目次

1 非臨床試験計画概略 6
1.1 緒言 6
1.2 非臨床試験プログラム 6
1.2.1 薬理 6
1.2.2 薬物動態 7
1.2.3 毒性 8
2 薬理試験 10
2.1 効力を裏付ける試験 10
2.2 副次的薬理試験 10
2.3 安全性薬理試験 11
2.4 薬力学的薬物相互作用試験 12
3 薬物動態試験 13
3.1 吸収 13
3.2 分布 13
3.3 代謝 14
3.4 排泄 14
3.5 薬物動態学的薬物相互作用 14
3.6 その他の薬物動態試験 15
4 毒性試験 16
4.1 単回及び反復投与毒性試験 16
4.2 遺伝毒性試験 17
4.3 がん原性試験 17
4.4 生殖発生毒性試験 17
4.4.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 17
4.4.2 胚・胎児発生に関する試験 17
4.4.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 17

4.5 局所刺激性試験 18
4.6 その他の毒性試験 18
4.6.1 代謝物の毒性 18
4.6.2 不純物の毒性 19
4.6.3 光毒性 19
4.7 全身曝露 19
5 総括及び結論 21
5.1 薬理 21
5.2 薬物動態 21
5.3 毒性 22
5.4 結論 23
参考文献 24

表目次

表 2.4-1　非臨床毒性試験の HNSTD における定常状態のパロバロテンの血漿中曝露量と臨床推奨用量における曝露量に基づく曝露量比.....20

略号及び用語の説明

略語又は用語	日本語	英語
ACVR1	アクチビン A 受容体 1 型	activin A receptor, type 1
ALK2	アクチビン受容体様キナーゼ 2	activin receptor-like kinase 2
AUC	濃度－時間曲線下面積	area under the concentration versus time curve
AUC_{0-24}	投与 0 から 24 時間後までの濃度－時間曲線下面積	area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose
AUC_{0-last}	投与 0 時間から定量可能な時点までの濃度－時間曲線下面積	area under the concentration versus time curve from time zero to the last concentration above the limit of quantification
$AUC_{0-\tau}$	定常状態での投与間隔における濃度－時間曲線下面積	area under the concentration versus time curve over a dosing interval at steady state
BCRP	-	breast cancer resistance protein
BLAST	-	Basic Local Alignment Search Tool
BMP	骨形成タンパク質	bone morphogenetic protein
BSEP	-	bile salt export pump
CLM-001	パロバロテンの開発コード（別称：RO3300074、R667、RO3300074-000 及び RO3300074-003）	developmental code of palovarotene (other names: RO3300074, R667, RO3300074-000 and RO3300074-003)
CNS	中枢神経系	central nervous system
C_{max}	最高血漿中濃度	maximum plasma concentration
COPD	慢性閉塞性肺疾患	chronic obstructive pulmonary disease
CYP	シトクロム P450	cytochrome P450
不純物C*	[redacted]	[redacted]
ECG	心電図	electrocardiogram
ESC	胚性幹細胞	embryonic stem cell
F	バイオアベイラビリティ	bioavailability
FOP	進行性骨化性線維異形成症	fibrodysplasia ossificans progressiva
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準	Good Laboratory Practice
hERG	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子	human ether-à-go-go related gene
HED	ヒト等価用量	human equivalent dose
HNSTD	重篤な毒性が発現しない最大投与量	highest non-severely toxic dose
HO	異所性骨化	heterotopic ossification
IC_{50}	50%阻害濃度	half-maximal inhibitory concentration
ICH	医薬品規制調和国際会議	International Conference for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use
K_i	阻害定数	inhibition constant
LC	液体クロマトグラフィー	liquid chromatography

＊新薬承認情報提供時に置換

略号及び用語の説明（続き）

略語又は用語	日本語	英語
LC-MS/MS	高速液体クロマトグラフィー・タンデムマススペクトロメトリー	liquid chromatography with tandem mass spectrometry
M1	パロバロテンの 6,7 位水酸化体（ジアステレオマー1:5）	6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene (mixture of diastereomers with 1:5 ratio)
M1a/b	パロバロテンの 6,7 位水酸化体（識別コード：RO3305642/RO3308507）	6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene (RO3305642/RO3308507)
M2	パロバロテンの 6 位水酸化体（識別コード：RO3304835）	6-hydroxy metabolite of palovarotene (RO3304835)
M3	パロバロテンの 7 位水酸化体（識別コード：RO3305210）	7-hydroxy metabolite of palovarotene (RO3305210)
M4	パロバロテンの 6 位オキソ体及び 7 位オキソ体	6-oxo and 7-oxo metabolite of palovarotene
M4a	パロバロテンの 6 位オキソ体（識別コード：RO3304974）	6-oxo metabolite of palovarotene (RO3304974)
M4b	パロバロテンの 7 位オキソ体（識別コード：RO3305659）	7-oxo metabolite of palovarotene (RO3305659)
M5	パロバロテンの β-グルクロン酸抱合体	carboxyl β-glucuronide of palovarotene
MO	多発性骨軟骨腫	multiple osteochondromas
MRHD	最大推奨臨床用量	maximum recommended human dose
MSC	間葉系幹細胞	mesenchymal stem cells
NOAEL	無毒性量	no-observed-adverse-effect level
OATP	-	organic anion transporting polypeptide
OCT	-	organic cation transporter
P-gp	P-糖蛋白質	P-glycoprotein
不純物A*	[redacted]	[redacted]
R	阻害薬存在及び非存在下での基質の推定 AUC 比	the ratio under the presence and absence of the investigational drug for specific enzyme reaction
RAR (α/β/γ)	レチノイン酸受容体（α/β/γ）	retinoic acid receptor (alpha/beta/gamma)
Smad	-	Suppressor of Mothers against Decapentaplegic
SPE	固相抽出	solid phase extraction
TK	トキシコキネティクス	toxicokinetics
UGT	ウリジン 5'-二リン酸-グルクロン酸転移酵素	uridine 5’-diphospho-glucuronosyltransferase
UV	紫外線	ultraviolet
UVA	紫外線 A	ultraviolet A
WoE	科学的証拠の重み付け	Weight-of-Evidence

＊新薬承認情報提供時に置換

1 非臨床試験計画概略

1.1 緒言

パロバロテン（開発コード：CLM-001）は、経口投与可能なレチノイン酸受容体（RAR）γ選択的アゴニストであり、進行性骨化性線維異形成症（FOP）の治療薬として開発された。パロバロテンは、慢性閉塞性肺疾患（COPD）治療薬として開発していた Roche Pharmaceuticals Inc.から Clementia Pharmaceuticals Inc.（Clementia）に導出されたが、十分な有効性が得られず、開発は中止された。2019 年に Clementia は Ipsen に買収された。パロバロテンは FOP を対象疾患とした臨床開発と並行して、別の稀な骨疾患である多発性骨軟骨腫（MO）の治療薬としても検討された（MO を対象とした PVO-2A-201 試験は、現在は中止されている）。

