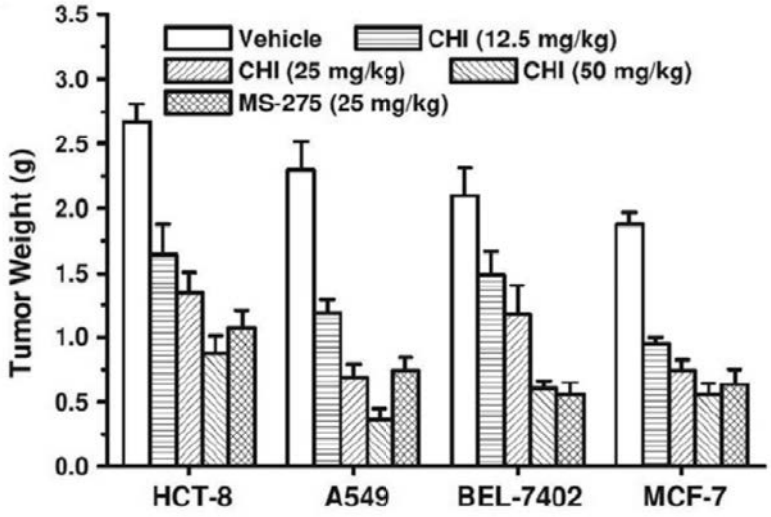
がん BEL-7402 細胞及びヒト乳がん MCF-7 細胞ゼノグラフトモデルにおいても観察された（図 2.6.2-21）。全 4 種のヒト固形がん由来細胞ゼノグラフトモデルにおいて、HBI-8000 の用量 50 mg/kg での有効性は、entinostat（MS-275）の用量 25 mg/kg と同等、又はそれ以上であった。

図 2.6.2-21 ヒト腫瘍細胞ゼノグラフトモデルにおける HBI-8000 の *In Vivo* での抗腫瘍効果



CHI = chidamide
CHI = HBI-8000、MS-275 = entinostat
ヒト結腸がん HCT-8 細胞、ヒト肺がん A549 細胞、ヒト肝がん BEL-7402 細胞及びヒト乳がん MCF-7 細胞を移植したヌードマウスに CHI 又は MS-275 を上述のように投与し、試験の終了時点でマウスを安楽死させ、各マウスについて腫瘍重量を測定した。各群には 8～10 匹のマウスを用いた。
原典: Ning 2012 – Fig. 2c

2.6.2.2.4.2 ヒト結腸がん HCT-8 細胞ゼノグラフトモデルに HBI-8000 を異なる投与間隔で投与したときの有効性（試験番号 CXHB0801220）

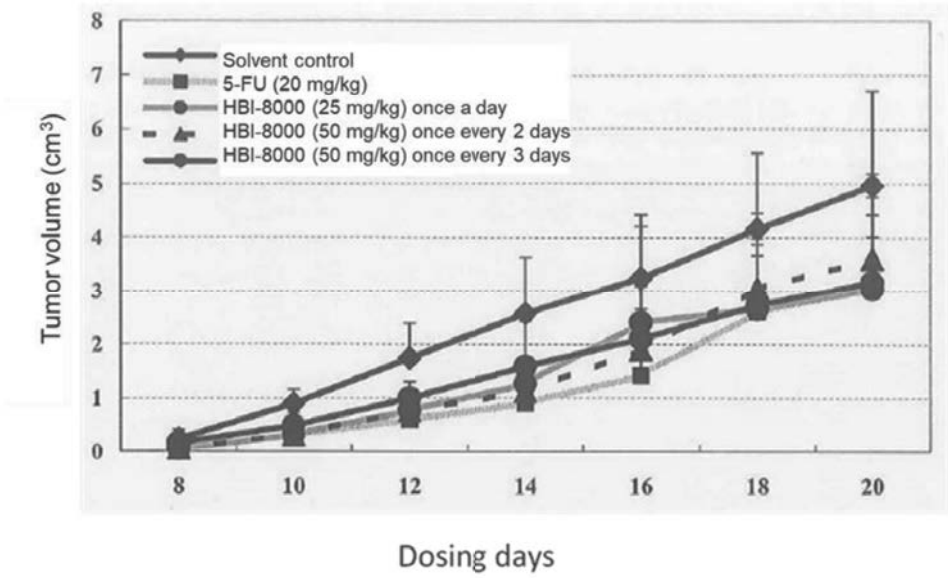
参考資料[4.2.1.1-3] CXHB0801220

HBI-8000 は、ヒト腫瘍由来細胞ゼノグラフトヌードマウスにおいて 1 日 1 回投与による抗腫瘍効果を示したこと（試験番号 CXHL0502435）に加え、動物において持続的な血漿中濃度推移を示したこと（2.6.4 薬物動態概要文、2.6.4.3.1 項参照）より、臨床における投与スケジュールのデザインの参考にするため、HBI-8000 を間歇投与したときの抗腫瘍効果を評価した（試験番号 CXHB0801220）。

本試験では、雄のヌードマウス（15～17 g、50 匹）に、ヒト結腸がん HCT-8 細胞移植後、10 匹／群、5 群（3 つの HBI-8000 投与群、陽性対照薬剤 5-FU 群及び溶媒対照群）に無作為割付けし、投与期間は 20 日間とした。腫瘍移植後 3 日目に投与を開始し、最終投与翌日（1 日 1 回 25 mg/kg 投与群、2 日に 1 回 50 mg/kg 投与群及び 5-FU 投与群）又は 2 日目（3 日に 1 回 50 mg/kg 投与群）に動物を安楽死させ、腫瘍重量を測定して以下の式で各群の腫瘍増殖抑制率を算出した：[（対照群の平均腫瘍重量－投与群の平均腫瘍重量）／対照群の平均腫瘍重量]×100%。また、腫瘍重量のデータを用いて *t* 検定を行った。投与開始後 8 日目から 2 日に 1 回腫瘍サイズを測定し、体積を算出した。

投与開始後 8 日目～20 日目における各群の腫瘍体積の経時的変化を図 2.6.2-22 に示す。

図 2.6.2-22 ヌードマウスに移植した HCT-8 の腫瘍体積に及ぼす HBI-8000 の投与間隔の影響の経時的曲線



5-FU = 5-fluorouracil
原典: CXHB0801220 – Figure 1

本試験結果から、HBI-8000 を 2～3 日間隔で投与したときでも有意な抗腫瘍効果が示された。総投与量が等しい場合、2 日に 1 回 50 mg/kg 投与の効果は、基本的に 1 日 1 回 25 mg/kg の効果に等しく、3 日に 1 回投与（総投与量は 1 日 1 回投与の 70%に相当）の場合でも、ほぼ同等の腫瘍増殖抑制効果が維持された。

2.6.2.3 副次的薬理試験

HBI-8000 についての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 *In Vitro* での安全性薬理試験

2.6.2.4.1.1 ヒト胎児腎細胞で発現したクローン化 hERG カリウムチャネルに対する HBI-8000 の影響（試験番号 080415.IVZ）

評価資料[4.2.1.3-1] 080415.IVZ

hERG（ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子）チャネル電流（急速活性化遅延整流カリウムチャネルである IKr のサロゲート [Redfern 2003]）に対する HBI-8000 の影響を *in vitro* で評価した。5 μM の HBI-8000 による hERG 電流の阻害は（平均値 ± 平均値の標準誤差[SEM]）2.5 ± 0.7%（n = 3）であったが、溶媒対照による阻害は 0.2 ± 0.1%（n = 3）であった。溶媒対照群の値と比較して、5 μM の HBI-8000 による hERG 阻害は統計的に有意であった（$P < 0.05$）。溶解度限界のため、HBI-8000 の hERG カリウム電流に対する阻害作用の IC_{50} は求められなかったが、5 μM を上回っていた。このため、本試験条件下では、HBI-8000 には hERG 電流に対する毒性学的意義がある阻害作用はないと判断された。

