2.4 非臨床試験の概括評価

目次

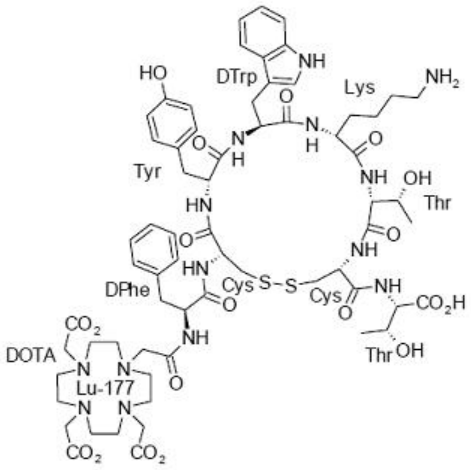
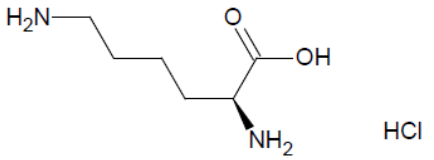
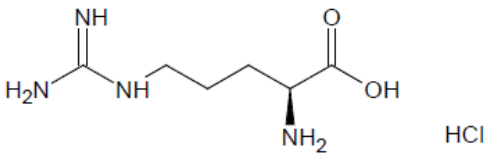
略号の一覧 2
専門用語の一覧 4
2.4 非臨床試験の概括評価 5
2.4.1 非臨床試験計画概略 5
2.4.2 薬理試験 5
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 5
2.4.2.1.1 腎臓におけるソマトスタチンアナログの取り込み 5
2.4.2.1.2 リシン及びアルギニンによるソマトスタチンアナログの取り込み阻害作用 6
2.4.2.2 副次的薬理試験 6
2.4.2.3 安全性薬理試験 7
2.4.2.3.1 中枢神経系及び呼吸系に対する作用 7
2.4.2.3.2 心血管系に対する作用 7
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 7
2.4.3 薬物動態試験 7
2.4.3.1 薬物動態 7
2.4.3.2 薬物動態学的薬物相互作用 7
2.4.3.3 その他の薬物動態試験 7
2.4.4 毒性試験 7
2.4.5 総括及び結論 8
2.4.6 参考文献一覧 9

略号の一覧

【略号一覧】

略号	英語	日本語
DOTA	1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid	1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
LD_{50}	Lethal dose 50%	半数致死量
PRRT	Peptide receptor radionuclide therapy	ペプチド受容体放射性核種療法
RI	Radioisotope	放射性同位体
SSTR	Somatostatin receptor	ソマトスタチン受容体
Tyr	Tyrosine	チロシン
^{177}Lu	Lutetium-177	ルテチウム 177

【ルタテラ静注及びライザケア輸液の略号】

略号	構造式	化学名
＜製剤＞ ルタテラ静注 F-1515 Lutathera	—	—
＜有効成分＞ ^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate lutetium（^{177}Lu）oxodotreotide（INN） ルテチウム（^{177}Lu）ドータオクトレオテート		Lutetium(^{177}Lu)-N-[(4,7,10-tricarboxymethyl-1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)acetyl]-D-phenylalanyl-L-cysteinyl-L-tyrosyl-D-tryptophanyl-L-lysyl-L-threoninyl-L-cysteinyl-L-threonine-cyclic(2-7)disulfide
＜製剤＞ ライザケア輸液 F-1520 輸液 LysaKare	—	—
＜有効成分＞ L-リシン塩酸塩（JAN） L-Lysine Hydrochloride（INN）		(2S)-2,6-Diaminohexanoic acid monohydrochloride
＜有効成分＞ L-アルギニン塩酸塩（JAN） L-Arginine Hydrochloride（INN）		(2S)-2-Amino-5-guanidinopentanoic acid monohydrochloride

専門用語の一覧

用語	説明
吸収線量	放射線を受けた物質が単位質量あたりに吸収するエネルギーの量。 単位は Gy（グレイ）。
Bq	放射能の単位（ベクレル）。 1 秒間に 1 個の原子核が崩壊して放射線を放つ放射能が 1 Bq。
Gy	吸収線量の単位（グレイ）。 放射線によって物質 1 キログラムあたり 1 ジュールのエネルギーが吸収された時の吸収線量が 1 Gy。

