ビザミル静注

CTD　第 2 部（モジュール 2）

2.6.6　毒性試験の概要文

日本メジフィジックス株式会社

2.6.6　毒性試験の概要文

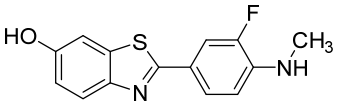
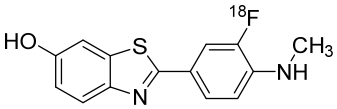
目次

2.6.6　毒性試験の概要文 5
2.6.6.1　まとめ 5
2.6.6.2　単回投与毒性試験 9
2.6.6.3　反復投与毒性試験 11
2.6.6.4　遺伝毒性試験 15
2.6.6.5　がん原性試験 18
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 18
2.6.6.7　局所刺激性試験 19
2.6.6.8　その他の毒性試験 20
2.6.6.9　考察及び結論 22
2.6.6.10　図表 24
2.6.6.11　参考文献 24

用語及び略号一覧

用語及び略号	内容
$AUC_{0\text{-}inf}$	Area under the blood concentration-time curve from 0 to infinity : 時間 0 から無限時間まで外挿した血中濃度時間曲線下面積
C_{max}	Maximum drug concentration：最高血中濃度
DNA	Deoxyribo nucleic acid：デオキシリボ核酸
NNG	The net grains/nucleus：正味粒子数
PBS	Phosphate buffered saline：リン酸緩衝生理食塩液
TK	Toxicokinetics：トキシコキネティクス

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

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

フルテメタモル（^{18}F）は放射能を有しており，多量に投与した場合に，放射線によって組織や細胞を傷害するため，フルテメタモル（^{18}F）を用いた毒性試験を実施しても毒性学的特徴を十分に把握できない．そこで，放射性同位体を含まないフルテメタモルの毒性を評価することで，フルテメタモル（^{18}F）の毒性評価に代えた．フルテメタモルの毒性試験の一覧を表 2.6.6-1 に示す．

フルテメタモルの毒性試験としては，ラットを用いた単回投与毒性試験，並びに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, 各 2 種類の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験，ウサギを用いた局所刺激性試験（忍容性評価も含む）及びヒト赤血球を用いた臨床製剤に使用した溶媒の溶血性試験を実施した．

上記 *in vitro* 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．上記 *in vivo* 試験では，フルテメタモルを 7%エタノール含有リン酸緩衝生理食塩液（以下，PBS）（pH7.4）に溶解して用いた（ポリソルベート 80 非添加）．

なお，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を実施した（2.6.6.8.2 参照）．当該試験結果に基づき，2.6.6.2 以降に示す試験結果については，吸着率（最大値を採用）で補正した無毒性量を追記した．

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．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（第三世代の製造方法）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ブリッジング試験を実施した（2.6.6.2.2 参照）．当該試験では減衰品を 7%エタノール含有 PBS 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．

各試験における被験物質中のフルテメタモル及び関連不純物の割合を表 2.6.6-2 に示す．

表 2.6.6-1 フルテメタモルの毒性試験一覧

試験の種類	動物種	投与経路／処置方法	用量[a]	試験番号	GLP 適用
単回投与毒性	ラット	静脈内	0，120	B067001	適用
	ラット	静脈内	0，40，200	B067069	適用
反復投与毒性	ラット	静脈内	0，15，30，60	B067039	適用
（用量設定）	イヌ	静脈内	0，15	B067038	適用
反復投与毒性	ラット	静脈内	0，15，30，60	B067056	適用
	イヌ	静脈内	0，7.5，15	B067040	適用
遺伝毒性試験					
復帰突然変異	ネズミチフス菌	*in vitro*	0.016～50μg/plate	B067005	適用
遺伝子突然変異	マウスリンパ腫細胞	*in vitro*	1～5μg/mL	B067006	適用
不定期 DNA 合成	ラット	静脈内	0，30，60	B067016	適用
小核試験	ラット	静脈内	0，30，60，120	B067017	適用
	ラット	静脈内	0，15，30，60	B067056	適用
局所刺激性					
皮膚一次刺激性	ウサギ	皮膚塗布	3μg/mL	B067042	適用
眼刺激性	ウサギ	結膜嚢内	3μg/mL	B067044	適用
動・静脈内刺激性	ウサギ	動・静脈内	3μg/mL	B067052	適用
筋肉内刺激性	ウサギ	筋肉内	3μg/mL		
静脈周囲刺激性	ウサギ	静脈周囲	3μg/mL		
その他					
溶血性試験	ヒト	*in vitro*	0（溶媒のみ）	B067061	非適用
器具への吸着試験	該当なし	*in vitro*	該当なし	B067058	非適用

GLP＝good laboratory practice

a. 記載がない場合，単位は μg/kg.

表 2.6.6-2 被験物質中のフルテメタモル及び関連不純物

試験のタイトル	試験番号	被験物質中のフルテメタモル及び関連不純物の含有量[a]
ラットにおける拡張型単回投与毒性試験	B067001	フルテメタモル(91.2%, 94.5%)
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	フルテメタモル（27%） GEH121132（25%） GEH121133（3%） GEH121015（1%） GEH111832（2%） GEH121280（2%） 23 種類の未同定不純物 （0.1%～2%未満）
ラットにおける 7 日間反復投与用量設定試験	B067039	フルテメタモル（97.0%）
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	
イヌにおける 7 日間反復投与用量設定試験	B067038	
イヌにおける 14 日間反復投与毒性試験	B067040	
細菌を用いる復帰突然変異試験	B067005	フルテメタモル（95.5%）
マウスリンフォーマ *Tk* 試験	B067006	
ラット肝細胞を用いる不定期 DNA 合成試験	B067016	フルテメタモル（99.8%）
ラットにおける 2 日間反復投与小核試験	B067017	
ウサギにおける局所刺激性試験（忍容性評価を含む）	B067042 B067044 B067052	フルテメタモル（97.0%）

a. 被験物質中のフルテメタモル及び関連不純物の総量に占める各成分の割合をカッコ内に表示.

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験

フルテメタモル単回静脈内投与による概略の致死量はラットで 120μg/kg，イヌで 15μg/kg（反復投与毒性試験の初日投与の成績）を超える量と考えられた．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 を超える量であった.

フルテメタモルを投与したラットの一般状態の観察で投与直後（投与後 10 分以内）に運動失調が，途中安楽死させた雌に肝の病理組織学的検査で変化（グリコーゲン枯渇）が認められたが，いずれも溶媒群（7%エタノール含有 PBS）で認められた変化（運動失調及びグリコーゲン枯渇）と同じものであった．イヌにはフルテメタモル投与に関連した一般状態の変化は認められなかった.

関連不純物（臨床製剤と同じもの）を含むフルテメタモルのラットでの静脈内投与による概略の致死量は 200μg/kg（投与液濃度の実測値に基づく投与量：192μg/kg）を超える用量と考えられた．一般状態の観察で投与直後に運動失調が雌雄共に認められ，雄では投与後 30 分以内に自発運動低下が認められたが，溶媒中のエタノールに関連したものと考えられた．その他の検査に毒性学的意義のある変化は認められなかった.

2.6.6.1.2 反復投与毒性試験

ラットにおける 7 日間及び 14 日間反復投与毒性試験での無毒性量は 60μg/kg/日と判断した. 投与器具への吸着を補正した無毒性量はそれぞれ 39μg/kg/日及び 27μg/kg/日（14 日間反復投与毒性試験については投与液濃度の実測値も加味）であった．また，イヌにおける 7 日間及び 14 日間反復投与毒性試験での無毒性量は 15μg/kg/日と判断した．投与器具への吸着を補正した無毒性量は 14μg/kg/日であった.

ラットに 60μg/kg/日までの用量を 7 日間反復静脈内投与した試験では，一般状態の観察で溶媒群及び高用量群（60μg/kg/日）に投与期間の初期（投与 1～4 日目）に運動失調が認められた．その他の検査に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．ラットに 60μg/kg/日までの用量を 14 日間反復静脈内投与した試験では, 一般状態の観察で溶媒群及びフルテメタモル投与各群で投与 1～8 日目に運動失調が認められた. その他の検査に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. ラットにおける反復投与毒性試験の一般状態の観察で認められた変化は，溶媒中のエタノールに関連したものと考えられた.

ラットに 14 日間反復静脈内投与した試験で実施したトキシコキネティクス（以下，TK）試験ではフルテメタモルの血漿からの消失半減期（各群共通）は 7～19 分であった．消失半減期，C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}inf}$ に関して，投与 1 日目と投与 14 日目との間に，また雌雄の間に差は認められなかった.

イヌに 15μg/kg/日までの用量を 7 日間及び 14 日間反復静脈内投与した試験では，一般状態の徴候を含め全ての検査に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.

イヌに 14 日間反復静脈内投与した試験で実施した TK 試験ではフルテメタモルの血漿中からの消失半減期（15μg/kg/日）は 6.4～9.1 分であった．消失半減期の投与 1 日目と投与 14 日目の比較において，高用量群（15μg/kg/日）の雌で有意な延長を認めた．C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}inf}$ に関して，投与 1 日目と投与 14 日目との間に，また雌雄の間に差は認められなかった.

2.6.6.1.3 遺伝毒性試験

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（いずれも *in vitro* 試験）では S9 存在下で処置した菌株（TA98）及び培養細胞で陽性反応を示し，遺伝毒性が認められた．一方，ラット肝細胞を用いる不定期 DNA 合成試験，及びラットを用いた 2 つの小核試験（いずれも *in vivo* 試験）ではいずれも陰性であり，遺伝毒性は認められなかった.

2.6.6.1.4 局所刺激性試験（忍容性評価を含む）

ウサギにおける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（3μg/mL）に刺激性は認められなかった．投与器具への吸着を補正したフルテメタモル溶液の濃度は皮膚一次刺激性試験，眼刺激性試験共に 2.8μg/mL であった.

ウサギにおける静脈内，動脈内，筋肉内及び静脈周囲投与による局所刺激性試験（忍容性評価を含む）ではフルテメタモル溶液（3μg/mL）に静脈内，動脈内，筋肉内及び静脈周囲投与による局所刺激性は認められなかった．投与器具への吸着を補正したフルテメタモル溶液の濃度は静脈内及び動脈内では 2.0μg/mL，筋肉内及び静脈周囲投与では 2.8μg/mL であった.

なお，静脈周囲投与で軽微な紅斑が投与直後又は投与 3～6 時間後に認められたが，同様の変化

は対照群（生理食塩液投与）にも認められたことから，刺激性を有する可能性はないと判断した．また，静脈周囲投与を含む他の投与経路において忍容性不良を示す所見が認められなかったことからフルテメタモル溶液（3μg/mL）の忍容性は良好であると考えられた．

2.6.6.1.5　その他の毒性試験

溶血性試験では臨床使用溶媒の 0.002～0.2mL をヒト血液 2mL とインキュベートし，その溶血性を検討した．検討条件下において臨床使用溶媒に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と同種の投与器具にフルテメタモル溶液を通過させ，投与器具を通過させた前後のフルテメタモル含量を比較して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は 65～92%であった．

2.6.6.2　単回投与毒性試験

2.6.6.2.1　ラットにおける拡張型単回投与毒性試験

［試験番号：B067001　資料番号：4.2.3.1-1（評価）］

7～8 週齢の Sprague Dawley ラット（各群雌雄各 6 匹）にフルテメタモルの 60μg/kg を 1 日 2 回（投与間隔 4 時間），1 回の投与液量 20mL/kg で，約 1.2mL/分の速度で尾静脈内に投与した．
試験デザインは試験途中又は試験の最終日に安楽死させる動物をそれぞれ表 2.6.6-3 のように設けた．

表 2.6.6-3　ラット拡張型単回投与毒性試験デザイン

試験群	投与液	1 回当たりの投与液量（mL/kg）	用量（μg/kg）	各群の動物数			
				途中安楽死		最終安楽死	
				雄	雌	雄	雌
対照群	生理食塩液	20	0	6	6	6	6
溶媒群	7%エタノール含有 PBS	20	0	6	6	6	6
フルテメタモル群	フルテメタモル溶液	20	120	6	6	6	6

途中安楽死：投与後 2 日に安楽死，最終安楽死：投与後 15 日に安楽死

投与日の一般状態の観察は投与前，及び投与後必要に応じて行い，以後は 1 日 1 回行った．体重は最終安楽死動物では投与前，投与初日（投与直前），投与後 2，5，8，11 及び 15 日（安楽死前）に，途中安楽死動物では投与前，投与初日（投与直前）及び投与後 2 日（安楽死前）に，それぞれ測定した．また，最終安楽死動物の摂餌量を投与日，投与後 3，5，8，11，13 及び 15 日に測定した．各動物の安楽死の際に血液学的検査及び血液生化学的検査のための採血を行った後，動物を剖検した．さらに，主な器官の重量を測定し，病理組織学的検査を実施した．

