PET マイクロドーズ試験

先端医療振興財団 先端医療センター 分子イメージング研究グループ

千田道雄・景山浩充*

PET microdose study

Microdose (MD) study is a new drug development technique aimed at assessing the pharmacokinetics by dosage of MD quantity (i. e. not more than either 100 μg or 1/100 of estimated pharmacologically effective dose) on human subjects in the early stage of drug development. PET is recommended as a technique of MD study and is featured by injection of a radio-labeled PET drug to visualize organ pharmacokinetics.

Based on our experience, we have described the outline of PET MD study, including the synthesis of radio-labeled PET drugs, quality control and assurance based on cGMP, preclinical safety study before the first human dosage based on the regulator's MD guidance, PET data acquisition procedures for dosimetry, and challenges for designing and conducting PET MD studies in clinical trials.

マイクロドーズ(MD)試験とは、医薬品開発早期に、ヒトに対するマイクロドーズ量(薬効発現量の1/100以下かつ100 μg 以下)の投与により、主として薬物動態を知ることが目的とした新たな医薬品開発手法で、PETもその一方法として推奨されている。

今回、筆者らが実際にPETによるマイクロドーズ試験を実施した経験をもとに、PET試験の被験薬の合成、品質保証(治験薬GMP)から、安全性試験の実施方法、動物試験からの被曝線量の予測、試験実施計画書策定上の留意点、試験の実施について示した。

Michio Senda・Hiromitsu Kageyama*

Key words : PET, microdose, pharmacokinetics, dosimetry, cGMP

マイクロドーズ(MD)試験およびPET-MD試験とは

マイクロドーズ(MD)試験とは、医薬品開発早期に、ヒトに対するマイクロドーズ量(薬効発現量の1/100以下かつ100 μg 以下)の投与により、その薬物の薬物動態を知り、臨床用量におけるその薬物の吸収性、薬物動態を推定し、複数ある開発候補品の中から最適なものを選択したり、薬物動態検討に併せて主要代謝物の量を知り、代謝物での毒性試験の可否を早期に判定することを目的とする試験をいう。ごく微量であるため、非臨床安全性試験を簡略化することができ、いわばヒトで候補化合物のスクリーニングをすることによって、Phase I以後の臨床試験の見通しを立て失敗を減らすことができると期待されている。

マイクロドーズ試験には、① 非放射性のマイクロドーズ量の候補化合物を用いLC/MS/MSで測定する方法、② ^{14}C 標識の候補化合物(ただし ^{14}C の量は放射性同位元素としての扱いを要しない量)を用い加速器質量分析(AMS)で測定する方法、③ ^{11}C や ^{18}F などPET用放射性同位元素で標識された化合物(PET薬剤)を用いてPET装置で測定する方法(PET-MD試験)、の三つの方法がある。

このうちPET試験は、血中や尿中の濃度のみならず、標的臓器中の薬物濃度の推定(定量)が可能となる、という大きな特徴がある。さらに、PETはそれ自体疾患の診断薬として、あるいは治療薬の治験におけるバイオマーカー(代替マーカー)としての利用も想定される。PET薬剤を診断薬やバイオマーカーとして開発するうえでも、そのマスドーズはマイクロドーズ量なので、ここで述べるマイクロドーズ試験の仕組みを活用できる。

平成20年6月3日に「マイクロドーズ臨床試験

* Division of Molecular Imaging, Institute of Biomedical Research and Innovation

の実施に関するガイダンス」¹⁾(以下マイクロドーズ試験ガイダンス)が通知された。PET はその試験における微量測定方法の一つとして採り上げられ、医薬品開発に使用されるケースが拡がることが期待されている。

マイクロドーズ試験ガイダンスは、その後発せられた ICH-M3 ガイドライン(「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」)の中の「7. 早期探索的臨床試験」に集約され、臨床用量までの投与を可能とした他の探索的臨床試験方法と併せて再度通知された。また、これらのガイダンスに併せて、治験薬 GMP(「治験薬の製造管理、品質管理等に関する基準(治験薬 GMP)」, 平成 20 年 7 月 9 日)²⁾が改正され、早期試験に対応した製造管理・品質管理についての考え方が示され、従来対応が困難とされていた各 PET 施設での治験薬 GMP 対応による PET 薬剤の製造ができる可能性が開けた。

