2.4 非臨床試験の概括評価

目次

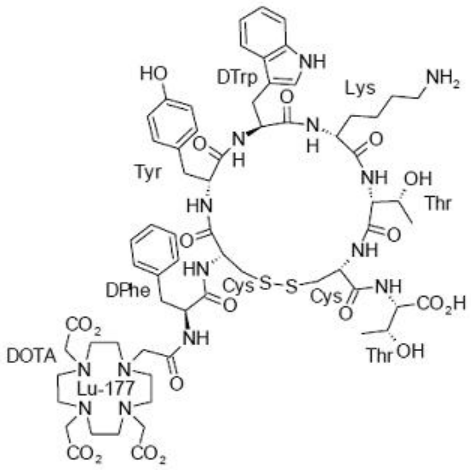
略号一覧表 2
専門用語の一覧 3
2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.2 薬理試験 5
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 5
2.4.2.2 安全性薬理試験並びに薬力学的薬物相互作用試験 5
2.4.3 薬物動態試験 6
2.4.4 毒性試験 8
2.4.4.1 単回投与毒性試験 9
2.4.4.2 反復投与毒性試験 9
2.4.4.3 遺伝毒性試験 10
2.4.4.4 その他の毒性試験 10
2.4.4.4.1 放射性毒性 10
2.4.5 総括及び結論 10
2.4.6 参考文献一覧 11

略号一覧表

【略号一覧】

略号	英語	日本語
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳がん抵抗性蛋白質
Cl	Chlorine	塩素
CYP	Cytochrome P450	シトクロム P450
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
DTPA	Diethylene triamine pentaacetic acid	ジエチレントリアミン五酢酸
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
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
hERG	Human ether-a-go-go related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HPLC-UV-RAD	High-performance liquid chromatography with ultra violet/ visible and radiometric detection	紫外/可視-放射能検出高速液体クロマトグラフィー
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
MTD	Maximum tolerated dose	最大耐量
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	No observed effect level	無作用量
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオントランスポーターポリペプチド
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
RI	Radioisotope	放射性同位体
RP-HPLC	Reverse-phase high-performance liquid chromatography	逆相高速液体クロマトグラフィー
SSTR	Somatostatin receptor	ソマトスタチン受容体
TK	Thymidine kinase	チミジンキナーゼ
Tyr	Tyrosine	チロシン
^{111}In	Indium-111	インジウム 111
^{175}Lu	Lutetium-175	ルテチウム 175
^{177}Lu	Lutetium-177	ルテチウム 177

【ルタテラ静注の略号】

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） ルテチウムドータオクトレオテート（^{177}Lu）		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

専門用語の一覧

用語	説明
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
プラナー画像	放射性薬剤から放出されるγ線を平面的に計測し，放射能分布を平面的に表示した画像

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

ルタテラ静注は Advanced Accelerator Applications 社が海外で承認を取得している「Lutathera」と同一の製剤であり，非臨床試験は Advanced Accelerator Applications 社が国外で実施した試験である。

ヒト SSTR は様々な組織で発現し[1]，特に神経内分泌腫瘍で過剰発現していることから，診断及び治療の有効な標的の一つとされている[2]。本剤の有効成分は，ソマトスタチンアナログである Tyr^3-Octreotate にキレート剤の DOTA を付加させ，^{177}Lu で標識した ^{177}Lu-DOTA^0-Tyr^3-Octreotate (INN : lutetium (^{177}Lu) oxodotreotide)であり，SSTR の中でも特に 2 型に高い親和性を有している。^{177}Lu は半減期が 6.647 日の β 線放出核種である。^{177}Lu の放出する β 線の組織中での最大飛程は約 2.2 mm (平均約 0.67 mm) であり，周辺の正常組織への傷害が抑えられ，腫瘍への効率的な放射線照射が可能となる。

本剤の承認申請のための非臨床試験は ICH M3 (R2)「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」，ICH S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」及び FDA Guidance for industry Developing Medical Imaging Drug and Biological Products Part 1: Conducting Safety Assessments に従い，実施された [redacted] は，[redacted] ミーティング (20[redacted] 年[redacted] 月) [redacted] ミーティング (20[redacted] 年[redacted] 月) にて欧州医薬品委員会に [redacted] ミーティング (2[redacted] 年[redacted] 月) にて欧州医薬品委員会及び FDA に相談及び同意されたものである。特に [redacted] ミーティング (2[redacted] 年[redacted] 月) では，[redacted] について議論し，承認された。また，試験は欧州医薬品委員会及び FDA の助言を考慮し，計画，実施したものである。

