2.6.4 の略号及び用語の定義一覧

略号

略語	外国語表記	日本語表記
AUC_{0-t}	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the last sampling time point	時間 0 から最終採血時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積
CL	clearance	クリアランス
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
F	bioavailability	バイオアベイラビリティ
HSDB	Hazardous Substance Data Bank	－
$t_{1/2}$	Plasma elimination half-life	血漿中消失半減期

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

当社は、伝染性軟属腫を適応症とした VP-102（販売名：YCANTH® (cantharidin) topical solution）を Verrica Pharmaceuticals Inc.（Verrica 社）から導入し、当該品から着色剤（ゲンチアナバイオレット）を除いた TO-208 を開発している。TO-208 の有効成分カンタリジンは長年にわたり動物及びヒトで使用されており、その吸収、分布及び排泄に関する情報が公開されている。現存する公開情報に基づいて、カンタリジンの既知の薬物動態特性を本項に要約する。カンタリジンの吸収、分布及び排泄に関する情報は、https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov で閲覧可能な Hazardous Substance Data Bank（HSDB）に掲載されている [1)]。HSDB の公開情報によると、カンタリジンは消化管から吸収され、限られた程度ではあるが、皮膚からも吸収される。腹水肝腫マウスに ^{3}H 標識カンタリジンを腹腔内又は経口投与したとき、放射能は主に肝臓及び腫瘍組織、並びに胆汁、腎臓及び胃に分布した。カンタリジンは腎での糸球体濾過により全身循環から消失する。カンタリジンの吸収、分布、代謝及び排泄を評価したその他の試験は公表文献に記載されており、以下の各項で適宜要約する。日本国内の承認申請にあたり、ヒトにおけるカンタリジンの代謝に関する情報が無かったことから、ヒト肝ミクロソーム及び凍結ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験を実施した。この試験の概要を 2.6.4.5 項に示す。

毒性試験に用いられた薬液の分析を行うため、Verrica 社はジメチルスルホキシド（DMSO）中カンタリジン濃度測定法のバリデーション試験を 1 試験実施した。この試験の概要を 2.6.4.2.1 項に示す。

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 HPLC による DMSO 中カンタリジン測定法の確立

カンタリジンの定量法を確立した。その結果、DMSO 中カンタリジンの定量は、定量下限 10 μg/mL（最低濃度における回収率 90～110%、相対標準偏差 5%以下）であり、測定範囲 10～60 μg/mL であった。なお、標準溶液は、目標濃度の 90～110%という判定基準を満した。本定量を用いて毒性試験で用いた薬液濃度を測定した。

2.6.4.3 吸収

Verrica 社は、VP-102 外用液剤及びカンタリジンを用いた吸収試験を実施していない。HSDB の公開情報では、カンタリジンは消化管から吸収され、あるいは、限られた程度ではあるが、皮膚から吸収されると記載されている [1)]。

公表文献に記載されたカンタリジンの吸収に関する情報を要約する。カンタリジンをラット又はイヌに経口投与後の薬物動態パラメータに関する報告がある。絶食させた雄性成熟 Sprague-Dawley ラット（n = 5）に、カンタリジンのフリー体（0.1 mg/kg）又は固体脂質ナノ粒子マトリックスで製剤化したカンタリジンを経口投与し、経時的に血漿中濃度を測定し、カンタリジンの薬物動態特性を評価した [2)]。ラットの頸静脈から経時的（投与後 0.5～12 時間）に採血し、カンタリジンの血漿中濃度を測定して血漿中薬物濃度－時間プロファイルを評価した。カンタリジンのフリー体を単回経口投与した時の平均薬物動態パラメータは、最高血漿中濃度（C_{max}）66.21 ± 29.17 ng/mL、最高血漿中濃度到達時間 2.33 ± 0.56 時間、時間 0 から最終採血時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{0-t}）は 187.37 ± 76.09 ng·hr/mL であった。固体脂質ナノ粒子製剤化カンタリジンの投与では、カンタリジンのフリー体と比較して、高い C_{max} と循環血中暴露の延長が認められた。

別の試験では、カンタリジンをビーグル犬（n = 6）に経口（0.102 mg/kg）及び静脈内（0.034 mg/kg）投与し、バイオアベイラビリティ（F）及び薬物動態特性を評価した [3)]。カンタリジンの血漿中濃度は、既報のガスクロマトグラフィー－質量分析法を用いて測定した [4)]。静脈内投与後の平均薬物動態パラメータは、AUC_{0-t} 203.5 ng·hr/mL、クリアランス（CL）168.8 mL/kg/hr、及び血漿中消失半減期（$t_{1/2}$）0.69 時間であった。また、経口投与後の平均薬物動態パラメータは、AUC_{0-t} 160.4 ng·hr/mL、CL 649.1 mL/kg/hr、及び $t_{1/2}$ 0.38 時間であった。経口投与後の F は 26.7%であった。

