ツシジノスタット
ハイヤスタ錠 10mg

第 2 部 CTD の概要

2.4 非臨床試験の概括評価

Huya Japan 合同会社

略号一覧表

略語・用語	内容
17-AAG	17-アリルアミノ-17-デメトキシゲルダナマイシン
ADCC	抗体依存性細胞障害
AITL	血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫
ALCL	未分化大細胞リンパ腫
ALK	未分化リンパ腫キナーゼ
ATL	成人 T 細胞白血病リンパ腫
$AUC_{(0-24)}$	時間 0 から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{(0-48)}$	時間 0 から 48 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
Bcl-2	B 細胞リンパ腫たんぱく質 2
Bcl-6	B 細胞リンパ腫たんぱく質 6
BCRP	Breast cancer resistance protein
BCR-ABL	A fusion gene formed by the combination of the break point cluster region (bcr) and the c-Abelson (Abl) genes.
BIW	週 2 回
CD	Cluster of Differentiation
CFDA	中国国家食品薬品監督管理総局
CHOP	シクロフォスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン及びプレドニゾン
c-Raf	c-Jun N 末端キナーゼ
C_{max}	最高血漿中濃度
CTCL	皮膚 T 細胞リンパ腫
CTL	細胞傷害性 T 細胞
CYP	チトクローム P450
DLBCL	びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫
ECG	心電図
FDA	Food and Drug Administration
Flt-3	Feline McDonough Sarcoma 様チロシンキナーゼ
FOB	機能観察総合評価
GI_{50}	50%増殖阻害濃度
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
Her-2	ヒト上皮成長因子受容体 2 遺伝子
hERG	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HSP	熱ショックたんぱく質
HUYA	HUYA Japan 合同会社.
HUYABIO	HUYABIO International, LLC
IC_{50}	50%阻害濃度
ICH	医薬品規制調和国際会議
IND	Investigational New Drug
M	モル濃度
MATE	Multidrug and toxin extrusion transporter
MDCK	Madin-Darby canine kidney
MDR1	Multidrug resistance 1
MRP2	Multidrug resistance protein 2
MTD	最大耐量
NADPH	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NCI-60	米国立がん研究所による培養ヒト腫瘍細胞株 60 種
NHL	非ホジキンリンパ腫
NK-cell	ナチュラルキラー細胞
NKG2D	ナチュラルキラーグループ 2D

略語・用語	内容
NMPA	中国国家薬品監督管理局
NOAEL	無毒性量
NSCLC	非小細胞肺がん
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic anion-transporting polypeptide
OCT	Organic cation transporter
p21	サイクリン依存性キナーゼ阻害因子 p21
PBMC	末梢血単核細胞
P-gp	P-glycoprotein
PTCL	末梢性 T 細胞リンパ腫
QOD	2 日に 1 回
QTc	補正 QT 間隔
SAHA	スベロイルアニリドヒドロキサム酸（ボリノスタット）
Sir2	Silent information regulator 2
TDI	時間依存的阻害作用
US	米国
VEGF-R	血管内皮増殖因子受容体

目次

頁
略号一覧表 2
2.4 非臨床概括評価 5
2.4.1 緒言 5
2.4.1.1 がんにおける治療標的としてのヒストン脱アセチル化酵素 5
2.4.1.2 血液悪性腫瘍における HBI-8000 使用の科学的根拠 6
2.4.1.2.1 T 細胞又は B 細胞非ホジキンリンパ腫における HBI-8000 使用の科学的根拠 6
2.4.1.2.2 末梢性 T 細胞リンパ腫に対する現在の治療法 6
2.4.1.3 HBI-8000 7
2.4.2 非臨床試験計画概略 8
2.4.2.1 薬理試験計画 9
2.4.2.2 薬物動態及び毒性試験 9
2.4.2.3 被験物質 9
2.4.3 薬理試験 9
2.4.4 薬物動態試験 10
2.4.5 毒性試験 12
2.4.6 総括及び結論 13
2.4.7 参考文献 14

表

頁
表 2.4-1 ラット及びイヌにおける 13 週間反復経口投与毒性試験の最大耐量でのトキシコキネティクスパラメータ 12

図

頁
図 2.4-1 HBI-8000 の分子構造 7
図 2.4-2 HBI-8000 の作用機序 8

2.4 非臨床概括評価

2.4.1 緒言

2.4.1.1 がんにおける治療標的としてのヒストン脱アセチル化酵素

発がんは遺伝子変異のみで説明することは不可能であり、エピジェネティックなプロセスも関与している。アセチル化によるヒストン修飾は、遺伝子発現のエピジェネティックな制御において重要な役割を果たしており、ヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）及びヒストンアセチルトランスフェラーゼの間のバランスによって制御されている（Roth 1996; Eckschlager 2017）。

HDAC は、酵母類縁体との相同性に基づき、4 つのクラスに分けられる。クラス I は核内に存在し、HDAC 1、2、3 及び 8 により構成される。HDAC 4、5、7 及び 9 はクラス IIa のメンバーであり、クラス IIb（HDAC 6 及び 10）と共に細胞質及び核内の両方に存在する。クラス IV（HDAC 11 のみ）はクラス I 及び II のいくつかの特徴を有している。酵母 silent information regulator 2（Sir2）たんぱく質である NDA 依存性ホモログ 1～7（サーチュイン）は HDAC クラス III として分類されている（Tang 2013）。

