アキュミン静注

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

日本メジフィジックス株式会社

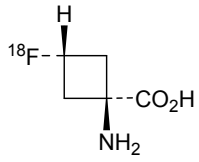
目次

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 3
2.6.1 緒言 4
2.6.1.1 構造及び薬理学的特性 4
2.6.1.2 予定する効能・効果 4
2.6.1.3 予定する用法・用量 4

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
BBB	Blood brain barrier：血液脳関門
PET	Positron emission tomography：ポジトロン断層撮影

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

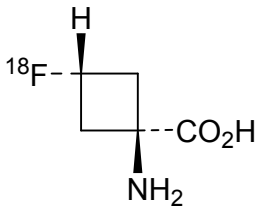
2.6.1　緒言

2.6.1.1　構造及び薬理学的特性

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る（図 2.6.1-1）．

フルシクロビン（^{18}F）は，天然型アミノ酸と同様に，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．

図 2.6.1-1　フルシクロビン（^{18}F）の構造式



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．

2.6.1.2　予定する効能・効果

初発の悪性神経膠腫が疑われる患者における腫瘍の可視化

ただし，磁気共鳴コンピューター断層撮影検査による腫瘍摘出計画時における腫瘍摘出範囲の決定の補助に用いる．

2.6.1.3　予定する用法・用量

通常，本剤 1 バイアル（87～270MBq）を静脈内投与し，投与 10～50 分後にポジトロン断層撮影法により撮像を開始する．

アキュミン静注

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2　薬理試験の概要文

日本メジフィジックス株式会社

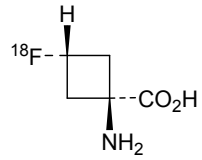
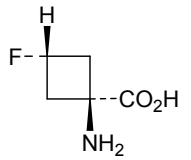
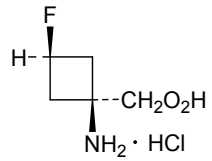
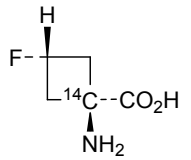
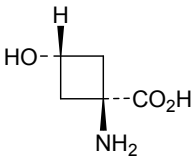
目次

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
2.6.2 薬理試験の概要文 5
2.6.2.1 まとめ 5
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 6
2.6.2.3 副次的薬理試験 9
2.6.2.4 安全性薬理試験 10
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用 13
2.6.2.6 考察及び結論 13
2.6.2.7 図表 14
2.6.2.8 参考文献 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
ACBC	1-アミノシクロブタンカルボン酸
BBB	Blood brain barrier：血液脳関門
HEPES	4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid：4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸
hERG	human ether-a-go-go related gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
IC_{50}	Half maximal inhibitory concentration：50%阻害濃度
%ID	Percentage of injected dose：投与量に対する割合（%）
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．
PET	Positron emission tomography：ポジトロン断層撮影

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
フルシクロビン塩酸塩 （別名：anti-FACBC·HCl）	trans-1-アミノ-3-フルオロシクロブタンカルボン酸塩酸塩		有効成分の非標識体の塩酸塩
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

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験

2.6.2.1.1.1 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．

2.6.2.1.1.2 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．

2.6.2.1.1.3 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．

2.6.2.1.2 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．

2.6.2.1.3 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．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，以上の全ての試験は，GLP 下で実施した．

中枢神経系は，フルシクロビン及び NMK36 減衰品について，ラットを用いて検討した．いずれの試験においても，特記すべき作用を示さなかった．

心血管系は，フルシクロビン及び anti-OHACBC について，hERG 導入 HEK293 細胞を用いて in vitro hERG 試験により検討した．また，フルシクロビン及び NMK36 減衰品について，イヌ（覚醒無拘束）を用いて検討した．in vitro hERG 試験では，フルシクロビン塩酸塩の 1000nmol/L で hERG 電流の軽微な抑制を認めた．in vivo 試験では，特記すべき作用を示さなかった．

呼吸系は，フルシクロビン及び NMK36 減衰品について，ラット（覚醒無拘束）を用いて検討した．いずれの試験においても，特記すべき作用を示さなかった．

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1　BBB 透過性（in vitro）

［試験番号：[redacted]，資料番号：4.2.1.1-1（評価）］

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．

ラット脳毛細血管内皮細胞，周皮細胞及びアストロサイトから構成される，生体内での生理的な BBB 特性を保持している BBB キットを用いた．BBB キットの脳毛細血管内腔側に，最終濃度が 10μmol/L になるようにフルシクロビン（^{14}C）又はメチオニン（^{14}C）を添加した．37℃，CO_2 濃度 5%で 5，15，30 及び 60 分間培養した後，脳毛細血管内腔側及び脳実質側の培地の放射能を測定し，脳毛細血管内腔側から脳実質側に透過したフルシクロビン（^{14}C）及びメチオニン（^{14}C）の累積物質透過量（mol）を求め，更に，BBB 透過係数（cm/sec）を算出した．

