ボックスゾゴ®皮下注用 0.4mg
ボックスゾゴ®皮下注用 0.56mg
ボックスゾゴ®皮下注用 1.2mg

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 9
2.6.4.1 まとめ 9
2.6.4.2 分析法 14
2.6.4.2.1 第 1 世代の ELISA 法 15
2.6.4.2.2 第 2 世代の ECLA 法 15
2.6.4.2.3 第 1 世代の総抗体測定 19
2.6.4.2.4 第 2 世代の総抗体測定 20
2.6.4.3 吸収 22
2.6.4.3.1 単回投与薬物動態試験 22
2.6.4.3.2 反復投与試験 44
2.6.4.4 分布 94
2.6.4.4.1 BMN 111 を単回 SC 投与したときの cGMP 活性化 WT マウスにおける分布（試験報告書[BMN111-11-002]） 94
2.6.4.4.2 BMN 111 を反復 SC 投与したときの WT マウスの軟骨、骨及び軟部組織における cGMP 活性化（試験報告書[BMN111-11-003]） 98
2.6.4.4.3 PET イメージングを用いた SD ラットにおける ^{124}I-BMN 111 の生体内分布（試験報告[BMN111-17-027]） 104
2.6.4.4.4 ラットに SC 投与したときの ^{124}I-BMN 111 の生体内分布（試験報告書[BMN111-18-004]） 110
2.6.4.5 代謝 111
2.6.4.5.1 *In vitro* における組換えヒト NEP に対する BMN 111 の耐性評価（試験報告書[BMN111-10-109]） 111
2.6.4.5.2 NPR-B 及び NPR-C の標的遺伝子発現解析（試験報告[BMN111-16-024]） 112
2.6.4.6 排泄 120
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 120
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 120
2.6.4.9 考察及び結論 120
2.6.4.10 図表 126

表目次

表 2.6.4.1-1 BMN 111 の薬物動態、トキシコキネティクス、代謝及び分布試験の概要 10
表 2.6.4.2-1 BMN 111 の非臨床試験のための生体試料中薬物濃度分析法 14
表 2.6.4.2-2 BMN 111 非臨床薬物動態試験における分析法の要約 17
表 2.6.4.2-3 バリデートされた非臨床試験の総抗 BMN 111 抗体測定法 21

表 2.6.4.3.1.1-1 BMN111-15-100 の試験デザイン 22
表 2.6.4.3.1.1-2 採血スケジュール 22
表 2.6.4.3.1.1-3 BMN 111 を幼若 WT FVB 及び FGFR3^{ACH} FVB マウスに SC 投与したときの Day1 での血漿中 BMN 111 の薬物動態パラメータ 24
表 2.6.4.3.1.1-4 BMN 111 の SC 投与後の幼若 WT FVB 及び FGFR3^{ACH} FVB マウスにおける BMN 111 の PK パラメータ比率 24
表 2.6.4.3.1.2-1 ラット血漿中 BMN 111 の TK パラメータ 27
表 2.6.4.3.1.2-2 ラット血漿中 BMN 111 の投与量比例性 29
表 2.6.4.3.1.3-1 ラットにおける BMN 111 の TK パラメータ 30
表 2.6.4.3.1.3-2 ラット血漿中 BMN 111 の投与量比例性 31
表 2.6.4.3.1.4-1 7 日齢ラットに単回 SC 投与したときのラット血漿中 BMN 111 の薬物動態パラメータ 31
表 2.6.4.3.1.5-1 ラットに BMN 111 の 360 µg/kg を単回 SC 投与したときの血漿中 PK パラメータ 35
表 2.6.4.3.1.6-1 BMN111-17-048 の試験方法 36
表 2.6.4.3.1.6-2 単回 IM 又は SC 投与後のラット血漿中 BMN 111 の平均 PK パラメータ 37
表 2.6.4.3.1.7-1 サルにおける BMN 111 の TK パラメータ 41
表 2.6.4.3.1.7-2 サル血漿中 BMN 111 の投与量比例性 43
表 2.6.4.3.2.1-1 雌ラットの GD 6 及び GD 17 に BMN 111 の 90 µg/kg、270 µg/kg、540 µg/kg を SC 投与したときの血漿中 TK パラメータ 46
表 2.6.4.3.2.1-2 GD 6 及び GD 17 に BMN 111 を SC 投与したときの雌ラット血漿中の BMN 111 の投与量比例性 46
表 2.6.4.3.2.2-1 ラット血漿中 BMN 111 の TK パラメータ：1 日目及び 28 日目 48
表 2.6.4.3.2.2-2 BMN 111 の血漿中 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}180m}$ の雌雄比 50
表 2.6.4.3.2.2-3 ラット血漿中 BMN 111 の投与量比例性 50
表 2.6.4.3.2.3-1 雌雄ラットに BMN 111 の 90 µg/kg、270 µg/kg、540 µg/kg を SC 投与したときの血漿中 TK パラメータ 53
表 2.6.4.3.2.3-2 BMN 111 を 1 日目、GD 7、50 日目に SC 投与したときのラット血漿中 BMN 111 曝露量比例性 54
表 2.6.4.3.2.4-1 GD 6 から LD 20 まで BMN 111 を 1 日 1 回 SC 投与した母動物の GD 6 と LD 14 における血漿中濃度及び乳汁中濃度 55
表 2.6.4.3.2.4-2 母動物 SD ラットにおける BMN 111 の乳汁血漿濃度比 55
表 2.6.4.3.2.5-1 BMN 111 を連日 SC 投与したラットにおける血漿中 PK パラメータ 57
表 2.6.4.3.2.5-2 ラット血漿中における BMN 111 の投与量比例性 58
表 2.6.4.3.2.6-1 投与 1 日目及び 182 日目の雌雄を合わせた血漿中薬物動態パラメータ C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ における BMN 111 の投与量比例性 61
表 2.6.4.3.2.6-2 1 日目並びに 182 日目におけるラットに BMN 111 を単回及び連日反復投与したときの BMN111 の PK パラメータ 62

表 2.6.4.3.2.6-3 抗 BMN 111 抗体の発現率及び用量群別・試験日別データ 65
表 2.6.4.3.2.6-4 抗 BMN 111 抗体の発現率と性別によるデータ 65
表 2.6.4.3.2.7-1 BMN 111 の 45、135 及び 240 μg/kg を SC 投与したときの GD 7 及び GD 19 における雌ウサギ血漿中 TK パラメータ 68
表 2.6.4.3.2.7-2 雌ウサギに BMN 111 を SC 投与したときの BMN 111 曝露量の比例性 69
表 2.6.4.3.2.8-1 BMN 111 の 45、135 及び 240 μg/kg を SC 投与したときの GD 7 及び GD 19 における雌ウサギ血漿中 BMN 111 の TK パラメータ 71
表 2.6.4.3.2.8-2 雌ウサギに BMN 111 を漸増 SC 投与したときの BMN 111 の投与量比例性 72
表 2.6.4.3.2.9-1 サル血漿中 BMN 111 の平均 TK パラメータ 74
表 2.6.4.3.2.9-2 サル血漿中 BMN 111 の投与量比例性 78
表 2.6.4.3.2.9-3 BMN 111 サル血漿における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}600m}$ の雌雄の比較 78
表 2.6.4.3.2.10-1 サル血漿中 BMN 111 の TK パラメータ 80
表 2.6.4.3.2.10-2 サル血漿中 BMN 111 の投与量比例性 84
表 2.6.4.3.2.11-1 サル血漿中 BMN 111 の TK パラメータ（2 日目） 86
表 2.6.4.3.2.11-2 サル血漿中 BMN 111 の TK パラメータ（4 週目） 87
表 2.6.4.3.2.11-3 サル血漿中 BMN 111 の TK パラメータ（12 週目） 88
表 2.6.4.3.2.11-4 サル血漿中 BMN 111 の TK パラメータ（44 週目） 90
表 2.6.4.3.2.11-5 サル血漿中 BMN 111 の投与量比例性 91
表 2.6.4.4.2-1 試験 1：BMN 111-11-003-A 98
表 2.6.4.4.2-2 試験 2：BMN 111-11-003-B 99
表 2.6.4.4.3-1 ラット血漿中 BMN 111 の薬物動態パラメータ 106
表 2.6.4.4.4-1 雄性 SD ラットに ^{124}I-BMN 111 を単回 SC 投与したときの血漿及び組織中放射能濃度の平均値（第 1 群：90 μg/kg） 111
表 2.6.4.9-1 曝露及び安全係数 124

図目次

図 2.6.4.3.1.1-1 マウス血漿における BMN 111 の濃度推移 雄（A、C）、雌（B、D）、WT FVB（A、B）、FGFR3^{ACH} FVB（C、D） 25
図 2.6.4.3.1.2-1 ラットにおける BMN 111 の血漿中濃度推移 28
図 2.6.4.3.1.3-1 ラットにおける BMN 111 の血漿中濃度推移 30
図 2.6.4.3.1.4-1 7 日齢ラットに単回 SC 投与したときの血漿中 BMN 111 濃度推移 32
図 2.6.4.3.1.5-1 SD ラットに BMN 111（360 μg/mL）を単回 SC 投与したときの血漿中濃度推移 平均値（±SD、各時点 n=3） 33
図 2.6.4.3.1.5-2 SD ラットに BMN 111（360 μg/mL）を単回 SC 投与したときの血漿中濃度推移 平均値（±SD、各時点 n=6） 34

図 2.6.4.3.1.6-1 雄性ラットに単回 SC 又は IM 投与したときの平均（±SD）血漿中 BMN 111 濃度推移 39
図 2.6.4.3.1.7-1 サルにおける BMN 111 の平均血漿中濃度推移（上段：SC、下段：IV）.43
図 2.6.4.3.2.1-1 雌ラットにおける血漿中 BMN 111 濃度推移 44
図 2.6.4.3.2.2-1 雌雄ラット血漿中 BMN 111 濃度推移 平均値（±SD、各測定時点 n=3）：1 日目及び 28 日目 49
図 2.6.4.3.2.3-1 雌雄ラット血漿中 BMN 111 濃度推移（上段左 1 日目雌；上段右 1 日目雄；下段左 GD 7；下段右 50 日目雄） 52
図 2.6.4.3.2.5-1 雌雄ラット血漿中 BMN 111 濃度推移（各測定時点の平均値±SD、n=3）：投与 1、85 及び 176 日目 59
図 2.6.4.3.2.6-1 生後 7 日目及び 188 日のラットに BMN 111 を単回投与したときの血漿中濃度推移 63
図 2.6.4.3.2.7-1 雌ウサギにおける血漿中 BMN 111 濃度推移 67
図 2.6.4.3.2.8-1 雌ウサギの血漿中 BMN 111 濃度推移 70
図 2.6.4.3.2.9-1 雌雄サル血漿中 BMN 111 濃度推移 平均値±SD：2 日目及び 28 日目 77
図 2.6.4.3.2.10-1 1、85 及び 176 日目における雌雄サル血漿中 BMN 111 の濃度推移（±SD） 83
図 2.6.4.3.2.11-1 雌雄サルにおける BMN 111 の血漿中濃度推移（±SD）：投与 2 日目並びに投与 4、12 及び 44 週目 92
図 2.6.4.3.2.11-2 BMN 111 の雌雄を合わせたサルの血漿中濃度推移（±SD）：投与 2 日目並びに投与 4、12 及び 44 週目 93
図 2.6.4.4.1-1 BMN 111 の血漿中 cGMP 産生に及ぼす影響 95
図 2.6.4.4.1-2 BMN 111 の脛骨遠位部及び脛骨中央骨幹部の cGMP 産生に及ぼす影響 96
図 2.6.4.4.1-3 BMN 111 の腎臓（上）、肺（中）及び脳（下）の cGMP 産生に及ぼす影響. 97
図 2.6.4.4.2-1 連日投与したときの成長板含有組織及び腎臓における cGMP 産生 100
図 2.6.4.4.2-2 連日投与したときの成長板における CNP 免疫蛍光 101
図 2.6.4.4.2-3 投与終了後の CNP の存在と活性 102
図 2.6.4.4.2-4 投与終了後の成長板における CNP 免疫蛍光 103
図 2.6.4.4.3-1 投与法別の血漿中 BMN 111 濃度推移 平均値（±SD、n=3） 105
図 2.6.4.4.3-2 グラム当たりの投与量に対するダイナミック PET%（IV） 108
図 2.6.4.4.3-3 グラム当たりの投与量に対するスタティック PET%（SC） 109
図 2.6.4.4.3-4 Ex Vivo におけるグラム当たりの投与量に対する% 109
図 2.6.4.5.1-1 BMN 111 の NEP への耐性 112
図 2.6.4.5.2-1 WT マウスと ACH マウスにおける NPR2 及び NPR3 遺伝子発現 114
図 2.6.4.5.2-2 若齢並びに老齢ラットにおける NPR2 及び NPR3 遺伝子発現 116

図 2.6.4.5.2-3 雌雄サルにおける NPR2 及び NPR3 遺伝子発現..... 118

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）
%ID	percent injected dose	投与量に対する割合
%ID/g	percent injected dose per gram of tissue	組織 1 g 当たりの投与量に対する割合
ACH	achondroplasia	軟骨無形成症
ADA	antidrug antibody	抗薬物抗体
AR	accumulation ratio	蓄積率
AUC	area under the concentration-time curve	濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}180m}$	area under the concentration-time curve from time 0 to 180 min concentration	0 時間から 180 分までの濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}600m}$	area under the concentration-time curve from time 0 to 600 min concentration	0 時間から 600 分までの濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}\infty}$	area under the concentration-time curve from time 0 to infinity concentration	0 時間から無限時間までの濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}t}$	area under the concentration-time curve from time 0 to the last measurable concentration	0 時間から最終測定時点までの濃度－時間曲線下面積
BBB	blood brain barrier	血液脳関門
BLQ	below limit of quantitation	定量限界未満
cGMP	cyclic guanosine monophosphate	環状グアノシン一リン酸
CL	clearance	クリアランス
CL/F	apparent clearance	見かけのクリアランス
C_{max}	maximum observed concentration	最高濃度
CNP	C-type natriuretic peptide	C 型ナトリウム利尿ペプチド
CNS	central nervous system	中枢神経系
CV	cardiovascular	心血管系
CV	coefficient of variation	変動係数
DN	dose normalized	投与補正
ECLA	electrochemiluminesence assay	電気化学発光測定
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着測定
F	female	雌
GD	gestation day	妊娠日齢
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性試験の実施に関する基準
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
h	hour	時間
HRP	horseradish peroxidase	ホースラディッシュペルオキシダーゼ

