イデルビオン静注用 250
イデルビオン静注用 500
イデルビオン静注用 1000
イデルビオン静注用 2000

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

CSL ベーリング株式会社

目次

略語・略号一覧.....3
2.6.4. 薬物動態試験の概要文.....4
2.6.4.1. まとめ.....4
2.6.4.2. 分析法.....4
2.6.4.3. 吸収.....4
2.6.4.3.1. rIX-FP：カニクイザルの単回静脈内（ボーラス）投与による薬物動態試験（試験番号 APQ0002）.....4
2.6.4.3.2. rIX-FP：血友病 B イヌの単回静脈内（ボーラス）投与による薬物動態・薬力学的試験（試験番号 040200011）.....6
2.6.4.4. 分布.....7
2.6.4.4.1. ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（組織分布）試験（試験番号 CSL/01 及び CSL/03）.....7
2.6.4.5. 代謝.....8
2.6.4.6. 排泄.....9
2.6.4.6.1. ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（排泄）試験（試験番号 CSL/01 及び CSL/03）.....9
2.6.4.7. 薬物動態学的薬物相互作用.....9
2.6.4.8. その他の薬物動態試験.....9
2.6.4.9. 考察及び結論.....9
2.6.4.10. 参考文献.....10

表目次

表 2.6.4-1：　薬物動態試験一覧.....4

図目次

図 2.6.4-1：　rIX-FP（50 又は 100 IU/kg）単回静脈内投与後のカニクイザル血漿中ヒト FIX 抗原濃度.....5
図 2.6.4-2：　平均的な薬物動態を仮定した血友病 B イヌにおける、rIX-FP 又は BeneFIX® 100 IU/kg 単回静脈投与後の血漿中ヒト FIX 抗原濃度.....7
図 2.6.4-3：　定量的全身オートラジオグラフィー　－　ラットにおける rIX-FP、BeneFIX® 及びアルブミン静脈内投与後の組織分布の比較.....8

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
AUC	Area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_t	Area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable sampling time	定量化可能な最終検体採取時刻までの血漿中濃度－時間曲線下面積
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
ELISA	Enzyme linked immunosorbant assay	酵素結合免疫吸着測定法
FIX	Coagulation factor IX	血液凝固第 IX 因子
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
HPLC	High performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IU	International Units	国際単位
QRA	Quantitative radiochemical analysis	定量的放射化学分析
QWBA	Quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
rIX-FP	Recombinant human coagulation factor IX fused to human albumin	遺伝子組換えヒト血液凝固第 IX 因子－アルブミン融合タンパク質（CSL654）
SD	Sprague Dawley	－
$t_{1/2}$	Terminal half-life	半減期
WBCT	Whole blood clotting time	全血凝固時間

2.6.4. 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1.　まとめ

rIX-FP の薬物動態を評価するため、サル及び血友病 B イヌを用いて単回静脈内投与試験を実施した。さらに、rIX-FP の組織分布を評価するためにラットを用いて定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）を実施した。

なお、トキシコキネティクス測定を、ラット及びサルの単回及び反復投与毒性試験において実施した（CTD 2.6.6.2、2.6.6.3 及び 2.6.7.7 項、参照）。

表 2.6.4-1 に薬物動態試験の一覧を示す。

表 2.6.4-1：　薬物動態試験一覧

試験の種類／動物種・系統	試験番号	バッチ番号	使用製剤	GLP 適用
薬物動態試験（吸収）／カニクイザル	APQ0002	[redacted]	rIX-FP	非適用
薬物動態試験（吸収）／イヌ（血友病 B モデル）	040200011	[redacted]	rIX-FP	非適用
薬物動態試験（分布、排泄）／ラット（[redacted] (SD)）	CSL/01 及び CSL/03	[redacted]	rIX-FP	非適用

2.6.4.2.　分析法

ラット、イヌ及びカニクイザルの血漿試料を用いて、ヒト FIX 抗原濃度を測定した。

- バリデートされた方法（ELISA）により、イヌ血漿中のヒト FIX 抗原濃度を測定した。
  試験番号 040200007_r：イヌ血漿中のヒト第 IX 因子の測定
- バリデートされた方法（ELISA）により、サル血漿中のヒト FIX 抗原濃度を測定した。
  試験番号 09079：サル血漿中 rIX-FP 測定のための ELISA 法のバリデーション
- バリデートされた方法（ELISA）により、ラット血漿中のヒト FIX 抗原濃度を測定した。
  試験番号 09078：ラット血漿中 rIX-FP 測定のための ELISA 法のバリデーション

2.6.4.3.　吸収

2.6.4.3.1.　rIX-FP：カニクイザルの単回静脈内（ボーラス）投与による薬物動態試験（試験番号 APQ0002）

本試験の目的は、rIX-FP を 50 及び 100 IU/kg の投与量でカニクイザルに単回静脈内投与したときの薬物動態及び用量比例性を評価することである。加えて、rIX-FP 投与後の全身曝露量について、市販の遺伝子組換えヒト第 IX 因子（FIX）製剤（BeneFIX®）の同用量を投与して比較した。さらに、rIX-FP 及び BeneFIX®に対する免疫反応の発現をそれぞれ検討した。

各群雌雄 1 匹ずつのサル 4 群に、rIX-FP 又は BeneFIX®のそれぞれ 50 及び 100 IU/kg を単回静脈内投与した。血液試料は各サルから 19 日間にわたり採取した。免疫原性検査はサル血漿中ヒト FIX 濃度測定と同様に、バリデートされた ELISA 法を使用して実施した。