結果を表 2.6.2-1 に示す．フルシクロビン（^{14}C）の BBB 透過係数は 2.92×10^{-6}cm/sec であり，メチオニン（^{14}C）に比べて有意に高かった（t 検定，$p<0.05$）．

以上の結果から，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．

表 2.6.2-1　フルシクロビン（^{14}C）及びメチオニン（^{14}C）の BBB 透過係数

化合物	BBB 透過係数，$\times10^{-6}$cm/sec
フルシクロビン（^{14}C）	2.92　±　0.43[a]
メチオニン（^{14}C）	1.97　±　0.18

n＝5，各値は平均値±標準偏差
メチオニン（^{14}C）：^{14}C 標識 L-メチオニン
a. メチオニン（^{14}C）と有意差あり（t 検定，$p<0.05$）
最終報告書（試験番号：[redacted]）Table 5 を一部改変

2.6.2.2.2　脳腫瘍細胞への取込み（in vitro）

［試験番号：[redacted]，資料番号：4.2.1.1-2（評価）］

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（Hs683, SW1088, U-87 MG 及び T98-G）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．

接着状態の各細胞に，最終濃度が 10μmol/L になるようにフルシクロビン（^{14}C）又はメチオニン（^{14}C）を添加した．37℃で 5，15，30 及び 60 分間培養した後，細胞に取り込まれた放射能及び細胞のタンパク質重量を測定した．これらの値を用いて，細胞の単位タンパク質重量当たりの

フルシクロビン（^{14}C）及びメチオニン（^{14}C）（pmol/mg protein）を算出し，それぞれの取込み量とした．

結果を表 2.6.2-2 及び図 2.6.2-1 に示す．いずれの細胞においても，全ての時間点でフルシクロビン（^{14}C）取込み量はメチオニン（^{14}C）取込み量に比べて有意に高かった（t 検定，$p<0.05$）．

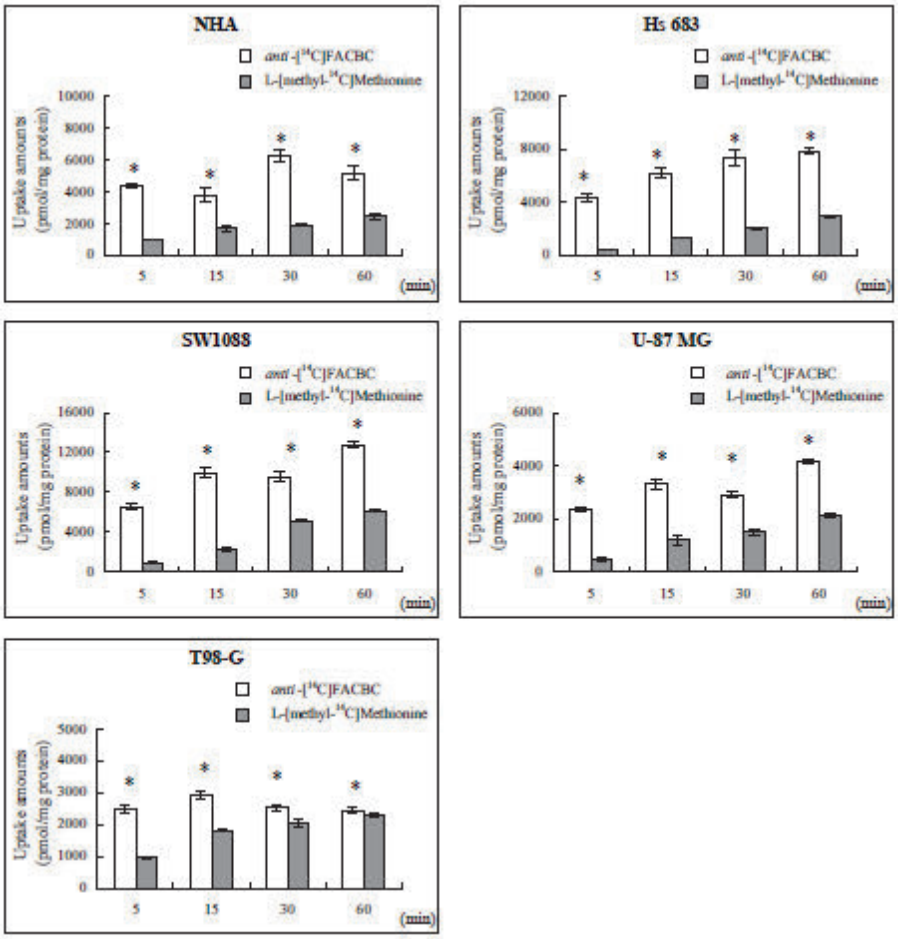
以上の結果から，ヒト神経膠腫細胞株及びヒト正常アストロサイトにおいて，フルシクロビン（^{14}C）はメチオニン（^{14}C）に比べ添加後初期の段階から取り込まれ，また，これらの細胞における取込み量は，フルシクロビン（^{14}C）の方がメチオニン（^{14}C）に比べて高いことが示された．

