目次

2.6.6 毒性試験の概要文 2
2.6.6.1 まとめ 2
2.6.6.2 単回投与毒性試験 2
2.6.6.2.1 L-リシン及び L-アルギニン 2
2.6.6.2.1.1 マウス 2
2.6.6.2.1.2 ラット 3
2.6.6.2.1.3 イヌ 3
2.6.6.2.1.4 Review 文献からの情報 4
2.6.6.2.2 L-リシン及び L-アルギニンの混合液 4
2.6.6.3 反復投与毒性試験 4
2.6.6.4 遺伝毒性試験 4
2.6.6.5 がん原性試験 5
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 5
2.6.6.7 局所刺激性試験 5
2.6.6.8 その他の毒性試験 5
2.6.6.9 考察及び結論 5
2.6.6.10 図表 5
2.6.6.11 参考文献 5

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

ライザケア輸液 (以下, 本剤)は, 注射用水 1000 mL に, 25 g の L-リシン塩酸塩 (2.5%) 及び 25 g の L-アルギニン塩酸塩 (2.5%) を含む溶液である。ルタテラ静注の有効成分である ^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate や，その他の RI で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 において，アミノ酸輸液を静脈内投与した海外における臨床研究は多くあり, 本剤と同様に L-リシン及び L-アルギニンを含む輸液の併用の臨床的ベネフィットは遅くとも 1993 年に報告されている[1)]。臨床研究から，PRRT における腎臓の吸収線量の低減には，L-リシン及び L-アルギニンを含む輸液の注入は不可欠である[2,3)]。

海外における臨床研究において，アミノ酸輸液の安全性及び有効性に関する情報はすでに存在しているため，非臨床での毒性試験は実施していない。このセクションでは文献に記載された動物における毒性に関する情報を要約する。これらの文献の多くは，古いものであり，また，GLP 適用についての情報がない。しかしながら，これらの研究はルタテラ静注による PRRT における本剤の安全性及び有効性をサポートするものである。

本剤は，ルタテラ静注と同様に，8 週ごとに計 4 回投与する。長い投与間隔とアミノ酸の速い動態から, 次の投与までに L-リシン及び L-アルギニンが蓄積している可能性はない。

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 (Generally Recognized As Safe，GRAS) 添加剤と判断されており，経静脈栄養剤として広く使われている。

動物で観察された毒性兆候は，リシン及びアルギニンを短時間 (急速注入あるいは急速持続注入) で高用量非経口投与したことにより生じた代謝への過負荷による血中アンモニア濃度の上昇及び高カリウム血症であった。臨床では，1000 mL を 4 時間かけて投与するため，これらの毒性兆候は生じないと考えられる。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

本剤の非臨床毒性試験は実施していないが，L-リシン塩酸塩及び L-アルギニン塩酸塩に関する文献情報を以下に示す。

大部分の研究では，高用量のリシン及びアルギニンを急速注入あるいは急速持続注入 (6～20 mg/kg/min) しているため, 代謝への過負荷により血中アンモニア濃度の上昇や高カリウム血症など，高用量注入時に観察される影響がみられている。

さらに，いくつかの研究では対照群について言及されていない。そのため，観察された兆候が用量，投与速度によるものか言及できない。また，注入した溶液の品質について十分に記載されていない。

2.6.6.2.1 L-リシン及び L-アルギニン

2.6.6.2.1.1 マウス

Behr らは，マウス (BALB/c，雌)に，L-リシン塩酸塩を 3 時間間隔で 4 回腹腔内投与し，L-リシン塩酸塩の MTD を評価した[4)]。ただし，実験の主な目的は RI 標識した抗体フラグ

メントの腎再吸収量の評価をすることであったため,抗体フラグメントも投与されている。

L-リシン塩酸塩 2500 μg/g を 4 回腹腔内投与したマウスは, 3 ヶ月以上一般症状に異常はなく，腎臓を含めた組織の壊死も観察されなかった。この用量を超えると，嗜眠状態になり，胸水など体液が溜まった。これは大量の高張液を注入した影響と考えられる。

この結果から,マウスにおける L-リシン塩酸塩の MTD は 2500 μg/g の 4 回投与であり，この用量をヒトでの投与量に体表面積換算すると 200 mg/kg の 4 回投与となる。

2.6.6.2.1.2　ラット

Gullino らはラット (Sprague-Dawley) にアミノ酸を腹腔内投与した時の LD_{50} を評価した[5]。注射用水に溶解した各アミノ酸を 10～100 mmol/kg の用量で 3 mL 投与し，2 mL の水でシリンジを洗いこみながら注入した (1 群例数 40～60 匹)。

