# 目次

2.6.4.1 まとめ ..... 4
2.6.4.2 分析法 ..... 6
2.6.4.2.1 グルカルピダーゼ（遺伝子組換え） ..... 7
2.6.4.2.1.1 ラット血漿中グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）の測定法（試験番号：1845/015） ..... 8
2.6.4.2.1.2 ウサギ血漿中グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）の測定法（試験番号：1845/023） ..... 8
2.6.4.2.1.3 イヌ血漿及び血清中グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）の測定法（試験番号：1845/025） ..... 9
2.6.4.2.2 抗グルカルピダーゼ抗体 ..... 9
2.6.4.2.2.1 イヌ血清中抗グルカルピダーゼ抗体の測定法（試験番号：1845/33） ..... 9
2.6.4.3 吸収 ..... 10
2.6.4.3.1 ラット 3 日間反復投与毒性試験のトキシコキネティクス（試験番号：1845/013） ..... 10
2.6.4.3.2 イヌ 14 日間反復投与毒性試験のトキシコキネティクス（試験番号：PR001-NCL-TX002） ..... 11
2.6.4.4 分布 ..... 12
2.6.4.5 代謝（動物間の比較） ..... 13
2.6.4.6 排泄 ..... 13
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 ..... 13
2.6.4.7.1 チトクロム P450 に対する DAMPA の誘導作用試験（試験番号：PR001-NCL-PK007） ..... 13
2.6.4.7.2 チトクロム P450 に対する DAMPA の阻害作用試験（試験番号：PR001-NCL-PK006） ..... 17
2.6.4.7.3 ウサギにおける薬物動態学的薬物相互作用試験（試験番号：PR001-NCL-PK004） ..... 19
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 ..... 24
2.6.4.9 考察及び結論 ..... 24
2.6.4.10 図表 ..... 27
2.6.4.11 参考文献 ..... 27

**略語等一覧**

| 略語 | 英語 | 日本語 |
|---|---|---|
| 5-MeTHF | 5-Methyltetrahydrofolic acid | 5-メチルテトラヒドロ葉酸 |
| $AUC_{X-Y}$ | Area under the concentration-time curve from X to Y | 投与 X 時間から Y 時間までの血中濃度－時間曲線下面積 |
| BLQ | Below the limit of quantification | 定量下限値未満 |
| CDER | Center for Drug Evaluation and Research | 医薬品評価研究センター |
| $C_{max}$ | Maximum concentration | 最高血中濃度 |
| CPG2 | Carboxypeptidase G2 | カルボキシペプチダーゼ G2 |
| CYP | Cytochrome P450 | チトクロム P450 |
| $D_5W$ | 5% dextrose in water | 5%デキストロース液 |
| DAMPA | 4-deoxy-4-amino-$N^{10}$-methylpteroic acid | 4-デオキシ-4-アミノ-$N^{10}$-メチルプテロイン酸 |
| DiQC | Dilution Integrity Quality Control | 希釈の妥当性 QC 試料 |
| ELISA | Enzyme-linked immunosorbent assay | 酵素結合免疫吸着法 |
| 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 |
| HD-MTX | High Dose Methotrexate | 大量メトトレキサート |
| HiQC | High Quality Control | 高濃度 QC 試料 |
| HPLC | High-performance liquid chromatography | 高速液体クロマトグラフィー |
| ICH | International Conference for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use | 医薬品規制調和国際会議 |
| IgG | Immunoglobulin G | 免疫グロブリン G |
| IgM | Immunoglobulin M | 免疫グロブリン M |
| LLOQ | Lower Limit Of Quantification | 定量下限値 |
| LoQC | Low Quality Control | 低濃度 QC 試料 |
| LV | Leucovorin | ロイコボリン |
| MBI | Mechanism-based inhibition | 時間依存的阻害 |
| MeCN | Acetonitrile | アセトニトリル |
| MeQC | Medium Quality Control | 中濃度 QC 試料 |
| MTX | Methotrexate | メトトレキサート |
| $NaHCO_3$ | Sodium hydrogen carbonate | 炭酸水素ナトリウム |
| NaOH | Sodium Hydroxide | 水酸化ナトリウム |
| OECD | Organization for Economic Cooperation and Development | 経済協力開発機構 |

| 略語 | 英語 | 日本語 |
|---|---|---|
| TK | Toxicokinetics | トキシコキネティクス |
| $t_{1/2}$ | Time to half-life | 半減期 |
| $t_{max}$ | Time of maximum observed concentration | 最高血中濃度到達時間 |

### 2.6.4.1 まとめ

グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）（以下，「被験物質」）は *Pseudomonas* sp. RS16 株由来の酵素であるカルボキシペプチダーゼ G2（CPG2）を大腸菌 RV308 株で産生させたものである．

吸収は，Crl: WI（GLX／BRL／Han）IGSB ラット（以下，「ラット」）3 日間反復投与毒性試験（試験番号：1845/013）及びビーグル犬（以下，「イヌ」）14 日間反復投与毒性試験（試験番号：PR001-NCL-TX002）のトキシコキネティクス（TK）試験で検討した．なお，これらの TK 試験は United Kingdom Statutory Instrument 1999 No.3106 及び経済協力開発機構（OECD）の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準じて実施した．

分布は，被験物質が高分子量のタンパク質であり，細胞内へ移行せず血中で分解されると考えられることから検討していない．

代謝は，被験物質がタンパク質であることから，他のタンパク質同様，代謝は小さなペプチド及び各アミノ酸への分解であると推定されるため，検討していない．

排泄は，被験物質がタンパク質であることから，他のタンパク質同様，消失経路は異化作用を介した低分子ペプチド及び個々のアミノ酸への代謝後に排泄される経路であると推定されるため，検討していない．

薬物動態学的薬物相互作用については，被験物質によるメトトレキサート（MTX）代謝物である 4-deoxy-4-amino-$N^{10}$-methylpteroic acid（DAMPA）について，チトクロム P450（CYP）に対する DAMPA の誘導作用試験（試験番号：PR001-NCL-PK007）及び CYP に対する DAMPA の阻害作用試験（試験番号：PR001-NCL-PK006）を実施した．これらの試験は United Kingdom Statutory Instrument 1999 No.3106 及び OECD の GLP に準じて実施した．さらに，MTX 投与又は非投与の条件下で，被験物質のロイコボリン（LV）及び 5-メチルテトラヒドロ葉酸（5-MeTHF）の動態に対する影響について評価するため，ウサギにおける薬物動態学的薬物相互作用試験（試験番号：PR001-NCL-PK004）を実施した．また，本試験は United Kingdom Statutory Instrument 1999 No.3106，DIRECTIVE 2004/10/EC 及び OECD の GLP に準じて実施した．なお，LV は大量メトトレキサート（HD-MTX）療法の際に併用される薬剤で，投与された LV は細胞の葉酸プールに取り込まれ，血漿中では 5-MeTHF として存在する．

その他の薬物動態試験は実施していない．

吸収に関して，被験物質をラット及びイヌに臨床と同じ投与経路である静脈内投与した時の血漿中濃度の結果を下記に記載した．

ラット 3 日間反復投与毒性試験において，雌雄ラットに被験物質 50 U/kg/日及び 5,000 U/kg/日を静脈内投与した時，投与 1 日目の投与後 10 分の平均血漿中濃度（平均値±標準偏差）は，それぞれ 0.5±0.052 及び 139.5±17.7 U/mL であった．この 2 つのデータを比較すると用量が 100 倍になると平均血漿中濃度は約 279 倍になり，投与 10 分後の血漿検体採取時点では被験物質の平均血漿中濃度は用量比を上回る増加を示した．

イヌ 14 日間反復投与毒性試験において，雌雄イヌに被験物質 50，500 及び 2,500 U/kg/日を静脈内投与した時の投与 1 日目及び投与 13 日目の血漿中濃度の結果を測定した．投与 1

日目には全投与群で定量可能な全身曝露が認められた．全身曝露量は用量の増加に伴って増加し，性差は認められなかった．最高血中濃度（$C_{max}$）は，50～2,500 U/kg/日の範囲で用量依存的に増加した．最高血中濃度到達時間（$t_{max}$）は，全投与群の大半で投与後 0.0830 時間（5 分，初回採血時点）であった．一方，投与 0 時間から 48 時間までの血中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}48h}$）は 50 U/kg/日投与群と 500 U/kg/日投与群を比較した際には用量比を上回る曝露量の増加が認められたが，500 U/kg/日投与群と 2,500 U/kg/日投与群を比較した際には用量比を上回るまでには至らなかった．各投与群における投与後の被験物質の血中動態は，基本的に一相性の消失が認められた．半減期（$t_{1/2}$）は 500 U/kg/日で雌雄それぞれ 4.33 及び 4.56 時間，2,500 U/kg/日で 5.34 及び 6.01 時間であった．50，500 及び 2,500 U/kg/日投与後のそれぞれ 8，24 及び 48 時間までに，全動物が定量下限値未満（BLQ）に減少した．なお，投与 13 日目で得られた TK 成績は少数であったため，評価することはできなかった．

薬物動態学的薬物相互作用に関して，CYP に対する DAMPA の誘導作用試験では，異なる 3 例のドナー由来のヒト肝細胞を用いて CYP1A2, CYP2C9 及び CYP3A に対する DAMPA（0.01～1 mg/mL）の誘導作用を評価した．その結果，CYP3A 活性はいずれの DAMPA 濃度でも増加しなかった．一方，CYP1A2 及び CYP2C9 活性は DAMPA 0.1～1 mg/mL で増加が認められた場合があった．しかし，DAMPA 0.1 mg/mL では 3 例中 1 例のみしか，有意な増加は認められなかった．さらに，ヒトで認められている血漿中の DAMPA 濃度（$C_{max}$，平均値±標準偏差）は，患者を対象とした国内第 II 相試験（CPG2-PII）で 0.02±0.05 mg/mL であり，国外の PR001-CLN-006 試験で 0.04±0.07 mg/mL（分子量を 343.56 として算出）であった．これより，臨床時に，これらの CYP を誘導する可能性は低いと考えられた．

CYP に対する DAMPA の阻害作用試験では，ヒト肝ミクロソームを用いて CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 及び CYP3A4 に対する DAMPA の直接阻害（DAMPA 0.01～1 mg/mL）及び時間依存的阻害（MBI）（DAMPA 1 mg/mL）を評価した．その結果，直接阻害に関しては，DAMPA 0.01～1 mg/mL では十分な（50%以上）酵素阻害は認められなかった．このことから，ヒトで認められている DAMPA 濃度（国内第 II 相試験：0.02±0.05 mg/mL，PR001-CLN-006 試験：0.04±0.07 mg/mL）を踏まえると，臨床時に DAMPA は CYP1A2，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，CYP2E1 及び CYP3A4 に対して，顕著な直接阻害をもたらさないと考えられた．なお，MBI に関しても，いずれの CYP において DAMPA 1 mg/mL での影響は認められず，臨床時に，これらの CYP では DAMPA による MBI は生じないと考えられた．

ウサギにおける薬物動態学的薬物相互作用試験は, 雌性ウサギに被験物質 50 U/kg, MTX, 生理食塩液，LV（計 4 回）を静脈内投与した．その結果，MTX 非存在下の 3 群（被験物質＋LV）と 4 群（生理食塩液＋LV）の統計学的な比較で，2 回目及び 3 回目 LV 投与後において有意ではないが被験物質による LV の $C_{max}$ 及び $AUC_{0\text{-}t}$ の増加傾向が認められた. 一方, MTX 存在下の 5 群（MTX＋被験物質＋LV）と 6 群（MTX＋生理食塩液＋LV）の統計学的な比較で，2 回目 LV 投与以降において被験物質の存在により(6S)-LV（活性異性体）及び

(6R)-LV（不活性異性体）の $AUC_{0-t}$ が有意に（p≦0.046）増加した．さらに，MTX 非存在下の 3 群（被験物質＋LV）と MTX 存在下の 5 群（MTX＋被験物質＋LV）の統計学的な比較で，(6R)-LV の $AUC_{0-t}$ は毎回の LV 投与後に 5 群で有意に（p≦0.009）高値であり，(6S)-LV の $AUC_{0-t}$ は 1 回目及び 4 回目 LV 投与後にのみ有意に（p≦0.038）高値であった．以上から，MTX の存在下において，被験物質が LV の両異性体の曝露量を増加させる可能性が考えられた．LV の活性代謝物である(6S)-5-MeTHF は，大部分の動物で BLQ であった．しかし，不活性代謝物の(6R)-5-MeTHF は，被験物質を投与した 3 群（被験物質＋LV）及び 5 群（MTX＋被験物質＋LV）のみ定量可能であった．

### 2.6.4.2 分析法

被験物質の開発に際して，被験物質，抗グルカルピダーゼ抗体，MTX，DAMPA，LV 及び 5-MeTHF を分析するための測定法が開発された．各分析対象物の測定法の報告書及びその測定法を用いた試験を表 2.6.4.2-1 に示した．2.6.4.2.1 項で被験物質の測定法，2.6.4.2.2 項で抗グルカルピダーゼ抗体の測定法について要約した．MTX，DAMPA，LV 及び 5-MeTHF の分析法の詳細については，表 2.6.4.2-1 に示したバリデーション報告書を参照．

