2.4　非臨床試験の概括評価の目次

2.4.1　非臨床試験計画概略 2
2.4.1.1　薬理試験 3
2.4.1.2　薬物動態試験 3
2.4.1.3　毒性試験 3
2.4.2　薬理試験 5
2.4.2.1　効力を裏付ける試験 5
2.4.2.2　安全性薬理試験 5
2.4.2.3　薬力学的薬物相互作用 6
2.4.3　薬物動態試験 7
2.4.3.1　吸収 7
2.4.3.2　分布 7
2.4.3.3　代謝 7
2.4.3.4　排泄 8
2.4.3.5　薬物動態学的薬物相互作用 8
2.4.4　毒性試験 9
2.4.4.1　単回投与毒性試験 9
2.4.4.2　反復投与毒性試験 10
2.4.4.3　遺伝毒性試験 11
2.4.4.4　がん原性試験 12
2.4.4.5　生殖発生毒性試験 12
2.4.4.6　局所刺激性試験 12
2.4.4.7　その他 12
2.4.4.7.1　ドセタキセルとの併用投与毒性試験 12
2.4.4.7.2　光毒性試験 13
2.4.5　総括及び結論 14
2.4.6　引用文献一覧 19

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

塩化ラジウム（^{223}Ra）注射液は、骨転移巣を標的として抗腫瘍効果をもたらす、アルファ線を放出する新規の放射性医薬品であり、本剤は骨転移を有する前立腺癌の新たな治療薬となる可能性がある。

有効成分である塩化ラジウム（^{223}Ra）の活性本体は、アルファ線放出核種ラジウム 223 の二価陽イオン（$^{223}Ra^{2+}$）である。ラジウム 223 はカルシウムなど、その他のアルカリ土類金属に類似し、骨を標的とする特性を有する。ラジウム 223 は、骨構造の約 50%を占めるヒドロキシアパタイトと複合体を形成することによって、骨転移巣のような骨代謝が亢進している部位を標的として選択的に集積する[1)]。ラジウム 223 より放出される高エネルギーのアルファ線は、近接する細胞に DNA の二重鎖切断を高頻度に誘発し、腫瘍細胞が含まれる標的部位に局所的な殺細胞作用をもたらすが[2)]、飛程が短い（100μm 未満）ため、骨髄などの正常細胞への影響は最小限に抑えられることが期待される[2, 3)]。

塩化ラジウム（^{223}Ra）の薬理学的、薬物動態学的及び毒性学的特性を明らかにするために、以下の非臨床試験を実施した。本申請資料で示している非臨床試験は、公表論文を除き、Algeta ASA 社（現 Bayer AS 社）又は受託試験施設で実施された。特に明記しない限り、非臨床試験には、塩化ラジウム（^{223}Ra）を含有する液剤（クエン酸ナトリウム溶液などで調製）を用いた。

ラジウム 223 の放射能は、現在、米国立標準技術研究所（NIST）の標準品に基づいて定めている。2014 年より NIST においてラジウム 223 の標準の見直しが開始され、2008 年に確立された一次標準に比べて約 10.5%高い値になることが報告された（2.3.P.6 参照）。これにより、非臨床試験（公表論文は除く）についても、試験に用いたラジウム 223 の投与放射能量、放射能濃度又は吸収線量は約 10.5%高い値であったことになる。したがって、非臨床試験の概括評価（2.4）、並びに非臨床試験の概要文及び概要表（2.6）については、新しい標準に基づく数値で記載した。また臨床用量との比較に際しても、新表示値の臨床推奨用量「55kBq/kg」を用い考察した。

2.4.1.1 薬理試験

効力を裏付ける試験として、塩化ラジウム（^{223}Ra）の腫瘍細胞に対する作用、その作用機序、並びに破骨細胞、骨芽細胞に対する作用を検討する *in vitro* 試験を実施し、更に、ヌードマウス及びヌードラットを用いた骨転移モデルに対する作用を検討する *in vivo* 試験を実施した。加えて、薬力学的薬物相互作用試験として、ビスホスホネート系薬剤又はドキソルビシンとの相互作用を検討する試験を実施した。

安全性薬理試験では、塩化ラジウム（^{223}Ra）の生命維持に重要な器官系（心電図を含む心血管系、呼吸器系及び中枢神経系）に及ぼす影響を、*in vivo* 試験で検討した。当該安全性薬理試験は「安全性薬理試験ガイドライン」（ICH S7A）及び「ヒト用医薬品の心室再分極遅延（QT 間隔延長）の潜在的可能性に関する非臨床的評価」（ICH S7B）の各ガイドラインに従い、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施に関する基準（Good Laboratory Practice；GLP）に準拠して実施した。またデータパッケージは「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」（ICH S9）に準じていると考えられる。

2.4.1.2 薬物動態試験

塩化ラジウム（^{223}Ra）を投与したときの血中薬物動態、臓器・組織分布及び排泄特性を評価するための非臨床試験を実施した。ラジウム 223 は代謝されないことから、代謝試験は実施しなかった。

マウスに塩化ラジウム（^{223}Ra）を単回投与したときの血中薬物動態、臓器・組織分布及び排泄を検討した。血中及び臓器・組織中の放射能を 14 日間（ラジウム 223 の約 1.3 半減期）又は 56 日間（約 5 半減期）にわたって測定した。また、イヌにおいても、血中薬物動態、臓器・組織分布及び排泄を検討した。

2.4.1.3 毒性試験

毒性試験では、（a）標的器官の特定及びその所見についての回復性の検討、（b）遅発性放射線毒性の評価、及び（c）ヒトに臨床推奨用量（55kBq/kg）を 4 週間ごとに 6 回まで投与したときと比較した安全域の算出、を主な目的とした。

したがって、単回投与及び最長 12 ヵ月間（4 週間ごとに 12 回投与）までの反復投与毒性試験を実施し、塩化ラジウム（^{223}Ra）の全身毒性及び遅発性放射線毒性並びに薬力学的作用の過剰発現について評価した。

塩化ラジウム（^{223}Ra）は注射液として患者に静脈内投与することから、毒性試験での投与経路は静脈内投与とした。

マウスの単回投与毒性試験を除き、*in vivo* 一般毒性試験はラット及びイヌを用いて実施した。

Balb/c マウス、Wistar ラット及びビーグル犬を用いた単回投与毒性試験では、ヒトの臨床推奨用量（55kBq/kg）のそれぞれ 75 倍（マウス）、62 倍（ラット）及び 9 倍（イヌ）の用量まで投与した。いずれの試験においても、4 週間の観察期間を設けた。

塩化ラジウム（^{223}Ra）の反復投与毒性試験では、4 週間隔でヒトでの予定総投与回数である 6 回投与と同回数（イヌで 6 回）あるいはそれを超える回数（ラットで 12 回）を反復投与した。

ラットでは、単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）並びに 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（12 回投与後 4 週間の観察期間あり）を実施し、遅発性放射線毒性を評価した。イヌでは、臨床推奨用量と同じ用量である 55kBq/kg による反復静脈内投与毒性試験（6 回投与後 4 週間の観察期間あり）を実施した。

塩化ラジウム（^{223}Ra）注射液を静脈内投与した際の局所忍容性は、マウス、ラット及びイヌを用いた単回及び反復静脈内投与毒性試験により評価した。また、ウサギの局所刺激性試験を実施し、静脈周囲に投与した際の局所忍容性について評価した。

精子形成上皮[4)]及び発生／発育中の胚／胎児[5)]など急速に分化・増殖する組織は放射線障害に対して感受性が高いことが知られており、また、患者集団は進行がんを有する者のみであることから、塩化ラジウム（^{223}Ra）の生殖発生毒性試験は実施しなかった。

アルファ線の作用機序（DNA 二重鎖切断の誘発）[6)]から、塩化ラジウム（^{223}Ra）は遺伝毒性作用を有することが明らかであり、また、線源にかかわらず、放射線放出核種から放出されるアルファ線がヒトの *in vivo* で遺伝子突然変異や循環リンパ球の染色体異常を誘発し、ヒトで発がん性を有することも認められていることから[7, 8, 9)]、塩化ラジウム（^{223}Ra）の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験並びにがん原性試験は実施しなかった。

