

PDGFR、KIT、FLT3、RET 及び CSF-1R に関する説明がなされている。)の発現量との関係を踏まえて本薬の作用機序について説明するよう求め、申請者は以下の旨を回答した。

GIST について：

GISTの発症にはKIT及びPDGFR- α の変異が関与していることが示されている。本薬は、KITリガンドであるSCF刺激によるNCI-H526細胞及びMO7E細胞の増殖を各々2及び7nmol/LのIC₅₀値で阻害し、またPDGFR- α を過剰に発現させたNIH3T3細胞においても、PDGF刺激による増殖を70nmol/LのIC₅₀値で阻害した(「3.1.1)効力を裏付ける試験」の項参照)。以上より、本薬のGISTにおける薬効には、GIST細胞が発現しているKIT及びPDGFR- α の阻害を介した細胞に対する直接的な増殖阻害が大きな役割を担っていると考える。

また、GISTの発症にはKIT及びPDGFR- α 以外にPDGFR- β 及びVEGFRの関与の可能性が示されているが、現時点ではこれらがGIST細胞に直接発現することが発症・増殖等にどの程度関与するかも明らかではない。しかしながら、PDGFR及びVEGFRはいずれも腫瘍血管新生の制御に重要であることが知られていることから、本薬のGISTを含む固形癌に対する薬効においては、これらの阻害も重要であると考えられる。

一方、FLT3、RET及びCSF-1RのGISTにおける発現を示す報告は文献検索では見出されておらず、本薬のGISTに対する薬効におけるこれらのRTK阻害の関与は低いものと考えられる。

腎細胞癌について：

腎細胞癌の発症には癌抑制遺伝子であるVon Hippel-Lindau (VHL) 遺伝子の不活性化が重要な役割を占めており、このVHL遺伝子の不活性化が低酸素誘導因子(HIF)を介してVEGF、PDGF等の血管新生因子を含む種々の低酸素で誘導されるタンパク質を発現させる(N Engl J Med 2007; 356: 185-187)。腎細胞癌は血管が豊富な腫瘍であり(Clin Cancer Res 2007; 13: 764S-769S)、腎細胞癌に対する本薬の薬効には、上記のようにVEGFR及びPDGFRの阻害を介した腫瘍血管新生阻害が重要な役割を占めていると考えられる。

また、ヒト胎児腎細胞株及びヒト腎癌細胞株においては、検討した計9種中7種の細胞株でc-RETの発現が確認されていること、及びRETのリガンドであるグリア細胞株由来神経栄養因子(GDNF)をc-RETの発現が確認されたRCC-GW細胞株に添加することにより細胞増殖が促進された(J Biol Chem 2004; 279: 31149-31156)ことから、本薬の腎細胞癌に対する薬効の一部は、RET阻害を介している可能性が示唆されている。

一方、腎細胞癌の中でも嫌色素性細胞癌は高率にKITを発現しているものの、その変異は認められておらず、本薬の腎細胞癌に対する薬効におけるKIT阻害の寄与は少ないと考えられる。なお、FLT3及びCSF-1の腎細胞癌における発現を示す報告は文献検索では見出されておらず、これらのRTK阻害の寄与も少ないものと考えられる。

機構は、回答を了承した。

なお、申請者は、種々の腫瘍細胞を用いた検討から本薬の作用は、腫瘍における血管新生を阻害するとともに、腫瘍細胞の分裂阻害やアポトーシス誘導等から、複数種のRTKを同時に阻害することにより、複数の作用機序を介して腫瘍増殖抑制効果を示すと考察している(「3.1.2)作用機序」の項参照)が、機構は、今般提出された資料から本薬の作用機序に関して以下のように考える。

ヒト腎細胞癌細胞株 786-O 皮下移植マウスを用いた血管新生阻害作用に関する検討結果より、本薬による血管新生阻害作用は本薬の作用機序の一つとして期待されると考える。一方、複数種の RTK を介した本薬の作用機序を説明するための十分な試験成績は現時点で得られておらず、当該作用機序の説明は推測の段階であり、腎細胞癌と GIST の細胞増殖阻害への複数の RTK を介した本薬の作用の寄与について説明するため、今後詳細な検討の必要性があると考えます。

また、申請者は、KIT と PDGFR- β のリン酸化阻害に関する検討結果を以て「本薬の KIT 阻害作用の用量反応及び PK/PD は VEGFR-2 及び PDGFR- β のそれらと同様である」と説明しているが（「3.1 1）（1）*in vivo* ii）KIT リン酸化阻害作用」の項参照）、最大阻害が示される投与量での検討にとどまっており、機構は申請者の考察は受け入れられないと考える。

2) *c-kit* 遺伝子変異による本薬の薬効への影響について

機構は、*c-kit* 遺伝子の変異によりイマチニブに対する感受性が変化する可能性が報告されていることから、本薬の薬効へ及ぼす *c-kit* 遺伝子変異の影響について説明するよう求め、申請者は以下の旨を回答した。

c-kit 又は PDGFR- α 遺伝子の変異による本薬の薬効への影響を明らかにするため、野生型及び様々な変異を有するヒト KIT 又は PDGFR- α を発現させたチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞を用いて、本薬によるチロシンキナーゼリン酸化阻害作用を検討した（臨床的な検討内容については、「4.3 <機構における審査の概略>4）（4）KIT (CD117) 陰性 GIST に対する有効性について」の項参照）。

