これらの結果は，E7272 の CT26 結腸癌移植モデルに対する抗腫瘍効果が，宿主の T 細胞依存であることを示唆した。

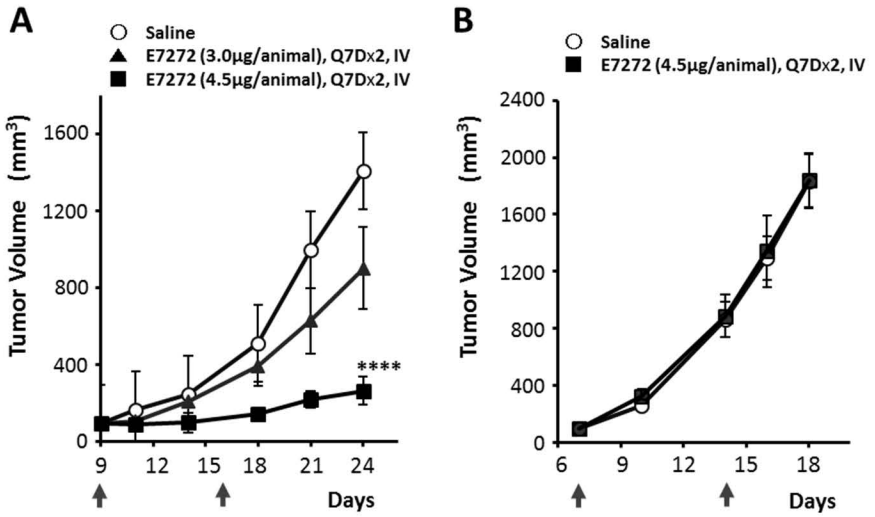


図 2.6.2-10　正常免疫マウス及び無胸腺マウスを用いた CT26 マウス結腸癌細胞株同種移植モデルにおける E7272 の腫瘍増殖抑制作用

A: 正常免疫マウス（BALB/c），　B: 無胸腺マウス（*Nu/Nu*）
各点は 10 例の平均値 ± 標準偏差を示す。横軸下の矢印は E7272 の投与日を示す。
Q7D×2 = 週 1 回 2 週間.
**** $P<0.0001$ Day 24 における媒体対照群との比較（対応のない t 検定).
データ引用元; 試験番号 PPC20[redacted]-07N (A)，PPC20[redacted]-08N (B)

2.6.2.2.15　B16F10 マウスメラノーマ移植モデルにおける抗腫瘍効果（添付資料 4.2.1.1.18 [試験番号 PPC20[redacted]-09N〔参考〕]）

本試験では，B16F10 マウスメラノーマ細胞株移植モデルにおける E7272 の抗腫瘍効果を，正常免疫能を有する C57BL/6 マウスを用いた同種移植モデルで検討した。E7272 は IL-2R 陰性細胞株である B16F10 には直接の細胞傷害活性をもたないと考えられる。B16F10 細胞（1×10^5 cells）を雌 C57BL/6 マウスに皮下移植（Day 0）後，Day 8（平均の腫瘍体積は約 55 mm^3）に 1 群 7 例に分け，Day 10 より媒体対照あるいは E7272（4.5 μg/animal）を週 1 回 2 週間のスケジュールで静脈内投与した。腫瘍体積は週に 2 回測定し，E7272 投与群における腫瘍増殖抑制（媒体対照群との比較）をもって抗腫瘍効果を評価した。

図 2.6.2-11 に示すように，E7272（4.5 μg/animal）は，正常免疫マウスの B16F10 メラノーマ移植モデルにおいて，媒体対照に比べ有意な腫瘍増殖抑制作用を示した。

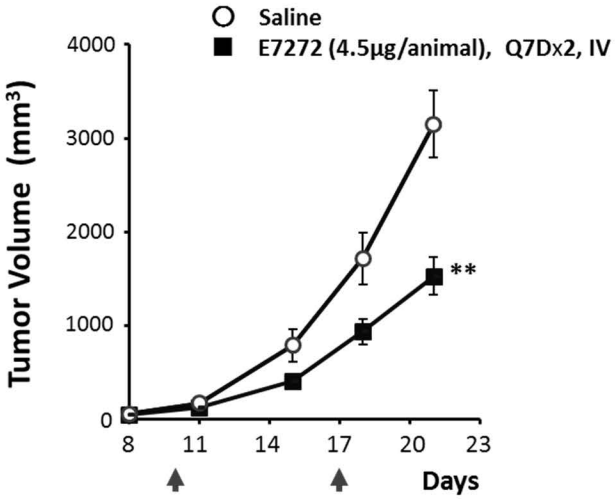


図 2.6.2-11　B16F10 マウスメラノーマ細胞株同種移植モデルにおける E7272 の腫瘍増殖抑制作用

各点は 7 例の平均値 ± 標準偏差を示す。横軸下の矢印は E7272 の投与日を示す。
Q7D×2 = 週 1 回 2 週間.
** $P < 0.01$ Day 21 における媒体対照群との比較 (対応のない t 検定).
データ引用元; 試験番号 PPC20[redacted]-09N

2.6.2.3 副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施していない

2.6.2.4 安全性薬理試験

2.6.2.4.1　中枢神経系への影響（添付資料 4.2.1.3.1 [試験番号[redacted]094 {参考}]）

本試験では，マウスの単回静脈内投与による中枢神経系に及ぼす影響を検討した。雄の CD-1 マウスに E7272 の 0（媒体），27，85，270 μg/kg（9～10 例/群）を単回静脈内投与した。投与後の観察は，歩行運動量及び歩行以外の運動量について計測した。

3 つの独立した赤外線検出器を Multi-Varimex（行動記録装置）と接続して記録した。行動量は E7272 の静脈内投与後，5 分間の累計を 15 分ごとに 1 時間まで計測し，歩行運動量（歩行運動あるいは横方向の動き）及び歩行以外の運動量（常同運動あるいは歩行以外の動き）を算出した。その結果，いずれの群においても，歩行運動量及び歩行以外の運動量における有意な変化はみられなかった。

2.6.2.4.2　心血管系への影響（添付資料 4.2.1.3.2 [試験番号[redacted]149 {参考}]）

本試験では，ラットの単回及び 5 日間反復静脈内投与による心血管系に及ぼす影響を検討した。雄の SD ラットに E7272 の 0（生理食塩液），14.8，53.2，149 μg/kg（4 例/群）を 5 日間投与した。投与初日と 5 日目に，投与 60 分前～投与 4 時間後まで連続して血圧（拡張期，収縮期及び平均動脈血圧）と心拍数を測定した。

