル：VitE-TPGS NF）（10：45：30：15% w/w/w/w）］を用いて強制経口投与したことによるものであると考えられた。雌ラット 26 週間反復経口投与毒性試験では 150 mg/kg/日で 1 例に死因不明の死亡がみられた。

イヌを用いた反復投与毒性試験【2.6.6.3.3 及び 2.6.6.3.4】では，25 mg/kg/日以上の投与群の雄，20 mg/kg/日投与群の雌で本薬投与に関連した死亡例がみられた。雄では痙攣，雌では一般状態が急激に悪化し，運動失調，振戦及び活動性低下等の CNS に関連した一般状態の変化がみられ，このため，それぞれの動物を安楽死させた。

ラット及びイヌの反復投与毒性試験の MTD における曝露量（C_{max} 及び AUC）をヒト被験者と比較すると，その曝露量比は海外臨床試験との比較では 3～5，国内臨床試験との比較では 2～4 であった（表 2.4.4-1）。

マウスの反復投与用量設定試験【2.6.6.5.2】では，150 mg/kg/日以上の投与群で本薬投与に関連した死亡例がみられた。

2.4.4.1.2.2　痙攣を含む一般状態の変化

単回投与では，雌雄ラットに本薬投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。イヌでは最高用量の 40 mg/kg 投与群で流涎，嘔吐及び糞便異常が散発的にみられた【2.6.6.2.1 参照】。

ラットでは，14 日間及び 28 日間の反復投与毒性試験において，250 mg/kg/日以上の雄の投与群でみられた死亡又は安楽死例に，立毛，削痩，攻撃性，円背位，異常呼吸，糞便/尿による汚れ，異常発声，活動性低下，体温下降，脱水及び粗毛がみられた。最長 26 週間までの反復投与毒性試験において，150 mg/kg/日までの用量では本薬投与に関連した一般状態の変化は認められなかった【2.6.6.3.1 参照】。

イヌでは，雄の 21 及び 28 日間，並びに雌の 21 日間反復投与毒性試験において，CNS 症状がみられた。すなわち，25 mg/kg/日以上の投与群の雄では痙攣がみられ，20 mg/kg/日以上の投与群の雌雄では，CNS 関連の一般状態の変化（振戦，運動失調，歩行異常，円背位，ケージ噛み行動，及び活動性低下など）がみられた。これらのうち数例の動物を試験途中で安楽死させた。そのほかに，20 mg/kg/日以上の投与群では削痩及び脱水など，一般状態の悪化を示す所見がみられた。雌では低用量で嘔吐及び流涎がみられた【2.6.6.3.3 及び 2.6.6.3.4 参照】。

マウスでは 175 mg/kg 以上の投与群で痙攣がみられた【2.6.6.5.2 参照】。

非臨床試験に用いた動物種でみられた CNS への影響及びヒトへの外挿性については 2.4.2.2.1 に示す。痙攣を除き，上述した可逆的な症状は MTD を超える用量でみられた変化であることから，アパルタミドの投与対象となる CRPC 患者への外挿性は低いと考えられる。

2.4.4.1.2.3　体重及び摂餌量

反復投与毒性試験において，雄のラット及びイヌではほぼすべての投与群で，雌イヌでは MTD を上回る 20 mg/kg/日投与群で，体重及び体重増加量の減少がみられた。雌ラットでは体重増加量の増加がみられた。摂餌量は体重とほぼ同様の推移を示した【2.6.6.3 参照】。

他の抗アンドロゲン薬についても動物で体重への影響がみられることから[19),27)]，アパルタミドの薬理作用が雌雄動物の体重に影響を及ぼした可能性がある。

ARN-509-003 試験において，アパルタミド及びプラセボ群の発現率は，それぞれ，体重減少が 16.1 及び 6.3%，食欲減退が 12.3 及び 8.8%であった【表 2.7.4.2-3】。

2.4.4.1.2.4　アパルタミドの抗アンドロゲン作用に関連した毒性変化

抗アンドロゲン薬に特徴的な影響が，ラット及びイヌともに全投薬群で雌雄の生殖器にみられ，乳腺，下垂体，副腎及び胸腺の変化も伴っていた。抗アンドロゲン作用に関連した他の影響として，赤血球パラメータの減少，並びに血小板数，白血球数及びコレステロールの増加もみられた。

テストステロン濃度を雄イヌ 13 週間反復投与毒性試験において測定した【2.6.6.3.3.3 参照】。テストステロン濃度は，アパルタミド投与群で低い傾向がみられた。AR の作用機構はよく知られていることから，その他のホルモン濃度の測定は，マウス，ラット及びイヌを用いた他のいずれの毒性試験においても行わなかった。

以上の所見の発現機序について，以下に詳述する。

(1) 精巣，精巣上体，精嚢及び前立腺

ラットの反復投与毒性試験では，精巣の病理組織学的検査で精細管変性，間細胞（ライディッヒ細胞）の過形成又は良性腫瘍がみられた【2.6.6.3.1 参照】。雄ラット 26 週間反復投与毒性試験では，75 及び 150 mg/kg/日［海外臨床試験におけるヒト被験者の曝露量（AUC）と比較して 3.9 及び 5.1，国内臨床試験におけるヒト被験者の曝露量（AUC）と比較して 3.2 及び 4.2］の各 1 例で精巣の間細胞腺腫がみられた【2.6.6.3.1.4 参照】。イヌの精巣では，精細管の変性／萎縮，精子減少及び間細胞の肥大がみられた【2.6.6.3.3 参照】。

精巣間細胞の過形成／腫瘍は，薬理作用の AR 阻害の結果，下垂体で黄体形成ホルモン（LH）の過剰産生の状態が続くことによって生じるものと考えられる。ラットの精巣間細胞はヒトよりも著しく多い LH 受容体を有することから[2),8)]，LH 濃度増加に伴う細胞分裂促進作用に対して感受性が高く，精巣間細胞の過形成／腫瘍はラット特異的な所見であると考えられている。第一世代の抗アンドロゲン薬であるビカルタミドでも，ラットの精巣間細胞の過形成及び良性腫瘍がみられた[19)]。ヒトの疫学研究では，ラットでライディッヒ細胞腫を誘発する化合物に曝露された男性にライディッヒ細胞腫のリスクがあることは確認されていない[9),31)]。

