2.6.1　緒言

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放射性医薬品である。

塩化ラジウム（^{223}Ra）の理化学的性状を以下にまとめる。

化学名（英名）	Radium（^{223}Ra）chloride
（日本名）	塩化ラジウム（^{223}Ra）
分子式	$^{223}RaCl_2$
分子量	293.91
社内コード	BAY 88-8223
CAS 登録番号	444811-40-9

塩化ラジウム（^{223}Ra）の薬理試験成績には、*in vitro* 及び *in vivo* での薬理学的作用を検討した試験が含まれる。更に、塩化ラジウム（^{223}Ra）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。一方、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。塩化ラジウム（^{223}Ra）の生命維持に重要な器官系（中枢神経系、呼吸器系及び心血管系）に及ぼす影響を評価するために一連の安全性薬理試験を実施した。毒性試験として、塩化ラジウム（^{223}Ra）の単回及び反復投与毒性試験を実施した。反復投与毒性試験では、臨床投与レジメンと同じ 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。ウサギを用いた静脈周囲投与試験を実施し、塩化ラジウム（^{223}Ra）の局所忍容性を評価した。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）は生殖毒性及び発がん性物質である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。

本剤の申請［効能・効果］及び申請［用法・用量］を以下に示す。

申請［効能・効果］

骨転移のある前立腺癌

申請［用法・用量］

通常、成人には 1 回 55kBq/kg を 4 週間ごとに、緩徐に静脈内投与する。

実施した非臨床試験の詳細及び成績を 2.6.2 以降の項に記載する。

略語一覧

略 語	英 語 名 称	日 本 語 名 称
A/G ratio	Albumin/globulin ratio	A／G 比
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
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 blood concentration vs time curve	血中濃度－時間曲線下面積
AUMC	area under the first moment curve	1 次モーメント曲線下面積
BMD	bone mineral density	骨密度
Bq	becquerel	ベクレル
CL	clearance	クリアランス
Cmax	maximum drug concentration in blood	最高血中濃度
CPM	counts per minute	1 分間当たりのカウント
CRO	contract research organization	医薬品開発業務受託機関
DEXA	dual energy X-ray absorption	二重エネルギーX 線吸収
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
ECG	electrocardiogram	心電図
F, f	female(s)	雌性
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FOB	functional observational battery	機能観察総合評価
GGT	γ-glutamyltransferase	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
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
Gy	gray	グレイ
IARC	International Agency for Research on Cancer	国際がん研究機関
ICH	International Conference on Harmonization	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IV, iv, i.v.	intravenous(ly)	静脈内
LLOD	lower limit of detection	検出下限
LLOQ	lower limit of quantitation	定量下限
M, m	male(s)	雄性
M／E	myeloid:erythroid ratio	骨髄球：赤血球比

略 語	英 語 名 称	日 本 語 名 称
MCH	mean cell hemoglobin	平均赤血球ヘモグロビン量
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration	平均赤血球ヘモグロビン濃度
MCV	mean cell volume	平均赤血球容積
MRT	mean residence time	平均滞留時間
MTD	maximum tolerated dose	最大耐用量
QT	QT interval in ECG	心電図の QT 間隔
QTc	corrected QT interval in ECG	心電図の補正 QT 間隔
S.D./SD	standard deviation	標準偏差
STD_{10}	severely toxic dose to 10% of animals	げっ歯類の 10%に重篤な毒性を発現する投与量
$t_{1/2}$	half-life	半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
V1	volume of distribution in compartment 1	コンパートメント 1（血中コンパートメント）の分布容積
vs.	versus (as opposed to)	に対し（対比を示す）
Vss	volume of distribution at steady state	定常状態における分布容積
WHO	World Health Organization	世界保健機関

2.6.2　薬理試験の概要文の目次

2.6.2.1　まとめ..... 2
2.6.2.2　効力を裏付ける試験..... 4
2.6.2.2.1　*in vitro*における特性 5
2.6.2.2.1.1　腫瘍細胞に対する作用 5
2.6.2.2.1.1.1　吸収線量依存性 5
2.6.2.2.1.1.2　細胞種依存性 6
2.6.2.2.1.1.3　細胞増殖期依存性 7
2.6.2.2.1.1.4　DNA 分子二重鎖切断誘発作用..... 7
2.6.2.2.1.1.5　細胞周期に対する作用及び細胞周期依存性 8
2.6.2.2.1.2　破骨細胞の分化及び活性に対する作用 9
2.6.2.2.1.3　骨芽細胞の分化及び活性に対する作用 10
2.6.2.2.2　*in vivo*における特性 12
2.6.2.2.2.1　乳癌骨転移ラットモデルにおける抗腫瘍効果 12
2.6.2.2.2.2　乳癌骨転移マウスモデルにおける抗腫瘍効果及び作用機序..... 12
2.6.2.2.2.3　マウスにおける骨及び軟部組織へのラジウム 223 とベータ線放出核種ストロンチウム 89 の取り込みの比較..... 15
2.6.2.3　副次的薬理試験..... 16
2.6.2.4　安全性薬理試験..... 17
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験..... 19
2.6.2.5.1　乳癌骨転移ラットモデルにおけるパミドロン酸との併用効果..... 19
2.6.2.5.2　乳癌骨転移マウスモデルにおけるドキソルビシン又はゾレドロン酸との併用効果..... 19
2.6.2.6　考察及び結論..... 21
2.6.2.7　図表..... 23
引用文献一覧　..... 23

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

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し、骨代謝が亢進している部位に選択的に集積するアルファ線放出核種である。塩化ラジウム（^{223}Ra）（BAY 88-8223）注射液は、骨親和性核種である放射性ラジウム 223（半減期 11.4 日）の二価陽イオン（$^{223}Ra^{2+}$）を活性本体とする、アルファ線を放出する新規の放射性医薬品である。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り、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)]。

ストロンチウム 89（^{89}Sr）及びサマリウム 153（^{153}Sm）などの、ベータ線放出核種を用いる他の骨親和性の治療薬とアルファ線放出核種であるラジウム 223 には様々な物理学的／放射線生物学的な相違がある。これらを表 2.6.2.1- 1 にまとめた。

表 2.6.2.1- 1 アルファ線（粒子）とベータ線（粒子）の相違点

	Alpha	Beta
Example emitters	^{223}Ra	^{89}Sr ^{153}Sm
Particles	He nuclei	Energetic electrons
Charge	+ 2	- 1
Initial energy (MeV)	5 - 9	0.05 - 2.3
Range in tissue (μm)	40 - 100	50 - 12,000
*LET (keV/μm)	80	0.2
Number of particles needed to kill cell after traversal of cell nucleus	1 - 4	Up to 20,000

*LET : Linear Energy Transfer

Source: modified according to J Nucl Med 2005:46:4S-12S[2)]

ラジウム 223 が壊変した際にアルファ線として放出されるエネルギーの割合は約 95%である。高エネルギーのアルファ線は DNA の二重鎖切断を高頻度に誘発し、転移性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と考えられる。一方、ベータ線は主に DNA の一本鎖切断を誘発し、殺細胞作用を示すにはアルファ線と比較し非常に多くの粒子数を必要とすると考えられる。また、アルファ線は飛程が短い（100μm 未満）ため、骨髄などの隣接する正常細胞への影響が最小限に抑えられる可能性がある。したがって、アルファ線放出核種はベータ線放出核種に比し、有効性に優れ、かつ副作用が少ないという特性を有すると考えられる[3)]。

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細胞分裂期細胞などを含む様々な腫瘍細胞株において *in vitro* 殺細胞効果を示した。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*における抗腫瘍効果に寄与していると考えられる。

ヒト乳癌細胞をヌードラットの心室内へ投与することにより誘発した溶骨性骨転移モデルにおいて、塩化ラジウム（^{223}Ra）を約 110kBq/kg で投与したところ、対照動物と比べて無麻痺生存期間の延長が認められ、*in vivo* での抗腫瘍効果が示された。更に、ヌードマウスを用いた溶骨性乳癌骨転移モデルにおいて、塩化ラジウム（^{223}Ra）を 331kBq/kg で投与したところ、対照動物と比べ、総骨溶解面積の減少、及び全腫瘍量の減少がみられ、最終的に、無麻痺生存期間が延長した。以上の薬理試験成績から、塩化ラジウム（^{223}Ra）は骨転移巣などの骨代謝が亢進している部位の骨に集積しアルファ線を放出することにより、抗腫瘍効果を発揮することが示唆された。

