ステボロニン

CTD　第 2 部

2.4　非臨床試験の概括評価

ステラファーマ株式会社

目次

2.4　非臨床試験の概括評価 4
2.4.1　非臨床試験計画概略 4
2.4.2　薬理試験 5
2.4.3　薬物動態試験 6
2.4.4　毒性試験 8
2.4.5　総括及び結論 13
2.4.6　参考文献 15

略語一覧表

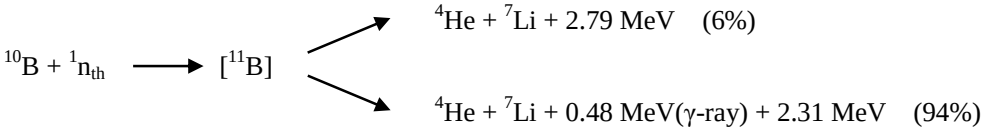
略語	英名	和名
AUC	area under the concentration-time curve	濃度−時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24h}$	area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours	投与後 0 時間から 24 時間までの濃度−時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}last}$	area under the concentration-time curve from 0 to the last concentration measurement time	投与後 0 時間から最終測定時点までの濃度−時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}\infty}$	area under the concentration-time curve from 0 to infinity	投与後 0 時間から無限時間までの濃度−時間曲線下面積
^{10}B	boron 10	ホウ素 10（ホウ素同位体）
^{11}B	boron 11	ホウ素 11（ホウ素同位体）
BNCR	boron neutron capture reaction	ホウ素中性子捕捉反応
BNCT	boron neutron capture therapy	ホウ素中性子捕捉療法
C_{max}	maximum concentration	最高濃度
Gy-Eq	gray equivalent	−
He	helium	ヘリウム
HEK	human embryonic kidney cells	ヒト胎児腎細胞
hERG	human ether-a-go-go related gene	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子
LAT-1	L-type amino acid transporter-1	L 型アミノ酸トランスポーター1
LET	linear energy transfer	線エネルギー付与
Li	lithium	リチウム
L-AcBPA	L-*N*-acetyl-4-boronophenylalanine	L-*N*-アセチル-4-ボロノフェニルアラニン
L-BPA	L-4-boronophenylalanine	L-4-ボロノフェニルアラニン
L-Phe	L-phenylalanine	L-フェニルアラニン
L-Tyr	L-tyrosine	L-チロシン
MeV	mega electron volt	−
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

中性子捕捉療法は、中性子と反応性の大きい核種をあらかじめがん細胞に取り込ませておき、その核種と中性子との反応によりがん細胞を破壊する療法である。その核種としては、現在ホウ素 10（^{10}B）が適応されており、ホウ素中性子捕捉療法（BNCT）と呼ばれる。1936 年に米国 Locher GL により提唱され [1)]、これまでに動物試験 [2) -4)] や臨床研究 [5) -8)] が実施されその有効性が示されてきた。^{10}B は、熱中性子と図 2.4-1 に示される ^{10}B(n,α)^{7}Li 反応を引き起こす。

図 2.4-1　^{10}B(n, α)^{7}Li 反応の反応式



このとき発生するアルファ粒子［ヘリウム（^{4}He）原子核］及びリチウム（^{7}Li）反跳核の両粒子線は、高線エネルギー付与（LET）線であると同時に、その飛程距離は 10 μm 以下と、細胞 1 つの大きさ以下であることから細胞単位での高い殺細胞効果が期待できる。ここで、ホウ素の安定同位体の天然存在比は ^{11}B と ^{10}B がそれぞれ、80.1%及び 19.9%であるが、熱中性子と相互作用を起こすのは ^{10}B のみである。したがって、BNCT としての効力を高めるためには ^{10}B を高濃縮する必要がある。また体外からの熱中性子の照射の時点で、腫瘍に選択的に ^{10}B を集積させることができれば、がん細胞選択的な殺細胞効果を得ることができる [9)]。4-ボロノフェニルアラニンは Snyder ら [10)] により見出された薬剤であり、多くの腫瘍で選択的な集積を示す。

L-4-ボロノフェニルアラニン（L -BPA）は、がん細胞の増殖に伴うタンパク代謝、アミノ酸輸送の亢進により、増殖の盛んながん細胞に対して能動的に集積することがわかり 1990 年代からは日、米、欧等で再発性の悪性脳腫瘍、頭頸部癌を中心とした BNCT の臨床研究が積極的に行われ、今日に至っている [12) -16)]。

ステラファーマ株式会社は親会社のステラケミファ株式会社の技術により高 ^{10}B 濃縮した L-4-ボロノフェニルアラニン［一般名：ボロファラン（^{10}B）］を原薬（以下本薬と示す）として製剤化したステボロニン（以下本剤と示す）を開発した。

本薬の安全性及び薬物動態プロファイルを評価するため、本薬の安全性薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験を実施した。

ボロファラン（^{10}B）はがん組織に選択的に分布する特徴を有するが、単独では抗腫瘍効果を示さず [11)]、^{10}B と外部から照射される中性子線との反応により抗腫瘍効果を示す。

本剤は BNCT に使用されることから非臨床試験のパッケージを構築する上で、本剤のみを用いた効力を裏付ける試験は実施せず、本剤と BNCT 治療システム（BNCT30、住友重機械

工業株式会社）から照射される中性子線を組み合わせたホウ素中性子捕捉反応（BNCR）に対して、効力を裏付ける試験を実施した。

また安全性薬理試験の一部では、機構との相談（戦 P4/医薬品戦略相談：平成 23 年 12 月 12 日）を経て本剤と BNCT30 から照射される中性子線を組み合わせた BNCT 施行による影響も評価した。

