ビザミル静注

CTD　第２部（モジュール２）

2.4　非臨床試験の概括評価

日本メジフィジックス株式会社

2.4　非臨床試験の概括評価

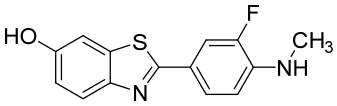
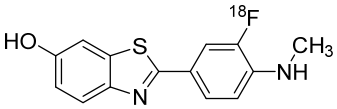
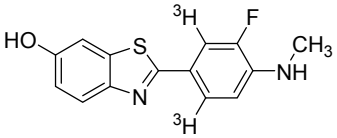
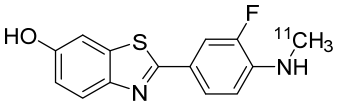
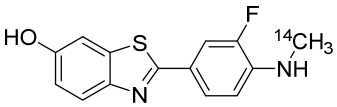
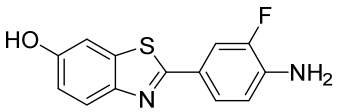
目次

2.4　非臨床試験の概括評価 5
2.4.1　非臨床試験計画概略 5
2.4.2　薬理試験 6
2.4.3　薬物動態試験 9
2.4.4　毒性試験 11
2.4.5　総括及び結論 15
2.4.6　参考文献一覧 17

用語及び略号一覧

用語及び略号	内容
本剤	ビザミル静注，フルテメタモル（^{18}F）を有効成分とする診断用放射性医薬品，開発コード：NMA67
AD	Alzheimer’s disease：アルツハイマー病
Aroclor 1254	塩素を 54%含有する PCB（5 塩化ビフェニール），肝酵素誘導剤
^{11}C-PiB	炭素‐11 標識 Pittsburgh compound B
DMSO	Dimethyl sulfoxide：ジメチルスルホキシド
GLP	Good laboratory practice : 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hERG	Human *ether-à-go-go*-related gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
^{3}H-PiB	水素‐3 標識 Pittsburgh compound B
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
HPLC	High performance liquid chromatography：高速液体クロマトグラフィー
K_d	Dissociation constant：解離定数
m/z	Mass to charge ratio：質量電荷比
OECD	Organisation for economic co-operation and development：経済協力開発機構
PBS	Phosphate buffered saline：リン酸緩衝生理食塩液
PET	Positron emission tomography：ポジトロン断層撮影
RCP	Radiochemical purity：放射化学的純度
S9	肝ホモジネートの 9,000×g 上清画分
SPE	Solid phase extraction：固相抽出
TK	Toxicokinetics：トキシコキネティクス
%ID	Percent of injected dose：投与放射能量に対する割合として算出した放射能分布率

化学名（一般名），構造式及び由来又は内容一覧

名称	化学名（一般名）	構造式	内容
フルテメタモル （別名：AH110690）	2-[3-Fluoro-4-(methylamino)-phenyl]-1,3-benzothiazol-6-ol （Flutemetamol）		有効成分の非標識体
フルテメタモル（^{18}F） （別名：[^{18}F]AH110690）	2-[3-[^{18}F]Fluoro-4-(methylamino)-phenyl]-1,3-benzothiazol-6-ol （Flutemetamol (^{18}F)）		有効成分
フルテメタモル（^{3}H） （別名：[^{3}H]AH110690）	2-[3-Fluoro-4-(methylamino)-[2,6-$^{3}H_2$]phenyl]-1,3-benzothiazol-6-ol （Flutemetamol (^{3}H)）		フルテメタモルの^{3}H 標識体
フルテメタモル（^{11}C） （別名：[^{11}C]AH110690）	2-[3-Fluoro-4-([^{11}C]methylamino)-phenyl]-1,3-benzothiazol-6-ol （Flutemetamol (^{11}C)）		フルテメタモルの^{11}C 標識体
フルテメタモル（^{14}C） （別名：[^{14}C]AH110690）	2-[3-Fluoro-4-([^{14}C]methylamino)-phenyl]-1,3-benzothiazol-6-ol （Flutemetamol (^{14}C)）		フルテメタモルの^{14}C 標識体
AH111064	2-[4-Amino-3-fluorophenyl]-1,3-benzothiazol-6-ol		フルテメタモルの主要代謝物

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

脳内アミロイドβの沈着状況を画像化するためのポジトロン断層撮影（以下，PET）用の薬剤として炭素‐11 標識 Pittsburgh Compound B（以下, ^{11}C-PiB）が臨床研究などで広く用いられている．当該化合物は脳への移行性及び線維性アミロイドβとの結合性に優れているが，炭素‐11 で標識しているためその半減期は約 20 分と短く, 供給にあたって時間的制約が大きいという課題があった [1), 2)].

フルテメタモル（^{18}F）は，炭素‐11 よりも半減期の長いフッ素‐18（半減期約 110 分）で標識した ^{11}C-PiB の誘導体であり，^{11}C-PiB と同様に脳への移行性及び線維性アミロイドβとの結合性に優れている．フルテメタモル（^{18}F）を有効成分とする NMA67（以下，本剤）を投与し，脳内の線維性アミロイドβに結合したフルテメタモル（^{18}F）から放出される陽電子が近くの電子と結合して放出する 2 本のガンマ線（消滅放射線）を PET 装置で検出し画像化することにより，脳内アミロイドβの沈着状況を評価することができる．

本剤の臨床における投与経路は静脈内であるため，大半の非臨床 *in vivo* 試験における投与経路は静脈内とした．また，これらの試験を補うために，適宜追加試験を実施した．非臨床試験として, 薬理試験（効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験）, 薬物動態試験及び毒性試験を実施した．