投与初日，全ての E7272 投与群で収縮期血圧と平均動脈血圧がわずかに上昇したが，その変化

は 8 mmHg 程度であり，生理学的に有意な変化ではないと考えられた。E7272 の 149 μg/kg の反復投与により，4 例中 2 例が死亡した。生存した 2 例の 5 日目の血圧（収縮期，拡張期，及び平均動脈血圧）は対照群に比べて著しく低値（約 50%減少）であったが，その他の E7272 反復投与群において，血圧に影響はみられなかった。一方，全ての投与群で心拍数に影響は見られなかった。

2.6.2.4.3　腎機能への影響（添付資料 4.2.1.3.3 [試験番号 ■152 {参考}]）

本試験では，E7272 の腎機能に及ぼす影響を評価するため，ラットにおける糸球体ろ過量（GFR）及び腎血漿流量（RPF）が変化するかどうかを検討した。雌の SD ラットに E7272 の 25 μg/kg（10 例/群）を単回あるいは 10 日間静脈内投与した。対照群には生理食塩液を単回投与した。E7272 あるいは生理食塩液を単回，あるいは E7272 を 10 日間投与した 15 分後，GFR 及び RPF を測定するため半分の動物に ^{3}H-イヌリン，残り半分の動物に ^{14}C[カルボキシ]-p-アミノ馬尿酸を静脈内投与した。その後，頚静脈より 5 分～240 分後まで複数回採血し，血漿中の ^{3}H 及び ^{14}C 量をベータシンチレーションカウンターで測定した。

GFR は，生理食塩液の対照群と比べて E7272 単回投与後では 59%増加し，10 日間連投により 54%減少した。RPF は，単回投与後では 18%上昇し，10 日間連により 23%減少したが，いずれも統計学的に有意な差はみられなかった。

本試験と同じ投与量の E7272 連投により尿細管に病理学的変化を示すことが報告（試験番号 ■163）されており，10 日間連投後の RPF の減少は，この尿細管毒性と関連しているものと考えられた。一方，E7272 投与による糸球体の変化は報告されていないことから，GFR の低下は，腎血行動態の変化による二次的な変化と考えられた。E7272 の単回投与後に見られた GFR と RPF の上昇の原因は不明であるが，近位尿細管傷害との関連性が示唆された。

2.6.2.4.4　呼吸器系への影響（添付資料 4.2.3.2.10 [試験番号 ■067 {参考}]，添付資料 4.2.3.2.11 [試験番号 ■107 {参考}]）

E7272 の呼吸器系への影響については，E7272 のサルを用いた 14 日間反復投与毒性試験（報告書番号：■067［参考］），2 週あるいは 4 週間反復投与及び 6 週間間歇反復投与毒性試験（報告書番号：■107［参考］）の中で評価し，E7272 投与による影響はみられなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない

2.6.2.6 考察及び結論

DD は標的腫瘍細胞の IL-2R と特異的に結合し抗腫瘍効果を示すように設計された薬剤であり，Met_1 の後にジフテリア毒素（DT）の部分配列 Gly_2-Thr_{387}（DT ドメイン）とヒトインターロイキン-2（IL-2）の全配列 Ala_{389}-Thr_{521}（IL-2 ドメイン）を His_{388} で繋げたアミノ酸残基 521 個の遺伝子組換え融合タンパク質である（Williams, et al., 1987; Bacha, et al., 1988）。

DD はその IL-2 ドメインによって IL-2R に結合後，エンドサイトーシスにより細胞内エンドソ

ームに取り込まれ，スブチリシン様セリンエンドプロテアーゼであるフューリン等の細胞内プロテアーゼにより DT ドメインから ADP リボシル化酵素活性を有する N 末端断片が切り出されると考えられる（Tsuneoka, et al., 1993）。その後，エンドソームの酸性環境下で立体構造変化が起き，これによって N 末端断片の細胞質への移行が促進される。N 末端断片はタンパク質合成に重要な役割をはたしている EF-2 の ADP リボシル化を触媒し，その結果タンパク質合成が阻害され，最終的に細胞死がもたらされる（Williams, et al., 1987; Bacha, et al., 1988; vanderSpek, et al., 1993）。

IL-2R にはα（CD25），β（CD122），γ（CD132）の3つのサブユニットがあり，高親和性の IL-2R は α，β，γ の三量体，中親和性の IL-2R は β，γ の二量体から構成される（Takeshita, et al., 1992）。正常細胞では限られた免疫系細胞が IL-2R を発現しており，成熟 T 細胞は通常 βγ 型を，また免疫刺激で活性化したときはαが一過的に産生されて αβγ 型の IL-2R を発現する。Treg は恒常的に αβγ 型の IL-2R を発現している（Létourneau, et al., 2009）。成熟 T 細胞由来悪性腫瘍の多くは αβγ 型あるいは βγ 型の IL-2R を発現しており，ヒト皮膚 T 細胞性リンパ腫等では α が血中に遊離した可溶性 IL-2R が経過観察の指標になっている（Vonderheid, et al., 1998; Morris and Waldmann, 2000）。IL-2 は αβγ 型と βγ 型の IL-2R に結合しシグナル伝達を惹起する（Waldmann, 1991; Takeshita, et al., 1992; Yu, et al., 2000）。リガンド受容体複合体のエンドサイトーシスの過程で α は初期に IL-2 から遊離して細胞表面に戻るが，β と γ はエンドソームへの移行まで IL-2 の取り込みをサポートしている（Hémar, et al., 1995）。従って DD はその IL-2 ドメインによって αβγ 型，βγ 型いずれの IL-2R を発現している細胞にも取り込まれ，細胞死を誘導することが期待される。

DD の主薬効薬理試験は E7272 を用いて実施した。

ヒト皮膚 T 細胞性リンパ腫を含む 22 種のがん細胞株パネルに対する E7272 の細胞傷害作用をタンパク質合成に対する IC_{50} 値として求めた。E7272 は，αβγ 型（高親和性）IL-2R を発現しているヒト皮膚 T 細胞性リンパ腫等の血液がん細胞株に対して 10^{-12}～10^{-11} mol/L の IC_{50} 値を，βγ 型（中親和性）IL-2R を発現しているヒト皮膚 T 細胞性リンパ腫等の血液がん細胞株に対しては 10^{-10}～10^{-9} mol/L の IC_{50} 値を，また β と γ を発現しているが β の発現が低値であったがん細胞株 4 株に対しては 10^{-9}～>10^{-7} mol/L の IC_{50} 値を示した。α と γ のみを発現しているがん細胞株 1 株及び IL-2R 陰性（γ のみ発現及び αβγ のいずれも発現していない）細胞 9 株に対する IC_{50} 値はいずれも>10^{-7} mol/L であった。抗 CD3 抗体で活性化し高親和性 IL-2R を発現させたヒト PBMCs 及び中親和性 IL-2R を発現している休止期 PBMCs に対する IC_{50} 値はそれぞれ 10^{-12} mol/L 及び約 10^{-7} mol/L であった。高親和性 IL-2R 発現細胞を用いた各種試験により，E7272 の細胞傷害活性は，DD 分子の IL-2 ドメインと DT ドメインの両者に依存すること，IL-2 ドメインは標的細胞の IL-2R への特異的結合とそれに続く細胞内への移行に，また DT ドメインは細胞内で EF-2 を ADP リボシル化することによりタンパク質合成阻害に寄与していることが確認された。

