2.6.1 緒言

1 緒言

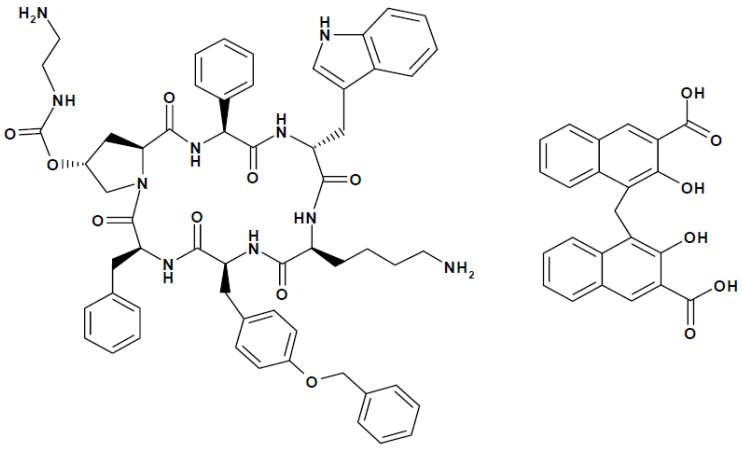
パシレオチド（SOM230, 以下 SOM）は 7 個のアミノ酸からなる新規シクロヘキサペプチドで，ソマトスタチン受容体（sstr）への結合を介して薬理活性を発揮するソマトスタチンアナログ（SSA）である。

sstr には 5 種のサブタイプ（sstr1～5）が確認されており，先端巨大症患者の下垂体腫瘍では sstr2 及び sstr5 の発現が高頻度で認められ，sstr1 及び sstr3 も確認されている。しかし，既存の SSA（オクトレオチド及びランレオチド）は，sstr2 への親和性は高いが残りの sstr への親和性は中等度以下，あるいは全く示さないことが知られている。そこで，複数の sstr サブタイプに高親和性を示す SSA を開発することを目的として，SOM が設計された。

SOM は 4 種の sstr サブタイプ（sstr1，2，3 及び 5）に高親和性を示し，その IC_{50} は，それぞれオクトレオチドの 30，2.5 分の 1，5，及び 39 倍であった。SOM は複数の sstr に親和性を有することにより，既存の SSA と比較して，成長ホルモンなどの種々のホルモン分泌を強力に抑制することから，より多くの先端巨大症患者及び下垂体性巨人症患者に効果を示すことが期待された。

国内申請製剤である SOM LAR が含有するパシレオチドパモ酸塩の構造を以下に示す（Figure 1-1）。

Figure 1-1 パシレオチドパモ酸塩の構造式



なお，本剤の申請効能・効果及び用法・用量は以下のとおりである。

【効能又は効果】

下記疾患における成長ホルモン，IGF-I（ソマトメジンーC）分泌過剰状態及び諸症状の改善
先端巨大症・下垂体性巨人症（外科的処置で効果が不十分又は施行が困難な場合）

【用法及び用量】

通常，成人にはパシレオチドとして 40 mg を 4 週ごとに臀部筋肉内に注射する。なお，患者の病態により適宜増減するが，最高用量は 60 mg までとする。

2.6.2 薬理試験の概要文

目　　次

目　　次 2
表 一 覧 3
図 一 覧 4
略号一覧 5
1 まとめ 6
1.1 ソマトスタチン及びソマトスタチン受容体の機能 6
1.2 ソマトスタチンアナログ 6
1.3 SOM230（パシレオチド, NVP-227-230） 7
2 効力を裏付ける試験 8
2.1 *In vitro* 薬理試験 8
2.1.1 ヒト sstr サブタイプに対する結合親和性 8
2.1.2 ヒト sstr サブタイプ発現細胞を用いた cAMP 産生に対する機能活性評価 9
2.1.3 マウス AtT20 細胞の sstr に対する結合親和性 9
2.1.4 マウス AtT20 細胞におけるアゴニスト作用評価 10
2.1.5 マウス AtT20 細胞における cAMP 産生阻害作用 11
2.1.6 初代培養ラット下垂体細胞における GH 分泌抑制作用 11
2.2 *In vivo* 薬理試験 12
2.2.1 ラットの各種ペプチドホルモン血漿中濃度に対する作用 12
2.2.2 ラットの血漿中 GH 基礎濃度に対する作用 13
2.2.3 ラット 14 日間持続投与による基礎 GH 及び GHRH 刺激性 GH 分泌，及び IGF-1 分泌に対する作用 14
2.2.4 ラット 14 日間持続投与時の SOM 及びオクトレオチドの血漿中濃度 17
2.2.5 ラット 14 日間持続投与時の血漿中 IGF-1 濃度及び体重に対する作用 18
2.2.6 ラットに SOM LAR を皮下投与した時の血漿中グルコース，IGF-1 及び SOM 濃度 20
2.2.7 アカゲザルに SOM 及びオクトレオチドを皮下投与したときの血漿中 GH，インスリン及びグルカゴン濃度に対する作用 22
2.2.8 カニクイザルに SOM 及びオクトレオチドを 7 日間持続投与したときの血中ホルモン基礎分泌に対する作用 23
2.3 その他の薬理試験 25
2.3.1 薬物動態（PK）と薬力学（PD）との相関性 25
2.3.2 他剤との併用効果 25
2.4 作用機序 25
3 副次的薬理試験 26
3.1 *In vitro* 薬理試験 26

3.1.1 初代培養ヒト下垂体腺腫細胞及びマウス AtT20 細胞における ACTH 分泌に対する作用 26
3.1.2 初代培養ヒト下垂体腺腫細胞の増殖及び ACTH 分泌に対する作用 26
3.2 *In vivo* 薬理試験 27
3.2.1 ラットに CRH で誘発した ACTH 及びコルチコステロン分泌に及ぼすオクトレオチド又は SOM 静脈内投与の影響 27
3.2.2 ラット血漿中グルコース濃度に対する SOM 及びオクトレオチド皮下投与の影響 28
3.2.3 ラット血漿中グルコース，インスリン及びグルカゴン濃度に対する SOM 及びオクトレオチド皮下投与の影響 28
3.2.4 ラット血漿中グルコース，インスリン，グルカゴン及び IGF-1 濃度に対する SOM LAR 皮下投与の影響，並びに血漿中 SOM 濃度の推移 29
4 安全性薬理試験 32
4.1 受容体結合試験 32
4.2 心血管系，呼吸系，及び中枢神経系に対する安全性薬理試験 32
4.3 胆嚢収縮に対する影響 36
5 薬力学的薬物相互作用 36
6 考察及び結論 36
7 参考文献 38

表 一 覧

Table 2-1 ヒト sstr1～5 に対する SRIF-14, オクトレオチド及び SOM の結合親和性 8
Table 2-2 ヒト sstr1-5 発現細胞のフォルスコリン刺激 cAMP 産生に対する SRIF-14，オクトレオチド及び SOM の阻害作用 9
Table 2-3 AtT20 細胞の sstr に対する SOM230，オクトレオチド及び SRIF-14 の結合親和性 10
Table 2-4 AtT20 細胞ミクロソーム標品への [^{35}S]GTPγS 結合に対する SOM230, オクトレオチド及び SRIF-14 の影響 11
Table 2-5 AtT20 細胞のフォルスコリン刺激 cAMP 産生に対する SOM，オクトレオチド及び SRIF-14 の阻害作用 11
Table 2-6 ラットにおける種々のペプチドホルモンの血漿中濃度に対する SOM, オクトレオチド及びランレオチドの作用 13
Table 2-7 オクトレオチド及び SOM 投与時の血漿中 IGF-1 濃度の変化率及び ID_{50} 値 19
Table 2-8 アカゲザル及びラットにおける SOM 及びオクトレオチド皮下投与による GH，グルカゴン，及びインスリン阻害作用 23
Table 3-1 ラットに CRH で誘発した ACTH 及びコルチコステロン分泌に対する SOM 又はオクトレオチドの抑制作用 28
Table 4-1 *In vitro* 安全性薬理試験 34

Table 4-2 *In vivo* 安全性薬理試験 35

図 一 覧

Figure 2-1 初代培養ラット下垂体細胞における GH 分泌抑制作用 12
Figure 2-2 ラットにおける基礎 GH 及び IGF-1 濃度に対する SOM 及びオクトレオチドの作用 15
Figure 2-3 ラットにおける GHRH 刺激性 GH 及び IGF-1 濃度に対する SOM 及びオクトレオチドの作用 16
Figure 2-4 ラットに SOM 及びオクトレオチド (3 及び 10 µg/kg/h) を持続投与した時の血漿中薬物濃度 18
Figure 2-5 ラットに SOM 及びオクトレオチド (1 及び 10 µg/kg/h) を持続投与した時血漿中 IGF-1 濃度 19
Figure 2-6 ラットに SOM LAR （8 及び 80 mg/kg）を皮下投与した時の血漿中 SOM 濃度，IGF-1 濃度及びグルコース濃度 21
Figure 2-7 アカゲザルに SOM 及びオクトレオチド（1 及び 10 µg/kg）を皮下投与したときの血漿中 GH 濃度 22
Figure 2-8 カニクイザルに SOM 及びオクトレオチド（0.3 及び 1.0 µg/kg/h）を持続皮下投与したときの血漿中 GH 及び IGF-1 濃度 24
Figure 3-1 ラットに SOM LAR（4 及び 8 mg/kg）を単回皮下投与したときの血漿中 SOM 濃度及び IGF-1 濃度 30
Figure 3-2 ラットに SOM LAR（4 及び 8 mg/kg）を単回皮下投与したときの血漿中グルコース，インスリン及びグルカゴン濃度 31

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ACTH	adrenocorticotropic hormone	副腎皮質刺激ホルモン
APD	action potential duration	活動電位持続時間
AtT20	AtT-20 cells (clone D16-16)	マウス下垂体癌細胞株 AtT20
AUC	area under the drug plasma concentrationtime curve	血漿中薬物濃度-時間曲線下面積
cAMP	cyclic adenosine monophosphate	環状アデノシン一リン酸
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
COS	SV40 transformed African green monkey kidney cells	SV40 により形質転換したアフリカミドリザル腎由来細胞
Cmax	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CRH	corticotropin releasing hormone	副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン
EC_{50}	effective concentration resulting in 50%	50%有効濃度
$ED_{1.5}$	dose leading to an increase of the size by a factor of 1.5	重量を 1.5 倍増加させる用量
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫測定法
E_{max}	maximum effect	最大効果
GEP-NET	gastroenteropancreatic neuroendocrine tumor	膵消化管神経内分泌腫瘍
GH	growth hormone	成長ホルモン
GHRH	growth hormone-releasing hormone	成長ホルモン放出ホルモン
GTP	guanosine triphosphate	グアノシン三リン酸
GTPγS	guanosine 5'-O-[gamma-thio]triphosphate	グアノシン 5'-O-(3-チオ三リン酸)
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
hERG	human ether-a-go-go related gene	human ether-a-go-go 関連遺伝子
5HT1A	5-hydroxytryptamine receptor 1A	5-ヒドロキシトリプタミン受容体 1A
IC_{50}	half maximal (50%) inhibitory concentration	50%阻害濃度
ID_{50}	dose leading to 50% inhibiting	50%抑制濃度
IGF-1	insulin like growth factor 1	インスリン様成長因子 1
Ki	inhibition constant	阻害定数
LAR	long acting release	長時間作用型徐放性製剤
LC-MS/MS	liquid chromatography – tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析
pEC_{50}	the negative logarithm of the half-maximal effective concentration	50%有効濃度の負対数値
pK_d	the negative logarithm of the dissociation constant	解離定数の負対数値
RIA	radio immuno assay	放射免疫測定
RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction	逆転写ポリメラーゼ連鎖反応
SEM	standard error of the mean	標準誤差
SRIF	somatotropin release inhibiting factor	ソマトトロピン放出抑制因子（ソマトスタチン）
SSA	somatostatin analogue	ソマトスタチンアナログ
sstr	somatostatin receptor	ソマトスタチン受容体

1 まとめ

1.1 ソマトスタチン及びソマトスタチン受容体の機能

天然ペプチドホルモンであるソマトスタチン-14 及びソマトスタチン-28［別名：ソマトトロピン放出抑制因子（SRIF）-14 及び SRIF-28］は，中枢神経系，視床下部，消化管及び膵臓など広範な組織に発現する。標的組織（脳，下垂体，膵臓，胃腸管及び神経内分泌腫瘍など）において，SRIF は，膜受容体に高親和性に結合し，この結合により生理活性を示す（Weckbecker et al. 2003）。SRIF は，成長ホルモン（GH），グルカゴン，インスリン，ガストリン，セクレチン，甲状腺刺激ホルモンなどの種々のホルモンの分泌抑制に関与する重要な制御因子である。また，内分泌系の制御に加えて SRIF は，脳内で自発運動及び認知・行動過程に影響する神経伝達物質あるいは神経修飾物質として作用することが明らかになっている（Bruns et al. 2002）。

SRIF はその強い GH 分泌抑制作用を通じて，神経内分泌系に作用することが証明されている。GH は下垂体から脈動的に分泌され，肝臓や心臓，腎臓をはじめとする臓器においてインスリン様成長因子-1（IGF-1）の合成を誘発するが，SRIF は GH 分泌を抑制することで間接的に血漿中 IGF-1 濃度を低下させる。また，SRIF は GH に依存せずに直接 IGF-1 の発現を低下させることも確認されている（Serri et al. 1992）。

ソマトスタチン受容体（sstr）には 5 種類のサブタイプ（sstr1～5）が確認されており，これらは 7 回膜貫通ドメインを有する G タンパク質共役受容体スーパーファミリーに属している（Weckbecker et al. 2003）。sstr1～5 は G タンパクを介してアデニル酸シクラーゼ活性を阻害し，イオンチャネル（K^+，Ca^{2+}），セリン／スレオニンホスファターゼ，チロシンホスファターゼ，ホスホリパーゼ A2 などのシグナル伝達経路を制御する。sstr サブタイプの発現様式に関しては多くの報告があるが，個々の sstr サブタイプによる特異的な反応として特定されているものは，sstr2 及び sstr5 を介する GH 分泌抑制作用などわずかである。

1.2 ソマトスタチンアナログ

天然 SRIF （SRIF-14 及び SRIF-28）は急速に分解されるため血漿中半減期が 3 分未満と短く，*in vivo* における作用時間が短いために臨床応用に際しては持続投与が必要となる。代謝的安定性を向上させた低分子のソマトスタチンアナログ（SSA）が数多く設計され，サンドスタチン®（オクトレオチド，SMS 201-995）とソマチュリン®（ランレオチド，BIM 23014）が臨床使用されている（Weckbecker et al. 2003）。オクトレオチドの主な適応症は GH 産生下垂体腺腫による先端巨大症及び下垂体性巨人症の治療，及び過剰なホルモン分泌により誘発される消化管膵神経内分泌腫瘍（GEP-NET）に伴う症状の改善である。

天然 SRIF の sstr1～5 への結合親和性にはほとんど差はなく，いずれも 5 種類すべての sstr サブタイプに高親和性で結合するが，既存の SSA（オクトレオチド又はランレオチド）は，sstr2 に対

してナノモル以下の高い親和性で結合し，sstr3 及び sstr5 に対する結合親和性は低く，sstr1 及び sstr4 に対してはわずかな結合親和性しか示さない。

1.3 SOM230（パシレオチド, NVP-227-230）

天然 SRIF は 5 種類のすべての sstr に高親和性で結合するのに対し，既存の SSA は，主に sstr2 を介してのみ作用する。複数の sstr サブタイプに高親和性を示す低分子量の SSA を開発することを目的とし，代謝的に安定で，sstr1，sstr2，sstr3 及び sstr5 に高親和性で結合する SOM230（パシレオチド，以下 SOM）が設計された。オクトレオチドと比較して，SOM はヒト sstr1，sstr3 及び sstr5 に対してそれぞれ 30 倍，5 倍，39 倍高い結合親和性を示し，またそれぞれ>30 倍，11 倍及び 158 倍高い機能的活性を示す。ヒト sstr2 に対しては，SOM はオクトレオチドの 2.5 分の 1 とわずかに低い結合親和性を示す。

天然 SRIF は，先端巨大症患者において下垂体腺腫細胞からの GH 分泌を抑制し，それに伴い IGF-1 の分泌を抑制することが明らかとなっている。先端巨大症患者の下垂体腺腫には，sstr2 及び sstr5 の発現が高頻度で認められ，次いで sstr1 及び sstr3 の発現も認められることから，複数の sstr サブタイプに対して高親和性を示す SOM は，オクトレオチド抵抗性の先端巨大症と下垂体性巨人症の患者に対して有効な治療選択肢となり得ると考えられる。

