目次

略号一覧 4
2.6.4 薬物動態試験の概要文 5
2.6.4.1 まとめ 5
2.6.4.2 分析法 11
2.6.4.2.1 バリデート済みの分析法 11
2.6.4.2.2 バリデートされていない分析法 13
2.6.4.3 吸収 14
2.6.4.4 分布 14
2.6.4.5 代謝（動物種間の比較） 14
2.6.4.6 排泄 15
2.6.4.6.1 MLN0002（製造法 B 製剤）の乳汁中への排泄 15
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 15
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 16
2.6.4.8.1 単回投与 PK 試験、PD 試験及び免疫原性試験 16
2.6.4.8.2 反復投与による PK 試験、PD 試験及び免疫原性試験 31
2.6.4.8.3 免疫原性試験の要約 68
2.6.4.9 考察及び結論 70
2.6.4.10 参考文献 71

表

表 2.6.4.1-1　薬物動態試験で使用した被験物質 7
表 2.6.4.1-2　MLN0002 単回投与後の PK パラメータ平均値 8
表 2.6.4.1-3　MLN0002 反復投与後の PK パラメータ平均値（定常状態） 9
表 2.6.4.2-1　MLN0002 測定のためのバリデート済み ELISA の LLOQ 及び ULOQ 12
表 2.6.4.2-2　MLN0002 測定のためのバリデート済み ELISA の安定性データ 12
表 2.6.4.6-1　平均 MLN0002 濃度 15
表 2.6.4.8-1　単回投与試験 17
表 2.6.4.8-2　妊娠ウサギに MLN0002 単回投与後の TK パラメータ平均値(GLP 非適用) 18
表 2.6.4.8-3　妊娠ウサギに MLN0002 単回投与後の TK パラメータ平均値 20
表 2.6.4.8-4　雌カニクイザルに MLN0002 単回投与後の PK パラメータ平均値 23
表 2.6.4.8-5　雌カニクイザルに MLN0002 単回投与後の PK パラメータ平均値 24
表 2.6.4.8-6　カニクイザルに MLN0002（製造法 B 及び C 製剤）単回投与後の TK パラメータ平均値（雌雄統合） 28
表 2.6.4.8-7　反復投与試験 32

表 2.6.4.8-8　ウサギに MLN0002 隔週 12 週間反復投与（84 日目）後の TK パラメータ平均値（雌雄統合）..... 34
表 2.6.4.8-9　雄カニクイザルに MLN0002（製造法 A 及び B 製剤）2 週間反復投与後の PK パラメータ平均値..... 38
表 2.6.4.8-10　カニクイザルに MLN0002（製造法 A 製剤）週 2 回 13 週間反復投与後の TK パラメータ平均値（雌雄統合）..... 43
表 2.6.4.8-11　カニクイザルに MLN0002 隔週 13 週間反復投与後の TK パラメータ平均値..... 45
表 2.6.4.8-12　カニクイザルに MLN0002 隔週 26 週間反復投与後の PK パラメータ平均値（雌雄統合）..... 52
表 2.6.4.8-13　妊娠カニクイザルに妊娠 20～140 日目にわたる MLN0002 隔週投与後の TK パラメータ平均値..... 61
表 2.6.4.8-14　カニクイザルに 1、8、15 日目に MLN0002 及び natalizumab 投与後の TK パラメータ平均値（雌雄統合）..... 65
表 2.6.4.8-15　試験別の RAHA 又は PAHA 発現率..... 69
表 2.6.4.9-1　ウサギ、サル、及びヒトへの MLN0002 静脈内投与後の全身曝露量の比較..... 71

図

図 2.6.4.8-1　妊娠ウサギに MLN0002 単回投与後の平均血清中濃度-時間曲線（GLP 非適用）..... 18
図 2.6.4.8-2　妊娠ウサギに MLN0002 単回投与後の PD パラメータ平均値(GLP 非適用)..... 19
図 2.6.4.8-3　妊娠ウサギに MLN0002 単回投与後の平均血清中濃度-時間曲線(GLP 適用)..... 21
図 2.6.4.8-4　妊娠ウサギに MLN0002 単回投与後の PD パラメータ平均値（GLP 適用）..... 22
図 2.6.4.8-5　雌カニクイザルに MLN0002 単回投与後の平均濃度-時間曲線..... 25
図 2.6.4.8-6　雌カニクイザルに MLN0002 単回投与後の PD パラメータ平均値..... 26
図 2.6.4.8-7　カニクイザルに MLN0002（製造法 B 及び C 製剤）単回投与後の平均濃度-時間曲線（雌雄統合）..... 29
図 2.6.4.8-8　カニクイザルに MLN0002（製造法 B 及び C 製剤）単回投与後の PD パラメータ平均値（雌雄統合）..... 30
図 2.6.4.8-9　ウサギに MLN0002 隔週 12 週間反復投与後の平均濃度-時間曲線（雌雄統合）..... 34
図 2.6.4.8-10　ウサギに MLN0002 隔週 12 週間反復投与後の PD パラメータ平均値（雌雄統合）..... 36
図 2.6.4.8-11　カニクイザルに MLN0002 1 日 1 回 2 週間反復投与後の個々の濃度-時間曲線..... 37
図 2.6.4.8-12　雄カニクイザルに MLN0002（製造法 A 及び B 製剤）2 週間反復投与後の平均血清中濃度-時間曲線..... 39

図 2.6.4.8-13　雄カニクイザルに MLN0002（製造法 A 及び B 製剤）2 週間反復投与後の平均トラフ濃度 39
図 2.6.4.8-14　雄カニクイザルに MLN0002（製造法 A 及び B 製剤）2 週間反復投与後の PD パラメータ平均値（結合 MLN0002） 41
図 2.6.4.8-15　雄カニクイザルに MLN0002（製造法 A 及び B 製剤）2 週間反復投与後の PD パラメータ平均値（未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニット） 42
図 2.6.4.8-16　カニクイザルに MLN0002 隔週 13 週間投与後の平均血清中濃度-時間曲線（雌雄統合） 46
図 2.6.4.8-17　カニクイザルに MLN0002 隔週 13 週間投与後の PD パラメータ平均値（$CD4^+/CD45RA^+$）（雌雄統合） 48
図 2.6.4.8-18　カニクイザルに MLN0002 隔週 13 週間投与後の PD パラメータ平均値（$CD4^+/CD45RA^-$）（雌雄統合） 49
図 2.6.4.8-19　カニクイザルに MLN0002 隔週 13 週間投与後の PD パラメータ平均値（$CD20^+$）（雌雄統合） 50
図 2.6.4.8-20　カニクイザルに MLN0002 隔週 26 週間投与後の平均血清中濃度-時間曲線（雌雄統合） 53
図 2.6.4.8-21　カニクイザルに MLN0002 隔週 26 週間投与後の PD パラメータ平均値（$CD4^+/CD45RA^+$）（雌雄統合） 55
図 2.6.4.8-22　カニクイザルに MLN0002 隔週 26 週間投与後の PD パラメータ平均値（$CD4^+/CD45RA^-$）（雌雄統合） 56
図 2.6.4.8-23　カニクイザルに MLN0002 隔週 26 週間投与後の PD パラメータ平均値（$CD20^+$）（雌雄統合） 58
図 2.6.4.8-24　妊娠カニクイザルに妊娠 20～140 日目にわたる MLN0002 隔週投与後の平均濃度-時間曲線 62
図 2.6.4.8-25　妊娠カニクイザルに妊娠 20～140 日目にわたる MLN0002 隔週投与後の PD パラメータ平均値 63
図 2.6.4.8-26　カニクイザルに 1、8、15 日目に MLN0002 及び natalizumab 投与後の平均濃度-時間曲線（雌雄統合） 66
図 2.6.4.8-27　カニクイザルに 1、8、15 日目に MLN0002 及び natalizumab 投与後の PD パラメータ平均値（雌雄統合） 67

略号一覧

略号	略していない表現	説明
Ab	antibody	抗体
APC	allophycocyanin	アロフィコシアニン
AUC	area under the concentration-versus-time curve	血中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}168hr}$	area under the concentration-versus-time curve from 0 to 168 hours	0 時間から 168 時間の血中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}333hr}$	area under the concentration-versus-time curve from 0 to 333 hours	0 時間から 333 時間の血中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}336hr}$	area under the concentration-versus-time curve from 0 to 336 hours	0 時間から 336 時間の血中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}\infty}$	area under the concentration-versus-time curve from 0 to infinity	0 時間から無限時間までの血中濃度-時間曲線下面積
BQL	Below the quantitation limit	定量限界未満
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスターの卵巣細胞
CL	clearance	クリアランス
C_{max}	maximum concentration	最高血中濃度
DAH	donkey antihuman	ロバ抗ヒト
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定（法）
GI	gastrointestinal	胃腸管
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
ICH	International Conference on Harmonisation	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
Ig	immunoglobulin	免疫グロブリン
IV	intravenous(ly)	静脈内
KLH	keyhole limpet hemocyanin	キーホールリンペットヘモシアニン
LLOQ	lower limit of quantitation	定量下限
mAb	monoclonal antibody	モノクローナル抗体
NOAEL	no observed adverse effect	無毒性量
PAHA	primate antihuman antibodies	霊長類（サル）抗ヒト抗体
PD	pharmacodynamics	薬力学
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
RAHA	rabbit antihuman antibodies	ウサギ抗ヒト抗体
SC	subcutaneous(ly)	皮下
$t_{1/2}$	half-life	半減期
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
T_{max}	time to maximum concentration	最高血中濃度到達時間
TT	tetanus toxoid	破傷風トキソイド

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

MLN0002 の薬物動態（PK）／トキシコキネティクス（TK）及び薬力学（PD）プロファイルについて、MLN0002 に対して薬理学的に適切に反応し（2.6.6）、MLN0002 の毒性評価に使用された動物種である New Zealand white ウサギ及びカニクイザルを用いた複数の *in vivo* 試験において検討した。ワタボウシタマリン及びアカゲザルは、MLN0002 に対して薬理学的に適切に反応する動物種であることから、MLN0002 の *in vivo* での薬理プロファイル評価に使用された。これらの試験の曝露量及び PD データについては、2.6.2 に記載する。また、MLN0002 に関して実施した個々の PK 試験については概要表 2.6.5.1 に要約する。

非臨床試験及び臨床試験では、製造工程及び／又は原薬・製剤の剤形が異なる 3 つの製造法で製造した MLN0002 を使用した。これらをそれぞれ MLN0002（製造法 A 製剤）、MLN0002（製造法 B 製剤）及び MLN0002（製造法 C 製剤）と呼称する（表 2.6.4.1-1）。なお、すべての物質を開発コードである MLN0002 と総称する。

MLN0002（製造法 A 製剤）は NS0 細胞株を用いて産生され、MLN0002 の臨床効果は、同製剤を用いて実施した海外第 II 相試験で評価された。その後、製造効率を改善するため、チャイニーズハムスターの卵巣細胞（CHO）を用いた MLN0002（製造法 B 製剤）が開発された。MLN0002（製造法 B 製剤）では、軽鎖定常領域における 2 個のアミノ酸（アラニン 114、アスパラギン酸 115）が別の 2 個のアミノ酸（スレオニン 114、バリン 115）に置換されたが、抗体の結合領域に変更はないため、同製剤の生物学的機能は、MLN0002（製造法 A 製剤）と同等と考えられた。

異なる細胞株（NS0（製造法 A 製剤）対チャイニーズハムスターの卵巣細胞（CHO）（製造法 B 製剤））又は異なる製造工程（製造法 B 製剤対製造法 C 製剤）によって生成した MLN0002 を用いても、サルにおける PK データには類似性がみられた。なお、製造工程及び剤形の変更に関する情報は、2.3.S.2 及び 2.3.P.2 に記載した。

MLN0002 のサルにおける PK にはクリアランス（CL）が低値（0.180～0.266 mL/hr/kg）、定常状態における分布容積（V_{ss}）が低値（80.7～88.3 mL/kg）、及び半減期（$t_{1/2}$）が長い（336～362 時間）という mAb の典型的な特徴がみられた。MLN0002 の C_{max} 及び AUC はウサギ及びサルにおいて 10～100 mg/kg の用量範囲で、概ね線形性を示した（表 2.6.4.1-2 及び表 2.6.4.1-3）。

MLN0002 の免疫原性については、ウサギ抗ヒト抗体（RAHA）及びサル抗ヒト抗体（PAHA）の抗体価を測定し、当該抗ヒト抗体が動物において MLN0002 の曝露量に影響を及ぼすか否かを評価した。また、中和作用の有無は、TK 及び PD パラメータに対する影響により判断した。MLN0002 は、ヒト化 mAb であることから予想される通り、動物において免疫原性を示したが、その抗体価は高用量になるほど低値を示した。RAHA 及び PAHA の発現は、単回及び反復投与毒性試験間により様々であったが、低及び中用量（10 及び 30 mg/kg）を投与した一部の動物において、MLN0002 の血清中濃度の消失は速くなり PD パラメータに対して中和作用を示した。一方で、RAHA／PAHA による中和作用が認められない動物では、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する持続的な結合飽和が認められた。最高用量（100 mg/kg）では RAHA／PAHA は MLN0002 の PK 又は PD パラメータにほとんど影響を及ぼさなかった。また、無毒性量（NOAEL）でもある同用量において、ほとんどの動物で、投与期間及び休薬期間を通じて、

標的である$\alpha_4\beta_7$インテグリンの持続的な結合飽和が維持され、十分な曝露用量及び薬理作用発現用量であることが確認された。

妊娠期間中に100 mg/kgを投与したカニクイザルでは、分娩後28日間にわたり、乳汁中に低濃度のMLN0002が検出された。また、妊娠期間中にMLN0002を投与した母体から生まれた乳仔血清中にもMLN0002は低濃度で存在することが判明した。しかし、サルの乳仔血清中のMLN0002は、主に胎盤通過によるものであり、母乳の経口摂取によるものではないと考えられた。

サル試験におけるNOAELの100 mg/kgでの曝露量は、国内臨床試験において潰瘍性大腸炎患者を対象に、43日目に300 mgを静脈内点滴投与後のC_{max}及びAUCの平均値のそれぞれ約42倍及び31倍であった（概要表2.6.7.3；4.2.2.7-16 報告書番号[redacted] 5.3.5.3-3 MLN0002/NDA001）。このTK成績は、毒性試験が十分な曝露量で、かつ、PD作用が明確に認められた条件において実施されたことを示すものである。

表 2.6.4.1-1　薬物動態試験で使用した被験物質

試験の種類	被験物質	GLP	添付資料番号 報告書番号
単回投与による薬物動態試験及びトキシコキネティクス試験			
New Zealand white ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の結果を支持するための TK、PD 及び RAHA 試験	MLN0002（製造法 B 製剤）	非適用	4.2.2.7-1[redacted]
	MLN0002（製造法 B 製剤）	適用	4.2.2.7-2[redacted]
カニクイザルを用いた PK 試験	MLN0002（製造法 A 製剤）	非適用 [a]	4.2.2.7-3[redacted]、4.2.2.7-4[redacted]及び 4.2.2.7-5[redacted]
カニクイザルを用いた PK、PD 及び PAHA 試験	MLN0002（製造法 B 製剤）	非適用	4.2.2.7-6[redacted]
カニクイザルを用いた単回投与毒性試験の結果を支持するための TK、PD 及び PAHA 試験	MLN0002（製造法 B 及び C 製剤）	適用	4.2.2.7-7[redacted]
反復投与による薬物動態試験及びトキシコキネティクス試験			
New Zealand white ウサギを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験の結果を支持するための TK、PD 及び RAHA 試験	MLN0002（製造法 B 製剤）	適用	4.2.2.7-8[redacted]
カニクイザルを用いた 14 日間反復投与毒性試験を支持するための TK 及び PD 試験	MLN0002（製造法 A 製剤）	非適用 [a]	4.2.2.7-9[redacted]、4.2.2.7-10[redacted]及び 4.2.2.7-11[redacted]
カニクイザルを用いた PK、PD 及び PAHA 試験（2 週間試験）	MLN0002（製造法 A 及び B 製剤）	非適用	4.2.2.7-13[redacted]
カニクイザルを用いた 13 週間反復投与毒性試験の結果を支持するための TK、PD 及び PAHA 試験	MLN0002（製造法 A 製剤）	非適用 [a]	4.2.2.7-14[redacted]
	MLN0002（製造法 B 製剤）	適用	4.2.2.7-15[redacted]
カニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験の結果を支持するための TK、PD 及び PAHA 試験	MLN0002（製造法 B 製剤）	適用	4.2.2.7-16[redacted]
カニクイザルを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験の結果を支持するための TK、PD 及び PAHA 試験	MLN0002（製造法 B 製剤）	適用 [a]	4.2.2.7-17[redacted]
カニクイザルを用いた免疫毒性試験の結果を支持するための TK、PD 及び PAHA 試験	MLN0002（製造法 C 製剤）	適用 [a]	4.2.2.7-18[redacted]

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 ; PAHA = サル抗ヒト抗体 ; RAHA = ウサギ抗ヒト抗体 ; PD = 薬力学 ; PK = 薬物動態 ; TK = トキシコキネティクス。

a　4.2.2.7-3 報告書番号[redacted]、4.2.2.7-4 報告書番号[redacted]、4.2.2.7-5 報告書番号[redacted]、4.2.2.7-9 報告書番号[redacted]、4.2.2.7-10 報告書番号[redacted]、4.2.2.7-11 報告書番号[redacted]及び 4.2.2.7-14 報告書番号[redacted]の PK、TK、PD 及び PAHA 並びに並びに 4.2.2.7-17 報告書番号[redacted]及び 4.2.2.7-18 報告書番号[redacted]の PD は、GLP 非適用で実施した。

表 2.6.4.1-2　MLN0002 単回投与後の PK パラメータ平均値

投与量 (mg/kg)	製造法	n	RAHA 又は PAHA[f]	C_{max} (μg/mL)	AUC (hr*μg/mL)	$t_{1/2}$ (時間)	CL (mL/hr/kg)	V_{ss} (mL/kg)	GLP	添付資料番号 報告書番号
New Zealand white ウサギ										
10	B 製剤	3	2/2	187 (N/A)	20,400 (N/A)	ND	ND	ND	非適用	4.2.2.7-1 [redacted]
30		3	3/3	621 (190)	72,800 (11,000)	ND	ND	ND		
100		3	3/3	2590 (389)	279,000 (35,300)	ND	ND	ND		
10	B 製剤	3	2/3	244 (31.8)	28,300 (4480)	ND	ND	ND	適用	4.2.2.7-2 [redacted]
30		3	0/3	818 (24.3)	102,000 (8260)	ND	ND	ND		
100		3	0/3	3020 (159)	366,000 (26,800)	ND	ND	ND		
カニクイザル										
2.5	A 製剤	3	ND	50.32 (14.79)	5868 (1237)	102.6 (8.1)	0.438 (0.087)	67.9 (18.6)	非適用	4.2.2.7-3 [redacted] 4.2.2.7-4 [redacted] 及び 4.2.2.7-5 [redacted]
10	B 製剤	3	3/3	214 (29.9)	32,700 (8490)	336 (139)	0.266 (0.136)	80.7 (30.3)	非適用	4.2.2.7-6 [redacted]
100		3	3/3	2090 (377)	542,000 (60,500)	362 (132)	0.180 (0.0246)	88.3 (22.2)		
10	B 製剤	6	0/6	296 (33.2)	25,100 (1620)	ND	ND	ND	適用	4.2.2.7-7 [redacted]
10	C 製剤	6	0/6	342 (79.7)	25,100 (4430)	ND	ND	ND		
30	B 製剤	6	0/6	794 (43.4)	64,800 (3420)	ND	ND	ND		
30	C 製剤	6	0/6	828 (113)	66,500 (4520)	ND	ND	ND		

AUC =血中濃度-時間曲線下面積；CL = クリアランス；C_{max} = 最高血中濃度；$t_{1/2}$ = 半減期；V_{ss} = 定常状態での分布容積；N/A = 該当せず；ND = 未実施；PAHA = サル抗ヒト抗体；RAHA = ウサギ抗ヒト抗体。

注記：数値は平均値（標準偏差 [SD]）。n < 3 の場合、SD は記載せず。

a　GLP 非適用で実施した単回投与による胚・胎児発生に関する試験の結果を支持するための TK 試験。AUC = 0 時間から 312 時間の AUC（$AUC_{0\text{-}312hr}$）。RAHA（個々の抗体価は≥ 30 の場合に記録）は中和作用をもたらし、10 mg/kg 群の 1 匹（動物番号 46966）で特に顕著であった。10 mg/kg 群の 1 匹（動物番号 46973）は静脈内投与中に死亡した。

b　GLP 適用で実施した単回投与による胚・胎児発生に関する試験の結果を支持するための TK 試験。AUC = 0 時間から 337 時間の AUC（$AUC_{0\text{-}337hr}$）。タイムポイントの計時起点は静注開始時点。30 mg/kg で RAHA（抗体価> 3750 を陽性と判断）は中和作用をもたらした。

c　GLP 適用で実施した単回投与薬物動態試験。PK は GLP 非適用で実施。AUC = 0 時間から無限時間までの AUC（$AUC_{0\text{-}\infty}$）。タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。PAHA 試験は実施せず。

d　GLP 非適用で実施した単回投与による PK、PD 及び PAHA 試験。AUC = 0 時間から 2016 時間の AUC（$AUC_{0\text{-}2016hr}$）。タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。PAHA 抗体価が高い場合（抗体価 12,500）では、PAHA は中和作用を示した（個々の抗体価は ≥ 100 の場合に記録）。

e　GLP 適用で実施した単回投与毒性試験結果を支持するための TK 試験。AUC = 0 時間から 168 時間の AUC（$AUC_{0\text{-}168hr}$）。タイムポイントの計時起点は静注開始時点。個々の抗体価は≥ 100 の場合に記録された。

f　陽性例数/検査例数。

表 2.6.4.1-3　MLN0002 反復投与後の PK パラメータ平均値（定常状態）

投与量 (mg/kg)	製造法	n	RAHA 又は PAHA[i]	C_{max} (μg/mL)	AUC (hr*μg/mL)	$t_{1/2}$ (時間)	試験日	GLP	添付資料番号 報告書番号
New Zealand white ウサギ									
30	B 製剤	9	8/10	645 (608)	82,900 (122,000)	ND	84	適用	4.2.2.7-8 [redacted]
100		9	10/10	9890 (4970)	1,230,000 (644,000)	ND			
カニクイザル									
2.5	A 製剤	6	ND	330.8 (40.5)	NC	NC	14	非適用	4.2.2.7-9 [redacted] 4.2.2.7-10 [redacted] 及び 4.2.2.7-11 [redacted] 4.2.2.7-12 [redacted]
10	A 製剤	4	4/4	749 (65.3)	73,800 (6900)	ND	15	非適用	4.2.2.7-13 [redacted]
10	B 製剤	4	4/4	497 (238)	39,900 (26,100)	ND	15		
2.5	A 製剤	4	6/6	275 (82.2)	4960 (1460)	ND	85	適用	4.2.2.7-14 [redacted]
10		4	10/10	770 (132)	310,000 (98,600)	540 (251)			
10	B 製剤	12	12/12	150 (172)	28,400 (35,800)	ND	85	適用	4.2.2.7-15 [redacted]
30		12	12/12	902 (377)	110,000 (122,000)	ND			
100		12	11/12	5070 (875)	834,000 (142,000)	ND			
10	B 製剤	3	7/8	503 (60.4)	82,500 (17,200)	ND	169	適用	4.2.2.7-16 [redacted]
30		5	8/8	1400 (324)	232,000 (63,800)	ND			
100		12	12/12	5260 (1070)	876,000 (266,000)	ND			
10	B 製剤	4	9/12	364 (61.8)	62,200 (14,000)	ND	132	適用	4.2.2.7-17 [redacted]

表 2.6.4.1-3　MLN0002 反復投与後の PK パラメータ平均値（定常状態）（続き）

投与量 (mg/kg)	製造法	n	RAHA 又は PAHA	C_{max} (μg/mL)	AUC (hr*μg/mL)	$t_{1/2}$ (時間)	試験日	GLP	添付資料番号 報告書番号
100		12	9/12	4140 (1030)	692,000 (178,000)	ND			
30	C 製剤	8	6/10	1010 (82.8)	107,000 (15,100)	ND	15	適用	4.2.2.7-18[redacted]

AUC =血中濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高血中濃度；$t_{1/2}$ = 半減期；N/C = 未計算；ND = 未実施；PAHA = サル抗ヒト抗体；RAHA = ウサギ抗ヒト抗体。

a　GLP 適用で実施した 3 ヵ月間反復投与毒性試験結果を支持するための TK 試験。AUC = 0 時間から 337 時間の AUC（$AUC_{0\text{-}337hr}$）。タイムポイントの計時起点は持続静注開始時点。RAHA（抗体価≥ 300 が 2 連続の試料で観察された場合に陽性と判断）は中和作用をもたらし、30 mg/kg 群で最も顕著な影響が認められた。

b　GLP 適用で実施した 14 日間反復投与毒性試験結果を支持するための TK 試験。TK 試験は GLP 非適用で実施。定常状態に達しなかったため、AUC 及び $t_{1/2}$ の測定は実施せず。タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。PAHA 試験は実施せず。

c　GLP 非適用で実施した PK 及び PD 試験。AUC 値はすべての時点の AUC（AUC_{all}）。1 日目のタイムポイントは持続投与終了時を計時起点とした。1 日目の最終採取時点は 48 時間後、15 日目の最終採取時点は 168 時間後。MLN0002（製造法 B 製剤）を投与した 1 匹（抗体価 62,500）において、PAHA は中和作用をもたらした（個々の抗体価は≥ 100 の場合に記録）。

d　GLP 適用で実施した 13 週間反復投与毒性試験結果を支持するための TK 試験。TK 及び PAHA 試験は GLP 非適用で実施。AUC 値は、2.5 mg/kg 群では 0 時間から 24 時間の AUC（$AUC_{0\text{-}24hr}$）、10 mg/kg 群では 0 時間から 1680 時間の AUC（$AUC_{0\text{-}1680hr}$）。PAHA は 2.5 mg/kg 群の 6 匹中 2 匹、10 mg/kg 群の 10 匹中 5 匹で中和作用をもたらした。当該動物のデータは解析から除外した。

e　GLP 適用で実施した 13 週間反復投与毒性試験結果を支持するための TK 試験。AUC 値は 0 時間から 336 時間の AUC（$AUC_{0\text{-}336hr}$）（n=4）。タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。PAHA は中和作用をもたらし（抗体価≥ 300 が 2 連続の試料で観察された場合に陽性と判断）、10 mg/kg 群で最も顕著な影響が認められた。

f　GLP 適用で実施した 26 週間反復投与毒性試験結果を支持するための TK 試験。AUC 値は 0 時間から 333 時間の AUC（$AUC_{0\text{-}333hr}$）。タイムポイントの計時起点は静注終了時点。PAHA（個々の抗体価は≥ 100 の場合に記録）は、10 mg/kg 群の 8 匹中 4 匹、30 mg/kg 群の 8 匹中 3 匹で高抗体価を示し、中和作用をもたらした。そのため、当該動物のデータは解析から除外した。10 mg/kg 群の 1 匹はタイムポイントである 169 日目に至る前に死亡した。

g　GLP 適用で実施した出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験結果を支持するための TK 試験。Day 132 は妊娠 132 日目。AUC 値は 0 時間から 336 時間の AUC（ $AUC_{0\text{-}336hr}$）。タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。PAHA（抗体価 ≥ 500 が 2 連続の試料で観察された場合に陽性と判断）は、10 mg/kg 群の 12 匹中 5 匹で高抗体価を示し、中和作用をもたらした。そのため、当該動物のデータは解析から除外した。

h　GLP 適用で実施した免疫毒性試験結果を支持するための TK 試験。AUC 値は 0 時間から 168 時間の AUC（$AUC_{0\text{-}168hr}$）。タイムポイントの計時起点は持続静注開始時点。PAHA（抗体価≥ 500 が 2 連続の試料で観察された場合に陽性と判断）は 10 匹中 2 匹の動物で高抗体価を示し、中和作用をもたらした。そのため、当該動物のデータは解析から除外した。

i　陽性例数/検査例数。

2.6.4.2 分析法

分析法は、MLN0002 の非臨床試験全体の進行とともに更新された。医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に適用して実施した初期の MLN0002（製造法 A 製剤）を用いた試験では、GLP 非適用の分析法を用いて MLN0002 濃度（フローサイトメトリー）、PAHA レベル（酵素免疫測定法（ELISA）及び Biacore）、並びに未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニット及び結合 MLN0002 レベル（フローサイトメトリー）を測定した（4.2.2.1-1 報告書番号[redacted]、4.2.2.1-2 報告書番号[redacted]及び 4.2.2.1-3 報告書番号[redacted]、4.2.2.1-4 報告書番号[redacted]、4.2.2.1-5 報告書番号[redacted]及び 4.2.2.1-6 報告書番号[redacted]、並びに 4.2.2.1-7 報告書番号[redacted]）。

その後、GLP 非適用で実施した MLN0002（製造法 A 製剤及び製造法 B 製剤）を用いた試験では、高感度かつ選択性の高い ELISA により、New Zealand white ウサギ及びカニクイザルの血清試料中の MLN0002 濃度及び MLN0002 に対する抗ヒト抗体の抗体価を測定した。また、フローサイトメトリーを用いて、New Zealand white ウサギ及びカニクイザルの血清試料中の MLN0002 の PD 作用（未結合インテグリン及び結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリンのレベルとして示される）を評価した。また、アカゲザルの実験的自己免疫性脳炎（EAE）モデルを用いた試験についても同様の方法が用いられた。なお、同試験の成績については、2.6.2 及び 2.6.6 に記載する。一部の natalizumab が用いられた試験では、高感度かつ選択性の高い ELISA により、カニクイザル及びアカゲザルの血清試料中の natalizumab 濃度及び natalizumab に対する抗ヒト抗体の抗体価を測定した（4.2.2.1-8 報告書番号[redacted]及び 4.2.2.1-9 報告書番号[redacted]）。

MLN0002（製造法 B 製剤及び製造法 C 製剤）の試験では、バリデートされた ELISA を用いて、New Zealand white ウサギの血清、カニクイザルの血清、及びカニクイザルの乳汁中の MLN0002 濃度及び MLN0002 に対する抗ヒト抗体の抗体価を測定した。また、新たに開発されたフローサイトメトリーを用いて New Zealand white ウサギ及びカニクイザルの全血試料中の MLN0002 の PD 作用（未結合インテグリン及び結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリンのレベル）を評価した。

さらに、免疫毒性試験では、バリデートされたフローサイトメトリー法を用いて、カニクイザルの全血試料中の特定リンパ球サブタイプ集団の細胞数を測定した（4.2.2.1-10 報告書番号[redacted]）。

2.6.4.2.1 バリデート済みの分析法

2.6.4.2.1.1 MLN0002 濃度並びに MLN0002 に対する RAHA 及び PAHA のアッセイ：添付資料番号 4.2.2.1-11（評価）、-12（評価）、-13（評価）、-14（評価）、-15（評価）、-16（評価）、-17（評価）、-18（評価）、-19（評価）

バリデート済みのサンドイッチ ELISA を用いて、New Zealand white ウサギの血清中、カニクイザルの血清中、及びカニクイザルの乳汁中の MLN0002 濃度（製造法 B 製剤及び製造法 C 製剤）を測定した（4.2.2.1-11 報告書番号[redacted]、4.2.2.1-12 報告書番号[redacted]、4.2.2.1-13 報告書番号[redacted]、4.2.2.1-14 報告書番号[redacted]、4.2.2.1-15 報告書番号[redacted]、4.2.2.1-16 報告書番号[redacted]及び 4.2.2.1-17 報告書番号[redacted]）。本分析法は、マイクロタイタープレートに固相化した抗

MLN0002 イディオタイプ抗体と MLN0002 との結合に基づくものである。捕獲された MLN0002 は、ペルオキシダーゼ標識抗体及び発色基質溶液によって検出した。発色は 650 nm で測定した。血清中 MLN0002 濃度に比例する発色強度を、0.125～8 μg/mL までの範囲の検量線に基づき、4-パラメータロジスティックモデルによってプロットした。

表 2.6.4.2-1　MLN0002 測定のためのバリデート済み ELISA の LLOQ 及び ULOQ

動物種	マトリックス	LLOQ (μg/mL)	ULOQ (μg/mL)	添付資料番号 バリデーション報告書
New Zealand white ウサギ	血清	0.125	8	4.2.2.1-11[redacted]、4.2.2.1-12[redacted]
カニクイザル	血清	0.125	8	4.2.2.1-13[redacted] 4.2.2.1-14[redacted]、4.2.2.1-15[redacted]
	乳汁	0.125	8	4.2.2.1-16[redacted]、4.2.2.1-17[redacted]

ELISA = 酵素免疫測定法；LLOQ = 定量下限；ULOQ = 定量上限。

表 2.6.4.2-2　MLN0002 測定のためのバリデート済み ELISA の安定性データ

動物種	マトリックス	凍結／解凍 [a]	室温	凍結 [b]	バリデーション報告書
New Zealand white ウサギ	血清	5 サイクル	23 時間	357 日間	4.2.2.1-11[redacted]；4.2.2.1-12[redacted]
カニクイザル	血清	5 サイクル	24 時間	390 日間	4.2.2.1-13[redacted]；4.2.2.1-14[redacted]、4.2.2.1-15[redacted]
	乳汁	3 サイクル	3 及び 6 時間	437 日間	4.2.2.1-16[redacted]；4.2.2.1-17[redacted]

ELISA = 酵素免疫測定法。
a　初回サイクルでは、試料を-70°C で 24 時間以上、後続サイクルでは 12 時間以上凍結後、室温で解凍した。
b　-70°C。

バリデート済みの ELISA を用いて、ウサギ及びカニクイザルの血清中の MLN0002 に対する RAHA 及び PAHA を測定した（4.2.2.1-18 報告書番号[redacted]及び 4.2.2.1-19 報告書番号[redacted]）。本分析法は、プレートに固相化した MLN0002 と RAHA 又は PAHA の結合に基づき抗体価を測定するものである。結合抗体は、ペルオキシダーゼ標識抗ウサギ抗体又は抗サル抗体、及び発色基質溶液によって検出（発色）し、それを 650 nm で測定した結果が、抗体価として報告された。なお、抗体価とは、RAHA 又は PAHA が観察された最大希釈倍率のことである。濃度 100 μg/mL の MLN0002 と干渉させると、アッセイシグナルは 80%以上低下した。試料は、室温で 24 時間、及び 5 サイクルの凍結／解凍（初回サイクルでは-70°C で 24 時間以上、後続サイクルでは 12 時間以上凍結後、室温で解凍）において安定であった。

