アキュミン静注

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

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

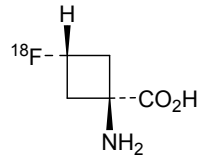
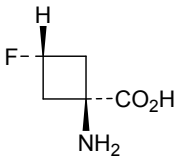
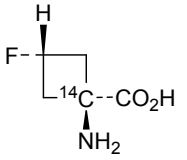
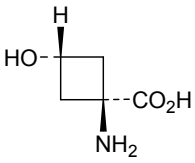
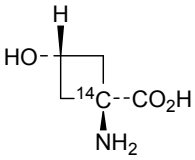
目次

用語及び略号一覧 3
化学名（一般名），構造式及び由来又は内容一覧 4
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 8
2.4.4　毒性試験 10
2.4.5　総括及び結論 12
2.4.6　参考文献一覧 15

用語及び略号一覧

用語又は略号	内容
本剤	フルシクロビン（^{18}F）を有効成分とする診断用放射性医薬品，開発コード: NMK36
メチオニン（^{11}C）	^{11}C 標識 L-メチオニン
メチオニン（^{14}C）	L-[methyl-^{14}C]methionine：^{14}C 標識 L-メチオニン
ASCT	Alanine-serine-cysteine transporter
BBB	Blood brain barrier：血液脳関門
BCRP	Breast cancer resistance protein
CYP	Cytochrome P450：チトクローム P450
hERG	human ether-a-go-go related gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
%ID	Percentage of injected dose：投与量に対する割合（%）
MRP4	Multidrug resistance-associated protein 4
NMK36 減衰品	本剤を減衰させた溶液．添加物や非放射性副生成物等の全ての成分を含む．
NMK36 コールドラン品	フッ化水素（^{18}F）溶液の代わりに注射用水を用い，本剤と同等の製法により製造した被験物質．
OAT1	Organic anion transporter 1
OAT3	Organic anion transporter 3
OATP1B1	Organic anion transporting polypeptide 1B1
OATP1B3	Organic anion transporting polypeptide 1B3
OCT2	Organic cation transporter 2
P-gp	P-glycoprotein
PET	Positron emission tomography：ポジトロン断層撮影
$t_{1/2}$	Elimination half-life：消失半減期
TK	Toxicokinetics：トキシコキネティクス
TLC	Thin layer chromatography：薄層クロマトグラフィー

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
フルシクロビン（^{18}F） （別名：anti-[^{18}F]FACBC）	trans-1-アミノ-3-[^{18}F]フルオロシクロブタンカルボン酸 （fluciclovine (^{18}F)）		有効成分
フルシクロビン （別名：anti-FACBC）	trans-1-アミノ-3-フルオロシクロブタンカルボン酸		有効成分の非標識体
フルシクロビン（^{14}C） （別名：anti-[^{14}C]FACBC）	trans-1-アミノ-3-フルオロ[1-^{14}C]シクロブタンカルボン酸		有効成分の^{14}C 標識体
anti-OHACBC	trans-1-アミノ-3-ヒドロキシシクロブタンカルボン酸		本剤中に最も多く含まれる非放射性副生成物
anti-[^{14}C]OHACBC	trans-1-アミノ-3-ヒドロキシ[1-^{14}C]シクロブタンカルボン酸		本剤中に最も多く含まれる非放射性副生成物である anti-OHACBC の^{14}C 標識体

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

本剤の有効成分であるフルシクロビン（^{18}F）は，米国エモリー大学の研究グループにより，悪性腫瘍の PET 用薬剤として使用しうることが 1999 年に報告された [1)].

フルシクロビン（^{18}F）は，四員環の非天然型アミノ酸である 1-アミノシクロブタンカルボン酸の 3 位 anti 側水素を，陽電子を放出する放射性同位元素である ^{18}F で置換した，非天然型アミノ酸であり，アミノ酸トランスポーターを介してアミノ酸代謝の盛んな膵臓，肝臓及び腫瘍などの細胞に取り込まれると推測される [2)-8)].

アミノ酸代謝を反映して集積する核医学診断用の薬剤にはメチオニン（^{11}C）があり，神経膠腫の進展範囲を画像化するために臨床研究などで用いられている．フルシクロビン（^{18}F）は，メチオニン（^{11}C）と同様に BBB を透過しアミノ酸代謝の亢進している神経膠腫に集積することから，本剤を投与し，神経膠腫に集積したフルシクロビン（^{18}F）の ^{18}F から放出される 2 本のガンマ線（消滅放射線）を PET 装置で検出することにより，神経膠腫の進展範囲を画像化することができる．

非臨床試験として，薬理試験，薬物動態試験及び毒性試験を実施した．本剤の臨床投与経路は静脈内であるため，血管周囲刺激性試験を除き，in vivo 試験における投与経路は静脈内とした．

2.4.1.1　薬理試験

効力を裏付ける試験では，ラット BBB キットを用いたフルシクロビン（^{14}C）の BBB 透過性，フルシクロビン（^{14}C）の脳腫瘍細胞への取込み，及びフルシクロビン（^{18}F）の腫瘍集積性について検討した．