① 一次変異について

野生型 KIT 及び GIST 患者に高頻度で認められる一次変異である exon 9 及び 11 の変異を有する KIT に関する検討では、本薬は野生型 KIT と exon 11 に点変異 (V560D) を有する KIT のリン酸化をともに阻害し (IC₅₀ 値は各々 50nmol/L 未満)、また、exon 9 に挿入変異を有する KIT もそれよりやや弱いながらも阻害した (IC₅₀ 値: 100~1,000nmol/L)。

PDGFR- α については、本薬は野生型と膜近傍領域に点変異 (V561D) を有する変異型の双方のリン酸化を 50nmol/L 未満の IC₅₀ 値で阻害したが、一次及び二次変異として低頻度に認められる D842V の変異を有する PDGFR- α に対する作用はより弱かった (IC₅₀ 値: 1,000 nmol/L)。

また、*c-kit* 遺伝子の exon 11 に 57 塩基対の欠損がある GIST 患者の腫瘍組織から樹立した GIST-T1 細胞株に対して本薬は 40nmol/L 以下の濃度で増殖阻害、コロニー形成阻害及びアポトーシス誘導作用を示した（「3.1 1）（2）腫瘍細胞の増殖に及ぼす影響」の項参照）。さらに、野生型 KIT 及び変異型 KIT に対する本薬の結合能を検討した結果、本薬は野生型 KIT、exon 11 に変異 (V559D) を有する KIT 及び exon 17 に変異 (N822K) を有する KIT のいずれにも同程度に結合することが報告されている（各々の K_i 値: 0.7、0.4 及び 3nmol/L）(Nature Biotech 2005; 23: 329-336、Proc Natl Acad Sci USA 2005; 102: 11011-11016)。

② 二次変異について

イマチニブ耐性の主たる要因と考えられている KIT 又は PDGFR- α の二次変異に対する本薬の作用を検討した結果、本薬はイマチニブ耐性 GIST 患者にも認められる exon 13 (V654A) 又は 14 (T670I) に変異を有する KIT のリン酸化を 50~100nmol/L 又はそれ以下の濃度で阻害することが示された。一方、同じくイマチニブ耐性 GIST 患者にみられる変異のうち、キナーゼ領域 (activation loop) やヒンジ領域が存在する exon 17 (Y823D、

N822K、D816H 及び C809G) 又は 18 (A829P) に変異を有する KIT に対する本薬のリン酸化阻害作用は弱く、その IC₅₀ 値は 1000nmol/L 以上だった。

同様に、activation loop に変異 (D842V) を有する PDGFR- α に対しても、本薬は弱い阻害活性しか示さなかった。

Preneu らは上記と同様の検討を行うとともに、イマチニブ耐性 GIST 患者 3 例から得た初代培養細胞を用いた *ex vivo* 試験も別途実施している (Clin Cancer Res 2006; 12: 2622-2627)。これらの細胞は、いずれも exon 9 又は 11 の一次変異に加え V654A 又は T670I の二次変異を有する *c-kit* 遺伝子を発現していたが、本薬はその KIT リン酸化及び増殖を、イマチニブ治療前の患者から得た exon 11 の欠損変異 (del557-558) のみを有する初代培養 GIST 細胞 (100nmol/L 以下) より高濃度であるものの、100~500nmol/L の濃度で阻害した。

以上より、本薬は GIST 患者の多くにみられる一次変異を有する KIT 及び PDGFR- α の活性を阻害するとともに、イマチニブ耐性に関連する exon 13 (V654A) 又は 14 (T670I) に二次変異を有する KIT の活性を、一次変異よりはやや高濃度を要する可能性はあるものの、同様に阻害することが示唆された。一方、同じくイマチニブ耐性 GIST 患者にみられる二次変異であるキナーゼ領域 (activation loop) やヒンジ領域が存在する exon 17 又は 18 に変異を有する KIT に対する作用は弱いことが示された。

野生型及び各種変異型 KIT 又は PDGFR- α を発現させた CHO 細胞に対する
本薬のチロシンキナーゼリン酸化阻害作用

遺伝子	変異の種類	IC ₅₀ (nmol/L)	
<i>c-kit</i>	野生型	<50	
	exon 9 挿入	100-1000	
	V560D	<50	
	V654A	50-100	
	V560D + V654A	50-100	
	V560D + T670I	<50	
	Y823D	>1000	
	V560D + Y823D	>2000	
	V560D + N822K	>2000	
	V560D + D816H	>1000	
	V560D + C809G	>1000	
	V560D + A829P	>1000	
	PDGFR- α	野生型	10
		V561D	<50
D842V		1000	
V561D + D842V		1000	

各変異の位置は以下のとおり。

・KIT

V560D : exon 11

V654A : exon 13

T670I : exon 14 の二次的 gatekeeper 変異

Y823D、N822K 及び D816H : exon 17 のキナーゼ領域 (activation loop)

C809G : exon 17 のヒンジ領域近傍

A829P : exon 18

・PDGFR- α

V561D : 膜近傍領域

D842V : キナーゼ領域 (activation loop)