2.6.4.2.1.2 未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリン及び結合 MLN0002 のアッセイ
：添付資料番号 4.2.2.1-20（参考）、-21（参考）、-22（参考）、-23（参考）

MLN0002 の PD 試験を実施するため、バリデート済みのフローサイトメトリーを開発し、ウサギ全血中の $CD4^+$ リンパ球、並びにカニクイザル全血中の $CD4^+/CD45RA^-$ T 細胞、

$CD4^+$/$CD45RA^+$T 細胞及び $CD20^+$B 細胞（未結合アッセイのみ）における未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリン及び結合 MLN0002 のレベルを測定した。

未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリンのアッセイでは、飽和濃度 90%超の Alexa-647 標識 MLN0002 を全血試料に添加し、MLN0002 と結合していない $\alpha_4\beta_7$ インテグリンが結合飽和するのに十分な時間、ただし、結合 MLN0002 が実質的に解離しない程度の時間をかけて培養した（4.2.2.1-20 報告書番号[redacted]及び 4.2.2.1-21 報告書番号[redacted]）。その後、フローサイトメトリーを行って分析し、Alexa-647 標識 MLN0002 に対して染色陽性を示す細胞（すなわち、未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリン）の割合を測定した。ウサギ全血中の安定性に関するデータから、試料採取後の経過時間によりアッセイに若干の変性が発生する可能性があることが示されたため、試料は 1 日以内に処理すべきであることが判明した。カニクイザルの全血試料は、試料採取後 48 時間（*ex vivo* 培養後 24 時間）を通じて安定していた。

結合 MLN0002 のアッセイでは、全血試料を洗浄して非結合 MLN0002 を除去した（4.2.2.1-22 報告書番号[redacted]及び 4.2.2.1-23 報告書番号[redacted]）。アロフィコシアニン（APC）標識 F(ab')2 ロバ抗ヒト IgG ポリクローナル抗体（DAH-APC）を添加し、細胞表面のインテグリン受容体に結合した MLN0002 を標識した。その後、フローサイトメトリーを行って分析し、DAH-APC に対して染色陽性を示す細胞（すなわち、結合 MLN0002）の割合を測定した。安定性に関するデータに基づき、ウサギ及びカニクイザルの全血試料は、それぞれ採血から 72 時間以内及び 48 時間以内に処理すべきであることが判明した。

2.6.4.2.2 バリデートされていない分析法

2.6.4.2.2.1 MLN0002 濃度、MLN0002 に対する RAHA 及び PAHA、並びに未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリン及び結合 MLN0002 のアッセイ

：添付資料番号 4.2.2.1-24（参考）、-25（参考）、-26（参考）、-27（参考）、-28（参考）、-29（参考）、-30（参考）

高感度かつ選択性の高い ELISA を用いて、New Zealand white ウサギ及びカニクイザル、並びにアカゲザルの血清中の MLN0002 濃度を測定した（4.2.2.1-24 報告書番号[redacted]、4.2.2.1-25 報告書番号[redacted]、4.2.2.1-26[redacted]、4.2.2.1-27 報告書番号[redacted]、及び 4.2.2.1-28 報告書番号[redacted]）。本分析法は、ELISA プレートに固相化した抗 MLN0002 イディオタイプ抗体と MLN0002 との結合に基づくものである。捕獲された MLN0002 は、ペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgG1 抗体及び発色基質溶液で検出した。なお、定量下限（LLOQ）は 0.125～0.15 μg/mL であった。

MLN0002 の免疫原性を RAHA 及び PAHA を測定して評価し、抗ヒト抗体が動物における MLN0002 曝露量に影響を及ぼすか否か判断した。高感度かつ選択性の高い ELISA を用いて、New Zealand white ウサギ及びカニクイザル、並びにアカゲザルの血清中の MLN0002 に対する RAHA 及び PAHA を測定した（4.2.2.1-29 報告書番号[redacted]、4.2.2.1-30 報告書番号[redacted]、4.2.2.1-26 報告書番号[redacted]、4.2.2.1-27 報告書番号[redacted]、及び 4.2.2.1-28 報告書番号[redacted]）本分析法は、プレートに固相化した MLN0002 と RAHA 又は PAHA との結合に基づくものである。結合抗体は、ペルオキシダーゼ標識抗ウサギ抗体又は抗サル抗体、及び発色基質溶液で検出した。

GLP 非適用で実施した一連の MLN0002 の試験における PD 試験を支持するため、フローサイトメトリーの評価法を開発し、ウサギ及びカニクイザルの全血中のリンパ球における未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリン及び結合 MLN0002 のレベルを測定した（4.2.2.1-26 報告書番号[redacted]、4.2.2.1-27 報告書番号[redacted]、及び 4.2.2.1-28 報告書番号[redacted]）。未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリンのアッセイでは、Alexa-647 で標識した MLN0002 を全血試料で培養した。その後、フローサイトメトリーを行って分析し、Alexa-647 標識 MLN0002 に対して染色陽性を示す細胞（すなわち、未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリン）の割合を測定した。結合 MLN0002 のアッセイでは、全血試料を洗浄し、非結合の MLN0002 を除去した。アロフィコシアニン（APC）標識ロバ抗ヒト抗体 F(ab')2（DAH-APC）を添加し、細胞表面に結合した MLN0002 を標識した。その後、試料をフローサイトメトリーで分析し、DAH-APC に対して染色陽性を示す細胞（すなわち、結合 MLN0002）の割合を測定した。

2.6.4.3 吸収

MLN0002 の投与経路は持続静注であるため、本項は適用されない。

2.6.4.4 分布

：添付資料番号 4.2.2.3-1（参考）、-2（評価）

MLN0002 に関する組織分布又はタンパク結合率及び赤血球移行性を評価する試験は、実施しなかった。MLN0002 を 10 mg/kg 及び 100 mg/kg の用量で持続静注後のカニクイザルの V_{ss} は低値であり、それぞれ 80.7 mL/kg 及び 88.3 mL/kg であった（概要表 2.6.5.16；4.2.2.3-1 報告書番号[redacted]）。

出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に及ぼす影響について評価するため、カニクイザルを用いて GLP 適用試験を実施した。妊娠 20～140 日目にわたり、MLN0002 を 10 mg/kg 又は 100 mg/kg の用量で投与した（概要表 2.6.5.7；4.2.2.3-2 報告書番号[redacted]）。分娩後 28 日目に、10 mg/kg 群の乳仔 7 匹中 4 匹において、濃度 < 10 μg/mL の MLN0002 が検出された。100 mg/kg 群では、乳仔 11 匹中 11 匹において、濃度範囲が 10～100 μg/mL の MLN0002 が検出された。分娩後 120 日目には、100 mg/kg 群の乳仔 1 匹のみに濃度 0.166 μg/mL の MLN0002 が検出され、分娩後 28 日目（1 回目のタイムポイント）以降、MLN0002 が乳仔の血清中に低濃度で存在することが確認された（表 2.6.4.6-1）。サル乳仔血清中の MLN0002 は、主に胎盤通過によるものであり、母乳の経口摂取によるものではないと考えられた。

2.6.4.5 代謝（動物種間の比較）

ICH ガイドライン S6（R1）[1][2]では「バイオ医薬品の期待される代謝は、小さなペプチド及び各アミノ酸への分解である。したがって、その代謝経路は一般によく分かっている。一般の医薬品で実施される従来の生体内変化を調べる試験は必要ない。」と記載されていることから、MLN0002 の代謝試験は実施しなかった。

2.6.4.6 排泄

：添付資料番号 4.2.2.5-1（評価）

ICH ガイドライン S6（R1）[1][2]では「物質収支を評価するための画一的な試験からはあまり有益な情報は得られない」と記載されていることから、MLN0002 の排泄を評価する試験は実施しなかった。GLP 適用で実施した出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に及ぼす影響に関する試験において、妊娠中に 100 mg/kg を投与したカニクイザルの乳汁中に低いレベルの MLN0002 が排泄された（概要表 2.6.5.7；4.2.2.5-1 報告書番号[redacted]）。

2.6.4.6.1 MLN0002（製造法 B 製剤）の乳汁中への排泄

：添付資料番号 4.2.2.5-1（評価）

出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に及ぼす影響について評価するため、カニクイザルを用いて GLP 適用試験を実施し、妊娠 20～140 日目にわたり、MLN0002 を 10 mg/kg 又は 100 mg/kg の用量で投与した。分娩後 28 日目において、100 mg/kg 群のカニクイザル 11 匹中 3 匹の乳汁中に、低濃度（0.163～0.267 μg/mL）の MLN0002 が検出された（概要表 2.6.5.7；4.2.2.5-1 報告書番号[redacted]）。表 2.6.4.6-1 に乳汁中及び乳仔血清中の平均 MLN0002 濃度を示す。乳仔血清中の MLN0002 は、主に胎盤通過によるものであり、母乳の経口摂取によるものではないと考えられた。

表 2.6.4.6-1　平均 MLN0002 濃度

MLN0002 の母動物への投与量 (mg/kg)	MLN0002 濃度 (μg/mL)					
	乳汁			乳仔の血清		
	平均値	SD	n	平均値	SD	n
分娩後 28 日目						
10[b]	BQL	NC[a]	4	3.17	2.78	4
100	0.0591	0.104	11	30.3	17.7	11
分娩後 120 日目						
10[b]	N/A[c]	N/A[c]	N/A[c]	BQL	NC[a]	4
100	N/A[c]	N/A[c]	N/A[c]	0.0184	0.0553	9
分娩後 181 日目						
10[b]	N/A[c]	N/A[c]	N/A[c]	BQL	NC[a]	4
100	N/A[c]	N/A[c]	N/A[c]	BQL	NC[a]	9

出典：4.2.2.5-1 報告書番号[redacted]

BQL = 定量限界未満；N/A = 該当せず；NC = 未計算；SD = 標準偏差。

注記：MLN0002 濃度が BQL であった場合、0 として平均濃度を計算した。

a　いずれも BQL（< 0.125 μg/mL）。

b　10 mg/kg 群の 5 匹（動物番号 13327、13397、13596、13709 及び 13816）では、TK に影響を及ぼす PAHA 反応が認められた。したがって、当該動物から生まれた乳仔のデータは、平均値の計算には使用しなかった。

c　乳汁中の MLN0002 濃度を測定したのは、分娩後 28 日目のみ。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

MLN0002 はヒト化抗体であり、薬物代謝に影響を及ぼす可能性があるサイトカインの産生に影響しないことから、薬物動態学的薬物相互作用の試験は実施しなかった。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

薬物動態特性及び薬理特性

MLN0002 の PK は、CL が低値（0.180～0.266 mL/hr/kg）、V_{ss} が低値（80.7～88.3 mL/kg）、及び $t_{1/2}$ が長い（336～362 時間）という特徴がみられた。MLN0002 は、動物において免疫原性を示し、高用量であるほど免疫原性の抗体価は低値を示した。MLN0002 の PD は、検討したいずれのリンパ球サブタイプ（$CD20^+$、$CD4^+$、$CD8^+$、及び $CD45^{+/-}$）においても認められた。毒性試験において、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンの結合飽和（結合 MLN0002 に対するアッセイによって測定）は速やかに達成され、当該飽和は、最高用量（100 mg/kg）を投与したすべてのカニクイザル及び多くの New Zealand white ウサギにおいて試験の投与期間を通じて持続した。

免疫原性

低及び中用量（10 及び 30 mg/kg）の一部の動物において、MLN0002 の PK の消失は速くなり PD に対して中和作用を示した。一方で、RAHA／PAHA による中和作用が認められない動物では、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンの持続的な結合飽和が認められた。最高用量（100 mg/kg）では RAHA／PAHA は MLN0002 の PK 又は PD にほとんど影響を及ぼさなかった。また、無毒性量（NOAEL）である同用量において、ほとんどの動物で、投与期間及び休薬期間を通じて標的である $\alpha_4\beta_7$ インテグリンの持続的な結合飽和が持続した。

製造法間の比較

製造法の相違、すなわち製造工程及び／又は原薬・製剤の剤型の相違（製造法 A 製剤と製造法 B 製剤間の比較；製造法 B 製剤と製造法 C 製剤間の比較）に関わらず、MLN0002 のサルにおける PK 及び PD は類似していた。

2.6.4.8.1 単回投与 PK 試験、PD 試験及び免疫原性試験

単回投与による PK 及び TK 試験の概要を表 2.6.4.8-1 に示す。MLN0002 のプロファイルは抗体に典型的なものであり、CL が低値（0.180～0.266 mL/hr/kg）、V_{ss} が低値（80.7～88.3 mL/kg）、及び $t_{1/2}$ が長い（336～362 時間）という特徴がみられた。

New Zealand white ウサギ及びカニクイザルを用いたすべての単回投与試験において、MLN0002 の十分な曝露が達成され、その曝露量（C_{max} 及び AUC によって測定）は、10 mg/kg から 100 mg/kg までの範囲で、ほぼ用量に比例して増加した。MLN0002 は速やかな PD 作用をもたらし、初回投与直後から、結合 MLN0002 に対して陽性を示す細胞の割合（染色陽性率）の大幅な上昇、及び未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニットに対して陽性を示す細胞の割合（染色陽性率）の大幅な低下を引き起こした。この PD 作用は、用量及び検討したリンパ球サブタイプ（$CD20^+$、$CD4^+$、$CD8^+$、及び $CD45^{+/-}$）に関わらず認められた。$\alpha_4\beta_7$ サブユニットの結合飽和は、特に、最高用量かつ NOAEL である 100 mg/kg 群では試験期間全体を通じて持続した。RAHA 又は PAHA の発現は試験間で様々であったが、抗体価が高い場合は、RAHA 又は PAHA による中和作用が高頻度でみられた。その中和作用、すなわち PK／TK 及び PD に対する影響は、用量が低いほど顕著であった。

カニクイザルに 10 mg/kg 及び 30 mg/kg を持続静注した際の MLN0002（製造法 B 製剤）及び MLN0002（製造法 C 製剤）の血清中曝露量、並びに PK、PD 及び PAHA プロファイルは類似していた。

表 2.6.4.8-1　単回投与試験

添付資料番号 報告書	試験の種類	GLP	n	被験物質	投与量 (mg/kg)	レジメン	パラメータ	サンプリング時点
New Zealand white ウサギ								
4.2.2.7-1 [redacted]	胚・胎児発生に関する試験	非適用 [a]	3 F	MLN0002（製造法 B 製剤）	0、10、30 及び 100	妊娠 7 日目に 15 分間持続静注	TK、PD 及び RAHA	EOI の 312 時間後
4.2.2.7-2 [redacted]	胚・胎児発生に関する試験	適用	3 F	MLN0002（製造法 B 製剤）	0、10、30 及び 100	妊娠 7 日目に 60 分間持続静注	TK、PD 及び RAHA	EOI の 336 時間後
カニクイザル								
4.2.2.7-3 [redacted]、4.2.2.7-4 [redacted] 及び 4.2.2.7-5 [redacted]	PK 試験	非適用 [a]	3 F	MLN0002（製造法 A 製剤）	2.5	1 日目に 60 分間持続静注	PK	EOI の 336 時間後
4.2.2.7-6 [redacted]	PK、PD 及び PAHA 試験	非適用 [a]	3 F	MLN0002（製造法 B 製剤）	10 及び 100	1 日目に 30 分間持続静注	PK、PD 及び PAHA	EOI の 85 日後
4.2.2.7-7 [redacted]	単回投与毒性試験	適用	3 M 3 F	MLN0002（製造法 B 及び C 製剤）	0、10 及び 30	1 日目に 30 分間持続静注	TK、PD 及び PAHA	SOI の 168 時間後

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；M = 雄；F = 雌；GD = 妊娠日；PD = 薬力学；PK = 薬物動態；RAHA = ウサギ抗ヒト抗体；PAHA = サル抗ヒト抗体；EOI = 持続静注終了時点；SOI = 持続静注開始時点。

a 4.2.2.7-1 報告書番号[redacted]及び 4.2.2.7-6 報告書番号[redacted]の TK（PK）、PD 及び RAHA 並びに 4.2.2.7-3 報告書番号[redacted]、4.2.2.7-4 報告書番号[redacted]及び 4.2.2.7-5 報告書番号[redacted]の PK は、GLP 非適用で実施した。

2.6.4.8.1.1 胚・胎児発生に関する試験（GLP 非適用）においてウサギに MLN0002（製造法 B 製剤）を単回静脈内投与した後の TK、PD 及び RAHA

：添付資料番号 4.2.2.7-1（参考）

GLP 非適用で実施した MLN0002 単回投与による胚・胎児発生に関する試験（用量設定試験）で、妊娠 New Zealand white ウサギ（3 匹／群）に対し、妊娠 7 日目に MLN0002 の 0（生理食塩液）、10、30 及び 100 mg/kg を 15 分間単回持続静注した（概要表 2.6.7.2 及び 2.6.7.3；4.2.2.7-1 報告書番号[redacted]）。TK、PD 及び RAHA 測定で使用する全血試料は、1 日目の投与前から投与後 312 時間まで継続的に採取した。当該全血試料を遠心分離機にかけ、TK 及び RAHA 測定で使用する血清を調製した。

0 mg/kg 群の動物における MLN0002 濃度はすべて定量限界未満（BQL）であり、RAHA は陰性、又は最低値の抗体価（30）を示した。

RAHA 抗体価は≥ 30 の場合に記録されたが、投与後 312 時間経過時点で、すべての投与群で RAHA が検出され（抗体価：150～18,750）、10 mg/kg 群の 1 匹（動物番号 46966）では中和作用を示した。

MLN0002 の曝露量（C_{max} 又は AUC によって測定）は、ほぼ用量に比例して増加した（表 2.6.4.8-2 及び図 2.6.4.8-1）。試料採取期間が限られていたことから、$t_{1/2}$ は評価しなかった。

表 2.6.4.8-2　妊娠ウサギに MLN0002 単回投与後の TK パラメータ平均値（GLP 非適用）

投与量 (mg/kg)	T_{max} (時間)		C_{max} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}168hr}$ (hr*μg/mL)		$AUC_{0\text{-}312hr}$ (hr*μg/mL)	
	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD
10	0.5	N/A[a]	187	N/A[a]	17,000	N/A[a]	22,600	N/A[a]
30	0.5	0	621	190	55,400	12,200	72,800	11,000
100	0.5	0	2590	389	214,000	34,000	279,000	35,300

出典：4.2.2.7-1 報告書番号[redacted]

$AUC_{0\text{-}168hr}$ = 0 時間から 168 時間の血中濃度-時間曲線下面積；$AUC_{0\text{-}312hr}$ = 0 時間から 312 時間の血中濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高血中濃度；T_{max} = 最高血中濃度到達時間；N/A = 該当せず；SD = 標準偏差。

注記：各群 3 匹の妊娠 New Zealand white ウサギに、妊娠 7 日目に、MLN0002 を 15 分間単回持続静注した。10 mg/kg 群の 1 匹（動物番号 46973）は投与中に死亡した。RAHA は、10 mg/kg 群の 1 匹（動物番号 46966）で中和作用を示した。TK パラメータの平均値は、すべての動物のデータを使用して計算した。

a　該当せず；n = 2。

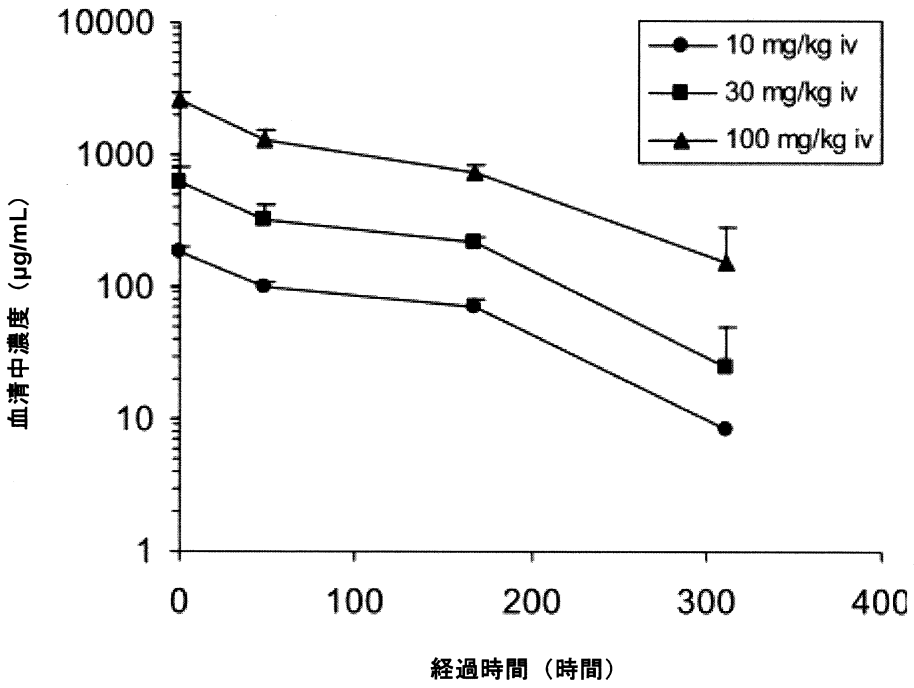


図 2.6.4.8-1　妊娠ウサギに MLN0002 単回投与後の平均血清中濃度-時間曲線（GLP 非適用）

出典：4.2.2.7-1 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-1　各群 3 匹の妊娠 New Zealand white ウサギに、妊娠 7 日目に、MLN0002 を 15 分間単回持続静注した。10 mg/kg 群の 1 匹（動物番号 46973）は投与中に死亡した。RAHA は、10 mg/kg 群の 1 匹（動物番号 46966）で中和作用を示した。TK パラメータの平均値は、すべての動物のデータを使用して計算した。

結合 MLN0002 に対して陽性を示す $CD4^+$ 細胞の割合（染色陽性率）は、投与後 30 分以内に急速に増加し、その後、緩やかに低下したものの、投与後 20 日間にわたり高い陽性率が維

持された。未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニットに対して陽性を示す $CD4^+$ 細胞の割合（染色陽性率）は、投与後 30 分以内に急速に低下し、その後、やや増加したものの、投与後 20 日間にわたり低い陽性率が維持された。

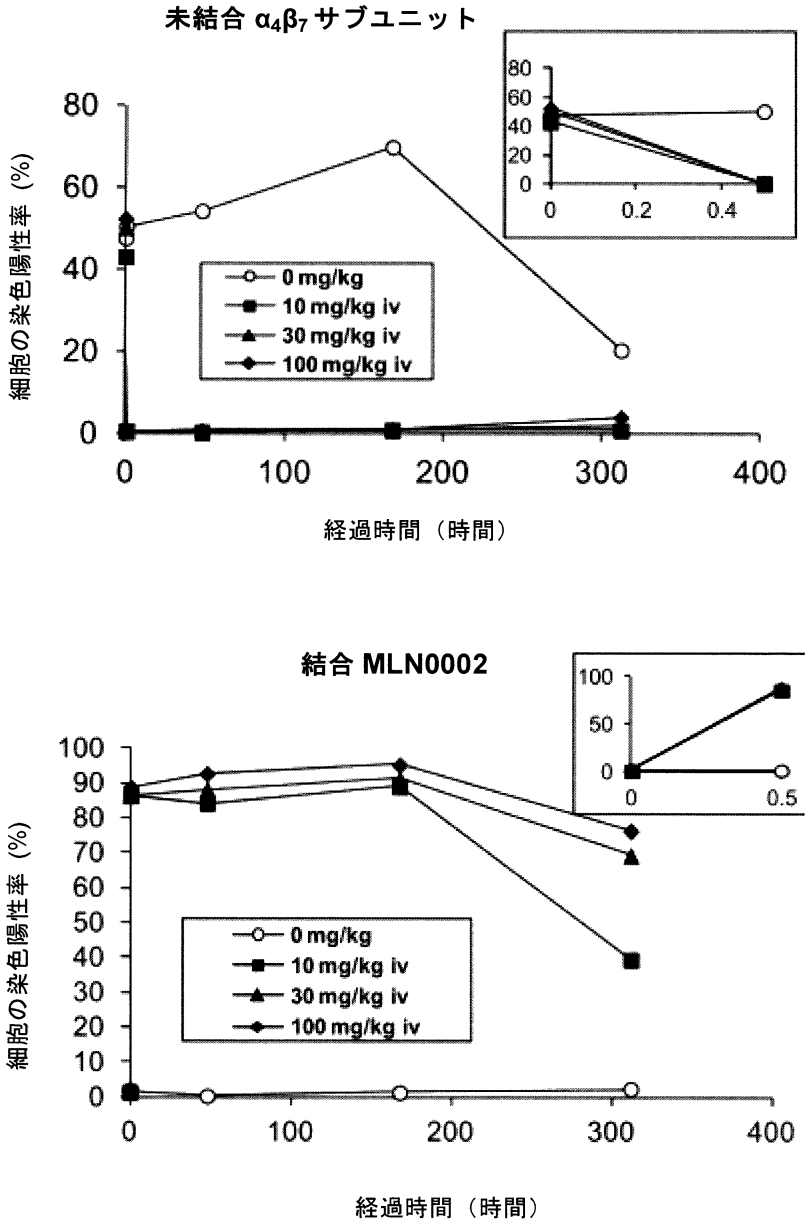


図 2.6.4.8-2　妊娠ウサギに MLN0002 単回投与後の PD パラメータ平均値（GLP 非適用）

出典：4.2.2.7-1 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-2　各群 3 匹の妊娠 New Zealand white ウサギに、妊娠 7 日目に、MLN0002 を 15 分間単回持続静注した。10 mg/kg 群の 1 匹（動物番号 46973）は投与中に死亡した。RAHA は、10 mg/kg 群の 1 匹（動物番号 46966）で中和作用を示した。PD パラメータの平均値は、すべての動物のデータを使用して計算した。

2.6.4.8.1.2 胚・胎児毒性試験（GLP 適用）においてウサギに MLN0002（製造法 B 製剤）を単回静脈内投与した後の TK、PD 及び RAHA

：添付資料番号 4.2.2.7-2（評価）

MLN0002 単回投与による胚・胎児発生に関する試験を GLP 適用で実施し、妊娠 New Zealand white ウサギ（3 匹／群）に対し、妊娠 7 日目に MLN0002 を 0（生理食塩液）、10、30 及び 100 mg/kg の用量で 60 分間単回持続静注した（概要表 2.6.7.2 及び 2.6.7.3；4.2.2.7-2 報告書番号[redacted] TK、PD 及び RAHA 測定で使用する全血試料は、投与前から投与後 337 時間まで継続的に採取した。当該全血試料を遠心分離機にかけ、TK 及び RAHA 測定で使用する血清を調製した。

0 mg/kg 群から採取した試料の MLN0002 濃度はすべて BQL であり、RAHA に対して陰性を示した。

RAHA は抗体価が > 3750 のときに陽性であると判断した。30 mg/kg 及び 100 mg/kg 群の MLN0002 の免疫原性は軽微であり、RAHA 陽性の動物はいなかった。妊娠 20 日目（投与後 2 週間経過時点）、10 mg/kg 群の 3 匹中 2 匹（動物番号 49694 及び 49702）で高抗体価の RAHA（≥ 18750）が認められた。これらの動物における RAHA 反応は中和作用を示し、MLN0002 の血清中濃度及び PD パラメータの両方に影響を及ぼした。なお、当該パラメータの平均値は、すべての動物のデータを使用して計算した。

MLN0002 の曝露量（C_{max} 又は AUC によって測定）は、用量比を上回る増加を示した（表 2.6.4.8-3 及び図 2.6.4.8-3）。試料採取期間が限られていたことから、$t_{1/2}$ は評価しなかった。

表 2.6.4.8-3　妊娠ウサギに MLN0002 単回投与後の TK パラメータ平均値

MLN0002 投与量 (mg/kg)	T_{max} (時間)		C_{max} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}337hr}$ (hr*μg/mL)	
	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD
10	2.0	0.0	244	31.8	28,300	4480
30	2.0	0.0	818	24.3	102,000	8260
100	2.0	0.0	3020	159	366,000	26,800

出典：4.2.2.7-2 報告書番号[redacted]

$AUC_{0\text{-}337hr}$ = 0 時間から 337 時間の血中濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高血中濃度；T_{max} = 最高血中濃度到達時間；SD = 標準偏差。

注記：タイムポイントの計時起点は静注開始時点。各群 3 匹の妊娠 New Zealand white ウサギに、妊娠 7 日目に MLN0002 を 60 分間単回持続静注した。妊娠 20 日目、10 mg/kg 群の 3 匹中 2 匹に高抗体価で中和作用のある RAHA が認められた。TK パラメータの平均値は、すべての動物のデータを使用して計算した。

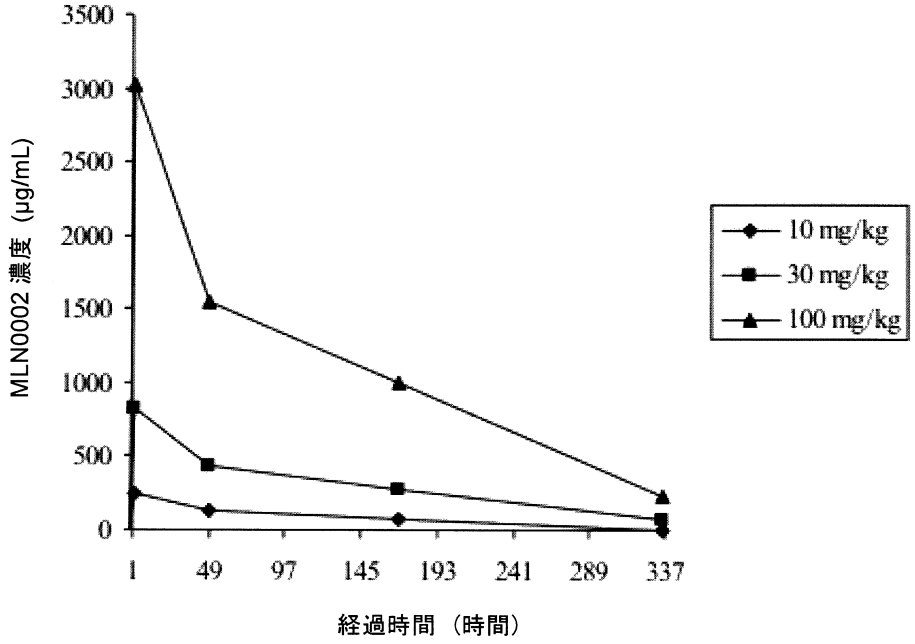


図 2.6.4.8-3　妊娠ウサギに MLN0002 単回投与後の平均血清中濃度-時間曲線（GLP 適用）

出典：4.2.2.7-2 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-3　タイムポイントの計時起点は静注開始時点。妊娠 7 日目に、各群 3 匹の妊娠 New Zealand white ウサギに MLN0002 を 60 分間単回持続静注した。妊娠 20 日目、10 mg/kg 群の 3 匹中 2 匹に高抗体価で中和作用のある RAHA が認められた。MLN0002 濃度の平均値の計算には、すべての動物のデータを使用した。

MLN0002 の PD 作用は、中和作用がみられなかった投与群において同様であった。結合 MLN0002 に対して陽性を示す $CD4^+$細胞の割合（染色陽性率）は、投与後 1 時間以内に急速に増加し、10 mg/kg 群では投与後 7 日間、30 mg/kg 群及び 100 mg/kg 群では投与後 14 日間にわたって高い陽性率が維持された（図 2.6.4.8-4）。未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニットに対して陽性を示す $CD4^+$細胞の割合（染色陽性率）は、投与後 1 時間以内に急速に低下し、10 mg/kg 群では投与後 7 日間、30 mg/kg 群及び 100 mg/kg 群では投与後 14 日間にわたって低い陽性率が維持された。最高用量である 100 mg/kg 群では、$\alpha_4\beta_7$ サブユニットとの結合飽和が試験期間を通じて持続した。

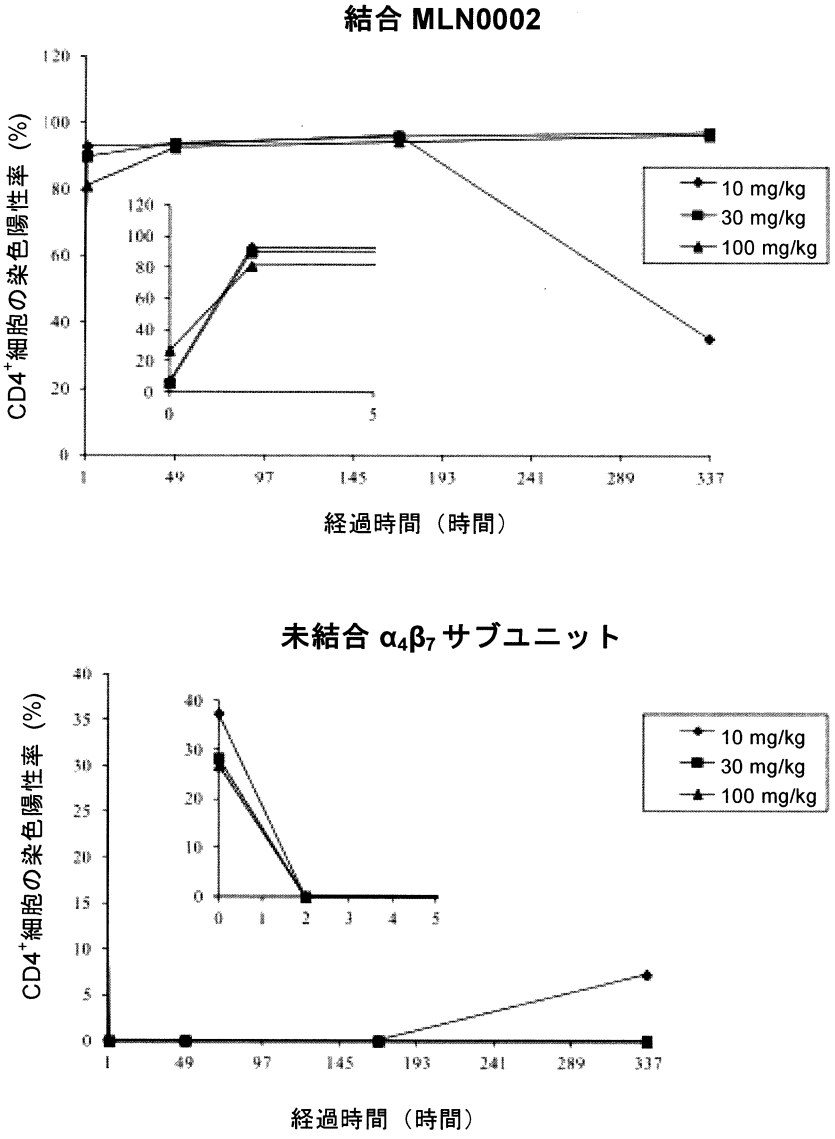


図 2.6.4.8-4　妊娠ウサギに MLN0002 単回投与後の PD パラメータ平均値（GLP 適用）

出典：4.2.2.7-2 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-4　タイムポイントの計時起点は静注開始時点。妊娠 7 日目に、各群 3 匹の妊娠 New Zealand white ウサギに、MLN0002 を 60 分間単回持続静注した。妊娠 20 日目、10 mg/kg 群の 3 匹中 2 匹に高抗体価で中和作用のある RAHA が認められた。PD パラメータの平均値は、すべての動物のデータを使用して計算した。