FOP は疼痛を伴う反復性の軟部組織腫脹（フレアアップ）並びに筋肉、腱及び靭帯における異所性骨形成を特徴とする、非常に稀で、重度の機能障害をもたらす遺伝子疾患である。FOP は小児期から成人期を通して進行し、小児期にかなりの身体障害が生じる（Kaplan 2018）。FOP はアンメット・メディカル・ニーズの高い疾患である。

FOP は、骨形成タンパク質（BMP）I 型受容体であるアクチビン A 受容体 1 型（ACVR1）／アクチビン受容体様キナーゼ 2（ALK2）をコードする ACVR1/ALK2 遺伝子の単一の機能獲得型変異により生じる（Kaplan 2009）。ACVR1/ALK2 遺伝子の機能獲得型変異（最も典型的な変異は R206H）により、BMP-Suppressor of Mothers against Decapentaplegic（Smad）1/5/8 シグナル伝達経路の異常な活性化を介して軟骨形成及び異所性骨形成が促進されることで、正常な損傷修復機序による結合組織（筋肉、腱及び靭帯）の再生が妨げられる（Kaplan 2012）。FOP では、骨化性筋炎としても知られる異所性骨化（HO）が、炎症及び組織破壊からなる異化期とそれに続く組織形成からなる同化期の 2 段階で進行する（Shore 2010）。

成人及び小児（8 歳以上の女性及び 10 歳以上の男性）の FOP における HO の軽減を目的として、パロバロテンを 1 日 1 回経口投与する。成人及び 14 歳以上の小児における連続投与では 5 mg/日を投与する。フレアアップ時には用量を増量する。最大推奨臨床用量（MRHD）は 20 mg/日であり、14 歳未満の小児には体重により調節した用量を投与する。

1.2 非臨床試験プログラム

主要な安全性薬理試験及び毒性試験は、全て医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。

1.2.1 薬理

パロバロテンの薬理作用を一連の *in vitro* 及び *in vivo* 試験で評価した。

- パロバロテンとその主要代謝物について、受容体結合試験及び転写活性化試験を実施した。
- 複数の損傷誘発性及び自然発症マウス HO／FOP モデルを用いて、パロパロテンの *in vivo* 有効性を評価した。

副次的薬理試験では、パロバロテンの潜在的オフターゲット作用を明らかにするために *in vitro* スクリーニング試験を実施し、75 種類の受容体に対する結合親和性及び 24 種類の酵素活性に対する阻害作用を評価した。

パロバロテンの安全性薬理試験では、中枢神経系（CNS）、心血管系、腎・泌尿器系及び胃腸管系に対する影響を評価した。

- CNS への影響を、ラットを用いた Irwin 法による安全性薬理試験で評価した。
- 呼吸系への影響を評価する独立した安全性薬理試験は実施しなかったが、ラット、ウサギ及びイヌを用いた反復投与毒性試験並びに幼若ラットを用いた試験の一般状態観察所見から呼吸系への影響を評価した。
- 心血管系への影響を、ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）カリウムチャネルを安定的に発現しているチャイニーズハムスター卵巣及びヒト胚性腎 293 細胞を用いた 2 つの *in vitro* hERG 試験、*in vitro* イヌプルキンエ線維試験及びテレメトリー装着イヌを用いた 2 つの安全性薬理試験（単回経口投与）で評価した。
- 腎・泌尿器系への影響を、ラットを用いた安全性薬理試験で評価した。
- 胃腸管系への影響を、ラットを用いた安全性薬理試験で評価した。

加えて、主要代謝物［パロバロテンの 6 位水酸化体（M2）、7 位水酸化体（M3）、6 位オキソ体（M4a）及び 7 位オキソ体（M4b）］を用いた *in vitro* hERG 試験を実施し、心血管系に対する潜在的な影響を評価した。パロバロテンの代謝物の安全性薬理作用は、代謝物（M2 又は M3 単独又は M2 及び M3 の混合物）のラット及びイヌを用いた反復投与試験においても検討した。

1.2.2 薬物動態

非臨床試験で得られた生体試料中のパロバロテン及びその代謝物濃度を測定するために、十分な感度及び特異性のあるいくつかの分析法を開発した。

- GLP 試験での血漿中パロバロテン濃度を測定するため、試料を除タンパク後に高速液体クロマトグラフィー・タンデムマススペクトロメトリー（LC-MS/MS）で測定する分析法を開発し、バリデーション試験を実施した。
- パロバロテンの定量感度を向上させるために、前処理法を固相抽出（SPE）に変更し、バリデーション試験を実施した。
- 薬物動態試験及び初期のトキシコキネティクス（TK）試験での血漿中代謝物濃度は、試料を除タンパク後に LC／紫外線（UV）検出器を用いた定量法で測定した。
- GLP 試験での 4 種の主要代謝物（M2、M3、M4a 及び M4b）の血漿中濃度を測定するために、高感度かつ特異性の高い分析法（血漿中パロバロテン濃度測定法と同様の SPE による前処理後に LC-MS/MS で測定）を開発し、バリデーション試験を実施した。

げっ歯類及び非げっ歯類を用いて、一連の薬物動態及び TK 試験を実施した。

- 雄マウス、雌雄ラット、雌雄イヌ及び雄サルにパロバロテンを単回静脈内及び経口投与後のパロバロテンの血漿中薬物動態パラメータを算出した。
- ラット、イヌ及びウサギ並びに幼若ラット（いずれも雌雄）にパロバロテンを反復経口投与後のパロバロテンの血漿中 TK パラメータを算出した。
- 胆管カニューレ処置及び未処置雄ラット並びに雌イヌに[^{14}C]-パロバロテン投与後の血漿中薬物動態プロファイルを検討した。
- ラット及びイヌに M2 と M3 の混合物を反復経口投与後の代謝物の薬物動態プロファイルを検討した。

パロバロテンの分布、代謝、排泄及び薬物動態学的薬物相互作用試験を実施した。

- 雄白色及び有色ラットに[^{14}C]-パロバロテンを反復経口投与後の組織内分布を検討した。
- マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトでの[^{14}C]-パロバロテンの血漿タンパク結合率及び血球移行を *in vitro* 試験で評価した。
- パロバロテンが消化管及び肝臓トランスポーターの基質となる可能性について *in vitro* 試験で評価した。
- マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト肝ミクロソーム並びにラット、イヌ、サル及びヒト凍結肝細胞を用いて、パロバロテンの代謝を検討した。
- パロバロテンのシトクロム P450（CYP）及びウリジン 5'-二リン酸-グルクロン酸転移酵素（UGT）による代謝及び阻害作用について *in vitro* 試験で検討した。
- パロバロテンによる CYP 誘導作用について *in vitro* 試験で検討した。
- ヒト肝ミクロソームを用いて、パロバロテンの代謝に対するケトコナゾール、ミダゾラム、エリスロマイシンによる阻害を検討した。
- パロバロテンが消化管、腎臓及び肝臓のトランスポーターを阻害する可能性を *in vitro* 試験で検討した。