副次的薬理試験では，フルシクロビン，及び本剤中に最も多く含まれる非放射性副生成物である anti-OHACBC の各種受容体に対する結合性を明らかにするため，中枢神経系に発現している受容体を中心に 20 種の受容体を対象として，in vitro 結合阻害試験を実施した．

安全性薬理試験として，有効成分の非標識体であるフルシクロビンについて，コアバッテリー試験を行った．また，添加物や非放射性副生成物等の全ての成分を含む NMK36 減衰品についても，コアバッテリー試験を行った．心血管系では，フルシクロビン，及び本剤中に最も多く含まれる非放射性副生成物である anti-OHACBC について，in vitro での評価も行った．なお，安全性薬理試験は，全て GLP 下で実施した．

2.4.1.2　薬物動態試験

薬物動態試験の被験物質には，本剤の有効成分であるフルシクロビン（^{18}F）に加え，その ^{14}C 標識体であるフルシクロビン（^{14}C），有効成分の非標識体であるフルシクロビン，及び本剤を減衰させた溶液であり添加物や非放射性副生成物等の全ての成分を含む NMK36 減衰品，並びに本剤中に最も多く含まれる非放射性副生成物である anti-OHACBC 及びその ^{14}C 標識体である anti-[^{14}C]OHACBC を用いた．in vivo 試験の動物種としては，安全性薬理試験及び毒性試験に準じてラット及びイヌを用いた．さらに，サルも用いた．in vitro 代謝ではラット，イヌ，サル及びヒト由来の試料を，酵素誘導及び酵素阻害試験ではヒト由来の試料を使用した．

2.4.1.3　毒性試験

フルシクロビンのラット単回投与毒性試験（試験番号:401727）を除く全ての毒性試験は，GLP下で実施した．また，in vivo 試験では，一般に毒性試験に用いられ，その背景データの豊富なラット及びイヌを使用した．

有効成分であるフルシクロビン（^{18}F）について，その毒性を検討するため，フルシクロビン又はフルシクロビン塩酸塩を用いて単回投与毒性，反復投与毒性及び遺伝毒性試験を実施した．また，本剤中には，有効成分であるフルシクロビン（^{18}F）以外に，anti-OHACBC などの非放射性副生成物が含まれていることから，本剤を減衰させた溶液であり添加物や非放射性副生成物等の全ての成分を含む NMK36 減衰品を用いて，本剤の毒性学的評価を行った．なお，NMK36 減衰品による反復投与毒性試験は実施していないが，フッ化水素（^{18}F）溶液の代わりに注射用水を用いて本剤と同等の製法により製造した NMK36 コールドラン品を用いてラット及びイヌの 2 週間反復投与毒性試験を実施しており，本剤の反復投与による影響を推定し得ると考えた．さらに，本剤中に最も多く含まれる非放射性副生成物である anti-OHACBC について, ラットを用いた単回投与毒性試験及び in vitro 遺伝毒性試験を実施した．

「「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，本剤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フルシクロビン及び NMK36 コールドラン品の 2 週間反復投与毒性試験のみを実施した．実施した反復投与毒性試験では，毒性学的影響を認めなかった．また，フルシクロビンの無毒性量は，本剤の臨床使用で想定されるフルシクロビンの最大投与量の約 190,000 倍（ラット及びイヌ）であり，NMK36 コールドラン品の無毒性量は，本剤の最大投与量の約 600 倍（ラット）及び約 150 倍（イヌ）であった．本剤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，本剤を臨床使用するに足る毒性情報が得られたと判断した．

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1　BBB 透過性（in vitro）

ラット BBB キットを用いて，フルシクロビン（^{14}C）の BBB 透過性を，BBB 透過性を有するメチオニン（^{14}C）と比較した．その結果，フルシクロビン（^{14}C）の BBB 透過性はメチオニン（^{14}C）よりも高いことが示された．

2.4.2.1.2　脳腫瘍細胞への取込み（in vitro）

フルシクロビンの脳腫瘍細胞への取込みについて，ヒト神経膠腫細胞株及びヒト正常アストロサイトを用いて，in vitro での細胞へのフルシクロビン（^{14}C）及びメチオニン（^{14}C）の取込み量を経時的に比較した．その結果，ヒト神経膠腫細胞株及びヒト正常アストロサイトにおいて，フルシクロビン（^{14}C）はメチオニン（^{14}C）に比べ添加後初期の段階から取り込まれ，また，これ

らの細胞における取込み量は，フルシクロビン（^{14}C）の方がメチオニン（^{14}C）に比べて高いことが示された．

2.4.2.1.3　腫瘍集積性（in vivo）

フルシクロビン（^{18}F）の腫瘍集積性について，腫瘍皮下移植マウスを用いて，フルシクロビン（^{18}F）の腫瘍集積量を経時的に評価した．その結果，フルシクロビン（^{18}F）の腫瘍集積量は，本剤を用いた脳腫瘍を対象とする腫瘍イメージングにおいて背景組織となり得る血液及び脳への集積量と同等以上であることが示された．

