2.6.1 緒言

NS-87 はシタラビン（AraC）及びダウノルビシン（DNR）（表 2.6.1-1）を 5:1 のモル比でリポソーム内に封入したリポソーム製剤であり、高リスク急性骨髄性白血病（AML）に対する治療薬として開発された。

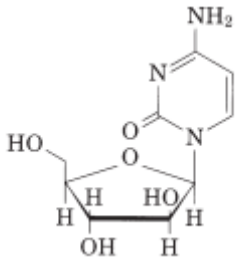
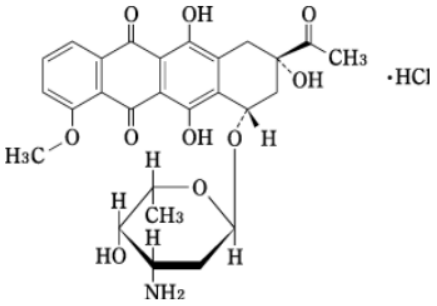
AML に対する標準的な寛解導入療法は 7+3 療法であり、AraC を 7 日間、DNR を 3 日間投与する。AraC は生体内でリン酸化されて活性型のシトシンアラビノシド三リン酸となり、DNA ポリメラーゼを阻害するとともに DNA に直接取り込まれて DNA 合成を抑制する。代謝拮抗薬であり、細胞周期の S 期に最も有効である [1)]。DNR はアントラサイクリン系薬剤であり、DNA の二重らせんの塩基対の間に挿入（インターカレーション）されて DNA に直接結合し、トポイソメラーゼ II を阻害して DNA 合成を抑制する [2)]。

抗がん剤の併用療法は、組み合わせる薬剤の比率によって相乗作用、相加作用又は拮抗作用など異なる作用を示すことから、最も効果的に抗腫瘍効果を発揮する薬物比率で腫瘍細胞に到達させることが重要である [3)]。しかしながら、投与後の薬物動態が個々の薬物により異なることなどから、血中及び腫瘍組織内で投与時の薬物比率を維持することは難しい。さらに、全身曝露による正常組織に対する毒性や腫瘍細胞への曝露量低下による効果減弱も治療の障壁となる。

NS-87 のリポソーム内に封入された AraC 及び DNR の比率（モル比 5:1）は、*in vitro* 試験及び *in vivo* 試験において最も高い抗腫瘍効果を示すモル比である。リポソームとは、生体膜を構成するリン脂質などを水中で分散させたときに形成される二分子膜からなる閉鎖小胞である。薬物キャリアとしての開発の歴史も古く、高い生体適合性を有する。国内ではアムビゾーム点滴静注用 50mg（2006 年承認）、ドキシル注 20mg（2007 年承認）、オニバイド点滴静注 43mg（2020 年承認）などのリポソーム製剤が上市されており、原薬の薬物動態の改善、標的への薬物送達の向上などの利点が得られている。NS-87 に使用されているリポソームは、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、ジステアロイルホスファチジルグリセロールナトリウム、コレステロールから構成される。リポソーム内には銅（グルコン酸銅）が含有されており、DNR をリポソーム内に保持する役割を担っている。

リポソーム製剤である NS-87 は AraC 及び DNR の血中滞留性を維持（投与後はほとんどがリポソームのまま血中を循環する）し、投与後 24 時間は投与時の薬物比率のまま骨髄への取り込みを促進させる（骨髄においては正常細胞よりも腫瘍細胞への取り込みが多い）ことから、標準治療である 7+3 療法に比べて少ない累積投与量での有効性が期待でき、また全身性の副作用を軽減できる可能性がある。

表 2.6.1-1　申請品の名称と構造式

NS-87 関連化合物の名称	由来
［一般的名称］シタラビン ［化合物名］1-β-D-Arabinofuranosylcytosine ［分子式］$C_9H_{13}N_3O_5$ ［分子量］243.22 ［化学構造式］ 	原薬
［一般的名称］ダウノルビシン塩酸塩 ［化合物名］(2S,4S)-2-Acetyl-4-(3-amino-2,3,6-trideoxy-α-L-lyxo-hexopyranosyloxy)-2,5,12-trihydroxy-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydrotetracene-6,11-dione monohydrochloride ［分子式］$C_{27}H_{29}NO_{10}$・HCl ［分子量］563.98 ［化学構造式］ 	原薬

NS-87 の医薬品製造販売承認申請書添付資料の作成にあたり、Celator Pharmaceuticals 社（現 Jazz Pharmaceuticals 社）が実施又は委託した薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験の試験成績及び公表文献の情報を活用した。一連の非臨床試験では臨床使用に準じた投与方法を選択した。

NS-87（本剤）の申請効能・効果（案）及び用法・用量（案）は以下の通りである。

＜効能・効果（案）＞

高リスク急性骨髄性白血病

＜用法・用量（案）＞

（1）寛解導入療法

通常、寛解導入療法として、本剤 100 ユニット（ダウノルビシン/シタラビンとして 44 mg/100 mg）/m^2（体表面積）を 1 日 1 回、90 分かけて、最大 2 サイクルまで投与する。

1 サイクル目として本剤を 1、3、5 日目に点滴静注する。1 サイクル目に寛解に到達しなかった患者で、本剤への忍容性が良好な場合、1 サイクル目の投与開始から 2～5 週間後に、2 サイクル目として本剤を 1、3 日目に点滴静注する。

（2）地固め療法

通常、地固め療法として、本剤 65 ユニット（ダウノルビシン/シタラビンとして 29 mg/65 mg）/m^2（体表面積）を 1 日 1 回、90 分かけて、最大 2 サイクルまで投与する。

最後の寛解導入療法開始から 5～8 週間後に、1 サイクル目として本剤を 1、3 日目に点滴静注する。1 サイクル目の投与開始後に病態が進行していない患者で、本剤への忍容性が良好な場合、1 サイクル目の地固め療法開始から 5～8 週間後に、2 サイクル目として本剤を 1、3 日目に点滴静注する。

本剤の用量単位である 1 ユニットには、ダウノルビシン 0.44 mg 及びシタラビン 1 mg が含まれる。

2.6.1.1 参考文献一覧

1. Ewald B, Sampath D, Plunkett W. Nucleoside analogs: Molecular mechanisms signaling cell death. Oncogene. 2008;27:6522–37. ＜資料番号 4.3-1＞

2. Belloc F, Lacombe F, Dumain P, Lopez F, Bernard P, Boisseau MR, et al.Intercalation of anthracyclines into living cell DNA analyzed by flow cytometry.Cytometry. 1992;13:880–5. ＜資料番号 4.3-2＞

3. Mayer LD, Harasym TO, Tardi PG, Harasym NL, Shew CR, Johnstone SA, et al. Ratiometric dosing of anticancer drug combinations: controlling drug ratios after systemic administration regulates therapeutic activity in tumor-bearing mice. Mol Cancer Ther. 2006;5:1854-63. ＜資料番号 4.3-3＞

2.6.2 薬理試験の概要文

目次

2.6.2 薬理試験の概要文 1
2.6.2.1 まとめ 3
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 4
2.6.2.3 副次的薬理試験 23
2.6.2.4 安全性薬理試験 23
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 24
2.6.2.6 考察及び結論 24
2.6.2.7 図表 27
2.6.2.8 参考文献 27

略語一覧表

語句略語	語句略語内容
ALL	Acute lymphoblastic leukemia：急性リンパ芽球性白血病
AML	Acute myeloid leukemia：急性骨髄性白血病
AraC	Cytarabine：シタラビン
CD	Cluster of differentiation：分化抗原群
CI	Combination index：効力比
CLL	Chronic lymphocytic leukemia：慢性リンパ性白血病
DPPC	Dipalmitoylphosphatidylcholin：ジパルミトイルホスファリジルコリン（リポソーム脂質）
DiD	1,1′-dioctadecyl-3,3,3′,3′-tetramethylindodicarbocyanine：インドカルボシアニン色素
DNR	Daunorubicin：ダウノルビシン
ED75	75% effective dose：75%有効濃度
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
IC_{50}	50% inhibitory concentration：50%阻害濃度
MST	Median survival time：生存期間の中央値
MDS/MPN	Myelodysplastic syndromes/ myeloproliferative neoplasm：骨髄異形成症候群/骨髄増殖性腫瘍
%ILS	% increase in life span：生存期間延長率

2.6.2.1 まとめ

NS-87 は、シタラビン（AraC）及びダウノルビシン（DNR）を 5:1 のモル比で混合したリポソーム製剤である。一連の試験で用いた NS-87、リポソーム製剤、非リポソーム型混合物に含まれる AraC 及び DNR の投与量（mg/kg）及びモル比は、AraC:DNR で示した。

（1） 効力を裏付ける試験

1） AraC と DNR の最適なモル比の検討

AraC と DNR のモル比を 5:1 として併用することで *in vitro* 細胞増殖抑制試験において最大の相乗作用を示した。また、*in vivo* 白血病モデルにおいても、AraC と DNR のモル比を 5:1 から 11.6:1 としたリポソーム製剤が最も強い生存延長作用を示した。

2） 白血病モデルマウスを用いた検討（非リポソーム型 AraC・DNR 混合物又は単剤リポソームとの比較）

種々の白血病細胞株を移植した白血病モデルマウスにおいて、NS-87 は非リポソーム型 AraC・DNR 混合物や AraC 又は DNR の単剤リポソームと比べて最も強い生存延長作用を示した。

3） 白血病モデルマウスにおける骨髄内分布

NS-87 はマウスの血漿中および骨髄において AraC と DNR の 5:1 付近のモル比を維持し、CCRF-CEM 細胞を移植した白血病モデルマウスの骨髄において、正常細胞に比べて白血病細胞に多く取り込まれた。

（2） 副次的薬理試験

該当試験なし。

（3） 安全性薬理試験

独立した安全性薬理試験は実施せず、反復投与毒性試験において中枢神経系、心血管系及び呼吸器系への影響を評価した。

雌雄ラットに NS-87 を 0（対照群）、5、10 及び 15/10 units/kg の用量で 2 サイクル投与（3 回/週を 3 週間ごとに 2 サイクル、すなわち 1、3、5、22、24 及び 26 日目投与）し、投与開始から 33 日目にホームケージ内の行動、ハンドリング時の行動、オープンフィールド内の行動、刺激に対する応答、体温の項目について神経学的評価を実施した結果、5 units/kg では明らかな神経学的変化は認められなかった。10 units/kg 以上の投与群では重篤な毒性発現のため中枢神経系に対する影響を評価できなかった。

雌雄イヌに NS-87 を 0（生理食塩液）、0（銅含有リポソーム）、1、2、3 units/kg あるいは非リポソーム型 AraC・DNR 混合物を 2 units/kg 相当の用量で 2 サイクル投与し、投与前、投与開始から 7 日目及び 33 日目に拘束下 12 誘導心電図検査を実施した結果、NS-87 投与群において、1 units/kg の用量では心電図影響は認められなかった。2 units/kg の用量では重度の状態悪化のため 2 サイクル目は投与されていないものの 7 日目、33 日目とも心電図検査は実施しており、いずれも影響は認められなかった。3 units/kg の用量では 7 日目の検査では心電図影響は認められず、33 日目の検

査は全例死亡又は瀕死期安楽死処置のため実施できなかった。銅含有リポソーム投与群及び非リポソーム型 AraC・DNR 混合物投与群では心電図影響は認められなかった。

ラット及びイヌの反復投与毒性試験において一般状態悪化に関連した努力呼吸や呼吸数の増加が認められたが、呼吸器系に病理組織学的所見は認められなかったことから、NS-87 が呼吸器系に重篤な影響を与える可能性は低いと考えられた。

また、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験において NS-87 又は銅含有リポソーム投与により全血中銅濃度が一過性に上昇したが、銅による中枢神経系、心血管系及び呼吸器系への影響を示唆する変化は認められなかった。

（4） 薬力学的薬物相互作用試験

該当試験なし。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 AraC と DNR の最適なモル比の検討

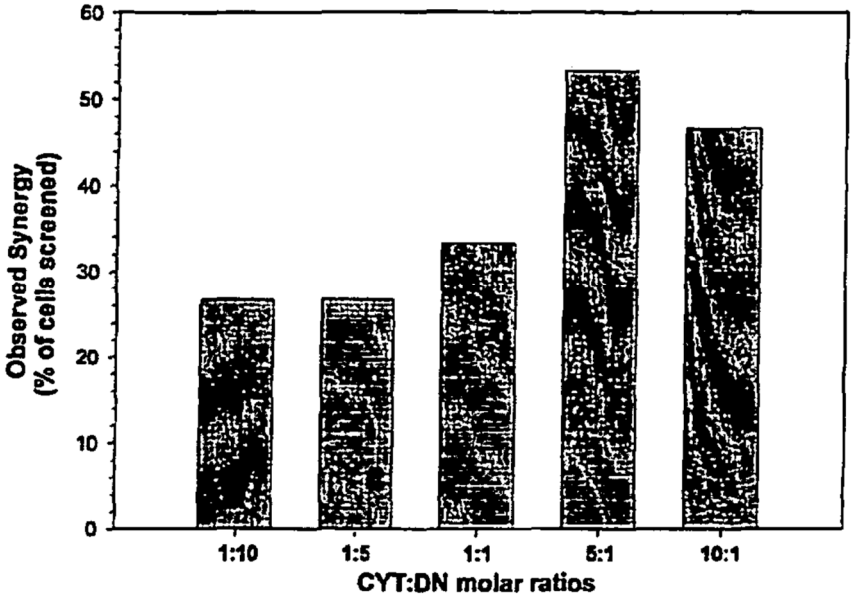
2.6.2.2.1.1 *In vitro* での AraC と DNR の最適なモル比の検討（試験番号 FR-051212TH、資料番号 4.2.1.1-16、評価資料）

（1） 方法

AraC と DNR を併用した際に理想的な抗腫瘍効果を発揮する最適なモル比を検討するため、白血病細胞株 7 種類と固形がん細胞株 8 種類に対して AraC と DNR を各モル比（1:10、1:5、1:1、5:1、10:1）で併用し細胞増殖抑制試験を実施した。合計 15 種類の細胞株のうち、75%有効濃度（ED75）において相乗作用を示した細胞株の割合を算出した。相乗作用の評価には Median effect analysis 法 [1)]にて求めた各細胞株における効力比（CI）を用いた。CI とは、薬の併用による作用が相乗（CI<1.0）、相加（CI=1.0）、拮抗（CI>1.0）的であるかを示す値であるが、本試験では本法を応用して、相乗（CI≦0.9）、相加（0.9<CI≦1.1）、拮抗（CI>1.1）と定義した。

（2） 結果

15 種類の細胞株における細胞増殖抑制試験の結果、AraC と DNR のモル比が 5:1 のときに、相乗作用を示した細胞株が 53.3%と最も多く、次いで 10:1 のときに 46.7%の細胞株で相乗作用を示した（図 2.6.2.2.1.1-1）。モル比が 1:10 や 1:5 では相乗作用を示す細胞株は 26.7%と低い割合であった。以上より、AraC と DNR のモル比 5:1 が相乗的な細胞増殖抑制作用を示す最適なモル比であることが示唆された。



CYT：AraC
DN：DNR

図 2.6.2.2.1.1-1 AraC と DNR を各モル比で併用した際に相乗作用が認められた細胞株の割合

［4.2.1.1-16 Figure 3 を引用］

2.6.2.2.1.2 *In vivo* での AraC と DNR の最適なモル比の検討（試験番号 SR090905、資料番号 4.2.1.1-17、評価資料）

