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）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

アンジェス株式会社

目次

略語一覧表 3
2.6.1　緒言 4
2.6.1.1　医薬品の構造及び薬理学的特性 4
2.6.1.2　申請した臨床適応、用量及び投与期間 5
2.6.1.3　参考文献一覧 5

略語一覧表

略語／用語	定義	日本語
ATU	Authorization temporary utilization	一時的使用承認
HeLa	Cervical cancer cell line	ヒト子宮頸癌細胞株
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
LMNA	Lamin A/C gene	ラミン A/C 遺伝子
PL	Progeroid laminopathies	プロジェロイド・ラミノパチー

2.6.1　緒言

2.6.1.1　医薬品の構造及び薬理学的特性

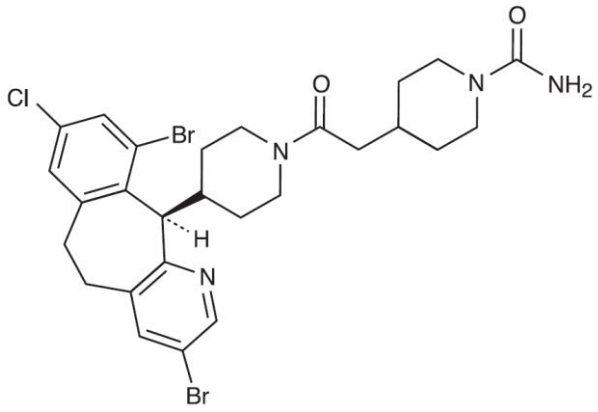
ロナファルニブは、ファルネシルトランスフェラーゼに対する強力かつ特異的な阻害剤であり、ハッチンソン・ギルフォード・プロジェリア症候群（HGPS）及びプロセシング不全性のプロジェロイド・ラミノパチー（PL）の治療薬として米国、欧州連合（EU）、英国及び仏国で Zokinvy®の商品名で承認されている（仏国は ATU；一時的使用承認）。

2.6.1.1.1　医薬品の構造

化学名：4-(2-{4-[(11R)-3,10-ジブロモ-8-クロロ-6,11-ジヒドロ-5H-ベンゾ[5,6]シクロヘプタ[1,2-b]ピリジン-11-イル]ピペリジン-1-イル}-2-オキソエチル)ピペリジン-1-カルボキシアミド

その他の名称：　LNF、Sarasar、SCH 66336 及び EBP994

構造：



分子式：　$C_{27}H_{31}Br_2ClN_4O_2$

分子量：　638.82

性状：　白色～淡黄白色の粉末

2.6.1.1.2　薬力学的特性

公表文献に基づき、本薬の薬理学的特性は以下のように考えられる。

- *In vitro* 試験の結果から、ファルネシルトランスフェラーゼを選択的に阻害すると考えられる（Njoroge et al., 1998）。
- 野生型ラミン A 又はプロジェリンを導入した HeLa 細胞及び HGPS 患者由来の培養皮膚線維芽細胞を用いた *in vitro* 試験の結果から、HGPS で特徴的に見られる核ブレブ形成を抑制し、核膜の機能低減を抑制すると考えられる（Capell et al., 2005）。

- 重度の末期心血管疾患を示す *LMNA* G609G/G609G マウス HGPS 動物モデルを用いた *in vivo* 試験の結果から、動脈構造及び心機能が改善し、寿命が延長すると考えられる（Murtada et al., 2023）。

2.6.1.2　申請した臨床適応、用量及び投与期間

ロナファルニブは HGPS 及びプロセシング不全性の PL の治療を適応とする。本剤は、1 カプセル中にロナファルニブを 50 mg 又は 75 mg 含有するカプセル剤として供給され、開始用量 115 mg/m^2、維持用量 150 mg/m^2 で 1 日 2 回経口投与する。

2.6.1.3　参考文献一覧

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.

Murtada SI, Mikush N, Wang M, et al. Lonafarnib improves cardiovascular function and survival in a mouse model of Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome.eLife. 2023;12:1-17.

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.

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）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2 薬理試験の概要文

アンジェス株式会社

目次

略語一覧表 4
2.6.2 薬理試験の概要文 5
2.6.2.1 まとめ 5
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 8
2.6.2.2.1 *In vitro* 試験 8
2.6.2.2.2 *In vivo* 試験 11
2.6.2.2.3 その他のモデルにおける FT 阻害薬の活性 14
2.6.2.3 副次的薬理試験 14
2.6.2.4 安全性薬理試験 15
2.6.2.4.1 中枢神経系 15
2.6.2.4.2 心血管系 16
2.6.2.4.3 呼吸系 17
2.6.2.4.4 腎／泌尿器系 18
2.6.2.4.5 胃腸管系 18
2.6.2.4.6 他の器官系（肝臓） 19
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用 19
2.6.2.6 考察及び結論 19
2.6.2.7 図表 23
2.6.2.8 参考文献一覧 23

表一覧

表 2.6.2.1-1 薬理試験の一覧表.....5

図一覧

図 2.6.2.2-1 HeLa 細胞における核ブレブ形成に対するロナファルニブの作用.....10
図 2.6.2.2-2 患者由来の皮膚線維芽細胞における核ブレブ形成に対するロナファルニブの作用.....11
図 2.6.2.2-3 マウス生存率の推移、動脈の構造及び機能.....12
図 2.6.2.2-4 生後 168 日におけるマウスの体重及び心機能.....13

略語一覧表

略語／用語	定義	日本語
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
APD	Action potential duration	活動電位持続時間
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
CI	Confidence interval	信頼区間
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
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
LMNA	Lamin A/C gene	ラミン A/C 遺伝子
HBV	Hepatitis B Virus	B 型肝炎ウイルス
HeLa	Cervical cancer cell line	ヒト子宮頸癌細胞株
HDV	Hepatitis D Virus	D 型肝炎ウイルス
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
hERG	human ether-à-go- go-related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
MRD	Maximum rate of depolarization	最大脱分極速度
RMP	Resting membrane potential	静止膜電位
QTc	Corrected QT interval	補正 QT 間隔
UA	Upstroke amplitude	活動電位振幅

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

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、ビーグル犬の心筋プルキンエ線維を用いて、細胞内で記録された心筋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。ロナファルニブの効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験の一覧を表 2.6.2.1-1 に示す。

表 2.6.2.1-1 薬理試験の一覧表

試験の種類	試験系	投与方法	公表文献 又は試験番号
効力を裏付ける試験			
ファルネシルントランスフェラーゼの阻害	ファルネシルトランスフェラーゼ	*In vitro*	Njoroge et al., 1998
ファルネシルトランスフェラーゼの阻害	遺伝子導入した HeLa 細胞及び HGPS 患者由来の皮膚線維芽細胞	*In vitro*	Capell et al., 2005
ファルネシルトランスフェラーゼの阻害	マウス（*LMNA* G609G/G609G）	（強制）経口投与	Murtada et al., 2023
抗 D 型肝炎ウイルス	HBV トランスジェニック FVB マウス	腹腔内投与	Bordier et al., 2003
K *ras*-4B のファルネシル化阻害	ファルネシルトランスフェラーゼ	*In vitro*	Bishop et al., 1995

試験の種類	試験系	投与方法	公表文献 又は試験番号
安全性薬理試験			
中枢神経系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	P-6339
心血管系	L-929 マウス細胞	*In vitro*	46366
心血管系	イヌ心筋プルキンエ線維	*In vitro*	SN 02160
心血管系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	P-6339
心血管系	モルモット／Hartley	静脈内投与	P-6339
呼吸系	サル／カニクイ	（強制）経口投与	SN 96612
呼吸系	サル／カニクイ	（強制）経口投与	SN 96036
腎／泌尿器系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	P-6339
腎／泌尿器系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	P-6619
胃腸管系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	P-6339
胃腸管系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	P-6619
他の器官系（肝臓）	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	P-6619

効力を裏付ける試験

In vitro 試験

- 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する（IC_{50}=1.9 nmol/L）が、ラット脳のゲラニルゲラニルトランスフェラーゼ-1 に対しては弱い阻害活性を示すのみである（IC_{50}>50 μmol/L）。
- ロナファルニブ（最大 2 μmol/L）は、遺伝子導入した HeLa 細胞及び HGPS 患者由来の皮膚線維芽細胞において、ファルネシルトランスフェラーゼを阻害することにより核ブレブ形成を有意に低減した（$p<0.01$）。

In vivo 試験

- 重度の末期心血管疾患を示す *LMNA* G609G/G609G マウス（HGPS モデルマウス）にロナファルニブ （450mg/kg/日）を離乳後から生後 168 日まで経口投与するにより、試験のエンドポイント（未治療マウスの生存率が 50%となる時点）である生後 168 日までの生存率は 100%であった。また、また、関連する動脈構造と機能の改善、並びに心機能に対しては、脈波伝播速度の有意な低下（$p<0.05$）と左室拡張機能の有意な改善作用（$p<0.01$）が認めら

れた。

安全性薬理試験

中枢神経系

- ラットにロナファルニブを様々な用量（10 mg/kg～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。

