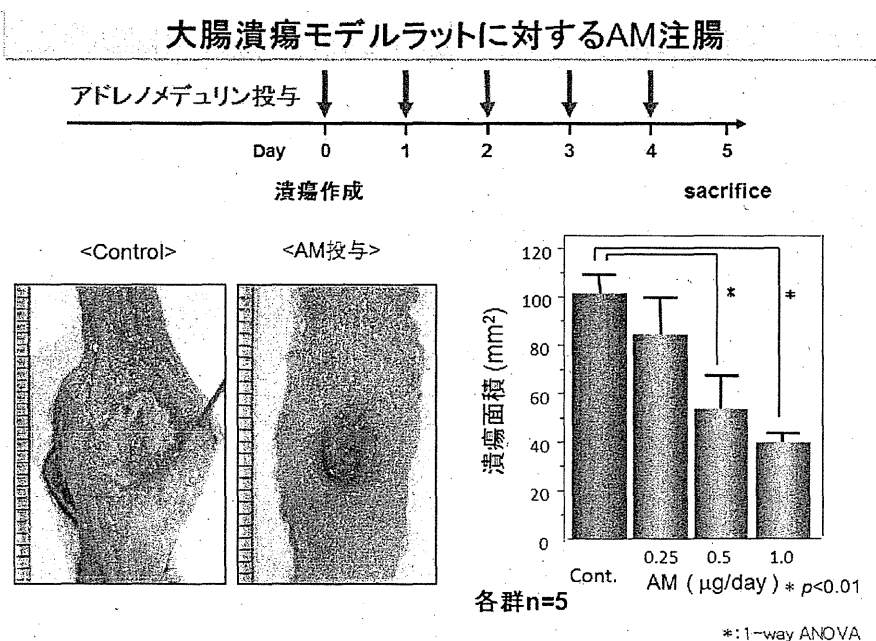


#### 4.1.2 疾患モデルにおける検討

アドレノメデュリンは血管拡張作用、利尿作用以外に、炎症性サイトカインの抑制や腸管血流改善作用、上皮再生作用等を介して、腸管粘膜再生促進作用があることが報告されている。

##### 4.1.2.1 ラット *in vivo* 大腸潰瘍モデル

大腸潰瘍モデルラットに対しアドレノメデュリンを経肛門的に5日間連日投与した。アドレノメデュリン投与により用量依存的に潰瘍面積は縮小し、組織学的検討でも潰瘍部への炎症細胞浸潤が改善された。また、アドレノメデュリン投与群において潰瘍大腸組織におけるinterferon (IFN)- $\gamma$ やIL-6などの炎症性サイトカインが有意に低値であった<sup>6</sup>。【発表論文要約】



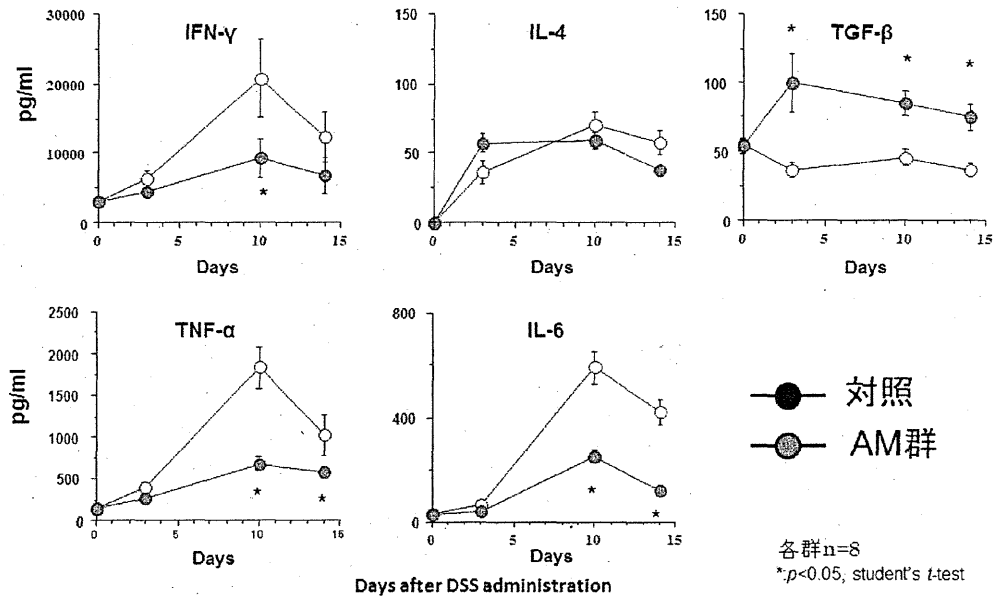
アドレノメデュリン0.25~1.0 $\mu$ gを生食0.5mlに溶解し、肛門よりチューブを用い病変部に1日1回急速注入を5日間実施した

##### 4.1.2.2 ラット *in vivo* 大腸炎モデル

炎症性腸疾患汎用モデルであるデキストラン硫酸 (DSS) 腸炎モデルを用い、アドレノメデュリンの大腸炎改善機序の一部を解明。アドレノメデュリン投与群において炎症性サイトカイン (INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6) の抑制, 制御性サイトカイン(TGF- $\beta$ )の亢進が認められた。大腸IELにおけるTCR $\gamma$  $\delta$ の維持がTGF- $\beta$ 亢進に関与した可能性が示唆された。さらに、アドレノメデュリン投与群では腸炎に伴う大腸上皮細胞接合分子の損傷が軽度であった<sup>9</sup>。【発表論文要約】

DSS腸炎モデルマウスへのAM投与

<大腸上皮細胞間リンパ球(IEL)サイトカインの変化>



アドレノメデュリン 0.05  $\mu$ g を生食 0.2 ml に溶解し、肛門よりチューブを用い大腸に 1 日 1 回急速注入を 7 日間実施した

図 4.1.2.2 実験腸炎に対する AM の効果

## 4.2 安全性薬理試験

### 4.2.1 ラットにおける呼吸器への影響

SD系雄性ラット（6週齢；体重157-221g）において0, 3, 30及び300 $\mu$ g/kgのアドレノメデュリンを単回静脈内投与（n=10/群）したところ、1分間の呼吸数、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<sup>24</sup>。