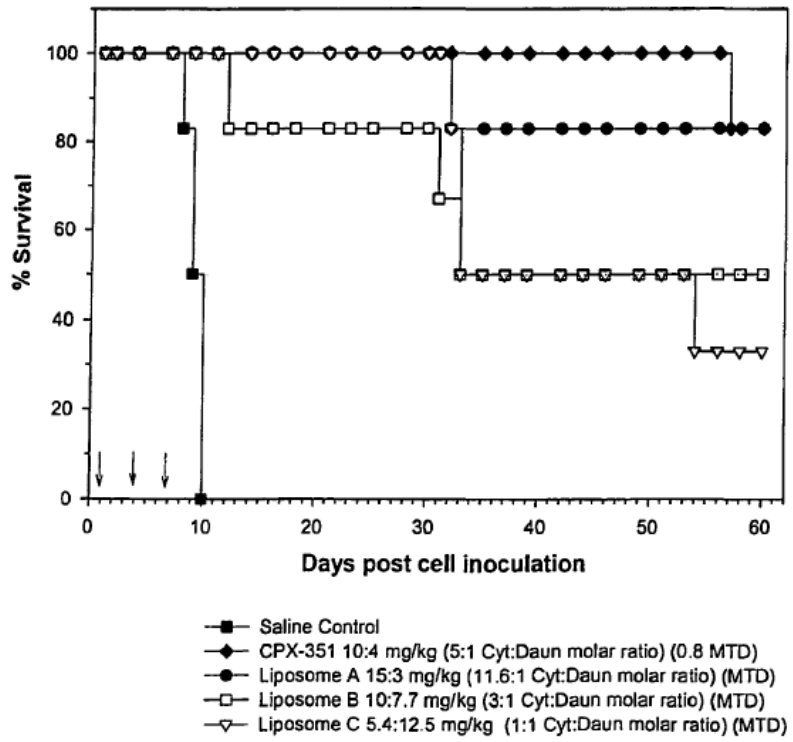
（1） 方法

In vivo でも同様に AraC と DNR を併用する際の最適なモル比を求めるため、マウスリンパ球性白血病細胞株である P388 細胞を腹腔内移植した雌性 BDF-1 マウス（各群 6 例）に対し、生理食塩液（対照群）又は NS-87 を 2:0.8 mg/kg、10:4 mg/kg の用量で投与した。また、AraC と DNR のモル比が異なる 3 種のリポソーム製剤をそれぞれ 3 用量ずつ投与した。薬物投与は腫瘍細胞の腹腔内移植後 1、4、7 日目に静脈内投与にて行った。移植後 63 日目まで観察し、生存数、生存期間の中央値（MST）及び生存期間延長率（%ILS）を比較した。

（2） 結果

本試験において、対照群の MST は 9.5 日であり、移植後 63 日目まで生存した個体はいなかったのに対し、NS-87 投与群は用量依存的な生存延長作用を示し、NS-87 の 10:4 mg/kg 投与群の MST は 63 日以上、%ILS は 563%以上となり、移植後 63 日目の生存数は 6 例中 5 例であった。また、NS-87 の 10:4 mg/kg 投与群は、モル比 11.6:1 のリポソーム製剤の 10:2 mg/kg 投与群や 15:3 mg/kg 投与群と同程度の MST 及び%ILS を示した。さらに、NS-87 の 10:4 mg/kg 投与群はモル比 3:1 または 1:1 のリポソーム製剤投与群に比べ、最も強い生存延長作用を示した（図 2.6.2.2.1.2-1）。

以上より、AraC 及び DNR を 5:1 から 11.6:1 の比率でリポソーム製剤としたときに、最も強い生存延長作用を示すと考えられた。



矢印は生理食塩液又は薬剤の投与日を示す。
CPX-351：NS-87
Cyt：AraC
Daun：DNR
Liposome A～C：モル比の異なるリポソーム製剤
MTD：最大耐用量

図 2.6.2.2.1.2-1 NS-87 及び種々のモル比のリポソーム製剤を投与した P388 細胞移植モデルマウスの生存率

［4.2.1.1-17 Figure 2 を引用］

2.6.2.2.2 NS-87 と非リポソーム型 AraC・DNR 混合物との比較

NS-87 と非リポソーム型 AraC・DNR 混合物又は非リポソーム型単剤（AraC 又は DNR）との薬効を比較するため、種々の白血病モデルマウスを用いて *in vivo* 試験を実施した。

2.6.2.2.2.1 P388 細胞移植モデルマウスにおける検討（試験番号 SR050705、資料番号 4.2.1.1-18、評価資料）

（1） 方法

本試験は P388 細胞移植モデルマウスに対し、NS-87 と非リポソーム型薬剤を投与した以下の 2 試験をまとめたものである。

a) 試験 1（NC003CT412 試験）

P388 細胞を腹腔内に移植した雌性 BDF-1 マウス（各群 6 例）に対し、生理食塩液（対照群）または NS-87 を 6.25:2.5 mg/kg、12.5:5 mg/kg の用量で投与した。また、非リポソーム型 AraC・DNR の混合物を 12.5:5 mg/kg、18.5:7.5 mg/kg の用量で投与した。さらに、非リポソーム型 AraC 単剤を

1000 mg/kg で投与した。薬物処置はマウスの腹腔内へ腫瘍細胞を移植した後 1、4、7 日目に静脈内投与にて行った。移植後 67 日目まで観察し、生存数、 MST 及び%ILS を比較した。

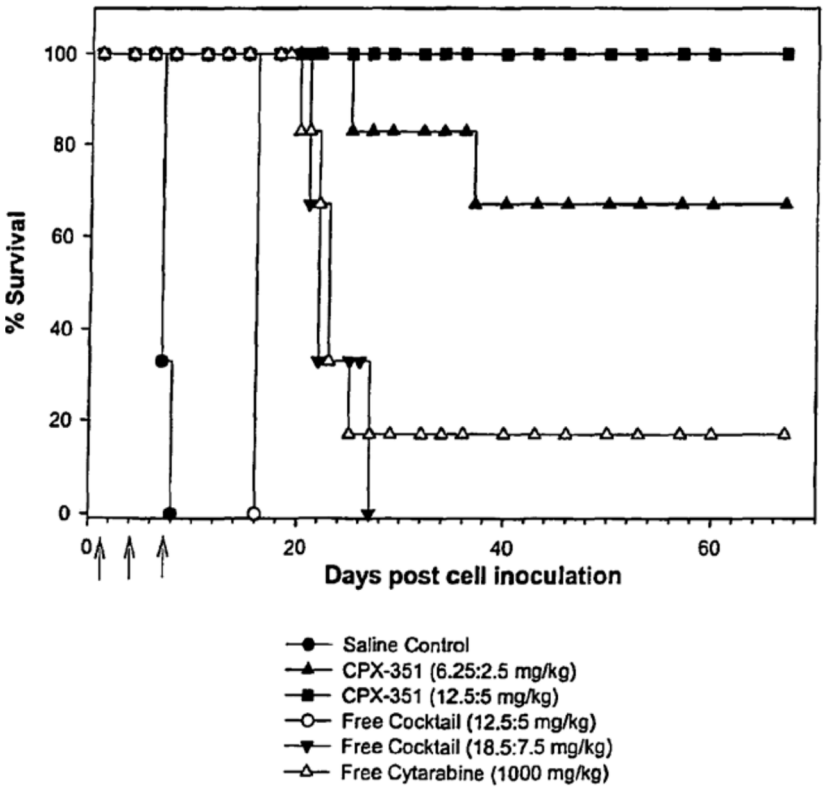
b) 試験 2（NC003CT340 試験）

非リポソーム型 AraC・DNR 混合物及びそれぞれの非リポソーム型薬剤の単剤での用量依存性を検討するため、P388 細胞を腹腔内に移植した雌性 BDF-1 マウス（各群 4 例）に対し、生理食塩液（対照群）又は非リポソーム型 AraC・DNR の混合物を 400:6 mg/kg、600:9 mg/kg、800:12 mg/kg、1000:15 mg/kg の用量で投与した。また、非リポソーム型 AraC 単剤は 400、600、800、1000 mg/kg、非リポソーム型 DNR 単剤は 6、9、12、15 mg/kg にて投与した。薬物処置はマウスの腹腔内へ腫瘍細胞を移植した後 1、4、7 日目に静脈内投与にて行った。移植後 67 日目まで観察し、生存数、MST 及び%ILS を比較した。

（2） 結果

試験 1 において、対照群の MST は 7.0 日で、移植後 67 日目まで生存した個体はいなかったのに対し、NS-87 投与群は用量依存的な生存延長作用を示し、NS-87 の 12.5:5 mg/kg 投与群の MST は 67 日以上、%ILS は 857%以上となり、移植後 67 日目の生存数は 5 例中 5 例であった。一方、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物投与群はいずれの投与量においても、NS-87 投与群に比べ MST は短く、%ILS は小さく、移植後 67 日目まで生存した個体はいなかった（図 2.6.2.2.2.1-1）。さらに、非リポソーム型 AraC 単剤投与群においては、MST が 23.0 日、%ILS が 229%となり、移植後 67 日目の生存数は 6 例中 1 例であった。

試験 2 では、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物及びそれぞれの非リポソーム型薬剤単剤の用量依存性を検討した。その結果、非リポソーム型 DNR 単剤では、用量依存的な%ILS の増加が認められ、非リポソーム型 AraC 単剤でも 400 から 800 mg/kg において僅かな用量依存性が見られた。試験 2 においては、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物の 400:6 mg/kg 用量群で最も MST、%ILS ともに大きかったが、試験 1 の NS-87 投与群（6.25:2.5 mg/kg 及び 12.5:5 mg/kg ）のほうが MST、%ILS ともに上回った。これらの結果より、非リポソーム型薬剤を併用又は単剤で最大用量投与するよりも、リポソーム封入型である NS-87 を低用量で投与するほうが強い生存延長作用を示すことがわかった。



矢印は生理食塩液又は薬剤の投与日を示す。
CPX-351：NS-87
Free Cocktail：非リポソーム型 AraC・DNR 混合物
Free Cytarabine：非リポソーム型 AraC

図 2.6.2.2.2.1-1 NS-87、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物及び非リポソーム型 AraC 単剤を投与した P388 細胞移植モデルマウスの生存率

［4.2.1.1-18 Figure 1 を引用］

2.6.2.2.2.2 WEHI-3B 細胞移植モデルマウスにおける検討（試験番号 SR190805、資料番号 4.2.1.1-19、評価資料）

（1） 方法

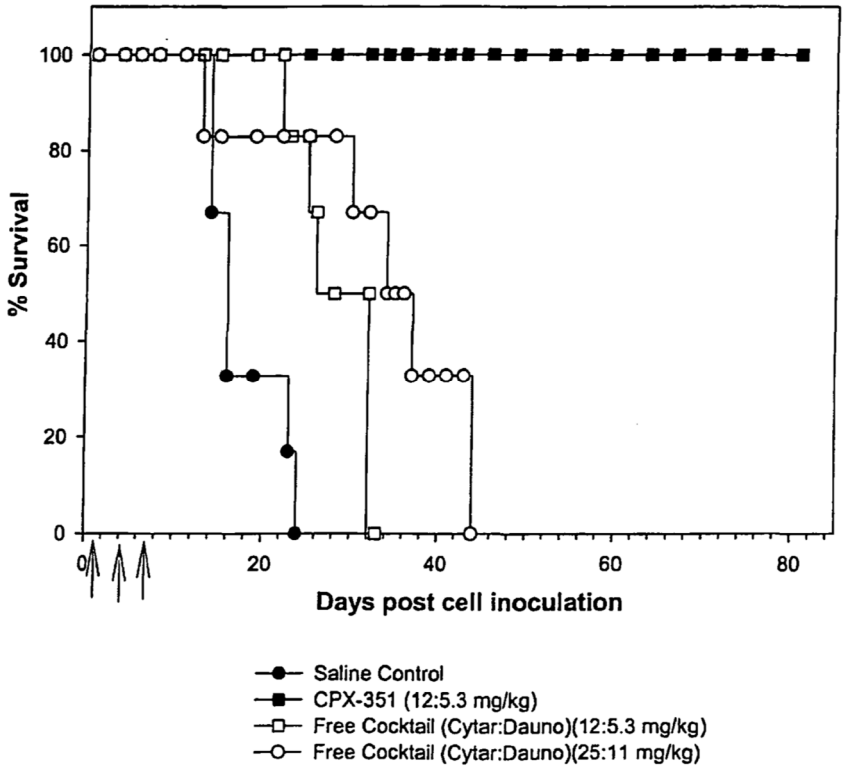
マウス骨髄単球性白血病細胞株である WEHI-3B を腹腔内に移植した雌性 CD-1 ヌードマウス（各群 6 例）に対し、生理食塩液（対照群）又は NS-87 を 6:2.64 mg/kg、10:4.4 mg/kg、12:5.3 mg/kg の用量で投与した。また、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物を 12:5.3 mg/kg、25:11 mg/kg、300:4.5 mg/kg、600:9 mg/kg の用量で投与した。薬物処置はマウスの腹腔内へ腫瘍細胞を移植した後 1、4、7 日目に静脈内投与にて行った。移植後 82 日目まで観察し、生存数、MST 及び%ILS を比較した。

（2） 結果

本試験において、対照群の MST は 16.0 日で、移植後 82 日目まで生存した個体はいなかったのに対し、NS-87 投与群は用量依存的な生存延長作用を示し、NS-87 の 12:5.3 mg/kg 投与群の MST は 82 日以上、%ILS は 413%以上となり、移植後 82 日目のマウス生存数は 6 例中 6 例であった。

一方、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物の 12:5.3 mg/kg 投与群は、MST が 30.5 日、%ILS が 91%であり、82 日目まで生存した個体はいなかった（図 2.6.2.2.2.2-1）。

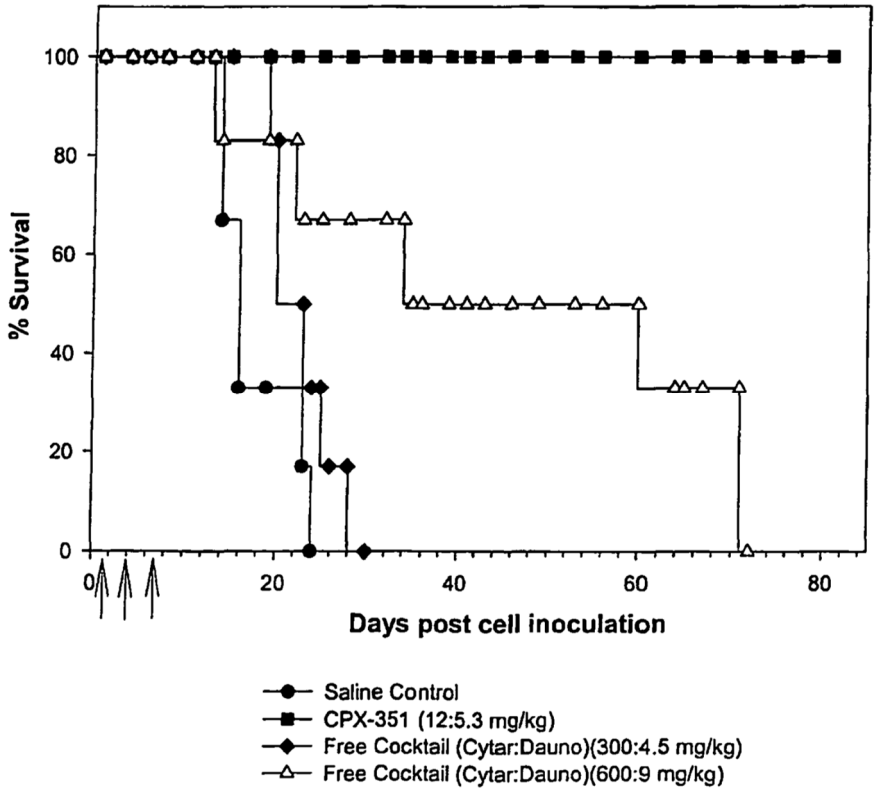
また、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物を 25:11 mg/kg で投与した群の MST は 35.5 日、%ILS は 122%であり、非リポソーム型 AraC・DNR を 600:9 mg/kg で投与した群においては、MST は 49.5 日、%ILS は 209%であったが（図 2.6.2.2.2.2-2）、NS-87 投与群と比較し顕著な体重減少を含む毒性所見が認められた。



矢印は生理食塩液又は薬剤の投与日を示す。
CPX-351：NS-87
Free Cocktail：非リポソーム型 AraC・DNR 混合物

図 2.6.2.2.2.2-1 NS-87 及び非リポソーム型 AraC・DNR 混合物を投与した WEHI-3B 細胞移植モデルマウスにおける生存率

［4.2.1.1-19 Figure 2 を引用］



矢印は生理食塩液又は薬剤の投与日を示す。
CPX-351：NS-87
Free Cocktail：非リポソーム型 AraC・DNR 混合物

図 2.6.2.2.2.2-2 NS-87 及び非リポソーム型 AraC・DNR 混合物（最大耐用量以上）を投与した WEHI-3B 細胞移植モデルマウスにおける生存率