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

ライザケア輸液 (以下，本剤) の有効成分である L-リシン塩酸塩及び L-アルギニン塩酸塩は天然に存在する生体分子であり，一般に安全と認められる (Generally Recognized As Safe，GRAS) 添加剤と判断されている。そのため，本剤に関する非臨床試験は実施していないが，薬効薬理，薬物動態，安全性についての論文を要約することとした。RI 標識したソマトスタチンアナログ (以下，RI 標識ソマトスタチンアナログ) による PRRT での腎臓の放射線被曝を低減するために，アミノ酸輸液を静脈内投与した海外の臨床研究に関する文献は多数存在する。欧州では，PRRT における腎保護のためのアミノ酸の静脈内投与は本剤と同じ組成及び用量用法で少なくとも 2000 年以来使用されており【2.5 参照】，IAEA (International Atomic Energy Agency)，EANM (European Association of Nuclear Medicine) 及び SNMMI (Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging) の合同ガイドライン[1)]，ENETS (European Neuroendocrine Tumor Society) ガイドライン[2)]，NANETS（North American Neuroendocrine Tumor Society）及び SNMMI（Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging）の合同ガイドライン[3)]といった PRRT に関する海外学会等のガイドラインにおいて腎保護のためのリシン及びアルギニンを含む輸液の併用が推奨されている。PRRT における L-リシンや L-アルギニンなどの正電荷を持つアミノ酸を含む輸液の投与は腎臓の被曝低減に不可欠である。

^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の腎臓への取り込みを減少させるためにリシン及びアルギニンを使用している非臨床データの論文は，臨床のものほど多くない。ここで示す文献では，ルタテラ静注の有効成分である ^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate だけでなく， RI 標識ソマトスタチンアナログに対するリシン及びアルギニンの腎保護作用に関する文献も含まれているが，これらのペプチドは，^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate と同じ SSTR をターゲットとして腫瘍に集積し，また，同様に腎臓へ取り込まれるため，本剤の有効性及び安全性をサポートできると考えられる。ただし，いずれの文献も GLP 適用についての記述はない。

2.4.2 薬理試験

ルタテラ静注による PRRT での腎保護には，本剤に含まれるリシン及びアルギニンの正電荷 (D 体, L 体共に正電荷) が尿細管における放射性ペプチドの再吸収を妨げることに起因し，その結果，腎臓の吸収線量を減少させ，放射線による腎毒性誘発の可能性を低下させる。

臨床におけるルタテラ静注による PRRT でのリシン及びアルギニンの腎被曝低減効果は【2.7.2】で示されているが，補足的な *in vitro*/*in vivo* の非臨床試験を以下に示す。これらの文献では，^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate だけでなく RI 標識ソマトスタチンアナログの PRRT におけるリシンとアルギニンの作用を示した文献が含まれているが，これらのペプチドの腎臓での取り込みメカニズムは同じであり，それゆえ本剤の薬理作用をサポートすると考えられる。

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 腎臓におけるソマトスタチンアナログの取り込み

メガリン／キュビリン複合体を介したソマトスタチンアナログの非特異的な腎臓への取り込みが報告されている。Melis らは，RI 標識ソマトスタチンアナログを投与したラット

の腎臓におけるオートラジオグラフィーで，その集積パターンと抗メガリン抗体を用いた免疫組織染色で示されたメガリンの発現パターンが一致したことを報告した (4.2.1.1.1 参照)。また，Vegt らは，メガリン欠損マウス (雌雄) における RI 標識ソマトスタチンアナログの腎取り込みが，投与後 3 時間及び 24 時間でそれぞれ野生型マウスの 26～49%，28～64%まで減少していることを示した (4.2.1.1.2 参照)。

また，Balster らによると，9 名のドナーの腎臓におけるソマトスタチン受容体の発現を評価したところ，9 名のドナー全員で SSTR2 型が発現していた[4]。その発現部位は，遠位尿細管，集合管，及びヘンレループ (太い上行脚)，糸球体であった。さらに，Bhandari らは，近位尿細管でも SSTR2 型が発現していることを報告している[5]。これらの文献は，RI 標識ソマトスタチンアナログの腎臓における取り込みの一部は，腎臓に発現しているソマトスタチン特異的な受容体によるものであることを示唆している。