1.2.3 毒性

非臨床毒性試験の動物種は、げっ歯類としてマウス及びラット、非げっ歯類としてイヌ及びウサギを選択した。試験に用いたこれらの動物種は一般的に広く毒性試験に使用されている。*In vitro* 代謝試験において、げっ歯類、イヌ、サル及びヒトにおけるパロバロテンの代謝プロファイルは質的に類似していた。イヌを含む動物種間の核内 RAR 及びレチノイド X 受容体蛋白質のアミノ酸配列を Basic Local Alignment Search Tool（BLAST）検索により比較したところ、91%を超える高い相同性が確認されている。ビーグル犬はレチノイドの毒性試験で広く使用されており、ヒトでみられるレチノイド毒性と関連性の高い有害作用に対して感受性があることが示されている（Armstrong 1994）。イヌにパロバロテンを経口投与したときのバイオアベイラビリティ（F）はサルと比較して高く、血漿中濃度の用量比例性も良好であった。したがって、毒性試験に用い

る非げっ歯類としてイヌを選択することは適切であると考えられた。また、パロバロテンの軟骨細胞への影響を評価するため、ウサギを 2 種目の非げっ歯類として使用した。

パロバロテンの一般毒性、遺伝毒性、受胎能に対する影響、胚・胎児発生毒性及び光毒性について、げっ歯類及び非げっ歯類を用いた *in vitro* 及び *in vivo* 試験により評価した。

- 一般毒性は、マウス、ラット及びイヌを用いた単回投与毒性試験並びに成熟ラットを用いた最長 26 週間、成熟ウサギを用いた最長 4 週間及び成熟イヌを用いた最長 39 週間の反復経口投与毒性試験で評価した。
- 遺伝毒性は、*in vitro* 復帰突然変異試験及び *in vitro* 染色体異常試験並びにマウス *in vivo* 小核試験で評価した。
- 生殖能（交尾行動、受胎能、胚の生存及び着床）に対する影響を、雄又は雌ラットを用いた受胎能試験で評価した。
- 胚・胎児発生に対する影響は、胚性幹細胞（ESC）を用いた *in vitro* 試験並びにラット胚・胎児発生毒性試験で評価した。
- 幼若動物に対する影響は、幼若ラットを用いた最長 6 週間の反復投与試験で評価した。
- 光毒性は、3T3 線維芽細胞を用いた *in vitro* 試験で評価した。

パロバロテンのがん原性については、科学的証拠の重み付け（WoE）による評価（WoE アプローチ）に基づき懸念は示されていない。

パロバロテンの主要代謝物（M2、M3、M4a 及び M4b）の安全性プロファイルを評価する一連の毒性試験を実施した。

- ラット及びイヌに M2 又は M3 の単独あるいは 1：1 混合物を最長 13 週間反復経口投与する反復投与毒性試験を実施した。
- M2、M3、M4a 及び M4b の遺伝毒性を、*in vitro* 復帰突然変異試験及び染色体異常試験で評価した。
- M2、M3、M4a 及び M4b の光毒性を、3T3 線維芽細胞を用いた *in vitro* 試験で評価した。

加えて、不純物の安全性評価を実施した。

- 原薬中に含まれる製造工程由来不純物である[redacted]［ 不純物A* ］の安全性を確認するため、*in silico* 評価、ラット反復投与毒性試験及び *in vitro* 遺伝毒性試験を実施した。
- パロバロテンの潜在的遺伝毒性不純物である 不純物B*、[redacted]（不純物C*）及び 不純物D* の変異原性を *in vitro* 遺伝毒性試験（復帰突然変異試験）でそれぞれ評価した。

＊新薬承認情報提供時に置換

2 薬理試験

2.1 効力を裏付ける試験

受容体結合試験及び転写活性化試験において、パロバロテンは RARα 又は RARβ と比較して RARγ に選択的であることが示された。転写活性化試験において、主要代謝物（M2、M3、M4a 及び M4b）は RARγ に選択的な部分アゴニスト活性を示し、RARγ を介した転写活性化能の程度はパロバロテンの 1.2%～14%であった。パロバロテンの 6,7 位水酸化体（M1a 及び M1b）の転写活性化能は検出下限に近く、受容体に選択的ではなかった（At 7801 試験）。

パロバロテンは、下流エフェクター（Smad1/5/8）のリン酸化を全体的に抑制することで、ALK2 活性化変異により過活性化されたシグナル伝達を抑制し、軟骨形成及び HO 形成を強力に阻害する（CLM001-PD-001 試験及び Shimono 2011）。また、パロバロテンは、筋損傷部位における肥満細胞浸潤及び線維増殖性反応を抑制する（Chakkalakal 2016）。パロバロテンは、ALK2 活性化変異で過活性化された Smad シグナル伝達の抑制により軟骨細胞の分化を阻害し、間葉系幹細胞（MSC）の分化を骨組織から軟部組織へと転換させて正常な組織修復へ導く（Shimono 2011）。

複数の損傷誘発性マウス HO／FOP モデルを用いてパロバロテンの効力を評価した（CLM001-PD-002 試験、001 試験、Shimono 2011 及び Chakkalakal 2016）。パロバロテンはいずれのモデルに対しても用量依存的な HO 形成阻害作用を一貫して示し、全ての損傷条件において HO を最大限阻害するには、ヒト等価用量（HED）換算で 20 mg が必要であることが示唆された。さらに、溶媒投与群では HO 部位の関節可動域が制限されたが、パロバロテン投与群では維持された（Chakkalakal 2016 及び Lindborg 2018）。損傷誘発性モデルだけでなく、自然発症 HO や奇形母趾など FOP 患者で認められる特徴的な表現型の多くを再現したマウス FOP モデルに対しても、パロバロテンは HO 形成阻害作用を示した（Chakkalakal 2016）。

2.2 副次的薬理試験

パロバロテンの 75 種類の受容体に対する結合親和性及び 24 種類の酵素活性に対する阻害作用を評価した。受容体結合試験で意味のある結果は、アデノシン A3 受容体［50%阻害濃度（IC_{50}）=3.94 µmol/L、阻害定数（K_i）=2.71 µmol/L］、末梢型ベンゾジアゼピン受容体（IC_{50} = 2.12 µmol/L、K_i=1.91 µmol/L）、及びオピオイド δ 受容体（IC_{50} = 1.85 µmol/L、K_i = 0.97 µmol/L）に対する親和性のみであった。酵素阻害試験で意味のある結果（阻害率 10%超）は、ホスホジエステラーゼ I（24%）、ホスホジエステラーゼ IV（18%）、カテプシン G（23%）、ヒト免疫不全ウイルス 1 型プロテアーゼ（31%）及びグアニル酸シクラーゼ（14%）に対する阻害作用のみであった（1008424 試験）。