［4.2.1.1-19 Figure 3 を引用］

2.6.2.2.2.3 CCRF-CEM 細胞移植モデルマウスにおける検討（１）（試験番号 SR250805、資料番号 4.2.1.1-20、評価資料）

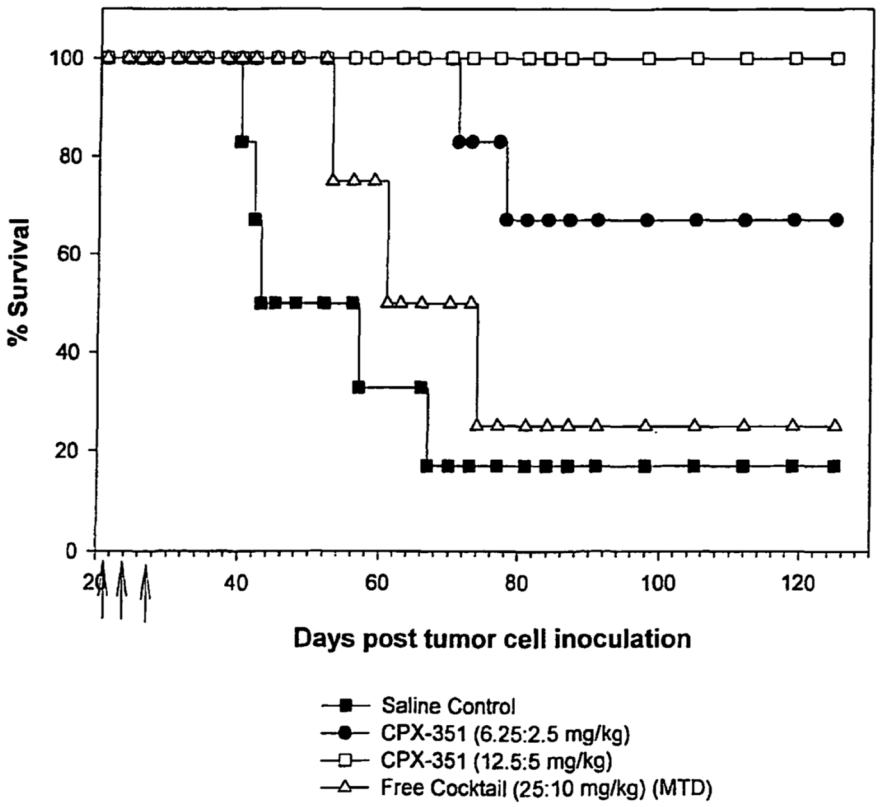
（1） 方法

ヒト急性リンパ芽球性白血病細胞株である CCRF-CEM 細胞を静脈内移植した雌性 SCID/Rag2M マウス（各群 6 例）に対し、生理食塩液（対照群）又は NS-87 を 3.125:1.25 mg/kg、6.25:2.5 mg/kg、12.5:5 mg/kg の用量で投与した。また、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物を 6.25:2.5 mg/kg、12.5:5 mg/kg、25:10 mg/kg の用量で投与した。薬物処置はマウスの静脈内へ腫瘍細胞を移植した後 21、24、27 日目に静脈内投与にて行った。移植後 126 日目まで観察し、生存数、MST 及び%ILS を評価した。

（2） 結果

本試験において、対照群の MST が 50.0 日で、移植後 126 日目まで生存した個体は 6 例中 1 例だったのに対し、NS-87 の 6.25:2.5 mg/kg 及び 12.5:5 mg/kg 投与群が MST、%ILS ともに最も大きく、MST が 126 日以上、%ILS は 152%以上となった。また、移植後 126 日目における生存数は、6.25:2.5 mg/kg 投与群で 6 例中 4 例、12.5:5 mg/kg 投与群では 5 例中 5 例（1 例は直腸脱のため評

価より除外）であり、用量依存性が認められた。一方、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物を 12.5:5 mg/kg で投与した群においては、MST が 57.5 日、%ILS が 15%となり、非リポソーム型 AraC・DNR を 25:10 mg/kg で投与した群においては MST が 67.5 日、%ILS が 35%に過ぎなかった。また、移植後 126 日目における生存数はそれぞれ 6 例中 0 例、4 例中 1 例（尾部腫脹の 1 例及び直腸脱の 1 例を評価より除外）にとどまった（図 2.6.2.2.2.3-1）。



矢印は生理食塩液又は薬剤の投与日を示す。
CPX-351：NS-87
Free Cocktail：非リポソーム型 AraC・DNR 混合物

図 2.6.2.2.2.3-1 NS-87 及び非リポソーム型 AraC・DNR 混合物を投与した CCRF-CEM 細胞移植モデルマウスの生存率

［4.2.1.1-20 Figure 3 を引用］

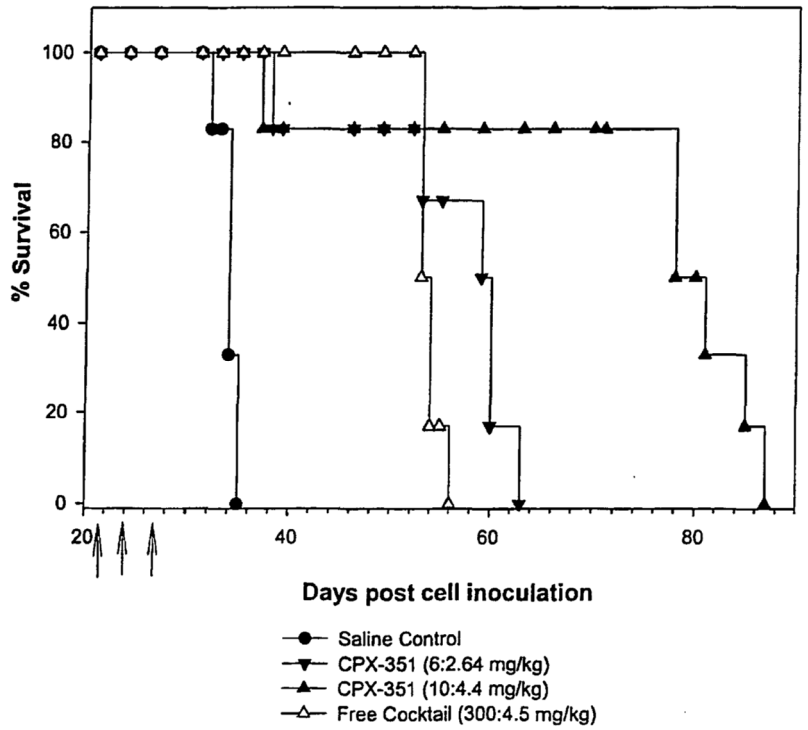
2.6.2.2.2.4 CCRF-CEM 細胞移植モデルマウスにおける検討（２）（試験番号 SR060905、資料番号 4.2.1.1-21、評価資料）

（1） 方法

CCRF-CEM 細胞を静脈内移植した雌性 SCID/Rag2M マウス（各群 6 例）に対し、生理食塩液（対照群）又は NS-87 を 6:2.64 mg/kg、10:4.4 mg/kg、12:5.3 mg/kg の用量で投与した。また、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物を NS-87 とモル比が同等で、等用量以上である 25:11 mg/kg、300:4.5 mg/kg、600:9 mg/kg の用量で投与した。薬物処置はマウスの静脈内へ腫瘍細胞を移植した後 21、24、27 日目に静脈内投与にて行った。移植後 87 日目まで観察し、MST 及び%ILS を比較した。

（2） 結果

本試験において、対照群の MST が 34.0 日であったのに対し、NS-87 の 10:4.4 mg/kg 投与群では最大効果を示し、MST が 79.5 日、%ILS が 134%であった。一方、NS-87 の 12:5.3 mg/kg 投与群は忍容性がなく、顕著な有害事象と高い死亡率が認められ（4.2.1.1-21 Table 2 及び Table 3 参照）、本試験においては 10:4.4 mg/kg が最大耐用量となった。また、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物の 300:4.5 mg/kg 投与群においては、MST が 53.5 日、%ILS が 57%であった（図 2.6.2.2.2.4-1）。さらに、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物の 25:11 mg/kg 及び 600:9 mg/kg 投与群においては、顕著な体重減少や有害事象が認められた。



矢印は生理食塩液又は薬剤の投与日を示す。
CPX-351：NS-87
Free Cocktail：非リポソーム型 AraC・DNR 混合物

図 2.6.2.2.2.4-1 NS-87 及び非リポソーム型 AraC・DNR 混合物（NS-87 とモル比が同等で、等用量以上）を投与した CCRF-CEM 細胞移植モデルマウスの生存率

［4.2.1.1-21 Figure 2 を引用］

2.6.2.2.2.5 HL-60B 細胞移植モデルマウスにおける検討（試験番号 SR160905、資料番号 4.2.1.1-22、評価資料）

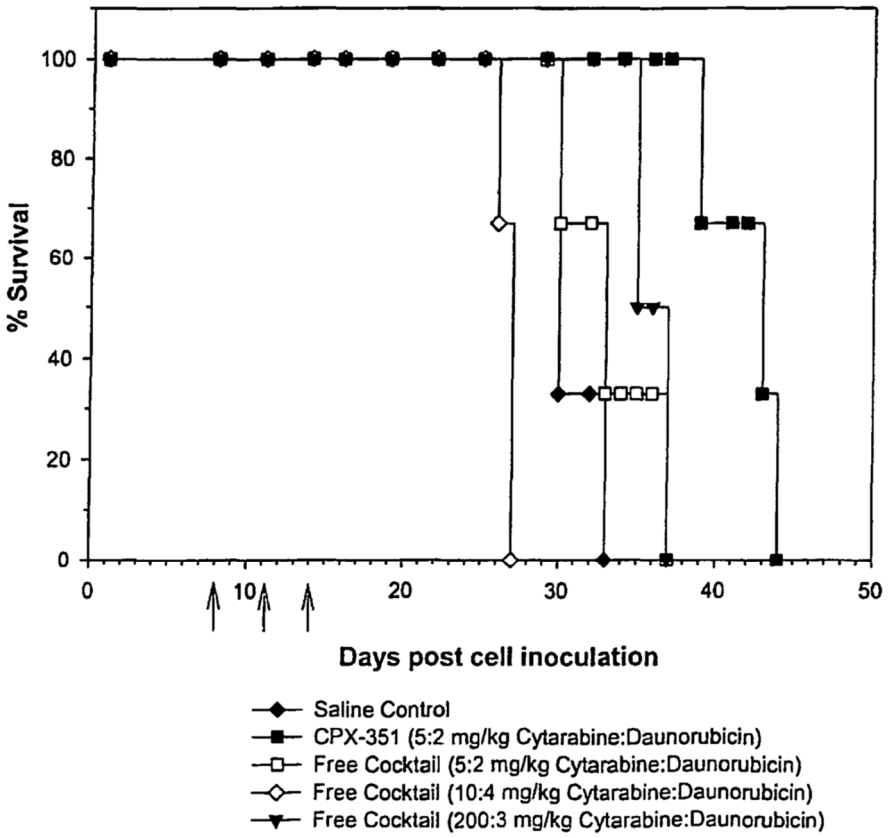
（1） 方法

HL-60B 細胞は、親細胞である HL-60 を移植した白血病モデルマウスの末梢血から単離したヒト急性前骨髄球性白血病細胞株であり、生体内増殖に適応した細胞である。HL-60B 細胞を静脈内移植した雌性 SCID/CB17SC-M マウス（各群 6 例）に対し、生理食塩液（対照群）又は NS-87 を 2.5:1 mg/kg、5:2 mg/kg の用量で投与した。また、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物を 5:2 mg/kg、

10:4 mg/kg、200:3 mg/kg の用量で投与した。薬物処置はマウスの静脈内へ腫瘍細胞を移植した後 8、11、14 日目に静脈内投与にて行った。移植後 45 日目まで観察し、MST 及び%ILS を比較した。

（2） 結果

本試験において、対照群の MST は 30.0 日だったのに対し、NS-87 投与群は用量依存的な生存延長作用を示し、NS-87 の 5:2 mg/kg 投与群の MST は 43.0 日、%ILS は 43%となった。また、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物の 5:2 mg/kg 投与群においては、MST が 33.0 日、%ILS が 10%となり、NS-87 投与群と比較し生存期間が短かった。非リポソーム型 AraC・DNR 混合物では、200:3 mg/kg 投与群においても、NS-87 投与群と比較し MST は短く、%ILS は小さくなった（図 2.6.2.2.2.5-1）。



矢印は生理食塩液又は薬剤の投与日を示す。
CPX-351：NS-87
Free Cocktail：非リポソーム型 AraC・DNR 混合物

図 2.6.2.2.2.5-1 NS-87 及び非リポソーム型 AraC・DNR 混合物を投与した HL-60B 細胞移植モデルマウスの生存率

［4.2.1.1-22 Figure 2 を引用］

2.6.2.2.2.6 小括

以上の結果より、NS-87 は、種々の白血病モデルマウスにおいて、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物又は非リポソーム型単剤（AraC 又は DNR）と比較して最も強い生存延長作用を示した。

2.6.2.2.3 NS-87 と AraC 又は DNR の単剤リポソームとの比較

NS-87 と AraC 又は DNR の単剤リポソームとの薬効を比較するため、種々の白血病モデルマウスを用いて *in vivo* 試験を実施した。

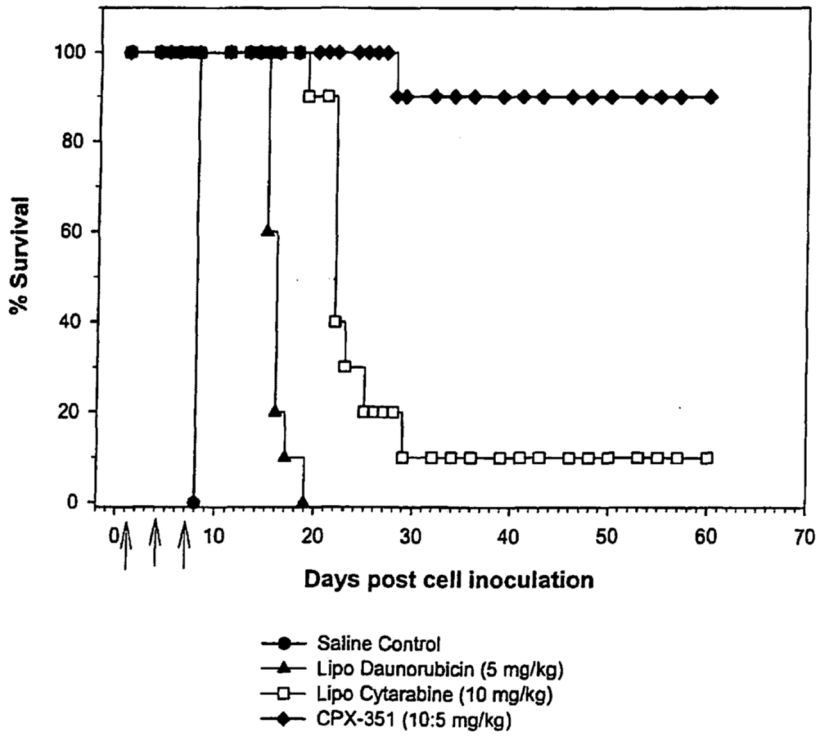
2.6.2.2.3.1 P388 細胞移植モデルマウスにおける検討（試験番号 SR250505、資料番号 4.2.1.1-23、評価資料）

（1） 方法

P388 細胞を腹腔内に移植した雌性 BDF-1 マウス（各群最大 10 例）に対し、生理食塩液（対照群）又は NS-87 を 2.5:1.25 mg/kg、5:2.5 mg/kg、10:5 mg/kg の用量で投与した。また、AraC の単剤リポソームは 5、10、15 mg/kg、DNR の単剤リポソームは 2.5、5、10 mg/kg で投与した。薬物処置は移植後 1、4、7 日目に静脈内投与にて行った。移植後 60 日目まで観察し、生存数、MST 及び%ILS を比較した。

