

目次

1. 製品情報
2. 規格及び試験方法
3. 保管条件
4. 包装形態
5. 輸送及び納品方法
6. 製造方法
7. 出発物質
8. 製造管理及び品質管理
9. 治験薬GMPについての確認
10. 記録、参考品の保存

1. 製品情報

製品名： Adrenomedullin(Human)

構造：

YRQSMNNFQG LRSFGCRFGT CTVQKLAHQI YQFTDKDKDN VAPRSKIS PQ

GY-NH₂

C₂₆₄H₄₀₆N₈₀O₇₇S₃ : 6028.73

[148498-78-6]

数量： 5 g

2. 規格及び試験方法

試験項目	規格値	試験方法
性状	白色の粉末	肉眼観察
純度試験		
主成分	95%以上 ¹⁾	液体クロマトグラフィー
メチオニン酸化体	1%以下 ²⁾	液体クロマトグラフィー
構成アミノ酸	設定せず	アミノ酸分析法
酢酸	設定せず	ガスクロマトグラフィー
水分	設定せず	電量滴定法
元素分析	設定せず	有機微量元素分析装置にて測定
質量分析	設定せず	質量分析法
旋光度	設定せず	旋光度測定法
残留溶媒	設定せず	ガスクロマトグラフィー
エンドトキシン	設定せず	エンドトキシン試験法

※構成アミノ酸、酢酸、水分、元素分析、質量分析、旋光度、残留溶媒及びエンドトキシンの試験項目については、規格値を設定せず、実測値を報告する。

1) 純度試験 (その他の類縁物質)

Adrenomedullin(Human)1 mg を薄めた酢酸(100) (1→100) 約 1.5 mL に溶かし試料溶液とする。この液 10 μLにつき、それぞれ次の条件で液体クロマトグラフィーにより試験を行い、各々のピークの面積を自動積分法により測定し、Adrenomedullin(Human)のピークの面積百分率を求める。

試験条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：210 nm）

カラム：内径約 4.6 mm，長さ約 15 cm のステンレス管に 5 μ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充填する。

カラム温度：25°C 付近の一定温度。

移動相 A：アセトニトリル 0.1 L に 0.1 mol/L 塩化ナトリウム溶液（pH2.4）を加えて全量を 1 L にする。

移動相 B：アセトニトリル 0.6 L に 0.1 mol/L 塩化ナトリウム溶液（pH2.4）を加えて全量を 1 L にする。

移動相の送液：移動相 A 及び移動相 B の混合比を次のように変えて濃度勾配制御する。

注入後の時間 (分)	移動相 A (vol%)	移動相 B (vol%)
0~25	100→0	0→100
25~35	0	100

流量：毎分 1 mL

面積測定範囲：溶媒のピークの後から注入後 30 分まで

0.1 mol/L 塩化ナトリウム溶液（pH2.4）：塩化ナトリウム 5.8 g に水 1 L を加えて溶かし，塩酸を加えて pH2.4 に調整する。

2) 純度試験（メチオニン酸化体）

Adrenomedullin(Human)約 1 mg を薄めた酢酸(100) (1→100) 約 1.5 mL に溶かし試料溶液とする。この液 10 μ L につき，それぞれ次の条件で液体クロマトグラフィーにより試験を行い，各々のピークの面積を自動積分法により測定し，Adrenomedullin(Human)に対するメチオニン酸化体のピークの面積百分率を求める。

試験条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：210 nm）

カラム：内径約 4.6 mm，長さ約 15 cm のステンレス管に 5 μ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充填する。

カラム温度：25°C 付近の一定温度。

移動相 A：アセトニトリル 0.3 L に 0.1 mol/L 塩化ナトリウム溶液（pH2.4）を加えて全量を 1 L にする。

流量：Adrenomedullin(Human)の保持時間が約 5~7 分になるように調整する。

面積測定範囲：溶媒のピークの後から注入後 20 分まで

0.1mol/L 塩化ナトリウム溶液 (pH2.4) : 塩化ナトリウム 5.8 g に水 1 L を加えて溶かし、塩酸を加えて pH2.4 に調整する。

3. 保管条件

-20℃以下

4. 包装形態

(1) 直接容器

ガラス製容器又はポリエチレン製容器

(2) 直接容器の包装

ポリエチレン製袋で包装し、封緘する

(3) 外容器

発泡スチロール製クーラーボックス (包装した直接容器を入れて、約 5 kg のドライアイスを詰める)

(4) 表示ラベル (例)

治験用 Adrenomedullin (Human)
内容量: <u> </u> g
製品ロット番号: <u> </u>
貯法: 冷凍 (-20℃以下)
〒000-0000 住所
会社名

5. 輸送及び納品方法

(1) 輸送条件 : 冷凍

(2) 輸送にかかる日数 : 2～3日 (輸送上、特別な事情が発生しなければ)

(3) 納品場所 : 本学が指定する場所

(4) 納品物の確認

納品される製品は、本仕様書で定めた規格及び試験方法についてロット毎に照合分析を行い、本品輸送可否決定後、「出荷判定書」(別紙1)にその結果を記録、署名・捺印し、ロット毎に作成された試験結果報告書と合わせて本学に送付すること。

6. 製造方法

(1) 製造フロー (治験薬GMP (平成20年7月9日薬食発第0709002号) に準拠)

出発物質: 保護ペプチド hAM

- 工程 1 ↓ 脱 Boc (TFA)
保護ペプチド hAM 脱 Boc 体
- 工程 2 ↓ 脱保護 HF-p-Cresol
hAM HF crude (2SH 体)
- 工程 3 ↓ I₂ 酸化 0.1M I/MeOH
1M アスコルビン酸で反応停止
↓ 精製 分取 HPLC
- 工程 4 ↓ 精製 CM-toyopearl
- 工程 5 ↓ 脱塩 逆相 HPLC
- 工程 6 ↓ 精製 逆相 HPLC
- 工程 7 ↓ Dowex 1x2 3% AcOH
- 工程 8 ↓ Sephadex G-10 1% AcOH
- Adrenomedullin (Human)