rIX-FP 及び BeneFIX®について、いずれも静脈内投与後に有害作用は認められなかった。

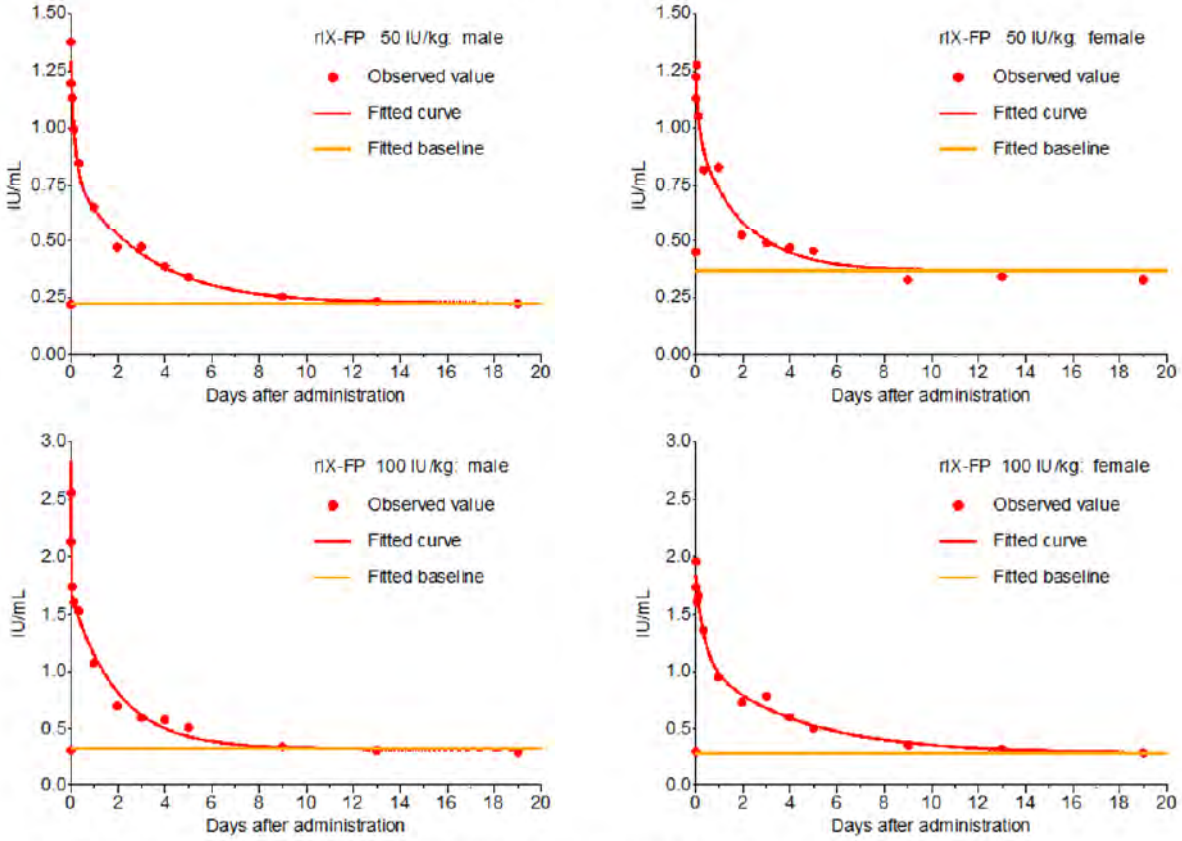
本試験期間中に、ヒト FIX 及びヒトアルブミン（いずれも rIX-FP の構成成分）、並びに BeneFIX®に対する抗体産生は認められなかった。

静脈内投与したとき、rIX-FP の薬物動態は AUC 及び C_{max} に対して用量比例性を示し、性別に非依存的であった。rIX-FP は緩やかに消失し、各動物の半減期（$t_{1/2}$）は投与量の範囲で 39.8～44.4 時間（平均値：42.2 時間）であった（図 2.6.4-1）。

多様かつ不規則な経時変化のため、BeneFIX®投与後の $t_{1/2}$ を適確に算出することができなかった。

rIX-FP の C_{max} 及び AUC_t は、BeneFIX®投与後のそれらの値より高値であった。さらに、rIX-FP 投与後の $t_{1/2}$ は、本試験における BeneFIX®の値や他の遺伝子組換えヒト FIX 製剤の公表データ（$t_{1/2}$=12.7 時間、Mc Carthy et al., 2002）と比較して、大幅に長いことが示唆された。

図 2.6.4-1：　rIX-FP（50 又は 100 IU/kg）単回静脈内投与後のカニクイザル血漿中ヒト FIX 抗原濃度



注：2-コンパートメントモデルに基づく濃度曲線及びベースライン値

2.6.4.3.2. rIX-FP：血友病 B イヌの単回静脈内（ボーラス）投与による薬物動態・薬力学的試験（試験番号 040200011）

本試験の目的は、rIX-FP を血友病 B イヌに単回静脈内（ボーラス）投与した場合の薬理学的効果、薬物動態学的特徴及び免疫原性を評価すること、さらに、得られたデータを市販の遺伝子組換えヒト FIX 製剤（BeneFIX®）と比較することである。

本試験では、rIX-FP を血友病 B イヌ 3 匹に、BeneFIX®を 2 匹にそれぞれ 100 IU/kg の用量で単回静脈内投与した。その後、薬力学［活性化部分トロンボプラスチン時間（aPTT）及び全血凝固時間（WBCT）］及び薬物動態パラメーターの評価、並びに血液学的検査、血液生化学的検査及び免疫原性検査のため、36 日目まで血液試料を採取した。さらに、試験期間中、動物の生死、体重及び一般状態を記録した。

rIX-FP 及び BeneFIX®を血友病 B イヌに単回静脈内投与したとき、体重増加、血液学的検査及び血液生化学的検査には被験物質投与に関連した変化はみられなかった。

2 匹（rIX-FP 及び BeneFIX®投与群の各 1 匹）に臨床的出血（血腫）が認められ、医学的処置には十分に反応しなかったため、これらの動物は 22 日目に安楽死させた。予想された阻害物質（抗薬物抗体）の産生が確認され、この不応性出血の原因と考えられた。

