

審議結果報告書

令和3年6月1日
医薬・生活衛生局医薬品審査管理課

[販売名] タズベリク錠200mg
[一般名] タゼメトスタット臭化水素酸塩
[申請者名] エーザイ株式会社
[申請年月日] 令和2年6月30日

[審議結果]

令和3年5月28日に開催された医薬品第二部会において、本品目を承認して差し支えないとされ、薬事・食品衛生審議会薬事分科会に報告することとされた。

本品目は生物由来製品及び特定生物由来製品のいずれにも該当せず、再審査期間は8年、原体及び製剤はいずれも劇薬に該当するとされた。

[承認条件]

1. 医薬品リスク管理計画を策定の上、適切に実施すること。
2. 国内での治験症例が極めて限られていることから、製造販売後、一定数の症例に係るデータが集積されるまでの間は、全症例を対象に使用成績調査を実施することにより、本剤使用患者の背景情報を把握するとともに、本剤の安全性及び有効性に関するデータを早期に収集し、本剤の適正使用に必要な措置を講じること。

令和3年6月21日
独立行政法人医薬品医療機器総合機構

審査報告書の修正表

[販売名] タズベリク錠 200 mg
[一般名] タゼメトスタット臭化水素酸塩
[申請者] エーザイ株式会社
[申請年月日] 令和2年6月30日

令和3年4月28日付の上記品目の審査報告書について、下記のとおり修正を行う。この修正による審査結果の変更はない。

記

頁	行	修正後	修正前
22	2	ラットで血中曝露量に性差（ <u>雌</u> > <u>雄</u> ）が認められたものの、毒性発現に明らかな差異は認められなかった。	ラットで血中曝露量に性差（ <u>雌</u> > <u>雌</u> ）が認められたものの、毒性発現に明らかな差異は認められなかった。
26	9	その結果、血中曝露量に性差（ <u>雌</u> > <u>雄</u> ）が認められ、雌で毒性が強く発現する傾向が認められたものの、	その結果、血中曝露量に性差（ <u>雌</u> > <u>雌</u> ）が認められ、雌で毒性が強く発現する傾向が認められたものの、

(下線部変更)

以上

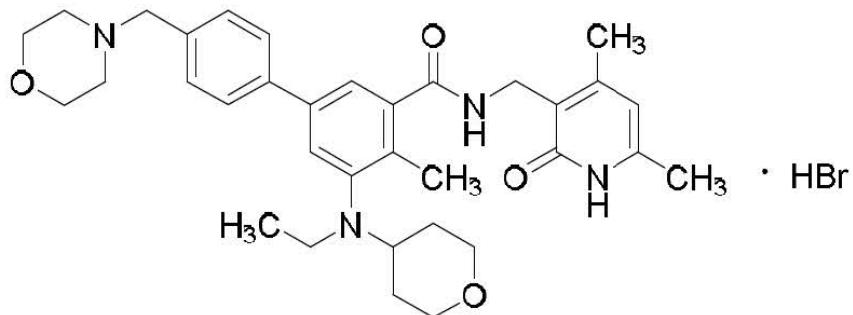
審査報告書

令和3年4月28日
独立行政法人医薬品医療機器総合機構

承認申請のあった下記の医薬品にかかる医薬品医療機器総合機構での審査結果は、以下のとおりである。

記

- [販売名] タズベリク錠 200 mg
[一般名] タゼメトスタット臭化水素酸塩
[申請者] エーザイ株式会社
[申請年月日] 令和2年6月30日
[剤形・含量] 1錠中にタゼメトスタット臭化水素酸塩 228.3 mg(タゼメトスタットとして 200 mg)を含有する錠剤
[申請区分] 医療用医薬品 (1) 新有効成分含有医薬品
[化学構造]



分子式: C₃₄H₄₄N₄O₄·HBr

分子量: 653.65

化学名:

(日本名) N-[(4,6-ジメチル-2-オキソ-1,2-ジヒドロピリジン-3-イル)メチル]-5-[エチル(オキサン-4-イル)アミノ]-4-メチル-4'-(モルホリン-4-イル)メチル]ビフェニル-3-カルボキシアミド一臭化水素酸塩

(英名) N-[(4,6-Dimethyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl]-5-[ethyl(oxan-4-yl)amino]-4-methyl-4'-(morpholin-4-yl)methyl]biphenyl-3-carboxamide monohydrobromide

- [特記事項] なし

- [審査担当部] 新薬審査第五部

- [審査結果]

別紙のとおり、提出された資料から、本品目の再発又は難治性の *EZH2* 遺伝子変異陽性の濾胞性リンパ腫（標準的な治療が困難な場合に限る）に対する一定の有効性は示され、認められたベネフィットを踏まえると安全性は許容可能と判断する。

以上、医薬品医療機器総合機構における審査の結果、本品目については、下記の承認条件を付した上で、以下の効能又は効果並びに用法及び用量で承認して差し支えないと判断した。なお、感染症、骨髄抑制、二次性悪性腫瘍及び光線過敏症について、製造販売後調査においてさらに検討が必要と考える。

[効能又は効果]

再発又は難治性の *EZH2* 遺伝子変異陽性の濾胞性リンパ腫（標準的な治療が困難な場合に限る）

[用法及び用量]

通常、成人にはタゼメトstattとして1回 800 mg を1日2回経口投与する。なお、患者の状態により適宜減量する。

[承認条件]

1. 医薬品リスク管理計画を策定の上、適切に実施すること。
2. 国内での治験症例が極めて限られていることから、製造販売後、一定数の症例に係るデータが集積されるまでの間は、全症例を対象に使用成績調査を実施することにより、本剤使用患者の背景情報を把握するとともに、本剤の安全性及び有効性に関するデータを早期に収集し、本剤の適正使用に必要な措置を講じること。

別 紙

審査報告 (1)

令和3年3月15日

本申請において、申請者が提出した資料及び医薬品医療機器総合機構における審査の概略等は、以下のとおりである。

申請品目

[販 売 名]	タズベリク錠 200 mg
[一 般 名]	タゼメトスタット臭化水素酸塩
[申 請 者]	エーザイ株式会社
[申請年月日]	令和2年6月30日
[剤形・含量]	1錠中にタゼメトスタット臭化水素酸塩 228.3 mg (タゼメトスタットとして 200 mg) を含有する錠剤
[申請時の効能・効果]	EZH2 遺伝子変異を有する再発又は難治性の濾胞性リンパ腫（再発又は難治性に対して未治療の場合を除く）
[申請時の用法・用量]	通常、成人にはタゼメトスタットとして1回 800 mg を1日2回経口投与する。なお、患者の状態により適宜減量する。

[目 次]

1. 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況に関する資料等	2
2. 品質に関する資料及び機構における審査の概略	2
3. 非臨床薬理試験に関する資料及び機構における審査の概略	7
4. 非臨床薬物動態試験に関する資料及び機構における審査の概略	13
5. 毒性試験に関する資料及び機構における審査の概略	21
6. 生物薬剤学試験及び関連する分析法、臨床薬理試験に関する資料並びに機構における審査の概略	32
7. 臨床的有効性及び臨床的安全性に関する資料並びに機構における審査の概略	39
8. 機構による承認申請書に添付すべき資料に係る適合性調査結果及び機構の判断	62
9. 審査報告 (1) 作成時における総合評価	62

[略語等一覧]

別記のとおり。

1. 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況に関する資料等

1.1 申請品目の概要

EZH2 は、ヒストン修飾を介して遺伝子発現を調節するポリコーム抑制複合体を構成する因子の一つであり、ヒストン等のタンパクのリジン残基にメチル基を付加する反応（メチル化）を触媒することで、クロマチン構造を凝集させ、遺伝子の転写を抑制すること等により、胚中心細胞等の分化、増殖等に関与すると考えられている（Proc Natl Acad Sci USA 2015; 112: E1116-25 等）。

本薬は、米国 Epizyme 社により創製された、EZH2 に対する阻害作用を有する低分子化合物である。本薬は、EZH2 のメチル化活性を阻害することで、細胞周期の停止及びアポトーシス誘導を引き起こし、腫瘍の増殖を抑制と考えられている。

1.2 開発の経緯等

海外において、米国 Epizyme 社により、再発又は難治性の B 細胞リンパ腫患者等を対象とした第 I / II 相試験（101 試験）が 2013 年 6 月から実施された。

米国では、101 試験を主要な試験成績として、2019 年 12 月に FL に係る承認申請が行われ、2020 年 6 月に「TAZVERIK is indicated for the treatment of: adult patients with relapsed or refractory follicular lymphoma whose tumors are positive for an EZH2 mutation as detected by an FDA-approved test and who have received at least 2 prior systemic therapies, and adult patients with relapsed or refractory follicular lymphoma who have no satisfactory alternative treatment options. These indications are approved under accelerated approval based on overall response rate and duration of response. Continued approval for these indications may be contingent upon verification and description of clinical benefit in a confirmatory trial(s).」を効能・効果として迅速承認された。

なお、2021 年 2 月時点において、本薬は、再発又は難治性の FL に係る効能・効果にて米国のみで承認されている。

本邦においては、申請者により、再発又は難治性の FL 患者及び DLBCL 患者を対象とした第 I 相試験（106 試験）及び再発又は難治性の EZH2 遺伝子変異陽性の FL 患者及び DLBCL 患者を対象とした第 II 相試験（206 試験）が、それぞれ 2017 年 1 月及び 2018 年 4 月から実施された。

今般、101 試験及び 206 試験を主要な試験成績として、本薬の申請が行われた。

2. 品質に関する資料及び機構における審査の概略

2.1 原薬

2.1.1 特性

原薬は白色の粉末であり、性状、溶解性、解離定数、分配係数、熱分析及び吸湿性について検討されている。原薬には、[REDACTED] として 3 種類の結晶形（結晶形 A*、B* 及び C*）が確認されているものの、実生産においては結晶形 A* が生成されること及び安定性試験において結晶形 A* は変化しないことが確認されている。

原薬の化学構造は、元素分析、紫外吸収スペクトル、IR、質量スペクトル、NMR（¹H- 及び ¹³C-NMR）及び単結晶 X 線構造解析により確認されている。

2.1.2 製造方法

原薬は [REDACTED] 、 [REDACTED] 、 [REDACTED]

ひ [REDACTED] を出発物質として合成される。

QbD の手法を利用し、以下の検討等により、品質の管理戦略が構築されている（表 1）。

- CQA の特定。
- 品質リスクアセスメント、実験計画法等に基づく CPP の特定及び製造工程パラメータの許容範囲の検討。

表 1 原薬の管理戦略の概要

CQA	管理方法
確認試験	規格及び試験方法
含量	規格及び試験方法
類縁物質	製造方法、規格及び試験方法
臭化水素酸含量	製造方法、規格及び試験方法
残留溶媒	製造方法、規格及び試験方法
元素不純物	規格及び試験方法
結晶形	製造方法、規格及び試験方法
粒度分布	製造方法、規格及び試験方法

重要工程として、[REDACTED]¹⁾、[REDACTED]²⁾、[REDACTED] 及び [REDACTED] の合成並びに [REDACTED] 工程が設定され、すべての合成工程において工程管理項目及び工程管理値が設定されている。また、重要中間体として、[REDACTED]³⁾、[REDACTED]、[REDACTED]⁴⁾、[REDACTED]⁵⁾、[REDACTED]、[REDACTED] 及び [REDACTED] が管理されている。

2.1.3 原薬の管理

原薬の規格及び試験方法として、含量、性状、確認試験 (IR 及び LC)、結晶形 (粉末 X 線回折)、純度試験 (類縁物質 (LC)、残留溶媒 (GC)、元素不純物 (誘導結合プラズマ質量分析法))、水分、強熱残分、粒度、微生物限度及び定量法 (原薬 (LC) 及び臭化水素酸 (電位差滴定法)) が設定されている。

2.1.4 原薬の安定性

原薬で実施された主な安定性試験は表 2 のとおりであり、結果は安定であった。また、光安定性試験の結果、原薬は光に不安定であった。

表 2 原薬の安定性試験

試験名	基準ロット	温度	湿度	保存形態	保存期間
長期保存試験	パイロットスケール： 3 ロット	25°C	60%RH	[REDACTED] ポリエチレン袋 (二重) + [REDACTED] [REDACTED] 製ドラム	24 カ月
中間的試験	パイロットスケール： 3 ロット	30°C	75%RH		24 カ月
加速試験	パイロットスケール： 3 ロット	40°C	75%RH		6 カ月