表 2.6.2-2　ヒト神経膠腫細胞株及びヒト正常アストロサイトにおけるフルシクロビン（^{14}C）及びメチオニン（^{14}C）取込み

細胞	培養時間，分	単位タンパク質重量当たりの取込み量，pmol/mg protein	
		フルシクロビン（^{14}C）	メチオニン（^{14}C）
Hs683	5	4350 ± 281[a]	462 ± 9
	15	6190 ± 441[a]	1331 ± 59
	30	7340 ± 578[a]	2005 ± 116
	60	7843 ± 171[a]	2930 ± 90
SW1088	5	6525 ± 298[a]	922 ± 74
	15	9921 ± 466[a]	2285 ± 141
	30	9543 ± 502[a]	5116 ± 318
	60	12766 ± 298[a]	6096 ± 305
U-87 MG	5	2361 ± 68[a]	479 ± 30
	15	3288 ± 165[a]	1185 ± 35
	30	2888 ± 111[a]	1495 ± 106
	60	4156 ± 81[a]	2118 ± 79
T98-G	5	2486 ± 107[a]	942 ± 44
	15	2899 ± 119[a]	1802 ± 57
	30	2517 ± 111[a]	2036 ± 167
	60	2436 ± 85[a]	2285 ± 58
NHA	5	4350 ± 173[a]	941 ± 16
	15	3749 ± 422[a]	1670 ± 188
	30	6265 ± 353[a]	1881 ± 58
	60	5137 ± 464[a]	2440 ± 180

各時間点 n＝5，各値は平均値±標準偏差
メチオニン（^{14}C）：^{14}C 標識 L-メチオニン，NHA：ヒト正常アストロサイト
a. メチオニン（^{14}C）と有意差あり（t 検定，$p<0.05$）
最終報告書（試験番号：[redacted]）Table 4 を一部改変

図 2.6.2-1　ヒト神経膠腫細胞株及びヒト正常アストロサイトにおけるフルシクロビン（^{14}C）及びメチオニン（^{14}C）取込み



各時間点 n＝5，各値は平均値±標準偏差
anti-[^{14}C]FACBC：フルシクロビン（^{14}C），L-[methyl-^{14}C]methionine：^{14}C 標識 L-メチオニン，NHA：ヒト正常アストロサイト
＊：L-[methyl-^{14}C]methionine と有意差あり（t 検定，p＜0.05）
最終報告書（試験番号：[redacted]）Figure 6

2.6.2.2.3　腫瘍集積性（in vivo）

［試験番号：K36-EF0002，資料番号：4.2.1.1-3（評価）］

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．

6 週齢の雄 BALB/c ヌードマウスに神経膠腫細胞株（SW1088）を皮下移植し，腫瘍皮下移植マウスを作製した．1 時間点につき 4 匹とし，移植後 10 日に，腫瘍皮下移植マウスを 4～5 時間絶食させた後，フルシクロビン（^{18}F）を 370MBq/kg の用量で単回静脈内投与した．投与後 5，30 及び 60 分に放血致死させ，脳及び腫瘍を摘出し，血液，脳，腫瘍及び残りの全身の放射能を測定した．血液，脳及び腫瘍については重量も測定し，単位重量当たりの放射能分布率（%ID/g）を算出した．

結果を表 2.6.2-3 に示す．腫瘍の単位重量当たりの放射能分布率は，投与後 5 分で 3.04%ID/g，30 分で 4.11%ID/g，60 分で 3.93%ID/g であった．腫瘍と血液の単位重量当たりの放射能分布率を比較したところ，投与後 5 分では両者に差はなかったが，投与後 30 及び 60 分では，腫瘍の方が

有意に高かった（t 検定，p＜0.05）．また，腫瘍と脳の単位重量当たりの放射能分布率を比較したところ，いずれの時間点においても，腫瘍の方が有意に高かった（Welch 検定又は t 検定，p＜0.05）．

以上の結果から，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．

表 2.6.2-3　腫瘍皮下移植マウスにおけるフルシクロビン（^{18}F）投与後の血液，脳及び腫瘍の単位重量当たりの放射能分布率

組織	単位重量当たりの放射能分布率，%ID/g		
	投与後 5 分	投与後 30 分	投与後 60 分
血液	3.43　±　0.53	2.39　±　0.28	2.25　±　0.42
脳	0.83　±　0.13	1.75　±　0.31	2.53　±　0.29
腫瘍	3.04　±　0.72	4.11　±　0.53	3.93　±　1.01

各時間点 n＝4，各値は平均値±標準偏差
%ID：投与量に対する割合（%）
試験報告書（試験番号：K36-EF0002）表 5 を一部改変

2.6.2.3　副次的薬理試験

2.6.2.3.1　各種受容体に対する結合性（in vitro）

［試験番号：[redacted]，資料番号：4.2.1.2-1（評価）］

フルシクロビン及び anti-OHACBC の各種受容体に対する結合性を明らかにするため，in vitro 結合阻害試験を実施した．

フルシクロビンと構造が類似している ACBC は，NMDA 型グルタミン酸受容体のグリシン結合部位に結合し，部分アゴニスト作用を示すことが知られている[1)]．そこで，NMDA 型グルタミン酸受容体グリシン結合部位（Glutamate (NMDA glycine site)）を含め中枢神経系に発現している受容体を中心に，表 2.6.2-4 に示す 20 種の受容体を対象とした．被験物質の濃度は，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に対する ACBC の IC_{50} 付近である 3mmol/L とした．組換えヒト受容体又はラット組織から得られた膜画分を受容体標品として用い，各種受容体とそれぞれの特異的リガンドの結合に対するフルシクロビン及び anti-OHACBC の阻害率（%）を算出した．

