ロナファルニブに関する資料

第 2 部（モジュール 2）: CTD の概要（サマリー）

2.4 非臨床試験の概括評価

アンジェス株式会社

目次

略語一覧表 4
2.4　非臨床試験の概括評価 5
2.4.1.　非臨床試験計画概略 5
2.4.2.　薬理試験 7
2.4.2.1.　効力を裏付ける試験 7
2.4.2.2.　安全性薬理試験 8
2.4.3.　薬物動態試験 9
2.4.3.1.　吸収 9
2.4.3.2.　分布 10
2.4.3.3.　代謝 11
2.4.3.4.　排泄 11
2.4.3.5.　薬物動態学的薬物相互作用 11
2.4.4.　毒性試験 12
2.4.4.1.　死亡／瀕死の原因 12
2.4.4.2.　標的臓器、組織及び臓器系 13
2.4.4.3.　遺伝毒性 17
2.4.4.4.　生殖発生毒性 17
2.4.4.5.　不純物の毒性 18
2.4.5.　総括及び結論 18
2.4.6.　参考文献一覧 22

表一覧

表 2.4.2.2-1　安全性薬理試験に用いた用量におけるロナファルニブの全身曝露量の比較 9
表 2.4.3-1　ロナファルニブを経口投与したときの全身曝露量の比較 20

略語一覧表

略語／用語	定義	日本語
AAG	Alpha1-acid glycoprotein	α1-酸性糖タンパク質
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine transaminase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
ATU	Authorization temporary utilization	一時的使用承認
AUC_{last}	Area under the concentration versus time curve from time zero until the last time-point measured	時間 0 から最終測定時点までの血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-t}	Area under the concentration versus time curve from time zero over the dosing interval t (h)	投与後 0 時間から投与間隔時間 t までの血漿中濃度-時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク質
BID	Twice daily	1 日 2 回
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P	シトクロム P
C2BBe1	Caco-2 brushed border expressing 1	ヒト小腸様細胞株
EFD	Embryo-fetal development	胚・胎児発生に関する試験
FT	Farnesyltranstransferase	ファルネシルトランスフェラーゼ
GGT	γ-glutamyltranspeptidase	γ-グルタミルトランスペプチダーゼ
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HeLa	Cervical cancer cell line	ヒト子宮頸癌細胞株
hERG	Human ether-à-go- go-related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HGPS	Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome	ハッチンソン･ギルフォード･プロジェリア症候群
HPBL	Human peripheral blood lymphocytes	ヒト末梢血リンパ球
HSA	Human serum albumin	ヒト血清アルブミン
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
LD_{50}	50% lethal dose	50%致死量
LLOQ	Lower limit of quantification	定量下限値

略語／用語	定義	日本語
LMNA	Lamin A/C gene	ラミン A/C 遺伝子
NOAEL	No observable adverse effect level	無毒性量
NZW	New Zealand White	ニュージーランドホワイト
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting protein	有機アニオン輸送タンパク質
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク質
PK	Pharmacokinetics	薬物動態
PL	Progeroid laminopathies	プロジェロイド・ラミノパチー
QTc	Corrected QT interval	補正 QT 間隔
TK	Toxicokinetics	トキスコキネティクス
t_{max}	Time to maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
ZMPSTE24	Zinc metallopeptidase STE24 gene	亜鉛メタロペプチダーゼ STE24 遺伝子
V_d	Volume of distribution	分布容積

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1.　非臨床試験計画概略

ロナファルニブは、ファルネシルトランスフェラーゼに対する強力かつ特異的な阻害剤であり、ハッチンソン・ギルフォード・プロジェリア症候群（HGPS）及びプロセシング不全性のプロジェロイド・ラミノパチー（PL）の治療薬として米国、欧州連合、英国及び仏国で Zokinvy®の商品名で承認されている（仏国は ATU；一時的使用承認）。

HGPS は、希少な多臓器性「早期老化」疾患であり、患者は重症アテローム性動脈硬化症により平均 14.5 歳で死亡する（Gordon et al., 2018） HGPS の出生率は 400 万人に約 1 人（Hennekam, 2006）であり、HGPS の罹患率は 2000 万人に 1 人である（Gordon et al., 2018）。HGPS よりも更に希少な PL［全世界で約 70 例の小児患者が特定されている（PRF, 2022）］は、遺伝的に HGPS に関連しており、プロセシング不全性の遺伝子変異に起因するものは、HGPS と重複する臨床的特徴を有する（Gordon et al., 2019）。

HGPS の患者は、核膜の完全性の維持に必要なタンパク質である、核ラミナタンパク質のラミン A 及びラミン C をコードするラミン A/C（*LMNA*）遺伝子のエクソン 11 の遺伝子変異を有する（Eriksson et al., 2003; Mounkes et al., 2003）。その結果、異常ファルネシル化ラミン A タンパク質（プロジェリン）が蓄積する（Eriksson et al., 2003）。プロジェリンは、正常なラミン A に含まれ

る 50 アミノ酸残基が翻訳後に付加されるファルネシル基の切断部位を含めて欠損している。そのため、プロジェリンはラミン A と異なり、ファルネシル基を保持する。
ラミン A の発現は発達段階で制御され、ほとんどの体細胞で発現している。HGPS における多臓器疾患プロセスは、この異常なタンパク質の欠陥により引き起こされる。
PL は、*LMNA* 及び亜鉛メタロペプチダーゼ STE24（*ZMPSTE24*）遺伝子の変異、又は *ZMPSTE24* などの *LMNA* の翻訳後経路に影響するタンパク質によって引き起こされ、プロセシング完全性の PL 及びプロセシング不全性の PL がある。後者は、永久的にファルネシル化プレラミン A を産生するため、下顎末端異形成症 B 型（MAD-B）などの疾患の原因となるプロジェリン様タンパク質が生成される（Gordon et al., 2019）。これらの変異は HGPS と重複する臨床的特徴を呈する可能性が高い。
プロジェリン及びプロジェリン様タンパク質の持続的なファルネシル化は、それらが内部核膜と関連し、細胞障害を引き起こす（Goldman et al., 2004; Cao et al., 2007）。HGPS と同様に、プロセシング不全性の PL の患者は、永久的にファルネシル化されたプレラミン A を蓄積することにより、異常な核形態を示す皮膚線維芽細胞などの細胞が生じる。これらの類似性は、ロナファルニブがプロセシング不全性の PL の患者に臨床的ベネフィットをもたらすことを示している（モジュール 5.3.5.4 Progeroid Laminopathies White Paper）。
本モジュールでは、HGPS 及びプロセシング不全性の PL の治療にロナファルニブを適応するための新薬申請（NDA）に用いる非臨床データを要約する。予定臨床用量は、最大で 150 mg/m^2 BID である。

ロナファルニブの効力を裏付ける試験は、*in vitro* 及び *in vivo* 試験ともに公表文献に基づいたものである。*In vitro* 試験では、HeLa 細胞及び HGPS 患者由来の皮膚線維芽細胞を用いて、ロナファルニブがファルネシル化を阻害することによる HGPS に特徴的な核ブレブ形成の低減作用について検討した。*In vivo* 試験では、*LMNA* G609G/G609G マウス HGPS モデルを用いて、ロナファルニブによる HGPS 疾患症状の改善作用を評価した。
複数の *in vitro* 及び *in vivo* 非臨床安全性薬理試験でロナファルニブを評価した。ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）を導入したマウス L-929 細胞を用いて、hERG 電流に対するロナファルニブの影響を評価した。また、ビーグル犬の心臓プルキンエ線維を用いて、細胞内で記録された心臓の活動電位に対するロナファルニブの影響を評価した。*In vivo* の安全性薬理試験は、Sprague Dawley ラット（経口投与）及び Hartley モルモット（静脈内投与）を用いて実施した。これらの試験により、ラットでは中枢神経系、心血管系、腎／泌尿器系、胃腸管系及び他の器官系として肝臓、モルモットでは心血管系に対するロナファルニブの影響を評価した。呼吸機能［すなわち、呼吸数（回／分）］に対するロナファルニブの影響については、GLP 下で実施したサルでの 3 箇月間及び 1 年間反復経口投与毒性試験において、投与前及び投与後の複数の中間時点で評価し、ベースラインからの経時的な変化をモニタリングすることにより評価した。
ロナファルニブの吸収、分布、代謝、排泄（ADME）の特性を明らかにすることを目的とした *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験を実施した。これらの試験には、ヒト血漿、肝ミクロソーム、肝細胞を用いて血漿結合、シトクロム P450（CYP450）代謝、並びにロナファルニブが代謝機序を介して薬物相互作用に関与する可能性を明らかにした *in vitro* 試験が含まれている。加えて、ロナファルニ

