アミノレブリン酸塩酸塩（製剤）

第 2 部　CTD の概要（サマリー）

2.4　非臨床に関する概括評価

略語一覧

略語及び用語	英語	日本語
5-ALA	5-Aminolevulinic acid	アミノレブリン酸塩酸塩
PPIX	Protoporphyrin IX	プロトポルフィリン IX

目次

2.4　非臨床に関する概括評価 3
2.4.1　非臨床試験計画概略 3
2.4.2　薬理試験 5
2.4.3　薬物動態試験 5
2.4.4　毒性試験 5
2.4.5　総括及び結論 5
2.4.6　参考文献 5

2.4　非臨床に関する概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

今回の承認申請は、「悪性神経膠腫の腫瘍摘出術中における腫瘍組織の可視化」で既承認のアラグリオ内用剤に対する顆粒剤の剤形追加、及び追加された顆粒剤の「筋層非浸潤性膀胱癌の経尿道的膀胱腫瘍切除術時における腫瘍組織の可視化」に対する新効能医薬品としての承認を目的としている。「新効能医薬品」の承認申請に係る薬理作用に関する試験（効力を裏付ける試験）及び非臨床薬物動態試験に関する資料は、初回申請時に提出済みであるため、今回の承認申請のための新たな非臨床試験は実施していない。

今回の「新効能医薬品」の申請における「筋層非浸潤性膀胱癌の経尿道的膀胱腫瘍切除術時における腫瘍組織の可視化」の効能・効果に関連したアミノレブリン酸（5-ALA）の膀胱への分布及び Protoporphyrin IX（PPIX）の腫瘍への蓄積に関する非臨床データは「初回承認時申請資料（2013 年 3 月承認、初回承認時 CTD）[redacted]の「2.6.4.4　分布」に記載しており、下記の（1）と（2）の通りである。

また、5-ALA 投与時の膀胱癌細胞における PPIX の蓄積を示す in vitro 試験のデータは、「初回承認時申請資料（2013 年 3 月承認、初回承認時 CTD）[redacted]の「2.6.2.2　効力を裏付ける試験」に記載しており、下記の（3）の通りである。

（1）正常動物における 5-ALA の組織内分布[1]

雄ラットに 5-ALA 200 mg/kg を経口投与又は静脈内投与し、5-ALA の組織内分布について検討した結果を図 2.4- 1 に示す。いずれの投与方法の場合も、5-ALA は膀胱において、十二指腸吸引物、腎臓、空腸と並んで、最も高濃度で分布することが示された。本結果は、5-ALA を経口投与すると、他の組織と同様に膀胱に速やかに移行することを示している。

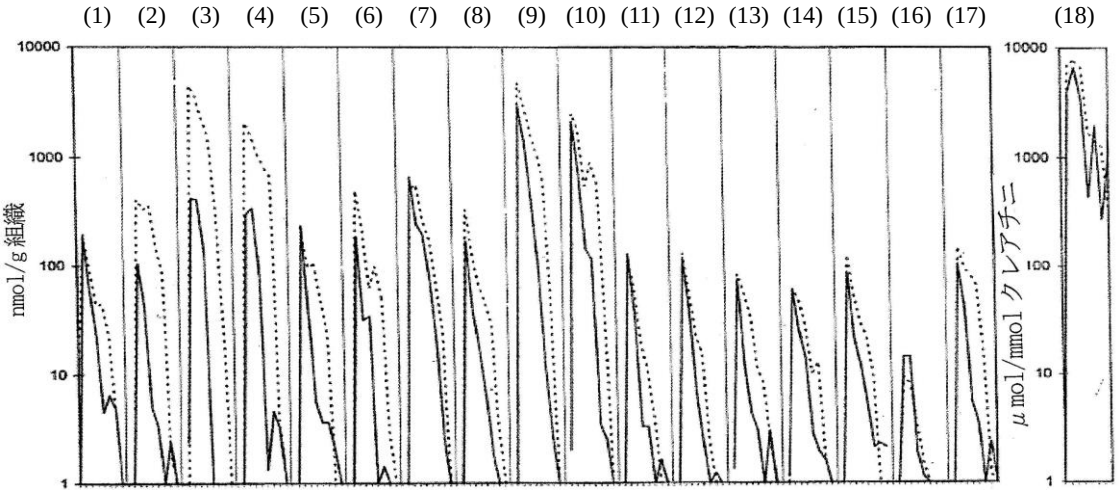


図 2.4- 1　ラットに 5-ALA 200 mg/kg を経口又は静脈内投与した時の組織内 5-ALA 濃度

X 軸上の点マークは、測定時間（投与後 0、1、2、3、4、6、12 及び 24 時間）を示す。
経口投与 (…)、静脈内投与 (—)、食道 (1)、胃(2)、十二指腸吸引物 (3)、空腸 (4)、結腸 (5)、肝臓 (6)、脾臓 (7)、血漿 (8)、腎臓 (9)、膀胱 (10)、心臓 (11)、肺 (12)、筋肉 (13)、脂肪 (14)、皮膚 (15)、脳 (16)、神経(17)、尿 (18)