**表 2.6.4.2-1 各分析対象物の測定法の報告書及びその分析法を用いた試験**

| 分析対象物 | 分析法 | 種 | 測定法の報告書（添付資料番号） | 関連する試験番号（添付資料番号） |
|---|---|---|---|---|
| グルカルピダーゼ（遺伝子組み換え） | 酵素－基質分光法 | ラット | 1845/015（4.2.2.1-7） | 1845/013（4.2.2.2-1） |
| | 酵素－基質分光法 | ウサギ | 1845/023（4.2.2.1-8） | PR001-NCL-PK004（4.2.2.6-3） |
| | 酵素－基質分光法 | イヌ | 1845/025（4.2.2.1-9） | PR001-NCL-TX002（4.2.2.2-2） |
| 抗グルカルピダーゼ抗体 | ELISA | イヌ | 1845/33（4.2.2.1-10） | PR001-NCL-TX001（4.2.3.2-2）<br>PR001-NCL-TX002（4.2.3.2-3） |
| MTX 及び DAMPA | HPLC 蛍光法 | マウス | PTU 025（4.2.2.1-1） | PR001-NCL-IN001（4.2.1.1-2） |
| MTX 及び DAMPA | HPLC 蛍光法 | ウサギ | PTU 021（4.2.2.1-11） | PR001-NCL-PK004（4.2.2.6-3） |
| MTX 及び DAMPA | HPLC-UV 法 | ウサギ（摘出心） | PTU 0057（4.2.2.1-2） | PR001-NCL-SP001（4.2.1.3-1） |
| MTX 及び DAMPA | HPLC 蛍光法 | ヒト | PTU 018（4.2.2.1-4）<br>PTU 030（4.2.2.1-5） | PR001-NCL-PK008（4.2.1.4-1） |
| DAMPA | HPLC 蛍光法 | イヌ | PTU 0048（4.2.2.1-3） | PR001-NCL-PK005（4.2.1.3-2）<br>PR001-NCL-PC001（4.2.1.3-3） |
| LV 及び 5-MeTHF | HPLC-UV 法 | ウサギ | PTU 0047（4.2.2.1-12） | PR001-NCL-PK004（4.2.2.6-3） |
| LV 及び 5-MeTHF | HPLC 蛍光法 | ヒト | PTU 0045（4.2.2.1-6） | PR001-NCL-PK008（4.2.1.4-1） |

ELISA：酵素結合免疫吸着法

HPLC：高速液体クロマトグラフィー

### 2.6.4.2.1 グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）

ラット，ウサギ及びイヌにおける被験物質の血中濃度を酵素－基質分光法を用いて測定した．これらの測定法は，[redacted]（以下，「[redacted]」）が確立し，分析法バリデーションについては，分析法バリデーションに関するテキスト（実施方法）ICH Q2B，United Kingdom Statutory Instrument 1999 No.3106 及び OECD の GLP に準

拠して実施した．

被験物質標準溶液及び定量用に調製する試料はすべて冷蔵又は氷冷保存し，調製当日に使用した．また，凍結保存試料の場合，測定時に室温で融解後，遠心し，その上清を測定に使用した．測定では，キュベット内に被験物質と MTX を入れ波長 320 nm における吸光度で被験物質の基質である MTX の経時的な分解を観察した．吸光度の変化率は被験物質活性と相関し，十分な基質が存在するとき，単位時間当たりの吸光度の増加量は直線となる．また，対照反応液と正確な既知量の被験物質を含む並行反応液の単位時間当たりの吸光度の増加量（Abs/min）を比較することで，未知の試験検体中の酵素活性及び濃度を算出できる．なお，この定量法は反応溶液の pH と温度に影響される．

#### 2.6.4.2.1.1　ラット血漿中グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）の測定法（試験番号：1845/015）

（添付資料：4.2.2.1-7）

ラット血漿中及び緩衝溶液中での被験物質濃度を測定するための分析方法を開発した．

ラット血漿及び緩衝溶液で調製した試料の検量線範囲は 0.3～1.5 μg/mL であり，その相関係数はそれぞれ 0.9851 及び 0.9978 であった．

日内変動は，ラット血漿及び緩衝溶液で調製した低濃度 QC 試料（LoQC）0.6 μg/mL，中濃度 QC 試料（MeQC）0.9 μg/mL，高濃度 QC 試料（HiQC）1.2 μg/mL 及び希釈の妥当性 QC 試料（DiQC）0.8 μg/mL の 4 濃度について評価した．その結果，血漿で調製した試料での真度及び精度は 91.7～99.2%及び 2.0～6.2%であり，緩衝溶液で調製した試料での真度は 81.7～87.6%であった．

日間変動（血漿中のみ実施）は，ラット血漿で調製した LoQC 0.6 μg/mL，MeQC 0.9 μg/mL，HiQC 1.2 μg/mL 及び DiQC 0.8 μg/mL の 4 濃度について評価した．その結果，真度及び精度は，それぞれ 96.7～103.8%，7.3～10.6%であった．

特異性は，ラット 6 例から調製された DiQC を用いて実施し，その時の真度は 97.5%であった．また，凍結融解安定性はラット血漿で調製した MeQC を用いて実施し，3 回の凍結融解まで安定であった．

以上の結果は，全て計画書に定めた判定基準を満たしていた．

#### 2.6.4.2.1.2　ウサギ血漿中グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）の測定法（試験番号：1845/023）

（添付資料：4.2.2.1-8）

ウサギ血漿中での被験物質濃度測定のための分析方法を開発した．ウサギ血漿を用いた検量線の範囲は 0.3～1.5 μg/mL で，その相関係数は 0.9906 以上であった．なお，定量下限値（LLOQ）は 0.3 μg/mL とした．

日内変動及び日間変動は，ウサギ血漿で調製した LoQC 0.6 μg/mL，MeQC 0.9 μg/mL 及び HiQC 1.2 μg/mL の 3 濃度について評価した．その結果，日内変動の真度及び精度は，それぞれ 98.2～104.7%，3.3～7.9%であり，日間変動のそれは，それぞれ 100.0～104.7%，6.6～9.6%であった．

特異性は，ウサギ血漿 6 例から調製された MeQC を用いて実施し，その時の真度及び精度は，それぞれ 104.7%，6.2%であった．なお，ウサギブランク血漿にグルカルピダーゼ活性は認められなかった．凍結融解安定性はウサギ血漿で調製した MeQC を用いて実施し，少なくとも 3 回の凍結融解まで安定であり，−70℃の設定温度保存で少なくとも 1 週間は安定であった．

以上の結果は，全て計画書に定めた判定基準を満たしていた．

#### 2.6.4.2.1.3 イヌ血漿及び血清中グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）の測定法（試験番号：1845/025）

（添付資料：4.2.2.1-9）

イヌ血漿及び血清中での被験物質濃度測定のための分析方法を開発した．イヌ血漿及び血清を用いた検量線の範囲は 0.3～1.5 μg/mL で，相関係数は血漿で 0.9851 以上，血清で 0.9905 以上であった．なお，LLOQ は 0.3 μg/mL とした．

日内変動及び日間変動は，イヌ血漿及びイヌ血清で調製した LoQC 0.6 μg/mL，MeQC 0.9 μg/mL 及び HiQC 1.2 μg/mL の 3 濃度について評価した．

日内変動は，血漿における真度及び精度は，それぞれ 100.0～103.5%，4.9 及び 5.5%であり，血清では，それぞれ 101.8～107.0%，3.3～7.2%であった．

日間変動は，血漿における真度及び精度は，それぞれ 93.1～98.2%，5.7～7.8%であり，血清では，それぞれ 96.6～102.3%，5.0～10.5%であった．

特異性は，イヌ血漿及びイヌ血清で調製した MeQC を用いて実施した．その結果，血漿における真度及び精度は，それぞれ 111.6%，8.8%であり，血清では，それぞれ 100.0%，10.0%であった．なお，イヌブランク血漿及び血清にグルカルピダーゼ活性は認められなかった．

凍結融解安定性はイヌ血漿及び血清で調製した MeQC を用いて実施し，少なくとも 3 回の凍結融解まで安定であり，血漿試料については−70℃の設定温度保存で少なくとも 1 週間は安定であった．

以上の結果は，全て計画書に定めた判定基準を満たしていた．

### 2.6.4.2.2 抗グルカルピダーゼ抗体

#### 2.6.4.2.2.1 イヌ血清中抗グルカルピダーゼ抗体の測定法（試験番号：1845/33）

（添付資料：4.2.2.1-10）

酵素結合免疫吸着法（ELISA）によるイヌ血清中の抗グルカルピダーゼ抗体の分析方法を [redacted] にて開発した．

本測定法では，試料中に存在する抗グルカルピダーゼ抗体をイムノプレートに結合させた被験物質で捕捉させ，結合した抗グルカルピダーゼ抗体をビオチン標識したプロテイン A 及び HRP 標識ストレプトアビジンで検出した．TMB を比色反応の基質として用い，吸光度 450 nm で測定した．カットオフ吸光度は「イヌブランク血清の吸光度の平均値＋標準偏差

の 3 倍」とした．サンプルの吸光度と比較して，カットオフ吸光度を超える試料を陽性，それ以下を陰性と判定した．なお，本測定方法ではイヌの抗グルカルピダーゼ抗体が入手できなかったため，陽性対照にはウサギの抗グルカルピダーゼ抗体を使用した．また，プロテイン A は免疫グロブリン G （IgG）と免疫グロブリン M（IgM）を両方検出可能であった．

日内変動は，イヌ血清及びウサギの抗グルカルピダーゼ抗体で調製した低濃度陽性対照（1/500 希釈），高濃度陽性対照（1/100 希釈）及び陰性対照の 3 濃度について評価した．結果は，低濃度陽性対照で 10.7%，高濃度陽性対照で 6.6%及び陰性対照で 17.0%だった．

ドリフト分析は，低濃度陽性対照及び高濃度陽性対照について評価した．結果は，低濃度陽性対照で－25.1%，高濃度陽性対照で－11.5%だった．

選択性は，低濃度陽性対照及びイヌブランク血清を用いて実施した．精度はイヌブランク血清で 46.4%，低濃度陽性対照で 9.1%であった．

以上の結果は，全て計画書に定めた判定基準を満たしていた．

### 2.6.4.3 吸収

#### 2.6.4.3.1 ラット 3 日間反復投与毒性試験のトキシコキネティクス（試験番号：1845/013）

（添付資料：4.2.2.2-1）

本試験については，被験物質投与 1 日目の投与後 10 分における TK 分析を実施した．本試験は，約 53 日齢の雌雄ラットに 50 U/kg/日及び 5,000 U/kg/日の被験物質を 3 日間連続して静脈内投与した後に，10 日間の回復期間を設けた．なお，試験の詳細は 2.6.6.3.1 に記述した．投与 1 日目の投与後 10 分に採取した血漿検体について行った TK 分析の結果を，表 2.6.4.3.1-1 に示した．対照群における被験物質の濃度は検出限界未満であった．50 U/kg/日の平均血漿中濃度（平均値±標準偏差）は 0.5±0.052 U/mL であり，5,000 U/kg/日では 139.5±17.7 U/mL であった．この 2 つのデータを比較すると用量が 100 倍になると平均血漿中濃度は約 279 倍になり，投与 10 分後の被験物質の平均血漿中濃度は用量比を上回る増加を示した．

**表 2.6.4.3.1-1 TK 成績（被験物質投与後 10 分の平均血漿中濃度）**

| 用量（U/kg/日） | 動物数（雌雄各） | 平均血漿中濃度±標準偏差（雌雄）（U/mL） |
|---|---|---|
| 0 | 5 | LOD 未満 |
| 50 | 5 | 0.5±0.052 |
| 5,000 | 5 | 139.5±17.7 |

LOD 未満：検出限界未満

引用元：4.2.2.2-1（1845/013）の INTERPRETATION の Toxicokinetics 及び Appendix 2 の Table 2 を改変

### 2.6.4.3.2 イヌ 14 日間反復投与毒性試験のトキシコキネティクス（試験番号：PR001-NCL-TX002）

（添付資料：4.2.2.2-2）

本試験については，被験物質投与 1 日目及び投与 13 日目における TK 分析を実施した．本試験は，少なくとも 4 ヵ月齢の雌雄イヌに 50，500，2,500 U/kg/日を間歇的「投与 1（投与初日），3，5，7，9，11（雌の 500 及び 2,500 U/kg/日を除く），13 日目（雄の 500 及び 2,500 U/kg/日を除く）」に静脈内投与した．なお，試験の詳細は 2.6.6.3.3 に記述した．投与 1 日目及び投与 13 日目の被験物質投与前，投与後 5，15，30，45 分，1，2，4，8，12，24 及び 48 時間の血漿検体について行った TK 分析の結果を表 2.6.4.3.2-1 に示した．ただし，500 及び 2,500 U/kg/日投与群の雄は被験物質を投与したのが投与 11 日目だったため，投与 13 日目の測定は行わなかった．投与 1 日目には全投与群で定量可能な全身曝露が認められた．全身曝露量は用量の増加に伴って増加し，性差は認められなかった．$C_{max}$ は，50～2,500 U/kg/日の範囲で用量依存的に増加した．$t_{max}$ は，全投与群の大半で投与後 0.0830 時間（5 分，初回採血時点）であった．一方，$AUC_{0\text{-}48h}$ は，50 U/kg/日投与群と 500 U/kg/日投与群を比較した際には用量比を上回る曝露量の増加が認められたが，500 U/kg/日投与群と 2,500 U/kg/日投与群を比較した際には用量比を上回るまでには至らなかった．各投与群における投与後の被験物質の血中動態は，基本的に一相性の消失が認められた．$t_{1/2}$ は，500 U/kg/日で雌雄それぞれ 4.33 及び 4.56 時間，2,500 U/kg/日で 5.34 及び 6.01 時間であった．50，500 及び 2,500 U/kg/日投与後のそれぞれ 8，24 及び 48 時間までに全動物が BLQ（＜0.131 U/mL）に減少した．なお，投与 13 日目で得られた TK 成績は少数であったため評価することはできなかった．