2.4.2.1.2　リシン及びアルギニンによるソマトスタチンアナログの取り込み阻害作用

リシンやアルギニンのような正電荷アミノ酸は，腎臓でのペプチド再吸収を妨げるが，これはトランスポーターと基質の電荷での相互作用によるものである。RI 標識ソマトスタチンアナログとの併用時における L-リシン及び L-アルギニンの薬理学的標的は，腎臓のメガリン／キュビリン複合体であると考えられる。

De Jong らは，雄ラットを用いて D-リシンの併用により，RI 標識ソマトスタチンアナログの腎臓への取り込みが対照群の 37.3～47.8%であったことを示した (4.2.1.1.3 参照)。また，Melis らは，雄ラットにおける D-リシンの併用により，腎臓における RI 標識ソマトスタチンアナログの取り込みが対照群に対して 60%まで減少しており，投与後 24 時間のラット腎臓のラジオオートグラフィーでは，皮質への集積が対照群の 40%，髄質外縁への集積が 31%まで減少したと報告した (4.2.1.1.1 参照)。Verwijnen らは雄ラットを用いて，D-リシンの投与経路 (静脈内投与及び経口投与) による腎集積へ与える影響を評価したところ，投与経路の違いよる影響はないことを示した (4.2.1.1.4 参照)。Rolleman らは，ラット膵臓腺房細胞癌由来細胞株 AR42J を移植した担癌モデルラット (雄) を用いて ^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate と D-リシンの同時投与による遅発性腎毒性の低減を報告した (4.2.1.1.5 参照)。^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate 投与時に D-リシンを同時投与した群では，同時投与しなかった群と比較し，血清クレアチニンと蛋白尿の顕著な低下，腎臓の組織切片でのダメージスコアのわずかな改善がみられた。この結果から，リシンの同時投与が腎機能のダメージを低減させると考えられた。

Behr らは，雌マウスに RI 標識した抗体断片 (Fab') と L-リシン又は L-アルギニンを投与したところ，アミノ酸の用量依存的に腎再吸収を阻害したことを報告している[6]。L-アルギニンの阻害効果は L-リシンの効果に比べ低かった。

2.4.2.2　副次的薬理試験

L-リシン及び L-アルギニンは天然アミノ酸であり，蛋白質合成又はクエン酸回路にて尿素に変換される。そのため，顕著な副次的薬理作用を示すとは考えられず，高用量の投与の際，考えられる影響は代謝への過負荷である。

2.4.2.3 安全性薬理試験

2.4.2.3.1 中枢神経系及び呼吸系に対する作用

非臨床及び臨床の文献で，リシン及びアルギニンが中枢神経系及び呼吸系に与える影響は報告されていない。

2.4.2.3.2 心血管系に対する作用

Boldt らはマウス及びヒト由来の組織を用いて，L-リシン及び L-アルギニンの心血管系に与える影響を評価した[7)]。ヒト右心房から単離した試料を用いた検討では，10 mmol/L L-リシンでコントロールに対して 2 倍高い陽性変時作用がみられた。この変化は, 5 mmol/L L-アルギニンの存在下でも影響を受けなかった。これらの実験で使用した L-リシン及び L-アルギニン濃度は臨床での暴露量に対し，高濃度であり，観察された作用は一過性のものであったため，臨床使用で同様の変化が生じる可能性は低いと考えられる。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用は報告されていない。

2.4.3 薬物動態試験

L-リシン及び L-アルギニンは天然アミノ酸であり，静脈内投与後，通常の薬物動態を経て，生化学の過程に利用される。

2.4.3.1 薬物動態

L-リシン及び L-アルギニンは静脈内投与後，通常の薬物動態過程，生化学過程を経る。細胞に取り込まれ，蛋白質合成に利用される。また，L-リシン及び L-アルギニンは分子量が小さいため，糸球体でろ過され，その後，尿細管及びヘンレループ (細い上行脚) を通過する際，アミノ酸トランスポーターを介して再吸収される。遊離した L-リシン，L-アルギニンの正電荷は，メガリンなどの尿細管の蛋白質の負電荷を中和することができる。