L-リシン塩酸塩の LD_{50} は 22 mmol/kg (4 g/kg) であり，およそ 1～2 日で死亡した。D-リシン塩酸塩の LD_{50} は 26 mmol/kg であり，L-リシン塩酸塩と差はない。L-アルギニン塩酸塩の LD_{50} は 18 mmol/kg (3.8 g/kg) であり，およそ 17 時間～3 日で死亡した。D-アルギニン塩酸塩は 17 mmol/kg であり，L-アルギニン塩酸塩と差はない。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。同時に試験したすべてのアミノ酸で共通の症状がみられた。

L-リシン塩酸塩 22 mmol/kg 及び L-アルギニン塩酸塩 18 mmol/kg は，ヒトでの用量に体表面積換算するとそれぞれ 643 mg/kg 及び 613 mg/kg に相当する。

しかし，この実験では動物実験における推奨容量を超えた量を注入しており，また，対照群の設定がない。そのため，結果が正しく評価されていない可能性がある。

2.6.6.2.1.3　イヌ

Dickerman らは，雌イヌ (雑種，例数不明) に L-リシン又は L-アルギニンを投与し，カリウムの血漿中濃度と排泄率を評価した[6]。L-リシンを 20，40，80 μmol/kg/min で，L-アルギニンを 40 μmol/kg/min で，静脈内に 1 時間持続投与した。L-リシンの注入量依存的にカリウム濃度の上昇が観察され，40，80 μmol/kg/min の注入で，カリウムクリアランスの上昇が観察された。また，左腎動脈へ直接リシンを注入した実験では，40 μmol/kg/min を超える用量でカリウムの排泄率が増加した。L-アルギニンでも同様の結果であった。また，40 μmol/kg/min 注入時のカリウムクリアランス (カリウムクリアランス／クレアチニンクリアランス比) は L-リシンでおよそ 0.8，L-アルギニンでおよそ 1.3 であった。臨床では，2.5%リシン-アルギニン輸液の投与で高カリウム血症の症状はでていないが，高用量 (75 g 等) で L-リシンを投与した際の血清中カリウム濃度の上昇は、みられている[7]。

Gougoux らは，麻酔下の雌イヌ (雑種) で L-リシン静脈内注入時の血清及び尿の生化学検査を行った[8]。10 mg/kg/min で 180 分，L-リシンを注入したところ，注入開始後 20 分から重炭酸塩の排泄がみられた。血漿及び尿の生化学検査での変化は，注入開始後 20 分から現れ，1 時間で統計学的有意差がみられた。尿には L-リシンが検出され，尿の浸透圧は減少した。血漿中ナトリウム濃度の減少は L-リシン注入量の増加に依存していた。L-リシンにより，腎臓の血流量は減少したが，GFR の変化はみられなかった。腎門部を結紮したイヌに L-リシンを注入すると高カリウム血症がみられ，L-リシンが細胞へ取り込まれ，貯蔵された。重炭酸塩の上昇は L-リシン塩酸塩 20 mg/kg/min の 投与後にみられた (処置動物 7 匹，対照動物 4 匹)。一方，重炭酸塩量は 5 mg/kg/min 用量でわずかに上昇した。これらの

結果から，臨床用量の 3～4 倍に相当する用量では糸球体ろ過量は影響を受けないが，重炭酸塩の近位尿細管での再吸収阻害が部分的に生じ，重炭酸塩尿排泄率を上昇させることが示唆された。

2.6.6.2.1.4 Review 文献からの情報

Silbernagl らは，ラットに L-リシンを 0.25 mmol/kg で静脈内投与すると尿細管における蛋白質の再吸収を阻害することを示した[9)]。血漿中濃度が 10～20 mmol/L となるような高用量の L-リシンの投与は，アルブミン排泄量を 5～20 μg/min 以上に上昇させる。また，IgG，トランスフェリン，セルロプラスミン，免疫グロブリンの軽鎖，及び ß2-マイクログロブリンの尿細管での再吸収もかなりの量の阻害が観察された。この用量は本剤のヒトで想定されている用量よりはるかに高い。

また，他の大部分のアミノ酸と同様に，L-リシンの高用量投与は脱アミノ作用による血中アンモニア濃度の上昇や，アルギニンの高用量投与でみられた高血糖，酸塩基平衡の乱れといった毒性的影響を引き起こす[9,10)]。