**表 2.6.4.3.2-1　TK 成績（平均値±標準偏差，雌雄各 n＝3）**

| 投与日 | 用量（U/kg/日） | 性別 | $AUC_{0\text{-}48h}$（U･h/mL） | $C_{max}$（U/mL） | $t_{max}$（h） | $t_{1/2}$（h） |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 50 | 雄 | 1.73 ±0.357 | 0.910 ±0.0715 | 0.139 ±0.0964 | NC |
| | | 雌 | 1.09 ±0.192 | 0.855 ±0.0760 | 0.0830 ±0.00 | NC |
| | 500 | 雄 | 39.5 ±3.23 | 8.68 ±1.56 | 0.0830 ±0.00 | 4.56 ±1.00 |
| | | 雌 | 41.5 ±6.97 | 10.2 ±1.28 | 0.0830 ±0.00 | 4.33 ±0.260 |
| | 2,500 | 雄 | 200 ±41.2 | 42.3 ±4.14 | 0.139 ±0.0964 | 6.01 ±0.126 |
| | | 雌 | 224 ±43.3 | 43.2 ±4.04 | 0.0830 ±0.00 | 5.34 ±1.64 |
| 13 | 50 | 雄 | 0.654*1 | 0.190 ±0.329*2 | 0.0830*1 | NC |
| | | 雌 | 1.47*3 | 0.629 ±0.190 | 0.0830 ±0.00 | NC |
| | 500 | 雄 | NS | NS | NS | NS |
| | | 雌 | NC | 5.30 ±4.91 | 0.0830 ±0.00 | NC |
| | 2,500 | 雄 | NS | NS | NS | NS |
| | | 雌 | 310*3 | 42.2 ±5.27 | 0.0830 ±0.00 | 5.15*3 |

NS：検体を採取していない，NC：算出せず

＊1：1 例のデータ

＊2：3 例のデータを用いて算出したが，3 例の値はそれぞれ 0.569，BLQ 及び BLQ であり，BLQ を「0」とみなして $C_{max}$ の平均値を算出した．

＊3：2 例のデータ

引用元：4.2.2.2-2（PR001-NCL-TX002）の RESULTS の Table 2 及び APPENDIX 15 の Table 1.1～1.6 から一部改変

### 2.6.4.4　分布

分布試験は実施していない．被験物質は高分子量のタンパク質であり，細胞内へ移行せず

血中で分解されると考えられるため，当該試験を実施する必要はないと考えられた．

#### 2.6.4.5　代謝（動物間の比較）

代謝試験は実施していない．被験物質はタンパク質である．したがって，他のタンパク質同様，代謝は小さなペプチド及び各アミノ酸への分解であると推定されるため，当該試験を実施する必要はないと考えられた．

#### 2.6.4.6　排泄

排泄試験は実施していない．被験物質はタンパク質である．したがって，他のタンパク質同様，消失経路は異化作用を介した低分子ペプチド及び個々のアミノ酸への代謝後に排泄される経路であると推定されるため，当該試験を実施する必要はないと考えられた．

#### 2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用

##### 2.6.4.7.1　チトクロム P450 に対する DAMPA の誘導作用試験（試験番号：PR001-NCL-PK007）

（添付資料：4.2.2.6-1）

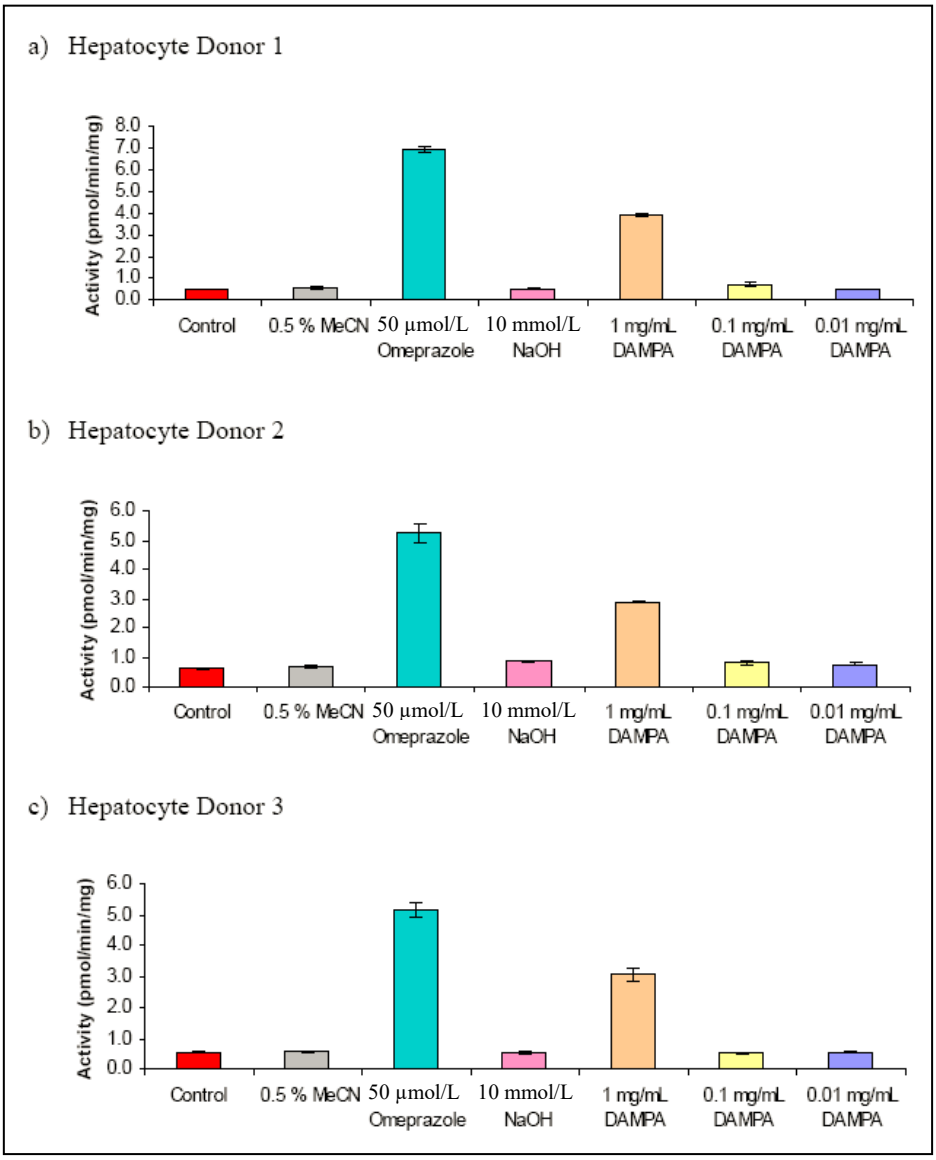
本試験の目的は，*in vitro* 試験において，CYP1A2，CYP2C9 及び CYP3A 活性に対する DAMPA の誘導作用を評価することであった．

本試験には，異なる 3 例のドナー由来のヒト初代培養肝細胞を使用した．ヒト肝細胞を DAMPA 0.01，0.1 及び 1 mg/mL で 72 時間曝露させた後，ヒト肝細胞のタンパク質含量の測定及び各 CYP の基質を添加してインキュベートを行い代謝物の測定をすることにより CYP 活性を評価した．本試験に使用した基質としては，CYP1A2 に対してはエトキシレゾルフィンを，CYP2C9 に対してはトルブタミドを，CYP3A に対してはテストステロンを使用した．対照群として，陰性対照（細胞培養に使用している培地のみ），陽性対照（CYP1A2 の誘導剤であるオメプラゾールと CYP2C9 及び CYP3A の誘導剤であるリファンピシン）及び溶媒対照「DAMPA の溶媒である水酸化ナトリウム（NaOH）及び誘導剤の溶媒であるアセトニトリル（MeCN）」を加えた．

ヒト肝細胞のタンパク質含量は，ドナー1 は 167～298 µg/mL 及び 0.556～0.994 mg/$10^6$ cell，ドナー2 は 116～241 µg/mL 及び 0.387～0.802 mg/$10^6$ cell 並びにドナー3 は 147～250 µg/mL 及び 0.491～0.831 mg/$10^6$ cell であった．

CYP1A2 活性に関する結果を図 2.6.4.7.1-1 に示した．DAMPA 1 mg/mL に曝露された全例で，CYP1A2 エトキシレゾルフィン *O*-脱エチル化活性が溶媒対照（NaOH）に対して有意に（$p<0.001$）増加した．DAMPA 0.1 mg/mL に曝露されたドナー1 でも有意な（$p<0.01$）増加が認められたが，ドナー2 及びドナー3 の増加は認められなかった．なお溶媒対照（MeCN）と比較して，陽性対照であるオメプラゾールの全例で，CYP1A2 エトキシレゾルフィン *O*-脱エチル化活性は有意に（$p<0.001$）増加し，7.61～12.8 倍となった．

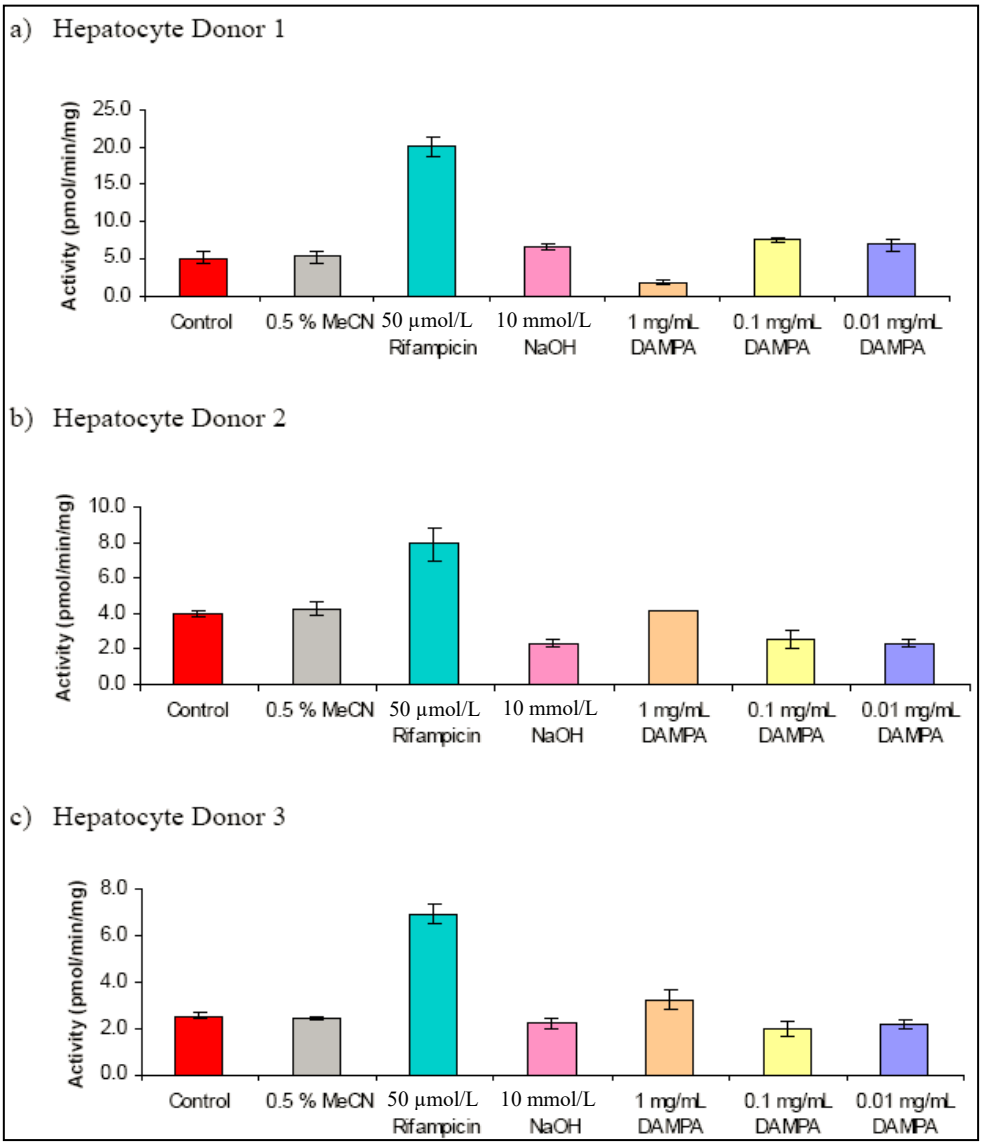
**図 2.6.4.7.1-1　エトキシレゾルフィン 5 µmol/L 存在下での CYP1A2 エトキシレゾルフィン *O*-脱エチル化活性に対する DAMPA の誘導作用（平均値±標準偏差，n＝3）**