各種マウスリンパ腫細胞株を C57BL/6 マウスに移植した同種リンパ腫モデルにおいて，E7272（1 日 1 回 10 日間静脈内投与）の抗腫瘍効果を，主に生存日数延長で評価した。高親和性 IL-2R

を発現している CP3 マウスリンパ腫細胞株を移植したリンパ腫モデル（Bacha, et al., 1991）において，E7272（7，15，30，60 μg/kg）は 30 μg/kg まで良好な忍容性を示し，全ての用量で有意な抗腫瘍効果を示した。本モデルにおいて，DD 製剤を構成している 2 種類の [redacted] 変化体H* 及び変化体C*（それぞれ 30 μg/kg）の抗腫瘍効果を E7272 と比較したところ，[redacted] ＞ [redacted] ＞ [redacted] の順で強い効果を示した。E7272（30，60 μg/kg）は，DT 免疫マウス（同じ条件で DT を投与した予備検討群の血液中に力価 1～2 の抗 DT 抗体が確認されている）を用いた CP3 リンパ腫モデルにおいても有意な抗腫瘍効果を示した。中親和性 IL-2R を発現している EL-4 マウスリンパ腫細胞株を移植したリンパ腫モデルにおいて E7272（30，40 μg/kg）は，有意な抗腫瘍効果を示したが，IL-2R 陰性の P388 マウス白血病細胞株を DBA/2 マウスに移植した白血病モデルに対して E7272（30 μg/kg）は有意な抗腫瘍効果を示さなかった。以上非臨床モデルの結果は DD が αβγ 型（高親和性）あるいは βγ 型（中親和性）の IL-2R を発現するリンパ腫に対し，細胞傷害作用に基づく抗腫瘍効果を発揮することを示し，DD が α（CD25）陽性のみならず α（CD25）低発現の T 細胞性リンパ腫に対しても抗腫瘍効果を発揮するという臨床結果を支持した（Prince, et al., 2013）。

T 細胞集団には，恒常的に高親和性 IL-2R を発現している α（CD25）陽性のサブセット Treg が存在する。Treg は免疫応答を負に制御して免疫恒常性の維持に重要な役割を担っているが，多くのがん腫において腫瘍組織内 Treg の集積が予後不良因子となり，Treg が腫瘍免疫の担い手である細胞傷害性 T 細胞等の働きを抑制することが報告されている（Curiel, et al., 2004; Létourneau, et al., 2009）。ヒト PBMCs あるいはマウス脾臓細胞に E7272（0.57～47 nmol/L あるいは 0.17～57 nmol/L）を加えて培養すると，これら細胞集団の中で Treg 画分の選択的減少が E7272 の濃度依存的に認められた。また E7272（5.2～170 nmol/L）はマウス Treg の活性（CD4 陽性 T 細胞増殖抑制作用）を濃度依存的に抑制した。このことより，DD が宿主 T 細胞のなかから免疫抑制的に働く Treg を選択的に除去することを通じて抗腫瘍免疫を活性化させる可能性が考えられた（Litzinger, et al., 2007; Morse, et al., 2008）。E7272（4.5 μg/animal，週 1 回 2 週間静脈内投与）は，IL-2R 陰性の CT26 マウス結腸癌細胞株を BALB/c マウスに移植した同種移植モデルに対し，腫瘍増殖抑制作用を示したが，同細胞株を T 細胞が欠損している無胸腺（*Nu/Nu*）マウスに移植したモデルでは腫瘍増殖抑制作用を示さなかった。このことは E7272 が宿主の T 細胞依存に抗腫瘍効果を発揮していることを示唆した。以上のことから DD はリンパ腫以外の IL-2R 陰性の各種がんに対しても Treg 除去作用に基づく抗腫瘍効果を発揮する可能性が考えられた（Knutson, et al., 2006; Dang, et al., 2007; Litzinger, et al., 2007; Morse, et al., 2008; Rasku, et al., 2008）。

E7272 をマウス，ラット，あるいはサルに単回あるいは反復静脈内投与し，中枢神経系，心血管系，呼吸器系への影響を評価したところ，E7272 の直接的な影響はみられなかった。

腎機能に対する E7272 の影響をラットにおいて検討したところ，10 日間投与で糸球体ろ過量の減少がみられた。しかし，糸球体ろ過量の減少は E7272 の直接的な影響というよりむしろ腎血行動態の変化に関連したものと考えられた。

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.2.7 図表

薬理試験の概要文中の図表は，本文中の適切な箇所に記載した。

2.6.2.8 参考文献

Bacha P, Williams DP, Waters C, Williams JM, Murphy JR, Strom TB. Interleukin 2 receptor-targeted cytotoxicity. Interleukin 2 receptor-mediated action of a diphtheria toxin-related interleukin 2 fusion protein. J Exp Med. 1988;167(2):612–22.

Bacha PA, Forte SE, McCarthy DM, Estis L, Yamada G, Nichols JC. Impact of interleukin-2-receptor-targeted cytotoxins on a unique model of murine interleukin-2-receptor-expressing malignancy. Int J Cancer. 1991;49(1):96–101.

Curiel TJ, Coukos G, Zou L, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. Nature Med. 2004;10(9):942–9. Epub 2004 Aug 22.

Dang NH, Pro B, Hagemeister FB, Samaniego F, Jones D, Samuels BI, et al. Phase II trial of denileukin diftitox for relapsed/refractory T-cell non-Hodgkin lymphoma. Br J Haematol. 2007;136(3):439–47.

Hémar A, Subtil A, Lieb M, Morelon E, Hellio R, Dautry-Varsat A. Endocytosis of interleukin 2 receptors in human T lymphocytes: Distinct intracellular localization and fate of the receptor α, β, and γ chains. J Cell Biol. 1995;129(1):55–64.

Knutson KL, Dang Y, Lu H, Lukas J, Almand B, Gad E, et al. IL-2 immunotoxin therapy modulates tumor-associated regulatory T cells and leads to lasting immune-mediated rejection of breast cancers in neu-transgenic mice. J Immunol. 2006;177(1):84–91.

