アミヴィッド静注

CTD 第 2 部

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1　緒言

富士フイルム RI ファーマ株式会社

（空白ページ）

2.6.1　緒言

脳におけるアミロイド β プラークの存在はアルツハイマー病の病理学的特徴として知られている[1-3]。アミロイドβの検出にはアミロイドβへ結合する発色及び蛍光色素が用いられ、50 年以上の間、病理学者によって利用されている[4]。その後、これらの化合物を基に放射性薬剤の開発が行われることとなった。アミロイドβプラークの検出を目的とした放射性医薬品で、最も広く研究されている化合物はチオフラビン T 誘導体の ^{11}C-Pittsburgh compound B（^{11}C-PIB）である。非臨床及び臨床試験からは、^{11}C-PIB が脳内アミロイドβプラークに対して高い親和性を示し、選択的に結合することが示唆されている[5,6]。しかし、^{11}C の物理的半減期は 20.39 分であり、^{11}C-PIB を日常的な臨床に使用することは困難であることから、物理的半減期のより長い ^{18}F（物理的半減期 109.771 分）で標識されたアミロイドβプラークに結合する放射性医薬品の探索が始まった。

アミヴィッド静注は、florbetapir (^{18}F)を有効成分とする、アルツハイマー型認知症が疑われる認知機能障害を有する患者の脳内アミロイド β プラークの可視化に用いられる陽電子放出断層撮影（PET）用放射性医薬品であり、アミロイドβに高親和性、選択的に結合するように設計され、加えて適切な PET 用放射性医薬品としての特性を有している。florbetapir (^{18}F)の構造式を図 2.6.1-1 に示す。

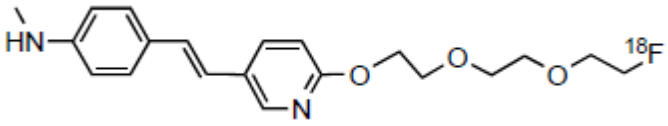


図 2.6.1-1　　florbetapir (^{18}F)の構造式

以下の項では、非臨床試験で得た florbetapir (^{18}F)に関する薬理、薬物動態及び毒性試験結果に基づいて、その特徴を論述する。なお、予定されているアミヴィッド静注の効能・効果及び用法・用量を表 2.6.1-1 に示す。

表 2.6.1-1　アミヴィッド静注の効能・効果及び用法・用量

効能・効果	アルツハイマー型認知症が疑われる認知機能障害を有する患者の脳内アミロイドベータプラークの可視化
用法・用量	フロルベタピル（^{18}F）として 370 MBq を静脈内投与し、投与 30 分後から 50 分後までに撮像を開始する。撮像時間は 10 分間とする。

参考文献

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. Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. N Engl J Med. 2010;362(4):329-44.
2. Roberson ED, Mucke L. 100 years and counting: prospects for defeating Alzheimer's disease. Science. 2006;314(5800):781-4.
3. Selkoe DJ, Schenk D. Alzheimer's disease: molecular understanding predicts amyloid-based therapeutics. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2003;43:545-84.
4. Cooper JH. An evaluation of current methods for the diagnostic histochemistry of amyloid. J Clin Path. 1969;22: 410-3.
5. Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt DP, et al. Imaging brain amyloid in Alzheimer’s disease with Pittsburgh compound-B. Ann Neurol. 2004;55(3):306–19.
6. Mathis CA, Lopresti BJ, Klunk WE. Impact of amyloid imaging on drug development in Alzheimer's disease. Nucl Med Biol. 2007;34(7):809-22.

（最終ページ）

アミヴィッド静注

CTD 第 2 部

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2　薬理試験の概要文

富士フイルム RI ファーマ株式会社

（空白ページ）

2.6.2 目次

2.6.2 薬理試験の概要文 4
2.6.2.1 まとめ 6
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 7
2.6.2.2.1 Aβ 凝集体に対する結合親和性 7
2.6.2.2.2 Aβ プラークに対する結合選択性 8
2.6.2.3 副次的薬理試験 10
2.6.2.3.1 ^{19}F-AV-45 の中枢神経系及び心血管系受容体への結合性評価 10
2.6.2.4 安全性薬理試験 11
2.6.2.4.1 ^{19}F-AV-45 の hERG カリウムチャネルに対する作用 11
2.6.2.4.2 ^{18}F-AV-45 の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 11
2.6.2.4.3 SD ラットにおける単回及び 28 日間反復静脈内投与試験及び FOB 試験 14
2.6.2.4.4 ビーグル犬における ^{19}F-AV-45 の呼吸機能及び心血管系に対する安全性薬理試験 14
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 15
2.6.2.6 考察及び結論 16
2.6.2.7 図表 16
2.6.2.8 参考文献 17