心血管系

- 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（95%信頼区間 1.1～1.6 μmol/L）であった。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。
- 雌のイヌから摘出した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。
- 雄性ラットにおいて、ロナファルニブ（100 mg/kg）は対照群と比較して 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。
- 雄性モルモットにおいて、ロナファルニブ（50 mg/kg）による 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。

呼吸系

- GLP 下で実施したサルを用いた 3 箇月及び 1 年間反復経口投与毒性試験において、ベースラインからの経時変化に基づくロナファルニブに対する呼吸関連の所見は報告されなかった。

腎／泌尿器系

- ラットにロナファルニブ（100 mg/kg）を投与した時、尿量が有意に増加した（$p<0.05$）。しかし、Na+及び K+の尿中排泄に有意な変化は認められなかった。また、尿検査では、グルコース、ビリルビン、ケトン、潜血、pH、タンパクに変化は認められなかった。
- ラットにロナファルニブ（300 mg/kg 以上）を投与した時、対照群と比較して摂餌量の有意

な減少（p<0.05）及び飲水量の有意な増加（p<0.05）が認められ、体重増加量が有意に抑制された（p<0.05）。また、多尿並びに Na+及び K+の尿中排泄量の減少も認められたが、これは摂餌量及び飲水量の変化に起因している可能性が高いと考えられた。なお、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た。

胃腸管系

- ラットにおいて、ロナファルニブ（100 mg/kg）は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。ロナファルニブは胃粘膜損傷を引き起こさなかった。
- ラットにおいて、ロナファルニブ（500 mg/kg）は胃内容排出を有意に阻害した（p<0.05）。なお、この用量で死亡例（1 匹）が認められた。

他の器官系（肝臓）

- ラットにロナファルニブ（300 mg/kg 及び 500 mg/kg）を投与した時、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軽度ないし明らかな上昇が認められた。

2.6.2.2 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。

2.6.2.2.1 *In vitro* 試験

2.6.2.2.1.1 ファルネシルトランスフェラーゼの阻害

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する三環系化合物であるが［IC_{50} 値（50%阻害に必要な濃度）は 1.9 nmol/L］、ラット脳のゲラニルゲラニルトランスフェラーゼ-1 に対しては弱い阻害活性を示すのみである（IC_{50} は 50 µmol/L 超）（Njoroge et al., 1998）。ファルネシルトランスフェラーゼは、C 末端の CaaX ボックス（ラミン A では CSIM モチーフ）部位でのタンパク質のファルネシル化を誘導する（Capell et al., 2005）。このシリーズの化合物の動態研究により、ロナファルニブは CaaX 基質のファルネシルトランスフェラーゼへの結合を阻害し、標的タンパク質のファルネシル化を阻止することが示されており、この阻害様式は競合的阻害であると推察される（Basso et al., 2005; Bishop et al., 1995）。なお、本試験では Schering Plough 社より提供されたロナファルニブを使用しており、その品質については Zonkinvy®と同等であると思われる。

2.6.2.2.1.2 HGPS における核ブレブ形成の抑制

Capell ら（2005）は、一連の実験を実施し、プロジェリンが核膜に固定されることにより本来の核骨格が破壊され、HGPS 細胞で特徴的に見られる核ブレブ形成が引き起こされることを実証した。

ファルネシル化はタンパク質の C 末端にある特異的モチーフにファルネシル基と呼ばれる 15 炭素のイソプレノイドが転移される一種のプレニル化で、これがロナファルニブによって阻害される。初期の実験では、プロジェリンのプレニル化を阻害することで HGPS 表現型に特徴的な核ブレブ形成を阻止できるかを調べた。プロジェリンのすべてのプレニル化を阻害するため、野生型プロジェリンの CSIM モチーフのシステイン残基にミスセンス変異を持ち、ファルネシル化されない SSIM モチーフを作成した。これらのコンストラクトを HeLa 細胞に導入し、48 時間後に共焦点顕微鏡により観察した。その結果、プレニル化が生じないとプロジェリン誘発性核ブレブが形成されないことが実証された。SSIM プロジェリンはすべて、核周辺部から核質凝集物に移行し、それらが核質全体に分布することが示された。他の FT 阻害薬で処理した HEK 293 細胞及び NIH 3T3 細胞でも同様の結果が認められた。また、CSIM モチーフを CSIL モチーフに変異させてタンパク質をロナファルニブのような FT 阻害薬に対して抵抗性にした細胞にはプロジェリン誘発性核ブレブ形成が認められた。

次に、野生型ラミン A-CSIM、プロジェリン-CSIM、プロジェリン-CSIL 及びプロジェリン-SSIM を一時的に導入した HeLa 細胞を、ロナファルニブ（0、0.5、1.0 又は 2.0 μmol/L）で 48 時間処理し、観察評価した。野生型ラミン A-CSIM 発現細胞は約 5%の核ブレブ形成を維持し、これはロナファルニブ処理後も不変であった。プロジェリン-CSIM 発現細胞は、ロナファルニブ処理に対して有意な用量依存的反応を示し（$p<0.001$）、ロナファルニブ 2.0 μmol/L 単回処理後の核ブレブ形成率は対照値（野生型）に近かった（図 2.6.2.2-1）。プロジェリン-CSIL 変異体はロナファルニブ処理に対して抵抗性で、ロナファルニブ処理後に認められる核表現型の改善にはプロジェリンファルネシル化の阻害が関与することを示した。プロジェリン-SSIM 発現細胞ではプレニル化が阻害されたため、この細胞に認められる核ブレブ形成率はロナファルニブ処理によっても変化しなかった。なお、本試験では Schering Plough 社より提供されたロナファルニブを使用しており、その品質については Zonkinvy®と同等であると思われる。

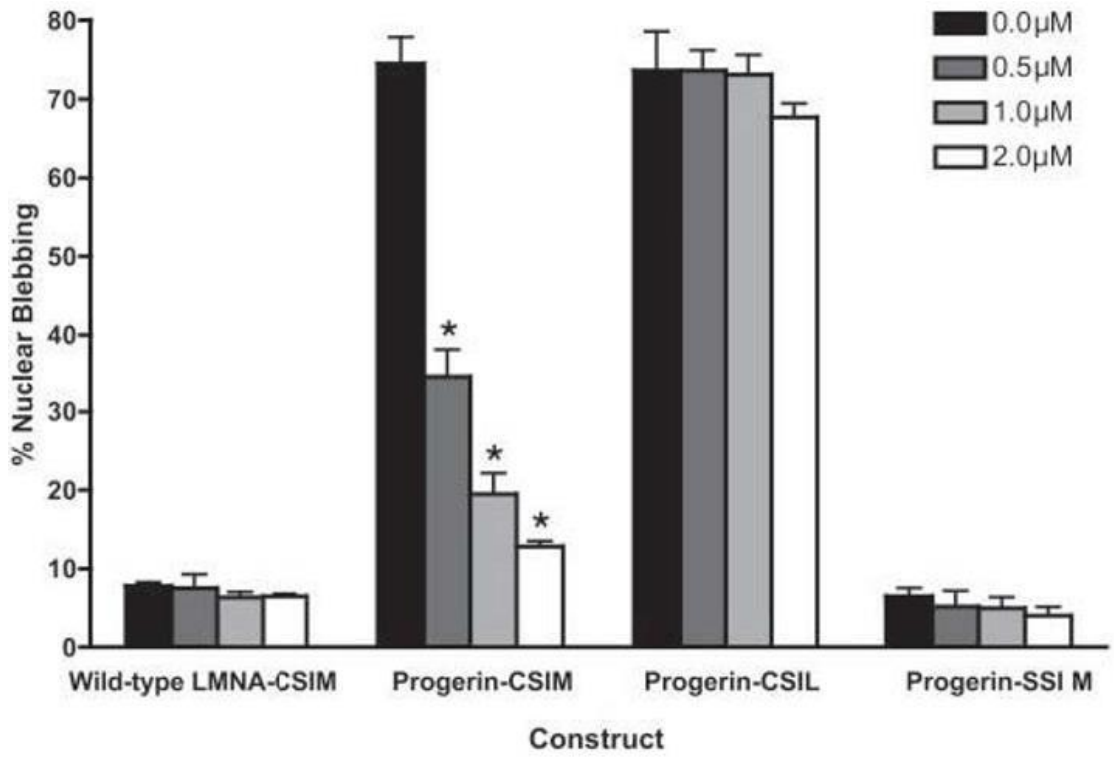


図 2.6.2.2-1　HeLa 細胞における核ブレブ形成に対するロナファルニブの作用

野生型ラミン A-CSIM, プロジェリン-CSIM, プロジェリン-CSIL 又はプロジェリン-SSIM を導入した HeLa 細胞にロナファルニブ（0~2.0 μM）を添加した時の核ブレブ形成の割合（200 個の細胞を、それぞれ 3 回観察）。

* = p<0.001；エラーバーは平均値の標準誤差を示す。

別の実験では、HGPS 患者 3 名及び罹患していない母親 1 名に由来の培養皮膚線維芽細胞を 3 日間ロナファルニブ（0、0.5、1.0 又は 2.0 μmol/L）で処理した。患者の年齢や細胞継代数にかかわらず、すべての HGPS 線維芽細胞株において、Day 3 に 0.5 μmol/L 以上の濃度で、核ブレブ形成の有意な（p<0.001）用量依存性の低減が認められた（図 2.6.2.2-2）。健常人の母親に由来する線維芽細胞株では、すべてのロナファルニブ用量で野生型レベルの核ブレブ形成率（約 5%）であった。