オクトレオチドは sstr2 を介して先端巨大症患者に有効性を示すが，奏功しない患者も 20～70%存在する（Gadelha et al. 2014）。GH 産生腫瘍では sstr2 以外の複数の sstr サブタイプが発現していることから，SOM が sstr2 以外の複数の sstr に作用すれば，オクトレオチド抵抗性の患者に対しても効果を示す可能性も考えられる。

効力を裏付ける試験において，SOM はオクトレオチドよりも優れた GH 及び IGF-1 分泌抑制作用を示した（Bruns et al. 2002，Schmid and Silva 2005，Weckbecker et al. 2002）。また，GH 分泌抑制には sstr2 に加え sstr5 サブタイプが関与することが確認されている（Weckbecker et al. 2002）。したがって，sstr5 に対して高い結合親和性及び機能活性を有する SOM は，オクトレオチド抵抗性の先端巨大症及び下垂体性巨人症患者に対しても優れた有効性を示す可能性がある。初代培養ラット下垂体細胞を用いた *in vitro* 試験において，SOM は成長ホルモン放出ホルモン（GHRH）刺激による GH 分泌を抑制し，その効力はオクトレオチドの 3 倍であった（Bruns et al. 2002）。ラットの *in vivo* 試験では，SOM の持続投与又は長時間作用型徐放性製剤（SOM LAR）投与による GH 及び IGF-1 分泌抑制作用は，強力かつ用量依存的であったのに対し [Table 2.6.3.1-RD-2011-00248]，オクトレオチドによる抑制作用は弱く一過性であった（Weckbecker et al. 2003）。早期臨床試験では，SOM の GH 分泌抑制作用は多くの先端巨大症患者で認められ，特に sstr5 を発現している先端巨大症患者ではオクトレオチドよりも強い効果を示した（van der Hoek et al. 2004b）。

副次的薬理試験において，SOM は，数種の動物モデルで副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）及びコルチゾールの分泌抑制作用を示したことから，クッシング病患者の治療薬ともなり得る。また，

初代培養ヒト下垂体腺腫細胞での *in vitro* 試験で細胞増殖抑制作用がわずかに認められたが，その作用機序は現在十分には解明されていない。SOM の GH 分泌抑制作用，*in vitro* 細胞増殖抑制作用，及び先端巨大症患者における抗腫瘍活性の強度の間に直接的な相関はないことから，これらの作用は異なる作用機序によるものと考えられる（Batista et al. 2006）。

第Ⅱ相臨床試験において，一部のオクトレオチド耐性カルチノイド患者に対して SOM が奏効した（Kvols et al. 2006）。SOM は動物モデルでの長期試験においても IGF-1 濃度に対する抑制作用が持続するため，既存の SSA の長期投与により耐性を生じたカルチノイド症候群を患う GEP-NET に対しても，有効な治療薬となる可能性がある。また，クッシング病患者の下垂体腺腫には主に sstr5 が発現していることから，sstr2 選択的なオクトレオチドが奏効しないことが明らかとなっているが，sstr5 にも作用する SOM はクッシング患者の治療薬としても有効である可能性が示唆される。

以上，SOM は，先端巨大症及び下垂体性巨人症患者，オクトレオチド又はランレオチドの長期投与中に耐性が発現した GEP-NET 腫瘍患者，そしてクッシング病患者にとって，有用でかつオクトレオチド又はランレオチドよりもさらに効果の高い治療薬となる可能性が考えられる。

2 効力を裏付ける試験

2.1 *In vitro* 薬理試験

2.1.1 ヒト sstr サブタイプに対する結合親和性

SOM，オクトレオチド及び SRIF-14 のヒト sstr サブタイプに対する結合親和性を，各 sstr を発現させた CHO 細胞（sstr1～4）及び COS 細胞（sstr5）由来細胞膜標品を用いた競合的結合試験（Bruns et al. 2002）で比較した [Table 2.6.3.1-RD-2001-01227] 。sstr リガンドには [^{125}I]Tyr^{11}-SRIF-14 を用いた。その結果，オクトレオチド及び SOM は，いずれも sstr4 に親和性を示さなかった。オクトレオチドは，sstr2 にナノモル以下の高い親和性で結合したが，sstr3 及び sstr5 に対する結合親和性は低かった。一方，SOM は，sstr1，sstr3 及び sstr5 に対してそれぞれオクトレオチドの 30 倍，5 倍，39 倍高い結合親和性を示し，sstr2 に対しては，オクトレオチドの 2.5 分の 1 の結合親和性を示した（Table 2-1）。

Table 2-1 ヒト sstr1～5 に対する SRIF-14, オクトレオチド及び SOM の結合親和性

化合物	sstr1	sstr2	sstr3	sstr4	sstr5
SRIF-14	0.93±0,12	0.15±0.02	0.56±0.17	1.5±0.4	0.29±0.04
オクトレオチド	280±80	0.38±0.08	7.1±1.4	>1000	6.3±1.0
SOM	9.3±0.1	1.0±0.1	1.5±0.3	>100	0.16±0.01

値は IC_{50}（平均値 ± SEM（nM））で示す（n=3~7）。

Source: [Table 2.6.3.1-RD-2001-01227], Bruns et al. 2002, Schmid and Schoeffter 2004

2.1.2 ヒト sstr サブタイプ発現細胞を用いた cAMP 産生に対する機能活性評価

環状アデノシン一リン酸（cAMP）は，sstr サブタイプに共通したセカンドメッセンジャーである（Weckbecker et al. 2003）。cAMP 産生阻害を指標とし，SRIF-14，オクトレオチド及び SOM の機能活性を検討した。各サブタイプのヒト sstr 遺伝子を安定的に発現させた CCL39 細胞（sstr1）又は CHO-K1 細胞（sstr2，sstr3，sstr4 及び sstr5）を用いてフォルスコリン刺激後の cAMP 産生量を測定し，各アゴニスト処置による cAMP 産生阻害率として，50%有効濃度（EC_{50}）を用量反応曲線から算出した（Schmid and Schoeffter 2004）。その結果，オクトレオチドは，sstr2 に対し極めて低い EC_{50} 値（0.06 nM）を示したことから，主として sstr2 を介して機能活性を示すことが明らかとなった（Table 2-2）[Table 2.6.3.1-RD-2003-03734]。なお，オクトレオチドの sstr2 に対する活性は，SOM の 6.5 倍高かった。一方，SOM は sstr1，sstr3 及び sstr5 に対してそれぞれオクトレオチドの 30 倍以上，11 倍及び 158 倍高い機能活性を示した。

Table 2-2 ヒト sstr1-5 発現細胞のフォルスコリン刺激 cAMP 産生に対する SRIF-14，オクトレオチド及び SOM の阻害作用

化合物／受容体	sstr1	sstr2	sstr3	sstr4	sstr5
SRIF-14	1.80 ± 1.20	0.24 ± 0.06	0.30 ± 0.13	0.39 ± 0.15	0.32 ± 0.23
オクトレオチド	>1000	0.06 ± 0.02	7.40 ± 3.5	>1000	87 ± 66
SOM	32 ± 13	0.39 ± 0.09	0.70 ± 0.22	>1000	0.55 ± 0.12

値は， EC_{50}(nM) の平均値± SEM で示す（n=3-5）。
Source: Schmid and Schoeffter 2004

2.1.3 マウス AtT20 細胞の sstr に対する結合親和性

遺伝子導入によるものではなく自然発現する sstr に対する結合親和性について，マウス AtT20 細胞を用いて検討した[Table 2.6.3.1-RD-2003-04383]。AtT20 細胞は，ACTH を産生するマウス下垂体由来の細胞で，sstr のうち sstr2 及び sstr5 サブタイプのみを発現する [Table 2.6.3.1-RD-2009-01370]。AtT20 細胞から細胞膜標品を調製し，放射性リガンド結合試験に用いた（Cervia et al. 2003a）。AtT20 細胞のホモジネートに [^{125}I]LTT-SRIF-28 （sstr5 結合標識用）又は[^{125}I]Tyr^{3}-オクトレオチド（sstr2 結合標識用）を添加し，各濃度の SOM と 1 時間インキュベートして結合親和性を検討した。なお，同細胞における SRIF-14 及びオクトレオチドの放射性リガンドを用いた結合親和性試験は，別の試験（Cervia et al. 2003a）で実施されていることから，本試験結果と比較した。

AtT20 細胞膜の[^{125}I]LTT-SRIF-28 標識部位（sstr5）及び[^{125}I]Tyr^{3}-オクトレオチド標識部位（sstr2）に対する SOM の結合親和性をTable 2-3に示す [Table 2.6.3.1-RD-2003-04383]。SOM は，AtT20 細胞膜の sstr5 及び sstr2 に対して高い親和性を示したが，sstr5 に対する親和性はより高かった（約 1 log 単位）。また，SOM は，sstr5 に対して SRIF-14 及びオクトレオチドよりそれぞれ約 0.7 及び 0.8 log 単位高い親和性を示したが，sstr2 に対する親和性は SRIF-14 及びオクトレオチドよりそれぞれ約 1 及び 0.6 log 単位低かった。

以上，AtT20 細胞の sstr5 及び sstr2 に対する結合親和性を比較すると，sstr5 に対しては SOM > SRIF-14 ≥ オクトレオチド，sstr2 に対しては SRIF-14 >オクトレオチド > SOM の順であった。以上のことから，SOM は AtT20 細胞において主に sstr5 を介して作用し，sstr2 を介した作用は相対的に弱いと推察される。

Table 2-3 AtT20 細胞の sstr に対する SOM230，オクトレオチド及び SRIF-14 の結合親和性

リガンド	N	[^{125}I]LTT-SRIF-28 (sstr5) pK_d	[^{125}I]Tyr^3-octreotide (sstr2) pK_d
SRIF-14	3	9.02 – 0.05	9.87 – 0.09
オクトレオチド	3	8.92 – 0.03	9.44 – 0.07
SOM	8	9.74 – 0.08	8.84 – 0.10

pK_d は平均-SEM (-log M, n=3～8)で示した。
なお，SRIF-14 及びオクトレオチドに対する成績はCervia et al. 2003aの成績。
Source: [Table 2.6.3.1-RD-2003-04383]，Cervia et al. 2003a

2.1.4 マウス AtT20 細胞におけるアゴニスト作用評価

sstr は G タンパク質共役型受容体であることから，アゴニストによりグアノシン三リン酸（GTP）結合量が増加する。AtT20 細胞の sstr と GTP との結合を指標に SOM の機能活性を検討した。AtT20 細胞からミクロソーム標品を調整し（Cervia et al. 2003b），受容体オートラジオグラフィー及び[^{35}S]GTPγS 結合試験に用いた。SRIF-14 及びオクトレオチドは，[^{35}S]GTPγS の結合を濃度依存的に増加させた。なお，本試験系において sstr2/5 選択的リガンドは，濃度依存的に[^{35}S]GTPγS 結合を増加させたが（pEC_{50} = 7.74～5.84，E_{max} = 76.6～20.2），sstr1/3/4 選択的リガンドは活性を示さないことが確認されている（Cervia et al. 2003b）。

SOM，SRIF-14 及びオクトレオチドの pEC_{50} 値をTable 2-4に示す[Table 2.6.3.1-RD-2003-04383]。SOM は，[^{35}S]GTPγS の結合を濃度依存的に増加させ，その作用は SRIF-14 やオクトレオチドよりも 1.5 log 程度強かった。

なお，[^{125}I]LTT-SRIF-28 との競合阻害及び cAMP 産生阻害作用は，本試験で検討した[^{35}S]GTPγS 結合増加とそれぞれ有意な相関を示し（それぞれ r = 0.862 及び r = 0.874），さらに sstr2 アンタゴニストである D-Tyr^8-CYN は，sstr2 選択的アゴニストによる[^{35}S]GTPγS 結合を競合的に阻害するが，sstr1/5 選択的アゴニストによる[^{35}S]GTPγS 結合には影響しない（Cervia et al. 2003b）ことから，AtT20 細胞における sstr2 及び sstr5 の発現と SSA によるその活性化は，各 sstr の G タンパクとの機能的カップリングの程度と一致すると考えられる。

以上の結果から，SOM は sstr2 及び sstr5 に結合し強いアゴニスト作用を示すことが示唆された（Cervia et al. 2003b）。

Table 2-4 AtT20 細胞ミクロソーム標品への [^{35}S]GTPγS 結合に対する SOM230，オクトレオチド及び SRIF-14 の影響

リガンド	N	pEC_{50}	E_{max}
SOM	13	8.20 – 0.08	59.8 – 1.7
SRIF-14	3	6.72 – 0.12	79.0 – 4.3
オクトレオチド	3	6.77 – 0.07	72.5 – 2.0

値は，薬物処理前定常状態における[^{35}S]GTPγS 結合量との比較からの， pEC_{50} (-log M) 及び E_{max} (%)– SEM を示す（n=3）。

なお，SRIF-14 及びオクトレオチドに対する成績はCervia et al. 2003bの成績。

Source: [Table 2.6.3.1-RD-2003-04383]，Cervia et al. 2003b

2.1.5 マウス AtT20 細胞における cAMP 産生阻害作用

AtT20 細胞をフォルスコリンで刺激し，産生される cAMP を， [^{3}H] アデニンプレラベリング法（Cervia et al. 2003a）により測定した。SOM，SRIF-14 及びオクトレオチドは，フォルスコリン刺激性 cAMP 産生を濃度依存的に阻害し，阻害作用の最大効果（E_{max}）は 58～64%と各処置群で同程度であった（Table 2-5） [Table 2.6.3.1-RD-2003-04383] 。SOM の pEC_{50} は最も高く，効力を比較すると，SOM ≥ SRIF-14> オクトレオチド の順であった。

Table 2-5 AtT20 細胞のフォルスコリン刺激 cAMP 産生に対する SOM，オクトレオチド及び SRIF-14 の阻害作用

リガンド	N	pEC_{50}	E_{max}
SOM	5	9.52 ± 0.15	64 ± 2
オクトレオチド	5	8.97 ± 0.06	58 ± 3
SRIF-14	5	9.33 ± 0.17	60 ± 5

値は， pEC_{50}(-log M)及び E_{max}(%) : 平均値 ± SEM で示す（n=5）。

Source: [Table 2.6.3.1-RD-2003-04383]

以上，SOM はマウス AtT20 細胞の sstr に対し高い親和性を示し，受容体に対する高い親和性が強力なアゴニスト活性に関係することが，[^{35}S]GTPγS 結合増加やフォルスコリン刺激 cAMP 産生の阻害作用の検討により示された。

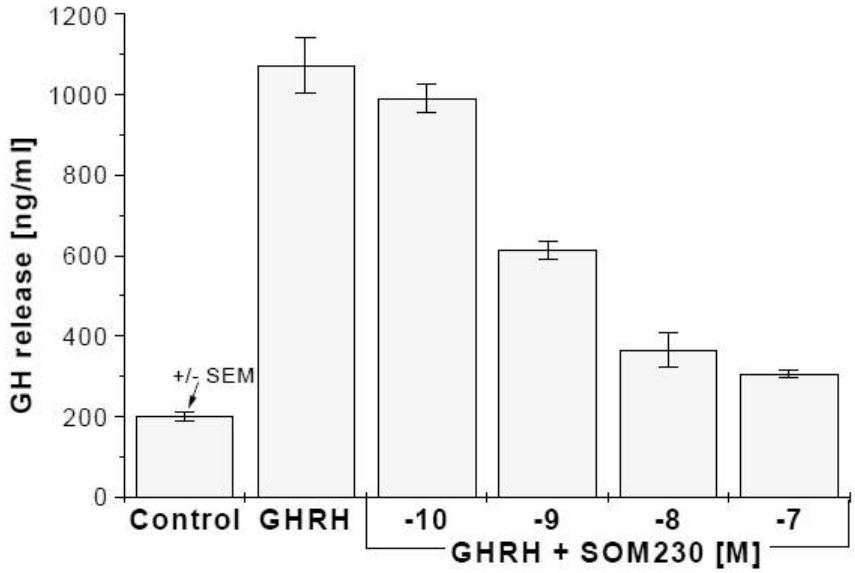
2.1.6 初代培養ラット下垂体細胞における GH 分泌抑制作用

成長ホルモン放出ホルモン（GHRH）誘発性 GH 分泌に対する SOM の抑制作用を，初代培養ラット下垂体細胞を用いて *in vitro* で測定した [Table 2.6.3.1-RD-2001-01227] 。細胞を SOM，オクトレオチドまたは SRIF-14 の存在下で培養し，GHRH（0.3 nM） 添加 3 時間で分泌される GH 分泌量を放射免疫測定（RIA）法により測定した。