同一条件下で、陽性対照（60 nM のテルフェナジン）による hERG カリウム電流の阻害は（平

均値 ± 標準偏差 [SD]）78.1±4.5%（n＝2）であった。この結果により、hERG 阻害に対する試験系の感度が確認された。

2.6.2.4.2 一般毒性試験における *In Vivo* 安全性薬理評価

Sprague-Dawley 系ラット（試験番号 1512-002 及び 20092736）並びにビーグル犬（試験番号 1515-001 及び 20092737）を用いた 4 週間（28 日間）及び 13 週間（90 日間）GLP 適合の毒性試験におけるケージ外からの観察、詳細な一般状態観察、及び機能観察総合評価法（FOB）に基づき、HBI-8000 の *in vivo* 安全性薬理を評価した。

2.6.2.4.2.1 ラットにおける HBI-8000 の 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復試験（試験番号 1515-002）

評価資料[4.2.3.2-2] 1515-002

雌雄の Sprague-Dawley 系ラットに HBI-8000 を 2 日に 1 回 4 週間経口投与、4 週間回復期間とする GLP 適合の 4 週間経口投与毒性試験を実施した。雄（n＝15／投与群）及び雌（n＝15／投与群）のラットに 9、18、又は 36 mg/kg の HBI-8000 を強制経口投与した。28 日目にラット 10 匹／性／群を安楽殺した。残りの 5 匹／性／群には 4 週間の回復期間を設定した。

試験期間中、全ての動物に対して病的状態、死亡、外傷及び摂餌・摂水の状況を 1 日 2 回観察した。

本試験の各動物について週 1 回詳細な一般状態観察を実施した。全ての動物について-7 日目に投与期間前の一般状態観察を実施した。皮膚、被毛、眼、耳、鼻、口腔、胸部、腹部、外性器、四肢、呼吸器系及び心血管系に対する影響、流涎などの自律神経系に対する影響、並びに振戦、痙攣、ハンドリングへの反応及び異常行動などの神経系に対する影響を観察した。

機能観察総合評価法（FOB）は、盲検下で実施した。FOB は本試験の主試験動物全てに対し、投与期間前、及び投与期間中は週 1 回、投与約 1 時間後に、ホームケージ内、ハンドリング時、オープンフィールド内などにおいて実施した。オープンフィールド内での評価は、20 × 20 × 8 インチ（51 × 51 × 20 cm）の黒色プレキシガラス ™ 製観察ボックスに入れた動物を 3 分間以上観察した。FOB の観察項目は Moser（Moser 1988; Moser 1996）に基づいて実施した。活動及び覚醒状態、姿勢、立ち上がり回数、異常行動、間代性及び強直性運動、歩行、運動量、常同行動、正向反射、刺激（接近、クリック音、尾の痛覚、及び接触）への反応、閉眼、瞳孔反応、立毛、眼球突出、流涙、流涎及び呼吸などの観察項目を評価した。また、排便及び排尿の量、定性的／定量的測定値を記録した。四肢の握力は Edward and Parker（Edwards 1977）の記載に基づき測定した。痛覚は Ankier（Ankier 1974）の記載に基づき、52 ± 1°C に設定したホットプレート上の各動物の痛覚（熱）刺激に対する反応潜時の測定によって評価した。また、体重及び体温を測定した。

中枢神経系に対する影響

いずれの用量においても、一般状態観察で被験物質投与に関連する所見は認められなかった。認められた一般状態所見は、対照動物にも低頻度で発現又は存在が認められたため、被験物質に関連しないと判断された。

対照群と比較して認められた体重減少を除き、FOB に被験物質投与に関連する所見はなかった。感覚運動神経系及び自律神経系に関連する測定項目に被験物質投与に関連する所見はなかった。

呼吸器系に対する影響

ケージ外からの観察、詳細な一般状態観察及び FOB の結果、HBI-8000 に起因する呼吸器系に対する影響は認められなかった。

2.6.2.4.2.2 ラットにおける HBI-8000 の 13 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復試験（試験番号 20092736）

評価資料[4.2.3.2-3] 20092736

雄（n = 15／投与群）及び雌（n = 15／投与群）の Sprague-Dawley 系ラットに HBI-8000 を 2 日に 1 回投与 13 週間経口投与、4 週間回復期間とする GLP 適合の 13 週間経口投与毒性試験を実施した。ラットには 3、9、又は 27 mg/kg の HBI-8000 を強制経口投与した。90 日目にラット 10 匹／性／群を安楽殺した。残りの 5 匹／性／群には 4 週間の回復期間を設定した。

本主試験では、以下の測定及び観察項目を評価した：一般状態、体重、体重増加量、摂餌量、FOB、眼科学的検査、臨床病理学的検査（血液学的検査、血液凝固検査、臨床化学的検査及び尿検査）、トキシコキネティクス、剖検、臓器重量、並びに病理組織学的検査。

ケージ外からの観察は、毎日 1 回、投与期間 1 週前から開始して投与期間及び回復期間中継続し、投与日には投与後 1～3 時間に実施した。投与開始前から回復期間を通じ、詳細な一般状態観察を実施した日には、ケージ外からの観察は実施しなかった。投与期間 1 週前から開始して少なくとも週 1 回、動物をケージから取り出して、詳細な一般状態観察を実施した。

FOB は、5 匹／性／群及び主試験での代替動物に対して、投与期間前（-7 日目）、投与期間中には週 1 回（1、9、15、23、29、37、43、51、57、65、75、79 及び 85 日目）、投与後 1 時間時点で実施した。評価は盲検下で実施した（動物の投与群は特定されなかった）。

FOB では以下の項目を評価した：ホームケージ内での観察（姿勢、不随意運動［間代性及び強直性］、及び泣鳴）、ホームケージ外での観察（取り出し易さ、ハンドリング時の反応、流涙、閉眼、流涎、及び立毛）、オープンフィールド内観察（不随意運動［間代性及び強直性］、歩行スコア、異常歩行、運動スコア、覚醒状態、常同行動、異常行動、及び立ち上がり回数）、手技によるテスト（接近反応、接触反応、驚愕反応、尾の痛覚反応、瞳孔反応、正向反射、握力、着地時後肢開脚、及び体温）、並びに運動能（全般的、自発運動量、及び聴覚反応）。

中枢神経系に対する影響

対照群と比較して 3、9、又は 27 mg/kg 群では、FOB による一般状態観察において毒性学的意義がある影響は認められなかった。投与期間中に毒性学的意義がある影響がなかったことから、回復期間中の FOB は実施しなかった。

呼吸器系に対する影響

ケージ外からの観察、詳細な一般状態観察及び FOB の結果、HBI-8000 に起因する呼吸器系に対する影響は認められなかった。

2.6.2.4.2.3 イヌにおける HBI-8000 の 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復試験（試験番号 1515-001）