2.6.2　薬理試験の概要文

表 2.6.2-1　薬理試験の概要文及び概要表で用いた略語一覧表

略語	内容
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
B_{max}	receptor binding site concentration 最大結合量
Bq	becquerel 放射能の単位（放射性物質が 1 秒間に崩壊する原子の個数）
BTA-1	2-(4'-methylaminophenyl)benzothiazole Aβ への結合が知られているチオフラビン T 誘導体
Ci	curie 放射能の単位（1 Ci＝3.7×10^{10} Bq）
CO_2	carbon dioxide 二酸化炭素
cpm	counts per minute 1 分間当たりの計数率
^{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
FDA	U.S. Food and Drug Administration 米国食品医薬品局
^{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
GLP	Good Laboratory Practice 優良試験所基準
HEK293	human embryonic kidney cell line ヒト胎児腎臓細胞株
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

表 2.6.2-1 薬理試験の概要文及び概要表で用いた略語一覧表（続き）

略語	内容
IC_{50}	concentration required for 50% inhibition 50%阻害を示す薬物濃度
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human use 日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IHC	immunohistochemistry 免疫組織化学染色
^{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
I_{Kr}	rapid delayed rectifier current 遅延整流カリウムイオン電流の速い成分
IMPY	6-iodo-2-(4'-dimethylamino)-phenyl-imidazo[1,2-a]pyridine 既報の Aβ 選択的リガンド
K_d	disassociation constant 解離定数
K_i	dissociation constant for inhibitor binding 阻害定数
NP	neuritic plaque 神経突起斑
PBR	peripheral-type benzodiazepine receptor 末梢型ベンゾジアゼピン受容体
PIB	Pittsburgh compound B 既報の Aβ 選択的リガンド
SD	Sprague-Dawley ラットの系統名
SP	senile plaque 老人斑（neuritic plaque と diffuse plaque を含む）
Sv	sievert 線量等価を表す単位
VMAT-2	vesicular monoamine transporter-2 2 型小胞モノアミントランスポーター

2.6.2.1　まとめ

非臨床薬理試験において、florbetapir（^{18}F）（以下、^{18}F-AV-45）の有効性及び安全性を評価した。

効力を裏付ける試験では、ヒト死後脳を用いてアミロイド β（Aβ）たん白質に対する ^{18}F-AV-45 の結合親和性及び選択性を検討した。

副次的薬理試験では、^{18}F-AV-45 と同一の化学構造を有する非放射化合物である ^{19}F-AV-45 を用いて中枢系及び心血管系の受容体結合選択性を検討した。安全性薬理試験では、^{19}F-AV-45 を用いて非臨床安全性プロファイルを評価するとともに、ヒトにおける ^{18}F-AV-45 の放射線被ばくリスクを推定した。なお、安全性薬理試験の一部は試験実施時に有効であった米国食品医薬品局（FDA）の Good Laboratory Practice（GLP）を遵守して実施した。また、個々の試験法は、日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインを参照して実施した。

薬力学的薬物相互作用試験では、併用される可能性のある医薬品について、^{18}F-AV-45 と Aβ 凝集体及び Aβ プラークとの結合に対する相互作用を検討した。

表 2.6.2-2　非臨床薬理試験の一覧表

試験の種類	試験系	被験物質	投与方法	GLP 適用	資料区分
効力を裏付ける試験					
Aβ 凝集体に対する結合親和性	脳ホモジネート	^{18}F-AV-45 及び ^{19}F-AV-45	*In vitro*	不適	参考資料
Aβ プラークに対する結合選択性	脳切片	^{18}F-AV-45	*In vitro*	不適	評価資料
副次的薬理試験					
中枢系及び心血管系（受容体結合選択性）	受容体パネル	^{19}F-AV-45	*In vitro*	不適	評価資料
安全性薬理試験					
心血管系	hERG 遺伝子発現 HEK293 細胞	^{19}F-AV-45	*In vitro*	適	評価資料
全身（推定実効線量）	ICR マウス	^{18}F-AV-45	静脈内	不適	評価資料
中枢系	SD ラット	^{19}F-AV-45	静脈内	適	評価資料
心血管系及び呼吸系	ビーグル犬	^{19}F-AV-45	静脈内	適	評価資料
薬力学的薬物相互作用試験					
併用薬との薬物相互作用（*in vitro*）	脳ホモジネート及び脳切片	^{18}F-AV-45	*In vitro*	不適	評価資料

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

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、神経病理学的にアルツハイマー病（AD）と診断された死後脳を用い、十分に確立された既報の手法に従って実施した[1-5]。

2.6.2.2.1　Aβ 凝集体に対する結合親和性

..... 添付資料 4.2.1.1.1

Aβ 凝集体選択的リガンドである ^{125}I-IMPY と AD 患者由来脳ホモジネートの結合に対する結合阻害試験において、^{19}F-AV-45 の阻害定数（K_i）は　5.5 nmol/L を示した（添付資料 4.2.2.4.2）。Aβ 凝集体に高い親和性をもつ Pittsburgh compound B（PIB）の K_i は、同様の試験系で 2.8 nmol/L[3] と報告されており、^{19}F-AV-45 の Aβ 凝集体に対する結合親和性は PIB と同等であると推察された。

