オクトレオスキャン静注用セット

CTD 第 2 部

2.4　非臨床試験の概括評価

富士フイルム RI ファーマ株式会社

（空白ページ）

2.4　目次

2.4　非臨床試験の概括評価....4

2.4.1　非臨床試験計画概略....7

2.4.1.1　薬理試験....7

2.4.1.2　薬物動態試験....7

2.4.1.3　毒性試験....7

2.4.2　薬理試験....7

2.4.2.1　効力を裏付ける試験....7

2.4.2.2　副次的薬理試験（成長ホルモン分泌抑制作用）....10

2.4.3　薬物動態試験....10

2.4.3.1　吸収....11

2.4.3.2　分布....11

2.4.3.3　代謝....12

2.4.3.4　排泄....13

2.4.4　毒性試験....13

2.4.4.1　単回投与毒性試験....13

2.4.4.2　反復投与毒性試験....13

2.4.4.3　遺伝毒性試験....14

2.4.5　総括及び結論....14

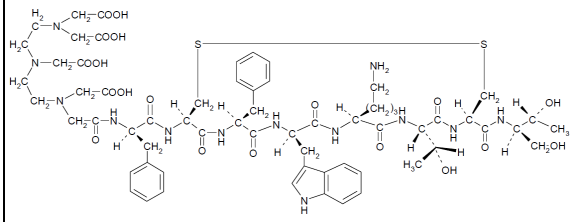
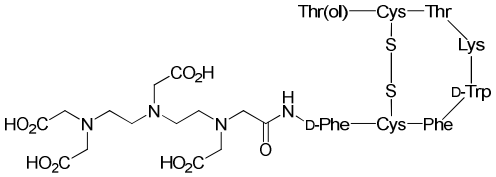
2.4.6　参考文献一覧....18

2.4　非臨床試験の概括評価

表 2.4-1　非臨床試験の概括評価で用いた略語一覧表

略語	内容
AGP	Human α1-acid glycoprotein ヒト α1－酸性糖たん白質
ARG	Autoradiography オートラジオグラフィー
$AUC_{0-\infty}$	Area under the concentration time curve（0-∞） 投与後 0～∞時間における血液（血漿）中濃度－時間曲線下面積
BUN	Blood urea nitrogen 血中尿素窒素
C_{max}	Maximum drug concentration 最高血液（血漿）中濃度
HPLC	High performance liquid chromatography 高速液体クロマトグラフィー
HSA	Human serum albumin ヒト血清アルブミン
IC_{50}	Concentration of inhibitor producing 50% inhibition 50%阻害を示す薬物濃度
LD_{50}	50% Lethal dose 50%致死量
LDH	Lactate dehydrogenase 乳酸脱水素酵素
ng eq.	ng equivalent of pentetreotide ペンテトレオチド ナノグラム当量
SSTR	Somatostatin receptor ソマトスタチン受容体
TK	Thymidine kinase チミジンキナーゼ
T_{max}	Maximum drug concentration time 最高血液（血漿）中濃度到達時間
$T_{1/2}$	Half-life period 血液（血漿）中濃度半減期
%dose	%投与量 投与放射能に対する百分率

表 2.4-2　非臨床試験の概括評価で用いた関連化合物略語一覧表

略語	構造式	化学名又は説明
ペンテトレオチド	 （略式表記） 	JAN： (-)-N-[2-[[2-[bis(carboxymethyl)amino]ethyl](carboxymethyl)amino]ethyl]-N-(carboxymethyl)glycyl-D-phenylalanyl-L-cysteinyl-L-phenylalanyl-D-tryptophyl-L-lysyl-L-threonyl-N-[(1R,2R)-2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)propyl]-L-cysteinamide, cyclic (3-8)-disulfide CAS： L-Cysteinamide, N-[2-[[2-[bis(carboxymethyl)amino]ethyl](carboxymethyl)amino]ethyl]-N-(carboxymethyl)glycyl-D-phenylalanyl-L-cysteinyl-L-phenylalanyl-D-tryptophyl-L-lysyl-L-threonyl-N-[(1R,2R)-2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)propyl]-,cyclic (3-8)-disulfide オクトレオチドにジエチレントリアミン五酢酸（DTPA）を結合させた化合物
インジウムペンテトレオチド（^{111}In）		ペンテトレオチドとインジウム 111 が 1：1 で配位結合した錯体
インジウムペンテトレオチド（^{115}In）		ペンテトレオチドとインジウム 115 が 1：1 で配位結合した錯体
注射用ペンテトレオチド[a)]		1 バイアル中に以下のものを含む凍結乾燥品。 成分 / 分量 ペンテトレオチド / 10 μg イノシトール / 10 mg クエン酸ナトリウム水和物 / 5.6 mg クエン酸水和物 / 0.40 mg ゲンチジン酸 / 2.0 mg
毒性試験用注射用ペンテトレオチド[b)]		1 バイアル中に以下のものを含む凍結乾燥品。 成分 / 分量 ペンテトレオチド / 10 μg イノシトール / 10 mg クエン酸塩 / 5.4 mg ゲンチジン酸 / 2.0 mg
毒性試験用注射用ペンテトレオチド溶液[c)]		注射用水 1 mL 中に以下のものを含む溶液。 成分 / 分量 ペンテトレオチド / 10 μg イノシトール / 10 mg クエン酸塩 / 5.4 mg ゲンチジン酸 / 2.0 mg