薬物動態試験では、マウスに本薬を投与したときの全血中ホウ素濃度推移を確認し、ラット及びイヌに本薬を投与したときの薬物動態及び担癌マウス（U-87 MG 皮下移植モデル）に本薬を投与したときの腫瘍への移行性を含む薬物動態を検討した。また、*in vitro* における代謝、血漿タンパク結合試験及び各種トランスポーターへの本薬の関与（阻害試験、基質試験）を検討した。

毒性試験では、本薬又は本剤の単回及び反復投与毒性、遺伝毒性、生殖発生毒性、局所刺激性並びに不純物の毒性について検討した。また、本剤と BNCT30 による単回 BNCT 施行時の急性期及び長期毒性並びに遺伝毒性を評価した。なお、2 週間反復静脈内投与毒性試験で雌雄乳腺及び雌性生殖器に病理組織学変化が認められたことから、ラット及びイヌ血中性ホルモン濃度及びチロシン濃度に対する影響を検討し、さらに、臨床での BNCT の頭部への照射体系をシミュレーションするため、照射野外でのバックグラウンド線量について検討した。

2.4.2　薬理試験

ボロファラン（^{10}B）は、それ単独では抗腫瘍効果を示さず[11)]、^{10}B と外部から照射される中性子線との $^{10}B(n,\alpha)^{7}Li$ 反応により抗腫瘍効果を示す。

そのため、本薬のみを用いた効力を裏付ける試験は実施せず、本剤と BNCT30 から照射される中性子線を組み合わせた BNCR による効力を裏付ける試験を実施した。試験結果の概略を以下に示す。

（1）　*In vitro* での BNCR による殺細胞効果を検討するため、培養がん細胞に本剤を曝露した後、中性子線を照射した。その結果、本剤を曝露しただけの場合及び中性子線照射のみの場合と比べて、本剤曝露後に中性子線を照射した BNCR では、培地中に添加する本剤の量（^{10}B の量）及び中性子線量が増加するにつれて、殺細胞効果が増強された。

（2）　BNCT による腫瘍の増殖抑制効果を検討するため、担がんモデルマウスに本剤を単回静脈内投与した後、BNCT30 を用いて中性子線を照射した。マウスの腫瘍体積を測定した結果、非処置群及び中性子線照射のみの群と比較して、本剤投与後に中性子線を照射した BNCT 群では、腫瘍体積の増加が有意に抑制された。

本薬の安全性薬理試験として、ラットを用いた中枢神経系及び呼吸器系への影響を確認する試験、イヌを用いた心血管系への影響を確認する試験及び *in vitro* でのヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子（hERG）電流に及ぼす影響を確認する試験を実施した。

（1）　中枢神経系に対する作用は、ラットに本薬を単回静脈内投与し、Irwin の変法により評価した。その結果、最高用量である 1000 mg/kg まで本薬投与による影響は認められなかった。

（2）　呼吸器系に対する作用は、ラットに本薬を単回静脈内投与し、評価した結果、最高用量である 1000 mg/kg まで本薬投与による影響は認められなかった。

（3）　心血管系に対する作用は、*in vitro* において hERG 導入ヒト胎児腎細胞（HEK）293 細胞に本薬を曝露し、hERG チャネルの電流に及ぼす作用を評価した。その結果、最高濃度である 5 mg/mL まで hERG チャネルの電流に作用を及ぼさなかった。

（4）　心血管系に対する作用は、*in vivo* においてイヌに本薬を単回静脈内投与し、テレメトリー法により評価した。その結果、最高用量である 1000 mg/kg まで本薬投与による影響は認められなかった。

BNCT の安全性薬理試験として、マウスを用いた一般毒性試験の中で、単回 BNCT 施行毒性試験に組み込んで実施し、一般状態及び中枢神経系への影響を評価した。マウスに本剤を単回皮下投与した後、BNCT30 を用いて中性子線を照射し、ロータロッドを用いた運動協調性に対する影響を評価した。一般状態についても剖検日まで毎日観察を実施した。その結果、最高用量である本剤の 1000 mg/kg 及び中性子線照射時間 40 分（皮膚及び脳線量はそれぞれ約 12 及び 9 Gy-Eq に相当する）までの BNCT による影響は認められなかった。ただし、1000 mg/kg-40 分照射群の雌 1 匹で投与 11 日に運動性の低下等が認められ、翌日死亡した。その死因は、摂餌及び摂水不良に起因した状態悪化と考えられることから、BNCT の中枢神経系への影響ではないと判断している。

本薬の薬力学的薬物相互作用試験は、細胞内への取り込み機序及び既報文献から考察可能であり、実施しなかった。

ボロファラン（^{10}B）は L 型アミノ酸トランスポーター1（LAT-1）を介して腫瘍細胞内へ選択的に取り込まれると考えられている[17), 18)]ことから、がん治療薬として開発が行われている LAT-1 阻害剤を併用した場合には、腫瘍への選択的な本薬の取り込みを阻害し、BNCT の効果を減弱させるリスクがある。

以上のことから、中性子線照射と組み合わせた本剤は、中性子線単独照射と比較して *in vitro* 試験における殺細胞効果及び *in vivo* 試験における腫瘍縮小効果に対して増強作用を示し、本剤における BNCT による抗腫瘍作用が確認された。また、本薬単独で 1000 mg/kg まで中枢神経系、呼吸器系及び心血管系に影響を及ぼすことはなく、BNCT30 を組み合わせた試験においても 1000 mg/kg まで運動協調性に影響を及ぼさないことが示された。このことから臨床において本剤を用いた中性子捕捉療法は、がん治療としての効果が期待される。