### 4.2.2 イヌにおける心血管系への影響

イヌ（ビーグル雄；9-10ヶ月齢；体重10.0-11.4kg）においてアドレノメデュリン0, 3, 30, 100 $\mu$ g/kgの本薬単回静脈内投与（n=4/群）が、血圧、心拍数、心電図及び体温に及ぼす影響が調べられた<sup>25</sup>。アドレノメデュリンの30 $\mu$ g/kg静脈内投与群では、4例全例とも投与後1時間まで血圧（収縮期血圧、平均血圧、拡張期血圧）が低下し、心拍数の増加が観察された。しかし、心電図（PR間隔、QRS時間、QT間隔、QTc）及び体温には投与後8時間まで本薬の投与による影響は認められなかった。100 $\mu$ g/kg静脈内投与群では、投与後2時間まで4例全例とも血圧低下と心拍数の増加が認められましたが、心電図及び体温には本薬の投与による影響は認められなかった。なお、3 $\mu$ g/kg静脈内投与群では、血圧、心拍数、心電図及び体温ともに投与後8時間まで4例全例に本薬の投与による影響は認められなかった。

一般状態の観察では、30 $\mu$ g/kg以下の静脈内投与群で投与後8時間まで異常症状は認められなかった。しかし、100 $\mu$ g/kg静脈内投与群では投与後30分までの間で自発運動低下が4例中3例に認められたが、その後、異常は認められなかった。以上のことから、心血管系に対するアドレノメデュリンの無作用量としては、3 $\mu$ g/kgと考えられた。

### 4.2.3 ラットにおける中枢神経系への影響

SD系雄性ラット（6週齢；体重171-213g）において0, 3, 30及び300 $\mu$ g/kgのアドレノメデュリンを単回静脈内投与（n=6/群）したところ、媒体対照群、本薬の3及び30 $\mu$ g/kg群では、投与後0.5, 1, 2, 4及び6時間の観察で各群の6例全例に、認知力、気分、運動性、中枢興奮、姿勢、運動失調、筋緊張度、反射、自律神経症状、睡眠は認められず、死亡発現もなかった。一方、本薬の300 $\mu$ g/kg群では、皮膚色（耳、四肢及び尾）が一様にピンク色を呈する動物が出現し、投与後0.5時間では6例全例、投与後1時間では6例中5例であり、投与後2時間以降では消失し、観察されなかった。その他の観察項目には異常は認められなかった。以上の結果から、本薬の30 $\mu$ g/kgまでの静脈内投与は、ラットの一般症状および行動に影響を及ぼさない投与量であると判断された。なお、300 $\mu$ g/kgの静脈内投与は皮膚の発赤を呈したものの、投与後2時間までに消失するものであった<sup>26</sup>。

### 4.3 毒性試験

ラット及びイヌにおける単回投与毒性試験の結果、アドレノメデュリン 1000 $\mu$ g/kg までの静脈内投与において死亡例は認められなかった。観察された毒性症状は四肢・耳介の発赤、呼吸不整並びに自発運動の低下等のアドレノメデュリンの血管拡張作用によると思われるものが主とするものであった。

また、強制劣化製剤を用いたラット単回投与毒性試験においても原薬に見られた毒性症状以外のものは出現しなかった。

28 日間反復投与試験によるラット及びイヌにおける毒性学的無影響量は、それぞれ 100 及び 30 $\mu$ g/kg であり、血管拡張作用が推測される毒性症状の出現と Toxicokinetics 試験で求められた Cmax 及び AUC の用量依存での増大には正の相関が考えられた。

溶血性試験、血管刺激性試験並びに遺伝毒性試験においては、問題となる症状は認められなかった。

#### 4.3.1 単回投与毒性試験

##### 4.3.1.1 ラット単回投与毒性試験

アドレノメデュリンの 100、300 および 1000 $\mu$ g/kg を SD 系の雌雄ラットに単回静脈内投与し、投与後 14 日に剖検して、その毒性について検討した。なお、対照として媒体を投与する群を設けた。その結果、死亡例は何れの群にもみられなかった。一般状態では、300 $\mu$ g/kg 以上の投与群で四肢・耳介の発赤が見られ、1000 $\mu$ g/kg 投与群でさらに呼吸不整が何れも一過性に認められた。なお、四肢・耳介の発赤は薬効によるものと判断された。体重では、対照群との間に有意差は認められなかった。剖検では何れの群にも異常は認められなかった。以上のように、アドレノメデュリンの 1000 $\mu$ g/kg の投与により、毒性症状と考えられる一般状態の異常が一過性に認められた。また、当試験条件下における最小致死量は 1000 $\mu$ g/kg を超えると判断された<sup>13</sup>。

表 4.3.1.1 ラット単回投与毒性試験結果

動物種・系統	ラット: SD 系			
週齢・性・体重	6 週齢, ♂: 174~195g・♀: 138~154g			
投与経路 (投与容量)	静脈内 (1mL/kg)			
投与量 ( $\mu$ g/kg)	0	100	300	1000
動物数	♂:5, ♀:5	♂:5, ♀:5	♂:5, ♀:5	♂:5, ♀:5
死亡数	0	0	0	0
一般状態	異常なし	異常なし	♂・♀:四肢・耳介の発赤	♂・♀:四肢・耳介の発赤・呼吸不整
体重	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
剖検	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
概略の致死量	1000 $\mu$ g/kg を超える			

## 4.3.1.2 劣化製剤を用いたラット単回投与毒性試験

40℃の温度条件下で 70 日保管を行い強制劣化させた本薬製剤 100、300 および 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$  を SD 系の雌雄ラットに単回静脈内投与し、投与後 14 日に剖検して、その毒性について検討した<sup>14</sup>。HPLC の面積百分率により求められた製剤中アドレノメデュリンの純度は 86.5%であった。なお、対照として媒体を投与する群を設けた。その結果、死亡例は何れの群にもみられなかった。一般状態では、300 $\mu\text{g}/\text{kg}$  以上の投与群で四肢・耳介の発赤が見られたが、原薬を用いた試験で見られた呼吸不整は最高用量群において観察されなかった。この相違は製剤の劣化による有効成分量の減少が関与するのではないかと推測された。体重では、対照群との間に有意差は認められなかった。剖検では何れの群にも異常は認められなかった。以上のように、アドレノメデュリンの 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$  までの投与により、四肢・耳介の発赤以外に毒性症状と考えられる一般状態の異常は認められなかった。また、当試験条件下における最小致死量は 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$  を超えると判断された。

