目次

2.4 非臨床試験の概括評価 3
2.4.1 非臨床試験計画概略 3
2.4.2 薬理試験 4
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 4
2.4.2.2 副次的薬理試験 4
2.4.2.3 安全性薬理試験 5
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 5
2.4.2.5 薬理総括 5
2.4.3 薬物動態試験 7
2.4.3.1 分析法 7
2.4.3.2 吸収 7
2.4.3.3 分布 8
2.4.3.4 代謝 8
2.4.3.5 排泄 10
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用 10
2.4.3.7 薬物動態総括 11
2.4.4 毒性試験 12
2.4.4.1 単回投与毒性試験 12
2.4.4.2 反復投与毒性試験 12
2.4.4.3 遺伝毒性試験 13
2.4.4.4 がん原性試験 13
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 14
2.4.4.6 局所刺激性試験 15
2.4.4.7 その他の毒性試験 15
2.4.4.8 毒性総括 16
2.4.5 総括及び結論 18
2.4.6 参考文献一覧 19

略語一覧表

語句略語	語句略語内容
APTT	activated partial thromboplastin time：活性化部分トロンボプラスチン時間
AUC	area under plasma concentration-time curve：血漿中濃度-時間曲線下面積 $AUC_{0-\infty}$：時間 0 から無限大までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein：乳癌耐性タンパク
CD	cluster of differentiation：分化抗原群
CHO	chinese hamster ovary：チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450：シトクロム P450
FOB	functional observation battery：機能観察総合評価
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
HEK	human embryonic kidney：ヒト胎児由来腎臓
hERG	human ether-a-go-go related gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HLA	human leukocyte antigen：ヒト白血球抗原
HMEC	human microvascular endothelial cell：ヒト微小血管内皮細胞
HPLC	high performance liquid chromatography：高速液体クロマトグラフィー
IL-8	interleukin-8：インターロイキン-8
LC-MS/MS	liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry（spectrometer）：高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（分析計）
MATE	multidrug and toxin extrusion：多剤排出輸送体
NK 細胞	natural killer cell：ナチュラルキラー細胞
NOAEL	no-observed-adverse-effect level：無毒性量
OAT	organic anion transporter：有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide：有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter：有機カチオントランスポーター
PAI-1	plasminogen activator inhibitor-1：プラスミノーゲン活性化抑制因子-1
P-gp	P-glycoprotein：P 糖タンパク
PT	prothrombin time：プロトロンビン時間
$t_{1/2}$	elimination half-life：消失半減期
TF	tissue factor：組織因子
TFPI	tissue factor pathway inhibitor：組織因子経路インヒビター
t-PA	tissue plasminogen activator：組織プラスミノーゲン活性化因子
UGT	uridine diphosphate glucuronosyltransferase：ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素
VOD	hepatic veno-occlusive disease：肝中心静脈閉塞症
vWF	von Willebrand factor：フォンヴィルブランド因子

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

デフィブロチドナトリウムは、ブタ腸粘膜から単離した[redacted]を出発物質として調製した[redacted]分子量 13000～20000 の一本鎖のポリデオキシリボヌクレオチドのナトリウム塩である。

医薬品製造販売承認申請書添付資料の作成にあたっては、米国での申請資料を基にデフィブロチドナトリウムの薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験の試験成績を収集した。さらに、日本新薬株式会社にて新たに *in vivo* 薬理試験を実施し、評価資料とした。

（1） 薬理試験

デフィブロチドナトリウムの薬効薬理については、効力を裏付ける試験として血管内皮細胞への血清飢餓による細胞障害モデル及び薬物誘発性アポトーシスに対するデフィブロチドナトリウムの影響を検討した。さらに、凝固・線溶系に対する影響及び骨髄移植モデルマウスの生存に対する影響を検討した。安全性薬理については、独立した安全性薬理試験としては実施せず、反復投与毒性試験に組み込んで、デフィブロチドナトリウムを静脈内投与したときのラット及びイヌの中枢神経系及び心血管系に及ぼす影響を評価し、呼吸系については一般症状及び病理組織学的検査から評価した。また、心血管系の *in vitro* 試験において human ether-a-go-go related gene（hERG）電流に及ぼす影響を検討した（参考資料）。

（2） 薬物動態試験

デフィブロチドナトリウムの薬物動態試験として、吸収、分布、代謝、排泄及び薬物相互作用をマウス、ラット、ウサギ、イヌ及びミニブタを用いて評価し、一部の試験はヒト試料を使用した。投与経路は臨床投与経路と同じ静脈内投与とした。試験ではデフィブロチドナトリウムの ^{125}I-標識体及び非標識体を使用した。

（3） 毒性試験

デフィブロチドナトリウムは 1986 年にイタリアで深部静脈血栓症予防及び血栓性静脈炎の治療薬として承認され、その際に多くの毒性試験が GLP 施行以前に実施されている。今回、肝中心静脈閉塞症（VOD）治療薬としての開発に当たり、過去に実施された毒性試験データを用いて評価を行うとともに、現在の GLP 基準に適合した試験として静脈内投与によるラット 13 週間反復投与毒性試験及びイヌ 13 週間反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、胚・胎児発生に関する毒性試験及び幼若動物を用いた毒性試験を実施した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 血管内皮細胞に対する影響（試験番号 RB2008010, RB2008020, RB2010010, RB2009010、資料番号 4.2.1.1-1, 4.2.1.1-2, 4.2.1.1-3, 4.2.1.1-4、評価資料）

ヒト微小血管内皮細胞（HMEC）において、血清非存在下で培養することによる細胞障害をデフィブロチドナトリウムは 150 μg/mL の濃度で有意に抑制した。また、デフィブロチドナトリウムは、HMEC におけるフルダラビン及びサリドマイドにより誘発される薬物誘発性アポトーシスも抑制した。さらに、デフィブロチドナトリウムはフルダラビン処置下のカスパーゼ-3、ヘパラナーゼ、インターロイキン-8（IL-8）、CD146 及び HLA-DR の発現を抑制した。サリドマイドで誘発されるアポトーシスは、骨髄腫細胞株 RPMI-8226 を用いた場合ではデフィブロチドナトリウムの影響を受けなかったが、HMEC ではデフィブロチドナトリウムによる抑制が認められた。

2.4.2.1.2 凝固・線溶系に対する影響（試験番号 RB2009010, RQCVL049R011, RQCVL050R011、資料番号 4.2.1.1-4, 4.2.1.1-5, 4.2.1.1-6、評価資料）

サリドマイド誘発アポトーシス下での細胞外液中の組織プラスミノーゲン活性化因子（t-PA）、プラスミノーゲン活性化抑制因子-1（PAI-1）量及びプラスミン活性に対するデフィブロチドナトリウムの影響を検討した。HMEC 及び HMEC と RPMI-8226 の共培養系のいずれの細胞系においてもサリドマイド処置により t-PA 量は低下し、HMEC と RPMI-8226 の共培養系においてサリドマイド処置することにより PAI-1 量は増加した。これらのいずれの変化に対しても 150 μg/mL デフィブロチドナトリウムは抑制作用を示した。また、HMEC において、サリドマイド誘発アポトーシス下で認められた細胞外液中のプラスミン活性低下をデフィブロチドナトリウムは抑制した。