安全性薬理試験では、中枢神経系及び呼吸器系（ラット）、並びに心血管系（イヌ）に対する塩化ラジウム（^{223}Ra）の影響を検討した。イヌを用いた心血管系試験では、肉眼的及び病理組織学的検査も実施した。これらの試験のいずれにおいても、血中及び組織中の放射能濃度は測定しなかった。塩化ラジウム（^{223}Ra）を臨床推奨用量（1 回あたり 55kBq/kg）の 20 倍（1105kBq/kg）までの用量で、ラットに単回静脈内投与したところ、中枢神経系〔臨床症状、機能観察総合評価（FOB）及び自発運動量〕、並びに呼吸器系（呼吸数、1 回換気量及び分時換気量）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。また、塩化ラジウム（^{223}Ra）を臨床推奨用量の 9 倍（497kBq/kg）までの用量で、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、左室圧及び心電図パラメータ（PR 間隔、RR 間隔、QRS 間隔及び補正 QT 間隔）に塩化ラジウム（^{223}Ra）投与に関連する影響はみられず、更に、臨床症状、体温、自発運動量、血液生化学的パラメータ、肉眼的及び病理組織学的所見にも影響はみられなかった。一方、血液学的パラメータ（白血球、血小板、好酸球、網状赤血球、単球及びリンパ球）には用量依存的な増加又は減少が認められ、塩化ラジウム（^{223}Ra）投与に関連があると考えられた。

薬力学的薬物相互作用では、ラット及びマウスの骨転移モデルにおいて、塩化ラジウム（^{223}Ra）と抗悪性腫瘍薬剤（ドキソルビシン）又は骨吸収阻害剤（パミドロン酸、ゾレドロン酸）を併用投与したところ、塩化ラジウム（^{223}Ra）の抗腫瘍効果に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

塩化ラジウム（^{223}Ra）は骨転移部位などの骨代謝が亢進した部位に選択的にアルファ線を放出すると考えられることから、腫瘍細胞、破骨細胞及び骨芽細胞に対する塩化ラジウム（^{223}Ra）の薬理作用を *in vitro* で検討した（表 2.6.2.2- 1）。また、ヌードラット及びヌードマウスを用いた 2 種類の溶骨性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、*in vivo* 作用機序、並びにビスホスホネートとドキソルビシンとの相互作用の可能性を検討する試験を実施した（表 2.6.2.2- 2）。

表 2.6.2.2- 1　*in vitro* における薬理学的プロファイルの概要

Assay	Outcome
NHIK3025 及び A549 細胞、並びに多剤耐性化 NHIK3025 及び A549 細胞に対する効果	• NHIK3025 細胞における 0.06 – 1.3 Gy での吸収線量依存的コロニー生存率の減少 [1,2] • NHIK3025 及び A549 細胞、並びに多剤耐性化 NHIK3025 及び A549 細胞に対する殺細胞効果 [3] • 対数増殖期細胞及び非対数増殖期細胞での殺細胞効果 [3] • DNA 分子の二重鎖切断誘発作用 [4] • G2 期での細胞周期の停止 [5] • 細胞周期非依存的な殺細胞効果 [6]
破骨細胞の分化及び活性に対する効果	• 破骨細胞分化の濃度依存的抑制 [7] • 破骨細胞活性には影響を及ぼさない [7]
骨芽細胞の分化及び活性に対する効果	• 442Bq/mL 以上で骨芽細胞分化抑制 [8] • 110、221Bq/mL で骨芽細胞活性化 [8] • 884、1768Bq/mL で骨芽細胞活性抑制 [8]

Source: [1] 4.2.1.1.1 (R-8692), [2] 4.2.1.1.2 (R-8687), [3] 4.2.1.1.3 (R-8688), [4] 4.2.1.1.4 (R-8689), [5] 4.2.1.1.5 (R-8690), [6] 4.2.1.1.6 (R-8691), [7] 4.2.1.1.7 (R-8693), [8] 4.2.1.1.8 (R-8694)

表 2.6.2.2- 2 *in vivo*における薬理学的プロファイルの概要

Model	Outcome
ヌードラットにおける乳癌骨転移モデル（MT-1 細胞）	• 無麻痺生存期間の延長 [1] • パミドロン酸の併用投与は薬効に影響を及ぼさない [1]
ヌードマウスにおける乳癌骨転移モデル〔MDA-MB-231 (SA) 細胞〕	• 腫瘍量、総骨溶解面積の減少 [2,3] • 腫瘍部位／骨境界面の破骨細胞の減少 [3] • 無麻痺生存期間の延長 [4]
併用投与	• ゾレドロン酸との併用投与による無麻痺生存期間の延長作用 [5] • ドキソルビシンとの併用投与による無麻痺生存期間の延長作用 [5]
ラジウム 223 の骨及び軟部組織への取り込み（ストロンチウム 89 との比較）	• ストロンチウム 89 とラジウム 223 の選択的な骨への取り込み [6] • 14 日間を経ても骨に取り込まれたラジウム 223 は減少しない [6] • ラジウム 223 の子孫核種の骨からの再分布はほとんどない [6]

Source: [1]4.2.1.1.12(Cancer Res 2002:62:3120-3125), [2]4.2.1.1.9 (R-8695), [3]4.2.1.1.10 (R-8696), [4]4.2.1.1.11 (R-8697), [5]4.2.1.4.1 (R-8698), [6] 4.3.5 (J Nucl Med 2003:44:252-259)

2.6.2.2.1 *in vitro*における特性

2.6.2.2.1.1 腫瘍細胞に対する作用

腫瘍細胞における塩化ラジウム（^{223}Ra）の殺細胞作用を検討した。

2.6.2.2.1.1.1 吸収線量依存性

参照項目： 4.2.1.1.2 R-8687
4.2.1.1.1 R-8692

NHIK3025 細胞（子宮頸癌）を、放射能濃度 1～28kBq/mL（細胞吸収線量率は 0.009～0.217 Gy/h）の塩化ラジウム（^{223}Ra）を含む培養液中（6 ウェルプレート中）で 1～24 時間培養した後、塩化ラジウム（^{223}Ra）を含まない通常の培地に交換し、更に 10～14 日間培養後、コロニーを固定・染色した。40 細胞以上を含むコロニーを生存細胞コロニーとし、未処置の生存細胞コロニー数に対する比からコロニー生存率（SF：surviving fraction）を算出し、殺細胞作用の指標とした（4.2.1.1.2 R-8687 参照）。なお、塩化ラジウム（^{223}Ra）のアルファ線による培地中での NHIK3025 細胞の吸収線量を推定した結果、例えば 6kBq/mL で 24 時間曝露の場合 1.04Gy と見積もられた（4.2.1.1.1 R-8692 参照）。図 2.6.2.2- 1 に示すように、塩化ラジウム（^{223}Ra）曝露後の NHIK3025 細胞の SF は、細胞吸収線量（0.06～1.3Gy）に依存して低下したことから、塩化ラジウム（^{223}Ra）から放出されるアルファ線による殺細胞作用が示された（4.2.1.1.2 R-8687 参照）。

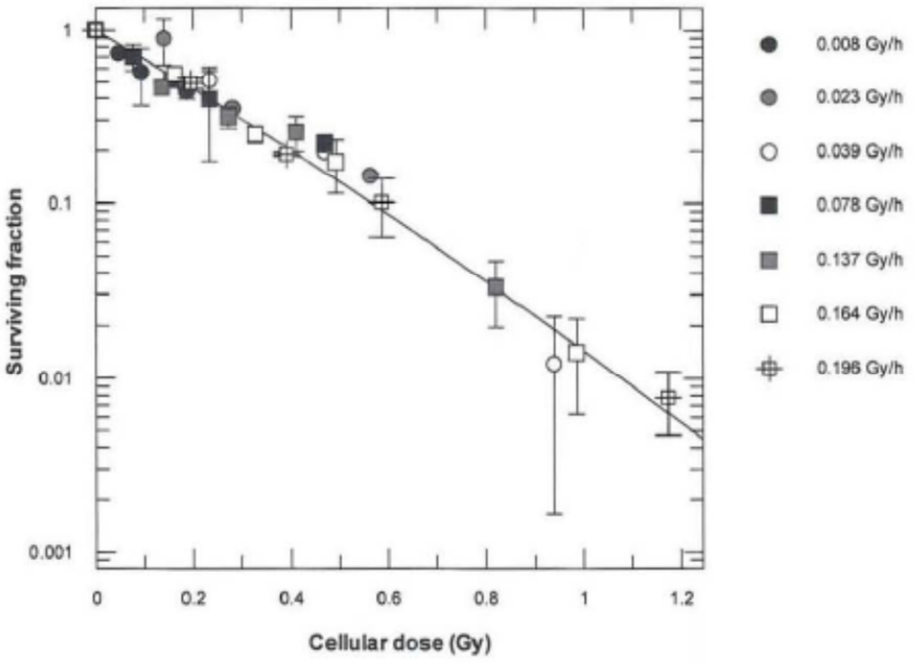


図 2.6.2.2- 1　細胞吸収線量(Gy)のコロニー生存率（SF）に対する作用

Source 4.2.1.1.2 R-8687
※横軸及び凡例の数値は、NISTによる一次標準の見直しのため約10.5%高値である。

2.6.2.2.1.1.2　　細胞種依存性

参照項目： 4.2.1.1.3 R-8688

細胞の種類による殺細胞作用の違いを検討するため、NHIK3025 細胞（子宮頸癌）及び A549 細胞（肺上皮癌）、並びにドキソルビシン処理により多剤耐性とした NHIK3025(dox)細胞及び A549(dox)細胞の計 4 種類の細胞株を用い、前述のコロニー生存率アッセイを実施した。細胞吸収線量として 0.21～1.04Gy に相当する濃度の塩化ラジウム（^{223}Ra）に 24 時間曝露し、コロニー生存率を測定した。その結果、図 2.6.2.2- 2 に示すように、多剤耐性、非多剤耐性に関わらず、いずれの細胞株でも吸収線量に依存した同様な SF の低下が認められ、塩化ラジウム（^{223}Ra）の殺細胞作用が細胞の種類に依存しないことが示された。