ブが取込み及び排出トランスポーターへの影響を介して薬物相互作用に関与する可能性を評価するための *in vitro* 試験を実施した。
ラット及びサルを用いて、単回又は反復投与による *in vivo* の薬物動態（PK）試験及びトキシコキネティクス（TK）試験を実施した。このほかに、妊娠ウサギを用いた TK 試験も実施した。これらの試験での投与には、ヒトにおける予定投与経路であることから、主として経口投与を用いた。加えて、PK パラメータをさらに検討するため、及び経口バイオアベイラビリティを算出するために、ラット及びサルの双方で補足的な単回静脈内投与試験を実施した。
ロナファルニブの安全性を評価するために、包括的な一連の非臨床毒性試験を実施した。マウス、ラット、ウサギ及びサルは、薬理作用及び薬物動態プロファイルに基づいて、ロナファルニブの非臨床試験プログラムに用いるのに適切な動物種であると判断された。ロナファルニブの毒性は、マウス及びラットを用いた単回投与試験、ラットで最長 6 箇月間、サルで最長 1 年間の反復投与試験、並びに *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験で評価した。生殖発生毒性は、ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験、並びにラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験で評価した。加えて、その他の毒性試験として、*in vitro* の骨髄抑制試験、並びに *in vivo* のラットを用いた腎毒性試験及びサルを用いた眼毒性試験を実施した。また、不純物の毒性は、ロナファルニブの不純物である Compound W、 不純物Ａ* 及び 不純物Ｂ* について、遺伝毒性試験及びラットを用いた反復投与試験により評価した。主要な非臨床安全性試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）規則に準拠して実施した。

2.4.2.　薬理試験

2.4.2.1.　効力を裏付ける試験

ロナファルニブの効力を裏付ける試験は公表文献に基づいたものである。

2.4.2.1.1 In vitro 試験

ロナファルニブの効力を裏付ける *in vitro* 試験の公表文献によると、ロナファルニブはファルネシルトランスフェラーゼを選択的に阻害し、IC_{50} は 1.9 nmol/L であった（Njoroge et al., 1998）。また、動態試験の結果から、この阻害様式は競合的阻害であると推定された。Capell ら（2005）の研究により、FT 阻害薬の阻害作用によって HGPS 細胞で特徴的に見られる核ブレブ形成が低減することが示された。これは様々な細胞株で実証された。さらに、遺伝子導入した HeLa 細胞及び HGPS 患者由来の培養皮膚線維芽細胞において、ロナファルニブ処理（最大 2.0 μmol/L）により核ブレブ形成率を有意に低減した。

2.4.2.1.2 In vivo 試験

LMNA G 609 G/G 609 G マウス（HGPS モデルマウス）にロナファルニブを 1 日あたり 450 mg/kg の飼料重量で生後 168 日まで給餌したところ、試験のエンドポイントである生後 168 日で生存率は 100%であった。また、大動脈機能については、管腔径を有意に改善し、血管への加圧に対

*新薬承認情報提供時に置き換え

する血管の拡張機能や脈波伝播速度がやや低減するなど動脈構造及び機能の改善が認められた。さらに、心機能については、脈波伝播速度が有意に低減し、左室拡張機能も有意に改善され、心機能の改善が認められた（Murtada et al., 2023）。なお、ロナファルニブ以外の FT 阻害薬（チピファルニブ及び ABT-100）についても同様の報告がある（Capell et al., 2008 ; Fong et al., 2006）。

2.4.2.2.　安全性薬理試験

In vitro 及び *in vivo* の安全性薬理試験を実施し、中枢神経系、心血管系、呼吸系に加えて腎／泌尿器系、胃腸管系及び他の器官系として肝臓に対するロナファルニブの影響を評価した。

ラットにロナファルニブを最大 100 mg/kg で経口投与した時、行動機能、神経機能及び自律神経機能のいずれにも変化は認められなかったことから、中枢神経系に対して、100 mg/kg の用量まで影響を及ぼさないと判断した。なお、高用量（300 mg/kg 及び 500 mg/kg）でアラニンアミノトランスフェラーゼ及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼのわずかな上昇が認められた。

ロナファルニブはマウス L-929 細胞において hERG カリウムチャネル電流を阻害し（IC_{50} は 1.3 μmol/L）、この濃度は、ヒトに臨床用量の 150 mg/m^2 BID を投与した時の血漿中ロナファルニブ濃度の C_{max} の約 66 倍（フリー体換算）であった。また、イヌ心筋プルキンエ線維を用いた試験では、ロナファルニブ（最大濃度は 2 μmol/L）は静止膜電位、活動電位振幅、最大脱分極速度、又は 60%若しくは 90%再分極時の活動電位持続時間等の心血管系パラメータに有意な影響を及ぼさなかった。*In vivo* 試験では、ラットにロナファルニブ（30 mg/kg 以上）を経口投与した時、対照群と比較して QT 間隔を有意に延長させたが、これに伴う QRS 間隔の延長は認められなかった。ロナファルニブは血圧、心拍数、PR 間隔又は RR 間隔に有意な変化を及ぼさず、抗 α-アドレナリン、抗セロトニン、抗コリン及び抗 β-アドレナリン作用も示さなかった。また、モルモットにロナファルニブ（50 mg/kg）を静脈内投与した時、QTc 間隔の変化は認められず、全体的な忍容性は良好であり、心電図で催不整脈作用は認められなかった。hERG 試験におけるロナファルニブの IC_{50} と臨床用量 150 mg/m^2 BID における血漿中ロナファルニブ濃度の C_{max} との間に十分な安全域が認められたこと及び 1.1 μmol/L までの用量でイヌ摘出心筋プルキンエ線維に対する作用が認められなかったことを含むこれらの *in vitro* 試験のデータは、麻酔下のモルモット（最終評価時点での血漿中ロナファルニブ濃度は約 30 μmol/L）及びサルにそれぞれ最大で 60 mg/kg 及び 40 mg/kg の用量でロナファルニブを 3 箇月間及び 1 年間反復経口投与した毒性試験において、QT 又は QTc 間隔に対する影響はなく整合性が認められた。

ロナファルニブに関して独立した呼吸系に対する安全性薬理試験は実施していないが、GLP 下で実施したサル 3 箇月（最大で 60 mg/kg）及び 1 年間（最大で 40 mg/kg）の反復経口投与毒性試験において呼吸数を評価した。その結果、いずれの試験においても呼吸数に影響はなかった。また、呼吸器系に関連した所見は認められなかった。なお、ラットを用いた 6 箇月間反復経口投与毒性試験で 60 mg/kg/日を投与した時の試験終了時の C_{max} は 4.83～10.9 μg/mL、サルを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験で 40 mg/kg/日を投与したときの試験終了時の C_{max} は 10.8～10.9 μg/mL であり、ヒトに臨床用量の 150 mg/m^2 BID を投与した時の血漿中ロナファルニブ濃度の C_{max} のそれぞれ 1.83～4.13 倍で及び 4.09～4.13 倍であった（表 2.4.2.2-1）。したがって、独立した呼吸系に対する安全性薬理試験を実施していないことは、HGPS 及びプロセシング不全性の PL 患者を対象とした