今回、PET マイクロドーズ試験(治験)について、その準備から試験実施までを解説する。なお、マイクロドーズ試験の方法は、そのまま研究としての臨床試験にも準用できる。

化合物の標識

PET 薬剤の放射活性はきわめて半減期が短い(^{11}C : 20 分, ^{18}F : 110 分)。 ^{18}F については比較的使用しやすいが、構造上必ずしも開発候補品が F を有しているわけではない。その点、C はどの化合物にも含まれるため万能であるが、 ^{11}C は半減期がきわめて短く、合成も投与後の追跡も不利である。

いずれにせよ、一般に PET 薬剤の合成は、通常の薬剤のように製造コストを重要視した製造ルートでは適切とはいえず、短時間で標識化合物を合成できる新たな合成方法(出発化合物)が必要となる。

1. 新規合成ルートの検討

^{11}C 標識の場合は、一般に化合物の構造の周囲にある N-メチル基や O-メチル基などが標識部位とされることが多い。ただし、標識部位の生体内での代謝の受けやすさについて留意する必要がある。代

図 1 Telmisartan の構造式・標識部位

謝の影響を受けにくい部位が選択される。この標識化合物を得るために、1 段階かせいぜい 2 段階の反応で完成するように安定な前駆体が準備されなくてはならない。

ときに、合成が根本的に難しかったり、安定的に十分な収率が得られない方法であったり、また、予想外にヒト代謝酵素で代謝を受けやすい構造部分であったりして標識部位の変更を余儀なくされたりすることもあり、この新規合成ルートの確立にはかなりの期間を要することがある。

以下に、 ^{11}C -テルミサルタンの合成例を示す(図 1, 2)³⁾。テルミサルタンは市販の経口降圧剤だが、薬物動態学的に非線形性を示すという興味深い性質があり、NEDO の研究プロジェクト(マイクロドーズ臨床試験を活用した革新的創薬技術の開発、プロジェクトリーダー=杉山雄一)にて採り上げられた。もちろん実際の医薬品開発において PET-MD 試験が用いられる場合には、新規の標識化合物を合成することになる。

2. 自動合成方法(装置)の構築

放射性化合物の合成であるため、作業者の放射線被曝を防ぐため自動合成装置(遠隔操作による合成装置)が必要となる。PET 薬剤の合成に当っては汎用合成装置が市販されており、研究には便利だが、治験に際しては次項に示す治験薬 GMP の観点から汎用機としての使用を避け、治験薬である PET 薬剤の合成専用機とする必要がある。

上述の合成経路の選択と、自動合成装置の開発の、両方併せて PET 薬剤の合成が可能となるわけであり、これらが十分熟成され、安定した収率を示すこ

図2 $[^{11}\text{C}]$ Telmisartan の合成ルート

とが求められる。

3. 治験薬 GMP

PET マイクロドーズ試験の場合は、治療薬である開発候補品を通常の製法とは別に PET 標識して試験を行うことになる。しかも、その放射活性は短半減期のため、通常の医薬品のように治験依頼者の工場で製造して治験実施施設へ供給することはきわめて難しい。そのため、各治験実施施設において治験薬である PET 薬剤を製造する必要がある。

本邦には 130 を超えるサイクロトロン保有 PET 施設があり、毎日 FDG ($[^{18}\text{F}]$ fluorodeoxyglucose) を主とする PET 薬剤が製造されている。しかし、これらは院内使用を目的とする院内製剤であるため薬事法が適用されず、その品質管理は学会等による基準があるだけであり、(治験薬)GMP に基づくハード・ソフトを備えた(治験薬)GMP 体制下で製造が行われているわけではない。

