2.4　非臨床試験の概括評価の目次

2.4.1　非臨床試験計画概略 2
2.4.2　薬理試験 3
2.4.2.1　効力を裏付ける試験 3
2.4.2.2　副次的薬理試験 3
2.4.2.3　安全性薬理試験 4
2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用 4
2.4.3　非臨床薬物動態試験 5
2.4.3.1　吸収 5
2.4.3.2　分布 5
2.4.3.3　代謝 6
2.4.3.4　排泄 8
2.4.3.5　トランスポーターに対する基質特性及び阻害作用 8
2.4.4　毒性試験 10
2.4.4.1　諸言 10
2.4.4.2　全身曝露量 11
2.4.4.3　単回投与毒性 15
2.4.4.4　反復投与毒性 15
2.4.4.5　遺伝毒性 16
2.4.4.6　がん原性 16
2.4.4.7　生殖発生毒性 17
2.4.4.8　局所刺激性 17
2.4.4.9　その他の毒性試験 17
2.4.5　総括及び結論 18
2.4.6　参考文献一覧 20

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

ダロルタミドは、フレキシブルな極性基置換ピラゾール構造を有する新規の非ステロイド系選択的アンドロゲン受容体（AR）シグナル伝達阻害薬であり、去勢抵抗性前立腺癌（CRPC）の治療を目的に開発されている。予定臨床用量は 600mg、1 日 2 回の経口投与である。ダロルタミドは 2 種類のジアステレオマーである(*S,R*)-ダロルタミド（以下、SR 体）及び(*S,S*)-ダロルタミド（以下、SS 体）の等量混合物である。

ダロルタミドの薬理学的特性を評価するため、効力を裏付ける試験を実施した。ダロルタミドの薬理学的データには *in vitro* での活性及び作用機序の検討結果、更に様々なヒト前立腺癌移植マウスモデルで得られた *in vivo* の薬理学的有効性の検討結果が含まれる。

ダロルタミド、また一部の試験では SR 体、SS 体及びケト-ダロルタミド（ヒト血漿中の主要代謝物；以下、M-1）を用いた副次的薬理試験及び安全性薬理試験について、種々の *in vitro* 及び *in vivo*（ラット及びイヌ、単回投与）試験により検討した。安全性薬理試験では、中枢神経系、心血管系（心電図を含む）及び呼吸器系を含む生命維持に重要な器官系、並びに補足的器官系（胃腸管系）を評価した。

非臨床薬物動態試験は *in vivo* 及び *in vitro* で実施した。*in vivo* では複数の動物種で吸収、分布、代謝及び排泄を検討した。また、毒性試験においてトキシコキネティクスを評価した。*In vitro* では、タンパク結合、血球移行、代謝に関わる責任酵素、トランスポーターに対する基質特性、更に代謝酵素の阻害／誘導作用及びトランスポーターの阻害作用に基づく薬物相互作用の可能性について評価した。

非臨床安全性試験の基本的な目的は、標的臓器の毒性又は過剰な薬理作用の可能性とその回復性を検討すること、またヒトの治療用量における曝露量に対する安全域を導き出すことであった。したがって毒性試験プログラムには、ラット及びイヌに反復投与したときの全身毒性と共に過剰な薬理作用を検討する試験、またダロルタミドの遺伝毒性及び光毒性を検討する試験を含めた。

ダロルタミドは患者に経口投与（錠剤）する予定であるため、毒性試験の投与経路は経口投与とした。

すべての重要な非臨床安全性試験は、現行の評価ガイドライン（主に ICH 及び OECD）及び医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準（GLP）を遵守して実施した。

2.4.2 薬理試験

In vitro において、ダロルタミドの作用機序を含む薬理学的プロファイルを検討した。また、*in vivo* において、薬理作用をラット、マウス及びイヌを用いて検討した（薬理試験の概要文 2.6.2 及び概要表 2.6.3）。

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

原薬のダロルタミドは 2 種類のジアステレオマー、SR 体及び SS 体の等量混合物である。ダロルタミドは *in vitro* において、AR に対して高親和性で選択的に結合し、ヒトアンドロゲン受容体（hAR）に対して拮抗作用を示した。2 種類のジアステレオマー及び血中主要代謝物である M-1 は、*in vitro* でダロルタミドと同様の薬理活性を示した。

AR を過剰発現したヒト胎児由来腎臓細胞（HS-HEK293）において、ダロルタミドは類薬であるビカルタミドとは異なる、より好ましい拮抗作用プロファイルを示した。また、ダロルタミドは HS-HEK293 細胞のテストステロンによる AR の核内移行を、ビカルタミドと比較してより強く抑制することが示された。エンザルタミド及びアパルタミドによる AR 核内移行の抑制は、ダロルタミドと類似していた。CRPC 患者骨転移巣由来であり内因性 AR 遺伝子増幅及び AR 過剰発現の VCaP 細胞株において、ダロルタミドは用量依存的かつビカルタミドよりも強力にアンドロゲン誘発性の細胞増殖を抑制した。ダロルタミドの抑制は、エンザルタミド及びアパルタミドより強かった。

AR の W742L 変異（742 番目のアミノ酸がトリプトファンからロイシンに変異）は、前立腺癌における一部の AR シグナル伝達阻害薬に対する抵抗性を引き起こす。この変異において、ダロルタミド及び M-1 は拮抗作用を示した。一方、ビカルタミドは純粋な作働薬として作用し、また、エンザルタミド及びアパルタミドの拮抗作用は低下した。AR の F877L 変異（877 番目のアミノ酸がフェニルアラニンからロイシンに変異）は、エンザルタミド及びアパルタミドに対する抵抗性をもたらす。この変異に対し、ダロルタミド及び M-1 は拮抗作用を示した。一方、エンザルタミド及びアパルタミドは部分作働薬として作用した。AR の T878A 変異（878 番目のアミノ酸がスレオニンからアラニンに変異）においても、ダロルタミド及び M-1 は拮抗作用を示した。

In vivo 薬理試験では、ダロルタミド（経口投与）は未成熟ラットを用いた試験において抗アンドロゲン作用を示した。また、ダロルタミドは去勢抵抗性 VCaP 腫瘍異種移植去勢ヌードマウス、並びに VCaP 腫瘍同所移植未去勢及び去勢ヌードマウスにおいて、抗腫瘍効果を示した。VCaP 腫瘍同所性移植未去勢マウスにおいて、ダロルタミドは血清テストステロン値に影響を及ぼさなかった。ダロルタミド経口投与によるマウスにおける腫瘍増殖抑制効果は、50mg/kg 1 日 2 回投与で認められ、血清 PSA 値の低下は 25mg/kg 1 日 2 回投与で認められた。PSA の抑制は、動物モデルとヒトでの有効性を比較できるパラメータと考えられる。ヒト（健康男性被験者及び前立腺癌患者）に 600mg 1 日 2 回投与時の定常状態における非結合型 AUC(0-24)は、それぞれ 4610 及び 5408ng･h/mL であった。この値は、マウスにおいて PSA の抑制が認められた 25mg/kg 1 日 2 回投与時の非結合型 AUC(0-24)の 5110ng･h/mL とほぼ同じであった。

2.4.2.2 副次的薬理試験

100 種類以上の受容体及び酵素に対するダロルタミド、SR 体、SS 体及び M-1 のオフターゲット作用を *in vitro* で検討したところ、ヒトにダロルタミド 600mg を 1 日 2 回経口投与後において、オフターゲット作用が発現する可能性は低いと考えられる。

ダロルタミド及び M-1 はヒトのプロゲステロン受容体に対する結合阻害作用を示したが、その IC_{50} 値はいずれもヒトの AR 阻害に対する IC_{50} 値に比し 78 倍以上高かった。またダロルタミド、

