1 緒言

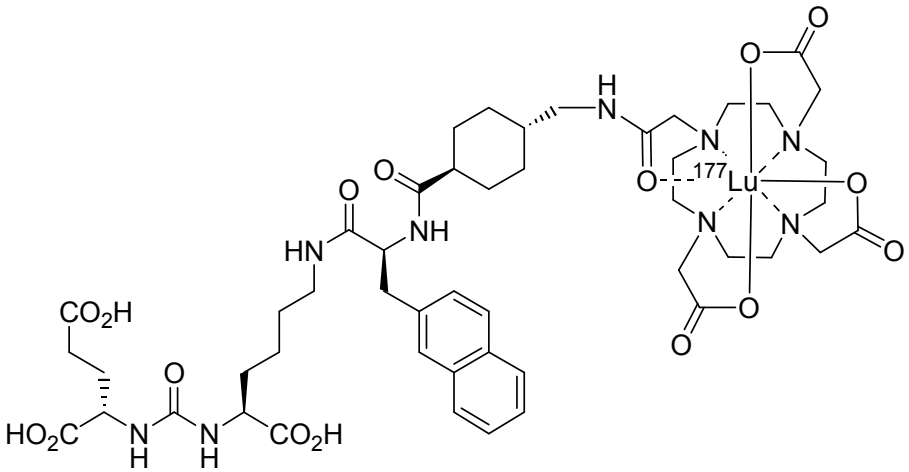
Lutetium (^{177}Lu) vipivotide tetraxetan（[^{177}Lu]Lu-PSMA-617 又は AAA617，以下，^{177}Lu-PSMA-617 と記載）は，前立腺特異的膜抗原（PSMA）を標的とした放射性リガンド療法（RLT）で用いられる新規低分子化合物であり，転移性去勢抵抗性前立腺癌（mCRPC）の治療薬として開発された。[^{177}Lu]Lu-PSMA-617 は，^{177}Lu-PSMA-617 を指す新しい命名法によるものであり，概要文では参照した引用文献及び試験報告書で記載された名称と一貫性を保つため ^{177}Lu-PSMA-617 と表記した。また，非放射性サロゲート化合物として用いた ^{175}Lu 標識の PSMA-617 及び対照として用いた[^{68}Ga]Ga-PSMA-617 は，それぞれ ^{175}Lu-PSMA-617 及び ^{68}Ga-PSMA-617 と表記した。

PSMA は，葉酸ヒドロラーゼ又はグルタミン酸カルボキシペプチダーゼ II としても知られる膜貫通タンパク質であり，前立腺癌の画像診断や治療の生物学的標的として知られている（Silver et al. 1997）。PSMA は，ポリ-γ-グルタミル葉酸に対して N-アセチル化-α-結合酸性ジペプチダーゼ（NAALADase）活性を有しており（Pinto et al. 1996，Smith-Jones et al. 2000，Hillier et al. 2009），その酵素活性部位は細胞外ドメインに存在する。PSMA は，グルタミン酸-尿素-リジン構造を有するリガンドが結合可能な細胞表面の位置を呈する（O'Keefe et al. 2018）。

PSMA は，ヒト前立腺癌細胞（LNCaP）から見いだされた抗原マーカーとして 1987 年に初めて報告された（Horoszewicz et al. 1987）。その後，ほぼすべての前立腺癌が一定程度 PSMA を発現しており，低分化型，転移性，ホルモン不応性の症例で発現亢進していることが明らかになった（Wright et al. 1995，Silver et al. 1997，Bostwick et al. 1998，Murphy et al. 1998，Sweat et al. 1998，Mannweiler et al. 2009，Queisser et al. 2015）。また，PSMA の発現と進行性で悪性度の高い転移性アンドロゲン非依存性前立腺癌への進展には相関が認められている（Ross et al. 2003）。腫瘍組織と非腫瘍組織との間で PSMA の発現レベルに差があることから，PSMA を標的とした放射性診断及び放射線治療は支持されており，mCRPC 患者にとって重要な選択肢になり得るものと考えられる。

当初，PSMA の酵素活性を直接阻害する低分子リガンドの開発に焦点が当てられ（Zhou et al. 2005，Tsukamoto et al. 2007，Barinka et al. 2008），その後 PSMA を標的とした放射性リガンド療法や診断法が開発された（Maresca et al. 2009，Hillier et al. 2009，Benešová et al. 2015）。PSMA-617 は，グルタミン酸-尿素-リジン構造及び ^{177}Lu のキレート剤である DOTA からなる新規化合物であり，^{177}Lu-PSMA-617は，PSMA-617のキレート剤である DOTA に ^{177}Luが標識された構造を有する（Figure 1-1）。

Figure 1-1 ^{177}Lu-PSMA-617 の構造式



本製剤は，容積あたりの比活性が 1000 MBq/mL の ^{177}Lu-PSMA-617 を含む滅菌注射液であり，酢酸，酢酸ナトリウム，ゲンチシン酸，アスコルビン酸ナトリウム，及びジエチレントリアミン五酢酸が添加剤として含まれる。^{177}Lu-PSMA-617 の推奨用量は 1 回 7.4 GBq（6 週間間隔で最大 6 回まで）である。^{177}Lu-PSMA-617 は，PSMA-617 を ^{177}Lu で放射能標識して製造される。^{177}Lu-PSMA-617 の化学名は，2-[4-[2-[[4-[[(2S)-1-[[(5S)-5-carboxy-5-[[(1S)-1,3-dicarboxy propyl]carbamoylamino]pentyl]amino]-3-naphthalen-2-yl-1-oxopropan-2-yl]carbamoyl]cyclohexyl]methylamino]-2-oxoethyl]-4,7,10-tris(carboxylatomethyl)-1,4,7,10-tetrazacyclododec-1-yl]acetate; lutetium-177(3+)である。分子式は $C_{49}H_{68}{}^{177}LuN_9O_{16}$，分子量は 1216.06 g/mol である。

PSMA-617 は，PSMA への親和性，内在化，及び薬物動態の改善のため構造修飾が加えられている。PSMA-617 のような低分子化合物は，固形癌に対して高い浸透性を有し，循環血中から速やかに消失することから，治療薬として利点を有する。さらに，放射性核種 ^{177}Lu は物理学的半減期が 6.647 日であり，β 線の短い飛程等優れた特性を有している（Sgouros et al. 2020）。^{177}Lu-PSMA-617 は，標的部位に結合後，エンドサイトーシスを介する内在化により ^{177}Lu とともに標的の癌細胞内に取り込まれ，そのまま保持される（Rajasekaran et al. 2003，Eder et al. 2012）。その後，^{177}Lu から放出される β 線により腫瘍細胞等に対して DNA 損傷を誘発し，抗腫瘍活性を示すと考えられる。

以下に，効能又は効果及び用法及び用量（案）を記載する。

効能又は効果

前立腺特異的膜抗原（PSMA）陽性の遠隔転移を有する去勢抵抗性前立腺癌

用法及び用量

通常，成人にはルテチウムビピボチドテトラキセタン（^{177}Lu）として 1 回 7.4 GBq（7,400 MBq）（200 mCi）を 6 週間間隔で 6 回静脈内投与する。

2 参考文献

[Barinka C, Byun Y, Dusich CL, et al. (2008)] Interactions between human glutamate carboxypeptidase II and urea-based inhibitors: structural characterization. J Med Chem; 51(24):7737-43.

[Benešová M, Schäfer M, Bauder-Wüst U, et al. (2015)] Preclinical evaluation of a tailor-made DOTA-conjugated PSMA inhibitor with optimized linker moiety for imaging and endoradiotherapy of prostate cancer. J Nucl Med; 56(6):914-20.

[Bostwick DG, Pacelli A, Blute M, et al. (1998)] Prostate specific membrane antigen expression in prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma: a study of 184 cases. Cancer; 82(11):2256-61.

[Eder M, Schäfer M, Bauder-Wüst U, et al. (2012)] ^{68}Ga-complex lipophilicity and the targeting property of a urea-based PSMA inhibitor for PET imaging. Bioconjug Chem; 23(4):688-97.

[Hillier SM, Maresca KP, Femia FJ, et al. (2009)] Preclinical evaluation of novel glutamate-urea-lysine analogues that target prostate-specific membrane antigen as molecular imaging pharmaceuticals for prostate cancer. Cancer Res; 69(17):6932-40.

[Horoszewicz JS, Kawinski E, Murphy GP (1987)] Monoclonal antibodies to a new antigenic marker in epithelial prostatic cells and serum of prostatic cancer patients. Anticancer Res; 7(5B):927-35.

[Mannweiler S, Amersdorfer P, Trajanoski S, et al. (2009)] Heterogeneity of prostate-specific membrane antigen (PSMA) expression in prostate carcinoma with distant metastasis. Pathol Oncol Res; 15:167-72.

[Maresca KP, Hillier SM, Femia FJ, et al. (2009)] A series of halogenated heterodimeric inhibitors of prostate specific membrane antigen (PSMA) as radiolabeled probes for targeting prostate cancer. J Med Chem; 52(2):347-57.

[Murphy GP, Elgamal AAA, Su SL, et al. (1998)] Current evaluation of the tissue localization and diagnostic utility of prostate specific membrane antigen. Cancer; 83(11):2259-69.

[O'Keefe DS, Bacich DJ, Huang SS, et al. (2018)] A perspective on the evolving story of PSMA biology, PSMA-based imaging, and endoradiotherapeutic strategies. J Nucl Med; 59(7):1007-13.

[Pinto JT, Suffoletto BP, Berzin TM, et al. (1996)] Prostate-specific membrane antigen: a novel folate hydrolase in human prostatic carcinoma cells. Clin Cancer Res; 2:1445-51.

[Queisser A, Hagedorn SA, Braun M, et al. (2015)] Comparison of different prostatic markers in lymph node and distant metastases of prostate cancer. Mod Pathol; 28(1):138-45.

[Rajasekaran SA, Anilkumar G, Oshima E, et al. (2003)] A novel cytoplasmic tail MXXXL motif mediates the internalization of prostate-specific membrane antigen. Mol Biol Cell; 14(12):4835-45.

