ブリニューラ®脳室内注射液 150 mg

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.4　薬物動態試験の概要文

BioMarin Pharmaceutical Japan 株式会社

目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 8
2.6.4.1 まとめ 8
2.6.4.2 分析法 12
2.6.4.2.1 マウス及びイヌの CSF、血漿、尿及び CNS 中の相対的な BMN 190 濃度を測定するための酵素活性測定 14
2.6.4.2.2 イヌ及びカニクイザルの血漿及び脳脊髄液における BMN 190 の定量（薬物動態） 14
2.6.4.2.3 イヌ及びカニクイザルの中枢神経系（CNS）組織内の活性体としての BMN 190（TPP1cat）の定量（分布試験用） 15
2.6.4.2.4 イヌ及びカニクイザルの血漿及び CNF 中の抗 BMN 190 抗体の測定（抗原性試験用） 16
2.6.4.3 吸収 17
2.6.4.3.1 単回投与 17
2.6.4.3.1.1 3、7 及び 14 日間回復期間を伴ったカニクイザル単回脳室内（ICV）投与毒性、トキシコキネティクス及び CNS への分布試験 17
2.6.4.3.1.2 カニクイザル単回 IT-L 投与、毒性、トキシコキネティクス及び CNS への分布試験 20
2.6.4.3.2 反復投与 22
2.6.4.3.2.1 WT 及び TPP1 欠損のダックスフンドにおける 3 箇月間反復大槽内（IT-C）投与毒性、CNS への分布及び薬理試験 22
2.6.4.3.2.2 WT 及び TPP1 欠損のダックスフンドにおける 9 箇月間反復脳室内（ICV）投与薬理、毒性、トキシコキネティクス及び CNS 組織への分布試験 24
2.6.4.3.2.3 BMN 190 を 48 mg の用量でダックスフンド CLN2 モデルへ 44 週間脳室内（ICV）反復投与 31
2.6.4.3.2.4 BMN 190 を投与開始時 4 箇月齢の WT 及び TPP1 欠損ダックスフンドへ 39 週間脳室内（ICV）反復投与 36
2.6.4.4 分布 42
2.6.4.4.1 単回投与試験 42
2.6.4.4.1.1 BMN 190 を WT ビーグル犬に IT-C 投与後の CNS 組織への分布 42
2.6.4.4.1.2 3、7 及び 14 日間回復期間を伴ったカニクイザル単回脳室内（ICV）投与毒性、トキシコキネティクス及び CNS への分布試験 44
2.6.4.4.1.3 カニクイザル単回 IT-L 投与毒性、トキシコキネティクス及び CNS への分布試験 46
2.6.4.4.2 反復投与 47
2.6.4.4.2.1 WT 及び TPP1 欠損ダックスフンドに 3 箇月間 IT-C 反復投与したときの毒性試験、CNS 組織への分布、薬理試験 47

2.6.4.4.2.2 WT 及び TPP1 欠損のダックスフンドにおける 9 箇月間反復脳室内（ICV）投与薬理、毒性、トキシコキネティクス及び CNS 組織への分布試験 48
2.6.4.4.2.3 BMN 190 を 48 mg の用量でダックスフンド CLN2 モデルへ 44 週間脳室内（ICV）反復投与 50
2.6.4.5 代謝 52
2.6.4.6 排泄 52
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 52
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 52
2.6.4.9 考察及び結論 52
2.6.4.9.1 吸収 52
2.6.4.9.2 分布 54
2.6.4.9.3 結論 54

表目次

表 2.6.4.1.1 BMN 190 の非臨床薬物動態における主な結果 9
表 2.6.4.2.1 非臨床試験に用いた分析法 13
表 2.6.4.2.2 定量範囲 15
表 2.6.4.2.3 組織内濃度定量範囲 16
表 2.6.4.2.4 抗体測定における感度 17
表 2.6.4.3.1 0190-09-071 試験のデザイン 18
表 2.6.4.3.2 BMN 190 をカニクイザルに単回 ICV 持続投与後の CSF における PK パラメーター 20
表 2.6.4.3.3 BMN 190 をカニクイザルに単回 ICV 持続投与後の血漿における PK パラメーター 20
表 2.6.4.3.4 BMN190-11-046 試験のデザイン 21
表 2.6.4.3.5 カニクイザルに BMN 190 を 14 mg の用量で単回 IT-L 投与後の CSF における PK パラメーター 22
表 2.6.4.3.6 カニクイザルに BMN 190 を 14 mg の用量で単回 IT-L 投与後の血漿における PK パラメーター 22
表 2.6.4.3.7 0190-09-066 試験のデザイン 23
表 2.6.4.3.8 0190-10-077 試験のデザイン 24
表 2.6.4.3.9 BMN 190 の CSF における薬物動態パラメーター[a] 28
表 2.6.4.3.10 BMN 190 の血漿における薬物動態パラメーター[a,b] 30
表 2.6.4.3.11 BMN190-12-009 試験のデザイン 32
表 2.6.4.3.12 BMN 190 を 48 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の CSF 中 PK パラメーター 34
表 2.6.4.3.13 BMN 190 を 48 mg の用量で ICV 定速投与初回の血漿中 PK パラメーター 35

表 2.6.4.3.14 BMN190-12-027 試験のデザイン....36
表 2.6.4.3.15 BMN 190 を 16 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の CSF 中 PK パラメーター....39
表 2.6.4.3.16 BMN 190 を 16 mg の用量で ICV 定速投与初回の血漿中 PK パラメーター....41
表 2.6.4.4.1 0190-08-034 試験のデザイン....43
表 2.6.4.4.2 BMN 190 を 14 mg の用量でカニクイザルに ICV 定速投与後の脳及び脊髄中における PK パラメーター....46

図目次

図 2.6.4.3.1 BMN 190 をカニクイザルに単回 ICV 持続投与（0、5、14、20 mg）後の平均 CSF 中濃度推移....19
図 2.6.4.3.2 BMN 190 をカニクイザルに単回 ICV 持続投与（0、5、14、20 mg）後の平均血漿中濃度推移....19
図 2.6.4.3.3 カニクイザルに BMN 190 を 4 時間かけて IT-L 持続投与後の平均 CSF 中及び血漿中濃度推移....21
図 2.6.4.3.4 BMN 190 又は人工 CSF を IT 投与後の TPP1 タンパク量及び活性....23
図 2.6.4.3.5 BMN 190 の ICV 持続投与後の CSF 中濃度推移....26
図 2.6.4.3.6 BMN 190 の 16 mg を単回及び反復投与したときの CSF 中濃度推移....27
図 2.6.4.3.7 遺伝子型別の CSF 中の BMN 190 濃度推移（1 回目投与）....27
図 2.6.4.3.8 BMN 190 をダックスフンドに 4 mg 及び 16 mg の用量で脳側室に ICV 持続投与後の平均血漿中濃度推移....29
図 2.6.4.3.9 投与回数ごとの平均 BMN 190 血漿中濃度推移....30
図 2.6.4.3.10 BMN 190 を ICV 持続投与したときの血漿中及び CSF 中の平均濃度推移....31
図 2.6.4.3.11 BMN 190 を 48 mg の用量で ICV 持続投与初回（投与 1 回目）の CSF 中平均濃度推移....33
図 2.6.4.3.12 BMN 190 を 48 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の血漿中平均濃度推移....34
図 2.6.4.3.13 BMN 190 を 48 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の血漿中及び CSF 中平均濃度推移....35
図 2.6.4.3.14 BMN 190 を 16 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の CSF 中平均濃度推移....38
図 2.6.4.3.15 BMN 190 を 16 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の血漿中平均濃度推移....40
図 2.6.4.3.16 BMN 190 を 16 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の血漿中及び CSF 中平均濃度推移....42
図 2.6.4.4.1 WT ビーグル犬に BMN 190 を IT-C 投与後の脳表面組織における分布....43
図 2.6.4.4.2 WT ビーグル犬に BMN 190 を IT-C 投与後の脳深部組織における分布....44

図 2.6.4.4.3 BMN 190 をカニクイザルに単回 ICV 定速投与後の TPP1 の CNS 組織分布 45
図 2.6.4.4.4 カニクイザルに BMN 190 を 14 mg の用量で単回 IT-L 投与後の脳組織内分布 47
図 2.6.4.4.5 BMN 190 を 4 箇月間反復 IT-C 投与した TPP1 欠損ダックスフンドの脳組織における TPP1 活性.....48
図 2.6.4.4.6 BMN 190 を 4 mg の用量でダックスフンドに約 20 回 ICV 又は IT 投与後の脳組織中の BMN 190 濃度 49
図 2.6.4.4.7 BMN 190 を 16 mg の用量でダックスフンドに約 20 回 ICV 又は IT 投与後の脳組織中の BMN 190 濃度 50
図 2.6.4.4.8 BMN 190 を ICV 又は IT 投与後のダックスフンド脳組織中平均 BMN 190 濃度 51

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
AUC	area under concentration-time curve	濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}$	area under concentration-time curve from zero to infinity	時間 0 から無限時間までの濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-t}	area under concentration-time curve from zero to time t	時間 0 から薬物濃度測定可能時間 t までの濃度-時間曲線下面積
BLQ	Bellow the limit of quantification	定量下限未満
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
CL	clearance	クリアランス
CLN2	neuronal ceroid lipofuscinosis type 2	セロイドリポフスチン症 2 型
C_{max}	maximum concentration	最高濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CSF	cerebrospinal fluid	脳脊髄液
ECL	electrochemiluminescence	電気化学発光
ECLA	electrochemiluminescence assays	電気化学発光測定法
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着法
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
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
HRP	horseradish peroxidase	ホースラディッシュパーオキシダーゼ
ICV	intracerebroventricular	脳室内
IT	intrathecal	髄腔内
IT-C	intrathecal-cisternal	大槽内
IT-L	intrathecal-lumbar	腰部髄腔内
K_{uptake}	Concentration of substance yielding 50% of maximal uptake into cells	細胞への最大取込み量の 50%が得られる物質濃度
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
LOQ	limit of quantification	定量限界
MSD	Meso Scale Discovery	（会社名）
NCA	noncompartmental analysis	ノンコンパートメントモデル
PBS	phosphate buffered saline	リン酸緩衝生理食塩液
PK	Pharmacokinetic(s)	薬物動態
R^2	coefficient of determination	決定係数
$t_{1/2}$	half life	半減期
rhTPP1	recombinant form of human tripeptidyl peptidase-1	遺伝子組換えヒトトリペプチジルペプチダーゼ 1
SD	standard deviation	標準偏差
Tab	total anti-drug antibody	総抗薬物抗体

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
T_{max}	Time to reach maximum concentration following administration	最高濃度到達時間
TMB	tetramethylbenzidine	テトラメチルベンジジン
TPP1	tripeptidyl peptidase 1	トリペプチジルペプチダーゼ 1
TPP1cat	TPP1 catalytic form	活性型 TPP1
ULOQ	upper limit of quantification	定量上限
V_z	distribution volume at steady state	終末相における分布容積
WT	wild type	野生型（正常）
%CV	percent coefficient of variation	変動係数
%RE	percent relative error	真度

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

イヌ（ビーグル犬）への単回大槽内（intrathecal-cisternal：IT-C）投与 1 回、カニクイザルへの単回腰部髄腔内（intrathecal-lumbar：IT-L）投与 1 回、カニクイザルへの単回脳室内（intracerebroventricular：ICV）投与 1 回、イヌ（ダックスフンド）への反復 IT-C 投与 1 回及びダックスフンドへの反復 ICV 投与 3 回の中枢神経系（CNS）への直接投与を行い、BMN 190 の非臨床薬物動態（PK）を検討した。ダックスフンドへの反復 ICV 投与 3 回には以下の試験が含まれている。BMN 190 を 4 mg 及び 16 mg の用量で反復 ICV 投与 1 回、48 mg の用量で反復 ICV 投与 1 回、16 mg の用量で 4 箇月齢から反復 ICV 投与 1 回（他の試験では約 2.5 箇月齢から投与開始）。

非臨床 PK における各試験の方法、結果及び考察の概略を表 2.6.4.1.1 に示した。使用した BMN 190 の Lot の情報は、2.6.7 項表 2.6.7.4.1 に示した。

カニクイザル及びダックスフンドにおける ICV 投与時の投与量は、BMN 190 の濃度及び定速投与量及び投与速度の上限を考慮して選択した（2.6.6 項）。定速投与の条件は、定速投与の間の動物の麻酔時間を最短にすること及び CSF 体積が変化しやすいことによる脳室内圧の影響を最小にする条件を選択した。ICV における最大投与量は、当初はダックスフンドで 16 mg/dose、カニクイザルで 20 mg/dose であった。後にはより高濃度の BMN 190 が開発されたため、ダックスフンドで 48 mg/dose の投与が可能となった（2.6.4.3.2.3）。

表 2.6.4.1.1 BMN 190 の非臨床薬物動態における主な結果

試験内容及び番号 [記載箇所]	動物種	投与経路	投与量	投与間隔及び回数	結果
単回投与試験					
単回 IT-C 中枢神経系（CNS）への投与 分布 0190-08-034 [4.2.2.3-1]	イヌ （ビーグル犬）	IT-C ボーラス投与	0、8、33、128 mg	単回投与	• BMN 190 の中枢神経組織への分布は投与量に依存し部位によって分布が異なっていた。すなわち、脳の深部組織及び脊髄や大脳皮質に比して表層組織（脳脊髄液が直接接する脳組織の深さ 3 mm と定義）に BMN 190 が分布した。組織における BMN 190 の半減期は、4.5 日と推定された。
単回 ICV 毒性試験 トキシコキネティクス及び CNS への分布 0190-09-071 [4.2.3.1-1]	サル （カニクイザル）	ICV 定速投与	0、5、14、20 mg	単回投与	• 雌性カニクイザルに BMN 190 を 5、14 及び 20 mg の用量で単回 ICV 定速投与したとき、CSF での最高濃度（C_{max}）はそれぞれ約 3.18×10^5、9.68×10^5 及び 1.58×10^6 ng/mL であった。 • CSF での時間 0 から薬物濃度測定可能時間 t までの濃度-時間曲線下面積（AUC_{0-t}）は 5、14 及び 20 mg の用量で 1.05×10^6、5.77×10^6 及び 6.30×10^6 ng•h/mL であった。 • BMN 190 の CSF 内濃度は、投与後 1 日から 3 日は、細胞に最大取り込み量の 50%が取り込まれる物質濃度（K_{uptake}）（約 3.1 nmol/L 又は約 183 ng/mL ; TPP1 欠損ヒト線維芽細胞を用いた TR-00195 試験で定義）を超える濃度を維持していた。 • CSF での C_{max} はほぼ用量に比例して増加したが、AUC は、用量比を超える増加を示した。 • CSF からの BMN 190 の減少は、二相性を示し、その終末相半減期（$t_{1/2}$）は 7～24 時間であった。 • BMN 190 の血漿での C_{max} は、CSF の C_{max} の 1／100 から 1／1000 であり、5、14 及び 20 mg 投与における C_{max} はそれぞれ 1.67×10^3、3.67×10^3 及び 4.94×10^3 ng/mL であった。 • 5、14 及び 20 mg 投与後の血漿での AUC_{0-t} はそれぞれ 6.54×10^3、1.68×10^4 及び 2.81×10^4 ng•h/mL であった。BMN 190 の血漿での $t_{1/2}$ は 5 mg 投与で 15.5 時間、14 及び 20 mg 投与で約 6 時間であった。 • BMN 190 を ICV 定速投与すると、BMN 190 は CNS 組織に広く分布し、C_{max} は 65.3～875 ng/mg protein、AUC_{0-t} は 764～4486 ng•day/mg protein であった。多くの組織での $t_{1/2}$ は 3 から 15 日であった。

試験内容及び番号 [記載箇所]	動物種	投与経路	投与量	投与間隔及び回数	結果
					• CSF 及び血漿での最高濃度到達時間（T_{max}）は定速投与終了時の 3.6 時間であった。多くの CNS 組織における T_{max} は最初の試料採取時間である 3 日であった。
単回 IT-L 毒性試験 トキシコキネティクス及び CNS への分布 BMN190-11-046 [4.2.3.1-2]	サル （カニクイザル）	IT-L	14 mg	単回投与	• BMN 190 を 14 mg の用量で単回 IT-L 投与したとき、CSF での C_{max} は投与後 2 分で、$2.67\times10^6 \pm 7.03\times10^5$ ng/mL であった。平均 C_{max} は K_{uptake} を十分超える濃度であった。CSF の濃度は IT-L 投与後 K_{uptake} を超える濃度を約 28 時間維持していた。CSF での平均 AUC_{0-t} は $1.10\times10^7 \pm 1.86\times10^6$ ng•h/mL であった。 • BMN 190 を IT-L 投与したとき、全身への曝露が観察された。血漿での C_{max} は投与終了後 2 分で、平均値は $7.76\times10^3 \pm 3.03\times10^3$ ng/mL であり、CSF 中濃度の約 1／300 であった。血漿での AUC_{0-t} は $3.77\times10^4 \pm 1.03\times10^4$ ng•h/mL であり、CSF の AUC_{0-t} の約 1／200 であった。 • BMN 190 を 14 mg の用量で単回 IT-L 投与したとき、BMN 190 は脳組織に広く分布した。
反復投与					
3 箇月間反復 IT-C 投与毒性、CNS 組織分布及び薬理試験 0190-09-066 [4.2.1.1-3]	野生型（WT）及び TPP1 欠損イヌ （ダックスフンド）	IT-C	32 mg	1 回／月 投与回数：4 回	• BMN 190 を IT-C 投与したとき、投与後 48 時間において、脳組織全体で TPP1 酵素活性の上昇が見られた。
9 箇月間反復 ICV 投与薬理、毒性、トキシコキネティクス、CNS 組織分布試験 0190-10-077 [4.2.1.1-4]	WT 及び TPP1 欠損イヌ （ダックスフンド）	ICV、IT-L 及び IT-C	4 又は 16 mg	1 回／2 週間 投与回数：20 回又はそれ以上	• BMN 190 を 4 mg 又は 16 mg の用量で単回 ICV 持続投与したとき、CSF での平均 C_{max} はそれぞれ約 4.73×10^5 ng/mL 及び 1.46×10^6 ng/mL であった。平均した時間 0 から無限時間までの濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0-\infty}$）はそれぞれ 1.88×10^6 及び 6.45×10^6 ng•h/mL であった。平均終末相 $t_{1/2}$ は 10.5 時間及び 5.86 時間であった。 • BMN 190 を 16 mg の用量で投与したとき、CSF での曝露量（C_{max} 及び AUC）は単回投与時（Dose 1）及び反復投与後（Dose 10）で類似していた。 • 4 mg 又は 16 mg を単回 ICV 持続投与したときの血漿での平均 C_{max} はそれぞれ 5.27×10^2 ng/mL 及び 1.78×10^3 ng/mL であり、平均 $AUC_{0-\infty}$はそれぞれ 1.89×10^3 及び 5.18×10^3 ng•h/mL であり、BMN 190 の曝露量は、CSF の $AUC_{0-\infty}$の 1／1000 以下であった。また、平均終末相 $t_{1/2}$ は 10.4 時間及び 8.97

試験内容及び番号 [記載箇所]	動物種	投与経路	投与量	投与間隔及び回数	結果
					時間であった。 • BMN 190 を 4 mg 又は 16 mg の用量で投与したとき、血漿中での BMN 190 の曝露量は単回投与時（Dose 1）より反復投与後（Dose 10 及び 20）の方が小さい値を示した。 • BMN 190 の CSF 及び血漿中での PK は WT 及び TPP1 欠損動物で類似していた。 • BMN 190 を安楽死後に定量したとき CNS 組織に広く分布していた。
44 週間隔週 ICV 投与 CLN2 病態モデル（ダックスフンド） BMN190-12-009 [4.2.1.1-5]	TPP1 欠損イヌ（ダックスフンド）	ICV、IT-L 及び IT-C	48 mg まで投与	1 回／2 週間 投与回数：14～22 回	• BMN 190 を 48 mg の用量（初期投与量）で ICV 持続投与したとき、CSF での平均 C_{max} は 1.78×10^6 ng/mL であり、平均 $AUC_{0-\infty}$ は 1.06×10^7 ng•h/mL であった。平均終末相 $t_{1/2}$ は 6.59 時間であった。 • BMN 190 を 48 mg の用量（初期投与量）で ICV 持続投与したとき、血漿での平均 C_{max} は 7.60×10^3 ng/mL であり、平均 $AUC_{0-\infty}$ は 4.02×10^4 ng•h/mL であった。平均終末相 $t_{1/2}$ は 22.9 時間であった。 • BMN 190 は、ICV 又は IT 投与後 CNS 組織に広く分布していた。
39 週間隔週 ICV 投与 CLN2 病態モデル（ダックスフンド） BMN190-12-027 [4.2.1.1-6]	WT 及び TPP1 欠損イヌ（ダックスフンド：投与開始時 4 箇月齢）	ICV、IT-L 及び IT-C	16 mg まで投与	1 回／2 週間 投与回数：5～13 回	• BMN 190 を 16 mg の用量（初期投与量）で ICV 持続投与したとき、CSF での平均 C_{max} は 1.27×10^6 ng/mL であり、平均 $AUC_{0-\infty}$ は 7.31×10^6 ng•h/mL であった。平均終末相 $t_{1/2}$ は 7.24 時間であった。 • BMN 190 を 16 mg の用量（初期投与量）で ICV 持続投与したとき、血漿での平均 C_{max} は 4.97×10^2 ng/mL であり、平均 $AUC_{0-\infty}$ は 2.83×10^3 ng•h/mL であった。平均終末相 $t_{1/2}$ は 9.68 時間であった。 • 血漿における PK プロファイルは WT 及び TPP1 欠損動物で類似していた。 • BMN 190 を投与したとき、血漿中における BMN 190 の曝露量は単回投与時（Dose 1）より反復投与後（Dose 5）の方が小さい値を示した。

BMN 190 の製剤処方及び製造方法が開発の途中で変更されているが、非臨床試験に使用されたロット間は類似していた。製剤処方及び製造方法の詳細はモジュール 3 に記載した。探索的な非臨床試験では、University of Medicine and Dentistry of New Jersey（Lin, 2001, Biochem.J.）で作製されたチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞由来である探索段階の遺伝子組換えヒトトリペプチジルペプチダーゼ 1（rhTPP1）を使用した。BioMarin では、CHO 細胞のラージスケール培養プロセスを開発しダックスフンドやカニクイザルを用いた主要な試験に用いた。分析試験において BMN 190 が示す特異的活性、分子量、電荷、グリコシル化のプロファイル、細胞への取り込みは、異なるロット間で類似していた。*In vitro* 試験において全てのロットにおける細胞への取り込み及び酵素活性は類似していた（2.3.S.3.1 項）。