SR 体、SS 体及び M-1 は、セロトニン（5-HT）トランスポーターに対する結合阻害作用を示した。5-HT 取り込み機能に関する *in vitro* 試験において、ダロルタミドは 5-HT 取り込みを阻害したが、その IC_{50} 値は AR 阻害の IC_{50} 値よりも 50 倍以上高かった。更に、*in vitro* 機能試験において、ダロルタミド及び M-1 は $GABA_A$ 受容体を濃度依存的に阻害したが、その IC_{50} 値は AR 阻害の IC_{50} 値よりも 80 倍以上高かった。

2.4.2.3 安全性薬理試験

安全性薬理試験では、ICH S7A 及び S7B ガイドラインに従い、ダロルタミド、また一部の試験では SR 体、SS 体及び M-1 が、生命維持に重要な器官系〔心血管系（心電図を含む）、呼吸器系〕及び胃腸管系に及ぼす影響について、*in vitro* 及び *in vivo* 試験で検討した。また、ダロルタミドの動脈圧及び心電図、並びに中枢神経系に及ぼす影響については、毒性試験において検討した。重要な試験はすべて、特記しない限り、GLP に従い実施した。

ダロルタミドの経口投与により、ラットの中枢神経系及び呼吸機能に生理学的に問題となる影響はみられなかった。ヒトにおける QT 間隔延長リスクを検討した *in vitro*（ダロルタミド、SR 体、SS 体及び M-1 を用いた hERG カリウムチャネル及び L 型カルシウムチャネルアッセイ）及び *in vivo*（ダロルタミド及び SS 体を急速静脈内投与後の麻酔イヌの心電図記録）試験において、生理学的に問題となる影響はみられず、ダロルタミドがヒトに催不整脈作用を示す可能性は低いと考えられる。

ダロルタミドの単回経口投与により、ラットの胃腸管機能パラメータに変化（胃内容排出能及び腸管内輸送能の低下）がみられたが、これらの変化はダロルタミドを溶液として投与した場合にのみ認められた。

心血管系の検討において、ダロルタミド及び SS 体を麻酔イヌに急速静脈内投与したとき、動脈圧低下を伴う血管拡張の徴候及び短時間でわずかな QT/QTc 間隔（補正 QT 間隔）の短縮が認められた。また SS 体を投与した 1 例において、一過性の完全房室ブロックが認められた。これらの麻酔イヌにおける影響は、ヒトにダロルタミド 600mg を 1 日 2 回経口投与したときに得られるダロルタミド及び SS 体の最高血漿中非結合型薬物濃度（$C_{max,u}$）を十分に上回る血漿中濃度において認められた。これらの作用は覚醒イヌではみられなかった。すなわち、イヌによるダロルタミドの 28 日間、13 週間及び 39 週間反復経口投与毒性試験において、明らかな動脈圧の変化や心電図異常はみられなかった。これらの毒性試験におけるダロルタミドの血漿中濃度は、麻酔イヌの試験と同程度にまで達した。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

2.4.3 非臨床薬物動態試験

ダロルタミドの非臨床薬物動態試験を雄動物を用いて実施し、吸収、分布、代謝、排泄及びトランスポーターによる輸送特性を明らかにした。大半の試験では親化合物に加えて SR 体及び SS 体個別の検討、並びに主要な代謝物 M-1 についての検討も行った。更に、一連の *in vitro* 試験成績に基づき、薬物動態学的薬物相互作用の可能性を評価した。非臨床薬物動態試験の詳細は概要文及び概要表（2.6.4 及び 2.6.5）に示した。なお、イヌにおいてはタンパク結合率に濃度依存性がみられたことから、みかけの薬物動態パラメータを示した。

2.4.3.1 吸収

ダロルタミドを単回静脈内投与後、血漿クリアランス（CL_p）は低く、雄性ラットで 0.46L/(h･kg)、雄性イヌのみかけの CL_P は 0.19L/(h･kg)であった。血液クリアランス（CL_B）はラットで 0.70L/(h･kg)、イヌのみかけの CL_B は 0.39 L/(h･kg)であり、それぞれ肝血流量〔ラット：4.2 L/(h･kg)、イヌ：2.1L/(h･kg)〕の 21%及び 16%に相当した。ラットにおける SR 体及び SS 体の CL_P は同程度であったが〔0.41～0.53L/(h･kg)〕、イヌでは SR 体の CL_p は 0.11L/(h･kg)で SS 体〔0.70L/(h･kg)〕と比べてかなり低く、SS 体の消失がより速やかであることが示唆された。ダロルタミドの定常状態における分布容積（V_{ss}）は大きく、ラットでは 1.16L/kg、イヌでのみかけの V_{ss} は 1.42L/kg であった。ラット、イヌ及びヒトにおける血漿中濃度の消失半減期は長かった（$t_{1/2}$：それぞれ約 4、7 及び 12 時間）。

ダロルタミドを溶液として単回経口投与後、ラットでの吸収は完全であり、絶対バイオアベイラビリティは高かった（ほぼ 100%）。イヌに懸濁液として高用量 100mg/kg を経口投与したときのみかけのバイオアベイラビリティは低く、絶食下では 12.6%、非絶食下では 16.3%であった。これは高用量の懸濁液においてダロルタミドの溶解性が低かったことに起因すると考えられた。また、非絶食下でのバイオアベイラビリティがやや高いのは食餌の影響と考えられた。いずれの動物種においても、ダロルタミドの曝露量 AUC(0-24)の増加は検討した用量範囲、特に中～高用量では、用量比例性を下回った。これは、ダロルタミドの吸収は懸濁液からの溶解過程により制限されることを示すものであった。

ダロルタミドを反復経口投与後、ラット及びイヌにおいて蓄積性は認められなかった（2.6.4.3.2）。定常状態における SR 体及び SS 体の血漿中濃度の AUC を比較すると、ラットでは両者はほぼ同じであった。イヌ及びマウスでは SR 体の AUC が SS 体よりも大きく、イヌでは約 9：1、マウスでは約 8：2 であった。一方、定常状態におけるヒト血漿中濃度の AUC は逆に SS 体の方が SR 体よりも大きく、約 1：6 であった。

M-1 は、マウス、ラット、イヌ及びヒトの血漿中に唯一認められた主要な代謝物である。M-1 はダロルタミド（SR 体及び SS 体）と同様の薬理活性を有している。雄性動物に 28 日間反復経口投与したときの血漿中 M-1 濃度の定常状態における AUC は親化合物ダロルタミドに対して、ラットでは 1.2～1.4 倍、イヌでは 0.7 倍であった。ヒトに反復経口投与したとき、M-1 の AUC は最大でダロルタミドの約 2 倍であった（2.6.4.3.2）。

2.4.3.2 分布

ダロルタミド（SR 体及び SS 体）のタンパク結合率は中等度～高く、種差が認められた。薬理及び毒性作用を示す 20～5000ng/mL の濃度範囲におけるタンパク結合率は（イヌを除くと）濃度に非依存的であった。すなわち、非結合型分率（f_u）は、げっ歯類では約 5%、ヒトでは 8%であった。イヌの血漿中では、タンパク結合は濃度依存性を示し（20～20000ng/mL で 0.3%～11%）、濃度の上昇に伴い結合の飽和が認められた。濃度依存性のタンパク結合はイヌで特異的

に認められたが、毒性試験での高濃度におけるタンパク結合率はイヌを含めすべての動物種で同程度であり、総濃度で全身曝露のヒトとの比較を行っても問題はないと考えられた（2.6.4.4.1）。