SOM は初代培養ラット下垂体細胞からの GH 分泌を強力に抑制した（IC_{50} = 0.4 ± 0.1 nM）（Figure 2-1 ）。同条件下で測定したオクトレオチド及び SRIF-14 の IC_{50} 値は，それぞれ 1.3 ± 0.2 nM 及び 1.5 ± 0.3 nM であった（Bruns et al. 2002）。これらの結果を比較すると，SOM の GH 分泌抑制作用は， オクトレオチド又は SRIF-14 より約 3 倍強力であった。これらの結果から，

sstr1, sstr2, sstr3 及び sstr5 のいずれをも活性化する SOM は， sstr2 のみを活性化するオクトレオチドに比べて，強力な GH 分泌抑制作用を示すことが明らかになった。

Figure 2-1　　初代培養ラット下垂体細胞における GH 分泌抑制作用



各濃度の SOM 存在下で，ラット下垂体細胞を GHRH (0.3 nM) で刺激し，分泌された GH を RIA 法により測定した。

Source: [Table 2.6.3.1-RD-2001-01227]

2.2　*In vivo* 薬理試験

2.2.1　ラットの各種ペプチドホルモン血漿中濃度に対する作用

ラットは，SSA のホルモン分泌抑制作用の評価に適した動物種であり，オクトレオチドの GH 及び IGF-1 分泌抑制作用の確認にも用いられ，本薬の先端巨大症及び下垂体性巨人症患者などへの適応に関する研究に利用されてきた。

雄性 Sprague-Dawley ラットを麻酔し，SOM，オクトレオチド又はランレオチドを皮下投与した [Table 2.6.3.1-RD-2001-01124]，[Table 2.6.3.1-RD-2001-02406]。投与 1 時間後に断頭採血（GH，ガストリン測定用）又は門脈採血（インスリン，グルカゴン測定用）を行った。作用持続時間は，投与 6 時間後における GH の基礎分泌量に基づいて評価した。インスリン，グルカゴン及びガストリンの分泌は，それぞれグルコース，インスリン又はシメチジンにより刺激した。血漿中ホルモン濃度はいずれも RIA により測定した。

投与 1 時間後の GH 基礎分泌に対する抑制作用は，SOM とオクトレオチドではほぼ同等であった。しかしながら 6 時間後には SOM がオクトレオチドの 4 倍を上回る抑制作用を示し，SOM の作用はより長時間持続することが示唆された。SOM のグルカゴン及びグルコース刺激性ガストリン分泌に対する抑制作用は，オクトレオチドと比較して非常に弱かった（それぞれ 44 分の 1

及び 37 分の 1）が，グルコース刺激性インスリン分泌に対する抑制作用は 100 倍強かった（Table 2-6）。なお，SOM の強力なインスリン分泌抑制作用は基礎インスリン分泌においても認められ，オクトレオチドの約 11 倍強く抑制した（Bruns et al. 2002）。ランレオチドの基礎 GH 分泌抑制作用は，SOM 及びオクトレオチドよりも明らかに弱かった（Table 2-6）[Table 2.6.3.1-RD-2001-01124]，[Table 2.6.3.1-RD-2001-02406]。

Table 2-6　ラットにおける種々のペプチドホルモンの血漿中濃度に対する SOM，オクトレオチド及びランレオチドの作用

化合物		GH basal ID_{50} µg/kg s.c. 1h	GH basal ID_{50} µg/kg s.c. 6h	Insulin stim. ID_{50} µg/kg s.c. 1h	Glucagon stim. ID_{50} µg/kg s.c. 1h	Gastrin stim. ID_{50} µg/kg s.c. 1h
オクトレオチド	平均値	0.13	23.7	84.4	1.69	25.7
	N	22	6	8	6	6
	SEM	0.11-0.16	16.9-33.2	62.8-113.6	1.43-2.00	15.5-42.6
ランレオチド	Mean	1.8	144.0	nd	nd	nd
	N	2	2			
	SEM	1.6, 2.1	58, 360			
SOM	Mean	0.22	5.5	0.83	74.00	949.0
	N	3	2	3	2	2
	SEM	0.12-0.4	4.6, 6.6	0.70-0.99	62, 88	600, 1500

N=2 の場合は，各実験の値を並べて記載した。nd= 未実施。
なお，ランレオチドに対する成績のみ，[Table 2.6.3.1-RD-2001-01124]の成績。
Source: [Table 2.6.3.1-RD-2001-01124]，[Table 2.6.3.1-RD-2001-02406]

以上，SOM は，オクトレオチドと同程度あるいはそれ以下の用量で GH 分泌を抑制し，その作用がより長く持続することが示唆された。また，SOM は，オクトレオチドより強力なインスリン分泌抑制作用を示したが，グルカゴン及びガストリン分泌抑制作用は非常に弱かった。なお，ラットにおけるこのような選択的作用はアカゲザルで見られる作用とは一部異なっており，アカゲザルにおいて，SOM の GH 及びグルカゴン分泌に対する抑制作用はオクトレオチドと比べてそれぞれ同等か弱かったが，インスリン分泌に対してもオクトレオチドと比べて弱い抑制作用しか示さなかった（Table 2-8）。

2.2.2　ラットの血漿中 GH 基礎濃度に対する作用

雄性 Sprague-Dawley ラット（各群 n=6）に，SOM 又はオクトレオチドを 10 µg/kg の用量で 1 日 2 回（6 時間間隔），2 日間皮下投与し，各投与直前及び投与 1 時間後に舌下採血を行った（700 µL）。血漿中 GH 濃度は，アマシャム バイオサイエンス社の RIA キット（rGH [^{125}I]Biotrak Assay system，コード RPA551）を用いて測定した [Table 2.6.3.1-RD-2003-03428]。GH の分泌パターンは脈動的であるため， 4 回の投与前における平均血漿中 GH 濃度は，各群において各回とも 30～300 ng/mL の間で大きなばらつきが認められた。SOM 及びオクトレオチド初回投与前の GH ベースライン値は同等であったが，両 SSA 投与 1 時間後の血漿中 GH 濃度はすべて検

出限界 8 ng/mL を下回った。SOM の初回投与 6 時間後の血漿中 GH 濃度は，オクトレオチドの初回投与 6 時間後の血漿中 GH 濃度より低い値を示しており，初回投与直前の時点における血漿中 GH 濃度と比較して有意に低かった（$p < 0.05$）。

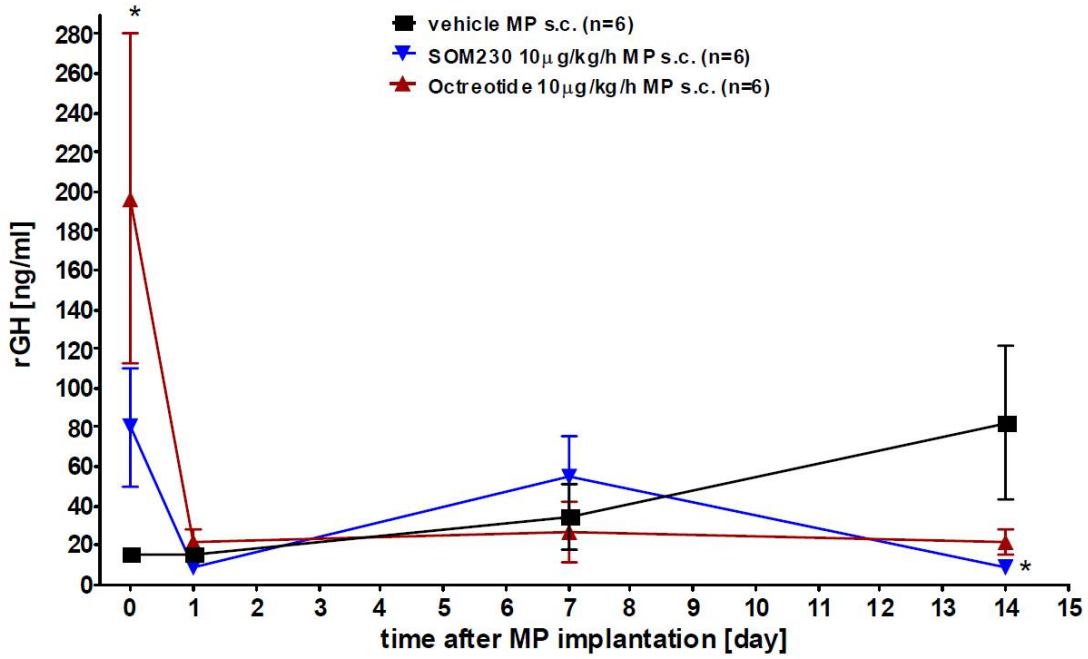
2.2.3 ラット 14 日間持続投与による基礎 GH 及び GHRH 刺激性 GH 分泌，及び IGF-1 分泌に対する作用

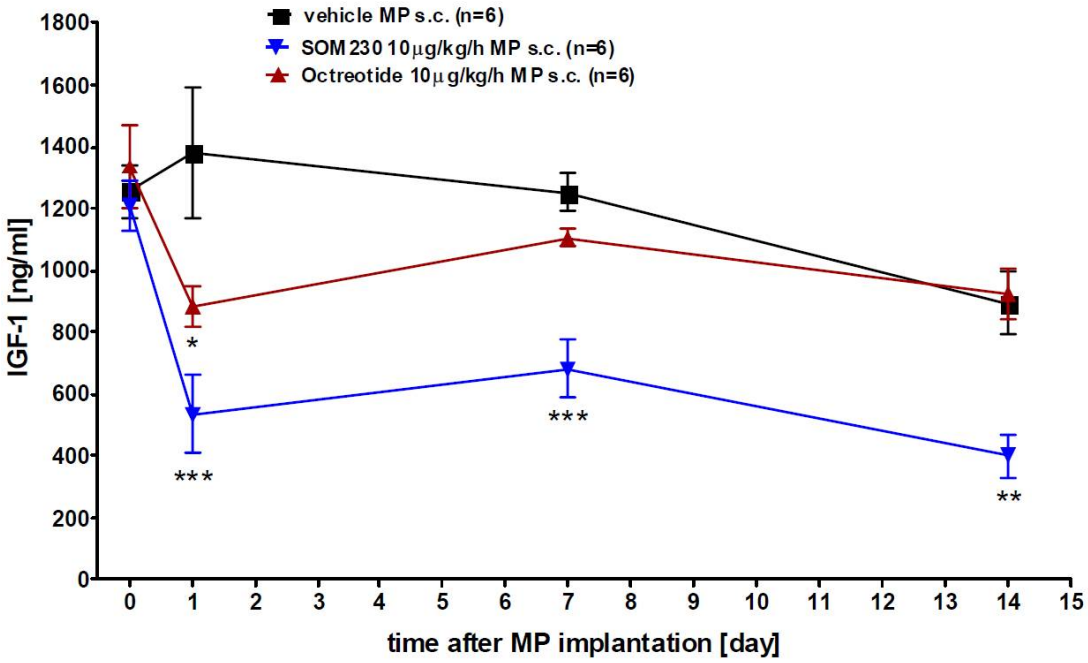
SOM 及びオクトレオチドを慢性投与した時の，基礎 GH 及び GHRH 刺激性 GH 分泌，及び IGF-1 分泌に対する作用について，雄性 Lewis ラットに浸透圧ミニポンプ（ALZET® MINI-OSMOTIC PUMP MODEL 2002，0.5 µL/h で 14 日間送達）を用いた持続投与により検討を行った [Table 2.6.3.1-RD-2011-00248]。

各 SSA 又は溶媒を浸透圧ミニポンプに充填し，ラット背部皮下に埋め込んだ。浸透圧ミニポンプを埋め込む直前，さらに 1，7 及び 14 日後の GHRH 尾静脈投与（5 µg/mL，生理食塩液中）直前及び投与 10 分後に舌下採血（350 µL）を行った。GH 分泌は脈動的に起こるため，基礎分泌よりも刺激性分泌に対する抑制作用を評価した方がより信頼性の高い結果が得られると考えられることから，SOM 長期投与による基礎 GH（Figure 2-2）及び GHRH 刺激性（Figure 2-3）の GH 及び IGF-1 分泌に対する作用を別に評価するため，GHRH 刺激の直前と刺激 10 分後に分けて解析した。投与前の基礎 GH 濃度の平均値は，8～577 ng/mL の範囲であった。投与開始 1 日後の投与群及び非投与群の血漿中 GH 濃度は定量限界以下であった（Figure 2-2）。GHRH の投与（5 mg/kg，静脈内）により，溶媒対照群における 1，7 及び 14 日目の血漿中 GH 濃度は著しく上昇した（Figure 2-3）。GHRH 刺激性 GH 分泌に対し，オクトレオチド投与で有意な低下がみられたのは 14 日目のみであったが，SOM 投与群では，いずれの測定日においても有意な低下が認められた（Figure 2-3）。

IGF-1 分泌に対しても同様に，SOM はオクトレオチドよりも強力かつ持続的に抑制した（Figure 2-3）。浸透圧ミニポンプを用いて持続投与したにもかかわらず，オクトレオチドによる抑制作用は一過性であった。GHRH 非刺激性（Figure 2-2）及び GHRH 刺激性（Figure 2-3）条件下での IGF-1 濃度は非常に類似しており，GH 分泌の GHRH 刺激に対する反応性は速やかであるのに対し，IGF-1 分泌の GH 濃度上昇に対する反応性は遅いと考えられる。

Figure 2-2 **ラットにおける基礎 GH 及び IGF-1 濃度に対する SOM 及びオクトレオチドの作用**

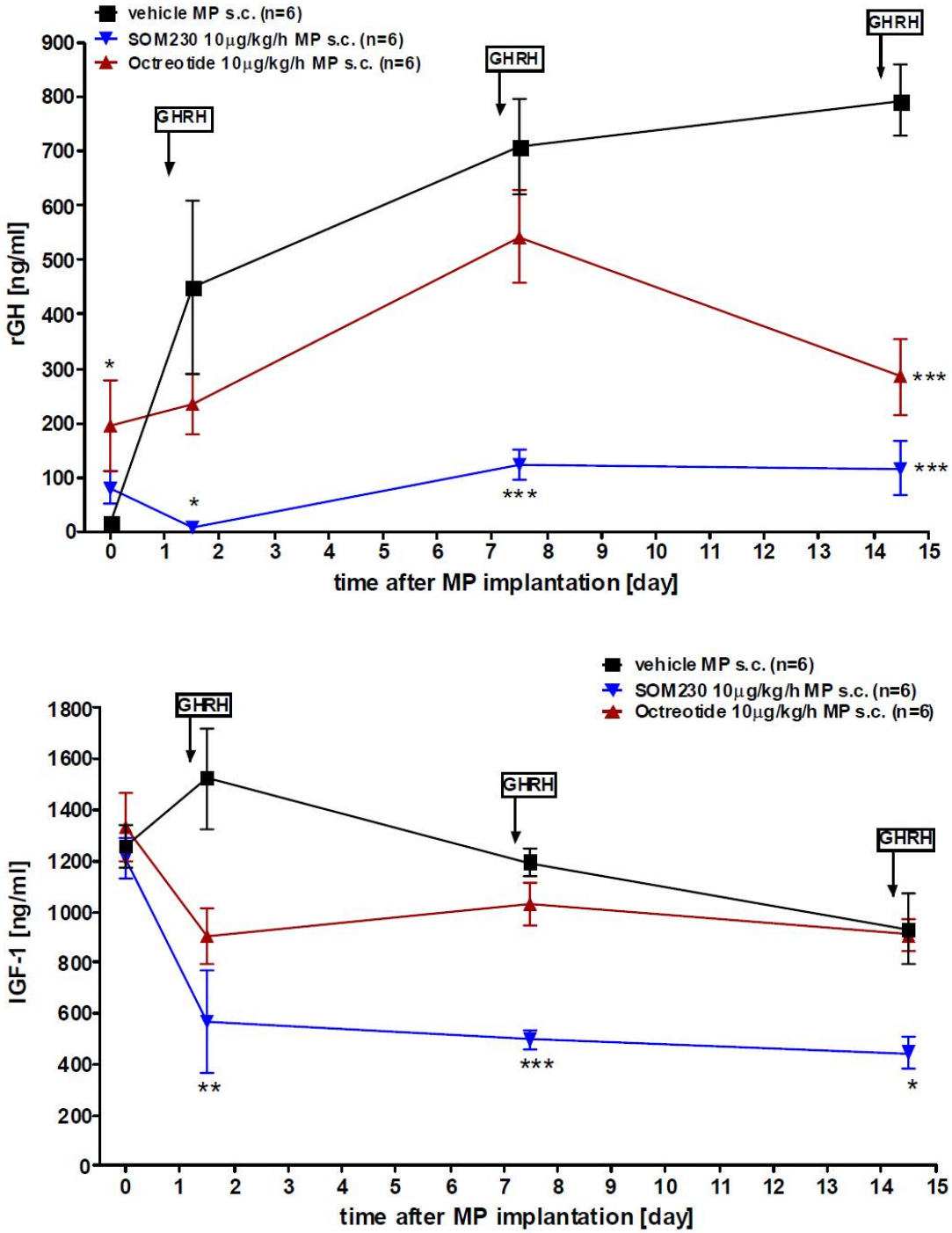




雄性 Lewis ラットに浸透圧ミニポンプを用いて，SOM 又はオクトレオチド（10 µg/kg/h）を 14 日間持続投与した（n=6）。GHRH 刺激前の基礎 GH 及び IGF-1 濃度を測定した。