全ての試験群で死亡動物は認められなかった．一般状態の観察では溶媒群及びフルテメタモル群に投与後 10 分以内に，運動失調が認められた．体重測定ではフルテメタモル群の最終安楽死動物の雄で対照群と比較して有意に体重が増加した．また，フルテメタモル群の途中安楽死動物の雌で，投与後 2 日の体重が対照群と比較して有意に低く，体重変化量も対照群及び溶媒群に比べて有意に低かった．しかし，一連の体重に関する群間差は毒性学的に意義のある差ではないと判断した．

一方，摂餌量は群間で大きな差を認めなかった．

血液学的検査及び血液生化学的検査にフルテメタモル投与の影響と思われる変化は認められなかった．剖検では全ての試験群で異常所見は認められなかった．主な器官の重量では途中安楽死させた溶媒群及びフルテメタモル群の雌の肝臓で有意に減少し，最終安楽死させたフルテメタモル群の雄の脾臓及び右腎臓で有意に増加した．雄でみられた変動は関連する他の検査に異常は認められないことから毒性学的に意義のある変化ではないと判断した．病理組織学的検査では途中安楽死させた溶媒群及びフルテメタモル群の雌で対照群と比較して肝臓のグリコーゲン枯渇の発生頻度が増加し，雌雄で対照群と比較して投与部位（静脈又は静脈周囲）の壊死の発生頻度が増加した．

これらの変化はいずれも溶媒に含まれるエタノールに起因したものであった．その他の所見にはフルテメタモル群と対照群との間に違いは認められなかった．

最終安楽死させたフルテメタモル群に認められた病理組織学的所見は対照群にも認められるものであり，偶発的なものと判断した．

以上から，本試験条件下でのフルテメタモルの概略の致死量は 120μg/kg を超える量であり，同用量で良好な忍容性が認められた．投与器具への吸着を補正した概略の致死量は 78μg/kg を超える量と考えられた．

2.6.6.2.2　ラットにおける拡張型単回投与毒性ブリッジング試験

［試験番号：B067069　資料番号：4.2.3.1-2（評価）］

7～8 週齢の Wistar ラット（各群雌雄各 5 匹）にフルテメタモルの 20 及び 100μg/kg を 1 日 2 回（投与間隔 4 時間），1 回当たり 20mL/kg で尾静脈内にボーラス投与した．なお，本試験での投与液は臨床製剤と同じ不純物を含むものを用いた．

試験デザインは試験途中又は試験の最終日に安楽死させる動物をそれぞれ表 2.6.6-4 のように設けた．

表 2.6.6-4　ラット拡張型単回投与毒性ブリッジング試験デザイン

試験群	投与液	1 回当たりの投与液量（mL/kg）	用量（μg/kg）	各群の動物数			
				途中安楽死		最終安楽死	
				雄	雌	雄	雌
溶媒群	7%エタノール含有 PBS [a]	20	0	5	5	5	5
低用量群	フルテメタモル溶液 [b]	20	40	5	5	5	5
高用量群	フルテメタモル溶液 [b]	20	200	5	5	5	5

途中安楽死：投与後 2 日に安楽死，最終安楽死：投与後 14 日に安楽死

a. ポリソルベート 80 を添加.

b. 臨床製剤と同じ製造方法（第三世代）であり，臨床製剤と同じ不純物を含む.

投与日の一般状態の観察は投与前，及び投与直後から 4 時間行い，以後は 1 日 1 回行った．体重は最終安楽死動物では投与前，投与初日（投与直前），投与後 2，8 及び 14 日（安楽死前）に，途中安楽死動物では投与前，投与初日（投与直前）及び投与後 2 日（安楽死前）に，それぞれ測

定した．また，摂餌量は途中安楽死動物では投与翌日に，最終安楽死動物では 1 週間に 1 回の頻度で安楽死までに 2 回，それぞれ測定した．各動物の安楽死の際に血液学的検査及び血液生化学的検査のための採血を行った後，動物を剖検した．さらに，主な器官の重量を測定し，病理組織学的検査を実施した．

全ての試験群で死亡動物は認められなかった．一般状態の観察では全ての試験群で投与直後に，運動失調が認められた．また，全ての試験群の雄にのみ投与後 30 分以内に自発運動の低下が認められた．これらの一般状態の変化は溶媒に含まれるエタノールに起因すると考えられ，投与 1 時間後までに消失した．体重及び摂餌量には群間差はなかった．血液学的検査では途中安楽死させたフルテメタモル群の雄のみで白血球数及びリンパ球数が溶媒群に比べて増加した．白血球数の増加は最終安楽死させた高用量群の雄でも認められた．また，フルテメタモル群の雌のみでプロトロンビン時間が溶媒群に比べて延長した．これらの変化は雌雄間で一致しないものであり，その程度も軽微であることからフルテメタモル投与と関連性のないものと考えられた．血液生化学的検査においても軽微な変化が認められ，統計学的に有意差のある項目が散見されたが，用量依存性のない，又は累積対照値の範囲内の変動であることから，フルテメタモル投与と関連のないものと考えられた．剖検では全ての群で異常所見は認められず，主な器官重量も一部の器官に群間差のあるものがみられたが，フルテメタモル投与による影響は認められなかった．病理組織学的検査において，途中安楽死させた高用量群の雄で，溶媒群と比べて，腎臓の硝子滴の発現頻度が減少し，副腎皮質網状層の空胞化の発現頻度が増加した．最終安楽死させた高用量群の雄では溶媒群と相違は認められなかった．腎臓及び副腎で認められた病理組織学的変化は軽微なものであり，毒性学的に重要ではないと考えられた．

途中及び最終安楽死させた高用量群の投与部位で静脈周囲炎の発現頻度が増加した．しかし，その程度は溶媒群とほぼ同様であった．またその発現頻度は途中安楽死させた動物に比べて最終安楽死させた動物で明らかに減少した．

以上から，本試験条件下でのフルテメタモルの概略の致死量は 200μg/kg を超える量であり，同用量で良好な忍容性が認められた．投与液濃度の実測値から真の投与量は 192μg/kg と考えられた．

2.6.6.3　反復投与毒性試験

「「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」について」（平成 22 年 2 月 19 日付　薬食審査発 0219 第 4 号）及び「「診断用放射性医薬品の臨床評価方法に関するガイドライン」について」（平成 24 年 6 月 11 日付　薬食審査発 0611 第 1 号）では，単回投与の医薬品についても，4 週間の反復投与毒性試験の実施が求められているが，フルテメタモル（^{18}F）に関連する反復投与毒性試験としては，ラット及びイヌを対象とした 7 日間及び 14 日間の反復投与毒性試験しか実施しなかった．

実施した反復投与毒性試験のうち，最長となる 14 日間反復投与毒性試験では，溶媒に含まれるエタノールの影響と考えられる所見しか得られておらず，いずれも適用した最高用量が無毒性量であった．それらの無毒性量は，臨床使用によって想定されるフルテメタモル（フルテメタモル（^{18}F）含む）の最大曝露量の 62 倍（ラット）及び 111 倍（イヌ）であった（いずれも体表面積換算）．当該試験における TK 評価から，消失半減期が短く，蓄積性がないことも確認されている．

フルテメタモル（^{18}F）注射液が生涯で一度，又は十分な投与間隔を空けて単回投与される診断用の放射性医薬品であることを踏まえると，安全性プロファイルの構築にあたって，4 週間の反

復投与毒性試験によって得られる情報の寄与は乏しいと考えられた．このことから，4 週間の反復投与毒性試験を実施せずとも，フルテメタモル（^{18}F）注射液を臨床使用するに足る毒性情報が得られたと判断した．

2.6.6.3.1 ラットにおける 7 日間反復投与用量設定試験

［試験番号：B067039 資料番号：4.2.3.2-1（評価）］

成熟 Wistar ラット（各群雌雄各 3 匹）にフルテメタモル溶液（3μg/mL）を 5，10 及び 20mL/kg/日（用量はそれぞれ 15，30 及び 60μg/kg/日に相当）で，約 1.1mL/分の速度で尾静脈内に 7 日間投与した．

試験デザインを表 2.6.6-5 に示す．

表 2.6.6-5 ラット 7 日間反復投与用量設定試験デザイン

試験群	投与液	1 回当たりの投与液量（mL/kg）	用量（μg/kg/日）	各群の動物数	
				雄	雌
対照群	生理食塩液	20	0	3	3
溶媒群	7%エタノール含有 PBS	20	0	3	3
低用量群	フルテメタモル溶液	5	15	3	3
中用量群	フルテメタモル溶液	10	30	3	3
高用量群	フルテメタモル溶液	20	60	3	3

一般状態の観察は投与前に 1 回行い，投与後は毎日 3 回行った．体重は投与 1 及び 7 日目に測定した．最終投与翌日に全ての動物を安楽死させ，剖検した．主な器官の重量を測定し，ホルマリンで固定保存した．

全ての試験群で死亡動物は認められなかった．一般状態の観察では溶媒群及び高用量群（フルテメタモル 60μg/kg）で投与 1～4 日目に運動失調が認められた．これらの変化は溶媒中のエタノールに関連したものと考えられた．体重の群間差はなかった．剖検では全ての試験群で異常所見は認められず，主な器官の重量も群間差はなかった．

以上から，本試験条件下でのフルテメタモルの無毒性量は 60μg/kg/日と判断した．投与器具への吸着を補正した無毒性量は 39μg/kg/日であった．

2.6.6.3.2 ラットにおける 14 日間反復投与毒性試験

［試験番号：B067056 資料番号：4.2.3.2-2（評価）］

8 週齢の Wistar ラットにフルテメタモル溶液（3μg/mL）を 5，10 及び 20mL/kg/日の投与液量（用量はそれぞれ 15，30 及び 60μg/kg/日に相当）で，約 1.1mL/分の速度で尾静脈内に 14～15 日間投与した．なお，小核試験に関しては遺伝毒性試験の項に改めて記載したため，本項では結果を含め詳細な記載は省略した．

試験デザインを表 2.6.6-6 に示す．

表 2.6.6-6　ラット 14 日間反復投与毒性試験デザイン

試験群	投与液	1 回当たりの投与液量（mL/kg）	用量（μg/kg/日）	各群の動物数							
				雄				雌			
				A	B	C	D	A	B	C	D
対照群	生理食塩液	20	0	10	5	3	3	10	5	3	3
溶媒群	7%エタノール含有 PBS	20	0	10	0	3	3	10	0	3	3
低用量群	フルテメタモル溶液	5	15	10	0	6	6	10	0	6	6
中用量群	フルテメタモル溶液	10	30	10	0	6	6	10	0	6	6
高用量群	フルテメタモル溶液	20	60	10	0	6	6	10	0	6	6

A＝小核試験の実施を含む主試験群，B＝小核試験の陽性対照群（生理食塩液の代わりにシクロフォスファミドを投与），C＝TK 試験のためのサテライト群（投与前日及び投与 1 日目に採血），D＝TK 試験のためのサテライト群（投与 13 日目及び 14 日目に採血）

一般状態の観察は，馴化期間中は少なくとも毎日 1 回，投与期間中は少なくとも毎日 2 回行った．体重及び摂餌量は 1 週間に 1 回の頻度で測定した．眼科学的検査は投与前，投与 2 週目に実施した．尿検査，血液学的検査及び血液生化学的検査は投与 14 又は 15 日に採尿及び採血（A に割り付けた動物）し，実施した．採血後動物を安楽死させ，剖検後，主な器官の重量を測定し，病理組織学的検査（A に割り付けた動物）を実施した．

TK 試験に関して，初回投与前日，投与 1 及び 13 日目の投与前並びに投与 14 日目に採血し実施した．

投与直後に TK 試験のためのサテライト群の動物を含む 7 匹が死亡した．これらの死亡はフルテメタモルの毒性によるものではなく，投与手技に関連したものと考えられた．死亡動物は溶媒群 2 匹，低用量群 2 匹，中用量群 2 匹及び高用量群 1 匹で認められ，性別及び用量には関連しないものであった．一般状態の観察では溶媒群及びフルテメタモル各投与群で投与 1～8 日目に運動失調が認められた．これらの変化は溶媒中のエタノールに関連したものと考えられた．体重はフルテメタモルの各投与群の雌で投与 14 日目の平均体重が対照群に比べ用量依存的に小さかった．また，高用量群の投与 14 日目の平均体重増加量も対照群に比べ低い傾向を示した．同様の変化が高用量群の雄でも認められた．摂餌量は高用量群の雌で投与 7 日目に，雄で投与 14 日目に対照群に比べ減少した．しかし，これらの変化は溶媒群との間では差が認められず，毒性学的意義はないものと考えられた．

眼科学的検査及び尿検査にフルテメタモル投与の影響は認められなかった．血液学的検査及び血液生化学的検査では検査項目により，その値に試験群間に有意差が認められたが用量依存性がなく，累積対照値の範囲内の変動であり，これらの変動に伴う病理組織学的所見が認められなかったことから，その変動に毒性学的意義はないものと考えられた．