2.6.4.8.1.3 サルに MLN0002（製造法 A 製剤）を単回静脈内投与又は皮下投与した後の PK：添付資料番号 4.2.2.7-3、-4、-5（参考）

GLP 適用で単回投与薬物動態試験を実施し、雌のカニクイザル 3 匹に MLN0002 を 2.5 mg/kg の用量で 60 分間単回持続静注した（概要表 2.6.5.16；4.2.2.7-3 報告書番号[redacted]、4.2.2.7-4 報告書番号[redacted]及び 4.2.2.7-5 報告書番号[redacted]）。全血試料は、投与前から投与後 336 時間まで継続的に採取した。当該全血試料を遠心分離機にかけ、GLP 非適用での PK 測定で使用する血清を調製した。

静脈内投与後の血清中 PK 成績から、CL は低値（0.438 mL/hr/kg）、$t_{1/2}$ 及び平均滞留時間が長く（それぞれ 102.6 時間及び 153.1 時間）、並びに V_{ss} が低値（67.9 mL/kg）であることが判明し、MLN0002 が血管コンパートメントに残留することが示唆された（表 2.6.4.8-4）。

表 2.6.4.8-4　雌カニクイザルに MLN0002 単回投与後の PK パラメータ平均値

C_{max} (μg/mL)	T_{max} (時間)	$t_{1/2}$ (時間)	AUC_{0-t} [a] (hr*μg/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (hr*μg/mL)	MRT (時間)	CL (mL/hr/kg)	V_{ss} (mL/kg)
50.32 (14.79)	1.41 (0.69)	102.6 (8.1)	3878 (846)	5868 (1237)	153.1 (15.6)	0.438 (0.087)	67.9 (18.6)

出典：4.2.2.7-3 報告書番号[redacted]、4.2.2.7-4 報告書番号[redacted]及び 4.2.2.7-5 報告書番号[redacted]

$AUC_{0-\infty}$ = 0 時間から無限時間までの血中濃度-時間曲線下面積；AUC_{0-t} = 0 時間から特定時点までの血中濃度-時間曲線下面積；CL = クリアランス；C_{max} = 最高血中濃度；MRT = 平均滞留時間；$t_{1/2}$ = 半減期；T_{max} = 最高血中濃度到達時間；V_{ss} = 定常状態での分布容積。

注記：タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。数値は平均値（標準偏差）。雌のカニクイザル 3 匹に、MLN0002 の 2.5 mg/kg を 60 分間単回持続静注した。PAHA は測定せず。

a　t 値は、動物番号 1101 では 145.10 時間、動物番号 1102 では 193.01 時間、動物番号 1103 では 168.85 時間。

また、MLN0002 の 2.5 mg/kg を皮下投与したところ、その最高血中濃度到達時間（T_{max}）の範囲（49.42～145.25 時間）から、皮下投与による吸収はやや遅く、個体差が大きいことが示唆された。このように吸収が遅かったため、その C_{max} 値は、60 分間持続静注後に得られる数値の約 40%の 15.53～21.83 μg/mL の範囲であった。皮下投与群では、動物の大部分において投与後 11 日間以降 MLN0002 を検出できなかったため、PK パラメータ値を評価することはできなかった。

2.6.4.8.1.4 サルに MLN0002（製造法 B 製剤）を単回静脈内投与した後の PK、PD 及び PAHA：添付資料番号 4.2.2.7-6（参考）

GLP 非適用の単回投与試験を実施し、雌カニクイザル（3 匹／群）に MLN0002 を 10 mg/kg 及び 100 mg/kg の用量で 30 分間持続静注した場合の PK、PD 及び PAHA を評価した（概要表 2.6.5.16；4.2.2.7-6 報告書[redacted]）。PK 及び PD 試験で使用する全血試料は、1 日目の投与前から投与終了後 168 時間までと、15 日目、以降はほぼ 2 週間ごとに 85 日目まで継続的に採取した。PAHA 試料は、1 日目の投与前、15 日目、以降はほぼ 2 週間ごとに 85 日目まで継続して採取した。当該全血試料を遠心分離機にかけ、PK 及び PAHA 測定で使用する血清を調製した。

PAHA 抗体価は ≥ 100 の場合に記録された。抗体価が 100 であった 1 匹（動物番号 1102）を除き、投与前試料はすべて PAHA に対して陰性を示した。MLN0002 はいずれの投与量でも免疫原性を示し、投与後試料はいずれも PAHA に対して陽性を示した。PAHA 抗体価はバラツキが大きく（100～12,500）、用量依存性、又は投与後経過時間との関連は明確でなかった。PAHA は、MLN0002 の PK 及び PD に影響を及ぼした。PAHA 抗体価が高い場合は中和作用を示し、MLN0002 の血清中濃度及び結合 MLN0002 に対して陽性を示す細胞の割合（染色陽性率）の大幅な低下の一因になった（PAHA 抗体価 12,500 を示す 4 匹で中和作用が観察された）。PAHA 抗体価が低い場合、MLN0002 の血清中濃度又は PD に実質的な影響を及ぼ

さなかったものの、若干の影響が認められた。なお、PK 及び PD パラメータ平均値は、すべての動物のデータを使用して計算した。

MLN0002 の十分な曝露は、10 mg/kg 及び 100 mg/kg の両用量で MLN0002 の静脈内投与後速やかに達成された。10 mg/kg 群では、2 匹で投与後 336 時間（15 日目）まで、残り 1 匹で投与後 672 時間（29 日目）まで MLN0002 が検出された。100 mg/kg 群では、1 匹で投与後 1008 時間（43 日目）まで、残り 2 匹で投与後 2016 時間（85 日目）まで MLN0002 が検出された（図 2.6.4.8-5）。CL 及び V_{ss} は低値を示し、$t_{1/2}$ は長かった（表 2.6.4.8-5）。PK は、10 mg/kg と 100 mg/kg との間で概ね用量に比例して増加した。一部の動物において（動物番号 1101 では明らかに、動物番号 2101 では可能性として）、タイムポイントの後半で、PAHA により MLN0002 の CL が急速に増加した。

表 2.6.4.8-5　雌カニクイザルに MLN0002 単回投与後の PK パラメータ平均値

投与量 (mg/kg)	T_{max} (時間)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}2016hr}$ (hr*μg/mL)	CL (mL/hr/kg)	V_{ss} (mL/kg)	$t_{1/2}$ (時間)
10	0.5 ± 0.0	214 ± 29.9	32,700 ± 8490	0.266 ± 0.136	80.7 ± 30.3	336 ± 139
100	0.5 ± 0.0	2090 ± 377	542,000 ± 60,500	0.180 ± 0.0246	88.3 ± 22.2	362 ± 132

出典：4.2.2.7-6 報告書番号[redacted]

$AUC_{0\text{-}2016hr}$ = 0 時間から 2016 時間の血中濃度-時間曲線下面積；CL = クリアランス；C_{max} = 最高血中濃度；$t_{1/2}$ = 半減期；T_{max} = 最高血中濃度到達時間；V_{ss} = 定常状態での分布容積。

注記：数値は平均値±標準偏差（SD）。タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。1 日目に、各群 3 匹の雌のカニクイザルに MLN0002 を 30 分間単回持続静注した。いずれの動物も PAHA に対して陽性を示した。パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。PAHA 抗体価が高い場合（12,500）、当該抗体は血清中 MLN0002 濃度に影響を及ぼした。10 mg/kg 群の全例（動物番号 1101 は 15 日目以降、動物番号 1102 は 43 日目、動物番号 1103 は 29 日目及び 43 日目）が抗体価 12,500 を示した。100 mg/kg 群の 1 匹（動物番号 2101）は、43 日目以降に抗体価 12,500 を示した。

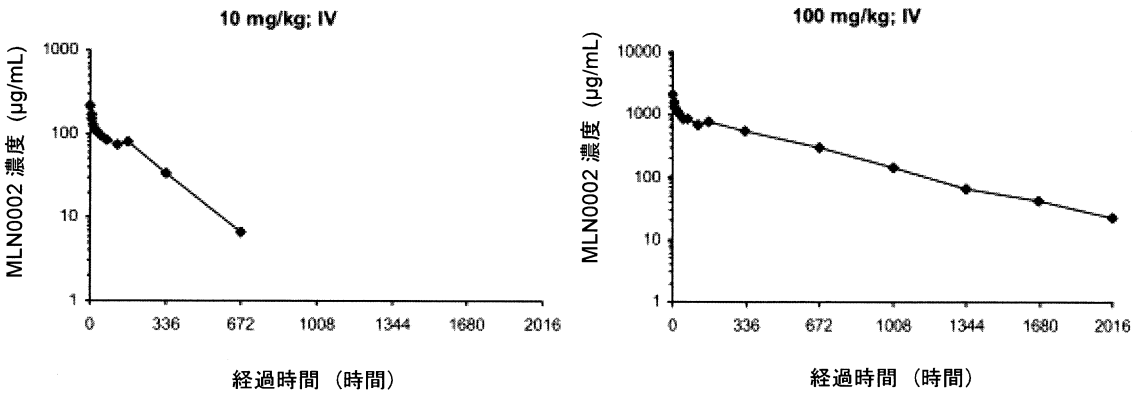


図 2.6.4.8-5　雌カニクイザルに MLN0002 単回投与後の平均濃度-時間曲線

出典：4.2.2.7-6 報告書番号 [redacted]

図 2.6.4.8-5　タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。1 日目に、各群 3 匹の雌のカニクイザルに MLN0002 を 30 分間単回持続静注した。いずれの動物も PAHA に対して陽性を示した。パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。PAHA 抗体価が高い場合（12,500）、当該抗体は血清中 MLN0002 濃度に影響を及ぼした。10 mg/kg 群の全例（動物番号 1101 は 15 日目以降、動物番号 1102 は 43 日目、動物番号 1103 は 29 日目及び 43 日目）が抗体価 12,500 を示した。100 mg/kg 群の 1 匹（動物番号 2101）は、43 日目以降に抗体価 12,500 を示した。

検討したリンパ球サブタイプ（$CD4^+$及び$CD4^+CD45RA^{+/-}$）において、MLN0002 の PD は同様であった（図 2.6.4.8-6）。

結合 MLN0002 に対して陽性を示す$CD4^+$、$CD4^+CD45RA^+$、及び$CD4^+CD45RA^-$細胞の割合（染色陽性率）は、初回投与直後に急速に増加した。初期の PD 反応は用量依存性を示さなかった。結合 MLN0002 に対する細胞の陽性率は、投与後 24～72 時間まで増加し、その後は用量依存的に低下し、PAHA の影響が認められた（PAHA 抗体価が 12,500 に到達すると陽性率が低下し始めた）。10 mg/kg 群では、全例がそれぞれ 29、43 又は 57 日目に、100 mg/kg 群の 1 匹では 71 日目には試験前の数値に戻った。一方、PAHA 抗体価が低値であった 100 mg/kg 群の残りの 2 匹では、85 日目まで高い陽性率が維持された。

未結合$\alpha_4\beta_7$サブユニットに対して陽性を示す$CD4^+$、$CD20^+$、$CD4^+CD45RA^+$、及び$CD4^+CD45RA^-$細胞の割合（染色陽性率）は、初回投与後に急速に低下した。その後も、緩やかに低下し、43 日目には最低値に達した。この PD 反応は、85 日目まで維持され、PAHA の影響を受けなかった。

$\alpha_4\beta_7$サブユニットの結合飽和は、10 mg/kg 群において少なくとも 29 日間、100 mg/kg 群において約 85 日間持続した。

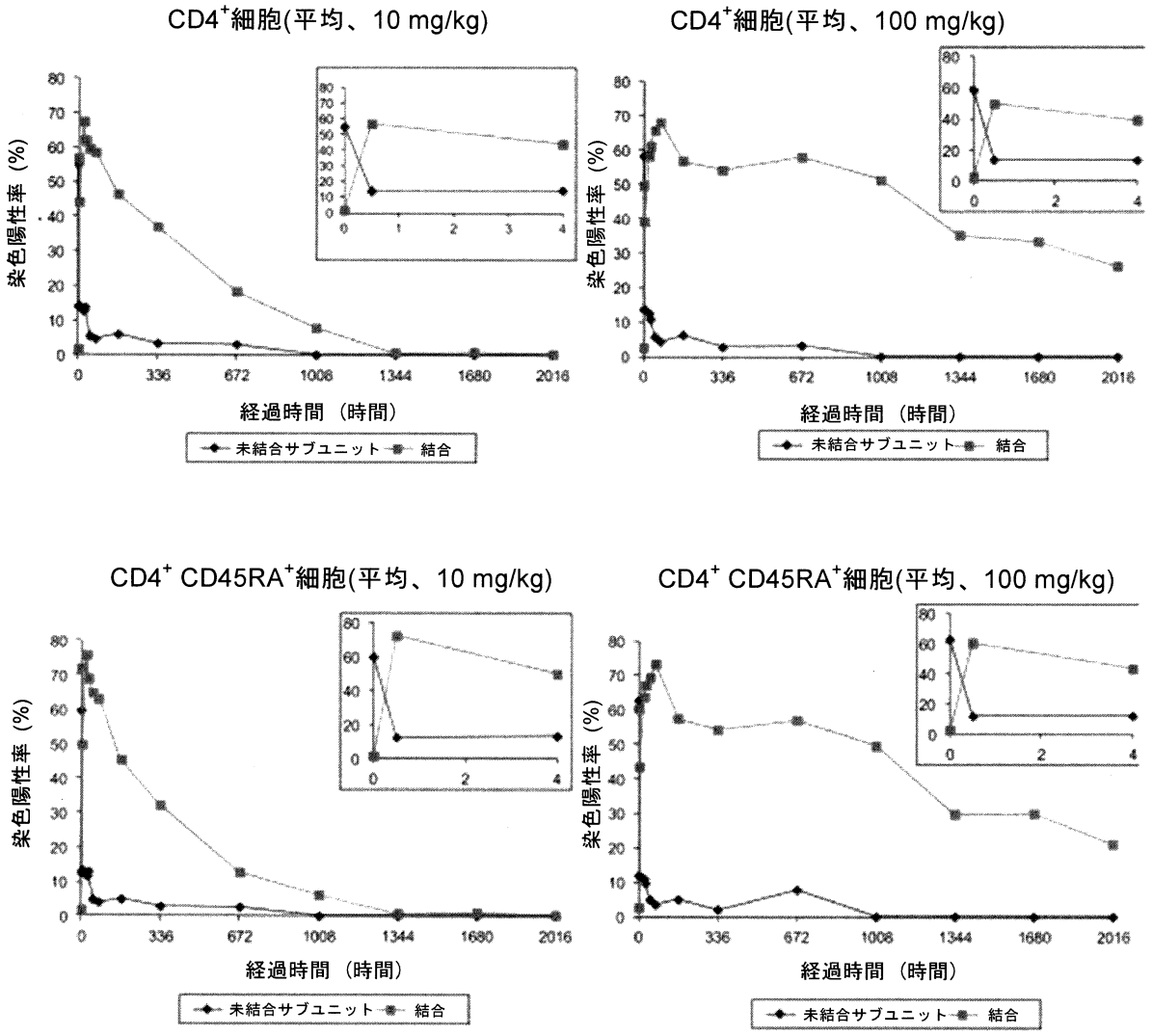


図 2.6.4.8-6　雌カニクイザルに MLN0002 単回投与後の PD パラメータ平均値

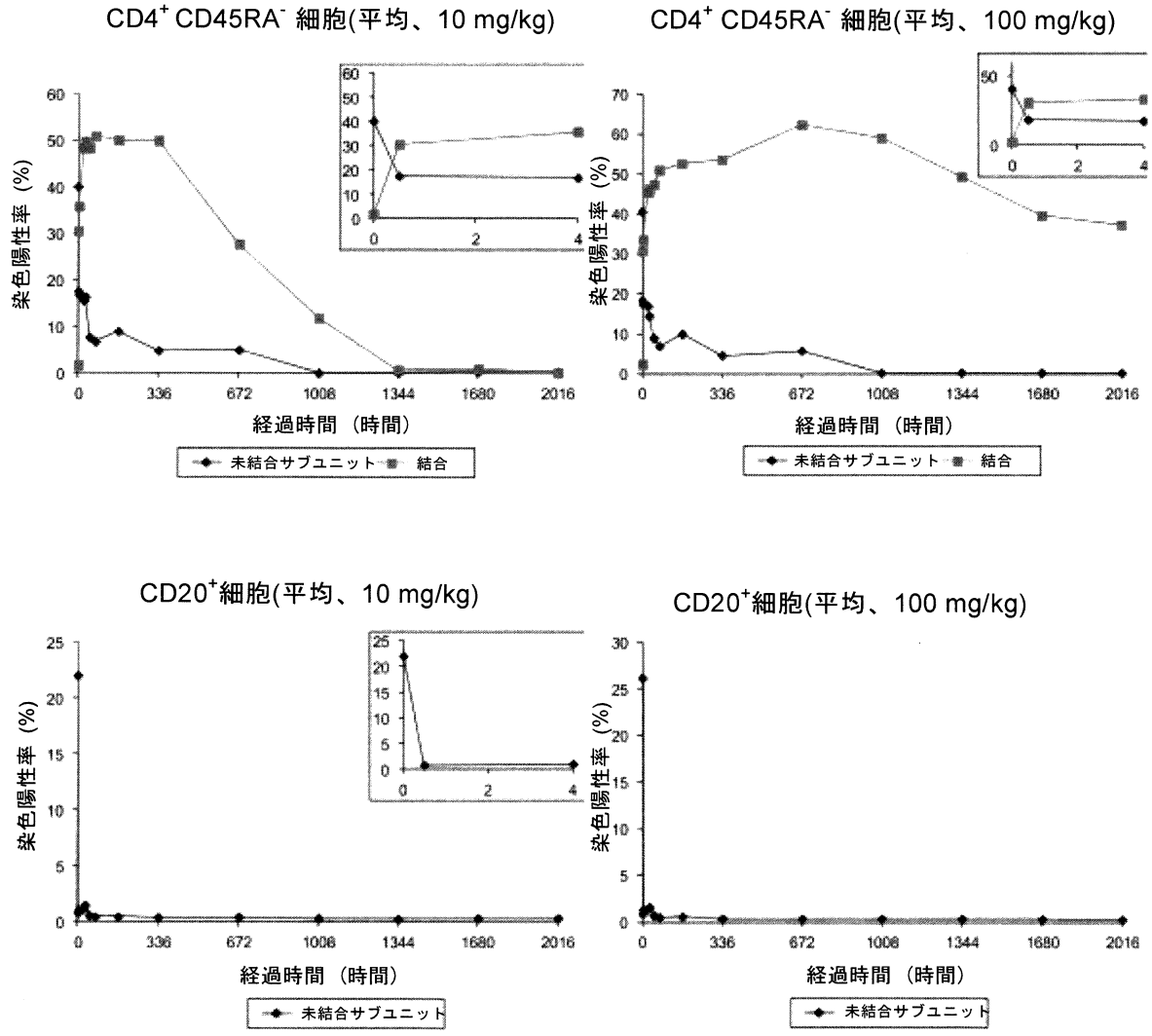


図 2.6.4.8-6　雌カニクイザルに MLN0002 単回投与後の PD パラメータ平均値（続き）

出典：4.2.2.7-6 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-6　タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。1 日目に、各群 3 匹の雌のカニクイザルに MLN0002 を 30 分間単回持続静注した。いずれの動物も PAHA に対して陽性を示した。PAHA 抗体価が高い場合（12,500）、当該抗体は MLN0002 の PD 作用に影響を及ぼした。10 mg/kg 群の全例（動物番号 1101 は 15 日目以降、動物番号 1102 は 43 日目、動物番号 1103 は 29 日目及び 43 日目）で抗体価 12,500 を示した。100 mg/kg 群の 1 匹（動物番号 2101）は、43 日目以降に抗体価 12,500 を示した。パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。

2.6.4.8.1.5 サルに MLN0002（製造法 B 及び C 製剤）を単回静脈内投与した後の TK、PD 及び PAHA

：添付資料番号 4.2.2.7-7（評価）

GLP 適用での単回投与毒性試験を実施し、雌雄カニクイザル(3 匹／性別／群)に、MLN0002（製造法 B 及び C 製剤; ロット番号はそれぞれ IA015SA01 及び IC006LA）を 0（ヒスチジン 50 mM、アルギニン 125 mM、スクロース 100 mg/mL 及びポリソルベート 80 0.6 mg/mL）、10 及び 30 mg/kg の用量で 30 分間単回持続静注した（概要表 2.6.7.2 及び 2.6.7.3 ; 4.2.2.7-7 報告書番号[redacted]。TK 及び PD 測定で使用する全血試料は、1 日目の投与前から投与開始後 168 時間まで継続的に採取した。PAHA 試料は、投与 7 日前、

並びに、1 日目の投与前から投与開始後 72 時間及び 168 時間まで継続的に採取した。当該全血試料を遠心分離機にかけ、TK 及び PAHA 測定で使用する血清を調製した。

MLN0002 の曝露量に性差は認められなかった。0 mg/kg 群の MLN0002 濃度はいずれも BQL であった。いずれの投与群にも顕著な PAHA 抗体価は観察されなかった（抗体価はいずれも ≤100 であった）。

血清中 C_{max} 及び血清中 $AUC_{0\text{-}168hr}$（0 時間から 168 時間の AUC）は、ほぼ用量に比例して増加した（表 2.6.4.8-6 及び図 2.6.4.8-7）。試料採取期間が限られていたことから、$t_{1/2}$ は評価しなかった。

表 2.6.4.8-6　カニクイザルに MLN0002（製造法 B 及び C 製剤）単回投与後の TK パラメータ平均値（雌雄統合）

投与量 (mg/kg)	製造工程	C_{max} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}168hr}$ (hr*μg/mL)	
		平均値	SD	平均値	SD
10	B	296	33.2	25,100	1620
	C	342	79.7	25,100	4430
30	B	794	43.4	64,800	3420
	C	828	113	66,500	4520

出典：4.2.2.7-7 報告書番号[redacted]

$AUC_{0\text{-}168hr}$ = 0 時間から 168 時間の血中濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高血中濃度；SD = 標準偏差。

注記：タイムポイントの計時起点は持続静注開始時点。1 日目に、各群雌雄各 3 匹のカニクイザルに MLN0002（製造法 B 及び C 製剤）を 30 分間単回持続静注した。いずれのサルにも顕著な PAHA 抗体価は認められなかった。

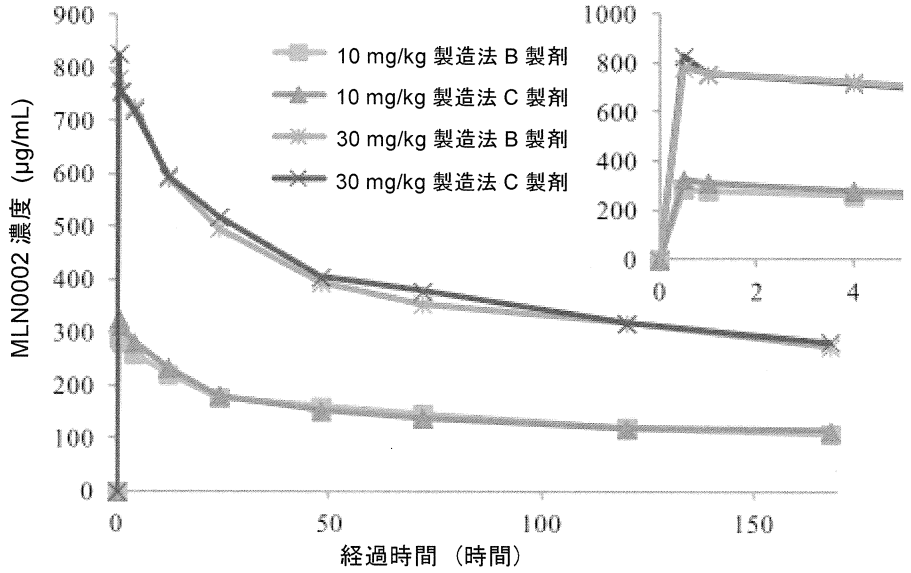


図 2.6.4.8-7　カニクイザルに MLN0002（製造法 B 及び C 製剤）単回投与後の平均濃度-時間曲線（雌雄統合）

出典：4.2.2.7-7 報告書番号[redacted]

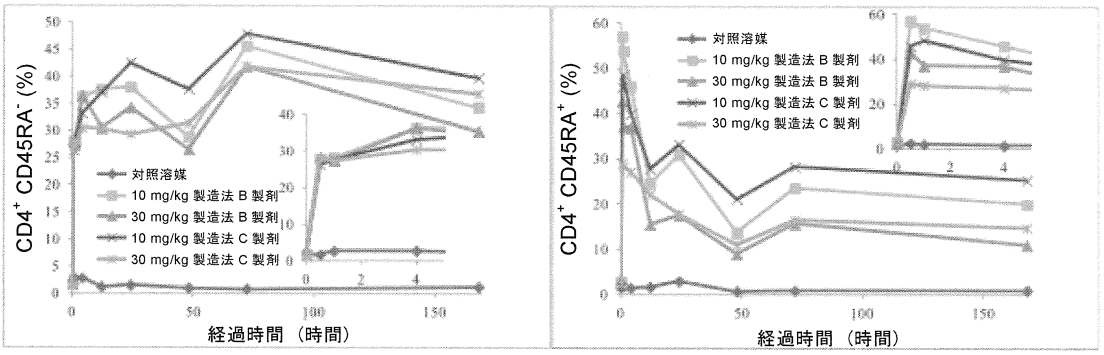
図 2.6.4.8-7　タイムポイントの計時起点は持続静注開始時点。1 日目に、各群雌雄各 3 匹のカニクイザルに対し、MLN0002（製造法 B 及び C 製剤）を 30 分間単回持続静注した。いずれのサルにも顕著な PAHA 抗体価は認められなかった。

検討したすべてのリンパ球サブタイプ（$CD4^+CD45RA^{+/-}$及び $CD20^+$）において、MLN0002 の PD は同様であった（表 2.6.4.8-7 及び図 2.6.4.8-8）。

結合 MLN0002 に対して陽性を示す $CD4^+CD45RA^+$ 及び $CD4^+CD45RA^-$ 細胞の割合（染色陽性率）は、初回投与直後に急速に増加し、MLN0002（製造法 B 製剤）と MLN0002（製造法 C 製剤）の両製剤とも、試験期間を通じて高い陽性率が維持された。

未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニットに対して陽性を示す $CD4^+CD45RA^+$、$CD4^+CD45RA^-$及び $CD20^+$ 細胞の割合（染色陽性率）は、投与後に急速に低下し、MLN0002（製造法 B 製剤）と MLN0002（製造法 C 製剤）の両製剤とも、試験期間を通じて低い陽性率が維持された。

結合 MLN0002



未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニット

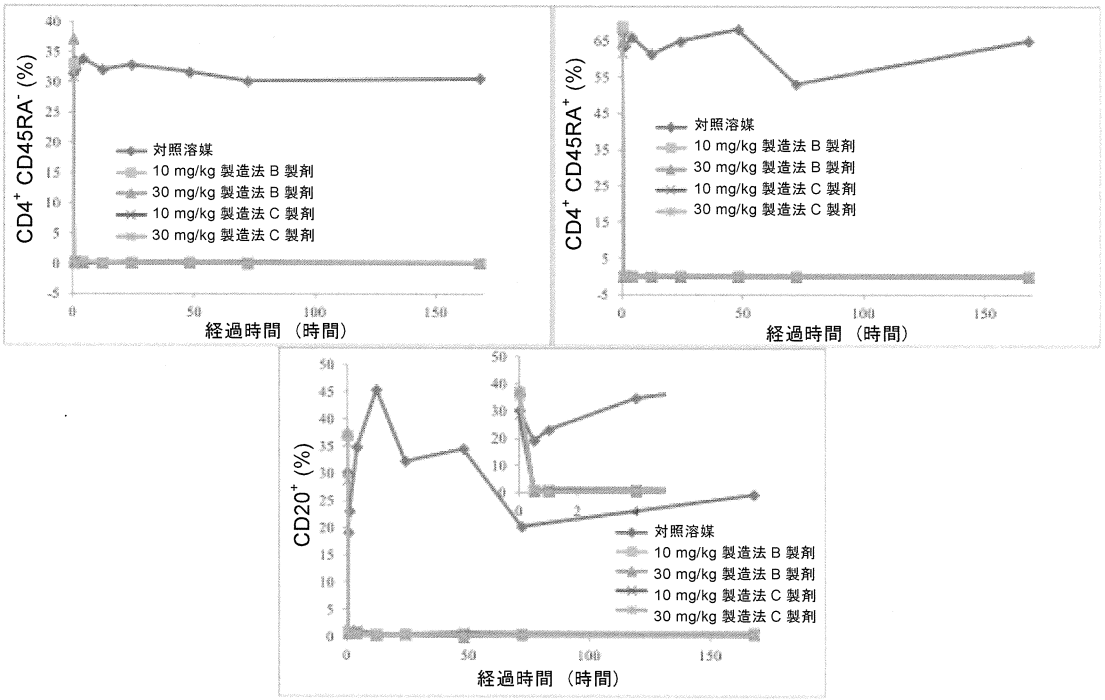


図 2.6.4.8-8　カニクイザルに MLN0002（製造法 B 及び C 製剤）単回投与後の PD パラメータ平均値（雌雄統合）

出典：4.2.2.7-7 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-8　タイムポイントの計時起点は持続静注開始時点。1 日目に、各群雌雄各 3 匹のカニクイザルに MLN0002（製造法 B 及び製造法 C 製剤）を 30 分間単回持続静注した。いずれのサルにも顕著な PAHA 抗体価は認められなかった。MLN0002 製造法 B 製剤の 30 mg/kg 群の未結合サブユニットアッセイにおける 48 時間タイムポイントにおける動物数は n=5。

以上の結果から、カニクイザルでは、MLN0002（製造法 B 製剤）及び MLN0002（製造法 C 製剤）の血清中 C_{max}、$AUC_{0\text{-}168hr}$ 及び TK プロファイルはいずれも類似していることが示された。また、$\alpha_4\beta_7$ サブユニットは投与直後に MLN0002 により結合飽和状態になり、これは試験期間にわたって持続することが実証された（最長 7 日間）。検討したリンパ球サブタイプ間（$CD4^+CD45RA^{+/-}$ 及び $CD20^+$）、又は MLN0002（製造法 B 製剤）と MLN0002（製造法 C 製剤）の両製剤間で、$\alpha_4\beta_7$ サブユニットとの結合の程度に関して、顕著な差は認められなかった。

2.6.4.8.2 反復投与による PK 試験、PD 試験及び免疫原性試験

反復投与による PK 及び TK 試験の概要を表 2.6.4.8-7 に示す。

New Zealand white ウサギ及びカニクイザルにおける MLN0002 の PK は、10～100 mg/kg の用量範囲にわたって用量に比例して増加し、2 週間に 1 回の投与レジメンによる大幅な蓄積は認められなかった（表 2.6.4.8-7）。MLN0002 の PD は、検討したいずれのリンパ球サブタイプ（$CD20^+$、$CD4^+$、$CD8^+$、及び $CD45^{+/-}$）においても同様に認められた。毒性試験において、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンの結合飽和（結合 MLN0002 に対するアッセイによって測定）は速やかに達成され、当該飽和は、最高用量（100 mg/kg ; NOAEL）を投与したすべてのカニクイザル及び多くの New Zealand white ウサギにおいて、試験の投与期間を通じて持続した。低及び中用量（10 mg/kg 及び 30 mg/kg）を投与した一部の動物において、MLN0002 の血清中濃度の消失は速くなり PD に対する中和作用を示したが、一方で、RAHA／PAHA による中和作用が認められなかった動物では、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンの持続的な結合飽和が達成され、最高用量（100 mg/kg）では、RAHA／PAHA は MLN0002 の PK 又は PD にほとんど影響を及ぼさなかった。NOAEL である同用量では、標的である $\alpha_4\beta_7$ インテグリンの持続的な結合飽和は、ほぼすべての動物において、試験の投与期間及び休薬期間を通じて持続した。

MLN0002（製造法 A 製剤）及び MLN0002（製造法 B 製剤）は、カニクイザルにおいて類似した PK、PD 及び PAHA プロファイルを示した。MLN0002 の曝露量（C_{max} 又は AUC により測定）は、MLN0002（製造法 A 製剤）を投与した場合よりも MLN0002（製造法 B 製剤）を投与した場合でわずかに低値を示した。PAHA による中和作用は MLN0002（製造法 B 製剤）を投与したサル 1 匹で観察されたが、両製剤共に同様の免疫原性を示した。PD は両製剤とも類似していた。

カニクイザルを用いて GLP 適用での MLN0002（製造法 C 製剤）の反復投与（30 mg/kg）の免疫毒性試験を実施したところ、MLN0002 の TK、PD 及び PAHA は、他の MLN0002（製造法 A 製剤）又は MLN0002（製造法 B 製剤）を用いた反復投与試験で観察されたプロファイルと類似していた。PAHA が 10 匹中 6 匹で観察され、10 匹中 2 匹で TK に対する中和作用が認められたが、PD に対する影響は認められなかった。結合 MLN0002 に対して陽性を示す細胞の割合（染色陽性率）は、初回投与直後に急速に増加し、試験期間にわたり高い陽性率が維持された。