アパルタミドの反復投与毒性試験では，ラットで精巣上体，精嚢，凝固腺及び前立腺の萎縮【2.6.6.3.1 参照】，イヌで精巣上体及び前立腺の萎縮がみられた【2.6.6.3.3 参照】。前立腺及び精嚢におけるアポトーシスは，試験途中で安楽死させたラット（概して 150 mg/kg/日以上）のみにみられた。雄ラットの受胎能試験では，4 週間反復投与により 25 mg/kg/日以上の投与群で副生殖器及び精巣上体の重量減少，並びに精巣上体の精子数の減少がみられた。150 mg/kg/日［26 週間反復投与毒性試験及びヒト被験者の曝露量（AUC）との曝露比は，海外臨床試験との比較では 5.1，国内臨床試験との比較では 4.2］では精子の運動性低下がみられ，無処置雌ラットとの交配において，交尾率及び受胎率の低下，並びに着床前又は着床後胚損失率の上昇がみられ，生存可能な出生児数の減少が示唆された。雄ラットの受胎能への影響は，アパルタミドの最終投与後 8 週間の休薬により回復がみられた【2.6.6.6.1.1 参照】。

精巣上体及び副生殖器（前立腺，精嚢及び凝固腺）の所見は，アパルタミドの抗アンドロゲン作用に起因するものと考えられる。精巣上体及び副生殖器は，一般に精巣よりアンドロゲンレベルの低下に対する感受性が高く，重量減少及び萎縮が速やかに認められる[11)]。

(2) 卵巣及び子宮

雌ラット 26 週間反復投与毒性試験では，25 mg/kg/日［ヒト曝露量（AUC）との曝露比は，海外臨床試験との比較では 2.8，国内臨床試験との比較では 2.3］以上の投与群で良性及び悪性の卵巣腫瘍（莢膜細胞腫及び顆粒膜細胞腫）がみられた。さらに，全投薬群の卵巣の多くに間質細胞

の過形成及び黄体の欠如がみられた。100 及び 150 mg/kg/日投与群では，2 カ月間の休薬後も卵巣に良性の莢膜細胞腫及び顆粒膜細胞腫がみられた【2.6.6.3.2.2 参照】。

げっ歯類では，卵胞数を著しく減少させるなど，卵胞に障害を与える因子によって卵巣腫瘍が誘発されやすいことが良く知られている[6)]。すなわち，エストラジオールなどの卵巣の性ステロイドホルモンの分泌が低下すると，下垂体性腺刺激ホルモン，特に LH の代償性過剰産生が誘発され，それによって卵巣の腫瘍発生のリスクが高まる。AR は，卵胞形成のほぼすべてのステージで卵巣に発現し，卵胞発育の増殖因子であることが知られている[36)]。AR は，排卵前の閉鎖卵胞を誘発する顆粒膜細胞のアポトーシスを抑制し[18)]，卵母細胞の成熟を促す[17)]。アンドロゲン受容体ノックアウト（ARKO）マウスの卵巣では，卵巣の黄体数の減少がみられて成熟卵胞の著しい減少が示され[35)]，平均出生児数の減少も認められた[38)]。AR が機能的に欠如することにより，発育卵胞が成熟せず，その代わりに卵胞の変性及び閉鎖が生じ，黄体数の著しい減少が誘発される。ARKO マウスにおける卵胞の発育抑制及び黄体数の減少は，エストロゲン産生の減少及び視床下部へのフィードバックを生じ，LH の持続的な増加を伴うホルモン不均衡を誘発する。卵巣における AR 阻害は，17β-エストラジオールに変換されるテストステロンを減少させるため，その結果，循環中の 17β-エストラジオールが低下し[36)]，この低下により代償性に過剰な下垂体性腺刺激ホルモン（主に LH）が産生され，卵巣腫瘍が発現する。したがって，アパルタミドによる AR 阻害は，卵胞発育抑制を介して著しい LH の増加を誘発し，その結果，卵巣腫瘍を生じた可能性が考えられる。

以上のように，雌ラット 26 週間反復投与毒性試験でみられた卵巣の腫瘍及び過形成は，アパルタミドの持続的な AR 阻害によるホルモンレベルの異常，調節不全及び不均衡に起因すると考えられる。薬理作用を介した視床下部－下垂体－生殖腺（卵巣）軸の乱れは，げっ歯類特異的であり，ヒトへの外挿性は乏しいと考えられている[22)]。第一世代の抗アンドロゲン薬であるビカルタミドの投与により，ラットの卵巣において腫瘍を含めて同様の所見がみられた[19)]。

雌イヌ 13 週間反復投与毒性試験では，1 カ月間の休薬後も性的未成熟に関連する卵巣及び子宮の重量減少がみられた【2.6.6.3.4.2 参照】。

性成熟の遅延は，アパルタミドの薬理作用に関連しているものと考えられる[29)，35)]。

(3) 乳腺

雄ラット 28 日間反復投与毒性試験では，乳腺の雌型分化がみられた【2.6.6.3.1.2 参照】。雌ラット 26 週間反復投与毒性試験では，乳腺の肥大，拡張，空胞化及び乳腺嚢胞が認められた【2.6.6.3.2.2 参照】。

乳腺への影響は，アパルタミドの薬理作用に関連しているものと考えられる[23)，25)]。

(4) 下垂体

雄ラット 28 日間反復投与毒性試験【2.6.6.3.1.2】及び雄イヌ 13 週間反復投与毒性試験【2.6.6.3.3.3】では，下垂体前葉の肥大がみられた。雌ラット 26 週間反復投与毒性試験【2.6.6.3.2.2】では下垂体の過形成がみられた。

視床下部－下垂体－生殖腺軸の乱れによって，下垂体における性腺刺激ホルモン分泌細胞の肥大／過形成がみられたものと考えられた。性腺刺激ホルモン分泌細胞から分泌される下垂体前葉

の LH 及び卵胞刺激ホルモンは，性ステロイドのエストロゲン及びテストステロンによるネガティブフィードバックを介して，視床下部からの性腺刺激ホルモン放出ホルモン又は黄体形成ホルモン放出ホルモンにより制御される。AR 阻害などのネガティブフィードバックを減少させる化合物は，去勢と同様な作用を示し，空胞化を伴う性腺刺激ホルモン分泌細胞の肥大を生じさせる。性腺刺激ホルモン分泌細胞の肥大は抗アンドロゲン作用を有するフルタミド及び他の抗アンドロゲン薬で報告されており[15)]，アパルタミドの反復投与毒性試験でみられた下垂体の所見は，抗アンドレゲン薬のよく知られたクラスエフェクトである。