剖検では異常所見は認められなかった．器官重量ではフルテメタモル各群の雄及び高用量群の雌で胸腺重量の減少，中及び高用量群の雄で副腎重量の減少を認めたが，これらの器官の病理組織学的検査で異常を認めなかったことから，偶発的な変化と判断した．

病理組織学的検査において，高用量群で投与部位に対照群と比べ，血栓形成，血管炎，血管周囲炎，限局性壊死などの発生頻度増加及びその重症度の上昇が認められた．これらの発生頻度の増加及び重症度の上昇は溶媒中のエタノールに関連したものと考えられた．

TK 試験の結果，いずれの群においてもフルテメタモルは 7～19 分の消失半減期で血漿中から消失した．投与 1 日目並びに投与 14 日目の消失半減期，C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}inf}$ には差は認められず，

これらのパラメーターに性差は認められなかった．フルテメタモルに全身性蓄積は認められず，用量依存的に血漿中濃度の増加を認めた．

以上から，本試験条件下でのフルテメタモルの無毒性量は 60μg/kg/日と判断した．投与器具への吸着を補正し，投与液濃度の実測値を加味した無毒性量は 27μg/kg/日であった．

2.6.6.3.3 イヌにおける 7 日間反復投与用量設定試験

［試験番号：B067038 資料番号：4.2.3.2-3（評価）］

8 箇月齢のビーグル犬（雌雄各 1 匹）に投与 1 日目に 0.9%生理食塩液を，投与 2 日目に溶媒（7%エタノール含有 PBS）を，投与 3～9 日目にフルテメタモル溶液（3μg/mL）を 5mL/kg の投与液量（用量は 15μg/kg/日に相当）で，約 20mL/分の速度で橈側皮静脈内に投与した．

一般状態の観察は投与開始前，投与後共に毎日 2 回行った．体重は投与前，投与 1，2，3，5，7 及び 10 日目（安楽死前）に測定した．摂餌量は投与前から毎日 1 回測定した．また摂水量は投与前，投与 7，8 及び 9 日目に測定した．

血液学的検査及び血液生化学的検査は投与前及び投与 8 日目に採血して実施した．心電図検査は投与前，投与 3 及び 9 日目に実施した．最終投与の翌日，動物を安楽死させ，剖検の後，主な器官の重量を測定した．

死亡動物は認められず，一般状態にも異常は認められなかった．体重，摂餌量及び摂水量にフルテメタモル投与に関連した影響は認められなかった．血液学的検査，血液生化学的検査及び心電図検査にもフルテメタモル投与に関連した影響は認められなかった．剖検及び主な器官の重量に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．

以上から，本試験条件下でのフルテメタモルの無毒性量は 15μg/kg/日と判断した．投与器具への吸着を補正した無毒性量は 14μg/kg/日であった．

2.6.6.3.4 イヌにおける 14 日間反復投与毒性試験

［試験番号：B067040 資料番号：4.2.3.2-4（評価）］

約 9 箇月齢のビーグル犬（各群雌雄各 4 匹）にフルテメタモル溶液（3μg/mL）を 2.5 及び 5mL/kg/日の投与液量（用量はそれぞれ 7.5 及び 15μg/kg/日に相当）で，約 20mL/分の速度で橈側皮静脈内に 14～15 日間投与した．別に対照群として生理食塩液（5mL/kg/日）を，溶媒群として 7%エタノール含有 PBS（5mL/kg/日）を同様に投与した．

一般状態の観察は投与開始前，投与期間共に毎日 2 回行った．体重は投与前及び投与 1 日目，8 日目及び剖検日（最終投与翌日）に測定した．摂餌量は投与前から毎日 1 回測定した．眼科学的検査は投与前及び投与 2 週目に実施した．尿検査，血液学的検査及び血液生化学的検査は投与前及び投与 13 日目に採尿及び採血し，実施した．心電図検査を投与前，投与 2 及び 13 日目に，呼吸機能検査を投与 2 週目に実施した．TK 試験は投与 1 及び 14 日目に採血し実施した．最終投与の翌日，動物を安楽死させ，剖検後に主な器官の重量を測定し，病理組織学的検査を実施した．

死亡例は認められず，一般状態にも異常は認められなかった．体重及び摂餌量にフルテメタモル投与に関連した影響は認められなかった．眼科学的検査，尿検査，血液学的検査，血液生化学的検査，心電図及び呼吸機能検査，剖検，器官重量，病理組織学的検査においてもフルテメタモル投与に関連した影響は認められなかった．

TK 試験の結果，フルテメタモルは 6.4～9.1 分の消失半減期（15μg/kg/日群）で血漿中から消失した．15μg/kg/日群の雌で投与 1 日目の消失半減期が投与 14 日目のそれと比べ有意に延長したが雄ではこのような変化は認められなかった．また，15μg/kg/日群の投与 14 日目の消失半減期について雌雄間で有意な差を認めたが，その差は小さく，生物学的に意義がないものであると判断した．投与 1 日目並びに投与 14 日目の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}inf}$ には差は認められず，これらのパラメーターに性差は認められなかった．さらに，フルテメタモルの全身性蓄積は認められなかった．

以上から，本試験条件下でのフルテメタモルの無毒性量は 15μg/kg/日と判断した．投与器具への吸着を補正した無毒性量は 14μg/kg/日であった．

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

［試験番号：B067005 資料番号：4.2.3.3.1-1（評価）］

遺伝子突然変異誘発性を検討するため，復帰突然変異試験を実施した．ネズミチフス菌 5 株（TA98，TA100，TA1535，TA1537 及び TA102）を用い，S9 存在下及び非存在下でプレート法（試験 1）及びプレインキュベーション法（試験 2）による 2 試験を実施した．試験 2 の実施に際して，試験 1 の結果の再現性を確認するために，TA98 の S9 存在下でのプレート法の確認試験を追加した．フルテメタモルの濃度は溶解限界の 50μg/plate を最高に試験 1 で 0.016～50μg/plate の範囲（S9 存在下及び非存在下共通），試験 2 で 1.563～50μg/plate の範囲（S9 存在下及び非存在下共通）とした．全ての菌株の S9 存在下及び非存在下に対応する陽性対照及び陰性対照（溶媒）を設定した．

試験 1 及び試験 2 を通じ，フルテメタモルのいずれの濃度も完全に溶解しており，試験菌の生育阻害を示す毒性徴候も認められなかった．試験 1 では TA98 及び TA102 株の S9 存在下で復帰変異コロニー数が有意に増加した．TA98 株においては用量依存性も認められた．さらに，試験 2 で追加実施した S9 存在下でのプレート法の確認試験でも，復帰変異コロニーの有意な増加を用量依存的に認めた．TA102 株における増加の程度は小さく，観察したプレートの 1 枚が高値を示したことによると考えられた．試験 2 では TA98 株の S9 存在下で復帰変異コロニー数が用量依存的に増加した．TA102 株の S9 存在下及び非存在下でも復帰変異コロニー数が増加した．しかし，その増加の程度は小さく，用量依存性も認められなかったことから，偶発的な増加と判断した．他の菌株には 2 試験を通じて，復帰変異コロニー数に差はなかった．

以上から，本試験条件下において，フルテメタモルは S9 存在下で TA98 株に遺伝子突然変異を誘発すると判断した．

2.6.6.4.2 マウスリンフォーマ *Tk* 試験

［試験番号：B067006 資料番号：4.2.3.3.1-2（評価）］

遺伝子突然変異誘発性を定量的に検討するため，マウスリンフォーマ *Tk* 試験を実施した．マウスリンパ腫（L5178Y 細胞）を用い，S9 存在下及び非存在下でチミジンキナーゼ遺伝子座に変異を引き起こす能力についてマイクロプレート法による 3 つの独立した試験を実施した．

フルテメタモルの溶解限界を踏まえて，5μg/mL を最高用量とし，試験 1（3 時間培養）で 1～5μg/mL の範囲の 5 段階（S9 存在下及び非存在下共通），試験 2（3 時間培養）及び試験 3（S9 存在下で 3 時間培養，非存在下で 3 及び 24 時間培養）で 1～5μg/mL の範囲の 6 段階（S9 存在下及

び非存在下共通）とした．全ての試験に S9 存在下及び非存在下に対応する陽性対照及び陰性対照（溶媒）を設定した．

3 時間培養での細胞の生存率は良好であった（≧78%の細胞生存率）が，24 時間培養ではその低下を認めた（4.5 及び 5μg/mL で，それぞれ 41 及び 40%の細胞生存率）．

S9 存在下で 3 時間培養した場合，試験 1 及び試験 3 の 5μg/mL で突然変異の発現率が増加した．試験 2 においてはいずれの濃度にも突然変異の発現率の増加は認められなかった．

S9 非存在下で 3 時間培養した場合，試験 1 の上位 3 濃度（3，4 及び 5μg/mL）で突然変異の発現率が増加した．試験 2 及び試験 3 ではいずれの濃度にも突然変異の発現率の増加は認められなかった．

S9 非存在下で 24 時間培養した場合，試験 3 の最高濃度の次の濃度（4.5μg/mL）で突然変異の発現率が増加した．しかし，最高濃度の 5μg/mL を含め，その他の濃度では突然変異の発現率の増加は認められなかった．

以上から本試験条件下において，フルテメタモルは S9 存在下で遺伝子突然変異を誘発し，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．

なお，被験物質が難溶性であることから，細胞毒性が強く認められる濃度（10～20%の細胞生存率）での試験は実施できなかった．

2.6.6.4.3　ラット肝細胞を用いる不定期 DNA 合成試験

［試験番号：B067016 資料番号：4.2.3.3.2-1（評価）］

DNA 損傷誘発性を検討するため，不定期 DNA 合成試験を実施した．約 6～8 週齢の Sprague Dawley ラット（各群雄 4 匹）にフルテメタモル溶液（3μg/mL）を 10 及び 20mL/kg の投与液量（用量はそれぞれ 30 及び 60μg/kg に相当）で，約 1.2mL/分の速度で尾静脈内に単回投与した．また，陽性対照群を 2 群設け，それぞれ陽性対照を経口投与した．なお，観察標本の作製には各群 3 匹を用いた．

試験デザインを表 2.6.6-7 に示す．

表 2.6.6-7　ラット不定期 DNA 合成試験デザイン

試験群	投与経路	投与液	投与液量（mL/kg）	投与濃度（μg/mL）	用量（μg/kg）	各群の動物数	
						試験 1 [a]	試験 2 [b]
対照群	静脈内	生理食塩液	20	-	-	4	4
溶媒群	静脈内	7%エタノール含有 PBS	20	-	-	4	4
低用量群	静脈内	フルテメタモル溶液	10	3	30	4	4
高用量群	静脈内	フルテメタモル溶液	20	3	60	4	4
陽性対照群	経口	2-AAF	10	7500	75000	4	-
陽性対照群	経口	DMN	10	1000	10000	-	4

2-AAF＝2-アセトアミドフルオレン（油性），DMN＝ジメチルニトロソアミン（水溶性）

a. 投与 12～14 時間後に安楽死．4 匹中 3 匹から観察標本を作製．

b. 投与 2～4 時間後に安楽死．4 匹中 3 匹から観察標本を作製．

投与 12～14 時間後に動物を安楽死させる群を試験 1，投与 2～4 時間後に動物を安楽死させる群を試験 2 とした．安楽死の際，動物を麻酔し，肝臓をコラゲナーゼ液で潅流し，新鮮分離肝細胞液を作製した. 得られた肝細胞を 10μCi/mL のチミジン(^{3}H)を含む Williams E medium-Incomplate 培地で標識した．その後スライド上に細胞を固定して常法で現像した後，細胞核及び細胞質をマイヤーヘマトキシリン／エオジン Y で染色し，顕微鏡で観察した．各動物の 100 個の細胞について，核に分布する粒子数及び細胞質に分布する粒子数を記録し，核に分布する粒子数から，細胞質に分布する粒子数を差し引くことにより正味粒子数（以下，NNG）を算出した．各動物で 3 枚作製したスライド中 2 枚を用いた（試験 1 の対照群及び溶媒群では，2，5 又は 6 枚のスライドを用いた).

溶媒群の平均 NNG は累積対照値の範囲の上限よりも少なかった(試験 1 で 0.3, 試験 2 で－1.7). 陽性対照の 2-アセトアミドフルオレン（2-AAF）及びジメチルニトロソアミン（DMN）を投与した動物の群の平均 NNG はそれぞれ 11.8 及び 22.7 であった. フルテメタモル 30 及び 60μg/kg を投与した動物の試験 1 及び試験 2 の群で平均 NNG は－1.6～－0.2 であり, 事前に規定した閾値(0)を下回っていた．また，修復細胞の増加も見られなかった.

以上のことから，本試験条件下ではフルテメタモルは検出可能な遺伝毒性活性（DNA 損傷）を有さないと判断した．投与器具への吸着を補正した高用量（60μg/kg）は 39μg/kg であった.