M-1 のタンパク結合率は高く、fu はヒトで 0.2%、げっ歯類で約 1%であった。イヌでは M-1 の fu は濃度依存的に上昇し、0.3%～3.4%の範囲であった（2.6.4.4.1）。*In vitro* において、血液中濃度の血漿中濃度に対する比（C_B/C_P）は親化合物及び M-1 共にすべての動物で 1 未満であったことから、血球移行は少ないことが示された。

マウス（主要臓器のみ評価）及びラットにおける臓器・組織分布試験では、排泄臓器、前立腺及び脳に関して、両動物種での分布パターンは同様であった。マウスの試験ではダロルタミド及び M-1 濃度を測定し、ラットの試験では総放射能濃度を測定した結果、脳への移行性は極めて低く、AUC(0-24)の比（脳／血漿）は 0.05 未満であった。総放射能（[^{14}C]ダロルタミド及び[^{14}C]代謝物）のラットにおける分布は、脳を除けばおおむね均一であった。排泄臓器である肝臓及び腎臓においても、総放射能 AUC(0-24)は血液よりわずかに高値に過ぎなかった。標的組織である前立腺における AUC(0-24)の比（前立腺／血漿）は 0.43 であり、脳よりも約 10 倍高かった。臓器・組織において、放射能の不可逆的結合を示す所見は認められなかった（2.6.4.4.2）。

2.4.3.3 代謝

ヒト及び動物の肝細胞を用いた *in vitro* の検討で、ダロルタミドのヒドロキシエチル側鎖の酸化により、主要な代謝物 M-1 を産生する酸化的代謝経路が重要であることが示された。また、*O*-グルクロン酸抱合体 M-7 及び *N*-グルクロン酸抱合体 M-15 の産生、及びそのほかの数種類の水酸化代謝物の産生が認められた。代謝に明らかな種差は認められなかった（2.6.4.5.1.1）。

更に、*in vitro* の検討で、ダロルタミドを構成する SR 体と SS 体は、動物種によって程度は異なるものの M-1 を介して相互変換することが示された。イヌ肝細胞では、ダロルタミドから M-1 が顕著に産生されたが、主に SS 体に由来するものであった。M-1 を出発物質として用いた場合、SR 体及び SS 体の産生は極少量であった。一方、ヒト肝細胞では、M-1 を出発物質とした場合、速やかに SR 体若しくは SS 体に代謝されたが、SS 体の産生が優勢であった（2.6.4.5.1.1）。以上のような代謝の差異が *in vivo* におけるイヌとヒトの間の SR 体と SS 体の 消失及び全身曝露の差異の主要な原因であると考えられた。

ヒトにおいて、ダロルタミド及び主要な代謝物 M-1 の酸化的代謝は主に CYP3A4 により触媒され、CYP1A1 の寄与も認められた。一方、M-1 のダロルタミドへの還元は主にアルドケト還元酵素（AKR）1C3 により触媒された（2.6.4.5.1.2 及び 2.6.4.8.6.1）。概して、ダロルタミドは CYP3A4 阻害に対して感受性の低い基質であることが明らかとなった。臨床薬物相互作用試験において、CYP3A4 及び P-gp の強い阻害薬であるイトラコナゾールと併用しても、ダロルタミドの曝露量は 1.75 倍の軽度増加にとどまり、C_{max} は 1.36 倍とわずかな影響がみられたに過ぎなかった。一方、CYP3A4 及び P-gp の強い誘導薬であるリファンピシンの併用により、ダロルタミドの AUC は 28%に、C_{max} は 48%にまで減少し、ダロルタミドは CYP3A4 誘導に対しては中等度の感受性を示した（2.7.2.2.4.2.2）。

SR 体及び SS 体の *O*-グルクロン酸抱合体 M-7 の産生は、主に UGT1A9、UGT1A1 及び UGT1A3 により触媒された。*N*-グルクロン酸抱合体 M-15 の産生は主に UGT2B10 により触媒された（2.6.4.5.1.1.4）。

ヒト及び動物の *in vitro* 及び *in vivo* 試験成績に基づく推定代謝経路を図 2.4.3- 1 に示す。

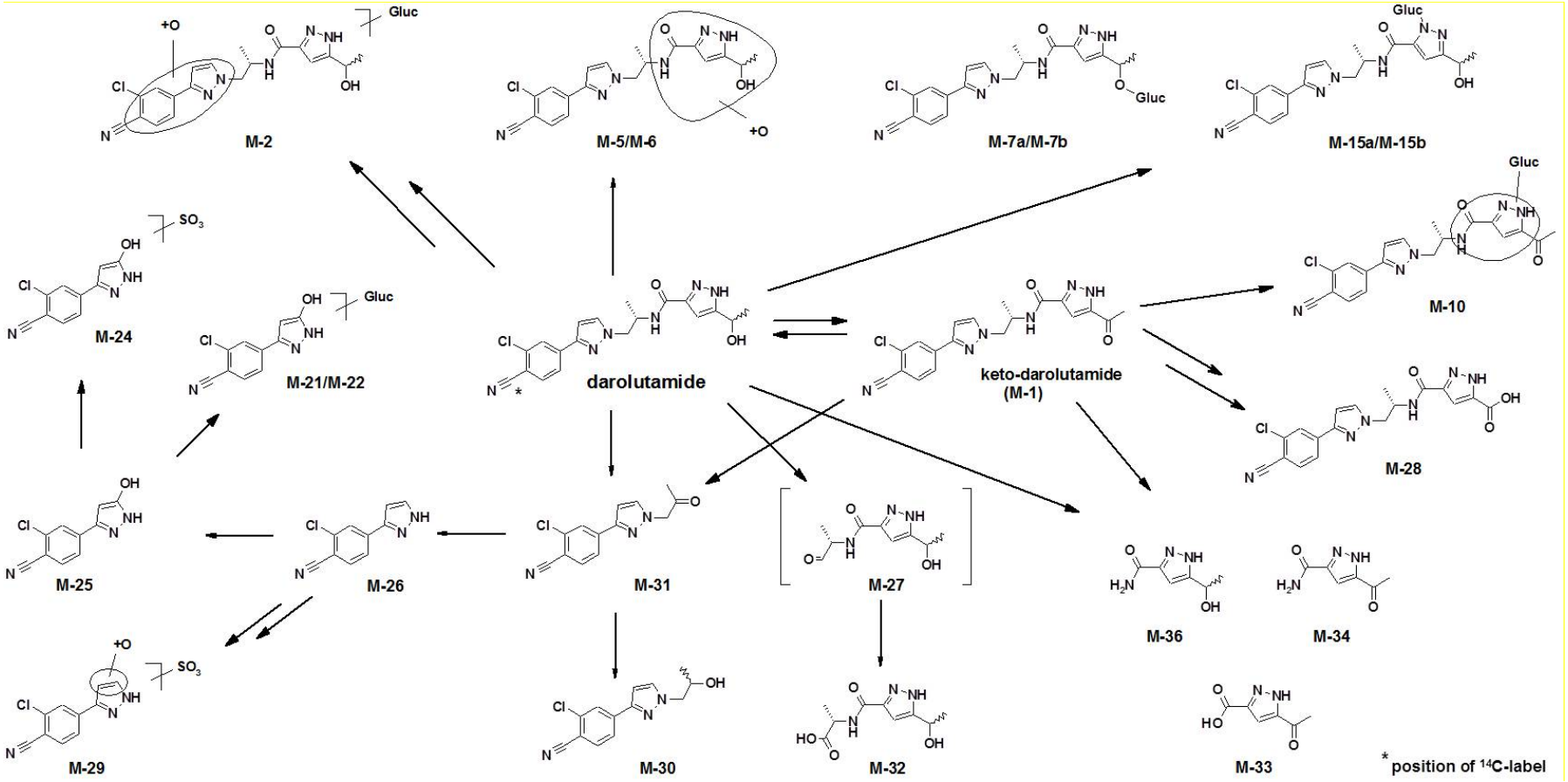


図 2.4.3- 1　ヒト及び動物におけるダロルタミドの推定代謝経路（*in vitro* 及び *in vivo* 試験成績に基づく）

ラット及びヒトに[^{14}C]ダロルタミドを経口投与したとき、活性代謝物 M-1 は血漿中の唯一の主要な代謝物であり、総放射能 AUC の約 50%を占めた。総放射能 AUC に占めるダロルタミドの曝露量はラットでは 50%、ヒトでは 29%に達した（2.6.4.5.2）。M-1 はマウス及びイヌ血漿中でも認められた（2.6.4.3.2）。M-1 は SR 体と SS 体の相互変換において中間体として働くが、ヒトでは M-1 の還元により産生されたのは主に SS 体であった（2.6.4.5.1.1.2）。