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）
IM	intramuscular	筋肉内
IV	intravenous	静脈内
K_2EDTA	dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid	エチレンジアミン四酢酸二カリウム
LD	lactation day	授乳日齢
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
LTS	long-term stability	長期安定性
M	male	雄
Min	minute	分
MRD	minimum required dilution	最小希釈倍数
N.D.	not done	実施せず
n/a	not available	利用不可
NA	not applicable/not available	適用不可
NC	not calculated	計算せず
NEP	neutral endopeptidase	中性エンドペプチダーゼ
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NPR	natriuretic peptide receptor	ナトリウム利尿ペプチド受容体
NZW	New Zealand white	ニュージーランド白
PBS	Phosphate-buffered saline	リン酸緩衝生理食塩水
PK	pharmacokinetics	薬物動態
PND	postnatal day	生後日
QC	quality control	QC 又は精度管理
qRT-PCR	quantitative real-time polymerase chain reaction	定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応
RLU	relative light units	相対光単位
SC	subcutaneous	皮下
SD	Sprague Dawley	–
SD	standard deviation	標準偏差
$t_{1/2}$	elimination phase half-life	半減期
TAb	total anti-BMN 111 antibody	総抗 BMN 111 抗体
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
T_{max}	time to reach maximum observed concentration	最高濃度到達時間
TMB	tetramethylbenzidine	テトラメチルベンジジン
UV	ultraviolet	紫外
V_{ss}	distribution volume at steady state	定常状態における分布容積
Vz/F	apparent volume of distribution	見かけの分布容積
WT	wild type	野生型

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

マウス、ラット、サル及びウサギを用いてBMN 111の非臨床薬物動態（PK）を検討した。これらの試験は、単回投与7試験及び反復投与11試験を含む毒性試験と併せて実施した。さらに、げっ歯類を用いた4試験（マウス及びラット各2試験）でBMN 111の分布を、2試験でBMN 111の代謝安定性を検討した。

臨床投与経路をサポートするため、動物試験では臨床投与経路である皮下（SC）投与を用いてBMN 111の効果を評価した。BMN 111をSC投与後のバイオアベイラビリティを評価するため、ラット及びサルに静脈内（IV）ボーラス投与又は筋肉内（IM）投与を単回投与毒性試験で評価した。反復投与毒性及びトキシコキネティクス（TK）は、連日の投与スケジュールで実施した。心血管（CV）関連の薬理活性の傾向を確認するために、臨床徴候が無い程度から明らかなCV関連の臨床徴候が現れる投与量を選択したCVの安全性薬理試験を除いて、骨格の成長がほとんど又は全くない程度から過度の骨格成長までの段階的な薬理活性を確認できる非臨床投与量を選択した。薬物濃度及び抗体測定法は、それぞれ血漿及び血清で開発した。バイオマーカー測定法は、動物においてBMN 111により誘導されるオンターゲット、オフターゲット、及びコラーゲン代謝活性を評価するために開発した。

マウス、ラット及びサルにおける単回及び反復投与TK試験から以下の結果が得られた。

- SC投与後のBMN 111の吸収は速やかである。SC投与による絶対的バイオアベイラビリティは低いが、十分な全身曝露量と標的組織分布が得られ、十分な成長速度が誘発された。
- 半減期（$t_{1/2}$）は、30分未満であり、その範囲は9～126分であった。
- 反復投与により、血漿における曝露量の増加が認められたが、これらの変化は、反復投与試験期間中の動物の体重増加に伴って総BMN 111投与量が増加したことに起因している可能性が高いと考えられた。
- PKに一貫した性差は認められなかった。
- BMN 111は、内因性C型ナトリウム利尿ペプチド（CNP）の分解を担う酵素である中性エンドペプチダーゼに抵抗性がある。
- 活性BMN 111の標的組織への分布がみられた。脳への分布は採取した組織の中で最も少なく、血液脳関門（BBB）を通過するBMN 111が限られていることを示唆している。

PK、TK、代謝及び分布試験の概要表を表 2.6.4.1-1に示した後、それぞれの試験の方法、結果、結論をより詳細に記述する。

表 2.6.4.1-1 BMN 111 の薬物動態、トキシコキネティクス、代謝及び分布試験の概要

Type of Study	Test System	Age at Initiation of Dosing	Method of Administration	Duration and Administration Schedule	Doses (µg/kg)[a]	GLP Compliance	Study/Report Number	Summary Location	Location in CTD
Absorption: Single Dose									
Pharmacokinetics in ACH (*Fgfr3*^{ach}) and WT mice	Mouse, FGFR3^{ACH} FVB Mouse, wild type FVB	24 to 31 postnatal days	SC	Single dose	280, 600	Non-GLP	[BMN111-15-100]	[2.6.5.3-1]	4.2.2.2
Single dose toxicity in rats	Rat, Crl:CD(SD)	8 to 10 weeks	SC & IV	Single dose, 7-day recovery	SC: 0, 80, 240, 800. IV: 0, 15, 50, 150	GLP[b]	[BMN111-11-015]	[2.6.5.3-2]	4.2.3.1
CNS Safety Pharmacology Following a Single SC Admin. to Rats	Rat, Hsd:SD	8 to 10 weeks	SC	Single dose	0, 30, 100, 300	GLP[b]	[BMN111-11-021]	[2.6.5.3-3]	4.2.1.3
Pharmacokinetics in neonatal rats	Rat, Hsd:SD	7 days	SC	Single dose	180, 360	Non-GLP	[BMN111-15-072]	[2.6.5.3-4]	4.2.2.2
Pharmacokinetics in rats, comparing age groups	Rat, Hsd:SD	7, 21, 45 days or 13 weeks	SC	Single dose	360	Non-GLP	[BMN111-15-076]	[2.6.5.3-5]	4.2.2.2
Pharmacokinetics by route in rats	Rat, Hsd:SD	8 weeks	SC & IM	Single dose	SC: 80, 240, 800. IV: 240	Non-GLP	[BMN111-17-048]	[2.6.5.3-6]	4.2.2.2
Single dose toxicity in cynomolgus monkeys	Monkey, cynomolgus	2 to 3.5 years	SC & IV	Single dose, 7-day recovery	SC: 0, 20, 60, 200. IV: 0, 2, 6, 20	GLP[b]	[BMN111-11-006]	[2.6.5.3-7]	4.2.3.1
Absorption: Repeat Dose									
Embryo-fetal developmental toxicity in rats	Rat, Crl:CD(SD)	9 to 10 weeks	SC	Daily, GD 6-17	0, 90, 270, 540	GLP[c]	[BMN111-14-061]	[2.6.5.4-1]	4.2.3.5.2

Type of Study	Test System	Age at Initiation of Dosing	Method of Administration	Duration and Administration Schedule	Doses (µg/kg)[a]	GLP Compliance	Study/Report Number	Summary Location	Location in CTD
28-day repeat dose toxicity in rats	Rat, Crl:CD(SD)	7 to 8 weeks	SC	Daily, 28 days, 7-day recovery	0, 50, 150, 500	GLP[b]	[BMN111-11-029]	[2.6.5.4-2]	4.2.3.2
Male and female fertility and early embryonic development in rats	Rat, Crl:CD(SD)	9 to 10 weeks	SC	Males: Daily, from 28 days pre-cohabitation to confirmation of mating Females: Daily, 15 days pre-cohabitation to GD 7	0, 90, 270, 540	GLP[b]	[BMN111-14-060]	[2.6.5.4-3]	4.2.3.5.1
Pre- and postnatal developmental toxicity study in rats	Rat, Crl:CD(SD)	11 to 13 weeks	SC	Daily, GD 6 to LD 20	0, 90, 270, 540	GLP[c]	[BMN111-18-103]	[2.6.5.4-4]	4.2.3.5.3
26-week repeat dose toxicity study in rats	Rat, Hsd:SD	8 months	SC	Daily, 26 weeks, 28-day recovery	0, 50, 150, 500	GLP[c]	[BMN111-11-036]	[2.6.5.4-5]	4.2.3.2
26-week repeat dose toxicity study in juvenile rats	Rat, Crl:CD(SD)	7 days	SC	Daily, 26 weeks, 6-week recovery	0, 10, 30, 90	GLP[b]	[BMN111-11-052]	[2.6.5.4-6]	4.2.3.2
Embryo-fetal developmental toxicity dose-range finding in rabbits	Rabbit, Hra:(NZW) SPF	6 months	SC	Daily, GD 7-20	0, 45, 135, 240	Non-GLP	[BMN111-14-055]	[2.6.5.4-7]	4.2.3.5.2
Embryo-fetal developmental toxicity in rabbits	Rabbit, Hra:(NZW) SPF	5 to 6 months	SC	Daily, GD 7-20	0, 45, 135, 240	GLP[b]	[BMN111-14-081]	[2.6.5.4-8]	4.2.3.5.2
28-day repeat	Monkey,	2 to 3 years	SC	Daily, 28 days,	0, 20, 90,	GLP[b]	[BMN111-11-019]	[2.6.5.4-9]	4.2.3.2

Type of Study	Test System	Age at Initiation of Dosing	Method of Administration	Duration and Administration Schedule	Doses (µg/kg)[a]	GLP Compliance	Study/Report Number	Summary Location	Location in CTD
dose toxicity in cynomolgus monkeys	cynomolgus			7-day recovery	300				
26-week repeat dose toxicity study in juvenile cynomolgus monkeys	Monkey, cynomolgus	2 to 3 years	SC	Daily, 26 weeks, 28-day recovery	0, 20, 90, 300	GLP[b]	[BMN111-11-035]	[2.6.5.4-10]	4.2.3.2
44-week repeat dose toxicity study in cynomolgus monkeys	Monkey, cynomolgus	4 to 5 years	SC	Daily, 44 weeks, 13-week recovery	0, 25, 75, 250	GLP[b]	[BMN111-11-043]	[2.6.5.4-11]	4.2.3.2
Distribution									
Activation of NPR-B in mice after single dose	Mouse, CD-1	8 to 10 weeks	SC	Single dose	0, 800	Non-GLP	[BMN111-11-002]	[2.6.5.5-1]	4.2.2.3
Activation of NPR-B in mice after repeat doses	Mouse, CD-1	8 to 10 weeks	SC	Daily, up to 8 days	0, 800	Non-GLP	[BMN111-11-003]	[2.6.5.5-2]	4.2.2.3
Biodistribution of BMN 111 in Rats	Rat, Hsd:SD	7 weeks	SC & IV	Single Dose	SC: 90, IV: 50	Non-GLP	[BMN111-17-027]	[2.6.5.5-3]	4.2.2.3
Biodistribution of BMN 111 in Rats	Rat, Hsd:SD	7 weeks	SC	Single Dose	90	Non-GLP	[BMN111-18-004]	[2.6.5.5-4]	4.2.2.3
Metabolism									
NEP clearance	NA	NA	*In vitro*	0, 20, 40, 80, 160 minutes	100 µmol/L	Non-GLP	[BMN111-10-109]	[2.6.5.10-1]	4.2.2.4
Targeted gene expression analysis of NPR-B and NPR-C	Mouse, Rat, Monkey	NA	NA	NA	NA	Non-GLP	[BMN111-16-024]	[2.6.5.10-2]	4.2.2.4

ACH, achondroplasia; CNS, central nervous system; GD, gestation day; GLP, Good Laboratory Practice; IM, intramuscular; IV, intravenous; LD, lactation day; min, minute; NA, not applicable; NEP, neutral endopeptidase; NPR, natriuretic peptide receptor; SC, subcutaneous; SD, Sprague Dawley; WT, wild type; NZW, New Zealand white

a) μg/kg unless otherwise stated

b) This study was compliant with United States Food and Drug Administration Good Laboratory Practice Regulations, Title 21 of the United States Code of Federal Regulations Part 58; Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare Good Laboratory Practice Standards Ordinance No. 21; Organisation for Economic Co-operation and Development Principles of Good Laboratory Practice, ENV/MC/CHEM(98)17, as applicable.

c) This study was performed in accordance with United States Food and Drug Administration Good Laboratory Practice Regulations.

2.6.4.2 分析法

BMN 111 の非臨床試験のために、生体試料中薬物濃度分析法をバリデーション又は特性を評価した（表 2.6.4.2-1）。初期の動物試験における PK のため、ラット及びサル血漿中の BMN 111 を、バリデートされた酵素結合免疫吸着測定（ELISA）を用いて測定した。後期のラット、ウサギ、及びサルの試験における BMN 111 の薬物濃度は、感度及び定量範囲が改善されバリデートされた第 2 世代の電気化学発光測定（ECLA）によって測定した。バリデートされた分析法は、医薬品の安全性試験の実施に関する基準（GLP）に準じないマウス PK 試験のマウス血漿中濃度測定に適切であった。BMN 111 が動物において免疫応答を誘発するかを検討するために、バリデートされた総抗 BMN 111 抗体（TAb）ECLA を開発し、試料の測定に用いた。PK 及び総抗体測定法は、生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン、Guideline on Bioanalytical Method Validation EMA、2012；Bioanalytical Method Validation、FDA (CDER) Guidance for Industry、2001 年 5 月；International Conference on Harmonization (ICH) Harmonized Tripartite Guideline：Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1)、2005 年 11 月；Guideline on Immunogenicity Assessment of Biotechnology-Derived Therapeutic Proteins、EMA、2008 年 4 月及び Assay Development and Validation for Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Product、FDA (CDER)、2016 年 4 月を含む、バリデーション時の FDA ガイドライン及び業界ガイドラインに従ってバリデートされた。

表 2.6.4.2-1 BMN 111 の非臨床試験のための生体試料中薬物濃度分析法

Report Number	Report Title
[BMN111-10-102]	Quantitative determination of BMN 111 in Sprague-Dawley rat K_2EDTA plasma using an ELISA
[BMN111-10-103]	Quantitative determination of BMN 111 in cynomolgus monkey K_2EDTA plasma using an ELISA
[BMN111-13-005]	Detection of BMN 111 in cynomolgus monkey K_2EDTA plasma using a ligand binding assay
[BMN111-14-059]	Quantitative measurement of BMN 111 in rabbit K_2EDTA plasma by ECLA
[BMN111-14-063]	Quantitative measurement of BMN 111 in rat K_2EDTA plasma by ECLA
[BMN111-18-106]	Semi-quantitative measurement of BMN 111 in rat milk by ECLA
[BAS-GR-15-039]	Quantitative measurement of BMN 111 in mouse K_2EDTA plasma by ECLA
[BMN111-10-104]	Qualitative determination of total binding antibodies to BMN 111 in Sprague-Dawley rat serum using a bridging ECLA
[BMN111-10-105]	Qualitative determination of total binding antibodies to BMN 111 in cynomolgus monkey serum using a bridging ECLA
[TNJR15-014]	Validation of an analytical method for the detection of anti-BMN 111 total antibodies in rat serum by MSD® ECLA

Report Number	Report Title
[TNJR15-013]	Validation of an analytical method for the detection of anti-BMN 111 total antibodies in rabbit serum by MSD® ECLA
[8379-472][a]	Validation of an ECLA immunoassay for detection, confirmation, and titration of anti-BMN 111 total antibodies in rabbit serum

ECLA, electrochemiluminescence assay; K_2EDTA, dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; LTS, long-term stability; MSD, meso scale discovery

a) Validation 8379-472 assessed additional LTS time points using the method from validation TNJR15-013 (Covance, West Trenton, NJ) after transfer to Covance, Indianapolis IN.