評価資料[4.2.3.2-5] 1515-001

本試験では最初、ビーグル犬 5 匹／性の 3 投与群にそれぞれ 0.25、0.75、又は 1.25 mg/kg の HBI-8000 を 1 日 1 回 4 週間経口投与した。対照群の 5 匹／性には、溶媒である 10%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン及び 10%プロピレングリコールを含有する pH 2.5（±0.1）の脱イオン水を投与した。全群の動物に被験物質又は溶媒を 1 日 1 回 12 日間強制経口投与したが、中用量及び高用量群の動物に著しい毒性が生じたため、13 日目は投与を中止し、それ以降は投与頻度を 2 日に 1 回へと変更した。雄 1 匹（動物番号 741）を 1.25 mg/kg 群に追加し、被験物質を試験 11 日目及び 12 日目に初回及び 2 回目投与した後は、計 28 日間となるまで 2 日に 1 回投与した。投与期間完了後、所定の動物（2 匹／性／群）には 28 日間の回復期間を設定した。

全ての動物について病的状態、死亡、外傷及び摂餌・摂水の状況を 1 日 2 回観察した。ケージ外からの観察は 1 日 1 回所定の時間に実施した。試験期間を通じて、各動物の詳細な一般状態観察を週 1 回実施した。皮膚、被毛、眼、耳、鼻、口腔、胸部、腹部、外性器、四肢、呼吸器系及び心血管系に対する影響、流涎などの自律神経系に対する影響、並びに振戦、痙攣、ハンドリングへの反応及び異常行動などの神経系に対する影響を評価した。

全ての動物には投与期間前、並びに 1、2、3、4、及び 8 週目の投与約 30 分（±5 分）後に心電図（ECG）検査を実施した。ECG の記録前には、測定値の過剰な変動及びアーチファクトを最小化するため、動物に不要な興奮を引き起こさないよう可能な限りの注意を払った。標準的 ECG（10 誘導）は 50 mm/秒で記録した。第 II 誘導（又は適切な誘導）を用いて ECG、RR、PR、及び QT 間隔、QRS 時間、並びに心拍数を測定した。補正 QT（QTc）間隔は、Fridericia（Fridericia 1920）の方法に基づいて算出した。全ての心電図波形記録は顧問の獣医心臓専門医が評価した。

投与期間前、並びに 1、2、3、4、及び 8 週目の投与約 30 分（±5 分）後に各動物の血圧を測定して記録した。血圧値は、平均動脈圧が 20 mmHg 以内である 3 測定値を報告した。

中枢神経系に対する影響

一般状態観察における被験物質投与に関連する影響として、活動低下、食欲不振、削痩及び水様／粘液／変色便が認められた。これらの所見は 0.75 mg/kg 以上を投与した雌雄で 7 日目頃に最初に認められ、投与期間中継続した。食欲不振及び削痩が繰り返し認められたため、試験 2 週目から 0.75 及び 1.25 mg/kg 投与群の動物に補助餌料を与えた。用法変更後、0.75 及び 1.25 mg/kg 群中、全例ではないものの数匹の動物で臨床所見が改善した。観察結果を総合すると、0.75 及び 1.25 mg/kg 群の一般状態所見は有害な影響と判断した。回復期間内に、これらの影響の大部分には可逆性が認められた。1.25 mg/kg を 28 日間にわたり主に 2 日に 1 回投与した動物番号 741 には顕著な異常が認められなかった。

呼吸器系に対する影響

ケージ外からの観察及び詳細な一般状態観察の結果、HBI-8000 に起因する呼吸器系に対する影響は認められなかった。

心血管系に対する影響

収縮期、拡張期、及び平均動脈圧値には、HBI-8000 投与に関連する所見が認められなかった。

HBI-8000 の経口投与に起因する定性的 ECG 異常はなかった。心拍数、PR 間隔及び QRS 時間に被験物質の影響はなかった。11 日目の 1.25 mg/kg 投与後の雌の RR 間隔は、溶媒対照群に比較して統計的有意に延長した。雌雄のデータを合算して溶媒対照群のデータと比較したところ、10%超の QTc 延長が、0.75 mg/kg 群で 1 回（11 日目の投与後）、1.25 mg/kg 群で 2 回（11 日目及び 20 日目の投与後に）生じた。QTc 変化は、少なくとも部分的には、被験物質関連の血清カリウム及び血清カルシウムの低下に起因する可能性がある。定性的及び定量的 ECG パラメータに対する 0.25 mg/kg 投与の影響は認められなかった。QTc への影響は、0.75 mg/kg 及び 1.25 mg/kg で有害作用と判断された。

2.6.2.4.2.4 イヌにおける HBI-8000 の 13 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復試験（試験番号 20092737）

評価資料[4.2.3.2-6] 20092737

雌雄のビーグル犬を用いて 4 週間の回復期間を設けた GLP 適合の 13 週間経口投与毒性試験を実施した。本試験では、1 群あたり雌雄各 5 匹に HBI-8000 の 0.25、0.75、又は 1.25 mg/kg を 2 日に 1 回 13 週間強制経口投与した。13 週間終了時に、各投与群の雌雄各 3 匹を安楽死させて剖検した。各投与群の残りの雌雄各 2 匹には 4 週間の回復期間を設定した。本試験では、以下のパラメータ及び項目を評価した：一般状態、体重、体重増加量、摂餌量、眼科学的検査、心電図、臨床病理学的検査（血液学的検査、凝固検査、臨床化学的検査及び尿検査）、トキシコキネティクス、剖検、臓器重量、並びに病理組織学的検査。

ケージ外からの観察は 1 日 1 回以上、投与開始 1 週前から開始して投与期間及び回復期間中継続した。投与日の観察は投与前、投与後約 1～2 時間、及び就業時間終了前に実施した。ケージ外からの観察は、投与期間前（1 日目以前）及び回復期間中の詳細な一般状態観察日、並びに投与期間中の非投与日にも実施した。

投与開始 1 週前から少なくとも週 1 回、イヌをケージから取り出して詳細な一般状態観察を実施した。

ECG 測定は全ての動物で、投与期間前に 1 回（-8 日目）、1 日目、投与期間中は月 1 回（29 日目及び 58 日目）、並びに投与最終週（85 日目）に投与 60～90 分後に実施した。心電図波形記録は顧問の獣医心臓専門医が評価した。

中枢神経系に対する影響

HBI-8000 の全用量群で異常歩行、四肢の使用制限及び円背位の一般症状が認められたが、これらは間歇的に発現し、自発的に又は限定的な（3～7 日間の）獣医学的治療（メロキシカム投与）により回復した。これらの症状は回復し一過性であったことから、有害な影響ではないと判断された。

呼吸器系に対する影響

ケージ外からの観察及び詳細な一般状態観察の結果、呼吸器系に対する HBI-8000 投与の影響は認められなかった。

心血管系に対する影響

QTc を含む心血管系に対する HBI-8000 投与の潜在的影響はなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用

ATL を含め T 細胞リンパ腫に対して HBI-8000 の他剤との薬力学的薬物相互作用を検討した *in vitro* 及び *in vivo* 試験は実施していない。

2.6.2.6 考察及び結論

上述した非臨床薬理試験により、HBI-8000 の作用機序が裏付けられた。HBI-8000 は、がん細胞にみられる複数の異常な、発現抑制された、過剰発現した、又は他の代償性シグナル経路を同時に標的とすることが可能なエピジェネティック制御因子である。HBI-8000 は既知の HDAC 阻害剤のパターン（Eckschlager 2017）と一致する遺伝子制御パターンを示す。

