アミヴィッド静注

CTD 第 2 部

2.4　非臨床試験の概括評価

富士フイルム RI ファーマ株式会社

（空白ページ）

2.4 目次

2.4 非臨床試験の概括評価....4
2.4.1 非臨床試験計画概略....6
2.4.2 薬理試験....7
2.4.2.1 効力を裏付ける試験....7
2.4.2.2 副次的薬理試験....8
2.4.2.3 安全性薬理試験....8
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験....9
2.4.3 薬物動態試験....9
2.4.4 毒性試験....10
2.4.4.1 単回投与毒性試験....10
2.4.4.2 反復投与毒性試験....11
2.4.4.3 遺伝毒性試験....12
2.4.5 総括及び結論....12
2.4.6 参考文献一覧....14

2.4　非臨床試験の概括評価

表 2.4-1　非臨床試験の概括評価で用いた略語一覧表

略語	内容
%dose	%投与量 投与放射能に対する百分率
Aβ	amyloid-β アミロイドβ
AD	Alzheimer's disease アルツハイマー病
ARG	autoradiography オートラジオグラフィー
Bq	becquerel 放射能の単位（Bq：放射性物質が 1 秒間に崩壊する原子の個数）
Ci	curie 放射能の単位（1 Ci ＝ 3.7×10^{10} Bq）
CO_2	carbon dioxide 二酸化炭素
^{18}F-AV-45	florbetapir (^{18}F) フッ素 18 で標識した放射性化合物：　アミヴィッド静注の有効成分
^{19}F-AV-45	florbetapir (^{19}F) ^{18}F-AV-45 と同一の化学構造を有する非放射性化合物
^{18}F-AV-160	^{18}F-AV-45 の放射性代謝物
^{19}F-AV-160	^{18}F-AV-160 と同一の化学構造を有する非放射性化合物
^{18}F-AV-267	^{18}F-AV-45 の放射性代謝物
^{19}F-AV-267	^{18}F-AV-267 と同一の化学構造を有する非放射性化合物
^{18}F-FDG	Fludeoxyglucose (^{18}F) フルデオキシグルコース（^{18}F）、悪性腫瘍等の診断に用いられる既承認の放射性医薬品
FOB	functional observational battery 機能観察総合評価法
hERG	human ether-a-go-go related gene ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子
IC_{50}	concentration required for 50% inhibition 50%阻害を示す薬物濃度
IHC	immunohistochemistry 免疫組織化学染色
I_{Kr}	rapid delayed rectifier current 遅延整流カリウムイオン電流の速い成分

(Page 1 of 2)

表 2.4-1　非臨床試験の概括評価で用いた略語一覧表（続き）

略語	内容
IMPY	6-iodo-2-(4'-dimethylamino)-phenyl-imidazo[1,2-a]pyridine 既報の Aβ 選択的リガンド
^{125}I-IMPY	IMPY と同一の化学構造を有するヨウ素 125 標識化合物
K_d	disassociation constant 解離定数
K_i	dissociation constant for inhibitor binding 阻害定数
MPCE	micronucleated polychromatic erythrocytes 小核を有する多染性赤血球
PBR	peripheral-type benzodiazepine receptor 末梢型ベンゾジアゼピン受容体
PET	positron emission tomography 陽電子放出断層撮影
PIB	Pittsburgh compound B 既報の Aβ 選択的リガンド
Sv	sievert 線量当量を表す単位
VMAT-2	vesicular monoamine transporter-2 2 型小胞モノアミントランスポーター

(Page 2 of 2)

2.4.1　非臨床試験計画概略

florbetapir (^{18}F)（以下、^{18}F-AV-45）は 2012 年に米国で、2013 年には欧州連合（EU）で承認を受け、Amyvid^{TM} の商品名で放射性医薬品として販売されている。本邦においては、^{18}F-AV-45 の合成装置である放射性医薬品合成設備 NEPTIS plug-01 が 2014 年 7 月に医療機器として承認された。本申請で論述した非臨床試験は、これらの承認申請で利用された試験報告に基づいている。

^{18}F-AV-45 は、その極微量を単回静脈内投与することにより脳内アミロイドβ（Aβ）プラークの可視化が可能となる陽電子放出断層撮影（PET）用放射性化合物である。