2.4.1.1　薬理試験計画の概略

本剤の効力を裏付ける試験として，フルテメタモル又はフルテメタモル（^{3}H）を用いて各種 *in vitro* 試験を実施した．試験としては，合成アミロイド $\beta_{1\text{-}40}$ 線維を用いたフルテメタモルの線維性アミロイドβタンパク質への結合性，正常ヒト脳組織及びアルツハイマー病（以下，AD）患者の脳組織切片へのフルテメタモルの結合性，アミロイドβトレーサーである ^{11}C-PiB を用いた PET 検査の結果との比較によるフルテメタモル（^{18}F）のヒト脳内アミロイド斑に対する結合能について，それぞれ検討した．

副次的薬理試験については，特定の試験は実施しなかった．

安全性薬理試験として，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（以下，GLP）に準拠して, フルテメタモルのラットを用いた Irwin 変法試験による行動及び臨床症状に対する影響, イヌを用いた心血管系及び呼吸器系に対する影響, 並びに hERG チャネルに対する影響について，それぞれ検討した．

2.4.1.2　薬物動態試験計画の概略

薬物動態試験では，ラットにおける静脈内投与後の放射能の体内分布と共に，体内分布に及ぼす投与液中に含まれるポリソルベート 80 の影響, 放射化学的異物の影響及びフルテメタモル（^{18}F）の精製法の影響について，それぞれ検討した．また，ラット及びヒヒでは *in vivo* 代謝について検討した．なお，本剤の臨床投与経路は静脈内であるため，吸収に関する試験は実施しなかった．血漿タンパク結合試験並びにマウス，ラット（Aroclor 1254 処理，非処理），イヌ及びヒトの肝 S9 による *in vitro* 代謝試験では，標識又は非標識のフルテメタモルを用いた．

2.4.1.3　毒性試験計画の概略

フルテメタモルの毒性試験では，ラットを用いた単回投与毒性試験，ラット及びイヌを用いた7日間及び14日間の反復投与毒性試験，遺伝毒性試験並びに局所刺激性試験を実施し，放射能を減衰させた製剤の毒性試験ではラットを用いた単回投与毒性試験（ブリッジング試験）を実施した．試験は医薬品安全性評価において長い経験を有する契約研究機関で実施された．これら非臨床試験は，OECDのGLP，並びに可能な場合には試験実施当時におけるICH等の関連する規制ガイドラインに準拠して実施した．また，臨床製剤に使用する溶媒の溶血性試験，及び投与器具への吸着の程度を評価する吸着試験をGLP非適用で実施したが，適切な結論を導くために十分な品質であったと考えられた．なお，本剤が単回（生涯に1回）又は投与間隔が十分に長い低頻度での投与が予定されている診断用放射性医薬品であること等を踏まえて，製造販売承認申請にあたって，生殖発生毒性試験及びがん原性試験は実施しなかった．

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1　*In vitro* 親和性試験：フルテメタモルの線維性アミロイドβへの結合性

フルテメタモルの線維性アミロイドβに対する親和性について，飽和結合試験及びヒト脳組織ホモジネート存在下における結合試験により検討した［B067051］．

合成アミロイド$\beta_{1\text{-}40}$タンパク質より調製した線維性アミロイドβに対するフルテメタモルの親和性は高く，K_d値は6.7nmol/Lであった．また，ヒト脳組織ホモジネートとフルテメタモル（^{3}H）を用いた結合試験では，フルテメタモル（^{3}H）は，脳組織ホモジネートのみと比べて線維性アミロイドβを添加したホモジネートで結合量が高かったことから，フルテメタモルは線維性アミロイドβに対して特異的に結合することが示された．

2.4.2.1.2　ヒト死後脳組織切片を用いた *in vitro* オートラジオグラフィー

ヒト脳内アミロイドβに対するフルテメタモルの結合性について，神経病理学的にADが確定された患者より得たヒト死後脳組織切片を用いた，フルテメタモル（^{3}H）による *in vitro* オートラジオグラフィーにより検討した［B067050］．本試験では，ADとは関連しない認知症患者及び年齢を合致させた健常高齢者の死後脳組織を対照組織とした．

側頭葉（灰白質及び白質）及び小脳における結合について比較した結果，いずれにおいてもAD患者脳組織切片と対照脳組織切片との間に有意な差は認められなかった．しかし，ADでアミロイドβの沈着が見られる部位である側頭葉の灰白質において，フルテメタモル（^{3}H）は対照脳組織切片と比較してAD患者脳組織切片でより多く結合する傾向を認めた．この傾向は，陽性対照である水素‐3標識Pittsburgh Compound B（以下，^{3}H−PiB）の結果と類似していた．また，ヒト脳内におけるフルテメタモル（^{3}H）の分布と免疫組織化学によるアミロイドβの分布を比較した結果，両者は一致していた．

結論として，フルテメタモルはヒト死後脳組織切片においてアミロイドβに特異的に結合することが示された．

2.4.2.1.3　ヒト脳内アミロイド斑に対するフルテメタモル（^{18}F）の結合能

フルテメタモル及び PiB の蛍光誘導体である 6-CN-フルテメタモル及び 6-CN-PiB のヒト死後脳組織切片に対する結合性の比較，生前の ^{11}C-PiB を用いた PET 検査における ^{11}C-PiB 集積量とヒト死後脳組織切片における 6-CN-フルテメタモル結合量の比較，及びヒト死後脳組織ホモジネートを用いたフルテメタモル（^{3}H）と ^{3}H-PiB の結合量の比較を行うことにより，ヒト脳内アミロイド斑に対するフルテメタモル（^{18}F）の結合能を評価した［B067078］．

