

試験施設の個体番号、ケージ番号及び本試験での動物番号の対応表を用いて行う。

動物のケージには試験番号等必要な情報を記載したラベルを付ける。

2.5 動物飼育

2.5.1 飼育室

サル飼育室 (7323 室)

2.5.2 飼育環境 (KSOP/AMC/1001, 1002, 1003)

2.5.2.1 温度

許容範囲 : 23.0~29.0°C

2.5.2.2 相対湿度

許容範囲 : 35.0~75.0%

2.5.2.3 換気

10~30 回/時, オールフレッシュエアー供給

2.5.2.4 照明時間

12 時間/日 (7:00~19:00) 点灯

19:00 以降であっても非定期の一般状態観察などの飼育室内作業を行う場合は点灯する。

2.5.3 飼育器材 (KSOP/AMC/3014)

2.5.3.1 ケージ

ステンレス製ケージ (680W×608/658D×770H mm, トキワ科学器械株式会社)

ケージは毎日水洗する。

2.5.3.2 給餌器

ステンレス製給餌器 (トキワ科学器械株式会社)

給餌器は毎日水洗する。

2.5.3.3 給水装置

自動給水装置 (トキワ科学器械株式会社)

2.5.3.4 架台

ステンレス製水洗式架台 (2 段, トキワ科学器械株式会社)

架台は毎日水洗する。

2.5.3.5 エンリッチメント (KSOP/MAN/9002)

動物福祉向上のために、金属製玩具を使用する。

2.5.4 収容動物数 (KSOP/AMC/3014)

1頭/ケージ

2.5.5 飼料 (KSOP/AMC/4002, 5001)

2.5.5.1 種類

サル用固型飼料, CMK-2 (日本クレア株式会社)

2.5.5.2 給餌法

制限給餌 (100 g/日, 1日1回給餌)

投与日は、麻酔から十分覚醒したことを確認したのち、給餌する。その他の期間は午前中に給餌し、翌朝に残存している飼料を回収、廃棄する。投与翌日 (安楽殺実施日) は給餌しない。

2.5.5.3 汚染物質の確認

飼料の供給元から分析結果を入手し、使用するロットの残留農薬等の汚染物質濃度が、試験施設の標準操作手順書の基準に適合していることを確認する。

2.5.6 飲用水 (KSOP/AMC/4001, 5002)

2.5.6.1 種類

5 µm フィルター濾過後、紫外線照射した水道水

2.5.6.2 給水法

自由摂取

2.5.6.3 分析

株式会社三菱化学アナリティックで水質検査を定期的 (2回/年) に実施し、その分析値が試験施設の標準操作手順書の基準に適合していることを確認する。

2.6 群構成

群	被験物質	投与用量 (µg/kg)	投与液量 (mL/kg)	投与液 濃度 (µg/mL)	動物数 (動物番号)
					雌
1	P092・マレ イン酸塩	40	1	40	1 (50101)
2	P092・マレ イン酸塩	***	*	**	1 (50201)

群	被験物質	投与用量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	投与液量 (mL/kg)	投与液 濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	動物数 (動物番号)
					雌
3	P092・マレ イン酸 塩	***	*	**	1 (50301)

2.6.1 投与用量及びその設定理由

脳脊髄液中濃度の目標値を薬効用量から考えて 400 nmol/L とし、血漿中濃度と脳脊髄液中濃度の相関をみるために、まず血漿中濃度がおよそ 1000 nmol/L となるような用量で静脈内投与を行うことにした (40 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 予想血中濃度 615 ng/mL=1230 nmol/L)。その結果から、残り 2 用量については設定する。

2.7 投与 (KSOP/ANH/1005, 6009)