プラスミン活性については、ウシ血漿から抽出したユーグロブリン分画及びヒト血漿由来プラスミンを用いて試験管内での検討を行ったところ、デフィブロチドナトリウムはそれぞれ 5～250 μg/mL 及び 0.50～5.10 μg/mL で濃度依存的にプラスミン活性を増強した。

2.4.2.1.3 骨髄移植モデルマウスに対する影響（試験番号 PH-073-002、資料番号 4.2.1.1-7、評価資料）

骨髄移植モデルマウスの生存に対する作用を検討した。骨髄細胞を静脈内移植したマウスに、生理食塩液（対照）又はデフィブロチドナトリウム（400 mg/kg）を 1 日 2 回 16 日間反復腹腔内投与したところ、デフィブロチドナトリウム群の生存時間は対照群と比較して有意に延長した。

2.4.2.2 副次的薬理試験

該当試験なし。

2.4.2.3 安全性薬理試験

2.4.2.3.1 中枢神経系、心血管系及び呼吸系に及ぼす影響（試験番号 1529-001, 1529-002、資料番号 4.2.3.2-3, 4.2.3.2-6、評価資料；試験番号 10202b, 0040-2010、資料番号 4.2.1.3-1, 4.2.1.3-2、参考資料）

機能観察総合評価（FOB）法を用いて、デフィブロチドナトリウムのラット中枢神経系に及ぼす影響を評価した。一般状態観察では、対照群を含む全群の雌雄で、活動性低下、軟便、四肢の機能障害、皮膚の変色、粗毛等が認められた。対照群でも観察されたことからカテーテル処置に関連したものと考えられたが、デフィブロチドナトリウム投与群ではその発現頻度がより高かった。240 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 1200 mg/kg/日以上の投与群の雌で円背位が、240 及び 1200 mg/kg/日投与群の雄で浅速呼吸が、240 mg/kg/日投与群の雄及び 4800 mg/kg/日投与群の雌で呼吸困難が認められた。活動/覚醒測定においては、投与終了時点（9 週目）の 1200 mg/kg/日の雌で、立ち上がり回数と覚醒度の低下が認められた。神経筋測定においては、投与 2 日目の 1200 及び 4800 mg/kg/日の雌雄で、平均後肢握力及び/又は後肢開脚幅が低下したが、投与終了時点（9 週目）には回復した。体重測定においては、投与終了時点（9 週目）の 1200 mg/kg/日の雄及び 4800 mg/kg/日の雌で、同時期の媒体群と比較して平均体重の減少が認められた。正常体温、ペントバルビタール誘発睡眠及びペンテトラゾール誘発けいれんに対する影響は認められなかった。心血管系に対しては、*in vitro* 試験ではデフィブロチドナトリウムは 500 µg/mL まで hERG 電流に影響を及ぼさなかった。また、*in vivo* 試験ではイヌを用いた心電図評価において、心電図パラメータに対する影響は認められなかった。呼吸系に対しては、ラットにおいて浅速呼吸（240 及び 1200 mg/kg/日投与群の雄）あるいは呼吸困難（240 mg/kg/日投与群の雄及び 4800 mg/kg/日投与群の雌）が認められたが、いずれも用量相関性はなかった。イヌにおいては呼吸窮迫を示唆する一般症状は認められなかった。また、いずれの試験においても呼吸系組織の肉眼的/組織的解剖を行ったが、副作用を示唆する所見は認められなかった。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

該当試験なし。

2.4.2.5 薬理総括

デフィブロチドナトリウムは、その多くが血管内皮細胞膜に分布[1,2]し、また細胞内にも取り込まれること[3]が報告されており、内皮細胞膜及び細胞質内の機能分子と相互作用すると考えられる。培養細胞を用いた実験系において、デフィブロチドナトリウムは主に 50～150 µg/mL の濃度で HMEC への血清飢餓による細胞障害及びフルダラビンやサリドマイドによる薬物誘発性アポトーシスを抑制した。血管内皮細胞がアポトーシスを起こしたときのカスパーゼ-3 などの細胞内シグナルの変動も、本薬は同程度の濃度で抑制した。さらに、本薬はヒトプラスミン活性を低濃度から濃度依存的に増加させ、ウシ血漿から抽出したユーグロブリン分画中のプラスミン活性の増強作用は 100 µg/mL 前後でほぼ最大に達した。また、フィブリン塊の分解を指標とした検討において、本薬はプラスミノーゲンには影響せず、10 µg/mL 以上でプラスミン活性を有意に増強したことが報告されている[4]。これらのことから本薬がプラスミンに結合することでプラスミン活性

を増強するものの、高濃度になると本薬の結合が飽和状態となるため、数十 μg/mL の濃度で本薬の効力が発揮されると推察された。

凝固系については、HMEC を用いた検討において、本薬による組織因子（TF）の発現増加及び TF を介した凝固活性の増強抑制[5]、トロンボモジュリンの発現促進[6]、von Willebrand factor（vWF）の増加抑制[7]及び組織因子経路インヒビター（TFPI）の遊離増加[8]が報告されている。このように凝固系に対しては抑制的に作用し、線溶系に対しては促進的に作用することから、本薬が凝固･線溶系の両方の種々の因子に影響を及ぼすことで抗血栓活性の方が優位になると考えられた。実験的血栓モデルにおいても、マウスへのトロンビンの静脈内投与により誘発される致死に対して本薬は保護作用を示した[9]。

また、骨髄移植モデルマウスを用いて本薬の生存に対する影響を検討した。投与経路は臨床適用経路である静脈内投与をマウスの尾静脈で反復するのは困難なため、腹腔内投与とした。マウス及びラットに静脈内投与又は経口投与したときの投与量[9, 10, 11]、を参考に、この試験では 400 mg/kg を 1 日 2 回、16 日間反復腹腔内投与した。

本薬を投与したときの血漿中濃度については、ラットに 4800 mg/kg/日で 7 日間持続静脈内投与したときの投与終了直前の各個体の血漿中濃度は 654、1110、742 μg/mL であり（2.6.7.6 項参照）、平均すると 835 μg/mL となる。また、イヌに 1600 mg/kg/日を 1 日 4 回、各 2 時間かけて 7 日間静脈内投与したときの投与終了直後の各個体の血漿中濃度は 285、355、462 μg/mL であり（2.6.7.6 項参照）、平均すると 367 μg/mL となる。さらにマウスへの投与量である 800 mg/kg/日（400 mg/kg を 1 日 2 回）に換算すると、ラットが 139 μg/mL、イヌが 184 μg/mL となる。骨髄移植モデルマウスへの腹腔内投与とは条件が異なるため直接的な比較はできないものの、緩徐な静脈内投与における 139～184 μg/mL の濃度域が目安となり、静脈内投与より吸収効率が劣る腹腔内投与ではこの濃度域より低い水準になると推察された。また、国内第 II 相臨床試験（FMU-DF-002 試験）において、VOD 患者にデフィブロチドナトリウム（6.25 mg/kg）を 2 時間かけて静脈内投与したときの最高血漿中濃度（C_{max}）の平均値は 25.996 μg/mL（2.7.6.5 項参照）であり、大きな乖離はないと考えられた。さらに、上述したようにヒト血管内皮由来の培養細胞を用いた検討において、概ね数十 μg/mL の濃度域で細胞保護作用を示した。したがって、本薬投与時もこの濃度域で薬効発現すると考えられた。