フルシクロビンの 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に対する阻害率は 67.51%であった．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（表 2.6.2-4）．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（表 2.6.2-4）．

以上の結果から，フルシクロビンは 3mmol/L の濃度において，ACBC と同様に，NMDA 型グルタミン酸受容体グリシン結合部位に対して，結合性を有すると判断した．また，本検討で対象としたその他の受容体に対する結合能はないと判断した．anti-OHACBC は 3mmol/L の濃度において，本検討で対象としたいずれの受容体に対しても結合能はないと判断した．

表 2.6.2-4　各種受容体と特異的リガンドの結合に対する阻害率

受容体	阻害率，%		
	フルシクロビン	anti-OHACBC	ACBC
α1A-Adrenergic	0.92	2.41	0.63
α1B-Adrenergic	2.26	3.41	1.46
α2A-Adrenergic (Human)	0.39	2.45	2.30
α2B-Adrenergic (Human)	2.90	12.79	3.14
α2C-Adrenergic (Human)	2.54	11.27	0.65
β1-Adrenergic (Human)	5.08	3.58	3.56
β2-Adrenergic (Human)	1.45	3.10	0.36
Dopamine D1 (Human)	0.00	1.94	0.00
Dopamine D2 short (Human)	0.00	1.73	0.00
Dopamine D4.2 (Human)	0.17	12.90	0.83
GABA A (Agonist site)	0.00	0.00	0.00
GABA A (BZ central)	4.75	0.07	0.93
GABA B	5.66	5.67	0.00
Glutamate (AMPA)	24.22	6.48	3.71
Glutamate (Kainate)	6.29	5.62	2.60
Glutamate (NMDA agonist site)	33.77	27.82	22.20
Glutamate (NMDA glycine site)	67.51	22.71	73.87
Glutamate (NMDA phencyclidine site)	10.42	1.33	0.00
Glutamate (NMDA polyamine site)	10.99	18.87	7.41
Glycine (Strychnine sensitive)	4.42	13.36	0.00

ACBC：1-アミノシクロブタンカルボン酸
最終報告書（試験番号：[redacted]）Table 1 を一部改変

2.6.2.4　安全性薬理試験

2.6.2.4.1　中枢神経系

2.6.2.4.1.1　フルシクロビンの一般状態及び行動に対する作用

［試験番号：000526，資料番号：4.2.1.3-1（評価）］

6 週齢の SD 系雄ラットを 1 群 6 匹として使用し，一般状態及び行動を Irwin 法により観察した．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）の用量で単回静脈内投与し，フルシクロビン塩酸塩投与前，並びに投与後 0.25，0.5，1，2，4，6，8 及び 24 時間に観察した．なお，対照群として，生理食塩液を 1mL/kg で投与する群を設け，同様に観察した．

フルシクロビン塩酸塩は，1000μg/kg（フルシクロビンとして 785μg/kg）までの用量において，一般状態及び行動に対して影響を及ぼさなかった．以上の結果から，本試験条件下において，中枢神経系に対する無作用量は，フルシクロビン塩酸塩 1000μg/kg（フルシクロビンとして 785μg/kg）と判断した．

2.6.2.4.1.2　NMK36 減衰品の一般状態及び行動に対する作用

［試験番号：3089/003，資料番号：4.2.1.3-2（評価）］

約 6 週齢の SD 系雄ラットを 1 群 6 匹として使用し，一般状態及び行動を Irwin 法により観察した．NMK36 減衰品を 2，7 及び 20mL/kg の用量で単回静脈内投与し，NMK36 減衰品投与後 0～

0.083，0.25，0.5，1，2 及び 24 時間に観察した．併せて，NMK36 減衰品投与前及び観察直後に体温を測定した．なお，対照群として，NMK36 減衰品と同等の pH，浸透圧及びマンニトール濃度となる対照液を 20mL/kg の用量で投与する群を設け，同様に観察及び体温測定を実施した．

NMK36 減衰品は，20mL/kg までの用量において，一般状態，行動及び体温に対して影響を及ぼさなかった．以上の結果から，本試験条件下において，中枢神経系に対する無作用量は，NMK36 減衰品の 20mL/kg と判断した．

