ALXN1215
ストレンジック皮下注 12mg/0.3mL
ストレンジック皮下注 18mg/0.45mL
ストレンジック皮下注 28mg/0.7mL
ストレンジック皮下注 40mg/1mL
ストレンジック皮下注 80mg/0.8mL

第 2 部 CTD の概要
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.4 薬物動態試験の概要文

アレクシオンファーマ合同会社

目次

頁
略号一覧表 ... 8
2.6.4 薬物動態試験の概要文 ... 12
2.6.4.1 まとめ ... 12
2.6.4.2 分析法 ... 18
2.6.4.2.1 生物試料分析法の概要 ... 18
2.6.4.2.1.1 ALXN1215 の PK 分析 ... 18
2.6.4.2.1.2 ALXN1215 の ADA 分析法 ... 18
2.6.4.2.1.3 ALXN1215 の生体内分布分析法 ... 19
2.6.4.2.2 ALXN1215 の PK 分析法 ... 19
2.6.4.2.2.1 PK 分析法の原理 ... 19
2.6.4.2.2.2 GLP 非適応試験での ALXN1215 の PK 分析法 ... 20
2.6.4.2.2.2.1 PK 分析法 Version 1 ... 20
2.6.4.2.2.2.2 PK 分析法 Version 2 ... 20
2.6.4.2.2.2.3 PK 分析法 Version 3 ... 21
2.6.4.2.2.2.4 AXN1215PK 分析法の品質管理：分析法 Version 1、2 及び 3 ... 22
2.6.4.2.2.2.5 GLP 非適応試験に使用した ALXN1215PK 分析法 ... 22
2.6.4.2.2.3 GLP 適応試験での ALXN1215PK 分析法 ... 22
2.6.4.2.2.3.1 ラット血清試料中の ALXN1215 の PK 分析法 ... 22
2.6.4.2.2.3.1.1 [redacted] におけるラット血清試料中の ALXN1215 の PK 分析法 ... 23
2.6.4.2.2.3.1.2 [redacted] におけるラット血清試料中の ALXN1215PK 分析法 ... 23
2.6.4.2.2.3.1.3 [redacted] における雌ラット血清試料中の ALXN1215 の PK 分析法 ... 23
2.6.4.2.2.3.1.4 [redacted]、[redacted] 及び [redacted] での AXN1215 PK 分析法の比較 ... 24
2.6.4.2.2.3.1.5 [redacted]、[redacted] 及び [redacted] におけるラット血清試料中の ALXN1215 PK 分析法のバリデーション ... 24
2.6.4.2.2.3.2 [redacted] におけるサルでの ALXN1215 PK 分析法 ... 26
2.6.4.2.2.3.2.1 [redacted] におけるサル血清試料中の ALXN1215 PK 分析法のバリデーション ... 27
2.6.4.2.2.3.3 [redacted] におけるウサギ血清試料中の ALXN1215PK 分析法 ... 28
2.6.4.2.2.3.3.1 [redacted] におけるウサギ血清試料中の ALXN1215 PK 分析法のバリデーション ... 29
2.6.4.2.2.3.4 GLP 適応試験に使用された ALXN1215 PK 分析法 ... 30
2.6.4.2.2.3.4.1 GLP 適応試験に関する注記 ... 30
2.6.4.2.3 ADA 分析法 ... 31
2.6.4.2.3.1 ADA 分析法の原理 ... 31
2.6.4.2.3.2 GLP 適応試験の ADA 分析法 ... 32
2.6.4.2.3.2.1 [redacted] におけるラット血清試料の ADA 分析法 ... 32
2.6.4.2.3.2.2 [redacted] におけるラット血清試料の ADA 分析法 ... 33
2.6.4.2.3.2.3 [redacted] におけるサル血清試料の ADA 分析法 ... 33
2.6.4.2.3.2.4 ラット及びサルでの GLP 適応試験に使用した ADA 分析法の比較 ... 33

2.6.4.2.3.2.5 ADA 分析法のバリデーション 33
2.6.4.2.3.2.5.1 バリデーションの判定規準 33
2.6.4.2.3.2.6 GLP 適応試験で使用した ADA 分析法 35
2.6.4.2.3.2.6.1 GLP 適応試験に関する注記 35
2.6.4.2.4 ALXN1215 の組織分布分析法 36
2.6.4.2.4.1 ALXN1215 の組織分布分析法の原理 36
2.6.4.3 吸収 36
2.6.4.3.1 単回及び反復投与時の薬物動態 36
2.6.4.3.1.1 マウスにおける単回又は反復 IV 又は SC 投与時の薬物動態（報告書 ALP-PC-09、ALP-PC-25 及び ALP-PT-15） 36
2.6.4.3.1.1.1 単回 IV 投与時の薬物動態（報告書 ALP-PC-09） 36
2.6.4.3.1.1.2 C57BL/6 マウスにおける単回 SC 投与時の薬物動態（報告書 ALP-PC-09） 37
2.6.4.3.1.1.3 *Akp2*$^{-/-}$又は WT マウスにおける単回 SC 投与時の薬物動態（報告書 ALP-PC-25） 38
2.6.4.3.1.1.4 マウスにおける反復 SC 投与後の ALXN1215 の胎盤通過（報告書 ALP-PT-15） 39
2.6.4.3.1.2 成熟ラットにおける IV 又は SC 単回投与時の薬物動態（報告書 PK2008010951） 41
2.6.4.3.1.2.1 単回 IV 投与時の薬物動態 41
2.6.4.3.1.2.2 単回 SC 投与時の薬物動態 42
2.6.4.3.1.3 雌サルにおける単回投与時の薬物動態（報告書 3008-0133） 44
2.6.4.3.1.3.1 単回 IV 投与時の薬物動態 44
2.6.4.3.1.3.2 単回 SC 投与時の薬物動態 44
2.6.4.3.2 幼若サルおける単回投与時の薬物動態 45
2.6.4.3.2.1 単回 IV 投与時の薬物動態（報告書 2007-0693, Appendix VII, page 100） 45
2.6.4.3.3 成熟雌ウサギにおける単回投与時の薬物動態（報告書 902235, Appendix 6, page 90） 47
2.6.4.3.3.1 単回 IV 投与時の薬物動態 47
2.6.4.3.3.2 単回 SC 投与時の薬物動態 47
2.6.4.3.4 ラット及びサルにおける反復投与時のトキシコキネティクス 49
2.6.4.3.4.1 幼若ラットにおける 4 週間反復投与時のトキシコキネティクス（報告書 670314, Appendix 6, page 373） 49
2.6.4.3.4.2 幼若ラットにおける 4 週間反復投与時のトキシコキネティクス（報告書 70552, Appendix 6d, page 221） 50
2.6.4.3.4.2.1 幼若ラットへの 4 週間 IV 投与 50
2.6.4.3.4.2.2 雄幼若ラットへの 4 週間 SC 投与 51
2.6.4.3.4.3 幼若ラットへの 26 週間 IV 投与（報告書 670315, Appendix 9, page 1095） 54
2.6.4.3.4.4 幼若サルへの 4 週間 IV 投与（報告書 1007-1503, Appendix XI. page 529） 56
2.6.4.3.4.5 幼若サルへの 6 ヵ月反復 SC 投与（報告書 670388, Appendix 10, page 539） 59
2.6.4.3.5 妊娠ラット及びウサギにおける反復投与時のトキシコキネティクス 61

2.6.4.3.5.1 妊娠ラットへの 14 日間反復 IV 投与（報告書 902480 及び 902238） 62
2.6.4.3.5.1.1 妊娠ラットでの胚･胎児発生試験のサポートのためのトキシコキネティクス評価（報告書 902480, Appendix 9, page 198） 62
2.6.4.3.5.1.2 妊娠ラットにおける出生前及び出生後の毒性試験のサポートのためのトキシコキネティクス評価（報告書 902238, Appendix 55, page 2090） 64
2.6.4.3.5.2 妊娠ウサギへの 13 日間 IV 反復投与 66
2.6.4.3.5.2.1 妊娠ウサギにおける胚･胎児発生用量設定試験のサポートのためのトキシコキネティクス（報告書 902236, Appendix 16, page 253） 66
2.6.4.3.5.2.2 妊娠ウサギにおける胚･胎児発生本試験のサポートのためのトキシコキネティクス評価（報告書 902237, Appendix 18, page 392） 67
2.6.4.4 分布 71
2.6.4.4.1 幼若マウスにおける単回 IV 投与後の ALXN1215 の組織分布（報告書 ALP-PD-01） 71
2.6.4.4.2 新生児マウスにおける反復 SC 投与時の組織分布（報告書 ALP-PD-02） 72
2.6.4.5 代謝（動物種間の比較） 74
2.6.4.6 排泄 74
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 74
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 75
2.6.4.8.1 ALXN1215 の消失における FcRn の役割（報告書 GTR-0569） 75
2.6.4.8.2 総シアル酸含量が ALXN1215 の吸収及び消失に及ぼす影響（報告書 CPR-0003） 76
2.6.4.8.3 ファースト・イン・ヒューマン試験及び第 2 相試験の開始用量の設定 79
2.6.4.8.3.1 FIH 試験の用量設定 79
2.6.4.8.3.2 第 2 相試験の用量設定 80
2.6.4.8.4 ヒトでの有効用量に関する曝露マージン 81
2.6.4.9 報告されていない試験 84
2.6.4.9.1 単回 IV 投与マウスにおける薬物動態試験（ALP-PC-10） 84
2.6.4.9.2 単回 IV 投与マウスにおける薬物動態試験（ALP-PC-11） 84
2.6.4.10 考察及び結論 84
2.6.4.11 参考文献 87

表一覧

表 2.6.4.1-1 非臨床薬物動態試験及びトキシコキネティクス試験の概要 14
表 2.6.4.1-2 非臨床 PK 及び TK 試験で使用した薬物ロット 17
表 2.6.4.2-1 生物試料分析試験を実施した検査機関 18
表 2.6.4.2.2.3-1 ALXN1215 の PK 分析法 Version 1、2 及び 3 の主要パラメータ 21
表 2.6.4.2.2.5-1 GLP 非適応試験の概要 22
表 2.6.4.2.3.1.4-1 3 種のラット PK 分析法の主要パラメータの比較 24
表 2.6.4.2.3.1.5-1 ラット PK 分析法の主要バリデーションパラメータ及び結果 26
表 2.6.4.2.3.2-1 サルでの ALXN1215 PK 分析法の主要パラメータ 27

表 2.6.4.2.2.3.2.1-1 サル PK 分析法の主要なバリデーションパラメータ及び結果 28
表 2.6.4.2.2.3.3-1 ウサギ血清中の ALXN1215 PK 分析法の主要パラメータ 28
表 2.6.4.2.2.3.3.1-1 ウサギ PK 分析法の主要なバリデーションパラメータ及び結果 29
表 2.6.4.2.2.3.4-1 3CRO で実施された GLP 適応試験の概要 30
表 2.6.4.2.3.2.4-1 3 種の ADA 分析法の主要パラメータの比較 33
表 2.6.4.2.3.2.5.1-1 3 種の ADA 分析法のバリデーション結果のまとめ 34
表 2.6.4.2.3.2.6-1 2 つの CRO が実施した GLP 適応試験の概要 35
表 2.6.4.3.1.1.2-1 C57BL/6 マウスに ALXN1215 2 mg/kg を単回 IV 又は SC 投与時の薬物動態パラメータ（報告書 ALP-PC-09, Table 1.1, page 11） 38
表 2.6.4.3.1.1.3-1 *Akp2*$^{-/-}$及び WT マウスにおける ALXN1215 8.2 mg/kg 単回 SC 投与時の薬物動態パラメータ（報告書 ALP-PC-25, Table 3, page 12） 39
表 2.6.4.3.1.1.4-1 1 日 1 回 5 日間 SC 投与を受けたマウスでの胎盤通過試験のデザイン（報告書 ALP-PT-15） 40
表 2.6.4.3.1.1.4-2 様々な用量を投与された非妊娠、妊娠及び胎児マウスでの ALXN1215 の血清中濃度レベル（mg/L）[#]及び比率（報告書 ALP-PT-15, Table 3, page 12） 41
表 2.6.4.3.1.2.2-1 成熟ラットにおける ALXN1215 の単回 IV 又は SC 投与時の薬物動態パラメータ（報告書 PK2008010951, Section 8.2, page 14） 44
表 2.6.4.3.1.3.2-1 サルにおける ALXN1215 3 mg/kg 単回 IV 又は SC 投与時の薬物動態パラメータ（報告書 3008-0133, Section 8.3, Table 3, page 16） 45
表 2.6.4.3.2.1-1 幼若サルにおける複数用量漸増単回 IV 投与（クロスオーバー試験）時の平均 PK パラメータ（報告書 2007-0693, Appendix VII, Table 5.1, page 110） 47
表 2.6.4.3.3.2-1 雌ウサギにおける単回 IV 又は SC 投与時の平均 PK パラメータ（報告書 902235, Appendix 8, Section 1, page 93） 49
表 2.6.4.3.4.1-1 幼若ラットにおける反復 IV 投与後の ALXN1215 濃度（mg/L）の平均値（±SD）（報告書 670314, Appendix 6, Section 4, Tables 4.1-4.8, pages 378-385） 50
表 2.6.4.3.4.2.2-1 幼若ラットにおける 4 週間反復 IV 又は SC 投与時の ALXN1215 のトキシコキネティクスパラメータ（報告書 70552, Appendix 6d, pages 233-234） 54
表 2.6.4.3.4.3-1 幼若ラットにおける 26 週間 IV 投与時の ALXN1215 のトキシコキネティクスパラメータ（報告書 670315, Appendix 9, Tables 1-1 及び 1-2, pages 1098-1099） 56
表 2.6.4.3.4.4-1 幼若サルにおける週 1 回 4 週間反復 IV 投与時の ALXN1215 のトキシコキネティクスパラメータ（報告書 1007-1503, Appendix XI, page 535） 59
表 2.6.4.3.4.5-1 幼若サルにおける 6 ヵ月反復 SC 投与時の ALXN1215 の平均トキシコキネティクスパラメータ（報告書 670388, Appendix 10, page 544） 61
表 2.6.4.3.5.1.1-1 妊娠 6～19 日目に ALXN1215 1 日 1 回 IV 投与時の妊娠ラットにおけるトキシコキネティクスパラメータ（報告書 902480, Appendix 9, page 201） 64
表 2.6.4.3.5.1.2-1 妊娠 6～19 日目に ALXN12151 日 1 回 IV 投与後の妊娠ラットにおけるトキシコキネティクスパラメータ（報告書 902238, Appendix 55, page 2093） 66
表 2.6.4.3.5.2.1-1 妊娠ウサギにおける交尾後 7～19 日目に ALXN121513 日間反復 IV 投与時のトキシコキネティクスパラメータ（報告書 902236, Appendix 16, Section 1, Synopsis Table, page 256 及び報告書 902236 Amendment No. 1, Attachment C, Table 5.1, page 56） 67
表 2.6.4.3.5.2.2-1 妊娠ウサギにおける交尾後 7～19 日目にかけて ALXN1215 を反復 IV 投与時の

平均トキシコキネティクスパラメータ（報告書 902237, Appendix 18, page 395）.....70
表 2.6.4.4.1-1　幼若 129J マウスにおける単回 IV 投与後の ^{125}I-ALXN1215 の組織対血液比（報告書 ALP-PD-01, Section 8.1, Table 3, page 18）.....72
表 2.6.4.4.2-1　新生児マウスにおける ^{125}I-ALXN1215 の AUC の組織対血液比（報告書 ALP-PD-02, Section 9.2, Table 3, page 17）.....73
表 2.6.4.8.1-1　ALXN1215 と Fc 領域を含む融合タンパク質との FcRn 結合能（K_D）及びヒトでの半減期の比較（報告書 GTR-0569, Table 2, page 6）.....76
表 2.6.4.8.2-1　マウスへ単回 IV 及び SC 投与時後の ALXN1215 の TSAC と PK パラメータとの線形回帰分析の結果（報告書 CPR-0003, Table 3, page 9）.....79
表 2.6.4.8.4-1　ヒト有効用量での ALXN1215 曝露量に基づく曝露マージン.....83

図一覧

図 2.6.4.2.2.1-1　ALXN1215 による pNPP の触媒反応の反応スキーム.....19
図 2.6.4.2.3.1-1　抗 ALXN1215 抗体により形成されるブリッジ複合体.....31
図 2.6.4.3.1.1.2-1 マウスに ALXN1215 2 mg/kg を単回 IV 又は SC 投与後の平均血清中濃度の推移（報告書 ALP-PC-09, Section 11.0, page 10）.....37
図 2.6.4.3.1.1.3-1　*Akp2*$^{-/-}$及び WT マウスに 8.2 mg/kg を単回 SC 後の平均血清中濃度の推移（報告書 ALP-PC-25, Figure 1, page 12）.....39
図 2.6.4.3.1.1.4-1　様々な用量を投与した非妊娠、妊娠及び胎児マウスでの血清中濃度（報告書 ALP-PT-15, Figure 1, page 12）.....41
図 2.6.4.3.1.2.2-1　成熟ラットにおける ALXN1215 3 mg/kg の IV 又は SC 投与後の平均（n=3、±SD）血清中濃度の推移（報告書 PK2008010951, Figure 1, page 13）.....43
図 2.6.4.3.1.3.2-1　成熟雌サルにおける ALXN121 3 mg/kg 単回 IV 又は SC 投与後の平均（n=2）血清中濃度の推移（報告書 3008-0133, Section 8, page 12）.....45
図 2.6.4.3.2.1-1　幼若サルにおける複数用量漸増単回 IV 投与後の平均（n=2）血清中濃度の推移（報告書 2007-0693, Appendix VII, page 100）.....46
図 2.6.4.3.3.2-1　雌ウサギにおける ALXN1215 5 又は 50 mg/kg 単回 IV 又は SC 投与後の平均血清中濃度の推移（報告書 902235, Appendix 8, page 90）.....48
図 2.6.4.3.4.2.1-1　幼若ラットにおける 4 週間の反復 IV 投与時の薬物濃度の推移.....51
図 2.6.4.3.4.2.2-1　幼若ラットにおける 4 週間反復 SC 投与後の薬物濃度推移.....53
図 2.6.4.3.4.3-1　幼若ラットにおける 1 日 1 回 26 週間の反復 IV 投与後の薬物濃度の推移.....55
図 2.6.4.3.4.4-1　幼若サルにおける 4 週間反復 IV 投与時の薬物濃度推移.....57
図 2.6.4.3.4.5-1　幼若サルにおける 6 ヵ月反復 SC 投与の薬物濃度推移.....60
図 2.6.4.3.5.1.1-1　妊娠 6～19 日目に 1 日 1 回 IV 投与後の妊娠ラットにおける薬物濃度推移...63
図 2.6.4.3.5.1.2-1　妊娠 6～19 日目に 1 日 1 回 IV 投与後の妊娠ラットにおける薬物濃度推移...65
図 2.6.4.3.5.2.1-1　妊娠ウサギにおける交尾後 7～19 日目に 13 日間反復 IV 投与後の薬物濃度推移.....67
図 2.6.4.3.5.2.2-1　妊娠ウサギにおける交尾後 7～19 日目にかけて反復 IV 投与後の薬物濃度推移.....69
図 2.6.4.4.1-1　^{125}I-ALXN1215 5 mg/kg 単回 IV 投与後の幼若マウスの様々な組織での放射能濃度の平均値（±SD）.....72

図 2.6.4.4.2-1 [^{125}I]ALXN1215 4.3 mg/kg14 日間反復 SC 投与時の新生児マウスの様々な組織での放射能濃度の平均値（±SD） 73
図 2.6.4.8.1-1 ALXN1215 及び Fc 領域を含む融合タンパク質の FcRn 結合能（K_D）と半減期との関係 75
図 2.6.4.8.2-1 マウスへ単回 IV 投与後の TSAC と用量正規化 AUC との線形回帰及び TSAC と ALXN1215 の消失との線形回帰 77
図 2.6.4.8.2-2 マウスへ単回 SC 投与後の TSAC とバイオアベイラビリティとの線形回帰及び TSAC と用量正規化 C_{max} との線形回帰 78
図 2.6.4.8.3.2-1 ALXN1215 を 43～53 日間の予防的に SC 投与時の Akp2$^{-/-}$マウスの後足の骨石灰化改善に対する用量反応性（2.6.2.2.5 項参照） 80

略号一覧表

略語・用語	内容（英語）	内容（日本語）
ADA	Anti-drug antibody	抗薬物抗体
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALXN1215	Asfotase alfa	アスホターゼ　アルファ
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度-時間曲線下面積
AUC_{∞}	AUC from time 0 extrapolated to infinity, based on the last observed concentration	最終測定濃度を基に無限時間まで外挿した時間 0 からの AUC
AUC_{last}	AUC from time 0 to last measurable concentration	時間 0 から濃度が定量可能な最終時点までの AUC
AUC_{tau}	AUC within each dosing interval	各投与間隔の AUC
BSA	Bovine serum albumin	ウシ血清アルブミン
[redacted]	[redacted]	
[redacted]	[redacted]	
CD	Control deviation	制御偏差
CF	Cut-point factor	カットポイント係数
CFv	Specific cut point	固有のカットポイント
CL	Clearance	クリアランス
C_{max}	Maxium observed concentration	最高濃度測定値
CPM	Counts per minute	カウント数毎分
CPv	Validation cut-point	バリデーションカットポイント
[redacted]	[redacted]	
CRO	Contract research organization	開発業務受託機関
CV	Cardiovascular	循環器
%CV	Percent coefficient of variation	変動係数（%）
D10	Deca aspartic acid peptide	デカアスパラギン酸ペプチド
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着検定法
E_{max}	Maximal effects	最大効果
ENB-0040	Asfotase alfa	アスホターゼ　アルファ
F	subcutaneous dosing	皮下投与
FcD10	Fc domain of immunoglobulin G1 and a deca-aspartate peptide	免疫グロブリン G1 の Fc 領域とデカアスパラギン酸ペプチド
FCP	Floating cut point	浮動カットポイント
FcRn	Neonatal Fc receptor	新生児型 Fc 受容体
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FIH	First-in-human	ファースト・イン・ヒューマン
G	Gram	グラム
Mg	Microgram	マイクログラム
GLP	Good laboratory practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実

略語・用語	内容（英語）	内容（日本語）
		施の基準
H	Hour	時間
HCl	Hydrochloric acid	塩酸
HPP	Hypophosphatasia	低ホスファターゼ症
ICH	International Conference on Harmonisation	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
Ig	Immunoglobulin	免疫グロブリン
IgG	Imunoglobulin G	免疫グロブリン G
IND	Investigational new drug	治験薬
ISR	Incurred sample reanalysis	投与後試料の再分析
IV	Intravenous	静脈内
kDa	Kilodalton	キロダルトン
Kg	Kilogram	キログラム
K_M	Michaelis constant; substrate concentration at which the reaction rate is half of Vmax	ミカエリス定数：反応速度が V_{max} の 1/2 となる基質濃度
L	Liter	リットル
LOQ	Limit of quantification	定量限界
LLOQ	Lower limit of quantification	定量下限
mAbs/min	Milli absorbance units per minute	ミリ吸光度単位/分
[redacted]	[redacted]	
Mg	Milligram	ミリグラム
$MgCl_2$	magnesium chloride	塩化マグネシウム
mL	Milliliter	ミリリットル
mM	Millimolar	ミリモーラー
mm	Millimeter	ミリメートル
mm^3	Cubic millimeter	立法ミリメートル
mmol	Millimole	ミリモル
µM	Micromolar	マイクロモーラー
MRD	Minimum required dilution	最小必要希釈度
N	Sample size	例数
NA	Not applicable	該当なし
NAb	Neutralizing antibody assay	中和抗体アッセイ
NCA	Non-compartmental analysis	ノンコンパートメント解析
NCv	Validation negative control	バリデーション陰性対照
ND	Not determined	未測定
Ng	Nanogram	ナノグラム
Nm	Nanometers	ナノメートル
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量

略語・用語	内容（英語）	内容（日本語）
OD	Optical density	光学密度
OPD	O-PhenyleneDiamine	o-フェニレンジアミン
PC	Positive control	陽性対照
PD	Pharmacodynamic	薬力学
PK	Pharmacokinetic	薬物動態
PLP	Pyridoxal-5’ phosphate	ピリドキサール 5'-リン酸
pNP	Para-nitrophenol	p-ニトロフェノール
pNPP	Para-nitrophenyl phosphate	p-ニトロフェニルリン酸
PPi	Inorganic pyrophosphate	無機ピロリン酸
QC	Quality control	品質管理
R^2	Coefficient of determination	決定係数
%RE	Relative error or % recovery as detailed in section	相対誤差又は回収率。詳細は該当する項に記載。
RE	Relative error	相対誤差
RS	Reference standard	標準物質
RT	Room temperature	室温
[S]	Substrate concentration	基質濃度
S	Second	秒
sALP-FcD10	Asfotase alfa	アスホターゼ　アルファ
SC	Subcutaneous	皮下
SD	Standard deviation	標準偏差
sNC	Plate-specific negative control	プレート固有の陰性対照
SS	Steady state	定常状態
TK	Toxicokinetic	トキシコキネティクス
$t_{½}$	Terminal phase half-life	終末相半減期
t_{max}	The time to reach maximum concentration	最高薬物濃度に達するまでの時間
TNSALP	Tissue non-specific alkaline phosphatase	組織非特異的アルカリホスファターゼ
TSAC	Total sialic acid content	総シアル酸含量
U	Unit	単位
ULOQ	Upper limit of quantification	定量上限
V_{max}	Maximum reaction velocity (mAbs/min)	最大反応速度（mAbs/分）
V_{ss}	Volume of distribution at steady state	定常状態での分布容積
[redacted]	[redacted]	
WT	Wild type	野生型
$ZnCl_2$	Zinc chloride	塩化亜鉛
ε	Extinction coefficient	比吸光度
λ_{max}	Absorption maxima	吸収極大
μ Ci	Microcurie	マイクロキュリー

略語・用語	内容（英語）	内容（日本語）
v	Initial rate of reaction	反応初速度

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

ALXN1215（別名 sALP-FcD10 又は ENB-0040）は、現在開発中の低ホスファターゼ症（HPP）の長期治療薬である。ALXN 1215 の成熟動物及び幼若動物での薬物動態（PK）及びトキシコキネティクス（TK）を評価した。PK／TK 試験では静脈内（IV）及び皮下（SC）の両方の投与経路が用いられ、これら投与経路は臨床開発を通じても用いられている。

ALXN1215 は、ヌクレオチドピロホスファターゼ／ホスホジエステラーゼにより生成されるピロリン酸の加水分解を触媒することにより治療効果を発揮する。アルカリホスファターゼ（及び ALXN1215）の生物活性は、無機ピロリン酸（PPi）及びピリドキサール-5'リン酸（PLP）などいくつかの基質に対する酵素活性に基づき、受容体を介さず、種特異的でない [1)]。マウス、ラット、ウサギ及びサルなどの哺乳類では、組織非特異的アルカリホスファターゼ（TNSALP）タンパク質のアミノ酸配列は、ヒトとの相同性が高い（それぞれ 90%、91%、86%及び 97%）。よって、PK／TK 評価の対象として、マウス、ラット、ウサギ及びカニクイザルを選択した。

マウス、ラット、ウサギ及びサルでの単回及び反復投与 PK／TK 試験を実施した。マウスでの PK 試験は、疾病モデルを用いた非臨床有効性試験の一環として実施した。ラット、ウサギ及びサルでの PK 試験は、これら動物種での ALXN1215 の動態特性を明らかにするために実施した。ALXN1215 の TK は反復 IV 又は SC 投与後の幼若ラット及びサルにおいて評価した。生殖発生毒性評価の裏付けのため、妊娠ラット及びウサギでの TK も評価した。

実施したすべての非臨床 PK 及び TK 試験を表 2.6.4.1-1 に示す。また、主な結果を以下に要約する。特に明記しない限り、PK／TK パラメータは、ノンコンパートメント解析（NCA）法により求めた。

1) 単回 IV 投与時の PK 試験：マウス、ラット、ウサギ及びサルに 2～180 mg/kg を単回 IV 投与したところ、ALXN1215 の全身クリアランス（CL）は 0.00504～0.0540 L/h/kg、見かけの半減期は 14～40 時間であった。定常状態の分布容積（Vss）は、すべての被験動物種で体内総水分量よりも高いか、細胞内液量とほぼ同等であったことから、ALXN1215 が末梢組織に分布していることが示唆された。
2) 単回又は反復 SC 投与時の PK 試験：8.2 mg/kg を単回 SC 投与後、*Akp2*$^{-/-}$マウス（HPP のノックアウトマウスモデル）及び野生型（WT）マウスとの間に PK の差は認められなかった。0.5～8.2 mg/kg を妊娠マウスに 1 日 1 回 5 日間反復 SC 投与後、検討したすべての用量で胎児中の ALXN1215 濃度が定量可能であったことから、ALXN1215 は胎盤を通過することが示唆された。最高薬物濃度に達するまでの時間（t_{max}）は、マウス、ラット、ウサギ及びサルで 4～32 時間であり、SC 注射部位から ALXN1215 が緩やかに吸収されることが示唆された。SC 投与経路でのバイオアベイラビリティは、マウス、ラット、ウサギ及びサルで 25～56%と推定された。
3) 反復 IV 又は SC 投与時の TK 試験：
   a) 幼若ラット及びサルに ALXN1215 を 4 週間又は 26 週間反復 IV 又は SC 投与後、AUC 及び C_{max} は、すべての試験で用量に比例して又は用量比を上回って増加した。試験デザイン、［総シアル酸含量（TSAC）の異なる］薬物ロット、免疫原性及び動物の年齢など複数の因子が、用量比例性の評価に影響を及ぼした可能性がある。推定半減期の値から予想された通り、幼若ラット及びサルでの ALXN1215 の蓄積は、投与頻度に依存していた。週 1 回の投与計画では、ALXN1215 の蓄積は認められなかった。幼若サ

ルへの 1 日 1 回の SC 投与後、0.8～7 倍の薬物蓄積が認められた。PK パラメータの性差は、反復投与後の幼若ラット及びサルでは認められなかった。

b) 抗薬物抗体（ADA）の発現が、ラット及びサルでの反復投与毒性／TK 試験 5 試験中 4 試験で認められ、（各群の各時点での）発現割合は 0～100%であった。ラット及びサルでは、全身曝露量に対する ADA の影響は多様であり、AUC は対応する各群の平均値と比較して無視できる程度～約 85%減少した。

4) 生殖発生毒性試験：妊娠ラット又はウサギに ALXN1215 を 1 日 1 回 13 又は 14 日間 IV 投与したところ、$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max} は、初回投与日及び最終投与日に用量比を上回って増加したことから、非線形の薬物動態が示唆された。ALXN1215 の蓄積は、妊娠ラット及びウサギでは認められなかった。

5) 組織分布試験：幼若マウス（単回 IV）及び新生児マウス（反復 SC）での２つの組織分布試験の結果からは、^{125}I-ALXN1215 は長骨に選択的に分布することが示された。頭蓋冠、脛骨及び大腿骨などの骨組織の AUC 及び C_{max} は、腎臓、肝臓、肺及び筋肉などの軟部組織よりも高い値を示した。薬物関連放射能は、64 時間以上長骨中に留まり、96～168 時間の試験期間にわたり低下を示さなかったことから、ALXN1215 は骨を標的とし、骨に保持されることが示唆された。血液／血清中の薬物関連放射能は、骨組織中の薬物関連放射能よりも速く消失した。

6) 総シアル酸含量（TSAC）：TSAC とクリアランスのメタアナリシスでは、TSAC 値と用量で正規化した AUC_{∞} との間に正の相関が認められた。また、TSAC 値は、CL（IV 投与）及び皮下投与時に吸収された投与量分のクリアランス（CL/F、SC 投与）と見かけ上逆相関していた。さらに、TSAC 値は単回 SC 投与時のバイオアベイラビリティ及び用量で正規化した C_{max} と正相関しているように思われた。データから、シアリル化率が低いほど、ALXN1215 の消失が加速し、その結果 AUC が減少すること、また SC 投与時の吸収が減少してバイオアベイラビリティが低下することが示唆された。PK／TK 試験で使用した薬物ロットでの TSAC を表 2.6.4.1-2 に示す。

7) *In Vitro* FcRn 結合：*In vitro* 試験の結果から、ALXN1215 の FcRn に対する結合能（pH 6.0 で表面プラズモン共鳴により測定）は、現在市販されている Fc 領域を持つ他のタンパク質医薬品（すなわちアバタセプト及びエタネルセプト）と同等であることが示唆される。ALXN1215 のヒトでの半減期（2～7 日）は、アバタセプト及びエタネルセプトと同等である。

要約すると、ALXN1215 の薬物動態及びトキシコキネティクスを様々な動物種において検討した。これらの試験で得られたデータに基づいて、ALXN1215 の動態（吸収、分布及び排泄）を評価した。さらにこれらのデータを用いて、用量／曝露量と応答との関連性、安全性マージン、及びヒトでの臨床試験開始用量の計画を検討した。

表 2.6.4.1-1　非臨床薬物動態試験及びトキシコキネティクス試験の概要

Report No.	GLP	Study Type	Species	Title	Study Site (in-life)
ALP-PC-09	No	PK	Mouse	*In Vivo* Pharmacokinetic Study of sALP-FcD$_{10}$ Lot [redacted] (NonGLP Tox Material) Administered IV or SC in C57BL/6 Mice	Enobia Pharma Inc. ([redacted], Canada)
ALP-PC-25	No	PK	Mouse	*In Vivo* Pharmacokinetic Study of ENB-0040 Lot [redacted] Administered SC in *Akp2*$^{-/-}$ and WT Juvenile Mice	Enobia Pharma Inc. ([redacted], Canada)
ALP-PT-15	No	PK	Mouse	Evaluation of the Presence of ENB-0040 in Fetuses after a 5-Day Subcutaneous Administration Regimen to Pregnant CD-1 Mice	Enobia Pharma Inc. ([redacted], Canada)
ALP-PD-01	No	PK	Mouse	*In Vivo* Biodistribution Study of [^{125}I] ENB-0040 Administered IV in 129J Mice	Enobia Pharma Inc. ([redacted], Canada)
ALP-PD-02	No	PK	Mouse	Tissue Distribution of [^{125}I] ENB-0040 and pharmacokinetics in newborn CD-1 mice following two weeks of daily subcutaneous (SC) injections of [^{125}I] ENB-0040	Enobia Pharma Inc.[a)] ([redacted], Canada)
CPR-0003	No	Meta-Analysis	Mouse	Exploratory Analysis of Correlation between the Pharmacokinetics and the Total Sialic Acid Content (TSAC) of ENB-0040 following Single IV or SC Administration of ENB-0040 to C57BL/6 Mice	EnobiaPharma.[a)] ([redacted], Canada)
CPR-0006	No	Data Analysis	Mouse	Estimating from Animal Data the Target Minimal Effective Concentrations of ENB-0040 in Humans	Alexion Pharmaceuticals Inc. (Cheshire, CT)
PK2008010951	No	PK	Rat	*In Vivo* Pharmacokinetic Study of ENB-0040 Administered IV or SC in Rats	[redacted] ([redacted], Canada)

Report No.	GLP	Study Type	Species	Title	Study Site (in-life)
3008-0133	No	PK	Monkey	ENB-0040: a Single Dose IV or SC Pharmacokinetic Study in Female Cynomolgus Monkey	[redacted] ([redacted], Canada)
CPR-0002	No	Document Review	NA	Elimination Pathway of Asfotase Alfa	Alexion Pharmaceuticals Inc. (Cheshire, CT)
GTR-0569	No	*In Vitro*	NA	Affinity Analysis of Therapeutics Containing a Human IgG1 Fc and ALXN1215 to FcRn	Alexion Pharmaceuticals Inc. (Cheshire, CT)
670314	Yes	Single time point concentration[b)]	Rat	A 4-Week (Once Weekly) Intravenous Injection Toxicity Study of Asfotase Alfa (ENB-0040) in the Juvenile Albino Rat followed by a 28-Day Recovery Period	[redacted] ([redacted], Canada)
70552	Yes	TK	Rat	A 4-Week Intravenous or Subcutaneous Injection Toxicokinetic Study in Juvenile Sprague-Dawley Rats	[redacted] ([redacted], Canada)
670315	Yes	TK	Rat	A 26-Week Intravenous Injection Toxicity Study of ENB-0040 in the Juvenile Albino Rat followed by a 28-Day Recovery Period	[redacted] ([redacted], Canada)
902238	Yes	TK	Rat	A Pre- and Post-natal Study of ENB-0040 by Intravenous Injection in Rats	[redacted] ([redacted], Canada)
902480	Yes	TK	Rat	An Intravenous Injection Toxicokinetic Study of ENB-0040 in Pregnant Rats	[redacted] ([redacted], Canada)
2007-0693	No	TK	Monkey	An IV injection and infusion maximum tolerated dose toxicity study in juvenile cynomolgus monkeys	[redacted] ([redacted], Canada)
1007-1503	Yes	TK	Monkey	A 4-week IV Injection Toxicity Study in Juvenile Cynomolgus Monkeys follower by a 28-day Recovery Period	[redacted] ([redacted], Canada)

Report No.	GLP	Study Type	Species	Title	Study Site (in-life)
670388	Yes	TK	Monkey	A 6-month Multiple Dose Toxicity Bone Study of ENB-0040 in the Juvenile Monkey followed by a 4-week Recovery Period	[redacted] ([redacted], Canada)
902235	Yes	TK	Rabbit	A Toxicokinetic Study of ENB-0040 in the Female Rabbit following a Single IV Bolus Injection or SC Injection	[redacted] ([redacted], Canada)
902236	Yes	TK	Rabbit	A Dosage Range-Finding Embryo-Fetal Development Study of ENB-0040 by Intravenous Injection in Rabbits	[redacted] ([redacted], Canada)
902237	Yes	TK	Rabbit	An Intravenous Injection Study of Embryo-fetal Development with ENB-0040 in Rabbits	[redacted] ([redacted], Canada)

a) 動物試験自体は、Enobia Pharma Inc.で実施したが、最終試験報告書は Alexion Pharmaceutical Inc.が発行した。
b) TK 評価の報告なし。試験 6 日目及び 23 日目の一時点（投与 24 時間後）にのみ平均濃度を報告（資料 670314 page 42 Table 16.12）。
PK = 薬物動態。
TK =トキシコキネティクス。

注：（TSAC 値の異なる）様々な薬物ロットを PK／TK 試験に使用した。PK パラメータの解釈は、使用した各薬物ロット内で行った。PK／TK 試験に関する情報、及び使用した薬物ロットとそれらの TSAC 値を表 2.6.4.1-2 に示した（社内資料）。

表 2.6.4.1-2 非臨床 PK 及び TK 試験で使用した薬物ロット

Report ID	GLP Status	Lot Number	TSAC Analysis Company and Report Number	Total Sialic Acid Content
ALP-PC-09	No	[redacted]		
ALP-PC-25	No			
ALP-PT-15	No			
PK2008010951	No			
3008-0133	No			
CPR-0003	No			
70552	Yes			
670315	Yes			
902238	Yes			
902480	Yes			
2007-0693	Yes			
1007-1503	Yes			
670388	Yes			
902235	Yes			
902236	Yes			
902237	Yes			

a) [redacted] ロットの詳細は、試験報告書に示した。
b) 報告されていないが、本ロットは、ロット [redacted] が製造されてから 9 日後に充てんされた。TSAC 値は、ロット [redacted] と等しいと考えられる。
社内資料。NA = データなし。

2.6.4.2 分析法

マウス、ラット、ウサギ及びサルでの ALXN1215 の非臨床試験をサポートするために、薬物動態（PK）、免疫原性（ADA）及び生体内分布（^{125}I 放射性トレーサー）分析法を開発した。分析方法の開発、バリデーション又は試料分析に携わった生体試料分析試験施設を表 2.6.4.2-1 に記載する。

表 2.6.4.2-1 生物試料分析試験を実施した検査機関

Laboratory Name	Lab Initials	Location	Assays Performed
Enobia Pharma Inc.[a)]	Enobia	[redacted]	PK, Bio-distribution
[redacted][b)]	[redacted]	[redacted]	PK, ADA
[redacted][c)]	[redacted]	[redacted]	PK
[redacted][d)]	[redacted]	[redacted]	PK, ADA

a) 20[redacted]年に Alexion Pharmaceuticals Inc.が買収。
b) [redacted]の旧称は、[redacted]であった。
c) [redacted]は買収され、[redacted]に改名した。
d) [redacted]は買収され、[redacted]に改名した。

2.6.4.2.1 生物試料分析法の概要

2.6.4.2.1.1 ALXN1215 の PK 分析

2.6.4.2.2 項に記載した通り、Enobia で開発された ALXN1215 の PK 分析法は、ALXN1215 の酵素活性の測定に基づく方法であり、非臨床試験に使用された。2.6.4.2.3 項に記載した通り、ALXN1215 の PK 分析法はさらに改良され、Enobia からいくつかの CRO に移管された。各分析法は、これらの CRO でバリデートされ、GLP 適応試験に使用された。

