ヘルニコア®椎間板注用 1.25 単位
コンドリアーゼ

2.6.4 薬物動態試験の概要文

生化学工業株式会社

目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 6
2.6.4.1 まとめ 6
2.6.4.2 分析法 8
2.6.4.2.1 生体試料中のコンドリアーゼ濃度測定 8
2.6.4.2.1.1 高感度酵素活性測定法 8
2.6.4.2.1.2 低感度酵素活性測定法 9
2.6.4.2.1.3 酵素標識免疫測定法（ELISA） 9
2.6.4.2.2 生体試料中の放射能測定 9
2.6.4.2.2.1 標識化合物 9
2.6.4.2.2.2 標識化合物の測定 10
2.6.4.2.3 血清中抗体価測定法 10
2.6.4.3 吸収 11
2.6.4.3.1 単回投与時の血漿中濃度 11
2.6.4.3.1.1 イヌ椎間板内投与 11
2.6.4.3.1.2 イヌ静脈内投与 11
2.6.4.3.1.3 ラット静脈内投与 14
2.6.4.3.1.4 サル静脈内投与 15
2.6.4.3.2 反復投与時の血漿中濃度 16
2.6.4.3.2.1 イヌ 29 日間皮下投与 16
2.6.4.3.2.2 ラット 28 日間皮下投与 17
2.6.4.4 分布 18
2.6.4.4.1 組織中濃度 18
2.6.4.4.1.1 イヌ椎間板内投与 18
2.6.4.4.1.2 ラット静脈内投与 19
2.6.4.4.1.3 ラット皮下投与 21
2.6.4.4.2 オートラジオグラフィー 22
2.6.4.4.2.1 イヌ椎間板内投与時の投与椎間板周囲組織オートラジオグラフィー 22
2.6.4.4.2.2 ラット静脈内投与時の全身オートラジオグラフィー 23
2.6.4.4.2.3 ラット皮下投与時の全身オートラジオグラフィー 25
2.6.4.4.3 椎間板中残存量 27
2.6.4.4.3.1 イヌ椎間板中残存量 27
2.6.4.4.3.2 サル椎間板中残存量 28
2.6.4.4.4 血漿タンパク結合 29
2.6.4.4.5 血球移行性 29
2.6.4.4.6 胎盤・胎児移行性 30
2.6.4.4.6.1 妊娠ラット組織中濃度 30
2.6.4.4.6.2 妊娠ラット全身オートラジオグラフィー 32

2.6.4.5 代謝 36
2.6.4.5.1 イヌ椎間板中残存物の存在形態 36
2.6.4.5.2 イヌ血漿中の存在形態 36
2.6.4.6 排泄 37
2.6.4.6.1 尿・糞中排泄 37
2.6.4.6.1.1 イヌ椎間板内投与 37
2.6.4.6.1.2 イヌ静脈内投与 38
2.6.4.6.1.3 ラット静脈内投与 38
2.6.4.6.2 ラット胆汁中排泄 39
2.6.4.6.3 ラット乳汁中移行 39
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 40
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 40
2.6.4.9 考察及び結論 40
2.6.4.10 図表 42
2.6.4.11 参考文献 42

表

表 2.6.4.2.1.1-1. 高感度酵素活性測定法におけるバリデーション結果 8
表 2.6.4.2.2.1-1. ^{125}I-コンドリアーゼの性状分析値 10
表 2.6.4.3.1.2-1. イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを単回静脈内投与した時の薬物動態パラメータ 13
表 2.6.4.3.1.3-1. ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の薬物動態パラメータ 15
表 2.6.4.3.1.4-1. サルにコンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の薬物動態パラメータ 16
表 2.6.4.3.2.1-1. イヌにコンドリアーゼを 29 日間反復皮下投与した時の薬物動態パラメータ 17
表 2.6.4.3.2.2-1. ラットにコンドリアーゼを 28 日間反復皮下投与した時の薬物動態パラメータ 18
表 2.6.4.4.1.2-1. ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内又は皮下投与した時の組織中放射能濃度 20
表 2.6.4.4.3.1-1. イヌに ^{125}I-コンドリアーゼ又はコンドリアーゼを L5/L6 内に単回投与した時の投与部位椎間板中残存率 28
表 2.6.4.4.3.2-1. サルにコンドリアーゼを 2 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与した時の投与部位椎間板中残存率 29
表 2.6.4.4.6.1-1. 妊娠 12 日ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の組織中放射能濃度 31
表 2.6.4.4.6.1-2. 妊娠 18 日ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の組織中放射能濃度 32

表 2.6.4.6.1.1-1. ラット又はイヌに ^{125}I-コンドリアーゼを単回投与した時の尿及び糞中放射能排泄 38
表 2.6.4.6.3-1. 授乳中ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の血漿中及び乳汁中総放射能及び TCA 沈殿性放射能濃度 40

図

図 2.6.4.3.1.2-1. イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 1000 U/匹の用量で単回静脈内投与した時の血漿中濃度推移 13
図 2.6.4.3.1.3-1. ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の血漿中濃度推移 14
図 2.6.4.3.1.4-1. サルにコンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の血漿中濃度推移 16
図 2.6.4.4.2.1-1. イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与した時における投与椎間板周囲組織のオートラジオグラム及び組織写真（投与後 3 日） 22
図 2.6.4.4.2.2-1. ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の全身オートラジオグラム 24
図 2.6.4.4.2.3-1. ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回皮下投与した時の全身オートラジオグラム 26
図 2.6.4.4.6.2-1. 妊娠 12 日のラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の全身オートラジオグラム 34
図 2.6.4.4.6.2-2. 妊娠 18 日のラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内した時の全身オートラジオグラム 35
図 2.6.4.5.1-1. イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与した時の椎間板組織抽出液中放射能の分子量分布（投与後 3 日、SDS-PAGE） 36
図 2.6.4.5.2-1. イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/匹の用量で静脈内投与した時の血漿中放射能の分子量分布（投与後 5 分、SDS-PAGE） 37

略号一覧

略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
ARG	Autoradiogram	オートラジオグラム
AUC	Area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}$	Area under the plasma concentration-time curve from zero to infinity	0 から∞時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-t}	Area under the plasma concentration-time curve from zero to t	0 から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-last}	Area under the plasma concentration-time curve from zero to the last measurable time	0 から最終測定可能時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
CL	Total body clearance	全身クリアランス
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CV	Coefficient of variation	変動係数
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	酵素標識免疫測定法
IgG	Immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IgM	Immunoglobulin M	免疫グロブリン M
k_{el}	Elimination rate constant	消失速度定数
L5/L6	Intervertebral disc between the fifth and sixth lumbar vertebrae	第 5 腰椎と第 6 腰椎間の椎間板
LLOQ	Lower limit of quantification	定量下限
n	Number	例数
[redacted]	[redacted]	[redacted]
PK パラメータ	Pharmacokinetic parameter	薬物動態パラメータ
RE	Relative error	相対誤差
SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis	ドデシル硫酸ナトリウムーポリアクリルアミドゲル電気泳動法
$t_{1/2}$	Terminal phase half-life	終末相半減期
TCA	Trichloroacetic acid	トリクロロ酢酸
T_{max}	Time to reach the maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
U	Unit	単位

2.6.4　薬物動態試験の概要文

2.6.4.1　まとめ

コンドリアーゼの非臨床薬物動態試験では、非標識体（コンドリアーゼ）及び放射性ヨウ素標識体（^{125}I-コンドリアーゼ）を用いて、薬理試験及び毒性試験で用いた動物種であるイヌ、ラット及びサルにおける単回投与時及び反復投与時の薬物動態を検討した。

なお、コンドリアーゼは、グラム陰性桿菌が産生するタンパク質である。コンドリアーゼの非臨床薬物動態試験については、「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価（平成 24 年 3 月 23 日薬食審査発 0323 第 1 号）」 (1) を参考にして、低分子医薬品で通常実施される非臨床薬物動態試験項目の一部（in vitro 試験での血漿タンパク結合、推定代謝経路、薬物代謝、薬物代謝酵素誘導及び阻害）の項目については試験を実施しなかった。

吸収

イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で単回椎間板内投与した場合、血漿中放射能濃度推移には明瞭なピークが認められず、14 日間 0.2～0.5 mU eq./mL のほぼ同程度の濃度で推移した。また、血漿中コンドリアーゼ濃度は、定量下限未満とわずかであったことから、^{125}I-コンドリアーゼを単回椎間板内投与した場合、コンドリアーゼは緩やかに全身循環血中へ移行すると考えられた。

コンドリアーゼが全身循環血中へ移行した後の詳細な血中動態を確認するため、^{125}I-コンドリアーゼの単回静脈内投与時の血漿中コンドリアーゼ濃度推移を検討した。コンドリアーゼ又は ^{125}I-コンドリアーゼをイヌ、ラット及びサルに単回静脈内投与した場合、酵素標識免疫測定法（ELISA）で測定した血漿中コンドリアーゼ濃度は 1.0～1.6 時間の終末相半減期で速やかに消失したことから、全身循環血中に移行したコンドリアーゼは、速やかに消失することが示された。

分布

イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で単回椎間板内投与した場合、投与後 3 及び 14 日の主要組織中放射能が甲状腺を除き投与量の 0.1%以下とわずかであったことより、コンドリアーゼは緩やかに全身に移行すると推察された。

イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で単回椎間板内投与した場合、投与椎間板周囲組織の局所オートラジオグラムでは、放射能は投与部位の椎間板内に限局していた。投与した椎間板中の酵素活性が投与後 14 日で 30.8%残存していたことから、コンドリアーゼは椎間板内において酵素活性を維持しながら長時間残存していることが明らかとなった。

^{125}I-コンドリアーゼ単回静脈内投与時における放射能の胎児移行性が低いことに加え、一般に極性の高い高分子化合物は血液−胎盤関門により胎盤通過が難しいことから、コンドリアーゼが未変化体として胎児に移行する可能性は低いと考えられた。

代謝

イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で単回椎間板内投与した場合、SDS-PAGE における投与椎間板組織の主要な放射能バンドは、未変化の ^{125}I-コンドリアーゼと同じ位置に検出されことから、コンドリアーゼは椎間板中において、ほとんど代謝を受けず未変化体として存在すると推察された。コンドリアーゼは、タンパク質であることから、最終的には、一般的なバイオ医薬品と同様、小さなペプチド及びアミノ酸へ分解されると考えられる [(1)]。

排泄

イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で単回椎間板内投与した時の放射能の排泄は遅く、投与後 14 日までの尿中に投与量の 38.4%、糞中に 4.0%の放射能が排泄された。なお、尿中の放射能は TCA によってほとんど沈殿しなかったことから、尿中に存在する放射能は ^{125}I-コンドリアーゼより遊離した ^{125}I が主であると考えられた。一方、コンドリアーゼは、タンパク質であることから、一般的なバイオ医薬品と同様、小さなペプチド及びアミノ酸へ分解され [(1)]、排泄されると考えられる。

授乳中ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した場合、放射能の乳汁移行性が認められた。しかし、コンドリアーゼは、分子量約 11 万のタンパク質であり、一般的な高分子化合物と同様に、ほとんど乳汁中へ移行しないと推察される [(2)]。さらに、放射性ヨウ素をラットに投与すると、乳汁中へ分泌された放射性ヨウ素により、乳汁中タンパク質が容易にラベル化されることから [(3)] [(4)] [(5)]、^{125}I-コンドリアーゼを投与した時に乳汁へ移行する放射能の大部分は、^{125}I-コンドリアーゼや代謝物ではなく、乳汁中のタンパク質成分に遊離した ^{125}I が再結合したものと考えられた。

2.6.4.2　分析法

2.6.4.2.1　生体試料中のコンドリアーゼ濃度測定

2.6.4.2.1.1　高感度酵素活性測定法

（資料番号 4.2.2.1-1：試験番号 [redacted] 006/[redacted]2129、資料番号 4.2.2.1-2：試験番号 [redacted] 008/[redacted]2131、資料番号 4.2.2.1-5：試験番号 [redacted]-4184-[redacted]、資料番号 4.2.2.1-3：試験番号 [redacted] 007/[redacted]2130；概要表 2.6.5.2）

試料中コンドリアーゼ濃度は、基質として[redacted]を用いた酵素活性測定法で測定した。まず、測定試料に[redacted]を加え、[redacted]℃で[redacted]～[redacted]時間インキュベーションした。次に、反応液を[redacted]カラムに供し、[redacted]及び[redacted]で洗浄した。その後、コンドリアーゼの酵素反応により生成した[redacted]を、[redacted]で溶出した。溶出液中放射能は液体シンチレーション計測法で測定した。バリデーション結果を表 2.6.4.2.1.1-1 に示す。

ラット、ウサギ及びイヌ血漿では、定量濃度範囲は[redacted]～[redacted] μU/mL であり、定量下限は[redacted] μU/mL であった。定量濃度範囲における同時再現性での精度及び真度は、それぞれ 5%以下及び±14%以内であった。また、日差再現性での精度及び真度は、それぞれ 15%以下及び±11%以内であった。上記試料中の安定性に関しては、表 2.6.4.2.1.1-1 中の条件下において、いずれも安定であることが確認された。

本測定法を用いて濃度を測定する場合には、各測定施設において該当試料でのバリデーションを実施した。

表 2.6.4.2.1.1-1. 高感度酵素活性測定法におけるバリデーション結果

試料	ラット血漿	ウサギ血漿	イヌ血漿
測定試料容量	50 μL	50 μL	50 μL
定量濃度範囲（μU/mL）	[redacted]～[redacted]	[redacted]～[redacted]	[redacted]～[redacted]
同時再現性 精度（CV%） 真度（RE%）	 1.8～4.0（n=6） -13.2～0.6（n=6）	 2.1～5.0（n=5） -0.2～9.5（n=5）	 2.0～4.7（n=6） 3.0～9.8（n=6）
日差再現性 精度（CV%） 真度（RE%）	 4.3～14.3（n=6） -10.9～2.9（n=6）	 3.0～6.0（n=5） 4.1～7.9（n=5）	 3.7～9.0（n=8） -0.5～6.9（n=8）
定量下限（μU/mL）	[redacted]	[redacted]	[redacted]
凍結融解安定性	3 回	3 回	3 回
保存安定性	6 箇月（-80～-70℃） 2 時間（室温）	6 箇月（-80～-70℃） 2 時間（室温）	6 箇月（-80～-70℃） 2 時間（室温）

2.6.4.2.1.2　　低感度酵素活性測定法

（資料番号 4.2.2.2-4：試験番号 [redacted] 5/[redacted]2099；概要表 2.6.5.2）

試料中コンドリアーゼ濃度は、基質として[redacted]を用いた酵素活性測定法で測定した。まず、測定試料に[redacted]を加え、[redacted]℃で[redacted]分間インキュベーションした。次に、その液に[redacted]を加えて反応させたのち、コンドリアーゼの酵素反応により生成した[redacted]に基づく[redacted] nm の吸光度を測定した。

ラット血漿では、定量濃度範囲は[redacted]～[redacted] mU/mL で、定量下限は[redacted]mU/mL であった。[redacted]～[redacted] mU/mL の濃度範囲における同時再現性での精度及び真度は、それぞれ 11%以下及び±13%以内であった。

本測定法を用いて濃度を測定する場合には、各測定施設において該当試料でのバリデーションを実施し、その結果により定量下限が[redacted]～[redacted]mU/mL の範囲で上記と異なる場合があった。

2.6.4.2.1.3　　酵素標識免疫測定法（ELISA）

（資料番号 4.2.2.1-7：試験番号 [redacted] 5A/1212[redacted]；概要表 2.6.5.2）

試料中コンドリアーゼ濃度は、[redacted]から精製したコンドリアーゼに対する抗体を用いた ELISA で測定した。まず、プレートの各ウェルに抗コンドリアーゼ抗体を固相化したのち、測定試料を加え、反応させた。次に、各ウェルを洗浄後、[redacted]抗コンドリアーゼ抗体を加え、[redacted]℃で[redacted]反応した。各ウェルを洗浄後、[redacted]を加え、反応－洗浄後、酵素基質である[redacted]溶液を加えて反応させたのち、[redacted] nm で吸光度を測定した。

ラット血漿では、定量濃度範囲は[redacted]～[redacted] ng/mL（1 ng は約[redacted]mU）で、定量下限は[redacted]ng/mL であった。[redacted]～[redacted]ng/mL の濃度範囲における同時再現性での精度及び真度は、3 回実施した同時再現性試験の 2 回目の 1.0 ng/mL での真度（RE：44.6%）を除き、それぞれ 13%以下及び±21%以内であった。

本測定法を用いて濃度を測定する場合には、各測定施設において該当試料でのバリデーションを実施した。

2.6.4.2.2　　生体試料中の放射能測定

2.6.4.2.2.1　　標識化合物

（資料番号 4.2.2.2-4：試験番号 [redacted] 5/[redacted]2099；概要表 2.6.5.2）

^{125}I-コンドリアーゼは、[redacted]を用いて、[redacted]により コンドリアーゼの[redacted]に ^{125}I を導入し、[redacted]によりコンドリアーゼ該当画分を分取した。分取した画分は[redacted]を用いて濃縮・精製した。得られた ^{125}I-コンドリアーゼはドデシル硫酸ナトリウムーポリアクリルアミドゲル電気泳動法

（SDS-PAGE）及びトリクロロ酢酸（TCA）沈澱法により放射化学的純度を求め、基質として[redacted]を用いて酵素活性を測定した。標識化合物の性状分析値を表 2.6.4.2.2.1-1 に示す。標識化合物は実験前日に合成した。また、投与時には必要に応じて非標識コンドリアーゼで希釈した。

表 2.6.4.2.2.1-1. ^{125}I-コンドリアーゼの性状分析値

性状	分析値
放射化学的純度（%）：SDS-PAGE [a]	88.0 [b]～99.9 (93.3～99.9)
放射化学的純度（%）：TCA 沈澱法 [a]	98.2～99.5
コンドリアーゼ濃度（U/mL）：酵素活性法	254～2580

a：一部の標識体では、SDS-PAGE のみ又は TCA 沈澱法のみで純度を調べた。

b：SDS-PAGE による放射化学的純度が 88.0%の標識体の TCA 沈澱法による純度は 98.8%であり、括弧内にこの値を除いた範囲を示した。

2.6.4.2.2.2　標識化合物の測定

試料中の放射能は、ガンマーカウンターで測定した。なお、一部の試料については、TCA 処理を行い、未変化体及び高分子量代謝物を含む TCA 沈澱性画分と、遊離した ^{125}I 及び低分子量代謝物を含む TCA 可溶性画分に分離し、それぞれの放射能濃度を測定した。放射能濃度は、コンドリアーゼ当量に換算し、mU eq./mL 又は mU eq./g で記した。

2.6.4.2.3　血清中抗体価測定法

（資料番号 4.2.3.1-3、4.2.3.1-4：試験番号 [redacted]-6525、資料番号 4.2.3.1-1：試験番号 [redacted]-4433、資料番号 4.2.3.2-1：試験番号 [redacted]637、資料番号 4.2.3.2-3：試験番号 [redacted]707）

一部の毒性試験で得られた血清を用いて抗コンドリアーゼ IgG 及び IgM 抗体価を ELISA により測定した。

ラットの場合、まず、プレートの各ウェルにコンドリアーゼを固相化したのち、測定試料を加え、反応させた。次に、各ウェルを洗浄後、[redacted]結合抗ラット IgG 抗体又は[redacted]結合抗ラット IgM 抗体を加え、反応させた。洗浄後、酵素基質である[redacted]を加えて反応させたのち、[redacted]nm で吸光度を測定した。

イヌの場合、まず、プレートの各ウェルにコンドリアーゼを固相化したのち、測定試料を加え、反応させた。次に、各ウェルを洗浄後、[redacted]結合抗イヌ IgG 抗体又は[redacted]結合抗イヌ IgM 抗体を加え、反応させた。洗浄後、酵素基質である[redacted]を加えて反応させたのち、[redacted] nm で吸光度を測定した。

サルの場合、まず、プレートの各ウェルにコンドリアーゼを固相化したのち、測定試料を加え、反応させた。次に、各ウェルを洗浄後、[redacted]結合抗[redacted] IgG 抗体又は[redacted]