HDAC 阻害剤には、いくつかのタイプの HDAC に対してのみ特異的に作用する阻害剤（HDAC アイソフォーム選択的阻害剤）と、全てのタイプの HDAC に対して作用する阻害剤（汎-HDAC 阻害剤）がある。HDAC 阻害剤の中、ボリノスタット（SAHA）、belinostat 及びパノビノスタットはヒドロキサム酸クラスの汎-HDAC 阻害剤の代表例である。ロミデプシンは、環状テトラペプチドであり、汎-HDAC 阻害剤でもある。Entinostat 及び mocetinostat（MGCD0103）は、ベンズアミドクラスであり、クラス I の HDAC 及びクラス I/IV の HDAC をそれぞれ選択的に阻害する（Eckschlager 2017）。

HBI-8000 は、ナノモル濃度範囲でクラス I 及び一つのクラス IIb の HDAC を阻害する。HBI-8000 の酵素阻害プロファイルは、entinostat と同様であったが、その阻害活性は entinostat より高かった。IC_{50} 値より、HBI-8000 は、もう一つのベンズアミドクラスの HDAC 阻害剤である mocetinostat（MGCD0103）（Fournel 2008）の文献値と比してより高い阻害効果を示した。HDAC の阻害プロファイルに基づき、HBI-8000 は entinostat（MS-275）及び mocetinostat（MGCD0103）と同様に、主にクラス I の HDAC を阻害するベンズアミドクラスの選択的阻害剤に分類される。

HBI-8000 は、ヒト子宮頸部腺がん HeLa 細胞及びヒト PBMC 中においてヒストン H3 のアセチル化を顕著に誘導し、薬剤濃度 0.1～10 μM 範囲で認められた HBI-8000 によるアセチル化誘導レベルは entinostat （MS-275）及びボリノスタット（SAHA）で認められたレベルと同様であった。

HBI-8000 及び entinostat は、B 細胞リンパ腫由来 Raji 細胞株、急性 T 細胞白血病由来 Jurkat 細胞株、骨髄性白血病由来 HL-60 細胞株及びヒト単球／マクロファージ由来 28SC 細胞株を含む多くのヒト腫瘍由来細胞株の増殖を低マイクロモル濃度範囲で同様に抑制した。HBI-8000 は、ヒト胎児腎臓（CCC-HEK）及び肝臓（CCC-HEL）由来の正常細胞に対する毒性が顕著に低く、正常細胞とがん細胞に対する毒性作用に差があることが示された。

健常ドナー由来の PBMC を HBI-8000 で処理することにより、NK 細胞を介した細胞毒性評価に用いられている K562 細胞の溶解が有意に促進された。最大の標的細胞溶解活性は 100 nM の HBI-8000 で認められ、この濃度はクラス I の HDAC に対する IC_{50} に近似している。HBI-8000 は、遺伝子発現の変化を誘発することが示され、間接的な免疫調節作用を有している可能性が示唆された。HBI-8000 は、自然免疫及び適応免疫系の細胞で発現する活性受容体である NKG2D 及び低親和性 Fc（fragment crystallizable）受容体である CD16 の発現を増加させた。HBI-8000 は、免疫系を介した腫瘍細胞溶解に関与する NK 及び CTL 細胞のたんぱく質であるパーフォリン、グランザイム A、H、K 及び CD95L（FAS リガンド）の発現も増加させた。これらのデータは、HBI-8000 が癌免疫療法に適していることを裏付けている。

ヒト T 細胞白血病ウイルス-1 型（HTLV-1）によって発症したアグレッシブな T 細胞悪性腫瘍である ATL に対する HBI-8000 の抗腫瘍効果の分子メカニズムを ATL の *in vitro* モデル及び *ex*

vivo モデルを用いて詳細に検討した。HBI-8000 は、ATL 由来細胞株（平均 IC_{50} = 1.16 μM）及び ATL 患者から得た新鮮初代 ATL 細胞（平均 IC_{50} = 4.35 μM）の両方に対して増殖と細胞生存率を抑制した。HBI-8000 は、併用化学療法にモガムリズマブを加えた療法後に再発した患者由来の 2 種の初代 ATL 細胞に対して、他の初代 ATL 細胞と同様のレベルでアポトーシスを誘導した。このデータは、HBI-8000 が標準的な治療法に対して不応となった ATL 患者に対しても有効性を示す可能性を示唆している。全体として、報告された結果は、臨床現場での ATL 患者に対する HBI-8000 の有用性をより詳細に検討することを支持するものであった。

HBI-8000 を 6 種の白血病由来細胞株（CCRF-CEM、HL-60（TB）、K-562、MOLT-4、RPMI-8226 及び SR）を含む 59 種の細胞株から構成される NCI-60 パネルでスクリーニングした。HBI-8000 は、全ての白血病由来細胞株に対して低マイクロモルレベルで活性を示し、GI_{50} は 1.04～10.4 μM の範囲であった。全体として、白血病由来細胞株に対する HBI-8000 の *in vitro* 活性は、他の腫瘍由来細胞株、特に *in vivo* 試験にも用いたヒト非小細胞肺がん（NSCLC）A549 細胞（GI_{50} = 8.74 μM）及びヒト乳がん MCF-7 細胞（GI_{50} = 2.11 μM）に対するものと同様であった。白血病／リンパ腫モデルは *in vivo* 抗腫瘍活性試験で検討されていないものの、HBI-8000 はヒト NSCLC A549 細胞及びヒト乳がん MCF-7 細胞を含む複数の *in vivo* 腫瘍モデルに対して単剤で有効性を示した。HBI-8000 は、12.5～50 mg/kg の用量範囲で、ヒト NSCLC 由来 A549 細胞移植モデルに対して 45.1%～79.3%及び 47.9%～84.1%（2 回の独立した試験）、ヒト乳がん由来 MCF-7 細胞移植モデルに対して 49.3%～70.0%（単回試験）の腫瘍増殖抑制率を示した。これらの結果は、NCI-60 パネルを用いたスクリーニングアッセイで認められた *in vitro* 活性と一致していた。全体として、HBI-8000 をヒト固形がん由来細胞ゼノグラフトマウスモデルに 50 mg/kg の用量で投与したときの *in vivo* 活性は、entinostat（MS-275）を 25 mg/kg の用量で投与したときの活性と同等かそれ以上であった。一方で特に体重低下に関して、HBI-8000 は entinostat に比べ影響は有意に低くかった。

HBI-8000 は、1 日 1 回、2 日に 1 回又は 3 日に 1 回投与することで腫瘍増殖抑制を示した。3 日に 1 回の投与レジメンでは総投与量は 1 日 1 回の投与と比較して低くなるものの、ほぼ同等の有効性を示すと共に安全性プロファイル向上の可能性を示した。この結果は、週 2 回（BIW）の臨床投与レジメンを支持している。

上述のように、HBI-8000 の腫瘍増殖抑制効果は、*in vitro* 及び *in vivo* の両方のアッセイモデルで、entinostat と同等かそれ以上であった。Entinostat は、ベンズアミドクラスの選択的クラス I HDAC 阻害剤であり、臨床試験において複数の血液及び固形がんの治療に対して経口投与で有効であることが知られている（Glaser 2007; Frys 2015; Apuri 2016）。よって、HBI-8000 の *in vitro* 及び *in vivo* の薬力学データから、HBI-8000 も血液がんの治療に対して単剤で有効である可能性が高いことが示唆される。