機構は、本薬は、遺伝子変異を有する一部の KIT では野生株と同様のリン酸化阻害活性

が認められており、遺伝子変異によりイマチニブに耐性となった一部の GIST への有効性は期待できると考えるものの、イマチニブに耐性となった GIST 患者で認められる KIT 変異の中には、本薬のチロシンキナーゼ阻害活性を低下させる変異も存在しており、当該内容については適切に医療現場に情報提供する必要があると考える。

3) 耐性獲得機序について

機構は、本薬の耐性獲得機序についてこれまでの知見を基に説明するよう求め、申請者は以下の旨を回答した。

現在、耐性機序の解明を目的として、担癌マウスを用いた *in vivo* の検討を実施している。これまでの予備的検討結果から、血管新生因子である塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) や *delta-like ligand 4* (DLL4) の血中及び腫瘍内濃度の上昇が本薬の耐性に関与している可能性が示唆されているが、その耐性機序を分子レベルで解明できるまでの結果は、現時点で得られてない。一方、イマチニブ耐性 GIST 患者で、特に *c-kit* 遺伝子に種々の二次変異が生じていることが明らかになっており (「3.1 薬理試験に関する資料<機構の審査の概略>2) *c-kit* 遺伝子変異による本薬の薬効への影響について」の項参照)、本薬についても同様の二次変異が発生する可能性が指摘されているが (Curr Opin Genet Dev 2007; 17: 3-7)、本薬への耐性患者の遺伝子型に関する情報は、現時点で得られていない。

機構は、現在、申請者が行っている耐性獲得機序の解明に向けた非臨床からのアプローチについては、引き続き積極的に行う必要があると考える。

3.2 薬物動態試験に関する資料

<提出された資料の概略>

動物における本薬の薬物動態 (PK) プロファイルは、マウス、ラット、イヌ及びサルにおいて、また本薬の血漿タンパク結合、薬物代謝酵素及びトランスポーターに及ぼす影響はヒト又は動物の生体試料を用いて各々検討されている。さらに、本薬の主代謝物SU012662のPKについても検討がなされている。

1) 吸収

(1) 単回投与

雌性ヌードマウスに本薬を20、40、80又は160mg/kg単回経口投与した際、血漿中本薬濃度は投与後0.5~6時間で C_{max} に達した後、3.1~4.6時間の $t_{1/2}$ (3-24h) で低下した (機構注： $t_{1/2}$ は20~80mg/kg群の値であり、160mg/kg群の血漿中本薬濃度は検討した時間内には完全には消失相に達していないと申請者は考察している。)。20~160mg/kgの用量範囲において、 $AUC_{0-\infty}$ は用量増加割合にほぼ比例して、 C_{max} は用量増加割合をやや下回って上昇した。また、雌性ヌードマウスに本薬を1又は10mg/kg単回静脈内投与した際、 $AUC_{0-\infty}$ は各々195又は2451ng·h/mLであり、経口及び10mg/kg静脈内投与時の $AUC_{0-\infty}$ を投与量で補正して算出したバイオアベイラビリティ (BA) は、20、40、80及び160mg/kg投与で各々74、61、53及び77%であった。以上より、マウスにおける本薬のPKは、ほぼ線形であると申請者は考察している。

雄性ラットに本薬を1、4又は8mg/kg単回静脈内投与した際、本薬の $AUC_{0-\infty}$ は各々417、2334及び7425ng·h/mLであり、 AUC の上昇は用量増加割合を上回っていた。CLは各々55、30及び19mL/min/kg、Vdは各々9.3、5.5及び3.9L/kgであり、これらのパラメータは用量増加に伴って低下したことから、ラットにおける本薬のPKは非線形であると申請者は説明している。

雌性ラットに¹⁴C標識した本薬（リンゴ酸塩）を5mg/kg単回静脈内投与した際、血漿中本薬濃度は7.4時間の $t_{1/2}$ (24-72h)で低下し、CLは13mL/min/kg、Vdは3.4L/kgであった。主代謝物SU012662の血漿中濃度は本薬投与後3時間で C_{max} に達し、8.4時間の $t_{1/2}$ (24-72h)で低下した。

雄性ラットに本薬を10又は20mg/kg単回経口投与した際、見かけのBA（8mg/kg静脈内投与時の $AUC_{0-\infty}$ を用いて算出）は各々55及び57%であった。

雌雄のラットに¹⁴C標識した本薬（リンゴ酸塩）を15mg/kg単回経口投与した際の本薬及びSU012662のPKパラメータは下表のとおりであった。雄性ラットでは、血漿中SU012662濃度は本薬より高濃度で推移し、 C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ の比（SU012662/本薬）は各々474及び581%であった。一方、雌性ラットにおける C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ の比（SU012662/本薬）は各々113及び155%であった。血漿中本薬濃度は雄より雌で高く、血漿中SU012662濃度は雌より雄で高く推移した。ラットでは、雌雄で主たるP450分子種が異なること及び性特有のP450分子種の存在が知られていることから（Drug Metab Rev 1998; 30: 441-498）、本薬及びSU012662の血漿中濃度の性差は、本薬からSU012662への代謝に性差のあるP450分子種が関与したと申請者は推察している。