引用元：4.2.2.6-1（PR001-NCL-PK007）の RESULTS AND DISCUSSION の Graph 1

CYP2C9 活性に関する結果を図 2.6.4.7.1-2 に示した．DAMPA 1 mg/mL の濃度で曝露されたドナー2 及びドナー3 では，CYP2C9 トルブタミド 4-ヒドロキシラーゼ活性は溶媒対照（NaOH）に対して有意に（$p<0.001$ 及び $p<0.01$）増加した．なお溶媒対照（MeCN）と比較して，陽性対照であるリファンピシンの全例で，CYP2C9 トルブタミド 4-ヒドロキシラーゼ活性は有意に増加し，1.87（$p<0.01$）～3.84 倍（$p<0.001$）となった．

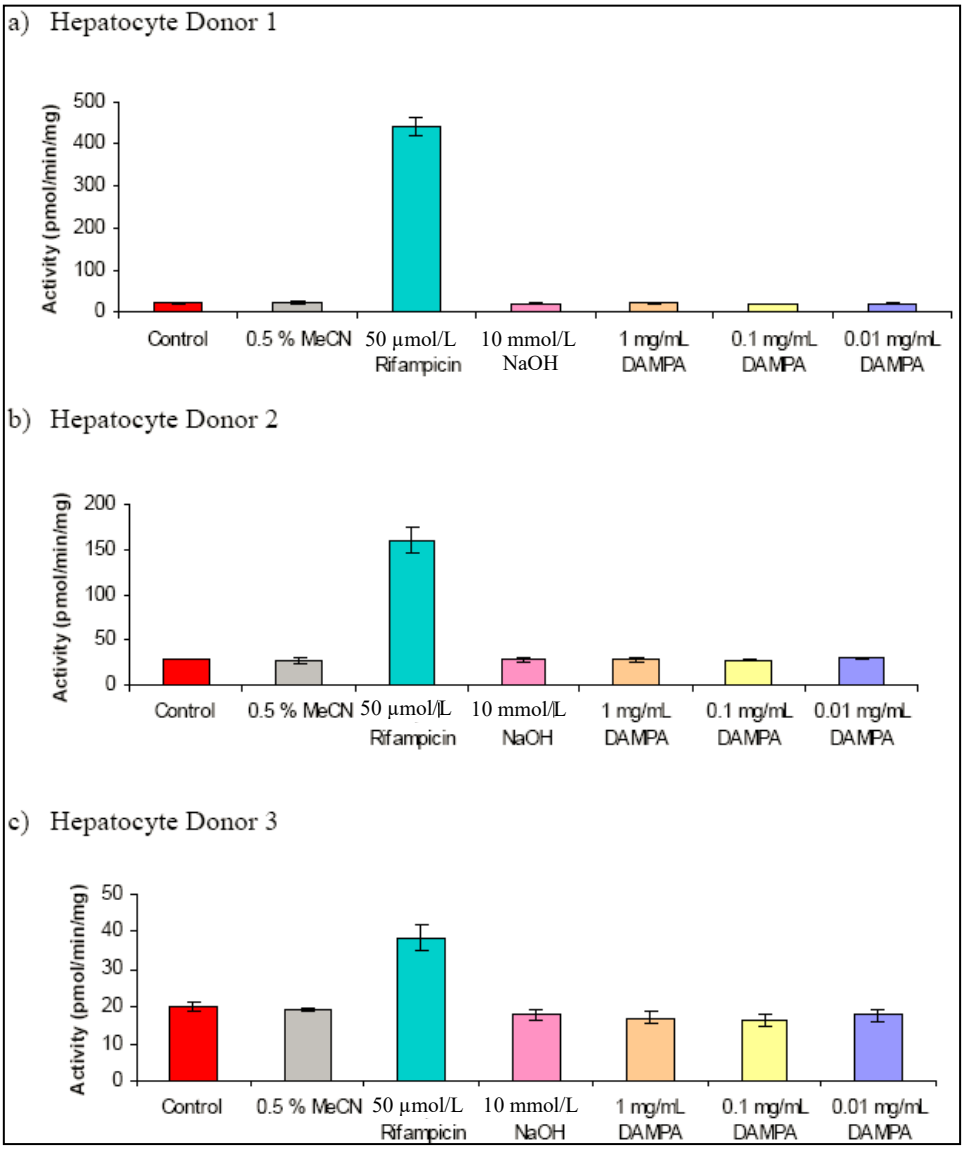
**図 2.6.4.7.1-2　トルブタミド 250 µmol/L 存在下での CYP2C9 トルブタミド 4-ヒドロキシラーゼ活性に対する DAMPA の誘導作用（平均値±標準偏差，n＝3）**




引用元：4.2.2.6-1（PR001-NCL-PK007）の RESULTS AND DISCUSSION の Graph 2

CYP3A 活性に関する結果を図 2.6.4.7.1-3 に示した．DAMPA 0.01，0.1 及び 1 mg/mL の濃度で曝露されたとき，CYP3A テストステロン 6β-ヒドロキシラーゼ活性は増加しなかった．なお溶媒対照（MeCN）と比較して，陽性対照であるリファンピシンの全例で，CYP3A テストステロン 6β-ヒドロキシラーゼ活性は有意に増加し，2.02～18.0 倍（$p < 0.001$）になった．

**図 2.6.4.7.1-3　テストステロン 200 µmol/L 存在下での CYP3A テストステロン 6β-ヒドロキシラーゼ活性に対する DAMPA の誘導作用（平均値±標準偏差，n＝3）＊**




＊：ドナー1 の 0.5%　MeCN のみ n＝2.

引用元：4.2.2.6-1（PR001-NCL-PK007）の RESULTS AND DISCUSSION の Graph 3

本試験の結論として，*in vitro* において CYP3A 活性は，いずれの DAMPA 濃度でも増加しなかった．一方，CYP1A2 及び CYP2C9 活性は，DAMPA 0.1～1 mg/mL で増加が認められた場合があった．しかし，DAMPA 0.1 mg/mL では 3 例中 1 例のみしか，有意な増加は認められなかった．さらに，ヒトで認められている血漿中の DAMPA 濃度（$C_{max}$，平均値±標準偏差）は，患者を対象とした国内第 II 相試験（CPG2-PII）で 0.02±0.05 mg/mL であり，国外の PR001-CLN-006 試験で 0.04±0.07 mg/mL（分子量を 343.56 として算出）であった．これより，臨床において，これらの CYP を誘導する可能性は低いと考えられた．

### 2.6.4.7.2 チトクロム P450 に対する DAMPA の阻害作用試験（試験番号：PR001-NCL-PK006）

（添付資料：4.2.2.6-2）

本試験の目的は，*in vitro* 試験において，ヒト肝 CYP 活性（CYP1A2，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，CYP2E1 及び CYP3A4）に対する DAMPA の直接阻害及び MBI を評価することであった．

本試験にはヒト肝ミクロソームを使用した．直接阻害は，$IC_{50}$（CYP 活性の阻害率が 50%となる DAMPA 濃度）を求めることにより評価した．DAMPA（0.01，0.02，0.03，0.06，0.1，0.3，0.6 及び 1 mg/mL），各 CYP の基質及びヒト肝ミクロソームをプレインキュベーションした．その後，NADPH 再生系と共にインキュベーションを行い，基質の代謝物を測定することにより CYP 活性を評価した．本試験に使用した基質としては，フェナセチン（CYP1A2），トルブタミド（CYP2C9），S-メフェニトイン（CYP2C19），ブフラロール（CYP2D6），クロルゾキサゾン（CYP2E1）及びミダゾラム・テストステロン（CYP3A4）を使用した．対照群として，陰性対照「脱イオン水（$dH_2O$）」，溶媒対照「DAMPA の溶媒である NaOH（0.01 mol/L）及び各 CYP に対応する阻害剤の溶媒」及び陽性対照（各 CYP に対応する阻害剤）を加えた．なお，阻害剤としては，フラフィリン（CYP1A2），スルファフェナゾール（CYP2C9），トラニルシプロミン（CYP2C19），キニジン（CYP2D6），ジエチルジチオカルバメート（CYP2E1）及びケトコナゾール（CYP3A4）を用いた．なお，測定回数は各 DAMPA 添加群（0.01，0.02，0.03，0.06，0.1，0.3，0.6 及び 1 mg/mL）及び対照群毎に 3 回とした．

MBI は，NADPH 再生系の存在下又は非存在下でプレインキュベーションを行うことにより評価した．ヒト肝ミクロソームと DAMPA 1 mg/mL を NADPH 再生系の存在下・非存在下で最長 20 分間プレインキュベーションした．その後，基質及び NADPH 再生系を添加してインキュベーションし，代謝物を測定することにより CYP 活性を評価した．各 CYP の基質としては，直接阻害の時と同じものを用いた．対照群として，陰性対照（DAMPA 未添加），溶媒対照（NaOH 及び各 CYP に対応する阻害剤の溶媒）及び陽性対照（各 CYP に対応する阻害剤）を含めた．また，陽性対照としては，フラフィリン（CYP1A2），チエニル酸（CYP2C9），チクロピジン（CYP2C19），パロキセチン（CYP2D6），ジエチルジチオカルバメート（CYP2E1）及びトロレアンドマイシン（CYP3A4）を用いた．なお，測定回数は DAMPA 添加群（1 mg/mL）及び対照群毎に 3 回とした．

直接阻害の結果から，CYP1A2，CYP2C9，CYP2E1 及び CYP3A4（基質：テストステロン）に対して DAMPA の溶解液（0.01 mol/L NaOH）の阻害作用が認められた．本試験において，DAMPA は 0.1 mol/L NaOH（最終濃度 0.01 mol/L NaOH）に溶解させた．なお，インキュベーション試料の pH に対する作用を確認するため予備試験を実施していたが，pH に対する影響は認められず 0.1 mol/L NaOH は DAMPA の溶解液として適当であると考えられた．しかし，CYP1A2，CYP2C9，CYP2E1 及び CYP3A4（基質：テストステロン）に対する DAMPA の直接阻害を検討するためにインキュベーションした時，これらの CYP アイソザイムに対

して阻害作用が認められた．具体的な数値としては，陰性対照を 100%とした場合の溶媒対照の相対活性は CYP1A2 で 72.6%，CYP2C9 で 77.5%，CYP2E1 で 54.0%，CYP3A4（基質：テストステロン）で 19.9%となった．以上から，DAMPA の溶解液の阻害作用を考慮するため，各 CYP の DAMPA 添加群の測定値を，DAMPA の溶媒対照の測定値と比較した．なお，CYP2C19 及び CYP2D6 において，陰性対照での活性を 100%とした場合の溶媒対照の相対活性はそれぞれ 107%及び 119%であった．そのため，DAMPA の溶解液（0.01 mol/L NaOH）がこれら 2 つの酵素の活性に対して影響を及ぼさないと考えられた．また，ミダゾラムを基質として用いた場合の CYP3A4 活性については，溶媒対照において試料の調製やインキュベーション中に誤操作があったため，相対活性は求められなかった．

DAMPA 0.01～1 mg/mL 濃度での結果としては，十分な酵素活性阻害（阻害率が 50%以上）を生じなかったことなどから，CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 及び CYP3A4 に関する $IC_{50}$ は求められなかった．具体的な数値としては，溶媒対照（CYP3A4 のミダゾラムのみ陰性対照）を 100%とした場合の DAMPA 1 mg/mL 存在下での CYP1A2，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，CYP2E1 及び CYP3A4（基質：ミダゾラム及びテストステロン）の相対活性は，それぞれ 75.9%，74.1%，86.0%，109%，74.6%，62.4%（基質：ミダゾラム）及び 189%（基質：テストステロン）であった．

テストステロンを基質として用いた CYP3A4 活性において，他の CYP と異なる傾向が認められた．陰性対照を 100%とした場合の溶媒対照の相対活性が 19.9%となり，他の CYP 酵素と比較して，DAMPA の溶解液（0.01 mol/L NaOH）による強い阻害作用が認められた．具体的な数値として，陰性対照及び DAMPA 溶媒対照では，それぞれ 1,059±75.6 及び 211±14.5 pmol/min/mg（平均値±標準偏差）の 6β-ヒドロキシテストステロンが生成された．しかし DAMPA 1 mg/mL 添加群では 399±31.7 pmol/min/mg（平均値±標準偏差）の 6β-ヒドロキシテストステロンが生成され，溶媒対照の値よりも増加していた．また，溶媒対照を 100%とした場合の各 DAMPA 濃度での相対活性は，DAMPA 0.01 mg/mL では 93.5%，DAMPA 1 mg/mL では 189%となった．この相対活性の増加は，DAMPA 濃度の増加に伴い生じている可能性が考えられた．

また，溶媒対照を 100%とした場合の陽性対照の相対活性は，それぞれフラフィリン（CYP1A2）で 28.1%，スルファフェナゾール（CYP2C9）で 9.56%，トラニルシプロミン（CYP2C19）で 27.4%，キニジン（CYP2D6）で 6.25%，ジエチルジチオカルバメート（CYP2E1）で 10.9%，ケトコナゾール（CYP3A4，基質：ミダゾラム）で 11.8%及びケトコナゾール（CYP3A4，基質：テストステロン）で 20.2%であった．

一方 MBI の結果は，いずれの CYP においても，NADPH 再生系の存在下又は非存在下でのプレインキュベーションは DAMPA の阻害作用に影響しなかった．そのため，CYP1A2，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，CYP2E1 及び CYP3A4（基質：ミダゾラム及びテストステロン）において，DAMPA による MBI は生じないと考えられた．