In vitro 試験では、特定の HDAC アイソタイプを抽出し人工条件で実施されており、正常なたんぱく質間相互作用が変化している可能性がある。したがって、細胞の HDAC 活性を評価することは、より生理的条件に近く、*in vivo* での薬力学的特性に関してより有用な情報が得られると考えられている（Bonfils 2008）。限られたデータしか報告されていないものの、HBI-8000 は、HBI-8000 に奏効を示した 2 名の T 細胞リンパ腫患者から単離した PBMC 由来の NK 細胞又は CTL 細胞の *ex vivo* 細胞障害活性を増加させたことが報告されている（Ning 2012）。このことは、NK 細胞又は CTL 細胞の *ex vivo* 細胞障害活性は、T 細胞リンパ腫に対する HBI-8000 の臨床効果と関連している可能性を示唆している。

HBI-8000 が、ATL を含む T 細胞リンパ腫の動物モデルに対して *in vivo* 抗腫瘍効果を示す直接

的な根拠はないものの、経口投与後の血漿中 HBI-8000 濃度と薬力学的バイオマーカーとしてのがん細胞に対する抗腫瘍効果との関係性を検討した。その結果以下に示すように、血漿中曝露量とがん細胞に対する抗腫瘍効果との間に相関性が認められた。

HBI-8000 をヒト固形がん由来細胞ゼノグラフトマウスモデルに 12.5～50 mg/kg の用量範囲で 1 日 1 回 20～28 日間経口投与したときの血漿中濃度は測定されていない。一方で HBI-8000 の薬物動態プロファイルは、9～36 mg/kg の用量範囲においてラットでの 4 週間反復投与毒性試験（2.6.4 薬物動態の概要文、2.6.4.3.1 項を参照）で評価されており、当該試験での用量範囲は、ヒト固形がん由来細胞ゼノグラフトマウスモデルを用いた *in vivo* 抗腫瘍活性試験の用量範囲とよく重なっていた。HBI-8000 の血漿中暴露量の用量依存的な増加は、検討した全てのヒト固形がん由来細胞ゼノグラフトモデルにおける *in vivo* 抗腫瘍効果の用量依存的な増加（2.6.2.2.4.1 項、図 2.6.2-20、図 2.6.2-21 参照）と一致しており、HBI-8000 の血漿中暴露レベルと *in vivo* における有効性の相関性を示している。血液がん細胞は血中において HBI-8000 に直接曝露する可能性があるため、薬物動態（PK）／薬力学（PD）の相関性は ATL を含む T 細胞リンパ腫ではより明確になる可能性がある。

HBI-8000 をラットに 4 週間反復経口投与したときの血漿中濃度の概要を表 2.6.2-6 に示す。

表 2.6.2-6 HBI-8000 をラットに反復投与したときの初回投与（Day-1）又は反復投与（Day-27）における血漿中濃度の概要（試験番号 1515-002）

パラメータ	HBI-8000 平均血漿中濃度 ng/mL (μM*)			
	Male (n= 6)		Female (n= 6)	
	Day-1	Day-27	Day-1	Day-27
Dose: 9 mg/kg				
C_{max}	438 (1.12)	468 (1.20)	712 (1.82)	817 (2.09)
24-hour post dose	18.3 (0.0469)	25.5 (0.0653)	32.3 (0.0827)	22.5 (0.0576)
Dose: 18 mg/kg				
C_{max}	1030 (2.64)	2270 (5.81)	2550 (6.53)	2470 (6.32)
24-hour post dose	37.0 (0.0948)	45.1 (0.116)	144 (0.369)	75.7 (0.194)
Dose: 36 mg/kg				
C_{max}	2520 (6.45)	3670 (9.40)	4410 (11.2)	6640 (17.0)
24-hour post dose	169 (0.433)	181 (0.464)	178 (0.456)	281 (0.720)

C_{max} = 最大血漿中濃度
* : ng/mL で測定した血漿中濃度データを分子量 390.41 に基づいて μM 濃度に変換した。
原典: 1515-002 – Appendix O: Toxicokinetics Report- Tables 1 to Table 6

初回投与時（Day-1）の平均最大血漿中濃度（C_{max}）は 1.12～11.2 μM の範囲であった。9 mg/kg の平均 C_{max} は雄及び雌のラットでそれぞれ 1.12 μM 及び 1.82 μM であった。これらの平均 C_{max} は、HBI-8000 の ATL 由来細胞株における平均 IC_{50}（1.16 μM）と同等であるが、ATL 患者由来の新鮮初代 ATL 細胞における平均 IC_{50}（4.35 μM）を下回っている。18 mg/kg 及び 36 mg/kg の平均 C_{max} は用量依存的に増加し、ATL 由来細胞株の平均 IC_{50} よりも 2.3～9.7 倍高かった。また、これら平均 C_{max} は新鮮初代 ATL 細胞の平均 IC_{50} と同等かそれ以上であった。

2 日に 1 回 4 週間投与したとき（Day-27）の C_{max} は、Day-1 の値よりも高く、1.20～17.0 μM の範囲であった。この濃度は、ATL 由来細胞株及び初代 ATL 細胞の平均 IC_{50} と同等かそれ以上であった。

PBMC を HBI-8000 で処理すると、ヒストン H3 脱アセチル化の阻害により、0.1～10 μM の濃

度範囲でアセチル化ヒストン H3 のレベルが増加した（2.6.2.2.1.2 項を参照）。細胞内でのヒストン H3 アセチル化を誘発する HBI-8000 のモル（M）活性についても、9～36 mg/kg の用量範囲で HBI-8000 をラットに単回及び反復経口投与したときの平均 C_{max} と同等であった。HBI-8000 の血漿中濃度は、投与後 24 時間では低いレベルまで減少した（表 2.6.2-6）。9 mg/kg の投与後 24 時間の血漿中濃度は、細胞内のヒストン H3 アセチル化を誘発する濃度範囲を下回っているものの、18 mg/kg 及び 36 mg/kg での血漿中濃度は、依然としてアセチル化を誘発する濃度範囲内にある。PBMC を用いて検討したときの HBI-8000 のヒストン H3 アセチル化を誘発する濃度範囲を下回る投与後 24 時間以降の血漿中濃度においても、ベンズアミドクラスの選択的クラス I HDAC 阻害剤が有する長い半減期と緩徐で強い結合機序により、持続的な HDAC 阻害とヒストン H3 アセチル化の上昇が期待できる（Bonfils 2008; Chou 2008）。したがって、C_{max} は、*in vivo* における細胞内でのヒストン H3 アセチル化に関連する有用な薬物動態パラメータであると考えられる。

以上のことから、HBI-8000 を動物モデルに 9～36 mg/kg の用量範囲で単回又は反復経口投与したときの血漿中暴露量は、*in vivo* において ATL 細胞の増殖及び細胞生存率を抑制し、細胞内のヒストン H3 アセチル化を誘発するに十分なレベルに達する可能性が高いことを示唆している。したがって、HBI-8000 は ATL 細胞ゼノグラフトモデルにおいて腫瘍増殖を抑制すると予測される。

非ホジキンリンパ腫の日本人患者を対象とした第 I 相試験（HBI-8000-201 試験；2.7.2 臨床薬理試験概要参照）では、用量 30 mg 及び 40 mg での初回投与時（Day-1）の平均 C_{max} は、それぞれ 199 ng/mL（0.510 μM）及び 590 ng/mL（1.51 μM）であった。週 2 回（BIW）反復投与後（Day-25）の平均 C_{max} は、30 mg 及び 40 mg の用量でそれぞれ 240 ng/mL（0.615 μM）及び 385 ng/mL（0.986 μM）であった。これら平均 C_{max} は、ATL 由来細胞の IC_{50} の範囲（0.7～1.7 μM）と同様であり、また *ex vivo* の試験系での細胞内のヒストン H3 アセチル化のモル活性と同等と考えられる。ヒストン H3 アセチル化活性については、中国で実施された HBI-8000 の第 I 相試験において、患者から単離された PBMC 中で最長 72 時間のヒストン H3 アセチル化の持続が報告されている（Chung 2006）。