また、ラットを用いた塩化ラジウム（^{223}Ra）とドセタキセルの併用投与毒性試験を実施し、併用投与による毒性を評価した。

主要な試験は、GLP に従って実施した。マウス及びラットの単回投与毒性試験の一部（Algeta ASA 社において放射能を測定した試験）、イヌの単回及び反復投与毒性試験並びにラットの単回併用静脈内投与毒性試験（ドセタキセルとの併用）は非 GLP 下で実施した。

2.4.2　薬理試験

ラジウム 223 は、骨転移巣のように骨代謝が亢進した部位に選択的に集積しアルファ線を放出する。塩化ラジウム（^{223}Ra）の薬理作用を腫瘍細胞、破骨細胞及び骨芽細胞を用いて *in vitro* で検討した。ヌードラット及びヌードマウスを用いた 2 種類の骨転移モデルにおいて、*in vivo* 抗腫瘍効果を検討した。加えて、ビスホスホネート系薬剤又はドキソルビシンとの相互作用を検討する試験を実施した。また、安全性薬理試験では塩化ラジウム（^{223}Ra）の生命維持に重要な器官系に及ぼす影響を、*in vivo* 試験で検討した（2.6.2 及び 2.6.3 参照）。

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

塩化ラジウム（^{223}Ra）は、DNA の二重鎖切断を高頻度に誘発し、多剤耐性細胞株や非対数増殖期細胞などを含む様々な腫瘍細胞株において *in vitro* 殺細胞作用を示した。このような腫瘍細胞に対する殺細胞効果に加え、*in vitro* で観察された破骨細胞分化及び骨芽細胞活性の阻害も、*in vivo* における有効性に寄与していると考えられる（2.6.2.2.1　表 2.6.2.2-1 参照）。

ヌードラット及びヌードマウスを用いた 2 種類の *in vivo* 骨転移モデルにおいて、塩化ラジウム（^{223}Ra）の抗腫瘍効果が示された。乳癌細胞株（MT-1）を用いたヌードラット骨転移モデルにおいて、塩化ラジウム（^{223}Ra）は無麻痺生存期間を延長した。別の乳癌細胞株（MDA-MB-231）を用いたヌードマウス骨転移モデルにおいても、無麻痺生存期間の延長が認められた。当該動物において、全腫瘍量の減少及び総骨溶解面積の減少がみられたことから、これらの作用により、無麻痺生存期間が延長したものと考えられた。また、腫瘍／骨境界面の破骨細胞数の減少が観察され、破骨細胞に対する作用もこの溶骨性骨転移モデルにおける抗腫瘍効果に寄与している可能性がある（2.6.2.2.2　表 2.6.2.2-2 参照）。

マウスにおいてラジウム 223 の骨への分布率はストロンチウム 89 よりわずかに高いことが確認された。また、骨に結合したラジウム 223 から生成する子孫核種は骨内に留まり、ほとんど再分布しないと考えられる（2.6.2.2.2.3 参照）。

2.4.2.2　安全性薬理試験

塩化ラジウム（^{223}Ra）を単回静脈内投与したときの中枢神経系及び呼吸器系（ラット）、並びに心電図を含む心血管系（イヌ）に及ぼす影響を検討した。

塩化ラジウム（^{223}Ra）を 1105kBq/kg（臨床推奨用量の 20 倍）の用量までラットに単回静脈内投与したところ、中枢神経系及び呼吸器系に塩化ラジウム（^{223}Ra）投与に関連する影響はみられなかった（2.6.2.4.1 及び 2.6.2.4.3 参照）。また、塩化ラジウム（^{223}Ra）を 497kBq/kg（臨床推奨用量の 9 倍）の用量までテレメータを装着した覚醒イヌに単回静脈内投与したところ、血圧、心拍数及び左室圧、並びに心電図パラメータ（PR、RR、QRS 及び QT 間隔）について、塩化ラジウム（^{223}Ra）投与に関連する影響はみられなかった（2.6.2.4.2 参照）。以上の試験成績から、塩化ラジウム（^{223}Ra）の静脈内投与が、不整脈を誘発する可能性を含め、生命維持に重要な器官系に急性の影響を及ぼす可能性は示唆されなかった。

2.4.2.3　薬力学的薬物相互作用

ヌードラットを用いた乳癌骨転移モデルにおける塩化ラジウム（^{223}Ra）の有効性（無麻痺生存期間）は、塩化ラジウム（^{223}Ra）投与翌日にビスホスホネート系薬剤パミドロン酸を投与しても変化がみられなかったことから、これらの薬剤間に相互作用は生じないことが示唆された（2.6.2.5.1 参照）。また、ヌードマウスを用いた乳癌骨転移モデルにおいても、塩化ラジウム（^{223}Ra）による無麻痺生存期間の延長効果に、抗悪性腫瘍薬剤ドキソルビシン又はビスホスホネート系薬剤ゾレドロン酸併用投与による減弱は認められなかった。更に、ゾレドロン酸単独及び塩化ラジウム（^{223}Ra）とゾレドロン酸を併用投与したマウスでは、平均骨溶解面積の有意な減少が認められた。これらのデータは、塩化ラジウム（^{223}Ra）にドキソルビシン又はゾレドロン酸を併用投与しても、少なくとも塩化ラジウム（^{223}Ra）の有効性を低下させるような影響はみられないことを示唆する（2.6.2.5.2 参照）。

2.4.3 薬物動態試験

マウス、ラット（臓器・組織分布のみ）及びイヌを用いて、塩化ラジウム（^{223}Ra）を投与したときの血中薬物動態、臓器・組織分布及び排泄を検討した（2.6.4 及び 2.6.5 参照）。実施した薬物動態試験の一覧を 2.6.5.1 に記載した。

生体試料中のラジウム 223 の検出及び定量法は、ラジウム 223 及び子孫核種から放出される放射線（ガンマ線）の計測に基づいている。生体試料中のラジウム 223 の定量には、自動 NaI シンチレーションガンマカウンターを用いた。

2.4.3.1 吸収

塩化ラジウム（^{223}Ra）をマウス及びイヌに単回静脈内投与したとき、放射能は循環血液中から速やかに消失した（2.6.4.3.1 図 2.6.4.3-1 及び図 2.6.4.3-2 参照）。静脈内投与後 1 時間のマウス及びイヌの全血液中には、それぞれ投与量の 1%未満及び 12%の放射能が認められた。投与後 24 時間では更に減少し、マウスで 0.1%未満、イヌでは 2%未満であった。放射能の血中からの消失は、マウスで 2 相性、イヌでは 3 相性であった。マウスにおいて、初期相の半減期は約 0.1 時間、終末相の半減期は約 13 時間であった。イヌでは、初期相及び中間相の半減期は短く、それぞれ約 0.2 時間及び約 2 時間であり、単回投与後と反復投与後で大きな差はなかった。単回静脈内投与後の終末相の半減期は約 50 時間であった。イヌにおいては 3 用量が検討され、放射能の血中からの分布及び消失に用量依存性は認められなかった。

2.4.3.2 分布

マウス、ラット及びイヌを用いた臓器・組織分布試験において、ラジウム 223 は主に骨組織に分布し、その親和性は軟部組織よりはるかに高かった（2.6.4.4.2 参照）。マウスの脾臓を除いて、軟部組織では放射能はほとんど検出されなかった。このマウスの脾臓における蓄積の原因は不明であるが、時間の経過に伴い消失した。投与後初期において、マウスの腎臓で高濃度の放射能が認められたが、これは恐らく尿中排泄によるものと考えられ、放射能濃度は速やかに減少した。