HDAC 阻害剤は、細胞増殖抑制剤として作用するエピジェネティック調節剤の 1 つであり、細胞周期の停止、アポトーシス誘導などを引き起こすことによって、*in vitro* や *in vivo* の系で腫瘍細胞増殖を抑制する。ヒストンのアセチル化／脱アセチル化はクロマチントポロジーの変調及び遺伝子転写の調節において重要な役割を果たす。3 つのクラスの HDAC（クラス I、IIa/IIb 及び IV）は、ヒストン及び非ヒストンたんぱく質の脱アセチル化において、亜鉛による触媒メカニズムを利用している（Bolden 2006; Minucci 2006; Glaser 2007; Rasheed 2007; Rasheed 2008; Witt 2009; Haberland 2009）。

急性骨髄性白血病、急性前骨髄球性白血病、非ホジキンリンパ腫（NHL）、前立腺がん、胃がん、結腸直腸がん、乳がん及び子宮頸がんでは、クラス I の HDAC（HDAC1、HDAC2、HDAC3 及び HDAC8）の発現又は活性の上昇がみられる（Bolden 2006; Nakagawa 2007; Fritzsche 2008; Weichert 2008）。HDAC1 及び HDAC2 は、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫（DLBCL）及び末梢性 T 細胞リンパ腫（PTCL）において正常なリンパ球組織と比較して高度に発現しており、HDAC1 は DLBCL に比して PTCL においてより高度に発現していることが報告されている（Marquard 2009）。また、PTCL の病型に関わらず、HDAC1、HDAC2 及び HDAC3 を含むクラス I の HDAC は PTCL において正常細胞と比較して高度に発現しており、一方、クラス II の HDAC の発現レベルは正常細胞と同様であることも報告されている（古川 2018）。HDAC1 及び HDAC2 は、PTCL と類似の疾患である皮膚 T 細胞リンパ腫（CTCL）においても発現していることが報告されている（Marquard 2008）。

クラス IIb の HDAC（HDAC6 及び HDAC10）は、α-チューブリンや熱ショックたんぱく質（HSP）90 などの非ヒストンたんぱく質を選択的に標的とすることが知られている。HSP90 は、BCR-ABL（a fusion gene formed by the combination of the break point cluster region (bcr) and the c-Abelson (Abl) genes）、突然変異 FMS 様チロシンキナーゼ-3（Flt-3）、プロテインキナーゼ B（セリンスレオニンキナーゼ Akt としても知られている）、c-Jun N 末端キナーゼ（c-Raf）、エストロゲン受容体、ヒト上皮増殖因子受容体-2（Her-2）及び血管内皮増殖因子受容体（VEGF-R）などのがんたんぱく質を安定化することにより、悪性形質転換に関係することが示されている。α-チューブリンは、ミスフォールドたんぱく質のリソソームによるクリアランスを促進することによって腫瘍細胞のアポトーシスを抑制する。HDAC6 又は HDAC10 によって HSP90 と α-チューブリンが脱アセチル化されると、これらのたんぱく質が活性化し、悪性形質の一因となる。逆に HDAC6 又は HDAC10 の

阻害により、腫瘍の増殖が抑制されることが知られている。HSP90 阻害剤［17-アリルアミノ-17-デメトキシゲルダナマイシン（17-AAG)］と抗腫瘍プロテアソーム阻害剤ボルテゾミブでみられた相乗作用は、提唱されているこれらのメカニズムをさらに裏付けている（Glaser 2004; Bali 2005; Rodriguez-Gonzalez 2008; Schemies 2009; Park 2008）。

予備的臨床試験の結果では、HDAC 阻害剤を他の抗腫瘍剤と併用した場合に、非小細胞肺がん及び乳がんの治療に有効であることが示されている。しかし、単剤療法では固形がんに対する有効性は示されていない（Blumenschein 2008; Crump 2008; Luu 2008; Modesitt 2008; Vansteenkiste 2008）。こうした HDAC 阻害剤の有効性上の限界を克服するため、現在は薬物動態プロファイル及び安全性プロファイルが改善した HDAC 阻害剤の開発に焦点が置かれている。

2.4.1.2 血液悪性腫瘍における HBI-8000 使用の科学的根拠

2.4.1.2.1 T 細胞又は B 細胞非ホジキンリンパ腫における HBI-8000 使用の科学的根拠

T 細胞リンパ腫は、臨床試験で HDAC 阻害剤に対して一貫して反応を示す腫瘍型である（Duan 2005）。B 細胞リンパ腫たんぱく質 6（Bcl-6）は、びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫（DLBCL）の約 40%で過剰発現する転写因子であり、HDAC2 を動員し増殖制御遺伝子を抑制する（Bolden 2006）。さらに、B 細胞リンパ腫たんぱく質 2（Bcl-2）の転座は濾胞性リンパ腫の 85%及び DLBCL の 20%で起こり、また HDAC 阻害剤が腫瘍細胞における Bcl-2 の発現を抑制することが知られている（Duan 2005）。