本試験の結論として，直接阻害に関しては，DAMPA 0.01～1 mg/mL 濃度では十分な酵素

活性阻害（50%以上）は認められなかった．また，ヒトで認められている血漿中の DAMPA 濃度（$C_{max}$，平均値±標準偏差）は，患者を対象とした国内第 II 相試験（CPG2-PII）で 0.02±0.05 mg/mL であり，国外の PR001-CLN-006 試験で 0.04±0.07 mg/mL（分子量を 343.56 として算出）であった. そのため, 臨床時に DAMPA は CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 及び CYP3A4 に対して，顕著な直接阻害をもたらさないと考えられた．

MBI に関しては，CYP1A2，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，CYP2E1 及び CYP3A4 において, NADPH 再生系の存在下又は非存在下でのプレインキュベーションは DAMPA（1 mg/mL）の阻害作用に影響しなかった．ヒトで認められている血漿中の DAMPA 濃度を踏まえると臨床時に，これらの CYP では DAMPA による MBI は生じないと考えられた．

#### 2.6.4.7.3 ウサギにおける薬物動態学的薬物相互作用試験（試験番号：PR001-NCL-PK004）

（添付資料：4.2.2.6-3）

本試験の主要目的は，MTX 存在下での LV 及び，その代謝物である 5-MeTHF の薬物動態に対する被験物質の影響を明らかにすることであった．副次的な目的は，MTX の存在が被験物質と LV 及び 5-MeTHF の薬物動態にどのように影響するかを明らかにすることであった．

雌性ウサギを表 2.6.4.7.3-1 にあるように割り付けた．なお本試験のデザインは，当初ウサギを 4 つの投与群に割り付けていた．しかし，1 群と 2 群にはプロトコルに規定した量の LV を投与しなかったことから，代替の 5 群と 6 群に投与した．したがって，1 群と 2 群のデータは報告されていない．用量は臨床予定用量である 50 U/kg に設定した．ウサギの頸静脈又は大腿静脈に検体採取用のカテーテルを留置し, この処置の回復後に MTX, 被験物質, 生理食塩液及び LV（計 4 回）を静脈内投与した．なお，投与容量は投与前の体重から規定した．3 群及び 4 群の投与レジメンは，被験物質を 50 U/kg 又は生理食塩液を耳静脈に投与（投与容量は 0.05 mL/kg）し，投与後の 2，5，26 及び 50 時間に LV 13.5 mg/kg（投与容量は 1.35 mL/kg）を速度 2 mL/分で静脈内投与した．5 群及び 6 群は，MTX 55 mg/kg（投与容量は 2.2 mL/kg）を 1 時間かけて耳静脈に単回投与した．MTX 投与後 5 分に，被験物質を 50 U/kg 又は生理食塩液を耳静脈に投与（投与容量は 0.05 mL/kg）し，投与後の 2，5，26 及び 50 時間に LV 13.5 mg/kg（投与容量は 1.35 mL/kg）を速度 2 mL/分で静脈内投与した．

**表 2.6.4.7.3-1 ウサギにおける薬物動態学的薬物相互作用試験デザイン**

| | 群（各 6 例）*1 | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 3 | 4 | 5 | 6 |
| MTX | | | | |
| 投与時間 | — | — | 1 時間 | 1 時間 |
| 投与容量（mL/kg） | — | — | 2.2 | 2.2 |
| 用量（mg/kg） | — | — | 55 | 55 |
| 被験物質又は生理食塩液 | 被験物質 | 生理食塩液 | 被験物質*2 | 生理食塩液*2 |
| 投与容量（mL/kg） | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| 用量（U/kg） | 50 | — | 50 | — |
| LV*3, 4 | | | | |
| 用量（mg/kg） | | | | |
| 1 回目 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.5 |
| 2 回目 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.5 |
| 3 回目 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.5 |
| 4 回目 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.5 |

＊1：1 群と 2 群にはプロトコルに規定した量の LV を投与しなかったことから，代替の 5 群と 6 群を用意した．

＊2：MTX 投与後 5 分に投与．

＊3：投与速度：2 mL/分，投与容量：1.35 mL/kg．

＊4：LV の投与タイミングは，被験物質又は生理食塩液投与後の 2，5，26 及び 50 時間．

引用元：4.2.2.6-3（PR001-NCL-PK004）の SUMMARY の Table から一部改変

本試験では，被験物質，MTX，DAMPA，LV 及び 5-MeTHF の薬物動態の他に，一般状態の観察及び肉眼的観察（MTX を投与した 5 群及び 6 群のみ）も実施した．なお，肉眼的観察では被験物質を投与した 5 群と被験物質を投与していない 6 群との間で，MTX による病変に違いが生じるのかを検討した．薬物動態解析のための血液検体採取時点を表 2.6.4.7.3-2 に示した．LV 及び 5-MeTHF を測定するために，各群 4 例を各 LV 投与前及び投与後に採取した．被験物質，MTX 及び DAMPA を測定するために，各群 2 例を被験物質又は生理食塩液の投与前と，各 LV 投与前に採取した．また，LV 投与前の検体採取は可能な限り LV 投与直前に行った．なお，被験物質，MTX，DAMPA，LV 及び 5-MeTHF はバリデートされた測定法により測定した．MTX 及び DAMPA 濃度は高速液体クロマトグラフィー（HPLC）蛍光法「バリデーション報告書：PTU 021（添付資料：4.2.2.1-11）」，LV 及び 5-MeTHF 濃度は HPLC-UV 法「バリデーション報告書：PTU 0047（添付資料：4.2.2.1-12）」を用いた．

本試験において，被験物質の濃度測定は [redacted] にて，United Kingdom Statutory Instrument 1999 No.3106，DIRECTIVE 2004/10/EC 及び OECD の GLP に準じて実施した．

**表 2.6.4.7.3-2　血液検体採取時点**

| LV 投与回数 | 採血時点（各 LV 投与後時間） |
|---|---|
| 1 回目（投与後 2 時間*） | 投与前，投与後 5，15，30 分，1 時間 |
| 2 回目（投与後 5 時間*） | 2 回目の投与前，投与後 5，15，30 分，1，3，6，12 時間 |
| 3 回目（投与後 26 時間*） | 3 回目の投与前，投与後 5，15，30 分，1，3，6，12 時間 |
| 4 回目（投与後 50 時間*） | 4 回目の投与前，投与後 5，15，30 分，1，3，6，12，24 時間 |

＊：被験物質又は生理食塩液を投与

引用元：4.2.2.6-3（PR001-NCL-PK004）の SAMPLE COLLECTION の Table から一部改変

一般状態の結果は，3 群（被験物質＋LV），4 群（生理食塩液＋LV）及び 6 群（MTX＋生理食塩液＋LV）では影響が認められなかった．5 群（MTX＋被験物質＋LV）では，1 例で MTX 投与後約 15 分に自発運動の低下が認められ，1 回目 LV 投与後も続いていた．また別の 1 例で，1 回目 LV 投与後約 20 分に自発運動の低下が認められた．しかし，この所見は 2 回目 LV 投与後にはどちらの動物でも認められなかった．さらに，5 群の他の 1 例において，2 回目 LV 投与後約 10 分で呼吸数増加が認められた．その他には，5 群での投与に関連する変化は認められなかった．

LV の異性体である(6S)-LV（活性異性体）及び(6R)-LV（不活性異性体）並びに LV の代謝物である(6S)-5-MeTHF（活性代謝物）及び(6R)-5-MeTHF（不活性代謝物）の薬物動態を表 2.6.4.7.3-3 に示した．

3 群（被験物質＋LV）と 4 群（生理食塩液＋LV）の統計学的な比較から，LV 投与に対する被験物質の影響を検討した．1 回目 LV 投与後の(6S)-LV と(6R)-LV の $C_{max}$ 及び $AUC_{0-t}$ は 2 群間で類似しており，1 回目 LV 投与に対する被験物質の影響は少ないと考えられた．しかし 2 回目及び 3 回目 LV 投与後において，被験物質による(6S)-LV と(6R)-LV の $C_{max}$ 及び $AUC_{0-t}$ の増加傾向が認められた．4 回目 LV 投与後の(6S)-LV と(6R)-LV の $C_{max}$ は，4 群に比べて 3 群で低かったが，$AUC_{0-t}$ は大きく影響されなかった．2～4 回目 LV 投与後の(6S)-LV と(6R)-LV の $C_{max}$ と $AUC_{0-t}$ は見かけ上差があったが，有意ではなかった．以上から，影響は有意ではないものの，被験物質は 2 回目及び 3 回目 LV 投与後の LV 全身曝露量を増加させる傾向が認められた．一方，LV 代謝物である 5-MeTHF に関して得られたデータは限られていた．活性代謝物である(6S)-5-MeTHF は，大部分の動物が BLQ（＜5 μmol/L）であった．しかし，不活性異性体である(6R)-5-MeTHF は 3 群の 1 回目及び 2 回目 LV 投与後のみ定量可能であった．

5 群（MTX＋被験物質＋LV）と 6 群（MTX＋生理食塩液＋LV）の統計学的な比較から，LV 投与に対する被験物質と MTX の影響を検討した．1 回目 LV 投与後の LV の薬物動態に被験物質による影響はほとんど認められなかった．しかし 2 回目，3 回目及び 4 回目 LV 投与後には，被験物質を投与している 5 群で(6S)-LV 及び(6R)-LV の $AUC_{0-t}$ が有意に（$p \leqq 0.046$）増加した．一方，5-MeTHF は主に 5 群で定量可能であった．(6R)-5-MeTHF は 5 群のみ定量可能であったため，生理食塩液及び MTX の存在下と比較して，被験物質及び MTX の存在

下で高値になると考えられた．また，(6S)-5-MeTHF は大部分の動物が BLQ であった．

3 群（被験物質＋LV）と 5 群（MTX＋被験物質＋LV）の統計学的な比較から，被験物質と LV の相互作用に対する MTX の影響を検討した．(6S)-LV 及び(6R)-LV の $AUC_{0\text{-}t}$ は 5 群で高値であった．(6S)-LV は 1 回目及び 4 回目 LV 投与後にのみ有意に（$p \leqq 0.038$）高値であり，(6R)-LV は各 LV 投与後に 5 群で有意に（$p \leqq 0.009$）高値であった．

以上から，MTX 存在下で被験物質が LV の両異性体における曝露量を増加させる可能性が考えられた．

被験物質は 3 群及び 5 群の被験物質投与後に検出された．また，MTX を投与した 5 群及び 6 群において，DAMPA は 5 群の被験物質投与後のみ検出され，被験物質を投与しなかった 6 群では MTX のみが検出された（4.2.2.6-3 の Table 27～28 参照）．臨床において，ヒトに投与された被験物質は血中の MTX を DAMPA へ代謝する．そのため，本試験の MTX 及び DAMPA 濃度に関するデータはこの点で一致している．

**表 2.6.4.7.3-3　LV 及び 5-MeTHF の薬物動態パラメータ要約**
**（平均値±標準偏差，n＝4）**

| 群 | (6S)-LV | | (6R)-LV | | (6S)-5-MeTHF | | (6R)-5-MeTHF | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $C_{max}$ (μmol/L) | $AUC_{0\text{-}t}$*1 (μmol･h/L) | $C_{max}$ (μmol/L) | $AUC_{0\text{-}t}$*1 (μmol･h/L) | $C_{max}$ (μmol/L) | $AUC_{0\text{-}t}$*1 (μmol･h/L) | $C_{max}$ (μmol/L) | $AUC_{0\text{-}t}$*1 (μmol･h/L) |
| LV 投与 1 回目 | | | | | | | | |
| 3 | 57.0±13.8 | 8.29±2.49 | 68.3±16.9 | 17.3±5.8 | NC | NC | 8.47±0.97 | 2.64±1.11 |
| 4 | 60.8±19.5*2 | 12.9±2.2*2 | 66.4±16.2*2 | 14.8±3.2*2 | NC | NC | NC | NC |
| 5 | 50.4±10.6*2 | 24.6±11.2*2 | 71.1±9.6*2 | 51.3±7.7*2 | NC | NC | 21.3±2.6*2 | 16.4±1.0*2 |
| 6 | 62.0±43.0 | 21.9±10.9 | 69.0±48.7 | 32.0±17.0 | 5.31*3 | NC | NC | NC |
| LV 投与 2 回目 | | | | | | | | |
| 3 | 142±67 | 16.7±4.6 | 157±61 | 32.7±14.4 | NC | NC | 6.78±0.32*2 | 1.64*3 |
| 4 | 82.5±71.3 | 17.5±3.3 | 96.9±74.7 | 24.8±5.9 | NC | NC | NC | NC |
| 5 | 91.3*4 | 40.1*4 | 126*4 | 261*4 | NC | NC | 12.8±2.9*2 | 23.4±29.1*2 |
| 6 | 63.1±52.2 | 16.8±11.0 | 63.6±48.0 | 33.5±18.2 | 10.0*3 | 23.6*3 | NC | NC |
| LV 投与 3 回目 | | | | | | | | |
| 3 | 77.2±55.0*2 | 25.0±20.2*2 | 82.1±49.3*2 | 35.0±27.7*2 | NC | NC | NC | NC |
| 4 | 47.1±27.5*2 | 21.3±6.0*2 | 56.0±20.2*2 | 31.0±6.6*2 | NC | NC | NC | NC |
| 5 | 95.0*4 | 78.2*4 | 114*4 | 310*4 | NC | NC | NC | NC |
| 6 | 50.9±44.7 | 18.0±13.1 | 50.6±44.3 | 24.3±19.1 | NC | NC | NC | NC |
| LV 投与 4 回目 | | | | | | | | |
| 3 | 65.8±44.7*2 | 25.1±18.2*2 | 70.6±40.6*2 | 50.8±51.3*2 | 5.07*3 | NC | NC | NC |
| 4 | 156±116*2 | 32.8±11.0*2 | 159±127*2 | 44.2±10.9*2 | NC | NC | NC | NC |
| 5 | 116±4 | 82.4±30.2 | 116±20 | 381±261 | 8.13±0.97 | 28.5±11.2 | NC | NC |
| 6 | 49.2±36.5 | 13.9±11.4 | 59.4±49.6 | 23.1±18.1 | NC | NC | NC | NC |