(5) 副腎

雌雄ラットのすべての反復投与毒性試験において，副腎の重量増加及び皮質肥大がみられた【2.6.6.3.1 及び 2.6.6.3.2 参照】。

副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）は，生後発育及び副腎機能の主要な調節因子であるが，ラットでみられる副腎腫大／肥大の最も一般的な原因は，副腎皮質の持続的な ACTH 刺激であり，ネガティブフィードバックにより下垂体 ACTH の分泌[16)]を促すコルチコステロンを副腎皮質が産生しないことや，コルチコステロイドが被験物質又はコルチコステロイド結合グロブリン（CBG）に結合してコルチコステロイドが減少することに起因する。副腎及び視床下部－下垂体－副腎（HPA）軸に対する抗アンドロゲン作用は十分に解明されており，アンドロゲンの CBG に及ぼす影響が原因であると考えられている[19)]。コルチゾール及びコルチコステロンは，CBG に結合して血液中に運ばれる。この輸送タンパク質への影響が，遊離の活性型ステロイドと結合型のステロイド間のバランスを変化させ，それによって HPA 軸の制御に影響を及ぼす。抗アンドロゲン薬による CBG 濃度の増加は，遊離コルチコステロイドを低下させ，HPA 軸のネガティブフィードバックを抑制することにより副腎皮質の ACTH 刺激を引き起こし，その結果，皮質が腫大／肥大する。このように，抗アンドロゲン薬による副腎の所見はよく知られており，アパルタミドのクラスエフェクトと考えられる[19)]。

(6) 胸腺及び白血球

胸腺の重量増加又は細胞成分の増加に示されるように，胸腺退縮の遅延又は軽減が，雄ラットの 13 週間及び 26 週間反復投与毒性試験でみられた。リンパ球，単球及び好塩基球などの白血球数の増加が，雌雄ラットの反復投与毒性試験を通して一貫して認められた【2.6.6.3.1 及び 2.6.6.3.2 参照】。

アンドロゲン（及びエストロゲン）は，加齢に伴う胸腺の萎縮／退縮に関連することが知られている。正常なげっ歯類の雄を去勢すると胸腺退縮が遅延又は胸腺が顕著に腫大するが，これらの変化はアンドロゲン補充によって回復する。同様に，AR 阻害薬などの化学物質によるテストステロンの減少によって，加齢に伴う胸腺退縮を回復させ，胸腺細胞のアポトーシス率低下，並びに T 細胞及び胸腺上皮細胞の増殖亢進を伴いながら胸腺機能を回復させる[24),32)]。したがって，ラットの胸腺でみられた変化は，アパルタミドの薬理作用によるものと考えられる。対象患者では胸腺の加齢性の退行（胸腺退縮）が既に生じていることから，臨床的な外挿性は低いと考えられる。

白血球数の増加は，アンドロゲン減少及び胸腺の再構築による循環 T 細胞プールの変化によるものと考えられている[4)]。

ARN-509-003 試験では，ラットでみられた変化とは対照的にリンパ球数の減少がみられ，投薬群ではグレード 2 及びグレード 3 の血液検査値異常が高頻度に報告された【2.7.4.3.1 参照】。

(7) 赤血球パラメータ及び血小板

雌雄ラットを用いた反復投与毒性試験では全試験を通して，赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少（最大-20%），並びにそれに関連した網状赤血球数，赤血球分布幅，平均赤血球血色素量及び平均赤血球容積の増加が一貫して認められた。赤血球パラメータの変化は，再生性貧血と関連し，一部の試験では骨髄の細胞過形成及び脾臓の造血亢進がみられた。ラットの反復投与毒性試験では血小板数の増加（1.5 倍）がみられた【2.6.6.3.1 及び 2.6.6.3.2 参照】。イヌ 13 週間及び 39 週間反復投与毒性試験では，最高用量の 10 mg/kg/日まで血液学的パラメータへの影響は認められなかった【2.6.6.3.3.3 及び 2.6.6.3.3.4 参照】。

ラットにおける赤血球パラメータの減少は，赤血球産生に関与するアンドロゲン刺激作用[30)]と拮抗するアパルタミドの抗アンドロゲン作用と関連する変化である。赤血球パラメータの減少とコレステロールの増加との関連性については，2.4.4.1.2.4(8)に記載する。ラットにおける血小板数の増加は，赤血球産生亢進に関連した二次的変化であると考えられる[5),13)]。

ARN-509-003 試験では，投薬群で貧血が認められた【表 2.7.4.2-3】。

(8) コレステロール

コレステロールの増加が，ラットではすべての反復投与毒性試験において用量依存的にみられ（最大 3 倍）【2.6.6.3.1 及び 2.6.6.3.2 参照】，イヌにおける増加の程度はラットよりも軽度であった（39 週間反復投与毒性試験における 10 mg/kg/日投与群では約 50%の増加のみ）【2.6.6.3.3 参照】。

AR シグナル伝達の阻害は，細胞内へのコレステロールの取り込みを抑制した結果，末梢コレステロール濃度を増加させる[20)]。げっ歯類では，去勢及び抗アンドロゲン薬の投与によりコレステロールの増加が報告されており，これは薬理作用であるアンドロゲン産生阻害によるものと考えられている[7),19),28)]。コレステロールの増加は赤血球膜コレステロールの増加と連動し，赤血球の変形能の低下及び浸透圧脆弱性の亢進を生じる。赤血球膜構造の変化は赤血球の形態異常をもたらすが，このような赤血球は脾臓で血液循環から排除され，軽度な溶血性貧血につながる[1),10)]。したがって，上記機序に基づき，アパルタミドを投与したラットでみられたコレステロールの増加は，赤血球パラメータの減少と関連しているものと考えられる。

雄ラット 28 日間反復投与毒性試験では，血液塗抹標本観察で，奇形赤血球，多染性赤血球，赤血球大小不同及び標的赤血球が数例でみられた【2.6.6.3.1.2 参照】。アパルタミドを投与したイヌでは，コレステロールの増加は極めて軽度であり，赤血球数，赤血球の形態異常，網状赤血球数又はその他の貧血を示唆する変化は認められなかった［2.4.4.1.2.4(7)参照］。

ARN-509-003 試験では，高コレステロール血症がアパルタミド及びプラセボ群で，それぞれ 6.1 及び 1.5%にみられた【表 2.7.4.2-3】。

(9) 結論

生殖器，乳腺，下垂体，副腎，胸腺，白血球，赤血球パラメータ，血小板及びコレステロールのほとんどの変化は，アパルタミドの薬理作用に起因するものと考えられ，テストステロン産生又は活性に影響を及ぼす薬物の毒性試験で既に報告されている[19)，26)，27)，34)]。これらの変化は，少なくとも 30 日又は 60 日の休薬により回復性を示した。これらの変化が認められたアパルタミドの血漿中曝露量は，CRPC 患者の曝露量と比較し，わずかに低い（雄イヌ）かほぼ同等（雄ラット）であった（表 2.4.4-1）。