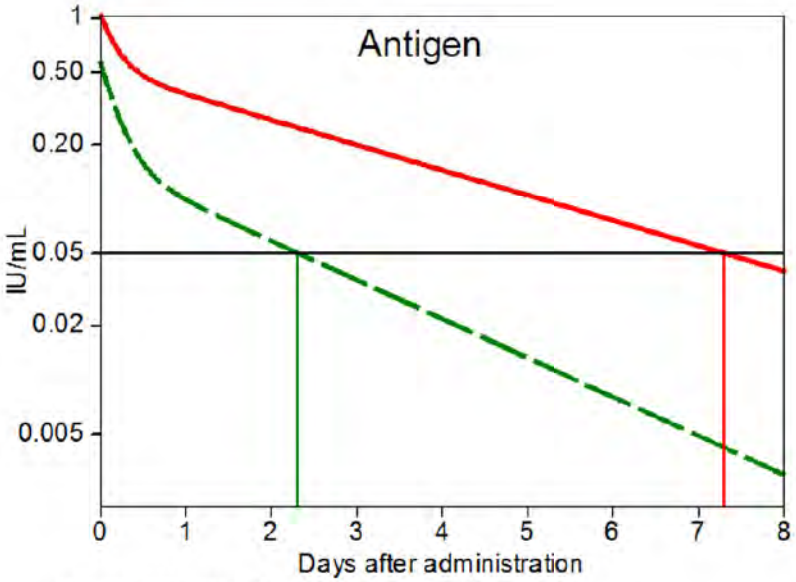
両投与群で明瞭な止血作用が認められた。WBCT 及び aPTT 値は投与後に低下し、薬物が循環血中から消失すると投与前値に戻った。しかしながら、aPTT 値は rIX-FP 群（5.4 日）において BeneFIX®群（1.6 日）より 3 倍長く、ベースライン値の 0.6 倍未満であった。一方、約 10 分間の WBCT 値は両投与群において約 7 日間維持された（CTD 2.6.2.2 項、参照）。

薬物動態試験の結果、クリアランスは rIX-FP 群（2.6 mL/h/kg）において BeneFIX®群（9.3 mL/h/kg）の 0.28 倍であることが示された。血友病 B 患者で防御・予防レベルとされるヒト第 IX 因子の血中濃度（50 IU/L）が、rIX-FP（7.3 日）では BeneFIX®（2.3 日）の 3 倍以上長く維持された（図 2.6.4-2）。

免疫原性検査の結果は、被験薬（rIX-FP 及び BeneFIX®）に対する中和特性を有する抗体反応が単回静脈内投与後に発現することを明らかにした。抗ヒトアルブミン抗体及び抗ヒト FIX 抗体は、rIX-FP 群において投与後約 10 日から発現した。BeneFIX®群における抗体反応は約 14 日後から観察され、より軽度であった。

血友病 B イヌにおいて rIX-FP 投与による明確な止血効果が証明された。本剤の薬物動態プロファイルは、市販の遺伝子組換えヒト FIX 製剤（BeneFIX®）より優れていた。rIX-FP 及び BeneFIX®の両剤とも、血友病 B イヌで抗体反応を誘導した。

図 2.6.4-2：　平均的な薬物動態を仮定した血友病 B イヌにおける、rIX-FP 又は BeneFIX® 100 IU/kg 単回静脈投与後の血漿中ヒト FIX 抗原濃度



注：rIX-FP　赤実線、BeneFIX®　緑破線

2.6.4.4.　分布

2.6.4.4.1.　ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（組織分布）試験（試験番号 CSL/01 及び CSL/03）

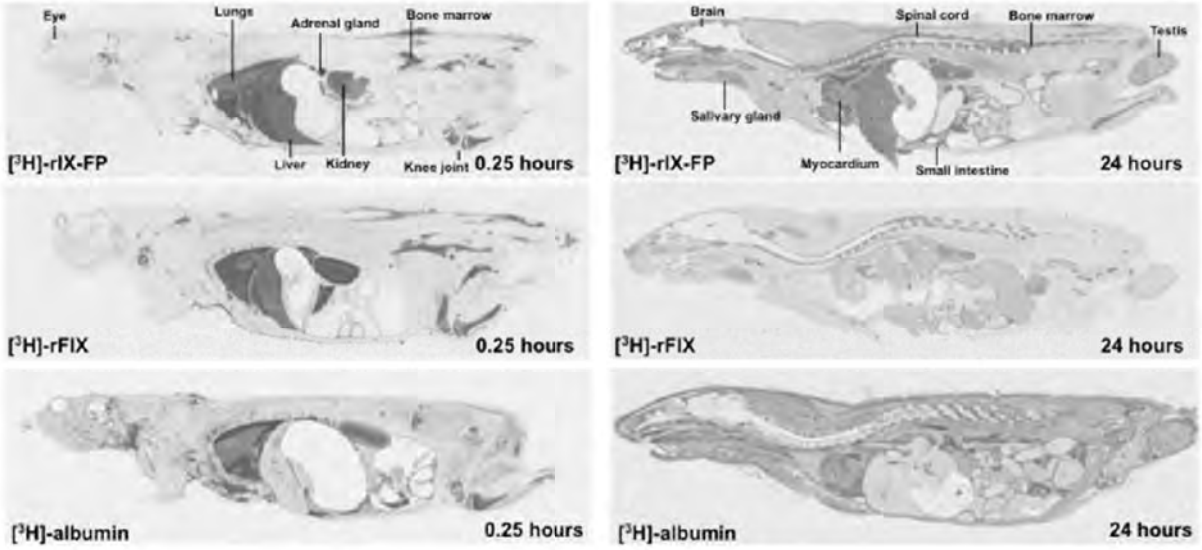
アルブミン融合したヒト凝固第 IX 因子（FIX）の体内分布を探索するため、ラットに rIX-FP、BeneFIX®及びヒトアルブミン（Recombumin®）を投与して、定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）試験を実施した。

N-Succinimidyl [2,3,-^{3}H] propionate（NSP）法により標識した[^{3}H]-rIX-FP、[^{3}H]-BeneFIX®及び[^{3}H]-アルブミンを、単回投与放射能活性として約 400 µCi/kg で雄性ラットに静脈内投与した。QWBA を用いて、組織中放射能濃度を投与後 24 時間（[^{3}H]-BeneFIX®）又は 240 時間（[^{3}H]-rIX-FP、[^{3}H]-アルブミン）まで測定した。骨髄及び膝関節部位内の本剤の分布に関するより詳細な情報を得るため、全身切片に加えて別途後肢について QWBA を実施した。また、これと並行してマスバランス算出及び生理学的消失経路を評価するため、観察期間中の数時点で血漿、尿及び糞を採取した（CTD 2.6.4.6 項 排泄、参照）。[^{3}H]-標識タンパク質に由来する放射能は、定量的放射化学分析（QRA）及び高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を使用して測定した。血漿、尿及び糞試料に関連する放射能も QRA を使用して測定した。^{3}H 標識後の BeneFIX®及び rIX-FP の生物学的活性は、*in vitro* 試験で合成基質法により確認した。