(2) 製造手順

工程 1

保護ペプチド hAM に TFA を加えて脱 Boc 後、TFA を留去し、ジイソプロピルエーテルを加えて保護ペプチド hAM 脱 Boc 体の結晶を得る。

工程 2

保護ペプチド hAM 脱 Boc 体と p-Cresol を HF 反応管に加え、HF を導入し、60 分攪拌する。溶媒を留去後、ジイソプロピルエーテルを加えて hAM HF crude (2SH 体) の結晶を得る。

工程 3

0.1M I/MeOH でヨウ素酸化してジスルフィド架橋させる。1M アスコルビン酸で反応停止し分取 HPLC カラムに吸着させ、脱塩分取した後、凍結乾燥する。

工程 4

カルボキシメチル型陽イオン交換樹脂 CM-toyopearl を用いて、イオン交換クロマト精製を行う。

工程 5

逆相 HPLC カラムに吸着させ、脱塩した後、凍結乾燥する。

工程 6

逆相 HPLC カラムに吸着させ、精製した後、凍結乾燥する。

工程 7

強塩基性陰イオン交換樹脂 Dowex 1×2 を用い、TFA 塩を酢酸塩に変換した後、凍結乾燥する。

工程 8

Sephadex G-10 を用い、溶出する。0.2 μm のフィルターで濾過し、凍結乾燥して Adrenomedullin (Human) を得る。

7. 出発物質

出発物質となる保護ペプチド hAM は、液相合成法により合成した 6 つのフラグメントを原料としてフラグメント縮合にて順次伸張り、最終骨格まで構築した保護ペプチドとする。

(1) 品名

保護ペプチド hAM

(2) 構造

Boc-Tyr(BrZ)-Arg(Tos)-Gln-Ser(Bzl)-Met-Asn-Asn-Phe-Gln-Gly-
Leu-Arg(Tos)-Ser(Bzl)-Phe-Gly-Cys(MeBzl)-Arg(Tos)-Phe-Gly-Thr(Bzl)-
Cys(4MeBzl)-Thr(Bzl)-Val-Gln-Lys(ClZ)-Leu-Ala-His-Gln-Ile-Tyr(BrZ)-
Gln-Phe-Thr(Bzl)-Asp(OcHex)-Lys(ClZ)-Asp(OcHex)-Lys(ClZ)-
Asp(OcHex)-Asn-Val-Ala-Pro-Arg(Tos)-Ser(Bzl)-Lys(ClZ)-Ile-Ser(Bzl)-
Pro-Gln-Gly-Tyr(BrZ)-NH₂

(3) 規格

試験項目	規格値
HPLC 確認試験	標準品と一致
アミノ酸分析	構成する 17 種のアミノ酸のピークを認める

8. 製造管理及び品質管理

製造管理及び品質管理は、治験薬 GMP に基づいて厳格に行うこと。

9. 治験薬GMPについての確認

Adrenomedullin(Human)の品質確保のために必要な構造設備を備え、且つ適切な製造管理及び品質管理の下で製造され、出荷されていることについての確認を本学が申し入れた場合、これに協力すること。

10. 記録、参考品の保存

本仕様に基づき製造並びに試験検査等の記録を、作成の日から少なくとも5年間保存する。

また、製造された本品の参考品を次に示すとおり保管することとする。

保管量：Adrenomedullin(Human)の品質試験を2回以上行うために必要な量

保管期間：輸送後5年間

お客様コードNo. 00963

納品書

伝票No. 380200764

2014年 7月30日

国立大学法人 宮崎大学



様

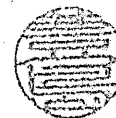
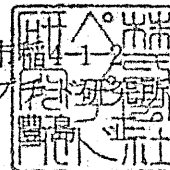
7/30

〒562-0015

大阪府箕面市

株式会社ペプ

代表取締役




担当者: 迫田 勝代

毎度ありがとうございます。下記の通り納品致しますのでご査収下さい。

品名	数量	単価	金額
L9829 Adrenomedullin (Human)	容量0.5 g 10 本	7,500,000	ロット640609 75,000,000
課税対象額	75,000,000	(消費税合計	6,000,000)
		合計	81,000,000