また、ALXN1215 のタンパク質濃度を測定するための ELISA 法を開発し、GLP 非適応試験 2007-0693 で得られたサル検体の探索的評価のため、PK 分析法と併行して使用した。しかし、ALXN1215 は、酵素補充療法剤であり、ピロリン酸塩を加水分解することによる最も重要な触媒作用を介してその治療効果を発揮する。ALXN1215 の PK 測定は、薬剤の有効性の PK 分析に対して最も適切である試料中薬剤の触媒活性を定量する機能的評価法である。これに反して、ELISA 法は、機能的活性薬に関する直接的情報を与えない ALXN1215 の総タンパク質濃度を定量する。それゆえ、ELISA 法の使用は、機能的測定の利益性を鑑みて中止された。非 GLP 試験 2007-0693（資料 2007-0693）から得られたデータは、この文書に記載されている PK 評価には含まれていない。

2.6.4.2.1.2 ALXN1215 の ADA 分析法

ALXN1215 に対する免疫応答を、サル、ラット及びウサギを使用した非臨床試験で評価した。ブリッジング ELISA 法を用いたサル及びラット検体の ADA 分析法が 2 つの CRO で開発され、バリデートされた。すべての検体は、まずスクリーニング分析法により評価された。アッセイシグナルがスクリーニング分析法のカットポイントを上回る場合、検体は ADA 陽性と判定され、過剰量の ALXN1215 を競合阻害剤として各検体に加える検証試験の対象として選定された。スクリーニング試験でアッセイシグナルがカットポイントを上回り、ALXN1215 を添加する検証試験でカットポイントを下回った場合、検出された ADA は ALXN1215 に特異的であることが確認される。ラット及びサルでの ADA 分析法の概略及び主要な性能指標を 2.6.4.2.3 項に記載する。Enobia がウサギの ADA 分析法を開発していなかったため、ウサギ試験の試料は分析せず保存し

た。

2.6.4.2.1.3 ALXN1215 の生体内分布分析法

放射性トレーサーとして ^{125}I 標識 ALXN1215 を使用する生体内分布分析法は、様々な組織での ALXN1215 の分布及び移行を検討するために開発された。この放射性トレーサー法は、マウスでの組織分布試験 ALP-PD-01 及び ALP-PD-02 に用いられた。本分析法に関する詳細は 2.6.4.2.4 項に記載する。

2.6.4.2.2 ALXN1215 の PK 分析法

2.6.4.2.2.1 PK 分析法の原理

ALXN1215 の PK 分析法は、薬物の触媒活性の測定に基づいている。ALXN1215 のみの触媒活性は、投与前試料又は ALXN1215 未投与の動物からのマトリックスプール中に検出された内因性アルカリホスファターゼ触媒活性を差し引いて求められる。

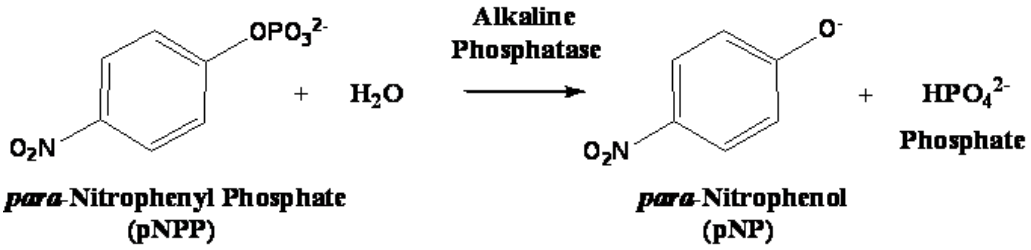
定常状態における特定の基質の酵素触媒反応は、以下のミカエリス-メンテン式により説明される。

$$\nu = V_{max}[S] / (K_M + [S])$$

なお、ν は初期反応速度、[S]は初期基質濃度、V_{max} は最大反応速度、K_M は反応速度が V_{max} の 1/2 となる基質濃度に相当するミカエリス定数である。酵素飽和条件下では、[S]が K_M を大幅に上回り、初期反応速度（ν）は V_{max} に等しく、V_{max} の測定値は酵素濃度に正比例する。

基質の p-ニトロフェノールリン酸（pNPP）は、飽和濃度（1 mM）で使用した。pNPP の酵素反応を図 2.6.4.2.2.1-1 に示す。生成物 p-ニトロフェノール（pNP）は、分光光度計で可視スペクトルの紫色領域に吸収を示す（吸収極大 405 nm）黄色い物質である。

図 2.6.4.2.2.1-1 ALXN1215 による pNPP の触媒反応の反応スキーム



PK 分析のため、2 種類の ALXN1215 測定法が開発された。1 つ目の方法では、ALXN1215 標準物質の検量線を用いて ALXN1215 の濃度を測定した。検量線用標準試料は、分析用希釈液又はマトリックスで希釈して調製した。分析を実施する度に、検量線用標準試料濃度（ng/mL）を V_{max} 測定値に対して線形回帰分析することにより検量線を作成した。品質管理（QC）試料及び試験検体中の薬物濃度は、各試料の V_{max} 測定値を検量線に内挿することにより求め、タンパク質濃度の単位（ng/mL 又は μ g/mL）で報告した。

2 つ目の方法では、以下に示すように反応のモル吸光係数及びランベルト-ベールの法則を基に、酵素活性測定値から ALXN1215 の濃度を直接求めた。溶液の吸光度は、pNP の濃度に正比例していた。pNP 吸光度の変化を短い間隔（0.5 分）で 15～20 分間観察し、データを基に作成した曲線の傾きから試料の V_{max} を求めた（吸光度単位/分）。得られた V_{max} から、以下の式により 1L あた

りの酵素活性単位（U/L）を求めた。

$$U/L = (V_{max} \times 反応量 \times 1000) / (試料量 \times \varepsilon \times 1)$$

ただし、ε（イプシロン）は pNP の既知のモル吸光係数、測定セルの光路長は 1 cm、試料量の単位は mL、1000 を掛けるのは酵素活性単位を U/mL から U/L に換算するためである。

1 活性単位（U）は、pNPP から pNP を 1 分あたり 1 μmol 生成する反応を触媒するために必要な酵素の量に相当する。

2.6.4.2.2.2 GLP 非適応試験での ALXN1215 の PK 分析法

Enobia Pharma では、3 種類の ALXN1215 の PK 分析法が開発され、20[redacted]年から使用が開始された。これらの分析法は、マウス、ラット、ウサギ及びサルで実施された GLP 非適応試験に使用された。各分析法は、血清試料用に開発され、分析方法は動物種、系統、年齢、性別及び妊娠状況による違いに影響されなかった。しかしながら、以下に示すように、検量線の範囲、バックグラウンド補正及び最小必要希釈度（MRD）などいくつかの分析法のパラメータは、分析法の種類により異なる。これら 3 種の分析法それぞれの主要パラメータを表 2.6.4.2.2.2.3-1 に、各分析法が使用された GLP 非適応試験を表 2.6.4.2.2.2.5-1 にそれぞれ示す。

2.6.4.2.2.2.1 PK 分析法 Version 1

ALXN1215 未投与の動物より得た血清プールを用いて作成した検量線を使用し、試験試料の V_{max} 測定値を検量線に内挿することにより ALXN1215 濃度（ng/mL）を求めた。

手順:各検量線用標準試料 10 μL は ALXN1215 未投与の動物より得た血清プール 10 μL で希釈し、一方、各検体試料 10 μL は[redacted] mM[redacted]、[redacted] mM[redacted]、[redacted]mM[redacted]、[redacted] μM[redacted] 及び BSA を含有する分析用緩衝液 10 μL で希釈した。検量線用標準試料、試験試料及びブランク試料の各々に、分析用緩衝液中に[redacted] mM の基質 pNPP を含む酵素緩衝液 180 μL を最終反応液量が 200 μL となるよう加えて反応を開始した。プレートブランクは、酵素緩衝液 180 μL に分析用緩衝液 20 μL を加えて調製した。すべての試料及びブランクを 2 回ずつ分析した。分光光度計のマイクロプレートリーダーで、反応液の吸光度を波長 405 nm で 30 秒ごとに 20 分間記録した。ALXN1215 の酵素活性（V_{max}）は、吸光度の変化率（mAb/分）として表した。

検量線：プレートブランクの平均 V_{max} をすべてのウェルの測定値から差し引いて、基質の自然分解について補正し、補正した V_{max} を検量線用標準試料濃度に対してプロットして検量線を作成した。未知の血清試料中の ALXN1215 濃度（ng/mL）は、それぞれの V_{max} 値を検量線に内挿することにより求めた。2.6.4.2.2.2.4 項に記載した品質管理判定基準を各プレートのデータに適用し、分析単位ごとの分析法の妥当性を検証した。

2.6.4.2.2.2.2 PK 分析法 Version 2

分析用緩衝液で検量線用標準試料を希釈して作成した検量線を使用し、試験試料の V_{max} 測定値を内挿して ALXN1215 濃度（ng/mL）を求めた。

手順：各検量線用標準試料 10 μL を分析用緩衝液 10 μL で希釈することを除き、分析法 1 と同じ。試験計画に応じて、予備動物から採取した血清のプール又は ALXN1215 未投与の各動物から採取した投与前試料を使用し、内因性アルカリホスファターゼのベースライン濃度を測定した。

検量線：分析法 1 と同じ。ベースライン値を使用し、各試験試料の ALXN1215 濃度の測定値を

補正した。

2.6.4.2.2.2.3 PK 分析法 Version 3

ALXN1215 の酵素活性値（U/L）は、検量線を使用せず、pNP 濃度の変化率から求めた。各ウェルの pNP 濃度は、以下の式により pNP のモル吸光係数（ε）及び装置の光路長（1）から求めた。

U/L＝（V_{max} × 反応量×1000）/（試料量× ε ×1）

手順:検量線用標準試料 20 μL 又は試験血清試料 20 μL を直接アッセイプレートに加えた後、酵素緩衝液 180 μL を加えて反応を開始したことを除き、分析法 1 と同じ。予備被験動物から採取した ALXN1215 未投与の動物の血清プールを使用してブランク試料を調製した。

検量線：検量線は、2.6.4.2.2.4 項の基準に照らして各分析の適格性を確認するためにのみ使用した。2.6.4.2.2.1 項に記載した通り、各未知試料の ALXN1215 濃度（U/L）は、それぞれの V_{max} を酵素活性単位に換算して求めた。、未知試料の ALXN1215 濃度算出値（U/L）は、ALXN1215 未投与の動物血清プールで測定されたブランク活性値を差し引くことにより、ベースラインアルカリホスファターゼ酵素活性について補正した。

ALXN1215 の PK 分析法 Version 1、2 及び 3 の主要パラメータを表 2.6.4.2.2.2.3-1 に示す。

表 2.6.4.2.2.2.3-1 ALXN1215 の PK 分析法 Version 1、2 及び 3 の主要パラメータ

	Version-1	**Version-2**	**Version-3**
Assay Diluent	buffer w/BSA	buffer w/BSA	buffer w/BSA
Matrix	Serum	Serum	Serum
MRD	1:2	1:2	None[a)]
Calibration Standards (ng/mL)	10 – 800	10 - 800[b)] 15 - 100[c)] 37.5 - 800[c)]	37.5 - 800
Preparation of Calibration Standards	Freshly prepared in pooled naive serum	Freshly prepared in assay buffer	Freshly prepared in assay buffer.
Calibration curve used for interpolation (Yes/No)	Yes	Yes	No[d)]
QC concentrations (ng/mL)	NA	NA	NA
Endogenous ALP Correction[e)]	No	Yes[f)]	Yes[g)]

a) 試料を希釈せず分析した。
b) Version 2 の検量線の範囲は、 試験 ALP-PT-03/06/13 では 10～800 ng/mL であった。
c) Enobia は Version 2 の検量線範囲を、試験 ALP-PC-25 では 15～100 ng/mL に、試験 ALP-PT-15、PK2008010951 及び 3008-0133 では 37.5～800 ng/mL に変更した。
d) 分析法の妥当性を確認するためにのみ検量線を使用した。
e) Endogenous ALP correction とは、内因性 ALP のベースライン濃度について補正することを指す。
f) ALXN1215 未投与の動物からの血清プールの内因性アルカリホスファターゼの測定値を、ベースライン補正に用いた。しかし、試験 3008-0133 では、各動物の投与前試料を使用して、対応する投与後試料のベースライン補正を行った。
g) ALXN1215 未投与の動物からの投与血清プールの内因性アルカリホスファターゼの測定値を、ベースライン補正に用いた。
NA＝ 該当なし

2.6.4.2.2.2.4 AXN1215PK 分析法の品質管理：分析法 Version 1、2 及び 3

Quality Control (QC)試料は調製せず、3 種の分析法すべてに次の判定基準を適用した。

1) 検量線の傾きは 1±0.1 の範囲内で、 V_{max} についての線形回帰の R^2 値は 0.99 以上。
2) 逆算で求められた検量線用標準試料濃度の真度は RE 10%以下。
3) なおかつ、試料の 2 回ずつの測定の精度は CV 15%以下。なお、RE（%）の定義は以下の通り。

RE（%）=（濃度測定値－濃度理論値）／（濃度理論値×100）

2.6.4.2.2.2.5 GLP 非適応試験に使用した ALXN1215PK 分析法

マウス、ラット及びサルの GLP 非適応試験に使用した 3 種の ALXN1215PK 分析法は、全てバリデートされていない。非臨床試験試料のほとんどで、ALXN1215 濃度はタンパク質濃度（ng/mL 又はμg/mL）として報告された。これら GLP 非適応試験のデータは、IV 又は SC 投与時の ALXN1215 の薬物動態を確認するために用いられた。GLP 非適応試験及び使用した ALXN1215PK 分析法を表 2.6.4.2.2.2.5-1 に示す。

表 2.6.4.2.2.2.5-1 GLP 非適応試験の概要

Study Number	Enzyme Assay	Species	Bioanalytical Test Facility
ALP-PC-09[a)]	Version – 1	Mouse	Enobia
ALP-PT-03/06	Version – 1		
ALP-PT-13[b)]	Version – 2		
ALP-PT-15[a)]	Version – 2		
ALP-PC-25[c)]	Version – 2		
PK2008010951	Version – 2	Rat	
3008-0133	Version – 2[d)]	Monkey	[redacted]

a) C57BL/6 系マウス
b) Akp2$^{-/-}$ノックアウトマウス
c) 生後 10 週以下の幼若マウス
d) 2.6.4.2.2.3.2 項に記載した通り、[redacted] では、試験 2007-0693 の試料を分析するため、分析法 Version 2 を変更し、バリデートした。

2.6.4.2.2.3 GLP 適応試験での ALXN1215PK 分析法

20[redacted]年以降、Enobia はラット、ウサギ及びサルの GLP 適応試験をサポートするための分析法をさらに開発及びバリデートするために、ALXN1215 の PK 分析法 2 を 3 つの CRO に移管した。分析法のパラメータ及びバリデーションの結果の概要を、ラット試料（3 つの CRO で採取された試料）については 2.6.4.2.2.3.1 項、サル試料については 2.6.4.2.2.3.2 項、ウサギ試料については 2.6.4.2.2.3.3 項にそれぞれ記載する。GLP 適応試験及び関連する各 CRO 固有の分析法を表 2.6.4.2.2.3.4-1 に示し、試験に関連する注記を 2.6.4.2.2.3.4 項に記載する。

2.6.4.2.2.3.1 ラット血清試料中の ALXN1215 の PK 分析法

ALXN1215 の PK 分析法 Version 2 は、Enobia から 20[redacted]年に [redacted]、20[redacted]年に [redacted]、20[redacted]年に [redacted]に移管された。移管された分析法は、ラット血清試料の分析のために最適化され、バリデートされ

た。[redacted]、[redacted] 及び [redacted] での分析法パラメータを 2.6.4.2.2.3.1.1 項、2.6.4.2.2.3.1.2 項及び 2.6.4.2.2.3.1.3 項に記載し、主要な分析法パラメータを表 2.6.4.2.2.3.1.4-1 にまとめた。

2.6.4.2.2.3.1.1 [redacted] におけるラット血清試料中の ALXN1215 の PK 分析法

[redacted] mM [redacted]、[redacted]mM [redacted]、[redacted]mM [redacted]、[redacted] μM [redacted]及び [redacted] mg/mL BSA を含有する分析用緩衝液での希釈により、濃度 37.5～800 ng/mL の ALXN1215 検量線用標準試料を新たに調製した。分析用緩衝液を単独で、プレートブランクとして使用した。試験試料は、分析用緩衝液で 1 : 2（最少必要希釈度 : MRD）に希釈して調製した。QC 試料は、分析用緩衝液で濃度 80、200 及び 600 ng/mL に希釈して新たに調製した。

検量線用標準試料、プレートブランク、QC 試料、ベースライン血清対照試料（ALXN1215 未投与の血清試料）及び試験血清試料を調製し、それぞれ 20 μL を duplicate で 96 ウェルマイクロプレートに加え分析した。それぞれのウェルに酵素緩衝液（1.1 mM の基質 pNPP を含む分析用緩衝液）180 μL を添加して触媒反応を開始した。マイクロプレートリーダーを使用し、37ºC で反応速度を測定し、プログレス曲線を作成した。測定では、5 秒間撹拌後、波長 405 nm で 45 秒間測定するサイクルを 27 サイクル行った。基質の加水分解速度は、酵素濃度に正比例していた。Softmax PRO ソフトウェアを使用して、マイクロプレートリーダーを操作し、生データの収集及び解析を行った。各試料の V_{max} 値を検量線（線形回帰）に内挿し、ALXN1215 の濃度（ng/mL）を求めた。内因性アルカリホスファターゼ活性について補正する前に、すべてのウェルの値からプレートブランク試料の値を差し引いた。内因性アルカリホスファターゼについてのベースライン補正として、QC 試料及び試験試料の値から血清対照試料の値を差し引いた。

2.6.4.2.2.3.1.2 [redacted] におけるラット血清試料中の ALXN1215PK 分析法

15～100 ng/mL の検量線用標準試料を調製したこと、MRD が 1 : 5 であったこと、QC 試料濃度が 20、50 及び 80 ng/mL であったこと、1 組の QC 試料を分析用緩衝液で調製し、もう 1 組を加熱により不活性化した ALXN1215 未投与のラットの血清プールで調製したことを除き、分析法のフォーマットは、2.6.4.2.2.3.1.1 項に記載した [redacted] のラット PK 分析法と同じであった。上記 MRD 以外の希釈倍率で試料を調製した場合、それと同じ希釈倍率の血清 QC 試料を別途調製した。ブランク対照試料は、ALXN1215 未投与のラットの血清プールを使用して調製した。各試料の V_{max} 値を検量線（線形回帰）に補間し、ALXN1215 の濃度（ng/mL）を求めた。QC 試料の値からブランク対照試料の値を差し引いた。補間により求めた QC 試料の濃度（ng/mL）を、以下の式により活性単位（U/L）に換算した。

QC 活性（U/L）＝［QC 濃度（ng/mL）×ALXN1215 ロットの比活性（U/mg）］／1000

なお、比活性は、製造者がロットの出荷試験で標準物質に割り当てる値（U/mg）である。

補間により求めた投与前及び投与後試験試料中の ALXN1215 濃度は、直接 ng/mL 単位で報告した。

2.6.4.2.2.3.1.3 [redacted] における雌ラット血清試料中の ALXN1215 の PK 分析法

10～150 ng/mL の検量線用標準試料を調製したこと、MRD が 1 : 10 であったことを除き、分析法のフォーマットは、2.6.4.2.2.3.1.1 項に記載した [redacted] のラット PK 分析法と同じであった。この非臨床試験は雌ラットを使用したため、雌ラットからの血清プールで ALXN1215 30、70 及び 120 ng/mL の QC 試料を調製し、-80ºC で保存した。分析実施日に、凍結した分析試験用ストックから新たに検量線用標準試料を調製し、QC 試料及び試験試料を適切に希釈し、各ウェルに加えた。

ブランク対照試料は、ALXN 未投与の雌ラットからの血清プールを使用して調製した。各試料の V_{max} 値を検量線（線形回帰）に内挿し、ALXN1215 濃度（ng/mL）を求めた。ブランク対照試料の値をバックグラウンドとし、QC 試料の値から差し引いた。補間により求めた投与前及び投与後試験試料中の ALXN1215 濃度を、ng/mL 単位で報告した。

2.6.4.2.2.3.1.4 [redacted]、[redacted] 及び [redacted] での AXN1215 PK 分析法の比較

[redacted]、[redacted] 及び [redacted] が開発し、GLP ラット試験に使用した 3 種のラット血清中の ALXN1215 PK 分析法の主要なパラメータを表 2.6.4.2.2.3.1.4-1 に示す。分析手順は、[redacted] バリデーション試験報告書 0007-0899, Amendment No.3, Appendix 4, Section 3、[redacted] バリデーション資料 [redacted], Section 2.0、及び [redacted] バリデーション報告書 [redacted], Appendix 1 に記載した。

表 2.6.4.2.2.3.1.4-1　3 種のラット PK 分析法の主要パラメータの比較

	[redacted]	[redacted]	[redacted]
Matrix	Rat serum	Rat serum	Female rat serum
MRD	1:2	1:5	1:10
Calibration Standards (ng/mL)	37.5 – 800	15 - 100	10 - 150
Calibration Standards Preparation	Freshly prepare in assay buffer	Freshly prepare in assay buffer	Prepare in assay buffer from frozen working stock
QC concentrations (ng/mL)	80	20	30
	200	50	70
	600	80	120
QC Preparation	Freshly prepared in assay buffer,	Freshly prepared, 1 set in assay buffer, 1 set in heat inactivated serum	Frozen QC stocks in serum stored at -80ºC, dilute in assay buffer
	1 set QC per plate	2 sets QC per plate	2 sets QC per plate
Background Subtraction	Serum blank subtracted from QC and study samples	Serum blank subtracted only from QC wells	Serum blank subtracted only from QC wells

2.6.4.2.2.3.1.5 [redacted]、[redacted] 及び [redacted] におけるラット血清試料中の ALXN1215 PK 分析法のバリデーション

[redacted]、[redacted] 及び [redacted] が開発した、ラット血清での 3 種の ALXN1215PK 分析法を、日間精度、日内精度、真度、感度、希釈直線性、選択性、検量線解析及び安定性などの分析法パラメータを評価することによりバリデートした。

3 種の分析法すべてに共通するバリデーション試験の判定基準は、以下の通りであった。

1) 精度及び真度：精度は CV 20%以下。真度は RE 20%以下。
2) 分析用希釈液による血清試料希釈における希釈時の直線性：精度は CV 20%以下。真度は各試験希釈倍率での設定濃度に対する RE 20%以下。

3) 安定性：精度は CV 20%以下。真度は特定された安定性対照試料の結果に対する RE 20%以下。

各 CRO でのバリデーションの判定基準は、以下の通りであった。

[redacted]：精度は定量下限（LLOQ）で CV 30%以下。真度は LLOQ で RE 30%以下。選択性は、LLD（検出下限）を用いて評価した。LLD は、酵素緩衝液を 6 回測定し、精度が CV 30%以下の光学密度（OD）$_{(n=6)}$ の平均値+3 x SD として算出した。LLD 未満の測定値は、分析法のバックグラウンド値とみなした。血清には内因性アルカリホスファターゼが含まれるため、血清ではなく酵素緩衝液を使用した。

[redacted]：日内真度は、確認しなかった。日間精度、真度及び日内精度は、加熱により不活性化したラット血清に酵素活性 16、40 及び 62 U/L 相当の濃度（ng/mL）となるよう ALXN1215 を添加して確認した。選択性は確認されなかった。本分析法では ALXN1215 未投与のラットの血清プールを用いることから、報告値は内因性アルカリホスファターゼ活性についてベースライン補正されていた。そのため、特異性は評価されなかった。

[redacted]：感度は LLOQ として定義した。感度の評価は、分析用緩衝液で ALXN1215 をそれぞれ個別に 10 ng/mL に希釈して調製した 6 試料（最低濃度の検量線用標準試料）を用いて行った。V_{max} 平均値の判定基準は、真度が RE 25%以下、精度が CV 25%以下であった。本分析法では ALXN1215 未投与のラットの血清プールを用いることから、報告値は内因性アルカリホスファターゼ活性についてベースライン補正されていた。そのため、特異性は評価されなかった。

[redacted]、[redacted]及び[redacted]におけるラット血清中の ALXN1215PK 分析法のバリデーション結果は、[redacted]及び[redacted]での一部の逸脱例を除き、設定された各分析方法の妥当性の判定基準に適合した。これらの逸脱理由は、プロトコルからの逸脱、作業の不十分な記録及び不十分な QA レビューなどであった。[redacted]及び[redacted]は、これらの逸脱例に対処するため、報告書の改訂及び逸脱事例を試験終了後に発行した。バリデーション試験における逸脱については、[redacted]バリデーション試験報告書 0007-0899、Amendment No.3, Section 3.14 及び[redacted]バリデーション資料[redacted], Section 4.0 に記載されている。Alexion 社は、[redacted]及び[redacted]が作成したバリデーション資料をレビューし、これらの逸脱例のほとんどは不十分な記録に関係したものであり、試料の分析及びその後の PK 評価に対する分析法の妥当性に影響はないと判断した。

まとめると、すべてのバリデーション関連資料が試験を実施した各 CRO から提供された。[redacted]のバリデーション資料は、バリデーション試験報告書 0007-0899、及び Amendment No.1、Amendment No.2、Amendment No.3 などであり、[redacted]のバリデーション資料は、バリデーション試験報告書[redacted]（Amendment No.1 を含む）などであり、[redacted]のバリデーション資料は、バリデーション報告書[redacted]及び Amendment No.1 などである。これら 3 つの CRO で実施されたラット PK 分析法の主要なバリデーションパラメータ及び結果を表 2.6.4.2.2.3.1.5-1 に示す。

表 2.6.4.2.2.3.1.5-1 ラット PK 分析法の主要バリデーションパラメータ及び結果

		[redacted]				[redacted]				[redacted]				
Validation Effective Date		[redacted]				[redacted]				[redacted]				
Validation Report #		0007-0899				[redacted]				[redacted]				
Validation Amendments		1 , 2 , 3				1				1				
ALXN1215 Reference Standard Lot#		[redacted]				[redacted]				[redacted]				
LLOQ (ng/mL)		75				75				100				
ULOQ (ng/mL)		1600				500				1500				
Accuracy and Precision		Inter-assay		Intra-assay		Inter-assay		Intra-assay		Inter-assay		Intra-assay		
		%RE	%CV	%RE	%CV	%RE	%CV	%RE	%CV	%RE	%CV	%RE	%CV	
	QC Low	ND	6.9	-4.6	2.9	-0.44	5.72	ND	4.5	4.40	11.74	4.40	11.74	
	QC Mid	ND	2.5	6.6	2.1	9.27	14.97	ND	0.7	6.53	10.63	6.53	10.63	
	QC High	ND	6.1	-3.7	1.4	2.85	11.38	ND	1.1	-1.64	9.63	-1.64	9.63	
Short Term Stability	QC High QC Low	3 freeze/thaw 17hr at RT				3 freeze/thaw 6 days at 4ºC				5 freeze/thaw 4-4.25hr on ice				
Long Term Stability	QC High QC Low	42 days at -70ºC				124 days at 20ºC 188 days at -80°C				422 days at -70ºC				

ND = 未測定。

2.6.4.2.2.3.2 [redacted] におけるサルでの ALXN1215 PK 分析法

サル血清中の ALXN1215 PK 分析法は、[redacted] においてラット PK 分析法と併行して開発された。2.6.4.2.2.3.1.1 項に記載されたものと同様の分析法のフォーマット及び手順を用いた。ラットでの分析手順（バリデーション試験報告書 0007-0899、Amendment No.3, Appendix 4, Section 3）を、サルの分析法でも使用した。サル血清中の ALXN1215 PK 分析法の主要パラメータを表 2.6.4.2.2.3.2-1 に示す。

表 2.6.4.2.2.3.2-1　サルでの ALXN1215 PK 分析法の主要パラメータ

CRO	[redacted]
Matrix	Monkey serum
MRD	1:2
Calibration Standards (ng/mL)	37.5 – 800
Calibration Standards Preparation	Freshly prepared in Assay Buffer
QC concentrations (ng/mL)	40
	100
	300
QC Preparation	Freshly prepared 1 set in assay buffer
	1 set per plate
Background Subtraction	Serum blank subtracted from QC and study samples

2.6.4.2.2.3.2.1　[redacted] におけるサル血清試料中の ALXN1215 PK 分析法のバリデーション

[redacted] が開発したサル血清中の ALXN1215 PK 分析法は、日間精度、日内精度、真度、感度、希釈直線性、選択性、検量線解析及び安定性などの分析法パラメータを評価することによりバリデートした。バリデーション試験の判定基準は、以下のように設定した。

1) 日内精度、日間度及び真度：精度は CV 20%以下。真度は RE 20%以下。
2) 感度（LLOQ）：精度は CV 30%以下。真度は RE 30%以下。
3) 検量線：精度は CV 20%以下（LLOQ で CV 30%未満）。真度は RE 20%以下。
4) 選択性：選択性は、LLD（検出下限）を用いて評価した。LLD は、酵素緩衝液を 6 回測定し、精度が CV 30%以下の $OD_{(n=6)}$ の平均値+3SD として求めた。LLD 未満の測定値は、分析法のバックグラウンド値とみなした。血清には内因性アルカリホスファターゼが含まれるため、血清ではなく酵素緩衝液を使用した。
5) ALXN1215 を加えた後、分析用希釈液により希釈した血清試料の希釈時の直線性：精度は CV 20%以下。真度は各試験希釈倍率での設定濃度に対する RE 20%以下。
6) 安定性：精度は CV 20%以下。真度は特定された安定性対照試料の結果に対する RE 20%以下。

[redacted] におけるサル血清中の ALXN1215 PK 分析法のバリデーション試験の結果は、一部の例外を除き、判定基準に適合した。これらの逸脱例は、プロトコルからの逸脱及び作業の不十分な記録などであった。[redacted] は、これらの逸脱例に対処するため、報告書の改訂及び逸脱事例を試験終了後に発行した。バリデーション試験での逸脱は、[redacted] バリデーション試験報告書 0007-0899、Amendment No.3, Section 3.14 に記載されている。Alexion 社は、[redacted] が作成したバリデーション資料をレビューし、これらの逸脱例のほとんどは不十分な記録に関係したものであり、試料分析及びその後の PK 評価に対する分析法の妥当性に影響はないと判断した。

まとめると、すべてのバリデーション関連資料が、[redacted] バリデーション試験報告書 0007-0899、及び Amendment No.1、Amendment No.2、Amendment No.3 として提供されている。サル血清中の ALXN1215 PK 分析法の主要なバリデーションパラメータ及び結果を、表 2.6.4.2.2.3.2.1-1 に示す。

表 2.6.4.2.2.3.2.1-1 サル PK 分析法の主要なバリデーションパラメータ及び結果

CRO	[redacted]				
Validation Effective Date	[redacted]				
Validation Report #	0007-0899				
Amendment(s)	1, 2, 3				
Reference Standard	[redacted]				
LLOQ (ng/mL)	75				
CRO	[redacted]				
Accuracy and Precision		Inter-assay		Intra-assay	
		%RE	%CV	%RE	%CV
	QC Low	ND	6.9	-3.7	3.5
	QC Mid	ND	2.5	6.6	2.9
	QC High	ND	6.1	-4.6	2.3
Short Term Stability	QC High QC Low	6 freeze/thaw 5hr at RT			
Long Term Stability	QC High QC Low	19 weeks at -70ºC			

ND = 未測定。

2.6.4.2.2.3.3 [redacted] におけるウサギ血清試料中の ALXN1215PK 分析法

非臨床試験は雌のウサギを使用して実施されたため、[redacted] は 20[redacted]年に、雌ウサギ血清のみを用いて ALXN1215 PK 分析法を開発し、バリデートした。本分析法は、[redacted] でのラット PK 分析に先立って開発された。ウサギ用分析法のフォーマット及び手順は、2.6.4.2.2.3.1.3 項に記載された [redacted] でのラット PK 分析法と同様であった。本分析法の手順は、バリデーション報告書 [redacted], Appendix 1 に記載した。ウサギ血清用中の ALXN1215 PK 分析法の主要な分析法パラメータを表 2.6.4.2.2.3.3-1 に示す。

表 2.6.4.2.2.3.3-1 ウサギ血清中の ALXN1215 PK 分析法の主要パラメータ

Method Identifier	[redacted]
Matrix	Female Rabbit serum
MRD	1:10
Calibration Standards (ng/mL)	10 – 150
Calibration Standards Preparation	Freshly prepared in assay buffer from frozen stock solution
QC concentrations (ng/mL)	300
	700
	1200
QC Preparation	Stocks in 100% serum stored at -80°C, diluted in assay buffer
	2 sets per plate
Background Subtraction (OD)	None

2.6.4.2.2.3.3.1 [redacted] におけるウサギ血清試料中の ALXN1215 PK 分析法のバリデーション

[redacted] が開発したウサギ血清中の ALXN1215 PK 分析法は、日間精度、日内精度、真度、感度、希釈時の直線性、選択性、検量線解析及び安定性などのパラメータを評価することによりバリデートした。判定基準は、以下の様に設定された。

1) 日内精度、日間精度及び真度：精度は CV 20%以下。真度は RE（相対誤差）20%以下。
2) 感度：ALXN1215（10 ng/mL）を添加して個別に調製した 6 試料中 4 試料以上で、精度が CV 25%以下、真度が RE 25%以下。
3) 検量線（LLOQ 以外）：精度は CV 20%以下（LLOQ では CV 25%以下）、真度が RE 20%以下。
4) 選択性：個々のドナーから得られた 10 ロット中 7 ロットが以下の基準を満たす。
   a) 無希釈血清：逆算により求めた濃度が LLOQ 未満。
   b) 300 ng/mL となるよう ALXN1215 を添加した試料:精度は CV 20%以下。真度は RE 25%以下。
5) 酵素緩衝液で希釈した血清試料の希釈時の直線性：精度は CV 20%以下。真度は各希釈倍率での設定濃度に対する RE 20%以下。
6) 安定性：精度は CV 20%以下。真度は、特定した安定性対照試料の結果に対する RE 20%以下。

バリデーション報告書 [redacted], Section 4.0 にまとめた通り、[redacted] におけるウサギ血清中の ALXN1215 PK 分析法のバリデーション結果は妥当性判定基準に適合した。ウサギ血清中の PK 分析法の主要なバリデーションパラメータ及び結果を、表 2.6.4.2.2.3.3.1-1 に示す。

表 2.6.4.2.2.3.3.1-1 ウサギ PK 分析法の主要なバリデーションパラメータ及び結果

CRO		[redacted]			
Validation Effective Date		[redacted]			
Validation Report #		[redacted]			
Amendment(s) to Validation Report		NA			
Asfotase Alfa Reference Standard		[redacted]			
LLOQ (ng/mL)		100			
ULOQ (ng/mL)		1500			
Accuracy and Precision		Inter-assay		Intra-assay	
		%RE	%CV	%RE	%CV
	QC Low	2.01	9.39	-0.27	3.53
	QC Mid	1.59	9.40	-2.28	1.46
	QC High	0.48	11.57	-3.79	1.71
Short Term Stability	QC High QC Low	5 freeze/thaw 4.25hr on ice			
Long Term Stability	QC High QC Low	253 days at -70ºC			

NA = 該当なし

2.6.4.2.2.3.4 GLP 適応試験に使用された ALXN1215 PK 分析法

[redacted]、[redacted] 及び[redacted] でバリデートされた ALXN1215 PK 分析法は、ラット、ウサギ及びサルの GLP 適応試験で使用された。CRO、試験及び動物種を表 2.6.4.2.2.3.4-1 にまとめて示す。

表 2.6.4.2.2.3.4-1　3CRO で実施された GLP 適応試験の概要

Study Number	Bioanalytical Test Facility	PK Assay Procedure	Species
670314	[redacted]	7007-2410.IMM.02[a)]	Rat
70552		7008-0280.IMM.01[a)]	
670315	[redacted]	CT-0024 Rev.1	
902233	[redacted]	PBA10-335	
902238			
902480			
902235	[redacted]	PBA10-268	Rabbit
902236			
902237			
2007-0693	[redacted]	2007-0693.IMM.01[a)]	Monkey
1007-1503		1007-1503.IMM.04[a)]	
670388		SOP: IMM.059[a)]	

a)　分析法の手順は、バリデーション試験報告書 0007-0899, Amendment No.3, Appendix 4, Section 3 に記載した。

2.6.4.2.2.3.4.1 GLP 適応試験に関する注記

Alexion 社は、表 2.6.4.2.2.3.4-1 に記載された GLP 適応試験のデータを含む試験報告書を評価した。全体として、報告されたデータは PK 評価のために適切と判断され、以下の知見が認められた。

試験 902233（ラット試験、[redacted] による分析）：投与後試料の再分析（ISR）の結果が、最初の結果に基づき設定された許容範囲を逸脱したため、[redacted] は ALXN1215 PK 分析の結果を不適格と判定した。ISR の失敗理由について調査したところ、ISA の結果と最初の分析結果との不一致は最初の分析で分析用緩衝液の調製に誤りがあったためであると考えられた（最終報告書 902233, Appendix 15, Section 9.5）。別のトキシコキネティクス（TK）試験（902480）が、妊娠ラットでの ALXN1215 のトキシコキネティクスを検討するために実施された（試験 902233 及び 902234）。試験 902480 の試料の ISR を行った結果、最終報告書 902480, Appendix 8, Section 16.0 に記載した通り、許容可能な結果が得られた。これらの結果から、試験 902480 の生物試料分析法の再現性及び PK 結果の妥当性が確認された。

試験 670315（ラット試験、[redacted] による分析）：GLP 下で ALXN1215 PK 分析試験が実施され、本試験に係る毒性試験最終報告書 670315 には GLP 不適合となる逸脱例が記録されていた。これらの逸脱例は、不十分な記録及び不適切な QA レビューによるものであった。Alexion 社は、本試験に関連するすべての資料をレトロスペクティブにレビューし、最終報告書 670315, Amendment No.1, Section 2 に記載した通り、これらの例外は、試料の分析結果及びその後の PK 評価に影響しないと判断した。

試験 70552（ラット試験、[redacted] による分析）：当初、1、22 及び 28 日目に採取した試験試料の

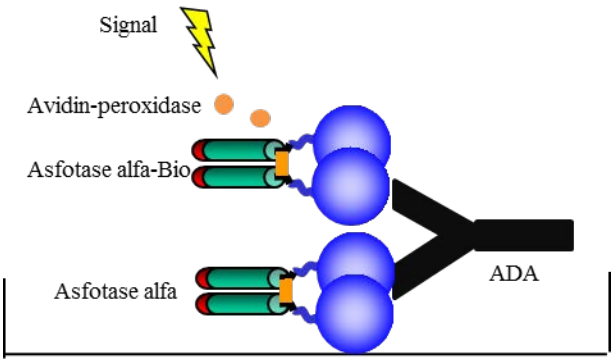
ALXN1215PK 分析は、[redacted] においてバリデートされた長期安定性試験期間である 42 日間のうちに、すべての試料について完了した。しかし、分析後の監査で、プレートの判定に用いられたプレートコントロール（PC）の範囲が誤っていたことが確認された。これは、3 回のプレート分析の不適合な結果を各 PC 範囲の算出に使用したことに起因していた。そのため、これら 3 枚のプレートの結果を除外して各 PC の範囲を再計算し、求めた新たな PC 範囲を用いて試験 70552 での各プレートの分析結果を再度評価した。再分析後、最初は判定基準に適合していたプレート#9 が、新たな PC 範囲での判定基準には不適合であることが認められた。そのため、最終報告書 70552, Appendix 6a, Section 3 に記載された通り、最初にプレート#9 で分析された試料は、-70ºC で最長 69 日間の保存後に再分析され、[redacted] で設定された安定性試験の期限である 42 日間を超えていた。[redacted] で実施された長期安定性試験の 42 日後の結果は不適合であったが、[redacted]及び[redacted] でバリデートされたラット分析法での長期安定性試験の 188 日後の結果は適合であった（表 2.6.4.2.2.3.1.5-1 参照）。したがって、-70ºC で最長 69 日間保管後の試料分析結果への安定性の影響は軽微であると考えられた。

2.6.4.2.3 ADA 分析法

2.6.4.2.3.1 ADA 分析法の原理

ADA 分析法は、固定された ALXN1215 により抗薬物抗体を捕捉し、ビオチン標識 ALXN1215 により検出するブリッジング ELISA 法である。アビジン-ペルオキシダーゼ試薬を添加し、ALXN1215-ADA-ALXN1215-ビオチン複合体を検出する。続いて、洗浄ステップ（非結合アビジン-ペルオキシダーゼ試薬を除去するため）の後、ペルオキシダーゼの基質である o-フェニレンジアミン（OPD）をプレートに加える。吸収極大（λ_{max}）を 490 nm に設定したプレートリーダーで、反応液の OD を測定する。吸光度は、捕捉された ADA の量に比例する。本ブリッジング分析法を図 2.6.4.2.3.1-1 に示す。

図 2.6.4.2.3.1-1 抗 ALXN1215 抗体により形成されるブリッジ複合体



ALXN1215 に対する免疫応答は、ラット及びサルの血清試料でバリデートした分析方法を用いて評価した。それぞれの分析方法には、スクリーニング分析法及び検証分析法が含まれる。