[^{3}H]-rIX-FP 及び[^{3}H]-BeneFIX®の組織分布は類似しており（図 2.6.4-3）、両方とも副腎、脾臓、肺、肝臓、腎臓、心筋、歯根膜、鼻粘膜、胃壁及び胃腸粘膜を含む、主に血管に富む組織及び排泄器官へ移行していた。両タンパク質は骨髄及び膝関節部の滑膜又は鉱質化部位にも迅速に存在し、長骨の成長板部位中の石灰化軟骨帯に大部分が局在すると考えられた。最

長滞留時間は骨髄及び長骨の骨内膜で観察された。これらの結果から、[^{3}H]-rIX-FP 及び[^{3}H]-BeneFIX®の組織分布プロファイルは類似しており、アルブミン融合に依存しないことが示唆された。対照的に、[^{3}H]-アルブミンの分布は骨髄及び肝臓への初期浸透が非常に低いが急速であることが異なるだけで、筋肉及び結合組織を含む全身いたるところ均一な分布であることが明らかとなった。しかしながら、興味深いことに[^{3}H]-BeneFIX®由来の放射能が 24 時間のみ検出可能であったのに対し、[^{3}H]-rIX-FP 及び[^{3}H]-アルブミン由来の放射能は 120 時間まで測定可能であったことから、アルブミン融合の結果[^{3}H]-rIX-FP の組織中 $t_{1/2}$ が延長するという考えが一層支持された（図 2.6.4-3）。

図 2.6.4-3：　定量的全身オートラジオグラフィー　－　ラットにおける rIX-FP、BeneFIX® 及びアルブミン静脈内投与後の組織分布の比較



2.6.4.5.　代謝

ICH-S6(R1)に示されるように、本剤のようなタンパク質は、低分子ペプチド及び構成アミノ酸に分解されると予想され、その代謝経路は一般に良く知られている。ラットに[^{3}H]-rIX-FP を静脈内投与した非臨床生体内分布試験の一部として検討した排泄プロファイルからも、このような代謝経路が支持される（CTD 2.6.4.4.1 項及び 2.6.4.6.1 項、参照）。したがって、本剤について特定の代謝に関する試験は実施しなかった。

2.6.4.6. 排泄

2.6.4.6.1. ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（排泄）試験（試験番号 CSL/01 及び CSL/03）

ラットにおいて、[^{3}H]-rIX-FP 及び[^{3}H]-BeneFIX®の排泄を評価した。血漿、尿及び糞試料の放射能を定量的放射化学分析（QRA）を使用して測定した。^{3}H 標識した BeneFIX®及び rIX-FP の生物学的活性は *in vitro* 試験で合成基質法により確認した。

[^{3}H]-rIX-FP 及び[^{3}H]-BeneFIX®の消失は、主として尿経由で占められることを得られた結果から確認した。投与 240 時間後、放射能の 73%は尿中から回収され（低分子量成分のみ関連した）、糞中に≤5%が消失し、約 20%は組織中に存在した。

2.6.4.7. 薬物動態学的薬物相互作用

試験は実施していない。

2.6.4.8. その他の薬物動態試験

試験は実施していない。

2.6.4.9. 考察及び結論

サルを用いた薬物動態試験では、rIX-FP を 50 及び 100 IU/kg の投与量で静脈内投与した。rIX-FP の薬物動態は線形を示し、性差はみられなかった。平均 $t_{1/2}$ は 42.2 時間であり、これは他の遺伝子組換えヒト FIX 製剤の $t_{1/2}$ 公表データ（$t_{1/2}$：12.7 時間、Mc Carthy et al., 2002）の 3 倍を超える値であった。本薬物動態試験における免疫原性検査では、ヒト FIX あるいはヒトのアルブミンに対する抗体産生は認められなかった。

血友病 B イヌを用いた薬物動態試験では、rIX-FP 又は市販の遺伝子組換えヒト FIX 製剤 BeneFIX®を 100 IU/kg の投与量で単回静脈内投与した。その結果、rIX-FP の薬物動態プロファイル（C_{max} 及び AUC）は BeneFIX®より優れていた。rIX-FP 及び BeneFIX®はいずれも、血友病 B イヌで抗体反応を誘発した。

ラットを用いた QWBA 試験の結果から、rIX-FP の排泄経路及び組織分布プロファイルは市販の遺伝子組換えヒト FIX 製剤（BeneFIX®）と類似することが示された。しかし、血漿中 $t_{1/2}$ 及び組織滞留が明らかに長いことが異なっており、投与回数の減少により治療上の利便性及びコンプライアンスの向上がもたらされることが示唆される。

サル及びイヌで観察された rIX-FP の好ましい薬物動態プロファイルから、本剤の臨床における薬物動態特性が推測できる。rIX-FP を 25、50 又は 75 IU/kg の用量で単回投与した臨床データでは、平均 $t_{1/2}$ がそれぞれ 104.71、91.57 及び 98.82 時間の優れた薬物動態で、本剤により市販製剤より少数回の投与で止血効果が示された（Santagostino et al., 2012）。

2.6.4.10. 参考文献

McCarthy K, Stewart P, Sigman J, Read M, Keith JC Jr., Brinkhous KM, Nichols TC, Schaub RG: Pharmacokinetics of Recombinant Factor IX after Intravenous and Subcutaneous Administration in Dogs and Cynomolgus Monkeys: Thromb Haemost. 2002; 87, 824–830.

Santagostino E, Negrier C, Klamroth R, Tiede A, Pabinger-Fasching I, Voigt C, Jacobs I, Morfini M. Safety and pharmacokinetics of a novel recombinant fusion protein linking coagulation factor IX with albumin (rIX-FP) in hemophilia B patients. Blood. 2012; 120(12), 2405-2411.