2.7.1 投与経路

静脈内投与

2.7.2 投与経路の選択理由

予定臨床適用経路に準ずる。

2.7.3 投与液量

1 mL/kg とする。

各個体の投与液量は、投与日に測定した体重に基づいて算出する。

2.7.4 投与回数・期間

1 回

2.7.5 投与方法

ディスポーザブルシリンジ及び 22~25G の注射針を用い、伏在静脈より投与する。

2.8 観察・検査項目

全生存例について、下記の項目を検査する。

日と週の表記は、投与日を第-1 日、投与日を第 1 日とする。

2.8.1 一般状態 (KSOP/ANH/1002, 6005)

動物移管日から投与第 2 日まで毎日、生死、外観、行動及び排泄物等の異常の有無及び程度を観察する。観察頻度を以下に示す。

投与日： 1 日 2 回 (投与前, 投与後に各 1 回)

投与期間以外：1 日 1 回 (午前中)

上記の観察時間以外に一般状態の異常が認められた場合にも所見を記録する。

2.8.2 体重 (KSOP/ANH/1002, 6003)

以下の測定日の給餌前（投与日は投与前）に体重を測定する。測定には電子天秤を用いる。

動物移管日，群分け日，投与日（第1日）

2.8.3 摂餌量 (KSOP/ANH/6006)

動物移管日から投与日まで毎日測定する。

給餌（2.5.5.2 項参照）の翌朝（投与期間は投与前）に残餌量を目測する。残餌量から1日あたりの摂取量（完食，2/3，1/3，未食）を得る。

2.9 血漿中及び脳脊髄液中薬物濃度測定 (KSOP/ANL/3001)

2.9.1 採血及びPK測定試料の採取 (KSOP/ANH/1006, 1012, 6011; KSOP/ANL/1001; KSOP/CLI/1201, 1202)

全動物から以下の通り採血し，血漿（PK測定試料）を得る。

(1) 採血時点

投与後5分，2，4，8，24時間

(2) 採血方法

採血量： 約0.5 mL/時点

採血部位： 橈側皮静脈又は伏在静脈

抗凝固剤： ヘパリン（ナトリウム塩）（ヘパリン加注射筒にて採血）

採取容器： ポリプロピレン（PP）製チューブ

採取した血液は，採血後直ちに採取容器に入れて氷冷する。

(3) 血漿採取及び保管条件

採取した血液を遠心分離して個体毎に血漿を得る。遠心分離は採血後速やかに行う。

遠心条件： 約10000×g，3分，約4℃

保存容器： PP製チューブ

保存条件： 遠心分離後，直ちにドライアイス保冷

その後，約-80℃（許容範囲：-60℃以下）で保存

2.9.2 脳脊髄液の採取 (KSOP/ANH/6012, 6018; KSOP/ANL/1001)

