オニバイド®点滴静注 43mg

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.4 非臨床試験の概括評価

日本セルヴィエ株式会社

目次

1 非臨床試験の概要 8
1.1 緒言 8
1.2 BAX2398 開発の根拠 8
1.3 非臨床開発プログラム 8
1.4 被験物質 9
2 薬理試験 13
2.1 効力を裏付ける試験 13
2.2 副次的薬理試験 13
2.3 安全性薬理試験 13
2.4 薬力学的薬物相互作用試験 14
3 薬物動態試験 15
3.1 分析法及びバリデーション 15
3.2 薬物動態及び吸収 15
3.2.1 単回投与時の薬物動態 16
3.2.2 反復投与時の薬物動態 17
3.2.3 BAX2398 内の薬物封入 19
3.2.4 イリノテカンの活性代謝物 SN-38 への変換 20
3.3 分布 21
3.3.1 タンパク結合及び血液細胞との結合 21
3.3.2 組織内分布 21
3.4 代謝 23
3.5 排泄 24
3.6 薬物動態学的薬物相互作用 25
4 毒性試験 26
4.1 動物種の選択 28
4.2 単回投与毒性試験 28

4.2.1 投与に起因した死亡／瀕死 28
4.2.2 臨床所見 29
4.3 反復投与毒性試験 30
4.3.1 投与に起因した死亡／瀕死 30
4.3.2 消化管に対する作用 31
4.3.3 血液系及び骨髄に対する作用 31
4.3.4 肝臓に対する作用 31
4.3.5 他の単核細胞貪食系に対する作用 32
4.4 遺伝毒性試験 32
4.5 がん原性試験 32
4.6 生殖発生毒性試験 33
4.7 局所刺激性及びその他の試験 33
4.8 不純物の評価 33
4.9 光安全性評価 33
4.10 新添加剤の安全性評価 34
4.10.1 BAX2398 又はリポソーム対照の単回及び反復投与毒性試験 34
4.10.2 公表論文等からの安全性関連情報 35
4.11 全身曝露量 38
5 考察及び結論 40
参考文献 43

表目次

表 2.4-1 非臨床試験に使用した被験物質のロット一覧 11

表 2.4-2 BAX2398 又は CPT-11 の同用量静脈内投与後の第 1 日のイリノテカンの PK パラメータの比（BAX2398/CPT-11） 16

表 2.4-3 BAX2398 又は CPT-11 静脈内投与での初回サイクル及び最終評価サイクル時のイリノテカンの全身曝露量の平均値 18

表 2.4-4 マウスでの BAX2398 及び CPT-11 静脈内投与後のイリノテカン及び SN-38 の $AUC_{0\text{-}inf}$、MRT 及び $t_{1/2}$ 22

表 2.4-5 単回及び反復投与毒性試験における BAX2398 及び CPT-11 の毒性学的プロファイルの要約 27

表 2.4-6 ヒトと動物間でのイリノテカン及び SN-38 の C_{max} 並びに $AUC_{0\text{-}t}$ の比較 [a] 39

図目次

図 2.4-1 BAX2398 の概略図 10

図 2.4-2 ^{14}C-CPT-11 の構造 15

図 2.4-3 BAX2398 中イリノテカンの代謝経路 24

略号及び用語の説明

記号	日本語	英語
5-FU	5-フルオロウラシル	5-fluorouracil
APC	イリノテカンのアミノ吉草酸代謝物	7-ethyl-10-[4-N-(5-aminopentanoic acid)-1-piperidino]-carbonyloxycamptothecin, aminopentanoic acid metabolite of irinotecan
API	医薬品有効成分	active pharmaceutical ingredient
AUC	濃度－時間曲線下面積	area under the concentration-time curve
BAX2398	ナノリポソーム型 CPT-11 別称：nLs-CPT-11、nal-IRI、Lipo-CPT-11、HBI-202、PEP02 及び MM-398	nanoliposomal CPT-11, nLs-CPT-11, nal-IRI, Lipo-CPT-11, HBI-202, PEP02 and MM-398
CDX	細胞株由来異種移植片	cell-line derived xenograft
CES	カルボキシルエステラーゼ	carboxylesterase
CHL/IU 細胞	チャイニーズハムスター肺由来細胞	Chinese hamster lung cell
CHO 細胞	チャイニーズハムスター卵巣細胞	Chinese hamster ovary cell
CL	クリアランス	clearance
C_{max}	最高濃度	maximum concentration
$C_{maxfree}$	BAX2398 投与後にリポソームから放出されたイリノテカンの最高濃度	maximum concentration of released irinotecan after dosing with BAX2398
CNS	中枢神経系	central nervous system
CPT-11	イリノテカン塩酸塩水和物（JAN）	irinotecan hydrochloride hydrate (Japanese Accepted Name)
CYP	シトクロム P450	cytochrome P450
DNA	デオキシリボ核酸	deoxyribonucleic acid
DSPC	1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン	1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine
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 Practices
HEPES	4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸	2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl] ethanesulfonic acid
HNSTD	重篤な毒性が発現しない最大投与量	highest non-severely toxic dose
HPLC	高速液体クロマトグラフィー	high pressure liquid chromatography
ICH	医薬品規制調和国際会議	International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for human use
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析	liquid chromatography-tandem mass spectrometry
LD	致死量	lethal dose
LD_x	X%致死量	lethal dose in x% of the animals
LV	ロイコボリン	leucovorin

略号及び用語の説明（続き）

記号	日本語	英語
MAD	データの相互受け入れ	mutual acceptance of data
MPEG-2000-DSPE	*N*-(カルボニル-メトキシポリエチレングリコール 2000)-1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン	N-(carbonyl-methoxypolyethyleneglycol-2000)-1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolaminet
MRT	平均滞留時間	mean residence time
MTD	最大耐量	maximum tolerated dose
NPC	イリノテカンのアミノピペリジノ代謝物	7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-amino]-carbonyloxycamptothecin, amino-piperidino metabolite of irinotecan
NOAEL	無毒性量	no observed adverse effect level
NOD	非肥満糖尿病	non obese diabetes
NOEL	無影響量	no observed effect level
PDX	患者由来異種移植片	patient-derived xenograft
PK	薬物動態	pharmacokinetics
qxd	X 日に 1 回	every x days
qxw	X 週間に 1 回	every x weeks
SCID	重症複合免疫不全	severe combined immune deficiency
SD ラット	Sprague Dawley ラット	Sprague Dawley rat
SN-38	イリノテカンの活性代謝物	7-ethyl-10-hydroxy-camptothecin, active metabolite of irinotecan
SN-38G	SN-38 グルクロン酸抱合代謝物	SN-38 glucuronide
SOS	－	sucrose octasulfate
STD	重篤な毒性が発現する投与量	severly toxic dose
STD_x	X%の動物に重篤な毒性が発現する投与量	severly toxic dose in x% of the animals
$t_{1/2}$	消失半減期	elimination half-life
TK	トキシコキネティクス	toxicokinetics
T_{max}	最高濃度到達時間	time to maximum concentration
UGT1A	ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素 1A	uridine diphosphate-glucuronosyl transferase 1A
V_d	分布容積	volume of distribution

1 非臨床試験の概要

1.1 緒言

BAX2398 は、医薬品有効成分（API）のイリノテカン塩酸塩水和物（7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-piperidino] carbonyloxycamptothecin hydrochloride trihydrate、CPT-11）を封入したリポソーム製剤である。本製剤は、固形がんの単独及び併用療法のために開発された。開発期間中、BAX2398 はナノリポソーム型 CPT-11、nLs-CPT-11、nal-IRI、Lipo-CPT-11、HBI-202、PEP02 及び MM-398 とも呼称された。非臨床試験で用いたロットの特性を本項 1.4 に示す。本資料中、BAX2398 又は CPT-11 にかかわらず、各投与量は CPT-11 に基づき表示する。CPT-11 50 mg はイリノテカン 43 mg に相当する。

1.2 BAX2398 開発の根拠

BAX2398 の製造には、循環血中に長時間滞留するリポソームベースのナノ粒子に、高い封入率及び生体内安定性を得るようにイリノテカンを封入するための新しいリポソーム内薬物安定化技術を用いる。

イリノテカンは、トポイソメラーゼ I 阻害剤に属する薬剤で、天然アルカロイドであるカンプトテシンの水溶性半合成誘導体である。トポイソメラーゼ I 阻害剤は、デオキシリボ核酸（DNA）の巻戻し、即ち複製を阻害することによって、制御不能な細胞増殖を抑制する。イリノテカンの薬理作用は複雑であり、イリノテカンの活性化、不活性化及び除去過程での広範な代謝変換に関連する［26、19、33］。イリノテカンは、非特異的カルボキシルエステラーゼ（CES）によって、100～1000 倍強力な活性を有する代謝物 SN-38 に変換される［19］。SN-38 は遺伝子多型が認められているグルクロン酸転移酵素によって代謝されるため、患者において薬理学的相違が示されている［14］。これらの薬物特性は、その臨床的有効性及び毒性の顕著な個体差の原因となる。したがって、薬物担体技術は、イリノテカンの薬物動態（PK）及び生体内分布を改善し、早期代謝を回避するための合理的な手立てである。

1.3 非臨床開発プログラム

本剤の非臨床開発プログラムは、該当する場合は ICH S9、ICH M3(R2)及び ICH S7 を含む医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインに従い計画し、薬理学的、薬物動態学的及び毒性学的特性を検討するため、*in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施した。

BAX2398 の開発を支持する非臨床試験には、同等又はそれ以上の投与量の CPT-11 と比較した BAX2398 の一貫した再現性のある有効性を確認した、またマウスにおける *in vivo* 活性の薬理学的決定因子を特定した効力を裏付ける薬理試験を含む。心血管系及び呼吸器系に対する BAX2398 の作用を評価する安全薬理試験を実施した（20036143 試験）。2.6.2.4 項で概説するように、中枢神経系（CNS）に関する独立した安全性薬理試験は実施せず、CNS に対する作用は、ラットにおける反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-010 試験）で評価した。

BAX2398 及びその活性代謝物である SN-38 の分布、代謝及び排泄は、毒性評価に用いた動物種でもあるラット及びイヌに加えてマウスでも *in vivo* で評価した。単回及び反復投与後の吸収は、ラット及びイヌでの PK 試験並びにトキシコキネティクス（TK）試験で評価した。

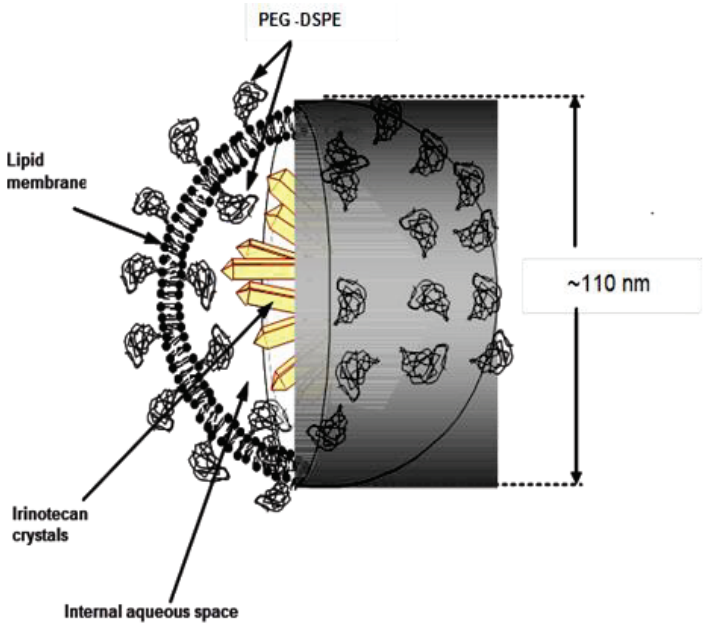
BAX2398 の非臨床安全性を評価するために、単回投与毒性をマウス、ラット及びイヌで検討した。反復投与毒性は、18 週間までの静脈内投与によりラット及びイヌで評価した。BAX2398 の API である CPT-11 の遺伝毒性、がん原性及び生殖発生毒性は、すでに明らかにされている［3］。更に追加毒性試験において、それぞれヒト全血及び血漿を用いた BAX2398 の溶血及び凝集能を評価した（PEP02-NC-G-Tx-008 試験）。

予備的な毒性試験、反復投与毒性試験で用いる BAX2398 の適切な投与量を確立するための試験及び薬物動態試験は、概して、「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準」（GLP）に従って実施した。安全性薬理試験及び主要な毒性試験は、GLP に準拠して実施した。2 つの反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-010 及び PEP02-NC-G-Tx-011 試験）の一部（製剤分析、生体試料分析及び TK）を台湾の施設である[redacted]及び[redacted]でそれぞれ実施した。台湾は、データの相互受け入れ（MAD）の参加国、仮参加国のいずれでもないが、これらの試験は GLP の適用原則に従って行われた。

1.4 被験物質

BAX2398 は、静脈内投与用の無菌かつ白色～微黄色の不透明な等張性リポソーム分散液である。リポソームは、sucrose octasulfate（SOS）塩としてイリノテカンを含む水相を封入した小型の単層脂質二分子膜小胞である。リポソームは直径約 110 nm であり、脂質膜は *N*-(カルボニル-メトキシポリエチレングリコール 2000)-1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン（MPEG-2000-DSPE）、コレステロール及び 1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン（DSPC）から成り、ポリエチレングリコール分子とリン脂質分子との割合は約 1 対 200 である（図 2.4-1）。リポソーム内相の捕捉剤は、SOS カリウム塩である。緩衝剤として 4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸（HEPES）が用いられている。これらについてはすでに安全性評価が行われている（本項 4.10、2.6.6.8.4 項）。製剤組成の詳細は、3.2.P.2.1 項に記載する。

図 2.4-1 BAX2398 の概略図



PharmaEngine 社が実施した非臨床試験並びに BAX2398 の初期の第 I 相及び第 II 相臨床試験で使用された製剤は、第 III 相及びそれに続く臨床試験並びに Merrimack 社が実施した大多数の非臨床試験で使用された製剤の製法（Phase 3 製造工程）とは異なる製法（初期製造工程）を用いて製造された。しかし、2 つの主要な製造工程、すなわち初期製造工程で製造した「PEP02」及びその後の Phase 3 製造工程で製造した「MM-398」は、製剤の出荷品質規格を満たした。追加で実施した脂質分析、*in vitro* 放出試験、リポソームの形態及び平均粒子径分析を含む同時比較での特性解析試験では、全てにおいて同様の定性的又は定量的結果が示され、また、両製造工程で製造した製剤は 2.3.P.2.3 項に記載されているように、加速試験条件下で同様の挙動を示した。「MM-398」の製法は、実際に DSPC 脂質成分の安定性の改善をもたらした。分布試験のための放射性又は蛍光標識リポソームは、実験室で製造した。

最終的な非臨床安全性試験に使用した BAX2398 のロットは、臨床試験に使用された BAX2398 のロットと同等／同質であった（2.3.P.5.4 項）。全ての非臨床試験に使用したロットの一覧を表 2.4-1 に示す。