安全性薬理の評価では、デフィブロチドナトリウム投与により臨床使用にあたり特別に注意を要する作用は認められなかったことから、主な重要器官系（中枢神経系、心血管系あるいは呼吸系）に対する重大なリスクは示されなかったと判断した。

以上、本薬の作用機序は明確でないものの、凝固・線溶系の種々の因子に影響を及ぼすことで血管内皮細胞に保護的に作用すると推察された[12]。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法

ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを投与した後の生体試料中の放射能は、ガンマカウンターで測定した。

デフィブロチドナトリウムを投与したときの血漿中デフィブロチド濃度は、高速液体クロマトグラフ法（HPLC 法）又は蛍光法により測定した。HPLC 法では、各種血漿から溶媒抽出し UV 検出器により測定した。蛍光法では、各種血漿を市販 DNA 蛍光測定キットで処理し、蛍光光度計により測定した。また、デフィブロチドの推定代謝物については、高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析計（LC-MS/MS）で測定した。

2.4.3.2 吸収

2.4.3.2.1 デフィブロチドナトリウムの血漿中動態：単回及び反復（試験番号 150205, 150210, 94830, 80870, [redacted]134330, 1529-001, 1529-002, 95800, 82640、資料番号 4.2.2.2-1, 4.2.2.2-2, 4.2.2.2-3, 4.2.2.2-4, 4.2.2.2-5, 4.2.3.2-3, 4.2.3.2-6, 4.2.3.5.2-4, 4.2.3.5.4-1、評価資料；試験番号 1529-003, 1529-004、資料番号 4.2.3.2-5, 4.2.3.2-1、参考資料）

ラットにデフィブロチドナトリウム（高用量）又はその ^{125}I-標識体（低用量）を単回静脈内投与したとき、低用量では投与量に応じた曝露量の増加が認められた一方で、高用量では投与量比以上に曝露量が増加した。

幼若及び成熟ラットにデフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与したとき、幼若ラットでは成熟ラットと比較して曝露量が低かったものの、投与量比以上に曝露量が増加した。消失半減期（$t_{1/2}$）は、幼若ラットでは血中からの消失が緩やかであったため算出できなかったが、成熟ラットでは 0.33～0.38 時間であった。幼若及び成熟ミニブタにデフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与したとき、両者の曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$）及び $t_{1/2}$ に大きな違いは認められなかった。

ラットにデフィブロチドナトリウムを 7 日間及び 13 週間反復投与（持続静脈内）したとき、投与初日と投与最終日との C_{max} の間で著しい上昇は認められなかった。幼若ラットに 28 日間反復投与（1 日 1 回、静脈内）したとき、雌雄のいずれにおいても投与量に応じた曝露量の増加が認められた。ウサギに 4 回反復投与（静脈内）したとき、1 回目と 4 回目の投与後の C_{max} に大きな違いはなかった。

イヌに 7 日間反復投与（1 日 4 回、静脈内）したとき、投与初日と投与 7 日目で血漿中のデフィブロチド濃度は同程度であった。また、13 週間反復投与（1 日 4 回、静脈内）したとき、曝露量に顕著な性差はなく、全体として投与初日と投与最終日の曝露量に差はなかった。

デフィブロチドナトリウムを反復静脈内投与したとき、検討したいずれの動物種においても反復投与による蓄積はないと考えられた。

2.4.3.3 分布

2.4.3.3.1 タンパク結合及び血球移行（試験番号 8313003、資料番号 5.3.2.1-1、評価資料）

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトにおけるデフィブロチドの血漿タンパク結合率はヒトを含めすべての動物種で高く、88.5%以上を示した。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血液におけるデフィブロチドの血球移行率は 0.0%～36.4%であり、いずれの動物種においても血球移行性は低かった。

2.4.3.3.2 雄性ラットの組織分布（試験番号 150210、資料番号 4.2.2.2-2、評価資料）

白色ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の放射能は、主として腎臓、肝臓、脾臓などの血流量の多い組織や骨髄に分布した。一方で、脳内の放射能濃度は低く、デフィブロチドナトリウムは血液脳関門をほとんど通過しないと考えられた。脂肪組織への蓄積は認められなかった。組織中からの放射能の消失は速やかであり、投与後 168 時間までにはほとんどの組織中の放射能濃度は 1 μg eq./g 以下に低下した。甲状腺の放射能濃度は高く推移したが、これは遊離 ^{125}I が非標識の I と置換して蓄積したものと考えられた。

メラニン含有組織への特異的な放射能の移行について有色ラットを用いて検討した。非有色皮膚と比較して有色皮膚の放射能濃度は投与 8 時間後では高かったが、投与 168 時間後では差は認められなかった。眼球中の放射能濃度は白色ラットと比較して高く推移したが、差はないと考えられた。

2.4.3.4 代謝

2.4.3.4.1 代謝：*In vitro*（試験番号 0251-2010、資料番号 5.3.2.2-1、評価資料）

ヒト小児（5 ヵ月齢及び 2 歳）肝細胞及びヒト成人肝細胞におけるデフィブロチドナトリウムの代謝を検討した。生成する代謝物に若干の違いは認められたものの、いずれの肝細胞においても検出された代謝物濃度は非常に低く、デフィブロチドは肝細胞による代謝をほとんど受けないと考えられた。

2.4.3.4.2 代謝：*In vivo*（試験番号 80870、資料番号 4.2.2.2-4、評価資料）

デフィブロチドナトリウムを 211 mg/kg/日の用量でウサギに静脈内投与（1 日量を 4 分割して投与、1 回の投与は 2 時間かけて静脈内）したときの代謝物を検討した。

検出されたデフィブロチドの代謝物は、遊離塩基（グアニン、チミン、ウラシル）、ヌクレオシド（デオキシグアノシン、デオキシシチジン、デオキシウリジン、チミジン）及びヌクレオチド（デオキシシチジン一リン酸）であった。これらの代謝物は、初回投与開始後 30 分から最終（4 回目）投与終了後 1 時間まで認められたが、最終（4 回目）投与終了後 4 時間の時点ではいずれの代謝物も検出されなかったことから、ウサギ血漿においてデフィブロチドの代謝物は蓄積しないと考えられた。