NC：算出せず

＊1：LV 投与後，最終定量時点までの血漿中濃度から算出（各 LV 投与回毎にそれぞれ 1，12，12，24 時間まで測定）

＊2：3 例のデータ

＊3：1 例のデータ

＊4：2 例のデータ

引用元：4.2.2.6-3（PR001-NCL-PK004）の SUMMARY の pharmacokinetic parameters Table から一部改変

肉眼的観察では，MTX 誘発性病変の差を評価できる所見は認められなかった．

本試験の結論として，MTX 非存在下の 3 群（被験物質＋LV）と 4 群（生理食塩液＋LV）の統計学的な比較で，2 回目及び 3 回目 LV 投与後において有意ではないが被験物質による LV の $C_{max}$ 及び $AUC_{0\text{-}t}$ の増加傾向が認められた．一方，MTX 存在下の 5 群（MTX＋被験物

質＋LV）と 6 群（MTX＋生理食塩液＋LV）の統計学的な比較で，2 回目 LV 投与以降において被験物質の存在により(6S)-LV（活性異性体）及び(6R)-LV（不活性異性体）の $AUC_{0-t}$ が有意に（p≦0.046）増加した．さらに，MTX 非存在下の 3 群（被験物質＋LV）と MTX 存在下の 5 群（MTX＋被験物質＋LV）の統計学的な比較で，(6R)-LV の $AUC_{0-t}$ は毎回の LV 投与後に 5 群で有意に（p≦0.009）高値であり，(6S)-LV の $AUC_{0-t}$ は 1 回目及び 4 回目 LV 投与後にのみ有意に（p≦0.038）高値であった．これより，MTX 存在下で被験物質が LV の両異性体の曝露量を増加させる可能性が考えられた．

LV の活性代謝物である(6S)-5-MeTHF は，大部分の動物で BLQ であった．しかし，不活性異性体の(6R)-5-MeTHF は，被験物質を投与した 3 群（被験物質＋LV）及び 5 群（MTX＋被験物質＋LV）のみ定量可能であった．

MTX 及び DAMPA について得られたデータは限られていた．臨床において，被験者に投与された被験物質は血中の MTX を DAMPA へ代謝する．そのため，本試験の MTX 及び DAMPA 濃度に関するデータはこの点で一致している．

肉眼的観察では，MTX 誘発性病変の差が評価可能な所見は認められなかった．

#### 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ていない．

#### 2.6.4.9 考察及び結論

被験物質をラット及びイヌに臨床と同じ投与経路である静脈内投与した時の血漿中濃度の結果を下記に記載した．

ラット 3 日間反復投与毒性試験において，ラットに被験物質 50 U/kg/日及び 5,000 U/kg/日を静脈内投与した．投与 1 日目の投与後 10 分の平均血漿中濃度（平均値±標準偏差）は，それぞれ 0.5±0.052 及び 139.5±17.7 U/mL であった．この 2 つのデータを比較すると用量が 100 倍になると平均血漿中濃度は約 279 倍となり，投与 10 分後の血漿検体採取時点では被験物質の平均血漿中濃度は用量比を上回る増加を示した．

イヌ 14 日間反復投与毒性試験において，イヌに被験物質 50，500 及び 2,500 U/kg/日を静脈内投与した時の投与 1 日目及び投与 13 日目の血漿中濃度の結果を後述した．投与 1 日目には全投与群で定量可能な全身曝露が認められた．全身曝露量は用量の増加に伴って増加し，性差は認められなかった．$C_{max}$ は，50～2,500 U/kg/日の範囲で用量依存的に増加した．$t_{max}$ は，全投与群の大半で投与後 0.0830 時間（5 分，初回採血時点）であった．一方，$AUC_{0-48h}$ は 50 U/kg/日投与群と 500 U/kg/日投与群を比較した際には用量比を上回る曝露量の増加が認められたが，500 U/kg/日投与群と 2,500 U/kg/日投与群を比較した際には用量比を上回るまでには至らなかった．各投与群における投与後の被験物質の血中動態は，基本的に一相性の消失が認められた．$t_{1/2}$ は，500 U/kg/日で雌雄それぞれ 4.33 及び 4.56 時間，2,500 U/kg/日で 5.34 及び 6.01 時間であった．50，500 及び 2,500 U/kg/日投与後のそれぞれ 8，24 及び 48 時間までに，全動物が BLQ に減少した．なお，投与 13 日目で得られた TK 成績は少数であ

ったため，評価することはできなかった．

さらに公表文献にて，サルに被験物質と同じ *Pseudomonas* sp. RS16 株由来の CPG2 50 U/kg を単回静脈内投与（18 時間の MTX 静脈内投与が終了した後）した際，血漿中濃度は一相性で減少し，$t_{1/2}$（平均値±標準偏差）は 55±3 分と報告されている[1)]．

CYP に対する DAMPA の誘導作用試験では，異なる 3 例のドナー由来のヒト肝細胞を用いて CYP1A2，CYP2C9 及び CYP3A に対する DAMPA（0.01～1 mg/mL）の誘導作用を *in vitro* で評価した．その結果，CYP3A 活性は，いずれの DAMPA 濃度でも増加しなかった．一方，CYP1A2 及び CYP2C9 活性は DAMPA 0.1～1 mg/mL で増加が認められた場合があった．しかし，DAMPA 0.1 mg/mL では 3 例中 1 例のみしか，有意な増加は認められなかった．さらに，ヒトで認められている DAMPA 濃度（$C_{max}$，平均値±標準偏差）は，患者を対象とした国内第 II 相試験で 0.02±0.05 mg/mL であり，国外の PR001-CLN-006 試験で 0.04±0.07 mg/mL（分子量を 343.56 として算出）であった．これより，臨床時にこれらの CYP を誘導する可能性は低いと考えられた．

CYP に対する DAMPA の阻害作用試験では，ヒト肝ミクロソームを用いて CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 及び CYP3A4 に対する DAMPA の直接阻害（DAMPA 0.01～1 mg/mL）及び MBI（DAMPA 1 mg/mL）を評価した．その結果，直接阻害に関しては，DAMPA 0.01～1 mg/mL では十分な（50%以上）酵素活性阻害は認められなかった．このことから，ヒトで認められている DAMPA 濃度（国内第 II 相試験：0.02±0.05 mg/mL, PR001-CLN-006 試験：0.04±0.07 mg/mL）を踏まえると，臨床において DAMPA は CYP1A2, CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，CYP2E1 及び CYP3A4 に対して，顕著な直接阻害をもたらさないと考えられた．なお，MBI に関しても，いずれの CYP においても DAMPA 1 mg/mL での影響は認められず，臨床において，これらの CYP では DAMPA による MBI は生じないと考えられた．

ウサギにおける薬物動態学的薬物相互作用試験は，雌性ウサギに被験物質 50 U/kg, MTX, 生理食塩液，LV（計 4 回）を静脈内投与した．その結果，MTX 非存在下の 3 群（被験物質＋LV）と 4 群（生理食塩液＋LV）の統計学的な比較で，2 回目及び 3 回目 LV 投与後において有意ではないが被験物質による LV の $C_{max}$ 及び $AUC_{0\text{-}t}$ の増加傾向が認められた．一方，MTX 存在下の 5 群（MTX＋被験物質＋LV）と 6 群（MTX＋生理食塩液＋LV）の統計学的な比較で，2 回目 LV 投与以降において被験物質の存在により(6S)-LV 及び(6R)-LV の $AUC_{0\text{-}t}$ が有意に（$p \leqq 0.046$）増加した．さらに，MTX 非存在下の 3 群（被験物質＋LV）と MTX 存在下の 5 群（MTX＋被験物質＋LV）の統計学的な比較で，(6R)-LV の $AUC_{0\text{-}t}$ は毎回の LV 投与後に 5 群で有意に（$p \leqq 0.009$）高値であり，(6S)-LV の $AUC_{0\text{-}t}$ は 1 回目及び 4 回目 LV 投与後にのみ有意に（$p \leqq 0.038$）高値であった．

以上から，MTX 存在下において，被験物質が LV の両異性体の曝露量を増加させる可能性が考えられた．

被験物質は *in vitro* 試験のデータより LV を分解する可能性が報告されている[2)]．しかし，本試験では上述のように，被験物質と LV を投与した動物では LV 単独投与した動物に比べ

LV の全身曝露量が高くなる可能性が考えられた. なお, LV 活性代謝物である(6S)-5-MeTHF の明らかな増加は認められなかった．このように，被験物質と LV を投与した場合に LV 曝露量が増加する機序の原因は究明できなかった.

その他には 2.6.2.4 項の安全性薬理試験において, DAMPA の薬物動態などをイヌ DAMPA 忍容性及び薬物動態試験（試験番号：PR001-NCL-PK005，詳細：2.6.2.4.3 参照）及びサルを用いた公表文献[3)]（詳細：2.6.2.4.1 参照）による報告で評価した.

イヌ DAMPA 忍容性及び薬物動態試験では，約 23～27 週齢のイヌ（各投与量に対して雌雄 1 例ずつ）に 15，30 及び 60 mg/kg の DAMPA を約 15～30 分かけて伏在静脈に単回投与し，その後 7 日間の観察期間を設けた．また，各動物に水分補給及びアルカリ化レジメンを施し, 炭酸水素ナトリウム（$NaHCO_3$）含有 5%デキストロース液（$D_5W$）（$NaHCO_3$：1.0 mmol/kg）を, DAMPA 投与前 1 時間及び投与後から約 5 時間まで静脈内投与した. 血液検体は DAMPA 投与前，投与後 15 分，30 分，1，2，4，8，12，24，48 及び 72 時間に採取した.

結果は，投与後 15 分（初回の測定時間）で血漿中 DAMPA 濃度が最大となり，15 mg/kg 投与群で 28.7～32.4 μmol/L，30 mg/kg 投与群で 88.2～96.8 μmol/L 及び 60 mg/kg 投与群で 174～199 μmol/L となった．その後，投与終了後 8～12 時間まで低下し，24 時間後には全動物で BLQ（＜0.1 μmol/L）になった．全身曝露量は雌雄で同程度であり，$AUC_{0\text{-}t}$ は用量の増加に伴って増加した．大半の動物で終末相の $t_{1/2}$，クリアランス及び分布容積は算出できなかったが，30 mg/kg 投与の雄 1 例及び 60 mg/kg 投与の雄 1 例は算出可能であった．2 例の分布容積は，一般的なイヌの体内総水分の容積と類似していた[4)]．クリアランスは公表文献の値「心拍出量（血漿）：4.2 L/h/kg, 肝血流量（血漿）：1.1 L/h/kg, 腎血漿流量：0.752 L/h/kg」[4)]と比較すると 0.60～0.70 L/h/kg と速やかで，終末相 $t_{1/2}$ は 0.5～1.0 時間であった.

また，サルを用いた DAMPA の薬物動態及び代謝が公表文献にて報告されている[3)]．Widemann らは，4 例の雄性サルに 200 mg/m$^2$「約 16.7 mg/kg，kg 当たりの投与量算出には米国食品医薬品局（FDA），医薬品評価研究センター（CDER）発行のガイダンス，2005 に記載されている動物の平均体重を用いた[5)]」の DAMPA を 15 分かけて静脈内投与した．また，各動物は DAMPA 投与 2 時間前から 10 時間後まで $NaHCO_3$ 含有 $D_5W$ を 20 ml/kg（$NaHCO_3$：0.5 mmol/kg）静脈内投与し，水分補給及びアルカリ化を施した．血漿検体は，DAMPA 投与前，投与終了後 5，15，30，45，60，90 分，2，3，4，5，6，7，8，9，10 及び 24 時間に採取した．尿検体は，水分補給及びアルカリ化開始から DAMPA 投与後 10 時間まで採取した.

結果は，DAMPA を 15 分かけて静脈内投与した直後の平均血漿中 DAMPA 濃度は 51 μmol/L（26～69 μmol/L の範囲）であり，投与完了後 1～2 時間以内に血漿中濃度は 1.0 μmol/L 未満まで低下した．血漿中濃度を基にモデル解析を行った所，DAMPA は 3-コンパートメントモデルが最も適しており，γ 相 $t_{1/2}$ は 51±25 分（平均値±標準偏差）であった．また，投与された DAMPA の約 46%が 10 時間以内に未変化体として尿中に排泄された．さらに，血漿中及び尿中には 3 種類の DAMPA 代謝物（ヒドロキシ DAMPA，DAMPA グルクロン酸抱合体及びヒドロキシ DAMPA グルクロン酸抱合体）が確認され，これらの

代謝物はヒトでも確認されていた．以上の結果から Widemann らは，γ 相 $t_{1/2}$ に基づくと，DAMPA の 99%超は 10 時間後までに血漿から消失するため，DAMPA の約 50%は代謝される可能性を報告している．

### 2.6.4.10 図表

本文中に含めた．

### 2.6.4.11 参考文献

1） Adamson PC, Balis FM, McCully CL. et al. Methotrexate Pharmacokinetics Following Administration of Recombinant Carboxypeptidase-$G_2$ in Rhesus Monkeys. J Clin Oncol. 1992, 10(8), 1359-1364.