（Page 1 of 2）

表 2.4-2　非臨床試験の概括評価で用いた関連化合物略語一覧表（続き）

略語	構造式	化学名又は説明
インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液		注射用ペンテトレオチドをインジウム 111 で標識したもの
ソマトスタチン 14	（略式表記） HO-Cys-Ser-Thr-Phe-Thr S　Lys S　Trp H-Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe	14 個のアミノ酸からなるソマトスタチン 成長ホルモン放出抑制因子 ソマトトロピン放出抑制因子
オクトレオチド	（略式表記） Thr(ol)—Cys—Thr S　Lys S　D-Trp H—D-Phe—Cys—Phe	L-Cysteinamide, D-phenylalanyl-L-cysteinyl-L-phenylalanyl-D-tryptophyl-L-lysyl-L-threonyl-N-[(1R,2R)-2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)propyl]-, cyclic (2-7)-disulfide 生体内安定性を高めたソマトスタチン誘導体
[Lys(ol)^8]-オクトレオチド	（略式表記） Lys(ol)—Cys—Thr S　Lys S　D-Trp H—D-Phe—Cys—Phe	オクトレオチドの N-末端から 8 個目のアミノアルコール誘導体である L-Threoninol（Thr(ol)）を 6-Hydroxyl-L-norleucine（Lys(ol)）に置換した化合物
[Orn^5]-オクトレオチド	（略式表記） Thr(ol)—Cys—Thr S　Orn S　D-Trp H—D-Phe—Cys—Phe	オクトレオチドの N-末端から 5 個目のアミノ酸 L-Lysine を L-Ornithine に置換した化合物

a) インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液の調製に用いるもの。　　(Page 2 of 2)

b) マウスにおける単回投与毒性試験で被験物質としたもの。

c) ラットにおける 2 週間反復投与毒性試験で被験物質としたもの。

2.4.1　非臨床試験計画概略

2.4.1.1　薬理試験

薬理試験は新たな試験を実施せず、Erasmus University／オランダ及び Sandoz Pharma AG／スイス（現 Novartis Pharmaceuticals Corporation）の公表文献を参考資料とした。

効力を裏付ける試験として、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）及びその類縁物質のソマトスタチン受容体（SSTR）への結合性について評価した。また、SSTR 発現腫瘍を移植した担癌モデル動物を用いて、*in vivo* における集積機序及び腫瘍描出能について評価した。

副次的薬理試験としては、ペンテトレオチド、インジウムペンテトレオチド（^{115}In）及びオクトレオチドを用いて、ラット脳下垂体前葉細胞における成長ホルモン分泌抑制作用について評価した。

2.4.1.2　薬物動態試験

薬物動態試験はすべてインジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液を用い、ラット単回静脈内投与後の血液及び血漿中放射能濃度推移、組織分布率、血球移行率、血漿中たん白結合率、生体試料（血液、肝臓、腎臓、膵臓、尿、糞及び胆汁（雄のみ））中の代謝物、尿、糞及び胆汁中累積放射能排泄率を測定した。また、*in vitro* 評価としてラット、イヌ及びヒトの血漿中たん白結合率を測定した。

2.4.1.3　毒性試験

ペンテトレオチド関連化合物の毒性試験は、海外でマウス単回投与毒性試験、ラット反復投与毒性試験、遺伝毒性試験が実施されている。

本邦では海外の基礎試験並びに臨床試験を検討した上で、ラット及びイヌを用いた単回投与毒性試験を実施した。

すべての毒性試験は GLP に準拠して実施した。

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1　SSTR への結合性評価

..... 添付資料 4.2.1.1.1

インジウムペンテトレオチド（^{111}In）の SSTR への結合特異性は、ラット大脳皮質膜標品の SSTR を用いて、過剰なオクトレオチド存在下における結合阻害率により評価した。また、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）と SSTR の結合に対する、ソマトスタチン 14 及び 5 種類のソマトスタチン誘導体（オクトレオチド、インジウムペンテトレオチド（^{115}In）、ペンテトレオチド、[Orn^{5}]-オクトレオチド及び[Lys(ol)^{8}]-オクトレオチド）の阻害活性を比較した。-

インジウムペンテトレオチド（^{111}In）の SSTR への結合は、過剰のオクトレオチドで 90%以上が阻害された。また、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）とソマトスタチン 14 及び 5 種類のソマトスタチン誘導体による競合阻害実験の結果（図 2.4.2.1-1）、ソマトスタチン 14 及

びオクトレオチドは高い結合阻害活性（IC_{50} 値は 0.1～1 nmol/L）を示し、インジウムペンテトレオチド（^{115}In）及びペンテトレオチドも比較的高い結合阻害活性（IC_{50} 値は 1～10 nmol/L）を示した。以上のことから、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）は、オクトレオチドの構造部位で SSTR に特異的に結合し、この結合能は比較的高いと考えられた。