Létourneau S, Krieg C, Pantaleo G, Boyman O. IL-2- and CD25-dependent immunoregulatory mechanisms in the homeostasis of T-cell subsets. J Allergy Clin Immunol. 2009;123(4):758–62.

Litzinger MT, Fernando R, Curiel TJ, Grosenbach DW, Schlom J, Palena C. IL-2 immunotoxin denileukin diftitox reduces regulatory T cells and enhances vaccine-mediated T-cell immunity. Blood. 2007;110(9):3192–201.

Morris JC, Waldmann TA. Advances in interleukin 2 receptor targeted treatment. Ann Rheum Dis. 2000;59 Suppl 1:i109–14.

Morse MA, Hobeika AC, Osada T, Serra D, Niedzwiecki D, Lyerly HK, et al. Depletion of human regulatory T cells specifically enhances antigen-specific immune responses to cancer vaccines. Blood. 2008;112(3):610–8.

Prince HM, Martin AG, Olsen EA, Fivenson DP, Duvic M. Denileukin diftitox for the treatment of CD25 low-expression mycosis fungoides and Sézary syndrome. Leuk Lymphoma. 2013;54(1):69–75.

Rasku MA, Clem AL, Telang S, Taft B, Gettings K, Gragg H, et al. Transient T cell depletion causes regression of melanoma metastases. J Transl Med. 2008;6:12.

Robb RJ, Greene WC. Internalization of interleukin 2 is mediated by the β chain of the high-affinity interleukin 2 receptor. J Exp Med. 1987;165(4):1201–6.

Takeshita T, Asao H, Ohtani K, Ishii N, Kumaki S, Tanaka N, et al. Cloning of the γ chain of the human IL-2 receptor. Science. 1992;257(5068):379–82.

Tsuneoka M, Nakayama K, Hatsuzawa K, Komada M, Kitamura N, Mekada E. Evidence for involvement of furin in cleavage and activation of diphtheria toxin. J Biol Chem.1993;268:26461–5.

vanderSpek JC, Mindell JA, Finkelstein A, Murphy JR. Structure/function analysis of the transmembrane domain of DAB389-interleukin-2, an interleukin-2 receptor-targeted fusion toxin. .J Biol Chem. 1993;268(16):12077–82.

Vonderheid EC, Zhang Q, Lessin SR, Polansky M, Abrams JT, Bigler RD, et al. Use of serum soluble interleukin-2 receptor levels to monitor the progression of cutaneous T-cell lymphoma. J Am Acad Dermatol. 1998;38:207–20.

Waldmann TA. The interleukin-2 receptor. J Biol Chem. 1991;266(5):2681–4.

Williams DP, Parker K, Bacha P, Bishai W, Borowski M, Genbauffe F,et al. Diphtheria toxin receptor binding domain substitution with interleukin-2: genetic construction and properties of a diphtheria toxin-related interleukin-2 fusion protein. Protein Eng. 1987;1(6):493–8.

Yu A, Olosz F, Choi CY, Malek TR. Efficient internalization of IL-2 depends on the distal portion of the cytoplasmic tail of the IL-2R common γ-chain and a lymphoid cell environment. J Immunol. 2000;165(5):2556–62.

目次

2.6.3 薬理試験概要表 2
2.6.3.1 薬理試験：一覧表 2
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 5
2.6.3.3 副次的薬理試験 13
2.6.3.4 安全性薬理試験 14
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 14

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

被験物質：デニロイキン　ジフチトクス（遺伝子組み換え）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
効力を裏付ける試験					
細胞傷害作用（IC_{50}）	ヒト，テナガザル／皮膚 T 細胞性リンパ腫を含む 22 種のがん細胞株パネル，PBMCs	in vitro	Medical University of South Carolina	Re et al, 1996	4.2.1.1.1
細胞傷害作用（IC_{50}，キネティクス）	ヒト／CD4 陽性 T 細胞，CD8 陽性 T 細胞	in vitro	[redacted]	[redacted]154	4.2.1.1.2
細胞傷害作用（IC_{50}）	ヒト／CD4 陽性 T 細胞，CD8 陽性 T 細胞	in vitro	[redacted]	[redacted]148	4.2.1.1.3
細胞傷害作用（キネティクス）	ヒト／C91/PL	in vitro	[redacted]	[redacted]084	4.2.1.1.4
細胞傷害作用（キネティクス，作用機序）	ヒト／C91/PL，HUT102/6TG，MT-2，HH，C8215	in vitro	[redacted]	[redacted]067	4.2.1.1.5
細胞傷害作用（キネティクス，作用機序）	ヒト／PBMCs	in vitro	[redacted]	[redacted]147	4.2.1.1.6
細胞傷害作用（キネティクス，作用機序）	ヒト／PBMCs	in vitro	[redacted]	[redacted]011	4.2.1.1.7
Treg に対する作用	ヒト／PBMCs	in vitro	[redacted]	PPC20[redacted]-06N	4.2.1.1.8
Treg に対する作用	マウス／$CD4^+$細胞（BALB/c マウスの脾臓より単離）	in vitro	[redacted]	PPC20[redacted]-04N	4.2.1.1.9

被験物質：デニロイキン　ジフチトクス（遺伝子組み換え）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
Treg に対する作用	マウス／$CD4^+CD25^+$細胞，$CD4^+CD25^-$細胞（BALB/c マウスの脾臓より単離）	in vitro	[redacted]	PPC20[redacted]-05N	4.2.1.1.10
CP3 リンパ腫モデルにおける抗腫瘍効果（用量依存，投与スケジュール）	マウス／C57BL/6 雌 マウス／CP3	IV	[redacted]	[redacted]012	4.2.1.1.11
CP3 リンパ腫モデルにおける抗腫瘍効果（投与スケジュール）	マウス／C57BL/6 雌 マウス／CP3	IV	[redacted]	[redacted]042	4.2.1.1.12
CP3 リンパ腫モデルにおける抗腫瘍効果（抗 DT 抗体の影響）	マウス／C57BL/6 雌 マウス／CP3	IV	[redacted]	[redacted]126	4.2.1.1.13
CP3 リンパ腫モデルにおける抗腫瘍効果（耐性の有無）	マウス／C57BL/6 雌 マウス／CP3	IV	[redacted]	[redacted]069	4.2.1.1.14
CP3 リンパ腫モデルにおける抗腫瘍効果（N 末バリアント）	マウス／C57BL/6 雌 マウス／CP3	IV	[redacted]	[redacted]162	4.2.3.7.7.4
CP3 リンパ腫，EL-4 リンパ腫，及び p388 白血病モデルにおける抗腫瘍効果	マウス／C57BL/6 雌 マウス／EL-4，p388	IV	[redacted]	[redacted]055	4.2.1.1.15
CT26 結腸癌同種移植モデルにおける抗腫瘍効果	マウス／BALB/c 雌 マウス／CT26	IV	[redacted]	PPC20[redacted]-07N	4.2.1.1.16
CT26 結腸癌同種移植モデルにおける抗腫瘍効果	マウス／*Nu/Nu* 雌 マウス／CT26	IV	[redacted]	PPC20[redacted]-08N	4.2.1.1.17
B16F10 メラノーマ同種移植モデルにおける抗腫瘍効果	マウス／C57BL/6 マウス／B16F10	IV	[redacted]	PPC20[redacted]-09N	4.2.1.1.18