続いて、^{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。^{18}F-AV-45（添加濃度：0.04～0.06 nmol/L）と AD 患者由来脳ホモジネートの結合に対し、^{19}F-AV-45 及び各 Aβ 凝集体選択的リガンドを 1×10^{-5}～1×10^{-10} mol/L の濃度範囲で添加し、K_i を測定した。非特異的結合は、Aβ への結合が知られている BTA-1[6]を過剰量加えることで測定した。結果を表 2.6.2-3 に示す。この試験系における ^{19}F-AV-45 の K_i は 2.87 nmol/L であり、既報の Aβ 凝集体選択的リガンドである BAY94-9172 及び GE-067 の Ki はそれぞれ 2.22 nmol/L 及び 0.74 nmol/L であった。

表 2.6.2-3　各 Aβ 凝集体選択的リガンドの結合親和性

パラメーター	Aβ 凝集体選択的リガンド			
	^{19}F-AV-45	PIB	GE-067	BAY94-9172
K_i（nmol/L）	2.87 ± 0.17	0.87 ± 0.18	0.74 ± 0.38	2.22 ± 0.54

^{18}F-AV-45 と AD 患者由来脳ホモジネートの結合に対する、各 Aβ 凝集体選択的リガンドの阻害定数（K_i）を示す。

平均値 ± 標準偏差（n=3）

さらに、Aβ 凝集体に対する結合試験を実施し、^{18}F-AV-45 の解離定数（K_d）及び最大結合量（B_{max}）を算出した。AD 患者由来脳ホモジネートに、^{18}F-AV-45 を加えてインキュベートしたところ、K_d 及び B_{max} はそれぞれ 3.72 nmol/L 及び 8811 fmol/mg を示した。

2.6.2.2.2　Aβ プラークに対する結合選択性

..... 添付資料 4.2.1.1.2

^{18}F-AV-45 の結合量と Aβ 沈着量及び神経原線維変化との関係をヒト脳切片を用いて評価した。死亡後の解剖で得られた、被験者（AD 患者、ほか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 結合量はオートラジオグラフィー（ARG）、Aβ 沈着量は Aβ SP スコア（modified Bielschowsky 銀染色）、Aβ プラークスコア（Campbell-Switzer 銀染色）、Aβ NP スコア（チオフラビン S 蛍光染色）及び Aβ 染色率（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））を用いて測定し、神経原線維変化は 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、10D5（Aβ たん白質のアミノ酸配列 3～7 を認識）、6F/3D（Aβ たん白質のアミノ酸配列 8～17 を認識）又は 4G8（Aβ たん白質のアミノ酸配列 17～24 を認識）を用いた。

まず、ヒト脳切片を用いた ^{18}F-AV-45 の代表的なオートラジオグラムを図 2.6.2-1 及び図 2.6.2-2 に示す。^{18}F-AV-45 は大脳皮質に結合し、その結合部位はチオフラビン S の結合部位とよく一致した。