2.4.2.2　副次的薬理試験

フルシクロビン，及び本剤中に最も多く含まれる非放射性副生成物である anti-OHACBC の各種受容体に対する結合性を明らかにするため，中枢神経系に発現している受容体を中心に 20 種の受容体を対象として，3mmol/L の濃度で in vitro 結合阻害試験を実施した．

フルシクロビンは，3mmol/L の濃度で NMDA 型グルタミン酸受容体グリシン結合部位における特異的リガンドの結合を 50%以上阻害した．その他の受容体における阻害率は，いずれも 50%未満であった．anti-OHACBC ついては，対象とした全ての受容体において，特異的リガンドの結合に対する阻害率は，50%未満であった．

以上の結果から，一定濃度以上のフルシクロビンは，NMDA 型グルタミン酸受容体を介して中枢神経系に作用する可能性が示唆された．しかし，結合阻害を示した濃度は，ヒトに本剤を単回静脈内投与した場合に到達しえない濃度であるため（2.6.2.6.2），本剤投与によりフルシクロビン及び anti-OHACBC が中枢神経系を中心とする受容体に作用する可能性は低いと考えた．

2.4.2.3　安全性薬理試験

有効成分の非標識体であるフルシクロビンについて，コアバッテリー試験を行った．また，添加物や非放射性副生成物等の全ての成分を含む NMK36 減衰品についても，コアバッテリー試験を行った．さらに，心血管系では，フルシクロビン，及び本剤中に最も多く含まれる非放射性副生成物である anti-OHACBC について，in vitro での評価も行った．その結果，心血管系の評価に関して，フルシクロビンの in vitro hERG 試験において，1000nmol/L の濃度で hERG 電流の軽微な抑制を認めた．

以上のことから，1000nmol/L 以上の濃度のフルシクロビンは hERG チャネルに影響し，心血管系に作用する可能性が示唆された．しかし，hERG 電流を抑制したフルシクロビンの濃度は，ヒトに本剤を単回静脈内投与した場合に到達しえない濃度であるため（2.6.2.6.3），本剤投与によりフルシクロビンが心血管系へ作用する可能性は低いと考えた．また，in vivo QT assay 及び毒性試験において，関連する症状や所見を認めなかった．したがって，本剤は中枢神経系，心血管系及び呼吸系に対して薬理作用を示す可能性は低いと考えた．

2.4.3　薬物動態試験

2.4.3.1　フルシクロビン（^{18}F）の薬物動態

2.4.3.1.1　吸収

雄イヌにフルシクロビン（^{14}C）を 332kBq/kg の用量で単回静脈内投与したとき，投与後 24 時間の血中放射能濃度は，投与後 5 分に対して 54.5～56.3%まで低下した．投与後 24 時間以降も血中放射能濃度は緩徐に低下し，投与後 16 週では，投与後 5 分の 18.2%まで低下した．

雄サルにフルシクロビン（^{14}C）を 332kBq/kg の用量で単回静脈内投与したとき，投与後 6 時間以降，血中放射能は $t_{1/2}$ 35.4 時間で消失した．血中放射能の消失は，雄イヌでのそれと比較して速かった．

2.4.3.1.2　分布

雌雄ラットにフルシクロビン（^{18}F）を 18.5MBq/匹の用量で単回静脈内投与したときの臓器・組織内放射能濃度は，投与後 5 分に多くの臓器・組織で最高となった．雌雄共に，膵臓の放射能濃度は，検討した全ての時間点で他の臓器･組織より高かった．また，投与後 16 時間の放射能分布率は，雌雄共に，筋肉，皮膚及び肝臓などの臓器・組織で，他の臓器・組織より高かった．フルシクロビン（^{18}F）の血球分配率は約 30%であった．また，フルシクロビン（^{18}F）は血漿タンパクに結合しなかった．

雌雄ラットにフルシクロビン（^{14}C）を 332kBq/kg の用量で単回静脈内投与したとき，投与後 2 週までに全ての臓器・組織で放射能は消失又は減少した．また，雄の臓器・組織からの放射能消失は，雌のそれと比較して緩徐であった．

雄イヌにフルシクロビン（^{14}C）を 332kBq/kg の用量で単回静脈内投与したとき，投与後 2 週の臓器・組織の放射能濃度は，多くの臓器・組織で血漿中放射能濃度と同程度又はそれ以上であった．放射能分布率は，筋肉，皮膚及び肝臓などの臓器・組織で，他の臓器・組織より高かった．また，雄イヌの臓器・組織からの放射能消失は，雌雄ラットのそれと比較して緩徐であった．

2.4.3.1.3　代謝

雌雄ラットにフルシクロビン（^{18}F）を 18.5MBq/匹の用量で単回静脈内投与し，投与後 5 分，1 時間及び 3 時間の血漿中，並びに投与後 6 時間までの尿中の放射化学的成分を TLC で分析した．その結果，標品のフルシクロビンと R_f 値の一致した放射化学的成分と，構造未同定の放射化学的成分（血漿中：3 種，尿中：6 種）が検出された．フルシクロビンと R_f 値の一致した放射化学的成分の割合は，血漿中及び尿中のいずれも約 95%以上であった．また，雌雄ラットにフルシクロビン（^{14}C）を 332kBq/kg の用量で単回静脈内投与し，投与後 24 時間までの尿中の放射化学的成分を TLC で分析したところ，標品のフルシクロビンと R_f 値の一致した放射化学的成分のみが検出された．