RARγ に対するパロバロテンの IC_{50} 値は 450 nmol/L であり（At 7801 試験）、また、母集団薬物動態解析において、パロバロテンの MRHD 投与時の最高血漿中濃度（C_{max}）の体重層別中央値は 138～202 ng/mL（0.333～0.487 µmol/L）であることが示されている（2.7.2.3.4 項）。これらのデ

ータに基づくと、受容体結合及び酵素阻害試験の結果から、パロバロテンがオフターゲット薬理活性によりヒトで有害作用を引き起こす可能性は低いことが推察された。

2.3 安全性薬理試験

CNS への影響評価において、パロバロテンによる有害作用の可能性は示唆されなかった。ラットを用いた Irwin 法による CNS への影響を評価する安全性薬理試験では軽度な下痢（軟便）が認められたのみであり、パロバロテン投与による行動評価への影響は認められなかった（1004719 試験）。

呼吸系への影響を評価する独立した安全性薬理試験は実施しなかったが、成熟ラット、ウサギ及びイヌを用いた反復投与毒性試験の一般状態観察において、呼吸系への影響を示唆する呼吸数又は呼吸パターンの変化などの一般状態所見は認められなかった（1007062 試験、1009627 試験、1013603 試験、1020320 試験、1009512 試験及び 1013980 試験）。幼若ラットを用いた用量設定試験（9000317 試験）では、最高用量群において、一般状態所見として胸骨突出、前肢の異常屈曲、歩行異常及び頻呼吸が認められ、頻呼吸は、胸腔骨の弱体化及び変形に対する代償性反応と考えられた。投与開始時 3 週齢の幼若ラットを用いた 6 週間反復投与毒性試験（6700132 試験）では、呼吸系に対する影響を示唆する所見は認められなかった。他のレチノイドでも呼吸器系に対する作用は報告されておらず（Armstrong 1994）、健康被験者、COPD 患者及び FOP 患者においてこれまでに収集されたパロバロテンの臨床的安全性データにも一致する（2.7.4.2.6.17 項）。

心血管系への影響評価において、パロバロテンによる有害作用の可能性は示唆されなかった。パロバロテンを用いた *in vitro* hERG 試験及びプルキンエ線維試験では、臨床的に意義のある濃度における心血管系に対する潜在的な有害作用は示されなかった。（1006456 試験、1005681 試験及び 1006565 試験）。覚醒イヌを用いた 2 つの *in vivo* テレメトリー試験において、心拍数、心調律、血圧又は心電図（ECG）パラメータ（補正 QT 間隔など）への影響は認められなかった（1006978 試験及び 1007995 試験）。

腎・泌尿器系への影響評価において、パロバロテンによる有害作用の可能性は示唆されなかった。ラットを用いた腎機能に関する安全性薬理試験において、尿中電解質排泄量の低値が認められた（1008099 試験）。しかし、ラット、ウサギ及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験並びに幼若ラットを用いた毒性試験では関連する影響は認められておらず、安全性薬理試験で認められた電解質排泄量の変化は臨床的に意義のあるものではないと考えられた。

胃腸管系への影響評価において、パロバロテンによる有害作用の可能性は示唆されなかった。ラットを用いた胃腸管系機能検討試験において、パロバロテンの単回経口投与により胃排出がわずかに遅延したが（胃内容物重量の高値）、腸管運動への影響はみられなかった（1007751 試験）。また、ラット、ウサギ及びイヌを用いた反復投与毒性試験並びに幼若ラットを用いた毒性試験における一般状態観察では、胃腸管系機能に対する直接作用を示唆する所見は認められていない。

代謝物の安全性薬理試験において、主要代謝物である M2、M3、M4a 及び M4b による心血管系に対する有害作用の可能性は示唆されなかった（1005681 試験）。さらに、パロバロテンの代謝物を用いた反復投与毒性試験（4.6.1 項）では、一般状態観察、ECG 検査、血液生化学的検査及び尿検査において主要代謝物の神経系、心血管系、呼吸系、腎・泌尿器系及び胃腸管系に対する影響を示唆する変化は認められなかった。

2.4　薬力学的薬物相互作用試験

パロバロテンを用いた薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

3 薬物動態試験

3.1 吸収

パロバロテン経口投与後の吸収は、マウス及びラットでは速やかであるが、イヌ及びサルでは遅かった。絶食下でパロバロテン 1 mg/kg を単回経口投与したときの F は、イヌで高く（63%）、マウス及びラットで中程度（32%～56%）、サルで低かった（8.4%）（1008704 試験、1008700 試験、1008701 試験及び 1009007 試験）。サルを除くいずれの動物種においても、パロバロテンの投与 0 時間から定量可能な時点までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-last}}$）及び C_{max} は投与量にほぼ比例して増加した。サルでは曝露量の増加は用量の増加比を下回った。いずれの動物種でもパロバロテンの薬物動態に対する食事の影響はみられなかった。

ラット、ウサギ及びイヌを用いた反復投与毒性試験での TK データからも、1 日 1 回反復経口投与による曝露量の用量比例性が示され、明らかな蓄積性は認められなかった。また、パロバロテンの曝露量はラットでは雌で雄よりも高かったが、ウサギ及びイヌでは性差はみられなかった。

幼若ラットでは、C_{max} 及び投与 0 から 24 時間後までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24}$）は用量依存的に増加し、Day 1 では用量比例性を示したが、Day 42 では用量比例性を下回った（6700132 試験）。幼若ラットに反復投与したときの曝露量は、Day 42 では Day 1 と比較して約 1/2 であった。反復投与による曝露量減少の要因が、酵素誘導の影響によるものか、幼若ラットでの代謝酵素活性が成熟ラットよりも高かったことによるものか、又はその両方によるものかどうかは不明である。幼若ラットでは反復投与により曝露量が減少したが、Day 42 の曝露量（0.1、0.5 及び 1.2 mg/kg/day）は、成熟ラット（0.3、0.6 及び 1 mg/kg/day）に 177 日間反復投与後の曝露量と同程度又はわずかに高かった。

3.2 分布

[^{14}C]-パロバロテンを用いたラット組織内分布試験では、緩徐ではあるが広範な組織分布が示され、副腎、肝臓、小腸及び盲腸で最も高い放射能が検出された。最終投与 96 時間後には、副腎を除き、ほとんどの組織で放射能は定量下限未満となった（1007312 試験及び CLEM-NCA-PALOVAROTENE-1270 試験）。有色ラットの組織内分布は白色ラットと同様であり、メラニン含有組織への選択的な結合は示されなかった。パロバロテンのマウス、ラット、イヌ、サル及びヒト血漿中タンパク結合率は高く、その平均値はマウス、ラット、イヌ及びサルの平均値は 97.5%～99.0%、ヒトでは 99.0%であった（1008422 試験）。マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトでのパロバロテンの血液／血漿中濃度比は 0.52～0.63 であり、パロバロテンは赤血球に分配されないことが示された（1008425 試験）。