大部分の薬理試験及び体内分布試験では ^{177}Lu-DOTA^0-Tyr^3-Octreotate を用いている。*In vitro* の結合実験では，SSTR2 型に高い親和性及び選択性を示し，動物モデルを用いた *in vivo* 試験では，^{177}Lu-DOTA^0-Tyr^3-Octreotate は SSTR 陽性腫瘍に特異的に取り込まれ，低い放射性毒性で生存期間の有意な延長を示した。これらのデータには文献から得た知見も含まれている。

^{177}Lu-DOTA^0-Tyr^3-Octreotate の毒性プロファイルは，放射性である ^{177}Lu-DOTA^0-Tyr^3-Octreotate 及び非放射性の ^{175}Lu-DOTA^0-Tyr^3-Octreotate の両ペプチドで評価した。

非放射性の ^{175}Lu-DOTA^0-Tyr^3-Octreotate を用いた毒性試験は，げっ歯類及び非げっ歯類を用いて GLP 適用下で実施した (2.6.6 参照)。ラットは，^{177}Lu-DOTA^0-Tyr^3-Octreotate の薬理試験データを取得した動物であることから，一般毒性試験を実施する動物として選択した。非げっ歯類は，毒性試験で一般的に使われているイヌを選択した。イヌのゲノムでは，SSTR の 5 種のサブタイプのうち 4 種 (1，2，3 及び 5 型)の遺伝子がマッピングされている。また，イヌでは，ヒト胃腸膵神経内分泌腫瘍と同様に，SSTR2 型を高発現するインスリン産生膵島細胞腫が発生することが知られている[3]。このように，イヌとヒトにおける SSTR の遺伝的な類似性と，腫瘍組織及び正常組織での発現パターンの類似性から，毒性試験の動物種としてイヌは適切であると考えられる。これらの試験で使用した ^{175}Lu-DOTA^0-Tyr^3-Octreotate は，$^{177}LuCl_3$ の代わりに非放射性同位体である $^{175}LuCl_3$ を用いて臨床用の薬剤と同じ方法で製造した。本剤には放射線安定性を高めるため，添加剤とし

てゲンチジン酸及びアスコルビン酸が含まれているが，^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate は非放射性のため添加していない。これら二つの添加剤は，放射線により生じる酸化からペプチドを保護するために添加されており，試験結果に影響を与えないと考えられる。投与液中に含まれる総 DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate，^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate，及び DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の含量はバリデートされた RP-HPLC 法により確認した。非臨床試験で用いた投与液には，非標識の DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate，及び標識された ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate が含まれており，これは標識体と非標識体を含む本剤の特徴を反映している。また，ごく微量の[redacted]が検出されているが (2.6.7 参照)，これらは[redacted]として同定された。一部の品質成績書では，これら不純物は分解物ではなく，総ペプチド量に含まれる。また，これらの不純物が ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate 及び DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate と異なる毒性プロファイルを示すとは考えられない。

放射性毒性は，正常ラット及び担癌モデルラットを用いた文献から考察した (GLP 適用外)。ラット及びヒトで，薬物動態及び線量解析が実施されていたため，追加の毒性試験は実施していない (2.5 及び 2.6.4 参照)。ヒトにおける経時的なプラナー画像から，薬物動態及び吸収線量解析による組織や臓器への影響に関する情報を得ているためである。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate は，SSTR2 型に対して非常に高い結合活性を示した。また，^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate は，SSTR2 型陽性のラット膵臓腺房細胞癌由来細胞へ内在化し，更に SSTR 陽性のラット膵癌由来細胞に対して，*in vitro* で強い抗腫瘍活性を示した。SSTR 陽性のラット膵癌由来細胞を移植したラットを用いた ^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の *in vivo* 薬効試験では，投与量に依存した抗腫瘍効果が認められ，腫瘍消失が確認された。^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate を複数回投与した場合，単回投与した場合よりも腫瘍が消失したラットの割合が高く，複数回投与の有用性が示唆された。

^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の有効性に関するデータは，海外第 I/II 相臨床試験 (Erasmus MC 試験) で示されていることから，国内での開発において，モデル動物を用いた非臨床データからヒトへの外挿は必要ないと考えられる【2.7.3 参照】。

