第 2 部　CTD の概要

一般名：カミゼストラント

版番号：■

2.4　非臨床試験の概括評価
カミゼストラント

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次

標題ページ 1
目次 2
略語及び専門用語一覧表 3
2.4.1　非臨床試験計画概略 6
2.4.2　薬理試験 8
2.4.2.1　概要 8
2.4.2.2　効力を裏付ける試験 8
2.4.2.3　副次的薬理試験 10
2.4.2.4　安全性薬理試験 11
2.4.3　薬物動態試験 12
2.4.3.1　分析法 13
2.4.3.2　吸収 13
2.4.3.3　分布 14
2.4.3.4　代謝 14
2.4.3.5　排泄 15
2.4.3.6　薬物相互作用 15
2.4.4　毒性試験 16
2.4.4.1　トキシコキネティクス 24
2.4.5　総括及び結論 25
2.4.6　参考文献 27

表目次

表 1　*In vitro* 放射リガンド結合アッセイ及び機能アッセイにおけるカミゼストラントの影響 10
表 2　バリデートされた血漿分析法の特性の要約 13

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
ABC	Advanced breast cancer：進行乳癌
ADME	Absorption, distribution, metabolism and excretion：吸収、分布、代謝及び排泄
AI	Aromatase inhibitor：アロマターゼ阻害薬
ALT	Alanine aminotransferase：アラニン・アミノトランスフェラーゼ
ALP	Alkaline phosphatase：アルカリホスファターゼ
AR	Androgen Rreceptor：アンドロゲン受容体
AST	Aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the plasma concentration-time curve：血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{(0-t)}$	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to t hours：投与後 0 時間から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{ss}	Area under the plasma concentration-time curve at steady state：定常状態における血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein
CDK4/6	Cyclin dependent kinase 4/6：サイクリン依存性キナーゼ 4/6
CDx	Companion Diagnostics：コンパニオン診断
C_{max}	Maximum observed plasma concentration：最高血漿中濃度
C_{maxss}	Maximum plasma concentration at steady state：定常状態における最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P450：シトクロム P450
ctDNA	Circulating tumor DNA：血中循環腫瘍デオキシリボ核酸（DNA）
DDI	Drug drug interaction：薬物相互作用
DMSO	Dimethyl sulfoxide：ジメチルスルホキシド
DRF	Dose range finding：用量設定
ER	Estrogen receptor：エストロゲン受容体
ERα	Estrogen receptor alpha：エストロゲン受容体 α
ESR1	Estrogen receptor alpha gene：エストロゲン受容体 α 遺伝子
*ESR1*m	Mutations in the *ESR1* gene：*ESR1* 変異
*ESR1*wt	Wilde-type *ESR1* gene：野生型 *ESR1*
ERE	Estrogen Response Element：エストロゲン応答配列
ERG	Electroretinogram：網膜電図
EU-27	European Union (EU) which consists of 27 countries：欧州連合（EU）加盟 27 カ国
GLDH	Glutamate dehydrogenase：グルタミン酸脱水素酵素
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

略語及び専門用語	用語の説明
HCN	Hyperpolarisation-activated cyclic nucleotide gated：過分極活性化環状ヌクレオチド依存性
HER2	Human epidermal growth factor receptor 2：ヒト上皮成長因子受容体 2
hERG	Human ether-a-go-go related gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HR 陽性	Hormone receptor positive：ホルモン受容体陽性
IC_{50}	Half maximal inhibitory concentration：50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation：医薬品規制調和国際会議
I_f	Cardiac pacemaker current：心臓ペースメーカー電流
K_I	Inhibitor concentration causing half-maximal inactivation：最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度
k_{inact}	Maximum inactivation rate constant：最大不活性化速度定数
LBD	Ligand binding domain：リガンド結合ドメイン
LC-MS/MS	Liquid chromatography-mass spectrometry：液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析（計）
LH	Luteinizing hormone：黄体形成ホルモン
LH-RH	Luteinizing hormone-releasing hormone：黄体形成ホルモン放出ホルモン
MCF7	Michigan Cancer Foundation-7 breast cancer cell line：Michigan Cancer Foundation-7 乳癌細胞株
mPFS	Median progression-free survival：無増悪生存期間の中央値
MATE	Multidrug and toxin extrusion protein
MTD	Maximum tolerated dose：最大耐量
ngSERD	Next generation oral selective estrogen receptor degrader：次世代経口選択的エストロゲン受容体分解薬
NHR	Nuclear hormone receptor：核内ホルモン受容体
OATP	Organic anion transporting polypeptide：有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	Organic cation transporter：有機カチオントランスポーター
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構
PDX	Patient derived xenograft：患者由来異種移植（片）
PFS	Progression-free survival：無増悪生存期間
P-gp	P-glycoprotein：P-糖タンパク質
PK/PD	Pharmacokinetic/pharmacodynamic：薬物動態／薬力学
PR	Progesterone receptor：プロゲステロン受容体
PR 間隔	ECG interval measured from the beginning of the P wave to the beginning of the QRS complex：心電図における P 波の開始から QRS 波の開始（心室の脱分極の開始）までの間隔
QoL	Quality of life：生活の質
QT	ECG interval measured from the beginning of the QRS complex to the end of the T wave：心電図における QRS 波の開始から T 波の終了までの間隔
QTca	Heart rate corrected QT interval：心拍数で補正した QT 間隔
RR	The time between corresponding points on 2 consecutive R waves on ECG：心電図上連続する 2 つの R 波間の間隔

略語及び専門用語	用語の説明
SERD	Selective estrogen receptor degrader：選択的エストロゲン受容体分解薬
SERM	Selective estrogen receptor modulator：選択的エストロゲン受容体モジュレーター
TGI	Tumor growth inhibition：腫瘍増殖抑制
t_{max}	Time to reach maximum plasma concentration：最高血漿中濃度到達時間
UGT	UDP-glucuronosyltransferase：ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素

2.4.1　非臨床試験計画概略

乳癌は世界で 2 番目に発現割合の高い癌であり、全癌症例の 11.6%を占め、女性の癌では最も頻度が高い。2022 年において世界で新たに乳癌と診断された患者数は 230 万人を超えている（Bray et al 2024）。EU-27 によると、2022 年には新たに約 375,000 人の女性が乳癌と診断されており、女性の癌全体の約 29%を占めた（ECIS 2023、Ferlay et al 2024）。2025 年に米国では、新たに 319,750 人が乳癌と診断され、乳癌を原因とする死亡者数は 42,680 人と推定される（Siegel et al 2025）。乳癌と診断された患者の約 70%は、ホルモン受容体（HR）陽性、ヒト上皮成長因子受容体 2（HER2）陰性乳癌であり（American Cancer Society 2019-2020）、男女ともにこのサブタイプが最も多い。エストロゲン受容体 α（ERα）はステロイドホルモン受容体であり、広義の核内ホルモン受容体（NHR）スーパーファミリーに属する。リガンドであるエストラジオールが結合すると、受容体の立体構造に変化が生じ、二量体化及び核への移行を引き起こす。ここで、増殖、分化、生存等の細胞プロセスを調節する標的遺伝子のプロモーター及び／又はエンハンサー領域にあるエストロゲン応答配列（ERE）に結合する（Fuentes and Silveyra 2019、Tsai and O'Malley 1994）。

エストロゲンとエストロゲン受容体（ER）が乳癌の発症機序に重要な役割を果たすことから、ERα を乳癌に対する薬剤の標的とすることは十分確立されており、内分泌療法が HR 陽性／HER2 陰性乳癌治療の中心となっている。内分泌治療薬には、アロマターゼ阻害薬（AI）、選択的エストロゲン受容体モジュレーター（SERM）及び選択的エストロゲン受容体分解薬（SERD）がある（Hernando et al 2021、Patel and Bihani 2018）。AI（レトロゾール、アナストロゾール及びエキセメスタン）はアロマターゼ酵素を阻害することでエストロゲン合成を阻害し、ER の活性化を抑制する。タモキシフェン等の SERM はエストロゲンと競合して ER に結合し、転写活性を阻害する。フルベストラントや elacestrant 等の SERD も ER と拮抗するが、更に、プロテアソーム依存性の受容体の分解も誘導することから、AI 及び SERM に対する耐性機序が克服される可能性がある。

最近では、アベマシクリブ、パルボシクリブ、ribociclib 等のサイクリン依存性キナーゼ 4/6（CDK4/6）阻害薬を併用することにより、無増悪生存期間の中央値（mPFS）が延長し、未治療及び前治療歴を有する HR 陽性／HER2 陰性進行乳癌における内分泌療法の有効性が高まることが示されており（Gao et al 2020）、この状態下における内分泌療法と CDK4/6 阻害薬の併用は一次治療の標準治療と考えられている。残念ながら、CDK4/6 阻害薬と内分泌療法の組み合わせでは、最終的にほとんどの患者で疾患進行が認められる。一般的な耐性機序は、ERα をコードする遺伝子 *ESR1* の活性化変異（*ESR1*m）の発現である（Rinaldi et al 2020）。ERα のリガンド結合ドメイン（LBD）においてこのような点突然変異が生じると、ERα の構成的（エストロゲン非依存性）活性化を生じるアゴニスト構造が促進される（Lawson et al 2023）。AI と CDK4/6 阻害薬による一次治療の終了時におよそ 17%から 35%の患者で ctDNA 中に *ESR1*m が検出されている（Bidard et al 2019、Goetz et al 2020、O'Leary et al 2018）。実臨床データでも、1 年を超えて AI と CDK4/6 阻害薬による治療を受けた患者の約 50%で、病勢進行後に *ESR1*m が検出されることが示唆されている（Chaudhary et al 2024）。現在、二次治療において選択できる治療では、臨床効果が高くない。このため、一次治療期間を更に延長する治療法を特定するというアンメットニーズがある。内分泌療法のバックボーンを AI ではなく SERD を用いて最適化することによって、HR 陽性／HER2 陰性進行乳癌患者の臨床的進行の発生を遅らせ、QoL を維持できる可能性がある。

カミゼストラント（別名：AZD9833 及び AZ14066724）は、強力な次世代経口選択的エストロゲン受容体分解薬（ngSERD）であり、かつ、ER に対する完全拮抗薬である。カミゼストラントは、野生型 *ESR1*（*ESR1*wt）又は *ESR1*m を有する数多くの ER 陽性乳癌患者由来異種移植

（PDX）マウスモデルにおいて、単独投与でフルベストラントより優れた抗腫瘍効果及び CDK4/6 阻害薬との併用効果が示されている。（Lawson et al 2023、Scott et al 2020）。

第 II 相 SERENA-2 試験では、内分泌療法既治療の閉経後 ER 陽性局所進行又は転移性乳癌患者に 75 mg 又は 150 mg のカミゼストラントを投与した結果、フルベストラントと比べて無増悪生存期間（PFS）の有意な延長が認められた（Oliveira et al 2024）。

今回の製造販売承認申請は、HR 陽性、HER2 陰性の局所進行又は転移性乳癌患者（ICH S9 患者集団）を対象に提案された適応症を支持するものである。

カミゼストラントの薬理、安全性薬理、薬物動態及び毒性の特性評価を行うようデザインされた一連の包括的な *in vitro* 及び *in vivo* 試験において、本化合物の評価を行った。

薬効薬理の評価を行うため、カミゼストラントの各種生化学試験及び細胞試験を実施し、ERα に対する結合能、分解能及び拮抗能について評価を行った。更に、野生型 ERα を発現している ER 陽性細胞株、又は最も一般的な臨床変異である *ESR1*m（D538G、Y537S、E380Q、Y537N/C/D、L536H/P/R 又は S463P）の 1 つを発現するように遺伝子操作した MCF7 細胞を用いて、カミゼストラントの抗増殖活性を検討した。

各種 ER 陽性異種移植及び PDX マウスモデルを用いて、カミゼストラントを単独投与及び CDK4/6 阻害薬（アベマシクリブ、パルボシクリブ及び ribociclib）と併用したときの、カミゼストラントの薬物動態学的特性、薬力学的活性及び抗腫瘍効果について検討した。

副次的薬理試験として、種々の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素をカバーする一連の *in vitro* 放射リガンド結合アッセイ及び酵素アッセイを実施した。更に、一連の安全性薬理試験を実施し、心血管系、呼吸器系及び神経系に対するカミゼストラントの影響の可能性を検討した。*In vivo* 試験では、臨床投与経路である経口投与を用いた。

マウス、ラット及びイヌを用いた *in vivo* 試験では、各試験で同一の投与製剤を使用し、カミゼストラントのトキシコキネティクス、並びに吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）を評価した。血漿蛋白結合、各動物種での代謝反応、シトクロム P450（CYP）及びウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）との相互作用、トランスポーターとの相互作用、並びに代謝表現型の決定を目的とした *in vitro* 試験も多数実施された。