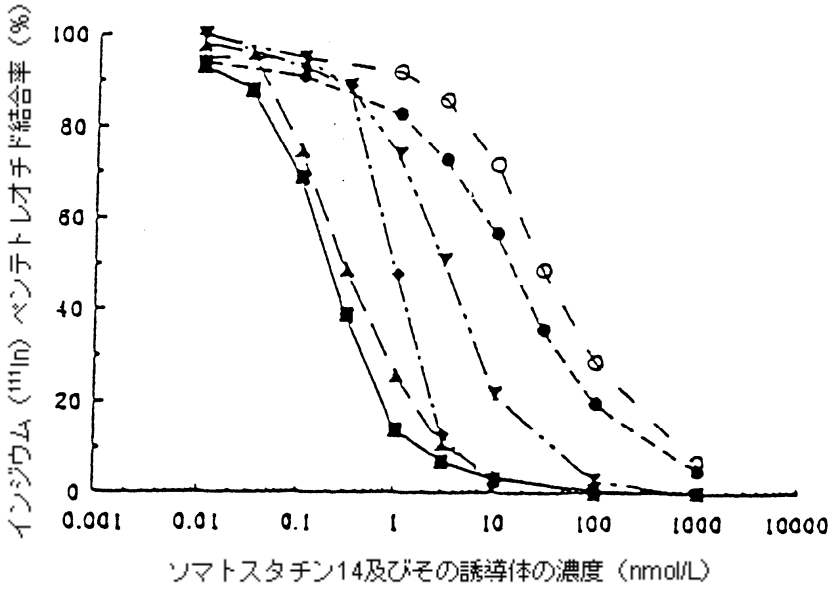


図 2.4.2.1-1　ソマトスタチン受容体への結合阻害活性（*In vitro*）

■：ソマトスタチン 14、▲：オクトレオチド、◆： インジウムペンテトレオチド（^{115}In）、▼：ペンテトレオチド、●：[Orn^5]-オクトレオチド、○：[$Lys(ol)^8$]-オクトレオチド。
各値は n=3 の平均値（%）を示す。最大標準誤差＜5%。

2.4.2.1.2　SSTR 発現腫瘍移植ラットにおける集積機序及び腫瘍描出能

..... 添付資料 4.2.1.1.2

SSTR 発現腫瘍を移植したラットを用いて、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）が SSTR を介して腫瘍に集積することを検討した。また、ガンマカメラ画像による腫瘍描出能の評価を行った。

SSTR 発現腫瘍移植ラットにおいてインジウムペンテトレオチド（^{111}In）投与後のガンマカメラ撮像から得られた、腫瘍領域における放射能の経時変化を図 2.4.2.1-2 に示す。オクトレオチド前処置なしの腫瘍移植ラットにおいて、腫瘍領域の放射能の経時的な上昇は投与直後から観察され、腫瘍領域の放射能は 30 分以内にピークに達した。一方、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）の投与 30 分前にオクトレオチドを前処置（1 mg/匹、皮下投与）すると、腫瘍領域の放射能の経時的な上昇は認められず、腫瘍領域の放射能は無処置群と比較して有意に低下した。以上より、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）は SSTR 発現腫瘍を移植したラットにおいて、投与直後から速やかに SSTR と特異的に結合し、腫瘍へ集積することが示された。

また、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）投与後 24 時間に解剖採取した腫瘍の放射能濃

度（%dose/g）は、オクトレオチド前処置群の放射能濃度（0.025%dose/g）と比較して、オクトレオチド無処置群（0.09%dose/g）で有意に高く、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）は、投与後 24 時間においても SSTR を介して腫瘍へ集積していると考えられた。

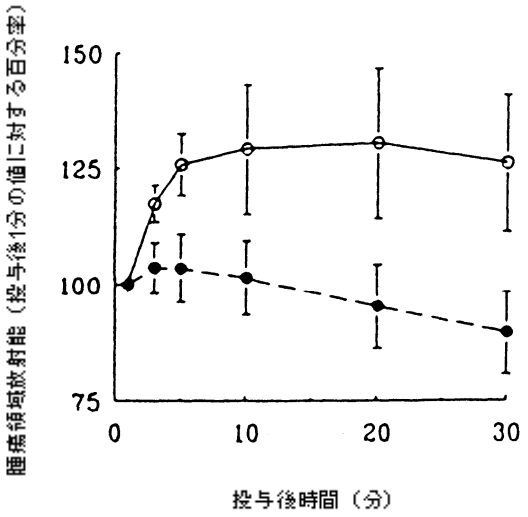


図 2.4.2.1-2　腫瘍移植ラットにおける腫瘍領域放射能の経時変化

○：オクトレオチド前処置なし（n=4）、●：オクトレオチド前処置あり（n=5）。
各値は平均値±標準偏差を示す。

副腎及び腎臓は腫瘍よりも高い放射能濃度が認められた。副腎の放射能濃度はオクトレオチド前処置により有意に低下し、SSTR を介した集積であると考えられた。しかし、腎臓の放射能濃度には、オクトレオチド前処置の影響は認められず、SSTR 以外の関与が考えられた。

腫瘍移植ラットに、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）を静脈内投与後 30 分及び 24 時間にガンマカメラで撮像した画像を図 2.4.2.1-3 に示す。