ロナファルニブの使用に対する安全性の懸念とはならないと考え、追加で検討する必要はないと判断した。

ラットにロナファルニブ（100 mg/kg）を経口投与した時、胃内容排出及び腸管通過を有意に阻害し、対照群と比較してそれぞれ 64%及び 31%の阻害が認められた。さらに高用量（500 mg/kg）でも、胃内容排出を有意に阻害し、この用量群で死亡例（1 匹）が認められた。

ラットに 100 mg/kg のロナファルニブを投与した時、尿量が有意に増加したが、その他の尿検査パラメータには影響は認められなかった。別の試験では、ラットにロナファルニブを 300 mg/kg 以上の用量で投与した時、摂餌量の有意な減少及び飲水量の有意な増加が認められ、体重増加量が有意に抑制された。多尿も生じ、Na^+及び K^+の尿中排泄量の減少が認められ、これらはおそらく摂餌量及び飲水量の変化に起因する所見であると考えられた。検討した最高用量（500 mg/kg）ではクレアチニンクリアランスの顕著な低下が認められ、この用量群で死亡例（4 匹）が認められた。

表 2.4.2.2-1　安全性薬理試験に用いた用量におけるロナファルニブの全身曝露量の比較

動物種（試験の種類／投与期間、試験番号）	用量（mg/kg/日）	性別	C_{max}（μg/mL）[a]	動物とヒトとの曝露量比 [b]
ラット（反復経口投与／6 箇月間、SN 96034）	30	雄	2.92	1.11
	60	雄	4.83	1.83
		雌	10.9	4.13
サル（反復経口投与／1 年間、SN 96036）	40	雄	10.8	4.09
		雌	10.9	4.13

[a] 特に明記しない限り、最終評価時点の値

[b] 動物における最終評価時点の C_{max} 及びヒトに臨床用量（150 mg/m^2 BID）を投与したときの C_{max}（2.64 μg/mL）に基づいたヒトと動物との曝露量比（Gordon et al., 2012）

2.4.3.　薬物動態試験

ロナファルニブの薬物動態試験は、毒性試験で用いたラット、ウサギ及びサルを用いて実施した。

2.4.3.1.　吸収

ロナファルニブ（30 mg/kg）は、Sprague Dawley ラットに単回経口投与後に速やかに吸収され（t_{max} 約 2～4 時間）、雄では 1.09 時間及び雌では 1.92 時間の $t_{1/2}$ で排泄された。雌性ラットにおける C_{max} 及び AUC_{last} 値は、雄性ラットと比較してそれぞれ 3.3 倍及び 5.6 倍高かった。この差は、雄動物ではクリアランスが速く［静脈内投与（5 mg/kg）後で約 2.66 倍］、消失半減期が短かったためと考えられる。静脈内投与後（5 mg/kg）、ロナファルニブの血漿中濃度にラットの雌雄間の差は認められなかったが、消失半減期は雌性ラットの方が雄性ラットより長く（それぞれ 2.38 時間及び 1.54 時間）、その結果として AUC_{last} に基づいた曝露量がやや大きくなったが、その変化はおおむね 2

倍未満であった。[^{14}C]-ロナファルニブを Long Evans ラットに経口投与したときも、同様のプロファイルが観察された。

ロナファルニブ（15 mg/kg）をサルに単回経口投与したところ、曝露量に有意な性差は認められなかった。雌雄ともに投与後約 4 時間時点で最高血漿中濃度に達し、クリアランスは速やかであった。静脈内投与後（5 mg/kg）、PK パラメータは雌雄で同程度であり、クリアランスは速やかであった。カニクイザルを用いた別の試験では、[^{14}C]-ロナファルニブの経口投与（15 mg/kg）及び静脈内投与（5 mg/kg）を実施した。本試験では、薬物動態パラメータは雌雄で同程度であったが（AUC_{last} が雄で 1.8 倍大きかった）、ロナファルニブの吸収は経口投与後の方が緩徐であり（t_{max} は 6～8 時間）、以前の試験と比較して消失半減期は長くなった（2.96～4.39 時間）。ロナファルニブの静脈内投与後の V_d は 1980 mL/kg であり、サルの典型的な血漿量を 45 mL/kg とすると、ロナファルニブは血漿外に広く分布することが示唆された。経口投与時の絶対的バイオアベイラビリティは両動物種ともに高く、それは C2BBe1 細胞単層で観察されたロナファルニブの高い吸収透過性（40×10^{-6} cm/s）によるものと考えられた。

ロナファルニブの TK パラメータは、ラットで最長 6 箇月間、サルで最長 1 年間、ウサギで妊娠 7 日目から 19 日目までの反復経口投与毒性試験で検討した。曝露量は概して、すべての動物種で用量比を上回って用量依存的に増加した。ラットでは曝露量は雌の方が雄より顕著に大きく、単回経口投与 PK 試験の結果と一致しており、サルでは曝露量は雌雄間で同程度であり、単回投与試験の結果と一致していた。検討した最高用量で雌性ラットに軽微な蓄積が認められた以外は、いずれの動物種及び用量でもロナファルニブの蓄積は認められなかった。サルを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験では、Day 1 の血漿中濃度は Day 177 及び Day 363 よりも高値であった。

2.4.3.2.　分布

[^{14}C]-ロナファルニブ（0.5～40 μg/mL の濃度）の *in vitro* 血漿タンパク結合率は極めて高く（99.0%～99.7%）、ラット、サル及びヒトの血漿中でいずれも同程度であった。[^{14}C]-ロナファルニブのヒト血漿タンパク質の AAG 及び HSA との結合も *in vitro* 試験で評価した。結合率は両タンパク質ともに高く（>92.5%）、AAG についてはロナファルニブ濃度に、HSA については HSA 濃度に依存していた。しかし、HSA 及び AAG の双方の存在下でロナファルニブをインキュベートしたとき、HSA のすべての濃度で結合率は一貫していたことから（95.1%～98.4%）、HSA 濃度が低い病態生理学的条件下においてロナファルニブの総結合率は影響を受けないことが示唆された。

雌雄のラットに[^{14}C]-ロナファルニブを単回経口投与したとき、肝臓、副腎、膵臓、胆管及び腎臓で特に高い放射能濃度が認められた。カニクイザルへの単回経口投与（15 mg/kg）後、ロナファルニブの高い V_d 値と合致して、[^{14}C]-ロナファルニブは雌性サルでは評価した全組織に広く分布したが、雄性サルのハーダー腺、大腸、骨格筋及び精巣では定量下限値（LLOQ）を下回った。分布はロナファルニブの吸収及び代謝に関連する臓器（小腸及び肝臓）並びに眼で最も高く、肺及び骨格筋で最も低かった。放射能は大部分の組織で投与後 1344 時間後までに LLOQ 付近又はそれ未満にまで減少したが、褐色脂肪、皮膚及びリンパ節では放射能がなおも認められ、これら 3 組織では投与後 798 時間から 1344 時間までの間には減少していないようであった。

2.4.3.3.　代謝

組換えヒト CYP450 酵素及びヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* アッセイから、ロナファルニブの代謝は主に CYP3A を介して生じることが示唆されたが、CYP1A2、CYP2A6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2E1 を含むいくつかの他の CYP 分子種も関与している可能性がある。