ラットに¹⁴C標識した本薬（リンゴ酸塩）を15mg/kg単回経口投与した際のPKパラメータ

PKパラメータ	雄		雌	
	本薬	SU012662	本薬	SU012662
$t_{1/2}$ (h)	8.0±2.0	7.1±0.8	7.2±0.4	9.0±1.1
C_{max} (ng/mL)	963±29	4561±1802	1253±87	1412±392
T_{max} (h)	3.0±0.0	6.0±3.0	4.0±2.0	7.0±1.0
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	11848±3217	68854±24966	23994±4726	37225±13979
BA (%)	NC	NA	111±22*	NA

NC：算出せず、NA：該当せず、*：5mg/kg単回静脈内投与時の $AUC_{0-\infty}$ を用いて算出

雌雄のイヌに本薬を50、250又は500mg/kg単回経口投与した際、血漿中本薬濃度は投与後2～9時間に C_{max} に達した後、11.4～15.9時間の $t_{1/2}$ (6-24h)で低下した。 C_{max} 及びAUCの上昇は用量増加割合を下回り、高用量投与で吸収が遅延及び飽和することが示されたと申請者は説明している。

雄性サルに本薬を2.7mg/kg単回静脈内投与した際、本薬のCL（30mL/min/kg）は肝血流量（43.6mL/min/kg、Pharm Res 1993; 10: 1093-1095）と同程度であり、Vd（20L/kg）は総体液量（約0.7L/kg、Pharm Res 1993; 10: 1093-1095）より顕著に高かった。また、 $t_{1/2}$ (24-72h)は7.9時間、 $AUC_{0-\infty}$ は1498ng·h/mLであった。血漿中SU012662濃度は投与後6時間に C_{max} 23.5ng/mLに達した後、11時間の $t_{1/2}$ (48-96h)で低下し、SU012662の $AUC_{0-\infty}$ （425ng·h/mL）は本薬の $AUC_{0-\infty}$ の28.4%に相当した。また、雌性サルに本薬を2mg/kg単回静脈内投与した際の本薬のCL（35.7mL/min/kg）及びVd（13.3L/kg）は雄性サルの値と同程度であったと申請者は説明している。

雄性サルに本薬（リンゴ酸塩）を5.3mg/kg単回経口投与した際の $AUC_{0-\infty}$ は1718ng·h/mLであり、BA（本薬2.7mg/kg単回静脈内投与時の $AUC_{0-\infty}$ を用いて算出）は58%であった。

雌雄のサルに¹⁴C標識した本薬（リンゴ酸塩）を6mg/kg単回経口投与した。本薬及びSU012662のPKパラメータは下表のとおりであった。本薬及びSU012662の $AUC_{0-\infty}$ 比（SU012662/本薬）は、雄性サルで95%、雌性サルでは116%であった。

サルに¹⁴C標識した本薬（リンゴ酸塩）を6mg/kg単回経口投与した際のPKパラメータ

PKパラメータ	雄		雌	
	本薬	SU012662	本薬	SU012662
t _{1/2} (h)	18±4	19±8	16*	19±6
C _{max} (ng/mL)	92±10	67±12	83±12	54±5
T _{max} (h)	5.0±2.0	8.0±0.0	4.0±0.0	7.0±2.0
AUC _{0-∞} (ng·h/mL)	1453±205	1383±246	1099±87	1272±137

* : n=2 (中央値)

雌性サルに本薬を50mg/kg単回経口投与した際の血漿中本薬濃度は、投与後7.5時間にC_{max} 549ng/mLに達した後もほぼ一定値で推移し、高用量投与では吸収が遅延することが示された。BA（本薬2mg/kg静脈内投与時のAUC_{0-t}を用いて算出）は41%であった。

雌雄のサルに本薬を50、150、300、600又は1200mg/kg単回経口投与した際、T_{max}は5～18時間と大きくばらつき、C_{max}及びAUC_{0-t}の増加は用量に比例せず、300mg/kg以上の用量では曝露量は上昇しなかった。

以上より、サルでは高用量の経口投与により吸収が遅延又は飽和するものの、本薬のPKはほぼ線形であると申請者は考察している。

単回経口投与時の本薬のBAは、マウス、ラット及びサルで概して50%以上であり、本薬の経口吸収は良好であると申請者は考察している。

(2) 反復投与

雌雄のラットに本薬（リンゴ酸塩）1.5、5又は15mg/kg/日を1日1回13週間反復経口投与した際、雌雄ともに投与初日、28及び91日目の本薬のC_{max}及びAUC_{0-t}は用量の増加割合以上に上昇した。投与28及び91日目のC_{max}及びAUC_{0-t}は投与初日より高かったが、いずれの投与量においても、C_{max}及びAUC_{0-t}ともに投与初日の3.3倍以下であり、過剰な蓄積ではないと申請者は説明している。SU012662の曝露量も用量の増加割合以上に上昇し、反復投与により累積した。本薬のC_{max}及びAUCは概して雄より雌で高く、SU012662のC_{max}及びAUCは雌より雄で高かった。

雌雄のサルに本薬5、15又は45mg/kg/日を1日1回2週間反復経口投与した際、投与初日及び14日目において、本薬のAUC_{0-t}はほぼ用量の増加に応じて上昇したが、C_{max}の上昇は最高用量で用量増加割合を下回った。投与14日目のC_{max}及びAUC_{0-t}は、いずれの投与量においても投与初日と比べて各々1.9倍以下及び2.3倍以下であった。