2.4.3.2 薬物動態学的薬物相互作用

薬物動態学的薬物相互作用は報告されていない。

2.4.3.3 その他の薬物動態試験

実施していない。

2.4.4 毒性試験

L-リシン及び L-アルギニンは, 天然に存在する生体分子であり, 血液や組織に存在する。L-リシンは必須アミノ酸であり, 1 日に 40～80 mg/kg/day (60 kg のヒトで 2.4～10.8 g/日) 経口摂取している。L-アルギニンは，充分と考えられる量を体内で合成することができるため，非必須アミノ酸と考えられている。両アミノ酸は一般に安全と認められる GRAS 添加剤と判断されており，経静脈栄養法の輸液として広く使われている。

L-リシン及び L-アルギニンの毒性に関する文献があるが，その多くが古く，また承認申請のための試験デザインにはなっていない。また，使用された溶液の特性や品質については記載されていない。

Gullino らは雄ラット (Sprague-Dawley) にアミノ酸を腹腔内投与した時の LD_{50} を評価した[8]。L-リシン塩酸塩の LD_{50} は 22 mmol/kg (4 g/kg，ヒト用量：体表面積換算で 643 mg/kg) であり，およそ 1～2 日で死亡した。L-アルギニン塩酸塩の LD_{50} は 18 mmol/kg (3.8 g/kg，ヒト用量：体表面積換算で 613 mg/kg) であり，およそ 17 時間～3 日で死亡した。投与後 10 分～2 時間で，呼吸困難，低体温，極度の衰弱が観察された。本剤の予定臨床用量はこの LD_{50} 値と差が小さいが，本剤は 4 時間かけて注入する持続投与であり，到達する血中濃度が，動物での急速投与と比較して顕著に低くなるため，安全性の問題はないと考えられる。

Fahley らは雌イヌを用いて，血中アンモニア増加に対する L-アルギニンの保護作用を示した[9]。L-アルギニンを含まないアミノ酸の混液を投与したところ注入開始から 3 時間まで，血中アンモニア濃度の上昇がみられた。7.4～10 mg N/kg/min で 60 分間アミノ酸混液を注入した実験では，死亡個体がみられたが，アミノ酸混液に 1～2%の L-アルギニンを添加した個体では，死亡又は毒性兆候はみられなかった。

また，雌イヌにおいて，L-リシンの用量依存的な高カリウム血症が報告されている[10]。これは，カリウムイオンにかわり L-リシンが細胞内貯蔵されるためと考えられる。この用量依存的な高カリウム血症について，ヒトでの報告がある[11]。2.5%リシン-アルギニン輸液 (それぞれ 25 g ずつ) の投与では，血清中カリウム濃度に明らかな変化はみられなかったが，L-リシン 75 g を投与すると一過性の高カリウム血症が観察された。しかし，この研究で生じた高カリウム血症は，心電図検査での異常は引き起こさなかった。このことから，リシン及びアルギニンの高用量非経口投与によって動物でみられた一過性の血中アンモニア濃度の上昇及び高カリウム血症は，代謝過負荷によるものと考えられる。

^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate 及び他の RI 標識ソマトスタチンアナログ投与において，腎保護のため様々なアミノ酸輸液が使用されているが，1 L に 25 g の L-リシン塩酸塩，及び 25 g の L-アルギニン塩酸塩が含まれる輸液が，腎被曝及び忍容性の観点から，最も適している【2.7.2 参照】。

2.4.5 総括及び結論

天然アミノ酸である L-リシン及び L-アルギニンの，ヒトにおけるペプチド及び蛋白質の腎吸収阻害は，1970 年代に Mogensen らによって報告された[12]。本剤は，この生理的作用を利用して，RI 標識されたペプチドの腎再吸収を抑え，腎臓の吸収線量を減少させることで，ルタテラ静注による PRRT における腎毒性の発現リスクの低減が期待できる。

非臨床の文献では，リシン及びアルギニンといった正電荷を持つアミノ酸は尿細管のメガリン／キュビリン複合体で非特異的にペプチドの吸収を妨げ，RI 標識ソマトスタチンアナログの腎再吸収が減少することを示した。