AD 患者の死後脳組織切片において，6-CN-フルテメタモル及び 6-CN-PiB の分布はそれぞれ，免疫組織化学によるアミロイドβの分布，及びビルショウスキー染色により染色されるアミロイド斑の分布と一致していた．また，生前に ^{11}C-PiB を用いた PET 検査を実施した AD 患者について，^{11}C-PiB の集積量と死後脳組織切片における 6-CN-フルテメタモルの結合量を比較したところ，両者は相関しており（r^2＝0.31），この結果は 6-CN-PiB でも同様であった．また，AD 患者及び健常高齢者の死後脳組織ホモジネートを用いた結合試験において，脳組織重量当たりのフルテメタモル（^{3}H）の結合量と ^{3}H-PiB の結合量は相関しており（r^2＝0.98），結合量は同程度であった．

以上の結果から，ヒト脳内アミロイド斑に対するフルテメタモル（^{18}F）の結合能は ^{11}C-PiB と同程度であると推定した．

2.4.2.2　副次的薬理試験

特定の試験は実施しなかった．

2.4.2.3　安全性薬理

2.4.2.3.1　ラットを用いた Irwin 変法試験

ラットの行動及び臨床症状に対するフルテメタモルの影響を検討した．フルテメタモルは 7%エタノール含有リン酸緩衝生理食塩液（以下，PBS）に溶解し，1.5，5 及び 16μg/kg の用量を 5mL/kg の投与液量で尾静脈内に投与した．行動及び臨床症状に対する観察は 5 回の測定時点（投与前並びに投与 5，30，60 及び 120 分後）で行い，フルテメタモルの影響を検討した［B067004］．

動物の観察及び評価を行った結果，立毛，協調運動不全及び受動性等の所見を認めた．協調運動不全以外の所見は用量依存性がなく，対照群でも観察された所見であった．協調運動不全については，16μg/kg 投与群でのみ 6 匹中 3 匹に，投与後 5 分に一過性に認められたものであった．協調運動不全と同様の運動機能に関連する所見である異常歩行が対照群及びフルテメタモル群で認められており，協調運動不全もフルテメタモル投与に関連する可能性は乏しいと考えられた．したがって，一連の所見はフルテメタモルの投与に関連したものではないと判断した．

結論として，フルテメタモルを 16μg/kg までの用量でラットに単回静脈内投与したときの忍容性は概して良好であり，フルテメタモル投与に関連した有害作用の発現は認められなかった．

フルテメタモルが投与器具に吸着した可能性があるため（2.6.6.8.2 参照），実際の投与量は，名目値の 92%にすぎなかった可能性がある．これを考慮すると，フルテメタモルの無毒性量は 15μg/kg であると考えられ，ヒトの体重を 60kg とすると，体表面積換算で推定最大臨床投与量である 4μg（0.07μg/kg）の 35 倍に相当する．

2.4.2.3.2　hERG テール電流に対する影響

安定的に hERG 関連遺伝子を導入したヒト胎児由来腎細胞（HEK293 細胞）を用いて，ホールセルパッチクランプ法により hERG テール電流に対するフルテメタモルの影響を検討した［B067043］．

フルテメタモルは，設定濃度（0.7μg/mL）になるように HEPES 緩衝化細胞外液に添加し，適用前後の相対テール電流を求めた．また，溶媒（0.5vol%DMSO 含有 HEPES 緩衝化細胞外液）及び陽性対照である E-4031（100nmol/L）についても処理前後に hERG-1 テール電流を同様に測定し，各細胞の処理前後の相対テール電流を求めた．

平均相対テール電流は，フルテメタモルと溶媒で有意な差は認められなかった．一方，陽性対照物質（E-4031）の平均相対テール電流は明らかに抑制された．

結論として，本試験においてフルテメタモルは hERG チャネルを抑制しなかった．処理後に灌流槽から採取した試料中のフルテメタモル濃度は 0.44～0.66μg/mL（62～94%）であった．標準的なヒト血漿量を 3L とすると，フルテメタモル 4μg を単回投与したときに到達すると考えられるヒトにおけるフルテメタモルの理論的な最高血漿中濃度は 0.001μg/mL であり，測定濃度の最低値 0.44μg/mL は，その 440 倍であった．

2.4.2.3.3　テレメトリー法を用いたイヌにおける心血管系に対する影響

テレメーターを装着した覚醒イヌを用いて心血管系機能（血圧，心拍数及び心電図パラメーター）に対するフルテメタモルの影響について検討した．フルテメタモルは，7%エタノール含有 PBS に溶解し，0.9，2.9 及び 9.3μg/kg の用量を 2.9mL/kg の投与液量で約 2 分かけて静脈内にボーラス投与した［B067003］．

溶媒及びフルテメタモルの投与開始後に舌なめずり行動が全例で観察された．また，フルテメタモル投与後に流涎，興奮行動，振戦及び鎮静が観察されたが，興奮行動及び鎮静は用量依存性がない所見であり，流涎及び振戦は生理食塩液又は溶媒投与後にも観察されている所見であることから，フルテメタモル投与とは関連しないと思われた．

血圧については有意な差は認められなかった．心拍数及び心電図パラメーターについては，生理食塩液投与後と比べて有意な差を認めた所見がいくつかあった．その多くは溶媒投与後と比較すると有意なものではなかった．0.9μg/kg 投与後 240 分の QT 間隔短縮，並びに 0.9 及び 9.3μg/kg 投与後 240 分の QTcQ 間隔短縮については，溶媒投与後と比較しても有意な差であった．しかしながら，これらの所見は用量依存性がなく，フルテメタモル投与後 240 分の所見であり，当該観察時点の 5～10 分前に特筆すべき所見がなかったことも考慮すると，フルテメタモル投与とは関連しないと思われた．また，このことはイヌにおける TK 試験の結果（2.4.4.2）でフルテメタモルの消失半減期が 6.4～9.1 分であったこと，及び hERG 試験の結果（2.4.2.3.2）で安全域が 440 倍であったことからも支持されると考えられた．