全動物から以下の通り採取し，脳脊髄液（測定試料）を得る。

採取時点

投与後2～4時間に1回及び投与後24時間

採取及び保管条件

採取量： 約1 mL

採取部位： チオペンタールナトリウム（ラボナール，田辺三菱製薬株式会社）の静脈内投

与による麻酔下で、椎間関節穿刺により採取する。

採取容器： ポリプロピレン（PP）製チューブ

保存条件： 採取した脳脊髄液は、直ちに採取容器に入れドライアイスで保冷する。その後、約-80℃（許容範囲：-60℃以下）で保存する。

2.9.3 血漿中及び脳脊髄液中の薬物濃度測定

サル血漿中及び脳脊髄液中の P092 濃度測定試験（試験番号：B130426）の方法に従い、薬物濃度を測定する。

2.10 病理学的検査

2.10.1 検査対象器官・組織

下表に従い、採材及び検査を行う。

器官・組織	採材	病理組織検査
(1) 心臓	○ -	- -
(2) リンパ節	下顎	○ 両側
	鼠径	○ 両側
	腸間膜	○ -
(3) 胸腺	○ -	- -
(4) 脾臓	○ -	- ○
(5) 気管	○ -	- -
(6) 肺/気管支	○ -	- -
(7) 舌	○ -	- -
(8) 食道	○ -	- -
(9) 胃	○ -	- -
(10) 十二指腸	○ -	- ○
(11) 空腸	○ -	- ○
(12) 回腸	パイエル板含	○ -
(13) 盲腸	○ -	- ○
(14) 結腸	○ -	- ○
(15) 直腸	○ -	- -
(16) 唾液腺	耳下	○ 両側
	顎下	○ 両側
	舌下	○ 両側
(17) 肝臓/胆嚢	○ -	- ○
(18) 膵臓	○ -	- -
(19) 腎臓	○ 両側	- ○
(20) 膀胱	○ -	- -

器官・組織	採材	病理組織検査
(21) 下垂体	○ -	- -
(22) 甲状腺/上皮小体	○ 両側	- -
(23) 副腎	○ 両側	- -
(24) 大腿骨/骨髄	○ 両側	- -
(25) 胸骨/骨髄	○ -	- -
(26) 皮膚/乳腺	○ 両側	- -
(27) 眼球/視神経	○ 両側	- -
(28) 涙腺	○ 両側	- -
(29) 脳	○ -	- -
(30) 脊髄	頸部, 胸部, 腰部	○ -
(31) 大動脈	胸部	○ -
(32) 卵巣	○ 両側	- -
(33) 子宮	○ -	- -
(34) 臍	○ -	- -
(35) 骨格筋	大腿二頭筋	○ 右側
(36) 坐骨神経	○ 右側	- -
(37) その他肉眼的異常の器官/組織	○ -	- -

○：採材，検査対象；-：検査対象外または側性の区別なし

2.10.2 病理解剖検査 (KSOP/ANH/1009, 6012; PAT/2001, 2006, 2101)

投与後 24 時間の脳脊髄液採取終了後に，総頸動脈及び腋窩動・静脈から放血して安楽死させ，剖検する。動物が瀕死状態となった場合あるいは死亡した場合も同様に剖検する。

2.10.3 病理組織学的検査 (KSOP/PAT/1001, 2102, 3003, 3005, 3006, 3104, 3201, 3206, 3301, 3401, 3501, 4001)

全動物の 2.10.1 項に示した器官・組織を採取し，10 vol %リン酸緩衝ホルマリン液で固定し，保存する。ただし，眼球及び視神経はダビドソン液で固定後，10 vol %リン酸緩衝ホルマリン液で保存する。死亡動物については，いずれの器官・組織も 10 vol %リン酸緩衝ホルマリン液で保存する。

全動物の 2.10.1 項に示した器官・組織について，常法によりヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して鏡検する。

3. 試験責任者署名及び捺印

表題： サル血漿中及び脳脊髄液中の P092 濃度測定試験 (マレイン酸塩静脈内投与試験)

試験番号： B130598

試験責任者：

2013 年 7 月 12 日

大西 康之



大西 康之

三菱化学メディエンス株式会社

創薬支援事業本部 試験研究センター

安全性研究部

4. 試験計画書確認

表題： サル血漿中及び脳脊髄液中の P092 濃度測定試験 (マレイン酸塩静脈内投与試験)

試験番号： B130598

試験施設

三菱化学メディエンス株式会社 鹿島研究所

運営管理者：

年 月 日

印

山本 恭之

試験委託者

国立大学法人岐阜大学

年 月 日

印

桑田 一夫

Table Plasma Concentrations

		Plasma concentration of analyte (ng/mL)					B130595
Dose (mg/kg)	Animal No.	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	
250	10101	8.27	7.23	8.72	BLQ	BLQ	
	50101	9.10	12.6	11.7	6.39	BLQ	
	Mean	8.69	9.92	10.2	BLQ	BLQ	

BLQ: Below the lower limit of quantification (< 5 ng/mL)