1) [REDACTED]
2) [REDACTED]
3) [REDACTED]
4) [REDACTED]
5) [REDACTED]

以上より、原薬のリテスト期間は、ICH Q1E ガイドラインに基づき、二重の [] ポリエチレン袋に入れ、これを [] 製ドラムに入れて遮光下で室温保存するとき、[] カ月と設定された。なお、長期保存試験は [] カ月まで継続予定である。

2.2 製剤

2.2.1 製剤及び処方並びに製剤設計

製剤は 1 錠中に原薬 228.3 mg (タゼメトstattとして 200 mg) を含有する即放性のフィルムコーティング錠である。製剤には、乳糖水和物、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、デンプングリコール酸ナトリウム、ステアリン酸マグネシウム及びオパドライレッド [] が添加剤として含まれる。

2.2.2 製造方法

本申請においては、2 種類の製造方法（バッチ式及び連続生産式）が申請されており、いずれの方法においても、混合 1、造粒、乾燥、整粒、混合 2、打錠、コーティング及び充てん・包装・表示からなる工程により製造される。連続生産式については、湿式造粒法により、[] から [] までが統合されたシステムで稼働し、[]、[] 及び [] の工程は [] によって連続化されている。

QbD の手法を利用し、以下の検討等により、品質の管理戦略が構築されている（表 3）。

- CQA の特定。
- 品質リスクアセスメント、実験計画法等に基づく製造工程パラメータの許容範囲の検討。

表 3 製剤の管理戦略の概要

CQA	管理方法
外観（性状）	製造方法、規格及び試験方法
確認試験	規格及び試験方法
含量	製造方法、規格及び試験方法
類縁物質	規格及び試験方法
製剤均一性	製造方法、規格及び試験方法
溶出性	製造方法、規格及び試験方法
結晶形	—
水分	製造方法
微生物特性	製造方法、規格及び試験方法

– : 該当なし

重要工程は、[]⁶⁾、[]⁶⁾、[]、[]⁶⁾ 及び [] 工程とされ、[]、[]、[]、
[]、[]、[]⁷⁾ 及び [] 工程において工程管理項目及び工程管理値が設定されている。

2.2.3 製剤の管理

製剤の規格及び試験方法として、含量、性状、確認試験（紫外吸収スペクトル及び LC）、純度試験（類縁物質（LC））、製剤均一性（含量均一性試験（紫外可視吸光度測定法））、溶出性（紫外可視吸光度測定法）、微生物限度及び定量法（LC）が設定されている。

⁶⁾ 連続生産式の製造方法でのみ重要工程とされている。

⁷⁾ バッチ式の製造方法でのみ設定されている。

2.2.4 製剤の安定性

製剤で実施された主な安定性試験は表 4 のとおりであり、結果は安定であった。光安定性試験の結果、製剤は光に安定であった。

表 4 製剤の安定性試験

試験名	基準ロット	温度	湿度	保存形態	保存期間
長期保存試験	パイロットスケール： ① [REDACTED] 及び② [REDACTED]	25°C	60%RH	PTP (ポリ塩化ビニル 及びアルミニウム)	①18 カ月 ② [REDACTED] カ月
加速試験	[REDACTED] 各 3 ロット	40°C	75%RH		6 カ月

以上の結果及び「2.R.3 製剤の有効期間について」の項における検討を踏まえ、製剤の有効期間は、ICH Q1E ガイドラインに基づき、PTP (ポリ塩化ビニル及びアルミニウム) に包装して室温保存するとき、30 カ月と設定された。なお、長期保存試験は [REDACTED] カ月まで継続予定である。

2.R 機構における審査の概略

機構は、提出された資料及び以下の検討から、原薬及び製剤の品質は適切に管理されているものと判断した。

2.R.1 連続生産式の製造方法におけるロットの定義について

申請者は、連続生産式の製造方法における①ロットの定義及び②出荷試験における試料のサンプリング方法について、それぞれ以下のように説明している。

- ① ロットは、[REDACTED] により規定しており、[REDACTED] 工程の [REDACTED] の投入量に基づき 1 ロットを定義した。
- ② 連続生産式の製造方法による製剤の出荷試験における試料のサンプリング方法については、下記の点を踏まえると、連続生産式の製造方法における [REDACTED] の品質同等性は工程管理で十分に保証されていると考えることから、[REDACTED] と同様のサンプリング方法を採用した。
 - [REDACTED] から [REDACTED] までの連続生産式の工程において、[REDACTED] の品質同等性の保証、又は [REDACTED] による品質変動の検出を目的とした工程管理を設定していること。
 - [REDACTED] 工程において、経時的な品質の確認を目的とした工程管理を設定していること。

機構は、申請者の説明を了承した。

2.R.2 連続生産式における造粒工程について

申請者は、連続生産式の造粒工程について、以下のように説明している。

混合 1 工程で製造された混合粉体が LIW Feeder の [REDACTED] に [REDACTED] された後に造粒工程が開始される。LIW Feeder から定量供給された混合粉体は、[REDACTED] により添加される [REDACTED] と混合され、造粒機に投入される。造粒機に投入された [REDACTED] は、連続的に [REDACTED] と [REDACTED] で造粒され、造粒機から排出される。造粒顆粒は、[REDACTED] に投入される際に、[REDACTED] により [REDACTED] が測定される。造粒顆粒の [REDACTED] が許容範囲 ([REDACTED] ~ [REDACTED]) を逸脱した場合は、[REDACTED] と [REDACTED] の間にある [REDACTED] が切り換わり、造粒顆粒の隔離が実施される。造粒顆粒の隔離実施中も、[REDACTED] と [REDACTED] は停止することなく稼働する。また、[REDACTED] の許容範囲に加えて処置基準値 ([REDACTED] ~

■■) を設定しており、造粒顆粒の ■■ が処置基準値を逸脱した場合は、■■ が発生するため、作業者が製品標準書に従い、■■ 又は ■■ を ■■ 変更する。

機構は、造粒工程において ■■ を ■■ で管理することとした理由について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

造粒顆粒の ■■ は ■■ 等の製剤の品質に影響を及ぼす可能性があることから、造粒顆粒の ■■ を製剤の ■■ に対する物質特性として設定した。また、本製剤の製造では、造粒顆粒の ■■ が許容範囲 (■ ~ ■ ■) 内であれば製剤の ■■ は規格に適合することを確認している。

造粒工程の CPP である ■■ 又は ■■ を変動させた場合の造粒顆粒の ■■ 及び ■■ の変化について、① ■■ を変動させた場合又は② ■■ を変動させた場合の ■■ 及び ■■ に対する相関係数 (R) は、それぞれ① ■■ 及び ■■ 、並びに② ■■ 及び ■■ であった。上記①及び②の場合の ■■ 及び ■■ の R は、■■ であり CPP の変動に対して十分な相関を示したもの、■■ がより高い相関を示したことから、造粒工程における造粒顆粒の ■■ を ■■ で管理することとした。

機構は、申請者の説明を了承した。

2.R.3 製剤の有効期間について

申請者は、製剤の有効期間について、以下のように説明している。

下記の点を踏まえると、バッチ式及び連続生産式の製造方法で製造された製剤間で品質及び安定性に明確な差異はないと考えることから、■■ の製造方法で製造された製剤を用いた長期保存試験結果に基づき、製剤の有効期間を設定することは可能と考える。

- ・ バッチ式と連続生産式の製造原理（湿式造粒法による錠剤製造）及び両製造方法により製造される製剤の ■■ はいずれも同一であること。
- ・ 両製剤のロット分析結果において、同等の結果が得られたこと。
- ・ 両製剤について「含量が異なる経口固形製剤の生物学的同等性試験ガイドライン」（平成 12 年 2 月 14 日付け医薬審第 64 号）等を参考に実施した溶出試験により、溶出挙動の同等性が確認されたこと。
- ・ 両製剤について相対比較試験を実施した結果、明確な差異は認められなかったこと。

機構が考察した内容は、以下のとおりである。

上記の申請者の説明に加え、下記の点を考慮すると、■■ の製造方法で製造された製剤による長期保存試験結果に基づき製剤の有効期間を設定することは許容可能と判断した。

- ・ ■■ の製造方法で製造された製剤に対して下記の管理を設定することにより、■■ の製造方法で製造された製剤と同等の品質が担保可能と考えること。
 - 混合 1 工程、混合 2 工程及び乾燥工程では、■■ 品質が管理されていること。
 - ■■ が用いられている造粒工程では、■■ により測定された造粒顆粒の ■■ が管理されていること。
 - 打錠工程において、■■ が計測され、管理されていること。

- 両製剤の ■ カ月までの長期保存試験及び 6 カ月までの加速試験成績を比較した結果、安定性に明確な差異は認められなかったこと。

3. 非臨床薬理試験に関する資料及び機構における審査の概略

本項では、特に記載のない限り、本薬の投与量及び濃度は、臭化水素酸塩量で記載する。

3.1 効力を裏付ける試験

3.1.1 ヒストンのメチル化に対する阻害作用

3.1.1.1 *in vitro* (CTD 4.2.1.1.1、4.2.1.1.3、4.2.1.1.7、4.2.1.1.9)

変異型 EZH2 を含む 19 種類のヒト HMT (組換えタンパク) によるヒストンのメチル化に対する本薬の阻害作用が、酵素反応により転移される放射性標識メチル基の定量により検討された。その結果、各種 HMT に対する本薬の IC₅₀ 値は表 5 のとおりであった。

表 5 各種 HMT によるヒストンのメチル化に対する本薬の阻害作用

HMT	n	IC ₅₀ 値 (nmol/L)	HMT	n	IC ₅₀ 値 (nmol/L)
CARM1	2	>50,000、>50,000	EZH2 ^{Y646H*}	1	6
DOT1L	1	>50,000	EZH2 ^{Y646N*}	2	9.4、66.4
EHMT1	1	>50,000	EZH2 ^{Y646S*}	1	6
EHMT2	1	>50,000	PRMT1	1	>50,000
EZH1	4	392±72	PRMT5/MEP50	1	>50,000
EZH2	4	11±5	PRMT8	1	>50,000
EZH2 ^{A682G*}	2	1.3、2.2	SMYD2	1	>50,000
EZH2 ^{A692V*}	2	1.5、1.9	WHSC1	1	>100,000
EZH2 ^{Y646C*}	1	16	WHSC1L1	1	>100,000
EZH2 ^{Y646F*}	3	14±5			

平均値士標準偏差、n=1 又は 2 の場合は個別値、*1 : 682 番目のアラニンがグリシンに置換、*2 : 692 番目のアラニンがバリンに置換、*3 : 646 番目のチロシンがシスティンに置換、*4 : 646 番目のチロシンがフェニルアラニンに置換、*5 : 646 番目のチロシンがヒスチジンに置換、*6 : 646 番目のチロシンがアスパラギンに置換、*7 : 646 番目のチロシンがセリンに置換

野生型 EZH2 を発現するヒト DLBCL 由来 OCI-Ly19 細胞株を用いて、ヒストン H3 の各種リジン残基 (H3K4、H3K9、H3K27、H3K36 及び H3K79) のメチル化に対する本薬の阻害作用が、ウエスタンプロット法により検討された。その結果、H3K27 のメチル化に対する本薬の阻害作用が認められた。

6 種類の野生型及び変異型 EZH2 を発現するヒト DLBCL 由来細胞株を用いて、H3K27me3 に対する本薬の阻害作用が、ウエスタンプロット法により検討された。その結果、本薬の IC₅₀ 値は表 6 のとおりであった。

表 6 各種 DLBCL 由来細胞株における H3K27me3 に対する本薬の阻害作用

細胞株	EZH2	IC ₅₀ 値 (nmol/L)
OCI-Ly19	野生型	8
Pfeiffer	A682G	2
WSU-DLCL2	Y646F	9
SU-DHL-6	Y646N	20
KARPAS-422	Y646N	90
RL	Y646N	22

n=1

10 種類のヒト悪性腫瘍由来細胞株を用いて、H3K27me3 に対する本薬の阻害作用が、ウエスタンプロット法により検討された。その結果、本薬の IC₅₀ 値は表 7 のとおりであった。