Source: [Table 2.6.3.1-RD-2011-00248]

Figure 2-3 ラットにおける GHRH 刺激性 GH 及び IGF-1 濃度に対する SOM 及びオクトレオチドの作用



雄性 Lewis ラットに浸透圧ミニポンプを用いて，SOM 又はオクトレオチド（10 µg/kg/h）を 14 日間持続投与した（n=6）。GHRH 刺激前の基礎 GH 及び IGF-1 濃度を測定した。

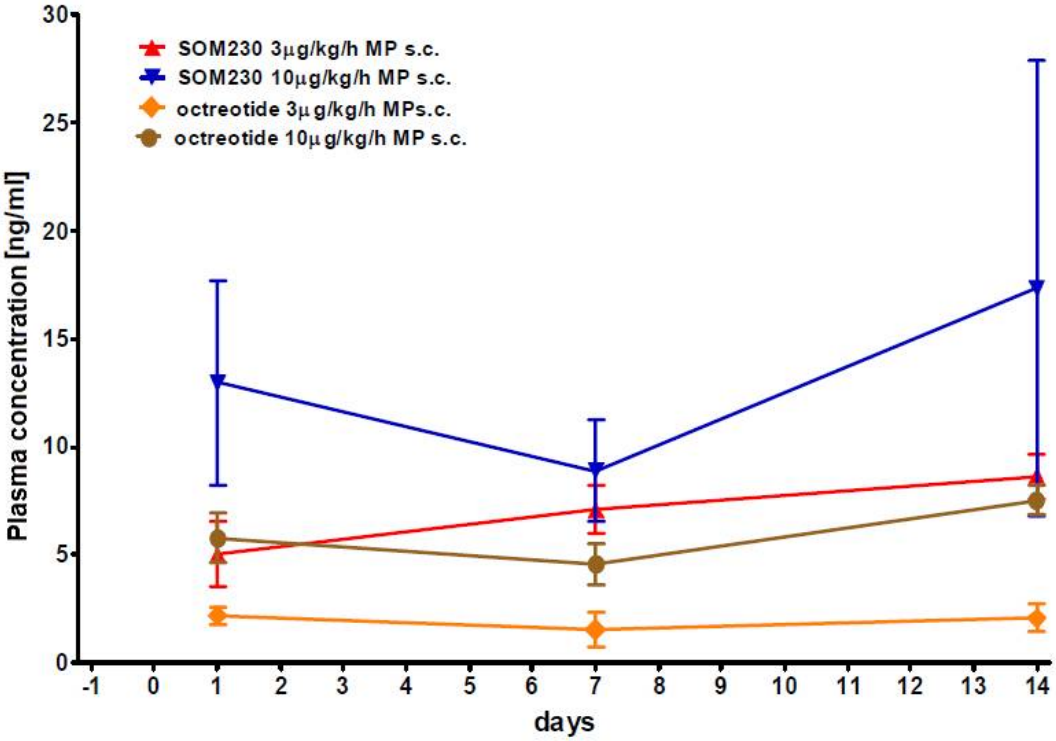
Source: [Table 2.6.3.1-RD-2011-00248]

2.2.4 ラット 14 日間持続投与時の SOM 及びオクトレオチドの血漿中濃度

前項の有効性試験で血漿中薬物濃度を測定した。雄性 Lewis ラット（n=6）に SOM 及びオクトレオチドを浸透圧ミニポンプ ALZET® MINI-OSMOTIC PUMP MODEL 2002，0.5 μL/h で 14 日間送達）により投与し，血漿中薬物濃度について検討した [Table 2.6.3.1-RD-2011-00248]。浸透圧ミニポンプ埋め込みの直前，さらに 1，7 及び 14 日後に舌下採血（350 μL）を行い，液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析（LC-MS/MS）法を用いて薬物濃度を測定した。SOM 及びオクトレオチド（各々3 及び 10 μg/kg/h）持続投与時の平均血漿中濃度は，14 日間の試験期間を通じて安定していた。オクトレオチドを 3 μg/kg/h の用量で投与した時の血漿中オクトレオチド濃度は約 2 ng/mL で安定していた。同じく 10 μg/kg/h の用量で投与した際の血漿中濃度は 5～7 ng/mL の狭い範囲に留まり，3 μg/kg/h 投与時の血漿中濃度より約 3 倍高かった。同様に SOM を 3 μg/kg/h の用量で投与した時の血漿中 SOM 濃度も，14 日間の試験期間を通じて 5～8 ng/mL の狭い範囲に留まり，高用量の 10 μg/kg/h における平均血漿中濃度は 9～18 ng/mL であった。オクトレオチド及び SOM の血漿中濃度は用量に比例しており，本試験の条件下では経時的な薬物の蓄積は認められなかった。

以上，2.2.3 項に示した有効性試験における SOM 10 μg/kg/h 投与時の血漿中 SOM 濃度は，14 日間を通して 9～18 ng/mL と比較的安定しており，本濃度が強力かつ持続的に GH 及び IGF-1 分泌抑制作用を発揮するのに必要な濃度であると考えられた。

Figure 2-4　ラットに SOM 及びオクトレオチド (3 及び 10 µg/kg/h) を持続投与した時の血漿中薬物濃度



SOM 又はオクトレオチド（3 及び 10 µg/kg/h）を浸透圧ミニポンプを用いラットに持続的に皮下投与した (n=6)。採血は各同一個体から舌下採血によって行い，血漿中薬物濃度は LC-MS/MS 法を用いて測定した（定量下限 0.5 ng/ml）。

Source: [Table 2.6.3.1-RD-2011-00248]

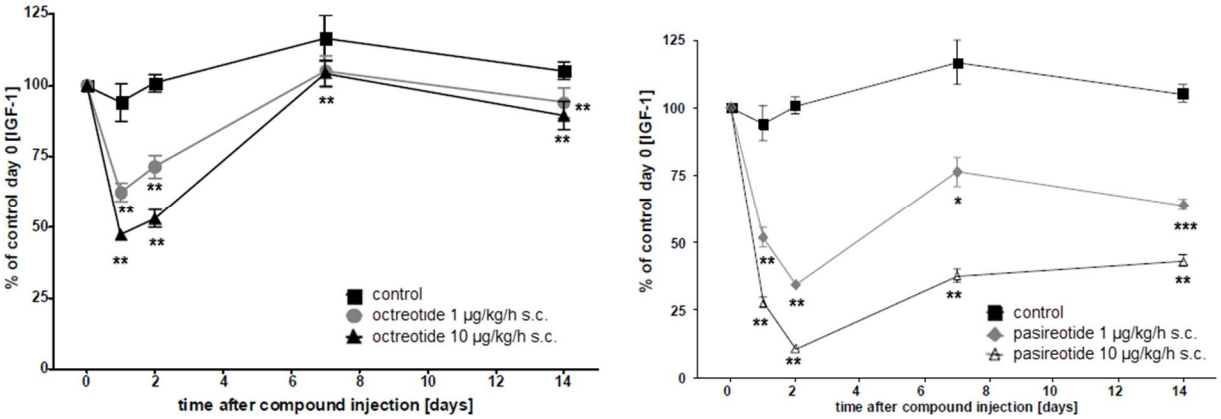
2.2.5　ラット 14 日間持続投与時の血漿中 IGF-1 濃度及び体重に対する作用

雄性 Lewis ラットに SOM 又はオクトレオチドを 1，10 又は 50 µg/kg/h の用量で 14 日間，浸透圧ミニポンプを用いて皮下持続投与し，血漿中 IGF-1 濃度及び体重に対する影響について検討した [Table 2.6.3.1-RD-2001-01157]。SOM 及びオクトレオチドの持続投与によって，用量依存的な血漿中 IGF-1 濃度の低下が認められた。また，SOM の血漿中 IGF-1 濃度低下作用はオクトレオチドよりも強く，2.2.3 項に示した IGF-1 分泌抑制作用の検討結果と一致した（Table 2-7）。全投与期間にわたり持続投与したにもかかわらず，オクトレオチドの血漿中 IGF-1 濃度低下作用は一過性であり，血漿中 IGF-1 濃度は投与 1 週間の時点でベースライン値に戻った。一方，SOM の持続投与では，血漿中 IGF-1 濃度は 2 日目にさらに低下し，7 日目及び 14 日目においても顕著な低下作用が維持された（Figure 2-5）。以上の結果から，SOM はオクトレオチドと比べてより持続した強い血漿中 IGF-1 濃度低下作用を示したことからタキフィラキシーをより起こしにくいと考えられた。なお，オクトレオチド 50 µg/kg/h 投与群で 14 日目の血漿中 IGF-1 濃度が明らかに不自然な低値を示し，血漿中オクトレオチド濃度も同様に低値であったことから，浸透圧ポンプの不具

合などの実験手技上の過誤と判断し，SOM 及びオクトレオチドの 50 µg/kg/h 投与群の結果をグラフから除外することとした。

体重増加量の変化は，GH/IGF-1 シグナルに対する抑制作用の重要な指標になると推察されることから，IGF-1 測定と平行して，オクトレオチド及び SOM 投与（10 µg/kg/h）がラットの体重変化に及ぼす作用を検討した。溶媒，オクトレオチド及び SOM 投与群の投与 14 日後の体重増加率は，各ベースライン値と比較してそれぞれ 27%，16%及び–3%と SOM 投与で低値であった（Weckbecker et al. 2002）。この結果は， SOM がオクトレオチドと比較してより強い GH/IGF-1 分泌抑制効果を示すことと一致する。なお，試験期間を通じて SOM を投与した動物の一般状態に異常は認められず，56 日間の長期持続投与後まで体重増加は完全に抑えられていた（Weckbecker et al. 2002）。

Figure 2-5　ラットに SOM 及びオクトレオチド (1 及び 10 µg/kg/h) を持続投与した時血漿中 IGF-1 濃度



値はベースライン値に対する変化率（%）で示す。SOM 及びオクトレオチドは，1，10 µg/kg/h の用量で浸透圧ミニポンプを用いて皮下投与した。オクトレオチド（左図）では，7 日目の 1 µg/kg/h 投与群を除くすべてのポイントについて，対照群と比較して統計学的有意な差が認められた。SOM 投与（右図）では，すべての用量及びポイントにおいて対照群と比較して統計学的有意な差が認められた。*P<0.05，**P<0.01，***P<0.001 vs 対照群。

Source: [Table 2.6.3.1-RD-2001-01157]

Table 2-7　オクトレオチド及び SOM 投与時の血漿中 IGF-1 濃度の変化率及び ID_{50} 値

	Day 1, µg/kg/h			ID_{50}	Day 7, µg/kg/h			ID_{50}
化合物	1	10	50	µg/kg/h	1	10	50	µg/kg/h
オクトレオチド	63%	50%	32%	8.0	89%	90%	64%	95.0
SOM	54%	29%	32%	1.4	65%	32%	29%	2.8

値は，浸透圧ミニポンプでの投与開始後 1 及び 7 日目における，対照群に対する血漿中 IGF-1 濃度の変化率（%）及び ID_{50} 値を示す。

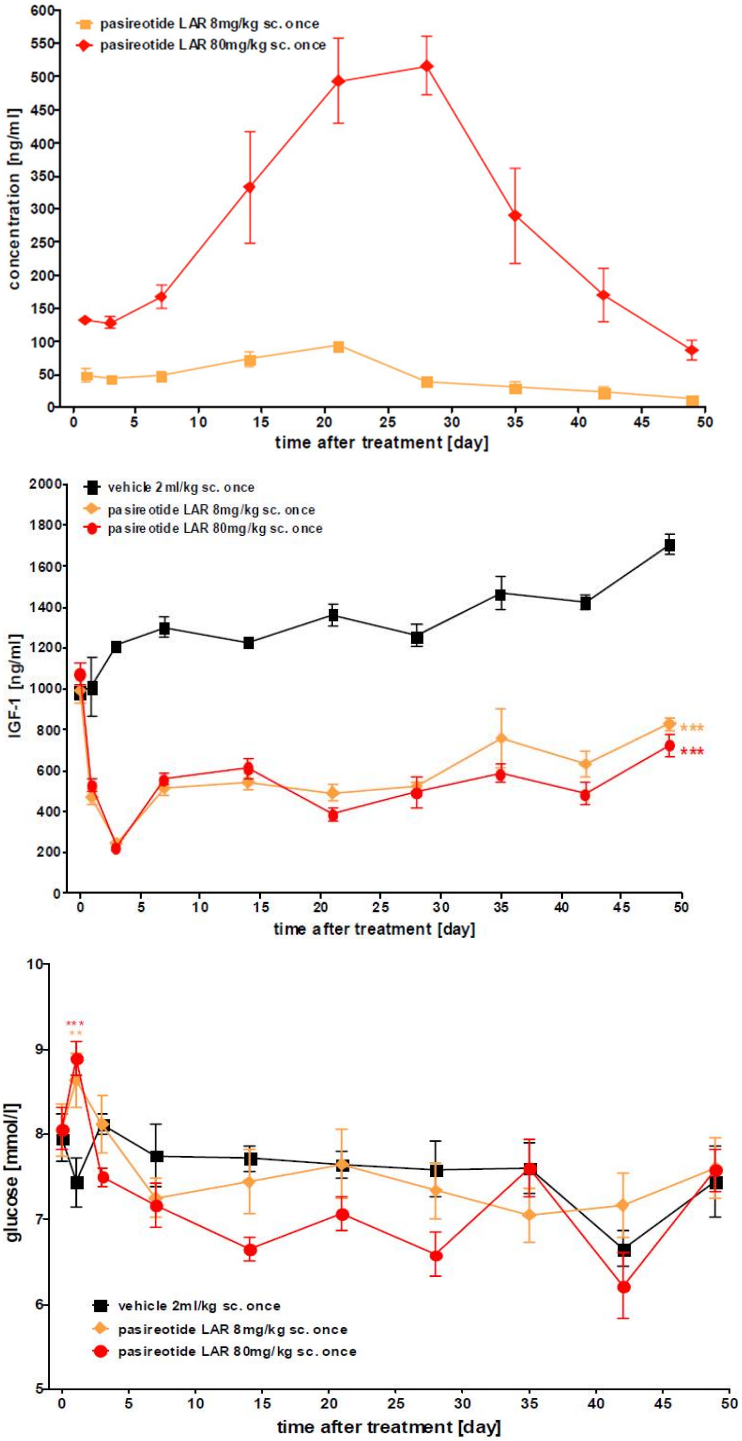
Source: [Table 2.6.3.1-RD-2001-01157]

2.2.6 ラットに SOM LAR を皮下投与した時の血漿中グルコース，IGF-1 及び SOM 濃度

雄性 Lewis ラット（各群 n=6）に SOM LAR を 8 及び 80 mg/kg の用量で皮下投与し，血漿中グルコース及び IGF-1 濃度に対する抑制作用と，血漿中 SOM 濃度を測定した。SOM LAR は粘度が高いため，投与液はいずれの用量においても 2 mL/kg となるよう調製した。投与 0，1，3，7，14，21，28，35，42 及び 49 日後に舌下採血を行った。血漿中グルコース濃度は Accu-Check® compact（Roche Diagnostics，ドイツ）により測定し，血漿中 IGF-1 及び SOM 濃度は酵素結合免疫測定法（ELISA）法又は LC-MS/MS 法を用いて測定した[Table 2.6.3.1-RD-2011-00248]。

SOM LAR の投与日における血漿中 SOM 濃度は，8 及び 80 mg/kg でそれぞれ 49 及び 132 ng/mL であった。8 mg/kg 投与群の血漿中 SOM 濃度は，21 日目に最高値の 93 ng/mL に達し，その後はしだいに低下して 49 日目には 13 ng/mL となった（Figure 2-6）。80 mg/kg 投与群の血漿中 SOM 濃度は，28 日目に最高値の 516 ng/mL に達し，その後はしだいに低下して 49 日目には 86 ng/mL となった。一方，IGF-1 濃度は投与 3 日後に対照群の 25%まで低下して最小値を示し，以降は対照群の約 50%までの低下が持続し，安定した抑制が認められた（Figure 2-6）。用量の違いにより血漿中 SOM 濃度に大きな差がみられたにもかかわらず，IGF-1 抑制作用はほぼ同等であった。なお，グルコース濃度は，1 日目にわずかな上昇が認められたことを除き，試験期間を通して有意な変化はなかった（Figure 2-6）。