マウスの大腸において、投与後 1 時間以内に高濃度の放射能が認められたが、この所見はラット、イヌ、ウサギ及びウシにおいてラジウム同位体が消化管内へ直接排出され、糞中に認められたことを報告した文献[10, 11, 12]からも裏付けられる。塩化ラジウム（^{223}Ra）を投与したマウス及びイヌの排泄試験においても、ラジウム 223 の尿及び糞中への排泄が認められた（2.6.4.6.1、2.6.4.6.2、2.4.3.4参照）。イヌにラジウム同位体であるラジウム 224 を投与して 1 時間～7 日後の臓器・組織における放射能の分布、残存及び吸収線量の測定結果が報告されている[13]。この試験において、評価期間中の骨中放射能の残存量は平均で 48%であったが、軟部組織中の残存量は投与後 1 時間の 61%から投与後 7 日目の 6%に減少した。

また、ラジウム 223 の特性上、非結合型での曝露を考慮する必要はないため、たん白結合試験は実施しなかった。

2.4.3.3 代謝

ラジウム 223 は代謝されないことから、代謝試験は実施しなかった。

2.4.3.4 排泄

マウスを用いて、塩化ラジウム（^{223}Ra）を単回静脈内投与したときの排泄試験を実施した（2.6.4.6.1 参照）。また、排泄物を完全に回収しなかったものの、イヌを用いたラジウム 223 の排泄試験も実施した（2.6.4.6.2 参照）。

マウス及びイヌにおいても、ラジウム 223 は消化管と腎臓の両経路を介して排泄された。マウスにおいて、尿及び糞中への排泄量は、投与後 1～12 時間に最大となった。イヌの尿中放射能濃度は、単回投与では最初の採取時点である投与後 4 時間、反復投与では最初又は 2 回目の採取時点である投与後 1～2 時間で最大となった。糞中放射能濃度は、単回又は反復投与したときのそれぞれ最初の採取時点である投与後 24 時間又は 12 時間で最大となった。マウスを用いた 2 つの排泄試験において、投与後 5 日までの放射能の累積排泄比（尿：糞）は 1：1 又は 1：3 であった。尿糞中からの回収率は 16%と低く、これはラジウム 223 の骨組織における残存によって説明される。マウスを用いた臓器・組織分布試験において（2.6.4.4.2 参照）、骨組織への結合は迅速に起こり、放射性壊変を考慮して補正した結合量は、試験終了（14 日目）までほぼ一定に留まった。また、骨に結合したラジウム 223 から生成する子孫核種は骨内に留まり、ほとんど再分布しないと考えられる[14)]。したがって、一旦骨に結合したラジウム 223 は、放射性壊変によって安定同位体の鉛 207（^{207}Pb）になるまでの期間、骨内に留まると考えられる。その他の組織における残存放射能は、投与後 12 時間で既にごくわずかな量であった。

イヌにおいても、尿及び糞中放射能濃度は経時的に減少した。イヌにラジウム同位体であるラジウム 224 を静脈内投与したときの臓器・組織分布試験において、投与 7 日後に投与量の約 50%が体内に残存していたことが報告されている[13)]。よって、イヌにおけるラジウム 223 の糞及び尿中への排泄量は、投与量の約 50%であると考えられる。また、Seil らは、イヌにラジウム同位体であるラジウム 226 を塩化物として皮下投与したときの排泄パターンを検討し、ラジウム 226 は主に糞中へ速やかに排泄されたことを報告している[15)]。

一方、ヒトにおけるラジウム 223 の排泄比（尿：糞）は約 1：36 であり、投与後 8 日間で投与量の約 85%が排泄されたことが報告されている[16, 17)]。臨床試験においても、ラジウム 223 の主な排泄経路は糞中排泄であった（2.7.2 参照）。

2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用

ビスホスホネート系薬剤（ゾレドロン酸）の投与は、ラジウム 223 の血中薬物動態及び臓器・組織分布に影響を与えなかった（2.6.4.7 参照）。

2.4.4　毒性試験

塩化ラジウム（^{223}Ra）の臨床試験（4 週間ごとに 6 回投与）を実施するに当たり、塩化ラジウム（^{223}Ra）の非臨床毒性試験を実施し、その毒性プロファイルを明らかにした（2.6.6 及び 2.6.7 参照）。また、イヌの単回及び反復投与毒性試験において、ラジウム 223 のトキシコキネティクス（TK）を評価した（2.6.4 及び 2.6.5 参照）。主要な試験は GLP に従って実施した。マウス及びラットの単回投与毒性試験の一部（Algeta ASA 社において放射能を測定した試験）、イヌの単回及び反復投与毒性試験並びにラットの単回併用静脈内投与毒性試験（ドセタキセルとの併用）は非 GLP 下で実施した。

毒性試験における投与経路は、臨床適用経路に準じた静脈内投与とした。単回投与毒性試験は、マウス、ラット及びイヌを用いて実施した。反復投与毒性試験としては、ラットでは 12 ヵ月間までの、イヌでは 6 ヵ月間までの間欠投与（4 週間隔）による試験を実施した。ウサギの局所刺激性試験を実施し、静脈周囲に投与した際の局所忍容性について評価した。ラジウム 223 は遺伝毒性作用（DNA の二重鎖切断）を有しており、塩化ラジウム（^{223}Ra）は生殖毒性物質及び発がん性物質と考えられることから、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験及びがん原性試験は実施しなかった。また、ラットを用いた塩化ラジウム（^{223}Ra）とドセタキセルの併用投与毒性試験を実施し、併用投与による毒性を評価した。

2.4.4.1　単回投与毒性試験

マウス、ラット及びイヌを用いて、単回投与毒性試験を実施した。

雌雄の Balb/c マウス（2.6.6.2.1.1 参照）及び雌雄の Wistar ラット（2.6.6.2.1.2 参照）を用いた単回静脈内投与毒性試験では、高用量（1000kBq/kg 超）で骨髄抑制を示す種々の血液学的変化（対照群と比較して、白血球、リンパ球及び好酸球の減少）に加え、体重増加抑制が認められた。病理組織学的検査では、骨髄毒性（造血細胞の減少）がみられており、脾臓において代償性の髄外造血亢進が認められた。また、骨における骨細胞及び骨芽細胞の減少（用量依存性、ごく軽度～中等度）がマウス及びラットのすべての投薬群のほぼ全例でみられており、関連した所見として、アルカリホスファターゼ（ALP）の減少がすべての投薬群で認められた。げっ歯類の 10％に重篤な毒性を発現する塩化ラジウム（^{223}Ra）の投与量（STD_{10}）は、マウスで 2762kBq/kg、ラットで 2270kBq/kg であった。概略の致死量は、マウスで 2762kBq/kg、ラットで 3404kBq/kg 超であった。

イヌを用いた単回静脈内投与毒性試験（2.6.6.2.2.1 参照）では、塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55、166 及び 497kBq/kg を単回静脈内投与したところ、忍容性は全般的に良好であった。55kBq/kg 以上の群では白血球、顆粒球及び血小板の減少（用量依存性）が認められ、投与から約 7～14 日後（Day7～14）に最小値に達した。これらの変化は、55kBq/kg 群では試験 30 日（Day30）までに正常範囲下限まで回復したが、166 及び 497kBq/kg 群ではこのような回復傾向はみられなかった。497kBq/kg 群では、一過性の体温上昇が Day7～14 で認められ（ほぼ同時期に顆粒球が最小値）、Day12 には誤嚥性肺炎のため 1 例を屠殺した。病理組織学的検査では、肝臓、腎臓、十二指腸、空腸、回腸及び結腸に投薬に関連した変化はみられなかった。第二腰椎椎体において造血細胞密度の低下及び骨髄細胞の減少（用量依存性）がみられており、本所見は血液学的検査で認められた変化と一致するものであった。497kBq/kg を単回投与したところ、骨髄毒性がみられており、本所見は用量制限毒性であると考えられた。166 及び 497kBq/kg（臨床推奨用量の 3～9 倍に相当する用量）を投与したところ、網膜無色素上皮の肥厚あるいは網膜無色素上皮及び色素上皮の肥