ラットでみられた精巣及び卵巣の腫瘍は，げっ歯類に特異的な変化であり，ヒトへの外挿性は低いと考えられる。さらに，アパルタミドの適応症は女性患者を対象としたものではない。

以上の非臨床試験成績に基づくと，アパルタミド投与は男性の受胎能に影響を及ぼす可能性がある。毒性変化のほとんどについて無影響量（NOEL）は求められていないが，予定されているアパルタミドの適応症，すなわち CRPC 患者にとって毒性学的な懸念となるとは考え難い。

2.4.4.1.2.5　肝臓及び甲状腺への影響

ラットを用いた反復投与毒性試験では，用量依存的で可逆的な肝臓の重量増加及び肝細胞肥大がみられ【2.6.6.3.1 及び 2.6.6.3.2】，これは肝臓の代謝酵素誘導（分析された CYP1A，2B，2C，3A 及び 4A のうち，主に CYP1A の誘導）と関連する変化であった【2.6.4.5.4.1 参照】。甲状腺の機能亢進（重量増加，濾胞細胞の肥大及び過形成）が，雄ラット 28 日間及び雌ラット 26 週間反復投与毒性試験でみられた。雄ラットの甲状腺の変化は 28 日間反復投与毒性試験でのみ認められ，長期投与による毒性試験では認められなかった。

甲状腺の変化は，肝臓の代謝酵素誘導による甲状腺ホルモン代謝亢進を伴う適応性の二次的変化であると考えられた。甲状腺ホルモンの血漿半減期及び輸送タンパクとの結合にラットとヒトとの間で種差があり，ヒトと比較してラットの方が甲状腺に対する感受性が極めて高い[37)]。したがって，下垂体－甲状腺軸の乱れに起因するこれらの変化は，ヒトへの外挿性は乏しいと考えられる。

雄イヌ 39 週間反復投与毒性試験では，胆管／卵円形細胞の過形成が 2.5 mg/kg/日以上の投与群で用量依存的にみられた。また，ALP の増加（約 3 倍）が 5 mg/kg/日以上の投与群でみられた。39 週間反復投与毒性試験では回復性試験群が設定されていなかったことから，病理組織学的所見の回復性については評価できていない【2.6.6.3.3.4 参照】。ALP の増加は雌イヌ 13 週間反復投与毒性試験で回復がみられた【2.6.6.3.4.2 参照】。

イヌにおける胆道系の変化の機序は不明であるが，アビラテロン酢酸エステル（ザイティガ®）のラット及びサルの慢性毒性試験でも胆管／卵円形細胞の過形成が認められているため，内分泌系への影響と関連する可能性が考えられる[39)]。

ラットでは ALP の増加が反復投与毒性試験において一貫してみられたが，アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の増加は一部の試験でのみみられた。イヌでは雌で 21 日間反復投与毒性試験においてのみ ALT の増加がみられた【2.6.6.3.4.1 参照】。

ALP 及び ALT の増加は他の抗アンドロゲン薬でもみられており，肝臓の代謝酵素誘導に関連するものと考えられている[19)]。

ARN-509-003 試験では，ALT 増加の発現率はプラセボ群と比較して投薬群で低かった。アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）増加の発現率は両投与群において同様であった【2.7.4.3.3 参照】。

非臨床試験でみられた肝臓及び甲状腺の変化は，その所見及び重症度を考慮すると，アパルタミドの投与を受ける CRPC 患者に対するベネフィットはリスクを上回ると考えられる。

2.4.4.1.2.6 その他の毒性変化

ラットの反復投与毒性試験ではフィブリノーゲンの増加（最大 1.5 倍）がみられ，総タンパク，アルブミン，グロブリン，尿素窒素，クレアチニン及びトリグリセリドの増加も試験を通してほぼ一貫して認められた【2.6.6.3.1 及び 2.6.6.3.2 参照】。ARN-509-003 試験では，高トリグリセリド血症がアパルタミド投与群の被験者の 11%及びプラセボ群の被験者の 8.4%に認められた【2.7.4.3.1 参照】。

ラットの反復投与毒性試験では，好中球数の増加，活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）及びプロトロンビン時間（PT）の延長又は短縮，並びにγ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT），カルシウム及びリン酸の増加がみられたが，試験を通して一貫してみられた変化ではなかった。グルコースの増加は雌ラットのみに認められた。

ラットで認められたこれらの血液学的変化及び血液生化学的変化は，その所見及び重症度を考慮すると，アパルタミドの投与を受ける CRPC 患者に対するベネフィットはリスクを上回ると考えられる。

2.4.4.1.3 ラット反復投与試験における NOAEL 及び MTD

雌雄ラットの反復経口投与毒性試験における試験成績を毒性試験の概要文【2.6.6.3.1 及び 2.6.6.3.2】に記載する。

雄ラット 26 週間反復投与毒性試験では，75 及び 150 mg/kg/日投与群で体重減少（最大-10%），体重増加量減少（最大-15%），赤血球パラメータの減少（最大-20%）及びラット特異的な間細胞（ライディッヒ細胞）腺腫が認められたことから，NOAEL は 25 mg/kg/日と判断された。雌ラット 26 週間反復投与毒性試験では，25 mg/kg/日（最低用量）以上の投与群で赤血球パラメータの減少（150 mg/kg/日投与群で最大-23%），並びに良性及び悪性卵巣腫瘍がみられたことから，NOAEL は 25 mg/kg/日未満と判断された。

雄ラットでは，250 mg/kg/日以上の投与群で本薬投与に関連した死亡がみられたが，死因は不明であった。雄ラット 28 日間反復投与毒性試験では 150 mg/kg/日投与群で死亡例がみられたが，雄ラット 26 週間反復投与毒性試験では同じ用量で死亡例は認められなかった。雌ラット 26 週間反復投与毒性試験では，150 mg/kg/日投与群の 1 例が Day 85 に死亡し，本薬投与との関連性は否定できないが，死因は不明であった。150 mg/kg/日投与群の雌ではその他に本薬投与との関連が示唆される死亡例は認められなかった。したがって，26 週間反復投与毒性試験の成績に基づき，長期投与におけるラットの MTD は雌雄ともに 150 mg/kg/日と判断された。

MTD の 150 mg/kg/日投与群では，雄で体重増加量の減少，雌で体重増加量の増加及び雌雄の生殖器への影響が認められた。これらの所見は雌雄の乳腺，下垂体，副腎及び胸腺の変化ととも