ラット，イヌ，サル及びヒト肝ミクロソームを用いて，フルシクロビン（^{18}F）の in vitro 代謝を検討した結果，フルシクロビン（^{18}F）はいずれの種の肝ミクロソームでも代謝されなかった．

2.4.3.1.4　排泄

雌雄ラットにフルシクロビン（^{18}F）を 18.5MBq/匹の用量で単回静脈内投与したとき，投与後 16 時間までの尿中及び糞中放射能排泄率は，雄でそれぞれ 31.274 及び 0.409%ID（合計約 32%ID），

雌でそれぞれ 60.040 及び 0.422%ID（合計約 60%ID）であった．また，雌雄ラットにフルシクロビン（^{14}C）を 332kBq/kg の用量で単回静脈内投与したとき，投与後 2 週までの尿中，糞中及び呼気中累積放射能排泄率は，雄でそれぞれ 95.319，2.774 及び 0.588%ID（総排泄率約 99%ID）であり，雌でそれぞれ 97.547，1.153 及び 0.643%ID（総排泄率約 99%ID）であった．

雄イヌにフルシクロビン（^{14}C）を 332kBq/kg の用量で単回静脈内投与したとき，投与後 16 週までの尿中及び糞中累積放射能排泄率は，それぞれ 67.868 及び 8.241%ID（合計約 76%ID）であった．

雄サルにフルシクロビン（^{14}C）を 332kBq/kg の用量で単回静脈内投与したとき，尿中及び糞中累積放射能排泄率は，投与後 1 週まででそれぞれ 89.743 及び 1.291%ID（合計約 91%ID），投与後 2 週まででそれぞれ 93.385 及び 1.391%ID（合計約 95%ID），投与後 3 週まででそれぞれ 94.279 及び 1.391%ID（合計約 96%ID）であった．

以上の結果から，フルシクロビン（^{18}F）及びフルシクロビン（^{14}C）の主な排泄経路は，いずれの動物種でも尿中であることが示された．ラットでの排泄速度には性差を認め，雄ラットの排泄速度は雌ラットに比べて遅かった．また，雄イヌの排泄速度は，雌雄ラット及び雄サルに比べて遅かった．しかし，最も排泄速度の遅いイヌの場合でも，放射能は投与後 16 週まで継続して排泄された．

2.4.3.2　anti-OHACBC の薬物動態

2.4.3.2.1　吸収

雄ラットに anti-[^{14}C]OHACBC を 0.15mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき，血中及び血漿中放射能濃度はいずれも二相性の消失を示し，投与後 24 時間以降，血中からは $t_{1/2}$ 87 時間，血漿中からは $t_{1/2}$ 74 時間で消失した．また，雄サルに anti-[^{14}C]OHACBC を 0.15mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき，血中及び血漿中放射能濃度はいずれも二相性の消失を示し，投与後 24 時間以降，血中からは $t_{1/2}$ 92 時間，血漿中からは $t_{1/2}$ 68 時間で消失した．

2.4.3.2.2　分布

雄ラットに anti-[^{14}C]OHACBC を 0.07mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき，投与後 2 週の臓器・組織内放射能濃度は，いずれの臓器・組織も血漿中放射能濃度と同程度又はそれ以上であった．放射能分布率は，筋肉及び皮膚で他の臓器・組織より高かった．

雌ラットに anti-[^{14}C]OHACBC を 0.15mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき，投与後 1 週の臓器・組織内放射能濃度は，多くの臓器・組織で血漿中放射能濃度と同程度又はそれ以上であった．放射能分布率は，筋肉で他の臓器・組織より高かった．

雄イヌに anti-[^{14}C]OHACBC を 0.07mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき，投与後 2 週の臓器・組織内放射能濃度は，多くの臓器・組織で血漿中放射能濃度と同程度又はそれ以上であった．放射能分布率は，筋肉及び白色脂肪で他の臓器・組織より高かった．

雄サルに anti-[^{14}C]OHACBC を 0.15mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき，投与後 1 週の臓器・組織内放射能濃度は，多くの臓器・組織で血漿中放射能濃度と同程度又はそれ以上であった．放射能分布率は，白色脂肪及び筋肉で他の臓器・組織より高かった．

2.4.3.2.3　排泄

雌雄ラット，雄イヌ及び雄サルに anti-[^{14}C]OHACBC を単回静脈内投与し，尿中，糞中及び呼気中への放射能排泄率を測定した結果，anti-[^{14}C]OHACBC の主な排泄経路は，いずれの動物種でも尿中であることが示された．また，呼気中にも排泄されることが示された．ラットでの排泄速度には性差を認め，雄ラットの排泄速度は雌ラットに比べて遅かったが，その差は顕著ではなかった．