以上のとおり，フルテメタモル投与による心血管系への有害作用は認められなかった．結論として，フルテメタモルの投与に関連したと考えられる心血管系に対する影響は認められなかった．フルテメタモルが投与器具に吸着した可能性があるため（2.6.6.8.2 参照），実際の投与量は，名目値の 64%にすぎなかった可能性がある．これを考慮すると，フルテメタモルの無毒性量は 6μg/kg であると考えられ，ヒトの体重を 60kg とすると，体表面積換算で推定最大臨床投与量である 4μg（0.07μg/kg）の 48 倍に相当する．

2.4.2.3.4　イヌの呼吸器系に対する影響

雌雄ビーグル犬を用いた 14 日間反復投与毒性試験において，投与 2 週目に呼吸器系に対する影響について検討した．フルテメタモルは，7%エタノール含有 PBS に溶解し，7.5 及び 15μg/kg の用量を 2.5 及び 5mL/kg/日の投与液量で橈側皮静脈内に投与した．対照の生理食塩液及びフルテメタモルを投与した全ての動物について，投与前及び投与終了直後（15 分以内）に呼吸数，一回換気量及び分時換気量を測定し，フルテメタモルの影響を検討した［B067040］．

フルテメタモルの 7.5μg/kg を投与した雄において，分時換気量が減少した．生理食塩液を投与した雄の換気量と比較した結果，統計学的に有意であった．フルテメタモルの 7.5μg/kg を投与した雌の分時換気量は，生理食塩液を投与した雌の分時換気量と類似しており，有意差は認められなかった．また，フルテメタモルの 15μg/kg を投与した雄及び雌の分時換気量は，生理食塩液を投与した雄及び雌と比較して有意な減少はみられず，一回換気量及び呼吸数でもフルテメタモル投与に関連する影響はみられなかった．呼吸器系に用量依存性の一貫した変化が認められなかったため，分時換気量においてフルテメタモルの 7.5μg/kg を投与した雄に観察された統計学的有意性はサンプルサイズと試験動物の生物学的変動によるものでありフルテメタモル投与に関連した影響ではないと考えられた．

結論として，フルテメタモル投与に関連したと考えられる呼吸器系に対する影響は認められなかった．フルテメタモルが投与器具に吸着した可能性があるため（2.6.6.8.2 参照），実際の投与量は，名目値の 91%にすぎなかった可能性がある．これを考慮すると，フルテメタモルの無毒性量は 14μg/kg であると考えられ，ヒトの体重を 60kg とすると，体表面積換算で推定最大臨床投与量である 4μg（0.07μg/kg）の 111 倍に相当する．

2.4.3　薬物動態試験

2.4.3.1　吸収

本剤の臨床投与経路は静脈内であるため，吸収試験は実施していない．

2.4.3.2　分布

ラットにおけるフルテメタモル（^{18}F）溶液の体内分布試験では，静脈内投与後，放射能は体内に広くかつ速やかに分布した．本剤の標的臓器である脳へは速やかかつ効率的に分布し，投与 2 分後における放射能分布率は約 4%ID であった．臓器・組織へ分布した放射能の消失は速やかであり，高い放射能分布率を維持したまま長く留まる臓器・組織は見られなかった．また，放射能の体内分布は雌雄で近似していた［B067059］．

フルテメタモル（^{18}F）は投与器具へ吸着するため，臨床製剤では吸着を防止する目的でポリソルベート 80 が添加されているが，ポリソルベート 80 がラットにおける放射能の体内分布及び排泄に影響を与えることはなかった［B067060］．投与液中に含まれる放射化学的異物により，血液，脳，筋肉等一部の組織における放射能分布率は影響を受けたが，消化管など放射線に対する感受性が高い臓器・組織における放射能分布率に増加は見られなかったことから，これらの変化の被曝線量への影響は小さいものと考えられた．また，脳への放射能分布率は減少したことから放射化学的異物は血液脳関門を通過しないと推定した［B067062］．

臨床で使用するフルテメタモル（^{18}F）は固相抽出（以下，SPE）法により精製されており，[redacted]（以下，[redacted]）法により精製した場合に比べて，放射化学的異物及び非放射性不純物が増加することが知られている．そのため，SPE 法により精製し調製したフルテメタモル（^{18}F）溶液（放射化学的純度（以下，RCP）：約 97～98%）を投与したときの放射能の体内分布を，[redacted]法により精製し調製したフルテメタモル（^{18}F）溶液（RCP：100%）を投与した場合と比較したところ，精製法の相違による差異は認められなかった．このことから，フルテメタモル（^{18}F）の精製法は放射能の体内分布及び排泄に影響を与えないものと推定した［B067075］．

ラット，イヌ及びヒトにおけるフルテメタモルの血漿タンパク結合率は，いずれの動物種においても 94%以上と高かった［B067049 及び B067057］.