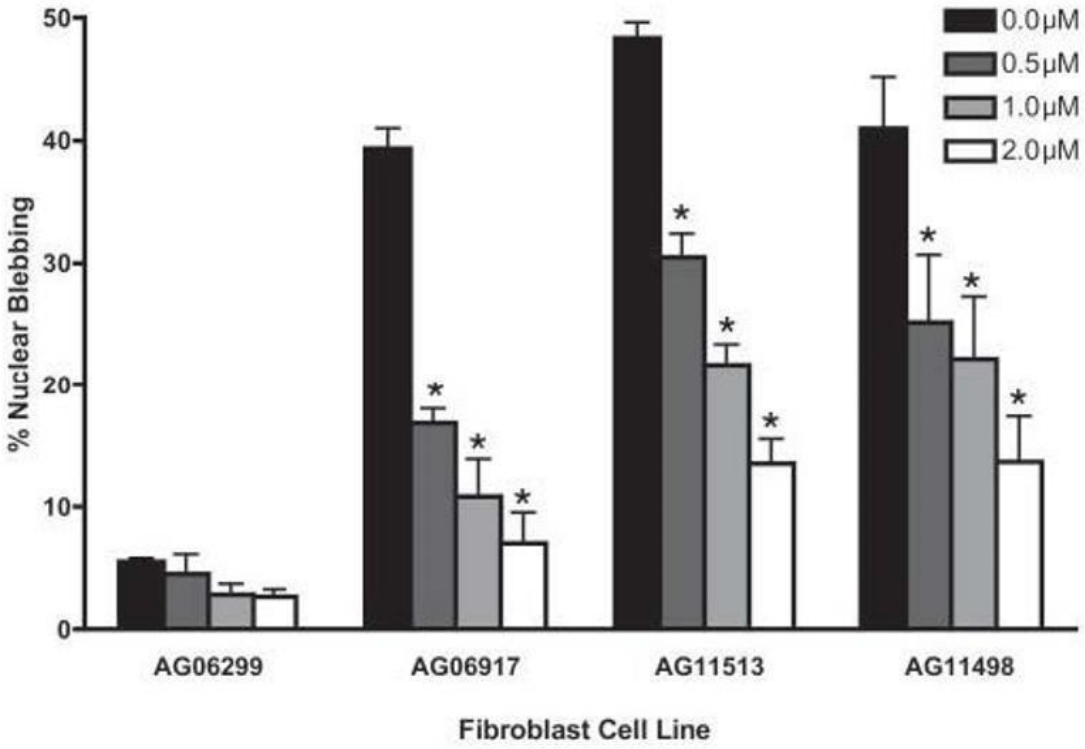


図 2.6.2.2-2 患者由来の皮膚線維芽細胞における核ブレブ形成に対するロナファルニブの作用

皮膚線維芽細胞における核ブレブ形成の割合（200 個の細胞を、それぞれ 3 回観察）。[redacted] は [redacted] 歳の患者（[redacted]; 14 継代）の母親（健常人）から採取した（31 継代）。[redacted] は 1[redacted] 歳の患者から採取した（11 継代）。
* p<0.001；エラーバーは平均値の標準誤差を示す。

最後の実験では、ロナファルニブ処理への抵抗性を付与する可能性のあるプロジェリンのゲラニルゲラニル化が FT 阻害薬の存在下で起こるかを評価した。ファルネシル化が阻害された場合でも、代わりにプロジェリンのゲラニルゲラニル化が起こることはないことが明らかになった。

全体として、この *in vitro* 研究の結果は、HGPS 細胞に特徴的な核ブレブ形成がロナファルニブ処理によって有意に低減することを示しており、ロナファルニブが HGPS 又はプロセシング不全性の PL 患者の治療薬としての可能性を有することを示唆している（Capell et al., 2005）。

2.6.2.2.2 *In vivo* 試験

2.6.2.2.2.1 HGPS モデルにおける活性

In vitro の所見により、プロジェリンの蓄積が核ラミナの足場機能を妨害し、核の変形を引き起こす可能性が示唆されている。この破壊が早老症の発症機序に不可欠なのであれば、ロナファルニブはこの疾患の動物モデルで疾患症状を改善すると予想される。そこで、*LMNA* G 609 G/G 609 G マウス（HGPS モデルマウス）10 例にロナファルニブを 1 日あたり 450 mg/kg 飼料重量で生後 168 日まで給餌し（GG+L）、生存期間、動脈の構造及び機能並びに心機能を評価した（Murtada et al., 2023）。なお、野生型マウス（WT、5 例）並びにロナファルニブを投与しない *LMNA* G609G/G609G マウス（GG、19 例）を対照群とした。また、ロナファルニブとラパマイシン（mTOR 阻害薬）の

併用（GG+L+R）についても検討した（図 2.6.2.2-3A）。その結果、ロナファルニブを投与した GG+L マウスの生存率は、試験のエンドポイントである生後 168 日（GG マウスの生存率が 50%となる時点）で 100%であった（図 2.6.2.2-3B）。また、大動脈機能については、GG マウスと比較し、管腔径を有意に改善（$p<0.05$）し、血管への加圧に対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（図 2.6.2.2-3C、D 及び F）。しかしながら、円周方向への弾性及び弾性エネルギーの蓄えについては改善しなかった。

心機能については、GG マウスと比較し、脈波伝播速度が有意に低減（$p<0.05$）し、左室拡張機能も有意に改善（$p<0.01$）され心機能の改善が認められた（図 2.6.2.2-4C 及び D）。なお、GG+L マウス及び GG マウスでの左室駆出率は WT マウスと同程度であった（図 2.6.2.2-4B）。体重は GG+L マウスは WT マウスに比べ約 50%低く、GG マウスと同程度であり改善は認められなかった（図 2.6.2.2-4A）。ロナファルニブとラパマイシンの併用については、特に効果が得られなかった。なお、本試験ではプロジェリア研究財団（Progeria Research Foundation, Inc.）より提供されたロナファルニブを使用しており、その品質については Zonkinvy®と同等であると思われる。

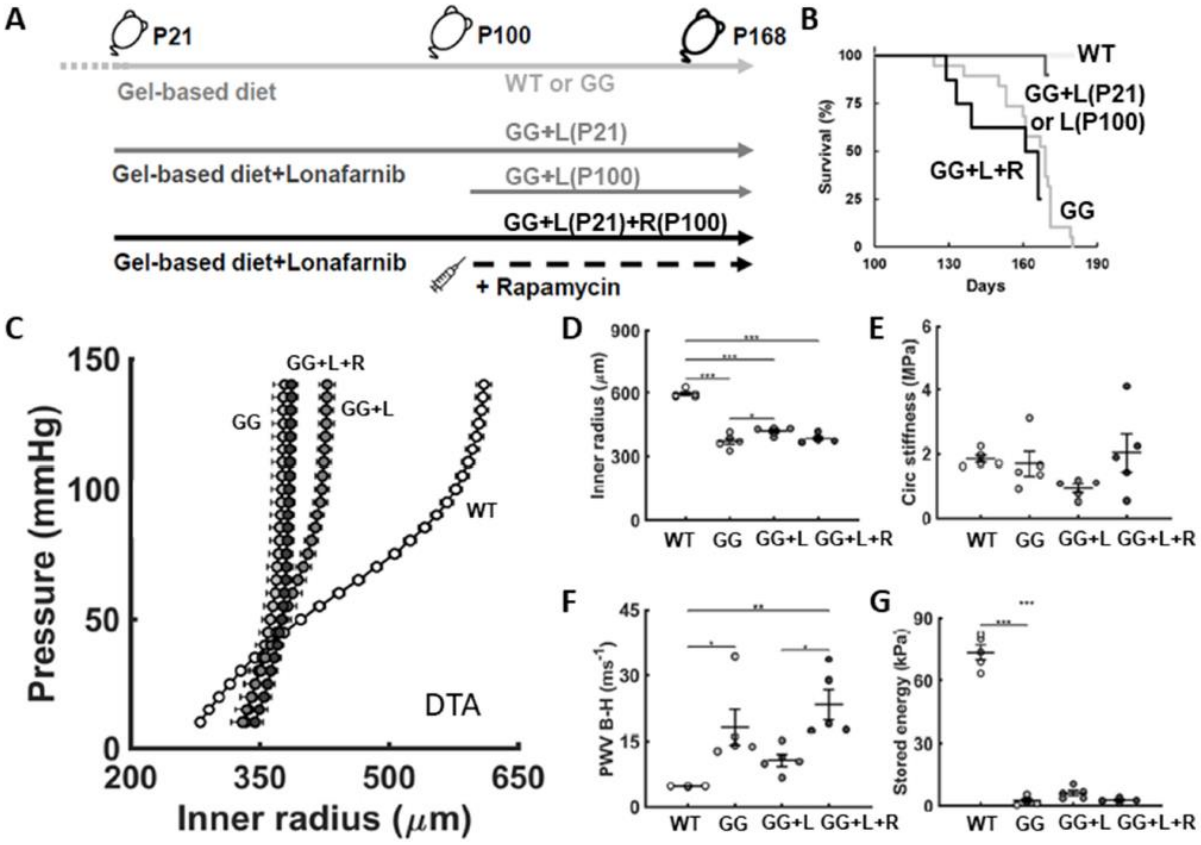


図 2.6.2.2-3 マウス生存率の推移、動脈の構造及び機能

A：試験デザイン（GG+L（P21）：離乳後の生後 21 日から 168 日にロナファルニブを投与、GG+L（P100）：離乳後の生後 100 日から 168 日にロナファルニブを投与）、B：生存率の推移、C：ex vivo での血管内圧－血管内径曲線、D：管腔径、E：円周方向への弾性、F：脈波伝播速度、G：弾性エネルギーの蓄え