ガンマカメラ画像から、投与後 30 分に比べ 24 時間で、より腫瘍が明瞭に描出されていた。また、オクトレオチド前処置による腫瘍への集積低下を、視覚的に判別することが可能であった。

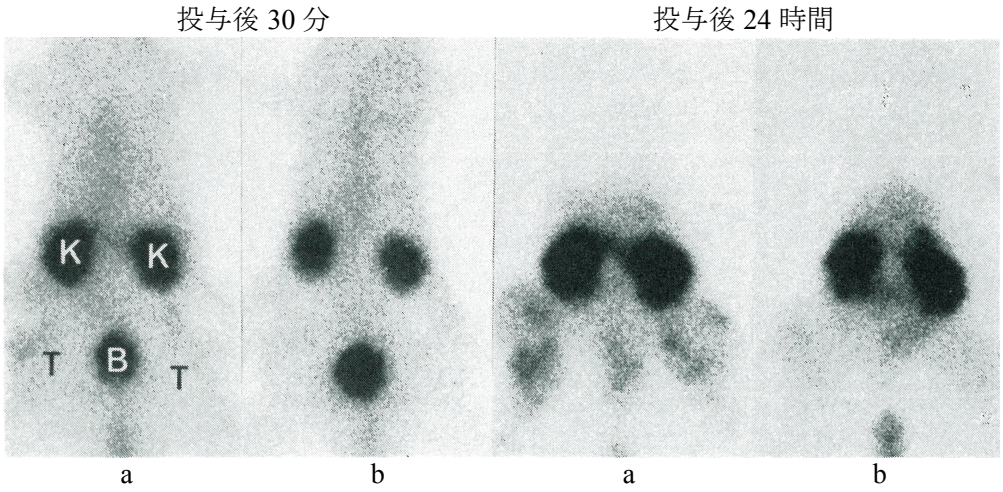


図 2.4.2.1-3　ソマトスタチン受容体発現腫瘍移植ラットのガンマカメラ画像

a：無処置ラット、b：オクトレオチド前処置ラット、K：腎臓、B：膀胱、T：腫瘍

2.4.2.2　副次的薬理試験（成長ホルモン分泌抑制作用）

..... 添付資料 4.2.1.1.1

成長ホルモンは、下垂体前葉から分泌される 191 個のアミノ酸からなるポリペプチドであり、生体内ではソマトスタチンが下垂体前葉の SSTR を介して分泌抑制の調節を行っている。また、オクトレオチドなどのソマトスタチン誘導体が SSTR に結合することにより、成長ホルモンの分泌を抑制することが種々のモデルで確認されている [1)]。そこで、副次的薬理試験としては、ペンテトレオチド及びインジウムペンテトレオチド（^{115}In）の成長ホルモン分泌抑制作用をオクトレオチドと比較した。

ペンテトレオチド及びオクトレオチドは共に、濃度依存的に成長ホルモンの分泌を抑制したが、ペンテトレオチドの効力は、オクトレオチドの約 1/10 であった。また、インジウムペンテトレオチド（^{115}In）の成長ホルモン分泌抑制作用は、ペンテトレオチドと同等であった。以上より、ペンテトレオチド及びインジウムペンテトレオチド（^{115}In）の成長ホルモン分泌抑制作用は、オクトレオチドよりも弱いと考えられた。

2.4.3　薬物動態試験

薬物動態試験では、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液を被験物質とし、必要に応じて生理食塩液で薄めて使用した。また試験動物への投与方法は、薬理試験及び毒性試験と同様に予定臨床投与経路に基づき、すべて静脈内投与とした。

試料の放射能はガンマカウンターを用いて測定した。必要に応じて、測定値からペンテトレオチド ナノグラム当量（ng eq.）へ変換した。測定限界はバックグラウンド値の 1/2 に設定し、測定限界を下回った測定値は 0 とした。代謝物の分析には HPLC 法を用い、溶出液の放射能を

ガンマカウンターで測定した。また、全身の放射能分布は全身オートラジオグラフィー（ARG）を用いて検討した。

2.4.3.1　吸収

.....添付資料　4.2.2.1.1

雌雄ラットに、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液を 3.7 MBq/kg（ペンテトレオチドとして 330 ng/kg）単回静脈内投与し、投与後 96 時間まで経時的に血液及び血漿中放射能濃度を測定した。

雄性ラットの血液及び血漿中濃度（ペンテトレオチド ナノグラム当量への換算値）は、投与後 5 分（T_{max}）でそれぞれ 0.679 ng eq./g 及び 1.105 ng eq./g（C_{max}）を示し、その後急速に減少した。投与後 24 時間以降は、全例で測定限界を下回った。雌性ラットの血液及び血漿中濃度は、投与後 5 分（T_{max}）でそれぞれ 0.636 ng eq./g 及び 1.115 ng eq./g（C_{max}）を示し、その後急速に減少した。投与後 24 時間以降、血液中濃度は全例で測定限界を下回った。投与後 24 時間における血漿中濃度は、雌性ラットの 1/3 例で 0.005 ng eq./g を示したものの、2/3 例では測定限界を下回った。投与後 48 時間以降は、全例で測定限界を下回った。