ロナファルニブはラット及びサルで広範に代謝される。Sprague Dawley ラットに[^{14}C]-ロナファルニブを単回経口（30 mg/kg）及び静脈内（5 mg/kg）投与したとき、血漿、尿及び糞便中に計 30 種類の代謝物が特定された。これらの大半は側鎖ピペリジン環の構造変化の結果として生成された代謝物であった。血漿中では、認められた代謝変換の大部分が酸化及び脱水素化によるものであった。尿中で認められた生体内変換は主に酸化であり、糞便中ではほとんどが酸化、脱水素化及びこれら 2 つの組み合わせであった。糞便中の代謝物プロファイルには投与経路による差は認められなかったが、性別による差が認められ、RM2a 及び RM2 は雄の糞便のみ、RM2b は雌の糞便のみで検出された。ラットの場合と同様に、カニクイザルに放射標識体を経口（15 mg/kg）及び静脈内（5 mg/kg）投与したとき、血漿中及び尿中には側鎖ピペリジン環の構造変化の結果として生じた代謝物が検出され、主な代謝プロセスは酸化、脱水素化及びこれらの組み合わせであった。また、ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験の結果により、ロナファルニブは CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9 又は CYP2D6 を阻害しないが、CYP2C19 及び CYP3A に対してある程度の阻害作用（IC_{50} 値はそれぞれ 15 μmol/L 及び 5.2 μmol/L 超）を示す可能性が示された。ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 試験では、ロナファルニブは 3 名の肝細胞ドナーのうち 2 名で CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の酵素活性も mRNA レベルも上昇させなかったが、1 名のドナーで CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA 発現を増加させた。したがって、ロナファルニブが検討した CYP 分子種を誘導する可能性は低いと考えられるが、ドナー間でばらつきが認められたことから、CYP2B6 及び CYP3A4 を誘導する可能性は否定できない。

2.4.3.4.　排泄

ラットに単回経口及び静脈内投与したマスバランス試験では、ロナファルニブの排泄は迅速かつほぼ完全であることが示されたが、静脈内投与では経口投与に比較して回収率がやや低かった。いずれの投与方法でも、排泄は主に糞便を介して生じ、いずれの場合も尿中及び死体からの回収率は投与量の 0.5%未満であった。同様に、サルでも[^{14}C]-ロナファルニブ経口投与後の放射能は主に糞便中に回収され、尿中への回収率は投与放射能の 1.62%未満であった。いずれの動物種においても経口投与時及び静脈内投与時ともに糞便中に大量の放射能が認められたことから、胆汁中排泄及び／又は腸管分泌がロナファルニブ及びその代謝物の主要な排泄経路であることが示唆された。また、授乳ラットに[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与した乳汁移行性試験では、乳汁中への残留性はないと考えられた。

2.4.3.5.　薬物動態学的薬物相互作用

In vitro 試験で、ロナファルニブがトランスポーターを介した薬物相互作用を引き起こす又は受

ける可能性を評価した。ロナファルニブは、評価したトランスポーター（OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、BCRP、P-gp 及び BSEP）のうち、OATP1B1、OCT1、BCRP 及び P-gp を阻害し、IC_{50} 値はそれぞれ 6.69、0.797、1.45 及び 0.740 µmol/L であった。ロナファルニブは、OATP1B1、OATP1B3 及び BCRP の基質とはならず、P-gp に対してごくわずかな基質活性を示すのみであったことから、トランスポーターを介した薬物相互作用を受ける可能性は低いと考えられる。

ヒトを対象とした *in vivo* 薬物相互作用試験を実施し、ロペラミド（CYP3A4 及び P-gp の基質）、ミダゾラム（CYP3A4 の基質）、フェキソフェナジン（P-gp の基質）及びオメプラゾール（CYP2C19 の基質）の単回投与時の薬物動態に対するロナファルニブの影響、並びに CYP3A 誘導薬がロナファルニブの曝露量に及ぼす影響を評価している。これらの試験の報告書をモジュール 5.3.3 に添付し、要約をモジュール 2.7.2 に示す。

2.4.4.　毒性試験

2.4.4.1.　死亡／瀕死の原因

マウスでは、ロナファルニブを 2000 mg/kg（雄）及び 1500 mg/kg 以上（雌）の用量で単回経口投与した時、死亡例が認められた。また、雌雄とも 400 mg/kg 以上の用量で単回腹腔内投与した時、死亡例が認められた。ラットでは、2000 mg/kg の用量で単回経口投与した時、死亡例が認められた。また、400 mg/kg 以上（雌）及び 600 mg/kg（雄）の用量で単回腹腔内投与した時、死亡例が認められた。マウス及びラットともに、経口又は腹腔内投与後に死亡した個体では、概して死亡前に活動性低下、運動失調、振戦、努力呼吸、冷触感、虚脱、便量減少、無便及び体重増加量の減少等の毒性徴候が認められた。ロナファルニブを単回経口投与した時の 50%致死量（LD_{50}）は、マウスで 1980 mg/kg 以上（雄）及び 1868 mg/kg 以上（雌）、ラットで 2000 mg/kg を超える量（雄）、2197　mg/kg　（雌）であった。また、単回腹腔内投与時の LD_{50} は、マウスで 489 mg/kg 以上（雄）及び 375 mg/kg 以上（雌）、ラットで 591 mg/kg（雄）及び 500 mg/kg（雌）であった。

ラット及びサルを用いた 3 箇月間反復経口投与毒性試験で死亡例が認められたが、ラットを用いた 6 箇月間反復経口投与毒性試験及びサルを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験では死亡例は認められなかった。ラットでの 3 箇月間反復経口投与毒性試験では、180 mg/kg/日の雌 2 匹が Week 3 及び Week 12 に死亡した。Week 3 に死亡が確認された雌の死因は明らかではなかったが、Week 12 に死亡が確認された雌では貧血及びそれに伴う肝臓の小葉中心性低酸素症と一致する所見として中等度の小葉中心性肝細胞壊死、軽度の肝細胞有糸分裂像増加及び軽度の小葉中心性色素沈着が認められた。一方で、90 mg/kg/日（ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量［AUC］の 1.87～4.76 倍に相当）の用量では死亡例は認められなかった。

サルでの 3 箇月間反復経口投与毒性試験では、60 mg/kg/日の雄 2 匹を剖検前の Day 17 及び Day 58 に安楽死させた。これらの個体では、摂餌量減少及び中等度の体重減少、軟便及び／又は泥状便、重度の胸腺萎縮、軽度の脾臓萎縮、並びに軽度から中等度のリンパ節萎縮が認められた。これらの個体で観察された急性の病的状態の原因は失血（重度の血小板減少症に起因する多臓器出血）、血液量減少及びストレスであった。瀕死状態となったこれらの個体の臨床病理所見及び剖検所見

は、概して脱水、下痢、失血、滲出による喪失及びストレスで予想される所見と一致していた。3 箇月間及び 1 年間反復経口投与毒性試験で観察された投与に関連した毒性徴候は概して便に関連した所見（すなわち、軟便、泥状便、下痢、液状便、無形便）であり、嘔吐（3 箇月間反復経口投与毒性試験のみ）及び摂餌量減少も認められた。また、サルを用いた 3 箇月間反復経鼻胃管投与による眼毒性試験では、60 mg/kg/日の雄 1 匹を Day 18 に瀕死状態のため安楽死させた。同個体では持続性の下痢、活動性低下及び明らかな脱水の徴候が認められたが、観察された状態不良の原因は不明であった。一方で、30 mg/kg/日（ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量［AUC］の 0.98～1.05 倍に相当）の用量では死亡例は認められなかった。