		Plasma concentration of analyte (ng/mL)					B130596
Dose (mg/kg)	Animal No.	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	
250	10101	17.8	16.3	25.3	9.17	5.45	
	50101	9.44	14.0	25.8	7.22	BLQ	
	Mean	13.6	15.2	25.6	8.20	BLQ	

BLQ: Below the lower limit of quantification (< 5 ng/mL)

		Plasma concentration of analyte (ng/mL)					B130598
Dose (μg/kg)	Animal No.	0.083 h	2 h	4 h	8 h	24 h	
40	50101	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	

BLQ: Below the lower limit of quantification (< 5 ng/mL)

		Plasma concentration of analyte (ng/mL)					B130597
Dose (μg/kg)	Animal No.	0.083 h	2 h	4 h	8 h	24 h	
40	50101	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	

BLQ: Below the lower limit of quantification (< 5 ng/mL)

kuwata

差出人: Oonishi Yasuyuki [Oonishi.Yasuyuki@mp.medience.co.jp]
送信日時: 2013年7月30日 火曜日 20:30
宛先: kuwata@gifu-u.ac.jp
CC: Aida Yuu
件名: P092のサル静注試験: 25及び100mg/kgの投与

岐阜大学 桑田先生

お世話になっております。

昨日、マレイン酸塩を 25 及び 100mg/kg の用量で投与を行いました。
それぞれ 12.5mg/mL, 50mg/mL の投与液を生理食塩液で調製し、2 mL/kg の
投与液量で投与を行いました。

その結果、100mg/kg 投与動物は投与時ショックで死亡致しました。
血液がかなり溶血していたので、白血球が壊れ、各種サイトカインが
血中に放出され、その結果ショックを起こしたものではないかと思えます。

投与液の pH はいずれの濃度でも 3.7 でした。静注薬としては pH3.0 位のものは
ございますことから、pH はそれほど問題にはならないのではないかと推察し
ております。

生理食塩液に溶解させていることから、おそらく浸透圧も問題ない範囲と
思います。

剤が血球に吸着することと溶血の関係は不明ですが、その可能性もあるかも
しれません。

25mg/kg 投与動物でも溶血はしていたものの、こちらは異常症状は発現
せず、本日まで採血及び脳脊髄液の採取は完了しました。

25mg/kg 群の血漿中濃度及び脳脊髄液濃度の分析データは 8/2 に得られますので
その結果を見てから今後についてご相談させていただきたいと考えております。
100mg/kg 投与液も投与速度をゆっくりにすれば投与は可能なのかもしれませんが
(今回はボーラス投与としておりましたので、投与速度は規定していません)。

以上、取り急ぎ報告申し上げます。

三菱化学メディエンス株式会社 創薬支援事業本部
試験研究センター 安全性研究部
大西 康之
〒314-0255
茨城県神栖市砂山 14-1
Oonishi.Yasuyuki@mp.medience.co.jp
TEL: 0479-46-3461
FAX: 0479-46-7505

P092 のサル PK 試験 (硝子器具あるいは血球成分への吸着確認実験)

【被験物質】

コハク酸塩

材料：サル全血，血漿，生理食塩液

A被験物質液調製：pp製チューブ使用

- ① 10mgの被験物質を秤量
- ② 50mLの生理食塩液に溶解させる (200 μ g/mL)
- ③ 生理食塩液で5倍希釈する (40 μ g/mL) →被験物質溶液Aとする

B被験物質液調製：ガラス製容器使用

- ④ 10mgの被験物質を秤量
- ⑤ 50mLの生理食塩液に溶解させる (200 μ g/mL)
- ⑥ 生理食塩液で5倍希釈する (40 μ g/mL) →被験物質溶液Bとする