2.6.4.2.1 第 1 世代の ELISA 法

初期のラット試験（[BMN111-11-015、BMN111-11-021、BMN111-11-029、BMN111-11-036、BMN111-11-052]）及びサル試験（[BMN111-11-006、BMN111-11-019、BMN111-11-035]）における薬物濃度測定ため、バリデートされた ELISA（ラット血漿バリデーション試験[BMN111-10-102]、サル血漿バリデーション試験[BMN111-10-103]）を用いて、BMN 111 の血漿中濃度を [redacted]（[redacted]）にて測定した。測定では、マウスモノクローナル抗 BMN 111 IgG（[redacted]）を用いて、96 ウェルプレートに BMN 111 を捕獲した。ウサギポリクローナル抗 CNP IgG を検出に使用し、続いてホースラディッシュペルオキシダーゼ（HRP）を結合したポリクローナルヤギ抗ウサギ IgG Fc 試薬を添加した。TMB（テトラメチルベンジジン）HRP 基質を用いてプレートを発色させた。Molecular Devices（Sunnyvale, CA）Vmax Kinetic Microplate Reader を用いて、650 nm でのバックグラウンドを差し引いた 450 nm における各ウェルの吸光度を読み取った。各試料中の BMN 111 濃度は、4 パラメータロジスティック［StatLIA® Immunoassay software（Brendan Technologies, Inc., Carlsbad, CA）］検量線を用いて読み取った吸光度により算出した。血漿試料の最小希釈倍率（MRD）は 1:10 であり、定量下限（LLOQ）は、無希釈ラット血漿で 500 pg/mL、1:5 希釈サル血漿で 250 pg/mL であった。

分析法の要約を表 2.6.4.2-2 に示す。

2.6.4.2.2 第 2 世代の ECLA 法

後期のラット試験（[BMN111-14-060、BMN111-14-061、BMN111-15-072、BMN111-15-076、BMN111-17-027、BMN111-17-048、BMN111-18-004、BMN-111-18-103]）、ウサギ試験（[BMN111-14-055、BMN111-14-081]）及びサル試験（[BMN111-11-043]）における BMN 111 の血漿中濃度は、BioMarin 社でバリデートされた ECLA で測定した（ラット血漿バリデーション試験[BMN111-14-063]、ウサギ血漿バリデーション試験[BMN111-14-059]、サル血漿バリデーション試験[BMN111-13-005]）。ECLA は ELISA と同じ試薬を用いて分析感度を向上させるために開発した。測定では、ビオチン化マウスモノクローナル抗 BMN 111 IgG 捕獲抗体（[redacted]）とルテニウム標識ウサギポリクローナル抗 CNP 検出抗体を用いた。Meso Scale Discovery（MSD, Rockville, MD）Read Buffer T を ECL シグナル発生に使用し、アッセイプレートを MSD Sector Imager 又は Quickplex 機器で読み取った。各試料中の BMN 111 濃度は、検量線

を用いて算出した。血漿試料の MRD は 1:10 であり、LLOQ は、無希釈のラット又はウサギ血漿でそれぞれ 100 pg/mL、サル血漿で 78.13 pg/mL であった。

上記のラット血漿測定法を、非 GLP マウス PK 試験（[BMN111-15-100]）でマウス血漿中の BMN 111 を測定するため適用した（[BAS-GR-15-039]）。マウス血漿中の LLOQ は 137 pg/mL であった。

ラット血漿用の ECLA 法（[BMN111-14-063]）を、ラット乳汁中の BMN 111 の半定量測定に適用した（[BMN111-18-106]）。乳汁からの干渉物を除外するため、測定プレートに添加する前に、乳汁試料を Biotin Extraction Acid Dissociation（BEAD）処理（[Niu 2017]）し BMN 111 を抽出した。ラット乳汁試料及びプールしたラット乳汁で調製した標準溶液及び QC 試料の両方を緩衝液で希釈し、酸性化後、ビオチン化マウス抗 BMN 111 IgG 抗体（[redacted]）とインキュベーションした。次に磁性ストレプトアビジン Dynabeads を加え、溶液を pH 中和後、マトリックス成分を洗い流す間、マグネットを用いて磁気ビーズに結合した BMN 111 を保持した。BMN 111 を酸によってビーズから解離させ、溶出液を中和後 ECLA 測定プレートに添加した。各試料中の BMN 111 濃度は、検量線を用いて算出した。乳汁サンプルの MRD は 1:14.4 であり、LLOQ は無希釈の乳汁で 410 pg/mL であった。

分析法の要約を表 2.6.4.2-2 に示す。

表 2.6.4.2-2 BMN 111 非臨床薬物動態試験における分析法の要約

Species and Matrix	Assay Type	Validation/Characterization[a]	MRD[b]	Sensitivity	Precision[c] (%CV)	Accuracy[c] (|%RE|)	LTS	Studies
Rat Plasma	Quantitative ELISA	[BMN111-10-102]	1:10	500 pg/mL	≤ 23.2%	≤ 5.6%	N.D.	[BMN111-11-015] [BMN111-11-021] [BMN111-11-029] [BMN111-11-036] [BMN111-11-052]
Monkey Plasma	Quantitative ELISA	[BMN111-10-103]	1:5	250 pg/mL	≤ 23.2%	≤ 12.9%	N.D.	[BMN111-11-006] [BMN111-11-019] [BMN111-11-035]
Monkey Plasma	Quantitative ECLA	[BMN111-13-005]	1:10	78.13 pg/mL	≤ 14.2%	≤ 11.6%	N.D.	[BMN111-11-043]
Rat Plasma	Quantitative ECLA	[BMN111-14-063]	1:10	100 pg/mL	≤ 8.4%	≤ 4.4%	54 days at -60 to -80°C	[BMN111-14-060] [BMN111-14-061] [BMN111-15-072] [BMN111-15-076] [BMN111-17-027] [BMN111-17-048] [BMN111-18-004] [BMN111-18-103]
Rabbit Plasma	Quantitative ECLA	[BMN111-14-059]	1:10	100 pg/mL	≤ 11.0%	≤ 14.3%	57 days at -60 to -80°C	[BMN111-14-055] [BMN111-14-081]
Rat Milk	Semi-Quantitative BEAD ECLA	[BMN111-18-106]	1:14.4	410 pg/mL	≤ 12.8%	≤ 3.1%	4 weeks at -60 to -80°C	[BMN111-18-103]
Mouse Plasma	Quantitative ECLA	[BAS-GR-15-039]	1:10	137 pg/mL	≤ 14.8%	≤ 10.3%	N.D.	[BMN111-15-100]

BEAD, biotin extraction acid dissociation; ECLA, electrochemiluminescence assay; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; GLP, Good Laboratory Practice; LTS, long-term stability; N.D., not done

a) GLP validation studies were compliant with FDA United States code of federal regulations, Title 21, Part 58: Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Study.
b) MRD: minimum required dilution
c) Includes intra-assay and inter-assay precision and accuracy across the assay range of quantitation.

2.6.4.2.3 第 1 世代の総抗体測定

初期のラット試験（[BMN111-11-029、BMN111-11-036、BMN111-11-052]）及びサル試験（[BMN111-11-019、BMN111-11-035、BMN111-11-043]）におけるラット及びサル血清中の TAb の測定を、バリデートされたブリッジング ECLA（ラット測定法バリデーション試験[BMN111-10-104]、サル測定法バリデーション試験[BMN111-10-105]）を用いて ALTA Analytical Laboratory（San Diego, CA）で実施した。血清 QC 試料及び試験試料を、ポリプロピレンチューブ中でビオチン標識 BMN 111 及びルテニウム標識 BMN 111 の混合物とインキュベーションした。試料中の抗 BMN 111 抗体はビオチン及びルテニウム結合試薬の両方に結合し、ビオチン-BMN 111-ADA-BMN 111-ルテニウム複合体（ADA：抗薬物抗体）を形成する。インキュベーション後、試料と試薬混合物を、ブロックした MSD ストレプトアビジンコート Standard MA2400 96 ウェルプレートの 2 ウェルに添加し、BMN 111-ADA 複合体をプレートに捕獲するためにインキュベーションした。プレートに結合しない物質を洗い流し、MSD Read Buffer T（2X）を添加し、MSD Sector™ Imager 2400 を用いてプレートを読み取った。各ウェル中の測定値は、各試料中の抗 BMN 111 陽性対照抗体の濃度に比例していた。

測定はスクリーニング試験、確認試験、力価測定の 3 段階で行った。最初に試料を希釈（ラット、1:20（MRD）及び 1:100；サル、1:50（MRD）及び 1:150）して n=2 でスクリーニング試験を行い、抗体の有無を調べた。MRD でのマトリックスの影響又は薬物による干渉を確認するため、最初に 2 種の希釈液をスクリーニングした。各試料からの測定値を、2 セットの陰性品質コントロール平均の相対発光量（RLU）に、バリデーション中に確立されたカットポイントを加えたプレートのカットポイント RLU に対して評価した。スクリーニング試験のカットポイントは、分析法バリデーション中に正常な薬物未投与の動物由来の 30 個体の個々の血清を n=2 で測定し、測定値の上側 95 パーセンタイル値に基づいて統計的に決定した。

最初に希釈した試料でプレート特異的カットポイント RLU 以下の測定値の試料は陰性とした。カットポイントより大きい平均 RLU を有する試料は、試料の測定値がカットポイント以下になるまで連続的に希釈する力価測定においてさらに評価した。測定値が力価カットポイント以下になる直前の最後の希釈倍数を各陽性検体の力価とした。スクリーニングで陽性と判定されても、同じ動物の薬物投与前の検体の力価と同等以下の力価が得られた検体は陰性とした。カットポイントを超える RLU で、同じ動物から薬物投与前の検体の力価を超える力価を示した検体は陽性とみなした。非標識 BMN 111 存在下での阻害率が確認カットポイントよりも大きければ、陽性試料は確認試験で陽性であると確認された。カットポイントは、分析法バリデーション中に正常な薬物未投与の動物由来の 30 個体の個々の血清を n=2 で測定し測定値抑制の上側 99 パーセンタイル値に基づいて決定した。

バリデートされた TAb 測定法の要約を表 2.6.4.2-3 に示す。

2.6.4.2.4 第 2 世代の総抗体測定

後期のラット試験（[BMN111-14-060、BMN111-14-061]）及びウサギ試験（[BMN111-14-081]）における TAb の測定をバリデートされた方法を用いて、[redacted]（[redacted]、[redacted]、ラット測定法バリデーション試験[TNJR15-014]；ウサギ測定法バリデーション試験[TNJR15-013]）で実施した。試験試料の測定終了後、長期安定性評価バリデーション報告書[8379-472]を完了するために、ウサギでの測定法を[redacted]、[redacted]、[redacted] から [redacted]、[redacted]、[redacted] に移管した。

第 2 世代のブリッジング ECLA（TAb ECLA）は、上述の第 1 世代の測定法と方法及び性能は類似していたが、薬物に対する忍容性に明らかな改善が認められた。本法では、スクリーニング試験、確認試験、力価測定の 3 段階で行い、ビオチン標識 BMN 111 及びルテニウム標識 BMN 111 を試験試料中の抗 BMN 111 抗体に結合した。まず、試料を、測定希釈液で 1:10（MRD）希釈し、スクリーニング試験をおこなった。バリデーション試験で決定したスクリーニングカットポイントを上回る平均測定値を有する試料は、さらに確認試験を行った。スクリーニング試験のカットポイントは、測定法バリデーション中に正常な薬物未投与の動物由来の 48 個体の個々の血清を 3 回測定し得られた測定値の上側 95 パーセンタイル値に基づいて統計的に決定した。スクリーニング試験で陽性であり、分析法バリデーションで決定された確認カットポイント以上又は同等であり、非標識 BMN 111（確認試験において）の存在下で阻害がある試料を陽性であるとみなした。確認カットポイントは、分析バリデーション中に正常な薬物未投与動物由来の血清試料から得られた測定値抑制の上側 99 パーセンタイル値に基づいて統計的に決定した。スクリーニング試験及び確認試験で陽性とされた試料を、連続的に希釈して力価測定を行った。各検体の希釈曲線から平均値が力価のカットポイントを超えた希釈係数を読み取り、各検体の力価値とした。