薬 純度>95% AcOH塩GMPグレード

555-842-1030 J 001-010-0019 (TEL) 009

品質管理 責任者	
-------------	---

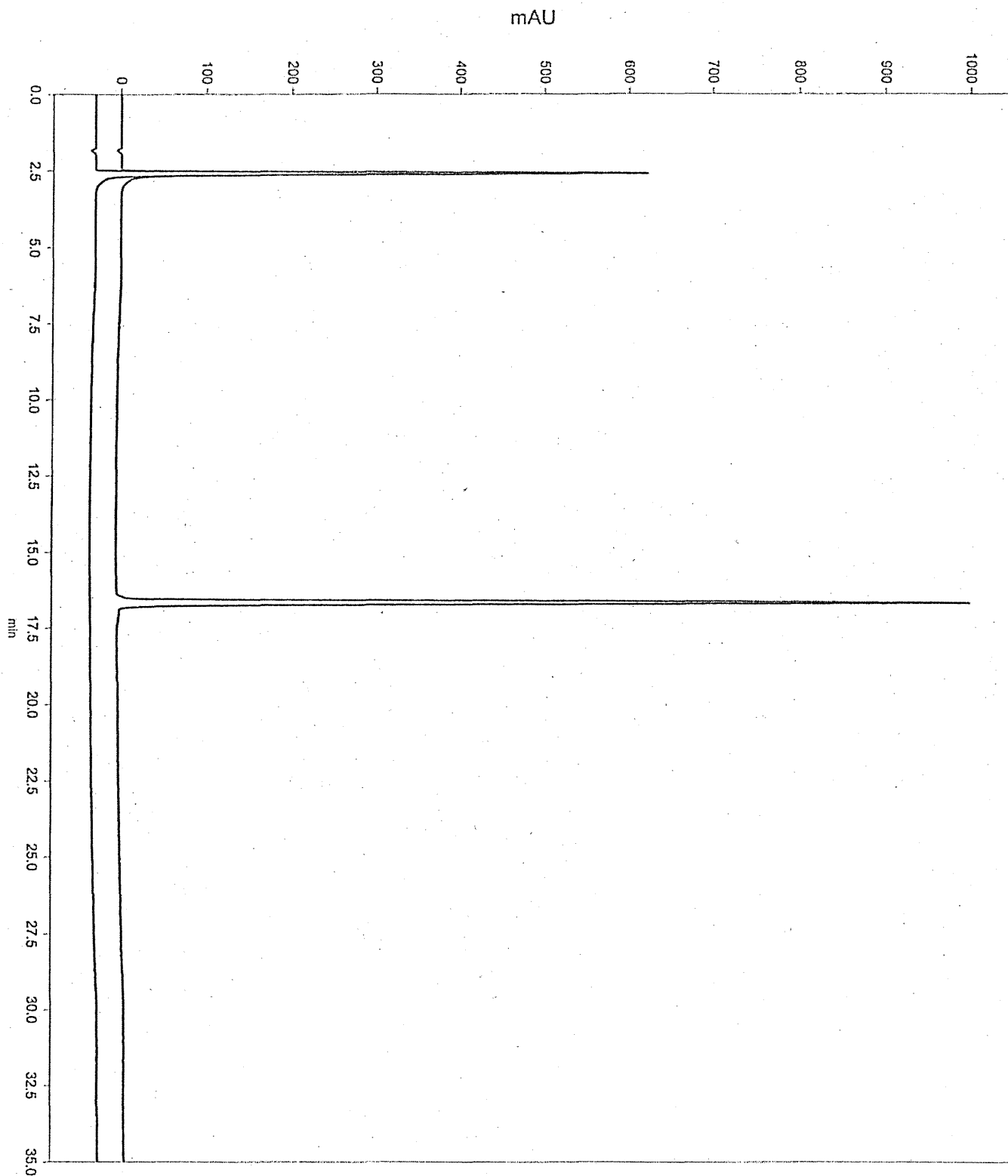
試験検査報告書

2014年7月25日

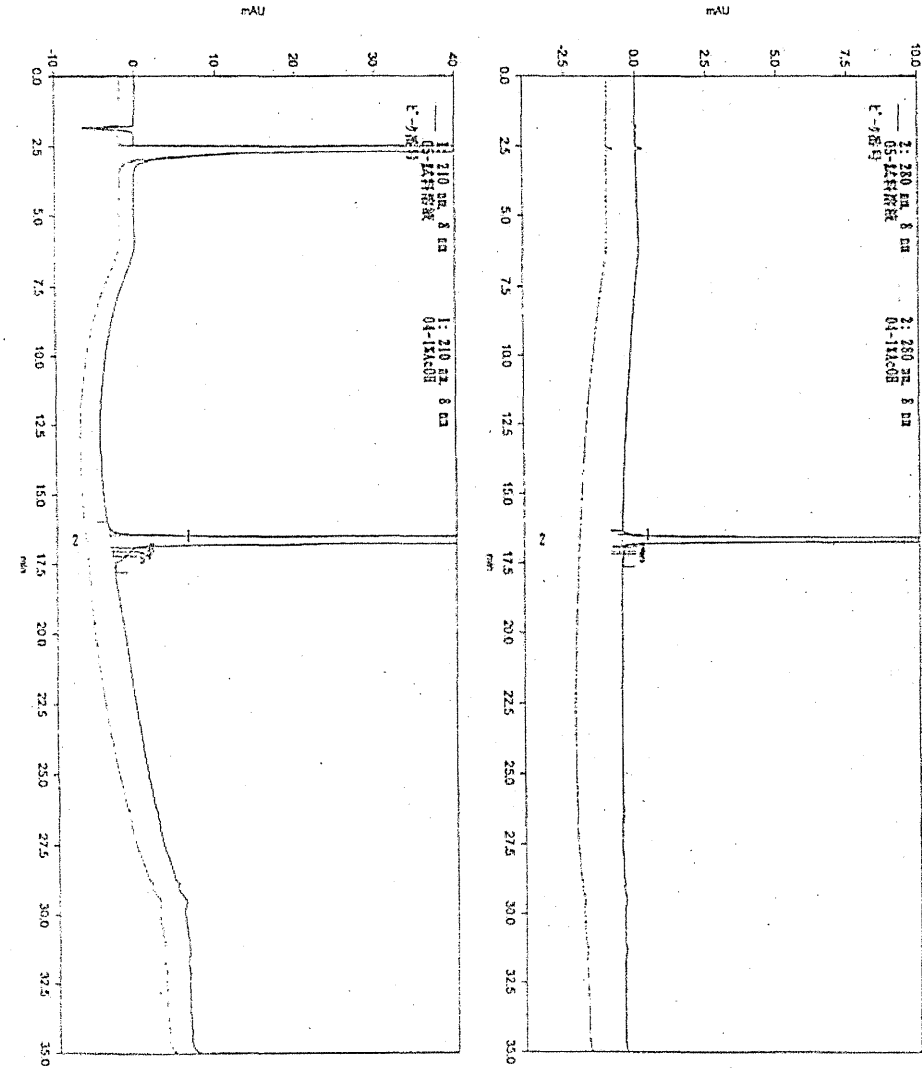
品名	Adrenomedullin(Human)
ロット番号	640609
製造日	2014年6月19日
容量・数量	0.5 g × 1
検査年月日	2014年6月19日～2014年7月16日