表7 各種悪性腫瘍由来細胞株におけるH3K27me3に対する本薬の阻害作用

細胞株	由来	EZH2	IC ₅₀ 値 (nmol/L)
RD	横紋筋肉腫	野生型	5.6
SJCRH30			4.9
G401	悪性ラブドイド腫瘍	活性型 ^⑧	2.7
A204			1.4
G402			1.7
KYM-1			4.3
Bin-67			8
COV434			8
TOV112D			10
OVK18			32

n=1

3.1.1.2 *in vivo* (CTD 4.2.1.1.10、4.2.1.1.13)

①変異型 EZH2 (Y646F) を発現する WSU-DLCL2 細胞株又は②変異型 EZH2 (Y646N) を発現する KARPAS-422 細胞株をそれぞれ皮下移植した①SCID マウス又は②ヌードマウス (6 例/群) を用いて、H3K27me3 に対する本薬の阻害作用が、ELISA 法により検討された。その結果は、それぞれ以下のとおりであった。

- ① 腫瘍体積が 117～119 mm³ に達した時点（第 1 日）から本薬 160 mg/kg⁹⁾ が TID で 7 日間、又は本薬 40、80 及び 160 mg/kg⁹⁾ が TID で 28 日間経口投与され、最終投与 3 時間後の腫瘍組織における H3K27me3 タンパクの発現量が測定された。その結果、すべての本薬群で H3K27me3 に対する本薬の阻害作用が認められた。
- ② 腫瘍体積が 250 mm³ に達した時点（第 1 日）から本薬 150、301、602 若しくは 1,203 mg/kg が QD で 7 日間、又は本薬 75、150、301 及び 602 mg/kg が BID で 7 日間経口投与され、最終投与 3 時間後の腫瘍組織における H3K27me3 タンパクの発現量が測定された。その結果、対照¹⁰⁾群と比較して、すべての本薬群で統計学的に有意な H3K27me3 に対する本薬の阻害作用が認められた (p<0.05、Dunnett 検定)。

3.1.2 細胞周期停止作用 (CTD 4.2.1.1.3、4.2.1.1.7)

野生型 EZH2 を発現する RD 細胞株、活性型^⑧ EZH2 を発現する G401 細胞株、及び変異型 EZH2 (Y646F) を発現する WSU-DLCL2 細胞株を用いて、本薬⁹⁾の細胞周期停止作用が、PI 染色を指標としてフローサイトメトリー法により検討された。その結果、G401 及び WSU-DLCL2 細胞株において、本薬による G1 期での細胞周期停止作用が認められた。

3.1.3 アポトーシス誘導作用 (CTD 4.2.1.1.3、4.2.1.1.7)

野生型 EZH2 を発現する RD 細胞株、活性型^⑧ EZH2 を発現する G401 細胞株、及び変異型 EZH2 (Y646F) を発現する WSU-DLCL2 細胞株を用いて、本薬⁹⁾のアポトーシス誘導作用が、TUNEL 染色

^⑧ EZH2 遺伝子変異を有さないものの、①G401、A204、G402、KYM-1、Fuji 及び HS-SY-II 細胞株、並びに②Bin-67、COV434、TOV112D 及び OVK18 細胞株において、EZH2 のメチル化活性を抑制的に制御することが報告されている①SMARCB1 遺伝子並びに②SMARCA2 及び SMARCA4 遺伝子 (Cancer Cell 2010; 18: 316-28、Biochemistry 2016; 55: 1600-14 等) の欠損等を有している。

⁹⁾ 塩酸塩としてのタゼメトスタット量。

¹⁰⁾ 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム及び0.1%ポリソルベート80。

を指標に検討された。その結果、G401 及び WSU-DLCL2 細胞株において、本薬によるアポトーシス誘導作用が認められた。

3.1.4 悪性腫瘍由来細胞株等に対する増殖抑制作用

3.1.4.1 *in vitro* (CTD 4.2.1.1.3、4.2.1.1.6、4.2.1.1.7、4.2.1.1.8、4.2.1.1.9)

10種類の野生型及び変異型 EZH2 を発現するヒト DLBCL 由来細胞株に対する本薬¹¹⁾の増殖抑制作用が、フローサイトメトリー法により検討された。その結果、本薬の IC₅₀ 値は表 8 のとおりであった。

表 8 各種ヒト DLBCL 由来細胞株に対する本薬の増殖抑制作用

細胞株	EZH2	n	IC ₅₀ 値 (nmol/L)
OCI-Ly19	野生型	5	5,700±4,900
DOHH-2		1	1,700
Farage		1	99
Toledo		1	7,600
Pfeiffer	A682G	1	0.83
WSU-DLCL2	Y646F	8	12±2.3
SU-DHL-10		1	5.8
SU-DHL-6	Y646N	1	4.7
KARPAS-422		1	1.8
RL		1	5,800

平均値±標準誤差、n=1 の場合は個別値

12種類の野生型及び変異型 EZH2 を発現するヒト悪性腫瘍由来細胞株に対する本薬の増殖抑制作用が、生細胞由来の ATP 量を指標に検討された。その結果、本薬の IC₅₀ 値は表 9 のとおりであった。

表 9 ヒト悪性腫瘍由来細胞株に対する本薬の増殖抑制作用

細胞株	由来	EZH2	n	IC ₅₀ 値 (μmol/L)
RD	横紋筋肉腫	野性型	2	6.1、>10
SJCRH30			2	5.1、>10
SW982			3	>10
Fuji	滑膜肉腫	活性型 ^{③)}	3	0.15±0.029
HS-SY-II			3	0.52±0.042
G401			2	0.141、0.129
A204			3	1.11±0.262
G402			2	0.170、0.119
KYM-1*			3	0.032±0.007
Bin-67			1	0.29
COV434			1	0.073
TOV112D	高カルシウム血症型 卵巣小細胞癌		1	0.34
OVK18			1	0.86

平均値±標準誤差、n=1 又は 2 の場合は個別値、*: KYM-1 細胞株に対する本薬の増殖抑制作用はフローサイトメトリー法により検討された

3.1.4.2 *in vivo* (CTD 4.2.1.1.10、4.2.1.1.11、4.2.1.1.12、4.2.1.1.14、4.2.1.1.15、4.2.1.1.16、4.2.1.1.17、4.2.1.1.18)

変異型 EZH2 (Y646F) を発現する WSU-DLCL2 細胞株を皮下移植した SCID マウス (6 又は 12 例/群) を用いて、本薬の腫瘍増殖抑制作用が検討された。腫瘍体積が 117~119 mm³ に達した時点 (第 1 日) から本薬 40、80 及び 160 mg/kg⁹⁾ が TID で 28 日間経口投与、又はシクロホスファミド 100 mg/kg が QD で

¹¹⁾ 塩酸塩が用いられた。なお、①OCI-Ly19、Pfeiffer 及び WSU-DLCL2 細胞株並びに②SU-DHL-10、DOHH-2、Farage 及び Toledo 細胞株について、①では用いられた塩の種類は不明であり、②では複数の塩を用いた検討のうち、塩酸塩を用いた結果のみ記載。

5日間腹腔内投与され、腫瘍体積が算出された。その結果、第29日目において、対照¹⁰⁾群と比較して、シクロホスファミド群及び本薬160 mg/kg群でそれぞれ統計学的に有意な腫瘍増殖抑制作用が認められた(図1)。

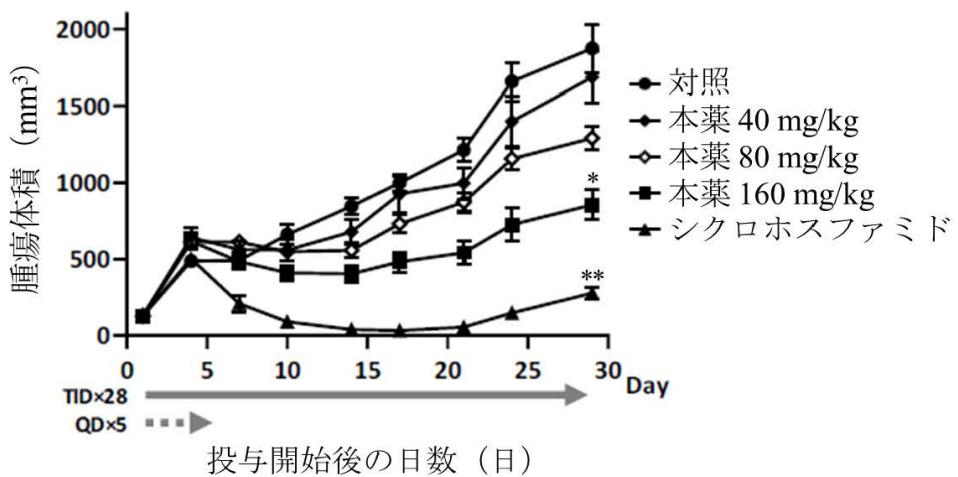


図1 WSU-DLCL2 細胞株を皮下移植した SCID マウスにおける腫瘍増殖抑制作用
n=6 又は 12、平均値±標準誤差、*：対照群に対して $p < 0.01$ (Dunnett 検定)、**：
対照群に対して $p < 0.001$ (Dunnett 検定)

変異型 EZH2 (Y646N) を発現する KARPAS-422 細胞株を皮下移植したヌードマウス(9例/群)を用いて、本薬の腫瘍増殖抑制作用が検討された。腫瘍体積が 150 mm³に達した時点(第1日)から①本薬 80.5、161、322 及び 644 mg/kg⁹⁾が BID で 28 日間、又は腫瘍体積が 203~209 mm³に達した時点(第1日)から②本薬 90 及び 361 mg/kg が BID で 28 日間、③14 日間を 1 サイクルとし、本薬 90 及び 361 mg/kg が BID で 7 日間投与後、7 日間休薬(間歇投与)を 2 サイクル、若しくは④本薬 90 及び 361 mg/kg を BID で 21 日間投与後、7 日間休薬にて経口投与された。その結果、第29日目において、対照¹⁰⁾群と比較して、すべての本薬群で統計学的に有意な腫瘍増殖抑制作用が認められた($p < 0.05$ 、Dunnett 検定)。

変異型 EZH2 (Y682G) を発現する Pfeiffer 細胞株を皮下移植した NSG マウス¹²⁾(9例/群)を用いて、本薬の腫瘍増殖抑制作用が検討された。腫瘍体積が 323 mm³に達した時点(第1日)から本薬 34.2、114 及び 342 mg/kg が QD で 28 日間、又は本薬 1,140 mg/kg が QD で 12 日間経口投与された。その結果、第29日目において、対照¹⁰⁾群と比較して、すべての本薬群で統計学的に有意な腫瘍増殖抑制作用が認められた($p < 0.05$ 、Dunnett 検定)。

野生型 EZH2 を発現する①OCI-Ly19、②Toledo 又は③ヒト B 細胞リンパ腫由来 MC116 細胞株を皮下移植した SCID マウス(8例/群)を用いて、本薬の腫瘍増殖抑制作用が検討された。腫瘍体積が 120~140 mm³に達した時点(第1日)から本薬 143 及び 571 mg/kg が BID でそれぞれ①20 日間、②28 日間又は③17 日間経口投与された。その結果はそれぞれ以下のとおりであった。

- ① 第21日目において、対照¹⁰⁾群と比較して、すべての本薬群で統計学的に有意な腫瘍増殖抑制作用が認められた(本薬 143 mg/kg 群: $p < 0.05$ 、本薬 571 mg/kg 群: $p < 0.001$ 、Games-Howell 検定)。
- ② 第29日目において、対照¹⁰⁾群と比較して、本薬 571 mg/kg 群で統計学的に有意な腫瘍増殖抑制作用が認められた($p < 0.01$ 、Games-Howell 検定)。

¹²⁾ NOD/SCID マウスを背景系統とし、IL-2 受容体 γ鎖の欠損を有するマウス。

- ③ 第17日目において、対照¹⁰⁾群と比較して、本薬 571 mg/kg 群で統計学的に有意な腫瘍増殖抑制作用が認められた (p<0.01、Games-Howell 検定)。

変異型 EZH2 (Y646F) を発現する①WSU-DLCL2 細胞株又は②SU-DHL-10 細胞株をそれぞれ皮下移植した SCID マウス (①12 又は②16 例/群) を用いて、本薬の腫瘍増殖抑制作用が検討された。その結果はそれぞれ以下のとおりであった。