2.4.3.3　代謝

代謝試験では，被験物質として数種のフルテメタモルの標識体及び非標識体を用いた．

ラットに静脈内投与されたフルテメタモル（^{18}F）は速やかに代謝され，血漿中には未変化体［フルテメタモル（^{18}F)］のほか 3 種の放射性代謝物が認められた．脳中には未変化体及び 2 種の放射性代謝物が認められ，投与後 2，20 及び 60 分では未変化体が総放射能のそれぞれ 97，85 及び 75%を占め，放射性代謝物の割合は低かった［B067071］．胆汁中では総放射能に占める未変化体の割合は低く，放射能の多くは放射性代謝物に由来するものであった［B067070］．フルテメタモル（^{11}C）溶液をラット及びヒヒに静脈内投与したときの血漿中には，少なくとも 2 種の放射性代謝物が認められた．これらの代謝物の HPLC における保持時間は両動物種間でほぼ一致していたことから，フルテメタモルはラットとヒヒで同様の代謝を受けることが示唆された［B067018 及び B067019］．

ラット及びヒト肝 S9 によるフルテメタモル（^{14}C）の *in vitro* 代謝試験において，β-NADPH 存在下で両動物種に共通する極性の高い放射性代謝物が高い割合で認められた．この代謝物は，*N*-脱メチル化反応により未変化体から脱離したメチル基に由来し，フルテメタモルの主代謝経路は *N*-脱メチル化であると推定した．その他，Aroclor 1254 処理ラットの肝 S9 添加（β-NADPH 存在下）では 3 種の放射性代謝物が認められたが，Aroclor 1254 非処理ラットの肝 S9 添加（β-NADPH 存在下）ではこれらの放射性代謝物の生成は認められず，ヒト肝 S9 添加においても 1 種のみがわずかに認められた［B067013 及び B067023］．また，マウス，ラット，イヌ及びヒトの肝 S9 添加（β-NADPH 存在下）による *in vitro* 代謝試験では，フルテメタモルは代謝されて少なくとも 4 種（m/z 261，291，289 及び 547）の代謝物を生成した．代謝物 m/z 261 は 4 種動物間で共通する主要代謝物で，*N*-脱メチルフルテメタモルと推定した．代謝物 m/z 291 は Aroclor 1254 で処理したラット肝 S9 添加でのみ確認される特異的な代謝物であり，ヒト肝 S9 添加では種特有の代謝物は認められなかった．代謝物 m/z 289 及び 547 は熱処理した肝 S9 の添加及び水中（肝 S9 を含まない）でインキュベーションした場合にも認められたことから，代謝物ではなく不純物又は分解生成物の可能性が示唆された［B067045］．以上のことから，マウス，ラット，イヌ及びヒトの肝 S9 によるフルテメタモルの代謝パターンは近似しており，マウス，ラット及びイヌのいずれもフルテメタモルの非臨床試験に用いる動物種として適切であることが示唆された．

2.4.3.4　排泄

ラットにフルテメタモル（^{18}F）溶液を静脈内投与し放射能の体内分布を検討した試験において，投与後 4 時間までに約 80%ID が糞中へ，約 10%ID が尿中へ排泄された．主排泄経路は糞中であり，尿糞合わせた総排泄率は約 90%ID であった［B067059］．

2.4.4　毒性試験

In vitro 試験（復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ *Tk* 試験）では，フルテメタモルを試験に適した溶液に溶解して用いた．*In vivo* 試験（単回及び反復投与毒性試験，不定期 DNA 合成試験，小核試験並びに局所刺激性試験）では，フルテメタモルを 7%エタノール含有 PBS（pH7.4）に溶解して用いた（ポリソルベート 80 非添加）．

これら毒性試験の実施後，投与液中のフルテメタモルの一部が投与（注射）器具に吸着していたことが明らかとなった．これはフルテメタモルの物理的化学的特性によるものであった．フルテメタモルの器具への吸着率を調べるために吸着試験（2.6.6.8.2 参照）を実施した．当該試験結果に基づき，以降は吸着率（最大値を採用）で補正した無毒性量を記載した．

また，臨床製剤であるフルテメタモル（^{18}F）注射液には，5 種類の既知の不純物及び低濃度で未同定な 23 種類の不純物が含まれている（表 2.6.6-2 参照）．これらの不純物の毒性を評価するため，臨床製剤と同様の方法により製造した後，放射能を減衰させた製剤の減衰品を被験物質として用いて，ラットにおける拡張型単回投与毒性試験（ブリッジング試験）（2.6.6.2.2 参照）を実施した．当該試験では減衰品を 7%エタノール含有 PBS（pH6.0～8.5）で希釈して試験に用いたが，臨床製剤と同様にポリソルベート 80 を含有しているため，吸着による顕著な喪失の可能性はないと判断し，吸着試験は実施しなかった．

さらに，ヒトへのリスク評価の目的で，各毒性試験で得られた無毒性量から推定最大臨床投与量（4μg／ヒト）に基づき安全域を算出した．各毒性試験における吸着率で補正した無毒性量及びヒトでの安全域をまとめて表 2.4-1 に示す．

表 2.4-1　各試験における吸着による最大喪失率（%）並びに吸着率で補正した無毒性量及びヒトでの安全域

試験の種類	試験番号	吸着による投与液中の最大喪失率（%）	無毒性量（μg/kg）	吸着率で補正した無毒性量（μg/kg）	推定最大臨床投与量に基づく安全域[a]
ラットにおける拡張型単回投与毒性試験	B067001	35	120	78	180
ラットにおける拡張型単回投与毒性ブリッジング試験	B067069	-[b]	192	（192）[d]	442
ラットにおける 7 日間反復投与毒性試験（用量設定）	B067039	35[c]	60	39	90
ラットにおける 14 日間反復投与毒性試験（小核試験を含む）	B067056	35	60	27[e]	62
イヌにおける 7 日間反復投与毒性試験（用量設定）	B067038	9[c]	15	14	111
イヌにおける 14 日間反復投与毒性試験	B067040	9	15	14	111
ラット肝細胞を用いる不定期 DNA 合成試験	B067016	35	60	39	90
ラットにおける 2 日間反復投与小核試験	B067017	35	120	78	180
ウサギにおける皮膚一次刺激性試験	B067042	8	0.5mL, 3μg/mL	0.5mL, 2.8μg/mL	-
ウサギにおける眼刺激性試験	B067044	8	0.1mL, 3μg/mL	0.1mL, 2.8μg/mL	-
ウサギにおける静脈内及び動脈内の刺激性試験（忍容性評価を含む）	B067052	35	0.3mL, 3μg/mL	0.3mL, 2.0μg/mL	-
ウサギにおける筋肉内及び静脈周囲の刺激性試験（忍容性評価を含む）	B067052	8	0.3mL, 3μg/mL	0.3mL, 2.8μg/mL	-