2.4.3.4.3 推定代謝経路（試験番号 80870, 0251-2010、資料番号 4.2.2.2-4，5.3.2.2-1、評価資料）

デフィブロチドはオリゴヌクレオチドであり、DNA と同様の分解／代謝を受けると考えられる。

In vitro におけるマウス、ラット、ウサギ及びヒト血漿中でのオリゴヌクレオチドの分解は、主としてエキソヌクレアーゼによる 3'末端から 5'末端への加水分解であると報告されており [13]、*in vivo* でも同様であるとされている [14]。*In vivo* での血漿中 DNA 分解の詳細な経路はほとんど知られていないが、主に 3'-エキソヌクレアーゼによる加水分解を受けると推察される。

デフィブロチドの推定分解／代謝経路を図 2.4.3.4.3-1 に示す。

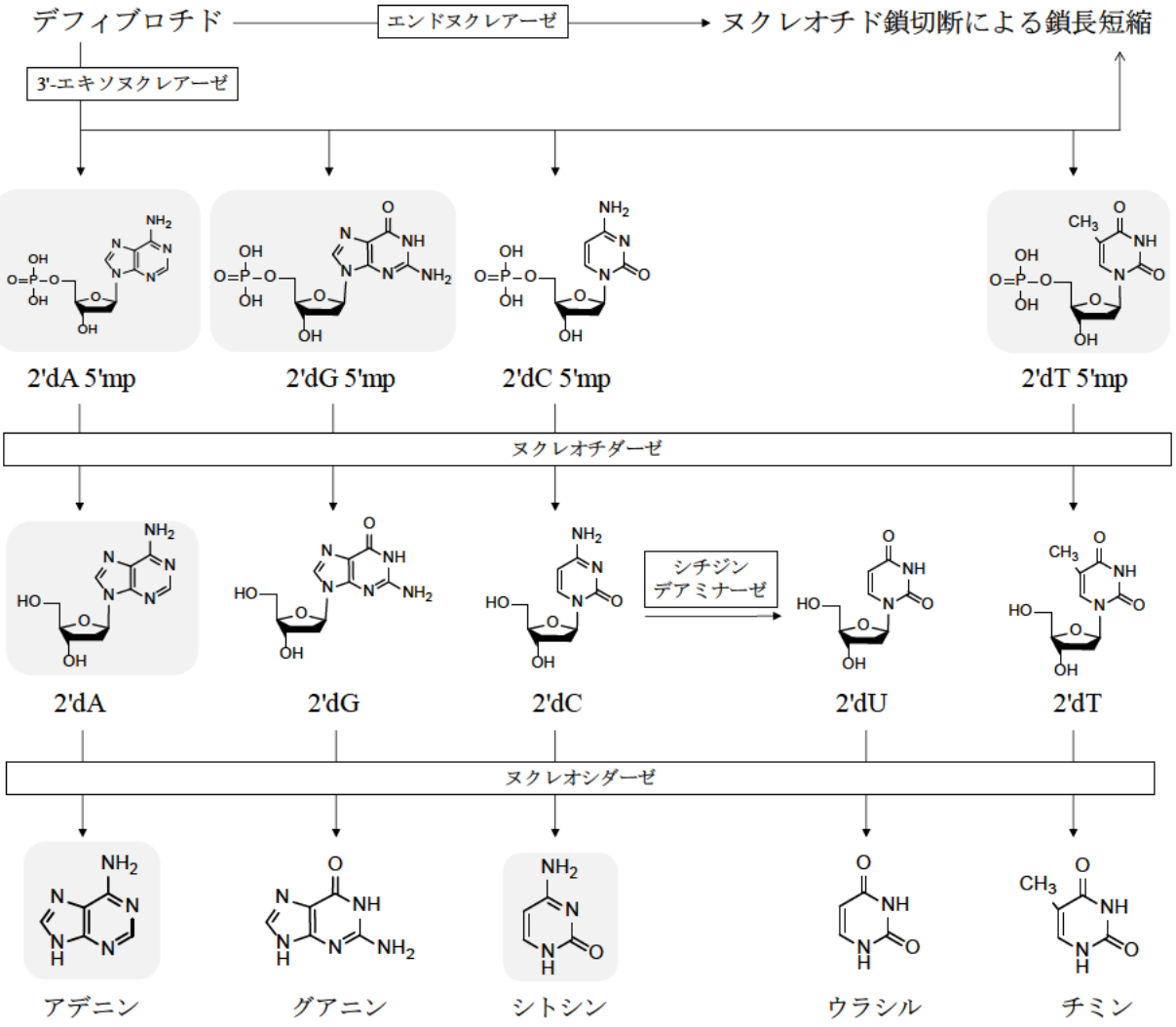


図 2.4.3.4.3-1 *In vivo* におけるデフィブロチドの推定分解／代謝経路

グレーの背景ありは推定代謝物を示す。
デフィブロチド：ブタ腸粘膜由来のポリデオキシリボヌクレオチドナトリウム
（分子量 13000～20000）
2'dA 5'mp：デオキシアデノシン一リン酸、2'dG 5'mp：デオキシグアノシン一リン酸、
2'dC 5'mp：デオキシシチジン一リン酸、2'dU 5'mp：デオキシウリジン一リン酸、
2'dT 5'mp：チミジン一リン酸、
2'dA：デオキシアデノシン、2'dG：デオキシグアノシン、2'dC：デオキシシチジン、
2'dU：デオキシウリジン、2'dT：チミジン

2.4.3.4.4 CYP 及び UGT 誘導及び阻害（試験番号 0184-2010，8309087，8305353、資料番号 5.3.2.2-2，5.3.2.2-3，5.3.2.2-4、評価資料）

デフィブロチドナトリウムはヒト肝ミクロソームにおいて、各シトクロム P450（CYP）分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4）の活性に対して 30 μmol/L まで阻害作用を示さず、ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）の 2 分子種（UGT1A1 及び UGT2B7）に対して 500 μg/mL まで阻害作用を示さなかった。また、ヒト CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4/5 及び UGT1A1 に対して、500 μg/mL まで酵素誘導作用を示さなかった。

以上より、デフィブロチドナトリウムは臨床用量においてはこれらの分子種の誘導や阻害に基づく薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

2.4.3.5 排泄

2.4.3.5.1 尿糞中排泄（試験番号 150210、資料番号 4.2.2.2-2、評価資料）

ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウム（6.25 及び 12.5 mg/kg）を単回静脈内投与した後の排泄挙動を検討した。投与した放射能の約 65%が尿中に排泄され、約 25%が糞中に排泄された。また、投与 24 時間後までに投与された放射能の大部分が排泄された。

以上より、デフィブロチドナトリウムの主な排泄経路は尿中であり、排泄は速やかであると考えられた。

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

2.4.3.6.1 取り込みトランスポーターに対する基質認識性及び阻害作用（試験番号 8305354、資料番号 5.3.2.2-5、評価資料）

ヒト取り込みトランスポーター（OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3）を安定的に発現させたチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞又はヒト胎児由来腎（HEK）293 細胞を用いた。これらのトランスポーター発現細胞において、デフィブロチドナトリウム（15 及び 100 μg/mL）の顕著な取り込みは認められなかったことから、デフィブロチドはこれらの取り込みトランスポーターの基質ではないと考えられた。また、これらのトランスポーター発現細胞において、デフィブロチドナトリウム（50 及び 500 μg/mL）存在下での典型基質薬の取り込み活性は溶媒対照の 75.9%～109%であり、デフィブロチドナトリウムはこれらのトランスポーターを阻害しないと考えられた。