雌雄のサルに本薬（リンゴ酸塩）0.3、1.5又は6mg/kg/日を1日1回4週間反復経口投与後1週間休薬するサイクルを8サイクル繰り返した際（6mg/kg/日群は5サイクルで投与を終了した。）、投与274日目のC_{max}及びAUC_{0-t}は投与初日の値の各々1.2倍以下及び2.0倍以下であった。

(3) 膜透過性 (in vitro)

Caco-2細胞を用いて、本薬及びSU012662のヒト消化管膜透過性が検討された。本薬及びSU012662（ともに1又は10μmol/L）の頂側膜側から側底膜側への見かけの透過係数 (P_{app A→B}) は各々2.20～3.81×10⁻⁶cm/sec及び0.77～1.05×10⁻⁶cm/secであり、本薬は中程度の透過性を有し、SU012662の透過性は低いと考えられた (Pharm Res 1997; 14: 763-766)。また、本薬及び

SU012662の見かけの流出比 ($P_{app\ B\rightarrow A}/P_{app\ A\rightarrow B}$) は各々12.9~43.9及び66.8~85.6と高く、Caco-2細胞の膜透過にP-糖タンパク質 (P-gp) 等の排出トランスポーターの関与が示唆されたと申請者は考察している。

2) 分布

(1) 組織分布

雌雄のアルビノ及び有色ラットに¹⁴C標識した本薬 (リンゴ酸塩) を15mg/kg単回経口投与し、放射能の組織分布が検討された。

アルビノラットでは、殆どの組織の放射能濃度は投与後3時間 (最初の測定時点) に最高値に達し、血液中濃度 [1.1 (雄) ~1.7 (雌) µg eq/g] より高値を示した。投与後3時間に比較的高い放射能が認められた組織は、雄では副腎 (25.2µg eq/g)、下垂体 (24.3µg eq/g)、肺 (20.7µg eq/g) 及び脾臓 (20.5µg eq/g) であり、雌では脾臓 (30.7µg eq/g)、副腎 (30.0µg eq/g)、肺 (29.0µg eq/g) 及び唾液腺 (27.6µg eq/g) であった。脳、脊髄、白色脂肪、眼、精巣では放射能濃度は血液中と同程度又はそれ以下であった (機構注: 参考資料として提出された、マウスに本薬9.2mg/kgを単回静脈内投与した試験では、投与後5及び60分の本薬の脳内濃度は血漿中濃度より約7倍高値であった。)。放射能濃度は、投与後6時間では殆どの組織で血液中 (0.84~1.0µg eq/g) と同程度又はそれ以上を示したが、投与後24時間には血液中濃度 (0.07~0.19µg eq/g) の低下に伴って殆どの組織中濃度も低下した。投与後24時間に高い放射能が認められた組織は、雄では包皮腺 (13.7µg eq/g)、下垂体 (7.9µg eq/g)、涙腺 (4.7µg eq/g) 及び副腎 (4.1µg eq/g) であり、雌では副腎 (7.7µg eq/g)、涙腺 (6.8µg eq/g)、下垂体 (6.5µg eq/g) 及び包皮腺 (5.8µg eq/g) であった。投与後72時間には、血液中及び半数の組織の放射能濃度は定量下限値 (0.05~0.06µg eq/g) 未満まで低下し、投与後168時間には副腎、腎臓、下垂体、皮膚、精巣に痕跡程度の放射能が検出されたが、当該組織中放射能濃度も経時的に低下しており、放射能が蓄積する組織はみられなかった。

有色ラットでは、投与後24時間 (最初の測定時点) の放射能分布は、眼 (ブドウ膜) を除いて同時点のアルビノラットと同様であった。眼内放射能濃度は雄で7.8µg eq/g、雌で31.8 µg eq/gと高く、特にブドウ膜 (各々18.8及び125µg eq/g) で高かった。投与後72時間から168時間にかけて、血液及び殆どの組織で放射能濃度は定量下限値 (0.04~0.07µg eq/g) 付近又はそれ未満まで低下したが、眼 (ブドウ膜) 及び有色皮膚では放射能が認められた。投与後336時間に有色皮膚の放射能濃度は定量下限値 (0.03又は0.16µg eq/g) 未満となったが、眼 (ブドウ膜) には放射能が認められた。

以上より、申請者は、投与放射能は組織に広範に分布し、本薬のVdが大きいことと一致したこと、及び放射能の分布パターンに雌雄で顕著な差はみられなかったことを説明している。また、眼 (ブドウ膜) への放射能の分布特性について、本薬又は代謝物がメラニンに対して親和性を有することに起因していると考察している。

(2) 胎盤及び胎児移行性

本薬の胎盤通過性は検討されていないが、ラット胚・胎児発生に関する試験において胚死亡及び奇形が認められたことから (「3.3.5 生殖発生毒性」の項参照)、本薬又は代謝物が胎盤を通過すると申請者は考察している。

(3) 血漿タンパク結合性及び血球移行性

本薬、SU012662 (ともに0.25、1又は10µmol/L) 及びカルボキシル化体M11 (1、5又は

10 $\mu\text{mol/L}$)の血漿タンパク結合率は、いずれも濃度に依存しなかった。なお、本薬、SU012662及びM11(検討濃度1 $\mu\text{mol/L}$)の血漿タンパク結合率は、以下のとおりであった。