[redacted]結合抗[redacted] IgM 抗体を加え、反応させた。洗浄後、酵素基質である [redacted]を加えて反応させたのち、[redacted]nm で吸光度を測定した。

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 単回投与時の血漿中濃度

2.6.4.3.1.1 イヌ椎間板内投与

（資料番号 4.2.2.2-1：試験番号 [redacted] 6/[redacted]2280、資料番号 4.2.2.2-2：試験番号 [redacted] 6A/1108[redacted]；概要表 2.6.5.3.1）

雄性ビーグル犬に ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与し、投与後 336 時間（14 日）までの血漿中の総放射能濃度、TCA 沈殿性放射能濃度、並びに ELISA 及び低感度酵素活性測定法によるコンドリアーゼ濃度を経時的に測定した。

ELISA 及び酵素活性測定法による血漿中コンドリアーゼ濃度は、6 例すべての測定時点において定量下限（ELISA: [redacted] mU/mL、酵素活性測定法: [redacted] mU/mL）未満であった。一方、血漿中総放射能濃度は、投与後 2 時間で 0.4 mU eq./mL を示したのち、14 日間 0.2～0.5 mU eq./mL のほぼ同程度の濃度で推移した。血漿中放射能濃度推移に明瞭なピークは認められなかった。また、TCA 沈殿性放射能の血漿中総放射能に対する割合は、投与後 2 時間では 51%、投与後 24 時間では 24%に減少したことから、血漿中のコンドリアーゼ又は高分子量代謝物は、投与後 24 時間まで時間経過とともに減少することが示唆された。なお、投与後 24 時間以降の TCA 沈殿性放射能の血漿中総放射能に対する割合は 23%～30%であり、血漿中放射能の多くは、遊離したヨウ素又は低分子量代謝物であることが考えられた。

以上より、^{125}I-コンドリアーゼを単回椎間板内投与した場合、血漿中コンドリアーゼ濃度は定量下限未満とわずかであり、コンドリアーゼは緩やかに全身循環血中へ移行すると考えられた。

2.6.4.3.1.2 イヌ静脈内投与

（資料番号 4.2.2.2-1：試験番号 [redacted] 6/[redacted]2280、資料番号 4.2.2.2-2：試験番号 [redacted] 6A/1108[redacted]、資料番号 4.2.2.2-3：試験番号 [redacted] 7/[redacted]1551；概要表 2.6.5.3.1）

雄性ビーグル犬に ^{125}I-コンドリアーゼを 10、100 又は 1000 U/匹の用量で単回静脈内投与し、血漿中の総放射能濃度、TCA 沈殿性放射能濃度、並びに ELISA 及び低感度酵素活性測定法によるコンドリアーゼ濃度を測定した。血漿中濃度推移（1000 U/匹投与時）を図 2.6.4.3.1.2-1 に、薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.1.2-1 に示す。

ELISA による血漿中コンドリアーゼ濃度は、いずれの投与量においても 1～1.6 時間の終末相半減期で速やかに低下し、投与後 12 から 24 時間の間に定量下限（[redacted]mU/mL）未満となった。全身クリアランス（CL）は 10 及び 100 U/匹群では 43.8～70.3 mL/min（3.04～4.88 mL/min·kg：平均体重 14.4 kg で算出）であったが、1000 U/匹群では 10.8 mL/min（0.75 mL/min·kg：平均体重 14.4 kg で算出）と

減少していた。1000 U/匹群の AUC は、100 U/匹の AUC と比べると用量比以上に増加した。また、酵素活性測定法によるコンドリアーゼ濃度は、1000 U/匹群のみ投与後 3 時間まで測定可能であった。酵素活性測定法によるコンドリアーゼ濃度は、投与後 5 分で TCA 沈澱性放射能濃度の 81%であり、投与後 3 時間では 59%であった。さらに、酵素活性測定法による血漿中コンドリアーゼ濃度と ELISA による血漿中コンドリアーゼ濃度は、ほぼ同様の推移を示したことから、酵素活性測定で定量下限未満となった時点においても、酵素活性を維持するコンドリアーゼが ELISA とほぼ同様の推移で血漿中に存在すると考えられた。一方、高分子量代謝物も含む TCA 沈殿性放射能の血漿中濃度は、いずれの用量群においても二相性で低下し、終末相半減期は 23.4～75.3 時間であった。

イヌの ^{125}I-コンドリアーゼ単回静脈内投与時における血漿中コンドリアーゼ濃度推移より、全身循環血中に移行したコンドリアーゼは、速やかに消失することが示された。

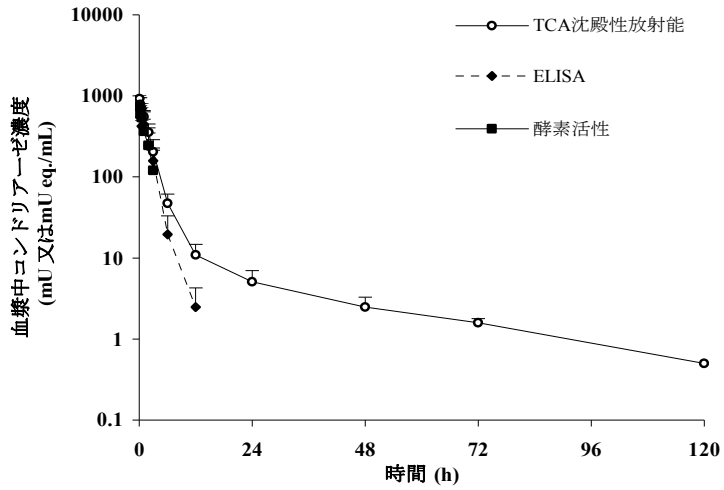


図 2.6.4.3.1.2-1. イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 1000 U/匹の用量で単回静脈内投与した時の血漿中濃度推移

表 2.6.4.3.1.2-1. イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを単回静脈内投与した時の薬物動態パラメータ

投与量 (U/匹)	測定対象	$AUC_{0-\infty}$ (mU·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	CL (mL/min)
10	総放射能	42.3±4.6 [a]	20.4	4.0±0.4
	TCA 沈殿性放射能	18.1±3.4 [a]	23.4	9.2±1.8
	コンドリアーゼ：ELISA	3.7±0.5	1.0	43.8±4.9
100	総放射能	322 [a]	57.8	4.57
	TCA 沈殿性放射能	116 [a]	75.3	12.7
	コンドリアーゼ：ELISA	21.5	1.3	70.3
1000	総放射能	4270 [a]	21.7	3.61
	TCA 沈殿性放射能	2170 [a]	29.5	7.11
	コンドリアーゼ：ELISA	1425	1.6	10.8
	コンドリアーゼ：酵素活性	1191	1.1	12.9

平均値±標準偏差又は平均値で表示（n=3）、ただし 100 及び 1000 U/匹群のパラメータは 3 例の平均血漿中濃度推移より算出。

a：単位は mUeq.·h/mL

2.6.4.3.1.3　ラット静脈内投与

（資料番号 4.2.2.2-4：試験番号 [redacted] 5/[redacted]2099、資料番号 4.2.2.2-5：試験番号 [redacted] 5A/1212[redacted]；概要表 2.6.5.3.2）

雄性 Wistar ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与し、血漿中の総放射能濃度、TCA 沈殿性放射能濃度、並びに ELISA 及び低感度酵素活性測定法によるコンドリアーゼ濃度を測定した。血漿中濃度推移を図 2.6.4.3.1.3-1 に、薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.1.3-1 に示す。

ELISA による血漿中コンドリアーゼ濃度は、1.5 時間の終末相半減期で速やかに低下し、投与後 6 から 12 時間の間に定量下限（[redacted] mU/mL）未満となった。CL は、6.95 mL/min·kg であった。また、酵素活性測定法による血漿中コンドリアーゼ濃度は、投与後 5 分以外のいずれの時点も定量下限（[redacted] mU/mL）未満であった。一方、投与後 168 時間（7 日）までの高分子量代謝物も含む TCA 沈殿性放射能の血漿中濃度は、二相性で低下し、終末相半減期は 116 時間であった。

ラットの ^{125}I-コンドリアーゼ単回静脈内投与時における血漿中コンドリアーゼ濃度推移より、全身循環血中に移行したコンドリアーゼは、イヌ静脈内投与時と同様、速やかに消失することが示された（2.6.4.3.1.2）。

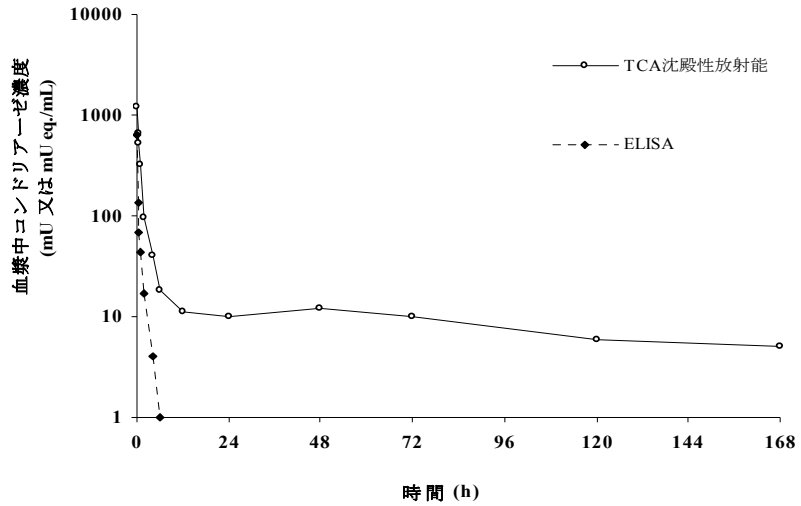


図 2.6.4.3.1.3-1. ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の血漿中濃度推移

血漿中放射能濃度は、目標の投与量と実際の投与量の比で補正した。平均値で表示（n=3/時点）。

表 2.6.4.3.1.3-1. ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の薬物動態パラメータ

測定対象	$AUC_{0-\infty}$ (mU·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	CL (mL/min·kg)
総放射能	4075 [a]	95	0.49
TCA 沈殿性放射能	3059 [a]	116	0.66
コンドリアーゼ：ELISA	239.7	1.5	6.95
コンドリアーゼ：酵素活性	NC	NC	NC

パラメータは 3 例の平均血漿中濃度（測定値を目標の投与量と実際の投与量の比で補正）推移より算出
NC：算出せず。
a：単位は mUeq.·h/mL

2.6.4.3.1.4　サル静脈内投与

（資料番号 4.2.2.2-6：試験番号 [redacted] 13/[redacted]1485；概要表 2.6.5.3.3）

雄性カニクイザルにコンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与し、血漿中のコンドリアーゼ濃度を ELISA 及び低感度酵素活性測定法により測定した。血漿中濃度推移を図 2.6.4.3.1.4-1 に、薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.1.4-1 に示す。

ELISA 及び酵素活性測定法による血漿中コンドリアーゼ濃度は、いずれも二相性で低下した。ELISA による血漿中コンドリアーゼ濃度は、1.3 時間の終末相半減期で速やかに低下し、投与後 12 から 24 時間の間に定量下限（[redacted] mU/mL）未満となった。また、酵素活性測定法による血漿中コンドリアーゼ濃度は、1.0 時間の終末相半減期で速やかに低下し、投与後 3 から 6 時間の間に定量下限（[redacted]mU/mL）未満となった。なお、ELISA 及び酵素活性測定法による血漿中コンドリアーゼ濃度推移の CL は、それぞれ 0.712 及び 0.546 mL/min·kg であった。ELISA による血漿中コンドリアーゼ濃度と酵素活性測定法による血漿中コンドリアーゼ濃度は、ほぼ同様の推移を示したことから、酵素活性測定で定量下限未満となった時点においても、酵素活性を維持するコンドリアーゼが ELISA とほぼ同様の推移で血漿中に存在すると考えられた。

サルの ^{125}I-コンドリアーゼ単回静脈内投与時における血漿中コンドリアーゼ濃度推移より、全身循環血中に移行したコンドリアーゼは、イヌ及びラット静脈内投与時と同様、速やかに消失することが示された（2.6.4.3.1.2 及び 2.6.4.3.1.3）。

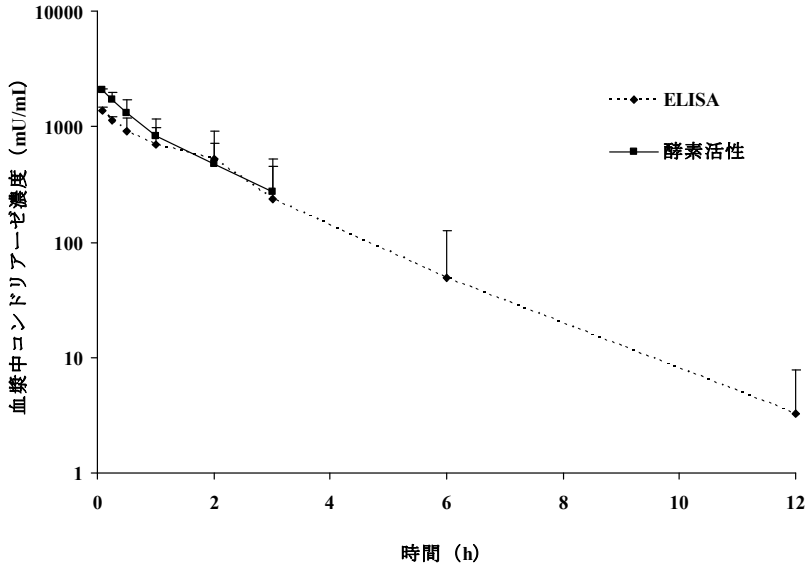


図 2.6.4.3.1.4-1. サルにコンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の血漿中濃度推移

平均値＋標準偏差で表示（n=3）。

表 2.6.4.3.1.4-1. サルにコンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の薬物動態パラメータ

測定対象	$AUC_{0-\infty}$ (mU·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	CL (mL/min·kg)
コンドリアーゼ：ELISA	2573 ± 1511	1.3	0.712 ± 0.314
コンドリアーゼ：酵素活性	3158 ± 1392	1.0	0.546 ± 0.228

平均値±標準偏差又は平均値で表示（n=3）

2.6.4.3.2　反復投与時の血漿中濃度

2.6.4.3.2.1　イヌ 29 日間皮下投与

（トキシコキネティクス試験）（資料番号 4.2.3.2-4：試験番号 [redacted]2916/04）

雌雄ビーグル犬にコンドリアーゼを 2、20 又は 200 U/kg/日の用量で 29 日間反復皮下投与し、血漿中コンドリアーゼ濃度を高感度酵素活性測定法で測定した。薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.2.1-1 に示す。

投与 1 日における 20 及び 200 U/kg 群の血漿中コンドリアーゼ濃度は、投与後 0.7～2.5 時間で最高血漿中濃度に達し、その後 3.9～6.6 時間の終末相半減期で低下した。200 U/kg 群の AUC_{0-last} は、20 U/kg 群の AUC_{0-last} と比べると用量比以上に増加した。2 U/kg 群の血漿中コンドリアーゼ濃度は、投与後 0.5、1 及び 2 時間で検出可能であり、6 時間ではほとんどの動物で定量下限（[redacted]mU/mL）未満であ

った。最高血漿中濃度は、2～200 U/kg の範囲で、ほぼ用量に比例して上昇した。投与 15 日における血漿中コンドリアーゼ濃度は、200 U/kg 群の 4 検体でのみ検出可能であった。また、投与 29 日における血漿中コンドリアーゼ濃度は、いずれの群においても定量下限未満であった。この所見は、別途実施したイヌにおける 29 日間反復皮下投与毒性試験（試験番号 [redacted]707）において、すべてのコンドリアーゼ群でイヌ血清中に抗コンドリアーゼ IgG が検出されたことから、反復投与期間中に生成されたコンドリアーゼに特異的な抗体が、酵素活性を中和したためと考えられた。

表 2.6.4.3.2.1-1. イヌにコンドリアーゼを 29 日間反復皮下投与した時の薬物動態パラメータ

投与量（U/kg/日）	2		20		200	
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与 1 日						
C_{max}（mU/mL）	0.466±0.279	0.558±0.156	5.26±0.99	5.93±1.32	114±105	53.6±9.2
T_{max}（h）	1.7±0.6	1.3±0.6	0.7±0.3	0.8±0.3	2.0±0.0	2.5±3.0
$AUC_{0\text{-last}}$（mU·h/mL）	0.631±0.397	1.86±0.85	20.4±4.7	28.2±11.2	752±252	463±176
$t_{1/2}$（h）	NC	1.8 [a]	4.2±2.3	3.7±2.1	6.4±3.5	5.4[b]±0.9
投与 15 日	BLQ					
投与 29 日	BLQ					

報告書より平均値±標準偏差又は平均値（n=3）を算出した。

a：1 例の値、b：2 例の値

NC：算出せず

BLQ：すべて又は多くの時点で血漿中濃度が LLOQ（[redacted]mU/mL）未満

2.6.4.3.2.2　ラット 28 日間皮下投与

（トキシコキネティクス試験）（資料番号 4.2.3.2-2：試験番号 [redacted]2916/02）

雌雄 Wistar ラットにコンドリアーゼを 2、20 又は 200 U/kg/日の用量で 28 日間反復皮下投与し、血漿中コンドリアーゼ濃度を高感度酵素活性測定法で測定した。薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.2.2-1 に示す。

投与 1 日の 200 U/kg 群における血漿中コンドリアーゼ濃度は、投与後 1～2 時間で最高血漿中濃度に達した。その後、投与 1 日の 200 U/kg 群における血漿中コンドリアーゼ濃度は低下し、投与後 6 時間には定量下限（[redacted]mU/mL）未満となった。20 U/kg 群の血漿中コンドリアーゼ濃度は、投与後 0.5 及び 1 時間のみ検出可能であった。2 U/kg 群では、すべての時点の血漿中コンドリアーゼ濃度が定量下限未満であった。投与 14 及び 28 日における血漿中コンドリアーゼ濃度は、いずれの群においても定量下限未満であった。この所見は、別途実施したラットにおける 28 日間反復皮下投与毒性試

験（試験番号 [redacted]637）において、すべてのコンドリアーゼ群でラット血清中に抗コンドリアーゼ抗体（IgG 及び IgM）が検出されたことから、反復投与期間中に生成されたコンドリアーゼに特異的な抗体が、酵素活性を中和したためと考えられた。

表 2.6.4.3.2.2-1. ラットにコンドリアーゼを 28 日間反復皮下投与した時の薬物動態パラメータ

投与量（U/kg/日）	2		20		200	
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与 1 日						
C_{max}（mU/mL）	BLQ	BLQ	0.409	0.236	5.77	5.47
T_{max}（h）	BLQ	BLQ	1	1	2	1
$AUC_{0\text{-}last}$（mU·h/mL）	BLQ	BLQ	0.299	0.158	5.62	7.85
投与 14 日	BLQ					
投与 28 日	BLQ					

パラメータは 3 例の平均血漿中濃度推移より算出

BLQ：すべての時点で血漿中濃度が LLOQ（[redacted]mU/mL）未満

2.6.4.4　分布

2.6.4.4.1　組織中濃度

2.6.4.4.1.1　イヌ椎間板内投与

（資料番号 4.2.2.2-1 試験番号 [redacted] 6/[redacted]2280；概要表 2.6.5.5.1）

雄性ビーグル犬に ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与し、投与後 3 及び 14 日に投与部位を除く主要組織（腎臓、肝臓、肺、投与部位周囲筋肉、脾臓及び甲状腺）を摘出し、放射能を測定した。

投与放射能に対する組織中放射能の割合は、投与後 3 日では、甲状腺において 0.3%であった以外は、いずれの組織も 0.1%以下であった。また、投与後 14 日における投与放射能に対する組織中放射能の割合は、甲状腺のみ 1.0%と増加しており、甲状腺以外の組織はいずれも 0.03%以下であった。投与後 14 日における甲状腺の放射能濃度の上昇は、^{125}I-コンドリアーゼから遊離した ^{125}I が主に ^{125}I-サイログロブリンとして集積しているためと推察された [(6)]。なお、投与後 14 日における甲状腺以外の投与放射能に対する組織中放射能の割合は、いずれも投与後 3 日に比べて減少していた。