イデルビオン静注用 250
イデルビオン静注用 500
イデルビオン静注用 1000
イデルビオン静注用 2000

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

CSL ベーリング株式会社

目次

略語・略号一覧.....3
2.6.5. 薬物動態試験概要表.....4
2.6.5.1. 薬物動態試験：一覧表.....4
2.6.5.2. 分析方法及びバリデーション試験.....5
2.6.5.3. 薬物動態試験：吸収：単回投与.....6
2.6.5.4. 薬物動態試験：吸収：反復投与.....8
2.6.5.5. 薬物動態試験：分布.....9
2.6.5.6. 薬物動態試験：たん白結合.....15
2.6.5.7. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験.....15
2.6.5.8. 薬物動態試験：その他の分布試験.....15
2.6.5.9. 薬物動態試験：代謝：In Vivo.....15
2.6.5.10. 薬物動態試験：代謝：In Vitro.....15
2.6.5.11. 薬物動態試験：推定代謝経路.....15
2.6.5.12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害.....15
2.6.5.13. 薬物動態試験：排泄.....16
2.6.5.14. 薬物動態試験：排泄：胆汁中.....19
2.6.5.15. 薬物動態試験：薬物相互作用.....19
2.6.5.16. 薬物動態試験：その他.....19

表目次

表 2.6.5-1：　薬物動態試験一覧表.....4
表 2.6.5-2：　分析方法及びバリデーション試験.....5
表 2.6.5-3：　rIX-FP：カニクイザルの単回静脈内（ボーラス）投与による薬物動態試験.....6
表 2.6.5-4：　rIX-FP：血友病 B イヌの単回静脈内（ボーラス）投与による薬物動態・薬力学的試験.....7
表 2.6.5-5：　ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（組織分布）試験（rIX-FP）.....9
表 2.6.5-6：　ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（組織分布）試験（BeneFIX®）.....11
表 2.6.5-7：　ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（組織分布）試験（アルブミン）.....13
表 2.6.5-8：　ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（排泄）試験（rIX-FP）.....16
表 2.6.5-9：　ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（排泄）試験（BeneFIX®）.....17
表 2.6.5-10：　ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（排泄）試験（アルブミン）.....18

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
AUC	Area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}D7}$	Area under the factor IX plasma concentration curve in the first week (168 hours) after administration	0 時間から第 1 週（168 時間）までの第 IX 因子の血漿中濃度曲線下面積
AUC_t	Area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable sampling time	定量化可能な最終検体採取時刻までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BLQ	Below limit of accurate quantification	定量限界未満
CL	Clearance	クリアランス
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CV	Coefficient of variation	変動係数
ELISA	Enzyme linked immunosorbant assay	酵素結合免疫吸着測定法
eq.	Equivalents	当量
F	Female	雌
FIX	Coagulation factor IX	血液凝固第 IX 因子
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
G. Mean	Geometric mean	幾何平均
i.v.	Intravenous	静脈内
IU	International Units	国際単位
k	Equilibrium constant	平衡定数
LSC	Liquid Scintillation Counting	液体シンチレーションカウント
M	Male	雄
mIU	Milli-International Units	ミリ国際単位
NA	Not applicable	該当せず
NS	No sample	試料なし
PK	Pharmacokinetic	薬物動態
QWBA	Quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
rIX-FP	Recombinant human coagulation factor IX fused to human albumin	遺伝子組換えヒト血液凝固第 IX 因子－アルブミン融合タンパク質（CSL654）
SD	Sprague Dawley	－
$t_{1/2}$	Terminal half-life	半減期
t_{max}	The time to reach the maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
V_{ss}	Apparent volume of distribution for a system in a steady state concentration range	定常状態における見かけの分布容積

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

表 2.6.5-1：　薬物動態試験一覧表

被験物質：rIX-FP、BeneFIX®

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	GLP Compliance	Study Number	Location
Absorption (Single Dose)	Monkey/Cynomolgus	i.v.	[redacted]es	No	APQ0002	4.2.2.2.1
Absorption (Single Dose)	Dog/Hemophilia B	i.v.	[redacted]	No	040200011	4.2.1.1.2
Organ distribution	Rat[redacted] (SD)	i.v.	[redacted]	No	CSL/01	4.2.2.3.1
Organ distribution	Rat[redacted] (SD)	i.v.	[redacted]	No	CSL/03	4.2.2.3.2
Metabolism	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Excretion	Rat[redacted] (SD)	i.v.	[redacted]	No	CSL/01	4.2.2.3.1
Excretion	Rat[redacted] (SD)	i.v.	[redacted]	No	CSL/03	4.2.2.3.2
Pharmacokinetic drug interaction	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Other	NA	NA	NA	NA	NA	NA

NA: Not applicable

2.6.5.2. 分析方法及びバリデーション試験

表 2.6.5-2： 分析方法及びバリデーション試験

被験物質：rIX-FP、BeneFIX®

Sample Matrix	Analyte		Standard Curve Range (mIU/mL)	Method	Results		GLP Compliance	Study No.	Location
					Accuracy (%)	Precision (CV%)			
Dog plasma	human FIX	rIX-FP		ELISA			No	040200007_r	4.2.2.1.1
		BeneFIX®							
Monkey plasma	rIX-FP			ELISA	Intra-assay: Inter-assay:	Intra-assay: Inter-assay:	No	09079	4.2.2.1.2
Rat plasma	rIX-FP			ELISA	Intra-assay: Inter-assay:	Intra-assay: Inter-assay:	No	09078	4.2.2.1.3

2.6.5.3. 薬物動態試験：吸収：単回投与

表 2.6.5-3： rIX-FP：カニクイザルの単回静脈内（ボーラス）投与による薬物動態試験

試験番号：APQ0002　　CTD における記載箇所：4.2.2.2.1

被験物質：rIX-FP、BeneFIX®

Species	Cynomolgus monkey			
Gender (M/F) / Number of animals	1 M + 1 F			
Feeding condition	Not fasted. Drinking water *ad libitum* and 200 g of standard dry diet/animal and day.			
Vehicle / Formulation	Solution / Water for injection		Solution / 0.234% sodium chloride	
Method of Administration	Intravenous			
Dose (IU/kg)	rIX-FP 50	rIX-FP 100	BeneFIX® 50	BeneFIX® 100
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)	Plasma			
Analyte	Human FIX			
Assay	ELISA			
PK parameters (Mean):				
C_{max} (mIU/mL)	1030	1930	649	1800
C_{max}/Dose ([mIU/mL]/[IU/kg]) [c]	21.9	20.7	13.6	18.3
t_{max} (h)	0.5 [a]	0.083 [a]	0.083 [a]	0.17 [a]
AUC_t (mIU•h/mL)	35700	72100	14400	42200
AUC (mIU•h/mL)	38200	73400	NA	NA
AUC/Dose ([mIU•h/mL]/[IU/kg]) [c]	812	784	304 [d]	429 [d]
k (h^{-1})	0.0166	0.0164	NA	NA
$t_{1/2}$ (h)	41.9 [b]	42.4 [b]	NA	NA
CL (mL/min/kg)	0.0208	0.0213	NA	NA
V_{SS} (L/kg)	0.0731	0.0776	NA	NA