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 阻害剤の内、ボリノスタット（vorinostat／SAHA）及び belinostat はヒドロキサム酸クラスの汎阻害剤の代表例である。ロミデプシン（romidepsin）は、環状テトラペプチドであり、同様に汎阻害剤である。Entinostat（MS-275）及び mocetinostat は、ベンズアミド誘導体であり、クラス I の HDAC を選択的に阻害する。米国では、ボリノスタット及びロミデプシンが皮膚 T 細胞リンパ腫（CTCL）の適応で既に承認されており、belinostat は PTCL で承認されている。Entinostat 及び mocetinostat は、ホジキンリンパ腫を対象とした臨床試験中である（Ceccacci 2016）。日本では、ボリノスタット、ロミデプシン及びパノビノスタットが、それぞれ CTCL、PTCL 及び多発性骨髄腫の適応で承認されている。

2.4.1.2.2 末梢性 T 細胞リンパ腫に対する現在の治療法

PTCL は、成熟した T 細胞から発生する非ホジキンリンパ腫の 1 つであり、一般的にアグレッシブで比較的治療抵抗性の、多様な病型から構成されている（Vose 2008）。

日本において、再発又は難治性の PTCL の現在の初回治療法及び救援治療法は、日本血液学会による造血器腫瘍診療ガイドラインに要約されている（JSH ガイドライン 2018）。

PTCL の初回治療法としては、CHOP（シクロフォスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン及びプレドニゾン）を用いた併用化学療法が未分化リンパ腫キナーゼ（ALK）陽性未分化大細胞リンパ腫（ALCL）患者の治療に推奨されている。また、非特定型 PTCL（PTCL-NOS）、血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫（AITL）、又は ALK 陰性 ALCL 患者については、CHOP を含む併用化学療法が推奨されている。しかしながら、これらの PTCL 病型の患者について、CHOP を用いた治療効果は不十分であり、標準初回治療レジメンは確立していない。そのため、臨床試験への参加

が推奨されている（JSH ガイドライン 2018）。

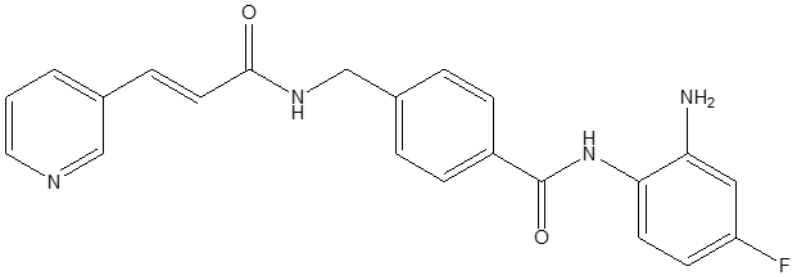
JSH ガイドライン 2018 では、再発又は難治性の PTCL 患者の救援療法に用いられる推奨標準療法は記載されていない。しかしながら、再発又は難治性 PTCL の救援療法として、他のアグレッシブリンパ腫に対するものと同様の他剤併用サルベージ化学療法のほか、再発又は難治性の CD30 陽性 ALCL ではブレンツキシマブベドチンも選択肢の 1 つである（JSH ガイドライン 2018）。ブレンツキシマブベドチンは再発又は難治性の CD30 陽性 ALCL に対して高い奏効率を示したが（武田薬品工業 2019）、CD30 陽性 ALCL は PTCL の病型の 1 つであり、そのため当該治療法が適用可能な患者は少数である。2020 年 2 月にアレクチニブが、再発又は難治性の ALK 陽性 ALCL に対して承認された。ALK 陽性 ALCL は、ALCL の病型の 1 つであり、ブレンツキシマブベドチンと同様に、本治療法が適用可能な患者数は限定的に過ぎない。2020 年 7 月の時点で、日本においては、上記の 2 剤の他に 4 剤（モガムリズマブ、フォロデシン、プララトレキサート及びロミデプシン）が再発又は難治性の PTCL を適応として承認されている。しかしながら、新たな治療法の登場にも関わらず、PTCL 患者の予後は依然として不良であり、推奨標準療法は確立されていない。そのため、再発又は難治性の PTCL について、有効かつ忍容性に優れた新たな治療法には強いアンメットメディカルニーズが存在する。

2.4.1.3 HBI-8000

HBI-8000（ツシジノスタット、chidamide）は、低ナノモル濃度でクラス I の HDAC の触媒ポケットを遮断するよう設計された、ベンズアミドクラスの HDAC 阻害剤の 1 つである。HBI-8000 の化学構造を図 2.4-1 に示す。HBI-8000 は、経口投与可能な、クラス I の HDAC に対する選択的阻害剤である。