マイクロドーズ試験を治験として行う場合、治験薬である PET 薬剤は治験薬 GMP に則って製造されなければならない。治験薬 GMP による製造では、組織体制(図 3)と製造所の構造設備、製造管理方法、品質試験方法、作業従事者の教育などが求められる、これらは SOP に規定され、適切に管理運営されなければならない⁴⁾。

MD 試験への準備

1. 動物試験

標識化合物をいきなりヒトに投与するわけには行かない。少なくとも動物で有効性と被曝線量および安全性を確認する必要がある。

(1) 標識化合物の薬物動態試験、標識化合物の性能試験

動物に PET 薬剤を投与して薬物動態試験を実施し、標識化合物が期待する性能(分布/標的部位への到達、消失と画像の状態)を発揮するかどうか確認する。そのために、PET 薬剤を投与した動物をタイムポイントごとに屠殺して臓器の放射能を測定するか、または動物用 PET カメラを用いて放射能分布の時間経過を撮影する。

また、血液中の放射能およびそのうちの放射性代謝物の有無や割合を測定し、必要なら、臓器中の放射性代謝物も調べる。さらに、診断薬やバイオマーカーとして PET 薬剤を開発する場合には、放射能集積が評価しようとする機能を反映しているかどうかを、阻害剤の投与や疾患動物モデルによって検討する。

(2) 被曝線量の推定

上述の動物試験のデータを用いて、各臓器の放射能集積の時間経過から、MIRD 法を用いてヒトでの被曝線量を推定することが可能である。この作業に

図3 治験薬 GMP 体制 組織図

は OLINDA/EXM というソフトが使われることが一般的であり、その算定結果に基づきヒトへの投与放射能量を設定することになる。

(3) 拡張型単回投与毒性試験¹⁾の実施

PET 薬剤の場合、開発候補品である治療薬を標識してマイクロドーズ試験に供する場合も、診断薬である PET 薬剤を開発しようとする場合も、製造過程にて比放射能（放射能とモル数の比）が特にならなくなる限り、投与総量はマイクロドーズ量となる。

したがって、ヒト試験開始に当たっては非臨床安全性試験としては、少なくとも厚生労働省のマイクロドーズ臨床試験実施に関するガイダンスに提示されている「拡張型単回投与毒性試験」を実施すればよい。なお、現在、日本核医学会では PET 薬剤の臨床試験実施に際しての「非臨床安全性基準」の策定が進められており、間もなく公表される予定なので、今後は少なくとも研究に関してはその基準を利用していくことになる。

以下、現時点での毒性試験実施についての考え方を述べる。

理想的には、実際に投与される PET 薬剤と同様の製造方法によって得られた被験物を用いて毒性試験が実施されるべきである。これは、PET 用標識化合物は非標識化合物とは通常合成ルートが異なるうえ、各種添加剤、残存溶媒等が多いからである。

しかし、製造後放射活性があるうちに毒性試験を

行うのは放射線安全面で面倒であり、特に GLP での試験は不可能に近い。そこで、標識化合物の放射活性が減衰するのを待ち、その化合物を試料として毒性試験を実施する方法が採用される。この場合、減衰によって放射性成分が壊れて他の物質に変わるほか、他の成分にも変化が起こる可能性を念頭におく必要がある。被験薬の安定性試験等によりこれらのことを確認しておく必要があり、明らかに成分が変化する場合にはこの方法は使えない。

また、ヒトに投与する PET 薬剤の体積が大きい場合、同じ薬物を小動物に体重当り数百倍を投与することは物理的に困難であり、また、濃縮すると成分比が変わるだけでなく、成分に変化をきたす可能性もある。このような場合は別の方法で主薬の安全性を確認する。すなわち、別途合成した非放射性の化合物を用いて拡張型単回投与毒性試験を行うが、その合成は治療薬であるなら本来の開発候補品の製造方法が望ましい。（マイクロドーズ試験の時期には、多くの場合、開発早期の予備的毒性試験成績が既に存在しているか、試験が計画されていることが多いと思われる。それら非臨床試験計画全体からの効率的な運営を考慮すべきである）。この場合でも、さらに PET 薬剤の製剤としての安全性を略式の試験であっても確認する必要がある。多くの場合、前述の実際に PET 薬剤を製造する方法で試料を用意して拡張型単回投与毒性試験に準じた方法による試験を行うことになる。

