目　次

目　次 2
表 一 覧 3
図 一 覧 3
略号一覧 4
1 緒言 5
2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性 6
3 薬理試験 7
3.1 効力を裏付ける試験 7
3.2 副次的薬理試験 8
3.3 安全性薬理試験 8
3.4 薬力学的薬物相互作用試験 9
4 薬物動態試験 9
4.1 分析法 9
4.2 吸収及び生物学的利用性 9
4.3 分布（蛋白結合を含む） 10
4.4 血漿中及び代謝の安定性（動物種間の比較） 10
4.5 消失／排泄 11
4.6 薬物動態学的薬物相互作用 11
4.7 トキシコキネティクス 11
4.7.1 ラットにおけるトキシコキネティクス 11
5 毒性試験 11
5.1 単回投与毒性試験 12
5.2 反復投与毒性試験 12
5.3 遺伝毒性試験 12
5.4 がん原性試験 12
5.5 生殖発生毒性試験 13
5.6 局所刺激性試験 13
5.7 その他の毒性試験 13
5.7.1 *In silico* 細菌変異原性評価 13
6 不純物の安全性評価 13
7 総合評価 13
8 結論 15
9 参考文献 15

表 一 覧

Table 5-1 拡張型単回投与毒性試験.....12
Table 7-1 無毒性量と臨床用量の体表面積換算用量での比較.....15

図 一 覧

Figure 1-1 PSMA-11 の構造式.....6

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）
AUClast	area under the drug plasma concentration-time curve from time zero to time of the last quantifiable concentration	血漿中薬物濃度-時間曲線下面積（0～最終定量可能時点）
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use	ヒト用医薬品委員会
Cmax	maximal drug plasma concentration	最高血漿中薬物濃度
CT	computed tomography	コンピュータ断層撮影
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の基準
GMP	Good Manufacturing Practice	医薬品の製造管理及び品質管理の基準
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/g	percentage injected activity per gram	1 g あたりの投与放射能に対する割合
ICH	International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
Ki	inhibition constant	阻害定数
LNCaP	lymph node carcinoma of the prostate	ヒト前立腺癌細胞
mCRPC	metastatic castration-resistant prostate cancer	転移性去勢抵抗性前立腺癌
MeV	megaelectronvolt	メガエレクトロンボルト
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	-
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	-
PC-3 PIP	PC-3 cells transfected to express human PSMA	-
PET	positron emission tomography	陽電子放出断層撮影
PK	pharmacokinetics	薬物動態
PPB	plasma protein binding	血漿蛋白結合（率）
PSMA	prostate-specific membrane antigen	前立腺特異的膜抗原
(Q)SAR	(quantitative) structure-activity relationship	（定量的）構造活性相関
SWP	Safety Working Party	-
T1/2	elimination half-life	消失半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
^{68}Ga	Gallium-68	ガリウム 68
^{68}Ga-PSMA-11	Gallium (^{68}Ga) gozetotide	-
^{nat}Ga-PSMA-11	Gallium (^{nat}Ga) gozetotide	-

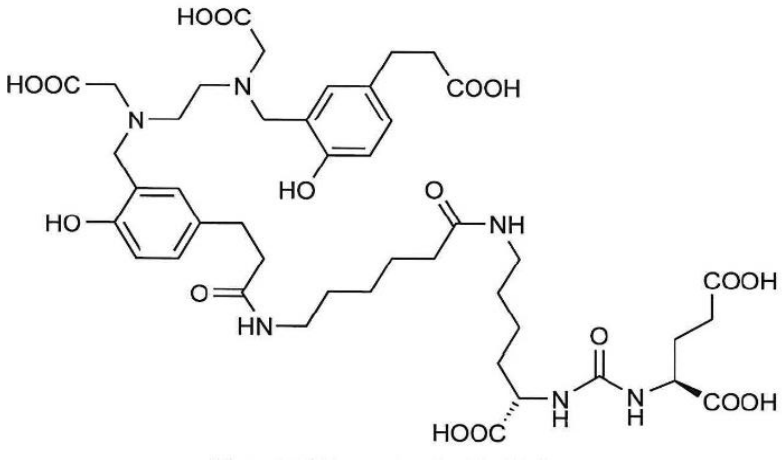
1 緒言

Gallium (^{68}Ga) gozetotide（[^{68}Ga]Ga-PSMA-11，以下，^{68}Ga-PSMA-11 と記載する）は，前立腺特異的膜抗原（PSMA）を標的とした放射性診断薬であり，陽電子放出断層撮影（PET）による PSMA 陽性前立腺癌の診断のために開発された。[^{68}Ga]Ga-PSMA-11 は，^{68}Ga-PSMA-11 を指す新しい命名法によるものであり，本文では ^{68}Ga-PSMA-11 と表記した。また，[^{67}Ga]Ga-PSMA-11 及び [^{nat}Ga]Ga-PSMA-11（硝酸ガリウム III 標識 PSMA-11）は，それぞれ ^{67}Ga-PSMA-11 及び ^{nat}Ga-PSMA-11 と表記した。