上述の非臨床薬理試験の結果から、HBI-8000 は ATL 治療の新しい選択肢の一つであると期待される。

ラットにおける 4 週間及び 13 週間試験での詳細な一般状態観察及び機能観察総合評価の結果、中枢神経系及び呼吸器系に対する有害作用は認められなかった。イヌにおける 4 週間試験でのケージ外からの観察及び詳細な一般状態観察の結果、被験物質投与に関連して活動低下、食欲不振、削痩及び水様／粘液／変色便が認められたが、これらの影響の大部分は回復期間内に可逆性を示し、呼吸器系に対する有害作用は認められなかった。イヌにおける 13 週間試験でのケージ外からの観察及び詳細な臨床観察の結果、中枢神経系及び呼吸器系に対する有害作用は認められなかった。

HBI-8000 には、hERG 電流に対する顕著な阻害作用はないと考えられた。イヌにおける 4 週間及び 13 週間試験でケージ外からの観察、詳細な一般状態観察及び ECG を実施した。HBI-8000 の経口投与に起因する定性的 ECG 異常は認められなかった。心拍数、PR 間隔及び QRS 時間に対する被験物質の影響はなかった。4 週間試験では、1.25 mg/kg 投与後の雌の RR 間隔は溶媒対照群の値より統計的有意に長かった。雌雄のデータを合算して溶媒対照群のデータと比較したところ、10%超の QTc 延長が 0.75 mg/kg 及び 1.25 mg/kg 群で生じた。QTc 変化は、少なくとも部分的には、被験物質関連の血清カリウム及び血清カルシウムの低下に起因する可能性がある。定性的及び定量的 ECG パラメータに対する 0.25 mg/kg 投与の影響は認められなかった。QTc への影響は 0.75

mg/kg 及び 1.25 mg/kg で有害作用と判断された。しかし、13 週間試験では、HBI-8000 は 0.75 mg/kg 及び 1.25 mg/kg のいずれの用量においても、QTc 間隔の変化を含め心血管系に対する影響を誘発しなかった。

2.6.2.7 参考文献

Ankier SI. New hot plate tests to quantify anti-nociceptive and narcotic antagonist activities. Eur J Pharmacol. 1974 Jun; 27(1): 1-4.

Ashkenazi A, Salvessen G. Regulated cell death: signaling and mechanisms. Annu Res Cell Dev Biol. 2014; 30: 337-56.

Apuri S, Sokol L. An overview of investigational histone deacetylase inhibitors (HDACis) for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma. Expert Opin Investig Drugs. 2016; 25: 687-96.

Bonfils C, Kalita A, Dubay M, et al. Evaluation of the pharmacodynamic effects of MGCD0103 from preclinical models to human, using a novel HDAC enzyme assay. Clin Cancer Res. 2008; 14: 3441-3449.

Bouillet P, Purton JF, Godfrey DI, et al. BH3-only Bcl-2 family member Bim is required for apoptosis of autoreactive thymocytes. Nature. 2002; 415: 922-6.

Chou CJ, Herman D, Gottesfeld JM. Pimelic diphenylamide 106 is a slow, tight-binding inhibitor of Class I histone deacetylses. J. Biol Chem. 2008; 283: 35402-35409.

Chung EJ, Lee M-J, Lee S, Trepel JB. Assays for pharmacodynamic analysis of histone deacetylase inhibitors. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2006; 2: 213-230.

Eckschlager T, Plch J, Stilborova M, Hrabeta J. Histone deacetylase inhibitors as anticancer drugs. Int J. Mol Sci. 2017; 18: 1414.

Edwards PM, Parker VH. A simple, sensitive and objective method for early assessment of acrylamide neuropathy in rats. Toxicol Appl Pharmacol. 1977; 40: 589-591.

Fridericia LS. Die systolendauer im elektrokardiogramm bei normalen menschen und bei herzkranken. Acta Med Scand. 1920; 53: 469-486.

Fournel M, Bonfils C, Hou Y, et al. MGCD0103, a novel isotype-selective histone deacetylase inhibitor, has broad spectrum antitumor activity *in vitro* and *in vivo*. Mol Cancer Ther. 2008; 7(4): 759-768.

Frys S, Simons Z, Hu Q, et al. Entinostat, a novel histone deacetylase inhibitor is active in B-cell lymphoma and enhances the anti-tumor activity of rituximab and chemotherapy agents. Br J Haematol. 2015; 169: 506-519.

Glaser KB. HDAC inhibitors: clinical update and mechanism-based potential. Biochem Pharmacol. 2007;74(5): 659-671.

Gius D, Cui H, Bradbury CM, et al. Distinct effects on gene expression of chemical and genetic manipulation of the cancer epigenome revealed by a multimodality approach. Cancer Cell. 2004; 6: 361-71.

Hasegawa H, Yamada Y, Harasawa H et al. Sensitivity of adult T-cell leukemia lymphoma cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. Br J Haematol. 2005; 128: 253-65.

Hasegawa H, Yamada Y, Iha H et al. Activation of p53 by Nutlin-3a, an antagonist of MDM2, induces apoptosis and cellular senescence in adult T-cell leukemia cells. Leukemia. 2009; 23: 2090-101.

Hasegawa H, Bissonnette RP, Gillings M, et al. Induction of apoptosis by HBI-8000 in adult T-cell leukemia/lymphoma is associated with activation of Bim and NLRP3. Cancer Sci. 2016; 107: 1124-33.

Karin M, Ben-Neriah Y. Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF-[kappa]B activity. Annu

Res Immunol. 2000; 18: 621-63.

Latz E, Xiao TS, Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes. Nat Res Immunol. 2013; 13: 397-411.

Maeda T, Yamada Y, Moriuchi R et al. Fas gene mutation in the progression of adult T-cell leukemia. J Exp Med. 1999; 189: 1063-71.

Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. Mol Cell. 2002; 10: 417-26.

Moser VC, McCormick JP, Creason JP, MacPhail RC. Comparison of chlordimeform and carbaryl using a functional observation battery. Fund Appl Toxicol. 1988; 11: 189-206.

Moser VC, Ross JF. US EPA/ATHC Training video and reference manual for a functional observation battery. US Environmental Protection Agency 1996; Washington, D.C.

Ning Z-Q, Li Z-B, Newman MJ, et al. Chidamide (CS055/HBI-8000): a new histone deacetylase inhibitor of the benzamide class with antitumor activity and the ability to enhance immune cell-mediated tumor cell cytotoxicity. Cancer Chemother Phamacol. 2012; 69: 901-9.

Redfern WS, Carlsson L, Davis AS, et al. Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development. Cardiovascular Research. 2003; 58(1): 32-45.

Rosato RR, Almenara JA, Grant S. The histone deacetylase inhibitor MS-275 promotes differentiation or apoptosis in human leukemia cells through a process regulated by generation of reactive oxygen species and induction of p21 CIPI/WAF1 1. Cancer Res. 2003; 63: 3637-45.

Shimoyama M. Diagnostic criteria and classification of clinical subtypes of adult T-cell leukemia-lymphoma. A report from the Lymphoma Study Group. Br J Haemotol. 1991; 79: 428-37.