NA: Not applicable

a) Median value

b) Calculated as Ln2/Mean rate constant

c) Dose-adjusted C_{max} and AUC; to account for actual dose applied based on formulation analysis results.

d) AUC_t/Dose

表 2.6.5-4：　rIX-FP：血友病Bイヌの単回静脈内（ボーラス）投与による薬物動態・薬力学的試験

試験番号：040200011　　CTD における記載箇所：4.2.1.1.2

被験物質：rIX-FP、BeneFIX®

Species	Hemophilia B dog								
Gender (M/F) / Number of animals	1 F + 2 M					2 F			
Feeding condition	Not fasted. Water: *Ad libitum* from stainless steel bowls, Food: Prism puppy chow, fed two times daily in stainless steel bowls.								
Vehicle / Formulation	Solution / Water for injection					Solution / according to the description in the package			
Method of Administration	Intravenous								
Dose (IU/kg)	rIX-FP 100					BeneFIX® 100			
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)	Plasma								
Analyte	Human FIX								
Assay	ELISA								
Animal No. / Geometric Mean, CV	N08	N11	N12	**G. Mean**	CV (%)	N13	N15	**G. Mean**	CV (%)
PK parameters:									
C_{max} (IU/L)	1057	993	1284	**1105**	13.7	740	514	**616**	25.5
$AUC_{0\text{-}D7}$ (IU•h/L)	37739	35605	39038	**37434**	4.6	9744	9219	**9478**	3.9
AUC_t (IU•h/L)	39631	33839	40871	**37986**	9.8	10625	10863	**10743**	1.6
CL (mL/h/kg)	2.52	2.96	2.45	**2.63**	10.4	9.41	9.21	**9.31**	1.6
$t_{1/2}$ (h) [a]	49.6	52.4	53.8	**51.9**	4.1	32.2	35.1	**33.6**	6.3
Days above 50 IU/L [a]	7.2	7.1	7.6	**7.3**	3.6	2.1	2.4	**2.3**	10.0

a) Days above 50 IU/L and $t_{1/2}$ were estimated from a two-compartment model using only the plasma concentration data until Hour 168 and Hour 144 for rIX-FP and BeneFIX®, respectively. The other parameters were estimated non-parametrically.

Note: Here, only Pharmacokinetic results are shown in this table.

2.6.5.4.　薬物動態試験：吸収：反復投与

ラット及びサルの単回及び反復投与毒性試験において、トキシコキネティクス測定を実施した（CTD 2.6.6.2、2.6.6.3 及び 2.6.7.7 項、参照）。

2.6.5.5.　薬物動態試験：分布

表 2.6.5-5：　ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（組織分布）試験（rIX-FP）

試験番号：CSL/01　　CTD における記載箇所：4.2.2.3.1

被験物質：[^{3}H]-rIX-FP

Species	Rat							
Gender (M/F) / Number of animals	8 M							
Feeding condition	Not fasted. Pellet diet (RM1 (E) SQC, Special Diet Services, Witham, Essex, U.K.) and water (from the domestic water supply) was available *ad libitum*.							
Vehicle / Formulation	Solution / Phosphate buffered saline							
Method of Administration	Intravenous							
Dose (mg/kg)	3.2 (320 µCi/kg) (221 IU/kg)							
Radionuclide	[^{3}H]							
Specific Activity	131.2 or 125.6 µCi/mg							
Analyte / Assay	[^{3}H]-rIX-FP / Plasma, urine, faeces and cage wash: Liquid Scintillation Counting (LSC), Other tissues: Quantitative Whole-Body Autoradiography (QWBA)							
Sampling time	Up to 240 hours							
	Radioactivity Concentration (µg eq./g) [a]							
Tissues / organs	0.25 h	1 h	3 h	8 h	24 h	72 h	120 h	240 h
Plasma	50.55	37.12	37.44	25.79	9.84	2.08	0.74	0.30
Adrenal gland	87.4	50.7	44.5	67.1	28.9	7.50	2.98	1.15
Aorta	1.10	6.91	7.14	1.44	7.48	2.58	1.87	0.650
Bone: compact	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Bone: endosteum	12.9	11.6	24.8	35.4	26.3	21.4	14.9	12.1
Bone: marrow	22.2	17.1	26.7	25.6	14.9	3.74	1.18	0.906
Kidney: cortex	16.8	12.8	24.7	22.0	10.7	1.90	0.548	BLQ
Kidney: medulla	25.1	17.3	45.3	46.8	15.9	3.44	1.26	0.817
Liver	24.3	18.9	25.1	21.2	9.85	1.76	BLQ	BLQ
Lung	25.1	17.1	27.5	19.6	16.5	1.75	BLQ	BLQ
Spleen	32.0	28.6	29.1	24.7	9.25	1.84	BLQ	BLQ

表 2.6.5-5：　ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（組織分布）試験（rIX-FP）（続き）

被験物質：[^{3}H]-rIX-FP

	Radioactivity Concentration (µg eq./g) [a]							
Tissues / organs	0.25 h	1 h	3 h	8 h	24 h	72 h	120 h	240 h
GI tract mucosa:								
Caecum	1.35	4.20	9.84	11.3	10.0	4.72	1.67	BLQ
Large intestine	0.916	BLQ	3.22	7.50	4.14	3.56	0.722	0.755
Small intestine	2.42	9.51	24.6	20.4	12.1	5.97	0.729	BLQ
Stomach wall	3.23	1.44	1.08	2.36	5.08	1.79	1.31	0.548
Knee section:								
Bone: marrow	21.7	17.1	25.3	27.3	18.4	5.64	0.579	0.551
Calcified cartilage	31.1	19.7	45.3	64.5	35.6	11.9	2.51	0.704
Bone: endosteum	3.55	8.26	14.3	17.0	13.2	21.5	44.6	5.07
Epiphyseal plate	BLQ	0.530	0.985	0.989	0.941	BLQ	BLQ	BLQ
Periosteum	1.27	1.47	6.40	NS	4.82	BLQ	2.54	0.57
Synovial space	0.686	BLQ	NS	8.81	0.828	NS	BLQ	NS

a) Data scaled (× 1.63) to enable direct comparison with BeneFIX® data (actual dose = 3.2 mg/kg)

BLQ: Below limit of accurate quantification (< 0.505 − 0.528 µg eq./g).　NS: No sample – tissue not sectioned.