表 4.3.1.2 劣化製剤を用いたラット単回投与毒性試験結果

動物種・系統	ラット：SD系			
週齢・性・体重	6週齢，♂：174-195g・♀：138-154g			
投与経路（投与容量）	静脈内（1mL/kg）			
投与量（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）	0	100	300	1000
動物数	♂；5，♀：5	♂：5，♀：5	♂；5，♀：5	♂：5，♀：5
死亡数	0	0	0	0
一般状態	異常なし	異常なし	♂・♀：四肢・耳介の発赤	♂・♀：四肢・耳介の発赤
体重	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
剖検	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
概略の致死量	1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を超える			

## 4.3.1.3 イヌ単回投与毒性試験

アドレノメデュリンの100、300および1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をイヌ(雄)に単回静脈内投与し、投与後14日に剖検して、その毒性について検討した。なお、対照として媒体を投与する群を設けた。一般状態では、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の投与群で投与日に自発運動の低下と排便が、さらに、300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の投与群では呼吸不整も認められた。これらの症状は、一過性であり投与後4時間以降は全て消失した。体重、摂餌量および剖検では、異常は認められなかった。以上のように、アドレノメデュリンの100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の以上の投与により、一般状態の異常が一過性に認められた。また、当試験条件下における最小致死量は1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を超えると判断された<sup>15</sup>。

表 4.3.1.3 イヌ単回投与毒性試験結果

動物種・系統 週齢・性・体重	イヌ: ビーグル 7~8ヶ月齢, ♂: 11.0kg~12.1kg			
投与経路(投与容量)	静脈内(1mL/kg)			
投与量( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	0	100	300	1000
動物数	♂: 2	♂: 2	♂: 2	♂: 2
死亡数	0	0	0	0
一般状態	異常なし	自発運動低下(全例), 排便(1例), 水様便(1例)	自発運動低下(全例), 排便(1例), 不整呼吸(1例)	自発運動低下(全例), 排便 $\rightarrow$ 水様便(全例), 不整呼吸(全例)
体重	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
摂餌量	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
剖検	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
概略の致死量	1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を超える			

4.3.2 反復投与毒性試験

4.3.2.1 ラット28日間反復投与毒性試験

SD系の雌雄ラットにhAMの100,300および1000 $\mu$ g/kgを28日間反復投与し、対照群と1000 $\mu$ g/kg群の一部については28日間の回復期間を設け、その毒性について検討した。その結果、一般状態では、300 $\mu$ g/kg以上の投与群で四肢・耳介の発赤が見られ、1000 $\mu$ g/kg投与群でさらに呼吸不整が何れも一過性に認められた。なお、四肢・耳介の発赤は薬効によるものと判断された。剖検では何れの群にも異常は認められなかった。病理組織学的検査では、雌雄の投与期間終了時および回復期間終了時に認められた所見は、いずれも対照群との差がないか、あるいは毒性試験に一般的に認められる偶発所見であり、被験物質投与による影響は認められなかった<sup>16</sup>。

表 4.3.2.1 ラット28日間反復投与毒性試験結果

動物種・系統 週齢・性・体重	ラット:SD系 6週齢, ♂: 219~250g・♀: 167~196g			
投与経路(投与容量)	静脈内(1mL/kg)			
投与量( $\mu$ g/kg)	0	100	300	1000
動物数	♂: 10 <sup>1)</sup> +6 <sup>2)</sup> ♀: 10 <sup>1)</sup> +6 <sup>2)</sup>	♂: 10 <sup>1)</sup> ♀: 10 <sup>1)</sup>	♂: 10 <sup>1)</sup> ♀: 10 <sup>1)</sup>	♂: 10 <sup>1)</sup> +6 <sup>2)</sup> ♀: 10 <sup>1)</sup> +6 <sup>2)</sup>
死亡数	0	0	0	0
一般状態	異常なし	異常なし	雌雄 全例に、 ・四肢・耳介の 発赤	雌雄 全例に、 ・四肢・耳介の発赤 ・呼吸不整
体重	異常なし	異常なし	異常なし	♂:投与期間最終日に低値
摂餌量	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
眼科学的検査	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
尿検査	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
血液学的検査	異常なし	異常なし	異常なし	♂・♀:Fbg↑
血液生化学的検査	異常なし	♂: $\alpha_2$ -glb↑	♂:ALT・ $\alpha_2$ -glb・ $\beta$ -glb・ T-Bil↑	♂:ALP↑, ♂・♀: $\alpha_2$ -glb↑
器官重量	異常なし	異常なし	♀:心臓重量↑	♂・♀:心臓重量↑, ♂:精巣重量↑, ♀:副腎・肝臓重量↑
剖検	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
病理組織学的検査	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
回復試験群	異常なし	該当なし	該当なし	♂:MCH↑, ♀:MCV↑ ♀:Na↑, ♂:胸腺・脾臓・腎臓・精巣重量↓
毒性学的無影響量	100 $\mu$ g/kg			

1)投与期間終了時に剖検, 2)回復期間終了時に剖検

## 4.3.2.2 イヌ28日間反復投与毒性試験

イヌ（雌雄）に hAM の 0, 30, 100 および 300 $\mu$ g/kg を 28 日間反復静脈投与し、対照群と 300 $\mu$ g/kg 群の一部については 28 日間の回復期間を設け、その毒性について検討した。その結果、一般状態において 30 $\mu$ g/kg 群の雌雄とも著変は認められなかった。100 $\mu$ g/kg 群では雌雄とも排便（正常、下痢、水様便）、自発運動の低下が認められ、300 $\mu$ g/kg 群の雌雄では排便（正常、下痢、水様便）、自発運動の低下、結膜充血、呼吸不整が認められた。何れの用量群においても雌雄とも投与による体重及び摂餌量への影響は認められていない。体温では、投与1週においていずれの投与群の雌雄とも著変は認められていない。生理検査（脈拍数・心電図検査）では、投与1週において 30 $\mu$ g/kg 群の雌雄には著変は認められなかった。一方、100 および 300 $\mu$ g/kg 群の雌雄では脈拍数の増加が認められた。30 $\mu$ g/kg 群の雌および 100 $\mu$ g/kg 群の雄雌でアドレノメデュリンの主薬効である拡張期圧の低下、300 $\mu$ g/kg 群の雌雄で収縮期圧および拡張期圧の低下が認められた。病理組織学的検査では、雌雄の投与期間終了時および回復期間終了時に認められた所見は、いずれも対照群との差がないか、あるいは毒性試験に一般的に認められる偶発所見であり、被験物質投与による影響は認められなかった<sup>17, 18</sup>。