^{18}F-AV-45 又は florbetapir (^{19}F)（florbetapir (^{18}F) の非放射性同位体、以下 ^{19}F-AV-45）の薬効薬理及び非臨床安全性プロファイルは、臨床試験や効能・効果の設定に利用した。効力を裏付ける試験では、^{18}F-AV-45 又は ^{19}F-AV-45 とその分子ターゲットである脳内の Aβ たん白質との結合選択性及び結合親和性について評価した。これらの試験は神経病理学的にアルツハイマー病（AD）と診断された脳を用いて実施した。

副次的薬理試験は、薬理学的な効果が知られている中枢神経系及び心血管系に発現する G タンパク質共役型受容体、イオンチャネル及びトランスポーターに対する ^{19}F-AV-45 の阻害作用を評価した。また、*in vitro* 安全性薬理試験は、心筋活動電位の持続期間の延長に関連があるヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（hERG）カリウムチャネルへの影響も検討した。*In vivo* 安全性薬理試験は ^{19}F-AV-45 の中枢神経系、心血管系及び呼吸系に対する安全性を評価した。

さらに、マウスを用いた体内分布試験の成績を基に、^{18}F-AV-45 のヒトにおける放射線被ばくリスクを評価した。*In vitro* における薬力学的薬物相互作用試験では、^{18}F-AV-45 と併用される可能性のある医薬品及び医薬品候補化合物について、^{18}F-AV-45 とAβ の結合に対する相互作用を評価した。

^{18}F-AV-45 のヒトへの投与量は「マイクロドーズ臨床試験の実施に関するガイダンス」で提唱されている 100 μg 以下を満たしている。開発早期より exploratory IND（Investigational New Drug）制度に則った早期探索的臨床試験が実施され、ヒトを対象とした薬物動態データが得られていたことから、^{18}F-AV-45 の非臨床薬物動態試験は、これらの結果を補足する目的で部分的に実施した。

^{18}F-AV-45 の薬物動態は、げっ歯類を用いた一般的な体内分布及びアカゲザルを用いた PET イメージングにより評価した。^{18}F-AV-45 の推定代謝物は *in vitro* でラット及びヒトのミクロソームを用いて評価し、*in vivo* ではマウスを用いて行った。

^{19}F-AV-45 の単回及び反復投与毒性は、ラット及びイヌを用いて評価した。投与用量はヒトに ^{18}F-AV-45 を単回静脈内投与した場合を想定した（ヒト予定最大臨床用量＝50 μg/70 kg 又は 0.714 μg/kg；ヒトの血液量を 5 L と想定すると理論上、推定最高血液中濃度は 28 nmol/L となる）。最高用量は、単回投与毒性試験では予定最大臨床用量の 100 倍（ラット）、反復投与毒性試験では 25 倍（ラット及びイヌ）に設定した（体表面積換算によりヒト等価用量を算出（以下、アロメトリー補正））。^{19}F-AV-45 の遺伝毒性は標準的な *in vitro*、*in vivo* 試験を実施

した。なお、^{18}F-AV-45 はヒトに単回静脈内投与され、投与後速やかに体内から消失すること、並びに予定対象患者集団は高齢者であることを考慮し、生殖発生毒性試験及びがん原性試験は実施しなかった。同様に、幼若ラットを用いた毒性試験は小児が対象とはならないために実施しなかった。

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

.....添付資料 4.2.1.1.1 及び 4.2.1.1.2

ヒト死後脳を用いた試験は、米国国立老化研究所の Reagan Institute Consensus Group による基準に従い、神経病理学的に AD と診断された脳を用い、十分に確立された既報の手法に従って実施した[1-5]。

^{19}F-AV-45 の AD 患者由来脳ホモジネートに対する結合性は、Aβ 選択的リガンドとして特性が明らかにされている ^{125}I-IMPY を用いた結合阻害実験により評価した。その結果、^{19}F-AV-45 の ^{125}I-IMPY に対する阻害定数（K_i）は 5.5 nmol/L を示した。同様の試験系においてAβ に高い親和性をもつ Pittsburgh Compound B（PIB）の K_i は 2.8 nmol/L[3]と報告されており、^{19}F-AV-45 のAβ に対する結合親和性は PIB と同等であると推察された。

次に、^{18}F-AV-45 と AD 患者由来脳ホモジネートを用いた結合阻害試験を実施した結果、^{19}F-AV-45 の K_i は 2.87 nmol/L を示し、既報の Aβ 凝集体選択的リガンドである BAY94-9172 及び GE-067 の K_i はそれぞれ 2.22 nmol/L 及び 0.74 nmol/L であった。