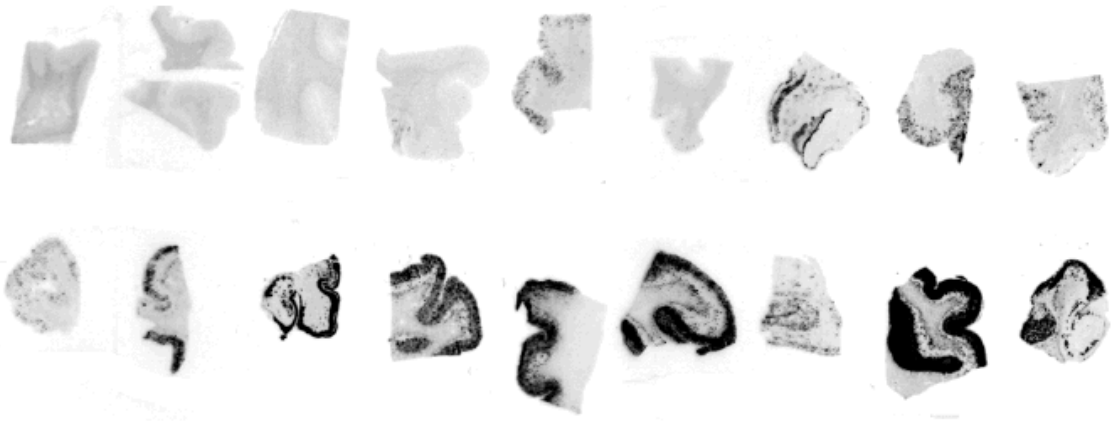


図 2.6.2-1　ヒト脳切片に対する ^{18}F-AV-45 のオートラジオグラム

黒色斑は、^{18}F-AV-45 結合領域を示す。

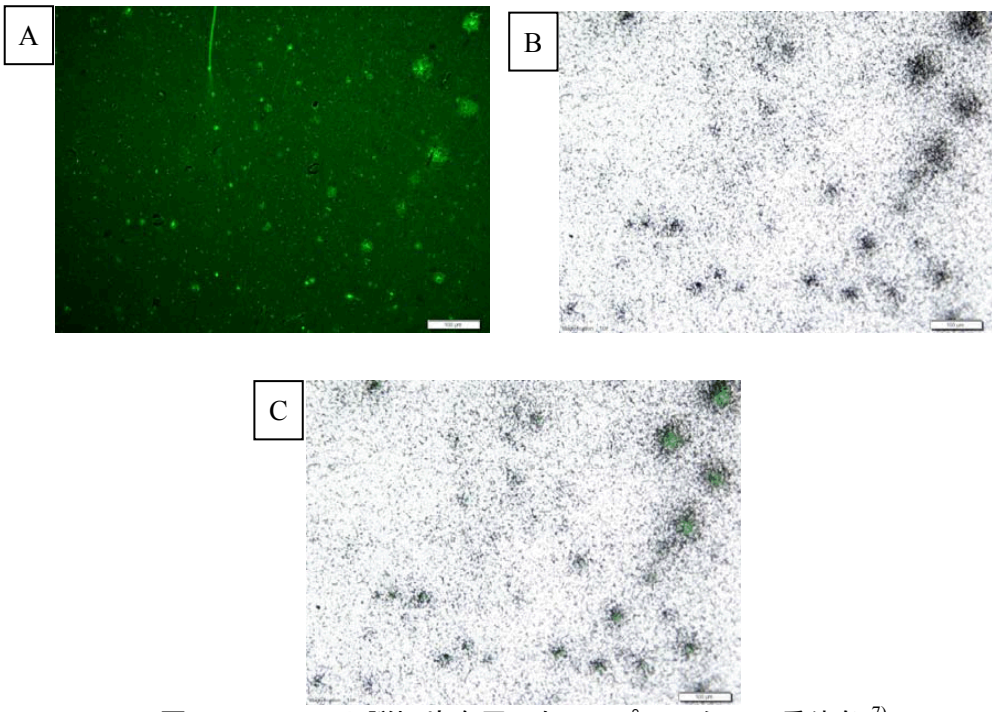


図 2.6.2-2　ヒト脳切片を用いた Aβ プラークの二重染色 [7)]

A - チオフラビン S による蛍光染色
B - ^{18}F-AV-45 による ARG
C - A と B の重ね合わせ画像
画像右下のスケールバーは 100 μm を表す。

^{18}F-AV-45 結合量と Aβ 沈着量及び神経原線維変化との相関関係について、解析した結果を表 2.6.2-4、表 2.6.2-5 及び表 2.6.2-6 に示す。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。

表 2.6.2-4　ヒト脳凍結切片に対する ^{18}F-AV-45 結合量と Aβ 沈着量及び神経原線維変化の関係　（実施施設：[redacted] ほか）

比較対象	相関係数 r	P 値
^{18}F-AV-45 結合量（ARG）[a] vs Aβ プラークスコア（Campbell-Switzer 銀染色）[b]	0.95	＜0.0001
^{18}F-AV-45 結合量（ARG）[a] vs 神経原線維変化スコア（Gallyas 銀染色）[b]	0.33	0.21

a - オートラジオグラムの光学濃度により測定した。
b - 染色密度に従って、スコア化した。0（沈着なし）～3（沈着密度：高）
被験者 16 例より得られた脳切片を用いて試験した（AD 患者由来検体：7 例、進行性核上性麻痺患者由来検体：4 例、血管性認知症患者由来検体：3 例、健康成人由来検体：2 例）。

表 2.6.2-5　ヒト脳パラフィン包埋切片に対する ^{18}F-AV-45 結合量と Aβ 沈着量及び神経原線維変化数の関係（実施施設：[redacted]ほか）

比較対象	相関係数 r	P 値
^{18}F-AV-45 結合量（ARG）[a] vs Aβ SP スコア（modified Bielschowsky 銀染色）[b]	0.84	＜0.0001
^{18}F-AV-45 結合量（ARG）[a] vs Aβ 染色率（6F/3D による IHC）[c]	0.66	＜0.0001
^{18}F-AV-45 結合量（ARG）[a] vs Aβ 染色率（10D5 による IHC）[c]	0.89	＜0.0001
^{18}F-AV-45 結合量（ARG）[a] vs Aβ NP スコア（チオフラビン S による蛍光染色）[d]	0.73	＜0.0001
^{18}F-AV-45 結合量（ARG）[a] vs 神経原線維変化スコア（modified Bielschowsky 銀染色）[e]	0.23	0.113
Aβ 染色率（10D5 による IHC）[c] vs Aβ SP スコア（modified Bielschowsky 銀染色）[b]	0.82	＜0.0001
Aβ NP スコア（チオフラビン S による蛍光染色）[d] vs Aβ 染色率（10D5 による IHC）[c]	0.75	＜0.0001