2.6.2.4.2　心血管系

2.6.2.4.2.1　フルシクロビンの hERG 電流への影響

［試験番号：[redacted]0305，資料番号：4.2.1.3-3（評価）］

hERG 導入 HEK293 細胞を用いて，フルシクロビンの hERG 電流に及ぼす影響（ホールセルパッチクランプ法）を検討した．1 群 5 細胞として，フルシクロビン塩酸塩適用前に対する適用後 10 分の hERG 電流相対値を，媒体である注射用水を適用した場合と比較した．フルシクロビン塩酸塩は，10，100 及び 1000nmol/L で適用した．なお，陽性対照としては，E-4031 を 100nmol/L で同様に適用した．

結果を表 2.6.2-5 に示す．フルシクロビン塩酸塩の 1000nmol/L 適用において，媒体適用後と比較して，適用後 10 分の hERG 電流相対値の有意な低値を認めた．なお，媒体による hERG 電流の抑制率を 0%としたときの，フルシクロビン塩酸塩の 1000nmol/L 適用による抑制率は 8.6%であった．以上の結果から，フルシクロビンは 1000nmol/L 以上の濃度で hERG 電流を抑制すると考えられ，本試験条件下において，hERG チャネルに対する無作用量は，フルシクロビン塩酸塩の 100nmol/L と判断した．

表 2.6.2-5　フルシクロビンの hERG 電流への影響

適用物質	適用濃度，nmol/L	適用後 10 分の hERG 電流相対値[a]，%	抑制率，%
注射用水（溶媒対照）	－	92.3　±　2.4	－[b]
フルシクロビン塩酸塩	10	93.2　±　2.8	－1.0
	100	93.3　±　3.1	－1.1
	1000	84.4　±　2.8[c]	8.6
E-4031（陽性対照）	100	3.8　±　1.7[d]	95.9

a. n＝5，各値は平均値±標準偏差
b. 抑制率算出の基準
c. 溶媒対照と比べて有意な低値（Dunnett 型多重比較，p＜0.01）
d. 溶媒対照と比べて有意な低値（t 検定，p＜0.01）
最終報告書（試験番号：[redacted]0305）Table 1 を一部改変

2.6.2.4.2.2　anti-OHACBC の hERG 電流への影響

［試験番号：081010.DPY，資料番号：4.2.1.3-4（評価）］

hERG 導入 HEK293 細胞を用いて，anti-OHACBC の hERG 電流に及ぼす影響（ホールセルパッチクランプ法）を検討した．1 群 3 細胞として，anti-OHACBC 適用前に対する適用後の hERG 電流抑制率を，媒体である HEPES 緩衝生理食塩液を適用した場合と比較した．anti-OHACBC は，10 及び 300μmol/L で適用した．なお，陽性対照としては，テルフェナジンを 60nmol/L で同様に適用した．

anti-OHACBC の 300μmol/L までの適用において，媒体適用群と比較して hERG 電流の有意な抑制を認めなかった．以上の結果から，本試験条件下において，hERG チャネルに対する無作用量は，anti-OHACBC の 300μmol/L と判断した．

2.6.2.4.2.3　フルシクロビンを用いたイヌの in vivo QT assay

［試験番号：000726，資料番号：4.2.1.3-5（評価）］

本試験では，一定の休薬期間を設けた用量漸増法による実施を予定していた．その休薬期間を検討するため，事前に単回投与後の血漿中濃度推移を確認した[2)]．その結果，予定していた低用量 100μg/kg においても，血漿中からの消失には 2 週間を超える休薬期間が必要であることが判明した．そのため，用量漸増法の採用をやめ，用量ごとに動物を割り当てることとした．

7～10 箇月齢の雄ビーグル犬を 1 群 4 匹として使用し，テレメトリーシステムを用いて覚醒無拘束の状態で行った．

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）の用量で単回静脈内投与し，投与前 0.25 時間，並びに投与後 0.25，0.5，1，2，4，6，8，24，168（投与後 7 日）及び 336 時間（投与後 14 日）に血圧，心拍数，心電図及び体温を測定した．また，各測定時間におけるフルシクロビン塩酸塩の血漿中濃度を測定した．なお，対照としては，フルシクロビン塩酸塩投与の 7 日前に，生理食塩液 1mL/kg を同一個体に静脈内投与し，投与前 0.25 時間，並びに投与後 0.25，0.5，1，2，4，6，8 及び 24 時間に血圧，心拍数，心電図及び体温を測定した．

フルシクロビン塩酸塩は，1000μg/kg（フルシクロビンとして 785μg/kg）までの用量において，血圧，心拍数，心電図及び体温に対して影響を及ぼさなかった．なお，同時に行った血漿中濃度測定では，いずれの投与群も投与後 0.25 時間を最高濃度とする漸減推移を示し，投与後 336 時間においても血漿中での残存を認めた（表 2.6.2-6）．以上の結果から，本試験条件下において，心血管系に対する無作用量は，フルシクロビン塩酸塩の 1000μg/kg（フルシクロビンとして 785μg/kg）と判断した．