方法：pp製チューブを使用

以下のサンプルを調製し，LC-MS/MSで測定する。

- ① 被験物質溶液A
- ② 被験物質溶液B
- ③ 0.05mLの被験物質溶液A + サル全血 3.95 mL (80倍希釈，最終濃度 500ng/mL) →遠心分離して上清回収
- ④ 0.05mLの被験物質溶液A + サル血漿 3.95 mL (80倍希釈，最終濃度 500ng/mL)

kuwata

差出人: Oonishi Yasuyuki [Oonishi.Yasuyuki@mp.medienc.co.jp]
送信日時: 2013年7月26日金曜日 17:26
宛先: kuwata@gifu-u.ac.jp
CC: Aida Yuu
件名: P092のサル静注試験:血球への吸着検討につきまして

岐阜大学 桑田先生

お世話になっております。

本日以下の4液を調製しLC-MS/MS分析を行ってみました。

- ①PP製チューブで作製した被験物質液(コハク酸塩)→A液
- ②ガラス製容器で作製した被験物質液(コハク酸塩)→B液
- ③サル全血にA液を添加したあと血漿分離したもの
- ④サル血漿にA液を添加したもの

- ①の濃度: 15.1 ug/mL
- ②の濃度: 18.2 ug/mL
- ③の濃度: 77.2 ng/mL
- ④の濃度: 320 ng/mL

①と②の濃度分析は、血漿を用いた検量線を使っているため濃度自体は正確ではありません。ただ、①と②の比較から、ガラス製容器を使った方が若干吸着性は低い可能性が考えられます。

③と④の比較から、3/4は血球に吸着してしまう可能性が考えられました。

先の静脈内投与実験では、予想血漿中濃度としては約600 ng/mLとしていましたが、結局定量下限である5 ng/mL以下であったこと(予想血漿中濃度の1/100以下)、また血漿中濃度が上がっても、脳脊髄液への移行はわずかである可能性が考えられることから、来週の静脈内投与は、前回用量(40ug/kg)の500倍及び2000倍である、25 mg/kg、100 mg/kgを試して見たいと思いますが、いかがでしょうか？

ご検討いただければ幸いです。

三菱化学メディエンス株式会社 創薬支援事業本部
試験研究センター 安全性研究部
大西 康之
〒314-0255
茨城県神栖市砂山14-1
Oonishi.Yasuyuki@mp.medienc.co.jp
TEL:0479-46-3461
FAX:0479-46-7505

kuwata

差出人: Oonishi Yasuyuki [Oonishi.Yasuyuki@mp.medience.co.jp]
送信日時: 2013年8月2日金曜日 13:25
宛先: kuwata@gifu-u.ac.jp
CC: Aida Yuu
件名: RE: P092のサル静注試験: 血球への吸着検討につきまして
添付ファイル: B130598 results 20130802.xls

岐阜大学 桑田先生

お世話になっております。

先日実施しましたマレイン酸塩の 25mg/kg 投与群の血中濃度
及び脳脊髄液濃度の結果が得られましたので添付いたします。

血中濃度は投与後 5 分をピークに除々に低下し、24 時間後には検出限界以下
となりました。

脳脊髄液では、投与後 2-4 時間と投与後 24 時間のいずれにおいても検出限界
以下ではありましたが、ピークはチャート上に認められておりますので、
わずかではありますが、脳脊髄液への移行はあったようです。
投与後 2-4 時間では、0.5ng/mL 程度のピーク、投与後 24 時間ではそれよりも
低いピークではありましたが、若干にのピークは認められました。

血漿中濃度を上げれば、脳脊髄液への移行はみられるようですので、なんとかして
血漿中濃度を上げるしかないようです（当たり前のことですが）。

次回、100mg/kg の用量で投与速度を遅くして（0.5mL/min 程度）投与してみたいと
と思いますが、いかがでしょうか？ご意見をいただければと存じます。

三菱化学メディエンス株式会社 創薬支援事業本部
試験研究センター 安全性研究部

大西 康之

〒314-0255

茨城県神栖市砂山 14-1

Oonishi.Yasuyuki@mp.medience.co.jp

TEL: 0479-46-3461

FAX: 0479-46-7505

Table Plasma Concentrations

<マレイン酸塩静脈内投与>

Dose (mg/kg)	Animal No.	Plasma concentration of analyte (ng/mL)				
		0.083 h	2 h	4 h	8 h	24 h
25	50201	768	146	73.7	26.6	BLQ
100	50301	247000	-	-	-	-