スクリーニング分析法：すべての試料をスクリーニング分析法で評価した。試料の OD を、スクリーニング分析法のカットポイントに照らして評価した。カットポイント未満の試料は ADA 陰性、カットポイント以上の試料は ADA 陽性の可能性ありとした。スクリーニング分析法のカットポイントは、バリデーション時に複数のラット又はサルの薬物未投与試料をスクリーニングして設定した。マトリックス固有のカットポイント（CFv）は、OD 測定値の統計解析により、偽

陽性率が 5%となる 95%信頼区間に基づき設定した。プレート間での分析結果のばらつきをなるべく小さくするため、各動物種について、プレート固有の「浮動」カットポイント（FCP）を設定した。FCP は、以下の式により、固定カットポイント係数（CF）及びプレート固有の陰性対照値（sNC）から算出した。

$$FCP = sNC + CF$$

ただし、sNC はプレート固有の陰性対照試料の平均 OD であり、CF は、以下の式で示す通り、バリデーションカットポイント（CPv）からバリデーション陰性対照値（NCv）を差し引いて算出する。

$$CF = CPv - NCv$$

CPv は、バリデーションで求められ、NCv は、すべてのバリデーションプレートの陰性対照プールの平均 OD 値である。

検証分析法：スクリーニング分析法で FCP を上回ったすべての試料は、過剰量の ALXN1215 を競合阻害剤として血清試料に加えて行う検証分析の対象とした。スクリーニング分析でカットポイントを上回ったシグナルが、試料にを添加する検証分析でカットポイントを下回った場合、検出された ADA が ALXN1215 に特異的であることが確認される。

2.6.4.2.3.2 GLP 適応試験の ADA 分析法

ラット及びサルでの GLP 適応試験に用いるため、[redacted] 及び [redacted] はラット及びサルの試料用の ADA 分析法を開発し、バリデートした。分析法のフォーマット及びパラメータは、分析法間で類似している。各分析手順の概略を、[redacted] でのラット ADA 分析法については 2.6.4.2.3.2.1 項に、[redacted] でのラット ADA 分析法については 2.6.4.2.3.2.2 項に、[redacted] でのサル ADA 分析法については 2.6.4.2.3.2.3 項に記載した。

2.6.4.2.3.2.1 [redacted] におけるラット血清試料の ADA 分析法

20[redacted]年、Enobia はラット GLP 適応試験で用いるラット ADA 分析法の開発を [redacted] に委託した。2.6.4.2.1.2 項に記載したリスクベースアプローチにより、スクリーニング分析法及び検証分析法の手順を、以下のように設定した。

スクリーニング分析法：プレートを ALXN1215 でコーティングし、4ºC で一晩インキュベートし、翌日洗浄し、ブロッキングした。試料を 5 倍希釈し、解凍された対照試料と共にアッセイプレートに添加した。対照試料は、20%血清で 1 倍希釈して調製し、分注し、一回の分析用に凍結した。ビオチン標識 ALXN1215 を希釈し、すべてのウェルに加え、プレートを室温（RT）で 2 時間インキュベートした。プレートを洗浄し、ストレプトアビジン-ペルオキシダーゼ複合体を加え、プレートを室温で 30 分間インキュベートした後、再度プレートを洗浄し、ADA の比色検出（490 nm）のため基質 OPD を添加した。試料の OD がプレート固有の FCP 以上であれば、陽性の可能性ありと判定し、検証分析の対象とした。

検証分析法：ALXN1215 に特異的な ADA の有無を確認するため、各試料に競合阻害剤として ALXN1215 標準物質を 10 μg/mL となるよう添加したことを除き、本分析法の手順はスクリーニング分析法で記載した手順と同じであった。スクリーニング分析でカットポイントを上回ったシグナルが、ALXN1215 を添加する検証分析でカットポイントを下回った場合、検出された ADA が ALXN1215 に特異的であることが確認される。ADA の力価を測定するため、試料の希釈系列を調製し、分析した（4 つ以上の希釈液、うち 1 つは FCP 未満）。試料希釈系列の平均 OD と希釈

倍率との関係に、4 パラメータ・ロジスティックモデルを適用し、フィットした曲線の式を作成した。フィットした曲線にプレートの FCP 値を内挿し、対応する希釈倍率を求めた。この希釈倍率は、ADA 陽性試料の力価に相当する。

2.6.4.2.3.2.2 [redacted] におけるラット血清試料の ADA 分析法

20[redacted]年、Enobia は第 2 のラット ADA 分析法の開発を[redacted]に委託した。スクリーニング分析法及び検証分析法の手順は、2.6.4.2.3.2.1 項に記載された[redacted]でのラット分析法の手順と同様である。

2.6.4.2.3.2.3 [redacted] におけるサル血清試料の ADA 分析法

サルでの GLP 適応試験に使用するためのサル ADA 分析法は、ラットでの ADA 分析法と併行して[redacted]で開発された。スクリーニング分析法及び検証分析法の手順は、2.6.4.2.3.2.1 項に記載された[redacted]でのラット分析法の手順と同様である。

2.6.4.2.3.2.4 ラット及びサルでの GLP 適応試験に使用した ADA 分析法の比較

[redacted]及び[redacted]が開発し、ラット及びサルでの GLP 適応試験に使用された 3 種の ADA 分析法の主要なパラメータの比較を、表 2.6.4.2.3.2.4-1 に示す。分析法の手順は、[redacted]バリデーション試験報告書 0007-2010, Amendment No.2, Appendix 1 及び[redacted]バリデーション資料[redacted], Section 4.0 に記載した。

表 2.6.4.2.3.2.4-1　3 種の ADA 分析法の主要パラメータの比較

	[redacted]	[redacted]	[redacted]
Matrix	Rat Serum	Rat Serum	Monkey Serum
Floating Cut-point (FCP=NC.IS+CF)	Mean NC + 0.071	Mean NC + 0.135	Mean NC + 0.005
NC Individual Donors used for cut point determination	n=20	n=10	n=11
PC Levels (µg/mL)	10	10	10
	2.5	2.5	2.5
MRD	1:5	1:5	1:5
Buffer	1X PBS, 0.05% Tween 20, 1%BSA	1X PBS, 0.05% Tween 20, 1%BSA	1X PBS, 0.05% Tween 20, 1%BSA

2.6.4.2.3.2.5 ADA 分析法のバリデーション

2.6.4.2.3.2.5.1 バリデーションの判定規準

3 種の ADA 分析法は、精度、感度、安定性及び薬物耐性／干渉などのパラメータを評価することによりバリデートした。設定した判定基準は以下の通り。

1)　日内精度：OD の CV 20%以下。

2) 日間精度：OD の CV 20%以下。
3) 感度：最低濃度のプレートコントロール（PC）の OD が FCP 以上。
4) 安定性：T=0 の回収率が 100±20%以内。
5) 薬物耐性／干渉：最高阻害剤濃度の PC の OD が FCP 以上。

[redacted] 及び [redacted] のいずれも、上記判定基準をバリデーションに使用した。

[redacted] 及び [redacted] での ADA 分析法バリデーションの結果を、表 2.6.4.2.3.2.5.1-1 にまとめる。ラット及びサル用分析法のバリデーションの結果は、設定された各分析法の判定基準に適合した。しかし、表 2.6.4.2.3.2.5.1-1 に示す通り、[redacted] でのラット及びサル用 ADA 分析法については、薬剤耐性が低いことが示された。[redacted] でのラット ADA 分析法については、薬剤耐性を評価しなかった。また、分析法の感度は明確には評価しなかった。バリデーションでは、2.5 μg/mL を最低 PC 濃度とした。[redacted] の分析法は薬剤耐性が低く、[redacted] の分析法は薬剤耐性が不明であることから、血液中に薬物が存在していても、結果が偽陰性となる可能性がある。両検査施設で、プロトコルからの逸脱（[redacted]）、バリデーション作業の不十分な記録（[redacted] と [redacted]）、不十分な QA レビュー（[redacted] と [redacted]）など、バリデーションの逸脱例が認められた。Alexion 社は、[redacted] 及び [redacted] のバリデーション資料をレトロスペクティブにレビューした。これらの逸脱例に対処するため、逸脱報告書及び改訂が事後的に発行された。バリデーションの逸脱は、[redacted] バリデーション試験報告書 0007-2010, Amendment No.2, Appendix 6, Section 4、及び [redacted] バリデーション資料 [redacted], Section 6.0 に記載した。

[redacted] のバリデーション資料は、バリデーション試験報告書 0007-2010, Amendment No.1 及び Amendment No.2 などであり、[redacted] のバリデーション資料は、[redacted] などである。3 種の ADA 分析法の主要なバリデーションパラメータの結果を、表 2.6.4.2.3.2.5.1-1 に示す。

表 2.6.4.2.3.2.5.1-1 3 種の ADA 分析法のバリデーション結果のまとめ

		[redacted]	[redacted]	[redacted]
Validation Effective Date		[redacted]	[redacted]	[redacted]
Validation Report #		0007-2010	VAL2008-517VR	0007-2010
Amendment(s)		1, 2	1, 2, 3	1, 2
Matrix		Rat Serum	Rat Serum	Monkey Serum
Sensitivity (µg/mL)		0.85	2.5	0.063
Intra-plate Precision (%CV)	PC High	1.9	2.4	0.2
	PC Low	13.4	3.5	6.8
Inter-plate Precision (%CV)	PC High	26.8	5.2	19.2
	PC Low	32.7	14	20.7
Drug Tolerance (µg/mL)	PC High	4	NA	2
	PC Low	0.59	NA	0.329
Stability	PC High	3 Freeze-Thaw 16hr at RT	3 Freeze-Thaw 2 Days at 4°C	7 Freeze-Thaw 19hrs at 2-8°C 18hrs at RT

2.6.4.2.3.2.6 GLP 適応試験で使用した ADA 分析法

ADA 分析法を使用した CRO 及び GLP 適応試験の概要を表 2.6.4.2.3.2.6-1 に示す。

表 2.6.4.2.3.2.6-1 2 つの CRO が実施した GLP 適応試験の概要

Species	Study Site	Bioanalytical Test Facility	Study Number	ADA Assay Procedure
Rat	[redacted]	[redacted]	670314	7007-2410.IMM.001[a)]
			70552	7007-2410.IMM.002[a)]
		[redacted]	670315	CT-0025 Rev.1
		NA	902234	NA[b)]
			902231	NA[c)]
Rabbit		NA	902237	NA[c)]
Monkey		[redacted]	670388	7008-0310.IMM.001[a)]
				7008-0310.IMM.002[a)]
	[redacted]		1007-1503	1007-1503.IMM.001[a)]
				1007-1503.IMM.002[a)]

a) 分析手順は、バリデーション試験報告書 0007-2010, Amendment No.2, Appendix 1 に記載した。
b) ADA 試料を採取したが、試験施設である [redacted] が試料を分析前に誤って廃棄した。
c) ADA 試料を採取したが分析しなかった。試料は分注され、試験施設（[redacted]）に保管されている。

2.6.4.2.3.2.6.1 GLP 適応試験に関する注記

Alexion は社、表 2.6.4.2.3.2.6-1 に記載された GLP 適応試験のデータを含む試験報告書を評価した。全体として、報告されたデータは免疫原性評価のために適切と判断され、以下の知見が認められた。

試験 70552（ラット試験、[redacted] で分析）：試料の量が不十分であったため、スクリーニング分析で陽性の試料の検証分析は実施されなかった（最終報告書 70552, Appendix 6b, Section 5）。したがって、本試験の ADA の結果は、慎重に解釈する必要がある。

試験 670315（ラット試験、[redacted] で分析）：試料分析についての例外を報告した GLP 適応試験を、試験最終報告書 670315, Section 1 に記載した。また、分析法のバリデーション（バリデーション資料 [redacted], Section 5）で薬剤耐性が評価されなかったため、血液中に薬剤が存在していても、薬物干渉により結果が偽陰性となる可能性があった。試料取扱い手順がプロトコルから逸脱し、ADA 分析法のバリデーションパラメータのうち、薬剤耐性の評価は実施されなかったため、全体として、報告された ADA の結果は慎重に解釈する必要がある。

試験 670388（サル試験、[redacted] で分析）：ADA は、低用量の 2 用量（0.43 及び 2.14 mg/kg）で検出されたが、最高用量（10 mg/kg）の試料では検出されなかった。この効果は、最終報告書 670388, Section 4 に記載した ADA 分析法の低い薬剤耐性に起因している可能性がある。

試験 902237（ウサギ試験）：ADA 試料は、検査施設（[redacted]）で採取され、保存された（最終報告書 902237, Section 9.10.1）。ウサギ用の ADA 分析法が利用可能になり次第、これらの試料の ADA の分析を実施する予定である。

2.6.4.2.4 ALXN1215 の組織分布分析法

2.6.4.2.4.1 ALXN1215 の組織分布分析法の原理

放射性トレーサー法は、社内（Enobia Pharma）で開発され、非 GLP 条件下で実施された。

全血、血清、TCA 処理した血清（上澄みとペレット）及び組織試料中の放射能［カウント数毎分（CPM）］を自動ガンマカウンター（[redacted]）で測定した。計数時間は、1 分間に設定した。各試料中の［^{125}I］ALXN1215 の放射能に対応する濃度は、試料の CPM 測定値、試料の重量又は体積、及び試料分析時に測定された注射液 1 μg あたりの CPM に基づき算出した。動物への投与、試料採取及び血清／組織分析時に［^{125}I］放射能は自然減衰（半減期約 59 日）するため、試験期間全体を通じて注射液の比活性（CPM/μg）を複数回測定し、試料分析時に測定した比活性値を用いて ALXN1215 の RE 濃度（μg/g）を算出した。

組織分析結果の解釈に関する注記：

- ヨウ素は甲状腺に選択的に取り込まれるため、本組織は評価対象から除外すべきと考える。
- いずれの測定値についても、タンパク質結合放射能計数値の解析を実施しなかった。RE 濃度の報告では、タンパク質結合放射能の割合は一定であり、約 100%であると仮定した。

本分析法は、マウスでの生体内分布試験 2 試験に使用された（ALP-PD-01 及び ALP-PD-02）。これらの試験で、分析法に関する問題は報告されなかった。

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 単回及び反復投与時の薬物動態

単回 IV 又は SC 投与時の ALXN1215 の薬物動態を、マウス、ラット、ウサギ及びサルで評価した。単回 IV 投与後、4 種の動物種での ALXN1215 の CL は 0.00504～0.0540 L/h/kg であり、見かけの終末相半減期は 14～40 時間であった。マウス、ラット、ウサギ及びサルでは定常状態での分布容積（V_{ss}）が、体内総水分量よりも高いか、細胞内液量とほぼ同等であったことから、ALXN1215 は末梢組織に分布していることが示唆された。ラットで認められた PK の性差は、反復投与時には認められなかったため、試験間でのばらつきと考えられた（2.6.4.3.4.2 項参照）。単回 SC 投与後、*Akp2*$^{-/-}$マウスと WT マウスとの間に PK の差はないと思われた。妊娠マウスへの反復 SC 投与後、試験したすべての用量で胎児中の ALXN1215 濃度は定量可能であったことから、ALXN1215 は胎盤を通過することが示唆された。t_{max} は、マウス、ラット、ウサギ及びサルで 4～32 時間であり、SC 投与部位から ALXN1215 が緩やかに吸収されることが示唆された。SC 投与経路でのバイオアベイラビリティは、マウス、ラット、ウサギ及びサルで 25～56%と推定された。

2.6.4.3 で報告されているデータに関する留意点

1. すべての PK/TK パラメータは T_{max} を除いて四捨五入により有効数字 3 桁で示し、T_{max} はノミナル値を報告。
2. 902238 試験、902236 試験及び 902480 試験の TK パラメータは、補正濃度に基づいている。データは、主レポートの Bioanlytical Amendments に含まれる。

2.6.4.3.1.1 マウスにおける単回又は反復 IV 又は SC 投与時の薬物動態（報告書 ALP-PC-09、ALP-PC-25 及び ALP-PT-15）

2.6.4.3.1.1.1 単回 IV 投与時の薬物動態（報告書 ALP-PC-09）

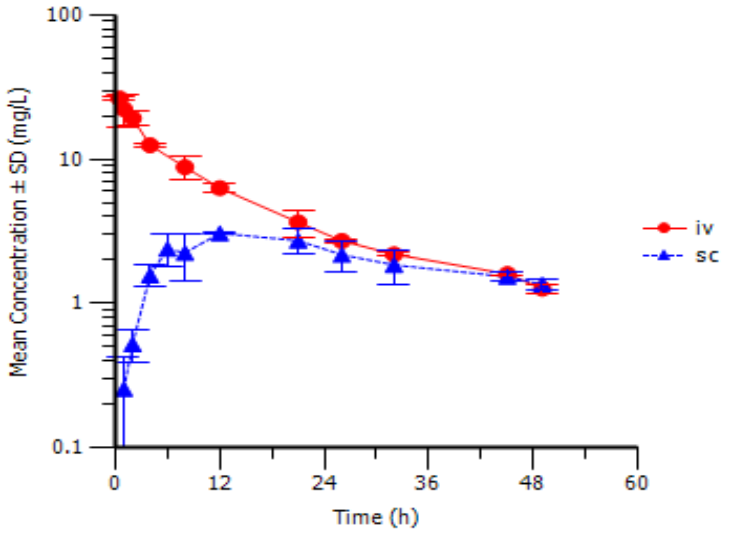
ALXN1215（ロット番号[redacted]）2 mg/kg を、幼若（生後約 36～40 週の）C57BL/6 マウス（n=3

／時点）に単回 IV 投与した。IV 投与後、血清中薬物濃度（複合データ）は、投与の 49 時間後（最終試料採取時点）まで定量可能であった。濃度-時間曲線は、二重指数関数的低下（図 2.6.4.3.1.1.2-1 ）を示し、推定 CL は 0.007 L/h/kg、見かけの終末相半減期 $t_{1/2}$ は 15.6 時間であった（表 2.6.4.3.1.1.2-1）。本試験では、分布容積及び用量比例性（1 用量のみの試験であるため）は評価されなかった。$AUC_{0\text{-}49h}$ は 258 mg*h/L、C_{max} は 26.4 mg/L であった。

2.6.4.3.1.1.2 C57BL/6 マウスにおける単回 SC 投与時の薬物動態（報告書 ALP-PC-09）

ALXN1215（ロット番号[redacted]） 2 mg/kg を、雄幼若（生後約 36～40 週）C57BL/6 マウス（n=3／時点）に単回 SC 投与した後、ALXN1215 濃度は、投与の 49 時間後（最終試料採取時点）まで定量可能であった。皮下吸収分のクリアランス及び見かけの終末相分布容積（CL/F 及び Vz/F）は評価しなかった。最高血清濃度に達するまでの時間（t_{max}）は 12 時間であり、SC 投与部位からの比較的緩やかな吸収が示唆された。最高血清濃度（C_{max}）に達した後、濃度-時間プロファイルは、IV 投与後の濃度-時間曲線と平行して低下した（図 2.6.4.3.1.1.2-1 ）。SC 投与群及び IV 投与群で、$AUC_{0\text{-}49h}$ はそれぞれ 100 mg*h/L 及び 258 mg*h/L であり、従って SC 投与時のバイオアベイラビリティは 38.8%と推定された。AUC_{∞}値（SC 投与群及び IV 投与群でそれぞれ 161 及び 286 mg*h/L）に基づく SC 投与時のバイオアベイラビリティは 56%と推定された（報告書 ALP-PC-09, Table 11.1, page 11）。

図 2.6.4.3.1.1.2-1 マウスに ALXN1215 2 mg/kg を単回 IV 又は SC 投与後の平均血清中濃度の推移（報告書 ALP-PC-09, Section 11.0, page 10）



N=3/時点/群の平均値±SD

表 2.6.4.3.1.1.2-1 C57BL/6 マウスに ALXN1215 2 mg/kg を単回 IV 又は SC 投与時の薬物動態パラメータ（報告書 ALP-PC-09, Table 1.1, page 11）

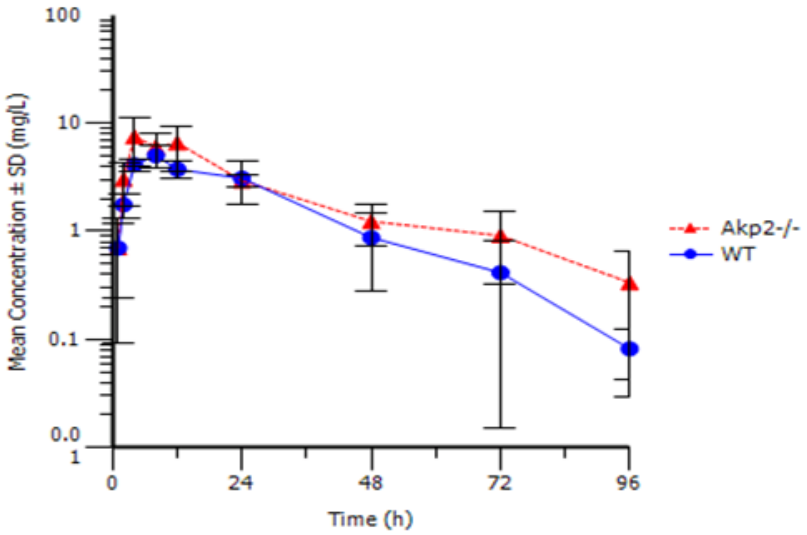
Route of Administration	CL (L/h/kg)	$t_{½}$ (h)	C_{max}^{0} (mg/L)	C_{max} /Dose[b)]	AUC_{∞} (mg*h/L)	$AUC_{0\text{-}49h}$ (mg*h/L)	$AUC_{0\text{-}49h}$ /Dose[b)]	t_{max}^{0} (h)
IV	0.007	15.6	26.4	13.2	286	258	129	0.5
SC	ND[c)]	31.1	3.07	1.54	161	100	50.0	12

PK パラメータは複合データセットに基づいて算出した。
a) C_{max} 及び t_{max} は、血清濃度の推移から直接得られた実測値である。
b) C_{max}/Dose 及び $AUC_{0\text{-}49h}$/Dose の単位は、それぞれ(mg/L)/(mg/kg)及び(mg*h/L)/(mg/kg)である。
c) ND = 未測定。
N=3/時点/群

2.6.4.3.1.1.3 *Akp2*$^{-/-}$又は WT マウスにおける単回 SC 投与時の薬物動態（報告書 ALP-PC-25）

ALXN1215 の PK は、*Akp2*$^{-/-}$及び WT マウスで評価した（n=4／時点／群）。*Akp2*$^{-/-}$マウス及びそれらの WT 同腹仔は、生後約 12 日であり、C57BL/6 と 129J の混合背景であった。8.2 mg/kg（ロット[redacted]）の単回 SC 投与後、血清中 ALXN1215 濃度は、*Akp2*$^{-/-}$マウス及び WT マウス両方で、投与後 96 時間（最終試料採取時）まで検出可能であった。t_{max}（*Akp2*$^{-/-}$マウスでは 4 時間、WT マウスでは 8 時間）に到達後、血清中濃度の単一指数関数的減少が認められた（図 2.6.4.3.1.1.3-1）。*Akp2*$^{-/-}$マウスでは、WT マウスよりも全身曝露量が高いようであった。$AUC_{0\text{-}96h}$ は *Akp2*$^{-/-}$マウスでは 213 mg*h/L、WT マウスでは 154 mg*h/L であり、C_{max} は *Akp2*$^{-/-}$マウスでは 7.51 mg/L、WT マウスでは 5.03 mg/L であった（表 2.6.4.3.1.1.3-1）。CL/F は *Akp2*$^{-/-}$マウスでは 0.036 L/hr/kg、WT マウスでは 0.053 L/hr/kg であり、Vz/F は *Akp2*$^{-/-}$マウスでは 1.34 L/kg、WT マウスでは 1.07 L/kg であった（表 2.6.4.3.1.1.3-1）。血清中濃度のばらつきを考慮すると（図 2.6.4.3.1.1.3-1）、*Akp2*$^{-/-}$マウスと WT マウスとの間に認められる PK の差は、マウスの個体差によるものであり、薬物動態学的に重要なものではないと考えられる。

図 2.6.4.3.1.1.3-1 *Akp2*$^{-/-}$及び WT マウスに 8.2 mg/kg を単回 SC 後の平均血清中濃度の推移（報告書 ALP-PC-25, Figure 1, page 12）



N=4/時点/群の平均値±SD

表 2.6.4.3.1.1.3-1 *Akp2*$^{-/-}$及び WT マウスにおける ALXN1215 8.2 mg/kg 単回 SC 投与時の薬物動態パラメータ（報告書 ALP-PC-25, Table 3, page 12）

Strain	CL/F (L/h/kg)	Vz/F (L/kg)	$t_{½}$ (h)	C_{max}^{0} (mg/L)	C_{max} /Dose[b)]	AUC_{∞} (mg*h/L)	$AUC_{0\text{-}96h}$ (mg*h/L)	$AUC_{0\text{-}96h}$ /Dose[b)]	t_{max}^{0} (h)
Akp2$^{-/-}$	0.0361	1.34	14.0	7.51	0.916	227	213	25.9	4
WT	0.0527	1.07	25.5	5.03	0.613	155	154	18.8	8

PK パラメータは複合データセットに基づいて算出した。
a) C_{max} 及び t_{max} は、血清中濃度の推移から直接得られた実測値である。
b) C_{max}/Dose 及び $AUC_{0\text{-}49h}$/Dose の単位は、それぞれ(mg/L)/(mg/kg)及び(mg*h/L)/(mg/kg)である。
N=4/時点/群

2.6.4.3.1.1.4 マウスにおける反復 SC 投与後の ALXN1215 の胎盤通過（報告書 ALP-PT-15）

ALXN1215 の血液胎盤関門通過性を評価するため、反復 SC 投与試験を実施した。妊娠（CD-1）マウス 8 匹及び非妊娠（C57BL/6）マウス 7 匹に、ALXN1215（ロット[redacted]）0、0.5、2 又は 8.2 mg/kg を 1 日 1 回 5 日間投与した。より多くの同腹仔を得るため、妊娠マウスでの試験は、C57BL/6 マウスではなく CD-1 マウスで実施した。妊娠マウスへの投与は、妊娠 13～17 日目に行った。非妊娠マウス、妊娠（母）マウス及び胎児から、5 回目の投与の 21 時間後に血液試料を単回採取した。試験デザインを表 2.6.4.3.1.1.4-1 に示す。

表 2.6.4.3.1.1.4-1　1 日 1 回 5 日間 SC 投与を受けたマウスでの胎盤通過試験のデザイン（報告書 ALP-PT-15）

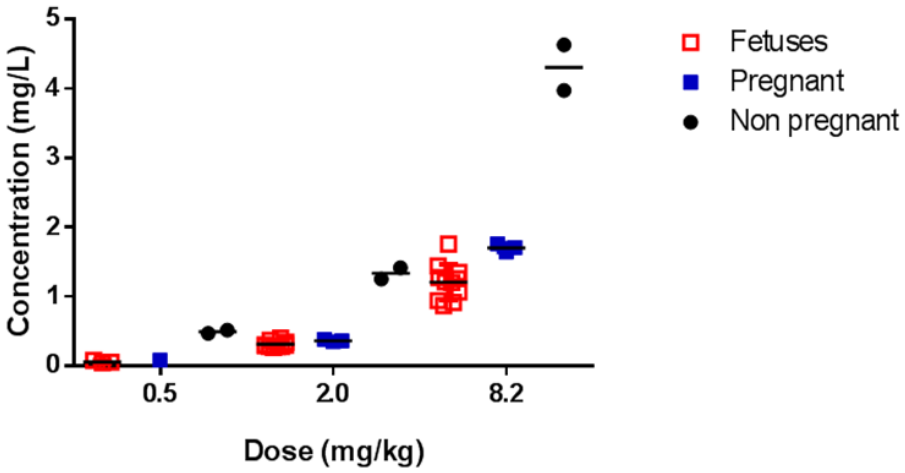
Group ID	Dose (mg/kg)	Number of Mice		
		CD-1 Pregnant	Fetuses[a)]	C57BL/6 Non-Pregnant
1	0[b)]	1	4	1
2	0.5	1	3	2
3	2	3	10	2
4	8.2	3	11	2

a)　充分な量を得るため、胎児の血清試料をプールした。
b)　このデータを使用し、内因性アルカリホスファターゼ活性について補正した。

表 2.6.4.3.1.1.4-2 及び図 2.6.4.3.1.1.4-1 に示す通り、妊娠 CD-1 マウスへの反復 SC 投与後、検討したすべての用量で、母マウスと胎児の両方で ALXN1215 は定量化可能であった。用量で正規化した血清中濃度は、評価したすべての濃度で、母マウス［0.16～0.21 (mg/L)/(mg/kg)］と胎児［0.12～0.16 (mg/L)/(mg/kg)］とで同等であったことから、線形の薬物動態が示唆された。検討した用量では、母マウスに対する胎児での ALXN1215 血清中濃度の比率（各群の平均値から算出）は、0.71～0.86 であった（図 2.6.4.3.3.2-1）。ALXN1215 の血清中濃度は、非妊娠マウスで妊娠マウスよりも高く、検討した用量での妊娠マウスに対する非妊娠マウスでの血清中濃度の比率は、6.14～2.53 であった。これは単回の測定（5 回目の投与の 21 時間後）に基づく知見であるため、この血清中薬物濃度の差は妊娠に関係しているのか、あるいは系統の違いによるものであるのか判断するには、データが不十分である。

免疫グロブリン G（IgG）は、FcRn を介した胎盤でのエンドサイトーシスにより血液胎盤関門を通過することが知られている [2)]。融合タンパク質である ALXN1215 はヒト IgG1 の Fc 領域を有する。観察された ALXN1215 の胎盤通過は、文献で報告されたデータと一致している。

図 2.6.4.3.1.1.4-1　様々な用量を投与した非妊娠、妊娠及び胎児マウスでの血清中濃度（報告書 ALP-PT-15, Figure 1, page 12）



線は、平均値（n=2 または n=3～11）を示す。5 回目の投与の 21 時間後に得られたデータ。

表 2.6.4.3.1.1.4-2　様々な用量を投与された非妊娠、妊娠及び胎児マウスでの ALXN1215 の血清中濃度レベル（mg/L）#及び比率（報告書 ALP-PT-15, Table 3, page 12）

Dose mg/kg	**Nonpregnant Mice**		**Pregnant Mice**		**Fetuses**		**Ratio of Nonpregnant-to-Pregnant**[a)]	**Ratio of Fetuses-to-Dam**[a)]
	average (individual)	DN[b)]	mean (±SD)	DN[b)]	mean (±SD)	DN[b)]		
0.5	0.491[c)] (0.467, 0.515)	0.982	0.080[d)]	0.160	0.058 (±0.017)[e)]	0.116	6.14	0.727
2	1.34[c)] (1.42, 1.25)	0.667	0.362 (±0.017)[e)]	0.181	0.310 (±0.045)[f)]	0.155	3.68	0.856
8.2	4.30[c)] (3.97, 4.63)	0.525	1.70 (±0.059)[e)]	0.208	1.21 (±0.259)[g)]	0.147	2.53	0.708

a) 対応する個々のマウスから算出した平均値（n=2 または n=3～11）。
b) DN は、(mg/L)/(mg/kg)単位の用量正規化濃度。
c) n=2
d) n=1
e) n=3
f) n=10
g) n=11
5 回目の投与の 21 時間後に収集したデータ。

2.6.4.3.1.2　成熟ラットにおける IV 又は SC 単回投与時の薬物動態（報告書 PK2008010951）

2.6.4.3.1.2.1　単回 IV 投与時の薬物動態

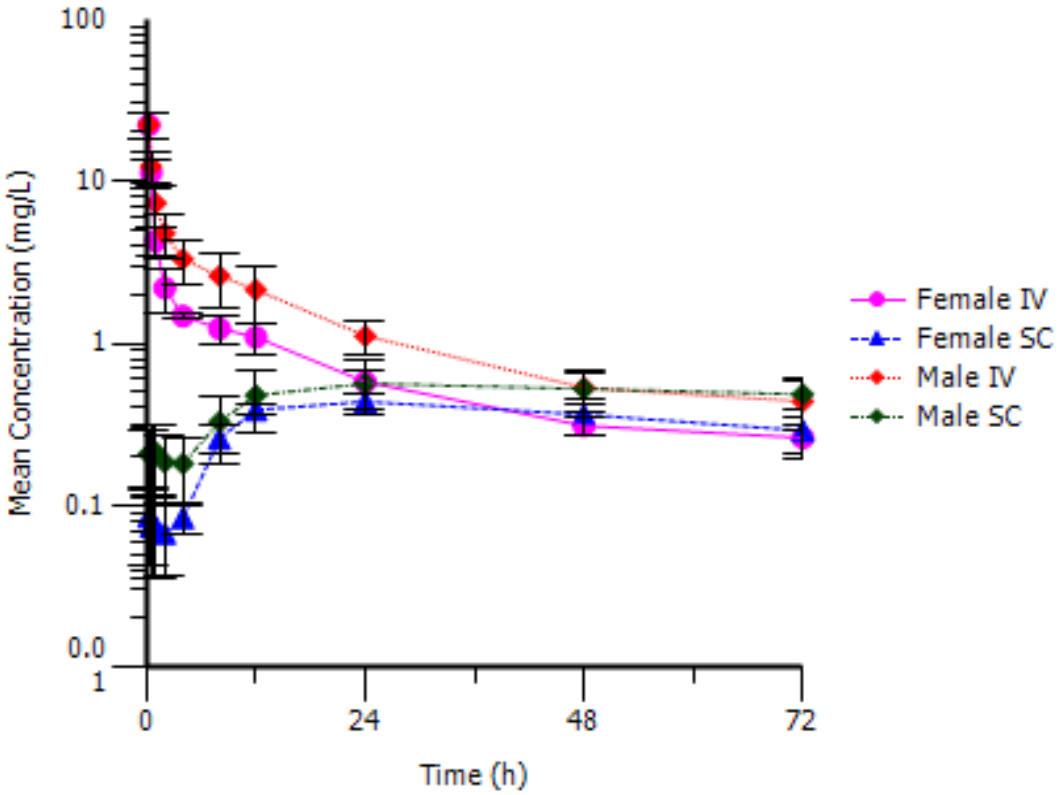
成熟 Sprague-Dawley ラット（n=3／性別）に ALXN1215（3 mg/kg、ロット番号[redacted]）を単回 IV 投与後、血清中濃度は投与後 72 時間（最終試料採取時）まで定量可能であった。二相性の薬物動態が認められ、雄及び雌での推定 CL はそれぞれ 0.0312 L/h/kg 及び 0.0492 L/h/kg、見かけの終末相 $t_{1/2}$ はそれぞれ 27.3 時間及び 33.8 時間であった（表 2.6.4.3.1.2.2-1）。AUC_{∞}及び $AUC_{0\text{-}72h}$ に関しては、雄は雌より 1.7 倍高い値を示したが（表 2.6.4.3.1.2.2-1）、C_{max} 値には性差が

認められなかった。4 週間の毒性試験で更に評価したが、性差は認められなかった（2.6.4.3.4.2.1 項参照）。V_{ss} は、雄で 0.766 L/kg、雌で 1.39 L/kg であった。これは、ラットの体内総水分量約 0.668 L/kg[3)]の約 2 倍に相当し、末梢組織への ALXN1215 の分布が示唆された。但し、タンパク質製剤の不均一性のため、V_{ss} の推定には誤りが生じる可能性がある。また、タンパク質医薬品の特定成分（糖鎖修飾体など）の末梢組織からの消失は、試料採取（血液）コンパートメントと速やかな平衡状態にない可能性もある[4)]。そのため、V_{ss} の絶対値の使用は誤った解釈を導く可能性がある。

2.6.4.3.1.2.2 単回 SC 投与時の薬物動態

成熟 Sprague-Dawley ラット（n=3／性別）に ALXN1215（ロット番号[redacted]） 3 mg/kg を単回 SC 投与後、t_{max} は雄では 32 時間、雌では 20 時間で（図 2.6.4.3.1.2.2-1）、雄と雌両方の中央値は 24 時間であったことから、ALXN1215 は SC 投与部位から緩やかに吸収されたことが示唆された。C_{max} 到達後、SC 投与後の血清中濃度-時間曲線は、IV 投与後の濃度-時間曲線と平行に低下した（図 2.6.4.3.1.2.2-1）。IV 投与群と同様に、SC 投与群でも性差が認められた。$AUC_{0\text{-}72h}$ は、雄では雌の約 1.4 倍であったが（表 2.6.4.3.1.2.2-1）、C_{max} 値に性差は認められなかった。IV 投与群及び SC 投与群での $AUC_{0\text{-}72h}$ に基づき、SC 投与時のバイオアベイラビリティは、雄ラットでは 26.3%（24.5/93.1）、雌ラットでは 32.2%（17.3/53.7）と推定された。SC 投与時の AUC_{∞} 値は、外挿した面積が 25%（短期（72 時間）採取間隔による）上回っているので、報告不能であると判断された。よって、表 2.6.4.3.1.2.2-1 では AUC_{∞} に基づく CL/F、$t_{1/2}$、V_{ss}/F 及びバイオアベイラビリティを示していない。

図 2.6.4.3.1.2.2-1　成熟ラットにおける ALXN1215 3 mg/kg の IV 又は SC 投与後の平均（n=3、±SD）血清中濃度の推移（報告書 PK2008010951, Figure 1, page 13）



n=3/群での平均値±SD

表 2.6.4.3.1.2.2-1　成熟ラットにおける ALXN1215 の単回 IV 又は SC 投与時の薬物動態パラメータ（報告書 PK2008010951, Section 8.2, page 14）

Sex	RoA[0]	CL or CL/F (L/h/kg)	Vss or Vss/F (L/kg)	$t_{½}$ (h)	C_{max} [b)] (mg/L)	C_{max} /Dose[c)]	AUC_{∞} (mg*h/L)	$AUC_{0\text{-}72h}$ (mg*h/L)	$AUC_{0\text{-}72h}$ /Dose[c)]	t_{max} (h)[b)]
M	IV	0.0312	0.766	27.3	22.2	7.40	106	93.1	31.0	0.25
	SC	DNS	DNS	DNS	0.424	0.141	DNS	24.5	8.17	32
F	IV	0.0492	1.39	33.8	22.1	7.36	62.1	53.7	17.9	0.25
	SC	DNS	DNS	DNS	0.342	0.114	DNS	17.3	5.77	20

PK パラメータの平均値
a) RoA = 投与経路。
b) C_{max} 及び t_{max} は、血清濃度の推移から直接得られた実測値である。
c) C_{max}/Dose 及び AUC/Dose の単位は、それぞれ(mg/L)/(mg/kg)及び(mg*h/L)/(mg/kg)である。用量正規化 AUC 及び C_{max} の算出では、用量 3.0 を使用した。
DNS = データ提示せず。短期（72 時間）採取間隔により AUC_{∞}の外挿面積が 25%上回った。
N=3/群

2.6.4.3.1.3　雌サルにおける単回投与時の薬物動態（報告書 3008-0133）

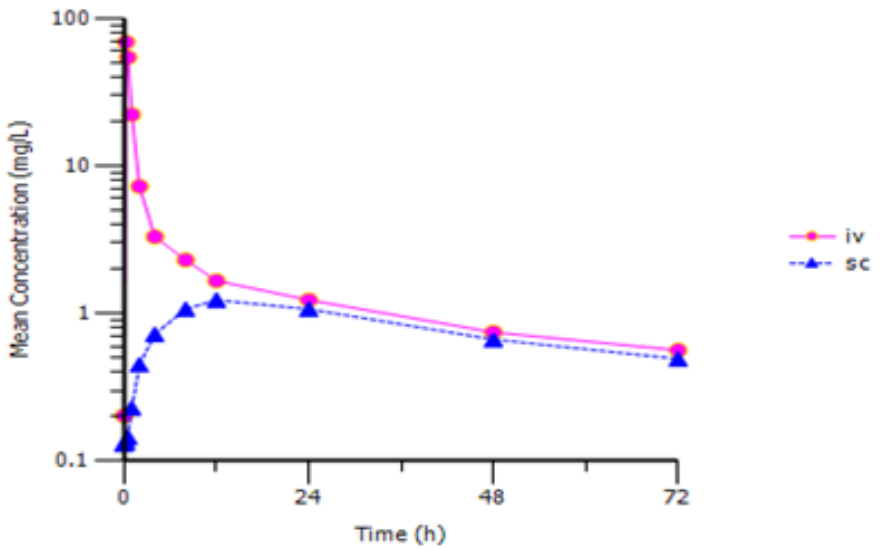
2.6.4.3.1.3.1　単回 IV 投与時の薬物動態

成熟（約 3 歳）雌カニクイザル（n=2）に ALXN1215（ロット番号[redacted]）3 mg/kg を単回 IV 投与後の薬物動態を評価した。IV 投与後、ALXN1215 の血清中濃度は投与の 72 時間後（最終試料採取時点）まで検出可能であった。血清中濃度-時間曲線は、多次指数関数的な低下を示した（図 2.6.4.3.1.3.2-1）。平均（n=2）CL は 0.0193 L/h/kg であり、見かけの終末相 $t_{1/2}$ は 31.4 時間であった（表 2.6.4.3.1.3.2-1）。平均 V_{ss} は、0.432 L/kg であり、サルの細胞内液量（約 0.485 L/kg）[3)]とほぼ同等であったことから、ALXN1215 が末梢組織に分布していることが示唆された。AUC_{∞} 及び $AUC_{0\text{-}72h}$ の平均値は、それぞれ 158 及び 141 mg･h/L であり、C_{max} の平均値は 68.8 mg/L であった（表 2.6.4.3.1.3.2-1）。