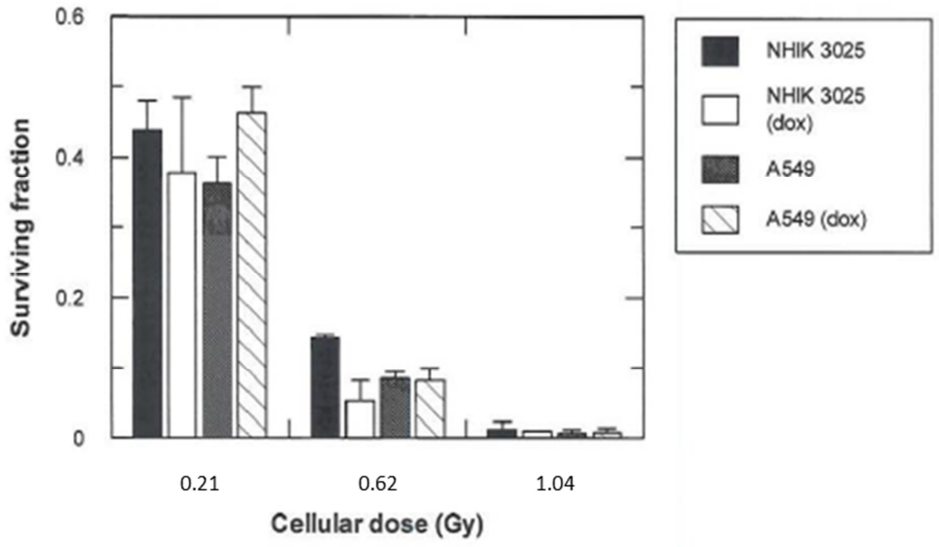


図 2.6.2.2- 2　異細胞種における塩化ラジウム（^{223}Ra）のコロニー生存率（SF）に対する作用

Mean±SE (n=2-4)

2.6.2.2.1.1.3　　細胞増殖期依存性

参照項目： 4.2.1.1.3 R-8688

細胞の増殖期／非増殖期での殺細胞作用の違いを検討するため、対数増殖期もしくは非対数増殖期の NHIK3025 細胞を用い、同様にコロニー生存率アッセイを実施した。細胞吸収線量として 0.42 及び 1.04Gy に相当する濃度の塩化ラジウム（^{223}Ra）に 24 時間曝露し、コロニー生存率を測定した。その結果、それぞれの吸収線量での SF は、対数増殖期細胞で 0.224±0.036 及び 0.012±0.011、非対数増殖期細胞で 0.207±0.023 及び 0.021±0.006（Mean±SE、n＝3 又は 4）であり、コロニー生存率はいずれの増殖期においても同様であったことから、塩化ラジウム（^{223}Ra）の殺細胞作用は細胞の増殖期／非増殖期に依存しないことが示唆された。

2.6.2.2.1.1.4　　DNA 分子二重鎖切断誘発作用

参照項目： 4.2.1.1.4 R-8689

塩化ラジウム（^{223}Ra）による DNA 分子の二重鎖切断誘発作用を検討した。NHIK3025 細胞をフラスコで培養し、1、2 及び 3Gy の細胞吸収線量に相当する塩化ラジウム（^{223}Ra）で 4 時間処理した。細胞を洗浄し、細胞膜透過処理した後、FITC（fluorescein isothiocyanate）標識した抗リン酸化ヒストン H2AX（γ-H2AX）又は陰性対照抗体の FITC 標識抗マウス IgG 抗体で染色した。その後 Fluorescence activated cell sorting（FACS）により、二重鎖切断に伴って生じるγ-H2AX のシグナルを解析した。その結果、細胞吸収線量依存的にγ-H2AX レベルの上昇が認められ、塩化ラジウム（^{223}Ra）により DNA の二重鎖切断が誘発されることが示された（図 2.6.2.2- 3）。

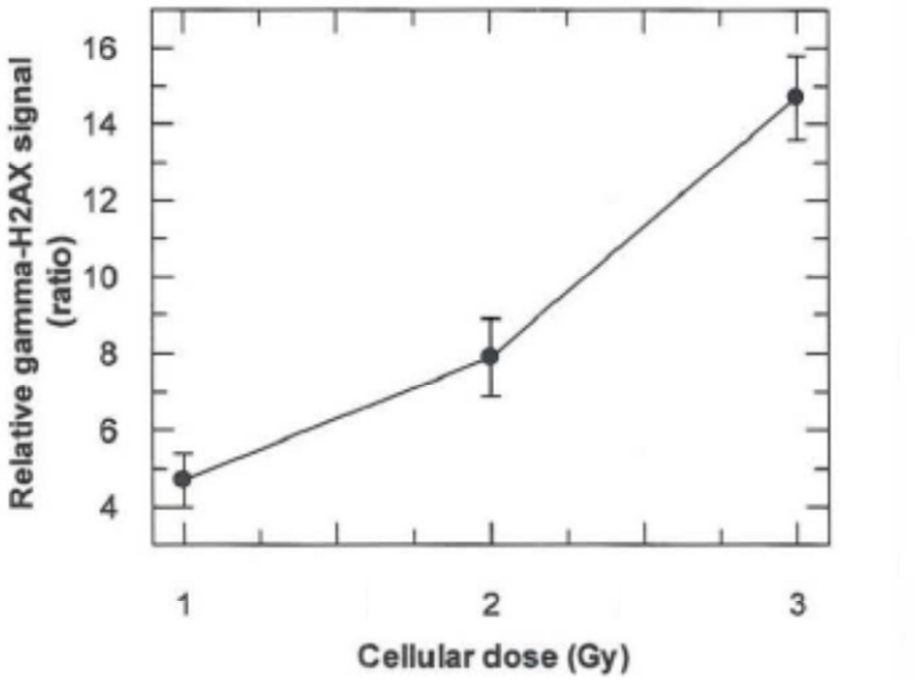


図 2.6.2.2- 3　NHIK3025 細胞における塩化ラジウム（^{223}Ra）の DNA の二重鎖切断誘発作用

The data points show mean relative γ-H2AX signal found from 2-3 experiments with the standard deviation.

2.6.2.2.1.1.5　　細胞周期に対する作用及び細胞周期依存性

参照項目：　4.2.1.1.5 R-8690
4.2.1.1.6 R-8691

塩化ラジウム（^{223}Ra）の細胞周期に及ぼす影響を検討した。NHIK3025 細胞を、0.009～0.043Gy/h で 6、 12 及び 24 時間、又は 0.09～0.2Gy/h で 1、2、3 及び 6 時間塩化ラジウム（^{223}Ra）に曝露した後、核染色色素 propidium iodide で染色し（暴露処理直後又は 24 時間後）、FACS を用いて細胞の DNA 量から細胞周期の分布を解析し、各周期にある細胞の割合を求めた。未処理の細胞の G2/M 期の割合は 14％であったが、1.04Gy（0.043Gy/h 24 時間）処理直後の G2/M 期の割合は 91％であった。その他の処理条件においても、おおむね細胞吸収線量に依存して G2/M 期の割合が高くなっていることから、塩化ラジウム（^{223}Ra）の曝露により NHIK3025 細胞は G2/M 期で停止することが示唆された。（4.2.1.1.5 R-8690 参照）。

塩化ラジウム（^{223}Ra）の殺細胞作用の細胞周期の違いによる影響を検討した。細胞周期を同調させた NHIK3025 細胞を、異なる細胞周期ステージ（同調後 2～24 時間）で、それぞれ 0.48Gy/h の塩化ラジウム（^{223}Ra）に 1 時間曝露し、前述のコロニー生存率アッセイを実施した（2 回実施）。その結果、SF は細胞周期に依存せずほぼ一定であり、SF の最大/最小の比は 2 回の実験で、それぞれ 2.3 及び 1.7 であった。したがって、塩化ラジウム（^{223}Ra）の殺細胞作用は、細胞周期に依存しないことが示唆された（4.2.1.1.6 R-8691 参照）。

2.6.2.2.1.2　破骨細胞の分化及び活性に対する作用

参照項目：4.2.1.1.7 R-8693

塩化ラジウム（^{223}Ra）の破骨細胞の分化及び活性に対する作用を検討した。

破骨細胞はヒト骨髄 CD34+前駆細胞を用い、骨スライス上で各種濃度の塩化ラジウム（^{223}Ra）（55～1768Bq/mL）を加えた培地で 7 日間培養後、培養上清を回収し、骨代謝において骨吸収を行う破骨細胞から分泌される酵素である TRACP 5b（Tartrate-resistant acid phosphatase 5b）を測定することにより、破骨細胞分化に対する作用を検討した（n＝8）。陽性対照には破骨細胞分化抑制因子 Osteoprotegerin（OPG）を添加した。