（2） 結果

本試験において、対照群の MST は 8.0 日で、60 日目まで生存した個体はいなかったのに対し、NS-87 投与群は用量依存的な生存延長作用を示し、NS-87 の 10:5 mg/kg 投与群の MST は 60 日以上、%ILS は 650%以上となり、60 日目の生存数は 10 例中 9 例であった。一方、10 mg/kg の AraC の単剤リポソーム投与群の MST は 22.0 日、%ILS は 175%、生存数は 10 例中 1 例であり、5 mg/kg の DNR の単剤リポソーム投与群の MST は 16.0 日、%ILS は 100%、生存数は 10 例中 0 例であった。また、AraC 又は DNR の単剤リポソームをさらに増量した群においても、NS-87 の 10:5 mg/kg 投与群と比較し MST は短く、%ILS は小さくなった（図 2.6.2.2.3.1-1）。



矢印は生理食塩液又は薬剤の投与日を示す。
CPX-351：NS-87
Lipo Daunorubicin：DNR の単剤リポソーム
Lipo Cytarabine：AraC の単剤リポソーム

図 2.6.2.2.3.1-1 NS-87 及び単剤リポソーム（AraC 又は DNR）を投与した P388 細胞移植モデルマウスにおける生存率

［4.2.1.1-23 Figure 2 を引用］

2.6.2.2.3.2 L1210 細胞移植モデルマウスにおける検討（試験番号 SR220705、資料番号 4.2.1.1-24、評価資料）

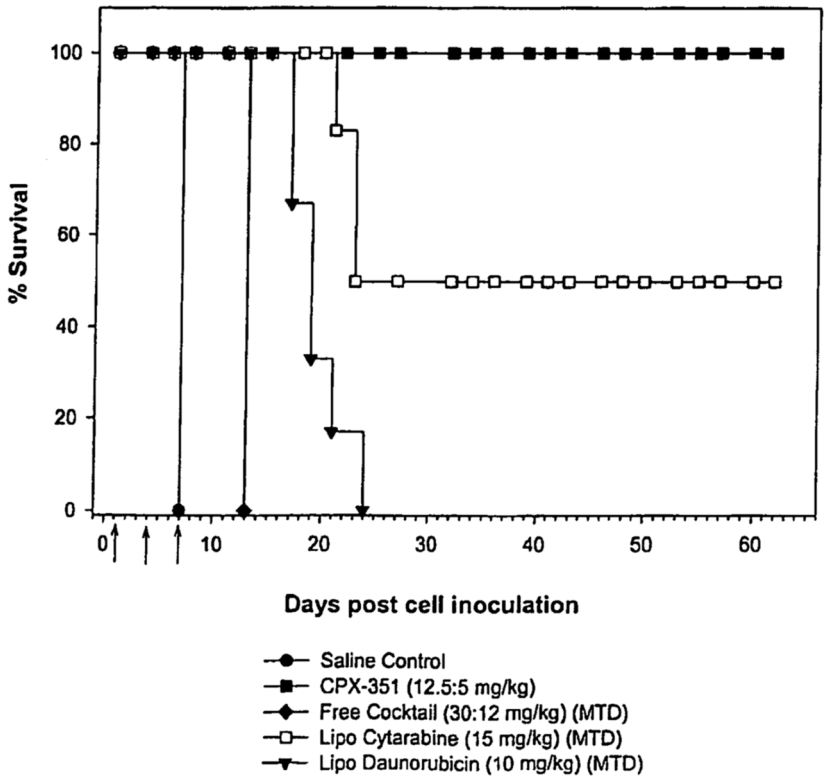
（1） 方法

マウスリンパ性白血病細胞株である L1210 細胞を腹腔内に移植した雌性 BDF-1 マウス（各群 6 例）に対し、生理食塩液（対照群）又は NS-87 を 3.2:1.25 mg/kg、12.5:5 mg/kg の用量で投与した。また、AraC の単剤リポソームは 3.2、15 mg/kg、DNR の単剤リポソームは 1.25、10 mg/kg の用量で投与した。さらに、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物を 12.5:5 mg/kg、30:12 mg/kg の用量で投与した。薬物処置はマウスの腹腔内へ腫瘍細胞を移植した後 1、4、7 日目に静脈内投与にて行った。移植後 64 日目まで観察し、生存数、MST 及び%ILS を比較した。

（2） 結果

本試験において、対照群の MST は 7.0 日で、移植後 64 日目まで生存した個体はいなかったのに対し、NS-87 投与群は用量依存的な生存延長作用を示し、NS-87 の 12.5:5 mg/kg 投与群の MST は 64 日以上、%ILS は 814%以上となり、移植後 64 日目における生存数は 6 例中 6 例だった。一方、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物の 30:12 mg/kg 投与群では、MST が 13.0 日、%ILS が 86%となり、移植後 64 日目まで生存した個体はいなかった。また、AraC 又は DNR の単剤リポソーム

の最大量投与群においては、MST がそれぞれ 43.5 日、19.0 日、%ILS は 521%、171%にとどまった。なお、AraC 又は DNR の単剤リポソームの最大量投与群において 64 日目まで生存した個体は AraC の単剤リポソーム投与群で 6 例中 3 例であり、DNR の単剤リポソーム投与群では認められなかった（図 2.6.2.2.3.2-1）。



矢印は生理食塩液又は薬剤の投与日を示す。
CPX-351：NS-87
Free Cocktail：非リポソーム型 AraC・DNR 混合物
Lipo Daunorubicin：DNR の単剤リポソーム
Lipo Cytarabine：AraC の単剤リポソーム

図 2.6.2.2.3.2-1 NS-87、単剤リポソーム（AraC 又は DNR）及び非リポソーム型 AraC・DNR 混合物を投与した L1210 細胞移植モデルマウスにおける生存率

［4.2.1.1-24 Figure 1 を引用］

2.6.2.2.3.3 P388 細胞移植モデルマウスにおける検討（試験番号 SR221105、資料番号 4.2.1.1-25、評価資料）

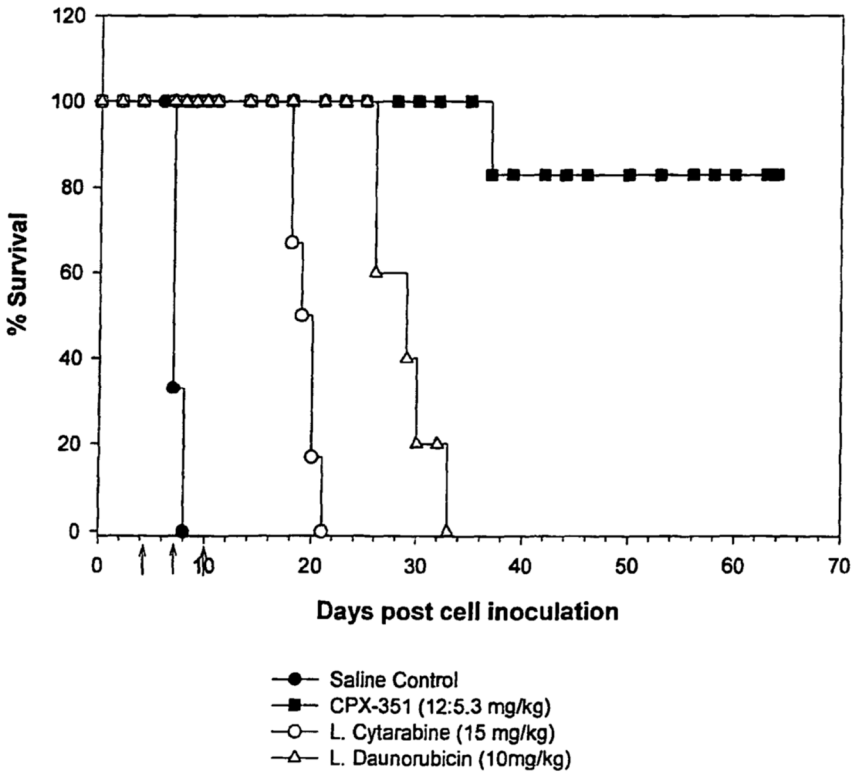
（1） 方法

マウスリンパ球性白血病細胞株である P388 細胞を腹腔内に移植した雌性 BDF-1 マウス（各群 6 例）に対し、生理食塩液（対照群）又は NS-87 を 6:2.64 mg/kg、10:4.4 mg/kg、12:5.3 mg/kg の用量で投与した。また、AraC の単剤リポソームは 10、15 mg/kg、DNR の単剤リポソームは 4.4、10 mg/kg にて投与した。本試験では、薬剤の薬効をより厳正に評価するため、P388 細胞移植モデルマウスを用いた他の試験と比べて薬剤投与開始時期を 3 日間ずつ遅らせ、マウスの腹腔内への腫

瘍細胞移植後 4、7、10 日目に静脈内投与にて行った。移植後 64 日目まで観察し、生存数、MST 及び%ILS を比較した。

（2） 結果

本試験において、対照群の MST が 7.0 日で、移植後 64 日目まで生存した個体はいなかったのに対し、NS-87 投与群は用量依存的な生存延長作用を示し、NS-87 の 12:5.3 mg/kg 投与群における MST は 64 日以上、%ILS は 814%以上となり、移植後 64 日目における生存数は 6 例中 5 例であった。一方、AraC 又は DNR の単剤リポソームの最大量投与群においては、AraC の単剤リポソーム投与群で MST が 19.5 日、%ILS が 179%、DNR の単剤リポソーム投与群では MST が 29.5 日、%ILS が 321%にとどまった。また、64 日目まで生存した個体はいなかった（図 2.6.2.2.3.3-1）。



矢印は生理食塩液又は薬剤の投与日を示す。
CPX-351：NS-87
L. Daunorubicin：DNR 単剤のリポソーム
L. Cytarabine：AraC 単剤のリポソーム

図 2.6.2.2.3.3-1 NS-87 及び単剤リポソーム（AraC 又は DNR）を投与した P388 細胞移植モデルマウスにおける生存率

［4.2.1.1-25 Figure 3 を引用］

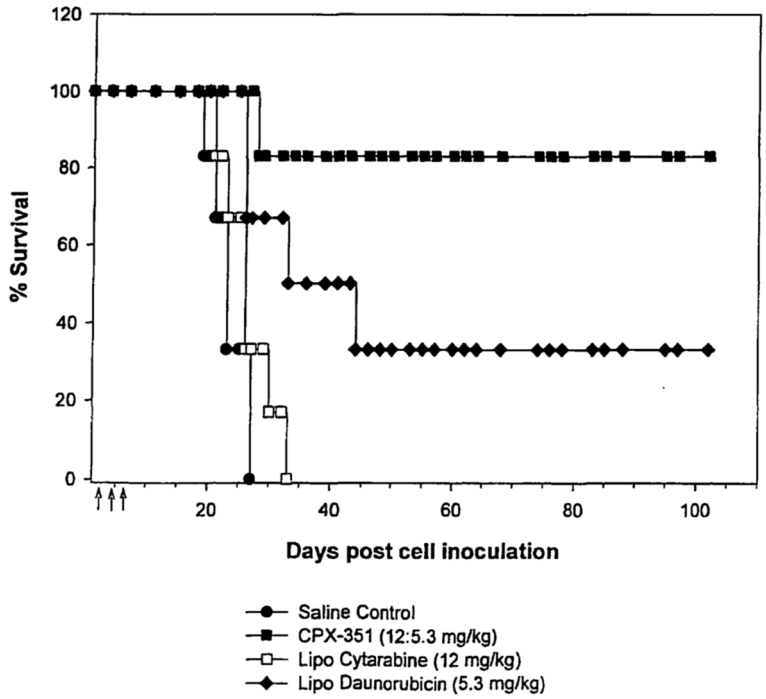
2.6.2.2.3.4 WEHI-3B 細胞移植モデルマウスにおける検討（試験番号 SR011205、資料番号 4.2.1.1-26、評価資料）

（1） 方法

マウス骨髄単球性白血病細胞株である WEHI-3B を腹腔内に移植した雌性 CD-1 ヌードマウス（各群 6 例）に対し、生理食塩液（対照群）又は NS-87 を 6:2.64 mg/kg、10:4.4 mg/kg、12:5.3 mg/kg の用量で投与した。また、AraC の単剤リポソームを 12、20 mg/kg、DNR の単剤リポソームを 5.3、12 mg/kg で投与した。薬物処置はマウスの腹腔内に腫瘍細胞を移植後 1、4、7 日目に静脈内投与にて行った。移植後 102 日目まで観察し、生存数、MST 及び%ILS を比較した。

（2） 結果

本試験において、対照群の MST は 23.0 日で、移植後 102 日目まで生存した個体はいなかったのに対し、NS-87 投与群は用量依存的な生存延長作用を示し、NS-87 の 12:5.3 mg/kg 投与群における MST は 102 日以上、%ILS は 343%以上となった。また、102 日目における生存数は 6 例中 5 例であった。一方、NS-87 の 12:5.3 mg/kg 投与群と等用量での AraC 又は DNR の単剤リポソーム投与群において、AraC の単剤リポソーム投与群で MST が 26.0 日、%ILS が 13%であり、102 日目における生存数は 6 例中 0 例であった。また、DNR の単剤リポソーム投与群では MST が 38.5 日、%ILS が 67%となり、102 日目における生存数は 6 例中 2 例であった（図 2.6.2.2.3.4-1）。



矢印は生理食塩液又は薬剤の投与日を示す。
CPX-351：NS-87
Lipo Daunorubicin：DNR 単剤のリポソーム
Lipo Cytarabine：AraC 単剤のリポソーム

図 2.6.2.2.3.4-1 NS-87 及び単剤リポソーム（AraC 又は DNR）を投与した WEHI-3B 細胞移植モデルマウスにおける生存率

［4.2.1.1-26 Figure 2 を引用］

2.6.2.2.3.5 小括

NS-87 は、AraC 又は DNR の単剤リポソームと比較して、種々の白血病モデルマウスにおいて最も強い生存延長作用を示した。AraC や DNR の単剤リポソームの作用は中程度であるが、これらが 5:1 のモル比で組み合わされることにより、生存延長作用が最大限発揮されたと考えられた。

2.6.2.2.4 NS-87 の CCRF-CEM 細胞移植マウスにおける骨髄内分布（試験番号 SR150105、資料番号 4.2.1.1-27、評価資料）

2.6.2.2.4.1 CCRF-CEM 細胞移植マウスにおける NS-87 の骨髄への蓄積

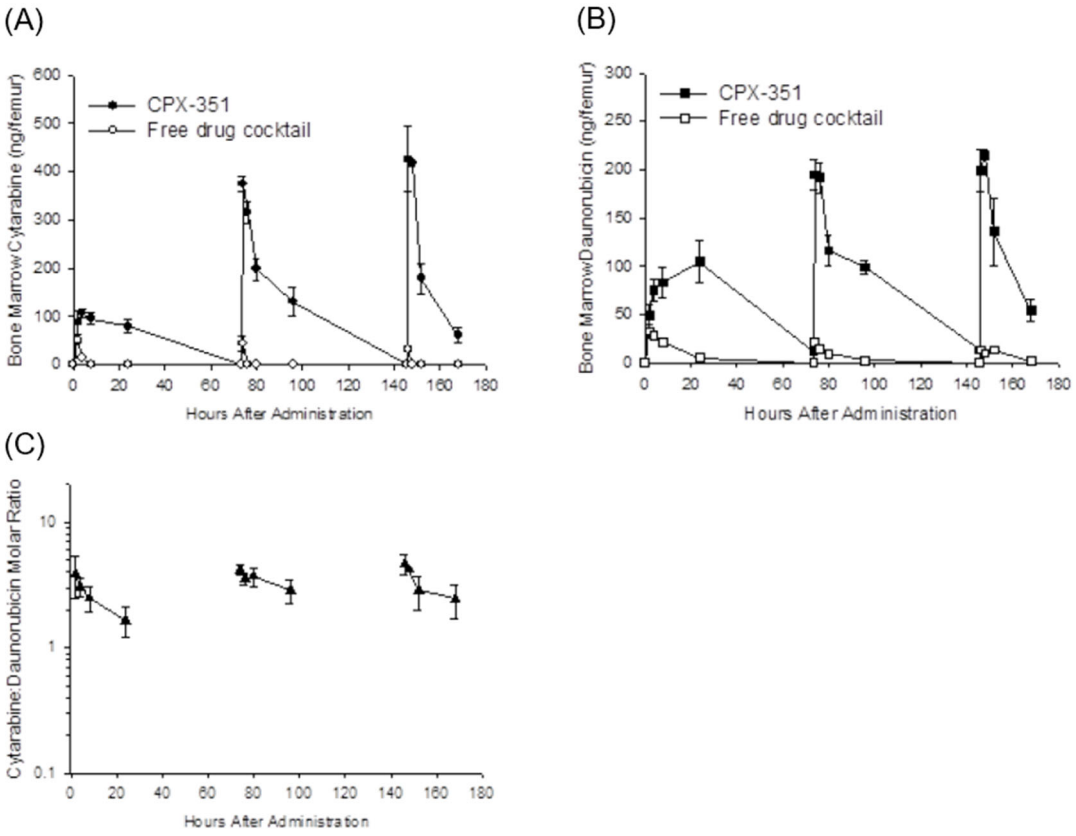
（1） 方法

CCRF-CEM 細胞（ヒト急性リンパ芽球性白血病細胞株）を雌性 Rag2-M マウスの尾静脈から移植し、3 週間後に NS-87（10:4:4 mg/kg）及び非リポソーム型 AraC・DNR 混合物（300:4.5 mg/kg）を 3 日ごとに 3 回、静脈内投与をおこなった。薬物投与から 2、4、8、24 時間後にマウスの大腿骨から骨髄を採取し、骨髄中の AraC 濃度と DNR 濃度を高速液体クロマトグラフィーによって測定した。