[Ross JS, Sheehan CE, Fisher HAG, et al. (2003)] Correlation of primary tumor prostate-specific membrane antigen expression with disease recurrence in prostate cancer. Clin Cancer Res; 9(17):6357-62.

[Sgouros G, Bodei L, McDevitt MR, et al. (2020)] Radiopharmaceutical therapy in cancer: clinical advances and challenges. Nat Rev Drug Discov; 19(9):589-608.

[Silver DA, Pellicer I, Fair WR, et al. (1997)] Prostate-specific membrane antigen expression in normal and malignant human tissues. Clin Cancer Res; 3:81-5.

[Smith-Jones PM, Vallabahajosula S, Goldsmith SJ, et al. (2000)] In vitro characterization of radiolabeled monoclonal antibodies specific for the extracellular domain of prostate-specific membrane antigen. Cancer Res; 60(18):5237-43.

[Sweat SD, Pacelli A, Murphy GP, et al. (1998)] Prostate-specific membrane antigen expression is greatest in prostate adenocarcinoma and lymph node metastases. Urology; 52(4):637-40.

[Tsukamoto T, Wozniak KM, Slusher BS (2007)] Progress in the discovery and development of glutamate carboxypeptidase II inhibitors. Drug Discov Today; 12(17-18):767-76.

[Wright GL Jr, Haley C, Beckett ML, et al. (1995)] Expression of prostate-specific membrane antigen in normal, benign, and malignant prostate tissues. Urol Oncol; 1(1):18-28.

[Zhou J, Neale JH, Pomper MG, et al. (2005)] NAAG peptidase inhibitors and their potential for diagnosis and therapy. Nat Rev Drug Discov; 4(12):1015-26.

目　次

目　次 2
表 一 覧 2
図 一 覧 3
略号一覧 4
1 薬理試験の概要文 5
2 効力を裏付ける試験 5
2.1 *In vitro* 試験 5
2.1.1 PSMA に対する結合親和性 5
2.1.2 細胞内取り込み及び内在化 6
2.1.3 前立腺癌細胞に対する抗腫瘍活性 7
2.2 *In vivo* 試験 8
2.2.1 PC-3 PIP 担癌マウスにおける体内分布 8
2.2.2 LNCaP 担癌マウスにおける体内分布と腫瘍への取り込み 9
2.2.3 マウス前立腺癌モデルにおける抗腫瘍効果 10
2.2.4 *In vivo* 試験における忍容性 14
2.3 作用機序 15
3 副次的薬理試験 15
3.1 オフターゲット作用の検討 15
3.2 非標識 PSMA-617 及び ^{175}Lu-PSMA-617 の細胞に対する作用 15
4 安全性薬理試験 16
4.1 *In vitro* 安全性薬理試験 16
4.1.1 hERG チャネル電流に及ぼす影響 16
4.2 *In vivo* 安全性薬理試験 16
4.2.1 中枢神経系に及ぼす影響 16
4.2.2 呼吸系に及ぼす影響 17
4.3 心血管系安全性薬理試験 17
5 薬力学的薬物相互作用試験 17
6 考察及び結論 18
7 参考文献 19

表 一 覧

Table 2-1 PSMA 陽性 PC-3 PIP 細胞又は PSMA 陰性 PC-3 flu 細胞を異種移植したマウスにおける ^{177}Lu-PSMA-617 の体内分布 8
Table 6-1 安全性薬理試験における PSMA-617 の安全域 18

図 一 覧

Figure 2-1 PSMA 陽性 PC-3 PIP（a）及び PSMA 陰性 PC-3 flu 細胞（b）を用いた PSMA 標的放射性リガンドの取り込みと内在化 7
Figure 2-2 PSMA 陽性 LNCaP 細胞を異種移植したマウスにおける ^{68}Ga-PSMA-617 及び ^{177}Lu-PSMA-617 の体内分布 9
Figure 2-3 RM1-hPSMA 細胞同種移植モデルにおける ^{177}Lu-PSMA-617 の体内分布に対する比活性の影響 10
Figure 2-4 RM1-hPSMA 腫瘍に対する ^{177}Lu-PSMA-617 投与による DNA 損傷 11
Figure 2-5 RM1-hPSMA 腫瘍に対する ^{177}Lu-PSMA-617 の抗腫瘍効果 12
Figure 2-6 RM1-PGLS 腫瘍に対する ^{177}Lu-PSMA-617 の総放射線量の影響 13
Figure 2-7 担癌マウスの血球数及びヘモグロビン濃度に及ぼす ^{177}Lu-PSMA-617 単回投与の影響 14

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
BCA	bicinchoninic acid	ビシンコニン酸
CT	computed tomography	コンピュータ断層撮影
DTPA	diethylenetriaminepentaacetic acid	ジエチレントリアミン五酢酸
FBS	fetal bovine serum	ウシ胎児血清
FCS	fetal calf serum	仔ウシ血清
FDG	fluorodeoxyglucose	フルオロデオキシグルコース
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HEK-293	human embryonic kidney-293	ヒト胎児腎細胞 293
hERG	human ether-à-go-go related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
IA	injected activity	投与放射活性
ID	injected dose	投与量
LLN	lower limit of the normal range	正常値の下限
LNCaP	lymph node carcinoma of the prostate	-
MBq	megabecquerel	メガベクレル
mCRPC	metastatic castration-resistant prostate cancer	転移性去勢抵抗性前立腺癌
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide	-
NAALADase	N-acetylated-α-linked-acidic dipeptidase	N-アセチル化-α-結合酸性ジペプチダーゼ
PC-3	human prostate cancer cell line	-
PET	positron emission tomography	陽電子放出断層撮影法
PSMA	prostate-specific membrane antigen	前立腺特異的膜抗原
rhPSMA	recombinant human PSMA	リコンビナントヒト PSMA
RLT	radioligand therapy	放射性リガンド療法
RPMI	Roswell Park Memorial Institute	-
SD	Sprague-Dawley	-
2-PMPA	2-(phosphonomethyl)pentanedioic acid	2-（ホスホノメチル）ペンタン二酸
^{68}Ga	Gallium-68	ガリウム 68
^{175}Lu	Lutetium-175	ルテチウム 175
^{44}Sc	Scandium-44	スカンジウム 44

1 薬理試験の概要文

前立腺特異的膜抗原（PSMA）は，葉酸ヒドロラーゼ又はグルタミン酸カルボキシペプチダーゼ II として知られる膜貫通タンパク質であり，前立腺癌の画像診断や治療の生物学的標的として確立されている（Silver et al. 1997）。PSMA は，ほぼすべての前立腺癌で高発現している。一方で，十二指腸粘膜，腎近位尿細管，唾液腺等の正常組織での発現レベルは前立腺癌の数百分の一と限定的である（Bostwick et al. 1998，Ghosh and Heston 2004，Mannweiler et al. 2009）。さらに，PSMA の発現と進行性で悪性度の高い転移性アンドロゲン非依存性前立腺癌への進展には相関が認められている（Wright et al. 1995，Silver et al. 1997，Bostwick et al, 1998，Murphy et al. 1998，Sweat et al. 1998，Ross et al. 2003，Mannweiler et al. 2009，Queisser et al. 2015）。腫瘍組織と非腫瘍組織との間で PSMA の発現レベルに差があることから，PSMA を標的とした放射性診断及び放射線治療は転移性去勢抵抗性前立腺癌（mCRPC）患者にとって有用と考えられる。

Lutetium (^{177}Lu) vipivotide tetraxetan（[^{177}Lu]Lu-PSMA-617 又は AAA617，以下，^{177}Lu-PSMA-617 と記載）は，PSMA を標的とした放射性リガンド療法（RLT）で用いられる新規低分子化合物であり，mCRPC に対する治療薬として開発されている。^{177}Lu-PSMA-617 は，PSMA を標的とするグルタミン酸-尿素-リジン構造，キレート剤である DOTA，及びそれらを繋ぐリンカーの 3 つの部位から構成される（Benešová et al. 2015）。^{177}Lu-PSMA-617 は，標的である PSMA に結合後，エンドサイトーシスを介した内在化により ^{177}Lu とともに標的癌細胞内に取り込まれる（Rajasekaran et al. 2003，Eder et al. 2012）。癌細胞内に保持された後，DOTA にキレートされた放射性核種 ^{177}Lu により抗腫瘍活性を示す。放射性核種である ^{177}Lu の物理学的半減期は 6.647 日であり，β 線の半減期や短い飛程等優れた特性を有している（Sgouros et al. 2020）。既承認薬ルタテラ®でも ^{177}Lu が用いられていることから，^{177}Lu の標的への暴露による治療効果は十分に証明されている。

^{177}Lu-PSMA-617 の RLT としての特性を明らかにするため，^{177}Lu-PSMA-617，^{68}Ga-PSMA-617，並びに非標識 PSMA-617，及び非放射性標識サロゲート（^{175}Lu-PSMA-617 及び ^{nat}Lu-PSMA-617）を用いた薬理試験及び体内分布試験を実施した。

2 効力を裏付ける試験

2.1 *In vitro* 試験

2.1.1 PSMA に対する結合親和性

PSMA-617 の PSMA に対する結合親和性について，PSMA 陽性 LNCaP 細胞を用いたリガンド競合アッセイ並びに N-アセチル化-α-結合酸性ジペプチダーゼ（NAALADase）活性を指標とした酵素阻害アッセイにより検討した（Benešová et al. 2015）。

リガンド競合アッセイでは，LNCaP 細胞（1×10^5 個／ウェル）を ^{68}Ga 標識[Glu-urea-Lys-(Ahx)]$_2$-HBED-CC（0.75 nM）存在下で PSMA-617 又は ^{nat}Lu 標識 PSMA-617（0~5000 nM）と室温で 1 時間

インキュベーションし，細胞を洗浄後，結合放射能をガンマカウンターで測定した。非線形回帰モデルを用いて Ki 値を求めたところ，PSMA-617 の Ki 値は 2.34 ± 2.94 nM（平均値 ± 標準偏差，n = 7）であった。また，^{nat}Lu 標識 PSMA-617 の Ki 値は 6.91 ± 1.32 nM であった。