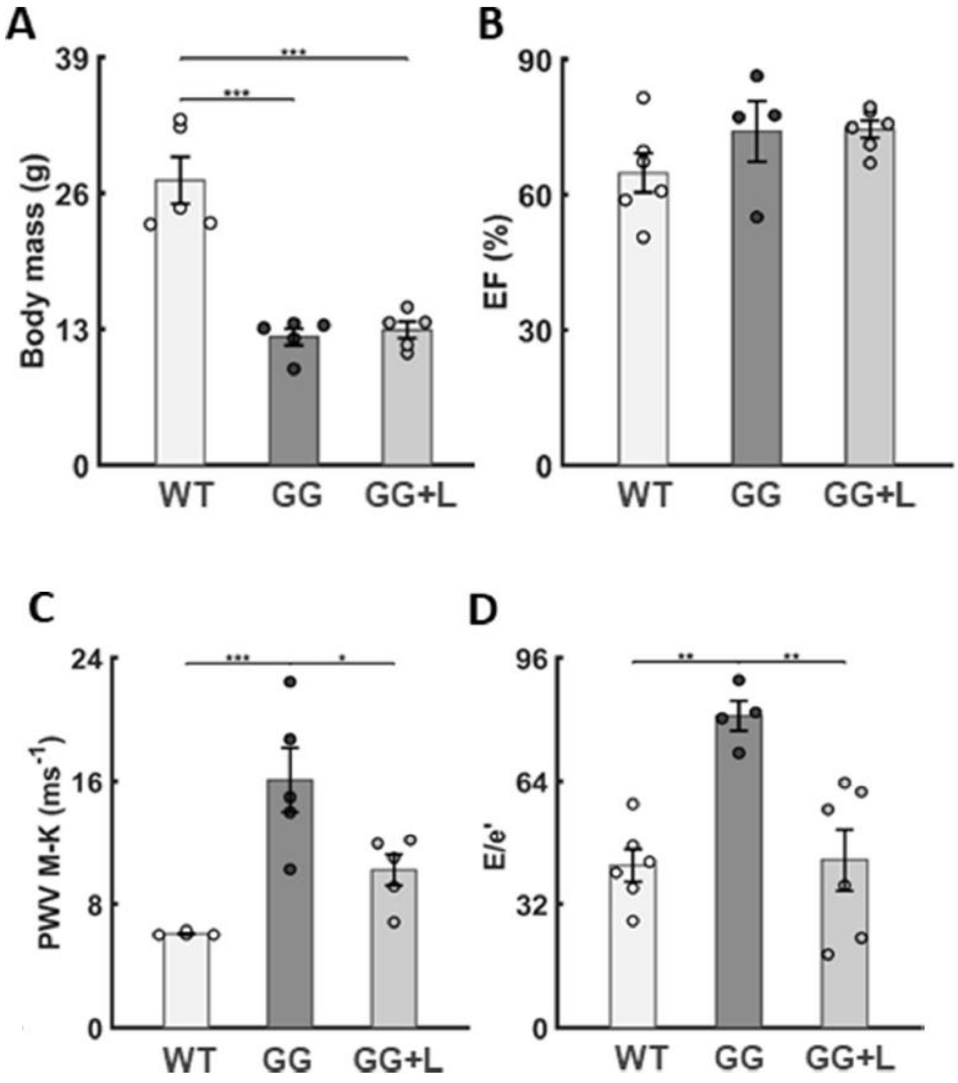


図 2.6.2.2-4　生後 168 日におけるマウスの体重及び心機能

A：体重、B：左室駆出率、C：脈波伝播速度、D：左室拡張機能

* p<0.05、** p<0.01、*** p<0.001

なお、ロナファルニブ以外の FT 阻害薬についても同様の報告がある。チピファルニブ（R115777）を C608G *LMNA* トランスジェニックマウス（HGPS モデルマウス）に反復経口投与し、心血管系への効果を確認したところ、下行大動脈、上行大動脈、頚動脈及び腹部大動脈における平滑筋細胞の減少を抑制し、心血管疾患の進行を抑制した。また、対照群と比較し、総コレステロール（p=0.00032）、総タンパク（p=0.0027）及びクレアチニン（p=0.0027）が有意に減少し、アルカリホスファターゼ（p=0.016）が有意に増加した（Capell et al., 2008）。また、ABT-100（新規のイミダゾール FT 阻害薬）を *Zmpste24* 欠損マウス（*Zmpste24* 欠損早老症モデルマウス）に反復経口投与したところ、対照群と比較し、生存率、体重及び握力を有意に改善した（Fong et al., 2006）。

2.6.2.2.3 その他のモデルにおける FT 阻害薬の活性

2.6.2.2.3.1 抗 D 型肝炎ウイルス

ロナファルニブは、D 型肝炎ウイルス（HDV）ビリオンの形成及び放出を阻害することにより抗 HDV 作用を示す。ロナファルニブは HDV ビリオンの放出を阻害することによって大型 HDV 抗原（LHDAg）を HDV 感染肝細胞内に捕捉する。LHDAg は HDV ゲノム複製に対する強力なトランスドミナント抑制因子であるため、肝細胞内へのこのような LHDAg の蓄積により HDV のゲノム複製がさらに抑制される可能性がある。

LHDAg 及び B 型肝炎表面抗原（HBsAg）を発現させるためのプラスミドを導入した Huh7 細胞の *in vitro* 培養系では、ロナファルニブは細胞からの LHDAg の放出を効果的に阻害し、EC_{50} は 35 pmol/L（2.4 ng/mL）であった。

In vivo で、プレニル化阻害薬の HDV 治療における活性が示されている（Bordier et al, 2003）。Bordier ら（2003）は、ハイドロダイナミクス法により HDV プラスミドを導入した B 型肝炎ウイルス（HBV）感染トランスジェニックマウスを用い、プレニル化阻害薬である FT 阻害薬-277 及び FT 阻害薬-2153 を 1 日 1 回 1 週間投与することにより HDV ビリオンの放出を阻害し得ることを示した。この HDV 阻害は投与期間依存性であった。この試験では検討されていないが、作用機序が共通していることに基づくと、ロナファルニブは他のプレニル化阻害薬と同様の効果を示すと予想される。

2.6.2.2.3.2 がん

ロナファルニブは、がん細胞において Ras タンパク質、並びに核内のセントロメア関連タンパク質（CENP-E 及び CENP-F）、核ラミンのプレラミン A、コシャペロンタンパク質 HDJ-2、低分子量 GTP アーゼ RheB などのその他のファルネシルトランスフェラーゼ基質のファルネシル化を阻害する。ロナファルニブは *in vitro* で精製ファルネシルトランスフェラーゼによる H-ras のファルネシル化を阻害し、IC_{50} は 1.9 nmol/L であった（Njoroge et al., 1998）。また、ロナファルニブは *in vitro* で K-ras-4B のファルネシル化も阻害したが（IC_{50} は 5.2 nmol/L）、最高 50 µmol/L の濃度で GGPT-1 を阻害しなかった。

このシリーズの化合物の動態研究により、ロナファルニブは CaaX 基質のファルネシルトランスフェラーゼへの結合を阻害し、標的タンパク質のファルネシル化を阻止し得ることが示されており、この阻害様式は競合的阻害であると推察される（Basso et al., 2005; Bishop et al., 1995）。

ロナファルニブは動物モデルにおいて広範な抗腫瘍活性を示した。ロナファルニブは、K-ras 変異又は H-ras 変異を有する細胞を投与したヌードマウスにおいて、用量依存的に腫瘍増殖を阻害した（Njoroge et al., 1998）。