安全性薬理試験

被験物質：デニロイキン　ジフチトクス（遺伝子組み換え）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
中枢神経系への影響	マウス／CD-1 雄	IV	[redacted]	[redacted]094	4.2.1.3.1
心血管系（血圧，心拍数）への影響	ラット／SD 雄	IV	[redacted]	[redacted]149	4.2.1.3.2
腎機能への影響	ラット／SD 雌	IV	[redacted]	[redacted]152	4.2.1.3.3

DT＝ ジフテリア毒素，IC_{50}＝50%阻害濃度，PBMCs＝ 末梢血単核球，SD＝Sprague Dauley，Treg＝ 制御性 T 細胞.

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

被検物質：デニロイキン　シフチトクス（遺伝子組み換え）

試験の種類	方法	種/ ストレイン	投与方法.	用量	結果	試験番号. (Section)
細胞傷害作用（細胞パネル）	IL-2R サブユニット α，β，γ の mRNA 発現をノザンブロッティングで解析。E7272 の細胞傷害作用を [^{14}C]ロイシンの取り込み阻害で測定。	ヒト，テナガザル／皮膚 T 細胞性リンパ腫を含む 22 種のがん細胞株パネル，PBMCs[a]	in vitro	E7272 10^{-16} – 10^{-12} mol/L	E7272 の IC_{50} 値は αβγ 型（高親和性）IL-2R を発現しているがん細胞 5 株に対し，10^{-12}～10^{-11} mol/L，βγ 型（中親和性）IL-2R を発現しているがん細胞 3 株に対し 10^{-10}～10^{-9} mol/L，β と γ を発現しているが β の発現が低値であったがん細胞 4 株に対し 10^{-9}～>10^{-7} mol/L，αγ 型（低親和性）IL-2R を発現あるいは IL-2R 陰性の細胞に対し>10^{-7} mol/L であった。高親和性 IL-2R を発現している活性化ヒト PBMCs 及び中親和性 IL-2R を発現している休止期 PBMCs に対する IC_{50} 値はそれぞれ 10^{-11} mol/L 及び約 10^{-7} mol/L であった。	Re et al,1996 (4.2.1.1.1)
細胞傷害作用（CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞）	CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞をマイトゲン（PHA あるいは抗 CD3 抗体）で活性化。細胞傷害作用を [^{14}C]ロイシンの取り込み阻害で測定。	ヒト／PBMCs から単離した CD4 陽性 T 細胞[a,b]，CD8 陽性 T 細胞[a,b]	in vitro	E7272 10^{-16} – 10^{-12} mol/L	PHA 72 時間処理で活性化した CD4 陽性 T 細胞及び CD8 陽性 T 細胞に対する E7272 の IC_{50} 値はそれぞれ 6.8 及び 3.8 pmol/L であった。抗 CD3 抗体 72 時間処理で活性化した CD4 陽性 T 細胞及び CD8 陽性 T 細胞に対する IC_{50} 値はともに 0.2 pmol/L であった。	[redacted]154 (4.2.1.1.2) [redacted]148 (4.2.1.1.3)

被検物質：デニロイキン　シフチトクス（遺伝子組み換え）

試験の種類	方法	種/ ストレイン	投与方法.	用量	結果	試験番号. (Section)
細胞傷害作用のキネティクス（IL-2Rへの結合親和性）	C91/PL 細胞の IL-2R への ^{125}I 標識 IL-2 の結合に対する E7272 の競合阻害を測定 。	ヒト／C91/PL	in vitro	E7272 10^{-16} – 10^{-12} mol/L	E7272 の競合阻害の K_i 値は 5.7×10^{-11} mol/L であった。非標識 IL-2（対照）の競合阻害の K_i 値は 3.0×10^{-13} mol/L であった。	[redacted]084 (4.2.1.1.4)
細胞傷害作用のキネティクス（細胞傷害作用発揮に要する時間）	E7272 を細胞に加えた後，0.5～360 分後に過剰の IL-2 添加により E7272 の IL-2R への新たな結合をブロック，引き続き 1 日間インキュベーション後，E7272 の細胞傷害作用を [^{14}C]ロイシンの取り込み阻害で測定。50%阻害に要する E7272 と細胞の最小接触時間（CT_{50}）を求めた。	ヒト／C91/PL, HUT102/6TG, MT-2，HH，C8215, PBMCs[a]，CD4 陽性 T 細胞[a]，CD8 陽性 T 細胞[a]	in vitro	E7272 0.26，0.87，8.7 又は 0.1，1，10 又は 0.01，0.1，1 nmol/L	E7272 の CT_{50} 値は，高親和型 IL-2R 発現細胞株（C91/PL, HUT102/6TG，MT-2）及び中親和型 IL-2R の発現細胞株（HH）に対し，8.7 nmol/L で 1～35 分，0.87 nmol/L で 18～270 分，0.26 nmol/L で 22～160 分であった。低親和性 IL-2R を発現する C8215 細胞に対しては，いずれの濃度でも>360 分であった。活性化 CD4 陽性 T 細胞[a]及び CD8 陽性 T 細胞[a]に対しては，1 nmol/L で 3 分未満，0.1 nmol/L で 5～11 分の CT_{50} 値を示した。	[redacted]067 (4.2.1.1.5) [redacted]147 (4.2.1.1.6) [redacted]154 (4.2.1.1.2)
細胞傷害作用のキネティクス（細胞傷害作用発揮に要する時間）	E7272 を細胞に加えた後，様々な時間後に細胞傷害作用を [^{14}C]ロイシンの取り込み阻害で測定。50%阻害に必要な E7272 処理時間（PT_{50}）を求めた。	ヒト／C91/PL，MT-2, HH，C8215，PBMCs[a]	in vitro	E7272 0.87，8.7 又は 1，10 nmol/L	E7272 の PT_{50} 値は，高親和型 IL-2R 発現細胞株（C91/PL，MT-2）及び中親和型 IL-2R の発現細胞株（HH）に対し，8.7 nmol/L で 0.6～2.6 時間，0.87 nmol/L で 3.0～3.4 時間であった。低親和性 IL-2R を発現する C8215 細胞に対しては，8.7 nmol/L で 5.4 時間，0.87 nmol/L で 9.9 時間であった。活性化 PBMCs[a]に対しては，1，10 nmol/L ともに 4 時間の PT_{50} 値を示した。	[redacted]067 (4.2.1.1.5) [redacted]147 (4.2.1.1.6)