さらに、AD 患者由来脳ホモジネートに ^{18}F-AV-45 を加えて Aβ に対する結合試験を実施した結果、^{18}F-AV-45 の解離定数（K_d）及び最大結合量（B_{max}）はそれぞれ 3.72 nmol/L 及び 8811 fmol/mg を示した。

以上より、^{18}F-AV-45 は Aβ に高い親和性で結合し、その結合部位は PIB、GE-067 及び BAY94-9172 を含む他の Aβ をターゲットとした標識薬剤の結合部位と少なくとも部分的に一致する可能性が示された。

^{18}F-AV-45 と Aβ の直接的な結合は、AD 患者の脳切片を用いたオートラジオグラフィー（ARG）を用い、^{18}F-AV-45 の結合量と Aβ 沈着量並びに神経原線維変化数の相関性により評価した。死亡後の解剖で得られた、被験者（AD 患者、他の神経疾患患者及び健康成人）64 例の脳凍結切片及び脳ホルマリン固定パラフィン包埋切片を使用し、試験は [redacted] 及び 3 つの独立した施設で実施した。^{18}F-AV-45 結合量は ARG、Aβ の沈着量は modified Bielschowsky 銀染色、Campbell-Switzer 銀染色、チオフラビン S 蛍光染色及びマウス抗ヒト Aβ モノクローナル抗体による免疫組織化学染色（IHC）、神経原線維変化数は modified Bielschowsky 銀染色及び Gallyas 銀染色を用いて測定した。IHC には異なるエピトープを認識する 3 種類の抗体を用いた。

実施したいずれの試験においても、^{18}F-AV-45 結合量と銀染色、IHC 及びチオフラビン S 蛍光染色で検出した Aβ 沈着量との間に、統計学的に有意な高い相関性が認められ、相関係数は

0.66～0.95であった。一方、^{18}F-AV-45 の結合量と銀染色で検出した神経原線維変化数との間には相関性は認められなかった。

以上の効力を裏付ける試験から、^{18}F-AV-45 はヒト脳組織中の Aβ に選択的かつ定量的に結合することが明らかとなった。これらは検死解剖を行った第 III 相臨床試験でも直接的に確かめられている（5.3.5.1 項）。

2.4.2.2　副次的薬理試験

..... 添付資料 4.2.1.2.1

副次的薬理試験では、中枢神経系及び心血管系に発現する 46 種類の G タンパク質共役型受容体、イオンチャネル及びトランスポーターに対する ^{19}F-AV-45 の阻害作用を評価した。その結果、44 種類の受容体については 10 μmol/L の ^{19}F-AV-45 で阻害が認められなかったが、末梢型ベンゾジアゼピン受容体（PBR）及び 2 型小胞モノアミントラスポーター（VMAT-2）では軽微な阻害作用を示し、50%阻害を示す薬物濃度（IC_{50}）値は、それぞれ 8.15 及び 7.38 μmol/L であった。これらの IC_{50} 値からチェン-プルソフ式により換算した K_i は、^{19}F-AV-45 と Aβ 凝集体の K_i（5.5 nmol/L）の 1000 倍以上であることから、^{19}F-AV-45 が PBR や VMAT-2 と臨床上問題となる相互作用を示す可能性は低いと考えられた。

2.4.2.3　安全性薬理試験

.....添付資料 4.2.1.3.1、4.2.1.3.2、4.2.1.3.3 及び 4.2.1.3.4

非臨床安全性薬理試験では ^{19}F-AV-45 を用いた中枢神経系、心血管系、呼吸器系及び F-18 の崩壊による放射線毒性に対する安全性について評価した。

^{19}F-AV-45 の中枢神経系に対する安全性を評価するため、ラットの拡張型単回静脈内投与及び 28 日間反復静脈内投与毒性試験の中で機能観察総合評価法（FOB）を実施した。その結果、単回投与時及び 28 日間反復投与時のいずれにおいても、全ての投与群で FOB に関して生物学的、毒性学的に意義のある所見は認められなかった。最高用量と予定最大臨床用量（50 μg/ヒト）をアロメトリー補正により比較すると、最高用量は単回投与試験では 100 倍、28 日間反復投与では 25 倍に相当する。これらの結果から、^{18}F-AV-45 の投与は中枢神経系の機能に関して安全性上の懸念を有さないと判断した。