Figure 2-6　　ラットに SOM LAR （8 及び 80 mg/kg）を皮下投与した時の血漿中 SOM 濃度，IGF-1 濃度及びグルコース濃度



血漿中 SOM 濃度は ELISA キットを用いて測定した（定量限界：0.8 ng/mL）。ラット IGF-1 は EIA kit (Immunodiagnostics Systems: AC-18F1)を用いて測定した（定量限界：153 ng/mL）。血漿中グルコース濃度は Accu-Check® compact（Roche Diagnostics）を用いて測定した（定量限界：0.6 mM）。

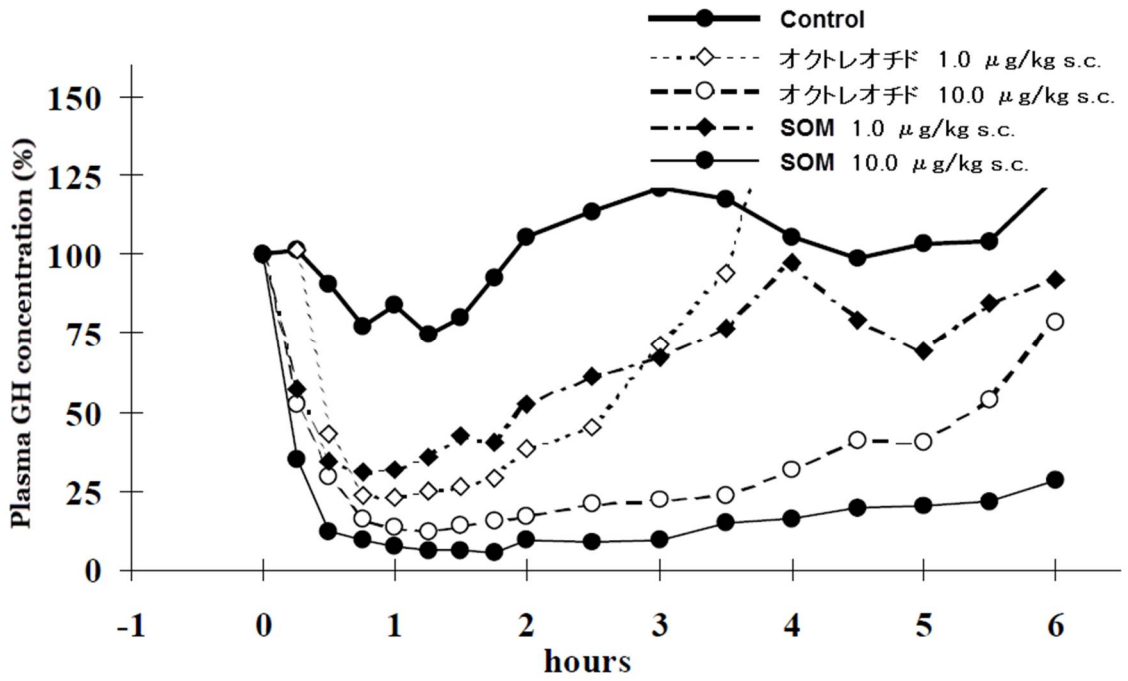
Source: [Table 2.6.3.1-RD-2011-00248]

2.2.7 アカゲザルに SOM 及びオクトレオチドを皮下投与したときの血漿中 GH，インスリン及びグルカゴン濃度に対する作用

アカゲザルに SOM 及びオクトレオチドを皮下投与し，血漿中の GH，グルカゴン及びインスリン基礎分泌，及び血漿中グルコース濃度に対する作用を比較した。投与後 30 分から 2 時間までの各ホルモンの血漿中濃度をベースライン値に対する変化率（%）で表し，ID_{50} 値を算出した[Table 2.6.3.1-RD-2001-01158]。

各ホルモンの基礎分泌に対する SOM 及びオクトレオチドの ID_{50} 値を，ラットとの比較でTable 2-8に示した。GH 分泌に対する ID_{50} 値は SOM とオクトレオチドで同等であったが，インスリン及びグルカゴンに対する ID_{50} 値はオクトレオチドより低かった。SOM の GH 分泌に対する ID_{50} 値は，ラット (2.2.1 項，[Table 2.6.3.1-RD-2001-02406])及びアカゲザル [Table 2.6.3.1-RD-2001-01158] のいずれにおいてもグルカゴン，インスリン分泌に対する ID_{50} 値より低値で，GH に対する選択性がみられた。なお，血漿中グルコース濃度は，ラット（2.2.6 項）とは対照的に，サルでは SOM 又はオクトレオチドの投与後 1～2 時間で低下傾向がみられ，ピーク時の低下率は 14%程度であった。

Figure 2-7 アカゲザルに SOM 及びオクトレオチド（1 及び 10 µg/kg）を皮下投与したときの血漿中 GH 濃度



値はベースライン値に対する変化率（%）で示す。
Source: [Table 2.6.3.1-RD-2001-01158]

Table 2-8 アカゲザル及びラットにおける SOM 及びオクトレオチド皮下投与による GH，グルカゴン，及びインスリン阻害作用

	アカゲザル		ラット	
	オクトレオチド	SOM230	オクトレオチド	SOM230
	ID_{50}		ID_{50}	
GH	0.40	0.50	0.13	0.22
グルカゴン	0.12	6.20	1.69	74.00
インスリン	1.70	10.50	84.40	0.83

ID_{50} 値 (μg/kg)は，サルでは投与後 0.5 及び 2 時間後の測定値の平均値を，ラットでは投与後 1 時間の測定値を用いて算出した。

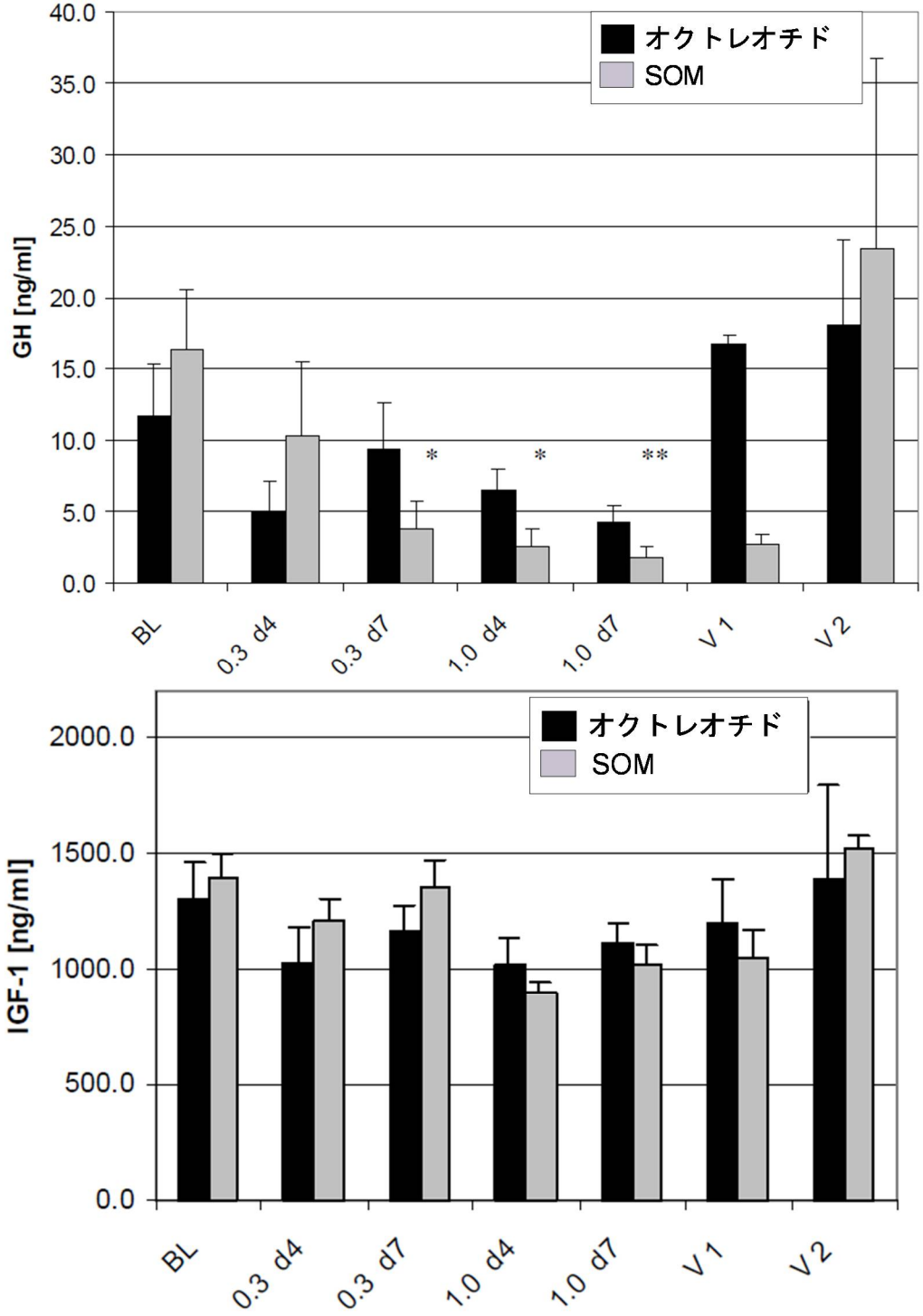
Source: [Table 2.6.3.1-RD-2001-01158]

2.2.8 カニクイザルに SOM 及びオクトレオチドを 7 日間持続投与したときの血中ホルモン基礎分泌に対する作用

カニクイザルを用いた持続投与試験 [Table 2.6.3.1-RD-2001-01123] において，SOM 及びオクトレオチドの内分泌，血液生化学及び血液学的パラメータに対する作用を比較した。各 2 用量（0.3 及び 1.0 μg/kg/h）の 7 日間クロスオーバー法で実施し，持続投与のため皮下浸透圧ミニポンプを用いた。SOM は血漿中 GH 濃度を用量依存的かつ著明に低下させ，その作用は投与終了後も持続した。一方，オクトレオチド投与後にみられた GH 低下作用は一過性で，SOM 投与後と比較して明らかに軽度であった。しかしながら，インスリン刺激によって分泌された GH に対しては，SOM とオクトレオチドで同程度の抑制を示した（ピーク値で有意差なし）。SOM の高用量投与群（1.0 μg/kg/h）では，基礎 IGF-1 濃度についても統計学的（t 検定）に有意な低下が認められたが，オクトレオチドでは有意な低下はみられなかった。

血漿中インスリン及びグルカゴン濃度は，SOM 及びオクトレオチドのいずれの投与中にも明らかな影響を受けず，投与終了後にはオクトレオチドで血漿中インスリン濃度の増加が認められたが，SOM 投与終了後には変化は認められなかった。なお，血清グルコース濃度には SOM 及びオクトレオチド，いずれの投与群においても，ベースライン値を上回る増加はみられなかった。したがって，サルに長期で持続投与した場合においても，SOM はオクトレオチドと比べて強い血漿 GH 分泌抑制作用が減弱することなく持続した。

Figure 2-8　カニクイザルに SOM 及びオクトレオチド（0.3 及び 1.0 µg/kg/h）を持続皮下投与したときの血漿中 GH 及び IGF-1 濃度



ベースライン値は，投与開始前 1 週間の間に測定した。値は，V1 及び V2 群は n=3，それ以外の群は n=6 の平均値 ± SEM で示した。群間比較には，両側 t 検定を用いた。*P < 0.05, **P < 0.01 vs. 対照群。

Source: [Table 2.6.3.1-RD-2001-01123]

2.3 その他の薬理試験

2.3.1 薬物動態（PK）と薬力学（PD）との相関性

オクトレオチド及びランレオチドは，現在，先端巨大症及び下垂体性巨人症の標準治療薬である。SOM は sstr2 をオクトレオチドと同程度の親和性で活性化し，さらに sstr1，sstr3 及び sstr5 に対してはオクトレオチドよりも高い親和性と機能活性を示したことから，SOM は本疾患においてオクトレオチド以上の効力を示すと考えられる。適切な病態モデルが存在しないこと，また早期に先端巨大症患者を対象とした SOM の臨床試験を実施したことから，PK/PD の検討としては，ラットを用いた限られた試験のみを実施した。その結果については2.2 項に示した。

2.3.2 他剤との併用効果

本適応症のための非臨床試験において，併用投与は実施していない。

2.4 作用機序

天然 SRIF は GH 分泌を抑制するが，半減期が短いため臨床使用はできない。主に sstr2 を活性化するオクトレオチドは，先端巨大症及び下垂体性巨人症の長期治療薬として多くの患者で奏効するが，すべての患者に対して有効ではない。また，GH 分泌抑制には sstr2 に加えて sstr5 サブタイプが関連することが既に示されている（Weckbecker et al. 2002）。ヒトの GH 産生下垂体腺腫細胞を用いた *in vitro* 試験から，オクトレオチドあるいは sstr2 選択的 SSA は，GH 分泌を部分的に抑制したにすぎなかったが，sstr5 選択的 SSA はより強力な GH 分泌抑制作用を示し，両 SSA を併用投与したときには，さらに強力な作用が認められた（Shimon et al. 1997）。

GH 分泌を最大限に抑制するためには，sstr2 に加えて他の sstr にも作用することが重要と考えられることから，複数の sstr に結合する SOM は，主として sstr2 に作用するオクトレオチドよりも優れた有効性を示すと考えられた。また，クッシング病にはオクトレオチドは奏効しないが，同様の根拠により SOM が奏効する可能性も示唆されている（van der Hoek et al. 2005，van der Hoek et al. 2004a）。

以上，SOM は，先端巨大症及び下垂体性巨人症患者の GH 産生腫瘍に存在する sstr1，sstr2，sstr3 及び sstr5 を活性化させる。これらの G タンパク質共役受容体の活性化により，cAMP 産生が阻害され GH 分泌が抑制される（Weckbecker et al. 2003）。GH は IGF-1 分泌を制御するホルモンであり，GH 低下により肝臓における IGF-1 産生が低下する。このように GH 及び IGF-1 分泌を低下させることにより，本適応疾患の治療効果が期待される。SOM の細胞増殖抑制作用の機序は現在のところ十分に解明されていないが，おそらく分泌抑制作用とは異なる機序であり，下垂体腺腫細胞に対する直接的及び間接的作用が関与していると考えられる（Schmid 2010）。

3 副次的薬理試験

3.1 *In vitro* 薬理試験

3.1.1 初代培養ヒト下垂体腺腫細胞及びマウス AtT20 細胞における ACTH 分泌に対する作用

初代培養ヒト下垂体腺腫細胞及びマウス AtT20 細胞を用いて、ACTH 分泌に対する SOM 及びオクトレオチドの抑制作用について検討した（Hofland et al. 2005）。

下垂体腺腫患者 5 例の腫瘍組織から調製した初代培養細胞に対し，SOM（10 nM）は，5 株中 3 株で ACTH 分泌を有意に抑制した（30～40%）。一方，オクトレオチド（10 nM）は 1 株のみで ACTH 分泌を抑制（28%）した。

5 株のうち，十分な細胞数が得られた 1 例の初代培養細胞を用いて，SOM，オクトレオチド及び SRIF-14 の経時的な作用を検討したところ，SOM 及び SRIF-14 ではインキュベート開始から 72 時間後のみ ACTH 分泌に対して有意な抑制作用を示したが，オクトレオチドはいずれの時間においても有意な作用を示さなかった。

同様の試験をマウス AtT20 細胞でも実施した。本細胞は自発的に ACTH を分泌する。ヒト初代培養細胞における所見と一致して，SOM 及び SRIF-14（10 nM）は AtT20 細胞の ACTH 分泌を抑制したが，オクトレオチド（10 nM）では抑制はみられなかった。SOM の ACTH 分泌抑制作用の IC_{50} 値は 0.2 nM であり，AtT20 細胞を用いた sstr5 に対する結合親和性（0.18 nM）（Table 2-3）成績と一致する。一方，オクトレオチドの ACTH 分泌抑制効果は非常に低く，100 nM で軽度の抑制が認められたにすぎなかった。一方，副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン（CRH）で誘発した ACTH 分泌に対しては，オクトレオチドは 52%，SRIF-14 は 47%の有意な抑制作用を示した。CRH で誘発した ACTH 分泌に対する SOM の作用はさらに強く，76%の抑制作用を示した（Hofland et al. 2005）。