^{125}I-コンドリアーゼを単回椎間板内投与した場合、甲状腺を除く主要組織中放射能はいずれの時点も投与量の 0.1%以下とわずかであったことから、コンドリアーゼは緩やかに全身に移行すると推察された。

2.6.4.4.1.2　ラット静脈内投与

（資料番号 4.2.2.3-1：試験番号 [redacted]8/[redacted]0916；概要表 2.6.5.5.2）

雄性 Wistar ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与し、投与後 5 及び 30 分の組織中放射能を測定した。組織中放射能濃度を表 2.6.4.4.1.2-1 に示す。

放射能濃度は、投与後 5 分では血漿、血液、肝臓で高く、次いで副腎、脾臓、骨髄、心臓、肺の順で低くなった。肝臓中放射能濃度は血漿中放射能濃度の 61%で、副腎以下の組織中放射能濃度は血漿中放射能濃度の 27%以下であった。脳及び精巣中放射能濃度は、血漿中放射能濃度の 1.5%以下と低濃度であった。投与放射能に対する組織中放射能の割合では、血液（血液重量は体重の 7%として算出）中に 60%、肝臓（肝臓重量は実測）に 37%が分布していた。以上より、投与後 5 分におけるコンドリアーゼの肝臓以外への組織移行性は低いと考えられた。また、投与後 30 分では、甲状腺、腎臓及び消化管などの組織中放射能濃度が上昇した。一方で、投与後 5 分で放射能濃度の高かった血漿、血液、肝臓、副腎、脾臓、骨髄、心臓及び肺は、投与後 30 分では放射能濃度が低下した。さらに、いずれの時間においても、甲状腺以外の組織中放射能濃度は、血漿中放射能濃度との比が 1.0 未満であった。

表 2.6.4.4.1.2-1. ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内又は皮下投与した時の組織中放射能濃度

組織	放射能濃度（mU eq./g）									
	静脈内投与		皮下投与							
	雄性		雄性				雌性			
	5 min	30min	30min	4 h	24 h	168 h	30min	4 h	24 h	168 h
血漿	1050	374	55	93	14	5	58	100	10	5
血液	759	296	50	88	10	3	52	90	7	4
脳	15	10	8	6	1	1	7	5	1	1
下垂体	51	65	20	29	4	3	19	25	2	1
眼球	7	32	13	34	3	1	11	31	2	1
涙腺	11	45	25	36	4	7	29	38	19	2
ハーダー腺	18	48	26	42	4	7	28	43	3	1
唾液腺	33	58	24	41	4	1	25	46	3	2
甲状腺	86	6864	1509	60051	161652	104071	1231	69721	167972	136403
胸腺	24	43	18	30	3	2	20	34	2	1
心臓	116	77	27	41	5	1	25	34	3	1
肺	112	107	31	56	6	2	33	60	4	2
肝臓	636	213	27	41	7	3	28	40	10	5
腎臓	87	126	51	104	8	3	43	94	7	4
副腎	279	129	24	23	3	2	26	25	3	2
脾臓	239	187	30	41	3	1	25	42	3	2

平均値で表示（n=3）

表 2.6.4.4.1.2-1. ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内又は皮下投与した時の組織中放射能濃度 （続き）

組織	放射能濃度（mU eq./g）									
	静脈内投与		皮下投与							
	雄性		雄性				雌性			
	5 min	30min	30min	4 h	24 h	168 h	30min	4 h	24 h	168 h
膵臓	28	81	65	51	4	1	55	47	3	7
皮下脂肪	6	21	8	25	2	1	11	31	2	1
褐色脂肪	36	47	1166 [a]	30	5	1	367	145	5	2
筋肉	6	19	13	16	1	<1	12	15	1	1
皮膚	8	54	25	103	34	9	48	84	23	17
骨髄	139	121	21	36	3	1	20	38	2	1
骨	62	68	17	37	3	1	14	33	2	1
リンパ節	16	58	21	41	4	2	19	43	5	2
大動脈	49	73	37	72	11	2	38	73	13	3
大静脈	74	128	34	55	5	4	23	51	4	3
前立腺	12	70	22	74	6	1	NA	NA	NA	NA
精巣	13	38	11	39	4	1	NA	NA	NA	NA
子宮	NA	NA	NA	NA	NA	NA	30	69	3	2
卵巣	NA	NA	NA	NA	NA	NA	30	56	4	3
膀胱	12	51	33	169	7	2	25	136	3	2
胃	19	169	55	468	16	3	47	466	11	3
小腸	17	104	29	158	8	1	23	79	7	2
大腸	17	44	19	105	7	2	19	99	8	1
盲腸	10	35	9	44	5	2	6	24	4	1

平均値で表示（n=3）

NA：該当せず

a：1 例のみ高濃度であり、3 例の個別値は 115、2561 及び 823 mU eq./g であった。

2.6.4.4.1.3　ラット皮下投与

（資料番号 4.2.2.3-1：試験番号 [redacted] 8/[redacted]0916；概要表 2.6.5.5.2）

雄性及び雌性 Wistar ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回皮下投与し、投与後 30 分、4、24 及び 168 時間（7 日）の組織中放射能濃度を測定した。組織中放射能濃度を表 2.6.4.4.1.2-1 に示す。

雄性ラットにおける放射能濃度は、甲状腺を除くほとんどの組織で、投与後 4 時間に最高濃度を示した。投与後 4 時間では甲状腺の放射能濃度が特に高く、次いで消化管、膀胱、腎臓、皮膚、血漿、

血液の順であった。甲状腺の放射能濃度は経時的に上昇し、投与後 24 時間に最高濃度を示し、その後低下した。投与後 168 時間における甲状腺を除く組織中放射能濃度は、最高血漿中放射能濃度の 10%以下に低下した。なお、雌雄ラットにおける組織中放射能濃度は、生殖器官を除き同様の分布であった。

以上より、ラットにおけるコンドリアーゼ皮下投与時の分布に雌雄差はないものと考えられた。なお、甲状腺における放射能濃度の上昇は、^{125}I-コンドリアーゼから遊離した ^{125}I が主に ^{125}I-サイログロブリンとして集積しているためと推察された [(6)]。

2.6.4.4.2　オートラジオグラフィー

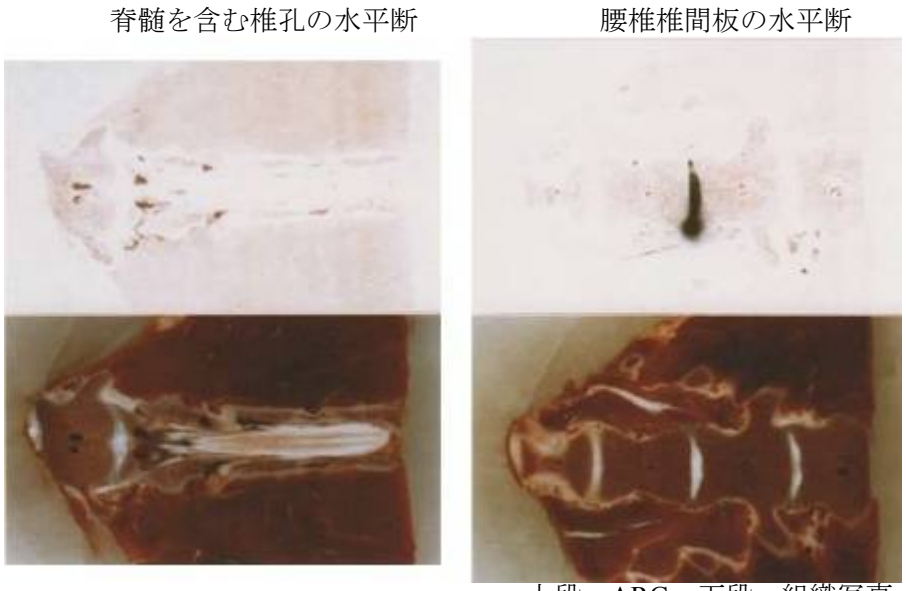
2.6.4.4.2.1　イヌ椎間板内投与時の投与椎間板周囲組織オートラジオグラフィー

（資料番号 4.2.2.3-2：試験番号 [redacted] 1/[redacted]1812）

雄性ビーグル犬に ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与し、投与後 2 時間、3 日、2、4、12 及び 24 週の投与椎間板周囲組織でのオートラジオグラムを作製した。代表的なオートラジオグラム及び組織写真を図 2.6.4.4.2.1-1 に示す。

投与後 24 週までのいずれの時点においても、放射能は投与部位の椎間板内に限局しており、投与椎間板周囲の脊髄神経組織及び筋肉組織に放射能は認められなかった。また、椎間板中放射能は徐々に減少したが、投与後 24 週においてもわずかな残存が認められた。

以上より、イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを単回椎間板内投与した場合、放射能は投与部位の椎間板内に限局しており、投与部位である椎間板からの放射能の移行は緩やかであると考えられた。



上段：ARG、下段：組織写真

図 2.6.4.4.2.1-1. イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与した時における投与椎間板周囲組織のオートラジオグラム及び組織写真（投与後 3 日）

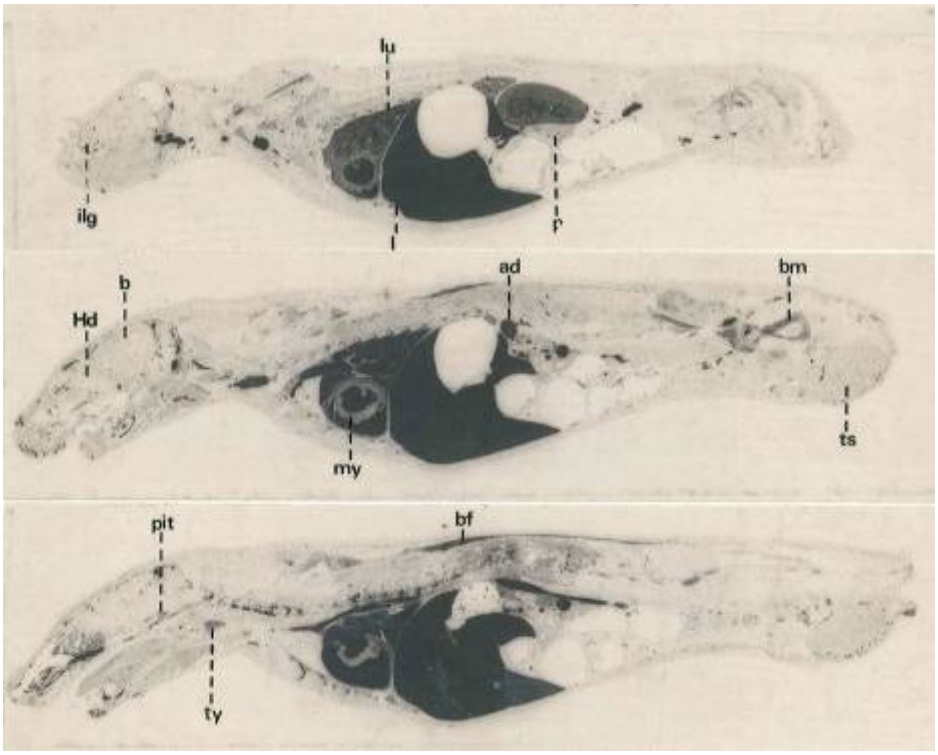
2.6.4.4.2.2 ラット静脈内投与時の全身オートラジオグラフィー

（資料番号 4.2.2.3-1：試験番号 [redacted] 8/[redacted]0916）

雄性 Wistar ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与し、投与後 5、30 分、4 及び 24 時間に全身オートラジオグラムを作製した。代表的なオートラジオグラムを図 2.6.4.4.2.2-1 に示す。

投与後 5 及び 30 分では、甲状腺、肝臓、腎臓、尿路、血液、脾臓、副腎、肺、胃、心筋及び骨髄に高い放射能が認められた。投与後 24 時間では、甲状腺以外の組織として皮膚に、比較的高い放射能が認められた。また、投与後 24 時間の消化管内容物、尿路及び血液に、非常に低い放射能が認められた。甲状腺における放射能濃度の上昇は、ラット皮下投与時の分布と同様に、^{125}I-コンドリアーゼから遊離した ^{125}I が主に ^{125}I-サイログロブリンとして集積しているためと推察された [(6)]。オートラジオグラフィーによる分布は、組織中放射能濃度の分布と類似していた。

投与後 5 分



投与後 24 時間

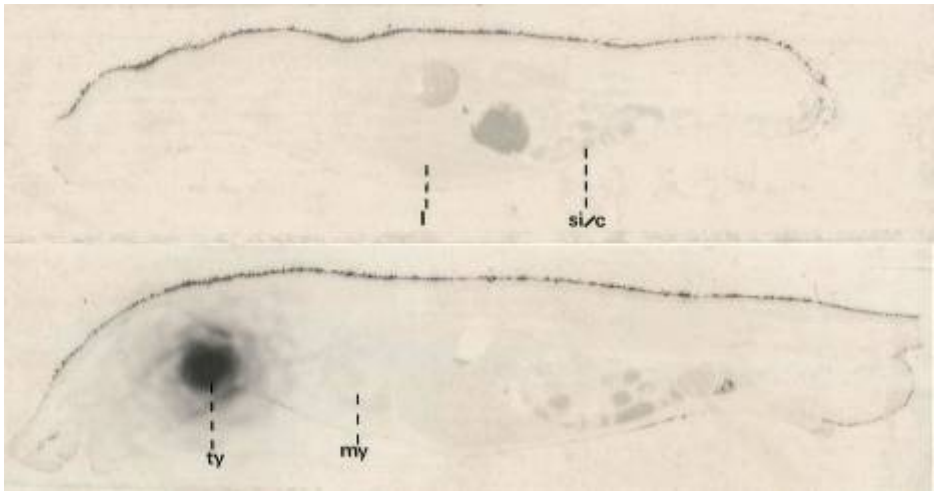


図 2.6.4.4.2.2-1. ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の全身オートラジオグラム

ad：副腎、b：脳、bf：褐色脂肪、bm：骨髄、Hd：ハーダー腺、ilg：眼窩内涙腺、l：肝臓、lu：肺、my：心筋、p：膵臓、pit：下垂体、si/c：小腸内容物、ts：精巣、ty：甲状腺

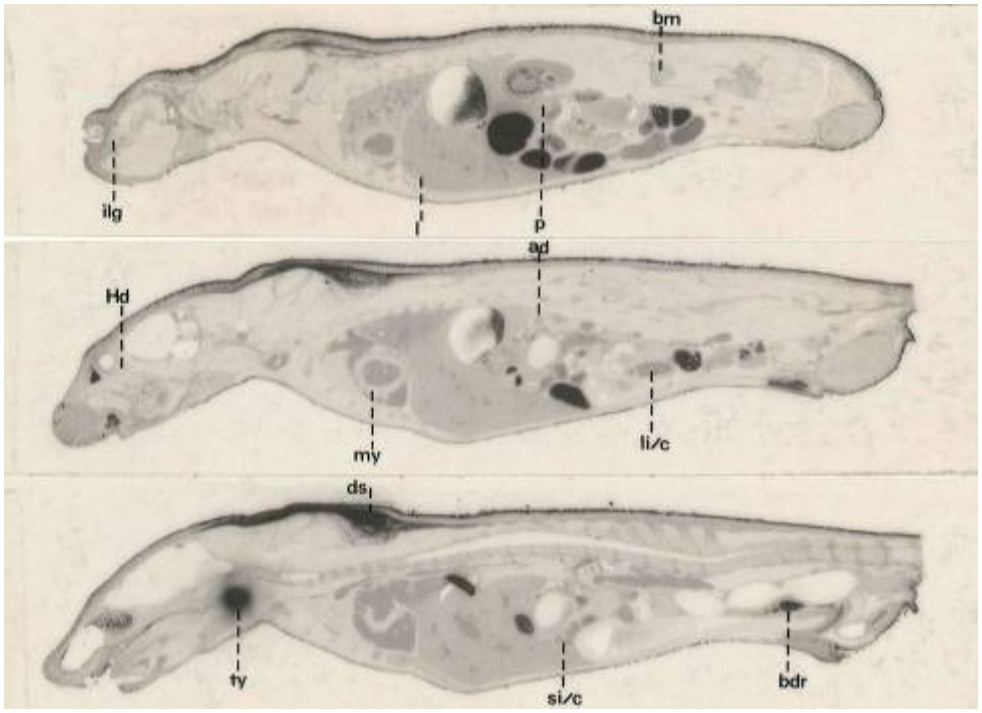
2.6.4.4.2.3 ラット皮下投与時の全身オートラジオグラフィー

（資料番号 4.2.2.3-1：試験番号 [redacted] 8/[redacted]0916）

雄性 Wistar ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回皮下投与し、投与後 30 分、4、8、24、72 及び 168 時間（7 日）に全身オートラジオグラムを作製した。代表的なオートラジオグラムを図 2.6.4.4.2.3-1 に示す。

投与後 4 時間では、甲状腺、消化管、腎臓及び皮膚に高い放射能が認められた。また、投与後 4 時間の血液、肝臓、肺、ハーダー腺、唾液腺、精巣及び脾臓に低い放射能が認められた。投与部位には、投与後 24 時間まで放射能が確認された。投与後 168 時間では、甲状腺以外の組織として被毛、消化管及び尿路に低い放射能が認められたが、他の組織では放射能は認められなかった。オートラジオグラフィーによる分布は、組織中放射能濃度の分布と類似していた。

投与後 4 時間



投与後 168 時間（7 日）

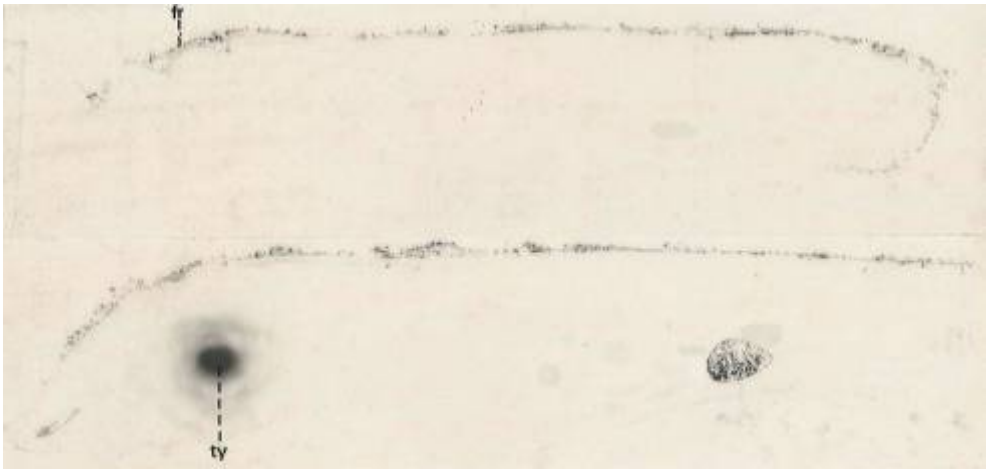


図 2.6.4.4.2.3-1. ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回皮下投与した時の全身オートラジオグラム

ad：副腎、bdr：膀胱、bm：骨髄、ds：投与部位、fr：被毛、Hd：ハーダー腺、ilg：眼窩内涙腺、l：肝臓、li/c：大腸内容物、my：心筋、p：膵臓、si/c：小腸内容物、ty：甲状腺

2.6.4.4.3　椎間板中残存量

2.6.4.4.3.1　イヌ椎間板中残存量

（資料番号 4.2.2.2-1：試験番号 [redacted] 6/[redacted]2280、資料番号 4.2.2.3-3：試験番号 [redacted] 15/[redacted]0664；概要表 2.6.5.8.1）