BLQ: Below the lower limit of quantification (< 5 ng/mL) B130598

kuwata

差出人: Oonishi Yasuyuki [Oonishi.Yasuyuki@mp.medience.co.jp]
送信日時: 2013年8月12日月曜日 17:21
宛先: kuwata@gifu-u.ac.jp
CC: Aida Yuu
件名: P092のサル静注試験:追加実験につきまして
添付ファイル: P092のサルPK試験(20130812).doc

岐阜大学 桑田先生

お世話になっております。
担当者が感染症になってしまい、追加実験ができずにおりました。
申し訳ございません。

以下の内容で水曜日投与で実施いたしたいと考えております。

前回のマレイン酸塩の静注実験では、12.5mg/mLの濃度液では
容血は起こったものの、動物にショック症状は発現しなかった
ことから、12.5mg/mLを用いて投与液量を増やし、かつ投与速度を
落として雌1例に100 mg/kgの用量で投与を行いたいと考えています。

投与用量: 100 mg/kg
投与液濃度: 12.5mg/mL
投与速度: 0.5mL/分,
投与液量: 8mL/kg, 3kgの動物で24mL投与
投与時間: 48分

モンキーチェアに固定できるのは、せいぜい1時間程度ですので
これ以上投与速度を遅くするのは難しいと考えています。

この条件で、血中濃度及び脳脊髄液濃度を測定し、どの程度、
脳脊髄液へ移行するか見てみたいと思います。

これでも十分な移行が見られない場合は、反復投与を行って、
脳脊髄液中濃度が上がるかどうかを確認したいと考えています。

以上、ご了承いただければ幸いです。
以上の内容をまとめたものを添付いたします。

三菱化学メディエンス株式会社 創薬支援事業本部

試験研究センター 安全性研究部

大西 康之

〒314-0255

茨城県神栖市砂山14-1

Oonishi.Yasuyuki@mp.medience.co.jp

TEL: 0479-46-3461

P092 のサル PK 試験

試験番号 B130597 として実施

【被験物質】

マレイン酸

【静脈内投与試験】

動物数：雌 1 例 (サル)

脳脊髄液中濃度：400nmol/L を目標 (IC50: 200 nmol/L, MW: 約 500)

目標血中濃度を 1000 nmol/L (血中濃度) → 500 ng/mL (血漿中濃度)

循環血量：65 mL/kg, 3kg とすると, 195 mL → 100mg/kg とすると
300mg/195mL=1.5mg/mL (血中に投与する被験物質質量)

100mg/kg の投与用量を達成するために

①12.5mg/mL 液=8mL/kg の投与液量→3kgBW とすると 24mL (total)

→0.5mL/min の速度とすると計 48 分

採血・測定ポイント：投与後 5 分, 2, 4, 8, 24 時間 (計 5 ポイント)

脳脊髄液採取ポイント：投与後 2-4 時間, 24 時間 (計 2 ポイント)

測定検体数：血漿 5 検体, 脳脊髄液 2 検体

剖検：投与後 24 時間に実施, 採材

組織検査：小腸, 大腸, 肝臓, 腎臓, 脾臓

2013年度

	2013年										2014年		
	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	
サル血漿・脳脊髄液中濃度測定			■										
フリー体(経口)					■								
P092塩(経口)					■								
P092塩(注射)					■								
Ames試験							■	■	■	■			
染色体異常試験							■	■	■	■			
小核試験							■	■	■	■			
蛋白質結合、血球移行(本試験)							■	■	■	■			
in vitro代謝(Ms、幹細胞)							■	■	■	■			
分子種同定							■	■	■	■			
CYP阻害							■	■	■	■			
CYP誘導・mRNA測定							■	■	■	■			
ラット4週間毒性							■	■	■	■	■		
サル4週毒性							■	■	■	■	■		