2.4.2.2 安全性薬理試験並びに薬力学的薬物相互作用試験

すべての安全性薬理試験は GLP 適用下で，ICH S7A「安全性薬理試験ガイドライン」に従い実施した。

(1) 中枢神経系に対する作用

ラットに ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate を 1250，5000，20000 μg/kg 静脈内投与した。いずれの用量においても，体温変化及び中枢神経系への影響は認められなかった。よって，^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の NOEL は 20000 μg/kg (実投与量 19928 μg/kg は体表面積換算で予定臨床投与量の約 771 倍) 以上と考えられた。

(2) 心血管系に対する作用

^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の hERG テール電流に対する影響を hERG 導入細胞を用いて評価した結果，hERG テール電流に対する影響は認められなかった。この結果は，^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の投与による心筋活動電位の延長や QT 間隔の延長の可能性が低いことを示唆している。また，イヌ (ビーグル) を用いて ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate を単回静脈内投与し，血圧，心拍数，体温及び心電図 (PR 間隔，PQ 間隔，QT 間隔及び QRS 間隔) を評価した結果, 急速投与 (80, 250 及び 800 μg/kg) 及び持続投与 (40 及び 80 μg/kg, 2.5 mL/kg を 1.2 mL/min) のいずれの場合も，血圧上昇に伴う反射性徐脈が観察された。しかしながら，40～800 μg/kg (体表面積換算で予定臨床投与量の約 5～107 倍に相当) を投与した場合，心臓刺激伝導時間や体温への影響はなく，不整脈を誘発しないことが示され，^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate による心臓伝達系組織に対する影響がないことが示唆された。

(3) 呼吸系に対する作用

^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate 20000 μg/kg を静脈内投与したラットで，いくつかの呼吸系パラメータ (呼吸数，呼気及び吸気時間，呼気及び吸気最大流量，分時換気量) に，呼吸刺激作用が認められた。また，5000 μg/kg 投与群でも，吸気最大流量及び吸気時間に，わずかな影響が認められた。1250 μg/kg 投与群では陰性対照群と比較して顕著な変化は観察されなかった。よって，本試験での ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の NOEL は 1250 μg/kg (実投与量 1154 μg/kg は体表面積換算で予定臨床投与量の約 45 倍に相当) と考えられた。

薬力学的薬物相互作用は実施していない。^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の SSTR へ結合は，他のソマトスタチンアナログと競合する。そのため，本剤の投与の前にはソマトスタチンアナログを休薬すべきである。

2.4.3 薬物動態試験

(1) 分布

^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の体内分布試験は，正常ラット及び腫瘍移植モデルラットを用いて実施した。ラットにおける血液中放射能の消失は二相性であり, 生物学的半減期は，初期相が約 15 分，消失相は約 10.5 時間であった。なお，消失相で残存している放射能は，わずかであった。また，腫瘍移植モデルを用いた体内分布試験において，腫瘍及び SSTR を高発現する組織である膵臓に相対的に高い集積が認められ，腎臓においても高い集積が認められた。また，Tyr^{3}-Octreotate を併用することで腫瘍を含む SSTR を高発現する組織への集積が著しく減少した。

DTPA 及び DOTA をキレーターとした Tyr^{3}-Octreotate の ^{177}Lu 標識体の体内分布の違いについて，腫瘍移植モデルラットを用いて評価した。DTPA をキレーターとして使用した場合，^{177}Lu の骨集積が経時的に増加した。このため，DOTA を ^{177}Lu のリガンドとして用いることが好ましいと考えられた。

^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の血漿蛋白結合について，ヒト血漿での非結合画分の割合は濃度依存的に上昇した (総ペプチド量 1 μg/mL の時 56.9 ± 14.8%, 5 μg/mL の時 72.3 ± 24.2%)。ラット血漿及びイヌ血漿においても同様の傾向がみられ，ラット血漿で 37.6 ± 11.6%，68.3 ± 20.2%，イヌ血漿で 56.5 ± 12.0%，62.3 ± 20.8%であった。