2.4.3　薬物動態試験

マウスに本薬を単回皮下投与したときの全血中ホウ素濃度は、投与後 30 分から 1 時間で最高濃度（C_{max}）に達し、投与後 0 時間から 24 時間までの濃度−時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24h}$）及び C_{max} は投与量増加に伴い増加した。

ラットに ^{14}C を標識した本薬｛[^{14}C]ボロファラン（^{10}B）｝を単回静脈内持続投与したときの放射能濃度は投与終了直後に C_{max} に達し、投与終了直後から平均消失半減期（$t_{1/2}$）1.1 時間及び 55.4 時間で減少した。イヌに単回静脈内持続投与したときの放射能濃度は投与終了直後に C_{max} に達し、投与終了直後から平均 $t_{1/2}$ 1.0 時間及び 55.0 時間で 2 相性に減少した。

腫瘍への移行性を検討するために、ヒト神経膠芽腫由来の腫瘍細胞を皮下移植したマウスに[^{14}C]ボロファラン（^{10}B）を単回静脈内又は皮下投与し、組織中放射能濃度を測定した。腫瘍からの放射能の消失は血漿に比べて緩やかであった。静脈内投与したときの腫瘍中放射能濃度は血漿中濃度のそれぞれ 1.3～2.7 倍であり、特に投与後 1 時間以降は 2.5 倍以上を示し、腫瘍中濃度は用量依存的に増加した。組織中放射能濃度は膵臓において最も高い値を示し、血漿中濃度の 10.5～16.7 倍であった。次いで腎臓及び皮膚が比較的高い濃度を示し、血漿中濃度のそれぞれ 2.6～6.5 倍及び 1.1～2.8 倍であった。一方、大脳及び小脳中の放射能濃度は血漿中濃度の 0.2～1.2 倍であり、腫瘍に比べて中枢神経系への移行性は低いことが示唆された。皮下投与したときの放射能の血漿中濃度は、投与後 1 時間で C_{max} に達し、組織中放射能濃度は、多くの組織において投与後 1 時間に C_{max} を示した。最も高い放射能が検出された組織は膵臓であり、次いで腎臓において高い放射能が検出された。腫瘍中放射能濃度は血漿中濃度の 2.1～3.3 倍であった。1000 mg/kg 投与群の腫瘍中放射能濃度は 500 mg/kg 投与群の 1.5～1.8 倍を示した。

ラットに[^{14}C]ボロファラン（^{10}B）を単回持続静脈内投与し、組織中放射能濃度及び全身オートラジオグラフィーを測定した。放射能の組織中濃度はほとんどの組織で血漿と同様に投与終了後 1 時間に C_{max} を示した。組織中濃度は、投与終了後 1 時間における膵臓及び腎臓が最も高い濃度を示し、両臓器とも血漿中濃度の 6.1 倍であった。腎臓中濃度はその後低下し投与終了後 8 時間に血漿中濃度の 2.7 倍となった。一方、膵臓中濃度は投与終了後 8 時間において血漿中濃度の 4.1 倍を示したが投与終了後 168 時間においては他の組織と同程度の濃度であった。膵臓及び腎臓以外の組織では眼球が投与終了後 8 及び 24 時間において他の組織より比較的高い濃度で推移した。組織からの放射能の消失は緩徐であることが示唆された。

なお、本薬の膵臓への移行は、構造が類似する L-フェニルアラニン（L-Phe）のラットにおける分布試験においても認められ、体内で本薬は L-Phe と同様の挙動を示すものと推察されるが、本薬は、L-Phe に比べて分布した組織からの消失は速やかで、L-Phe がタンパク質や生理活性物質の合成に利用されるのに対し、本薬はそれらに利用されにくいものと推察された。

本薬の血漿タンパク結合率は低く、22%未満であった。ラット及びイヌに[^{14}C]ボロファラン（^{10}B）を静脈内投与したとき、血漿、尿及び糞中に計 14 種の放射能ピークが検出された。血漿中の主要成分は未変化体であった。尿中においても、投与中は未変化体が主に検出された。投与終了後 24 時間までの尿中排泄率は、未変化体が 25.0%（ラット）及び 46.3%（イヌ）であった。糞には、未変化体以外に代謝物が検出されたが糞中排泄率は 1.2%以下であった。なお、代謝物の構造から本薬はフェニルアラニンと類似の代謝を受けると推定された。

また、*in vitro* 試験の結果、ボロファラン（^{10}B）はラット、イヌ及びヒト肝 S9 中の酵素により代謝されないと考えられた。

ラットに[^{14}C]ボロファラン（^{10}B）を持続静脈内投与したとき、放射能の排泄は投与終了後 48 時間でほぼ終了し、投与終了後 168 時間までの尿、糞及び呼気中にそれぞれ投与した放射能の 76.6、8.0 及び 7.7%（平均値）が排泄された。イヌに[^{14}C]ボロファラン（^{10}B）を持続静脈内投与したとき、放射能の排泄は投与終了後 48 時間でほぼ終了し、投与終了後 168 時間までの尿及び糞中にそれぞれ投与した放射能の 87.7 及び 3.4%（平均値）が排泄され、投与放射能の総回収率は 94.9%であった。以上から、主要排泄経路は尿中排泄であることが示された。

本薬の腎排泄におけるトランスポーターの関与に関して検討した結果、本薬はトランスポーターMDR1、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K のモデル基質の輸送に対して 50%を超える阻害作用を示さず、50%阻害濃度（IC_{50}）は > 100 μmol/L であったことから、検討したトランスポーターに対するボロファラン（^{10}B）の阻害能は低いと考えられた。また、本薬はトランスポーターMDR1、BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の基質ではないと考えられた。