以上より、申請用法用量では、死亡/瀕死に至る重篤な有害事象発現の可能性は低いと考えられる。

2.4.4.2.　標的臓器、組織及び臓器系

2.4.2.1.1 肝臓

ラット及びサルで観察された肝臓の所見は、概して軽度の肝機能障害及び代謝的負荷の増加に対する病的反応の典型的な所見であった。

ラットを用いた 3 箇月間及び 6 箇月間反復経口投与毒性試験で肝毒性が認められた。3 箇月間反復経口投与毒性試験では、30 mg/kg/日以上で認められた肝臓所見は、雌雄の肝酵素誘導及び雌の肝酵素阻害等であった。90 mg/kg/日以上では、ALT、ALP 及び／又は GGT の軽微の上昇、相対肝臓重量の増加、並びに小葉中心性肥大及び空胞化からなる病理組織学的所見が認められた。6 箇月間反復経口投与毒性試験で観察された肝臓の所見は、軽度の ALP 値上昇（30 mg/kg/日及び 60 mg/kg/日の雄、15 mg/kg/日以上の雌）及び肝細胞の細胞質空胞化の病理組織学的所見（30 mg/kg/日以上の雌雄）のみであった。ラットを用いた 6 箇月間反復経口投与毒性試験における肝毒性の NOAEL は、雌雄ともに 15 mg/kg/日と判断された。NOAEL であった 15 mg/kg/日を投与した時の最終評価時点での AUC_{last} は雄で 2.31 μg·h/mL、雌で 14.1 μg·h/mL であり、この曝露量は、ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量の約 0.06～0.34 倍に相当する。

サルを用いた 3 箇月間及び 1 年間反復経口投与毒性試験でも肝毒性が認められた。3 箇月間反復経口投与毒性試験では 15 mg/kg/日以上で肝臓の所見が認められ、観察された所見は肝重量の増加及び生化学的バイオマーカーの阻害／誘導であった。肝重量の増加は、1 年間反復経口投与毒性試験でも 10 mg/kg/日以上の雄及び 40 mg/kg/日の雌で認められたが、それに対応する病理組織学的所見は認められなかった。サルを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験における肝毒性の NOAEL は、雌雄ともに 10 mg/kg/日未満と判断された。10 mg/kg/日を投与した時の最終評価時点での $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 25.2 μg·h/mL、雌で 13.0 μg·h/mL であり、この曝露量は、ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量の約 0.61 及び 0.32 倍に相当する。なお、臨床試験では、AST 及び ALT の上昇が認められた（モジュール 5.3.5.3 参照）

2.4.2.1.2 リンパ器官／組織

ラットにロナファルニブを最長 6 箇月間反復経口投与した時、リンパ器官／組織毒性が認められた。3 箇月間反復経口投与毒性試験で観察された所見は、胸腺及び脾臓重量の減少（90 mg/kg/日以

上)、胸腺及び腸間膜リンパ節の萎縮（180 mg/kg/日の雌のみ)、胸腺及び脾臓（30 mg/kg/日の雌 2 匹）並びにリンパ器官（30 mg/kg/日の雌雄）のリンパ球密度の低下であった。180 mg/kg/日の雌における胸腺重量の減少、並びに胸腺及び腸間膜リンパ節の病理組織学的所見は、休薬期間終了時まで持続して認められた。6 箇月間反復経口投与毒性試験で観察された所見は、胸腺重量の減少（60 mg/kg/日の雌)、並びに胸腺のリンパ球密度低下及び有糸分裂像増加の病理組織学的所見（30 mg/kg/日以上の雌）のみであった。6 箇月間反復経口投与毒性試験におけるリンパ器官／組織毒性の NOAEL は、雌で 15 mg/kg/日、雄では 60 mg/kg/日（検討した最高用量）以上と判断された。NOAEL（雄で 60 mg/kg/日、雌で 15 mg/kg/日）における最終評価時点での AUC_{last} は雄で 38.5 μg·h/mL、雌で 14.1 μg·h/mL であり、この曝露量は、ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量のそれぞれ約 0.93 及び 0.34 倍に相当する。

サルに 3 箇月間反復経口投与した時、30 mg/kg/日以上で胸腺のリンパ球密度に軽微から中等度の低下が認められた。1 年間反復経口投与毒性試験では、10 mg/kg/日以上で脾臓及び胸腺重量の減少が認められた。また、対照群及びロナファルニブの全用量群で胸腺のリンパ球萎縮が認められ、20 mg/kg/日以上（雄）でその発現頻度及び重症度がわずかに増加した。サルを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験におけるリンパ器官／組織毒性の NOAEL は、雌雄ともに 10 mg/kg/日未満と判断された。10 mg/kg/日を投与した時の最終評価時点での $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 25.2 μg·h/mL、雌で 13.0 μg·h/mL であり、この曝露量は、ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量のそれぞれ約 0.61 及び 0.32 倍に相当する。なお、臨床試験ではリンパ球、白血球数及び好中球数の減少が認められた（モジュール 5.3.5.3 参照）。

2.4.2.1.3 骨髄

ラットを用いた 3 箇月間反復経口投与毒性試験では、血液学的検査で認められた所見（主に 90 mg/kg/日以上で観察）は概して骨髄抑制に関連した変化であり、90 mg/kg/日以上ではこれに対応する骨髄の病理組織学的所見として細胞密度低下及び巨核球増加が認められた。ラットを用いた 6 箇月間反復経口投与毒性試験では、60 mg/kg/日（検討した最高用量）の用量まで骨髄の病理組織学的所見は認められなかった。NOAEL であった 60 mg/kg/日を投与した時の最終評価時点での雌雄の AUC_{last} は雄で 38.5 μg·h/mL、雌で 136 μg·h/mL であり、この曝露量は、ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量のそれぞれ約 0.93 及び 3.30 倍に相当する。

サルに 3 箇月間反復経口投与した時、60 mg/kg/日で骨髄造血の抑制が認められ、これに対応する所見として、30 mg/kg/日以上で軽微から軽度の骨髄細胞密度の低下が認められた。サルを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験では、40 mg/kg/日（検討した最高用量）の用量まで骨髄の病理組織学的所見は認められなかった。NOAEL であった 40 mg/kg/日を投与した時の最終評価時点での雌雄の $AUC_{0\text{-}24}$ は、雄で 146 μg·h/mL、雌で 142 μg·h/mL であり、この曝露量は、ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量のそれぞれ約 3.54 及び 3.45 倍に相当する。

3 箇月間反復経口投与毒性試験では骨髄毒性（骨髄抑制）がラット（90 mg/kg/日以上）及びサル（60 mg/kg/日）の双方で認められたため、*in vitro* 骨髄毒性試験を実施した。これらの試験ではサル及びヒト造血前駆細胞で用量依存的な増殖阻害が認められたことから、異なる種類の細胞に同

程度の骨髄抑制をもたらすことが示唆された。なお、臨床試験では有害事象としての報告はなかったが、毒性所見を捉えることのできる適切なモニタリングは実施されていない（モジュール 5.3.5.3 参照）。

2.4.2.1.4 生殖器

ラットにロナファルニブを最長 6 箇月間反復経口投与した時、生殖器毒性が認められた。3 箇月間反復経口投与毒性試験で観察された所見は、精巣及び精巣上体重量の減少（180 mg/kg/日の雄 4 匹、このうち雄 2 匹で休薬期間終了時まで持続）、精巣における無精液、精子形成の変化及び精原細胞残屑、精巣上体における精子減少及び精子残屑の病理組織学的所見（90 mg/kg/日以上、休薬期間終了時まで持続）、並びに休薬期間後に認められた精巣の萎縮及び軟化（180 mg/kg/日の雄 2 匹）であった。6 箇月間反復経口投与毒性試験では、観察された生殖器に関連する所見は子宮重量の減少（60 mg/kg/日の雌）のみであった。ラットを用いた 6 箇月間反復経口投与毒性試験における生殖器毒性の NOAEL は、雌で 30 mg/kg/日、雄では 60 mg/kg/日（検討した最高用量）以上と判断された。NOAEL（雄で 60 mg/kg/日、雌で 30 mg/kg/日）における最終評価時点での AUC_{last} は雄で 38.5 μg·h/mL、雌で 46.1 μg·h/mL であり、この曝露量は、ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量のそれぞれ約 0.93 及び 1.12 倍に相当する。