また破骨細胞活性に対する作用は、同じくヒト骨髄 CD34+前駆細胞を用い、骨スライス上で 7 日間培養し、破骨細胞分化が完了した後、塩化ラジウム（^{223}Ra）（55～1768Bq/mL）を加え、更に 3 日間培養した。7 日目の培養上清で TRACP 5b を、10 日目の培養上清で、骨吸収時に破骨細胞が骨基質である I 型コラーゲンを分解する際に放出する産物である CTX（type I collagen cross-linked C-telopeptide）を測定することにより、CTX/TRACP 5b を算出し、破骨細胞活性に対する作用を検討した（n＝8）。陽性対照にはシステインプロテアーゼ阻害剤である E64 を添加した。

図 2.6.2.2- 4 に示すように、塩化ラジウム（^{223}Ra）は破骨細胞前駆細胞の分化を濃度依存的に阻害した。一方、図 2.6.2.2- 5 に示すように、塩化ラジウム（^{223}Ra）は破骨細胞活性には影響を及ぼさなかった。なお、陽性対照である OPG 及び E64 では、いずれも有意な作用がみられた。

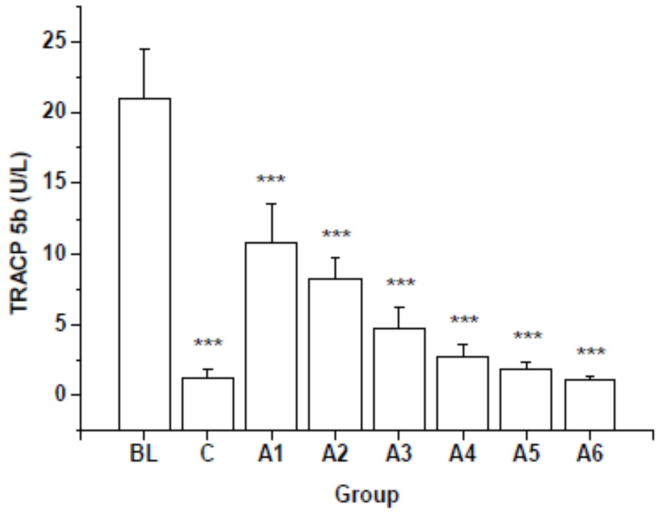


図 2.6.2.2- 4　塩化ラジウム（^{223}Ra）の破骨細胞分化に対する作用

BL=Baseline(no added compounds); C=Control(5.0nM OPG); A1=55Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A2=110Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A3=221Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A4=442Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A5=884Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A6=1768Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride
Mean±SD (n＝8)
***:p<0.001 (ANOVA and Dunnett's test, vs BL)

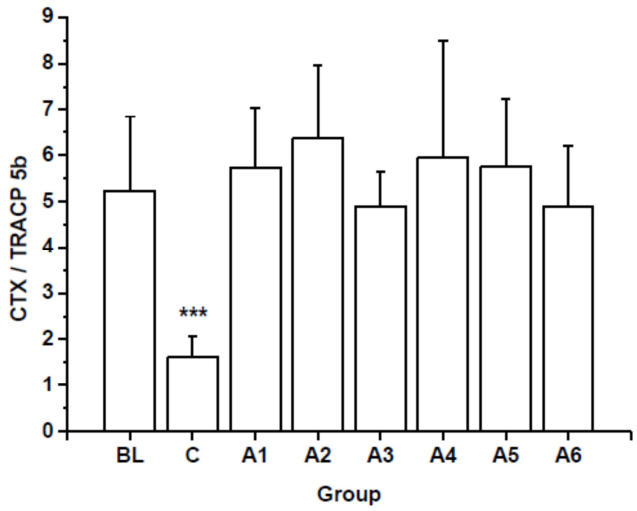


図 2.6.2.2- 5　塩化ラジウム（^{223}Ra）の破骨細胞活性に対する作用

BL=Baseline(no added compounds); C=Control(1.0μM E64); A1=55Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A2=110Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A3=221Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A4=442Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A5=884Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A6=1768Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride
Mean±SD (n=8)
***:p<0.001 (ANOVA and Dunnett's test, vs BL)

2.6.2.2.1.3　　骨芽細胞の分化及び活性に対する作用

参照項目：4.2.1.1.8 R-8694

塩化ラジウム（^{223}Ra）の骨芽細胞の分化及び活性に対する作用を検討した。

マウス前骨芽細胞株 KS483 を用いてアスコルビン酸、β-glycerophosphate 及び各種濃度の塩化ラジウム（^{223}Ra）（55～1768Bq/mL）を含む培地で 8 日間培養した後、細胞の ALP 活性を測定することにより骨芽細胞分化に対する作用を検討した（n＝8）。陽性対照には骨芽細胞の分化及び活性を刺激する 17β-estradiol を加えた。

また、骨芽細胞活性に対する作用についても検討した。同じく KS483 細胞株を用いてアスコルビン酸、β-glycerophosphate 及び各種濃度の塩化ラジウム（^{223}Ra）（55～1768Bq/mL）を含む培地で 11 日間培養した後、骨基質の有機成分として分泌された PINP（N-terminal propeptide of type I procollagen）を測定し、13 日間培養後に骨沈着成分としてカルシウムを測定し、骨芽細胞活性に対する作用を検討した。同様に陽性対照には 17β-estradiol を加えた。

塩化ラジウム（^{223}Ra）は骨芽細胞分化の指標として測定した ALP を 442～1768Bq/mL で濃度依存的に阻害した（図 2.6.2.2- 6）。また塩化ラジウム（^{223}Ra）は骨芽細胞活性の指標として測定した PINP を Baseline 値に比し、低濃度（110 及び 221Bq/mL）でそれぞれ 14、12%と軽度に活性化し、高濃度（884 及び 1768Bq/mL）ではそれぞれ 27、54%阻害した。同様に、塩化ラジウム（^{223}Ra）は骨芽細胞活性の指標として測定したカルシウムを Baseline 値に比し、低濃度（110Bq/mL）で 20%と軽度に活性化し、高濃度（884 及び 1768Bq/mL）ではそれぞれ 55、92%阻害した（図 2.6.2.2- 7）。なお、陽性対照である 17β-estradiol では、いずれの試験においても有意な作用がみられた。

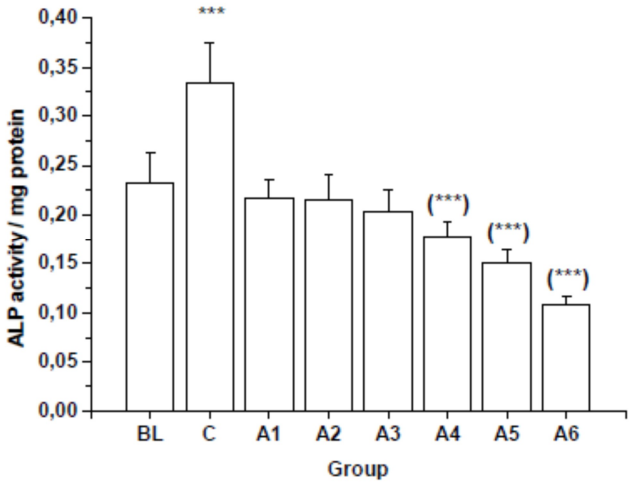


図 2.6.2.2- 6　塩化ラジウム（^{223}Ra）の骨芽細胞分化に対する作用

BL=Baseline(no added compounds); C=Control(10nM 17β-estradiol); A1=55Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A2=110Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A3=221Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A4=442Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A5=884Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A6=1768Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride
Mean±SD (n=8)
***:p<0.001 (ANOVA and Dunnett's test, vs BL)

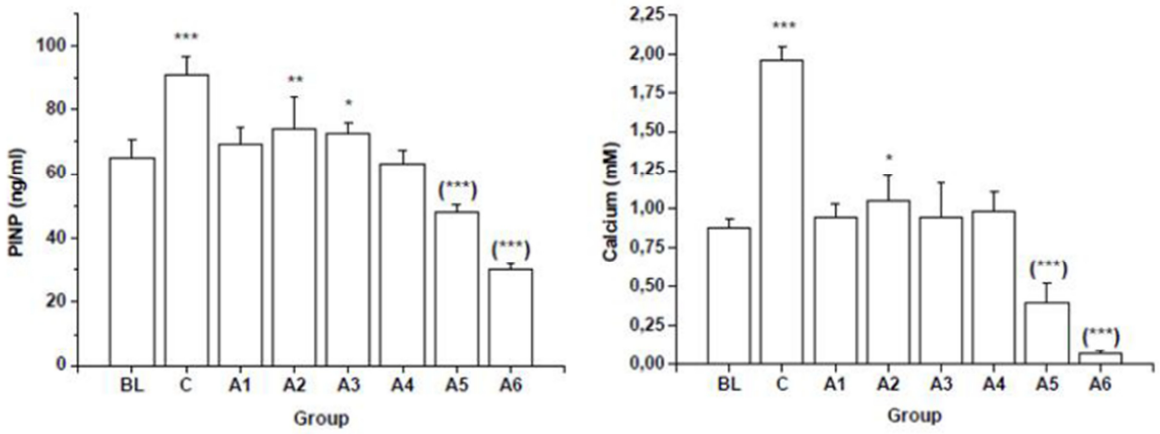


図 2.6.2.2- 7　塩化ラジウム（^{223}Ra）の骨芽細胞活性に対する作用

Left figure:PINP, Right figure:Calcium deposition
BL=Baseline(no added compounds); C=Control(10nM 17β-estradiol); A1=55Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A2=110Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A3=221Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A4=442Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A5=884Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride; A6=1768Bq/mL Radium(^{223}Ra) chloride
Mean±SD (n=8)
*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001 (ANOVA and Dunnett's test, vs BL)