表 4.3.2.2 イヌ 28 日間反復投与毒性試験結果

動物種・系統	イヌ: ビーグル			
週齢・性・体重	7~8ヶ月齢, ♂: 10.0kg~11.3kg・♀: 9.0kg~10.8kg			
投与経路 (投与容量)	静脈内 (1mL/kg)			
投与量 ( $\mu$ g/kg)	0	30	100	300
動物数	♂: 3 <sup>1)</sup> +2 <sup>2)</sup> ♀: 3 <sup>1)</sup> +2 <sup>2)</sup>	♂: 3 <sup>1)</sup> ♀: 3 <sup>1)</sup>	♂: 3 <sup>1)</sup> ♀: 3 <sup>1)</sup>	♂: 3 <sup>1)</sup> +2 <sup>2)</sup> ♀: 3 <sup>1)</sup> +2 <sup>2)</sup>
死亡数	0	0	0	0
一般状態	異常なし	異常なし	♂・♀:自発運動↓・ 排便	♂・♀:自発運動↓・結膜 充血・呼吸不整・排便
体重	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
摂餌量	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
眼科学的検査	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
生理検査(体温・脈拍数)	異常なし	♀:脈拍↑	♂・♀:脈拍↑	♂・♀:脈拍↑
血圧	異常なし	♀:最低血圧↓	♂・♀:最低血圧↓	♂・♀:最高・最低血圧↓
心電図	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
尿検査	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
血液学的検査	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
血液生化学的検査	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
器官重量、相対重量	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
剖検	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
毒性学的無影響量	30 $\mu$ g/kg			

1) 投与期間終了時に剖検, 2) 回復期間終了時に剖検



4.3.3 Toxicokinetics

4.3.3.1 ラット血漿中薬物濃度測定

雌雄ラット 28 日間連続投与試験において、初回並びに最終回の本薬投与 0.083, 0.25, 1, 3 及び 24 時間後に RIA 法を用い血漿中薬物濃度測定を求めた。その結果、初回並びに最終回の本薬投与時とも、対照群を除き各群とも投与後 5 分からアドレノメデュリンは血漿中に検出された。薬物動態学的パラメーターでは、Tmax は各群とも投与後 5 分であった。Cmax および AUC<sub>0-24hr</sub> は用量との関係が認められた<sup>27</sup>。また、何れの用量群においても初回と最終投与時の間に Cmax と AUC<sub>0-24hr</sub> に大きな差は認められなかったことより、蓄積性は乏しいと思われる。

表 4.3.3.1-1 雄性ラット 28 日間反復静脈内投与薬動学的パラメーター

雄		Tmax (hr)	Cmax (pg/mL)	AUC <sub>0-24hr</sub> (pg*hr/mL)	T <sub>1/2</sub> (hr)	
					0.083-1h	3-24h
0µg/kg	初回	何れの測定ポイントも検出限界以下				
	28 日目	何れの測定ポイントも検出限界以下				
100µg/kg	初回	0.08	69404.4	14676.9	0.122	計算不可
	28 日目	0.08	69047.8	17517.5	0.135	計算不可
300µg/kg	初回	0.08	587689.8	114036.0	0.116	計算不可
	28 日目	0.08	535615.6	121736.3	0.130	16.473
1000µg/kg	初回	0.08	2740472.9	551216.4	0.119	6.297
	28 日目	0.08	2978274.2	729424.0	0.127	6.967

平均 (n=3)

表 4.3.3.1-2 雌性ラット 28 日間反復静脈内投与薬動学的パラメーター

雌		Tmax (hr)	Cmax (pg/mL)	AUC <sub>0-24hr</sub> (pg*hr/mL)	T <sub>1/2</sub> (hr)	
					0.083-1h	3-24h
0µg/kg	初回	何れの測定ポイントも検出限界以下				
	28 日目	何れの測定ポイントも検出限界以下				
100µg/kg	初回	0.08	48622.4	10845.7	0.128	計算不可
	28 日目	0.08	62400.0	13925.4	0.161	計算不可
300µg/kg	初回	0.08	575067.4	105610.4	0.111	計算不可
	28 日目	0.08	403869.3	89579.4	0.118	計算不可
1000µg/kg	初回	0.08	2517195.1	554493.5	0.114	4.139
	28 日目	0.08	2459238.0	559583.7	0.121	7.162

平均 (n=3)

4.3.3.2 イヌ単回投与毒性試験血漿中薬物濃度測定

本薬投与 0.083, 0.25, 1, 3 及び 24 時間後に RIA 法を用い血漿中薬物濃度測定を求めた。その結果、対照群を除き各群とも投与後 5 分からアドレノメデュリンは血漿中に検出され、その後血漿中のアドレノメデュリン濃度は減衰した。薬物動態学的パラメーターでは、Tmax は各群とも投与後 5 分であった。Cmax および AUC<sub>0-24hr</sub> は用量との関係が認められた<sup>47, 48</sup>。

表 4.3.3.2 イヌ単回静脈内投与薬動学的パラメーター

	Tmax (hr)	Cmax (pg/mL)	AUC <sub>0-24hr</sub> (pg*hr/mL)	T <sub>1/2</sub> (hr)	
				0.083-1h	3-24h
0µg/kg	何れの測定ポイントも検出限界以下				
100µg/kg	0.08	213693.8	72072.9	0.126	計算不可
300µg/kg	0.08	766402.2	363008.1	0.247	7.890
1000µg/kg	0.08	3242468.2	1196170.8	0.135	16.636