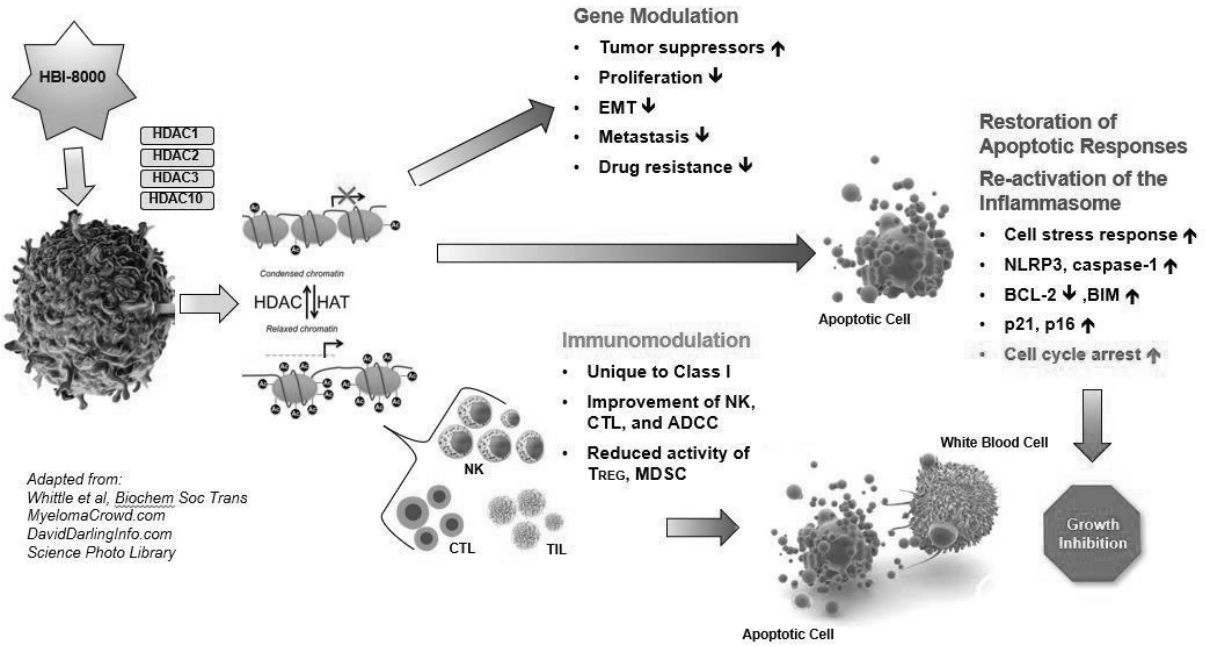
本申請資料では、HBI-8000、ツシジノスタット及び chidamide という用語が同一の意味で使用されている。chidamide は中国国内での開発及び使用に関連する記載において特に用いる用語である。

図 2.4-1 HBI-8000 の分子構造



HBI-8000 の作用機序を図 2.4-2 に示す。

図 2.4-2 HBI-8000 の作用機序



ADCC = 抗体依存性細胞障害; BCL 2 = B 細胞リンパ腫たんぱく質 2; BIM = Bcl-2 様たんぱく質 11; CTL = 細胞傷害性 T 細胞; EMT = 上皮間葉転換; HDAC = ヒストン脱アセチル化酵素; MDSC = 骨髄由来免疫抑制細胞; NK = ナチュラルキラー; NLRP3 = ヌクレオチド結合オリゴマー化領域様受容体ーピリンドメイン含有たんぱく質 3; p16 = サイクリン依存性キナーゼ阻害因子 p16; p21 = サイクリン依存性キナーゼ阻害因子 p21; T_{REG} = 制御性 T 細胞。

HBI-8000 は、中国の Shenzhen Chipscreen Biosciences Co., Ltd.（以下、Chipscreen）により最初に発見・開発された。米国サンディエゴ市に本社を置く HUYABIO International, LLC（以下、HUYABIO）が本化合物について中国以外の国・地域での開発販売権を取得している。2014 年に HUYABIO は、日本法人として Huya Japan 合同会社（以下、HUYA）を設立した。

中国において HBI-8000 は、国家薬品監督管理局（NMPA、旧国家食品薬品監督管理局）により、再発又は難治性末梢性 T 細胞リンパ腫（PTCL）の治療剤、及び局所進行又は転移性乳がんに対するアロマターゼ阻害剤エキセメスタンとの併用治療剤として、Epidaza®（chidamide）というブランド名で製造販売承認を受けている。

米国では、HUYABIO が、Investigational New Drug（IND）番号 [redacted] の下で開発を進めている。これまでに固形がん又はリンパ腫の患者を対象とした第 I 相試験並びに悪性黒色腫患者を対象とした HBI-8000 とニボルマブ（OPDIVO®）併用投与時の安全性及び有効性を評価する第 Ib/II 相試験の第 Ib 相部分を完了し、第 II 相部分は現在進行中である。

日本では、2021 年 6 月に「ハイヤスタ錠 10mg」の販売名で「再発又は難治性の成人 T 細胞白血病リンパ腫」を効能・効果とした医薬品製造販売承認を取得しており、今般、再発又は難治性 PTCL について効能追加の承認申請を行うこととした。

2.4.2 非臨床試験計画概略

HBI-8000 は、再発又は難治性 ATL 患者に対する治療剤としての使用を裏付けるため、薬理試験、薬物動態試験及び非臨床安全性試験を含む包括的な非臨床試験プログラムの中で評価された。PTCL について特異的な非臨床試験は実施していない。従って、PTCL のための効能追加承認申請に関する非臨床 CTD モジュールは本質的に初回承認申請時のモジュールと同一である。

2.4.2.1 薬理試験計画

PTCL の新たな治療オプションとしての HBI-8000 の可能性を評価した非臨床薬理試験データは安全性薬理データを含めて ATL についての初回承認申請に用いたデータと本質的に同じである。しかしながら、ATL における HBI-8000 の *in vitro* 及び *ex-vivo* での抗腫瘍活性についての文献データは、PTCL の適応とは関係しないと考えたことより効能追加承認申請資料より削除することとした。当該変更に関連して、予定する効能追加承認申請に際しては更新した薬理試験概要文のみを提示することとする。