に，本薬の薬理作用に起因したものと考えられた。これらの変化は休薬により回復性がみられた。ラットでは反復投与後に一貫して，網状赤血球数の代償性の増加を伴う赤血球パラメータの減少がみられ，これは抗アンドロゲン作用に関連した変化であった。骨髄の細胞過形成，脾臓の造血亢進及び血小板数の増加は，赤血球パラメータの減少に対する二次的変化であると考えられた。白血球数及びフィブリノーゲンの増加がみられた。コレステロールは最大で 3 倍に増加した。可逆的な肝細胞及び甲状腺の肥大は，肝臓の代謝酵素誘導及び甲状腺ホルモン代謝に関連した変化であり，ヒトへの外挿性は低いものと考えられた。

2.4.4.1.4 イヌ反復投与試験における NOAEL 及び MTD

雌雄イヌの反復経口投与毒性試験における試験成績を毒性試験の概要文【2.6.6.3.3 及び 2.6.6.3.4】に記載する。

雄イヌ 39 週間反復投与毒性試験では，全投薬群で体重減少（最大-12%）及び体重増加量減少（最大-44%）がみられたことから，NOAEL は 2.5 mg/kg/日（最低用量）未満と判断された。雌イヌ 13 週間反復投与毒性試験では NOAEL は 10 mg/kg/日と判断された。

雄イヌ 39 週間及び雌イヌ 13 週間反復投与毒性試験では，10 mg/kg/日までの用量で死亡又は重篤な用量制限毒性はみられなかった。一方，28 日間までの反復投与毒性試験では，雄の 25 mg/kg/日以上の投与群及び雌の 20 mg/kg/日投与群で CNS 症状がみられ，このため安楽死させた。したがって，長期投与におけるイヌの MTD は雌雄とも 10 mg/kg/日と判断された。

MTD の 10 mg/kg/日投与群では，雄で体重増加量の減少がみられた。雄イヌ 39 週間反復投与毒性試験では，10 mg/kg/日投与群で精巣，精巣上体及び前立腺に変化がみられた。肝臓では胆管過形成（回復性については評価されていない）がみられ，これに関連した変化として ALP の増加（3.5 倍）がみられた。雌イヌ 13 週間反復投与毒性試験では，10 mg/kg/日投与群で 1 カ月間の休薬期間終了時に性成熟の遅延が認められた。ALP は最大で 2.5 倍に増加し，コレステロールは雌雄とも最大で 1.7 倍に増加した。CNS への影響及び肝臓の変化を除き，雌雄でみられた変化の大部分は，本薬の薬理作用に起因したものと考えられた。これらの変化は休薬により回復性がみられた。

2.4.4.1.5 ラット及びイヌの NOAEL 及び MTD における動物－ヒト曝露量比

雄ラット 26 週間反復投与毒性試験及び雄イヌ 39 週間反復投与毒性試験の NOAEL 及び MTD における血漿中曝露量（C_{max} 及び AUC）と，CRCP 患者にアパルタミドの臨床推奨用量である 240 mg/日を反復投与したときの曝露量を比較した（海外臨床試験 56021927PCR1019 試験，国内臨床試験 56021927PCR1008 試験）（表 2.4.4-1）。

アパルタミドについて，海外臨床試験の曝露量との比較では，MTD における C_{max} 及び AUC に対する曝露比は 3～5，NOAEL における C_{max} 及び AUC に対する曝露比は，ラットで約 1 及びイヌで 1 未満であった。国内臨床試験の曝露量との比較では，MTD における C_{max} 及び AUC に対する曝露比は 2～4， NOAEL における C_{max} 及び AUC に対する曝露比は，ラットで約 1 及びイヌで 1 未満であり，海外臨床試験の曝露量との比較と同様であった。

M3 について，雄イヌ 39 週間反復投与毒性試験の MTD における C_{max} 及び AUC はヒトの曝露量を上回り，NOAEL における C_{max} 及び AUC はヒト曝露量の少なくとも 50%を示した。

表 2.4.4-1 雄動物を用いた毒性試験の NOAEL 及び MTD における曝露量と海外及び国内臨床試験の臨床推奨用量における曝露量との比

Species	Dose (mg/kg)	C_{max} (μg/mL)	AUC (μg.h/mL)	Animal-to-Human Exposure Ratio			
				Non-Japanese[c]		Japanese[d]	
				C_{max}	AUC	C_{max}	AUC
Apalutamide							
Rat NOAEL (26-week)[a]	25	7.20	135	1.2	1.4	1.0	1.1
Rat MTD (26-week)[a]	150	27.7	508	4.7	5.1	3.7	4.2
Dog NOAEL (39-week)[b]	< 2.5	< 3.82	< 86.6	< 0.6	< 0.9	< 0.5	< 0.7
Dog MTD (39-week)[b]	10	18.7	427	3.1	4.3	2.5	3.5
Non-Japanese [c]	240 mg	5.95	100	-	-	-	-
Japanese [d]	240 mg	7.57	122	-	-	-	-
JNJ-56142060 (M3)							
Rat NOAEL (26-week)[a]	25	0.228	4.58	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
Rat MTD (26-week)[a]	150	1.4	27.7	0.2	0.2	0.2	0.2
Dog NOAEL (39-week)[b]	< 2.5	2.99	69.7	0.5	0.6	0.4	0.5
Dog MTD (39-week)[b]	10	8.32	189	1.4	1.5	1.2	1.3
Non-Japanese [c]	240 mg	5.85	124	-	-	-	-
Japanese [d]	240 mg	7.11	150	-	-	-	-

[a] Mod4.2.3.2.4/TOX10838
[b] Mod4.2.3.2.11/TOX10839
[c] 56021927PCR1019. Mean pharmacokinetic parameters for apalutamide and JNJ-56142060 (M3) at steady-state in men with CRPC treated with apalutamide at 240 mg/day (Phase 1b QT/QTc Study, 240 mg/day, Cycle 3, Day 1, N=43)
[d] 56021927PCR1008. Mean pharmacokinetic parameters for apalutamide and JNJ-56142060 (M3) at steady-state in men with CRPC treated with apalutamide at 240 mg/day (open-label, multicenter, Phase 1 study, 240 mg/day, Cycle 1, Day 22, N=6)

2.4.4.2 遺伝毒性

アパルタミド，代謝物 M3 及び M4 の遺伝子突然変異誘発性及び染色体異常誘発性について，復帰突然変異試験（Ames 試験），*in vitro* 染色体異常試験，*in vivo* ラット小核試験及び *in vivo* ラットコメットアッセイで評価した。アパルタミド及びその代謝物には変異原性はないと判断された【2.6.6.4 参照】。