平均 (n=2)

4.3.3.3 イヌ 28 日間反復投与毒性試験血漿中薬物濃度測定

雌雄イヌ 28 日間連続投与試験において、初回並びに最終回の本薬投与 0.083, 0.25, 1, 3 及び 24 時間後に ELISA を用い血漿中薬物濃度測定を求めた。その結果、初回並びに最終回の本薬投与時とも、対照群を除き各群とも投与後 5 分からアドレノメデュリンは血漿中に検出された。薬物動態学的パラメーターでは、Tmax は各群とも投与後 5 分であった。Cmax および AUC<sub>0-24hr</sub> は用量との関係が認められた<sup>27</sup>。また、何れの用量群においても初回と最終投与時の間に Cmax と AUC<sub>0-24hr</sub> に大きな差は認められなかったことより、蓄積性は乏しいと思われる。

表 4.3.3.3-1 雄性イヌ 28 日間反復静脈内投与薬動学的パラメーター

雄		Tmax (hr)	Cmax (pg/mL)	AUC <sub>0-24hr</sub> (pg*hr/mL)	T <sub>1/2</sub> (hr)	
					0.083-1h	3-24h
0µg/kg	初回	何れの測定ポイントも検出限界以下				
	28 日目	何れの測定ポイントも検出限界以下				
30µg/kg	初回	0.08	7893.3	2966.7	0.192	計算不可
	28 日目	0.08	9423.6	3315.5	0.236	計算不可
100µg/kg	初回	0.08	120893.6	47423.2	0.145	計算不可
	28 日目	0.08	148917.2	55962.5	0.169	計算不可
300µg/kg	初回	0.08	574805.5	245642.8	0.237	計算不可
	28 日目	0.08	613811.3	322026.6	0.308	26.655

平均 (n=3)

表 4. 3. 3. 3-2 雌性イヌ 28日間反復静脈内投与薬動学的パラメーター

雌		Tmax (hr)	Cmax (pg/mL)	AUC <sub>0-24hr</sub> (pg*hr/mL)	T <sub>1/2</sub> (hr)	
					0.083-1h	3-24h
0μg/kg	初回	何れの測定ポイントも検出限界以下				
	28日目	何れの測定ポイントも検出限界以下				
30μg/kg	初回	0.08	9178.5	5306.2	0.261	計算不可
	28日目	0.08	9604.9	5646.2	0.262	計算不可
100μg/kg	初回	0.08	148172.1	62063.2	0.151	計算不可
	28日目	0.08	146705.1	62261.5	0.188	計算不可
300μg/kg	初回	0.08	743486.1	332993.6	0.252	計算不可
	28日目	0.08	581877.6	310393.0	0.297	15.728

平均 (n=3)

## 4.3.4 特殊毒性試験

## 4.3.4.1 溶血性試験

本薬の *in vitro* における溶血性について、ウサギ血液を用いて検討した。対照物質として、生理食塩液、媒体 (37.5mg/mL の D(-)マンニトール及び 5mg/mL のアミノ酢酸を含む注射用水) 及びクロルプロマジン塩酸塩の 17500 $\mu$ g/mL 溶液を用いた。アドレノメデュリンの 100 $\mu$ g/mL 溶液とウサギ血液を混合した場合、肉眼的に溶血はみられなかった。また、この上清中のヘモグロビン濃度は、生理食塩液または媒体をそれぞれ同様に処理した場合の上清中のヘモグロビン濃度と同程度であった。クロルプロマジン塩酸塩の 17500 $\mu$ g/mL 溶液では、肉眼的に高度の溶血がみられ、上清中のヘモグロビン濃度は高値を示した。これらの結果から、本薬の 100 $\mu$ g/mL 溶液の溶血性は生理食塩液と同程度であると結論された<sup>19</sup>。

## 4.3.4.2 局所(血管)刺激性試験

ウサギ(雄; 10週齢; 体重2-3kg; n=3/群)の耳介静脈内に溶媒、アドレノメデュリン 100 $\mu$ g/mL あるいは陽性対照である 0.75%酢酸を 8日間連続で単回投与(1回につき 0.05mL)し、その局所刺激性を調べた。針刺入部位はできる限り同一とした。肉眼的観察、病理所見とも本薬投与による異常は認められなかった<sup>20, 21</sup>。

## 4.3.4.3 抗原性試験

本薬は生体由来アドレノメデュリンと同様であることが示されており、異種タンパクであるアドレノメデュリンを実験動物に投与すると抗体が産生されるものと判断され、従来の抗原性試験に用いる実験動物に対して免疫原性を示すことは明らかであるため、従来の抗原性試験は実施の意義に乏しいと判断し実施しなかった。

## 4.3.5 遺伝毒性試験

本薬の変異原性試験は、細菌を用いた復帰突然変異試験、培養細胞を用いた染色体異常試験を行った。

表 4.3.5 遺伝毒性試験結果

項目	試験系	結果
細菌を用いた 復帰突然変異試験	Salmonella typhimurium: 4株 (TA98, TA100, TA1535, TA1537) x S9mix (+/-) Escherichia coli: 1株 (WP2uvrA) x S9mix (+/-)	復帰突然変異誘発性は認められなかった <sup>22</sup>
培養細胞を用いた 染色体異常試験	株種: チャイニーズハムスター肺由来の線維芽細胞株 (CHL/IU) 用量: 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 $\mu$ g/mL	染色体異常誘発性は認められなかった <sup>23</sup>

#### 4.4 動物における薬物動態及び薬物代謝

$^{125}\text{I}$ -アドレノメデュリン  $18\mu\text{g}/\text{kg}$  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。

表 4.4 薬物動態試験結果のまとめ

血中動態	$\beta T_{1/2}$ : 7.3 時間
体内分布	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	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。