2.4.3.6.2 排出トランスポーターに対する基質認識性及び阻害作用（試験番号 8305354, BP-73-001、資料番号 5.3.2.2-5, 5.3.2.2-6、評価資料）

ヒト P-gp 及び BCRP の評価には、C2BBel 細胞（Caco-2 細胞のサブクローン）を用い、頂端膜側→基底膜側（A→B）及び基底膜側→頂端膜側（B→A）への見かけの膜透過係数の比より算出した efflux ratio（B→A / A→B）を指標に評価した。デフィブロチドナトリウム（15 及び 100 μg/mL）の A→B の見かけの膜透過係数は無視できる程度であり、また、B→A への膜透過係数は典型阻害薬の存在下でも変化しなかったことから、デフィブロチドナトリウムはこれらの排出トランスポーターの基質ではないと考えられた。また、デフィブロチドナトリウム（50 及び 500 μg/mL）存

在下における典型基質薬の efflux ratio は、溶媒対照に対して P-gp では 94.9%及び 105%、BCRP では 136%及び 115%であり、デフィブロチドナトリウムは P-gp 及び BCRP を阻害しないと考えられた。

MATE1 の評価についてはヒト MATE1 を発現させた HEK293 細胞を、MATE2-K の評価についてはヒト MATE2-K を一過性に発現させた HEK293 細胞を用いた。デフィブロチドナトリウム（15、50、150 及び 500 μg/mL）存在下での典型基質薬の取り込み活性は溶媒対照の 97.0%～112.4%であり、デフィブロチドナトリウムはこれらのトランスポーターを阻害しないと考えられた。

以上より、デフィブロチドナトリウムはヒトの主要な薬物トランスポーター（OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、P-gp 及び BCRP）の基質ではなく、阻害作用も示さないと考えられた。また、MATE1 及び MATE2-K に対する阻害作用も示さないと考えられた。

2.4.3.7 薬物動態総括

デフィブロチドナトリウムの吸収、代謝、分布及び排泄について検討した。マウス、ラット、ウサギ、ミニブタ及びイヌにデフィブロチドナトリウムを静脈内投与したとき、多くの場合で投与終了時点に最も高い血漿中濃度を示し、その後の血漿中からの消失は速やかであった。また、投与初日と反復投与後の C_{max}（もしくは平均血漿中濃度）の比較より、反復投与による蓄積性はないと考えられた。ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の放射能は血流量の多い組織や骨髄に多く分布した。大部分の組織で放射能は速やかに消失し、蓄積性はないものと考えられた。ヒト肝細胞及びウサギ血漿を用いた検討より、デフィブロチドナトリウムは主に 3'-エキソヌクレアーゼによって代謝を受けると考えられた。ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の放射能は主に尿中に排泄された。投与後 24 時間までに投与した放射能の大部分が排泄されていることから、排泄は速やかであると考えられた。

デフィブロチドナトリウムは *in vitro* で CYP 及び UGT に対する阻害作用及び誘導作用、並びに薬物トランスポーターに対する阻害作用を示さず、臨床における薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

2.4.4 毒性試験

デフィブロチドナトリウムの毒性評価のために、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、抗原性試験及び免疫毒性試験を実施した。

なお、単回投与毒性試験及び局所刺激性試験は独立した試験を実施せず、反復投与毒性試験並びに生殖発生毒性試験の一部を用いて評価を行った。（表 2.6.6.1-1 参照）。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

（試験番号 1529-001, 1529-002、資料番号 4.2.3.2-3, 4.2.3.2-6、評価資料；試験番号 21/75822、資料番号 4.2.3.5.2-2、参考資料）

単回投与毒性試験は実施せず、ラット（試験番号 1529-001）及びイヌ（試験番号 1529-002）を用いた 13 週間反復投与毒性試験並びに非妊娠ラットを用いた生殖発生毒性試験（試験番号 21/75822）の一部のデータを用いてデフィブロチドナトリウムの急性毒性を評価した。

ラットに持続静脈内投与（試験番号 1529-001）したとき、デフィブロチドナトリウム投与に起因した死亡は認められず、概略の致死量は 4800 mg/kg/日超であった。

イヌに 1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内投与（試験番号 1529-002）したとき良好な忍容性が得られ、概略の致死量は 1600 mg/kg/日超であった。

非妊娠ラットに 1 日 1 回、静脈内投与（試験番号 21/75822）したとき、150 mg/kg/日以上の投与群において投与直後に痙攣、意識消失、筋緊張低下、頻呼吸、嗜眠及び歩行不能が認められた。300 mg/kg/日投与群では投与初日に死亡が認められ、概略の致死量は 300 mg/kg/日であった。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

ラット及びイヌを用いてデフィブロチドナトリウムの反復投与毒性を評価した。

2.4.4.2.1 ラット反復投与毒性試験（試験番号 1529-001、資料番号 4.2.3.2-3、評価資料）

持続静脈内投与による 13 週間反復投与毒性試験（投与量：0、240、1200 及び 4800 mg/kg/日）により評価した。対照群を含む全群においてカテーテル合併症に関連した死亡又は瀕死期安楽死処置となる動物が多数生じたため、9 週で投与を終了した。240 mg/kg/日投与群の雄及び 1200 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で腎臓の尿細管の変性及び再生が、240 mg/kg/日投与群の雌及び 1200 mg/kg/日投与群の雌雄で投与部位のマクロファージの空胞化が認められた。1200 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で APTT 又は PT の延長、腎臓における尿細管の好塩基性顆粒、糸球体腎症及びリンパ球ないしは組織球浸潤、好塩基性顆粒を伴う肝臓クッパー細胞の肥大／過形成、並びにリンパ系器官（脾臓及びリンパ節）におけるマクロファージの空胞化等が認められた。以上より、NOAEL は雌雄とも 240 mg/kg/日未満と判断した。

2.4.4.2.2 イヌ反復投与毒性試験験（試験番号 1529-002、資料番号 4.2.3.2-6、評価資料；試験番号 15/75712, 619、資料番号 4.2.3.2-7, 4.2.3.2-8、参考資料）

デフィブロチドナトリウムの反復投与時の毒性をイヌに 13 週間及び 26 週間静脈内投与して評価した。

1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内投与した 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-002、投与量：0、60、300 及び 1600 mg/kg/日）では、1600 mg/kg/日投与群の雄で軽微な肝細胞の単細胞壊死が認められたことから、NOAEL は雄で 300 mg/kg/日、雌で 1600 mg/kg/日と判断した。

1 日 1 回、静脈内投与による 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 15/75712、投与量：0、15、45 及び 150 mg/kg/日）では、投与初期の数週間に限定して、45 mg/kg/日以上の投与群で失禁、脱糞、肛門腺からの分泌物、流涎、頭部反転動作等の異常行動、筋振戦及び歯肉蒼白等の変化が、150 mg/kg/日投与群で嘔吐が認められたことから、NOAEL は 15 mg/kg/日と判断した。