検査項目	検査結果																									
1. 性状	白色粉末																									
2. 純度試験 主成分	98.7% (規格:96%以上)																									
メチオニン酸化体	0.6% (規格:1%以下)																									
3. 構成アミノ酸	<p>構成アミノ酸に由来する17種のアミノ酸ピークを認めた。</p> <p>Pheを4としたときのモル比率 Asp(6) 5.84, Thr(3) 2.80, Ser(4) 3.41, Glu(6) 5.78, Pro(2) 2.05, Gly(4) 3.97, Ala(2) 2.00, Val(2) 1.99, Met(1) 0.99, Ile(2) 1.96, Leu(2) 2.02, Tyr(3) 2.98, Phe(4) 4.00, Lys(4) 3.95, His(1) 1.06, Arg(4) 4.05, 1/2Cystine(2) 0.77</p> <p>ペプチド含量</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>繰り返し1回目</th> <th>繰り返し2回目</th> <th>繰り返し3回目</th> <th>平均値</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>84.0%</td> <td>83.2%</td> <td>83.5%</td> <td>83.6%</td> </tr> </tbody> </table>	繰り返し1回目	繰り返し2回目	繰り返し3回目	平均値	84.0%	83.2%	83.5%	83.6%																	
繰り返し1回目	繰り返し2回目	繰り返し3回目	平均値																							
84.0%	83.2%	83.5%	83.6%																							
4. 酢酸	<table border="1"> <thead> <tr> <th>繰り返し1回目</th> <th>繰り返し2回目</th> <th>繰り返し3回目</th> <th>平均値</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>8.4%</td> <td>8.5%</td> <td>8.7%</td> <td>8.5%</td> </tr> </tbody> </table>	繰り返し1回目	繰り返し2回目	繰り返し3回目	平均値	8.4%	8.5%	8.7%	8.5%																	
繰り返し1回目	繰り返し2回目	繰り返し3回目	平均値																							
8.4%	8.5%	8.7%	8.5%																							
5. 水分	<table border="1"> <thead> <tr> <th>繰り返し1回目</th> <th>繰り返し2回目</th> <th>繰り返し3回目</th> <th>平均値</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>5.8%</td> <td>5.8%</td> <td>5.9%</td> <td>5.8%</td> </tr> </tbody> </table>	繰り返し1回目	繰り返し2回目	繰り返し3回目	平均値	5.8%	5.8%	5.9%	5.8%																	
繰り返し1回目	繰り返し2回目	繰り返し3回目	平均値																							
5.8%	5.8%	5.9%	5.8%																							
6. 旋光度	-88°																									
7. 元素分析	<table border="1"> <thead> <tr> <th>実測値</th> <th>炭素</th> <th>水素</th> <th>窒素</th> <th>%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>48.43</td> <td>6.89</td> <td>15.88</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td colspan="5">C₂₆₁H₄₀₆N₈₀O₇₇S₃・10CH₃COOH・23H₂O</td> </tr> <tr> <th>からの計算値</th> <th>炭素</th> <th>水素</th> <th>窒素</th> <th>%</th> </tr> <tr> <td>48.43</td> <td>7.04</td> <td>15.91</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	実測値	炭素	水素	窒素	%	48.43	6.89	15.88			C ₂₆₁ H ₄₀₆ N ₈₀ O ₇₇ S ₃ ・10CH ₃ COOH・23H ₂ O					からの計算値	炭素	水素	窒素	%	48.43	7.04	15.91		
実測値	炭素	水素	窒素	%																						
48.43	6.89	15.88																								
C ₂₆₁ H ₄₀₆ N ₈₀ O ₇₇ S ₃ ・10CH ₃ COOH・23H ₂ O																										
からの計算値	炭素	水素	窒素	%																						
48.43	7.04	15.91																								
8. 質量スペクトル(ESI)	実測値: m/z=1508.1, 1206.6, 1005.7, 862.2, 754.5, 670.8, 603.9 (計算値: [M+nH] ⁺ exact/n: 1507.7 (n=4), 1206.4 (n=5), 1005.5 (n=6), 862.0 (n=7), 754.4 (n=8), 670.7 (n=9), 603.7 (n=10))																									
9. 残留溶媒	ジイソプロピルエーテル:100ppm 以下(実施した分析条件で検出限界以下) アセトニトリル:100ppm 以下(実施した分析条件で検出限界以下) メタノール:200ppm 以下(実施した分析条件で検出限界以下) トリフルオロ酢酸:100ppm 以下(実施した分析条件で検出限界以下)																									
10. エンドトキシン試験	0.15EU/mg 以下																									
備考	HPLC チャート 2枚添付																									

Sample : Adrenomedullin (Human)
Sample Size : 10 μ L (1.01 mg/1.5 mL-1% AcOH)
Column : YMC Pack ODS-A (4.6 mm I.D. \times 150 mm) + G (4 \times 10 mm) #0415140164 (W)
Eluent : 0.1 M NaCl (pH2.4)
Gradient : Acetonitrile 10% to 60% [25 min.]
Flow Rate : 1.0 mL/min. ; Press. : 102 kg/cm² ; Temp. : 25 $^{\circ}$ C
Detection : 210 nm



Sample : Adrenomedullin (Human)
 Sample Size : 10 μ L (1.01 μ g/1.5 mL-1% AcOH)
 Column : YMC Pack ODS-A (4.6 mm I.D. \times 150 mm) + G (4 \times 10 mm) #0415140164 (W)
 Eluent : 0.1 M NaCl (pH2.4)
 Gradient : Acetonitrile 10% to 60% [25 min.]
 Flow Rate : 1.0 mL/min. ; Press. : 101-102 kg/cm². ; Temp. : 25 $^{\circ}$ C
 Detection : CH. 1 210 nm 0.04 a.u.f.s. ; CH. 2 280 nm 0.01 a.u.f.s.



210 nm

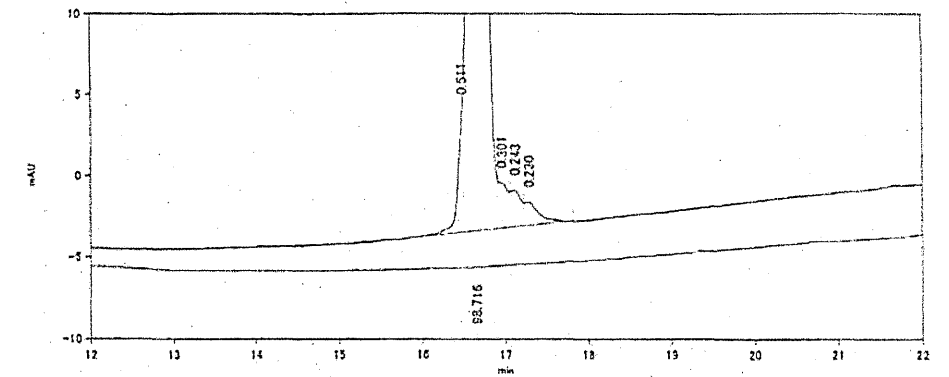
ピーク番号	保持時間	面積	高さ	波形処理マーク	面積%	理論段数	シフト係数
1	16.480	38643	8318	BV	0.5105	0	0.000
2	16.653	7472425	1003606	VV	98.7159	114800	1.194
3	16.960	22765	2774	VV	0.3007	0	0.000
4	17.120	18365	2204	VV	0.2426	46	0.000
5	17.291	17426	1381	VB	0.2302	0	0.000

Total		7569624	1018284		100.0000		
-------	--	---------	---------	--	----------	--	--