心血管系における安全性は *in vitro* 及び *in vivo* 試験によって評価した。hERG は、遅延整流カリウムイオン電流の速い成分（I_{Kr}）に影響を与える因子であるが、I_{Kr} の阻害は心筋活動電位の持続期間の延長を引き起こし、致死性の心室性不整脈の発生と関連している [6]。そこで、hERG を発現させたヒト胎児腎臓由来細胞株（HEK293 細胞）に ^{19}F-AV-45 を曝露し、hERG 電流に対する影響を評価した。その結果、実施可能な最高濃度である 12.4 μmol/L において、hERG 電流が 17%阻害された。予定最大臨床用量の ^{18}F-AV-45 を静脈内投与したときの推定最高血液中濃度である 28 nmol/L（ヒト総血液量を 5 L と仮定）と比較して、本検討における最高濃度は 400 倍以上の曝露量比があることから、^{18}F-AV-45 の投与により臨床上問題となる hERG 電流の阻害が起こる可能性は低いと考えられた。

^{19}F-AV-45 の心血管系及び呼吸系に対する安全性を評価するため、ビーグル犬を用いた試験を実施した。ビーグル犬にはアロメトリー補正に基づいて予定最大臨床用量の 100 倍まで静脈内投与した。その結果、^{19}F-AV-45 の投与による血圧（収縮期血圧、拡張期血圧及び平均動脈血圧）、心拍数、体温、心電図（心拍数、PR、QRS、RR、QT 及び補正 QT 間隔）、呼吸機能（呼吸数、血液酸素飽和度及び呼気終末 CO_2）、一般状態、体重及び死亡の有無に、意義のある変化は認められなかった。これらの結果から、^{18}F-AV-45 の投与は心血管系及び呼吸系の機能に関して安全性上の懸念を有さないと判断した。

^{18}F-AV-45 のヒトへの被ばくリスクはマウスにおける体内分布試験の成績を基に、ヒトに ^{18}F-AV-45 を投与したときの放射線被ばくを評価した。その結果、予定最大臨床用量の 370 MBq（10 mCi）をヒトに投与した場合、多くの組織が 1～10 mSv の放射線被ばくを受けると推定された。また、小腸、上部大腸壁及び膀胱壁はそれぞれ 37.7、42.6 及び 34.5 mSv と、ほかの組織よりも被ばく線量が高値を示すと推定された。さらに、370 MBq の ^{18}F-AV-45 をヒトに投与した場合の実効線量は、8.24 mSv と算出された。この推定放射線被ばく線量は、既承認の放射性医薬品であるフルデオキシグルコース（^{18}F）（^{18}F-FDG）と同程度であった。

2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用試験

.....添付資料 4.2.1.4.1

薬力学的薬物相互作用は、^{18}F-AV-45 と併用される可能性のある医薬品及び医薬品候補化合物について、AD 患者由来脳ホモジネート及び AD 患者由来脳切片を用いた *in vitro* 試験により、^{18}F-AV-45 と Aβ 凝集体及び Aβ プラークの結合に対する相互作用を評価した。本検討では、非ステロイド性抗炎症薬（イブプロフェン、ナプロキセン及びセレコキシブ）、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤（タクリン、フィゾスチグミン、ガランタミン及びドネペジル）、NMDA（N-メチル-D-アスパラギン酸）受容体拮抗薬（メマンチン）、コレステロール降下薬（シンバスタチン）、抗糖尿病薬（トログリタゾン）、抗精神病薬（ハロペリドール）、抗不安薬（ジアゼパム）、及び抗うつ薬（シタロプラム、フルオキセチン、パロキセチン及びニソキセチン）に加えて、試験実施時に入手可能であった抗Aβ抗体及び4種のγ-セクレターゼ阻害剤（L-685458、S1288、Compound W 及び DAPT）について検討を行った。これらの併用薬の検討に際し、各併用薬の最高濃度は、ヒト血中濃度及び脳内濃度を参考に設定した。その結果、高濃度条件において 4 種類の薬剤で阻害作用が検出されたが、^{18}F-AV-45 の臨床使用を想定した場合、これらの薬剤との相互作用が問題となる可能性は低いと考えられた。