雄性ビーグル犬に ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与し、投与後 3 及び 14 日に投与した椎間板中の総放射能濃度、TCA 沈殿性放射能濃度及び低感度酵素活性測定法によるコンドリアーゼ濃度を測定した（試験番号 [redacted] 6/[redacted]2280）。また、雄性ビーグル犬にコンドリアーゼを 2 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与し、投与後 3、7、14、30 及び 90 日に投与した椎間板中コンドリアーゼ濃度を低感度酵素活性測定法及び ELISA により測定した（試験番号 [redacted] 15/[redacted]0664）。なお、当該試験では、投与部位椎間板中におけるコンドリアーゼの残存を検討するため、投与した椎間板組織を[redacted]で抽出した試料について測定した。投与部位におけるコンドリアーゼの残存率を表 2.6.4.4.3.1-1 に示す。

イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与した場合、投与部位椎間板中の酵素活性は、投与後 3 日で投与量の 86.5%が、投与後 14 日では 30.8%が残存していた。一方、投与部位椎間板中における総放射能は、投与後 3 日で投与量の 53.4%、投与後 14 日では 25.0%が残存していた。また、投与部位椎間板中における TCA 沈殿性放射能も総放射能と同程度の残存が認められた。特に投与後 3 日の投与部位椎間板中において、酵素活性測定法によるコンドリアーゼ濃度が総放射能及び TCA 沈澱性放射能濃度よりも高かったことから、投与部位椎間板中には ^{125}I が遊離したコンドリアーゼが存在している可能性が示唆された（試験番号 [redacted] 6/[redacted]2280）。

イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与した場合、コンドリアーゼは、椎間板内において酵素活性を維持しながら長時間残存していることが明らかとなった。そこで、コンドリアーゼの投与量を 2 U/disc に大幅に減らし、より長期間における投与部位椎間板中のコンドリアーゼの残存を検討した。

イヌにコンドリアーゼを 2 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与した場合、投与部位椎間板中の酵素活性は、投与後 3 日には投与量の 31%～88%が残存しており、投与後 14 日まで定量が可能であった。ELISA による測定では、投与後 30 日まで投与部位椎間板中にコンドリアーゼの残存が認められたが、投与後 90 日では定量下限（[redacted] mU/mL）未満であった。投与量を大幅に減らしたこれらの結果では、投与部位椎間板中に残存するコンドリアーゼ量には、一定の傾向もなく、大きな個体差が認められた（試験番号 [redacted] 15/[redacted]0664）。

表 2.6.4.4.3.1-1. イヌに ^{125}I-コンドリアーゼ又はコンドリアーゼを L5/L6 内に単回投与した時の投与部位椎間板中残存率

投与後時間（日）	分析対象	残存率（%）	
		^{125}I-コンドリアーゼ [a]（50 U/disc）	コンドリアーゼ [b]（2 U/disc）
3	総放射能	53.4±7.8	NE
	TCA 沈殿性放射能	53.0±7.5	NE
	コンドリアーゼ：酵素活性	86.5±9.0	30.9、87.7
	コンドリアーゼ：ELISA	NE	10.5、28.8
7	コンドリアーゼ：酵素活性	NE	NC、NC
	コンドリアーゼ：ELISA	NE	4.8、9.2
14	総放射能	25.0±8.4	NE
	TCA 沈殿性放射能	23.7±8.0	NE
	コンドリアーゼ：酵素活性	30.8±8.9	NC、55.1
	コンドリアーゼ：ELISA	NE	NC、27.5
30	コンドリアーゼ：酵素活性	NE	NC、NC
	コンドリアーゼ：ELISA	NE	7.9、NC
90	コンドリアーゼ：酵素活性	NE	NC、NC
	コンドリアーゼ：ELISA	NE	NC、NC

NC：LLOQ 未満のため算出せず、NE：実施せず

a：平均値±標準偏差（n=3/時点）

b：個別値（n=2/時点）

2.6.4.4.3.2　サル椎間板中残存量

（資料番号 4.2.2.2-6：試験番号 [redacted] 13/[redacted]1485；概要表 2.6.5.8.2）

雄性カニクイザルにコンドリアーゼを 2 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与し、投与後 3、7、14、30 及び 90 日に投与した椎間板組織より[redacted]を用いて抽出し、抽出試料中コンドリアーゼ濃度を低感度酵素活性法及び ELISA により測定した。椎間板中残存率を表 2.6.4.4.3.2-1 に示す。

酵素活性測定法による測定では、投与後 7 日において 2 例中 1 例で定量が可能であり、投与後 14 日以降は定量下限（[redacted] mU/mL）未満となった。また、ELISA による測定では、投与後 30 日までコンドリアーゼの残存が認められたが、投与後 90 日では定量下限（[redacted]mU/mL）未満となった。イヌにおいてコンドリアーゼの投与量を大幅に減らした結果と同様、サルの投与部位椎間板中に残存するコンドリアーゼ量には、一定の傾向もなく、大きな個体差が認められた。

表 2.6.4.4.3.2-1. サルにコンドリアーゼを 2 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与した時の投与部位椎間板中残存率

投与後時間（日）	分析対象	残存率（%）
3	コンドリアーゼ：酵素活性	NC、NC
	コンドリアーゼ：ELISA	28.4、1.2
7	コンドリアーゼ：酵素活性	NC、21.7
	コンドリアーゼ：ELISA	NC、33.5
14	コンドリアーゼ：酵素活性	NC、NC
	コンドリアーゼ：ELISA	9.7、13.8
30	コンドリアーゼ：酵素活性	NC、NC
	コンドリアーゼ：ELISA	4.3、0.2
90	コンドリアーゼ：酵素活性	NC、NC
	コンドリアーゼ：ELISA	NC、NC

個別値で表示（n=2/時点）

NC：LLOQ 未満のため算出せず

2.6.4.4.4　血漿タンパク結合

（資料番号 4.2.2.2-1：試験番号 [redacted] 6/[redacted]2280）

雄性ビーグル犬に ^{125}I-コンドリアーゼを 100 又は 1000 U/匹の用量で単回静脈内投与し、投与後 5、30 分及び 2 時間に採血して得た血漿試料の放射能分子量分布を SDS-PAGE により分析した。

いずれの用量及び時間の血漿試料においても主要な放射能バンドは、試料を注入した位置から移動せず、^{125}I-コンドリアーゼの泳動位置より高分子側に検出された（2.6.4.5.2、図 2.6.4.5.2-1）。

2.6.4.4.5　血球移行性

（資料番号 4.2.2.2-7：試験番号 [redacted] 8/[redacted]0916）

雄性 Wistar ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与し、投与後 5 及び 30 分の血液中及び血漿中放射能濃度より、血液/血漿中放射能濃度比を算出した。

ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを静脈内投与後 5 及び 30 分の血液/血漿中放射能濃度比は、それぞれ 0.73 及び 0.79 であり、コンドリアーゼの血球移行性は低いと考えられた。

2.6.4.4.6　胎盤・胎児移行性

2.6.4.4.6.1　妊娠ラット組織中濃度

（資料番号 4.2.2.3-4：試験番号 [redacted]004/[redacted]4176；概要表 2.6.5.7.1、2.6.5.7.2）

妊娠 12 日又は 18 日の雌性 Wistar ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U /kg の用量で単回静脈内投与し、投与後 5、30 分、4 及び 24 時間の組織中総放射能及び TCA 沈殿性放射能濃度を測定した。組織中放射能濃度を表 2.6.4.4.6.1-1（妊娠 12 日）及び表 2.6.4.4.6.1-2（妊娠 18 日）に示す。

妊娠 12 日のラットでは、投与後 5 分における総放射能濃度は、母体血漿で最も高く、次いで肝臓、副腎、卵巣、肺、胎盤、心臓及び腎臓の順であった。胎児中総放射能濃度は、母体血漿中総放射能濃度の 2.1%と低かった。胎児中総放射能が胎盤中総放射能よりも低かったことも考慮すると、血液 - 胎盤関門によって、胎児移行性が低くなったと考えられた。胎児、肺、腎臓、子宮及び卵黄嚢液の総放射能は投与後 30 分に、乳腺は投与後 4 時間に最高濃度に達した。また、その他の組織の総放射能は、投与後 5 分に最高濃度に達した。なお、最高濃度到達時以降は、いずれの組織中総放射能濃度も経時的に低下した。TCA 沈殿性放射能濃度の総放射能濃度に対する割合は、投与後 5 分では卵黄嚢液を除くほとんどの組織で 72%以上であり、各組織中における放射能の大部分は ^{125}I-コンドリアーゼ、代謝物又は遊離した ^{125}I が結合した内因性のタンパク質と考えられた。また、TCA 沈殿性放射能濃度の総放射能濃度に対する割合は、乳腺では投与後 30 分に低下したのち、投与後 4 及び 24 時間に上昇した。その他の組織における TCA 沈殿性放射能濃度の総放射能濃度に対する割合は、投与後 4 時間まで急速に低下し、投与後 24 時間に上昇した。TCA 沈殿性放射能濃度の遅い時間での割合の増加は、^{125}I-コンドリアーゼから遊離した ^{125}I が内因性のタンパク質と結合したことを反映していると考えられた。

妊娠 18 日のラットでは、投与後 5 分における胎児組織のいずれの組織でも総放射能が測定されたが、母体血漿中総放射能濃度の 0.3%以下と低く、胎児移行性は低いと考えられた。TCA 沈殿性放射能濃度は、胎児残屍体のみ測定されたが、他の胎児組織は検出限界未満であった。胎児組織の総放射能濃度は、投与後 4 時間まで上昇し、投与後 24 時間には低下した。

以上より、妊娠ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを単回静脈内投与した場合、放射能の胎児移行性は低く、投与後の時間経過とともに遊離したヨウ素や低分子代謝物が急激に増加することが示唆された。さらに、一般に極性の高い高分子化合物は血液 - 胎盤関門により胎盤の通過が難しいことから、コンドリアーゼが未変化体として胎児に移行する可能性は低いと考えられた。

表 2.6.4.4.6.1-1. 妊娠 12 日ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の組織中放射能濃度

組織	放射能濃度 (mU eq./g)							
	5 分		30 分		4 時間		24 時間	
	TRA	TCA_{ppt}	TRA	TCA_{ppt}	TRA	TCA_{ppt}	TRA	TCA_{ppt}
血漿	1437	1376	680	550	82.7	37.0	7.9	5.5
大脳	23.6	24.3	14.0	8.4	5.0	1.8	0.4	NC
心臓	163	159	77.0	47.6	30.5	9.9	1.8	1.1
肺	188	173	193	122	55.0	22.0	10.0	8.3
肝臓	812	858	386	257	37.6	17.9	4.3	3.5
腎臓	125	120	147	83.7	60.6	23.8	3.5	2.3
副腎	618	590	150	93.3	41.8	10.6	2.5	1.6
乳腺	11.9	8.7	48.6	20.3	52.8	32.4	3.9	2.5
卵巣	279	231	190	102	67.1	15.5	3.2	1.8
胎盤	171	160	171	115	48.4	21.5	3.5	2.4
子宮	85.5	82.6	104	57.6	53.4	21.2	3.1	2.0
卵黄嚢液	6.5	2.6	25.2	5.0	6.8	0.8 [b]	4.1	NC
胎児 [a]	29.6	23.4	49.2	21.6	10.7	3.6	0.7	NC

平均値で表示（n=3）、TRA：総放射能、TCAppt：TCA 沈殿性放射能

NC：検出限界未満のため算出せず、a：母動物毎に胎児をプールして測定、b：n=2

表 2.6.4.4.6.1-2. 妊娠 18 日ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の組織中放射能濃度

組織	放射能濃度 (mU eq./g)							
	5 分		30 分		4 時間		24 時間	
	TRA	TCA_{ppt}	TRA	TCA_{ppt}	TRA	TCA_{ppt}	TRA	TCA_{ppt}
血漿	1563	1561	840	706	163	57.3	15.6	10.9
大脳	24.9	23.1	23.7	16.3	8.5	3.8	0.8	0.5
心臓	197	190	154	119	51.1	22.5	3.5	2.6
肺	227	204	194	144	113	75.9	12.4	9.0
肝臓	607	617	360	250	47.9	25.2	7.0	5.4
腎臓	115	105	193	111	94.6	39.9	7.2	4.6
副腎	285	245	205	129	39.1	11.0	3.5	2.6
乳腺	15.0	14.2	31.7	22.6	102	86.2	20.3	14.4
卵巣	184	154	213	141	64.4	21.2	3.8	2.5
胎盤	225	216	176	133	95.0	47.5	10.7	8.1
子宮	106	102	116	72.2	83.0	37.1	6.7	4.4
羊水	0.3	NC	5.7	1.2	15.6	2.9	8.5	1.5
胎児：血液 [a]	3.8	NE	21.1	NE	29.9	NE	3.7	NE
脳 [a]	0.7	NC	11.2	4.0	11.4	4.5	1.2	0.9
心臓 [a]	0.6 [a]	NC	13.3	3.2	14.6	3.4	1.9	1.0
肺 [a]	0.3	NC	18.4	6.0	29.3	16.6	13.2	11.9
肝臓 [a]	0.7	NC	17.7	8.2	21.6	9.9	3.0	1.8
腎臓 [a]	ND	NC	16.5	4.8	21.1	3.7	2.2	1.8
残屍体 [a]	0.4	0.635 [b]	18.6	8.8	32.4	16.5	6.6	5.0

平均値で表示（n=3）、TRA：総放射能、TCAppt：TCA 沈澱性放射能

ND：検出限界未満（バックグランド値の 2 倍未満）、NC：検出限界未満のため算出せず

NE：実施せず、a：母動物毎に胎児組織をプールして測定、b：n=2

2.6.4.4.6.2　妊娠ラット全身オートラジオグラフィー

（資料番号 4.2.2.3-4：試験番号 [redacted]004/[redacted]4176）

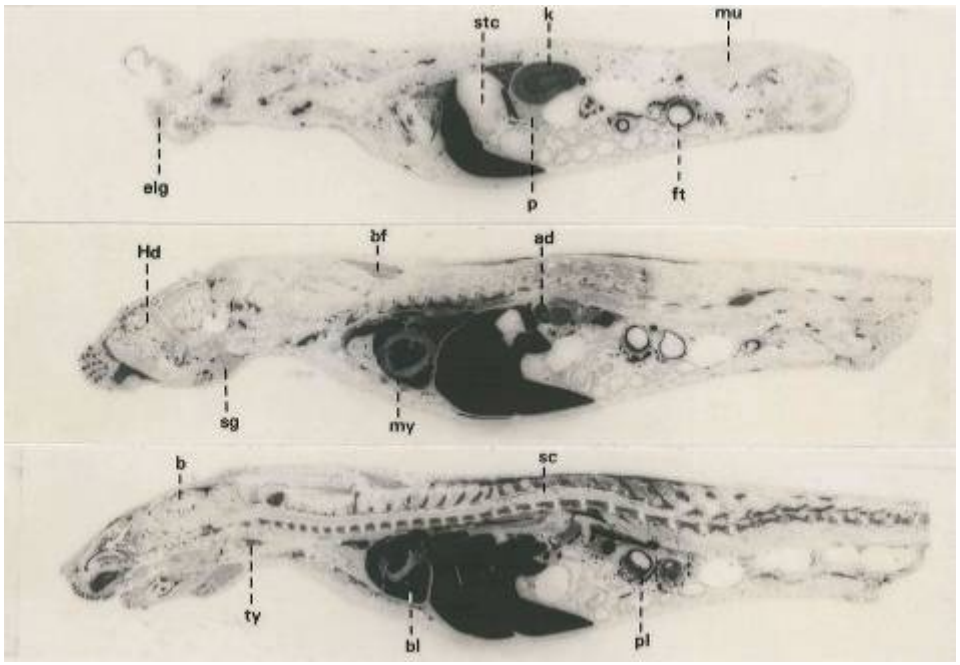
妊娠 12 日又は 18 日の雌性 Wistar ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与し、投与後 5、30 分、4 及び 24 時間に全身オートラジオグラムを作製した。代表的なオートラジオグラムを図 2.6.4.4.6.2-1（妊娠 12 日）及び図 2.6.4.4.6.2-2（妊娠 18 日）に示す。

妊娠 12 日の投与後 5 分では、母体の血液、肝臓、肺、腎臓、脾臓、副腎、卵巣及び骨髄並びに胎盤に高い放射能が認められたが、胎児には痕跡程度の放射能しか認められなかった。投与後 24 時間には、母体甲状腺以外では、母体消化管に比較的高い放射能が、母体血液及尿路に低い放射能が認められた。

妊娠 18 日の投与後 5 分では、妊娠 12 日の投与後 5 分の放射能分布と類似しており、胎児には痕跡程度の放射能が認められた。投与後 4 時間には、母体尿路、母体消化管、陰核腺、胎児消化管に高い放射能が、その他の胎児組織には低い放射能が認められた。投与後 24 時間には、母体甲状腺以外では、母体消化管、乳房組織、陰核腺及び胎児甲状腺に比較的高い放射能が、母体血液、胸部・内臓組織及び胎児消化管に低い放射能が、涙腺に痕跡程度の放射能が認められた。

いずれの時点においても、母体の放射能と比較して、胎児の放射能が極めて低かったことから、妊娠ラットにおける組織中濃度と同様に、胎児移行性は低いと考えられた（2.6.4.4.6.1）。特に、投与後遅い時間における ^{125}I-コンドリアーゼを投与したときの組織中濃度及び全身オートラジオグラフィーの結果は、^{125}I-無機ヨウ化物を投与したときの分布と類似しており [(6)]、^{125}I-コンドリアーゼより遊離した ^{125}I の分布を反映しているものと推察された。

投与後 5 分



投与後 24 時間

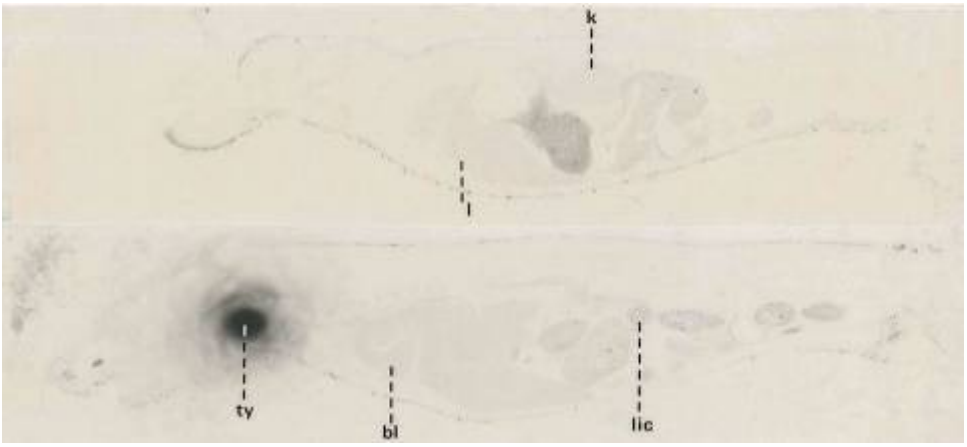
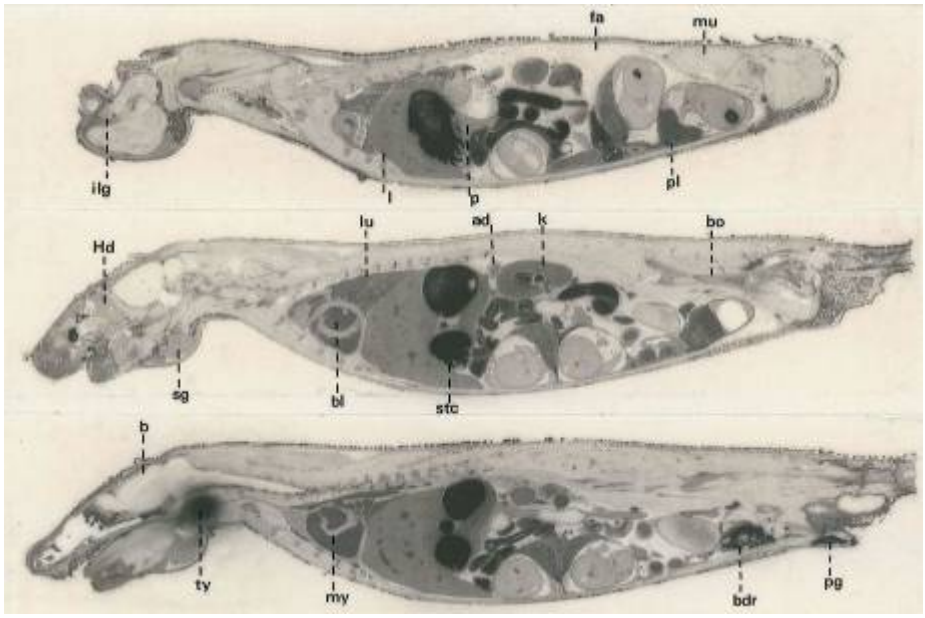