バリデートされた TAb 測定法の要約を表 2.6.4.2-3 に示す。

表 2.6.4.2-3 バリデートされた非臨床試験の総抗 BMN 111 抗体測定法

Assay	Validation[a]	MRD[b]	Sensitivity	Drug Tolerance	Format	Precision[c] (%CV)	Studies
Rat TAb	[BMN111-10-104]	1:20	4.8 ng/mL	10 ng/mL	Bridging ECLA	≤ 16.3%	[BMN111-11-029] [BMN111-11-036] [BMN111-11-052]
Monkey TAb	[BMN111-10-105]	1:50	98 ng/mL	10 ng/mL	Bridging ECLA	≤ 16.7%	[BMN111-11-019] [BMN111-11-035] [BMN111-11-043]
Rat TAb	[TNJR15-014]	1:10	18 ng/mL	1,000 ng/mL	Bridging ECLA	≤ 14.1%	[BMN111-14-060] [BMN111-14-061]
Rabbit TAb	[TNJR15-013]	1:10	39 ng/mL	1,000 ng/mL	Bridging ECLA	≤ 10.2%	[BMN111-14-081]

ECLA, electrochemiluminescence assay; GLP, Good Laboratory Practice; TAb, total anti-BMN 111 antibody

a) GLP validation studies were compliant with FDA United States Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58: Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Study.

b) MRD: minimum required dilution

c) Includes intra-assay and inter-assay precision of screening and titer assays

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 単回投与薬物動態試験

2.6.4.3.1.1 幼若 FGFR3^{ACH} 及び WT マウスに BMN 111 を SC 投与した薬物動態試験（試験報告書[BMN111-15-100]）

この非 GLP 試験の目的は、出生後 24～31 日の軟骨無形成（FGFR3^{ACH}）マウスと野生型（WT）マウスに BMN 111 を単回 SC 投与し、その PK を比較することであった。本試験は報告書 BMN111-15-100 及び[表 2.6.5.3-1]に要約した。

WT 及び FGFR3^{ACH} マウスに BMN 111 を出生後 21 日から 29 日の間に 1 回、肩甲骨間及び背側中央部に単回 SC 投与した。試験デザインを表 2.6.4.3.1.1-1 に示した。表 2.6.4.3.1.1-2 に示したスケジュールに従い、出生後 21～29 日（PK Day 1）に血液試料を採取した。

表 2.6.4.3.1.1-1 BMN111-15-100 の試験デザイン

Group No.	Test Material	Dose Level (μg/kg)	Genotype	No. of Animals	
				Males	Females
1	BMN 111	280	WT FVB	28	28
2	BMN 111	280	ACH FVB	28	Up to 28
3	BMN 111	600	WT FVB	up to 56	up to 56
4	BMN 111	600	ACH FVB	up to 56	up to 47

ACH, achondroplasia; WT, wild type

表 2.6.4.3.1.1-2 採血スケジュール

Group No.	Subgroup	Target No. of Males/Females[b]	Sample Collection Time Points (Approximate Time Post-dose) on PND 21 through 29						
			0 hour[a]	5 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
1-4	A	4/4 or 8/8	X	-	-	-	-	-	-
	B	4/4 or 8/8	-	X	-	-	-	-	-
	C	4/4 or 8/8	-	-	X	-	-	-	-
	D	4/4 or 8/8	-	-	-	X	-	-	-
	E	4/4 or 8/8	-	-	-	-	X	-	-
	F	4/4 or 8/8	-	-	-	-	-	X	-
	G	4/4 or 8/8	-	-	-	-	-	-	X

-, not applicable; min, minute; PND, postnatal day; X, sample collected
a) Sample collected before dosing
b) Groups 1 and 2 have up to 4/4 and Groups 3 and 4 have up to 8/8 at each time point.

血漿中 BMN 111 の PK パラメータを表 2.6.4.3.1.1-3 に、WT と FGFR3^{ACH} の PK パラメータの比較を表 2.6.4.3.1.1-4 に示す。血漿中濃度推移を図 2.6.4.3.1.1-1 に示す。

両遺伝子型の動物における両投与量で、最高濃度到達時間（T_{max}）は 5 分又は 15 分、$t_{1/2}$ は 14.8～17.4 分であった。

両遺伝子型の動物で BMN 111 の曝露は、投与量の増加と共に増加した。雄では、この増加は WT の FVB マウスではほぼ投与量比例性に増加したが、FGFR3^{ACH} FVB マウスでは、その増加は投与量比を上回るか、又は投与量比例性に近い増加を示した。雌では、いずれの遺伝子型の動物でも投与量比を下回る増加を示した。

まとめると、280 µg/kg 及び 600 µg/kg 投与における BMN 111 の PK は、WT の FVB マウスと FGFR3^{ACH} FVB マウス間で類似しており、このことは、BMN 111 を SC 投与したとき、WT と軟骨無形成症（ACH）フェノタイプの曝露及び動態は類似していることを示している。

表 2.6.4.3.1.1-3 BMN 111 を幼若 WT FVB 及び FGFR3^{ACH} FVB マウスに SC 投与したときの Day1 での血漿中 BMN 111 の薬物動態パラメータ

Genotype	Dose (μg/kg)	Gender	T_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	C_{max}/Dose (ng/mL/ (μg/kg))	AUC_{0-t} (ng·min/mL)	AUC_{0-t}/Dose (ng·min/mL/ (μg/kg))	$AUC_{0-\infty}$ (ng·min/mL)	λ_z (1/min)	$t_{1/2}$ (min)	CL/F (mL/ min/kg)	Vz/F (mL/kg)
Wild Type FVB	280	Male	15	51.2	0.183	962	3.44	977[a]	0.0291[a]	23.8[a]	286[a]	9830[a]
		Female	5	84.1	0.300	2190	7.81	NC	NC	NC	NC	NC
	600	Male	15	84.2	0.140	2080	3.47	2090	0.0399	17.4	287	7190
		Female	15	90.3	0.150	2430	4.04	2430	0.0463	15.0	247	5330
FGFR3^{ACH} FVB	280	Male	15	35.4	0.127	799	2.85	801	0.0432	16.0	349	8080
		Female	5	77.7	0.277	1120	3.98	1130[a]	0.0441[a]	15.7[a]	249[a]	5640[a]
	600	Male	15	99.1	0.165	2700	4.49	2700	0.0468	14.8	222	4740
		Female	15	54.9	0.0916	1480	2.47	1490	0.0477	14.5	403	8460

AUC, area under the concentration-time curve; CL/F, apparent SC clearance; C_{max}, maximum observed concentration; min, minute; NC, not calculated; T_{max}, time to reach maximum observed concentration; $t_{1/2}$, telimination phase half-life; Vz/F, apparent SC volume of distribution

a) Result considered as an outlier because R-squared is less than 0.800.

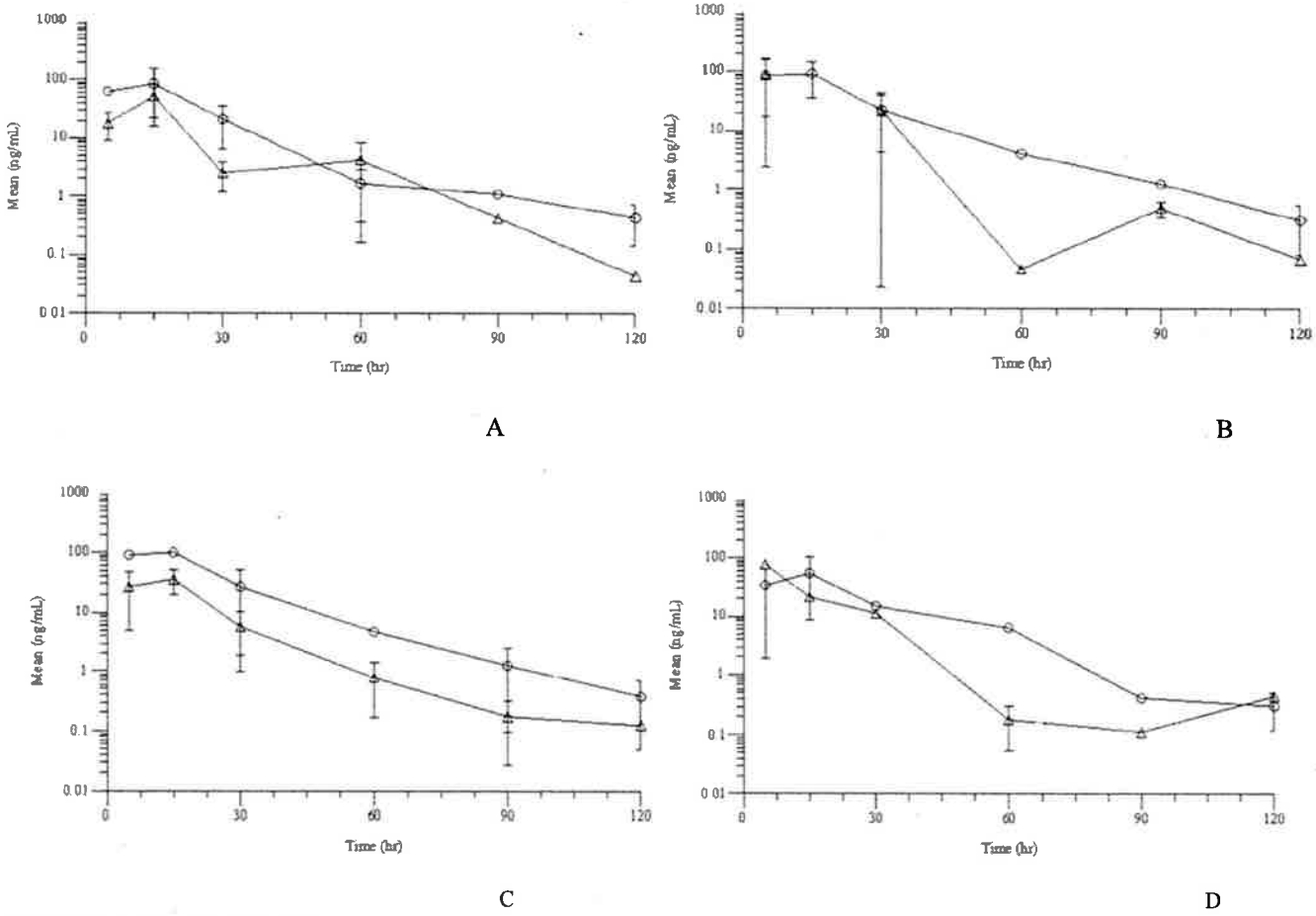
表 2.6.4.3.1.1-4 BMN 111 の SC 投与後の幼若 WT FVB 及び FGFR3^{ACH} FVB マウスにおける BMN 111 の PK パラメータ比率

Genotype Comparison	Dose (μg/kg)	Gender	Ratio C_{max}	Ratio AUC_{0-t}	Ratio $t_{1/2}$	Ratio CL/F	Ratio Vz/F
ACH FVB/ WT FVB	280	Male	0.693	0.830	NC	NC	NC
		Female	0.924	0.510	NC	NC	NC
	600	Male	1.18	1.30	0.852	0.773	0.659
		Female	0.609	0.610	0.971	1.64	1.59

ACH, achondroplasia; AUC, area under the concentration-time curve; CL/F, apparent SC clearance; C_{max}, maximum observed concentration; NC, not calculated; $t_{1/2}$, elimination phase half-life; Vz/F, apparent SC volume of distribution; WT, wild type

図 2.6.4.3.1.1-1 マウス血漿における BMN 111 の濃度推移 雄（A、C）、雌（B、D）、WT FVB（A、B）、FGFR3^{ACH} FVB（C、D）

[Δ、280 µg/kg；○、600 µg/kg]



Mean±SD, n=3 at each time point

2.6.4.3.1.2 Sprague Dawley ラットに BMN 111 を SC 又は IV 投与したときの単回投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験（試験報告書[BMN111-11-015]）

本 GLP 試験の目的は、Sprague Dawley（SD）ラットに単回 SC 又は IV 投与したときの毒性を評価し、BMN 111 の TK パラメータを求めることであった。本試験は報告書 BMN111-11-015 及び[表 2.6.5.3-2]に要約した。

投与開始時において、雌雄 SD ラットは約 8～10 週齢であり、体重は 287～394g（雄）及び 187～253g（雌）であった。BMN 111 の 0、80、240 及び 800 μg/kg を単回 SC 投与、又は 0、15、50 及び 150 μg/kg を単回 IV 投与した。BMN 111 を SC 投与したラットでは、投与前、投与後約 5、15、30、60、90、120 及び 180 分に採血した。BMN 111 を IV 投与したラットでは、投与前、投与後約 1、5、15、30、60、120 及び 180 分に採血した。対照群のラットは投与後 30 分に採血した。

TK パラメータと血漿中濃度推移をそれぞれ表 2.6.4.3.1.2-1 と図 2.6.4.3.1.2-1 に示し、濃度－時間曲線下面積（AUC_{0-t}）と最高濃度（C_{max}）の投与量比例性を表 2.6.4.3.1.2-2 に示す。BMN 111 の平均血漿中濃度は、AUC_{0-t} 及び C_{max} の平均値と同様に、80 μg/kg を SC 及び 15 μg/kg を IV 投与した雌雄で類似していた。240 又は 800 μg/kg を SC 投与したとき、雄の AUC_{0-t} は雌の 2 倍以上であったが C_{max} は、雌雄で同程度であった。50 及び 150 μg/kg を IV 投与したとき、雌よりも雄の方が AUC_{0-t} と C_{max} の両方で 2 倍以上大きかった。

80、240 及び 800 μg/kg を SC 投与したときの BMN 111 の平均 $t_{1/2}$ は、19～23 分であり、15、50 及び 150 μg/kg を IV 投与したとき 8～19 分であった。見かけのクリアランス（CL/F）の平均値は 186～267 mL/min/kg であり、見かけの分布容積（Vz/F）の平均値は SC 投与群で 6169～8328 mL/kg であった。IV 投与群の平均 CL 値は 11.95～13.51 mL/min/kg、平均 Vz/F 値は 148～330 mL/kg であった。SC 投与後の BMN 111 のバイオアベイラビリティは、80 及び 240 μg/kg を SC 投与したとき約 5%であり、800 μg/kg を SC 投与したとき 7.23%に増加したが、これは最高投与量での BMN 111 の CL の飽和に起因する可能性があると考える。