NAALADase 阻害アッセイでは，基質として Ac-Asp-Glu（最終濃度 40 µM）を用い，アッセイ用緩衝液中で終濃度 0.05～1000 nM の PSMA-617 と混合した。その後，rhPSMA 溶液（0.4 µg/mL）を添加し，37°C で 1 時間インキュベーションした。95°C で 5 分間の加熱により反応を停止させた後，マイクロプレートリーダー（励起波長 330 nm，蛍光波長 450 nm）にて蛍光強度を測定した。非線形回帰モデルを用いて Ki 値を求めたところ，Ki 値は 0.37 ± 0.2 nM（平均値 ± 標準偏差，n = 2）であった。

以上の成績から，PSMA-617 の PSMA に対する高い結合親和性が示された。

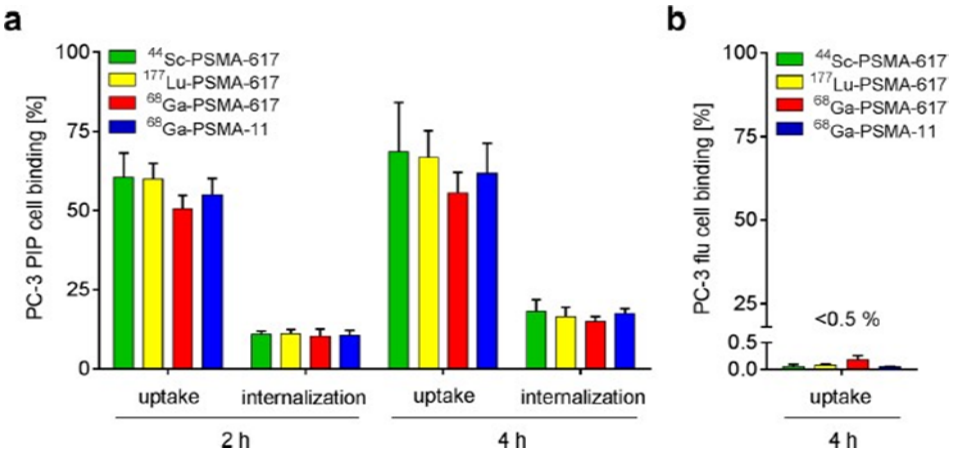
2.1.2 細胞内取り込み及び内在化

PSMA 陽性のヒト前立腺癌細胞である PC-3 PIP 細胞を用いて ^{177}Lu-PSMA-617 の細胞内取り込みを評価した。対照として，^{177}Lu-PSMA-617 とは標識核種が異なる ^{44}Sc-PSMA-617，^{68}Ga-PSMA-617，及び ^{68}Ga-PSMA-11 を用いた。また，PSMA への特異性を評価する目的で，PSMA 陰性のヒト前立腺癌細胞（PC-3 flu 細胞）を用いて細胞内取り込みを評価した（Umbricht et al. 2017）。

PC-3 PIP 又は PC-3 flu 細胞を 12 ウェルプレートに播種し（5 × 10^5 細胞／ウェル），37°C で一晩培養した後，放射性標識 PSMA リガンド（25 µL，7.5 pmol）と 37°C で 2 又は 4 時間インキュベーションした。インキュベーション終了後，放射性リガンドの総取り込み量（細胞表面上の PSMA 結合画分と内在化画分）を測定した。プレート洗浄後，各ウェルに NaOH（1 M，1 mL）を加えて細胞を溶解した後，細胞懸濁液サンプルをガンマカウンターで測定し，放射性リガンドの内在化率を測定した。細胞懸濁液をホモジナイズした後，Micro BCA タンパク質 Assay キットを用いて各サンプルのタンパク量を測定し，放射能の補正に用いた。

その結果，^{177}Lu-PSMA-617 添加後 2 時間又は 4 時間で添加量の約 55%～70%が細胞内に取り込まれ，約 10%～15%が内在化した（Figure 2-1）。一方，PSMA 陰性 PC-3 flu 細胞では，^{177}Lu-PSMA-617 の取り込みは 0.5%未満に低下し，^{177}Lu-PSMA-617 の PSMA 特異的な取り込みと内在化が示された。異なる放射性核種（^{177}Lu-PSMA-617 及び ^{44}Sc-PSMA-617）又はリガンド（^{68}Ga-PSMA-617 及び ^{68}Ga-PSMA-11）の間で細胞内取り込みに明らかな差はみられなかった。

Figure 2-1　PSMA 陽性 PC-3 PIP（a）及び PSMA 陰性 PC-3 flu 細胞（b）を用いた PSMA 標的放射性リガンドの取り込みと内在化



Source：Umbricht et al. 2017

uptake：取り込み，internalization：内在化

図の縦軸で示す結果は，300 µg/mL タンパク質あたりの全添加放射能に対するパーセンテージ（平均値 ± 標準偏差，n = 3～5）を表し，有意検定には一元配置の分散分析を用いた。

2.1.3　前立腺癌細胞に対する抗腫瘍活性

PSMA 陽性 PC-3 PIP 細胞及び PSMA 陰性 PC-3 flu 細胞に対する ^{177}Lu-PSMA-617 の抗腫瘍活性を MTT アッセイ及びコロニー形成アッセイにより評価した（Müller et al. 2019）。MTT アッセイでは細胞の代謝を確認することで細胞の生存能を，また，コロニー形成アッセイでは足場非依存的な生存能を評価することでがん細胞としての生存率をそれぞれ確認し，両者に対する ^{177}Lu-PSMA-617 の影響を評価した。

PSMA 陽性 PC-3 PIP 細胞及び PSMA 陰性 PC-3 flu 細胞（2.5×10^3 個／ウェル）を，^{177}Lu-PSMA-617（終濃度 0.01～20 MBq/mL）存在下で 10%FCS 含有 FFRPMI 培地（葉酸欠乏，ビタミン B12 及びフェノールレッド含有 RPMI 培地）を用いて 37°C で 6 日間インキュベーションした後，MTT アッセイ（Franken et al. 2006）を実施した。また，別途，コロニー形成アッセイを実施した（細胞濃度 200 個／ウェル，^{177}Lu-PSMA-617 終濃度 0.01～10 MBq/mL，インキュベーション時間 4 時間）。対照としてキレート剤であるジエチレントリアミン五酢酸（DTPA）に ^{177}Lu を標識した ^{177}Lu-DTPA（0.01～20 MBq/mL）を用い，PSMA 陽性 PC-3 PIP 細胞に対する非特異的な活性の有無を確認した。いずれのアッセイにおいても細胞の生存率を算出して評価指標とした。

その結果，MTT アッセイ及びコロニー形成アッセイのいずれも，^{177}Lu-PSMA-617 の 0.5 MBq/mL 以上の曝露により PSMA 陽性 PC-3 PIP 細胞の生存率の低下がみられたが，PSMA 陰性 PC-3 flu 細胞では 10 MBq/mL でも生存率にほとんど変化はみられなかった。また，^{177}Lu-DTPA の曝露により PSMA 陽性 PC-3 PIP 細胞の生存率に変化がみられなかったことから，^{177}Lu-PSMA-617 の PSMA 発現細胞に特異的な抗腫瘍活性が確認された。

2.2 *In vivo* 試験

2.2.1 PC-3 PIP 担癌マウスにおける体内分布

PSMA 陽性 PC-3 PIP 細胞又は PSMA 陰性 PC-3 flu 細胞を異種移植したマウスを用いて ^{177}Lu-PSMA-617 の体内分布について検討した（Umbricht et al. 2017）。

雌胸腺欠損ヌードマウス（Balb/c nude）の右肩に PC-3 PIP 細胞（6×10^6 個），左肩に PC-3flu 細胞（5×10^6 個）を皮下移植した。移植から 2 週間後に ^{68}Ga-PSMA-11（約 5 MBq，1 nmol）を静脈内投与し，投与 6 時間後までの各時点で組織を採取した後，重量測定後，ガンマカウンターを用いて放射活性を測定した。

その結果，^{177}Lu-PSMA-617 は PSMA 陽性 PC-3 PIP 腫瘍に速やかに移行し，投与 15 分後での取り込み量は 32.3 ± 3.54%IA/g で，投与 4 時間後に最大取り込み（56.0 ± 8.0%IA/g）に達した（Table 2-1）。

一方，PSMA 陰性 PC-3 flu 腫瘍での放射活性は血液以下であり，非特異的な蓄積は認められなかった。投与 15 分後での ^{177}Lu-PSMA-617 の腎臓の分布は 30.8 ± 4.52%IA/g であったが，その後速やかに消失し，投与 2 時間後の貯留量は約 4%IA/g，6 時間後では 3%IA/g 以下に低下した。

Table 2-1 PSMA 陽性 PC-3 PIP 細胞又は PSMA 陰性 PC-3 flu 細胞を異種移植したマウスにおける ^{177}Lu-PSMA-617 の体内分布

	^{177}Lu-PSMA-617（%IA/g）				
	投与後 15 分	投与後 30 分	投与後 2 時間	投与後 4 時間	投与後 6 時間
血液	7.28 ± 0.32	3.05 ± 0.81	0.07 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
心臓	2.87 ± 0.17	1.32 ± 0.28	0.06 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00
肺	4.76 ± 0.55	2.51 ± 0.44	0.15 ± 0.03	0.07 ± 0.01	0.06 ± 0.02
脾臓	2.85 ± 0.38	1.55 ± 0.05	0.21 ± 0.03	0.15 ± 0.04	0.11 ± 0.01
腎臓	30.8 ± 4.52	22.6 ± 1.78	3.97 ± 0.56	3.68 ± 1.05	2.47 ± 0.28
胃	1.70 ± 0.12	0.98 ± 0.35	0.08 ± 0.02	0.08 ± 0.03	0.05 ± 0.01
腸	1.64 ± 0.12	1.13 ± 0.45	0.14 ± 0.06	0.07 ± 0.05	0.03 ± 0.00
肝臓	1.63 ± 0.27	0.90 ± 0.15	0.13 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01
唾液腺	2.11 ± 0.19	1.01 ± 0.27	0.10 ± 0.03	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.00
筋肉	1.78 ± 0.21	0.75 ± 0.20	0.04 ± 0.02	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01
骨	2.03 ± 0.10	1.07 ± 0.27	0.12 ± 0.07	0.06 ± 0.02	0.05 ± 0.01
PC-3 PIP 腫瘍	32.3 ± 3.54	47.0 ± 3.52	45.8 ± 4.02	56.0 ± 8.0	55.4 ± 1.67
PC-3 flu 腫瘍	2.49 ± 0.45	1.22 ± 0.32	0.13 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.06 ± 0.01
PC-3 PIP 腫瘍／血液	4.45 ± 0.66	16.0 ± 3.52	633 ± 54.5	2315 ± 131	2988 ± 351
PC-3 PIP 腫瘍／肝臓	20.4 ± 5.48	53.1 ± 6.68	346 ± 22.7	598 ± 33.2	617 ± 66.2
PC-3 PIP 腫瘍／腎臓	1.06 ± 0.14	2.09 ± 0.24	11.6 ± 0.87	15.7 ± 2.79	22.5 ± 1.79