2） Sherwood RF, Melton RG, Alwan SM. et al. Purification and properties of carboxypeptidase $G_2$ from *Pseudomonas* sp. strain RS-16. Use of a novel triazine dye affinity method. Eur J Biochem. 1985, 148(3), 447-453.

3） Widemann BC, Sung E, Anderson L. et al. Pharmacokinetics and Metabolism of the Methotrexate Metabolite 2,4-Diamino-$N^{10}$-Methylpteroic Acid. J Pharmacol Exp Ther. 2000, 294(3), 894-901.

4） Davies B, Morris T. Physiological Parameters in Laboratory Animals and Humans. Pharm Res. 1993, 10(7), 1093-1095.

5） Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. 2005, 1-27.

## 目次

2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表....2
2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験....3
2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与....4
2.6.5.4　薬物動態試験：吸収：反復投与....5
2.6.5.5　薬物動態試験：分布....7
2.6.5.6　薬物動態試験：タンパク結合....7
2.6.5.7　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験....7
2.6.5.8　薬物動態試験：その他の分布試験....7
2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：*In Vivo*....7
2.6.5.10　薬物動態試験：代謝：*In Vitro*....7
2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路....7
2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害....8
2.6.5.13　薬物動態試験：排泄....13
2.6.5.14　薬物動態試験：排泄：胆汁中....13
2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用....14
2.6.5.16　薬物動態試験：その他....15

## 2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

### 一覧表

被験物質：DAMPA

グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）

| 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（トキシコキネティクス） | Crl:WI （GLX／BRL／Han) IGSB ラット*1, 2 | 静脈内 | [redacted]（英国） | 1845/013 | 4.2.2.2-1 |
| | 反復投与（トキシコキネティクス） | ビーグル犬*1, 2 | 静脈内 | [redacted]（米国） | PR001-NCL-TX002 | 4.2.2.2-2 |
| 分布 | | 実施していない. | | | | |
| 代謝 | | 実施していない. | | | | |
| 排泄 | | 実施していない. | | | | |
| 薬物動態学的薬物相互作用 | | ヒト肝細胞*2, 3 | *in vitro* | [redacted]（英国） | PR001-NCL-PK007 | 4.2.2.6-1 |
| | | ヒト肝ミクロソーム細胞*2, 3 | *in vitro* | [redacted]（英国） | PR001-NCL-PK006 | 4.2.2.6-2 |
| | | New Zealand White ウサギ*1, 2 | 静脈内 | [redacted]（英国） | PR001-NCL-PK004 | 4.2.2.6-3 |
| その他の薬物動態試験 | | 実施していない. | | | | |

＊1：被験物質はグルカルピダーゼ（遺伝子組換え）

＊2：GLP 適用試験

＊3：被験物質は DAMPA

## 2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

被験物質：グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）

| 動物種 | | ラット | ウサギ | イヌ | |
|---|---|---|---|---|---|
| マトリックス | | 血漿 | 血漿 | 血漿 | 血清 |
| 分析方法 | | 酵素－基質分光法 | 酵素－基質分光法 | 酵素－基質分光法 | 酵素－基質分光法 |
| 定量下限（μg/mL） | | － | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| 検量線範囲（μg/mL） | | 0.3～1.5 | 0.3～1.5 | 0.3～1.5 | 0.3～1.5 |
| 日内変動 | 真度（%） | 91.7～99.2 | 98.2～104.7 | 100.0～103.5 | 101.8～107.0 |
| | 精度（%） | 2.0～6.2 | 3.3～7.9 | 4.9，5.5 | 3.3～7.2 |
| 日間変動 | 真度（%） | 96.7～103.8 | 100.0～104.7 | 93.1～98.2 | 96.6～102.3 |
| | 精度（%） | 7.3～10.6 | 6.6～9.6 | 5.7～7.8 | 5.0～10.5 |
| 特異性 | 真度（%） | 97.5 | 104.7 | 111.6 | 100.0 |
| | 精度（%） | － | 6.2 | 8.8 | 10.0 |
| 凍結融解安定性 | | 3 回 | 3 回 | 3 回 | 3 回 |
| マトリックス中の安定性 | | － | －70℃：1 週間 | －70℃：1 週間 | － |
| 実施施設 | | [redacted]（英国） | [redacted]（英国） | [redacted]（英国） | |
| 試験番号 | | 1845/015 | 1845/023 | 1845/025 | |
| CTD における記載箇所 | | 4.2.2.1-7 | 4.2.2.1-8 | 4.2.2.1-9 | |

－：該当事項なし

### 2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与

**単回投与（トキシコキネティクス）**

被験物質：グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）

試験番号：1845/013　CTD における記載箇所：4.2.2.2-1

| | | |
|---|---|---|
| 動物種 | ラット | |
| 性別／動物数 | 雌雄／各 5 例 | |
| 給餌 | 非絶食 | |
| 溶媒／投与形態 | 生理食塩液（0.9% NaCl）／製剤 | |
| 投与方法 | 静脈内投与 | |
| 用量（U/kg/日） | 50，5,000 | |
| 試料 | 血漿 | |
| 定量物質 | グルカルピダーゼ（遺伝子組換え） | |
| 定量法 | 酵素－基質分光法 | |
| PK パラメータ | 50 U/kg/日 | 5,000 U/kg/日 |
| 平均血漿中濃度（U/mL，平均値±標準偏差）＊ | 0.5±0.052 | 139.5±17.7 |

＊：投与 1 日目における，投与後 10 分時点での雌雄の値.

### 2.6.5.4　薬物動態試験：吸収：反復投与

**反復投与（トキシコキネティクス）（次項に続く）**

被験物質：グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）

試験番号：PR001-NCL-TX002　CTD における記載箇所：4.2.2.2-2

| | |
|---|---|
| 動物種 | イヌ |
| 性別／動物数 | 雌雄／各 3 例 |
| 給餌 | 非絶食 |
| 溶媒／投与形態 | 生理食塩水（0.9％ NaCl）／製剤 |
| 投与方法 | 静脈内投与 |
| 用量（U/kg/日） | 50，500，2,500 |
| 試料 | 血漿 |
| 定量物質 | グルカルピダーゼ（遺伝子組換え） |
| 定量法 | 酵素－基質分光法 |

## 反復投与（トキシコキネティクス）（続き）

被験物質：グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）

試験番号：PR001-NCL-TX002　CTD における記載箇所：4.2.2.2-2

| PK パラメータ*1 | 50 U/kg/日 | | 500 U/kg/日 | | 2,500 U/kg/日 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 投与日 | 1 日目 | 13 日目*2 | 1 日目 | 13 日目*2 | 1 日目 | 13 日目*2 |
| $t_{max}$（h） | 0.139±0.0964（雄），<br>0.0830±0.00（雌） | 0.0830（雄）*3，<br>0.0830±0.00（雌） | 0.0830±0.00（雄），<br>0.0830±0.00（雌） | NS（雄），<br>0.0830±0.00（雌） | 0.139±0.0964<br>（雄），<br>0.0830±0.00（雌） | NS（雄），<br>0.0830±0.00（雌） |
| $C_{max}$（U/mL） | 0.910±0.0715（雄），<br>0.855±0.0760（雌） | 0.190±0.329（雄）*4，<br>0.629±0.190（雌） | 8.68±1.56（雄），<br>10.2±1.28（雌） | NS（雄），<br>5.30±4.91（雌） | 42.3±4.14（雄），<br>43.2±4.04（雌） | NS（雄），<br>42.2±5.27（雌） |
| $AUC_{0\text{-}48h}$（U･h/mL）*5 | 1.73±0.357（雄），<br>1.09±0.192（雌） | 0.654（雄）*3，<br>1.47（雌）*5 | 39.5±3.23（雄），<br>41.5±6.97（雌） | NS（雄），<br>NC（雌） | 200±41.2（雄），<br>224±43.3（雌） | NS（雄），<br>310（雌）*5 |
| $t_{1/2}$（h） | NC（雌雄） | NC（雌雄） | 4.56±1.00（雄），<br>4.33±0.260（雌） | NS（雄），<br>NC（雌） | 6.01±0.126（雄），<br>5.34±1.64（雌） | NS（雄），<br>5.15（雌）*5 |

NS：検体を採取していない，NC：算出せず

＊1：平均値±標準偏差の値を示した.

＊2：投与 13 日目で得られた TK 成績は少数であったため，評価することはできなかった.

＊3：1 例のデータ

＊4：3 例のデータを用いて算出したが，3 例の値はそれぞれ 0.569，BLQ 及び BLQ であり，BLQ を「0」とみなして $C_{max}$ の平均値を算出した.

＊5：2 例のデータ

### 2.6.5.5　薬物動態試験：分布

実施していない.

### 2.6.5.6　薬物動態試験：タンパク結合

実施していない.

### 2.6.5.7　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

実施していない.

### 2.6.5.8　薬物動態試験：その他の分布試験

実施していない.

### 2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：*In Vivo*

実施していない.

### 2.6.5.10　薬物動態試験：代謝：*In Vitro*

実施していない.

### 2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路

実施していない.

## 2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

**薬物代謝酵素の誘導／阻害（1）（次頁に続く）**

被験物質：DAMPA

試験番号：PR001-NCL-PK007　記載箇所：4.2.2.6-1

| 試験の種類：DAMPA によるチトクロム P450 誘導作用 |
| --- |
| 試験法：ヒト肝細胞を DAMPA 0.01，0.1 及び 1 mg/mL に 72 時間曝露させた後，CYP1A2，CYP2C9 及び CYP3A 活性を測定することにより誘導作用を評価した．なお，ヒト肝細胞のタンパク質含量の測定及び各 CYP の基質代謝物を測定することにより CYP 活性を評価した．基質としては，CYP1A2 はエトキシレゾルフィン，CYP2C9 はトルブタミド及び CYP3A はテストステロンを使用した．対照群として，陰性対照（細胞培養に使用している培地のみ），陽性対照（CYP1A2 の誘導剤であるオメプラゾールと CYP2C9 及び CYP3A の誘導剤であるリファンピシン），溶媒対照「DAMPA の溶媒である NaOH（10 mmol/L）及び誘導剤の溶媒である MeCN（0.5%）」を加えた． |

## 薬物代謝酵素の誘導／阻害（1）（続き）

被験物質：DAMPA

試験番号：PR001-NCL-PK007　記載箇所：4.2.2.6-1

結果：データは各群 3 回の平均値±標準偏差を示した．なお，ヒト肝細胞のタンパク質含量は，ドナー1 は 167～298 μg/mL 及び 0.556～0.994 mg/$10^6$ cell，ドナー2 は 116～241 μg/mL 及び 0.387～0.802 mg/$10^6$ cell 並びにドナー3 は 147～250 μg/mL 及び 0.491～0.831 mg/$10^6$ cell であった．

| | CYP1A2 エトキシレゾルフィン *O*-脱エチル化活性に対する DAMPA の影響 | | | CYP2C9 トルブタミド 4-ヒドロキシラーゼ活性に対する DAMPA の影響 | | | CYP3A テストステロン 6β-ヒドロキシラーゼ活性に対する DAMPA の影響 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 処理 | 活性[*1]（pmol/min/mg） | 誘導倍率[*2] | 処理 | 活性[*1]（pmol/min/mg） | 誘導倍率[*2] | 処理 | 活性[*1]（pmol/min/mg） | 誘導倍率[*2] |
| ドナー1 | 陰性対照 | 0.461±0.0161 | － | 陰性対照 | 5.15±0.754 | － | 陰性対照 | 23.5±2.31 | － |
| | 溶媒対照（NaOH） | 0.481±0.0238 | 1.04 | 溶媒対照（NaOH） | 6.65±0.305 | 1.29※※ | 溶媒対照（NaOH） | 21.7±1.13 | 0.924 |
| | DAMPA（0.01 mg/mL） | 0.472±0.000883 | 0.982 | DAMPA（0.01 mg/mL） | 6.87±0.740 | 1.03 | DAMPA（0.01 mg/mL） | 22.2±1.84 | 1.03 |
| | DAMPA（0.1 mg/mL） | 0.729±0.0930 | 1.52※※ | DAMPA（0.1 mg/mL） | 7.60±0.333 | 1.14※ | DAMPA（0.1 mg/mL） | 20.9±0.919 | 0.963 |
| | DAMPA（1 mg/mL） | 3.94±0.0689 | 8.19※※※ | DAMPA（1 mg/mL） | 1.88±0.286 | 0.283＃＃＃ | DAMPA（1 mg/mL） | 23.1±0.527 | 1.07 |
| | オメプラゾール（50 μmol/L） | 6.92±0.125 | 12.8※※※ | リファンピシン（50 μmol/L） | 20.1±1.25 | 3.84※※※ | リファンピシン（50 μmol/L） | 443±20.1 | 18.0※※※ |
| | 溶媒対照（MeCN） | 0.541±0.0475 | 1.17※ | 溶媒対照（MeCN） | 5.23±0.746 | 1.02 | 溶媒対照（MeCN） | 24.6±2.53[*3] | 1.05 |