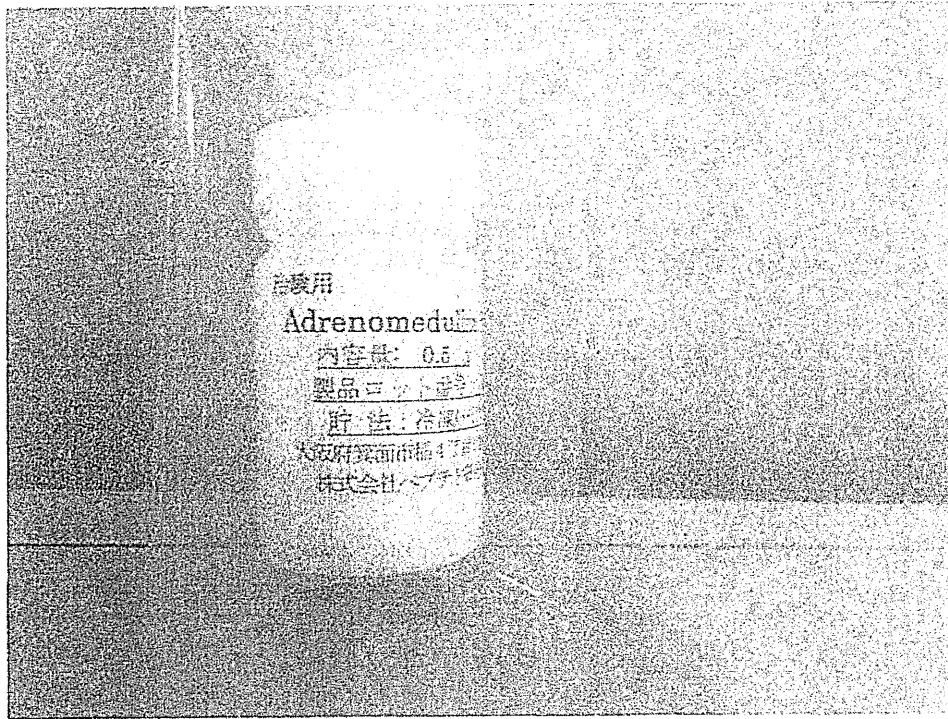
280 nm

ピーク番号	保持時間	面積	高さ	波形処理マーク	面積%	理論段数	シフト係数
1	16.491	1129	238	BV	0.5046	0	0.000
2	16.654	221027	30124	VV	98.8333	119066	1.194
3	16.975	640	80	VV	0.2861	0	0.000
4	17.113	321	59	VV	0.1436	0	0.000
5	17.293	520	47	VB	0.2324	82988	2.961

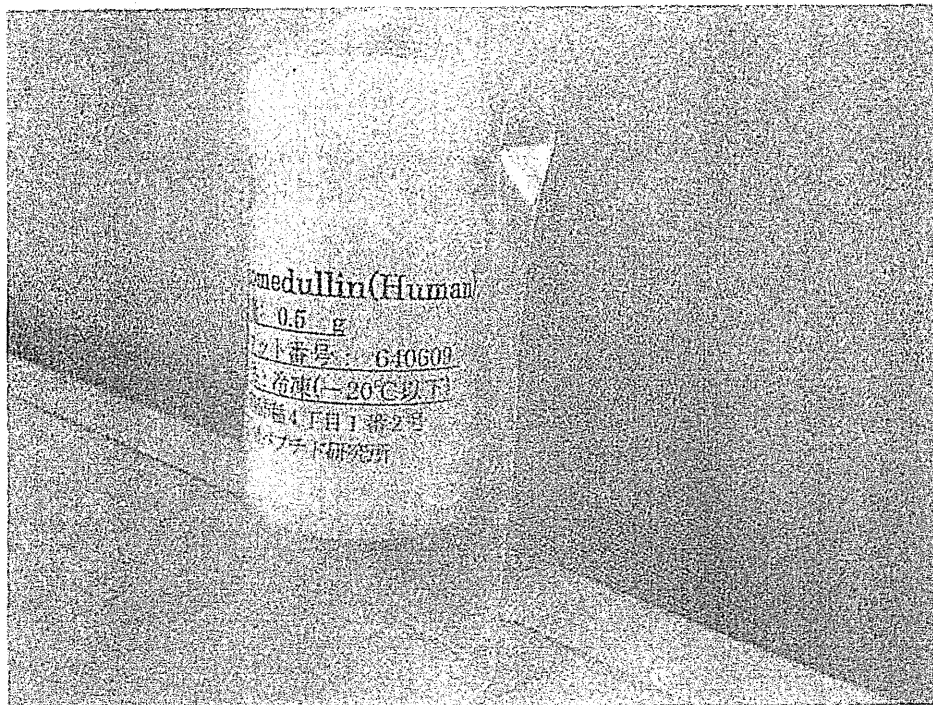
Total		223636	30546		100.0000		
-------	--	--------	-------	--	----------	--	--



・正面からの写真 (富士薬品の送付分)



・正面より少し右からの写真



ヒト合成アドレノメデュリン治験薬概要書

宮崎大学医学部内科学講座循環体液制御学分野

版番号：1版

発行日：2015年3月30日

1. 序文

潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis : UC) は若年～青年層に好発し、再燃を繰り返す原因不明の難病で、1975年 (昭和50年10月) より特定疾患治療研究対象疾患に指定されている。本邦においても患者数は増加傾向にあり、潰瘍性大腸炎は現在12万人を超えている。原因が不明で根治療法がない現状では、病勢をコントロールし、正常の社会生活を継続できる事が本疾患の治療の目標となっている。