市販製剤の規格及び試験方法は、2.3.P.5.1 項に記載されている。PharmaEngine/TTY 社によって製造された臨床用及び非臨床用ロットは、その当時の出荷時に使用した製剤規格と共に 2.3.P.5.4 項に詳述されている。有効成分封入率の規格は、当初は■%以上に設定され、製造の改良に伴って■%以上に高められた。リポソームの平均粒子径は、初期は 110 ±■ nm に設定され、製造の改良に伴って 110 ±■nm に狭められた。有効成分／リン脂質比の理論的標的範囲は■～■ mg/mmol であるが、プロセス変動及び累積分析誤差のため、実際の範囲は■～■mg/mmol となる。

表 2.4-1 非臨床試験に使用した被験物質のロット一覧

Lot No.	Liposome Conc. [mg/mL CPT-11]	Drug Encapsulation [%]	Size [nm]	Drug-to-phospholipid ratio [mg/mmol]	Study Number/ Reference
PharmaEngine/TTY formulations (drug encapsulated)					
LIIA02	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-N-PK-001
LIIA03	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-N-PK-001 PEP02-NC-N-Ph-005
LIIA03-2	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-N-PK-002 PEP02-NC-N-PK-004 PEP02-NC-N-PK-006
LIIA02	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-N-Tx-004
LIIA03	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	
LIIA05	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-G-Tx-002 (Pilot) PEP02-NC-G-Tx-005 PEP02-NC-G-PK-003
LIIA06	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-G-Tx-002 (Main) PEP02-NC-G-Tx-003
LIIA07	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-G-Tx-006
LIIA08	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-G-Tx-006 PEP02-NC-N-PK-005 PEP02-NC-N-Ph-006 PEP02-NC-N-Ph-007 PEP02-NC-N-Ph-008 PEP02-NC-N-Ph-011
LIIA09	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-G-Tx-007
LIIAS3001	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-G-Tx-008 PEP02-NC-G-Tx-009 PEP02-NC-G-Tx-010
LIIA12	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-G-Tx-010
LIIA14	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	
LIIAS5001	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-G-Tx-011 PEP02-NC-N-Ph-012
LIIAS4002	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	
PharmaEngine/TTY formulations (placebo)					
LIIA03P	[redacted]	[redacted]	-	[redacted]	PEP02-NC-N-Tx-004
LIIA06P	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-G-Tx-002 PEP02-NC-G-Tx-003
LIIA08P	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-G-Tx-006

表 2.4-1 非臨床試験に使用した被験物質のロット一覧（続き）

Lot No.	Liposome Conc. [mg/mL CPT-11]	Drug Encapsulation [%]	Size [nm]	Drug-to-phospholipid ratio [mg/mmol]	Study Number/ Reference
LIIA10P	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-G-Tx-007 PEP02-NC-G-Tx-008
LIIA11	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-G-Tx-009
LIIA12P	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-G-Tx-010
LIIA14P	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	
LIIA14P-2	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	
LIIPS5001	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PEP02-NC-G-Tx-011
Merrimack formulations (drug encapsulated)					
061610-3	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	MM-398-NC-N-Ph-016
JD0511	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	MM-398-NC-N-Ph-022 MM-398-NC-N-Ph-018A1 MM-398-NC-N-Ph-025 Kalra 2014
QB2713-B09	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	20036143
1-FIN-1221	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	MM-398-NC-N-Ph-023A1 MM-398-NC-N-Ph-024A1 MM-398-NC-N-Ph-027
QJ0714	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	MM-398-NC-N-Ph-027
Merrimack formulations (fluorescently labeled)					
MM-052110-6-NT	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	MM-398-NC-N-Ph-020/021 MM-398-NC-N-Ph-017
RH4:23-05042011	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	MM-398-NC-N-Ph-019/021 MM-398-NC-N-Ph-025 MM-398-NC-N-Ph-017 MM-398-NC-N-Ph-029
MM-05032012	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	MM-398-NC-N-Ph-019 MM-398-NC-N-Ph-029
MM-05042012	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	MM-398-NC-N-Ph-017
MM01152013	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	MM-398-NC-N-Ph-029

Phospholipid contents were shown in brackets [].
a Nonclinical liposome concentrations were adjusted during bulk drug product processing to allow animal dosing at the appropriate target doses, and are therefore up to 5x higher than the clinical specification of 5 mg/mL.
-: no data, NA: not applicable

2 薬理試験

2.1 効力を裏付ける試験

膵癌（複数の同所性及び異所性モデル）、大腸癌及び子宮頸癌の異種移植モデルマウスを用いて、BAX2398 静脈内投与による有効性を評価した。BAX2398 は、同等又はそれ以上の用量の CPT-11 と比較して、一貫して再現良く高い有効性を示した。

概して、患者由来異種移植片（PDX）モデルでは細胞株由来異種移植片（CDX）モデルよりも BAX2398 の腫瘍内蓄積量が少なく、SN-38 の滞留時間が短かった。しかし、複数の PDX 膵癌モデルでは、BAX2398 10 mg/kg の 7 日に 1 回（q7d）投与により有意に腫瘍増殖が抑制された。ヒト血漿と同様に血漿カルボキシルエステラーゼ ES1 活性を欠損した系統マウスを用いた PDX 膵癌モデルの結果から、血漿中イリノテカンの変換ではなく、腫瘍内リポソーム蓄積及びイリノテカンの変換が BAX2398 の抗腫瘍活性に寄与することが示唆された。実際、BAX2398 に関する免疫組織学的解析による腫瘍間質領域での蓄積、腫瘍ホモジネートでの代謝物プロファイル、γH2AX 染色による DNA 損傷及び複数の膵癌モデルにおける有効性の結果より、腫瘍細胞内で治療効果を示す濃度のイリノテカンの放出及びバイオアベイラビリティが裏付けられた。

膵癌異種移植モデルにおける q7d 投与レジメンでは、BAX2398 10 mg/kg は CPT-11 50 mg/kg と比較してより高い有効性を示し、同様の関係が大腸癌異種移植モデルでも観察された（Kalra 2014）。PK モデリングにより、CPT-11 50 mg/kg 及び BAX2398 10 mg/kg は HT-29 大腸癌異種移植モデルマウスで同程度の血漿中及び腫瘍内活性代謝物 SN-38 曝露量［SN-38 の濃度－時間曲線下面積（AUC_{SN-38}）］をもたらしたが、BAX2398 による腫瘍内 SN-38 滞留時間は延長した。BAX2398 又は CPT-11 による腫瘍内の臨界閾値（同モデルでは 120 nmol/L）を上回る SN-38 濃度の持続時間延長が、マウスにおける *in vivo* 活性の主な薬理学的決定因子であることが示唆された。CPT-11 50～60 mg/kg 投与時に臨界閾値を上回る腫瘍内 SN-38 濃度の持続時間は 50 時間以内であったが、BAX2398 10～20 mg/kg 投与時にはより長い投与間隔（168 時間まで）でも腫瘍内 SN-38 濃度は臨界閾値を上回り、これは HT-29 モデルマウスにおける BAX2398 のより強い抗腫瘍作用と一致した（Kalra 2014）。

全体として、CPT-11 の有効性（腫瘍増殖抑制及び腫瘍退縮の観点から）を増強する BAX2398 の効力が示された。

2.2 副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施しなかった。

2.3 安全性薬理試験

雌雄ビーグル犬への 21 mg/kg（420 mg/m^2）[1]までの BAX2398 単回静脈内投与は、心血管系、血行動態、心電図、呼吸器系パラメータ及び体温に影響を及ぼさなかった（20036143 試験）。

[1] FDA ガイダンス（FDA 2005, Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers [9]）に基づき、マウス、ラット及びイヌでの体表面積あたりの投与量を変換係数それぞれ 3、6 及び 20 を用いて計算した。

CNS 関連の評価項目はラット反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-010 試験）で評価した。ラットに BAX2398（30、75、190 mg/kg）及び CPT-11（75 mg/kg）を 3 週間に 1 回（q3w）投与（計 6 回）する 18 週間反復投与毒性試験において、振戦、協調運動障害による歩行、つま先歩行、流涎及びケージワイヤーをかじる行動が、CPT-11 75 mg/kg（450 mg/m^2）投与群にのみ観察された。

安全性薬理試験において、BAX2398 の静脈内投与が生命維持に重要な器官系に許容できない急性リスクを引き起こすことを示す所見は認められなかった。

2.4 薬力学的薬物相互作用試験

5-フルオロウラシル（5-FU）及びレボホリナートの体内動態に対するイリノテカンの影響を評価する正式な *in vivo* 又は *in vitro* 薬物相互作用試験は実施していない。これまでに BAX2398 を用いた薬力学的薬物相互作用試験は実施していないが、イリノテカンは多くの臨床試験及び臨床診療において 5-FU 及びレボホリナートと併用投与されており、イリノテカンと他の医薬品との相互作用については、既に報告されている［3］。これら既知の情報を踏まえると、5-FU との併用による予期しない薬物相互作用が生じる可能性は低い。

3 薬物動態試験

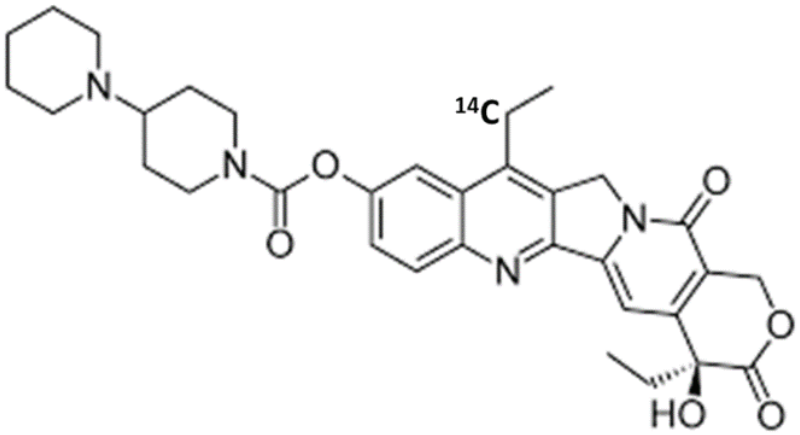
BAX2398 静脈内投与後の全身曝露をげっ歯類及びイヌで評価した。吸収を評価した全ての試験及び一部の分布試験において、1 用量以上の BAX2398 を CPT-11 と比較した。特に断りのない限り、BAX2398 投与後のイリノテカン濃度は、封入型イリノテカン及び非封入型イリノテカンを分離せずに測定しているため、これらの総濃度を表す。一部の試験では、イリノテカンの主要活性代謝物である SN-38 濃度も定量した。

3.1 分析法及びバリデーション

血漿及び組織中イリノテカン及び SN-38 濃度は、逆相高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を備えた蛍光測定器又は液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（LC/MS/MS）を用いて測定した。イリノテカン及び SN-38 は除タンパク法によって試料中から抽出した。全ての方法は、許容可能な感度及び選択性を示した。ラット及びイヌにおける PK 及び TK 試験を裏付けるために LC/MS/MS 法が構築され、GLP に準拠してフルバリデートされた。バリデートされた分析法を 2.6.4.2 項に記載する。

^{14}C-CPT-11 のリポソーム封入型製剤（^{14}C-BAX2398）又は ^{14}C-CPT-11 投与後の生体試料中放射能の測定は、定量的全身オートラジオグラフィーで行った。血液、血漿、尿、糞及び胆汁中放射能濃度は液体シンチレーションカウンターによって測定した。CPT-11 の放射性標識体は、Slatter らが報告している手順に従って調製した［26］。イリノテカンの主な代謝物は全て放射性標識体を保持していた。^{14}C-CPT-11 の構造を図 2.4-2 に示す。

図 2.4-2 ^{14}C-CPT-11 の構造



HCl•3H$_2$O

3.2 薬物動態及び吸収

げっ歯類及びイヌにおける PK/TK 試験において、BAX2398 はリポソーム医薬品の設計特性［滞留時間の延長、腫瘍組織への分布の増加、最高濃度（C_{max}）の上昇、クリアランス（CL）の

低下及び分布容積（V_d）の低下］を満たすことが示された。BAX2398 は静脈内投与されるため、完全に吸収される。

3.2.1 単回投与時の薬物動態

ラット及びイヌにおける PK/TK 試験結果より、CPT-11 投与後と比較して BAX2398 単回静脈内投与後のイリノテカンの消失半減期（$t_{1/2}$）は延長し、CL は低下した。同用量投与したとき、BAX2398 投与時の方がイリノテカンの C_{max} は高く、V_d は低かった。BAX2398 投与時の方が平均滞留時間（MRT）は長く、全身曝露は高かった。これらの変化は概してヒトと類似していた［24］。これらの要約を表 2.4-2 に示す。マウスにおける PK 試験でも全身曝露量の増加が裏付けられた（Kalra 2014 及び PEP02-NC-N-PK-005 試験）。検討した動物種におけるイリノテカンの PK データの比較を 2.6.4 項の表 2.6.4-59 に要約する。

表 2.4-2 BAX2398 又は CPT-11 の同用量静脈内投与後の第 1 日のイリノテカンの PK パラメータの比（BAX2398/CPT-11）

Rat		Dog		Human [24][a]
study	ratio	study	ratio	ratio
$t_{1/2}$				
PEP02-NC-N-PK-001	1.88 - 2.01	PEP02-NC-N-PK-004	8.95	
PEP02-NC-G-PK-003	12.56-16.80	PEP02-NC-G-Tx-007	1.31-4.73	
PEP02-NC-G-Tx-006TK	4.23-7.05	PEP02-NC-G-Tx-009	8.18 - 8.58	
PEP02-NC-G-Tx-010	2.10-2.12	PEP02-NC-G-Tx-011	1.69-2.54	2.75
CL				
PEP02-NC-N-PK-001	0.0122-0.0144	PEP02-NC-N-PK-004	0.0078	
PEP02-NC-G-PK-003	0.0005-0.0007	PEP02-NC-G-Tx-007	-	
PEP02-NC-G-Tx-006TK	-	PEP02-NC-G-Tx-009	-	
PEP02-NC-G-Tx-010	0.0007-0.0009	PEP02-NC-G-Tx-011	0.0087-0.0153	0.0148
C_{max}				
PEP02-NC-N-PK-001	42.5-45.9	PEP02-NC-N-PK-004	29.7	
PEP02-NC-G-PK-003	143-271	PEP02-NC-G-Tx-007	12.1-13.0	
PEP02-NC-G-Tx-006TK	98.9-106.1	PEP02-NC-G-Tx-009	25.7-35.9	
PEP02-NC-G-Tx-010	159.5-161.3	PEP02-NC-G-Tx-011	23.0-26.6	35.7
V_{ss} [b]				
PEP02-NC-N-PK-001	0.0249-0.0272	PEP02-NC-N-PK-004	0.0704	
PEP02-NC-G-PK-003	0.0070-0.0099	PEP02-NC-G-Tx-007	-	
PEP02-NC-G-Tx-006TK	-	PEP02-NC-G-Tx-009	-	
PEP02-NC-G-Tx-010	0.0090-0.0094	PEP02-NC-G-Tx-011	0.0296-0.0408	0.0227

表 2.4-2 BAX2398 又は CPT-11 の同用量静脈内投与後の第 1 日のイリノテカンの PK パラメータの比（BAX2398/CPT-11）（続き）

Rat		Dog		Human [24][a]
study	ratio	study	ratio	ratio
$MRT_{0\text{-}inf}$				
PEP02-NC-N-PK-001	-	PEP02-NC-N-PK-004	-	
PEP02-NC-G-PK-003	-	PEP02-NC-G-Tx-007	2.15-4.34	
PEP02-NC-G-Tx-006TK	-	PEP02-NC-G-Tx-009	2.28-2.76	
PEP02-NC-G-Tx-010	-	PEP02-NC-G-Tx-011	2.44-3.77	3.58
$AUC_{0\text{-}t}$ [c]				
PEP02-NC-N-PK-001	74.4-92.4	PEP02-NC-N-PK-004	128.2	
PEP02-NC-G-PK-003	1466-1992	PEP02-NC-G-Tx-007	46.5-61.1	
PEP02-NC-G-Tx-006TK	608-706	PEP02-NC-G-Tx-009	88.1 - 99.1	
PEP02-NC-G-Tx-010	1035-1331	PEP02-NC-G-Tx-011	72.2 – 129	171

CL: cleareance, C_{max}: maximum concentration, $MRT_{0\text{-}inf}$: mean residence time extrapolated to infinity, $t_{1/2}$: elimination half-life, V_{ss}: volume of distribution at steady state

[a] BAX2398 was dosed at 120 mg/m^2, while CPT-11 was dosed at 300 mg/m^2. C_{max} and $AUC_{0\text{-}t}$ are dose normalized, all parameters represent arithmetic means.