2014年度

項目	2014年										2015年		
	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	
安全性薬理(ラット中枢神経)						■	■						
安全性薬理(サル心血管系)						■	■						
安全性薬理(hERG電流)						■	■						
ラット6か月毒性(脳髄液内濃度)		■	■	■	■	■	■	■	■				
サル9か月毒性(脳髄液内濃度)		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■		
プリオン感染サル試験						■	■	■	■	■	■	■	



Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA)

Shin-Kasumigaseki Building, 3-3-2, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-0013, JAPAN
Telephone +81-3-3506-9452, Facsimile +81-3-3506-9569

4 pages (include this sheet)

平成 25 年 9 月 12 日

宛先：

岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科

桑田 一夫 先生

(TEL: 058-230-6143)

(FAX: 058-230-6144)

件名：「治験成分記号 P092 (受付番号 戦 P76)」に関する機構意見について

標記の機構意見を、別紙のとおりファクシミリにて送付いたします。本機構意見に対する相談者の見解につきましては、平成 25 年 9 月 20 日 (金) 15:00 までに紙媒体 17 部 (電子媒体 1 部) をご提出下さいますよう、よろしくお願いたします。

送信元：医薬品医療機器総合機構
薬事戦略相談室

担当：福西 克弘

TEL：03-3506-9562

FAX：03-3506-9593

E-mail：fukunishi-katsuhiko@pmda.go.jp

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構
〒100-0013 東京都千代田区霞が関 3-3-2 新霞ヶ関ビル

機構の意見

<機構の意見について>

ここで提示する意見については、現時点で提出された資料に基づくものであり、今後得られる成績、情報等によって変わりうる場合があります。

相談事項1：原薬の塩の決定方法の検討（結晶、各種分析チャート、安定性（一ヶ月苛酷試験））の妥当性について

1. これまでの原薬の選択の経緯、塩の選択に関して提示された検討内容を踏まえると、現時点で製造、操作性の観点からは、マレイン酸塩を選択せざるを得ないと考えます。なお、品質の観点からは、以下の点について引き続き検討する必要があると考えます。
 - ① 製造法の再現性及びスケールアップ化に関する検討が未実施である旨説明されていることから、今後のスケールアップ化に際して従来と同等の品質のマレイン酸塩が得られることを確認する必要があると考えます。
 - ② マレイン酸塩の安定性については、4週間までのデータのみが提示されており、引き続き長期の安定性を確認する必要があると考えます。
 - ③ イソプロパノール（IPA）について0.2重量%程度の残留が認められており、今後再結晶溶媒を無水エタノールに変更する旨説明されていますが、テトラヒドロフランやエタノールについても適切なレベルまで留去できる製造法を確立することが望ましいと考えます。また、残留溶媒の定量に際しては、より定量性の高いガスクロマトグラフィー法を適用することが望ましいと考えます。
 - ④ 再結晶溶媒について、IPA 変性エタノールから無水エタノールへの変更が計画されていますが、再結晶溶媒の変更の結晶形に与える影響については粉末 X 線回折（XRD）及び示差走査熱量（DSC）データに基づいて検討する必要があると考えます。