2.6.4.3.1.3.2　単回 SC 投与時の薬物動態

成熟（約 3 歳）雌サル（n=2）に ALXN1215（ロット番号[redacted]）3mg/kg を単回 SC 投与後、血清中濃度は投与の 72 時間後（最終試料採取時点）まで検出可能であり（図 2.6.4.3.1.3.2-1）、投与の 10 時間後までに t_{max} に達した。C_{max} 到達後、SC 投与後の血清中濃度-時間曲線は、IV 投与後の血清中濃度-時間曲線と平行に低下した（図 2.6.4.3.1.3.2-1）。SC 投与群及び IV 投与群の $AUC_{0\text{-}72h}$ は、それぞれ 49.0 及び 141 mg*h/L であり、それに基づき SC 投与時のバイオアベイラビリティは 34.8%と推定された。外挿した面積が 25%を超えたため、推定した AUC_{∞}は不正確であると判断された。したがって、表 2.6.4.3.1.3.2-1 では AUC_{∞}に基づくパラメータ（CL/F、$t_{1/2}$、V_{ss}/F 及び SC 投与時のバイオアベイラビリティ）を示していない。

図 2.6.4.3.1.3.2-1　成熟雌サルにおける ALXN121 3 mg/kg 単回 IV 又は SC 投与後の平均（n=2）血清中濃度の推移（報告書 3008-0133, Section 8, page 12）



N=2(1/性別)群での平均値の推移

表 2.6.4.3.1.3.2-1　サルにおける ALXN1215 3 mg/kg 単回 IV 又は SC 投与時の薬物動態パラメータ（報告書 3008-0133, Section 8.3, Table 3, page 16）

RoA[0]	CL or CL/F (L/h/kg)	Vss or Vss/F (L/kg)	$t_{½}$ (h)	C_{max}[b)] (mg/L)	C_{max} /Dose[c)]	AUC_{∞} (mg*h/L)	$AUC_{0\text{-}72h}$ (mg*h/L)	$AUC_{0\text{-}72h}$ /Dose[c)]	t_{max}[b)] (h)
IV	0.0193	0.432	31.4	68.8	22.9	158	141	47.0	0.25
SC	DNS	DNS	DNS	1.10	0.367	DNS	49.0	16.3	10

PK パラメータの平均値
a) RoA = 投与経路。
b) C_{max} 及び t_{max} は、血清濃度の推移から直接得られた実測値である。
c) C_{max}/Dose 及び $AUC_{0\text{-}72h}$/Dose の単位は、それぞれ(mg/L)/(mg/kg)及び(mg*h/L)/(mg/kg)である。
DNS = データを提示せず。短期（72 時間）採取間隔により AUC_{∞}の外挿面積が 25%上回った。
N=2/群

2.6.4.3.2　幼若サルおける単回投与時の薬物動態

2.6.4.3.2.1　単回 IV 投与時の薬物動態（報告書 2007-0693, Appendix VII, page 100）

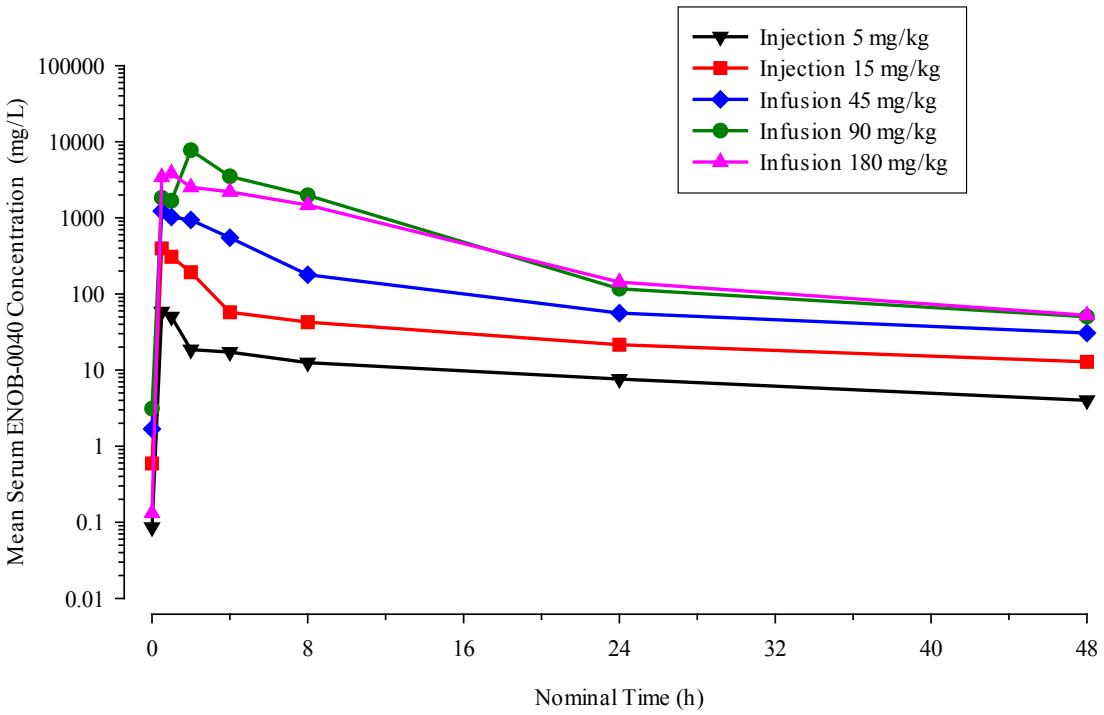
急性最大忍容性試験の一環として、幼若（約 1 歳）カニクイザルにおける ALXN1215（ロット番号 [redacted]）の薬物動態を評価した。2 匹のサル（n=1／性別）に ALXN1215 を順次増量しながら単回投与した（5 又は 15 mg/kg を IV 急速投与、あるいは 45、90 又は 180 mg/kg を 3～12 分かけて IV 注入）。本試験は、クロスオーバー方式で、投与間に 7 日間のウオッシュアウト期間を設けて実施した。各投与後、48 時間まで血液試料を採取した。血清中 ALXN1215 濃度は、2 種の分析法［ELISA（ALXN1215 のタンパク質濃度測定）及び酵素活性分析法］を用いて測定した。 酵素活性分析法では、ALXN1215 の触媒活性を評価した（μg/mL 単位に換算したデータとして報

告)。ALXN1215 の活性に基づく酵素活性分析法の方が、ALXN1215 の有効性をより適切に評価できるため、ELISA は中止した。したがって、本資料 2.6.4.2.1.1 項では ELISA を用いて得たデータを省略する。

血清中 ALXN1215 の濃度は、各投与の 48 時間後（最終試料採取時点）まで定量化可能であった。薬物濃度データの解析結果から、血清中濃度にキャリーオーバー効果が認められ、7 日間のウオッシュアウト期間が不十分であったことが示唆された（図 2.6.4.3.2.1-1）。各投与群のキャリーオーバー効果を補正するため、PK 解析では curve stripping 法を用いた。PK パラメータは、キャリーオーバー成分について補正した血清中濃度プロファイルから算出した。

平均（n=2、雄雌各 1 匹）血清中 ALXN1215 濃度は、二重又は三重指数関数的に低下した（図 2.6.4.3.2.1-1）。外れ値と判断された 90 mg/kg 群のデータを除き、5～180 mg/kg の用量範囲にわたり、CL 及び用量で正規化した $AUC_{0\text{-}48h}$（表 2.6.4.3.2.1-1）は、ほぼ一定であった。対照的に、$t_{1/2}$ 及び V_{ss} 値は、用量の増加に伴い減少する傾向を示した（表 2.6.4.3.2.1-1）。この知見については、理由は明らかでない。性差は認められなかった。5 mg/kg 群の幼若サルでは、CL 及び V_{ss} の平均値（n=2）は、それぞれ成熟雌サル（2.6.4.3.1.3 項参照）の 33%（0.0063 対 0.193 L/h/kg）及び 59%（0.255 対 0.432 L/kg）でしかなかった。各試験で 1 群あたりの動物数が少ないため（試験当たり 2 匹）、これらの PK の差が年齢に関係するのか、あるいは試験間のばらつきによるのか判断できない。

図 2.6.4.3.2.1-1　幼若サルにおける複数用量漸増単回 IV 投与後の平均（n=2）血清中濃度の推移
（報告書 2007-0693, Appendix VII, page 100）



N=2/(1/性別)群の平均値±SD の推移

表 2.6.4.3.2.1-1 幼若サルにおける複数用量漸増単回 IV 投与（クロスオーバー試験）時の平均 PK パラメータ（報告書 2007-0693, Appendix VII, Table 5.1, page 110）

Dose (mg/kg)	CL (L/h/kg)	Vss (L/kg)	$t_{½}$ (h)	C_{max} (mg/L)	C_{max}/Dose[a)]	AUC_{∞} (mg*h/L)	AUC_{0-48h} (mg*h/L)	AUC_{0-48h} /Dose[a)]
5	0.00633	0.255	40.4	64.9	13.0	797	763	153
15	0.00509	0.166	39.6	396	26.4	2950	2860	191
45	0.00504	0.0972	30.0	1230	27.3	9410	8950	199
90	0.00188	0.0168	19.4	7720	85.8	48400	47000	522
180	0.00507	0.0638	20.9	3830	21.3	36000	33500	186

a) 用量正規化 C_{max} 及び AUC_{0-48h} の単位は、それぞれ(mg/L)/(mg/kg)及び(mg*h/L)/(mg/kg)である。
PK パラメータの平均値
N=2/群（雄雌各 1 匹）

2.6.4.3.3 成熟雌ウサギにおける単回投与時の薬物動態（報告書 902235, Appendix 6, page 90）

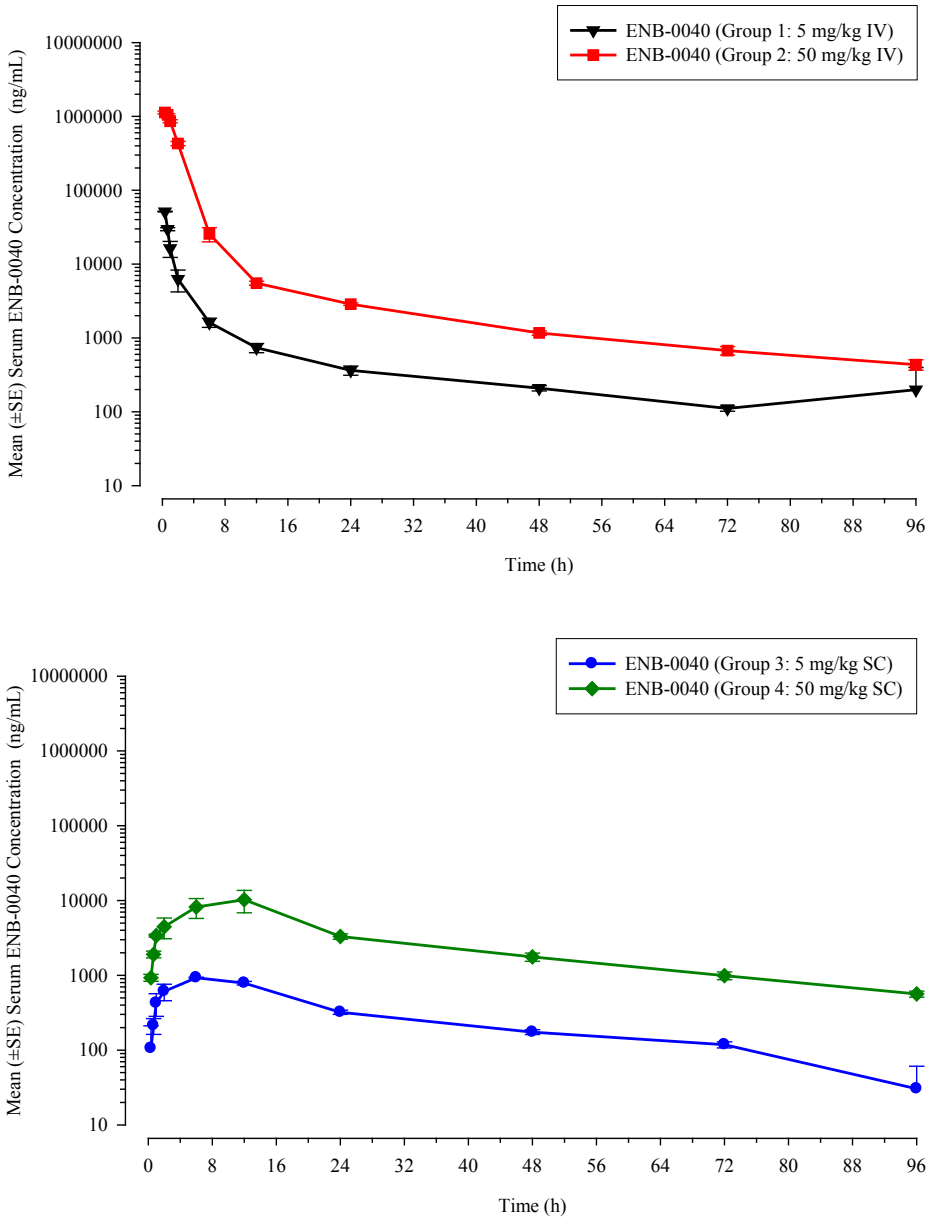
2.6.4.3.3.1 単回 IV 投与時の薬物動態

生殖発生毒性試験をサポートするため、成熟（生後約 5 ヵ月）雌ウサギおける ALXN1215 の薬物動態を評価した。雌ウサギ（n=3／群）に、ALXN1215（ロット番号[redacted]）5 又は 50 mg/kg を単回 IV 投与した。血清中 ALXN1215 濃度は、IV 投与後 96 時間（最終試料採取時点）まで定量化可能であった。平均血清中 ALXN1215 濃度は、二重指数関数的に低下した。クリアランスは、5 mg/kg 群では 0.0540 L/h/kg であったのに対し、50 mg/kg 群では 0.0172 L/h/kg と低かったことから（表 2.6.4.3.3.2-1）、非線形の薬物動態が示唆された。用量が 10 倍に増加すると、C_{max} 及び AUC_{0-96h} は約 22～28 倍に非線形的に増加した。この非線形薬物動態は、標的介在性の薬物動態（TMDD）によると考えられる。V_{ss} 値は、5 mg/kg 群では 0.645 L/kg であったのに対し、50 mg/kg 群では 0.0693 L/kg と低かった。5 mg/kg 投与時の V_{ss} 値は、ウサギの体内総水分量約 0.716 L/kg[3)] に等しい。50 mg/kg 投与群の V_{ss} 値 0.0693 L/kg は、ウサギの血漿量[3)]にほぼ等しい。

2.6.4.3.3.2 単回 SC 投与時の薬物動態

成熟雌ウサギ（n=3／群）に ALXN1215（ロット番号[redacted]）5 又は 50 mg/kg を単回 SC 投与後、C_{max} 及び AUC_{0-96h} は、ほぼ用量に比例して増加したことから（表 2.6.4.3.3.2-1）、試験した用量範囲にわたり線形の薬物動態が示唆された。IV 投与時に対する SC 投与時の AUC_{0-96h} の比率に基づき、SC 投与時のバイオアベイラビリティは、5 及び 50 mg/kg 群でそれぞれ 25.4%（25.9/102）及び 9.66%（280/2900）と推定された。AUC_{∞}の比率から推定された SC 投与時のバイオアベイラビリティは、50 mg/kg 群で 10.4%（304/2920）であった。50 mg/kg の SC 投与時のバイオアベイラビリティが低かったのは、少なくとも理由の一つとして、50 mg/kg の IV 投与時の AUC が用量比を上回る高さであったためと考えられる（2920 mg*h/L）。単回 SC 投与後、ウサギでの t_{max} は 6～12 時間であり、他の動物種で観察された t_{max}（表 2.6.4.3.3.2-1）と同等であったことから、ALXN1215 の SC 投与後の緩やかな吸収が示された。

図 2.6.4.3.3.2-1　雌ウサギにおける ALXN1215 5 又は 50 mg/kg 単回 IV 又は SC 投与後の平均血清中濃度の推移（報告書 902235, Appendix 8, page 90）



N=3/群の平均値±SD の推移

表 2.6.4.3.3.2-1 雌ウサギにおける単回 IV 又は SC 投与時の平均 PK パラメータ（報告書 902235, Appendix 8, Section 1, page 93）

RoA[a)]	Dose (mg/kg)	CL or CL/F (L/h/kg)	Vss or Vss/F (L/kg)	$t_{½}$ (h)	C_{max}[b)]	C_{max} /Dose[c)]	AUC_{∞}	$AUC_{0\text{-}96h}$[b)]	$AUC_{0\text{-}96h}$ /Dose[b)]	t_{max} (h)[d)]
IV	5	0.0540	0.645	29.7	51.4	10.3	NR	102	20.4	0.37
	50	0.0172	0.0693	33.6	1140	22.7	2920	2900	57.9	0.42
SC	5	0.163	6.78	35.9	0.929	0.186	31.2	25.9	5.18	6.03
	50	0.175	6.37	29.4	11.0	0.220	304	280	5.60	12.0

a) RoA = 投与経路
b) $AUC_{0\text{-}96h}$ 及び用量正規化 $AUC_{0\text{-}96h}$ の単位は、それぞれ mg*h/L 及び(mg*h/L)/(mg/kg)である。
c) C_{max} 及び用量正規化 C_{max} の単位は、それぞれ mg/L 及び(mg/L)/(mg/kg)である。
d) 中央値。実際のサンプリング時間が、中央値の算出に使用された。
NR = 報告しない。推定 AUC_{∞} が $AUC_{0\text{-}96h}$ 未満であるため。
t_{max} を除き PK パラメータの平均値、t_{max} は中央値（脚注 d）参照）
N=3/群

2.6.4.3.4 ラット及びサルにおける反復投与時のトキシコキネティクス

安全性評価のサポートのため、幼若ラット及びサル（ラットでの 3 試験及びサルでの 2 試験）において、ALXN1215 のトキシコキネティクスを評価した。ALXN1215 を 4 週間又は 26 週間反復 IV 又は SC 投与後、AUC 及び C_{max} は、試験により用量の増加に比例して（線形の薬物動態を示唆）又は比例せず（用量比を上回るか下回り、非線形の薬物動態を示唆）増加した。試験デザイン、（TSAC 値の異なる）薬物ロット、免疫原性、動物の年齢など複数の因子が、特に試験ごとの用量比例性評価に影響を及ぼした可能性がある。推定半減期から予想された通り、幼若ラット及びサルでの薬物の蓄積の程度は、投与頻度に依存していた。週 1 回の投与計画では、薬物の蓄積は認められなかった。1 日 1 回の投与計画では、薬物の蓄積が認められた。TK パラメータの性差は、幼若ラット及び幼若サルでは認められなかった。

ALXN1215 はヒト免疫グロブリン G_1（IgG_1）の Fc 領域を含むため、動物の体内では免疫原性応答が予想される。反復投与試験 5 試験のうち 4 試験で ADA の発現が認められた。各群の各時点での ADA の発現割合は、ラット及びサルの両方で 0～100%であった。ラット及びサルでの全身曝露量に対する ADA の影響は様々であり、AUC は相当する群での平均 AUC 値に比べて無視できる程度～約 85%減少した。しかし、動物での免疫応答から、ヒトでの免疫応答が予測可能であるとは考えられない[5)]。

2.6.4.3.4.1 幼若ラットにおける 4 週間反復投与時のトキシコキネティクス（報告書 670314, Appendix 6, page 373）

試験 670314 では、TK 用サテライト群が設定されておらず、薬物濃度測定用血液試料は毒性試験群から採取した。毒物試験群の幼若ラット計 90 匹に、ALXN1215 3、30 又は 90 mg/kg を目標用量とし、週 1 回 4 週間 IV 投与した。実際に投与された用量は、2.6、26 及び 77 mg/kg であることが確認された。血液試料は、3 回目（16 日目）及び 4 回目（23 日目）の投与後 24 時間の時点で採取した。免疫原性は、投与前、4/5 週目（投与期間、各群 30 匹）及び 8 週目（回復期間、各群 9～10 匹）に評価した。

表 2.6.4.3.4.1-1 に示す通り、血清中薬物濃度の増加は用量比を下回った。性差及び薬物の蓄積

は、認められなかった。

ALXN1215 に対する免疫応答は、ADA の発現をモニターすることにより評価した（報告書 670314, Appendix 7, page 396）。対照群のラット 30 匹のうち 2 匹、及び、2.6 mg/kg 群の 1 匹の投与前時点で ADA 陽性シグナルが認められ、これらのラットは、ADA 発現率割合の算出時からは除かれた。4/5 週目の投与群での ADA 発現率割合は、2.6 mg/kg 群では 10.3%（29 匹中 3 匹）、26 mg/kg 群及び 77 mg/kg 群ではともに 6.7%（30 匹中 2 匹）であった。回復期間中、ADA 陽性を示したのは 77 mg/kg 群の 1 匹のみであった。

表 2.6.4.3.4.1-1 幼若ラットにおける反復 IV 投与後の ALXN1215 濃度（mg/L）の平均値（±SD）（報告書 670314, Appendix 6, Section 4, Tables 4.1-4.8, pages 378-385）

Dose (mg/kg/week)	Day 16[a)*b)]		Day 23[a)*b)]	
	Male	Female	Male	Female
2.6	0.683 ± 0.110	0.596 ± 0.146	0.723 ±0.198	0.564 ±0.137
26	4.46 ± 0.486	3.83 ± 0.869	4.13 ±0.517	3.45 ±0.414
77	7.65 ± 0.851	6.71 ± 2.04	8.56 ±0.981	6.49 ±1.34

平均値
a) 平均値は、溶媒対照群での平均値データを用いて内因性 ALXN1215 濃度について補正した。
b) 試料は、3 回目及び 4 回目の投与後 24 時間の時点で採取した。
N=30/群(雄 15 及び雌 15)

2.6.4.3.4.2 幼若ラットにおける 4 週間反復投与時のトキシコキネティクス（報告書 70552, Appendix 6d, page 221）

2.6.4.3.4.2.1 幼若ラットへの 4 週間 IV 投与

幼若ラットに ALXN1215 0、3、30 又は 90 mg/kg/回を週 1 回、4 週間 IV 投与した。試験 1 日目に、計 216 匹（1 日目試料採取用の雄 90 匹及び雌 90 匹、22 日目試料採取用の雄 18 匹及び雌 18 匹）に、ALXN1215（TSAC 値 [redacted] のロット番号 [redacted]）3、30 又は 90 mg/kg を初回投与した。初回投与後 180 匹をと殺し、投与後 72 時間まで複数時点で血液試料を採取した。残りの 36 匹には、引き続き週 1 回の投与計画に従いさらに 3 回投与を行った。これらの 36 匹からは、22 日目に投与後 72 時間まで血液試料を採取した。

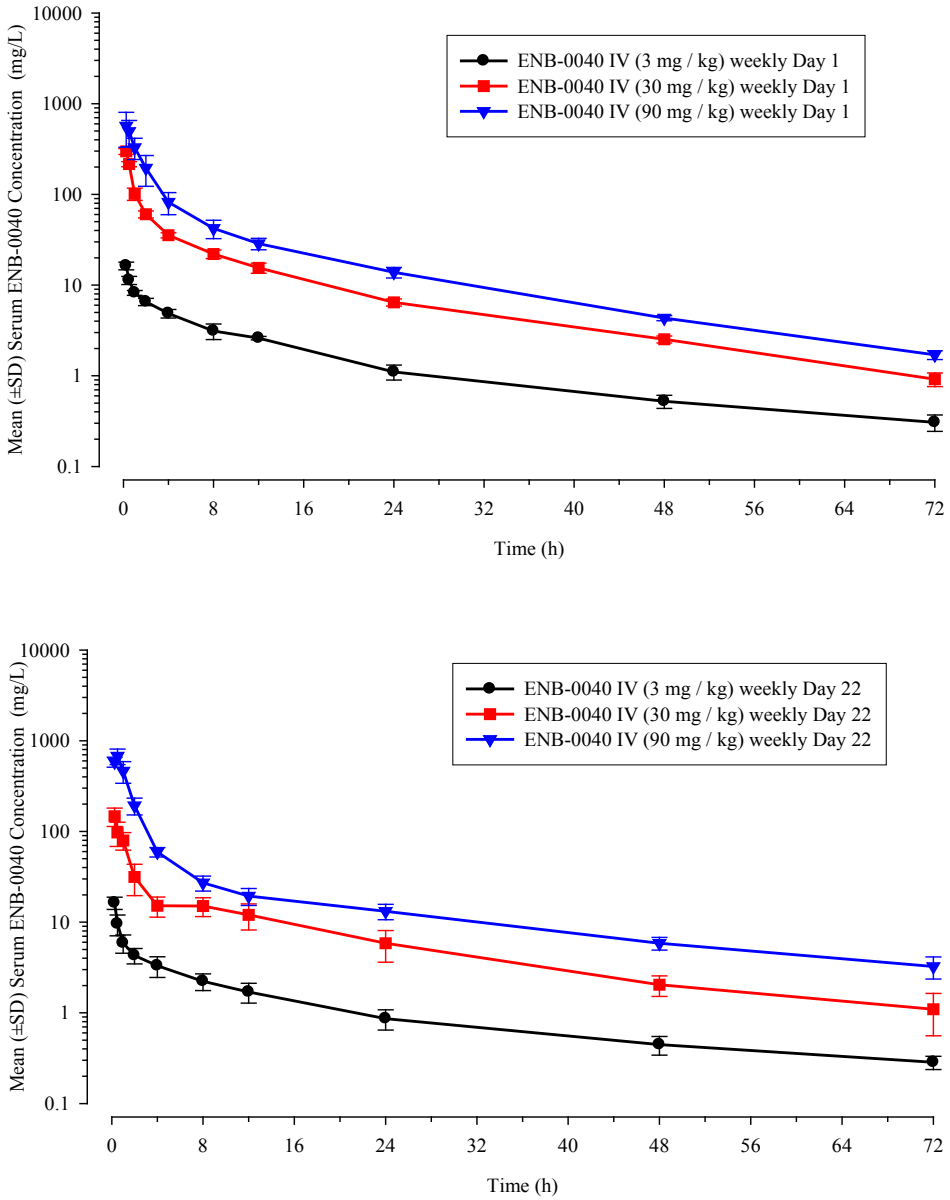
反復 IV 投与後、ALXN1215 の全身曝露量（$AUC_{0\text{-}72h}$ 値から外挿により求めた $AUC_{0\text{-}168h}$、及び C_{max}）は、1 日目及び 22 日目のいずれでも、ほぼ用量に比例して、あるいはやや用量比を下回って増加し（表 2.6.4.3.4.2.2-1）、検討した用量範囲で薬物動態は、ほぼ線形であることが示唆された。22 日目の 3 mg/kg 群及び 30 mg/kg 群の $AUC_{0\text{-}72h}$、$AUC_{0\text{-}168h}$ 及び C_{max} は、1 日目の値よりも低かった（表 2.6.4.3.4.2.2-1）。$AUC_{0\text{-}168h,\ d1}$ に対する $AUC_{0\text{-}168h,d22}$ の比率を求めた結果、薬物の蓄積は認められなかった。濃縮係数は、3 mg/kg 群及び 30 mg/kg 群では 0.67～0.74 であり、90 mg/kg 群では 1.05 であった（報告書 70552, Appendix 6d, page 221）。薬物が蓄積しなかった理由は不明である。ADA によるクリアランスの加速が理由の 1 つかもしれない。ALXN1215 の IV 投与後のラットからは、ADA 分析試料は採取されなかった。

本試験では、TK パラメータへの性別の影響は認められなかった（報告書 70552, Appendix 6d, page 221）。この知見は、成熟ラットでの単回投与時の結果と異なっている（2.6.4.3.1.2 項参照）。本試験では 1 群当たりの動物数が単回投与試験よりも多いこと（180 匹対 6 匹）を考慮すると、本反復投与試験の結果は、より強固であると考えられ、ラットで性差が存在する可能性は低いと

*公表時修正

考えられる。成熟ラット（単回投与試験）と幼若ラット（反復投与試験）とを比較し、年齢による AUC への影響を評価するのは困難であった。なぜなら、1）試料採取期間が異なり（0～72 時間対 0～168 時間）、2）薬物ロットも異なる（TSAC 値 [redacted] のロット番号 [redacted] 対 TSAC 値 [redacted] のロット番号 [redacted]）ためである。TSAC 値が低ければ、ALXN1215 の消失が加速し、AUC が減少することが分かっている（2.6.4.8.2 項参照）。

図 2.6.4.3.4.2.1-1　幼若ラットにおける 4 週間の反復 IV 投与時の薬物濃度の推移



N=6(3/性別)/時点/群の平均値±SD の推移

2.6.4.3.4.2.2　雄幼若ラットへの 4 週間 SC 投与

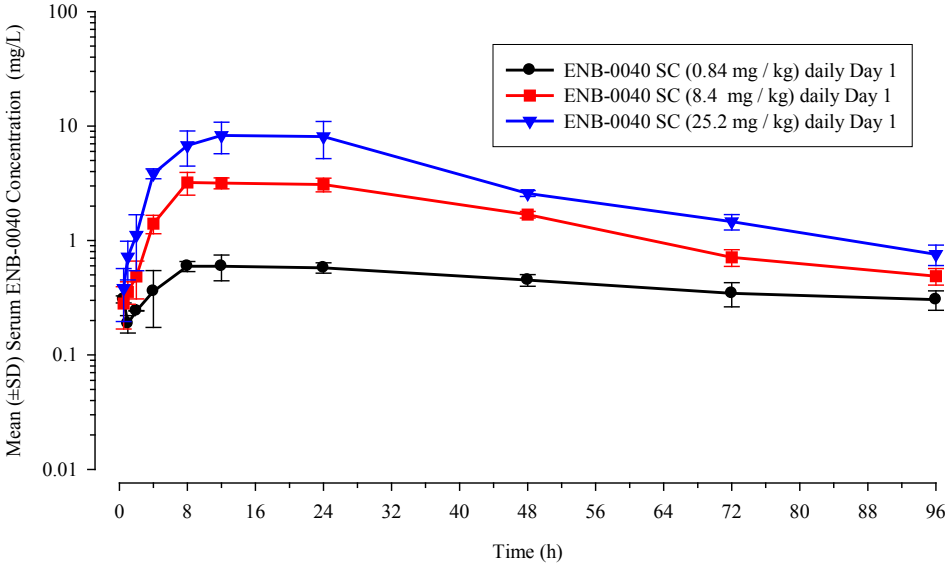
本試験の IV 投与群では、TK パラメータに性差は認められなかったため（2.6.4.3.4.2.1 項参照）、SC 群には雄幼若ラット（n=3／時点／群）を使用した。試験 1 日目、計 108 匹のラット（1 日目試料採取用の 90 匹、28 日目試料採取用の 18 匹）に、ALXN1215（TSAC 値 [redacted] のロット番号

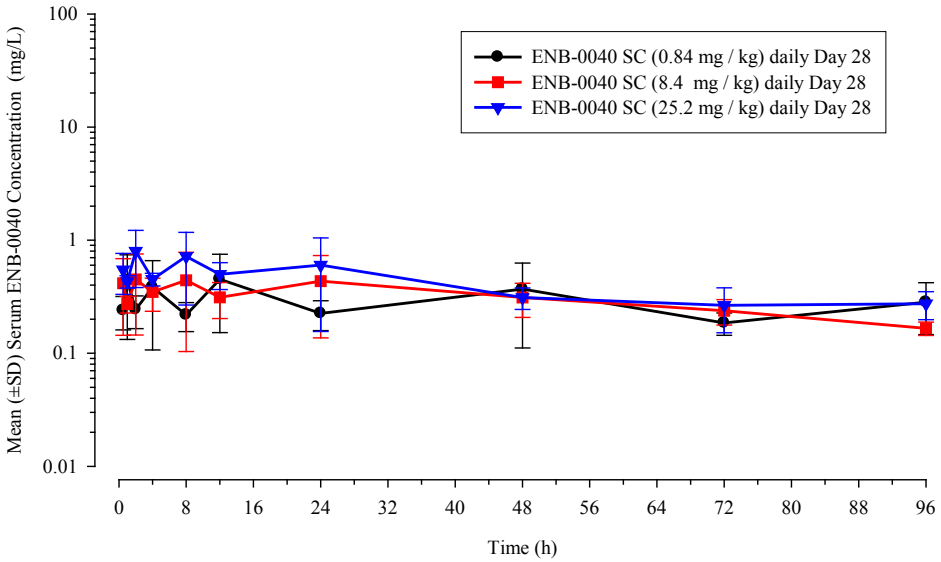
[redacted]）0.84、8.4 又は 25.2 mg/kg/日を投与した。試験 1 日目、90 匹をと殺し、投与後 96 時間までの複数時点で血液試料を採取した。残りの 18 匹には、引き続き、1 日 1 回計 28 日間の投与を行った。28 日目には投与後 96 時間まで、TK 分析用の血液試料を採取した。

試験 1 日目では、ほぼ用量に比例した $AUC_{0\text{-}24h}$ の増加が認められた。しかし試験 28 日目には、全身曝露量は 1 日目よりも有意に低く、ばらつきも大きかった。1 日目の $AUC_{0\text{-}24h,d1}$ に対する 28 日目の $AUC_{0\text{-}24h,d28}$ の比率は、0.05～0.34 であった。SC 投与時のバイオアベイラビリティは、1 日目には 55～58%、28 日目には 2～25%と推定された。28 日目の全身曝露量が低いのは、ADA により消失が加速したためであると考えられる。t_{max} は、1 日目には 8～12 時間であり、28 日目には 2～12 時間であったことから、SC 投与後の緩やかな吸収が示唆された。無毒性量（NOAEL、25.2 mg/kg/日）では、$AUC_{0\text{-}24h}$ は 7.29 mg*h/L、C_{max} は 0.532 mg/L であった。

ADA の発現をモニターすることにより、ALXN1215 に対する免疫応答を評価した。TK 分析後に残った血清試料を用いて、ADA の分析を行った。スクリーニング分析（ADA 分析の最初の段階）では、溶媒対照群及び投与群を含むすべての群で、1 日目及び 28 日目に ADA 陽性シグナルが観察された。試験 1 日目、溶媒対照群 3 匹のうち 2 匹（67%）、3 mg/kg 群 9 匹のうち 8 匹（89%）、30 mg/kg 群 9 匹のうち 7 匹（78%）、90 mg/kg 群 9 匹のうち 5 匹（56%）が ADA 陽性であった。28 日目には、試験した 21 匹すべてが陽性であった（100%、対照群の 3 匹、 3、30 及び 90 mg/kg 群の各 6 匹）。そのため偽陽性 ADA 応答を除外するための検証分析が必要とされる。しかし、試料の量が不足していたため、検証分析は実施できなかった（2.6.4.2.3.2.6.1 項参照）。したがって、偽陽性免疫応答の可能性は否定できない。

図 2.6.4.3.4.2.2-1　幼若ラットにおける 4 週間反復 SC 投与後の薬物濃度推移





N=3/時点/群の平均値±SD の推移

表 2.6.4.3.4.2.2-1 幼若ラットにおける 4 週間反復 IV 又は SC 投与時の ALXN1215 のトキシコキネティクスパラメータ（報告書 70552, Appendix 6d, pages 233-234）

RoA[0]	Study Day	Dose (mg/kg)	AUC_{last}[a)] (mg*h/L) (SE)	AUC_{τ}[b)] (mg*h/L)	AUC_{τ}/Dose[c)]	C_{max}[d)] (mg/L) (SE)	C_{max}/Dose[c)]	t_{max}[d)] (h)
IV (male and female combined)	1	3	100(2.21)	104	34.7	16.2(0.652)	5.39	0.25
		30	869(11.5)	886	29.5	298(9.36)	9.93	0.25
		90	1930(75.7)	1960	21.8	567(96.5)	6.30	0.25
	22	3	73.1(5.14)	76.8	25.7	16.2(1.04)	5.39	0.25
		30	567(41.1)	591	19.7	147(13.8)	4.90	0.25
		90	1960(87.0)	2050	22.8	678(53.7)	7.53	0.5
SC (male only)	1	0.84	16.6(1.63)	6.17	7.35	0.326(0.0874)	0.389	12
		8.4	137(5.48)	55.7	6.63	2.94(0.416)	0.350	8
		25.2	333(33.0)	149	5.92	8.00(1.47)	0.318	12
	28	0.84	6.00(5.77)	2.09	2.49	0.182(0.173)	0.217	12
		8.4	6.85(4.28)	3.00	0.357	0.215(0.166)	0.0256	8
		25.2	13.8(5.93)	7.29	0.289	0.532(0.242)	0.0211	2

PK パラメータは複合データセットに基づいて算出した。
RoA = 投与経路。
a) AUC_{last} は、IV 群では 0～72 時間、SC 群では 0～96 時間であった。
b) AUC_{τ} は、IV 群では 0～168 時間、SC 群では 0～24 時間であった。
c) 用量で正規化した C_{max} 及び AUC_{τ} の単位は、それぞれ(mg/L)/(mg/kg)及び(mg*h/L)/(mg/kg)である。
d) C_{max} 及び t_{max} は、薬物濃度の推移から直接得られた実測値である。
IV 群：N=6(雄 3 及び雌 3)/時点/群； SC 群：N=3(雄)/時点/群

2.6.4.3.4.3 幼若ラットへの 26 週間 IV 投与（報告書 670315, Appendix 9, page 1095）

幼若ラット（試験開始時に生後 21 日、n=3／性別／時点／群）に 1、3 又は 13 mg/kg/日を 1 日 1 回 182 日間（26 週間）IV 投与後、ALXN1215 のトキシコキネティクスを評価した。1、4、17 及び 26 週目に TK 分析用の血液試料を採取した。試験開始時にはラットの体重が軽かったため、1 週目及び 4 週目の試料採取回数は最小限に抑えたが（各群 1 又は 3 回）、17 週目（投与後 8 時間）及び 26 週目（投与後 72 時間）には、1 群あたりの試料採取回数を増やした。

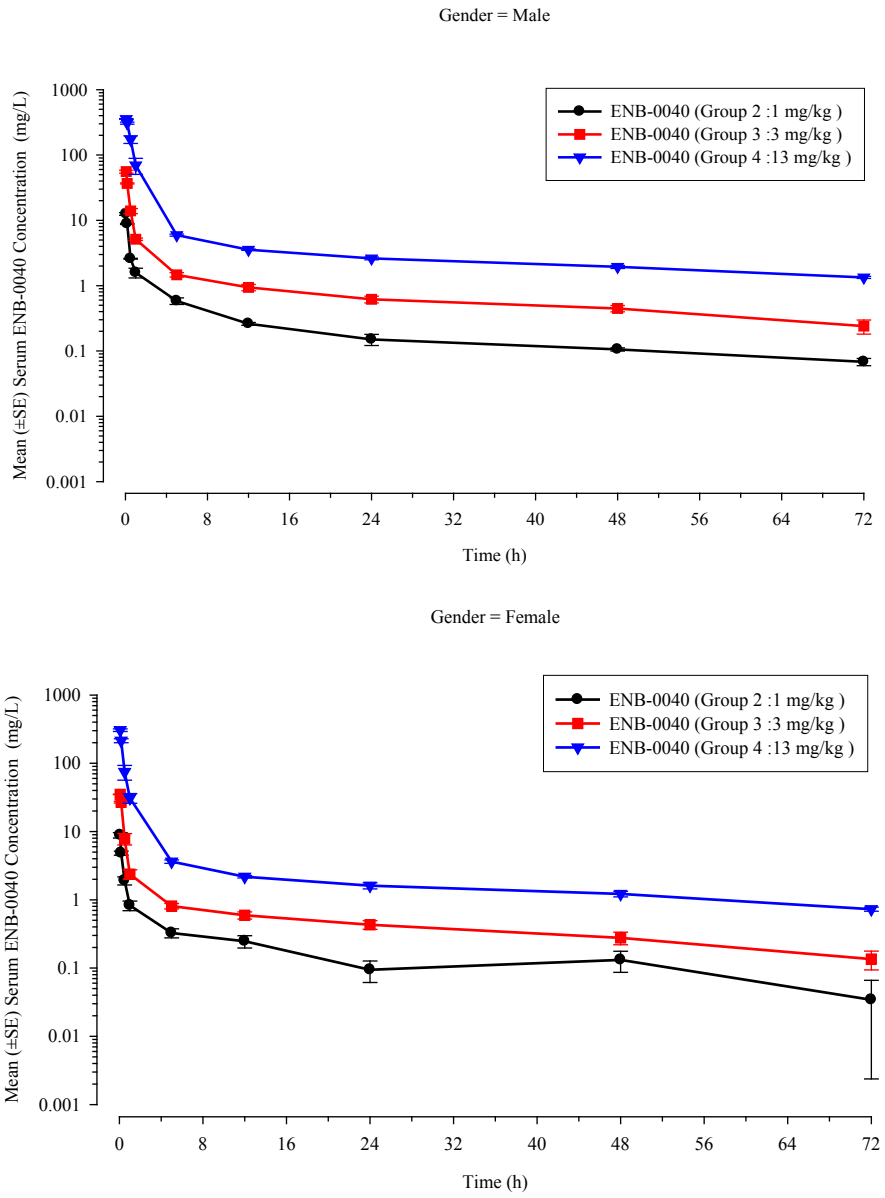
本試験では、TSAC の異なる薬物ロット 3 ロットを使用した。ロット [redacted] TSAC 値 [redacted]）及びロット [redacted]（TSAC 未測定）は、試験 141 日目（20 週目）までラットに投与された。ロット [redacted]（TSAC 値 [redacted]）は、試験 142 日目（20 週目）以降に投与された。これらの状況を考慮し、本試験では単一薬物ロット（[redacted]）を 6 週間ラットに投与した時点に当たる 26 週目の結果に焦点を当てて TK を評価した。