厚を伴う網膜剥離がみられたが、イヌに臨床推奨用量と同じ用量である 55kBq/kg を反復投与しても本所見は認められなかった。投薬に関連した遅発性の骨肉腫はみられなかった。

2.4.4.2　反復投与毒性試験

ラット及びイヌを用いて、反復投与毒性試験を実施した。

ラットでは、単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）及び 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（12 回投与後 4 週間の観察期間あり）を実施し、遅発性放射線毒性について評価した。

Wistar ラットを用いた単回及び反復静脈内投与毒性試験（2.6.6.3.1.1 参照）では、22、88、359 及び 1436kBq/kg を単回静脈内投与あるいは 22、359 及び 718kBq/kg を反復静脈内投与（4 週間隔で 4 回投与）した。対照群と比較して体重の減少（統計学的に有意）及び摂餌量の減少が、単回投与の 359 及び 1436kBq/kg 群並びに反復投与の 359 及び 718kBq/kg 群で認められた。投与開始から 1 ヵ月間は投薬に関連した一般状態の変化はみられなかったが、その後、主に単回投与の 359 及び 1436kBq/kg 群並びに反復投与の 359 及び 718kBq/kg 群で、一般状態に種々の変化がみられたことから、これらの群の多くを早期屠殺した。また、投与開始から約 6 ヵ月後に、高用量群（単回投与の 1436kBq/kg 群、反復投与の 359 及び 718kBq/kg 群）の数例で歯の成長抑制（これに起因した摂餌量の減少あり）及び著しい体重減少がみられたことから軟性餌に切り替えたところ、これらの動物では体重増加がみられた。更に、単回投与の 359kBq/kg 群では歯の成長異常が認められた。投薬群では計 38 例〔単回投与の 22kBq/kg 群：1/16 例（採血後に死亡）、88kBq/kg 群：1/16 例（採血に関連）、359kBq/kg 群：7/16 例、1436kBq/kg 群：5/16 例（採血に関連した死亡例 1 例を含む）、反復投与の 22kBq/kg 群：2/16 例、359kBq/kg 群：10/16 例、718kBq/kg 群：12/16 例（採血に関連した死亡例 1 例を含む）〕の死亡／早期屠殺例がみられた。対照群でも 1 例の死亡が認められた。血液学的パラメータ（赤血球、白血球、リンパ球、好酸球及び血小板の減少など）、血液生化学的パラメータ（ALP の減少、電解質の変化）及び尿パラメータにも変化が認められた。投薬に対する初期の急性反応は、単回投与後に認められた血液学的パラメータの変化であり、特に白血球の減少がみられたが、これらの変化には回復性が認められた。本試験の反復投与では、白血球の減少は投与終了から約 40 週間後まで回復しなかった。359kBq/kg（臨床推奨用量の 6.5 倍）以上の単回及び反復投与後に、死亡／早期屠殺例で 12 例、生存例で 3 例の計 15 例（単回投与の 359kBq/kg 群：5/16 例、単回投与の 1436kBq/kg 群：1/16 例、反復投与の 359kBq/kg 群：8/16 例、反復投与の 718kBq/kg 群：1/16 例）に骨肉腫が認められた。骨肉腫は主に単回・反復投与の 359kBq/kg 群でみられており、本群の死亡／早期屠殺例で骨肉腫が最初に確認された試験日は、単回投与で試験 323 日（Day323）、反復投与で Day320 であり、同時期であった。反復投与の 359kBq/kg 群で骨肉腫が確認された時期は Day320、329、369、385、392、411、446 及び 449 であり、単回投与の 359kBq/kg 群での計画屠殺日である Day366 よりも遅いものが多かった。骨肉腫と最も早期に診断されたのは、Day247 に早期屠殺した単回投与の 1436kBq/kg 群の雄であった。単回投与の 1436kBq/kg 群及び反復投与の 718kBq/kg 群において骨肉腫の発生率が低かった理由としては、単回投与の 1436kBq/kg 群では早期屠殺時期がより早かったこと（Day15～288）が挙げられ、また反復投与の 718kBq/kg 群では早期屠殺時期が早かったこと（Day190～435）ことに加え、試験初期に多くの早期屠殺例がみられたこと（12/16 例）が可能性として考えられる。骨肉腫以外の腫瘍の発生率は、使用したラットの系統及び週齢における自然発生腫瘍発生率の背景値の範囲内であったが、腫瘍の発生率は用量依存性に増加しており、また腫瘍の数や比較的若齢の動物で発生していることを考えると、投薬に関連している可能性がある。低用量である 22kBq/kg 群で白血球及びリンパ球に変化が認められたことから、本試験における無毒性量は決定できなかった。

Wistar ラットを用いた 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験では、塩化ラジウム（^{223}Ra）の 28、55 及び 110kBq/kg（臨床推奨用量の 0.5～2 倍）を 4 週間隔で 12 ヵ月間（12 回）静脈内投与後、4 週間の観察期間を設定した（2.6.6.3.1.2 参照）。一般状態観察では、試験開始から 6 ヵ月間は投薬に関連した所見はみられなかった。それ以降に、投薬群の 25 例（28kBq/kg 群：5/24 例、55kBq/kg 群：10/24 例、110kBq/kg 群：10/24 例）は死亡あるいは早期屠殺したが、対照群では死亡はみられなかった。死因／早期屠殺に至った原因は、主に投薬群の 19 例〔死亡例：18 例、生存例：1 例（28kBq/kg 群：3/24 例、55kBq/kg 群：8/24 例、110kBq/kg 群：8/24 例）〕で投与開始から 7 ヵ月以上後に認められた骨肉腫によるものと考えられ、転移を伴っている場合が多かった。骨肉腫を発症した生存例 1 例は、110kBq/kg 群の動物であった。28kBq/kg 群と 55kBq/kg 群では、骨肉腫を発症した動物数に用量依存的な増加が認められたが、110kBq/kg 群では増加しなかった。しかし、骨肉腫が認められた死亡／早期屠殺例の低、中及び高用量群では用量に基づいた明確な時間依存性はみられなかった。骨肉腫と最も早期に診断された動物は、Day223 に早期屠殺した 55kBq/kg 群の雄であり、その他骨肉腫を有していた死亡／早期屠殺例の剖検時期と同様であった（28kBq/kg 群：Day273～322、55kBq/kg 群：Day223～330、110kBq/kg 群：Day271～331）。骨肉腫は主に骨及び骨格筋に認められたが、肺への転移もしばしばみられ、1 例では副腎へも転移していた。骨肉種以外の腫瘍の発生率は、使用したラットの系統及び週齢における自然発生腫瘍発生率の背景値の範囲内であったが、腫瘍の数や比較的若齢の動物で発生していることを考えると、投薬に関連している可能性がある。28kBq/kg 以上の投薬群において、非腫瘍性の変化として骨及びその関連組織に所見が認められた。対照群では病理組織学的変化はみられなかった。ALP の減少（55kBq/kg 以上の群の雄、110kBq/kg 群の雌）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の増加（110kBq/kg 群）及びリンの増加（28kBq/kg 以上の群の雄、55kBq/kg 以上の群の雌）が認められた。なお、歯の異常が 28kBq/kg 以上の群でみられており、対照群と比較して 55 あるいは 110kBq/kg 群の雄では摂餌量の減少がみられることもあった。試験期間中に白血球及び赤血球の減少（用量依存性）並びにそれに伴う網状赤血球の代償性増加が雌雄でみられた。また、これらの変化は最終投与から 25 日後においても認められた。高用量群で認められた脾臓における髄外造血の亢進は脾臓重量の増加とよく相関しており、投薬に関連した二次的な変化と考えられた。以上の結果から、本試験における無毒性量は決定できなかった。