表 2.6.5-6：　ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（組織分布）試験（BeneFIX®）

試験番号：CSL/01　　CTD における記載箇所：4.2.2.3.1

被験物質：[^{3}H]-BeneFIX®

Species	Rat			
Gender (M/F) / Number of animals	4 M			
Feeding condition	Not fasted. Pellet diet (RM1 (E) SQC, Special Diet Services, Witham, Essex, U.K.) and water (from the domestic water supply) was available *ad libitum*.			
Vehicle / Formulation	Solution / Phosphate buffered saline			
Method of Administration	Intravenous			
Dose (mg/kg)	5 (420 µCi/kg) (1000 IU/kg)			
Radionuclide	[^{3}H]			
Specific Activity	83.0 µCi/mg			
Analyte / Assay	[^{3}H]-BeneFIX® / Plasma, urine, faeces and cage wash: Liquid Scintillation Counting (LSC), Other tissues: Quantitative Whole-Body Autoradiography (QWBA)			
Sampling time	Up to 24 hours			
	Radioactivity Concentration (µg eq./g)			
Tissues / organs	0.25 h	1 h	3 h	24 h
Plasma	38.70	18.96	4.01	1.798
Adrenal gland	52.9	51.9	14.8	10.2
Aorta	2.46	3.81	4.13	10.4
Bone: compact	0.507	BLQ	0.566	0.349
Bone: endosteum	40.8	38.2	13.5	31.1
Bone: marrow	20.2	20.8	5.42	3.33
Kidney: cortex	47.7	64.3	23.4	8.24
Kidney: medulla	49.5	58.7	20.2	9.70
Liver	27.2	19.6	4.47	1.81
Lung	19.6	9.05	2.78	5.72
Spleen	41.2	24.1	8.99	3.99

BLQ: Below limit of accurate quantification (< 0.336 µg eq./g).　NS: No sample – tissue not sectioned.

表 2.6.5-6：　ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（組織分布）試験（BeneFIX®）（続き）

被験物質：[^{3}H]-BeneFIX®

	Radioactivity Concentration (µg eq./g)			
Tissues / organs	0.25 h	1 h	3 h	24 h
GI tract mucosa:				
Caecum	1.48	6.27	1.80	8.23
Large intestine	1.25	1.72	1.11	1.46
Small intestine	4.62	11.5	2.53	8.39
Stomach wall	0.502	1.46	1.24	1.02
Knee section:				
Bone: marrow	23.5	18.8	4.35	3.02
Calcified cartilage	39.3	40.0	13.7	26.5
Bone: endosteum	9.36	27.8	17.4	14.2
Epiphyseal plate	0.635	1.29	0.804	0.588
Periosteum	4.98	3.64	1.01	2.89
Synovial space	BLQ	BLQ	BLQ	NS

BLQ: Below limit of accurate quantification (< 0.336 µg eq./g).　NS: No sample – tissue not sectioned.

表 2.6.5-7：　ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（組織分布）試験（アルブミン）

試験番号：CSL/03　　CTD における記載箇所：4.2.2.3.2

被験物質：[^{3}H]-Albumin

Species	Rat							
Gender (M/F) / Number of animals	8 M							
Feeding condition	Not fasted. Pellet diet (RM1 (E) SQC, Special Diet Services, Witham, Essex, U.K.) and water (from the domestic water supply) was available *ad libitum*.							
Vehicle / Formulation	Solution / Phosphate buffered saline							
Method of Administration	Intravenous							
Dose (mg/kg)	6.25 (400 µCi/kg)							
Radionuclide	[^{3}H]							
Specific Activity	60.44 µCi/mg							
Analyte / Assay	[^{3}H]-Albumin / Plasma, urine, faeces and cage wash: Liquid Scintillation Counting (LSC), Other tissues: Quantitative Whole-Body Autoradiography (QWBA)							
Sampling time	Up to 240 hours							
	Radioactivity Concentration (µg eq./g)							
Tissues / organs	0.25 h	1 h	3 h	8 h	24 h	72 h	120 h	240 h
Plasma	102.7	92.22	73.11	59.02	21.67	4.438	2.028	0.271
Adrenal gland	5.741	2.316	10.03	1.524	0.778	BLQ	BLQ	BLQ
Aorta	17.04	5.923	5.410	20.35	16.12	NS	0.589	BLQ
Bone: compact	BLQ	0.472	0.448	1.377	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Bone: endosteum	38.72	6.221	33.09	11.70	6.138	0.979	BLQ	BLQ
Bone: marrow	24.82	14.54	10.62	4.500	2.829	0.620	BLQ	BLQ
Kidney: cortex	8.537	7.743	39.38	16.13	4.203	2.068	0.690	0.488
Kidney: medulla	29.78	29.62	52.12	24.82	10.341	2.349	0.620	BLQ
Liver	1.458	1.688	2.962	1.209	0.870	BLQ	BLQ	BLQ
Lung	19.52	42.36	56.25	24.32	4.335	2.234	0.645	BLQ
Myocardium	25.81	26.80	24.16	19.36	6.784	0.731	BLQ	BLQ

BLQ: Below limit of accurate quantification (< 0.443 µg eq./g).　NS: No sample – tissue not sectioned.