- ① 対照¹⁰⁾群と比較して、本薬⁹⁾と CHOP との併用で統計学的に有意な腫瘍増殖抑制作用が認められた (p<0.0001、Bonferroni 検定)。
- ② 対照¹⁰⁾群と比較して、本薬と CVP との併用で統計学的に有意な腫瘍増殖抑制作用が認められた (p<0.001、Dunnett 検定)。

3.2 副次的薬理試験

3.2.1 受容体、イオンチャネル及びトランスポーターに及ぼす影響 (CTD 4.2.1.2.1)

80種類の受容体、イオンチャネル及びトランスポーターに対する本薬の阻害作用が検討された。その結果、本薬⁹⁾ 10 μmol/L により 50%以上の阻害作用が認められた受容体等はムスカリン M4 受容体であり、本薬の IC₅₀ 値は 4.6 μmol/L であった。

上記の結果について、本薬の臨床推奨用量 (800 mg BID) における血漿中非結合形本薬の C_{max} は 0.261 μmol/L¹³⁾ であったこと等を考慮すると、本薬の臨床使用時に、本薬による当該受容体に対する阻害作用に起因する安全性上の問題が生じる可能性は低いと考える、と申請者は説明している。

3.2.2 正常組織における H3K27me3 に対する阻害作用 (CTD 4.2.1.2.3、4.2.1.2.4、4.2.1.2.5)

ラット (①4 又は②8 例/群) を用いて、正常組織における H3K27me3 に対する本薬の阻害作用が ELISA 法により検討され、その結果はそれぞれ以下のとおりだった。

- ① 本薬 106 及び 319 mg/kg⁹⁾ が QD で 7 日間経口投与され、最終投与 3 時間後の PBMC、骨髓、脾臓及び皮膚における H3K27me3 タンパクの発現量が測定された。その結果、PBMC、骨髓及び脾臓におけるすべての本薬群で H3K27me3 に対する本薬の阻害作用が認められた。
- ② 本薬 100、300 及び 1,000 mg/kg が QD で 22 又は 28 日間経口投与され、最終投与 29 時間後の PBMC、骨髓、脾臓及び皮膚における H3K27me3 タンパクの発現量が測定された。その結果、いずれの組織でもすべての本薬群で H3K27me3 に対する本薬の阻害作用が認められた。

カニクイザル (8 例/群) を用いて、正常組織における H3K27me3 に対する本薬の阻害作用が、ELISA 法により検討された。本薬 50、150 及び 500¹⁴⁾ mg/kg が BID で 28 日間経口投与され、最終投与 14~17 時間後の①PBMC、②骨髓、③脾臓及び④皮膚における H3K27me3 タンパクの発現量が測定された。その結果、対照¹⁰⁾群と比較して、①本薬 150 mg/kg 群、②本薬 50 及び 150 mg/kg 群、③本薬 150 及び 500 mg/kg 群、並びに④すべての本薬群で、それぞれ統計学的に有意な H3K27me3 に対する本薬の阻害作用が認められた (① : p<0.05、③ : p<0.01、並びに②及び④ : p<0.0001、いずれも Bonferroni 検定)。

¹³⁾ 再発又は難治性の FL 患者及び DLBCL 患者を対象とした 106 試験において、本薬 800 mg を BID で反復経口投与した際の第 15 日目における本薬の C_{max} (1,290 ng/mL) (6.2.1.1 参照) 及び本薬 1 μmol/mL における血漿タンパク非結合分率 (0.116) (4.2.2 参照) に基づき算出された。

¹⁴⁾ 本薬 500 mg/kg を BID で 8~9 日間経口投与後に全例で状態不良となったことから、安楽死とさせなかつた 4 例にて 2 日間休薬させた後、本薬 300 mg/kg に減量して投与を再開した。

3.3 安全性薬理試験

3.3.1 中枢神経系に及ぼす影響

カニクイザル（8例/群）に本薬100、300及び1,000mg/kgが4週間反復経口投与され、中枢神経系に対する本薬の影響が検討された（5.2参照）。その結果、本薬1,000mg/kg群で後肢の筋緊張の低下が認められた。

3.3.2 心血管系に及ぼす影響

3.3.2.1 hERGカリウム電流に及ぼす影響（CTD 4.2.1.3.1「非GLP試験」）

hERGを導入したヒト胎児腎臓由来HEK293細胞株を用いて、hERGカリウム電流に対する本薬10μmol/Lの影響が検討された。その結果、本薬10μmol/LによるhERGカリウム電流の阻害率（平均値±標準誤差、n=4）は、15.1±1.4%であった。

3.3.2.2 心拍数、血圧及び心電図に及ぼす影響（CTD 4.2.1.3.3）

カニクイザル（4例）に本薬0、100、300及び1,000mg/kgが順次単回経口投与され、心拍数、血圧及び心電図（PR、QT、QTc及びQRS間隔）に対する本薬の影響が検討された。その結果、本薬投与による影響は認められなかった。

3.3.3 呼吸系に及ぼす影響

カニクイザル（8例/群）に本薬100、300及び1,000mg/kgが4週間反復経口投与され、呼吸数、一回換気量、分時換気量等に対する本薬の影響が検討された（5.2参照）。その結果、本薬投与による影響は認められなかった。

3.R 機構における審査の概略

機構は、提出された資料に基づき、本薬の非臨床薬理に関する申請者の説明について、以下の項に示す検討を除き、受入れ可能と判断した。

3.R.1 本薬の作用機序及び有効性について

申請者は、本薬の作用機序及びEZH2遺伝子変異陽性のFLに対する有効性について、以下のように説明している。

EZH2は、ヒストン修飾を介して遺伝子発現を調節するポリコーム抑制複合体を構成する因子の一つであり、ヒストン等のタンパクのリジン残基にメチル基を付加する反応（メチル化）を触媒することで、クロマチン構造を凝集させ、遺伝子の転写を抑制すること等により、胚中心細胞等の分化、増殖等に関与すると考えられている（Proc Natl Acad Sci USA 2015; 112: E1116-25等）。

EZH2遺伝子変異は、FL、DLBCL等の悪性リンパ腫等において認められる遺伝子変異であり、FLでは7~27%でEZH2Y646変異等のEZH2遺伝子変異が認められる旨が報告されている（Proc Natl Acad Sci USA 2010; 107: 20980-5等）。EZH2遺伝子変異が生じると、トリメチル化されたH3K27が異常に蓄積することにより、FLの増殖等に関与すると考えられている（Nat Genet 2010; 42: 181-5等）。

本薬は、EZH2に対する阻害作用を有する低分子化合物であり、EZH2のメチル化活性を阻害し（3.1.1参照）、細胞周期制御及びアポトーシス誘導の制御に関わるPRDM1、TP53INP1遺伝子等の遺伝子発現

を調節することにより、細胞周期停止及びアポトーシス誘導を引き起こし（Cancer Cell 2013; 23: 677-92等）、腫瘍の増殖を抑制すると考えられる。

ヒトFL由来細胞株に対する本薬の増殖抑制作用を検討した非臨床試験成績は得られていないものの、本薬は複数のEZH2遺伝子変異陽性のヒト悪性リンパ腫由来細胞株（ヒトDLBCL由来細胞株）に対して増殖抑制作用を示したこと（3.1.4参照）等を考慮すると、本薬は、EZH2遺伝子変異陽性のFLに対して有効性を示す可能性はあると考える。

機構が考察した内容は、以下のとおりである。

申請者の説明を概ね了承した。ただし、EZH2遺伝子変異陽性のFLにおいて、本薬のメチル化阻害作用によって影響を受ける因子等については未解明な部分が多く、本薬によるメチル化活性阻害と腫瘍増殖抑制作用との直接的な関連については不明である。EZH2遺伝子変異陽性のFLに対する本薬の有効性に影響を及ぼす因子等に関する情報については、本薬の臨床使用時における有効性の予測や適切な患者選択といった観点から重要な可能性があることから、今後も引き続き情報収集を行い、新たな知見が得られた場合には医療現場に適切に情報提供する必要があると判断した。

4. 非臨床薬物動態試験に関する資料及び機構における審査の概略

本項では、特に記載のない限り、本薬の投与量及び濃度は、遊離塩基換算量で記載する。

動物における本薬のPKは、ラット、サル等において検討された。また、本薬の血漿タンパク結合、薬物代謝酵素、トランスポーター等に関する検討は、ヒト又は動物由来の生体試料を用いて行われた。

4.1 吸收

4.1.1 単回投与

雄性ラットに本薬5及び10mg/kg¹⁵⁾を単回静脈内投与、又は本薬5、30及び100mg/kg¹⁵⁾を単回経口投与し、血漿中本薬濃度が検討された（表10）。本薬のC_{max}及びAUC_{inf}は、検討された用量範囲で用量比を上回って増加した。当該結果が得られた理由について、用量の増加に伴い、肝臓における本薬の代謝が飽和したことが考えられる、と申請者は説明している。本薬5mg/kgを経口投与した際のBA¹⁶⁾は、3.2%であった。

表10 本薬のPKパラメータ（雄性ラット、単回静脈内又は経口投与）

投与量 (投与経路)	C _{max} (ng/mL)	t _{max} ^{*1} (h)	AUC _{inf} (ng·h/mL)	t _{1/2} (h)	CL (L/h/kg)	V _{ss} (L/kg)
5 mg/kg（静脈内）	—	—	1,263±111	0.4±0.1	3.49±0.30	1.80±0.12
10 mg/kg（静脈内） ^{*2}	—	—	2,792±1,061	0.7±0.2	3.53±1.40	2.56±0.59
5 mg/kg（経口）	41.9±21.0	0.5 (0.5, 0.5)	—	0.8	—	—
30 mg/kg（経口）	836±544	0.5 (0.5, 0.5)	1,624±924	0.9±0.2	—	—
100 mg/kg（経口）	4,965±2,406	4.0 (4.0, 4.0)	21,653±12,463	1.1±0.3	—	—

平均値±標準偏差（n=1の場合は個別値）、n=4、—：算出せず、*1：中央値（範囲）、*2：胆管カニューレ挿入施術後のラット

¹⁵⁾ 臭化水素酸塩としてのタゼメトスタット量。

¹⁶⁾ AUC_{2h}に基づいて算出した。

4.1.2 反復投与

雌雄サルに本薬 50、150 及び 300 mg/kg¹⁵⁾ を BID で 13 週間反復経口投与し、本薬及び EPZ-6930 (N-脱エチル化体) の血漿中濃度が検討された（表 11）。第 91 日目における本薬及び EPZ-6930 の C_{max} 及び AUC_{12h} は、第 1 日目と比較して概ね低値を示した。本薬の PK パラメータに明確な性差は認められなかった。

表 11 本薬及び EPZ-6930 の PK パラメータ（雌雄サル、13 週間反復経口投与）

測定対象	測定日（日）	投与量 (mg/kg)	C _{max} (ng/mL)		t _{max} * (h)		AUC _{12h} (ng·h/mL)	
			雄	雌	雄	雌	雄	雌
本薬	1	50	483±429	501±182	2.0 (1.0, 2.0)	1.0 (1.0, 2.0)	1,560±1,278	1378±361
		150	2,481±1,688	1,998±1,333	3.0 (2.0, 4.0)	2.0 (2.0, 8.0)	9,707±4,496	7118±4686
		300	4,651±2,692	1,612±1,714	4.0 (2.0, 4.0)	2.0 (1.0, 2.0)	23,875±15,825	8071±9322
	43	50	139±86	142±52	2.0 (1.0, 2.0)	0.5 (0.5, 2.0)	537±259	454±181
		150	462±174	934±723	3.0 (2.0, 4.0)	2.0 (1.0, 2.0)	2,487±990	3062±2225
		300	1,312±782	863±762	4.0 (2.0, 4.0)	2.0 (1.0, 4.0)	8,048±5,517	4292±3070
	91	50	148±111	166±32	1.5 (0.5, 4.0)	1.5 (0.5, 2.0)	641±427	599±68
		150	597±301	725±654	3.0 (2.0, 4.0)	2.0 (2.0, 2.0)	3,137±1,331	3575±3328
		300	1,298±879	1,241±1,008	4.0 (4.0, 4.0)	4.0 (2.0, 4.0)	8,117±4,921	6215±4583
EPZ-6930	1	50	1,620±1,200	1,988±433	2.0 (1.0, 2.0)	1.0 (1.0, 2.0)	4,815±3,380	4,593±1,822
		150	5,836±3,185	4,839±2,503	3.0 (2.0, 4.0)	2.0 (2.0, 8.0)	25,037±8,313	1,8033±1,1221
		300	7,398±2,097	3,768±2,868	3.0 (2.0, 4.0)	2.0 (1.0, 2.0)	47,767±17,687	18,890±19,323
	43	50	1,025±739	673±201	2.0 (1.0, 2.0)	1.5 (1.0, 2.0)	3,093±1,799	1,697±837
		150	2,979±1,267	4,835±2,442	3.0 (2.0, 4.0)	2.0 (1.0, 2.0)	15,554±9,042	1,5422±8,561
		300	5,473±3,203	3,434±1,798	4.0 (2.0, 4.0)	3.0 (2.0, 4.0)	40,680±31,970	17,842±9,685
	91	50	860±617	1,126±773	2.0 (2.0, 2.0)	2.0 (1.0, 2.0)	3,154±2,143	2,878±1,660
		150	3,427±1,573	3,669±1,693	4.0 (2.0, 4.0)	3.0 (2.0, 4.0)	20,238±9,915	18,073±11,202
		300	4,084±1,747	4,507±2,752	4.0 (4.0, 4.0)	4.0 (2.0, 4.0)	31,036±15,844	26,806±18,848