2.6.2.2.2　*in vivo*における特性

2.6.2.2.2.1　乳癌骨転移ラットモデルにおける抗腫瘍効果

参照項目：4.2.1.1.12 Cancer Res 2002:62:3120-3125

ヒト乳癌細胞株（MT-1）をヌードラットに移植した骨転移モデルを用いて塩化ラジウム（^{223}Ra）の抗腫瘍効果が検討されている。

ヌードラット（Han: *rnu/rnu*: Rowett、n＝5 又は 14、80～110g）に MT-1 細胞約 1×10^6 個を左心室内投与することにより乳癌骨転移モデルが作製された。MT-1 細胞投与 7 日後に塩化ラジウム（^{223}Ra）を 6kBq（約 60kBq/kg）、11kBq（約 110kBq/kg）又は媒体（5mM クエン酸ナトリウム）を尾静脈内投与し、無麻痺生存期間が検討された。

110kBq/kg 投与群では対照群と比べて無麻痺生存期間が延長し、110kBq/kg 投与群の約 40%の動物は、67 日間のフォローアップ期間終了後も生存した（図 2.6.2.2- 8）。なお、当該ラットモデルに治療薬を投与せず放置した場合には、脊椎に腫瘍が増殖し動物は通常 20～30 日以内に麻痺をきたす。実際、対照群では腫瘍細胞の移植後 20～30 日で麻痺が誘発されたため、対照群の全動物が安楽殺された。

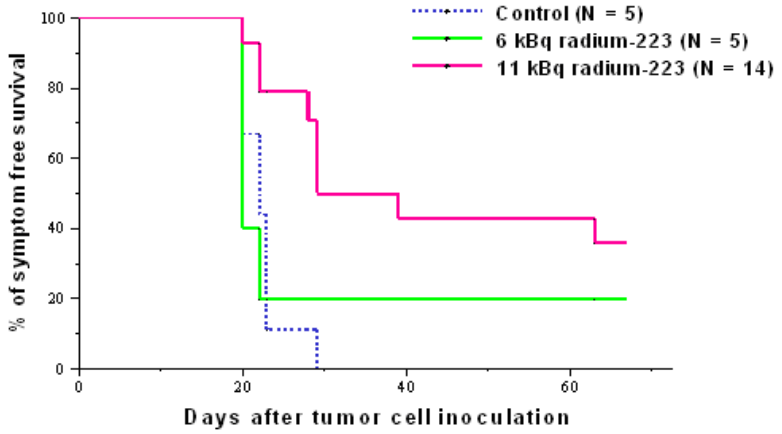


図 2.6.2.2- 8　乳癌骨転移ラットモデルにおける塩化ラジウム（^{223}Ra）の無麻痺生存期間に対する作用

2.6.2.2.2.2　乳癌骨転移マウスモデルにおける抗腫瘍効果及び作用機序

参照項目：　4.2.1.1.9 R-8695
4.2.1.1.10 R-8696
4.2.1.1.11 R-8697

ヌードマウスの溶骨性乳癌骨転移モデルを用いて塩化ラジウム（^{223}Ra）の抗腫瘍効果を検討した。

5 週齢の雌性ヌードマウスに GFP（Green Fluorescent Protein）を安定導入したヒト乳癌細胞株 MDA-MB-231（SA）約 1×10^5 個を左心室内に投与した。骨転移の形成が確認された（蛍光イ

メージング及び X 線により確認）動物に、塩化ラジウム（^{223}Ra）又は媒体（クエン酸ナトリウム）を腫瘍細胞移植 15 もしくは 16 日後に単回静脈内投与し、移植 25 日後又は安楽殺時に X 線評価による溶骨性病変の定量及び蛍光分析による全腫瘍量の測定を行った。更に試験期間を通じて体重測定及び臨床症状観察を行った。331、663 及び 1326kBq/kg の用量で塩化ラジウム（^{223}Ra）を投与した検討において、331kBq/kg で全腫瘍量、総骨溶解面積に減少がみられたため（n＝5～7、4.2.1.1.9 R-8695 参照）、その他の試験では 331kBq/kg を使用することとした。また、試験終了時に骨転移巣の組織形態計測学的検討、及び抗オステオカルシン抗体を用いた免疫組織化学染色も実施した（4.2.1.1.10 R-8696 参照）。

乳癌骨転移モデル（n＝14、13～18g）に、塩化ラジウム（^{223}Ra）331kBq/kg を単回静脈内投与すると、媒体投与群に比し総骨溶解面積（図 2.6.2.2- 9）及び全腫瘍量（図 2.6.2.2- 10）の有意な減少が確認された（4.2.1.1.10 R-8696 参照）。同様の評価項目を検討している R-8697 の試験においても両指標に減少傾向がみられたものの、当該試験では統計学的な有意差は得られなかった。

腫瘍／骨境界面の組織学的評価では、塩化ラジウム（^{223}Ra）投与群で破骨細胞数の減少が確認された。一方、骨芽細胞数には変化が認められなかった（図 2.6.2.2- 11）（4.2.1.1.10 R-8696 参照）。