2.4.3　薬物動態試験

.....添付資料 4.2.1.1.1、4.2.2.3.1、4.2.2.4.1 及び 4.2.2.4.2

^{18}F-AV-45 の投与は臨床と同じ単回静脈内投与とした。体内分布試験は、マウスに ^{18}F-AV-45 を静脈内投与後、摘出した各組織における放射能分布率及び放射能濃度（%dose/g）により評価した。投与後 2 分における脳内放射能濃度は、雄性マウスで 7.33 %dose/g 及び雌性マウスで 6.23 %dose/g を示し、投与後 60 分で血液と同程度まで低下することから、^{18}F-AV-45 投与直後

より放射性物質は脳内へ移行し、その後速やかに洗い出されることが明らかとなった。アカゲザルにおけるPETイメージング試験からは、^{18}F-AV-45投与直後から放射性物質が脳内へ容易に移行し、投与後90分以内に脳から速やかに洗い出されることが確認された。

^{18}F-AV-45の代謝は肝ミクロソームを用いた*in vitro*試験及びマウス*in vivo*試験で評価した。*In vitro*代謝プロファイルはラットとヒトの間に特記すべき差は認められなかった。*In vitro*及び*in vivo*試験では^{18}F-AV-45の代謝物として、*N*-脱メチル体である^{18}F-AV-160とその*N*-アセチル体である^{18}F-AV-267の2 種類の主要代謝物並びに*in vivo*試験では少量の未同定極性代謝物を1つ以上検出した。^{125}I-IMPYとアルツハイマー病患者由来脳ホモジネートの結合に対する、^{19}F-AV-160及び^{19}F-AV-267の結合阻害作用を評価したところ、^{19}F-AV-45と比べ明らかに弱い阻害作用を示した。同様な結果は*in vitro*結合実験（脳ホモジネートを用いた結合実験及び脳切片を用いたARG）からも得られ、^{18}F-AV-160及び^{18}F-AV-267のAβに対する結合量は、^{18}F-AV-45と比べて明らかに少なかった。また、^{18}F-AV-160及び^{18}F-AV-267投与後のマウス体内分布実験において、放射性物質は投与直後より脳内へ移行し、その後、速やかに洗い出された。これらの結果から、^{18}F-AV-160及び^{18}F-AV-267のAβに対する結合親和性は^{18}F-AV-45と比べて弱く、また静脈内投与したときの放射性物質は脳内から速やかに洗い出されたことから、これらの代謝物は^{18}F-AV-45の薬効に影響を与えないと推察された。

以上より、^{18}F-AV-45はAβを検出する放射性化合物として、最適な薬物動態性能を有していることが示された。

2.4.4　毒性試験

^{19}F-AV-45の毒性試験として、単回及び反復静脈内投与試験並びに一連の*in vitro*及び*in vivo*遺伝毒性試験を実施した。ラット及びイヌは毒性試験で一般的に用いられることから評価動物種として選択した。最高用量と予定最大臨床用量（50 μg/ヒト）をアロメトリー補正により比較すると、毒性試験で設定した最高用量は単回投与毒性試験では100倍（ラット）、反復投与毒性試験では25倍（ラット及びイヌ）に相当する。

2.4.4.1　単回投与毒性試験

..... 添付資料 4.2.1.3.3

拡張型単回静脈内投与毒性試験は、ラットにアロメトリー補正に基づいて予定最大臨床用量の0、51及び100倍（0、224及び448 μg/kg）の用量を投与し（投与日：試験1日）、試験3日及び15日に剖検した。評価項目は、一般状態観察、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、摂餌量、体重、剖検及び病理組織学的検査とした。

その結果、いずれの群においても死亡及び異常所見は認められなかった。病理組織学的検査を含む全ての結果から、無毒性量は、^{19}F-AV-45の予定最大臨床用量（50 μg/ヒト）の100倍相当であった。

2.4.4.2　反復投与毒性試験

.....添付資料 4.2.1.3.3、4.2.3.2.1、4.2.3.2.2

^{19}F-AV-45 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験は、ラットにアロメトリー補正に基づいて予定最大臨床用量の 0、5.4、13、25 倍（0、24、56 及び 112 μg/kg/日）を 1 日 1 回 28 日間反復静脈内投与し（初回投与：試験 1 日）、試験 29 日及び 14 日間の回復期間後（試験 43 日）に剖検した。投与期間中及び回復期間中には、死亡の有無の確認、一般状態観察、体重測定及び体重推移、摂餌量測定、FOB、外観検査、血液生化学的検査、血液学的検査、尿検査、血液凝固検査、剖検、臓器重量及び病理組織学的検査を実施したが、いずれの群においても投与に関連した毒性所見は認められなかった。病理組織学的検査を含むすべての観察に基づき、ラットの無毒性量は予定最大臨床用量の 25 倍と判断した。