表 2.6.4.3.1.2-1 ラット血漿中 BMN 111 の TK パラメータ

Administration Route	Group	Dose (μg/kg)	Sex	AUC_{0-t} (pg·min/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (pg·min/mL)	C_{max} (pg/mL)	T_{max} (min)	$t_{1/2}$ (min)	CL/F[a] (mL/min/kg)	Vz/F[a] (mL/kg)	F[b] (%)
IV	6	15	M[d]	831,876	837,953	111,267	1	8.78	17.90	227	-
			F[d]	1,337,850	NA	141,500	5	NA	NA	NA	-
			Combined[c]	1,107,962	1,110,586	90,650	1	7.58	13.51	148	-
	7	50	M[d]	5,159,736	5,167,926	1,226,933	1	15.07	9.68	210	-
			F[d]	2,093,033	2,162,665	338,500	1	14.28	23.12	476	-
			Combined[c]	3,900,716	3,904,585	971,375	1	14.24	12.81	263	-
	8	150	M[d]	16,695,267	16,705,101	2,035,000	1	20.45	8.98	265	-
			F[d]	8,388,142	8,392,638	891,000	1	17.64	17.87	455	-
			Combined[c]	12,541,704	12,548,736	1,463,000	1	19.11	11.95	330	-
SC	6	80	M[d]	347,429	352,191	13,123	5	15.00	227	4917	-
			F[d]	233,862	261,249	10,088	5	43.47	306	19,205	-
			Combined[c]	290,646	299,581	11,606	5	18.86	267	7267	4.92
	7	240	M[d]	1,244,475	1,301,885	31,000	5	26.07	184	6932	-
			F[d]	548,683	558,568	20,200	5	15.81	430	9802	-
			Combined[c]	903,084	927,655	25,600	5	22.31	259	8328	5.09
	8	800	M[d]	6,367,250	6,409,534	130,000	15	22.26	125	4008	-
			F[d]	2,453,883	2,457,456	77,367	5	13.51	326	6345	-
			Combined[c]	4,273,957	4,295,764	97,383	15	22.96	186	6169	7.23

AUC, area under the concentration-time curve; CL/F, apparent SC clearance; C_{max}, maximum observed concentration; F, female; IV, intravenous; M, male; min, minute; NA, not available; SC, subcutaneous; T_{max}, time to reach maximum observed concentration; $t_{1/2}$, elimination phase half-life; Vz/F, apparent SC volume of distribution

a) Clearance and volume distribution for SC groups are apparent clearance (CL/F) and apparent volume of distribution (Vz/F).

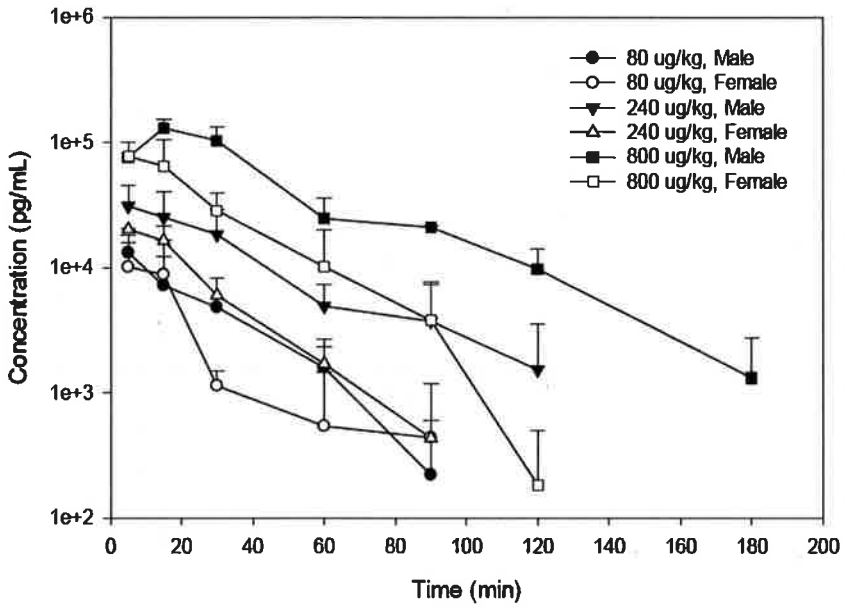
b) Bioavailability (=Dose Normalized $AUC_{0-\infty}$ for SC/Dose Normalized $AUC_{0-\infty}$ for IV) was only calculated for combined animals in each SC group.

c) PK parameters for combined rats are derived from the mean concentration-time profile including both males and females.

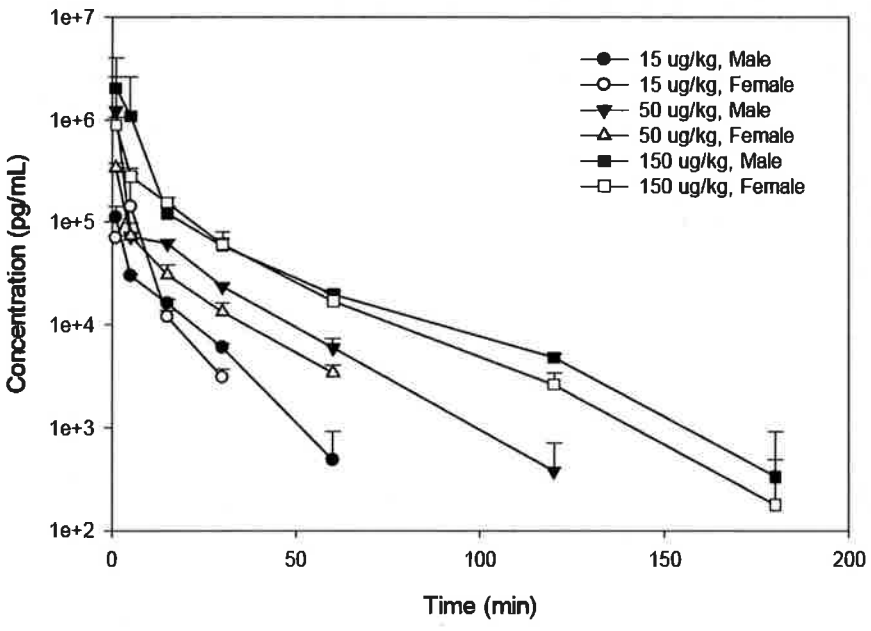
d) PK parameters were derived from the mean concentration-time profile.

図 2.6.4.3.1.2-1 ラットにおける BMN 111 の血漿中濃度推移

SC



IV



Mean ±SD, n=3 at each time point

C_{max} 及び AUC_{0-t} の平均値を投与量間で比較したところ、80～800 μg/kg の SC 投与及び 15～150 μg/kg の IV 投与では、ほぼ投与量比例性を示す増加がみられたが、IV 投与の C_{max} は投与量比を上回る増加がみられた。

表 2.6.4.3.1.2-2 ラット血漿中 BMN 111 の投与量比例性

Route	Dose Level Increase	C_{max} Ratio[a]	AUC_{0-t} Ratio[a]
IV	1:3.3:10-fold (15:50:150 µg/kg)	1:10.7:16.1	1:3.5:11.3
SC	1:3:10-fold (80:240:800 µg/kg)	1:2.2:8.4	1:3.1:14.7

AUC, area under the concentration-time curve; C_{max}, maximum observed concentration; IV, intravenous; SC, subcutaneous

a) The ratios were calculated for combined rats only.

2.6.4.3.1.3 ラットへの単回 SC 投与後の BMN 111 の中枢神経系に対する安全性薬理試験（試験報告書[BMN111-11-021]）

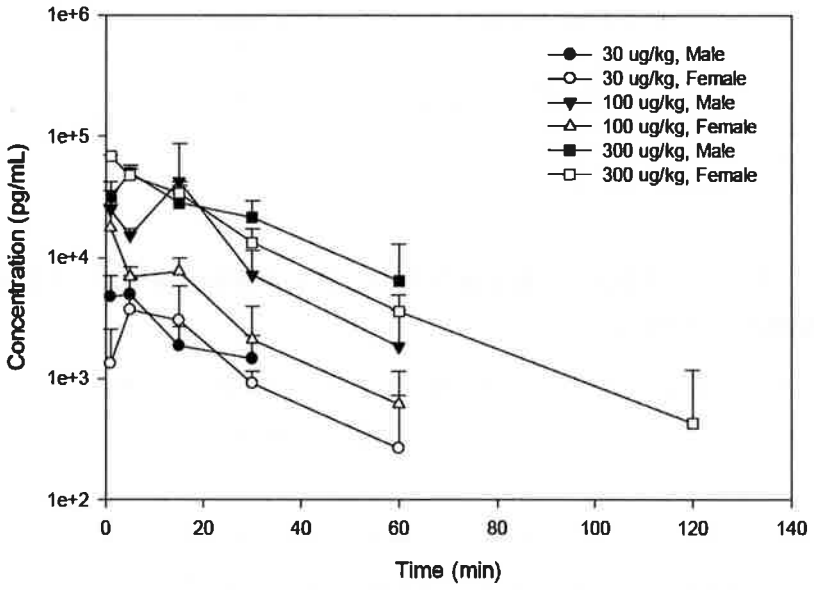
本 GLP 試験の目的は、雌雄ラットに単回 SC 投与したときの神経学的影響を評価し、BMN 111 の TK パラメータを求めることであった。本試験は報告書 BMN111-11-021 及び[表 2.6.5.3-3]に要約した。

雌雄 SD ラットは 8.6～9.7 週齢で、試験開始時の体重は 267～304 g（雄）及び 177～216 g（雌）であった。ラットに BMN 111 の 30、100 又は 300 µg/kg を単回 SC 投与した。溶媒対照を投与したラットでは、投与前、投与後約 1、15 及び 60 分に採血した。BMN 111 を投与したラットでは、投与前、投与後約 1、5、15、30、60 及び 120 分に採血した。

TK パラメータを表 2.6.4.3.1.3-1 に、血漿中濃度推移を図 2.6.4.3.1.3-1 に、AUC_{0-t} と C_{max} の投与量比例性を表 2.6.4.3.1.3-2 に示す。

BMN 111 を 30 及び 300 µg/kg を投与した雌雄の AUC_{0-t} と C_{max} の平均値は類似していた。100 µg/kg を投与した雄の AUC_{0-t} と C_{max} は雌より 2 倍以上大きかった。投与後 15 分以内で C_{max} に達した。BMN 111 の平均 $t_{1/2}$ は 11～15 分であった。CL/F の平均値は 171～303 mL/min/kg、Vz/F の平均値は 2688～4596 mL/kg であった。C_{max} 及び AUC_{0-t} の平均値を投与量間で比較した結果、BMN 111 の 30～300 µg/kg を SC 投与したとき、投与量にほぼ比例した曝露量の上昇が認められた。

図 2.6.4.3.1.3-1 ラットにおける BMN 111 の血漿中濃度推移



Mean ±SD, n=3 at each time point

表 2.6.4.3.1.3-1 ラットにおける BMN 111 の TK パラメータ

Route	Group	Dose (µg/kg)	Sex	AUC_{0-t} (pg·min/mL)	AUC_{0-inf} (pg·min/mL)	C_{max} (pg/mL)	T_{max} (min)	$t_{1/2}$ (min)	CL/F (mL/min/kg)	Vz/F (mL/kg)
SC	6	30	M[b]	80,658	112,432	4933	5	15.05	267	5794
			F[b]	91,627	96,742	3697	5	13.30	310	5949
			Combined[a]	97,118	99,143	4315	5	10.53	303	4596
	7	100	M[b]	885,917	913,810	42,333	15	10.48	109	1654
			F[b]	244,233	257,088	17,583	1	14.45	389	8109
			Combined[a]	565,075	584,410	24,983	15	10.89	171	2688
	8	300	M[b]	1,355,533	1,544,540	49,833	5	20.43	194	5724
			F[b]	1,394,546	1,405,940	68,283	1	18.37	213	5654
			Combined[a]	1,471,240	1,475,819	49,742	1	14.76	203	4330

AUC, area under the concentration-time curve; CL/F, apparent SC clearance; C_{max}, maximum observed concentration; min, minute; SC, subcutaneous; T_{max}, time to reach maximum observed concentration; $t_{1/2}$, elimination phase half-life; Vz/F, apparent SC volume of distribution

a) PK parameters for combined rats are derived from the mean concentration-time profile including both males and females.

b) PK parameters were derived from the mean concentration-time profile.

表 2.6.4.3.1.3-2 ラット血漿中 BMN 111 の投与量比例性

Route	Dose Level Increase	C_{max} Ratio[a]	AUC_{0-t} Ratio[a]
SC	1:3.3:10-fold (30:100:300 µg/kg)	1:5.8:11.5	1:5.8:15.1

AUC, area under the concentration-time curve; C_{max}, maximum observed concentration; SC, subcutaneous
a) The ratios were calculated for combined rats only.