なお、公表文献を検索した結果、カンタリジン経皮投与後の吸収を評価した非臨床試験は、現時点において確認されていない。

2.6.4.4 分布

Verrica 社は、VP-102 外用液剤及びカンタリジンを用いた組織分布試験を実施していない。カンタリジンに関する HSDB の公開情報によると、腹水肝腫マウスに ^{3}H 標識カンタリジンを経口又は腹腔内投与したとき、胆汁、腎臓、肝臓、胃及び腫瘍細胞で高レベルの放射能が検出された。この分布試験結果から、カンタリジンは肝臓及び腫瘍組織に親和性があることが示唆される [1)]。

公表文献に記載されている別の試験では、雄の Swiss-Webster マウスの組織から採取されたサイトゾル画分において、^{3}H 標識カンタリジンの特異的結合が検討された [5)]。肝臓のサイトゾルにおいて、^{3}H 標識カンタリジンは平衡解離定数が 30 nmol/L、C_{max} が 1.8 pmol/mg protein の特異的で飽和性の結合を示した。結合はタンパク質濃度に対して線形であり、至適 pH は 6.5～7.5、結合及び解離の半減期はそれぞれ 20 分及び 12 時間であった。マウスに 1、3 及び 10 mg/kg の非標識カンタリジンを投与したとき、肝臓のサイトゾルにおける ^{3}H 標識カンタリジンの結合はそれぞれ 26%、48%及び 69%阻害された。カンタリジンの結合は肝サイトゾルに特異的であり、マウス肝臓の膜画分との結合は認められないことも報告されている [6)]。^{3}H 標識カンタリジンは血液、脳、心臓、腎臓、肺、皮膚、脾臓及び胃のサイトゾル画分にも特異的に結合した。^{3}H 標識カンタリジンの肝臓及び脳のサイトゾル画分への結合パラメータとカンタリジン誘導体の拮抗作用を検討した結果、カンタリジンの肝臓及び脳の結合パラメータ及びカンタリジン誘導体の親和性は、肝臓と脳で高度に一致した。

2.6.4.5 代謝

VP-102 の局所適用によるカンタリジンの全身循環血中濃度はごくわずかであるため、Verrica 社は、VP-102 外用液剤の承認申請のために代謝試験は必須ではないと考え、VP-102 外用液剤及びカンタリジンを用いた代謝試験を実施していない。

2024 年に新たに公表された文献では、カンタリジンをマウスに経口投与した場合、肝臓中及び尿中に生体内アミノ酸との結合体が検出されることが報告されている [7)]。公表文献中に、カンタリジンのヒトにおける *in vitro* 代謝に関する情報がなかったことから、当社は日本国内の承認申請にあたり、*in vitro* 代謝試験を実施した（試験番号：[redacted]、参考資料）。

カンタリジンの代謝物プロファイルの確認を目的として、*in vitro* 代謝試験を実施した。ヒト肝ミクロソーム及び凍結ヒト肝細胞を用いてカンタリジンを 10 μmol/L の基質濃度で 37°C、4 時間インキュベーションした後の代謝反応試料を LC-MS で分析し、代謝反応後の未変化体残存率の評価と代謝物検索を行った。ヒト肝ミクロソーム及び凍結ヒト肝細胞との反応 4 時間後において、カンタリジンの残存率はそれぞれ 96.2%及び 89.1%であった。また、代謝物検索の結果、カンタリジン由来の代謝物は検出されず、カンタリジンはヒト肝ミクロソーム及び凍結ヒト肝細胞中で代謝されないと考えられた。

2.6.4.6 排泄

Verrica 社は VP-102 外用液剤及びカンタリジンを用いた排泄試験を実施していない。カンタリジンの HSDB における公開情報では、腎臓によって全身循環から排泄されると記載されている[1)]。公表文献では、カンタリジンの排泄を評価した試験は確認されていないが、カンタリジンを摂取後の全身毒性を報告した症例研究において、腎臓及び泌尿生殖器系への毒性作用は、腎及び尿中排出で消失すると報告されている[8), 9), 10)]。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

Verrica 社は VP-102 外用液剤及びカンタリジンを用いた薬物動態学的薬物相互作用試験を実施していない。カンタリジンの薬物動態学的薬物相互作用に関する情報は公表文献にはなかった。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

