2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

アレルゲン免疫療法に用いられるアレルゲンは，アレルギー原因物質由来のタンパク質である。本剤の主たる有効成分はHDM主要アレルゲンであるDer f 1, Der f 2, Der p 1及びDer p 2を含む多種類のタンパク質である。一般的に，タンパク質は組織中及び血液中のペプチダーゼ等の酵素により，速やかに代謝分解を受けると考えられる。また，口腔内粘膜を含む上皮細胞は細胞間密着結合をしており，タンパク質のような高分子はたやすく容易に拡散することは出来ない。舌下投与した本剤のアレルゲンタンパク質は，舌下粘膜より吸収されることはほとんどなく，仮に吸収されても，組織中及び血液中のペプチダーゼ等の酵素により，投与後速やかに代謝分解，排泄されることが推察される。

TO-203舌下錠の薬物動態について，Der p 2のヨード（^{123}I）標識体を用いたヒトでの文献報告及びスギ花粉の主要アレルゲンの1つであるCry j 1のヨード（^{125}I）標識体を用いたラットでの試験結果（シダトレン®スギ花粉舌下液申請資料[21]）から，TO-203舌下錠の舌下投与後の体内動態を以下のように考察し，薬物動態試験は実施しなかった。

2.6.4.1.1 ダニアレルギー性鼻炎患者における[^{123}I]Der p 2の単回舌下投与試験（文献報告）

HDMアレルゲンエキスをヒトに舌下投与した際の薬物動態について，Der p 2[19]をヨード(^{123}I)で標識した[^{123}I]Der p 2を舌下投与した後の体内動態解析結果[18]が報告されている。被験者は舌下に投与された[^{123}I]Der p 2を舌下に6分間保持した後に飲み込んだ。試験内容を以下の表に示す。

[^{123}I]Der p 2のヒトにおける薬物動態試験内容

被験者	被験物質	投与方法	投与量	測定/検討項目
ダニに感作されている鼻炎患者 N=3 (25-39才，男女7名のうちの3名)	[^{123}I]Der p 2	単回 舌下	[^{123}I]Der p 2として 9.3～19.8 μg [a]/body （投与放射能量： 7.4～15.8 MBq/body）	・頭部及び頸部のシンチグラフィー （取り込み：15秒～10分） ・頭部及び頸部のシンチグラフィー （持続：3時間） ・血漿中放射能濃度 ・代謝プロファイル

a：標識タンパク質としての比活性：0.8 MBq/μgから計算

[^{123}I]Der p 2の取り込みに関するシンチグラフィー解析（投与後15秒～10分）の結果，[^{123}I]Der p 2を保持している6分間は頭部及び頸部における放射活性に関して変化は認められず，飲み込んだ後，食道から胃にかけて放射能が検出された。また，投与後口腔内には[^{123}I]Der p 2由来の放射能が持続的に検出され，3時間後も投与した放射能の3%が検出された。血漿中放射能は6分の保持の間は検出されず，飲み込んだ後速やかに上昇し1～2時間後に放射活性は最高値を示した。血漿を用いてHPLCによる解析を行ったところ，検出された放射活性の検出時間にはばらつきがみられ，単一のアレルゲンタンパク質としてではなくヨード及び様々な大きさのペプチドの存在が

示唆された。

2.6.4.1.2　[^{125}I]Cry j 1 のラット単回舌下投与試験（シダトレン®スギ花粉舌下液申請資料）

シダトレン®スギ花粉舌下液申請資料として，スギ花粉エキスに含まれるスギ主要アレルゲンの１つである Cry j 1[20] をヨード（^{125}I）で標識した [^{125}I]Cry j 1 をラットに単回舌下投与し体内動態（血漿中放射能濃度及び分布）を検討している[21]。試験内容を以下の表に示す。