カミゼストラントの非臨床安全性評価を目的として、ラット及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験（ラットは最長 6 か月間及びイヌは最長 9 か月間）、今後実施される可能性があるがん原性試験で用いる用量の選択のためのラット 3 か月間試験を実施した。進行中のマウスを用いた 6 か月間のトランスジェニックマウス試験で用いる用量の選択の参考とするためのマウスを用いた試験（14 日間及び 6 週間）が完了している。これらの試験は本製造販売承認申請には必須ではないが、将来的に ICH S9 ガイドラインが適用されない患者集団への適応の可能性があり、その際に必要なものである。更に、*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験（ラット 6 か月間毒性試験における雄受胎能の評価、ラットの出生前及び出生後の評価を含む胚・胎児発生の評価、並びに雌ラットの受胎能及び初期胚発生の評価）、並びに *in vitro* 光毒性試験を実施した。心拍数減少及び視覚への影響の機序を検討する *in vitro* 及び *in vivo*（ラット）試験が完了している。また、不純物の安全性確認を目的として、ラット 1 か月間試験を実施した。一連の試験パッケージは、本製造販売承認申請に必須ではない試験も含まれるが、将来的な ICH S9 ガイドラインが適用されない患者集団への適応をサポートするために立案された。

ラット、マウス及びイヌは薬理学的に適した動物種である。*In vivo* 試験では、臨床投与経路である経口投与を用いた。

肝細胞を用いた *in vitro* 試験の結果、カミゼストラントが直接的な N-グルクロン酸抱合に加え、多数の酸化反応を受けることが示された。*In vitro* においてヒト肝細胞で生成された酸化代謝物の全てがラット又はイヌの肝細胞でも生成された。酸化代謝物はマウス肝細胞でも生成された。[^{14}C]-カミゼストラント投与によるヒト ADME 試験において、カミゼストラントの N-グルクロン酸抱合体（M4）及びカミゼストラントの酸化代謝物の N-グルクロン酸抱合体（M14）は、血漿中のカミゼストラント関連物質総量の 10%を超える曝露を示した。N-グルクロン酸抱合体である M4 は、*in vitro* ラット及びイヌ肝細胞試験、ラット及びイヌを用いた毒性試験で採取した血漿サンプル、並びにラット及びイヌに[^{14}C]-カミゼストラント投与後の血漿サンプルでは検出されなかった。M14 はヒト、ラット及びイヌの肝細胞からは検出されず、[^{14}C]-カミゼストラントを投与したラット及びイヌの血漿からも検出されなかった。M4 又は M14 に関する追加の安全性試験は実施していない。一般に、ICH S9 ガイダンスでは、不均衡性代謝物を用いた個別の安全性評価は不要であり、安定なグルクロン酸抱合体の安全性プロファイルに対する影響は小さいと考えられている（FDA 2020）。

主要な非臨床安全性試験は、全て OECD の加盟国において、OECD テストガイドライン及び GLP の原則、並びに関連する ICH ガイドラインに従って実施した。

本概括評価に示した安全域は、日本人患者にカミゼストラント 75 mg 投与（単剤投与又はアベマシクリブ若しくはパルボシクリブとの併用投与）時の血漿中曝露量に基づいている。

非臨床試験の結果から、HR 陽性 HER2 陰性の局所進行又は転移性乳癌患者（ICH S9 ガイドラインが適応となる患者集団）への適応がサポートされる。

非臨床試験の結果については、2.6.2 項「薬理試験の概要文」、2.6.4 項「薬物動態試験の概要文」及び 2.6.6 項「毒性試験の概要文」に示す。また、概要表をそれぞれ 2.6.3、2.6.5 及び 2.6.7 項に示す。

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　概要

In vitro 及び *in vivo* 試験を実施し、カミゼストラントの薬効薬理作用及び副次的薬理作用を評価し、一連の *in vivo* 安全性薬理試験により潜在的な影響の評価を行った。主な所見を以下に要約する。

2.4.2.2　効力を裏付ける試験

生化学的リガンド置換アッセイにおいて、カミゼストラントは野生型 ERα リガンド結合ドメインに IC_{50} 値 2.4 nM で結合し、エストロゲン受容体 β（ERβ）に IC_{50} 値 11.3 nM で結合した。密接に関連する 2 つの核内ホルモン受容体であるアンドロゲン受容体（AR）及びプロゲステロン受容体（PR）に対する結合強度は 1000 分の 1 未満であった。

カミゼストラントへ曝露した後の ERα 蛋白質発現について評価を行ったところ、カミゼストラントは MCF7 細胞において ERα を分解し、IC_{50} 値は 0.2 nM であった。ERα 分解の程度は、9 種類の ER 陽性細胞株にわたってフルベストラントと同程度であった。DMSO 処理を行った MCF7 細胞における ERα 蛋白質発現の半減期は 2.5～3.9 時間であり、これは 100 nM のカミゼストラント存在下では 0.5～0.7 時間に短縮した。更に、プロテアソーム阻害薬の添加により ERα の分解が阻害された。上記のデータを総合すると、カミゼストラントは、複数の細胞株で強力かつ効果的な ERα 分解薬であること、また、その分解は、プロテアソーム依存的なメカニズムを介することが確認された（Lawson et al 2023）。

カミゼストラントは ERα 分解を誘導するだけでなく、既知のアゴニスト活性のない完全 ER 拮抗薬である。カミゼストラントは MCF7 細胞においてエストラジオール誘発性 PR 蛋白質発現レベルを弱め、IC_{50} 値は 0.3 nM であった。また、3 種類の ER 陽性細胞株において、全てのエストラジオール誘発性遺伝子発現の変化が、全トランスクリプトームレベルで完全に元に戻った。カミゼストラントは、MCF7 乳癌細胞株及び子宮内膜癌細胞株 Ishikawa において ER（PR 発現の誘導なし）を作動させず、ラット子宮 *in vivo* アッセイにおいて ER の活性化作用は認められなかった。カミゼストラントは、ER に対する分解能及び拮抗能と一致して、4 種類の ER 陽性乳癌細胞株の増殖を抑制し、nM 未満の効力であった（IC_{50} 値は 0.3～0.8 nM）。ER 陽性細胞株と比較し、2 種類の ER 陰性細胞株におけるカミゼストラントの増殖抑制強度は、1000 分の 1 未満であった。

ER は NHR スーパーファミリーに属する。しかし、幅広い種類の NHR を発現するレポーター細胞アッセイにおいて、カミゼストラントはごくわずかなアンタゴニスト活性を示し（阻害率 25%未満）、追加で試験したいずれの受容体においても、アゴニストとしても機能しなかった。

ESR1 の変異は、HR 陽性／HER2 陰性進行乳癌の一次標準治療と考えられているアロマターゼ阻害薬（AI）と CDK4/6 阻害薬との併用に対する獲得耐性の要因である場合が多い。SERENA-6 試験では、Guardant360 CDx（Guardant Health）アッセイで、HR 陽性転移性乳癌で生じる最も一般的な 11 種類の *ESR1*m（Rinaldi et al 2020）のうち、1 つ以上の変異が検出された場合に、*ESR1*m 陽性とみなされる。これらの変異は全て LBD で発生する機能獲得変異であり、エストラジオールが存在しない場合に恒常的な ER 活性を付与することが示されている（Toy et al 2017）。生化学的リガンド置換アッセイにおいて、カミゼストラントは、臨床的に重要な一連の *ESR1*m（Y537N、Y537C、S463P、D538G、Y537S 及び E380Q）を有する ERα の LBD に結合し、蛍光 ER リガンドである fluormone™ ES2 と置換したところ、IC_{50} 値の範囲は 0.0020～0.0137 μM であった。この分析を拡張し、カミゼストラントが *ESR1*m 発現細胞の増殖を阻害できることを確認するために、CRISPR-Cas9 を介したゲノム編集を使用して、最も一般的な 11 種類の *ESR1*m（D538G、Y537S、E380Q、Y537N/C/D、L536H/P/R、S463P 及び V422del）を発現するクローン同質遺伝子 MCF7 細胞の包括的なパネルを生成した。生成されたクローンは、各変異に対してヘテロ接合性又はホモ接合性であった。この方法では、技術的な理由により V422del 変異を発現するクローンを生成できなかった。カミゼストラントは、MCF7 細胞の増殖を阻害し、平均 IC_{50} 値は 0.08 nM であった。利用可能な 10 種類の *ESR1*m を発現する MCF7 細胞で、カミゼストラントは MCF7 細胞の増殖を阻害し、IC_{50} 値の範囲は 0.15～8.71 nM であった。したがって、カミゼストラントは、幅広く臨床的に重要な *ESR1*m に結合し、その活性を阻害することができる。

ヒト細胞株異種移植及び PDX マウスモデルを用いて PK/PD 試験を実施し、ER によって発現が調節されている蛋白質である ERα 又は PR 蛋白質発現量にカミゼストラントが及ぼす影響について評価を行った。カミゼストラントの 1 日 1 回経口投与により、ERα 又は PR 蛋白質発現量が用量依存的及び時間依存的に低下した。より長期の有効性試験では、PDX や臨床的に重要な *ESR1*m（Y537S 及び D538G）を有する標準的な異種移植モデルを含む ER 陽性乳癌モデルにおいて、カミゼストラントによる腫瘍増殖抑制に良好な用量相関性が認められた。この腫瘍増殖に対する作用には、ERα や PR 等の薬力学的バイオマーカーの変化と相関性が認められたことから、カミゼストラントの薬理作用が有効性の向上に寄与しているという根拠が示された。

カミゼストラントの広範な活性について評価を行うため、28 種類の ER 陽性乳癌 PDX マウスモデルを対象に試験を実施した。カミゼストラント 10 mg/kg では、評価したモデル全体で有意な抗腫瘍効果が認められ、28 モデルのうち 16 モデル（57%）において 75%を超える腫瘍増殖の抑制が認められ、そのうちの 7 モデル（25%）では縮小（TGI 100%超）も認められた。活性は *ESR1*wt 及び *ESR1*m 腫瘍（Y537S、D538G 及び E380Q）で認められた。活性は、過去に内分泌療

法と CDK4/6 阻害薬の併用投与を受けたことがある患者由来異種移植モデルにおいて、さらに前臨床的に生成された獲得性パルボシクリブ耐性モデルにおいて認められた。

カミゼストラントは、3 種の CDK4/6 阻害薬（アベマシクリブ、パルボシクリブ及び ribociclib）とのいずれの組み合わせでも併用効果が認められている。*In vitro* 細胞モデルでは、カミゼストラントと CDK4/6 阻害薬とを併用した場合、単独処理と比較して各種濃度の CDK4/6 阻害薬において抗増殖活性の増強が認められた。これは、リン酸化 RB 蛋白質発現減少の増強及び G1 細胞周期停止の増強を伴っていた。*In vivo* による評価において、カミゼストラントとアベマシクリブ、パルボシクリブ又は ribociclib の併用は、*ESR1*m の状態又は CDK4/6 阻害薬への曝露歴にかかわらず、対象とした 8 種類全ての ER 陽性進行乳癌 PDX マウスモデルにおいて有意な抗腫瘍効果をもたらした。全ての PDX モデル及び投与群の各動物の腫瘍増殖率のモデルによると、PDX モデル全体で CDK4/6 阻害薬との併用によりカミゼストラントの有効性が増強され、CDK4/6 阻害薬と併用したカミゼストラントの有効性は CDK4/6 阻害薬の選択による影響を受けないことが示された。MCF7 異種移植モデルを用いた 21 日間の有効性試験で、ribociclib を併用投与したときのカミゼストラントの *in vivo* 用量反応を検討した。これらのデータから、検討した用量範囲（1～10 mg/kg）において、カミゼストラントの抗腫瘍効果は、単独投与及び ribociclib との併用のいずれにおいても用量依存的であることが示された。更に、CDK4/6 阻害薬と併用投与する場合でも ER を最大限に阻害することが重要であることが示唆された。

ヒト血漿中の主要な薬物関連循環代謝産物は、N-グルクロン酸抱合体 M4（AZ14191353）とカミゼストラントの酸化代謝物の N-グルクロン酸抱合体 M14（AZ14484678）であった。いずれも ERα 分解の点において、活性が低いか不活性代謝物であることが示された。