In vitro 試験において、主要なチトクローム P450（CYP）分子種、ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）分子種及びジヒドロピリミジン脱水素酵素（DPD）の酵素活性は、ダロルタミド及び M-1 の存在下で顕著な影響を受けないことが示された。全体で最も低い IC_{50} 値が認められたのは M-1 による CYP2C9（9.6μM）及び UGT1A1（6.4μM）阻害であった。静的薬物速度論モデルによると、代謝酵素の阻害を介して臨床的に問題となる薬物動態学的薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられた（2.6.4.5 及び 2.6.4.8）。ダロルタミド及び M-1 は、*in vitro* にて最高濃度 10000μg/mL まで CYP1A2 を誘導しなかった。CYP3A4 については mRNA レベル及び酵素活性を濃度依存的に最大 13 倍に誘導したが（2.6.4.5.1.5 及び 2.6.4.8.6.6）、臨床薬物相互作用試験においてダロルタミドを CYP3A4 に影響を受けやすい基質薬ミダゾラムと併用しても、ミダゾラムの曝露量は軽度減少したのみであった（29%減少）。1-ヒドロキシミダゾラムの曝露量の減少も軽度（22%減少）であった。これらの結果から、ダロルタミドは弱い相互作用薬であることが示された（2.7.2.2.4.2.3）。

2.4.3.4 排泄

ラットに[^{14}C]ダロルタミドを経口投与したとき、放射能は主に胆汁／糞を介して排泄された（投与量の 64%）。静脈内投与したとき、投与量の約 20%に相当する放射能が消化管分泌された。更にラットでは腎排泄の寄与も大きく、約 30%であった（2.6.4.6.1）。ヒトでは放射能の約 63%が尿中に、32%が糞便中に排泄された（2.6.4.6.2）。

代謝及び排泄試験において、親化合物及び代謝物の排泄量は均衡しており、ラットではそれぞれ約 45%及び 55%、ヒトではそれぞれ約 40%及び 60%の割合で排泄された。排泄物中の代謝物は、酸化的代謝又はグルクロン酸抱合により産生された。親化合物は主に胆汁中排泄及び消化管分泌により排泄されたが、尿中にも認められた。

ヒトでは、ほぼ均等な 3 種類の消失経路（親化合物の尿中及び糞便中への直接排泄、グルクロン酸抱合、酸化的代謝）が存在することにより、臨床でダロルタミドが被相互作用薬となる可能性は低いと考えられた。

2.4.3.5 トランスポーターに対する基質特性及び阻害作用

ダロルタミドは、Caco-2 細胞を用いた *in vitro* での検討で、ヒト消化管中濃度（6000μM）に相当する濃度では膜透過性の高い化合物に分類された。低濃度の 5μM では分類上、膜透過性の低い化合物に分類されたが、透過係数は高透過性の対照化合物ミノキシジルに近似していた（ダロルタミド及びミノキシジルの $P_{app,A-B}$ はそれぞれ、58.0 及び 65.2nm/s）。高濃度での膜透過性の増加は、トランスポーターによる能動輸送の飽和によるものと考えられた。なお、SR 体と SS 体の *in vitro* における膜透過性は同等であった。

ダロルタミド及び主要な代謝物 M-1 は *in vitro* にて P-gp 及び BCRP の基質であった（2.6.4.8.2 及び 2.6.4.8.6.7）。予測されるヒト消化管中濃度において、ダロルタミドの膜透過性が高いことを考慮すると、ダロルタミドの吸収に対して、P-gp 及び BCRP の及ぼす影響は小さいと考えられた。それゆえ、消化管の P-gp 及び BCRP を阻害してもダロルタミドの全身曝露に影響を及ぼす可能性は低いことが予測された。

しかしながら、P-gp、BCRP 及び CYP3A4 の阻害薬であるイトラコナゾールを併用した臨床薬物相互作用試験（2.7.2.2.4.2.2）において、ダロルタミドの全身曝露（AUC）は 1.75 倍程度の軽度増加を示した。ダロルタミドの消失全体に対する CYP3A4 の寄与（f_{CL}）は約 30%であり、AUCR を $1/(1-f_{CL})$とすると、AUC の増加は 1.43 倍と予測される。それゆえ、イトラコナゾールにより認められた全身曝露の増加は CYP3A4 阻害によるものであり、全身の P-gp 及び BCRP 阻害がダロルタミドの全身曝露に影響した可能性は低いと考えられた。加えて、イトラコナゾール併用時と非併用時で比較しても、SR 体と SS 体の t_{max} 及び C_{max} に変化はみられなかった。まとめると、P-gp 及び BCRP を阻害しても、ダロルタミドの全身曝露に明らかな影響はなく、イトラコナゾール併用時に認められたヒトにおけるダロルタミドの全身曝露の差異は吸収過程におけるトランスポーターに対する阻害作用に起因したものではないと考えられた。

ダロルタミド及び M-1 は肝取り込みトランスポーターである OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 に対する基質特性を示さなかった。

ダロルタミドは、BCRP、OAT3、MATE2K、P-gp、OATP1B1、MATE1 及び OATP1B3 に対して阻害作用を示し、IC_{50} 値はそれぞれ 1.3μM、4.5μM、9.5μM、16.4μM、16.8μM、32.3μM 及び 39.3μM であった（2.6.4.8.4）。

最も阻害作用の強かった BCRP について、基質薬としてロスバスタチンを用いた臨床薬物相互作用試験を実施したところ、臨床的に問題となる相互作用が認められた（AUC 比 5.2）（2.7.2.2.4.2.1）。一方、P-gp 基質ダビガトランエテキシラートを用いた臨床薬物相互作用試験では、全身曝露に対する影響は認められなかった（2.7.2.2.4.2.3）。OAT3、MATE2K、OATP1B1、MATE1 及び OATP1B3 については、*in vitro* の阻害作用及び臨床血中濃度を用いた評価、並びに典型阻害薬との比較に基づいて臨床的に問題となる相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

M-1 も BCRP、P-gp 及び MATE2K を阻害し、IC_{50} 値はそれぞれ 0.6μM、2.6μM 及び 3.0μM であった（2.6.4.8.6.9）。しかし、ダロルタミドと同様に評価したところ、M-1 のこれらのトランスポーターに対する阻害作用により臨床的に問題となる相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられた。

ダロルタミド及び M-1 は、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、BSEP、OATP2B1 及び NTCP に対し臨床的に問題となる阻害作用を引き起こす可能性は低いと考えられた（2.6.4.8.4、2.6.4.8.5、2.6.4.8.6.9 及び 2.6.4.8.6.10）。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 諸言

進行性前立腺癌の治療薬としての販売承認申請を支持するため、ICH S9 ガイドラインに従ってダロルタミドの毒性学的及びトキシコキネティクスプロファイルを評価した（毒性試験の概要文 2.6.6 及び概要表 2.6.7）。ダロルタミドの毒性試験一覧を表 2.4.4- 1 に示す。重要な試験は OECD 加盟国の試験施設において医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準（GLP）を遵守して実施した。