2.4.4.3 光毒性

光毒性の評価は，アパルタミドの紫外線（UV）スペクトル【2.3.S.3.1】，アパルタミド及び代謝物 M3 の *in vitro* 光毒性試験【2.6.6.8.7】，並びに動物の組織分布【2.6.4.4.1】の成績に基づいて行った。アパルタミドの紫外可視吸収スペクトルは，[redacted] nm で吸収極大を示し，吸収は[redacted]～[redacted] nm で低くなり，[redacted]～[redacted] nm で最小となる。アパルタミドと代謝物 M3 の構造が類似していることから，代謝物 M3 についてもアパルタミドと類似したスペクトルが予想される。アパルタミド及び代謝物 M3 の *in vitro* 光毒性試験は陰性であった。白色及び有色の雄ラットに ^{14}C -アパルタミドを経口投与したときの全身オートラジオグラフィーでは，アパルタミドの分布が有色皮膚，白色皮膚及び眼に認められ，微量の放射能が投与 504 時間後の皮膚に残存した。しかし，有色皮膚内の放射能濃度は白色皮膚と同様であり，ブドウ膜への放射能の残存も認められなかった

ことから，薬物由来物質のメラニンへの結合はほとんどないと考えられる。以上のように，アパルタミド及び代謝物 M3 の光毒性を示唆する非臨床データは認められていない。

ARN-509-003 試験では，アパルタミドの光毒性を示唆する所見は確認されなかった【2.7.4 参照】。

2.4.4.4　不純物の安全性評価

代表的な原薬バッチにおいて，報告の必要な閾値 0.05%以上の 不純物A* （M2），不純物B*及び 不純物C* 【化学構造については 3.2.S.3.2 を参照】の 3 種類の不純物が認められた。不純物 不純物D* 及び 不純物E* については，【2.6.6.8.6.2 及び 2.6.6.8.6.3】に示すとおり，ラット反復投与毒性試験を実施したが，アパルタミド原薬の現行の規格に基づくと実施する必要のないものであった。ラット毒性試験で評価したこれらの不純物は，開発中の合成方法で製造した原薬中にのみ存在するものであったが，最終合成法ではアパルタミドの原薬中及び製剤中に存在しない。

DEREK 及び Leadscope による *in silico* スクリーニングの結果，不純物A* ，不純物B* 及び 不純物C* の 3 種類の不純物に構造アラートは認められなかった【3.2.S.3.2 参照】。

代表的な原薬バッチにおいて不純物 不純物C* の含量は，構造決定の必要な閾値（0.10%）を下回り，安全性確認の必要な閾値を超えていなかった。

不純物A* はラット，イヌ及びヒトにおけるアパルタミドの M2 代謝物と同一であることから，ICH Q3A ガイドラインに基づきこの不純物の安全性は確認されていると考えられた。

不純物 不純物B* の安全性はラット 1 カ月間反復経口投与毒性試験に基づいて確認された。アパルタミドの投与量を 25 及び 100 mg/kg/日とし，不純物 不純物B* を 1.2% w/w 添加したアパルタミド又は 不純物B* を添加していないアパルタミドをラットに投与した【2.6.6.8.6.1 参照】。アパルタミドの 100 mg/kg/日までの用量においてラットの毒性プロファイルに，表 2.4.4-2 に示す含量の不純物 不純物B* による影響は認められなかったと考えられた。したがって，不純物 不純物A* の安全性の閾値は，以下の手順に従って算出した：

不純物の名目濃度（%）に基づき，アパルタミドを 100 mg/kg/日の用量でラットに投与したときの不純物の投与量（mg/kg/日）を求めた。例えば，100 mg/kg/日に対して 1.2%で不純物 不純物B* を添加して投与した場合， 不純物B* の投与量は 1.2 mg/kg/日となる。

アパルタミドの 1 日当たりの推奨臨床用量は 240 mg であり，患者体重を 50 kg と仮定すると，1.2 mg/kg/日の不純物 不純物B* の安全性が確認された閾値（Qualified Level）は以下のようになる。

Qualified Level (QLimp) = ([1.2 mg/kg/日 x 50 kg] / 240 mg) x 100 = 25%

*新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.4.4-2 アパルタミド原薬不純物についての安全性が確認されたレベル

Impurity	Toxicology Study	Drug Substance Batch	Imp. Conc. (%w/w)	DL (mg/kg)	Qualified Level[a] (%w/w)
不純物A*	NA	NA	NA	NA	NA
不純物B*	TOX11086 (1-month repeat-dose in rat)	[redacted][b]	1.2%	100	25

[a] Calculated by QLimp = [Cimp x DL] x [BW/Dmax], where QLimp is the qualified level of the impurity, Cimp is the concentration of the impurity in the drug substance batch used in the toxicology study, DL is the drug substance daily dose level in the toxicology study with no additional toxicity due to the presence of the impurity, BW is the assumed patient body weight (50 kg), Dmax is the maximum daily dose of drug substance (240 mg) for patients. The factor [Cimp x DL] represents the toxicological qualified dose of the impurity in the animal species in mg/kg; the factor [BW/Dmax] in kg/mg makes the conversion to a human dose and body weight.
[b] Batch [redacted] is a lab scale batch spiked with impurities for qualification purposes..
NA = Not applicable because this impurity is a metabolite in rat, dog, and human, and thus considered toxicologically qualified in accordance with ICH Q3A.

以上のように，不純物B* の安全性は，ラットの反復投与毒性試験に基づいて 25%まで確認されたと考える。この不純物の規格値（[redacted] %以下）は，安全性が確認された閾値をはるかに下回っている【3.2.S.4.1 参照】。

2.4.4.5　毒性評価

アパルタミドの毒性は単回投与毒性試験，反復投与毒性試験（ラットで最長 26 週間，イヌで最長 39 週間），遺伝毒性試験，受胎能試験及び光毒性試験によって評価し，さらに，不純物の毒性試験を実施した。

毒性試験に使用したアパルタミドのバッチについては毒性試験概要表【2.6.7.4】に記載する。

主要な毒性試験に使用する動物種としてラット及びイヌを選択した。これらの動物種はヒトとの *in vitro* 及び *in vivo* の代謝物プロファイルの類似性から，適切な動物種と考えられる。さらに，これらの動物種の成熟動物では，本薬の薬理／毒性作用がアンドロゲン依存性の生殖器において明確に認められることからも，これらの動物種を使用することの妥当性が支持される。