2.6.2.3 副次的薬理試験

ロナファルニブの副次的薬理試験として、ロナファルニブ及び主要代謝物 M33（MM38、RM30 及

び SCH441746）についてオフターゲット受容体のスクリーニングを実施し（us073-0012557、tw04-0007251、100053293 及び 100053670）、それらを summary-report としてまとめた（summary-report に記載の HM21 は SCH441746 に同じ）。その結果、ロナファルニブは、β1 アドレナリン受容体（IC_{50}=2.1 μM）、カンナビノイド受容体 1（IC_{50}=1.2 μM）、カンナビノイド受容体 2（IC_{50}=2.0 μM）及びオレキシン 1 受容体（IC_{50}=7.1 μM）の 4 つの分子標的に対してアンタゴニスト活性を示した（IC_{50}<10 μM）。また、主要代謝物 M33 は、β1 アドレナリン受容体（IC_{50}=3.5 μM）、カンナビノイド受容体 2（IC_{50}=4.4 μM）及びμ-オピオイド受容体（IC_{50}=3.6 μM）の 3 つの分子標的に対してアンタゴニスト活性を示し（IC_{50}<10 μM）、5-ヒドロキシトリプタミン 1B 受容体（EC_{50}=2.2 μM）に対してアゴニスト活性を示した。しかしながら、ヒトに臨床用量 150 mg/m^2 BID で投与した時の血漿中ロナファルニブ濃度をもとにした推定安全域から、これら受容体に対する活性は副次的薬理作用の懸念事項とはならないと考えられた。なお、もう一つの主要代謝物 M26（RM25 及び SCH629153）については、安定的に合成できないことから同様の評価はできなかった。

これまでに得られた臨床安全性情報全体の評価で、オフターゲット作用に関連した所見は認められていない。加えて、シトクロム P450（CYP450）の分子種、CYP450 の阻害、CYP450 の誘導、並びに薬物トランスポーターの基質となる可能性及びそれらを阻害する可能性を検討した一連の *in vitro* 試験（15EIGEP1、14EIGEP1_Study 3、14EIGEP1_Study 4、14EIGEP1_Study 5、14EIGEP1_Study 6、14EIGEP1、CYP1838 R1、CYP1838 R2A 及び CYP1838 R2B）でロナファルニブの薬物動態学的薬物相互作用を評価している（モジュール 2.6.4、2.6.4.8 項）。

2.6.2.4 安全性薬理試験

安全性薬理試験として実施した P-6339（1996 年 5 月試験終了）及び P-6619（1997 年 4 月試験終了）は、ICH S7A 施行前に実施した試験であるため非 GLP 下で実施されている。なお、これら試験の試験資料の保管状況については、現時点で十分な情報が得られていない。また、同じく非 GLP 下で実施された SN 02160（2002 年 12 月試験開始、2004 年 1 月試験終了）及び 46366（2003 年 6 月試験終了、試験開始日は不明）については、ICH S7A 施行後に実施した試験であると考えられるが、非 GLP 下で実施された理由は不明であり、試験資料の保管状況についても、現時点で十分な情報が得られていない。

2.6.2.4.1 中枢神経系

2.6.2.4.1.1 ラットの中枢神経系に対する作用

Sprague Dawley ラット（各群 6 匹）にロナファルニブ（10、30 又は 100 mg/kg）又は対照群として 20%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリンを単回経口投与した。被験物質投与前の一晩、動物に固形飼料を与えず、水と 20%ショ糖溶液を与えた。投与後 1、2、4 及び 6 時間に行動機能、神経機能及び自律神経機能の変化を評価した。その結果、ロナファルニブは投与したいずれの用量においても、測定したラットの行動機能、神経機能及び自律神経機能を変化させず、ロナファルニブは中枢神経系に影響を及ぼさないことが示唆された（P-6339）。

2.6.2.4.2 心血管系

2.6.2.4.2.1 hERG 導入細胞におけるカリウム電流に対する作用

hERG チャネルを発現させたマウス L-929 細胞を、ロナファルニブ（nominal concentration：0.2、0.4 又は 2 μmol/L）又は溶媒（DMSO）で処理し、ホールセルパッチクランプ法を用いて hERG 電流を測定した（46366）。その結果、ロナファルニブは hERG 電流を抑制し、IC_{50} は 1.3 μmol/L（95%信頼区間 1.1～1.6 μmol/L）であった。この濃度は、ヒトに臨床用量の 150 mg/m^2 BID で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。

2.6.2.4.2.2 イヌ摘出心筋プルキンエ線維における活動電位に対する作用

雌のビーグル犬から摘出した心筋プルキンエ線維を用い、心筋の細胞内活動電位に対するロナファルニブ（nominal concentration：0.02、0.2 及び 2 μmol/L）又は溶媒（生理食塩水中 0.1%（v/v）DMSO）の影響を検討した（SN 02160）。プルキンエ線維標本を 0.5 Hz 及び 1 Hz でペーシングした。活動電位を延長することが知られ、I_{Kr} 電流に選択的であることから、これらの周波数における対照物質として 50 μmol/L の *dl*-ソタロール塩酸塩（HCl）を用いた。また、心筋ナトリウムチャネルに対する周波数依存的作用を評価するため、3 Hz の刺激周波数でロナファルニブ（DMSO 中 0.02、0.2 及び 2 μmol/L）又は溶媒の最大脱分極速度に対する影響を検討した。評価したパラメータは、静止膜電位（RMP）、活動電位振幅（UA）、最大脱分極速度（MRD）並びに 60%及び 90%再分極時の活動電位持続時間（APD_{60} 及び APD_{90}）であった。3 Hz では MRD のみを評価した。なお、バリデートされた測定法により、本アッセイの nominal concentration における被験物質の最終濃度は、0.02 μmol/L では定量下限値未満（0.011 μmol/L 未満）、0.2 μmol/L では 0.07 μmol/L 及び 2 μmol/L では 1.1 μmol/L であることが明らかになった。その結果、0.5、1 又は 3 Hz で評価したいずれのパラメータについても、ロナファルニブ投与による影響は認められなかった。なお、*dl*-ソタロール HCl 処理群では 0.5 Hz 及び 1 Hz の刺激周波数において、APD_{60} 及び APD_{90} の両方に有意な延長（ベースラインの 44%～70%、$p<0.0005$）が認められた。

2.6.2.4.2.3 *In vivo* におけるラットの血圧、心拍数及び心電図に対する作用

雄の Sprague Dawley ラット（各群 5 匹）にロナファルニブ（10、30 又は 100 mg/kg）又は対照群として 20%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリンを単回経口投与（4 mL/kg）し、覚醒ラットにおける血圧、心拍数及び心電図（PR 間隔、QRS 時間、QT 間隔、RR 間隔及び補正 QT 間隔[QTc]）を評価した（P-6339）。また、血漿中ロナファルニブ濃度についても測定した。その結果、ロナファルニブを投与した覚醒下のラットの血圧及び心拍数に、対照群と比較して有意な変化は認められなかった。また、10、30 又は 100 mg/kg での血漿中ロナファルニブ濃度（C_{max}）は、それぞれ 2.99、9.74 及び 29.8 μmol/L であった。

ロナファルニブ 10 mg/kg 及び 30 mg/kg 投与後の PR 間隔、QRS 間隔、QT 間隔、RR 間隔及び QTc 間隔に対照群と比較して有意な変化はほぼ認められなかったが、30 mg/kg の 1 時点（投与後 2.5 時間）で QTc 間隔の有意な延長が認められた（$p<0.05$）。また、ロナファルニブ 100 mg/kg 投与後の

PR 間隔、QRS 間隔及び RR 間隔に対照群と比較して有意な変化は認められなかったが、QT 間隔については対照群と比較して有意な延長が認められた（$p<0.05$、対照群と比べて 10%～12%の延長）。この QT 間隔延長は QRS 間隔の拡大を伴わず、ラットにおける心室心筋の再分極遅延の可能性が示唆された。モルモット、サル、イヌ及びヒトと異なり、ラットの心室の再分極には一過性の外向き電流 I_o が必要である。したがって、ラットモデルは QT 間隔を変化させる薬物の催不整脈作用の評価に適切でない可能性がある。

さらに、延髄穿刺ラット（各群 6 匹）にロナファルニブ（100 mg/kg）又は溶媒（20%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン）を経口投与（2 mL/kg）し、自律神経機能を検討する目的でフェニレフリン、アセチルコリン、セロトニン及びイソプロテレノールに対する血圧又は心拍数反応の変化を評価した。その結果、ロナファルニブは血圧及び心拍数に変化は認められず、抗 α-アドレナリン、抗セロトニン、抗コリン及び抗 β-アドレナリン作用を示さないことが示唆された。

2.6.2.4.2.4 *In vivo* におけるモルモットの心電図に対する作用

雄の成熟 Hartley モルモット（各群 6 匹）にロナファルニブ（50 mg/kg）、対照群としてヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン、さらに生理食塩液を点滴静注（2 mL/kg）により投与し、血圧、心拍数及び心電図について評価した（P-6339）。また、血漿中ロナファルニブ濃度についても測定した。その結果、いずれの対照群と比較しても QTc 間隔に有意差は認められず、いずれの時点でも PR 間隔及び QRS 間隔に影響を及ぼさなかった。なお、50 mg/kg で心拍数の減少が認められたが、対照群のすべての個体でも同様に心拍数の減少が認められたことから、ロナファルニブの投与とは無関係であると判断した。また、最終評価時点（投与後 2 時間）での血漿中ロナファルニブ濃度は 29.9±3.9 μmol/L であった。全体的に、これらモルモットにおけるロナファルニブの忍容性は良好であり、催不整脈性の心電図活動は認められなかった。