3.1.2 初代培養ヒト下垂体腺腫細胞の増殖及び ACTH 分泌に対する作用

下垂体腺腫患者 6 例の腫瘍組織から初代培養細胞を調製した（Batista et al. 2006）。調製した細胞を 10^{-7}，10^{-8}，10^{-9} M の濃度の SOM230 で 24，48，72 及び 96 時間処理し，各処理時間終了後の生細胞数及び培養液上清の ACTH 濃度を測定した。なお，6 株の初代培養細胞のうち，4 株（No. 1，2，3 及び 6）では十分な試料が得られたため，すべての処理時間での測定が可能であったが，2 株（No. 4 及び 5）では十分量の試料が得られなかったため，48 時間及び 72 時間処理後にのみ生細胞数及び ACTH 濃度を測定した。また，上記 6 例を含む 13 例の初代培養細胞の各 sstr 発現を，逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）によって検討した。

その結果，SOM は，6 株中 5 株で初代培養細胞からの ACTH 分泌を有意に抑制した。ACTH 分泌抑制作用の最大効果は 10^{-8} 又は 10^{-9} M の濃度で認められ，また，最大効果発現時間は 3 株（No. 1，2 及び 3）で 96 時間（抑制率はそれぞれ 31%，47%及び 47%），2 株（No. 4 及び 5）で

は 72 時間（抑制率はそれぞれ 29%及び 23%, No. 5 は有意差なし），及び他 1 株（No. 6）で 48 時間（抑制率：56%）であった。SOM は全 6 株において有意な増殖抑制作用を示し，その抑制率は 10～70%（No. 1：52%， No. 2：22%， No. 3：10%， No. 4：70%， No. 5：43%及び No. 6：61%）であった。増殖抑制率と ACTH 分泌抑制率の間に相関はみられず，No. 3 では，SOM は ACTH 分泌を 47%抑制したが，細胞増殖抑制作用は 10%であり，統計学的有意ではあるが軽微であった（P = 0.001）。さらに，No. 5 における SOM の ACTH 分泌抑制作用は，23%と弱い抑制傾向を示したのみであった（P = 0.083）が，細胞増殖抑制作用は 43%（P = 0.001）と相対的に高値であった。RT-PCR を用いた初代培養細胞の遺伝子発現解析によると，sstr1，sstr2 及び sstr5 は，13 株のうちそれぞれ 92%，69%及び 100%の細胞株に発現していた。

3.2 *In vivo* 薬理試験

3.2.1 ラットに CRH で誘発した ACTH 及びコルチコステロン分泌に及ぼすオクトレオチド又は SOM 静脈内投与の影響

雄性 Sprague-Dawley ラットに CRH で誘発した ACTH 及びコルチコステロン分泌に及ぼす SOM 及びオクトレオチドの作用について検討した([Table 2.6.3.1-RD-2009-01253]，Silva et al. 2005）。SOM（1，3，10 µg/kg），オクトレオチド（10 µg/kg）又は生理食塩水（溶媒対照）を静脈内投与した 1 時間後に CRH（0.5 µg/kg, iv）処置し，ACTH 及びコルチコステロンの分泌を誘発した。

CRH 処置前の血漿中 ACTH 濃度は，46 ± 3 pg/mL（平均値 ± SEM，n = 6）であった。CRH 処置後 20 分以内に，溶媒対照群の ACTH 濃度は 229 ± 52 pg/mL まで上昇した。同様に，コルチコステロン濃度は 60 ± 26 ng/mL から 374 ± 24 ng/mL まで急速に上昇した。SOM 1 µg/kg 投与群では，CRH 処置で誘発した ACTH 及びコルチコステロンの分泌量に影響はみられなかった。一方，SOM 3 及び 10 µg/kg 投与群では，血漿中 ACTH 濃度は溶媒対照群と比較して，それぞれ 56 ± 12%及び 70 ± 5%（P = 0.011）低下した（CRH 処置 20 分後）。なお，同測定時点におけるオクトレオチド（10 µg/kg）の ACTH 分泌抑制率は 55 ± 6%を示し，SOM の抑制率との間に有意差はみられなかった。

ACTH 及びコルチコステロン分泌抑制作用の経時的な変化をより適切に評価するため，CRH 処置 60 分前から 120 分後までの両ホルモンの曲線下面積（AUC）を算出したところ，SOM 3 及び 10 µg/kg の投与では，ACTH 分泌をそれぞれ 45 ± 3%及び 51 ± 2%抑制し (p = 0.015)，コルチコステロン分泌をそれぞれ 43 ± 5%（p < 0.05）及び 27 ± 16%（p > 0.05）抑制した [Table 2.6.3.1-RD-2009-01253]。一方，オクトレオチドは，10 µg/kg の用量で ACTH 分泌を有意には抑制せず（34 ± 6%，P > 0.05），コルチコステロン分泌には影響を及ぼさなかった。

以上，SOM はラットにおいて CRH で誘発した ACTH 及びコルチコステロン分泌を *in vivo* で抑制した。一方，オクトレオチドはコルチコステロン分泌を抑制せず，ACTH 分泌は抑制したが，その抑制率は同用量の SOM より低かった。

Table 3-1 ラットに CRH で誘発した ACTH 及びコルチコステロン分泌に対する SOM 又はオクトレオチドの抑制作用

群	ACTH (ng. min. mL^{-1})	対照群に対する変化率(%)	コルチコステロン (µg. min. mL^{-1})	対照群に対する変化率(%)
生理食塩水+ CRH 0.5 µg/kg	20.18 ± 3.20		36.87 ± 4.37	
SOM 1 µg/kg + CRH 0.5 µg/kg	23.23 ± 7.23	+15.1	30.41 ± 4.21	-17.5
SOM 3 µg/kg + CRH 0.5 µg/kg	11.00 ± 1.46*	-45.5	21.14 ± 1.80*	-42.7
SOM 10 µg/kg + CRH 0.5 µg/kg	9.86 ± 1.03*	-51.2	26.85 ± 5.68	-27.2
オクトレオチド 10 µg/kg + CRH 0.5 µg/kg	13.24 ± 2.89	-34.4	33.56 ± 5.62	-9.0

値は血漿中 ACTH 及びコルチコステロン濃度の曲線下面積 (AUC)で示す。数値は平均値± SEM，SOM 及びオクトレオチド投与群は n = 7，生理食塩水投与群（対照群）は n=8 で実施。*P < 0.05 vs. 対照群。

Source: [Table 2.6.3.1-RD-2009-01253]より改変

3.2.2 ラット血漿中グルコース濃度に対する SOM 及びオクトレオチド皮下投与の影響

ラットに SOM 及びオクトレオチド（各々0.01～10 µg/kg）を単回皮下投与し，投与後 1 時間及び 6 時間後に血漿中グルコース濃度を測定した [Table 2.6.3.1-RD-2003-01656]。

SOM（10 µg/kg）は投与 1 時間後に血漿中グルコース濃度を著明に上昇させた。投与 6 時間後では，血漿中グルコース濃度は対照群と同等まで回復した。低用量の SOM（0.01，0.1，1 µg/kg）の投与は，グルコース上昇作用を示さなかった。一方，オクトレオチドは，1 µg/kg 以下の投与ではいずれの時点でも血漿中グルコース濃度に影響を及ぼさなかったが，10 µg/kg 群では投与 1 時間後に有意な血漿中グルコース濃度の低下が認められた。SOM を 10 µg/kg の用量で投与したときにみられた一過性（投与 1 時間後）のグルコース上昇は，ラットにおいて SOM がオクトレオチドよりも強くグルコース刺激性インスリン分泌を抑制するが，グルカゴン分泌に対する抑制作用はオクトレオチドよりも弱いことと一致する。高用量（500 µg/kg）の SOM 単回皮下投与により，6 時間に及ぶ著しい血漿グルコース上昇（15～21 mM）が誘発されたが，同用量のオクトレオチドの投与ではこのような作用はみられなかった [Table 2.6.3.1-RD-2003-03428]。なお，ラットに SOM を 1 日 2 回の頻度で反復投与，又は持続投与した場合には，血漿グルコース上昇作用は認められなかった [Table 2.6.3.1-RD-2003-03428]，[Table 2.6.3.1-RD-2011-00248]。

3.2.3 ラット血漿中グルコース，インスリン及びグルカゴン濃度に対する SOM 及びオクトレオチド皮下投与の影響

雄性 Lewis ラット（n = 6）に SOM 及びオクトレオチド（1，10，30 µg/kg）を皮下投与した。投与直前並びに投与 0.25，0.5，1，3，6 及び 8 時間後に舌下採血を行った。各時点で得られた同一血液試料からグルコース，SOM 及びオクトレオチドの血漿中濃度を測定し，PK/PD 解析に供した（Schmid and Brueggen 2012）。その結果，SOM を 10 及び 30 µg/kg の用量で投与した時は，

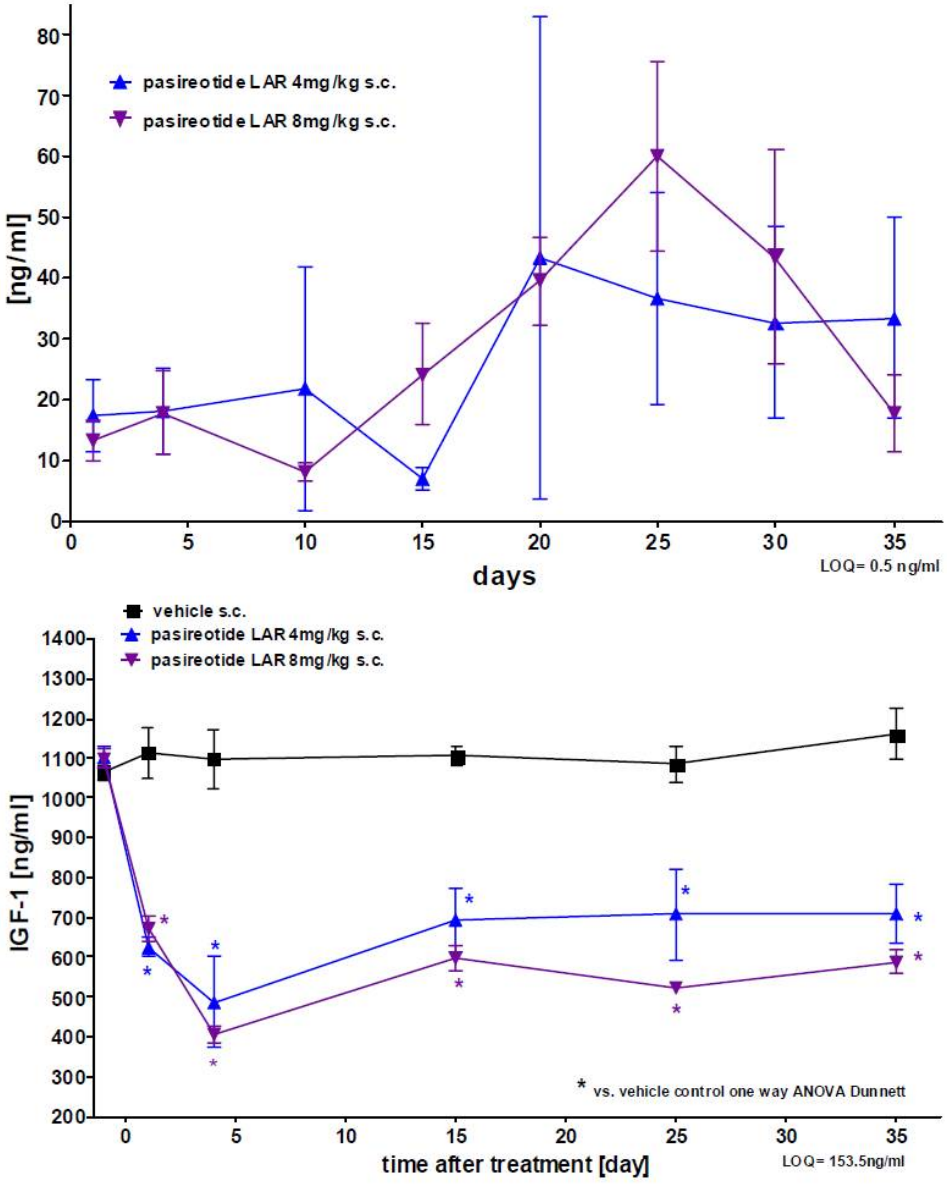
ラットの血漿中グルコース濃度を急速かつ一過性に上昇させたが，1 μg/kg の投与では上昇はみられなかった。一方，オクトレオチドを 1，10 及び 30 μg/kg の用量投与した時には，グルコースに対する作用はみられなかった。SOM 10 及び 30 μg/kg 投与群の平均血漿中グルコース濃度は，それぞれベースライン値の 7.9 及び 7.8 mM からピーク値の 13.3 及び 13.2 mM に上昇した。なお，両群における最高血漿中濃度（Cmax）は，それぞれ 7.6 ± 0.4 及び 18.2 ± 1.9 ng/mL を示し，投与後 1 時間以内に到達した。

ラットのグルコース，インスリン及びグルカゴンの血漿中濃度は，SOM 及びオクトレオチドを 10 μg/kg で投与した 1 時間後（両 SSA の血中濃度が 2～18 ng/mL の時点）に測定した。10 μg/kg の投与により，SOM は血漿中グルコース濃度を 7.1 ± 0.2 mM から 11.4 ± 0.4 mM へ有意（$P < 0.001$）に上昇させたが，オクトレオチドは上昇作用を示さなかった（6.6 ± 0.2 mM）。なお，血漿中インスリン濃度は，3 群間（オクトレオチド又は SOM 投与群と対照群）で有意差はみられなかった。一方，血漿中グルカゴン濃度は，対照群の 0.21 ± 0.03 ng/mL に対しオクトレオチド投与群では 0.03 ± 0.01 ng/mL（$P<0.001$）と著しく低下し，SOM 投与群でも 0.11 ± 0.02 ng/mL（$P<0.01$）と有意な低下がみられた。

3.2.4 ラット血漿中グルコース，インスリン，グルカゴン及び IGF-1 濃度に対する SOM LAR 皮下投与の影響，並びに血漿中 SOM 濃度の推移

ラットに SOM 長時間作用型徐放性製剤（LAR）を 4 及び 8 mg/kg の用量で投与したときの，投与後 10 日間における血漿中 SOM 濃度は 5～20 ng/mL の範囲であり，この期間中は明らかな用量依存性はみられなかった（Figure 3-1）[Table 2.6.3.1-RD-2011-00248]。15～30 日目では 8 mg/kg 投与時の血漿中 SOM 濃度は 20～60 ng/mL の範囲であり，5～40 ng/mL の血漿中濃度を示した 4 mg/kg よりわずかに高い傾向を示した（Figure 3-1）。SOM LAR は 4 及び 8 mg/kg の用量での単回投与で，35 日間にわたり IGF-1 の分泌を有意に抑制した。8 mg/kg 投与群では，投与 4 日目に最大効果（対照群に対する抑制率 37%）がみられ，その後 35 日目まで初期値の 50%程度の値で推移した（Figure 3-1）。SOM LAR 投与により体重は一定の値で推移したが，対照群では投与期間を通じて体重が増加した [Table 2.6.3.1-RD-2011-00248]。本試験で得られたグルコース，インスリン及びグルカゴンの血漿中濃度をFigure 3-2に示す。SOM は，血漿中グルコース濃度を投与 1 日後に有意に上昇させたが，1 mM 未満のわずかな，かつ一過性の上昇にすぎなかった。投与 1 日後のグルコース上昇に伴い，インスリン及びグルカゴンの低下も認められた。投与 1 日目以降は血漿中グルカゴン濃度はほぼ一定に推移したが，血漿中インスリン濃度はさらに低下する傾向を示した。血漿中インスリン濃度のばらつきは大きく，対照群との有意な変化がみられたのは 6 回の測定のうち 3 回（投与 4，15，25 日後）のみであった。特に 4 日後に対照群で認められた血漿中インスリン濃度上昇は，同日に血漿中グルコース濃度の上昇も認められていることから，測定におけるアーチファクトによるものではなく，一時的な摂餌量増加に起因している可能性が示唆される。