2.6.4.2 分析法

非臨床試験において、BMN 190（rhTPP1）の曝露及び免疫原性を評価するため、分析法を開発した。開発初期においては、TPP1 の酵素活性を用いて相対的な酵素量を測定した。後のイヌ及びカニクイザルの試験では ELISA 法を用いて CSF 及び血漿における PK 及び CNS 組織における分布を検討した（表 2.6.4.2.1）。電気化学発光測定法（Electrochemiluminescence assays : ECLA）を開発し、イヌ及びカニクイザルの CSF 中及び血漿中の BMN 190 特異的総抗薬物抗体（TAb）を検討した（表 2.6.4.2.1）。開発したイヌ及びサルの PK 及び Tab の測定方法は、FDA、EMA 及び以下のガイドラインに適合している。

Bioanalytical Method Validation, FDA (CDER) Guidance for Industry, May 2001

Guideline on Bioanalytical Method Validation, EMA, February 2012

Guideline on Immunogenicity Assessment of Biotechnology-Derived Therapeutic Proteins , April 2008

International Conference on Harmonization (ICH) Harmonized Tripartite Guideline: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1), November 2005

表 2.6.4.2.1 非臨床試験に用いた分析法

報告書 No. [記載箇所]	報告書タイトル	測定した試験
BAS-DR-09-003 [4.2.2.1-1]	Development of a Sandwich ELISA for the Measurement of Recombinant Tripeptidyl-Peptidase 1 (TPP1) Pro-Form levels in Canine Plasma and Cerebrospinal Fluid	0190-09-066 0190-10-077 BMN190-12-009 BMN190-12-027
BAS-DR-10-005 [4.2.2.1-2]	Development of a Sandwich ELISA for the Measurement of Recombinant Tripeptidyl-Peptidase 1 (TPP1) Pro-Form Levels in Cynomolgus Monkey Plasma and Cerebrospinal Fluid	0190-09-071 BMN190-11-046
BAS-DR-10-008 [4.2.2.1-3]	Development of a Sandwich ELISA for the Measurement of Recombinant Tripeptidyl-Peptidase 1 (TPP1) Catalytic Form in Cynomolgus Monkey Plasma	0190-09-071
BAS-DR-11-009 [4.2.2.1-4]	Development of a Sandwich ELISA for the Measurement of Recombinant Tripeptidyl-Peptidase 1 Catalytic Form in Canine Brain and Spinal Cord Tissue Homogenates	0190-10-077 BMN190-12-009
BAS-DR-10-007 [4.2.2.1-5]	Development of a Sandwich ELISA for the Measurement of Tripeptidyl-Peptidase 1 (TPP1) Catalytic Form in Cynomolgus Monkey Brain and Spinal Cord Tissue Homogenates	0190-09-071 BMN190-11-046
BAS-DR-15-016[a] [4.2.2.1-6]	Development of an Electrochemiluminescence Assay (ECLA) to detect anti-TPP1 Antibodies in Canine Plasma and CSF	0190-09-066 0190-10-077 BMN190-12-009 BMN190-12-027
BAS-DR-15-017 [4.2.2.1-7]	Development of an Electrochemiluminescence Assay (ECLA) to detect anti-TPP1 Antibodies in Cynomolgus Monkey Plasma and CSF	0190-09-071

a イヌ血漿中の抗 BMN 190 抗体測定における薬物に対する忍容性や選択性については、BAS-GR-15-041（4.2.2.1-8 項）に記載した。

2.6.4.2.1 マウス及びイヌの CSF、血漿、尿及び CNS 中の相対的な BMN 190 濃度を測定するための酵素活性測定

TPP1 ノックアウトマウス（BMN190-12-010）、セロイドリポフスチン症 2 型（CLN2）病態モデルのビーグル犬（0190-08-034）及び 3 箇月齢のダックスフンド（0190-09-066）試験における CSF、血漿、尿、CNS 組織ホモジネートの相対的な BMN 190 の生物活性を測定するため、探索的に、バリデートされていない TPP1 の酵素活性測定（Sohar, 2000, Clin Chem）を用いた。

低 pH（pH 4.5）においてトリペプチダーゼ基質（Alanine-Alanine-Phenylalanine-7 Amido 4-Methocoumarin［AAF-AMC］）の開裂によって生じる溶液中の蛍光を測定することによって TPP1 の酵素活性を得た。各試料の総タンパク量又は各試料の 4 methylumbelliferyl-b-D-galactopyranoside のベータガラクトシダーゼによる開裂によって生じる蛍光を測定して得られる非特異的組織酵素活性で発光波長 460 nm の蛍光データを補正した。2 つの補正方法は、類似した曝露量を示した（非臨床試験：0190-08-034 及び BMN190-12-010）。BMN 190 を pH3.5 で加水分解して活性化し、直線検量線によって相対活性を評価する対照として使用した。病態動物（溶媒又は BMN 190 投与）ごとのマトリックスをデュプリケイトで測定した平均値を正常動物（溶媒投与）の相当するマトリックスのデュプリケイトで測定した平均値で除して相対活性を求めた。イヌにおけるTPP1 活性の測定単位内の精度は、[redacted]～[redacted]%CV であった（0190-08-034）。

2.6.4.2.2 イヌ及びカニクイザルの血漿及び脳脊髄液における BMN 190 の定量（薬物動態）

（試験番号 BAS-DR-09-003、記載箇所 4.2.2.1-1）
（試験番号 BAS-DR-10-005、記載箇所 4.2.2.1-2）
（試験番号 BAS-DR-10-008、記載箇所 4.2.2.1-3）

BMN 190 は、細胞に取り込まれライソゾームに移行するまで活性を持たない。BMN 190 は、細胞内の低 pH の環境下でプロ型が加水分解され活性化する。イヌの血漿中及び CSF 中のプロ型としての BMN 190 を測定する ELISA 法を開発した（BAS-DR-09-003 試験）。4 つの非臨床試験（0190-09-066 試験、0190-10-077 試験、BMN190-12-009 試験及び BMN190-12-027 試験）でこの測定法を用いた。サンドイッチ法によって、抗TPP1 ネズミモノクローナル抗体にプロ型としてのBMN 190 を捕獲させた。次に[redacted]抗rhTPP1 [redacted]ポリクローナル抗体をBMN 190 に結合し、ホースラディッシュパーオキシダーゼ（HRP）が結合した抗[redacted]ポリクローナル[redacted]抗体を反応させた。HRP が結合しているプレートはテトラメチルベンジジン（TMB）基質に反応して発色し、波長450 nm で検出可能となる。本法はカニクイザルの試験（0190-09-071 試験及び BMN190-11-046 試験）のために更に改良された（BAS-DR-10-005 試験）。この改良されたサル血漿及び CSF における測定では上記のように同じ捕獲試薬を用いるが、ストレプトアビジン-HRP とビオチン化ネズミモノクローナル検出抗体の分離を含める改良がなされている。イヌ及びカニクイザル用の検量線は、プロ型としての BMN 190 を標準品

として用い、その定量範囲（ROQ）を表 2.6.4.2.2 に示した。検量線は 4 パラメーターロジスティックモデルを用いた。

検量線、定量上限（ULOQ）、定量下限（LLOQ）、真度、精度、選択性、特異性／干渉物質、希釈直線性、安定性を検討した。両動物種における血漿及びCSF の検量線の平均決定係数（R^2）は[redacted]以上であった。イヌ及びカニクイザルのマトリックスにおける分析単位内及び分析単位間における QC 試料（高、中、低濃度）、また、ULOQ 及びLLOQ の精度（変動係数；%CV）及び真度（定量値と理論値との一致の程度；%RE）は、目標とした値（[redacted]%以下）であった。本測定法は、両動物のマトリックス中のプロ型としてのBMN 190 に特異的であった。イヌマトリックス中の活性rhTPP1 では[redacted]μg/mL まで、カニクイザルでは[redacted]μg/mL まで交差反応性は見られなかった。希釈直線性の検討において、高濃度の試料は、検量線の範囲内に希釈することによって、真度（≤[redacted]|%RE|）、精度（≤[redacted]% CV）で測定可能であることが示された。両動物の血漿及びCSF 中におけるBMN 190 は3 回の凍結融解及び[redacted]℃から[redacted]℃で少なくとも[redacted]時間安定であった。

別途、カニクイザルの血漿中の活性体としての BMN 190（TPP1cat）を測定する ELISA 法（BAS-DR-10-008 試験）を開発した。この方法は非臨床0190-09-071 試験で使用した。カニクイザルの血漿中の総TPP1 を、抗rhTPP1 ポリクローナル[redacted]抗体で捕獲した。活性体としてのBMN 190 をビオチン化ネズミモノクーナル抗体（TPP1cat 特異的）で捕獲し、ストレプトアビジン - HRP とTMB を加えて反応させた（表 2.6.4.2.2）。検量線の分析単位間のR^2は[redacted]以上であった。QC 試料における総合した測定単位内の精度は[redacted]～[redacted]% CV であり、真度は[redacted]～[redacted]|%RE|であった。LOQ 試料における総合した測定単位内の精度は[redacted]～[redacted]% CVであり、真度は[redacted]～[redacted]|%RE|であった。QC試料における測定単位間の精度は[redacted]～[redacted]% CVであり、真度は[redacted]～[redacted]|%RE|であった。LOQ試料における測定単位間の精度は[redacted]～[redacted]% CVであり、真度は[redacted]～[redacted]|%RE|であった。TPP1cat はサル血漿中において　℃以下で[redacted]日間安定であった。

表 2.6.4.2.2　定量範囲

分析対象物質／マトリックス	動物種	
	イヌ	カニクイザル
BMN 190／CSF（無処理）	[redacted]～[redacted]ng/mL[a]	[redacted]～[redacted]ng/mL[b]
BMN 190／血漿（無処理）	[redacted]～[redacted]ng/mL[a]	[redacted]～[redacted]ng/mL[b]
TPP1cat／血漿（無処理）	NA	[redacted]～[redacted]ng/mL[c]

a：BAS-DR-09-003、b：BAS-DR-10-005、c：BAS-DR-10-008、NA：検討せず

2.6.4.2.3　イヌ及びカニクイザルの中枢神経系（CNS）組織内の活性体としての BMN 190（TPP1cat）の定量（分布試験用）

（試験番号 BAS-DR-11-009、記載箇所 4.2.2.1-4）

（試験番号 BAS-DR-10-007、記載箇所 4.2.2.1-5）

イヌ（BAS-DR-11-009 試験）及びカニクイザル（BAS-DR-10-007 試験）における CNS 組織中における活性体としての BMN 190 の分布を測定するための測定法を開発した（表 2.6.4.2.3）。

測定法には、2.6.4.2.1 項で示した TPP1cat の測定と同じサンドイッチ測定を用いた。組織ホモジネート中における細胞外の BMN 190（ICV 定速投与されたプロ型としての BMN 190）と細胞内の BMN 190（ライソゾームで活性化された BMN 190）を区別して活性型の BMN 190（TPP1cat）を測定した。イヌ及びカニクイザルの両動物種における組織ホモジネートの検量線の平均決定係数(R^2)は[redacted]以上であった。イヌ組織ホモジネートのQC 試料における総合した測定単位内の精度は[redacted]～[redacted]% CV であり、真度は[redacted]～[redacted]|%RE|であった。QC 試料における測定単位間の精度は[redacted]～[redacted]% CVであり、真度は[redacted]～[redacted]|%RE|であった。カニクイザル組織ホモジネートのQC 試料における総合した測定単位内の精度は[redacted]～[redacted]% CV であり、真度は[redacted]～[redacted]|%RE|であった。LOQ 試料の精度は[redacted]～[redacted]% CV であり、真度は[redacted]～[redacted]|%RE|であった。QC 試料における測定単位間の精度は[redacted]～[redacted]% CV であり、真度は[redacted]～[redacted]|%RE|であった。LOQ試料における測定単位間の精度は[redacted]～[redacted]% CVであり、真度は[redacted]～[redacted]|%RE|であった。TPP1cat はイヌ及びサル組織ホモジネートにおいて少なくとも2 回の凍結融解で安定であった。

表 2.6.4.2.3 組織内濃度定量範囲

マトリックス	動物種	
	イヌ[a]	カニクイザル[b]
無希釈の CNS 組織中（脳、脊髄組織）における定量範囲	[redacted]～[redacted]ng/mL	[redacted]～[redacted]ng/mL

a：BAS-DR-11-009、定量範囲を検量線の濃度[redacted]ng/mL 及び[redacted]ng/mL と定義した。
b：BAS-DR-10-007

2.6.4.2.4 イヌ及びカニクザルの血漿及び CNF 中の抗 BMN 190 抗体の測定（抗原性試験用）

（試験番号 BAS-DR-15-016、記載箇所 4.2.2.1-6）
（試験番号 BAS-DR-15-017、記載箇所 4.2.2.1-7）
（試験番号 BAS-GR-15-041、記載箇所 4.2.2.1-8）

Meso Scale Discovery 社（MSD）の技術に基づき BMN 190 特異的抗体を測定するブリッジング ECLAs を開発した。本法を用いてイヌ及びカニクイザルの CSF 及び血漿（BAS-DR-15-016 試験及び BAS-DR-15-017 試験）の抗体を測定した。抗体の 2 価性を利用してビオチン及びルテニウムでラベルしたプロ型としてのBMN 190 と血漿試料又はCSF 試料を混合し、ブロック済みのストレプトアビジンでコートした96 穴のMSD プレートでインキュベートした。[redacted]抗rhTPP1 ポリクローナル[redacted]抗体を代替の陽性コントロールとして用いた。ルテニウムを電子的に励起して発生する蛍光シグナルを測定することによってビオチンを経由してプレートに結合した薬物と抗体の結合物を検出した。

スクリーニングカットポイントと同等又はそれ以上のシグナルを持つ血漿又は CSF の試料をスクリーニング陽性とした。なおスクリーニングカットポイントは、薬物を投与していない 20 頭の正常イヌ及び 40 匹のカニクイザルの血漿又は CSF の電気化学発光（ECL）のシグナルの 95 パーセンタイルの値である。スクリーニング陽性の試料は、過剰量の非ラベルの BMN 190

（[redacted] µg/mL 未処理試料）の有り及び無しの条件でプレインキュベーションを行いBMN 190に対する特異性を確認した。非ラベルのBMN 190とプレインキュベーションすることによって、BMN 190特異的な抗体結合の場合のシグナルは、非ラベルのBMN 190無しの場合のシグナルより低下する。この低下が確認カットポイントと同じか大きければ測定した試料を抗体陽性とした。このカットポイントは正常動物における測定値の99パーセンタイルの値である。抗体陽性と判断された試料を順次希釈し抗体価カットポイントのECLシグナル前後の希釈率を求める。このカットポイントは正常動物における測定値の99パーセンタイルの値である。カットポイント以下になる一つ手前（カットポイント以上の値を示す）の希釈率を抗体価とした。

イヌ及びカニクイザルの抗体測定法は、カットポイント、感度、精度、選択性、対象薬物の濃度に対する耐性で特徴づけられる。感度（検出限界）は、無希釈のイヌ血漿、CSF及びサルのCSFマトリックスで[redacted] µg/mL、無希釈のサル血漿で[redacted] µg/mLであった（表 2.6.4.2.4）。イヌ血漿における対象薬物の濃度に対する耐性[a]は、低抗体陽性QC試料（[redacted] µg/mL）を用いて検討し、抗体と結合していないBMN 190濃度[redacted] µg/mLまでQC試料が検出可能であった。カニクイザル血漿、イヌ及びカニクイザルのCSFのうち、抗体を測定した試料で抗体と結合していないBMN 190濃度[redacted] µg/mLまで抗体陽性QC試料（[redacted] µg/mL）が検出可能であった。イヌ及びカニクイザルの血漿及びCSFで選択性[a]が示された。それぞれの種における、別の動物から得た正常血漿、溶血及び高脂血漿、正常及び血液が混ざったCSFでQC試料の抗BMN 190抗体添加濃度を[redacted] %測定（カットポイントより大きなスクリーニングポイント）可能であった。イヌ血漿においては、陰性及び抗体陽性QC検体で、統合した測定単位内精度は[redacted]～[redacted]% CVであり、測定単位間精度は[redacted]～[redacted] % CVであった。イヌCSFにおいては、測定単位内精度は[redacted]～[redacted] %CVであり、測定単位間精度は[redacted]～[redacted] %CVであった。カニクイザル血漿においては、陰性及び抗体陽性QC検体で、統合した測定単位内精度は[redacted]～[redacted] % CVであり、CSFにおいては、[redacted]～[redacted] % CVであった。カニクイザル血漿においてQCの測定単位間精度は[redacted]～[redacted] % CVであり、CSFでは[redacted]～[redacted] %CVであった。

a:イヌ血漿における抗BMN 190抗体測定における対象薬物の濃度に対する耐性及び選択性は、BAS-GR-15-041試験（4.2.2.1-8項）に示されている。

表 2.6.4.2.4 抗体測定における感度

マトリックス	イヌ [a]	カニクイザル [b]
無処理CSFにおける検出限界	[redacted] µg/mL	[redacted] µg/mL
無処理血漿における検出限界	[redacted] µg/mL	[redacted] µg/mL

a：CSF及び血漿：BAS-DR-15-016、b：CSF及び血漿：BAS-DR-15-017

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 単回投与

2.6.4.3.1.1 3、7及び14日間回復期間を伴ったカニクイザル単回脳室内（ICV）投与毒性、トキシコキネティクス及びCNSへの分布試験

（試験番号0190-09-071、記載箇所4.2.3.1-1）

BMN 190 をカニクイザルに単回 ICV 持続投与後の BMN 190 の組織内分布、毒性、トキシコキネティクスを評価するために本 GLP 試験を行った。安全性薬理に関しては 2.6.6.2.1 項に記載した。

本試験は、米国、日本及びOECD のGLP 下で[redacted]において実施された。試験開始は20[redacted]年[redacted]月[redacted]日、終了は20[redacted]年[redacted]月[redacted]日である。PK 試料の測定はGLP 下では行わなかった。

3 から 9 歳で体重 2.98～5.29 kg の雌性カニクイザル 22 頭に、BMN 190 を投与できるように ICV カテーテルを脳室内に、また、CSF を継時的に採取するために髄腔内（IT）カテーテルを腰椎に手術によって埋め込んだ。表 2.6.4.3.1 に示すように 20 頭をランダムに 7 群に分け、BMN 190（BMN 190 3.6 mL 投与後、リン酸緩衝生理食塩液［PBS］0.5 mL）を 0.88 mL/h の速度で約 4 時間かけて ICV に定速投与した。

表 2.6.4.3.1 0190-09-071 試験のデザイン

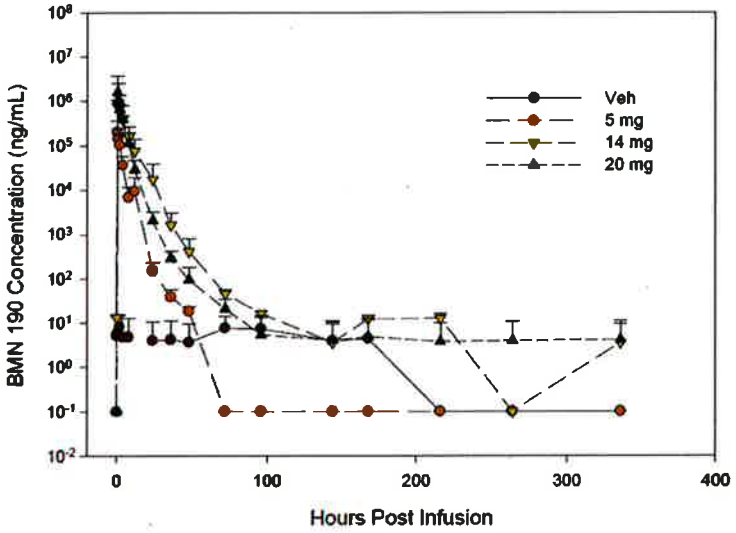
群	薬物	投与量 (mg)	投与濃度 (mg/mL)	動物数	安楽死の時間 (投与後時間 h)
1	Vehicle[a]	0	0	3	336
2	BMN 190	5	1.39	3	336
3	BMN 190	14	3.9	3	336
4	BMN 190	20	5.6	3	336
5	Vehicle[a]	0	0	2	72（1 頭） 168（1 頭）
6	BMN 190	14	3.9	3	72
7	BMN 190	14	3.9	3	168

a：人工脳脊髄液（216.5 mmol/L NaCl、0.8 mmol/L $MgSO_4$、3.01 mmol/L KCl、1.4 mmol/L $CaCl_2$、0.8 mmol/L Na_2HPO_4、0.2 mmol/L NaH_2PO_4、pH 7.3）

PK を検討するため、血漿と CSF を採取した。血液は末梢血管から採取し、CSF は IT カテーテルから採取した。血液及び CSF は、投与前、投与後 0.5、1、2、4、8、12、24、36、48、72、96、144、168、216、264 時間及び剖検前（およそ投与後 336 時間後、表 2.6.4.3.1 参照）に採取した。投与後 72 時間及び 168 時間後に安楽死させた動物の最終 PK 用試料の採取は投与後 72 時間及び 168 時間に行った。群 2、4、5、6 及び 7 では ICV 持続投与中の 0.5、1.5 及び 3.5 時間に追加で試料を採取した。

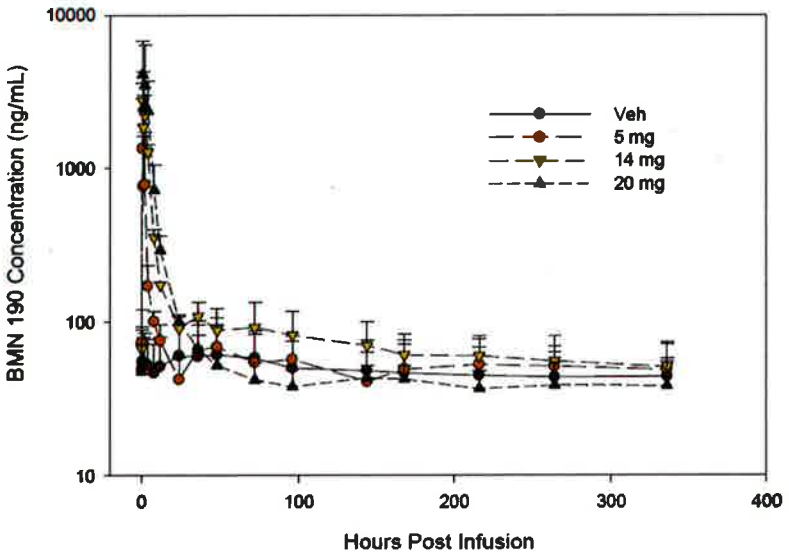
BMN 190 の CSF 中及び血漿中平均薬物濃度推移を図 2.6.4.3.1 及び図 2.6.4.3.2 に示した。