2.4.2.2 薬物動態及び毒性試験

非臨床薬物動態及び毒性試験データには初回承認申請時のデータからの変更はないことより、予定する効能追加承認申請に際して新たなモジュールの提示は行わないこととする。非臨床薬物動態及び毒性データの要約については、本非臨床試験概括評価のみを提示する。

2.4.2.3 被験物質

被験物質は、10%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン、10%プロピレングリコール脱イオン水溶液として調製し、pH を 2.5（± 0.1）に調節した。被験物質のロット一覧は初回承認申請時に提示した。

2.4.3 薬理試験

初回承認申請に含まれた非臨床薬理試験により、HBI-8000 の予想された作用機序を支持している。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した。

HBI-8000 は、ナノモル濃度範囲でクラス I の HDAC 及び 1 つクラス IIb の 1 つの HDAC を阻害するため（Ning 2012）、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。

0.1～10 μM の薬剤濃度範囲で、HBI-8000 は、HeLa 細胞及びヒト PBMC において entinostat 及びボリノスタットと同レベルまで、アセチル化ヒストン H3 レベルを上昇させた（Ning 2012）。

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 細胞株及び骨髄単球性白血病由来 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（Ning 2012）。

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 で認められた。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 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機能的に関与する 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（Ning 2012）。

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（試験番号 1008NS06）。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* 腫瘍モデルにおいて単剤で有効性を示した（試験番号 CXHL0502435）。12.5～50 mg/kg の用量範囲で、ヒト NSCLC 由来 A549 細胞及びヒト乳がん由来 MCF-7 細胞移植モデルに対する HBI-8000 の腫瘍増殖抑制率は、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。

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を抑制した。3 日に 1 回の投与レジメンでは総投与量は 1 日 1 回の投与よりも低いが、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、週 2 回の臨床投与レジメンを支持している（試験番号 CXHB0801220）。

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（FOB）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（試験番号 1515-002 及び 20092736）。イヌにおける 4 週間試験及び 13 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、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（試験番号 1515-001 及び 20092737）。

HBI-8000 には、hERG 電流に対する有意な阻害作用はないと考えられた（試験番号 080415.IVZ）。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。ECG 波形に定性的な異常はなく、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（試験番号 1515-001 及び 20092737）。イヌの 4 週間試験では、1.25 mg/kg 投与後の雌の RR 間隔が溶媒対照群の値より統計学的に有意に延長した。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%を超える QTc の延長が 0.75 mg/kg 及び 1.25 mg/kg 群で生じた。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 の変化を含め心血管系に対する影響を誘発しなかった。

2.4.4 薬物動態試験

HBI-8000 の薬物動態学的特性をラット及びイヌを用いた *in vivo* 試験及び *in vitro* 試験で評価した。

HBI-8000 をラット（試験番号 1515-002 及び 20092736）及びイヌ（試験番号 1515-001 及び 20092737）に単回及び反復投与したときの血漿中濃度は、概して用量比例的又は用量比を上回って増加した。イヌにおいて血漿中濃度は雌雄間で同様であったが、ラットにおいては、雄に比べて雌で高い血漿中濃度を示した。ラット及びイヌ共に反復投与による血漿中濃度の蓄積又は低下はほとんど認められなかった。

[^{14}C]HBI-8000 を部分有色ラットに単回経口投与したときの組織内の放射能は、大部分の組織において投与後 2～8 時間でピークに達した。消化管内容物を除いて、最高濃度の放射能は、膀胱、腎臓、肝臓などの排泄に関連する組織で認められた。投与後 120 時間から最終採取時点である投

与後 840 時間までメラニンを含むブドウ膜のみに定量可能な放射能が認められ、本薬由来成分のメラニン親和性が示された。脳及び脊髄の放射能濃度が定量下限未満で推移したことから、HBI-8000 は血液脳関門を通過しないことが示された（試験番号 HYI/01）。

血漿蛋白結合率は、ラットで 86.4%～87.9%、イヌで 79.1%～80.1%、ヒトで 88.9%～89.4%であり、濃度依存性は認められなかった。血球移行率は、ラットで 48.1%～52.8%、イヌ全血で 52.5%～57.8%、ヒトで 59.2%～76.0%であり、ヒトにおいて濃度依存性が認められた（試験番号 AAIR-0008-DV-FB 及び AAIR-0009-DV-CB）。

HBI-8000 は NADPH 無しの条件下においてヒト肝ミクロソーム中で安定であり、NADPH 有りの条件下では軽度の代謝を示した。CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A4 に対する特異的な阻害剤を用いた CYP フェノタイピング試験において、CYP3A4 が HBI-8000 の代謝に関与することが示唆された（試験番号 8HUYAP2R1）。

HBI-8000 の代謝安定性及び CYP フェノタイピングを、リコンビナントヒト CYP 酵素でも評価した。HBI-8000 は、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19、CYP2C8 及び CYP2C9 によって代謝されず、CYP2D6 及び CYP3A4 によってわずかに代謝された（試験番号 AAIR-007-DV-HB 及び AAIR-0009-DV-CB）。ラット及びヒト凍結肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験において、液体クロマトグラフィーマススペクトロメトリー分析の結果、3 種の代謝物が少量認められたが、HBI-8000 及びその代謝物の合計に対してそれぞれ 2.9%未満であった。未変化体である HBI-8000 は合計に対して 95%超であった。ヒト肝細胞抽出液中に認められた代謝物は、概してラット肝細胞抽出液中においても認められた。いずれの代謝物も Phase 1 代謝によるものであり、Phase 2 代謝による代謝物は検出されなかった（試験番号 AAIR-0002-DV-MB 及び 1919-003）。