被検物質：デニロイキン　シフチトクス（遺伝子組み換え）

試験の種類	方法	種/ ストレイン	投与方法.	用量	結果	試験番号. (Section)
細胞傷害の作用機序（ドメインの機能）	DD 構造変異体の細胞傷害作用を細胞の [^{14}C]ロイシンの取り込み阻害で測定。	ヒト／ C91/PL，PBMCs[a]	in vitro	E7272 $DA_{glu53}B_{389}$IL-2 DAB_{389}IL-$2_{\Delta 8-19}$ 希釈系列	IL-2R 結合能はあるが毒素の酵素活性が損なわれている $DA_{glu53}B_{389}$IL-2 及び IL-2R 結合能が損なわれているが毒素の酵素活性はある DAB_{389}IL-$2_{\Delta 8-19}$ の IC_{50} 値は，C91/PL，PBMCs[a] に対し 1000～10,000 pmol/L オーダーであった。この値は E7272 の IC_{50} 値の 2～4 桁上であった。	[redacted]147 (4.2.1.1.6)
細胞傷害の作用機序（IL-2R 依存性）	IL-2 あるいは IL-4（いずれも 10 nmol/L）の存在下で，E7272 の細胞傷害作用を細胞の [^{14}C]ロイシンの取り込み阻害で測定。	ヒト／ C91/PL，HUT102/6TG，MT-2，HH，C8215，PBMCs[a]	in vitro	E7272 希釈系列	E7272 の細胞傷害作用は，IL-2R の内因性リガンドである IL-2 の存在下で数十分の 1 に弱まったが，対照とした IL-4 の存在下では殆ど変わらなかった。	[redacted]067 (4.2.1.1.5) [redacted]147 (4.2.1.1.6)
細胞傷害の作用機序（細胞質内移行）	クロロキン（20～50 μmol/L）の存在下あるいは非存在下，E7272 の細胞傷害作用を細胞の [^{14}C]ロイシンの取り込み阻害で測定。	ヒト／ C91/PL，MT-2，HH，C8215，PBMCs[a]	in vitro	E7272 10～120 pmol/L（各細胞に対し，IC_{50} 値近傍の濃度）	E7272 添加における各細胞の[^{14}C]ロイシン取り込みは，クロロキン非存在下で 41%～53%，クロロキン存在下は，79%～110%と回復した（E7272 無添加を 100 とした）。E7272 による細胞傷害作用は，クロロキンによって減弱した。	[redacted]067 (4.2.1.1.5) [redacted]147 (4.2.1.1.6)
細胞傷害の作用機序（ADP リボシル化反応）	各種濃度の E7272 と前処理した細胞の溶解液に E7272 を加え，ADP リボシル化反応を標識 NAD の取り込みで測定。	ヒト／ C91/PL	in vitro	E7272 1～1000 pmol/L	前処理における E7272 の濃度依存的に，新たに E7272 を添加した際の ADP リボシル化反応が抑制された。100 pmol/L 以上の E7272 前処理で細胞内のほぼすべての EF-2 が ADP リボシル化されたことが示唆された。	[redacted]067 (4.2.1.1.5)

被検物質：デニロイキン　シフチトクス（遺伝子組み換え）

試験の種類	方法	種/ ストレイン	投与方法.	用量	結果	試験番号. (Section)
細胞傷害の作用機序（細胞死誘導）	E7272 の細胞傷害作用を細胞の [^{14}C]ロイシンの取り込み阻害で測定するとともに，生細胞数の減少をカラーメトリックアッセイで測定。	ヒト／ C91/PL, HUT102/6TG, MT-2，HH	in vitro	E7272 希釈系列	C91/PL，HUT102/6TG，MT-2，HH に対する E7272 の細胞傷害作用（1 日間培養）の IC_{50} 値はそれぞれ 8.7，5.2，200，95 pmol/L，また E7272 の生細胞数減少（3 日間培養）の IC_{50} 値はそれぞれ 10，21，100，87 pmol/L であった。両アッセイの IC_{50} 値は近似していた。	[redacted]067 (4.2.1.1.5) [redacted]011 (4.2.1.1.7)
細胞傷害の作用機序（細胞死誘導）	E7272 処理した細胞のアポトーシスを DNA fragment の測定により，またネクローシスを乳酸脱水素酵素の細胞外遊離により測定。	ヒト／ PBMCs[a]	in vitro	E7272 40，10,000 pmol/L	E7272 による細胞死は主としてアポトーシス，一部はネクローシスであった。	[redacted]011 (4.2.1.1.7)
Treg への作用（ヒト Treg 除去作用）	ヒト PBMCs を E7272 とともに培養後，PBMCs 中の Treg（$CD3^+CD4^+CD25^{high}FOXP3^{high}$ 画分）のポピュレーションをフローサイトメーターで測定。	ヒト／ PBMCs	in vitro	E7272 0.57，1.7，5.2，16，47 nmol/L	E7272（2 時間培養）はヒト PBMCs 中の Treg のポピュレーションを媒体対照に比べて濃度依存的に有意に減少させた。CD4 陽性 T 細胞全体の細胞数は培養中に若干増加していることより，E7272 の細胞除去作用は，PBMCs 中の Treg に対し選択的であった。	PPC20[redacted]-06N (4.2.1.1.8)