臨床適用経路が経口投与であることから、動物試験の投与経路には経口投与を選択した。重要な反復投与毒性試験では、雌雄ラット及びイヌに 1 日 1 回又は 1 日 2 回の投与頻度でそれぞれ最長 26 週間又は 39 週間反復経口投与した。これは ICH S9 ガイドラインの推奨投与期間 13 週間を超えている。ラット及びイヌはいずれもダロルタミドの薬理学的作用機序に反応し、薬理活性を有するヒトの主要代謝物である M-1 を主代謝物とすることから、妥当と考えられる。

更に一連の遺伝毒性試験及び *in vitro* 光毒性試験を実施した。

予定臨床適応症が重篤な生命を脅かす疾患であることから、がん原性試験は実施しなかった。ダロルタミドの反復投与毒性試験において、二次発癌の誘発リスクを示唆するような所見は認められなかった。

表 2.4.4- 1 ダロルタミドの毒性試験一覧

Study type/ duration	Species/strain	Doses/method of administration	GLP	Data source
REPEAT-DOSE TOXICITY				
3-day DRF study, TK	Rat, Wistar	oral (gavage)	No	4.2.3.2.1 R-9726
7-day DRF study, TK	Rat, Wistar	oral (gavage)	No	4.2.3.2.2 R-9675
14-day DRF study, TK	Rat, Wistar	oral (gavage)	No	4.2.3.2.3 R-9669
28-day study, TK	Rat, Wistar	oral (gavage)	Yes	4.2.3.2.4 R-9668
26-week study with 4-week recovery, TK	Rat, Wistar	oral (gavage)	Yes	4.2.3.2.5 R-9678
DRF + 7-day fixed dose study, TK	Dog, Beagle	oral (gavage)	No	4.2.3.2.6 R-9670
DRF + 14-day fixed dose study, TK	Dog, Beagle	oral (gavage)	No	4.2.3.2.7 R-11057
28-day study, TK	Dog, Beagle	oral (gavage)	Yes	4.2.3.2.8 R-9667
13-week study with 4-week recovery, TK	Dog, Beagle	oral (gavage)	Yes	4.2.3.2.9 R-9672
39-week study with 8-week recovery, TK	Dog, Beagle	oral (gavage)	Yes	4.2.3.2.10 R-9679
GENOTOXICITY STUDIES				
Ames test	*Salmonella Typhimurium*	*in vitro*	Yes	4.2.3.3.1.1 R-9724
CA *in vitro*	Human lymphocytes	*in vitro*	Yes	4.2.3.3.1.2 R-9725
In vivo rat micronucleus and Comet study, TK	Rat, Wistar	oral (gavage)	Yes	4.2.3.3.2.1 R-9674
PHOTOTOXICITY STUDIES				
In vitro 3T3 neutral red uptake phototoxicity assay	Balb/c 3T3 mouse fibroblasts	*in vitro*	Yes	4.2.3.7.7.1 R-9671

DRF = Dose range finding; CA = Chromosome aberration

適応対象が男性患者のみであることから、発生毒性試験は実施しなかった。

また、抗アンドロゲン薬の既知のクラスエフェクト並びにラット及びイヌの反復投与毒性試験における雄性生殖器の萎縮性所見により、回復性の雄受胎能の低下が予測されることから、雄受胎能試験は実施しなかった。

2.4.4.2 全身曝露量

ダロルタミドの血漿中濃度を測定し、薬物動態プロファイルを明らかにするため、反復投与毒性試験、及び小核試験とコメット試験を組み合わせた *in vivo* ラット遺伝毒性試験において、トキシコキネティクスを検討した（表 2.4.4- 1）。

反復投与毒性試験におけるダロルタミド、ジアステレオマー、すなわち SR 体及び SS 体、主要代謝物 M-1 の血漿中 AUC(0-24)及び C_{max} の平均値を表 2.4.4- 2 及び表 2.4.4- 3 に、また *in vivo* ラット遺伝毒性試験における曝露量を表 2.4.4- 4 に示す。これらのラット及びイヌにおける曝露比（MoE）は、600mg を 1 日 2 回投与した男性被験者の曝露量に対して算出した。これら

の比較は、検討した血漿中濃度では血漿タンパク結合の fu が動物種間で大きく異ならなかったため、総濃度に基づき AUC(0-24)及び C_{max} を用いて行った。

ラットでは最長 26 週間、イヌでは最長 39 週間、1 日 1 回又は 1 日 2 回反復経口投与したところ、ダロルタミドの血漿中曝露量（AUC）は用量比を下回る増加を示し、高用量の経口投与ではダロルタミドの吸収が飽和に達することが示唆された。曝露量は一貫して雌のほうが雄より大きかった。ダロルタミド又はその代謝物の全身曝露量に関して蓄積性は認められなかった。代謝物 M-1／親化合物ダロルタミドの AUC(0-24)の比率は、毒性試験で使用した動物種で雌雄共に血漿中で約 1 であった。

39 又は 26 週間の長期反復投与時に、ダロルタミドの 2 種類のジアステレオマーの AUC(0-24)の比率［SR 体：SS 体］は、ラット血漿中では約 1：1 であったが、イヌでは SR 体の割合が明らかに高かった（約 90%）（表 2.4.4- 2）。ヒト血漿中では SS 体が優勢であり、SR 体との比率は約 1：6 であるが、この 2 種類のジアステレオマーの構造の差異は小さく（2.6.1）、薬力学的特性が類似すること（2.6.2.2）、またラットとイヌでは 2 種類のジアステレオマーの比率が若干異なるにもかかわらず、毒性プロファイルが同様であったことから、毒性試験の非げっ歯類としてイヌは適切であると考えられる。

表 2.4.4- 2 ラット及びイヌ反復投与毒性試験における定常状態でのダロルタミド、SR 体、SS 体及び M-1 の AUC、M/R 比、並びに予定臨床用量投与時のダロルタミドのヒト曝露量（AUC）との曝露量（AUC）の比

Study/ dose levels (mg/kg/day)	Gender	Daro-lutamide[a]	(*S,R*)-daro-lutamide	(*S,S*)-daro-lutamide	M-1	M/R[b]	Exposure multiple[c]
		AUC(0-24) (h·ng/mL)					
Rat, 28-day study (4 M + 4 F)			Week 4				
100	Male	88100	40400	47600	104000	1.2	1.5
	Female	160000	95700	64700	144000	0.9	2.8
300	Male	147000	65200	82000	198000	1.3	2.6
	Female	216000	124000	91700	209000	1.0	3.8
1000	Male	207000	81700	124000	277000	1.3	3.6
	Female	242000	111000	130000	248000	1.0	4.2
Rat, 26-week study (5 M + 5 F)			Week 26				
100 (50 × 2)	Male	66800	35600	31100	73200	1.1	1.2
	Female	132000	84500	47800	106000	0.8	2.3
300 (150 × 2)	Male	105000	56500	48900	114000	1.1	1.8
	Female	193000	118000	75600	146000	0.8	3.4
1000 (500 × 2)	Male	135000	69400	65400	139000	1.0	2.3
	Female	292000	177000	115000	253000	0.9	5.1
Dog, 28-day study (4 M)			Week 4				
50	Male	71000	65200	5820	51200	0.7	1.2
200	Male	157000	145000	12200	104000	0.7	2.7
800	Male	162000	145000	16900	107000	0.7	2.8
Dog, 13-week study (4-6 M, 4-6 F)			Week 13				
50 (25 × 2)	Male	85800	77600	8250	80300	0.9	1.5
	Female	92400	82500	9860	67800	0.7	1.6
150 (75 × 2)	Male	115000	107000	7520	79400	0.7	2.0
	Female	120000	109000	11900	123000	1.0	2.1
400 (200 × 2)	Male	116000	103000	12500	96300	0.8	2.0
	Female	166000	144000	21200	123000	0.7	2.9
Dog, 39-week study (4-6 M, 4-6 F)			Week 39				
50 (25 × 2)	Male	96700	89000	7600	72600	0.8	1.7
	Female	78100	71500	6660	58400	0.7	1.4
150 (75 × 2)	Male	103000	93100	9840	75200	0.7	1.8
	Female	145000	132000	13400	135000	0.9	2.5
400 (200 × 2)	Male	206000	186000	19200	152000	0.7	3.6
	Female	217000	199000	18700	166000	0.8	3.8