イヌを用いた反復静脈内投与毒性試験では、塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg を 4 週間隔で 6 ヵ月間（6 回）投与した（2.6.6.3.2.1 参照）。白血球及び顆粒球の減少がみられたが、3 回目の投与までに安定し、残りの試験期間を通じて徐々に回復した。血小板も同様の影響を受けた。また、骨髄穿刺検査では、骨髄球／赤芽球比に一過性の減少が認められたが、6 回目の投与から 25 日後には対照群との間に差はみられなかった。大腿骨近位部の骨髄は投薬群でより膠様であり、胸骨あるいは椎骨骨髄の造血細胞密度に全体的な低下がみられた。投与 5 回目と 6 回目の間に、投薬群の 2 例で非転位性の骨盤骨折が認められた。しかし、腰椎、大腿骨近位部及び片側骨盤において実施した DEXA スキャンによる骨密度測定では、対照群と投薬群の間に差はみられなかったことから、塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg を 4 週間隔で 6 ヵ月間投与しても骨密度に影響しないことが示された。投薬に関連した遅発性の骨肉腫はみられなかった。

2.4.4.3　遺伝毒性試験

アルファ線の作用機序（DNA 二重鎖切断の誘発）[6)]から、塩化ラジウム（^{223}Ra）は遺伝毒性作用を有することが明らかであり、また、線源にかかわらず、放射線放出核種から放出されるアルファ線がヒトの *in vivo* で遺伝子突然変異や循環リンパ球に染色体異常を誘発し、ヒトで発がん性を有することも認められていることから[7, 8, 9)]、塩化ラジウム（^{223}Ra）の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.4.4.4 がん原性試験

遺伝毒性試験（2.4.4.3参照）で記載した同様の理由から、塩化ラジウム（^{223}Ra）のがん原性試験は実施しなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

精子形成上皮[4]及び発生／発育中の胚／胎児[5]など急速に分化・増殖する組織は放射線障害に対して感受性が高いことが知られており、また、患者集団は進行がんを有する者のみであることから、塩化ラジウム（^{223}Ra）の生殖発生毒性試験は実施しなかった。

2.4.4.6 局所刺激性試験

上述した単回及び反復静脈内投与毒性試験において、静脈内投与後に実施した一般状態観察及び注射部位の病理組織学的検査の結果から、塩化ラジウム（^{223}Ra）の局所忍容性は良好であった。ウサギを用いて実施した局所刺激性試験では、塩化ラジウム（^{223}Ra）の 829kBq/動物を単回静脈周囲投与したところ、一過性の紅斑（浮腫、出血はなし）が認められたが、投与から 7 日後に実施した病理組織学的検査では投与部位に変化はみられなかった（2.6.6.7.1 参照）。

2.4.4.7 その他

2.4.4.7.1 ドセタキセルとの併用投与毒性試験

ラットを用いた塩化ラジウム（^{223}Ra）とドセタキセルの併用投与毒性試験を 3 試験実施した。ラットの単回併用静脈内投与毒性試験（ドセタキセルとの併用）（2.6.6.8.7.1.1 参照）の結果から、ドセタキセルの 4mg/kg と塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg の併用は、次に実施する単回併用投与毒性試験の投与量として適していることが示された。

次に実施したラットの単回併用静脈内投与毒性試験（ドセタキセルとの併用）では、ラットにドセタキセルの 4mg/kg、塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg 及びドセタキセルの 4mg/kg と塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg を単回静脈内投与後、12 週間の観察期間を設定した（2.6.6.8.7.1.2 参照）。ドセタキセルあるいは塩化ラジウム（^{223}Ra）のいずれかを単回投与したところ、体重、摂餌量並びに血液学的及び血液生化学的検査でのいくつかのパラメータに明らかな影響がみられた。塩化ラジウム（^{223}Ra）の血液学的パラメータに対する影響は雌よりも雄で顕著であり、その影響はドセタキセルよりも長時間持続する傾向にあった。併用投与群では、赤血球及び白血球パラメータのいくつかに有意な変化がみられており、これらは明らかに投薬と関連したものであった。器官重量及び骨髄塗抹とも、各投薬群の雌雄で対照群との間に差はみられなかった。なお、塩化ラジウム（^{223}Ra）とドセタキセルの併用投与により、明らかな相加的あるいは相乗的な影響を示す所見は認められなかった。

ラットの 22 週間併用静脈内投与毒性試験（ドセタキセルとの併用）では、ラットにドセタキセルの 4mg/kg、塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg 及びドセタキセルの 4mg/kg と塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg を反復静脈内投与した（2.6.6.8.7.1.3 参照）。本試験では、18 週間の投与期間中に、塩化ラジウム（^{223}Ra）を 6 週間隔で 4 回、ドセタキセルを 3 週間隔で 7 回の間欠的投与後、4 週間の観察期間を設定した。ドセタキセル、塩化ラジウム（^{223}Ra）あるいは両剤を併用間欠的静脈内反復投与したところ、投薬に関連した体重増加抑制、摂餌量の減少、赤血球パラ

メータの減少（網状赤血球の増加を含む）及び白血球パラメータの減少が認められた。更に、血液生化学的パラメータの変化（カルバミド、クレアチニン及びトリグリセリドの減少）及び器官重量の変化がみられた。全体として、本試験で認められた変化は、雄及びドセタキセルの4mg/kg と塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg の併用投与群においてより顕著であった。併用投与後に認められた赤血球及びそれに関連する変化（MCV や MCH の変化など）は、反復投与による赤血球の代謝亢進を示している可能性がある。しかし、この種の変化は投与終了後に回復することが知られている。

2.4.4.7.2　光毒性試験

ヒトへの塩化ラジウム（^{223}Ra）の総投与量（マスドーズ）が微量（約 1.7ng）であることに加え、ラジウム 223 の多くは速やかに骨に分布し、眼及び皮膚における分布は極めて少ないと考えられることから[13]（2.6.4.4.2 参照）、本薬の非臨床光毒性試験は実施しなかった。また、第Ⅲ相臨床試験（試験 BC1-06）における「眼障害」及び「皮膚および皮下組織障害」の発現割合は BAY 88-8223 群とプラセボ群の間で差異は認められなかった（2.7.4.2.1.5 参照）。

以上のことから、塩化ラジウム（^{223}Ra）の臨床使用時に光毒性が問題となる可能性は低いと考えられた。

2.4.5 総括及び結論

塩化ラジウム（^{223}Ra）は骨転移巣のように骨代謝の亢進した部位に選択的に集積し、高エネルギーのアルファ線を放出することにより近接する細胞に DNA の二重鎖切断を高頻度に誘発し、部位特異的に抗腫瘍効果をもたらす。

塩化ラジウム（^{223}Ra）は、DNA の二重鎖切断を高頻度に誘発し、多剤耐性細胞株や非対数増殖期細胞などを含む様々な腫瘍細胞株において *in vitro* 殺細胞作用を示した。このような腫瘍細胞に対する殺細胞効果に加え、*in vitro* で観察された破骨細胞分化及び骨芽細胞活性の阻害も *in vivo* における有効性に寄与していると考えられる。

塩化ラジウム（^{223}Ra）の抗腫瘍効果を、ヌードマウス及びヌードラットを用いた 2 種類の *in vivo* 溶骨性乳癌骨転移モデルにおいて確認した。ヌードラットの乳癌骨転移モデルにおいて、無麻痺生存期間が延長した。また、ヌードマウスの乳癌骨転移モデルにおいても、無麻痺生存期間の延長が認められた。当該動物において、全腫瘍量の減少及び総骨溶解面積の減少がみられたことから、これらの作用により、無麻痺生存期間が延長したものと考えられた。塩化ラジウム（^{223}Ra）が無麻痺生存期間を延長したことは、骨転移を有する前立腺癌患者を対象とした第Ⅲ相臨床試験（試験 BC1-06）において、骨関連事象の発現を抑制したことを裏付けるものと考えられる（2.5.4.1.2 参照）。