2.6.6.4.4 ラットにおける 2 日間反復投与小核試験

［試験番号：B067017 資料番号：4.2.3.3.2-2（評価)］

フルテメタモルの染色体異常誘発性を検討するため，骨髄小核試験を実施し，小核を有する多染性赤血球について評価した．約 6～7 週齢の Sprague Dawley ラット（各群雄 6 匹）にフルテメタモル溶液（3μg/mL）を 5，10 及び 20mL/kg の投与液量で 1 日 2 回（用量はそれぞれ 30，60 及び 120μg/kg/日に相当)，約 1.2mL/分の速度で尾静脈内に 2 日間投与した．別に，対照群として生理食塩液（20mL/kg）を，溶媒群として 7%エタノール含有 PBS（20mL/kg）を同様に投与した．また，陽性対照群には安楽死の 24 時間前にシクロフォスファミドの 20mg/kg（10mL/kg）を単回静脈内投与した．安楽死させた後，各動物から採取した大腿骨髄の塗抹標本を作製し，アクリジン・オレンジ染色して蛍光顕微鏡で観察した．各個体について全赤血球（多染性赤血球及び正染性赤血球）を 1000 個観察し，全赤血球 1000 個に対する多染性赤血球の比率を求め，投与各群と溶媒群とを比較した．また，各個体について多染性赤血球を 2000 個観察し，多染性赤血球 1000 個に対する小核を有する多染性赤血球の頻度を算出し，投与各群と溶媒群とを比較した.

対照群と溶媒群との全赤血球に対する多染性赤血球の比率及び小核を有する多染性赤血球の発現頻度に差がなかった．フルテメタモル各群の全赤血球に対する多染性赤血球の比率及び小核を有する多染性赤血球の発現頻度は溶媒群との間に差を認めなかった．すなわち，小核発現頻度の増加及び多染性赤血球の全赤血球に対する比率の減少は認められなかった．一方，陽性対照群では小核を有する多染性赤血球が増加した.

以上から，本試験条件下において，フルテメタモルは多染性赤血球に小核を誘発しないと判断した．投与器具への吸着を補正した高用量（120μg/kg）は 78μg/kg/日であった.

2.6.6.4.5 ラットにおける 14 日間反復投与小核試験

［試験番号：B067056 資料番号：4.2.3.2-2（評価）］

投与期間の違いによる染色体異常誘発性を検討するため，14 日間の骨髄小核試験を実施した．本試験はラットにおける 14 日間反復投与毒性試験の一環として実施した（試験デザインは 2.6.6.3.2 参照）．動物は最終投与の翌日に安楽死させた．各動物から採取した大腿骨髄の塗抹標本を作製し，メイ・グリュンワルド・ギムザ染色して顕微鏡で観察した．各個体について全赤血球（多染性赤血球及び正染性赤血球）を 2000 個観察し，全赤血球 2000 個に対する多染性赤血球の比率を求め，投与各群と溶媒群とを比較した．また，各個体について多染性赤血球及び正染性赤血球をそれぞれ 2000 個観察し，それぞれ小核を有する割合を算出し，投与各群と溶媒群とを比較した．

フルテメタモル各群（15，30 及び 60μg/kg/日投与）の全赤血球に対する多染性赤血球の比率は溶媒群に比べて有意な差がなかった．小核発現頻度について，高用量群（60μg/kg/日投与）の正染性赤血球で有意な上昇を認めたが，溶媒群における小核を有する正染性赤血球の数が非常に少なかったことによるものであり，毒性学的意義の乏しい所見であると判断した．一方，陽性対照群では小核を有する多染性赤血球及び正染性赤血球が増加した．

以上から，本試験条件下においてフルテメタモルは多染性赤血球及び正染性赤血球に小核を誘発しないと判断した．投与器具への吸着を補正し，投与液濃度の実測値を加味した高用量（60μg/kg/日）は 27μg/kg/日であった．

2.6.6.5 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．

2.6.6.6 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．

2.6.6.7 局所刺激性試験

2.6.6.7.1 ウサギにおける皮膚一次刺激性試験

［試験番号：B067042 資料番号：4.2.3.6-1（評価）］

成熟したニュージーランドホワイトウサギ（雄 1 匹，雌 2 匹）にフルテメタモル溶液（3μg/mL）を 0.5mL/部位で 4 時間，左側腹部に半閉塞塗布した．その後塗布部位を洗浄し，1，24，48 及び 72 時間目に皮膚の紅斑及び浮腫の程度から刺激性を評価した．

1 及び 24 時間目の観察で全ての動物に軽微～軽度な紅斑が認められた．また，1 時間目の観察で 1 匹の動物に軽微な浮腫が認められた．48 及び 72 時間目には全ての動物の皮膚に異常は認められなかった．同時に，皮膚での着色及び腐食についても観察したが，いずれの動物にも着色及び腐食は認められなかった．

以上から，本試験条件下ではフルテメタモルは皮膚に対して非刺激性と判断した．投与器具への吸着を補正したフルテメタモル溶液の濃度は 2.8μg/mL であった．

2.6.6.7.2 ウサギにおける眼刺激性試験

［試験番号：B067044 資料番号：4.2.3.6-2（評価）］

成熟したニュージーランドホワイトウサギ（雄 1 匹，雌 2 匹）にフルテメタモル溶液（3μg/mL）を 0.1mL/部位で左眼結膜嚢に滴下した．その後約 1 秒間眼を閉じさせて，投与液が流れ出るのを防ぎ，1，24，48 及び 72 時間目に角膜，虹彩及び結膜の傷害（混濁，浮腫，発赤など）の程度から刺激性を評価した．

どの観察時点においても角膜及び虹彩に全ての動物で異常所見は認められなかった．1 時間目の観察で 2 匹の動物に軽微な結膜発赤が，1 匹の動物に軽微な強膜発赤が認められた．24 時間目以降には全ての動物に異常は認められなかった．同時に眼での着色及び腐食についても観察したが，いずれの動物にも着色及び腐食は認められなかった．

以上から，本試験条件下ではフルテメタモルは眼に対して非刺激性と判断した．投与器具への吸着を補正したフルテメタモル溶液の濃度は 2.8μg/mL であった．

2.6.6.7.3 ウサギにおける静脈内，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）

［試験番号：B067052 資料番号：4.2.3.6-3（評価）］

成熟したニュージーランドホワイトウサギ（雄 1 匹，雌 2 匹）にフルテメタモル溶液（3μg/mL）を 0.3mL/部位で右耳（静脈内，動脈内及び静脈周囲）又は右大腿（筋肉内）に 1 回投与した．各投与部位の対照として生理食塩液を左耳又は左大腿の同部位に投与した．投与日の一般状態及び投与部位の観察は投与直後から 6 時間行い，その後は少なくとも 1 日 1 回行った．投与部位の肉眼所見（紅斑及び浮腫）を記録した．体重は投与前，投与日及び投与後 8 日（剖検日）に測定した．投与後 8 日に動物を安楽死させ，投与部位を観察後，投与部位を含む近辺組織を摘出し，病理組織学的検査を実施した．

観察期間中，全ての動物で一般状態に異常は認められず，体重変動も正常範囲内のものであった．

投与部位の観察においては静脈内及び筋肉内投与した全ての動物において刺激性の徴候は認められなかった．静脈周囲に投与した動物では，フルテメタモル群において投与直後の観察で 1 匹

に軽微な紅斑が，投与 3～6 時間後の観察で別の 1 匹に軽微な紅斑が認められた．また対照群においても投与 3～6 時間後の観察で 1 匹に軽微な紅斑を認めた．動脈内投与した動物ではフルテメタモル群に刺激性の徴候は認められなかったが，対照群において投与直後の観察で 2 匹に軽微な紅斑が認められた．その内の 1 匹では投与 3 時間後の観察でも持続して認められた．浮腫はいずれの投与群においても認められなかった．

投与部位の剖検では異常所見は認められなかった．各投与部位の病理組織学的検査で認められた所見はいずれもフルテメタモル群及び対照群で同様に発現していた．これらの所見の発現頻度及び重症度も同系の同月齢の動物で実施されたこの種の試験で通常みられる範囲のものであった．

以上から，本試験条件下ではフルテメタモルは静脈内，動脈内，筋肉内及び静脈周囲に対して非刺激性と判断した．また，局所での忍容性の低下を認めないことからフルテメタモルの忍容性は良好であった．投与器具への吸着を補正したフルテメタモル溶液の濃度は静脈内及び動脈内で 2.0μg/mL，筋肉内及び静脈周囲で 2.8μg/mL であった．

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 溶血性試験

［試験番号：B067061 資料番号：4.2.3.7.7-1（評価）］

健康成人 6 例から採取した血液（各 2mL）に 0.002～0.2mL の容量の臨床使用溶媒（海外第 I 相試験（ALZ103 試験）に使用したもの）を加え，Reed and Yalkowsky（1985）及び Amin and Dannenfelser（2006）の論文[1),2)]の手法でその溶血性を評価した．

試験デザインを表 2.6.6-8 に示す．

表 2.6.6-8 ヒト血液を用いた溶血性試験デザイン

試験群	血液サンプル数	添加溶媒量（mL）	凍結させた血液量（mL）	生理食塩液量（mL）	血液量（mL）	血液による希釈倍率
陽性対照	6	-	2	-	-	
陰性対照	6	-	-	0.2	2	10
水/7%エタノール溶液	6	0.2	-	-	2	10
試験 1	6	0.2	-	-	2	10
試験 2	6	0.02	-	-	2	100
試験 3	6	0.004	-	-	2	500
試験 4	6	0.002	-	-	2	1000

6 例の血液における臨床使用溶媒添加時の溶血の程度（率）を表 2.6.6-9 に示す．

表 2.6.6-9 ヒト血液を用いた溶血性試験結果

血液提供者	採血量（mL）	水/7%エタノール溶液添加時の溶血率（%）	各希釈倍率での溶媒添加時の溶血率（%）			
			10	100	500	1000
1	2	3	0	6	6	3
2	2	2	1	3	2	2
3	2	0	0	0	0	0
4	2	2	4	3	6	3
5	2	1	1	1	2	0
6	2	0	0	0	0	0

溶血性の判定基準：溶血率が 10%以下の場合は溶血性なし，25%以上の場合は溶血性の危険性あり．

いずれの希釈倍率においても臨床使用溶媒の添加による溶血性は認められなかった．なお，陰性対照（生理食塩液）での溶血率は 0%であり，陽性対照（凍結した血液）での溶血率は 100%であった．

2.6.6.8.2 投与器具への吸着試験

［試験番号：B067058 資料番号：4.2.3.7.7-2（評価）］

フルテメタモルはその物理的化学的特性（脂溶性，水溶液での溶解性が低い）により投与（注射）器具へ吸着したため，実施した非臨床試験（安全性薬理試験を含む）と同様の条件下でその吸着の程度を調べた．

試験は調製したフルテメタモル溶液を非臨床試験と同種の投与器具に通過させ，その後のフルテメタモル含量を，投与器具を通過させる前の溶液と比較し，吸着の程度を回収率で表示した．各非臨床試験に用いた投与器具を通過した後のフルテタモルの回収率（最低値を採用）は 64～92%であった．

各非臨床試験における回収率（%）（最低の回収率を採用）を表 2.6.6-10 に示す．

表 2.6.6-10 フルテメタモルの各非臨床試験における回収率（最低値）

非臨床試験の種類	試験番号	最低の回収率（%）
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	65
イヌにおける 14 日間反復投与毒性試験	B067040	91
テレメトリー法によるイヌを用いた心血管系に関する試験	B067003	64
ラットを用いた Irwin 変法試験	B067004	92
ラットにおける 2 日間反復投与小核試験	B067017	65
ラット肝細胞を用いる不定期 DNA 合成試験	B067016	65
ラットにおける拡張型単回投与毒性試験	B067001	65
ウサギにおける皮膚一次刺激性試験	B067042	92
ウサギにおける眼刺激性試験	B067044	92
ウサギにおける静脈内，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	静脈内及び動脈内：65 筋肉内及び静脈周囲：92

2.6.6.9 考察及び結論

毒性試験に用いたフルテメタモルは 1 試験（ラットにおける拡張型単回投与毒性ブリッジング試験）を除いて，投与器具に吸着することが判明したため，各試験で用いた投与器具への吸着率を調べた（2.6.6.8.2 参照）．その結果に基づき，各試験における吸着による最大喪失率（100%－回収率（%））（%）をまとめて表 2.6.6-11 に示す．

表 2.6.6-11 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試験ブリッジング試験	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．

ラットにおける拡張型単回投与毒性試験では概略の致死量を 120μg/kg を超える量としたが吸着による喪失率で補正し，78μg/kg を超える量であると考えられた．ラットにおける 14 日間反復

投与毒性試験では無毒性量を 60μg/kg としたが，投与液濃度の実測値及び吸着による喪失率で補正し 27μg/kg/日とした．イヌにおける 14 日間反復投与毒性試験では無毒性量を 15μg/kg/日としたが，吸着による喪失率で補正し 14μg/kg/日とした．その他の試験においても吸着による喪失率で補正し，実際の無毒性量を算出した．