2.4.4　毒性試験

単回投与（急性）毒性試験

ボロファラン（^{10}B）

本薬の 250～1000 mg/kg をラット及びイヌに単回静脈内投与した結果、概略の致死量は雌雄のラット及びイヌともに 1000 mg/kg 超であった。ラットでは 500 mg/kg 以上の群で縮瞳による対光反射不能及び軽度な顎下腺腺房細胞の肥大がみられ、1000 mg/kg 群では白濁尿の排泄、並びに雌で軽度な乳腺小葉過形成、卵巣の黄体肥大及び膣粘膜上皮の粘液変性が観察された。イヌでは 500 mg/kg 以上の群で縮瞳及び 1000 mg/kg 群で尿沈渣中の本薬由来と考えられる結晶析出が認められた。

臨床用量（500 mg/kg）と同じ用量でのラットの C_{max} 及び AUC 並びにイヌの AUC は（表 2.4-1）、臨床曝露量に比べ低値であったが、投与方法の違い（ラット及びイヌはボーラス投与であるが、ヒトは 200 mg/kg/時で 2 時間投与後、100 mg/kg/時に減速して 1 時間投与）によるものと考えられる。

BNCT

マウスに本剤を単回皮下投与して中性子線照射する BNCT 単回施行時の急性及び遅発毒性を評価した結果、概略の致死量は中性子線 30 分照射では雄 1000 mg/kg、雌 1000 mg/kg 超、40 分照射では雄 500 mg/kg、雌 1000 mg/kg であった。BNCT 単回施行（本剤の 500 又は 1000 mg/kg 及び中性子線 30 又は 40 分照射）により、主に早期（施行後 10～14 日）に多くの死亡がみられたが、施行後 95 日以降に死亡は認められなかった。死亡例では造血系及び免疫系器官に影響（萎縮）がみられ、早期死亡例では舌粘膜上皮細胞の変性／壊死も認められた。施行後 180 日まで体重及び摂餌・摂水量の低値が継続してみられたものの、造血系及び

免疫系器官に対する影響は回復傾向を示した。施行後 99 日以降に眼球白濁が観察された。また、雌雄性腺の変化として雄では精子形成阻害がみられたが、施行後 90 日以降は認められなかった。雌では卵胞数の減少による卵巣重量の低値が施行後 180 日までみられ、子宮及び膣の萎縮を伴った。

造血・免疫系組織、消化管粘膜の変化は、いずれも分裂の活発な細胞が標的になっていることから、中性子線による放射線生物学的作用が寄与しているものと考えられ、実際、媒体照射群で骨髄造血細胞減少、胸腺・脾臓・リンパ節の萎縮、消化管陰窩部粘膜上皮の再生像が認められている。また、白内障、精子形成不全及び卵胞数減少についても、一般的な放射線障害の特徴的な変化であり、性腺は一般に放射線感受性の高い組織とされていることから、これらの変化も中性子線による放射線生物学的作用と考えられた。なお、舌の変化については、舌は放射線感受性の高い組織であるため、強い BNCR が生じたためと考えられる。マウスの単回 BNCT 施行毒性試験での線量と *in vitro* における照射野外の推定被曝線量の評価結果から、マウスとヒトとの個体の大きさの差及びマウスを用いた BNCT の実験手技的制約により、全身の被曝線量には乖離があり、ヒトと比較してマウスは全身に対して高い線量で曝露されている。このことから、マウスでみられた全身の諸変化がヒトでも発現する可能性は低いと考える。

反復投与毒性試験

ラット及びイヌの 2 週間反復静脈内投与毒性試験（250、500 及び 1000 mg/kg/日）では、対光反射不能（ラット）、縮瞳、眼球・角膜混濁、瞬膜弛緩（イヌ）などの眼に対する影響や、乳腺、雌性生殖器、並びに顎下腺の病理組織学的変化（ラット）が認められた。さらにラットの高用量群では、一般状態の悪化に付随すると考えられる変化（体重、摂餌量及び胸腺重量の低値など）が認められた。無毒性量はラット及びイヌともに 250 mg/kg/日未満と推定された。

ラット及びイヌの 4 週間反復静脈内投与毒性試験（125、250 及び 500 mg/kg/日）では、2 週間反復静脈内投与毒性試験で観察された変化に加えて、振戦、傾眠といった神経症状（イヌ）、並びに雄性生殖器及び腎臓の病理組織学的変化（ラット）が認められ、無毒性量はラットでは雌雄ともに 125 mg/kg/日未満、イヌでは雄 125 mg/kg/日、雌 125 mg/kg/日未満と推定された。

TK 試験では、2 週間及び 4 週間投与試験ともに、ラット及びイヌの曝露量（C_{max} 及び AUC）は初回及び最終投与日ともに投与量の増加に伴って増加し、明らかな性差及び反復投与による明らかな蓄積性は認められなかった。

反復投与毒性試験では、臨床曝露量と同程度又はより低い群においても毒性所見がみられ、唯一推定されたイヌ 4 週間投与毒性試験の雄の無毒性量での曝露量も臨床曝露量より低値であったが、臨床において本剤は単回投与であり、いずれの変化も軽度で可逆的であったことから、同様の変化がヒトで発現する可能性は低く、発現しても重篤な転帰に至るような懸念はないと考えられた。