PSMA は，ヒト前立腺癌細胞（LNCaP）から見い出された新しい抗原マーカーとして 1987 年に初めて報告された（Horoszewicz et al. 1987）。葉酸加水分解酵素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標的として考えられている（Silver et al. 1997，O'Keefe et al. 2018）。PSMA は，ほぼすべての前立腺癌で高い発現が認められる一方，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限定的である（Liu et al. 1997，Silver et al. 1997，Bostwick et al. 1998，Chang et al. 1999，Sokoloff et al. 2000，Ghosh and Heston 2004，Mannweiler et al. 2009）。また，低分化型，転移性，ホルモン不応性の前立腺癌患者で PSMA の発現が亢進していることが明らかとなった（Wright et al. 1995，Silver et al. 1997，Bostwick et al. 1998，Murphy et al. 1998，Sweat et al. 1998，Queisser et al. 2015）。さらに，PSMA の過剰発現は，進行性，高悪性度，転移性，去勢抵抗性前立腺癌の進展との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，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の両者とも支持されており，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。

当初，PSMA の酵素活性を阻害する低分子リガンドの開発に焦点があてられ（Tsukamoto et al. 2007，Zhou et al. 2005，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 陽性前立腺癌の診断のために開発された ^{68}Ga-PSMA-11 は，リガンド部分であるグルタミン酸-尿素-リジン構造［Glu-urea-Lys(Ahx)］とキレート剤である N,N'-Bis [2-hydroxy-5-(carboxyethyl)benzyl]ethylenediamine-N,N'-diacetic acid （HBED-CC）に放射性核種 ^{68}Ga がキレート化したものである。PSMA-11 の構造式を Figure 1-1 に示す。

Figure 1-1 PSMA-11 の構造式



PSMA-11 は OH-Glu-CO-Lys(Ahx-CC-HBED)-OH とも表記され，PSMA-11 の分子式は $C_{44}H_{62}N_6O_{17}$，分子量は 947.0 g/mol である。

^{68}Ga-PSMA-11 を投与する際は，ガリウム（^{68}Ga）ジェネレータから溶出した塩化ガリウム（$^{68}GaCl_3$）溶液で PSMA-11 を標識することにより調製される。また，放射性医薬品調製キットには，放射性同位体の酸化と放射線分解抑制のための添加剤として，酢酸ナトリウム水和物，塩化ナトリウム，及びゲンチジン酸が含まれる。

^{68}Ga-PSMA-11 は，PSMA の細胞外ドメインにある酵素活性部位に結合し（O'Keefe et al. 2018），PSMA に対して高い親和性を示す。^{68}Ga-PSMA-11 は，PSMA に結合した後にエンドサイトーシスによりがん細胞内に取り込まれ，内在化される（Eder et al. 2012，Rajasekaran et al. 2003）。そして，^{68}Ga から放出される陽電子（β^+線，最大エネルギー1.92 MeV，平均 0.89 MeV）が PET による PSMA 陽性病変の同定を可能とする（Banerjee and Pomper 2013）。放射性核種 ^{68}Ga の物理学的半減期は 68 分であり，^{68}Ga-PSMA-11 は血中やほとんどの正常組織から急速に消失する（Martiniova et al. 2016，Fourquet et al. 2020）。このように，^{68}Ga-PSMA-11 の PSMA 陽性病変に対する放射性診断薬としての特徴は，PSMA への高い結合親和性や特異的な取り込みのみならず，血中から速やかに消失するという優れた薬物動態（PK）を示す。

2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性

薬理試験では，^{68}Ga-PSMA-11 の効力を裏付ける試験，副次的薬理試験，及び安全性薬理試験を実施した（2.6.2 薬理試験の概要文）。効力を裏付ける試験については，公表文献を参考資料とした。安全性薬理試験では中枢神経系，呼吸系，及び心血管系への影響について *in vivo* で検討し，human ether-à-go-go related gene（hERG）チャネル電流に及ぼす影響について *in vitro* で検討した。これらの試験は，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，医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン S7A に準拠して実施した。