[^{125}I]Cry j 1 のラットにおける薬物動態試験内容

使用動物	被験物質	投与方法	投与量	測定/検討項目 [a]
SD ラット （7 週齢，雄） N=3[b]	[^{125}I]Cry j 1 （媒体：50%グリセリン・塩化ナトリウム溶液）	単回 舌下	Cry j 1 として 7.5 μg/body （投与放射能量： 0.44～0.5 MBq/body）	・血漿中放射能濃度 ・組織内放射能濃度 ・全身オートラジオグラフィー

a：単回舌下投与による代謝プロファイル，尿・糞中排泄率及び体内残存率の測定/検討は実施しなかった。

b：全身オートラジオグラフィーは，各測定時間 n=1。

(1) 方法

[^{125}I]Cry j 1 を SD ラット（7 週齢，雄，3 匹／群）に単回舌下投与した。投与後 15，30 分，1，2 及び 4 時間後，繰返し採血を尾静脈より行い，得られた血漿を用いて血漿中放射能濃度の推移を調べた。また，血漿中放射能濃度を検討した際の血漿を用いて TCA 処理を行い，血漿中 TCA 不溶性画分の比率を調べた。

組織内分布に関しては，[^{125}I]Cry j 1 を SD ラット（7 週齢，雄，3 匹／群）に単回舌下投与し，投与後 30 分，1，2 及び 4 時間でイソフルラン吸入麻酔下，腹大動脈より採血致死させた。採材した試料について組織内放射能濃度を求め，各組織における放射能分布及び経時的変化について調べた。また，[^{125}I]Cry j 1 を単回舌下投与した SD ラット（7 週齢，雄，1 匹／群）を，舌下投与後 30 分，2 及び 4 時間において炭酸ガス吸入により安楽死させたのち，全身オートラジオグラムを作製し，各組織への放射能分布及び経時的変化について検討した。

本試験では，[^{125}I]Cry j 1 が経口的に吸収されることを避けるために SD ラットの食道を結さつする必要があったため，動物倫理の観点からイソフルラン吸入麻酔下で投与並びに試料採取を行い，試験時間の限度を投与後 4 時間とした。したがって，単回舌下投与時の尿，糞中排泄率及び体内残存率の検討は実施していない。また，本試験では舌下投与における代謝プロファイルの検討は実施していない。

(2) 結果及び考察

1) 吸収

[^{125}I]Cry j 1 を SD ラットに単回舌下投与したときの血漿中放射能濃度は，投与後 4 時間（検体採取最終時点）まで経時的に上昇した（表 2.6.4-1)。

その際の血漿中放射能の TCA 不溶性画分中の割合（TCA 不溶性の高分子物質に由来する放射能の割合）は，検体を採取した舌下投与後 4 時間までのすべての時点において，検出限界未満であった（表 2.6.4-2）。血漿を用いた代謝プロファイルについては，舌下投与では[^{125}I]Cry j 1 の暴露量が極めて低いと予想されるため，本試験で舌下投与時の血漿を用いた検討は実施しなかった。

2) 分布

[^{125}I]Cry j 1 を SD ラットに単回舌下投与したとき，各組織の放射能濃度は投与後 30 分から徐々に上昇し，投与後 4 時間でほとんどの組織で最高濃度を示した（表 2.6.4-3）。投与後 4 時間では肺が最も高く，次いで甲状腺，気管が高く，血漿中放射能濃度（2560.13 pg eq./mL）のそれぞれ 327.67 倍，236.07 倍及び 98.02 倍を示した。甲状腺はヨードが蓄積したと推測され，肺及び気管については，投与液が唾液とともに吸気に伴って流入したと推察された。次いで顎下リンパ節，胃及び腎臓は血漿中放射能濃度のそれぞれ 1.99 倍，1.67 倍，1.61 倍を示した（表 2.6.4-4）。以上から，舌下投与時の顎下リンパ節に比較的放射能が多く分布する特徴が見られた。

また，単回舌下投与時の全身オートラジオグラムの所見は，各々の組織内放射能濃度の測定結果とほぼ一致した。

3) 代謝

単回舌下投与時の代謝プロファイルの検討は実施していない。

4) 排泄

単回舌下投与時の尿，糞中排泄率及び体内残存率の検討は実施していない。

以上の結果より，舌下投与された[^{125}I]Cry j 1 は，血漿中放射能濃度として経時的に上昇するが，その放射能濃度は[^{125}I]Cry j 1 自身ではなく，分離したヨード及びヨードチロシンなどの低分子によるものであると考えられた。また，顎下リンパ節に比較的多く分布する特徴が見られた。