なお、これらの結果は、ロナファルニブ 60 mg/kg/日までのサル 3 箇月間反復経口投与（SN 96612）及び 40 mg/kg/日までのサル 1 年間反復経口投与毒性試験（SN 96036）での心電図に変化が認められなかった結果と一致していた。

2.6.2.4.3 呼吸系

2.6.2.4.3.1 サルの呼吸系に対する作用

ロナファルニブの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 箇月間（SN 96612）及び 1 年間（SN 96036）反復経口投与毒性試験に組み込んで呼吸数の測定（回／分）による呼吸機能の評価を行った。3 箇月反復経口投与毒性試験（SN 96612）では投与前、Week 4 及び Week 12、1 年間反復経口投与毒性試験（SN 96036）では Week 5、26 及び 53 に 2 回の評価を実施した。その結果、3 箇月反復経口投与毒性試験では呼吸に関連した安全性所見は認められなかった。また、サルを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験では、ロナファルニブを 0、10、20 又は 40 mg/kg/日の用量で投与した時の呼吸数への影響を評価し、すべての評価時点で雌雄ともに対照群と同程度であり、呼吸数は、対照群で 17～21 回／分、10 mg/kg/日で 16～20

回／分、20 mg/kg/日で 13～20 回／分及び 40 mg/kg/日で 15～20 回／分であった。

2.6.2.4.4 腎／泌尿器系

2.6.2.4.4.1 ラットの腎／泌尿器系への作用

Sprague Dawley ラット（各群 6 匹）にロナファルニブ（10 mg/kg 又は 100 mg/kg）、対照群として 20%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン（2 mL/kg）、さらに、ヒドロクロロチアジド（3 mg/kg）を単回経口投与し、尿検査を実施した（P-6339）。なお、すべての個体に生理食塩液（15 mL/kg）を経口補充し、投与後 5 時間まで連続して採尿を実施した。その結果、10 mg/kg 及び 100 mg/kg では Na^+及び K^+の尿中排泄に有意な変化を引き起こさず、グルコース、ビリルビン、ケトン、潜血、pH 及び尿タンパクに一貫した変化は認められなかった。100 mg/kg では尿量が有意に増加したが（$p<0.05$）、ヒドロクロロチアジド投与後に認められた尿量増加と比較して臨床的意義はほとんどなかった。これらのデータから、ロナファルニブ投与による腎／泌尿器系への影響はないことが示唆された。

また、別の試験において、Sprague Dawley ラット（各群 6 匹）にロナファルニブ（30、100、300 又は 500 mg/kg）または 0.4%メチルセルロース溶媒を 7 日間反復経口投与し（5 mL/kg）、尿検査を実施した（P-6619）。なお、投与後 24 時間から毎日採尿した。また、摂餌量、飲水量及び体重についても評価した。なお、最高用量（500 mg/kg）の Day 4（1 匹）、Day 5（2 匹）及び Day 6（1 匹）で死亡例が認められた。その結果、30 mg/kg 又は 100 mg/kg で尿量並びに Na^+及び K^+の尿中排泄量に有意な変化は認められなかった。一方で、高用量（300 mg/kg 及び 500 mg/kg）で多尿並びに Na^+及び K^+の尿中排泄量の減少が認められたが、対照群と比較して摂餌量の有意な減少（$p<0.05$）及び飲水量の有意な増加（$p<0.05$）が認められており、これら変化に起因する可能性が高いと考えられた。また、300 mg/kg 以下で内因性クレアチニンクリアランス（C_{Cr}）を変化させず、直接的な腎毒性は示されなかったが、最高用量（500 mg/kg）で C_{Cr} の顕著な減少が認められた。これは摂餌量の長期減少による脱水に起因する可能性があると考えられた。なお、高用量（300 mg/kg 及び 500 mg/kg）で体重増加量が対照群と比較し有意に抑制された（$p<0.05$）。

2.6.2.4.5 胃腸管系

2.6.2.4.5.1 ラットの胃腸管系への作用

Sprague Dawley ラット（各群 6 匹）にロナファルニブ（10 mg/kg 又は 100 mg/kg）、対照群として 20%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン懸濁液（2 mL/kg）、さらに、アトロピン（10 mg/kg）又はインドメタシン（10 mg/kg）を単回経口投与し、胃内容排出、腸管通過及び胃潰瘍形成について評価した（P-6339）。なお、胃内容排出を検討するため、投与後 30 分に一定量の餌を経口投与し、さらに 30 分後に安楽死させ、胃重量を測定して餌の残存率を調べた。その結果、100 mg/kg では、対照群と比較して胃内容排出を 64%と有意に抑制した（$p<0.05$）。一方で、10 mg/kg では有意な変化は認められなかった。なお、アトロピンは胃内容排出を完全に阻害した（$p<0.05$）。

次に、投与後 30 分に炭を含む一定量の餌を投与して腸管通過を検討した。餌を投与した 10 分後

に小腸を摘出し、炭の小腸移動距離を測定した。その結果、100 mg/kg では対照群と比較して腸管通過を 31%と有意に阻害した（p<0.05）一方で、10 mg/kg では影響は認められなかった。なお、アトロピンは、対照群と比較して腸管通過を 64%抑制した（p<0.05）。さらに、投与後 4 時間にラットを安楽死させ、胃潰瘍形成及び胃を調べた。10 mg/kg 及び 100 mg/kg では、胃粘膜損傷を引き起こさなかった。なお、インドメタシンはすべての個体で顕著な病変を引き起こした（P-6339）。

さらに、別試験において、Sprague Dawley ラット（各群 4 匹）にロナファルニブ（30、100、300 又は 500 mg/kg）又は対照群としてメチルセルロース溶媒を 6 日間反復経口投与し（5 mL/kg）、胃内容排出を検討した（P-6619）。なお、Day 6 にラットを一晩絶食させてから、一定量の餌を投与し、さらに 30 分後にラットを安楽死させ、胃重量を測定して餌の残存率を調べた。その結果、500 mg/kg で最終評価時点の投与後 6 時間で胃内容排出を有意に抑制した（p<0.05）なお、500 mg/kg で 1 匹が死亡したが、他の用量群に死亡例は認められなかった。

2.6.2.4.6 他の器官系（肝臓）

2.6.2.4.6.1 ラットの肝臓への作用

Sprague Dawley ラット（各群 6 匹）にロナファルニブ（30、100、300 又は 500 mg/kg）又は対照群として 0.4%メチルセルロースを 7 日間反復経口投与した（5 mL/kg）（P-6619）。

ロナファルニブ（300 mg/kg 及び 500 mg/kg）投与に伴い、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いし顕著な上昇が認められた（P-6619）。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

ロナファルニブの非臨床薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

2.6.2.6 考察及び結論

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 1998）。また、動態試験の結果から、この阻害は競合的阻害であると推察された。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。

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 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。また、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。なお、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が、試験に使用したロナファルニブの品質については Zonkinvy®と同等であると思われる。

正常細胞の核膜は、2 重の脂質膜（内膜および外膜）、核膜孔、核ラミナから構成されている。核膜の網目状構造のラミナは、フィラメントタンパク質のラミンが主体となり、ラミンは二量体化し他のタンパク質と複合体を形成し、核内膜構造の安定化やクロマチンの組織化や遺伝子転写、DNA 複製などの役割を担っている。ラミン A はファルネシル化された状態で核膜に移動し、そこでファルネシル化部位が切断され生理機能を示す。ファルネシル化部位切断酵素による切断部位が欠損した変異ラミン A が存在する細胞あるいはファルネシル化部位切断酵素に異常のある細胞では、核膜において脂溶性のファルネシル化の状態であるプロジェリン又はプロジェリン様タンパク質として核膜に半永久的存在することで、核膜構造と機能の変化をもたらすと考えられる（Capell BC. 2005; Yang SH. 2005）。ただし、核膜へのプロジェリン又はプロジェリン様タンパク質の蓄積以降の機構については明確にはされておらず、正常タンパク質と異なり重合体の自由度が低下する、あるいは分布が不均一となるなどで、ブレブを形成すると考えられる（図 2.6.2.6-1）。HGPS 及びプロセシング不全性の PL では早老症状として、脱毛症や成長遅延が現れるとともに、進行性のアテローム性動脈硬化症、頭蓋顔面の不均衡、下顎及び鎖骨の形成不全、骨粗鬆症などの骨の変形並びに皮下脂肪の減少、歯列の遅れ、皮膚の強皮症、関節の硬直及び股関節脱臼を臨床的特徴とする。プロジェリンあるいはプロジェリン様タンパク質の蓄積は全身性で、当該細胞の核はブレブ形成していると考えられ、プロジェリンあるいはプロジェリン様タンパク質の蓄積により、細胞における遺伝子発現プロファイルの変化、DNA 修復機能の破綻、テロメアの短縮、ゲノムの不安定化及びミトコンドリアの機能異常などにより早期から細胞老化現象が進行すると考えられる。また、プロジェリンは高齢者でも蓄積しており、高齢者での細胞老化の一因と考えられる。HGPS 及びプロセシング不全性の PL での動脈硬化病変の進行は、致死性合併症の原因と考えられ、動脈硬化では内皮細胞機能不全や平滑筋増殖とともに脂肪集積がみられる。核ラミナの異常が動脈硬化のどの過程で促進しているかは不明だが、核ラミナの異常であるラミノパチーは拡張型心筋症を呈する病型があり、HGPS 及びプロセシング不全性の PL では高血圧や心臓弁膜症を合併することもあるため、心筋自体の老化性変化とともに、圧あるいは容量負荷での心機能低下が起こると考えられる。
本剤によりファルネシル化部位切断酵素による切断部位が欠損した変異ラミン A が存在する細胞あるいはファルネシル化部位切断酵素に異常のある細胞において、ファルネシル化が阻害されれば、プロジェリンあるいはプロジェリン様タンパク質の蓄積は軽減されるため、老化進行は抑制されると考えられる。HGPS での死因は脳心血管障害であり、動脈硬化の進行抑制は本剤による延命に大きく寄与していると考えるが、核ブレブの改善がどのような機構で動脈硬化の進行を抑制するかは不明である。また、悪性新生物の発症も抑制し得るのであれば、延命に寄与するものと考えられる。これら以外の臓器での老化抑制がどの様な予後改善に関与しているかは不明である。