図 2.6.4.3.1 BMN 190 をカニクイザルに単回 ICV 持続投与（0、5、14、20 mg）後の平均 CSF 中濃度推移



投与量：0（Vehicle）、5、14 又は 20 mg ICV、平均±SD

図 2.6.4.3.2 BMN 190 をカニクイザルに単回 ICV 持続投与（0、5、14、20 mg）後の平均血漿中濃度推移



投与量：0（Vehicle）、5、14 又は 20 mg ICV、平均±SD

[redacted]のノンコンパートメントモデル（NCA）を用いてCSF 中及び血漿中BMN 190 の薬物動態を解析した。

CSF 及び血漿における PK パラメーターを表 2.6.4.3.2 及び表 2.6.4.3.3 に示した。

表 2.6.4.3.2 BMN 190 をカニクイザルに単回 ICV 持続投与後の CSF における PK パラメーター

群	n	投与量 (mg)	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)
2	3	5	1.05×10^6 (9.30×10^5)	1.05×10^6 (9.30×10^5)	3.18×10^5 (3.05×10^5)	3.67 (0.289)	7.63 (1.05)
3,6,7	9	14	5.77×10^6 (1.11×10^6)	5.77×10^6 (1.11×10^6)	9.68×10^5 (3.23×10^5)	4.08 (0.492)	24.1 (23.6)
4	3[a)]	20	6.30×10^6 (7.18×10^6)	8.67×10^6	1.58×10^6 (2.21×10^6)	4.17 (0.289)	7.62

平均（SD）
AUC_{0-t}：時間 0 から薬物濃度測定可能時間 t までの CSF 中濃度-時間曲線下面積、$AUC_{0-\infty}$：時間 0 から無限時間までの CSF 中濃度-時間曲線下面積、C_{max}：最高 CSF 中濃度、T_{max}：最高濃度到達時間、$t_{1/2}$：CSF 中半減期
a：1 頭の λ_z が求められなかったため $AUC_{0-\infty}$ 及び $t_{1/2}$ に関しては n＝2

表 2.6.4.3.3 BMN 190 をカニクイザルに単回 ICV 持続投与後の血漿における PK パラメータ

群	n	投与量 (mg)	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)
2	3	5	6.54×10^3 (6.04×10^3)	7.59×10^3 (6.28×10^3)	1.67×10^3 (2.05×10^3)	3.83 (0.29)	15.5 (8.06)
3,6,7	9	14	1.68×10^4 (4.63×10^3)	1.75×10^4 (4.61×10^3)	3.67×10^3 (2.10×10^3)	4.25 (0.61)	6.16 (2.16)
4	3	20	2.81×10^4 (1.45×10^4)	2.91×10^4 (1.44×10^4)	4.94×10^3 (2.85×10^3)	3.83 (0.29)	6.31 (3.21)

平均（SD）
AUC_{0-t}：時間 0 から薬物濃度測定可能時間 t までの血漿中濃度-時間曲線下面積、$AUC_{0-\infty}$：時間 0 から無限時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、T_{max}：最高濃度到達時間、$t_{1/2}$：血漿中半減期

BMN 190 の最高 CSF 及び最高血漿中濃度は定速投与直後であり、投与後 1～3 日後まで CSF 中の濃度は K_{uptake}（約 3.1 nmol/L 又は約 183 ng/mL、TPP1 欠損ヒト線維芽細胞での結果；TR-00195 試験 2.6.2.2.2 項）を上回っていた。CSF における C_{max} はほぼ用量に比例して増加したが、AUC は用量を上回る増加を示した。消失は二相性を示し終末半減期は 7～24 時間であった。最高血漿中濃度は最高 CSF 中濃度のほぼ 1／100～1／1000 であった。

2.6.4.3.1.2 カニクイザル単回 IT-L 投与、毒性、トキシコキネティクス及び CNS への分布試験

（試験番号 BMN190-11-046、記載箇所 4.2.3.1-2）

カニクイザルに BMN 190 を 4 時間かけて単回 IT-L 持続投与後の毒性、トキシコキネティクス及び CNS への分布を評価するため、本非 GLP 試験を行った。毒性の結果は、2.6.6.2.2 項に示した。また、CNS 組織への分布は 2.6.4.4.1.3 項に示した。ここでは PK のデータを示す。

本試験は、[redacted] において実施された。試験開始は 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日、終了は 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日である。

15 から 17 箇月齢で体重 1.71～1.96 kg の雌性 2 頭、雄性 1 頭のカニクイザルに IT-L カテーテルを腰椎に埋め込み、表 2.6.4.3.4 に示したデザインで試験を実施した。

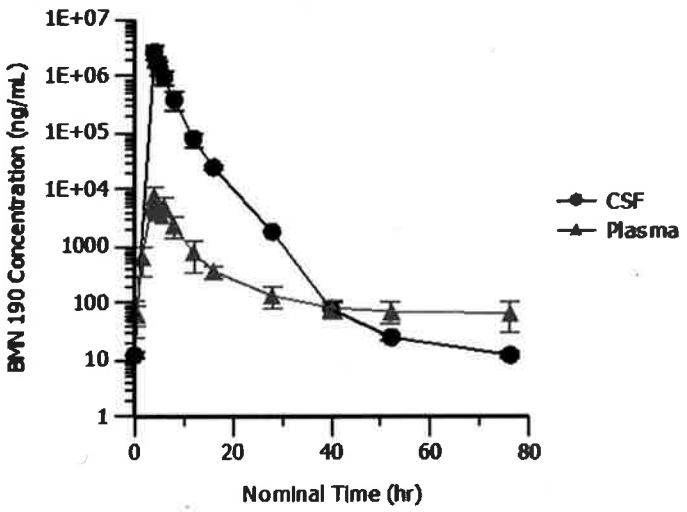
表 2.6.4.3.4 BMN190-11-046 試験のデザイン

群	薬物	投与量 (mg)	投与濃度 (mg/mL)	動物数	安楽死の時間 (投与後時間 h)
1	BMN 190	14	3.9	1 (雄)、2 (雌)	72

BMN 190 投与前、定速投与中 0.5、1.5、3.5 時間、投与終了後 2 分、0.5、1、2、4、8、12、24、36、48 及び 72 時間に末梢静脈から血液を採取し血漿中の薬物濃度を測定した。また、投与前、投与終了後 2 分、0.5、1、2、4、8、12、24、36、48 及び 72 時間に背部試料採取用カテーテル（投与に用いたカテーテルと同じ）を用いて、CSF 試料を採取して薬物濃度を測定した。

サルの CSF 中及び血漿中における BMN 190 濃度推移を図 2.6.4.3.3 に示した。

図 2.6.4.3.3 カニクイザルに BMN 190 を 4 時間かけて IT-L 持続投与後の平均 CSF 中及び血漿中濃度推移



カニクイザルに BMN 190 を 14 mg の用量で 4 時間かけて IT-L 持続投与後の平均 CSF 中及び血漿中濃度。平均±SD

CSF 中及び血漿中 BMN 190 濃度推移を NCA で解析した。CSF 中及び血漿中 BMN 190 の PK パラメーターを表 2.6.4.3.5 及び表 2.6.4.3.6 に示した。

表 2.6.4.3.5 カニクイザルに BMN 190 を 14 mg の用量で単回 IT-L 投与後の CSF における PK パラメーター

投与量 (mg)	n	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)
14 mg	3	1.10×10^7 (1.86×10^6)	1.10×10^7 (1.86×10^6)	2.67×10^6 (7.03×10^5)	4.03 (0.00)	14.6 (0.203)

平均（SD）
AUC_{0-t}：時間 0 から薬物濃度測定可能時間 t までの CSF 中濃度-時間曲線下面積、$AUC_{0-\infty}$：時間 0 から無限時間までの CSF 中濃度-時間曲線下面積、C_{max}：最高 CSF 中濃度、T_{max}：最高濃度到達時間、$t_{1/2}$：CSF 中半減期

表 2.6.4.3.6 カニクイザルに BMN 190 を 14 mg の用量で単回 IT-L 投与後の血漿における PK パラメーター

投与量 (mg)	n	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)
14 mg	3	3.77×10^4 (1.03×10^4)	3.88×10^4 (1.00×10^4)	7.76×10^3 (3.03×10^3)	4.03 (0.00)	6.26 (1.67)

平均（SD）
AUC_{0-t}：時間 0 から薬物濃度測定可能時間 t までの血漿中濃度-時間曲線下面積、$AUC_{0-\infty}$：時間 0 から無限時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、T_{max}：最高濃度到達時間、$t_{1/2}$：血漿中半減期

BMN 190 の CSF 中濃度は持続投与終了後 2 分で最高となり、投与後 28 時間後まで K_{uptake}（約 3.1 nmol/L 又は約 183 ng/mL）を上回っていた。

BMN 190 の血漿中濃度は持続投与終了後 2 分で最高となり、最高 CSF 濃度のほぼ 1／300 であった。血漿における AUC_{0-t} は CSF の AUC_{0-t} の約 1／200 であった。

2.6.4.3.2 反復投与

2.6.4.3.2.1 WT 及び TPP1 欠損のダックスフンドにおける 3 箇月間反復大槽内（IT-C）投与毒性、CNS への分布及び薬理試験

（試験番号 0190-09-066、記載箇所 4.2.1.1-3）

WT 及び TPP1 欠損のダックスフンドに BMN 190 を 3 箇月間 1 箇月に 1 回 IT-C 投与（計 4 回投与）したときの薬力学作用評価をするため、本非 GLP 試験を行った。薬力学作用の結果は、2.6.2.2.4 項に示した。他の目的は毒性、抗体産生能及び CNS 組織への分布の評価であった。毒性及び抗体産生能は 2.6.6.3.1 項に、CNS 組織への分布は 2.6.4.4.2.1 項に示した。ここでは、曝露の結果について記載する。

本試験は、[redacted] USA[redacted]において実施された。本試験は、実施施設のSOPに従って実施され「一般的に許容される科学的基準」に従っている。試験開始は20[redacted]年[redacted]月[redacted]日、終了は20[redacted]年[redacted]月[redacted]日である。試験の概略を表 2.6.4.3.7 に示した。

同腹の2頭のTPP1欠損及び2頭のWTイヌに、4箇月齢から7箇月齢にかけて32 mgのBMN 190又は人工CSFを毎月1回、合計4回反復投与した。大槽に2.3 mLを約2分間以上かけてゆっくりと投与した。投与開始時の体重は、2.6～4.5 kgであった。

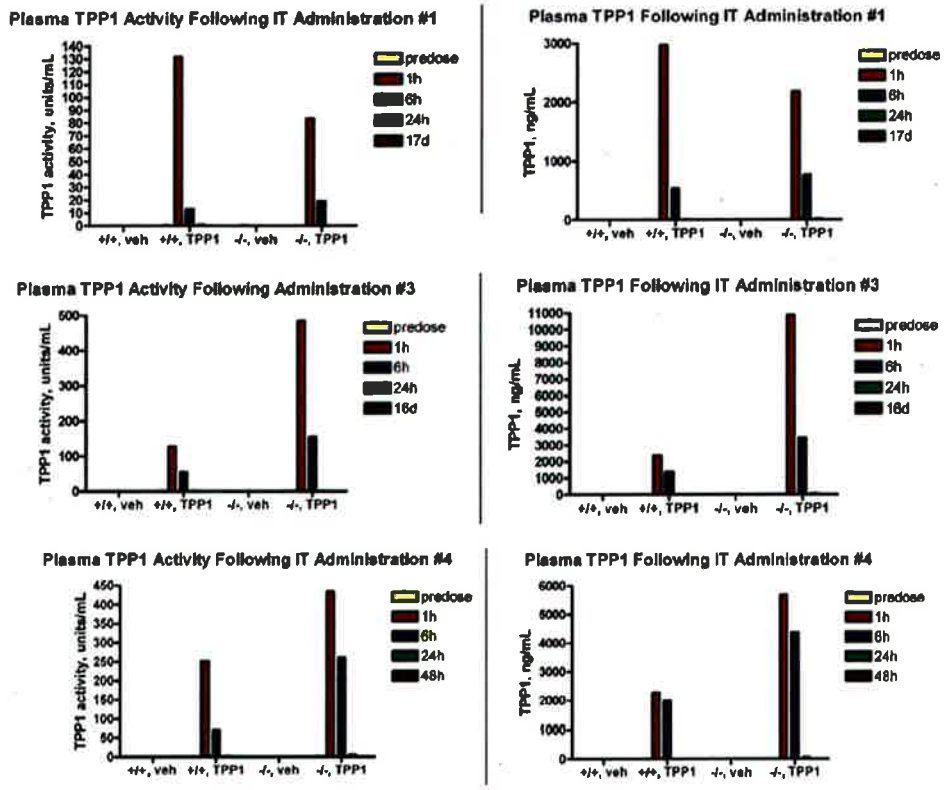
表 2.6.4.3.7 0190-09-066試験のデザイン

動物数	性	遺伝子型	投与物質
1	雌	WT	Vehicle[a]
1	雄	TPP1欠損	Vehicle[a]
1	雌	WT	32 mg BMN 190
1	雄	TPP1欠損	32 mg BMN 190

TPP1：トリペプチジルペプチダーゼ1
a：人工脳脊髄液（216.5 mmol/L NaCl、0.8 mmol/L $MgSO_4$、3.01 mmol/L KCl、1.4 mmol/L $CaCl_2$、0.8 mmol/L Na_2HPO_4、0.2 mmol/L NaH_2PO_4、pH 7.3）

初回投与時には、投与前、投与後1、6、24時間及び17日に、3回目の投与時には投与前、投与後1、6、24時間及び16日、4回目の投与時には、投与前、投与後1、6、24及び48時間に血液を全ての動物から採取した。試料中のTPP1酵素活性及びTPP1としてのタンパク量を測定した。BMN 190初回投与時の測定結果を図 2.6.4.3.4に示した。

図 2.6.4.3.4 BMN 190又は人工CSFをIT投与後のTPP1タンパク量及び活性



BMN 190初回投与（上図）、3回目投与（中図）、4回目投与（下図）
図中：TPP1酵素活性（左カラム）、TPP1タンパク量（右カラム）
WT（+/+）、TPP1欠損（-/-）

BMN 190 を投与されたイヌは 2 頭とも血漿中の TPP1 活性、タンパク量共に急上昇し、投与後 24 時間までに人工 CSF 投与群と同程度まで減少し、48 時間では検出されなくなった。血漿中の BMN 190 の挙動から、2 分以上かけて IT-C にボーラス投与したとき、BMN 190 は体循環系に移行することが示された。

2.6.4.3.2.2 WT 及び TPP1 欠損のダックスフンドにおける 9 箇月間反復脳室内（ICV）投与薬理、毒性、トキシコキネティクス及び CNS 組織への分布試験

（試験番号 0190-10-077、記載箇所 4.2.1.1-4）

本非 GLP 試験の第一の目的は、2 箇月齢から 11 箇月齢にかけて WT 及び TPP1 欠損のイヌ（ダックスフンド）に BMN 190 を 2 週間に 1 回 ICV 持続投与したときの CNS における組織病理及びライソゾームにおける老廃物の蓄積への影響を評価することであり、第二の目的は、BMN 190 を ICV 持続投与したときの機能変化、また、血漿中及び CSF における PK と CNS 組織への分布の評価であった。薬理の結果は、2.6.2.2.5 項に示した。CNS 組織への分布は 2.6.4.4.2.2 項に示した。ここでは PK の結果について示す。

本試験は、[redacted] USA[redacted]において実施された。本試験は、GLPに従って実施されてはいないが、「一般的に許容される科学的基準」に従っている。試験開始は20[redacted]年[redacted]月[redacted]日、終了は20[redacted]年[redacted]月[redacted]日である。

[redacted]で繁殖・飼育された約2.5 箇月齢で雄の体重1.9～2.8 kg、雌の体重1.2～2.1 kg のナイーブなダックスフンドを用いた。WT 及びTPP1 欠損のイヌを表 2.6.4.3.8 に示したように群分けした。

表 2.6.4.3.8 0190-10-077 試験のデザイン

群	遺伝型	動物数	投与物質	投与量（mg）[c]	投与濃度（mg/mL）
1	WT	4[a]	Vehicle[b]	--	0
2	WT	3	TPP1	4	3.34
3	WT	3	TPP1	16	13.34
4	TPP1 欠損	3	Vehicle[b]	--	0
5	TPP1 欠損	3	TPP1	4	3.34
6	TPP1 欠損	3	TPP1	16	13.34

a：1 頭は 15 回投与後、試験中止になったため、予備動物を使用した。
b：人工脳脊髄液（216.5 mmol/L NaCl、0.80 mmol/L $MgSO_4$、3.01 mmol/L KCl、1.40 mmol/L $CaCl_2$、0.80 mmol/L Na_2HPO_4、0.20 mmol/L NaH_2PO_4、pH 7.3）
c：投与容量は各投与 1.2 mL

約 2 箇月齢の動物に BMN 190 を反復投与するための ICV カテーテル及び投与ポート、また CSF を継続的に採取するための IT-L カテーテルを手術によって埋め込んだ。BMN 190 の 4 mg 及び 16 mg をそれぞれ 0.6 mL/h 及び 0.3 mL/h の速度で 2 時間又は 4 時間かけて定速投与した。イヌに施した ICV 及び IT-L カテーテルは、埋め込んだ CNS 投与器具に対する反応のため使用できる期間に限度がある。ICV カテーテルが頭蓋骨の成長によって脳側室から外れた場合や詰まっ

た場合は、IT-L からの定速投与を行うことによって可能な限り薬物投与を継続した。ICV 及び IT-L が使用不能になった場合、残りの BMN 190 投与は IT-C へのボーラス投与で行った。

全ての 4 mg ICV 定速投与群の投与時間は 2 時間であった。16 mg 投与群において最初の ICV 定速投与時間は 2 時間であったが、2 時間で投与したときに見られた過敏症を最小限にするために投与時間を 4 時間に延長した。すなわち、BMN 190 を 16 mg の用量で投与した 6 頭のうち 2 頭は 1 回から 4 回までの投与では 2 時間で定速投与し、残りの投与は 4 時間で定速投与した。3 頭は、1 回から 3 回までの投与では 2 時間で定速投与し、残りの投与は 4 時間で投与した。1 頭は全ての回で 4 時間定速投与した。4 mg 及び 16 mg 投与群の CSF 及び血漿中に抗 BMN 190 抗体が見られた（2.6.6.3.2 項）。

PK 解析用の CSF は埋め込んだカテーテルを用いて腰椎槽から採取した。投与 1 回目及び 10 回目において、定速投与開始直前、投与の中間時点、定速投与終了直後、投与後 0.5、1、4、12、24、48、72、120 及び 168 時間に CSF の採取を計画した。

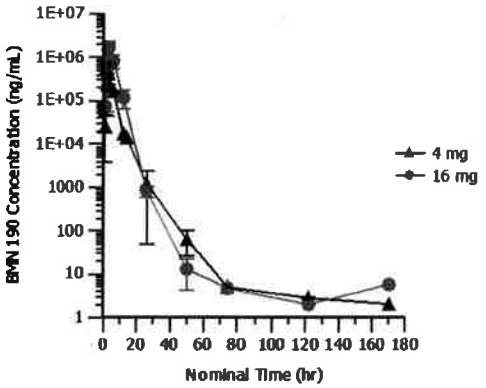
投与 1 回目において、BMN 190 の 4 mg 投与群の 6 頭（WT/TPP1 欠損 =3/3）のうち 2 頭から、PK 解析用の CSF 試料を継時的に採取した。BMN 190 の 4 mg 投与群では投与 10 回目における CSF 試料の採取は行わなかった。BMN 190 の 16 mg 投与群の 6 頭（WT/TPP1 欠損 =3/3）のうち 6 頭から投与 1 回目、また 2 頭から 10 回目に PK 解析用の CSF 試料を継時的に採取した。操作的困難性又はカテーテルの詰まりのため、計画した全ての採取時間で全ての動物の試料を採取することはできなかった。

1 回目の投与前日に PK 解析用の血液を頸静脈穿刺によって採取した。投与 1 回目及び 10 回目において、定速投与開始直前、投与の中間時点、定速投与終了直後、投与後 0.5、1、4、12、24、48、72、120 及び 168 時間に血液の採取を計画した。投与 20 回目において、定速投与開始直前、投与の中間時点、投与終了直後、投与後 0.5、1、4、12、24 及び 48 時間に血液の採取を計画した。なお、安楽死前にも血液を採取した。

BMN 190 の 4 mg 及び 16 mg 投与群では全ての動物から投与 1 回目において、PK 解析用の血液を継時的に採取した。投与 10 回目では BMN 190 の 4 mg 投与群では 5 頭、16 mg 投与群では 6 頭、投与 20 回目では 16 mg 投与群において 3 頭（WT/TPP1 欠損 =1/2）で PK 解析用の血液を継時的に採取した。

BMN 190 を 4 mg 又は 16 mg 単回（投与 1 回目）ICV 定速投与したときの CSF 中の平均 PK プロファイルを図 2.6.4.3.5 に示した。ただし、16 mg 投与群において 1 回目に 4 時間の定速投与を受けた動物のデータは含まれていない。

図 2.6.4.3.5 BMN 190 の ICV 持続投与後の CSF 中濃度推移

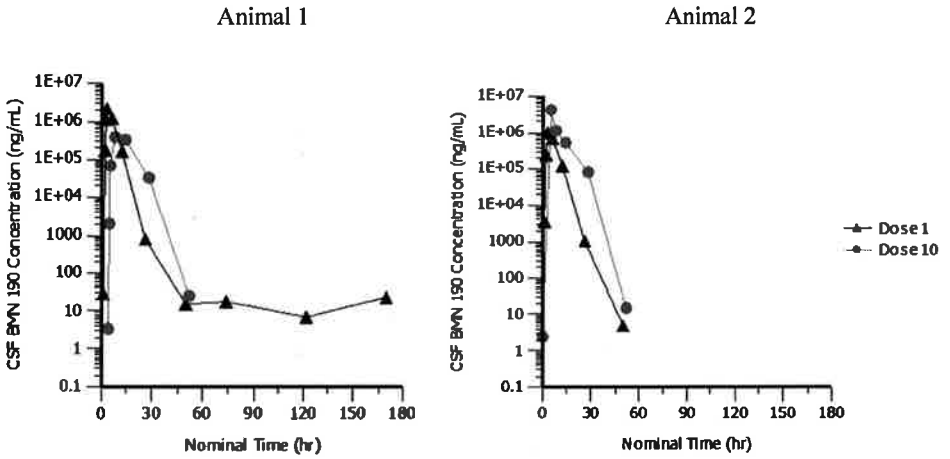


平均±SD、BMN 190 を 4 mg（n＝2、WT/TPP1 欠損 ＝1/1）又は 16 mg（n＝5、WT/TPP1 欠損 ＝2/3）の用量で ICV 持続脳側室投与後の CSF 中濃度推移