表 2.6.2-6　イヌにおけるフルシクロビン塩酸塩血漿中濃度

用量，μg/kg	投与後 336 時間における血漿中フルシクロビン塩酸塩濃度，ng/mL	$AUC_{0\ 25\text{-}24h}$，ng·h/mL	$AUC_{0\ 25\text{-}336h}$，ng·h/mL	T_{max}，hr	C_{max}，ng/mL
100	25.8	1548	16347	1.38	81.8
300	165	5098	63283	0.31	252
1000	752	22191	284748	10.06	1010

n＝4，各値は平均値

AUC：濃度 - 時間曲線下面積，T_{max}：最高血漿中濃度到達時間，C_{max}：最高血漿中濃度

最終報告書（試験番号：000726）Table 12 を一部改変

2.6.2.4.2.4　NMK36 減衰品を用いたイヌの in vivo QT assay

［試験番号：3089/007，資料番号：4.2.1.3-6（評価）］

2～3 歳齢の雄ビーグル犬を 4 匹使用し，テレメトリーシステムを用いて覚醒無拘束の状態で行った．ただし，投与前及び投与後のそれぞれ約 45 分間は，スリングで拘束した．投与後 30，45 及び 60 分並びにその後 1 時間ごとに投与後 12 時間まで，血圧，心拍数及び心電図を測定した．

また，投与の 15 及び 30 分前に，投与前値として同様に測定した．NMK36 減衰品は静脈内投与とし，0.6mL/kg 投与後に各測定を行い，最低 2 週間の休薬期間を設けて，5mL/kg を同一個体に投与し，同様に測定した．NMK36 減衰品 0.6mL/kg の投与の 3 日以上前に，対照物質として NMK36 減衰品と同等の pH，浸透圧及びマンニトール濃度となる対照液 5mL/kg を同一個体に投与し，同様に測定した．

NMK36 減衰品は，5mL/kg までの用量において，血圧，心拍数及び心電図に対して影響を及ぼさなかった．以上の結果から，本試験条件下において，心血管系に対する無作用量は，NMK36 減衰品の 5mL/kg と判断した．

2.6.2.4.3　呼吸系

2.6.2.4.3.1　フルシクロビンの呼吸数及び 1 回換気量に対する影響

［試験番号：000626，資料番号：4.2.1.3-7（評価）］

6 週齢の SD 系雄ラットを 1 群 10 匹として使用し，無拘束呼吸機能解析装置を用いて（プレチスモグラフ法）行った．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）の用量で単回静脈内投与し，投与前 10 分，並びに投与後 15，30，60，120，240，360 及び 480 分に 5 分間の呼吸数，1 回換気量及び分時換気量を測定した．なお，対照群として，生理食塩液を 1mL/kg で投与する群を設け，同様に測定した．

フルシクロビン塩酸塩は，1000μg/kg（フルシクロビンとして 785μg/kg）までの用量において，呼吸数，1 回換気量及び分時換気量に対して，影響を及ぼさなかった．以上の結果から，本試験条件下において，呼吸系に対する無作用量は，フルシクロビン塩酸塩の 1000μg/kg（フルシクロビンとして 785μg/kg）と判断した．

2.6.2.4.3.2　NMK36 減衰品の呼吸数及び 1 回換気量に対する影響

［試験番号：3089/004，資料番号：4.2.1.3-8（評価）］

約 6 週齢の SD 系雄ラットを 1 群 6 匹として使用し，無拘束呼吸機能解析装置を用いて（プレチスモグラフ法）行った．NMK36 減衰品を 2，7 及び 20mL/kg の用量で単回静脈内投与し，投与前 30 分から投与後 6 時間までの呼吸数，1 回換気量及び分時換気量を測定した．それぞれ 15 分間隔の平均値を評価値とした．なお，対照群として，NMK36 減衰品と同等の pH，浸透圧及びマンニトール濃度となる対照液を 20mL/kg で投与する群を設け，同様に測定した．

NMK36 減衰品は，20mL/kg までの用量において，呼吸数，1 回換気量及び分時換気量に対して影響を及ぼさなかった．以上の結果から，本試験条件下において，呼吸系に対する無作用量は，NMK36 減衰品の 20mL/kg と判断した．

2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用

該当なし．

2.6.2.6　考察及び結論

2.6.2.6.1　効力を裏付ける試験

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．

2.6.2.6.2　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 について, 中枢神経系で発現している受容体を中心に, その結合性を 3mmol/L の濃度で検討したところ, フルシクロビンは，ACBC と同様に，NMDA 型グルタミン酸受容体のグリシン結合部位においてのみ，特異的リガンドの結合を 50%以上阻害した．一方，anti-OHACBC により，特異的リガンドの結合を 50%以上阻害された受容体を認めなかった．

本剤投与後，フルシクロビン及び anti-OHACBC 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）の場合，フルシクロビン及び anti-OHACBC の血中濃度はそれぞれ，440pmol/L 及び 240nmol/L と推定される（3.2.P.5.5）．3mmol/L はそれぞれ約 6,800,000 倍及び約 13,000 倍に相当する．以上のことから，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各種受容体に対して, 何らかの作用を示す可能性は低いと考えた．

2.6.2.6.3　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．

本剤投与後，フルシクロビン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）の場合，フルシクロビンの血中濃度は 440pmol/L と考えられ（3.2.P.5.5），フルシクロビンの 1000nmol/L は，約 2,300 倍に相当する．実際には，血液又は心臓に対してそのような極端な分布を示すことはなく，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ことから，本剤の臨床使用において，心血管系への作用発現はないと推察した．また，中枢神経系及び呼吸系に対しては，特記すべき作用を認めなかった．

以上のことから，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．

2.6.2.7　図表

本文中に記載した．

2.6.2.8 参考文献

1) Inanobe A, Furukawa H, Gouaux E. Mechanism of partial agonist action at the NR1 subunit of NMDA receptors. Neuron. 2005;47:71-84.