表 2.6.5-7：　ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（組織分布）試験（アルブミン）（続き）

被験物質：[^{3}H]-Albumin

	Radioactivity Concentration (µg eq./g)							
Tissues / organs	0.25 h	1 h	3 h	8 h	24 h	72 h	120 h	240 h
Peri-dontal membrane	76.94	37.39	59.89	25.81	16.049	4.103	1.534	1.484
Spleen	9.514	4.567	13.53	2.763	1.089	0.511	BLQ	BLQ
GI tract mucosa:								
Caecum	5.377	29.78	31.60	21.84	15.42	0.731	0.779	BLQ
Large intestine	1.688	7.859	14.26	10.71	5.725	0.923	BLQ	BLQ
Small intestine	1.554	2.581	2.945	1.985	0.951	0.829	0.518	BLQ
Stomach wall	6.668	2.399	19.52	20.68	6.800	0.553	BLQ	BLQ
Knee section:								
Bone: marrow	9.530	NS	NS	3.574	1.287	0.536	BLQ	BLQ
Calcified cartilage	26.31	18.20	19.19	12.10	4.037	0.816	0.746	BLQ
Bone: endosteum	13.47	NS	NS	11.09	3.011	1.587	1.737	BLQ
Epiphyseal plate	BLQ	BLQ	0.455	0.572	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Periosteum	22.67	12.51	42.52	24.16	3.739	4.765	2.151	0.536
Synovial space	1.985	BLQ	1.057	NS	NS	NS	BLQ	BLQ

BLQ: Below limit of accurate quantification (< 0.443 µg eq./g).　NS: No sample – tissue not sectioned.

2.6.5.6. 薬物動態試験：たん白結合

試験は実施していない。

2.6.5.7. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

試験は実施していない。

2.6.5.8. 薬物動態試験：その他の分布試験

試験は実施していない。

2.6.5.9. 薬物動態試験：代謝：In Vivo

試験は実施していない。

2.6.5.10. 薬物動態試験：代謝：In Vitro

試験は実施していない。

2.6.5.11. 薬物動態試験：推定代謝経路

試験は実施していない。

2.6.5.12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

試験は実施していない。

2.6.5.13. 薬物動態試験：排泄

表 2.6.5-8： ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（排泄）試験（rIX-FP）

試験番号：CSL/01　　CTD における記載箇所：4.2.2.3.1

被験物質：[^{3}H]-rIX-FP

Species	Rat				
Gender (M/F) / Number of animals	8 M				
Feeding condition	Not fasted. Pellet diet (RM1 (E) SQC, Special Diet Services, Witham, Essex, U.K.) and water (from the domestic water supply) was available *ad libitum*.				
Vehicle / Formulation	Solution / Phosphate buffered saline				
Method of Administration	Intravenous				
Dose (mg/kg)	3.2 (320 µCi/kg) (221 IU/kg)				
Radionuclide	[^{3}H]				
Specific Activity	131.2 or 125.6 µCi/mg				
Analyte / Assay	[^{3}H]-rIX-FP / Plasma, urine, faeces and cage wash: Liquid Scintillation Counting (LSC), Other tissues: Quantitative Whole-Body Autoradiography (QWBA)				
Sampling time	Up to 240 hours				
	Recoveries of Radioactivity (%)				
Excretion Balance:	0-8 h	8-24 h	24-48 h	48-240 h	Subtotal
Urine	13.45	26.44	16.90	16.07	72.86
Faeces	0.92		0.75	2.58	4.25
Cage wash	NA	NA	NA	NA	3.70
Total	NA	NA	NA	NA	80.81

NA: Not applicable

表 2.6.5-9：　ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（排泄）試験（BeneFIX®）

試験番号：CSL/01　　CTD における記載箇所：4.2.2.3.1

被験物質：[^{3}H]-BeneFIX®

Species	Rat		
Gender (M/F) / Number of animals	4 M		
Feeding condition	Not fasted. Pellet diet (RM1 (E) SQC, Special Diet Services, Witham, Essex, U.K.) and water (from the domestic water supply) was available *ad libitum*.		
Vehicle / Formulation	Solution / Phosphate buffered saline		
Method of Administration	Intravenous		
Dose (mg/kg)	5 (420 µCi/kg) (1000 IU/kg)		
Radionuclide	[^{3}H]		
Specific Activity	83.0 µCi/mg		
Analyte / Assay	[^{3}H]-BeneFIX® / Plasma, urine, faeces and cage wash: Liquid Scintillation Counting (LSC), Other tissues: Quantitative Whole-Body Autoradiography (QWBA)		
Sampling time	Up to 24 hours		
	Recoveries of Radioactivity (%)		
Excretion Balance:	0-8 h	8-24 h	Subtotal
Urine	11.68	39.31	50.99
Faeces	8.93		8.93
Cage wash	NA	NA	2.90
Total	NA	NA	62.82

NA: Not applicable

表 2.6.5-10：　ラットを用いたタンパク標識化及び代謝（排泄）試験（アルブミン）

試験番号：CSL/03　　CTD における記載箇所：4.2.2.3.2

被験物質：[^{3}H]-Albumin

Species	Rat								
Gender (M/F) / Number of animals	8 M								
Feeding condition	Not fasted. Pellet diet (RM1 (E) SQC, Special Diet Services, Witham, Essex, U.K.) and water (from the domestic water supply) was available *ad libitum*.								
Vehicle / Formulation	Solution / Phosphate buffered saline								
Method of Administration	Intravenous								
Dose (mg/kg)	6.25 (400 µCi/kg)								
Radionuclide	[^{3}H]								
Specific Activity	60.44 µCi/mg								
Analyte / Assay	[^{3}H]-Albumin / Plasma, urine, faeces and cage wash: Liquid Scintillation Counting (LSC), Other tissues: Quantitative Whole-Body Autoradiography (QWBA)								
Sampling time	Up to 240 hours								
	Radioactivity (% of dose)								
Excretion Balance:	0-8 h	8-24 h	24-48 h	48-72 h	72-96 h	96-120 h	120-144 h	144-240 h	Subtotal
Urine	10.66	36.75	28.72	17.31	8.41	3.94	3.04	4.52	113.35
Faeces	3.67		1.95	2.22	0.53	0.96	0.71	2.43	12.47
Cage wash	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.72
Total	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	126.5

NA: Not applicable

2.6.5.14. 薬物動態試験：排泄：胆汁中

試験は実施していない。

2.6.5.15. 薬物動態試験：薬物相互作用

試験は実施していない。

2.6.5.16. 薬物動態試験：その他

試験は実施していない。