2.6.4.3.1.4 7 日齢ラットに SC 投与した BMN 111 の単回投与薬物動態予備試験（試験報告書[BMN111-15-072]）

この非 GLP 予備試験の目的は、雌の 7 日齢（幼若）SD ラットに SC 投与したときの BMN 111 の曝露と PK を求めることであった。本試験は報告書 BMN111-15-072 及び[表 2.6.5.3-4]に要約した。

SC 投与（180 µg/kg、n=21 及び 360 µg/kg、n=21）した幼若動物は 7 日齢、体重は 12～18 g であった。個々の投与量は、投与日に測定した体重に基づいて算出した。肩甲骨中央部に注射器を用いて SC 投与した。投与前、投与後 5、15、30、60、90 及び 120 分に、イソフルラン麻酔下で各群 3 匹から注射器を用いて、心臓穿刺により採血した。

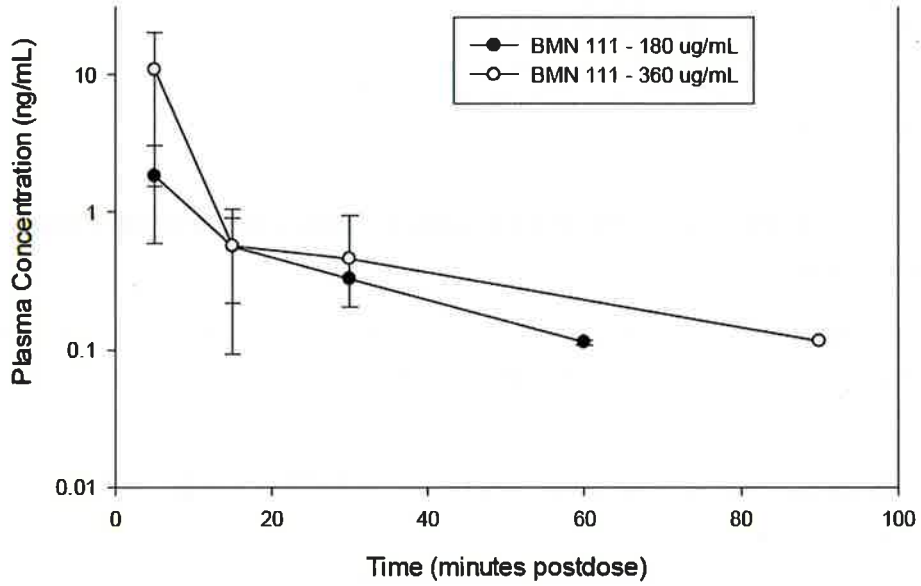
平均血漿中濃度推移（図 2.6.4.3.1.4-1）及び PK パラメータ（表 2.6.4.3.1.4-1）を以下に示す。7 日齢のラットに SC 投与したとき、BMN 111 は速やかに血漿中に吸収され（C_{max} は 5.00 分）、速やかに血漿中から消失した（180 及び 360 µg/kg の $t_{1/2}$ はそれぞれ 19.4 及び 31.8 分）。BMN 111 の曝露量は、平均 C_{max} 及び AUC_{0-t} でみた場合、投与量の増加に伴って増加し、投与量比例性を上回る増加を示した。BMN 111 は CL/F 及び Vz/F がいずれも大きい薬物と考えられた。

表 2.6.4.3.1.4-1 7 日齢ラットに単回 SC 投与したときのラット血漿中 BMN 111 の薬物動態パラメータ

Group	Dose Level (µg/kg)	T_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng·min/mL)	AUC_{0-inf} (ng·min/mL)	AUC (% Ext)	Vz/F (mL/kg)	CL/F (mL/min/kg)	$t_{1/2}$ (min)
1	180	5.00	1.84	29.9	33.0	9.54	153,000	5450	19.4
2	360	5.00	10.9	110	115	4.59	144,000	3140	31.8

Note: PK parameters are derived from the mean concentration-time profile.
AUC, area under the concentration-time curve; CL/F, apparent SC clearance; C_{max}, maximum observed concentration; min, minute; SC, subcutaneous; T_{max}, time to reach maximum observed concentration; $t_{1/2}$, elimination phase half-life; Vz/F, apparent SC volume of distribution

図 2.6.4.3.1.4-1 7 日齢ラットに単回 SC 投与したときの血漿中 BMN 111 濃度推移



Mean ±SD, n=3 at each time point

2.6.4.3.1.5 BMN 111 をラットに単回 SC 投与したときの年齢変化に伴う薬物動態検討試験（試験報告書[BMN111-15-076]）

この非 GLP 試験の目的は、年齢変化に伴う BMN 111 の PK を検討し、幼若から若年期における BMN 111 の投与量と曝露関係について情報を得ることであった。本試験は報告書 BMN111-15-076 及び[表 2.6.5.3-5]に要約した。

7 日齢から 13 週齢のラットに BMN 111 の 360 µg/kg を単回 SC 投与した。投与日の体重に基づいて、個々の投与量を算出した。第 1 群（7 日齢、雌雄 n=21）及び第 2 群（21 日齢、雌雄 n=21）では、イソフルラン麻酔下で、心臓穿刺（可能な限り 1mL まで採血し、容量を記録）により採血した。第 3 群（45 日齢、雌雄 n=7）及び第 4 群（13 週齢、雌雄 n=7）では、血液（第 3 群：約 0.65 mL、第 4 群：1 mL）を各動物の頸静脈から 3 時点採取した。投与前、投与後 5、15、30、60、90 及び 120 分の各時点で、雌雄各 3 匹／群から採血した。

血漿中 BMN 111 の PK パラメータを表 2.6.4.3.1.5-1 に、PK プロファイルを図 2.6.4.3.1.5-1 及び図 2.6.4.3.1.5-2 に示した。360 µg/kg を単回 SC 投与したとき、BMN 111 は速やかに吸収され、全年齢にわたって T_{max} は 5.0～15.0 分であった。BMN 111 の血漿中 $t_{1/2}$ は、全ての週年齢にわたっておおむね 10.1～15.9 分の範囲であった。

BMN 111 の同じ投与量における血漿曝露は、7 日齢から 13 週齢ラットまでおおむね週年齢と共に増加した。13 週齢ラットにおける AUC_{0-t} は、7 日齢動物と比較して約 13 倍高く、21 日齢動物と比較して 3～4 倍高く、45 日齢動物と比較して 2～3 倍高かった。BMN 111 の C_{max} は、7 日齢の動物と比較して 12～13 週齢の動物で約 4 倍高く、21 日齢及び 45 日齢の動物と比較して約 2 倍高かった。

これは、総クリアランス（CL）が週齢及び動物の体重によって顕著に変動しないが、投与量は体重に基づいているためであると考えられる。すなわち、体重が軽い幼若動物は低投与量（7 日齢での平均総投与量 6.86 μg/ラット）で、体重の重い成熟動物はより高投与量（13 週齢での平均総投与量 104 μg/ラット）であったが、両動物の総 CL はほぼ同じであった（7 日齢の総 CL は 23.6 mL/min、13 週齢で 30.2 mL/min）。このことは、体重で補正したクリアランス（CL/F）が第 1 群（7 日齢、平均体重 15.6 g）の 1520 mL/min/kg から、第 4 群（13 週齢、平均体重 271 g）の 111 mL/min/kg に減少したことによってさらに裏付けられている。

平均 C_{max} 及び AUC でみた血漿中曝露量には、いずれの週年齢群においても顕著な性差は認められなかった。平均 C_{max}、AUC 及び $t_{1/2}$ における性差はいずれも 2 倍未満であった。

図 2.6.4.3.1.5-1 SD ラットに BMN 111（360 μg/mL）を単回 SC 投与したときの血漿中濃度推移 平均値（±SD、各時点 n=3）

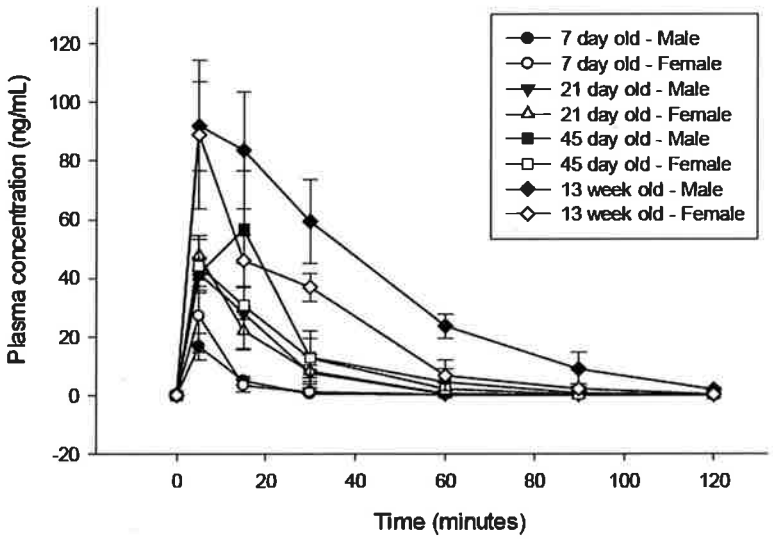


図 2.6.4.3.1.5-2 SD ラットに BMN 111（360 µg/mL）を単回 SC 投与したときの血漿中濃度推移 平均値（±SD、各時点 n=6）

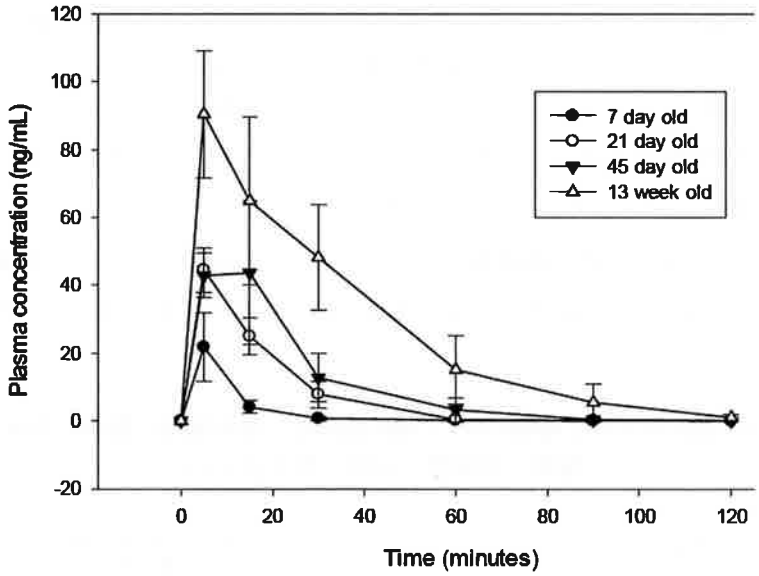


表 2.6.4.3.1.5-1 ラットに BMN 111 の 360 µg/kg を単回 SC 投与したときの血漿中 PK パラメータ

Group	Sex	Body Weight (kg)	T_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng·min/mL)	AUC_{0-inf} (ng·min/mL)	Vz/F (mL/kg)	CL/F (mL/min/kg)	Total CL* (mL/min)	$t_{1/2}$ (min)
1 (7 days old)	Male	0.0152	5.00	16.6	198	201	27,300	1790	27.2	10.6
	Female	0.0160	5.00	27.0	272	273	24,800	1320	21.1	13.0
	Group	0.0156	5.00	21.8	237	237	34,800	1520	23.6	15.9
2 (21 days old)	Male	0.0482	5.00	41.5	843	845	6270	426	20.5	10.2
	Female	0.0472	5.00	47.7	833	834	11,800	431	20.4	19.0
	Group	0.0477	5.00	44.6	839	840	9120	429	20.5	14.7
3 (45 days old)	Male	0.169	15.0	56.7	1460	1460	3270	246	41.7	9.22
	Female	0.129	5.00	44.1	1060	1070	5600	338	43.5	11.5
	Group	0.150	15.0	43.7	1260	1260	4140	285	42.8	10.1
4 (13 weeks old)	Male	0.317	5.00	92.0	4080	4120	2060	87.4	27.7	16.3
	Female	0.219	5.00	89.0	2340	2340	2640	154	33.7	11.9
	Group	0.271	5.00	90.5	3210	3230	2480	111	30.2	15.4

Note: PK parameters are derived from the mean concentration-time profile.

AUC, area under the concentration-time curve; CL, clearance; CL/F, apparent SC clearance; C_{max}, maximum observed concentration; min, minute; SC, subcutaneous; T_{max}, time to reach maximum observed concentration; $t_{1/2}$, elimination phase half-life; Vz/F, apparent SC volume of distribution

* Total CL is calculated as a product of individual rat body weight and corresponding CL/F.

2.6.4.3.1.6 ラットに BMN 111 を IM 又は SC 投与したときの薬物動態（試験報告書 [BMN111-17-048]）

この非 GLP 試験の目的は、ラットに単回 IM 又は SC 投与したときの BMN 111 の PK を求めることであった。本試験は報告書 BMN111-17-048 及び[表 2.6.5.3-6]に要約した。

雄 SD ラットに BMN 111 を単回 SC 又は単回 IM 投与した（試験方法は表 2.6.4.3.1.6-1 を参照）。肩甲骨間に注射器を用いて SC 投与した。大腿筋肉内に注射器を用いて IM 投与した。各 IM 投与では、ほぼ等容量を 2 箇所に投与した。1 回は左後肢に、もう 1 回は右後肢に投与した。

血液を、投与前、投与後約 0.083、0.25、0.5、1、1.5、2 及び 3 時間に注射器で頸静脈から採取し、エチレンジアミン四酢酸二カリウム（K_2EDTA）を添加し事前に冷却した試験管に添加した。

表 2.6.4.3.1.6-1 BMN111-17-048 の試験方法

Group	Number of Male Animals	Test Article	Dose Route	Target Dose Level (µg/kg)	Target Dose Concentration (µg/mL)	Target Dose Volume (mL/kg)
1	9	BMN 111	SC	240	80	3
2	9	BMN 111	SC	240	240	1
3	9	BMN 111	SC	240	800	0.3
4	9	BMN 111	IM	240	240	1

IM, intramuscular; SC, subcutaneous

平均濃度-時間推移（図 2.6.4.3.1.6-1）及び PK パラメータ（表 2.6.4.3.1.6-2）から、BMN 111 への曝露量は SC 投与液量が異なってもほぼ同じであることが示された。SC 投与後、BMN 111 の T_{max}（中央値）は 5～15 分であった。IM 投与後、T_{max}（中央値）は 5 分であった。$t_{1/2}$ の平均値は SC 投与後 13.38～16.62 分であり、IM 投与後 17.04 分であった。

SC 投与と比較した IM 投与後の BMN 111 曝露の比は、C_{max} と AUC_{0-3} でそれぞれ 2.42 と 1.47 であった。これらの値は、BMN 111 の相対的バイオアベイラビリティが SC 投与と比較して IM 投与の方が大きかったことを示している。