サルでは、生殖器の所見は 1 年間反復経口投与毒性試験のみで認められ、観察された所見は、精巣及び精巣上体（10 mg/kg/日以上）、前立腺（40 mg/kg/日）、並びに卵巣（20 mg/kg/日以上）の重量減少であった。病理組織学的所見は、20 mg/kg/日以上で精巣（軽度から重度の精細管萎縮）及び精巣上体（無精液）に認められ、40 mg/kg/日では前立腺及び精嚢（軽微から軽度の萎縮）にも認められた。サルを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験における生殖器毒性の NOAEL は、雄で 10 mg/kg/日未満、雌では 10 mg/kg/日と判断された。10 mg/kg/日を投与した時の最終評価時点での $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 25.2 μg·h/mL、雌で 13.0 μg·h/mL であり、この曝露量は、ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量のそれぞれ約 0.61 及び 0.32 倍に相当する。なお、臨床試験では有害事象としての報告はなかったが、毒性所見を捉えることのできる適切なモニタリングは実施されていない（モジュール 5.3.5.3 参照）。

2.4.2.1.5 腎臓

ラットを用いた反復経口投与毒性試験では腎毒性が認められたが、サルを用いた試験では認められず、90 mg/kg/日以上の雌における尿細管の鉱質沈着及び好塩基性尿細管（3 箇月間反復経口投与毒性試験）、並びに 30 mg/kg/日以上の雌雄における髄質間質の鉱質沈着及び壊死（6 箇月間反復経口投与毒性試験）の病理組織学的所見が認められた。腎毒性の可能性をさらに検討するため、雌性ラットを用いて探索的な 1 箇月間反復経口投与による腎毒性試験を実施した。この試験で認められた腎臓の所見は、病理組織学的所見（腎髄質内層の間質の空胞化、鉱質沈着及び壊死、腎皮質遠位での好塩基性尿細管）、並びに 180 mg/kg/日で観察されたカルシウム恒常性の変化を示唆する臨床病理検査値の変化であった。ラットを用いた 6 箇月間反復経口投与毒性試験における腎毒性の NOAEL は、雌雄ともに 15 mg/kg/日と判断された。NOAEL であった 15 mg/kg/日を投与した時の最終評価時点での AUC_{last} は雄で 2.31 μg·h/mL、雌で 14.1 μg·h/mL であり、この曝露量は、

ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量のそれぞれ約 0.06 及び 0.34 倍に相当する。なお、臨床試験では有害事象としての報告はなかったが、毒性所見を捉えることのできる適切なモニタリングは実施されていない（モジュール 5.3.5.3 参照）。

2.4.2.1.6 眼

眼の所見は、サルを用いた反復経口投与毒性試験で認められたが、ラットを用いた試験では認められなかった。サルで観察された眼の所見は杆体錐体層における網膜視細胞の単細胞壊死であり、60 mg/kg/日（3 箇月間反復経口投与毒性試験）及び 40 mg/kg/日の 2 匹（1 年間反復経口投与毒性試験）で認められた。眼の所見はサルを用いた反復経口投与毒性試験で認められたことから、フォローアップとして 3 箇月間反復経鼻胃管投与による眼毒性試験を実施し、サルに経口投与した時の眼毒性をさらに検討した。この試験では、15 mg/kg/日以上の用量で投与に関連した網膜電図（ERG）の変化が認められた。60 mg/kg/日では暗順応 ERG 振幅の大幅な低下が認められ（Week 2 に最大）、網膜の導電率への影響から、杆体細胞の機能が軽度の暗視障害を引き起こすと予想される程度まで低下する可能性が示唆された。サルを用いた眼毒性試験では 15 mg/kg/日で観察された杆体細胞機能への影響が軽微であったことを考慮し、ロナファルニブの眼毒性に関する NOAEL は、サルを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験に基づいて雌雄ともに 20 mg/kg/日と判断した。NOAEL であった 20 mg/kg/日を投与した時の最終評価時点での $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 82.5 μg·h/mL、雌で 34.4 μg·h/mL であり、この曝露量は、ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量のそれぞれ約 2.00 及び 0.83 倍に相当する。なお、臨床試験では眼瞼痙攣及び視神経乳頭浮腫が認められているが、モニタリングには限界があったと考えている（モジュール 5.3.5.3 参照）。

2.4.2.1.7 副甲状腺

副甲状腺毒性を示す所見が反復経口投与毒性試験で雌性ラットに認められた。観察された所見は、不可逆的な細胞質空胞化（90 mg/kg/日以上、3 箇月間反復経口投与毒性試験）及び主細胞の細胞質空胞化（30 mg/kg/日以上、6 箇月間反復経口投与毒性試験）の病理組織学的所見のみであった。また、雌性ラットを用いた探索的な 1 箇月間反復経口投与による腎毒性試験では、180 mg/kg/日で副甲状腺主細胞の軽微な細胞質空胞化及び／又は単細胞壊死が低頻度に認められた。ラットを用いた 6 箇月間反復経口投与毒性試験における副甲状腺毒性の NOAEL は、雌で 15 mg/kg/日、雄では 60 mg/kg/日（検討した最高用量）以上と判断された。NOAEL（雄で 60 mg/kg/日、雌で 15 mg/kg/日）における最終評価時点での AUC_{last} は雄で 38.5 μg·h/mL、雌で 14.1 μg·h/mL であり、この曝露量は、ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量のそれぞれ約 0.93 及び 0.34 倍に相当する。なお、臨床試験では有害事象としての報告はなかったが、毒性所見を捉えることのできる適切なモニタリングは実施されていない（モジュール 5.3.5.3 参照）。

2.4.2.1.8 消化器系

サルで消化管への影響が認められた。3 箇月間反復経口投与毒性試験では、30 mg/kg/日以上で腸内容物の軟化又は水様化が認められた。加えて、15 mg/kg/日以上で軟便が用量依存的に認められ、60 mg/kg/日のすべてのサル及び 30 mg/kg/日では散発的に泥状便が認められた。1 年間反復経口投

与毒性試験では、10 mg/kg/日以上の雄及び 40 mg/kg/日の雌で、小腸粘膜固有層に組織球の軽微な蓄積が認められた。サルを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験における小腸毒性の NOAEL は、雄で 10 mg/kg/日、雌では 20 mg/kg/日と判断された。NOAEL（雄で 10 mg/kg/日、雌で 20 mg/kg/日）における最終評価時点での $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 25.2 μg·h/mL、雌で 34.4 μg·h/mL であり、この曝露量は、ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量のそれぞれ約 0.61 及び 0.83 倍に相当する。なお、臨床試験では有害事象としての報告はなかったが、毒性所見を捉えることのできる適切なモニタリングは実施されていない（モジュール 5.3.5.3 参照）。

2.4.2.1.9副腎

サルを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験で副腎への毒性が認められた。40 mg/kg/日で、副腎重量の増加及び束状帯の空胞化の減少が雄のみに認められた。サルを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験における副腎毒性の NOAEL は、雄で 20 mg/kg/日、雌では 40 mg/kg/日（検討した最高用量）以上と判断された。NOAEL（雄で 20 mg/kg/日、雌で 40 mg/kg/日）における最終評価時点での $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 82.5 μg·h/mL、雌で 142 μg·h/mL であり、この曝露量は、ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量のそれぞれ約 2.00 及び 3.45 倍に相当する。なお、臨床試験では有害事象としての報告はなかったが、毒性所見を捉えることのできる適切なモニタリングは実施されていない（モジュール 5.3.5.3 参照）。