ラットの単回及び反復投与毒性試験で運動失調が認められた．この変化は溶媒中に含まれるエタノールの一過性の影響によるものであり，フルテメタモル自身に起因する有害作用は認められなかった．

ラット及びイヌに 14 日間反復投与した試験の吸着による喪失率で補正した無毒性量はそれぞれ 27 及び 14μg/kg/日であり，推定最大臨床投与量 4μg（体重 60kg と仮定すると 0.07μg/kg）に比べ，十分な安全域が確保されていると考えられた（表 2.6.6-11 参照）．臨床製剤の毒性について追加の拡張型単回投与毒性ブリッジング試験として実施したが最大投与量（投与液濃度の実測値に基づく投与量：192μg/kg）でもフルテメタモルに関連した毒性は認められなかった．最大投与量の 192μg/kg は体表面積換算で推定最大臨床投与量の 442 倍に相当し，広い安全域が確認できた．

In vitro 遺伝毒性試験として，細菌を用いた復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ *Tk* 試験を実施した．これらの 2 試験において，S9 存在下では，1 菌株（TA98）及び培養細胞に遺伝毒性陽性反応が認められ，S9 非存在下では，いずれの菌株及び培養細胞にも明らかな遺伝毒性は認められなかった．これらのことから，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．ヒトへのリスクを評価するため，ラット肝細胞を用いる不定期 DNA 合成試験及びラットを用いる 2 つの小核試験を *in vivo* 遺伝毒性試験として実施した．

不定期 DNA 合成試験では 60μg/kg（補正後 39μg/kg）までの用量で遺伝毒性は認められず，小核試験でも 120μg/kg/日（補正後 78μg/kg/日）を 2 日間投与又は 60μg/kg/日（補正後 27μg/kg/日）を 14 日間投与のいずれでも遺伝毒性は認められなかった．これらの試験の最大投与量である 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）は推定最大臨床投与量の 4μg（体重 60kg と仮定すると 0.07μg/kg）に比べ，十分な安全域が確保されていると考えられた．

刺激性に関連して，一般毒性試験（単回及び反復投与毒性試験）において，溶媒中のエタノールに起因すると考えられる投与部位での血管周囲炎などが散見されたが，フルテメタモルのウサギを用いた局所刺激性試験（忍容性評価を含む）では皮膚，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．臨床使用溶媒のヒト血液を用いた溶血性試験においても溶血性は認められなかった．これらの評価成績から，フルテメタモル（^{18}F）注射液をヒトへ静脈内投与した場合に，問題となる刺激性はないと判断した．

また，ラットにおける体内分布試験（B067059 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を推定したところ，排泄に関与している大腸上部（274μGy/MBq），小腸（242μGy/MBq）及び膀胱壁（95μGy/MBq）での吸収線量が高く，単位放射能当たりの実効線量が 51.7μSv/MBq と推定された [3]．さらに，別のラット体内分布試験（B067062 試験）の成績から放射性不純物の実効線量への影響を推定したところ，放射化学的純度が 100%から 90%に低下すると，単位放射能当たりの実効線量が 51.7μSv/MBq から 50.4μSv/MBq に低下すると推定された [4]．したがって，10%以内の放射性不純物が内部被曝線量に及ぼす影響は小さいと考えられた．

全体的な毒性プロファイルからフルテメタモル及び臨床使用溶媒は高い安全性を有していると考えられ，フルテメタモル（^{18}F）注射液の臨床使用を許容できるものであり，ヒトへのリスクは低いと考えられた．

2.6.6.10 図表

本文中に記載した．

2.6.6.11 参考文献

1) Reed KW, Yalkowsky SH. Lysis of human red blood cells in the presence of various cosolvents. J Parenter Sci Technol. 1985;39(2):64-8.
2) Amin K, Dannenfelser RM. *In vitro* hemolysis: guidance for the pharmaceutical scientist. J Pharm Sci. 2006;95(6):1173-6.
3) GE Healthcare (Amersham UK). Human internal radiation dosimetry estimates for intravenously administered AH-110690 [18F] injection based upon biodistribution and excretion data from male and female Wistar rats. Study No. B067065.
4) GE Healthcare (Amersham UK). Estimation of the influence of radiochemical impurities in AH110690 (18F) injection upon the effective dose. Study No. B067066.

ビザミル静注

CTD　第 2 部（モジュール 2）

2.6.7　毒性試験概要表

日本メジフィジックス株式会社

2.6.7　毒性試験概要表

目次

2.6.7　毒性試験概要表 3
2.6.7.1　毒性試験：一覧表 3
2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 6
2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 7
2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 8
2.6.7.5　単回投与毒性試験 9
2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 11
2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験 12
2.6.7.8　*In Vitro* 遺伝毒性試験 19
2.6.7.9　*In Vivo* 遺伝毒性試験 28
2.6.7.10　がん原性試験 31
2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 31
2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 31
2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 31
2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 31
2.6.7.15　新生児を用いた試験 31
2.6.7.16　局所刺激性試験 32
2.6.7.17　その他の毒性試験 35

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

被験物質：フルテメタモル

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose [a] (μg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Numbers	Location of Document
Single Dose Toxicity								
	Rat/Sprague Dawley Bkl:SD	Intravenous	Single (twice a day)	0 (saline) 0 (vehicle) 120	Yes	[redacted], Norway	B067001	4.2.3.1-1
	Rat/Wistar Crl:WI(Han)	Intravenous	Single (twice a day)	0 (vehicle) 40, 200	Yes	[redacted], England	B067069	4.2.3.1-2
Repeat Dose Toxicity								
	Rat/Wistar (HanRcc:WIST)	Intravenous	7 days	0 (saline) 0 (vehicle) 15, 30, <u>60</u>	Yes	[redacted], Switzerland	B067039	4.2.3.2-1
	Rat/Wistar (HanRcc:WIST)	Intravenous	14/15 days	0 (saline) 0 (vehicle) 15, 30, <u>60</u>	Yes	[redacted], Switzerland	B067056	4.2.3.2-2
	Dog/Beagle	Intravenous	7 days [b]	0 (saline) 0 (vehicle) <u>15</u>	Yes	[redacted], Switzerland	B067038	4.2.3.2-3
	Dog/Beagle	Intravenous	14/15 days	0 (saline) 0 (vehicle) 7.5, <u>15</u>	Yes	[redacted], Switzerland	B067040	4.2.3.2-4

a. For repeated toxicity studies, the NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) is underlined.

b. This study was designed as a single dosage group to test the vehicle (Day 2) and the test item (Day 3-9). Saline was administered before the vehicle to provide base line (Day 1).

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (µg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Numbers	Location of Document
Genotoxicity								
Ames Test	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102	*In vitro*	NA	0.016 - 50µg/plate	Yes	[redacted], England	B067005	4.2.3.3.1-1
Mouse lymphoma *Tk* assay	L5178Y *tk* $^{+/-}$ mouse lymphoma cells	*In vitro*	NA	1 - 5µg/mL	Yes	[redacted], England	B067006	4.2.3.3.1-2
Unscheduled DNA Synthesis test	Rat/Sprague Dawley Crl:CD(SD)IGS BR	Intravenous	Single	0 (saline) 0 (vehicle) 30, 60	Yes	[redacted], England	B067016	4.2.3.3.2-1
Micronucleus assay	Rat/Sprague Dawley Crl:CD(SD)IGS BR	Intravenous	2 days	0 (saline) 0 (vehicle) 30, 60, 120	Yes	[redacted], England	B067017	4.2.3.3.2-2
Micronucleus assay	Rat/Wistar (Han Rcc:WIST)	Intravenous	14/15 days	0 (saline) 0 (vehicle) 15, 30, 60	Yes	[redacted], Switzerland	B067056	4.2.3.2-2
Local tolerance								
Primary Skin Irritation	Rabbit/ New Zealand White	Dermal	Single	Concentration: 3µg/mL Dosage Volume: 0.5mL	Yes	[redacted], Switzerland	B067042	4.2.3.6-1
Eye Irritation	Rabbit/ New Zealand White	Ocular	Single	Concentration: 3µg/mL Dosage Volume: 0.1mL	Yes	[redacted], Switzerland	B067044	4.2.3.6-2
Local Irritation	Rabbit/ New Zealand White	Intravenous Perivenous Intramuscular Intraarterial	Single	Concentration: 3µg/mL Dosage Volume: 0.3mL	Yes	[redacted], Switzerland	B067052	4.2.3.6-3

NA = not applicable

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose	GLP Compliance	Testing Facility	Study Numbers	Location of Document
Other Toxicity Study								
Hemolysis Study	Red blood cells	*In vitro*	NA	0 (vehicle)	No	[redacted]	B067061	4.2.3.7.7-1
Adsorption Study	NA	NA	NA	NA	No	GE Healthcare AS, Norway	B067058	4.2.3.7.7-2

NA = not applicable

2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：フルテメタモル

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Dose (µg/kg)	GLP Compliance	Study Numbers	Location of Document
Repeat Dose Toxicity	Rat/Wistar (HanRcc:WIST)	Intravenous	15 30 60	Yes	B067056	4.2.3.2-2
Repeat Dose Toxicity	Dog/Beagle	Intravenous	7.5 15	Yes	B067040	4.2.3.2-4

2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

被験物質：フルテメタモル

Daily Dose (µg/kg)	Steady State C_{max} [a] (ng/mL)					Steady State AUC [a] (ng.min/mL)				
	Rat		Dog		Human	Rat		Dog		Human
	Male	Female	Male	Female		Male	Female	Male	Female	
7.5	-	-	1.1	1.3	-	-	-	NC	NC	-
15	1.08 to 1.21 [b]	1.06	2.7	3.1	-	20.51	19.89	36.2	42.1	-
30	2.67	2.66	-	-	-	46.08	48.44	-	-	-
60	4.67	4.82	-	-	-	84.27	89.44	-	-	-

- = not applicable, NC = not calculated (due to insufficient data)

a. Mean.

b. Two animals were excluded from C_{max} calculations due to suspected extravasated injection of test item. In addition, one sample was not analysed due to technical analysis error. In these cases, C_{max} is reported as raw data instead of mean value.

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：フルテメタモル

Flutemetamol, Solution for Injection				
Batch Number	**Nominal Concentration (µg/mL)**	**Purity (%)**	**Study Numbers**	**Type of Study**
FFA 049/112-306	3.0	91.2	B067001	Single dose toxicity in SD rats
FFA 049/116-306	3.0	94.5	B067001	Single dose toxicity in SD rats
FFA 093/024-401	45	99.8	B067016 B067017	Unscheduled DNA synthesis test Micronucleus assay
FFA 093/039-504	45	97.0	B067038 B067039 B067040 B067042 B067044 B067052	Combined single and repeated dose toxicity in dogs Dose range-finding toxicity in Wistar rat 14 days repeated dose toxicity in dogs Primary skin irritation in rabbits Eye irritation in rabbits Local irritation in rabbits
FFA 093/048-601	45	97	B067056	14 days repeated dose toxicity in Wistar rats
FFA 093/192-009	68.6	- (27) [a]	B067069	Single dose toxicity in Wistar rats
Flutemetamol, test item				
Batch Number		**Purity (%)**	**Study Numbers**	**Type of Study**
0305013 CLJ-1		95.5	B067005 B067006	Ames test Mouse lymphoma *Tk* assay
FKJ0129/101-01		99.8	-	- (Solution batch number : FFA 093/024-401)
FKJ0162/147-05		96.7	-	- (Solution batch number : FFA 093/039-504)
ALZ103 Phase I clinical vehicle				
Batch Number			**Study Numbers**	**Type of Study**
FFF150/082-708			B067061	Hemolisis Study

- = not applicable

a. Concentration of flutemetamol and related impurities was 253.3µg/mL. Calculated purity was 27%.

2.6.7.5　単回投与毒性試験

被験物質：フルテメタモル

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (µg/kg/day)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose (µg/kg)	Approximate Lethal Dose (µg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number	Location of Document
Rat/ Sprague Dawley Bkl:SD	Intravenous (7% ethanol in PBS)	0 (saline) 0 (vehicle) 120 (Twice a day apart 4 hours)	6 males and 6 females/ group in both interim [a] and main study	Nominal: 120 Adjusted [b]: approximately 78	Nominal: >120 Adjusted: approximately >78	No adverse treatment related toxic effects observed. There was some evidence of an effect of the vehicle on clinical signs in this study. In groups dosed with vehicle alone and with flutemetamol, altered behaviour (observed as ataxia) was seen during the first 10 minutes after dosing. Further, on the day after dosing, female groups that received vehicle alone or flutemetamol showed reduced liver weight, body weight changes and microscopic observations of prominent glycogen depletion in the liver compared to saline control group. Incidences of venous/perivenous necrosis at the injection site were higher in both male and female rats treated with vehicle alone and with flutemetamol, compared to saline control animals. All these results are consistent with the vehicle containing ethanol.	B067001	4.2.3.1-1

PBS = phosphate buffered saline

a. Interim killed was performed one day after dosing.

b. For the equipment used in study, 65% recovery of flutemetamol in the flutemetamol solution for injection was observed after passing the solution through the dosing equipment.