##### 4.4.1 血中動態

SD 系雄性ラット (7-8 週齢; 体重 180-300g; n=18) において  $^{125}\text{I}$ -アドレノメデュリン  $18\mu\text{g}/\text{kg}$  の単回静脈内投与を行った<sup>28</sup>。図 4.2.1 に血漿中ならびに血漿 TCA 不溶性分画中放射能(アドレノメデュリン濃度換算)の推移を示す。TCA 不溶性分画血漿では投与後 8 時間以降、放射能値が上昇しているが、これは遊離した  $^{125}\text{I}$  が影響しているものと考えられる ( $^{125}\text{I}$ -アドレノメデュリンより解離した遊離  $^{125}\text{I}$  は主に甲状腺に集積すると考えられ、表 4.4.1.2 から明らかなように 8 時間の時点で相当量の遊離  $^{125}\text{I}$  が生成されていることは明らかである。このため、投与 8 時間以降のデータは遊離  $^{125}\text{I}$  の影響が大きく、得られた値は参考程度と考えるべきである)。従って、消失半減期は投与後 8 時間までについて計算を行ったところ 7.3 時間であった(表 4.2.1.1)。この半減期はヒトでの報告(22 分; 5.5.1 節を参照)と大きく異なっているが、これは本試験において投与量、採血時間とも大きく設定されていることから、より長期にわたる消失の推移を追跡することが可能であったためと考えられる。

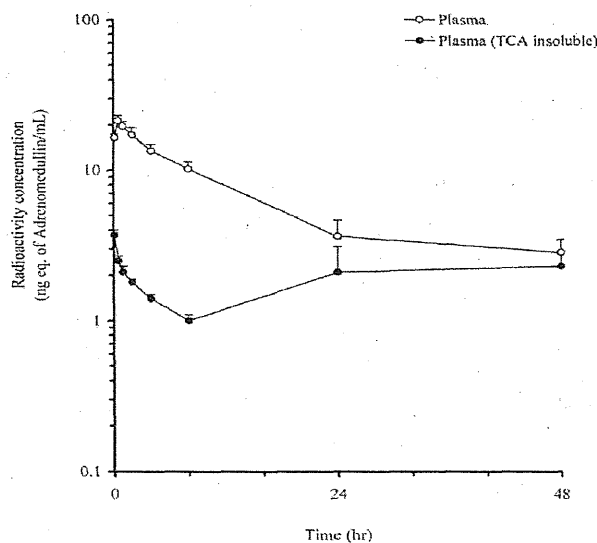


図 4.4.1 ラット血漿中放射能 (血漿中および血漿 TCA 不溶性分画中)

表 4.4.1.1 薬動学的パラメーター(単回静脈内投与)

	Plasma	TCA 不溶性分画
$T_{1/2}$ (hr) (30min - 8hr)	7.3±1.6	5.2±0.6
AUC <sub>0-t</sub> (ng eq. ·hr/mL)	305±11	90.4±27.4
AUC <sub>0-∞</sub> (ng eq. ·hr/mL)	404±53	-

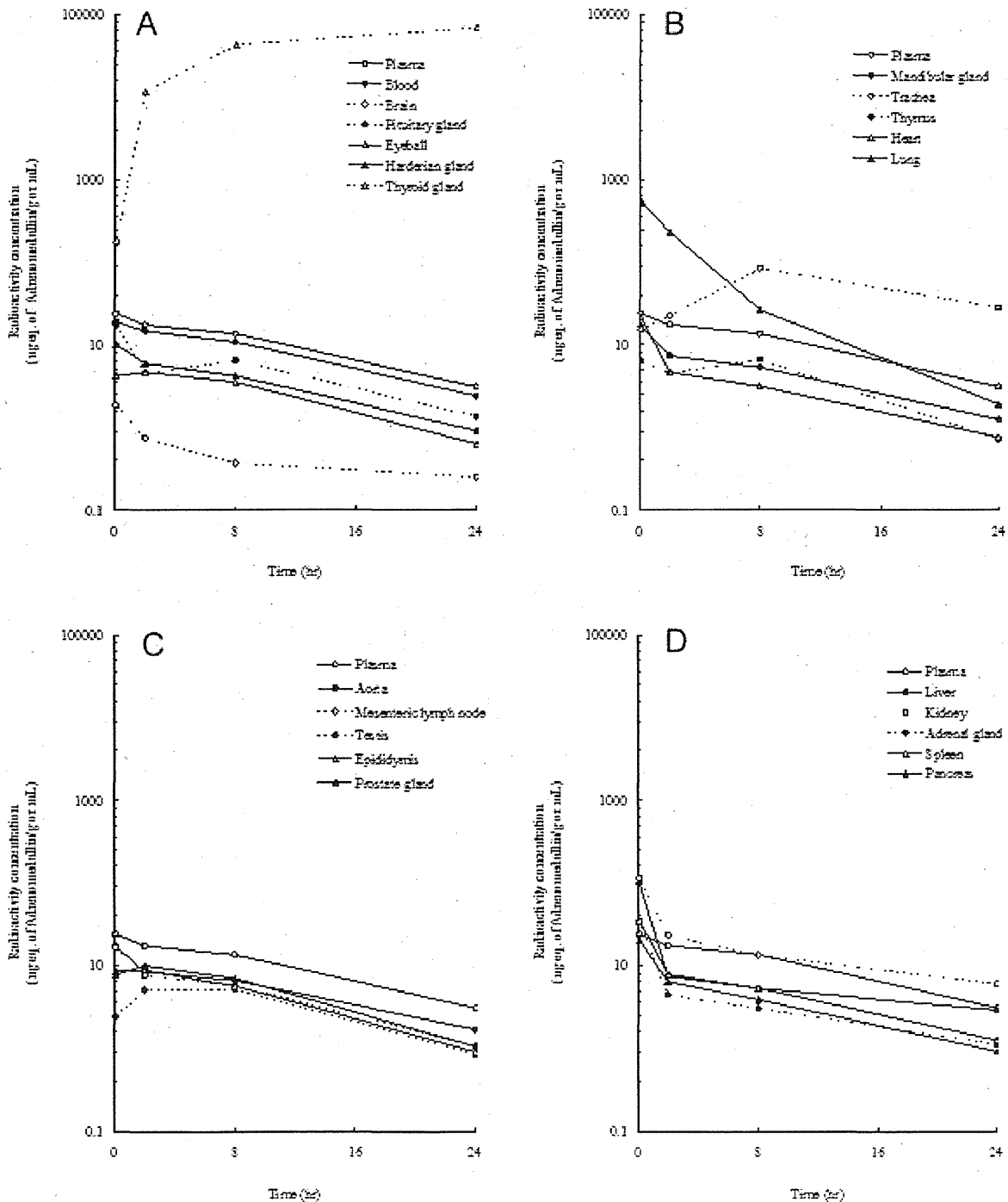
平均±標準偏差 (n=3)