2.4.4.3.　遺伝毒性

ロナファルニブは、一連の *in vitro* 細菌復帰突然変異（Ames）試験、HPBL を用いた *in vitro* 染色体異常試験、並びにマウスを用いた *in vivo* 小核試験では陰性であった。これらの結果から、ロナファルニブはヒトに対して遺伝毒性を有する可能性は低いことが示された。

2.4.4.4.　生殖発生毒性

ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する毒性試験では、ロナファルニブの投与により、30 mg/kg/日以上の用量で着床前及び着床後の胚損失率が有意に上昇し、それに対応して生存胎児数が有意に減少した。その他の受胎能又は交配のパラメータにロナファルニブに関連した影響は認められなかった。雌を用いた GLP 試験で得られた母動物の一般毒性及び初期胚発生に関する NOAEL は 10 mg/kg/日、母動物の生殖機能に関する NOAEL は 60 mg/kg/日（検討した最高用量）以上と判断した。ラット 6 箇月間反復経口投与毒性試験で雌に 60 mg/kg/日を投与した時の最終評価時点での AUC_{last} は 136 μg·h/mL であり、この曝露量は、ヒトに臨床用量の 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量の 3.30 倍に相当する。雄では、ロナファルニブを投与した時、180 mg/kg/日で精巣上体及び精巣の絶対及び相対重量が減少し、これに対応する剖検所見として、精巣上体の変色、並びに精巣の萎縮及び軟化が認められた。90 mg/kg 以上の用量では雄の受胎率に用量依存的な低下が認められ、投与に関連して着床前及び着床後の胚損失率も上昇したため、その結果として着床数及び生存胎児数が減少した。雄を用いた GLP 試験で得られた雄親動物の一般毒性、雄の生殖機能及び初期胚発生に関する NOAEL は 30 mg/kg/日と判断した。ラット 6 箇月間反復経口投与毒性試験で、雄に 30 mg/kg/日を投与した時の最終評価時点での血漿中ロナファルニブ濃度

の AUC_{last} は 19.0 μg·h/mL であり、この曝露量は、ヒトに臨床用量の 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量の 0.46 倍に相当する。
ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の GLP 試験では、30 mg/kg/日で、ロナファルニブに関連した母動物の体重減少（着床後胚損失率の上昇及び胎児数の減少に起因）、胎盤の所見、並びに胎児体重減少が認められた。この結果に基づき、母動物の一般毒性に関する NOAEL は 30 mg/kg/日以上、胚・胎児の発生に関する NOAEL は 15 mg/kg/日と判断した。ウサギでは、ロナファルニブの投与により、120 mg/kg/日で流産、ケージ受け皿内の赤色物質、尿の変色及び体重減少等の母体毒性が認められた。また、40 mg/kg/日以上で、膣周囲の赤色又は赤褐色の物質、及び糞粒数の減少も認められた。120 mg/kg/日では着床後胚損失率の上昇（主として早期吸収に起因）及び胎児体重の減少が認められ、10 mg/kg/日で胎児骨格の奇形及び変異の発現頻度が上昇した。これらの結果に基づき、母動物の一般毒性に関する NOAEL は 10 mg/kg/日と判断した。10 mg/kg/日での妊娠 19 日目における血漿中ロナファルニブ濃度の $AUC_{0\text{-}24}$（11.7 μg·h/mL）及び C_{max}（1.87 μg/mL）は、ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量のそれぞれ 0.28 倍及び 0.71 倍に相当する。なお、胚・胎児の発生に関する NOAEL は 10 mg/kg/日未満と判断した。

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では、F1 及び F2 出生児には投与に関連した影響は認められなかったが、20 mg/kg/日の F0 母動物で妊娠 6～20 日目に体重増加量の減少が認められた。したがって、F0 母動物の一般毒性に関する NOAEL は 10 mg/kg/日、次世代の発生に関する NOAEL は 20 mg/kg/日（検討した最高用量）以上と判断した。

2.4.4.5. 不純物の毒性

細菌復帰突然変異試験及び染色体異常試験では、Compound W、 不純物A* 及び 不純物B* または Compound W 及び 不純物B* を含む 4 種の異なるロットのロナファルニブを用い、全ての試験で結果は陰性であった。また、CD-1 マウスを用いた *in vivo* 小核試験では、Compound W、不純物A* 及び 不純物B* または Compound W 及び 不純物A* を含む 2 種の異なるロットのロナファルニブを用い、全ての試験で結果は陰性であった。さらに、ロナファルニブの 3 種の不純物（Compound W／ 不純物A* ／ 不純物B* ）を投与した 28 日間反復経口投与毒性試験では、死亡例は認められず、身体検査、ケージサイドでの観察、体重、体重変化量、摂餌量、臨床病理検査値（血液生化学検査、血液学的検査、凝固検査及び尿検査）、剖検、絶対及び相対臓器重量、又は病理組織学的検査で変化は認められなかった。

2.4.5. 総括及び結論

ラット及びサルにロナファルニブを反復経口投与した時、それぞれ 180 mg/kg/日及び 60 mg/kg/日の用量で死亡が認められた。ラットを用いた 3 箇月間反復経口投与毒性試験では、180 mg/kg/日の反復経口投与後に死亡した雌で、貧血及びそれに伴う肝臓の小葉中心性低酸素症と一致する小葉中心性肝細胞壊死、肝細胞有糸分裂像増加及び小葉中心性色素沈着の肝臓所見が認められた。ロナファルニブに関連した肝毒性は、生存個体でも認められた（ラットで肝酵素上昇及び肝重量増加［肝細胞の小葉中心性肥大及び空胞化と関連］、サルで肝重量増加及び生化学的バイオマーカーの阻害／誘導）。なお、ラットでの 90 mg/kg/日（ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量［AUC］

の 1.87～4.76 倍に相当）の用量では、被験物質の投与に起因する死亡例は認められなかった。サルを用いた 3 箇月間反復経口投与毒性試験では、60 mg/kg/日の反復経口投与後に死亡した雄で、その死因は重度の血小板減少症に起因する出血による失血、血液量減少及びストレスであった。また、リンパ器官（胸腺、脾臓及びリンパ節）の萎縮も認められた。ロナファルニブの反復経口投与後に剖検時まで生存していたラット及びサルの双方で、リンパ器官／組織毒性（多く見られた主な所見はリンパ器官［胸腺、脾臓］のリンパ球密度低下並びに脾臓及び胸腺重量の減少）、骨髄抑制を示す血液学的所見、並びに骨髄毒性も認められた。なお、サルでの 30 mg/kg/日（ヒトに 150 mg/m^2 BID で投与した時の曝露量［AUC］の 0.98～1.05 倍に相当）の用量では死亡例は認められなかった。なお、血液学的検査、血液生化学検査及びリンパ系で認められた所見は容易にモニタリング可能であるが、有害事象がみられた場合にはリスク、ベネフィットの観点から投薬の継続を判断するべきであると考えている。

ラット及びサルにロナファルニブをそれぞれ 6 箇月間及び 1 年間反復経口投与した時、生殖器毒性も認められ、観察された所見は精巣及び精巣上体重量の減少並びに子宮（ラットのみ）及び卵巣（サルのみ）重量の減少であった。受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、並びに胚・胎児発生に関する試験では、雄又は雌のラットに経口投与した時、30 mg/kg/日以上の用量で着床前及び着床後の胚損失率が上昇した。また、ウサギに 10 mg/kg/日の用量で経口投与した時、胎児骨格の奇形及び変異の発現頻度の上昇も認められたが、ラットでの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では、10 mg/kg/日の用量で F1 及び F2 世代に投与に関連した影響は認められなかった。