[^{14}C]HBI-8000 をラットに単回経口投与したときの血漿、尿及び糞中の主成分は HBI-8000 であり、それぞれ試料中総放射能の 66.3%、64.96%及び 45.9 %を占めた。血漿中にはアミド加水分解体が試料中総放射能の 7.69%を占める少量成分として検出された。この代謝物は、*in vitro* 試験においてラット及びヒト肝細胞で生成された主要代謝物（M1）と一致した。糞中には HBI-8000 の N-グルコース抱合体が総投与量の 8.99%を占める成分として検出された。胆汁中にも未変化体である HBI-8000 は検出されたものの、試料中総放射能の 5.82%を占める少量成分であった（試験番号 HYI/01）。

経口投与した放射能は主に糞中に排泄され、投与後 24 時間以内に大部分が回収された。尿中への排泄は少なく、ケージ洗浄液中及びカーカスで検出された放射能は微量であった。吸収された薬物の割合は尿中及び胆汁中の合計回収率（23.81%）で表され、糞中に回収された放射能（65.77%）は未吸収薬物に由来する可能性を示している（試験番号 HYI/01）。

CYP 阻害試験（試験番号 8HUYAP3、8HUYAP5R1、HUYA-04-[redacted] 及び AAIR-0011-DV-TB）より、HBI-8000 は、CYP2C8、CYP2C19 及び CYP3A4 に対して阻害作用を有することが示唆された。また、検討したいずれの CYP（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4）に対して TDI の可能性は認められなかった。

CYP 誘導試験（試験番号 HUYA-02-[redacted] 及び HUYA-04-[redacted]）において、HBI-8000 は、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4 を誘導する可能性が示唆された。また、HBI-8000 は、CYP1A2 及び CYP2B6 をわずかに誘導する可能性がある。

トランスポーター基質性試験（試験番号 14F147 HUYA 及び HUYA-02-[redacted]）において、HBI-8000 は、P-gp、BCRP、MRP2、OAT3 及び MATE2-K の基質である可能性が示された。トランスポーター阻害試験（試験番号 14F147 HUYA 及び HUYA-02-[redacted]）において、HBI-8000

は、MATE2-K を介した基質輸送を阻害する可能性が示された。また、HBI-8000 は、MATE1、OAT1、OAT3、OATP1B1 及び OATP1B3 の各基質輸送もわずかに阻害する可能性がある。

2.4.5 毒性試験

毒性試験プログラムとして、用量設定試験、4 週間及び 13 週間毒性試験を Sprague-Dawley 系ラット（試験番号 1515-002 及び 20092736）及びビーグル犬（試験番号 1515-001 及び 20092737）を用いて実施した。

ラット及びイヌには類似する毒性徴候がみられた。摂餌量減少は体重減少を引き起こした。下痢は頻回に生じた。軽度～中等度の骨髄低形成が生じ、白血球数、好中球数、リンパ球数、網状赤血球数及び血小板数が減少した。さらに、リンパ節にはリンパ球枯渇が生じた。グロブリン、アルブミン及びカルシウム値は減少した。胃、小腸、大腸及び心筋における出血が、特に高用量群に低頻度で認められた。肺に出血及び線維症を伴う炎症が、特に高用量群に認められた。試験結果からは、HBI-8000 の曝露量が小さい場合には毒性が低下するため、QD 投与より QOD 投与の忍容性が良好であることが示された。

イヌ 4 週間試験（試験番号 1515-001）で認められた QTc 延長は、被験物質投与に関連した血清カリウム及び血清カルシウムの減少に続発する変化と考えられた。イヌ 13 週間試験では QTc 間隔の変化は認められなかった（試験番号 20092737）。

ラットでは、3～40 mg/kg の用量範囲で QOD 投与した。MTD は 40 mg/kg QOD 未満、NOAEL は 3 mg/kg QOD であった。イヌでは、0.25～2.5 mg/kg の用量範囲で検討した。1～2.5 mg/kg QD の 21 日間投与では、MTD が 2 mg/kg 未満であることが示された。イヌ 4 週間試験では、0.25～1.25 mg/kg QD の 12 日間投与では顕著な毒性が生じたため、残りの試験期間では用法を QOD に変更した。13 週間の QOD 投与の結果、NOAEL は 0.25 mg/kg、MTD は 1.25 mg/kg 以上と判断された。

予定臨床用法用量（40 mg BIW 投与の 25 日目）における平均 $AUC_{0\text{-}tau}$ は 6010 ng·h/mL であり、ラット及びイヌにおける 13 週間反復経口投与試験で示された MTD での平均 $AUC_{(0\text{-}24)}$の 2.8～13.2 倍にあたる（表 2.4-1）。しかし、これらの毒性試験で認められた所見は、臨床試験で認められた有害事象と同等であると考えられた（再発又は難治性の ATL を対象とした初回申請資料、2.7.4 臨床的安全性の概要参照）。