申請適応症である前立腺癌では造骨性の骨転移が多く認められることから、基本的には、造骨性前立腺癌骨増殖又は骨転移モデルにおいても、塩化ラジウム（^{223}Ra）の抗腫瘍効果を検討することが望ましい。しかしながら、適切で利用可能な既存の造骨性前立腺癌骨転移モデルがなかったことから、新たな前立腺癌骨転移モデルの作製及び塩化ラジウム（^{223}Ra）の有効性の検討を試みているものの、まだ適切なモデルでの有効性データは得られていない。一方、骨芽細胞は骨形成に関与することから、骨内におけるラジウム 223 の取り込みに寄与すると考えられること、また塩化ラジウム（^{223}Ra）による骨芽細胞活性の阻害が *in vitro* でみられたことから、造骨性骨転移モデルにおいても塩化ラジウム（^{223}Ra）は骨転移巣に取り込まれ、腫瘍細胞並びに破骨細胞及び骨芽細胞への作用を介して効果的に有効性を示すことが予測される。塩化ラジウム（^{223}Ra）が造骨性骨転移に効果を示すことは、前述した第Ⅲ相臨床試験において、総 ALP の低下や骨関連事象発現の抑制が認められたことからも、裏付けられる（2.5.4.1.2 及び 2.5.4.1.5.1 参照）。

安全性薬理試験において、塩化ラジウム（^{223}Ra）を臨床推奨用量の 20 倍の用量までラットに単回静脈内投与したところ、中枢神経系及び呼吸器系に塩化ラジウム（^{223}Ra）投与に関連する影響はみられなかった。更に、塩化ラジウム（^{223}Ra）を臨床推奨用量の 9 倍の用量までテレメータを装着した覚醒イヌに単回静脈内投与したところ、心拍数、動脈血圧及び左室圧、並びに心電図パラメータ（PR、RR、QRS 及び QT 間隔）について、塩化ラジウム（^{223}Ra）投与に関連する影響はみられなかった。イヌにおける心電図パラメータからは、ヒトに不整脈を誘発する可能性は示唆されなかった。

骨転移を有する前立腺癌患者では、塩化ラジウム（^{223}Ra）と同様に骨を標的とするビスホスホネート系薬剤が使用される可能性があることから、ビスホスホネート系薬剤を塩化ラジウム（^{223}Ra）と併用投与したときの相互作用について検討した。薬力学的及び薬物動態学的薬物相互作用試験において、ビスホスホネート系薬剤であるゾレドロン酸の併用投与によって、塩化ラジウム（^{223}Ra）の有効性が低下するような影響はみられず、また、ラジウム 223 の血中薬物動態及び臓器・組織分布にも影響はみられなかった。

マウス及びイヌに塩化ラジウム（^{223}Ra）を静脈内投与したとき、放射能は血中から速やかに消失した。投与後 24 時間において、マウス及びイヌの全血液中の放射能はそれぞれ投与量の 0.1%未満及び 2%未満であった。マウス、ラット及びイヌの臓器・組織分布試験において、ラジウム 223 は主に骨組織に分布し、その親和性は軟部組織よりはるかに高かった。マウスを用いた臓器・組織分布試験において、骨組織への結合は迅速に起こり、放射性壊変を考慮して補正した結合量は、試験終了（14 日目）までほぼ一定に留まった。また、骨に結合したラジウム 223 から生成する子孫核種は骨内に留まり、ほとんど再分布しないと考えられる[14)]。したがって、一旦骨に結合したラジウム 223 は、放射性壊変によって安定同位体の鉛 207（^{207}Pb）になるまでの期間、骨内に留まると考えられる。マウス及びイヌにおいて、ラジウム 223 は消化管と腎臓の両経路を介して排泄された。マウスを用いた排泄試験において、投与後 5 日までに、投与放射能の約 16%が尿糞中から回収され、累積排泄比（尿：糞）は 1：1 又は 1：3 であった。また、イヌにおけるラジウム同位体の排泄について、胆汁排泄の寄与が小さいこと[18)]、主に糞中に排泄されること[15)]が報告されている。一方、ヒトにおけるラジウム 223 の排泄比（尿：糞）は約 1：36 であったことが報告されている[16, 17)]。臨床試験においても、ラジウム 223 の主な排泄経路は糞中排泄であった（2.7.2 参照）。

マウス、ラット及びイヌにおいて、塩化ラジウム（^{223}Ra）の忍容性は全般的に良好であった。主な毒性所見は、放射線誘発性の造血抑制に関連したものであった。げっ歯類を用いた単回投与毒性試験では、STD_{10} はマウスで 2762kBq/kg、ラットで 2270kBq/kg であり、臨床推奨用量（55kBq/kg）の約 40（ラット）～50（マウス）倍であった。イヌの単回投与毒性試験では、塩化ラジウム（^{223}Ra）の 497kBq/kg（臨床推奨用量の 9 倍）を投与したところ、用量制限毒性として骨髄毒性が認められた。ラット及びイヌの反復静脈内投与毒性試験（4 週間ごとに 1 回投与）では、55kBq/kg を投与しても用量制限毒性はみられなかった。ラットでは、ドセタキセルの 4mg/kg と塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg を反復併用投与したところ、血液学的パラメータへの影響が各単剤投与時よりも増強される傾向が認められた。しかし、この種の変化は投与終了後に回復することが知られている。

塩化ラジウム（^{223}Ra）は消化管壁を介して排出される薬剤であるが、病理組織学的検査で大腸及び小腸に放射線誘発性の細胞毒性を示唆する変化は認められなかった。

塩化ラジウム（^{223}Ra）の単回及び反復投与毒性試験では、ラットで認められた主な所見（摂餌量の減少、体重増加抑制、歯に対する影響、血液学的変化、血清 ALP の減少並びに骨髄、脾臓及び骨における病理組織学的変化）は放射線誘発性の造血障害（骨髄毒性）及び骨形成に対する影響に、イヌで認められた主な所見は放射線誘発性の骨髄毒性に関連したものであった。病理組織学的検査においても骨髄毒性が確認されており、代償性の反応としてラットでは脾臓における髄外造血亢進が、イヌでは色素蓄積を伴う脾臓及び肝臓における髄外造血亢進が認められた。初期の非臨床研究の結果から、他のラジウム同位体を投与後、造血細胞が骨幹端から速やかに消失し、膠様髄に置換され、その後非定型の線維骨に置換されることが明らかとなっている[19)]。ラットに塩化ラジウム（^{223}Ra）を単回あるいは反復投与したところ、投与開始から約 6 ヵ月後に、歯の異常（並びに本所見に起因した摂餌量及び体重の減少）が認められた。本所見は放射線誘発性の骨形成及び象牙芽細胞に対する影響に起因した、げっ歯類特異的な歯の成長障害と考えられた。

血液学的変化

ラットでは、塩化ラジウム（^{223}Ra）投与による初期の急性反応は、単回投与後に認められた血液学的パラメータの変化であり、特に白血球の減少がみられたが、これらの変化には回復性が認められた。しかし、塩化ラジウム（^{223}Ra）の反復投与では、例えば白血球数の減少は投与終了から約 40 週間後まで回復しなかった。低用量の 22kBq/kg 群で白血球及びリンパ球に変化が認めら

れたことから、ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）において無毒性量は決定できなかった。

塩化ラジウム（^{223}Ra）を投与した被験者において、骨髄抑制、特に血小板減少症、好中球減少症、白血球減少症及び汎血球減少症が報告されている。第Ⅲ相臨床試験（試験 BC1-06）（2011 年 7 月カットオフ）において、最も発現割合の高かった有害事象は血小板減少症及び好中球減少症であった。血小板減少症（全グレード）が塩化ラジウム（^{223}Ra）群の 11.5%で、プラセボ群の 5.6%で発現しており、また好中球減少症（全グレード）が塩化ラジウム（^{223}Ra）群の 5.0%で、プラセボ群の 1.0%で認められている（2.7.4.2.1.1.1 参照）。