Wong JC. Guo L, Peng Z, et al. Application of p21 and klf2 receptor gene assays to identify selective histone deacetylase inhibitors for cancer therapy. Bioorg Med Chem Lett. 2011; 21: 110-6.

Zhao Y, Lu S, Wu L, et al. Acetylation of p53 at lysine 373/382 by the histone deacetylase inhibitor depsipeptide induces expression of p21 (Walf/Cip 1). Mol Cell Biol. 2006; 26: 2782-90.

ツシジノスタット
ハイヤスタ錠 10mg

第 2 部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.3 薬理試験概要表

Huya Japan 合同会社

略号一覧表

略語・用語	内容
DMSO	ジメチルスルホキシド
ECG	心電図
FOB	機能観察総合評価法
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験実施の基準
HDAC	ヒストン脱アセチル化酵素
hERG	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
NCI-60	米国立がん研究所による培養ヒト腫瘍細胞株 60 種
PBMC	末梢血単核細胞
QTc	補正 QT 間隔

目次

頁
略号一覧表 2
2.6.3 薬理試験概要表 4
2.6.3.1 薬理試験：一覧 4
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 4
2.6.3.3 副次的薬理試験 6
2.6.3.4 安全性薬理試験 6
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用 9

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧

試験表題	試験系	評価方法	実施施設	試験番号	GLP 適合性	記載箇所	区分
効力を裏付ける試験							
HBI-8000 NCI-60 screening and Compare analysis for HDAC inhibitors	腫瘍細胞株	*In vitro*	[redacted]	1008NS06	非適	4.2.1.1-1	参考
Pharmacodynamic Studies of Chidamide Anti-tumor Activity	担がんマウスモデル	*In vivo*	[redacted]	CXHL0502435	非適	4.2.1.1-2	参考
Animal Pharmacodynamics Study (Intermittent Dosing)	担がんマウスモデル	*In vivo*	[redacted]	CXHB0801220	非適	4.2.1.1-3	参考
副次的薬理試験：なし							
安全性薬理試験							
Effects of HBI-8000 on Cloned hERG Potassium Channels Expressed in Human Embryonic Kidney Cells	hERG 導入 HEK293 細胞	*In vitro*	[redacted]	080415.IVZ	適	4.2.1.3-1	評価
薬力学的薬物相互作用：なし							

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験実施の基準 HDAC = ヒストン脱アセチル化酵素; HEK = ヒト胎児腎臓; hERG = ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子; MTS assay= 5-(3-カルボメトキシフェニル)-2-(4,5-ジメチル-チアゾイル)-3-(4-スルフォフェニル)テトラゾリウムアッセイ; PBMC = 末梢血単核細胞
注: chidamide = HBI-8000

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

評価対象となる系	種／系統	投与方法／投与期間	投与量／適用濃度	性別／例数	特記すべき所見	GLP 適合性	試験番号	記載場所
NCI-60 細胞株パネルを用いた増殖抑制	59 種の腫瘍細胞株	*In vitro*	HBI-8000: 5 用量でのスクリーニング（10^{-4} M～10^{-8} M）	NA	HBI-8000 は, 6 種の白血病由来細胞株を含めて広範囲のヒト腫瘍細胞株の増殖を抑制し, 50%阻害濃度（IC_{50}）は 10 μM 未満であった。HBI-8000 は非形質転換細胞に対し毒性を示さなかった（IC_{50} は 100 μM 以上）。	非適	1008NS06	4.2.1.1-1

評価対象となる系	種／系統	投与方法／投与期間	投与量／適用濃度	性別／例数	特記すべき所見	GLP適合性	試験番号	記載場所
In vivo 腫瘍マウスモデルにおける HBI-8000 の有効性	ヒト結腸がん由来 HCT-8 細胞，ヒト肺がん由来 A549 細胞，ヒト肝がん由来 BEL-7402 細胞，及びヒト乳がん由来 MCF-7 細胞ゼノグラフトマウスモデル	HBI-8000 及び entinostat（MS-275）（陽性対照）: 20～28 日間, 1 日 1 回経口投与 5-Fluorouracil (5-FU)〔陽性対照）: 隔日腹腔内投与	HBI-8000: 12.5 mg/kg, 25 mg/kg, 及び 50 mg/kg Entinostat: 25 mg/kg 5-FU: 20 mg/kg	雄マウス：HCT-8，A549 及び BEL-7402 細胞 雌マウス：MCF-7 細胞 8～10 匹／群	腫瘍増殖抑制率は，ヒト結腸がん由来 HCT-8 細胞ゼノグラフトモデルでは 24.9%～73.7%及び 38.4%～67.7%（2 回の独立した試験），ヒト NSCLC 由来 A549 細胞ゼノグラフトモデルでは 45.1%～79.3%及び 47.9%～84.1%（2 回の独立した試験），ヒト肝がん由来 BEL-7402 細胞ゼノグラフトモデルでは 29.2%～71.4%（単一試験），及びヒト乳がん由来 MCF-7 細胞ゼノグラフトモデルでは 49.3%～70.0%（単一試験）であった。全体的に，HBI-8000 は 12.5 mg/kg～50 mg/kg の用量範囲で 4 腫のヒト由来腫瘍に対して広範かつ用量依存的な抗腫瘍効果を示した。HBI-800 の 50 mg/kg 用量での有効性は，対照薬である 5-FU（20 mg/kg）及び entinostat（MS-275）(25 mg/kg)の有効性と比較して，同等又はそれ以上であった。上記の用量範囲で，HBI-8000 は全体的に担がん動物に対し顕著な毒性を示めさなかった。ヒト結腸がん由来 HCT-8 細胞ゼノグラフトモデルにおいて，陽性対照薬剤である 5-FU 及び MS-275 を投与した群では投与期間の終了時点で顕著な体重減少が認められたのに対し，HBI-8000 投与群では体重が増加した。この結果は，HBI-8000 の有効性／毒性プロファイルが対照薬剤に比して優れている可能性を示している。	非適	CXHL0502435	4.2.1.1-2

評価対象となる系	種／系統	投与方法／投与期間	投与量／適用濃度	性別／例数	特記すべき所見	GLP 適合性	試験番号	記載場所
HBI-8000 の異なる投与間隔での有効性	ヒト結腸がん由来 HCT-8 細胞ゼノグラフトマウスモデル	HBI-8000: 1 日 1 回, 2 日に 1 回, 3 日に 1 回, 20 日間経口投与 5-FU (陽性対照): 2 日に 1 回腹腔内投与	HBI-8000: 25 mg/kg（1 日 1 回），50 mg/kg（2 日に 1 回及び 3 日に 1 回） 5-FU: 20 mg/kg	雄ヌードマウス 10 匹／群	HBI-8000 は 2 日～3 日に 1 回の間歇投与で顕著な抗腫瘍効果を示した： 50 mg/kg の 2 日に 1 回投与と 25 mg/kg の 1 日 1 回投与では総投与量は同じであり，抗腫瘍効果も基本的に同じであった。50 mg/kg の 3 日に 1 回の投与（総投与は 1 日 1 回及び 2 日に 1 回投与したときの総投与量の約 70%に相当）でも，ほぼ同等の腫瘍増殖抑制効果が維持された。	非適	CXHB0801220	4.2.1.1-3

5 FU = 5-fluorouracil; DMSO = ジメチルスルホキシド; HDAC = ヒストン脱アセチル化酵素; IC_{50} = 50%阻害濃度; NA = 該当せず; NCI-60 = 米国立がん研究所による培養ヒト腫瘍細胞株 60 種; PBMC = 末梢血単核細胞