BMN 190 の最高 CSF 中濃度は、ICV 定速投与終了近くであり、4 mg 投与群に比べ 16 mg 投与群は約 3 倍の濃度であった（表 2.6.4.3.9）。定速投与終了時間と最高 CSF 中濃度到達時間の差は、投与部位（脳側室）と CSF 採取部位（腰椎槽）での濃度が平衡化する時間が必要なためと考えられる。CSF からの BMN 190 の消失は、二相性であり、4 mg 及び 16 mg 投与群において、ほとんどの BMN 190 は 168 時間以内に CSF から消失した。

16 mg 投与群において 10 回目の投与時に CSF の PK 用試料を 2 頭から採取した。1 頭の投与前値は定量下限未満（BLQ）であり、他の 1 頭は 2.48 ng/mL であった。これら 2 頭の 1 回目の投与と 10 回目の投与における CSF 中濃度推移を図 2.6.4.3.6 に示した。2 頭とも 1 回目の ICV 持続投与にかけた時間は 2 時間であり、10 回目は 4 時間であった。

図 2.6.4.3.6 BMN 190 の 16 mg を単回及び反復投与したときの CSF 中濃度推移

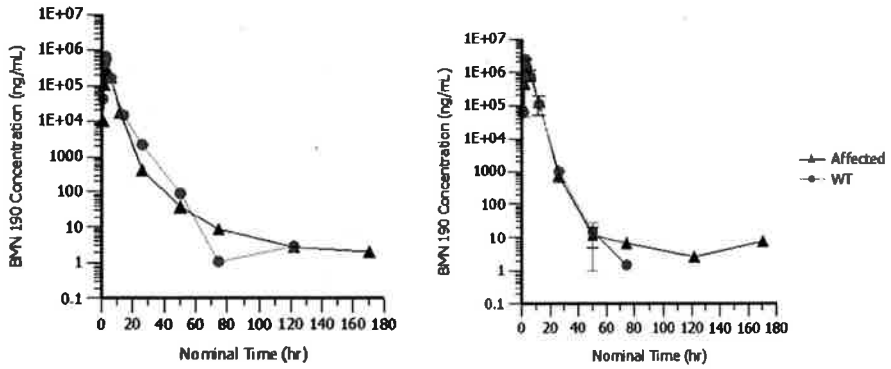


BMN 190 を 16 mg 単回（投与 1 回目）及び反復（投与 10 回目）ICV 持続脳側室内投与した時の動物別の CSF 中濃度推移
Animal 1 は TPP1 欠損、Animal 2 は WT

2 頭とも持続投与時間が 2 時間から 4 時間と長くなるに従って最高 CSF 中濃度到達時間も長くなった。最高 CSF 中濃度は 1 頭では 1 回目より 10 回目の方が低く、他の 1 頭では高くなったことから、BMN 190 を反復 ICV 持続投与したときの CSF 中濃度が高くなる又は低くなる明確な傾向はないと考える。1 頭の 1 回目において、定量下限（LLOQ）を少し超えた濃度が測定されて二相目が見えたことを除いて、2 頭とも消失相は 1 回目及び 10 回目で類似していた。10 回目の CSF 中に抗 BMN 190 抗体が検出された（2.6.6.3.1 項）が、1 回目と 10 回目で曝露量は類似していた。

4 mg 及び 16 mg 投与における遺伝子型別の CSF 中の BMN 190 濃度推移を図 2.6.4.3.7 に示した。

図 2.6.4.3.7 遺伝子型別の CSF 中の BMN 190 濃度推移（1 回目投与）



平均±SD
BMN 190 を TPP1 欠損（Affected）又は WT ダックスフンドの脳側室に 4 mg（左）及び 16 mg（右）ICV 持続投与（1 回目投与）における遺伝子型別の CSF 中の BMN 190 濃度推移。4 mg TPP1 欠損：n = 1、4 mg WT：n = 1、16 mg TPP1 欠損：n = 3、16 mg WT：n = 2

4 mg 及び 16 mg 投与とも TPP1 欠損と WT 動物の BMN 190 の CSF 中の濃度推移は類似しており、投与時の病態は BMN 190 の CSF 中薬物動態に影響を与えないことが示された。

BMN 190 の CSF 中濃度推移を NCA を用いて解析した。結果を表 2.6.4.3.9 に示した。

表 2.6.4.3.9 BMN 190 の CSF における薬物動態パラメーター[a]

投与量 (mg)	投与回数	n[b]	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	V_z (mL)	CL (mL/h)
4	1	2	1.88×10^6 (5.98×10^5)	1.88×10^6 (5.98×10^5)	4.73×10^5 (2.46×10^5)	2.75 [2.5, 3]	10.2 (5.34)	35.9 (27.9)	2.25 (0.717)
16	1	6	6.45×10^6 (3.45×10^6)	6.45×10^6 (3.45×10^6)	1.46×10^6 (9.13×10^5)	3 [2.5, 5]	5.86 (3.39)	56.3 (95.8)	6.14 (9.52)
16	10	2	1.52×10^7 (1.49×10^7)	1.52×10^7 (1.49×10^7)	2.29×10^6 (2.71×10^6)	6.5 [5, 8]	2.71 (0.0184)	7.92 (7.78)	2.02 (1.98)

AUC_{0-t}：時間 0 から薬物濃度測定可能時間 t までの CSF 中濃度-時間曲線下面積、$AUC_{0-\infty}$：時間 0 から無限時間までの CSF 中濃度-時間曲線下面積、C_{max}：最高 CSF 中濃度、T_{max}：最高濃度到達時間、$t_{1/2}$：濃度半減期、V_z：終末相における分布容積、CL：クリアランス

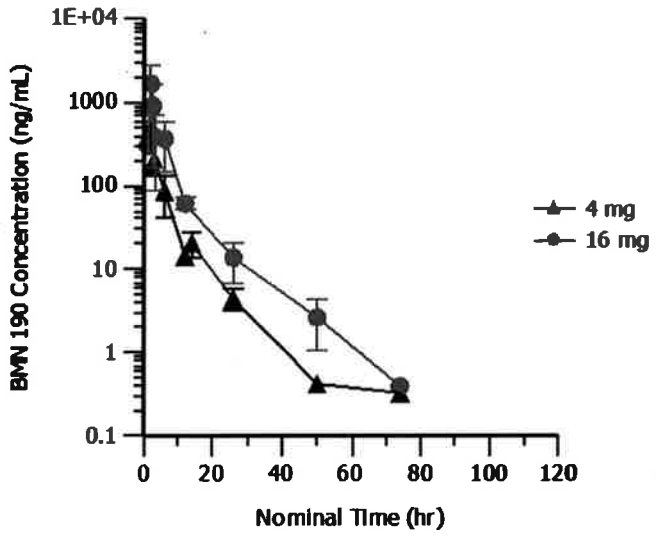
a：値は、平均（SD）を示す。ただし、T_{max} は中央値[最小値, 最大値]を示す。

b：1 回目 10 回目の 4 mg 投与群において CSF 試料を、それぞれ 6 頭中 2 頭、6 頭中 0 頭で採取した。1 回目 10 回目の 16 mg 投与群において CSF 試料を、それぞれ 6 頭中 6 頭、6 頭中 2 頭で採取した。操作の困難性又は IT-L カテーテルの詰まりのため、全ての動物において試料を採取できたわけではなかった。

4 mg 投与、16 mg 投与共に T_{max} の中央値は投与終了後の短い時間内であった（1 回目は 2 時間、10 回目は 4 時間）。BMN 190 の 16 mg 投与は 4 mg 投与群と比べると、1 回目の投与では平均 C_{max} 及び AUC_{0-t} は約 3 倍及び約 3.5 倍大きな値を示した。全ての投与において、BMN 190 の主な曝露は ICV 定速投与後 168 時間までであり、AUC_{0-t} と $AUC_{0-\infty}$ は類似していた。また、4 mg 投与群は 16 mg 投与群と比べると、平均 $t_{1/2}$ は長く、平均 CL は小さかった。しかしながら、この結果はサンプルサイズが小さく（特に 4 mg 投与群）動物間のばらつきが大きいために得られた結果である可能性もある。16 mg 投与群では、単回（1 回目）投与と反復（10 回目）投与を比較すると、反復投与後は平均 $t_{1/2}$ は短く、CL は大きかった。しかし、サンプルサイズが小さいため、BMN 190 の CSF からのクリアランスへの投与回数の影響を結論することは困難であると考える。

BMN 190 を 4 mg 及び 16 mg の用量で ICV 定速投与（投与 1 回目）したときの血漿中濃度推移を図 2.6.4.3.8 に示した。なお、16 mg 投与群において 4 時間の定速投与をした動物のデータは除いた。

図 2.6.4.3.8 BMN 190 をダックスフンドに 4 mg 及び 16 mg の用量で脳側室に ICV 持続投与後の平均血漿中濃度推移

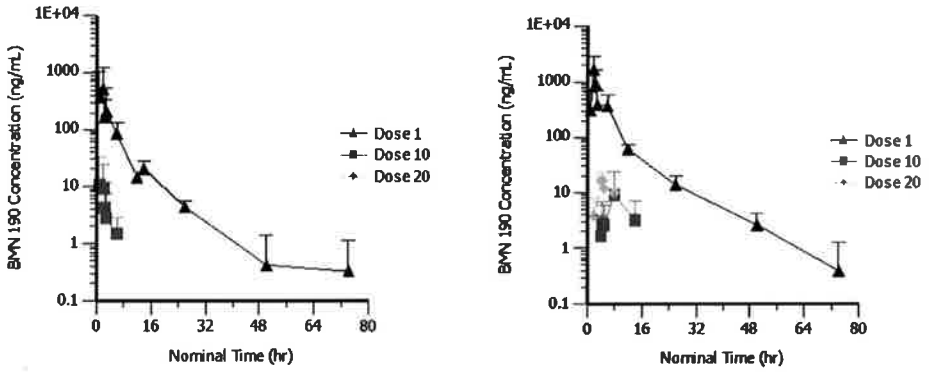


BMN 190 をダックスフンドに 4 mg（n = 6、WT/TPP1 欠損 = 3/3）及び 16 mg（n = 5、WT/TPP1 欠損 = 2/3）の用量で脳側室に ICV 定速投与後の血漿中濃度推移。平均±SD

BMN 190 は ICV 定速投与終了近くで最高血漿中濃度となり、4 mg 投与群と比較すると 16 mg 投与群は約 3.4 倍の濃度であった（表 2.6.4.3.10）。血漿からの BMN 190 の消失は二相性であり、4 mg 投与群及び 16 mg 投与群共に BMN 190 の大部分は投与後 80 時間以内に消失した。

16 mg 投与群における 1、10 及び 20 回目の血漿中薬物動態を図 2.6.4.3.9 に示した。10 回目までの PK データが得られている 16 mg 投与群のうち 1 頭は、IT-C ボーラス投与を受けている。IT-C 投与後の血漿中 BMN 190 濃度は、ICV 又は IT-L 投与の場合に比べて高かった。そのため、IT-C ボーラス投与を行った動物のデータは比較から除外した（n = 1、16 mg、10 回目の投与）。

図 2.6.4.3.9 投与回数ごとの平均 BMN 190 血漿中濃度推移



BMN 190 の 4 mg 及び 16 mg をダックスフンドに投与後の単回（1 回目）、反復（10 回目及び 20 回目）における血漿中濃度推移　平均±SD、4 mg 投与群の投与 20 回目の BMN 190 濃度は全ての動物で BLQ であった。4 mg 投与 1 回目 n = 6；WT/TPP1 欠損 = 3/3、4 mg 投与 10 回目 n = 3；WT/TPP1 欠損 = 3/0、16 mg 投与 1 回目 n = 5；WT/TPP1 欠損 = 2/3、16 mg 投与 10 回目 n = 4；WT/TPP1 欠損 = 2/2、16 mg 投与 20 回目 n = 3；WT/TPP1 欠損 = 1/2

BMN 190 の血漿濃度推移を NCA を用いて解析した。得られた PK パラメーターを表 2.6.4.3.10 に示した。

表 2.6.4.3.10 BMN 190 の血漿における薬物動態パラメーター[a,b]

投与量 (mg)	投与回数	n	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	V_z (mL)	CL (mL/h)
4	1	6	1.85×10^3 (1.90×10^3)	1.89×10^3 (1.89×10^3)	5.27×10^2 (6.95×10^2)	2 [1, 2]	10.4 (13.9)	7.33×10^4 (1.29×10^5)	3.51×10^3 (1.95×10^3)
4	10	3[c]	3.80×10^1 (5.04×10^1)	7.92×10^1 (2.83×10^1)	1.71×10^1 (2.34×10^1)	2 [1, 6]	8.12 (9.90)	7.69×10^5 (9.96×10^5)	5.39×10^4 (1.93×10^4)
16	1	6	5.15×10^3 (1.91×10^3)	5.18×10^3 (1.91×10^3)	1.78×10^3 (9.07×10^2)	2.25 [2, 6]	8.97 (1.89)	5.15×10^4 (4.23×10^4)	3.69×10^3 (2.06×10^3)
16	10	4[d]	1.42×10^3 (2.69×10^3)	-- (--)	1.68×10^2 (3.09×10^2)	8 [4, 8]	-- (--)	-- (--)	-- (--)
16	20	3[e]	7.25×10^1 (2.30×10^1)	1.74×10^2 (--)	1.81×10^1 (5.52×10^0)	4 [4, 4.5]	9.75 (--)	1.29×10^6 (--)	9.19×10^4 (--)

AUC_{0-t}：時間 0 から薬物濃度測定可能時間 t までの血漿中濃度-時間曲線下面積、$AUC_{0-\infty}$：時間 0 から無限時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、T_{max}：最高濃度到達時間、$t_{1/2}$：濃度半減期、V_z：終末相における分布容積

a：値は、平均（SD）を示す。ただし、T_{max} は中央値[最小値, 最大値]を示す。

b：CSF 採取用 IT-L カテーテルが詰まり、CSF と比較するため、血漿試料を追加で採取した。

c：$AUC_{0-\infty}$、$t_{1/2}$、V_z、CL は λ_z が特定されなかったため：n = 2

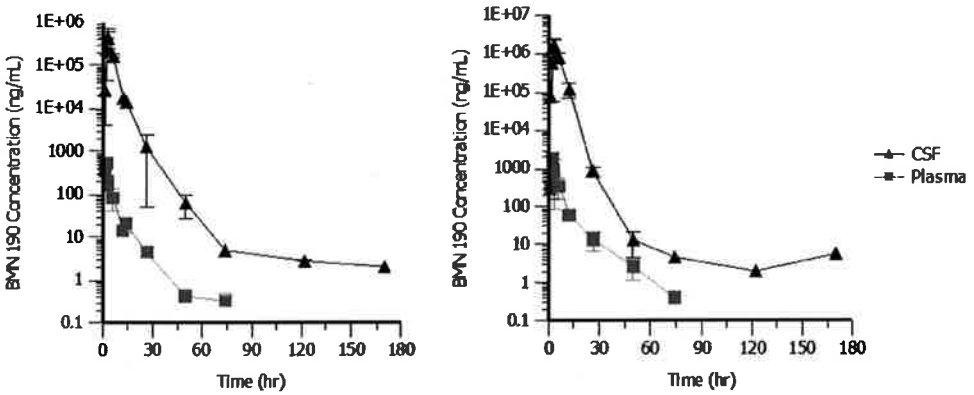
d：$AUC_{0-\infty}$、$t_{1/2}$、V_z、CL は λ_z が特定されなかったため：n = 0、16 mg 投与群の 1 頭は 10 回目の投与における PK データは得られたが、10 回目の投与が IT-C ボーラス投与だったため、含めていない。

e：$AUC_{0-\infty}$、$t_{1/2}$ は λ_z が特定されなかったため：n = 1

BMN 190 を 4 mg 又は 16 mg の用量で ICV 又は IT-L 投与した両群とも、単回に比べ反復投与の血漿における曝露が減少した。この減少は抗体の産生に起因している可能性があると考える（2.6.6.3.2 項）。

BMN 190 の 4 mg 又は 16 mg を ICV 持続投与したときの血漿中及び CSF 中の濃度推移の比較を図 2.6.4.3.10 に示した。

図 2.6.4.3.10 BMN 190 を ICV 持続投与したときの血漿中及び CSF 中の平均濃度推移



BMN 190 を 4 mg 又は 16 mg の用量でダックスフンドの脳側室へ ICV 持続投与（1 回目）したときの血漿中及び CSF 中の平均濃度推移。平均±SD。4 mg 投与の CSF n = 2；WT/TPP1 欠損 = 1/1、4 mg 投与の血漿 n = 6；WT/TPP1 欠損 = 3/3、16 mg 投与の CSF n = 5；WT/TPP1 欠損 = 2/3、16 mg 投与の血漿 n = 5；WT/TPP1 欠損 = 2/3

ICV 投与後、CSF 中 BMN 190 濃度は、4 mg 又は 16 mg 投与群とも血漿中濃度に比較して約 100 から 1000 倍であった。

2.6.4.3.2.3 BMN 190 を 48 mg の用量でダックスフンド CLN2 モデルへ 44 週間脳室内（ICV）反復投与

（試験番号 BMN190-12-009、記載箇所 4.2.1.1-5）

約 2 箇月齢から 11 箇月齢にかけて TPP1 欠損のダックスフンドに BMN 190 を 2 週間に 1 回 ICV 定速投与したときの CNS における組織病理及びライソゾームにおける老廃物の蓄積への影響を評価するため本非GLP 試験を行った。追加の目的として、ICV 定速投与後の機能変化の測定、血漿及び CSF 中の PK 及び BMN 190 の CNS 組織への分布評価を行った。本試験の薬理評価は 2.6.2.2.6 項に、CNS 組織への分布は 2.6.4.4.2.3 項に示した。PK の結果に関しては本章で検討した。また、CSF 及び血漿中の抗 BMN 190 抗体の BMN 190 の PK に与える影響を評価するための試料も採取した。抗体に関する評価は 2.6.6.3.3 項に示した。

本試験は、[redacted] USA [redacted] において実施された。本試験は、米国FDA CFR21 Part 58に規定されたGLPに従って実施されてはいないが、「一

般的に許容される科学的基準」に従っている。試験開始は20[redacted]年[redacted]月[redacted]日、終了は20[redacted]年[redacted]月[redacted]日である。

[redacted]で繁殖・飼育された投与開始時に約2.5 箇月齢で雄の体重2.65 kg、雌の体重1.5 kg及び2.15 kg のナイーブな TPP1 欠損のダックスフンド 3 頭（雄性 1 頭、雌性 2 頭）を用いた。イヌは表 2.6.4.3.11 に示したように 1 群とした。

表 2.6.4.3.11 BMN190-12-009 試験のデザイン

群	遺伝型	動物数	投与薬物	投与量（mg）
1	TPP1 欠損 (TPP1-/-)	3	BMN 190	48 まで

約 2 箇月齢の動物に ICV カテーテル及び BMN 190 を反復定速投与する皮下投与ポートを手術によって埋め込んだ。IT-L カテーテル及び CSF を継続的に採取するため及び IT-L 投与をするためのポートを腰椎槽に埋め込んだ。BMN 190 の初回投与前に少なくとも 1 週間の手術からの回復期間を設けた。

BMN 190 を 2 週に 1 度投与した。BMN 190 を 48 mg の用量、0.42 mL/h の速度で 4 時間かけて定速投与した。過敏反応を抑えるために ICV 定速投与 30 分前に、ジフェンヒドラミン（2 mg/kg 筋注）を前投与した。過敏反応が観察されたため、反応に従って投与量を減らしたが、その後 48 mg まで増量した。投与量の減少を調節するために 29 mg/mL の製剤を人工 CSF を用いて希釈し、定速投与速度及び投与時間を一定にした。投与直後に ICV カテーテルをリン酸緩衝生理食塩液（PBS）で洗浄した（0.6 mL/h、45 分）。

イヌに施した ICV 及び IT-L カテーテルは、埋め込んだ CNS 投与器具に対する反応のため使用できる期間に限度がある。ICV カテーテルが頭蓋骨の成長によって脳側室から外れた場合や詰まった場合は、IT-L からの定速投与を行うことによって可能な限り ICV での投与速度と同じ速度で薬物投与を継続した。ICV 及び IT-L が使用不能になった場合は、残りの BMN 190 投与は IT-C へのボーラス投与で行った。

PK 用の CSF 試料を IT-L カテーテルを用いて腰椎槽から採取した。投与 1 及び 10 回目では、投与直前、定速投与の中間時点、投与終了直後、投与後 0.5、1、4、12、24、48、72、120 及び 168 時間に CSF 採取を計画した。

BMN 190 を投与した 3 頭のうち 1 回目の投与では 2 頭（雌雄各 1 頭）から CSF 試料を継時的に採取した。投与 10 回目には CSF 試料はいずれの動物からも採取しなかった。操作的困難性又はカテーテルの詰まりのため、計画した全ての採取時間で全ての動物で試料を採取できたわけではなかった。

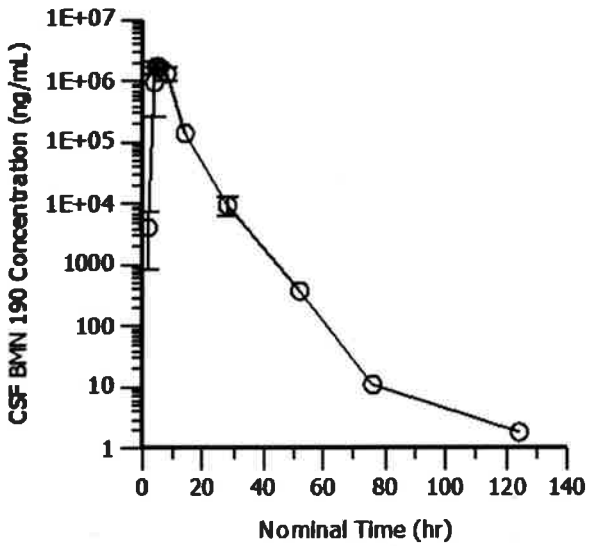
PK 解析用の血液を頸静脈穿刺又は必要に応じて他の末梢静脈から採取した。最初の ICV 持続投与に先立ち血液を採取した。投与 1 及び 10 回目において、定速投与開始直前、投与の中間時点、投与終了直後、投与後 0.5、1、4、12、24、48、72、120 及び 168 時間に血液の採取を計画