M: male, F: female

a = The sum of measured concentrations of (*S,R*)-darolutamide and (*S,S*)-darolutamide was used in PK calculations

b = metabolite to parent ratio using AUC(0-24) of darolutamide as parent value

c = The exposure multiples were calculated by dividing AUC(0-24) of darolutamide achieved in the toxicity studies in rat or dog by an AUC(0-24) of 57.6 h × µg/mL [extrapolated from the reported steady state AUC(0-12)] achieved in male volunteers following repeated oral doses of 600 mg twice a day*

*Data source: Module 5.3.3.4.1 PH-39412

表 2.4.4- 3 ラット及びイヌ反復投与毒性試験における定常状態でのダロルタミド、SR 体、SS 体及び M-1 の C_{max}、M/R 比、並びに予定臨床用量投与時のダロルタミドのヒト曝露量（C_{max}）との曝露量（C_{max}）の比

Study/ dose levels (mg/kg/day)	Gender	Darolutamide[a]	(*S,R*)-daro-lutamide	(*S,S*)-daro-lutamide	M-1	M/R[b]	Exposure multiple[c]
		C_{max} (ng/mL)					
Rat, 28-day study (4 M + 4 F)			Week 4				
100	Male	9460	5250	4650	11500	1.2	2.8
	Female	15500	9650	5910	13400	0.9	4.7
300	Male	12500	6610	6830	16800	1.3	3.8
	Female	18900	11900	7030	17400	0.9	5.7
1000	Male	14300	6220	8770	18800	1.3	4.3
	Female	20200	10300	10400	21000	1.0	6.1
Rat, 26-week study (5 M + 5 F)			Week 26				
100 (50 × 2)	Male	4410	2520	1960	4820	1.1	1.3
	Female	9400	6250	3150	7510	0.8	2.8
300 (150 × 2)	Male	8040	4270	3770	7970	1.0	2.4
	Female	12300	7960	4370	8700	0.7	3.7
1000 (500 × 2)	Male	8480	4620	3860	8340	1.0	2.5
	Female	18500	11800	6650	14300	0.8	5.6
Dog, 28-day study (4 M)			Week 4				
50	Male	5030	4470	647	4720	0.9	1.5
200	Male	9300	8380	953	7780	0.8	2.8
800	Male	9990	8990	1290	7890	0.8	3.0
Dog, 13-week study (4-6 M, 4-6 F)			Week 13				
50 (25 × 2)	Male	4710	4250	529	4650	1.0	1.4
	Female	4720	4060	719	3790	0.8	1.4
150 (75 × 2)	Male	6010	5450	599	5250	0.9	1.8
	Female	6970	6190	826	9500	1.4	2.1
400 (200 × 2)	Male	6030	5310	815	6070	1.0	1.8
	Female	8350	7040	1390	7280	0.9	2.5
Dog, 39-week study (4-6 M, 4-6 F)			Week 39				
50 (25 × 2)	Male	5130	4610	520	4440	0.9	1.5
	Female	4340	3940	468	3890	0.9	1.3
150 (75 × 2)	Male	5800	5090	752	5420	0.9	1.7
	Female	8190	7260	935	8680	1.1	2.5
400 (200 × 2)	Male	12100	10600	1450	10700	0.9	3.6
	Female	12400	11000	1450	10500	0.8	3.7

M: male, F: female

a = The sum of measured concentrations of (*S,R*)-darolutamide and (*S,S*)-darolutamide was used in PK calculations

b = metabolite to parent ratio using C_{max} of darolutamide as parent value

c = The exposure multiples were calculated by dividing C_{max} of darolutamide achieved in the toxicity studies in rat or dog by the C_{max} (3.33 µg/mL) achieved in male volunteers following repeated oral doses of 600 mg twice a day*

*Data source: Module 5.3.3.4.1 PH-39412

表 2.4.4- 4 ラットを用いた *in vivo* 遺伝毒性試験における定常状態でのダロルタミド、SR 体、SS 体及び M-1 の AUC 及び C_{max}、M/R 比、並びに予定臨床用量投与時のダロルタミドのヒト曝露量（AUC 及び C_{max}）との曝露量（AUC 及び C_{max}）の比

Study/ dose levels (mg/kg/day)	Gender	Daro-lutamide[a]	(*S*,*R*)-daro-lutamide	(*S*,*S*)-daro-lutamide	M-1	M/R[b]	Exposure multiple[c]
AUC(0-24) (h·ng/mL)							
100	Male	191000	71700	120000	319000	1.7	3.3
500	Male	339000	114000	225000	702000	2.1	5.9
1000	Male	311000	104000	207000	555000	1.8	5.4
C_{max} (ng/mL)							
100	Male	15000	5830	9210	26700	1.8	4.5
500	Male	28300	9830	19200	53000	1.9	8.5
1000	Male	22000	7460	14600	38900	1.8	6.6

a = The sum of measured concentrations of (*S*,*R*)-darolutamide and (*S*,*S*)-darolutamide was used in PK calculations
b = metabolite to parent ratio using AUC(0-24) or C_{max} of darolutamide as parent value
c = The exposure multiples were calculated by dividing AUC(0-24) or C_{max} of darolutamide achieved after 3-day dosing in the rat by an AUC(0-24) of 57.6 h･μg/mL [extrapolated from the reported steady state AUC(0-12)] or the C_{max} of 3.33 μg/mL achieved in male volunteers following repeated oral doses of 600 mg twice a day*
*Data source: Module 5.3.3.4.1 PH-39412

2.4.4.3 単回投与毒性

ダロルタミドの独立した単回投与毒性試験は実施しなかった。ラット及びイヌにおける複数の短期反復投与による用量設定試験又は用量漸増試験において、十分な高用量（最高用量として各々ラットで 2000mg/kg まで、イヌで 1000mg/kg まで）が投与されたが、ダロルタミドの忍容性は良好であった。したがって、ダロルタミドの急性毒性は弱いと考えられる。

2.4.4.4 反復投与毒性

ラット及びイヌを用いてそれぞれ最長 26 週間（ラット）及び 39 週間（イヌ）の投与期間にて反復投与毒性試験を実施した。いずれの動物種においてもダロルタミドの忍容性はおおむね良好であった。体重増加量の軽度な減少が雄ラット及び雄イヌでみられたが、抗アンドロゲン作用による抗蛋白同化作用に関連すると考えられる。

ダロルタミド反復投与後、ラット及びイヌ両動物種に認められた主な所見は雄性生殖器の萎縮性変化であった。前立腺及び精巣上体重量の顕著な減少がみられたが、用量及び投与期間に明確な閾値はなかった。これらは組織学的に前立腺の萎縮及び精子減少の徴候を伴う精巣上体管径の減少及び上皮の萎縮性変化と相関していた。長期投与後、ラットでは精巣にも影響がみられ、重量が減少した。イヌでは、39 週間試験において精細管内精子貯留と共に精巣重量が増加し、高用量では軽度の炎症の徴候がみられた。これらのイヌ精巣の変化は、精巣組織内に背圧を生じ得る精巣上体の萎縮性変化に続発したものと考えられた。ラットでは 26 週間の投与後、精嚢の分泌減少とその結果としての萎縮がみられた。これらの雄性生殖器の所見のすべては、ダロルタミドに期待する抗アンドロゲン作用に関連しており、4～8 週間の休薬により完全又は部分的な回復が示された。