図4 $[^{11}\text{C}]$ Telmisartan 投与時の全身 PET 画像

これらは、マウスを対象とする試験の場合、必要とされる試料の量も少なく済み、PET 薬剤の安全性試験として実際的な方法である。

2. 治験薬 GMP に係わる試験準備

実際に治験の受託に際しては、治験依頼者から臨床試験の依頼とともに治験薬である PET 薬剤の製造委託を受けることになり、その製造に当っては、治験依頼者の製造部門の監査を受けなければならない。治験薬 GMP は、マイクロドーズ試験が実施される開発早期に求められる製造施設の構造設備、管理手順のレベルについて具体的に示しているわけではなく、そのレベルは将来的に製造承認申請を行う治験依頼者が求めるレベルということになり、施設の状態によっては時に多大な設備の改修が必要となることがある。

したがって、現時点では治験薬として PET 薬剤を製造するために、治験依頼者の監査を受け合格した施設は極めて少なく、試験に治験薬を供することの出来る施設はごく一部の施設に限られている。なお、PET 薬剤を治験薬として製造した場合には、院内使用のみならず、他の PET 検査設備を持つ医療機関に出荷することも可能である。ただし、半減期が短いので、移送には限界がある。

製造開始に際し、まず、合成装置が持ち込まれる。この装置の設置に関して据付時適格性確認 (installation qualification : IQ)、稼動性能適格性確認 (operation qualification : OQ) を行わなければならない。治験依頼者から規格および試験方法、前駆体 (プリカーサー) の提供を受け、また、技術移転のための指導を受けることになる。その後、何回かの試験製造

により、規格に合致する PET 薬剤の製造ができるようになるまで技術の向上に努めることになる。

医師主導治験、臨床研究の場合はこれらの過程を自ら計画的に行わなければならない。

3. 試験製造、3 ロット試験、治験依頼者による製造物の GMP 監査

治験依頼者の監査を受け承認された施設で治験薬である PET 薬剤が製造される。治験依頼者から提示される製造方法、基準および試験方法が十分熟成されたものであっても、製造技術移転のための試験製造 (process validation : PV) は必要である。

何回かの製造により、安定した収率が得られ品質が基準に合致する状況になれば、その時点で 3 ロットの GMP 製造を行い、自施設において製造した薬剤の品質の評価を受ける。ここで、実際に製造した PET 薬剤が人に投与できる品質であり、また、治験で求められる薬物量が確実に供給されることの確認を受けるのである。同時にこれらの成績は、治験依頼者へも報告され品質に関する承認を得る。

なお、これらの試験や検査に用いられる装置類も全て前述の IQ, OQ の手続きを踏んでおかななくてはならない。

4. 標識化合物の品質評価 (PET 薬剤委員会)

PET 薬剤は施設に製造の責任があるため、各施設は PET 薬剤委員会を設置するなどして、その品質に関し自ら評価し、承認を与える仕組みを有していることが望ましい。

委員会の機能としては、薬学に加えて化学の素養がある人、核医学に精通する人等を擁して、製造方

法、品質試験結果について評価ができることが必要である。

5. 治験実施計画書の評価(撮像と測定プロトコール)

PET 試験では、まず健常者を対象に、安全性の評価、血中の薬物動態、および被曝線量の評価を行う。

安全性の評価は通常の治療薬の Phase I 試験に準じて行えばよいが、マイクロドーズなので、副作用はまれであり、忍容性の評価は第一義的ではない。

血中の薬物動態も、通常の治療薬の Phase I に準じて行うが、静脈投与なので、投与直後は頻回の採血が必要となる一方、PET 撮像時間の終了後は画像解析目的には血中濃度は必要ない。