[b] In PEP02-NC-N-PK-001 and PEP02-NC-N-PK-004, it stated V_d (volume of distribution).

[c] In PEP02-NC-N-PK-001 and PEP02-NC-N-PK-004, $AUC_{0\text{-}t}$ means area under the concentration-time curve to sampling time t.
In PEP02-NC-G-PK-003, PEP02-NC-G-Tx-009, PEP02-NC-G-Tx-010 and PEP02-NC-G-Tx-011, $AUC_{0\text{-}t}$ means area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration.
In PEP02-NC-G-Tx-007 and PEP02-NC-G-Tx-006TK, $AUC_{0\text{-}t}$ means area under the concentration-time curve to t hours.

3.2.2 反復投与時の薬物動態

BAX2398 反復投与後の PK は、ラット及びイヌにおける TK 試験で評価した。BAX2398 投与後のイリノテカンの全身曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$）の比較を表 2.4-3 に示す。

雌雄とも、初回及び反復投与後の全身曝露量の差は最大でも 2 倍程度であった。しかし、Sprague Dawley（SD）ラットにおける 6 サイクル（q3w 投与を 1 サイクルとする）投与試験（PEP02-NC-G-Tx-010 試験）では、BAX2398 の全投与群で蓄積係数（$AUC_{0\text{-}t}$ に基づく）の上昇が 1.53～2.16 の範囲で認められた。ただし、CPT-11 投与でも同様であった（範囲 1.87～2.14）。最終評価サイクル時、特に CPT-11 投与群で C_{max} の上昇も認められた。しかしながら、本試験で BAX2398 の最低用量群及び CPT-11 投与群では、第 64、85 及び 106 日の投与前試料中にイリノテカンは検出されなかったことから、特にこれらの投与群では、次回投与前に全身循環からイリノテカンが消失していたことが示唆される。

ヒト曝露との関係において、毒性評価動物種での曝露は BAX2398 の有害作用を評価するために十分であると考えられた。

表 2.4-3 BAX2398 又は CPT-11 静脈内投与での初回サイクル及び最終評価サイクル時のイリノテカンの全身曝露量の平均値

Species (duration)	Dose (mg/kg)	Sex	C_{max} (μg/mL)			AUC_{0-t} (μg·hr/mL)[a]		
			Cycle 1	End of Study	ratio	Cycle 1	End of Study	ratio
Rat (4 cycle, q1w) PEP02-NC-G-Tx-006TK	65 (BAX2398)	Male Female	1069 1177	2362 970	2.21 0.82	29530 22459	41906 36036	1.42 1.60
	130 (BAX2398)	Male Female	1753 1884	1435 1793	0.82 0.95	56701 51261	56287 42361	0.99 0.83
	260 (BAX2398)	Male Female	2972 2377	2048 2955	0.69 1.24	131717 90064	108249 102198	0.82 1.13
	130 (CPT-11)	Male Female	18 18	18 20	1.00 1.11	80 84	82 83	1.03 0.99
Rat (6 cycle q3w) PEP02-NC-G-Tx-010	30 (BAX2398)	Male Female	681 576	1004 828	1.47 1.44	19615 14138	37688 24292	1.92 1.72
	75 (BAX2398)	Male Female	1726 1549	2171 2161	1.26 1.40	51303 45860	90278 70221	1.76 1.53
	190 (BAX2398)	Male Female	4217 3982	5733 5403	1.36 1.36	116673 114271	251655 221167	2.16 1.94
	75 (CPT-11)	Male Female	11 10	21 19	1.91 1.90	39 44	83 83	2.14 1.87
Dog (4 cycle, q1w) PEP02-NC-G-Tx-009	4 (BAX2398)	Male Female	76 66	72 55	0.95 0.83	721 652	647 676	0.90 1.04
	8 (BAX2398)	Male Female	105 84	97 81	0.92 0.96	1297 803	1412 735	1.09 0.92
	16 (BAX2398)	Male Female	284 272	302 208	1.06 0.77	3569 3942	5613 3937	1.57 1.00
	16 (CPT-11)	Male Female	8 11	9 11	1.13 1.00	36 45	38 39	1.06 0.87
Dog (6 cycle q3w) PEP02-NC-G-Tx-011	9 (BAX2398)	Male Female	147 150	142 136	0.97 0.91	2075 2080	2344 1748	1.13 0.84
	15 (BAX2398)	Male Female	308 227	226 207	0.73 0.91	4088 3446	4660 4127	1.14 1.20
	21 (BAX2398)	Male Female	332 317	340 320	1.02 1.01	5750 5394	9423 8775	1.64 1.63
	36 (BAX2398)	Male Female	550 527	-	-	10198 12663	-	-
	21 (CPT-11)	Male Female	13.6 13.8	14.6 16.6	1.07 1.20	47.7 54.5	57.3 61.8	1.20 1.13
	36 (CPT-11)	Male Female	21.9 19.8	-	-	141 98.4	-	-

表 2.4-3 BAX2398 又は CPT-11 静脈内投与での初回サイクル及び最終評価サイクル時のイリノテカン全身曝露量の平均値（続き）

Species (duration)	Dose (mg/kg)	Sex	C_{max} (μg/mL)			AUC_{0-t} (μg·hr/mL)[a]		
			Cycle 1	End of Study	ratio	Cycle 1	End of Study	ratio
Human[b]	120 mg/m^2 (BAX2398)	Male/Female	79.4	-	-	2835	-	-
Human[c]	80 mg/m^2 (BAX2398)	Male/Female	29.2	-	-	1116	-	-

-: not applicable, BAX2398: nanoliposomal irinotecan, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate

[a] In PEP02-NC-G-Tx-009, PEP02-NC-G-Tx-010 and PEP02-NC-G-Tx-011, AUC_{0-t} means area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration.
In PEP02-NC-G-Tx-006TK, AUC_{0-t} means area under the concentration-time curve to t hours.

[b] PEP0201; n=6

[c] PEP0203; n=6

Human data references mean PK parameters (Section, 2.7.2, Table 2)
Repeated dose studies in rats and dogs are summarized in the Section 2.6.5.4 .

3.2.3 BAX2398 内の薬物封入

BAX2398 に封入されているイリノテカンが代謝を受けるためには、リポソーム製剤から放出される必要がある。また、リポソーム内での封入時間の延長は、BAX2398 の貯留特性に有益である。

イヌ血漿中での BAX2398 のイリノテカンのリポソーム封入率を、BAX2398 静脈内ボーラス投与後 168 時間までに採取した血液試料を用いて、血漿中イリノテカン濃度及び封入型イリノテカン濃度の分析により評価した。PEP02-NC-N-PK-004 試験では HPLC 蛍光検出器を用いて血漿中イリノテカン濃度を、PEP02-NC-N-PK-006 試験ではゲルろ過クロマトグラフィーを用いて分離した血漿中封入型イリノテカン濃度をそれぞれ測定した。PEP02-NC-N-PK-004 試験では、血漿中イリノテカン及び SN-38 濃度の平均値は、BAX2398 投与でそれぞれ 0.003～186.8 μg/mL 及び 0.0053～0.0272 μg/mL、CPT-11 投与でそれぞれ 0.003～6.292 μg/mL 及び 0.0032～0.0133 μg/mL であった。BAX2398 投与での AUC_{0-inf} は CPT-11 投与より約 128 倍高かった。BAX2398 及び CPT-11 投与後の $t_{1/2}$ はそれぞれ 24.89 及び 2.78 時間であった。BAX2398 によってイヌ血漿中イリノテカン及び SN-38 濃度は上昇し、リポソーム化によって循環血中の滞留時間が延長した。PEP02-NC-N-PK-006 試験では、ゲルろ過クロマトグラフィーを用いた分析により、イヌ血漿中で検出されたイリノテカンの 75%～86%が封入型イリノテカンであった。

イリノテカン封入の指標は、イリノテカンに対する SN-38 の AUC 比によっても示される。ビーグル犬での CPT-11 単回投与後のイリノテカンに対する SN-38 の AUC_{0-t} 比は、BAX2398 単回投与後よりも約 45 倍大きかった（PEP02-NC-G-Tx-011 試験における 21 mg/kg 初回投与後の AUC 比の比較、2.6.4 項の表 2.6.4-59）。PEP0201 試験（第 I 相臨床試験）におけるイリノテカン及び封入型イリノテカンの測定では、イリノテカンに対する封入型イリノテカンの比の中央値は 95.4%であり、時間経過による明らかな変化はなかった（2.7.2.2.2.3 項）。

血漿タンパクとの結合後に、膜の不安定化又は脂質成分の溶出によるリポソーム内容物の早期漏出が起こり得るが、リポソームの組成に大きく依存する［6、25］。BAX2398 処方における高い相転移を有する DSPC 及び DSPC／コレステロール比により脂質膜の立体構造はゲル状態をとり、それによって BAX2398 の透過性が減少し、タンパク結合が減少する［7］（本項 3.3.1）。BAX2398 の PK データは、リポソームからのイリノテカンの早期放出を示していない。

BAX2398 投与後にリポソームから放出されたイリノテカン（すなわち代謝を受けるイリノテカン）の最高濃度（$C_{maxfree}$）は、同用量の CPT-11 投与後の C_{max} と類似している。ビーグル犬での 2 つの反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-009 試験及び PEP02-NC-G-Tx-011 試験）における初回及び反復投与後の $C_{maxfree}$ の雌雄平均値は、CPT-11 投与時よりも BAX2398 投与時の方が 0.96～1.8 倍高かった（BAX2398 投与後の $C_{maxfree}$ は、各用量及び各時点について、封入型が 95%に相当すると仮定して $C_{maxfree} = 0.05 \times C_{max}$ により算出した。それぞれの $C_{maxfree}$ は CPT-11 を同用量投与後の C_{max} で除した）。

3.2.4 イリノテカンの活性代謝物 SN-38 への変換

イリノテカンは、主に肝臓及び小腸の CES1 及び CES2 により 100～1000 倍強力な活性を有する代謝物である SN-38（図 2.4-3）に変換される。単球に特異的なエステラーゼとしても知られているヒト CES1 は、肝臓及び単球／マクロファージに豊富に発現し［22］、CES2 は腫瘍組織でも発現している［34］。BAX2398 に封入されているイリノテカンは、リポソームから放出された後に代謝を受けることが可能となり、CPT-11 投与時と同様に代謝される。

イヌ及びヒトは血漿中 CES 活性を示さないが、げっ歯類はイリノテカンから SN-38 への変換、すなわち CPT-11 投与後の SN-38 の全身曝露量に強く寄与する血漿中 CES 活性を有する［1］。このため、イリノテカンの加水分解はイヌ及びヒトよりもげっ歯類の CES でより効率的である可能性がある。したがって、血漿中 CES 欠損マウスモデルは、抗腫瘍作用を評価するためのより精度の高いモデルと考えられる［21］。また、イヌを用いた試験での曝露量と比較する方が、ヒトの結果により密接に関連付けられると考えられる。

BAX2398 の 30 mg/kg を投与したラットで、SN-38 の C_{max} 及び AUC_{0-t} はそれぞれ約 3330 ng/mL 及び 217218 ng·hr/mL であった（PEP02-NC-G-Tx-010 試験、第 1 日と第 106 日の雌雄平均値）。BAX2398 の 9 mg/kg を投与したイヌで、SN-38 の C_{max} 及び AUC_{0-t} はそれぞれ約 10.7 ng/mL 及び 128.8 ng·hr/mL であった（PEP02-NC-G-Tx-011 試験、第 1 日と第 106 日の雌雄平均値）。患者に 120 mg/m^2 投与時の SN-38 の C_{max} 及び AUC_{0-t} はそれぞれ 8.79 ng/mL 及び 476 ng·hr/mL であった［24］。

ラット（18 週間反復投与毒性試験、雌雄平均値）での SN-38 の C_{max} は、CPT-11 投与よりも BAX2398 の同用量（75 mg/kg）投与で約 3.1 倍高く、AUC_{0-t} は約 35.3 倍高く、$t_{1/2}$ は約 27.8 倍長かった。ビーグル犬（2 つの反復投与毒性試験、雌雄平均値）での SN-38 の C_{max} は、BAX2398 及び CPT-11 の同用量（PEP02-NC-G-Tx-009 試験で 16 mg/kg、PEP02-NC-G-Tx-011 試験で 21 mg/kg）投与で同程度であったが、AUC_{0-t} は BAX2398 投与で約 2.9 倍高く、$t_{1/2}$ は約 4.7 倍長かった。ラット及びイヌへの単回投与後又は定常状態における SN-38 の他の PK データの比較を

2.6.4 項の表 2.6.4-59、2.6.5.3 項及び 2.6.5.4 項に要約する。BAX2398 単回投与後の患者の PK データとの比較を 2.6.4 項の表 2.6.4-59 に示す。

SN-38 は、げっ歯類における血漿中 CES の代謝産物に加え、リポソーム製剤内の不純物としても存在する（本項 4.8）。SN-38 グルクロン酸抱合代謝物（SN-38G）を測定した臨床 PK 評価［24］では SN-38 から SN-38G へのグルクロン酸抱合は遅かったため、リポソーム内の SN-38 は代謝を受けないと考えられる。一方、リポソーム製剤投与後初期におけるイリノテカンの C_{max} は高く SN-38 への変換は相対的に低いため、この初期の影響が SN-38 の C_{max} 及び T_{max} の決定により大きく関与している可能性がある。

3.3 分布

3.3.1 タンパク結合及び血液細胞との結合

イリノテカン及び SN-38 は、血漿タンパクに対してそれぞれ中程度及び強く結合し、結合率はそれぞれ約 65%及び約 95%であった［3］。非臨床動物種での BAX2398 の血漿タンパク結合率は算出されていない。予想される治療濃度範囲を反映する濃度での健康被験者の血漿タンパクに対する BAX2398 結合の *ex vivo* 評価結果は 2.7.2.2.2.1 項に要約されている。BAX2398 のヒト血漿タンパクに対する結合はごくわずかであり、結合する特定のタンパクも検出されなかった。

雄 Long-Evans ラットにおける ^{14}C-BAX2398 又は ^{14}C-CPT-11 の組織内分布試験で、BAX2398 と血液細胞成分との顕著な相互作用は認められなかった（PEP02-NC-N-PK-007 試験）。ラットにおける ^{14}C-BAX2398 投与後の血漿中放射能濃度は、血液中放射能濃度の約 2 倍であったが、^{14}C-CPT-11 投与後の放射能濃度は血漿と血液で同程度であった。