（2） 結果

CCRF-CEM 細胞移植モデルマウスに NS-87 又は非リポソーム型 AraC・DNR 混合物を投与し、骨髄内の薬物濃度を測定したところ、ほぼすべての測定時点において、NS-87 投与群は非リポソーム型 AraC・DNR 混合物投与群に比べて骨髄中 AraC 濃度及び DNR 濃度が上回っており、骨髄中の AraC と DNR のモル比は 24 時間後まで 5:1～2:1 付近を維持した（図 2.6.2.2.4.1-1）。

以上より、NS-87 は AraC と DNR の最適なモル比を維持できることに加えて、非リポソーム型 AraC・DNR 混合物に比べて骨髄中で長時間にわたって高濃度を維持できるという優れた特徴を有することが示された。



CPX-351：NS-87
Free Cocktail：非リポソーム型 AraC・DNR 混合物

図 2.6.2.2.4.1-1 CCRF-CEM 細胞移植マウスにおける NS-87 及び非リポソーム型 AraC・DNR 混合物の骨髄内薬物動態

薬剤投与後 2、4、8、24 時間後のマウス骨髄内の AraC 濃度（A）及び DNR 濃度（B）を高速液体クロマトグラフィーによって測定した。（C）AraC:DNR のモル比を大腿骨における薬物濃度から算出した。

［4.2.1.1-27 Figure 5 を引用］

2.6.2.2.4.2 CCRF-CEM 細胞移植マウスの骨髄における NS-87 の CCRF-CEM 細胞への取り込み

（1） 方法

CCRF-CEM 細胞（ヒト急性リンパ芽球性白血病細胞株）を雌性 Rag2-M マウスの尾静脈から移植し、4 週間後に二重放射標識［[^{3}H]AraC 及び[^{14}C] DPPC（リポソーム脂質：ジパルミトイルホスファリジルコリン）］した NS-87（10:4.4 mg/kg）を単回、静脈内投与した。薬剤投与から 18 時間後にマウスの大腿骨から骨髄細胞を採取した。骨髄細胞は抗ヒト CD45 磁気ビーズを用いて、CCRF-CEM 細胞（ヒト CD45 陽性細胞）とマウス正常骨髄細胞（ヒト CD45 陰性細胞）に分離した。それぞれの細胞画分において、放射標識された AraC 濃度とリポソーム脂質濃度をシンチレーションカウンターで測定し、DNR 濃度を高速液体クロマトグラフィーによって測定した。

（2） 結果

CCRF-CEM 細胞及びマウス正常骨髄細胞における NS-87 の取り込みを調べたところ、10^6 個の CCRF-CEM 細胞あたり AraC が 24 pmol、DNR が 16 pmol 含有されており、CCRF-CEM 細胞ではマウス正常骨髄細胞に比べて AraC が 9 倍以上、DNR が 2 倍以上含有されることが分かった。また、CCRF-CEM 細胞はマウス正常骨髄細胞に比べて約 2 倍のリポソーム脂質を取り込んだことから、CCRF-CEM 細胞でリポソームの取り込みが多いことで薬剤の取り込みが高まったと考えられた。以上の結果から、NS-87 は骨髄において正常細胞よりも白血病細胞に取り込まれやすいことが示唆された。

2.6.2.2.4.3 NS-87 の白血病細胞への取り込み機構

（1） 方法

NS-87 の細胞内分布と細胞への取り込み機構を調べるため、インドカルボシアニン色素（DiD）でリポソーム脂質膜（DPPC）を標識した NS-87 を CCRF-CEM 細胞（ヒト急性リンパ芽球性白血病細胞株）及び K562（ヒト慢性骨髄性白血病細胞株）に添加した。30 分後及び 24 時間後に蛍光共焦点顕微鏡で DiD の青色蛍光及び DNR の赤色自己蛍光を観察した。また、CCRF-CEM 細胞に 100 μM DNR を含む NS-87 又は 100 μM の非リポソーム型 DNR を添加し、4°C で 1 時間インキュベーションした後、微分干渉顕微鏡にて細胞の形態を、蛍光共焦点顕微鏡にて DNR の赤色自己蛍光を観察した。

（2） 結果

NS-87 の時間依存的な細胞内分布を調べるため、蛍光共焦点顕微鏡を用いて DNR の赤色自己蛍光を検出したところ、CCRF-CEM 細胞及び K562 細胞のいずれにおいても、DNR は添加後 30 分には核への移行が認められ、24 時間まで継続した（図 2.6.2.2.4.3-1）。リポソームの挙動を示す DiD（青色蛍光）は、NS-87 添加後 30 分では細胞膜、核周辺、細胞質に点状に確認されたが、DiD は 24 時間後には減少したことから、NS-87 のリポソーム成分が取り込まれて処理されたと考えられた。このように DNR とリポソーム成分がともに細胞内に分布したことは NS-87 の細胞内への取り込みを示唆するものである。

また、4°C の条件で、NS-87 又は非リポソーム型 DNR を CCRF-CEM 細胞に添加したところ、非リポソーム型 DNR は CCRF-CEM 細胞に取り込まれたが、NS-87 に封入されている DNR は細胞に取り込まれなかったことから（図 2.6.2.2.4.3-2）、NS-87 は非リポソーム型の薬剤とは異なる輸送経路で細胞に取り込まれることが示唆された。

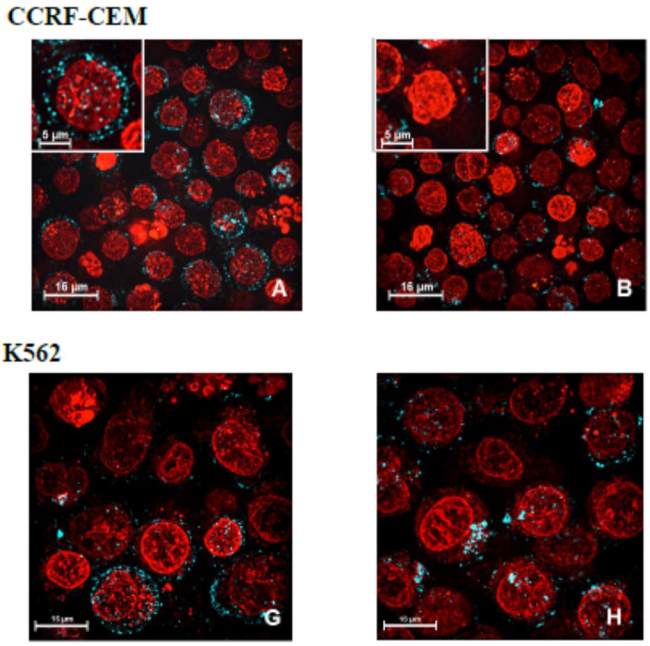


図 2.6.2.2.4.3-1　CCRF-CEM 細胞及び K562 細胞への DiD 標識 NS-87 の取り込み

DiD 標識したリポソーム脂質及び 100 μM DNR を含む NS-87 を CCRF-CEM 細胞（A 及び B）又は K562 細胞（G 及び H）に対して、30 分間（A 及び G）又は 24 時間（B 及び H）処置した。画像は蛍光共焦点顕微鏡で撮影した（DiD は青色蛍光、DNR は赤色自己蛍光）。

［4.2.1.1-27 Figure 7 を改変］

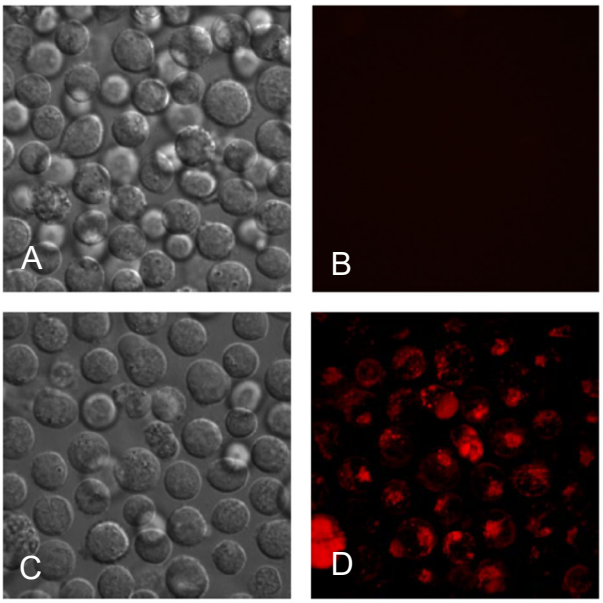


図 2.6.2.2.4.3-2　4°C における NS-87 および非リポソーム型 DNR の細胞内取り込み

100 μM DNR を含む NS-87（A 及び B）又は 100 μM 非リポソーム型 DNR（C 及び D）を CCRF-CEM 細胞に 4°C で 1 時間処置した。蛍光共焦点顕微鏡（B 及び D、DNR は赤色自己蛍光）及び微分干渉顕微鏡（A 及び C）で撮影した。

［4.2.1.1-27 Figure 8 を引用］

2.6.2.3 副次的薬理試験

該当試験なし。

2.6.2.4 安全性薬理試験

ICH S9（抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン）に従い、NS-87 の独立した安全性薬理試験は実施せず、一般毒性試験に組み込んだ以下の項目により中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に対する NS-87 の影響を評価した。

表 2.6.2.4-1 NS-87 を用いた安全性薬理試験の概要

試験項目	動物種/系統	投与方法	投与量（units/kg）	性別及び動物数/群	GLP適用	試験番号
中枢神経系						
神経学的評価	ラット/SD	静脈内 20 mL/kg/hr	0, 5, 10, 15/10	雌雄：5~10	適	1005-0361
心血管系						
12 誘導心電図検査	イヌ/ビーグル	静脈内 20 mL/kg/hr	NS-87：0*, 1, 2, 3 非リポソーム：2:0.88 mg/kg AraC:DNR	雌雄：1~3	適	1005-0372
呼吸器系						
一般状態観察及び病理組織学的検査	ラット/SD	静脈内 20 mL/kg/hr	0, 5, 10, 15/10	雌雄：5~10	適	1005-0361
一般状態観察及び病理組織学的検査	イヌ/ビーグル	静脈内 20 mL/kg/hr	NS-87：0*, 1, 2, 3 非リポソーム：2:0.88 mg/kg AraC:DNR	雌雄：1~3	適	1005-0372

*：生理食塩液投与群及び銅含有リポソーム投与群

2.6.2.4.1 中枢神経系

（試験番号 1005-0361、資料番号 4.2.3.2-1、評価資料）

ラットを用いた 2 サイクル持続静脈内投与毒性試験において中枢神経系パラメータに及ぼす影響について評価した。8~9 週齢の雌雄 SD ラット（各群 5～10 例）に NS-87 を 0（対照群、媒体：生理食塩液）、5、10 及び 15/10 units/kg の用量で 2 サイクル投与（3 回/週を 3 週間ごとに 2 サイクル、すなわち 1、3、5、22、24 及び 26 日目投与）し、連日の一般状態観察及び投与開始から 33 日目にホームケージ内の行動、ハンドリング時の行動、オープンフィールド内の行動、刺激に対する応答、体温の項目について神経学的評価を実施した。なお、15 units/kg 投与群は死亡及び瀕死を含む重度の一般状態悪化が認められたため、3 又は 5 日目投与から投与量を 10 units/kg に減量した。

5 units/kg では対照群と比較して明らかな神経学的変化及び中枢影響を示唆する一般状態変化は認められなかった。10 units/kg 以上の投与群では重篤な毒性発現のため中枢神経系に対する影響を評価できなかった。

2.6.2.4.2 心血管系

（試験番号 1005-0372、資料番号 4.2.3.2-2、評価資料）

イヌを用いた 2 サイクル持続静脈内投与毒性試験において心血管系パラメータに及ぼす影響について評価した。8~9 か月齢の雌雄ビーグルイヌに NS-87 を 0（生理食塩液）、0（銅含有リポソーム）、1、2、3 units/kg あるいは非リポソーム型 AraC・DNR 混合物を 2 units/kg 相当の用量で 2 サイクル投与（3 回/週を 3 週間ごとに 2 サイクル、すなわち 1、3、5、22、24 及び 26 日目投与）し、投与前、投与開始から 7 日目及び 33 日目に拘束下 12 誘導心電図検査を実施した。なお、NS-87 2 units/kg 以上の投与群は 1 サイクル投与後に認められた死亡あるいは重度の状態悪化から 2 サイクル目の投与を実施しなかった。

NS-87 投与群において、1 units/kg の用量では心電図影響は認められなかった。2 units/kg の用量では 2 サイクル目は投与されていないものの 7 日目、33 日目とも心電図検査は実施しており、いずれも影響は認められなかった。3 units/kg の用量では 7 日目の検査では心電図影響は認められず、33 日目の検査は全例死亡又は瀕死期安楽死処置のため実施できなかった。

銅含有リポソーム投与群及び非リポソーム型 AraC・DNR 混合物投与群においても心電図影響は認められなかった。

2.6.2.4.3 呼吸器系

（試験番号 1005-0361, 1005-0372、資料番号 4.2.3.2-1, 4.2.3.2-2、評価資料）

ラット及びイヌを用いた 2 サイクル持続静脈内投与毒性試験において一般状態観察及び病理組織学的検査により呼吸器系に対する影響を評価した。ラットでは 10 units/kg 以上、イヌでは 2 units/kg 以上の投与群において、一般状態悪化に関連した努力呼吸や呼吸数の増加が認められたが、呼吸器系に病理組織学的所見は認められなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当試験なし。

2.6.2.6 考察及び結論

急性骨髄性白血病（AML）に対する標準治療として、過去 30 年以上にわたって AraC とアントラサイクリン系薬剤の併用療法が用いられてきた。AraC 及び DNR の併用レジメンは、個々の薬剤の最大耐用量や臨床的な経験に基づいて発展してきたものであるが、2 つの薬剤の相互作用を細胞レベルで理解することに焦点を当てた研究はほとんど行われてこなかった。しかしながら、近年の研究において、複数種類の抗がん剤を併用した際に、薬剤の比率によっては腫瘍細胞に対して相乗作用を示す一方で、別の比率では相加作用や拮抗作用を示すことも明らかになってきた[2,3]。これらの先行研究をもとに、AraC と DNR を併用した際に効果的な抗腫瘍作用を示す最適なモル比を探索するため、AraC と DNR のモル比を 1:10 から 10:1 まで変化させた条件で、15 種類の腫瘍細胞株（白血病細胞株 7 種、及び、固形がん細胞株 8 種）に対して *in vitro* 細胞増殖抑制試験を実施した。これらの 15 種類の細胞株は組織特異性を考慮したものではなく、過去から AraC と DNR の抗腫瘍活性試験に用いられてきた細胞株である。この 15 種類の細胞株を用いた併用試