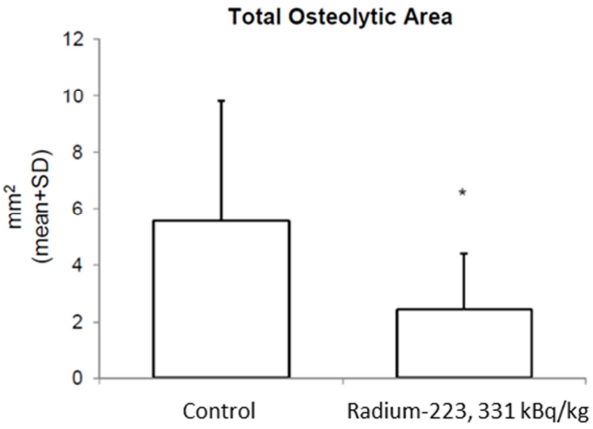


図 2.6.2.2- 9　乳癌骨転移マウスモデルにおける塩化ラジウム（^{223}Ra）の総骨溶解面積（X 線評価）に対する作用

Mean ± SD (n=14), *: p<0.05 (Student's t-test), Source: 4.2.1.1.10 R-8696

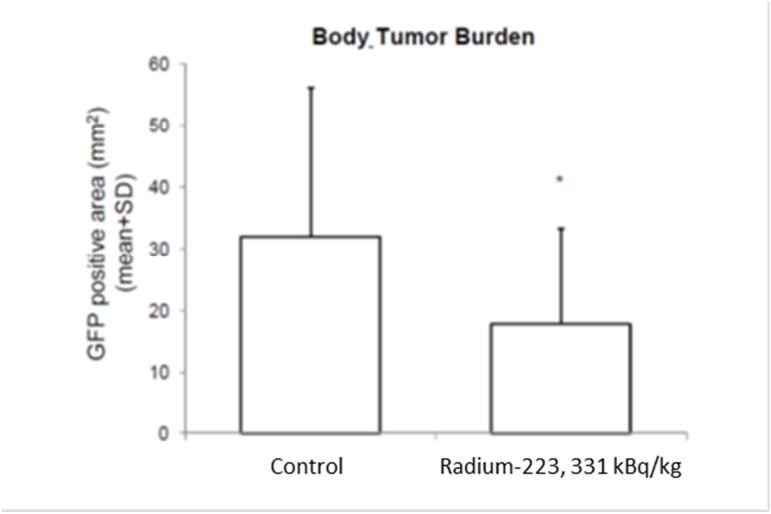


図 2.6.2.2- 10　乳癌骨転移マウスモデルにおける塩化ラジウム（^{223}Ra）の全腫瘍量（蛍光分析）に対する作用

Mean ± SD (n=14), *: p<0.05 (Student's t-test), Source: 4.2.1.1.10 R-8696

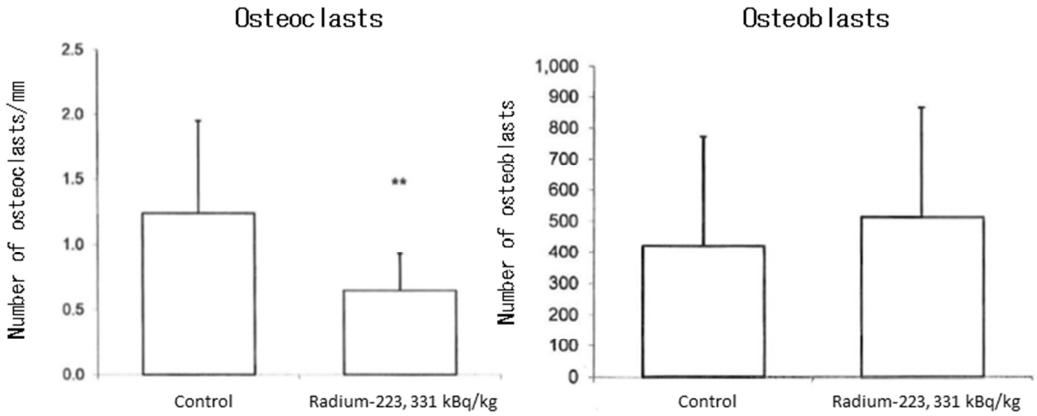


図 2.6.2.2- 11　乳癌骨転移マウスモデルにおける塩化ラジウム（^{223}Ra）の破骨細胞数及び骨芽細胞数への影響

Mean ± SD (n=14), **: p<0.01 (Student's t-test), Source: 4.2.1.1.10 R-8696

上記の試験（4.2.1.1.9 R-8695 参照）と同様の方法を用い、無麻痺生存期間を検討した（n＝10、13～18g）（4.2.1.1.11 R-8697 参照）。塩化ラジウム（^{223}Ra）を 331kBq/kg 単回静脈内投与することにより、無麻痺生存期間に有意な延長が認められた（p＜0.001：Log-Rank test, vs. 媒体群）。無麻痺生存期間の中央値は媒体群が 25 日間であったのに対し、塩化ラジウム（^{223}Ra）投与群では 29 日間であった（図 2.6.2.2- 12）。

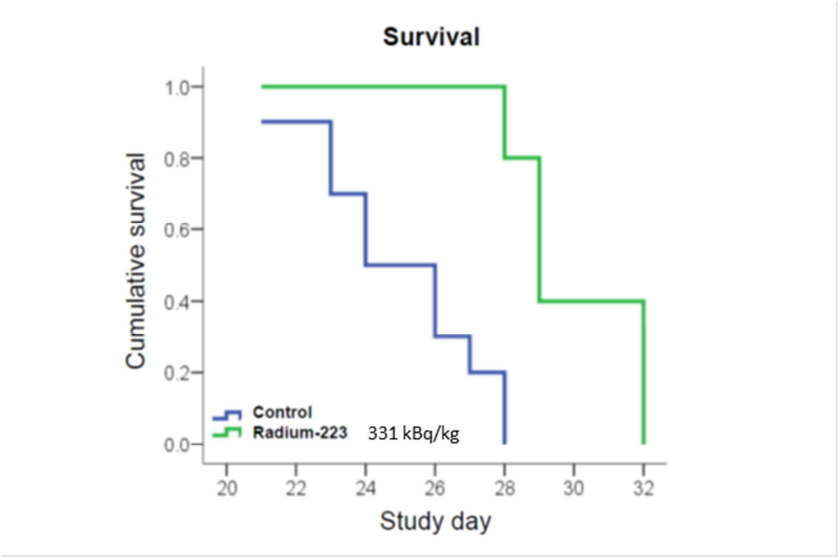


図 2.6.2.2- 12　乳癌骨転移マウスモデルにおける塩化ラジウム（^{223}Ra）の無麻痺生存期間に対する作用

n=10, Source: 4.2.1.1.10 R-8697

2.6.2.2.2.3　マウスにおける骨及び軟部組織へのラジウム 223 とベータ線放出核種ストロンチウム 89 の取り込みの比較

アルファ線放出核種ラジウム 223 とベータ線放出核種ストロンチウム 89 の骨及び軟部組織への取り込みが比較されている（2.6.4.4.3 参照）。

ラジウム 223 及びストロンチウム 89 はいずれも軟部組織より骨表面に多く集積した。ラジウム 223 の骨への取り込みはストロンチウム 89 よりわずかに高かった。軟部組織のラジウム 223 は投与後 24 時間以内にその多くが消失したが、骨に取り込まれたラジウム 223 は 14 日間のフォローアップ期間中にほとんど減少しなかった。また、骨に結合したラジウム 223 の子孫核種の骨からの再分布はほとんどなかった（投与 3 日後で総放射能の 1%未満）。

ラジウム 223 及びベータ線放出核種であるストロンチウム 89 が髄腔の骨表面に分布したときの髄腔内における吸収線量を算出した。ラジウム 223 の場合では、髄腔内における吸収線量は骨表面から離れるに従って急激に減少した。一方、ストロンチウム 89 の場合では、骨表面から離れてもわずかな減少に留まった。したがって、飛程の短いアルファ線を放出するラジウム 223 の方が、ストロンチウム 89 などのベータ線放出核種と比べて、骨髄の吸収線量が顕著に少なく、骨髄への影響を回避できる利点を有していることが示唆された。

2.6.2.3　副次的薬理試験

該当する試験は実施していない。

2.6.2.4　安全性薬理試験

塩化ラジウム（^{223}Ra）の生命維持に重要な器官系（中枢神経系、心電図を含む心血管系、呼吸器系）に及ぼす影響を *in vivo* 試験（ラット、イヌ）で検討した。イヌを用いた心血管系試験では、肉眼的及び病理組織学的検査も実施した。なお、いずれの試験においても、血中及び組織中の放射能濃度は測定しなかった。

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、GLP に準拠して実施した。試験は、IIT Research Institute（IITRI、米国）にて実施した。

試験には、臨床推奨用量（1 回あたり 55kBq/kg）に比し、ラットでは 20 倍（1105kBq/kg）まで、イヌでは 9 倍（497kBq/kg）までの高用量を含む投与量を設定した。

2.6.2.4.1　中枢神経系に及ぼす影響

参照項目：4.2.1.3.1 R-8659

ラットを用いて塩化ラジウム（^{223}Ra）の中枢神経系に及ぼす影響を検討した。

塩化ラジウム（^{223}Ra） 55kBq/kg、276kBq/kg、1105kBq/kg 又は媒体（28mM クエン酸ナトリウム含有塩化ナトリウム溶液、等張液）を覚醒下の雄性ラット（Sprague-Dawley）に単回静脈内投与し、その後 7 日間にわたって観察した（n＝8、平均体重 200～269g／群）。機能観察総合評価（Functional Observational Battery：FOB）試験及び自発運動量の測定を、投与前、並びに投与約 1 及び 24 時間後に行った。FOB 試験では、ケージ内観察、ハンドリング観察、オープンフィールド観察、握力及び体温測定などを行った。そのほかに、死亡（試験期間中 1 日 2 回）及び臨床症状（投与日及び 7 日目に 1 回）を確認し、体重（投与日及び 7 日目に 1 回）を測定した。

臨床症状及び体重（体重増加）に塩化ラジウム（^{223}Ra）投与に関連する変化はみられず、試験期間を通して死亡例はみられなかった。FOB のパラメータ及び自発運動量に塩化ラジウム（^{223}Ra）投与に関連する明らかな影響はみられなかった。FOB のパラメータのうち、統計学的に有意な前肢握力の低下〔55kBq/kg 群及び 276kBq/kg 群（投与約 1 時間後）、276kBq/kg 群及び 1105kBq/kg 群（投与約 24 時間後）〕、後肢握力の低下〔55kBq/kg 群及び 1105kBq/kg 群（投与約 24 時間後）〕、並びに開脚度の低下〔55kBq/kg 群（投与約 24 時間後）〕がみられたが（$p \leq 0.05$ vs. 媒体群、ANOVA＋post hoc Dunnett's test）、これらはいずれも散発的な変化で用量依存性は認められなかったことから、生物学的に意義ある変化、又は投与に関連する変化とは考えられなかった。

2.6.2.4.2　心血管系に及ぼす影響

参照項目：4.2.1.3.2 R-8658

覚醒イヌを用いて塩化ラジウム（^{223}Ra）の心血管系（心電図を含む）に及ぼす影響を検討した。

テレメータを装着した雄ビーグル犬（9～12kg、4 例）に、覚醒下で 1 日目、29 日目、57 日目及び 85 日目（4 週間ごと）に、塩化ラジウム（^{223}Ra） 55、166、497kBq/kg、媒体（28mM クエン酸ナトリウム含有塩化ナトリウム溶液、等張液）をランダム化した順序で静脈内投与した（1 例あたり 4 用量のいずれかを 4 週間ごとに投与：ラテン方格クロスオーバーデザイン）。血圧（収縮期、拡張期、平均）、心拍数、左室圧及び第Ⅱ誘導の心電図［PR 間隔、RR 間隔、QRS 間隔及び補正 QT 間隔〔QTc 間隔（Fridericia 式：$QTc=QT/RR^{1/3}$）〕］について、各投与日の投与 2 時間前から投与 24 時間後まで測定した（n＝4：ただし、血圧に関しては測定エラーがみられたため n＝1～3）。そのほかに、死亡（試験期間中 1 日 2 回）及び臨床症状（各投与後 1 時間以内に 1 回、及び試験終了まで週 1 回）の確認、体重〔各投与日の 3 日前：－3 日目（初回投与 3 日前）、26 日目、54 日目、82 日目〕、体温及び自発運動量（各投与 2 時間前から 24 時間後まで）の測定、血液学的及び血液生化学的検査（2～4 回目投与日及び試験終了日の 3 日前：26 日目、54 日目、82 日目、110 日目）、並びに肉眼的及び病理組織学的検査（肺、肝臓、腎臓、大腸、小腸、脾臓、精巣、膀胱）（試験終了日：113 日目）を行った（n＝4）。