基本的な PK を明らかにするために，毒性試験で使用される非臨床試験動物種（ラット）を用いた試験でトキシコキネティクス（TK）を評価した（2.6.4 薬物動態試験の概要文）。マウスにおける体内分布試験は文献で実施された結果を引用した。*In vitro* 試験として，血漿蛋白結合（PPB），血漿中での安定性，肝臓又は腎臓 S9 中での安定性，血液／血漿濃度比，及びオフターゲットのスクリーニングについて検討した（2.6.4 薬物動態試験の概要文及び 2.6.2 薬理試験の概要文）。

^{68}Ga-PSMA-11 の毒性試験として，ラットを用いた拡張型単回投与毒性試験及び *in silico*（定量的）構造活性相関［(Q)SAR］による変異原性評価を実施した（2.6.6 毒性試験の概要文）。^{68}Ga-PSMA-11 は，PET 検査用マイクロドーズ放射性診断薬であることから，これらの毒性評価は，欧州医薬品庁（EMA）ヒト用医薬品委員会（CHMP）ガイドライン（Guideline on the non-clinical requirements for radiopharmaceuticals (Draft)，EMA/CHMP/SWP/686140/2018，2018 年 11 月），及び米国食品医薬品局（FDA）ガイダンス（Microdose radiopharmaceutical diagnostic drugs: nonclinical study recommendations，2018 年 8 月）に従い，拡張型単回投与試験は GLP を遵守して実施した。安全性薬理試験を含む非臨床安全性試験では，供試動物として適切な動物種と考えられる Sprague Dawley ラット及び Göttingen ミニブタを選択し，PSMA-11 の放射線非依存性の毒性，すなわち PSMA 発現組織及び非発現組織で発現する可能性のある毒性変化を評価した。PSMA は種々の動物種（ラット，ミニブタ，ヒト）で高度に保存されており，同様の酵素活性動態を示すことが報告されている（Rovenská et al. 2008）。投与経路は，予定臨床適用経路である静脈内投与を選択した。

各非臨床試験で用いた被験物質は，^{68}Ga-PSMA-11 の化学的特性及び放射性医薬品の非臨床試験に関するガイダンスを考慮して選択された。*In vivo* 体内分布試験では ^{68}Ga-PSMA-11 が使用された。すべての PSMA-11 分子がキレート化され，^{68}Ga で放射性標識されるわけではないため，本製剤には ^{68}Ga-PSMA-11 及び非標識 PSMA-11 の両方が含まれる。*In vitro* 安定性試験，蛋白結合試験，安全性薬理試験，及び拡張型単回投与毒性試験（TK 試験を含む）等のその他の非臨床試験の被験物質には非標識 PSMA-11 を使用した。

3 薬理試験

効力を裏付ける試験，副次的薬理試験，及び安全性薬理試験の概略を以下に示す。

3.1 効力を裏付ける試験

放射性診断薬としての薬理学的特性を明らかにするため，^{68}Ga-PSMA-11，PSMA-11（非標識 PSMA-11），及び核種の異なる ^{67}Ga-PSMA-11 又は ^{nat}Ga-PSMA-11（非放射性 Ga 標識 PSMA-11）を用いて薬理試験を実施した。

効力を裏付ける試験では，公表文献を参考資料として用いた。放射性診断薬としての本薬の重要な情報として公表文献の内容を記載した。公表文献にある試験方法は，放射性医薬品の親和性，

内在化，及び分布を評価する際の一般的な試験方法と同様である。副次的薬理試験及び安全性薬理試験は開発業務受託機関（CRO）で実施した。

^{67}Ga-PSMA-11 の PSMA に対する結合親和性について，PSMA 陽性 LNCaP 細胞と PSMA リガンドを用いた競合アッセイで検討したところ，^{67}Ga-PSMA-11 は PSMA 陽性 LNCaP 細胞に対して高い結合親和性を示し，Ki 値は 12.0 ± 2.8 nM であった。また，PSMA は N-アセチル化-α-結合酸性ジペプチダーゼ（NAALADase）活性を有することから，本酵素の活性阻害を指標に PSMA に対する親和性を非放射性標識体 ^{nat}Ga-PSMA-11 を用いて検討したところ，その IC50 値は 7.5 ± 2.2 nM であった[2.6.2-2.1.1 項]。

細胞内取り込み及び内在化を検討した *in vitro* 試験では，添加した ^{68}Ga-PSMA-11 の全放射能のうち約 55%～70%が PSMA 陽性 PC-3 PIP 細胞に取り込まれ，約 10%～15%が内在化した。一方，PSMA 陰性 PC-3 flu 細胞での取り込みは 0.5%未満であり，^{68}Ga-PSMA-11 の PSMA 依存的な取り込みと内在化が示された[2.6.2-2.1.2 項]。