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き）

被験物質：フルテメタモル

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (µg/kg/day)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose (µg/kg)	Approximate Lethal Dose (µg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number	Location of Document
Rat/Wistar Crl:WI(Han)	Intravenous (7% ethanol and 0.5% polysorbate 80 in PBS)	0 (vehicle) 40 200 (Twice a day apart 4 hours)	5 males and 5 females/ group in both interim [a] and main study	200 (Actual dose: 192)	>200 (Actual dose: >192)	No adverse treatment related toxic effects observed. Clinical signs observed immediately after dosing, decreased activity and ataxia were transient and considered to be related to the ethanol component of the vehicle. Minor changes in some clinical pathology parameters were not considered toxicologically significant. There were no test item related macroscopic findings. Microscopic changes noted in the adrenals and kidney were considered minimal and showed no relationship to dose and are therefore not considered toxicologically significant. There were no toxicologically significant local effects of the test item at the injection site.	B067069	4.2.3.1-2

PBS = phosphate buffered saline

a. Interim killed was performed one day after dosing.

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当なし.

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7A　反復投与毒性試験

被験物質：フルテメタモル

Report Title: 7-day dose range-finding intravenous toxicity study with AH-110690 solution for injection in the Wistar rat

Species/Strain:	Rat/Wistar (HanRcc:WIST)	**Duration of Dosing:**	7 days	**Study No.:**	B067039
Initial Age:	Approximately 8-9 weeks	**Duration of Post Dosing:**	None	**Location of Document:**	4.2.3.2-1
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Intravenous	**GLP Compliance:**	Yes
Special Feature:	None	**Vehicle/Formulation:**	7% ethanol in phosphate buffered saline		

No Observed Adverse Effect Level: nominal dose 60µg/kg/day (Adjusted [a]: 39µg/kg/day)

Daily Dose (µg/kg)	**0 (Saline Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**15**		**30**		**60**	
Dose Volume (mL/kg)	**20**		**20**		**5**		**10**		**20**	
Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Noteworthy Findings										
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations Uncoordinate movement [b]	-	-	3	3	-	-	-	-	3	3
Organ weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

M = male, F = female, - = no relevant change

a. For the equipment used in study, 65% recovery of flutemetamol in the flutemetamol solution for injection was observed after passing the solution through the dosing equipment.

b. Treatment days 1 to 4.

2.6.7.7B　反復投与毒性試験

被験物質：フルテメタモル

Report Title: 14-day repeated dose intravenous toxicity study with AH-110690 solution for injection in the Wistar rat

Species/Strain:	Rat/Wistar (HanRcc:WIST)	**Duration of Dosing:**	14/15 days	**Study No.:**	B067056
Initial Age:	8 weeks	**Duration of Post Dosing:**	None	**Location of Document:**	4.2.3.2-2
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Intravenous	**GLP Compliance:**	Yes
Special Feature:	None	**Vehicle/Formulation:**	7% ethanol in phosphate buffered saline		

No Observed Adverse Effect Level: nominal dose 60µg/kg/day (Adjusted [a]: 27µg/kg/day)

Daily Dose (µg/kg)	**0 (Saline Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**15**		**30**		**60**	
Dose Volume (mL/kg)	**20**		**20**		**5**		**10**		**20**	
Number of Animals	**M: 21**	**F: 21**	**M: 16**	**F: 16**	**M: 22**	**F: 22**	**M: 22**	**F: 22**	**M: 22**	**F: 22**
Group A: Main study	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Group B: Positive control	5 [b]	5 [b]	0	0	0	0	0	0	0	0
Group C: For toxicokinetics Day 1	3	3	3	3	6	6	6	6	6	6
Group D: For toxicokinetics Day 14	3	3	3	3	6	6	6	6	6	6
Died or Sacrificed Moribund [Group A-D]	0	0	1	1	1	(1) [c]	(1) [c]	1	0	1
Toxicokinetics [Group C, D]										
AUC (ng.min/mL) Day 1 [d]	NA	NA	NA	NA	15.39	23.09	50.00	59.97	79.50	102.5
AUC (ng.min/mL) Day 14 [d]	NA	NA	NA	NA	20.51	19.89	46.08	48.44	84.27	89.44
C_{max} (ng/mL) Day 1 [e]	NA	NA	NA	NA	0.94 to 1.34	1.74±0.43	2.34 to 3.31	3.63±0.24	4.57±0.06	5.87±1.35
C_{max} (ng/mL) Day 14 [e]	NA	NA	NA	NA	1.08 to 1.21	1.06±0.16	2.67±0.31	2.66±0.22	4.67±0.29	4.82±0.35

M = male, F= female, NA= not applicable

a. For the equipment used in study, 65% recovery of flutemetamol in the flutemetamol solution for injection was observed after passing the solution through the dosing equipment. Combined with the less than expected measured concentration of flutemetamol in the dosing solution (67%), the estimated maximum dose administered to the animals was 27µg/kg/day.

b. Treatment with cyclophosphamide (Positive control for micronucleus test)

c. Both rats were replaced reserved animals.

d. Mean.

e. Mean ± standard deviation. Two animals (Group C: one male of low dose group and one male of medium dose group) were excluded from C_{max} calculations due to suspected extravasated injection of test item. In addition, one sample from a male of Group D (low dose group) was not analysed due to technical analysis error. In these cases, C_{max} is reported as raw data instead of mean ± standard deviation.

2.6.7.7B　反復投与毒性試験（続き）

Daily Dose (μg/kg)	0 (Saline Control)		0 (Vehicle Control)		15		30		60	
Dose Volume (mL/kg)	**20**		**20**		**5**		**10**		**20**	
Number of Animals	**M: 21**	**F: 21**	**M: 16**	**F: 16**	**M: 22**	**F: 22**	**M: 22**	**F: 22**	**M: 22**	**F: 22**
Toxicokinetics [Group C, D]										
$t_{1/2}$ (min) Day 1	NA	NA	NA	NA	7	8	11	10	11	12
$t_{1/2}$ (min) Day 14	NA	NA	NA	NA	19	15	17	17	17	16
Noteworthy Findings										
Body Weight [Group A, B, D] Day 14 [f]	297 g	221 g	+1	0	+1	-2	-1	-3	+1	-5 *
Body Weight Gain (%) [Group A, B, D] Day 14 [g]	25.3	13.6	24.2	13.2	26.2	13.9	23.9	12.8	23.7	10.5
Food Consumption [Group A, B, D]										
Day 1-7 [f]	22.5g/day	17.2g/day	-2	-3	+1	-1	-1	-2	-1	-10.5 **
Day 8-14 [f]	24.4g/day	17.4g/day	-3	-5	-3	+1	-5	-5	-5	-6
Clinical Observations [Group A, B, D] Uuncoordinated movements [h]	0	0	13	13	16	16	16	16	16	15
Ophthalmoscopy [Group A]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology [Group A]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry [Group A]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis [Group A]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

M = male, F = female, NA= not applicable, - = no relevant change

f. For saline controls, group means are shown. For vehicle control and treated groups, percent differences from saline controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)

g. Mean.

h. Uncoordinated movements observed just after the intravenous administration of the vehicle control or test item. Development of tolerance after a few days of treatment.

* = $p \leq 0.05$, ** = $p \leq 0.01$ (Dunnett's test, vs. saline control)

2.6.7.7B　反復投与毒性試験（続き）

Daily Dose (µg/kg)	0 (Saline Control)		0 (Vehicle Control)		15		30		60	
Dose Volume (mL/kg)	**20**		**20**		**5**		**10**		**20**	
Number of Animals	**M: 21**	**F: 21**	**M: 16**	**F: 16**	**M: 22**	**F: 22**	**M: 22**	**F: 22**	**M: 22**	**F: 22**
Organ Weights [Group A]										
Thymus [i]	0.574g	0.392g	-10	+4	-12	+2	-9	+7	-12	-7
Adrenals [i]	0.075g	0.087g	+1	0	+1	-3	-11	-1	-4	-2
Gross Pathology [Group A, B]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology [Group A]										
Injection site										
Thrombosis	3	1	0	3	0	2	1	0	1	5
Vasculitis	9	3	4	6	3	9	7	7	7	8
Perivasculitis	10	9	7	9	9	9	7	9	10	10
Focal tissue necrosis	0	2	0	4	7	3	3	4	1	5
Intimal proliferation	0	0	0	0	0	1	1	1	0	3
Fibrosis	1	0	0	0	1	0	0	1	0	2

M = male, F = female, - = no relevant change

i. For saline controls, group means are shown. For vehicle control and treated groups, percent differences from saline controls are shown.

2.6.7.7C　反復投与毒性試験

被験物質：フルテメタモル

Report Title: Combined single and 7-day repeated dose study with AH-110690 solution for injection in the beagle dog

Species/Strain:	Dog/Beagle	**Duration of Dosing:**	7 days	**Study No.:**	B067038
Initial Age:	8 months	**Duration of Post Dosing:**	None	**Location of Document:**	4.2.3.2-3
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Intravenous	**GLP Compliance:**	Yes
Special Feature:	None	**Vehicle/Formulation:**	7% ethanol in phosphate buffered saline		

No Observed Adverse Effect Level: nominal dose 15μg/kg/day (Adjusted [a]: 14μg/kg/day)

Daily Dose (μg/kg)	Day 1: Saline Day 2: Vehicle Day 3-9: 15μg/kg	
Number of Animals	**M: 1**	**F: 1**
Died or Sacrificed Moribund	0	0
Noteworthy Findings		
Body Weight	-	-
Food Consumption	-	-
Water Consumption	-	-
Clinical Observations	-	-
Electrocardiography	-	-
Hematology	-	-
Clinical Chemistry	-	-
Organ Weights	-	-
Gross Pathology	-	-

M = male, F = female, - = no relevant change

a. For the equipment used in study, 91% recovery of flutemetamol in the flutemetamol solution for injection was observed after passing the solution through the dosing equipment.

2.6.7.7D　反復投与毒性試験

被験物質：フルテメタモル

Report Title: 14-day repeat dose study with AH-110690 solution for injection in the beagle dog

Species/Strain:	Dog/Beagle	**Duration of Dosing:**	14/15 days	**Study No.:**	B067040
Initial Age:	approximately 9 months	**Duration of Post Dosing:**	None	**Location of Document:**	4.2.3.2-4
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Intravenous	**GLP Compliance:**	Yes
Special Feature:	None	**Vehicle/Formulation:**	7% ethanol in phosphate buffered saline		

No Observed Adverse Effect Level: nominal dose 15µg/kg/day (Adjusted [a]: 14µg/kg/day)

Daily Dose (µg/kg)		**0 (Saline Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**7.5**		**15**	
Dose Volume (mL/kg)		**5**		**5**		**2.5**		**5**	
Number of Animals		**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0
Toxicokinetics [b]									
AUC (ng.min/mL)	Day 1	NA	NA	NA	NA	16.4±1.9 [c]	NC	38.0±4.4	38.0±6.5
AUC (ng.min/mL)	Day 14	NA	NA	NA	NA	NC	NC	36.2±4.8	42.1±7.0
C_{max} (ng/mL)	Day 1	NA	NA	NA	NA	1.1±0.3	1.1±0.5	2.8±0.4	2.5±0.3 [c]
C_{max} (ng/mL)	Day 14	NA	NA	NA	NA	1.1±0.2	1.3±0.5	2.7±0.4	3.1±0.3
$t_{1/2}$ (min)	Day 1	NA	NA	NA	NA	8.5±1.4 [c]	NC	7.8±0.5	8.4±0.6
$t_{1/2}$ (min)	Day 14	NA	NA	NA	NA	NC	NC	7.5±0.2	6.5±0.2
Noteworthy Findings									
Body Weight		-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption		-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations		-	-	-	-	-	-	-	-

M = male, F = female, NA = not applicable, NC = not calculated, - = no relevant change

a. For the equipment used in study, 91% recovery of flutemetamol in the flutemetamol solution for injection was observed after passing the solution through the dosing equipment.

b. Mean ± standard deviation.

c. n = 3.

2.6.7.7D　反復投与毒性試験（続き）

Daily Dose (μg/kg)	0 (Saline Control)		0 (Vehicle Control)		7.5		15	
Dose Volume (mL/kg)	5		5		2.5		5	
Number of Animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Respiratory Function	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-

M = male, F = female, - = no relevant change

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8A *In Vitro* 遺伝毒性試験

被験物質：フルテメタモル

Report Title: AH110690: Reverse mutation in five histidine-requiring strains of *Salmonella typhimurium*

Test for Induction of:	Reverse mutation in bacterial cells	**No. of Independent Assays:**	2	**Study No.:**	B067005
Strain:	*S. typhimurium*	**No. of Replicate Cultures:**	3 (Vehicle:5)	**Location of Document:**	4.2.3.3.1-1
Metabolizing System:	Aroclor 1254-induced rat liver S-9	**No. of Cells Analyzed/Culture**	NA	**GLP Compliance:**	Yes
Vehicle: For Test Article:	Dimethylformamide	**For Positive Controls:** Dimethyl sulphoxide or Water		**Date of Treatment:**	[redacted] 20[redacted]

Treatment: Plate incorporation for 72 hour or Pre incubation method for 60 minitus.