図 2.6.4.4.6.2-1. 妊娠 12 日のラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の全身オートラジオグラム

ad：副腎、b：脳、bf：褐色脂肪、bl：血液、elg：眼窩外涙腺、ft：胎児、Hd：ハーダー腺、k：腎臓、l：肝臓、lic：大腸内容物、mu：筋肉、my：心筋、p：膵臓、pl：胎盤、sc：脊髄、sg：唾液腺、stc：胃内容物、ty：甲状腺

投与後 4 時間



投与後 24 時間

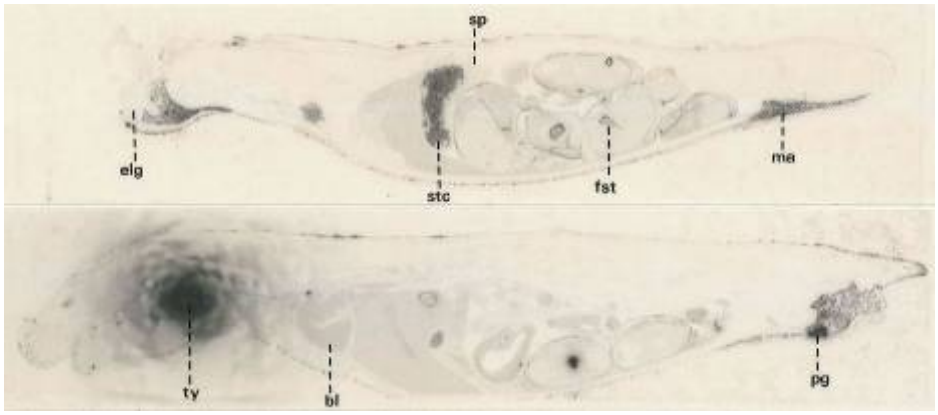


図 2.6.4.4.6.2-2. 妊娠 18 日のラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内した時の全身オートラジオグラム

ad：副腎、b：脳、bdr：膀胱、bl：血液、bo：骨、elg：眼窩外涙腺、fa：脂肪、fst：胎児胃、Hd：ハーダー腺、ilg：眼窩内涙腺、k：腎臓、l：肝臓、lu：肺、ma：乳房組織、mu：筋肉、my：心筋、p：膵臓、pg：陰核腺、pit：下垂体、pl：胎盤、sg：唾液腺、sp：脾臓、stc：胃内容物、ty：甲状腺

2.6.4.5　代謝

2.6.4.5.1　イヌ椎間板中残存物の存在形態

（資料番号 4.2.2.4-1：試験番号 [redacted] 6/[redacted]2280；概要表 2.6.5.9）

雄性ビーグル犬に ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与し、投与後 3 及び 14 日に、投与した椎間板組織から [redacted] を用いて抽出した試料の放射能分子量分布を SDS-PAGE により分析した。

投与後 3 日の椎間板組織から抽出した試料では、主要な放射能バンドは未変化の ^{125}I-コンドリアーゼと同じ位置に検出された（図 2.6.4.5.1-1）。投与後 14 日でも、主要な放射能バンドは、未変化の ^{125}I-コンドリアーゼと同じ位置に検出されたが、他には溶媒先端付近に、遊離した ^{125}I 及びその ^{125}I が結合した生体成分又は ^{125}I-コンドリアーゼ分解物の可能性があるバンドが認められた。特に、投与後 3 日では椎間板中放射能のほとんどが未変化の ^{125}I-コンドリアーゼであり、2.6.4.4.3.1 における標識体を用いたイヌ椎間板残存率の知見と一致していた。

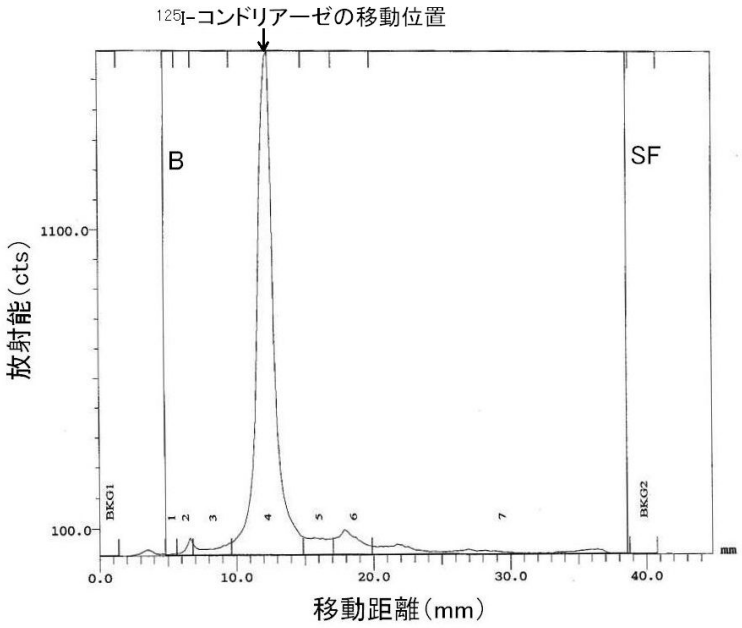


図 2.6.4.5.1-1. イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与した時の椎間板組織抽出液中放射能の分子量分布（投与後 3 日、SDS-PAGE）

B:ベースライン、SF：溶媒先端

2.6.4.5.2　イヌ血漿中の存在形態

（資料番号 4.2.2.4-1：試験番号 [redacted] 6/[redacted]2280；概要表 2.6.5.9）

雄性ビーグル犬に ^{125}I-コンドリアーゼを 100 又は 1000 U/匹の用量で単回静脈内投与し、投与後 5、30 分及び 2 時間の血漿試料中の放射能分子量分布を SDS-PAGE により分析した。

いずれの用量及び時間の血漿試料においても 1 つの主要な放射能バンド及び少数の小さな放射能バンドが認められた。主要な放射能バンドは、試料を注入した位置から移動せず、^{125}I-コンドリアーゼの泳動位置より高分子側に検出された（図 2.6.4.5.2-1）。

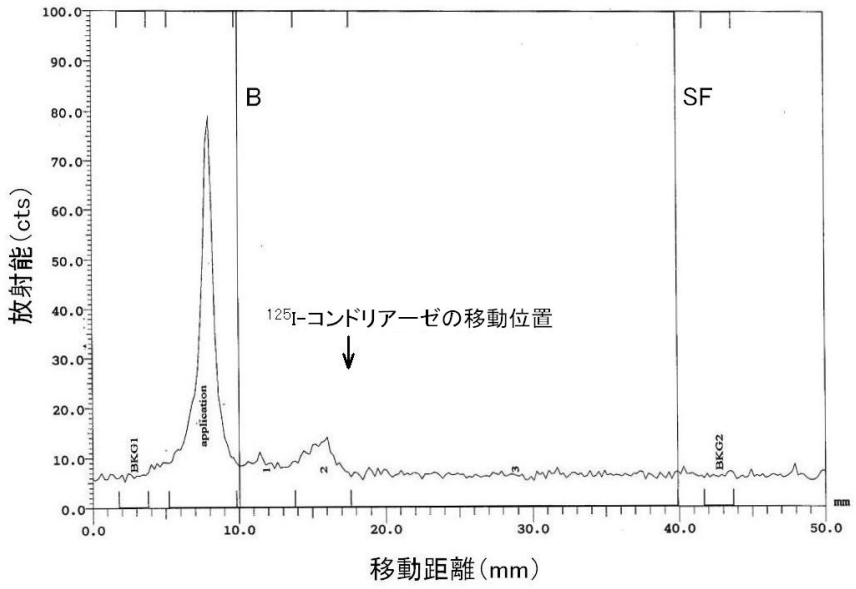


図 2.6.4.5.2-1. イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/匹の用量で静脈内投与した時の血漿中放射能の分子量分布（投与後 5 分、SDS-PAGE）

B：ベースライン、SF：溶媒先端

2.6.4.6　排泄

2.6.4.6.1　尿・糞中排泄

2.6.4.6.1.1　イヌ椎間板内投与

（資料番号 4.2.2.5-1：試験番号 [redacted] 6/[redacted]2280；概要表 2.6.5.13）

雄性ビーグル犬に ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で L5/L6 内に単回投与し、投与後 336 時間（14 日）までの尿及び糞中放射能排泄を調べた。放射能排泄率を表 2.6.4.6.1.1-1 に示す。

放射能の排泄は遅く、投与後 336 時間までに尿中に投与量の 38.4%の放射能が排泄され、糞中に 4.0%の放射能が排泄された。投与後 336 時間までの尿中排泄速度は 24 時間あたり約 2%～3%とほぼ一定であった。なお、尿中の放射能は、TCA によってほとんど沈殿しなかった（9%以下）ことから、尿中に存在する放射能は ^{125}I-コンドリアーゼより遊離した ^{125}I が主であると考えられた。

一方、コンドリアーゼは、タンパク質であることから、一般的なバイオ医薬品と同様、小さなペプチド及びアミノ酸へ分解 (1) され、排泄されると考えられる。

表 2.6.4.6.1.1-1. ラット又はイヌに ^{125}I-コンドリアーゼを単回投与した時の尿及び糞中放射能排泄

動物種	投与経路	投与量	採取時間（時間）	排泄率（% of dose）		
				尿	糞	排泄合計 [c]
イヌ [a]	椎間板内	50 U/disc	0-336	38.4 ± 9.9	4.0 ± 1.3	44.5 ± 11.7
イヌ [b]	静脈内	100 U/匹	0-168	75.9 ± 2.6	8.5 ± 1.8	87.5 ± 1.3
ラット [b]	静脈内	100 U/kg	0-168	68.8 ± 12.4	5.6 ± 0.3	75.1 ± 12.2[d]

平均値±標準偏差で表示（n=3 [b] 又は 6 [a]）

c：ケージ洗浄液を含む

d：投与後 168 時間（7 日）の屍体中に投与量の 20.8%の放射能が残存していた。

2.6.4.6.1.2　イヌ静脈内投与

（資料番号 4.2.2.5-1：試験番号 [redacted] 6/[redacted]2280；概要表 2.6.5.13）

雄性ビーグル犬に ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/匹の用量で単回静脈内投与し、投与後 168 時間（7 日）までの尿及び糞中放射能排泄を調べた。放射能排泄率を表 2.6.4.6.1.1-1 に示す。

放射能の主排泄経路は、尿中排泄であり、投与後 48 時間までに尿中に投与量の 65.1%の放射能が排泄され、糞中に 6.3%の放射能が排泄された。試料採取の最終時点である投与後 168 時間までには、尿中に 75.9%の放射能が排泄され、糞中に 8.5%の放射能が排泄された。また、尿及び糞中の排泄率にケージ洗浄液を含めると、投与量の 87.5%の放射能が回収された。なお、尿中の放射能は、TCA によってほとんど沈殿しなかった（9%以下）ことから、尿中に存在する放射能は、^{125}I-コンドリアーゼより遊離した ^{125}I が主であると考えられた。

2.6.4.6.1.3　ラット静脈内投与

（資料番号 4.2.2.5-2：試験番号 [redacted] 5/[redacted]2099；概要表 2.6.5.13）

雄性 Wistar ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与し、投与後 168 時間（7 日）までの尿及び糞中放射能排泄を調べた。放射能排泄率を表 2.6.4.6.1.1-1 に示す。

放射能の主排泄経路は、尿中排泄であり、投与後 24 時間までに、尿中に投与量の 49.7%の放射能が排泄され、糞中に 0.7%の放射能が排泄された。試料採取の最終時点である投与後 168 時間までには、尿中に 68.8%の放射能が排泄され、糞中に 5.6%の放射能が排泄された。また、尿及び糞中の排泄率にケージ洗浄液を含めると、投与量の 75.1%の放射能が回収された。投与後 168 時間の屍体中に投与量の 20.8%の放射能が残存しており、総回収率は 95.9%であった。なお、尿中の放射能は、TCA によってほとんど沈殿しなかった（8%以下）ことから、尿中に存在する放射能は ^{125}I-コンドリアーゼより遊離した ^{125}I が主であると考えられた。

2.6.4.6.2 ラット胆汁中排泄

（資料番号 4.2.2.5-3：試験番号 [redacted] 8/[redacted]0916；概要表 2.6.5.14）

胆管カニューレを施した雄性 Wistar ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回皮下投与し、投与後 48 時間までの胆汁、尿及び糞中放射能排泄を調べた。

投与後 48 時間までに、胆汁中に投与量の 5.1%、尿中に 66.7%、糞中に 3.9%の放射能が排泄された。胆管カニューレを施したラットに ^{125}I-コンドリアーゼを皮下投与し、糞中に約 4%の放射能が排泄されたことから、コンドリアーゼ由来物質が消化管内に分泌されていることが考えられた。また、胆汁中総放射能に対する TCA 沈殿性放射能の割合は、投与後 6 時間までは 17%～21%であり、投与後 6～24 時間では 33%であった。その後、胆汁中総放射能に対する TCA 沈殿性放射能の割合は、24～48 時間で 82%に増加した。投与後 6 時間以降における TCA 沈殿性放射能の割合の増加は、^{125}I-コンドリアーゼから遊離した ^{125}I が他のタンパク質に結合したものと考えられた。

2.6.4.6.3 ラット乳汁中移行

（資料番号 4.2.2.5-4：試験番号 [redacted] 004/[redacted]4176；概要表 2.6.5.7.3）

授乳中の雌性 Wistar ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与し、投与後 24 時間までの血漿中及び乳汁中総放射能及び TCA 沈殿性放射能濃度を測定した。血漿中及び乳汁中総放射能及び TCA 沈殿性放射能濃度を表 2.6.4.6.3-1 に示す。

乳汁中総放射能及び TCA 沈殿性放射能濃度は、いずれも投与後 3 時間に最高濃度を示し、投与後 24 時間にはそれぞれ最高濃度の 5%及び 6%に減少した。また、血漿中総放射能及び TCA 沈殿性放射能濃度は、いずれも投与後 0.5 時間に最高濃度を示し、二相性で低下した。乳汁中総放射能濃度は投与後 0.5 時間を除き、いずれも血漿中総放射能濃度よりも高く、$AUC_{0\text{-}24h}$ 比は 7.8 であった。さらに、乳汁中 TCA 沈殿性放射能濃度も血漿中 TCA 沈殿性放射能濃度よりも高く、$AUC_{0\text{-}24h}$ 比は 7.5 であったことから、放射能の乳汁移行性が認められた。しかし、コンドリアーゼは、分子量約 11 万のタンパク質であり、一般的な高分子化合物と同様に、ほとんど乳汁中へ移行しないと推察される [(2)]。さらに、放射性ヨウ素をラットに投与すると、乳汁中へ分泌された放射性ヨウ素により、乳汁中タンパク質が容易にラベル化されることから [(3)] [(4)] [(5)]、^{125}I-コンドリアーゼを投与した時に乳汁へ移行する放射能の大部分は、未変化の ^{125}I-コンドリアーゼや代謝物ではなく、乳汁中のタンパク質成分に遊離した ^{125}I が再結合したものと考えられた。

表 2.6.4.6.3-1. 授乳中ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の血漿中及び乳汁中総放射能及び TCA 沈殿性放射能濃度

投与後時間（時間）	放射能濃度（mU eq./g）			
	乳汁		血漿	
	TRA	TCAppt	TRA	TCAppt
0.5	162.3 ± 27.2	109.2 ± 22.0	447.2 ± 78.1	390.4 ± 62.4
1	538.0 ± 47.4	359.4 ± 83.4	271.1 ± 55.0	232.6 ± 59.3
3	1058 ± 74.4	789.7 ± 81.1	56.6 ± 4.1	34.6 ± 4.7
6	502.6 ± 149.7	386.6 ± 106.3	18.6 ± 9.0	11.5 ± 4.7
24	53.0 ± 18.0	44.0 ± 16.3	9.9 ± 9.3	7.1 ± 6.1

平均値±標準偏差で表示（n=3）

TRA：総放射能、TCAppt：TCA 沈澱性放射能

2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用

該当試験なし。

2.6.4.8　その他の薬物動態試験

該当試験なし。

2.6.4.9　考察及び結論

イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で単回椎間板内投与した場合、ELISA 及び酵素活性測定法による血漿中コンドリアーゼ濃度は、6 例すべての測定時点において定量下限未満であった。一方、血漿中放射能濃度推移には明瞭なピークが認められず、14 日間 0.2～0.5 mU eq./mL のほぼ同程度の濃度で推移した。^{125}I-コンドリアーゼを単回椎間板内投与した時の血漿中コンドリアーゼ濃度は定量下限未満とわずかであったことから、コンドリアーゼは緩やかに全身循環血中へ移行すると考えられた。

コンドリアーゼが全身循環血中へ移行した後の詳細な血中動態を確認するため、^{125}I-コンドリアーゼを単回静脈内投与した時の血漿中コンドリアーゼ濃度推移を検討した。^{125}I-コンドリアーゼをイヌ（1000 U/匹）、ラット（100 U/kg）及びサル（100 U/kg）に単回静脈内投与した場合、ELISA で測定した血漿中コンドリアーゼ濃度はそれぞれ 1.6、1.5 及び 1.3 時間の終末相半減期で速やかに消失し、全身クリアランスはそれぞれ 0.75、6.95 及び 0.712 mL/min·kg であった。^{125}I-コンドリアーゼ単回静

脈内投与時の血中動態から、全身循環血中に移行したコンドリアーゼは、速やかに消失することが示された。

イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で単回椎間板内投与した場合、甲状腺を除く主要組織中放射能は、投与後 3 日ではいずれも投与量の 0.1%以下であった。さらに、投与後 14 日の甲状腺を除く主要組織中放射能は、いずれも投与量の 0.03%以下とわずかであったことより、コンドリアーゼは緩やかに全身に移行すると推察された。なお、主要組織と同様に、甲状腺における放射能もいずれの時点も投与量の 1%以下と低く、甲状腺に分布した放射能は ^{125}I-コンドリアーゼから遊離した ^{125}I が主に ^{125}I-サイログロブリンとして集積しているものと推察された。

コンドリアーゼが全身循環血中に移行した後の詳細な分布を確認するため、ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した時の組織中放射能濃度を測定した。投与後 5 分の組織中放射能濃度は、血漿、血液、肝臓で高く、次いで副腎、脾臓、骨髄、心臓、肺の順で低くなった。投与後 5 分で放射能濃度の高かった組織の多くは、投与後 30 分では放射能濃度が低下した。さらに、いずれの時間においても、甲状腺以外の組織中放射能濃度は、血漿中放射能濃度との比が 1.0 未満であった。

イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で単回椎間板内投与した場合、投与椎間板周囲組織の局所オートラジオグラムでは、放射能は投与後 24 週までのいずれにおいても投与部位の椎間板内に限局していた。投与した椎間板中の酵素活性は、投与後 3 日では投与量の 86.5%が、投与後 14 日では 30.8%が残存していたことから、^{125}I-コンドリアーゼを単回椎間板内投与した場合、コンドリアーゼは椎間板内において酵素活性を維持しながら長時間残存していることが明らかとなった。なお、投与椎間板周囲の脊髄神経組織及び筋肉組織に放射能は認められなかった。

一方、コンドリアーゼの投与量を 2 U/disc に大幅に減らし、イヌ及びサルに単回椎間板内投与した場合、投与後 3 日における投与椎間板中コンドリアーゼは、10.5%～87.7%が残存していた。投与椎間板中コンドリアーゼの残存率は、投与後 3 日以外では一定の傾向を示さなかったものの、投与後 30 日まで一部の個体で残存が認められた。

ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で静脈内投与後 5 及び 30 分の血液/血漿中放射能濃度比は、それぞれ 0.72 及び 0.79 であり、コンドリアーゼの血球移行性は低いと考えられた。