験の結果､相乗作用を示す割合が高く､かつ拮抗作用を示す割合が低いモル比として､AraC と DNR のモル比 5:1 が同定された。

NS-87 は、抗腫瘍作用を発揮するのに最適な 5:1 のモル比で AraC と DNR が封入され、長時間にわたり血漿中においてこの最適なモル比を維持できるリポソーム製剤である。NS-87 は極めて安定であり、臨床試験においても、NS-87 投与後 24 時間以内にリポソームから放出された AraC は最大でも 3.51%、DNR も最大で 1.86%に過ぎないことが示されている（CLTR0310-206 試験、5.3.4.2-1 Table 8-7 及び Table 8-14 参照）。また、マウスに NS-87 を単回静脈内投与した試験において、少なくとも 24 時間までは血漿中で AraC と DNR のモル比が 5:1 に近い比に保たれており（2.6.4.3.1.3 項参照）、骨髄中でも AraC と DNR のモル比は 5:1～2:1 であり、血漿中と同様に最適なモル比（5:1）付近で維持されることも明らかとなっている。

CCRF-CEM 細胞を移植した Rag2-M マウスに対し、NS-87 及び非リポソーム型 AraC 及び DNR 混合物を 3 日ごとに 3 回静脈内投与したところ、NS-87 投与群では非リポソーム型 AraC・DNR 混合物投与群に比べて、骨髄中の AraC と DNR 濃度が高かった。さらに、同 CCRF-CEM 細胞移植マウスに対し AraC 及びリポソーム脂質を放射標識した NS-87 を単回静脈内投与し、骨髄内の細胞分布を調べたところ、正常骨髄細胞に比べて CCRF-CEM 細胞において、AraC は約 9 倍、DNR は約 2 倍、リポソーム脂質は約 2 倍多く取り込まれた。このように、NS-87 は血漿及び骨髄において、AraC と DNR の最適なモル比である 5:1 付近が維持され、かつ、CCRF-CEM 細胞移植マウスにおいて非リポソーム型 AraC・DNR 混合物に比べて骨髄への移行性が高く、骨髄内においても正常細胞よりも白血病細胞に多く取り込まれる特性を有することが明らかとなった。

さらに、各種の白血病細胞を移植したモデルマウスにおいて、AraC と DNR の 5:1 のモル比の適切性、非リポソーム型薬剤に比べたリポソーム製剤の優位性、AraC や DNR 単剤リポソーム製剤に比べた NS-87 の有効性が実験的に検証された。

すなわち、P388 細胞を移植したモデルマウスを用いて複数のモル比を検討した試験において、モル比 5:1 及びモル比 11.6:1 のリポソーム製剤（NS-87）投与群でマウスの生存数が最も多かったが、モル比 3:1 や 1:1 のリポソーム製剤投与群ではマウスの生存数は少なかった。

また、非リポソーム型の AraC と DNR のモル比 5:1 混合物と NS-87 の薬効を比較するため、4 種類の細胞株（P388 細胞、WEHI-3B、CCRF-CEM 細胞、HL-60B 細胞）をそれぞれ移植したモデルマウスにおいて、マウスの生存数と生存延長作用を評価した。さらに、AraC 単剤のリポソーム製剤や DNR 単剤のリポソーム製剤と NS-87 の薬効を比較するため､3 種類の細胞株（P388 細胞、L1210 細胞、WEHI-3B 細胞）をそれぞれ移植したモデルマウスでも同様の試験を実施した。いずれの試験においても、AraC と DNR を配合したリポソーム製剤である NS-87 において最もマウスの生存数が多く、かつ、強い生存日数延長作用が見られるという結果が得られた。これらの一連の *in vivo* 試験の結果より、AraC と DNR が 5:1 のモル比でリポソーム中に安定的に封入されている NS-87 の特徴が、マウスを用いた *in vivo* 試験の薬効に寄与したと考えられた。

なお､15 種類の腫瘍細胞株を用いた *in vitro* 細胞増殖抑制試験において､AraC 単剤又は DNR 単剤の 50%阻害濃度（IC_{50} 値）を比較したところ、AraC の IC_{50} 値が細胞株によって最大で約 4800 倍異なるのに対し、DNR では各細胞株に対する IC_{50} 値は類似していた。一連の *in vivo* 試験においては、白血病株のうち、AraC 感受性の高い白血病細胞株 CCRF-CEM（IC_{50} 値 0.0083 μM）、L1210

（IC_{50} 値 0.039 μM）、P388（IC_{50} 値 0.036 μM）、感受性が中程度の白血病細胞株 WEHI-3B（IC_{50} 値 0.37 μM）、感受性が低い白血病細胞株 HL-60（IC_{50} 値 1.9 μM）が用いられた。しかし、これらの細胞株を移植したモデルマウスでは、細胞株による AraC 感受性の違いは認められず、NS-87 は移植した細胞株によらず、有意な生存延長作用を示した。これらの細胞株における *in vitro* での AraC 感受性の違いについて機序が明らかでないため考察は困難であるが、*in vivo* 試験において AraC と DNR が一定のモル比を保ったまま持続的に曝露されたことが、*in vitro* 試験で見られた AraC 感受性の差を縮小した要因と考えられた。さらに、Gordon ら[4]は、53 例の AML 患者、及び 127 例の急性リンパ芽球性白血病（ALL）、骨髄異形成症候群/骨髄増殖性腫瘍（MDS/MPN）、慢性リンパ性白血病（CLL）/リンパ腫の患者から単離された末梢血単核球又は骨髄単核球を用いて、NS-87 の *ex vivo* 細胞増殖抑制作用を調べた。その結果、NS-87 は、AML 由来検体だけでなくすべての検体に対して有効性を示し、その作用濃度は NS-87 の臨床使用時の血漿中濃度に比べて十分に低かった。これらの結果より、NS-87 は各細胞に対する AraC 感受性によらず、AML を含めた血液がんに対して幅広い有効性を示すことが示唆された。

安全性薬理試験については独立した試験は実施せず、反復投与毒性試験において中枢神経系及び心血管系への影響を評価した結果、ラット中枢神経系に対しては 5 units/kg まで、イヌ心血管系に対しては 1 units/kg まで影響が認められなかった。より高用量については重篤な毒性発現により十分な評価が実施できなかった。また、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験より NS-87 の呼吸器系への直接作用は示唆されなかった。なお、本剤に含まれる AraC は中枢神経系に[5]、DNR は心血管系[6, 7]に対して副作用を示すことが報告されている。海外臨床試験において、NS-87 投与により AraC 及び DNR 単剤の既知の副作用以上の毒性は認められておらず、実臨床において中枢神経系、心血管系及び呼吸器系における新たな毒性発現の可能性は低いと考えられる。

また、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験において NS-87 又は銅含有リポソーム投与により全血中銅濃度が一過性に上昇したが、銅による中枢神経系、心血管系及び呼吸器系への影響を示唆する変化は認められなかった。

以上の NS-87 の非臨床薬理試験の結果から、次の薬理学的な特徴が明らかになった。

- AraC と DNR のモル比を 5:1 として併用することで *in vitro* 細胞増殖抑制試験において最大の相乗作用を示すことができ、*in vivo* 白血病モデルにおいても、AraC と DNR のモル比を 5:1 から 11.6:1 としたリポソーム製剤が最も強い生存延長作用を示した。
- 白血病モデルマウスにおいて、NS-87 は非リポソーム型 AraC・DNR 混合物や AraC 又は DNR の単剤リポソームと比べて最も強い生存延長作用を示した。
- NS-87 はマウスの血漿中および骨髄において AraC と DNR の 5:1 付近のモル比を維持し、マウス白血病モデルの骨髄において、正常細胞に比べて白血病細胞に多く取り込まれた。
- 安全性薬理試験の評価において、中枢神経系、心血管系及び呼吸器系への直接作用を示唆する変化は認められなかった。

これらの結果は、NS-87 の薬理作用の妥当性を科学的に裏付けるものであり、NS-87 は AML 治療に貢献できるものと考えられた。

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

1. Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv Enzyme Regul. 1984;22:27-55. ＜資料番号 4.3-4＞

2. Mayer LD, Harasym TO, Tardi PG, Harasym NL, Shew CR, Johnstone SA, et al. Ratiometric dosing of anticancer drug combinations: controlling drug ratios after systemic administration regulates therapeutic activity in tumor-bearing mice. Mol Cancer Ther. 2006;5:1854-63. ＜資料番号 4.3-3＞

3. Harasym TO, Tardi PG, Harasym NL, Harvie P, Johnstone SA, Mayer LD. Increased preclinical efficacy of irinotecan and floxuridine coencapsulated inside liposomes is associated with tumor delivery of synergistic drug ratios. Oncol Res. 2007;16:361-74. ＜資料番号 4.3-5＞

4. Gordon MJ, Tardi P, Loriaux MM, Spurgeon SE, Traer E, Kovacsovics T, et al. CPX-351 exhibits potent and direct *ex vivo* cytotoxicity against AML blasts with enhanced efficacy for cells harboring the FLT3-ITD mutation. Leu Res. 2017;53:39-49. ＜資料番号 4.3-6＞

5. Lazarus HM, Herzig RH, Herzig GP, Phillips GL, Roessmann U, Fishman DJ. Central nervous system toxicity of high-dose systemic cytosine arabinoside. Cancer. 1981;48:2577-82. ＜資料番号 4.3-7＞

6. Sishi BJN, Bester DJ, Wergeland A, Loos B, Jonassen AK, van Rooyen J, et al. Daunorubicin therapy is associated with upregulation of E3 ubiquitin ligases in the heart. Exp Biol Med (Maywood). 2012;237:219-26. ＜資料番号 4.3-8＞

7. Jirkovský E, Lenčová-Popelová O, Hroch M, Adamcová M, Mazurová Y, Vávrová J, et al. Early and delayed cardioprotective intervention with dexrazoxane each show different potential for prevention of chronic anthracycline cardiotoxicity in rabbits. Toxicology. 2013;311:191-204. ＜資料番号 4.3-9＞

2.6.3 薬理試験概要表

目次

2.6.3 薬理試験概要表 1
2.6.3.1 薬理試験：一覧表 2
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 5
2.6.3.3 副次的薬理試験 17
2.6.3.4 安全性薬理試験 18
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 19
2.6.3.6 参考文献 19

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

一覧表

被験物質：NS-87 (Cytarabine+Daunorubicin)

試験の種類		試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
効力を裏付ける試験						
AraC 及び DNR の最適なモル比の検討（*in vitro*）	白血病細胞株	CCRF-CEM 細胞（ヒト急性リンパ芽球性白血病）	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR-041115BN	4.2.1.1-1（評価資料）
		HL-60 細胞（ヒト急性前骨髄球性白血病）	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR-030515AH	4.2.1.1-2（評価資料）
		KBM-3 細胞（ヒト急性骨髄性白血病）	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR-041019BC	4.2.1.1-3（評価資料）
		L1210 細胞（マウスリンパ球性白血病）	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR-030814PC	4.2.1.1-4（評価資料）
		MOLT-4 細胞（ヒト急性リンパ芽球性白血病）	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR-040204MS	4.2.1.1-5（評価資料）
		P388 細胞（マウスリンパ球性白血病）	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR-040312HR	4.2.1.1-6（評価資料）
		WEHI-3B 細胞（マウス骨髄単球性白血病）	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR-040414MS	4.2.1.1-7（評価資料）
	固形がん細胞株	A253 細胞（ヒト頭頸部がん）	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR-030613BOC	4.2.1.1-8（評価資料）
		BXPC-3 細胞（ヒト膵臓がん）	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR-030620BOC	4.2.1.1-9（評価資料）
		COLON-26 細胞（ヒト大腸がん）	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR-030630PC	4.2.1.1-10（評価資料）
		HCT-116 細胞（ヒト大腸がん）	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR-030618PC	4.2.1.1-11（評価資料）
		HT-29 細胞（ヒト大腸がん）	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR-030604PC	4.2.1.1-12（評価資料）

一覧表（続き）

試験の種類		試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
AraC 及び DNR の最適なモル比の検討（*in vitro*）（続き）	固形がん細胞株（続き）	IGROV-1 細胞（ヒト卵巣がん）	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR-030718PC	4.2.1.1-13（評価資料）
		LS-180 細胞（ヒト大腸がん）	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR-030319MW	4.2.1.1-14（評価資料）
		SW620 細胞（ヒト大腸がん）	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR-030925TT	4.2.1.1-15（評価資料）
	細胞株まとめ	上記 15 種類の細胞株	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	FR-051212TH	4.2.1.1-16（評価資料）
AraC 及び DNR の最適なモル比の検討（*in vivo*）		P388 細胞腹腔内移植モデルマウス	静脈内	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR090905	4.2.1.1-17（評価資料）
NS-87 と非リポソーム型薬剤（AraC・DNR、AraC 単剤）との薬効比較		P388 細胞腹腔内移植モデルマウス	静脈内	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR050705	4.2.1.1-18（評価資料）
		WEHI-3B 細胞腹腔内移植モデルマウス	静脈内	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR190805	4.2.1.1-19（評価資料）
		CCRF-CEM 細胞静脈内移植モデルマウス	静脈内	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR250805	4.2.1.1-20（評価資料）
			静脈内	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR060905	4.2.1.1-21（評価資料）
		HL-60B 細胞静脈内移植モデルマウス	静脈内	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR160905	4.2.1.1-22（評価資料）
NS-87 と単剤リポソーム（AraC、DNR）との薬効比較		P388 細胞腹腔内移植モデルマウス	静脈内	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR250505	4.2.1.1-23（評価資料）
			静脈内	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR221105	4.2.1.1-25（評価資料）
		L1210 細胞腹腔内移植モデルマウス	静脈内	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR220705	4.2.1.1-24（評価資料）
		WEHI-3B 細胞腹腔内移植モデルマウス	静脈内	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR011205	4.2.1.1-26（評価資料）

一覧表（続き）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
細胞内への取り込み機構及び細胞内分布	CCRF-CEM 細胞及び K562 細胞	*in vitro*	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR150105	4.2.1.1-27（評価資料）
骨髄移行性の検討	CCRF-CEM 細胞静脈内移植モデルマウス	静脈内	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR150105	4.2.1.1-27（評価資料）
白血病細胞選択的な取り込み作用	CCRF-CEM 細胞静脈内移植モデルマウス	静脈内	Celator Pharmaceuticals（カナダ）	SR150105	4.2.1.1-27（評価資料）
副次的薬理試験：該当試験なし					
安全性薬理試験					
中枢神経系に及ぼす影響	ラット	静脈内	[redacted]（カナダ）	1005-0361	4.2.3.2-1（評価資料）
心血管系に及ぼす影響	イヌ	静脈内	[redacted]（カナダ）	1005-0372	4.2.3.2-2（評価資料）
呼吸器系に及ぼす影響	ラット	静脈内	[redacted]（カナダ）	1005-0361	4.2.3.2-1（評価資料）
	イヌ	静脈内	[redacted]（カナダ）	1005-0372	4.2.3.2-2（評価資料）
薬力学的薬物相互作用試験：該当試験なし					

Celator Pharmaceuticals ：現 Jazz Pharmaceuticals、[redacted]：現 [redacted]