異なる採血法を使用したため、TK パラメータの特性を 2 つの方法により解析した。母集団薬物動態（PPK）の解析は、試験のすべての週について雄と雌の統合データを用いて行った。ノンコンパートメント解析は、26 週目のデータを用いて行った。検出力を高めるため、他の 2 試験［4 週間の IV 及び SC 試験（2.6.4.3.4.2 項参照）と単回投与 PK 試験（2.6.4.3.1.2 項参照）］のデータを併合して PPK を解析した。

ノンコンパートメント解析では、26 週目の全身曝露量が用量比を上回る増加を示したことから、非線形の薬物動態が示唆された（表 2.6.4.3.4.3-1）。用量の 3～13 倍の増加に伴い、C_{max} 及び AUC_{0-24h} は 4～31 倍に増加した。この非線形薬物動態は、TMDD によると考えられる。検討した 3 用量のすべてで、雄の AUC_{0-24h} 及び C_{max} は雌の 1.2～1.8 倍であった。NOAEL は、13 mg/kg/日（試験した最高用量）よりも高いと考えられた。13 mg/kg 投与群の 26 週目の AUC_{0-24h} 及び C_{max} の平均値（雌雄統合）は、それぞれ 331［(422+239)/2］mg*h/L 及び 331［(357+305)/2］mg/L であった（表 2.6.4.3.4.3-1）。

1、4、17、26/27 及び 31 週目に、毒性群及び TK サテライト群の両方で各用量について ADA をモニターした（報告書 670315, Appendix 6, page 969）。検討したすべての投与群で、ADA 応答は認められなかった。

図 2.6.4.3.4.3-1　幼若ラットにおける 1 日 1 回 26 週間の反復 IV 投与後の薬物濃度の推移
26 週目の N=3／性別／時点の平均値



26 週目の N=6/(3/性別)/時点/群の平均値±SD の推移

表 2.6.4.3.4.3-1 幼若ラットにおける 26 週間 IV 投与時の ALXN1215 のトキシコキネティクスパラメータ（報告書 670315, Appendix 9, Tables 1-1 及び 1-2, pages 1098-1099）

Dose (mg/kg/day)	**Study Week**	**AUC[0] (mg*h/L)**	**AUC/Dose (mg*h/L)/(mg/kg/day)**	**C_{max} (mg/L) (SE)**	**C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg/day)**
1	1	26.0	26.0	6.07	6.07
	4	30.7	30.7	8.01	8.01
	17	75.8	75.8	8.83	8.83
	26	16.1	16.1	8.37	8.37
1	26 Male (NCA)	14.8	14.8	12.5 (0.574)	12.5
	26 Female (NCA)	9.78	9.78	8.85 (0.802)	8.85
3	1	58.4	19.5	19.3	6.43
	4	88.6	29.6	25.5	8.50
	17	284	94.7	42.7	14.2
	26	61.9	20.6	42.3	14.1
	26 Male (NCA)	53.8	17.9	55.7 (2.80)	18.6
	26 Female (NCA)	31.7	10.6	35.0 (0.299)	11.7
13	1	364	28.0	115	8.85
	4	401	30.8	147	11.3
	17	1370	105	302	23.2
	26	379	29.2	281	21.6
	26 Male (NCA)	422	32.5	357 (4.47)	27.45
	26 Female (NCA)	239	18.4	305 (13.2)	23.5

注：26 週目を除き、すべてのパラメータは雌雄のデータを統合した PPK 解析から得られたものである。この PPK 解析では、AUC は、CL で用量を割る式により算出された。
a) AUC = $AUC_{0\text{-}24h}$、初回投与後の AUC_{∞}が報告されている 1 週目を除く。
26 週目に NCA を実施、PK パラメータは複合データセットに基づいて算出。
N=6(雄 3 及び雌 3)/時点/群（26 週目のみ）

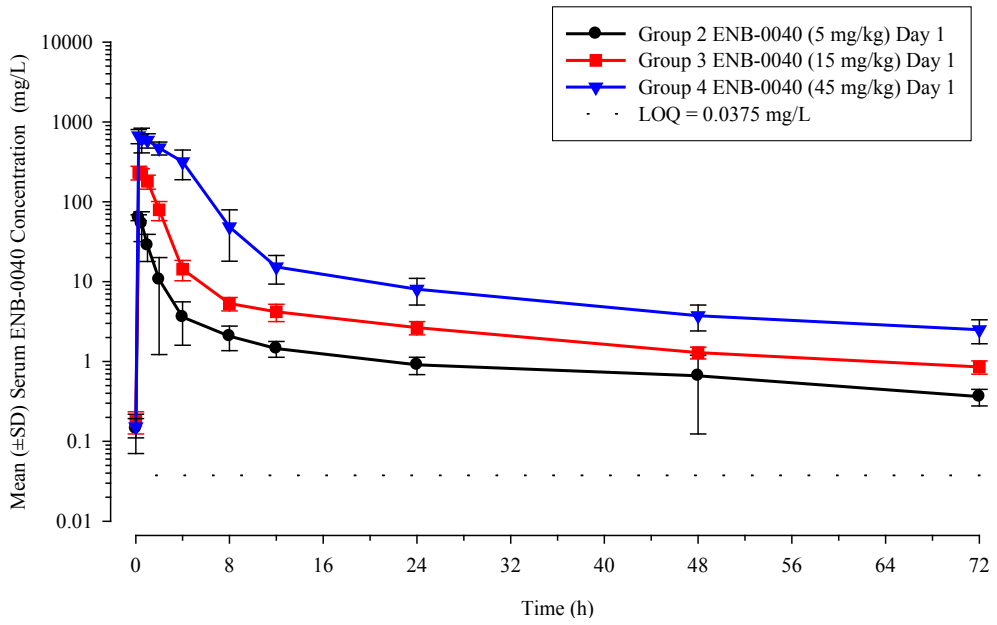
2.6.4.3.4.4 幼若サルへの 4 週間 IV 投与（報告書 1007-1503, Appendix XI. page 529）

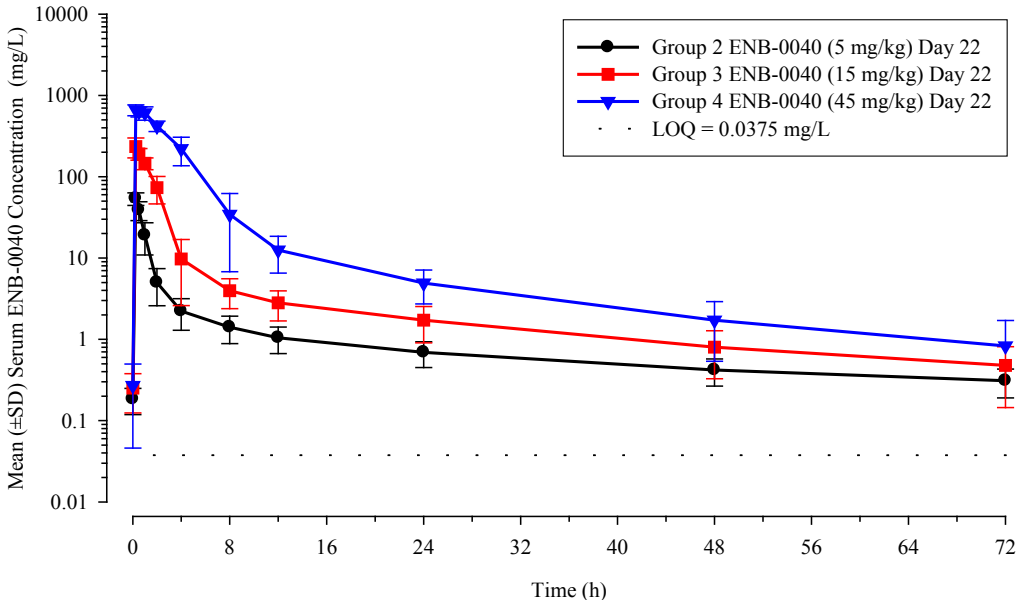
幼若サルに ALXN1215（TSAC 値[redacted] のロット番号[redacted]）0、5、15 又は 45 mg/kg/回を週 1 回 4 週間 IV 投与し（n=5／性別／群）、トキシコキネティクスの特性を解析した。TK 分析用の血液試料は、1 日目及び 22 日目に採取した。両試験日で、平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ 値（雌雄統合）は用量比を上回る増加を示したことから、非線形の薬物動態が示唆された。平均 C_{max} は、用量に比例して増加した。性別の影響も薬物の蓄積も認められなかった。雌雄統合データでの TK パラメ

ータを表 2.6.4.3.4.4-1 に示す。単回投与 PK 試験（2.6.4.3.1.3 項参照）で推定された半減期（31.4 時間、表 2.6.4.3.1.3.2-1）から予想された通り、週 1 回の投与計画では薬物の蓄積は認められなかった。NOAEL（45 mg/kg/回）では、平均 C_{max} は 691 mg/L 及び平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ は 2670 mg*h/L であった。

ADA 応答は、投与前（各群 10 匹）、29 日目（22 日目の最終投与の 7 日後、各群 10 匹）、57 日目（回復期間中、各群 4 匹）に評価した（報告書 1007-1503, Appendix VIII, page 338）。ADA 陽性シグナルは、5 mg/kg/回群では 57 日目に 4 匹のうち 1 匹（25%）、15 mg/kg/回群では 29 日目に 10 匹のうち 2 匹（20%）及び 57 日目に 4 匹のうち 1 匹（25%）、45 mg/kg/回群では 57 日目に 4 匹のうち 4 匹（100%）で認められた。低用量群及び中用量群では、ADA による 22 日目の全身曝露量への影響は様々で AUC は各群の AUC_{τ} 値と比較して無視できる程度～約 39%減少した。高用量群では、22 日目にすべてのサルが ADA 陰性であった。

図 2.6.4.3.4.4-1　幼若サルにおける 4 週間反復 IV 投与時の薬物濃度推移





N=10(5/性別)/群の平均値±SD の推移

表 2.6.4.3.4.4-1　幼若サルにおける週 1 回 4 週間反復 IV 投与時の ALXN1215 のトキシコキネティクスパラメータ（報告書 1007-1503, Appendix XI, page 535）

Study Day	Dose (mg/kg/week)	$AUC_{0\text{-}168h}$ (mg*h/L)	$AUC_{0\text{-}168h}$/Dose (mg*h/L)/(mg/kg)	C_{max} (mg/L)	C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)
1	5	142	28.4	68.1	13.6
	15	606	40.4	245	16.3
	45	3190	70.9	726	16.1
22	5	105	21.0	53.7	10.7
	15	524	34.9	236	15.7
	45	2670	59.3	691	15.4

PK パラメータの平均値
N=10(雄 5 及び雌 5)/群

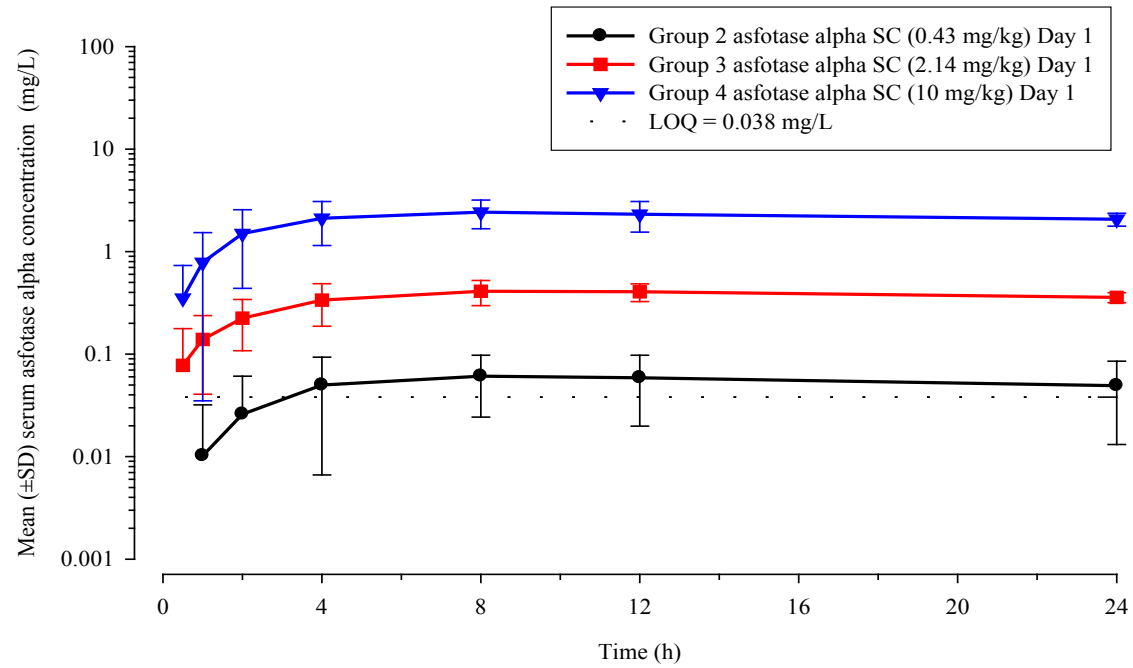
2.6.4.3.4.5　幼若サルへの 6 ヵ月反復 SC 投与（報告書 670388, Appendix 10, page 539）

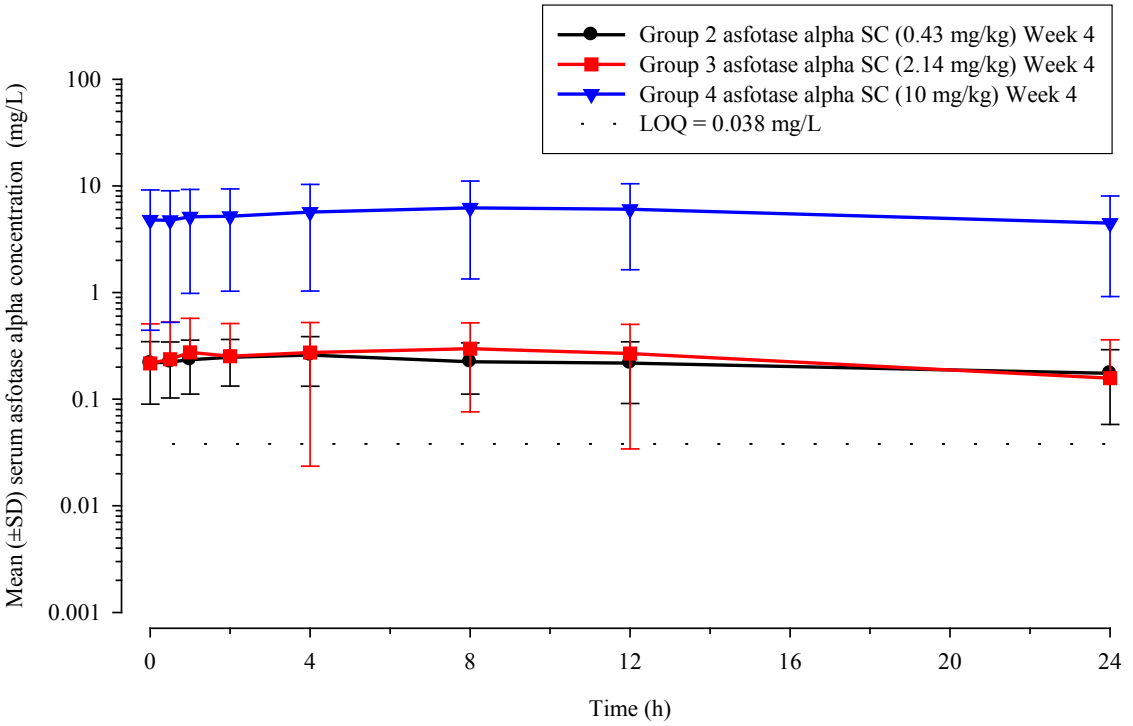
幼若サルに ALXN1215（TSAC 値[redacted] のロット番号[redacted]）0.43、2.14 又は 10 mg/kg/日を 1 日 1 回 6 ヵ月間 SC 投与後（n=5／性別／群）、トキシコキネティクスを評価した。TK 分析用の血液試料は、1 日目、4 週目及び 26 週目に採取した。

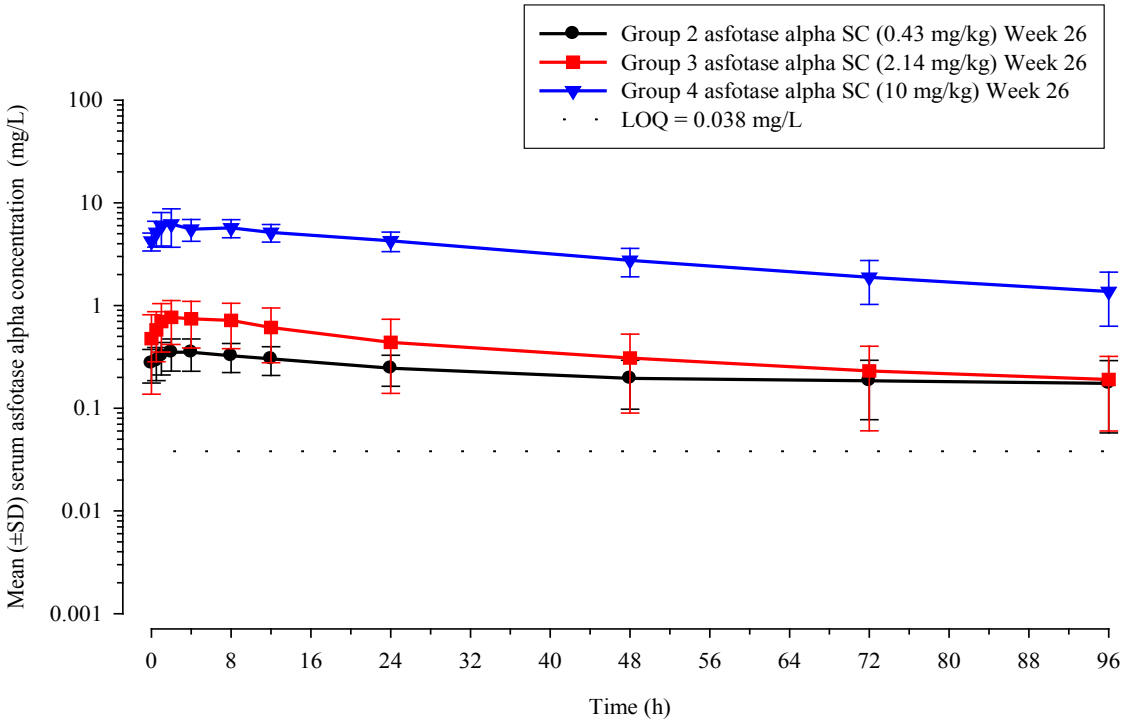
試験 1 日目では、平均（雌雄統合）$AUC_{0\text{-}24h}$ 値及び C_{max} 値は、用量比をわずかに上回る増加を示した（表 2.6.4.3.4.5-1）。4 及び 26 週目では、0.43 mg/kg/日群と 10 mg/kg/日群との間に、ほぼ用量に比例した $AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max} の増加が認められた。2.14 mg/kg/日群では、4 週目及び 26 週目の曝露量が一貫して低かったが、その理由は不明である。SC 投与時の吸収速度は、経時的に変化するようであった。表 2.6.4.3.4.5-1 に示す通り、t_{max} は 1 週目の約 8～12 時間から 4 週目の約 4～8 時間まで短縮し、さらに 26 週目には約 2～5 時間まで短縮した。性差は、試験したいずれの用量でも認められなかった。したがって、表 2.6.4.3.4.5-1 では雌雄を統合した TK パラメータを示す。0.43 mg/kg/日群及び 10 mg/kg/日群では 3～7 倍の薬物の蓄積［$AUC_{0\text{-}24h,wk26}$／$AUC_{0\text{-}24h,wk1}$ で算出］、2.14 mg/kg/日群では 0.8～2 倍の蓄積が観察された。NOAEL（10 mg/kg/日）では、平均 $AUC_{0\text{-}24h}$ は 124 mg*h/L、平均 C_{max} は 6.68 mg/L であった。

ADA の発現は、投与前、4、8、12、16、20、24 週目（各群 10 匹）及び 30 週目（回復期間終了時、各群 4 匹）にすべての用量群でモニターされた（報告書 670388, Appendix 8, page 476）。溶媒対照群及び投与前試料では、免疫応答は認められなかった。0.43 mg/kg/日群及び 2.14 mg/kg/日群では、投与期間中に 10 匹のうち 6 匹（60%）で ADA 陽性シグナルが観察された。30 週目（回復期間終了時）、0.43 mg/kg/日群の 4 匹のうちの 1 匹（25%）及び 2.14 mg/kg/日群の 4 匹のうち 3 匹（75%）が ADA 陽性シグナルを示した。10 mg/kg 群では ADA が検出されなかったが、用いられた ADA 分析法では薬物干渉の可能性（未評価）があるため、偽陰性の可能性を排除できない。26 週目の曝露量に対する ADA の影響は様々であり、AUC は各群の平均 AUC_{τ} 値に比べて無視できる程度～約 85%減少した。

図 2.6.4.3.4.5-1　幼若サルにおける 6 ヵ月反復 SC 投与の薬物濃度推移







試料採取期間は、1 日目及び 4 週目で 0～24 時間、26 週目で 0～96 時間であった。
N=10/群(5/性別)の平均値±SD の推移

表 2.6.4.3.4.5-1　幼若サルにおける 6 ヵ月反復 SC 投与時の ALXN1215 の平均トキシコキネティクスパラメータ（報告書 670388, Appendix 10, page 544）

Study Day/Week	Dose (mg/kg)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (mg*h/L)	$AUC_{0\text{-}24h}$ /Dose (mg*h/L)/(mg/kg)	C_{max} (mg/L)	C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)	t_{max} a) (h)
Day 1	0.43	1.38	3.21	0.0718	0.174	8
	2.14	8.50	3.97	0.446	0.208	12
	10	50.0	5.00	2.66	0.266	12
Week 4	0.43	5.22	12.1	0.265	0.616	4
	2.14	5.91	2.76	0.338	0.158	6
	10	132	13.2	6.62	0.662	8
Week 26	0.43	7.23	16.8	0.361	0.840	3
	2.14	14.7	6.87	0.796	0.372	2
	10	124	12.4	6.68	0.668	5

a)　中央値
$AUC_{0\text{-}24h}$ は、Week 4 および Week 26 の AUC_{τ}
脚注 a)の t_{max} を除きタイトルに示す PK パラメータの平均値
N=10/群(雌 5 及び雄 5)

2.6.4.3.5　妊娠ラット及びウサギにおける反復投与時のトキシコキネティクス

生殖・発生毒性試験のサポートのため、妊娠ラット及びウサギにおける ALXN1215 のトキシコキネティクスを、5 試験［ラットでの 3 試験（報告書 902233、902480、902238）及びウサギでの 2 試験（報告書 902236 及び 902237）］において評価した。しかし、試験 902233 の TK 部分は、生物試料分析法の問題により不適格と判定された（2.6.4.2.2.3.4.1 項参照）。血液試料は、妊娠／交

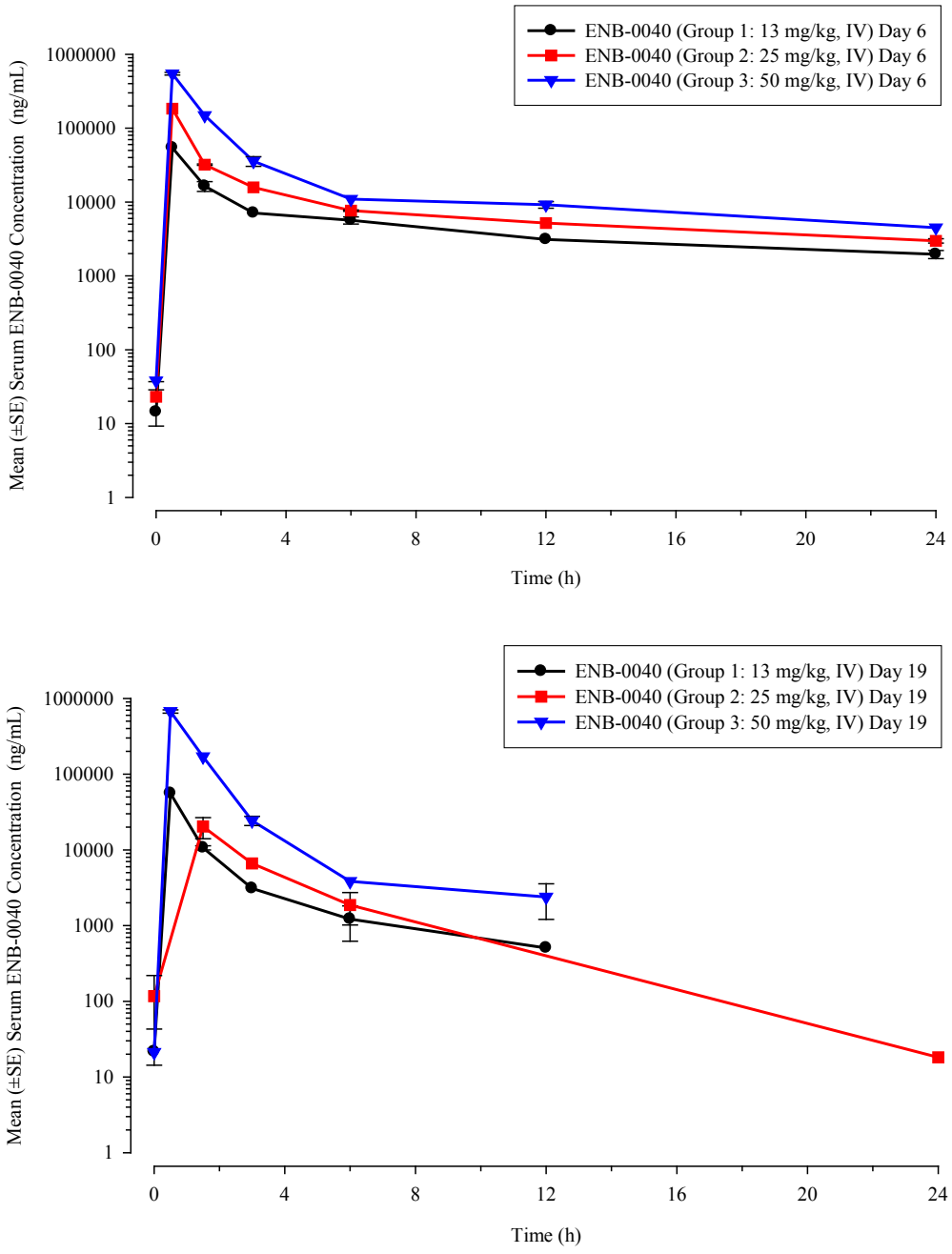
尾後 6/7 日目（初回投与後）及び 19 日目（最終投与後）に採取した。ラット及びウサギに ALXN1215 を 1 日 1 回 13 又は 14 日間反復 IV 投与後、$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max} は、用量比をわずかに上回る増加を示した。ラット及びウサギでは、薬物の蓄積は認められなかった。薬物が蓄積しなかった理由は、不明である。ADA による消失の加速が理由の 1 つかもしれない。。免疫原性の評価は実施しなかった。ADA 分析法が利用可能になり次第、13 日間ウサギ生殖毒性試験（2.6.4.3.5.2.2 項参照）で採取した保存試料を分析する予定である。

2.6.4.3.5.1 妊娠ラットへの 14 日間反復 IV 投与（報告書 902480 及び 902238）

2.6.4.3.5.1.1 妊娠ラットでの胚・胎児発生試験のサポートのためのトキシコキネティクス評価（報告書 902480, Appendix 9, page 198）

ラット胚・胎児発生試験（報告書 902233 及び 902234 Section 2.6.6）での TK 評価をサポートするため、妊娠ラット（n=3／時点／群）に ALXN1215（TSAC 値 [redacted] のロット番号[redacted]）13、25 又は 50 mg/kg を、1 日 1 回妊娠 6～19 日目にかけて（計 14 日間）IV 投与した。TK 分析用の血液試料を、6 日目及び 19 日目に採取した。IV 投与後、平均血清中薬物濃度（複合データ）は、すべての用量で投与後 24 時間まで定量可能であった。1 つの例外（25 mg/kg 群では 19 日目の $AUC_{0\text{-}24h}$ が低かった）を除き、$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max} は、両試験日で用量比を上回る増加を示し、非線形の薬物動態が示唆された。この結果は、非妊娠ラットでの 26 週間反復投与試験での結果と一致しており（2.6.4.3.4.3 項参照）、妊娠による動態の差がないことが示唆された。19 日目の $AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max} は、1 日目よりも大幅に低く（図 2.6.4.3.5.1.1-1 及び表 2.6.4.3.5.1.1-1）、薬物の蓄積がないことが示唆された。薬物が蓄積しなかった理由は不明である。ADA による消失の加速が理由の 1 つかもしれない。

図 2.6.4.3.5.1.1-1　妊娠 6～19 日目に 1 日 1 回 IV 投与後の妊娠ラットにおける薬物濃度推移



N=3/時点/群の平均値±SD の推移

表 2.6.4.3.5.1.1-1　妊娠 6～19 日目に ALXN1215 1 日 1 回 IV 投与時の妊娠ラットにおけるトキシコキネティクスパラメータ（報告書 902480, Appendix 9, page 201）

Gestation Day	Dose (mg/kg)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (mg*h/L)	$AUC_{0\text{-}24h}$ /Dose (mg*h/L)/(mg/kg)	C_{max} (mg/L) (SE)	C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)
6	13	167	12.8	54.3(13.9)	4.18
	25	422	16.9	183(35.5)	7.32
	50	1100	22.0	546(22.5)	10.9
19	13	104	8.00	55.7(5.82)	4.28
	25	128[0]	5.12	20.4(6.32)	0.816
	50	1150	23.0	673(33.9)	13.5

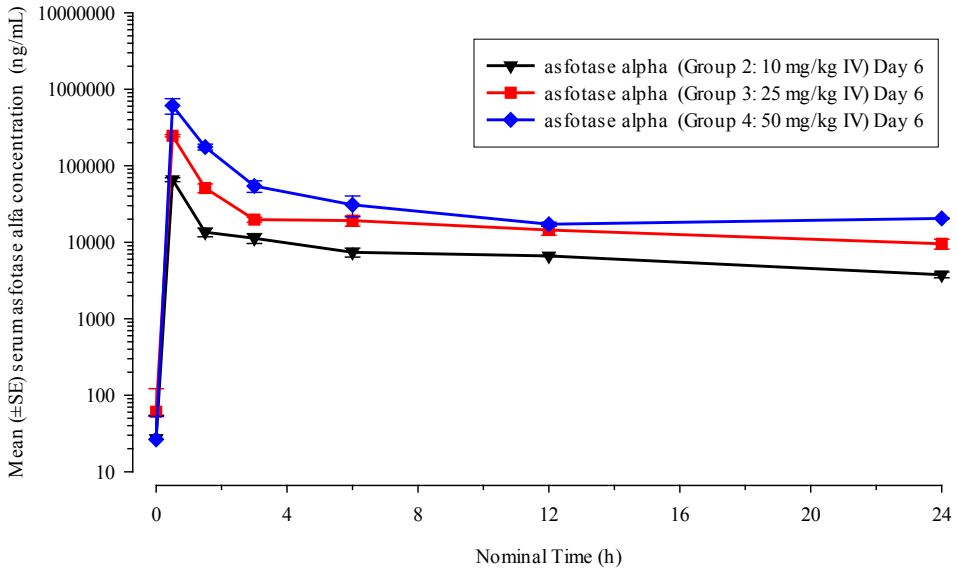
PK パラメータは複合データセットに基づいて算出した。
a)　生物学的分析法の誤りを補正した値（報告書 902238, Appendix 55, page 2123）。
注：すべての用量正規化 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は、四捨五入 C_{max} 値及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 値を使用して算出された。
N=3/時点/群

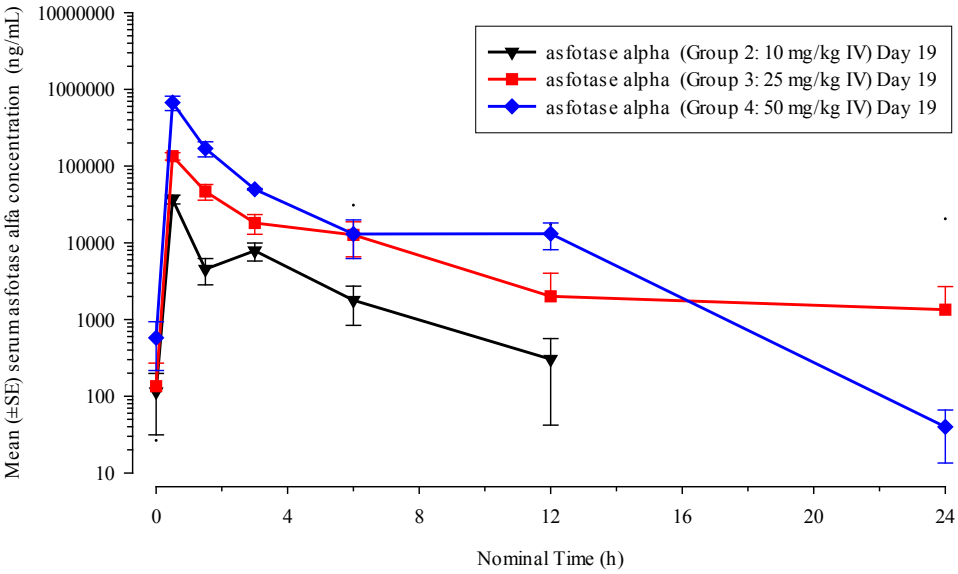
2.6.4.3.5.1.2　妊娠ラットにおける出生前及び出生後の毒性試験のサポートのためのトキシコキネティクス評価（報告書 902238, Appendix 55, page 2090）

ALXN1215 の出生前及び出生後の毒性試験のトキシコキネティクス群では、妊娠ラット（n=3／時点／群）に ALXN1215（TSAC 値 [redacted] のロット番号 [redacted]）10、25 又は 50 mg/kg/日を妊娠 6～19 日目に 1 日 1 回 IV 投与した（計 14 日間投与）。TK 分析用の血液試料は、妊娠 6 日目及び 19 日目に採取した。1 日 1 回反復 IV 投与後、妊娠 6 日目及び 19 日目の平均薬物濃度（複合データ）は多次指数関数的に低下した（図 2.6.4.3.5.1.2-1）。$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max} は、用量比を上回る増加を示し、用量設定試験のデータと一致していた（2.6.4.3.5.1.1 項参照）。10 mg/kg/日群及び 25 mg/kg/日群では、19 日目の全身曝露量は 6 日目よりも低かった（表 2.6.4.3.5.1.2-1）。10 mg/kg/日群、25 mg/kg/日群及び 50 mg/kg/日群での薬物蓄積比率［$AUC_{0\text{-}24h,gd19}$／$AUC_{0\text{-}24h,gd6}$］は、それぞれ 0.35、0.48 及び 0.91 であった。C_{max} 値でも、同様な傾向が認められた。

本試験では、用量で正規化した $AUC_{0\text{-}24h}$ は、妊娠ラットでの以前の TK 試験（2.6.4.3.5.1.1 項参照）の約 1.4～1.9 倍であったが、C_{max} は同等であったことに留意すべきである。本試験で AUC が高かったのは、使用した薬物ロットの TSAC 値が高かったためと考えられる（[redacted] 対 [redacted]）。この結果は、TSAC がクリアランスに及ぼす影響を評価したメタアナリシスの結果と一致していた（2.6.4.8.2 項参照）。NOAEL（50 mg/kg/日）での $AUC_{0\text{-}24h}$ は 1370 mg*h/L、C_{max} は 672 mg/L であった。

図 2.6.4.3.5.1.2-1　妊娠 6～19 日目に 1 日 1 回 IV 投与後の妊娠ラットにおける薬物濃度推移





N=3/時点/群の平均値±SD の推移

表 2.6.4.3.5.1.2-1　妊娠 6～19 日目に ALXN12151 日 1 回 IV 投与後の妊娠ラットにおけるトキシコキネティクスパラメータ（報告書 902238, Appendix 55, page 2093）

Gestation Day	Dose (mg/kg)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (mg*h/L)	$AUC_{0\text{-}24h}$ /Dose (mg*h/L)/(mg/kg)	C_{max} (mg/L) (SE)	C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)
6	10	243	24.3	65.9(3.85)	6.59
	25	703	28.1	247(8.25)	9.88
	50	1500	30.0	612(140)	12.2
19	10	85.8[0]	8.58	36.9(4.87)	3.69
	25	340	13.6	134(14.7)	5.36
	50	1370[0]	27.4	672(143)	13.4

PK パラメータは複合データセットに基づいて算出した。
a)　生物試料分析法の誤りを補正した値（報告書 902238, Appendix 55, page 2123）
注：すべての用量正規化 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は、四捨五入 C_{max} 値及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 値を使用して算出された。
N=3/時点/群

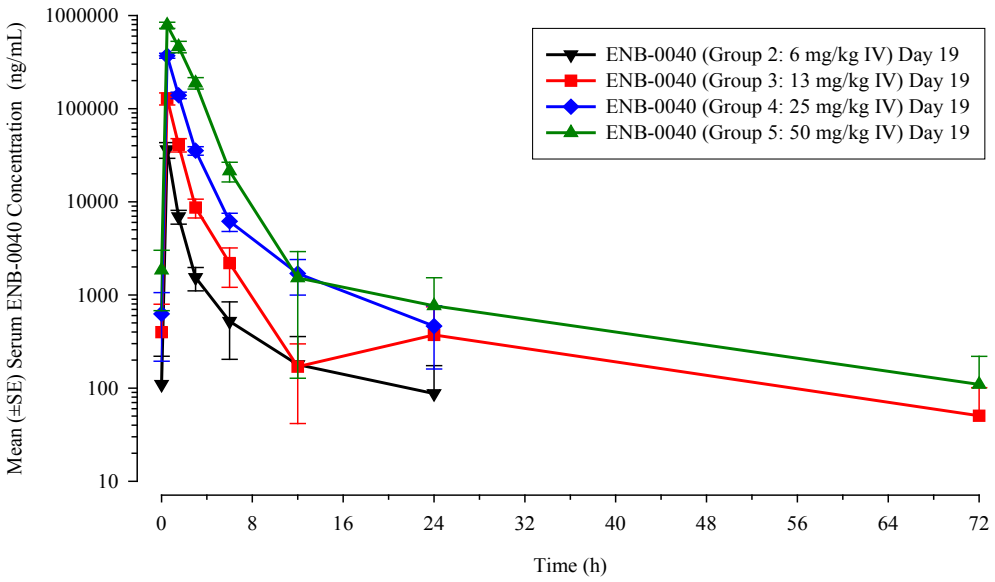
2.6.4.3.5.2　妊娠ウサギへの 13 日間 IV 反復投与

2.6.4.3.5.2.1　妊娠ウサギにおける胚・胎児発生用量設定試験のサポートのためのトキシコキネティクス（報告書 902236, Appendix 16, page 253）

妊娠ウサギ（n=5／群）に、ALXN1215（TSAC 値 [redacted]、ロット [redacted]）6、13、25 又は 50 mg/kg/日を 1 日 1 回交尾後 7～19 日目に 13 日間 IV 投与した。TK 分析用の血液試料を、交尾後 19 日目に採取した（7 日目の試料なし）。反復 IV 投与後、ALXN1215 の血清中濃度が定量可能であった最終タイムポイントは、用量によって異なり、投与後 6～72 時間であった。

全体として、平均 $AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max} は、用量比を上回る増加を示し（表 2.6.4.3.5.2.1-1）、非線形の薬物動態が示唆された。これらの結果は、非妊娠ウサギでの結果と一致していた（2.6.4.3.3 項参照）。TK 試料が 19 日目にしか採取されなかったため、薬物の蓄積は評価できなかった。

図 2.6.4.3.5.2.1-1　妊娠ウサギにおける交尾後 7～19 日目に 13 日間反復 IV 投与後の薬物濃度推移



N=5/群の平均値±SD の推移

表 2.6.4.3.5.2.1-1　妊娠ウサギにおける交尾後 7～19 日目に ALXN121513 日間反復 IV 投与時のトキシコキネティクスパラメータ（報告書 902236, Appendix 16, Section 1, Synopsis Table, page 256 及び報告書 902236 Amendment No. 1, Attachment C, Table 5.1, page 56）