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。なお、一

部の試験については、ICH S7A 施行前に実施したため非 GLP 下で実施されている。

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ず、追加で検討する必要はないと判断した。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。

本モジュールに提示した非臨床薬理パッケージとロナファルニブの臨床経験を併せることにより、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承認申請及び安全な使用が支持されると考えている。

a b

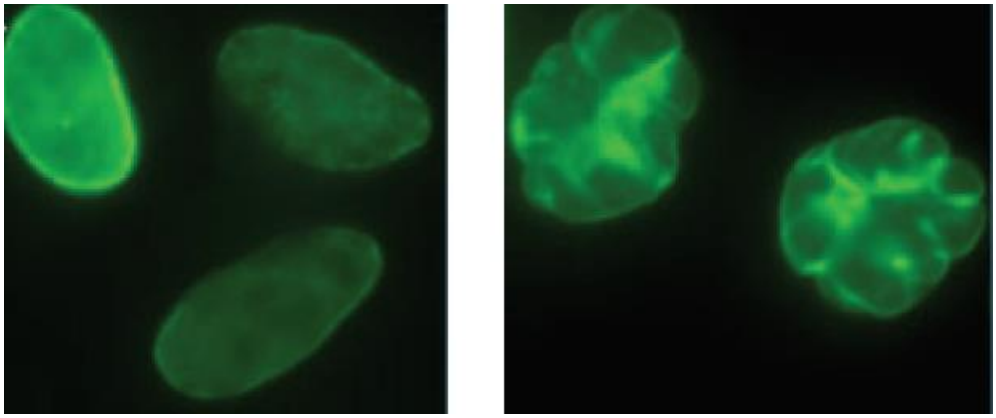


図 2.6.2.6-1 野生型 *LMNA* または変異 *LMNA* を導入した HeLa 細胞

a 野生型 *LMNA* を導入した HeLa 細胞

b 変異 *LMNA* 導入した HeLa 細胞

2.6.2.7 図表

図表は本文中の適切な場所に記載した。

2.6.2.8 参考文献一覧

Basso AD, Mirza A, Liu G et al. The Farnesyl Transferase Inhibitor (FTI) SCH66336 (Lonafarnib) Inhibits Rheb Farnesylation and mTOR Signaling: Role in FTI enhancement of taxane and tamoxifen anti-tumor activity. Journal of Biological Chemistry, 2005, 280, 31101- 31108.

Bishop WR, Bond R, Petrin J et al. Novel Tricyclic Inhibitors of Farnesyl Protein Transferase: Biochemical characterization and inhibition of Ras modification in transfected Cos cells. Journal of Biological Chemistry, 1995, 270, 30611-30618.

Bordier B, Ohkanda J, Liu P, et al. In vivo antiviral efficacy of prenylation inhibitors against hepatitis delta virus. J Clin Invest 2003;112(3): 407-414.

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.

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

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.

Murtada SI, Mikush N, Wang M, et al. Lonafarnib improves cardiovascular function and survival in a mouse model of Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome.eLife. 2023;12:1-17.

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.

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）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3 薬理試験概要表

アンジェス株式会社

目次

略語一覧表.....3
2.6.3　薬理試験概要表.....4
2.6.3.1　薬理試験：一覧表.....4
2.6.3.2　効力を裏付ける試験.....7
2.6.3.3　副次的薬理試験.....8
2.6.3.4　安全性薬理試験.....10
2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用.....13

略語一覧表

略語／用語	定義	日本語
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
APD	Action potential duration	活動電位持続時間
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
CI	Confidence interval	信頼区間
ECG	Electrocardiography	心電図
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
HBV	Hepatitis B Virus	B 型肝炎ウイルス
HDV	Hepatitis D Virus	D 型肝炎ウイルス
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
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
LMNA	Lamin A/C gene	ラミン A/C 遺伝子
QTc	Corrected QT interval	補正 QT 間隔

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1　薬理試験：一覧表

概要			被験物質：ロナファルニブ		
試験項目	**試験系**	**投与方法**	**試験実施施設**	**試験番号／公表文献**	**該当箇所**
効力を裏付ける試験					
ファルネシルトランスフェラーゼの阻害	ファルネシルトランスフェラーゼ	*In vitro*	SPRI、DU	Njoroge et al., 1998	モジュール 4.3-15
ファルネシルトランスフェラーゼの阻害	遺伝子導入した HeLa 細胞及び HGPS 患者由来の皮膚線維芽細胞	*In vitro*	NHGRI 、 HHMI 、 LCCC 、 UMSPH	Capell et al., 2005	モジュール 4.3-5
ファルネシルトランスフェラーゼの阻害	マウス（*LMNA*　G609G/G609G）	（強制）経口投与	YU, YUM, HCH, WAMSBU	Murtada et al., 2023	モジュール 4.3-17
抗 D 型肝炎ウイルス	HBV トランスジェニック FVB マウス	腹腔内投与	SUSM、VAMC、YU、GUMC、HLMCCRI	Bordier et al., 2003	モジュール 4.3-3
K-*ras*-4B のファルネシル化阻害	ファルネシルトランスフェラーゼ	*In vitro*	SPRI	Bishop et al., 1995	モジュール 4.3-2
副次的薬理試験					
オフターゲット受容体のスクリーニング	ヒト由来受容体	*In vitro*	[redacted]	us073-0012557	モジュール 4.2.1.2-4
オフターゲット受容体のスクリーニング	ラット由来受容体	*In vitro*	[redacted]	tw04-0007251	モジュール 4.2.1.2-3
オフターゲット受容体のスクリーニング	ヒト由来受容体	*In vitro*	[redacted]	100053293	モジュール 4.2.1.2-1
オフターゲット受容体のスクリーニング	ヒト由来受容体	*In vitro*	[redacted]	100053670	モジュール 4.2.1.2-2

概要			被験物質：ロナファルニブ		
試験項目	**試験系**	**投与方法**	**試験実施施設**	**試験番号／公表文献**	**該当箇所**
オフターゲット受容体のスクリーニング	（上記 4 試験の summary-report）		[redacted]	summary-report	モジュール 4.2.1.2-5
安全性薬理試験					
中枢神経系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	[redacted]	P-6339	モジュール 4.2.1.3-1
心血管系	L-929 マウス細胞	*In vitro*	[redacted]	SN 46366	モジュール 4.2.1.3-4
心血管系	イヌ心筋プルキンエ線維	*In vitro*	[redacted]	SN 02160	モジュール 4.2.1.3-3
心血管系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	[redacted]	P-6339	モジュール 4.2.1.3-1
心血管系	モルモット／Hartley	静脈内投与	[redacted]	P-6339	
呼吸系	サル／カニクイ	（強制）経口投与	[redacted]	SN 96612	モジュール 4.2.3.2-3
呼吸系	サル／カニクイ	（強制）経口投与	[redacted]	SN 96036	モジュール 4.2.3.2-4
腎／泌尿器系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	[redacted]	P-6339	モジュール 4.2.1.3-1
腎／泌尿器系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	[redacted]	P-6619	モジュール 4.2.1.3-2
胃腸管系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	[redacted]	P-6339	モジュール 4.2.1.3-1
胃腸管系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	[redacted]	P-6619	モジュール 4.2.1.3-2

概要			被験物質：ロナファルニブ		
試験項目	試験系	投与方法	試験実施施設	試験番号／公表文献	該当箇所
他の器官系（肝臓）	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	[redacted]	P-6619	モジュール 4.2.1.3-2

DU = P.M. Gross Chemical Laboratory, Duke University, GUMC = Georgetown University Medical Center, HCH=Hasbro Children's Hospital, HHMI = Howard Hughes Medical Institute, HLMCCRI = H. Lee Moffitt Cancer Center & Research Institute, LCCC = Lineberger Comprehensive Cancer Center, NHGRI = National Human Genome Research Institute, [redacted] = [redacted], SPRI = Schering-Plough Research Institute, SUSM = Stanford University School of Medicine, UMSPH = University of Michigan School of Public Health, YU = Yale University (Department of Chemistry), YUM=Yale School of Medicine, VAMC=Veterans Administration Medical Center, WAMSBU=Warren Albert Medical School of Brown University