2) 日本メジフィジックス株式会社．イヌ血漿中 anti-FACBC 濃度測定予備試験．最終報告書．[redacted]；20[redacted]年．試験番号：094726.

アキュミン静注

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3　薬理試験概要表

日本メジフィジックス株式会社

目次

2.6.3 薬理試験概要表 3
2.6.3.1 薬理試験：一覧表 3
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 4
2.6.3.3 副次的薬理試験 5
2.6.3.4 安全性薬理試験 6
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用 7

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

試験の種類	試験系	被験物質	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
効力を裏付ける試験						
BBB 透過性	BBB キット（ラット脳毛細血管内皮細胞，周皮細胞及びアストロサイト）	フルシクロビン（^{14}C）	in vitro	[redacted]（日本）	[redacted]	4.2.1.1-1
脳腫瘍細胞への取込み	ヒト神経膠腫細胞株及びヒト正常アストロサイト	フルシクロビン（^{14}C）	in vitro	[redacted]（日本）	[redacted]	4.2.1.1-2
腫瘍集積性	腫瘍皮下移植マウス	フルシクロビン（^{18}F）	静脈内	日本メジフィジックス（日本）	K36-EF0002	4.2.1.1-3
副次的薬理試験						
各種受容体に対する結合性	組換えヒト受容体又はラット組織膜画分	フルシクロビン，anti-OHACBC	in vitro	[redacted]（日本）	[redacted]	4.2.1.2-1
安全性薬理試験						
中枢神経系（一般状態及び行動に対する作用）[a]	ラット	フルシクロビン塩酸塩	静脈内	[redacted]（日本）	000526	4.2.1.3-1
中枢神経系（一般状態及び行動に対する作用）[a]	ラット	NMK36 減衰品	静脈内	[redacted]（英国）	3089/003	4.2.1.3-2
心血管系（hERG 電流への影響）[a]	hERG 導入 HEK293 細胞	フルシクロビン塩酸塩	in vitro	[redacted]0305（日本）	4.2.1.3-3
心血管系（hERG 電流への影響）[a]	hERG 導入 HEK293 細胞	anti-OHACBC	in vitro	[redacted]（米国）	081010.DPY	4.2.1.3-4
心血管系（in vivo QT assay）[a]	イヌ	フルシクロビン塩酸塩	静脈内	[redacted]（日本）	000726	4.2.1.3-5
心血管系（in vivo QT assay）[a]	イヌ	NMK36 減衰品	静脈内	[redacted]（英国）	3089/007	4.2.1.3-6
呼吸系（呼吸数及び 1 回換気量に対する影響）[a]	ラット	フルシクロビン塩酸塩	静脈内	[redacted]（日本）	000626	4.2.1.3-7
呼吸系（呼吸数及び 1 回換気量に対する影響）[a]	ラット	NMK36 減衰品	静脈内	[redacted]（英国）	3089/004	4.2.1.3-8

a. GLP に適合した報告書

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

試験項目	試験系／投与方法	被験物質	試験成績	試験番号	記載箇所
BBB 透過性	BBB キット（ラット脳毛細血管内皮細胞，周皮細胞及びアストロサイト）／in vitro	フルシクロビン（^{14}C）	フルシクロビン（^{14}C）の BBB 透過係数：2.92×10^{-6}cm/sec メチオニン（^{14}C）の BBB 透過係数：1.97×10^{-6}cm/sec	[redacted]	4.2.1.1-1
脳腫瘍細胞への取込み	ヒト神経膠腫細胞株（Hs683, SW1088， U-87 MG 及び T98-G）及びヒト正常アストロサイト／in vitro	フルシクロビン（^{14}C）	いずれの細胞においても，全ての時間点でフルシクロビン（^{14}C）取込み量はメチオニン（^{14}C）取込み量に比べて有意に高かった．	[redacted]	4.2.1.1-2
腫瘍集積性	腫瘍皮下移植マウス／静脈内	フルシクロビン（^{18}F）	腫瘍の単位重量当たりの放射能分布率は，投与後 5 分で 3.04%ID/g，30 分で 4.11%ID/g，60 分で 3.93%ID/g であった．腫瘍と血液の単位重量当たりの放射能分布率を比較したところ，投与後 5 分では両者に差はなかったが，投与後 30 及び 60 分では，腫瘍の方が有意に高かった．また，腫瘍と脳の単位重量当たりの放射能分布率を比較したところ，いずれの時間点においても，腫瘍の方が有意に高かった．	K36-EF0002	4.2.1.1-3