血圧、心拍数及び左室圧、並びに QTc 間隔を含む心電図パラメータに塩化ラジウム（^{223}Ra）投与に関連する影響はみられなかった。また、試験期間を通して死亡例はみられず、平均体重及び体重増加に塩化ラジウム（^{223}Ra）投与に関連する影響はみられなかった。更に、臨床症状、体温、自発運動量、血液生化学的パラメータ、肉眼的及び病理組織学的所見にも塩化ラジウム（^{223}Ra）投与に関連する影響はみられなかった。一方、血液学的パラメータ（白血球、血小板、好酸球、網状赤血球、単球及びリンパ球）においては、塩化ラジウム（^{223}Ra）による用量依存的な増加又は減少がみられた。

2.6.2.4.3　　呼吸器系に及ぼす影響

参照項目：4.2.1.3.3 R-8657

覚醒ラットを用いて塩化ラジウム（^{223}Ra）の呼吸器系に及ぼす影響を検討した。

塩化ラジウム（^{223}Ra） 55kBq/kg、276kBq/kg、1105kBq/kg 又は媒体（28mM クエン酸ナトリウム含有塩化ナトリウム溶液、等張液）を覚醒下の雄性ラット（Sprague-Dawley）に単回静脈内投与した（n＝8、平均体重 207～239g／群）。拘束下において、呼吸数、1 回換気量及び分時換気量を、投与 20～30 分前から 4 時間後まで測定した（投与後 1 時間ごとの平均値を算出）。そのほかに、死亡（試験期間中 1 日 2 回）及び臨床症状〔投与後の 1～4 日目及び 8～11 日目に各 1 回〕を確認し、体重〔1 日目（投与前）及び 8 日目〕を測定した。

呼吸数、1 回換気量及び分時換気量について、媒体投与群と塩化ラジウム（^{223}Ra）投与群との間に差異はみられず、塩化ラジウム（^{223}Ra）は呼吸機能に影響を及ぼさないと考えられた。また、試験期間を通して死亡例はみられず、臨床症状、平均体重及び体重増加に塩化ラジウム（^{223}Ra）投与に関連する影響はみられなかった。

2.6.2.5　　薬力学的薬物相互作用試験

ラット及びマウスの乳癌骨転移モデルを用い、塩化ラジウム（^{223}Ra）を乳癌の標準治療薬である抗悪性腫瘍薬剤ドキソルビシンと併用した場合、並びに骨転移を有する癌患者に広く用いられている骨吸収阻害薬のビスホスホネート系薬剤 2 剤（パミドロン酸及びゾレドロン酸）と併用投与した場合の薬力学的薬物相互作用を検討した。

2.6.2.5.1　　乳癌骨転移ラットモデルにおけるパミドロン酸との併用効果

参照項目：4.2.1.1.12 Cancer Res 2002:62:3120-3125

2.6.2.2.2.1 に記載した方法により、ヌードラット（n＝5）を用いて乳癌骨転移モデルを作製した。乳癌細胞投与 7 日後に、塩化ラジウム（^{223}Ra）を 5、10、30kBq（約 50、100、300kBq/kg）又は媒体（5mM クエン酸ナトリウム）を静脈内投与した。更に、乳癌細胞投与 8 日後にパミドロン酸（Aredia™）1.5mg/kg を静脈内投与しラジウム（^{223}Ra）とパミドロン酸との併用効果が検討された。

当該モデルにおいて、塩化ラジウム（^{223}Ra）投与後にパミドロン酸を投与したときの有効性（無麻痺生存期間）には、ラジウム（^{223}Ra）単独投与時の有効性（図 2.6.2.2- 8）と比べ、明らかな有益性も阻害も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（図 2.6.2.5- 1）。

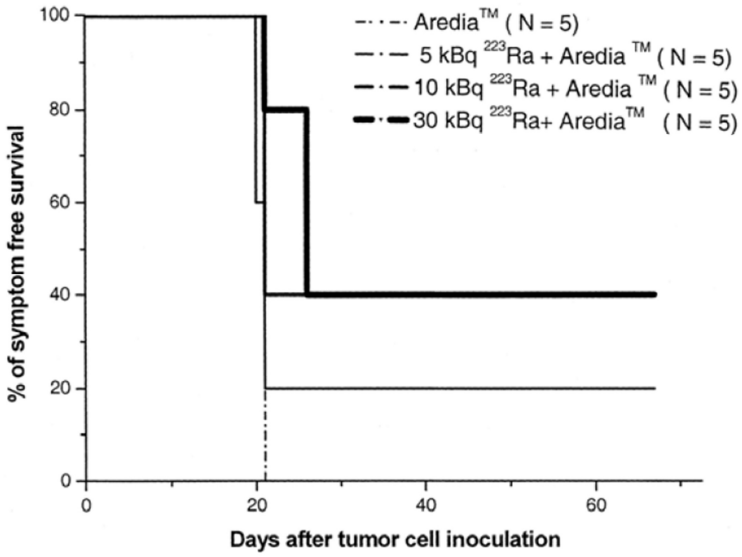


図 2.6.2.5- 1　乳癌骨転移ラットモデルにおけるラジウム 223 とパミドロン酸との併用効果

Aredia™: 3-amino-1-hydroxypropylidene bisphosphonate

2.6.2.5.2　　乳癌骨転移マウスモデルにおけるドキソルビシン又はゾレドロン酸との併用効果

参照項目：4.2.1.4.1 R-8698

2.6.2.2.2.2 に記載した乳癌骨転移マウスモデルを用いて、塩化ラジウム（^{223}Ra）と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との併用効果を検討した。

4 週齢のヌードマウス（n＝10）にヒト乳癌細胞〔MDA-MB-231(SA)〕約 1×10^5 個を左心室内投与し、乳癌骨転移モデルを作製した。乳癌細胞投与後 15 日目から、塩化ラジウム（^{223}Ra）（331kBq/kg、静脈内単回）とゾレドロン酸（0.1mg/kg、皮下単回）又はドキソルビシン（5mg/kg、腹腔内週１回）の単独、併用投与及び媒体（クエン酸ナトリウム、静脈内単回）投与を行い、36 日目まで観察を行った。各群における無麻痺生存期間の中央値を評価した。

塩化ラジウム（^{223}Ra）単独投与群では、無麻痺生存期間中央値が媒体対照群に比し有意に延長した〔塩化ラジウム（^{223}Ra）：28 日、媒体対照：25 日〕。ドキソルビシン及びゾレドロン酸単独投与群ではいずれも、無麻痺生存期間中央値は延長しなかったが（ドキソルビシン：24 日、ゾレドロン酸：23 日）、塩化ラジウム（^{223}Ra）と併用投与した場合両群とも無麻痺生存期間中央値に延長が認められ〔塩化ラジウム（^{223}Ra）＋ドキソルビシン：30 日、塩化ラジウム（^{223}Ra）＋ゾレドロン酸：33 日〕、媒体対照群との間に有意差が認められた（表 2.6.2.5- 1）。加えて、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(図 2.6.2.5- 2　)。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。

表 2.6.2.5- 1　無麻痺生存期間に対するドキソルビシン又はゾレドロン酸との併用効果

	1	2	3	4	5	6
	Vehicle	$^{223}RaCl_2$	Doxorubicin	$^{223}RaCl_2$ + Doxorubicin	Zoledronic acid	$^{223}RaCl_2$ + Zoledronic acid
Mean	24.9	29.2	25.4	31.5	23.7	31.4
Median	25	28	24	30	23	33
P-value	-	0.011	0.992	0.000	0.796	0.000
Significance	-	*	NS	***	NS	***

Final n was 10 in groups 1-5 and 9 in group 6., *: p<0.05, ***: p<0.001(Dunnett's test with logarithmic transformation, vs Vehicle)

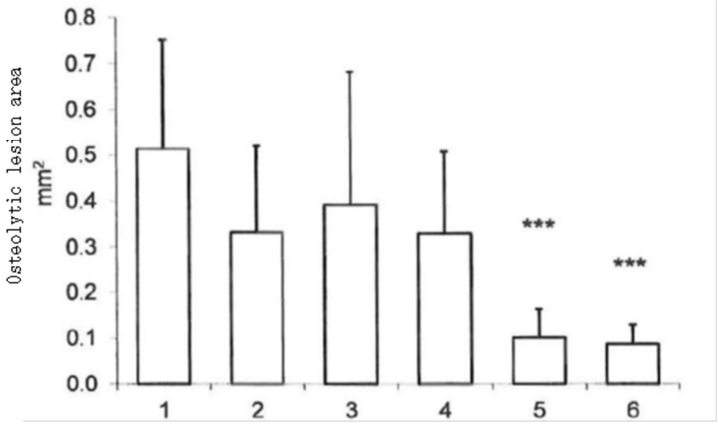


図 2.6.2.5- 2　安楽殺時の骨溶解面積に対するゾレドロン酸、ドキソルビシン及び塩化ラジウム（^{223}Ra）の作用

1.Vehicle (Sodium citrate) 5mL/kg ; 2.radium(^{223}Ra) chloride 331kBq/kg iv once at day 15 ; 3.doxorubicin 5mg/kg ip weekly ; 4.radium(^{223}Ra) chloride and doxorubicin (doses as in groups 2 and 3) ; 5.zoledronic acid 0.1mg/kg sc once at day 15 ; 6.radium(^{223}Ra) chloride and zoledronic acid (doses as in groups 2 and 5)
Mean±SD (Final n was 10 in groups 1-5 and 9 in group 6)
***: p<0.001 (Kruskal-Wallis test followed by pairwise comparison against the control group using Mann-Whitney test)