$AUC_{0-\infty}$及び $T_{1/2}$（投与後 0～2 時間）の薬物動態パラメータは、雌性ラットと比べて雄性ラットで有意に低い値を示した。

2.4.3.2　分布

.....添付資料　4.2.2.1.1

ラットへの投与は、すべてインジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液を 3.7 MBq/kg（ペンテトレオチドとして 330 ng/kg）単回静脈内投与とした。

雄性ラットの全身 ARG において、投与後 15 分における放射能は、全身に広く分布していた。多くの放射能が尿に分布しており、腎臓にも比較的高い放射能を検出した。投与後 1 時間では全身の放射能がわずかに減少し、小腸、盲腸及び大腸で放射能が消失した。尿及び腎臓からは、依然として高い放射能を検出した。投与後 3 時間では、骨格筋、皮膚及び血液から放射能が消失し、小腸内容物及び盲腸内容物で放射能の増加を認めた。尿の放射能は中程度まで減少したが、腎臓及び副腎の放射能は、投与後 1 時間と比べてわずかに減少した程度であった。その他、膵臓、胃内容物、下垂体、骨及び胃に若干の放射能を認めた。投与後 24 時間の放射能分布は、腎臓と副腎で投与後 3 時間と同程度の放射能を検出したほか、盲腸内容物及び大腸内容物で放射能が増加した。尿の放射能は消失し、若干の放射能を膵臓、骨及び胃で認めた。

摘出組織の放射能分布率（%dose）から、雌雄ラットへ投与した放射能は比較的短時間で全身に分布し、その後速やかに消失することが示された。最大値で 1.0%dose 以上の放射能分布率を示した臓器は、血液、膵臓、肝臓、腎臓及び小腸（雌性ラットのみ）であり、そのうち 5.0%dose 以上の分布率を示した臓器は血液と腎臓であった。いずれの臓器も投与後 1 時間以内で最大値に達した。投与後 24 時間において 1.0%dose 以上の放射能分布率を示した臓器は、主要排泄臓器である腎臓（雄性：2.76%dose、雌性：2.86%dose）のみであった。胃内容物、小

腸内容物、大腸及び盲腸内容物の放射能は、投与後 1 時間から 3 時間で最大値を示した後、投与後 24 時間で 1.0%dose 以下に減少した。

雄性ラットの血球移行率は、投与後 1 時間までの比較的早期において 0.71～2.62%と低値を示し、その後最大 13.97%まで増加した。投与後 24 時間以降は測定限界を下回った。雌性ラットの血球移行率も雄性ラット同様、投与後 1 時間までの比較的早期において 0.00～2.33%と低値を示し、その後最大 13.08%まで増加した。投与後 24 時間以降は測定限界を下回った。

In vitro 試験では、ラット血漿、イヌ血漿、ヒト血漿、ヒト血清アルブミン（HSA）及びヒト α1－酸性糖たん白質（AGP）に対するたん白結合率を測定した。インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液を 1～300 ng/mL（ペンテトレオチドとして）添加したときの血漿中たん白結合率は 20.90～26.40%を示し、ラット、イヌ、ヒトの間で明らかな種差を認めなかった。また、HSA へのたん白結合率はヒト血漿より低く、AGP には結合しなかった。

In vivo 試験における雄性ラットの血漿中たん白結合率は、投与後 1 時間までの早期において 21.30～26.65%と比較的低値を示し、その後最大 74.75%まで増加した。

2.4.3.3　代謝

.....添付資料　4.2.2.1.2

インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液を 3.7 MBq/kg（ペンテトレオチドとして 330 ng/kg）単回静脈内投与した雌雄ラットから、経時的に生体試料（血漿、肝臓、腎臓、膵臓、尿、糞及び胆汁（雄性ラットのみ））を採取し、放射性代謝物を分析した。

投与後 15 分までの比較的早期の血漿中では、雌雄ラットとも放射能の 96%以上を未変化体として検出した。その後、未変化体の存在比率は徐々に減少し、投与後 3 時間で 50.92%（雄性）及び 56.47%（雌性）に達した。血漿中における遊離インジウム 111 の存在比率は経時的に増加し、投与後 3 時間で 17.41%（雄性）及び 16.87%（雌性）に達した。

雌雄ラットとも投与後 15 分までの比較的早期において、肝臓では未同定放射性代謝物 No.3 を最大値で 55.05%（雄性）及び 49.98%（雌性）、腎臓では未同定放射性代謝物 No.4 を最大値で 78.03%（雄性）及び 76.23%（雌性）、膵臓では未同定放射性代謝物 No.4 を最大値で 45.45%（雄性）及び 42.89%（雌性）と、比較的高い存在比率で検出した。これら未同定放射性代謝物の存在比率は、その後経時的に減少した。遊離インジウム 111 の存在比率は経時的に増加し、投与後 3 時間において肝臓では 57.44%（雄性）及び 63.58%（雌性）、腎臓では 83.89%（雄性）及び 82.77%（雌性）、膵臓では 31.77%（雄性）及び 49.48%（雌性）を示した。