平均値±標準偏差、n=4、*: 中央値（範囲）

4.1.3 in vitro における膜透過性

ヒト結腸癌由来 Caco-2 細胞株を用いて、本薬の膜透過性が検討された。その結果、本薬 152 μmol/L の P_{app A→B} は 13.3×10^{-6} cm/秒であった。当該結果並びに中等度膜透過性のアテノロール 10 μmol/L 及び高膜透過性のプロプラノロール 10 μmol/L の P_{app A→B} はそれぞれ 0.201×10^{-6} 及び 18.4×10^{-6} cm/秒であったことを考慮すると、本薬の膜透過性は高いと考える、と申請者は説明している。

4.2 分布

4.2.1 組織分布

雄性有色ラット及び雄性アルビノラットに ¹⁴C 標識体 50 mg/kg を単回経口投与し、定量的全身オートラジオグラフィー法により、放射能の組織分布が検討された。その結果、アルビノラットにおいて、放射能は広範な組織に分布し、血液を含む大部分の組織での組織中放射能濃度は投与 1 時間後までに最高値を示した。アルビノラットにおいて、肝臓、腎臓、小腸、ハーダー腺、腎皮質及び甲状腺における組織中放射能濃度の最大値（それぞれ 193.170、29.099、24.288、20.599、20.580 及び 20.021 μg Eq./g）は、血液中放射能濃度の最大値（7.549 μg Eq./g）と比較して特に高値を示した。投与 168 時間後における組織中放射能濃度は、大部分の組織において定量下限値（0.237 μg Eq./g）未満であった。有色ラットにおける放射能の組織分布は、ぶどう膜及び有色皮膚を除き、アルビノラットと同様であった。ぶどう膜における組織中放射能濃度の最高値は、アルビノラット（2.919 μg Eq./g）と比較して有色ラット（19.096

$\mu\text{g Eq./g}$) で高かったことから、本薬又は本薬の代謝物がメラニンに結合することが示唆された、と申請者は説明している。

4.2.2 血漿タンパク結合

マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトの血漿と本薬 ($1\sim30 \mu\text{mol/L}$) を 37°C で 6 時間インキュベートし、平衡透析法を用いて本薬の血漿タンパク結合が検討された。その結果、マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトにおける本薬の血漿タンパク結合率は、それぞれ $91.8\sim98.1\%$ 、 $88.8\sim94.7\%$ 、 $91.1\sim91.9\%$ 、 $83.3\sim84.7\%$ 及び $87.7\sim91.1\%$ であった。

ヒト血清アルブミン (40 mg/mL)、ヒト $\alpha 1$ -酸性糖タンパク (1 mg/mL) 及びヒト γ -グロブリン (12 mg/mL) と本薬 ($1\sim10 \mu\text{mol/L}$) を 37°C で 20 時間インキュベートし、平衡透析法を用いて本薬のヒト血清アルブミン、ヒト $\alpha 1$ -酸性糖タンパク及びヒト γ -グロブリンへの結合が検討された。その結果、ヒト血清アルブミン、ヒト $\alpha 1$ -酸性糖タンパク及びヒト γ -グロブリンへの本薬の結合率は、それぞれ $63.7\sim64.2\%$ 、 $10.7\sim15.1\%$ 及び $10.6\sim15.6\%$ であった。以上より、ヒト血漿中において、本薬は主にアルブミンに結合することが示唆された、と申請者は説明している。

4.2.3 血球移行性

マウス、ラット、サル及びヒトの血液と本薬 ($50\sim50,000 \text{ ng/mL}$) を 37°C で 30 分間インキュベートし、本薬の血球移行性が検討された。その結果、マウス、ラット、サル及びヒトにおける本薬の血液/血漿中濃度比は、濃度によらず概ね一定であり、それぞれ $0.53\sim0.87$ 、 $0.61\sim0.78$ 、 $0.76\sim1.06$ 及び $0.71\sim0.96$ であった。以上より、本薬は主に血漿に分布することが示された、と申請者は説明している。

4.2.4 胎盤通過性及び胎児移行性

本薬の胎盤通過性及び胎児移行性については検討されていない。しかしながら、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験において、胎児に対する催奇形性等が認められていること（5.5 参照）から、本薬が胎盤を通過し、胎児へ移行する可能性がある、と申請者は説明している。

4.3 代謝

4.3.1 *in vitro*

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝細胞と本薬 ($20 \mu\text{mol/L}$) を、 37°C で 4 時間インキュベートし、本薬の代謝物が検討された。その結果、いずれの動物種及びヒトにおいても主に M11 (酸化及び脱水素化体) 及び M13 (ピリドンの *N*-脱アルキル化体) が検出された。その他、サル及びヒトにおいて主に EPZ-6930 が検出された。

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝ミクロソームと本薬 ($20 \mu\text{mol/L}$) を、 37°C で 30 分間¹⁷⁾ インキュベートし、本薬の代謝物が検討された。その結果、いずれの動物種及びヒトにおいても主に M7 (ピリドンの酸化体) 及び M12 (二重酸化体) が検出された。その他、マウス、ラット、サル及びヒトにおいて主に EPZ-6930 が検出された。

¹⁷⁾ サル及びヒトの肝細胞を用いた検討では、それぞれ 5 及び 20 分間インキュベートされた。

ヒトにおける本薬及びEPZ-6930の代謝に関するCYP分子種について、以下の検討が行われた。当該検討結果に基づき、ヒトにおける本薬及びEPZ-6930の代謝には主にCYP3A4が関与することが示された、と申請者は説明している。なお、本薬とCYP3A阻害剤との薬物動態学的相互作用については、「6.2.3.1 フルコナゾールとの薬物相互作用試験」の項に記載する。

- ヒト肝ミクロソームと本薬(1 μmol/L)を、CYP分子種(1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6及び3A)の阻害剤¹⁸⁾及びNADPH存在下において37°Cで30分間インキュベートした。その結果、本薬の代謝に対する阻害率は、CYP2C8、2D6及び3Aの阻害剤存在下でそれぞれ35.3、20.3及び94.8%であり、検討されたその他のCYP分子種の阻害剤存在下で8.2%以下であった。
- 遺伝子組換えヒトCYP分子種(1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6及び3A4)と本薬(0.1 μmol/L)をNADPH存在下において37°Cで30分間インキュベートした。その結果、本薬の残存率は、CYP3A4存在下で44.2%であり、検討されたその他のCYP分子種存在下で91.0%以上であった。
- ヒト肝ミクロソーム及び遺伝子組換えヒトCYP分子種(1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1、2J2、3A4及び3A5)と本薬(0.2及び2 μmol/L)又はEPZ-6930(0.2及び2 μmol/L)をNADPH存在下において37°Cで120分間インキュベートした。その結果、ヒト肝ミクロソームにおける本薬の代謝におけるCYP3A4並びに3A5及び2J2の寄与率はそれぞれ99%及び1%未満であり、検討された他のCYP分子種では本薬は代謝されなかった。また、ヒト肝ミクロソームにおけるEPZ-6930の代謝におけるCYP3A4及び2J2の寄与率はそれぞれ89~92%及び8~11%であり、検討されたその他のCYP分子種ではEPZ-6930は代謝されなかった。

4.3.2 *in vivo*

カニューレ未挿入、又は胆管若しくは頸動脈カニューレ挿入施術後の雄性ラットに¹⁴C標識体50 mg/kgを単回経口投与し、血漿、尿、糞及び胆汁中代謝物が検討され、以下の結果が得られた。

- 頸動脈カニューレ挿入施術後の雄性ラットから採取した投与8時間後までの血漿中には主に未変化体及びEPZ-6930が検出され、血漿中総放射能に対する割合は、それぞれ11.56及び62.86%であった。
- カニューレ未挿入の雄性ラットから採取された投与168時間後までの尿中には主にEPZ-6930が検出された(投与放射能に対する割合は5.35%、以下、同様)。また、投与168時間後までの糞中には主にM576_2(EPZ-6930の酸化体)、EPZ-6930及びM560_3(EPZ-6930の酸化体)が検出された(それぞれ11.55、11.13及び9.13%)。
- 胆管カニューレ挿入施術後の雄性ラットから採取された投与96時間後までの胆汁中には主にM720(EPZ-6930のグルクロン酸抱合体)、M576_2及びM764_3(酸化及びグルクロン酸抱合体)が検出された(それぞれ4.98、4.07及び3.53%)。

¹⁸⁾ CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6及び3Aの阻害剤として、それぞれフラフィリン、2-フェニル-2-(1-ピペリジニル)プロパン、モンテルカスト、スルファフェナゾール、S-ベンジルニルバノール、キニジン及びケトコナゾールが用いられた。

4.4 排泄

4.4.1 尿、糞及び胆汁中排泄

胆管カニューレ未挿入の雄性ラットに¹⁴C 標識体 50 mg/kg を単回経口投与し、放射能の尿及び糞中排泄率（投与放射能に対する割合）が検討された。その結果、投与 168 時間後までの放射能の尿及び糞中排泄率は、それぞれ 8.0 及び 86.1% であった。

胆管カニューレ挿入施術後の雄性ラットに¹⁴C 標識体 50 mg/kg を単回経口投与し、放射能の尿、糞及び胆汁中排泄率（投与放射能に対する割合）が検討された。その結果、投与 96 時間後までの放射能の尿、糞及び胆汁中排泄率は、それぞれ 17.9、24.0 及び 53.5% であった。

以上の検討結果等から、本薬及び本薬の代謝物は主に胆汁を介して糞中に排泄される、と申請者は説明している。

4.4.2 乳汁中排泄

本薬の乳汁中排泄については検討されていない。しかしながら、本薬の物理化学的性質（pKa 値：5.26 又は 6.88、log P 値：4.14 及びヒト血漿タンパク結合率（4.2.2 参照））を考慮すると、本薬は乳汁中に排泄される可能性がある、と申請者は説明している。

4.5 薬物動態学的相互作用

4.5.1 酵素阻害

①以下の検討結果、②本薬を申請用法・用量で投与した際の定常状態における非結合形本薬及び EPZ-6930 の C_{max} (0.261¹³⁾ 及び 3.58 μmol/L¹⁹⁾)、③本薬を申請用法・用量で投与した際の消化管における本薬濃度の推定値 (5.587 μmol/L) 等を考慮すると、臨床使用時において、本薬による CYP2C8、2C19 及び 3A の阻害を介した薬物動態学的相互作用が発現する可能性はあると考える、と申請者は説明している。なお、当該薬物動態学的相互作用については、「6.2.3.2 レパグリニド又はオメプラゾールとの薬物相互作用試験」及び「6.2.3.3 ミダゾラムとの薬物相互作用試験」の項に記載する。