した。最終投与において、定速投与開始直前、投与終了後 0.5、1、4、12、24 及び 48 時間に血液の採取を計画した。なお、安楽死前にも血液を採取した。

BMN 190 を投与した 3 頭のうち 1 回目の投与では 3 頭から継時的に採取し、投与 10 回目にはいずれの動物からも採取しなかった。操作的困難性又はカテーテルの詰まりのため、計画した採取時間で全ての動物における試料を採取できたわけではなかった。

BMN 190 の 48 mg を ICV 持続投与初回（投与 1 回目）の CSF 中平均濃度推移を図 2.6.4.3.11 に示した。

図 2.6.4.3.11 BMN 190 を 48 mg の用量で ICV 持続投与初回（投与 1 回目）の CSF 中平均濃度推移



平均±SD
BMN 190 を 48 mg の用量でダックスフンド（n＝2、雌雄各 1）の脳側室に ICV 持続投与初回（投与 1 回目）の CSF 中平均濃度推移

BMN 190 の最高 CSF 中濃度到達時間は、ICV 定速投与終了近くであった。投与終了時間と最高 CSF 中濃度到達時間の差は、投与部位（脳側室）と CSF 採取部位（腰椎槽）での濃度が平衡化する時間が必要なためと考えられる。CSF からの BMN 190 の消失は、二相性であり、ほとんどの BMN 190 は 168 時間以内に CSF から消失した。

2 頭における BMN 190 の CSF 中濃度推移を NCA を用いて解析した。個別及び平均値を表 2.6.4.3.12 に示した。

表 2.6.4.3.12 BMN 190 を 48 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の CSF 中 PK パラメーター

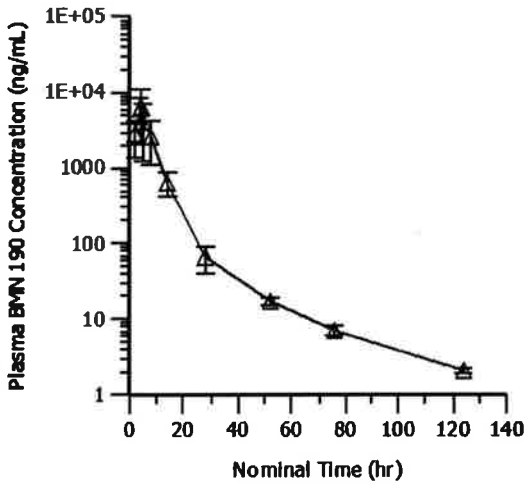
動物	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	CL (mL/h)	V_z (mL)
M（雌）	4.50	1.99×10^6	1.08×10^7	1.08×10^7	5.39	4.43	34.4
P（雄）	5.00	1.56×10^6	1.03×10^7	1.03×10^7	7.78	4.64	52.1
n	2	2	2	2	2	2	2
Mean	4.75	1.78×10^6	1.06×10^7	1.06×10^7	6.59	4.54	43.3
SD	0.354	3.08×10^5	3.52×10^5	3.52×10^5	1.69	0.151	12.5
Min	4.50	1.56×10^6	1.03×10^7	1.03×10^7	5.39	4.43	34.4
Median	4.75	1.78×10^6	1.06×10^7	1.06×10^7	6.59	4.54	43.3
Max	5.00	1.99×10^6	1.08×10^7	1.08×10^7	7.78	4.64	52.1
CV%	7.44	17.4	3.33	3.33	25.7	3.33	28.9

- AUC_{0-t}：時間 0 から薬物濃度測定可能時間 t までの CSF 中濃度-時間曲線下面積、$AUC_{0-\infty}$：時間 0 から無限時間までの CSF 中濃度-時間曲線下面積、C_{max}：最高 CSF 中濃度、T_{max}：最高濃度到達時間、$t_{1/2}$：濃度半減期、CL：全身クリアランス、V_z：分布容積
- CSF 試料は、投与 1 回目で 3 頭中 2 頭採取し、10 回目では採取せず。操作的困難性又はカテーテルの詰まりのため、計画した採取時間で全ての動物における試料を採取できたわけではなかった。

T_{max} の中央値は投与終了後の短い時間内であった。両動物とも、ICV 定速投与後の CSF における AUC_{0-t} と $AUC_{0-\infty}$ は類似しており、主な BMN 190 の曝露は 168 時間以内に生じていた。

BMN 190 を 48 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の血漿中平均薬物濃度推移を図 2.6.4.3.12 に示した。

図 2.6.4.3.12 BMN 190 を 48 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の血漿中平均濃度推移



平均±SD
BMN 190　48 mg をダックスフンド（n = 3）の脳側室に ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の血漿中平均濃度推移

BMN 190 の最高血漿中濃度到達時間は、ICV 定速投与終了近くであった。血漿からの BMN 190 の消失は、二相性であり、ほとんどの BMN 190 は 168 時間以内に血漿中から消失した。

投与 1 回目における BMN 190 の血漿中濃度推移を NCA を用いて解析した。個別及び平均値を表 2.6.4.3.13 に示した。

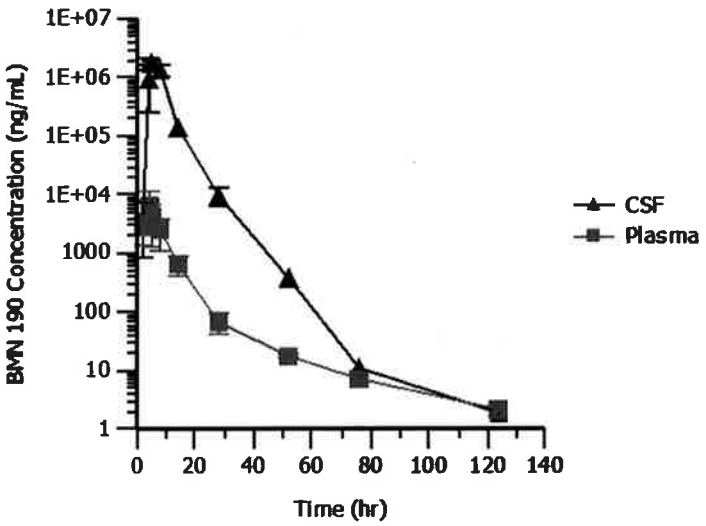
表 2.6.4.3.13 BMN 190 を 48 mg の用量で ICV 定速投与初回の血漿中 PK パラメーター

動物	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	CL (mL/h)	V_z (mL)
M（雌）	4.00	7.91×10^3	4.40×10^4	4.40×10^4	26.1	1090	41100
P（雄）	4.00	3.76×10^3	2.17×10^4	2.17×10^4	20.5	2210	65100
U（雌）	4.50	1.11×10^4	5.49×10^4	5.49×10^4	22.2	874	27900
n	3	3	3	3	3	3	3
Mean	4.17	7.60×10^3	4.02×10^4	4.02×10^4	22.9	1390	44700
SD	0.289	3.69×10^3	1.69×10^4	1.69×10^4	2.91	716	18900
Min	4.00	3.76×10^3	2.17×10^4	2.17×10^4	20.5	874	27900
Median	4.00	7.91×10^3	4.40×10^4	4.40×10^4	22.2	1090	41100
Max	4.50	1.11×10^4	5.49×10^4	5.49×10^4	26.1	2210	65100
CV%	6.93	48.5	42.1	42.0	12.7	51.5	42.2

AUC_{0-t}：時間 0 から薬物濃度測定可能時間 t までの血漿中濃度-時間曲線下面積、$AUC_{0-\infty}$：時間 0 から無限時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、T_{max}：最高濃度到達時間、$t_{1/2}$：濃度半減期、CL：全身クリアランス、V_z：分布容積

BMN 190 の 48 mg を ICV 定速投与後の血漿中及び CSF 中の濃度推移の比較を図 2.6.4.3.13 に示した。

図 2.6.4.3.13 BMN 190 を 48 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の血漿中及び CSF 中平均濃度推移



平均±SD
BMN 190 の 48 mg をダックスフンドの脳側室に ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の血漿中（n = 3）及び CSF 中（n = 2）平均濃度推移

BMN 190 の 48 mg を ICV 定速投与初回（投与 1 回目）したとき、CSF 中 BMN 190 濃度は、血漿中の濃度と比較して、投与後 48 時間では 100 倍から 1000 倍であり、投与後 72 時間ではほぼ同じとなった。

2.6.4.3.2.4 BMN 190 を投与開始時 4 箇月齢の WT 及び TPP1 欠損ダックスフンドへ 39 週間脳室内（ICV）反復投与

（試験番号 BMN190-12-027、記載箇所 4.2.1.1-6）

本非 GLP 試験の目的は、投与開始時に 4 箇月齢の TPP1 欠損のイヌ（ダックスフンド）に BMN 190 を 16 mg を ICV 投与したときの薬力学的効果を評価すること及び血漿及び CSF 中の PK も評価することであった。本試験の薬理評価は 2.6.2.2.7 項に示した。さらに、CSF 及び血漿中の抗体の評価及び抗 BMN 190 抗体の BMN 190 の PK に与える影響を評価するための試料も採取した。抗体に関する評価は 2.6.6.3.4 項に示した。

本試験は、[redacted]USA[redacted]において実施された。本試験は、米国FDA CFR21 Part 58に規定されたGLPに従って実施されてはいないが、「一般的に許容される科学的基準」に従っている。動物試験の開始は20[redacted]年[redacted]月[redacted]日、終了は20[redacted]年[redacted]月[redacted]日である。

[redacted]で繁殖・飼育された投与開始時に約4 箇月齢で雄の体重4.8～5.6 kg、雌の体重3.9～4.7 kg のナイーブな TPP1 欠損のダックスフンドを用いた。WT 及び TPP1 欠損の動物を表 2.6.4.3.14 に示したように群分けした。

表 2.6.4.3.14 BMN190-12-027 試験のデザイン

群	遺伝型	動物数	投与薬物	ICV 投与量（mg）	ICV 投与薬物濃度（mg/mL）
1	TPP1 欠損（TPP1-/-）	3（雄 2、雌 1）	BMN 190	16	30.74
2	WT（TPP1+/+）	3（雄 2、雌 1）	BMN 190	16	30.74

ICV における投与液量は 1.2 mL であった。

動物に脳側室用カテーテル及び皮下投与ポートを手術によって埋め込んだ。IT-L カテーテル及び CSF を継続的に採取するためと IT-L 投与をするためのポートを腰椎槽に埋め込んだ。BMN 190 の初回投与前に少なくとも 1 週間の手術からの回復期間を設けた。

BMN 190 を 2 週に 1 度投与した。過敏反応を抑えるために ICV 定速投与 30 分前に、ジフェンヒドラミン（2 mg/kg）を前投与した。シリンジポンプを用いて、ICV ポートに適切な量の BMN 190 を定速投与した。0.3 mL/h の投与速度で 4 時間をかけて定められた量を動物に投与した。投与直後に ICV カテーテルを PBS で洗浄した（0.6 mL/h、45 分）。

イヌに施した ICV 及び IT-L カテーテルは、埋め込んだ CNS 投与器具に対する反応のため使用限度期間がある。ICV カテーテルが頭蓋骨の成長によって脳側室から外れた場合や詰まった場

合は、IT-L からの定速投与を行うことによって可能な限り ICV での投与速度と同じ速度で薬物投与を継続した。ICV 及び IT-L が使用不能になった場合は、残りの BMN 190 投与は IT-C へのボーラス投与で行った。

PK 用の CSF 試料を IT-L カテーテルを用いて腰椎槽から採取した。投与 1、5 及び 10 回目では、投与直前、定速投与の中間時点、投与終了直後、投与後 0.5、1、4、10、24、48、72、120 及び 168 時間に CSF の採取を計画した。他の投与回数のときは、カテーテルがつまり試料採取ができなくならない限り、投与直前の試料採取を行った。

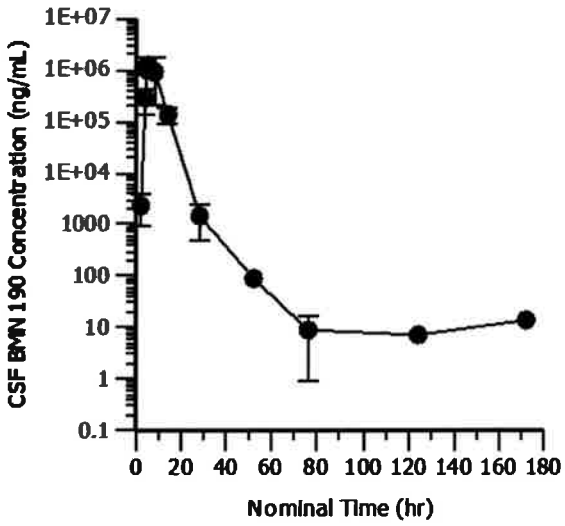
1 回目の投与では BMN 190 の 16 mg を投与した 6 頭のうち 2 頭から CSF 試料を継時的に採取した。投与後 24 時間では残りの 4 頭のみから CSF 試料を採取した。投与 5 回目及び 10 回目には CSF 試料はいずれの動物からも採取しなかった。操作的困難性又はカテーテルの詰まりのため、計画した採取時間で全ての動物における試料を採取できたわけではなかった。

PK 解析用の血液を頸静脈穿刺又は必要に応じて他の末梢静脈から採取した。最初の ICV 定速投与に先立ち血液を採取する計画とした。投与 1、5 及び 10 回目において、定速投与開始直前、定速投与の中間時点、投与終了直後、投与後 0.5、1、4、10、24、48、72、120 及び 168 時間に血液の採取を計画した。投与 20 回目において、定速投与開始前、投与終了後 0.5、1、4、12、24 及び 48 時間に血液の採取を計画した。なお、安楽死前にも血液を採取する計画とした。

1 回目の投与では BMN 190 の 16 mg を投与した 6 頭全頭から継時的に採取し、投与 5 回目には 2 頭から採取し、10 回目にはいずれの動物からも採取しなかった。操作的困難性のため、計画した採取時間で全ての動物における試料を採取できたわけではなかった。

BMN 190 を 16 mg の用量で ICV 定速投与した初回（投与 1 回目）の CSF 中平均濃度推移を図 2.6.4.3.14 に示した。

図 2.6.4.3.14 BMN 190 を 16 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の CSF 中平均濃度推移



平均±SD
BMN 190 を 16 mg の用量でダックスフンド（n＝2、WT、雄）の脳側室に ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の CSF 中平均濃度推移

BMN 190 の最高 CSF 中濃度到達時間は、ICV 定速投与終了近くであった。投与終了時間と最高 CSF 中濃度到達時間の差は、投与部位（脳側室）と CSF 採取部位（腰椎槽）での濃度が平衡化する時間が必要なためと考えられる。CSF からの BMN 190 の消失は、二相性であり、ほとんどの BMN 190 は 168 時間以内に CSF から消失した。

投与 1 回目の 2 頭における BMN 190 の CSF 中濃度推移を NCA を用いて解析した。個別及び平均値を表 2.6.4.3.15 に示した。

表 2.6.4.3.15 BMN 190 を 16 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の CSF 中 PK パラメーター

動物	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	CL (mL/h)	V_z (mL)
C (WT, 雄)	5.00	1.58×10^6	9.77×10^6	9.77×10^6	3.61	1.64	8.54
M[a] (WT, 雄)	4.50	9.67×10^5	4.85×10^6	4.85×10^6	10.9	3.30	51.7
n	2	2	2	2	2	2	2
Mean	4.75	1.27×10^6	7.31×10^6	7.31×10^6	7.24	2.47	30.1
SD	0.354	4.35×10^5	3.48×10^6	3.48×10^6	5.13	1.17	30.5
Min	4.50	9.67×10^5	4.85×10^6	4.85×10^6	3.61	1.64	8.54
Median	4.75	1.27×10^6	7.31×10^6	7.31×10^6	7.24	2.47	30.1
Max	5.00	1.58×10^6	9.77×10^6	9.77×10^6	10.9	3.30	51.7
CV%	7.44	34.1	47.6	47.6	70.8	47.6	101

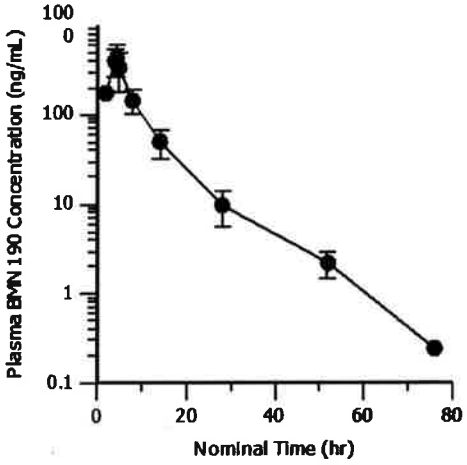
- AUC_{0-t}：時間 0 から薬物濃度測定可能時間 t までの CSF 中濃度-時間曲線下面積、$AUC_{0-\infty}$：時間 0 から無限時間までの CSF 中濃度-時間曲線下面積、C_{max}：最高 CSF 中濃度、T_{max}：最高濃度到達時間、$t_{1/2}$：濃度半減期、CL：全身クリアランス、V_z：分布容積、
- 1 回目の投与では BMN 190 の 16 mg を投与した 6 頭のうち 2 頭から CSF 試料を継時的に採取した。投与 5 回目及び 10 回目には CSF 試料はいずれの動物からも採取しなかった。操作的困難性又はカテーテルの詰まりのため、計画した採取時間で全ての動物における試料を採取できたわけではなかった。
- a：終末相の回帰における決定係数（R^2）は 0.63 と小さかった。

T_{max} の中央値は投与終了後の短い時間内であった。両動物とも、ICV 定速投与後の CSF における AUC_{0-t} と $AUC_{0-\infty}$ は類似しており、主な BMN 190 の曝露は 168 時間以内に生じていた。

血漿中濃度推移は WT 及び TPP1 欠損の動物で類似していた。

BMN 190 を 16 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の血漿中平均薬物濃度推移を図 2.6.4.3.15 に示した。

図 2.6.4.3.15 BMN 190 を 16 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の血漿中平均濃度推移



平均±SD
BMN 190 を 16 mg の用量でダックスフンド（n＝6、3 頭 WT；雄 2、雌 1、3 頭 TPP1 欠損；雄 2、雌 1）の脳側室に ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の血漿中平均濃度推移

BMN 190 の最高血漿中濃度到達時間は、ICV 定速投与終了近くであった。血漿からの BMN 190 の消失は、二相性であり、ほとんどの BMN 190 は 72 時間以内に血漿中から消失した。

投与 5 回目において 2 頭（WT 及び TPP1 欠損各雌 1）から試料を得たが、投与経路は IT-L カテーテル経由であった。投与後 4 時間（3.06 ng/mL）及び 10 時間（5.52 ng/mL）を除いた試料の測定値は BLQ であった。

投与 1 回目における BMN 190 の血漿中濃度推移を NCA を用いて解析した。個別及び平均値を表 2.6.4.3.16 に示した。

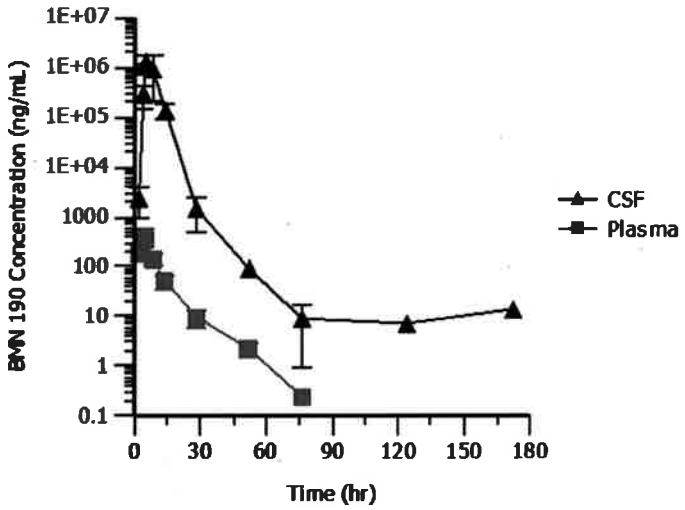
表 2.6.4.3.16 BMN 190 を 16 mg の用量で ICV 定速投与初回の血漿中 PK パラメーター

動物	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	CL (mL/h)	V_z (mL)
Aj (TPP1 欠損、雄)	5.00	6.21×10^2	2.85×10^3	2.88×10^3	9.08	5560	72900
An (TPP1 欠損、雌)	4.50	6.63×10^2	2.67×10^3	2.69×10^3	7.38	5950	63300
C (WT、雄)	4.00	2.81×10^2	2.73×10^3	2.77×10^3	7.57	5770	63000
J (WT、雌)	4.00	6.20×10^2	4.22×10^3	4.26×10^3	18.4	3750	99500
M (WT、雄)	4.00	4.85×10^2	2.08×10^3	2.11×10^3	9.65	7590	106000
T (TPP1 欠損、雄)	4.50	3.10×10^2	2.24×10^3	2.25×10^3	6.04	7120	62000
n	6	6	6	6	6	6	6
Mean	4.33	4.97×10^2	2.80×10^3	2.83×10^3	9.68	5960	77700
SD	0.408	1.67×10^2	7.59×10^2	7.66×10^2	4.45	1340	19700
Min	4.00	2.81×10^2	2.08×10^3	2.11×10^3	6.04	3750	62000
Median	4.25	5.52×10^2	2.70×10^3	2.73×10^3	8.33	5860	68100
Max	5.00	6.63×10^2	4.22×10^3	4.26×10^3	18.4	7590	106000
CV%	9.42	33.6	27.1	27.1	45.9	22.6	25.4

AUC_{0-t}：時間 0 から薬物濃度測定可能時間 t までの血漿中濃度-時間曲線下面積、$AUC_{0-\infty}$：時間 0 から無限時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、T_{max}：最高濃度到達時間、$t_{1/2}$：濃度半減期、CL：全身クリアランス、V_z：分布容積

BMN 190 を 16 mg 投与後の CSF 及び血漿中の BMN 190 の血漿中濃度推移の比較を図 2.6.4.3.16 に示した。

図 2.6.4.3.16 BMN 190 を 16 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の血漿中及び CSF 中平均濃度推移



平均±SD
BMN 190 を 16 mg の用量でダックスフンドの脳側室に ICV 定速投与初回（投与 1 回目）の血漿中及び CSF 中平均濃度推移、CSF：n＝2；WT 雄 2、血漿：n＝6；WT 3：雄 2、雌 1、TPP 欠損 3：雄 2、雌 1）

BMN 190 を 16 mg の用量で ICV 定速投与初回（投与 1 回目）したとき、CSF 中 BMN 190 濃度は、血漿中の濃度と比較して、100 倍から 1000 倍であった。