^{19}F-AV-45 の 14 日間反復静脈内投与毒性試験は、ビーグル犬にアロメトリー補正に基づいて予定最大臨床用量の 0、5.4、12、25 倍（0、7、16 及び 32 μg/kg/日）の ^{19}F-AV-45 を 1 日 1 回 14 日間反復静脈内投与し（初回投与 : 試験 1 日）、試験 15 日及び 14 日間の回復期間後（試験 29 日）に剖検した。投与期間中及び回復期間中には、死亡の有無の確認、一般状態観察、眼科学的検査、心電図検査、体重測定、摂餌量測定、臨床検査、組織重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施し、いずれの群でも投与に関連した毒性所見は認められなかった。本検討では、被験物質の投与液中の含量が試験 1 日目では規格内であったが、以降の試験日では低用量群で 70～85%、中用量群で 51～70%、高用量群で 35～54%の範囲でばらついた。この原因は不明であるが、高用量群の最も低い投与液中の ^{19}F-AV-45 含量を考慮して、無毒性量は 11.2 μg/kg/日（32 μg/kg/日×0.35）以上とするのが適切と考えられた。この無毒性量は、予定最大臨床用量の 8.7 倍に相当する。

^{19}F-AV-45 の 28 日間反復静脈内投与毒性試験は、ビーグル犬にアロメトリー補正に基づいて予定最大臨床用量の 0、8.7 及び 25 倍（0、11.2 及び 32 μg/kg/日）を 1 日 1 回 28 日間反復静脈内投与し（初回投与：試験 1 日）、試験 29 日及び 14 日間の回復期間後（試験 43 日）に剖検した。

投与期間中及び回復期間中には、死亡の有無の確認、一般状態観察、眼科学的検査、体重測定、摂餌量測定、臨床検査（試験前、投与 2 及び 4 週目並びに回復期間）、組織重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施し、いずれの群でも投与に関連した毒性所見は認められなかった。投与 2 及び 4 週目において、高用量群の雄で単球数及びグロブリンの増加が、高用量群の雌雄でフィブリノーゲンの増加が認められた。これらの変化は統計学的に有意であったが、軽微な変化であり、病理組織学的検査ではこれらの変化に伴う炎症性所見は認められず、臨床的意義のある毒性所見とは判断しなかった。以上の結果から、無毒性量は予定最大臨床用量の 25 倍と判断した。

2.4.4.3　遺伝毒性試験

.....添付資料 4.2.3.3.1.1、4.2.3.3.1.2、4.2.3.3.2.1

細菌を用いる ^{19}F-AV-45 の復帰突然変異誘発性は 4 株のネズミチフス菌、1 株の大腸菌を用いて評価した。5 株中 3 株で復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、TA98 及び TA100 では、検討した最低用量である 25 μg/plate から復帰変異コロニー数の増加が認められた。代謝活性化系存在下において、TA98 及び TA100 共に 25 μg/plate 以上で復帰突然変異誘発性ありと判断した。また、代謝活性化系非存在下において、TA98 では 50 μg/plate 以上、TA100 では 100 μg/plate 以上で復帰突然変異誘発性ありと判断した。25 μg/plate における ^{19}F-AV-45 濃度は 1.36 mmol/L と見積もられ、これは予定最大臨床用量における推定最高血液中濃度（28 nmol/L）の約 49000 倍に相当する。

In vitro における ^{19}F-AV-45 の染色体異常誘発性は培養ヒト末梢血リンパ球を用い、代謝活性化系の存在下及び非存在下において、短時間（3 時間）及び長時間（22 時間）の処理により評価した。3 時間の処理では、代謝活性化系の存在に関わらず、染色体構造異常及び数的異常を有する細胞比率の統計学的に有意な増加は認められなかった。一方、代謝活性化系の非存在下 22 時間の処理では、検討したすべての濃度で、溶媒対照群と比較して構造異常を有する細胞比率の統計学的に有意な増加が認められた。本条件における ^{19}F-AV-45 濃度は 28.91～462.5 μg/mL（80.5 μmol/L～1.29 mmol/L に相当）であり、予定最大臨床用量における推定最高血液中濃度（28 nmol/L）の約 2900～46000 倍に相当する。