Source：Umbricht et al. 2017

PC-3 PIP 又は PC-3 flu 細胞を異種移植したマウス（胸腺欠損ヌードマウス）に ^{177}Lu-PSMA-617（5 MBq, 1 nmol，100～200 µL）を静脈内投与した。投与 6 時間後までの各時点でマウスを解剖し，組織を採取した後，重量及び放射活性を測定した。結果は放射線崩壊を考慮して補正され，組織 1 g あたりの投与放射活性（IA）の割合（%IA/g）として示した。値は平均値 ± 標準偏差で示す（n = 3）。

2.2.2 LNCaP 担癌マウスにおける体内分布と腫瘍への取り込み

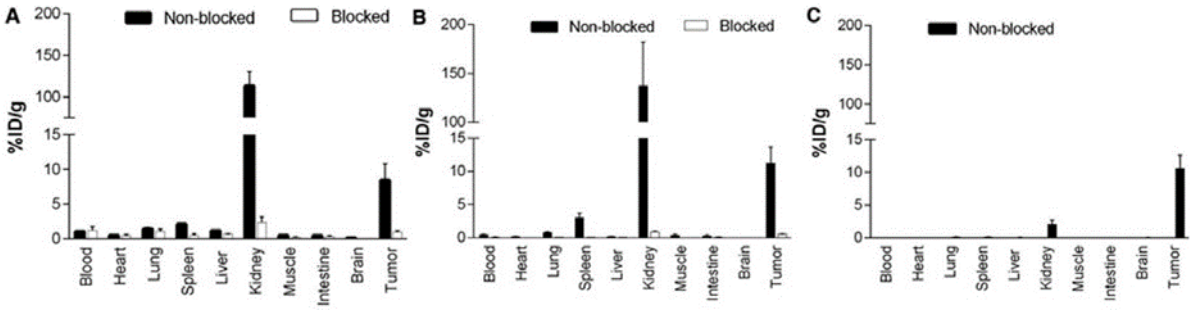
ヒト前立腺リンパ結節癌由来の PSMA 陽性 LNCaP 細胞を異種移植したマウスを用いて ^{177}Lu-PSMA-617 の体内分布を検討した（Benešová et al. 2015）。陽電子放出断層撮影法（PET）での取り込みを確認するため，対照として ^{68}Ga-PSMA-617 を用いた。

BALB/c ヌードマウスに PSMA 陽性 LNCaP 細胞を皮下移植し，腫瘍体積が約 1 cm^3 になった時点で ^{177}Lu-PSMA-617 又は ^{68}Ga-PSMA-617（～1 MBq，0.06 nmol）を尾静脈内投与した。投与 1 及び 24 時間後にマウスを解剖し，組織を採取して分布放射能をガンマカウンターで測定した。

その結果，^{177}Lu-PSMA-617 は，PSMA 陽性 LNCaP 腫瘍に特異的に取り込まれ，投与 1 時間後の放射活性は 11.20 ± 4.17%ID/g であった。この取り込みは PSMA 阻害薬である 2-PMPA（2 mg/kg）の同時投与により阻害された（0.64 ± 0.07%ID/g）（Figure 2-2）。^{177}Lu-PSMA-617 は腎臓に速やかに取り込まれ，この取り込みは 2-PMPA 投与により阻害された。投与 24 時間後においても ^{177}Lu-PSMA-617 の PSMA 陽性 LNCaP 腫瘍への取り込みは確認された（10.58 ± 4.50%ID/g）。一方，肝臓（0.08 ± 0.03%ID/g），肺（0.11 ± 0.13%ID/g），脾臓（0.13 ± 0.05%ID/g）での取り込みは低かった。

投与 1 時間後の腫瘍内の放射活性は，血液の 22.1 倍，筋肉の 25.6 倍であり，投与 24 時間後ではより顕著であった（腫瘍／血液：1058 倍，腫瘍／筋肉：529 倍）。なお，^{68}Ga-PSMA-617 も ^{177}Lu-PSMA-617 と同様の分布が認められた。

Figure 2-2 PSMA 陽性 LNCaP 細胞を異種移植したマウスにおける ^{68}Ga-PSMA-617 及び ^{177}Lu-PSMA-617 の体内分布



Source：Benešová et al. 2015

値は組織 1 g あたりの投与量（ID）の割合（%ID/g）で示す（平均値 ± 標準偏差，n = 3）。

A：^{68}Ga-PSMA-617 投与 1 時間後の分布，**B**：^{177}Lu-PSMA-617 投与 1 時間後の分布，**C**：^{177}Lu-PSMA-617 投与 24 時間後の分布

Blocked：2-PMPA（2 mg/kg）を ^{68}Ga-PSMA-617 又は ^{177}Lu-PSMA-617 と同時投与した。

2.2.3 マウス前立腺癌モデルにおける抗腫瘍効果

ヒト PSMA 発現マウス前立腺癌細胞（RM1-hPSMA 又は RM1-PGLS）をマウスの皮下に同種移植した前立腺癌モデルを用いて ^{177}Lu-PSMA-617 の体内分布，DNA 損傷作用，及び抗腫瘍効果に対する比活性と総放射線量の影響を評価した（Fendler et al. 2017）。

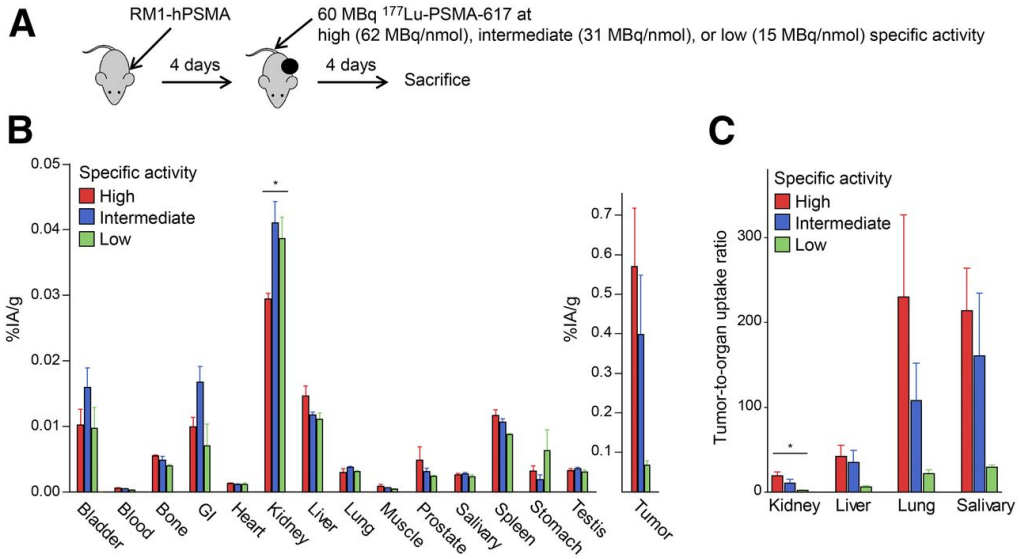
体内分布，DNA 損傷作用，及び抗腫瘍効果に対する比活性の影響

マウスの肩部に RM1-hPSMA 細胞（1×10^5個）を皮下移植し，移植 4 日後に総放射線量 60 MBq の ^{177}Lu-PSMA-617 を異なる比活性（15，31，及び 62 MBq/nmol）で静脈内投与した。

比活性が低いほど多くの質量の非標識 PSMA-617 を含むことから，PSMA-617 の質量の違いにより ^{177}Lu-PSMA-617 の体内分布に影響を及ぼすかどうか検討した。

検討の結果，^{177}Lu-PSMA-617 の最大比活性 62 MBq/nmol で腫瘍への取り込みは最大であり，最も高い腫瘍/各組織の取り込み比が認められた（Figure 2-3）。

Figure 2-3 RM1-hPSMA 細胞同種移植モデルにおける ^{177}Lu-PSMA-617 の体内分布に対する比活性の影響



Source：Fendler et al. 2017

C57BL/6 免疫不全マウスに RM1-hPSMA（1×10^5 個）を皮下移植し，移植の 4 日後に総放射線量 60 MBq の ^{177}Lu-PSMA-617 を，0（溶媒），15，31，及び 62 MBq/nmol で静脈内投与した（n = 6/群）。投与 4 日後に各群 3 例のマウスから組織を採取し，分布放射能をガンマカウンターで測定した。各群で残り 3 例は有効性の評価に用いた（後述）。

A に試験デザイン，B に ^{177}Lu-PSMA-617 の各組織への取り込み，C に ^{177}Lu-PSMA-617 の腫瘍/各組織の取り込み比を示す。図中の□High は 62 MBq/nmol，□Intermediate は 31 MBq/nmol，□Low は 15 MBq/nmol 群を示す。