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

概要				被験物質：ロナファルニブ [a]		
試験の種類	動物種／系統	投与方法	用量	動物数/群	結果の概要	試験番号／公表文献
ファルネシルトランスフェラーゼの阻害	ファルネシルトランスフェラーゼ	*In vitro*	0～50 µmol/L	NA	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する（IC50=1.9 nmol/L）が、ラット脳のゲラニルゲラニルトランスフェラーゼ 1 に対しては弱い阻害活性を示すのみである（IC50>50 µmol/L）	Njoroge et al., 1998
ファルネシルトランスフェラーゼの阻害	遺伝子導入した HeLa 細胞及び患者由来の HGPS 皮膚線維芽細胞	*In vitro*	0～2 µmol/L	NA	ロナファルニブ（最大 2 µmol/L）は、遺伝子導入した HeLa 細胞及び HGPS 患者由来の皮膚線維芽細胞において、ファルネシルトランスフェラーゼを阻害することにより核ブレブ形成を有意に低減した（p<0.01）。	Capell et al., 2005
ファルネシルトランスフェラーゼの阻害	マウス（*LMNA* G609G/G609G）	（強制）経口投与	450 mg/kg/日	10～19	ロナファルニブ （450mg/kg/日）の生後 168 日までの経口投与により、試験のエンドポイント（未治療マウスの生存率が 50%となる時点）である生後 168 日までの生存率は 100%であった。また、関連する動脈構造と機能の改善、並びに心機能に対しては、脈波伝播速度の有意な低下（p<0.05）と左室拡張機能の有意な改善作用（p<0.01）が認められた。	Murtada et al., 2023
抗 D 型肝炎ウイルス	HBV トランスジェニック FVB マウス	腹腔内投与	50 mg/kg/日 [b]	4	プレニル化阻害薬 FIT-277 及び FTI-2153 は血中 HDV の除去に高度に有効で、HDV 阻害は投与期間依存性を示した。	Bordier et al., 2003
K-*ras*-4B のファルネシル化阻害	ファルネシルトランスフェラーゼ	*In vitro*	NA	NA	タンパク質基質の阻害薬	Bishop et al., 1995

[a] 他に明記されていない場合のみ
[b] プレニル化阻害薬 FTI-277 又は FTI-2153
NA = 該当なし

2.6.3.3　副次的薬理試験

概要				被験物質：ロナファルニブ [a]		
試験の種類	動物種／系統	投与方法	用量	動物数/群	結果の概要	試験番号／公表文献
オフターゲット受容体のスクリーニング	ヒト由来受容体	*In vitro*	3 nM～10 μmol/L	NA	ロナファルニブは β1 アドレナリン受容体（IC_{50}=2.1 μM）、カンナビノイド受容体 1（IC_{50}=1.2 μM）及びカンナビノイド受容体 2（IC_{50}=2.0 μM）の 3 つの分子標的に対してアンタゴニスト活性を示し、主要代謝物 M33 は β1 アドレナリン受容体（IC_{50}=3.5 μM）、カンナビノイド受容体 2（IC_{50}=4.4 μM）及び μ-オピオイド受容体（IC_{50}=3.6 μM）の 3 つの分子標的に対してアンタゴニスト活性を示し、5-ヒドロキシトリプタミン 1B 受容体（EC_{50}=2.2 μM）に対してアゴニスト活性を示した	us073-0012557
オフターゲット受容体のスクリーニング	ラット由来受容体	*In vitro*	3 nM～10 μmol/L	NA	AMPA 型グルタミン酸受容体への阻害作用は認められなかった（IC_{50}>10 μM）	tw04-0007251
オフターゲット受容体のスクリーニング	ヒト由来受容体	*In vitro*	10 μmol/L	NA	ロナファルニブはオレキシン 1 受容体の分子標的に対してアンタゴニスト活性を示した	100053293
オフターゲット受容体のスクリーニング	ヒト由来受容体	*In vitro*	30nM～100 μmol/L	NA	ロナファルニブはオレキシン 1 受容体（IC_{50}=7.1 μM）の分子標的に対してアンタゴニスト活性を示した	100053670
オフターゲット受容体のスクリーニング	（上記 4 試験の summary-report）				ロナファルニブは、β1 アドレナリン受容体（IC50=2.1 μM）、カンナビノイド受容体 1（IC50=1.2 μM）、カンナビノイド受容体 2（IC50=2.0 μM）及びオレキシン 1 受容体（IC50=7.1 μM）の 4 つの分子標的に対してアンタゴニスト活性を示し、主要代謝物 M33 は β1 アドレナリン受容体（IC_{50}=3.5 μM）、カンナビノイド受容体 2（IC_{50}=4.4	summary-report

概要				被験物質：ロナファルニブ [a]		
試験の種類	動物種／系統	投与方法	用量	動物数/群	結果の概要	試験番号／公表文献
					μM）及び μ-オピオイド受容体（IC_{50}=3.6 μM）の 3 つの分子標的に対してアンタゴニスト活性を示し、5-ヒドロキシトリプタミン 1B 受容体（EC_{50}=2.2 μM）に対してアゴニスト活性を示した	

2.6.3.4　安全性薬理試験

概要				被験物質：ロナファルニブ			
評価した器官系	**動物種／系統**	**投与方法**	**用量**	**性別及び動物数/群**	**特記すべき所見**	**GLP 適用**	**試験番号**
中枢神経系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	10 、 30 又は 100 mg/kg	雄 6	なし	不適 [a]	P-6339
心血管系	L-929 マウス細胞	*In vitro*	0.2～2 mmol/L	NA	ロナファルニブは hERG カリウムチャネル電流を阻害し、IC_{50} は 1.3 µmol/L（95% CI：1.1～1.6 µmol/L）であった。	不適	46366
心血管系	イヌ心筋プルキンエ線維	*In vitro*	0.02～2 µmol/L	NA	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。	不適	SN 02160
心血管系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	10～100 mg/kg	雄 5	ロナファルニブ（100 mg/kg）の経口投与により、対照群に比べて QT 間隔が有意に延長した（$p<0.05$）。血圧、心拍数、PR 間隔及び RR 間隔に対する有意な影響は認められなかった。	不適 [a]	P-6339
心血管系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	100 mg/kg	雄 6	ロナファルニブの抗 α アドレナリン、抗セロトニン、抗コリン、抗 β アドレナリン作用は認められなかった。	不適 [a]	P-6339
心血管系	モルモット／Hartley	静脈内投与	50 mg/kg	雄 6	ロナファルニブによる 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、ECG 評価において催不整脈作用は認められなかった。	不適 [a]	P-6339

概要				被験物質：ロナファルニブ			
評価した器官系	動物種／系統	投与方法	用量	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP 適用	試験番号
呼吸系	サル／カニクイ	（強制）経口投与	15 、 30 又は 60 mg/kg/日	雄 4	なし	適	SN 96612
呼吸系	サル／カニクイ	（強制）経口投与	10 、 20 又は 40 mg/kg/日	雄 4	なし	適	SN 96036
腎／泌尿器系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	10 mg/kg 又は 100 mg/kg	雄 6	Na^+及び K^+の尿中排泄に有意な変化は認められなかった。尿検査パラメータに一貫性のある変化は認められなかったが、高用量（100 mg/kg）で尿量の有意な増加が認められた（$p<0.05$）。	不適 [a]	P-6339
腎／泌尿器系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	30、100、300 又は 500 mg/kg	雄 6	高用量群（500 mg/kg）で 4 匹が死亡した。この用量群の生存ラット 2 匹にクレアチニンクリアランスの顕著な低下が認められた。300 mg/kg 以上で対照群と比較して摂餌量の有意な減少（$p<0.05$）及び飲水量の有意な増加（$p<0.05$）が認められ、体重増加量が有意に抑制された（$p<0.05$）。また、多尿並びに Na+及び K+の尿中排泄量の減少も認められた。	不適 [a]	P-6619
胃腸管系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	10 mg/kg 又は 100 mg/kg	雄 6	ロナファルニブ（100 mg/kg）は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（$p<0.05$）。胃粘膜に被験物質に関連した損傷は認められなかった。	不適 [a]	P-6339
胃腸管系	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	30、100、300 又は 500 mg/kg	雄 4	高用量群（500 mg/kg）で 1 匹が死亡した。この用量では、胃内容排出の有意な阻害も生じた（$p<0.05$）。	不適 [a]	P-6619

概要				被験物質：ロナファルニブ			
評価した器官系	**動物種／系統**	**投与方法**	**用量**	**性別及び動物数/群**	**特記すべき所見**	**GLP 適用**	**試験番号**
他の器官系（肝臓）	ラット／Sprague Dawley	（強制）経口投与	30、100、300 又は 500 mg/kg	雄 6	300 mg/kg 以上で ALT 及び AST の上昇が認められた。	不適 [a]	P-6619

NA = 該当なし
[a] ICH S7A 施行前に実施した試験

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

ロナファルニブの非臨床薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。