2.4.3.3　薬物動態学的薬物相互作用

フルシクロビン（^{18}F）は血漿タンパクに結合しないことが示されたことから，本剤の血漿タンパク結合を介した薬物相互作用の可能性は低いと判断した．

酵素誘導及び酵素阻害試験において，フルシクロビン，anti-OHACBC 及び NMK36 減衰品は，CYP 誘導／阻害作用を示さなかった．本試験におけるフルシクロビン，anti-OHACBC 及び NMK36 減衰品の適用濃度は，本剤投与後，本剤中に含まれる全ての成分が血中に一様に分布したと仮定すると，体重 60kg のヒト（循環血液量：約 4.2L と仮定）に投与した場合の血中濃度の 5 倍以上に相当する．以上のことから，本剤が CYP 誘導及び CYP 阻害により薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと判断した．

フルシクロビン（^{18}F）が P-gp，BCRP，MRP4，OAT1，OAT3，OCT2，OATP1B1 及び OATP1B3 の基質又は阻害薬となる可能性を検討した結果，フルシクロビン（^{18}F）がこれらの薬物トランスポーターの基質又は阻害薬となる可能性は低く，本剤が薬物トランスポーターを介して薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと判断した．

2.4.4　毒性試験

各反復投与毒性試験で得られた無毒性量及び本剤の臨床使用における安全域を表 2.4-1 に示す．

表 2.4-1　無毒性量及び本剤の臨床使用における安全域

被験物質	動物種	無毒性量	安全域 [a]	試験番号
フルシクロビン塩酸塩	ラット	1000μg/kg/day （フルシクロビンとして 785μg/kg/day）	190,000	500326
	イヌ			640126
NMK36 コールドラン品	ラット	20mL/kg/day （anti-OHACBC として 1748μg/kg/day）	600 （790）[b]	2789/017
	イヌ	5mL/kg/day （anti-OHACBC として 437μg/kg/day）	150 （200）[b]	2789/018

a. 本剤の投与量は 2mL であり，フルシクロビンの推定最大臨床投与量は 248ng，anti-OHACBC の推定最大臨床投与量は 133μg である．ヒトの体重を 60kg と仮定し，体重換算により求めた．

b. 括弧内の数値は，NMK36 コールドラン品の anti-OHACBC 濃度から推定される anti-OHACBC の無毒性量から算出した，anti-OHACBC の安全域である．

2.4.4.1　有効成分

2.4.4.1.1　単回投与毒性試験

雌雄ラットにフルシクロビン塩酸塩を 1000μg/kg（フルシクロビンとして 785μg/kg）の用量まで単回静脈内投与したところ，雌雄共に死亡例はなく，実施したいずれの検査でもフルシクロビン投与によると考えられる所見を認めなかった．さらに，非 GLP 下で雌雄ラットにフルシクロビ

ンを 38mg/kg の用量まで同様に投与したところ，雌雄共に死亡例はなかった．また，雄イヌにフルシクロビン塩酸塩を 1000μg/kg（フルシクロビンとして 785μg/kg）の用量まで単回静脈内投与したところ，死亡例はなく，実施したいずれの検査でもフルシクロビン投与によると考えられる所見を認めなかった．これらのことから，ラット及びイヌにフルシクロビンを単回静脈内投与した際の概略の致死量は，それぞれ 38mg/kg 及び 785μg/kg を超えると判断した．

2.4.4.1.2　反復投与毒性試験

雌雄ラット及び雌雄イヌにフルシクロビン塩酸塩を 100，300 及び 1000μg/kg（フルシクロビンとして 78.5，235 及び 785μg/kg）の用量で 1 日 1 回，静脈内へ 2 週間反復投与したところ，いずれの用量群でも死亡例はなく，実施したいずれの検査でもフルシクロビン投与によると考えられる所見を認めなかった．以上のことから，ラット及びイヌにフルシクロビン塩酸塩を静脈内へ 2 週間反復投与した際の無毒性量は，いずれも 1000μg/kg/day（フルシクロビンとして 785μg/kg/day）を超えると判断した．なお，TK の評価ではラット，イヌ共にフルシクロビンの蓄積性を認めた．雄ラットでのフルシクロビンの蓄積性は，雌ラットでのそれより顕著であった．また，イヌでのフルシクロビンの蓄積性はラットでのそれより顕著であった．

2.4.4.1.3　遺伝毒性試験

フルシクロビン塩酸塩の細菌を用いる復帰突然変異試験，チャイニーズハムスター肺由来細胞を用いる染色体異常試験及びラットにおける小核試験を実施したところ，いずれも結果は陰性であり，遺伝毒性を示唆する所見を認めなかった．