投与開始時に約 2 箇月齢と約 4 箇月齢の動物の BMN 190 の CSF 及び血漿における曝露量は類似していた（2.6.4.3.2.2 項参照）。

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 単回投与試験

2.6.4.4.1.1 BMN 190 を WT ビーグル犬に IT-C 投与後の CNS 組織への分布

（試験番号 0190-08-034、記載箇所 4.2.2.3-1）

BMN 190 を WT ビーグル犬に単回 IT-C 投与後の CNS 組織への分布を検討するための試験（非 GLP）を行った。

本試験は、[redacted]において実施された。動物試験の開始は20[redacted]年[redacted]月[redacted]日、終了は20[redacted]年[redacted]月[redacted]日である。

12～13 箇月齢で体重 6.9～8.3 kg の純血の雌性ビーグル犬を表 2.6.4.4.1 に示したように 4 群に分け単回 IT-C 投与した。

表 2.6.4.4.1 0190-08-034 試験のデザイン

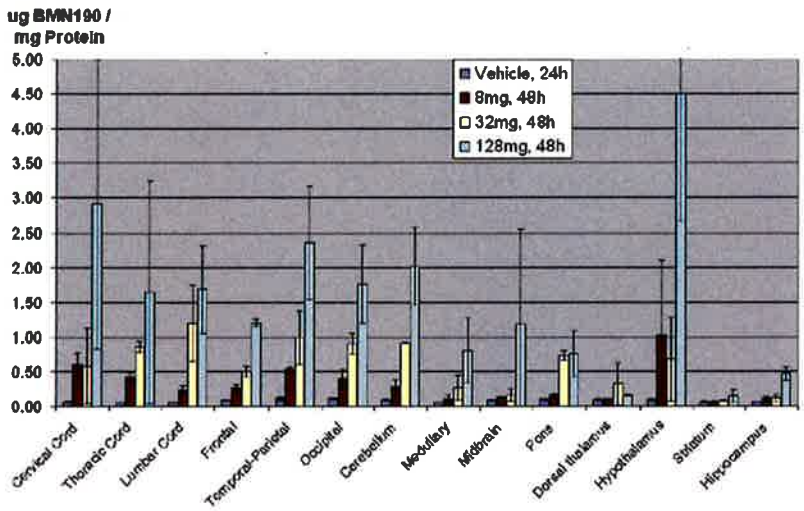
群	動物数	投与量 (mg/動物)	投与薬物濃度 (mg/mL)
1 (Vehicle[a])	2	0	0.00
2 (Low)	6	8	1.15
3 (Mid)	2	33	4.75
4 (High)	2	128	18.3

a：人工脳脊髄液（216.5 mmol/L NaCl、0.80 mmol/L $MgSO_4$、3.01 mmol/L KCl、1.40 mmol/L $CaCl_2$、0.80 mmol/L Na_2HPO_4、0.20 mmol/L NaH_2PO_4、pH 7.3）

BMN 190 投与 2 日後にコントロール（Vehicle）群 2 頭、第 2 群 2 頭、3 日後に第 2 から 4 群各 2 頭、5 日後に第 2 群 2 頭の剖検を行った。剖検では、脳（右から 6 箇所の冠状断面）、頚部脊髄、胸髄、腰髄膜、肝臓（左側葉から約 2 g）を各動物から採取し、TPP1 活性を測定した。

既知濃度の BMN 190 の活性を基準にして、TPP1 活性から BMN 190 濃度を換算した。脳表層（CSF に直接接している表面から 3 mm の脳組織）及び脳深部における BMN 190 濃度を図 2.6.4.4.1 及び図 2.6.4.4.2 に示した。

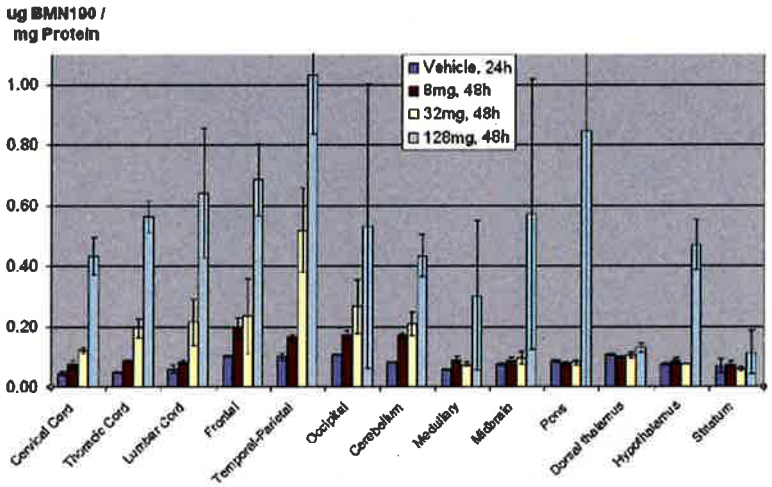
図 2.6.4.4.1 WT ビーグル犬に BMN 190 を IT-C 投与後の脳表面組織における分布



平均±SD

既知濃度の BMN 190 の活性を基準にして、TPP1 活性から BMN 190 濃度を換算した。WT ビーグル犬に BMN 190 を IT-C 投与（Vehicle、8、32、128 mg）後の脳表層組織における分布

図 2.6.4.4.2 WT ビーグル犬に BMN 190 を IT-C 投与後の脳深部組織における分布



平均±SD
既知濃度の BMN 190 の活性を基準にして、TPP1 活性から BMN 190 濃度を換算した。WT ビーグル犬に BMN 190 を IT-C 投与（Vehicle、8、32、128 mg）後の脳深部組織における分布

脳組織において、BMN 190 は投与量依存的に分布し、組織ごとに異なった分布を示した。BMN 190 は組織表層には多く分布したが、脳深部、脊髄、大脳皮質は少なかった。視床背部や線条体のような脳側室近辺への分布は少なかった。組織からの半減期は 4.5 日であった。

最高投与量群において、TPP1 活性が肝臓にも検出されたことから、IT 投与後、BMN 190（プロ型）が体循環系に到達し、ライソゾームに取り込まれて活性化されたことが示された。

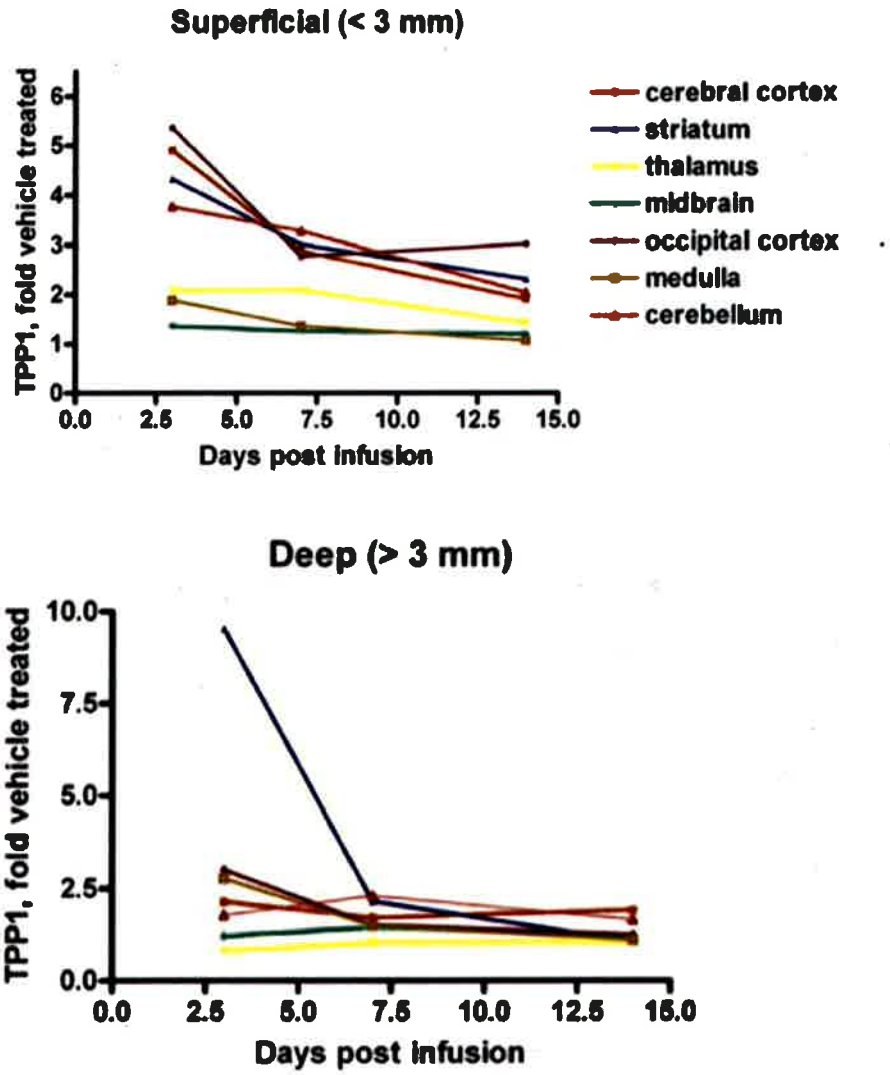
2.6.4.4.1.2 3、7 及び 14 日間回復期間を伴ったカニクイザル単回脳室内（ICV）投与毒性、トキシコキネティクス及び CNS への分布試験

（試験番号 0190-09-071、記載箇所 4.2.3.1-1）

0190-09-071 試験のデザインは 2.6.4.3.1.1 に示した。20 頭の動物をランダムに群分けし BMN 190 を 0（vehicle）、5、14 及び 20 mg の用量で単回 ICV 定速投与した。

大脳皮質、小脳、延髄、中脳、後頭皮質、線条体、視床を含む脳組織を、BMN 190 14 mg を ICV 定速投与後 3、7 及び 14 日に採取した。組織をホモジネートし、BMN 190 濃度を ELISA で測定した。ELISA の値はそれぞれの総タンパク量によって補正した。内因性物質の濃度からの増加を測定するため、測定値をコントロール（vehicle 投与）群のサルの内因性 TPP1 濃度で補正した。脳の表層（表面から 3 mm 未満）及び深部（3 mm 超）の TPP1 濃度を図 2.6.4.4.3 に示した。

図 2.6.4.4.3 BMN 190 をカニクイザルに単回 ICV 定速投与後の TPP1 の CNS 組織分布



BMN 190 を 14 mg の用量で IVC 定速投与したときの投与後 3、7、14 日の表層及び深部脳組織における TPP1 レベル。データはサルの内因性 TPP1 濃度で補正した。TPP1 レベルは、コントロール（vehicle 投与）群との比較である。

脳中及び脊髄中における BMN 190 の PK パラメーターを表 2.6.4.4.2 に示した。

表 2.6.4.4.2 BMN 190 を 14 mg の用量でカニクイザルに ICV 定速投与後の脳及び脊髄中における PK パラメーター

組織	AUC_{0-t} (ng•day/mg protein)	C_{max} (ng/mg protein)	T_{max} (days)	$t_{1/2}$ (days)
小脳 D	799	70.1	7.0	a
小脳 S	1030	97.3	3.0	12.2
大脳皮質 D	764	65.3	3.0	87.2 ($R^2 = 0.158$)
大脳皮質 S	1310	156	3.0	8.39
延髄 D	1430	171	3.0	8.71
延髄 S	931	73.1	3.0	60.9
中脳 D	888	72.4	7.0	a
中脳 S	932	73.1	3.0	60.9
後頭皮質 D	1160	141	3.0	9.32
後頭皮質 S	2030	236	3.0	15.5 ($R^2 = 0.485$)
線条体 D	1410	266	3.0	14.0
線条体 S	1180	124	3.0	12.7
視床 D	1410	266	3.0	3.67
視床 S	1090	90.1	7.0	a
頚髄	4490	875	3.0	3.1
胸髄	2350	392	3.0	4.56
腰髄	3320	557	3.0	3.51

- AUC_{0-t}：時間 0 から薬物濃度測定可能時間 t までの濃度-時間曲線下面積、C_{max}：最高濃度、T_{max}：最高濃度到達時間、$t_{1/2}$：濃度半減期、S：脳の表層（表面から< 3 mm）、D：深部（> 3 mm）
- a：消失相は算出できなかった。$t_{1/2}$ を求めるための直線回帰の R^2 の値は明記しない限り全て> 0.8 である。

ICV 定速投与後に BMN 190 は CNS 組織に広く分布し、C_{max} は 65.3～87.5 ng/mg protein であり、AUC_{0-t} は 764～4490 ng•day/mg protein であった。多くの CNS 組織における最大曝露は試料採取の最初の日である投与後 3 日であり、$t_{1/2}$ は 3～15 日であった。

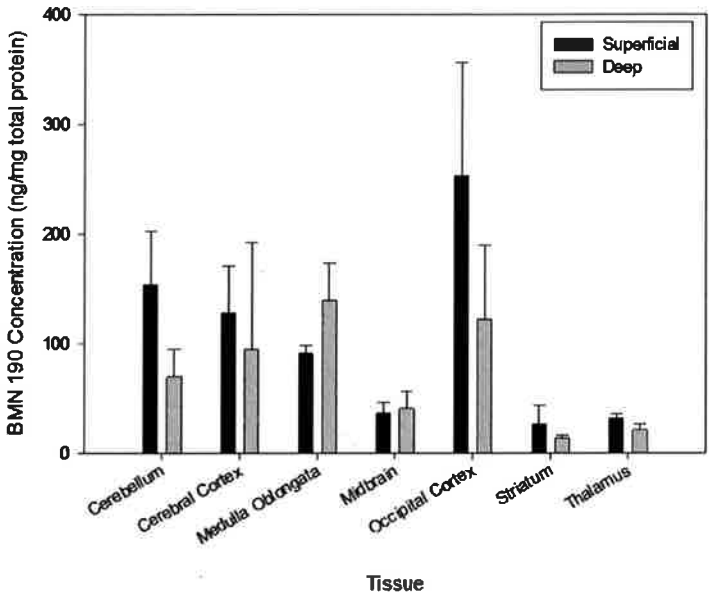
2.6.4.4.1.3 カニクイザル単回 IT-L 投与毒性、トキシコキネティクス及び CNS への分布試験

（試験番号 BMN190-11-046、記載箇所 4.2.3.1-2）

BMN190-11-046 試験のデザインは 2.6.4.3.1.2 に示した。2 頭の雌性及び 1 頭の雄性カニクイザルに BMN 190 を 14 mg の用量で単回 IT-L 投与した。

投与後約 72 時間に剖検し、BMN 190 の分布を測定するために脳組織を採取した。大脳皮質、後頭皮質、小脳、線条体、延髄、中脳、視床を含む脳組織を測定した。脳の表層（表面から 3 mm 未満）及び深部（3 mm 超）の TPP1 レベルを図 2.6.4.4.4 に示した。

図 2.6.4.4.4 カニクイザルに BMN 190 を 14 mg の用量で単回 IT-L 投与後の脳組織内分布



カニクイザル（n＝3）に BMN 190 を 14 mg の用量で単回 IT-L 投与後の表層及び深部脳組織内分布、平均±SD

単回 IT-L 投与後、BMN 190 は脳内に広く分布した。試料数が少なかったため（3 匹）脳の表層と脳深部における一般的な分布パターンは明確に示せなかった。

2.6.4.4.2 反復投与

2.6.4.4.2.1 WT 及び TPP1 欠損ダックスフンドに 3 箇月間 IT-C 反復投与したときの毒性試験、CNS 組織への分布、薬理試験

（試験番号 0190-09-066、記載箇所 4.2.1.1-3）

0190-09-066 試験のデザインは2.6.4.3.2.1 に示した。BMN 190を 32 mg 又は vehicle（人工CSF）を 4 箇月齢から7 箇月齢にかけて2 頭のTPP1 欠損及び2 頭のWT ダックスフンドに毎月1 回、合計 4 回反復投与した。試験開始は20■年■月■日で、終了は20■年■月■日である。

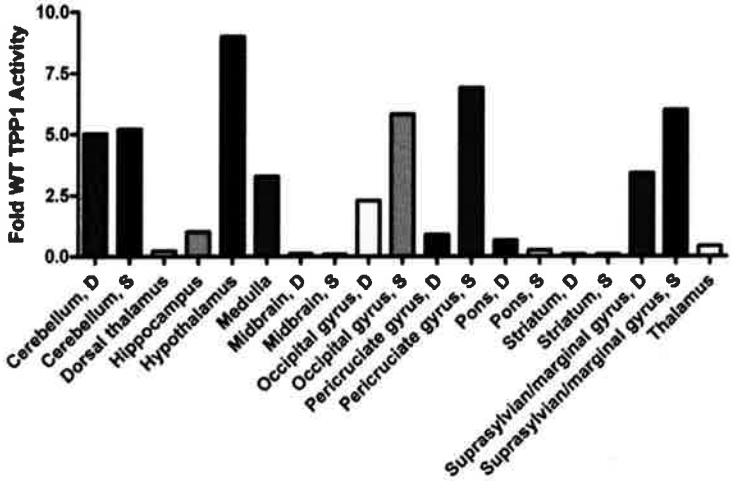
試験終了時、最終 IT 投与 48 時間後に安楽死させ TPP1 活性の分布を測定するために CNS 組織を採取した。以下の CNS 組織を採取し測定した。

前頭［十字傍回（pericruciate gyri）］、側頭頭頂（シルビウス上回／縁回）、後頭脳回、線条体、視床背部、中脳、脳橋、延髄、小脳（脳橋から取り除く）、頚部脊髄上部（延髄の末端）、視床、視床下部、海馬。

vehicle 投与した TPP1 欠損群では測定した全ての組織で TPP1 の活性がわずかに検出された。一方、vehicle 投与した WT 群では測定した全ての CNS 組織で顕著な TPP1 の活性が検出された。BMN 190 を投与した TPP1 欠損群、WT 群ともほとんどの脳組織で大幅に TPP1 活性が上昇し

た。BMN 190 を投与した TPP1 欠損群の TPP1 活性は、vehicle 投与した WT 群での TPP1 活性で補正した。各組織間で比較したデータを図 2.6.4.4.5 に示した。

図 2.6.4.4.5 BMN 190 を 4 箇月間反復 IT-C 投与した TPP1 欠損ダックスフンドの脳組織における TPP1 活性



BMN 190 を投与した TPP1 欠損群の TPP1 活性（n = 1）は、vehicle 投与した WT 群での TPP1 活性で補正した（n = 1）。S：脳の表層（表面から< 3 mm）、D：深部（> 3 mm）

このデータから、BMN 190 を IT-C 投与すると、脳のほとんどの部分に BMN 190 が分布し、TPP1 活性が上昇することが示された。BMN 190 を投与した TPP1 欠損のイヌの多くの CNS 組織の酵素活性レベルは vehicle 投与された WT 動物の酵素活性レベルより大きかった。TPP1 活性は CSF が流れている近傍の部位が最も高いことから CNS 組織では濃度勾配で分布することが示された。

網膜の TPP1 活性はほとんど影響を受けないが、CNS の他の部分では脳より脊髄の方が酵素レベルは高くなった。BMN 190 を投与した TPP1 欠損のイヌの酵素活性レベルは vehicle 投与された WT 動物の酵素活性レベルより大きいが、多くの内臓で TPP1 酵素活性の上昇が見られたとしても、肝臓以外は TPP1 酵素活性の上昇は小さいと考えられる。肝臓への高濃度の分布は、他の酵素補充療法と同様であり、TPP1 の組織への取り込みに寄与する mannose-6-phosphate receptor の高発現によるものであると考える。

2.6.4.4.2.2 WT 及び TPP1 欠損のダックスフンドにおける 9 箇月間反復脳室内（ICV）投与薬理、毒性、トキシコキネティクス及び CNS 組織への分布試験

（試験番号 0190-10-077、記載箇所 4.2.1.1-4）

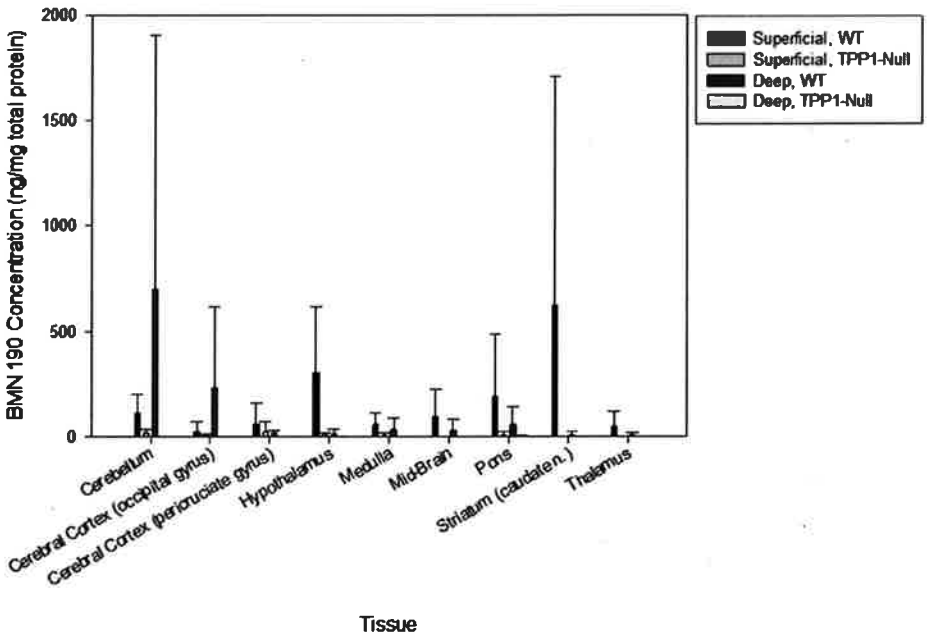
0190-10-077 試験のデザインは 2.6.4.3.2.2 項に記載した。ランダムに群分けした 19 頭の WT 又は TPP1 欠損ダックスフンドに vehicle 及び BMN 190 を 4 mg 又は 16 mg の用量で 2 週間に一度 20 回 ICV 定速投与した。ICV カテーテルが頭蓋骨の成長によって脳側室から外れた場合や詰ま

った場合は、IT-L からの定速投与を行うことによって可能な限り薬物投与を継続した。ICV 及び IT-L が使用不能になった場合は、残りの BMN 190 投与は IT-C へのボーラス投与で行った。

BMN 190 を ICV 定速投与後の CNS 組織への分布を測定するため、安楽死直後に CNS 組織を各動物から採取した。採取した CNS 組織は以下である：大脳皮質、線条体、視床、中脳、後頭皮質、小脳、延髄。それぞれの部位で表層（表面から 3 mm 未満）及び深部（3 mm 超）の試料を採取した。