3.3 代謝

マウス、ラット、イヌ、サル、ヒト肝ミクロソームとパロバロテンとのインキュベートで得られた *in vitro* 代謝プロファイルは、質的には類似しているが、量的には種差がみられた。主な代謝物は M2、M3、M4a 及び M4b の 4 代謝物であった。また、ラット、イヌ、サル及びヒト凍結肝細胞とのインキュベーションではパロバロテンのグルクロン酸抱合体（M5）が検出された（1008691 試験）。

ラット、イヌ及びウサギで検出された代謝物は同様であったが、M2、M3、M4a 及び M4b 曝露量の未変化体曝露量に対する比は、ラット及びイヌでは小さかったが、ウサギでは大きかった（1013603 試験、1013980 試験及び 1020320 試験）。ラット、ウサギ及びイヌにパロバロテンを反復投与したときの、M2、M3、M4a 及び M4b の曝露量の増加は概ね用量比例性を示し、ラット及びイヌでは顕著な蓄積性は認められなかったが、ウサギでは 4 代謝物、特に M4a 及び M4b で蓄積性が認められた。

パロバロテンは複数の CYP（CYP3A4、CYP2C8 及び CYP2C19）による酸化代謝を受けたが、主代謝酵素は CYP3A4 であった（1008690 試験及び CYP1933_04 試験）。パロバロテンは UGT1A4、UGT1A6 及び UGT2B7 に対する感受性の高い基質ではないと考えられた（CYP1558 R2A 試験）。

3.4 排泄

ラット（1008705 試験）及びイヌ（1008692 試験）に[^{14}C]-パロバロテンを単回経口投与後、放射能の大部分は胆汁を介して糞中から排泄された。また、投与放射能は 7 日以内に 96%以上が回収され、そのほとんどは最初の 24 時間以内に回収された。いずれの動物種でも、投与量のごく一部（3%未満）が尿中に回収された。したがって、パロバロテンの消失過程における腎排泄の寄与は少ないと考えられた。

3.5 薬物動態学的薬物相互作用

パロバロテンは複数の CYP（CYP3A4、CYP2C8 及び CYP2C19）による酸化代謝を受けたが、主代謝酵素は CYP3A4 であった（1008690 試験及び CYP1933_04 試験）。ヒト肝ミクロソームを用いた検討では、パロバロテンの代謝はケトコナゾールにより競合的に阻害され、Ki 値は 0.184 μmol/L であった（1008690 試験）。これらの結果は、パロバロテンの消失が CYP3A4 の強い阻害薬又は誘導薬により影響される可能性があることを示唆する。一方、CYP3A4 に対するパロバロテン及び 4 代謝物［M1：パロバロテンの 6,7 位水酸化体（ジアステレオマー1:5）、M2、M3 及び M4：パロバロテンの 6 位オキソ体及び 7 位オキソ体］の IC_{50} 値はいずれも 100 μmol/L 超であったことから、パロバロテンは MRHD で CYP3A4 の基質となる薬剤の代謝を阻害しないと考えられた。なお、パロバロテンによる CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対する阻害作用はみられなかった（1008423 試験及び CYP1933_05 試験）。

パロバロテンは CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 に対する臨床に関連する誘導作用を示さなかったが、CYP2B6 及び CYP3A4 については臨床での誘導作用が示唆された（CYP1933_03 試験）。*In vitro* 試験の結果を基に CYP3A4 及び CYP2B6 の誘導作用に対する寄与を評価した結果（CLM001-PK-001 試験）、パロバロテンによる誘導作用は CYP3A4 で CYP2B6 よりも高いことが示された。CYP3A4 に対する誘導作用を評価するための臨床薬物相互作用試験が実施され、パロバロテンは CYP3A4 に対する誘導薬とはならないことが示された。

In vitro 試験の結果から、パロバロテンは UGT1A4、UGT1A6 及び UGT2B7 に対する弱い基質ではなく、UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9 及び UGT2B7 に対する意味のある阻害薬にもならないと考えられた（CYP1558 R2A 試験及び CYP1558 R2B 試験）。

パロバロテンは、P-糖蛋白質（P-gp）、breast cancer resistance protein（BCRP）、organic anion transporting polypeptide（OATP）1B1 及び 1B3 又は organic cation transporter（OCT）1 の基質ではない（CYP1933_01 試験）。パロバロテンは BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OCT1 及び bile salt export pump（BSEP）を阻害し、IC_{50} 値はそれぞれ 9.69 µmol/L、1.83 µmol/L、3 µmol/L 超、3 µmol/L 超及び 14.7 µmol/L 超であった（CYP1933_02 試験）。BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OCT1 及び BSEP を介したパロバロテンの阻害作用の評価を、パロバロテンの存在及び非存在下での基質の推定 AUC 比（R）値を推定することにより実施した。その結果、パロバロテンがこれらのトランスポーターを介した臨床的に重要な相互作用を起こさないことが確認された（CLM001-PK-001 試験 Amendment 1）。

3.6 その他の薬物動態試験

ラット（1013099 試験）及びイヌ（1011046 試験）13 週間反復経口投与毒性試験で M2 と M3 の混合物（それぞれ M4a 及び M4b にさらに代謝される）を投与したとき、4 代謝物の曝露量はいずれも用量依存的に増加し、ラット及びイヌともに概ね用量比例性を示した。ラット及びイヌともに一貫した蓄積性は認められなかった。

4 毒性試験

4.1 単回及び反復投与毒性試験

パロバロテンのマウス、ラット及びイヌを用いた単回投与試験では、いずれも高い忍容性が認められた（1007778 試験、1007936 試験及び 1008421 試験）。

ラット、ウサギ及びイヌを用いた反復投与毒性試験において、パロバロテンの毒性は主として皮膚粘膜毒性（全ての動物種）と骨格への影響（ラット）であった（1007062 試験、1009627 試験、1013603 試験、1020320 試験、1009512 試験、1009654 試験及び 1013980 試験）。ラットへの 26 週間投与時の無毒性量（NOAEL）は 0.15 mg/kg/日、重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は 0.6 mg/kg/日であった。イヌへの 39 週間投与時の NOAEL 及び HNSTD は共に 0.04 mg/kg/日であった。

成熟ラット、ウサギ及びイヌでは、皮膚粘膜毒性として、主に皮膚の紅斑、浮腫、上皮過形成、角化亢進及び／又は表皮の顆粒層肥厚が用量依存的に認められた。上皮過形成は異形成を伴わなかった。ラットでは皮膚所見の発現例数及び頻度は投与開始後 13 週間で高く、投与期間の延長とともに減少し、休薬により回復した。加えて、胃の非腺粘膜（前胃、げっ歯類のみ）、食道（ウサギのみ、毒性学的意義なし）並びに眼の結膜及び外耳表面組織（イヌのみ）など、他の組織の扁平上皮にも影響が認められた。幼若ラットでは、皮膚所見として、皮膚乾燥、被毛菲薄化及び／又は痂皮形成など比較的軽度な所見が認められた（9000317 試験及び 6700132 試験）。