-：該当なし

a. フルテメタモルの推定最大臨床投与量は 4μg である．ヒトの体重を 60kg と仮定すると 0.07μg/kg となる．体表面積換算による安全域であり，ラットで 6.2，イヌで 1.8 の換算係数を用いた．

b. 溶媒にポリソルベート 80 が含まれていたことから，吸着による喪失の評価対象とはしなかった．

c. 14 日間反復投与毒性試験と同種の投与器具であることから，同じ最大喪失率を適用した．

d. 投与液濃度の実測値に基づく．

e. 投与液濃度の実測値（2.1μg/mL）が予定濃度（3.0μg/mL）よりも低かったことも考慮し，最大投与量（60μg/kg）は 27μg/kg であると推定した．

2.4.4.1　単回投与毒性試験

ラットにおける拡張型単回投与毒性試験を 2 試験［B067001 及び B067069］実施した．

ラット及びイヌ（イヌについては反復投与毒性試験の初日）での投与器具への吸着を補正したフルテメタモルの概略の致死量はそれぞれ 78μg/kg 及び 14μg/kg を超える量と判断した．また，ラットでは減衰品を用いた試験において，20mL/kg を 1 日 2 回投与（投与量：192μg/kg）しても死亡例は認められなかった．当該試験に基づく概略の致死量は 192μg/kg を超えると考えられた．

ラットでは，一般状態の観察において投与直後の運動失調，病理組織学的検査で変化（肝臓のグリコーゲン枯渇や投与部位の壊死）などが認められたが，溶媒中のエタノールに関連したもの

と考えられた．いずれの検査にもフルテメタモル投与に起因した変化は認められなかった．両被験物質間に毒性学的な差異は認められなかった．

イヌでは 5mL/kg の投与液量（投与器具への吸着を補正した投与量は 14μg/kg に相当）を反復静脈内投与した試験の投与初日の観察で死亡例，一般状態の変化は認められなかった．

2.4.4.2　反復投与毒性試験

ラットにおける 7 日間（用量設定試験）［B067039］及び 14 日間反復投与毒性試験［B067056］，並びにイヌにおける 7 日間（用量設定試験）［B067038］及び 14 日間反復投与毒性試験［B067040］を実施した．

ラットでの投与器具への吸着を補正した無毒性量は 39μg/kg/日及び 27μg/kg/日（14 日間反復投与毒性試験では投与液濃度の実測値も加味）と判断された．これは体表面積換算で推定最大臨床投与量（4μg，体重 60kg と仮定すると 0.07μg/kg）の 90 及び 62 倍に相当する．また，イヌでの投与器具への吸着を補正した無毒性量は 14μg/kg/日と判断した．これは体表面積換算で推定最大臨床投与量の 111 倍に相当する．

ラットに 39μg/kg/日までの用量を 7 日間，又は 27μg/kg/日までの用量を 14 日間投与した試験（いずれも投与器具への吸着を補正した投与量）の一般状態の観察では，多くの群で投与初期に運動失調が認められたが，溶媒群にも認められることから，溶媒中のエタノールに関連したものと考えられた．その他の検査項目（体重及び摂餌量，並びに尿，血液学的，血液生化学的及び病理組織学的検査など）についてもフルテメタモル群と溶媒群との間に差は認められなかった．

TK 試験の結果，フルテメタモルの消失半減期は短く（7～19 分），全身性蓄積及び性差は認められなかった．

イヌに 14μg/kg/日までの用量を 7 日間又は 14 日間投与した試験ではいずれの投与群においても一般状態の観察を含め全ての検査項目（体重及び摂餌量，並びに尿，血液学的，血液生化学的及び病理組織学的検査など）にフルテメタモル投与の影響は認められなかった．

TK 試験の結果，フルテメタモルの消失半減期は短く（6.4～9.1 分），全身性蓄積及び性差は認められなかった．

2.4.4.3　遺伝毒性試験

In vitro 試験として復帰突然変異試験［B067005］及びマウスリンフォーマ *Tk* 試験［B067006］，並びに *in vivo* 試験としてラットにおける不定期 DNA 合成試験［B067016］及び 2 つの小核試験［B067017 及び B067056］を実施した．

復帰突然変異試験は 2 つの独立した試験を実施した．両試験において S9 存在下で処置した菌株（TA98）で用量依存性のある陽性反応が認められた．検討した他の菌株及び S9 非存在下では遺伝毒性は認められなかった．

マウスリンフォーマ *Tk* 試験は 3 つの独立した試験を実施した．S9 存在下で 2 試験の培養細胞で陽性反応が認められ，変異原性を有すると判定した．ほかの 1 試験では遺伝毒性は認められなかった．S9 非存在下で不明瞭ながら遺伝子突然変異を誘発すると判断した．