イヌを用いた体内分布試験は実施していない。海外第 I/II 相臨床試験サブスタディにお

いて，ヒトでの被曝線量及び薬物動態についてのデータがすでに存在していたためである【2.7.2 参照】。そのため，動物のデータからヒトへの外挿は必要ないと判断した。また，[redacted] ミーティング (20[redacted] 年[redacted] 月) 及び [redacted] ミーティング (20[redacted] 年[redacted] 月) において，[redacted] であると考えられるという結論を得た。

(2) 代謝

代謝に関する *in vitro* 試験は非放射性の ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate を用いて実施した。

ラット，イヌ，ヒトの肝細胞及び腎臓ホモジネートを用いた代謝試験，CYP 阻害/誘導試験は，GLP 適用下にて，薬物相互作用に関するガイドライン (Guideline on the investigation of drug interactions (EMA) 及び Guidance for Industry on Drug Interaction Studies (FDA)) に従い実施された。

ラット，イヌ及びヒト単離肝細胞を用いた ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate 及び DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の *in vitro* 薬物代謝試験にて，両ペプチドはいずれの肝細胞でも代謝されなかったが，ラット，イヌ及びヒトの腎ホモジネートを用いた ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate 及び DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の *in vitro* 薬物代謝試験では，両ペプチドは速やかに代謝された。代謝プロファイリングでは，ラットで 5 種，イヌで 8 種，ヒトで 7 種の代謝物が検出されたが，ヒト特有の代謝物が検出されなかったことから，ラット及びイヌは ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の毒性プロファイルを評価する種として適していると考えられた。

また ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate は，ヒトで想定される血漿中濃度の範囲においてヒト CYP に対する阻害及び誘導作用は示さなかった。

(3) 排泄

腫瘍移植モデルラットを用いた ^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の体内分布試験の結果，投与後 24 時間の時点の尿中排泄率は約 67%であり，^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate は主に腎臓を介して排泄されることが示された。また，^{111}In-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate を投与した体内分布の結果，投与後 1 及び 4 時間の尿中に排泄された放射能の大部分は未変化体であった。

(4) 薬物動態学的薬物相互作用

Caco-2 細胞株を用いた P-糖蛋白質との薬物相互作用の検討では，^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate は P-糖蛋白質の基質ではなく，阻害作用も示さなかったことから，本トランスポーターを介した薬物相互作用はないと推察された。

^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate が，各種ヒトトランスポーター (BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2, 及び OCT1) の阻害剤となる可能性を *in vitro* で評価した。結果，BCRP，OATP1B1，OATP1B3，OAT1，及び OAT3 を介したプローブ基質の輸送阻害は観測されなかった。OCT2 及び OCT1 は，いずれも 10 μmol/L の ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate で，わずかではあるが阻害された。この濃度は，^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の予定臨床用量で想定される最高血漿中濃度 (70 nmol/L) よりはるかに高いことから，臨床において ^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate 投与による OCT2 及び OCT1 阻害の影響はないと考えられた。

(5) 血清及び血漿中安定性

血清及び血漿中での安定性をヒト血清，及びラット血漿を用いて評価した。文献では ^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate は少なくとも 24 時間ヒト血清中で安定であることが報告されており，このことは血清中の蛋白へのトランスキレーションは生じないことを示唆している[4,5,6]。RI 標識していない DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate を用いた *in vitro* ヒト血清中安定性試験にて，37ºC，40 分までのインキュベーションで未変化体の割合は 90.7～94.3%であった。1 時間では 84.3%となり，96 時間までにわずかに減少したが，変化は小さかった。また，^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate を添加したラット血漿を最長 96 時間までインキュベーションし，HPLC-UV-RAD を用いて分析した結果，放射能ピーク面積の平均値はすべての時点で 96%以上であった。このことから ^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate はラット血漿中で少なくとも 96 時間は安定であると考えられた。

^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate は SSTR2 型を発現する腫瘍に高い集積を示し，血中からは速やかに消失して，腎排泄される。また，血漿中蛋白結合，代謝，阻害，薬物動態学的薬物相互作用の結果から，臨床使用において ^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate による薬物相互作用は生じないと考えられる。

2.4.4 毒性試験

毒性試験では，放射性である ^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate 及び非放射性の ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の両ペプチドを評価した。

放射性毒性は，正常ラット及び担癌モデルラットを用いた文献から考察した (GLP 適用外)。

非放射性の ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate は，げっ歯類及び非げっ歯類を用いて GLP 適用下で評価した。実施した試験を以下に示す。