表 4.4.1.2 <sup>125</sup>I-アドレノメデュリン静脈内単回投与後の組織内放射能分布率  
(放射能含有率を投与量に対する%として表示)

臓器	投与後の時間			
	5分	2時間	8時間	24時間
血液	6.5	5.3	3.9	0.9
腎臓	5.7	1.1	0.5	0.3
肝臓	27.3	1.8	1.3	0.8
脾臓	0.6	0.1	0.1	0.0
甲状腺	0.1	4.4	14.1	18.6

4.4.2 体内分布

SD系雄性ラット(7-8週齢; 体重180-300g)における<sup>125</sup>I-アドレノメデュリン 18μg/kgの単回静脈内投与による組織内放射能(アドレノメデュリン濃度換算)の推移と血球への以降率を図4.2.2と表4.2.2にそれぞれ示す<sup>28</sup>。本薬の単回投与時の分布は速やかで、雄性ラットにおける組織中濃度はヨードの遊離体が影響していると考えられる甲状腺をのぞき、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。



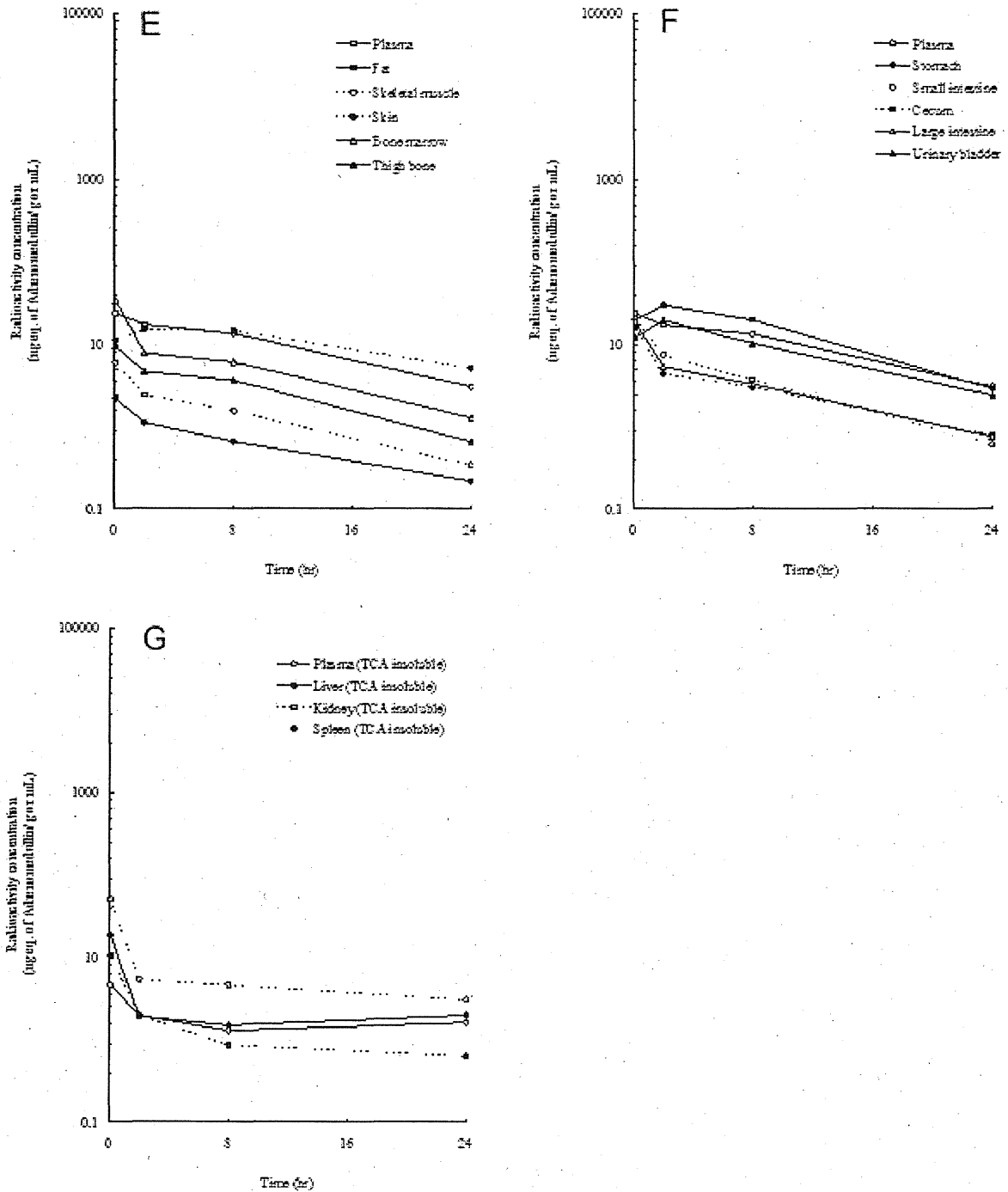


図 4.4.2 雄性ラットへの  $^{125}\text{I}$ -アドレノメデュリン  $18\mu\text{g}/\text{kg}$  の単回静脈内投与による組織中 (A-F) 並びに主要組織 TCA 分画への分布 (G); 平均 (n=3)



表 4.4.2 雄性ラットへの  $^{125}\text{I}$ -アドレノメデュリン  $18\mu\text{g}/\text{kg}$  の単回静脈内投与による血球への移行率

Time	放射能 (hAM 濃度 [ng/mL] 換算)			
	Blood	Plasma	Ht (%)	Distribution (%)
5 min	18.68±0.35	23.99±0.85	37±2	19.5±2.5
2 hr	14.80±1.77	17.44±1.81	39±0	28.0±2.2
8 hr	10.83±0.73	13.57±0.54	41±2	25.6±1.0
24 hr	2.40±0.50	3.09±0.86	41±1	25.2±4.6

平均±標準偏差 (n=3)