妊娠ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した場合、投与後 5 分の胎児及び胎児組織中放射能濃度は、母体血漿中放射能の 2.1%以下と低かった。^{125}I-コンドリアーゼ単回静脈内投与時における放射能の胎児移行性が低いことに加え、一般に極性の高い高分子化合物は血液−胎盤関門により胎盤通過が難しいことから、コンドリアーゼが未変化体として胎児に移行する可能性は低いと考えられた。なお、オートラジオグラフィーによる分布は、組織中放射能濃度の分布と類似していた。投与後遅い時間における ^{125}I-コンドリアーゼを投与したときの組織中濃度及び全身オートラジオグラフィーの結果は、^{125}I-無機ヨウ化物を投与したときの分布と類似しており [(6)] 、^{125}I-コンドリアーゼより遊離した ^{125}I の分布を反映しているものと推察された。

イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で単回椎間板内投与したのち、投与後 3 及び 14 日の投与椎間板組織の放射能分子量分布を分析した。SDS-PAGE における投与椎間板組織の主要な放射能

バンドは、いずれの時点においても未変化の ^{125}I-コンドリアーゼと同じ位置に検出された。^{125}I-コンドリアーゼを単回椎間板内投与した場合、コンドリアーゼは椎間板中でほとんど代謝を受けず、未変化体として存在すると推察された。

イヌに ^{125}I-コンドリアーゼを 50 U/disc の用量で単回椎間板内投与した場合、放射能の排泄は遅く、投与後 14 日までの尿中に投与量の 38.4%、糞中に 4.0%の放射能が排泄された。投与後 14 日までの尿中排泄速度は、24 時間あたり約 2%～3%とほぼ一定であった。なお、尿中の放射能は TCA によってほとんど沈殿しなかったことから、尿中に存在する放射能は ^{125}I-コンドリアーゼより遊離した ^{125}I が主であると考えられた。一方、コンドリアーゼは、タンパク質であることから、一般的なバイオ医薬品と同様、小さなペプチド及びアミノ酸へ分解され (1) 、排泄されると考えられる。

胆管カニューレを施したラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回皮下投与した場合、糞中に約 4%の放射能が排泄されたことから、コンドリアーゼ由来物質が消化管に分泌されていると考えられた。

授乳中ラットに ^{125}I-コンドリアーゼを 100 U/kg の用量で単回静脈内投与した場合、乳汁中及び血漿中 TCA 沈澱性放射能濃度の $AUC_{0\text{-}24h}$ 比は 7.5 であり、放射能の乳汁移行性が認められた。しかし、コンドリアーゼは分子量約 11 万のタンパク質であり、一般的な高分子化合物と同様に、ほとんど乳汁中へ移行しないと推察される (2) 。さらに、放射性ヨウ素をラットに投与すると、乳汁中へ分泌された放射性ヨウ素により、乳汁中タンパク質が容易にラベル化されることから (3) (4) (5) 、^{125}I-コンドリアーゼを投与した時に乳汁へ移行する放射能の大部分は、^{125}I-コンドリアーゼや代謝物ではなく、乳汁中のタンパク質成分に遊離した ^{125}I が再結合したものと考えられた。

2.6.4.10　図表

図は、本文中の該当箇所に記載した。表は、本文中の該当箇所又は 2.6.5 薬物動態試験の概要表に記載し、概要表を参照する場合は、参照箇所を本文中に示した。

2.6.4.11　参考文献

(1)　「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」について．薬食審査発 0323 第 1 号.

(2)　菅原 和信, 豊口 禎子. 薬剤の母乳への移行 改訂 4 版.東京 株式会社南山堂; 2008:12.

(3)　Potter GD, Chaikoff IL. Identification of radioiodine compounds eliminated in the milk of lactating rats injected with ^{131}I-iodide. Biochim Biophys Acta. 1956;21:400-401.

(4)　Grosvenor CE. Secretion of ^{131}I into milk by lactating rat mammary glands. Am J Physiol. 1960;199:419-422.

(5)　Grosvenor CE. ^{131}I accumulation by the lactating rat mammary gland. Am J Physiol. 1963;204:856-860.

（6） 百瀬裕子, 西垣淳子, 重松昭世. 静脈内投与後の ^{125}I 標識化合物のラット体内運命（第 1 報）: ^{125}I 標識 NaI の体内動態. 薬物動態. 1993;8:457-469.

ヘルニコア®椎間板注用 1.25 単位
コンドリアーゼ

2.6.5 薬物動態試験概要表

生化学工業株式会社

目次

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 6
2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与 9
2.6.5.3.1 薬物動態試験：吸収：単回投与－イヌ 9
2.6.5.3.2 薬物動態試験：吸収：単回投与－ラット 13
2.6.5.3.3 薬物動態試験：吸収：単回投与－サル 14
2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与 15
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 16
2.6.5.5.1 薬物動態試験：分布－イヌ 16
2.6.5.5.2 薬物動態試験：分布－ラット 18
2.6.5.6 薬物動態試験：タンパク結合 23
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠または授乳動物における試験 24
2.6.5.7.1 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験－ラット胎盤通過性（妊娠12 日） 24
2.6.5.7.2 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験－ラット胎盤通過性（妊娠18 日） 27
2.6.5.7.3 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験－ラット乳汁中移行 30
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 31
2.6.5.8.1 薬物動態試験：その他の分布試験－イヌ椎間板中残存 31
2.6.5.8.2 薬物動態試験：その他の分布試験－サル椎間板中残存 33
2.6.5.9 薬物動態試験：In vivo 試験における代謝 34
2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro 試験における代謝 35
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 36
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導/阻害 37
2.6.5.13 薬物動態試験：累積排泄 38
2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄 41
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 43
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 44

略号一覧

略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
ARG	Autoradiogram	オートラジオグラム
AUC	Area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}$	Area under the plasma concentration-time curve from zero to infinity	0 から∞時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-t}	Area under the plasma concentration-time curve from zero to t	0 から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-last}	Area under the plasma concentration-time curve from zero to the last measurable time	0 から最終測定可能時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
CL	Total body clearance	全身クリアランス
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CV	Coefficient of variation	変動係数
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	酵素標識免疫測定法
k_{el}	Elimination rate constant	消失速度定数
L5/L6	Intervertebral disc between the fifth and sixth lumbar vertebrae	第 5 腰椎と第 6 腰椎間の椎間板
LLOQ	Lower limit of quantification	定量下限
n	Number	例数
PBS	Phosphate-buffered saline	リン酸緩衝生理食塩液
PK パラメータ	Pharmacokinetic parameter	薬物動態パラメータ
RE	Relative error	相対誤差
SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis	ドデシル硫酸ナトリウムーポリアクリルアミドゲル電気泳動法
$t_{1/2}$	Terminal phase half-life	終末相半減期
TCA	Trichloroacetic acid	トリクロロ酢酸
T_{max}	Time to reach the maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
U	Unit	単位

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

被験物質: コンドリアーゼ

試験の種類		被験物質	試験系	投与方法	実施場所	試験番号	資料番号
吸収	単回投与時の血漿中濃度	^{125}I-コンドリアーゼ	ビーグル犬	椎間板内、静脈内	[redacted]	[redacted]6/[redacted]2280	4.2.2.2-1
					[redacted]	[redacted]6A/1108[redacted]	4.2.2.2-2
					[redacted]	[redacted]7/[redacted]1551	4.2.2.2-3
	単回投与時の血漿中濃度	^{125}I-コンドリアーゼ	Wistar ラット	静脈内	[redacted]	[redacted]5/[redacted]2099	4.2.2.2-4
					[redacted]	[redacted]5A/1212[redacted]	4.2.2.2-5
	単回投与時の血漿中濃度	コンドリアーゼ	カニクイザル	静脈内	[redacted]	[redacted]13/[redacted]1485	4.2.2.2-6
	反復投与時の血漿中濃度	コンドリアーゼ	ビーグル犬	皮下	[redacted]	[redacted]2916/04	4.2.3.2-4
	反復投与時の血漿中濃度	コンドリアーゼ	Wistar ラット	皮下	[redacted]	[redacted]2916/02	4.2.3.2-2
分布	組織中濃度	^{125}I-コンドリアーゼ	ビーグル犬	椎間板内	[redacted]	[redacted]6/[redacted]2280	4.2.2.2-1
	組織中濃度	^{125}I-コンドリアーゼ	Wistar ラット	静脈内、皮下	[redacted]	[redacted]8/[redacted]0916	4.2.2.3-1
	局所 ARG	^{125}I-コンドリアーゼ	ビーグル犬	椎間板内	[redacted]	[redacted]1/[redacted]1812	4.2.2.3-2
	全身 ARG	^{125}I-コンドリアーゼ	Wistar ラット	静脈内、皮下	[redacted]	[redacted]8/[redacted]0916	4.2.2.3-1
	椎間板中残存	^{125}I-コンドリアーゼ	ビーグル犬	椎間板内	[redacted]	[redacted]6/[redacted]2280	4.2.2.2-1
					[redacted]	[redacted]15/[redacted]0664	4.2.2.3-3
	椎間板中残存	コンドリアーゼ	カニクイザル	椎間板内	[redacted]	[redacted]13/[redacted]1485	4.2.2.2-6
	血漿タンパク結合	^{125}I-コンドリアーゼ	ビーグル犬	静脈内	[redacted]	[redacted]6/[redacted]2280	4.2.2.2-1
	血球移行性	^{125}I-コンドリアーゼ	Wistar ラット	静脈内	[redacted]	[redacted]8/[redacted]0916	4.2.2.2-7

ARG：オートラジオグラム、[redacted]：[redacted]（旧名称 [redacted]）、[redacted]（旧名称 [redacted]
又は [redacted]）

（続く）

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

被験物質: コンドリアーゼ

試験の種類		被験物質	試験系	投与方法	実施場所	試験番号	資料番号
分布	妊娠動物組織中濃度、全身 ARG	^{125}I-コンドリアーゼ	Wistar ラット	静脈内	[redacted]	[redacted]004/[redacted]4176	4.2.2.3-4
代謝	生体試料中の存在形態	^{125}I-コンドリアーゼ	ビーグル犬	椎間板内、静脈内	[redacted]	[redacted]6/[redacted]2280	4.2.2.4-1
排泄	尿・糞中排泄	^{125}I-コンドリアーゼ	ビーグル犬	椎間板内、静脈内	[redacted]	[redacted]6/[redacted]2280	4.2.2.5-1
	尿・糞中排泄	^{125}I-コンドリアーゼ	Wistar ラット	静脈内	[redacted]	[redacted]8/[redacted]0916	4.2.2.5-2
	胆汁中排泄	^{125}I-コンドリアーゼ	Wistar ラット	皮下	[redacted]	[redacted]8/[redacted]0916	4.2.2.5-3
	乳汁中移行	^{125}I-コンドリアーゼ	Wistar ラット	静脈内	[redacted]	[redacted]004/[redacted]4176	4.2.2.5-4

ARG：オートラジオグラム、[redacted]：[redacted]（旧名称 [redacted]）

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験

被験物質：コンドリアーゼ

生体試料	ラット血漿	ウサギ血漿	イヌ血漿
定量物質	コンドリアーゼ	コンドリアーゼ	コンドリアーゼ
測定法	高感度酵素活性	高感度酵素活性	高感度酵素活性
測定試料容量	50 µL	50 µL	50 µL
＜バリデーション結果＞			
定量濃度範囲（µU/mL）	[redacted]～[redacted]	[redacted]～[redacted]	[redacted]～[redacted]
同時再現性 精度（CV%） 真度（RE%）	 1.8～4.0（n=6） -13.2～0.6（n=6）	 3.3～10.0（n=5 or 6） -4.8～8.0（n=5 or 6）	 2.0～4.7（n=6） 3.0～9.8（n=6）
日差再現性 精度（CV%） 真度（RE%）	 4.3～14.3（n=6） -10.9～2.9（n=6）	 6.0～11.9（n=6 or 7） -4.8～5.8（n=6 or 7）	 3.7～9.0（n=8） -0.5～6.9（n=8）
定量下限（µU/mL）	[redacted]	[redacted]	[redacted]
凍結融解安定性	3 回	3 回	3 回
保存安定性	6 箇月（-80～-70℃） 2 時間（室温）	6 箇月（-80～-70℃） 2 時間（室温）	6 箇月（-80～-70℃） 2 時間（室温）
試験番号	[redacted] 006/[redacted]2129	[redacted] 008/[redacted]2131	[redacted] 007/[redacted]2130
資料番号	4.2.2.1-1	4.2.2.1-2	4.2.2.1-3

（続く）

2.6.5.2　分析法及びバリデーション試験（続き）

被験物質：コンドリアーゼ

生体試料	ラット血漿	ウサギ血漿	イヌ血漿
定量物質	コンドリアーゼ	コンドリアーゼ	コンドリアーゼ
測定法	高感度酵素活性	高感度酵素活性	高感度酵素活性
測定試料容量	50 µL	50 µL	50 µL
＜バリデーション結果＞			
定量濃度範囲（µU/mL）	[redacted]～[redacted]	[redacted]～[redacted]	[redacted]～[redacted]
同時再現性 精度（CV%） 真度（RE%）	 5.1～10.8（n=5） -13.3～-5.3（n=5）	 2.1～5.0（n=5） -0.2～9.5（n=5）	 7.3～13.0（n=5） -3.5～3.0（n=5）
日差再現性 精度（CV%） 真度（RE%）	 2.4～4.5（n=5） -9.8～-2.6（n=5）	 3.0～6.0（n=5） 4.1～7.9（n=5）	 2.7～4.6（n=5） -2.9～-0.6（n=5）
定量下限（µU/mL）	[redacted]	[redacted]	[redacted]
試験番号	[redacted]-2849-[redacted]	[redacted]-4184-[redacted]	[redacted]-2970-[redacted]
資料番号	4.2.2.1-4	4.2.2.1-5	4.2.2.1-6

（続く）

2.6.5.2 分析法及びバリデーション試験（続き）

被験物質：コンドリアーゼ

生体試料	ラット血漿	ラット血漿
定量物質	コンドリアーゼ	コンドリアーゼ
測定法	低感度酵素活性	ELISA
測定試料容量	50 µL	100 µL
＜バリデーション結果＞		
定量濃度範囲	[redacted]～[redacted] mU/mL	[redacted]～[redacted] ng/mL [a]
同時再現性 **精度（CV%）**	2.5～10.6（n=6） 2.6～7.6（n=6）	2.1～11.8（n=6） 3.2～6.2（n=6） 3.6～12.7（n=6）
真度（RE%）	-5～13（n=6） -2～12（n=6）	-4.7～15.9（n=6） 0.2～44.6（n=6） -11.1～9.6（n=6）
試験番号	[redacted] 5/[redacted]2099	[redacted] 5A/1212[redacted]
資料番号	4.2.2.2-4	4.2.2.1-7

ELISA：酵素標識免疫測定法

a：1 ng/mL は約 [redacted] mU/mL

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与

2.6.5.3.1 薬物動態試験：吸収：単回投与ーイヌ

被験物質：コンドリアーゼ

動物種	ビーグル犬		
性別（雄/雌）/動物数	雄/6 匹		
摂餌条件	非絶食		
溶媒/投与形態	リン酸緩衝生理食塩液		
投与方法	椎間板内（L5/L6）		
投与量	50 U/disc		
放射線核種	^{125}I		
比放射能	76.8 kBq/U		
測定試料	血漿		
定量物質	総放射能 [TCA 沈澱性放射能 [a]]	コンドリアーゼ	コンドリアーゼ
定量法	γ カウンター	ELISA	低感度酵素活性
採取時間（時間）	血漿中濃度（mU 又は mU eq./mL）[総放射能に対する TCA 沈澱性の割合（%）]		
2	0.4 ± 0.3 [51 ± 7]	BLQ	BLQ
4	0.4 ± 0.2 [44 ± 4]	BLQ	BLQ
8	0.3 ± 0.2 [32 ± 8]	BLQ	BLQ
24	0.4 ± 0.2 [24 ± 7]	BLQ	BLQ

数値は平均値 ± 標準偏差又は平均値　TCA：トリクロロ酢酸、ELISA：酵素標識免疫測定法

BLQ：すべての動物で血漿中濃度が LLOQ（ELISA：[redacted] mU/mL、酵素活性：[redacted] mU/mL）未満

a：総放射能に対する TCA 沈澱性放射能の割合（%）

2.6.5.3.1　　薬物動態試験：吸収：単回投与ーイヌ（続き）

被験物質：コンドリアーゼ

動物種	ビーグル犬		
採取時間（時間）	血漿中濃度（mU 又は mU eq./mL）[総放射能に対する TCA 沈澱性の割合（%）]		
定量物質	総放射能 [TCA 沈澱性放射能 [a]]	コンドリアーゼ	コンドリアーゼ
定量法	γ カウンター	ELISA	低感度酵素活性
採取時間（時間）	血漿中濃度（mU 又は mU eq./mL）[総放射能に対する TCA 沈澱性の割合（%）]		
48	0.5 ± 0.2[25 ± 2]	BLQ	BLQ
72	0.4 ± 0.2[23 ± 2]	BLQ	BLQ
96	0.5 ± 0.2 [23 ± 4]	BLQ	BLQ
120	0.5 ± 0.2 [25 ± 4]	BLQ	BLQ
144	0.4 ± 0.1 [28 ± 4]	BLQ	BLQ
168	0.4 ± 0.1 [27 ± 3]	BLQ	BLQ
240	0.3 ± 0.1 [30 ±3]	BLQ	BLQ
336	0.2 ± 0.1 [28]	BLQ	BLQ
試験番号	[redacted] 6/[redacted]2280	[redacted] 6A/1108[redacted]	[redacted] 6/[redacted]2280
資料番号	4.2.2.2-1	4.2.2.2-2	4.2.2.2-1

数値は平均値 ± 標準偏差又は平均値　TCA：トリクロロ酢酸、ELISA：酵素標識免疫測定法

BLQ：すべての動物で血漿中濃度が LLOQ（ELISA：[redacted] mU/mL、酵素活性：[redacted] mU/mL）未満

a：総放射能に対する TCA 沈澱性放射能の割合（%）

2.6.5.3.1　薬物動態試験：吸収：単回投与ーイヌ（続き）

被験物質：コンドリアーゼ

動物種	ビーグル犬			ビーグル犬		
性別（雄/雌）/動物数	雄/3 匹			雄/3 匹		
摂餌条件	非絶食			非絶食		
溶媒/投与形態	リン酸緩衝生理食塩液			リン酸緩衝生理食塩液		
投与方法	静脈内			静脈内		
投与量	10 U/匹			100 U/匹		
放射線核種	^{125}I			^{125}I		
比放射能	382 kBq/U			48.0 kBq/U		382 kBq/U
測定試料	血漿			血漿		
定量物質	総放射能	TCA 沈澱性放射能	コンドリアーゼ	総放射能	TCA 沈澱性放射能	コンドリアーゼ
定量法	γ カウンター	γ カウンター	ELISA	γ カウンター	γ カウンター	ELISA
PK パラメータ						
$AUC_{0-\infty}$ (mU·h/mL)	42.3 ±4.6 [a]	18.1 ± 3.4 [a]	3.7 ± 0.5	322 [a]	116 [a]	21.5
k_{el} (h^{-1})	0.0339 ± 0.0111	0.0297 ± 0.0104	0.6622 ± 0.2456	0.0120	0.0092	0.5159
$t_{1/2}$ (h)	20.4	23.4	1.0	57.8	75.3	1.3
CL (mL/min)	4.0 ± 0.4	9.2 ± 1.8	43.8 ± 4.9	4.57	12.7	70.3
試験番号	[redacted] 7/[redacted]1551			[redacted] 6/[redacted]2280		[redacted] 7/[redacted]1551
資料番号	4.2.2.2-3			4.2.2.2-1		4.2.2.2-3