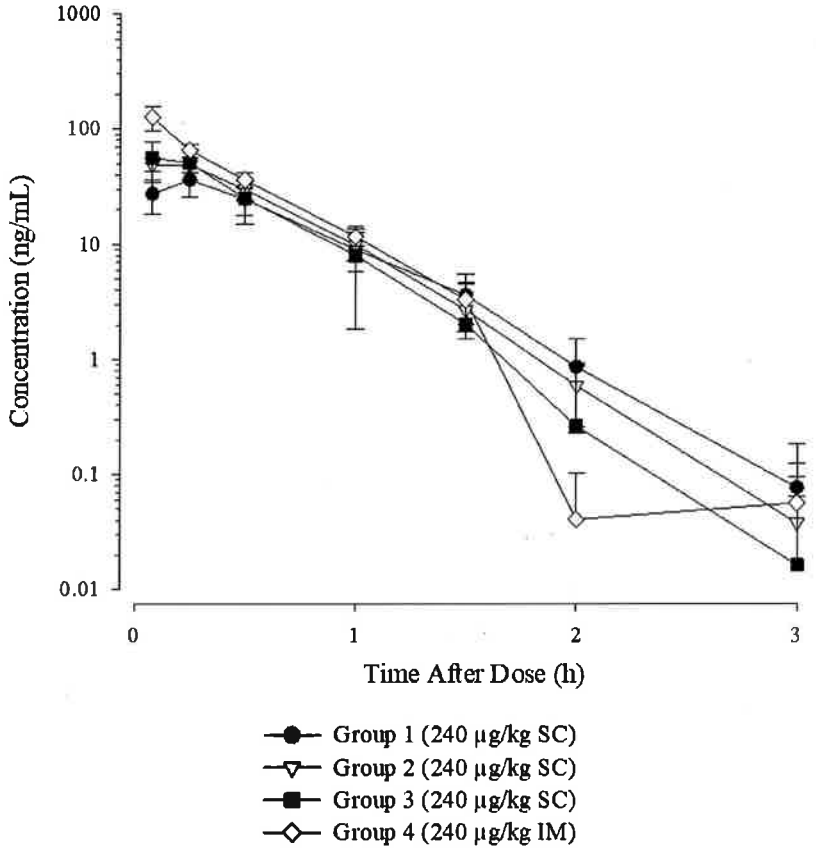
表 2.6.4.3.1.6-2 単回 IM 又は SC 投与後のラット血漿中 BMN 111 の平均 PK パラメータ

Dose Route	Dose Group	Dose Conc. (µg/mL)	Dose Level (µg/kg)	Value	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	AUC_{0-3} (ng·h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	CL/F (mL/h/kg)
SC	1	80	240	Mean	38.1	0.259	25.8	25.9	25.9	0.277	9660
				SD	9.88	0.106	6.08	6.04	6.09	0.0474	2010
				CV%	26	41	24	23	23	17	21
				Median	35.9	0.250	24.6	24.7	24.7	0.275	9720
				Min	26.5	0.0830	18.9	19.1	19.0	0.184	6160
				Max	52.5	0.500	38.8	38.8	39.0	0.338	12,600
				N	9	9	9	9	9	9	9
	2	240	240	Mean	52.0	0.176	32.5	32.7	32.6	0.259	7510
				SD	5.67	0.0880	5.43	5.56	5.53	0.0460	1040
				CV%	11	50	17	17	17	18	14
				Median	49.5	0.250	31.3	31.6	31.5	0.255	7620
				Min	46.1	0.0830	27.9	28.1	28.0	0.189	5230
				Max	63.9	0.250	45.4	46.0	45.9	0.332	8560
				N	9	9	9	9	9	9	9
	3	800	240	Mean	59.0	0.157	30.3	30.6	30.7	0.223	9090
				SD	21.2	0.0880	12.8	12.9	12.9	0.0403	3530
				CV%	36	56	42	42	42	18	39
				Median	58.4	0.0830	27.0	27.1	27.2	0.204	8830
				Min	32.8	0.0830	16.4	16.6	16.6	0.193	4540
				Max	101	0.250	52.9	52.9	52.9	0.314	14,500
				N	9	9	9	9	9	9	9
IM	4	240	240	Mean	126	0.0830	47.4	47.9	48.2	0.284	5100
				SD	30.1	0.000	7.44	7.28	7.18	0.0220	917
				CV%	24	0	16	15	15	8	18
				Median	136	0.0830	48.4	48.4	48.5	0.279	4950
				Min	73.2	0.0830	31.9	32.5	32.9	0.244	4220

Dose Route	Dose Group	Dose Conc. (µg/mL)	Dose Level (µg/kg)	Value	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	AUC_{0-3} (ng·h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	CL/F (mL/h/kg)
				Max	165	0.0830	56.8	56.8	56.8	0.316	7290
				N	9	9	9	9	9	9	9

AUC, area under the concentration-time curve; CL/F, apparent SC clearance; C_{max}, maximum observed concentration; CV%, coefficient of variation; h, hour; IM, intramuscular; Max, maximun; Min, minimum; n, number; SC, subcutaneous; SD, atandard deviation; T_{max}, time to reach maximum observed concentration; $t_{1/2}$, elimination phase half-life

図 2.6.4.3.1.6-1 雄性ラットに単回 SC 又は IM 投与したときの平均（±SD）血漿中 BMN 111 濃度推移



Group 1: Injection volume was 3 mL/kg (80 µg/mL).
Group 2: Injection volume was 1 mL/kg (240 µg/mL).
Group 3: Injection volume was 0.3 mL/kg (800 µg/mL).
Group 4: Injection volume was 1 mL/kg (240 µg/mL).

2.6.4.3.1.7 カニクイザルに BMN 111 を単回 SC 又は IV 投与したときの毒性及びトキシコキネティクス試験（試験報告書[BMN111-11-006]）

本 GLP 試験の目的は、カニクイザルに単回 SC 又は IV 投与したときの毒性を評価し、BMN 111 の TK パラメータを求めることであった。本試験を報告書 BMN111-11-006 及び[表 2.6.5.3-7]に要約した。

雌雄カニクイザル（*Macaca fascicularis*）は投与開始時に約 2～3.5 年齢、体重は 2.2～3.3 kg（雄）及び 2.3～3.2 kg（雌）であった。カニクイザルに BMN 111 の 20、60 及び 200 µg/kg を単回 SC 投与、又は 2、6 及び 20 µg/kg を単回 IV 投与した。BMN 111 又は溶媒対照物質を SC 投与したサルでは、投与前、投与後約 5、15、30、60、120、240、360 及び 600 分に採血した。BMN 111 又は溶媒対照物質を IV 投与したカニクイザルでは、投与前、投与後約 1、5、15、30、60、120、240 及び 360 分に採血した。得られた TK パラメータを表 2.6.4.3.1.7-1 に、血漿中濃度推移を図 2.6.4.3.1.7-1 にまた、AUC_{0-t} 及び C_{max} の投与量比例性を表 2.6.4.3.1.7-2 に示す。

20 μg/kg を SC 投与した雄サルでは、血漿試料の大部分が定量下限（50 pg/mL）未満であったことから、0 時間から無限時間までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0-\infty}$）、$t_{1/2}$、CL/F 及び Vz/F などの TK パラメータは算出しなかった。200 μg/kg の SC 投与、2 及び 20 μg/kg の IV 投与の平均 AUC_{0-t} は、雌雄で類似していた。20 及び 60 μg/kg の SC 投与及び 6 μg/kg の IV 投与では、雌の平均 AUC_{0-t} は雄の 2 倍以上であった。C_{max} の平均値は、雌の C_{max} が雄の 2 倍以上であった 20 μg/kg の SC 投与群を除き、SC 投与、IV 投与共に雌雄で類似していた。

BMN 111 の平均 $t_{1/2}$ は、20、60 及び 200 μg/kg を SC 投与（2～4 群）したとき 12～19 分、2、6 及び 20 μg/kg を IV 投与（6-8 群）したとき 9～22 分であった。3 つの SC 投与投与群の平均 CL/F は 159.12～527.21 mL/min/kg であり、平均 Vz/F は 3966～7084 mL/kg であった。3 つの IV 投与群の平均 CL 値は 6.95～16.32 mL/min/kg、平均 Vz 値は 174～220 mL/kg、平均定常状態における分布容積（V_{ss}）の平均値は 128～151 mL/kg であった。

SC 投与したとき、投与量増加と共に BMN 111 のバイオアベイラビリティは増加し、20 μg/kg では 1.23%、60 μg/kg では 3.25%、200 μg/kg では 11.04%となった。これは高投与量における BMN 111 の CL の飽和によると考えられる。

C_{max} 及び AUC_{0-t} の平均値を投与量間で比較すると、2～20 μg/kg の IV 投与では投与量にほぼ比例した曝露量の増加が認められ、20～200 μg/kg の SC 投与では投与量比を上回る増加を示した。

表 2.6.4.3.1.7-1 サルにおける BMN 111 の TK パラメータ

Administration Route	Group	Dose (µg/kg)	Sex	Value	AUC_{0-t} (pg·min/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (pg·min/mL)	C_{max} (pg/mL)	T_{max}[a] (min)	$t_{1/2}$ (min)	CL/F[b] (mL/min/kg)	Vz/F[b] (mL/kg)	F[c] (%)
SC	2	20	M	Mean	2071	NA[e]	828	5	NA[e]	NA[e]	NA[e]	-
				SD	845	NA[e]	338		NA[e]	NA[e]	NA[e]	-
			F	Mean	33,867	52,660	2242	5	12.13	380.98	6763	-
				SD	16,782	4157	850		4.46	30.08	2978	-
			Combined[d]	Mean	17,969	52,660	1535	5	12.13	380.98	6763	1.23
				SD	20,402	4157	966		4.46	30.08	2978	-
	3	60	M	Mean	59,696	97,600	5838	5	7.39	614.75	6555	-
				SD	34,450	NA	2757		NA	NA	NA	-
			F	Mean	225,283	236,083	8375	5	16.47	386.37	8480	-
				SD	218,971	226,684	4316		11.31	498.03	7260	-
			Combined[d]	Mean	142,490	201,462	7107	5	14.20	527.21	7084	3.25
				SD	166,972	197,615	3525		10.29	366.08	1646	-
	4	200	M	Mean	2,017,925	2,027,319	52,483	5	20.96	145.97	3896	-
				SD	1,615,230	1,617,643	20,258		6.53	95.29	1941	-
			F	Mean	1,203,425	1,224,870	49,817	5	17.19	172.27	4036	-
				SD	323,302	320,722	1600		4.80	51.7	106	-
			Combined[d]	Mean	1,610,675	1,626,094	51,150	5	19.07	159.12	3966	11.04
				SD	1,133,323	1,131,826	12,935		5.53	70.06	1232	-

Administration Route	Group	Dose (μg/kg)	Sex	Value	AUC_{0-t} (pg·min/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (pg·min/mL)	C_{max} (pg/mL)	T_{max}[a] (min)	$t_{1/2}$ (min)	CL (mL/min/kg)	Vz (mL/kg)	V_{ss} (mL/kg)
IV	6	2	M	Mean	122,334	127,163	16,883	1	6.59	15.90	151	108
				SD	14,653	15,518	2928		0.80	2.07	25	18
			F	Mean	169,577	215,627	15,808	1	12.36	16.75	197	166
				SD	137,825	209,331	7168		9.46	12.73	65	53
			Combined[d]	Mean	145,955	171,395	16,346	1	9.47	16.32	174	137
				SD	91,399	141,322	4933		6.78	8.17	51	47
	7	6	M	Mean	418,142	488,527	42,267	1	12.63	13.15	237	166
				SD	155,870	177,528	12,423		0.89	4.78	70	48
			F	Mean	848,452	863,841	65,933	1	11.38	8.00	139	103
				SD	435,005	433,027	14,838		2.65	3.17	77	38
			Combined[d]	Mean	633,297	713,715	54,100	1	11.88	10.06	178	128
				SD	375,446	379,333	17,828		2.04	4.32	84	50
	8	20	M	Mean	2,729,607	2,768,096	215,500	1	21.84	7.31	232	159
				SD	354,720	346,909	48,096		1.70	0.99	49	41
			F	Mean	3,048,791	3,091,107	202,500	1	21.94	6.60	208	144
				SD	542,916	555,999	15,403		0.82	1.08	28	15
			Combined[d]	Mean	2,889,199	2,929,602	209,000	1	21.89	6.95	220	151
				SD	445,867	450,659	32,725		1.20	1.00	38	29

AUC, area under the concentration-time curve; CL, clearance; CL/F, apparent SC clearance; C_{max}, maximum observed concentration; IV, intravenous; min, minute; M, male; NA, not available; SC, subcutaneous; SD, atandard deviation; T_{max}, time to reach maximum observed concentration; $t_{1/2}$, elimination phase half-life; V_{ss}, distribution volume at steady state; Vz, apparent SC volume of distribution; Vz/F, apparent SC volume of distribution/bioavairability

Male n=3, female n=3 in each group

a) Median values are listed for Tmax.

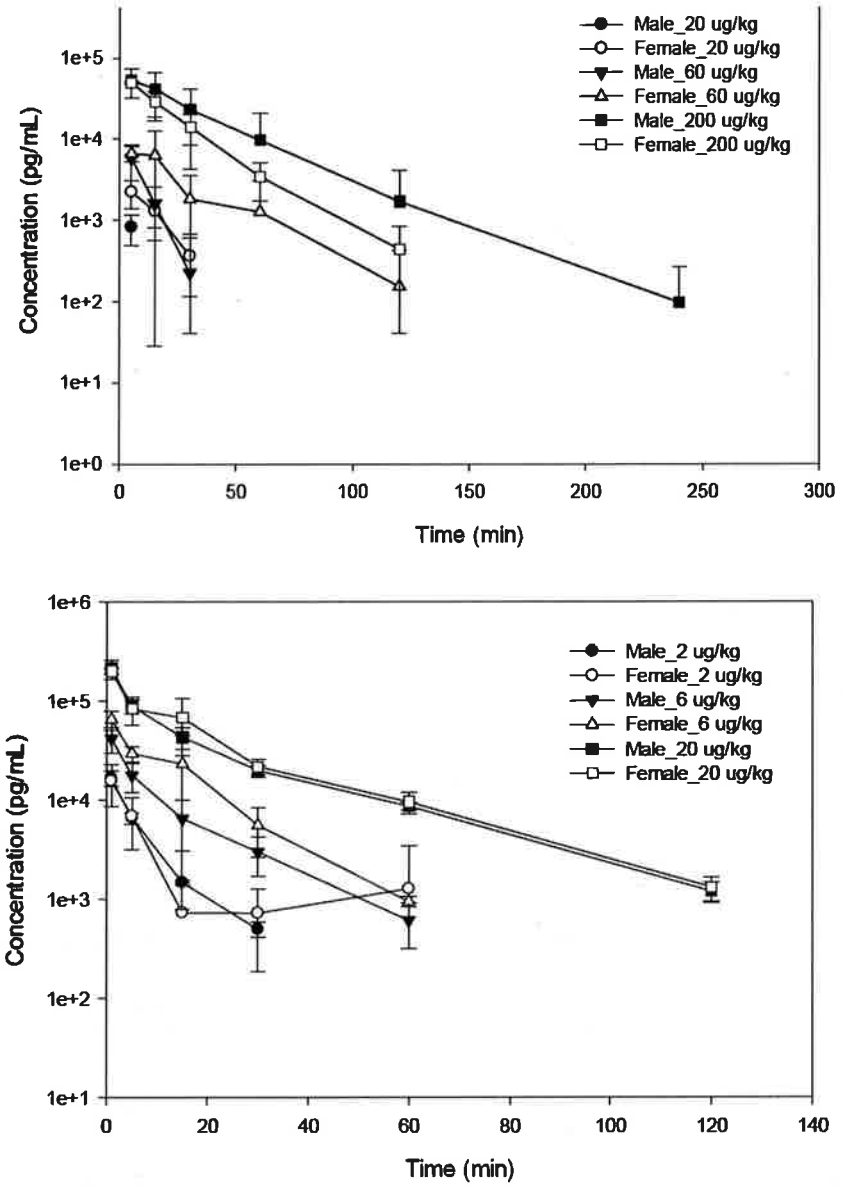
b) The clearance and volume distribution for SC groups are apparent clearance (CL/F) and apparent volume of distribution (Vz/F and V_{ss}/F).

c) Bioavailability is calculated based on the AUC_{0-t} value for IV 2 μg/kg group and is only estimated for combined monkeys in each SC group.

d) TK parameters for combined monkeys are derived from the mean concentration-time profile including both males and females.

e) TK parameters were not estimated because majority of plasma samples are below lower limit of quantitation (50 pg/mL).