PET 薬剤の場合、放射活性の半減期が短いため観察可能時間が短く、薬物動態学的な血中半減期の測定には十分ではないこともある。また、開発候補品が経口薬の場合に吸収相での影響を含めた観察を行うためには、PET 薬剤の経口投与を試みなければならない。その際、薬物の消化管内の移動、吸収に要する時間を考慮に入れ、さらには撮像したい部位の画像に対する消化管に残存する薬物が発する放射線による影響にも注意しなくてはならない。

一方、血中の放射性代謝物をラジオ HPLC などでも評価する必要がある。これは、PET 画像にて各臓器への放射能集積を評価する際には、血中の全放射能ではなく PET 薬剤、すなわち代謝されていない未変化体の濃度がいわゆる入力関数として重要になるからであり、血中薬物動態の測定は、この入力関数の評価が目的だからである。なお、血中の放射性代謝物が標的臓器に取り込まれる場合には、画像の解釈にも注意を要することになる。

被曝線量の評価は、全身の放射能分布の経時的撮像が必要となる(図 4)。そのために、被験者を PET 装置のベッドに固定し、投与後何度もベッドを動かしながら行うが、採血部位が装置の奥深くに入る時間帯もあるので、撮像に付帯する各種検査のタイミング等にも工夫が必要である。

安全性と被曝線量および薬物動態が確認されたならば、有効性の評価および至適撮像条件の検討に移る。この段階になると、対象は健常者のみならず、

その PET 薬剤を用いる際に対象となる疾患やその疑いの患者も対象となる。この段階では、PET の撮像対象臓器は全身ではなく、ターゲットとなる臓器に絞ることが多いが、投与何分後に撮像するのがよいかなど撮像方法の最適化を行う必要があるので、通常はターゲット臓器の放射能を長時間経時的に撮像する。この間、安全性の評価も引き続き行われる。薬物動態の評価も引き続き行う場合がある。

対象が患者の場合は、募集と臨床データの収集、ときには治療体制まで考慮して、治験実施医療機関を選定する必要がある。場合によっては、患者の登録および臨床データの収集や治療を行う医療機関と、PET 試験を実施する医療機関が異なる場合もありうる(実際 PET が診療として用いられる場合も、がんの診療を行う病院から PET 検査を行う PET センターへ FDG-PET 検査が依頼されることがよくある)。その場合は両院の連携体制に十分考慮する必要がある。

このようなことを考慮して、対象者と PET 撮像および測定プロトコールを作成する。このように、PET 試験におけるデータ収集は、通常の PET 検査の撮像とはかなり異なるので、PET 検査設備のある医療機関ならどこでも実施できるというわけではない。

MD 試験の実施

PET 試験の場合、被験者に投与される PET 薬剤のマスドーズは原則としてマイクロドーズのレベルである。一般にマイクロドーズ試験では薬剤に起因する安全性上の問題はまず考えられない。PET 試験と PET 以外のマイクロドーズ試験との唯一の相違点は、PET 薬剤が放射性化合物であるということであるが、一般に PET 試験での被曝線量は病院における通常の胸腹部 CT 検査に比較してかなり低く、自然界から受ける年間放射線量にほぼ等しいかせいぜい 2, 3 倍程度というレベルなので、この点についても特に問題が生じることはないといえる。

したがって、いずれのマイクロドーズ試験でも通常の薬剤のヒトへの最初の投与(FIM)に比べ有害事象の発現のリスクは低いと考えられるが、それで

も、治験実施施設(FIM 施設)としての要件を満たしていることが前提となる。GCP が求める試験実施体制が整っている必要があることはいうまでもない。一方で、放射線を取り扱う施設でもあるので、その面からの規制要件を満たしていることも必要であるが、PET 検査を行う医療機関は通常 PET 用放射性同位元素を使用する施設としての要件を満たしている。

PET 薬剤は短半減期であるため、薬剤投与後の各種観察測定には制約がある。そのため、被験者への投与時刻、試験に伴う各種検査の実施時期・測定機器の準備、PET 薬剤の完成時期は、互いに調整され無駄な待ち時間がないように設定されなければならない。