潰瘍性大腸炎は治療ガイドラインに準じて治療がなされ、アミノサリチル酸製剤やステロイド製剤の全身投与・局所投与、血液成分除去療法、免疫抑制剤療法などが行われる。しかし、最も強力な治療効果を発揮するステロイド療法に反応しない「ステロイド抵抗症例」や、ステロイド療法の効果が得られるもののステロイド漸減中に再燃する「ステロイド依存症例」が少なからず存在し、「難治性」として問題になっている。また、ステロイドの長期使用による有害事象が問題となっており、如何にステロイドに頼らない治療で寛解を維持できるかが肝要である。それら難治性潰瘍性大腸炎に対しては、免疫抑制剤や生物学的製剤などの新たな治療法が保険認可されたが、それらの薬剤にも抵抗性を示す症例が少なからず存在し、また治療薬に関連した重篤な感染症や悪性腫瘍を合併する懸念もあり、新たな作用機序による治療薬の開発が急務である。アドレノメデュリンは1993年、ヒト褐色細胞腫から発見された52個のアミノ酸より構成される内因性血管拡張ペプチドである¹。その後の研究で血管内皮細胞、心筋細胞のアポトーシス抑制効果^{2,3}、さらに副側血行路の発達促進作用があることが報告され^{4,5}、アドレノメデュリンの心血管保護効果が明らかとなった。加えて、大腸潰瘍モデルおよび大腸炎モデルにおいて、アドレノメデュリン (注腸および腹腔内投与) が大腸において炎症改善作用を有することが判明しており⁶⁻¹¹、その機序として炎症性サイトカインの抑制や腸管血流改善作用、上皮再生作用等が関与していると考えられている。さらに、本大学で実施した先行臨床研究にて、難治性の潰瘍性大腸炎患者に対し、アドレノメデュリン 1.5 pmol/kg/min (9 ng/kg/min)、2週間の持続静注療法により、良好かつ安全な治療効果が得られている¹²。

ラット、イヌにおける単回投与¹³⁻¹⁵及び28日間反復投与毒性試験¹⁶⁻¹⁸の結果、その最小無影響量はヒトでの推定臨床投与量を上回ることが確認されている。また、溶血性試験¹⁹、血管刺激性試験^{20,21}、変異原性試験^{22,23}などの特殊毒性試験あるいは呼吸器²⁴、心血管系²⁵、中枢神経系²⁶に関する安全性薬理試験においても問題となる所見は認められていない。さらに、Toxicokinetics試験²⁷並びに薬物動態学的検討²⁸の結果、本薬に蓄積性は認められず、排泄²⁸も速やかであることが確認されている。

なお本薬は、国内²⁹⁻³²並びに海外³³⁻³⁷において健常成人志願者あるいは種々の疾患患者に対する医師主導型の臨床薬理試験が報告されている。健常成人志願者における試験^{29,33-35}では最大4.32µg/kg (0.096µg/kg/分で45分間投与)までの持続静脈内投与においてアドレノメデュリンの忍容性が確認されているが、血管拡張によると推測される血圧の低下が観察されていることから、本剤の投与は血圧をモニターしながら、慎重に行うことが必要とされる。本大学でも健常者並びに高血圧患者に対して持続静注試験を行い、安全性を確認しているが、2.5 pmol/kg/min (15 ng/kg/min)以上の投与では血圧低下が出現している^{38,39}。

2. 要約

2.1 物理化学的性質

構造及び特性	ヒトアドレノメデュリン (huAM)は化学合成法により製造される天然型ヒトアドレノメデュリン。
剤形及び成分	本薬は用時溶解して用いる注射剤で、1バイアル中に500 μ gのhuAMを含む凍結乾燥製剤である。
貯法・安定性	密封容器にて遮光・冷蔵(2 $^{\circ}$ C~8 $^{\circ}$ C)で36ヶ月

2.2 薬理作用

薬効薬理

これまでに以下の薬理・生理作用が報告されている

- 平滑筋細胞⁴⁰及び内皮細胞⁴¹に作用しcAMP並びにNOを介し、血管を拡張し血圧を低下させる。
- 尿細管に対する水、電解質の再吸収抑制により水、ナトリウム利尿を引き起こす⁴²。
- 心臓に直接作用しプロテインキナーゼCの活性化によりカルシウム濃度の調節により心筋の収縮性を増加させる⁴³。
- PI3K/Aktシグナルの活性化により抗アポトーシス作用を示す^{2, 3}。
- 血管内皮障害モデルにおいて内皮細胞修復作用を示した⁴⁴。
- 下肢虚血モデルにおいて副側血行路の発達を促した^{4, 5}。
- 炎症物質の分泌抑制⁴⁵並びに炎症物質による内皮細胞の透過性を抑制⁴⁶する抗炎症作用を示した。
- *In vivo*での大腸潰瘍モデルにおいて、潰瘍治癒を促進した⁶。
- *In vivo*での大腸炎モデルにおいて、症状を軽減し、炎症を改善した⁷⁻¹¹。

安全性薬理

項目	動物 (投与量)-単回静脈内投与	結果
呼吸器系への影響 ²⁴	ラット (0, 3, 30, 300 μ g/kg)	呼吸数、1回換気量及び分時換気量に有意な影響は認められなかった(全群)。
心血管系への影響 ²⁵	イヌ (0, 3, 30, 100 μ g/kg)	血圧 \downarrow ・心拍数 \uparrow ($\geq 30\mu$ g/kg), 自発運動 \downarrow (100 μ g/kg), 心電図及び体温には影響は認められなかった(全群)。
中枢神経系への影響 ²⁶	ラット (0, 3, 30, 300 μ g/kg)	認知力、気分、運動性、中枢興奮、姿勢、運動失調、筋緊張度、反射及び睡眠に影響は認められなかった(全群)。自律神経症状(皮膚の発赤)(300 μ g/kg)