	マウス	ヌードマウス	ラット	イヌ	サル	ヒト
本薬	90.7 \pm 3.0	95.1 \pm 2.3	97.4 \pm 0.2	95.5 \pm 0.3	95.3 \pm 0.4	95.9 \pm 0.9
SU012662	96.3 \pm 0.	—	98.6 \pm 0.2	87.9 \pm 0.6	84.8 \pm 2.0	89.9 \pm 1.3
M11	—	—	97.9 \pm 0.1	—	96.9 \pm 0.2	98.6 \pm 0.0

ラット、サル及びヒトの新鮮血液に¹⁴C標識した本薬(50、100又は200ng/mL)を添加し、0.25~4時間インキュベートして、赤血球中/血漿中放射能濃度比(Kp値。赤血球中放射能濃度は、血液中放射能濃度、血漿中放射能濃度及びヘマトクリット値から算出。)を求めた。その結果、Kp値は、本薬濃度及びインキュベーション時間に関係なく、各々の種において1.6 \pm 0.1、4.1 \pm 0.4及び1.4 \pm 0.3であった。

雌性ヌードマウス、雄性ラット及び雄性サルに本薬を各々10、8及び3mg/kgを単回静脈内投与した際の本薬の血液中/血漿中濃度比は、各々1.5 \pm 0.1~2.3 \pm 0.08、0.5 \pm 0.2~1.2 \pm 0.3及び1.6 \pm 0.2~1.9 \pm 0.2、SU012662の血液中/血漿中濃度比は各々1.3 \pm 0.1~2.6 \pm 0.6、0.3 \pm 0.1~0.8 \pm 0.2及び2.3 \pm 0.1~4.2 \pm 0.4であった。

以上の結果より、本薬及びSU012662は血球中に移行すると申請者は説明している。

3) 代謝

(1) *in vitro*

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト肝ミクロソーム中で本薬(2 $\mu\text{mol/L}$)を37 $^{\circ}\text{C}$ で120分間インキュベートした際、本薬の $t_{1/2}$ はヒト(146分)、ラット及びサル(96分)、マウス(82分)、イヌ(43分)の順に長かった。また、いずれの種においてもSU012662が生成し、M2E及び2~6種類の他の代謝物(構造は未同定)も認められた。

ラット単離肝細胞と¹⁴C標識した本薬(5及び50 $\mu\text{mol/L}$)を37 $^{\circ}\text{C}$ で60分間インキュベートした際、SU012662と他の2種類以上の代謝物(構造は未同定)の生成が認められた。

ヒト肝ミクロソーム及びヒトCYP発現系(CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1、3A4、4A11)を用いて本薬からSU012662への代謝(N-脱エチル化)に関与するCYP分子種が検討された。ヒト肝ミクロソームにおいて、本薬(0.5~200 $\mu\text{mol/L}$)からSU012662を生成する反応の V_{max} は4.28 $\mu\text{mol/mg/min}$ であり、 K_m は73.21 $\mu\text{mol/L}$ であった。また、SU012662生成速度とCYP3A4(テストステロン6 β -水酸化)活性との関係の決定係数は0.56であり、他のCYP分子種の基質代謝速度との関係の決定係数は0.18未満であった。ヒト肝ミクロソームにおける本薬からSU012662への代謝は、CYP3A4阻害剤のケトコナゾール(2.5 $\mu\text{mol/L}$)及びトロレアンドマイシン(50 $\mu\text{mol/L}$)によって各々95%及び84%阻害され、抗CYP3A4抗体によって最大75%阻害された。ヒトCYP3A4発現系でもSU012662が生成されたが、他の分子種ではSU012662の生成は認められなかった。

ラット及びイヌの肝ミクロソームを用いて本薬からN-オキシド体(M2E)への代謝に関与する酵素が検討された。ラット及びイヌの肝ミクロソームを55 $^{\circ}\text{C}$ で5分間前処理した後、本薬を加えてインキュベートすると、前処理なしの場合に比べてM2Eの生成は各々0.60(前処置5分)~8.92%(前処置0.5分)及び1.22(前処置5分)~34.27%(前処置0.5分)に低下した。加熱処理で肝ミクロソーム中のフラビンモノオキシゲナーゼ(FMO)が失活すること

から、本薬からM2Eへの代謝はFMOを介することが示唆された。

ヒト肝ミクロソーム及びヒトCYP発現系を用いてSU012662のN-脱エチル化反応（M3の生成）に関与するCYP分子種が検討された。ヒト肝ミクロソームにおいて、SU012662からM3を生成するN-脱エチル化反応は、本薬からSU012662へのN-脱エチル化反応より緩徐（ V_{max} は1/9）であることが示された。また、ヒトCYP発現系において、CYP3A4によるM3の生成が認められ、CYP1A2でもM3の生成がわずかに認められた。しかし、ヒト肝ミクロソームにおけるM3の生成は、CYP3A4阻害剤のケトコナゾール（ $1\mu\text{mol/L}$ ）によって93%以上阻害されたが、CYP1A2阻害剤のフラフィリン（ $50\mu\text{mol/L}$ ）では阻害されなかった。以上より、SU012662のN-脱エチル化反応は、主にCYP3A4によると申請者は考察している。