PSMA 陽性 PC-3 PIP 腫瘍又は PSMA 陰性 PC-3 flu 腫瘍を移植したマウスを用いて ^{68}Ga-PSMA-11 の体内分布試験を実施したところ，^{68}Ga-PSMA-11 の静脈内投与後に本薬は血液から速やかに消失した。また，PSMA 陽性 PC-3 PIP 腫瘍移植マウスでは投与 2 時間後に腫瘍への明らかな取り込みが PET/CT によって確認された[2.6.2-2.2.1 項]。一方，PSMA 陰性 PC-3 flu 腫瘍移植マウスでは腫瘍への取り込みは認められなかった。また，腎臓及び膀胱を除き，腫瘍以外の組織への取り込みは低かった。

3.2 副次的薬理試験

PSMA-11 のオフターゲット活性について，受容体，イオンチャネル，酵素，トランスポーターを含む 87 種類の標的を用いて検討したところ，PSMA-11（10 µM）はいずれの標的に対しても親和性を示さなかった[2.6.2-3.1 項]。さらに，PSMA-11（10 µM）は，PSMA 陽性及び PSMA 陰性細胞株に対して顕著な細胞毒性活性を示さなかった[2.6.2-3.2 項]。これらの試験で用いた PSMA-11 の濃度（10 µM）は，ヒトに ^{68}Ga-PSMA-11 の予定最高臨床用量 25 µg を投与した際の推定 Cmax（10 nM）の約 1000 倍である。

3.3 安全性薬理試験

非標識 PSMA-11 を用いた安全性薬理試験として，*in vitro* で hERG チャネル電流に及ぼす影響，*in vivo* でラットの中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響，並びにミニブタの心血管系に及ぼす影響について検討した。

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-293 細胞を用いてパッチクランプ法で検討した[2.6.2-4.1.1 項]。その結果，PSMA-11 は 1.0，10，及び 100 µM の濃度で hERG 電流をそれぞれ，8 ± 4%，15 ± 4%，及び 17 ± 5%（平均値 ± 標準誤差）阻害した。本試験での最高濃度 100 µM は，ヒトに ^{68}Ga-PSMA-11 の予定最高臨床用量 25 µg を投与

した際の推定 Cmax（10 nM）の約 10000 倍である。当該濃度下でも hERG 電流への影響は認められなかったことから，PSMA-11 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。

In vivo 安全性薬理試験では，ラットに PSMA-11 を 0.75 mg/kg の用量まで投与しても中枢神経系[2.6.2-4.2.1 項]及び呼吸機能[2.6.2-4.2.2 項]に影響はみられず，テレメトリー装置を装着した覚醒下ミニブタに 0.29 mg/kg の用量まで投与しても心血管系に影響はみられなかった[2.6.2-4.2.3 項]。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，0.75 mg/kg 及び 0.29 mg/kg は，予定最高臨床用量 25 µg の，それぞれ約 300 倍及び 690 倍に相当する。

3.4 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。

4 薬物動態試験

^{68}Ga-PSMA-11 の細胞への取り込みは，キレート化された ^{68}Ga 放射性核種の崩壊による陽電子放出を PET イメージングすることにより動的に評価することができる。したがって，全身循環中の薬物濃度に基づく従来の PK 評価に加えて，組織／腫瘍レベルでの ^{68}Ga-PSMA-11 の体内分布の評価を実施した。

^{68}Ga-PSMA-11 の体内分布及び組織又は腫瘍への取り込みはマウスで評価した。非臨床における PK 試験では，^{68}Ga-PSMA-11 の他に ^{nat}Ga-PSMA-11（非放射性 Ga 標識 PSMA-11）及び PSMA-11（非標識 PSMA-11）を使用した。PSMA-11 の血漿中薬物濃度に基づく PK の評価は，PSMA-11 のラット TK 試験の中で実施した。PPB，血液／血漿濃度比，及び代謝安定性は，PSMA-11 又は ^{nat}Ga-PSMA-11 を用いた *in vitro* 試験で評価した。

4.1 分析法

ラット血漿中 PSMA-11 は，内部標準として Gd-PSMA-617 を用い，バリデートされた液体クロマトグラフィータンデム質量分析により定量した。PSMA-11 分析法の定量下限は，ラット血漿 50 µL で 33 ng/mL であった[2.6.4-2.2 項]。−80°C で凍結保存したラット血漿中での PSMA-11 の長期安定性は 154 日間でバリデートされており，実試料の実際の保存期間は，長期安定性を確認した期間の範囲内であった。