骨格への影響として、成熟及び幼若ラットで骨端軟骨（成長板）の軟骨形成阻害（軟骨形成不全）が認められ、パロバロテンの薬理作用を反映していた。

幼若ラットでは、骨格成長期を通じて（3 週齢から 9 週齢まで）パロバロテンを 0.1、0.5 及び 1.2 mg/kg/日の用量で投与したところ、0.5 mg/kg/日以上の投与で骨のサイズ、形状、質量及び／又は密度、並びに成長全般に影響がみられた（6700132 試験）。骨端成長板では軟骨の肥大／成熟帯の拡大（ときに軟骨形成不全を伴う）による肥厚、菲薄化又は部分／完全閉鎖のいずれかが認められた。また、高用量群腓骨の骨折治癒も認められた。これらの骨格への影響は、0.5 mg/kg/日では投与終了後に部分的な回復を示したが、1.2 mg/kg/日では回復しなかった。本試験の NOAEL は 0.1 mg/kg/日、HNSTD は 0.5 mg/kg/日であった。医薬品規制調和国際会議（ICH）S11 ガイドラインに基づくと幼若ラット試験の投与期間（3～9 週齢）における発達は 2～12 歳の小児の発達に相当する。

成熟ラットでは、軟骨形成不全の発現頻度及び重症度は、用量依存的に増加する傾向が認められたが、投与期間の長期化に伴う増悪傾向は認められなかった。軟骨形成不全は休薬により完全には回復しなかったが、部分的な回復が示された。ウサギ及びイヌでは、骨格への影響は認められなかった。

この他、ラット 4 週間投与試験では、精巣組織（精上皮）の変性が 5 mg/kg/日群で認められた。5 mg/kg/日群では重篤な毒性及び死亡がみられたことから、精巣所見はパロバロテンの直接的な影響ではなく、当該ラットの全身状態悪化に関連する変化であった可能性がある。より低用量で実施した長期の試験では精巣に被験物質に関連した所見は認められなかった。イヌ及びウサギを用いた試験では精巣への影響は認められなかった。

4.2 遺伝毒性試験

パロバロテンは細菌を用いた復帰突然変異試験で変異原性を示さず（1003192 試験）、マウス *in vivo* 骨髄小核試験で染色体異常誘発作用を示さなかった（1002682 試験）。ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験では、細胞毒性（50%以上の分裂指数低下）を示す濃度でのみ、弱い染色体異常誘発作用が認められた（1002681 試験）。当該作用の閾値（30000 ng/mL）は、MRHD で予想されるヒトの C_{max}（202 ng/mL）よりも高かった。

4.3 がん原性試験

パロバロテンのがん原性試験は実施していない。パロバロテンは、遺伝毒性を示さず、ラット及びイヌを用いた長期投与毒性試験において前がん病変及び腫瘍性病変の発生率を増加させない。上記及び薬理学的標的である RARγ 及びレチノイドに関連するクラスエフェクトに基づく WoE アプローチによりがん原性の懸念は示されていない。がん原性試験を実施しない妥当性に関する申請者の見解は 20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日に実施した[redacted]相談においても提示されている（1.13.2.3 項）。

4.4 生殖発生毒性試験

4.4.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

雄ラットを用いた受胎能試験では、1 mg/kg/日の用量まで生殖機能、受胎能及び初期胚発生に対する影響は認められなかった（9001429 試験）。雌ラットを用いた受胎能試験では、3 mg/kg/日で母動物毒性に起因する黄体数の低下及びそれに続く着床痕数及び生存胚数の減少が認められた。1 mg/kg/日までの投与では生殖機能、受胎能及び初期胚発生に対する影響は認められなかった（9001478 試験）。

4.4.2 胚・胎児発生に関する試験

ESC を用いた *in vitro* 胚毒性試験では、パロバロテンは胚胎児毒性陽性と分類された（1027474 試験）。ラットを用いた胚・胎児発生毒性試験では、器官形成期におけるパロバロテン投与により、レチノイドに典型的な胎児奇形（口蓋裂、頭蓋骨の形態異常及び長骨の短縮など）が認められた（1002872 試験及び 1003177 試験）。母動物及び胚・胎児毒性の NOAEL はいずれも 0.01 mg/kg/日と判断した。

4.4.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

パロバロテンの乳汁移行に関するデータはなく、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施していない。しかしながら、投与開始時 1 週齢の幼若ラットへパロバロテンを

連日投与する反復経口投与毒性試験において、発育に対する影響を評価している。1 週齢の幼若ラットの発達段階は満期出生児又は出生直前のヒトの胎児に相当する（Zoetis 2003）。妊娠動物へのレチノイド投与により、胎盤や乳汁を介した胎児や出生児への曝露が認められている（ディフェリン®ゲル 0.1%の申請資料概要 2.6.4 項、アムノレイク®錠 2mg の申請資料概要：分布及び排泄、チガソン®カプセル添付文書, 2024 年 1 月改訂）。したがって、パロバロテンも乳汁を介して乳児に曝露される可能性があることから幼若ラットを用いた試験で授乳中の女性へのパロバロテンの使用が乳児の発育に及ぼす影響を評価することができる。幼若ラットを用いた試験で毒性が認められたことから、授乳中の女性にはパロバロテンを使用すべきではない。パロバロテンの安全性評価のために出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を改めて実施する意義は低いと考えられる。

4.5 局所刺激性試験

パロバロテンの経口投与による消化管における局所毒性を評価する試験は実施していない。ラット、イヌ及びウサギを用いた反復投与毒性試験の結果から、ヒトの消化管への刺激性の可能性は低いことが示唆されている。

4.6 その他の毒性試験

4.6.1 代謝物の毒性

パロバロテンの主要代謝物である M2 及び M3 は更に代謝を受け、それぞれ M4a 及び M4b へと変換される。

M2 及び M3 のラット及びイヌを用いた反復経口投与試験（1010116 試験、1013099 試験、1009640 試験及び 1011046 試験）において、主要代謝物（M2、M3、M4a 及び M4b）の毒性プロファイルはパロバロテンと類似しており、これらの代謝物に特有の又は予期し得ない毒性は認められなかった。

パロバロテンの主要代謝物（M2、M3、M4a 及び M4b）は細菌を用いた復帰突然変異試験で変異原性を示さなかった（1016894 試験）。ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験では、パロバロテンと同様に弱い染色体異常誘発作用が認められたが、細胞毒性濃度でのみ認められた変化であり、臨床的に意義のある曝露量での影響は示唆されなかった（1014341 試験）。