Dose (mg/kg)	$AUC_{0\text{-}24h}$[0] (mg*h/L)	$AUC_{0\text{-}24h}$/Dose (mg*h/L)/(mg/kg)	C_{max} (mg/L)	C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)
6	64.6	10.8	36.2	6.03
13	245	18.9	128	9.85
25	727	29.1	370	14.8
50	2040[b)]	40.8	785	15.7

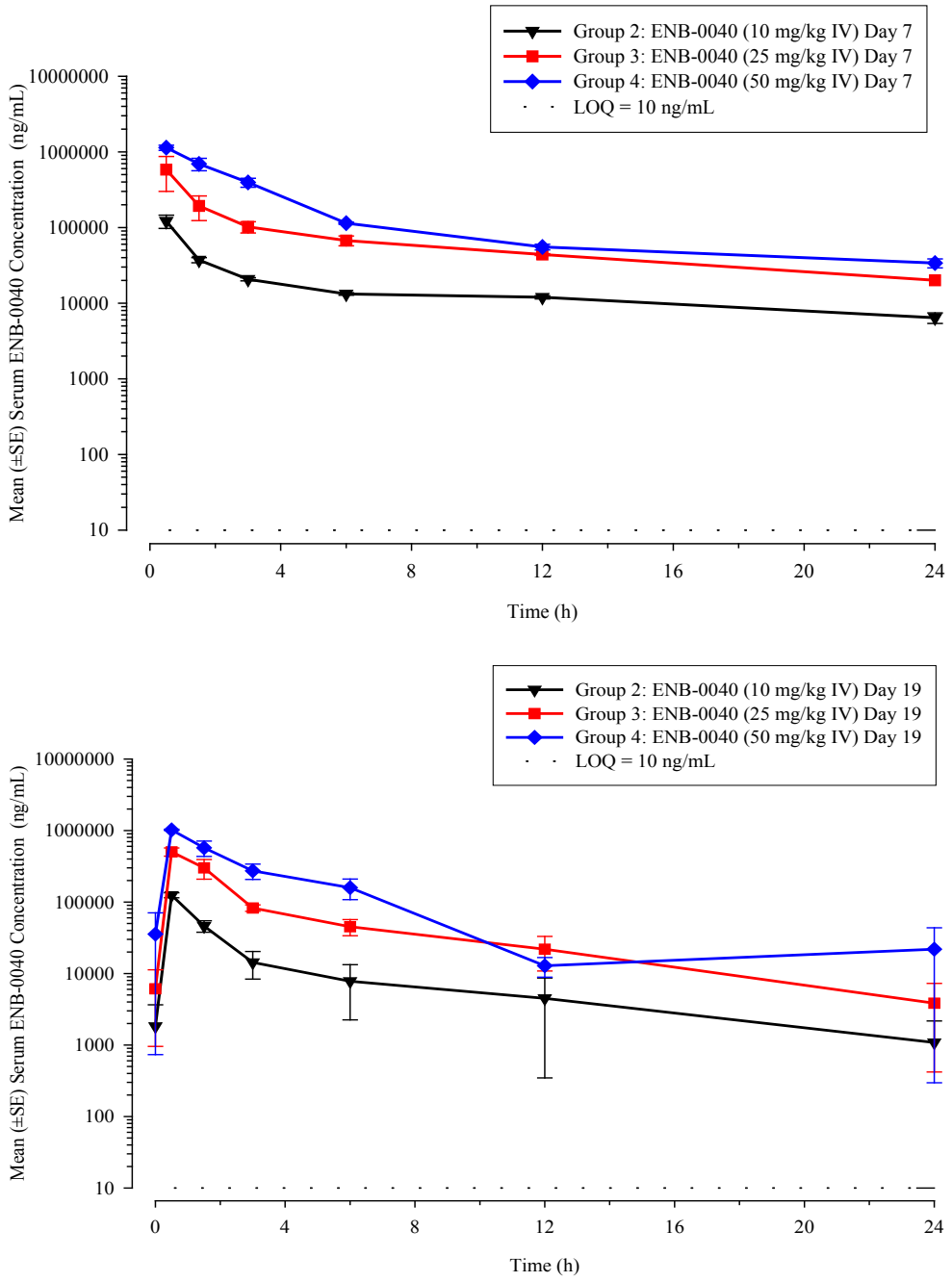
PK パラメータの平均値
a) 6 mg/kg 群では、投与 24 時間後までに 3 匹で濃度が定量限界未満となった（すなわち、t_{last} < 24 時間）。13 mg/kg 群では、1 匹で t_{last} < 24 時間となった。
b) 生物試料分析法の誤りを補正した値（報告書 902236, Amendment No.1, Attachment C, Table 5.1, page 56）。
注：すべての用量正規化 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は、四捨五入 C_{max} 値及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 値を使用して算出された。
N=5/群

2.6.4.3.5.2.2　妊娠ウサギにおける胚・胎児発生本試験のサポートのためのトキシコキネティクス評価（報告書 902237, Appendix 18, page 392）

妊娠ウサギ（n=3／群）に ALXN1215（TSAC 値[redacted]、ロット番号[redacted]）10、25 又は 50 mg/kg/日を交尾後 7～19 日目に IV 投与した（計 13 日間投与）。TK 分析用の血液試料を交尾後 7 日目及び 19 日目に採取した。IV 投与時の AUC 及び C_{max} の用量比例性は、用量範囲により異なった。全般的に、10 mg/kg/日から 25 mg/kg/日にかけては、7 日目及び 19 日目の $AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max} は用量比を上回る増加を示したが（表 2.6.4.3.5.2.2-1）、25 mg/kg/日から 50 mg/kg/日にかけては、

$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max} はほぼ用量に比例して増加した。ALXN1215 の血清中濃度の低下は、19 日目の方が 7 日目よりも速かった（図 2.6.4.3.5.2.2-1）。薬物蓄積比率［($AUC_{0\text{-}24h,pt7}$ に対する $AUC_{0\text{-}24h,pt19}$ の比率］は、0.76～0.86 であった。19 日目の用量で正規化した $AUC_{0\text{-}24h}$ は、用量設定試験（2.6.4.3.5.2.1 項参照）で得られた値の約 2～3 倍であった。この最終試験での AUC が高かった理由としては、使用した薬物ロットの TSAC が比較的高かったためと考えられる（[redacted]対[redacted]）。交尾後 19 日目では、血清中濃度の動物間でのばらつきが大きかった。交尾後 19 日目に 10 mg/kg/日群で認められたばらつき（%CV）は 173%であったのに対し、交尾後 7 日目でのばらつきは 34.6%であった（図 2.6.4.3.5.2.2-1）。動物間のばらつきが大きかった理由は不明であるが、反復投与により ADA が発現した可能性を否定することはできない。TK 分析では、ALXN1215 に対する免疫応答を評価しなかった。ADA 分析法が利用可能になり次第、本試験で採取した保存試料を分析する予定である。NOAEL（25 mg/kg/日）では、$AUC_{0\text{-}24h}$ は 1570 mg*h/L、C_{max} は 504 mg/L であった。

図 2.6.4.3.5.2.2-1　妊娠ウサギにおける交尾後 7～19 日目にかけて反復 IV 投与後の薬物濃度推移



N=3//群の平均値±SD の推移

表 2.6.4.3.5.2.2-1　妊娠ウサギにおける交尾後 7～19 日目にかけて ALXN1215 を反復 IV 投与時の平均トキシコキネティクスパラメータ（報告書 902237, Appendix 18, page 395）

Postcoitum Day	**Dose (mg/kg/day)**	**$AUC_{0\text{-}24h}$ (mg*h/L)**	**$AUC_{0\text{-}24h}$ /Dose (mg*h/L)/(mg/kg)**	**C_{max} (mg/L)**	**C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)**
7	10	446	44.6	121	12.1
	25	1980	79.1	584	23.3
	50	4190	83.8	1140	22.7
19	10	322	32.2	125	12.5
	25	1570	62.9	504	20.2
	50	3440	68.7	1020	20.4

PK パラメータの平均値、N=3/群

2.6.4.4 分布

ALXN1215 の組織分布の特性を、幼若マウスでの ^{125}I-ALXN1215 単回 IV 投与試験及び新生児マウスでの ^{125}I-ALXN1215 反復 SC 投与試験の 2 試験において検討した。^{125}I-ALXN1215 は、長骨に選択的に分布した。頭蓋冠、脛骨及び大腿骨などの骨組織の AUC 及び C_{max} は、腎臓、肝臓、肺及び筋肉などの軟部組織よりも高かった。放射能は、64 時間以上長骨中に留まり、96～168 時間の試験期間にわたり低下を示さなかったことから、ALXN1215 は骨を標的とし、骨に保持されることが示唆された。血液／血清中の放射能は、骨組織中の放射能よりも速く消失した。

2.6.4.4.1 幼若マウスにおける単回 IV 投与後の ALXN1215 の組織分布（報告書 ALP-PD-01）

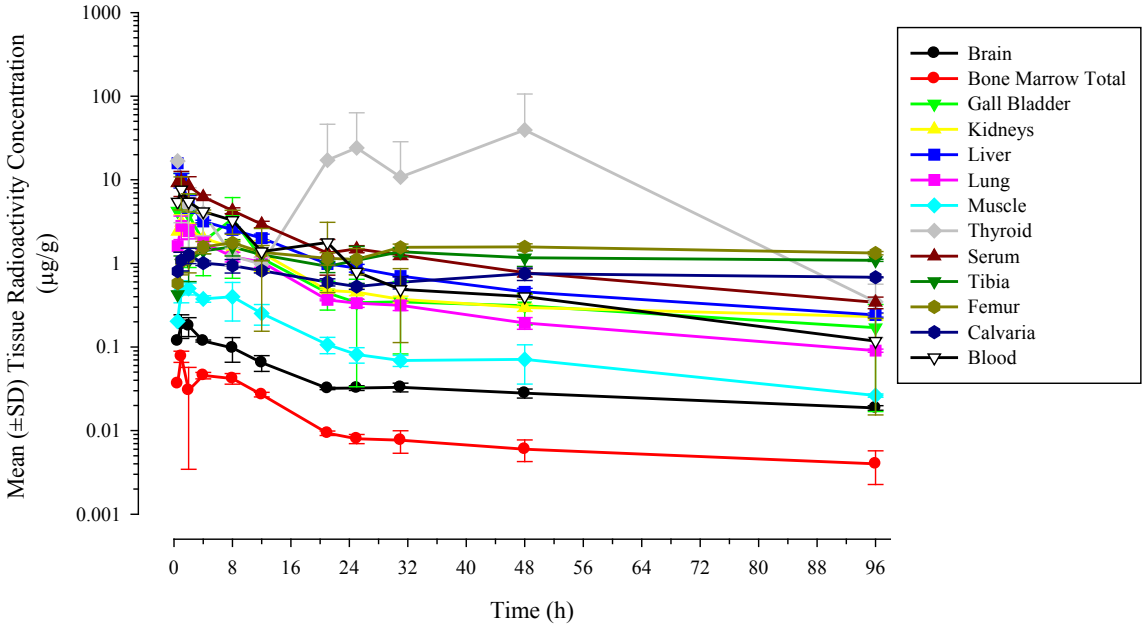
雄の幼若（生後約 5 週）129J マウス 33 匹に、用量 5 mg/kg、放射能 380 μCi/kg を目標に ^{125}I-ALXN1215 を単回 IV 投与した。実際の投与量は、4.1 mg/kg、放射能 280 μCi/kg であった。投与後 96 時間にわたり複数時点で様々な組織試料を採取し（n=3／時点）、分析した。

^{125}I-ALXN1215 の血液／血清中濃度は、二重指数関数的に低下した（図 2.6.4.4.1-1）。血液／血清中の放射能濃度から算出された V_{ss} は、約 904 g/kg であり、この値はマウスの体内総水分量（約 725 mL/kg）[3)]の約 1.2 倍に相当することから、末梢組織への ALXN1215 の分布が示唆された。頭蓋冠、脛骨及び大腿骨での組織対血液比は、それぞれ 0.732、1.19 及び 6.75 であった（報告書 ALP-PD-01, Section 8.1, Table 3, page 18）。肝臓、腎臓、肺、胆嚢などの血流量が豊富な器官での組織対血液比は、0.468～1.17 であった。脳での ^{125}I-ALXN1215 の組織対血液比が最も低かったことから（0.0619）、ALXN1215 の中枢神経系への移行は少ないと考えられた。長骨では分布量の推移が平坦であったため（図 2.6.4.4.1-1）、AUC_{∞}を正確に推定することができなかった。そのため、頭蓋冠及び脛骨での組織対血液比は、$AUC_{last,tissue}$／$AUC_{\infty,blood}$ の割合に基づき算出されたが、$AUC_{last,tissue}$／$AUC_{\infty,blood}$ 比は実際より低く見積もられている可能性がある。大腿骨及び腎臓での組織対血液比は、$AUC_{\infty,tissue}$／$AUC_{\infty,blood}$ の割合に基づいて求められた。しかし、$AUC_{\infty,tissue}$ の外挿面積が 25%を超えるため、大腿骨及び腎臓での組織対血液比は不正確である。

血清／血液中の放射能は、骨組織中の放射能よりも速く減少した。ほとんどの組織で t_{max} は 0.5～2 時間であったが、脛骨及び大腿骨では 8 時間であったことから（図 2.6.4.4.1-1）、骨への移行は緩やかであると考えられる。表 2.6.4.4.1-1 に示すように、^{125}I-ALXN1215 は、頭蓋冠、脛骨及び大腿骨に長時間留まり、投与後 32～96 時間にかけて平坦な分布／消失の推移を示したことから、骨を標的とし、骨に保持されることが示唆された。

骨組織の総放射能のうち骨髄の放射能が占める割合を検討したところ、その割合は無視できる程度であった。したがって、2 回目の組織分布試験では骨髄試料は採取されなかった（2.6.4.4.2 項参照）。

図 2.6.4.4.1-1 ^{125}I-ALXN1215 5 mg/kg 単回 IV 投与後の幼若マウスの様々な組織での放射能濃度の平均値（±SD）



N=3/時点の平均値±SD の推移

表 2.6.4.4.1-1 幼若 129J マウスにおける単回 IV 投与後の ^{125}I-ALXN1215 の組織対血液比（報告書 ALP-PD-01, Section 8.1, Table 3, page 18）

Tissue	AUC_{∞} (h*µg/g)	Ratio[a)]	Tissue	AUC_{∞} (h*µg/g)	Ratio[a)]
Blood	95.1	NA	Kidneys	86.7[b)]	0.912
Bone Marrow Total	1.50[b)]	0.0157	Liver	111	1.17
Brain	5.89[b)]	0.0619	Lung	44.5	0.468
Calvaria	69.6[c)]	0.732	Muscle	12.1	0.127
Femur	642[b)]	6.75	Serum	163	1.72
Gall Bladder	78.9	0.830	Tibia[c)]	113	1.19

AUC: 平均値、Ratio: 平均値比=AUC_{∞}(tissue)/AUC_{∞}(blood)
a) $AUC_{\infty,tissue}$／$AUC_{\infty,blood}$ の算出値。
b) 算出値のうち外挿した面積が 25%を超える。
c) $AUC_{last,tissue}$／$AUC_{\infty,blood}$ の算出値。
NA＝ 該当なし
N=3/時点

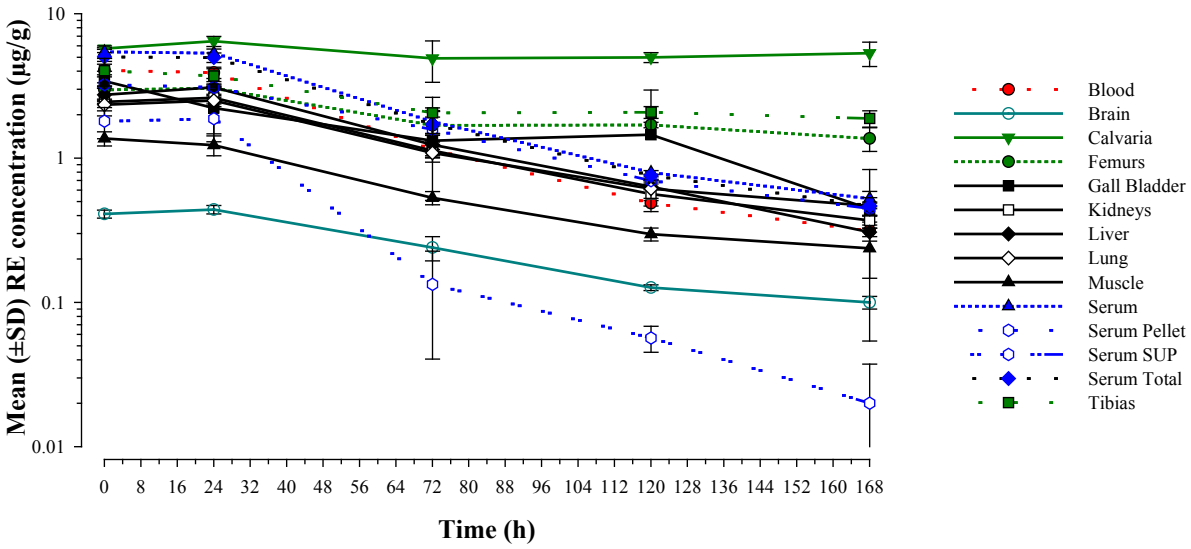
2.6.4.4.2 新生児マウスにおける反復 SC 投与時の組織分布（報告書 ALP-PD-02）

非臨床有効性試験を新生児マウスで行ったため、ALXN1215 の組織分布も新生児 CD-1 マウスで評価した。129J マウスとは異なるが、探索的非臨床薬理／PK 試験の結果（社内資料）から、ALXN1215 の PK は系統に依存しないと考えられる。

CD-1 新生児マウス 15 匹（n=3／時点）に ^{125}I-ALXN1215 4.3 mg/kg（98.9 µCi/kg）1 日 1 回 14 日間 SC 投与した。試験 15 日目の複数時点で組織を採取した。その結果、検討した組織のうち、脳での組織対血液比（0.113）及び C_{max}（0.440 µg/g）が最も低かったことから、ALXN1215 の中

枢神経系への移行は少ないと考えられた（報告書ALP-PD-02, Section 9.2, Table 3, page 17及びTable 1, page 15）。長骨（頭蓋冠、脛骨及び大腿骨）における ^{125}I-ALXN1215 の AUC_{τ} 及び C_{max} は、軟部組織（脳、胆嚢、腎臓、肝臓、肺及び筋肉）よりも高かった。長骨での AUC の組織対血液比（$AUC_{\tau,tissue}$／$AUC_{\tau,blood}$）は、0.780～1.65 であった。他の組織におかる組織対血液比は、0.113～0.790 であった。このデータから、ALXN1215 は骨組織に選択的に保持されることが確認された。図 2.6.4.4.2-1 に示すように、^{125}I-ALXN1215 は、頭蓋冠、脛骨及び大腿骨に長時間留まり、投与後 72～168 時間にわたって平坦な分布／消失の推移を示した。血液／血清中の薬物関連放射能は、骨組織中の薬物関連放射能よりも速く消失した。反復 SC 投与時、t_{max} は検討したすべての組織で 24 時間（初回試料採取時点）であった。

図 2.6.4.4.2-1　[^{125}I]ALXN1215 4.3 mg/kg14 日間反復 SC 投与時の新生児マウスの様々な組織での放射能濃度の平均値（±SD）



RE = 放射能に等しい
SUP = 上澄み
Serum Total = 血清 SUP 及び血清ペレットでの濃度の合計
N=3/時点の平均値±SD の推移

表 2.6.4.4.2-1　新生児マウスにおける ^{125}I-ALXN1215 の AUC の組織対血液比（報告書ALP-PD-02, Section 9.2, Table 3, page 17）

Tissue	AUCτ (h*µg/g)	Ratio[a)]	Tissue	AUCτ (h*µg/g)	Ratio[a)]
Blood	93.8	NA	Liver	74.2	0.790
Brain	10.6	0.113	Lung	60.2	0.641
Calvaria	155	1.65	Muscle	29.5	0.315
Femurs	73.2	0.780	Serum	128	1.36
Gall Bladder	53.4	0.569	Tibias	89.0	0.948
Kidneys	62.7	0.668			

AUC: 平均値、Ratio: 平均値比=AUC_{∞}(tissue)/AUC_{∞}(blood)
a) $AUC_{\tau,tissue}$／$AUC_{\tau,blood}$ の算出値。
NA = 該当なし
N=3/時点

2.6.4.5 代謝（動物種間の比較）

ALXN1215 の非臨床代謝試験は特に実施していない。

2.6.4.6 排泄

ALXN1215 の非臨床排泄試験は特に実施していない。一般的に、糸球体ろ過のカットオフ分子量（> 60 kDa）[6)]を上回る IgG 及び Fc 領域を含む融合タンパク質のような比較的大きなタンパク質医薬品は、（異化などにより）小さなペプチドやアミノ酸へと分解され、血液及び組織液中から消失し、アミノ酸は新たなタンパク質の合成に再利用される [7)]。非特異的消失経路として、内皮細胞のほか、単球、マクロファージ、クッパー細胞などの細網内皮系（RES）細胞のリソソームによる分解が考えられる。この経路により消失するタンパク質医薬品は、非特異的エンドサイトーシス又はピノサイトーシスにより細胞内に取り込まれると考えられる。特定のタンパク質医薬品に対し特異的な受容体を発現する細胞内での異化が、主要な特異的消失経路である。この場合、細胞内への取り込みは、標的受容体（グリコール受容体、Fc 受容体）を含む特異的受容体と結合することにより起こる。Fc 領域を含む融合タンパク質などのタンパク質医薬品は、保護的受容体である内皮細胞及び RES 細胞の新生児 Fc 受容体（FcRn）に結合することにより分解を回避し、長い半減期（最長 4 週間）を達成していると考えられる。

ALXN1215 の消失経路を検討するため、非臨床 PK／TK 試験での薬物動態の非線形性の評価、TSAC が PK に及ぼす影響についてのメタアナリシス（2.6.4.8.2 項参照）、ALXN1215 と他の Fc 融合タンパク質との FcRn 結合能及びヒトでの半減期の比較など、包括的な解析を実施した。ヒト及び動物の試験で得られた PK/PD データ及び免疫原性データ、*in vitro* 試験の結果及び ALXN1215 の分子構造情報からは、ALXN1215 固有の消失経路を示す証拠は得られなかった。ALXN1215 の排泄は、他の Fc 融合タンパク質の排泄に関与すると考えられる一般的機序により支配されている可能性が高い（報告書 CPR-0002）。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

ALXN1215 の非臨床薬物動態学的薬物相互作用試験は、実施していない。2.6.4.6 項に記載した通り、タンパク質医薬品の消失経路は、小分子の消失経路とは異なる。小分子は通常、チトクローム P450 を介する酸化や抱合により代謝される。タンパク質医薬品は、これらの経路では代謝されない。したがって、ALXN1215 が併用小分子医薬品の薬物動態に影響を及ぼす可能性は低い。同様に、併用小分子医薬品が ALXN1215 の PK に影響を及ぼす可能性も低い。

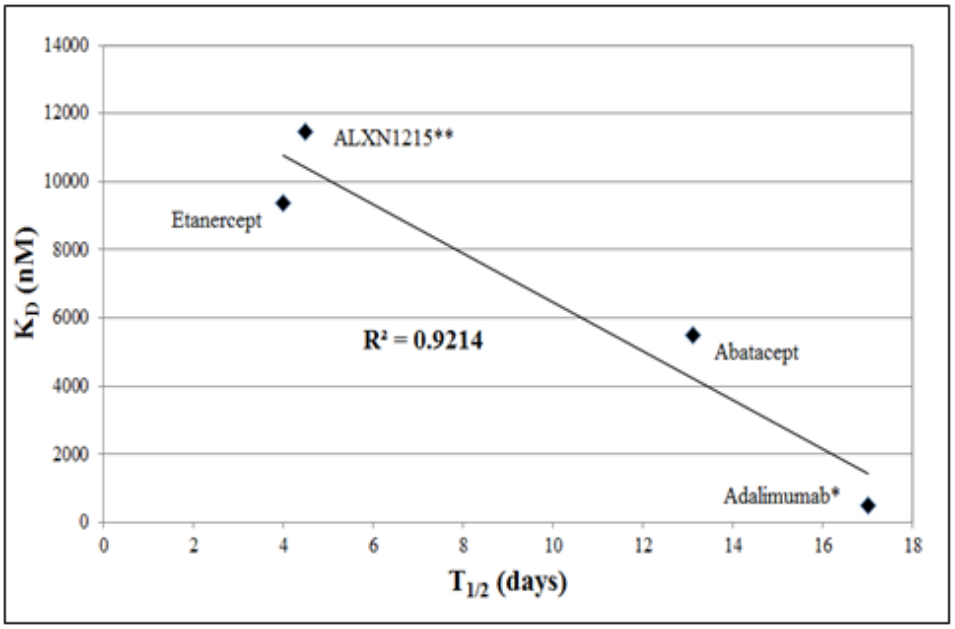
2.6.4.8 その他の薬物動態試験

2.6.4.8.1 ALXN1215 の消失における FcRn の役割（報告書 GTR-0569）

ALXN1215 のクリアランスに対する FcRn-誘発リサイクルの相対的貢献度を評価するため、ALXN1215 に対する FcRn の結合親和性を評価する 1 本の in vitro 試験を実施した。親和性は特に、Suzuki らの報告（*J Immunol. 2010. 184(4):1968-1979,* m4.3.51）による pH 6.0 での表面プラズモン共鳴（[redacted]）を用いて測定した。ヒト FcRn を 10 mM の酢酸ナトリウム緩衝液（pH 5.0）で希釈し、目標値を 300 RU としたアミン結合を用いて Biacore CM5 チップのフローセル 4 上に固定した。フローセル 3 は対照セルとしてブランク固定を使用した。ALXN1215 ならびに融合タンパク質を含むその他の Fc ドメインであるアバタセプトとエタネルセプトの二つを泳動用バッファーで範囲が 42～5360 nM となる様々な濃度に希釈した。泳動用バッファーの流速は 20µL/分とした。各濃度の試料用に乖離時間 150 秒で 40 µL (120s)の注入液を調製した。上澄みを注射用 100 mM トリスと 200 mM の NaCl で 4 分間、再生させた（80 µL 注入液）。薬物動態の解析は、BIA evaluation ソフトプログラム内の bivalent analyte モデルを RI 定数をゼロにして実施した。回帰分析（図 2.6.4.8.1-1 及び表 2.6.4.8.1-1）に基づくと、ALXN1215 ならびに Fc ドメインを含む二つの融合タンパク質の臨床的半減期と FcRn の結合親和性との間には負の相関がみられた（R^2=0.921）。

この結果より、ALXN1215 のクリアランスに対する FcRn-誘発リサイクルの相対的貢献度は他の Fc-融合タンパク質と同様であることが示された。したがって、ALXN1215 の動態は他の Fc-融合タンパク質の動態が果たしている役割と考えられている機序によって制御されている様である（2.6.4.6 項）。

図 2.6.4.8.1-1 ALXN1215 及び Fc 領域を含む融合タンパク質の FcRn 結合能（K_D）と半減期との関係



* 文献で報告された平均半減期。
** 平均半減期：報告に記載された範囲の平均値（3～6 日）。
ALXN1215 =アスホターゼ　アルファ。

表 2.6.4.8.1-1　ALXN1215 と Fc 領域を含む融合タンパク質との FcRn 結合能（K_D）及びヒトでの半減期の比較（報告書 GTR-0569, Table 2, page 6）

Structure ID	Fc-Domain Containing Therapeutic Protein	Affinity to FcRn K_D (nM)	Half-Life in Humans (days)
Fc-fusion protein	Abatacept (Orencia®)	5490	13.1[a)]
Fc-fusion protein	Etanercept (Enbrel®)	9380	4[a)]
Fc-fusion protein	Asfotase Alfa	11400	2-7[b)]

a) 文献[8)]から取得した値。
b) 報告書 GTR-0569 の発行時、予備的 PK 解析に基づきヒトでの半減期を 3～6 日と記入していたが、本表では最新の情報を提示する。

2.6.4.8.2　総シアル酸含量が ALXN1215 の吸収及び消失に及ぼす影響（報告書 CPR-0003）

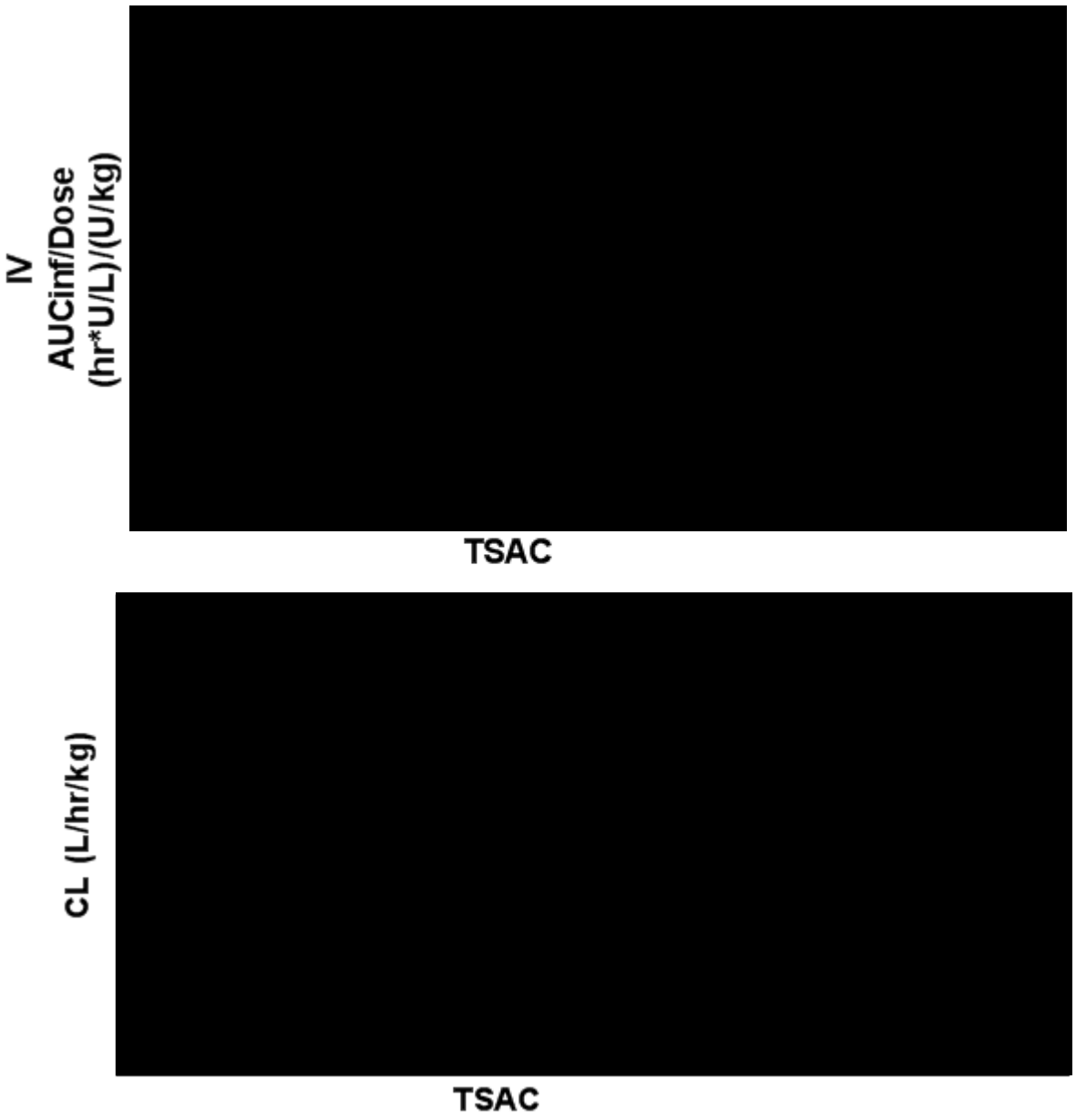
哺乳類細胞株（チャイニーズハムスター卵巣細胞など）で産生される組換え糖タンパク質の複合型 N-結合型糖鎖の末端単糖は、通常シアル酸で占められる。シアル酸の有無は、電荷、タンパク質分解での切断可能部位及びリガンドや受容体との結合可能部位といった糖タンパク質の構造的、物理的及び化学的性質に影響を及ぼす可能性がある。TSAC の違いは、タンパク質医薬品の吸収、分布及び排泄に影響を及ぼすことが報告されている[9)10)11)]。TSAC が PK に影響を及ぼす機序として、1）肝臓のアシアロ糖タンパク質受容体との結合、2）FcRn との結合能の違い、3）リンパ吸収・分布時の細胞外マトリックスとの相互作用の電荷による違い、及び 4）吸収時の体循環に入る前又は後にタンパク質分解を受ける部位の露出の違いなどが提唱されている[9)10)11)]。

本メタアナリシスの目的は、C57BL/6 マウスに単回 IV 又は SC 投与時の ALXN1215 の PK と TSAC との相関性を検討することであった。相関分析は、TSAC 値[redacted]～[redacted]の[redacted]ロットを用いたマウス PK 試験 25 試験のデータを使用して実施した。

表 2.6.4.8.2-1 及び図 2.6.4.8.2-1 に示すように、単回 IV 投与時、TSAC 値と用量正規化 AUC_∞ とは見かけ上正の相関関係にあることが示され（R^2 値 0.39）、TSAC 値と CL は負の相関関係にあることが示唆された（R^2 値 0.45）。これらのデータから、シアリル化率が低いほど、ALXN1215 の消失が加速し、AUC が減少すると考えられた。

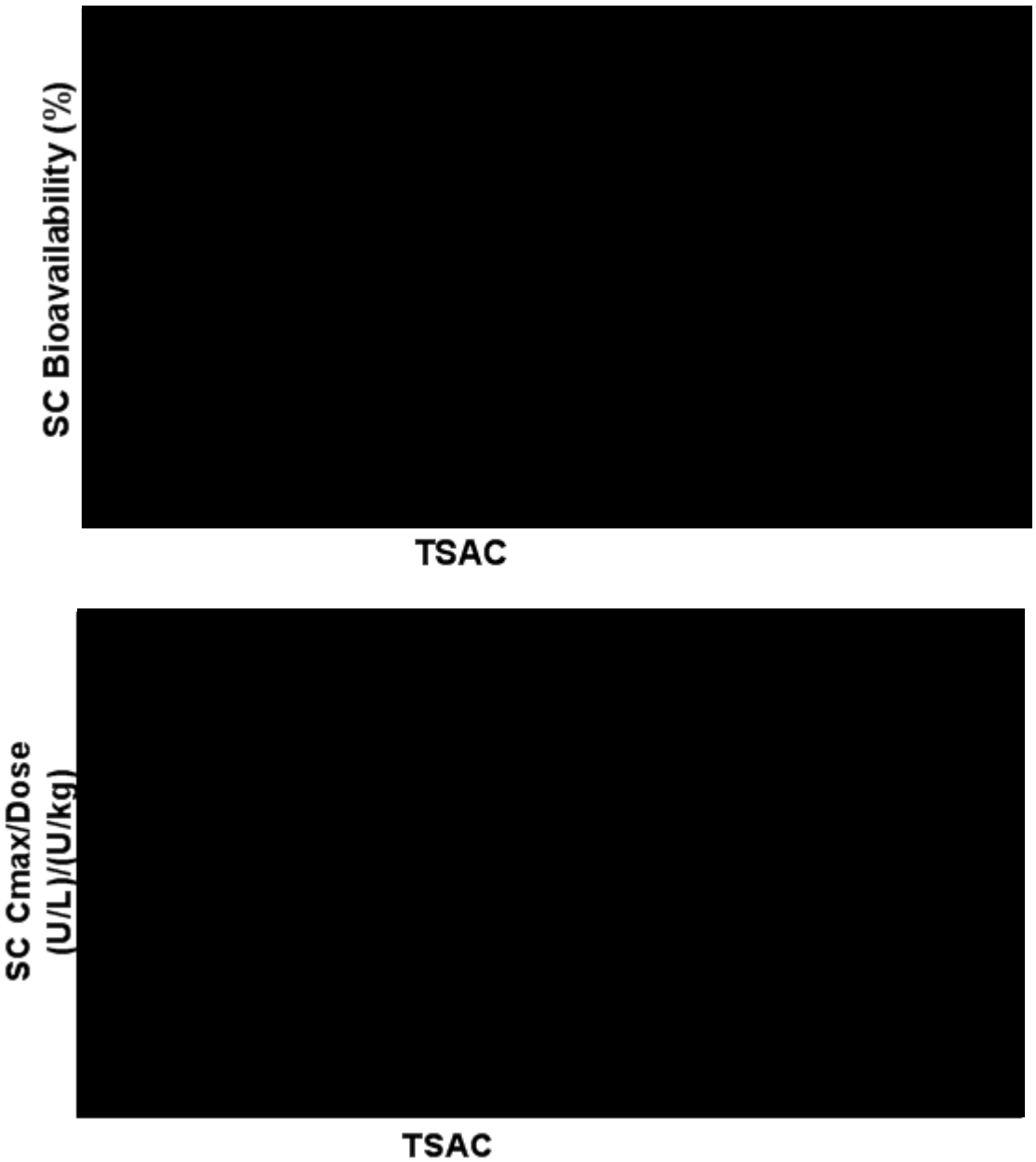
同様に、TSAC は SC 投与時のバイオアベイラビリティ（IV 投与時に対する SC 投与時の AUC の割合）及び SC 投与時の用量正規化 C_{max} とも、R^2 値それぞれ 0.68 及び 0.51 で正の相関関係にあることが示唆された（表 2.6.4.8.2-1 及び図 2.6.4.8.2-2）。これらのデータから、シアリル化率が低いほど、SC 投与後の ALXN1215 の吸収が減少するため、バイオアベイラビリティ及び C_{max} も低下すると考えられる。

図 2.6.4.8.2-1 マウスへ単回 IV 投与後の TSAC と用量正規化 AUC との線形回帰及び TSAC と ALXN1215 の消失との線形回帰



上のグラフの傾き＝[redacted]
下のグラフの傾き＝[redacted]

図 2.6.4.8.2-2　マウスへ単回 SC 投与後の TSAC とバイオアベイラビリティとの線形回帰及び TSAC と用量正規化 C_{max} との線形回帰



上のグラフの傾き＝[redacted]
下のグラフの傾き＝[redacted]

表 2.6.4.8.2-1　マウスへ単回 IV 及び SC 投与時後の ALXN1215 の TSAC と PK パラメータとの線形回帰分析の結果（報告書 CPR-0003, Table 3, page 9）

	IV			SC			
	C_{max}/Dose	AUC_{∞} /Dose	CL	C_{max}/Dose	AUC_{∞} /Dose	CL/F	F
R^2	0.109	0.395	0.448	0.514	0.533	0.564	0.675
Slope	1.11[a)]	18.6	-0.0059	0.265	14.8	-0.0318	12.3
P value	0.17[a)]	0.0040	0.0017	0.0005	0.0004	0.0002	<0.0001

a) 有意差なし。

2.6.4.8.3　ファースト・イン・ヒューマン試験及び第 2 相試験の開始用量の設定

ファースト・イン・ヒューマン（FIH）試験及び第 2 相試験における ALXN1215 の投与用量設定のため、一連の非臨床試験（*Akp2*$^{-/-}$ マウスでの複数の非臨床有効性及び PK/PD モデリング試験、幼若ラットにおける 4 週間及び 6 ヶ月 IV 投与毒性試験また、4 週間 SC 投与試験(局所刺激性試験)、幼若サルにおける 4 週間 IV 及び 6 ヵ月 SC 毒性試験など）を実施した。

2.6.4.8.3.1　FIH 試験の用量設定

ALXN1215 の FIH 試験（ENB-001-08）における初回投与用量は、幼若ラット及びカニクイザルでの 4 週間及び 6 ヵ月間投与毒性試験に基づき設定した。

1) 幼若ラットの 4 週間 IV 投与毒性試験（報告書 670314）
幼若ラットに ALXN1215 2.6、26 又は 77 mg/kg/回を週 1 回 4 週間 IV 投与したところ、重大な毒性兆候は認められなかった。一貫して認められた毒性兆候は、投与に伴う急性反応のみであったが、いずれの群でも一過性であった。77 mg/kg 群では、他の群よりも急性反応が顕著であった。28 日間回復群では雄のみで体重増加の減少及び摂餌量の減少が認められ、骨成長の低下が疑われた。その結果、幼若ラットへの 4 週間 IV 投与時の無毒性量（NOAEL）は、26 mg/kg/週と推察された。
2) 幼若サルの 4 週間 IV 投与毒性試験（報告書 1007-1503）
ALXN1215 5、15 又は 45 mg/kg/回を週 1 回 4 週間投与したところ、いずれの用量でも毒性を示す変動は認められなかった。よって、最高用量（45 mg/kg/週）が NOAEL と推察された。
3) 幼若ラットの 4 週間 SC 投与毒性試験（報告書 70552）及び幼若サルの 6 ヵ月 SC 投与毒性試験（報告書 670388）
これら SC 投与に伴うブリッジング毒性試験 2 試験では、試験した最高用量、すなわちサルでは 10 mg/kg/日、ラットでは 25.2 mg/kg/日で毒性を示す変動は認められなかった。
用量に基づく安全係数 10 をサルの NOAEL（10 mg/kg/日）に適用し、FIH 試験（ENB-001-08）の SC 投与での用量は 1 mg/kg と推奨された。