a - オートラジオグラムの光学濃度により測定した。

b - 1 mm^2 当たりの老人斑数を測定した。

c - 抗 Aβ 抗体による染色面積割合を測定した。

d - 蛍光強度に従って、スコア化した。0（蛍光強度：弱）～6（蛍光強度：強）

e - 1 mm^2 当たりの神経原線維変化数を測定した。

被験者 48 例より得られた脳切片を用いて試験した。但し、銀染色は 47 例で実施した。

表 2.6.2-6　ヒト脳パラフィン包埋切片に対する ^{18}F-AV-45 結合量と Aβ 沈着量の関係（実施施設：[redacted]ほか）

比較対象	相関係数 r	P 値
^{18}F-AV-45 結合量（ARG）[a] vs Aβ 染色率（4G8 による IHC）[b]	0.94	0.002

a - オートラジオグラムの光学濃度により測定した。

b - 抗 Aβ 抗体による染色面積割合を測定した。

[redacted]で用いた検体のうち、7 例を選択して試験した。

2.6.2.3　副次的薬理試験

2.6.2.3.1　^{19}F-AV-45 の中枢神経系及び心血管系受容体への結合性評価

..... 添付資料 4.2.1.2.1

放射性リガンド結合実験により、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。本検討で用いた受容体パネルは、アデノシン、アドレナリン、ベンゾジアゼピン、ボンベシン、ドパミン、γ-アミノ酪酸、メラトニン、ムスカリン、ニューロテンシン、ニコチン、オピエート、カリウムチャネル、セロトニン及びシグマ受容体並びにいくつかのトランスポーターを含む。これらの受容体と親和性のある既知の放射性リガンドとの結合に対し、10 μmol/L の ^{19}F-AV-45 を添加して結合阻害率を評価した。

その結果、44 種類の受容体においては 10 μmol/L の ^{19}F-AV-45 による阻害は認められなかった。一方、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）においては、^{19}F-AV-45 による弱い阻害が認められた。これらの受容体結合に対し、段階希釈した ^{19}F-AV-45 により求めた 50%阻害濃度（IC_{50}）値は、それぞれ 8.15 及び 7.38 μmol/L と算出された。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 の Aβ 凝集体との結合親和性（K_i = 5.5 nmol/L、添付資料 4.2.2.4.2）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。

2.6.2.4　安全性薬理試験

2.6.2.4.1　^{19}F-AV-45 の hERG カリウムチャネルに対する作用

..... 添付資料 4.2.1.3.1

ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（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。I_{Kr} の阻害は心筋活動電位の持続期間の延長（QT 間隔延長）を引き起こし、致死性の心室性不整脈（Torsade de pointes）の発生と関連している [8)]。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 を適用し、hERG 電流に対する影響を評価した。なお、本検討は FDA の GLP 適用下で実施した。

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 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大きな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。

2.6.2.4.2　^{18}F-AV-45 の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

..... 添付資料 4.2.1.3.2

^{18}F-AV-45 をマウスに単回静脈内投与して、各組織に分布した放射能の投与放射能に対する百分率を求め（放射能分布率、単位：%dose）、さらに組織重量あたりの放射能分布率を算出

した（放射能濃度、単位：%dose/g）。各組織中の放射能濃度から、マウスとヒトの体重比に基づいてヒト組織中の放射能濃度に換算し、さらに成人男性標準モデルの組織重量を用いてヒト組織中の放射能分布率を求めた。ヒト組織中の放射能分布率を時間で積分して滞留時間（residence time）に換算し、この換算値を OLINDA/EXM ソフトウェア [9] で解析して、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（表 2.6.2-7）。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。

表 2.6.2-7　予定最大臨床用量 370 MBq の ^{18}F-AV-45 及び同じ用量の ^{18}F-FDG をヒトへ投与したときの推定放射線被ばく線量（mSv/370 MBq）

組織	^{18}F-AV-45 [a]	^{18}F-FDG [b]
副腎	2.71	4.4
脳	1.88	14
乳腺	1.32	3.3
胆嚢壁	5.92	4.8
大腸下部壁	15.2	5.2
小腸	37.7	4.4
胃壁	3.35	4.1
上部大腸壁	42.6	4.4
心臓壁	2.38	25
腎臓	4.99	6.3
肝臓	7.41	7.8
肺	2.32	7.4
筋肉	2.46	3.7
卵巣	8.35	5.2
膵臓	3.36	4.8
赤色骨髄	4.13	4.1
骨形成細胞	7.01	
骨表面		4.1
皮膚	1.47	2.9
脾臓	2.43	4.1
精巣	2.23	4.1
胸腺	1.56	4.4
甲状腺	1.93	3.7
膀胱壁	34.5	48
子宮	7.89	6.7
その他全身	3.24	4.4
実効線量	8.24	7.0

a - マウス体内分布試験から推定した、成人に 370 MBq の ^{18}F-AV-45 を投与したときの被ばく線量。各組織の被ばく線量及び実効線量は、単位放射能あたりの被ばく線量及び実効線量（mSv/MBq）を 370 MBq あたりの値に換算して示した。

b - 成人に 370 MBq の ^{18}F-FDG を投与したときの被ばく線量 [10]。各組織の被ばく線量は、単位放射能あたりの吸収線量（mGy/MBq）で示されている引用元の値を、370 MBq あたりの等価線量（mSv/370 MBq）に換算して示した。

2.6.2.4.3 SD ラットにおける単回及び 28 日間反復静脈内投与試験及び FOB 試験

..... 添付資料 4.2.1.3.3

^{18}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。Sprague-Dawley（SD）ラット（各群雌雄 5 匹ずつ）に ^{19}F-AV-45 を 0（溶媒）、112、224 及び 448 μg/kg の用量で単回静脈内投与後 10 分、並びに 0（溶媒）、24、56 及び 112 μg/kg/日の用量で 28 日間反復静脈内投与したときの最終投与日（投与 28 日目）の投与後 10 分に FOB 評価を実施した。なお、本検討は FDA の GLP 適用下で実施した。