M2、M3、M4a 及び M4b は、パロバロテンと同様に 300～350nm［紫外線 A（UVA）領域］で最大の UV 吸収を示すが、*in vitro* 光毒性試験では 3T3 線維芽細胞に対して光毒性を示さなかった（1008050 試験、1008048 試験、1008049 試験及び 1008047 試験）。

4.6.2 不純物の毒性

原薬中の不純物として規格設定されている 不純物A* について、安全性の懸念は示されなかった（8462659 試験、8462660 試験、8462655 試験、8462656 試験及び 20264821B 試験）。潜在的遺伝毒性不純物である 不純物B*、不純物C* 及び 不純物D* は細菌を用いる変異原性試験（1027922 試験、1027923 試験及び 1027924 試験）で陽性であり、ICH M7 ガイドラインに従って変異原性不純物として取り扱い、許容限度値以下で管理すべきである。

4.6.3 光毒性

パロバロテンは、UVA 領域である 300～350 nm で最大の UV 吸収を示すが、*in vitro* 光毒性試験では 3T3 線維芽細胞に対して光毒性を示さなかった（1002309 試験）。

4.7 全身曝露

パロバロテンは有効な治療法が存在しない、生命を脅かす重篤な疾患の治療を目的としており、安全性評価は有害作用のない用量ではなく、「許容できる程度に安全な」用量を特定することに焦点が当てられている。許容できる程度に安全な用量とは、患者における有害作用をモニターすることによって管理可能な用量であり、患者において有害作用が発現した場合に投薬中止によって有害作用が消失すると予想される用量である。

幼若及び成熟ラット並びに成熟ウサギ及び成熟イヌを用いたパロバロテンの反復投与毒性試験における HNSTD における血漿中曝露量［濃度－時間曲線下面積（AUC）］とヒトで予測される曝露量［定常状態での投与間隔における濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0-\tau}$）］に基づく曝露量比を表 2.4-1 に示す。

連続投与における臨床推奨用量（5 mg/日）でのパロバロテンの血漿中曝露量は毒性試験の HNSTD での曝露量を下回るが、フレアアップ時投与における用量（20 mg/日）での曝露量はこれを上回る。

＊新薬承認情報提供時に置換

表 2.4-1　非臨床毒性試験の HNSTD における定常状態のパロバロテンの血漿中曝露量と臨床推奨用量における曝露量に基づく曝露量比

	$AUC_{0-\tau}$ (ng•h/mL)[1]		**HNSTD AUC (ng•h/mL)[2]**		
	Humans 5 mg/day[3]	**Humans 20 mg/day[3]**	**Juvenile Rats 6 Weeks 0.5 mg/kg/day[4]**	**Rats 26 weeks 0.6 mg/kg/day[5]**	**Dogs 39 weeks 0.04 mg/kg/day[6]**
Palovarotene	263	1054	365	344	393
			Ratios[7]		
Total animal-to-human exposure (human dose: 5 mg/day)			1.39	1.31	1.49
Total animal-to-human exposure (human dose: 20 mg/day)			0.35	0.33	0.37

1 The highest derived $AUC_{0-\tau}$ median value at the proposed clinical doses based on simulations from a population pharmacokinetic analysis for palovarotene (Report PVO-PopPK-002 Addendum version 2)
2 HNSTD based on dose-limiting skin and skeletal effects. The average AUC values from male and female at last day of dosing
3 Proposed clinical doses
4 HNSTD based on the presence of skeletal effects at 0.5 mg/kg/day and above (Report 6700132)
5 HNSTD based on severe skin toxicity at 1.0 mg/kg/day (Report 1013603)
6 HNSTD based on severe skin toxicity at 0.12 mg/kg/day (Report 1013980)
7 Ratios calculated based on total animal-to-human exposure considering that palovarotene in vitro binding to plasma protein is similar across species (Report 1008422).

AUC=area under the concentration versus time curve; $AUC_{0-\tau}$=area under the concentration versus time curve over a dosing interval at steady state; HNSTD=highest non-severely toxic dose.

5 総括及び結論

ICH M3（R2）ガイドラインに基づき、パロバロテンの薬理、薬物動態及び毒性を一連の *in vitro* 及び *in vivo* 非臨床試験で評価した。

5.1 薬理

パロバロテンは、FOP 治療薬として開発された RARγ 選択的アゴニストである。一連の薬理試験から、パロバロテンは筋損傷部位における肥満細胞浸潤及び線維増殖性反応を抑制し、溶媒投与群では制限された HO 部位の関節可動域を維持することが示された。また、パロバロテンは Smad シグナル伝達抑制により軟骨形成を強力に阻害し、MSC の正常な分化を誘導して組織修復へ導く。これらの結果と一致して、パロバロテンは複数の損傷誘発性及び自然発症 HO／FOP モデルにおいて HO 形成阻害作用を示した。パロバロテンは、異化期での炎症反応及び組織損傷の軽減並びに同化期での軟骨形成阻害により、FOP に対して有効性を示すと考えられる。

副次的薬理試験において各種受容体及び酵素活性に対する作用を評価した結果、パロバロテンがオフターゲット薬理活性によりヒトで有害作用を引き起こす可能性は低いことが推察された。

安全性薬理評価では、パロバロテン又はその主要代謝物（M2、M3、M4a 及び M4b）のいずれについても、CNS、心血管系、呼吸系、腎・泌尿器系及び胃腸管系に有害な作用を及ぼす可能性は低いと考えられた。

5.2 薬物動態

ラット、イヌ及びウサギでのパロバロテン及びその代謝物の曝露量は概ね用量比例的に増加し、ラットでは雌で雄よりも高かったが、ウサギ及びイヌでは性差はみられなかった。幼若ラットでも用量依存的な曝露量の増加がみられた。パロバロテンの吸収に食事の影響はみられなかった。

ラット組織内分布試験では、緩徐で広範な組織分布が示され、副腎皮質、副腎髄質、肝臓、小腸及び盲腸で最も高い放射能が検出された。メラニン含有組織への選択的な結合はないと考えられた。パロバロテンのマウス、ラット、イヌ、サル及びヒト血漿中タンパク結合率は 97.5%～99.0%と高く、血液／血漿中濃度比は 0.52～0.63 であり、パロバロテンは赤血球に分配されないことが示された。

マウス、ラット、イヌ、サル、ヒトでの主な代謝物は M2、M3、M4a 及び M4b であり、ヒト特有の代謝物は検出されなかった。凍結肝細胞とのインキュベーションでは M5 が検出された。パロバロテン及びその代謝物はさらにグルクロン酸抱合体に代謝され、胆汁中に排泄されると考えられた。

ラット及びイヌにパロバロテン経口投与後の尿中放射能排泄率は低く（投与量の 3%未満）、消失過程における腎排泄は無視できると考えられた。

パロバロテンの代謝に関与する主な酵素は CYP3A4 であることから、CYP3A4 阻害薬／誘導薬との併用がパロバロテンの血中濃度に影響を与える可能性ある。なお、パロバロテン及び代謝物