乳腺及び雌雄生殖器に対する影響は、高用量（32 mg/animal）の[^{10}B]L-BPA を腹腔内投与した際に、チロシン（本薬と化学構造が類似）をレボドパに代謝するチロシン水酸化酵素が一過性に減少することが報告されている[19)]ことから、レボドパの減少に引き続き、レボドパから合成されるプロラクチン抑制因子であるドパミンが一過性に減少することで血中プロラクチン濃度が上昇したことによると考えられた。イヌ（500 mg/kg/日）でみられた振戦及び傾眠などの神経症状は、このドパミンの減少が原因とも考えられるが、1000 mg/kg/日の 2 週間反復投与時及びラットでは同様の変化が認められなかったことから、原因については不明である。また、イヌで観察された眼球・角膜混濁は、本薬の直接的な作用によるものではなく、血中チロシン濃度の上昇に伴う前眼房水のチロシン濃度の上昇によるもの（涙液中におけるチロシン結晶の生成による眼障害）と考えられる[20)，21)]。また、ラットでみられた縮瞳による対光反射不能並びにイヌでみられた縮瞳及び瞬膜弛緩については、上述したチロシン水酸化酵素の一過性の減少により、ドパミンのみならずノルアドレナリンやアドレナリンなどのカテコールアミンの合成も低下したため、相対的に副交感神経系支配になったことによると考えられる。さらに、腎臓の変化は、尿中で濃縮された本薬に関連した変化であると推察されるが、臨床では単回投与であることから、腎臓に対して組織学的影響を及ぼす可能性は低いと考える。

表 2.4-1　静脈内投与毒性試験における動物の曝露量と臨床曝露量の比較（1/2）

試験種	投与量 (mg/kg/日)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}last}$ (μg･h/mL)	曝露量比#	
				C_{max} (倍)	AUC (倍)
単回投与	ラット(雌雄)				
	250	269	1505	0.34	0.27
	500	529	2480	0.66	0.44
	1000	700	3380	0.88	0.60
	イヌ(雌雄)				
	250	581	3095	0.73	0.55
	500	1030	5022	1.29	0.89
	1000	1837	6715	2.30	1.19
2 週間投与	ラット(雌雄)				
	250	355	1870	0.45	0.33
	500	590	2560	0.74	0.45
	1000	924	3440	1.16	0.61
	イヌ(雌雄)				
	250	739	2810	0.93	0.50
	500	1325	4470	1.66	0.79
	1000	1510	5610	1.89	1.00

表 2.4-1　静脈内投与毒性試験における動物の曝露量と臨床曝露量の比較（2/2）

試験種	投与量 (mg/kg/日)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}last}$ (μg･h/mL)	曝露量比#	
				C_{max} (倍)	AUC (倍)
4 週間投与	ラット(雌雄)				
	125	196	904	0.25	0.16
	250	376	1474	0.47	0.26
	500	532	2102	0.67	0.37
	イヌ(雌雄)				
	125	238	1513	0.30	0.27
	250	426	2446	0.53	0.43
	500	834	3644	1.05	0.65

#:頭頸部癌及び再発悪性神経膠腫患者を対象とした第 I 相臨床試験（500 mg/kg）で得られた C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}\infty}$ の平均値（C_{max}：797 μg/mL、$AUC_{0\text{-}\infty}$：5636 μg･h/mL）との比較

遺伝毒性試験

In vitro 試験として実施した細菌を用いる復帰突然変異試験及びチャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞株を用いる染色体異常試験、並びに *in vivo* 試験として反復投与毒性試験に組み込んで実施したマウス小核試験において、本薬は遺伝毒性誘発能を示さなかった。

In vivo 試験として単回 BNCT 施行毒性試験に組み込んで実施したマウス小核試験において、小核を有する幼若赤血球出現頻度の高値が、本剤の投与量及び中性子線照射時間に依存してみられたが、明らかな回復性が認められた。しかし BNCT による遺伝子変異の可能性は否定できないことから、本薬を用いた BNCT は、遺伝毒性のリスクを有すると考える。

生殖発生毒性試験

本剤（500 及び 1000 mg/kg/日）を妊娠 7～17 日（妊娠 0 日：交尾確認日）に静脈内投与したラット胚・胎児及び出生児の発生に関する試験で、母動物では 1000 mg/kg/日群で運動性の低下、500 mg/kg/日以上の群で体重及び摂餌量の低値がみられ、胎児では奇形は認められなかったが、1000 mg/kg/日群で内臓異常（胸腺索）の発現率の高値がみられ、500 mg/kg/日以上の群で体重及び胎盤重量の低値並びに骨化遅延が認められた。また、出生児では 1000 mg/kg/日群で一過性の体重低値が認められた。母動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量はそれぞれ 500 mg/kg/日未満及び 1000 mg/kg/日と推定され、胎児及び出生児に対する無毒性量はそれぞれ 500 mg/kg/日未満及び 500 mg/kg/日と推定された。

局所刺激性試験

ウサギを用いて本薬の血管刺激性及び皮膚一次刺激性を評価した結果、血管及び周辺組織に対する刺激の程度は、生理食塩液と同程度のごく軽度なものであると判断され、皮膚一次刺激性はないものと考えられた。

血中性ホルモン濃度及び血清中チロシン濃度に及ぼす影響

2 週間反復静脈内投与毒性試験で雌雄乳腺及び雌性生殖器に病理組織学的変化が認められたことから、ラット及びイヌ血中性ホルモン濃度に対する影響を検討するため、ラット 2 週間静脈内投与毒性試験で採取した血清を用いて血清中性ホルモン濃度を測定した結果、雄の 250 mg/kg/日以上の全ての投与群でプロラクチン濃度の高値がみられ、500 及び 1000 mg/kg/日群でテストステロン濃度の低値傾向が認められた。雌では、1000 mg/kg/日群でプロゲステロン濃度の高値傾向が認められた。いずれの変化も回復性を示した。