2.4.2.3　副次的薬理試験

195 種類の異なる分子標的（受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素）について、一連の様々な *in vitro* 放射リガンド結合、酵素及び機能アッセイによりカミゼストラントのスクリーニングを行った。アッセイは濃度－反応モードで実施するか、10 μM の単一濃度で 25%を超える活性が検出される濃度－反応曲線を用いて実施した。31 種類の標的について活性（規定した K_i 値、IC_{50} 値又は EC_{50} 値）を検出した。ERα 及び ERβ を除き、主要標的 ERα に対する活性の 100 倍以内の活性を有する標的はなかった。最も高い活性が認められた標的 10 種を以下の表 1 に示す。

表 1　*In vitro* 放射リガンド結合アッセイ及び機能アッセイにおけるカミゼストラントの影響

Target (human)	Binding K_i (μM)	Functional IC_{50} or EC_{50} (μM)	Pharmacological mode of action
Estrogen receptor-α	0.0018	nd	Antagonist [a]
Estrogen receptor-β	0.0026	nd	Antagonist [a]
H_3 histamine receptor	0.33	5.1	Antagonist
Sigma σ_2 receptor	0.79	nd	nd
Sigma σ_1 receptor	1.2	nd	nd
Glucocorticoid receptor NR3C1	2.3	nd	nd
α_{1A} adrenoceptor	3.7	>30 [b]	nd
μ opioid receptor	4.3	9.5	Agonist
α_{2C} adrenoceptor	4.7	nd	nd
D_3 dopamine receptor	5.7	>100 [b]	nd

[a]　「効力を裏付ける試験」で拮抗薬であることが実証されている。

[b]　最高濃度まで分析開始時のベースライン値を超える活性は認められなかった。

nd：検出せず。分析を行っていない、又は分析を行ったが、不活性、若しくはデータが不十分。

組換えヒト電位依存性心臓イオンチャネル（$hK_v4.3$/hKChIP2.2（I_{TO}）、$hK_v7.1$/hKCNE1（IK_S）、$hNa_v1.5$（INa）、$hK_v1.5$、$hCa_v3.2$、hHCN4）について一連の *in vitro* 電気生理学的アッセイを実施して、最大 33.3 μM のカミゼストラントについて検討を行った。カミゼストラントは、検討したいずれのチャネルに対しても活性（規定した IC_{50} 値）を示さなかった。

2.4.2.4　安全性薬理試験

カミゼストラントについて安全性薬理コアバッテリー試験を GLP に従って実施し、神経系、心血管系及び呼吸器系への影響の可能性を検討した。これらの試験は、ICH の安全性薬理試験に関するガイドライン（ICH S7A 2001、ICH S7B 2005）に従って実施した。これに加えて GLP 非適用のフォローアップ試験及び補足的試験も実施し、カミゼストラントの心血管系への影響を検討した。

GLP に準拠した hERG アッセイにおいてカミゼストラントによる hERG 阻害が認められ、IC_{50} 値は 20.7 μM（臨床用量での全体集団及び日本人患者集団における遊離型 $C_{max,\,ss}$ のそれぞれ 559 倍及び 493 倍）であった。ヒト誘導多能性幹細胞由来心筋細胞では、10 μM のカミゼストラントにおいて投与 1 時間後に測定した活動電位持続時間（APD_{90}）に延長が認められ、投与 72 時間後には APD_{90} の更なる増大が認められた。

心血管系に対するカミゼストラントの影響を、ラット単回及び反復投与テレメトリー試験、並びにイヌ反復投与テレメトリー試験（GLP 適用）で評価した。

ラットテレメトリー試験では、カミゼストラント投与によって血圧上昇、QT 間隔延長及び心拍数減少が認められた。

イヌ 7 日間反復投与心血管系テレメトリー試験では、カミゼストラントを 10 mg/kg/日の用量で経口投与したとき、左室パラメータ（左室収縮能の指標としての dP/dt+を含む）の増加、収縮期血圧上昇、脈圧上昇及び Qtca 間隔延長（心拍数で補正した QT 間隔、最大増加量 15 ms）が認められた。10 mg/kg/日の投与により、拡張期血圧低下、心拍数減少及び PR 間隔短縮も認められた（遊離型 C_{max}：0.447 μM、臨床用量での全体集団及び日本人患者集団における遊離型 $C_{max,\,ss}$ のそれぞれ 12 倍及び 11 倍）。心血管系に対するこれらの影響は徐々に大きくなり、概して 5 日目又は 7 日目に最大の変化が認められ、可逆性が確認された。イヌ 4 例中 1 例で心房期外収縮も認められた。3 mg/kg の単回投与では、心血管系への影響は認められなかった（遊離型 C_{max}：0.0594 μM、臨床用量での全体集団及び日本人患者集団における遊離型 $C_{max,\,ss}$ のそれぞれ約 2 倍及び 1 倍）。

上記のイヌ 7 日間テレメトリー試験では、カミゼストラントを 10 mg/kg/日の用量で投与したとき、QTca 間隔の遅発性延長が認められ、投与 7 日目に最大となった。QTca 間隔延長は遊離型 C_{max} の 0.447 μM で認められたが、これは hERG に対する IC_{50} 値（20.7 μM）の約 46 分の 1 に相当する。hERG に対する IC_{50} 値を下回る遊離型血漿中濃度で QTca 間隔延長が生じると考えられるが、QTca 間隔延長の発現が遅延したことから、他の機序が関与している可能性がある。この点は、心再分極が遅延整流電流によって媒介されないラットにおいて、カミゼストラントが QT 間隔延長を引き起こしたという観察結果によって裏付けられている（ICH S7B 2005）。このことから、イヌにおける QTca 間隔への影響は hERG の阻害が介在したものではないことが更に裏付けられる。

カミゼストラント投与後の心拍数減少を考慮して、観察された心拍数範囲（RR 間隔は心拍数と逆相関する）における QT 間隔と RR 間隔の関連性を説明するため、イヌ 9 か月間毒性試験の心電図のデータを用いて QT/RR 解析を個体別に実施した。カミゼストラントの 10 及び 20 mg/kg/日投与群についてのプロットは、大半の動物で QT/RR 関係に明らかな上方シフトが認められたため、イヌにおいて QTca 間隔延長作用が認められたのは、観察された心拍数減少のアーチファクトではなく、カミゼストラント投与に関連することが示された。

一連の試験を実施し、カミゼストラントにより誘発した心拍数減少下のイヌを用いてイソプレナリン、アトロピン又はグリコピロニウム臭化物（陽性変時作用薬）及び運動による心拍数増加の忍容性及び有効性を検討し、アトロピン又はグリコピロニウム臭化物の薬物動態に対するカミゼストラントの影響を調べた。

運動により、溶媒存在下及びカミゼストラントにより誘発した心拍数減少下で心拍数が同様に増加したことから、心臓は内因性刺激に依然として反応することが示された。カミゼストラントにより誘発した心拍数減少下においてイソプレナリン、アトロピン又はグリコピロニウム臭化物を投与すると、心拍数が増加した。しかし、同じイヌで溶媒の存在下でこれらの薬剤を投与した場合と比較すると、心拍数増加の程度は小さかった。カミゼストラントがグリコピロニウム臭化物又はアトロピンの血漿中曝露量を増加させたことから、グリコピロニウム臭化物及びアトロピンの変時作用効果の低下は血漿中曝露量の減少に起因するものではなかった。これらの併用投与試験では、カミゼストラント曝露量は影響を受けなかった。

イヌにカミゼストラントを 20 mg/kg の用量で 6 日間反復経口投与し、カミゼストラントの最終投与 5 時間後にアトロピン 100 µg/kg を静脈内投与したところ、一般状態の有害な変化が認められた。この変化は本質的に抗コリン性であり、イヌに高用量（500 µg/kg）のアトロピンを投与したときに観察される抗コリン作動性症候群に類似していた（Albanus et al 1969）。これらの一般状態の変化は、カミゼストラント存在下でのアトロピン投与に伴う変化であると考えられ、カミゼストラント単独存在下では認められなかった。薬物動態データによると、カミゼストラントとアトロピンを併用投与すると、有害な一般状態の変化の原因であると思われるアトロピンの血漿及び脳における曝露量が有意に増加する。

イヌにおいて、アトロピンと複数の選択された代謝物の血漿中濃度に対するカミゼストラントの影響を検討することを目的として試験を行った。その結果、カミゼストラントがアトロピンの代謝の N-脱メチル化及び水酸化を阻害することにより、ヒトにおいては関連性がないと考えられるアトロピン曝露量の増大が生じた可能性が考えられる。ヒトではアトロピン静脈内投与後に本経路（N-脱メチル化）が全排泄経路の 24%を占めることを考慮すると、カミゼストラントに阻害されることによってアトロピン曝露量が有意に増加する可能性は低い。

カミゼストラントは、Irwin 変法による観察及び全身プレチスモグラフィーを用いたラットにおける試験で、200 mg/kg までの投与において神経系又は呼吸器系に影響を及ぼさなかった。

2.4.3　薬物動態試験

カミゼストラントの薬物動態学的特性について、種々の *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験で評価した。また、GLP 適用のマウス 6 週間毒性試験、ラット及びイヌ 28 日間毒性試験、ラット 6 か月間及びイヌ 9 か月間毒性試験のトキシコキネティクスを評価した。

2.4.3.1　分析法

単回投与によるラット、イヌ及びサルの薬物動態試験で得られた試料について、除タンパクにより抽出を行い、研究グレードの分析法を用いて液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析計（LC-MS/MS）により分析した。

安全性薬理試験で得られた試料について、適格性が確認されたバイオアナリシス法を用いてカミゼストラントの濃度を分析した。試料を除タンパクにより抽出し、LC-MS/MS により分析した。

イヌを用いた探索的心血管系試験で得られた試料について、除タンパクにより抽出を行い、適格性が確認された LC-MS/MS を用いてアトロピン及びグリコピロニウム臭化物の分析を行った。

ラットの 14 日間経口投与用量設定（DRF）毒性試験、イヌの最大耐量及び 14 日間経口投与毒性試験で得られた試料について、適格性が確認されたバイオアナリシス法を用いて LC-MS/MS によりカミゼストラントの濃度を分析した。

GLP 適用ラット（28 日間及び 6 か月間）及び GLP 適用イヌ（28 日間及び 9-か月間）毒性試験、安全性薬理試験、並びにイヌを用いた探索的心血管系試験で得られた試料について、除タンパクにより抽出を行い、バリデートされた LC-MS/MS を用いてカミゼストラントの分析を行った。血漿分析法はバリデーションの判定基準を満たしており、その結果を表 2 に示す。

表 2　バリデートされた血漿分析法の特性の要約

Species	Analyte	LLOQ (μM)	ULOQ (μM)	CV (%)	Validated	Storage Stability (days)
Rat	camizestrant	0.01	10	<15% at low, mid and high QCs (≤20% LLOQ)	Yes	67 [a]
Dog	camizestrant	0.005	5	<15% at low, mid and high QCs (≤20% LLOQ)	Yes	40 [a]

[a]　Nominal -20°C

2.4.3.2　吸収

マウスに 6 週間以上 1 日 1 回強制経口投与を行う反復投与毒性試験を実施し、カミゼストラントのトキシコキネティクスを検討した。全般的に、カミゼストラントのトキシコキネティクス結果から、25 mg/kg から 150 mg/kg までは、単回投与後及び 42 日間反復投与後、C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$はカミゼストラントの用量に比例して増加することが示された。カミゼストラントを 42 日間にわたり連日投与しても、C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$には単回投与時の値と比較して明らかな差はなかった。また、マウスにおいてカミゼストラントの曝露量に性差がないことが示唆された。

ラットでは、単回及び反復投与ともにカミゼストラントの最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）は投与後 2～8 時間に認められた。カミゼストラントの C_{max} は、単回投与及び反復投与ともに 10～75 mg/kg/日の用量範囲にわたり雌雄ともに用量に比例して増加した。一方、血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）は用量比を上回る増加を示し、用量で補正した AUC の 75 mg/kg 投与時の 1 日目及び 28 日目における値は、10 mg/kg 投与時の値の最大 2.4 倍であった。カミゼストラントを 28 日間にわたり連日投与しても、C_{max} 及び AUC 値は単回投与時の値と同程度であった。雌の C_{max} 及び AUC は、雄のそれぞれ最大 2.1 倍及び 2.7 倍であり、性差の可能性が示唆された。

イヌでは、単回及び反復投与後ともに、カミゼストラントの t_{max} は投与後 2 時間以内に認められた。カミゼストラントの曝露量は用量比を上回る増加を示し、用量で補正した C_{max} 及び AUC の 20 mg/kg 投与時における値は 5 mg/kg 投与時の値のそれぞれ最大 2 倍及び 3.2 倍であった。カミゼストラントを 28 日間連日投与したときの C_{max} 平均値は、単回投与後の値と同程度であった。28 日間連日投与により AUC 平均値はやや増加し、用量で補正した値は単回投与時の値の最大 2.2 倍に相当した。カミゼストラントの曝露量に顕著な性差はみられなかった。