(2) *in vivo*

ヌードマウス、ラット、イヌ及びサルに本薬を経口又は静脈内投与した際の血漿中代謝物、並びにラット及びサルに ^{14}C 標識した本薬（リンゴ酸塩）を経口又は静脈内投与した際の血漿中放射能が測定された。

ヌードマウス及びラットの試料から、本薬、N-脱エチル体SU012662、芳香環又は脂肪側鎖の水酸化体（M2）、N-オキシド体（M2E）、M2の硫酸抱合体（M5）及びM2のグルクロン酸抱合体（M7）が同定された。 ^{14}C 標識体投与後のラットでは、血漿中放射能の AUC_{0-t} に占める本薬及びSU012662の AUC_{0-t} （合計値）の割合は、雌雄で各々87.8及び98.6%であった。

イヌの試料から、本薬、SU012662、M2及びM2Eが同定され、SU012662に次いでM2Eの存在割合が高かった。

サルの試料から、本薬、SU012662、M2、M2E、M5、M7、M11及びN-エチル部位の水酸化体（M2F）が同定された。 ^{14}C 標識体投与後、血漿中放射能の AUC_{0-t} に対する本薬及びSU012662の AUC_{0-t} （合計値）の割合は、雌雄で各々48.9及び40.1%であった。

LC/MS/MS分析のピーク面積を基に各代謝物の存在割合を検討した結果、イヌでは他の動物種と比べてSU012662の生成が少なく、M2Eの生成が多かったことから、イヌにおける本薬の代謝プロファイルは他の動物種よりもヒトへの外挿性が低いと申請者は考察している。

雌雄のラット及びサルに ^{14}C 標識した本薬（リンゴ酸塩）を投与した際の尿中及び糞中代謝物が検討された。

ラット尿中には本薬及び10種類の代謝物が同定され、 ^{14}C 標識体投与後8～24時間の尿中放射能に占める割合は、雌雄において、SU012662が各々24.3及び40.1%、M2Eが各々25.5%及び6.9%、本薬は各々10.3及び11.5%であった。ラット糞中には本薬及び8種類の代謝物（SU012662、M2、M3、M4、M5、M6、M8、M9）が同定され、糞中の主代謝物はSU012662であった。 ^{14}C 標識した本薬（リンゴ酸塩）経口投与後8～24時間の糞中放射能に占めるSU012662の割合は、雌雄において、各々40.3及び35.4%、24～48時間では各々51.7及び36.4%であった。同時点の糞中放射能に占める本薬の割合は、雌雄において各々27.7及び5.6%であった。以上、ラットでは、雌雄で尿中及び糞中代謝物の存在割合が異なった。また、代謝物に投与経路間で違いはみられなかった（雌性のみの検討）。

サル尿中には本薬及び6種類の代謝物（SU012662、M2E、M2F、M6、M7、M11）が同定された。尿中の主代謝物はSU012662であり、 ^{14}C 標識体投与後8～24時間の尿中放射能に占める割合は、雌雄で各々44.8及び39.2%、本薬は各々5.0及び5.6%であった。糞中には本薬及び12種類の代謝物（SU012662、M2、M2F、M3、M4、M4E、M6、M8、M9、M10、M11、M8の硫酸抱合体（M12））が同定された。糞中の主代謝物はSU012662であり、投与後8～

24時間、24～48時間、48～72時間及び72～96時間の糞中放射能に占めるSU012662の割合は、雌雄において、各々21.7及び25.5%、31.1及び30.7%、35.9及び33.1%及び29.7及び29.8%であった。本薬は糞中放射能の4.0～11.2%に相当した。

雄性ラットに本薬を静脈内又は経口投与した際の胆汁中代謝物が検討された結果、胆汁中には本薬、SU012662、M2、M2E、M5及びM7が検出され、投与経路の違いによる代謝物プロファイルへの影響はみられなかった。

以上より、本薬の主要な代謝経路はジエチルアミノ部位の脱エチル化及び芳香環又は脂肪側鎖の水酸化とこれら代謝の複合であり、続いて硫酸又はグルクロン酸抱合代謝を受けることが示されたと申請者は説明している。

4) 排泄

(1) 尿中及び糞中排泄

雌雄のラットに¹⁴C標識した本薬（リンゴ酸塩）を15mg/kg単回経口投与した際、投与後72時間までの尿中及び糞中への放射能排泄率は、雄では各々8.5及び75.2%、雌では各々9.3及び71.1%であった。尿糞中に回収された放射能の大半（90%超）は投与後48時間までに排泄された。

雌雄のサルに¹⁴C標識した本薬（リンゴ酸塩）を6mg/kg単回経口投与した際、投与後336時間までの尿中及び糞中への放射能排泄率は、雄では各々4.8及び87.3%、雌では各々6.1及び84.1%であった。尿糞中に回収された放射能の大半（80%超）は投与後72時間までに排泄された。

いずれの動物種においても、糞中排泄が主な排泄経路であり、排泄率に性差はみられなかった。

(2) 胆汁中排泄及び腸肝循環

胆管カニューレーションを施した雄性ラットに¹⁴C標識した本薬（リンゴ酸塩）を15mg/kg単回経口投与し、胆汁中への放射能の排泄が検討された結果、投与後48時間までに胆汁中には投与放射能の43.0%が排泄され、尿中及び糞中には各々9.8%及び39.2%が排泄された。