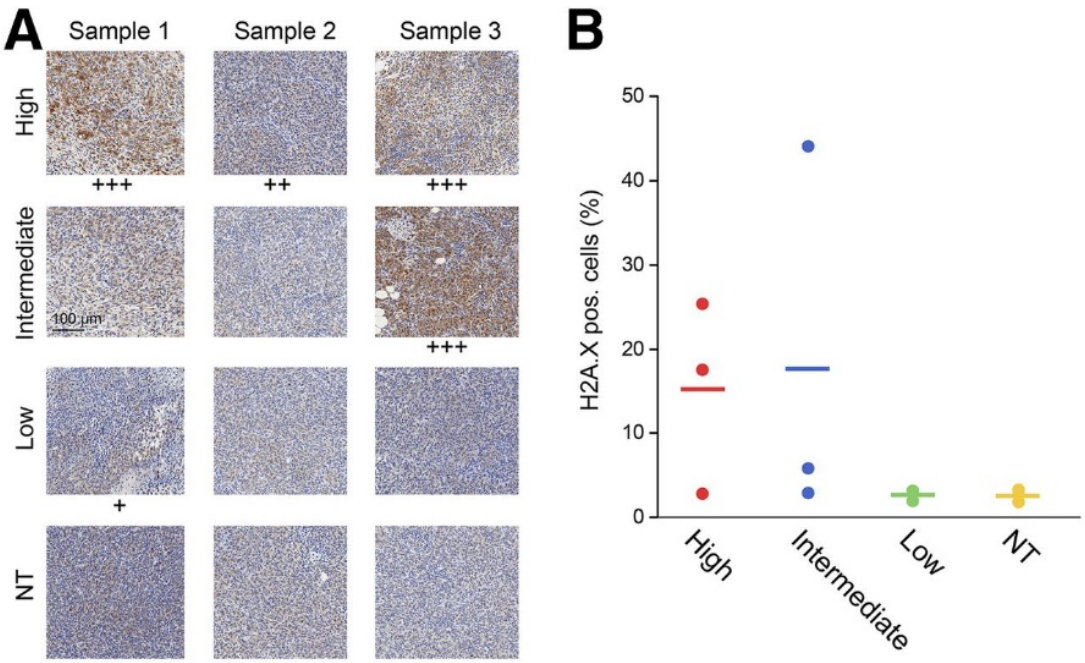
値は組織 1 g あたりの放射活性（IA）の割合（%IA/g）で示す（平均値 ± 標準誤差，n = 3）。

62 MBq/nmol 群と 15 及び 31 MBq/nmol 群との間に有意差（*$p < 0.05$）が認められた（Mann-Whitney 検定）。

GI：胃腸管

また，投与4日後に採取した腫瘍組織を用いて抗γ-H2A.X（phospho S139）免疫組織化学染色を実施し，DNA 損傷を評価した（n = 3/群）。代表的な画像を Figure 2-4 に示す。^{177}Lu-PSMA-617 を 31 及び 62 MBq/nmol 投与した 6 例中 4 例（67%）の腫瘍で鏡検と画像解析のいずれにおいても有意な DNA 損傷（5%以上の陽性細胞）が確認された。15 MBq/nmol を投与したマウスでは，3 例中 1 例（33%）の腫瘍で有意な DNA 損傷が確認された。溶媒対照群では全例が陰性（陽性細胞 5%未満）であった。

Figure 2-4　　RM1-hPSMA 腫瘍に対する ^{177}Lu-PSMA-617 投与による DNA 損傷



Source：Fendler et al. 2017

C57BL/6 免疫不全マウスに RM1-hPSMA（1 × 10^5 個）を皮下移植し，移植 4 日後に総放射線量 60 MBq の ^{177}Lu-PSMA-617 を，0（溶媒），15，31，及び 62 MBq/nmol で静脈内投与した（n = 6/群）。投与 4 日後に採取した腫瘍組織に γ-H2A.X 免疫組織化学的染色を施し，DNA 損傷を評価した。

図中の●High は 62 MBq/nmol，●Intermediate は 31 MBq/nmol，●Low は 15 MBq/nmol，●NT は溶媒投与群を示す。

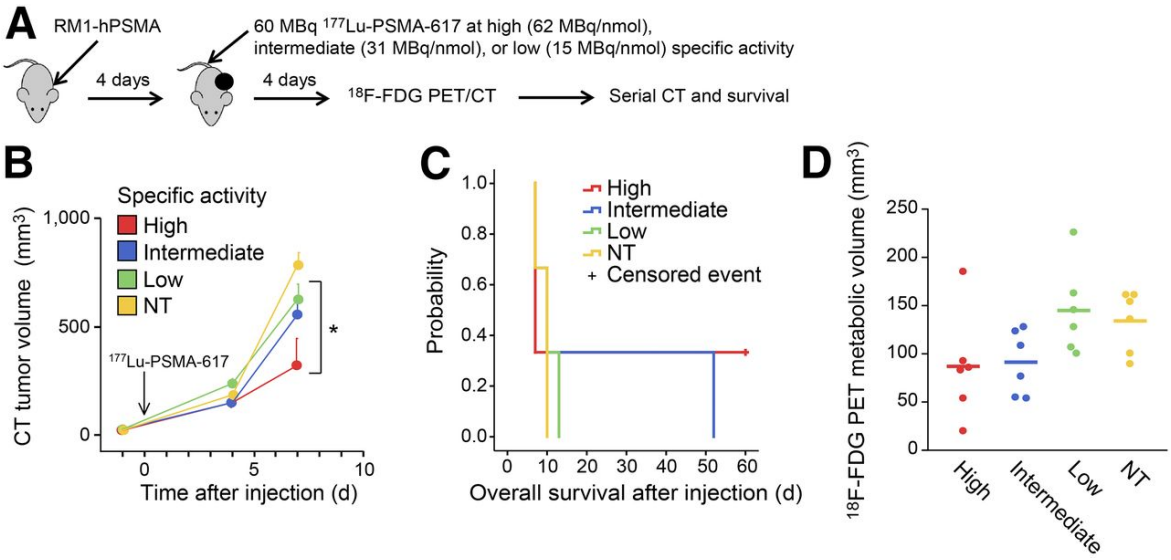
γ-H2A.X 染色後の代表的な腫瘍組織写真（× 10 倍）及び鏡検による評価（盲検）により陽性細胞の割合をスコア化（+：5%～10%，++：10%～20%，+++：> 20%）したものを A に，また，画像解析ソフトを用いて H2A.X 陽性細胞の割合を定量化した値を B に示す。図 B 中の横線は平均値を示す（n = 3/群）。

^{177}Lu-PSMA-617 の抗腫瘍効果を，CT による腫瘍体積と ^{18}F-FDG PET による腫瘍代謝活性の測定，並びにマウスの生存期間により評価した。なお，本試験での忍容性評価については 2.2.4 項参照のこと。

体内分布の検討と同じ用量と投与スケジュールで担癌マウスに ^{177}Lu-PSMA-617 を投与した（n = 3/群）後，腫瘍体積，生存期間，及び腫瘍代謝活性を経時的に測定した。

その結果，^{177}Lu-PSMA-617 は最大比活性の 62 MBq/nmol で最大の有効性を示し，前述の腫瘍への取り込みの結果と一致した。投与 7 日後の腫瘍体積の比較では，62 MBq/nmol 群では 31 又は 15 MBq/nmol 群と比較して腫瘍体積が有意に小さかった（15 MBq/nmol 群：590 ± 46 mm^3，62 MBq/nmol 群：323 ± 122 mm^3）（Figure 2-5）。生存期間についても 62 MBq/nmol で最大の生存期間が得られたが，例数が 3 例と少数であったため統計的な違いはみられなかった（Figure 2-5）。投与 4 日後の ^{18}F-FDG PET 測定による腫瘍代謝体積は，62，31，15 MBq/nmol 群，及び NT 群で各々，87 ± 23，91 ± 14，145 ± 19，及び 134 ± 13 mm^3（n = 6/群），また，増殖中の腫瘍組織の面積が 4 ± 2，4 ± 1，12 ± 6，及び 7 ± 1 mm^2（n = 3）であった（Figure 2-5）。腫瘍代謝体積と腫瘍組織の面積との間には有意な相関がみられた（p < 0.01，Spearman の順位相関係数：0.73）。

Figure 2-5　　RM1-hPSMA 腫瘍に対する ^{177}Lu-PSMA-617 の抗腫瘍効果



Source：Fendler et al. 2017

C57BL/6 免疫不全マウスに RM1-hPSMA（1 × 10^5 個）を皮下移植した 4 日後に総放射線量 60 MBq の[^{177}Lu]Lu-PSMA-617 を，0（溶媒），15，31，及び 62 MBq/nmol で静脈内投与した（n = 6/群）。投与 4 及び 7 日後に CT により腫瘍体積を測定し，投与 4 日後には ^{18}F-FDG PET による腫瘍代謝活性を測定した。投与後 60 日間以上にわたりマウスの生存期間を測定した。

図中の High は 62 MBq/nmol，Intermediate は 31 MBq/nmol，Low は 15 MBq/nmol 群，NT は溶媒投与群を示す。

A に試験デザイン，B に腫瘍体積の推移，C にマウスの生存期間，D に投与 4 日後の腫瘍代謝活性を示す。

値は各群 n = 3（B 及び C）又は n = 6（D）の平均値 ± 標準誤差

腫瘍体積の比較で，62 MBq/nmol 群と 15 及び 31 MBq/nmol 群との間に有意差（*p < 0.05）が認められた（Mann-Whitney 検定）。

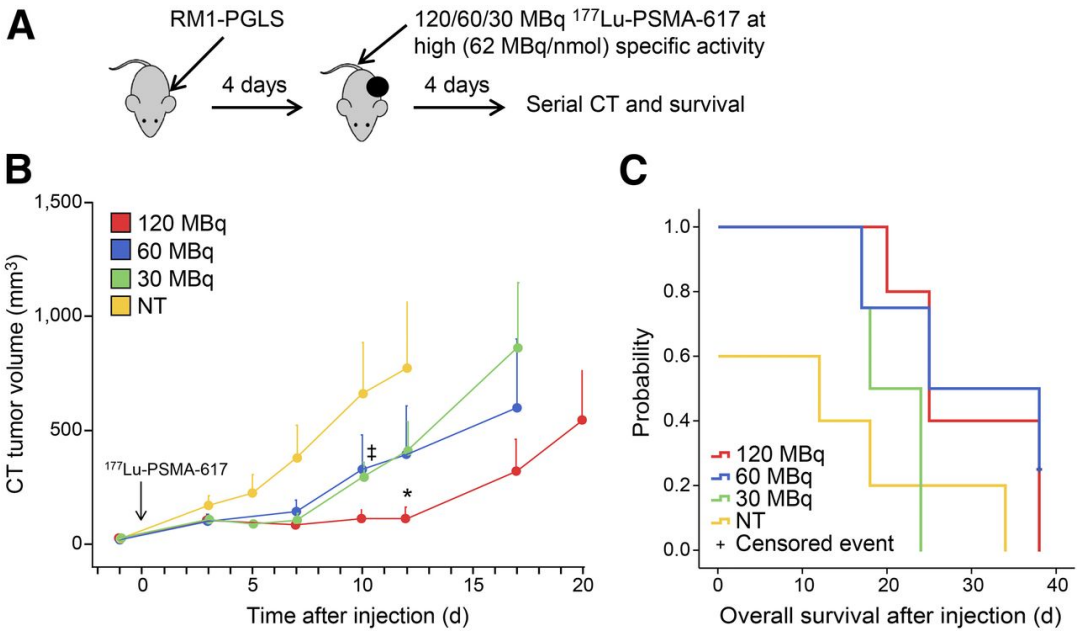
抗腫瘍効果に対する総放射線量の影響

上記の試験は，^{177}Lu-PSMA-617 の総放射線量を 60 MBq に固定して検討したが，以下の試験では，総放射線量の有効性に及ぼす影響を確認する目的で，総放射線量を 30，60，又は 120 MBq に変化させて抗腫瘍活性を比較した。