本薬をラット（500 及び 1000 mg/kg/日）及びイヌ（250、500 及び 1000 mg/kg/日）に単回静脈内投与して血漿中性ホルモン濃度を測定した結果、雌雄ラット及びイヌの全投与群（特に雌ラット）で血漿中プロラクチン濃度の上昇、雌ラットで血漿中プロゲステロンの上昇が認められた。ラット及びイヌともに、雄の血漿中テストステロン濃度に影響は認められなかった。また、同試験で血清中チロシン濃度を測定した結果、雌雄のイヌで投与後初期に高値傾向を示したが、ラットでは明らかな影響は認められなかった。

不純物の毒性試験

本薬及び本剤の不純物の規格値で安全性確認が必要となる閾値（それぞれ 0.05 及び 0.15%）を超える L-チロシン（L-Tyr）、L-Phe、L-*N*-アセチル-4-ボロノフェニルアラニン（L-AcBPA）及び ^{10}B ホウ酸について、安全性を評価した。

天然アミノ酸である L-Tyr 及び L-Phe はいずれも既存のアミノ酸輸液に規格値上限の 2.5 倍以上含まれており、遺伝毒性は陰性であることが明らかとなっている。また、L-AcBPA について、ラットの 2 週間反復静脈内投与毒性試験（31.5～125 mg/kg/日）及び細菌を用いる復帰突然変異試験（～5000 μg/plate）を実施した結果、雄の無毒性量は推定臨床曝露量の 62.5 倍に相当する 125 mg/kg/日と推定され、変異原性は陰性であった。なお、2 週間反復静脈内投与毒性試験における雌の無毒性量は 31.5 mg/kg 未満と推定され、雌の 31.5 mg/kg 群で観察された所見は乳腺及び生殖器に限定され、軽度で低頻度（1/10 例）であった。

本薬の臨床用途である BNCT では、BNCT が放射線治療の一つであることもあり、その遺伝毒性試験から一過性の染色体異常誘発作用を示すことが明らかになっている。そのため L-AcBPA の染色体異常誘発性については個別の試験を実施していない。

しかしながら、L-AcBPA を含有する原薬を用いた 3 種類の遺伝毒性試験（復帰突然変異試験、染色体異常試験及び骨髄小核試験）ではいずれも遺伝毒性を示さず、L-AcBPA の染色体異常誘発性を懸念する兆候がみられなかったこともあり、L-AcBPA の曝露による染色体異常に対する懸念は低いと考える。

^{10}B ホウ酸の含有量は、LD_{50} 値（マウス静脈内投与 1.24g/kg、ラット静脈内投与 1.33g/kg）よりはるかに低い。

また、L-AcBPA 及び ^{10}B ホウ酸は、照射部位の組織、器官に局在するとは考え難く、中性子照射による毒性増強の可能性は低いと考える。

以上のことから、本薬及び本剤に含まれる安全性確認の閾値を超える量の不純物（L-Tyr、L-Phe、L-AcBPA 及び ^{10}B ホウ酸）の安全性は確認されていると判断した。

照射野外でのバックグラウンド線量

臨床での BNCT の頭部への照射体系をシミュレーションし、照射野外の漏洩線量が細胞に与える影響について本剤（ホウ素濃度として 25 ppm）を 1 時間曝露したチャイニーズハムスター卵巣細胞をヒトファントム（首、胸、臍、鼠径部、膝及びくるぶし）に貼り付け、BNCT30 により中性子線を照射して検討した結果、微小核数は「首」で 216.5 と最も多く観察され、X 線線量に概算した漏洩被曝線量も 1.57 Gy-Eq と最も大きかった。そのほかの部位における微小核数の平均値は 80～130 であり、推定線量は約 0.35～0.78 Gy-Eq であった。

2.4.5　総括及び結論

BNCT30 と組み合わせた本剤は、中性子線単独照射と比較して *in vitro* 試験における殺細胞効果及び *in vivo* 試験における腫瘍縮小効果に対して増強作用を示し、本剤における BNCT による抗腫瘍作用が確認された。また、安全性薬理試験において本薬単独で 1000 mg/kg まで中枢神経系、呼吸器系及び心血管系に影響を及ぼすことはなく、BNCT30 を組み合わせた試験においても 1000 mg/kg まで運動協調性に影響を及ぼさないことが示された。本薬の薬力学的相互作用試験は実施していないが、LAT-1 を介して腫瘍細胞内に選択的に取り込まれる[17),18)]と考えられることから、がん治療薬として開発中の LAT-1 阻害剤を併用した場合には、腫瘍への選択的な本薬の取り込みを阻害し、BNCT の効果を減弱させるリスクが考えられる。

マウスに本剤を皮下に単回投与したときの全血中ホウ素濃度は、投与後 30 分から 1 時間で C_{max} に達し、$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max} は投与量増加に伴い増加した。

ラット及びイヌに[^{14}C]ボロファラン（^{10}B）を単回静脈内持続投与したときの放射能濃度は投与終了直後に C_{max} に達し、投与終了直後から $t_{1/2}$ 1.0 時間及び $t_{1/2}$ 55.0 時間で減少した。

ヒト神経膠芽腫由来の U-87 MG 腫瘍細胞を皮下移植したマウスに[^{14}C]ボロファラン（^{10}B）を単回静脈内又は皮下投与したとき、腫瘍中の放射能濃度は投与量依存的に増加し、血漿中放射能濃度の 1.3～2.7（静脈内投与）及び 2.1～3.3（皮下投与）であった。腫瘍からの放射能の消失は血漿に比べて緩やかであった。一方、[^{14}C]ボロファラン（^{10}B）は皮下移植した腫瘍に比べて中枢神経系への移行性は低いことが示唆された。

ラットに[^{14}C]ボロファラン（^{10}B）を単回持続静脈内投与したとき、放射能の組織中濃度はほとんどの組織で血漿と同様に投与終了後 1 時間に C_{max} を示した。組織中濃度は、投与終了後 1 時間における膵臓及び腎臓が最も高い濃度を示したがその後減少した。組織からの放射能の消失は緩徐であることが示唆された。