^{68}Ga-PSMA-11 で実施した試験では，試料中の放射能をガンマカウンターで測定した。測定結果を減衰補正し，1 g あたりの投与放射能に対する割合（%IA/g）として表示した。

4.2 吸収及び生物学的利用性

^{68}Ga-PSMA-11は静脈内投与されるため，吸収及びバイオアベイラビリティ試験は実施しなかった。

4.3 分布（蛋白結合を含む）

^{68}Ga-PSMA-11 の組織及び腫瘍分布プロファイルは，PSMA 陽性 PC-3 PIP 腫瘍及び PSMA 陰性 PC-3 flu 腫瘍異種移植片の担癌無胸腺性ヌード Balb/c マウス（雌）で検討した[2.6.4-4.2 項]。マウスに静脈内投与した ^{68}Ga-PSMA-11 は血液から速やかに消失し，投与 2 時間後の PSMA 陽性 PC-3 PIP 腫瘍での腫瘍／血液放射能比は極めて高くなった（500 超）。PSMA 陽性 PC-3 PIP 腫瘍における放射能の集積は高く，急速に生じ，投与 2 時間後で 40%IA/g であった。PSMA 陽性 PC-3 PIP 腫瘍で観察された放射能の取り込み及び内在化とは異なり，PSMA 陰性 PC-3 flu 腫瘍での取り込みは約 300 倍低く（0.13%IA/g，投与 2 時間後），^{68}Ga-PSMA-11 の特異性が示された。PSMA 発現組織である腎臓（約 60%IA/g，投与 2 時間後）を除き，大部分の正常組織における放射能の取り込みは低く，消失は速やかであった。

In vitro における PPB を PSMA-11 で評価した[2.6.4-4.1 項]。評価したすべての動物種及び試験で用いた濃度（1 及び 5 µg/mL）で，PSMA-11 が血漿蛋白に中程度に結合することが示された。ヒト血漿中での PSMA-11 の PPB は 1 及び 5 µg/mL の濃度でそれぞれ 33.2%及び 33.0%であった。ラット血漿中での PSMA-11 の PPB は 1 及び 5 µg/mL でそれぞれ 44.3%及び 36.3%であり，ミニブタ血漿中ではそれぞれ 41.0%及び 38.0%であった。

PSMA-11 の血液／血漿濃度比を 5 µg/mL で検討した[2.6.4-4.1 項]。PSMA-11 の平均血液／血漿濃度比は，マウス，ラット，ミニブタ，イヌ，及びヒトでそれぞれ 0.54，0.43，0.71，0.46，及び 0.71 であった。これらの血液／血漿濃度比は，検討したすべての動物種において 1 より低かったことから，PSMA-11 は赤血球中にほとんど分布しないと考えられる。

4.4 血漿中及び代謝の安定性（動物種間の比較）

ラット，ミニブタ，及びヒト由来の血漿，肝臓 S9，又は腎臓 S9 でインキュベートしたとき，PSMA-11 は良好な安定性を示した[2.6.4-6 項]，[2.7.2-2.1.2 項]。

PSMA-11 は，ラット，ミニブタ，及びヒト血漿中で 37°C で 2 時間まで安定であった。ラット，ミニブタ，及びヒト血漿中で 2 時間インキュベートしたときの PSMA-11 の減少は，それぞれ 8.0%，6.4%，及び 1.4%であり，すべての動物種で 10%未満であった。また，^{nat}Ga-PSMA-11（非放射性 Ga 標識 PSMA-11）は，マウス，ラット，ミニブタ，及びヒト血漿中で 37°C で 24 時間まで安定であった。

ラット，ミニブタ，及びヒト由来の肝臓 S9 による酵素的分解を 1 時間のインキュベーションで評価したとき，PSMA-11 は代謝的に安定であった。ラットとミニブタでは PSMA-11 濃度のわずかな減少が確認されたが，補酵素非存在下及び S9 非存在下（陰性対照）でも同様の減少がみられ，このわずかな分析対象物質の減少は酵素特異的ではないことが示唆された。

ラット，ミニブタ，及びヒト由来の腎臓 S9 による酵素的分解を 1 時間のインキュベーションで評価したとき，PSMA-11 は代謝的に安定であった。S9 + 補酵素存在下でのヒト腎臓 S9 による

PSMA-11 の最大の減少は 12%であり，補酵素非存在下では 7%の減少であった。S9 非存在下での対照試験でも PSMA-11 は 15%減少した。

4.5 消失／排泄

マウスにおける体内分布試験（4.3 項）の結果から腎臓が主要消失経路であった。肝臓及び腸への分布は少なかった。ヒトにおける ^{68}Ga-PSMA-11 の主な排泄経路は尿中排泄であり [2.7.2-3.1.3 項]，マウスでの評価結果と一致していた。