Verrica 社は VP-102 外用液剤及びカンタリジンを用いたその他の薬物動態試験を実施していない。

2.6.4.9 考察及び結論

Verrica 社は、VP-102 外用液剤及び有効成分カンタリジンのいずれについても局所又は全身投与の薬物動態又はトキシコキネティクス試験を実施していない。2024 年に新たに公表された文献では、カンタリジンをマウスに経口投与した場合、肝臓中及び尿中に生体内アミノ酸との結合体が検出されることが報告されている [7)]。ただし、カンタリジンのヒトにおける代謝物生成に関する公表情報は得られてなかったことから、当社は日本国内の承認申請にあたり、*in vitro* 代謝試験を実施した。本項では、公表文献に記載されている経口又は非経口投与後のカンタリジンの吸収、分布、代謝及び排泄に関する既存の情報を要約している。

VP-102 は局所適用（経皮）製剤であり、体内への吸収は限定的である。伝染性軟属腫の患者を対象に実施した VP-102 外用液剤の臨床暴露試験（試験番号：VP-102-103）において、カンタリジンの血漿中濃度は 66 検体中 65 検体で定量下限未満であり、皮膚から吸収される薬物量はごく微量であることが確認された。測定値が 3.4 ng/mL と定量下限（2.5 ng/mL）を超えた唯一の検体は、VP-102 投与後 2 時間に見られた。しかし、この被験者では、投与後 6 又は 24 時間では血漿中濃度は検出されなかった。また、国内で実施した伝染性軟属腫の患者を対象とした TO-208 臨床薬理試験（208-1-1 試験）において、TO-208 を投与した 16 例の投与前、投与後 2 及び 24 時間後の血漿中カンタリジン濃度を測定した。血漿中にカンタリジンが検出された被験者は、16 例のうち 2 例（いずれも治験薬初回塗布 2 時間後）であった。いずれもカンタリジン濃度は定量下限（2.500 ng/mL）付近の値（3.432 ng/mL 及び 3.278 ng/mL）であり、治験薬初回塗布 24 時間後では定量下限未満であった。その他の 14 例の被験者は、いずれの血漿検体においてもカンタリジン濃度は定量下限未満であった。このように、検出可能な場合でも、経皮投与により吸収されるカンタリジンの量はわずかであり、一過性である。

カンタリジンを経口投与時の吸収については、これまでに幾つか報告がある。ラットにカンタリジンを 0.1 mg/kg の用量で単回投与すると、投与後約 2 時間にピークが見られ、そのときの血漿中濃度は 66.21 ng/mL であった。イヌにカンタリジンを 0.102 mg/kg の用量で単回投与したとき、バイオアベイラビリティは 26.7%であり、血漿中消失半減期は約 20 分であった。カンタリジンの経口投与は消化管から吸収されるが、ヒトにおけるカンタリジンの消化管からの吸収速度及び吸収性は評価されていない。カンタリジンを全身投与した場合、カンタリジンの組織分布は遍在しており、肝臓、心臓、腎臓、脾臓及び脳への分布が認められている。これらの経路は、局所適用（経皮）と異なるため相当するカンタリジンの臨床薬物動態は評価されていない [11)]。

公表文献中において、カンタリジンのヒトに対する代謝物プロファイル及び代謝に関連する情報を得られなかったことから、当社は日本国内への承認申請にあたり *in vitro* 代謝試験を実施し、データを取得した。その結果、カンタリジンはヒト肝ミクロソーム及び凍結ヒト肝細胞では代謝されないと考えられた。

カンタリジンの排泄に関する情報は限られているが、主な消失経路は腎での糸球体濾過を介した尿中への排泄と考えられ、カンタリジン摂取後の急性中毒に伴う糸球体損傷及び急性尿細管壊死の臨床症状に、この排泄経路が関与していることが示唆される [8), 9), 10)]。

局所適用されたカンタリジンは皮膚からも吸収される可能性があるが、公表文献には、経皮投与でのカンタリジンの吸収に関する報告はない。Verrica 社の臨床全身暴露試験の結果や、カンタ

リジンの長年にわたる臨床使用において、患者へ経皮投与したとき全身毒性は見られないことを報告した公表文献[12),13)]から考えると、カンタリジンの皮膚吸収は限定的であり、局所適用後のカンタリジンが全身毒性に係る重大な安全性上の懸念は生じないと考えられる。

2.6.4.10 図表

該当なし。

参考文献

1) National Library of Medicine website, PubChem, CID:5944, Hazardous Substances Data Bank (HSDB) for cantharidin. Available at: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5944（4.3 参考文献 10)）

2) Dang YJ, Zhu CY. Oral bioavailability of cantharidin-loaded solid lipid nanoparticles. Chin Med. 2013;8(1):1.（4.3 参考文献 12)）

3) Dang Y, Zhu C. Pharmacokinetics and bioavailability of cantharidin in beagle dogs. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 2009;34(16):2088-2091.（4.3 参考文献 13)）

4) Dang YJ, Zhu CY. Determination of trace cantharidin in plasma and pharmacokinetic study in beagle dogs using gas chromatography-mass spectrometry. J Anal Toxicol. 2009;33(7):384-388.（4.3 参考文献 46)）