アルファ線の予測された放射線生物学的作用であるが、動物試験で認められた骨髄抑制及び続発する造血抑制はヒトよりも重篤であると考えられる。その理由として、アルファ線は一定した飛程を有しており、小型の動物では影響を受ける骨の割合がヒトよりも大きいこと、更に骨の大きさも種によって異なっており、骨梁幅の平均値はイヌの脛骨頭部とヒトの大腿骨頭部で同程度（それぞれ 201μm 及び 288μm）であるが、髄腔の幅には 2～3 倍の差（それぞれ 488μm 及び 1156μm）があると示唆されていること[20]が挙げられる。

骨肉腫

ラットでは、359kBq/kg の単回及び 359kBq/kg 以上の反復投与（4 週間隔で 4 回投与）後の長期観察期間中（7～12 ヵ月間）並びに 28kBq/kg 以上の反復投与期間中（4 週間隔で 12 回投与）に骨肉腫が認められた。一般的に、ラジウムなどの骨親和性核種の主な長期確率的影響は骨腫瘍の誘発であることが知られている[21]。骨肉腫は、ラットの骨に電離放射線[22, 23]やラジウム 224[24]など短半減期放射性核種を曝露することにより容易に誘発される。ラジウム 224 に関して、2 段階クローン性拡大モデルに当てはめて解析すると、総投与量を同一とした単回投与と比較して、反復投与では骨肉腫の発生頻度の増加及び潜伏期間の短縮がみられたと報告されている[25, 26]。染色体変化や遺伝子突然変異の関与に焦点を当てた細胞遺伝学的及び分子学的研究についても公知である[27]。よって、ラジウム同位体を投与した動物、特に骨が成長過程にある動物では骨腫瘍の発生が予測される。

イヌを用いた塩化ラジウム（^{223}Ra）の単回及び反復投与毒性試験では、骨肉腫は認められなかったものの、ラジウム 224 を単回（投与から死亡までの最速日数：3066 日）あるいは反復投与（投与開始から死亡までの最速日数：1636 日）[28]及びラジウム 226 を投与（推定ラグタイム 2.35 年）[21]したイヌでは、投薬に関連した遅発性骨肉腫の発生が報告されている。イヌ 243 匹にラジウム 226 を投与し生存時間を検討した試験において、骨腫瘍を発症したイヌでの骨への放射線量率及び曝露開始から死亡までの時間を対数変換すると、直線関係が認められた[27, 29]。同様の関係性がマウス及びヒトでも示されており、骨腫瘍により死亡に至る累積投与量（あるいは時間）の中央値は、イヌではマウスの 2.9 倍、ヒトではイヌの 3.6 倍大きい[27, 29]。

ヒトでは、放射線誘発性肉腫の発生は緩徐である[27, 30, 31]。乳癌患者では、放射線誘発性肉腫発生までの潜伏期間の中央値は 9.5 年（4～24 年）であり、照射から 10 年後の時点での累積発生率は 0.2%（0.09%～0.47%）であった。肉腫と診断されてからの生存期間の中央値は 2.4 年（4 ヵ月～9 年）であった[30]。また、乳癌患者 16,705 例のうち 13,472 例が「メガボルト」放射線療法を受けていたが、肉腫を発症するまでの潜伏期間はその種類（軟組織、硬組織など）によらず、3～20.3 年であった。放射線誘発性肉腫の累積発生率は、5 年の時点で 0.07%、10 年の時点で 0.27%、15 年の時点で 0.48%であった。照射患者及び非照射患者における標準化罹患比は、それぞれ 10.2 及び 1.3 であった[31]。

非臨床試験の結果から、塩化ラジウム（^{223}Ra）を投与した被験者には骨肉腫を発症するリスクがあることが示唆されている。しかし、塩化ラジウム（^{223}Ra）を用いた臨床試験では骨肉腫の発症例は報告されていない。現時点では、塩化ラジウム（^{223}Ra）を投与された患者が骨肉腫を発症するリスクについては明らかではない。

骨肉腫以外の腫瘍性変化

ラットを用いた長期試験では骨肉腫以外の腫瘍性変化が認められた。これら腫瘍の発生率はこの系統及び週齢のラットでみられる自然発生腫瘍発生率の背景値の範囲内にあったが、12 ヵ月間投与試験よりも高用量を含む単回及び反復投与試験では、特に高用量群で原発性腫瘍が多く認められる傾向にあり、比較的若齢の動物で腫瘍が発生していることから、いくつかの腫瘍では投薬によって誘発された可能性は否定できなかった。塩化ラジウム（^{223}Ra）の作用機序並びに通常放射線療法及びその他の放射線療法による腫瘍の発生を考慮すると[32]、塩化ラジウム（^{223}Ra）は二次性悪性腫瘍を誘発する可能性がある。

イヌに塩化ラジウム（^{223}Ra）の臨床推奨用量と同じ用量である 55kBq/kg を 4 週間隔で 6 ヵ月間（6 回）投与しても、用量制限毒性はみられなかった。血液学的検査では、いくつかのパラメータに変化がみられたが、投与終了後に回復性を示したものもあった。また、白血球及び血小板の減少についても、試験期間中に軽度な変化を超えることはなかった。骨髄細胞密度の全般的な低下が認められたが、塩化ラジウム（^{223}Ra）を反復投与しても骨密度に対する影響はみられなかった。ラジウム 223 の排泄に関与する器官に組織学的変化は認められなかった。

網膜剥離

イヌの単回投与毒性試験では、塩化ラジウム（^{223}Ra）の 166kBq/kg 以上（臨床推奨用量の 3～9 倍）を投与したところ、網膜無色素上皮あるいは色素上皮の肥厚を伴う網膜剥離が認められたが、臨床推奨用量と同じ用量で反復投与（55kBq/kg を 6 回投与）した試験では本所見はみられなかった。イヌの単回投与毒性試験では投与前に眼科学的検査を実施しておらず、塩化ラジウム（^{223}Ra）の投与と網膜で認められた変化との因果関係を明らかにすることは難しいが、イヌの眼は明らかにラジウムの標的であり[33, 34, 35]、ヒトにおいても恐らく標的であることから[36, 37, 38]、因果関係はあると考えられる。一方で、ヒトで体外照射療法を実施する際に適切な用量を分割投与することで放射線網膜症の発症を最小限に抑えられることが知られており[39, 40]、イヌに累積投与量として高用量（330kBq/kg）となる塩化ラジウム（^{223}Ra）を分割投与しても、網膜に変化が認められなかったことと一致している。しかし、ヒトでは内部被曝後に眼に放射線障害が認められることは稀で、極めて高い曝露を受けた場合には長い潜伏期間（成人で 26 年）を経て発現しており、更に、イヌの生涯試験において骨親和性放射性核種を内部曝露したときに認められた眼の放射線障害とは、標的（水晶体）及び臨床転帰（白内障）が異なっている[41]。

イヌにおけるラジウム誘発性網膜症の主な標的組織は、色素細胞及びタペタムであることが示されている[42, 43]。イヌに高用量の塩化ラジウム（^{223}Ra）を単回静脈内投与した際に網膜剥離がみられたが、これはラジウムがイヌの色素上皮に親和性を有することから、二次的に眼組織に対するアルファ線の照射が増強された結果による可能性がある[42, 43]。これには、色素上皮、特にタペタムに多数存在するカルシウム結合部位が関わっている可能性があり、恐らくカルシウムが視細胞シグナル伝達及び光順応において重要な役割を担っていることを示すものと考えられる[44, 45, 46]。ヒトの眼はタペタムを有していないことから、塩化ラジウム（^{223}Ra）を投与した前立腺癌患者でイヌにみられた網膜症の発症リスクが上昇する可能性については明らかではなく、イヌでの網膜症発症にはラジウムがイヌの眼の有色素構造に種特異的に蓄積することを示している可能性がある。第Ⅲ相臨床試験（試験 BC1-06）では、「眼障害」が塩化ラジウム（^{223}Ra）群の 3.8%で、