AraC：シタラビン、DNR：ダウノルビシン

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

2.6.3.2.1 *In vitro* での AraC と DNR の最適なモル比の検討

試験項目	試験系	試験成績						試験番号（CTD 記載箇所）
		AraC:DNR のモル比	1:10	1:5	1:1	5:1	10:1	
効力比	CCRF-CEM 細胞（ヒト急性リンパ芽球性白血病）	Combination index（CI）[a]	1.0	0.4	1.5	1.8	1.2	FR-051212TH（4.2.1.1-16、評価資料）
	HL-60 細胞（ヒト急性前骨髄球性白血病）		1.2	1.1	0.8	0.8	1.1	
	KBM-3 細胞（ヒト急性骨髄性白血病）		1.1	1.2	1.2	1.2	1.0	
	L1210 細胞（マウスリンパ球性白血病）		1.3	1.3	1.4	0.9	1.3	
	MOLT-4 細胞（ヒト急性リンパ芽球性白血病）		0.7	1.0	1.0	1.4	1.4	
	P388 細胞（マウスリンパ球性白血病）		1.2	1.5	0.8	0.9	0.9	
	WEHI-3B 細胞（マウス骨髄単球性白血病）		1.0	1.0	1.1	1.2	1.4	
	A253 細胞（ヒト頭頸部がん）		1.0	1.0	1.1	0.8	0.9	
	BXPC-3 細胞（ヒト膵臓がん）		1.2	1.2	1.2	1.1	0.8	
	COLON-26 細胞（ヒト大腸がん）		0.9	0.9	0.8	1.0	1.2	
	HCT-116 細胞（ヒト大腸がん）		0.7	0.8	0.9	0.9	1.0	
	HT-29 細胞（ヒト大腸がん）		1.0	1.0	1.1	0.9	0.9	
	IGROV-1 細胞（ヒト卵巣がん）		1.4	1.1	1.3	1.0	0.8	
	LS-180 細胞（ヒト大腸がん）		0.7	0.6	0.6	0.8	0.7	
	SW620 細胞（ヒト大腸がん）		1.2	1.1	1.1	0.8	0.9	
	相乗/相加/拮抗作用[b]を示した細胞株の数		4/5/6	4/7/4	5/5/5	8/3/4	7/3/5	
	相乗作用を示した細胞の割合（%）		26.7	26.7	33.3	53.3	46.7	
	拮抗作用を示した細胞の割合（%）		40.0	26.7	33.3	26.7	33.3	

個々の細胞株での試験成績は 4.2.1.1-1～4.2.1.1-15 を参照。

a：Median effect analysis 法を用いて 75% effective dose（ED75）での combination index（CI）を求めた。CI 算出には、併用による高い細胞増殖阻害率及び Chou and Talalay algorithm の正確性（CI は 20%～80% effective dose で表すことが望ましい）[1)]を考慮し、ED75 を採択した。

b：AraC 及び DNR の併用効果は、CI≦0.9：相乗作用、0.9＜CI≦1.1：相加作用、CI＞1.1：拮抗作用と判断した。

2.6.3.2.2　*In vivo* での AraC と DNR の最適なモル比の検討

被験物質：NS-87 (Cytarabine+Daunorubicin)

試験項目	試験系 投与方法	試験成績								試験番号 (CTD 記載箇所)
		被験物質	AraC：DNR		生存数[a] /評価例数	生存日数[b] （日）	生存延長 日数[c] （日）	%ILS[d]	P 値[e]	
			投与量 (mg/kg)	モル比						
生存延長作用	P388 細胞腹腔内移植モデルマウス（BDF-1 マウス、雌性、各群 6 例） 静脈内 移植後 1、4、7 日	生理食塩液（対照）	―	―	0/6	9.5	0.0	0	―	SR090905（4.2.1.1-17、評価資料）
		NS-87	2：0.8	5：1	0/6	15.0	5.5	58	< 0.001	
			10：4		5/6[f]	> 63.0	> 53.5	> 563	< 0.001	
		Liposome A	3：0.6	11.6：1	0/6	17.0	7.5	79	< 0.001	
			10：2		5/6	> 63.0	> 53.5	> 563	< 0.001	
			15：3		5/6	> 63.0	> 53.5	> 563	< 0.001	
		Liposome B	2.6：2	3：1	0/6	24.0	14.5	147	< 0.001	
			10：7.7		3/6	47.0	37.5	395	< 0.001	
			13：10[g]		1/6	―	―	―	―	
		Liposome C	1.1：2.5	1：1	0/6	19.0	9.5	100	< 0.001	
			4.3：10		4/6	> 63.0	> 53.5	> 563	< 0.001	
			5.4：12.5		2/6	44.0	34.5	358	< 0.001	

P388 細胞（1×10^6 cells/匹）を腹腔内移植してモデルマウスを作製した。観察最終日（移植後 63 日目）に生存している動物には P388 細胞（1×10^6 cells）を再移植し、瀕死/安楽死処置まで観察した（再移植後からの生存日数中央値：7～9 日）。

AraC：シタラビン、DNR：ダウノルビシン、P388：マウスリンパ球性白血病細胞

a：観察最終日（移植後 63 日目）に生存している動物数をカウントした。

b：中央値。最終日に生存している動物は「> 63.0」とした。

c：生存延長日数＝（各群の生存日数中央値）－（対照群の生存日数中央値）で算出した。各群の生存日数中央値＞63.0 の場合は「> 53.5」とした。

d：%ILS (% increase in life span)＝［（各群の生存延長日数）/（対照群の生存日数）］×100

e：Log-rank 検定、対照群との生存日数の比較。

f：1 例が 57 日目に死亡したが、残り 5 例は観察最終日（63 日目）まで生存していた。

g：MTD を超える用量（15%以上の体重減少が 2 日を超えて認められる or 10%以上の死亡例が認められる）であった。

2.6.3.2.3　NS-87 と非リポソーム型薬剤との薬効比較

（1）　P388 細胞腹腔内移植モデルマウスにおける検討

被験物質：NS-87 (Cytarabine+Daunorubicin)

［試験 1：Study NC003CT412］

試験項目	試験系 投与方法	試験成績							試験番号 (CTD 記載箇所)
		被験物質	AraC：DNR 投与量[a] (mg/kg)	生存数[b] /評価例数	生存日数[c] （日）	生存延長 日数[d] （日）	%ILS[e]	P 値[f]	
生存延長作用	P388 細胞腹腔内移植モデルマウス（BDF-1 マウス、雌性、各群 6 例） 静脈内 移植後 1、4、7 日	生理食塩液 （対照）	－	0/6	7.0	0.0	－	－	SR050705 （ 4.2.1.1-18 、評価資料）
		NS-87	6.25：2.5	4/6	＞67	＞60	＞857	0.0006	
			12.5：5	5/5[g]	＞67	＞60	＞857	0.0006	
		非リポソーム型 混合物 （AraC・DNR）	12.5：5	0/6	16.0	9	129	0.0006	
			18.5：7.5	0/6	22.0	15	214	0.0006	
		非リポソーム型 AraC	1000	1/6	23.0	16	229	0.0006	

P388 細胞（1×10^6 cells/匹）を腹腔内移植してモデルマウスを作製した。観察最終日（移植後 67 日目）に生存している動物には P388 細胞（1×10^6 cells）を再移植し、瀕死/安楽死処置まで観察した（再移植後からの生存日数中央値：7～8 日）。

AraC：シタラビン、DNR：ダウノルビシン、P388 細胞：マウスリンパ球性白血病細胞

a：非リポソーム型 AraC は AraC の投与量を示す。

b：観察最終日（移植後 67 日目）に生存している動物数をカウントした。

c：中央値。最終日に生存している動物は「＞67」とした。

d：生存延長日数＝（各群の生存日数中央値）－（対照群の生存日数中央値）で算出した。各群の生存日数中央値＞67 の場合は「＞60」とした。

e：%ILS (% increase in life span)＝［（各群の生存延長日数）/（対照群の生存日数）］×100

f：Log-rank 検定、対照群との生存日数の比較。

g：21 日目に ulcerated tail（尾部潰瘍化）を呈した 1 例を評価より除外した。

［試験 2：Study NC003CT340］

試験項目	試験系 投与方法	試験成績							試験番号 (CTD 記載箇所)
		被験物質	AraC：DNR 投与量[a] (mg/kg)	生存数[b] /評価例数	生存日数[c] （日）	生存延長 日数[d] （日）	%ILS[e]	P 値[f]	
生存延長作用	P388 細胞腹腔内移植モデルマウス（BDF-1 マウス、雌性、各群 4 例） 静脈内 移植後 1、4、7 日	生理食塩液 （対照）	―	0/4	7.5	0.0	0.0	―	SR050705 （ 4.2.1.1-18 、評価資料）
		非リポソーム型混合物 （AraC・DNR）	400：6	2/4	47.0	39.5	526.7	0.0084	
			600：9	1/4	29.5	22.0	293.3	0.0084	
			800：12[g]	0/4	―	―	―	―	
			1000：15[g]	0/4	―	―	―	―	
		非リポソーム型 AraC	400	0/4	19.0	11.5	153.3	0.0084	
			600	0/4	20.0	12.5	166.7	0.0084	
			800	0/4	23.5	16.0	213.3	0.0084	
			1000	0/4	20.0	12.5	166.7	0.0084	
		非リポソーム型 DNR	6	0/4	12.0	4.5	60.0	0.0084	
			9	0/4	19.0	11.5	153.3	0.0084	
			12	1/4	24.0	16.5	220.0	0.0084	
			15[g]	0/4	―	―	―	―	

P388 細胞（1×10^6 cells/匹）を腹腔内移植してモデルマウスを作製した。観察最終日（移植後 67 日目）に生存している動物には P388 細胞（1×10^6 cells）を再移植し、瀕死/安楽死処置まで観察した（再移植後からの生存日数中央値：7～8 日）。

AraC：シタラビン、DNR：ダウノルビシン、P388 細胞：マウスリンパ球性白血病細胞

a：非リポソーム型 AraC は AraC、非リポソーム型 DNR は DNR の投与量を示す。

b：観察最終日（移植後 67 日目）に生存している動物数をカウントした。

c：中央値

d：生存延長日数＝（各群の生存日数中央値）－（対照群の生存日数中央値）で算出した。

e：%ILS (% increase in life span)＝［（各群の生存延長日数）/（対照群の生存日数）］×100

f：Log-rank 検定、対照群との生存日数の比較。

g：MTD を超える用量（15%以上の体重減少が 2 日を超えて認められる or 10%以上の死亡例が認められる）であった。

(2)　WEHI-3B 細胞腹腔内移植モデルマウスにおける検討

被験物質：NS-87 (Cytarabine+Daunorubicin)

試験項目	試験系 投与方法	試験成績 被験物質	試験成績 AraC：DNR 投与量[a] (mg/kg)	試験成績 生存数[b] /評価例数	試験成績 生存日数[c] （日）	試験成績 生存延長 日数[d] （日）	試験成績 %ILS[e]	試験成績 P 値[f]	試験番号 （CTD 記載箇所）
生存延長作用	WEHI-3B 細胞腹腔内移植モデルマウス （CD-1 ヌードマウス、雌性、各群 6 例） 静脈内 移植後 1、4、7 日	生理食塩液 （対照）	－	0/6	16.0	0.0	0	－	SR190805 （4.2.1.1-19、評価資料）
		NS-87	6：2.64	0/6	24.5	8.5	53	0.0276	
			10：4.4	2/6	39.5	23.5	147	0.0005	
			12：5.3	6/6	＞82	＞66	＞413	0.0005	
		非リポソーム型混合物 （AraC・DNR）	12：5.3	0/6	30.5	14.5	91	0.0023	
			25：11[g]	0/6	35.5	19.5	122	0.0114	
			300：4.5	0/6	23.5	7.5	47	0.0485	
			600：9[g]	0/6	49.5	33.5	209	0.0224	

WEHI-3B 細胞（5×10^5 cells/匹）を腹腔内移植してモデルマウスを作製した。観察最終日（移植後 82 日目）に生存している動物には WEHI-3B 細胞（5×10^5 cells）を再移植し、瀕死/安楽死処置まで観察した（再移植後からの生存日数中央値：11～21 日）。

AraC：シタラビン、DNR：ダウノルビシン、WEHI-3B 細胞：マウス骨髄単球性白血病細胞

a：NS-87 のモル比（AraC：DNR）は 5:1

b：観察最終日（移植後 82 日目）に生存している動物数をカウントした。

c：中央値。最終日に生存している動物は「＞82」とした。

d：生存延長日数＝（各群の生存日数中央値）－（対照群の生存日数中央値）で算出した。各群の生存日数中央値＞82 の場合は「＞66」とした。

e：%ILS (% increase in life span)＝［（各群の生存延長日数）/（対照群の生存日数）］×100

f：Log-rank 検定、対照群との生存日数の比較。

g：MTD を超える用量（15%以上の体重減少が 2 日を超えて認められる or 10%以上の死亡例が認められる）であった。

(3) CCRF-CEM 細胞静脈内移植モデルマウスにおける検討(1)

被験物質：NS-87 (Cytarabine+Daunorubicin)

試験項目	試験系 投与方法	試験成績							試験番号 (CTD 記載箇所)
		被験物質	AraC：DNR 投与量[a] (mg/kg)	生存数[b] /評価例数	生存日数[c] (日)	生存延長 日数[d] (日)	%ILS[e]	P 値[f]	
生存延長作用	CCRF-CEM 細胞静脈内移植モデルマウス (SCID/Rag2M マウス、雌性、各群 6 例) 静脈内 移植後 21、24、27 日	生理食塩液 (対照)	―	1/6	50.0	0.0	0	―	SR250805 (4.2.1.1-20、評価資料)
		NS-87	3.125：1.25	0/6	75.0	25.0	50	0.3628	
			6.25：2.5	4/6	> 126.0	> 76.0	> 152	0.0204	
			12.5：5	5/5[g]	> 126.0	> 76.0	> 152	0.0088	
		非リポソーム型 混合物 (AraC・DNR)	6.25：2.5	0/6	53.5	3.5	7	0.8515	
			12.5：5	0/6	57.5	7.5	15	0.8717	
			25：10	1/4[h]	67.5	17.5	35	0.3964	

CCRF-CEM 細胞（10×10^6 cells/匹）を静脈内移植してモデルマウスを作製した。
AraC：シタラビン、DNR：ダウノルビシン、CCRF-CEM 細胞：ヒト急性リンパ芽球性白血病細胞
a：NS-87 のモル比（AraC：DNR）は 5:1
b：観察最終日（移植後 126 日目）に生存している動物数をカウントした。
c：中央値。最終日に生存している動物は「> 126.0」とした。
d：生存延長日数＝（各群の生存日数中央値）－（対照群の生存日数中央値）で算出した。各群の生存日数中央値＞126.0 の場合は「>76.0」とした。
e：%ILS (% increase in life span)＝［（各群の生存延長日数）/（対照群の生存日数）］×100
f：Log-rank 検定、対照群との生存日数の比較。
g：prolapsed rectum（直腸脱）の 1 例を移植後 31 日に除外した。
h：swollen tail（尾部腫脹）の 1 例を移植後 37 日に、prolapsed rectum（直腸脱）の 1 例を移植後 34 日に除外した。

(4) CCRF-CEM 細胞静脈内移植モデルマウスにおける検討(2)

被験物質：NS-87 (Cytarabine+Daunorubicin)

試験項目	試験系 投与方法	試験成績							試験番号 (CTD 記載箇所)
		被験物質	AraC：DNR 投与量[a] (mg/kg)	生存数[b] /評価例数	生存日数[c] (日)	生存延長 日数[d] (日)	%ILS[e]	P 値[f]	
生存延長作用	CCRF-CEM 細胞静脈内移植モデルマウス (SCID/Rag2M マウス、雌性、各群 6 例) 静脈内 移植後 21、24、27 日	生理食塩液 (対照)	―	0/6	34.0	0.0	0	―	SR060905 (4.2.1.1-21 、評価資料)
		NS-87	6：2.64	0/6	59.5	25.5	75	0.0008	
			10：4.4	0/6	79.5	45.5	134	0.0008	
			12：5.3[g]	0/6	―	―	―	―	
		非リポソーム型 混合物 (AraC・DNR)	25：11[h]	0/6	―	―	―	―	
			300：4.5	0/6	53.5	19.5	57	0.0008	
			600：9[h]	0/6	―	―	―	―	

CCRF-CEM 細胞（10×10^6 cells/匹）を静脈内移植してモデルマウスを作製した。
AraC：シタラビン、DNR：ダウノルビシン、CCRF-CEM 細胞：ヒト急性リンパ芽球性白血病細胞
a：NS-87 のモル比（AraC：DNR）は 5:1
b：観察最終日（移植後 87 日目）に生存している動物数をカウントした。
c：中央値
d：生存延長日数＝（各群の生存日数中央値）－（対照群の生存日数中央値）で算出した。
e：%ILS (% increase in life span)＝［（各群の生存延長日数）/（対照群の生存日数）］×100
f：Log-rank 検定、対照群との生存日数の比較。
g：MTD を超える用量（10%以上の死亡例が認められる）であった。
h：MTD を超える用量（15%以上の体重減少が 2 日を超えて認められる）であった。