ラット肝細胞を用いる不定期 DNA 合成試験ではフルテメタモル 39μg/kg までの用量（投与器具への吸着を補正した投与量）で正味粒子数の増加は認められず，遺伝毒性活性（DNA 損傷）を有さないと判断した．

ラット骨髄を用いる小核試験ではフルテメタモル 78μg/kg を 2 日間，又は 27μg/kg を 14 日間反復静脈内投与した 2 試験を実施した（いずれも投与器具への吸着を補正した投与量であり，14 日間反復投与毒性試験では投与液濃度の実測値も加味した投与量）．両試験とも骨髄中の多染性赤血球での小核発現頻度の増加は認められず，遺伝毒性を有さないと判断した．

2.4.4.4　がん原性試験

フルテメタモル（^{18}F）注射液は脳内アミロイドβの沈着状況を評価するための診断用放射性医薬品であり，単回投与で用いる．一度検査した後，再度検査する場合の間隔は極めて広く，長期的な曝露が生じることはない．反復投与毒性試験の病理組織学的検査で前がん病変を疑う変化はなく，未変化体及び代謝物の長期滞留はなく，局所的な組織反応も認められていない．細菌を用いる復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ *Tk* 試験から遺伝毒性の可能性が示唆されたが，3 つの *in vivo* 試験は全て陰性であったことから，フルテメタモル（^{18}F）注射液を予定する用法及び用量で用いた場合の遺伝毒性のリスクは低いと考えられた．

以上を踏まえて，がん原性試験は実施していない．

2.4.4.5　生殖発生毒性試験

フルテメタモル（^{18}F）注射液は脳内アミロイドβの沈着状況を評価するための診断用放射性医薬品であり，単回投与で用いる．一度検査した後，再度検査する場合の間隔は極めて広く，長期的な曝露が生じることはない．放射性医薬品の妊産婦等への投与は，投与による利益が放射線による不利益を上回る場合に限定されている．げっ歯類及び非げっ歯類の反復投与毒性試験で雌雄の生殖器を病理組織学的に詳細に評価した結果，フルテタモル投与に関連する有害作用のないことが確認された．

以上を踏まえて，生殖発生毒性試験は実施していない．

2.4.4.6　局所刺激性試験

ウサギにおける皮膚一次刺激性試験［B067042］，眼刺激性試験［B067044］，並びに静脈内，動脈内，筋肉内及び静脈周囲の刺激性試験（忍容性評価を含む）［B067052］を実施した．

皮膚一次刺激性試験及び眼刺激性試験ではフルテメタモル溶液の投与器具への吸着を補正した濃度 2.8μg/mL で刺激性は認められなかった．

静脈内及び動脈内投与による刺激性試験ではフルテメタモル溶液の投与器具への吸着を補正した濃度 2.0μg/mL で，筋肉内及び静脈周囲投与による刺激性試験ではフルテメタモル溶液の投与器具への吸着を補正した濃度 2.8μg/mL で刺激性は認められなかった．また，いずれの投与経路においてもその忍容性は良好であった．

2.4.4.7　その他の毒性試験

その他の毒性試験として，臨床使用溶媒の溶血性試験［B067061］及びフルテメタモルの投与器具への吸着試験［B067058］を実施した．

溶血性試験ではヒト血液 2mL にさまざまな量（0.002～0.2mL）の臨床使用溶媒を添加したが全ての添加量で溶血性は認められなかった．

投与器具への吸着試験では非臨床試験で用いたものと同種の投与器具にフルテメタモル溶液を通過させ，その吸着の程度を回収率で表示した．毒性試験に用いたフルテメタモルの回収率（最低の回収率を採用）は 65～92%であった．

2.4.5　総括及び結論

2.4.5.1　薬理試験

フルテメタモルは，線維性アミロイドβに対して高い結合親和性を示し，ヒト脳組織ホモジネート存在下において，線維性アミロイドβに特異的に結合することが示された．また，AD 患者由来の死後脳組織切片を用いた試験において，フルテメタモルの分布は脳内アミロイドβの分布を反映することが示された．さらに，生前に実施した ^{11}C-PiB を用いた PET 検査の結果と死後脳組織を用いた *in vitro* 試験の結果との比較から，ヒト脳内アミロイド斑に対するフルテメタモル（^{18}F）の結合能は，既知のアミロイドβトレーサーである ^{11}C-PiB と同程度であると推定した．

以上のことから，本剤を用いた PET 検査により，AD 患者における脳内アミロイドβの沈着状況を評価できる可能性が示された．

安全性薬理試験では，ラットを用いた Irwin 変法試験において，フルテメタモルの投与に関連した行動及び臨床症状への影響は認められなかった．イヌの血圧，心拍数及び心電図パラメーター並びに呼吸器系パラメーターに対して，フルテメタモルの投与に関連した影響は認められなかった．また，フルテメタモルは *in vitro* で hERG チャネルを抑制せず，テレメトリー法による覚醒イヌを用いた試験では QT 間隔延長作用の可能性を示さなかった．

2.4.5.2　薬物動態試験

ラットにおいて，フルテメタモル（^{18}F）投与後の放射能は速やかに多くの臓器・組織へ分布した．投与された放射能は主に消化管を介して排泄され，尿への排泄はわずかであった．投与後 4 時間までの尿糞合わせた排泄率は約 90%と見積もられ，排泄は速やかであった．標的臓器である脳へは速やかかつ効率的に取り込まれ，その後の消失も速やかであった．放射能が脳に保持されることなく速やかに消失したのは，試験に供した動物の脳にはフルテメタモル（^{18}F）が結合する線維性アミロイドβが存在しないことによると考えられる．