In vivo における ^{19}F-AV-45 の遺伝毒性はラット骨髄における小核を有する多染性赤血球（MPCE）の発現頻度で評価した。本検討における最高用量には、技術的に実施可能な最大量を設定した。^{19}F-AV-45 を投与した動物では、雌雄いずれも全ての用量において、対照群と比較して MPCE の出現数の有意な増加は認められなかった。このことから、最高用量である 372 μg/kg/日をラットに 1 日 2 回、3 日間連日投与したとき、^{19}F-AV-45 は染色体異常誘発性を示さないと考えられた。372 μg/kg/日は、アロメトリー補正に基づくと、^{19}F-AV-45 の予定最大臨床用量（50 μg/ヒト）の 84 倍に相当する。

In vitro 及び *in vivo* 試験間での結果の相違は、^{19}F-AV-45 の曝露期間に起因すると考えられた。すなわち、*in vivo* 試験では ^{19}F-AV-45 は速やかに体内から消失するのに対し、*in vitro* 試験では試料が一定濃度の ^{19}F-AV-45 及びその代謝物に持続的に曝露されることから、遺伝毒性に対する反応性が高いと考えられた。実際、染色体異常試験において、^{19}F-AV-45 は 3 時間の処理では陰性であり、22 時間の処理でのみ遺伝毒性を示した。^{18}F-AV-45 のヒトへの投与は単回であること、並びに非臨床及び臨床試験成績から ^{18}F-AV-45 及びその代謝物の体内への蓄積及び持続的な曝露は起こらないことが示されていることを考慮すると、^{18}F-AV-45 がヒトにおいて遺伝毒性を示す可能性は低いと考えられた。

以上より、*in vitro* 遺伝毒性の結果が臨床上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

^{18}F-AV-45 はヒト脳内における Aβ プラークを標識、画像化するための新規の放射性標識化

合物である。効力を裏付ける試験ではヒト脳組織中の Aβ に対する ^{18}F-AV-45 の結合親和性及び選択性について神経病理学的に AD と診断された死後脳から調製した脳切片やホモジネートを用いて評価した。その結果、^{19}F-AV-45 は既報の Aβ 凝集体選択的リガンドと同等の強い結合親和性を有していること、さらに、^{18}F-AV-45 の Aβ 凝集体に対する K_d は 3.72 nmol/L であることが示された。また、脳切片を用いた検討において、^{18}F-AV-45 の結合は、標準的な神経病理学的手法で測定した Aβ 沈着量と高い相関を示す一方、神経原線維変化とは相関しないことが示された。

中枢神経系及び心血管系に発現する G タンパク質共役型受容体、イオンチャネル及びトランスポーターに対する ^{19}F-AV-45 の阻害作用を評価した結果、阻害定数は ^{19}F-AV-45 と Aβ の結合親和性と比較して 1000 倍以上であることから、^{19}F-AV-45 がこれらと相互作用を示す可能性は低いと考えられた。以上の結果から、^{18}F-AV-45 の Aβ に対する高い選択性及び親和性が示された。

^{19}F-AV-45 は 12.4 μmol/L で hERG 電流を 17%阻害したが、予定最大臨床用量における推定最高血液中濃度と比較して大きな曝露量比があり、臨床上問題となる hERG 電流の阻害が起こる可能性は低いと考えられた。安全性薬理コアバッテリー試験では、ラットを用いた中枢神経系機能の評価並びにビーグル犬を用いた心血管系及び呼吸系機能の評価を実施したが、予定最大臨床用量の 100 倍に相当する用量においても生物学的に意義のある変化は認められなかった。マウス体内分布試験に基づいたヒトにおける推定被ばく線量からは、既承認の放射性医薬品である ^{18}F-FDG と同程度であることが確認された。薬力学的薬物相互作用試験では、^{18}F-AV-45 と併用される可能性のある医薬品及び医薬品候補化合物について、^{18}F-AV-45 の臨床使用を想定した場合、これらの薬剤との相互作用が問題となる可能性は低いと考えられた。