4.6 薬物動態学的薬物相互作用

In vitro 薬物相互作用試験については 2.7.2 臨床薬理試験を参照のこと。

4.7 トキシコキネティクス

ラットにおける非標識 PSMA-11 の拡張型単回投与毒性試験で TK を評価した（2.6.6 毒性試験の概要文）。

4.7.1 ラットにおけるトキシコキネティクス

ラットに PSMA-11 を 0.67 及び 1.33 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの TK を評価した [2.6.6-2.1 項]。血液試料を Day 1 の投与前，投与約 5 分，15 分，30 分，1 時間，2 時間，4 時間，8 時間，及び 24 時間後（Day 2）の 9 時点で採取した。

PSMA-11 0.67 mg/kg 群で平均最高血漿中薬物濃度（Cmax）は，雄及び雌ラットそれぞれ 2396 及び 3124 ng/mL であり，1.33 mg/kg 群では，それぞれ 5263 及び 5697 ng/mL であった。Cmax は，最初の試料採取時点である投与 0.083 時間後に認められた。0.67 及び 1.33 mg/kg 群における PSMA-11 の消失半減期（T1/2）は，雄ラットでいずれも 0.4 時間であり，雌ラットではそれぞれ 0.6 時間及び 0.3 時間であった。雄及び雌ラットにおける平均血漿中薬物濃度-時間曲線下面積［0～最終定量可能時点（AUClast）］は，0.67 mg/kg 群でそれぞれ 1261 及び 1057 ng·h/mL であり，1.33 mg/kg 群でそれぞれ 2042 及び 2041 ng·h/mL であった。曝露量は，用量に比例して増加し，雄及び雌ラットで同程度であった。クリアランスは用量に依存しなかったことから，線形の動態が示唆された。雄ラットにおける消失相での分布容積は，0.67 及び 1.33 mg/kg 群でそれぞれ 284 及び 370 mL/kg であり，雌ラットではそれぞれ 507 及び 311 mL/kg であった。これらの値から，PSMA-11 は主に循環血中に分布することが示された。

5 毒性試験

^{68}Ga-PSMA-11 の毒性試験として，ラットを用いた拡張型単回投与毒性試験及び *in silico*（定量的）構造活性相関［(Q)SAR］による変異原性評価を実施した。これらの試験では被験物質として非標識 PSMA-11 を使用し，放射線非依存性の毒性，すなわち PSMA 発現組織及び非発現組織で発現する可能性のある毒性変化を評価した。単回投与試験の投与液には，臨床用製剤と同様に，

非標識 PSMA-11 を含有した酢酸ナトリウム緩衝液を使用した。放射線の安定性を高めるために臨床用製剤に配合される添加剤（ゲンチジン酸）は，非臨床試験の投与液には含まれていない。

5.1 単回投与毒性試験

ラットを用いた拡張型単回投与毒性試験により，PSMA-11 の毒性プロファイルを評価した[2.6.6-2.1 項]。試験概要を Table 5-1 に示す。

Table 5-1 拡張型単回投与毒性試験

動物種／系統	投与期間	投与経路	用量 (mg/kg)	動物数／群		試験番号
				観察：1 日間	観察：14 日間	
ラット／Sprague Dawley	単回	静脈内	0, 0.67, 1.33	雄 10, 雌 10	雄 5, 雌 5	A3755

Source: Table 2.6.7.5-A3755

試験の結果，高用量（1.33 mg/kg）群においても良好な忍容性がみられ，いずれの検査項目においても，投与部位を含め被験物質に関連した毒性変化は認められず，毒性標的器官は特定されなかった。したがって，本試験の無毒性量は 1.33 mg/kg と考えられ，体表面積換算用量で比較すると予定最高臨床用量（25 µg）の約 530 倍であった。

5.2 反復投与毒性試験

^{68}Ga-PSMA-11 はマイクロドーズ放射性診断薬であり，関連するガイドライン［CHMP ガイドライン（Guidline on the non-clinical requirements for radiopharmaceuticals (Draft)，EMA/CHMP/SWP/686140/2018，2018 年 11 月），及び FDA ガイダンス（Microdose radiopharmaceutical diagnostic drugs: nonclinical study recommendations，2018 年 8 月）］で必須とされていないことから，^{68}Ga-PSMA-11 又は PSMA-11 の反復投与毒性試験は実施していない。