C57BL/6 マウスに PSMA 陽性 RM1-PGLS 細胞を移植した 4 日後に溶媒又は 62 MBq/nmol の ^{177}Lu-PSMA-617 を 30，60，又は 120 MBq の総放射線量で投与し，腫瘍体積及び生存期間を経時的に測定した（n = 5/群）。

その結果，120 MBq 及び 60 MBq の ^{177}Lu-PSMA-617 を投与されたマウスの生存期間は，30 MBq の ^{177}Lu-PSMA-617 又は溶媒を投与マウスよりも長かった。また，投与 12 日後の腫瘍体積（平均値 ± 標準誤差）は，溶媒対照群で 774 ± 291 mm^3，30 MBq 群で 412 ± 127 mm^3，60 MBq 群で 393 ± 214 mm^3，及び 120 MBq で 113 ± 50 mm^3 で，溶媒対照群と比較して 120 MBq で最も強い腫瘍増殖抑制作用が認められた（Figure 2-6）。

Figure 2-6　　RM1-PGLS 腫瘍に対する ^{177}Lu-PSMA-617 の総放射線量の影響



Source：Fendler et al. 2017

C57BL/6 マウスに PSMA 陽性 RM1-PGLS 細胞を移植した 4 日後に溶媒又は 62 MBq/nmol の ^{177}Lu-PSMA-617 を 30，60，又は 120 MBq の総放射線量で投与し，腫瘍体積及び生存期間を経時的に測定した。

投与 3，5，7，10，12，17，及び 20 日後に CT により腫瘍体積を測定し，投与後 30 日間以上にわたりマウスの生存期間を測定した。

投与 12 日後の腫瘍体積の比較で，120 MBq 群と 60 及び 30 MBq 群との間に有意差（*p < 0.05）が認められた（Mann-Whitney 検定）。

値は各群 n = 5 の平均値 ± 標準誤差

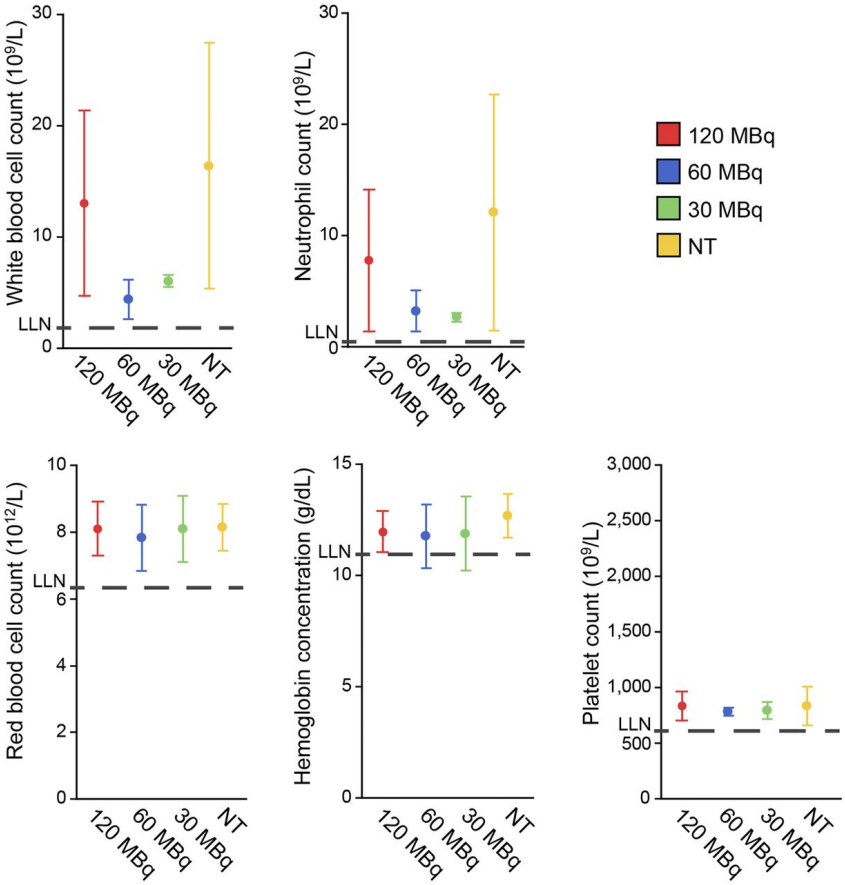
++：PET/CT 測定中にそれぞれ 1 例のマウスが死亡した。

2.2.4 *In vivo* 試験における忍容性

更に，^{177}Lu-PSMA-617 の忍容性を評価するために PSMA 陽性 RMI-hPSMA 細胞を移植したマウスに，溶媒又は 62 MBq/nmol の ^{177}Lu-PSMA-617 を 30，60，又は 120 MBq の総放射線量で投与した。投与 4 週間後に採血，解剖して，臓器観察及び血液の生化学検査を行った。

その結果，肉眼検査で器官の大きさ，形，色，質感に病理学的変化を示したマウスはみられなかった。また，血液の生化学検査においても，赤血球数，白血球数，好中球数，ヘモグロビン濃度，及び血小板数は，各群とも正常範囲内であった（Figure 2-7）。

Figure 2-7　担癌マウスの血球数及びヘモグロビン濃度に及ぼす ^{177}Lu-PSMA-617 単回投与の影響



Source：Fendler et al. 2017

PSMA 陽性 RMI-hPSMA 細胞を移植したマウスに溶媒又は 62 MBq/nmol の ^{177}Lu-PSMA-617 を 30，60，又は 120 MBq の総放射線量で投与した 4 週間後に採血，解剖して，臓器観察及び血液生化学検査を行った。
値は白血球数，赤血球数，好中球数，血小板数，又はヘモグロビン濃度の平均値 ± 標準誤差（n = 3）
LLN：正常値の下限

2.3 作用機序

^{177}Lu-PSMA-617 は，PSMA を標的とするグルタミン酸-尿素-リジン構造を介して PSMA に高い結合親和性を示す。PSMA は mCRPC を含むほぼすべての前立腺癌で高発現する一方，正常組織での発現は限られている。^{177}Lu-PSMA-617 は，標的結合部位に結合後，エンドサイトーシスを介する内在化により標的癌細胞内に取り込まれ，そのまま保持される。なお，PSMA が有する葉酸ヒドロラーゼとしての酵素活性が阻害されても ^{177}Lu-PSMA-617 の効果は影響を受けない。^{177}Lu-PSMA-617 は，^{177}Lu から放出されるベータ線により腫瘍細胞等に対して DNA 損傷を誘発し，腫瘍増殖抑制作用を示すと考えられている。

^{177}Lu の物理的半減期は 6.647 日であり，病巣への照射が持続するという放射性薬剤のメリットを活かすことができる。さらに，^{177}Lu の組織中での飛程は約 2 mm であり，腫瘍病変でのクロスファイヤー効果（標的発現細胞以外の近傍の腫瘍組織への照射作用）を維持しつつ近接する正常組織への曝露を低減することができる（Emmett et al. 2017）。^{177}Lu の抗腫瘍活性は，細胞の DNA に対する放射線の直接的な作用と DNA 周囲にある分子（水，塩，タンパク質，酸素分子等）から誘発される活性酸素による間接的な DNA 損傷効果の両方の結果である。

3 副次的薬理試験

3.1 オフターゲット作用の検討

オフターゲット作用を検討する目的で，87 種類の受容体，イオンチャネル，酵素，又はトランスポーターに対する結合親和性又は阻害活性をサロゲートの非放射性標識体である ^{175}Lu-PSMA-617 を用いて評価した[Table 2.6.3.1-100053460-4]。

結合親和性は標的に対する放射性標識リガンドを用いた競合試験により，また，酵素阻害は各基質を用いた生化学試験により評価した。本試験では ^{175}Lu-PSMA-617 濃度 10 µM を用いた。これはヒトに ^{177}Lu-PSMA-617 を 200 µg で投与した際の推定 Cmax（76 nM）の約 132 倍の濃度である。

試験の結果，^{175}Lu-PSMA-617 を 10 µM 処置することにより 50%を超える競合阻害や酵素活性阻害はみられなかった。バソプレシン受容体 V1a のリガンドに対して 31.8%の競合阻害が認められたものの，対照としたデータ付近の信号の変動に起因するものと考えられた。

3.2 非標識 PSMA-617 及び ^{175}Lu-PSMA-617 の細胞に対する作用

^{177}Lu-PSMA-617 が ^{177}Lu に起因する放射線以外により細胞に影響を及ぼさないことを検証するため，PSMA 陽性 22RV1 細胞及び PSMA 陰性 KB 細胞を用いて非標識 PSMA-617 及び非放射性の ^{175}Lu-PSMA-617 の作用を評価した[Table 2.6.3.1-0584]。細胞に対する生存率をチミジン取り込みアッセイにより評価した。

PSMA 陽性 22RV1 細胞及び PSMA 陰性 KB 細胞（1×10^5 個／ウェル）を 24 ウェルプレートに播種し，葉酸含有 RPMI1640 培地を用いて 10%FBS 存在下で培養した。翌日，非標識 PSMA-617（0.001042，0.01042，0.1042，1.042，及び 10.42 µg/mL）又は ^{175}Lu-PSMA-617（0.00124，0.0124，