3.3.2 組織内分布

雄 Long-Evans ラットにおける ^{14}C-BAX2398 の組織内分布試験（PEP02-NC-N-PK-007 試験）で、投与終了時の血漿中放射能濃度は、^{14}C-CPT-11 を同用量（10 mg/kg）投与したときと比較して 77 倍高かった。概して、^{14}C-BAX2398 投与時の各組織では、^{14}C-CPT-11 投与時と同程度の最高放射能濃度が認められたが、その到達時間は遅く、また、より長期にわたり高濃度が維持された。^{14}C-BAX2398 投与では、投与後 8～48 時間に 41%の組織で、一方、^{14}C-CPT-11 投与では、投与終了時に 87%の組織で最高放射能濃度が認められた。^{14}C-CPT-11 投与では、投与 2 日後に放射能測定が可能であった組織は 39 組織中 8 組織のみであったが、^{14}C-BAX2398 投与では、投与 7 日後に 39 組織中 15 組織で放射能測定が可能であった。脾臓では、1 日目以降の各測定時点で全組織中最高放射能濃度が認められ、投与 48 時間後の脾臓での放射能濃度は投与終了時の血漿中放射能濃度の約 51%の値を示した。また、脾臓では投与 7 日後の時点でも投与終了時の放射能濃度の約 50%の値が認められた。

ラットにおける ^{14}C-BAX2398 投与終了時の小脳中放射能濃度は、^{14}C-CPT-11 投与より 18 倍高かった。しかしながら、血漿中放射能濃度に対する CNS での放射能濃度比は、^{14}C-BAX2398 投与終了時（0.61%～1.27%）と比較して、^{14}C-CPT-11 投与終了時の方が大きかった（5.47%）。CNS

における放射能濃度は、測定可能な全ての時点で血漿中濃度の約 1%に相当した。いずれの投与群でも放射能が眼ブドウ膜で検出され、眼のメラニンに対する結合が示唆された。

雄 SD ラットにおける組織内分布試験（PEP02-NC-N-PK-002 試験）では、BAX2398 又は CPT-11 の静脈内ボーラス投与後、HPLC 蛍光測定器により、血漿、肝臓、脾臓及び骨髄中イリノテカン及び SN-38 濃度を測定した。概して、BAX2398 投与群での血漿、肝臓及び脾臓中イリノテカン及び SN-38 濃度は、評価した各時点において CPT-11 投与群よりも高かった。BAX2398 投与後の肝臓及び脾臓におけるイリノテカンの C_{max} は 24 時間後に認められた。一方、CPT-11 投与後の同時点での濃度はごくわずかであった。BAX2398 投与群では脾臓及び肝臓中イリノテカン濃度は投与 168 時間後まで検出された。リポソーム化によって、循環血中でのイリノテカン及び SN-38 の滞留時間が効果的に延長した結果、肝臓及び脾臓中イリノテカン及び SN-38 濃度が上昇した。CPT-11 投与群と比較して、BAX2398 投与群での血漿中イリノテカン濃度は高く、投与 24 時間後まで検出されたが、BAX2398 及び CPT-11 投与後の骨髄中イリノテカン及び SN-38 濃度に明らかな差異はなかった。

大腸癌異種移植重症複合免疫不全（SCID）マウスにおける血漿、組織及び腫瘍内分布試験（PEP02-NC-N-PK-005 試験）では、代謝／排泄及び消化に寄与する組織並びに腫瘍において、BAX2398 投与群は CPT-11 投与群と比較してイリノテカンの $t_{1/2}$ 及び MRT が延長し、より高い曝露量を示した。BAX2398 群では腫瘍でのイリノテカンの MRT 及び $t_{1/2}$ は他の組織よりも概して 3 倍以上長く、腫瘍での SN-38 の MRT 及び $t_{1/2}$ も他の組織よりそれぞれ 2.1 及び 1.8 倍以上長かった（表 2.4-4）。

表 2.4-4 マウスでの BAX2398 及び CPT-11 静脈内投与後のイリノテカン及び SN-38 の $AUC_{0\text{-inf}}$、MRT 及び $t_{1/2}$

	Group A (BAX2398)			Group B (CPT-11)		
Tissues/ organs	$AUC_{0\text{-inf}}$ (ng· hr/mL or ng·hr/g)[b]	MRT (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0\text{-inf}}$ (ng· hr/mL or ng·hr/g)[b]	MRT (hr)	$t_{1/2}$ (hr)
Irinotecan						
Plasma	9120272.3	23.36	12.28	3901379.4	1.71	83.29
Tumor	6084185.3	131.88	97.99	215848.1	5.75	6.09
Liver	24990033.0	43.70	27.17	824157.4	2.74	8.09
Kidney	5992781.1	34.52	31.68	766228.3	2.36	8.38
Small Intestine[a]	8784192.7	44.36	31.31	818475.2	3.89	11.96
Large Intestine[a]	2791643.9	39.31	35.93	534324.7	12.21	15.03
SN-38						
Plasma	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Tumor	103073.9	91.60	63.02	17193.1	10.65	8.01
Liver	901179.4	33.03	19.77	57806.5	7.06	13.40
Kidney	205989.5	28.76	26.73	21356.5	4.23	4.03

表 2.4-4 マウスでの BAX2398 及び CPT-11 静脈内投与後のイリノテカン及び SN 38 の $AUC_{0\text{-inf}}$、MRT 及び $t_{1/2}$（続き）

	Group A (BAX2398)			Group B (CPT-11)		
Tissues/ organs	$AUC_{0\text{-inf}}$ (ng· hr/mL or ng·hr/g)[b]	MRT (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0\text{-inf}}$ (ng· hr/mL or ng·hr/g)[b]	MRT (hr)	$t_{1/2}$ (hr)
Small Intestine [a]	201948.2	38.49	27.76	58629.8	24.15	24.07
Large Intestine [a]	149280.6	42.64	35.32	30588.9	7.15	4.29

$AUC_{0\text{-inf}}$: area under the concentration-time curve extrapolated infinity, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, MRT: mean residence time, ND: not determined, $t_{1/2}$: elimination half-life, SN-38: active metabolite of irinotecan
a: Small and large intestines with contents
b: ng·hr/mL for plasma, ng·hr/g for organs

CL がより速い正常組織（肺、脾臓、腎臓、大腸、十二指腸及び肝臓）と比較して腫瘍では SN-38 の活性能が延長されることについては、BAX2398 の 20 mg/kg 投与後に SN-38 の PK プロファイルを検討した同じ大腸癌異種移植非肥満糖尿病（NOD）-SCID マウスでも報告されている（Kalra 2014）。

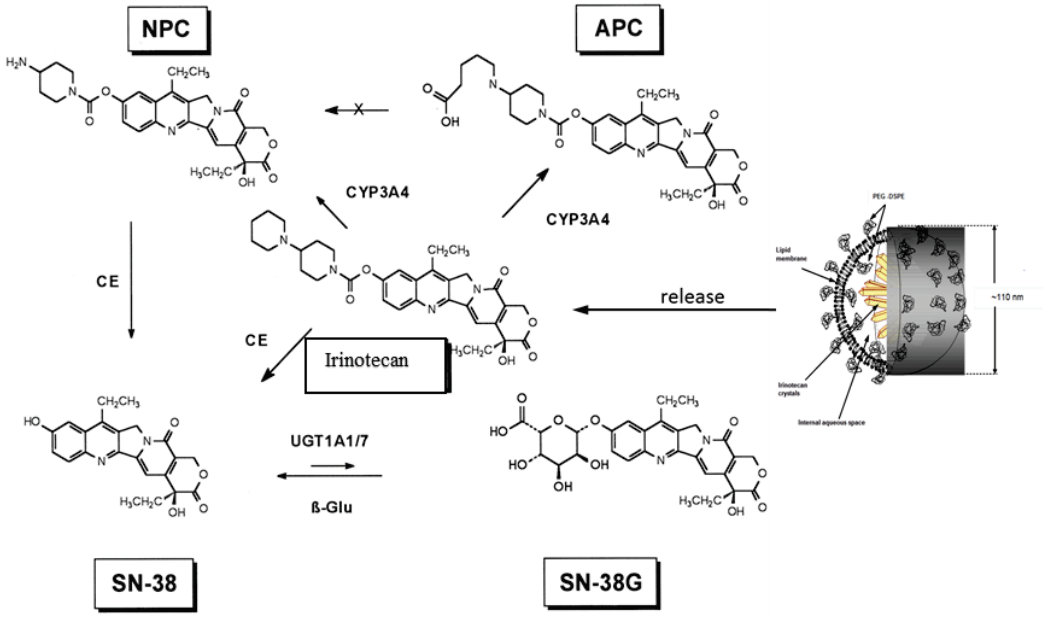
3.4 代謝

げっ歯類又は非げっ歯類での *in vivo* 代謝試験は実施しなかった。イリノテカンの代謝（図 2.4-3）は、文献で広範に特徴付けられている［19、26、33］。

イリノテカンは SN-38 への変換に加え、シトクロム P450（CYP）3A4 によって様々な酸化代謝物、特にアミノ吉草酸代謝物（APC）及びアミノピペリジノ代謝物（NPC）に代謝される［19］。NPC は CES によって SN-38 に変換されるが、APC は SN-38 に変換されず、その活性は SN-38 の 100 倍以上低いため、*in vivo* でイリノテカンの活性及び毒性プロファイルに直接影響しない［23］。これらの 2 つの代謝物は毒性を有しないため、非臨床試験又は臨床試験では定量しなかった。

SN-38 は、最終的にウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素 1A（UGT1A）分子種によって活性を有しない SN-38G に代謝される［19、33］。

図 2.4-3 BAX2398 中イリノテカンの代謝経路



APC: aminopentanoic acid metabolite of irinotecan, β-Glu: β-glucuronidase, CE: carboxylesterase, CYP: cytochrome P450, NPC: amino-piperidino metabolite of irinotecan, UGT: uridine diphosphate-glucuronosyl transferase
(Based on the Figure 1 of ref. [19])

3.5 排泄

^{14}C-BAX2398 を用いた SD ラットにおけるマスバランス及び排泄試験（PEP02-NC-N-PK-008 試験）により、リポソームから放出後のイリノテカンは封入されていない CPT-11 と同じ代謝及び排泄経路を辿ることが示された。雌雄ラットでの主要排泄経路は糞中であり、^{14}C-BAX2398 投与後 168 時間での投与放射能に対する糞中放射能排泄率は雌雄でそれぞれ 83.4%及び 78.3%であった。放射能の大部分が 48 時間以内に糞中に排泄され、雌雄でそれぞれ 63.7%及び 63.0%であった。胆管カニューレ装着ラットでの糞中及び胆汁中排泄率より、^{14}C-BAX2398 点滴静注後 96 時間にわたり糞中に排泄された放射能の約 77%は胆汁排泄を介したが、24 時間までに限定すると胆汁排泄を介した放射能は糞中排泄の約 91%に相当した。投与後 168 時間までの尿中放射能排泄率は、雌雄でそれぞれ 16.5%及び 22.9%であった。

マスバランス及び排泄試験の結果は、雄 Long-Evans ラットにおける ^{14}C-BAX2398 投与後 7 日間又は ^{14}C-CPT-11 投与後 3 日間の分布及び消失の結果によって補完された（PEP02-NC-N-PK-007 試験）。^{14}C-CPT-11 投与後の尿及び胆汁中放射能の C_{max} は点滴静注終了時に認められ、尿中濃度は胆汁中濃度より 1.7 倍高かった。これらの濃度は、8 時間以内に C_{max} の 10%未満に低下した。しかしながら、消化管の様々な部位の内容物中で観察された最高放射能濃度は尿中濃度よりもさらに高く、測定した放射能濃度全体中での高濃度上位 4 つのうちの 3 つを占め、投与 8 時間後までに認められた。^{14}C-BAX2398 投与後、胆汁及び尿中放射能の C_{max} は投与 8 時間後に認められ、胆汁中濃度は尿中濃度より 9 倍高く、^{14}C-CPT-11 投与後の胆汁中最高濃度より 2.1 倍高かった。消化管内容物は 24 時間で最高放射能濃度に達したが、これらの濃度は ^{14}C-CPT-11 投与後の

C_{max}より 2.96～12.4 倍低かった。点滴静注終了時の血漿を除き、^{14}C-BAX2398 投与後の全ての時点で胆管内容物の放射能濃度が最も高かった。胆管及び消化管内容物中濃度は 3 日後に C_{max} の 30%未満に低下した。

全体として、排泄パターンは ^{14}C-CPT-11 投与後の患者での観察所見と非常に類似している［26］。投与量に対する尿中及び糞中排泄率はそれぞれ約 32.2%及び約 63.7%であり、排泄された薬物の約 55%は未変化体であった。

3.6 薬物動態学的薬物相互作用

BAX2398 と併用投与される薬物との相互作用の可能性を特に評価するための非臨床試験は実施しなかった。しかしながら、イリノテカン及びその活性代謝物である SN-38 は、それぞれ CYP3A4 及び UGT1A 分子種によって代謝される［19］。したがって、イリノテカンと CYP3A4 又は UGT1A 分子種阻害剤との併用投与では、イリノテカン又は SN-38 の全身曝露量が増加する可能性がある［3］。

4 毒性試験

癌患者の治療選択肢の一つとして BAX2398 の臨床使用を裏付けるため、マウス、ラット及びイヌにおいて ICH 要件及びリポソーム製剤に関する利用可能なガイダンスに従い適切にデザインされた試験で BAX2398 の包括的な非臨床毒性評価を実施した。

BAX2398 の第 I 相試験（PEP0201 試験）実施前の時点で、マウスにおける STD_{10}（10%の動物に重篤な毒性が発現する投与量）は 600 mg/m^2 と判断されたことから、本第 I 相試験 q3w 投与での用量漸増の開始用量として、STD_{10} の 1/10 である BAX2398 60 mg/m^2 を選択した。本臨床試験実施の結果、最大耐量（MTD）は 120 mg/m^2 q3w と決定され、申請時用法用量は、MTD より低い 80 mg/m^2 q2w 投与と設定している。

毒性試験（2.6.7.1 項）では、毒性標的臓器を特定し、無毒性量（NOAEL）、MTD、重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）並びに死亡及び罹病に至る投与用量［致死量（LD）、重篤な毒性が発現する投与量（STD）］を含む毒性プロファイルを明らかにするために BAX2398 の安全性を評価した。SD ラット及びビーグル犬で 6 週間の回復期間を設定した 18 週間までの反復投与（q3w 投与）により投与の影響を評価した。BAX2398 の API である CPT-11 の遺伝毒性、がん原性及び生殖発生毒性は既に評価されている［3］。

毒性試験で観察された BAX2398 及び CPT-11 の毒性学的プロファイルを表 2.4-5 に要約する。これらの所見を以下に考察する。

表 2.4-5 単回及び反復投与毒性試験における BAX2398 及び CPT-11 の毒性学的プロファイルの要約

Study type (Study No.)	Product	STD (mg/kg) / (mg/m²)[a]	HNSTD (mg/kg) / (mg/m²)[a]	NOAEL (mg/kg) / (mg/m²)[a]
Mouse Acute Toxicity PEP02-NC-G-Tx-003	BAX2398	200 / 600 (STD_{10})	-	-
	CPT-11	200 / 600 (STD_{20})	-	-
Rat Acute Toxicity PEP02-NC-G-Tx-002	BAX2398	960 / 5760 (STD_{50})	720 / 4320	-
	CPT-11	320 / 1920 (STD_{10})	-	-
Dog Acute Toxicity PEP02-NC-G-Tx-005	BAX2398	-	50 / 1000	-
	CPT-11	-	-	-
Dog Acute Toxicity PEP02-NC-G-Tx-007	BAX2398	30 / 600 (STD_{17})	15 / 300	
	CPT-11	30 / 600 (STD_{17})	-	-
Dog Acute Toxicity PEP02-NC-N-Tx-001	BAX2398	-	-	-
	CPT-11	-	40 / 800 (male) 30 / 600 (female)	-
Rat 4-week Toxicity PEP02-NC-G-Tx-006	BAX2398	260 / 1560 (STD_5)	130 / 780	-
	CPT-11	130 / 780 (STD_{10})	-	-
Rat 18-week Toxicity PEP02-NC-G-Tx-010	BAX2398	-	-	30 / 180
	CPT-11	-	-	-
Dog 4-week Toxicity PEP02-NC-G-Tx-009	BAX2398	16 / 320 (STD_{18})	8-16 / 160-320	8 / 160
	CPT-11	-	-	-
Dog 18-week Toxicity PEP02-NC-G-Tx-011	BAX2398	15 / 300 (STD_8)	9-15 / 180-300	9 / 180
	CPT-11	21 / 420 (STD_8)	-	-

-: not applicable

[a] To convert animal dose in mg/kg to dose in mg/m², a conversion factor of 20, 6 and 3(for dogs, rats and mice, respectively) were used as indicated in the relevant FDA guidance document (FDA 2005, Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers [9]). STD (Severely Toxic Dose) is used equivalent to Lethal Dose (LD). HNSTD (highest non-severely toxic dose) is used equivalent to MTD (maximum tolerated dose).