膵臓への移行は、本薬と構造が類似する L-Phe のラットにおける分布試験においても認められ、体内で本薬は L-Phe と同様の挙動を示すものと推察されるが、本薬は、L-Phe に比べて分布した組織からの消失は速やかであった。

本薬のタンパク結合率は低く、最も高かったヒト血漿タンパクとの結合率でも検討した濃度で 22%未満であった。

本薬の乳汁移行性については検討していないが、本薬が低分子であり、血漿タンパク結合率が低いことを考慮すると、本薬の乳汁移行を否定することはできない。また、本薬の乳児に対する影響は確認していない。一般に $t_{1/2}$ の 4~5 倍の時間が経過すれば C_{max} の 3%程度まで濃度が低下し、体内から薬物が消失したとみなす。JHN001 試験で得られた血漿中の本薬濃度のノンコンパートメントモデルにおける $t_{1/2}$ は 9.470 ± 1.157 h であり、$t_{1/2}$ の 5 倍に相当する時間は、47.35 h となる。また実際に JHN001 試験において投与後 72 時間の被験者の血漿中ボロファラン（^{10}B）濃度は、1.29 μg/mL 程度［C_{max}（812.0 ± 115.9 μg/mL）の 0.2%程度］まで低減していることが確認されていることを考慮すると、母乳を摂取する乳児に対する本薬の影響リスクを低減させるために、本薬投与後少なくとも 72 時間の断乳を推奨し、授乳婦に対して注意喚起することが望ましいと考える。

ラット及びイヌに[^{14}C]ボロファラン（^{10}B）を静脈内投与したとき、血漿、尿及び糞中に計 14 種の放射能ピークが検出された。血漿中の主要成分は未変化体であった。投与中の尿には未変化体が主に検出された。本薬はラット、イヌ及びヒト肝 S9 中の酵素により代謝されないと考えられたことから、代謝酵素を介した薬物動態学的相互作用の可能性は低いと考えられた。

ラット及びイヌに[^{14}C]ボロファラン（^{10}B）を持続静脈内投与したとき、放射能の排泄は投与終了後 48 時間でほぼ終了し、主要排泄経路は尿中排泄であることが示された。

本薬の腎排泄におけるトランスポーターの関与に関して検討した結果、本薬はトランスポーターMDR1、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対する本薬の阻害能は低いと考えられた。また、本薬はトランスポーターMDR1、BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の基質ではないと考えられた。

本薬又は本剤の毒性試験では、本薬と化学構造が類似するチロシンの代謝系への作用に起因すると考えられる一般状態の変化、並びに乳腺及び雌雄生殖器の病理組織学的変化が観察された。また、本薬の排泄／析出によると考えられる腎臓及び眼の変化がみられたが、いずれの変化も反復投与時のみで認められたか、軽度で可逆的な変化であった。したがって、臨床では単回投与であることを考慮すると、同様の変化がヒトで発現する可能性は低く、重篤な転帰に至るような懸念はないと考える。一方で生殖発生毒性試験において、本剤の器官形成期投与で催奇形性は認められなかったものの、次世代に対する発生毒性（発育遅延）がみられたこと、及び中性子線照射により胚・胎児発生に悪影響を及ぼすことが予想されることから、妊婦又は妊娠している可能性のある女性に対する BNCT は、治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合のみ実施すべきであり、その場合にも慎重に行われるべきと考える。

また、BNCT によりチロシン水酸化酵素が一過性に減少し[19)]、レボドパの減少に引き続き、レボドパから合成されるドパミンが一過性に減少すると考えられ、ドパミン D2 受容体拮抗薬であるクロルプロマジン塩酸塩ではてんかん発作の閾値の低下のリスクが知られていることから[22)]、抗ドパミン作用を有する薬剤と併用、又はチロシン分解経路に作用する薬剤（高チロシン血症 I 型治療薬など）と併用する際には、本剤及び併用薬の副作用を増強する可能

性があると考えられることから、注意深く観察を行う必要があると考える。さらに、尿排泄経路への本剤による負荷を軽減するため、本剤投与終了後より輸液を用いた水分負荷（ハイドレーション）の措置を検討すべきと考える。

マウスを用いた BNCT の毒性試験では死亡例のほか、造血・免疫系組織、消化管粘膜、生殖器、眼球及び舌に対する影響が認められたが、ヒトと比較して全身被曝線量が高かったためであり、これらのマウスでみられた全身の諸変化がヒトで発現する可能性は低いと考えるが、治験において、BNCT による副作用として、アミラーゼ増加、白血球／好中球／リンパ球減少、放射線皮膚損傷及び白内障などの一般的な放射線障害でみられる事象が認められている（そのうち、アミラーゼ増加、リンパ球減少、放射線皮膚損傷、咽頭の炎症及び喉頭の炎症は Grade 3 以上）。したがって、BNCT 施行後には、通常の放射線治療と同様に舌等の口腔粘膜傷害及び白血球・リンパ球数減少などに付随する免疫力の低下に留意するとともに、定期的な眼科的検査を行い、白内障の発現に留意すべきと考える。

マウスの単回 BNCT 施行毒性試験に組み込んで実施したマウス骨髄小核試験のみでは BNCT 施行による遺伝子変異の発現リスクは否定できず、照射野外のバックグラウンド線量として鼠径部にも 0.78 Gy-Eq 程度の線量が付与されることから、放射線感受性が高い精原細胞及び精母細胞や一次卵母細胞、二次卵母細胞が受精に関与し、次の世代に対して影響を及ぼすリスクを回避するため精子形成期間及び月経周期を考慮し、男女ともに BNCT 施行後 90 日間程度の避妊を推奨すべきと考える。