妊娠 20～140 日目にわたり、MLN0002 を投与したカニクイザルの乳汁中に、MLN0002 が分娩後 28 日目まで低レベルで検出され、また、MLN0002 を投与した母体から産まれた乳仔血清中に MLN0002 が低レベルで存在することが明らかとなった。MLN0002 を投与した母体から産まれた乳仔では低い抗体価の PAHA が認められ、この PAHA は主に低用量群（10 mg/kg）で認められた。分娩後 28 日目（第 1 回目のタイムポイント）に 100 mg/kg 群のすべての乳仔で $\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する結合飽和が認められ、同結合飽和は分娩後 120 日目でも 9 匹中 3 匹に認められたが、分娩後 181 日目にはいずれの乳仔にも認められなかった。

表 2.6.4.8-7　反復投与試験

添付資料番号 報告書番号	試験の種類	GLP	n	被験物質	投与量 (mg/kg)	レジメン	パラメータ	試料採取期間
New Zealand white ウサギ								
4.2.2.7-8[redacted]	3 ヵ月反復投与毒性試験	適用	5 M 5 F	MLN0002（製造法 B 製剤）	0、30 及び 100	60 分間持続静注、q2wk × 12 週	TK、PD 及び RAHA	84 日目及び 126 日目
カニクイザル								
4.2.2.7-9[redacted]、4.2.2.7-10[redacted]及び 4.2.2.7-11[redacted]	14 日間反復投与毒性試験	非適用 [a]	3 M 3 F	MLN0002（製造法 A 製剤）	2.5	1 日目に 60 分間持続静注、2 日目に 30 分間持続静注、3～14 日目に 15 分間持続静注	TK 及び PD	14、18 及び 29 日目
4.2.2.7-13[redacted]	2 週間 PK 及び PD 試験	非適用	4 M	MLN0002（製造法 A 製剤及び B 製剤）	10	1 日目に 30 分間持続静注並びに 4、8、11 及び 15 日目に 1 分間静注	PK、PD 及び PAHA	22 日目
4.2.2.7-14[redacted]	13 週間反復投与毒性試験	非適用 [a]	3-5 M 3-5 F	MLN0002（製造法 A 製剤）	0、2.5 及び 10	1 日目に 30 分間持続静注、以降は静注；2.5 mg/kg：第 1 週 QD；第 2～4 週 BIW；第 12 週まで QW；10 mg/kg：第 1 週 BIW 及び第 12 週まで QIW	TK、PD 及び PAHA	86 日目及び 156 日目
4.2.2.7-15[redacted]	13 週間反復投与毒性試験	適用	6 M 6 F	MLN0002（製造法 B 製剤）	0、10、30 及び 100	10 分間持続静注、q2wk × 13 週	TK、PD 及び PAHA	92 日目及び 176 日目
4.2.2.7-16[redacted]	26 週間反復投与毒性試験	適用	4-6 M 4-6 F	MLN0002（製造法 B 製剤）	0、10、30 及び 100	20 分間持続静注、q2wk × 26 週	TK、PD 及び PAHA	183 日目及び 262 日目
4.2.2.7-17[redacted]	出生前及び出生後の発生並びに母体への影響に関する試験	適用 [a]	12 F	MLN0002（製造法 B 製剤）	0、10 及び 100	妊娠 20 日目～140 日目まで 20～30 分間持続静注、q2wk	TK、PD 及び PAHA	妊娠後 277 日目（母動物）及び分娩後 181 日目（母動物及び乳仔）
4.2.2.7-18[redacted]	免疫毒性試験	適用 [a]	5 M 5 F	MLN0002（製造法 C 製剤） natalizumab	0 及び 30	1、8 及び 15 日目に 30 分間持続静注	TK、PD 及び PAHA	22 日目

M＝ 雄；F＝ 雌；QD＝1 日 1 回；BIW＝ 週 2 回；QW＝ 週 1 回；q2wk＝2 週に 1 回；TK＝ トキシコキネティクス；PD＝ 薬力学；PAHA＝ サル抗ヒト抗体；RAHA＝ ウサギ抗ヒト抗体。

a 4.2.2.7-9 報告書番号[redacted]、4.2.2.7-10[redacted]、4.2.2.7-11[redacted]及び 4.2.2.7-14[redacted]の TK、PD 及び PAHA 並びに 4.2.2.7-17 報告書番号[redacted]及び 4.2.2.7-18 報告書番号[redacted]の PD は GLP 非適用で実施した。また、4.2.2.7-18 報告書番号[redacted]の natalizumab の TK、PD 及び PAHA 試験は GLP 非適用で実施した。

2.6.4.8.2.1 ウサギに MLN0002（製造法 B 製剤）を 3 ヵ月間反復静脈内投与した後の TK、PD 及び RAHA

：添付資料番号 4.2.2.7-8（評価）

雌雄の New Zealand white ウサギ（各群雌雄各 5 匹）を用いて GLP 適用での反復投与毒性試験を実施し、MLN0002 を 0（生理食塩液）、30 及び 100 mg/kg の用量で、2 週に 1 回、12 週間、60 分間持続静注した（概要表 2.6.7.2 及び 2.6.7.3；4.2.2.7-8 報告書番号[redacted]。30 mg/kg 群では、すべての動物を 98 日目に安楽死させた（主試験剖検）。100 mg/kg 群では、雌雄各 3 匹を 98 日目に安楽死させ、残りの雌雄各 2 匹は 126 日目に安楽死させた（回復性試験剖検）。また、TK 及び PD 評価を目的とした全血試料の採取は、投与 0（初回投与）、14、28 及び 56 日目の投与前及び投与開始後 2 時間、84 日目（最終投与）の投与前及び投与開始後 2、5 及び 9 時間（投与後 9 時間時点は TK のみ）、並びに 85、89、91、98 及び 126 日目（126 日目は回復性試験に割り付けたウサギのみ）に 1 回ずつ実施した。当該全血試料を遠心分離機にかけ、TK 及び RAHA 測定で使用する血清を調製した。

血清中濃度又は TK パラメータに顕著な性差は認められなかった。0 mg/kg 群の試料中の MLN0002 濃度はいずれも BQL で、RAHA は陰性を示した。

30 mg/kg 群の 10 匹中 8 匹及び 100 mg/kg 群の 10 匹中 10 匹が、RAHA に対して陽性を示した（抗体価 ≥ 300 が連続した 2 回の試料で観察された場合に陽性と判断）。投与量と抗体価あるいは最高抗体価が観察されたタイムポイントとの間に関連は認められなかった。両用量で観察された最高抗体価は 93,750 であり、両用量において 14～98 日目まで観察された。MLN0002 はほとんどの動物において免疫原性を示し、その RAHA は MLN0002 の TK 及び PD に影響を及ぼし、低用量（30 mg/kg）で顕著であった。なお、パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。

MLN0002 に対する十分な曝露は MLN0002 の投与直後に速やかに達成された（表 2.6.4.8-8 及び図 2.6.4.8-9）。MLN0002 は、100 mg/kg 群では 9 匹中 8 匹で最終投与（84 日目）後最長 14 日間にわたり検出され、回復群に設定された 4 匹中 4 匹では、最終投与後最長 42 日間にわたり検出された。MLN0002 は、30 mg/kg 群では 9 匹中 4 匹で最終投与後最長 14 日間にわたり検出された。最終投与後の MLN0002 の曝露量（C_{max} 又は AUC によって測定）は、用量とともに増加し、低用量で RAHA による中和作用が高頻度に認められたため、その増加は、用量比を上回っていた。試料採取期間が限られていたことから、$t_{1/2}$ は評価しなかった。

表 2.6.4.8-8　ウサギに MLN0002 隔週 12 週間反復投与（84 日目）後の TK パラメータ平均値（雌雄統合）

MLN0002 (mg/kg)	n	T_{max} (時間)		C_{max} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}337hr}$ (hr*μg/mL)	
		平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD
30	9	4.7	7.6	645	608	82,900	122,000
100	9	6.7	7.4	9890	4970	1,230,000	644,000

出典：4.2.2.7-8 報告書番号[redacted]

$AUC_{0\text{-}337hr}$ = 0 時間から 337 時間の血中濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高血中濃度；SD = 標準偏差；T_{max} = 最高血中濃度到達時間。

注記：各群雌雄各 5 匹の New Zealand white ウサギに、MLN0002 を 2 週間に 1 回で 12 週間（84 日目が最終投与）、60 分間持続静注した。タイムポイントの計時起点は静注開始時点。30 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 48024）が 14 日目に、100 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 48031）が 42 日目に死亡した。MLN0002 はほとんどのウサギにおいて免疫原性を示した。RAHA は MLN0002 の TK に影響を及ぼし、30 mg/kg 群で最も顕著な影響が認められた。パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。

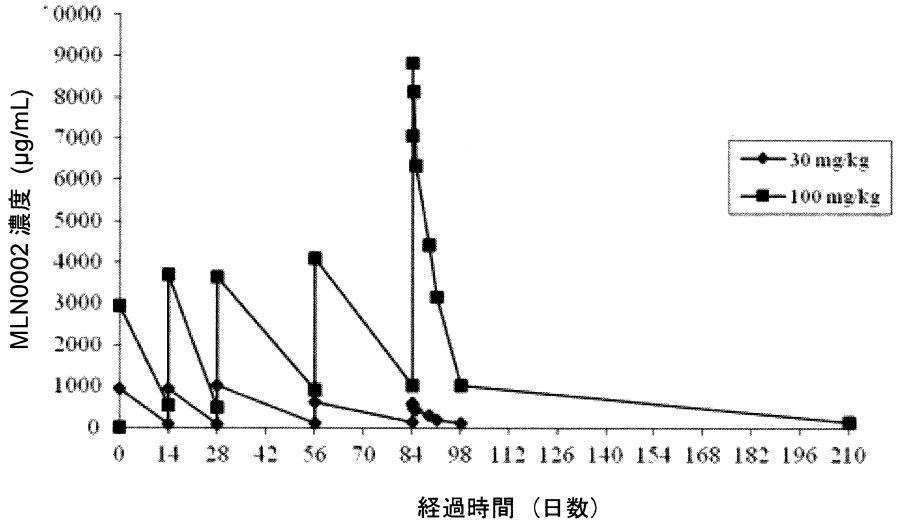


図 2.6.4.8-9　ウサギに MLN0002 隔週 12 週間反復投与後の平均濃度-時間曲線（雌雄統合）

出典：4.2.2.7-8 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-9　各群雌雄各 5 匹の New Zealand white ウサギに、MLN0002 を 2 週間に 1 回で 12 週間（84 日目が最終投与日）、60 分間持続静注した。タイムポイントの計時起点は静注開始時点。30 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 48024）が 14 日目に、100 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 48031）が 42 日目に死亡した。30 mg/kg 群の全動物及び 100 mg/kg 群の雌雄各 3 匹を 98 日目に安楽死させた（主試験剖検）。MLN0002 はほとんどのウサギにおいて免疫原性を示した。RAHA は MLN0002 の TK に影響を及ぼし、30 mg/kg 群で最も顕著な影響が認められた。パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。

30 mg/kg 群と 100 mg/kg 群との間で PD 作用に顕著な差は認められなかった（図 2.6.4.8-10）。結合 MLN0002 に対して陽性を示す $CD4^+$ 細胞の割合（染色陽性率）は、静脈内投与開始から 2 時間以内で急速に増加し、14 日目まで高い陽性率が維持された。84 日目には、投与前の染色陽性率は低下していたものの、100 mg/kg 群では 0 日目の投与前よりも高値を示した。
30 mg/kg 群では投与開始後、染色陽性率は急速に増加し、2 時間以内に最高値に達した。
100 mg/kg 群では、投与開始から 14 日後に最高染色陽性率が得られ、以降 126 日目（回復期間の最終日；30 mg/kg 群には休薬期間は設けなかった）まで高い陽性率が維持された。

未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニットに対して陽性を示す $CD4^+$ 細胞の割合（染色陽性率）は、静脈内投与開始後 2 時間以内に急速に低下し、残りの試験期間全体を通じて低い陽性率が維持された。

以上のように、100 mg/kg 群では、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンの結合飽和（結合 MLN0002 に対するアッセイによって測定）は、大部分の動物において、試験の投与期間を通じて持続した。30 mg/kg 群では、TK 及び PD に対する RAHA による中和作用が顕著であり、試験動物の約 60%において、MLN0002 の曝露量が低下し、PD 反応が抑制された。

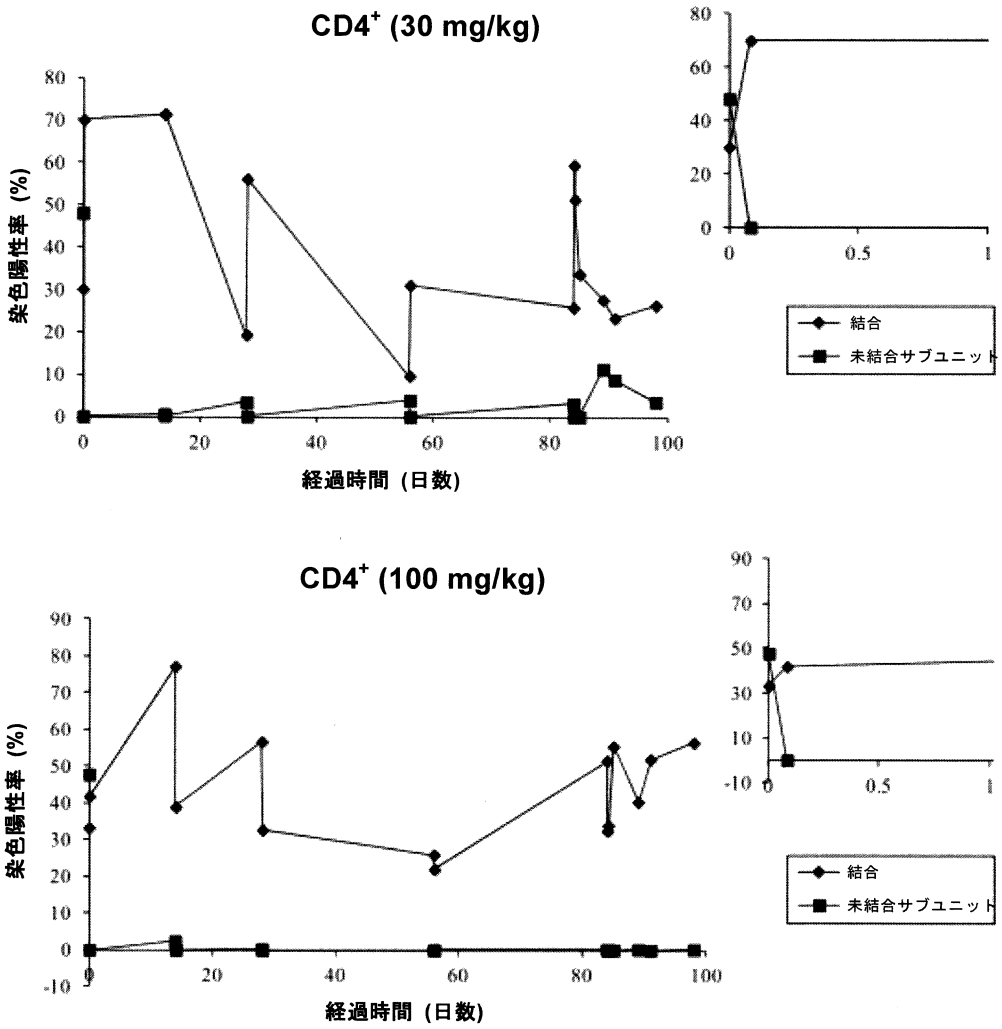


図 2.6.4.8-10　ウサギに MLN0002 隔週 12 週間反復投与後の PD パラメータ平均値（雌雄統合）

出典：4.2.2.7-8 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-10　各群雌雄各 5 匹の New Zealand white ウサギに、MLN0002 を 2 週間に 1 回で 12 週間（84 日目が最終投与日）、60 分間持続静注した。30 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 48024）が 14 日目に、100 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 48031）が 42 日目に死亡した。98 日目に、30 mg/kg 群の全動物及び 100 mg/kg 群の雌雄各 3 匹を安楽死させた（主試験剖検）。MLN0002 はほとんどのウサギにおいて免疫原性を示した。RAHA は MLN0002 の PD に影響を及ぼし、30 mg/kg 群で最も顕著な影響が認められた。パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。

2.6.4.8.2.2 サルに MLN0002（製造法 A 製剤）を 2 週間反復静脈内投与した後の TK、PD 及び PAHA

：添付資料番号 4.2.2.7-9、-10、-11、-12（参考）

雌雄各 3 匹のカニクイザルを用いて GLP 適用での反復投与毒性試験を実施し、MLN0002 を 2.5 mg/kg の用量で 60 分間（1 日目）、30 分間（2 日目）、あるいは 15 分間（3～14 日目）持続静注した（概要表 2.6.7.2 及び 2.6.7.3；4.2.2.7-9 報告書番号[redacted]、4.2.2.7-10 報告書番号[redacted]及び 4.2.2.7-11 報告書番号[redacted]。GLP 非適用での TK 及び PD 測定のために、全血試料を 29 日間、継続的に採取した（14、18 及び 29 日目に雌雄各 1 匹を安楽死させた）。PAHA については評価しなかった。

試料採取が限定的であったことから、TKパラメータ値は算出しなかった。血清中MLN0002濃度は初回投与直後にすみやかに増加し、投与期間全体を通じて高いレベルを維持した（図2.6.4.8-11）。14日目の血清中C_{max}（331 μg/mL）は、15分間の持続静注終了時点から5分後に測定した（14日目の投与後の初回採取タイムポイント）（概要表2.6.5.16；4.2.2.7-12報告書番号[redacted]）。投与期間終了後、MLN0002濃度は緩やかに低下した。PD作用が試験期間全体を通じて示された。すなわち、未結合$\alpha_4\beta_7$サブユニットの染色陽性率は、投与直後に大幅に低下し、最終投与後14日間にわたって低い陽性率が維持された。

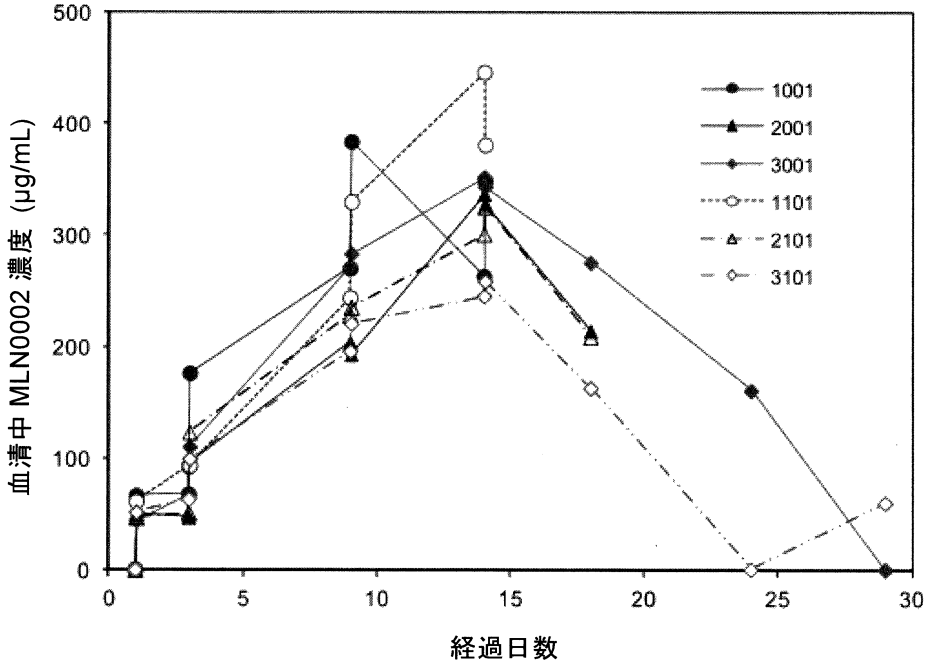


図 2.6.4.8-11　カニクイザルに MLN0002 1日1回2週間反復投与後の個々の濃度-時間曲線

出典：4.2.2.7-9 報告書番号[redacted]、4.2.2.7-10 報告書番号[redacted]及び4.2.2.7-11 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-11　雌雄各3匹のカニクイザルに、MLN0002を2.5 mg/kgの用量で60分間（1日目）、30分間（2日目）、及び15分間（3～14日目）静脈内投与した。タイムポイントの計時起点は静注終了時点。PAHAについては評価しなかった。

2.6.4.8.2.3 サルに MLN0002（製造法A及びB製剤）を2週間反復静脈内投与した後の PK、PD 及び PAHA

：添付資料番号 4.2.2.7-13（参考）

雄のカニクイザル4匹を用いてGLP非適用での反復投与によるPK及びPD試験を実施し、MLN0002（製造法A及びB製剤；ロット番号はそれぞれB34-1-1及びMLN0002-801-A）を10 mg/kgの用量で30分間持続静注（1日目）及び静脈内投与（4、8、11及び15日目に約1分間）した（概要表2.6.5.16；4.2.2.7-13報告書番号[redacted]）。PK及びPD測定で使用する全血試料は、1日目の投与前から投与後48時間まで、4、8及び11日目の投与前及び投与後0.5時間、並びに15日目の投与前から投与後168

時間まで採取した。PAHA 試料は 1、4、8、11 及び 15 日目の投与前に採取し、22 日目に 1 回採取した。当該全血試料を遠心分離機にかけ、PK 及び PAHA 測定で使用する血清を調製した。

PAHA 抗体価は ≥ 100 の場合に記録された。MLN0002（製造法 A 製剤）及び MLN0002（製造法 B 製剤）の免疫原性は同等であり、両製剤投与群ともすべての動物で 15 日目までに PAHA が発現した。MLN0002（製造法 A 製剤）及び MLN0002（製造法 B 製剤）の両製剤投与群で観察された最高抗体価はそれぞれ 12,500（動物番号 1002）及び 62,500（動物番号 2003）で、いずれも 22 日目に観察された。MLN0002（製造法 B 製剤）群の 1 匹（動物番号 2003）における PAHA 抗体価（62,500）は中和作用をもたらし、血清中 MLN0002 濃度と PD パラメータの両方に影響を及ぼした。PK 及び PD パラメータ平均値は、すべての動物のデータを使用して計算した。

MLN0002（製造法 B 製剤）群の 1 匹（動物番号 2003）の 22 日目を除き、試験期間全体を通じて、いずれの製剤（製造法 A 又は B 製剤）を投与した動物から採取したすべての試料においても MLN0002 が検出された。MLN0002 の曝露量（C_{max} 又は AUC によって測定）は、初回投与後と最終投与後ともに、MLN0002（製造法 B 製剤）と比較して MLN0002（製造法 A 製剤）の方がわずかに高かった（表 2.6.4.8-9 及び図 2.6.4.8-12）。いずれの製剤においても同等の蓄積が観察され、血清中トラフ濃度（1、4、8、11 及び 15 日目）は、MLN0002（製造法 B 製剤）群の 1 匹（動物番号 2003）を除き、投与を重ねるたびに上昇した（図 2.6.4.8-13）。MLN0002（製造法 B 製剤）群の 1 匹動物番号 2003 では、PAHA によって MLN0002 の CL が亢進した。

試料採取期間が限られていたことから、$t_{1/2}$ は評価しなかった。

表 2.6.4.8-9　雄カニクイザルに MLN0002（製造法 A 及び B 製剤）2 週間反復投与後の PK パラメータ平均値

試験日	製造法	T_{max} (時間)		C_{max} (μg/mL)		AUC_{all} [a] (hr*μg/mL)	
		平均	SD	平均	SD	平均	SD
1	A 製剤	2.5	1.7	300	70.3	16,800	3000
	B 製剤	1.9	1.6	250	21.2	11,700	2350
15	A 製剤	12.4[b]	23.7	749	65.3	73,800	6900
	B 製剤	0.9	0.7	497	238	39,900	26,100

出典：4.2.2.7-13 報告書番号[redacted]

AUC_{all} = 全時点の血中濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高血中濃度；SD = 標準偏差；T_{max} = 最高血中濃度到達時間。

注記：各群 4 匹の動物に、MLN0002 10 mg/kg の 30 分間持続静注（1 日目）及び静脈内投与（4、8、11、及び 15 日目に約 1 分間）を実施した。1 日目のタイムポイントは持続投与終了時を計時起点とした。MLN0002（製造法 B 製剤）を投与した 1 匹（動物番号 2003）では高抗体価で中和作用のある PAHA が観察され、MLN0002 の血清中濃度に対する影響が生じた。パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。

a　1 日目の最終採取時点は 48 時間後、15 日目の最終採取時点は 168 時間後。

b　T_{max} の平均値は、1 匹で T_{max} = 48 時間を示したことにより高値を示した。本投与群の残りの 3 匹の T_{max} は投与 0.5 時間後であった。

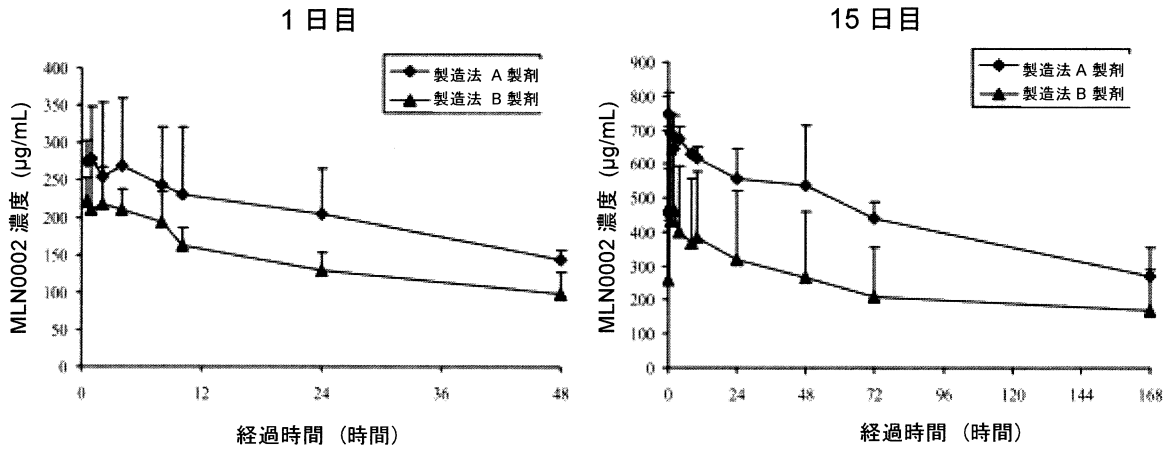


図 2.6.4.8-12　雄カニクイザルに MLN0002（製造法 A 及び B 製剤）2 週間反復投与後の平均血清中濃度-時間曲線

出典：4.2.2.7-13 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-12　各群 4 匹の動物に、MLN0002 10 mg/kg の 30 分間持続静注（1 日目）及び静脈内投与（4、8、11 及び 15 日目に約 1 分間）を実施した。1 日目のタイムポイントは持続静注終了時を計時起点とした。MLN0002（製造法 B 製剤）を投与した 1 匹（動物番号 2003）では、高抗体価かつ中和作用のある PAHA が観察され、MLN0002 の血清中濃度に対する影響が生じた。パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。

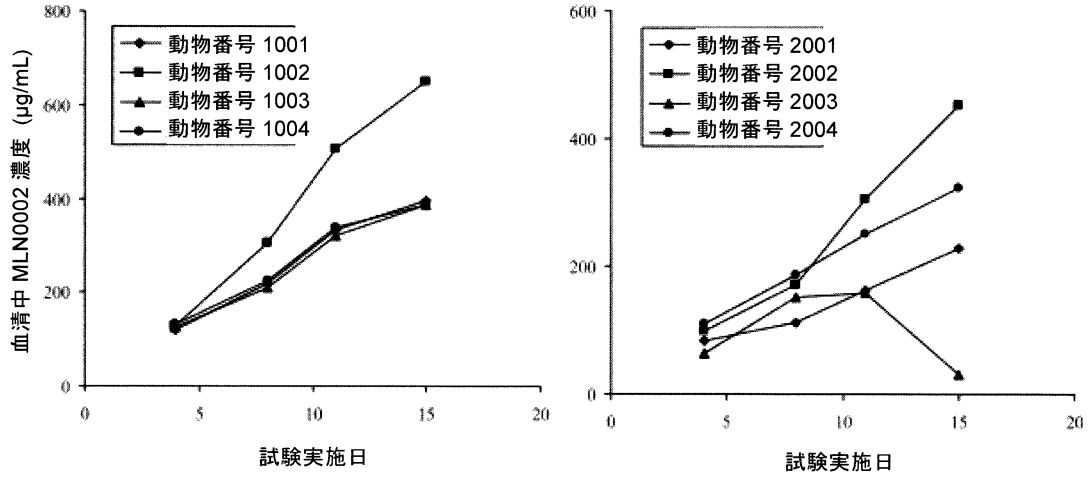


図 2.6.4.8-13　雄カニクイザルに MLN0002（製造法 A 及び B 製剤）2 週間反復投与後の平均トラフ濃度

出典：4.2.2.7-13 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-13　各群 4 匹の動物に、MLN0002 10 mg/kg の 30 分間持続静注（1 日目）及び静脈内投与（4、8、11 及び 15 日目に約 1 分間）を実施した。1 日目のタイムポイントは持続投与終了時を計時起点とした。MLN0002（製造法 B 製剤）を投与した 1 匹（動物番号 2003）では、高抗体価かつ中和作用のある PAHA が観察され、MLN0002 の血清中濃度に対する影響が生じた。パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。

MLN0002（製造法 A 製剤及び製造法 B 製剤）の PD は、$CD4^+$細胞及び$CD8^+$細胞で類似しており、MLN0002（製造法 A 製剤）と MLN0002（製造法 B 製剤）との間に差は認められなかった。

結合 MLN0002 に対して染色陽性を示す $CD4^+$細胞及び $CD8^+$細胞の割合（染色陽性率）は、初回投与後に急速に増加した（図 2.6.4.8-14）。当該陽性率は、投与後 72 時間まで高い陽性率が維持された。染色陽性率は 4、7、11 及び 15 日目の投与前において同程度であった。さらに、結合 MLN0002 に対する細胞の染色陽性率は、4、7、11 及び 15 日目の投与前及び投与 0.5 時間後において同程度であり、最大効果に達していたことが示された。結合 MLN0002 に対して染色陽性を示す細胞の割合（染色陽性率）は、PAHA 抗体価が高かったことに起因して当該陽性率が低めであった MLN0002（製造法 B 製剤）群の 1 匹（動物番号 2003）を除いて、最終投与（15 日目）の投与前及び 7 日後においても同程度であった。

未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニットに対して陽性を示す $CD4^+$細胞及び $CD8^+$細胞の割合（染色陽性率）は、初回投与後に急速に低下した（図 2.6.4.8-15）。これは最終投与（15 日目）後 3 日間維持された。試験最終日である 22 日目（最終投与の 7 日後）の陽性率は、PAHA による中和作用により数値が高めであった MLN0002（製造法 B 製剤）群の 1 匹（動物番号 2003）を除き、両製剤投与群とも軽微に増加したのみであった。

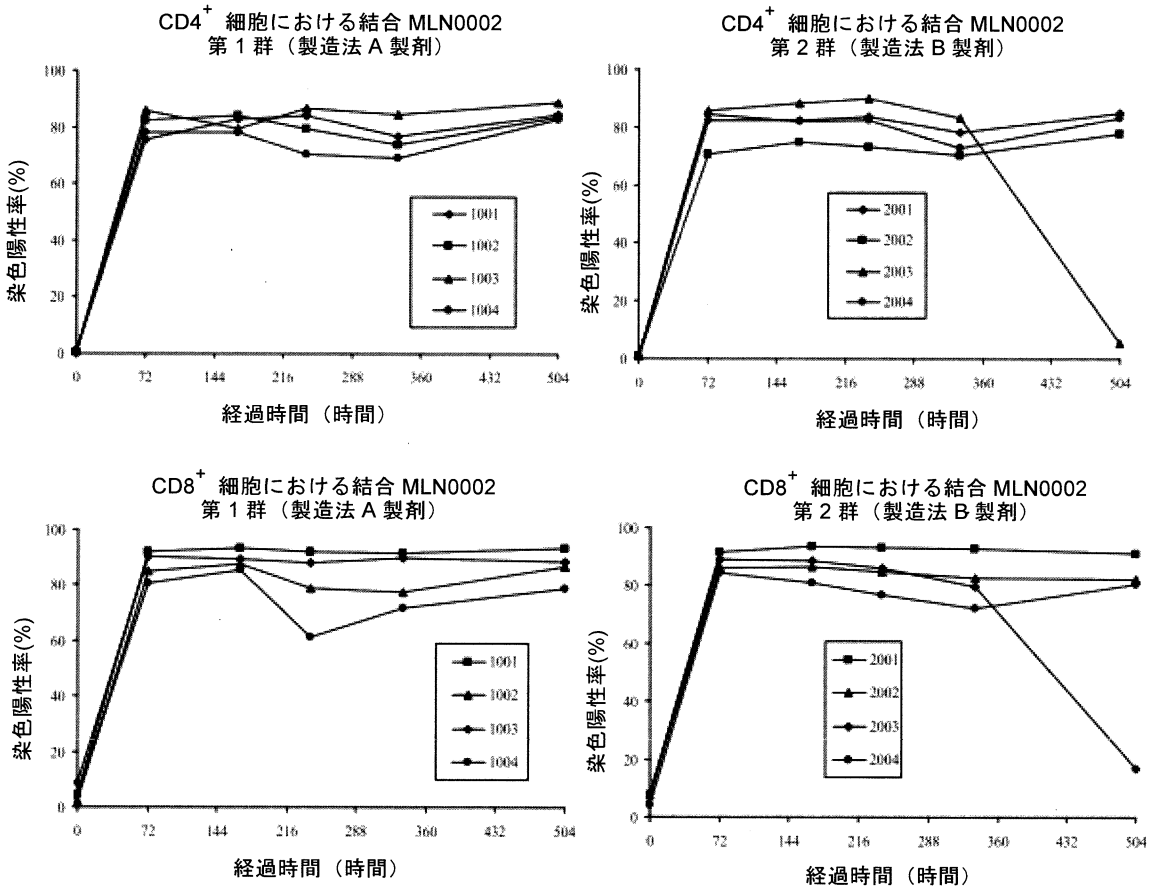


図 2.6.4.8-14　雄カニクイザルに MLN0002（製造法 A 及び B 製剤）2 週間反復投与後の PD パラメータ平均値（結合 MLN0002）

出典：4.2.2.7-13 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-14　各群 4 匹の動物に、MLN0002 10 mg/kg の 30 分間持続静注（1 日目）及び静脈内投与（4、8、11 及び 15 日目に約 1 分間）を実施した。1 日目のタイムポイントは持続静注終了時を計時起点とした。72、168、240 及び 336 時間後（すなわち、次回投与直前）にトラフ値を測定した。504 時間後の試料は、最終投与の 1 週間後に採取した。MLN0002（製造法 B 製剤）を投与した 1 匹（動物番号 2003）は、高抗体価かつ中和作用のある PAHA が観察され、MLN0002 の PD に対する影響がみられた。パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。