（2）担癌動物におけるポルフィリンの組織内分布[2]

ヒト結腸の管状乳頭腺癌（grade Ⅱ、UICC Staging Ⅱa）を側腹部に移植した担癌マウスに、5-ALA 塩酸塩 50 mg/kg を静脈内投与し、投与後の所定の時間における臓器中ポルフィリン濃度を、λ=635±2 nm での蛍光スペクトルの強度により測定した結果を図 2.4- 2 に示す。

結腸、肝臓、膀胱、腫瘍の４つの臓器で比較したところ、ポルフィリンの蛍光強度は、腫瘍が最も高く膀胱が最も低かった。また、ポルフィリンの蛍光は、膀胱、肝臓、結腸では、投与後最初の 1 時間中に最高蛍光強度に達し速やかに減衰したのに対し、腫瘍では 6 時間まで増加し続けた。

これらの結果から、担癌動物において膀胱と比較して腫瘍にポルフィリンが優先的に蓄積することが示された。

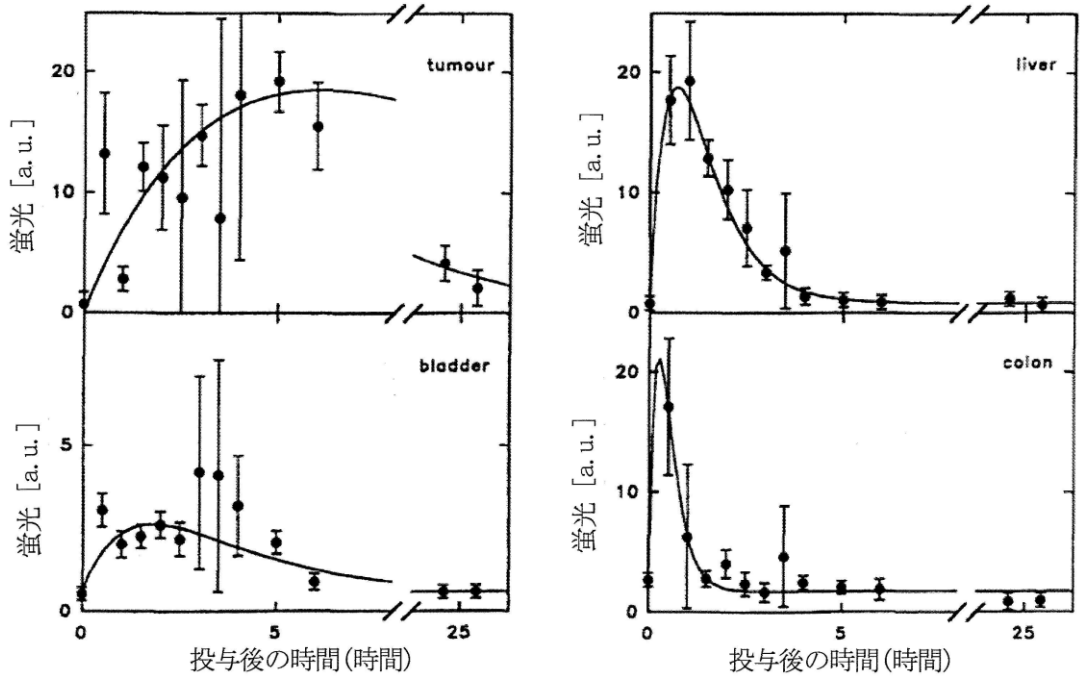


図 2.4- 2　腫瘍モデルマウスに 5-ALA HCl 50 mg/kg を静脈内投与したときの膀胱、大腸、肝臓及び腫瘍中ポルフィリン濃度の薬物動態

各値は平均値±SD (n=5)

(3) 各種細胞での PPIX の生成及び蓄積性（in vitro）[3]

2 種類の膀胱癌を含む 5 種の悪性腫瘍細胞（①～⑤）と 2 種の正常細胞（⑥～⑦）を用いて、5-ALA 添加時の細胞内 PPIX の生成、及び蓄積性について検討した。