1 日 1 回、静脈内投与による 26 週間反復投与毒性試験（試験番号 619、投与量：0、15、45 及び 150/135/150/165 mg/kg/日）では、高用量として 150 mg/kg/日の用量を投与した初回投与（投与 0 日目）直後及び用量を 135 mg/kg/日に減量した投与 1 日目及び 2 日目の投与後に、歩行失調、嗜眠、運動失調が認められたが、投与 3 日目以降は認められなかったため、14 日目から 150 mg/kg/日に増量し、21 日目からはさらに 165 mg/kg/日まで増量して投与を継続した。以降、デフィブロチドナトリウム投与に起因した変化は認められなかった。以上より、NOAEL は 45 mg/kg/日と判断した。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

（試験番号 0245-2010, [redacted]0076, [redacted]0077、資料番号 4.2.3.3.1-1, 4.2.3.3.1-2, 4.2.3.3.2-2、評価資料；試験番号 094007-[redacted]-03784、資料番号 4.2.3.3.2-1、参考資料）

デフィブロチドナトリウムの遺伝毒性を、細菌を用いる復帰突然変異試験（試験番号 0245-2010）、哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験（試験番号 [redacted]0076）、腹腔内投与によるマウス小核試験（試験番号 094007-[redacted]-03784）及び静脈内投与によるラット小核試験（試験番号[redacted]0077）で評価した。いずれも陰性であったことから、デフィブロチドナトリウムは遺伝毒性を示さないと判断した。

2.4.4.4 がん原性試験

（試験番号 253-094-024, 237-094-021、資料番号 4.2.3.4.1-1, 4.2.3.4.1-2、参考資料）

本申請に当たり、「医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの改正について」（平成 20 年 11 月 27 日付け薬食審査発第 1127001 号、ICH S1C（R2）ガイドライン）に基づき、がん原性試験は不要であるが、長期反復投与時の一般毒性プロファイルを把握するために、申請パッケージの一部に加えた。

マウス（試験番号 253-094-024、投与量：0、100、400 及び 2000 mg/kg/日）及びラット（試験番号 237-094-021、投与量：0、100、400 及び 2000 mg/kg/日）におよそ 2 年間混餌投与したがん原性試験では、腫瘍発生に関してデフィブロチドナトリウム投与に起因した変化は認められず、デフィブロチドナトリウムはがん原性を示さないと判断した。一方、長期反復投与時の一般毒性プロファイルとして、ラットにおいて 2000 mg/kg/日投与群で痙攣、振戦及び副腎の鬱血が認められた。また、同投与群において PT の延長並びに脳出血及び脊髄出血の発現頻度の増加が認められ、凝固・線溶系に影響するデフィブロチドナトリウムの薬理作用との関連が示唆された。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

デフィブロチドナトリウムの生殖発生毒性を、ラットあるいはウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験で評価した。また、ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラットを用いた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については筋肉内投与時の影響を評価した。また、幼若ラットに 4 週間まで反復静脈内投与して新生児への影響を評価した。

2.4.4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（試験番号 16/76299、資料番号 4.2.3.5.1-1、参考資料）

ラットを用いた筋肉内投与による生殖発生毒性試験（投与量：0、3、6 及び 12 mg/kg/日）では、親動物の一般状態、体重、生殖能及び初期胚発生、胚･胎児発生及び出生児について投与に起因した変化は認められず、NOAEL は 12 mg/kg/日と判断した。

2.4.4.5.2 胚・胎児発生に関する試験（試験番号 95800、資料番号 4.2.3.5.2-4、評価資料；試験番号 79820[redacted]、資料番号 4.2.3.5.2-1、参考資料）

妊娠ラットに 1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内投与した予備試験（試験番号 79820[redacted]、投与量：60、120 及び 240 mg/kg/日）では、60 mg/kg/日以上の投与群において切迫流産が認められ、多数の動物を安楽死処置したことから、母動物の一般毒性に対する NOAEL は 60 mg/kg/日未満と判断した。生存胎児を有する母動物数が限られていたものの、120 mg/kg/日以上の投与群で吸収胚数の増加が認められた。

妊娠ウサギに 1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内投与した試験（試験番号 95800、投与量：0 及び 80 mg/kg/日）では、80 mg/kg/日投与群で子宮重量が低下し、黄体数及び着床数が減少したが、着床前死亡率に変化は認められなかった。また、80 mg/kg/日投与群で黄体数の減少に伴う生存胎児数の減少のほか、雄の胎児比率の減少及び着床後死亡率の増加が認められた。一方、催奇形性を示す所見は認められなかった。したがって、母動物の一般毒性及び生殖能に対する NOAEL は 80 mg/kg/日、胚・胎児発生に対する NOAEL は 80 mg/kg/日未満と判断した。

以上、ラット及びウサギにおいてデフィブロチドナトリウムは胚･胎児毒性を有すると考えられた。

2.4.4.5.3 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（試験番号 17/75802、資料番号 4.2.3.5.3-1、参考資料）

妊娠ラットを用いた筋肉内投与による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（投与量：0、3、6、12 mg/kg/日）では、母動物の一般状態、生殖能及び出生児の発達に異常は認められなかったことから、母動物の一般毒性、生殖能及び出生児に対する NOAEL はいずれも 12 mg/kg/日と判断した。

2.4.4.5.4 新生児を用いた試験（試験番号 82640, 85800、資料番号 4.2.3.5.4-1, 4.2.3.5.4-2、評価資料）

幼若ラットを用いた 1 日 1 回静脈内投与による 4 週間反復投与試験（試験番号 82640、投与量：0、40、150 及び 320 mg/kg/日）では、40 mg/kg/日以上の投与群で脾臓の腫脹、脾臓の胚中心の過形成、肝臓の髄外造血の亢進及び網状赤血球数の増加が、320 mg/kg/日投与群で小葉中心性肝細胞空胞化が認められたが、4 週間の回復期間中に変化は消失した。幼若ラットに特異的な新たな毒性所見は認められなかった。また、陰茎亀頭包皮分泌腺開裂時期の遅延が認められ、雄の性成熟の遅延が示唆された。NOAEL は雌雄とも 40 mg/kg/日未満と判断した。

雄の性成熟遅延についての追加試験（試験番号 85800、投与量：0 及び 320 mg/kg/日）では、陰茎亀頭包皮分泌腺開裂の発現時期の遅延は認められなかった。

2.4.4.6 局所刺激性試験（試験番号 1529-001, 1529-002、資料番号 4.2.3.2-3, 4.2.3.2-6、評価資料）

デフィブロチドナトリウムの局所刺激性については、ラットを用いた持続静脈内投与による 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-001、投与量：0、240、1200 及び 4800 mg/kg/日）及びイヌに 1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内投与した 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-002、投与量：0、60、300 及び 1600 mg/kg/日）の一部として評価した。各試験とも投与部位で腫脹等の変化が認められたものの、投与操作に起因するものであり、デフィブロチドナトリウムは局所刺激性を示さないと判断した。