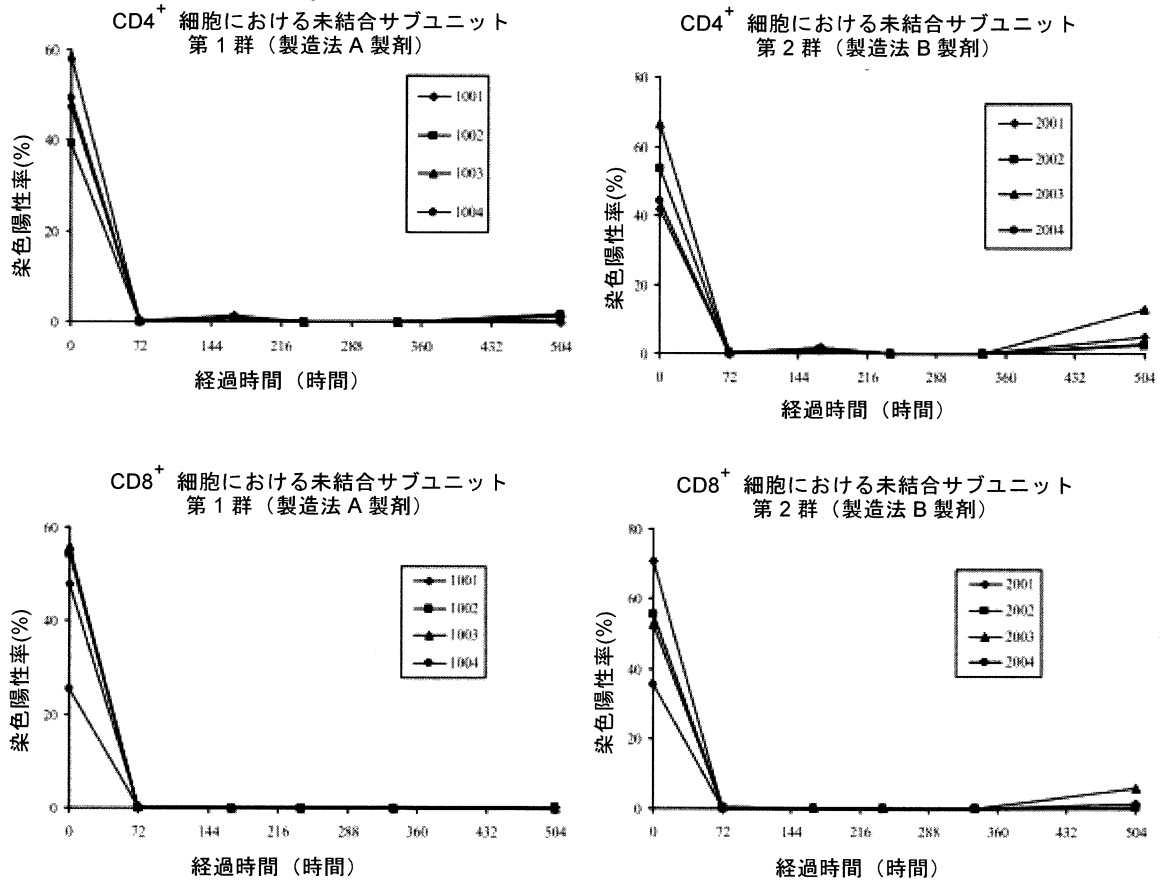


図 2.6.4.8-15　雄カニクイザルに MLN0002（製造法 A 及び B 製剤）2 週間反復投与後の PD パラメータ平均値（未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニット）

出典：4.2.2.7-13 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-15　各群 4 匹の動物に、MLN0002 10 mg/kg の 30 分間持続静注（1 日目）及び静脈内投与（4、8、11 及び 15 日目に約 1 分間）を実施した。1 日目のタイムポイントは持続静注終了時を計時起点とした。72、168、240 及び 336 時間後（すなわち、次回投与直前）にトラフ値を測定した。504 時間後の試料は、最終投与の 1 週間後に採取した。MLN0002（製造法 B 製剤）を投与した 1 匹（動物番号 2003）では、高抗体価かつ中和作用のある PAHA が観察され、MLN0002 の PD に対する影響がみられた。パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。

以上のように、2 種類の製剤間で、PK／PD／PAHA にわずかな差が観察されたが、そのプロファイルはほぼ同様であった。すなわち、MLN0002 の曝露量は、MLN0002（製造法 A 製剤）投与後よりも MLN0002（製造法 B 製剤）投与後の方がやや低かった。免疫原性は、両製剤とも類似していたが、PAHA による中和作用が MLN0002（製造法 B 製剤）を投与したサル 1 匹のみで観察された。PD は両製剤ともに類似していた。

2.6.4.8.2.4 サルに MLN0002（製造法 A 製剤）を 13 週間反復静脈内投与した後の TK、PD 及び PAHA

：添付資料番号 4.2.2.7-14（参考）

GLP 適用での 13 週間反復投与毒性試験を実施し、MLN0002 を 0（生理食塩液）、2.5 又は 10 mg/kg の用量で、1 日目に 30 分間持続静注し、その後は静脈内投与した（概要表 2.6.7.2 及び 2.6.7.3；4.2.2.7-14 報告書番号[redacted]。0 mg/kg 群及び 10 mg/kg 群では、1 週目に 2 回投与し（1 日目及び 4 日目）、その後は 12 週目まで週 1 回投与した。2.5 mg/kg

群では、1 週目に 1 日 1 回投与し、2 週目から 4 週目までは週 2 回、その後は 12 週目まで週 1 回投与した。試験期間を通じて全血試料を継続的に採取し、TK、PD 及び PAHA を評価した（GLP 非適用）。主試験剖検を 86 日目に実施し（0 mg/kg 群及び 10 mg/kg 群は雌雄各 2 匹、2.5 mg/kg 群は雌雄各 3 匹）、回復性試験剖検を 156 日目に実施した（0 mg/kg 群及び 10 mg/kg 群の雌雄各 3 匹）。当該全血試料を遠心分離機にかけ、TK 及び PAHA 測定で使用する血清を調製した。

血清中濃度又は TK パラメータに顕著な性差は認められなかった。0 mg/kg 群の試料中の MLN0002 濃度はいずれも BQL で、PAHA は陰性を示した。

PAHA は 15 日目から観察され、MLN0002（2.5 mg/kg 及び 10 mg/kg）を投与した 16 匹中 16 匹で検出された。PAHA は中和作用をもたらし、2.5 mg/kg 群の 6 匹中 2 匹、10 mg/kg 群の 10 匹中 6 匹で TK 及び PD パラメータに影響を及ぼした。PAHA による中和作用が観察された場合、当該動物のデータは TK 及び PD 解析から除外した。

MLN0002 の曝露量（C_{max} 又は AUC によって測定）は、ほぼ用量に比例して増加した（表 2.6.4.8-10）。

表 2.6.4.8-10　カニクイザルに MLN0002（製造法 A 製剤）週 2 回 13 週間反復投与後の TK パラメータ平均値（雌雄統合）

試験日	MLN0002 (mg/kg)	n	$t_{1/2}$ (時間)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*μg/mL)	$AUC_{0\text{-}1680hr}$ (hr*μg/mL)
85	2.5	4	N/A[a]	275 (82.2)	4960 (1460)	N/A
	10	4	540 (251)	770 (132)	13,300 (1680)	310,000 (98,600)

出典：4.2.2.7-14 報告書番号[redacted]

$AUC_{0\text{-}24hr}$ = 0 時間から 24 時間の血中濃度-時間曲線下面積；$AUC_{0\text{-}1680hr}$ = 0 時間から 1680 時間の血中濃度-時間曲線下面積；N/A = 該当せず；SD = 標準偏差；$t_{1/2}$ = 半減期。

注記：結果は平均値±SD。0 mg/kg 群及び 10 mg/kg 群では、1 週目は 2 回投与し（1 日目及び 4 日目）、その後は 12 週目まで週 1 回投与した。2.5 mg/kg 群では 1 週目は 1 日 1 回投与し、2 週目から 4 週目までは週 2 回、その後は 12 週目まで週 1 回投与した。2.5 mg/kg 群の 6 匹中 2 匹、10 mg/kg 群の 10 匹中 6 匹において PAHA は中和作用を示し、TK 及び PD に影響を及ぼした。当該動物のデータは TK 解析から除外した。

a　該当せず（回復群が設定されていないため）。

PAHA が中和作用を示さなかった動物では、結合 MLN0002 に対して陽性を示す $CD4^+/CD45R^+RO^+$ 細胞の割合（染色陽性率）は、初回投与直後に急速に増加し、試験期間全体を通じて高い陽性率を維持した。未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニットに対して陽性を示す $CD4^+/CD45R^+RO^+$ 細胞の割合（染色陽性率）は、初回投与直後に急速に低下し、試験期間全体を通じて低い陽性率が維持された。

2.6.4.8.2.5 サルに MLN0002（製造法 B 製剤）を 13 週間反復静脈内投与した後の TK、PD 及び PAHA

：添付資料番号 4.2.2.7-15（評価）

GLP 適用での反復投与毒性試験を実施し、カニクイザルに MLN0002 を 0（生理食塩液）、10、30 又は 100 mg/kg の用量で、2 週に 1 回、13 週間（1、15、29、43、57、71 及び 85 日目）、10 分間持続静注した（概要表 2.6.7.2 及び 2.6.7.3；4.2.2.7-15 報告書番号[redacted] TK 及び PD 測定で使用する全血試料は、1 日目の投与前から投与開始後 240

時間まで、15、29及び57日目の投与前、並びに85日目の投与前から投与開始後336時間まで採取し、また、106、120、134、148、162及び176日目に1回ずつ採取した。PAHA試料は1、8、15、29、57及び92日目の投与前に採取し、106、120、134、148、162及び176日目に1回ずつ採取した。主試験に割り付けたサルの剖検は92日目に実施し（各群雌雄各4匹）、回復性試験に割り付けたサルの剖検は176日目に実施した（各群雌雄各2匹）。当該全血試料を遠心分離機にかけ、TK及びPAHA測定で使用する血清を調製した。

血清中濃度又はTKパラメータに顕著な性差は認められなかった。0 mg/kg群の試料中のMLN0002濃度はいずれもBQLであり、PAHAは陰性を示した。

10 mg/kg群の12匹中12匹、30 mg/kg群の12匹中12匹、100 mg/kg群の12匹中11匹に、少なくとも2連続の試料で抗体価≥300となるPAHAが観察された。投与量と抗体価あるいは最高抗体価が観察されたタイムポイントの間に関連は認められなかった。10 mg/kg群、30 mg/kg群及び100 mg/kg群で観察された最高抗体価は、それぞれ312,500、312,500及び62,500であり、それぞれ29～134日目、92～106日目及び29日目に観察された。≥300の抗体価が最初に観察されたのは、10 mg/kg群で8日目、30 mg/kg及び100 mg/kg群では29日目であり、いずれの群においても176日目まで認められた。したがって、MLN0002はほとんどの動物で免疫原性を示した。PAHAはMLN0002のTK及びPDに影響を及ぼし、低用量（10 mg/kg）で最も顕著な影響が認められた。なお、TK及びPDパラメータ平均値は、すべての動物のデータを使用して計算した。

10 mg/kg群では、主試験に割り付けた12匹中4匹で最終投与後7日間（剖検日）、回復性試験に割り付けた4匹中1匹では最終投与後91日間にわたりMLN0002が検出され、30 mg/kg群では、主試験に割り付けた12匹中8匹で最終投与後7日間、回復性試験に割り付けた4匹中1匹では最終投与後91日間にわたりMLN0002が検出された。一方、100 mg/kg群では、主試験に割り付けた全例で最終投与後7日間、また、回復性試験に割り付けた全例で最終投与後91日間にわたり、MLN0002が検出された。

初回投与後、MLN0002の曝露量（C_{max}又はAUCによって測定）は、概ね用量に比例して増加した（表2.6.4.8-11及び図2.6.4.8-16）。最終投与（85日目）後、MLN0002の曝露量は用量に比例して増加したが、低用量ではPAHAによる中和作用が高頻度で認められたことから、この増加は用量比を上回っていた。100 mg/kg群では、反復投与による蓄積が認められた。試料採取期間が限られていたことから、$t_{1/2}$は評価しなかった。

表 2.6.4.8-11　カニクイザルに MLN0002 隔週 13 週間反復投与後の TK パラメータ平均値

試験日	MLN0002 (mg/kg)	雌雄	n	T_{max} (時間)		C_{max} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}168hr}$ (hr*μg/mL)		$AUC_{0\text{-}336hr}$ (hr*μg/mL)	
				平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD
1	10	雌雄統合	12	0.5	0.1	300	66.3	22,500	1820	32,500	4690
		雄	6	0.6	0.2	291	30.4	19,400	8440	31,100	5600
		雌	6	0.5	0.0	308	92.5	22,000	2060	33,900	3580
	30	雌雄統合	12	0.6	0.2	911	450	72,400	19,600	117,000	30,900
		雄	6	0.6	0.2	1030	634	76,200	27,700	123,000	43,700
		雌	6	0.7	0.3	791	93.4	68,600	6640	111,000	11,000
	100	雌雄統合	12	1.8	3.4	3010	729	255,000	39,300	406,000	60,700
		雄	6	2.5	4.7	3100	786	266,000	786	426,000	62,600
		雌	6	1.2	1.4	2920	728	245,000	41,200	387,000	56,900
85	10	雌雄統合	12	0.6	0.2	150	172	12,100	18,500	28,400[b]	35,800
		雄	6	0.7	0.3	51.6	57.8	117	141	126[b]	N/A
		雌	6	0.5	0.0	249	195	24,100	20,200	56,800[b]	N/A
	30	雌雄統合	12[a]	1.2	2.2	902	377	71,700	58,300	110,000[b]	122,000
		雄	6	1.8	3.0	971	416	83,100	62,600	140,000[b]	N/A
		雌	6	0.5	0.0	833	358	58,000	56,200	81,100[b]	N/A
	100	雌雄統合	12	1.2	1.3	5070	875	490,000	89,300	834,000[b]	142,000
		雄	6	1.9	1.6	5340	975	531,000	80,500	724,000[b]	N/A
		雌	6	0.5	0.0	4800	749	450,000	84,400	944,000[b]	N/A

出典：4.2.2.7-15 報告書番号[redacted]

$AUC_{0\text{-}168hr}$ = 0 時間から 168 時間の血中濃度-時間曲線下面積；$AUC_{0\text{-}336hr}$ = 0 時間から 336 時間の血中濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高血中濃度；SD = 標準偏差；T_{max} = 最高血中濃度到達時間；N/A = 該当せず。

注記：結果は平均値±SD。タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。カニクイザルに、MLN0002 を 10、30 又は 100 mg/kg の用量で 2 週に 1 回、10 分間持続静注した。MLN0002 はほとんどのサルにおいて免疫原性を示した。PAHA は MLN0002 の TK に影響を及ぼし、10 mg/kg で最も顕著な影響が認められた。パラメータ平均値は、すべての動物のデータを使用して計算した。

a　n = 11（$AUC_{0\text{-}168hr}$）。

b　85 日目では回復性試験に割り付けた動物のデータを使用して計算した。雌雄各 n = 2（雌雄統合 n=4）。

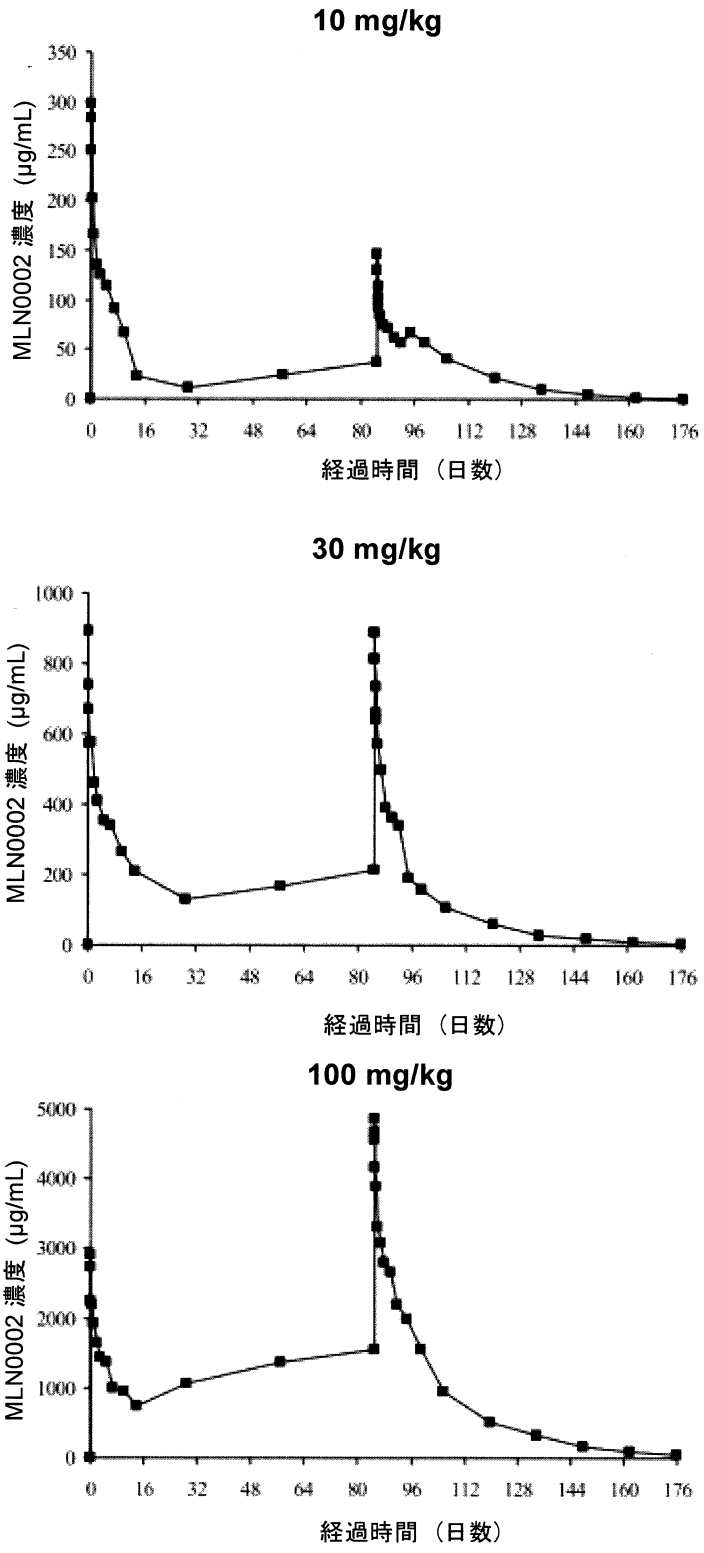


図 2.6.4.8-16　カニクイザルに MLN0002 隔週 13 週間投与後の平均血清中濃度-時間曲線（雌雄統合）

出典：4.2.2.7-15 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-16　タイムポイントの計時起点は持続静注開始時点。カニクイザルに、MLN0002 を 10、30 又は 100 mg/kg の用量で 2 週に 1 回、10 分間持続静注した。92 日目まで n = 12（ただし 30 mg/kg 群の 92 日目の 168 時間タイムポイントは n = 11）、95～176 日目まで n = 4。15、29 及び 57 日目の試料採取は投与前のみ実施した。MLN0002 はほとんどのサルにおいて免疫原性を示した。PAHA は MLN0002 の TK に影響を及ぼし、10 mg/kg で最も顕著な影響が認められた。パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。

MLN0002（製造法 B 製剤）の PD は、$CD20^+$、$CD4^+$、及び $CD45^{+/-}$細胞において同様であった（図 2.6.4.8-17、図 2.6.4.8-18 及び図 2.6.4.8-19）。最終投与前及び 12 週間の休薬期間終了時の未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニット又は結合 MLN0002 に対して陽性を示す細胞の割合（染色陽性率）には、用量依存的な傾向が認められた。

結合 MLN0002 に対して陽性を示す $CD4^+/CD45RA^+$ 及び $CD4^+/CD45RA^-$ 細胞の割合（染色陽性率）は、初回投与直後に急速に増加した。染色陽性率は増加を続け、投与 168 時間後（$CD4^+/CD45RA^+$）及び投与 168～336 時間後までの間（$CD4^+/CD45RA^-$）に最高値に達した。85 日目において、10 mg/kg 群では、投与前の染色陽性率が大幅に低下したが、1 日目の投与前値と比較するとより高値であった。$CD4^+/CD45RA^+$ 細胞における染色陽性率は、10 mg/kg 群及び 30 mg/kg 群で急速に増加し、投与後 0.5 時間に最高値に達した。また、100 mg/kg 群の染色陽性率は、投与後 1512 時間（63 日目）に最高値に達した。$CD4^+/CD45RA^-$ 細胞における染色陽性率は、10 mg/kg 群では投与後 336 時間、30 mg/kg 群では投与後 1.0 時間、及び 100 mg/kg 群では投与後 1512 時間に最高値に達した。休薬期間の最終日に、結合 MLN0002 に対して陽性を示す $CD4^+/CD45RA^+$ 及び $CD4^+/CD45RA^-$ 細胞の割合（染色陽性率）は低下したが、85 日目の投与前の値との比較では、同程度、あるいはより高値であった。

未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニットに対して陽性を示す $CD4^+/CD45RA^+$、$CD4^+/CD45RA^-$ 及び $CD20^+$ 細胞の割合（染色陽性率）は、初回投与直後に急速に低下し、試験期間全体を通じて低い陽性率が維持された。

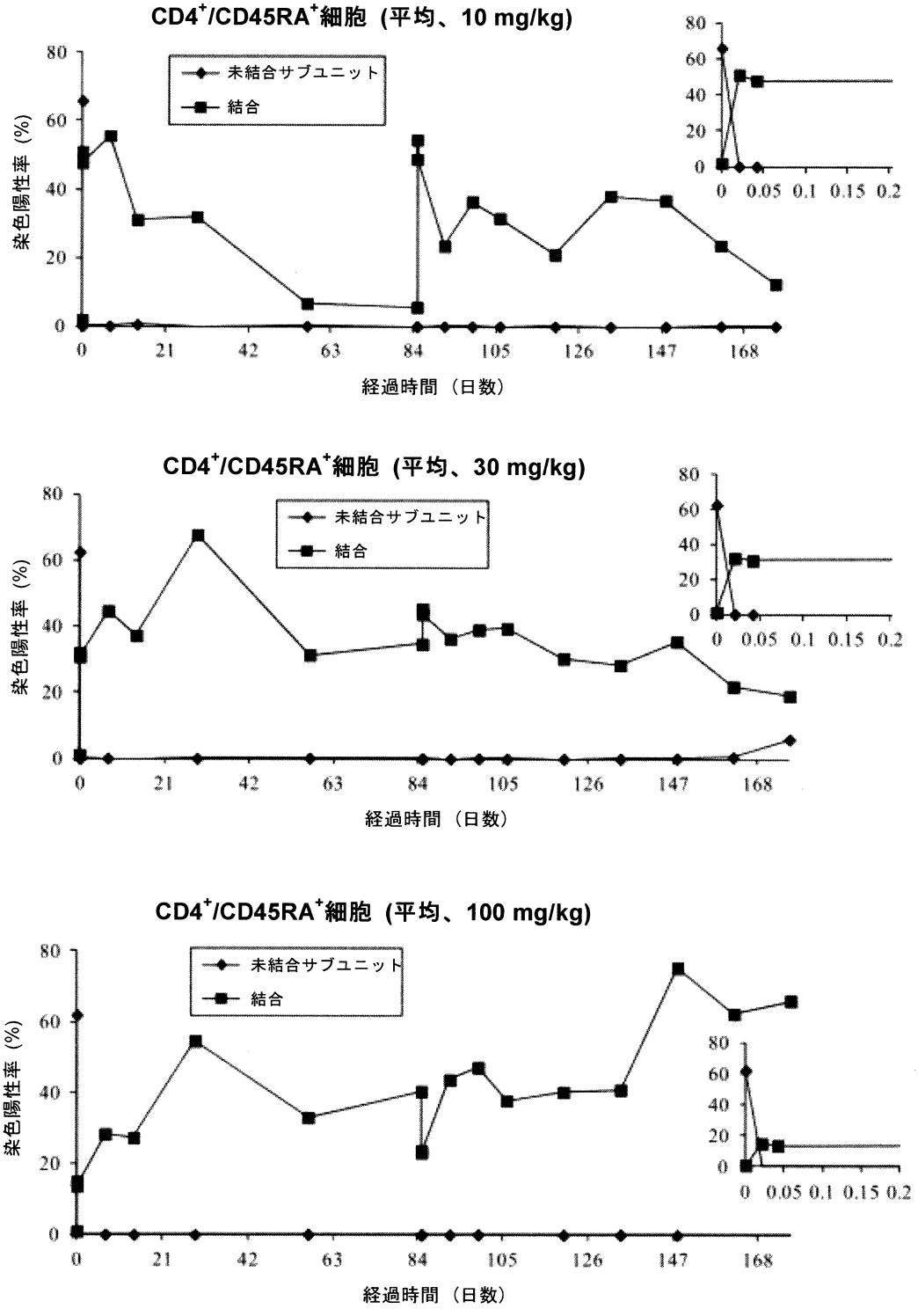


図 2.6.4.8-17　カニクイザルに MLN0002 隔週 13 週間投与後の PD パラメータ平均値（$CD4^+/CD45RA^+$）（雌雄統合）

出典：4.2.2.7-15 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-17　タイムポイントの計時起点は持続静注開始時点。カニクイザルに、MLN0002 を 10、30 又は 100 mg/kg の用量で 2 週に 1 回、10 分間持続静注した。92 日目まで n = 12（ただし 85 日目の 0、0.5、1.0 及び 168 時間の時点 [n = 9] を除く）、95～176 日目まで n = 4。15、29 及び 57 日目の試料採取は投与前のみ実施した。MLN0002 はほとんどのサルにおいて免疫原性を示した。PAHA は MLN0002 の PD に影響を及ぼし、10 mg/kg で最も顕著な影響が認められた。パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。

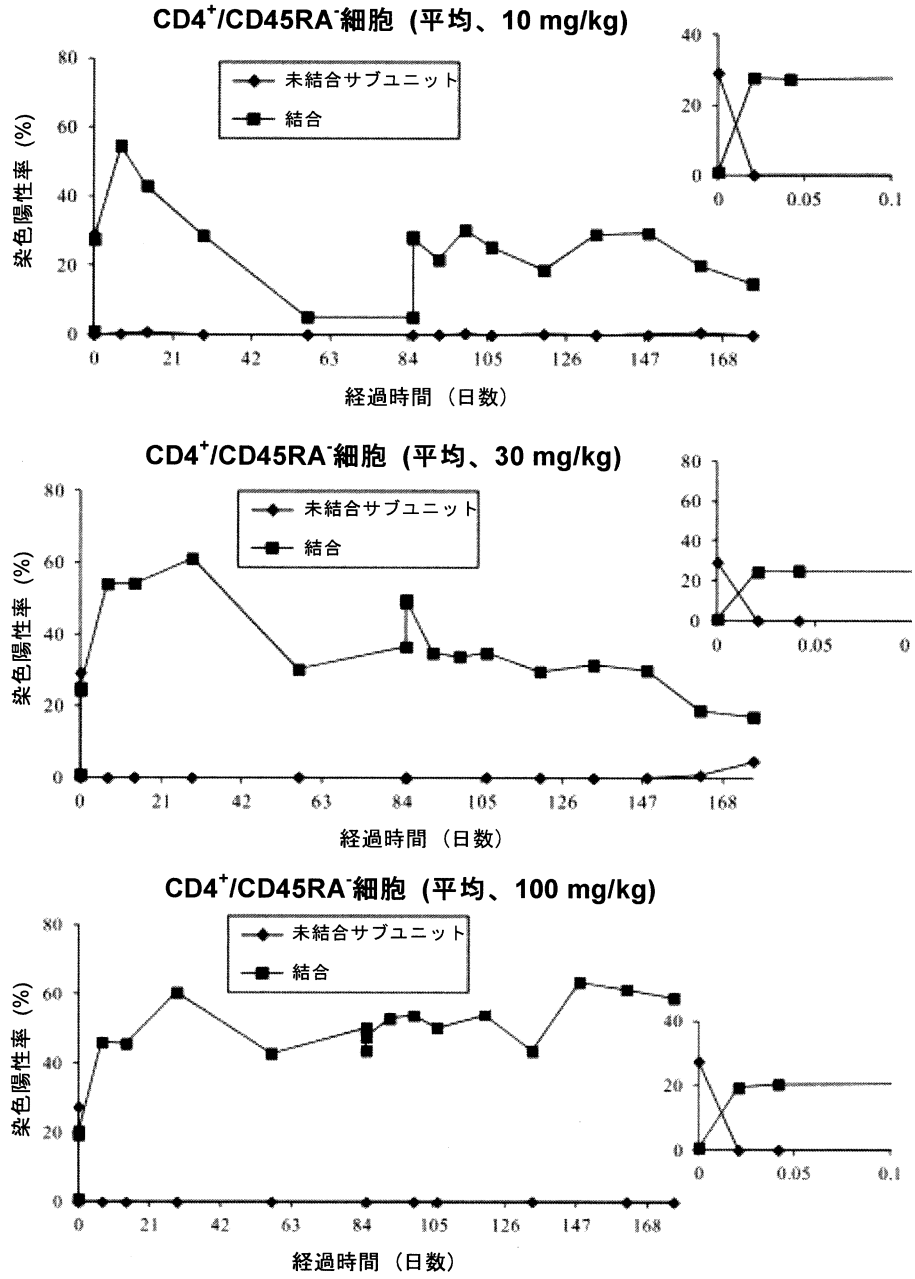


図 2.6.4.8-18　カニクイザルに MLN0002 隔週 13 週間投与後の PD パラメータ平均値
（$CD4^+/CD45RA^-$）（雌雄統合）

出典：4.2.2.7-15 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-18　タイムポイントの計時起点は持続静注開始時点。カニクイザルに、MLN0002 を 10、30 又は 100 mg/kg の用量で 2 週に 1 回、10 分間持続静注した。92 日目まで n = 12（ただし 85 日目の 0、0.5、1.0 及び 168 時間の時点 [n = 9] を除く）、95～176 日目まで n = 4。15、29 及び 57 日目の試料採取は投与前のみ実施した。MLN0002 はほとんどのサルにおいて免疫原性を示した。PAHA は MLN0002 の PD に影響を及ぼし、10 mg/kg で最も顕著な影響が認められた。パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。

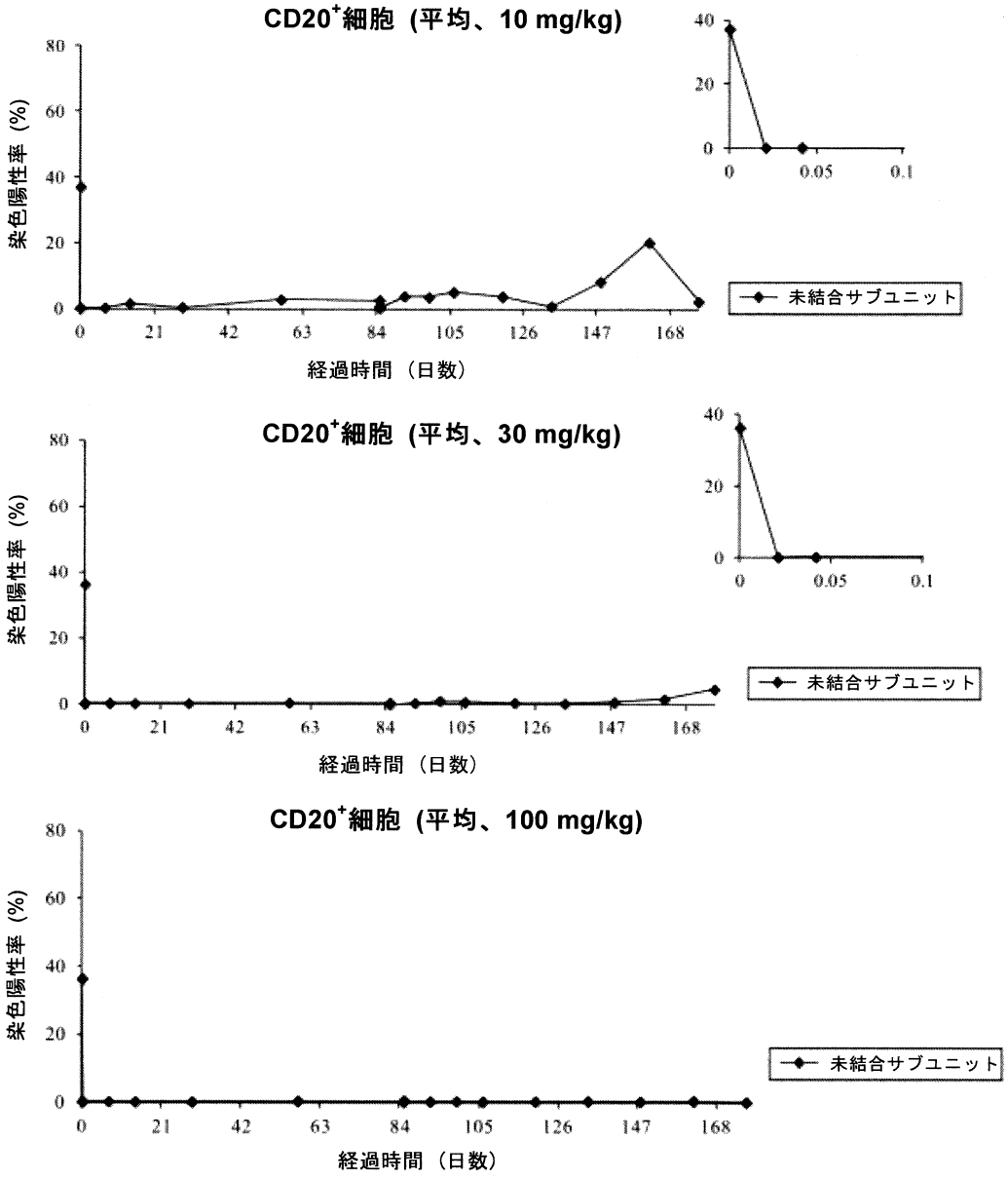


図 2.6.4.8-19　カニクイザルに MLN0002 隔週 13 週間投与後の PD パラメータ平均値（$CD20^+$）（雌雄統合）

出典：4.2.2.7-15 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-19　タイムポイントの計時起点は持続静注開始時点。カニクイザルに、MLN0002 を 10、30 又は 100 mg/kg の用量で 2 週に 1 回、10 分間持続静注した。92 日目まで n = 12（ただし 85 日目の 0、0.5、1.0 及び 168 時間の時点 [n = 9] を除く）、95～176 日目まで n = 4。15、29 及び 57 日目の試料採取は投与前のみ実施した。MLN0002 はほとんどのサルにおいて免疫原性を示した。PAHA は MLN0002 の PD に影響を及ぼし、10 mg/kg で最も顕著な影響が認められた。パラメータの平均値は、すべての動物のデータを用いて計算した。