その他の毒性所見は種特異的であり、ヒトとの関連性は不明である。腎毒性（尿細管の鉱質沈着及び好塩基性尿細管、髄質間質の鉱質沈着及び壊死）及び副甲状腺への毒性は、ラットを用いた反復経口投与毒性試験で認められた。眼の所見はサルを用いた反復経口投与毒性試験で認められ（杆体錐体層における網膜視細胞の壊死）、その後の眼毒性試験でも、暗視障害に至る可能性のある杆体細胞機能の低下を示唆する暗順応 ERG 振幅の大幅な低下が認められた。ヒトに 150 mg/m^2 を投与した時のロナファルニブの曝露量の 0.83～2.00 倍の曝露量では、サルの眼に対する毒性作用は認められなかった。サルを用いた反復経口投与試験で観察されたその他の毒性所見は、消化管への影響（3 箇月間反復経口投与毒性試験で内容物の軟化又は水様化、軟便、泥状便、1 年間反復経口投与毒性試験で小腸粘膜固有層への組織球の軽微な蓄積）、並びに副腎の所見（1 年間反復経口投与毒性試験の雄のみ、副腎重量の増加及び束状帯の空胞化の減少）であった。
ロナファルニブの毒性試験プログラムで算出された安全域（表 2.4.5-1）及び既存の患者安全性データ、対象疾患の重症度及び致死性、並びにこの患者集団におけるアンメットニーズを考慮すると、ロナファルニブの毒性試験プログラムにより、ロナファルニブを HGPS 及びプロセシング不全性の PL の治療薬として最大で 150 mg/m^2 BID の用量で経口投与することが支持される。

表 2.4.5-1　ロナファルニブを経口投与したときの全身曝露量の比較

動物種 （試験の種類／期間、試験番号）	用量 （mg/kg/日）	性別	AUC_{0-24} (μg·h/mL)[a]	C_{max} (μg/mL)[a]	動物とヒトとの曝露量比[b]	
					AUC	C_{max}
ラット （反復経口投与／3 箇月間、SN 96030）	30	雄	17.1	2.14	0.42	0.81
		雌	36.7	3.78	0.89	1.43
	90	雄	76.9	8.84	1.87	3.35
		雌	196	17.0	4.76	6.44
	180	雄	181	14.6	4.39	5.53
		雌	428	31.6	10.39	11.97
ラット （反復経口投与／6 箇月間、SN 96034）	15	雄	2.31	0.509	0.06	0.19
		雌	14.1	1.64	0.34	0.62
	30	雄	19.0	2.92	0.46	1.11
		雌	46.1	6.34	1.12	2.40
	60	雄	38.5	4.83	0.93	1.83
		雌	136	10.9	3.30	4.13
サル （反復経口投与／3 箇月間、SN 96612）	15	雄	18.2	1.91	0.44	0.72
		雌	17.7	2.72	0.43	1.03
	30	雄	43.4	5.17	1.05	1.96
		雌	40.2	6.09	0.98	2.31
	60	雄	68.2	6.26	1.66	2.37
		雌	55.8	6.22	1.35	2.36

動物種 （試験の種類／期間、試験番号）	用量 （mg/kg/日）	性別	AUC_{0-24} (μg·h/mL)[a]	C_{max} (μg/mL)[a]	動物とヒトとの曝露量比[b]	
					AUC	C_{max}
サル （反復経口投与／1 年間、SN 96036）	10	雄	25.2	1.63	0.61	0.62
		雌	13.0	1.31	0.32	0.50
	20	雄	82.5	6.36	2.00	2.41
		雌	34.4	3.35	0.83	1.27
	40	雄	146	10.8	3.54	4.09
		雌	142	10.9	3.45	4.13
ウサギ （反復経口投与による EFD／ 妊娠 7～19 日目、SN 96046）	10	雌	11.7	1.87	0.28	0.71
	40	雌	85.1	16.6	2.07	6.29
	120	雌	1021	91.4	24.8	34.62
サル （反復経鼻胃管投与による眼毒性／ 3 箇月間、SN 97263）	15[c]	雄	33.3	3.80	0.81	1.44
		雌	39.9	3.86	0.97	1.46
	60[d]	雄	273	22.6	6.63	8.56
		雌	314	17.9	7.62	6.78

[a] 最終評価時点での数値。ラット（反復経口投与／6 箇月間、SN 96034）は AUC_{last}

[b] 動物における最終評価時点での AUC_{0-24} 及び C_{max}、並びにヒトに臨床用量（150 mg/m^2 BID）で投与した時の AUC_{0-12}×2 及び C_{max}（それぞれ 41.2 μg•h/mL 及び 2.64 μg/mL）に基づいたヒトと動物との曝露量比（Gordon et al., 2012）

[c] Day 90 の値

[d] Day 5 の値（この用量群では Day 90 の値は得られなかった）

2.4.6. 参考文献一覧

Cao K, Capell BC, Erdos MR, et al. A lamin A protein isoform overexpressed in Hutchinson- Gilford progeria syndrome interferes with mitosis in progeria and normal cells. Proc Natl Acad Sci USA. 2007;104: 4949-54.

Capell BC, Erdos MR, Madigan JP, et al. Inhibiting farnesylation of progerin prevents the characteristic nuclear blebbing of Hutchinson-Gilford progeria syndrome. Proc Natl Acad Sci USA. 2005;102:12879-84

Capell BC, Olive M, Erdos MR, et al. A farnesyltransferase inhibitor prevents both the onset and late progression of cardiovascular disease in a progeria mouse model. Proc Natl Acad Sci USA. 2008;105:15902–15907.

Eriksson M, BrownWT, Gordon LB, et al. Recurrent de novo point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. Nature. 2003;423(6937):293-298.

Fong LG, Frost D, Meta M, et al. A protein farnesyltransferase inhibitor ameliorates disease in a mouse model of progeria. Science 2006; 311:1621–1623.

Goldman RD, Shumaker DK, Erdos MR, et al. Accumulation of mutant lamin A causes progressive changes in nuclear architecture in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. Proc Natl Acad Sci USA. 2004;101: 8963-8.

Gordon LB, Brown WT, Collins FS. 2019. Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Bird TD, Dolan CR, Fong CT, Smith RJH, Stephens K, eds. Seattle, WA: GeneReviews®. Available online: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1121/

Gordon LB, Shappell H, Massaro J, et al. Association of lonafarnib treatment vs no treatment with mortality rate in patients with Hutchinson-Gilford progeria syndrome. JAMA. 2018;219(16):1687-1695.

Gordon LB, Kleinman ME, Miller DT, et al. Clinical trial of a farnesyltransferase inhibitor in children with Hutchinson-Gilford progeria syndrome. Proc Natl Acad Sci USA. 2012; 109(41):16666-16671.

Hennekam RC. Hutchinson-Gilford progeria syndrome: review of the phenotype. Am J MedGenet A. 2006;140(23):2603-2624.

Mounkes LC, Kozlov S, Hernandez L, et al. A progeroid syndrome in mice is caused by defects in A-type lamins. Nature. 2003;423:298-301.

Murtada SI, Mikush N, Wang M, et al. Lonafarnib improves cardiovascular function and survival in a mouse model of Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome. bioRxiv. December 19, 2021.

Njoroge FG, Taveras AG, Kelly J, et al. (+)-4-[2-[4-(8-Chloro-3,10-dibromo-6,11-dihydro-5H-benzo[5,6]cyclohepta[1,2-b]-pyridin-11(R)-yl)-1-piperidinyl]-2-oxo-ethyl]-1- piperidinecarboxamide (SCH-66336): A Very Potent Farnesyl Protein Transferase Inhibitor as a Novel Antitumor Agent. J Med Chem, 1998,41(24), 4890-4902.

Progeria Research Foundation [Internet]. PRF By the Numbers. [updated 2022 December].