被検物質：デニロイキン　シフチトクス（遺伝子組み換え）

試験の種類	方法	種/ ストレイン	投与方法.	用量	結果	試験番号. (Section)
Treg への作用（マウス Treg 除去作用）	マウス脾臓の CD4 陽性 T 細胞を E7272 とともに培養後，Treg（$CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 画分）のポピュレーションとしてフローサイトメーターで測定。	マウス／$CD4^+$細胞（BALB/c マウスの脾臓より単離）	in vitro	E7272 0.17，0.52，1.7，5.2，17，52 nmol/L	E7272（1 時間培養）は，マウス脾臓 CD4 陽性 T 細胞中の Treg のポピュレーションを濃度依存的に減少した。CD4 陽性 T 細胞全体の細胞数は殆ど変化していないことより，E7272 の細胞除去作用は，マウス脾臓中の Treg に対して選択的であった。	PPC20[redacted]-04N (4.2.1.1.9)
Treg への作用（マウス Treg の機能阻害）	マウス脾臓から単離した Treg 画分（$CD4^+CD25^+$）を E7272 とともに 1 時間培養後，洗浄し，同じくマウス脾臓から単離したエフェクターT 細胞を含み Treg を含まない画分（$CD4^+CD25^-$，non-Treg エフェクターT 細胞画分）と混合し，さらに抗原提示細胞の代用として抗 CD3 抗体と抗 CD28 抗体をコートしたビーズを加えた。48 時間培養後，細胞増殖の度合いを $[^3H]$チミジンの取り込みにより測定した。	マウス／$CD4^+CD25^+$細胞，$CD4^+CD25^-$細胞（BALB/c マウスの脾臓より単離）	in vitro	E7272 5.2，17，52，170 nmol/L	マウス non-Treg エフェクターT 細胞画分をマウス Treg 画分（E7272 未処理）と混合すると，non-Treg エフェクターT 細胞画分単独の場合に比べ，抗体刺激によるエフェクターT 細胞の増殖が顕著に抑制された。一方，non-Treg エフェクターT 細胞画分を E7272 処理した Treg 画分と混合すると，E7272 の濃度依存的にエフェクターT 細胞の細胞増殖抑制が解除された。このことより，E7272 は Treg の「エフェクターT 細胞抑制作用を解除する機能」を阻害することが示唆された。	PPC20[redacted]-05N (4.2.1.1.10)

被検物質：デニロイキン　シフチトクス（遺伝子組み換え）

試験の種類	方法	種/ ストレイン	投与方法.	用量	結果	試験番号. (Section)
CP3 マウスリンパ腫モデル（高親和性 IL-2R を発現）における抗腫瘍効果（用量依存性）	CP3 細胞を尾静注し，その翌日（Day 1）より E7272 を投与，媒体対照群と比較してのリンパ腫発症日数延長と生存日数延長で抗腫瘍効果を評価した。	マウス／C57BL/6 雌 1 群 10 例 マウス／CP3	IV	E7272 7，15，30，60 μg/kg, QD×10	媒体対照群は細胞移植後平均 26 日でリンパ腫を発生，平均 30 日で死亡した。これに比較して E7272 投与群（7，15，30，60 μg/kg）ではリンパ腫発症がそれぞれ 17，47，59，59 日遅延した。また生存日数は 32，50，58，>60 日有意に延長した。忍容性は 30 μg/kg まで良好，60 μg/kg では一過性で顕著な BWL が認められた。	[redacted]012 (4.2.1.1.11)
CP3 マウスリンパ腫モデル（高親和性 IL-2R を発現）における抗腫瘍効果（投与スケジュール）	CP3 細胞を尾静注し，その翌日（Day 1）より E7272 を投与，媒体対照群と比較しての生存日数延長で抗腫瘍効果を評価した。	マウス／C57BL/6 雌 1 群 10 例 マウス／CP3	IV	E7272 30 μg/kg QD×10, QD×7, QD×5, QD×3, [QD×3]×3, [QD×5]×2	E7272 の QD×10 投与は媒体対照に比較し生存日数を 55 日あるいは 30 日有意に延長した。QD×10～3 では，投与日数の短縮とともに生存日数も短縮したが，QD×3 でも媒体対照群に比較して生存日数を 18 日有意に延長した。[QD×3]×3, [QD×5]×2 の投与（30 μg/kg）はいずれも QD×10 と同程度の生存日数延長を示した	[redacted]012 (4.2.1.1.11) [redacted]042 (4.2.1.1.12)

被検物質：デニロイキン　シフチトクス（遺伝子組み換え）

試験の種類	方法	種/ ストレイン	投与方法.	用量	結果	試験番号. (Section)
CP3 マウスリンパ腫モデル（高親和性 IL-2R を発現）における抗腫瘍効果（抗 DT 抗体の影響）	マウス 40 匹に DT（20 μg）を皮下注し，18 日後（Day 0）この内 10 匹のマウスについて血液中の抗 DT 抗体を測定したところ力価 1～2 の抗体が確認された。残る 30 匹に CP3 細胞を尾静注し，その翌日（Day 1）より E7272 を投与，媒体対照群と比較しての生存日数延長で抗腫瘍効果を評価した。	マウス／C57BL/6 雌 1 群 10 例 マウス／CP3	IV	E7272 30，60 μg/kg QD×10	DT 免疫マウスの CP3 リンパ腫モデルにおいて，E7272（30，60 μg/kg）は媒体対照群に比較して生存日数をそれぞれ 20 日，30 日有意に延長させた。対照とした非免疫マウスのリンパ腫モデルにおいて E7272（30 μg/kg）は媒体対照群に比較して生存日数を 54 日有意に延長した。	[redacted]126 (4.2.1.1.13)
CP3 マウスリンパ腫モデル（高親和性 IL-2R を発現）における抗腫瘍効果（耐性の有無）	CP3 リンパ腫瘍モデルの E7272 投与群でリンパ腫が形成されたリンパ節を採取し，その細胞を別のマウスに尾静注した（Day 0）。Day 6 より E7272 を投与，媒体対照群と比較してのリンパ腫発症日数延長と生存日数延長で抗腫瘍効果を評価した。	マウス／C57BL/6 雌 1 群 12 例 マウス／CP3	IV	E7272 30 μg/kg QD×10	E7272 投与群で形成されたリンパ腫の細胞を再移植したモデルにおいて，E7272 は媒体対照群に比較してリンパ腫発症を有意に抑制し，Day 60 までのリンパ腫発症率は媒体対照群 92%に対し，E7272 投与群では 41%であった。また，E7272 は媒体対照群に比較して生存日数を 34 日有意に延長した。	[redacted]069 (4.2.1.1.14)
CP3 マウスリンパ腫モデル（高親和性 IL-2R を発現）における抗腫瘍効果（[redacted]）	マウス CP3 細胞を尾静注し，その翌日（Day 1）より E7272，変化体H*，あるいは変化体C* を投与，媒体対照群と比較しての生存日数延長で抗腫瘍効果を評価した。	マウス／C57BL/6 雌 1 群 10 例 マウス／CP3	IV	E7272 変化体H* 変化体C* 30 μg/kg QD×10	E7272 投与群，変化体H* 投与群，変化体C* 投与群は媒体対照群に比較して生存日数をそれぞれ，37 日，[redacted] 日有意に延長させた。変化体H* は[redacted] 生存日数延長を示した。	[redacted]162 (4.2.3.7.7.4)