## 4.4.3 代謝

本薬は化学合成品ではあるが生体内ペプチドであり、アドレノメデュリンの代謝に関してこれまで検討されていないが、低分子ペプチド及び個々のアミノ酸への代謝分解であると一般的に理解される。ただし、非臨床試験において一般的な本薬の挙動は把握しておく必要がある。よって、必要に応じて  $^{125}\text{I}$ -アドレノメデュリンを用いた血中、組織中の分解等について検討する用意がある。

## 4.4.4 排泄

SD系雄性ラット(7-8週齢; 体重180-300g)における  $^{125}\text{I}$ -アドレノメデュリン  $18\mu\text{g}/\text{kg}$  の単回静脈内投与による尿・糞中排泄率及び体内残存率の測定を実施した<sup>28</sup>。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。それ以降の排泄が緩やかなのは、遊離した  $^{125}\text{I}$  が影響しているものと考えられる(表4.4.1.2参照)。主要な排泄経路は尿中排泄と考えられた。

表 4.4.4 雄性ラットへの  $^{125}\text{I}$ -hAM  $18\mu\text{g}/\text{kg}$  の単回静脈内投与による尿、糞中への排泄率

時間 (hr)	排泄率 (投与量に対する割合; %)		
	尿	糞	合計
0-8	39.1±3.1	0.1±0.1	39.3±3.2
24	70.3±3.6	1.9±0.6	72.2±4.1
48	76.4±4.6	3.6±0.7	80.0±5.1
72	78.6±5.0	5.2±0.7	83.8±5.3
96	80.0±5.0	6.3±0.6	86.3±5.2
120	81.0±4.9	7.1±0.6	88.1±4.9
144	81.7±4.9	7.7±0.4	89.4±4.8
168	82.4±4.9	8.2±0.4	90.6±4.7
屍体 (168 hr)			7.9±1.6

平均±標準偏差 (n=3)

## 5. 臨床試験

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<sup>29-32</sup>並びに海外<sup>33-37</sup>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 4.32 $\mu\text{g}/\text{kg}$  (0.096 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ 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 18 $\mu\text{g}/\text{kg}$  (0.025 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ 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。

安全性、薬物動態並びに治療効果についての結果を発表論文より以下に要約した。

### 5.1 健常人成人志願者における臨床薬理試験

【発表論文要約】健常成人志願者を対象としたアドレノメデュリン原薬の単回持続静脈内投与による臨床薬理試験が国内ならびに海外において実施されている。国内では国立循環器病センターにおけるうっ血性心不全に対するアドレノメデュリンの影響を調べた試験(後述)<sup>29</sup>の中で設けられた対照群において、壮年層の男女志願者へのアドレノメデュリンの投与がされ、プラセボ群との比較がされた(表 5.1)。また、英国<sup>33</sup>、ニュージーランド<sup>34</sup>及びオーストラリア<sup>35</sup>における試験(表 5.1-2)では斬増法により最大 0.096 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ までの用量が投与された(英国で行われた試験を次節 5.1.1 に記載)。

それら試験の結果、被験薬群の一例において投与開始直後より頭痛が報告された以外に何ら自覚症状は見られなかった。またアドレノメデュリン投与により拡張期血圧の有意な低下ならびに心拍数の有意な増加が観察されていることから、アドレノメデュリンを投与する際には血行動態のモニターを行うなど、慎重な観察が必要と思われる。

表 5.1-1 国内における臨床薬理試験の要約

実施国	日本 <sup>29</sup>	
試験デザイン	プラセボコントロール、オープン試験	
非験者(被験薬群)	プラセボ群: 健常成人 6 例 (男性 5 例, 女性 1 例)	被験薬群: 健常成人 7 例 (男 性 6 例, 女性 1 例)
年齢	51 $\pm$ 5 (平均 $\pm$ 標準誤差)	52 $\pm$ 7 (平均 $\pm$ 標準誤差)
用量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ , iv)	0	0.05
投与期間 (分)		30
注入速度 (mL/分)		0.5
・自覚症状	なし	頭痛 (n=1)
・血圧	有意な変化なし	↓
・肺毛細血管楔入圧	有意な変化なし	↓
・体血管抵抗	有意な変化なし	↓
・心拍数	有意な変化なし	↑

ヒト合成アドレノメデュリン

・1回拍出量	有意な変化なし	↑
・心係数	有意な変化なし	↑
・尿量	有意な変化なし	↑
・尿中Na	有意な変化なし	↑
・クレアチニン・クリアランス	有意な変化なし	↑
・アルドステロン	有意な変化なし	有意な変化なし

ヒト合成アドレノメデュリン

表 5. 1-2 海外における臨床薬理試験の要約 (アドレノメデュリン群における結果)

実施国	英国 <sup>33</sup>	ニュージーランド <sup>34</sup>	オーストリア <sup>35</sup>
試験デザイン	プラセボコントロール、単盲検試験、クロスオーバー	プラセボコントロール、オープン試験、クロスオーバー	プラセボコントロール、オープン試験
非験者 年齢	健常成人男子 8 例 24-33	健常成人男子 8 例 18-32	健常成人男子 4 例 19-36
投与量 (µg/kg/分, iv)	0.019-0.081; 10 分間隔 での線形的斬増法	0.016 & 0.032; 120 分間 隔の段階的斬増法	0, 0.019, 0.039, 0.058, 0.077 & 0.096; 45 分間隔の 段階的斬増法
投与期間 (分)	40	240	225
・自覚症状	なし	なし	なし
・血圧	↓ 拡張期 (高)	↓ 拡張期 (高)	↓ 平均 (>中)
・心拍数	↑ (高)	↑ (高)	↑ (>中)
・心係数		↑ (高)	
・尿量		有意な変化なし	
・尿中 Na		有意な変化なし	
・クレアチニン・クリア ランス		有意な変化なし	
・血漿中レニン活性		↑ (高)	
・アルドステロン		有意な変化なし	
・プロラクチン	↑ (高)	↑ (高)	
・LH, FSH, ACTH, TSH	有意な変化なし		
・コルチゾール, 血糖	有意な変化なし		
・ノルアドレナリン		↑ (高)	
・cAMP		↑ (高)	

高: 高用量, 中: 中用量, 低: 低用量