全ての主要試験は、GLP に従って実施した。2 つの反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-010 及び PEP02-NC-G-Tx-011 試験）の一部（製剤分析、生体試料分析及び TK）を台湾の施設である[redacted]及び[redacted]でそれぞれ実施した。台湾は MAD の参加国、仮参加国のいずれでもないが、これらの試験は GLP の適用原則に従って行われた。全ての主要反復投与毒性試験において BAX2398 の TK プロファイルを評価し、分析には CPT-11 及びリポソーム対照投与動物の試料も含めた。毒性試験に使用したロットの組成及び不純物は、臨床試験で使用されたものと同様であった（2.6.7.4 項）。

BAX2398 及び CPT-11 に共通した急性毒性は、消化管所見及び白血球減少症であった。振戦等の神経学的所見が CPT-11 でみられたが、BAX2398 ではみられなかった。BAX2398 の臨床所見［24、15］には、好中球減少症、白血球減少症及び貧血、並びに下痢、吐き気及び嘔吐等の CPT-11 と同様の有害所見が含まれていた。したがって、毒性の主要標的臓器は消化管及び血液系である。

4.1 動物種の選択

最終的な毒性評価で用いた動物種（ラット及びイヌ）は、CPT-11 又は関連物質の毒性評価での使用前例に基づき選択した。また、これら動物種には広範な背景データが存在する［3、16］。

4.2 単回投与毒性試験

BAX2398 の単回投与毒性試験は、ICR マウス、SD ラット及びビーグル犬を用いて実施した。試験では、致死率、MTD 及び回復性評価を含む毒性を評価した。一部の試験には CPT-11 を含めた。評価項目は、臨床所見、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査及び病理検査（必要に応じて剖検及び病理組織学的検査）とした。

4.2.1 投与に起因した死亡／瀕死

ICR マウスでの単回投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-003 試験）において、BAX2398 の中用量（400 mg/kg）及び高用量（800 mg/kg）投与により全動物が死亡した。死亡は、高用量投与では第 6～8 日に、中用量投与では第 7～9 日にみられた。また、低用量（200 mg/kg）投与では雄 5 匹中 1 匹が第 8 日に死亡し、死亡当日に消化管毒性が認められた。観察された 10%致死量（LD_{10}）（STD_{10}）は 200 mg/kg（600 mg/m^2）であった。CPT-11 の 200 mg/kg 投与動物では、雌雄マウス各 1 匹が投与直後に死亡した。

SD ラットでの単回投与毒性試験（PEP02-NC-N-Tx-004 試験）において、CPT-11 の 200 mg/kg 投与で 4 匹中 2 匹が投与後 4 時間以内に死亡した。BAX2398 の 200 又は 400 mg/kg 投与ラットでの死亡はみられなかった。

SD ラットでの単回投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-002 試験）において、予備試験では、CPT-11 の 320 mg/kg 投与で 4 匹中 1 匹が投与中に死亡し、別の 1 匹が直ちに臨床所見を示し、第 5 日に死亡した。主試験では、同用量投与のラット 10 匹中 1 匹で消化管毒性がみられた後、同ラットを第 9 日に屠殺した。BAX2398 の最高用量 960 mg/kg 投与において、予備試験では 1 匹が第 6 日以降に軟便、被毛粗剛などを示したが死亡動物は認められなかった。しかし、主試験では同用量投与のラット 1 匹が死亡し、他の 4 匹を第 7～8 日に安楽死させた。全ての動物で剖検時に消化管毒性所見及び胃出血所見が認められた。したがって、ラットにおける BAX2398 単回投与後の LD（STD_{50}）は 960 mg/kg（5760 mg/m^2）であった。

雌雄各 1 匹のビーグル犬に CPT-11 を投与した MTD 試験（PEP02-NC-N-Tx-001 試験）において、MTD（HNSTD）は雌で 30 mg/kg、雄で 40 mg/kg であった。両動物の剖検でいずれも消化管出血がみられた。CPT-11 の 30 mg/kg 投与後、両動物で一晩中多量の嘔吐が認められた。ビーグル犬に BAX2398 を投与した MTD 試験（PEP02-NC-G-Tx-005 試験）においては、BAX2398 の 65 及び 100 mg/kg の静脈内投与により、重篤かつ非回復性の消化管毒性が認められた。40 及び 50 mg/kg の投与では、一過性の消化管毒性（食欲不振、体重減少、嘔吐所見及び軟便）が認められ、14 日間の回復期間中に消失した。ビーグル犬での 90 分間静脈内投与による BAX2398 の MTD（HNSTD）は、50 mg/kg と推定された。

ビーグル犬での BAX2398 の単回投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-007 試験）において、最高用量 50 mg/kg でも死亡はみられなかった。しかし、30 mg/kg 投与の雄 1 匹を第 4 日に、50 mg/kg 投与の雄 2 匹を第 4 及び 5 日に、50 mg/kg 投与の雌 1 匹を第 9 日にそれぞれ一般状態悪化のため安楽死させた。これらの動物では、軟便及び液状便を含む消化管刺激、嘔吐、摂餌量低下、体重減少並びに皮膚ツルゴール低下が認められた。同様の有害所見を示した CPT-11 30 mg/kg 投与の雄 1 匹を第 5 日に安楽死させた。本試験の結果は、BAX2398 の LD_{17}（STD_{17}）が 30 mg/kg、MTD（HNSTD）が 15 mg/kg（300 mg/m^2）、CPT-11 の LD_{17}（STD_{17}）が 30 mg/kg であることを示す。

4.2.2 臨床所見

ICR マウスでの単回投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-003 試験）において、投与後の観察期間中に死亡した BAX2398 200 mg/kg 投与の雄 1 匹並びに BAX2398 400 及び 800 mg/kg 投与の雌雄マウスの大多数で、剖検において生殖器周辺の黒色便汚染、脾臓萎縮、副腎のうっ血及び出血、胸腺萎縮並びに肝臓の蒼白化が認められた。さらに、観察期間終了時まで生存した BAX2398 の 200 mg/kg 群の雄 2 匹で剖検において脾臓肥大が観察された。CPT-11 投与群では肝臓肥大（雄 1 匹）が唯一の剖検所見であった。高用量（800 mg/kg）群と同量のリポソーム対照を投与した群では、臨床所見はみられなかった。

SD ラットでの単回投与毒性試験（PEP02-NC-N-Tx-004 試験）において、CPT-11 の 200 mg/kg 投与で活動性低下、眼球突出、軟便、水様便、生殖器周辺の黄色尿汚染、振戦及び色素涙が投与後 5 日以内に観察された。BAX2398 の 200 及び 400 mg/kg 投与では、第 3 日までケージトレイに軟便が観察された。BAX2398 投与では、第 1 日から用量依存的な体重減少を示し、第 8 日以降は体重増加を示した。投薬に関連した剖検所見はみられなかった。高用量（400 mg/kg）と同量のリポソーム対照を投与した群では、臨床所見はみられなかった。

SD ラットでの単回投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-002 試験）において、BAX2398 又は CPT-11 投与による臨床所見は、いずれも主に消化管で認められた。検討した全用量で、体重減少及び摂餌量減少が観察された。BAX2398 投与により、第 8 日に総白血球数及び白血球サブセットの用量依存的な減少がみられた。この様な減少は、CPT-11 投与又は高用量（960 mg/kg）と同量のリポソーム対照投与ではみられなかった。第 15 日の検査では部分的回復が観察された。脾臓の蒼白化及び胸腺の小型化が BAX2398 投与の全動物で観察された。BAX2398 960 mg/kg 投与の切迫屠殺動物では、副腎、腎臓、膵臓及び消化管の変色も高頻度で観察された。

ビーグル犬での BAX2398 の MTD 試験（PEP02-NC-G-Tx-005 試験）において、検討した全用量で体重減少及び摂餌量の顕著な減少が観察された。瀕死動物の剖検では、脾臓及び胸腺の小型化のみならず、消化管粘膜の限局性の暗色化がみられた。40 及び 50 mg/kg の BAX2398 投与動物における観察期間終了時生存動物の剖検では、投与に関連した所見はみられなかった。同動物で実施した血液学的及び血液生化学的検査では、投与後 14 日に評価したパラメータに持続する変化はなかった。

ビーグル犬での単回投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-007 試験）において、体重減少及び摂餌量減少が、BAX2398 及び CPT-11 投与の全用量（BAX2398 は 15、30、50 mg/kg ; CPT-11 は

30 mg/kg）で観察された。BAX2398 投与の全動物で、第 7 日に全ての白血球サブセットにおける用量依存的減少及び血小板数減少が認められた。CPT-11 投与動物でも第 7 日に白血球数及び血小板数が減少したが、白血球への影響は好中球、単球及び好酸球に限られていた。認められたパラメータの変動は、概して第 15 日までに正常値に回復した。切迫屠殺動物の剖検では、消化管壁の肥厚、腸間膜リンパ節及び腎臓の暗色化並びに脾臓及び胸腺の小型化がみられた。観察期間終了時生存動物の剖検では、胸腺の小型化及び胃の肥厚が認められた。高用量（50 mg/kg）と同量のリポソーム対照を投与した群では、投与に関連した臨床所見はみられなかった。

4.3 反復投与毒性試験

BAX2398 の反復投与毒性を、ラット及びイヌにおける 18 週間までの試験で評価した。

ラット及びイヌでの BAX2398 投与に関連した影響は、主に消化管で観察されたが、白血球数減少も認められた。ラット 18 週間毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-010 試験）における NOAEL は、BAX2398 で 30 mg/kg（180 mg/m^2）、このときのリポソーム対照群のリン脂質量は 340.5 µmol/kg であった。本試験では、投与に関連した死亡が最高用量 190 mg/kg（1140 mg/m^2）まで観察されなかったため、STD は決定できなかった。イヌ 18 週間毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-011 試験）における NOAEL は、BAX2398 で 9 mg/kg（180 mg/m^2）、このときのリポソーム対照群のリン脂質量は 60 µmol/kg であった。15 mg/kg は死亡（初回投与後のみ）と関連したため、BAX2398 の HNSTD は 9～15 mg/kg（180～300 mg/m^2）の範囲と推定される。

4.3.1 投与に起因した死亡／瀕死

SD ラットでの 4 週間反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-006 試験）において、BAX2398 の 260 mg/kg を q1w 投与した動物 30 匹中 1 匹が、2 回目投与後の第 13 日に死亡した。CPT-11 の 130 mg/kg を投与した動物 30 匹中 2 匹が、3 回目投与後の第 22 日及び 4 回目投与後の回復期間第 7 日に死亡した。BAX2398 投与動物の死因は特定できなかった。CPT-11 投与動物の死亡は、投与部位からの細菌感染によるものであった。

ビーグル犬での 4 週間反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-009 試験）において、BAX2398 の 16 mg/kg を q1w 投与した動物 11 匹中 2 匹を、初回投与後の第 4 日及び 2 回目投与後の第 14 日に一般状態悪化のため安楽死させた。これらの動物において消化管出血が認められた。第 4 日に安楽死させた動物では、重篤な骨髄低細胞性と共に、腸管の粘膜萎縮及び上皮壊死、並びに胃の単細胞壊死の病理組織学的検査所見がみられた。2 番目の動物においても同様の消化管変化がみられたが、その瀕死状態は重度の細菌感染及び空腸重積によるものであった。本用量を投与した残りの全てのイヌにおいて、臨床所見に有害作用はみられなかった。

ビーグル犬での 18 週間反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-011 試験）において、BAX2398 の 36 mg/kg 投与後、第 5 日に 8 匹中 3 匹が死亡した。さらに 3 匹を一般状態悪化のため第 5～7 日に安楽死させた。CPT-11 の 36 mg/kg 投与後、8 匹中 4 匹を一般状態悪化のため第 4 日（3 匹）及び第 7 日に安楽死させた。BAX2398 の 15 mg/kg 投与後、12 匹中 1 匹が第 6 日に死亡した。BAX2398 又は CPT-11 の 21 mg/kg 投与では、いずれも 12 匹中 1 匹を第 5 日に一般状態悪化のため安楽死させた。上記の死亡又は安楽死の前に、食欲低下、活動性低下、重度の体重減少、円背

位、毛細血管再充満遅延、皮膚ツルゴール低下、暗色軟便、労作呼吸及び横臥位などが観察された。

4.3.2 消化管に対する作用

イヌ 18 週間投与試験では、BAX2398 の 36 mg/kg 投与動物で盲腸、結腸及び直腸粘膜に暗色化が認められた。これらのイヌの胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸及び／又は結腸の内腔に暗色物質が低頻度に観察された。BAX2398 の 21 mg/kg 投与動物では、一般に、暗色軟便がみられた。盲腸、結腸及び小腸の病理組織学的所見は、主に 36 mg/kg 投与群に限定されたが、回復性のリンパ組織萎縮が評価した範囲及び動物において 15 mg/kg 以上の投与例でみられた。

4.3.3 血液系及び骨髄に対する作用

ラット 4 週間投与試験では、第 29 日に BAX2398 65 mg/kg 以上の群の雄及び 260 mg/kg 群の雌で血小板数の増加、260 mg/kg 群の雌雄で赤血球数の減少、並びに 260 mg/kg 群の雄及び 130 mg/kg 以上の群の雌でヘモグロビン値の低下がみられた。これらの変化は CPT-11 の 130 mg/kg 群でもみられたが必ずしも統計学的に有意ではなかった。投与による変化は回復期間中に回復性を示した。白血球数もこれらの用量で減少傾向を示したが、雄ラットでのみ若干の回復性がみられた。BAX2398 の 260 mg/kg 投与で、軽微～軽度の骨髄の低細胞性が認められた。