カニクイザルに経口投与したところ、血漿中カミゼストラント濃度は投与後約 3 時間で C_{max} に達した。検討した用量範囲において、C_{max} 及び AUC は概ね用量に比例して変化した。

2.4.3.3 分布

マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ミニブタ、カニクイザル及びヒトの血漿において、カミゼストラントの濃度依存的な蛋白結合は確認されず、非結合率（平均値）はそれぞれ 21.0%、29.3%、27.7%、15.8%、36.2%、28.2%及び 24.7%であった。ヒト全血における 10 μM のカミゼストラントの血液／血漿中濃度比は 0.991 であった。

In vitro 試験においてラット脳組織におけるカミゼストラントの非結合型分率は約 1%であった。

カミゼストラントの物性（高脂溶性、塩基性）から予測されるように、カミゼストラントの分布容積（Vss）は大きく、ラットで約 19 L/kg、イヌで約 5 L/kg であった。

白色ラット及び有色ラットを用いた定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）試験で、カミゼストラントは全身に広く分布することが示された。有色ラットのぶどう膜では放射能濃度が先ず上昇した後に低下し、最終試料採取時点（投与 21 日後）で再度上昇していたが、これは個体間変動に起因する所見と考えられる。有色皮膚では白色皮膚と比較して放射能濃度が高かったが、測定最高濃度からの低下速度は両者で同程度であったことから、皮膚におけるカミゼストラント関連物質のメラニン親和性は可逆的であることが示唆された。

2.4.3.4 代謝

肝細胞を用いた *in vitro* 試験の結果、カミゼストラントが直接的な N-グルクロン酸抱合に加え、多数の酸化反応を受けることが示された。ヒト肝細胞で生成された酸化代謝物の全てがラット又はイヌの肝細胞でも生成されたことから、これらの動物種はカミゼストラントの毒性評価に適していると考えられる。N-グルクロン酸抱合体はヒト肝細胞のみで検出された。

10 種類の CYP 分子種について評価したところ、この *in vitro* 評価系でのカミゼストラントの代謝には主に CYP3A が関与していることが示唆された。

7 種類の UGT 分子種について評価したところ、この *in vitro* 評価系でのカミゼストラントのグルクロン酸抱合には主に UGT1A4 が関与していることが示唆された。

ヒト反復投与試験のフォローアップ試験において、$AUC_{(0\text{-}8)}$を基にプールしたヒト血漿試料中のカミゼストラント関連物質について、LC-UV-MS/MS（液体クロマトグラフィー／UV 検出器／タンデム質量分析計）を用いて半定量及び特性解析を行った。UV 半定量法では、代謝物の 1 つ M4 が定量可能なカミゼストラント関連物質の総量の 10%超を占める割合にて循環しており、カミゼストラント（未変化体）よりも高い濃度で存在していた。ヒト血漿検体（カミゼストラント 300 mg を 1 日 1 回投与 15 日目）、並びに GLP 適用毒性試験で得られたラット及びイヌ血漿検体において、M4 標準品（AZ14191353）を用いて検量線を作成し、M4 のより正確な定量を行っ

た。15 日目のヒト血漿検体では有意な濃度の M4 が検出されたが、ラット及びイヌでは定量可能な濃度の M4 は認められなかった。

カミゼストラント代謝物のプロファイル及び特性を評価するために、ラットにおける[^{14}C]-カミゼストラントの *in vivo* 代謝を検討した。無処置の雄及び雌ラットにカミゼストラント（20 mg/kg）を経口投与したとき、血漿中に存在するカミゼストラント関連成分は主にカミゼストラント（未変化体）であり、雄及び雌において血漿中放射能 AUC のそれぞれ 39%及び 62%を占めた。無処置のラットにカミゼストラント（5 mg/kg）を静脈内投与したとき、投与放射能の大半が糞中に回収された（雄で 68%、雌で 76%）。カミゼストラントの尿糞中排泄率（尿中排泄率及び糞中排泄率の合計）は、雄及び雌でそれぞれ投与量の 11%及び 15%であった。

胆管カニューレを処置した雄ラットに経口（20 mg/kg）及び静脈内（5 mg/kg）投与したとき、投与放射能のそれぞれ 37%及び 47%が胆汁中に回収された。経口投与後のカミゼストラントの胆汁排泄率は低く（投与量の 0.1%）、主な胆汁中代謝物として M17（投与量の 6.3%）、M27（投与量の 2.2%）及び M28（投与量の 2.3%）が検出された。静脈内投与後のカミゼストラントの胆汁排泄率は低く（投与量の 0.1%）、主な胆汁中代謝物として M2（AZ14108679、投与量の 2.1%）、M16（投与量の 1.4%）、M17（投与量の 1.3%）及び M23（投与量の 1.0%）が同定された。

ヒトに[^{14}C]-カミゼストラント（75 mg、0.67 MBq）を経口投与したときのヒト血漿中の主要なカミゼストラント関連物質は、M4（カミゼストラントの N-グルクロン酸抱合体）、M14（カミゼストラントの酸化代謝物の N-グルクロン酸抱合体）及びカミゼストラント（未変化体）であり、血漿中放射能のそれぞれ 20.1%、11.2%及び 13.6%に相当した。その他のヒト代謝物は、いずれも酸化代謝物、又は酸化代謝物のグルクロン酸抱合体であった。

2.4.3.5 排泄

ラットに静脈内投与後の腎排泄及び胆汁排泄について検討した。1 mg/kg 投与後、腎クリアランス及び胆汁クリアランスは、カミゼストラントの全身クリアランスのそれぞれ 18%及び 2.2%に相当した。

イヌに 0.1 mg/kg 及び 10 mg/kg を静脈内投与後の腎排泄について検討した。カミゼストラントの腎クリアランスは、0.1 mg/kg では全身クリアランスの 0.14%であり、10 mg/kg では 2.1%であった。

ヒト ADME 試験において、女性健康被験者に[^{14}C]-カミゼストラント 75 mg を単回経口投与したとき、検体採取期間（432 時間）において投与放射能の 81.8%（平均値）が排泄物中に回収された。放射能の大部分（65.1%）は糞便中に回収され、経口投与後の主要排泄経路は糞便中排泄であることが示された。投与量のうち約 4.8%が未変化体（カミゼストラント）として尿中に回収された。

2.4.3.6 薬物相互作用

In vitro 試験の結果、カミゼストラントは CYP2B6、CYP2D6 及び CYP3A4/5 の可逆的阻害剤であることが示され、IC_{50} 値はそれぞれ 0.46、4.4 及び 1.7 µM であった。カミゼストラントは CYP2C8 及び CYP2E1 に対して弱い阻害を示し、検討した最高濃度（30 µM）での阻害率は、それぞれ 39.5%及び 36.8%であった。CYP1A2 及び CYP2A6 に対する阻害作用は認められず、これらの酵素を介した薬物相互作用が生じるリスクは低いと考えられた。カミゼストラントは CYP1A2、CYP2D6 及び CYP3A4/5 に対して時間依存的阻害作用を示さなかったが、CYP2C9 及び CYP2C19 に対して時間依存的阻害作用を示し、CYP2C9 に対する最大不活性化速度定数

（k_{inact}）が 0.03 min^{-1} 及び最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度（K_I）が 2.1 μM、CYP2C19 に対する k_{inact} が 0.10 min^{-1}、K_I が 1.2 μM であった。カミゼストラントは、治療域の狭い CYP2C9 及び CYP2C19 の感度の高い基質（例：ワルファリン）との併用は避ける必要がある。

凍結保存ヒト初代肝細胞において、カミゼストラントは CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用はない、又は弱かった。誘導の程度は、CYP1A2 で陽性対照の 3.89%～12.7%、CYP2B6 で陽性対照の 3%未満、CYP3A4 で陽性対照の 3%未満であった。

In vitro 試験において、カミゼストラントは、P-gp（IC_{50}：35.7 μM）、BCRP（IC_{50}：42 μM）、OATP1B1（IC_{50}：2.9 μM）、OATP1B3（IC_{50}：>100 μM）、OCT2（IC_{50}：62.2 μM）、MATE1（IC_{50}：2.52 μM）及び MATE2-K（IC_{50}：3.22 μM）に対して弱い阻害作用を示した。カミゼストラントは P-gp の基質であったが、BCRP、OATP1B1 又は OATP1B3 の基質ではなかった。

2.4.4 毒性試験

ラット及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験（ラットは最長 6 か月間、イヌは最長 9 か月間）でカミゼストラントの毒性について評価した。今後実施される可能性があるがん原性試験で用いる用量の選択のためのラット 3 か月間試験も実施した。進行中のトランスジェニックマウスを用いた 6 か月間の試験で用いる用量の選択をサポートするための試験（14 日間及び 6 週間）も実施済みである。これらマウスの試験は、本製造販売承認申請には必須ではないが、将来的に ICH S9 ガイドラインが適用されない患者集団への使用をサポートするのに必要なため実施した。更に、*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験（ラット 6 か月間毒性試験における雄の受胎能評価、ラットの出生前及び出生後の評価を含む胚・胎児発生の評価、並びに雌ラットの受胎能及び初期胚発生の評価）、並びに *in vitro* 光毒性試験を実施した。心拍数減少及び視覚への影響の機序を検討する *in vitro* 及び *in vivo*（ラット）試験も実施している。不純物の安全性確認を目的として、ラット 1 か月間試験を実施した。ラット、マウス及びイヌは薬理学的に適した動物である。*In vivo* 試験では、臨床投与経路である経口投与を用いた。

反復投与毒性試験における主要標的器官は、雌雄の生殖器、肺及び心臓であった。また、心血管系機能への影響及び網膜電図（ERG）の変化が認められた。

毒性試験で得られた主な所見について以下に考察する。

一般状態及び体重の変化

ラット及びマウスで実施した 14 日間 DRF 試験では、忍容性が認められなかった用量で活動性低下、立毛、鋤起こし様動作（ラット）、円背位（ラット）、脱水（マウス）及び呼吸異常（マウス）等、有害な一般状態の変化が認められた。

イヌの MTD/DRF 試験では、協調運動障害、異常歩行、円背位又は振戦及び／又は活動性低下、横臥、異常発声増加等の有害な一般状態の変化、並びに痙攣発作／痙攣が認められた。これらの所見は、予定している臨床用量 75 mg における総 C_{max} の約 70 倍で認められたが、イヌへの最高 20 mg/kg/日の 9 か月間反復投与、ラットへの最高 75 mg/kg/日の 6 か月間反復投与、ラット Irwin 試験における 200 mg/kg 単回投与後には認められなかった。

イヌで認められた有害な一般状態の変化の発現機序について、薬効薬理試験あるいは副次的薬理試験から説明可能な情報は得られていない。イヌ 1 か月間試験では、投与終了時の脳中に定量下限以上の濃度のカミゼストラントが検出され、脳中のカミゼストラント総濃度は血漿中よりも高かった。このことは比較的脂溶性が高いカミゼストラントの物理化学的特性と一致している。マウス、ラット及びイヌの脳には病理組織学的変化は認められなかった。

雌ラット及びマウスでの体重増加量の増加が認められたが、この変化はカミゼストラントの薬理作用によるものと考えられる。エストロゲン等の卵巣ホルモンは摂餌量及び体重の調節に関与することが広く知られており、ラットでは卵巣摘出後に急激に体重が増加する（Burch et al 2022）。

雌生殖器への影響

ラット、イヌ及びマウスの子宮、膣及び子宮頸部に病理組織学的変化が認められ、子宮では関連する肉眼的な変化及び器官重量の変化が認められた。これらの変化の内容はいずれの動物種でも同様であった。ラット及びイヌの 1 か月間試験では所見の回復性を評価したが、マウスの試験、並びにラット（6 か月間）及びイヌ（9 か月間）の長期反復投与毒性試験では回復性の評価を行わなかった。

ラットの 14 日間以上の試験、並びにイヌの 14 日間及び 9 か月間試験で子宮の萎縮が認められた。子宮頸部及び膣上皮の変性がラット及びイヌの 14 日間試験で認められ、ラットの 1 か月間以上の試験及びイヌの 9 か月間試験で萎縮に進行した。マウス 6 週間試験でも子宮／子宮頸部及び膣上皮の萎縮が認められた。マウス、ラット及びイヌの子宮、子宮頸部及び膣にみられた変化は、カミゼストラントの薬理作用による組織に対するエストロゲン刺激の低下によると考えられた。ラット 1 か月間試験では、これらの影響の回復性が確認された。イヌにおいて回復期間を設けた唯一の試験であるイヌ 1 か月間試験では、これらの変化は認められなかったことから、イヌの子宮、子宮頸部及び膣における変化の回復性は評価されていない。しかしながら、変化の性質及びラットで確認された可逆性に基づき、イヌにおいてもこれらの変化は可逆性であると予測される。