Cytototoxic Effects: None

Genotoxic Effects: Flutemetamol did induce mutations in TA98 in the presence of S9.

Metabolic Activation	Test Article	Doses (µg/plate)	Experiment 1: Plate Incorporation Method Revertant colonies (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Without Activation	DMF [a]	100µL/plate	29±3	118±8	19±6	11±3	362±10
	Flutemetamol	0.016	28±5	110±11	25±7	12±6	393±14
		0.08	25±2	126±14	20±5	12±3	339±38
		0.4	29±7	108±7	22±4	13±1	355±4
		2	34±3	120±20	23±4	13±3	381±18
		10	27±9	121±6	23±1	14±6	385±6
		50	26±9	110±5	27±4	14±3	352±106
	2NF [b]	5	1504±88	-	-	-	-
	NaN_3 [b]	2	-	833±25	770±32	-	-
	AAC [b]	50	-	-	-	206±29	-
	GLU [b]	25	-	-	-	-	602±24

NA = not applicable, SD = standard deviation, DMF = dimethylformamide, 2NF = 2-nitrofluorene, - = not examined, NaN_3 = sodium azide, AAC = 9-aminoacridine, GLU = glutaraldehyde

a. Negative control.

b. Positive control.

2.6.7.8A *In Vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Metabolic Activation	Test Article	Doses (μg/plate)	Experiment 1: Plate Incorporation Method Revertant colonies (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
With Activation	DMF [a]	100μL/plate	35±5	120±10	29±4	18±2	300±12
	Flutemetamol	0.016	46±5	123±8	26±6	13±3	288±5
		0.08	38±1	125±33	29±2	17±5	331±35
		0.4	39±4	119±14	30±7	17±6	318±29
		2	41±6	123±8	30±9	19±6	316±26
		10	72±11 ***	123±10	18±5	14±1	342±6
		50	233±34 ***	157±10 *	23±0	14±6	369±43 ***
	B[a]P [b]	10	278±6	-	-	-	-
	AAN [b]	5	-	1721±116	267±15	133±22	-
		20	-	-	-	-	2146±57

SD = standard deviation, DMF = dimethylformamide, B[a]P = benzo[a]pyrene, - = not examined, AAN = 2-aminoanthracene

* = p≤0.05, *** = p≤0.005 (Dunnett's t-test, vs. DMF)

a. Negative control.

b. Positive control.

2.6.7.8A *In Vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Metabolic Activation	Test Article	Doses (µg/plate)	Experiment 2: Pre incubation Method Revertant colonies (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Without Activation	DMF [a]	100µL/plate	16±4	93±11	19±2	12±2	284±21
	Flutemetamol	1.563	23±4	101±14	22±4	8±2	322±17
		3.125	19±3	118±6 *	17±5	10±1	318±14
		6.25	23±4	102±14	17±5	10±2	359±5 ***
		12.5	24±14	97±13	27±7	9±1	320±3
		25	26±8	103±8	18±2	9±4	333±28 *
		50	17±6	94±11	13±4	10±5	315±46
	2NF [b]	5	1057±31	-	-	-	-
	NaN_3 [b]	2	-	744±61	617±6	-	-
	AAC [b]	50	-	-	-	130±62	-
	GLU [b]	25	-	-	-	-	535±10

SD = standard deviation, DMF = dimethylformamide, 2NF = 2-nitrofluorene, - = not examined, NaN_3 = sodium azide, AAC = 9-aminoacridine, GLU = glutaraldehyde

* = $p \leq 0.05$, *** = $p \leq 0.005$ (Dunnett's t-test, vs. DMF)

a. Negative control.

b. Positive control.

2.6.7.8A *In Vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Metabolic Activation	Test Article	Doses (µg/plate)	Experiment 2: Pre incubation Method Revertant colonies (Mean ± SD)					Experiment 2: Plate Incorporation Method Revertant colonies (Mean ± SD)
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102	TA98
With Activation	DMF [a]	100µL/plate	23±5	85±6	21±5	9±2	184±13	25±6
	Flutemetamol	1.563	23±6	97±14	17±3	6±4	218±59	24±10
		3.125	24±4	87±17	16±5	7±2	215±10	28±7
		6.25	28±5	92±21	11±3	9±2	241±31 *	40±4
		12.5	46±8 *	90±15	20±8	5±2	208±5	75±6 ***
		25	48±20 *	97±16	20±1	6±3	267±53 **	119±17 ***
		50	62±28 ***	86±8 (S)	22±5	8±2	228±6	229±28 ***
	B[a]P [b]	10	219±65	-	-	-	-	296±33
	AAN [b]	5	-	650±118	115±15	71±10	-	-
		20	-	-	-	-	1575±124	-

SD = standard deviation, DMF = dimethylformamide, (S) = slight thinning of background lawn, B[a]P = benzo[a]pyrene, - = not examined, AAN = 2-aminoanthracene

* = p≤0.05, ** = p≤0.01, *** = p≤0.005 (Dunnett's t-test, vs. DMF)

a. Negative control.

b. Positive control.

2.6.7.8B *In Vitro* 遺伝毒性試験

被験物質：フルテメタモル

Report Title: AH110690: Mutation at the thymidine kinase (*tk*) locus of mouse lymphoma L5178Y cells (MLA) using the Microtitre® fluctuation technique

Test for Induction of: Mutations and chromosome aberration **No. of Independent Assays:** 3 **Study No.:** B067006

Strain: L5178Y *tk* $^{+/-}$ mouse lymphoma cells **Location of Document:** 4.2.3.3.1-2

No. of Replicate Cultures: 2 (Positive control: 1)

Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S-9 **No. of Cells:** $1x10^7$ (Experiment 3: $4x10^6$) **GLP Compliance:** Yes

Vehicle: For Test Article: Dimethylformamide **For Positive Controls:** Dimethyl sulphoxide **Date of Treatment:** [redacted]-[redacted] 20[redacted]

Treatment: Treatment for 3 hour with/without S9, Treatment for 24 hour without S9 in Experiment 3

Cytototoxic Effects: Due to the nature of test article, appropriate levels of toxicity (10-20% relative survival or relative total growth) and/or precipitating doses could not be achieved.

Genotoxic Effects: Flutemetamol shows evidence of mutagenic activity in the presence of S9 and shows equivocal evidence of mutagenic activity in the absence of S9.

Metabolic Activation	Test Article	Doses (µg/mL)	Experiment 1 (Mean)		
			Relative Survival Colonies (%)	Relative Total Growth	Mutant Frequency (/10^6)
Without Activation 3 hour treatment	DMF [a]	0	100.00	1.00	105.05
	Flutemetamol	1	95.45	0.76	121.63
		2	94.22	0.73	122.61
		3	93.99	0.71	182.04 *
		4	90.14	0.79	157.42 *
		5	86.91	0.82	184.64 *
	Linear trend				###
	NQO [b]	0.15	55.08	0.30	1263.75
		0.2	39.40	0.27	1230.27

DMF = dimethylformamide, NQO = 4-nitroquinoline 1-oxide

* = $p \leq 0.05$ (Dunnett's test, vs. DMF), ### = $p \leq 0.001$ (χ^2 test)

a. Negative control.

b. Positive control.

2.6.7.8B *In Vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Metabolic Activation	Test Article	Doses (µg/mL)	Experiment 1 (Mean)		
			Relative Survival Colonies (%)	Relative Total Growth	Mutant Frequency (/10^6)
With Activation 3 hour treatment	DMF [a]	0	100.00	1.00	142.98
	Flutemetamol	1	93.41	1.03	111.01
		2	99.71	1.05	135.29
		3	94.99	0.90	123.25
		4	83.22	0.78	194.57
		5	82.30	0.65	318.27 *
	Linear trend				###
	B[a]P [b]	2	66.22	0.38	1182.51
		3	25.60	0.17	1875.08

DMF = dimethylformamide, B[a]P = benzo[a]pyrene

* = $p \leq 0.05$ (Dunnett's test, vs. DMF), ### = $p \leq 0.001$ (χ^2 test)

a. Negative control.

b. Positive control.

2.6.7.8B *In Vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Metabolic Activation	Test Article	Doses (μg/mL)	Experiment 2 (Mean)		
			Relative Survival Colonies (%)	Relative Total Growth	Mutant Frequency (/10^6)
Without Activation 3 hour treatment	DMF [a]	0	100.00	1.00	132.68
	Flutemetamol	1	94.14	1.03	125.89
		2	93.78	0.80	108.91
		3	94.28	0.85	135.39
		4	98.36	0.69	174.41
		4.5	80.50	0.78	173.77
		5	83.73	0.75	123.38
	NQO [b]	0.15	29.71	0.40	958.79
		0.2	29.21	0.45	885.49
With Activation 3 hour treatment	DMF [a]	0	100.00	1.00	137.72
	Flutemetamol	1	95.03	1.20	146.83
		2	90.40	0.81	162.60
		3	98.22	0.95	154.75
		4	88.96	0.90	147.51
		4.5	102.76	0.94	146.96
		5	81.35	0.95	154.37
	B[a]P [b]	2	45.74	0.64	788.48
		3	30.15	0.34	1132.67

DMF = dimethylformamide, NQO = 4-nitroquinoline 1-oxide, B[a]P = benzo[a]pyrene

a. Negative control.

b. Positive control.

2.6.7.8B *In Vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Metabolic Activation	Test Article	Doses (μg/mL)	Experiment 3 (Mean)		
			Relative Survival Colonies (%)	Relative Total Growth	Mutant Frequency (/10^6)
Without Activation 3 hour treatment	DMF [a]	0	100.00	1.00	96.07
	Flutemetamol	1	99.71	1.05	95.39
		2	98.58	0.96	106.41
		3	84.64	0.99	88.46
		4	81.20	1.09	63.00
		4.5	84.40	1.04	106.27
		5	78.01	1.06	81.86
	NQO [b]	0.15	55.47	0.83	338.38
		0.2	46.79	0.66	413.45
With Activation 3 hour treatment	DMF [a]	0	100.00	1.00	75.78
	Flutemetamol	1	95.65	0.99	72.53
		2	104.17	0.89	84.81
		3	101.92	0.82	97.02
		4	93.48	0.72	89.76
		4.5	99.31	0.73	115.06
		5	78.75	0.67	161.70 *
	Linear trend				###
	B[a]P [b]	2	71.21	0.42	655.28
		3	43.40	0.39	698.50

DMF = dimethylformamide, NQO = 4-nitroquinoline 1-oxide, B[a]P = benzo[a]pyrene

* = $p \leq 0.05$ (Dunnett's test, vs. DMF), ### = $p \leq 0.001$ (χ^2 test)

a. Negative control.

b. Positive control.

2.6.7.8B　In *Vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Metabolic Activation	Test Article	Doses (µg/mL)	Experiment 3 (Mean)		
			Relative Survival Colonies (%)	Relative Total Growth	Mutant Frequency (/10^6)
Without Activation 24 hour treatment	DMF [a]	0	100.00	1.00	110.67
	Flutemetamol	1	105.45	1.11	98.69
		2	98.02	1.04	120.09
		3	97.50	1.08	133.21
		4	103.97	0.93	161.70
		4.5	40.69	0.85 [b]	201.48 * [b]
		5	39.75	0.64 [b]	191.16 [b]
	Linear trend				###
	NQO [c]	0.02	4.57 [d]	-	-
		0.04	97.46	1.35	669.68

DMF = dimethylformamide, NQO = 4-nitroquinoline 1-oxide, - = not examined

* = $p \leq 0.05$ (Dunnett's t-test, vs. DMF), ### = $p \leq 0.001$ (χ^2 test)

a. Negative control.

b. Based on one replicate only

c. Positive control.

d. Not plated for viability

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9A *In Vivo* 遺伝毒性試験

被験物質：フルテメタモル

Report Title: AH110690, solution for injection: Measurement of unscheduled DNA synthesis in rat liver using an *in vivo/in vitro* procedure

Test for Induction of : DNA damage
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl:CD® (SD) IGS BR)
Age: Approximately 6-8 weeks
Cells Evaluated: Liver
No. of Cells Analyzes/Animal: 100
Treatment Schedule: Single dose
Sample Time: 2-4 hours or 12-14 hours after dose
Method of Administration: Intravenous
Oral (positve control)
Vehicle/Formulation: 7% ethanol in phosphate buffered saline
For positive controls: Water or Corn oil
Study No.: B067016
Location of Document: 4.2.3.3.2-1
GLP Compliance: Yes
Date of Dosing: [redacted] 20[redacted]

Special Features: For the equipment used in study, 65% recovery of flutemetamol in the flutemetamol solution for injection was observed after passing the solution through the dosing equipment. Therefore, the estimated maximum dose administered to the animals was 39µg/kg/day.