ラット 18 週間投与試験では、BAX2398 の 190 mg/kg 投与で軽微～中等度の骨髄低細胞性が認められたが、回復期間中に消失した。

イヌ 4 週間投与試験では、BAX2398 の 16 mg/kg 群の雌で、第 15 及び 29 日に白血球数、主に好中球数の減少が認められた。この減少は回復期間中に消失した。雄では白血球数の減少はみられなかった。

イヌ 18 週間投与試験では、血小板数、総白血球数及び大部分の白血球サブセットにおいて用量依存的減少が、BAX2398 の 15 mg/kg 以上の投与で第 7 日にみられた。これらの減少は、概して、次回投与前まで、すなわち 3 週間以内に回復した。BAX2398 及び CPT-11 のいずれにおいても、36 mg/kg 投与で骨髄低細胞性がみられた。

4.3.4 肝臓に対する作用

ラット 4 週間投与試験では、肝臓重量に用量依存的な低下が観察された。器官重量の変化は、回復期間中に回復性を示した。ラット 18 週間投与試験では、軽微～軽度の肝臓における肝細胞の多巣性変性／壊死が、主に 190 mg/kg 投与で認められた。リポソーム対照群及び 190 mg/kg 群のいずれにも、腫大及び泡沫状の類洞表層細胞が観察された。イヌ 4 週間投与試験では、BAX2398 の 16 mg/kg 投与で肝髄外造血がみられたが、14 日間の回復期間終了時でのみ認められた。イヌ 18 週間投与試験では、BAX2398 の 15 mg/kg 以上の投与で肝髄外造血がみられた。

これらの試験のいずれにおいても、BAX2398 投与後に肝機能変化を示す血液生化学的パラメータの変動は認められなかった。

4.3.5 他の単核細胞貪食系に対する作用

ラット 4 週間投与試験では、胸腺及び脾臓重量に用量依存的な低下が認められた。器官重量の変化は、回復期間中に回復性を示した。胸腺萎縮は BAX2398 の 65 mg/kg 以上の投与でみられ、重症度は 260 mg/kg 投与でより強かった。胸腺萎縮は、回復期間中に回復性を示した。泡沫状組織球の蓄積は、BAX2398 投与の全用量群及びリポソーム対照群において、投与期間終了時に種々の組織にみられ、その後減少した。高用量（260 mg/kg）投与の一部のラットで、心臓に軽微な組織球症が観察された。

ラット 18 週間投与試験では、BAX2398 の 190 mg/kg 投与で、脾臓重量の増加が投与期間終了時にみられたが、その後、増加は完全に回復した。BAX2398 の 190 mg/kg 投与又は同量のリン脂質濃度でのリポソーム対照投与において、脾臓、副腎及び卵巣／子宮を含む様々な組織に泡沫状組織球の蓄積が投与期間終了時にみられ、その後、減少した。同群の一部のラットで、心臓に軽微な組織球増殖が観察された。BAX2398 の 190 mg/kg 投与の多くの動物で、腸間膜リンパ節に泡沫状組織球の蓄積がみられたが、リポソーム対照群では一般的ではなかった。

イヌ 4 週間投与試験では、投与期間終了時に BAX2398 の 8 又は 16 mg/kg 投与でパイエル板の萎縮が観察された。脾臓の髄外造血は、BAX2398 及び CPT-11 のいずれにおいても、16 mg/kg 投与で認められた。リポソーム対照群では、全ての動物で脾臓及び肺に非可逆性の泡沫状組織球が認められた。

イヌ 18 週間投与試験では、BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg 投与で脾臓及び胸腺重量の減少が観察された。病理組織学的には、15 mg/kg 用量以上で脾臓及び胸腺にリンパ系細胞の萎縮／壊死が認められた。泡沫状組織球は、リポソーム対照群を含む BAX2398 投与の全用量群における脾臓の大部分（54 匹中 49 匹）で認められたが、CPT-11 投与では 20 匹中 4 匹の動物でのみ認められた（初回投与の 4～5 日目に急性毒性を示した 2 匹、回復期間終了時に 2 匹）。脾臓における泡沫状組織球のいくつかの病因は発症の異なる時期に関与しているようであるが、本試験ではこれ以上解明することはできなかった。

4.4 遺伝毒性試験

BAX2398 の遺伝毒性試験は実施しなかった。イリノテカンは、トポイソメラーゼ I の阻害により DNA の巻き戻しを阻止する。したがって、遺伝毒性を有する可能性がある。

イリノテカン及び SN-38 は、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験及び *in vivo* マウス小核試験で変異原性を有することが既に示されている。しかし、いずれも細菌を用いた復帰突然変異試験で突然変異誘発性は認められなかった［3］。

4.5 がん原性試験

BAX2398 のがん原性試験は実施しなかった。CPT-11 は潜在的発がん物質と考えられている。最高用量 150 mg/m^2 を q1w、13 週間投与したラットで、投与終了後 91 週目に投薬に関連した腫瘍は認められなかった［3］。

4.6 生殖発生毒性試験

BAX2398 の生殖発生毒性試験は実施しなかった。CPT-11 は、ヒト臨床用量未満の用量でラット及びウサギにおいて催奇形性を有することが既に示されている。投薬したラットから生まれた児動物は外観異常を有し、形態学的に正常な児動物と比較して受胎能低下を示した。妊娠ラットでは、胎盤重量低下がみられ、次世代ラットでは生存胎児数の減少及び行動異常が観察された［3］。

4.7 局所刺激性及びその他の試験

独立した局所刺激性試験は実施しなかった。投与部位の局所刺激性は上述のラット及びイヌでの毒性試験において評価した。BAX2398 投与に関連した変化は、反復投与毒性試験（2.6.6.3.1 項及び 2.6.6.3.2 項）に記載されている。BAX2398 投与後、投与部位に観察された変化は、CPT-11 又はリポソーム対照投与動物においても観察され、投与手技に関連すると考えられた。投与部位反応は臨床ではごく限られている（2.7.4 項）。

BAX2398 の溶血及び凝集能は、ヒト全血及び血漿で評価した（2.6.6.8.1 項）。BAX2398 は 500 µg/mL までの濃度で有意な溶血作用を示さなかった。わずかな凝集作用、すなわち血漿中でのわずかな白濁が 250 µg/mL 以上の濃度で観察されたが、50 µg/mL ではみられなかった。濁度は濃度に依存した。

4.8 不純物の評価

リポソーム製剤の規格に基づくと BAX2398 の原薬に関する個々の類縁物質は、いずれも[redacted]%以下であり、類縁物質の総量は[redacted]%以下である。「PEP02」及び「MM-398」の製造工程比較における類縁物質の総量は[redacted]%以下であった（2.3.P.2.3 項）。

少量の SN-38 がリポソーム製剤中に存在するが、原薬の不純物として存在するためである。これは封入型物質の[redacted]%未満と推定される（2.3.P.5.5 項）。

関連するガイドラインに基づく不純物の評価では、BAX2398 に安全性評価の必要な不純物は存在しなかった（2.3.P.5.5 項)。

4.9 光安全性評価

ラットでの分布試験（PEP02-NC-N-PK-007 試験）において、眼（ブドウ膜）及び皮膚にある程度の BAX2398 が検出された。しかし、ラット及びイヌ反復投与毒性試験（それぞれ、PEP02-NC-G-Tx-010 及び PEP02-NC-G-Tx-011 試験）では、眼又は皮膚に光毒性を示唆する有害作用は観察されなかった。

ICH S10 ガイドラインの「5.1.2 光毒性の実験的評価」の項には、「動物を用いた光毒性試験あるいは臨床光毒性試験がすでに実施されている場合は、その後に化学的光反応性試験あるいは *in vitro* 光毒性試験を実施する必要がない。」と記載されている。したがって、BAX2398 の光安全性は、上記の組織分布試験及び毒性試験とともに以下の臨床試験及び公表資料での結果により評価され、更なる非臨床光毒性試験は実施していない。

第 III 相臨床試験、すなわち NAPOLI-1 試験では、光過敏症 2 例及び羞明 1 例が観察された。1 件目の光過敏症の報告は、5-FU/ロイコボリン（LV）群の 1 例であり、2 件目の報告は、BAX2398+5-FU/LV 群の 1 例であった。羞明は BAX2398+5-FU/LV 群の 1 被験者で観察された。BAX2398 単剤群では光毒性の報告はなかった。これらの 3 件の事象は全て、光過敏症及び羞明との関連が知られている 5-FU を含む併用投与を受けていた被験者に認められた。5-FU と併用された LV は、5-FU の毒性を増強することが知られている。NAPOLI-1 試験において BAX2398 単剤群に光毒性の事象は報告されなかった。さらに、既存のイリノテカン製剤の添付文書には、有害事象として光毒性の記載はなく、副作用として光過敏症の記載もない［2］。本邦におけるカンプト®点滴静注の添付文書に、光過敏症や羞明などの光毒性は記載されていない［41］。

4.10 新添加剤の安全性評価

BAX2398 は、静脈内投与用の無菌かつ白色～微黄色の不透明な等張性リポソーム分散液である。リポソームは、SOS 塩としてイリノテカンを含む水相を封入した小型の単層脂質二分子膜小胞である。リポソームは直径約 110 nm であり、脂質膜は MPEG-2000-DSPE ナトリウム塩、コレステロール及び DSPC から成り、ポリエチレングリコール分子とリン脂質分子との割合は約 1 対 200 である。リポソーム内相の捕捉剤は、SOS カリウム塩である。他の添加剤は、緩衝剤としての HEPES、等張化剤としての塩化ナトリウム、pH 調節剤としての水酸化ナトリウム及び塩酸並びに溶媒としての注射用水である。これらのうち DSPC、コレステロール、MPEG-2000-DSPE ナトリウム塩、SOS 及び HEPES は BAX2398 の予定 1 日最大臨床用量の静脈内投与における本邦での使用前例がなく、これらはすべて新添加剤と判断した。BAX2398 におけるこれら添加剤の毒性試験の以下の結果並びに文献及び他の市販製剤からの入手可能な様々な安全性情報に基づき、これらの新添加剤の安全性は十分に保証されると考えられる。

4.10.1 BAX2398 又はリポソーム対照の単回及び反復投与毒性試験

DSPC、コレステロール及び MPEG-2000-DSPE の安全性は、BAX2398 で実施したラット（PEP02-NC-G-Tx-002、PEP02-NC-G-Tx-006 及び PEP02-NC-G-Tx-010 試験）及びイヌ（PEP02-NC-G-Tx-007、PEP02-NC-G-Tx-009 及び PEP02-NC-G-Tx-011 試験）における静脈内単回投与並びに 4 週間及び 18 週間反復投与毒性試験のリポソーム対照群で評価した。リポソーム対照におけるリン脂質濃度の反復投与試験で有害作用を発現しない最大安全量（一般状態観察、臨床検査、体重及び剖検に有害所見なし、諸器官に空胞化及び組織球増多の有害所見なし）は、ラット（PEP02-NC-G-Tx-006 試験）で 29.8 mmol/L、イヌ（PEP02-NC-G-Tx-011 試験）で 4 mmol/L である。このときの DSPC、コレステロール及び MPEG-2000-DSPE の投与量はラットではそれぞれ、209.97、68.45 及び 3.70 mg/kg、イヌでは 28.18、9.19 及び 0.50 mg/kg であった。

BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の DSPC、コレステロール及び MPEG-2000-DSPE の投与量を、FDA 変換係数 37［9］を用いて mg/m^2 から mg/kg に換算すると、それぞれ 2.94、0.960 及び 0.052 mg/kg となる。したがって、mg/kg 体重に基づくこれらの添加剤の安全域は、ラットで 71 倍、イヌで 9.6 倍と算出される。

これらの添加剤に加えて、各ロットのリポソーム対照には、SOS が異なる濃度で含有されている。SOS の最大安全投与量は、ラットで 57.9 mg/kg（PEP02-NC-G-Tx-006 試験）、イヌで 8.6 mg/kg（PEP02-NC-G-Tx-007 試験）であった。BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の SOS の投与量を、FDA 変換係数 37［9］を用いて mg/m^2 から mg/kg に換算すると、0.389 mg/kg となる。したがって、mg/kg 体重に基づく SOS の安全域は、ラットで 149 倍、イヌで 22 倍と算出される。

HEPES の安全性は、ラット及びイヌにおける 18 週間反復静脈内投与毒性試験（それぞれ PEP02-NC-G-Tx-010 及び PEP02-NC-G-Tx-011 試験）から得られた NOAEL に基づき評価した。BAX2398 の NOAEL は、ラットで 30 mg/kg、イヌで 9 mg/kg であり、このときの HEPES の投与量はそれぞれ 24.3 mg/kg 及び 7.3 mg/kg であった。BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の HEPES の投与量を、FDA 変換係数 37［9］を用いて mg/m^2 から mg/kg に換算すると、1.75 mg/kg となる。したがって、mg/kg 体重に基づく HEPES の安全域は、ラットで 14 倍、イヌで 4.2 倍と算出される。

4.10.2　公表論文等からの安全性関連情報

DSPC は FDA により添加剤として承認されており、リポソーム静注用液での静脈内投与における DSPC の maximum potency は 2.8%である［10］。BAX2398 のバイアルあたりの DSPC 含量は 68.1 mg/10 mL、すなわち 0.681%であり、maximum potency の約 1/4 に相当する。リン脂質は血液中で脂質の安定化や代謝に関与するリポタンパクの構成成分であり、その血清中基準値は 150～250 mg/dL とされている［36］。BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の DSPC の投与量は体表面積 1.65 m^2 のヒトで 180 mg である。この量は、ヒト血液量を 4 L と仮定した場合、4.5 mg/dL に相当する。リポソームに含まれる DSPC がそのまま血中に移行すると仮定しても、血清中リン脂質濃度の基準値に対する DSPC の影響は、1.8%～3%程度と小さい。したがって、BAX2398 を投与したときの DSPC は身体にほとんど影響しないと結論することができる。

安全性関連情報としては、DSPC は細菌を用いる復帰突然変異試験で陰性であり、培養 CHO 細胞で染色体異常を誘発せず、マウス骨髄で小核形成を引き起こさなかった［32］。

コレステロールは本邦では医薬品添加剤としての使用前例がないが、既承認注射剤であるドキシル®注 20mg（ドキシル®注）及びアムビゾーム®点滴静注用 50mg の 1 日最大投与量において、それぞれ 132 及び 374 mg のコレステロールが含まれている［38、42］。BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時、体表面積 1.65 m^2 のヒトにおけるコレステロール投与量は 59 mg であり、これは既承認注射剤中の 132 及び 374 mg と比較すると、それぞれ約 2/5 及び約 1/6 に相当する。

日本人間ドック学会及び全国健康保険組合連合会が 2014 年に公表した血中総コレステロール基準値（mg/dL）は、男性では 151～254、女性では 145～238（30～44 歳）、163～273（45～64）及び 175～280（65～80）である［37］。BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時のコレステロール投与量は 59 mg であり、これはヒトの血液量を 4 L と仮定すると 1.5 mg/dL に相当する。リポソームに含まれるコレステロールがそのまま血中に移行すると仮定しても、血中総コレ