は臨床濃度で主要な CYP を阻害しないと考えられた。パロバロテンは *in vitro* 試験で CYP3A4 及び CYP2B6 に対する誘導作用を示した。しかし、臨床薬物相互作用試験の結果から、臨床での CYP3A4 誘導作用は生じないことが示された。CYP2B6 については、リスク評価の結果、*in vivo* での CYP2B6 誘導作用は無視できると考えられたため、臨床薬物相互作用試験は実施しなかった。また、パロバロテンは UGT を介した薬物相互作用も生じないと考えられた。

パロバロテンは、P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 の基質ではなかった。パロバロテンは *in vitro* 試験で BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OCT1 及び BSEP を阻害したが、臨床的に意味のある薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。

5.3 毒性

毒性試験の結果から、パロバロテンの臨床使用時に予測される有害作用として、レチノイド類に共通して認められる皮膚粘膜及び小児の軟骨形成阻害に関連する骨格に対する影響並びに生殖発生毒性が示唆された。

皮膚粘膜毒性として、ラット、イヌ及びウサギ反復投与毒性試験において、皮膚所見が用量依存的に認められた。皮膚粘膜への影響は、パロバロテンの臨床試験において最も多く報告された副作用であり（2.7.4.2.2.1.3 項）、リスクを最小限に抑えるための予防措置及び治療を施す必要性並びに許容できない有害作用が生じた場合には、投与量を減じる必要がある。

骨格に対する影響として、RARγ アゴニストによる軟骨形成及び破骨細胞形成に対する影響（Balkan 2011、2.1 項）に関連した軟骨形成不全がラット反復投与毒性試験で認められ、パロバロテンの薬理作用である骨端軟骨の成熟／分化の阻害に起因した作用と考えられた。骨格への影響は、幼若期以降に骨端成長板の活性が失われる種の成熟動物（ウサギ及びイヌ）（Kilborn 2002）では認められず、骨端成長板が閉鎖している成人患者には外挿されないと考えられる。

幼若動物を用いた試験では、皮膚毒性としては比較的軽度な所見のみが認められ、骨格への影響が用量制限毒性であった。パロバロテンの臨床試験において、成長期の小児における骨端成長板の早期閉鎖が認められている（2.7.4.2.5.1.4 項）。パロバロテンは、当該リスクの観点から、骨格成長期の小児患者への使用では慎重な投与が必要とされる。

In vitro 及び *in vivo* 遺伝毒性試験結果に基づき、パロバロテンはヒトに対して遺伝毒性を示さないと考えられる。WoE アプローチに基づき、パロバロテンのがん原性の懸念は示されていない。

ラットを用いた受胎能試験では雌雄の生殖機能、受胎能及び初期胚発生に対する影響は認められなかった。

ラット胚・胎児発生毒性試験において、臨床曝露量を大きく下回る曝露によって母動物及び胚・胎児毒性が認められ、パロバロテンは他のレチノイドと同様に催奇形性を示す可能性があることが示された。したがって、妊婦にはパロバロテンを使用すべきではない。

幼若ラットで認められた毒性及びパロバロテンが乳汁中に移行し、乳児に曝露される可能性を考慮すると、授乳中の女性にはパロバロテンを使用すべきではない。

ラット、イヌ及びウサギを用いた反復投与毒性試験の結果から、パロバロテンのヒトの消化管への刺激性の可能性は低いことが示唆されている。

パロバロテンの主要代謝物（M2、M3、M4a 及び M4b）の試験では、代謝物特異的な毒性は認められなかった。

不純物の安全性評価では、原薬中の不純物として規格設定されている　不純物A*　について、安全性の懸念は示されなかった。潜在的遺伝毒性性不純物である 不純物B*、不純物C* 及び　不純物D*　は細菌を用いる復帰突然変異試験において陽性を示したことから、ICH M7 ガイドラインに従って変異原性不純物として取り扱い、許容限度値以下で管理すべきである。

パロバロテンの光毒性リスクは示唆されていない。

5.4　結論

以上の非臨床評価により明らかとなったパロバロテンの薬理、薬物動態及び毒性プロファイルは、患者における有害作用を適切に管理することでパロバロテンの臨床使用が可能であることを示している。

＊新薬承認情報提供時に置換

参考文献

Armstrong R, Ashenfelter K, Eckhoff C, Levin A, Shapiro S. General and Reproductive Toxicology of Retinoids. The Retinoid. 1994:545-72.

Balkan W, Rodríguez-Gonzalez M, Pang M, Fernandez I, Troen BR. Retinoic acid inhibits NFATc1 expression and osteoclast differentiation. J Bone Miner Metab. 2011;29(6):652-61.

Chakkalakal SA, Uchibe K, Convente MR, Zhang D, Economides AN, Kaplan FS, et al. Palovarotene Inhibits Heterotopic Ossification and Maintains Limb Mobility and Growth in Mice With the Human ACVR1(R206H) Fibrodysplasia Ossificans Progressiva (FOP) Mutation. J Bone Miner Res. 2016;31(9):1666-75.

Kaplan FS, Chakkalakal SA, Shore EM. Fibrodysplasia ossificans progressiva: mechanisms and models of skeletal metamorphosis. Dis Model Mech. 2012;5(6):756-62.

Kaplan FS, Pignolo RJ, Al Mukaddam M, Shore EM. Genetic Disorders of Heterotopic Ossification: Fibrodysplasia Ossificans Progressiva and Progressive Osseous Heteroplasia. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 9th edition.2018.865-70.

Kaplan FS, Xu M, Seemann P, Connor JM, Glaser DL, Carroll L, et al. Classic and atypical fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP) phenotypes are caused by mutations in the bone morphogenetic protein (BMP) type I receptor ACVR1. Hum Mutat. 2009;30(3):379-90.

Kilborn SH, Trudel G, Uhthoff H. Review of Growth Plate Closure Compared with Age at Sexual Maturity and Lifespan in Laboratory Animals. Contemp Top Lab Anim Sci. 2002;41(5):21-6.

Lindborg CM, Brennan TA, Wang H, Kaplan FS, Pignolo RJ. Cartilage-derived retinoic acid-sensitive protein (CD-RAP): A stage-specific biomarker of heterotopic endochondral ossification (HEO) in fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP). Bone. 2018;109:153-7.

Shimono K, Tung WE, Macolino C, Chi AH, Didizian JH, Mundy C, et al. Potent Inhibition of Heterotopic Ossification by Nuclear Retinoic Acid Receptor-gamma Agonists. Nat Med. 2011;17(4):454-60.

Shore EM, Kaplan FS. Inherited human diseases of heterotopic bone formation. Nat Rev Rheumatol. 2010;6(9):518-27.

Zoetis T, Tassinari MS, Bagi C, Walthall K, Hurtt ME. Species Comparison of Postnatal Bone Growth and Development. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2003;68(2):86-110.