2.4.4.2　本剤

2.4.4.2.1　単回投与毒性試験

雌雄ラットに NMK36 減衰品を 20mL/kg の用量まで単回静脈内投与したところ，雌雄共に死亡例はなく，実施したいずれの検査でも NMK36 減衰品投与による所見を認めなかった．また，雄イヌに NMK36 減衰品を 5mL/kg の用量まで単回静脈内投与したところ，死亡例はなく，実施したいずれの検査でも NMK36 減衰品投与によると考えられる毒性所見を認めなかった．これらのことから，ラット及びイヌに NMK36 減衰品を単回静脈内投与した際の概略の致死量は，それぞれ 20mL/kg 及び 5mL/kg を超えると判断した．なお，イヌではフルシクロビンの蓄積性が明らかであり，その排泄も緩徐なため，別途イヌに NMK36 減衰品を 5mL/kg の用量で単回静脈内投与した後，24 週間の観察期間を設け，晩発性の影響の有無を確認したところ，NMK36 減衰品投与に伴う毒性学的影響を認めず，晩発性の影響はないと判断した．

2.4.4.2.2　反復投与毒性試験

雌雄ラットに NMK36 コールドラン品を 10 及び 20mL/kg の用量で 1 日 1 回，静脈内へ 2 週間反復投与したところ，いずれの用量群でも死亡例はなかった．20mL/kg 投与群の雄ラットで体重増加抑制を認めたものの，その他の検査では特記すべき所見を認めなかったことから，毒性学的意義に乏しいと考えた．その他の群では，実施したいずれの検査でも特記すべき所見を認めなかった．また，雌雄イヌに NMK36 コールドラン品を 2.5 及び 5mL/kg の用量で 1 日 1 回，静脈内へ 2 週間反復投与したところ，いずれの用量群でも死亡例はなく，実施したいずれの検査でも NMK36

コールドラン品投与によると考えられる所見を認めなかった．これらのことから，ラット及びイヌに NMK36 コールドラン品を静脈内へ 2 週間反復投与した際の無毒性量は，それぞれ 20mL/kg/day 及び 5mL/kg/day と判断した．なお，anti-OHACBC を測定対象とした TK も評価したところ，ラット，イヌ共に anti-OHACBC の蓄積の可能性が示唆された．

2.4.4.2.3　局所刺激性試験

NMK36 コールドラン品を用いて，ウサギで血管刺激性試験及び血管周囲刺激性試験を行ったところ，血管周囲皮下投与時に疼痛反応と考えられる所見を認めたものの，血管及び血管周囲への刺激性はないと考えた．

2.4.4.2.4　溶血性試験

NMK36 コールドラン品を用いて in vitro 溶血性試験を実施した結果，溶血の程度は生理食塩液と同等であり，溶血性はないと考えた．

2.4.4.3　本剤中に最も多く含まれる非放射性副生成物：anti-OHACBC

2.4.4.3.1　単回投与毒性試験

雌雄ラットに anti-OHACBC を 1000μg/kg の用量まで静脈内へ単回投与したところ，雌雄共に死亡例はなく，実施したいずれの検査でも anti-OHACBC 投与によると考えられる所見を認めなかった．これらのことから，ラットに anti-OHACBC を静脈内へ単回投与した際の概略の致死量は 1000μg/kg を超えると判断した．

2.4.4.3.2　遺伝毒性試験

anti-OHACBC の復帰突然変異試験及びチャイニーズハムスター肺由来細胞を用いる染色体異常試験を実施したところ，いずれも結果は陰性であり，遺伝毒性を示唆する所見を認めなかった．

2.4.5　総括及び結論

2.4.5.1　薬理試験

効力を裏付ける試験では，in vitro において，フルシクロビン（^{14}C）の BBB 透過性は BBB 透過性を有するメチオニン（^{14}C）よりも高いことが示された．また，ヒト神経膠腫細胞株及びヒト正常アストロサイトにおいて，フルシクロビン（^{14}C）はメチオニン（^{14}C）に比べ添加後初期の段階から取り込まれ，また，これらの細胞における取込み量は，フルシクロビン（^{14}C）の方がメチオニン（^{14}C）に比べて高いことが示された．さらに，in vivo において，フルシクロビン（^{18}F）の腫瘍集積量は，本剤を用いた脳腫瘍を対象とする腫瘍イメージングにおいて背景組織となり得る血液及び脳への集積量と同等以上であることが示された．以上のことから，本剤を用いた PET 検査においてフルシクロビン（^{18}F）は神経膠腫に集積し，メチオニン（^{11}C）を用いた PET 検査と同様に，神経膠腫の進展範囲を画像化することができると考えた．

副次的薬理試験では，一定濃度以上のフルシクロビンが，NMDA 型グルタミン酸受容体を介して中枢神経系に作用する可能性が示唆された．しかし，結合阻害を示した濃度（3mmol/L）は，ヒトに本剤を単回静脈内投与した場合に想定されるフルシクロビンの血中濃度に比べて非常に高

いため，本剤投与によりフルシクロビンが中枢神経系を中心とする受容体に作用する可能性は低いと考えた．

安全性薬理試験では，1000nmol/L 以上の濃度のフルシクロビンが hERG チャネルに影響し，心血管系に作用する可能性が示唆された．しかし，hERG 電流を抑制したフルシクロビンの濃度は，ヒトに本剤を単回静脈内投与した場合に想定されるフルシクロビンの血中濃度に比べて非常に高いため，本剤投与によりフルシクロビンが心血管系へ作用する可能性は低いと考えた．