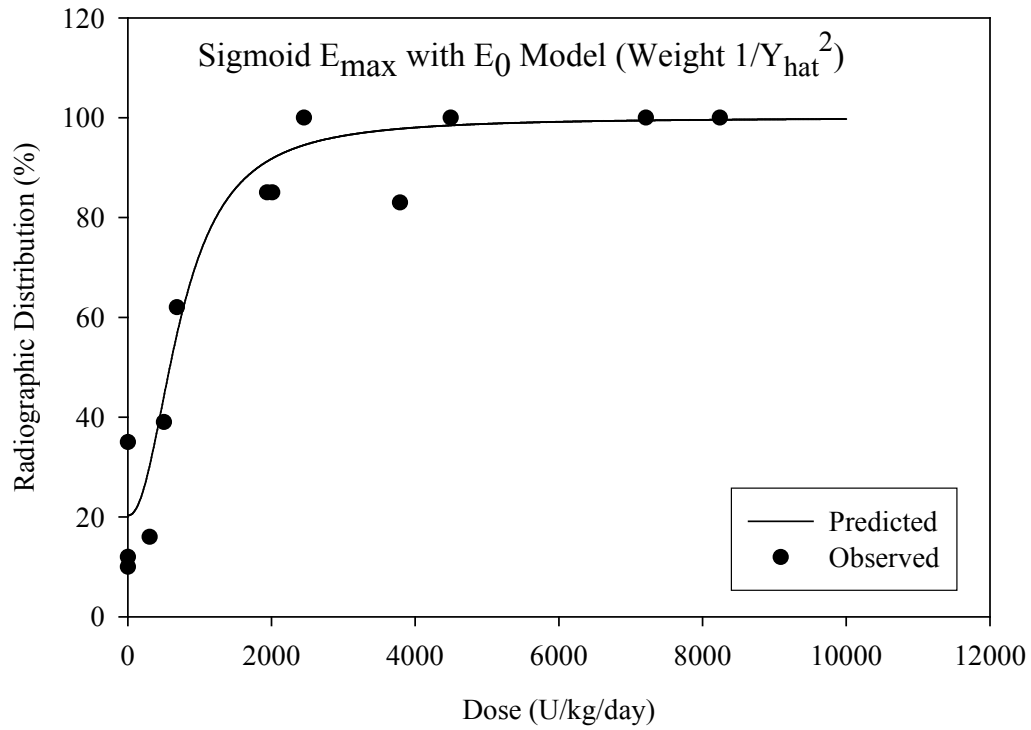
IV 投与毒性試験で評価した 2 種の動物種から得られた知見を比較し、週 1 回 IV 投与時の NOAEL が 26 mg/kg/回のラットが最も感受性の高い動物種であると判断した。安全係数 10 を適用し、FIH 試験（ENB-001-08）の最高開始用量は 3 mg/kg（IV）と推奨された。したがって、試験 ENB-001-08 のコホート 1 で評価した投与計画（3 mg/kg の IV 投与に続き、1 mg/kg を週 1 回 3 週間 SC 投与）は安全かつ妥当であると考えられた。

2.6.4.8.3.2 第 2 相試験の用量設定

第 2 相試験（ENB-002-08）の用量設定は、段階的な方法で行った。まず、*Akp2*$^{-/-}$マウスでの非臨床薬理有効性試験 6 試験（下記参照）を実施し、目安となる有効量を設定した。続いて、*Akp2*$^{-/-}$及び WT マウスでの非臨床試験 2 試験、すなわち単回投与試験 ALP-PC-25（報告書 CPR-0006 及び ALP-PC-25）及び反復投与試験 ALP-PT-13（報告書 CPR-0006 及びファイルのデータ）に基づき、目安となる有効量での定常状態の薬物濃度範囲を推定した。この定常状態の薬物濃度範囲を、ヒト臨床試験での予想有効薬物濃度範囲と定義した。最終ステップとして、試験 ENB-001-08 から得られた ALXN1215 の臨床 PK データを基に、ヒトでの予想有効薬物濃度範囲を達成するために必要な用量をシミュレーションにより推定した。各ステップの詳細を以下に示す。

非臨床有効性試験 6 試験（報告書 ALP-PT-03、ALP-PT-05、ALP-PT-06、ALP-PT-08、ALP-PT-09 及び ALP-PT-11, Section 2.6.2.2.5）に基づき、*Akp2*$^{-/-}$マウスに ALXN1215 0.5～8.2 mg/kg を 1 日 1 回、3 日に 1 回又は 7 日に 1 回 43～52 日間 SC 投与した際の（303～8241 U/kg/日の 1 日 1 回投与に相当）、後足の骨石灰化の改善に関する用量反応性を検討した。用量反応モデリング（シグモイド E_{max} モデル）に基づき、85%の改善を達成できる用量（すなわち ED_{85}）は 1451 U/kg/日であると求められた（図 2.6.4.8.3.2-1）。なお、より少ない投与頻度（3 日に 1 回）で 2071～13390 U/kg の SC 投与を受けたマウスでも、骨石灰化障害が効果的に予防され、骨の転帰の改善率は 62～100%であった（報告書 ALP-PT-05 及び ALP-PT-06）。

図 2.6.4.8.3.2-1 ALXN1215 を 43～53 日間の予防的に SC 投与時の Akp2$^{-/-}$マウスの後足の骨石灰化改善に対する用量反応性（2.6.2.2.5 項参照）



ED_{85} 用量（1451 U/kg/日）を投与されたマウスの定常状態での最小有効薬物濃度を、非臨床マウス試験 2 試験のデータから算出した。試験用量をモデルの用量に外挿する際には、用量比例性

を仮定した。

a) 目安となる有効量 1451 U/kg/日での定常状態の薬物濃度は、用量 5724 U/kg（8.2 mg/kg）でのマウス単回投与 PK 試験（報告書 CPR-0006）のデータに基づくノンパラメトリック・スーパーポジション法を用いて、1012 U/L と推定された。

b) 目安となる有効量 1451 U/kg/日での定常状態の薬物濃度は、マウス反復投与試験（報告書 CPR-0006）の PK データに基づき、648 U/L と求められた。

よって、定常状態での薬物濃度範囲約 650～1000 U/L を、ヒトでの治療効果が期待される最小有効薬物濃度範囲（すなわち予想有効薬物濃度範囲）とみなした。

試験 ENB-001-08（成人 HPP 患者での FIH 試験）で得られたデータの初期 PK モデリングでは、ALXN1215 1 mg/kg/日の SC 投与及び 2.3 mg/kg の週 3 回の SC 投与により、予想有効薬物濃度範囲内の血清中 ALXN1215 濃度約 1,000 U/L が達成されることが示唆された。

周産期及び幼児期に発症した HPP 患者を対象とした最初の第 2 相試験（ENB-002-08）では、開始用量を 1 mg/kg の週 3 回 SC 投与とした。なぜならこの用量では、血清中 ALXN1215 濃度は、予想有効薬物濃度範囲の低濃度の領域に収まると予想されたためである。HPP 患者集団で予想されたリスク／ベネフィットを考慮し、本試験では初回に 2 mg/kg を IV 投与した。試験 ENB-001-08 から得られた毒性データ及び PK／安全性データに基づき、有効性評価に重点を置いた用量漸増計画（下記参照）を、規制当局である[redacted]と共同で作成した。

SC 投与の開始用量は、1 mg/kg であった。

第 2 相試験 ENB-002-08 では、1 ヵ月間投与後、以下の 3 つの転帰のうち 2 つ以上として定義される有効性の欠如が認められる場合は、SC 用量を 2 mg/kg に増量することを可能とした。

- くる病の X 線検査所見の改善が認められない。
- 肺機能の悪化
- 成長障害の悪化

3 ヵ月間投与後、上記転帰のうち 1 つも改善していない場合、SC 用量を 2 mg/kg に増量できた。

3 ヵ月間投与後、上記 3 つの転帰のうち 2 つがなお改善していない場合、SC 用量を 3 mg/kg に増量できた。

試験 ENB-006-09 では、（登録時に成長板が開いていた年齢 5～12 歳の）HPP 小児患者に ALXN1215 を投与した。それまでに得られていた臨床 PK データに基づき、本試験では用量を 2 mg/kg 及び 3 mg/kg の週 3 回 SC 投与とした。これらの用量で、血清中 ALXN1215 濃度は予想有効薬物濃度範囲内に収まると予想された。

2.6.4.8.4 ヒトでの有効用量に関する曝露マージン

ヒトでの有効用量に関する曝露マージンを算出するため、非臨床毒性／TK 試験及び臨床試験の両方から得られた 2 つの定常状態の TK パラメータ（$AUC_{0\text{-}168h,ss}$ 及び $C_{max,ss}$）を使用した。非臨床毒性／TK 試験に含めた試験は、a) 幼若ラットでの 4 週間毒性試験（IV 及び SC 投与、2.6.4.3.4.2 項参照）、b）サルでの 4 週間毒性試験（IV 投与、2.6.4.3.4.4 項参照）、c）幼若ラットでの 26 週間毒性試験（IV 投与、2.6.4.3.4.3 項参照）、及び d) 幼若サルでの 26 週間毒性試験（SC 投与、2.6.4.3.4.5 項参照）であった。

PPK モデル及び推定最終パラメータを用いて、ヒトでの曝露データを得、2 mg/kg の週 3 回投与（ヒト有効用量と想定される）を受けた典型的な患者での定常状態の PK パラメータをシミュレートした（[redacted]AXN100102, Table 26, page 97）。曝露マージン算出のため、典型的な

患者は体重 50 kg、免疫原性による PK への影響なし、総シアル酸含量はタンパク質モノマー[redacted] mol 当たりシアル酸[redacted] mol、ロットサイズ[redacted] L、及び酵素活性[redacted] U/mg と定義された。

曝露マージンは、ヒトへの NOAEL 投与時の定常状態での曝露量に対する動物への NOAEL 投与時の定常状態での曝露量の比率として算出した。例えば、2,760,000（4 週間毒性試験でのサルの $AUC_{0\text{-}168h,ss}$）U*h/L÷416,000（ヒトの $AUC_{0\text{-}168h,ss}$）U*h/L = 6.6。

表 2.6.4.8.4-1 に示すように、26 週間 IV 及び SC 投与毒性試験の TK データに基づき、求められた曝露マージンは $AUC_{0\text{-}168h,ss}$ を使用した場合 2.1～3.9、$C_{max,ss}$ を使用した場合 2.5～85 であった。4 週間 IV 投与毒性試験の TK データに基づき、$AUC_{0\text{-}168h,ss}$ から求められた曝露マージンは 1.4～6.6、$C_{max,ss}$ から求められた曝露マージンは 55～264 であった。

臨床 PK データ（2.7.2 項参照）から、全般的に ALXN1215 の投与を受けた患者の平均曝露量は、曝露マージンの算出に使用したヒトの定常状態曝露量を超えないことが示された。

表 2.6.4.8.4-1　ヒト有効用量での ALXN1215 曝露量に基づく曝露マージン

Species	**NOAEL**	**RoA**[a)]	**$AUC_{0\text{-}168h,ss}$**[b)] **(U*h/L)**	**$C_{max,ss}$**[c)] **(U/L)**	**Exposure Margin**[d)] **(Animal/Human)**	
					$AUC_{0\text{-}168h,ss}$	**$C_{max,ss}$**
Exposure at 2 mg/kg 3x/Week For a Typical Patient						
Human[e)]	--	SC	416,000	2,710	--	--
Exposure from 4-Week Toxicity Study						
Monkey	45 mg/kg/week	IV	2,760,000	715,000	6.6	264
Rat	26 mg/kg/week[f)]	IV	594,000	148,000	1.4	55
Rat	25.2 mg/kg/day	SC	36,200	377	ND	ND
Exposure from 26-week Toxicity Study						
Monkey	10 mg/kg/day	SC	872,000	6,710	2.1	2.5
Rat	13 mg/kg/day	IV	1,610,000	231,000	3.9	85

a) 投与経路。
b) 1 日 1 回投与の非臨床試験では、最終投与*7 後、$AUC_{0\text{-}168h,ss}$ = $AUC_{0\text{-}24h}$。週 1 回投与では、最終投与後、$AUC_{0\text{-}168h,ss}$ = $AUC_{0\text{-}168h}$。
c) 非臨床試験では、最終投与後、 $C_{max,ss}$= C_{max}
d) マージンは、一般的 HPP 患者での PK パラメータの理論値に対する動物での TK パラメータの算術平均値の比率として表す。非臨床試験については、投与に用いた各薬物ロット固有の酵素活性値を用いて、TK パラメータの単位を mg から U に換算した。
e) ヒトの PK シミュレーションでは、典型的な患者は、体重 50 kg、免疫原性による PK への影響なし、シアル酸含量はタンパク質 1 mol 当たり [redacted] mol、ロットサイズ [redacted] L、及び酵素活性 [redacted] U/mg と定義された。72 週目の投与後 1 週間の定常状態での PK 理論値を使用し、F×DOSE／CL として $AUC_{0\text{-}168h}$ を算出した。ただし、F は [redacted] L ロットのバイオアベイラビリティ（0.523）、DOSE は 1 週当たりの総投与量、CL は ALXN1215 の平均全身クリアランスである。$C_{max,ss}$ は、定常状態での投与後 1 週間の最大活性である。
f) 検討された最高用量が NOAEL でなかった唯一の毒性試験である（報告書 670314）。

ND = 算出せず。本試験では、毒性を認めなかったが、達成された曝露量が低かったため、意味のあるマージンの推定ができないと判断した。

2.6.4.9 報告されていない試験

試験 ALP-PC-10（ロット番号[redacted]）及び ALP-PC-11（ロット番号[redacted]）は、以前に臨床試験実施申請資料（IND）で報告したが、これらの試験の詳細は、今回の提出資料には記載していない。上記試験の目的は、C57BL/6 マウスでの全身曝露量に TSAC が及ぼす影響を探索的に検討することであった。これら 2 試験を申請から除外した理由は、1）PK の成績が TSAC とクリアランス（CL）を比較したメタアナリシス（2.6.4.8.2 項）の結果、すなわち、シアリル化が少ないほど ALXN1215 の CL が促進され、AUC が低減するということと本質的に一致していた、2）これら 2 試験で使用した原薬ロットは、提出した 2.6.4 項の試験で既に評価している、3）ALP-PC-10 及び ALP-PC-11 試験での曝露は静注データに基づいたものだけで、皮下注データがないためであった。一方、メタアナリシスは、全試験で静注と皮下注の両方のデータが揃っている。しかしながら、ALP-PC-10 及び ALP-PC-11 の 2 試験の要約を以下に示す。

2.6.4.9.1 単回 IV 投与マウスにおける薬物動態試験（ALP-PC-10）

合計 24 例の雄 C57BL/6 マウス（生後 36～40 日齢未満）を 2 群に均等に分けた。ALXN1215 2 mg/kg を単回 IV 投与（1 群および 2 群に、それぞれロット番号[redacted]＋TSAC[redacted]および[redacted]＋TSAC[redacted]）したところ、両群の血清濃度は投与後 49 時間（最終の採取時点）まで定量可能であった。2 つの製剤ロットの間に重要な PK の差が認められた。具体的には、ロット番号[redacted]の AUC_{∞}（NCA により推算）はロット番号[redacted]より約 1.29 倍高く（141 mg*hr/L 対 109 mg*hr/L）、C_{max} は約 1.15 倍高かった（15.6 mg/L 対 13.6 mg/L）。対照的に、ロット番号[redacted]の CL 値はロット番号[redacted]の 77%（0.0142 L/hr/kg 対 0.0184 L/hr/kg）しかなく、ロット番号[redacted]および[redacted]の半減期はそれぞれ 19.1 時間および 17.8 時間であった。Vss 値（0.231 L/kg 対 0.338 L/kg）は、ロット番号[redacted]の方がロット番号[redacted]より低かった。

2.6.4.9.2 単回 IV 投与マウスにおける薬物動態試験（ALP-PC-11）

ALXN1215（ロット番号[redacted]＋TSAC[redacted]）2 mg/kg を 12 例の雄 C57BL/6 マウス（生後 36～40 日齢未満）に単回 IV 投与したところ、血清濃度は投与後 49 時間（最終の採取時点）まで検出可能であった。AUC_{∞}および C_{max}（NCA により推算）はそれぞれ 105 mg*h/L および 13.8 mg/L であり、CL は 0.0190 L/h/kg、半減期は 17.2 時間、Vss は 0.289 L/kg であった。

2.6.4.10 考察及び結論

マウス、ラット、ウサギ及びカニクイザルにおける ALXN1215 の薬物動態を、2～180 mg/kg の用量範囲での様々な単回 IV 又は SC 投与試験において明らかにした。非臨床安全性評価のサポートのために、ラット、ウサギ及びサルでの 0.43～90mg/kg の用量範囲でのいくつかの反復 IV 又は SC 投与試験において ALXN1215 の TK を検討した。ALXN1215 は、ヌクレオチドピロホスファターゼ／ホスホジエステラーゼにより生成するピロリン酸の加水分解を触媒することにより治療効果を発揮する。アルカリホスファターゼ（及び ALXN1215）の生物活性は、PPi 及び PLP などいくつかの基質に対する酵素活性に基づくものであり、受容体を介さず、種特異的でない [1)]。マウス、ラット、ウサギ及びサルなどの哺乳類では、TNSALP のアミノ酸配列は、アライメント（UniProt のウェブサイト：http://www.uniprot.org を使用して実施）に基づくヒトの天然 TNSALP の配列との相同性が高い（86～97%）。よって、PK／TK 評価の対象として、マウス、ラット、ウ

サギ及びカニクイザルを選択した。

単回 IV 投与後、ALXN1215 の CL は、マウス、ラット、ウサギ及びサルで 0.00504～0.0540 L/h/kg であり、見かけの終末相 $t_{1/2}$ は約 30～40 時間であった。これらの種で求められた V_{ss} から、ALXN1215 は末梢組織に分布することが示唆された。成熟サルでは、5～180 mg/kg の用量範囲にわたり CL がほぼ一定であり、線形の薬物動態が示された。しかし、マウス、ラット及びウサギの単回投与 PK 試験では 1 用量しか用いられなかったため、、薬物動態の線形性は評価されなかった。

幼若ラット、幼若サル、妊娠ラット及び妊娠ウサギに対する反復 IV 投与時、単一の試験内又は複数の試験間で線形（用量に比例した AUC 及び C_{max} の増加）及び非線形の薬物動態（用量比を下回る又は上回る AUC 及び C_{max} の増加）の両方が認められた。試験デザイン、（TSAC 値の異なる）薬物ロット、免疫原性、動物の年齢といった複数の因子が、特に複数の試験間での用量比例性評価に影響した可能性がある。なおヒトでは、PPK モデリングにより線形の薬物動態が推定された（2.7.2.3.2.1.1 項参照）。しかし、ヒトで評価された用量範囲（最高 28.0 mg/kg/週の SC 投与）は、動物で評価された範囲（2～180 mg/kg）よりも狭い。ラット及びウサギでは、妊娠による薬物動態の差は認められなかった。ラット及びサルでは、性別に関連する PK の差は認められなかった。推定半減期に基づき予想された通り、1 日 1 回投与では薬物の蓄積が認められたが、週 1 回投与では認められなかった。

IgG は、FcRn を介する胎盤でのエンドサイトーシスにより血液胎盤関門を通過することが知られている [2)]。融合タンパク質として、ALXN1215 はヒト IgG_1 の Fc 領域を有する。したがって、他の IgG 分子と同様に、マウスにおいて ALXN1215 は反復 SC 投与時に胎盤を通過した。単回又は反復 SC 投与時、吸収速度は一貫して緩やかであり、t_{max} の測定値は 4～32 時間であった。幼若サルでは、SC 投与後の時間依存的な吸収が認められ、1 日 1 回投与を 6 ヵ月間継続すると t_{max} は 40～50%短縮した（2.6.4.3.4.5 項参照）。本現象の理由は不明である。マウス、ラット、ウサギ及びサルでの SC 投与時のバイオアベイラビリティは、25～56%と推定された。

ALXN1215 は、幼若ラット及びサルで免疫原性を示した。ラット及びサルの両方で、反復 IV 又は SC 投与時の ADA の発現割合（各群の各時点）は、0～100%であった。ラット及びサルでの全身曝露量に対する ADA の影響は様々であり、AUC は対応する群での平均 AUC 値に比べて無視できる程度～約 85%減少した。生殖・発生毒性試験を実施した時点では、ADA の生物学的分析法は開発されていなかった。ADA 分析法が利用可能になり次第、13 日間ウサギ生殖・発生毒性試験で採取した保存試料を分析する予定である。

幼若マウス及び新生児マウスでの組織分布試験では、^{125}I-ALXN1215 の長骨への選択的な分布が認められた。薬物関連放射能は、長骨中に長時間留まったことから、ALXN1215 は骨を標的とし、骨に保持されることが示唆された。血流量が豊富な組織への ALXN1215 の移行は中程度であったが、脳などの中枢神経系への移行はわずかであった。

ALXN1215 の代謝、排泄及び薬物相互作用試験は、特に動物では実施していない。文献によれば、非特異的及び特異的経路がタンパク質医薬品の異化及び排泄に関与している可能性がある。非特異的経路には、エンドサイトーシス又はピノサイトーシスによる ALXN1215 の細胞内への取り込み、及びそれに続くタンパク質分解／リソソームによる分解が含まれる。特異的経路には、糖受容体や Fc 受容体といった標的への結合による細胞内への取り込み、及びそれに続くタンパク質分解／リソソームによる分解が含まれる。ALXN1215 に固有な消失経路の存在の可能性を評価するため、包括的な分析を実施した。様々な情報源から得られたデータ（すなわち臨床試験や動

物試験で得られた PK/PD 及び免疫原性データ、*in vitro* FcRn 結合能試験の結果、及び ALXN1215 の構造情報）から、ALXN1215 に固有な消失経路の存在を示す証拠は得られなかった。ALXN1215 の排泄は、他の Fc 融合タンパク質の排泄に関与すると考えられる機序と同一の機序により支配されている可能性が高い。

FcRn に対する ALXN1215 の結合能（pH 6.0 での表面プラズモン共鳴により測定）は、陽性対照 2 剤（アバタセプト及びエタネルセプト）と同等であった。AXN1215 と同様に、これらの陽性対照は、Fc 領域を含む融合タンパク質である。FcRn 結合能とヒトでの半減期との相関性解析では、ALXN1215 のヒトでの半減期がアバタセプト及びエタネルセプトと同等であることが示された。これらのデータから、ALXN1215 の消失における FcRn を介したリサイクルの関与は、他の Fc 融合タンパク質と同様であると考えられる。

TSAC とクリアランスとのメタアナリシスでは、TSAC 値と IV 投与時の用量正規化 AUC とが正相関していることが示された。さらに、IV 投与時には TSAC 値と CL との逆相関が認められた。IV 投与時のデータから、シアリル化率が低いほど、ALXN1215 の消失が加速すると考えられた。IV 及び SC 投与時のデータを共に検討したところ、SC 投与時のバイオアベイラビリティ（AUC_{IV} に対する AUC_{SC} の比率）と TSAC 値との正相関が示された。また、SC 投与時の用量正規化 C_{max} と TSAC 値との間に正相関が認められた。これらのデータは、シアリル化率が低いほど、ALXN1215 の SC 投与時の吸収が減少し、それによりバイオアベイラビリティ及び C_{max} も減少することを示唆している。

結論として、様々な動物種における ALXN1215 の PK／TK の特性を明らかにし、そのデータを用いて、低ホスファターゼ症治療の非臨床安全性評価、曝露マージンの推定及び非臨床用量／曝露量-応答関係の評価を行った。

2.6.4.11 参考文献

1) Millan JL. Mammalian Alkaline Phosphatases: From Biology to Applications in Medicine and Biotechnology. Chapter 5: Enzymatic Properties, page 67–89. Wiley-Blackwell, 2006.
2) Saji F et al. Dynamics of immunoglobulins at the feto–maternal interface. Rev Reprod. 1999. 4(2): 81–89.
3) Davies B. et al. Physiology parameters in laboratory animals and humans. Pharm Res. 1993. 10: 1093-95.
4) Richter WF et al. Potential errors in the volume of distribution estimation of therapeutic proteins composed of differently cleared components. J. Pharmacokinet Pharmacodyn. 2011. 38: 581-593.
5) U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), May 2012 ICH. Guidance for Industry S6 Addendum to Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals.
6) Kontermann R (editor). Therapeutic Proteins: Strategies to Modulate Their Plasma Half-lives. Section 2.3.3.2: Renal Protein Metabolism. page 32-33. Wiley-Blackwell, 2012.
7) Lobo et al. Antibody Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. J Pharm Sci. 2004. 93(11): 2645-2668.
8) Suzuki T et.al. Importance of Neonatal FcR in Regulating the Serum Half-Life of Therapeutic Proteins Containing the fc Domain of Human IgG1: A Comparative Study of the affinity of Monoclonal Antibodies and Fc-Fusion Proteins to Human Neonatal FcR. J Immunol. 2010. 184(4):1968-1979.
9) Bork K et al. Increasing the sialylation of therapeutic glycoproteins: the potential of the sialic acid biosynthetic pathway. J Pharm Sci. 2009. 98(10):3499-508.
10) Liu L et al. The impact of glycosylation on the pharmacokinetics of a TNFR2:Fc fusion protein expressed in Glycoengineered Pichia Pastoris. Pharm Res. 2013. 30(3): 803-12.
11) Richter WF et al. Mechanistic determinants of biotherapeutics absorption following SC administration. AAPS J. 2012. 14(3): 559-70.

ALXN1215
ストレンジック皮下注 12mg/0.3mL
ストレンジック皮下注 18mg/0.45mL
ストレンジック皮下注 28mg/0.7mL
ストレンジック皮下注 40mg/1mL
ストレンジック皮下注 80mg/0.8mL

第 2 部 CTD の概要
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.5 薬物動態試験概要表

アレクシオンファーマ合同会社

目次

頁
略号一覧表 4
2.6.5 薬物動態試験概要表 7
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 7
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 9
2.6.5.3 A. 薬物動態試験：単回投与後の吸収 9
2.6.5.3 B. 薬物動態試験：単回投与後の吸収 10
2.6.5.3 C. 薬物動態試験：単回投与後の吸収 11
2.6.5.3 D. 薬物動態試験：単回投与後の吸収 12
2.6.5.3 E. 薬物動態試験：単回投与後の吸収 13
2.6.5.3 F. 薬物動態試験：単回投与後の吸収 14
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 15
2.6.5.4 A. 反復投与後の吸収（ラットでの 4 週間トキシコキネティクス試験） 15
2.6.5.4 A. 反復投与後の吸収（ラットでの 4 週間トキシコキネティクス試験）（続き） 16
2.6.5.4 B. 反復投与後の吸収（ラットでの 4 週間トキシコキネティクス試験） 17
2.6.5.4 C. 反復投与後の吸収（ラットでの 6 ヵ月トキシコキネティクス試験） 18
2.6.5.4 C. 反復投与後の吸収（ラットでの 6 ヵ月トキシコキネティクス試験）（続き） 19
2.6.5.4 C. 反復投与後の吸収（ラットでの 6 ヵ月トキシコキネティクス試験）（続き） 20
2.6.5.4 D. 反復投与後の吸収（サルでの 4 週間トキシコキネティクス試験） 21
2.6.5.4 E. 反復投与後の吸収（サルでの 6 ヵ月トキシコキネティクス試験） 22
2.6.5.4 E. 反復投与後の吸収（サルでの 6 ヵ月トキシコキネティクス試験）（続き） 23
2.6.5.4 E. 反復投与後の吸収（サルでの 6 ヵ月トキシコキネティクス試験）（続き） 24
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 25
2.6.5.5 A. 薬物動態試験：分布 25
2.6.5.5 B. 薬物動態試験：分布 26
2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合 27
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 27
2.6.5.7 A. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 27
2.6.5.7 B. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 28
2.6.5.7 C. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 29
2.6.5.7 D. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 30
2.6.5.7 E. 動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 31
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 32
2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：In Vivo 32
2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：In Vitro 32
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 32
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 32
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 32
2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中 32
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 32

2.6.5.16 薬物動態試験：その他 33
2.6.5.16 A 薬物動態試験: その他 33
2.6.5.16 B 薬物動態試験: その他 （報告されていない試験） 34

略号一覧表

略語・用語	内容（英語）	内容（日本語）
ADA	Anti-drug antibody	抗薬物抗体
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度-時間曲線下面積
AUC_{∞}	AUC from time 0 extrapolated to infinity, based on the last observed concentration	最終測定濃度を基に無限時間まで外挿した時間 0 からの AUC
AUC_{last}	AUC from time 0 to last measurable concentration	時間 0 から濃度が定量可能な最終時点までの AUC
AUC_{tau}	AUC within each dosing interval	各投与間隔の AUC
BSA	Bovine serum albumin	ウシ血清アルブミン
[redacted]	[redacted]	
[redacted]	[redacted]	
CD	Control deviation	制御偏差
CF	Cut-point factor	カットポイント係数
CFv	Specific cut point	固有のカットポイント
CL	Clearance	クリアランス
C_{max}	Maxium observed concentration	最高濃度測定値
CPM	Counts per minute	カウント数毎分
CPv	Validation cut-point	バリデーションカットポイント
[redacted]	[redacted]	
CRO	Contract research organization	開発業務受託機関
CV	Cardiovascular	循環器
%CV	Percent coefficient of variation	変動係数（%）
D10	Deca aspartic acid peptide	デカアスパラギン酸ペプチド
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着検定法
E_{max}	Maximal effects	最大効果
ENB-0040	Asfotase alfa	アスホターゼ　アルファ
F	subcutaneous dosing	皮下投与
FcD10	Fc domain of immunoglobulin G1 and a deca-aspartate peptide	免疫グロブリン G1 の Fc 領域とデカアスパラギン酸ペプチド
FCP	Floating cut point	浮動カットポイント
FcRn	Neonatal Fc receptor	新生児型 Fc 受容体
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FIH	First-in-human	ファースト・イン・ヒューマン
g	Gram	グラム
μg	Microgram	マイクログラム
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

略語・用語	内容（英語）	内容（日本語）
h	Hour	時間
HCl	Hydrochloric acid	塩酸
HPP	Hypophosphatasia	低ホスファターゼ症
ICH	International Conference on Harmonisation	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
Ig	Immunoglobulin	免疫グロブリン
IgG	Imunoglobulin G	免疫グロブリン G
IND	Investigational new drug	治験薬
ISR	Incurred sample reanalysis	投与後試料の再分析
IV	Intravenous	静脈内
kDa	Kilodalton	キロダルトン
kg	Kilogram	キログラム
K_M	Michaelis constant; substrate concentration at which the reaction rate is half of Vmax	ミカエリス定数：反応速度が V_{max} の 1/2 となる基質濃度
L	Liter	リットル
LOQ	Limit of quantification	定量限界
LLOQ	Lower limit of quantification	定量下限
mAbs/min	Milli absorbance units per minute	ミリ吸光度単位/分
[redacted]	[redacted]	
mg	Milligram	ミリグラム
$MgCl_2$	magnesium chloride	塩化マグネシウム
mL	Milliliter	ミリリットル
mM	Millimolar	ミリモーラー
mm	Millimeter	ミリメートル
mm^3	Cubic millimeter	立法ミリメートル
mmol	Millimole	ミリモル
μM	Micromolar	マイクロモーラー
MRD	Minimum required dilution	最小必要希釈度
n	Sample size	例数
NA	Not applicable	該当なし
NAb	Neutralizing antibody assay	中和抗体アッセイ
NCA	Non-compartmental analysis	ノンコンパートメント解析
NCv	Validation negative control	バリデーション陰性対照
ND	Not determined	測定せず
ng	Nanogram	ナノグラム
nm	Nanometers	ナノメートル
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
OD	Optical density	光学密度

略語・用語	内容（英語）	内容（日本語）
OPD	O-PhenyleneDiamine	o-フェニレンジアミン
PC	Positive control	陽性対照
PD	Pharmacodynamic	薬力学
PK	Pharmacokinetic	薬物動態
PLP	Pyridoxal-5’ phosphate	ピリドキサール 5'-リン酸
pNP	Para-nitrophenol	p-ニトロフェノール
pNPP	Para-nitrophenyl phosphate	p-ニトロフェニルリン酸
PPi	Inorganic pyrophosphate	無機ピロリン酸
QC	Quality control	品質管理
R^2	Coefficient of determination	決定係数
%RE	Relative error or % recovery as detailed in section	相対誤差又は回収率。詳細は該当する項に記載。
RE	Relative error	相対誤差
RS	Reference standard	標準物質
RT	Room temperature	室温
[S]	Substrate concentration	基質濃度
s	Second	秒
sALP-FcD10	Asfotase alfa	アスホターゼ　アルファ
SC	Subcutaneous	皮下
SD	Standard deviation	標準偏差
sNC	Plate-specific negative control	プレート固有の陰性対照
SS	Steady state	定常状態
TK	Toxicokinetic	トキシコキネティクス
$t_{½}$	Terminal phase half-life	終末相半減期
t_{max}	The time to reach maximum concentration	最高薬物濃度に達するまでの時間
TNSALP	Tissue non-specific alkaline phosphatase	組織非特異的アルカリホスファターゼ
TSAC	Total sialic acid content	総シアル酸含量
U	Unit	単位
ULOQ	Upper limit of quantification	定量上限
V_{max}	Maximum reaction velocity (mAbs/min)	最大反応速度（mAbs/分）
V_{ss}	Volume of distribution at steady state	定常状態での分布容積
[redacted]	[redacted]	[redacted]
WT	Wild type	野生型
$ZnCl_2$	Zinc chloride	塩化亜鉛
ε	Extinction coefficient	比吸光度
λ_{max}	Absorption maxima	吸収極大
μ Ci	Microcurie	マイクロキュリー
ν	Initial rate of reaction	反応初速度

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

			Test Article: Asfotase Alfa		
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Study Number**	**Location in CTD**
Pharmacokinetics: Absorption Single Dose					
Single Dose (Lot [redacted])	C57BL/6 Mouse	IV, SC	Enobia Pharma Inc. ([redacted], Canada)	ALP-PC-09	4.2.2.2.1
Pharmacokinetics: Absorption Single Dose					
Single Dose ([redacted])	*Akp2*$^{-/-}$ and WT Juvenile C57BL/6, IJ29 Mouse	SC	Enobia Pharma Inc. ([redacted], Canada)	ALP-PC-25	4.2.2.2.3
Pharmacokinetics: Absorption Single Dose					
Single Dose (Lot [redacted])	Sprague Dawley Rat	IV, SC	[redacted] ([redacted], Canada)	PK2008010951	4.2.2.2.4
Pharmacokinetics: Absorption Single Dose					
Single Dose (Lot [redacted])	Cynomolgus Monkey	IV, SC	[redacted] ([redacted], Canada)	3008-0133	4.2.2.2.5
Pharmacokinetics: Absorption Single Dose					
Single Dose (Lot [redacted])	Juvenile Cynomolgus Monkey	IV, IV infusion	[redacted] ([redacted], Canada)	2007-0693	4.2.3.1.1
Pharmacokinetics: Absorption Single Dose					
Single Dose (Lot [redacted])*	New Zealand White Rabbit	IV, SC	[redacted] ([redacted], Canada)	902235	4.2.2.2.6
Pharmacokinetics: Absorption Repeated Dose					
Repeated Dose Toxicity/TK (4-week)* (IV lot [redacted], SC Lot [redacted])	Juvenile Sprague Dawley Rat	IV, SC	[redacted] ([redacted], Canada)	70552	4.2.3.6.1
Pharmacokinetics: Absorption Repeated Dose					
Repeated Dose Toxicity/TK (4-week)* [redacted] ([redacted])	Juvenile Sprague Dawley Rat	IV	[redacted] ([redacted], Canada)	670314	4.2.3.2.2
Pharmacokinetics: Absorption Repeated Dose					
Repeated Dose Toxicity/TK (26-week)* (Lot [redacted])	Juvenile Sprague Dawley Rat	IV	[redacted] ([redacted], Canada)	670315	4.2.3.2.3
Pharmacokinetics: Absorption Repeated Dose					

			Test Article: Asfotase Alfa		
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Study Number**	**Location in CTD**
Repeated Dose Toxicity/TK (4-week)* (Lot [redacted])	Juvenile Cynomolgus Monkey	IV	[redacted] ([redacted], Canada)	1007-1503	4.2.3.2.4
Pharmacokinetics: Absorption Repeated Dose					
Repeated Dose Toxicity/TK (6-month)* (Lot [redacted])	Juvenile Cynomolgus Monkey	SC	[redacted] ([redacted], Canada)	670388	4.2.3.2.5
Pharmacokinetics: Organ Distribution					
Single Dose (Lot [redacted])	Adult 129J Mouse	IV	Enobia Pharma Inc. ([redacted], Canada)	ALP-PD-01	4.2.3.3.1
Pharmacokinetics: Organ Distribution					
Repeated Multiple Doses (unlabeled lot [redacted], Iodinated lot [redacted])	Newborn CD-1 Mouse	SC	Enobia Pharma Inc. ([redacted], Canada)	ALP-PD-02	4.2.3.3.2
Pharmacokinetics: Study in Pregnant/Nursing Animals					
Single Dose ([redacted])	Pregnant CD-1 Mouse	SC	Enobia Pharma Inc. ([redacted], Canada)	ALP-PT-15	4.2.2.2.2
Pharmacokinetics: Study in Pregnant/Nursing Animals					
Reproductive/Development TK(14-day)* (Lot [redacted])	Pregnant Sprague Dawley Rat	IV	[redacted] ([redacted], Canada)	902480	4.2.2.2.7
Pharmacokinetics: Study in Pregnant/Nursing Animals					
Reproductive/Development TK(14-day)* (Lot [redacted])	Pregnant Sprague Dawley Rat	IV	[redacted] ([redacted], Canada)	902238	4.2.3.5.3.1
Pharmacokinetics: Study in Pregnant/Nursing Animals					
Reproductive/Development TK (13-day)* (Lot [redacted])	Pregnant New Zealand White Rabbit	IV	[redacted] ([redacted], Canada)	902236	4.2.3.5.2.3
Pharmacokinetics: Study in Pregnant/Nursing Animals					
Reproductive/Development TK (13-day)* (Lot [redacted])	Pregnant New Zealand White Rabbit	IV	[redacted] ([redacted], Canada)	902237	4.2.3.5.2.4

*GLP study
Note: All IV administrations in this section are IV bolus unless specifically stated as IV infusion.

Note on data reporting:

1) All PK/TK parameters are rounded to 3 significant digits, except for T_{max}, where the nominal values are reported.

2) The TK parameters for studies 902238 and 902236, and 902480 are based on corrected concentrations. The data is found in the bioanalytical amendments to the main report.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

第 4 部参照

2.6.5.3 A. 薬物動態試験：単回投与後の吸収

		Test Article: Asfotase Alfa
		Location in CTD: 4.2.2.2.1
		Study No. ALP-PC-09
Species	C57BL/6 Mouse	C57BL/6 Mouse
Gender (M/F)/Number of animals:	M/12 (3 per timepoint)	M/12 (3 per timepoint)
Feeding condition:	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)
Method of Administration:	SC	IV
Dose (mg/kg):	2	2
Sample:	Serum	Serum
Analyte:	Asfotase alfa	Asfotase alfa
Assay:	Enzymatic activity	Enzymatic activity
PK parameters:		
AUC_{∞} (mg*h/L)	161	286
$AUC_{0\text{-}49h}$ (mg*h/L)	100	258
$AUC_{0\text{-}49h}$/Dose (mg*h/L)/(mg/kg)	50.0	129
C_{max} (mg/L)	3.07	26.4
C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)	1.54	13.2
CL (L/h/kg)	ND	0.007
$t_{½}$ (h)	31.1	15.6
t_{max} (h)	12	0.5[0]

PK parameters were calculated based on a composite dataset.
N=3 /time point
a) The first bleeding time point; it was indicated as NA in the study report.
ND=Not determined

2.6.5.3 B. 薬物動態試験：単回投与後の吸収

		Test Article: Asfotase Alfa
		Location in CTD: 4.2.2.2.3
		Study No. ALP-PC-25
Species[0]	*Akp2*$^{-/-}$ Juvenile C57BL/6 ,129J Mouse	WT Juvenile C57BL/6,129J Mouse
Gender (M/F)/Number of animals:	40 littermates M & F (4 animals per timepoint)	40 littermates M & F (4 animals per timepoint)
Feeding condition:	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)
Method of Administration:	SC	SC
Dose (mg/kg):	8.2	8.2
Sample:	Serum	Serum
Analyte:	Asfotase alfa	Asfotase alfa
Assay:	Enzymatic activity	Enzymatic activity
PK parameters: (combined gender)		
AUC_{∞} (mg*h/L)	227	155
$AUC_{0\text{-}96h}$ (mg*h/L)	213	154
$AUC_{0\text{-}96h}$/Dose (mg*h/L)/(mg/kg)	25.9	18.8
C_{max} (mg/L)	7.51	5.03
C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)	0.916	0.613
CL/F (L/h/kg)	0.0361	0.0527
Vz/F (L/kg)	1.34	1.07
$t_{½}$ (h)	14.0	25.5
t_{max} (h)	4	8

PK parameters were calculated based on a composite dataset.
N = 4 /time point

a) Animals were mixed strain (C57BL/6 and 129J) and 12-day of age for both *Akp2*$^{-/-}$ and WT.