表 2.4-1 ラット及びイヌにおける 13 週間反復経口投与毒性試験の最大耐量でのトキシコキネティクスパラメータ

Species	MTD (mg/kg)	$AUC_{(0\text{-}24)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)
Rat[a)]	9	1900 (male) 2150 (female)	245 (male) 467 (female)
Dog[b)]	>1.25	455 (male) 669 (female)	209 (male) 283 (emale)

$AUC_{0\text{-}24}$ = 0 時間から 24 時間までの血中濃度－時間曲線下面積; C_{max} = 最大血中濃度; MTD = 最大耐量.
a) ラットにおける 13 週間反復経口投与後 4 週間回復毒性試験（試験番号 20092736）89 日目
b) イヌにおける 13 週間反復経口投与毒性後 4 週間回復毒性試験（試験番号 20092737）89 日目

遺伝毒性試験（試験番号 9601677、9601678 及び 9800415）の結果、HBI-8000 に遺伝毒性は認められなかった。しかし、HBI-8000 原薬の合成に使用する出発物質で製剤の潜在的な不純物である

不純物F＊ には遺伝毒性が認められたため（試験番号 [redacted]08-368）、HUYABIO は最終出荷判定基準における本物質の規格を 5 ppm に設定し、出荷前の製剤からの遺伝毒性を有する出発物質の除去についての管理を継続する。

BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験の結果、HBI-8000 は光毒性反応を引き起こさないことが示された（試験番号 20245854）。

2.4.6 総括及び結論

上述した非臨床薬理試験により、HBI-8000 の予想された作用機序が裏付けられた。HBI-8000 は、癌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できる、エピジェネティック制御因子である。HBI-8000 は他の HDAC 阻害剤に既知のパターンと一致する遺伝子調節パターンを示した。

In vitro で、HBI-8000 はナノモルレベルの濃度範囲で、癌に関連するクラス I の複数の HDAC 及びクラス IIb の HDAC の 1 つに対する阻害能を示し、腫瘍細胞内でアセチル化ヒストン H3 の蓄積を促進した。ヒストン H3 脱アセチル化阻害に基づき、HBI-8000 のモル活性は entinostat 及びボリノスタットと同等であると認められた。

HBI-8000 は複数の *in vivo* ヒト腫瘍ゼノグラフトモデルにおいて単剤として活性を示した。全てのモデルで 25%～84%の腫瘍増殖阻害が認められ、体重減少はなかった。HBI-8000 は 1 日 1 回、2 日に 1 回及び 3 日に 1 回の投与頻度で腫瘍細胞増殖を抑制した。1 日 1 回投与と比較して、3 日に 1 回の投与レジメンではより低い総用量で同様の有効性が認められると共に、より良好な安全性プロファイルを示すと思われた。

ラット及びイヌにおける経口投与後の血漿中 HBI-8000 濃度は、いずれの種においても用量比例性をわずかに上回るようである。ラット及びイヌ共に反復投与による血漿中濃度の蓄積又は低下はほとんど認められなかった。

HBI-8000 は、主に膀胱、腎臓、肝臓などの排泄に関連する組織に分布した。投与後 120 時間から最終採取時点である投与後 840 時間までメラニンを含むブドウ膜にのみ定量可能な放射能が認められ、本薬由来成分のメラニン親和性が示された。

HBI-8000 は、部分的に CYP2D6 及び CYP3A4 を介して代謝された。*in vitro* においてラット及びヒト肝細胞中で同様の Phase 1 代謝物が同定され、ラットにおいては *in vivo* でも同一の代謝物が認められた。HBI-8000 は、CYP3A4、CYP2C19 及び CYP2C8 を阻害し、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4 を誘導する可能性を示した。HBI-8000 は、P-gp、BCRP、MRP2、OAT3 及び MATE2-K の基質となる可能性があり、MATE2-K を阻害する可能性がある。

複数の種における反復経口投与毒性試験で一貫して認められた毒性徴候には、食欲不振及び下痢などの胃腸障害、並びに骨髄及びリンパ組織に抑制が認められた。高用量ではこれらの作用が増大し、さらに消化管での粘膜出血及び精巣精細管の萎縮が認められた。複数の試験で散発的かつ局所的な心筋の炎症及び壊死の徴候、並びにイヌの 1 試験で偶発的に QTc 間隔が延長した。これらの心臓の変化の全てが、いずれの試験でも高用量群にのみ散発的に認められ、可逆性であった。これらの変化は、高用量の HBI-8000 を投与された動物における代謝条件の悪化に関連する可能性が考えられた。

全般的に、ラット及びイヌにおいて認められた HBI-8000 毒性の主要な標的組織は骨髄、リン

＊ 承認情報提供時に置き換え

パ組織及び消化管であった。他の組織は、より高い毒物曝露量で影響を受ける可能性がある。

まとめとして、HBI-8000 の非臨床安全性プログラムの結果は臨床プログラムを支持し、PTCL の治療薬としての承認申請を支持する適切な安全性データとなった。

2.4.7 参考文献

Bali P, Pranpat M, Bradner J, et al. Inhibition of histone deacetylase 6 acetylates and disrupts the chaperone function of heat shock protein 90. J Biol Chem. 2005;280(29):26729-26734.