ヒトと動物では薬物動態が異なることもあるため、先行して実施された動物試験から設計された撮像計画では十分な観察ができないこともある。そのため、最初の投与では、想定されている至適投与量より低めの放射エネルギーで撮像のための予備的検討を行うことが望ましい。この予備的検討により、ヒトでの被曝線量が動物からの推定値と乖離していないかが判明する。また、標的臓器への PET 薬剤の到達(薬物動態)も確認できることから、これらの成績をもとに次の被験者での投与放射エネルギー、撮像条件等の設定を行うことが望ましい。したがって、試験実施計画書もこれらの調整を許容する内容となっていることが必要である。

MD 試験実施上の留意点

1. 同意説明文書の作成

PET マイクロドーズ試験における同意説明文書では、放射性物質が投与されるということについての説明と不必要な不安が発生しないような情報提供が必要である。

2. PET 薬剤の GMP 製造、他施設への供給

上述のごとく、PET 薬剤の製造には各種の制約がある。それらを満足し、さらに治験実施施設としての各種機能にすぐれている施設は多くはない。そこで考えられるのは、製造施設と試験実施施設の分

離である。両者が近隣にあることが前提となるが、 ^{18}F の場合なら 1 半減期である 110 分程度の距離であるなら十分実現性を有する。

まとめ

PET マイクロドーズ試験への手順をその特徴を踏まえてみると、まず、標識部位の選定の問題がある。この問題は AMS を利用する場合の ^{14}C の標識でも同じことであるが、 ^{14}C の場合は短半減期であることから、合成ルートの設計にも制約が生じることになる。

つぎに、多くの場合製造所が試験実施施設になるが、わが国のサイクロトロン保有 PET 施設はその多くが治験薬 GMP を満足する構造、体制を有しておらず、現時点において治験薬である PET 薬剤を製造できる施設は限られる。また、実際の製造過程の技術的完成度の点でも、医薬品開発初期のしかも一時的な PET の利用という状況の中では必ずしも熟成された製造方法となっていないこともあり、安定的な収量を確保するためにはある程度の製造経験を積む必要がある。

上述のように、PET マイクロドーズ試験を実施するには、他のマイクロドーズの手法にくらべ試験開始までにはかなりのハードルがあり、時間を要することを覚悟する必要がある。しかし、PET 試験を利用できれば、開発候補品の標的臓器での薬物濃度の定量も可能となり、各組織間での薬物動態も明らかにすることが可能となる。また、適切な PET プローブを利用することにより、工夫次第ではバイオマーカーとしての利用も可能であることから、臨床薬理学的な観点から至適用量検討試験での検討用量幅を絞り込む手立てとしても利用できると思われる。

このように、PET マイクロドーズ試験には、その実施までの手間と苦労に見合う成果も期待できることから、開発候補品の特性を十分吟味したうえで研究開始初期より計画的な試験準備を行い、臨床試験へ進むことが肝要であると思われる。

最後に、PET マイクロドーズ試験のコンセプトは PET 診断薬(検査薬)の開発手法としても応用可能である。さらに、世に多く発表されている未承認

の PET 薬剤 (プローブ) を治療薬である開発候補品の評価に使用したい場合, 治療薬と診断薬を同時に開発したい場合にも, マイクロドーズ試験のコンセプトを利用することにより, 適切なプローブの選択が可能となることをあることを申し添える.

文 献

1) マイクロドーズ臨床試験の実施に関するガイダンス. 薬食審

査発第 0603001 号.

- 2) 治験薬の製造管理, 品質管理等に関する基準 (治験薬 GMP). 薬食発第 0709002 号.
- 3) Hitoshi Iimori, Yoshinobu Hashizume, Masahiro Sasaki, Yuichi Sugiyama, Michio Senda et al.: First automatic radiosynthesis of ^{11}C labeled Telmisartan using a multipurpose synthesizer for clinical research use. Ann Nucle Med (Published online), 28 January 2011.
- 4) 先端医療センター: 標準業務手順書 (改正治験薬 GMP) 第三版.