(5) HL-60B 細胞静脈内移植モデルマウスにおける検討

被験物質：NS-87 (Cytarabine+Daunorubicin)

試験項目	試験系 投与方法	試験成績							試験番号 (CTD 記載箇所)
		被験物質	AraC：DNR 投与量[a] (mg/kg)	生存数[b] /評価例数	生存日数[c] (日)	生存延長 日数[d] (日)	%ILS[e]	P 値[f]	
生存延長作用	HL-60B 細胞静脈内移植モデルマウス（SCID/CB17SC-M マウス、雌性、各群 6 例） 静脈内 移植後 8、11、14 日	生理食塩液 (対照)	―	0/6	30.0	0.0	0	―	SR160905 （4.2.1.1-22、評価資料）
		NS-87	2.5：1	0/6	35.0	5.0	17	0.006	
			5：2	0/6	43.0	13.0	43	0.0006[g]	
		非リポソーム型 混合物 (AraC・DNR)	5：2	0/6	33.0	3.0	10	0.124	
			10：4	0/6	27.0	-3.0	-10	―	
			200：3	0/6	36.0	6.0	20	0.0006	

HL-60B 細胞（5×10^6 cells/匹）を静脈内移植してモデルマウスを作製した。
AraC：シタラビン、DNR：ダウノルビシン、HL-60B 細胞：ヒト急性前骨髄球性白血病細胞
a：NS-87 のモル比（AraC：DNR）は 5.8:1
b：観察最終日（移植後 45 日目）に生存している動物数をカウントした。
c：中央値
d：生存延長日数＝（各群の生存日数中央値）－（対照群の生存日数中央値）で算出した。
e：%ILS (% increase in life span)＝［（各群の生存延長日数）/（対照群の生存日数）］×100
f：Log-rank 検定、対照群との生存日数の比較。
g：非リポソーム型混合物（5:2、10:4、200:3 mg/kg AraC:DNR）との生存比較では、P 値はそれぞれ 0.0007、0.0012、0.0009（Log-rank 検定）。

2.6.3.2.4　NS-87 と単剤リポソーム（AraC、DNR）との薬効比較

（1）　P388 細胞腹腔内移植モデルマウスにおける検討

被験物質：NS-87 (Cytarabine+Daunorubicin)

試験項目	試験系 投与方法	試験成績							試験番号 (CTD 記載箇所)
		被験物質	AraC：DNR 投与量[a] (mg/kg)	生存数[b] /評価例数	生存日数[c] （日）	生存延長 日数[d] （日）	%ILS[e]	P 値[f]	
生存延長作用	P388 細胞腹腔内移植モデルマウス （BDF-1 マウス、雌性、各群 6～10 例） 静脈内 移植後 1、4、7 日	生理食塩液 （対照）	―	0/10	8.0	0.0	0	―	SR250505 （ 4.2.1.1-23 、評価資料）
		NS-87	2.5：1.25	0/6	17.5	9.5	119	0.0001	
			5：2.5	2/10	27.5	19.5	244	＜0.0001	
			10：5	9/10	＞60	＞52	＞650	＜0.0001	
		AraC の単剤リポソーム	5	0/10	16.0	8.0	100	＜0.0001	
			10	1/10	22.0	14.0	175	＜0.0001	
			15	2/6	47.0	39.0	488	0.0001	
		DNR の単剤リポソーム	2.5	0/10	12.0	4.0	50	＜0.0001	
			5	0/10	16.0	8.0	100	＜0.0001	
			10	0/10	22.0	14.0	175	＜0.0001	

P388 細胞（1×10^6 cells/匹）を腹腔内移植してモデルマウスを作製した。観察最終日（移植後 60～64 日目）に生存している動物には P388 細胞（1×10^6 cells）を再移植し、瀕死/安楽死処置まで観察した（再移植後からの生存日数中央値：8.0 日）。

AraC：シタラビン、DNR：ダウノルビシン、P388 細胞：マウスリンパ球性白血病細胞、AraC の単剤リポソーム：AraC 単剤のみを封入したリポソーム、DNR の単剤リポソーム：DNR 単剤のみを封入したリポソーム

a：NS-87 のモル比（AraC：DNR）は 5:1。AraC の単剤リポソームはリポソームに封入されている AraC の、DNR の単剤リポソームはリポソームに封入されている DNR の投与量を示す。

b：観察最終日（移植後 60 日目）に生存している動物数をカウントした。

c：中央値。最終日に生存している動物は「> 60」とした。

d：生存延長日数＝（各群の生存日数中央値）－（対照群の生存日数中央値）で算出した。各群の生存日数中央値> 60 の場合は「> 52」とした。

e：%ILS (% increase in life span)＝［（各群の生存延長日数）/（対照群の生存日数）］×100

f：Log-rank 検定、対照群との生存日数の比較。

(2) L1210 細胞腹腔内移植モデルマウスにおける検討

被験物質：NS-87 (Cytarabine+Daunorubicin)

試験項目	試験系 投与方法	試験成績							試験番号 (CTD 記載箇所)
		被験物質	AraC：DNR 投与量[a] (mg/kg)	生存数[b] /評価例数	生存日数[c] (日)	生存延長 日数[d] (日)	%ILS[e]	P 値[f]	
生存延長作用	L1210 細胞腹腔内移植モデルマウス (BDF-1 マウス、雌性、各群 6 例) 静脈内 移植後 1、4、7 日	生理食塩液 (対照)	－	0/6	7.0	0.0	0	－	SR220705 (4.2.1.1-24、評価資料)
		NS-87	3.2：1.25	0/6	16.0	9.0	129	0.0009	
			12.5：5	6/6	> 64	> 57	> 814	0.0009	
		非リポソーム型混合物 (AraC・DNR)	12.5：5	0/6	12.0	5.0	71	0.0009	
			30：12	0/6	13.0	6.0	86	0.0009	
		AraC の単剤リポソーム	3.2	0/6	15.0	8.0	114	0.0009	
			15	3/6	43.5	36.5	521	0.0009	
		DNR の単剤リポソーム	1.25	0/6	9.0	2.0	29	0.0009	
			10	0/6	19.0	12.0	171	0.0009	

L1210 細胞（1×10^5 cells/匹）を腹腔内移植してモデルマウスを作製した。
AraC：シタラビン、DNR：ダウノルビシン、L1210 細胞：マウスリンパ球性白血病細胞、AraC の単剤リポソーム：AraC 単剤のみを封入したリポソーム、DNR の単剤リポソーム：DNR 単剤のみを封入したリポソーム
a：NS-87 及び非リポソーム型混合物のモル比（AraC：DNR）は 5.8:1。AraC の単剤リポソームは AraC の、DNR の単剤リポソームは DNR の投与量を示す。
b：観察最終日（移植後 64 日目）に生存している動物数をカウントした。
c：中央値。最終日に生存している動物は「> 64」とした。
d：生存延長日数＝（各群の生存日数中央値）－（対照群の生存日数中央値）で算出した。各群の生存日数中央値> 64 の場合は「> 57」とした。
e：%ILS (% increase in life span)＝［（各群の生存延長日数）/（対照群の生存日数）］×100
f：Log-rank 検定、対照群との生存日数の比較。

(3) P388 細胞腹腔内移植モデルマウスにおける検討

被験物質：NS-87 (Cytarabine+Daunorubicin)

試験項目	試験系 投与方法	試験成績							試験番号 (CTD 記載箇所)
		被験物質	AraC：DNR 投与量[a] (mg/kg)	生存数[b] /評価例数	生存日数[c] (日)	生存延長 日数[d] (日)	%ILS[e]	P 値[f]	
生存延長作用	P388 細胞腹腔内移植モデルマウス (BDF-1 マウス、雌性、各群 6 例) 静脈内 移植後 4、7、10 日	生理食塩液 (対照)	―	0/6	7.0	0.0	0	―	SR221105 (4.2.1.1-25、評価資料)
		NS-87	6：2.64	0/6	24.5	17.5	250	0.0006	
			10：4.4	1/6	38.0	31.0	443	0.0006	
			12：5.3	5/6	> 64	> 57	> 814	0.0006	
		AraC の単剤リポソーム	10	0/6	20.0	13.0	186	0.0006	
			15	0/6	19.5	12.5	179	0.0006	
		DNR の単剤リポソーム	4.4	0/6	10.0	3.0	43	0.006	
			10	0/5[g]	29.5	22.5	321	0.0006	

P388 細胞（1×10^6 cells/匹）を腹腔内移植してモデルマウスを作製した。観察最終日（移植後 64 日目）に生存している動物には P388 細胞（1×10^6 cells）を再移植して瀕死/安楽死処置まで観察した（再移植後からの生存日数中央値：7.0 日）。

AraC：シタラビン、DNR：ダウノルビシン、P388 細胞：マウスリンパ球性白血病細胞、AraC の単剤リポソーム：AraC 単剤のみを封入したリポソーム、DNR の単剤リポソーム：DNR 単剤のみを封入したリポソーム

a：NS-87 のモル比（AraC：DNR）は 5:1。AraC の単剤リポソームは AraC の、DNR の単剤リポソームは DNR の投与量を示す。

b：観察最終日（移植後 64 日目）に生存している動物数をカウントした。

c：中央値。最終日に生存している動物は「> 64」とした。

d：生存延長日数＝（各群の生存日数中央値）－（対照群の生存日数中央値）で算出した。各群の生存日数中央値> 64 の場合は「> 57」とした。

e：%ILS (% increase in life span)＝［（各群の生存延長日数）/（対照群の生存日数）］×100

f：Log-rank 検定、対照群との生存日数の比較。

g：tumor rejection（がん細胞の不生着）の 1 例を除外した。

(4) WEHI-3B 細胞腹腔内移植モデルマウスにおける検討

被験物質：NS-87 (Cytarabine+Daunorubicin)

試験項目	試験系 投与方法	試験成績							試験番号 (CTD 記載箇所)
		被験物質	AraC：DNR 投与量[a] (mg/kg)	生存数[b] /評価例数	生存日数[c] (日)	生存延長 日数[d] (日)	%ILS[e]	P 値[f]	
生存延長作用	WEHI-3B 細胞腹腔内移植モデルマウス (CD-1 ヌードマウス、雌性、各群 6 例) 静脈内 移植後 1、4、7 日	生理食塩液 (対照)	－	0/6	23.0	0.0	0	－	SR011205 (4.2.1.1-26、評価資料)
		NS-87	6：2.64	1/6[g]	30.5	7.5	33	0.0343	
			10：4.4	4/6	> 102	> 79	> 343	0.0008	
			12：5.3	5/6[g]	> 102	> 79	> 343	0.0008	
		AraC の単剤リポソーム	12	0/6	26.0	3.0	13	0.7196	
			20	1/6	33.5	10.5	46	0.0186	
		DNR の単剤リポソーム	5.3	2/6	38.5	15.5	67	0.015	
			12	5/6	> 102	> 79	> 343	0.0008	

WEHI-3B 細胞（5×10^5 cells/匹）を腹腔内移植してモデルマウスを作製した。観察最終日（移植後 102 日目）に生存している動物には WEHI-3B 細胞（5×10^5 cells）を再移植して瀕死/安楽死処置まで観察した（再移植後からの生存日数中央値：20 日）。

AraC：シタラビン、DNR：ダウノルビシン、WEHI-3B 細胞：マウス骨髄単球性白血病細胞、AraC の単剤リポソーム：AraC 単剤のみを封入したリポソーム、DNR の単剤リポソーム：DNR 単剤のみを封入したリポソーム

a：NS-87 のモル比（AraC：DNR）は 5:1。AraC の単剤リポソームは AraC の、DNR の単剤リポソームは DNR の投与量を示す。

b：観察最終日（移植後 102 日目）に生存している動物数をカウントした。

c：中央値。最終日に生存している動物は「> 102」とした。

d：生存延長日数＝（各群の生存日数中央値）－（対照群の生存日数中央値）で算出した。各群の生存日数中央値> 102 の場合は「> 79」とした。

e：%ILS (% increase in life span)＝［（各群の生存延長日数）/（対照群の生存日数）］×100

f：Log-rank 検定、対照群との生存日数の比較。

g：1 例では初回移植後 158 日目の剖検で異常は認められておらず、再移植によるがん細胞の生着は観察されなかった。

2.6.3.2.5　CCRF-CEM 細胞移植マウスにおける NS-87 の骨髄への蓄積

薬理試験の概要文（2.6.2.2.4.1 項）参照。

2.6.3.2.6　CCRF-CEM 細胞移植マウスの骨髄における NS-87 の CCRF-CEM 細胞への取り込み

被験物質：NS-87 (Cytarabine+Daunorubicin)

試験項目	試験系	試験成績 [a]				試験番号（CTD 記載箇所）
			取り込み量（pmol/10^6 cells）			
			AraC	DNR	リポソーム脂質	
骨髄への取り込み	CCRF-CEM 細胞静脈内移植モデルマウス（Rag2-M マウス、雌性） 静脈内 移植 4 週間後、単回	CCRF-CEM 細胞	24±4.2	16±3.2	219±11	SR150105（4.2.1.1-27、評価資料）
		正常骨髄細胞	2.6±0.9	7.0±3.0	117±4.3	
		取り込み比 [b]	9.5	2.2	1.9	

CCRF-CEM 細胞（1×10^7 cells/匹）を静脈内移植してモデルマウスを作製し、4 週間後に二重放射標識（[^{3}H]AraC 及び[^{14}C] DPPC、DPPC はリポソーム脂質）した NS-87（10:4.4 mg/kg AraC:DNR）を単回静脈内投与した。
AraC：シタラビン、DNR：ダウノルビシン、CCRF-CEM 細胞：ヒト急性リンパ芽球性白血病細胞
a：各値は平均値±SE（n=3）
b：CCRF-CEM 細胞における取り込み量/正常骨髄細胞における取り込み量

2.6.3.2.7　NS-87 の白血病細胞への取り込み機構

薬理試験の概要文（2.6.2.2.4.3 項）参照。

2.6.3.3　副次的薬理試験

該当試験なし。

2.6.3.4 安全性薬理試験

2.6.3.4.1 中枢神経系に及ぼす影響

被験物質：NS-87 (Cytarabine+Daunorubicin)

試験項目	動物種/系統	投与方法	投与量[2] (units/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号 (CTD 記載箇所)
神経学的評価（投与開始から33 日目）	ラット/ Sprague-Dawley	持続静脈内（1 時間）、3 回/週を 3 週間ごとに 2 サイクル [1]	0, 5, 10, 15/10	雌雄：5~10	5 units/kg: 著変なし 10 units/kg 以上: 重篤な毒性発現のため評価不可	適	1005-0361 （4.2.3.2-1、評価資料）

[1] 1、3、5、22、24 及び 26 日目投与
[2] 15 units/kg 投与群は死亡及び瀕死を含む重度の一般状態悪化が認められたため、3 又は 5 日目投与から投与量を 10 units/kg に減量した。

2.6.3.4.2 心血管系に及ぼす影響

被験物質：NS-87 (Cytarabine+Daunorubicin)

試験項目	動物種/系統	投与方法	投与量 (units/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号 (CTD 記載箇所)
12 誘導心電図	イヌ/ Beagle	持続静脈内（1 時間）、3 回/週を 3 週間ごとに 2 サイクル [1]	NS-87：0, 1, 2, 3[2] AraC・DNR 混合物：2[3]	雌雄：1~3	NS-87 2 units/kg 以下: 影響なし 3 units/kg: 7 日目は影響なし、33 日目は重篤な毒性発現のため評価不可 AraC・DNR 混合物 影響なし	適	1005-0372 （4.2.3.2-2、評価資料）

[1] 1、3、5、22、24 及び 26 日目投与
[2] 2 units/kg 以上の投与群は 1 サイクル投与後に死亡あるいは重度の状態悪化が認められたため、2 サイクル目の投与を実施していない。
[3] 非リポソーム型の AraC 及び DNR の混合製剤

2.6.3.4.3 呼吸器系に及ぼす影響

特記所見なし［薬理試験の概要文（2.6.2.4.3 項）参照］。

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当試験なし。

2.6.3.6 参考文献

1. Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv Enzyme Regul. 1984;22:27-55. ＜資料番号 4.3-4＞