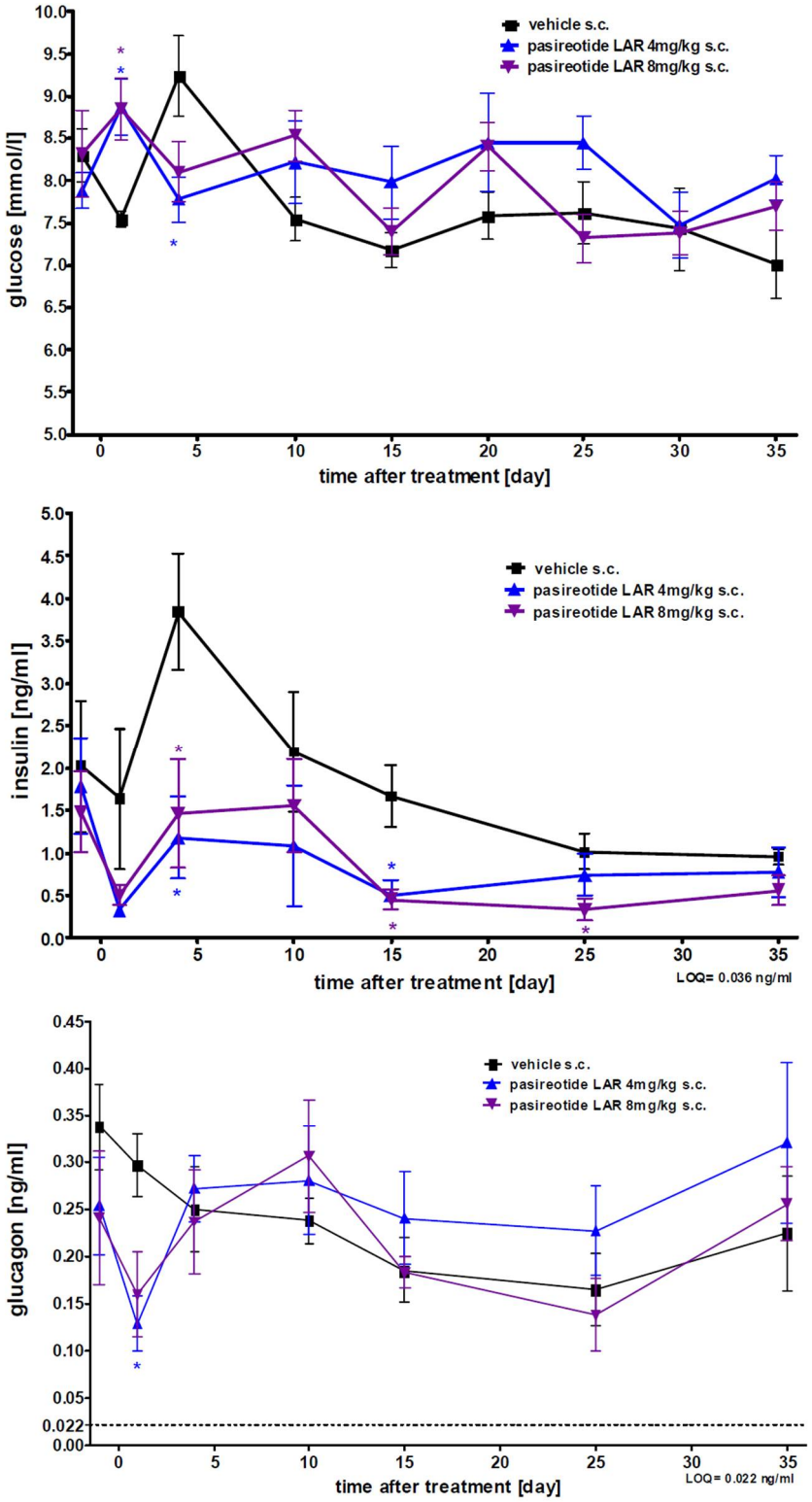
Figure 3-1　　ラットに SOM LAR（4 及び 8 mg/kg）を単回皮下投与したときの血漿中 SOM 濃度及び IGF-1 濃度



SOM LAR の血漿中濃度は，血漿中 SOM 濃度を定量下限が 0.5 ng/ml の LC-MS/MS 法により測定した。血漿中 IGF-1 濃度は，Figure 3-2の血漿中インスリン及びグルカゴン濃度と合わせて比較されたい。ラット IGF-1 濃度は，定量下限が 153.5 ng/ml の EIA キットを用いて測定した。

Source: [Table 2.6.3.1-RD-2011-00248]

Figure 3-2　　ラットに SOM LAR（4 及び 8 mg/kg）を単回皮下投与したときの血漿中グルコース，インスリン及びグルカゴン濃度



Source: [Table 2.6.3.1-RD-2011-00248]

SOM を 10 μg/kg 以上の用量で皮下投与すると，ラットでは血漿中グルコース濃度が一過性に著しく上昇するがサルでは上昇しないこと，オクトレオチドでは同等以上の用量を投与してもいずれの動物種でも上昇が認められないことが示されている。しかし，ラットへの SOM の 126 日間までの持続投与又は SOM LAR の投与では血漿中グルコース濃度への影響はみられなかったことから（Bruns et al. 200，Schmid and Brueggen 2012），SOM が急性に血漿中グルコース濃度上昇を誘発する動物種においても，その作用は一過性であることが示された。オクトレオチドとの比較試験から，インスリンとグルカゴンのバランスが SOM の血糖上昇作用に関与することが示唆されている（Schmid and Brueggen 2012）。本試験ではインスリン分泌に対する SOM とオクトレオチドの抑制作用は同等であったが，SOM のグルカゴン分泌抑制作用はオクトレオチドより弱かった。これらの結果及び SOM とオクトレオチドにおける各 sstr サブタイプへの結合親和性の違いから推測すると，sstr5 と sstr2 の間の受容体活性化比（Schmid and Brueggen 2012）が，SOM 投与後に起こる一過性の高血糖の主要な原因であると考えられた。また，この結果に基づくと，sstr2 をより強力に活性化することにより血糖上昇作用を減弱できる可能性があると考えられる。以上，一過性の高血糖が SOM 投与のみで認められたが，本試験ではインスリン分泌に対する SOM とオクトレオチドの抑制作用は同等であったことから，SOM 投与でのみ認められる一過性の高血糖は，オクトレオチドは強力なグルカゴン分泌抑制作用を有するが，SOM のグルカゴン分泌抑制作用は弱いことに起因している可能性も考えられる。

4 安全性薬理試験

4.1 受容体結合試験

SOM の各種受容体に対する親和性について評価した [Table 2.6.3.4-RD-2009-50831]。検討した 69 種類の標的外受容体のうち，オピオイド κ（0.041 μM 及び 0.052 μM：それぞれ Ki 値及び IC_{50} を示す，以下同様），グレリン（0.15 μM 及び 0.26 μM），5HT1A（0.31 μM 及び 0.81 μM）及びオピオイド μ（0.42 μM 及び 0.55 μM）の 4 種類の受容体では Ki 値が 1 μM 未満又は IC_{50} が 0.1 μM 未満の親和性を示した。しかし，SOM の各 sstr に対する親和性と比較して，これらの受容体に対する親和性は低く，オピオイド κ 受容体と sstr5 との結合親和性の差は約 300 倍，オピオイド κ 受容体と sstr2 との結合親和性の差は約 50 倍であった。非臨床安全性試験においても，これら受容体の関与を示唆する所見はみられなかったことから，臨床使用時に問題となる可能性は低いと考えられた。

4.2 心血管系，呼吸系，及び中枢神経系に対する安全性薬理試験

心血管系，呼吸系及び中枢神経系に対する SOM の影響を評価した（Tabel 4-1，Table 4-2）。標準的な心血管系に関する安全性薬理試験評価項目に加えて，心臓の Na チャネル，Ca チャネル及び遅延整流性 K チャネルに対する SOM の影響についても検討した。

SOM の心血管系への影響を評価するために，*in vitro* hERG 試験を実施した （Table 2.6.3.4-0120051，Table 2.6.3.4-1070019）。その結果，溶媒対照を上回る hERG 電流の阻害はみられなかった。APD 試験においても，SOM は最高濃度（30 μM）まで，QT 間隔延長に関連した催不整脈作用を示さなかった。

また，Na チャネル（Nav 1.5）及び Ca チャネル（Cav 1.2）並びに遅延整流性 K チャネル（KCNQ1/minK）に対しても SOM の影響はみられなかった。一方， SOM は 30 μM までの濃度では，hERG 輸送に影響を示さなかったが，100 μM 濃度では hERG 輸送が低下した（38%）。10 種類のクローン化ヒトイオンチャネルに対する影響を検討した *in vitro* 試験において，SOM は hNCX1（Na・Ca 交換体）に対し有意な阻害（IC_{50}：21.7 μM）を示したが，その他のヒトイオンチャネルに対しては，有意な変化を示さなかった。

覚醒サルを用いたテレメトリー試験により，*in vivo* での心血管系に対する SOM の影響について検討した。投薬に関連した一般状態，体重，摂餌量及び体温の変化はみられず，血圧及び心電図への影響もみられなかった。サルを用いた試験で使用した最高用量（1.6 mg/kg）での曝露量は，ヒトに SOM 900 μg を 1 日 2 回投与したときの Cmax の約 50～56 倍であった（ヒト Cmax ：29 ng/mL [5.3.4.1-1-B2113 試験-Table 11-6]，雄性サル Cmax：1469.0～1629.8 ng/mL [2.6.6-Table 3-9, Table 3-10]）。既存の SSA であるランレオチド，オクトレオチド及び SOM[2.5-5.4.4.2 項] ではヒトにおいて徐脈を誘発することが明らかになっているが，サルでの試験ではその兆候はみられず，この相違についての原因は明らかではない。

Table 4-1　　*In vitro* 安全性薬理試験

試験の種類		試験系	被験液濃度	特記すべき所見	試験番号
hERG 電流		HEK293 細胞	10 µg/mL（9.5 µM）	hERG テール電流の抑制作用なし。 IC_{50} > 10 µg/mL	0120051
APD		ウサギプルキンエ線維	最高濃度 100 µM（実濃度 76 µg/mL)／8 試験を実施	31.42 µg/mL（30 µM）まで QT 間隔延長に関連する催不整脈作用なし。 Vmax が 76 µg/mL（1Hz）で抑制され，細胞毒性が誘発された可能性あり。	0419101
hERG 電流		HEK293 細胞	10, 30, 100 µM	hERG テール電流の抑制作用なし。 IC_{50} > 30 µM 100 µM で細胞膜完全性の崩壊がみられた。	1070019
Na チャネル及び Ca チャネル	Nav1.5	HEK293 細胞	0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 50 µM	IC_{50} > 50 µM	RD-2010-50370
	Cav1.2	CHO 細胞	0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 50 µM	IC_{50} > 50 µM	
遅延整流性 K チャネル（KCNQ1/minK）		CHO 細胞	0.24, 0.47, 0.94, 1.88, 3.75, 7.5, 15, 30 µM	IC_{50} > 30 µM	RD-2010-50430
hERG 輸送		HEK293 細胞	0.0003, 0.001, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0, 10, 30, 100 µM	hERG に対する影響なし。 30 µM までの濃度で hERG 輸送に影響なし。 100 µM で hERG 輸送抑制（38%）。	1270349
心臓イオンチャネル：hCav3.2, hHCN2, hHCN4, hKir2.1, hKir3.1/hKir3.4, hKir6.2/SUR2A, hKvLQT1/hminK, hKv1.5, hKv4.3, hNCX1		HEK293 細胞／CHO 細胞	10, 30 µM（hNCX1 に対しては 3 µM を追加）	hNCX1：IC_{50} = 21.7 µM, その他のすべてのチャネル：IC_{50} > 30 µM	1270473

hERG: human ether-a-go-go related gene, APD: Action Potential Duration

Sources: [Table 2.6.3.4-0120051], [Table 2.6.3.4-0419101], [Table 2.6.3.4-1070019], [Table 2.6.3.4-RD-2010-50430], [Table 2.6.3.4-RD-2010-50370], [Table 2.6.3.4-1270349], [Table 2.6.3.4-1270473]

Table 4-2 *In vivo* 安全性薬理試験

動物種／系統	投与経路	評価対象	投与量（mg/kg）	性／動物数／群	特記すべき所見	試験番号
サル／カニクイ	皮下	一般状態，臨床検査，体重，剖検，死亡 テレメトリー: 血圧，体温，心電図	0, 0.4, 0.8, 1.6	雄 4	心機能（心電図，血圧）に対する影響なし。 無毒性量： 1.6 mg/kg	0170076
ラット／Crl:CD(SD)BR	皮下	一般状態，体重，剖検，死亡，呼吸機能	0, 0.8, 1.6, 4	雄 6	呼吸機能（呼吸数，分時換気量，一回換気量）に対する影響なし。 無毒性量： 4 mg/kg	0180096
マウス／CD-1	皮下	一般状態，臨床検査，体重，剖検，死亡， 神経行動学的評価項目（歩行，姿勢，痙攣，握力，痛覚反射，瞳孔反射，体温等）	0, 0.4, 1.2, 4, 12	雄 10	12 mg/kg：運動失調，軽度な自発運動低下及び低体温；個々の動物で握力の低下，聴覚反応性低下，眼瞼下垂，正向反射の消失及び横臥位。 無作用量： 4 mg/kg	0170077

Sources: [Table 2.6.3.4-0170076], [Table 2.6.3.4-0180096], [Table 2.6.3.4-0170077]

ラットに SOM を皮下投与した結果，投薬に関連した呼吸機能に対する影響はみられなかった。

マウスを用いた中枢神経系に対する影響に関する試験では，投薬に関連した一般状態の変化（異常歩行，自発運動の低下など）が 12 mg/kg 投与群で認められた。一般状態の変化はいずれも投与後 15 分以内に発現し，投与 6 時間後までに消失した。また，平均体温の低下（9%）が 12 mg/kg 投与群で投与約 1 時間後にみられたが，この変化は投薬による一般状態の抑制作用と関連すると考えられた。一般状態の変化は，SOM の薬理作用に関連する変化と考えられるが，ソマトトロピンの放出抑制制御を欠如したノックアウトマウス（SRIF ノックアウトマウス）では行動異常を示さないため（Zeyda et al. 2001），sstr の阻害に直接起因するものではないと考えられた。また，SOM の血液脳関門の透過量は極めて微量であるため [CTD 2.6.4-4.2 項]，脳へ直接作用する可能性は低いと考えられた。SRIF 又は SSA の既知の作用である血管拡張作用（Szentivanyi et al. 1996）又はグルコース制御作用（Sprecher et al. 2010）が関与する可能性が考えられ，実際にサル及びラットを用いた毒性試験において血管拡張作用に伴う所見が確認されている [CTD 2.6.6-3 項]。臨床最大用量における曝露量（Cmax：25.8 ng/mL，SOM LAR の 60 mg を単回投与したときの血中データに基づき反復投与時の血中濃度を推定）に基づく SOM の呼吸系及び中枢神経系への影響に対する安全域は，トキシコキネティクス試験を実施した同種の試験成績（雄性ラット：0.8 mg/kg，Cmax：364.7 ng/mL，Table 2.6.7.7B-0170115，雄性マウス：1～5 mg/kg，Cmax：68.08～5033.59 ng/mL，Table 2.6.7.6-0220072）から，呼吸系では約 14 倍，中枢神経系では約 2～190 倍であった。

4.3 胆嚢収縮に対する影響

雄性マウスを用いて胆嚢に対する本薬の影響について評価した [Table 2.6.3.1-RD-2001-02406]。胆嚢収縮の程度を評価するため胆嚢を皮下投与 1 時間後に摘出し重量を測定し，胆嚢重量を 1.5 倍増加させる用量を $ED_{1.5}$ 値とした。オクトレオチド及び SOM はいずれも胆嚢収縮を誘発することが胆嚢重量増加により示唆されたが，SOM の $ED_{1.5}$ 値（0.85 μg/kg）はオクトレオチド（3.4 μg/kg）の 4 分の 1 であった。

5 薬力学的薬物相互作用

SOM 代謝物はヒトにおいて検出されなかったため，SOM 代謝物の効力を裏付ける試験は実施しなかった。

6 考察及び結論

天然 SRIF は，その受容体である sstr1~5 に結合することで，生理的条件下のヒト及び GH 産生下垂体腺腫を有する先端巨大症及び下垂体性巨人症患者において GH 及び IGF-1 の分泌を抑制する。先端巨大症及び下垂体性巨人症患者の下垂体腺腫には，sstr2 及び sstr5（次に sstr1 及び sstr3）が主に発現しているが，SOM は sstr5 に最も高い親和性を示し，同時に sstr2，sstr3 及び sstr1 にも高い親和性を示す。

In vitro 試験においては，初代培養ラット下垂体細胞を用いた検討では，SOM の GHRH 誘発性 GH 分泌抑制作用はオクトレオチドの 3 倍強力であった。sstr2 及び sstr5 を発現しているマウス AtT20 細胞では，SOM はオクトレオチドより強力な ACTH 分泌抑制，GTPγS 活性化，及び cAMP 産生抑制作用を示した。