アパルタミド投与によってラット及びイヌでみられた大部分の毒性変化は，アパルタミドの薬理作用及びアンドロゲンシグナル伝達阻害に関連するものと考えられた。雄ラット（最長 26 週間）及び雄イヌ（最長 39 週間）を用いた反復投与毒性試験では，生殖器における萎縮，無精子／精子減少，変性，過形成又は肥大が，ラットでは 25 mg/kg/日［ヒト曝露量（AUC）との比較：海外臨床試験では 1.4 倍，国内臨床試験では 1.1 倍］以上の投与群及びイヌで 2.5 mg/kg/日［ヒト曝露量（AUC）との比較：海外臨床試験では 0.9 倍，国内臨床試験では 0.7 倍］以上の投与群でみられた。4 週間投与による雄ラット受胎能試験では，25 mg/kg/日［ヒトの曝露量（AUC）とほぼ同程度］以上の投与群で精子数及び運動性の低下，無処置の雌ラットとの交配で，交尾率及び受胎率の低下，並びに副生殖器及び精巣上体の重量減少がみられた。雄ラットへの影響はアパルタミドの最終投与後 8 週間の休薬により回復した。雌ラット（最長 26 週間）及び雌イヌ（最長 13 週間）を用いた反復投与毒性試験では，卵巣で最も顕著な変化がみられた。ラット及びイヌで副腎皮質肥大，ラットで下垂体の肥大／過形成，並びに胸腺退縮の遅延又は軽減がみられた。血液学的変化及びコレステロールの増加は，アパルタミドの薬理作用に関連した変化であった。本薬の薬理作用に関連した以上の変化は，休薬により回復又は回復傾向を示した。

*新薬承認情報提供時に置き換え

痙攣がアパルタミドの高用量群において，マウスの単回投与，並びにマウス及びイヌの反復投与後にみられた。

イヌにおける長期反復投与後の標的器官は肝臓であり，ALP の増加を伴って胆管／卵円形細胞の過形成がみられた。

アパルタミドの雄ラットを用いた一般毒性試験及び受胎能試験において，生殖器に対する影響は十分に評価されていることから，別途，生殖機能に対する影響を調べるための試験は実施しなかった。

2.4.5　総括及び結論

アパルタミドは経口投与可能な選択的 AR 阻害薬であり，AR のリガンド結合部位に直接結合する。アパルタミドは AR の核内移行を阻害し，AR の DNA への結合を阻害して AR を介する転写を抑制する。*In vitro* 試験において，アパルタミドは AR に対するアゴニスト活性を示さず，*in vivo* での前立腺癌モデルにおいて，アパルタミドの投与は癌細胞の増殖を抑制し，アポトーシスを促進することにより強い抗腫瘍効果を示す。

In vitro 及び *in vivo* での安全性薬理試験を実施した。げっ歯類及びテレメトリー装着覚醒イヌにアパルタミドを経口投与した *in vivo* 試験では，臨床推奨用量である 240 mg/日での曝露量付近で CNS，心血管系及び呼吸系に対し，投与に関連する作用はみられなかった。マウス及びイヌの毒性試験において，高用量で痙攣等の CNS に関連する所見が認められた。

アパルタミド及び M3 は，阻害又は誘導（若しくは両者）を介して複数の CYP 分子種（CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP3A4 等）並びにトランスポーターMDR1（P-gp）及び BCRP に影響を及ぼす可能性がある。これらの相互作用の臨床的意義については【2.7.2】において，さらに考察している。

ラット及びイヌにおける主な毒性変化は，生殖器，乳腺，下垂体，副腎，胸腺，血液学的パラメータ及びコレステロールにみられ，これらはアパルタミドの薬理作用に関連した変化であった。イヌでは肝臓の胆管にも変化がみられた。

アパルタミドについて，海外臨床試験の曝露量との比較では，MTD における C_{max} 及び AUC に対する曝露比は 3～5，NOAEL における C_{max} 及び AUC に対する曝露比は，ラットで約 1 及びイヌで 1 未満であった。国内臨床試験の曝露量との比較では，MTD における C_{max} 及び AUC に対する曝露比は 2～4，NOAEL における C_{max} 及び AUC に対する曝露比は，ラットで約 1 及びイヌで 1 未満であり，海外臨床試験の曝露量との比較と同様であった。これらは，予定している適応症の患者集団を考慮すると許容可能な値であると考えられる。

非臨床試験に用いた動物種においてヒトの主要代謝物である M3 の曝露量のデータが得られ，雄イヌ 39 週間反復投与毒性試験の MTD における曝露量はヒトの曝露量を上回った。

アパルタミド及びその代謝物は *in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験において遺伝毒性を示さなかった。

以上のとおり，アパルタミドの薬理作用，薬物動態及び毒性作用が評価され，CRPC 患者におけるアパルタミドの有用性が示唆された。

2.4.6 参考文献

1） Akahane K, Furuhama K and Onodera T. Simultaneous occurrence of hypercholesterolemia and hemolytic anemia in rats fed cholesterol diet. Life Sci; 1986; 39: 499-505.

2） Alison RH, Capen CC and Prentice DE. Neoplastic lesions of questionable significance to humans. Toxicol Pathol; 1994; 22(2): 179-186.

3） Antonarakis ES. Enzalutamide: the emperor of all anti-androgens. Transl Androl Urol. 2013;2:119-20.

4） Arredouani MS. New insights into androgenic immune regulation. Oncoimmunology; 2014; 3: 9: e954968.

5） Berridge MV, Fraser JK, Carter JM and Lin F-K. Effects of recombinant human erythropoietin on megakaryocytes and on platelet production in the rat. Blood; 1988; 72(3): 970-977.

6） Capen CC. Mechanisms of hormone-mediated carcinogenesis of the ovary. Toxicol Pathol; 2004; 32(Suppl. 2): 1-5.

7） Cinci G, Pagani R, Pandolfi ML et al. Effects of testosterone on cholesterol levels and fatty acid composition in the rat. Life Sci; 1993; 53: 91-97.

8） Clegg ED, Cook JC, Chapin RE, Foster PMD and Daston GP. Leydig cell hyperplasia and adenoma formation: mechanisms and relevance to humans. Reprod Toxicol; 1997; 11(1): 107-121.

9） Cook JC, Klinefelter GR, Hardisty JF, Sharpe RM and Foster PMD. Rodent Leydig cell tumorigenesis: a review of the physiology, pathology, mechanisms, and relevance to humans. Crit Rev Toxicol; 1999; 29(2): 169-261.