2.4.5.2　薬物動態試験

雌雄ラットにフルシクロビン（^{18}F）を，雌雄ラット及び雄イヌにフルシクロビン（^{14}C）を単回静脈内投与したとき，相対的に放射能濃度の高い臓器・組織は膵臓であり，これは雌雄ラット及び雄イヌで同様であった．一方，雄イヌにフルシクロビン（^{14}C）を単回静脈内投与したときの血中放射能の消失は，雄サルにフルシクロビン（^{14}C）を同様に投与したときのそれと比較して緩徐であった．また，雌雄ラットにフルシクロビン（^{18}F）又はフルシクロビン（^{14}C）を単回静脈内投与したとき，雄ラットの臓器・組織からの放射能消失は，雌ラットのそれと比較して緩徐であった．さらに，雄イヌにフルシクロビン（^{14}C）を単回静脈内投与したときの臓器・組織からの放射能消失は，雌雄ラットのそれと比較して緩徐であった．

フルシクロビン（^{18}F）及びフルシクロビン（^{14}C）の主な排泄経路は，いずれの動物種でも尿中であった．しかし，排泄速度には種差を認め，雄イヌの排泄速度は，雌雄ラット及び雄サルに比べて遅かった．また，ラットでの排泄速度には性差を認め，雄ラットの尿中への排泄速度は，雌ラットに比べて遅かった．フルシクロビンのラット及びイヌを用いた TK 評価で認めたフルシクロビンの蓄積性の種差・性差は，このような臓器・組織からの放射能の消失及び尿中への排泄速度の種差・性差に起因すると推測する．ただし，ラットでは，雌雄いずれも投与後 2 週間までに 95%ID 以上の放射能が排泄されており，ラットでの排泄速度の性差は，ラットとイヌとの排泄速度の差と比較して顕著ではなかった．さらに，最も排泄速度の遅いイヌの場合でも，放射能は投与後 16 週まで継続して排泄された．

雌雄ラットに本剤を単回静脈内投与したときの血漿中及び尿中放射化学的成分，並びに雌雄ラットにフルシクロビン（^{14}C）を静脈内へ単回投与したときの尿中放射化学的成分のほとんどは未変化体であったことから，フルシクロビン（^{18}F）は生体内で代謝されないか，代謝されたとしてもごくわずかであると推定した．

雄ラット及び雄サルに本剤中に最も多く含まれる非放射性副生成物である anti-[^{14}C]OHACBC を単回静脈内投与したとき，血中及び血漿中放射能濃度の薬物動態パラメーターは，雄ラットと雄サルとで同様であった．また，雌雄ラット，雄イヌ及び雄サルに anti-[^{14}C]OHACBC を単回静脈内投与したとき，主な排泄経路はいずれの動物種でも尿中であった．また，雄ラットの排泄速度は雌ラットより遅かったものの，排泄速度に顕著な性差及び種差はなかった．さらに，雌雄ラット及び雄イヌに anti-[^{14}C]OHACBC を単回静脈内投与したとき，anti-[^{14}C]OHACBC は二酸化炭素まで代謝されることが明らかとなった．以上のことから，本剤投与後，本剤中に最も多く含まれる非放射性副生成物である anti-OHACBC は主に尿中へ排泄されること，及び生体内で二酸化炭素まで代謝され呼気中へも排泄されることが示された．

フルシクロビン（^{18}F）は血漿タンパクに結合しないことが示されたことから，本剤の血漿タンパク結合を介した薬物相互作用の可能性は低いと判断した．また，フルシクロビン，anti-OHACBC

及び NMK36 減衰品は主要な CYP 分子種に対して誘導／阻害作用を示さなかったことから，本剤が CYP 誘導及び CYP 阻害により薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと判断した．

フルシクロビン（^{18}F）は，アミノ酸トランスポーターの中でも，とりわけ ASCT2 を介して，腫瘍細胞に取り込まれることが報告されており[4),6)]．尿中排泄及び再吸収にも ASCT2 が関与している可能性が示唆されている[9)]．一方，薬物の吸収や排出に関わるトランスポーターである P-gp，BCRP，MRP4，OAT1，OAT3，OCT2，OATP1B1 及び OATP1B3 の基質又は阻害薬となる可能性は低いことから[9)]，本剤が薬物トランスポーターを介して薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと判断した．

2.4.5.3　毒性試験

フルシクロビン又はフルシクロビン塩酸塩を用いた単回投与毒性試験は，ラット及びイヌで本剤の臨床投与経路である静脈内投与により検討した．ラットではフルシクロビンを 38mg/kg まで投与し，雌雄共に死亡例を認めなかったことから，概略の致死量は 38mg/kg を超えると判断した．イヌでは雄のみにフルシクロビン塩酸塩を 1000μg/kg（フルシクロビンとして 785μg/kg）まで投与し，死亡例を認めなかったことから，概略の致死量はフルシクロビンとして 785μg/kg を超えると判断した．また，いずれの試験においても，フルシクロビン又はフルシクロビン塩酸塩投与によると考えられる所見を認めなかった．