4 週間試験において雄ラットにのみ認められた他の所見は、対照群と比較した胸腺重量のわずかな増加であり、通常は内因性ホルモン活性に関連する生理的な加齢性胸腺退縮の阻害と考えられたリンパ球減少の阻害であった。したがってこの所見に毒性学的意義はないと考えられ、また 26 週間投与したときにはこの対照群との差は認められなかった。他に被験薬投与に関連した変

化は、26 週間投与した雄性ラットの一部における乳腺の萎縮性変化及び下垂体の空胞形成であったが、これらも軽微であり休薬期間終了後には認められなかった。したがって、これらの所見は予定している臨床適応の観点から毒性学的な懸念はないと考えられる。

ダロルタミドの曝露量は一貫して雌動物が雄動物に比べて高かった（表 2.4.4- 2 及び表 2.4.4- 3）が、本化合物の抗アンドロゲン活性は末梢で優勢であることから、予測されたように雌性ラット及びイヌにおいて注目すべき所見はなかった。

2.4.4.5 遺伝毒性

ダロルタミドの点突然変異又は染色体異常誘発性を明らかにするため、細菌を用いる復帰突然変異試験及び *in vitro* ほ乳類染色体異常試験において検討した。復帰突然変異試験では遺伝毒性の徴候は認められなかったが、染色体異常試験においてダロルタミドは高濃度で陽性を示した。この陽性結果を受けて、ダロルタミド最大 1,000mg/kg/日を 3 日間連続経口投与したラットにおいて、小核試験とコメット試験を組み合わせた *in vivo* 遺伝毒性を検討した。その結果、ダロルタミドは *in vivo* にて小核を誘発せず、肝臓及び十二指腸において DNA 損傷を誘発しなかった。このときのダロルタミドの全身曝露量は、ヒトの治療用量における曝露量に比べて 6.6 倍（C_{max}）及び 5.4 倍（AUC）高かった（表 2.4.4- 4）。以上の成績から、ICH S2（R1）ガイドラインに基づき、ダロルタミドに遺伝毒性はないと結論づけた。

2.4.4.6 がん原性

予定適応症が進行がんであるため、ICH S9 ガイドラインに従いがん原性試験は実施しなかった。更に雌雄ラット及びイヌの長期反復投与毒性試験において、治療曝露量のおよそ 4～5 倍までオフターゲットの毒性や増殖性病変は認められなかった。また、ダロルタミドは標準的な *in vitro* 及び *in vivo* 試験において遺伝毒性を示さなかった。したがって、ダロルタミドのがん原性を検討する動物試験は必要ないと考えられる。

上記考察はビカルタミド等の既承認の遺伝毒性のない、他の非ステロイド系 AR シグナル伝達阻害薬での経験からも支持される。ビカルタミド[1,2]のマウス及びラットを用いた 2 年間経口投与によるがん原性試験において、治療用量での曝露量付近で雄ラットに精巣間細胞腫、雌ラットに子宮腺癌の発生率増加が観察された。しかしながら、これらの所見は種特異的な影響又は適用対象患者に対して意義のないものと考えられている。更に、雄マウスに肝細胞癌、ラットに甲状腺濾胞細胞腺腫の発生率増加がみられたが、肝臓の酵素誘導に関連する所見と考えられている。精巣、甲状腺及び肝臓の腫瘍発生は反復投与毒性試験成績に基づいて予測可能なものであった。対照的に、ダロルタミドの長期反復投与毒性試験において、このような腫瘍発生が予測されるような指標に影響は認められなかったことから、投与期間を延長しても同様の腫瘍性変化は認められないと考えられる。

また、最近開発された AR シグナル伝達阻害薬であるアパルタミドは、米国での非転移性前立腺癌治療薬としての承認申請前にがん原性試験は実施されていない[3]。アパルタミドの反復投与毒性試験においては、ラットで精巣（間細胞）、下垂体及び甲状腺（濾胞細胞）に、イヌで胆管に過形成性変化が報告されている。更に、雌ラットの 26 週間反復投与試験におけるすべての試験用量で、卵巣に過形成及び腫瘍発生が認められたが、臨床適用においては意義のないものと考えられている[4]。一方、ダロルタミドの反復投与毒性試験においては、全身いずれの臓器においても増殖性病変の発生は認められていない。

更に、別の AR シグナル伝達阻害薬であるエンザルタミドについても、最初の適応である去勢抵抗性の転移性前立腺癌治療薬としての承認申請にあたって、がん原性試験は実施されていない[5]。エンザルタミドに関しても、ラット慢性毒性試験において、下垂体、甲状腺及び副腎に過形

成性変化が観察されている。しかしながら、後に報告された rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間連日経口投与によるがん原性試験において、腫瘍発生率の増加は認められなかった[6)]。

要約すると、上述した既承認の 3 種の非ステロイド系 AR シグナル伝達阻害薬では、共通して雄性生殖器に委縮性効果を及ぼすことを主たる目的にデザインされているものの、各々の薬剤によっては、各々の所見が例えば肝臓の代謝に影響したり（酵素誘導）、正常な性腺―下垂体の負のフィードバック機構に干渉することにより（LH 上昇による精巣間細胞刺激）、関連組織に増殖性刺激を及ぼした。しかしながら、これらいずれの非臨床所見も適応する前立腺癌の治療薬としての承認を妨げるものではなかった。これら 3 剤と対照的にダロルタミドは、反復投与毒性試験において雄の生殖器系（標的組織）に強い直接的活性を示したのもかかわらず、いずれの組織にも増殖性変化は惹起しなかった。その理由はおそらく低い脳移行性や肝臓への過剰な代謝性刺激を有しないことによる可能性が推察される。すなわち、予定する臨床適用疾患の観点から、ダロルタミドのがん原性を評価する更なる動物試験の実施は必要ないと考えられる。

2.4.4.7 生殖発生毒性

適応対象が男性患者に限られるため、胚・胎児発生毒性試験は実施しなかった。ただし、AR 阻害薬としての作用機序により、妊娠中に投与すると胎児に対して有害となる可能性がある。

ラットを用いた雄受胎能試験は実施しなかった。反復投与毒性試験において、治療曝露量域付近からラット及びイヌの雄性生殖組織の萎縮性変化がみられることが示されているように、ダロルタミドの治療的投与によって雄受胎能の低下が予測される。これは抗アンドロゲン活性から予測される影響でもある。したがって、雄性ラットを用いた確認のための独立した受胎能試験は必要ないと判断した。

2.4.4.8 局所刺激性

局所刺激性を検討する独立した試験は実施しなかった。反復投与毒性試験において被験薬を長期経口投与したときの消化管の組織学的検討において、局所刺激性所見は認められなかった。

2.4.4.9 その他の毒性試験

光毒性

ダロルタミドは 290～320nm の光を吸収するため、*in vitro* 3T3 ニュートラルレッド取り込み光毒性試験を実施した。その結果、光毒性を示す所見は認められなかった。

不純物の毒性

[redacted] は不純物（類縁物質）として原薬中にも存在するが、その規格は原薬中で [redacted]%以下（2.3.S.4.1）、製剤中で [redacted]%以下（2.3.P.5.1）に管理されている。この物質は[redacted]試験に用いた[redacted]及び[redacted]における共通した[redacted]であるため、毒性学的に評価され、安全性上の懸念はない。また、ICH M7 ガイドラインに基づく毒性学的懸念の閾値（TTC）を超えて検出された潜在的又は既知の遺伝毒性不純物はない（2.3.S.2.4.1）。