2.6.6.2.2 L-リシン及び L-アルギニンの混合液

動物における L-リシン及び L-アルギニン混合液に関する毒性情報はアミノ酸混液を用いた実験から推測する。

アミノ酸混液の LD_{50} から予測した個々のアミノ酸の LD_{50} は実測値より低く，個々のアミノ酸の毒性が上乗せされるとは考えにくい[5)]。特に，L-アルギニンは L-リシンを含む他のアミノ酸でみられる毒性に対し，保護作用がある[5,11)]。Fahley らは雌イヌ (雑種，N=14) を用いて，血中アンモニア濃度上昇に対する L-アルギニンの保護作用を示した[11)]。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，死亡個体があったが，アミノ酸混液に L-アルギニンを添加した個体では，死亡又は毒性兆候がみられたものはいなかった。L-アルギニンを含んだアミノ酸混液，又はアミノ酸混液の直前に L-アルギニンを投与した実験においては，血中アンモニア濃度の顕著な上昇はみられなかった。投与されたアミノ酸の総量や比率が増加すると，血中アンモニア濃度の上昇は大きく，かつ持続する。L-アルギニンが総アミノ酸数のうち 1～2%分投与液に含まれている場合，血中アンモニア濃度の上昇は検出されなかった。また，L-アルギニンをアミノ酸混液の前に投与すると保護作用を示した。これらの結果は，L-アルギニンはオルニチン回路を介し，血中のアンモニアを減少させることを示唆している。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

L-リシン塩酸塩及び L-アルギニン塩酸塩の文献から得られた情報は 2.6.6.2 に記載した。

臨床において，本剤の用量及び用法は限定的かつ，一般的なアミノ酸の薬物動態を示すことから，本剤の使用により慢性毒性が生じるとは考えにくい。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

L-リシン及び L アルギニンの遺伝毒性は報告されていない。

2.6.6.5 がん原性試験

L-リシン及びLアルギニンのがん原性は報告されていない。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

L-リシン及びLアルギニンの生殖発生毒性は報告されていない。

2.6.6.7 局所刺激性試験

L-リシン及びLアルギニンの局所刺激性は報告されていない。

2.6.6.8 その他の毒性試験

その他の毒性に関する情報は報告されていない。

2.6.6.9 考察及び結論

^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate や RI 標識ソマトスタチンアナログによる PRRT での腎保護のための L-リシン及び L-アルギニンを用いた臨床研究や，経静脈栄養剤の幅広い使用実績から，ルタテラ静注投与時に本剤 1000 mL を 4 時間かけて注入することは，安全かつ有効であると考えられる。L-リシン及び L-アルギニンそれぞれ最大約 25 g ずつの静脈内投与は 2000 年以来使用されてきた方法である【2.7.2 参照】。

リシン及びアルギニンの毒性に関する文献は限られている。大部分の文献は 1950，1960 年代のものであり，承認申請のための試験デザインではない。 動物で観察された毒性兆候は，短時間 (急速注入又は急速持続注入) でのリシン及びアルギニンの高用量非経口投与により生じる代謝への過負荷による血中アンモニア濃度の上昇及び高カリウム血症である。

非臨床の文献で示された血清中カリウム濃度の上昇や蛋白質の腎再吸収阻害は，臨床研究結果[7)]と一致している。 血清中カリウム濃度の上昇は，本剤より高用量の L-リシンを投与した患者でのみみられ，カリウムイオンにかわり L-リシンが細胞内貯蔵されたためと考えられる。一方，腎再吸収阻害は，ペプチドや蛋白質の尿細管再吸収メカニズムにおける正電荷アミノ酸の局所的な作用に起因している。ルタテラ静注による PRRT での腎保護における L-リシン及び L-アルギニンの有効性は後者によるものである。

^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate による PRRT における腎保護を目的としたアミノ酸輸液の海外での臨床使用実績，動物モデル及び患者での PRRT における腎保護でのリシン及びアルギニンの有効性及び安全性のデータから，本剤の申請する用量及び用法に関して安全性の懸念はなく，静脈内投与での追加の毒性試験は必要ないと判断した。

2.6.6.10 図表

なし

2.6.6.11 参考文献

1) Hammond PJ, Wade AF, Gwilliam ME, Peters AM, Myers MJ, Gilbey SG, et al. Amino acid infusion blocks renal tubular uptake of an indium-labelled somatostatin analogue. Br J Cancer. 1993;67(3):1437-39.

2) 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.
3) 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.
4) 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.
5) 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.
6) Dickerman HW, Walker WG. Effect of cationic amino acid infusion on potassium metabolism in vivo. Am J Physiol. 1964;206:403-408.
7) 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.
8) Gougoux A, Lemieux G, Vinay P. Bicarbonaturic effect of lysine in the dog. Kidney Int. 1978;14(3):215-27.
9) Silbernagl S. The renal handling of amino acids and oligopeptides. Physiol Rev. 1988;68(3):911-1007.
10) Milne MD. Pharmacology of amino acids. Clinical Pharmacology and Therapeutics. 1968;9(4):484-516
11) 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.

目次

2.6.7 毒性試験概要表 2
2.6.7.1 毒性試験 : 一覧表 2

[redacted]

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験 : 一覧表

実施していない。