0.1214，1.214，及び 12.14 µg/mL）を添加し，72 時間インキュベーション後，細胞を洗浄し，チミジン取り込みアッセイを実施して生細胞数を測定した。

その結果，非標識 PSMA-617 及び ^{175}Lu-PSMA-617 のいずれの濃度においても細胞生存率の低下はみられず，非標識 PSMA-617 及び ^{175}Lu-PSMA-617 が，PSMA 陽性細胞及び PSMA 陰性細胞に対して作用を示さないことが確認された。

4 安全性薬理試験

^{175}Lu-PSMA-617 及び PSMA-617 を 1：1 の割合で含有した低金属水（EMSURE®分析用水）（^{175}Lu-PSMA-617 溶液）を用い，安全性薬理コア・バッテリー試験を実施した。試験は医薬品規制調和国際会議ガイドライン S7A に従い，「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）」を遵守し，欧州連合加盟国，経済協力開発機構加盟国，又はデータ相互受け入れ制度参加国の受託研究機関の GLP 適合試験施設で実施した。

4.1 *In vitro* 安全性薬理試験

4.1.1 hERG チャネル電流に及ぼす影響

Human ether-à-go-go related gene （hERG）チャネル電流に及ぼす影響について，hERG 遺伝子を安定的に発現させた HEK（ヒト胎児由来）293 細胞に，^{175}Lu-PSMA-617 溶液の 0（媒体），1.0，10，及び 100 µM を適用し，パッチクランプ法で検討した[Table 2.6.3.4-20190089PEHPP]。媒体は Tyrode 溶液を用い，陽性対照として E-4031（100 nM）を用いた。

その結果，^{175}Lu-PSMA-617 溶液は 1.0，10，及び 100 µM の濃度で hERG 電流をそれぞれ，8 ± 4%，8 ± 0%，及び 13 ± 2%（平均値 ± 標準誤差）阻害した。対照群での最大阻害率は 10%未満であり，陽性対照薬の E-4031（100 nM）は hERG 電流を 79%阻害した。

本試験に用いた 1.0，10，及び 100 µM の濃度は，ヒトに ^{177}Lu-PSMA-617 を 200 µg で投与した際の推定 Cmax（76 nM）のそれぞれ約 13 倍，132 倍及び 1316 倍である。ヒト Cmax の 1000 倍を超える濃度でも hERG 電流に影響がみられなかったことから，^{177}Lu-PSMA-617 が臨床において hERG 電流に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

4.2 *In vivo* 安全性薬理試験

4.2.1 中枢神経系に及ぼす影響

各群 5 例の SD 系雄性ラットに ^{175}Lu-PSMA-617 溶液を 0，0.2，0.6，及び 1.8 mg/kg の用量で単回静脈内投与し，投与後 5，15，30 分，1，2，及び 24 時間に Irwin 法により行動，神経，自律神経系への影響を評価した[Table 2.6.3.4-A3734]。また，投与 6 日後まで死亡及び症状観察を実施した。対照群には媒体（EMSURE®分析用水）を投与した。

その結果，投与後 24 時間まで Irwin 法による評価項目に影響は認められなかった。また，投与後 6 日間，死亡例はみられず，異常な症状も観察されなかった。

以上，^{175}Lu-PSMA-617 溶液を 1.8 mg/kg まで投与してもラットの中枢神経系に影響はみられなかった。ヒトの体表面積を平均 1.7 m^2 として体表面積換算した場合，1.8 mg/kg は予定最高臨床用量（275 µg）の約 67 倍に相当する。

4.2.2 呼吸系に及ぼす影響

各群 8 例の SD 系雄性ラットに ^{175}Lu-PSMA-617 溶液を 0（媒体），0.2，0.6，及び 1.8 mg/kg の用量で単回静脈内投与し，全身プレチスモグラフィーにより呼吸機能へ及ぼす影響を評価した[Table 2.6.3.4-A3735]。投与前，並びに投与後 5，15，30 分，1，1.5，2，及び 3 時間に呼吸パラメータ（吸気及び呼気時間，最大及び最小換気量，分時換気量，1 回換気量，呼吸数）を測定した。対照群には媒体として EMSURE®分析用水を投与し，陽性対照群にはテオフィリン（20 mg/kg）を静脈内投与した。

その結果，^{175}Lu-PSMA-617 溶液群では呼吸パラメータに毒性変化及び生物学的に意義ある変化は認められなかった。一方，テオフィリン（20 mg/kg）群では，測定されたほぼすべての時点で，対照群及び投与前値と比較して統計的に有意な呼吸パラメータの変化が認められた。

以上，^{175}Lu-PSMA-617 溶液を 1.8 mg/kg まで投与してもラットの呼吸系に影響はみられなかった。ヒトの体表面積を平均 1.7 m^2 として体表面積換算した場合，1.8 mg/kg は予定最高臨床用量（275 µg）の約 67 倍に相当する。

4.3 心血管系安全性薬理試験

テレメトリー装置を装着した 4 例の覚醒下雄性ゲッチンゲンミニブタに，クロスオーバーデザインで，^{175}Lu-PSMA-617 溶液の 0（媒体），0.1，0.33，及び 1.0 mg/kg を 7 日間ごとに単回静脈内投与し，心血管機能へ及ぼす影響を評価した[Table2.6.3.4-A3736]。媒体には EMSURE®分析用水を用いた。投与前，並びに投与後 5，15，30 分，1，2，4，8，及び 24 時間に，収縮期血圧，拡張期血圧，平均動脈血圧，心拍数，及び心電図を測定した。

その結果，投与前値及び対照群と比較して，^{175}Lu-PSMA-617 溶液群の心拍数及び血圧に毒性変化は認められず，心電図（PR，RR，QT，QTcB，QTcF，QTcV 間隔，及び QRS 時間）も有意な変化は認められなかった。また，心電図波形に ^{175}Lu-PSMA-617 溶液投与に関連した変化は認められなかった。

以上，^{175}Lu-PSMA-617 溶液を 1.0 mg/kg まで投与しても，覚醒下ミニブタの心血管系に影響は認められなかった。ヒトの体表面積を平均 1.7 m^2 として体表面積換算した場合，1.0 mg/kg は予定最高臨床用量（275 µg）の約 220 倍に相当する。

5 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

6 考察及び結論

PSMA は前立腺癌細胞に発現する膜貫通タンパク質であり，正常組織での発現は限られている。また，PSMA はリガンド結合後に内在化する特性を有することから，この特性を利用した RLT による治療法への期待が高まっている。

In vitro 試験では，^{177}Lu-PSMA-617 の PSMA 陽性前立腺癌細胞に対する高い結合親和性が示され，細胞内への取り込み及び内在化が認められた。一方で，PSMA 陰性前立腺癌細胞では認められなかった。*In vitro* での ^{177}Lu-PSMA-617 の PSMA に対する特異性は *in vivo* でも確認されており，PSMA 陽性 PC-3 PIP 細胞を異種移植したマウス又はヒト前立腺リンパ結節癌由来の PSMA 陽性 LNCaP 細胞の異種移植マウスを用いて ^{177}Lu-PSMA-617 の体内分布を検討したところ，腫瘍への速やかな取り込み及び PSMA 特異的な取り込みが確認された。

In vivo 試験では，担癌マウスを用いて ^{177}Lu-PSMA-617 の体内分布，腫瘍への取り込み，抗腫瘍効果について評価したところ，^{177}Lu-PSMA-617 は腫瘍組織に速やかに移行し，用量に依存した腫瘍への取り込み，DNA 損傷作用，腫瘍増殖抑制，及び生存期間延長が認められるとともに，総放射線量に応じた腫瘍増殖抑制作用が認められた。また，同モデルでは ^{177}Lu-PSMA-617 の投与により腫瘍組織以外の臓器に肉眼的な病理学的変化は認められず，血液生化学検査も正常範囲内であった。

87 種類の受容体，イオンチャネル，酵素，又はトランスポーターを用いた副次的薬理試験成績から，^{177}Lu-PSMA-617 は現在の用法用量ではオフターゲット作用を示さないと予想される。

^{175}Lu-PSMA-617 溶液（^{175}Lu-PSMA-617 及び PSMA-617 を 1：1 の割合で含有する EMSURE®分析用水）を用いた安全性薬理試験において，検討した最高用量まで中枢神経系，呼吸系，及び心血管系に対する影響は認められなかった。各 *in vivo* 安全性薬理試験の最高用量は，^{177}Lu-PSMA-617 の予定最高臨床用量 275 µg を投与したときの PSMA-617 総量と比較して，67～220 倍であった。

Table 6-1 安全性薬理試験における PSMA-617 の安全域

試験の種類	動物種	最高用量 (mg/kg) [a]	ヒト等価用量 (mg/m^2) [b]	安全域 [c]
中枢神経系	ラット	1.8	10.8 [d]	67
呼吸系	ラット	1.8	10.8 [d]	67
心血管系	ミニブタ	1.0	35 [e]	220

a = PSMA-617 の全質量（標識 + 非標識）

b = 体表面積換算用量

c = PSMA-617 ペプチド（標識 + 非標識の全質量）の予定臨床最高用量を 275 µg/1.7 m^2（0.162 mg/m^2）とした。

d = 体表面積換算係数を 6 として算出

e = 体表面積換算係数を 35 として算出

通常，RLT においてリガンド量は非常に低用量であり，6～8 週間に 1 回の頻度で静脈内投与される。^{177}Lu-PSMA-617 は，PSMA に対する高い結合親和性及び PSMA 特異的な取り込みが示されており，細胞内において持続的な抗腫瘍作用を示すことが期待される。

以上より，^{177}Lu-PSMA-617 の PSMA 陽性前立腺癌患者に対する臨床での使用が支持された。

7 参考文献

[Benešová M, Schäfer M, Bauder-Wüst U, et al. (2015)] Preclinical evaluation of a tailor-made DOTA-conjugated PSMA inhibitor with optimized linker moiety for imaging and endoradiotherapy of prostate cancer. J Nucl Med; 56(6):914-20.

[Bostwick DG, Pacelli A, Blute M, et al. (1998)] Prostate specific membrane antigen expression in prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma. Cancer; 82(11):2256-61.