マウス及びラットでは卵管上皮萎縮が認められた。これはカミゼストラントの薬理作用によるものと考えられ、その特徴はその他の雌生殖器に認められた変化と類似していた。

更に、イヌ 9 か月間試験の雌 3 例では粘膜壊死を伴う子宮の炎症反応がみられ、そのうち 2 例には嚢胞性子宮内膜増殖症も認められた。これらのイヌにみられた変化は、イヌの嚢胞性子宮内膜増殖症-子宮蓄膿症の複合症状に特徴的なものであった。この所見はイヌによくみられる自然発生的な子宮病変であり、イヌにおける長期の発情間期に起因して発生し、ホルモンバランスの撹乱により実験的な誘発も可能である（Noakes et al 2001、Woźna-Wysocka et al 2021）。

イヌ 9 か月間試験では、低用量の 5 mg/kg/日を投与した雌 1 例が、腹部腫瘤、触診時の腹部違和感等の有害な一般状態変化、並びに進行性の摂餌量減少及び体重減少により 244 日目（35 週目）に本試験から除外された。腹部の異常は剖検時に確認された 9 か月間の投与後に屠殺した動物よりも大きな卵巣肥大に起因するものと考えられた。

ラット、マウス及びイヌの卵巣に病理組織学的変化が認められ、関連する肉眼所見及び器官重量の変化も認められた。ラット及びイヌを用いた各試験並びにマウスを用いた 6 週間試験において、嚢胞（卵胞又は黄体）が認められた。ラット 6 か月間試験では、10 mg/kg/日のラット及び 25 mg/kg/日の大部分のラットで黄体数の増加が認められた。しかし、25 mg/kg/日の一部及び 75 mg/kg/日のラットでは卵巣の萎縮が認められた。イヌ 1 か月間及び 9 か月間試験では、黄体細胞充実性の上昇が認められた。マウス 6 週間試験では、卵胞嚢胞に加えて、全ての用量で出血卵胞及び黄体数の減少が認められた。イヌ及びラット 1 か月間試験で、28 日間の回復期間後に卵巣の変化の部分的回復が認められた。

ラット 6 か月間試験及びイヌ 9 か月間試験でのみ、卵巣において過形成性及び／又は腫瘍性病変が認められた。ラットでは、卵巣の顆粒膜細胞の過形成が全用量（10～75 mg/kg/日）で認められ、75 mg/kg/日でのみ良性顆粒膜細胞腫瘍に進行した。イヌでは、20 mg/kg/日で性索間質性過形

成が認められ、5 及び 20 mg/kg/日の各 1 例で良性顆粒膜細胞腫瘍が認められた。卵巣の変化は、カミゼストラントの薬理作用に起因すると考えられる。卵巣嚢胞は、通常、性腺刺激ホルモンの分泌又は性腺刺激ホルモンに対する卵巣の反応に続発する（Greaves 2012）。黄体組織の増大（黄体数の増加及び黄体細胞充実性の上昇）は、視床下部／下垂体で ER が分解され、負のフィードバックが欠損し、卵巣における LH 分泌の増加及び黄体組織の過剰刺激が引き起こされた結果として生じると考えられる。顆粒膜細胞の過形成／腫瘍性病変も同じ機序によってもたらされる可能性があり、LH の増加は、SERM によるこれらの細胞における増殖性病変に関与していると考えられる（Long et al 2001）。マウスでは、他とは異なり黄体数の減少及び出血卵胞等が認められたが、これらもカミゼストラントの薬理作用によって生じたと考えられ、同様の病変が ER ノックアウトマウスで報告されている（Dupont et al 2000）。

雌のラット、マウス及びイヌの乳腺で病理組織学的変化が認められた。マウス 6 週間試験では全用量で上皮の萎縮が認められた。ラットの 1 か月間、3 か月間及び 6 か月間試験では、全用量の雌で乳腺の腺胞／乳管の肥大／過形成が認められた。ラット及びマウスで認められた変化はホルモンバランスの撹乱によると考えられ、カミゼストラントの薬理作用に起因すると考えられる。ラットの乳腺には性的二型性が存在し（マウス又はイヌには存在しない）、性的に成熟した雄ラットの乳腺は“小葉状・胞状”の病理組織学的外観を示し、雌ラットの乳腺は“管状・胞状”の外観を示す（Long et al 2001、Lucas et al 2007）。SERM を投与すると、ホルモンバランスが変化し、雌ラットの乳腺が雄ラットの乳腺と類似した形態に変化することがある（Rudmann et al 2005）。雌ラットで“乳腺肥大／過形成”と呼ばれるこの変化は、性的二型性がないマウスでは認められなかった。イヌで認められた乳腺の変化は、20 mg/kg/日を 9 か月間投与した雌 1 例における限局性過形成のみであった。

雌の生殖器で認められた所見を総合的に評価すると、生殖能力に有害な影響を及ぼす可能性があること及び腫瘍性病変が認められたことから、有害な変化であると判断される。閉経前又は閉経周辺期の女性に LH-RH アゴニストを投与すると、LH の産生が抑制される。閉経後の女性では、卵巣で卵胞及び関連する顆粒膜細胞コンパートメントの消失が認められる。したがって、LH による性腺の過剰刺激に続発する影響は、閉経後の女性、あるいはカミゼストラントを LH-RH アゴニストと併用して投与する閉経前又は閉経周辺期の女性においては問題とならないと考えられる。カミゼストラントの臨床試験において、現在までに生殖器への影響を示唆する徴候及び症状の発現は報告されていない。

マウス 6 週間試験において、雌でのみ下顎唾液腺にも病理組織学的変化が認められた。下顎唾液腺は生殖器ではないが、視床下部-下垂体-性腺軸への影響を示唆しており、したがって、雌の生殖器に認められた影響と関連すると考えられる。げっ歯類で性的二型がある組織である唾液腺において細管内顆粒の増加が報告されている（Jayasinghe et al 1990）。また、ホルモンバランスの変化は、唾液腺顆粒管の顆粒量の変化を引き起こす可能性がある（de Rijk et al 2003）。

雄生殖器への影響

75 mg/kg/日以上を 2 週間投与した雄マウスにおいて、精巣で精細管の変性／萎縮が認められた。マウス 6 週間試験では、25 mg/kg/日以上でライディヒ細胞の肥大及び精細管上皮における異型遺残体が認められた。マウスでは所見の回復性評価を行わなかった。

ラット 6 か月間毒性試験では、全用量で雄の生殖器に毒性所見が認められ、精子数の変化（全用量）、精子形態の変化（25 mg/kg/日以上）及び精子運動性の低下（75 mg/kg/日）を伴っていた。25 mg/kg/日以上では交尾率に影響が認められ、75 mg/kg/日のみで着床前胚損失率の高値及び生存胎児数の低値を含む受胎率への影響が認められた。全用量で認められた病理組織学的変化は、前立腺及び精嚢の萎縮（前立腺重量の減少と相関）、精細管拡張、精細管の変性／萎縮、並

びに精巣上体の精子減少であった。ラット 6 か月間試験では回復性の評価を行わなかった。ラット 1 か月間毒性試験では、雄の生殖器に影響は認められなかった。

イヌ 1 か月間試験では、全用量でイヌの精巣で間質細胞（ライディヒ細胞）の肥大／過形成が認められ、この変化は精巣重量の増加を伴っていた。28 日間の回復期間後に所見は認められず、回復性が確認された。この所見はカミゼストラントの薬理作用に起因すると考えられ、負のフィードバックループの変化に続発した LH 刺激の増加による可能性が最も高い（Hess 2003）。

イヌ 9 か月間試験において雄の生殖器系で認められた病理組織学的変化は、精細管の変性／萎縮及び精巣上体での細胞残屑であった。雄全例の精巣で間質細胞の肥大／過形成がみられ、雄 1 例では間質細胞腺腫が認められた。腺腫は、間質細胞の肥大／過形成の進行を反映している可能性が高い。これらの所見はカミゼストラントの薬理作用に起因すると考えられるが、生殖能力及び／又は腫瘍発生に影響する可能性が高いことから、有害作用と判断した。イヌ 9 か月間試験では回復性の評価を行わなかった。

雄の生殖器に対する影響は、カミゼストラントの薬理作用に関連すると考えられる。イヌにおける間質細胞（ライディヒ細胞）の肥大／過形成及び腺腫は、LH の分泌増加及び間質細胞の刺激につながる負のフィードバックループの変化に続発する変化と考えられ（Hess 2003）、男性においてカミゼストラントを LH-RH アゴニストと併用投与された場合には問題とならないと考えられる。ラット及びマウスにおける精細管の変性及び／又は萎縮も、カミゼストラントの薬理作用に続発したものと考えられ、負のフィードバックループの変化及び ER に対する直接作用による可能性がある。ER は、ラット及びマウスの精巣及び精巣上体に広く発現しており、ERαノックアウトマウスでは、精細管の変性並びに精子及び受胎能の異常が認められる（Dostalova et al 2017）。

内分泌腺への影響

マウス及びラットの反復投与毒性試験において、副腎及び下垂体に病理組織学的変化が認められた。ラット 3 か月間試験では、5 mg/kg/日を投与した雌の副腎で皮質萎縮が認められ、器官重量の減少を伴っていた。同試験において、0.1 mg/kg/日以上の雌で下垂体重量の減少が認められたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。ラット 1 か月間及び 6 か月間試験では、全ての用量（10 mg/kg/日以上）で雌の副腎及び下垂体重量の減少が認められたが、関連する病理組織学的所見は認められなかった。1 か月間試験（ラットにおいて回復性を評価した唯一の試験）では、これらの重量の変化は 28 日間の回復期間後に完全に回復していた。

副腎重量の減少は、50 mg/kg/日以上を 14 日間以上投与した雌雄マウス、及び 25 mg/kg/日以上を 6 週間投与した雌マウスでも認められ、皮質萎縮及び副腎の X 帯における色素増加と関連していた。25 mg/kg/日以上を 6 週間投与した雌マウスでは、病理組織学的検査で下垂体前葉の肥大も認められたが、関連する重量の変化は認められなかった。

イヌの下垂体又は副腎では、病理組織学的変化又は器官重量の変化は認められなかった。

マウス及びラットの副腎及び下垂体にみられた病理組織学的変化の重症度は軽微～軽度であり、試験間で発現にばらつきがみられた。副腎及び下垂体における病理組織学的変化と器官重量の変化は、カミゼストラントの薬理作用に起因するものであると考えられる。ER は視床下部及び下垂体内部に発現し、下垂体からの性腺刺激ホルモン放出を調節する負のフィードバックループに関連する（Chimento et al 2014）。雌ラット及び雌マウスの生殖器の所見は、性腺刺激ホルモンの分泌に変化があったことを示唆している。ER は副腎にも発現し、雌ラット及び雌マウスの副腎は、雄の副腎と比べて著しく大きい。この性的二型性はイヌやヒトの副腎皮質には存在しない（Inomata and Sasano 2015）。成熟雌げっ歯類にエストロゲンを投与すると、副腎皮質の絶対的な

サイズが顕著に増大する。したがって、カミゼストラントの投与は逆の影響をもたらし、副腎重量の減少や皮質萎縮を引き起こしたと考えられる。

生殖発生毒性

カミゼストラントが雄の受胎能に及ぼす影響についての評価は、ラット 6 か月間経口投与毒性試験の一部として実施し、この試験では 10 mg/kg/日以上で病理組織学的変化（前立腺及び精嚢の萎縮、精細管拡張、精細管の変性／萎縮、並びに精巣上体の精子減少）が認められた。溶媒又は 10、25 若しくは 75 mg/kg/日を投与した雄ラット（15 例/群）を、10 週目に未投与の雌ラットと 1:1 で交配させた。雄にカミゼストラントを投与すると、25 mg/kg/日以上で交尾率の低下が認められた。75 mg/kg/日では、着床胚損失の増加を伴う生存胎児数の減少が認められた。全ての用量において、精巣の精細胞数及び精巣上体の精子数が用量依存的に減少し、25 mg/kg/日以上では異常精子数の増加が認められた。75 mg/kg/日では、精子運動性の低下も認められた。これらの影響は、臨床用量 75 mg における曝露量の 2 倍以上の総血漿中曝露量（AUC）で認められたが、無作用量は確認できなかった。