その結果、ヒト膀胱細胞 FHs738BL を含む正常細胞ではあまり PPIX が増加しなかったのに対し、5 種類の膀胱癌のうち、2 種の膀胱癌を含む悪性腫瘍細胞では顕著な PPIX の増加がみられた。PPIX から Heme への変換を阻害する desferal を添加して 24 時間後の PPIX の生成量を検討したところ、正常細胞では 10～15%しか増加しなかったのに対し、腫瘍細胞では 30～52%の細胞内 PPIX の有意な増加が認められた。

これらのことから、膀胱癌の細胞に 5-ALA を投与すると PPIX の生成が顕著に増加することが示された。

表 2.4- 1　各種細胞における 5-ALA 添加時の PPIX の生成量及び蓄積量

	Doubling time (h)	Cellular PPIX （ng/μg protein）				%increase (a)
		1h	4h	24h	24h （+desferal）	
悪性腫瘍細胞						
NBT-II ラット膀胱癌	15.8±1.8	111.7±4.3	216.2±8.6	286.4±8.6	687.3±20.0	40*
PAM マウス扁平上皮癌	14.3±1.0	131.3±5.9	374.6±22.1	372.6±19.8	565.6±18.6	52*
B16 マウス黒色腫	15.2±2.0	69.4±14.1	138.9±17.4	242.8±28.2	335.6±28.2	38*
A431 ヒト　類表皮癌	23.6±2.0	23.8±0.9	44.0±2.2	38.3±1.5	54.5±3.7	30*
EJ 膀胱癌	24.5±1.2	110.4±12.8	253.4±14.4	592.5±37.4	901.7±101.1	52*
正常細胞						
FHs738BL ヒト胎児膀胱細胞	50.5±3.5	30.6±0.9	77.4±3.0	73.3±2.4	84.0±3.7	15
HSF ヒト皮膚繊維芽細胞	33.4±3.2	36.8±12.5	86.8±7.4	113.2±6.8	124.3±6.0	10

mean±SE（triplicate）
（a）：24h 群の[（PPIX with desferal – PPIX without desferal）/PPIX without desferal]×100
*　：P<0.05 （PPIX with desferal） vs （PPIX without desferal）

以上、(1）の結果から 5-ALA が経口投与により膀胱に移行すること、(2）の結果から担癌モデルにおいて膀胱と比べて腫瘍に PPIX の蛍光が顕著に増加すること、(3）の結果から ALA 投与により正常膀胱細胞と比べて､膀胱腫瘍において PPIX の生成が顕著に増加することが示された。

また、5-ALA の吸収、代謝と排泄に関する非臨床データは、初回承認時申請資料（2013 年 3 月承認、初回承認時 CTD）[redacted]の「2.6.4.3　吸収」､「2.6.4.5　代謝」及び「2.6.4.6　排泄」に記載した。

上記の結果から、5-ALA の吸収、膀胱への分布、膀胱腫瘍細胞への蓄積、代謝と排泄に関する知見が得られているため、新規な非臨床試験は実施しなかった。

2.4.2　薬理試験

初回承認時申請資料［2013 年 3 月承認、CTD　2.4 非臨床試験概括評価[redacted]及び CTD　2.6.2 薬理試験の概要文[redacted]参照

2.4.3　薬物動態試験

初回承認時申請資料［2013 年 3 月承認、CTD　2.4 非臨床試験概括評価[redacted]及び CTD　2.6.4 薬物動態試験の概要文[redacted]参照

2.4.4　毒性試験

該当資料なし

2.4.5　総括及び結論

該当資料なし

2.4.6　参考文献

[1] van den Boogert J, van Hillegersberg R, de Rooij FW, de Bruin RW, Edixhoven-Bosdijk A, Houtsmuller AB, Siersema PD, Wilson JH, Tilanus HW. J Photochem Photobiol B. 1998;44(1):29-38. 5-Aminolaevulinic acid-induced protoporphyrin IX accumulation in tissues: pharmacokinetics after oral or intravenous administration.
[2] Sroka R1, Beyer W, Gossner L, Sassy T, Stocker S, Baumgartner R. J Photochem Photobiol B.

1996;34(1):13-9. Pharmacokinetics of 5-aminolevulinic-acid-induced porphyrins in tumour-bearing mice.

[3] Iinuma S, Farshi SS, Ortel B, Hasan T. A mechanistic study of cellular photodestruction with 5-aminolaevulinic acid-induced porphyrin. Br J Cancer 1994; 70: 21-28.