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。体表面積換算によりヒト等価用量を算出すると（アロメトリー補正）、予定最大臨床用量（50 μg/ヒト、想定ヒト体重 70 kg）に比較して単回投与時の用量は 25、51 及び 100 倍、28 日間反復投与時の用量は 5.4、13 及び 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。

2.6.2.4.4 ビーグル犬における ^{19}F-AV-45 の呼吸機能及び心血管系に対する安全性薬理試験

..... 添付資料 4.2.1.3.4

^{18}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用量漸増静脈内投与試験を実施した。ビーグル犬（雌雄各 4 匹）に溶媒（10 w/v%ヒドロキシプロピル β シクロデキストリン及び 0.5 w/v%アスコルビン酸ナトリウムを含む生理食塩液／エタノール混液（90：10））を試験 1 及び 29 日（初回投与日を試験 1 日とする）に、また ^{19}F-AV-45 を試験 9、15、22 及び 30 日にそれぞれ 32、64、128 及び 128 μg/kg の用量で静脈内投与した。心血管系プロファイル（心拍数、収縮期及び拡張期血圧並びに平均動脈圧）、心電図及び体温は、埋め込み式テレメトリーシステムにより測定した。血液酸素飽和度及び呼気終末二酸化炭素（CO_2）濃度はカプノグラフィーを用いて、呼吸数は手作業によってそれぞれ測定し、呼吸機能を評価した。そのほかに死亡の有無、臨床、ケージサイド及び投与後の観察所見、並びに体重を評価した。なお、溶媒を投与した試験 29 日、並びに 128 μg/kg の ^{19}F-AV-45 を投与した試験 30 日は、呼吸系の評価のみ実施した。全ての試験は FDA の GLP 適用下で実施した。

その結果、いずれの用量においても血圧（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、体重及び生死に意義のある変化は認められなかった。投与した用量は、アロメトリー補正に基づくと予定最大臨床用量の 25、50 及

び 100 倍に相当する。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。

2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験

..... 添付資料 4.2.1.4.1

^{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て、^{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。試験では、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）並びに抗うつ薬（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 つの 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。各併用薬の検討濃度は、ヒト血中濃度及び脳内濃度を参考に、45～97 μmol/L を上限として設定した。

検討の結果、4 種類の薬剤（セレコキシブ、トログリタゾン、ガランタミン及び L-685458）で、^{18}F-AV-45 と Aβ 凝集体及び Aβ プラークの結合に対する阻害作用を検出した。AD 患者由来脳ホモジネートを用いた試験において、セレコキシブとトログリタゾンは、いずれも試験した最高濃度（セレコキシブ：52 μmol/L 及びトログリタゾン：45 μmol/L）で 50%以上の阻害作用を示し、それぞれの K_i は、10 μmol/L を超えると予想された。また、AD 患者由来脳切片を用いた試験において、セレコキシブ、ガランタミン及び L-685458 は、いずれも試験した最高濃度（セレコキシブ：52 μmol/L、ガランタミン：54 μmol/L 及び L-685458：60 μmol/L）で阻害作用を示した。しかしながら、最高濃度の 1/10 濃度においては、いずれの薬剤も阻害作用は観察されなかった。

阻害作用が観察された薬剤のうち、ガランタミンは、臨床使用時の最高血漿中濃度が 5.4 μmol/L を大きく下回る [11]。セレコキシブについては、臨床使用時の最高血漿中濃度が 5.2 μmol/L を超える可能性はあるものの [12]、低い脳移行性のため [13]、脳内濃度が 5.2 μmol/L を超える可能性は極めて低い。また、トログリタゾン及び L-685458 は、現時点において臨床使用されていない。これら 4 種類の薬剤は、高濃度条件において ^{18}F-AV-45 と Aβ の結合を阻害するものの、^{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。

2.6.2.6　考察及び結論

効力を裏付ける試験にて、Aβ たん白質に対する ^{18}F-AV-45 の結合親和性及び選択性を評価した。AD 患者由来脳ホモジネートを用いた検討において、^{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、更に、^{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、ARG で測定した ^{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。

得られた知見から、^{18}F-AV-45 は脳内 Aβ プラークを選択的かつ定量的に検出する、有効な放射性化合物であることが示唆された。

副次的薬理試験の *In vitro* 結合試験において、中枢神経系及び心血管系受容体に対して ^{19}F-AV-45 は顕著な阻害作用を示さなかったが、PBR 及び VMAT-2 に対しては弱い阻害作用を示した。しかし、^{18}F-AV-45 の予定最大臨床用量における推定最高血液中濃度が 28 nmol/L であることを考慮すると、臨床において PBR や VMAT-2 との相互作用が起こる可能性は低いと考えられる。

安全性薬理試験の hERG 試験において、^{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な意義のある変化は認められなかった。また、ビーグル犬において QT 間隔の延長は認められなかった。マウス体内分布試験の成績を基に推定した ^{18}F-AV-45 のヒトにおける実効線量は、既承認の放射性医薬品である ^{18}F-FDG と同程度であり、放射線被ばくリスクは許容できると判断した。