2.6.4.8.2.6 サルに MLN0002（製造法 B 製剤）を 26 週間反復静脈内投与した後の TK、PD 及び PAHA

：添付資料番号 4.2.2.7-16（評価）

GLP 適用で 26 週間の反復投与毒性試験を実施し、カニクイザルに MLN0002 を 0（生理食塩液）、10、30 又は 100 mg/kg の用量で、26 週間（169 日目まで）、2 週に 1 回、20 分間持続静注した（概要表 2.6.7.2 及び 2.6.7.3；4.2.2.7-16 報告書番号[redacted]）。雌雄各 6 匹を 0 mg/kg 群及び 100 mg/kg 群に、雌雄各 4 匹を 10 mg/kg 群及び 30 mg/kg 群に割り付けた。TK 及び PD 測定で使用する全血試料は、1 日目及び 169 日目の投与前から各投与開始後 336 時間及び 333 時間まで、85 日目及び 141 日目の投与前及び投与終了直後に継続的に採取し、211、239 及び 262 日目には 1 回ずつ採取した。PAHA 試料は、1、85、141 及び 169 日目の投与前に採取し、211、239 及び 262 日目には 1 回ずつ採取した。主試験に割り付けたサルの剖検は 183 日目（各群雌雄各 4 匹）、回復性試験に割り付けたサルの剖検は 264 日目（各群雌雄各 2 匹（0 mg/kg 群及び 100 mg/kg 群のみ））に実施した。当該全血試料を遠心分離機にかけ、TK 及び PAHA 測定で使用する血清を調製した。

血清中濃度又は TK パラメータに顕著な性差は認められなかった。0 mg/kg 群の試料の MLN0002 濃度はすべて BQL で、PAHA は陰性を示した。

PAHA 抗体価は ≥ 100 の場合に記録された。ほとんどの動物において MLN0002 は免疫原性を示した。顕著かつ持続的な PAHA 抗体価が認められた動物では、血清中 MLN0002 濃度が低下することが確認された。PAHA は MLN0002 の TK 及び PD に対する中和作用を示し、低用量（10 mg/kg）で最も顕著な影響が認められた。

10 mg/kg 群の 8 匹中 4 匹、30 mg/kg 群の 8 匹中 3 匹は、中和作用を示す顕著な PAHA 反応がみられたため、TK 及び PD 解析から除外した。100 mg/kg 群では、雄 1 匹の 1 タイムポイント、雌 1 匹の 2 タイムポイントにおいて、PAHA 抗体価が 12,500 に達したが、当該抗体価は持続的なものではなく、2500 まで低下した。これら 2 匹において、明らかな中和作用は認められなかった。

投与量と抗体価、あるいは最高抗体価が観察されたタイムポイントの間に関連は認められなかった。10、30 及び 100 mg/kg 群で観察された最高抗体価は、それぞれ 62,500、62,500 及び 12,500 で、10 mg/kg 群及び 30 mg/kg 群では 85～183 日目まで、100 mg/kg 群では 85 日目及び 141 日目に観察された。抗体価 ≥ 500 を示す個体は、いずれの投与量でも 85 日目からみられ、10 mg/kg 群の 8 匹中 7 匹、30 mg/kg 群の 8 匹中 7 匹、100 mg/kg 群の 12 匹中 10 匹で観察された。100 mg/kg 群では、最終投与（169 日目）の 93 日後に 4 匹中 3 匹で、PAHA 抗体価≥ 500 が認められた。

初回投与後及び最終投与後の MLN0002 の曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}336hr}$ 又は $AUC_{0\text{-}333hr}$）は、ほぼ用量に比例して増加した（表 2.6.4.8-12 及び図 2.6.4.8-20）。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}336hr}$ は、すべての投与量で、初回投与後と比較して最終投与後において高くなり、反復投与による蓄積が認められた。なお、用量増加とともに、蓄積量も増加した。85、141、169 及び 183 日目（169 日目の 333 時間タイムポイント）の個別及び平均トラフ濃度に基づき、血清中濃度はすべての投与量で 85 日目までに定常状態に達していると考えられた。試料採取期間が限られていたことから、$t_{1/2}$ は評価しなかった。

表 2.6.4.8-12　カニクイザルに MLN0002 隔週 26 週間反復投与後の PK パラメータ平均値（雌雄統合）

試験日	投与量 (mg/kg)	n	T_{max} (時間)		C_{max} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}336hr}$ [a] (hr*μg/mL)	
			平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD
1	10	8	1.4	1.6	296	59.3	38,200	12,400
	30	8	0.9	1.2	946	228	113,000	22,100
	100	12	0.5	0.0	2720	278	376,000	38,100
169	10	3[b]	3.0	4.3	503	60.4	82,500	17,200
	30	5[c]	0.5	0.0	1400	324	232,000	63,800
	100	12	0.5	0.0	5260	1070	876,000	266,000

出典：4.2.2.7-16 報告書番号[redacted]

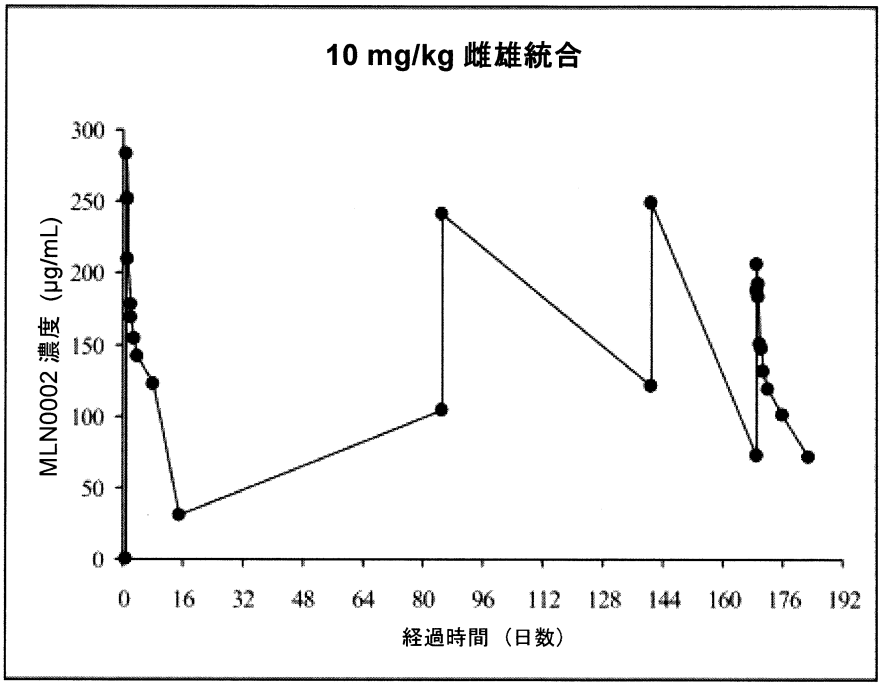
$AUC_{0\text{-}336hr}$ = 0 時間から 336 時間の血中濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高血中濃度；SD = 標準偏差；T_{max} = 最高血中濃度到達時間。

注記：タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。カニクイザルに対し、MLN0002 を隔週で 26 週間、20 分間持続静注した。雌雄各 4 匹を 10 mg/kg 群及び 30 mg/kg 群に、雌雄各 6 匹を 100 mg/kg 群に割り付けた。

a　試料の最終採取時点が投与後 333 時間であることから、169 日目の $AUC_{0\text{-}336hr}$ は $AUC_{0\text{-}333hr}$ である。

b　4 匹（動物番号 2003、2004、2601 及び 2602）に PAHA による顕著な中和作用が認められたことから、当該動物のデータは解析から除外した。1 匹（動物番号 2503）は 85 日目の前に死亡した。

c　3 匹（動物番号 3101、3503 及び 3504）に PAHA による顕著な中和作用が認められたことから、当該動物のデータは解析から除外した。



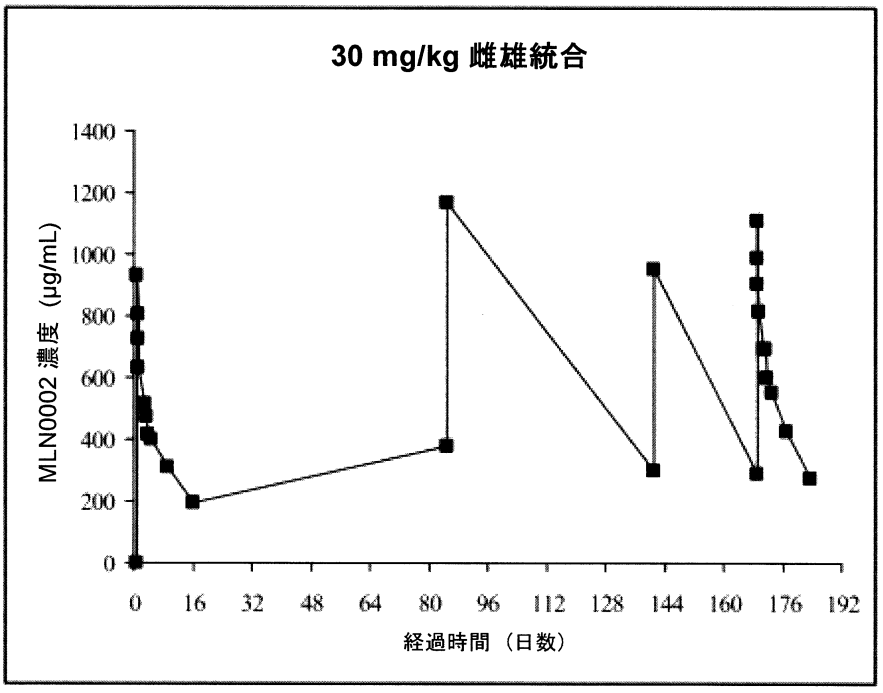


図 2.6.4.8-20　カニクイザルに MLN0002 隔週 26 週間投与後の平均血清中濃度-時間曲線（雌雄統合）

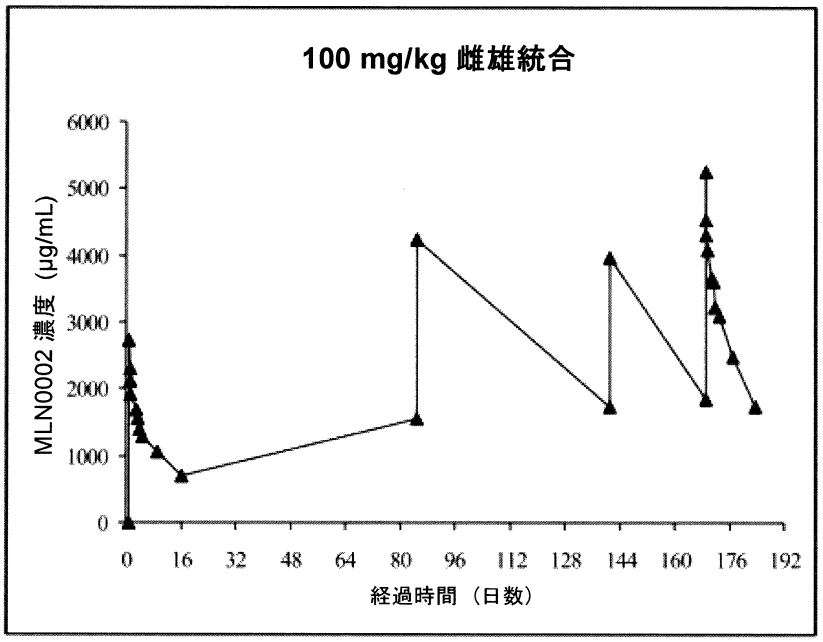


図 2.6.4.8-20　カニクイザルに MLN0002 隔週 26 週間投与後の平均血清中濃度-時間曲線（雌雄統合）（続き）

出典：4.2.2.7-16 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-20　タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。カニクイザルに、MLN0002 を隔週で 26 週間、20 分間持続静注した。雌雄各 4 匹を 10 mg/kg 群及び 30 mg/kg 群に、雌雄各 6 匹を 100 mg/kg 群に割り付けた。10 mg/kg 群の 4 匹（動物番号 2003、2004、2601 及び 2602）に PAHA による顕著な中和作用が認められたことから、当該動物のデータは解析から除外した。また、同群の 1 匹（動物番号 2503）は 85 日目の前に死亡した。30 mg/kg 群の 3 匹（動物番号 3101、3503 及び 3504）に PAHA による顕著な中和作用が認められたことから、当該動物のデータは解析から除外した。85 日目及び 141 日目の試料採取は投与前及び投与直後のみで実施した。

MLN0002 の PD は、検討したリンパ球サブタイプ（$CD4^+/CD45RA^{+/-}$及び $CD20^+$）で同様であった（図 2.6.4.8-21、図 2.6.4.8-22、及び図 2.6.4.8-23）。

結合 MLN0002 に対して陽性を示す $CD4^+/CD45RA^+$及び $CD4^+/CD45RA^-$細胞の割合（染色陽性率）は、初回投与直後に急速に増加し、試験期間全体を通じて高い陽性率が維持された。$\alpha_4\beta_7$ サブユニットは投与直後に MLN0002 によって結合飽和し、100 mg/kg 群のすべての動物において、投与期間及び休薬期間を通じて持続した。

未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニットに対して陽性を示す $CD4^+/CD45RA^+$、$CD4^+/CD45RA^-$、及び $CD20^+$ 細胞の割合（染色陽性率）は、初回投与直後に急速に低下し、試験期間全体を通じて低い陽性率が維持された。

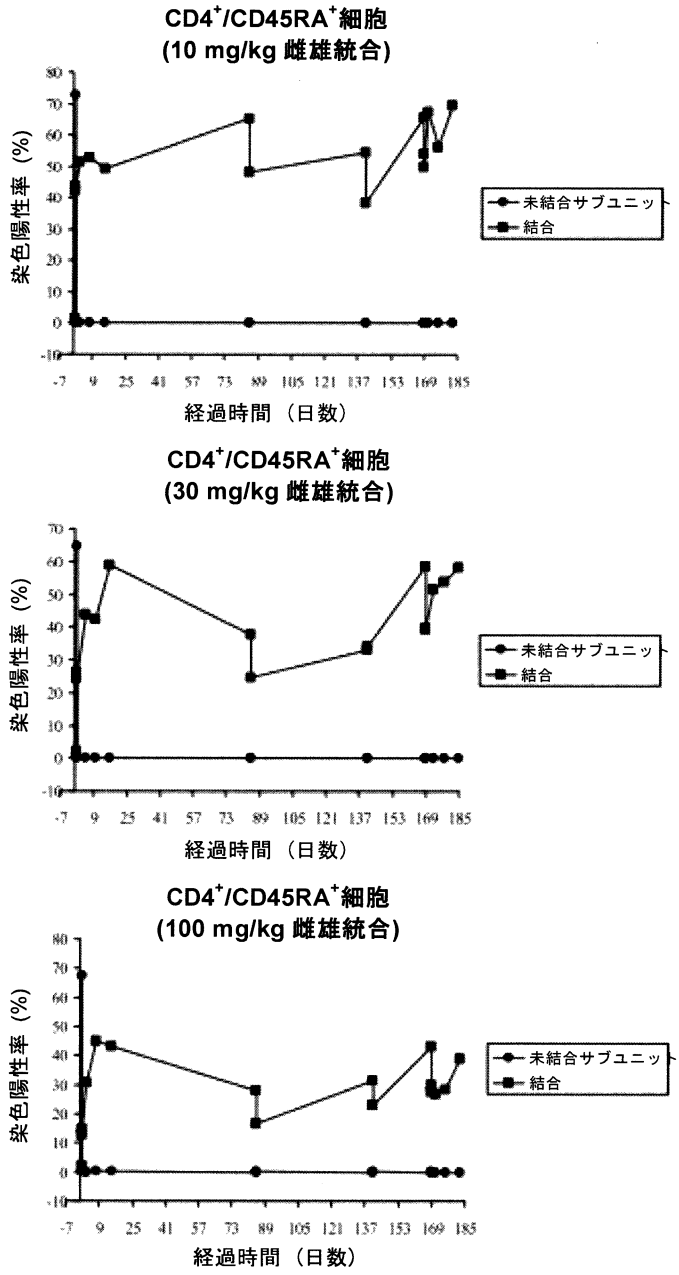
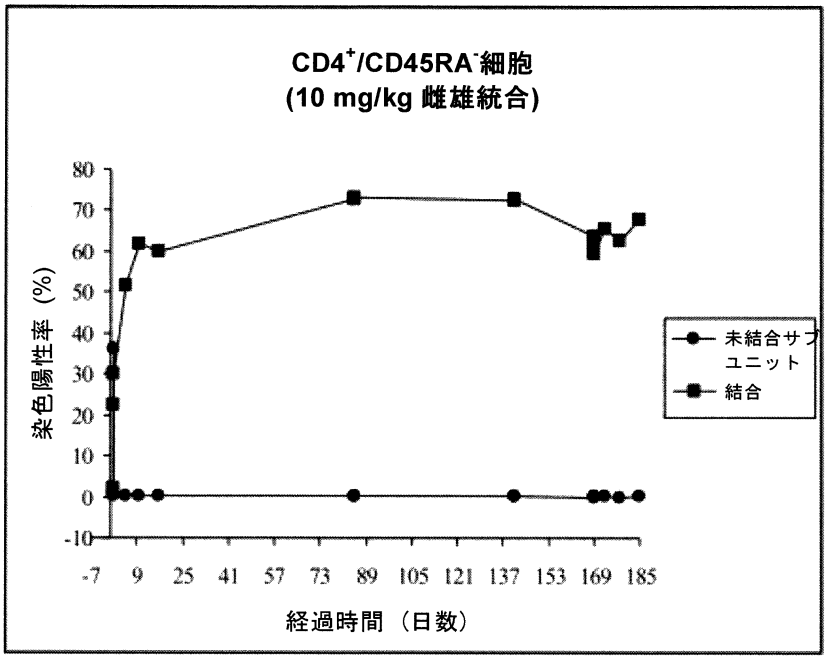


図 2.6.4.8-21　カニクイザルに MLN0002 隔週 26 週間投与後の PD パラメータ平均値
（$CD4^+/CD45RA^+$）（雌雄統合）

出典：4.2.2.7-16 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-21　タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。カニクイザルに、MLN0002 を隔週で 26 週間、20 分間持続静注した。雌雄各 4 匹を 10 mg/kg 群及び 30 mg/kg 群に、雌雄各 6 匹を 100 mg/kg 群に割り付けた。10 mg/kg 群の 4 匹（動物番号 2003、2004、2601 及び 2602）に PAHA による顕著な中和作用が認められたことから、当該動物のデータは解析から除外した。また同群の 1 匹（動物番号 2503）は 85 日目の前に死亡した。30 mg/kg 群の 3 匹（動物番号 3101、3503 及び 3504）に PAHA による顕著な中和作用が認められたことから、当該動物のデータは解析から除外した。85 日目及び 141 日目の試料採取は投与前及び投与直後のみで実施した。



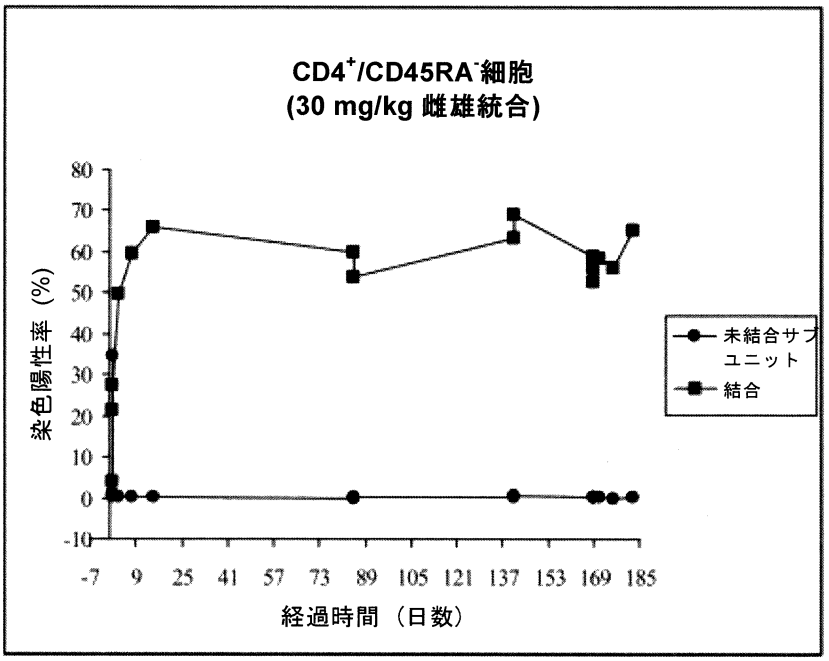


図 2.6.4.8-22　カニクイザルに MLN0002 隔週 26 週間投与後の PD パラメータ平均値（$CD4^+/CD45RA^-$）（雌雄統合）

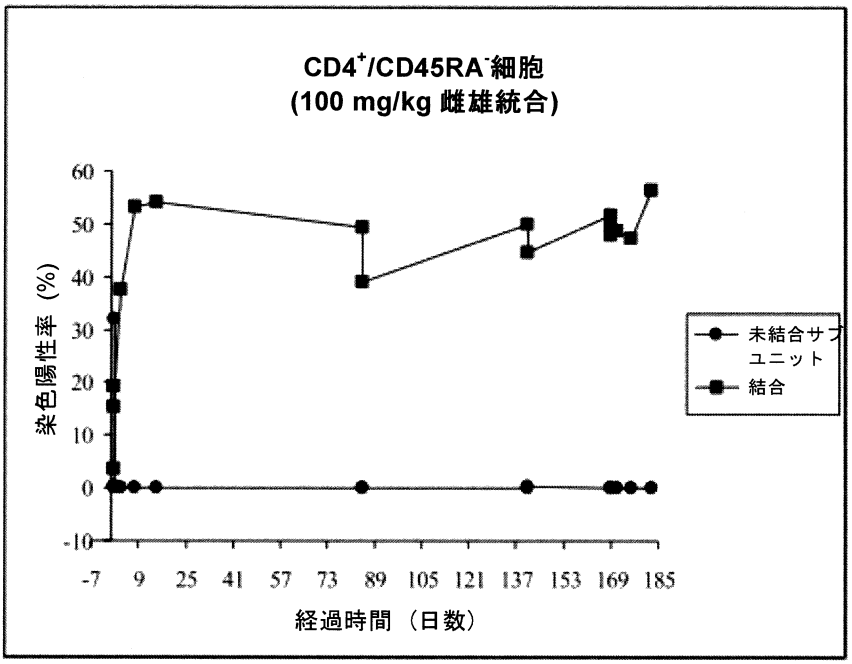
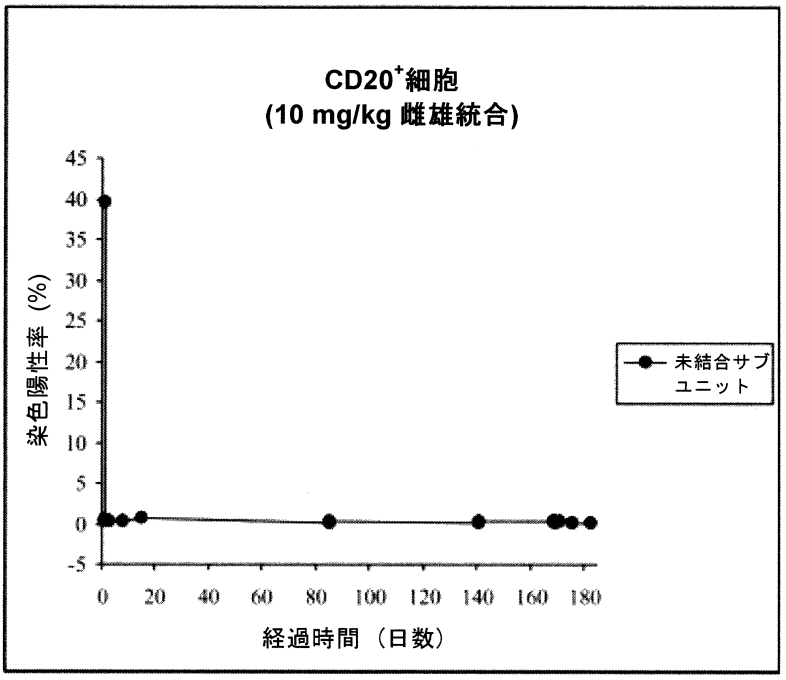


図 2.6.4.8-22　カニクイザルに MLN0002 隔週 26 週間投与後の PD パラメータ平均値（$CD4^+/CD45RA^-$）（雌雄統合）（続き）

出典：4.2.2.7-16 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-22　タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。カニクイザルに、MLN0002 を隔週で 26 週間、20 分間持続静注した。雌雄各 4 匹を 10 mg/kg 群及び 30 mg/kg 群に、雌雄各 6 匹を 100 mg/kg 群に割り付けた。10 mg/kg 群の 4 匹（動物番号 2003、2004、2601 及び 2602）に PAHA による顕著な中和作用が認められたことから、当該動物のデータは解析から除外した。また、同群の 1 匹（動物番号 2503）は 85 日目の前に死亡した。30 mg/kg 群の 3 匹（動物番号 3101、3503 及び 3504）に PAHA による顕著な中和作用が認められたことから、当該動物のデータは解析から除外した。85 日目及び 141 日目の試料採取は投与前及び投与直後のみで実施した。



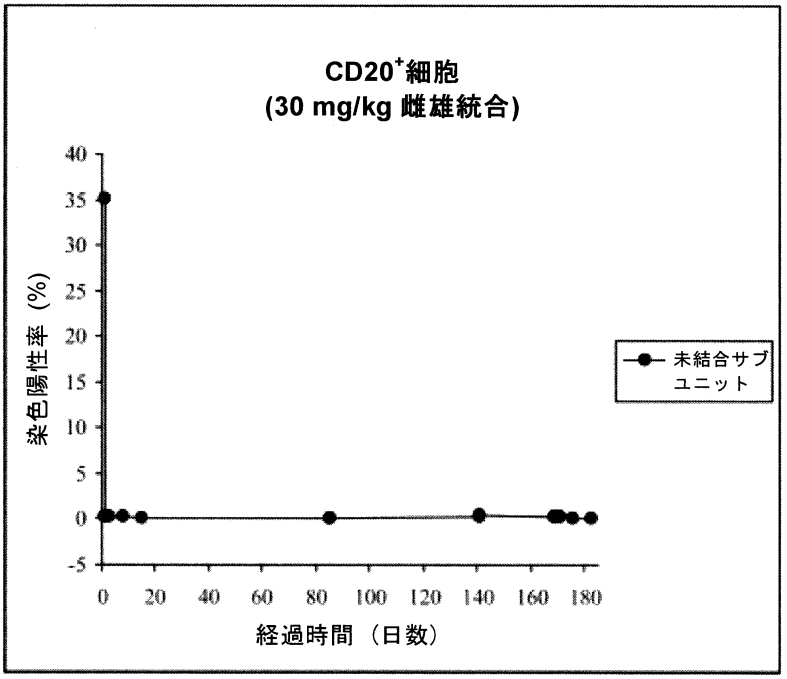


図 2.6.4.8-23　カニクイザルに MLN0002 隔週 26 週間投与後の PD パラメータ平均値（$CD20^+$）（雌雄統合）

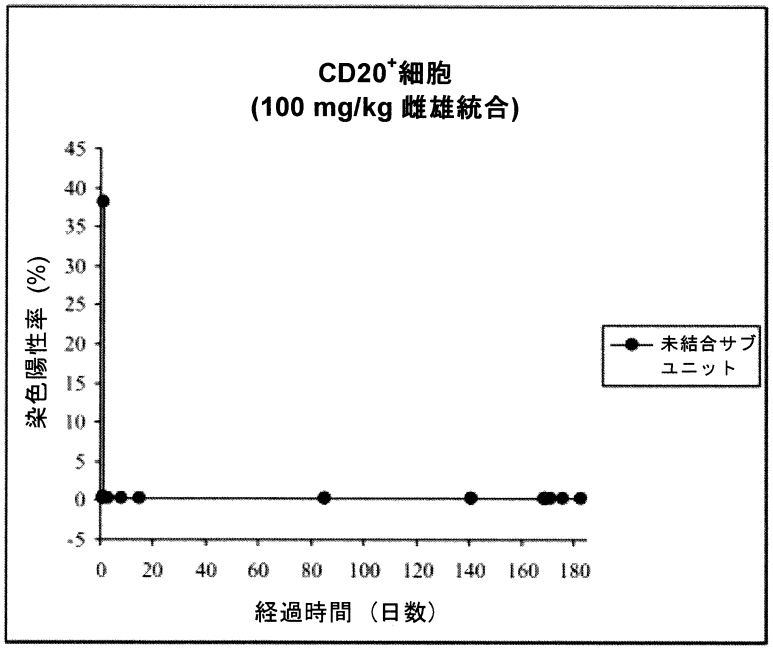


図 2.6.4.8-23　カニクイザルに MLN0002 隔週 26 週間投与後の PD パラメータ平均値（$CD20^+$）（雌雄統合）（続き）

出典：4.2.2.7-16 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-23　タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。カニクイザルに、MLN0002 を隔週で 26 週間、20 分間持続静注した。雌雄各 4 匹を 10 mg/kg 群及び 30 mg/kg 群に、雌雄各 6 匹を 100 mg/kg 群に割り付けた。本剤 10 mg/kg 群の 4 匹（動物番号 2003、2004、2601 及び 2602）に PAHA による顕著な中和作用が認められたことから、当該動物のデータは解析から除外した。また、同群の 1 匹（動物番号 2503）は 85 日目の前に死亡した。30 mg/kg 群の 3 匹（動物番号 3101、3503 及び 3504）に PAHA による顕著な中和作用が認められたことから、当該動物のデータは解析から除外した。85 日目及び 141 日目の試料採取は投与前及び投与直後のみで実施した。

2.6.4.8.2.7 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験でサルに MLN0002（製造法 B 製剤）を反復静脈内投与した後の TK、PD 及び PAHA

：添付資料番号 4.2.2.7-17（評価）

GLP 適用で出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する反復投与試験を実施し、妊娠カニクイザル（12 匹／群）に、妊娠 20 日目から 140 日目まで、MLN0002 を 0（生理食塩液）、10 及び 100 mg/kg の用量で、2 週に 1 回、20～30 分間持続静注した（概要表 2.6.7.2 及び 2.6.7.3；4.2.2.7-17 報告書番号[redacted]）。母体の TK 測定で使用する全血試料は、妊娠 20 日目の投与開始後 336 時間まで、妊娠 132 日目の投与前から投与開始後 336 時間まで、妊娠後 277 日目、並びに分娩後 181 日目（乳仔の剖検日）に継続的に採取した。母体の PD 試料は、妊娠 20 日目及び 132 日目の投与前（妊娠 132 日目のみ）又は投与開始後 0.5 時間から 336 時間まで、妊娠後 277 日目及び分娩後 181 日目に 1 回ずつ、継続的に採取した。母体の PAHA 試料は、妊娠 20 日目の投与前及び投与開始後 4 時間、妊娠 132 日目の投与前並びに投与開始後 168 時間及び 336 時間まで継続的に採取し、妊娠後 277 日目及び分娩後 181 日目には 1 回ずつ採取した。乳仔の試料は、分娩後 28 日目（TK 及び PD 測定用のみ）、120 日目並びに 181 日目に 1 回ずつ採取した。当該全血試料を遠心分離機にかけ、TK 及び PAHA 測定で使用する血清を調製した。なお、PD 測定は GLP 非適用で実施した。

さらに、TK 測定用に、分娩後 28 日目に乳汁を 1 回採取した（2.6.4.6.1）。

0 mg/kg 群の試料における MLN0002 濃度はいずれも BQL で、PAHA は陰性を示した（抗体価が 500 であった 1 匹を除き、いずれも抗体価は＜500 であった）。

MLN0002 は 10 mg/kg 群の 12 匹中 9 匹、100 mg/kg 群の 12 匹中 9 匹で免疫原性を示した（抗体価≥500 が 2 連続の試料で観察された）。投与量と抗体価、あるいは最高抗体価が観察されたタイムポイントの間に関連は認められなかった。10 mg/kg 群及び 100 mg/kg 群で観察された最高抗体価は、それぞれ 312,500 及び 62,500 で、それぞれ妊娠 132～139 日目、及び妊娠 146 日目に観察された。抗体価≥500 を示す個体は、妊娠 132 日目の投与前に初めて観察され、その後、抗体価≥2500 を示す個体が妊娠後 277 日目まで観察された。

PAHA は、MLN0002 の TK 及び PD に影響を及ぼし、10 mg/kg で最も顕著な影響が認められた。10 mg/kg 群の 5 匹（動物番号 13327、13397、13596、13709 及び 13816）では、PAHA による中和反応が認められたことから、当該動物のデータは TK 及び PD パラメータ平均値の計算から除外した。

10 mg/kg 群では、MLN0002 は、9 匹中 4 匹において、最終投与（妊娠 132 日目）後最長 14 日間にわたり検出された。100 mg/kg 群では、MLN0002 は、12 匹中 12 匹において最終投与（妊娠 132 日目）後 14 日間、また 12 匹中 4 匹においては最終投与後 145 日間（妊娠後 277 日目まで）、検出された。MLN0002 への十分な曝露は、投与後、速やかに達成された（表 2.6.4.8-13 及び図 2.6.4.8-24）。初回投与後、血清中の曝露量（C_{max} 又は AUC によって測定）は、ほぼ用量に比例して増加した。最終投与後、曝露量は用量に比例して増加した。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}336hr}$ によって測定した曝露量は、両用量とも妊娠 20 日目と比較して妊娠 132 日目において高値を示し、反復投与による蓄積（約 1.5 倍）が認められた。