胆管カニューレーションを施したラットに、¹⁴C標識した本薬（リンゴ酸塩）を経口投与して得たラット胆汁を十二指腸内投与した結果、投与後48時間までに投与放射能の2.9%が胆汁中に、1.1%が尿中に、90.3%が糞中に排泄された。申請者は、胆汁排泄された放射能の腸肝循環は少ないことが示唆されたと説明している。

(3) 乳汁中排泄

授乳期間中（分娩後10又は11日）の雌性ラットに¹⁴C標識した本薬（リンゴ酸塩）を15mg/kg単回経口投与した際、投与後3、6及び24時間の乳汁中放射能濃度は各々11.25、11.84及び0.86µg eq/mLであり、同一時点の血漿中放射能濃度の5倍以上高値を示したが、投与後72時間には、乳汁中及び血漿中放射能ともに定量下限値（0.02µg eq/mL）未満に低下した。

5) 薬物動態学的相互作用

(1) 酵素誘導

雌雄のラットに本薬5、15又は45mg/kgを14日間反復経口投与した結果、肝ミクロソーム

タンパク量及びCYP含量（CYP含量は対照群及び45mg/kg群のみ測定）、並びにペントキシレゾルフィンO-脱エチル化（CYP2B）活性及びアニリン水酸化（CYP2E1）活性に、本薬投与による変化はみられなかった。エトキシレゾルフィンO-脱エチル化（CYP1A1/2）活性は15mg/kg群のみ対照群の1.3倍に上昇した。また、テストステロン水酸化（2 α -、6 β -、7 α -、16 α -水酸化、各々CYP2C11、3A1、2A1、CYP2B1/2C11）活性及びアンドロステンジオン生成活性は、対照群に比べて15mg/kg群で最大1.5倍に上昇し、肝薬物代謝酵素の誘導がみられたが、5mg/kg群では酵素誘導はみられなかった。

雄性ラットに本薬（リンゴ酸塩）5mg/kgを14日間反復経口投与した際、エトキシレゾルフィンO-脱エチル化（CYP1A1/2）活性、エトキシクマリンO-脱エチル化（CYP1A1/2）活性、クロルゾキサゾン6-水酸化（CYP2E）活性及びテストステロン6 β -水酸化（CYP3A）活性は1.6～2.2倍に上昇した。CYP1A1/2及び2E活性に対照群と有意な差が認められたものの、本薬の肝薬物代謝酵素誘導能は強くないと申請者は説明している。

ヒト肝細胞を本薬又はSU012662（ともに0.25～25 μ mol/L）とともに3日間インキュベートしてマイクロソームを調製した結果、CYP1A2活性（7-エトキシレゾルフィンO-脱エチル化活性）は本薬によって変化しなかったが、SU012662では濃度依存的に活性が上昇し、10 μ mol/Lでは対照の2.0～2.2倍（16.2 \pm 0.3pmol/mg/min）となった。このCYP1A2活性はリファンピシン添加時（14.9 \pm 3.8pmol/mg/min）と同程度であったが、 β -ナフトフラボン添加時（74.0 \pm 52.5pmol/mg/min）の約1/5であった。CYP2E1活性（クロルゾキサゾン6-水酸化活性）は、本薬及びSU012662によって上昇しなかった。また、CYP3A4/5活性（テストステロン6 β -水酸化活性）は、本薬及びSU012662によって濃度依存的に最大62%低下した。CYP3A4タンパク質発現は、本薬及びSU012662ともに2.5 μ mol/L以上の濃度で低下し、10 μ mol/Lではその低下は顕著であったことから、本薬及びSU012662によるCYP3A4/5活性の低下はCYP3A4タンパク質の発現低下、及び細胞毒性によるCYPの発現低下による可能性が考えられると申請者は説明している。

(2) 酵素阻害

ヒトCYP450分子種に対する本薬及びSU012662の阻害作用が検討された。本薬はCYP2B6、2C9、2E1及び4A9/11を、SU012662はCYP2B6、2E1及び4A9/11を阻害しなかった（ K_i 値>150 μ mol/L）。他のCYP分子種に対する本薬及びSU012662の K_i 値を下表に示す。

	CYP1A2	CYP2A6	CYP2C8	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4/5*	CYP3A4/5**
本薬	5.4 \pm 0.5	140 \pm 40	28 \pm 5	>150	24 \pm 2	>150	54 \pm 6
SU012662	5.8 \pm 0.4	140 \pm 30	52 \pm 8	79 \pm 10	18 \pm 2	>150	69 \pm 8

μ mol/L、*：ミダゾラムの1'-水酸化反応、**：テストステロンの6 β -水酸化反応

また、ヒト肝マイクロソームのCYP3A4によるミダゾラムの1'-水酸化活性に対する本薬の IC_{50} 値は19～56 μ mol/Lであり、SU012662はミダゾラム1'-水酸化活性を200 μ mol/Lまで阻害しなかった。

ヒトにおける本薬及びSU012662の血漿中濃度 [C_{max} は各々0.232 μ mol/L（92.5ng/mL）及び0.124 μ mol/L（46.1ng/mL）] は各CYP分子種に対する K_i 値の1/20以下であることから、CYP阻害に起因した臨床的に重大な薬物相互作用の可能性は低いと申請者は考察している。

本薬及びSU012662はヒトの主要なCYP分子種を臨床で認められる濃度で阻害も誘導もし