2.4.4.7 その他の毒性試験

デフィブロチドナトリウムのアレルギー誘発性、免疫原性及び免疫毒性作用を、ラット、イヌ及びモルモットを用いた抗原性試験、マウス並びにマウス細胞及びヒト細胞を用いた免疫毒性試験で評価した。

2.4.4.7.1 抗原性試験（試験番号 RB2010020, 111035、資料番号 4.2.3.7.1-1, 4.2.3.7.1-2、参考資料）

ラット及びイヌを用いた免疫原性試験（試験番号 RB2010020）において、デフィブロチドナトリウムの反復投与による抗デフィブロチド抗体、抗 Platelet Factor 4-ヘパリン複合体抗体及び抗リン脂質抗体は検出されなかった。モルモットを用いた抗原性試験（試験番号 111035）において、デフィブロチドナトリウムの反復投与による能動的及び受動的皮膚アナフィラキシー反応並びに全身性アナフィラキシー反応は誘発されなかった。以上、デフィブロチドナトリウムは抗原性を示さなかった。

2.4.4.7.2 免疫毒性試験（試験番号 10200, 10189、資料番号 4.2.3.7.2-1, 4.2.3.7.2-2、参考資料）

マウスを用いた免疫毒性試験（試験番号 10200）において、T 細胞依存性抗体産生、マクロファージ依存性細胞障害及びリンパ球幼若化反応を評価した結果、デフィブロチドナトリウムはこれ

ら免疫毒性を示さなかった。マウス（*in vivo*）並びにマウス細胞及びヒト細胞（*in vitro*）を用いた免疫毒性試験（試験番号 10189）において、デフィブロチドナトリウムの投与はナチュラルキラー（NK）細胞活性に影響を与えなかった。以上、デフィブロチドナトリウムは免疫毒性を示さなかった。

2.4.4.8 毒性総括

急性毒性に関して、ラットの持続静脈内投与では死亡は認められず、概略の致死量は 4800 mg/kg/日超であった。1 日 1 回、静脈内投与では、150 mg/kg/日以上の投与群で投与直後の痙攣、意識消失、筋緊張低下、頻呼吸、嗜眠及び歩行不能に引き続き、300 mg/kg/日投与群では投与初日に死亡が認められ、概略の致死量は 300 mg/kg/日であった。イヌの 1 日 4 回、各 2 時間かけた静脈内投与では、概略の致死量は 1600 mg/kg/日超であった。

反復投与における NOAEL は、ラット 13 週間試験で雌雄とも 240 mg/kg/日未満、イヌ 13 週間試験では雄で 300 mg/kg/日、雌で 1600 mg/kg/日と判断した。腎臓では、ラットで尿細管の変性及び再生、糸球体腎症並びにリンパ球ないしは組織球の浸潤が認められた。肝臓では、イヌで肝細胞の単細胞壊死が認められた。その他、ラットの脾臓、リンパ節及び投与部位でマクロファージの空胞化が認められた。また、ラットで APTT 又は PT の延長が認められ、凝固・線溶系に影響するデフィブロチドナトリウムの薬理作用に起因した変化と考えられた。イヌの 26 週間反復投与毒性試験（1 日 1 回、静脈内）では行動異常（歩行失調、嗜眠及び運動失調）がいずれも一過性であったが、ラット胚・胎児発生試験（1 日 1 回、静脈内）の予備試験においても同質の変化が認められたことから、これら変化はボーラス投与時にのみ観察される変化であると考えられた。ラットを用いた 2 年間混餌投与によるがん原性試験において、痙攣、振戦及び副腎の鬱血が認められたほか、凝固・線溶系に影響するデフィブロチドナトリウムの薬理作用との関連が示唆される変化として PT の延長並びに脳出血及び脊髄出血の発現頻度が増加した。以上より、デフィブロチドナトリウムの主要な毒性標的は腎臓、肝臓、脾臓、リンパ節及び凝固系であり、反復投与毒性試験の結果から、ラットで雄 3.1 未満及び雌 4.2 未満、イヌで雌 9.4（雄は算出せず）の安全係数が示された（表 2.6.6.9-1 参照）。

遺伝毒性試験では、細菌を用いた復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験、マウス及びラットを用いた小核試験において、いずれも陰性であったため、デフィブロチドナトリウムは遺伝毒性を示さないと判断した。

がん原性試験では、マウス及びラットを用いて 2 年間混餌投与した結果、がん原性を示す変化は認められなかった。

生殖発生毒性試験では、ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（1 日 1 回、筋肉内）では生殖能に影響は認められず、NOAEL は 12 mg/kg/日と判断した。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生試験では、1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内投与した予備試験において、ラットで切迫流産及び安楽死処置、ウサギで活動性低下及び死亡等、母動物に対する毒性が認められ、母動物の一般毒性に対する NOAEL はラットで 60 mg/kg/日未満、ウサギで 30 mg/kg/日未満と判断した。これらの試験では生存胎児を有する母動物数が限られていたものの、ラットで吸収胚数の増加が、ウサギで臍帯ヘルニア及び矮小胎児の発現率の増加が認められた。母動物へ

の影響を軽減するために器官形成期を 3 分割して投与期間を短縮し、同じ投与方法（1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内投与）を用いてウサギに投与した本試験では、着床後死亡率の増加が認められ、胚･胎児発生に対する NOAEL は 80 mg/kg/日未満と判断した。1 日 1 回、静脈内投与した試験において、ラットでは体重増加抑制が認められ、母動物の一般毒性に対する NOAEL は 10 mg/kg/日未満、生殖能及び胚・胎児発生に対する NOAEL は 90 mg/kg/日と判断した。ウサギでは体重増加抑制、咀嚼運動、頻呼吸及び散瞳が認められ、母動物の一般毒性に対する NOAEL は 20 mg/kg/日未満、生殖能及び胚・胎児発生に対する NOAEL は 80 mg/kg/日と判断した。ラットを用いた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（1 日 1 回、筋肉内）では、母動物の生殖能及び出生児に対する影響は認められず、NOAEL はいずれも 12 mg/kg/日と判断した。以上の結果より、デフィブロチドナトリウムは母動物及び胚･胎児発生に対し毒性を有すると判断した。

幼若ラットを用いた 4 週間反復投与試験（1 日 1 回、静脈内）では、脾臓の胚中心の過形成、肝臓の髄外造血の亢進及び小葉中心性肝細胞空胞化などの変化が認められたが、4 週間の回復期間中にいずれの変化も消失した。これらの所見は成熟動物で認められたものと類似していた。また、陰茎亀頭包皮分泌腺開裂時期の遅延が認められ、雄の性成熟の遅延が示唆された。局所刺激性については、ラット及びイヌにおいてデフィブロチドナトリウム投与に関連した変化は認められず、デフィブロチドナトリウムは局所刺激性を示さないと判断した。