2.6.2.6　考察及び結論

塩化ラジウム（^{223}Ra）注射液は、骨親和性核種である放射性ラジウム 223 の二価陽イオン（$^{223}Ra^{2+}$）を活性本体とする放射性医薬品である。塩化ラジウム（^{223}Ra）の作用機序は、骨親和性を有するラジウム 223 の自然放射性壊変に伴い放出されたアルファ線により、DNA の二重鎖切断を高頻度に誘発し、細胞致死を引き起こすことである。塩化ラジウム（^{223}Ra）は、細胞の種類や細胞周期に依存せず、多剤耐性細胞株や非増殖期細胞など、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作用についても、骨転移モデルにおける高い *in vivo* 有効性に寄与していると考えられる。

塩化ラジウム（^{223}Ra）は、ヌードラット及びヌードマウスを用いた 2 種類の溶骨性骨転移モデルにおいて抗腫瘍効果を示した。ヌードラットの乳癌（MT-1）骨転移モデルにおいて、無麻痺生存期間が延長した。別の乳癌細胞株（MDA-MB-231）を用いたヌードマウスの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、無麻痺生存期間が有意に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ことが示された。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）。加えて、塩化ラジウム（^{223}Ra）の抗腫瘍効果は、単回投与毒性試験におけるマウス STD_{10}（10%の動物に重度の毒性を示す投与量）の 12%及びラット STD_{10} の 5%の投与量でみられた。またラット及びマウスの両種において、ビスホスホネート系薬剤を併用投与した場合にも、塩化ラジウム（^{223}Ra）の有効性に影響を及ぼさなかった。

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）。

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 の放射性壊変後に生じた子孫核種は骨内に留まり、再分布はほとんどない。

ラット及びマウスの乳癌骨転移モデルを用い、塩化ラジウム（^{223}Ra）と乳癌の標準治療薬である抗悪性腫瘍薬剤ドキソルビシンと併用した場合、並びに骨転移を有する乳癌患者に広く用いられている骨吸収阻害剤のビスホスホネート系薬剤 2 剤（パミドロン酸及びゾレドロン酸）と併用投与した場合の薬力学的薬物相互作用を検討した結果、ドキソルビシン又はビスホスホネート系薬剤を併用しても、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ないことが示唆された。

上記の前臨床データは骨転移を有する前立腺癌患者に対する塩化ラジウム（^{223}Ra）の臨床的な有効性を支持していると考える。

中枢神経系及び呼吸器系（ラット）、並びに心血管系（イヌ）に対する塩化ラジウム（^{223}Ra）の影響を検討した安全性薬理試験において、塩化ラジウム（^{223}Ra）投与に関連する影響は認められなかった。したがって、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。

2.6.2.7　図表

図表は本文中に挿入した。

引用文献一覧

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

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

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

2.6.3.1　　薬理試験：　一覧表

試験一覧表は、2.6.3.2、2.6.3.3、2.6.3.4 及び2.6.3.5を参照。

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

Test article: **radium-223 chloride**

Primary Pharmacodynamics - Overview

Type of Study	Test System	Method of Administration	Concentration/ Doses	Report No. /Reference	Location in CTD
Cellular dosimetry	*In vitro*	-	-	R-8692[a]	4.2.1.1.1
Cellular effects of alpha particle radiation : Survival and dose rate	*In vitro*	-	0.06 Gy – 1.3 Gy	R-8687[a]	4.2.1.1.2
Cellular effects of alpha particle radiation : Survival of multidrug resistant and non-cycling cells	*In vitro*	-	0.21 Gy – 1.04Gy	R-8688[a]	4.2.1.1.3
Cellular effects of alpha particle radiation : DNA damages, double strand breaks observed by gammaH2A.X flowcytometry	*In vitro*	-	1 Gy - 3 Gy	R-8689[a]	4.2.1.1.4
Cellular effects of alpha particle radiation : Cell cycle effects	*In vitro*	-	0.21 Gy – 1.04 Gy	R-8690[a]	4.2.1.1.5
Cellular effects of alpha particle radiation : Age-response	*In vitro*	-	0.48Gy	R-8691[a]	4.2.1.1.6
The effects on human osteoclast differentiation and activity *in vitro*	*In vitro*	-	55 Bq/mL - 1768 Bq/mL	R-8693[b]	4.2.1.1.7
The effects on mouse osteoblast differentiation and activity *in vitro*	*In vitro*	-	55 Bq/mL - 1768 Bq/mL	R-8694[b]	4.2.1.1.8
Dose finding study in a breast cancer bone metastasis model	Mouse	Intravenous	331, 663, 1326 kBq/kg	R-8695[b]	4.2.1.1.9
Method of action in a breast cancer bone metastasis model	Mouse	Intravenous	331 kBq/kg	R-8696[b]	4.2.1.1.10
Survival study in a breast cancer bone metastasis model	Mouse	Intravenous	331 kBq/kg	R-8697[b]	4.2.1.1.11
Antitumor effect from bone-seeking, α-particle–emitting ^{223}Ra demonstrated in an experimental skeletal metastases model.	Rat	Intravenous	6, 11 kBq	Cancer Res 2002-62-3120[c]	4.2.1.1.12

a: external study (Algeta ASA, Norway; currently, Bayer AS)
b: external study ([redacted], Finland)
c: University of Oslo, Norway

2.6.3.3 副次的薬理試験

Not conducted

2.6.3.4 安全性薬理試験

Test Article: **radium-223 chloride**

Safety Pharmacology - Overview

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report No.	Location in CTD
Effects on central nervous system	Rats	Intravenous	[redacted] USA	R-8659	4.2.1.3.1
Effects on respiratory system	Rats	Intravenous	[redacted] USA	R-8657	4.2.1.3.3
Effects on cardiovascular system	Telemetered conscious Beagle dogs	Intravenous	[redacted] USA	R-8658	4.2.1.3.2

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

Test Article: **radium-223 chloride**

Safety Pharmacology - *In-vivo* studies

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Doses [a]	Gender (No. per Group)	Noteworthy Findings	GLP	Report No.	Location in CTD
Central nervous system								
Clinical observations	Rat/ Sprague-Dawley	Intravenous	0, 55, 276, 1105 kBq/kg	male (8)	None	Yes	R-8659	4.2.1.3.1
Functional observational battery (FOB)					None Statistically significant but sporadic changes in FOB were not considered biologically significant or treatment-related.			
Locomotor activity					None			
Respiratory system								
Respiration: respiratory rate, tidal volume and minute volume	Rat/ Sprague-Dawley	Intravenous	0, 55, 276, 1105 kBq/kg	male (8)	None	Yes	R-8657	4.2.1.3.3

a: single dose unless specified otherwise

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

Test Article: **radium-223 chloride**

Safety Pharmacology - *In-vivo* studies

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Doses [a]	Gender (No. per Group)	Noteworthy Findings	GLP	Report No.	Location in CTD
Cardiovascular system								
Arterial blood pressure, left ventricular pressure, heart rate and electrocardiogram (ECG)	Dog/ Beagle [b]	Intravenous	0, 55, 166, 497 kBq/kg	male (4 per study, with balanced Latin-Square crossover design)	None	Yes	R-8658	4.2.1.3.2
Body temperature and locomotor activity					None			
Hematology					Several hematology parameters (white blood cells, platelets, eosinophils, reticulocytes, monocytes and lymphocytes) showed apparent dose-related increases or decreases which were considered treatment-related			
Clinical chemistry, necropsy and histopathology					None			

a: single dose unless specified otherwise
b: telemetered conscious dogs

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

Test Article: **radium-223 chloride**

Pharmacodynamic interactions - Overview

Type of Study	Test System	Method of Administration	Concentration/ Doses	Report No./ Reference	Location in CTD
Combination treatment in a breast cancer bone metastasis model [a]	Mouse	Intravenous	331 kBq/kg	R-8698 [c]	4.2.1.4.1
Antitumor effect from bone-seeking, α-particle-emitting ^{223}Ra demonstrated in an experimental skeletal metastases model [b]	Rat	Intravenous	5, 10, 30 kBq	Cancer Res 2002-62-3120 [d]	4.2.1.1.12

a: combination with doxorubicin or zoledronic acid
b: combination with pamidronic acid
c: external study ([redacted], Finland)
d: University of Oslo, Norway