フルテメタモル（^{18}F）の臨床製剤には投与器具等への吸着を防止するためにポリソルベート 80 が添加されているが，ポリソルベート 80 がラットにおける放射能の体内分布及び排泄に影響を与えることはなかった．また，フルテメタモル（^{18}F）注射液に含まれる放射化学的異物により放射能の体内分布及び排泄は一部変化したが，消化管など放射線に対する感受性が高い臓器・組織における放射能分布率に増加は見られず，被曝線量への影響は小さいものと考えられた．

SPE 法により精製し調製した溶液では，[redacted]法により精製し調製した場合に比べて放射化学的異物及び非放射性不純物が増加するが，放射能の体内分布は[redacted]法により精製し調製したフルテメタモル（^{18}F）溶液の場合と同等であり，フルテメタモル（^{18}F）の精製法は体内分布及び排泄に影響を与えないものと推定した．

ラット，イヌ及びヒトにおけるフルテメタモルの血漿タンパク結合率はいずれも 94%以上と高かったが，フルテメタモル（^{18}F）溶液の静脈内投与後の放射能は血液中から速やかに消失したことから，フルテメタモル（^{18}F）の体内動態へ及ぼす血漿タンパク結合率の影響は少ないものと考えられた．

ラットにおける *in vivo* 代謝試験では，フルテメタモル（^{18}F）は速やかに代謝され，血漿中では主に極性が高い放射性代謝物として存在したが，脳では主に未変化体［フルテメタモル（^{18}F)］として存在した．このことから，放射性代謝物は血液脳関門を通過し難く，脳内アミロイドβの沈着状況を評価する際，これらの放射性代謝物の影響は少ないものと考えられた．

フルテメタモルはラット及びヒト肝 S9 により代謝され，極性の高い放射性代謝物及び非放射性代謝物を生成し，これらの代謝物はそれぞれ *N*-脱メチル化反応により脱離したメチル基に由来するもの及び *N*-脱メチルフルテメタモルと推定した．また，フルテメタモルはマウス，ラット，イヌ及びヒトの肝 S9 により代謝されて少なくとも 4 種の代謝物を生成し，代謝パターンは動物種間で近似した．このことから，マウス，ラット及びイヌのいずれもフルテメタモルの非臨床試験に用いる動物種として適切であることが示唆された．

2.4.5.3　毒性試験

単回投与毒性試験での投与器具への吸着を補正した概略の致死量はラット及びイヌでそれぞれ 78μg/kg 及び 14μg/kg（イヌについては反復投与毒性試験の初日投与の成績）を超える量であった．また，ラットに減衰品を 1 日 2 回投与した試験での概略の致死量は 192μg/kg を超えると考えられた．溶媒中のエタノールに関連すると考えられる所見が散見されたものの，いずれの試験においても，フルテメタモル投与によると考えられる変化は認められなかった．

反復投与毒性試験でも，溶媒中のエタノールに関連すると考えられる所見が認められたものの，フルテメタモル投与に関連した変化は認められなかった．14 日間反復投与毒性試験の中で実施した TK 試験ではラット，イヌ共にフルテメタモルの血漿からの消失半減期は短く，全身性蓄積及び性差は認められなかった．投与器具への吸着を補正した無毒性量はラットで 27～39μg/kg/日，イヌで 14μg/kg/日であり，それぞれ体表面積換算で推定最大臨床投与量の 62～90 倍（ラット）及び 111 倍（イヌ）に相当し，高い安全域が得られた．

遺伝毒性試験では *in vitro* の 2 試験で陽性反応を認めたが，*in vivo* の 3 試験においては陰性であった．*in vitro* の結果から，フルテメタモルの代謝物が遺伝毒性を有することが示唆された．一方，ヒトへのリスクを評価するため実施した *in vivo* の結果は投与可能な最大投与量（投与器具への吸着を補正した投与量）である 39μg/kg（不定期 DNA 合成試験），78μg/kg/日（2 日間反復投与小核試験）及び 27μg/kg/日（14 日間反復投与小核試験）で遺伝毒性を認めず，各投与量はそれぞれ体表面積換算で推定最大臨床投与量の 90 倍，180 倍及び 62 倍に相当し，十分な安全域が確保されていると考えられた．

局所刺激性試験（忍容性評価を含む）では 2.0～2.8μg/mL のフルテメタモル溶液（投与器具への吸着を補正した濃度）の皮膚，眼，静脈内，動脈内，筋肉内及び静脈周囲への投与による刺激性は認められず，その忍容性も良好であった．

ヒト血液を用いた溶血性試験では臨床使用溶媒の溶血性は認められなかった．

また，ラットにおける体内分布試験の成績からフルテメタモル（^{18}F）投与に伴うヒトでの内部被曝線量，及び内部被曝線量への放射性不純物の影響を推定したところ，排泄に関与している大腸上部，小腸及び膀胱壁での吸収線量が高いこと，並びに 10%以下の放射性不純物が内部被曝線量に及ぼす影響が小さいことが推定された．

非臨床試験で良好な安全性プロファイルが認められたことを反映して，臨床試験においても投与に関連した有害事象のエビデンスはほとんど見られなかった（2.7.4 参照）．

本剤の非臨床試験パッケージから得られた結果は，予定する用法及び用量に従って対象患者集団に投与した場合に，適切な安全性及び有効性が得られることを十分に保証するものであると考えられる．

2.4.6　参考文献一覧

1) 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.
2) Lockhart A, Lamb JR, Osredkar T, Sue LI, Joyce JN, Ye L, et al. PIB is a non-specific imaging marker of amyloid-beta (Aβ) peptide-related cerebral amyloidosis. Brain. 2007;130(10):2607-15.