- ヒト肝ミクロソームと本薬 (0.027~20 μmol/L) を CYP 分子種 (1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1 及び 3A) の基質²⁰⁾ 及び NADPH 存在下でインキュベートし、各 CYP 分子種に対する本薬の阻害作用が検討された。その結果、本薬は CYP2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A の基質の代謝に対して阻害作用を示し、IC₅₀ 値はそれぞれ 6.3、9.0、3.8、15.5 及び 5.9²¹⁾ μmol/L であった。一方、検討された他の CYP 分子種の基質の代謝に対して、本薬は明確な阻害作用を示さなかった。
- ヒト肝ミクロソームと本薬 (0.195~100 μmol/L) を NADPH 存在下でインキュベートした後に、CYP 分子種 (2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A) の基質²²⁾ とインキュベートし、各 CYP 分子種に対する本薬の時間依存的阻害作用が検討された。その結果、本薬は CYP3A の基質の代謝に対して時間依存

¹⁹⁾ 再発又は難治性の FL 患者及び DLBCL 患者を対象とした 106 試験において、本薬 800 mg を BID で反復経口投与した際の第 15 日目における EPZ-6930 の C_{max} (1,950 ng/mL)（6.2.1.1 参照）、及び EPZ-6930 の推定血漿タンパク非結合分率 (1.00) に基づき算出された。

²⁰⁾ CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6 及び 2E1 の基質として、それぞれフェナセチン、ブロピオン、アモジアキン、トルブタミド、S-メフェニトイイン、ブフロロール及びクロルゾキサゾンが用いられた。また、CYP3A の基質としてミダゾラム、ニフェジピン及びテストステロンが用いられた。

²¹⁾ テストステロンを用いた際の IC₅₀ 値。ミダゾラム及びニフェジピンを用いた際の IC₅₀ 値はそれぞれ 12.7 及び 19.4 μmol/L であった。

²²⁾ CYP2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A の基質として、それぞれアモジアキン、トルブタミド、S-メフェニトイイン、ブフロロール及びテストステロンが用いられた。

- 的阻害作用を示し、 K_I 値及び k_{inact} 値はそれぞれ $6.4 \mu\text{mol/L}$ 及び 0.077 min^{-1} であった。一方、検討された他の CYP 分子種の基質の代謝に対して、本薬は明確な時間依存的阻害作用を示さなかった。
- ヒト肝ミクロソームと EPZ-6930 ($0.146\sim200 \mu\text{mol/L}$) を CYP 分子種 (1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A) の基質²³⁾ 及び NADPH 存在下でインキュベートし、各 CYP 分子種に対する EPZ-6930 の阻害作用が検討された。その結果、検討された CYP 分子種の基質の代謝に対して、EPZ-6930 は明確な阻害作用を示さなかった。

4.5.2 酵素誘導

- ①以下の検討結果、②本薬を申請用法・用量で投与した際の定常状態における非結合形本薬の C_{max} ($0.261 \mu\text{mol/L}$ ¹³⁾) 等を考慮すると、臨床使用時において、本薬による CYP2C8、2C9 及び 3A4 の誘導を介した薬物動態学的相互作用が発現する可能性はあると考える、と申請者は説明している。なお、CYP2C8 及び 3A4 を介した本薬の薬物動態学的相互作用については、「6.2.3.2 レパグリニド又はオメプラゾールとの薬物相互作用試験」及び「6.2.3.3 ミダゾラムとの薬物相互作用試験」の項に記載する。
- ヒト肝細胞に本薬 ($0.03\sim30 \mu\text{mol/L}$) を 2 日間処置し、CYP1A2、2B6、2C9 及び 3A4 の mRNA 発現量及び酵素活性が検討された。その結果、本薬は CYP3A4 の mRNA 発現に対して、陽性対照であるリファンピシン ($10 \mu\text{mol/L}$) の最大約 93.8% の誘導作用を示し、 EC_{50} 値及び E_{max} はそれぞれ $2.18\sim2.96 \mu\text{mol/L}$ 及び $15.6\sim103.5$ 倍であった。一方、本薬は CYP1A2、2B6 及び 2C9 の mRNA 発現に対して明確な誘導作用を示さなかった。また、本薬はいずれの CYP 分子種の酵素活性に対しても明確な誘導作用を示さなかった。
 - ヒト肝細胞に本薬 ($0.2\sim50 \mu\text{mol/L}$ ²⁴⁾) を 3 日間処置し、CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19 及び 3A4 の mRNA 発現量並びに CYP1A2、2B6 及び 3A4 の酵素活性が検討された。その結果、本薬は CYP2C8、2C9 及び 3A4 の mRNA 発現に対して、それぞれ陽性対照であるリファンピシン ($50 \mu\text{mol/L}$) の最大 68.4、69.1 及び 85.2% の誘導作用を示した。一方、本薬は CYP1A2、2B6 及び 2C19 の mRNA 発現に対して明確な誘導作用を示さなかった。また、本薬はいずれの CYP 分子種の酵素活性に対しても明確な誘導作用を示さなかった。

4.5.3 トランスポーター

- 以下の検討結果から、本薬は P-gp の基質であることが示された、と申請者は説明している。
- ヒト P-gp を発現させたブタ腎臓由来 LLC-PK1 細胞株を用いて、P-gp を介した本薬 ($\text{約 } 6\sim80 \mu\text{mol/L}$) の輸送が検討された。その結果、P-gp 非発現細胞株に対する P-gp 発現細胞株における本薬の efflux ratio の比は、P-gp 阻害剤（エラクリダーゲン、 $5 \mu\text{mol/L}$ ）存在下及び非存在下において、それぞれ 2.4～3.5 及び $5.1\sim133.6$ であった。
 - ヒト BCRP を発現させたイヌ腎臓由来 MDCK II 細胞株を用いて、BCRP を介した本薬 ($\text{約 } 5\sim50 \mu\text{mol/L}$) の輸送が検討された。その結果、BCRP 非発現細胞株に対する BCRP 発現細胞株における本薬の efflux ratio の比は、BCRP 阻害剤（Ko143、 $10 \mu\text{mol/L}$ ）存在下及び非存在下で、それぞれ 0.9～1.4 及び 0.7～1.5 であった。

²³⁾ CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19 及び 2D6 の基質として、それぞれフェナセチン、エファビレンツ、アモジアキン、ジクロフェナク、S-メフェニトイントイン及びブフラロールが用いられた。また、CYP3A の基質としてミダゾラム及びテストステロンが用いられた。

²⁴⁾ 酵素活性の検討では本薬 $50 \mu\text{mol/L}$ を用いた。

- ヒトOATP1B1、OATP1B3、OCT2又はOAT1を発現させたチャイニーズハムスター卵巢由来CHO細胞株を用いて、OATP1B1、OATP1B3、OCT2又はOAT1を介した本薬（1～10 μmol/L）の輸送が検討された。その結果、OATP1B1、OATP1B3、OCT2又はOAT1非発現細胞株に対するOATP1B1、OATP1B3、OCT2又はOAT1発現細胞株における本薬の取り込み速度の比は、各トランスポーターの阻害剤²⁵⁾存在下及び非存在下で明確な差異は認められなかった。
- ヒトOAT3を発現させたHEK293細胞株を用いて、OAT3を介した本薬（1～10 μmol/L）の輸送が検討された。その結果、OAT3非発現細胞株に対するOAT3発現細胞株における本薬の取り込み速度の比は、検討された濃度範囲で1未満であった。
- ヒトOATP1B1、OATP1B3又はMATE1を発現させたMDCK II細胞株を用いて、OATP1B1、OATP1B3又はMATE1を介した本薬（1～10 μmol/L）の輸送が検討された。その結果、OATP1B1、OATP1B3又はMATE1非発現細胞株に対する、OATP1B1、OATP1B3又はMATE1発現細胞株における本薬の取り込み量の比は、いずれのトランスポーターにおいても検討された濃度範囲で2未満であった。

また、①以下の検討結果、②本薬を申請用法・用量で投与した際の定常状態における非結合形本薬及びEPZ-6930のC_{max}（0.261¹³⁾及び3.58 μmol/L¹⁹⁾）、③本薬を申請用法・用量で投与した際の消化管における本薬濃度の推定値（5,587 μmol/L）等を考慮すると、臨床使用時において、（i）本薬によるP-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、MATE1及びMATE2-K、並びに（ii）EPZ-6930によるMATE1及びMATE2-Kの阻害を介した薬物動態学的相互作用が発現する可能性はあると考える、と申請者は説明している。

- ヒトP-gpを発現させたLLC-PK1細胞株を用いて、³H標識したジゴキシン（10 nmol/L）の輸送に対する本薬（1～200 μmol/L）の阻害作用が検討された。その結果、本薬はP-gpの基質の輸送に対して阻害作用を示し、IC₅₀値は5.9 μmol/Lであった。
- ヒトBCRPを発現させたMDCK II細胞株を用いて、³H標識したプラゾシン（7 nmol/L）の輸送に対する本薬（1～200 μmol/L）の阻害作用が検討された。その結果、本薬はBCRPの基質の輸送に対して阻害作用を示し、IC₅₀値は34.1 μmol/Lであった。
- ヒトOATP1B1、OATP1B3、OCT2又はOAT1を発現させたCHO細胞株を用いて、各トランスポーターの基質²⁶⁾の輸送に対する本薬（0.1～300 μmol/L²⁷⁾の阻害作用が検討された。その結果、本薬はOATP1B1、OATP1B3及びOCT2の基質の輸送を阻害し、IC₅₀値はそれぞれ19.7、14.4及び14.7 μmol/Lであった一方で、OAT1の基質の輸送に対して明確な阻害作用を示さなかった。
- ヒトOAT3を発現させたHEK293細胞株を用いて、OAT3の基質（³H標識したエストロン-3-硫酸、0.1 μmol/L）の輸送に対する本薬（0.03～300 μmol/L）の阻害作用が検討された。その結果、本薬はOAT3の基質の輸送を阻害し、IC₅₀値は10.0 μmol/Lであった。
- ヒトMATE1、MATE2-K、OCT1又はOCT2を発現させたMDCK II細胞株を用いて、各トランスポーターの基質²⁸⁾の輸送に対する本薬（20 μmol/L）の阻害作用が検討された。その結果、本薬はMATE1

²⁵⁾ ①OATP1B1及びOATP1B3、②OCT2並びに③OAT1の阻害剤として、それぞれ①リファンピシン（100 μmol/L）、②キニジン（100 μmol/L）及び③プロベネシド（100 μmol/L）が用いられた。

²⁶⁾ ①OATP1B1、②OATP1B3、③OCT2及び④OAT1の基質として、それぞれ①³H標識したエストロン-3-硫酸（0.1 μmol/L）、②³H標識したエストラジオール-17β-グルクロニド（0.1 μmol/L）、③¹⁴C標識したメトホルミン（8 μmol/L）及び④³H標識したp-アミノ馬尿酸（0.5 μmol/L）が用いられた。

²⁷⁾ OCT2及びOAT1の検討では本薬0.03～100 μmol/Lが用いられた。

²⁸⁾ ①MATE1、MATE2-K及びOCT2並びに②OCT1の基質として、それぞれ①¹⁴C標識したメトホルミン（10 μmol/L）及び②³H標識した1-メチル-4-フェニルピリジニウム（2 μmol/L）が用いられた。

及び MATE2-K の基質の輸送をそれぞれ 87.7 及び 84.6% 阻害した一方で、OCT1 及び OCT2 の基質の輸送に対して明確な阻害作用を示さなかった。

- ヒト BSEP を発現させた膜小胞を用いて、BSEP の基質 (³H 標識したタウロコール酸、2 μmol/L) の輸送に対する本薬 (0.3~100 μmol/L) の阻害作用が検討された。その結果、本薬は BSEP の基質の輸送を阻害し、IC₅₀ 値は 20.0 μmol/L であった。
- ヒト P-gp、BCRP、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1 又は MATE2-K を発現させた MDCK II 細胞株を用いて、各トランスポーターの基質²⁹⁾ の輸送に対する EPZ-6930 (25 μmol/L) の阻害作用が検討された。その結果、EPZ-6930 は P-gp、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の基質の輸送をそれぞれ 54.6、25.7、79.9 及び 64.4% 阻害した一方で、BCRP、OAT1、OAT3、OCT1、OATP1B1 及び OATP1B3 の基質の輸送に対して明確な阻害作用を示さなかった。

4.R 機構における審査の概略

機構は、提出された資料及び以下の項に示す検討に基づき、本薬の非臨床薬物動態に関する申請者の説明について、受入れ可能と判断した。

4.R.1 組織分布について

機構は、本薬又は本薬の代謝物がメラニンに結合することが示唆されたこと（4.2.1 参照）から、メラニン含有組織における本薬の安全性について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