L-リシン及び L-アルギニンは天然アミノ酸であり，静脈内投与後は通常の薬物動態を経て，生化学の過程に利用される。両アミノ酸は GRAS 添加剤と判断されており，変異原性や遺伝毒性，催奇形性などは報告されておらず，これらの毒性は示さないと考えられている。また，これらの安全性は，長年使用されてきた経静脈栄養剤からもサポートされ，何よりも，^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate 及び他の RI 標識ソマトスタチンアナログを用いたがん治療において，海外における多くの臨床研究での使用実績で示されている。

文献から得た非臨床データは，^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate による PRRT での腎保護における，リシン及びアルギニンの安全性及び有効性をサポートしている。また，リシン及び

アルギニンの大容量の非経口投与は，代謝過負荷による血中アンモニア濃度の増加及び高カリウム血症を引き起こすことを示した。これらの症状は，大量のアミノ酸を急速投与又は急速持続投与することで引き起こされ，25 g の L-リシン塩酸塩，及び 25 g の L-アルギニン塩酸塩を含む 1000 mL の輸液を 4 時間かけて持続投与する本剤の用量及び用法では，問題とならないと考えられる。

2.4.6 参考文献一覧

1) Zaknun JJ, Bodei L, Mueller-Brand J, Pavel ME, Baum RP, Horsch D, et al. The joint IAEA, EANM, and SNMMI practical guidance on peptide receptor radionuclide therapy (PRRNT) in neuroendocrine tumours. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2013;40(5):800-16.
2) Kwekkeboom DJ, Krenning EP, Lebtahi R, Komminoth P, Kos-Kudla B, de Herder WW, et al. ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: peptide receptor radionuclide therapy with radiolabeled somatostatin analogs. Neuroendocrinology. 2009;90(2):220-6.
3) Hope TA, Abbott A, Colucci K, Bushnell DL, Gardner L, Graham WS, et al. NANETS/SNMMI Procedure Standard for Somatostatin Receptor-Based Peptide Receptor Radionuclide Therapy with ^{177}Lu-DOTATATE. J Nucl Med. 2019;60(7):937-43.
4) Balster DA, O'Dorisio MS, Summers MA, Turman MA. Segmental expression of somatostatin receptor subtypes sst_1 and sst_2 in tubules and glomeruli of human kidney. Am J Physiol Renal Physiol. 2001;280(3):F457-65.
5) Bhandari S, Watson N, Long E, Sharpe S, Zhong W, Xu SZ, et al. Expression of somatostatin and somatostatin receptor subtypes 1-5 in human normal and diseased kidney. J Histochem Cytochem. 2008;56(8):733-43.
6) Behr TM, Sharkey RM, Juweid ME, Blumenthal RD, Dunn RM, Griffiths GL, et al. Reduction of the renal uptake of radiolabeled monoclonal antibody fragments by cationic amino acids and their derivatives. Cancer Res. 1995;55(17):3825-34.
7) Boldt A, Gergs U, Frenker J, Simm A, Silber RE, Klockner U, et al. Inotropic effects of L-lysine in the mammalian heart. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2009;380(4):293-301.
8) Gullino P, Winitz M, Birnbaum SM, Cornfield J, Otey MC, Greenstein JP. Studies on the metabolism of amino acids and related compounds in vivo, I. toxicity of essential amino acids, individually and in mixtures, and the protective effect of L-arginine. Arch Biochem Biophys. 1956;64(2):319-32.
9) Fahey JL, Perry RS, McCoy PF. Blood ammonia elevation and toxicity from intravenous L-amino acid administration to dogs: the protective role of L-arginine. Am J Physiol. 1958;192(2):311-7.
10) Dickerman HW, Walker WG. Effect of cationic amino acid infusion on potassium metabolism in vivo. Am J Physiol. 1964;206:403-8.
11) Rolleman EJ, Valkema R, de Jong M, Kooij PPM, Krenning EP. Safe and effective inhibition of renal uptake of radiolabelled octreotide by a combination of lysine and arginine. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2003;30(1):9-15.

12) Mogensen CE, Sølling K. Studies on renal tubular protein reabsorption: partial and near complete inhibition by certain amino acids. Scand J Clin Lab Invest. 1977;37(6):477-86.