5) Graziano MJ, Pessah IN, Matsuzawa M, Casida JE. Partial characterization of specific cantharidin binding sites in mouse tissues. Mol Pharmacol. 1988;33(6):706-712.（4.3 参考文献 47)）

6) Graziano MJ, Waterhouse AL, Casida JE. Cantharidin poisoning associated with specific binding site in liver. Biochem Biophys Res Commun. 1987;149(1):79-85.（4.3 参考文献 14)）

7) Fan Y, Chen L, Jing Q, Li X, Pan H, Fang C, Zhang J, Shi F. Covalent Binding of Reactive Anhydride of Cantharidin to Biological Amines. Drug Metab Dispos. 2024;52(8):775-784.（4.3 参考文献 11)）

8) Presto AJ, 3rd, Muecke EC. A dose of Spanish fly. JAMA. 1970;214(3):591-592.（4.3 参考文献 15)）

9) Karras DJ, Farrell SE, Harrigan RA, Henretig FM, Gealt L. Poisoning from "Spanish fly" (cantharidin). Am J Emerg Med. 1996;14(5):478-483.（4.3 参考文献 16)）

10) Cotovio P, Silva C, Guedes Marques M, Ferrer F, Costa F, Carreira A, et al. Acute kidney injury by cantharidin poisoning following a silly bet on an ugly beetle. Clin Kidney. J 2013;6(2):201-203.（4.3 参考文献 17)）

11) McGuigan M. Toxicology of topical therapy. Clin Dermatol. 1989;7(3):32-37.（4.3 参考文献 32)）

12) Tromovitch TA. Letter to the Editor: Cantharadin. JAMA. 1971;215: 640.（4.3 参考文献 33)）

13) Moed L, Shwayder TA, Chang MW. Cantharidin revisited: a blistering defense of an ancient medicine. Arch Dermatol. 2001;137(10):1357-1360.（4.3 参考文献 3)）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験一覧表

Test Article: VP-102/TO-208 (cantharidin)

Type of Study	Test System Species/Strain	Method of Administration	Testing Facility	Study Number (CTD Location)
Absorption	Not applicable			
Distribution	Not applicable			
Metabolism	Human liver microsomes and cryopreserved human hepatocytes	*In Vitro*	[redacted]	[redacted] (4.2.2.4, reference document)
Excretion	Not applicable			
Pharmacokinetic Drug Interactions	Not applicable			
Other	Not applicable			

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

Test Article: VP-102 (cantharidin)

Study Description	Species	Analytical Range	LLOQ	Testing Facility	Study Number (CTD Location)
Validation of an analytical method for determination of cantharidin in DMSO by HPLC	NA	10–60 µg/mL	10 µg/mL	[redacted]	[redacted] (4.2.2.1)

DMSO = dimethyl sulfoxide; HPLC = high performance liquid chromatography; LLOQ = lower limit of quantitation, NA = not applicable.

2.6.5.3 薬物動態試験　吸収（単回投与）

該当なし

2.6.5.4 薬物動態試験　吸収（反復投与）

該当なし

2.6.5.5 薬物動態試験　分布

該当なし

2.6.5.6 薬物動態試験　たん白結合

該当なし

2.6.5.7 薬物動態試験　妊娠又は授乳動物における試験

該当なし

2.6.5.8 薬物動態試験　その他の分布試験

該当なし

2.6.5.9 薬物動態試験　代謝（*In Vivo*）

該当なし

2.6.5.10 薬物動態試験　代謝（*In Vitro*）

Test Article: TO-208 (cantharidin)

Study Description	Enzyme source	Concentration/ Cell density	Incubation time	Analysis	Testing Facility	Major Findings
In Vitro Metabolism Study	Human liver microsomes	0 and 0.5 mg protein/mL	0 and 4 h	Metabolic reaction samples were analyzed using LC-MS after incubation of enzyme sources with TO-208 (cantharidin). Metabolite searches were performed by using Compound Discoverer, an MS data analysis software.	[redacted]	No metabolite peaks derived from TO-208 were detected in this study condition, suggesting that TO-208 was found to be unmetabolized in human liver microsomes and cryopreserved human hepatocytes.
	Human cryopreserved human hepatocytes	0 and 1×10^6 cells/mL	0 and 4 h			

LC-MS: Liquid chromatograph-mass spectrometer, MS: mass spectrometry

2.6.5.11 薬物動態試験　推定代謝経路

該当なし

2.6.5.12 薬物動態試験　薬物代謝酵素の誘導／阻害

該当なし

2.6.5.13 薬物動態試験　排泄

該当なし

2.6.5.14 薬物動態試験　排泄（胆汁中）

該当なし

2.6.5.15 薬物動態試験　薬物相互作用

該当なし

2.6.5.16 薬物動態試験　その他

該当なし