数値は平均値 ± 標準偏差又は平均値、100 U/匹群の PK パラメータは 3 例の平均血漿中濃度推移より算出

TCA：トリクロロ酢酸、ELISA：酵素標識免疫測定法

a：単位は mU eq.·h/mL

（続く）

2.6.5.3.1 薬物動態試験：吸収：単回投与ーイヌ（続き）

被験物質：コンドリアーゼ

動物種	ビーグル犬			
性別（雄/雌）/動物数	雄/3 匹			
摂餌条件	非絶食			
溶媒/投与形態	リン酸緩衝生理食塩液			
投与方法	静脈内			
投与量	1000 U/匹			
放射線核種	^{125}I			
比放射能	4.29 kBq/U			
測定試料	血漿			
定量物質	総放射能	TCA 沈澱性放射能	コンドリアーゼ	コンドリアーゼ
定量法	γ カウンター	γ カウンター	ELISA	低感度酵素活性
PK パラメータ				
$AUC_{0-\infty}$ (mU·h/mL)	4270 [a]	2170 [a]	1425	1191
k_{el} (h^{-1})	0.0320	0.0235	0.4207	0.6063
$t_{1/2}$ (h)	21.7	29.5	1.6	1.1
CL (mL/min)	3.61	7.11	10.8	12.9
試験番号	[redacted]6/[redacted]2280		[redacted]6A/1108[redacted]	
資料番号	4.2.2.2-1		4.2.2.2-2	

PK パラメータは 3 例の平均血漿中濃度推移より算出

TCA：トリクロロ酢酸、ELISA：酵素標識免疫測定法

a：単位は mU eq.·h/mL

2.6.5.3.2 薬物動態試験：吸収：単回投与ーラット

被験物質：コンドリアーゼ

動物種	Wistar ラット			
性別（雄/雌）/動物数	雄/3 匹			
摂餌条件	非絶食			
溶媒/投与形態	リン酸緩衝生理食塩液			
投与方法	静脈内			
投与量	100 U/kg			
放射線核種	^{125}I			
比放射能	11.8 kBq/U			
測定試料	血漿			
定量物質	総放射能	TCA 沈澱性放射能	コンドリアーゼ	コンドリアーゼ
定量法	γ カウンター	γ カウンター	ELISA	低感度酵素活性
PK パラメータ				
$AUC_{0-\infty}$ (mU·h/mL)	4075 [a]	3059 [a]	239.7	NC
k_{el} (h^{-1})	0.0073	0.0060	0.4621	NC
$t_{1/2}$ (h)	95	116	1.5	NC
CL (mL/min/kg)	0.49	0.66	6.95	NC
試験番号	[redacted] 5/[redacted]2099		[redacted] 5A/1212[redacted]	[redacted] 5/[redacted]2099
資料番号	4.2.2.2-4		4.2.2.2-5	4.2.2.2-4

パラメータは 3 例の平均血漿中濃度（測定値を目標の投与量と実際の投与量の比で補正）推移より算出、TCA：トリクロロ酢酸、ELISA：酵素標識免疫測定法、NC：算出せず

a：単位は mU eq.·h/mL

2.6.5.3.3 薬物動態試験：吸収：単回投与ーサル

被験物質：コンドリアーゼ

動物種	カニクイザル	
性別（雄/雌）/動物数	雄/3 匹	
摂餌条件	非絶食	
溶媒/投与形態	リン酸緩衝生理食塩液	
投与方法	静脈内	
投与量	100 U/kg	
測定試料	血漿	
定量物質	コンドリアーゼ	コンドリアーゼ
定量法	ELISA	低感度酵素活性
PK パラメータ		
$AUC_{0-\infty}$ (mU·h/mL)	2573 ± 1511	3158 ± 1392
k_{el} (h^{-1})	0.5405 ± 0.1404	0.7104 ± 0.2982
$t_{1/2}$ (h)	1.3	1.0
CL (mL/min/kg)	0.712 ± 0.314	0.546 ± 0.228
試験番号	[redacted] 13/[redacted]1485	
資料番号	4.2.2.2-6	

数値は平均値 ± 標準偏差又は平均値 、ELISA：酵素標識免疫測定法

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与

ラットにおける28日間及びイヌにおける29日間反復皮下投与毒性試験時のトキシコキネティクスデータを使用した(試験番号[redacted]2916/02 [redacted]2916/04)。

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

2.6.5.5.1 薬物動態試験：分布ーイヌ

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted]6/[redacted]2280
資料番号：4.2.2.2-1

動物種	ビーグル犬
性別（雄/雌）/動物数	雄/3 匹/時点
摂餌条件	非絶食
溶媒/投与形態	リン酸緩衝生理食塩液
投与方法	椎間板内（L5/L6）
投与量	50 U/disc
放射線核種	^{125}I
比放射能	74.8 kBq/U
測定試料	腎臓、肝臓、肺、投与部位周囲筋肉、脾臓及び甲状腺
定量物質	総放射能
定量法	γカウンター

（続く）

2.6.5.5.1　　薬物動態試験：分布ーイヌ（続き）

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted] 6/[redacted]2280
資料番号：4.2.2.2-1

動物種	ビーグル犬	
	放射能（% of dose）	
組織/採取時間	72 時間	336 時間
腎臓	0.0239 ± 0.0108	0.0136 ± 0.0021
肝臓	0.0865 [a]	0.0297 [b]
肺	0.0246 [a]	0.0155 [a]
投与部位周囲筋肉	0.0040 [a]	ND（<0.0001）
脾臓	0.0184 ± 0.0069	0.0117 ± 0.0034
甲状腺	0.2963 ± 0.0694	1.0490 ± 0.2608

数値は平均値 ± 標準偏差又は平均値、ND：全例検出限界以下、a：n=2、b：n=1

2.6.5.5.2　　薬物動態試験：分布ーラット

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted]8/[redacted]0916
資料番号：4.2.2.3-1

動物種	Wistar ラット	Wistar ラット	
性別（雄/雌）/ 動物数	雄/3 匹/時点	雄/3 匹/時点	雌/3 匹/時点
摂餌条件	非絶食	非絶食	
溶媒/投与形態	リン酸緩衝生理食塩液	リン酸緩衝生理食塩液	
投与方法	静脈内	皮下	
投与量	100 U/kg	100 U/kg	
放射線核種	^{125}I	^{125}I	
比放射能	39.3 kBq/U	40.4 kBq/U	
定量物質	総放射能	総放射能	
定量法	γ カウンター	γ カウンター	

（続く）

2.6.5.5.2　　薬物動態試験：分布ーラット（続き）

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted] 8/[redacted]0916
資料番号：4.2.2.3-1

動物種	Wistar ラット		Wistar ラット							
	総放射能濃度（mU eq./g）		**総放射能濃度（mU eq./g）**							
投与経路	静脈内		皮下							
組織/採取時間	5 分	30 分	30 分	4 時間	24 時間	168 時間	30 分	4 時間	24 時間	168 時間
血漿	1050 ± 161	374 ± 27	55 ± 16	93 ± 12	14 ± 4	5 ± 1	58 ± 5	100 ± 11	10 ± 3	5 ± 2
血液	759 ± 89	296 ± 14	50 ± 16	88 ± 12	10 ± 3	3 ± 1	52 ± 5	90 ± 9	7 ± 2	4 ± 2
脳	15 ± 3	10 ± 2	8 ± 3	6 ± 2	1 ± <1	1 ± 1	7 ± 1	5 ± 1	1 ± <1	1 ± <1
下垂体	51 ± 7	65 ± 13	20 ± 10	29 ± 7	4 ± 1	3 ± 1	19 ± 1	25 ± 4	2 ± 0	1 ± 0
眼球	7 ± 2	32 ± 3	13 ± 5	34 ± 6	3 ± 1	1 ± <1	11 ± 1	31 ± 1	2 ± 1	1 ± <1
涙腺	11 ± 2	45 ± 5	25 ± 11	36 ± 4	4 ± 1	7 ± 10	29 ± 2	38 ± 6	19 ± 28	2 ± 1
ハーダー腺	18 ± 4	48 ± 6	26 ± 9	42 ± 7	4 ± 1	7 ± 10	28 ± 5	43 ± 6	3 ± 1	1 ± 1
唾液腺	33 ± 9	58 ± 5	24 ± 10	41 ± 5	4 ± 1	1 ± <1	25 ± 2	46 ± 6	3 ± 1	2 ± 1

数値は平均値 ± 標準偏差

（続く）

2.6.5.5.2　　薬物動態試験：分布ーラット（続き）

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted] 8/[redacted]0916
資料番号：4.2.2.3-1

	総放射能濃度（mU eq./g）		総放射能濃度（mU eq./g）							
投与経路	静脈内		皮下							
組織/採取時間	5 分	30 分	30 分	4 時間	24 時間	168 時間	30 分	4 時間	24 時間	168 時間
甲状腺	86 ± 43	6864 ± 1145	1509 ± 518	60051 ± 2091	161652 ± 36574	104071 ± 12048	1231 ± 391	69721 ± 18915	167972 ± 32481	136403 ± 29014
胸腺	24 ± 8	43 ± 3	18 ± 7	30 ± 3	3 ± 1	2 ± 1	20 ± 1	34 ± 3	2 ± 1	1 ± <1
心臓	116 ± 13	77 ± 8	27 ± 11	41 ± 6	5 ± 1	1 ± 1	25 ± 3	34 ± 3	3 ± 1	1 ± 1
肺	112 ± 10	107 ± 5	31 ± 12	56 ± 7	6 ± 2	2 ± <1	33 ± 2	60 ± 5	4 ± 1	2 ± 1
肝臓	636 ± 14	213 ± 28	27 ± 8	41 ± 4	7 ± 3	3 ± 1	28 ± 2	40 ± 5	10 ± 4	5 ± 2
腎臓	87 ± 17	126 ± 9	51 ± 23	104 ± 25	8 ± 2	3 ± 1	43 ± 7	94 ± 19	7 ± 2	4 ± 2
副腎	279 ± 47	129 ± 26	24 ± 9	23 ± 4	3 ± 1	2 ± 1	26 ± <1	25 ± 3	3 ± 1	2 ± 1
脾臓	239 ± 19	187 ± 41	30 ± 13	41 ± 5	3 ± 1	1 ± <1	25 ± 2	42 ± 4	3 ± 1	2 ± 1
膵臓	28 ± 3	81 ± 10	65 ± 30	51 ± 12	4 ± 1	1 ± 1	55 ± 6	47 ± 8	3 ± 1	7 ± 10
皮下脂肪	6 ± 1	21 ± 6	8 ± 3	25 ± 10	2 ± 1	1 ± <1	11 ± 1	31 ± 5	2 ± 1	1 ± <1

数値は平均値 ± 標準偏差

（続く）

2.6.5.5.2　　薬物動態試験：分布ーラット（続き）

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted] 8/[redacted]0916
資料番号：4.2.2.3-1

	総放射能濃度（mU eq./g）		総放射能濃度（mU eq./g）							
投与経路	静脈内		皮下							
組織/採取時間	5 分	30 分	30 分	4 時間	24 時間	168 時間	30 分	4 時間	24 時間	168 時間
褐色脂肪	36 ± 6	47 ± 7	1166 [a] ± 1259	30 ± 6	5 ± 3	1 ± <1	367 ± 317	145 ± 85	5 ± 3	2 ± <1
筋肉	6 ± 1	19 ± 3	13 ± 5	16 ± 3	1 ± 1	<1 ± 0	12 ± 3	15 ± 6	1 ± <1	1 ± <1
皮膚	8 ± 1	54 ± 14	25 ± 8	103 ± 33	34 ± 23	9 ± <1	48 ± 44	84 ± 11	23 ± 7	17 ± 12
骨髄	139 ± 12	121 ± 13	21 ± 7	36 ± 4	3 ± 1	1 ± <1	20 ± 1	38 ± 6	2 ± 1	1 ± 0
骨	62 ± 9	68 ± 8	17 ± 7	37 ± 6	3 ± 1	1 ± <1	14 ± 2	33 ± 4	2 ± 0	1 ± <1
リンパ節	16 ± 1	58 ± 9	21 ± 10	41 ± 7	4 ± 1	2 ± 2	19 ± 2	43 ± 7	5 ± 4	2 ± 1
大動脈	49 ± 11	73 ± 0	37 ± 17	72 ± 20	11 ± 7	2 ± 0	38 ± 5	73 ± 7	13 ± 16	3 ± 1
大静脈	74 ± 19	128 ± 14	34 ± 19	55 ± 11	5 ± 3	4 ± 1	23 ± 10	51 ± 11	4 ± 1	3 ± 0
前立腺	12 ± 2	70 ± 18	22 ± 12	74 ± 27	6 ± 2	1 ± 1	NA	NA	NA	NA
精巣	13 ± 2	38 ± 3	11 ± 5	39 ± 6	4 ± 1	1 ± <1	NA	NA	NA	NA

数値は平均値 ± 標準偏差、NA：該当せず

a：1 例のみ高濃度であり、3 例の個別値は 115、2561 及び 823 mU eq./g であった。

（続く）

2.6.5.5.2　薬物動態試験：分布ーラット（続き）

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted]8/[redacted]0916
資料番号：4.2.2.3-1

	総放射能濃度（mU eq./g）		総放射能濃度（mU eq./g）							
投与経路	静脈内		皮下							
組織/採取時間	5 分	30 分	30 分	4 時間	24 時間	168 時間	30 分	4 時間	24 時間	168 時間
子宮	NA	NA	NA	NA	NA	NA	30 ± 3	69 ± 9	3 ± 1	2 ± 1
卵巣	NA	NA	NA	NA	NA	NA	30 ± 1	56 ± 10	4 ± 2	3 ± 1
膀胱	12 ± 2	51 ± 39	33 ± 18	169 ± 83	7 ± 1	2 ± 1	25 ± 3	136 ± 94	3 ± 1	2 ± 1
胃	19 ± 3	169 ± 18	55 ± 28	468 ± 80	16 ± 4	3 ± 1	47 ± 7	466 ± 18	11 ± 2	3 ± 1
胃内容物	2 ± 1	65 ± 13	23 ± 11	188 ± 32	16 ± 4	2 ± <1	19 ± 6	279 ± 55	4 ± 1	3 ± 1
小腸	17 ± 3	104 ± 3	29 ± 13	158 ± 67	8 ± 2	1 ± 1	23 ± 4	79 ± 3	7 ± 2	2 ± 1
小腸内容物	6 ± 1	74 ± 14	21 ± 7	134 ± 54	8 ± 1	2 ± 1	14 ± 2	61 ± 3	5 ± 2	2 ± 1
大腸	17 ± 3	44 ± 19	19 ± 10	105 ± 24	7 ± 2	2 ± <1	19 ± 6	99 ± 49	8 ± 4	1 ± 1
大腸内容物	1 ± 1	16 ± 7	7 ± 3	47 ± 5	6 ± 1	4 ± 2	6 ± 3	46 ± 8	7 ± 2	3 ± 2
盲腸	10 ± 7	35 ± 6	9 ± 7	44 ± 24	5 ± 3	2 ± 1	6 ± 1	24 ± 11	4 ± 1	1 ± 1
盲腸内容物	1 ± 0	23 ± 5	7 ± 4	51 ± 20	9 ± 3	4 ± <1	6 ± 2	37 ± 20	8 ± 3	5 ± 3

数値は平均値 ± 標準偏差、NA：該当せず

2.6.5.6 薬物動態試験：タンパク結合

In vivo 試験における代謝の項のデータを使用した（2.6.5.9）。

2.6.5.7　　薬物動態試験：妊娠または授乳動物における試験

2.6.5.7.1　　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験ーラット胎盤通過性（妊娠 12 日）

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted]004/[redacted]4176
資料番号：4.2.2.3-4

動物種	妊娠 12 日の Wistar ラット
性別（雄/雌）/動物数	雌/3 匹/時点
摂餌条件	非絶食
溶媒/投与形態	リン酸緩衝生理食塩液
投与方法	静脈内
投与量	100 U/kg
放射線核種	^{125}I
比放射能	25.9、38.9、44.4 kBq/U
定量物質	総放射能 [TCA 沈澱性放射能]
定量法	γ カウンター

TCA：トリクロロ酢酸

（続く）

2.6.5.7.1　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験－ラット胎盤通過性（妊娠 12 日）（続き）

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted]004/[redacted]4176
資料番号：4.2.2.3-4

動物種	妊娠 12 日の Wistar ラット			
	放射能濃度（mU eq./g）			
組織/採取時間	5 分	30 分	4 時間	24 時間
血漿	1437 ± 168 [1376 ± 189]	680.0 ± 81.9 [550.4 ± 83.7]	82.72 ± 11.89 [37.02 ± 7.68]	7.852 ± 3.835 [5.474 ± 1.388]
大脳	23.64 ± 2.32 [24.33 ± 2.34]	14.03 ± 1.46 [8.350 ± 0.940]	5.041 ± 1.296 [1.837 ± 0.367]	0.422 ± 0.366 [NC]
心臓	162.5 ± 63.0 [158.5 ± 61.1]	77.03 ± 3.18 [47.55 ± 2.72]	30.53 ± 8.12 [9.907 ± 3.496]	1.767 ± 1.562 [1.138 ± 0.638]
肺	187.9 ± 35.1 [172.5 ± 34.8]	193.4 ± 31.1 [121.7 ± 29.0]	54.95 ± 8.01 [22.02 ± 2.84]	10.00 ± 5.18 [8.301 ± 6.598]
肝臓	811.5 ± 122.5 [858 ± 71.1]	386.2 ± 48.7 [257.3 ± 23.2]	37.59 ± 9.27 [17.92 ± 4.20]	4.304 ± 1.597 [3.514 ± 0.897]
腎臓	125.2 ± 41.6 [120.2 ± 42.6]	146.6 ± 17.0 [83.65 ± 17.17]	60.60 ± 11.68 [23.75 ± 3.82]	3.470 ± 1.614 [2.316 ± 0.487]

数値は平均値 ± 標準偏差又は平均値、NC：検出限界未満（バックグランド値の 2 倍未満）のため算出せず

（続く）

2.6.5.7.1 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験－ラット胎盤通過性（妊娠 12 日）（続き）

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted]004/[redacted]4176
資料番号：4.2.2.3-4

動物種	妊娠 12 日の Wistar ラット			
	放射能濃度（mU eq./g）			
組織/採取時間	5 分	30 分	4 時間	24 時間
副腎	618.0 ± 68.5 [589.6 ± 67.2]	149.8 ± 3.6 [93.25 ± 27.73]	41.84 ± 9.77 [10.55 ± 3.48]	2.451 ± 1.433 [1.554 ± 0.775]
乳腺	11.90 ± 2.50 [8.668 ± 2.718]	48.56 ± 6.55 [20.26 ± 4.20]	52.77 ± 29.21 [32.41 ± 23.57]	3.934 ± 4.341 [2.540 ± 2.726]
卵巣	279.3 ± 24.8 [231.4 ± 19.5]	189.6 ± 18.7 [101.7 ± 32.2]	67.08 ± 2.00 [15.46 ± 0.34]	3.169 ± 2.708 [1.789 ± 1.095]
胎盤	170.6 ± 11.6 [160.2 ± 18.4]	171.0 ± 24.1 [115.1 ± 17.2]	48.39 ± 11.30 [21.47 ± 5.06]	3.506 ± 1.922 [2.439 ± 1.083]
子宮	85.52 ± 21.27 [82.58 ± 19.77]	104.1 ± 5.8 [57.59 ± 2.550]	53.39 ± 10.08 [21.19 ± 3.46]	3.149 ± 1.903 [1.992 ± 1.025]
卵黄嚢液	6.460 ± 2.669 [2.572 ± 2.435]	25.23 ± 3.88 [4.981 ± 1.778]	6.767 ± 0.783 [0.768 [b]]	4.135 ± 5.773 [NC]
胎児 [a]	29.60 ± 1.43 [23.43 ± 2.62]	49.20 ± 6.64 [21.61 ± 3.35]	10.74 ± 1.45 [3.582 ± 1.187]	0.696 ± 0.344 [NC]

数値は平均値 ± 標準偏差又は平均値、NC：検出限界未満（バックグランド値の 2 倍未満）のため算出せず
a：母動物毎に胎児をプールして測定、b：n=2

2.6.5.7.2 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験ーラット胎盤通過性（妊娠 18 日）

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted]004/[redacted]4176
資料番号：4.2.2.3-4