＊新薬承認情報提供時に置き換え

被検物質：デニロイキン　シフチトクス（遺伝子組み換え）

試験の種類	方法	種/ ストレイン	投与方法.	用量	結果	試験番号. (Section)
CP3 マウスリンパ腫モデル（高親和性 IL-2R を発現）における抗腫瘍効果（構造変異体）	マウス CP3 細胞を尾静注し，その翌日（Day 1）より E7272，$DA_{glu53}B_{389}IL\text{-}2$，あるいは $DAB_{389}IL\text{-}2_{\Delta 8\text{–}19}$ を投与，媒体対照群と比較してのリンパ腫発症日数延長と生存日数延長で抗腫瘍効果を評価した。	マウス／ C57BL/6 雌 1 群 9～10 例 マウス／ CP3	IV	E7272 $DA_{glu53}B_{389}IL\text{-}2$, $DAB_{389}IL\text{-}2_{\Delta 8\text{–}19}$ 30 μg/kg QD×10	$DA_{glu53}B_{389}IL\text{-}2$（IL-2R 結合能はあるが毒素の酵素活性が損なわれている），及び $DAB_{389}IL\text{-}2_{\Delta 8\text{–}19}$（IL-2R 結合能が損なわれているが毒素の酵素活性はある）はいずれも媒体対照群に比較して有意な生存日数延長を示さなかった。E7272 は媒体対照群に比較して生存日数を >60 日延長した。	[redacted]055 (4.2.1.1.15)
EL-4 マウスリンパ腫モデル（中親和性 IL-2R を発現）及び P388 マウス白血病モデル（IL-2R 陰性）における抗腫瘍効果	EL-4 細胞あるい P388 細胞を尾静注し，その翌日（Day 1）より E7272，$DA_{glu53}B_{389}IL\text{-}2$，あるいは $DAB_{389}IL\text{-}2_{\Delta 8\text{–}19}$ を投与，媒体対照群と比較してのリンパ腫発症日数延長と生存日数延長で抗腫瘍効果を評価した。	マウス／ C57BL/6 雌 1 群 10～11 例 マウス／ EL-4, P388	IV	E7272 30，40 μg/kg QD×10 E7272 30 μg/kg QD×10	EL-4 リンパ腫モデル； E7272 は 3 回の独立した試験でいずれも媒体対照群に比較して有意に生存日数を増加させた（40 μg/kg 投与で>13 日延長，30 μg/kg 投与で 4 日延長，30 μg/kg 投与で 54 日延長）。 P388 白血病モデル； E7272（30 μg/kg）は媒体対照群に比較して有意な生存日数延長を示さなかった。	[redacted]055 (4.2.1.1.15)
CT26 マウス結腸癌同種移植モデルにおける抗腫瘍効果	CT26 細胞を免疫能が正常なマウスに皮下移植してマウス同種移植モデルを作製。腫瘍体積を週 2 回測定。	マウス／ BALB/c 雌 1 群 10 例 マウス／ CT26	IV	E7272 3.0，4.5 μg/animal Q7D×2	E7272 は用量依存的に媒体対照群に比較して有意な腫瘍増殖抑制を示した。	PPC20[redacted]-07N (4.2.1.1.16)

被検物質：デニロイキン　シフチトクス（遺伝子組み換え）

試験の種類	方法	種/ ストレイン	投与方法.	用量	結果	試験番号. (Section)
CT26 マウス結腸癌モデルにおける抗腫瘍効果	CT26 細胞を無胸腺マウスに皮下移植してマウス同種移植モデルを作製。腫瘍体積を週 2 回測定。	マウス／*Nu/Nu* 雌 1 群 10 例 マウス／CT26	IV	E7272 4.5 µg/animal, Q7D×2	E7272 は無胸腺マウスのモデルにおいては腫瘍増殖抑制を示さなかった。	PPC20[redacted]-08N (4.2.1.1.17)
B16F10 マウスメラノーマモデルにおける抗腫瘍効果	B16F10 細胞を免疫能が正常なマウスに皮下移植してマウス同種移植モデルを作製。腫瘍体積を週 2 回測定。	マウス／C57BL/6 1 群 7 例 マウス／B16F10	IV	E7272 4.5 µg/animal, Q7D×2	E7272 は媒体対照群に比較して有意な腫瘍増殖抑制を示した。	PPC20[redacted]-09N (4.2.1.1.18)

a: 抗 CD3 抗体で活性化　b: PHA で活性化

ADP＝ アデノシン二リン酸，BWL＝ 体重減少，CT_{50} = 50%阻害に要する最小接触時間，IC_{50} = 50%阻害濃度，IL-2＝ インターロイキン-2，IL-2R＝ インターロイキン-2 受容体，K_i = 阻害定数，mRNA＝ メッセンジャーRNA，NAD＝ ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド，PBMCs＝ 末梢血単核球，PHA＝ フィトヘマグルチニン，PT_{50}＝50%阻害に要する処理時間，QD×n＝1 日 1 回 n 日間，Q7D×2＝ 週 1 回 2 週間，[QD×n] ×m＝ 週 n 回投与を m 週間，Treg＝ 制御性 T 細胞.

2.6.3.3 副次的薬理試験

該当なし

2.6.3.4 安全性薬理試験

試験の種類	方法	種/系統	投与方法	用量	結果	Study No. (Section)
中枢神経系への影響	歩行運動量及び歩行以外の運動量について Multi-Varimex（行動記録装置）を用いて計測	マウス/CD-1, 雄，1 群 9～10 例	IV	27, 85, 270 µg/kg	いずれの群においても，有意な変化はみられなかった。	[redacted]094 (4.2.1.3.1)
心血管系（血圧と心拍数）への影響	投与初日と 5 日目に，投与 60 分前～投与 4 時間後まで連続して血圧（拡張期，収縮期及び平均動脈血圧）と心拍数を測定	ラット/SD, 雄，1 群 4 例	IV	14.8, 53.2, 149 µg/kg	149 µg/kg の反復投与により，4 例中 2 例が死亡した。生存した 2 例の 5 日目の血圧（収縮期，拡張期，及び平均動脈血圧）は対照群に比べて著しく低値（約 50%減少）であった。その他の反復投与群において，血圧並びに心拍数に影響はみられなかった。	[redacted]149 (4.2.1.3.2)
腎機能への影響	E7272 あるいは生理食塩液を単回，あるいは E7272 を 10 日間投与し，糸球体ろ過量及び腎血漿流量を測定した。	ラット/SD, 雌，1 群 10 例	IV	25 µg/kg	10 日間投与により腎血行動態の変化に伴う二次的な変化として糸球体ろ過量の減少がみられたが，いずれも統計学的有意差は無かった。	[redacted]152 (4.2.1.3.3)

SD = Sprague Dauley

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当なし