下記の点等を考慮すると、本薬の臨床使用時に、本薬及び代謝物のメラニン含有組織への分布に起因する安全性上の問題が生じる可能性は低いと考える。

- サルを用いた反復経口投与毒性試験において、メラニン含有組織である皮膚及び眼における毒性所見は認められなかつたこと（5.2 参照）。
- 国内第 I 相試験（106 試験）、国内第 II 相試験（206 試験）及び海外第 I / II 相試験（101 試験）の第 II 相パートに組み入れられた FL 患者集団の併合解析において、皮膚及び皮下組織障害、並びに眼障害の有害事象の発現率は、それぞれ 42.5% (51/120 例) 及び 7.5% (9/120 例)（日本人患者ではそれぞれ 52.4% (11/21 例) 及び 19.0% (4/21 例)、外国人患者ではそれぞれ 40.4% (40/99 例) 及び 5.1% (5/99 例)）であったものの、認められた事象はいずれも Grade 2 以下であり、臨床上特段の懸念は認められなかつたこと。

機構は、申請者の説明を了承した。

4.R.2 薬物動態学的相互作用について

申請者は、本薬の薬物動態学的相互作用について、以下のように説明している。

²⁹⁾ ①P-gp、②BCRP、③OAT1、④OAT3、⑤OCT1、⑥OCT2、⑦OATP1B1、⑧OATP1B3 並びに⑨MATE1 及び MATE2-K の基質として、それぞれ①³H 標識したキニジン (100 nmol/L)、②³H 標識したプラズシン (2 μmol/L)、③³H 標識した p-アミノ馬尿酸 (2 μmol/L)、④³H 標識した p-アミノ馬尿酸 (10 μmol/L)、⑤³H 標識した 1-メチル-4-フェニルピリジニウム (2 μmol/L)、⑥¹⁴C 標識したメトホルミン (10 μmol/L)、⑦³H 標識したエストラジオール-17β-グルクロニド (2 μmol/L)、⑧³H 標識したコレシストキニンオクタペプチド (2 μmol/L) 及び⑨¹⁴C 標識したメトホルミン (10 μmol/L) が用いられた。

CYP3A を介した薬物動態学的相互作用が発現する可能性があること（4.5.1 及び 4.5.2 参照）から、本薬と強い CYP3A 誘導剤（リファンピシン）及び阻害剤（イトラコナゾール）との薬物動態学的相互作用を検討することを目的とした臨床試験を実施する予定である。

また、CYP2C9、P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、MATE1 及び MATE2-K を介した本薬の薬物動態学的相互作用について、*in vitro* 試験の結果から当該薬物動態学的相互作用が発現することが示唆された（4.5.2 及び 4.5.3 参照）。しかしながら、当該代謝酵素及びトランスポーターの基質又は阻害剤が併用投与された患者は限定的であること等から評価には限界があるものの、以下の点等を考慮すると、本薬の臨床使用時に問題となる可能性は低いと考える。

- ・ 国内第 I 相試験（106 試験）、国内第 II 相試験（206 試験）及び海外第 I / II 相試験（101 試験）の第 II 相パートにおいて、本薬と CYP2C9、P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、MATE1 又は MATE2-K の基質、若しくは P-gp の阻害剤との併用による安全性上の特段の懸念は認められなかったこと。

機構が考察した内容は、以下のとおりである。

申請者の説明を概ね了承した。ただし、CYP2C9、P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、MATE1 及び MATE2-K を介した本薬の薬物動態学的相互作用に関する情報は本薬の適正使用のために重要と考えることから、当該情報については、本薬と強い CYP3A 誘導剤及び阻害剤との薬物動態学的相互作用を検討することを目的とした臨床試験等を含め、引き続き収集し、有益な情報が得られた場合には、医療現場に適切に情報提供する必要があると判断した。

5. 毒性試験に関する資料及び機構における審査の概略

本項では、特に記載のない限り、臭化水素酸塩が用いられた。また、特に記載のない限り、本薬の投与量は臭化水素酸塩量として記載し、濃度は遊離塩基換算量で記載する。

なお、溶媒について、特に記載のない限り、*in vivo* 試験では 0.5%メチルセルロース 400 溶液又は 0.1%ポリソルベート 80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液、*in vitro* 試験では DMSO が用いられた。

5.1 単回投与毒性試験

ラットを用いた単回経口投与毒性試験、並びにカニクイザルを用いた用量漸増試験が実施された。当該試験の結果に基づき、本薬の急性毒性が評価された（表 12）。

表 12 単回投与毒性試験

試験系	投与経路	用量 (mg/kg/日)	主な所見	概略の致死量 (mg/kg)	添付資料 CTD
雌雄ラット (Sprague Dawley)	経口	100、300、1,000 ^{a)}	1,000：一過性の活動性の低下、一過性の体重・摂餌量の減少	>1,000	参考 4.2.3.1.1
雌雄 カニクイザル	経口	100、300、1,000	1,000：嘔吐	>1,000	参考 4.2.3.2.4

a) 塩酸塩としてのタゼメトスタット量

5.2 反復投与毒性試験

ラット（4 及び 13 週間）及びカニクイザル（4 及び 13 週間）を用いた反復投与毒性試験が実施された（表 13）。本薬投与に関連し、ラット及びカニクイザルにおいて消化管毒性及びリンパ組織のリンパ球減少、ラットにおいて T-LBL（5.R.1 参照）、骨及び歯に対する影響並びに皮膚/皮下局所の膿瘍、カニ

クイザルにおいて肝細胞及びクッパー細胞の肥大、色素沈着及び胆管過形成並びに糸球体病変等が認められた。ラットで血中曝露量に性差（雌>雄）が認められたものの、毒性発現に明らかな差異は認められなかった。

ラット及びカニクイザルを用いた13週間反復投与毒性試験の無毒性量（ラット（雄）：100 mg/kg/日未満、ラット（雌）：100 mg/kg/日、カニクイザル（雌雄）：100 mg/kg/日）における本薬のC_{max}及びAUC_{24h}は、①ラット（雄）では4,311 ng/mL未満及び18,033 ng·h/mL未満、②ラット（雌）では13,488 ng/mL及び55,037 ng·h/mL、③カニクイザル（雌雄）では157 ng/mL及び1,240 ng·h/mLであり、臨床曝露量³⁰⁾と比較して、①では3.3倍未満及び2.0倍未満、②では10及び6.1倍、③では0.12及び0.14倍であった。また、ラットを用いた13週間反復投与毒性試験のT-LBLの発現用量（雌雄ともに300 mg/kg）における本薬のC_{max}及びAUC_{24h}は、雄では10,018 ng/mL及び99,546 ng·h/mL、雌では20,720 ng/mL及び166,305 ng·h/mLであり、臨床曝露量³⁰⁾と比較して、雄では7.8及び11倍、雌では16及び18倍であった。

表 13 反復投与毒性試験

試験系	投与経路	投与期間	用量 (mg/kg/日)	主な所見	無毒性量 (mg/kg/日)	添付資料 CTD
雌雄 ラット (Sprague-Dawley)	経口	4週間 (QD)	0、100、300、 1,000 ^{a)}	死亡・切迫安楽死：1,000（雄2/10例、雌5/10例）、活動性の低下、被毛の汚れ、便の減少、着色尿（鮮黄色）、摂餌量の減少、血液濃縮を示唆する血液学的変化、好中球数の増加、リンパ球数・網状赤血球数の減少、プロトロビン時間・APTTの延長、血中AST・総ビリルビン・BUN・クレアチニン・総コレステロールの増加、総タンパク・グルコースの減少、前胃・腺胃粘膜のびらん/潰瘍、腺胃粘膜・腸管上皮の変性・壊死、種々のリンパ系組織・骨髄における細胞数の減少、腎臓尿細管上皮細胞の好酸性小滴・変性・壊死等 ≥100 ^{b)} ：小顆粒状物（尿沈渣） ≥300 ^{b)} ：肝重量増加、ヘモグロビンの減少、血中総タンパクの減少 1000：腹部膨満、網状赤血球数・好中球数の増加、血中総ビリルビン・総コレステロールの増加、赤血球数・リンパ球数の減少、血中アルブミン・グロブリン・グルコースの減少、胃膨満、前胃・腺胃粘膜のびらん/潰瘍、腺胃粘膜・十二指腸上皮・空腸上皮・回腸上皮の変性/壊死、骨髄における骨梁形成、胸腺・脾臓・頸下リンパ節のリンパ球減少/壊死、肺気管支周囲炎症細胞浸潤、副腎皮質肥大、精囊/凝固腺の萎縮	300	4.2.3.2.2
雌雄 ラット (Sprague-Dawley)	経口	13週間 (QD) + 休薬 4週間	0、100、300、 600	死亡・切迫安楽死：300（雄1/16例、雌4/16例）、摂餌量の減少、便の減少、活動性の低下、呼吸緩徐、体温低下、白血球数の増加、赤血球数・ヘモグロビン・ヘマトクリット・血小板数・網状赤血球数の減少、胸腺T-LBL及びその関連変化（胸腺の腫瘍、脾臓・リンパ節の大型化、種々の臓器/組織（胸腺周囲の脂肪組織、心臓、脾臓、リンパ節、骨髄、骨、肝臓、消化管、卵巣及び眼）への転移）等 ≥100：口唇結節（雄） ^{c)} 、小顆粒状物（尿沈渣） ^{b)} ≥300：体重増加抑制、胸腺T-LBL及びその関連変化（死亡・切迫安楽死の個体で認められた変化を参照）、胸腺	雄：<100 雌：100	4.2.3.2.3

³⁰⁾ 再発又は難治性のFL患者及びDLBCL患者を対象とした106試験において、本薬800 mgをBIDで反復経口投与した際の第15日目における本薬のC_{max} (1,290 ng/mL) 及びAUC_{12h} (4,500 ng·h/mL) (6.2.1.1参照)。なお、AUCについては、1日あたりの曝露量とするため2倍量の9,000 ng·h/mLを用いて計算した。

試験系	投与経路	投与期間	用量 (mg/kg/日)	主な所見	無毒性量 (mg/kg/日)	添付資料 CTD
				<p>脾臓・顎下腺リンパ節の萎縮、大腿骨・胸骨の骨梁の骨梁形成、胃粘膜のびらん/潰瘍・再生性変化、十二指腸陰窩過形成</p> <p>600：活動性の低下、口唇結節（雌）^{b)}、足の腫脹^{c)}、尾の硬結^{d)}・腫瘍^{e)}、呼吸緩徐、便の減少、好酸球数・好中球数・単球数・網状赤血球数・血小板数・血中総ビリルビンの増加、ヘモグロビン・MCV・MCH の減少、胃膨満、歯肉腫脹を伴う下顎切歯の短縮、歯槽骨の骨形成の増加、切歯の異形成、細菌巣を伴う皮膚/皮下局所における炎症・膿瘍、腎盂顆粒状物質</p> <p>回復性：脾臓のリンパ球減少、骨・切歯の変化を除き、回復性あり</p>		
雌雄 カニクイザル	経口	4週間 (BID)	0、100、300、 1,000/600 ^{e)}	<p>死亡・切迫安楽死：1,000/600（雄2/4例、雌1/4例）、活動性の低下、嗜眠、円背位、協調運動不全、貧血、血中ALT・トリグリセリド・ビリルビンの増加、血中アルブミン・総タンパク・コレステロールの減少、胃・結腸の膨満、肝の退色、十二指腸のびらん/潰瘍、小葉中心性肝細胞・クッパー細胞の肥大、胸腺・脾臓・顎下腺リンパ節・腸間膜リンパ節のリンパ球減少、腎尿細管色素沈着等</p> <p>≥300：胸腺・脾臓のリンパ球減少</p> <p>1,000/600：後肢の筋緊張の低下、一過性の心拍数増加、血中ALT・トリグリセリド・総ビリルビンの増加、肝臓・腎臓重量の増加、肝臓の退色、小葉中心性肝細胞・クッパー細胞の肥大、顎下腺リンパ節・腸間膜リンパ節のリンパ球減少、腎尿細管色素沈着</p>	100	4.2.3.2.5
雌雄 カニクイザル	経口	13週間 (BID) + 休薬 4週間	0、100、300、 600	<p>切迫安楽死：600（雌1/6例）、活動性の低下、冷感、円背位、震え/振戦、血中ALT・AST・ALPの増加、クッパー細胞の肥大/色素沈着、小葉中心性肝細胞肥大、胆管の過形成性、胸腺のリンパ球減少、脾臓・顎下腺リンパ節・腸間膜リンパ節の胚中心減少、尿細管上皮細胞色素沈着、肺限局性炎症細胞浸潤、骨髄脂肪細胞萎縮、腺胃再生性過形成等</p> <p>≥100：嘔吐^{d)}、異常便（軟便、粘液便、着色便）^{d)}、血中AST^{b)}、肝重量増加^{b)}</p> <p>≥300：RR間隔短縮^{g)}、血中ALTの増加、クッパー細胞の肥大/色素沈着、小葉中心性肝細胞肥大、胆管の過形成性、胸腺のリンパ球減少、脾臓・顎下腺リンパ節・腸間膜リンパ節の胚中心減少、副腎皮質肥大</p> <p>600：血中ALPの増加、腎重量増加、尿細管色素沈着、肺限局性炎症細胞浸潤</p> <p>回復性：300 mg/kg/日以上で認められた軽微な血中ALT・AST・ALPの増加及びクッパー細胞の肥大/色素沈着、600 mg/kg/日で肝重量の増加及び胆管の過形成性を除き、回復性あり</p>	100	4.2.3.2.6