－：該当事項なし，※：p＜0.05（増加），※※：p＜0.01（増加），※※※：p＜0.001（増加），＃＃＃：p＜0.001（減少）

＊1：平均値±標準偏差の値を示した．

＊2：誘導倍率を後述した計算式で算出した．溶媒対照（NaOH 又は MeCN）＝溶媒対照の活性／陰性対照の活性，陽性対照＝陽性対照の活性／溶媒対照の活性（MeCN），各 DAMPA 添加群＝各 DAMPA 添加群の活性／溶媒対照（NaOH）の活性．

＊3：2 例のデータ

## 薬物代謝酵素の誘導／阻害（1）（続き）

被験物質：DAMPA

試験番号：PR001-NCL-PK007　記載箇所：4.2.2.6-1

| | CYP1A2 エトキシレゾルフィン *O*-脱エチル化活性に対する DAMPA の影響 | | | CYP2C9 トルブタミド 4-ヒドロキシラーゼ活性に対する DAMPA の影響 | | | CYP3A テストステロン 6β-ヒドロキシラーゼ活性に対する DAMPA の影響 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 処理 | 活性*1（pmol/min/mg） | 誘導倍率*2 | 処理 | 活性*1（pmol/min/mg） | 誘導倍率*2 | 処理 | 活性*1（pmol/min/mg） | 誘導倍率*2 |
| ドナー2 | 陰性対照 | 0.605±0.0155 | － | 陰性対照 | 3.94±0.196 | － | 陰性対照 | 28.9±0.707 | － |
| | 溶媒対照（NaOH） | 0.829±0.0142 | 1.37※※※ | 溶媒対照（NaOH） | 2.35±0.207 | 0.596### | 溶媒対照（NaOH） | 28.0±2.65 | 0.971 |
| | DAMPA（0.01 mg/mL） | 0.755±0.0391 | 0.911# | DAMPA（0.01 mg/mL） | 2.35±0.167 | 1.00 | DAMPA（0.01 mg/mL） | 29.9±1.35 | 1.07 |
| | DAMPA（0.1 mg/mL） | 0.791±0.0717 | 0.954 | DAMPA（0.1 mg/mL） | 2.55±0.501 | 1.09 | DAMPA（0.1 mg/mL） | 27.8±1.52 | 0.991 |
| | DAMPA（1 mg/mL） | 2.88±0.0300 | 3.47※※※ | DAMPA（1 mg/mL） | 4.19±0.0290 | 1.78※※※ | DAMPA（1 mg/mL） | 28.1±3.04 | 1.00 |
| | オメプラゾール（50 μmol/L） | 5.25±0.309 | 7.61※※※ | リファンピシン（50 μmol/L） | 7.93±0.934 | 1.87※※ | リファンピシン（50 μmol/L） | 160±14.5 | 6.08※※※ |
| | 溶媒対照（MeCN） | 0.690±0.0645 | 1.14※ | 溶媒対照（MeCN） | 4.25±0.378 | 1.08 | 溶媒対照（MeCN） | 26.3±3.51 | 0.911 |

－：該当事項なし，※：p＜0.05（増加），※※：p＜0.01（増加），※※※：p＜0.001（増加），＃：p＜0.05（減少），＃＃＃：p＜0.001（減少）

＊1：平均値±標準偏差の値を示した.

＊2：誘導倍率を後述した計算式で算出した．溶媒対照（NaOH 又は MeCN）＝溶媒対照の活性／陰性対照の活性，陽性対照＝陽性対照の活性／溶媒対照の活性（MeCN），各 DAMPA 添加群＝各 DAMPA 添加群の活性／溶媒対照（NaOH）の活性.

## 薬物代謝酵素の誘導／阻害（1）（続き）

被験物質：DAMPA

試験番号：PR001-NCL-PK007　記載箇所：4.2.2.6-1

| | CYP1A2 エトキシレゾルフィン *O*-脱エチル化活性に対する DAMPA の影響 | | | CYP2C9 トルブタミド 4-ヒドロキシラーゼ活性に対する DAMPA の影響 | | | CYP3A テストステロン 6β-ヒドロキシラーゼ活性に対する DAMPA の影響 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 処理 | 活性[*1]（pmol/min/mg） | 誘導倍率[*2] | 処理 | 活性[*1]（pmol/min/mg） | 誘導倍率[*2] | 処理 | 活性[*1]（pmol/min/mg） | 誘導倍率[*2] |
| ドナー3 | 陰性対照 | 0.563±0.0183 | － | 陰性対照 | 2.55±0.0844 | － | 陰性対照 | 19.9±1.04 | － |
| | 溶媒対照（NaOH） | 0.538±0.0320 | 0.956 | 溶媒対照（NaOH） | 2.20±0.208 | 0.861# | 溶媒対照（NaOH） | 17.9±1.35 | 0.902 |
| | DAMPA（0.01 mg/mL） | 0.564±0.0345 | 1.05 | DAMPA（0.01 mg/mL） | 2.18±0.189 | 0.990 | DAMPA（0.01 mg/mL） | 17.7±1.68 | 0.986 |
| | DAMPA（0.1 mg/mL） | 0.520±0.0137 | 0.966 | DAMPA（0.1 mg/mL） | 1.98±0.323 | 0.902 | DAMPA（0.1 mg/mL） | 16.2±1.67 | 0.903 |
| | DAMPA（1 mg/mL） | 3.06±0.176 | 5.69※※※ | DAMPA（1 mg/mL） | 3.22±0.407 | 1.47※※ | DAMPA（1 mg/mL） | 16.9±1.58 | 0.942 |
| | オメプラゾール（50 μmol/L） | 5.14±0.244 | 8.99※※※ | リファンピシン（50 μmol/L） | 6.90±0.413 | 2.82※※※ | リファンピシン（50 μmol/L） | 38.5±3.42 | 2.02※※※ |
| | 溶媒対照（MeCN） | 0.572±0.0141 | 1.02 | 溶媒対照（MeCN） | 2.45±0.0490 | 0.959 | 溶媒対照（MeCN） | 19.0±0.423 | 0.956 |

－：該当事項なし，※※：p＜0.01（増加），※※※：p＜0.001（増加），＃：p＜0.05（減少）

＊1：平均値±標準偏差の値を示した.

＊2：誘導倍率を後述した計算式で算出した．溶媒対照（NaOH 又は MeCN）＝溶媒対照の活性／陰性対照の活性，陽性対照＝陽性対照の活性／溶媒対照の活性（MeCN），各 DAMPA 添加群＝各 DAMPA 添加群の活性／溶媒対照（NaOH）の活性.

## 薬物代謝酵素の誘導／阻害（2）

被験物質：DAMPA

試験番号：PR001-NCL-PK006　記載箇所：4.2.2.6-2

| 試験の種類：DAMPA によるチトクロム P450 阻害作用 |
|---|
| 試験法：ヒト肝ミクロソームを用いて CYP1A2（基質：フェナセチン），CYP2C9（基質：トルブタミド），CYP2C19（基質：S-メフェニトイン），CYP2D6（基質：ブフラロール），CYP2E1（基質：クロルゾキサゾン）及び CYP3A4（基質：ミダゾラム及びテストステロン）に対する DAMPA の阻害作用を評価した．<br>直接阻害<br>DAMPA（0.01，0.02，0.03，0.06，0.1，0.3，0.6 及び 1 mg/mL），各 CYP の基質及びヒト肝ミクロソームをプレインキュベーションした．その後，NADPH 再生系と共にインキュベーションを行い，基質の代謝物を測定することにより CYP 活性を評価した．対照群として，陰性対照「脱イオン水（$dH_2O$）」，溶媒対照「DAMPA の溶媒である NaOH（0.01 mol/L）及び各 CYP に対応する阻害剤の溶媒」及び陽性対照（各 CYP に対応する阻害剤）を加えた．なお，阻害剤としては，フラフィリン（CYP1A2），スルファフェナゾール（CYP2C9），トラニルシプロミン（CYP2C19），キニジン（CYP2D6），ジエチルジチオカルバメート（CYP2E1）及びケトコナゾール（CYP3A4）を用いた．<br>MBI<br>ヒト肝ミクロソームと DAMPA 1 mg/mL を NADPH 再生系の存在下・非存在下で最長 20 分間プレインキュベーションした．その後，基質及び NADPH 再生系を添加してインキュベーションし，代謝物を測定することにより CYP 活性を評価した．対照群として，陰性対照（DAMPA 未添加），溶媒対照（NaOH 及び各 CYP に対応する阻害剤の溶媒）及び陽性対照（各 CYP に対応する阻害剤）を加えた．また，陽性対照としては，フラフィリン（CYP1A2），チエニル酸（CYP2C9），チクロピジン（CYP2C19），パロキセチン（CYP2D6），ジエチルジチオカルバメート（CYP2E1）及びトロレアンドマイシン（CYP3A4）を用いた． |
| 結果：DAMPA 0.01～1 mg/mL 濃度において，各 CYP の阻害活性は 50%未満であったため，$IC_{50}$ 値（CYP 活性の阻害率が 50%となる DAMPA 濃度）を求められなかった. 最大濃度（1 mg/mL）での具体的な数値としては, DAMPA の溶媒対照（CYP3A4 のミダゾラムのみ陰性対照）を 100%とした場合の CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6，CYP2E1 及び CYP3A4 の相対活性は，それぞれ 75.9%，74.1%，86.0%，109%，74.6%，62.4%（基質：ミダゾラム）及び 189%（基質：テストステロン）であった．MBI に関しては，各 CYP のいずれも認められなかった． |

### 2.6.5.13　薬物動態試験：排泄

実施していない.

### 2.6.5.14　薬物動態試験：排泄：胆汁中

実施していない.

## 2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用

**薬物相互作用（次項に続く）**

被験物質：グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）

試験番号：PR001-NCL-PK004　記載箇所：4.2.2.6-3

| |
|---|
| 試験の種類：メトトレキサート（MTX）投与・非投与での，グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）によるロイコボリン（LV）「活性異性体(6S)-LV，不活性異性体(6R)-LV」及び 5-メチルテトラヒドロ葉酸（5-MeTHF）「活性代謝物(6S)-5-MeTHF 及び不活性代謝物(6R)-5-MeTHF」の薬物動態に対する影響 |
| 試験法：雌性 New Zealand White ウサギを後述した 4 つの投与群（各 6 例）に割り付けた．さらに，グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）又は生理食塩水投与後 2，5，26 及び 50 時間に，LV 13.5 mg/kg 静脈内持続投与した．また，LV 及び 5-MeTHF を測定するために各群 4 例から各 LV 投与前及び投与後に血液検体を採取した．MTX 及び DAMPA を測定するために各群 2 例からグルカルピダーゼ（遺伝子組換え）又は生理食塩水の投与前と，各 LV 投与前に血液検体を採取した．<br><br>3 群：グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）50 U/kg/日静脈内投与<br>4 群：生理食塩水の静脈内投与<br>5 群：MTX 55 mg/kg/日静脈内投与後，グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）50 U/kg/日静脈内投与<br>6 群：MTX 55 mg/kg/日静脈内投与後，生理食塩水の静脈内投与 |

**薬物相互作用（続き）**

被験物質：グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）

試験番号：PR001-NCL-PK004　記載箇所：4.2.2.6-3

結果：MTX 非存在下の 3 群「グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）＋LV」と 4 群（生理食塩水＋LV）の統計学的な比較で，2 回目及び 3 回目 LV 投与後において，有意ではないがグルカルピダーゼ（遺伝子組換え）による LV の $C_{max}$ 及び $AUC_{0\text{-}t}$ の増加傾向が認められた．一方，MTX 存在下の 5 群「MTX＋グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）＋LV」と 6 群（MTX＋生理食塩水＋LV）の統計学的な比較では，2 回目 LV 投与以降においてグルカルピダーゼ（遺伝子組換え）の存在により(6S)-LV（活性異性体）及び(6R)-LV（不活性異性体）の $AUC_{0\text{-}t}$ が有意に（$p \leqq 0.046$）増加した．さらに，MTX 非存在下の 3 群「グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）＋LV」と MTX 存在下の 5 群「MTX＋グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）＋LV」の統計学的な比較では，(6R)-LV の $AUC_{0\text{-}t}$ は毎回の LV 投与後に 5 群で有意に（$p \leqq 0.009$）高値であり，(6S)-LV の $AUC_{0\text{-}t}$ は 1 回目及び 4 回目 LV 投与後にのみ有意に（$p \leqq 0.038$）高値であった．以上から，グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）が LV の両異性体の曝露量を，MTX 存在下で増加させる可能性が考えられた．

LV の活性代謝物である(6S)-5-MeTHF は，大部分の動物で BLQ（＜5 μmol/L）であった．しかし，不活性代謝物の(6R)-5-MeTHF は，グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）を投与した 3 群「グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）＋LV」及び 5 群「MTX＋グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）＋LV」のみ定量可能であった．

DAMPA は 5 群のグルカルピダーゼ（遺伝子組換え）投与後のみ検出され，グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）を投与しなかった 6 群では MTX のみが検出された．

臨床において，被験者に投与されたグルカルピダーゼ（遺伝子組換え）は血中の MTX を DAMPA へ代謝する．そのため，本試験の MTX 及び DAMPA 濃度に関するデータはこの点で一致している．

なお，肉眼的観察では MTX 誘発性病変の差を評価できる所見は認められなかった．

### 2.6.5.16　薬物動態試験：その他

実施していない．