なお、治験において BNCT との因果関係が否定できない又は関連ありと判断された重篤な有害事象として、それぞれ「嚥下障害」及び「脳膿瘍」が 1 例ずつにみられたが、BNCT 施行毒性試験では同様の所見は認められなかった。

2.4.6　参考文献

1）　Locher GL. Biological effects and therapeutic possibilities of neutrons. Am J Roentgenol. 1936;36:1-13.【4.3-1】

2）　Kruger PG. Some biological effects of nuclear disintegration products on neoplastic tissue. Proc Natl Acad Sci. 1940;26:181-92.【4.3-2】

3）　Zahl PA, Cooper FS, Dunning JR. Some in vivo effects of localized nuclear disintegration products on a transplantable mouse sarcoma. Proc Natl Acad Sci. 1940;26:589-98.【4.3-3】

4）　Miyakawa T, Watanabe N: Applicability of neutron capture therapy with colloidal boron. Jpn J Radiol. 1959;19:2104-14.【4.3-4】

5）　Farr LE, Sweet WH, Robertson JS, Foster CG, Locksley HB, Sutherland DL, et al. Neutron capture therapy with boron in the treatment of glioblastoma multiforme. Am J Roentgenol. 1954; 71: 279-91.【4.3-5】

6）　Godwin JT, Farr LE, Sweet WH, Robertson JS. Pathological study of eight patients with glioblastoma multiforme treated by neutron-capture therapy using boron 10. Cancer. 1955;8:601-15.【4.3-6】

7） Slatkin DN. A history of boron neutron capture therapy of brain tumors. Brain. 1991;114:1609-29.【4.3-7】

8） Hatanaka H, Kamano S, Amano K, et al. Clinical experience of boron-neutron capture therapy for gliomas - a comparison with conventional chemo-immuno-radiotherapy. Boron-Neutron Capture Therapy for Tumors. Edited by H. Hatanaka. Niigata, Japan: 1986:349-79. 【4.3-8】

9） Barth RF, Coderre JA, Vicente MG, Blue TE. Boron neutron capture therapy of cancer: Current status and future prospects. Clin Cancer Res. 2005;11(11):3987-4002.【4.3-9】

10）Snyder HR, Reedy AJ, Lennarz WJ. Synthesis of aromatic boronic acids, aldehydo boronic acids and a boronic acid analog of tyrosine. J Am Chem Soc. 1958;80:835-8.【4.3-10】

11）Kamida A, Obayashi S, Kato I, Ono K, Suzuki M, Nagata K, et al. Effects of boron neutron capture therapy on human oral squamous cell carcinoma in a nude mouse model. Int J Radiat Biol. 2006;82(1):21-9.【4.3-11】

12）Coderre JA, Chanana AD, Joel DD, Elowitz EH, Micca PL, Nawrocky MM, et al. Biodistribution of boronophenylalanine in patients with glioblastoma multiforme: Boron concentration correlates with tumor cellularity. Radiat. Res. 1998, 149, 163-70.【4.3-12】

13）Chanana AD, Capala J, Chadha M, Coderre JA, Diaz AZ, Elowitz EH, et al. Boron neutron capture therapy for glioblastoma multiforme: interim results from the phase I/II dose-escalation studies. Neurosurgery. 1999, 44(6), 1182-93.【4.3-13】

14）Kato I, Ono K, Sakurai Y, Ohmae M, Maruhashi A, Imahori Y, et al. Effectiveness of BNCT for recurrent head and neck malignancies. Appl Radiat Isot. 2004, 61(5), 1069-73.【4.3-14】

15）Joensuu H, Kankaanranta L, Seppala T, Auterinen I, Kallio M, Kulvik M, et al. Boron neutron capture therapy of brain tumors: clinical traials at the finnish facility using boronophenylalanine. J. Neurooncol. 2003, 62(1-2), 123-34.【4.3-15】

16）Capala J, Stenstam BH, Skold K, Munck Af Rosenschöld P, Giusti V, Persson C, et al. Boron neutron capture therapy for glioblastoma multiforme: clinical studies in Sweden. J. Neurooncol. 2003, 62(1-2), 135-44.【4.3-16】

17）Detta A, Cruickshank GC. L-Amino acid transporter-1 and boronophenylalanine-based boron neutron capture therapy of human brain tumors. Cancer Res. 2009;69(5):2126-32.【4.3-17】

18）Wongthai P, Hagiwara K, Miyoshi Y, Wiriyasermkul P, Wei L, Ohgaki R, Kato I, Hamase K, Nagamori S, Kanai Y et al. Boronophenylalanine, a boron delivery agent for boron neutron capture therapy, is transported by $ATB^{0,+}$, LAT1 and LAT2. Cancer Sci. 2015; 106: 279-86.【4.3-18】

19）Setiawan Y, Halliday GM, Harding AJ et al. Effect of L-^{10}B-p-boronophenylalanine-fructose and the boron neutron capture reaction on mouse brain dopaminergic neurons. Cancer Res. 1995;55:874-7.【4.3-19】

20）牧昭夫．Prolactin と男子性機能障害．日泌尿会誌．1988;79: 1002-10.【4.3-20】

21）オーファディンカプセル 2mg、同 5mg、同 10mg 公開資料概要．（ニチシノン）2.6.6 項．製造販売承認年月日：2014 年 12 月 26 日承認【4.3-21】

22）クロルプロマジン塩酸塩錠 25mg「ツルハラ」．医薬品インタビューフォーム．2018 年 5 月改定（改定第 6 版）【4.3-22】