分娩後 28 日目において、0 mg/kg 群（7 試料）又は 10 mg/kg 群（7 試料）のカニクイザルの乳汁中に MLN0002 は検出されなかった。一方、100 mg/kg 群の 11 試料中 3 試料において低濃度の MLN0002（0.163～0.267 μg/mL）が検出された。試料採取期間が限られていたことから、$t_{1/2}$ は評価しなかった。

表 2.6.4.8-13　妊娠カニクイザルに妊娠 20～140 日目にわたる MLN0002 隔週投与後の TK パラメータ平均値

妊娠日齢	投与量 (mg/kg)	n	T_{mx} (時間)		C_{max} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}336hr}$ (hr*μg/mL)		$AUC_{0\text{-}3480hr}$ (hr*μg/mL)	
			平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD
20	10	7[a]	1.4	1.2	333	67.4	38,200	7110	N/A	N/A
	100	12	0.9	1.0	2920	291	440,000	48,800	N/A	N/A
132	10	4[a,b]	1.5	1.7	364	61.8	62,200	14,000	105,000	24,100
	100	12	3.4	6.7	4140	1030	692,000	178,000	1,140,000	469,000

出典：4.2.2.7-17 報告書番号[redacted]

$AUC_{0\text{-}336hr}$ = 0 時間から 336 時間の血中濃度-時間曲線下面積; $AUC_{0\text{-}3480hr}$ = 0 時間から 3480 時間の血中濃度-時間曲線下面積; C_{max} = 最高血中濃度；N/A = 該当せず；SD = 標準偏差；T_{max} = 最高血中濃度到達時間。

注記：タイムポイントの計時起点は持続静注終了時点。各群 12 匹の妊娠カニクイザルに、MLN0002 を妊娠 20～140 日目まで、隔週で 20～30 分間持続静注した。

a　10 mg/kg 群の 5 匹（動物番号 13327、13397、13596、13709 及び 13816）は、PAHA 反応が TK に影響を及ぼしていることが確認されたため、当該動物のデータは平均値の計算から除外した。

b　10 mg/kg 群の 1 匹（動物番号 13695）の妊娠 20 日目の投与開始後 168 時間よりも後、10 mg/kg 群の 2 匹（動物番号 13839 及び 13629）の妊娠 20 日目の投与開始後 336 時間よりも後の試料は採取しなかった。

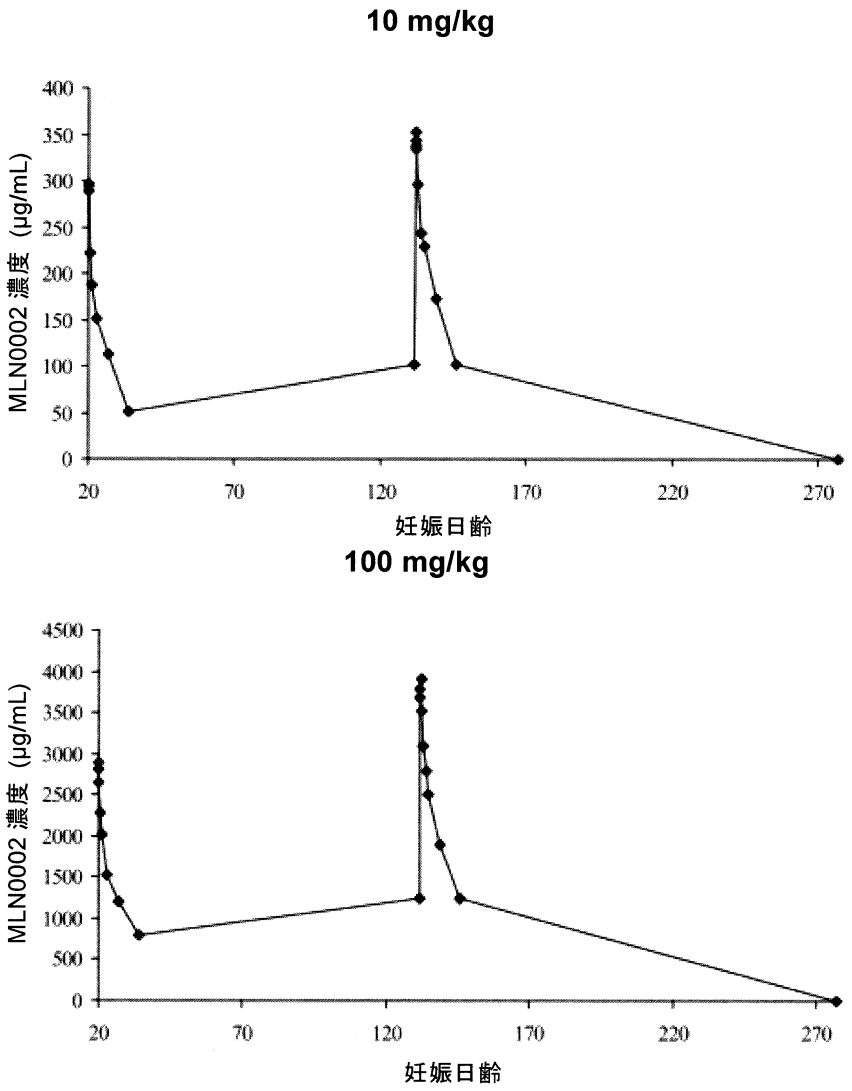


図 2.6.4.8-24　妊娠カニクイザルに妊娠 20～140 日目にわたる MLN0002 隔週投与後の平均濃度-時間曲線

出典：4.2.2.7-17 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-24　各群 12 匹の妊娠カニクイザルに対し、MLN0002 を妊娠 20～140 日目まで、隔週で 20～30 分間持続静注した。10 mg/kg 群の 5 匹で TK に影響を及ぼす PAHA 反応が認められたことから、当該動物のデータは計算から除外した。10 mg/kg 群では、妊娠 20 日目の投与開始後 168 時間までは n = 7、妊娠 20 日目の投与開始後 336 時間では n = 6、以降分娩後 181 日目までは n =4。100 mg/kg 群では、妊娠 132 日目の投与開始後 336 時間までは n = 12（投与開始後 12 時間では n=11）、以降分娩後 181 日目までは n = 9。

検討したリンパ球サブタイプ（$CD4^+/CD45RA^{+/-}$及び $CD20^+$）の間で PD 反応に顕著な差は認められなかった（図 2.6.4.8-25）。

結合 MLN0002 に対して陽性を示す $CD4^+/CD45RA^+$及び $CD4^+/CD45RA^-$細胞の割合（染色陽性率）は、初回投与直後に急速に増加し、100 mg/kg 群では妊娠期間を通じて高い陽性率が維持された。染色陽性率は、分娩後 181 日目には大幅に低下していた。

未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニットに対して陽性を示す $CD4^+/CD45RA^+$、$CD4^+/CD45RA^-$、及び $CD20^+$ 細胞の割合（染色陽性率）は、初回投与直後に急速に低下し、妊娠後 277 日目まで低い陽性率が維持された。その後、染色陽性率は、分娩後 181 日目まで上昇を続けた。

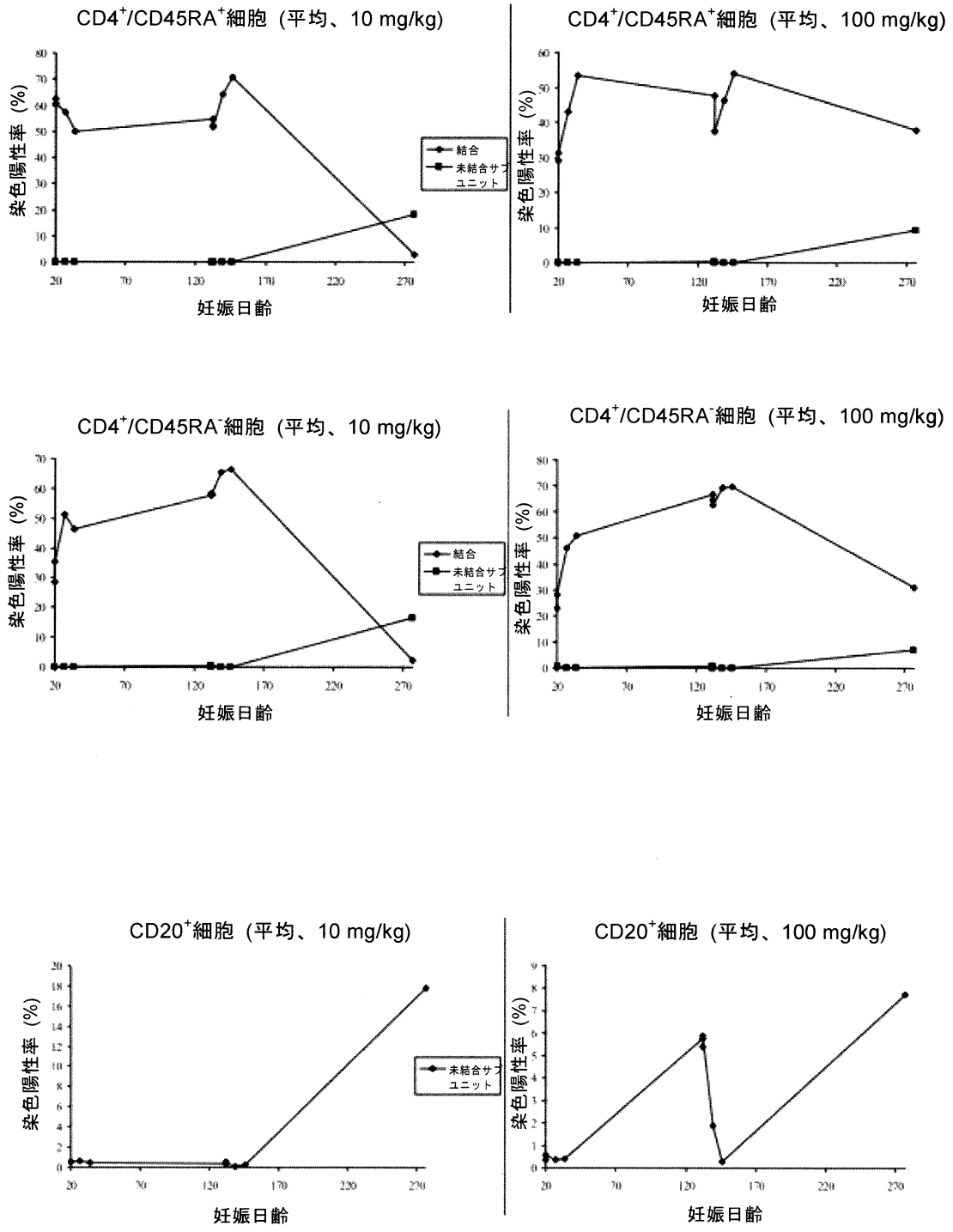


図 2.6.4.8-25　妊娠カニクイザルに妊娠 20～140 日目にわたる MLN0002 隔週投与後の PD パラメータ平均値

出典：4.2.2.7-17 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-25　各群 12 匹の妊娠カニクイザルに、MLN0002 を妊娠 20～140 日目まで、隔週で 20～30 分間持続静注した。10 mg/kg 群の 5 匹で PD に影響を及ぼす PAHA 反応が認められたことから、当該動物のデータは計算から除外した。10 mg/kg 群では、妊娠 20 日目の投与開始後 168 時間までは n = 7、妊娠 20 日目の投与開始後 336 時間では n = 6、以降分娩後 181 日目までは n =4。100 mg/kg 群では、妊娠 132 日目の投与開始後 336 時間までは n = 12（投与開始後 12 時間では n=11）、以降分娩後 181 日目までは n = 9。

乳仔

10 mg/kg 群の乳仔 7 匹中 2 匹で陽性抗体価（分娩後 120 日目及び 181 日目の両方とも抗体価 500）が認められた。さらに、1 匹では分娩後 120 日目に抗体価 500、1 匹では分娩後 120 日目及び 181 日目にそれぞれ抗体価 500 及び 100 の PAHA が認められた。また 1 匹では分娩後 120 日目及び 181 日目の両方で抗体価 100 の PAHA が認められた。0 mg/kg 群の 7 匹はいずれも抗体価は陰性を示し、100 mg/kg 群では 9 匹中 1 匹のみで抗体価（分娩後 120 日目に抗体価 100）が検出された。

MLN0002 を投与した母体から産まれた乳仔血清中に、MLN0002 が低レベルで存在することが示された。MLN0002 は分娩後 28 日目（第 1 回目のタイムポイント）に検出され、10 mg/kg 群の 7 匹中 4 匹、100 mg/kg 群の 11 匹中 11 匹の血清中に、それぞれ 3.17 μg/mL 及び 30.3 μg/mL の濃度（平均値）で検出された。さらに、100 mg/kg 群では分娩後 120 日目に、1 匹（動物番号 13481）の乳仔血清中に 0.166 μg/mL の濃度の MLN0002 が検出された。

乳仔の PD 反応は、母体の PD 反応と類似しており、結合 MLN0002 に対する染色陽性率は、分娩後 28 日目（第 1 回目のタイムポイント）に最大値を示し、分娩後 181 日目（乳仔の剖検日）には 0 mg/kg 群のレベルに低下した。100 mg/kg 群では、分娩後 28 日目にすべての乳仔（11 匹中 11 匹）で、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する結合飽和が認められ、うち 3 匹（動物番号 13481、13712 及び 13800）では、分娩後 120 日目においても結合飽和が持続したが、分娩後 181 日目には結合飽和は認められなかった。

2.6.4.8.2.8 免疫毒性試験でサルに MLN0002（製造法 C 製剤）を反復静脈内投与した後の TK、PD 及び PAHA

：添付資料番号 4.2.2.7-18（評価）

GLP 適用で反復投与の免疫毒性試験を実施し、破傷風トキソイド（TT）及びキーホールリンペットヘモシアニン（KLH）で事前に免疫した雌雄のカニクイザル（5 匹／性別／群）に、1、8 及び 15 日目に MLN0002 又は natalizumab を 0（生理食塩液）又は 30 mg/kg の用量で 30 分間持続静注した（概要表 2.6.7.2 及び 2.6.7.3；4.2.2.7-18 報告書番号[redacted]）。TK、PD 及び PAHA 測定で使用する全血試料は、1 日目及び 15 日目の投与前並びに投与開始後 0.5、1（15 日目のみ）、48、72 及び 168 時間に採取した。なお、MLN0002 の PD 測定及び natalizumab の TK、PAHA 及び PD 測定は、GLP 非適用で実施した。

MLN0002 又は natalizumab の血清中濃度又は TK パラメータに顕著な性差は認められなかった。0 mg/kg 群の試料における MLN0002 濃度はいずれも BQL で、PAHA は陰性を示した。

MLN0002 は 10 匹中 6 匹のサルにおいて免疫原性を示した（抗体価 ≥ 500 が 2 連続の試料で観察された）。PAHA は TK 及び PD にほとんど影響を及ぼさず、10 匹中 2 匹で TK に対する中和作用が認められたが、PD に対する影響は認められなかった。natalizumab はすべてのサル（10 匹中 10 匹）で免疫原性を示し、PAHA の TK 及び PD に対する影響は中程度であり、10 匹中 4 匹で TK に対する中和作用、10 匹中 1 匹で PD に対する中和作用が認められた。MLN0002 群及び natalizumab 群において観察された最高抗体価は、それぞれ 62,500 及び 312,500 で、両投与群とも 22 日目に観察された。抗体価 ≥ 500 を示す個体は両投与群とも投与 8 日後に初めて観察された。MLN0002 群の 2 匹（動物番号 3003 及び 3505）のデータは、TK に対する中和作用が認められたことから、15 日目の平均値の計算から除外した。

natalizumab 群の 4 匹（動物番号 2004、2501、2504 及び 2505）のデータについても TK に対する中和作用が認められたことから 15 日目の平均値の計算から除外した。

MLN0002 は、10 匹中 10 匹で最終投与後最長 7 日間にわたり検出された。natalizumab についても、15 日目の投与開始 168 時間以降検出されなかった雌 1 匹を除き、10 匹中 9 匹で最終投与後最長 7 日間にわたり検出された。MLN0002 及び natalizumab の十分な曝露は、投与開始 30 分後に速やかに達成された（表 2.6.4.8-14 及び図 2.6.4.8-26）。MLN0002 及び natalizumab の曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}168hr}$ によって測定）は、両投与群とも 1 日目と比較して 15 日目において高値を示し、蓄積傾向があることが示された。同一用量の natalizumab と比較した場合、MLN0002 の曝露量は、natalizumab と同程度（C_{max}）か、より高値（AUC）であった。試料採取期間が限られていたことから、$t_{1/2}$ は評価しなかった。

表 2.6.4.8-14　カニクイザルに 1、8、15 日目に MLN0002 及び natalizumab 投与後の TK パラメータ平均値（雌雄統合）

試験日	被験物質	n	T_{max} (時間)		C_{max} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}168hr}$ (hr*μg/mL)	
			平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD
1	MLN0002	10	0.5	0.0	608	92.6	53,000	5640
	natalizumab	10	0.5	0.0	601	88.1	45,800	4120
15	MLN0002	8[a]	0.8	0.3	1010	82.8	107,000	15,100
	natalizumab	6[b]	0.6	0.2	900	52.9	64,200	14,900

出典：4.2.2.7-18 報告書番号[redacted]

$AUC_{0\text{-}168hr}$ = 0 時間から 168 時間の血中濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高血中濃度；T_{max} = 最高血中濃度到達時間；PAHA = サル抗ヒト抗体；TK = トキシコキネティクス；SD = 標準偏差。

注記：タイムポイントの計時起点は 1 日目は持続静注終了時点、それ以降では持続静注開始時点。各群雌雄各 5 匹のカニクイザルに、MLN0002 を 30 分間持続静注した。

a　TK に対する PAHA による中和作用が認められたことから、2 匹（動物番号 3003 及び 3505）のデータは、15 日目の平均値の計算から除外した。

b　TK に対する PAHA による中和作用が認められたことから、4 匹（動物番号 2004、2501、2504 及び 2505）のデータは、15 日目の平均値の計算から除外した。

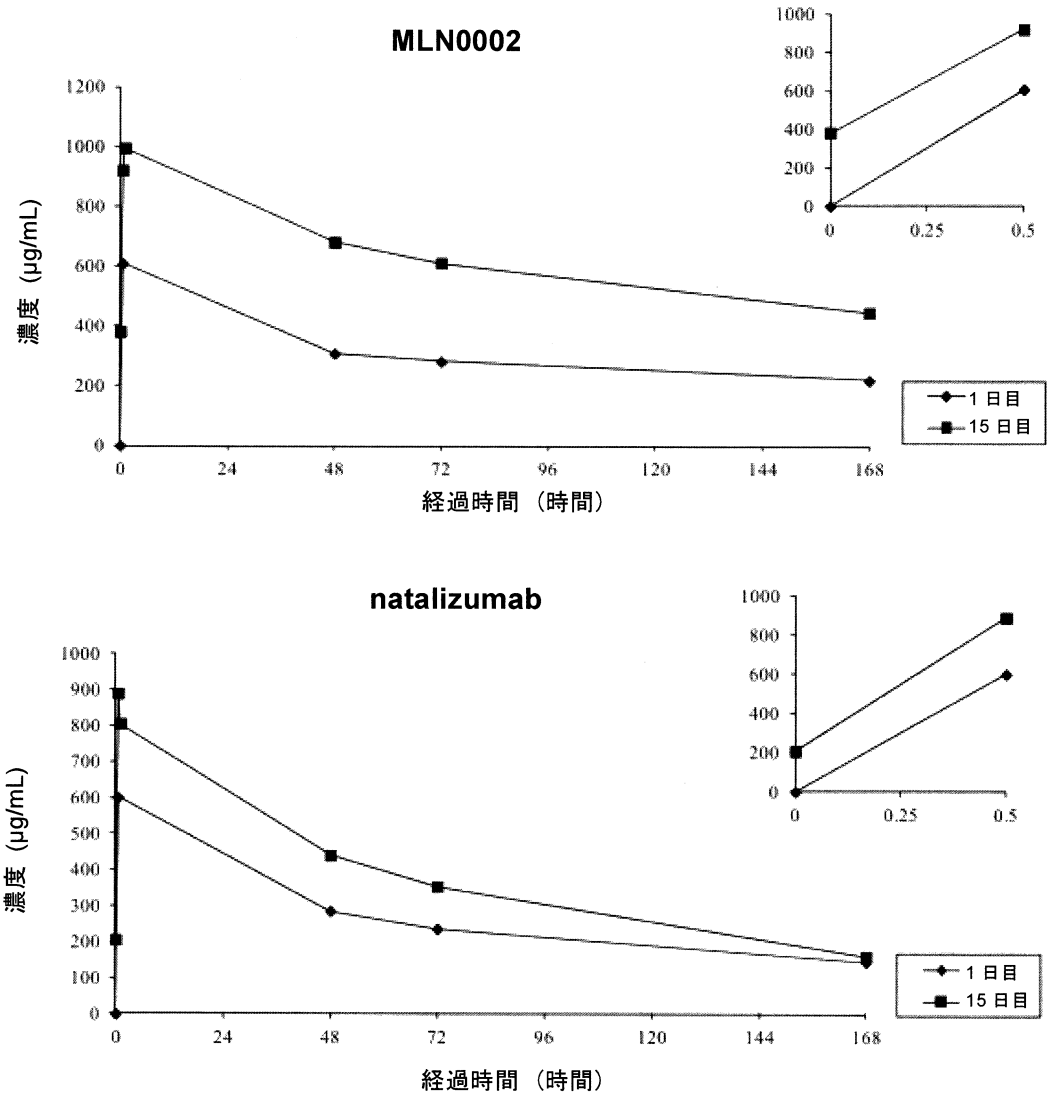


図 2.6.4.8-26　カニクイザルに 1、8、15 日目に MLN0002 及び natalizumab 投与後の平均濃度-時間曲線（雌雄統合）

出典：4.2.2.7-18 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-26　タイムポイントの計時起点は持続静注開始時点。各群雌雄各 5 匹のカニクイザルに、MLN0002（30 mg/kg）及び natalizumab（30 mg/kg）を 30 分間持続静注した。MLN0002 群の 2 匹（動物番号 3003 及び 3505）のデータは、血清中濃度に対する PAHA による中和作用が認められたことから、15 日目の平均値の計算から除外した。natalizumab 群の 4 匹（動物番号 2004、2501、2504 及び 2505）のデータは、血清中濃度に対する PAHA による中和作用が認められたことから、15 日目の平均値の計算から除外した。

MLN0002 又は natalizumab の PD 反応に検討した 2 種類のリンパ球サブタイプ（$CD4^+/CD45RA^+$及び $CD4^+/CD45RA^-$）の間で、顕著な差は認められなかった。結合 MLN0002 又は natalizumab に対して陽性を示す $CD4^+/CD45RA^+$及び $CD4^+/CD45RA^-$ 細胞の割合（染色陽性率）は、初回投与直後に急速に増加し、試験期間全体を通じて高い陽性率が維持された（図 2.6.4.8-27）。

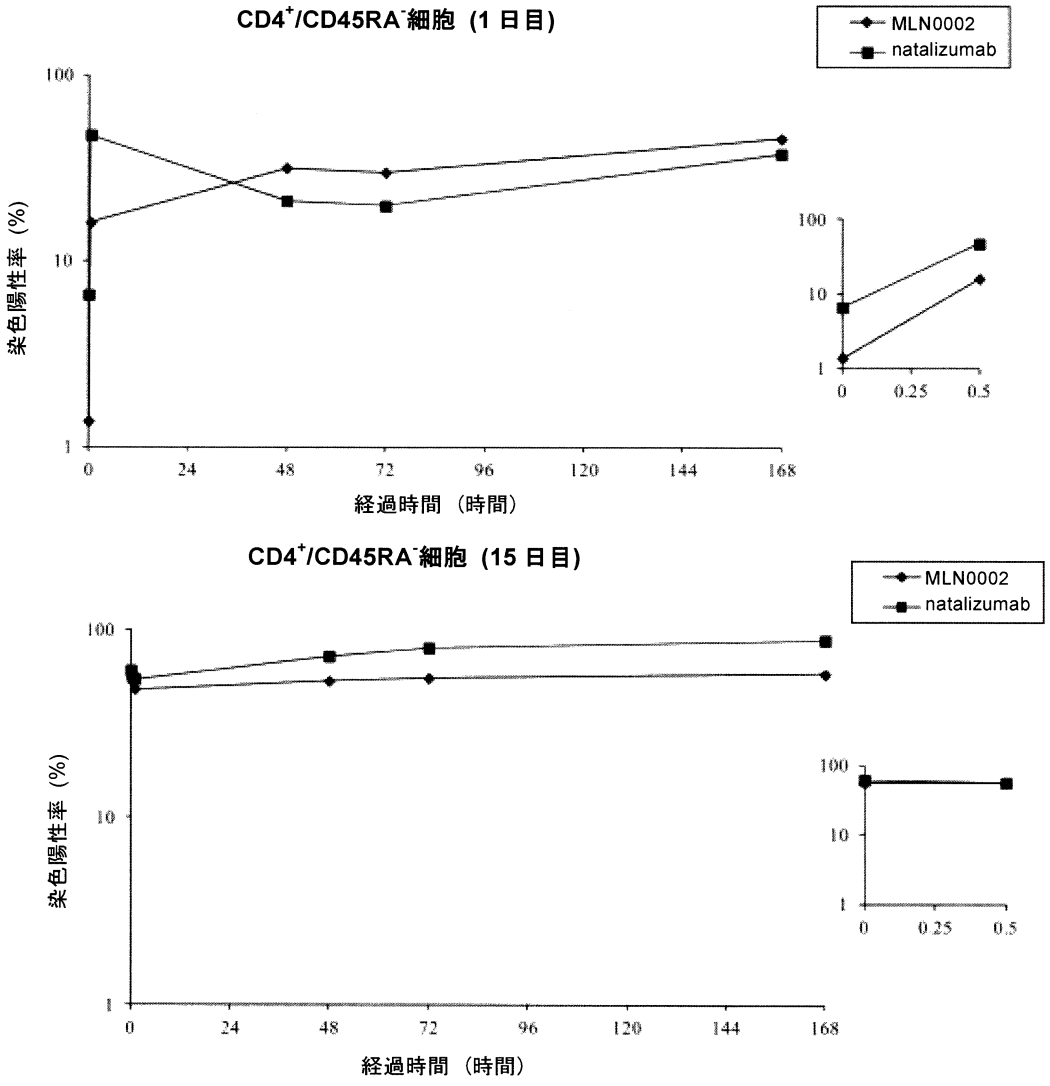


図 2.6.4.8-27　カニクイザルに 1、8、15 日目に MLN0002 及び natalizumab 投与後の PD パラメータ平均値（雌雄統合）

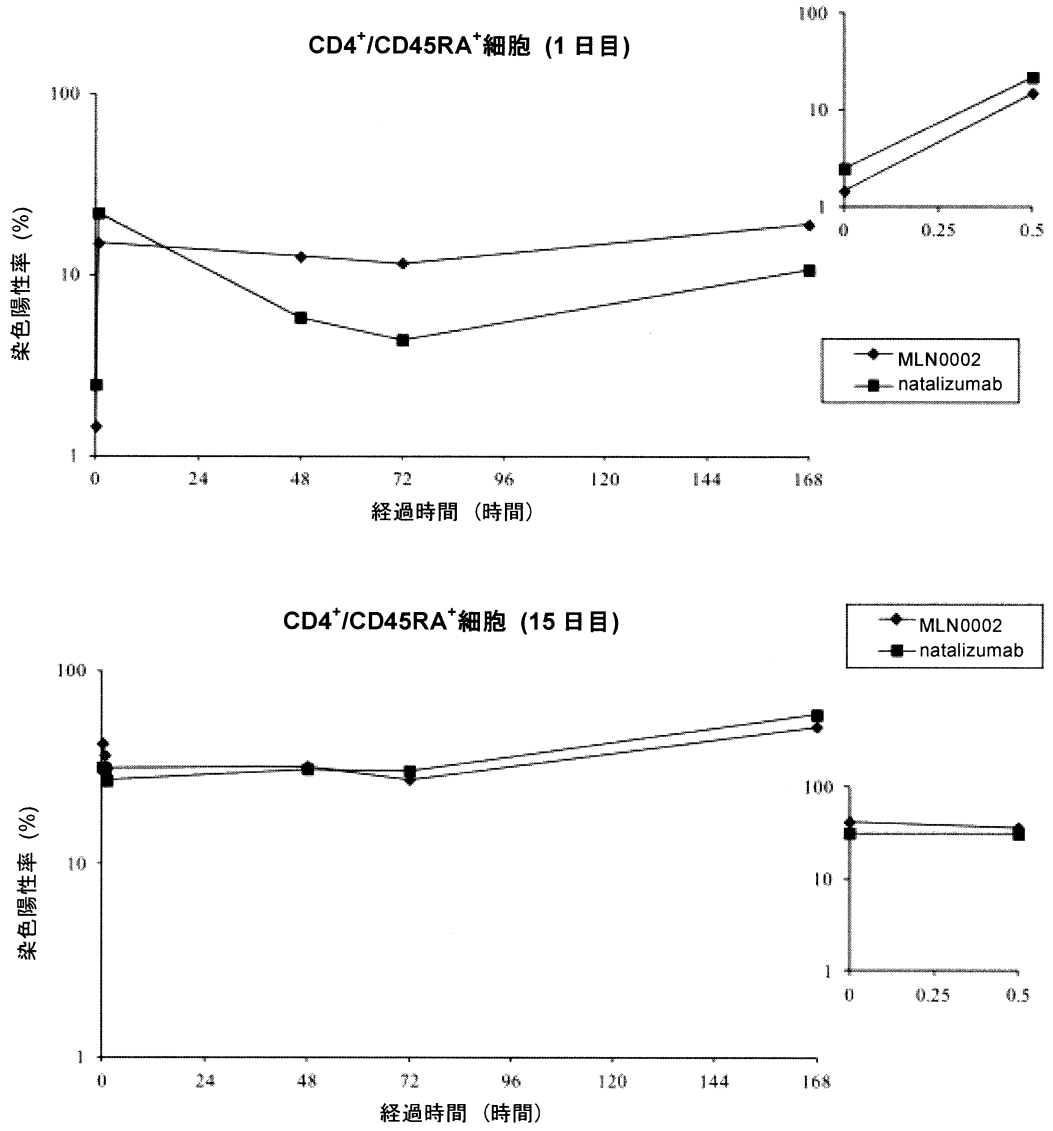


図 2.6.4.8-27　カニクイザルに 1、8、15 日目に MLN0002 及び natalizumab 投与後の PD パラメータ平均値（雌雄統合）（続き）

出典：4.2.2.7-18 報告書番号[redacted]

図 2.6.4.8-27　タイムポイントの計時起点は持続静注開始時点。各群雌雄各 5 匹のカニクイザルに、MLN0002 (30 mg/kg) 及び natalizumab（30 mg/kg）を 30 分間持続静注した。MLN0002 群の 2 匹（動物番号 3003 及び 3505）のデータは、PD に対する PAHA による中和作用が認められたことから、15 日目の平均値の計算から除外した。natalizumab 群の 4 匹（動物番号 2004、2501、2504 及び 2505）のデータは、PD に対する PAHA による中和作用が認められたことから、15 日目の平均値の計算から除外した。MLN0002 群では、1 日目に n = 10（投与開始後 168 時間のみ n = 9）、15 日目に n = 8（投与開始後 72 時間のみ n =4）。natalizumab 群では、1 日目に n = 10（投与開始後 168 時間のみ n = 9）、15 日目に n = 6（投与開始後 72 時間のみ n = 4）。

2.6.4.8.3 免疫原性試験の要約

ヒトの治療に使用される多くの抗体製剤は動物において免疫反応を誘発する。抗ヒト抗体（RAHA 又は PAHA）は、動物における全身曝露量に影響を及ぼすことから、PK／TK 及び PD に関する解釈に影響を及ぼす可能性がある。MLN0002 の非臨床試験における RAHA 及び PAHA の発現について、PK 及び TK への影響と共に評価した。ウサギ及びサルを用いた単回投与試験及び反復投与試験における RAHA 及び PAHA の発現率の概要を表 2.6.4.8-15 に示す。

全体として、RAHA 及び PAHA の発現は、単回及び反復投与毒性試験間により様々であったが、低及び中用量（10 及び 30 mg/kg）の一部の動物において、MLN0002 の血清中濃度の消失は速くなり PD パラメータに対して中和作用を示した。一方で、RAHA／PAHA による中和作用が認められない動物では、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する持続的な結合飽和が認められた。最高用量（100 mg/kg）では RAHA／PAHA は MLN0002 の PK 又は PD パラメータにほとんど影響を及ぼさなかった。また、NOAEL である同用量において、ほとんどの動物で、投与期間及び休薬期間を通じて、標的である $\alpha_4\beta_7$ インテグリンの持続的な結合飽和が持続した。

GLP 適用で実施した単回投与試験において、MLN0002（製造法 B 製剤）による PAHA の発現率は、MLN0002（製造法 C 製剤）による発現率と同一であった。GLP 非適用で実施した反復投与試験において、MLN0002（製造法 A 製剤）による PAHA の発現率は、MLN0002（製造法 B 製剤）による発現率と同一であった。製造法 A 製剤と製造法 C 製剤との間で直接比較は実施しなかった。

表 2.6.4.8-15　試験別の RAHA 又は PAHA 発現率

動物種	投与量	製造法	レジメン	RAHA 又は PAHA	陽性抗体価	添付資料番号 報告書番号	GLP
単回投与							
ウサギ	10	B 製剤	妊娠 7 日目に 15 分間持続静注	2/2[a] (100%)	≥ 30	4.2.2.7-1 [redacted]	非適用
	30			3/3 (100%)			
	100			3/3 (100%)			
	10	B 製剤	妊娠 7 日目に 60 分間持続静注	2/3 (67%)	> 3750	4.2.2.7-2 [redacted]	適用
	30			0/3 (0%)			
	100			0/3 (0%)			
カニクイザル	10	B 製剤	1 日目に 30 分間持続静注	3/3 (100%)	≥ 100	4.2.2.7-6 [redacted]	非適用
	100			3/3 (100%)			
	10	B 製剤	1 日目に 30 分間持続静注	0/6 (0%)	> 100	4.2.2.7-7 [redacted]	適用
	10	C 製剤		0/6 (0%)			
	30	B 製剤		0/6 (0%)			
	30	C 製剤		0/6 (0%)			
反復投与							
ウサギ	30	B 製剤	60 分間持続静注、q2wk、12 週間	8/10 (80%)	≥ 300[b]	4.2.2.7-8 [redacted]	適用
	100			10/10 (100%)			