[Eder M, Schäfer M, Bauder-Wüst U, et al. (2012)] ^{68}Ga-complex lipophilicity and the targeting property of a urea-based PSMA inhibitor for PET imaging. Bioconjug Chem; 23(4):688-97.

[Emmett L, Willowson K, Violet J, et al. (2017)] Lutetium ^{177}PSMA radionuclide therapy for men with prostate cancer: a review of the current literature and discussion of practical aspects of therapy. J Med Radiat Sci; 64(1):52-60.

[Fendler WP, Stuparu AD, Evans-Axelsson S, et al. (2017)] Establishing 177Lu-PSMA-617 radioligand therapy in a syngeneic model of murine prostate cancer. J Nucl Med; 58(11):1786-92.

[Franken NAP, Rodermond HM, Stap J, et al. (2006)] Clonogenic assay of cells in vitro. Nat Protoc; 1(5):2315-9.

[Ghosh A and Heston WDW (2004)] Tumor target prostate specific membrane antigen (PSMA) and its regulation in prostate cancer. J Cell Biochem; 91(3):528-39.

[Mannweiler S, Amersdorfer P, Trajanoski S, et al. (2009)] Heterogeneity of prostate-specific membrane antigen (PSMA) expression in prostate carcinoma with distant metastasis. Pathol Oncol Res; 15(2):167-72.

[Müller C, Umbricht CA, Gracheva N, et al. (2019)] Terbium-161 for PSMA-targeted radionuclide therapy of prostate cancer. Eur J Nucl Med Mol Imaging; 46:1919-30.

[Murphy GP, Elgamal AAA, Su SL, et al. (1998)] Current evaluation of the tissue localization and diagnostic utility of prostate specific membrane antigen. Cancer; 83(11):2259-69.

[Queisser A, Hagedorn SA, Braun M, et al. (2015)] Comparison of different prostatic markers in lymph node and distant metastases of prostate cancer. Mod Pathol; 28(1):138-45.

[Rajasekaran SA, Anilkumar G, Oshima E, et al. (2003)] A novel cytoplasmic tail MXXXL motif mediates the internalization of prostate-specific membrane antigen. Mol Biol Cell; 14(12):4835-45.

[Ross JS, Sheehan CE, Fisher HAG, et al. (2003)] Correlation of primary tumor prostate-specific membrane antigen expression with disease recurrence in prostate cancer. Clin Cancer Res; 9(17):6357-62.

[Sgouros G, Bodei L, McDevitt MR, et al. (2020)] Radiopharmaceutical therapy in cancer: clinical advances and challenges. Nat Rev Drug Discov; 19(9):589-608.

[Silver DA, Pellicer I, Fair WR, et al. (1997)] Prostate-specific membrane antigen expression in normal and malignant human tissues. Clin. Cancer Res; 3:81-5.

[Sweat SD, Pacelli A, Murphy GP, et al. (1998)] Prostate-specific membrane antigen expression is greatest in prostate adenocarcinoma and lymph node metastases. Urology; 52(4):637-40.

[Umbricht CA, Benešová M, Schmid RM, et al. (2017)] ^{44}Sc-PSMA-617 for radiotheragnostics in tandem with ^{177}Lu-PSMA-617-preclinical investigations in comparison with ^{68}Ga-PSMA-11 and ^{68}Ga-PSMA-617. EJNMMI Res; 7(1):9.

[Wright GL Jr, Haley C, Beckett ML, et al. (1995)] Expression of prostate-specific membrane antigen in normal, benign, and malignant prostate tissues. Urol Oncol; 1(1):18-28.

目　次

目　次 2
略号一覧 3
2.6.3.1　薬理試験一覧表 4
2.6.3.2　効力を裏付ける試験 6
2.6.3.3　副次的薬理試験 6
2.6.3.4　安全性薬理試験 7
2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験 8

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
2-PMPA	2-(Phosphonomethyl)pentanedioic acid	2-（ホスホノメチル）ペンタン二酸
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
iv	intravenous	静脈内
HEK-293	human embryonic kidney-293	ヒト胎児腎細胞 293
hERG	human Ether-à-go-go Related Gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
LNCaP	lymph node carcinoma of the prostate	-
NA	not applicable	該当なし
PC-3	human prostate cancer cell line	-
PC-3 PIP	PC-3 cells transfected to express human PSMA	-
PC-3 flu	PC-3 cells that do not express PSMA, but that have been transduced with the flu peptide as a control cell line	-
PSMA	prostate-specific membrane antigen	前立腺特異的膜抗原
$PSMA^{[+]}$	PSMA-positive	前立腺特異的膜抗原陽性
$PSMA^{[-]}$	PSMA-negative	前立腺特異的膜抗原陰性
^{175}Lu-PSMA-617	[^{175}Lu]Lu-PSMA-617	-
^{177}Lu-PSMA-617	[^{177}Lu]Lu-PSMA-617	-

2.6.3.1 薬理試験一覧表

Type of study	Test system or protocol	Method of administration	Testing Facility	Report number or literature reference	Location in CTD
効力を裏付ける試験					
> *In vitro* 薬理試験					
Binding affinity of PSMA-617 for PSMA in cell based and enzymatic assays	Determination of PSMA-binding affinity in a cell-based competitive binding assay in PSMA$^{[+]}$ human LNCaP cells and determination of enzymatic inhibition in purified recombinant human PSMA	*In vitro* (cellular and biochemical assays)	German Cancer Research Center	[Benešová et al. 2015]	-
Uptake and internalization of PSMA-617 in PSMA$^{[+]}$ and PSMA$^{[-]}$ cells	Determination of the PSMA-dependent uptake and internalization of PSMA-617 in PSMA$^{[+]}$ PC-3 PIP and PSMA$^{[-]}$ PC-3 flu human prostate cancer cells	*In vitro* (cellular assays)	Center for Radiopharmaceutical Science ETH-PSI-USZ	[Umbricht et al. 2017]	-
In vitro cell viability	Determination of the in vitro cytotoxicity of ^{177}Lu-PSMA-617 in PSMA$^{[+]}$ and PSMA$^{[-]}$ cells	*In vitro* (cellular assays)	Center for Radiopharmaceutical Science ETH-PSI-USZ	[Müller et al. 2019]	-
> *In vivo* 薬理試験					
Biodistribution of ^{177}Lu-PSMA-617 in tumor-bearing athymic balb/c nude mice	Determination of the *in vivo* biodistribution of ^{177}Lu-PSMA-617 in mice with PSMA$^{[+]}$ PC-3 PIP and PSMA$^{[-]}$ PC-3 flu prostate cancer xenografts	*In vivo* (intravenous)	Center for Radiopharmaceutical Science ETH-PSI-USZ	[Umbricht et al. 2017]	-
Competitive blocking of ^{177}Lu-PSMA-617 tumor uptake in mice	Effect of 2-PMPA on ^{177}Lu-PSMA-617 uptake in mice bearing PSMA$^{[+]}$ LNCaP tumor xenografts	*In vivo* (intravenous)	German Cancer Research Center	[Benešová et al. 2015]	-
Efficacy of ^{177}Lu-PSMA-617 in RM1-hPSMA or RM1-PGLS tumor xenografts	Efficacy of ^{177}Lu-PSMA-617 determined in PSMA-transfected murine prostate cancer xenografts	*In vivo* (intravenous)	University of California	[Fendler et al. 2017]	-

Type of study	Test system or protocol	Method of administration	Testing Facility	Report number or literature reference	Location in CTD
副次的薬理試験					
> *In vitro* 薬理試験					
Off-target receptor binding and functional profiling against 87 potential different targets	The *in vitro* inhibition was evaluated in competitive radioligand binding and enzymatic inhibition biochemical assays with ^{175}Lu-PSMA-617 at 10 µM	*In vitro*	Eurofins Cerep	[100053460-4]	4.2.1.2-1
Non-radioactive cytotoxicity screen to evaluate radiation-independent pharmacologic effects of PSMA-617 and ^{175}Lu-PSMA-617	*In vitro* cytotoxicity of PSMA-617 and 175Lu-PSMA-617 in PSMA$^{[+]}$ and PSMA$^{[-]}$ cells lines, tested concentration range 1.0 nM to 10 µM	*In vitro*	Advanced Accelerator Applicatons	[R-0584]	4.2.1.2-2
安全性薬理試験	2.6.3.4 項参照				

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

2.6.3.1 項に記載

2.6.3.3　副次的薬理試験

2.6.3.1 項に記載

2.6.3.4 安全性薬理試験

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of admin. (vehicle)	Dose or concentration [a]	Gender and no. per Group	Significant findings	GLP	Report number	Location in CTD
hERG potassium channel	HEK-293 cells	*In vitro* (Tyrode's solution)	1, 10, 100 µM	NA	No effect on hERG tail current at any of the tested doses	Yes	[20190089PEHPP]	4.2.1.3-1
Central Nervous (Irwin)	Rat/Sprague Dawley	iv (low metal content water EMSURE®)	0.2, 0.6, 1.8 (mg/kg)	Male / 5	No effects on behavioral, neurologic or autonomic parameters were observed up to 24 hours post-dose. No deaths occurred during the study and no clinical signs were observed at the 6 days observation period	Yes	[A3734]	4.2.1.3-2
Respiratory	Rat/Sprague Dawley	iv (low metal content water EMSURE®)	0.2, 0.6 ,1.8 (mg/kg)	Male / 8	No changes of toxicological significance in respiratory parameters were recorded by means of whole body plethysmography in freely moving rats.	Yes	[A3735]	4.2.1.3-3
Cardiovascular	Minipig /Göttingen	iv (low metal content water EMSURE®)	0.1, 0.33, 1.0 (mg/kg)[b]	Male / 4	No changes of biological significance in heart rate, arterial blood pressure and electrocardiographic activity recorded by means of telemetric implants up to 24 hours after dosing	Yes	[A3736]	4.2.1.3-4

GLP = Good Laboratory Practice, HEK-293 = human embryonic kidney-293, hERG = human ether-à-go-go related gene, iv = intravenous, NA = not applicable

[a] Single dose unless specified otherwise

[b] At 7 day intervals, each animal received vehicle or one of the three doses of the test item, following a crossover design

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

実施していない