10） Cooper RA, Leslie MH, Knight D and Detweiler DK. Red cell cholesterol enrichment and spur cell anemia in dogs fed a cholesterol-enriched atherogenic diet. J Lipid Res; 1980; 21: 1082-1089.

11） Creasy DM and Chapin RE. Male Reproductive System. In: Handbook of Toxicologic Pathology, eds: Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig MA, Bolon B, Ochoa R and BW Mahler BW. Vol 3, 3rd Edition. Academic Press, Amsterdam; 2013: 2493-2598.

12） Di L, Trapa P, Obach RS et al. A novel relay method for determining low-clearance values. Drug Metab Dispos; 2012; 40(9): 1860-1865.

13） Everds N. Handbook: In The Laboratory Mouse; chapter Hematology of the mouse, Elsevier Ltd; 2004: 271-286.

14） Greaves P. Male genital tract. In: Histopathology of Preclinical Toxicity Studies. Interpretation and Relevance in Drug Safety Evaluation, 4th Ed., Academic Press, Amsterdam; 2012: 615-666.

15） Greaves P. Endocrine glands. In: Histopathology of Preclinical Toxicity Studies. Interpretation and Relevance in Drug Safety Evaluation, 4th Ed., Academic Press, Amsterdam; 2012: 725-797.

16） Harvey PW and Everett DJ. The adrenal cortex and steroidogenesis as cellular and molecular targets for toxicity: critical omissions from regulatory endocrine disrupter screening strategies for human health? J Appl Toxicol; 2003; 23: 81-87.

17） Hickey TE, Marrocco DL, Amato F et al. Androgens augment the mitogenic effects of oocyte-secreted factors and growth differentiation factor 9 on porcine granulosa cells. Biol Reprod; 2005; 73: 825-832.

18） Hu Y-C, Wang P-H, Yeh S et al. Subfertility and defective folliculogenesis in female mice lacking androgen receptor. Proc Natl Acad Sci; 2004; 101: 11209-11214.

19） Iswaran TJ, Imai M, Betton GR and Siddall RA. An overview of animal toxicology studies with bicalutamide (ICI 176,334). J Toxicol Sci; 1997; 22(2): 75-88.

20） Krycer JR and Brown AJ. Cholesterol accumulation in prostate cancer: a classic observation from a modern perspective. Biochimica et Biophysica Acta; 2013; 1835: 219-229.

21） Laizure SC, Herring V, Hu Z, Witbrodt K and Parker RB. The role of human carboxylesterases in drug metabolism: have we overlooked their importance? Pharmacotherapy; 2013; 33(2): 210-222.

22） Long GG, Cohen IR, Gries CL et al. Proliferative lesions of ovarian granulosa cells and reversible hormonal changes induced in rats by a selective estrogen receptor modulator. Toxicol Pathol; 2001; 29(6): 719-726.

23） Lucas JN, Rudmann DG, Credille KM, Irizarry AR, Peter A, and Snyder PW. The rat mammary gland: Morphologic changes as an indicator of systemic hormonal perturbations induced by xenobiotics. Toxicol Pathol; 2007; 35: 199-207.

24） Olsen NJ, Olson G, Viselli SM, Gu X and Kovacs WJ. Androgen receptors in thymic epithelium modulate thymus size and thymocyte development. Endocrinology; 2001; 142(3): 1278-1283

25） Peters AA, Ingman WV, Tilley WD and Butler LM. Differential effects of exogenous androgen and an androgen receptor antagonist in the peri- and postpubertal murine mammary gland. Endocrinology; 2011; 152: 3728-3737.

26） Pinski J, Yano T, Szepeshazi K, Groot K and Schally AV. Recovery of pituitary-gonadal function in male rats after long-term suppression induced by a single injection of microcapsules of LH-RH antagonist Cetrorelix (SB-75). J Androl; 1993; 14: 164-169.

27） Rouquié D, Friry-Santini C, Schorsch F, Tinwell H and Bars R. Standard and Molecular NOAELs for rat testicular toxicity induced by flutamide. Toxicol Sci; 2009; 109(1): 59-65.

28） Saylor PJ and Smith MR. Metabolic complications of androgen deprivation therapy for prostate cancer. J Urol; 2009; 181: 1998-2008.

29） Sen A and Hammes SR. Granulosa cell-specific androgen receptors are critical regulators of ovarian development and function. Mol Endocrinol; 2010; 24(7): 1393-1403.

30） Shahani S, Braga-Basaria M, Maggio M and Basaria S. Androgens and erythropoiesis: past and present. J Endocrinol Invest; 2009; 32: 704-716.

31） Steinbach TJ, Maronpot RR and Hardisty JF. Human relevance of rodent Leydig cell tumors. Hamilton & Hardy's Industrial Toxicology; 2015; 6th Ed.: 1191-1198.

32） Sutherland JS, Goldberg GL, Hammett MV et al. Activation of thymic regeneration in mice and humans following androgen blockade. J Immunol; 2005; 175: 2741-2753.

33） Tetsuka M and Hillier SG. Differential regulation of aromatase and androgen receptor in granulosa cells. J Steroid Biochem Molec Biol; 1997; 61(3-6): 233-239.

34） Toyoda K, Shibutani M, Tamura T, Koujitani T, Uneyama C and Masao H. Repeated dose (28 days) oral toxicity study of flutamide in rats, based on the draft protocol for the 'Enhanced OECD Test Guideline 407' for screening for endocrine-disrupting chemicals. Arch Toxicol; 2000; 74: 127-132.

35） Walters KA, McTavish KJ, Seneviratne MG et al. Subfertile female androgen receptor knockout mice exhibit defects in neuroendocrine signaling, intraovarian function, and uterine development but not uterine function. Endocrinology; 2009; 150(7): 3274-3282.

36） Wang H, Andoh K, Hagiwara H et al. Effect of adrenal and ovarian androgens on type 4 follicles unresponsive to FSH in immature mice. Endocrinology; 2001; 142(1): 4930-4936.

37） Wu KM and Farrelly JG. Preclinical development of new drugs that enhance thyroid hormone metabolism and clearance: inadequacy of using rats as an animal model for predicting human risks in an IND and NDA. Am J Ther; 2006; 13(2): 141-144.

38） Yeh S, Tsai M-Y, Xu Q, et al. Generation and characterization of androgen receptor knockout (ARKO) mice: an *in vivo* model for the study of androgen functions in selective tissues. Proc Natl Acad Sci; 2002; 99: 13498-13503.

39） 審査報告書　[homepage on the Internet]. 独立行政法人　医薬品医療機器総合機構. Available from: http://www.pmda.go.jp/drugs/2014/P201400077/22600AMX00749000-A100_1.pdf