雌ラットの受胎能及び生殖発生過程に対するカミゼストラントの影響を検出する試験では、交配前 14 日間及び交配期間中、続いて妊娠 6 日までカミゼストラントを経口投与した。回復性評価群の雌にも 21 日間投与を行い、その後交配前 4 週間は投与を行わなかった。雌ラットに対するカミゼストラントの経口投与は、性周期、交尾行動及び受胎能の変化をもたらした。0.075 mg/kg/日以上では、受胎能の明らかな低下が認められ、妊娠率が低下した。0.001 mg/kg/日では、着床数（胚数）の減少、着床前及び着床後胚損失率の増大が認められた。受胎能への影響は、28 日間の回復期間後に完全に回復した。無毒性量は確認できなかった。これらの影響は、臨床用量 75 mg における曝露量より低い総血漿中曝露量（AUC）で認められた。

胚・胎児発生及び出生後早期の生存／成長に対する影響について、妊娠～分娩期の評価を含む改変ラット胚・胎児発生に関する試験で評価した。0.75 mg/kg/日を投与したときに、母動物の体重減少及び妊娠中の体重増加の抑制が認められた。交配後 2 日目以降にカミゼストラントを 0.1 mg/kg/日の用量で投与した後の剖検では、全例で妊娠が認められなかった。マウスでは、卵管上皮細胞におけるエストロゲンシグナル伝達の障害により線毛機能が変化し、胚輸送が障害される可能性がある（Li et al 2017）。更に、子宮内の ERα は受精卵の適切な着床に必要な子宮内膜の増殖を誘導する（Bondesson et al 2015）。着床期から器官形成期（妊娠 6～16 日）にわたり最高 0.075 mg/kg/日のカミゼストラントを投与したとき、胚・胎児の生存、成長及び発生に対する影響は認められなかった。0.075 又は 0.75 mg/kg/日を着床から妊娠、分娩及び授乳初期まで投与したところ、妊娠期間の延長、分娩困難（0.75 mg/kg/日では雌全例で早期安楽殺に至った）が発生し、死産が多くみられた。定期分娩に至る収縮反応にはエストロゲンが必要であることから（Condon et al 2020）、分娩への影響はカミゼストラントの薬理作用に関連すると考えられた。生存母動物では出生児の生存率が低下し、出生児体重の低値が認められた。また、母動物において明瞭な乳首が全くあるいはほとんどないという変化も認められたが、ERα ノックアウトマウスでは下垂体前葉からのプロラクチン放出が減少し乳腺の発達が阻害されることから（Lee et al 2012）、この所見もカミゼストラントの薬理作用によると考えられた。

これらの影響は、臨床用量 75 mg 投与時の曝露量よりも非常に低い曝露量で認められた。妊娠可能な女性は、カミゼストラント投与中及び最終投与後少なくとも 4 週間は適切な避妊を行うことが推奨される。

リン脂質症

リン脂質症に一致する病理組織学的変化が、マウス及びラットの複数の組織でみられたが、イヌでは認められなかった。透過型電子顕微鏡を用いた観察により、リン脂質症であることが確認された。

肺ではリン脂質症に一致すると考えられる病理組織学的変化として、ラットでは肺胞マクロファージの増加／肺胞マクロファージ集簇及び肺胞中隔の空胞化、マウスでは肺胞マクロファージの増加が認められた。ラットでは 7 日間、マウスでは 14 日間の反復投与により病理組織学的変化が認められた。ラットの肺でのみ、透過型電子顕微鏡によってリン脂質症が確認された。リン脂質症は適応反応と考えられている（Lenz et al 2018）。しかし、75 mg/kg/日を 6 か月間投与した雌ラットの肺では、炎症性細胞浸潤及び重症度の高いマクロファージ蓄積が認められたことから、この用量での影響は有害であると判断された。この用量での総血漿中曝露量は、ヒトに 75 mg を投与したときの 58 倍であった。ラット 1 か月間試験で回復性を評価したが、肺胞マクロファージは数か月～数年の寿命を持つ生存期間の長い細胞であり（Murphy et al 2008）、肺胞マクロファージは 28 日間の回復期間では完全に回復しないと考えられた。しかし、これらの病理組織学的変化については部分的な回復が認められた。

肝臓におけるリン脂質症と一致すると考えられる病理組織学的変化は、マウス及びラットの肝細胞の空胞化、並びにラットのクッパー細胞の空胞化及び胆管の空胞化であった。ラットの肝臓では透過型電子顕微鏡によりリン脂質症が確認されたが、マウスでは確認されなかった。ラットの 150 mg/kg/日以上では、その他の所見として、単一細胞の肝細胞変性並びに AST、ALT、ALP 及び GLDH 活性の上昇が認められた。マウスでは、300 mg/kg/日の 14 日間投与及び 25 mg/kg/日以上の 6 週間投与で肝細胞空胞化が認められたが、肝細胞変性は伴っていなかった。GLDH、ALT 及び AST 活性の上昇は、雄マウスでは 100 mg/kg/日以上、雌マウスでは 300 mg/kg/日で認められた。ラットでは、肝細胞及びクッパー細胞にリン脂質症と一致する超微細構造の変化が認められた（マウスでは評価せず）。肝細胞は再生能を有し、変性変化は高用量（150 mg/kg/日以上）でのみ認められ、この用量での総血漿中曝露量は、臨床用量 75 mg 投与時の 145 倍を超えていた。

腎尿細管上皮及び膵臓腺房細胞の空胞化は 300 mg/kg/日を投与したマウスでのみ認められた。関連する臨床病理学的変化、炎症又は細胞変性／壊死を示す所見は認められなかった。リン脂質症を確認するための透過型電子顕微鏡による検査を実施しなかったが、病理組織学的変化（空胞化）は他の組織でみられた変化と一致していた。

いずれの動物種においても、終末分化細胞にはリン脂質症は認められなかった。

カミゼストラントの臨床試験において、現在までにリン脂質症を示唆する徴候及び症状の発現は報告されていない。

心筋症

中用量及び高用量を 6 か月間投与した雌ラットで心筋症が認められた。このときの総血漿中曝露量は、臨床用量である 75 mg 投与時の曝露量の 11 倍以上であった。ラットにおける慢性進行性心筋症の発現は、自然発生所見として知られているが（Herman and Eldridge 2019）、6 か月間試験での所見の重症度（軽度から中等度）は、背景所見の正常範囲を超えると考えられることから、カミゼストラント投与に関連する変化と判断された。相対心臓重量の増加はなく、検査した他の脈管系に病理組織学的所見は認められなかった。マウス 6 週間試験では、25 mg/kg/日以上の雌雄において心臓重量（絶対及び相対）の増加が認められたが、心臓に病理組織学的所見は認められなかった。

ラット 6 か月間試験で心筋症が認められたため、臨床試験における検査項目として心エコーが追加され、関連する除外基準が設定されたが、SERENA-6 試験における安全性データの評価から心筋症発生に関する新たな兆候は認められなかった。

心血管系機能への影響

体外ジャケット式テレメトリーを用いたイヌの DRF 試験、GLP 適用 1 か月間及び 9 か月間毒性試験において、心血管系機能への影響が認められ、これは GLP 適用イヌテレメトリー試験で認められた所見と一致していた。カミゼストラントは、動脈圧パラメータ、QA 間隔、心拍数、QTca、PR 間隔及び心房期外収縮に対して用量依存性の影響を示した。1 か月間毒性試験では、心血管パラメータに対する作用の発現は遅発性であり、概して 10 日目に影響が最も大きく、25 日目には同程度で持続するか又はやや減弱した。これらのパラメータの変化は、最終投与から 3 日後又は 22 日後までに試験前のベースライン値に戻った。QA 間隔は、最終投与の 3 日後には回復を示したが、その後最終投与の 22 日後にはベースラインを上回って延長した。

イヌ 9 か月間試験では、カミゼストラント投与により時間及び用量依存的に心拍数が減少し、QTca が延長した。これらの変化は、主に 10 及び 20 mg/kg/日では初回評価時（4 週目）に、5 mg/kg/日では 2 回目評価時（13 週目）に認められ、以降の評価時点（26 及び 39 週目）では変化の程度が更に増していた。QT/RR 解析によると、QTca 延長は観察された心拍数減少によるアーチファクトではなく、カミゼストラント投与に関連することが示唆された。用量に依存しない PR 間隔の短縮も認められたが、これは 5 及び 10 mg/kg/日のみでみられた。

臨床試験の安全性データ評価の結果、徐脈は重要なリスクとして特定された。臨床試験においてカミゼストラントに関連した徐脈が認められたが、徐脈による投与量変更例は少なく、徐脈による投与中止もなく、グレード 3 以上の事象の報告はなかった。

カミゼストラント単剤を 75～300 mg で 1 日 1 回投与したときの QTcI（個別の補正 QT）延長に関する曝露反応解析を 30 例の患者で実施した。カミゼストラント 75 mg を連日投与した際の定常状態での平均 C_{max} において、薬剤関連の QTcI 延長作用の予測値の平均値は 2.99 msec（90%信頼区間: [-0.11, 6.09]）であり、90%信頼区間の上限は 6.09 msec であった。臨床推奨用量である 75 mg 投与時に 20 msec を超える平均 QTcI の増加は認められなかった。

心拍数変化の機序検討

カミゼストラントを投与した非臨床試験動物種及び臨床試験で、心拍数の減少が認められている。心拍数減少は HCN チャネルを介した機序によるとの仮説を立て検討試験を実施した。非生理的条件下で得られた初期データはカミゼストラントが HCN4 チャネルに対して不活性であることを示したが、その後に実施した心拍数減少に関する一連の *in vitro* 試験で得られたデータはこの仮説を支持するものであった。すなわち、カミゼストラントは組換え細胞で HCN4 チャネルの機能的発現を減少させ、またヒト胚性幹細胞由来の洞房結節細胞で拍動数、拡張期脱分極速度及び I_f を減少させた。これらの *in vitro* 試験で、HCN チャネル評価項目に対するカミゼストラントの影響の発現は遅発性であり、*in vivo* のラット及びイヌ、並びにヒトで認められた心拍数減少が遅発性であったことと一致していた。麻酔下ラットにおいて、カミゼストラント投与後にみられた心拍数減少は迷走神経切断後も持続し、心拍数への影響が副交感神経活性を必要としないことが示されたことから、*in vivo* 非臨床データも、心拍数への影響に HCN チャネルが介在することに合致していた。イヌでは、心拍数を増加させる刺激（運動、アトロピン、グリコピロニウム臭化物、イソプレナリン）に対する反応が低下し、洞房結節で心拍数が減少していることと一致していた。更に、75 mg/kg（心拍数減少が認められた投与量）を投与したラットで、洞房結節細胞から発生する I_f が減少した。これは、I_f の減少が認められた *in vitro* 試験の結果を *in vivo* に外挿可

能であることを示しており、心拍数減少は洞房結節における I_f の減少に起因するという仮説が更に支持された。

視覚への影響の機序検討

カミゼストラントを 7 日間反復経口投与したときの雌 Long Evans ラットの ERG への影響、並びに最終投与後 7 日間までの影響の回復性の評価を行った。雌 Long Evans ラットにカミゼストラントを投与したとき、暗順応下の B 波及び律動様小波の振幅が用量依存的に減少するとともに、明順応下の B 波のフリッカー刺激に反応した振幅及び潜時の増加、並びに正弦波刺激後の振幅増加が認められた。また、カミゼストラントを投与すると、明順応下の早期に B 波が顕著に減少し、10 分間の明順応の終了までに対照群の値まで回復した。このことから、カミゼストラントは明所移行直後の明順応反応に影響を及ぼすことが明らかとなり、明順応の完了後に影響は減弱した。これらの影響は、1 日目及び 7 日目で概ね同程度であり、カミゼストラント最終投与 7 日後に対照群と同程度に戻った。

カミゼストラント投与により、暗順応下の B 波の振幅が減少したことから、桿体双極細胞の機能が著しく低下したことが示された。暗順応下の A 波は比較的影響を受けなかったことから明らかなように、桿体視細胞は影響を受けなかった。カミゼストラントは、様々な時間周波数でフリッカー刺激及び正弦波刺激の両方に対する明順応下の反応を増強した。ラット ERG に対するカミゼストラントの影響は 7 日間の回復期間後に回復した。

ラットにおける ERG の変化に関する無作用量は 5 mg/kg/日であった。5、12 及び 25 mg/kg/日投与 1 日目の遊離型の血漿中濃度は、臨床用量 75 mg における遊離型 C_{max} よりそれぞれ約 1、5 及び 13 倍高かった。