動物種	妊娠 18 日の Wistar ラット			
性別（雄/雌）/動物数	雌/3 匹/時点			
摂餌条件	非絶食			
溶媒/投与形態	リン酸緩衝生理食塩液			
投与方法	静脈内			
投与量	100 U/kg			
放射線核種	^{125}I			
比放射能	29.6、48.1 kBq/U			
定量物質	総放射能 [TCA 沈澱性放射能]			
定量法	γ カウンター			
	放射能濃度（mU eq./g）			
組織/採取時間	5 分	30 分	4 時間	24 時間
血漿	1563 ± 176 [1561 ± 175]	840.2 ± 51.8 [705.8 ± 50.8]	162.8 ± 22.60 [57.33 ± 6.46]	15.57 ± 3.27 [10.93 ± 1.74]
大脳	24.91 ± 9.19 [23.06 ± 8.57]	23.68 ± 0.13 [16.29 ± 0.87]	8.537 ± 0.928 [3.848 ± 0.428]	0.754 ± 0.206 [0.549 ± 0.113]
心臓	196.5 ± 55.4 [189.7 ± 55.8]	153.9 ± 25.7 [118.5 ± 27.4]	51.12 ± 7.87 [22.54 ± 3.04]	3.453 ± 0.672 [2.577 ± 0.516]

数値は平均値 ± 標準偏差又は平均値、TCA：トリクロロ酢酸

（続く）

2.6.5.7.2　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験ーラット胎盤通過性（妊娠 18 日）（続き）

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted]004/[redacted]4176
資料番号：4.2.2.3-4

動物種	妊娠 18 日の Wistar ラット			
	放射能濃度（mU eq./g）			
組織/採取時間	5 分	30 分	4 時間	24 時間
肺	227.4 ± 12.0 [203.6 ± 11.7]	194.3 ± 19.1 [144.2 ± 23.0]	113.0 ± 22.6 [75.87 ± 10.32]	12.43 ± 3.66 [9.018 ± 3.088]
肝臓	606.8 ± 129.2 [617.2 ± 54.7]	360.0 ± 15.8 [250.1 ± 24.4]	47.91 ± 8.65 [25.22 ± 4.67]	7.014 ± 0.054 [5.411 ± 0.233]
腎臓	114.8 ± 35.9 [104.9 ± 38.3]	193.3 ± 7.6 [111.3 ± 5.6]	94.55 ± 10.13 [39.94 ± 7.04]	7.177 ± 1.755 [4.602 ± 0.861]
副腎	285.4 ± 4.7 [244.9 ± 3.6]	204.8 ± 8.9 [128.9 ± 7.2]	39.07 ± 6.44 [11.01 ± 2.11]	3.453 ± 1.062 [2.610 ± 0.849]
乳腺	15.01 ± 2.44 [14.22 ± 1.14]	31.73 ± 2.36 [22.58 ± 1.99]	102.0 ± 17.5 [86.15 ± 20.63]	20.33 ± 12.28 [14.38 ± 8.26]
卵巣	184.4 ± 25.0 [154.2 ± 21.6]	212.8 ± 1.5 [141.0 ± 3.1]	64.42 ± 10.02 [21.15 ± 6.83]	3.821 ± 1.204 [2.526 ± 0.770]
胎盤	225.4 ± 29.2 [216.2 ± 26.2]	176.4 ± 6.5 [133.1 ± 6.9]	95.00 ± 18.93 [47.52 ± 11.84]	10.72 ± 3.08 [8.060 ± 1.825]
子宮	105.9 ± 26.5 [102.1 ± 23.6]	115.6 ± 17.7 [72.19 ± 10.67]	83.04 ± 12.60 [37.07 ± 5.64]	6.745 ± 2.647 [4.430 ± 1.819]
羊水	0.309 ± 0.229 [NC]	5.733 ± 0.533 [1.219 ± 0.174]	15.56 ± 3.72 [2.867 ± 0.262]	8.548 ± 5.602 [1.521 ± 0.738]

数値は平均値 ± 標準偏差又は平均値、NC：検出限界未満（バックグランド値の 2 倍未満）のため算出せず

（続く）

2.6.5.7.2　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験－ラット胎盤通過性（妊娠 18 日）（続き）

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted]004/[redacted]4176
資料番号：4.2.2.3-4

動物種	妊娠 18 日の Wistar ラット			
	放射能濃度（mU eq./g）			
組織/採取時間	5 分	30 分	4 時間	24 時間
胎児：血液 [a]	3.825 ± 2.657 [NI]	21.11 ± 0.452 [NI]	29.86 ± 6.231 [NI]	3.665 ± 1.554 [NI]
胎児：脳 [a]	0.743 ± 0.064 [NC]	11.22 ± 1.34 [4.044 ± 0.218]	11.41 ± 3.06 [4.503 ± 0.946]	1.205 ± 0.386 [0.880 [b]]
胎児：心臓 [a]	0.607 [a] [NC]	13.29 ± 1.54 [3.172 ± 0.439]	14.62 ± 4.92 [3.378 ± 2.475]	1.926 ± 0.609 [1.020 ± 0.354]
胎児：肺 [a]	0.341 ± 0.308 [NC]	18.35 ± 1.68 [6.025 ± 0.104]	29.31 ± 5.82 [16.60 ± 5.21]	13.19 ± 18.18 [11.87 ± 18.17]
胎児：肝臓 [a]	0.728 ± 0.263 [NC]	17.66 ± 1.17 [8.167 ± 0.149]	21.62 ± 4.32 [9.856 ± 2.152]	2.965 ± 1.339 [1.845 ± 0.683]
胎児：腎臓 [a]	ND [NC]	16.54 ± 1.07 [4.835 ± 1.690]	21.10 ± 8.48 [3.730 ± 1.648]	2.181 ± 0.847 [1.782 ± 0.897]
胎児：残死体 [a]	0.405 ± 0.361 [0.635 [b]]	18.64 ± 1.25 [8.766 ± 0.612]	32.40 ± 9.55 [16.54 ± 3.59]	6.618 ± 2.651 [5.038 ± 1.849]

数値は平均値 ± 標準偏差又は平均値

NC：検出限界未満（バックグランド値の 2 倍未満）のため算出せず、ND：検出限界未満（バックグランド値の 2 倍未満）、NI：実施せず

a：母動物毎に胎児組織をプールして測定、b：n=2

2.6.5.7.3 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験ーラット乳汁中移行

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted]004/[redacted]4176
資料番号：4.2.2.3-4、4.2.2.5-4

動物種	授乳中の Wistar ラット	
性別（雄/雌）/動物数	雌/3 匹	
摂餌条件	非絶食	
溶媒/投与形態	リン酸緩衝生理食塩液	
投与方法	静脈内	
投与量	100 U/kg	
放射線核種	^{125}I	
比放射能	18.5 kBq/U	
測定試料	乳汁、血漿	
定量物質	総放射能 [TCA 沈澱性放射能]	
定量法	γ カウンター	
採取時間（時間）/測定試料	放射能濃度（mU/g）	
	乳汁	血漿
0.5	162.3 ± 27.2 [109.2 ± 22.0]	447.2 ± 78.1 [390.4 ± 62.4]
1	538.0 ± 47.4 [359.4 ± 83.4]	271.1 ± 55.0 [232.6 ± 59.3]
3	1058 ± 74.4 [789.7 ± 81.1]	56.6 ± 4.1[34.6 ± 4.7]
6	502.6 ± 149.7 [386.6 ± 106.3]	18.6 ± 9.0[11.5 ± 4.7]
24	53.0 ± 18.0[44.0 ± 16.3]	9.9 ± 9.3 [7.1 ± 6.1]

数値は平均値 ± 標準偏差、TCA：トリクロロ酢酸

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

2.6.5.8.1 薬物動態試験：その他の分布試験－イヌ椎間板中残存

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted]6/[redacted]2280
資料番号：4.2.2.2-1

動物種	ビーグル犬					
性別（雄/雌）/動物数	雄/3 匹/時点					
摂餌条件	非絶食					
溶媒/投与形態	リン酸緩衝生理食塩液					
投与方法	椎間板内（L5/L6）					
投与量	50 U/disc					
放射線核種	^{125}I					
比放射能	76.8 kBq/U					
測定試料	投与した椎間板髄核及び線維輪					
定量物質	総放射能		TCA 沈澱性放射能		コンドリアーゼ	
定量法	γ カウンター		γ カウンター		低感度酵素活性	
採取時間（日）	残存率（%）					
	髄核	線維輪	髄核	線維輪	髄核	線維輪
3	29.8 ± 23.9	23.6 ± 16.2	29.5 ± 23.7	23.5 ± 16.2	46.5 ± 37.8	40.0 ± 28.9
14	11.4 ± 4.9	13.6 ± 3.8	10.6 ± 4.6	13.1 ± 3.7	12.9 ± 3.6	17.8 ± 5.4

数値は平均値 ± 標準偏差、TCA：トリクロロ酢酸

（続く）

2.6.5.8.1　　薬物動態試験：その他の分布試験－イヌ椎間板中残存（続き）

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted] 15/[redacted]0664
資料番号：4.2.2.3-3

動物種	ビーグル犬			
性別（雄/雌）/動物数	雄/2 匹/時点			
摂餌条件	非絶食			
溶媒/投与形態	リン酸緩衝生理食塩液			
投与方法	椎間板内（L5/L6）			
投与量	2 U/disc			
放射線核種	NA			
比放射能	NA			
測定試料	投与した椎間板髄核及び線維輪			
定量物質	コンドリアーゼ		コンドリアーゼ	
定量法	低感度酵素活性		ELISA	
採取時間（日）	残存率（%）			
	髄核	線維輪	髄核	線維輪
3	30.9、87.7	NC、NC	10.5、25.5	NC、3.3
7	NC、NC	NC、NC	3.1、2.3	1.7、6.9
14	NC、NC	NC、55.1	NC、1.5	NC、26.0
30	NC、NC	NC、NC	NC、NC	7.9、NC
90	NC、NC	NC、NC	NC、NC	NC、NC

数値は個別値を示す

ELISA：酵素標識免疫測定法、NA：該当せず、NC：定量下限未満のため算出せず

2.6.5.8.2　薬物動態試験：その他の分布試験－サル椎間板中残存

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted]13/[redacted]1485
資料番号：4.2.2.2-6

動物種	サル			
性別（雄/雌）/動物数	雄/2 匹/時点			
摂餌条件	非絶食			
溶媒/投与形態	リン酸緩衝生理食塩液			
投与方法	椎間板内（L5/L6）			
投与量	2 U/disc			
測定試料	投与した椎間板髄核及び線維輪			
定量物質	コンドリアーゼ		コンドリアーゼ	
定量法	低感度酵素活性		ELISA	
採取時間（日）	残存率（%）			
	髄核	線維輪	髄核	線維輪
3	NC、NC	NC、NC	14.3、1.0	14.1、0.2
7	NC、21.7	NC、NC	NC、22.9	NC、10.6
14	NC、NC	NC、NC	9.7、11.9	NC、1.9
30	NC、NC	NC、NC	2.3、0.2	2.0、NC
90	NC、NC	NC、NS	NC、NC	NC、NS

数値は個別値を示す

ELISA：酵素標識免疫測定法、NC：定量下限未満のため算出せず、NS：試料なし

2.6.5.9　　薬物動態試験：In vivo 試験における代謝

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted]6/[redacted]2280
資料番号：4.2.2.4-1

動物種/性別	投与方法	投与量	試料	定性法	特記すべき所見
雄性ビーグル犬	椎間板内（L5/L6）	^{125}I-コンドリアーゼ 50 U/disc	椎間板組織	SDS-PAGE 放射能検出	投与後 3 日の椎間板組織から抽出した試料では、主要な放射能バンドは未変化の ^{125}I-コンドリアーゼと同じ位置に検出された。投与後 14 日には、主要な放射能バンドは未変化の ^{125}I-コンドリアーゼと同じ位置に検出されたが、他には溶媒先端付近に遊離した ^{125}I と考えられるバンドが認められた。
雄性ビーグル犬	静脈内	^{125}I-コンドリアーゼ 100 又は 1000 U/匹	血漿	SDS-PAGE 放射能検出	投与後 5、30 分及び 2 時間の血漿試料において、いずれも主要な放射能バンドは泳動せず、^{125}I-コンドリアーゼの泳動位置より高分子側に検出された。

SDS-PAGE：ドデシル硫酸ナトリウムーポリアクリルアミドゲル電気泳動法

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro 試験における代謝

該当する試験なし。

2.6.5.11　　薬物動態試験：推定代謝経路

該当する試験なし。

2.6.5.12　　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導/阻害

該当する試験なし。

2.6.5.13　薬物動態試験：累積排泄

被験物質：コンドリアーゼ

動物種	ビーグル犬			ビーグル犬			Wistar ラット		
性別（雄/雌）/動物数	雄/6 匹			雄/3 匹			雄/3 匹		
摂餌条件	非絶食			非絶食			非絶食		
溶媒/投与形態	リン酸緩衝生理食塩液			リン酸緩衝生理食塩液			リン酸緩衝生理食塩液		
投与方法	椎間板内（L5/L6）			静脈内			静脈内		
投与量	50 U/disc			100 U/匹			100 U/kg		
放射線核種	^{125}I			^{125}I			^{125}I		
比放射能	76.8 kBq/U			48.0 kBq/U			11.8 kBq/U		
測定試料	尿、糞、ケージ洗浄液			尿、糞、ケージ洗浄液			尿、糞、ケージ洗浄液、屍体		
定量物質	総放射能 [TCA 沈澱性放射能 [a]]			総放射能 [TCA 沈澱性放射能 [a]]			総放射能 [TCA 沈澱性放射能 [a]]		
定量法	γ カウンター			γ カウンター			γ カウンター		
放射能排泄率（% of dose）[総放射能に対する TCA 沈澱性放射能の割合（%）]	採取時間（時間）	尿	糞	採取時間（時間）	尿	糞	採取時間（時間）	尿	糞
	0-12	1.22 ± 0.80 [9]	0.16 ± 0.14	0-12	20.90 ± 8.67 [8]	3.68 ± 0.15	0-12	29.14 ± 8.48 [5.54]	0.70 ± 0.11
	12-24	1.99 ± 1.03 [8]		12-24	22.30 ± 3.92 [7]		12-24	20.58 ± 3.85 [5.86]	

数値は平均値 ± 標準偏差又は平均値、TCA：トリクロロ酢酸

a：尿のみ測定

（続く）

2.6.5.13　　薬物動態試験：累積排泄（続き）

被験物質：コンドリアーゼ

動物種	ビーグル犬			ビーグル犬			Wistar ラット		
	採取時間（時間）	尿	糞	**採取時間（時間）**	尿	糞	**採取時間（時間）**	尿	糞
放射能排泄率（% of dose）[総放射能に対する TCA 沈澱性放射能の割合（%）]	24-48	3.17 ± 1.14 [9]	0.34 ± 0.12	24-48	21.85 ± 1.09 [6]	2.66 ± 1.20	24-48	7.47 ± 1.21 [5.97]	0.85 ± 0.19
	48-72	3.01 ± 1.13 [9]	0.24 ± 0.11	48-72	6.01 ± 1.16 [7]	1.05 ± 0.27	48-72	3.60 ± 0.40 [6.46]	0.94 ± 0.15
	72-96	3.80 ± 1.37 [9]	0.36 ± 0.16	72-96	2.23 ± 0.97 [6]	0.56 ± 0.22	72-96	2.68 ± 0.36 [6.71]	0.94 ± 0.04
	96-120	2.85 ± 1.37 [9]	0.28 ± 0.15	96-120	1.30 ± 0.69 [7]	0.22 ± 0.13	96-120	2.11 ± 0.14 [7.08]	0.81 ± 0.14
	120-144	3.72 ± 1.47 [8]	0.43 ± 0.18	120-144	0.87 ± 0.39 [7]	0.25 ± 0.13	120-144	1.87 ± 0.30 [6.94]	0.78 ± 0.10
	144-168	2.99 ± 1.00 [9]	0.35 ± 0.08	144-168	0.39 ± 0.15 [7]	0.10 ± 0.03	144-168	1.33 ± 0.13 [7.22]	0.54 ± 0.06
	168-192	2.73 ± 0.76 [9]	0.30 ± 0.21	計	75.86 ± 2.55	8.5 ± 1.76	計	68.78 ± 12.38	5.55 ± 0.33

数値は平均値 ± 標準偏差又は平均値、TCA：トリクロロ酢酸

（続く）

2.6.5.13　薬物動態試験：累積排泄（続き）

被験物質：コンドリアーゼ

動物種	ビーグル犬			ビーグル犬			Wistar ラット		
	採取時間（時間）	尿	糞	採取時間（時間）	尿	糞	採取時間（時間）	尿	糞
放射能排泄率（% of dose）[総放射能に対する TCA 沈澱性放射能の割合（%）]	192-216	2.33 ± 0.63 [9]	0.21 ± 0.08						
	216-240	2.58 ± 0.60 [9]	0.34 ± 0.11						
	240-264	2.41 ± 0.44 [9]	0.35 ± 0.12						
	264-288	2.10 ± 0.30 [9]	0.22 ± 0.04						
	288-312	2.02 ± 0.51 [9]	0.26 ± 0.11						
	312-336	1.52 ± 0.31 [9]	0.18 ± 0.04						
	計	38.42 ± 9.94	4.02 ± 1.33						
	ケージ洗浄液計：2.10 ± 0.95 総回収率：44.53 ± 11.66			ケージ洗浄液計：3.17 ± 0.81 総回収率：87.53 ± 1.32			ケージ洗浄液（168 時間）：0.74 ± 0.14 排泄合計（ケージ洗浄液含む）：75.06 ± 12.18 屍体（168 時間）：20.81 ± 2.06 総回収率：95.88 ± 10.21		
試験番号（資料番号）	[redacted] 6/[redacted]2280（4.2.2.5-1）						[redacted] 5/[redacted]2099（4.2.2.5-2）		

数値は平均値 ± 標準偏差又は平均値、TCA：トリクロロ酢酸

2.6.5.14　薬物動態試験：胆汁中排泄

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted]8/[redacted]0916
資料番号：4.2.2.5-3

動物種	胆管カニューレを施した Wistar ラット
性別（雄/雌）/動物数	雄/3 匹
摂餌条件	非絶食
溶媒/投与形態	リン酸緩衝生理食塩液
投与方法	皮下
投与量	100 U/kg
放射線核種	^{125}I
比放射能	39.2 kBq/mL
測定試料	胆汁、尿、糞、ケージ洗浄液、消化管組織、屍体
定量物質	総放射能 [TCA 沈澱性放射能]
定量法	γ カウンター

TCA：トリクロロ酢酸

（続く）

2.6.5.14　　薬物動態試験：胆汁中排泄（続き）

被験物質：コンドリアーゼ
試験番号：[redacted] 8/[redacted]0916
資料番号：4.2.2.5-3

動物種	胆管カニューレを施した Wistar ラット	
採取時間（時間）/排泄経路	放射能排泄率（% of dose）[総放射能に対する TCA 沈澱性放射能の割合（%）]	
	胆汁	尿
0-1	0.16 ± 0.04 [20.5]	15.81 ± 6.48
1-2	0.60 ± 0.06 [19.3]	
2-3	0.59 ± 0.10 [19.7]	
3-4	0.50 ± 0.03 [18.1]	
4-5	0.37 ± 0.04 [17.5]	
5-6	0.31 ± 0.09 [17.1]	
6-24	1.93 ± 0.50 [33.0]	46.29 ± 3.85
24-48	0.67 ± 0.11 [82.3]	4.62 ± 2.55
計	5.13 ± 0.77	66.73 ± 6.69
糞（0-48 時間）：3.87 ± 1.92、ケージ洗浄液（48 時間）：1.89 ± 0.99 排泄合計（ケージ洗浄液含む）：77.62 ± 3.72 消化管組織計（48 時間）：0.16 ± 0.03、屍体（48 時間）：12.17 ± 3.34、総回収率：89.95 ± 0.76		

数値は平均値 ± 標準偏差又は平均値、TCA：トリクロロ酢酸

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

該当する試験なし。

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

該当する試験なし。