表 2.6.4.8-15　試験別の RAHA 又は PAHA 発現率（続き）

動物種	投与量	製造法	レジメン	RAHA 又は PAHA	陽性抗体価	添付資料番号 報告書番号	GLP
カニクイザル	10	A 製剤	1 日目に 30 分間持続静注並びに 4、8、11 及び 15 日目に 1 分間 IV 注射	4/4 (100%)	≥ 100	4.2.2.7-13 [redacted]	非適用
	10	B 製剤		4/4 (100%)			
	2.5	A 製剤	1 日目に 30 分間持続静注、以降は IV 注射；1 週目は QD；2～4 週目は BIW；12 週目まで QW	6/6 (100%)	N/A	4.2.2.7-14 [redacted]	適用 [c]
	10		1 日目に 30 分間持続静注、以降は IV 注射；1 週目は BIW；12 週目まで QW	10/10 (100%)			
	10	B 製剤	10 分間持続静注、q2wk、13 週間	12/12 (100%)	≥ 300[b]	4.2.2.7-15 [redacted]	適用
	30			12/12 (100%)			
	100			11/12 (92%)			
	10	B 製剤	20 分間持続静注、q2wk、26 週間	7/8 (88%)	≥ 100	4.2.2.7-16 [redacted]	適用
	30			8/8 (100%)			
	100			12/12 (100%)			
	10	B 製剤	妊娠 20～140 日目に 20～30 分間持続静注、q2wk、	9/12 (75%)	≥ 500[b]	4.2.2.7-17 [redacted]	適用
	100			9/12 (75%)			
	30	C 製剤	1、8 及び 15 日目に 30 分間持続静注	6/10 (60%)	≥ 500[b]	4.2.2.7-18 [redacted]	適用

GD = 妊娠日；GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；IV = 静脈内；QD = 1 日 1 回；QW = 週 1 回；BIW = 週 2 回；q2wk = 2 週に 1 回；PAHA = サル抗ヒト抗体；RAHA = ウサギ抗ヒト抗体；N/A=該当せず。

注記：4.2.2.7-3 報告書番号[redacted]、4.2.2.7-4[redacted]、4.2.2.7-5 報告書番号[redacted] 4.2.2.7-9 報告書番号[redacted]、4.2.2.7-10[redacted]及び 4.2.2.7-11 報告書番号[redacted]は、当該試験において PAHA 試験を実施しなかったため本表には収載せず。

a　1 匹（動物番号 46973）は静脈内投与中に死亡。

b　2 連続の試料で観察された場合に限り、当該の PAHA/RAHA 抗体価を陽性と判断した。

c　TK、PD 及び PAHA 測定及び評価は GLP 非適用で実施した。

2.6.4.9 考察及び結論

MLN0002 の毒性評価のために選択された薬理学的に反応する動物種である New Zealand white ウサギ及びカニクイザルを用いて、MLN0002 の PK、TK、PD 及び免疫原性を *in vivo* で評価した。他の mAb 製剤と同じく、MLN0002 の血清 CL は低値を示した。MLN0002 の血清中 V_{ss} は、他の mAb 製剤で観察される程度と同様に低値であった。MLN0002 の半減期は、他の IgG1 を用いた抗体製剤について報告された範囲内であった。MLN0002 の PK は、検討された用量範囲内で概ね用量に比例して増加し、投与直後から明確な PD 作用が認められた。

MLN0002 の免疫原性は RAHA あるいは PAHA を測定することにより評価された。RAHA 及び PAHA の発現は、単回及び反復投与毒性試験間により様々であったが、低及び中用量（10

及び 30 mg/kg）の一部の動物において、MLN0002 の血清中濃度の消失は速くなり PD パラメータに対して中和作用を示した。一方で、RAHA／PAHA による中和作用が認められない動物では、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する持続的な結合飽和が認められた。最高用量（100 mg/kg）では RAHA／PAHA は MLN0002 の PK 又は PD パラメータにほとんど影響を及ぼさなかった。また、NOAEL である同用量において、ほとんどの動物で、投与期間及び休薬期間を通じて、標的である $\alpha_4\beta_7$ インテグリンの持続的な結合飽和が維持され、十分な曝露及び薬理作用発現用量であることが確認された。

臨床試験及び市販後の製剤供給を考慮して、海外臨床試験実施中に、MLN0002 の製造工程が適宜、最適化され、それぞれ製造法 A、製造法 B 及び製造法 C と変更されたが、非臨床試験において、これら 3 つの製剤はサルにおいて同等の PK パラメータを有することが示された。

動物種別の MLN0002 の曝露量比較について、表 2.6.4.9-1 に概要を示す。サルにおける NOAEL である 100 mg/kg の暴露量は、国内臨床試験において潰瘍性大腸炎患者を対象に 43 日目に 300 mg を静脈内点滴投与後の C_{max} 及び AUC の平均値のそれぞれ約 42 倍及び約 31 倍であった（概要表 2.6.7.3；4.2.2.7-16 報告書番号[redacted]；5.3.5.3-3 [redacted]）。

表 2.6.4.9-1　ウサギ、サル、及びヒトへの MLN0002 静脈内投与後の全身曝露量の比較

動物種	投与量	投与量との関係	MLN0002 全身（血清）曝露量[a]		
			C_{max}（μg/mL）	AUC（日*μg/mL）	曝露マージン（AUC）
ウサギ	100 mg/kg	NOAEL	9890	51,250[b]	43.6
サル	100 mg/kg	NOAEL	5260	36,500[c]	31.0
ヒト	300 mg[d]	臨床使用量	126.5	1176.3[c]	N/A

AUC = 薬物濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高濃度；N/A = 該当せず；NOAEL = 無毒性量。

a　C_{max} 及び AUC 値はウサギは 3 ヵ月間反復投与毒性試験（n = 9；4.2.2.7-8 報告書番号[redacted]、サルは 26 週間反復投与毒性試験（n = 12; 4.2.2.7-16 報告書番号[redacted]）のそれぞれ、84 日目及び 169 日目のデータであり、ヒト（患者）については 43 日目に静脈内点滴投与後（n=6；5.3.5.3-3 [redacted]）のデータである。

b　0 時間から 337 時間までの AUC（$AUC_{0\text{-}337hr}$）。

c　0 時間から 336 時間までの AUC（$AUC_{0\text{-}336hr}$）。

d　4 mg/kg にほぼ相当。

以上のように、ウサギ及びサルを用いて、MLN0002 の PK、TK 及び PD プロファイルを評価した結果、MLN0002 は、多くの mAb 製剤と同等の PK 作用を示し、$t_{1/2}$ は長く、CL 及び V_{ss} は低値であった。また、試験した動物種において MLN0002 は明確な薬理作用を示した。

2.6.4.10 参考文献

[1] Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals S6(R1). International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 1997.

[2] Addendum to ICH S6: preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals S6(R1). International Conference on Harmonisation (ICH) of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2009. Draft consensus guideline.

目次

2.6.5 薬物動態試験概要表 2
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 2
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 4
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 5

※該当試験のない項番号は省略

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：MLN0002

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	添付資料番号 報告書番号	区分
吸収					
該当せず					
分布					
分布容積は、カニクイザルを用いた単回投与 PK 試験、PD 試験及び PAHA 試験で評価。 乳仔血清濃度は、カニクイザルを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験で評価。					
代謝					
実施せず					
排泄					
乳汁中排泄は、カニクイザルを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験で評価。					
薬物動態的薬物相互作用					
実施せず					
その他					
単回投与胚・胎児発生に関する試験の結果を支持するための TK、PD 及び RAHA 試験	New Zealand white ウサギ	15 分間持続静注	[redacted]	4.2.2.7-1 [redacted]	参考
		60 分間持続静注	[redacted]	4.2.2.7-2 [redacted]	評価
単回投与 PK	カニクイザル	60 分間持続静注	[redacted]	4.2.2.7-3 [redacted] 4.2.2.7-4 [redacted] 及び 4.2.2.7-5 [redacted]	参考
単回投与 PK、PD 及び PAHA 試験	カニクイザル	30 分間持続静注	[redacted]	4.2.2.7-6 [redacted]	参考
単回投与毒性試験の結果を支持するための TK、PD 及び PAHA 試験	カニクイザル	30 分間持続静注	[redacted]	4.2.2.7-7 [redacted]	評価
3 ヵ月間反復投与毒性試験の結果を支持するための TK、PD 及び RAHA 試験	New Zealand white ウサギ	60 分間持続静注	[redacted]	4.2.2.7-8 [redacted]	評価

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

被験物質：MLN0002

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	添付資料番号 報告書番号	区分
その他（続き）					
14 日間反復投与毒性試験の結果を支持するための TK 及び PD 試験	カニクイザル	1 日目に 60 分間持続静注、2 日目に 30 分間持続静注、3 日目～14 日目に 15 分間持続静注	[redacted]	4.2.2.7-9[redacted]、4.2.2.7-10[redacted]及び 4.2.2.7-11[redacted]	参考
2 週間反復投与 PK、PD 及び PAHA 試験	カニクイザル	1 日目に 30 分間持続静注、4、8、11 及び 15 日目に 1 分間静注	[redacted]	4.2.2.7-13[redacted]	参考
13 週間反復投与毒性試験の結果を支持するための TK、PD 及び PAHA 試験	カニクイザル	1 日目に 30 分間持続静注、それ以降は 1 分間静注	[redacted]	4.2.2.7-14[redacted]	参考
		10 分間静注	[redacted]	4.2.2.7-15[redacted]	評価
26 週間反復投与毒性試験の結果を支持するための TK、PD 及び PAHA 試験	カニクイザル	20 分間持続静注	[redacted]	4.2.2.7-16[redacted]	評価
出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験の結果を支持するための TK、PD 及び PAHA 試験	カニクイザル	20～30 分間持続静注	[redacted]	4.2.2.7-17[redacted]	評価
免疫毒性試験の結果を支持するための TK、PD 及び PAHA 試験	カニクイザル	30 分間持続静注	[redacted]	4.2.2.7-18[redacted]	評価
カニクイザル及びヒトにおける MLN0002 単回投与及び反復投与薬物動態のモデリング	カニクイザル	1 日目に 1 時間持続静注及び 60 分間持続静注、2 日目に 30 分間持続静注、3 日目～14 日目に 15 分間持続静注	[redacted]	4.2.2.7-12[redacted]	参考

[redacted] Germany) ; [redacted] USA) ; [redacted] USA) ; [redacted] Canada) ; [redacted] USA) ; [redacted] USA) ; [redacted] USA) ; PAHA = サル抗ヒト抗体 ; RAHA = ウサギ抗ヒト抗体 ; PD = 薬力学 ; PK = 薬物動態 ; TK = トキシコキネティクス。

a 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 (GLP) に準拠。

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

添付資料番号：4.2.2.7-17、報告書番号[redacted]

胎盤通過性及び乳汁中排泄	
動物種：	カニクイザル
妊娠日齢／動物数：	妊娠 20～140 日目にかけて 2 週に 1 回／雌 12 匹
溶媒／投与形態：	滅菌生理食塩液（0.9% [w:v] NaCl）／20 mmol/L クエン酸緩衝液、125 mmol/L 塩化ナトリウム（pH 6.0）
投与方法：	20～30 分間持続静注
投与量（mg/kg）：	0、10 及び 100
分析対象物質／分析方法：	MLN0002／ELISA

投与量 (mg/kg)		マトリックス	MLN0002 の平均濃度（μg/mL）																				
			妊娠 20 日目								妊娠 132 日目												
			投与後の経過時間（時間）								投与後の経過時間（時間）												
			0.5	1	4	12	24	72	168	336	0	0.5	1	4	12	24	48	72	168	336	GD 277	PPD 28	PPD 120	PPD 181
10	母動物	血清	290	294	297	221	187	151	113	50.1	101	353	339	343	335	297	244	229	172	102	BQL[a,b]	—	—	BQL
	母動物	乳汁	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	BQL	—	—
	乳仔	血清	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.17	BQL	BQL
100	母動物	血清	2900	2800	2650	2280	2010	1520	1210	786	1240	3680	3790	3910	3520	3090	2780	2500	1890	1250	1.73	—	—	BQL
	母動物	乳汁	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.0591	—	—
	乳仔	血清	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	30.3	0.0184	BQL

— = 実施せず；BQL = 定量限界未満；ELISA = 酵素免疫測定（法）；GD = 妊娠日齢；PPD = 分娩後日数。

注記：妊娠 20 日目タイムポイントに対しては、n = 6～12。妊娠 132 日目タイムポイントに対しては、n = 4～12。妊娠 277 日目タイムポイントに対しては、n = 4～9。分娩後 28 日目タイムポイントに対しては、乳汁は n = 4～11、乳仔血清は n = 4～11。120 日目タイムポイントに対しては、n = 4～9。分娩後 181 日目タイムポイントに対しては、n = 4～9。

10 mg/kg 群の場合：動物番号 13327、13397、13596、13709 及び 13816 には、薬物動態（PK）に影響を与える霊長類（サル）抗ヒト抗体（PAHA）応答が認められたため、これらの動物からのデータは、平均値の計算から除外した。動物番号 13695 からは妊娠 20 日目の投与後 168 時間よりも後、動物番号 13839 及び 13629 からは妊娠 20 日目の投与後 336 時間よりも後、試料は採取しなかった。

100 mg/kg 群の場合：動物 13608 からは妊娠 132 日目の投与後 12 時間、動物番号 13531、13834 及び 13507 からは妊娠 277 日目及び分娩後 181 日目の試料は採取しなかった。

a < 0.125 μg/mL。

b 試料はすべて BQL であった。

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）		
添付資料番号：4.2.2.7-3、報告書番号[redacted]、添付資料番号：4.2.2.7-4、報告書番号[redacted]及び添付資料番号：4.2.2.7-5、報告書番号[redacted]		
試験の概要：カニクイザルに MLN0002 を単回静脈内投与又は皮下投与した後の PK		
動物種：	カニクイザル	
性別（M／F）／動物数／群：	F／3	
給餌状態：	絶食	
溶媒／投与形態：	0.9% 塩化ナトリウム注射液	
投与方法：	1 時間持続静注 [a]	皮下注射
投与量（mg/kg）：	2.5	2.5
試料：	血清	血清
分析対象物質：	MLN0002	MLN0002
分析方法：	フローサイトメトリー	フローサイトメトリー
薬物動態パラメータ		
CL（mL/hr/kg）：	0.438 (0.087)	NC
V_{ss}（mL/kg）：	67.9 (18.6)	NC
$t_{1/2}$（時間）：	102.6 (8.1)	NC
T_{max}（時間）：	1.41 (0.69)	89.40 (49.85)
C_{max}（μg/mL）：	50.32 (14.79)	19.43 (3.41)
AUC_{0-t}（hr*μg/mL）：	3878 (846)	2927 (402)
$AUC_{0-\infty}$（hr*μg/mL）：	5868 (1237)	NC

$AUC_{0-\infty}$ = 0 時間から無限大時間までの血中濃度－時間曲線下面積；AUC_{0-t} = 0 時間から最終測定可能タイムポイントまでの血中濃度－時間曲線下面積；CL = クリアランス；C_{max} = 最高血中濃度；F = 雌； M = 雄；NC = 計算せず；$t_{1/2}$ = 半減期；T_{max} = 最高血中濃度到達時間；V_{ss} = 定常状態における分布容積。

注記：データは、平均値（標準偏差）。

a 試料採取時間はすべて、持続静注終了時刻からの相対経過時間。

2.6.5.16 薬物動態試験：その他（続き）

	被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）	
	添付資料番号：4.2.2.7-6、報告書番号[redacted]	
試験の概要：カニクイザルに MLN0002 を単回静脈内投与した後の PK、PD 及び PAHA		
動物種：	カニクイザル	
性別（M／F）／動物数／群：	F／3	
給餌状態：	飽食	
溶媒／投与形態：	20 mmol/L クエン酸緩衝液（pH 6.0）	
投与方法：	30 分間持続静注	
投与量（mg/kg）：	10	100
試料：	血清	血清
分析対象物質：	MLN0002	MLN0002
分析方法：	ELISA	ELISA
薬物動態パラメータ		
CL（mL/hr/kg）：	0.266 (0.136)	0.180 (0.0246)
V_{ss}（mL/kg）：	80.7 (30.3)	88.3 (22.2)
$t_{1/2}$（時間）：	336 (139)	362 (132)
T_{max}（時間）：	0.5 (0.0)	0.5 (0.0)
C_{max}（μg/mL）：	214 (29.9)	2090 (377)
C_{max}/投与量（μg/mL/mg/kg）：	21.4 (3.00)	20.9 (3.77)
$AUC_{0\text{-}2016hr}$（hr*μg/mL）：	32,700 (8490)	542,000 (60,500)
$AUC_{0\text{-}2016hr}$/Dose（hr*μg/mL/mg/kg）：	3270 (849)	5420 (605)

$AUC_{0\text{-}2016hr}$ = 0 時間から 2016 時間までの血中濃度－時間曲線下面積；CL = クリアランス；C_{max} = 最高血中濃度；ELISA = 酵素免疫測定（法）；F = 雌；M = 雄；PAHA = サル抗ヒト抗体；$t_{1/2}$ = 半減期；T_{max} = 最高血中濃度到達時間；Vss = 定常状態における分布容積。
注記：値は平均値（標準偏差）。

2.6.5.16 薬物動態試験：その他（続き）

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）

添付資料番号：4.2.2.7-6、報告書番号[redacted]

試験の概要：カニクイザルに MLN0002 を単回静脈内投与した後の PK、PD 及び PAHA（続き）

経過日数	経過時間（時間）	PAHA 抗体価					
		10 mg/kg			100 mg/kg		
		動物番号 1101	動物番号 1102	動物番号 1103	動物番号 2101	動物番号 2102	動物番号 2103
1	0	陰性[a]	100	陰性	陰性	陰性	陰性
15	336	12,500	100	2500	500	500	500
29	672	12,500	2500	12,500	2500	2500	500
43	1008	12,500	12,500	12,500	12,500	2500	500
57	1344	12,500	2500	2500	12,500	2500	100
71	1680	12,500	2500	2500	12,500	2500	100
85	2016	12,500	500	2500	12,500	2500	100

PAHA = サル抗ヒト抗体。

a　定性的測定下限未満（< 100）。

2.6.5.16 薬物動態試験：その他（続き）

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）

添付資料番号：4.2.2.7-6、報告書番号[redacted]

試験の概要：カニクイザルに MLN0002 を単回静脈内投与した後の PK、PD 及び PAHA（続き）

未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニット及び結合 MLN0002 に対する各細胞の染色陽性率の平均値

経過日数	経過時間（時間）	未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニット（%）				結合 MLN0002（%）		
		$CD4^+$	$CD20^+$	$CD4^+CD45RA^+$	$CD4^+CD45RA^-$	$CD4^+$	$CD4^+CD45RA^+$	$CD4^+CD45RA^-$
10 mg/kg								
1	0	55.1 (9.49)	22.1 (7.90)	59.7 (13.07)	40.1 (7.41)	1.72 (0.25)	1.77 (0.16)	1.73 (0.79)
1	0.5	14.0 (2.67)	0.81 (0.21)	12.5 (2.52)	17.6 (0.18)	56.9 (12.6)	72.1 (14.9)	30.5 (6.3)
1	4	14.3 (2.06)	1.05 (0.02)	13.3 (1.84)	16.9 (1.16)	44.1 (9.61)	49.7 (11.7)	35.8 (6.69)
2	24	12.6 (2.84)	1.18 (0.32)	11.7 (3.02)	15.5 (1.09)	67.4 (7.38)	75.8 (2.75)	48.4 (6.45)
2	30	13.8 (1.64)	1.51 (0.24)	13.0 (1.92)	16.4 (0.98)	62.1 (2.75)	69.0 (9.60)	49.8 (5.58)
3	48	5.54 (0.80)	0.56 (0.16)	4.87 (0.87)	7.75 (1.42)	59.6 (2.01)	64.9 (7.32)	48.3 (4.73)
4	72	4.69 (1.61)	0.46 (0.10)	4.07 (1.53)	6.80 (0.64)	58.5 (6.54)	63.1 (13.0)	50.9 (5.7)
8	168	5.92 (1.07)	0.45 (0.07)	4.97 (1.07)	9.00 (1.31)	46.5 (9.28)	45.4 (9.42)	50.0 (10.1)
15	336	3.34 (0.85)	0.38 (0.09)	2.85 (0.80)	4.88 (0.45)	37.0 (15.2)	32.2 (16.6)	49.9 (9.9)
29	672	3.07 (1.70)	0.43 (0.15)	2.61 (1.69)	4.96 (0.87)	18.3 (15.2)	12.5 (10.7)	27.8 (23.3)
43	1008	0.01 (0.01)	0.32 (0.15)	0.01 (0.01)	0.02 (0.04)	7.77 (12.1)	6.15 (9.30)	11.9 (19.4)
57	1344	0.03 (0.01)	0.23 (0.03)	0.03 (0.01)	0.05 (0.06)	0.66 (0.33)	0.69 (0.17)	0.66 (1.03)
71	1680	0.12 (0.04)	0.32 (0.07)	0.08 (0.03)	0.28 (0.20)	0.85 (0.46)	0.87 (0.34)	0.86 (1.12)
85	2016	0.10 (0.04)	0.31 (0.16)	0.07 (0.06)	0.31 (0.28)	0.21 (0.05)	0.24 (0.04)	0.07 (0.12)

PAHA = サル抗ヒト抗体。

注記：n = 3、データは平均値（標準偏差）。

2.6.5.16 薬物動態試験：その他（続き）

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）

添付資料番号：4.2.2.7-6、報告書番号[redacted]

試験の概要：カニクイザルに MLN0002 を単回静脈内投与した後の PK、PD 及び PAHA（続き）

未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニット及び結合 MLN0002 に対する各細胞の染色陽性率の平均値（続き）

経過日数	経過時間（時間）	未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニット（%）				結合 MLN0002（%）		
		$CD4^+$	$CD20^+$	$CD4^+CD45RA^+$	$CD4^+CD45RA^-$	$CD4^+$	$CD4^+CD45RA^+$	$CD4^+CD45RA^-$
100 mg/kg								
1	0	58.3 (3.23)	26.1 (6.15)	62.7 (2.65)	40.5 (7.58)	2.45 (1.91)	2.60 (1.86)	2.35 (2.19)
1	0.5	13.7 (3.76)	0.88 (0.17)	11.8 (3.43)	18.3 (1.03)	49.6 (8.70)	60.3 (15.8)	30.6 (9.3)
1	4	13.5 (3.64)	1.34 (0.16)	11.9 (3.58)	17.3 (1.65)	39.1 (12.2)	43.4 (16.4)	33.4 (12.3)
2	24	12.5 (3.89)	1.41 (0.20)	10.9 (3.61)	16.8 (1.78)	58.3 (16.6)	63.7 (21.2)	45.3 (11.6)
2	30	10.9 (2.52)	1.57 (0.12)	9.66 (2.36)	14.3 (0.26)	61 (8.37)	67.0 (8.50)	46.1 (14.2)
3	48	5.76 (2.11)	0.69 (0.35)	4.91 (2.04)	8.88 (0.81)	65.7 (11.5)	69.4 (11.3)	47.3 (10.5)
4	72	4.34 (1.93)	0.49 (0.12)	3.49 (1.44)	6.85 (1.55)	68 (9.08)	73.2 (10.2)	50.9 (13.2)
8	168	6.21 (2.21)	0.57 (0.10)	5.04 (2.04)	9.88 (1.22)	56.8 (17.8)	57.4 (20.4)	52.5 (9.2)
15	336	2.79 (1.47)	0.36 (0.14)	2.06 (1.26)	4.54 (0.63)	54.1 (10.7)	54.2 (11.4)	53.5 (8.5)
29	672	3.29 (1.12)	0.34 (0.03)	7.78 (8.74)	5.68 (0.28)	58 (11.1)	57.0 (11.6)	62.2 (8.9)
43	1008	0.06 (0.06)	0.35 (0.14)	0.02 (0.02)	0.20 (0.28)	51.3 (14.5)	49.6 (14.4)	59.0 (10.9)
57	1344	0.10 (0.09)	0.32 (0.15)	0.07 (0.08)	0.18 (0.11)	35.2 (21.9)	29.7 (19.1)	49.3 (18.9)
71	1680	0.11 (0.12)	0.29 (0.24)	0.08 (0.09)	0.20 (0.12)	33.4 (29.7)	30.0 (25.9)	39.5 (35.2)
85	2016	0.06 (0.02)	0.24 (0.10)	0.04 (0.02)	0.12 (0.02)	26.3 (26.2)	21.1 (20.2)	37.1 (34.8)

注記：n = 3。

2.6.5.16 薬物動態試験：その他（続き）

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤及び製造法 B 製剤）				
添付資料番号：4.2.2.7-13、報告書番号[redacted]				
試験の概要：カニクイザルに MLN0002 を反復静脈内投与した後の PK、PD 及び PAHA				
動物種：	カニクイザル			
性別（M／F）／動物数／群：	M／4			
給餌状態：	飽食			
溶媒／投与形態：				
投与方法：	1 日目に 30 分間持続静注、4、8、11 及び 15 日目に 1 分間静注			
投与量（mg/kg）：	10		10	
試料：	血清		血清	
分析対象物質：	MLN0002（製造法 A 製剤）		MLN0002（製造法 B 製剤）	
分析方法：	ELISA		ELISA	
薬物動態パラメータ	1 日目	15 日目	1 日目	15 日目
T_{max}（時間）：	2.5 (1.7)	12.4 (23.7)	1.9 (1.6)	0.9 (0.7)
C_{max}（μg/mL）：	300 (70.3)	749 (65.3)	250 (21.2)	497 (238)
AUC_{all}（hr*μg/mL）：	16,800 (3000)	73,800 (6900)	11,700 (2350)	39,900 (26,100)
$AUC_{0-\infty}$（hr*μg/mL）：	39,500 (9530)	142,000 (47,200)	28,000 (9790)	93,600 (66,500)

$AUC_{0-\infty}$ = 0 時間から無限時間までの血中濃度－時間曲線下面積；AUC_{all} = すべてのタイムポイントに対する血中濃度－時間曲線下面積；C_{max} = 最高血中濃度；ELISA = 酵素免疫測定（法）；F = 雌；M = 雄；T_{max} = 最高血中濃度到達時間。

2.6.5.16 薬物動態試験：その他（続き）

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤及び製造法 B 製剤）

添付資料番号：4.2.2.7-13、報告書番号[redacted]

試験の概要：カニクイザルに MLN0002 を反復静脈内投与した後の PK、PD 及び PAHA（続き）

	MLN0002（製造法 B 製剤）を用いたアッセイ（抗体価）							
	MLN0002（製造法 A 製剤）投与動物				MLN0002（製造法 B 製剤）投与動物			
試料採取時点：	動物番号 1001	動物番号 1002	動物番号 1003	動物番号 1004	動物番号 2001	動物番号 2002	動物番号 2003	動物番号 2004
1 日目（投与前）	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
4 日目（投与前）	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
8 日目（投与前）	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	100	陰性
11 日目（投与前）	100	陰性	陰性	陰性	陰性	100	2500	100
15 日目（投与前）	500[a]	2500	300	300	2500	300	12,500	300
22 日目	2500	12,500	2500	500[a]	2500	500[a]	62,500	500[a]
	MLN0002（製造法 A 製剤）を用いたアッセイ（抗体価）							
	MLN0002（製造法 A 製剤）投与動物				MLN0002（製造法 B 製剤）投与動物			
試料採取時点：	動物番号 1001	動物番号 1002	動物番号 1003	動物番号 1004	動物番号 2001	動物番号 2002	動物番号 2003	動物番号 2004
1 日目（投与前）	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
4 日目（投与前）	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
8 日目（投与前）	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	100	陰性
11 日目（投与前）	300	陰性	陰性	陰性	100	100	2500	100
15 日目（投与前）	2500	2500	300	300	2500	300	12,500	300
22 日目	2500	12,500	2500	500[a]	2500	500[a]	62,500	900

PAHA = サル抗ヒト抗体。

a　スクリーニング時（希釈倍率 100 及び 1000）において陽性を示した。

2.6.5.16 薬物動態試験：その他（続き）

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤及び製造法 B 製剤）

添付資料番号：4.2.2.7-13、報告書番号[redacted]

試験の概要：カニクイザルに MLN0002 を反復静脈内投与した後の PK、PD 及び PAHA（続き）

未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニット及び結合 MLN0002 に対する各細胞の染色陽性率（個別値を四捨五入した値を基に計算）

	結合 MLN0002（%）				未結合 $\alpha_4\beta_7$ サブユニット（%）			
	$CD4^+$		$CD8^+$		$CD4^+$		$CD8^+$	
経過時間（時間）	MLN0002（製造法 A 製剤）	MLN0002（製造法 B 製剤）	MLN0002（製造法 A 製剤）	MLN0002（製造法 B 製剤）	MLN0002（製造法 A 製剤）	MLN0002（製造法 B 製剤）	MLN0002（製造法 A 製剤）	MLN0002（製造法 B 製剤）
0	0.77 (0.32)	0.59 (0.32)	4.84 (2.86)	6.94 (1.87)	48.51 (7.94)	51.47 (11.20)	45.79 (14.02)	53.56 (14.58)
0.5	66.26 (5.47)	66.76 (11.02)	78.89 (11.06)	81.35 (6.04)	0.27 (0.12)	0.54 (0.27)	0.03 (0.04)	0.08 (0.09)
1	67.54 (4.28)	64.07 (13.51)	80.26 (6.75)	77.91 (7.84)	0.31 (0.06)	0.66 (0.22)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
2	67.07 (4.11)	62.97 (14.31)	78.19 (11.88)	76.56 (5.35)	0.21 (0.10)	0.40 (0.05)	0.00 (0.00)	0.01 (0.02)
4	69.86 (4.78)	62.68 (16.09)	78.14 (13.85)	70.17 (14.50)	0.23 (0.12)	0.36 (0.11)	0.02 (0.02)	0.00 (0.00)
24	77.73 (3.60)	79.33 (8.29)	86.02 (6.57)	86.59 (4.19)	1.25 (0.47)	1.45 (0.85)	0.03 (0.03)	0.02 (0.02)
48	78.91 (4.01)	80.89 (6.55)	86.92 (7.66)	86.34 (8.28)	0.19 (0.13)	0.36 (0.11)	0.01 (0.01)	0.02 (0.02)
72	80.36 (4.58)	80.78 (6.97)	86.91 (5.21)	87.83 (3.23)	0.17 (0.06)	0.19 (0.10)	0.00 (0.00)	0.04 (0.06)
72.5	78.36 (4.82)	80.03 (4.31)	86.07 (5.75)	89.05 (4.22)	0.09 (0.06)	0.23 (0.05)	0.01 (0.03)	0.01 (0.02)
168	81.09 (2.75)	81.88 (5.55)	89.08 (3.19)	87.39 (5.24)	0.97 (0.31)	1.32 (0.34)	0.01 (0.01)	0.02 (0.02)
168.5	80.37 (4.33)	81.24 (5.58)	87.71 (5.62)	87.76 (6.59)	1.09 (0.11)	1.39 (0.37)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
240	80.22 (7.13)	82.37 (6.87)	80.03 (13.70)	85.29 (6.77)	0.02 (0.01)	0.03 (0.03)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
240.5	82.11 (6.14)	79.54 (7.56)	84.94 (9.51)	83.62 (7.45)	0.02 (0.02)	0.03 (0.03)	0.01 (0.02)	0.00 (0.00)
336	76.06 (6.55)	76.22 (5.83)	82.72 (9.46)	81.89 (8.53)	0.02 (0.02)	0.03 (0.04)	0.01 (0.02)	0.00 (0.00)
336.5	77.32 (5.39)	73.19 (8.10)	82.62 (8.37)	81.03 (11.76)	0.00 (0.00)	0.03 (0.02)	0.02 (0.02)	0.00 (0.00)
337	78.63 (4.63)	72.95 (4.60)	87.21 (3.41)	80.85 (5.83)	0.01 (0.01)	0.08 (0.05)	0.00 (0.00)	0.01 (0.02)
338	76.49 (5.91)	72.43 (6.57)	82.93 (5.98)	81.33 (8.91)	0.04 (0.03)	0.10 (0.07)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
340	76.38 (6.01)	70.73 (3.95)	82.16 (6.69)	80.07 (6.66)	0.02 (0.02)	0.09 (0.08)	0.00 (0.00)	0.02 (0.04)
360	78.67 (6.62)	79.72 (2.83)	85.47 (6.98)	85.36 (5.67)	0.01 (0.03)	0.02 (0.02)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
384	85.89 (3.10)	87.41 (1.97)	89.48 (4.48)	88.84 (2.30)	0.31 (0.15)	0.32 (0.19)	0.04 (0.04)	0.04 (0.04)
408	84.41 (3.64)	87.96 (4.01)	88.12 (3.28)	86.38 (3.33)	0.31 (0.28)	0.59 (0.14)	0.04 (0.03)	0.15 (0.12)
504	85.01 (2.70)	62.84 (38.42)	86.86 (6.11)	67.82 (34.28)	1.38 (0.54)	5.68 (4.90)	0.19 (0.12)	1.98 (2.60)

PAHA = サル抗ヒト抗体。

注記：n = 4、データは平均値（標準偏差）。

2.6.5.16 薬物動態試験：その他（続き）

	被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）		
	添付資料番号：4.2.2.7-12、報告書番号[redacted]		
試験の概要：カニクイザルに MLN0002 を単回及び反復静脈内投与した後の PK モデリング			
動物種：	カニクイザル		
性別（M／F）／動物数／群：	F／3		
給餌状態：	飽食		
溶媒／投与形態：	0.9% 塩化ナトリウム注射液		
投与方法：	1 時間持続静注 [a]		
投与量（mg/kg）：	2.5		
試料：	血清		
分析対象物質：	MLN0002		
分析方法：	フローサイトメトリー		
薬物動態パラメータ	動物番号 1101	動物番号 1102	動物番号 1103
CL（mL/hr/kg）：	0.34	0.38	0.48
$t_{1/2}$（時間）：	102.8	163.4	158.4
V_{ss}（mL/kg）：	49.8	87.8	105.6
$AUC_{0-\infty}$（hr*μg/mL）：	7376	6579	5249

$AUC_{0-\infty}$ = 0 時間から無限時間までの血中濃度－時間曲線下面積；CL = クリアランス；F = 雌；M = 雄；$t_{1/2}$ = 半減期；Vss = 定常状態における分布容積。

a 試料採取時間はすべて、持続静注開始時刻からの相対経過時間。