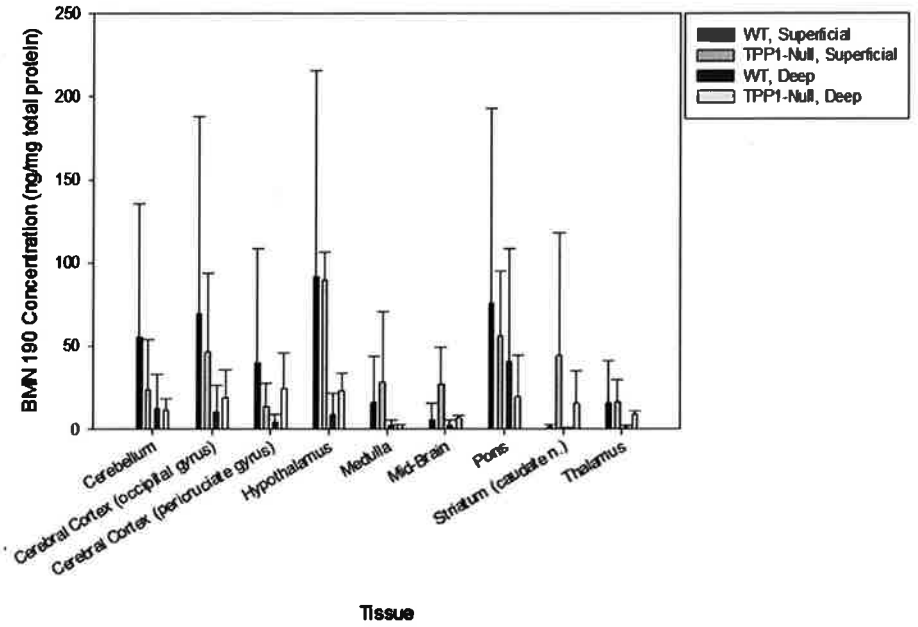
BMN 190 を 4 mg 又は 16 mg の用量で投与した動物の安楽死直後の脳組織中の BMN 190 濃度を図 2.6.4.4.6 及び図 2.6.4.4.7 に示した。

図 2.6.4.4.6 BMN 190 を 4 mg の用量でダックスフンドに約 20 回 ICV 又は IT 投与後の脳組織中の BMN 190 濃度



平均±SD
BMN 190 を 4 mg の用量でダックスフンド（n = 6）に約 20 回 ICV 又は IT 投与後の表層及び深部脳組織中の BMN 190 濃度

図 2.6.4.4.7 BMN 190 を 16 mg の用量でダックスフンドに約 20 回 ICV 又は IT 投与後の脳組織中の BMN 190 濃度



平均±SD
BMN 190 を 16 mg の用量でダックスフンド（n = 6）に約 20 回 ICV 又は IT 投与後の表層及び深部脳組織中の BMN 190 濃度

試験全体でみた場合、BMN 190 は剖検時に採取した全ての CNS 組織において検出されたが、その動物間ばらつきは図の標準偏差に見られるように大きかった。4 mg 投与群では剖検時において 6 頭のうち 5 頭で少なくとも 1 つの組織で BMN 190 が定量下限未満であった。16 mg 投与群では剖検時において 6 頭のうち 3 頭で少なくとも 1 つの組織で BMN 190 が定量下限未満であった。投与回数が動物間でばらついており、BMN 190 の最終投与の試料採取時間も同様である。このことから更なるデータの解析は行わなかった。

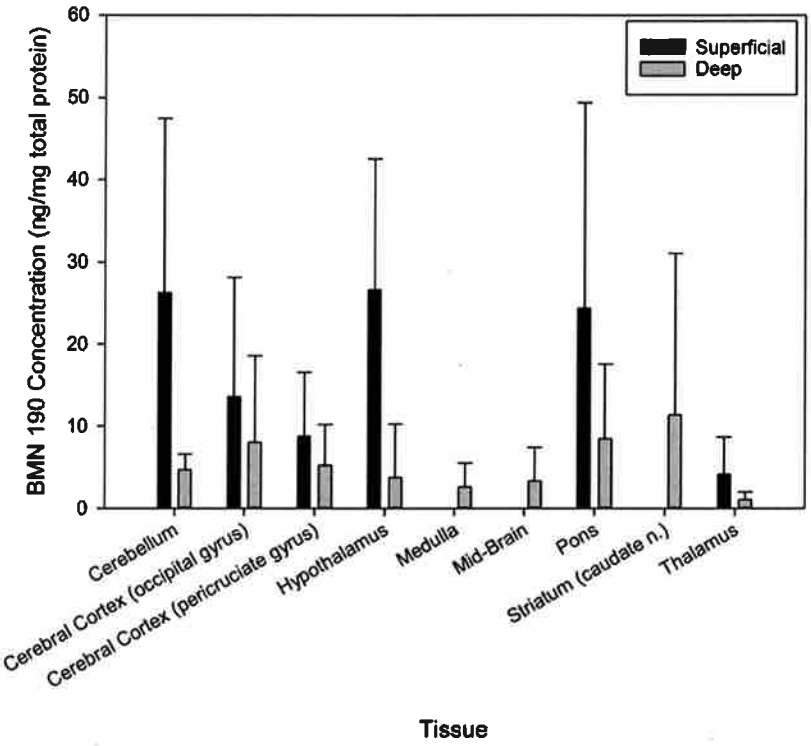
2.6.4.4.2.3 BMN 190 を 48 mg の用量でダックスフンド CLN2 モデルへ 44 週間脳室内（ICV）反復投与

（試験番号 BMN190-12-009、記載箇所 4.2.1.1-5）

BMN190-12-009 試験のデザインは2.6.4.3.2.3 に示した。投与開始時に約 2.5 箇月齢のTPP1 欠損ダックスフンド3 頭にBMN 190 を 48 mg の用量で 2 週間に一度 ICV 定速投与した。ICV カテーテルが頭蓋骨の成長によって脳側室から外れた場合や詰まった場合は、IT-Lからの定速投与を行うことによって可能な限り薬物投与を継続した。ICV及びIT-Lが使用不能になった場合は、残りの BMN 190 投与は IT-C へのボーラス投与で行った。動物を使用した試験期間は、20■年■月■日から 20■年■月■日であった。

各動物は、試験期間中に 42 回までの投与を受けた。安楽死直後に CNS 組織を各動物から採取し BMN 190 の分布を測定した。CNS 組織中の平均 BMN 190 濃度を図 2.6.4.4.8 に示した。

図 2.6.4.4.8 BMN 190 を ICV 又は IT 投与後のダックスフンド脳組織中平均 BMN 190 濃度



平均±SD
BMN 190 を TPP1 欠損ダックスフンド（n＝3）に ICV 又は IT 投与後の表層及び深部脳組織中の BMN 190 濃度

BMN 190 は剖検時の CNS 組織に広く分布したが、図の標準偏差に見られるように動物間のばらつきは大きかった。用量及び投与回数が動物間でばらついており、BMN 190 の最終投与の試料採取時間も同様である。このことから更なるデータの解析は行わなかった。

2.6.4.5 代謝

BMN 190は、高分子タンパク製剤であり、加水分解により、ペプチドから活性を持たないと考えられるアミノ酸に分解されると考えられるため代謝試験は実施しなかった。

2.6.4.6 排泄

BMN 190は、高分子タンパク製剤であり、尿中への排泄ではなく主にペプチドへの分解を経由した消失が考えられるため、排泄試験は実施しなかった。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

薬物動態学的薬物相互作用試験は実施しなかった。BMN 190 の異化（通常のタンパク質の分解）は、他の薬物や病態に影響されないと考えられる。予想される BMN 190 でのペプチドの分解による代謝が他の薬物へ影響することはほとんどないと考えられる。加えて、ライソゾームへの取り込みに影響する CI-M6PR（cation-independent mannose 6-phosphate receptor）の活性や発現に影響する薬物は知られていない。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施しなかった。

2.6.4.9 考察及び結論

ビーグル犬への単回 IT-C 投与 1 回、カニクイザルへの単回 IT-L 投与 1 回、カニクイザルへの単回 ICV 定速投与 1 回、ダックスフンドへの反復 IT-C 投与 1 回及びダックスフンドへの反復 ICV 定速投与 3 回の CNS への直接投与を行い、BMN 190 の非臨床薬物動態（PK）の特性を検討した。

ダックスフンド及びカニクイザルを用いた非臨床試験で使用するため、薬物濃度測定法を開発した。また、PK 及び CNS における分布を測定するため、血漿中又は CSF 中のプロ型及び活性型としての rhTPP1 を測定し、CNS 組織中では活性型又は酵素活性としての rhTPP1 を測定した。ECLA を開発し、イヌ及びカニクイザルの CSF 及び血漿中の総抗 BMN 190 抗体を測定した。

2.6.4.9.1 吸収

WT 及び TPP1 欠損のダックスフンドに ICV 定速投与、また、カニクイザルに IT-L 又は ICV 定速投与したときの BMN 190 の薬物動態を評価した。その結果、IT 又は ICV 定速投与後の CSF 中に BMN 190 は高濃度（約 1×10^6～3×10^6 ng/mL）に存在していた。両動物種とも最高 CSF 中濃度は投与終了直近に見られた。BMN 190 は体循環系にも存在していたが、単回投与後の CSF 中の C_{max} は血漿の C_{max} より 100 倍から 1000 倍高濃度であった。CSF 中の BMN 190 濃度は K_{uptake}（約 3.1 nmol/L 又は約 183 ng/mL）を投与後 2 日から 3 日間上回っており、この期間は CNS 組織への分布が生じていると考えられる。

各群における個体間のばらつきは大きかったが、WT 及び DPP1 欠損のダックスフンドの初回 ICV 定速投与の CSF と血漿における曝露は類似していた。初回 ICV 定速投与後の CSF における $AUC_{0-\infty}$（平均±SD）は、4 mg 投与（n = 2）で $1.88\times10^6 \pm 5.98\times10^5$ ng•h/mL、16 mg 投与（n =

6）で $6.45\times10^6 \pm 3.45\times10^6$ ng•h/mL、48 mg 投与（n = 2）で $1.06\times10^7 \pm 3.52\times10^5$ ng•h/mL であり、4 mg 投与と 16 mg 投与及び 48 mg 投与と比較すると、それぞれ約 3.4 倍及び 5.6 倍であった。

16 mg を 10 回反復 ICV 定速投与後（n = 2）の CSF の平均 $AUC_{0-\infty}$は、$1.52\times10^7 \pm 1.49\times10^7$ ng•h/mL であり、半減期は 2.71 ± 0.0184 時間であった。16 mg 投与群における CSF の平均 $AUC_{0-\infty}$の投与 1 回目と 10 回目の差は動物間のばらつきによるものと考えられる。CSF の薬物動態プロファイルにおいて、投与 1 回目と 10 回目を比較したとき、反復投与における明確な曝露の増加又は減少は見られなかった。なお、4 mg と 48 mg を反復投与したときの PK パラメーターは得られなかった。原因は、操作的困難性又はカテーテルの詰まりのため全ての動物で計画された全ての時間で PK の試料採取ができたのではなかったためである。CSF からの BMN 190 の消失は二相性で、終末消失相における半減期（平均±SD）は、単回 ICV 定速投与 4 mg（n = 2）、16 mg（n = 6）及び 48 mg（n = 2）でそれぞれ 10.2 ± 5.34 時間、5.86 ± 3.39 時間及び 6.59 ± 1.69 時間であった。

ダックスフンドにおいて初回 ICV 定速投与後の平均血漿 $AUC_{0-\infty}$（平均±SD）は、4 mg 投与（n = 6）で $1.89\times10^3 \pm 1.89\times10^3$ ng•h/mL、16 mg 投与（n = 6）で $5.18\times10^3 \pm 1.91\times10^3$ ng•h/mL、48 mg 投与（n = 3）で $4.02\times10^4 \pm 1.69\times10^4$ ng•h/mL であり、4 mg 投与と 16 mg 投与及び 48 mg 投与と比較すると、それぞれ約 2.7 倍及び 21.3 倍であった。BMN 190 を 4 mg 又は 16 mg の用量で ICV 又は IT-L で投与したとき、反復投与後の曝露は、単回投与後の曝露に比して小さかった。原因は、血漿中に抗 BMN 190 抗体が存在したためと考えられる（2.6.6.3.2 項）。BMN 190 の血漿からの消失は二相性であり、終末消失相における半減期（平均±SD）は、単回 ICV 定速投与 4 mg（n = 6）、16 mg（n = 6）及び 48 mg（n = 3）でそれぞれ 10.4 ± 13.9 時間、8.97 ± 1.89 時間及び 22.9 ± 2.91 時間であった。

投与開始時約 4 箇月齢のダックスフンドに、BMN 190 を 16 mg の用量で ICV 定速投与したときの CSF 及び血漿における PK パラメーターは、投与開始時約 2.5 箇月齢のダックスフンドに BMN 190 を 16 mg の用量で ICV 定速投与したときの PK パラメーターと類似していた。

カニクイザルにおいて、14 mg 単回投与後の CSF の平均 $AUC_{0-\infty}$は、IT-L 投与（n = 3）で、$1.10\times10^7 \pm 1.86\times10^6$ ng•h/mL、ICV 定速投与（n = 9）で $5.77\times10^6 \pm 1.11\times10^6$ ng•h/mL であり、ほぼ 2 倍の差があった。CSF 中の BMN 190 濃度は、同じ投与量、同じ投与経路においても動物間でばらつきが大きかった。CSF 中の BMN 190 濃度は K_{uptake}（約 3.1 nmol/L 又は約 183 ng/mL）を 14 mg を IT-L 投与後約 28 時間、ICV 定速投与後 51 時間で上回っていた。CSF からの BMN 190 の消失は二相性で、単回 5 mg（n = 3）、14 mg（n = 9）及び 20 mg（n = 2）ICV 定速投与の平均終末相半減期は、7.63 ± 1.05 時間、24.1 ± 23.6 時間及び 7.62 時間であった。

14 mg 単回投与後の血漿中平均 $AUC_{0-\infty}$は、IT-L 投与（n = 3）で $3.88\times10^4 \pm 1.00\times10^4$ ng•h/mL、ICV 定速投与（n = 9）で $1.75\times10^4 \pm 4.61\times10^3$ ng•h/mL であった。血漿からの BMN 190 の消失は二相性で、単回 5 mg（n = 3）、14 mg（n = 9）及び 20 mg（n = 3）を ICV 定速投与後の平均終末相半減期は、15.5 ± 8.06 時間、6.16 ± 2.16 時間及び 6.31 ± 3.21 時間であった。

2.6.4.9.2 分布

BMN 190 をビーグル犬に単回 IT-C ボーラス投与、カニクイザルに単回 IT-L 定速投与及び ICV 定速投与、ダックスフンドに反復 IT-C 投与又は反復 ICV／IT 投与し、CNS 組織への分布を検討した。ダックスフンドに ICV 定速投与したとき、BMN 190 は CNS 組織に広く分布し、BMN 190 を投与していない WT 動物の CNS 組織中濃度を超える分布を示した。

ビーグル犬に単回 IT-C 投与、サルに単回 IT-L 定速投与またダックスフンドに 4 箇月 IT-C ボーラス投与したときの CNS 組織への分布パターンは類似していた。BMN 190 は脳に広く分布し、多くの CNS 組織で WT 動物の TPP-1 レベルよりも 2 倍から 40 倍高濃度で分布した。また、BMN 190 の分布には濃度勾配が見られ、測定した多くの脳組織で、深部（3 mm 超）より高い濃度が表層（3 mm 未満）で見られた。しかし、視床、線条体又は中脳のような脳室近傍の深部の脳では、検出されないかわずかに検出されただけであった。

ICV 定速投与を IT-C 投与及び IT-L 投与と比較したとき、カニクイザルに単回 ICV 定速投与すると、BMN 190 は脳に広く分布し、脳室近傍の深部の脳（視床、線条体又は中脳）により多く分布した（図 2.6.4.4.4）。このことから、ICV 経路で投与することによって、BMN 190 が深部脳に多く分布しより多くの病態の影響を受ける CNS 組織に曝露する可能性がある。そのため、ICV 定速投与は BMN 190 の投与方法に適していると考えられる。CNS 組織における平均半減期は、約 2 週間（CNS の部位によって 3.1～87.2 日）であり、2 週間に一度の ICV 定速投与によって、BMN 190 の CNS 組織での高い曝露が維持されることを示している。

ダックスフンドに 4 mg、16 mg、48 mg を ICV/IT 投与したとき、全てのイヌにおいて測定した CNS 組織（表層及び深部の小脳、大脳皮質、視床下部、髄質、中脳、脳橋、線条体、視床）で BMN 190 が検出された。BMN 190 の組織への分布パターンは ICV 定速投与したサルの分布に類似していた。

2.6.4.9.3 結論

イヌ及びサルを用いた血漿中濃度推移及び組織分布試験の結果から、BMN 190 を CSF に IT 又は ICV 定速投与したとき、BMN 190 は表層脳及び深部脳に効果的に分布することが示された。CSF における BMN 190 の濃度は、投与終了直後に最高となり、投与後 2 日から 3 日間は K_{uptake}（約 3.1 nmol/L 又は約 183 ng/mL）を超える濃度を維持した。BMN 190 の CSF 中の曝露（C_{max} 及び AUC）は、カニクイザルにおいて投与量 5 mg から 20 mg の間では用量比例性を上回る増加を示し、ダックスフンドにおいて投与量 4 mg から 48 mg の間では用量比例性を下回る増加を示した。BMN 190 を ICV 又は IT 投与後の血漿中 BMN 190 濃度は CSF 中の濃度の 1／100 から 1／1000 倍であった。ダックスフンドにおいて反復投与後の血漿中濃度は、単回投与後の血漿中濃度より低かったが、CSF における曝露は単回投与と反復投与で類似していた。

BMN 190 を反復投与したとき、CSF 中及び血漿中共に抗 BMN 190 抗体の産生が見られた。BMN 190 を ICV 又は IT 投与すると、CNS 組織に広く分布し、一般的に組織の深層部より表層部に多く分布した。CNS 組織における平均半減期は約 2 週間であった。全体としてみると、CNS 組織における BMN 190 濃度は、用量依存的であった。IT 投与に比べ、ICV 投与したとき、視

床、線条体、中脳を含む脳室近傍の脳深部組織により分布することが示された。これらの非臨床 PK 及び組織分布の結果は、CLN2 患者に BMN 190 を 2 週間に一度 ICV 投与して行った評価をサポートする結果である。

ブリニューラ®脳室内注射液 150 mg

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5　薬物動態試験概要表

BioMarin Pharmaceutical Japan 株式会社

目次

2.6.5 薬物動態試験概要表....3
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表....3
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験....5
2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与....6
表 2.6.5.3.1: カニクイザルに BMN 190 を単回脳室内（ICV）投与後の吸収[a]....6
表 2.6.5.3.2: カニクイザルに BMN 190 を単回腰部髄腔内（IT-L）持続投与後の PK 及び分布試験....8
2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与....9
2.6.5.5 薬物動態：分布....12
表 2.6.5.5.4: BMN 190 をダックスフンド CLN2 モデルへ 2 週間に 1 度 44 週間脳室内（ICV）持続投与....18
2.6.5.6 薬物動態試験：タンパク結合....21
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳中動物における試験....21
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験....21
2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：In Vivo....21
2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：In Vitro....21
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路....21
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害....21
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄....21
2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中....21
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用....22
2.6.5.16 薬物動態試験：その他....22

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：BMN 190

表 2.6.5.1.1: 薬物動態試験一覧表

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
吸収 (単回投与)	サル	ICV、4 時間持続投与 単回投与	[redacted] [redacted] USA	0190-09-071[a]	4.2.3.1-1
	サル	IT-L、4 時間持続投与　単回投与	[redacted] USA	BMN190-11-046	4.2.3.1-2
吸収 (反復投与)	イヌ (ダックスフンド)	IT-C、ボーラス投与 反復投与	[redacted] [redacted] USA	0190-09-066	4.2.1.1-3
	イヌ (ダックスフンド)	ICV、2 又は 4 時間持続投与 反復投与	[redacted] [redacted] USA	0190-10-077	4.2.1.1-4
	イヌ (ダックスフンド)	ICV、4 時間持続投与 反復投与	[redacted] [redacted] USA	BMN190-12-009	4.2.1.1-5
	イヌ (ダックスフンド)	ICV、4 時間持続投与 反復投与	[redacted] [redacted] USA	BMN190-12-027	4.2.1.1-6
分布 (単回投与)	イヌ (ビーグル)	IT-C、ボーラス投与 単回投与	[redacted] [redacted] USA	0190-08-034	4.2.2.3-1
	サル	ICV、4 時間持続投与 単回投与	[redacted] USA	0190-09-071[a]	4.2.3.1-1
	サル	IT-L、4 時間持続投与 単回投与	[redacted] USA	BMN190-11-046	4.2.3.1-2
分布 (反復投与)	イヌ (ダックスフンド)	IT-C、ボーラス投与 反復投与	[redacted] [redacted] USA	0190-09-066	4.2.1.1-3

表 2.6.5.1.1: 薬物動態試験一覧表（続き）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
	イヌ （ダックスフンド）	ICV、2 又は 4 時間持続投与 反復投与	[redacted] [redacted] USA	0190-10-077	4.2.1.1-4
	イヌ （ダックスフンド）	ICV、4 時間持続投与 反復投与	[redacted] [redacted] USA	BMN190-12-009	4.2.1.1-5

ICV=脳室内; IT-C=大槽内; IT-L=腰部髄腔内

a 動物試験はアメリカ合衆国 FDA の GLP 規制（21 CFR Part 58）及び厚生労働省 GLP 基準条例 21; OECD（Principles of GLP, C(97)/186）に従って実施した。

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

表 2.6.5.2.1: 分析方法

試験番号	試験名	記載箇所
BAS-DR-09-003	Development of a Sandwich ELISA for the Measurement of Recombinant Tripeptidyl-Peptidase 1 (TPP1) Pro-Form levels in Canine Plasma and Cerebrospinal Fluid	4.2.2.1-1
BAS-DR-10-005	Development of a Sandwich ELISA for the Measurement of Recombinant Tripeptidyl-Peptidase 1 (TPP1) Pro-Form Levels in Cynomolgus Monkey Plasma and Cerebrospinal Fluid	4.2.2.1-2
BAS-DR-10-008	Development of a Sandwich ELISA for the Measurement of Recombinant Tripeptidyl-Peptidase 1 (TPP1) Catalytic Form in Cynomolgus Monkey Plasma	4.2.2.1-3
BAS-DR-11-009	Development of a Sandwich ELISA for the Measurement of Recombinant Tripeptidyl-Peptidase 1 Catalytic Form in Canine Brain and Spinal Cord Tissue Homogenates	4.2.2.1-4
BAS-DR-10-007	Development of a Sandwich ELISA for the Measurement of Tripeptidyl-Peptidase 1 (TPP1) Catalytic Form in Cynomolgus Monkey Brain and Spinal Cord Tissue Homogenates	4.2.2.1-5
BAS-DR-15-016	Development of an Electrochemiluminescence Assay (ECLA) to detect anti-TPP1 Antibodies in Canine Plasma and CSF	4.2.2.1-6
BAS-DR-15-017	Development of an Electrochemiluminescence Assay (ECLA) to detect anti-TPP1 Antibodies in Cynomolgus Monkey Plasma and CSF	4.2.2.1-7