2.6.3.3　副次的薬理試験

試験項目	標的受容体／特異的リガンド	被験物質，濃度	試験成績	試験番号	記載箇所
各種受容体に対する結合性	α1A-Adrenergic／[7-methoxy-^{3}H]Prazosin α1B-Adrenergic／[7-methoxy-^{3}H]Prazosin α2A-Adrenergic (Human)／[methyl-^{3}H]Rauwolscine α2B-Adrenergic (Human)／[methyl-^{3}H]Rauwolscine α2C-Adrenergic (Human)／[methyl-^{3}H]Rauwolscine β1-Adrenergic (Human)／(-)-[^{3}H]CGP-12177 β2-Adrenergic (Human)／(-)-[^{3}H]CGP-12177 Dopamine D1 (Human)／[N-methyl-^{3}H]SCH 23390 Dopamine D2 short (Human)／[benzene ring-^{3}H]Spiperone Dopamine D4.2 (Human)／[benzene ring-^{3}H]Spiperone GABA A (Agonist site)／[methylene-^{3}H(N)]Muscimol GABA A (BZ central)／[methyl-^{3}H]Flunitrazepam GABA B／4-Amino-n-[2,3-^{3}H]butyric acid Glutamate (AMPA) ／D,L-alpha-[^{3}H]-amino-3-hydroxy-methylisoxazole-4-propionic acid Glutamate (Kainate)／[vinylidene-^{3}H]Kainic acid Glutamate (NMDA agonist site)／[propyl-2,3-^{3}H]CGP-39653 Glutamate (NMDA glycine site)／[^{3}H]MDL 105,519 Glutamate (NMDA phencyclidine site)／(+)-[3-^{3}H]MK-801 Glutamate (NMDA polyamine site)／[phenyl-^{3}H]Ifenprodil Glycine (Strychnine sensitive)／[benzene ring-^{3}H]Strychnine	フルシクロビン，3mmol/L	Glutamate (NMDA glycine site)における特異的リガンドの結合に対する阻害率は 67.51％であった．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．	[redacted]	4.2.1.2-1
		anti-OHACBC，3mmol/L	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．		

2.6.3.4　安全性薬理試験

2.6.3.4A　安全性薬理試験：フルシクロビン

被験物質：フルシクロビン塩酸塩

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	投与量又は濃度	性別，動物数	特記すべき所見	GLP適用	試験番号	記載箇所
中枢神経系	ラット／SD	静脈内	0，100，300，1000μg/kg（0，78.5，235，785μg/kg）[a]	雄，6匹／群	一般状態，行動及び体温に影響なし 無作用量：1000μg/kg	適	000526	4.2.1.3-1
心血管系	hERG導入HEK293細胞	in vitro	0，10，100，1000nmol/L	－	1000nmol/Lでherg電流を抑制 無作用量：100nmol/L	適	[redacted]0305	4.2.1.3-3
	イヌ／ビーグル	静脈内	100，300，1000μg/kg（78.5，235，785μg/kg）[a]	雄，4匹／群	血圧，心拍数及び心電図に影響なし 無作用量：1000μg/kg	適	000726	4.2.1.3-5
呼吸系	ラット／SD	静脈内	0，100，300，1000μg/kg（0，78.5，235，785μg/kg）[a]	雄，10匹／群	呼吸数，1回換気量及び分時換気量に影響なし 無作用量：1000μg/kg	適	000626	4.2.1.3-7

a．括弧内の数値は，フルシクロビンとしての投与量．

2.6.3.4B　安全性薬理試験：NMK36減衰品

被験物質：NMK36減衰品

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	投与量	性別，動物数	特記すべき所見	GLP適用	試験番号	記載箇所
中枢神経系	ラット／SD	静脈内	0，2，7，20mL/kg	雄，6匹／群	一般状態，行動及び体温に影響なし 無作用量：20mL/kg	適	3089/003	4.2.1.3-2
心血管系	イヌ／ビーグル	静脈内	0.6，5mL/kg[a]	雄，4匹／群	血圧，心拍数及び心電図に影響なし 無作用量：5mL/kg	適	3089/007	4.2.1.3-6
呼吸系	ラット／SD	静脈内	0，2，7，20mL/kg	雄，6匹／群	呼吸数，1回換気量及び分時換気量に影響なし 無作用量：20mL/kg	適	3089/004	4.2.1.3-8

a．0.6mL/kg投与後，最低2週間の休薬期間を設けて，5mL/kgを同一個体に投与．

2.6.3.4C 安全性薬理試験：anti-OHACBC

被験物質：anti-OHACBC

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	濃度	性別，動物数	特記すべき所見	GLP適用	試験番号	記載箇所
心血管系	hERG 導入 HEK293 細胞	in vitro	0，10，300μmol/L	－	hERG 電流の抑制なし 無作用量：300μmol/L	適	081010.DPY	4.2.1.3-4

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用

該当なし.