ラット ERG 検査で得られたデータ及び毒性試験において眼に病理組織学的変化は認められなかったことから、カミゼストラントは眼に対し、構造的影響ではなく可逆的で機能的な薬理作用を示すと考えられた。

機序検討試験によりカミゼストラント投与後のラット網膜の HCN チャネル発現領域でカミゼストラントが検出され、カミゼストラントがこれらの部位で薬理作用を発現する可能性が示された。また、カミゼストラントの処理により、*in vitro* で HCN1 及び HCN2 チャネル電流の機能的発現が低下することも示された。しかしながら、ラットの ERG に対するカミゼストラントの影響に、HCN チャネル阻害が果たす役割について、明確な結論を出すことはできなかった（2.6.6.8.3.10 項及び 2.6.6.9.10 項）。

臨床試験の安全性データ評価の結果、視覚への影響は重要なリスクとして特定された。カミゼストラントの投与に伴う視覚への影響は主にグレード 1 であり、通常は投与開始 2 週間以内に発現し、その発現は朝/晩で、短期間で消失し日常生活への影響は小さかった。非臨床試験結果と同様に、眼科学的検査においては、カミゼストラントに起因する眼の構造的変化は認められなかった。

遺伝毒性及びがん原性試験

カミゼストラントは *in vitro* の細菌を用いた復帰突然変異試験及び小核試験、並びに *in vivo* 小核試験において陰性であった。がん原性試験は実施しておらず、ICH S9 ガイドラインが対象となる承認申請においてがん原性試験は不要である。

不純物の試験

潜在的不純物の安全性確認のため不純物を添加したカミゼストラントのラットを用いた 1 か月間試験を行ったところ、カミゼストラントのみの場合と比較して、毒性プロファイルに有意な差

は認められなかった。製造工程中又は分解生成物として生成する可能性のある不純物は、毒性試験のデータに基づいて安全性が確認されている（モジュール 3、S4.5 項参照）。

光毒性試験

カミゼストラントは 290～700 nm で紫外線の吸収を示すが、紫外線照射下及び非照射下で実施した *in vitro* 光毒性試験では光毒性は認められなかった。

2.4.4.1　トキシコキネティクス

本概括評価に示した安全域は、日本人患者にカミゼストラント 75 mg 投与（単剤投与又はアベマシクリブ若しくはパルボシクリブとの併用投与）時の血漿中曝露量に基づいている。

臨床用量である 75 mg の 1 日 1 回反復投与時の母集団薬物動態解析（単剤投与又はアベマシクリブ若しくはパルボシクリブとの併用投与）に基づく AUC_{ss} 及び C_{maxss} の中央値は、1090.5 ng·h/mL 及び 81.2 ng/mL であった。これらは、それぞれ 2.29 μM·h 及び 0.17 μM（遊離型 AUC_{ss} は 0.566 μM·h、遊離型 C_{maxss} は 0.042 μM）に相当する。

毒性試験の主な所見、並びに 75 mg 投与時（単剤投与又はアベマシクリブ若しくはパルボシクリブとの併用投与）に認められた日本人患者の C_{max} 及び AUC の総曝露量及び遊離型曝露量に対する安全域を、2.6.6 項の表 14 に示す。カミゼストラントの血漿蛋白非結合率は 21.0%（マウス）、29.3%（ラット）、15.8%（イヌ）及び 24.7%（ヒト）であった。したがって、総血漿中濃度に基づく安全域と比較して、遊離型濃度に基づく安全域は、マウスでは約 1.2 倍狭く、ラットでは約 1.2 倍広く、イヌでは約 1.6 倍狭くなる。

反復投与毒性試験において、雌雄生殖器の変化に関する無毒性量は確認できなかった。長期毒性試験で検討した最低用量における総血漿中曝露量（AUC）は、臨床用量 75 mg で認められた値のラットで約 2 倍及びイヌで約 3 倍であった。2 年間がん原性試験の用量選択のためラット 3 か月間試験を追加実施したところ、臨床用量 75 mg で認められた総血漿中曝露量よりも低い曝露量において雌の生殖器に対する影響が認められた。

雄ラット受胎能に対する有害な作用は、臨床用量 75 mg における曝露量の 2 倍以上の総血漿中曝露量（AUC）において認められたが、無作用量は確認できなかった。

雌ラットの受胎能及び初期胚・胎児発生に関する経口投与試験では、臨床用量 75 mg で認められた血漿中濃度よりも非常に低い濃度において有害な作用が観察された。

ラット及び／又はマウスを用いた試験では、肺、脾臓、胸腺及び腸間膜リンパ節におけるマクロファージ集簇、並びに肝臓の胆管上皮における空胞化が認められた。マクロファージ集簇はラットの肺においてリン脂質症であることが確認され、1 か月間投与後に回復したが、6 か月間試験の雌ラットにおいては有害と判断され、そのときの総血漿中曝露量（AUC）は臨床用量 75 mg 投与時の約 58 倍であった。また、6 か月間カミゼストラントを投与した雌ラットには、臨床用量 75 mg で認められた血漿中曝露量（AUC）の約 11 倍の曝露量において心筋症が認められた。

有色ラットを用いて ERG により網膜機能の評価を行ったところ、暗順応下の B 波の振幅減少（桿体双極細胞の機能低下を示唆する）並びに明順応下の B 波の振幅及び潜時の増加が認められた。認められた作用は可逆的で病理組織学的検査において眼の構造の損傷は伴っておらず、臨床用量 75 mg の約 5 倍の血漿中遊離型カミゼストラント濃度において認められた。

2.4.5　総括及び結論

カミゼストラントは強力かつ選択的なERα分解薬であり、ERに対する完全拮抗薬でもある。カミゼストラントによるERαダウンレギュレーションは、9種類のER陽性細胞株においてフルベストラントの場合と同程度で、これはERαの分解の直接的な結果であり、ERαの半減期は、DMSO処理を行った対照細胞での2.5～3.9時間に対し、カミゼストラント存在下では0.5～0.7時間に短縮したことより示された。カミゼストラントは、乳癌モデルにおいてエストラジオール誘発性ER活性を完全に阻害し、3種類のER陽性細胞株の全トランスクリプトーム解析により、全てのエストラジオール誘発性遺伝子発現の変化が元に戻った。カミゼストラントはER陽性細胞株において細胞増殖を強力に阻害し、ER陰性細胞株では増殖抑制能を示さなかったことから、カミゼストラントのERに対する作用により*in vitro*で増殖抑制効果が生じることが示された。カミゼストラントは、ER陽性乳癌細胞株、子宮内膜癌細胞株又はラット子宮を用いたアッセイにおいてER活性化能を示さず、カミゼストラントはERに対する完全拮抗薬であることが示唆された。カミゼストラントは野生型ERαを阻害するだけでなく、変異型の受容体に結合し、最も一般的な*ESR1*mの多くを発現するMCF7細胞の増殖を阻害した。

*In vivo*において、カミゼストラントによってERα又はPR蛋白濃度が用量依存的に低下し、用量依存的な腫瘍増殖抑制が認められた。カミゼストラント単独投与によって、広範な種類のER陽性乳癌PDXマウスモデルにおいて、縮小を含む顕著な腫瘍増殖抑制が認められた。また、カミゼストラントには、3種のCDK4/6阻害薬（アベマシクリブ、パルボシクリブ及びribociclib）とのいずれの組み合わせでも併用効果が認められた。単独投与及び併用投与の活性は、*ESR1*wt及び*ESR1*m腫瘍のほか、過去に内分泌療法とCDK4/6阻害薬の併用投与を受けたことがある患者由来のモデルにおいて、更に獲得性パルボシクリブ耐性モデルにおいて認められた。以上のデータを総合すると、カミゼストラントは、経口投与が可能で、選択的にERαを分解しかつERに対する完全拮抗作用を有する薬剤であることが示され、3種類のCDK4/6阻害薬（アベマシクリブ、パルボシクリブ又はribociclib）のいずれかと併用した場合の内分泌療法のバックボーンとして、カミゼストラントの使用を裏付けている。

ラット、イヌ及びサルにおける経口投与では、カミゼストラントはそのほぼすべてが迅速に吸収された。ラット、イヌ及びサルにおけるカミゼストラントの分布容積は大きく、広範な血管外分布を示した。ラット及びイヌにおける腎排泄及び胆汁排泄はわずかであった。マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ミニブタ、カニクイザル及びヒトにおいて、カミゼストラントの濃度依存的な蛋白結合は確認されなかった。

肝細胞を用いた*in vitro*試験の結果、カミゼストラントが直接的なN-グルクロン酸抱合に加え、多数の酸化反応を受けることが示された。*In vitro*においてヒト肝細胞で生成された酸化代謝物の全てがラット又はイヌでも生成された。N-グルクロン酸抱合体（M4）は、ヒト肝細胞でのみ検出され、ラット及びイヌを用いた毒性試験で採取した血漿サンプル、並びにラット及びイヌを用いた試験で採取した[^{14}C]-カミゼストラントの投与後の血漿サンプルでは検出されなかった。[^{14}C]-カミゼストラント投与によるヒトADME試験では、カミゼストラントのN-グルクロン酸抱合体（M4）及びカミゼストラントの酸化代謝物のN-グルクロン酸抱合体（M14）のいずれも、血漿中のカミゼストラント関連物質総量の10%を超える曝露を示した。M14はヒト、ラット及びイヌの肝細胞からは検出されず、[^{14}C]-カミゼストラントを投与したラット及びイヌの血漿からも検出されなかった。

*In vitro*データによると、第I相におけるカミゼストラントの代謝は主としてCYP3A4/5が、第II相の代謝は主としてUGT1A4が介在していた。

In vitro 試験の結果、カミゼストラントは CYP2B6、CYP2D6 及び CYP3A4/5 の可逆的阻害剤であることが示された。CYP2C8 及び CYP2E1 に対しては弱い阻害を示した。CYP2C9 及び CYP2C19 に対して時間依存的阻害を示した。凍結保存ヒト初代肝細胞において、カミゼストラントは CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対し誘導作用を示さない、又は弱い誘導作用しか示さなかった。カミゼストラントは、P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対し弱い阻害作用を示した。

カミゼストラント投与時の主要標的器官は、ラット、マウス及びイヌで雌雄の生殖器であり、ラット及びイヌを用いた 1 か月間毒性試験では 28 日間の回復期間後に完全又は部分的な回復が認められた。認められた変化は、ラット又はイヌにおける 1 か月間から 6 又は 9 か月間で進行性であり、カミゼストラントの薬理作用に起因すると考えられた。ラット 6 か月間試験及びイヌ 9 か月間試験でのみ、カミゼストラントの薬理作用に起因すると考えられる過形成性及び／又は腫瘍性病変が認められた。ラットでは、卵巣の顆粒膜細胞の過形成が認められ、最高用量でのみ良性顆粒膜細胞腫瘍に進行した。イヌでは最高用量（20 mg/kg/日）で性索間質性過形成が認められ、5 及び 20 mg/kg/日の各 1 例で良性顆粒膜細胞腫瘍が認められた。カミゼストラントの臨床試験において、現在までに女性生殖器への影響を示唆する徴候及び症状の発現は報告されていない。

肺のマクロファージ集簇はラット 1 か月間毒性試験の高用量でリン脂質症であることが透過型電子顕微鏡観察により確認され、1 か月間毒性試験の高用量では雌のみに、更に 6 か月間毒性試験の高用量では雌雄に肝臓の胆管上皮における空胞化が認められた。1 か月間投与毒性試験では、28 日間の回復期間後に部分的（雌の肺）又は完全（雄の肺及び雌の肝臓）な回復が認められた。雌ラットに 6 か月間投与すると肺のマクロファージ集簇の重症度が悪化した。この雌ラットでの所見は、重症度が悪化し、炎症性細胞浸潤を伴うことから有害と判断された。カミゼストラントの臨床試験において、現在までにリン脂質症を示唆する徴候及び症状の発現は報告されていない。

ラットでは 6 か月間投与後の雌で心筋症が認められた。SERENA-6 試験における安全性データの評価から心筋症発生に関する新たな兆候は認められなかった。

カミゼストラントによる性周期、交尾行動、受胎能及び初期胚生存率への有害な影響がラットで認められたが、1 か月間の回復期間後に完全に回復した。器官形成期の妊娠ラットにカミゼストラントを投与したところ、胚・胎児の生存、成長及び発生に対する有害な影響は認められなかった。しかし、母動物への投与を分娩時及び授乳時まで延長したところ、妊娠期間の延長及び分娩異常がみられ、出生児の生存及び成長が損なわれた。妊娠可能な女性は、カミゼストラント投与中及び最終投与後少なくとも 4 週間は適切な避妊を行うことが推奨される。