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与

被験物質：BMN 190
試験番号：0190-09-071
CTD における記載箇所：4.2.3.1-1

表 2.6.5.3.1: カニクイザルに BMN 190 を単回脳室内（ICV）投与後の吸収 [a]

0190-09-071 試験	単回投与 サル		ICV 4 時間持続投与	
脳脊髄液（CSF）				
投与量（mg/dose）	AUC_{0-t} (ng•h/mL)		C_{max} (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)
5 (n = 3)	1045149 ± 929796		317559 ± 304675	7.63 ± 1.05
14 (n = 9)	5770165 ± 1112249		968479 ± 323425	24.1 ± 23.6
20 (n = 3)	6301848 ± 7178918		1578854 ± 2212286	7.62[b]
血漿				
投与量（mg/dose）	AUC_{0-t} (ng•h/mL)		C_{max} (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)
5 (n = 3)	6543 ± 6038		1673 ± 2051	15.5 ± 8.06
14 (n = 9)	16760 ± 4631		3669 ± 2104	6.16 ± 2.16
20 (n = 3)	28126 ± 14521		4938 ± 2846	6.31 ± 3.21
中枢神経系組織				
投与量（mg/dose）	組織	AUC_{0-t} (ng•day/mg protein)	C_{max} (ng/mg protein)	$t_{1/2}$ (days)
14	小脳 D	799	70.1	[b]
	小脳 S	1029	97.3	12.2
	大脳皮質 D	764	65.3	87.2 (R^2=0.1579)
	大脳皮質 S	1313	156	8.39
	髄質 D	1434	171	8.71
	髄質 S	931	73.1	60.9
	中脳 D	888	72.4	[b]
	中脳 S	932	73.1	60.9
	後頭皮質 D	1157	141	9.32
	後頭皮質 S	2028	236	15.5 (R^2=0.4853)
	線条体 D	1406	266	14.0
	線条体 S	1184	124	12.7

表 2.6.5.3.1: カニクイザルに BMN 190 を単回脳室内（ICV）投与後の吸収 [a]（続き）

投与量（mg/dose）	組織	AUC_{0-t} (ng•day/mg protein)	C_{max} (ng/mg protein)	$t_{1/2}$ (days)
14	視床 D	1406	266	3.67
	視床 S	1088	90.1	[b]
	頚髄	4486	875	3.1
	胸髄	2347	392	4.56
	腰髄	3322	557	3.51

ICV = 脳室内; S =脳の表層（表面から< 3 mm）; D =深部（> 3 mm）; 脳脊髄液及び血漿の値は平均値 ± SD

[a] 動物試験はアメリカ合衆国 FDA の GLP 規制（21 CFR Part 58）及び厚生労働省 GLP 基準条例 21; OECD（Principles of GLP, C(97)/186）に従って実施した。

[b] 1 例は終末相半減期を算出できなかった。

被験物質：BMN 190
試験番号：BMN190-11-046
CTD における記載箇所：4.2.3.1-2

表 2.6.5.3.2: カニクイザルに BMN 190 を単回腰部髄腔内（IT-L）持続投与後の PK 及び分布試験

BMN190-11-046 試験	単回投与 サル	IT-L 4 時間持続投与	
脳脊髄液（CSF）			
投与量（mg/dose）	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)
14 (n = 3)	10971616 ± 1859862	2666881 ± 703233	14.6 ± 0.203
血漿			
投与量（mg/dose）	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)
14 (n = 3)	37660 ± 10290	7762 ± 3027	6.26 ± 1.67
中枢神経系組織			
投与量（mg/dose）	組織	濃度(ng/mg protein)	
14 (n = 3)	大脳皮質 S	128±97.7	
	大脳皮質 D	94.8±16.4	
	線条体 S	27.0±2.56	
	線条体 D	14.1±4.10	
	視床 S	31.7±5.60	
	視床 D	21.4±9.76	
	中脳 S	36.5±16.1	
	中脳 D	40.8±103	
	後頭皮質 S	253±67.0	
	後頭皮質 D	123±7.04	
	延髄 S	91.2±34.0	
	延髄 D	140±48.8	
	小脳 S	154±24.9	
	小脳 D	70.1±116	
	頸髄	263±207	
	胸髄	383±305	
	腰髄	639±49.7	

IT-L=腰部髄腔内。 組織は投与 72 時間後に採取した。 値は平均値 ± SD.

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与

被験物質：BMN 190
試験番号：0190-10-077
CTD における記載箇所：4.2.1.1-4

表 2.6.5.4.1: セロイドリポフスチン症 2 型モデルダックスフンドにおける脳室内トリペプチジルペプチダーゼ 1 酵素補充療法

反復投与 イヌ			脳室内（ICV）持続投与 （4 時間）		
脳脊髄液（CSF）					
			AUC_{0-t} (ng•h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)
投与量（mg）	投与回数	n			
4	1	2[a]	$1.88\times10^{6} \pm 5.98\times10^{5}$	$4.73\times10^{5} \pm 2.46\times10^{5}$	10.2 ± 5.34
16	1	6[a]	$6.45\times10^{6} \pm 3.45\times10^{6}$	$1.46\times10^{6} \pm 9.13\times10^{5}$	5.86 ± 3.39
	10	2[a]	$1.52\times10^{7} \pm 1.49\times10^{7}$	$2.29\times10^{6} \pm 2.71\times10^{6}$	2.71 ± 0.0184

反復投与 イヌ			ICV 持続投与（4 時間）		
血漿					
投与量（mg）	投与回数	n	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)
4	1	6	$1.85\times10^{3} \pm 1.90\times10^{3}$	$5.27\times10^{2} \pm 6.95\times10^{2}$	10.4 ± 13.9
	10	3[b]	$3.80\times10^{1} \pm 5.04\times10^{1}$	$1.71\times10^{1} \pm 2.34\times10^{1}$	8.12 ± 9.90
16	1	6	$5.15\times10^{3} \pm 1.91\times10^{3}$	$1.78\times10^{3} \pm 9.07\times10^{2}$	8.97 ± 1.89
	10	4[c]	$1.42\times10^{3} \pm 2.69\times10^{3}$	$1.68\times10^{2} \pm 3.09\times10^{2}$	-- --
	20	3[d]	$7.25\times10^{1} \pm 2.30\times10^{1}$	$1.81\times10^{1} \pm 5.52\times10^{0}$	9.75 --

ICV=脳室内
AUC_{0-t}時間 0 から t 時間（測定可能時間）までの濃度-時間曲線下面積; C_{max}, 最高濃度; T_{max}, 最高濃度到達時間; $t_{1/2}$, 半減期。 値は平均値 ±SD.
[a] 4 mg 投与の投与 1 及び 10 においては、CSF の PK 用試料をそれぞれ 6 頭中 2 頭又は 0 頭から採取した。16 mg 投与の投与 1 及び 10 においては、PK 用の試料をそれぞれ 6 頭中 6 頭又は 2 頭から採取した。 操作的困難性又はカテーテルの詰まりのため、計画した全ての採取時間で全ての動物の試料を採取することはできなかった。
[b] λ_z が算定不能のため $t_{1/2}$ は N = 2。
[c] λ_z が算定不能のため $t_{1/2}$ は N = 0 ; 16 mg 投与の 1 頭は投与 10 において PK データは得られたが、IT-C ボーラス投与だったため、計算に用いなかった。
[d] λ_z が算定不能のため $t_{1/2}$ は N = 1。

被験物質：BMN 190
試験番号：BMN190-12-009
CTD における記載箇所：4.2.1.1-5

表 2.6.5.4.2: BMN 190 をダックスフンド CLN2 モデルへ 2 週間に 1 度 44 週間脳室内（ICV）持続投与

反復投与 イヌ			脳室内（ICV）持続投与（4 時間）		
脳脊髄液（CSF）					
			AUC_{0-t} (ng•h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)
投与量（mg）	投与回数	n			
48	1	2[a]	$1.06\times10^{7} \pm 3.52\times10^{5}$	$1.78\times10^{6} \pm 3.08\times10^{5}$	6.59 ± 1.69
反復投与 イヌ			脳室内（ICV）持続投与（4 時間）		
血漿					
投与量（mg）	投与回数	n	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)
48	1	3	$4.02\times10^{4} \pm 1.69\times10^{4}$	$7.60\times10^{3} \pm 3.69\times10^{3}$	22.9 ± 2.91

ICV=脳室内
AUC_{0-t} 時間 0 から t 時間（測定可能時間）までの濃度-時間曲線下面積; C_{max} 最高濃度; $t_{1/2}$ 半減期。 値は平均値± SD.
[a] 投与 1 及び 10 においては、CSF の PK 用試料をそれぞれ 3 頭中 2 頭又は 0 頭から採取した。操作的困難性又はカテーテルの詰まりのため、計画した全ての採取時間で全ての動物の試料を採取することはできなかった。

被験物質：BMN 190
試験番号：BMN190-12-027
CTD における記載箇所：4.2.1.1-6

表 2.6.5.4.3: BMN 190 をダックスフンド CLN2 モデルへ 39 週間脳室内（ICV）持続投与

反復投与 イヌ			脳室内（ICV）持続投与（4 時間）		
脳脊髄液（CSF）					
			AUC_{0-t} (ng•h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)
投与量（mg）	投与回数	n			
16	1	2[a]	$7.31\times10^{6} \pm 3.48\times10^{6}$	$1.27\times10^{6} \pm 4.35\times10^{5}$	7.24 ± 5.13
反復投与 イヌ			脳室内（ICV）持続投与（4 時間）		
血漿					
投与量（mg）	投与回数	n	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)
16	1	6	$2.80\times10^{3} \pm 7.59\times10^{2}$	$4.97\times10^{2} \pm 1.67\times10^{2}$	9.68 ± 4.45

ICV=脳室内

AUC_{0-t}, 時間 0 から t 時間（測定可能時間）までの濃度-時間曲線下面積; C_{max}, 最高濃度; T_{max}, 最高濃度到達時間; $t_{1/2}$, 半減期。 値は平均値± SD.

[a] 投与 1 においては、CSF の PK 用試料を 6 頭中 2 頭（両方とも TPP1+/+）また、投与 5 及び 10 では 6 頭中 0 頭から採取した。 操作的困難性又はカテーテルの詰まりのため、計画した全ての採取時間で全ての動物の試料を採取することはできなかった。

2.6.5.5 薬物動態：分布

被験物質：BMN 190
試験番号：0190-08-034
CTD における記載箇所：4.2.2.3-1

表 2.6.5.5.1: BMN 190 をイヌに大槽内（IT-C）単回投与後の CNS 組織への分布

単回投与												
動物種	ビーグル犬											
性（雄／雌）／動物数	2 雌、6 雌、2 雌、2 雌											
Vehicle／組成	人工脳脊髄液（216.5 mmol/L NaCl、0.80 mmol/L $MgSO_4$、3.01 mmol/L KCl、1.40 mmol/L $CaCl_2$、0.80 mmol/L Na_2HPO_4、0.20 mmol/L NaH_2PO_4、pH 7.3）											
投与方法	IT-C ボーラス投与											
投与量（mg/kg）	0、8、33、128											
試料採取時間	Day 2 ではコントロール群及び第 2 群から各 2 頭、Day 3 では BMN 190 投与の各群から各 2 頭、Day 5 では、第 2 群から 2 頭											
組織／器官	Vehicle		BMN 190 (8 mg) 24 hrs		BMN 190 (8 mg) 48 hrs		BMN 190 (8 mg) 96 hrs		BMN 190 (33 mg) 48 hrs		BMN 190 (128 mg) 48 hrs	
	表層	深部	表層	深部	表層	深部	表層	深部	表層	深部	表層	深部
前頭［十字傍回（pericruciate gyri）］	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
頭頂側頭領域	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
後頭脳回	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
線条体	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
背側視床	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
中脳	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
脳橋	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
延髄	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+
小脳	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

表 2.6.5.5.1: BMN 190 をイヌに大槽内（IT-C）単回投与後の CNS 組織への分布（続き）

組織	Vehicle		BMN 190 (8 mg) 24 hrs		BMN 190 (8 mg) 48 hrs		BMN 190 (8 mg) 96 hrs		BMN 190 (33 mg) 48 hrs		BMN 190 (128 mg) 48 hrs	
	表層	深部	表層	深部	表層	深部	表層	深部	表層	深部	表層	深部
頸髄	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
胸髄	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
腰髄	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
視床下部	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+
海馬			-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	N/A

表層（表面から 0～3 mm）；深部（表面から>3 mm）；N/A=適用せず。 + = BMN 190 を検出; - = BMN 190 が検出されず

被験物質：BMN 190
試験番号：0190-09-066
CTD における記載箇所：4.2.1.1-3

表 2.6.5.5.2: 野生型（WT）及び TPP1 欠損ダックスフンドに 3 箇月間 IT-C 反復投与したときの毒性試験、CNS 組織への分布、薬理試験

反復投与				
動物種	イヌ（ダックスフンド）			
性（雄／雌）／動物数	1 雄／1 雌、1 雄／1 雌			
Vehicle／組成	人工脳脊髄液（216.5 mmol/L NaCl、0.8 mmol/L $MgSO_4$、3.01 mmol/L KCl、1.4 mmol/L $CaCl_2$、0.8 mmol/L Na_2HPO_4、0.2 mmol/L NaH_2PO_4、pH 7.3）			
投与方法	IT-C ボーラス投与			
投与量（mg/kg）	0、32			
試料採取時間	投与 4 後 48 時間			
組織／器官	Vehicle		BMN 190 (32 mg)	
	表層	深部	表層	深部
十字傍回（pericruciate gyri）	-	-	+	-
後頭脳回	-	-	+	+
線条体	-	-	-	-
背側視床	-	-	-	N/A
中脳	-	-	-	-
脳橋	-	-	-	-
髄質	-	-	+	N/A
小脳	-	-	+	+
視床	-	-	-	-
視床下部	-	-	+	N/A
海馬	-	-	-	N/A
シルビウス上回／縁回	-	-	+	+

表 2.6.5.5.2: 野生型（WT）及び TPP1 欠損ダックスフンドに 3 箇月間 IT-C 反復投与したときの毒性試験、CNS 組織への分布、薬理試験（続き）

組織／器官	Vehicle		BMN 190 (32 mg)	
	表層	深部	表層	深部
頸髄上部	-	-	+	N/A
頸髄	-	-	+	N/A
胸髄	-	-	+	N/A
腰髄	-	-	+	N/A

表層（表面から 0～3 mm）；深部（表面から>3 mm）；N/A=適用せず。脊髄では、表層深部を特定せず全体を測定した。 + = BMN 190 を検出; - = BMN 190 が検出されず

被験物質：BMN 190
試験番号：0190-10-077
CTD における記載箇所：4.2.1.1-4

表 2.6.5.5.3: セロイドリポフスチン症 2 型モデルダックスフンドにおける脳室内トリペプチジルペプチダーゼ 1 酵素補充療法

反復投与						
動物種	イヌ（ダックスフンド）					
性（雄／雌）／動物数	1 雄／3 雌（0 mg） 2 雄／1 雌（4 mg） 1 雄／2 雌（16 mg） 2 雄／1 雌（0 mg） 2 雄／1 雌（4 mg） 3 雌（16 mg）					
Vehicle／組成	人工脳脊髄液（216.5 mmol/L NaCl、0.80 mmol/L $MgSO_4$、3.01 mmol/L KCl、1.40 mmol/L $CaCl_2$、0.80 mmol/L Na_2HPO_4、0.20 mmol/L NaH_2PO_4、pH 7.3）					
投与方法	ICV 持続投与（2 又は 4 時間）					
投与量（mg/kg）	0、4 （2 時間）、16（4 時間）					
試料採取時間	最終投与後 48 時間					
組織／器官	Vehicle		BMN 190 (4 mg)		BMN 190 (16 mg)	
	表層	深部	表層	深部	表層	深部
前頭皮質	-	-	+	+	+	+
後頭皮質	-	-	+	+	+	+
線条体	-	-	+	+	+	+
中脳	-	-	+	+	+	+
脳橋	-	-	+	+	+	+
髄質	-	-	+	+	+	+
小脳	-	-	+	+	+	+
視床	-	-	+	+	+	+
視床下部	-	-	+	+	+	+
頸髄	-	-	+	N/A	+	N/A
胸髄	-	-	+	N/A	+	N/A
腰髄	-	-	+	N/A	+	N/A

表層（表面から 0～3 mm）；深部（表面から>3 mm）；N/A=適用せず。脊髄では、表層深部を特定せず全体を測定した。脳組織は、WT 及び TPP1 欠損イヌの平均を算出した。＋＝BMN 190 を検出; - = BMN 190 が検出されず

被験物質：BMN 190
試験番号：BMN190-12-009
CTD における記載箇所：4.2.1.1-5

表 2.6.5.5.4: BMN 190 をダックスフンド CLN2 モデルへ 2 週間に 1 度 44 週間脳室内（ICV）持続投与

反復投与		
動物種	イヌ（ダックスフンド）	
性（雄／雌）／動物数	1 雄／2 雌（48 mg）	
Vehicle／組成	人工脳脊髄液（216.5 mmol/L NaCl、0.80 mmol/L $MgSO_4$、3.01 mmol/L KCl、1.40 mmol/L $CaCl_2$、0.80 mmol/L Na_2HPO_4、0.20 mmol/L NaH_2PO_4、pH 7.3）	
投与方法	ICV 持続投与 （4 時間）	
投与量（mg/kg）	48	
試料採取時間	最終投与後 2 週間	
組織／器官	表層	深部
小脳	+	+
大脳皮質（後頭脳回）	+	+
組織／器官内容物	表層	深部
大脳皮質［十字傍回（pericruciate gyri）］	+	+
視床下部	+	+
髄質	-	+
中脳	-	+
脳橋	+	+
線条体	-	+
視床	+	+

表層（表面から 0～3 mm）；深部（表面から>3 mm）； + = BMN 190 を検出; - = BMN 190 が検出されず

被験物質：BMN 190
試験番号：0190-09-071[a]
CTD における記載箇所：4.2.3.1-1

表 2.6.5.5.5: カニクイザルに BMN 190 を単回脳室内（ICV）投与

単回投与								
動物種	サル							
性（雄／雌）／動物数[b]	3 雌（0 mg） 3 雌（5 mg） 3 雌（14 mg） 3 雌（20 mg） 2 雌（0 mg） 3 雌（14 mg） 3 雌（14 mg）							
Vehicle／組成	人工脳脊髄液（216.5 mmol/L NaCl、0.8 mmol/L $MgSO_4$、3.01 mmol/L KCl、1.4 mmol/L $CaCl_2$、0.8 mmol/L Na_2HPO_4、0.2 mmol/L NaH_2PO_4、pH 7.3）							
投与方法	ICV 持続投与（4 時間）							
投与量（mg/kg）	0、5、14、20							
試料採取時間	Days 4、8、15							
組織／器官	Vehicle		BMN 190 (14 mg) Day 4		BMN 190 (14 mg) Day 8		BMN 190 (14 mg) Day 15	
	表層	深部	表層	深部	表層	深部	表層	深部
小脳	-	-	+	+	+	+	+	-
大脳皮質	-	-	+	+	+	-	+	-
髄質	-	-	+	+	-	-	-	-
中脳	-	-	-	-	-	-	-	-
後頭皮質	-	-	+	+	+	-	+	-
線条体	-	-	+	+	+	+	+	-
視床	-	-	+	-	-	-	-	-
頸髄	-	-	+	N/A	+	N/A	-	N/A
胸髄	-	-	+	N/A	+	N/A	+	N/A
腰髄	-	-	+	N/A	+	N/A	-	N/A

表層（表面から 0～3 mm）；深部（表面から>3 mm）；N/A=適用せず。脊髄では、表層深部を特定せず全体を測定した。+ = BMN 190 を検出; - = BMN 190 が検出されず

[a] 動物試験はアメリカ合衆国 FDA の GLP 規制（21 CFR Part 58）及び厚生労働省 GLP 基準条例 21; OECD（Principles of GLP, ENV/MC/CHEM(98)17）に従って実施した。

[b] 0 mg 及び 14 mg 投与群のみ分布試験を行った。1 群及び 3 群（0 mg 及び 14 mg 投与群）で、Day15 において、1 群 3 匹の雌を使用した。5 群（0 mg 投与群）で、2 匹の内 1 匹を Day4 で、残りの 1 匹を Day8 で使用した。6 群及び 7 群で、Day4 及び Day8 においてそれぞれ各群 3 匹を使用した。

被験物質：BMN 190
試験番号：BMN190-11-046
CTD における記載箇所：4.2.3.1-2

表 2.6.5.5.6: カニクイザルに BMN 190 を単回腰部髄腔内（IT-L）持続投与後の PK 及び分布試験

単回投与		
動物種	サル	
性（雄／雌）／動物数 [b]	1 雄／2 雌（14 mg）	
Vehicle／組成	人工脳脊髄液（216.5 mmol/L NaCl、0.80 mmol/L $MgSO_4$、3.01 mmol/L KCl、1.40 mmol/L $CaCl_2$、0.80 mmol/L Na_2HPO_4、0.20 mmol/L NaH_2PO_4、pH 7.3）	
投与方法	IT-L 持続投与（4 時間）	
投与量（mg/kg）	14	
試料採取時間	72 時間	
組織／器官	BMN 190 (14 mg)	
	表層	深部
小脳	+	+
大脳皮質	+	+
髄質	+	+
中脳	-	-
後頭皮質	+	+
線条体	-	-
視床	-	-
頸髄	+	N/A
胸髄	+	N/A
腰髄	+	N/A

表層（表面から 0～3 mm）；深部（表面から>3 mm）；N/A=適用せず。脊髄では、表層深部を特定せず全体を測定した。 + = BMN 190 を検出; - = BMN 190 が検出されず

2.6.5.6 薬物動態試験：タンパク結合

タンパク結合の試験は、実施しなかった。

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳中動物における試験

妊娠又は授乳中動物における試験は、実施しなかった。

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

その他の分布試験は、実施しなかった。

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：In Vivo

In vivo 代謝試験は実施しなかった。

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：In Vitro

In vitro 代謝試験は実施しなかった。

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

推定代謝経路の試験は実施しなかった。

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

薬物代謝酵素の誘導／阻害試験は実施しなかった。

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

排泄試験は実施しなかった。

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

胆汁中排泄試験は実施しなかった。

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

薬物相互作用試験は実施しなかった。

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

その他の試験は実施しなかった。