^{18}F-AV-45 を用いた体内分布及び代謝試験からは、単回静脈内投与で用いられる放射性化合物として最適な薬物動態性能を有していることが示された。マウス及びアカゲザルへの ^{18}F-AV-45 静脈内投与後、放射性物質は ^{18}F-AV-45 投与直後より脳内へ急速に移行し、その後速やかに洗い出された。^{18}F-AV-45 は 2 種類の主要代謝物に速やかに変換され、これらの Aβ に対する結合親和性は ^{18}F-AV-45 と比べて弱く、また静脈内投与したときに脳内から速やかに洗い出されることから、これらの代謝物は ^{18}F-AV-45 の薬効に影響を与えないと推察された。肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝試験からは ^{18}F-AV-45 の代謝に種差は観察されなかった。

^{19}F-AV-45 のラットを用いた毒性試験において、拡張型単回投与毒性試験ではアロメトリー補正に基づき、予定最大臨床用量（50 μg/ヒト）の 100 倍、28 日間反復投与毒性試験では 25 倍に相当する用量を投与しても、投与に関連した毒性所見は認められなかった。また、ビーグル犬を用いた毒性試験においては、14 日間及び 28 日間反復静脈内投与毒性試験共に、予定最大臨床用量のそれぞれ 8.7 倍及び 25 倍に相当する用量を投与しても、投与に関連した臨床的意義のある毒性所見は認められなかった。したがって、ラット及びイヌを用いて実施したいずれの試験においても、無毒性量は検討した最高用量と判断した。

遺伝毒性は *in vitro* 及び *in vivo* 試験で評価した。細菌を用いる復帰突然変異試験では、5 種の試験菌株のうち 2 種で陽性反応が認められた。ヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験

では、短時間処理法（約 3 時間）では代謝活性化系の有無に関わらず染色体異常は認められなかったが、連続処理法（約 22 時間）の代謝活性化系非存在下では、構造異常を有する細胞比率に統計学的に有意な増加が認められた。一方、ラット骨髄細胞を用いる小核試験では、小核を有する多染性赤血球数の増加は認められなかった。*In vitro* 及び *in vivo* 試験間での結果の相違は、^{19}F-AV-45 の曝露期間に起因すると考えられた。^{18}F-AV-45 のヒトへの投与は単回であること、並びに非臨床及び臨床試験成績から ^{18}F-AV-45 及びその代謝物の体内への蓄積及び持続的な曝露は起こらないことが示されていることを考慮すると、^{18}F-AV-45 がヒトにおいて遺伝毒性を示す可能性は低いと考えられた。

以上より、^{19}F-AV-45 の一連の毒性試験において、臨床上問題となる毒性学的な懸念は同定されておらず、忍容性は良好であると考えられた。

以上の非臨床試験成績から、^{18}F-AV-45 は高い親和性及び選択性をもって Aβ に結合し、脳内 Aβ プラークを標識、画像化するための放射性標識化合物として適切な薬物動態及び薬力学的プロファイルを有することが示された。また、予定されている臨床での用法・用量において安全性上の懸念はないことが示された。

2.4.6　参考文献一覧

以下の参考文献はすべて「4.3 参考文献」項にコピーを添付した。

1. Kung MP, Zhuang ZP, Hou C, Kung HF. Development and Evaluation of Iodinated Tracers Targeting Amyloid Plaques for SPECT Imaging. J Mol Neurosci. 2004;24:49-53.
2. Kung MP, Hou C, Zhuang ZP, Cross AJ, Maier DL, Kung HF. Characterization of IMPY as a potential imaging agent for β-amyloid plaques in double transgenic PSAPP mice. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2004;31:1136-45.
3. Zhang W, Oya S, Kung MP, Hou C, Maier DL, Kung HF. F-18 Polyethyleneglycol stilbenes as PET imaging agents targeting Aβ aggregates in the brain. Nucl Med Biol. 2005;32:799-809.
4. Zhang W, Kung MP, Oya S, Hou C, Kung HF. ^{18}F-labeled styrylpyridines as PET agents for amyloid plaque imaging. Nucl Med Biol. 2007;34:89-97.
5. Kung MP, Hou C, Zhuang ZP, Zhang B, Skovronsky D, Trojanowski JQ, et al. IMPY: an improved thioflavin-T derivative for in vivo labeling of β-amyloid plaques. Brain Res. 2002;956:202-10.
6. Redfern WS, Carlsson L, Davis AS, Lynch WG, Mac Kenzie I, Palethorpe S, et al. Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development. Cardiovasc Res. 2003;58:32-45.

（最終ページ）