2.6.3.3 副次的薬理試験

HBI-8000 について副次的薬理試験は実施していない。

2.6.3.4 安全性薬理試験

評価対象となる系	種／系統	投与方法	投与量／適用濃度	性別／例数	特記すべき所見	GLP 適合性	試験番号	記載箇所
心血管系	hERG 導入 HEK-293 細胞	*In vitro*	5 μM	NA	溶解限界のため, HBI-8000 の hERG カリウム電流に対する阻害作用の IC_{50} 値は求められなかったが, 5 μM を上回っていた。このため，本試験条件下では，HBI-8000 には hERG 電流に対する毒性学的意義がある阻害作用はないと判断された。	適	080415.IVZ	4.2.1.3-1

評価対象となる系	種／系統	投与方法	投与量／適用濃度	性別／例数	特記すべき所見	GLP 適合性	試験番号	記載箇所
中枢神経系	ラット／Sprague-Dawley 系	2 日に 1 回, 4 週間強制経口投与	9, 18, 36 mg/kg	雄／雌（各 15 匹）	一般状態観察及び FOB の評価に関して, 被験物質投与に関連する所見は認められなかった。	適	1515-002	4.2.3.2-2
	ラット／Sprague-Dawley 系	2 日に 1 回, 13 週間強制経口投与	3, 9, 27 mg/kg	雄／雌（各 15 匹）	一般状態観察及び FOB の評価に関して, 被験物質投与に関連する所見は認められなかった。	適	20092736	4.2.3.2-3
	イヌ／ビーグル	1 日 1 回, 12 日間連日強制経口投与後, 13 日目は投与を中止し,それ以降は 2 日 1 日投与に変更（全 4 週間）[a)]	0.25, 0.75, 1.25 mg/kg	雄／雌（各 5 匹）	被験物質投与に関連する一般状態観察の影響として, 活動低下, 食欲不振, 削痩, 及び水様／粘液／変色便が認められた。これらの所見は 0.75 mg/kg 以上を投与した雌雄で 7 日目頃に最初に認められ, 投与期間中継続した。食欲不振及び削痩が繰り返し認められたため, 0.75 及び 1.25 mg/kg 投与群の動物には試験 2 週目から補助餌料を与えた。用法変更後, 0.75 及び 1.25 mg/kg 群中, 全例ではないものの数匹の動物で臨床所見が改善した。観察結果から, 0.75 及び 1.25 mg/kg 群の臨床所見は有害な影響と判断した。回復期間内に, これらの影響の大部分には可逆性が認められた。1.25 mg/kg を 28 日間にわたり主に 2 日に 1 回投与した動物番号 741 には顕著な異常が認められなかった。	適	1515-001	4.2.3.2-5

評価対象となる系	種／系統	投与方法	投与量／適用濃度	性別／例数	特記すべき所見	GLP 適合性	試験番号	記載箇所
中枢神経系	イヌ／ビーグル	13 週間, 2 日に 1 回強制経口投与	0.25, 0.75, 1.25 mg/kg	雄／雌（各 5 匹）	HBI-8000 の全用量群で異常歩行, 四肢の使用制限, 並びに円背位の臨床徴候が認められたが, これらは間歇的に発現し, 自発的に又は限定的な（3～7 日間の）獣医学的治療（メロキシカム投与）により回復した。これらの徴候は回復し一過性であったことから, 有害な影響ではないと判断された。	適	20092737	4.2.3.2-6
呼吸器系	ラット／Sprague-Dawley 系	2 日に 1 回, 4 週間強制経口投与	9, 18, 36 mg/kg	雄／雌（各 15 匹）	ケージ外からの観察, 詳細な一般状態観察, 及び FOB の結果, HBI-8000 に起因する呼吸器系に対する影響は認められなかった。	適	1515-002	4.2.3.2-2
	ラット／Sprague-Dawley 系	2 日に 1 回, 13 週間強制経口投与	3, 9, 27 mg/kg	雄／雌（各 15 匹）	ケージ外からの観察, 詳細な一般状態観察, 及び FOB の結果, HBI-8000 に起因する呼吸器系に対する影響は認められなかった。	適	20092736	4.2.3.2-3
	イヌ／ビーグル	1 日 1 回, 12 日間連日強制経口投与後, 13 日目は投与を中止し,それ以降は, 2 日 1 日投与に変更（全 4 週間）[a]	0.25, 0.75, 1.25 mg/kg	雄／雌（各 5 匹）	ケージ外からの観察及び詳細な一般状態観察の結果, HBI-8000 に起因する呼吸器系に対する影響は認められなかった。	適	1515-001	4.2.3.2-5
	イヌ／ビーグル	13 週間, 2 日に 1 回強制経口投与	0.25, 0.75, 1.25 mg/kg	雄／雌（各 5 匹）	ケージ外からの観察及び詳細な一般状態観察の結果, HBI-8000 に起因する呼吸器系に対する影響は認められなかった。	適	20092737	4.2.3.2-6

評価対象となる系	種／系統	投与方法	投与量／適用濃度	性別／例数	特記すべき所見	GLP 適合性	試験番号	記載箇所
心血管系	イヌ／ビーグル	1 日 1 回, 12 日間連日強制経口投与後, 13 日目は投与を中止し,それ以降は, 2 日 1 日投与に変更（全 4 週間）[a]	0.25, 0.75, 1.25 mg/kg	雄／雌（各 5 匹）	収縮期, 拡張期, 及び平均動脈圧値には, HBI-8000 投与に関連する所見が認められなかった。 HBI-8000 の経口投与に起因する定性的 ECG 異常はなかった。心拍数, PR 間隔, 及び QRS 時間に被験物質の影響はなかった。11 日目の 1.25 mg/kg 投与後の雌の RR 間隔は, 溶媒対照群に比較して統計的有意に延長した。雌雄のデータを合算して溶媒対照群のデータと比較したところ, 10%超の QTc 延長が, 0.75 mg/kg 群で 1 回（11 日目の投与後）, 1.25 mg/kg 群で 2 回（11 日目及び 20 日目の投与後に）生じた。QTc 変化は, 少なくとも部分的には, 被験物質関連の血清カリウム及び血清カルシウム低下に起因する可能性がある。定性的及び定量的 ECG パラメータに対する 0.25 mg/kg 投与の影響は認められなかった。0.75 mg/kg/日及び 1.25 mg/kg/日投与が QTc に及ぼした影響は有害な作用と判断された。	適	1515-001	4.2.3.2-5
	イヌ／ビーグル	13 週間, 2 日に 1 回強制経口投与	0.25, 0.75, 1.25 mg/kg	雄／雌（各 5 匹）	QTc を含む心血管系に対する HBI-8000 投与の潜在的影響はなかった。	適	20092737	4.2.3.2-6

ECG = 心電図; FOB = 機能観察総合評価法; GLP =医薬品の安全性に関する非臨床試験実施の基準; HEK = ヒト胎児腎細胞; hERG = ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子; NA = 該当なし; QTc = 補正 QT 間隔

a) 雄 1 匹を 1.25 mg/kg 群に追加し, 試験 11 日目及び 12 日目に被験物質の初回及び第 2 回目の投与を実施した。その後, 用法を 2 日に 1 回投与に変更し, 28 日の全試験期間中を通じて継続した。

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用

ATL を含め T 細胞リンパ腫を対象として, HBI-8000 と他剤との薬力学的薬物相互作用を検討した *in vitro* 及び *in vivo* 試験は実施していない。