2.6.5.3 C. 薬物動態試験：単回投与後の吸収

			Test Article: Asfotase Alfa	
			Location in CTD: 4.2.2.2.4	
			Study No. PK2008010951	
Species	SD Rat	SD Rat	SD Rat	SD Rat
Gender (M/F)/Number of animals:	F/3	M/3	F/3	M/3
Feeding condition:	Fed	Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)
Method of Administration:	SC	SC	IV	IV
Dose (mg/kg):	3	3	3	3
Sample:	Serum	Serum	Serum	Serum
Analyte:	Asfotase alfa	Asfotase alfa	Asfotase alfa	Asfotase alfa
Assay:	Enzymatic activity	Enzymatic activity	Enzymatic activity	Enzymatic activity
PK parameters:				
AUC_{∞} (mg*h/L)	-- [b)]	-- [b)]	62.1 (16.3)	106 (33.2)
$AUC_{0\text{-}72h}$ (±CV%) (mg*h/L)	17.3 (23.1)	24.5 (46.1)	53.7 (15.1)	93.1 (29.3)
$AUC_{0\text{-}72h}$/Dose (±CV%) (mg*h/L)/(mg/kg)	5.77 (23.1)	8.17 (46.1)	17.9 (15.1)	31.0 (29.3)
C_{max} (±CV%) (mg/L)	0.342 (9.70)	0.424 (47.6)	22.1 (17.7)	22.2 (19.5)
C_{max}/Dose (±CV%) (mg/L)/(mg/kg)	0.114 (9.7)	0.141 (47.6)	7.36 (17.7)	7.40 (19.5)
CL (±CV%) (L/h/kg)	--	--	0.0492 (18.0)	0.0312 (40.0)
$t_{½}$ (±CV%) (h)	--	--	33.8 (48.9)	27.3 (23.9)
t_{max} [0] (h)	24 (12, 24)	24 (24, 48)	0.25 (0.25, 0.25)	0.25 (0.25, 0.25)
V_{ss} (±CV%) (L/h/kg)	--	--	1.39 (40.5)	0.766 (18.2)

Except T_{max}, mean PK parameters are shown. T_{max} is a median value as stated in footnote "a".
N = 3 /group
a) Median (min, max) values are provided. Mean values after a SC dose were 20 and 32 h to F and M rats, respectively, and 0.25 h after an IV dose to both M and F rats,
-- Not applicable; because of the uncertainty of AUC_{∞} (extrapolated area exceeds 25%) certain PK parameters derived from AUC_{∞} were considered to be nonreportable.
SD = Sprague Dawley

2.6.5.3 D. 薬物動態試験：単回投与後の吸収

		Test Article: Asfotase Alfa
		Location in CTD: 4.2.2.2.5
		Study No. 3008-0133
Species	Cynomolgus Monkey	Cynomolgus Monkey
Gender (M/F)/Number of animals:	F/2	F/2
Feeding condition:	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)
Method of Administration:	SC	IV
Dose (mg/kg):	3	3
Sample:	Serum	Serum
Analyte:	Asfotase alfa	Asfotase alfa
Assay:	Enzymatic activity	Enzymatic activity
PK parameters*:		
AUC_{∞} (mg*h/L)	--	158
$AUC_{0\text{-}72h}$ (mg*h/L)	49.0	141
$AUC_{0\text{-}72h}$/Dose (mg*h/L)/(mg/kg)	16.3	47.0
C_{max} (mg/L)	1.10	68.8
C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)	0.367	22.9
CL (L/h/kg)	--	0.0193
$t_{1/2}$ (h)	--	31.4
t_{max} (h)	10	0.25
V_{ss} (L/h/kg)	--	0.432

Mean PK parameters are shown.

-- Not applicable; because of the uncertainty of AUC_{∞} (extrapolated area exceeds 25%) certain PK parameters derived from AUC_{∞} were considered to be nonreportable.

* n=2; CV% not calculated.

2.6.5.3 E. 薬物動態試験：単回投与後の吸収

				Test Article: Asfotase Alfa	
				Location in CTD: 4.2.3.1.1	
				Study No. 2007-0693	
Species	Juvenile Cynomolgus Monkey	Juvenile Cynomolgus Monkey	Juvenile Cynomolgus Monkey	Juvenile Cynomolgus Monkey	Juvenile Cynomolgus Monkey
Gender (M/F)/Number of animals: Dose escalation in same animals	M/1,F/1	M/1,F/1	M/1,F/1	M/1,F/1	M/1,F/1
Feeding condition:	Fed	Fed	Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)
Method of Administration:	IV	IV	IV infusion (3 min)	IV infusion (6 min)	IV infusion (12 min)
Dose (mg/kg):	5	15	45	90	180
Sample:	Serum	Serum	Serum	Serum	Serum
Analyte:	Asfotase alfa	Asfotase alfa	Asfotase alfa	Asfotase alfa	Asfotase alfa
Assay:	Enzymatic activity	Enzymatic activity	Enzymatic activity	Enzymatic activity	Enzymatic activity
PK parameters* (gender combined):					
AUC_{∞} (mg*h/L)	797	2950	9410	48400	36000
$AUC_{0\text{-}48h}$ (mg*h/L)	763	2860	8950	47000	33500
$AUC_{0\text{-}48h}$/Dose (mg*h/L)/(mg/kg)	153	191	199	522	186
C_{max} (mg/L)	64.9	396	1230	7720	3830
C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)	13.0	26.4	27.3	85.5	21.3
CL (L/h/kg)	0.00633	0.00509	0.00504	0.00188	0.00507
V_{ss} (L/kg)	0.255	0.166	0.0972	0.0168	0.0638
$t_{½}$ (h)	40.4	39.6	30.0	19.4	20.9

Mean PK parameters are shown.
*n=2, CV% value is not calculated.

2.6.5.3 F. 薬物動態試験：単回投与後の吸収

			Test Article: Asfotase Alfa	
			Location in CTD: 4.2.2.2.6	
			Study No. 902235	
Species	NZW Rabbit	NZW Rabbit	NZW Rabbit	NZW Rabbit
Gender (M/F)/Number of animals:	F/3	F/3	F/3	F/3
Feeding condition:	Fed	Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)
Method of Administration:	IV	IV	SC	SC
Dose (mg/kg):	5	50	5	50
Sample:	Serum	Serum	Serum	Serum
Analyte:	Asfotase alfa	Asfotase alfa	Asfotase alfa	Asfotase alfa
Assay:	Enzymatic activity	Enzymatic activity	Enzymatic activity	Enzymatic activity
PK parameters:				
AUC_{∞} (±CV%) (mg*h/L)	NR	2920 (4.6)	31.1 (15.0)	304 (30.7)
$AUC_{0\text{-}96h}$ (±CV%) (mg*h/L)	102 (23.1)	2900 (4.30)	25.9 (16.5)	280 (32.6)
$AUC_{0\text{-}96h}$/Dose (mg*h/L)/(mg/kg)	20.4 (23.1)	57.9 (4.30)	5.18 (16.5)	5.60 (32.6)
C_{max} (±CV%) (mg/L)	51.4 (1.80)	1140 (6.70)	0.929 (2.90)	11.0 (43.8)
C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)	10.3 (1.80)	22.7 (6.70)	0.186 (2.90)	0.220 (43.8)
t_{max}[0] (h)	0.37 (0.35, 0.38)	-0.42 (0.37, 0.67)	6.03 (6.00, 6.05)	12.0 (6.02, 12.0)
$t_{½}$ (±CV%) (h)	29.7 (NC)[b)]	33.6 (15.9)	35.9 (16.9)	29.4 (5.10)
V_{ss} or V_{ss} /F(±CV%) (L/kg)	0.645 (NC)[b)]	0.0693 (13.1)	6.78 (3.2)	6.37 (43.4)
CL (±CV%) (L/h/kg)	0.0540 (NC)[b)]	0.0172 (4.50)	0.163 (14.0)	0.175 (28.9)

Except T_{max}, mean PK parameters are shown. T_{max} is a median value as stated in footnote "a".
N = 3 /group except $t_{1/2}$, V_{ss} or V_{ss}/F and CL, where n = 2 (also see footnote "b").
a) Median (min, max) values are provided. Actual sampling times were used for the calculation of the median values.
b) n=2, CV% is not calculated.
NC = Not calculated.
NZW = New Zealand White.
NR = not reportable; because estimated value of AUC_{∞} is less than that of $AUC_{0\text{-}96h}$.

2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

2.6.5.4 A. 反復投与後の吸収（ラットでの 4 週間トキシコキネティクス試験）

			Test Article: Asfotase Alfa			
			Location in CTD: 4.2.3.6.1			
			Study No. 70552			
Species	Juvenile SD Rat		Juvenile SD Rat		Juvenile SD Rat	
Gender (M/F)/Number of animals:[0]	M/108, F/108 (3/sex/ timepoint)		M/108, F/108 (3/sex/ timepoint)		M/108, F/108 (3/sex/ timepoint)	
Feeding condition:	Fed		Fed		Fed	
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)		Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)		Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	
Method of Administration:	IV		IV		IV	
Dose (mg/kg/week):	3		30		90	
Dose schedule/Duration:	Weekly/ 4 weeks		Weekly/ 4 weeks		Weekly/ 4 weeks	
Sample:	Serum		Serum		Serum	
Analyte:	Asfotase alfa		Asfotase alfa		Asfotase alfa	
Assay:	Enzymatic activity		Enzymatic activity		Enzymatic activity	
	Study Day		Study Day		Study Day	
PK parameters: (genders combined)	Day 1	Day 22	Day 1	Day 22	Day 1	Day 22
AUC_{last} (mg*h/L) (SE)	100 (2.21)	73.1 (5.14)	869 (11.5)	567 (41.1)	1930 (75.7)	1960 (87.0)
$AUC_{0\text{-}168h}$ (mg*h/L)	104	76.8	886	591	1960	2050
$AUC_{0\text{-}168h}$/Dose (mg*h/L)/(mg/kg)	34.7	25.6	29.5	19.7	21.8	22.8
C_{max} (mg/L) (SE)	16.2 (0.652)	16.2 (1.04)	298 (9.36)	147 (13.8)	567 (96.5)	678 (53.7)
C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)	5.40	5.40	9.93	4.90	6.30	7.53
t_{max} (h) [b)]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5

TK parameters were calculated based on a composite dataset.
N = 3/sex/time point/group
a) Blood samples were collected on Day 1 from 180 (90 males and 90 females) of 216 animals for TK analysis; the remaining 36 animals (18 males and 18 females) were continue on the treatment till Day 22.
AUC_{last} = AUC over 0-72 hours

2.6.5.4 A. 反復投与後の吸収（ラットでの 4 週間トキシコキネティクス試験）（続き）

			Test Article: Asfotase Alfa			
			Location in CTD: 4.2.3.6.1			
			Study No. 70552			
Species	Juvenile SD Rat		Juvenile SD Rat		Juvenile SD Rat	
Gender (M/F)/Number of animals:	M/108 (3 at each timepoint)		M/108 (3 at each timepoint)		M/108 (3 at each timepoint)	
Feeding condition:	Fed		Fed		Fed	
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)		Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)		Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	
Method of Administration:	SC		SC		SC	
Dose (mg/kg/day):	0.84		8.4		25.2	
Dose schedule/Duration	Daily/4 weeks		Daily/4 weeks		Daily/4 weeks	
Sample:	Serum		Serum		Serum	
Analyte:	Asfotase alfa		Asfotase alfa		Asfotase alfa	
Assay:	Enzymatic activity		Enzymatic activity		Enzymatic activity	
	Study Day		Study Day		Study Day	
PK parameters:	Day 1	Day 28	Day 1	Day 28	Day 1	Day 28
AUC_{last} (mg*h/L) (SE)	16.6 (1.63)	6.00 (5.77)	137 (5.48)	6.85 (4.28)	333 (33.0)	13.8 (5.93)
AUC_{0-24h} (mg*h/L)	6.17	2.09	55.7	3.00	149	7.29
AUC_{0-24h}/Dose (mg*h/L)/(mg/kg)	7.35	2.49	6.63	0.357	5.91	0.289
C_{max} (mg/L) (SE)	0.326 (0.0874)	0.182 (0.173)	2.94 (0.416)	0.215 (0.166)	8.00 (1.47)	0.532 (0.242)
C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)	0.388	0.217	0.350	0.0256	0.317	0.0211
t_{ma}^{0} (h)	12	12	8	8	12	2

PK parameters were calculated based on a composite dataset.
N = 3 /time point/group
SD = Sprague Dawley
AUC_{last} = AUC over 0-96 hours

2.6.5.4 B. 反復投与後の吸収（ラットでの 4 週間トキシコキネティクス試験）

			Test Article: Asfotase Alfa			
			Location in CTD: 4.2.3.2.2			
			Study No. 670314			
Species	Juvenile SD Rat		Juvenile SD Rat		Juvenile SD Rat	
Gender (M/F)/Number of animals:	M/15, F/15		M/15, F/15		M/15, F/15	
Feeding condition:	Fed		Fed		Fed	
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)		Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)		Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	
Method of Administration:	IV		IV		IV	
***Dose (mg/kg/day):**	2.6		26		77	
Dosing Schedule/Duration	Weekly/ 4 weeks		Weekly/ 4 weeks		Weekly/ 4 weeks	
Sample:	Serum		Serum		Serum	
Analyte:	Asfotase alfa		Asfotase alfa		Asfotase alfa	
Assay:	Enzymatic activity		Enzymatic activity		Enzymatic activity	
	Gender		Gender		Gender	
PK parameters:	Male	Female	Male	Female	Male	Female
C_{24} Mean (± CV%; s.d.) Concentration (mg/L) on Day 16[0]	0.683 (16.1; 0.110)	0.596 (24.5; 0.146)	4.46 (10.9; 0.486)	3.83 (22.7; 0.869)	7.65 (11.1; 0.815)	6.71 (30.4; 2.04)
C_{24} Mean (±CV%; s.d.) Concentration (mg/L) on Day 23[b)]	0.723 (27.4; 0.198)	0.564 (24.3; 0.137)	4.13 (12.5; 0.517)	3.45 (12.0; 0.414)	8.56 (11.5; 0.981)[c)]	6.49 (20.6; 1.34)

Mean concentrations are provided.
With one exception (see footnote “c”), N = 15 /sex/group.
a) Mean values was corrected by baseline level (using the vehicle control group).
b) Target doses were 3, 30, and 90 mg/kg.
c) n=14.
SD = Sprague Dawley
s.d.=standard deviation

2.6.5.4 C. 反復投与後の吸収（ラットでの６ヵ月トキシコキネティクス試験）

					Test Article: Asfotase Alfa	
					Location in CTD: 4.2.3.2.3	
					Study No. 670315	
Species	Juvenile SD Rat					
Gender (M/F)/Number of animals:	M/27,F/27 (3 per sex/timepoint)					
Feeding condition:	Fed					
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)					
Method of Administration:	IV					
Dose (mg/kg/day):	1					
Dosing Schedule/Duration	Daily/26 weeks					
Sample:	Serum					
Analyte:	Asfotase alfa					
Assay:	Enzymatic activity					
	Study Day					
PK parameters:	Day 1 (Gender combined)	Week 4 (Gender combined)	Week 17 (Gender combined)	Week 26 (Gender combined)	Week 26 (Male, NCA)	Week 26 (Female, NCA)
AUC (mg*h/L)	26.0	30.7	75.8	16.1	14.8	9.78
AUC/Dose (mg*h/L)/(mg/kg/day)	26.0	30.7	75.8	16.1	14.8	9.78
C_{max} (mg/L) (SE)	6.07	8.01	8.83	8.37	12.5 (0.574)	8.85 (0.802)
C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)	6.07	8.01	8.83	8.37	12.5	8.85

For NCA (Week 26 only), PK parameters were calculated based on a composite dataset.
N = 3 /sex/time point (Week 26 only)
SD = Sprague Dawley
Note: Unless otherwise stated, all parameters were derived by population kinetic analysis with male and female data combined. In the population analysis, AUC was calculated by an equation of Dose divided by CL.
AUC = $AUC_{0\text{-}24h}$, except for week 1 for which AUC_{∞} after the first dose was reported.

2.6.5.4 C. 反復投与後の吸収（ラットでの６ヵ月トキシコキネティクス試験）（続き）

					Test Article: Asfotase Alfa	
					Location in CTD: 4.2.3.2.3	
					Study No. 670315	
Species	Juvenile SD Rat					
Gender (M/F)/Number of animals:	M/27,F/27 (3 per sex/timepoint)					
Feeding condition:	Fed					
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)					
Method of Administration:	IV					
Dose (mg/kg/day):	3					
Dosing Schedule/Duration	Daily/26 weeks					
Sample:	Serum					
Analyte:	Asfotase alfa					
Assay:	Enzymatic activity					
	Study Day					
PK parameters:	Day 1 (Gender combined)	Week 4 (Gender combined)	Week 17 (Gender combined)	Week 26 (Gender combined)	Week 26 (Male, NCA)	Week 26 (Female, NCA)
AUC (mg*h/L)	58.4	88.6	284	61.9	53.8	31.7
AUC/Dose (mg*h/L)/(mg/kg/day)	19.5	29.5	94.7	20.6	17.9	10.6
C_{max}(mg/L) (SE)	19.3	25.5	42.7	42.3	55.7 (2.80)	35.0 (0.299)
C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg/day)	6.43	8.50	14.2	14.1	18.6	11.7

For NCA (Week 26 only), PK parameters were calculated based on a composite dataset.
N = 3 /sex/time point (Week 26 only)
SD = Sprague Dawley
Note: Unless otherwise stated, all parameters were derived by population kinetic analysis with male and female data combined. In the population analysis, AUC was calculated by an equation of Dose divided by CL.
AUC = $AUC_{0\text{-}24h}$, except for week 1 for which AUC_{∞} after the first dose was reported.

2.6.5.4 C. 反復投与後の吸収（ラットでの６ヵ月トキシコキネティクス試験）（続き）

					Test Article: Asfotase Alfa	
					Location in CTD: 4.2.3.2.3	
					Study No. 670315	
Species	Juvenile SD Rat					
Gender (M/F)/Number of animals:	M/27,F/27 (3 per sex/timepoint)					
Feeding condition:	Fed					
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)					
Method of Administration:	IV					
Dose (mg/kg/day):	13					
Dosing Schedule/Duration	Daily/26 weeks					
Sample:	Serum					
Analyte:	Asfotase alfa					
Assay:	Enzymatic activity					
	Study Day					
PK parameters:	Day 1 (Gender combined)	Week 4 (Gender combined)	Week 17 (Gender combined)	Week 26 (Gender combined)	Week 26 (Male, NCA)	Week 26 (Female, NCA)
AUC(mg*h/L)	364	401	1370	379	422	239
AUC/Dose (mg*h/L)/(mg/kg/day)	28.0	30.8	105	29.2	32.5	18.4
C_{ma} (mg/L) (SE)	115	147	302	281	357 (4.47)	305 (13.2)
C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)	8.85	11.3	23.2	21.6	27.5	23.5

For NCA (Week 26 only), PK parameters were calculated based on a composite dataset.
N = 3 /sex/time point (Week 26 only)
SD = Sprague Dawley
Note: Unless otherwise stated, all parameters were derived by population kinetic analysis with male and female data combined. In the population analysis, AUC was calculated by an equation of Dose divided by CL.
AUC = $AUC_{0\text{-}24h}$, except for week 1 for which AUC_{∞} after the first dose was reported.

2.6.5.4 D. 反復投与後の吸収（サルでの 4 週間トキシコキネティクス試験）

					Test Article: Asfotase Alfa	
					Location in CTD: 4.2.3.2.4	
					Study No. 1007-1503	
Species	Juvenile Cynomolgus Monkey		Juvenile Cynomolgus Monkey		Juvenile Cynomolgus Monkey	
Gender (M/F)/Number of animals:	M/5, F/5		M/5, F/5		M/5, F/5	
Feeding condition:	Fed		Fed		Fed	
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)		Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)		Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	
Method of Administration:	IV		IV		IV	
Dose (mg/kg/day):	5		15		45	
Dosing Schedule/Duration	weekly /4 weeks		weekly /4 weeks		weekly /4 weeks	
Sample:	Serum		Serum		Serum	
Analyte:	Asfotase alfa		Asfotase alfa		Asfotase alfa	
Assay:	Enzymatic activity		Enzymatic activity		Enzymatic activity	
	Study Day		Study Day		Study Day	
PK parameters: Genders Combined	Day 1	Day 22	Day 1	Day 22	Day 1	Day 22
AUC ^{0}(±CV%) (mg*h/L)	142 (31.2)	105 (33.2)	606 (12.7)	524 (24.6)	3190 (20.4)	2670 (20.6)
AUC^{0}/Dose (±CV%) (mg*h/L)/(mg/kg/day)	28.4 (31.2)	21.0 (33.2)	40.4 (12.7)	34.9 (24.6)	70.9 (20.4)	59.3 (20.6)
C_{max} (±CV%) (mg/L)	68.1 (16.1)	53.7 (17.5)	245 (16.1)	236 (27.1)	726 (21.5)	691 (12.2)
C_{max}/Dose (±CV%) (mg/L)/(mg/kg)	13.6 (16.1)	10.7 (17.5)	16.3 (16.1)	15.7 (27.1)	16.1 (21.5)	15.4 (12.2)

Mean PK parameters are shown.
N = 5 /sex/group
a) AUC interval for Day 1 and Day 22 was 0-72 hours.

2.6.5.4 E. 反復投与後の吸収（サルでの 6 ヵ月トキシコキネティクス試験）

			Test Article: Asfotase Alfa
			Location in CTD: 4.2.3.2.5
			Study No. 670388
Species	Juvenile Cynomolgus Monkey	Juvenile Cynomolgus Monkey	Juvenile Cynomolgus Monkey
Gender (M/F)/Number of animals:	M/5, F/5	M/5, F/5	M/5, F/5
Feeding condition:	Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)
Method of Administration:	SC	SC	SC
Dose (mg/kg):	0.43	2.14	10
Dosing Schedule/Duration	Daily/26 weeks	Daily/26 weeks	Daily/26 weeks
Sample:	Serum	Serum	Serum
Analyte:	Asfotase alfa	Asfotase alfa	Asfotase alfa
Assay:	Enzymatic activity	Enzymatic activity	Enzymatic activity
PK parameters: Genders Combined			
Study Day	**Day 1**	**Day 1**	**Day 1**
$AUC_{0\text{-}24h}$[0] (±CV%) (mg*h/L)	1.38 (44.0)	8.50 (20.8)	50.0 (28.6)
$AUC_{0\text{-}24h}$[0]/Dose (±CV%) (mg*h/L)/(mg/kg)	3.21 (44.0)	3.97 (20.8)	5.00 (28.6)
C_{max} (±CV%) (mg/L)	0.0718 (49.0)	0.446 (20.4)	2.66 (30.6)
C_{max}/Dose (±CV%) (mg/L)/(mg/kg)	0.167 (49.0)	0.208 (20.4)	0.266 (30.6)
t_{max}[b)] (h)	8 (4, 24)	12 (4, 24)	12 (4, 24)

Except T_{max}, mean PK parameters are shown. T_{max} is a median value as stated in footnote "b".
N = 5 /sex/group

a) $AUC_{0\text{-}24h}$ was also designated as AUC_{τ} on Weeks 4 and 26.
b) Median (min, max) values were provided.

2.6.5.4 E. 反復投与後の吸収（サルでの６ヵ月トキシコキネティクス試験）（続き）

			Test Article: Asfotase Alfa
			Location in CTD: 4.2.3.2.5
			Study No. 670388
Species	Juvenile Cynomolgus Monkey	Juvenile Cynomolgus Monkey	Juvenile Cynomolgus Monkey
Gender (M/F)/Number of animals:	M/5, F/5	M/5, F/5	M/5, F/5
Feeding condition:	Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)
Method of Administration:	SC	SC	SC
Dose (mg/kg):	0.43	2.14	10
Dosing Schedule/Duration	Daily/26 weeks	Daily/26 weeks	Daily/26 weeks
Sample:	Serum	Serum	Serum
Analyte:	Asfotase alfa	Asfotase alfa	Asfotase alfa
Assay:	Enzymatic activity	Enzymatic activity	Enzymatic activity
PK parameters: Genders Combined			
Study Day	**Week 4**	**Week 4**	**Week 4**
$AUC_{0\text{-}24h}$[0] (±CV%) (mg*h/L)	5.22 (53.2)	5.91 (91.5)	132 (77.2)
$AUC_{0\text{-}24h}$[0]/Dose (±CV%) (mg*h/L)/(mg/kg)	12.1 (53.2)	2.76 (91.5)	13.2 (77.2)
C_{max} (±CV%) (mg/L)	0.265 (48.4)	0.338 (77.3)	6.62 (70.4)
C_{max}/Dose (±CV%) (mg/L)/(mg/kg)	0.616 (48.4)	0.158 (77.3)	0.662 (70.4)
t_{max}[b)] (h)	4 (0, 12)	6 (1, 12)	8 (1, 12)

Except T_{max}, mean PK parameters are shown. T_{max} is a median value as stated in footnote “b”.
N = 5 /sex/group

a) $AUC_{0\text{-}24h}$ was also designated as AUC_{τ} on Weeks 4 and 26.
b) Median (min, max) values were provided.

2.6.5.4 E. 反復投与後の吸収（サルでの６ヵ月トキシコキネティクス試験）（続き）

			Test Article: Asfotase Alfa
			Location in CTD: 4.2.3.2.5
			Study No. 670388
Species	Juvenile Cynomolgus Monkey	Juvenile Cynomolgus Monkey	Juvenile Cynomolgus Monkey
Gender (M/F)/Number of animals:	M/5, F/5	M/5, F/5	M/5, F/5
Feeding condition:	Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)
Method of Administration:	SC	SC	SC
Dose (mg/kg):	0.43	2.14	10
Dosing Schedule/Duration	daily /26 weeks	daily /26 weeks	daily /26 weeks
Sample:	Serum	Serum	Serum
Analyte:	Asfotase alfa	Asfotase alfa	Asfotase alfa
Assay:	Enzymatic activity	Enzymatic activity	Enzymatic activity
PK parameters: Genders Combined			
Study Day	**Week 26**	**Week 26**	**Week 26**
$AUC_{0\text{-}24h}$[0] (±CV%) (mg*h/L)	7.23 (31.0)	14.7 (51.5)	124 (20.1)
$AUC_{0\text{-}24h}$[0]/Dose (±CV%) (mg*h/L)/(mg/kg)	16.8 (31.0)	6.87 (51.5)	12.4 (20.1)
C_{max} (±CV%) (mg/L)	0.361 (34.2)	0.796 (44.6)	6.68 (34.3)
C_{max}/Dose (±CV%) (mg/L)/(mg/kg)	0.840 (34.2)	0.372 (44.6)	0.668 (34.3)
t_{max}[b)] (h)	3 (0, 12)	2 (0.5, 12)	5 (1, 8)

Except T_{max}, mean PK parameters are shown. T_{max} is a median value as stated in footnote “b”.
N = 5 /sex/group

a) $AUC_{0\text{-}24h}$ was also designated as AUC_{τ} on Weeks 4 and 26.
b) Median (min, max) values were provided

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

2.6.5.5 A. 薬物動態試験：分布

		Test Article: Asfotase Alfa
		Location in CTD: 4.2.2.3.1
		Study No. ALP-PD-01
Species:129J mouse		
Gender (M/F)/Number of animals: M/33 (3 per timepoint)		
Feeding condition: Fed		
Vehicle/Formulation: Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)		
Method of Administration: IV		
Dose (mg/kg): 5, 380 µCi/kg		
Radionuclide: ^{125}I		
Specific Radioactivity: 0.076 mCi/mg		
Sampling Time: 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 21, 25, 31, 48, and 96 hr		
Tissues/organs	**AUC_{∞} (h*µg/g)**	**Ratio: AUC_{∞}, tissue/AUC_{∞}, blood**
Blood	95.1	NA
Bone marrow	1.50	0.0157
Brain	5.89[0]	0.0619
Calvaria	69.6[b)]	0.732
Femurs	642[0]	6.75
Gall Bladder	78.9	0.830
Kidneys	86.7[0]	0.912
Liver	111	1.17
Lungs	44.5	0.468
Muscle	12.1	0.127
Serum	163	1.72
Tibias	113[b)]	1.19

PK parameters were calculated based on a composite dataset.
N = 3 /time point
a) Extrapolation of AUC_{∞} exceeds 25%, however value was included in the calculation
b) AUC_{∞}, tissue could not be calculated, therefore, AUC_{last}, tissue was reported and used for calculations of the Ratio.
NA = Not Applicable

2.6.5.5 B. 薬物動態試験：分布

		Test Article: Asfotase Alfa
		Location in CTD: 4.2.2.3.2
		Study No. ALP-PD-02
Species: Newborn CD-1 mice		
Gender (M/F)/Number of animals: M&F/ 15 (3 per timepoint)		
Feeding condition: Fed		
Vehicle/Formulation: aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)		
Method of Administration: SC, two weeks/daily		
Dose (mg/kg/day): 4.3 mg/kg, 98.9 µCi/kg		
Radionuclide: ^{125}I		
Specific Activity: 0.023 mCi/mg		
Sampling Time: pre-dose (24 hr post Day14), 24, 72, 120, and 168 hr post Day 15		
Tissues/organs	**AUCτ (h*µg/g)[0]**	**Ratio: AUCτ, tissue/AUCτ, blood[0]**
Blood	93.8	-NA
Brain	10.6	0.113
Calvaria	155	1.65
Femurs	73.2	0.780
Gall Bladder	53.4	0.569
Kidneys	62.7	0.668
Liver	74.2	0.790
Lung	60.2	0.641
Muscle	29.5	0.315
Serum	128	1.36
Tibias	89.0	0.948

PK parameters were calculated based on a composite dataset.
N = 3 /time point
a) AUCτ = $AUC_{0\text{-}24h.}$
NA = Not Applicable

2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合

該当データなし

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

2.6.5.7 A. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

		Test Article: Asfotase Alfa	
		Location in CTD: 4.2.2.2.2	
Placental Transfer Study		**Study No. ALP-PT-15**	
Species	C57BL/6 Non pregnant Mouse	CD-1 Pregnant Mouse	CD-1 Fetus
Gender (M/F)/Number of animals[0]	F/6	F/7	M&F /86
Feeding condition:	Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)	Aqueous solution (25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride)
Method of Administration:	SC	SC	ND
Dose (mg/kg):	0.5, 2.0, 8.2	0.5, 2.0, 8.2	ND
Dosing Schedule/Duration	Daily; 5 days	Daily / GD13- GD17	ND
Sample:	Serum	Serum	Serum
Analyte:	Asfotase alfa	Asfotase alfa	Asfotase alfa
Assay:	Enzymatic activity	Enzymatic activity	Enzymatic activity
PK parameters: Last Day of Dosing			
Mean C_{21} at 0.5 mg/kg dose (mg/L)	0.491	0.080	0.058
C_{21}/Dose at 0.5 mg/kg (mg/L)/(mg/kg)	0.982	0.16	0.116
Mean C_{21} at 2 mg/kg dose (mg/L)	1.34	0.362 (4.70)[b)]	0.310
C_{21}/Dose at 2 mg/kg (mg/L)/(mg/kg)	0.667	0.181	0.155
Mean C_{21} at 8.2 mg/kg dose (mg/L)	4.30	1.70 (3.46)[b)]	1.21
C_{21}/Dose at 8.2 mg/kg (mg/L)/(mg/kg)	0.525	0.208	0.147

Mean concentrations are shown.

a) Number of animals in dose groups (0.5, 2.0, 8.2): Non-pregnant 2, 2, 2; Pregnant 1,3,3; Fetuses 11, 33, 42 (blood from 3-4 littermates were pooled for analysis).

b) CV% for pregnant animals (n=3) only for the 2.0 and 8.2 mg/kg dose groups, other groups had fewer than 3 animals or blood was pooled (fetuses).

ND = fetuses not dosed directly, exposure acquired through placental transfer.

C_{21} = Serum concentration at 21 hours post last dose.

2.6.5.7 B. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

				Test Article: Asfotase Alfa		
				Location in CTD: 4.2.2.2.7		
				Study No.902480		
Species: SD Rat						
Gestation day/Number of animals: GD 6 and GD 19 / 6 per dose group (3 per timepoint)						
Vehicle/Formulation: Aqueous solution **(**25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride**)**						
Method of Administration: IV						
Dose (mg/kg): 13, 25, 50						
Dosing Schedule/Duration: Daily, GD 6 to GD 19						
Analyte: Asfotase alfa						
Assay: Enzymatic activity						
PK Parameters						
Dose (mg/kg/day)	**13**		**25**		**50**	
Study Day	**GD 6**	**GD 19**	**GD 6**	**GD 19**	**GD 6**	**GD 19**
AUC_{0-24h} (mg*h/L)	167	104	422	128[0]	1100	1150
AUC_{0-24h} /Dose(mg*h/L)/(mg/kg)	12.8	8.00	16.9	5.12	22.0	23.0
C_{max} (mg/L) (SE)	54.3 (13.9)	55.7 (5.82)	183 (35.5)	20.4 (6.32)	546 (22.5)	673 (33.9)
C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)	4.18	4.28	7.32	0.816	10.9	13.5

PK parameters were calculated based on a composite dataset.
N = 3 /time point/group
a) Value was corrected from a bioanalytical error (Report 902238 page 2123).
Note: All dose-normalized C_{max} and AUC_{0-24h} were calculated using rounded C_{max} and AUC_{0-24h} values.
GD = Gestation Day
SD = Sprague Dawley

2.6.5.7 C. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

	Test Article: Asfotase Alfa					
	Location in CTD: 4.2.3.5.3.1					
Pre and Post Natal Study	**Study No.902238**					
Species: SD Rat						
Gestation day/Number of animals: GD 6 and GD 19 / 6 per dose group (3 per timepoint)						
Vehicle/Formulation: Aqueous solution **(**25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride**)**						
Method of Administration: IV						
Dose (mg/kg/day): 10, 25, 50						
Dosing Schedule/Duration: Daily / GD 6 to GD 19[0]						
Analyte: Asfotase alfa						
Assay: Enzymatic activity						
PK Parameters						
Dose (mg/kg/day)	**10**		**25**		**50**	
Study Day	**GD 6**	**GD 19**	**GD 6**	**GD 19**	**GD 6**	**GD 19**
$AUC_{0\text{-}24h}$ (mg*h/L)	243	85.8[b)]	703	340	1500	1370[b)]
$AUC_{0\text{-}24h}$ /Dose(mg*h/L)/(mg/kg)	24.3	8.58	28.1	13.6	30.0	27.4
C_{max} (mg/L) (SE)	65.9 (3.85)	36.9 (4.87)	247 (8.25)	134 (14.7)	612 (140)	672 (143)
C_{max}/Dose (mg/L)/(mg/kg)	6.59	3.69	9.88	5.36	12.2	13.4

PK parameters were calculated based on a composite dataset.
N = 3 /time point/group
a) In main toxicology group animal was dosed from GD 6 to Day 21 post-partum
b) Value was corrected from a bioanalytical error (Report 902238 page 2123).
Note: All dose-normalized C_{max} and $AUC_{0\text{-}24h}$ were calculated using rounded C_{max} and $AUC_{0\text{-}24h}$ values.
GD = Gestation Day, also termed as postcoitum in the report
SD = Sprague Dawley

2.6.5.7 D. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

	Test Article: Asfotase Alfa			
	Location in CTD: Vol. 4.2.3.5.2.3			
	Study No.902236			
Species: New Zealand White Rabbit				
Gestation day/Number of animals: GD 19 / 5				
Vehicle/Formulation: Aqueous solution **(**25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride**)**				
Method of Administration: IV				
Dose (mg/kg/day): 6, 13, 25, 50				
Dosing Schedule/Duration: Daily / GD 7 to GD 19				
Analyte: Asfotase alfa				
Assay: Enzymatic activity				
PK Parameters:		**Gestation Day 19**		
Dose (mg/kg/day)	**6**	**13**	**25**	**50**
$AUC_{0\text{-}24h}$ (±CV%) (mg*h/L)	64.6 (44.7)	245 (41.2)	727 (14.9)	2040 (NA)[a)]
$AUC_{0\text{-}24h}$/Dose (±CV%) (mg*h/L)/(mg/kg)	10.8 (44.7)	18.9 (41.2)	29.1 (14.9)	40.8 (NA)
C_{max} (±CV%) (mg/L)	36.2 (42.8)	128 (32.9)	370 (14.0)	785 (16.9)
C_{max}/Dose (±CV%) (mg/L)/(mg/kg)	6.03 (42.8)	9.85 (32.9)	14.8 (14.0)	15.7 (16.9)

Mean PK parameters are shown.
N = 5 /group
a) Value was corrected from a bioanalytical error (Report 902236 amendment No 1).
Note: All dose-normalized C_{max} and $AUC_{0\text{-}24h}$ were calculated using rounded C_{max} and $AUC_{0\text{-}24h}$ values.
GD = Gestation Day; also termed as postcoitum in the report.
NA = Not available

2.6.5.7 E. 動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

	Test Article: Asfotase Alfa					
	Location in CTD: 4.2.3.5.2.4					
Placental transfer	**Study No.902237**					
Species: New Zealand White Rabbit						
Gestation day/Number of animals: GD 7 and GD 19 / 3						
Vehicle/Formulation: Aqueous solution **(**25 mM sodium phosphate pH 7.4, 150 mM sodium chloride**)**						
Method of Administration: IV						
Dose (mg/kg/day): 10, 25, 50						
Dosing Schedule/Duration: Daily / GD 7 to GD 19						
Analyte: Asfotase alfa						
Assay: **Enzymatic activity**						
PK Parameters						
Dose (mg/kg/day)	**10**		**25**		**50**	
Study Day	**GD 7**	**GD 19**	**GD 7**	**GD 19**	**GD 7**	**GD 19**
$AUC_{0\text{-}24h}$ (±CV%) (mg*h/L)	446 (13.5)	322 (43.0)	1980 (46.0)	1570 (20.8)	4190 (17.6)	3440 (31.4)
$AUC_{0\text{-}24h}$ /Dose (±CV%) (mg*h/L)/(mg/kg)	44.6 (13.5)	32.2 (43.0)	79.1 (46.0)	62.9 (20.8)	83.8 (17.6)	68.7 (31.4)
C_{max} (±CV%) (mg/L)	121 (34.6)	125 (13.9)	584 (84.2)	504 (22.4)	1140 (13.2)	1020 (3.20)
C_{max}/Dose (±CV%) (mg/L)/(mg/kg)	12.1 (34.6)	12.5 (13.9)	23.3 (84.2)	20.2 (22.4)	22.7 (13.2)	20.4 (3.20)

Mean PK parameters are shown.
N = 3 /group
GD = Gestation Day; also termed as postcoitum in the report.

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

該当データなし

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：In Vivo

該当データなし

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：In Vitro

該当データなし

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

該当データなし

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

該当データなし

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

該当データなし

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

該当データなし

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

該当データなし

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

2.6.5.16 A 薬物動態試験: その他

		Test Article: Asfotase Alfa	
		Location in CTD: 4.2.2.7.1	
Role of FcRn in Asfotase Alfa Clearance (An In Vitro Study)		**Study No. GTR-0569**	
Structure ID	**Fc-Domain Containing Therapeutic Protein**	**Affinity to FcRn K_D (nM)**	**Half-Life in Humans (days)**
Fc-fusion protein	Abatacept (Orencia®)	5490	13.1[a)]
Fc-fusion protein	Etanercept (Enbrel®)	9380	4[a)]
Fc-fusion protein	Asfotase Alfa	11400	2-7[b)]

a)Value was obtained from Suzuki T et al J. Immunol. 184:1968-1979, 2010.
b)At the time report GTR-0569 was issued, clinical half-life of 3-6 days was entered based on the preliminary PK analysis, while updated information was provided in this table.

2.6.5.16 B 薬物動態試験: その他 （報告されていない試験）

		Test Article: Asfotase Alfa
		Location in CTD: —
		Study Nos. ALP-PC-10 and ALP-PC-11
Study No.	ALP-PC-10	ALP-PC-11
Species[a)]	C57BL/6	C57BL/6
Gender (M/F)/Number of animals:	24 M (12 per group)	12 M
Drug Lot:	[redacted]	[redacted]
Method of Administration:	IV	IV
Dose (mg/kg):	2	2
Sample:	Serum	Serum
Analyte:	Asfotase alfa	Asfotase alfa
Assay:	Enzymatic activity	Enzymatic activity
PK parameters:		
AUC_{∞} (mg*h/L)	109 (group 1) 141 (group 2)	105
C_{max} (mg/L)	13.6 (group 1) 15.6 (group 2)	13.8
CL(L/h/kg)	0.0184 (group 1) 0.0142 (group 2)	0.0190
Vss(L/kg)	0.338 (group 1) 0.231 (group 2)	0.289
$t_{½}$ (h)	17.8 (group 1) 19.1 (group 2)	17.2

PK parameters were calculated based on a composite dataset.
N = 12 /group
a） Animals were ~36- to 40-day of age.