a) 1,000 mg/kg/日群において投与7～21日にかけて死亡又は瀕死動物が認められたため、当該群の雌について、投与21日以降投与を中止し、2週間の休薬期間を設け、回復性を評価した、b) 認められた変化の程度に加え、関連する病理組織学的変化は認められなかつたことから、毒性と判断されなかつた、c) 細菌巣を伴う皮膚/皮下局所における炎症又は膿瘍に関連する変化として観察され、リンパ系への影響に起因した二次的変化と考えられた、d) 雄1例で認められた変化であるものの、明らかな変化として観察されたことから、毒性と判断された、e) 1,000 mg/kg/日において投与8～9日に瀕死動物が認められたため、当該群の雄は投与11日以降、雌は投与12日以降の投与量が600 mg/kg/日に変更された、f) 対照群を含む全ての投与群で散発的に認められた変化であった。なお、嘔吐については、600 mg/kg/日群における発現頻度が高かつた、g) 当該変化は血中濃度に依存した変化ではないこと、安全性薬理試験（3.3.2.2 参照）において、1,000 mg/kg/日までPR間隔の短縮は認められてないと等から、本薬投与に関連する変化ではないと考えられた

5.3 遺伝毒性試験

in vitro 試験として、細菌を用いた復帰突然変異試験、ほ乳類培養細胞を用いる小核試験、*in vivo* 試験として、げつ歯類を用いた小核試験が実施された（表 14）。いずれの試験結果も陰性であり、本薬が遺伝毒性を誘発する可能性は低い、と申請者は説明している。

表 14 遺伝毒性試験

試験の種類	試験系	代謝活性化 (処置)	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$ 又は $\mu\text{g}/\text{mL}$) 又は用量 (mg/kg/日)	試験成績	添付資料 CTD	
<i>in vitro</i>	細菌を用いた復 帰突然変異試験	ネズミチフス菌： TA100、TA1535、 TA98、TA1537 大腸菌：WP2uvrA	S9-	0、20.6 ^{a)} 、61.7、185、556 ^{b)} 、1,667 ^{b)} 、5,000 ^{b,c)}	陰性	4.2.3.3.1.2
			S9+	0、20.6 ^{d)} 、61.7、185、556、 1,667、5,000 ^{b,c)}		
	ほ乳類培養細胞 を用いた小核試 験	ヒト末梢血リンパ球	S9- (4 時間)	0、32、64、128	陰性	4.2.3.3.1.3
			S9+ (4 時間)	0、64、128、256 ^{e)}		
			S9+ (4 時間)	0、125、145、165		
			S9- (24 時間)	0、32、64、128 ^{e)}		
			S9- (24 時間)	0、50、60、70、80		
<i>in vivo</i>	げつ歯類を用い た小核試験	雌雄ラット (Sprague-Dawley)		0、500、1,000、2,000 (経口、2 日間)	陰性	4.2.3.3.2.1

a) TA1537 のみで設定した、b) 本薬処理の終了時に沈殿物が認められた、c) いくつかの菌株で生育阻害が認められた、
d) TA1535 及び TA1537 のみで設定した、e) 増殖抑制が認められた

5.4 がん原性試験

本薬は進行がん患者の治療を目的とした抗悪性腫瘍剤であることから、がん原性試験は実施されていない。しかしながら、ラットの 13 週間反復投与毒性試験で T-LBL の発現が認められたことから、本薬は発がん性を有する、と申請者は説明している。なお、本薬の発がん性に係るリスクについては、「5.R.1 反復投与時に認められた T-LBL について」の項に記載する。

5.5 生殖発生毒性試験

本薬は進行がん患者の治療を目的とした抗悪性腫瘍剤であることから、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施されていない。

本薬の受胎能及び着床までの初期胚発生に対する影響について、ラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験（5.2 参照）において雌雄生殖器に影響は認められなかったものの、以下の結果等に基づき、生殖細胞及び生殖器の発達及び機能に EZH2 が関与していること等が報告されていることから、本薬は雌雄の受胎能及び着床までの初期胚発生に影響を及ぼす可能性がある、と申請者は説明している。

- 雄に関して、①雄性成熟マウスの精原細胞、精母細胞及び円形精子細胞において EZH2 が発現しており、雄性生殖細胞の分化に EZH2 が関与すること、②雄性 EZH2 欠損マウスにおいて精子数の減少が認められ、雄性 EZH2 欠損マウスと雌性野生型マウスを交配させた際に胎児数の減少が認められること等を踏まえ、EZH2 と雄性生殖器又は生殖能との関連が示唆される旨が報告されていること（Reproduction 2017; 154: 615-25）。
- 雌に関して、下記の点等から、EZH2 と雌性生殖器又は生殖能との関連が示唆されていること。
 - EZH2 は雌性新生児マウスの子宮上皮に特に高発現し、加齢に伴い低下するものの、雌性成熟マウスの子宮の管腔上皮、腺上皮及び間質に EZH2 の発現が認められること。また、雌性 EZH2 欠損マウスにおいて、子宮重量及びサイズの増加が認められ、5 カ月齢以降に受胎能が低下し

- た後に不妊を呈するが、出産した場合にも出生児の大きさは小さく、生存期間が短い旨が報告されていること（Biol Reprod 2019; 101: 306-17）。
- ヒト子宮上皮細胞の脱落膜形成と EZH2 との関連が示唆される旨が報告されていること（Mol Endocrinol 2011; 25: 1892-903）。
- 発達中の生殖細胞及び成熟卵母細胞において、EZH2 による H3K27me3 の生成が認められる旨が報告されていること（Epigenetics Chromatin 2017; 10: 1-20、Proc Natl Acad Sci USA 2013; 110: 16061-6 等）。

ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験が実施され（表 15）、ラット及びウサギとともに、最低用量である 50 及び 100 mg/kg/日以上で骨格変異、中間用量である 100 及び 200 mg/kg/日以上で催奇形性が認められた。当該結果について、添付文書等を用いて情報提供するとともに、妊娠又は妊娠している可能性のある女性には本薬を投与しないことが望ましい旨を注意喚起する予定である、と申請者は説明している。

ラット及びウサギの胚・胎児発生に対する無毒性量（①ラット：50 mg/kg/日未満、②ウサギ：100 mg/kg/日未満）及び催奇形性の非発現用量（③ラット：50 mg/kg/日、④ウサギ：100 mg/kg/日）における本薬の C_{max} 及び AUC_{24h} は、それぞれ①2,190 ng/mL 未満及び 14,300 ng·h/mL 未満、②4,390 ng/mL 未満及び 10,100 ng·h/mL 未満、③2,190 ng/mL 及び 14,300 ng·h/mL、④4,390 ng/mL 及び 10,100 ng·h/mL であり、臨床曝露量³⁰⁾と比較して、①1.7 倍未満及び 1.6 倍未満、②3.4 倍未満及び 1.1 倍未満、③1.7 及び 1.6 倍、④3.4 及び 1.1 倍であった。

表 15 生殖発生毒性試験

試験の種類	試験系	投与経路	投与期間	用量(mg/kg/日)	主な所見	無毒性量(mg/kg/日)	添付資料CTD
	雌ラット(Sprague Dawley)	経口	妊娠 7 日～17 日 (QD)	0、50、100、200	母動物： 200：体重増加量減少 胚・胎児： ≥50：骨格変異（短肋骨・頸椎弓の変形） ≥100：骨格異常（肋骨・頸椎の欠損）、骨格変異（外後頭骨変形、頭蓋縫合）、骨化進行（胸椎化骨）遅延 200：着床後胚死亡の増加、生存胎児数の減少、胎児体重低値、外表異常（ドーム頭、短尾、全身性浮腫、手掌の小型・欠指）、骨格異常（頸椎弓癒合、上後頭骨・指骨の欠損）、骨格変異（上後頭骨不全、胸骨変形）、骨化進行（頸椎弓・上後頭骨・坐骨の骨化）不全	母動物：100 胚・胎児：<50	4.2.3.5.2.2
胚・胎児発生試験	雌ウサギ(NZW)	経口	妊娠 7 日～19 日 (QD)	0、100、200、400	母動物 ^{a)} ： 400 ^{b)} ：体重増加量減少 胚・胎児： ≥100：骨格変異（胸骨分節の癒合・分離・形態異常、完全頸肋骨、短小頸肋骨） ≥200：骨格異常（頭頂間骨欠損、肋骨癒合）、骨格変異（頭頂間骨小型、胸骨分節骨化不全、頸椎弓骨化不全） 400：早期・後期吸収胚増加、着床後死亡増加、生存胎児数減少、外表異常（耳介小型、眼開存、四肢の過伸展・指欠損、短尾、全身浮腫）、内臓異常（大動脈弓拡張、横隔膜ヘルニア、小眼球、動脈幹遺残、心室中隔欠損、肺動脈狭窄、腎臓位置異常・欠損）、骨格異常（指骨欠損、尾椎癒合、頸椎弓癒合、頸椎欠損）、骨格変異（縫合骨）	母動物：400 胚・胎児：<100	4.2.3.5.2.5

a) 死亡又は切迫安樂死が対照群の 3/20 例（流産を呈した 1 例を含む）、100 mg/kg 群の 1/20 例、400 mg/kg 群の 1/20 例（流産あり）に認められたが、投与量に関連がなく、対照群でも認められたこと、投与過誤に起因する個体も含まれること等から、本薬投与に関連しないと判断された、b) 当該用量では、体重増加量の減少が認められたものの、体重自体に影響は認められなかった

5.6 その他の毒性試験

5.6.1 幼若動物を用いた試験

生後 7 日齢のラットを用いた 4 及び 13 週間の反復投与毒性試験が実施された（表 16）。その結果、血中曝露量に性差（雌>雄）が認められ、雌で毒性が強く発現する傾向が認められたものの、雌雄の毒性に明らかな質的な差異は認められず、生後の発育分化及び中枢神経系に対する影響は認められなかつた。13 週間反復投与毒性試験において、幼若ラットでは、成熟ラット（5.2 参照）と同様に、T-LBL の発生が認められ、成熟ラットよりも低い投与量及び血中曝露量であった。幼若ラットの 13 週間反復投与毒性試験での無毒性量（雄雌ともに 50 mg/kg/日未満）における本薬の①C_{max} 及び②AUC_{24h} は、雄では①1,410 ng/mL 未満及び②6,340 ng·h/mL 未満、雌では①3,900 ng/mL 未満及び②18,500 ng·h/mL 未満であり、臨床曝露量³⁰⁾ と比較して、雄では①1.1 倍未満及び②0.70 倍未満、雌では①3.0 倍未満及び②2.1 倍未満であった。T-LBL の発現用量（雄：100 mg/kg/日、雌：50 mg/kg/日）における本薬の①C_{max} 及び②AUC_{24h} は、雄では①3,800 ng/mL 及び②19,200 ng·h/mL、雌では①3,900 ng/mL 及び②18,500 ng·h/mL であり、臨床曝露量³⁰⁾ と比較して、雄では①2.9 倍及び②2.1 倍、雌では①3.0 倍及び②2.1 倍であった。