Blumenschein Jr GR, Kies MS, Papadimitrakopoulou VA, et al. Phase II trial of the histone deacetylase inhibitor vorinostat (Zolinza™, suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) in patients with recurrent and/or metastatic head and neck cancer. Invest New Drugs. 2008;26(1):81-87.

Bolden JE, Peart MJ, Johnstone RW. Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. Nat Rev Drug Discov. 2006;5(9):769-784.

Ceccacci E, Minucci S. Inhibition of histone deacetylases in cancer therapy: Lessons from leukaemia. Br J Cancer. 2016; 114: 605-611.

Crump M, Coiffier B, Jacobsen ED, et al. Phase II trial of oral vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid) in relapsed diffuse large-B-cell lymphoma. Ann Oncol. 2008;19(5):964-969.

Duan H, Heckman CA, Boxer LM. Histone deacetylase inhibitors down-regulate bcl-2 expression and induce apoptosis in t(14;18) lymphomas. Mol Cell Biol. 2005;25(5):1608-1619.

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

Fritzsche FR, Weichert W, Röske A, et al. Class I histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in renal cell cancer. BMC Cancer. 2008; 8: 381.

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

Glaser KB, Li J, Pease LJ, et al. Differential protein acetylation induced by novel histone deacetylase inhibitors. Biochem Biophys Res Commun. 2004;325(3):683-690.

Haberland M, Montgomery RL, Olson EN. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy. Nat Rev Genet. 2009;10(1):32-42.

Luu TH, Morgan RJ, Leong L, et al. A phase II trial of vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid) in metastatic breast cancer: a California Cancer Consortium study. Clin Cancer Res. 2008;14(21):7138-7142.

Marquard L, Gjerdrum LM, Christensen Ib J, et al. Prognostic significance of the therapeutic targets histone deacetylase 1, 2, 6 and acetylated histone H4 in cutaneous T-cell lymphoma. Histopathology. 2008; 53: 267-277.

Marquard L, Christian BP, Gjerdrum LM, et al. Histone deacetylase 1, 2, 6 and acetylated histone H4 in B- and T-cell lymphomas. Histopathology. 2009; 54: 688-698.

Minucci S, Pelicci PG. Histone deacetylase inhibitors and the promise of epigenetic (and more) treatments for cancer. Nat Rev Cancer. 2006;6(1):38-51.

Modesitt SC, Sill M, Hoffman JS, Bender DP. A phase II study of vorinostat in the treatment of persistent or recurrent epithelial ovarian or primary peritoneal carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. Gynecol Oncol. 2008;109(2):182-186.

Nakagawa M, Oda Y, Eguchi T, et al. Expression profile of class I histone deacetylases in human cancer tissues. Oncol Rep. 2007;18(4):769-774.

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.

Park J-H, Kim S-H, Choi M-C, et al. Class II histone deacetylase play pivotal roles in heat shock protein 90-mediated proteasome degradation of vascular endothelial growth factor receptors. Biochem Biophys Res Commun. 2008;368(2):318-322.

Rasheed WK, Johnstone RW, Prince HM. Histone deacetylase inhibitors in cancer therapy. Expert Opin Investig Drugs. 2007;16(5):659-678.

Rasheed W, Bishton M, Johnstone RW, Prince HM. Histone deacetylase inhibitors in lymphoma and solid malignancies. Expert Rev Anticancer Ther. 2008;8(3):413-432.

Rodriguez-Gonzalez A, Lin T, Ikeda AK, et al. Role of the aggresome pathway in cancer: targeting histone deacetylase 6-dependent protein degradation. Cancer Res. 2008;68(8):2557-2560.

Roth SY, Allis CD. Histone acetylation and chromatin assembly: A single escort, multiple dances? Cell. 1996;87:5-8.

Schemies J, Sippl W, Jung M. Histone deacetylase inhibitors that target tubulin. Cancer Lett. 2009; 280(2): 222-232.

Tang J, Yan H, Zhang S. Histone deacetylase as targets for treatment of multiple diseases. Clin Sci. 2013;124:65-662.

Vansteenkiste J, Van Cutsem E, Dumez H, et al. Early phase II trial of oral vorinostat in relapsed or refractory breast, colorectal, or non-small cell lung cancer. Invest New Drugs. 2008;26(5):483-488.

Vose J, Armitage J, Weisenburger D; International T-Cell Lymphoma Project. International peripheral T-cell and natural killer/T-cell lymphoma study: Pathology findings and clinical outcomes. J Clin Oncol. 2008; 26: 4124–30.

Weichert W, Röske A, Gekeler V, et al. Histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in prostate cancer and HDAC2 expression is associated with shorter PSA relapse time after radical prostatectomy. Br J Cancer. 2008;98(3):604-610.

Witt O, Deubzer HE, Milde T, Oehme I. HDAC family: What are the cancer relevant targets? Cancer Lett. 2009;277(1):8-21.

古川雄祐. PTCLにおけるHDAC阻害薬の基礎的背景と治療的意義. 血液内科. 2018; 76(6): 824-830.

JSH ガイドライン 2018: 日本血液学会. 造血器腫瘍診療ガイドライン 2018 年版 [2019 年 9 月 20 日引用]. Available from: http://www.jshem.or.jp/gui-hemali/table.html

武田薬品工業. Adcetris injection interview form. Dec. 2019. ver.6. Available from: https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuDetail/ResultDataSetPDF/400256_4291425D1021_1_11