一般毒性試験

- ラットを用いた単回静脈内投与毒性試験 (実投与量: 1150，4845，20455 µg/kg，体表面換算で予定臨床投与量の約 45，188，792 倍に相当)
- ラットを用いた 42 日間反復静脈内投与毒性試験 (2 週間間隔で 4 回投与) 及び 3 ヶ月間回復性試験 (投与量: 1250，5000，20000 µg/kg，体表面換算で予定臨床投与量の約 48，194，774 倍に相当)
- イヌを用いた単回静脈内投与毒性試験 (投与量: 400, 800, 1600, 3200, 6400, 10000 µg/kg，体表面換算で予定臨床投与量の約 53，107，213，427，853，1333 倍に相当)
- イヌを用いた 43 日間反復静脈内投与毒性試験 (2 週間間隔で 4 回投与) 及び 3 ヶ月間回復性試験 (投与量: 80，500，3200 µg/kg，体表面換算で予定臨床投与量の約 11，67，427 倍に相当)

遺伝毒性試験

・ 細菌を用いる復帰突然変異試験

・ マウスリンフォーマ TK 試験 (Fluctuation Method)

本剤は放射線医薬品であることから， 遺伝毒性は *in vitro* 試験で判断することで十分であり，*in vivo* の遺伝毒性試験は必要ないと考えられた。また，がん原性試験及び生殖発生毒性試験は，短期投与であること，悪性腫瘍を適応とした薬剤であること，放射線医薬品であることを考慮し，実施の必要がないと判断した。これらは [redacted] ミーティング (20[redacted] 年[redacted] 月) 及び [redacted] ミーティング (2[redacted] 年[redacted] 月) において，欧州医薬品委員会及び FDA と同意を得たものである。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

雌性ラットで実施した単回投与毒性試験では最高用量の 20455 μg/kg (体表面積換算で予定臨床投与量の約 792 倍に相当) まで，いかなる毒性徴候も生じなかった。

イヌ単回静脈内投与毒性試験にて，用量漸増法による ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate 400，800，1600，3200 μg/kg の静脈内漸増投与及び 6400 又は 10000 μg/kg の静脈内単回投与により，死亡は認められなかった。400～3200 μg/kg の漸増投与で消化管の赤色変化，6400 及び 10000 μg/kg の用量で消化管の暗赤色変化を認めたが，その他に明らかに ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate に起因する毒性は認めなかった。本試験に基づき，イヌ反復静脈内投与毒性試験の投与量を，80，500 及び 3200 μg/kg とした。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

ラット反復静脈内投与毒性試験では，^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate を 1250, 5000 又は 20000 μg/kg の用量で 4 回 (2 週間に 1 回) 静脈内投与した。臨床での投与スケジュール (8 週間に 1 回，計 4 回) に近づけ，かつ毒性兆候が生じやすいよう投与間隔を狭く設定した。いずれの用量でも致死は誘発されず，重大な毒性徴候を生じなかった。5000 及び 20000 μg/kg を投与した雌雄で膵臓腺房細胞のアポトーシスが検出された。よって，NOEL は 1250 μg/kg (実投与量の最小値 1240 μg/kg は体表面積換算で予定臨床投与量の約 48 倍に相当) であると考えられた。

イヌ反復静脈内投与毒性試験では ^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate を 80，500 又は 3200 μg/kg の用量で 4 回 (2 週間に 1 回) 静脈内投与した。投与スケジュールはラットにおける反復投与毒性試験と同様に設定した。すべての用量で死亡及び重大な毒性徴候は生じなかった。80 又は 500 μg/kg を投与したイヌでは臨床症状として，一過性の唾液分泌過多，液状便が認められた。最高用量である 3200 μg/kg では，これらの臨床症状はより顕著であり，更に，異常発声，投与期間中のわずかな摂餌量の低下を認めた。しかし，すべての変化は可逆的であった。病理組織学的検査の結果，Day44 で軽微から中等度の膵腺房細胞のアポトーシスが認められた。500 及び 3200 μg/kg 投与群において，アポトーシスの発生の程度が，対照群と比べ増加しており，用量依存性が認められた。よって，実質的な NOAEL は 80 μg/kg (実投与量の最小値 92.5 μg/kg は体表面積換算で予定臨床投与量の約 12 倍に相当) であると考えられた。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験では，^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate は，S9 代謝活性化の有無に関わらず，細菌を用いる復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ TK 試験のいずれも陰性であった。