2.6.4.1.3　考察

SLIT の作用機序の詳細は明らかになっていないが，投与されたアレルゲンは口腔内粘膜に存在する樹状細胞に取り込まれた後，近傍のリンパ節（顎下リンパ節等）に移行し，免疫反応を引き起こすと報告されている[11)]。

口腔内の樹状細胞へのアレルゲンの取り込みについて，ビオチン標識した OVA を舌下投与したマウス口腔粘膜組織切片の解析結果から，次のことが報告されている。

ビオチン標識した OVA を舌下投与すると，標識されたビオチンによる発色が投与後 5 分でマウスの口腔内粘膜表面に，投与後 30 分には粘膜下層下に確認された。投与後 60 分には粘膜下のビオチンの発色が消失し始めており，これらは OVA の口腔内粘膜表面接着，樹状細胞への取り込みを反映しており，その後樹状細胞内でのタンパク質のプロセッシングへ移行したと考えられる[36)]。

上述の報告で可視化されているように，舌下免疫療法において舌下投与されたアレルゲンが樹

状細胞に取り込まれる過程については，以下のような過程で起こると推察される。まず始めに，舌下投与されたアレルゲンは舌下粘膜上皮細胞へ接着する。次に，粘膜上皮に接着したアレルゲンは，抗原提示細胞（粘膜のランゲルハンス細胞や粘膜固有層の骨髄系樹状細胞）に取り込まれ，抗原提示細胞は所属（頸部）リンパ節へ移動する。抗原提示細胞に取り込まれたアレルゲンは，細胞内で分解され抗原ペプチド断片となる。それらの抗原ペプチドは MHC クラス II 分子と結合して，抗原提示細胞表面に提示され，ナイーブ T 細胞に抗原提示することで抑制性の機能を持つ Th1 細胞や制御性 T 細胞を誘導すると考えられている [37)]。

なお，口腔内におけるアレルゲンの取り込み過程の時間経過については，アレルゲンの粘膜上皮細胞への接着に数分以内，抗原提示（粘膜のランゲルハンス細胞や粘膜固有層の骨髄系樹状細胞）に取り込まれるのに 15 分～30 分程度，抗原提示細胞内で分解を受けるのに 30～60 分程度，抗原提示した抗原提示細胞の頸部リンパ節への移動に 12～24 時間程度と考えられている [36) 37)]。

アレルゲンの吸収については，アレルゲン自らが粘膜を通過することは報告されておらず，粘膜下へ移動する際には，アレルゲンが抗原提示細胞と結合し，抗原提示細胞がアレルゲンを取り込んでいると考えられる。皮膚においては，活性化されたランゲルハンス細胞が樹状突起を伸長させ，樹状突起は上皮細胞間のタイトジャンクションを突き抜け，アレルゲンをその先端よりエンドサートシスにより取り込むことが報告されている [38)]が，口腔内においてはこのような確認はまだ報告されていない。

ダニの主要アレルゲンを用いた薬物動態学的検討は行っていないが，スギ花粉の主要アレルゲンの 1 つである Cry j 1 のラベル体（[^{125}I]Cry j 1）の舌下投与後の放射能分布を調べた結果，舌下の近傍に位置する顎下リンパ節に比較的多く分布した。このことから，舌下投与されたアレルゲンは，頸部リンパ節（顎下リンパ節）へ移行し，SLIT の免疫応答に寄与することが示唆された。