ステロールの基準値に及ぼす影響は1%程度であり、BAX2398投与によるコレステロールの生体への影響はほとんどないと考えられる。

安全性関連情報としては、ドキシル®注のプラセボリポソーム（コレステロールを含む）は、*S. typhimurium* を用いた復帰突然変異試験、マウスリンフォーマを用いた遺伝子突然変異試験、CHO細胞を用いた染色体異常試験及びマウス小核試験において遺伝毒性を示さなかった。また、ラット胚・胎児発生毒性試験で死亡はなく、母動物の一般毒性及び生殖能又は胎児への影響もなかった（ドキシル®注の申請資料概要 2.6.6）。

MPEG-2000-DSPEに関しては、本邦では医薬品添加剤としての使用前例がないが、ドキシル®注には、1日最大投与量で132 mgのMPEG-2000-DSPEが含まれている［42］。BAX2398の予定最大臨床用量80 mg/m^{2}投与時のMPEG-2000-DSPE投与量は体表面積1.65 m^{2}のヒトにおいて3 mgであり、ドキシル®注での132 mgの約1/44である。

安全性関連情報としては、MPEG-2000-DSPEは、マウスに284 mg/kgまでの単回静脈内投与した結果、死亡はなく、一般状態及び体重に影響はなかった。また、ラットに単回静脈内投与したときの概略のLDは、雌雄共に1000 mg/kgであり、500 mg/kgで死亡はなかった。さらに、ラットでの2週間反復静脈内投与試験における投与量300及び500 mg/kg/日は毒性用量であったが、これらの用量で死亡はなく、NOAELはラットで100 mg/kg/日であった（ドキシル®注の申請資料概要 2.6.6）。BAX2398の予定最大臨床用量80 mg/m^{2}投与時のMPEG-2000-DSPE投与量を、FDA変換係数37［9］を用いてmg/m^{2}からmg/kgに換算すると、0.052 mg/kgである。この値と比較すると、マウス及びラットにおける単回静脈内投与での最大安全量は、それぞれ約5460倍及び9620倍、ラット2週間反復静脈内投与試験におけるNOAELでの最大安全量は、約1920倍である。また、MPEG-2000-DSPEは、*S.typhimurium* 及び*E.coli* を用いた復帰突然変異試験並びにチャイニーズハムスター肺由来（CHL/IU）細胞を用いた染色体異常試験で遺伝毒性を示さなかった。さらに、ドキシル®注のプラセボリポソーム（MPEG-2000-DSPEを含む）は、マウス小核試験において染色体異常及び骨髄抑制を誘導しなかった。また、ラット胚・胎児発生毒性試験で死亡例はなく、母動物の一般毒性及び生殖能又は胎児への影響もなかった（ドキシル®注の申請資料概要 2.6.6）。

SOSに関しては、SOSアルミニウム複合体（スクラルファート）及びSOSカリウム塩と化学的に高い類似性がある。アルサルミン®（中外製薬、日本）及びCarafate®（米国）は、いずれもスクラルファートが有効成分であり、それぞれ胃／十二指腸潰瘍及び活動型十二指腸潰瘍を適応症とする。

非臨床安全性関連情報として、SOS単独の非経口投与での情報はない。SOS及びスクラルファートの経口バイオアベイラビリティは低く、3%～10%超と報告されている［28、13、12］。スクラルファートを用いた毒性試験は、経口投与で実施されている。様々な動物種での最大12 g/kgまでのスクラルファートの経口投与急性毒性試験では、LDの算出はできなかった［20］。さらに、スクラルファートの米国添付文書によれば、マウス及びラットでの24ヵ月間経口投与毒性試験において薬物に関連した発がん性は認められなかった。ラットでの生殖試験においては、受胎能に影響はみられなかった。さらに、マウス、ラット及びウサギの催奇形性試験では、スクラルファートによる胎児への毒性所見は認められていない［29］。

スクラルファートを有効成分とする本邦で上市されているアルサルミン®は、胃潰瘍及び十二指腸潰瘍の治療のために通常、成人に 1 回 1～1.2 g（細粒）又は 10 mL（内用液）を 1 日 3 回経口投与される。添付文書には、アルサルミンの有害作用として以下の記載がある。細粒：「総症例数 2681 例中 90 件に副作用が認められた。主な副作用は便秘 59 件（2.2%）、口渇 19 件（0.7%）であった。（効能追加時）」［39］、内用液：「副作用は、247 例中便秘 3 例（1.2%）、嘔気 1 例（0.4%）の 4 例（1.6%）が認められた。一方本剤によると評価された臨床検査値異常変動は認められなかった。（承認時）」）［40］。

さらに、スクラルファートは、活動型十二指腸潰瘍に対する短期（8 週間まで）の経口治療薬である Carafate®の有効成分である。十二指腸潰瘍の成人における経口推奨用量は、1g/回での 1 日 4 回投与である［4］。スクラルファートでは、健常志願者での単回及び反復投与による臨床試験が行われている。単回投与試験では、スクラルファートを 4、8 又は 12 g の 1 日用量で投与した。副作用は報告されなかった。反復投与試験の被験者は、2 g/回で 1 日 4 回 14 日間及び 3 g/回で 1 日 4 回 28 日間投与された。被験者 16 例中 3 例で悪心及び／又は嘔吐、1 例で腹痛が報告された。いずれの投与量でも検査値異常はなかった［11］。

上述のとおり、経口バイオアベイラビリティを最も低く見積もって 3%とすると、ヒト用量 4g/日のスクラルファート投与で 120 mg が吸収されることになる。この値は BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時における SOS の最大 1 日投与量 24 mg の 5 倍である。

HEPES に関しては、細胞培養液で緩衝剤として広く使用されており、静脈内投与の添加剤として既承認医薬品に関する FDA の添加剤データベースに記載され、maximum potency は 0.41%である［10］。BAX2398 のバイアルあたりの HEPES 含量は 40.5 mg/10 mL、すなわち 0.405%であり、maximum potency の約 1 倍に相当する。

非臨床安全性関連情報として、HEPES は細菌を用いる復帰突然変異試験で突然変異誘発性はなく、また、マウスリンフォーマ突然変異試験で陰性であった。さらに、HEPES は、ヒトリンパ球を用いた哺乳類染色体異常試験で染色体異常を示さなかった［8］。したがって、これらの結果は、HEPES に遺伝毒性がないことを示唆している。注目すべきことに、2 mW/cm^2 の蛍光灯に曝露したマウス胸腺培養細胞での細胞傷害性によって示されたように、*in vitro* での光毒性が 25 mmoL/L の HEPES で報告されている。しかしながら、この作用発現には HEPES は不可欠であるが、培養液の他の成分、特にリボフラビンも必要である［17、35］。ラットにおける急性毒性が検討され、静脈内投与で 3 g/kg 超、経口投与で 5 g/kg 超の LD_{50} が得られた。本試験では、用量範囲 278～417 mg/kg の HEPES の腹腔内又は皮下投与でラットに有害作用は認められなかった［27］。ラットで行われた最近の試験では、これらの所見が検証され、経口投与での LD_{50} は 2 g/kg 超であることが報告されている［8］。亜慢性毒性は、ラット 28 日間反復投与試験で評価され、いかなる用量（100、300 又は 1000 mg/kg）においても投与に関連する作用はみられなかった。したがって、無影響量（NOEL）は 1000 mg/kg/日であった［8］。HEPES の吸収に関しては、HEPES は Lipinski ら［18］によって提案された“rule of 5”の全てのパラメータを満たすため、経口投与後に胃腸管を介して良好に吸収されると考えられる。反復投与毒性は、400 mg/kg までの用量での 148 日間にわたる静脈内連日投与のイヌにおいてさらに評価された。300 mg/kg 超の用量では 14 日後にストレス徴候及び免疫刺激所見がみられた。これに関連して、過細胞性

骨髄、髄外顆粒球形成及び循環大組織球数の増加が認められた。したがって、NOAEL は 250 mg/kg/日であった［30］。

BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の HEPES 投与量を、FDA 変換係数 37［9］を用いて mg/m^2 から mg/kg に換算すると 1.75 mg/kg となり、上述したラット単回静脈内投与試験の LD_{50} である 3 g/kg 超及びイヌ反復投与毒性試験の NOAEL である 250 mg/kg は、HEPES 投与量よりそれぞれ 1714 倍超及び 143 倍大きい。

妊娠ラットに 1000 mg/kg までの HEPES を連日経口投与し、発生毒性を検討した。同腹児パラメータに投与に関連した毒性所見はなく、胎児発生への影響はみられなかった。したがって、母動物毒性及び胚・胎児発生に対する HEPES の NOEL は、いずれも 1000 mg/kg/日であった［8］。

HEPES は、抗炎症作用を有するため、固形がん患者を含む臨床試験において有効成分としてヒトに投与された。投与スケジュールは変動したが、大部分の患者は用量 5000 mg で HEPES を 2 週間、連日静脈内投与し、さらに 2 週間にわたって週 3 回投与された。最大曝露は 5000 mg/日の 10 週間（70 回）投与であり、忍容性は良好であった。数種の白血球の循環数及び活性の増加によって示されたように、免疫賦活作用がみられ、ほとんどの患者が腫瘍関連疼痛の低下を経験したことは注目に値する。しかし、これらの所見の臨床的意義は依然として不明であり、また、その他ヒトにおける HEPES の毒性兆候は観察されなかった。したがって、5000 mg/日はヒトにおける非経口投与での NOAEL とみなすことができる［31］。

BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の HEPES 投与量は 1.75 mg/kg であり、これは NOAEL である 5000 mg/日の約 1/47 である。

4.11 全身曝露量

各種動物での TK 試験におけるイリノテカン及び SN-38 の全身曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$）を、臨床試験における初回投与時曝露量と比較した。ヒトでの 80 mg/m^2 投与時の全身曝露量との比較を表 2.4-6 に示す。

ラット 18 週間反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-010 試験）における NOAEL である 30 mg/kg（180 mg/m^2）投与時のイリノテカンの全身曝露量は、臨床曝露量（$AUC_{0\text{-}t}$）の 12.9～17.8 倍であった。同群のラットにおける SN-38 の曝露量比は、それぞれのイリノテカン曝露量比よりも一貫して大きかった。イヌ 18 週間反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-011 試験）における NOAEL である 9 mg/kg（180 mg/m^2）投与時のイリノテカンの全身曝露量は、臨床曝露量（$AUC_{0\text{-}t}$）の 1.9 倍であった。SN-38 の曝露量比は特に $AUC_{0\,t}$ で小さく、0.3 倍であった。組織での曝露量が顕著に高いため、全身曝露量（特に SN-38）が病理組織学的所見の重症度を正確に反映している可能性は低い。PEP02-NC-N-PK-005 試験では、BAX2398 投与後の組織及び腫瘍における SN-38 の AUC は、血漿中での AUC より 20～208 倍高かった。

表 2.4-6 ヒトと動物間でのイリノテカン及び SN-38 の C_{max} 並びに AUC_{0-t} の比較 [a]

Species	Dose Levels[c]		Exposure Ratio (80 mg/m²)[b]			
			Male		Female	
	mg/kg	mg/m²	C_{max}	AUC_{0-t} [d]	C_{max}	AUC_{0-t} [d]
Irinotecan						
Rat PEP02-NC-G Tx-006TK	65	390	36.0	26.9	39.7	20.4
	130	780	59.1	51.6	63.5	46.6
	260	1560	100.2	119.9	80.1	82.0
Rat PEP02-NC-G Tx-010	30[e]	180	22.9	17.8	19.4	12.9
	75	450	58.2	46.7	52.2	41.7
	190	1140	142.2	106.2	134.2	104.0
Dog PEP02-NC-G-Tx-009	4	80	2.6	0.7	2.2	0.6
	8[e]	160	3.6	1.2	2.8	0.7
	16	320	9.6	3.2	9.2	3.6
Dog PEP02-NC-G-Tx-011	9[e]	180	5.0	1.9	5.1	1.9
	15	300	10.4	3.1	7.7	3.1
	21	420	11.2	4.9	10.7	4.9
SN-38						
Rat PEP02-NC-G-Tx-006TK	65	390	200.3	118.5	193.3	81.9
	130	780	213.5	104.0	176.7	94.8
	260	1560	72.0	55.0	72.9	98.2
Rat PEP02-NC-G-Tx-010	30[e]	180	506.5	440.3	457.5	401.8
	75	450	841.4	706.1	565.5	607.0
	190	1140	546.6	655.0	429.9	520.5
Dog PEP02-NC-G-Tx-009	4	80	0.8	0.1	0.7	0.1
	8[e]	160	1.6	0.3	1.1	0.1
	16	320	2.4	0.4	2.5	0.4
Dog PEP02-NC-G-Tx-011	9[e]	180	1.6	0.3	1.5	0.3
	15	300	3.1	0.6	2.9	0.5
	21	420	3.9	0.7	3.7	0.7

C_{max}: maximal concentration, FDA: Food and Drug Administration, NOAEL: no observed adverse effect level, PK: pharmacokinetics, SN-38: active metabolite of irinotecan

[a] PK data after single dose (Day 1) is from Section 2.6.5.4 for animals, from Section 2.7.2, Table 2 for humans

[b] Average of PK parameters from MM-398-PEP0203 and 331501 studies

[c] Calculated using a conversion factor of 20 and 6 (for dogs and rats, respectively) as indicated in the relevant FDA guidance document (FDA 2005, Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers [9])

[d] In PEP02-NC-G-Tx-009, PEP02-NC-G-Tx-010 and PEP02-NC-G-Tx-011, AUC_{0-t} means area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration.
In PEP02-NC-G-Tx-006TK, AUC_{0-t} means area under the concentration-time curve to t hours.