2.4.4.4 その他の毒性試験

2.4.4.4.1 放射性毒性

ラットにおける ^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の急性及び遅発性の放射性毒性を文献から考察する。急性放射性毒性試験にて，^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate を 4536.2 MBq/kg までの用量でラットに投与した結果，血液生化学検査，赤血球及び血小板数はすべての時点で正常であった。162.8 MBq/kg を超える用量で，白血球数が用量依存的に減少したが，投与後 1 ヶ月で全例が正常値まで回復した。以上より，本検討での ^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の MTD は 4536.2 MBq/kg (体表面積換算で予定臨床投与量の約 6 倍に相当) 以上であると推定された。

遅発性放射性毒性試験にて，^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate を 555 MBq までの用量でラットに投与した結果，投与後 101～200 日の時点で用量依存的な腎毒性が発現した。^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate の分割投与 (555 MBq の単回投与の代わりに 278 MBq を 1 週間間隔で 2 回投与) 及び 0.4 mg/g の D-リシンの併用によって腎毒性が低減された。

放射性毒性に関する追加の非臨床試験は実施していない。ヒトにおける経時的なプラナー画像から，薬物動態及び吸収線量解析による組織や臓器への影響に関する情報がすでにあり，重要臓器における上限値を超えないことが予想されているためである【2.7.2 参照】。

2.4.5 総括及び結論

In vitro 及び *in vivo* の非臨床試験において，^{177}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate は SSTR2 型に高い親和性を示し，腫瘍移植モデル動物において生存期間を有意に延長することを示した。

毒性試験の結果，^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate は，体表面積換算で予定臨床投与量の 48 倍 (ラットにおける NOEL (反復投与毒性試験)), 及び 12 倍 (イヌにおける実質的な NOAEL (反復投与毒性試験))の安全域を示し，良好な安全性を有していると言える。また，中枢神経系に与える影響はみられず，心血管系に与える影響では，血圧上昇に伴う反射性徐脈が観察されたが，心臓刺激伝導時間や体温への影響はなく，臨床において不整脈を誘発する可能性は低いと考えられた。呼吸系へ与える影響では，高用量において，いくつかの呼吸系パラメータに，呼吸刺激作用が認められたのみであった (ラットにおける NOEL (1154 μg/kg) は体表面積換算で予定臨床投与量の約 45 倍に相当)。更に，遺伝毒性試験では，細菌を用いる復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ TK 試験のいずれも陰性であった。

^{175}Lu-DOTA^{0}-Tyr^{3}-Octreotate を用いた CYP 阻害/誘導，薬物動態学的薬物相互作用，血漿蛋白結合などの *in vitro* 試験から，臨床使用において問題となる薬物相互作用は生じないと考えられる。

また，本薬は血清及び血漿中で安定であることが示された。

これらの非臨床試験の結果，本剤は神経内分泌腫瘍の治療において安全かつ有効であることが示唆された。

2.4.6 参考文献一覧

1) Patel YC. Somatostatin and its receptor family. Front Neuroendocrinol. 1999;20(3):157-98.
2) Reubi JC, Macke HR, Krenning EP. Candidates for Peptide Receptor Radiotherapy Today and in the Future. J Nucl Med. 2005;46 Suppl 1:67S-75S.
3) Robben JH, Visser-Wisselaar HA, Rutteman GR, van Rijk PP, van Dongen AJ, Voorhout G, et al. *In vitro* and *in vivo* detection of functional somatostatin receptors in canine insulinomas. J Nucl Med. 1997;38(7):1036-42.
4) Cutler CS, Hennkens HM, Sisay N, Huclier-Markai S, Jurisson SS. Radiometals for combined imaging and therapy. Chem rev. 2013;113(2):858-83.
5) Kretschy D, Koellensperger G, Hann S. Stability assessment of different chelating moieties used for elemental labeling of bio-molecules. Metallomics 2011;3(12):1304-9.
6) Breeman WA, van der Wansem K, Bernard BF, van Gameren A, Erion JL, Visser TJ, et al. The addition of DTPA to [^{177}Lu-DOTA^{0},Tyr^{3}]octreotate prior to administration reduces rat skeleton uptake of radioactivity. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2003;30(2):312-5.