イヌでは、用量依存的な心血管系機能への影響が認められた。心血管系パラメータに対する影響は遅発性であり、イヌ 1 か月間試験では 28 日間の回復期間後に試験前のベースライン値まで回復した。イヌ 9 か月間試験では、全用量で時間及び用量依存的に心拍数が減少し、QTca が延長した。機序検討試験の結果から、非臨床試験動物種及び臨床試験で認められた心拍数の減少が HCN チャネルを介した機序による可能性が示唆された。臨床試験の安全性データ評価の結果、徐脈は重要なリスクとして特定された。カミゼストラント単剤を 75～300 mg で 1 日 1 回投与したときの QTcI（個別の補正 QT）延長に関する曝露反応解析を 30 例の患者で実施した。カミゼストラント 75 mg を連日投与した際の定常状態での平均 C_{max} において、薬剤関連の QTcI 延長作用の予測値の平均値は 2.99 msec（90%信頼区間: [-0.11, 6.09]）であり、90%信頼区間の上限は 6.09 msec であった。臨床推奨用量である 75 mg 投与時に 20 msec を超える平均 QTcI の増加は認められなかった。

ラットに反復投与を行った ERG 試験の結果から、カミゼストラントが網膜に対して可逆性の機能的影響を及ぼすことが示された。毒性試験において眼科学的検査及び眼の病理組織学的検査で変化が認められなかったことから、眼に対する構造的な影響は示されなかった。臨床試験の安全性データ評価の結果、視覚への影響は重要なリスクとして特定された。

非臨床試験の結果から、HR 陽性 HER2 陰性の局所進行又は転移性乳癌患者（ICH S9 ガイドライン適応となる患者集団）へのカミゼストラントの使用が支持される。

2.4.6　参考文献

Albanus et al 1969

Albanus L, Aquilonius SM, Sundwall A, Winbladh B. The fate of intracerebroventribular injection of atropine and methylatropine in relation to their pharmacological effects. Acta Pharmacologica et Toxicologica (Copenh) 1969;27(2):81-96.

American Cancer Society 2019-2020

American Cancer Society. American Cancer Society: Breast Cancer Facts & Figures 2019-2020. Atlanta: American Cancer Society, Inc, 2019 2019-2020. Available from: https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/breast-cancer-facts-and-figures/breast-cancer-facts-and-figures-2019-2020.pdf.

Bidard et al 2019

Bidard FC, Callens C, Pistilli B, Dalenc F, de La Motte Rouge T, Sabatier R, et al. Emergence of ESR1 mutation in cell-free DNA during first line aromatase inhibitor and palbociclib: an exploratory analysis of the PADA-1 trial. Ann Oncol. 2019;30:v105-v106.

Bondesson et al 2015

Bondesson M, Hao R, Lin CY, Williams C, Gustafsson JA. Estrogen receptor signaling during vertebrate development. Biochim Biophys Acta. 2015;1849(2):142-51.

Bray et al 2024

Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2024;74:229-63.

Burch et al 2022

Burch KE, McCracken K, Buck DJ, Davis RL, SloanDK, Curtis KS. Relationship Between Circulating Metabolic Hormones and Their Central Receptors During Ovariectomy-Induced Weight Gain in Rats. Front Physiol. 2022;5:12:800266.

Chaudhary et al 2024

Chaudhary N, Chibly AM, Collier A, Martinalbo J, Perez-Moreno P, Moore HM, et al. CDK4/6i-treated HR+/HER2- breast cancer tumors show higher ESR1 mutation prevalence and more altered genomic landscape. NPJ Breast Cancer. 2024;10:15.

Chimento et al 2014

Chimento A, Sirianni R, Casaburi I, Pezzi V. Role of estrogen receptors and g protein-coupled estrogen receptor in regulation of hypothalamus-pituitary-testis axis and spermatogenesis. Front Endocrinol (Lausanne). 2014;5:1-8.

Condon et al 2020

Condon JC, Kyathanahalli C, Anamthathmakula P, Jeyasuria P. Estrogen/estrogen receptor action and the pregnant myometrium. Current Opinion in Physiology. 2020;13:135-40.

de Rijk et al 2003

de Rijk EP, Ravesloot WT, Hafmans TG, van Esch E. Multifocal ductal cell hyperplasia in the submandibular salivary glands of Wistar rats chronically treated with a novel steroidal compound. Toxicol Pathol. 2003;31(1):1-9.

Dostalova et al 2017

Dostalova P, Zatecka E, Dvorakova-Hortova K. Of Oestrogens and Sperm: A Review of the Roles of Oestrogens and Oestrogen Receptors in Male Reproduction. Int J Mol Sci. 2017;18(5):904.

Dupont et al 2000

Dupont S, Krust A, Gansmuller A, Dierich A, Chambon P, Mark M. Effect of single and compound knockouts of estrogen receptors alpha (ERalpha) and beta (ERbeta) on mouse reproductive phenotypes. Development. 2000;127(19):4277-91.

ECIS 2023

European Cancer Information System. European Union: Breast cancer burden in the EU. ECIS. 2023. Available from: https://ecis.jrc.ec.europa.eu/sites/default/files/2024-01/jrc_Breast_cancer_2022_Oct_2023.pdf.

FDA 2020

FDA. Safety Testing of Drug Metabolites Guidance for Industry. 2020.

Ferlay et al 2024

Ferlay J, Ervik M, Lam F, Laversanne M, Colombet M, Mery L, et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2024. Available from: https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/940-european-union-27-fact-sheet.pdf.

Fuentes and Silveyra 2019

Fuentes N, Silveyra P. Estrogen receptor signaling mechanisms. Adv Protein Chem Struct Biol. 2019;116:135-70.

Gao et al 2020

Gao JJ, Cheng J, Bloomquist E, Sanchez J, Wedam SB, Singh H, et al. CDK4/6 inhibitor treatment for patients with hormone receptor-positive, HER2-negative, advanced or metastatic breast cancer: a US Food and Drug Administration pooled analysis. Lancet Oncol. 2020;21:250-60.

Goetz et al 2020

Goetz MP, Hamilton EP, Campone M, Hurvitz SA, Cortes J, Johnston SRD, et al. Acquired genomic alterations in circulating tumor DNA from patients receiving abemaciclib alone or in combination with endocrine therapy. American Society of Clinical Oncology; 2020.

Greaves 2012

Greaves P. Female genital tract. Histopathology of Preclinical Toxicity Studies: Interpretation and Relevance in Drug Safety Evaluation, 4th ed Elsevier, Amsterdam. 2012;667-723.

Herman and Eldridge 2019

Herman E, Eldridge S. Spontaneously occurring cardiovascular lesions in commonly used laboratory animals. Cardiooncology. 2019;5(1):1-8.

Hernando et al 2021

Hernando C, Ortega-Morillo B, Tapia M, Moragón S, Martínez MT, Eroles P, et al. Oral selective estrogen receptor degraders (SERDs) as a novel breast cancer therapy: present and future from a clinical perspective. Int J Mol Sci. 2021;22.

Hess 2003

Hess RA. Estrogen in the adult male reproductive tract: a review. Reprod Biol Endocrinol. 2003;1:1-14.

ICH S7A 2001

ICH S7A. ICH harmonised tripartite guideline S7A. Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals. European Medicines Agency; 2001.

ICH S7B 2005

ICH S7B. ICH harmonised tripartite guideline S7B. The non-clinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarisation (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals. 2005.

Inomata and Sasano 2015

Inomata A, Sasano H. Practical approaches for evaluating adrenal toxicity in nonclinical safety assessment. J Toxicol Pathol. 2015;28(3):125-32.

Jayasinghe et al 1990

Jayasinghe NR, Cope GH, Jacob S. Morphometric studies on the development and sexual dimorphism of the submandibular gland of the mouse. J Anat. 1990;172:115-27.

Lawson et al 2023

Lawson M, Cureton N, Ros S, Cheraghchi-Bashi A, Urosevic J, D'Arcy S, Delpuech O, et al. The next-generation oral selective estrogen receptor degrader Camizestrant (AZD9833) suppresses ER+ breast cancer growth and overcomes endocrine and CDK4/6 inhibitor resistance. Cancer Res. 2023;83:3989-4004.

Lee et al 2012

Lee HR, Kim TH, Choi KC. Functions and physiological roles of two types of estrogen receptors, ERα and ERβ, identified by estrogen receptor knockout mouse. Lab Anim Res. 2012;28(2):71-6.

Lenz et al 2018

Lenz B, Braendli-Baiocco A, Engelhardt J, Fant P, Fischer H, Francke S et al. Characterizing Adversity of Lysosomal Accumulation in Nonclinical Toxicity Studies: Results from the 5th ESTP International Expert Workshop. Toxicol Pathol. 2018;46(2):224-46.

Li et al 2017

Li S, O'Neill SR, Zhang Y, Holtzman MJ, Takemaru KI, Korach KS et al. Estrogen receptor α is required for oviductal transport of embryos. FASEB J. 2017;31(4):1595-607.

Long et al 2001

Long GG, Cohen IR, Gries CL, Young JK, Francis PC, Capen CC. Proliferative lesions of ovarian granulosa cells and reversible hormonal changes induced in rats by a selective estrogen receptor modulator. Toxicol Pathol. 2001;29(6):719-26.

Lucas et al 2007

Lucas JN, Rudmann DG, Credille KM, Irizarry AR, Peter A, Snyder PW. The rat mammary gland: morphologic changes as an indicator of systemic hormonal perturbations induced by xenobiotics. Toxicol Pathol. 2007;35(2):199-207.

Murphy et al 2008

Murphy J, Summer R, Wilson AA, Kotton DN, Fine A. The prolonged life-span of alveolar macrophages. Am J Respir Cell Mol Biol. 2008;38(4):380-5.

Noakes et al 2001

Noakes DE, Dhaliwal GK, England GC. Cystic endometrial hyperplasia/pyometra in dogs: a review of the causes and pathogenesis. J Reprod Fertil Suppl. 2001;57:395-406.

O'Leary et al 2018

O'Leary B, Cutts RJ, Liu Y, Hrebien S, Huang X, Fenwick K, et al. The genetic landscape and clonal evolution of breast cancer resistance to palbociclib plus fulvestrant in the PALOMA-3 trial. Cancer Discov. 2018;8:1390-403.

Oliveira et al 2024

Oliveira M, Pominchuk D, Nowecki Z, Hamilton E, Kulyaba Y, Andabekov T, et al. Camizestrant, a next-generation oral SERD, versus fulvestrant in post-menopausal women with oestrogen receptor-positive, HER2-negative advanced breast cancer (SERENA-2): a multi-dose, open-label, randomised, phase 2 trial. Lancet Oncol. 2024;25:1424-39.

Patel and Bihani 2018

Patel HK, Bihani T. Selective estrogen receptor modulators (SERMs) and selective estrogen receptor degraders (SERDs) in cancer treatment. Pharmacol Ther. 2018;186:1-24.

Rinaldi et al 2020

Rinaldi J, Sokol ES, Hartmaier RJ, Trabucco SE, Frampton GM, Goldberg ME, et al. The genomic landscape of metastatic breast cancer: insights from 11,000 tumors. PLoS One. 2020;15:e0231999.

Rudmann et al 2005

Rudmann DG, Cohen IR, Robbins MR, Coutant DE, Henck JW. Androgen dependent mammary gland virilism in rats given the selective estrogen receptor modulator LY2066948 hydrochloride. Toxicol Pathol. 2005;33(6):711-9.

Scott et al 2020

Scott JS, Moss TA, Balazs A, Barlaam B, Breed J, Carbajo RJ, et al. Discovery of AZD9833, a potent and orally bioavailable selective estrogen receptor degrader and antagonist. J Med Chem. 2020;63:14530-59.

Siegel et al 2025

Siegel RL, Kratzer TB, Giaquinto AN, Sung H, Jemal A. Cancer statistics, 2025. CA Cancer J Clin. 2025;75:10-45.

Toy et al 2017

Toy W, Weir H, Razavi P, Lawson M, Goeppert AU, Mazzola AM, et al. Activating ESR1 mutations differentially affect the efficacy of ER antagonists. Cancer Discov. 2017;7:277-87.

Tsai and O'Malley 1994

Tsai MJ, O'Malley BW. Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members. Annu Rev Biochem. 1994;63:451-86.

Woźna-Wysocka et al 2021

Woźna-Wysocka M, Rybska M, Błaszak B, Jaśkowski BM, Kulus M, Jaśkowski JM. Morphological changes in bitches endometrium affected by cystic endometrial hyperplasia - pyometra complex - the value of histopathological examination. BMC Vet Res. 2021;17(1):174.