Toxic/Cytotoxic Effects: None
Genotoxic Effects: None
Evidence of Exposure: Not required

Sampling Time (Hour)	Test Article	Doses (µg/kg)	Number of Animals (Male) [a]	Net Grain Count (Mean ± SD)	% of Cells Repair (Mean ± SD)	Net Grain Count of Cells in repair (Mean ± SD)
12 - 14 (Experiment 1)	Saline Control	0	4	0.5±0.5	2.1±2.2	5.8±0.7
	Vehicle Control	0	4	0.3±0.4	1.3±1.7	5.9±1.3
	Flutemetamol	30	4	-0.2±0.2	0.7±1.2	7.0
		60	4	-0.9±0.1	1.0±1.7	5.7
	2-AAF [a]	75mg/kg	4	11.8±0.7	97.3±2.3	12.0±0.6
2 - 4 (Experiment 2)	Saline Control	0	4	-1.2±0.2	-	-
	Vehicle Control	0	4	-1.7±0.4	-	-
	Flutemetamol	30	4	-1.6±0.2	-	-
		60	4	-1.6±0.4	-	-
	DMN [b]	10mg/kg	4	22.7± 6.8	99.3±1.2	22.9±6.6

SD = standard deviation, 2-AAF = 2-acetamidofluorene, - = not examined, DMN = dimethylnitrosamine

a. Hepatocytes were prepared from three of the four animals. Five or six slides were made in each sample. And grain counting was performed using two slides in each case (two, five or six slides were used in the group of saline control and vehicle control at the experiment 1).

b. Positive control.

2.6.7.9B *In Vivo* 遺伝毒性試験

被験物質：フルテメタモル

Report Title: AH110690 solution for injection: Induction of micronuclei in the bone marrow of treated rats

Test for Induction of:	Bone marrow micronuclei	**Treatment Schedule:**	2 days (twice daily, approximately 4 hours apart) Single (Positive control)	**Study No.:**	B067017
Species/Strain:	R at/Sprague Dawley (Crl:CD® (SD)IGS BR)	**Sample Time:**	24 hours after the first dose on day 2 24 hours after dosing (Positive control)	**Location of Document:**	4.2.3.3.2-2
Age:	Approximately 6-7 weeks	**Method of Administration:**	Intravenous	**GLP Compliance:**	Yes
Cells Evaluated:	Polychromatic erythrocyte (PCE)			**Date of Dosing:**	[redacted]. 20[redacted]
No. of Cells Analyzes/Animal:	2000	**Vehicle/Formulation:**	7% ethanol in phosphate buffered saline For positive control: Saline		

Special Features: For the equipment used in study, 65% recovery of flutemetamol in the flutemetamol solution for injection was observed after passing the solution through the dosing equipment. Therefore, the estimated maximum dose administered to the animals was 78μg/kg/day.

Toxic/Cytotoxic Effects: None

Genotoxic Effects: None

Evidence of Exposure: Not required

Test Article	Daily Doses (μg/kg)	Number of Animals (Male)	% of PCE (Mean) [a]	Frequency of NM-PCE (/1000 PCEs) (Mean ± SD)
Saline Control	0	6	53.9	1.33±0.98
Vehicle Control	0	6	58.0	0.75±0.52
Flutemetamol	30	6	56.4 [c]	0.70±0.57 [c]
	60	6	61.3	0.83±0.75
	120	6	61.3	0.83±0.82
Cyclophosphamide [b]	20mg/kg	6	49.9	10.08±2.60

PCE = polychromatic erythrocyte, NM-PCE = micronucleated-PCE, SD = standard deviation

a. The parcentage of polychromatic erythrocytes to erythrocytes.

b. Positive control.

c. n = 5.

2.6.7.9C *In Vivo* 遺伝毒性試験

被験物質：フルテメタモル

Report Title: 14-day repeated dose intravenous toxicity study with AH-110690 solution for injection in the Wistar rat

Test for Induction of:	Bone marrow micronuclei	**Treatment Schedule:**	14/15 days Single (Positive control)	**Study No.:**	B067056
Spesies/Strain:	Rat/Wistar(HanRcc:WIST)	**Sample Time:**	24 hours after last dose	**Location of Document:**	4.2.3.2-2
Age:	8 weeks	**Method of Administration:**	Intravenous Oral (Positive control)	**GLP Compliance:**	Yes
Cells Evaluated:	Polychromatic erythrocyte Normochromatic erythrocyte			**Date of First Dosing:**	[redacted] 20[redacted]
No. of Cells Analyzes/Animal:	2000	**Vehicle/Formulation:**	7% ethanol in phosphate buffered saline Water (Positive control)		

Special Features: This micronucleus assay was carried out as part of the 14-day repeated study in the Wistar rats (See to 2.6.7.7B).
For the equipment used in study, 65% recovery of flutemetamol in the flutemetamol solution for injection was observed after passing the solution through the dosing equipment. Therefore, the estimated maximum dose administered to the animals was 27μg/kg/day.

Toxic/Cytotoxic Effects: None

Genotoxic Effects: None

Evidence of Exposure: See to 2.6.7.7B

Test Article	Daily Doses (μg/kg)	Number of Animals (Male/Female)	Micronucleus rate (%) (Mean)		Number of Polychromatic erythrocyte (/2000 erythrocytes) (Mean)
			Normochromatic erythrocyte	Polychromatic erythrocyte	
Saline Control	0	20 (10/10)	0.003	0.095	998
Vehicle Control	0	19 (9/10)	0.005	0.118	1081
Flutemetamol	15	19 (9/10)	0.022	0.142	1062
	30	19 (10/9)	0.016	0.116	1131
	60	19 (10/9)	0.031 *	0.145	1064
Cyclophosphamide [a]	40mg/kg	10 (5/5)	0.029	0.775	749

* = p≤0.05 (non-parametric Mann-Whitney test, vs. vehicle control)

a. Positive control.

2.6.7.10　がん原性試験

該当なし.

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当なし.

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

該当なし.

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当なし.

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

該当なし.

2.6.7.15　新生児を用いた試験

該当なし.

2.6.7.16　局所刺激性試験

被験物質：フルテメタモル

Species/ Strain	Method of Administration	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location of Document
Rabbit/ New Zealand White	Dermal Test Item was applied to intact skin for 4 hours	Nominal concentration 3µg/mL (Adjusted [a]: 2.8µg/mL) flutemetamol in 7% ethanol in PBS, pH7.4 Dosage volume 0.5mL	1 male 2 females	Very slight to well-defined erythema was noted in all animals from the 1- to the 24-hour reading. Very slight swelling (oedema) was seen in one animal at the 1-hour reading. No abnormal findings were observed on the treated skin of any animal 48 hours after treatment for all animals. No staining produced by the test item of the treated skin was observed. No alterations of the treated skin were observed, and no corrosive effects were evident on the skin. Based upon Commission Directive [redacted] of [redacted] 20[redacted], flutemetamol solution for injection is considered to be "not irritating" to rabbit skin.	B067042	4.2.3.6-1

PBS = phosphate buffered saline

a. For the equipment used in study, 92% recovery of flutemetamol in the flutemetamol solution for injection was observed after passing the solution through the dosing equipment.

2.6.7.16　局所刺激性試験（続き）

被験物質：フルテメタモル

Species/ Strain	Method of Administration	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location of Document
Rabbit/ New Zealand White	Ocular Treated eyes were not rinsed after application. The right eye served as the reference control.	Nominal concentration 3µg/mL (Adjusted [b]: 2.8µg/mL) flutemetamol in 7% ethanol in PBS, pH7.4 Dosage volume 0.1mL	1 male 2 females	No abnormal findings were observed in the cornea or iris of any animal at any of the measurement intervals. Slight reddening of the conjunctivae was noted in two animals at the 1-hour reading. Slight reddening of the sclerae was present in one animal at the 1-hour reading. No abnormal findings were observed in the treated eye of any animal 24 hours after treatment. No staining of the treated eyes produced by the test item was observed. No corrosion of the cornea was observed at any of the reading times. Based upon Commission Directive [redacted] of [redacted], 20[redacted], flutemetamol solution for injection is considered to be “not irritating” to the rabbit eye.	B067044	4.2.3.6-2

PBS = phosphate buffered saline

b. For the equipment used in study, 92% recovery of flutemetamol in the flutemetamol solution for injection was observed after passing the solution through the dosing equipment.

2.6.7.16 局所刺激性試験（続き）

被験物質：フルテメタモル

Species/ Strain	Method of Administration	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location of Document
Rabbit/ New Zealand White	**Intravenous:** Administration was performed slowly but continuously (retrograde) into the marginal ear vein. **Perivenous:** Administration was adjacent to the marginal ear vein. **Intraarterial:** Administration was performed slowly but continuously (retrograde) into the central ear artery. **Intramuscular:** Administration was performed slowly but continuously in the thigh.	Nominal concentration 3µg/mL (Adjusted : 2.0µg/mL [c] and 2.8µg/mL [d]) flutemetamol in 7% ethanol in PBS, pH7.4 saline (control item) Dosage volume 0.3mL	1 male 2 females	No signs of irritation were recorded after test item application by the intravenous, intramuscular or intraarterial route. Signs observed after perivenous administration at the test item injection site were similar in incidence and severity when compared to the control item injection site and not considered to be related to the presence of flutemetamol. No treatment related macroscopical findings were noted. Microscopically, all changes noted were randomly distributed among the treatment sites, i.e. could not be attributed to treatment with the test item. Incidence and severity of these findings was within the range of findings usually seen in this kind of study performed in animals of this strain and age. Therefore, flutemetamol demonstrated no irritative potential and no impaired local tolerance.	B067052	4.2.3.6-3

PBS = phosphate buffered saline

c. Intravenous and intraarterial. For the equipment used in study, 65% recovery of flutemetmol in the flutemetamol solution for injection was observed after passing the solution through the dosing equipment.

d. Perivenous and intramuscular. For the equipment used in study, 92% recovery of flutemetamol in the flutemetamol solution for injection was observed after passing the solution through the dosing equipment.

2.6.7.17　その他の毒性試験

被験物質：臨床使用溶媒

Study Type	Animal Species, Gender and Number	Number of Dosings	Test Article	Noteworthy Findings	Study Number	Location of Document
Haemolysis of red blood cells	*In vitro* Human red blood cells	2mL whole blood exposed to 0.002 to 0.2mL vehicle or saline control for 2 minutes. Positive control: frozen whole blood Test solutions (control): 30% and 50% (v/v) of water incubated in 2mL blood.	ALZ103 Phase I vehicle (Na-phosphate 14mmol/L pH7.2 with 7% ethanol and 0.5% polysorbate 80)	No signs of haemolysis were detected after exposure to the ALZ103 Phase I vehicle. No haemolysis with the saline controls. Positive control (freezing) resulted in 100% haemolysis. The test solutions (30% and 50% water) resulted in approximately 10% and 25% haemolysis.	B067061	4.2.3.7.7-1

2.6.7.17　その他の毒性試験（続き）

被験物質：フルテメタモル

Study Type	Method	Test Article	Noteworthy Findings		Study Number	Location of Document
A study to investigate the extent of adsorption of flutemetamol to dosing equipment	Adsorption of flutemetamol was investigated in 3 complete infusion sets ([redacted], [redacted], [redacted], and [redacted] and [redacted]) and in 4 different types of syringes (1, 5, 20 and 50mL syringes). The infusion set (including tubing and needle) or syringe was filled with flutemetamol solution for injection and left to incubate for 1 or 3 hours at room temperature before collecting a representative aliquot for HPLC analysis. The recovery of flutemetamol after contact with the dosing equipment was calculated and the worst case expected recovery values for flutemetamol preclinical studies were estimated.	Flutemetamol (AH-110690 : development code of flutemetamol)	Worst case expected recovery for flutemetamol preclinical studies		B067058	4.2.3.7.7-2
			Type of preclinical study (Study Number)	Worst case expected recovery (%)		
			14 days repeated dose study in rats (B067056)	65		
			14 days repeated dose study in dogs (B067040)	91		
			Cardiovascular effects of AH-110690 in conscious, telemetered male dogs (B067003)	64		
			Effects of AH-110690 in the Irwin test in rats (B067004)	92		
			Micronuclei assay in rats (B067017)	65		
			Unscheduled DNA synthesis test in rats (B067016)	65		
			An expanded single dose study in rats (B067001)	65		
			Primary skin irritation study in rabbits (B067042)	92		
			Eye irritation study in rabbits (B067044)	92		
			Local perivenous, intraarterial, intramuscular and intravenous tolerability study in rabbits (B067052)	Intravenous and intraarterial: 65 Intramuscular and perivenous: 92		