抗原性試験では、ラット及びイヌで採取した血清試料並びにモルモットを用いた結果、デフィブロチドナトリウムは抗体産生、能動的及び受動的皮膚アナフィラキシー反応並びに全身性アナフィラキシー反応を誘発せず、抗原性を示さないと判断した。免疫毒性試験では、マウス並びにヒト細胞及びマウス細胞を用いて実施した。T 細胞依存性抗体産生、マクロファージ依存性細胞障害、リンパ球幼若化反応及び NK 細胞活性のいずれにも影響は認められなかった。以上、デフィブロチドナトリウムは免疫毒性を示さないと判断した。

2.4.5 総括及び結論

デフィブロチドナトリウムは VOD 治療薬として開発しており、臨床適用経路は静脈内投与である。本薬を動物に静脈内投与したとき、多くの場合で投与終了時の血漿中濃度が最も高く、以後速やかに消失した。本薬はブタ腸粘膜由来の一本鎖 DNA であり、投与後は 3'-エキソヌクレアーゼにより鎖長が短くなることが主たる代謝過程である。また、薬物代謝酵素や薬物トランスポーターへの影響も認められていないため、本薬の薬物動態に関してヒトも含めて動物種による違いが生じる可能性は低いと考えられた。

血中のデフィブロチドは、血管内皮細胞膜と相互作用[1,2]し、また、細胞内へ取り込まれることで薬理作用の発現に寄与すると考えられている[3]。血管内皮細胞を用いた培養細胞系において、本薬は概ね数十 μg/mL の濃度域で細胞保護作用を示した。この条件下において、アポトーシスに関連する細胞内シグナルや凝固・線溶系の種々の因子の変動も本薬は抑制した。骨髄移植モデルマウスにおいては、本薬 400 mg/kg を反復腹腔内投与することにより生存延長が認められた。この試験では尾静脈への反復投与が困難なため腹腔内投与としているものの、そのときの血漿中濃度は臨床投与したときのヒト血漿中濃度と大きな乖離はないと考えられた（2.6.2.6 項参照）。これらのことから、薬理試験で認められた作用は臨床使用時においても発揮されると考えられた。

安全性薬理による評価では、デフィブロチドナトリウムの臨床使用にあたり特別に注意を要する作用は認められなかった。

デフィブロチドナトリウムの毒性評価のために、持続静脈内投与によるラット 13 週間反復投与毒性試験、臨床での投与方法（1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内）に準じたイヌ 13 週間反復投与毒性試験、胚・胎児発生に関する毒性試験、幼若動物を用いた毒性試験及び遺伝毒性試験を実施するとともに、がん原性、生殖発生毒性、抗原性及び免疫毒性について評価した。一連の毒性試験を通じ、デフィブロチドナトリウムはその投与により、凝固・線溶系に影響する薬理作用に関連した変化を示したほか、腎臓、肝臓、脾臓及びリンパ節が毒性標的組織と考えられた。また胚・胎児発生試験では母動物及び胚･胎児に対し毒性を示すことが確認された。

以上の非臨床試験成績から、本薬の作用機序は明確でないものの、凝固・線溶系の種々の因子に影響を及ぼすことで血管内皮細胞に保護的に働くと考えられる[12]。安全性に関する懸念として、生殖機能への影響や出血等が認められているものの、VOD の治療のために本薬を適応することは可能と考えられた。

2.4.6 参考文献一覧

1. Bilsel S, Yalçin AS, Taga Y, Emerk K. Interaction of ^{3}H-defibrotide with cultured human umbilical vein endothelial cells. Thromb Res. 1990;58:455-60. ＜資料番号 4.3-1＞

2. Bilsel S, Erşahin C, Taga Y, Emerk K. Subcellular localization of radioactively labelled defibrotide in cultured endothelial cells. Thromb Res. 1992;66:385-90. ＜資料番号 4.3-2＞

3. Palomo M, Mir E, Rovira M, Escolar G, Carreras E, Daiz-Ricart M. What is going on between defibrotide and endothelial cells? Snapshots reveal the hot spots of their romance. Blood. 2016;127:1719-27. ＜資料番号 4.3-3＞

4. Echart CL, Graziadio B, Somaini S, Ferro LI, Richardson PG, Fareed J, et al. The fibrinolytic mechanism of defibrotide: effect of defibrotide on plasmin activity. Blood Coagul Fibrinolysis. 2009;20:627-34. ＜資料番号 4.3-4＞

5. Falanga A, Vignoli A, Marchetti M, Barbui T. Defibrotide reduces procoagulant activity and increases fibrinolytic properties of endothelial cells. Leukemia. 2003;17:1636-42. ＜資料番号 4.3-5＞

6. Zhou Q, Chu X, Ruan C. Defibrotide stimulates expression of thrombomodulin in human endothelial cells. Thromb Haemost. 1994;71:507-10. ＜資料番号 4.3-6＞

7. Palomo M, Diaz-Ricart M, Rovira M, Escolar G, Carreras E. Defibrotide prevents the activation of macrovascular and microvascular endothelia caused by soluble factors released to blood by autologous hematopoietic stem cell transplantation. Biol Blood Marrow Transplant. 2011;17:497-506. ＜資料番号 4.3-7＞

8. Cella G, Sbarai A, Mazzaro G, Motta G, Carraro P, Andreozzi GM, et al. Tissue factor pathway inhibitor release induced by defibrotide and heparins. Clin Appl Thromb Hemost. 2001;7:225-8. ＜資料番号 4.3-8＞

9. Paul W, Gresele P, Momi S, Bianchi G, Page CP. The effect of defibrotide on thromboembolism in the pulmonary vasculature of mice and rabbits and in the cerebral vasculature of rabbits. Br J Pharmacol. 1993 ;110:1565-71. ＜資料番号 4.3-9＞

10. Jamieson A, Alcock P, Tuffin DP. The action of polyanionic agents defibrotide and pentosan sulphate on fibrinolytic activity in the laboratory rat. Fibrinolysis. 1996;10:27-35. ＜資料番号 4.3-10＞

11. Nunziata A, Mariani MF, Cascone M, Calvani AB, Pescador R. Increased plasma t-PA activity and urinary PGE_2 after repeated oral administration of defibrotide to the rat and the mouse. Thromb Res. 1991;64:279-84. ＜資料番号 4.3-11＞

12. Pescador R, Capuzzi L, Mantovani M, Fulgenzi A, Ferrero ME. Defibrotide: properties and clinical use of an old/new drug. Vascul Pharmacol. 2013;59:1-10. ＜資料番号 4.3-12＞

13. Eder PS, DeVine RJ, Dagle JM, Walder JA. Substrate specificity and kinetics of degradation of antisense oligonucleotides by a 3' exonuclease in plasma. Antisense Res Dev. 1991;1:141-51. ＜資料番号 4.3-13＞

14. Sands H, Gorey-Feret LJ, Cocuzza AJ, Hobbs FW, Chidester D, Trainor GL. Biodistribution and metabolism of internally ^{3}H-labeled oligonucleotides. I. Comparison of a phosphodiester and a phosphorothioate. Mol Pharmacol. 1994;45:932-43. ＜資料番号 4.3-14＞