本剤に含まれる HDM の主要アレルゲンタンパク質としては Der f 1，Der f 2，Der p 1 及び Der p 2 などが知られている [22)]。HDM の Group 1（糞由来）及び Group 2（虫体由来）のアレルゲンタンパク質は，異なる分子量（Der f 1 及び Der p 1：25 kDa，Der f 2 及び Der p 2：15 kDa）や等電点（Der f 1 及び Der p 1：4.6～7.2，Der f 2：7.8～8.3, Der p 2：7.6～8.5）を有する [23)]。またスギ花粉の主要アレルゲンの一つである Cry j 1 の分子量は 41 kDa 及び 46 kDa，等電点は 8.9 及び 9.2 である [20)]。一般にタンパク質やペプチドなどの口腔粘膜からの吸収は受動拡散によるとされ，分子量や荷電状態に依存するとされており [24)]，吸収が可能な分子量の閾値は 0.5～1.0 kDa と考えられている [25)]。Der p 2（15 kDa）の ^{123}I 標識体をヒトに舌下投与した報告や[^{125}I]Cry j 1 のラット単回舌下投与試験の結果において，未変化体のアレルゲンタンパク質は血漿中に検出されなかったことから，吸収可能な分子量の閾値を超えた Der p 2 や Cry j 1 は受動拡散による十分な吸収はされなかったと考えられ，同様に Der p 1，Der f 1，Der f 2 及びその他のアレルゲンも受動拡散によって舌下部位から未変化体のまま循環血中に移行する可能性は低いと考えられた。

以上から，舌下投与された HDM アレルゲンタンパク質は，口腔内舌下投与部位から血中に吸収される可能性は低い。また，飲み込まれた HDM アレルゲンタンパク質は，タンパク質の性質

として一般的に知られているように，消化液中で分解を受けること，また血中に吸収された場合も速やかに代謝を受けることが推測される。

2.6.4.2　分析法

実施しなかった。

2.6.4.3　吸収

実施しなかった。

2.6.4.4　分布

実施しなかった。

2.6.4.5　代謝

実施しなかった。

2.6.4.6　排泄

実施しなかった。

2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用

実施しなかった。

2.6.4.8　その他の薬物動態試験

実施しなかった。

2.6.4.9　考察及び結論

該当する考察及び結論はない。

2.6.4.10　図表

表 2.6.4-1　　[^{125}I]Cry j 1 を単回舌下投与した時の血漿中放射能濃度

（使用動物：ラット，n=3，投与量： 7.5 μg/body）

時間	血漿中放射能濃度（pg eq. of Cry j 1/mL，平均値）
	舌下投与
15 min	ND
30 min	309.93
1 hr	660.73
2 hr	966.12
4 hr	1595.07

舌下投与においては，食道を結さつして実施したことから，放射能濃度の測定のための試料採取は投与後 4 時間までとした。
ND：not detected（検出不可）

表 2.6.4-2　　[^{125}I]Cry j 1 を単回舌下投与した時の血漿中 TCA 不溶性画分の比率

（使用動物：ラット，n=3，投与量： 7.5 μg/body）

時間	TCA 不溶性画分の比率（%，平均値）
	舌下投与
15 min	NC
30 min	NC
1 hr	NC
2 hr	NC
4 hr	NC

舌下投与においては，食道を結さつして実施したことから，放射能濃度の測定のための試料採取は投与後 4 時間までとした。
NC：not calculated（算出不可）

表 2.6.4-3　　[^{125}I]Cry j 1 を単回舌下投与した時の組織内放射能濃度

（使用動物：ラット，n = 3，投与量： 7.5 μg/body）

組織	組織内放射能濃度（pg eq. of Cry j 1/g or mL，平均値）			
	舌下投与			
	30 min	**1 hr**	**2 hr**	**4 hr**
血漿	576.46	917.40	1393.88	2560.13
血液	581.88	867.45	1369.94	2481.02
大脳	ND	37.19	123.99	229.10
下垂体	ND	ND	ND	ND
眼球	120.93	184.32	317.30	588.98
顎下腺	175.60	313.45	559.80	882.62
顎下リンパ節	1324.01	4702.87	6632.65	5106.16
甲状腺	46015.90	92437.88	289571.87	604375.56
胸腺	184.88	252.70	380.87	978.36
心臓	152.74	233.06	407.50	835.83
気管	3882.18	11529.90	6925.99	250949.62
肺	206.91	1618.94	708.18	838884.21
肝臓	159.53	314.78	516.10	1334.36
腎臓	381.46	849.66	1166.21	4117.53
副腎	ND	ND	ND	1122.10
脾臓	206.04	343.43	609.37	1097.66
膵臓	203.78	300.36	572.84	1384.14
白色脂肪	29.67	84.56	135.15	146.39
骨格筋	85.74	195.71	230.19	575.72
骨髄	ND	404.76	789.89	1419.03
皮膚	406.92	601.53	2126.74	2333.16
腸間膜リンパ節	188.04	325.12	471.60	972.55
精巣	107.84	193.17	371.73	619.04
胃	339.77	756.05	2556.63	4264.65
腸	218.21	257.18	1682.52	1025.27
膀胱	184.16	1281.10	6303.61	2895.27