雌雄ラットとも、投与後 24 時間までに尿及び糞中に排泄された放射能の大部分は未変化体であり、尿中では 94.61%（雄性）及び 91.94%（雌性）、糞中では 74.05%（雄性）及び 82.74%（雌性）の存在比率を示した。投与後 24 時間までに雄性ラットの胆汁中に排泄された放射能では、未変化体を 20.21%、遊離インジウム 111 を 46.84%の存在比率で検出した。

2.4.3.4　排泄

..... 添付資料 4.2.2.1.1

雌雄ラットに、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液を 3.7 MBq/kg（ペンテトレオチドとして 330 ng/kg）単回静脈内投与し、尿、糞及び胆汁中に排泄される放射能を測定した。

尿及び糞中への放射能排泄は速やかであり、雌雄ラットとも主要排泄経路は尿中であった。ケージ洗浄液を含めた尿中累積放射能排泄率は、投与後 2 時間で 76.06%dose（雄性）及び 70.98%dose（雌性）を示し、投与後 120 時間で 86.94%dose（雄性）及び 84.57%dose（雌性）に達した。糞中累積放射能排泄率は、投与後 120 時間で 11.10%dose（雄性）及び 10.11%dose（雌性）を示した。

雄性ラットにおける放射能の胆汁中排泄はわずかであり、投与後 48 時間で胆汁中累積放射能排泄率は 2.03%dose であった。

2.4.4　毒性試験

インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液において、未標識のペンテトレオチドに対するインジウムペンテトレオチド（^{111}In）の存在比は 1%未満とわずかであり、主を占めるのは未標識のペンテトレオチドである。そのため、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液の毒性を評価するにあたり、毒性試験用注射用ペンテトレオチド又は毒性試験用注射用ペンテトレオチド溶液を用いて単回投与毒性試験、反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験を実施した。なお、投与経路はすべての試験において、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液の予定臨床投与経路と同じ静脈内投与とした。

2.4.4.1　単回投与毒性試験

..... 添付資料 4.2.3.1.1～3

雌雄マウスにおける毒性試験用注射用ペンテトレオチドの単回静脈内投与毒性試験（投与量：ペンテトレオチドとして 0 及び 300 μg/kg）で、死亡例はなかった。概略の致死量は、ペンテトレオチドとして 300 μg/kg を超える量と考えられた。

雌雄ラットにおけるペンテトレオチドの単回静脈内投与毒性試験（投与量：0、500 及び 1000 μg/kg）で、死亡例はなかった。概略の致死量は 1000 μg/kg を超える量と考えられた。また、一般状態及び剖検所見にも、異常は見られなかった。

雌雄イヌにおけるペンテトレオチドの単回静脈内投与毒性試験（投与量：0、250 及び 500 μg/kg）で、死亡例はなかった。概略の致死量は 500 μg/kg を超える量と考えられた。また、一般状態、摂餌量推移、体重推移、剖検所見及び器官質量にも、異常は見られなかった。

2.4.4.2　反復投与毒性試験

..... 添付資料 4.2.3.2.1

雌雄ラットにおける毒性試験用注射用ペンテトレオチド溶液の 2 週間反復静脈内投与毒性試験（投与量：ペンテトレオチドとして 0、25 及び 50 μg/kg/日）で、被験物質に起因すると

考えられる死亡例はなかった。50 μg/kg/日の雌で軽度の血小板数増加及び血中尿素窒素（BUN）のわずかな低下が見られ、また 50 μg/kg/日の雄で乳酸脱水素酵素（LDH）の上昇が見られたが、いずれも毒性学的な意義のないものと考えられた。病理組織学的検査において、対照群及び 50 μg/kg/日の雌雄で、投与部位に軽度の血管周囲炎が見られた。また、対照群の雌及び 50 μg/kg/日の雄で、投与部位に軽度の血管周囲出血が見られた。これらはいずれも、投与操作に起因するものと考えられた。上記以外の病理組織学的検査には、対照群及びすべての投与群で、毒性学的に意義のある変化はなかった。

以上より、無毒性量はペンテトレオチドとして 50 μg/kg/日と考えられた。

2.4.4.3　遺伝毒性試験

..... 添付資料 4.2.3.3.1～2

遺伝毒性試験として、マウスリンフォーマ L5178Y 細胞を用いる遺伝子突然変異試験（適用濃度：代謝活性化系非存在下で 10～100 μg/mL、代謝活性化系存在下で 5～100 μg/mL）及び雌雄マウスを用いる小核試験（投与量：0 及び 50 mg/kg）を実施した。その結果、いずれの試験においても遺伝毒性は示されなかった。

2.4.5　総括及び結論

インジウムペンテトレオチド（^{111}In）は、ソマトスタチン誘導体であるオクトレオチドにジエチレントリアミン五酢酸（DTPA）を結合させたペンテトレオチドをインジウム 111 で標識した化合物であり、オクトレオチド構造が SSTR に結合すると考えられる。