[e] NOAELs determined in the individual studies; no NOAEL was reached in the rat toxicity study PEP02-NC-G-Tx-006

5 考察及び結論

BAX2398 は、API である CPT-11 を封入（リポソーム内安定化のために SOS 塩を利用）したリポソーム製剤である。臨床製剤には、約 500 mg CPT-11/mmol リン脂質濃度製剤が使用される。本製剤のために実施した多くの非臨床毒性試験における標的投与量を達成するため、標準ロットよりもリポソーム濃度が約 5 倍まで高いリポソームロットも調製した。

BAX2398 の脂質組成は、リポソーム内封入イリノテカン複合体の膜透過性の低下及びそれに伴う安定性増大並びにヒト血漿タンパクとの結合性低下を意図している（2.7.1.1 項）。これらの特徴は、非臨床及び臨床薬物動態に反映されるように、BAX2398 製剤の生体内安定性に寄与する。

非臨床薬理試験、主に腫瘍異種移植モデルマウスを用いた試験において、CPT-11 の同用量のみならず同程度の AUC_{SN-38} を示す CPT-11 50 mg/kg との比較でも、BAX2398 10 mg/kg の q7d 投与はより高い有効性を示し、BAX2398 による *in vivo* 抗腫瘍作用の改善が認められた。この有効性の違いは、BAX2398 の $t_{1/2}$ 及び MRT 延長によりイリノテカンの活性代謝物である SN-38 の腫瘍内滞留時間が延長したことに関連すると考えられる（Kalra 2014）。

BAX2398 の非臨床 PK は、薬理及び毒性評価で用いた動物種（マウス、ラット、イヌ）間で類似していた。各動物種において、API である CPT-11 を安定して封入できる比較的大きなサイズ（約 110 nm）のリポソーム製剤としての特徴的効果がみられた。CPT-11 投与と比較して、V_d の低下及びそれに付随するイリノテカン濃度の C_{max} における用量依存的な上昇が認められた。しかしながら、臨床試験でリポソーム内の薬物封入率は 95%超であることが示され、また、非臨床 PK 試験でのイリノテカンに対する SN-38 の AUC 比からも示されたように、BAX2398 及び CPT-11 の同用量投与での生物学的に利用可能なイリノテカンの全身曝露量は類似していることが示唆された。これは、両製剤の毒性プロファイルが類似していることに合致する。

CPT-11 投与と比較して、BAX2398 投与でのイリノテカン及び SN-38 の曝露量（AUC）の増加は、全身循環及び組織のいずれにおいても認められた。BAX2398 及び CPT-11 投与後の組織分布パターンは概ね類似していた。概して、ラットの組織では、イリノテカン又は SN-38 の C_{max} は BAX2398 投与時と CPT-11 投与時とで類似していたが、CPT-11 投与時と比較して BAX2398 投与時では C_{max} 到達時間が遅く、より高い組織中濃度が長時間維持された。排泄パターンは CPT-11 投与後の患者での所見と類似しており、患者での尿中排泄は投与放射能の約 30%、糞中排泄は 62%であった［26］。胆管に T チューブを留置した患者では、胆汁中排泄（約 30%）も認められた。

マウス、ラット及びイヌにおいて、BAX2398 静脈内投与後に消化管及び血液系に用量依存的、かつ可逆性の毒性所見が認められた。消化管及び血液系は、毒性の主要な標的器官として特定された。同様の有害事象は、既存のイリノテカン製剤でも観察されており、監視及び管理することができる。イヌの心血管系及び呼吸器系への影響を評価した安全性薬理試験において、21 mg/kg（420 mg/m^2）までの単回投与で顕著な所見はなかった。CPT-11 の 75 mg/kg 投与後のラット試験で認められた CNS に対する毒性は、BAX2398 では 190 mg/kg 投与でもみられなかった（PEP02-NC-G-Tx-010 試験）。

マウス及びラットを用いた BAX2398 の LD での急性毒性試験において、一貫して臨床所見の発現は遅延し、概して投与 6～9 日目以降、死亡又は一般状態悪化に至った。一方、CPT-11 投与での毒性症状は、速やかに発現した。イヌを用いた LD での急性毒性試験において、BAX2398 投与では臨床所見の発現は遅延し、投与 4 日目以降に死亡が発現した。一方、CPT-11 投与では投与直後の嘔吐が報告された。同投与量では、臨床所見の重症度は、BAX2398 投与で CPT-11 投与よりも高く、これは BAX2398 でのイリノテカン及び SN-38 の曝露量（AUC）増加を反映している可能性がある。摂餌量及び体重減少の所見は、両製剤で共通していたが、回復期間中に消失した。白血球数減少は投与 7 日目の BAX2398 でより明らかであったが、影響を受けたパラメータは 15 日目までに大部分が正常化した。

ラット及びイヌでの反復投与毒性試験では、q1w 及び q3w の両投与により評価した。ラットでは、急性毒性試験で認められた HNSTD（720 mg/kg、PEP02-NC-G-Tx-002 試験、表 2.4-5）のほぼ 1/2.8 である 260 mg/kg までの用量において、BAX2398 は摂餌量、体重及び白血球数の用量依存的減少を示した。胸腺萎縮も用量依存的であったが、骨髄低細胞性は最高用量で認められた。これらの全身作用のほとんどは回復性であった。イヌでは、急性毒性試験で認められた HNSTD（15 mg/kg、PEP02-NC-G-Tx-007 試験、表 2.4-5）を超える 21 mg/kg までの BAX2398 を反復投与で試験した。数匹の動物は、16 mg/kg（PEP02-NC-G-Tx-009 試験）、15 及び 21 mg/kg（PEP02-NC-G-Tx-011 試験）の初回投与後に死亡又は瀕死状態に至った。15～16 mg/kg 投与の他の動物では、反復投与期間中、有害作用を示さなかったが、21 mg/kg 投与動物では、一般に活動性低下、削痩及び暗色軟便が認められた。摂餌量は用量依存的に一過性に減少した。イヌ 18 週間投与試験では、総白血球数及び大部分の白血球サブセットに用量依存的減少が、BAX2398 の 15 mg/kg 以上の投与で第 7 日にみられた。これらの低下は、一般に、次回投与前まで、すなわち 3 週間以内に回復した。評価した部位及び動物において 15 mg/kg 以上で盲腸、結腸及び小腸にリンパ組織萎縮等の回復性の病理組織学的所見が認められた。ラット及びイヌ共に、泡沫状組織球の可逆的及び非有害性の蓄積が BAX2398 及びリポソーム対照投与後に様々な組織でみられた。

第 I 相臨床試験（PEP0201 試験）では、q3w 投与での用量漸増試験の開始用量として BAX2398 の 60 mg/m^2 を選択した。この時点で、本用量はマウスにおける STD_{10} の 1/10 に相当した。臨床試験開始後、イヌ単回投与毒性試験の追加データにより MTD/HNSTD は 300 mg/m^2 とされ、これに基づく開始用量 50 mg/m^2（HNSTD の 1/6）も類似していた。PEP0201 試験における MTD は、q3w 投与レジメンで 120 mg/m^2 であると決定された。その後の臨床評価により、q2w 投与レジメンで 80 mg/m^2 の投与が許容された。

18 週間反復投与毒性試験でのラット及びイヌにおける BAX2398 の NOAEL は、それぞれ 30 mg/kg（180 mg/m^2）及び 9 mg/kg（180 mg/m^2）である。両動物種において、BAX2398 及び CPT-11 投与に関連する毒性は、同用量で類似していた。NOAEL より 4 倍（イヌ）及び 6 倍（ラット）高いリン脂質濃度で投与したリポソーム対照は、有害作用を示さなかった。ラットでは、190 mg/kg（1140 mg/m^2）の最高用量まで投与に関連した死亡はみられず、本試験で STD は決定できなかった。イヌでは、15 mg/kg は LD（初回投与後のみ）と関連したため、BAX2398 の HNSTD は 9～15 mg/kg（180～300 mg/m^2）と推定される。

結論として、BAX2398 を用いた包括的な非臨床評価の結果は、本剤が 80 mg/m^2 の用量で患者に安全に使用できることを示している。ラット及びイヌにおける単回及び反復投与毒性試験で認められた投薬に関連した主な所見は、用量依存的な消化管毒性及び白血球減少症であった。BAX2398 の毒性データは、CPT-11 で確認された毒性以外の所見を示さなかった。利用可能な非臨床毒性試験データから、2 週間に 1 回、静脈内投与する BAX2398 の臨床用量 80 mg/m^2 が適切であることが裏付けられている。

参考文献

1. Bahar FG, Ohura K, Ogihara T, Imai T. Species difference of esterase expression and hydrolase activity in plasma. J Pharm Sci 2012; 101:3979-88.

2. Camptosar® (Irinotecan) Injection, intravenous infusion, Prescribing Information, revised 4/2016. accessed online at www.pfizer.com
http://labeling.pfizer.com/ShowLabeling.aspx?id=533

3. Campto 20 mg/ml concentrate for solution for infusion - Summary of Product Characteristics, Last Updated on eMC 09-Feb-2016.
https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/12508

4. CARAFATE® (sucralfate), U.S. Package Insert, rev March 2013.
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/018333s034,019183s016lbl.pdf

5. Danks MK, Morton CL, Krull EJ, Cheshire PJ, Richmond LB, Naeve CW, et al. Comparison of Activation of CPT-11 by Rabbit and Human Carboxylesterases for Use in Enzyme / Prodrug Therapy. Clin Cancer Res 1999; 5:917-24.

6. Drummond DC, Meyer O, Hong K, Kirpotin DB, Papahadjopoulos D. Optimizing liposomes for delivery of chemotherapeutic agents to solid tumors. Pharmacol Rev 1999; 51:691-743.

7. Drummond DC, Noble CO, Hayes ME, Park JW, Kirpotin DB. Pharmacokinetics and *in vivo* drug release rates in liposomal nanocarrier development. J Pharm Sci 2008; 97:4696-740.

8. European Chemicals Agency (ECHA)'s public database with information on registered substances: HEPES [4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-ylethanesulfonic acid; CAS RN 7365-45-9], REACH Joint Submission - last modified 26 Apr 2017.
https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/13322
website visited on 26 Jun 2017

9. FDA Guidance for Industry. Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers, 2005.

10. FDA Inactive Ingredient Search for Approved Drug Products.
https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.Cfm

11. Fisher RS. Sucralfate: a review of drug tolerance and safety. J Clin Gastroenterol 1981; 3(Suppl2):181-4.

12. Garnett WR. Sucralfate–alternative therapy for peptic-ulcer disease. Clin Pharm 1982; 1:307-14.

13. Hiebert LM, Wice SM, Ping T, Hileman RE, Polat T, Linhardt RJ. Tissue distribution of [^{14}C]sucrose octasulfate following oral administration to rats. Pharm Res 2002; 19:838-44.

14. Innocenti F, Kroetz DL, Schuetz E, Dolan ME, Ramírez J, Relling M, et al. Comprehensive pharmacogenetic analysis of irinotecan neutropenia and pharmacokinetics. J Clin Oncol 2009; 27:2604-14.

15. Ko AH, Tempero MA, Shan YS, Su WC, Lin YL, Dito E, et al. A multinational phase 2 study of nanoliposomal irinotecan sucrosofate (PEP02, MM-398) for patients with gemcitabine-refractory metastatic pancreatic cancer. Br J Cancer 2013; 109:920-5.

16. Lavelle F, Bissery MC, André S, Roquet F, Riou JF. Preclinical evaluation of CPT-11 and its active metabolite SN-38. Semin Oncol 1996; 23:11-20.

17. Lepe-Zuniga JL, Zigler JS Jr, Gery I. Toxicity of light-exposed Hepes media. J Immunol Methods 1987; 103:145.

18. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Adv Drug Deliv Rev 1997; 23:3-25.

19. Mathijssen RHJ, van Alphen RJ, Verweij J, Loos WJ, Nooter K, Stoter G, et al. Clinical pharmacokinetics and metabolism of irinotecan (CPT-11). Clin Cancer Res 2001; 7:2182-94.

20. McGraw BF, Caldwell EG. Sucralfate. Drug Intell Clin Pharm 1981; 15:578-80.

21. Morton CL, Iacono L, Hyatt JL, Taylor KR, Cheshire PJ, Houghton PJ, et al. Activation and antitumor activity of CPT-11 in plasma esterase-deficient mice. Cancer Chemother Pharmacol 2005; 56:629-36.

22. Needham LA, Davidson AH, Bawden LJ, Belfield A, Bone EA, Brotherton DH, et al. Drug targeting to monocytes and macrophages using esterase-sensitive chemical motifs. J Pharmacol Exp Ther 2011; 339:132-42.

23. Rivory LP, Riou JF, Haaz MC, Sable S, Vuilhorgne M, Commerçon A, et al. Identification and properties of a major plasma metabolite of irinotecan (CPT-11) isolated from the plasma of patients. Cancer Res 1996; 56:3689-94.

24. Roy AC, Park SR, Cunningham D, Kang YK, Chao Y, Chen LT, et al. A randomized phase II study of PEP02 (MM-398), irinotecan or docetaxel as a second-line therapy in patients with locally advanced or metastatic gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma. Ann Oncol 2013; 24:1567-73.

25. Semple SC, Chonn A, Cullis PR. Interactions of liposomes and lipid-based carrier systems with blood proteins: Relation to clearance behaviour in vivo. Adv Drug Deliv Rev 1998; 32:3-17.

26. Slatter JG, Schaaf LJ, Sams JP, Feenstra KL, Johnson MG, Bombardt PA, et al. Pharmacokinetics, metabolism, and excretion of irinotecan (CPT-11) following I.V. infusion of [^{14}C]CPT-11 in cancer patients. Drug Metab Dispos 2000; 28:423-33.

27. Stapleton PP, Mahon TM, Nowlan P, Bloomfield FJ. Effects of in-vivo administration of taurine and HEPES on the inflammatory response in rats. J Pharm Pharmacol 1994; 46:745-50.

28. Steiner K, Bühring KU, Faro HP, Garbe A, Nowak H. Sucralfate: pharmacokinetics, metabolism and selective binding to experimental gastric and duodenal ulcers in animals. Arzneimittelforschung 1982; 32:512-8.

29. Sucralfate - FDA Prescribing Information
https://www.drugs.com/pro/sucralfate.html

30. Theodore TR, Van Zandt RL, Carpenter RH. Pilot ascending dose tolerance study of parenterally administered 4-(2 hydroxyethyl)-1-piperazine ethane sulfonic acid (TVZ-7) in dogs. Cancer Biother Radiopharm 1997a; 12:345-9.

31. Theodore TR, Van Zandt RL, Carpenter RH. Preliminary evaluation of a fixed dose of zwitterionic piperazine (TVZ-7) in clinical cancer. Cancer Biother Radiopharm 1997b; 12:351-3.

32. TOBI® Podhaler™ , FDA PHARMACOLOGY REVIEW(S)
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2013/201688Orig1s000PharmR.pdf

33. Xie R, Mathijssen RHJ, Sparreboom A, Verweij J, Karlsson MO. Clinical pharmacokinetics of irinotecan and its metabolites: a population analysis. J Clin Oncol 2002; 20:3293-301.

34. Xu G, Zhang W, Ma MK, McLeod HL. Human carboxylesterase 2 is commonly expressed in tumor tissue and is correlated with activation of irinotecan. Clin Cancer Res 2002; 8:2605-11.

35. Zigler JS Jr, Lepe-Zuniga JL, Vistica B, Gery I. Analysis of the cytotoxic effects of light-exposed HEPES-containing culture medium. In Vitro Cell Dev Biol 1985; 21:282-7.

36. 株式会社ビー・エム・エル．生化学的検査．リン脂質．
http://uwb01.bml.co.jp/kensa/search/detail/3802160

37. 渡辺 清明．新たな健診の基本検査の基準範囲　日本人間ドック学会と健保連による 150 万人のメガスタディー．日本人間ドック学会・健康保険組合連合会 検査基準値及び有用性に関する調査研究小委員会．2014.

http://www.ningen-dock.jp/wp/wp-content/uploads/2013/09/%E3%83%97%E3%83%AC%E3%82%B9%E3%83%AA%E3%83%AA%E3%83%BC%E3%82%B9%E7%94%A8PDF%EF%BC%88140409%E5%B7%AE%E3%81%97%E6%9B%BF%E3%81%88%EF%BC%89.pdf

38. アムビゾーム®点滴静注用 50mg 添付文書．大日本住友製薬株式会社．2015 年 1 月改訂（第 9 版）．

39. アルサルミン®細粒 90%添付文書．中外製薬株式会社．2015 年 4 月改訂（第 10 版）．

40. アルサルミン®内用液 10%添付文書．中外製薬株式会社．2011 年 10 月改訂（第 9 版）．

41. カンプト®点滴静注 40mg/100mg 添付文書．株式会社ヤクルト本社．2015 年 3 月改訂（第 18 版）．

42. ドキシル®注 20mg 添付文書．ヤンセンファーマ株式会社．2017 年 2 月改訂（第 6 版）．