5.3 遺伝毒性試験

^{68}Ga-PSMA-11 はマイクロドーズ放射性診断薬であり，関連するガイドラインで必須とされていないことから，^{68}Ga-PSMA-11 又は PSMA-11 の遺伝毒性試験は実施していない。なお，PSMA-11 の遺伝毒性については，*in silico* (Q)SAR による変異原性評価の結果から非変異原性化合物であることが示唆された（5.7.1 項）。

5.4 がん原性試験

^{68}Ga-PSMA-11 はマイクロドーズ放射性診断薬であり，関連するガイドラインで必須とされていないことから，^{68}Ga-PSMA-11 又は PSMA-11 のがん原性試験は実施していない。

5.5 生殖発生毒性試験

^{68}Ga-PSMA-11 はマイクロドーズ放射性診断薬であり，関連するガイドラインで必須とされていないことから，^{68}Ga-PSMA-11 又は PSMA-11 の生殖発生毒性試験は実施していない。

5.6 局所刺激性試験

^{68}Ga-PSMA-11 はマイクロドーズ放射性診断薬であり，関連するガイドラインで必須とされていないことから，^{68}Ga-PSMA-11 又は PSMA-11 の独立した局所刺激性試験は実施していない。なお，ラットを用いた拡張型単回投与毒性試験で投与部位局所の評価をしたところ，局所刺激性は認められなかった（5.1 項）。

5.7 その他の毒性試験

5.7.1 *In silico* 細菌変異原性評価

PSMA-11 の細菌を用いた変異原性の潜在的可能性について，DEREK NEXUS 及び SARAH NEXUS を使用した(Q)SAR 法により評価した[2.6.6-8.1 項]。その結果，PSMA-11 は非変異原性物質であり，ICH M7 のクラス 5（「警告構造を有しないか，警告構造を有するが変異原性若しくは発がん性のないことを示す十分なデータが存在する」）に分類された。

6 不純物の安全性評価

拡張型単回投与毒性試験及び安全性薬理試験に供試した PSMA-11 は，GMP バッチの製造工程に従い製造されており，臨床使用製剤と同様と考えられる。PSMA-11 の総質量は約 25 µg であることから，^{68}Ga-PSMA-11 の 1 回投与における潜在的不純物の患者への投与量は，ICH M7 ガイドラインの毒性学的懸念の閾値である 1.5 µg/日を下回る量と推測される。したがって，非臨床バッチと臨床バッチの不純物含有量に差がある場合でも，曝露量が微量であるため安全性上の懸念はないと考えられた。

7 総合評価

^{68}Ga-PSMA-11 は，PET による PSMA 陽性がん病変の同定のため，病変部位に ^{68}Ga を送達する放射性診断薬である。そこで，PSMA-11，^{68}Ga-PSMA-11，^{67}Ga-PSMA-11，又は ^{nat}Ga-PSMA-11 を用いて，薬理試験，PK 試験，及び毒性試験を実施した。

PSMA は前立腺癌細胞で高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定的である。PSMA はリガンド結合後に内在化するため ^{68}Ga-PSMA-11 は腫瘍組織には長時間保持され，正常組織からは速やかに消失することから，^{68}Ga-PSMA-11 は前立腺癌の診断薬として有用であると思われる。

治療標的である PSMA のリガンドとして設計された ^{68}Ga-PSMA-11 のような放射線診断薬は，極めて低用量で用いられるため，標的への結合親和性は非常に重要である。^{67}Ga-PSMA-11 は前

立腺癌細胞株 LNCaP 細胞上の PSMA に対して高い親和性を示し，Ki 値は 12.0 ± 2.8 nM であった。また，NAALADase 活性の阻害を指標に ^{nat}Ga-PSMA-11 の PSMA に対する結合親和性について検討したところ，IC50 値は 7.5 ± 2.2 nM であった。さらに，^{68}Ga-PSMA-11 は PSMA 陽性前立腺癌細胞に高い親和性で結合し，取り込まれ，内在化することが示された一方で，PSMA 陰性前立腺癌細胞での取り込みはみられなかった。PSMA 陽性腫瘍細胞を移植したマウスを用いた体内分布試験においても，^{68}Ga-PSMA-11 は血液や正常組織から速やかに消失し，腫瘍に多く取り込まれることが確認された。マウスの試験では，^{68}Ga-PSMA-11 の PSMA 陽性腫瘍異種移植片への取り込みが確認されたが，PSMA 陰性異種移植片では取り込みは認められなかった。PET/CT を使用した *in vivo* イメージング及び体内分布試験では，^{68}Ga-PSMA-11 はマウスの血液及び正常な組織から速やかに消失し，PSMA 陽性腫瘍異種移植片での取り込み及び滞留が認められた。^{68}Ga-PSMA-11 は，PSMA リガンドであるグルタミン酸-尿素-リジン構造を介して PSMA に結合し，細胞内取り込み及び内在化をもたらすことから，PET を用いた診断が可能と考えられる。