舌下投与においては，食道を結さつして実施したことから，放射能濃度の測定のための試料採取は投与後 4 時間までとした。

ND：not detected（検出不可）

表 2.6.4-4　　[^{125}I]Cry j 1 を単回舌下投与したときの対血漿中放射能濃度比

（使用動物：ラット，n＝3，投与量： 7.5 μg/body）

組織	対血漿中放射能濃度比			
	30 min	**1 hr**	**2 hr**	**4 hr**
血漿	1.00	1.00	1.00	1.00
血液	1.01	0.95	0.98	0.97
大脳	NC	0.04	0.09	0.09
下垂体	NC	NC	NC	NC
眼球	0.21	0.20	0.23	0.23
顎下腺	0.30	0.34	0.40	0.34
顎下リンパ節	2.30	5.13	4.76	1.99
甲状腺	79.82	100.76	207.75	236.07
胸腺	0.32	0.28	0.27	0.38
心臓	0.26	0.25	0.29	0.33
気管	6.73	12.57	4.97	98.02
肺	0.36	1.76	0.51	327.67
肝臓	0.28	0.34	0.37	0.52
腎臓	0.66	0.93	0.84	1.61
副腎	NC	NC	NC	0.44
脾臓	0.36	0.37	0.44	0.43
膵臓	0.35	0.33	0.41	0.54
白色脂肪	0.05	0.09	0.10	0.06
骨格筋	0.15	0.21	0.17	0.22
骨髄	NC	0.44	0.57	0.55
皮膚	0.71	0.66	1.53	0.91
腸間膜リンパ節	0.33	0.35	0.34	0.38
精巣	0.19	0.21	0.27	0.24
胃	0.59	0.82	1.83	1.67
腸	0.38	0.28	1.21	0.40
膀胱	0.32	1.40	4.52	1.13

舌下投与においては，食道を結さつして実施したことから，放射能濃度の測定のための試料採取は投与後 4 時間までとした。
NC：not calculated（算出不可）

2.6.5　薬物動態試験の概要表

2.6.5.1　薬物動態試験一覧表

吸収，分布，代謝，排泄，薬物動態学的薬物相互作用試験は実施しなかった。
したがって，該当する一覧表はない。

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験

該当する概要表はない。

2.6.5.3　薬物動態試験　吸収（単回投与）

該当する概要表はない。

2.6.5.4　薬物動態試験　吸収（反復投与）

該当する概要表はない。

2.6.5.5　薬物動態試験　分布

該当する概要表はない。

2.6.5.6　薬物動態試験　たん白結合

該当する概要表はない。

2.6.5.7　薬物動態試験　妊娠又は授乳動物における試験

該当する概要表はない。

2.6.5.8　薬物動態試験　その他の分布試験

該当する概要表はない。

2.6.5.9　薬物動態試験　代謝（*In Vivo*）

該当する概要表はない。

2.6.5.10　薬物動態試験　代謝（*In Vitro*）

該当する概要表はない。

2.6.5.11　薬物動態試験　推定代謝経路

該当する概要表はない。

2.6.5.12　薬物動態試験　薬物代謝酵素の誘導／阻害

該当する概要表はない。

2.6.5.13　薬物動態試験　排泄（糞尿中）

該当する概要表はない。

2.6.5.14　薬物動態試験　排泄（胆汁中）

該当する概要表はない。

2.6.5.15　薬物動態試験　薬物相互作用

該当する概要表はない。

2.6.5.16　薬物動態試験　その他

該当する概要表はない。