2.3 毒性

項目	動物 (投与量)	結果
単回投与試験	ラット ¹³ (0, 100, 300, 1000µg/kg; iv)	LD ₅₀ >1000µg/kg, 四肢・耳介の発赤(≥300µg/kg), 呼吸不整(1000µg/kg)
	ラット 強制劣化製剤 ¹⁴ -純度 86.5% (0, 100, 300, 1000µg/kg; iv)	LD ₅₀ >1000µg/kg, 四肢・耳介の発赤(≥300µg/kg)
	イヌ ¹⁵ (0, 100, 300, 1000µg/kg; iv)	LD ₅₀ >1000µg/kg, 自発運動↓・排便(≥100µg/kg), 不整呼吸(≥300µg/kg)
28日反復投与試験	ラット ¹⁶ (0, 100, 300, 1000µg/kg; iv)	毒性学的無影響量=100µg/kg, α ₂ -glob↑(≥100µg/kg)♂, 心重量↑(300µg/kg), 四肢・耳介の発赤(≥300µg/kg), 呼吸不整(1000µg/kg), Fbg・ALP↑(1000µg/kg), 精巣・副腎・肝重量↑(1000µg/kg), MCH・MCV・Na↑(1000µg/kg 回復群), 胸腺・脾臓・腎臓・精巣重量↓(1000µg/kg 回復群♂)
	イヌ ^{17, 18} (0, 30, 100, 300µg/kg; iv)	毒性学的無影響量=30µg/kg, 自発運動↓・脈拍↑・血圧↓・排便(≥100µg/kg), 結膜充血・呼吸不整(300µg/kg)
Toxicokinetics	ラット 28日反復投与 ²⁷ (0, 100, 300, 1000µg/kg; iv)	全群 Tmax=5分。Cmax, AUC _{0-24hr} は用量依存に増大。28日後に蓄積性は認められなかった。
	イヌ単回投与 ^{47, 48} (0, 100, 300, 1000µg/kg; iv)	全群 Tmax=5分。Cmax, AUC _{0-24hr} は用量依存に増大。
	イヌ 28日反復投与試験 ²⁷ (0, 30, 100, 300µg/kg; iv)	全群 Tmax=5分。Cmax, AUC _{0-24hr} は用量依存に増大。28日後に蓄積性は認められなかった。
溶血性試験 ¹⁹	ウサギ血液	溶血性は認められなかった。
局所刺激性試験 ^{20, 21}	ウサギ血管	血管刺激性は認められなかった。
遺伝毒性試験	細菌を用いた 復帰突然変異試験 ²²	復帰突然変異誘発性は認められなかった。
	培養細胞を用いた 染色体異常試験 ²³	染色体異常誘発性は認められなかった。

2.4 薬物動態

125I-hAM 18µg/kg の雄性ラットへの単回静脈内投与により以下の結果が得られた	
血中動態 ²⁸	βT _{1/2} : 7.3 時間

体内分布 ²⁸	肺、腎臓、肝臓、脾臓、副腎及び骨髄のみが血漿中濃度より高値を示した。心臓への分布は投与5分後では血漿中と同程度であったが、2時間後以降24時間までは血漿中の1/3程度であった。
排泄 ²⁸	投与後24時間までに投与量の70%が尿及び糞中に排泄された。主要な排泄経路は尿中排泄と考えられた。

2.5 臨床使用報告

健常成人志願者並びに種々の疾患患者を対象としたアドレノメデュリン原薬による単回持続静脈内投与による臨床薬理試験が国内²⁹⁻³²並びに海外³³⁻³⁷において報告されている。その結果、健常成人志願者では最大4.32μg/kg (0.096μg/kg/分の用量で45分間の投与)、また疾患患者(急性心筋梗塞)においては最大18μg/kg (0.025μg/kg/分の用量で12時間の投与)において、アドレノメデュリンの忍容性が確認されている。しかしながら、多くの研究において血圧の低下がみられていることより、本剤の投与は血圧をモニターしながら、慎重に行うことが必要であると考えられる。

下表にこれまでのアドレノメデュリン原薬を用いた臨床薬理研究の一覧を示した。

疾患	実施国	試験デザイン	結果
健常成人志願者を対象	日本 ²⁹	プラセボコントロール, オープン試験, 健常成人7例(男性6例, 女性1例), 0.05μg/kg/分 iv: 30分	頭痛, 血圧↓, 心拍数・心係数↑, 尿量・尿中Na・クレアチニン・クリアランス↑
	英国 ³³	プラセボコントロール, 単盲検試験, クロスオーバー. 健常成人男子8例, 0.019-0.081μg/kg/分 iv: 40分	自覚症状なし, 血圧↓, 心拍数↑, プロラクチン↑
	ニュージーランド ³⁴	プラセボコントロール, オープン試験, クロスオーバー, 健常成人男子8例, 0.016 & 0.032μg/kg/分 iv; 120分間隔の段階的漸増法	自覚症状なし, 血圧↓, 心拍数・心係数↑, 血漿中レニン活性・プロラクチン・ノルアドレナリン・cAMP ↑
	オーストリア ³⁵	プラセボコントロール, オープン試験, 健常成人男子4例, 0, 0.019, 0.039, 0.058, 0.077 & 0.096μg/kg/分 iv; 45分間隔の段階的漸増法	自覚症状なし, 血圧↓, 心拍数↑
亜急性心筋梗塞	日本 ³⁰	単盲検試験, 1ヶ月前に心筋梗塞でPCI治療を受けた男性患者7例, 0.05μg/kg/分 iv: 18分	自覚症状なし, 心筋機能の改善(左室収縮・拡張の改善, 心係数増加, 冠状洞血流増加), 心筋の酸素消費量に影響せず

ヒト合成アドレノメデュリン

うっ血性心不全	日本 ²⁹	プラセボコントロール、オープン試験、健常成人7例(男性5例, 女性2例), 0.05μg/kg/分 iv: 30分	自覚症状なし, 血行動態の改善(血圧・肺毛細血管楔入圧↓, 心拍数・心出力・心係数↑), 尿量・尿中 Na↑, アルドステロン↓
うっ血性心不全	日本 ³¹	プラセボコントロール, 二重盲検試験, 0.10μg/kg/分 iv: 30分	自覚症状なし, 血行動態の改善(血圧・肺毛細血管楔入圧↓, 心拍数・心係数↑), 尿量・尿中 Na↑, アルドステロン↓
本態性高血圧	ニュージーランド ³⁶	プラセボコントロール, 単盲検試験, クロスオーバー, 男性健常人8例, 0.017, 0.035μg/kg/分 iv; 120分間隔の段階的漸増法	自覚症状: 軽度の頭痛・軽度の顔面紅潮と結膜充血, 血圧↓, 心拍数・心出力↑, 血漿中レニン活性・プロラクチン・ノルアドレナリン・cAMP ↑
肺高血圧	日本 ³²	プラセボコントロール, 単盲検試験, 患者13例(男性6例, 女性7例), 0.05μg/kg/分 iv: 30分	自覚症状: 頭痛・動悸, 肺動脈血圧・肺血管抵抗↓, 心係数↑, アルドステロン↓, cAMP↑
慢性腎症	ニュージーランド ³⁷	プラセボコントロール, 単盲検試験, クロスオーバー, 男性健常人8例, 0.02 & 0.04μg/kg/分 iv; 120分間隔の段階的漸増法	自覚症状: 軽度の顔面紅潮と頭痛, 血圧↓, 心拍数・心出力↑, 尿量・尿中 Na↑, 血漿中レニン活性・アンジオテンシン II↑, プロラクチン・ノルアドレナリン・cAMP ↑