PSMA-11 の TK は雌雄で類似しており，Cmax 及び AUClast は用量とともに増加した。PSMA-11 の T1/2 は，雄ラットでは 0.67 及び 1.33 mg/kg 群でいずれも 0.4 時間であり，雌ではそれぞれ 0.6 時間及び 0.3 時間であった。クリアランスは用量に依存せず概ね一定であり，評価した用量の範囲内で線形の動態を示唆した。PSMA-11 は主に循環血中に分布することが示唆された。

ヒトを含むいくつかの動物種において血漿，肝臓 S9，及び腎臓 S9 中での PSMA-11 の安定性を評価した。PSMA-11 はこれらの生体試料中でほとんど代謝されず，代謝は PSMA-11 の主な消失経路ではないことが示唆された。マウスにおける体内分布試験の結果から腎臓が主な消失経路であり，肝臓及び腸への分布は比較的低いことが示された。この結果は，ヒトにおける ^{68}Ga-PSMA-11 の主な排泄経路が尿中であった臨床データと一致している。

PSMA-11 を用いた安全性薬理試験では，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ず，hERG チャネル電流の阻害もみられなかった。さらに，PSMA-11 のオフターゲット活性について，受容体，イオンチャネル，酵素，トランスポーターを含む 87 の標的を用いて検討したところ，PSMA-11 はいずれの標的に対しても親和性を示さなかった。

PSMA-11 のラットを用いた拡張型単回投与毒性試験では，標的器官毒性は認められなかった。また，*in silico* 変異原性評価の結果から，PSMA-11 は非変異原性物質と考えられた。毒性試験及び安全性薬理試験の結果から，PSMA-11 の曝露による安全性上の懸念は低いことが示唆された。ラットを用いた拡張型単回投与毒性試験の無毒性量は 1.33 mg/kg と考えられ，体表面積換算用量で比較すると予定最高臨床用量（25 µg）の約 530 倍であった（Table 7-1）。

Table 7-1 無毒性量と臨床用量の体表面積換算用量での比較

試験の種類	動物種	無毒性量 (mg/kg) [a]	ヒト等価用量 (mg/m^2) [b]	用量比 [c]
単回投与毒性試験	ラット	1.33	8.0 [d]	530

a = PSMA-11 の全質量（標識 + 非標識）

b = 体表面積換算用量

c = PSMA-11 ペプチド（標識 + 非標識の全質量）の予定臨床最高用量を 25 µg/1.7 m^2（0.015 mg/m^2）として算出

d = 体表面積換算係数を 6 として算出

8 結論

以上のとおり，本概括評価に示した非臨床試験成績は，PET 検査による PSMA 標的療法の適応となる前立腺癌患者の選択を目的とした ^{68}Ga-PSMA-11 の臨床使用を支持するものと考える。

9 参考文献

[Banerjee SR and Pomper MG (2013)] Clinical applications of Gallium-68. Appl Radiat Isot; 76:2-13.

[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.

[Chang SS, O'Keefe DS, Bacich DJ, et al. (1999)] Prostate-specific membrane antigen is produced in tumor-associated neovasculature. Clin Cancer Res; 5(10):2674-81.

[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.

[Fourquet A, Aveline C, Cussenot O, et al. (2020)] ^{68}Ga-PSMA-11 PET/CT in restaging castration-resistant nonmetastatic prostate cancer: detection rate, impact on patients' disease management and adequacy of impact. Sci Rep 10:2104.

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

[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.

[Liu H, Moy P, Kim S, et al. (1997)] Monoclonal antibodies to the extracellular domain of prostate-specific membrane antigen also react with tumor vascular endothelium. Cancer Res; 57(17):3629-34.

[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.

[Martiniova L, De Palatis L, Etchebehere E, et al. (2016)] Gallium-68 in medical imaging. Curr Radiopharm; 9(3):187-207.

[Murphy GP, Elgamal AA, 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.

[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 HA, 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.

[Rovenská M, Hlouchová K, Šácha P, et al. (2008)] Tissue expression and enzymologic characterization of human prostate specific membrane antigen and its rat and pig orthologs. Prostate; 68(2):171-82.

[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.

[Sokoloff RL, Norton KC, Gasior CL, et al. (2000)] A dual-monoclonal sandwich assay for prostate-specific membrane antigen: Levels in tissues, seminal fluid and urine. Prostate; 43:150-7.

[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; 4:1015-26.