2.4.5 総括及び結論

ダロルタミドは、*in vitro* 試験での AR の阻害作用及び前立腺癌モデルを含む様々な動物モデルでの *in vivo* の有効性に基づいて候補薬として選択された。*In vitro* 試験では、ダロルタミドは高親和性で選択的に AR と結合し、hAR に対して強力な拮抗作用を示した。ダロルタミドは AR を過剰発現した HS HEK293 細胞においても拮抗作用を示し、テストステロンによる AR の核内移行を抑制した。またダロルタミドは VCaP 前立腺癌細胞系のアンドロゲン誘発性の増殖を用量依存的に抑制した。拮抗作用は治療抵抗性前立腺癌患者にみられる数種類の AR 変異に対しても認められた。

In vivo 試験では、ダロルタミドの経口投与は未成熟ラットを用いた試験において抗アンドロゲン作用を示し、去勢抵抗性 VCaP 異種移植モデル及び同所移植モデルにおいて抗腫瘍効果を示した。VCaP 腫瘍同所移植未去勢マウスにおいて、ダロルタミドは血清テストステロン値に影響を及ぼさなかった。

100 種類以上の標的に対するオフターゲット作用を評価した *in vitro* 試験において、ダロルタミド、SR 体、SS 体及び M-1 は、ヒトにダロルタミド 600mg を 1 日 2 回経口投与したときに得られる血漿中濃度ではオフターゲット作用を示さないと考えられる。

In vitro 機能試験において、ダロルタミドは 5-HT 取り込みに対し、またダロルタミド及び M-1 は $GABA_A$ 受容体に対し濃度依存的な阻害作用を示したが、これらの IC_{50} 値は AR 阻害の IC_{50} 値に比しそれぞれ 50 倍以上及び 80 倍以上であった。更に、ダロルタミド及び M-1 はいずれも脳／血漿中濃度比が低いことから（2.6.4.4.2）、5-HT 取り込み及び $GABA_A$ 受容体阻害により、中枢神経系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

ダロルタミドの生命維持に重要な器官系（心血管系、呼吸器系及び中枢神経系）に対する安全性薬理試験において、ヒトにダロルタミド 600mg を 1 日 2 回経口投与したときに得られる血漿中濃度では有害作用は認められなかった。更に、ヒトにおける QT 間隔延長のリスクを検討した試験（hERG カリウムチャネル及び L 型カルシウムチャネルの *in vitro* アッセイ、及びイヌの QT/QTc 間隔を含む心電図記録）において、ヒトにおけるダロルタミドの催不整脈性リスクを示す所見は認められなかった。

イヌにおいて、ダロルタミド及び SS 体の血漿中曝露が高かったときにみられた心血行動態の変化（動脈圧の低下を引き起こす血管拡張、一過性の QT/QTc 間隔の短縮、1 例における一過性の房室ブロック）は、麻酔下で急速静脈内投与した場合にのみ生じ、ダロルタミドの種々のイヌ反復投与毒性試験で示されたように覚醒下及び経口投与では認められなかった。麻酔イヌでみられた心血行動態は覚醒イヌに比し顕著に変化したが、これらの作用はダロルタミド及び SS 体の血漿中曝露が高かったときにみられたことから、ヒトにダロルタミド 600mg を 1 日 2 回経口投与する場合には生理学的に問題とはならないと考えられる。

ダロルタミドの薬物動態は、一連の *in vitro* 及び *in vivo* 試験で評価した。ダロルタミドの薬物動態には、SR 体と SS 体の存在比の差を除いて、顕著な種差は認められなかった。ヒトにおけるダロルタミドの代謝経路はラットと類似していた。すべての動物で血漿中の唯一の主要な代謝物は M-1 であった。*In vitro* 試験と臨床薬物相互作用試験での検討により、ダロルタミドは、排出トランスポーターBCRP に対する阻害作用（ロスバスタチンの AUC を約 5 倍に増加）及び被相互作用薬として強い CYP3A4 及び P-gp 誘導薬リファンピシンの影響を受けたこと（ダロルタミドの AUC は 28%に減少）を除くと、ダロルタミドの臨床的に問題となる薬物相互作用の可能性は概して低いと考えられた。

SR 体と SS 体は同様の物理化学的、薬理学的及び毒性学的特性を示すことから、2 種類のジアステレオマーは等しく、また相補的にダロルタミドの安全性及び有効性に寄与すると考えられた。したがって、ジアステレオマーの存在比の種差はダロルタミドの安全性及び有効性の評価において重要ではなく、ラット及びイヌは非臨床安全性評価に適していると考えられる。

ダロルタミド反復経口投与後の影響を、雌雄ラットでは最長 26 週間、雌雄イヌでは最長 39 週間の反復投与毒性試験において検討した。被験薬は最高用量までおおむね良好な忍容性を示した。

ダロルタミドの薬理学的作用機序から予測されたように、ラット及びイヌにおけるほとんどの所見は雄性生殖器の萎縮性変化に関連したものであった。両動物種とも雌において注目すべき所見は認められなかった。オフターゲットの毒性は認められなかった。特に、これらの毒性試験では肝毒性や腎毒性を示す所見は認められず、このクラスの他 AR シグナル伝達阻害薬[5,6]とは異なり痙攣も認められなかった。

ダロルタミドの *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験を実施したところ、問題となる遺伝毒性は認められなかった。

ダロルタミドはよく知られた薬剤化合物クラスに属する AR シグナル伝達阻害薬の 1 種であり、遺伝毒性及び細胞毒性を有さず、長期反復投与毒性試験において前腫瘍性の組織学的変化を惹起しなかったことから、前立腺癌患者の治療薬としての使用を支持するためのがん原性試験は必要ではないと考えられる。

ダロルタミドは成人男性患者のみを適応対象とするため、発生毒性試験は実施しなかった。AR 機能の阻害剤としての本質的な薬理作用により、胎児に悪影響を及ぼす可能性があることから、ダロルタミドを妊娠女性に投与することは推奨されない。また、薬理作用及び反復投与毒性試験成績に基づくと、ダロルタミドは雄の受胎能を障害することが予測されるものの、その受胎能は休薬後に完全に回復すると考えられる。

ダロルタミドは、*in vitro* 光毒性試験において光毒性は認められなかった。

結論として、雌雄のラット及びイヌにおける反復投与毒性試験の結果、ダロルタミドのオフターゲットの毒性を示す所見は認められなかった。非臨床安全性プロファイルの主な特徴は雄性生殖器の（おおむね回復性の）萎縮性変化であった。遺伝毒性及び光毒性に関する試験において、ダロルタミドの予定される適用に際して特別なリスクとなるような所見は認められなかった。

2.4.6 参考文献一覧

1) HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION for Casodex: AstraZeneca Pharmaceuticals LP: 2017 (4.3.17)

2) Iswaran TJ et al., J Toxicol Sci 22:1997:75-88 (4.3.18)

3) HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION for ERLEADA: Janssen Pharmaceutical Companies: 2018 (4.3.19)

4) CENTER FOR DRUG EVALUATION AND RESEARCH APPLICATION NUMBER: 210951Orig1s000, MULTI-DISCIPLINE REVIEW_for ERLEADA (FDA approved evaluation summary) 2018 (4.3.20)

5) イクスタンジカプセル40mg／エンザルタミド、4.非臨床に関する概括評価及び8.非臨床概要 (3) 毒性、アステラス製薬株式会社 (2014) 医薬品医療機器総合機構：公開申請資料概要

6) HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION for XTANDI: Astellas Pharma US, Inc. : 2018 (4.3.21)