In vivo 試験においては，SOM はラット，マウス及びサルの GH 及び IGF-1 分泌に対して強力な抑制作用を示した。オクトレオチドの IGF-1 分泌抑制作用は一過性であったが，SOM の IGF-1 分泌抑制作用にはタキフィラキシーは認められず，その作用が持続した。また，SOM は ACTH 及びコルチゾール分泌に対しても抑制作用を示したことから，クッシング患者の治療薬としても有効である可能性も示唆される。

ラットにおいて SOM の主に短期投与により血漿中グルコース濃度の一過性上昇がみられたが，長期投与では持続した上昇はみられなかった。また，サルでは同様の作用はみられなかったことから，ラットにおける SOM のインスリン分泌抑制作用がグルカゴン分泌抑制作用よりも相対的に強力であることが SOM による一過性血糖上昇作用の機序であると推察される。対照的に，オクトレオチドのグルカゴン分泌抑制作用はインスリン分泌抑制作用よりも強力であることが，オクトレオチドが血糖上昇作用を示さない理由であると推察される。

下垂体腺腫患者由来の初代培養細胞において，SOM による増殖抑制作用が *in vitro* でわずかに認められたが，その作用機序については現在のところ十分には解明されていない。また，SOM の GH 分泌抑制作用，*in vitro* 増殖抑制作用，及び先端巨大症患者の下垂体腺腫における抗腫瘍活

性の強度の間に直接的な相関はないことから，これらの作用は異なる作用機序によるものと考えられる。

SOM はオピオイド κ，グレリン，5HT1A 及びオピオイド μ 受容体に対して弱い結合親和性を示したことから，標的外作用を示す可能性が考えられる。しかし，これらの標的外受容体への結合と標的受容体である sstr への結合の親和性には乖離があること及び高用量の投与においても関連する毒性変化が認められていないことから，臨床使用時に問題となる可能性は低いと考えられた。

安全性薬理試験では，生命の維持に必要な器官の機能において毒性学的に意義のある変化はみられなかった。なお，SOM はマウスにおいて胆嚢収縮を誘発するが，この作用はオクトレオチドで既知の作用である。

以上の非臨床知見から，SOM は複数の sstr に対する親和性及び機能活性を示す SSA であり，先端巨大症及び下垂体性巨人症患者の GH 過分泌を抑制する優れた治療選択肢となる可能性がある。

7 参考文献

[Batista DL, Zhang X, Gejman R, et al. (2006)] The effects of SOM230 on cell proliferation and adrenocorticotropin secretion in human corticotroph pituitary adenomas. J Clin Endocrinol Metab; 91(11):4482-8.

[Bruns C, Lewis I, Briner U, et al. (2002)] SOM230: a novel somatostatin peptidomimetic with a broad somatotropin release inhibiting factor (SRIF) receptor binding and a unique antisecretory profile. Eur J Endocrinol; 146:707-16.

[Cervia D, Fehlmann D, Hoyer D (2003b)] Native somatostatin sst_2 and sst_5 receptors functionally coupled to $G_{i/o}$ protein, but not to the serum response element in AtT-20 mouse tumour corticotrophs. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol; 367:578-87.

[Cervia D, Nunn C, Fehlmann D, et al. (2003a)] Pharmacological characterisation of native somatostatin receptors in AtT-20 mouse tumour corticotrophs. Br J Pharmacol; 139: 109-21.

[Gadelha MR, Bronstein MD, Blue T, et al. (2014)] Pasireotide versus continued treatment with octreotide or lanreotide in patients with inadequately controlled acromegaly (PAOLA): a randomised, phase 3 trial. Lancet Diabetes Endocrinol; 2:875-84.

[Hofland LJ, van der Hoek J, Feelders R, et al. (2005)] The multi-ligand somatostatin analogue SOM230 inhibits ACTH secretion by cultured human corticotroph adenomas via somatostatin receptor type 5. Eur J Endocrinol; 152:645-54.

[Kvols L, Wiedenmann B, Oberg K, et al. (2006)] Safety and efficacy of pasireotide (SOM230) in patients with metastatic carcinoid tumors refractory or resistant to octreotide LAR: Results of a phase II study. J Clin Oncol; 2006 ASCO Annual Meeting Proceedings; 24(18S): 4082.

[Schmid HA (2010)] Pasireotide (SOM230) as a Potential Treatment for Endocrine and Non- Endocrine Tumors. Current Drug Therapy; 5: 301-11.

[Schmid HA and Brueggen J (2012)] Effects of somatostatin analogs on glucose homeostasis in rats. J Endocrinol; 212, 49–60.

[Schmid HA and Schoeffter P (2004)] Functional Activity of the Multiligand Analog SOM230 at Human Recombinant Somatostatin Receptor Subtypes Supports Its Usefulness in Neuroendocrine Tumors. Neuroendocrinology; 80: 47-50.

[Schmid HA and Silva AP (2005)] Short- and long-term effects of octreotide and SOM230 on GH, IGF-I, ACTH, corticosterone and ghrelin in rats. J Endocrinol Invest; 28(11 Suppl International):28-35.

[Serri O, Brazeau P, Kachra Z, et al. (1992)] Octreotide Inhibits Insulin-Like Growth Factor-I Hepatic Gene Expression in the Hypophysectomized Rat: Evidence for Direct and Indirect Mechanism of Action. Endocrinology; 130(4):1816-21.

[Shimon I, Yan X, Taylor JE, et al. (1997)] Somatostatin Receptor (SSTR) Subtype-selective Analogues Differentially Suppress In Vitro Growth Hormone and Prolactin in Human Pituitary Adenomas. Novel Potential Therapy for Functional Pituitary Tumors. J Clin Invest; 100 (9), 2386–92.

[Silva AP, Schoeffter P, Weckbecker G, et al. (2005)] Regulation of CRH-induced secretion of ACTH and corticosterone by SOM230 in rats. Eur J Endocrinol; 153; R7-10.

Sprecher U, Mohr P, Martin RE et al. (2010) Novel, non-peptidic somatostatin receptor subtype 5 antagonists improve glucose tolerance in rodents. Regul Pept. 2010 Jan (available upon request)

Szentivanyi MJr, Nadasy GL, Dezsi L, et al. (1996) Nitric oxide-dependent opposite effects of somatostatin on arterial and venous caliber in situ. Am J Physiol; 271 (Heart Circ Physiol): H2238-45 (available upon request)

[van der Hoek J, de Herder WW, Feelders RA, et al. (2004b)] A Single-Dose Comparison of the Acute Effects between the New Somatostatin Analog SOM230 and Octreotide in Acromegalic Patients. J Clin Endocrinol Metab; 89(2):638-45.

[van der Hoek J, Lamberts SWJ, Hofland LJ (2004a)] The Role of Somatostatin Analogs in Cushing's Disease. Pituitary; 7: 257–64.

[van der Hoek J, Waaijers M, van Koetsveld PM, et al. (2005)] Distinct functional properties of native somatostatin receptor subtype 5 compared with subtype 2 in the regulation of ACTH release by corticotroph tumor cells. Am J Physiol Endocrinol Metab; 289:E278-87.

[Weckbecker G, Briner U, Lewis I, et al. (2002)] SOM230: A New Somatostatin Peptidomimetic with Potent Inhibitory Effects on the Growth Hormone/Insulin-Like Growth Factor-I Axis in Rats, Primates, and Dogs. Endocrinology; 143: 4123-30.

[Weckbecker G, Lewis I, Albert R, et al. (2003)] OPPORTUNITIES IN SOMATOSTATIN RESEARCH: BIOLOGICAL, CHEMICAL AND THERAPEUTIC ASPECTS. Nature Reviews; Drug Discovery: 2: 999-1017.

Zeyda T, Diehl N, Paylor R, et al. (2001) Impairment in motor learning of somatostatin null mutant mice.Brain Res;906(1-2):107-14 (available upon request)

2.6.3 薬理試験概要表

目　次

目　次 2
略号一覧 3
2.6.3.1　薬理試験一覧表 4
2.6.3.2　効力を裏付ける試験 6
2.6.3.3　副次的薬理試験 6
2.6.3.4　安全性薬理試験 7

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ACTH	Adrenocorticotropin	副腎皮質刺激ホルモン
ADP	action potential duration	活動電位持続時間
AtT20	AtT-20 cells (clone D16-16)	マウス下垂体癌細胞株 AtT20
cAMP	cyclic adenosine monophosphate	環状アデノシン一リン酸
Cav	Voltage-gated calcium channel	電位依存性カルシウムチャネル
CHO	Chinese Hamster Ovary	チャイニーズハムスター卵巣
COS	SV40 transformed African green monkey kidney cells	SV40 により形質転換したアフリカミドリザル腎由来細胞
CRH	corticotropin releasing hormone	副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン
GH	growth hormone	成長ホルモン
GTPγS	Guanosine 5'-O-[gamma-thio]triphosphate	グアノシン 5'-O-(3-チオ三リン酸)
hERG	human ether-à-go-go-related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児由来腎臓
IGF-1	insulin-like growth factor 1	インスリン様成長因子 1
Nav	voltage-gated sodium channel	電位依存性ナトリウムチャネル
NOEL	no observed effect level	無作用量
IC_{50}	half maximal (50%) inhibitory concentration	50%阻害濃度
i.v.	Intravenous	静脈内
RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction	逆転写ポリメラーゼ連鎖反応
s.c.	subcutaneous	皮下
sstr	Somatostatin receptor	ソマトスタチン受容体

2.6.3.1 薬理試験一覧表

Type of study	Test system or protocol	Method of administration	Report / Study number	Location in CTD
***In vitro* pharmacology**				
SOM230: Binding characteristics and its inhibitory effect on the GHRH-induced GH release in vitro	Competition binding experiments to determine the receptor affinity binding profile on membranes from CHO (sstr1-4) and COS (sstr5) cells.	*In vitro*	[RD-2001-01227]	4.2.1.1-1
Functional activity of SOM230 and octreotide at human recombinant sstr subtypes	Effect of SOM230 on forskolin stimulated cAMP accumulation in cells expression human sstr1,2,3,4 or 5 receptors.	*In vitro*	[RD-2003-03734]	4.2.1.1-2
Radioligand binding and functional activity of SOM230 and octreotide at native sstr in mouse pituitary AtT20 cells	Competition binding experiments to determine receptor affinity binding profile of SOM230 on membranes from AtT20 cell membranes. In functional studies the efficacy of SOM230 on GTPγS, cAMP accumulation and calcium influx in AtT20 cells was determined	*In vitro*	[RD-2003-04383]	4.2.1.1-4
sstr expression in AtT-20 mouse pituitary cells measured by quantitative real-time RT-PCR	Expression of sstr1-5 receptors in AtT20 cells using Taqman RT-PCR	*In vitro*	[RD-2009-01370]	4.2.1.1-3
***In vivo* pharmacology**				
Effect of long acting SOM230 LAR on hormone secretion in rats	Effect of SOM230 LAR on GH, IGF-1, Glucose insulin and glucagon in rats	*In vivo*	[RD-2011-00248]	4.2.1.1-8
Effects of SOM230 on IGF-1 plasma levels in rats during constant s.c. infusion: Comparison with octreotide	Effect on GH and IGF-1 during minipump infusion of the compounds for 14 days	*In vivo*, s.c. infusion via minipumps	[RD-2001-01157]	4.2.1.1-6
Acute effects of SOM230 and octreotide on growth hormone and glucose concentrations in rats	Effect of SOM230 vs. octreotide on unstimulated plasma GH and glucose after 1h and after 6 h with different doses	*In vivo*, s.c. injection	[RD-2003-01656]	4.2.1.2-2
Acute effects of SOM230 and octreotide on plasma glucose and GH in rats	Single and repeated application of SOM230 on glucose and GH in rats	*In vivo*, s.c. injection	[RD-2003-03428]	4.2.1.1-7
Effect of SOM230 on different endocrine parameters in the Rhesus monkey. Comparison with octreotide	S.c injection of SOM230 1 and 10µg/kg on GH, insulin and glucagon in Rhesus monkey compared with rats	*In vivo*, s.c. injection	[RD-2001-01158]	4.2.1.1-9

Type of study	Test system or protocol	Method of administration	Report / Study number	Location in CTD
Endocrine profile of SOM230 vs octreotide in Cynomolgus monkeys	Efficacy study in monkeys on various hormones	*In vivo*	[RD-2001-01123]	4.2.1.1-10
Regulation of CRH-induced ACTH and corticosterone secretion by SOM230	Effect of SOM230 on CRH induced ACTH and corticosterone secretion in catheterized rats	*In vivo*, i.v. injection	[RD-2009-01253]	4.2.1.2-1
In vivo characterization of SOM230 and octreotide on GH, insulin and glucagon secretion in rats and on gall bladder in mice	Determination of insulin and glucagon after 1h and GH 1h and 6h after SOM230 and octreotide treatment	*In vivo*, s.c. injection	[RD-2001-02406]	4.2.1.1-5
Inhibition of GH in the rat by octreotide and lanreotide	Determination of GH after somatostatin analogues	*In vivo,* s.c. injection	[RD-2001-01124]	4.2.1.1-11

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

2.6.3.1 に記載。

2.6.3.3　副次的薬理試験

2.6.3.1 に記載。

2.6.3.4 安全性薬理試験

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of admin.	Concentrations / Doses (μM)/(mg/kg) [a]	Gender and/or no. per group	Significant findings	Report / Study number	Location in CTD
Receptor binding	Mammalian	*In vitro*	Up to 10 μM	NA	Ki values < 10 μM for 16 of 69 targets	[RD-2009-50831]	4.2.1.3-1
Cardiovascular /hERG channel	HEK293 cells	*In vitro*	10 μg/mL（9.5 μM）	NA	No effects on hERG currents	[0120051]	4.2.1.3-2
Cardiovascular /hERG channel	HEK293 cells	*In vitro*	10, 30, 100 μM	NA	IC_{50} > 30 μM, 100 μM disrupted cell membrane integrity	[1070019]	4.2.1.3-4
Cardiovascular /Purkinje fibers	Rabbit	*In vitro*	1, 3, 10, 30, 100 μM	NA	No selective ion channel blocking effects up to 30 μM At 76 μg/mL, depressed Vmax at 1 Hz, and may cause cytotoxic effect.	[0419101]	4.2.1.3-3
Cardiovascular /KCNQ1 receptor	CHO cells	*In vitro*	0.24, 0.47, 0.94, 1.88, 3.75, 7.5, 15, 30 μM	NA	IC_{50} value >30 μM	[RD-2010-50430]	4.2.1.3-5
Cardiovascular /Nav 1.5, Cav 1.2 receptors	HEK293 / CHO cells	*In vitro*	0.1, 0.3, 1, 3, 10 , 30, 50 μM	NA	No significant inhibitions up to 50 μM	[RD-2010-50370]	4.2.1.3-6
Cardiovascular /hERG trafficking	HEK293 cells	*In vitro*	0.0003, 0.001, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0, 10, 30 and 100 μM	NA	No effects on hERG trafficking at concentration up to 30 μM, reduced hERG trafficking (by 38%) at 100 μM.	[1270349]	4.2.1.3-7

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of admin.	Concentrations / Doses (µM)/(mg/kg) [a]	Gender and/or no. per group	Significant findings	Report / Study number	Location in CTD
Cardiovascular /Cardiac ion channels: hCav3.2, hHCN2, hHCN4, hKir2.1, hKir3.1/hKir3.4, hKir6.2/SUR2A, hKvLQT1/hmin K, hKv1.5, hKv4.3, hNCX1	HEK293 and CHO cells	*In vitro*	Concentration tested: 10 and 30 µM for all channels, plus 3 µM in addition for hNCX1.	NA	IC_{50} =21.7 µM for hNCX1, IC_{50}>30 µM for all other channels.	[1270473]	4.2.1.3-8
Cardiovascular	Monkey	Subcutaneous	0, 0.4, 0.8, 1.6 mg/kg	4 males	No effects on blood pressure or electrocardiography	[0170076]	4.2.1.3-11
Nervous	Mouse	Subcutaneous	0, 0.4, 1.2, 4, 12 mg/kg	10 males	Alteration of general and neurological activities and slight hypothermia at 12 mg/kg NOEL = 4 mg/kg	[0170077]	4.2.1.3-9
Respiratory	Rat	Subcutaneous	0, 0.8, 1.6, 4 mg/kg	6 males	No significant findings	[0180096]	4.2.1.3-10

a = single dose unless specified otherwise

IC_{50} = 50% inhibitory concentration, NA: not applicable, NOEL: no observed effect level