相談事項2：プリオン感染サルによる薬理試験プロトコルの妥当性について

2. i) プリオン病患者における初期症状として、必ずしも食欲不振、睡眠障害及び体重減少等の精神症状が先に発現するとは限らず、運動障害及びミオクローヌス等の神経症状と区別して投与開始時期を設定する意義は高くないと考えること、ii) 同時比較可能なサルの例数が6匹に限られていることを踏まえれば、本試験においては本薬の有効性がより明確に示されることが期待できる発症早期から投薬を開始した場合の有効性を評価することがより有益と考えます。従って、本剤の薬効薬理試験として、薬理試験プロトコル（平成25年8月30日付照会事項回答添付資料）に示されているように、プリオン病発症早期のサルに対して本薬又はプラセボを投与する2群の比較試験とすることに異論はありません。なお、マウス感染モデルを対象とした薬理試験成績も踏まえると、本剤投与時期が薬効に影響を与える可能性が考えられることから、発症中期又は後期のサルに本剤の投与を開始する試験も、別途実施することが望ましいと考え

ます。(必須ではないと考えます)。

3. 本薬の投与量及び投与経路について、以下のように考えます。

- ① 投与量及び投与経路については、概ね以下のように決定されるものと理解しています。
 - i) マウス及びサルにおいて放射性同位元素標識体(マレイン酸塩)の分布及びマスバランス試験を実施し、本薬の脳組織への移行について検討する。
 - ii) マウスに対して本薬(塩酸塩及びマレイン酸塩) 10 mg/kg を腹腔内投与したときの血中濃度及び投与終了後の脳脊髄液中濃度を測定する。
 - iii) 上記 i) において本薬の脳組織への移行がマウス及びサルにおいて認められた場合は、i) 及び ii) を踏まえ、サル及びマウスにおける血中濃度及び脳組織中放射能濃度の関係を基に、サルにおいて有効性を期待できる投与経路及び投与量を決定する。
 - iv) iii) において設定した投与経路及び投与量のサルにおける反復投与時の忍容性について検討し、もっとも有効性を期待できそうな投与経路及び投与量を決定する。
- ② ラットにおける血中濃度及び脳脊髄液中濃度を測定した上で有効用量を推定することを説明されていますが(平成 25 年 8 月 30 日付照会事項 10①ii 回答)、本薬の薬理作用はマウスにおいて確認されていることから、ラットに加えて、マウスに対して本薬を腹腔内投与した時の血中濃度、脳脊髄液中濃度及び脳組織中放射能濃度を測定し、ラットのデータを参考にした上で、マウスの成績に基づいて、有効用量を推定することが適切と考えます。なお、マウスの脳脊髄液が微量であると説明されていますが、脳脊髄液の測定は、投与から一定時間経過後の 1 時点で差し支えないと考えます。

4. 薬理試験の実施方法については、以下のように考えます。

- ① バイアスを最小化するため、プリオン病を発症する前に本薬群及びプラセボ群の割付けを実施することが適切と考えます。
- ② 投薬を開始するタイミングについて、観察の間隔が長いことを理由に神経症状を発現したサルが 1 匹出現した段階で、発症していない個体を含む 1 群 3 匹すべてに対して同時に投薬を開始したいと説明されていますが(平成 25 年 8 月 30 日付照会事項 9 回答)、プリオン病に対する本薬の治療効果(発症予防効果でなく)を検討する本試験の目的を踏まえると、発症前に本薬の投与を開始することは不適切と考えますので、個体ごとに神経症状の発現を確認した上で、投薬を開始することが適切と考えます。
- ③ 投薬及び観察期間について、動物愛護の観点から、自力で摂食できなくなることを基準に設定し、当該基準を満たした個体ごとに安楽殺することは受け入れ可能と考えます。
- ④ 投与方法を経口投与とする場合、リンゴに塗布して投与することが計画されていますが、P092 の反復投与試験において一般状態の変化として流涎等が認められていることから、味覚に対する刺激性が予測されること、プリオン病発症サルにおいては摂餌量の低下又は摂食障害が発現する可能性が高く、期待した曝露量が維持できない懸念があること等を踏まえると、確実に投薬することが重要と考えますので、強制経口投与など投与方法について検討する必要があると考えます。

相談事項 3 : 新しい塩原薬を用いる非臨床安全性検査項目の妥当性について