フルシクロビン塩酸塩を用いた反復投与毒性試験は，ラット及びイヌで本剤の臨床投与経路である静脈内投与により検討した．ラット，イヌ共に 1000μg/kg/day（フルシクロビンとして 785μg/kg/day）の用量で，2 週間までの反復投与において，死亡例を認めず，フルシクロビン塩酸塩投与によると考えられる所見を認めなかったため，無毒性量はラット及びイヌで雌雄共にフルシクロビンとして 785μg/kg/day を超えると判断した．当該無毒性量は，本剤の臨床使用で想定されるフルシクロビンの最大投与量の約 190,000 倍（体重換算）であり，十分な安全域を確保できていると考える．なお，併せて実施した TK 評価の結果，ラット及びイヌで雌雄共にフルシクロビンの蓄積性を確認した．蓄積性はイヌの方がラットよりも顕著であったが，ラットでは雄で蓄積性が顕著であるという性差を認めた．しかし，フルシクロビンの一連の毒性試験及び安全性薬理試験のいずれにおいても特記すべき所見を認めておらず，薬物動態試験において，最も排泄速度の遅いイヌの場合でも継続して排泄されることが示されているため，当該蓄積性は安全性上特に問題ないと判断した．NMK36 コールドラン品を用いた反復投与毒性試験では，ラット及びイヌの雌雄共に anti-OHACBC の蓄積の可能性が示唆されているが，フルシクロビンの蓄積性と比較すると軽微であった．また，いずれの試験においても，NMK36 コールドラン品投与によると考えられる毒性学的影響を認めなかった．

遺伝毒性試験は，実施した全ての試験において結果は陰性であり，遺伝毒性を示唆する所見は得られなかった．

その他毒性試験の結果から，血管及び血管周囲への刺激性や溶血性はないと考えた．

以上，一連の非臨床試験データから，本剤により神経膠腫の進展範囲を画像化することができると考えた．また，安全性薬理試験及び毒性試験のデータから，本剤を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，重篤な副作用が発現する可能性は低く，安全に使用できると結論した．

2.4.6　参考文献一覧

1) Shoup TM, Olson J, Hoffman JM, Votaw J, Eshima D, Eshima L, et al. Synthesis and evaluation of [18F]1-amino-3-fluorocyclobutane-1-carboxylic acid to image brain tumors. J Nucl Med. 1999;40(2):331-8.
2) Okudaira H, Shikano N, Nishii R, Miyagi T, Yoshimoto M, Kobayashi M, et al. Putative transport mechanism and intracellular fate of trans-1-amino-3-18F-fluorocyclobutanecarboxylic acid in human prostate cancer. J Nucl Med. 2011;52(5):822-9.
3) Oka S, Okudaira H, Yoshida Y, Schuster DM, Goodman MM, Shirakami Y. Transport mechanisms of trans-1-amino-3-fluoro[1-14C]cyclobutanecarboxylic acid in prostate cancer cells. Nucl Med Biol. 2012;39(1):109-19.
4) Ono M, Oka S, Okudaira H, Schuster DM, Goodman MM, Kawai K, et al. Comparative evaluation of transport mechanisms of trans-1-amino-3-[18F]fluorocyclobutanecarboxylic acid and L-[methyl-11C]methionine in human glioma cell lines. Brain Res. 2013;1535:24-37.
5) Okudaira H, Nakanishi T, Oka S, Kobayashi M, Tamagami H, Schuster DM, et al. Kinetic analyses of trans-1-amino-3-[18F]fluorocyclobutanecarboxylic acid transport in Xenopus laevis oocytes expressing human ASCT2 and SNAT2. Nucl Med Biol. 2013;40(5):670-5.
6) Oka S, Okudaira H, Ono M, Schuster DM, Goodman MM, Kawai K, et al. Differences in transport mechanisms of trans-1-amino-3-[18F]fluorocyclobutanecarboxylic acid in inflammation, prostate cancer, and glioma cells: comparison with L-[methyl-11C]methionine and 2-deoxy-2-[18F]fluoro-D-glucose. Mol Imaging Biol. 2014;16(3):322-9.
7) Okudaira H, Oka S, Ono M, Nakanishi T, Schuster DM, Kobayashi M, et al. Accumulation of trans-1-amino-3-[18F]fluorocyclobutanecarboxylic acid in prostate cancer due to androgen-induced expression of amino acid transporters. Mol Imaging Biol. 2014;16(6):756-64.
8) Ono M, Oka S, Okudaira H, Nakanishi T, Mizokami A, Kobayashi M, et al. [14C]Fluciclovine (alias anti-[14C]FACBC) uptake and ASCT2 expression in castration-resistant prostate cancer cells. Nucl Med Biol. 2015;42(11):887-92.
9) Ono M, Baden A, Okudaira H, Kobayashi M, Kawai K, Oka S, et al. Assessment of amino acid/drug transporters for renal transport of [18F]fluciclovine (anti-[18F]FACBC) in vitro. Int J Mol Sci. 2016;17(10). pii: 1730.