インジウムペンテトレオチド（^{111}In）と SSTR の結合は、過剰なオクトレオチドにより 90%以上が阻害された。また、競合阻害実験の結果、インジウムペンテトレオチド（^{115}In）は比較的高い結合阻害活性を示したことから、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）は、オクトレオチドの構造部位で SSTR に特異的に結合し、この結合能は比較的高いと考えられた。SSTR には 5 つのサブタイプ（SSTR1～SSTR5）が存在するが [2]、インジウムペンテトレオチド（^{115}In）及びペンテトレオチドは、SSTR1 及び SSTR4 に対する結合性は認められず、SSTR2 に対しては最も高い結合性を示しており、SSTR サブタイプの結合選択性はオクトレオチドに類似している [3]。

SSTR 発現腫瘍移植ラットにおいて、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）は静脈内投与直後から腫瘍領域の放射能が上昇し、30 分以内にピークに達した。一方、オクトレオチド前処置により、腫瘍領域の放射能は有意に低下したことから、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）は投与直後から速やかに SSTR と特異的に結合し、腫瘍へ集積することが *in vivo* で示された。また、投与後 24 時間に解剖採取した腫瘍を放射能測定した結果、オクトレオチド前処置により腫瘍の放射能濃度（%dose/g）が有意に低下した。このことから、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）は、投与後 24 時間においても SSTR を介して腫瘍へ集積していると考えられた。

投与後 24 時間において、腫瘍よりも高い放射能濃度が副腎及び腎臓に認められた。副腎で認められた高い放射能濃度は、オクトレオチド前処置により有意に低下したことから、インジ

ウムペンテトレオチド（^{111}In）と結合親和性の高いSSTR2の存在[2)]が影響していると考えられた。一方、腎臓集積はオクトレオチド前処置の影響は認められず、SSTR以外の関与が考えられた。近年の研究では、近位尿細管上皮細胞に高発現しているメガリン／キュビリン システムが、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）の腎臓集積に関与していることが示唆されている[4)]。

静脈内投与後30分及び24時間のガンマカメラ画像を視覚的に比較すると、24時間の方が腫瘍の描出能に優れていた。これは、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）が、投与後30分以内に腫瘍のSSTRに結合することにより集積し、受容体に結合しなかったインジウムペンテトレオチド（^{111}In）は主に腎尿路系から速やかに排泄され、腫瘍とバックグランドのコントラストが高くなったためと考えられた。また、投与後24時間のガンマカメラ画像において、オクトレオチド前処置によるインジウムペンテトレオチド（^{111}In）の腫瘍への集積低下を視覚的に判別できることから、SSTRに対する特異的な集積をガンマカメラ画像で描出できると考えられた。

なお、消化管ホルモン産生腫瘍を含む神経内分泌腫瘍では、上記の5つのサブタイプの発現が確認されており、特に、SSTR2は約80%で発現しているとの報告がある[5)]。インジウムペンテトレオチド（^{111}In）は、SSTR2に最も強く結合することが報告されており、膵神経内分泌腫瘍、消化管神経内分泌腫瘍及び肺カルチノイドの診断の診断に適していると考えられた。

副次的薬理試験の結果から、ペンテトレオチド及びインジウムペンテトレオチド（^{115}In）は、ラット下垂体前葉細胞からの成長ホルモン分泌抑制作用が認められたが、その効力はオクトレオチドの約1/10であった。

インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液をラットに単回静脈内投与したときの血液及び血漿中放射能濃度は、雌雄共に投与直後より急速に減少した。また、投与した放射能は、投与後1時間までの比較的短時間で全身に分布した。最大値で1.0%dose以上の分布が見られた臓器は、血液、膵臓、肝臓、腎臓及び小腸（雌性ラットのみ）であり、そのうち5.0%dose以上の分布が見られた臓器は血液と腎臓であった。分布した放射能の消失は急速で、投与後24時間において1.0%dose以上の放射能が残存した臓器は腎臓のみであった。

ラット、イヌ及びヒト血漿に対するたん白結合率（*In vitro*）は20.90～26.40%を示し、明らかな種差を認めなかった。ラットにインジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液を単回静脈内投与したときの血球移行率及び血漿中たん白結合率は、投与後1時間までの早期において、0.00～2.62%（血球移行率）及び21.30～26.65%（血漿中たん白結合率）と比較的低い値を示した。その後、経時的に増加する傾向を示したが、これは血液中からの未変化体の急速な消失が影響したものと考えられた。

インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液をラットに単回静脈内投与したときの生体試料から、複数の放射性代謝物を検出した。投与後15分までの比較的早期の血漿では、放射能の96%以上が未変化体であった。その後、血漿中の未変化体は減少し、遊離インジウム111の存在比率が経時的に増加した。肝臓、腎臓及び膵臓中における代謝物の分析では、未同定放射性

代謝物 No.3 を主に肝臓で、未同定放射性代謝物 No.4 を主に腎臓及び膵臓で検出した。これらの未同定放射性代謝物は、投与後 15 分までの比較的早期で最大存在比率に達した後、経時的に減少した。いずれの臓器も遊離インジウム 111 の存在比率は経時的に増加しており、検出した未同定放射性代謝物は、最終的に遊離インジウム 111 へ代謝される可能性が示唆された。尿及び糞中に排泄された放射能の分析では、92%以上（尿）及び 74%以上（糞）を未変化体として検出した。静脈内に投与したインジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液は、非常に速やかに未変化体のまま尿及び糞中へ排泄されるものと考えられた。

インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液をラットに単回静脈内投与したときの、主要排泄経路は尿中であった。尿中累積放射能排泄率は、投与後 2 時間で 70.98～76.06%dose を示し、投与後 120 時間で 84.57～86.94%dose に達した。糞中累積放射能排泄率は、投与後 120 時間で 10.11～11.10%dose を示した。胆汁中への累積放射能排泄率は、投与後 48 時間で 2.03%dose であった。

雌雄マウスにおける毒性試験用注射用ペンテトレオチドの単回静脈内投与試験（投与量：ペンテトレオチドとして 0 及び 300 μg/kg）では、死亡例はなく、概略の致死量はペンテトレオチドとして 300 μg/kg を超える量であった。300 μg/kg は、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液の申請用量（ペンテトレオチドとして 10 μg/ヒト）の 1800 倍に相当する。雌雄ラットにおけるペンテトレオチドの単回静脈内投与試験（投与量：0、500 及び 1000 μg/kg）では、死亡例はなく、概略の致死量は 1000 μg/kg を超える量であった。1000 μg/kg は、申請用量の 6000 倍に相当する。雌雄イヌにおけるペンテトレオチドの単回静脈内投与試験（投与量：0、250 及び 500 μg/kg）では、死亡例はなく、概略の致死量は 500 μg/kg を超える量であった。500 μg/kg は、申請用量の 3000 倍に相当する。以上より、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液をヒトに単回静脈内投与したとき、致死的となる可能性は低いと考えられた。

雌雄ラットにおける毒性試験用注射用ペンテトレオチド溶液の 2 週間反復静脈内投与試験（投与量：ペンテトレオチドとして 0、25 及び 50 μg/kg/日）では、被験物質に起因すると考えられる死亡例はなかった。50 μg/kg/日の雌で血小板数の軽度増加及び BUN の軽度低下、並びに 50 μg/kg/日の雄で LDH の上昇が見られたが、いずれも毒性学的な意義のないものと考えられ、本試験条件下での無毒性量はペンテトレオチドとして 50 μg/kg/日であった。ペンテトレオチドとして 50 μg/kg は、申請用量の 300 倍に相当し、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）注射液をヒトに単回静脈内投与したとき、これらの変化が発現する可能性は低いと考えられた。

マウスリンフォーマ TK 試験（適用濃度：代謝活性化系非存在下で 10～100 μg/mL、代謝活性化系存在下で 5～100 μg/mL）及び雌雄マウスを用いる小核試験（投与量：0 及び 50 mg/kg）において、いずれも試験結果は陰性であり、遺伝毒性は示されなかった。

局所刺激性については、ラットにおける毒性試験用注射用ペンテトレオチド溶液の 2 週間反復投与毒性試験（投与量：ペンテトレオチドとして 0、25 及び 50 μg/kg/日）において、投与部位に被験物質に起因すると考えられる変化は見られなかったことから、臨床使用上問題となる可能性は低いと考えられた。なお、50 μg/kg は、注射用ペンテトレオチド溶液の申請用量の

300 倍に相当する。

以上の非臨床試験結果から、インジウムペンテトレオチド（^{111}In）は、静脈内投与後、消化管ホルモン産生腫瘍などに発現するソマトスタチン受容体に特異的に集積し、他組織から速やかに排出されることにより、ガンマカメラ撮像により腫瘍を描出させることが可能と考えられた。

一方、成長ホルモン分泌抑制作用はオクトレオチドの約 1/10 であること、概略の致死量はペンテトレオチドとして 300 μg/kg を超える量、無毒性量はペンテトレオチドとして 50 μg/kg/日と申請用量（ペンテトレオチドとして 10 μg/ヒト）に比べて大きいことから、安全性の高い薬剤であると考えられた。

2.4.6　参考文献一覧

以下の参考文献はすべて「4.3 参考文献」項にコピーを添付した。

1. Hofland LJ, van Koetsveld PM, Verleun TM, Lamberts SW. Long-term culture of rat mammotrope and somatotrope subpopulations separated on continuous Percoll density gradients: Effects of dopamine, TRH, GHRH and somatostatin. Acta Endocrinol 1990; 122: 127-36.
2. Reisine T, Bell GI. Molecular biology of somatostatin receptors. Endocr Rev. 1995; 16: 427-42.
3. Reubi JC, Schär JC, Waser B, Wenger S, Heppeler A, Schmitt JS, et al. Affinity profiles for human somatostatin receptor subtypes SST1-SST5 of somatostatin radiotracers selected for scintigraphic and radiotherapeutic use. Eur J Nucl Med 2000; 27: 273-82.
4. Rolleman EJ, Melis M, Valkema R, Boerman OC, Krenning EP, de Jong M. Kidney protection during peptide receptor radionuclide therapy with somatostatin analogues. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2010; 37: 1018-31.
5. Schaer JC, Waser B, Mengod G, Reubi JC. Somatostatin receptor subtypes sst1, sst2, sst3 and sst5 expression in human pituitary, gastroentero-pancreatic and mammary tumors: Comparison of mRNA analysis with receptor autoradiography. Int J Cancer 1997; 70: 530-7.

（最終ページ）