プラセボ群の 5.6％で認められたが、網膜症を発症した被験者はみられなかった（2.7.4.2.1.4.1.3 参照）。

放射線は生殖発生に影響を及ぼすことが知られていることから、塩化ラジウム（^{223}Ra）の生殖発生毒性試験は実施しなかった。

骨転移のある前立腺癌患者を対象に、塩化ラジウム（^{223}Ra）の線量測定を実施したところ、精巣にラジウム（^{223}Ra）の特異的な分布は認められず、算出された吸収線量は非常に低かった（日本人患者：0.00003Gy/MBq、非日本人患者：0.00008Gy/MBq）（それぞれ 2.7.2.2.4 及び 2.7.2.2.2 参照）。よって、骨転移のある前立腺癌患者に塩化ラジウム（^{223}Ra）を投与しても、男性生殖器に有害な作用を及ぼす可能性は低いと考えられる。

線源にかかわらず、放射性核種から放出されるアルファ線は、*in vivo* でヒトに遺伝子突然変異及びヒトの循環リンパ球に染色体異常を誘発し、ヒトにおいて発がん性を有することが知られていることから[7, 8, 9, 31]、塩化ラジウム（^{223}Ra）の遺伝毒性及びがん原性試験は実施しなかった。

ウサギを用いて実施した局所刺激性試験では、塩化ラジウム（^{223}Ra）を静脈周囲投与したところ、媒体投与時よりもわずかに強い局所反応（紅斑のみ、浮腫及び出血なし）が認められた。投与に対する反応の差異は数日で消失し、投与から 7 日後に実施した病理組織学的検査で差異はみられなかった。また、マウス、ラット及びイヌを用いて実施した静脈内投与による単回及び反復投与毒性試験では、投与部位に投薬に関連した所見は認められなかった。

総括すると、塩化ラジウム（^{223}Ra）の薬理学的、薬物動態学的及び毒性学的特性は、本申請資料に示す一連の非臨床試験及び公表論文によって示された。非臨床毒性試験で明らかとなった毒性プロファイルは放射線生物学的毒性によるものと考えられる。ラジウム 223 の血液学的パラメータに対する作用はすべての単回及び反復投与毒性全試験において一貫して認められた。網膜無色素上皮及び色素上皮の肥厚を伴う網膜剥離は、イヌで単回投与後にのみみられたことから、これら所見の臨床的意義は薄いと考えられる。ラットでみられた遅発性の骨肉腫はアルファ線の内部被爆によって予測されるものであり、使用した動物の骨が未成熟で成長過程にあることに起因する。ラットを用いた長期毒性試験では、骨肉腫以外の腫瘍性変化も認められた。塩化ラジウム（^{223}Ra）の作用機序を考慮すると、塩化ラジウム（^{223}Ra）は二次性悪性腫瘍を誘発する可能性がある。以上、骨転移のある前立腺癌患者に対して、塩化ラジウム（^{223}Ra）の使用を妨げる予測不能なあるいは重篤な毒性は認められないものと考えられる。

結論として、これらの非臨床試験成績は、骨転移のある前立腺癌患者における塩化ラジウム（^{223}Ra）の使用を支持するものである。

2.4.6 引用文献一覧

1) Bruland OS et al., Clin Cancer Res 2006:12:6250s-6257s (4.3.1 に添付)

2) Kassis AI et al., J Nucl Med 2005:46:4S-12S (4.3.2 に添付)

3) Larsen RH et al., J Nucl Med 1999:40:1197-1203 (4.3.3 に添付)

4) Howell RW et al., Radiat Res 1997:147:342-348 (4.3.20 に添付)

5) Brent R, Pregnancy and radiation exposure fact sheet Health Physics Society http://www.hps.org/hpspublications/articles/pregnancyandradiationexposureinfosheet.html, accessed 5/26/2011 9:14:53 AM (4.3.21 に添付)

6) Ritter MA et al., Nature 1977:266:653-655 (4.3.16 に添付)

7) WHO:IARC working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 43, Lyon IARCPress 1988:173 (4.3.17 に添付)

8) WHO:IARC working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 78, Lyon IARCPress 2001:479 (4.3.18 に添付)

9) El Ghissassi F et al., Lancet Oncol 2009:10:751-752 (4.3.19 に添付)

10) Durbin PW et al., University of California UCRL 1958:8189:1-76 (4.3.6 に添付)

11) Salant W et al., Am J Physiol 1907:20:366-377 (4.3.7 に添付)

12) Sansom BF et al., Biochem J 1966:99:677-681 (4.3.8 に添付)

13) Lloyd RD et al., Radiat Res 1982:92:280-295 (4.3.4 に添付)

14) Henriksen G et al., J Nucl Med 2003:44:252-259 (4.3.5 に添付)

15) Seil HA et al., NY Med J 1915:101:896-898 (4.3.10 に添付)

16) Harrison GE et al., Nature 1966:209:526-527 (4.3.11 に添付)

17) Norris WP et al., Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med 1955:73:785-802 (4.3.12 に添付)

18) Hursh JB et al., Health Phys 1961:6:183-188 (4.3.9 に添付)

19) Bloom MA, Histopathology of irradiation from external and internal sources, McGraw-Hill Book Co., New York 1948:162-242 (4.3.22 に添付)

20) Vaughan JM, The effects of irradiation on the skeleton Oxford University Press, London 1973:1-37 (4.3.23 に添付)

21) Bijwaard H et al., Radiat Res 2004:162:171-184 (4.3.24 に添付)

22) Solheim OP, Acta Radiol Ther Phys Biol 1977:16:433-446 (4.3.25 に添付)

23) Boorman GA and Everitt JI, The Laboratory Rat Elsevier Academic Press, London 2006:479-511 (4.3.26 に添付)

24) Müller WA, Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med 1971:20:27-38 (4.3.27 に添付)

25) Heidenreich WF et al., Radiat Res 1999:151:209-217 (4.3.28 に添付)

26) Heidenreich WF et al., Radiat Environ Biophys 2005:44:61-67 (4.3.29 に添付)

27) Raabe OG, Health Phys 2010:98:515-536 (4.3.30 に添付)

28) Muggenburg BA et al., Radiat Res 1996:146:171-186 (4.3.31 に添付)

29) Raabe OG et al., Science 1980;208:61-64 (4.3.32 に添付)

30) Taghian A et al., Int J Radiat Oncol Biol Phys 1991:21:361-367 (4.3.33 に添付)

31) Kirova YM et al., Cancer 2005:104:856-863 (4.3.34 に添付)

32) Brenner DJ et al., Cancer 2000:88:398-406 (4.3.35 に添付)

33) Momeni MH and Muggli FM, Ophthalmic Res 1977:9:112-122 (4.3.36 に添付)

34) Thompson RC, PNL-6822, US Department of Energy Battelle Press 1989:1-323 (4.3.37 に添付)

35) Raabe OG et al., Federal Demonstration Project Department of Energy Grant No. DOE DE-FG03-89ER60914/92. University of California, Davis (4.3.38 に添付)

36) Spiess H and Gerspach A, Health Phys 1978:35:61-81 (4.3.39 に添付)

37) ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, US Public Health Service), Toxicological profile for radium December 1990 (4.3.40 に添付)

38) Chmelevsky D et al., Radiat Res 1988:115:238-257 (4.3.41 に添付)

39) Parsons JT et al., Int J Radiat Oncol Biol Phys 1994:30:765-773 (4.3.42 に添付)

40) Monroe AT et al., Int J Radiat Oncol Biol Phys 2005:61:856-864 (4.3.43 に添付)

41) Griffith TP et al., Br J Ophthalmol 1985:69:219-227 (4.3.45 に添付)

42) Taylor GN et al., Radiat Res 1964:21:285-298 (4.3.46 に添付)

43) Taylor GN et al., Health Phys 2000:79:196-198 (4.3.15 に添付)

44) Dräger UC, Proc Natl Acad Sci USA 1985:82:6716-6720 (4.3.44 に添付)

45) Szikra T and Krizaj D, Neuroscience 2006:141:143-155 (4.3.47 に添付)

46) Bush WD and Simon JD, Pigment Cell Res 2007:20:134-139 (4.3.13 に添付)