薬力学的薬物相互作用試験において、4 種類の薬剤（セレコキシブ、トログリタゾン、ガランタミン及び L-385458）で、^{18}F-AV-45 と Aβ 凝集体及び Aβ プラークの結合に対する阻害作用を検出した。しかしながら、いずれの薬剤も高濃度条件でのみ観察された作用であり、^{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。

2.6.2.7　図表

図表は、文中に示した。

2.6.2.8 参考文献

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. Mathis CA, Wang Y, Holt DP, Huang GF, Debnath ML, Klunk WE. Synthesis and evaluation of ^{11}C-labeled 6-substituted 2-arylbenzothiazoles as amyloid imaging agents. J Med Chem. 2003;46:2740-54.
7. Choi SR, Schneider JA, Bennett DA, Beach TG, Bedell BJ, Zehntner SP, et al. Correlation of amyloid PET ligand florbetapir F18（^{18}F-AV-45） binding with b-amyloid aggregation and neuritic plaque deposition in postmortem brain tissue. Alzheimer Dis Assoc Disord. 2012;26:8-16.
8. 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.
9. Stabin MG, Sparks RB, Crowe E. OLINDA/EXM: The second-generation personal computer software for internal dose assessment in nuclear medicine. J Nucl Med. 2005;46:1023-7.
10. International Commission on Radiological Protection. Radiation dose to patients from radiopharmaceuticals: addendum 3 to ICRP Publication 53 – ICRP Publication 106. Approved by the Commission in October 2007. Ann ICRP. 2008;38:1-197.
11. ヤンセンファーマ株式会社. 医薬品インタビューフォーム. レミニール錠. 2014 年 11 月改訂（第 6 版）.
12. アステラス製薬株式会社. 医薬品インタビューフォーム. セレコックス錠. 2015 年 2 月改

訂（第 11 版）.

13. Dembo G, Park SB, Kharasch ED. Central nervous system concentrations of cyclooxygenase-2 inhibitors in humans. Anesthesiology. 2005;102:409-15.

（最終ページ）

アミヴィッド静注

CTD 第 2 部

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3　薬理試験概要表

富士フイルム RI ファーマ株式会社

（空白ページ）

2.6.3 目次

2.6.3 薬理試験概要表 4
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 5
2.6.3.3 副次的薬理試験 6
2.6.3.4 安全性薬理試験 7
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 8

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

試験の種類	試験系	被験物質 [a]	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
効力を裏付ける試験						
Aβ 凝集体に対する結合親和性	脳ホモジネート	^{18}F-AV-45 及び ^{19}F-AV-45	*In vitro*	[redacted]		4.2.1.1.1 [b]
Aβ プラークに対する結合選択性	脳切片	^{18}F-AV-45	*In vitro*	[redacted]及び他 3 施設 [c]	[redacted]-45-020	4.2.1.1.2
副次的薬理試験						
中枢系及び心血管系（受容体結合選択性）	中枢神経系及び心血管系受容体パネル	^{19}F-AV-45	*In vitro*	[redacted]	[redacted]-004 ([redacted]-1083089)	4.2.1.2.1
安全性薬理試験						
心血管系	hERG 遺伝子発現 HEK293 細胞	^{19}F-AV-45	*In vitro*	[redacted]	071019[redacted]	4.2.1.3.1 [d]
全身（推定実効線量）	ICR マウス	^{18}F-AV-45	静脈内	[redacted]	[redacted]-45-012	4.2.1.3.2
中枢系	SD ラット	^{19}F-AV-45	静脈内	[redacted]及び [redacted]	1665-07623	4.2.1.3.3 [d]
心血管系及び呼吸系	ビーグル犬	^{19}F-AV-45	静脈内	[redacted]	1665-07887	4.2.1.3.4 [d]
薬力学的薬物相互作用試験						
併用薬との薬物相互作用（*In vitro*）	脳ホモジネート及び脳切片	^{18}F-AV-45	*In vitro*	[redacted]	[redacted]-45-081	4.2.1.4.1

a - ^{18}F-AV-45：florbetapir（^{18}F）、^{19}F-AV-45：^{18}F-AV-45 と同一の化学構造を有する非放射性化合物

b - 参考資料

c - [redacted]、[redacted]及び[redacted]

d - GLP に適合した報告書

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

試験の種類	動物種/系統	被験物質[a]	投与方法	投与量（mg/kg）	例数	特記すべき所見	記載箇所
Aβ 凝集体に対する結合親和性	ヒト	^{18}F-AV-45 及び ^{19}F-AV-45	*In vitro*	該当なし	4 例	K_d=3.72 nmol/L[b]	4.2.1.1.1[c]
Aβ プラークに対する結合選択性	ヒト	^{18}F-AV-45	*In vitro*	該当なし	64 例	^{18}F-AV-45 結合量[d] と Aβ 沈着量[e] の間に相関性あり。 ^{18}F-AV-45 結合量[d] と神経原線維変化数[f] の間に相関性なし。	4.2.1.1.2[g]

a - ^{18}F-AV-45：florbetapir（^{18}F）、^{19}F-AV-45：^{18}F-AV-45 と同一の化学構造を有する非放射性化合物
b - アルツハイマー病患者由来脳ホモジネートを用いて測定
c - 参考資料
d - 脳切片を用いた ARG で測定
e - 脳切片を用いた Campbell-Switzer 銀染色、modified Bielschowsky 銀染色、3 つの抗体による IHC 及びチオフラビン S による蛍光染色で測定
f - 脳切片を用いた Gallyas 銀染色及び modified Bielschowsky 銀染色で測定
g - 評価資料