4. 非臨床試験

4.1 非臨床薬理試験

4.1.1 薬理作用

アドレノメデュリンは CLR (calcitonin receptor like receptor) と RAMP (receptor activity-modifying protein) のサブタイプである RAMP2 あるいは RAMP3 の複合体である CLR/RAMP2 及び CLR/RAMP3 を特異的受容体とし⁵⁰、これまでに以下のような生理・薬理作用を有することが報告されている。【発表論文要約】

4.1.1.1 血管拡張、降圧作用

アドレノメデュリンは血管拡張作用を主とする降圧作用を示す。アドレノメデュリンレセプターは Gs タンパク質と共役してアデニル酸シクラーゼを活性化すると同時に、Gq と共役してホスホリパーゼ C を活性化することから、アドレノメデュリンは血管平滑筋細胞内の cAMP 増加を介し、A キナーゼを介してミオシン軽鎖キナーゼの不活性化により平滑筋を弛緩させる⁴⁰ほか、内皮細胞にも作用し、NO 合成酵素の活性化により放出された NO が平滑筋に働き、cGMP 産生も増加して弛緩させる機序が考えられている⁴¹。

【発表論文要約】

4.1.1.2 体液量調整作用

アドレノメデュリンは腎臓に対して尿細管における水、電解質の再吸収を抑制することで、水とナトリウム利尿をもたらす考えられている⁴²。【発表論文要約】

4.1.1.3 心臓に対する作用

アドレノメデュリンを経静脈的に投与すると、心拍出量の増加が見られる。アドレノメデュリンは血管の拡張による後負荷の低下のほかに、心臓に直接作用することが考えられている。アドレノメデュリンは心筋の収縮性を増加させ、陽性変力作用を有するが、これは cAMP 非依存性の作用であり、Ca²⁺チャンネルからの Ca²⁺流入を介していることが示唆されている⁴³。【発表論文要約】

4.1.1.4 細胞のアポトーシス抑制作用

アドレノメデュリンは血管内皮細胞や心筋細胞において PI3K/Akt シグナルの活性化を促す^{2,3}。Akt のリン酸化は細胞の生存には欠かせない Survival signal と考えられおり、アドレノメデュリンは Akt をリン酸化することで細胞のアポトーシスを抑制すると考えられている。【発表論文要約】

4.1.1.5 血管保護作用

損傷内皮再生課程の *in vitro* モデルである Wound healing assay を用いてアドレノメデュリンの内皮再生作用を検討すると、10⁻¹¹~10⁻⁷M で損傷内皮の修復面積は用量依存

的に有意に増加した⁴⁴。【発表論文要約】

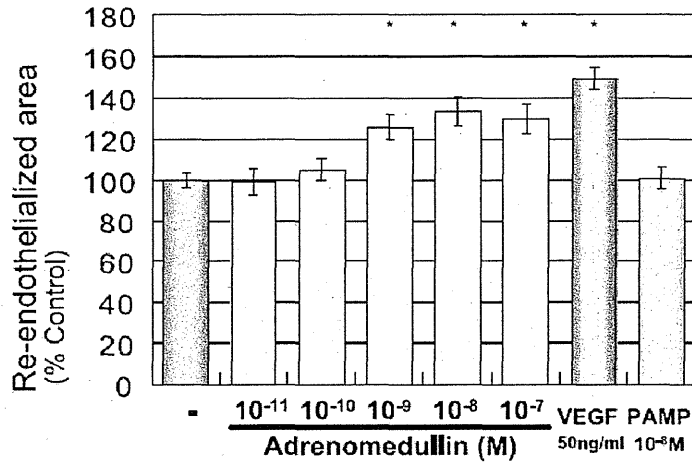


図 4.1.1.5 アドレノメデュリンの損傷内皮修復効果

*: P<0.01 vs control (n=12)

4.1.1.6 血管新生作用

アドレノメデュリン遺伝子ホモノックアウトマウスでは血管構築不全により胎生致死となる⁵¹ことから、アドレノメデュリンは血管の発生に関与していることが明らかとなった。アドレノメデュリン遺伝子をマウス⁴及びウサギ⁵下肢虚血モデルに投与すると、著明な副側血行路の発達が確認されている。【発表論文要約】

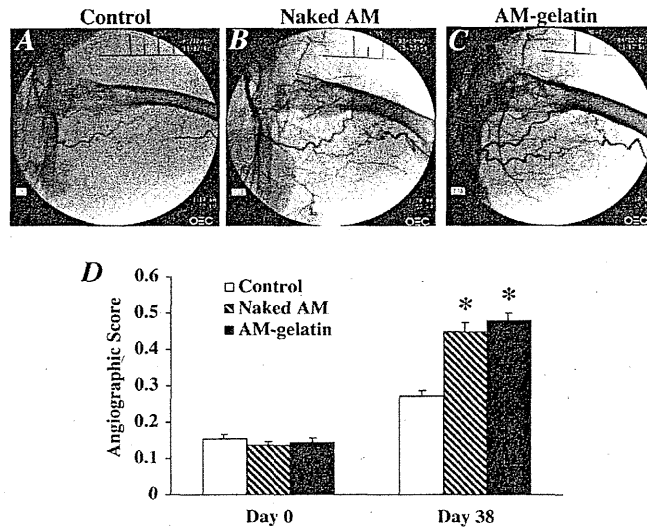


図 4.1.1.6 ウサギ下肢虚血モデルにおけるアドレノメデュリン遺伝子治療の血管新生作用

AM-gelatin; AM 遺伝子のゼラチンによる徐放化 *; P<0.05 vs control

4.1.1.7 抗炎症作用

アドレノメデュリンはマクロファージで産生される炎症性サイトカインの分泌を抑制し、抗炎症作用を発揮する⁴⁵。また炎症細胞以外にも、アドレノメデュリンは活性酸素、エンドトキシンあるいはサイトカインにより亢進した内皮細胞の透過性を抑制する⁴⁶。【発表論文要約】