その他の結果は、薬理試験の概要文（2.6.2 項）中に記載した。

2.6.3.3　副次的薬理試験

評価対象となる組織	動物種/系統	被験物質[a]	投与方法	投与量（mg/kg）	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号
中枢系及び心血管系	ラット、ウサギ、ヒト、ハムスター、モルモット	^{19}F-AV-45	*In vitro*	該当なし	該当なし	末梢型ベンゾジアゼピン受容体（PBR）に対して IC_{50} ＝ 8.15 μmol/L、K_i＝7.21 μmol/L。 2 型小胞モノアミントランスポーター（VMAT-2）に対して IC_{50}＝7.38 μmol/L、K_i＝6.13 μmol/L。 これらに比べ Aβ 凝集体に対する結合親和性（K_i＝5.5 nmol/L）は 1000 倍以上高い。	不適	[redacted]-004 ([redacted]-10083089)

a - ^{19}F-AV-45：florbetapir（^{18}F）（^{18}F-AV-45）と同一の化学構造を有する非放射性化合物

2.6.3.4　安全性薬理試験

評価対象となる組織	動物種/系統	被験物質[a]	投与方法	投与量（μg/kg）[b]	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号
心血管系	HEK293 細胞	^{19}F-AV-45	*In vitro*	該当なし	該当なし	最高用量の 12.4 μmol/L で hERG 電流を 17%阻害した。	適	071019[redacted]
全身	マウス	^{18}F-AV-45	静脈内	該当なし	F 及び M	370 MBq 投与時のヒト実効線量 8.24 mSv	不適	[redacted]-45-012
中枢系	SD ラット	^{19}F-AV-45	静脈内	単回投与： 0[c]、112、224、448 反復投与（28 日間）： 0[c]、24、56、112	単回投与： 5F、5M 反復投与： 5F、5M	異常なし	適	1665-07623
心血管系 呼吸系	ビーグル犬	^{19}F-AV-45	静脈内	0[c]、32、64、128	4F、4M	異常なし	適	1665-07887

Aβ：アミロイドβ、HEK293：ヒト胎児腎臓細胞株、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）

a - ^{18}F-AV-45：florbetapir（^{18}F）、^{19}F-AV-45：^{18}F-AV-45 と同一の化学構造を有する非放射性化合物

b - 特に断りがない限り単回投与

c - 対照群には 10 w/v%ヒドロキシプロピルβシクロデキストリン及び 0.5 w/v%アスコルビン酸ナトリウムを含む生理食塩液／エタノール混液（90：10）を投与した。

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

被験物質：^{18}F-AV-45
CTD における記載箇所：4.2.1.4.1
試験番号：[redacted]-45-081

AD 患者由来脳ホモジネートを用いた ^{18}F-AV-45 結合阻害試験

方法	反応条件 AD 患者由来脳ホモジネート（20～25 μg）　100 μL ^{18}F-AV-45（0.5 nmol/L）　100 μL 各種併用薬（最高濃度：45～97 μmol/L）　50 μL 反応時間：2 時間（37℃） 分析法：ガンマカウンター（フッ素 18） その他：非特異的結合は、BTA-1（8 μmol/L）を加えることで測定した。

併用薬	阻害定数（K_i）
^{19}F-AV-45	5.22 nmol/L
BTA-1	4.94 nmol/L
セレコキシブ	＞10 μmol/L
トログリタゾン	＞10 μmol/L

その他の併用薬は、阻害作用を示さなかった。陽性コントロールとして、^{19}F-AV-45 及び BTA-1 を用いた。

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験（続き）

AD 患者由来脳切片を用いた ^{18}F-AV-45 結合阻害試験

方法	反応条件 AD 患者由来脳切片（20 μm） ^{18}F-AV-45（2 nmol/L） 各種併用薬（最高濃度：45～97 μmol/L） 反応時間：1 時間 分析法：ARG（フッ素 18）

併用薬	阻害作用を示した濃度	阻害作用を示さなかった濃度
^{19}F-AV-45	0.56、5.6 及び 56 μmol/L	該当なし
BTA-1	83 μmol/L	該当なし
セレコキシブ	52 μmol/L	0.52 及び 5.2 μmol/L
トログリタゾン	該当なし	45 μmol/L
L-685458	60 μmol/L	0.6 及び 6 μmol/L
ガランタミン	54 μmol/L	0.54 及び 5.4 μmol/L

その他の併用薬は、阻害作用を示さなかった。陽性コントロールとして、^{19}F-AV-45 及び BTA-1 を用いた。

（最終ページ）