図 2.6.4.3.1.7-1 サルにおける BMN 111 の平均血漿中濃度推移（上段：SC、下段：IV）



Mean±SD, Male n=3, female n=3 in each group

表 2.6.4.3.1.7-2 サル血漿中 BMN 111 の投与量比例性

Route	Dose Level Increase	C_{max} Ratio[a]	AUC_{0-t} Ratio[a]
IV	1:3:10-fold (2:6:20 μg/kg)	1:3.3:12.8	1:4.3:19.8
SC	1:3:10-fold (20:60:200 μg/kg)	1:4.6:33.3	1:7.9:89.6

AUC, area under the concentration-time curve; C_{max}, maximum observed concentration; IV, intravenous; SC, subcutaneous
a) · The ratios are calculated for combined monkeys only.

2.6.4.3.2 反復投与試験

2.6.4.3.2.1 BMN 111 のラットにおける胚・胎児発生に関する SC 投与試験（試験報告書 [BMN111-14-061]）

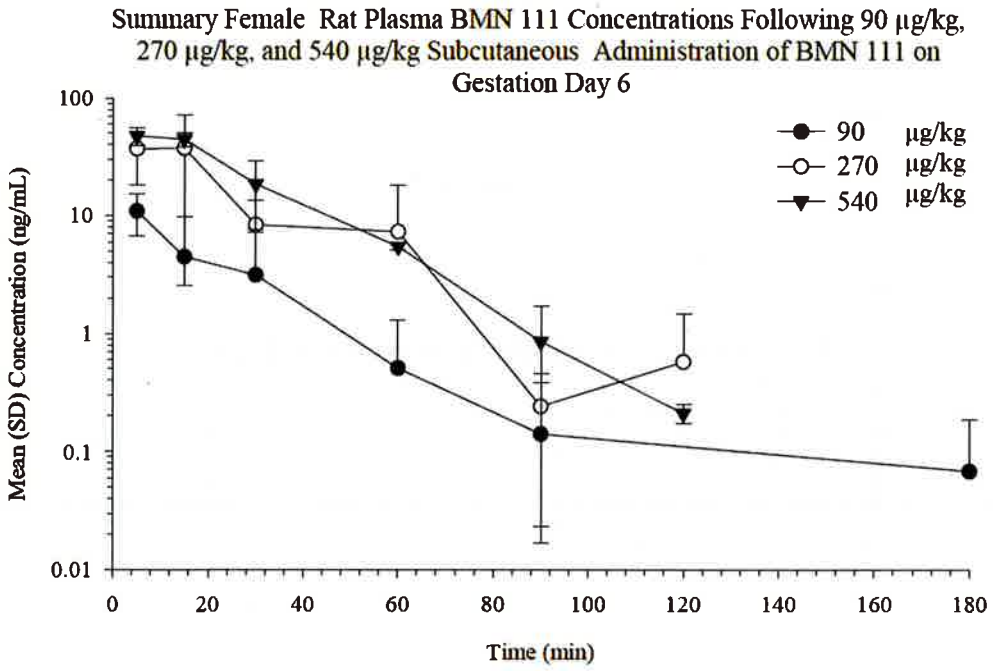
以下の要約では、BMN 111 の単回及び反復 SC 投与後の妊娠雌ラット血漿中 BMN 111 の TK について記載する。本試験は報告書 BMN111-14-061 及び[表 2.6.5.4-1]に要約した。

ラットに BMN 111 の 0、90、270 及び 540 µg/kg（各投与量 n=6）を妊娠 6 日目（GD 6）から GD 17 の毎日 SC 投与した。血液を、妊娠ラットの GD 6 及び GD 17 に、投与前、投与後 5、15、30、60、90、120 及び 180 分にスパースサンプリング（1 時点あたり 3 匹）した。各動物においては、両 TK サンプリング日に 4 時点で採血した。第 1 群の溶媒対照動物（n=3）は、GD 6 及び GD 17 の溶媒投与後 15 分にのみ採血した。GD 18 に TK 試験用ラットの母動物の投与後約 30±10 分の時点で断頭し、生存胎児から血液を採取後、同腹児ごとにプールした。

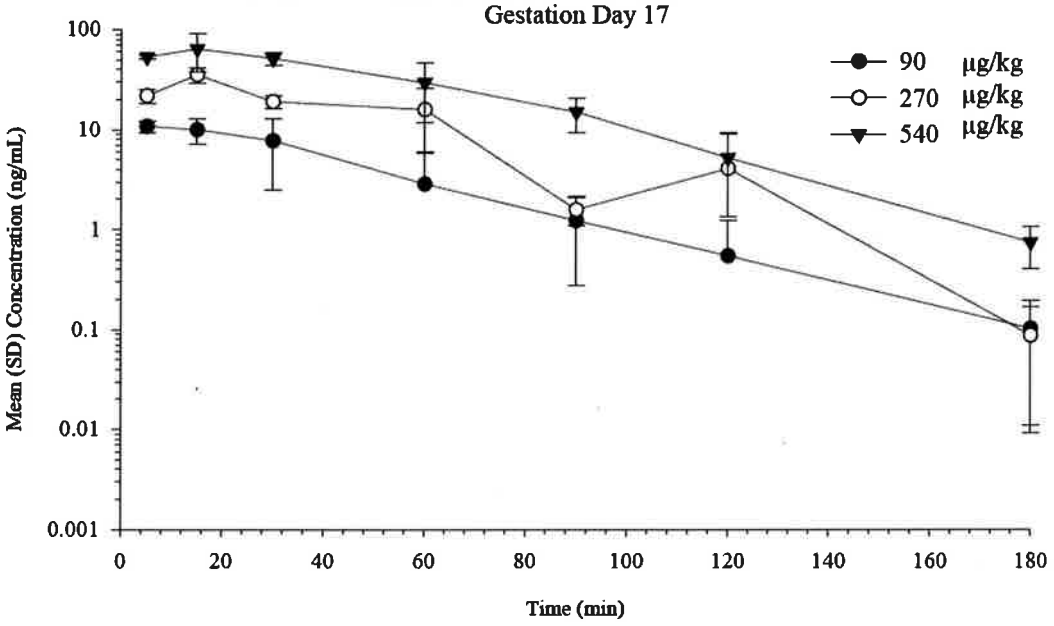
PK 推移を図 2.6.4.3.2.1-1 に、血漿中 BMN 111 の TK パラメータを表 2.6.4.3.2.1-1 に示す。表 2.6.4.3.2.1-2 に曝露パラメータの投与量比例性を示した。SC 投与後 BMN 111 は、5 又は 15 分で速やかに C_{max} に到達した。血漿中 $t_{1/2}$ は 13.6～25.0 分であった。

C_{max} 及び AUC_{0-t} の曝露は、ほぼ用量比例的に増加し、投与量が 6 倍に増加したときそれぞれ 4.4～6.0 倍及び 7.0～7.5 倍増加した。反復投与後の曝露は約 2 倍に増加した。Vz/F と CL/F は GD 6 から GD 17 にかけて減少した。プールした胎児サンプルの少数で BMN 111 が測定可能であったが、同時間の母体血中濃度よりもかなり低かった。

図 2.6.4.3.2.1-1 雌ラットにおける血漿中 BMN 111 濃度推移



Summary Female Rat Plasma BMN 111 Concentrations Following 90 µg/kg, 270 µg/kg, and 540 µg/kg Subcutaneous Administration of BMN 111 on Gestation Day 17



n=3 at each time point

表 2.6.4.3.2.1-1 雌ラットの GD 6 及び GD 17 に BMN 111 の 90 µg/kg、270 µg/kg、540 µg/kg を SC 投与したときの血漿中 TK パラメータ

Gender	Day	Dose (µg/kg)	T_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng·min/mL)	AUC_{0-inf} (ng·min/mL)	$t_{1/2}$ (min)	Vz/F (mL/kg)	CL/F (mL/min/kg)
Female	GD 6	90	5	10.9	216	226	13.8	7930	398
		270*	15	37.3	1170	1180	18.2	5990	228
		540	5	47.5	1520	1530	13.6	6940	354
	GD 17	90	5	10.8	530	534	25.0	6070	169
		270	15	35.5	1750	1750	19.7	4390	154
		540	15	64.5	3950	3970	20.8	4080	136

Note: TK parameters are derived from the mean concentration-time profile.
AUC, area under the concentration-time curve; CL/F, apparent SC clearance; C_{max}, maximum observed concentration; GD, gestation day; T_{max}, time to reach maximum observed concentration; $t_{1/2}$, elimination phase half-life; Vz/F, apparent SC volume of distribution
*Fails the Rsq < 0.800 criteria, therefore AUC_{0-inf}, $t_{1/2}$, Vz/F and CL/F listed for this group are for information purposes only and are not reportable.

表 2.6.4.3.2.1-2 GD 6 及び GD 17 に BMN 111 を SC 投与したときの雌ラット血漿中の BMN 111 の投与量比例性

Day	Dose (µg/kg)	Dose Ratio	C_{max} (ng/mL)	C_{max} Ratio	AUC_{0-t} (ng·min/mL)	AUC_{0-t} Ratio
GD 6	90	1.0	10.9	1.0	216	1.0
	270	3.0	37.3	3.4	1170	5.4
	540	6.0	47.5	4.4	1520	7.0
GD 17	90	1.0	10.8	1.0	530	1.0
	270	3.0	35.5	3.3	1750	3.3
	540	6.0	64.5	6.0	3950	7.5

AUC, area under the concentration-time curve; C_{max}, maximum observed concentration; GD, gestation day

2.6.4.3.2.2 BMN 111 の SD ラットにおける 28 日間反復 SC 投与毒性試験・トキシコキネティクス試験及び 7 日間回復性試験（試験報告書[BMN111-11-029]）

本 GLP 試験の目的は、SD ラットに BMN 111 を 1 日 1 回 28 日間 SC 投与し、その後 7 日間休薬したときの毒性及び TK パラメータを求めることであった。本試験は報告書 BMN111-11-029 及び[表 2.6.5.4-2]に要約した。本要約では、28 日間の投与期間における TK 解析について述べる。試験開始時に約 7～8 週齢の雌雄 Crl:CD（SD）ラットを用いた。BMN 111 の 50、150 及び 500 µg/kg/日を 9 匹／性／群（それぞれ第 6 群、第 7 群、第 8 群）に SC 投与した。第 5 群は TK 対照群とし、雌雄各 3 匹とした。1、8、15 及び 28 日目の投与前及び投与 5 分後に、各群雌雄各 3 例/時点から採血した。1 日目及び 28 日目の 3 匹／性／群／時点から投与後 15、30、60、90、120 及び 180 分に追加で採血した（第 6 群、第 7 群及び第 8 群）。

ラット血漿中 BMN 111 の TK パラメータを表 2.6.4.3.2.2-1 に示す。BMN 111 の C_{max} 及び 0 時間から 180 分までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}180m}$）の性別の比較を表 2.6.4.3.2.2-2 に示す。BMN 111 の投与量比例性を表 2.6.4.3.2.2-3 に示す。雌雄ラットの平均血漿中濃度推移を図 2.6.4.3.2.2-1 に示す。

対照群の BMN 111 の濃度はいずれも定量下限（500 pg/mL）未満であった。雌雄の平均濃度推移から、BMN 111 の曝露量は 50～500 µg/kg/日で投与量増加と共に増加することが示された（図 2.6.4.3.2.2-1）。SC 投与後、BMN 111 は速やかに吸収され、T_{max} は投与 1 日目で 5.00～15.0 分、投与 28 日目で 5.00～30.0 分であった（表 2.6.4.3.2.2-1）。$t_{1/2}$ は、1 日目は 13.5～15.7 分、28 日目は 15.2～35.0 分であった。CL/F は投与 1 日目で 256～399 mL/min/kg、投与 28 日目で 43.5～13 6mL/min/kg であった（表 2.6.4.3.2.2-1）。Vz/F は、投与 1 日目で 5781～8133 mL/kg、投与 28 日目で 1059～7012 mL/kg であった。λz に依存するパラメータ（$t_{1/2}$、CL/F、Vz/F、$AUC_{0\text{-}\infty}$）は、評価可能なパラメータを持つ群が限られているため、慎重に解釈する必要があると考える。

表 2.6.4.3.2.2-1 ラット血漿中 BMN 111 の TK パラメータ：1 日目及び 28 日目

Interval	Group	Dose Level (µg/kg/day)	Gender	C_{max} (pg/mL)	DN C_{max} [(pg/mL)/(µg/kg/day)]	T_{max} (min)	AUC_{0-t} (pg·min/mL)	AUC_{0-180m} (pg·min/mL)	DN AUC_{0-180m} [(pg·min/mL)/(µg/kg/day)]	$AUC_{0-\infty}$[a] (pg·min/mL)	$t_{1/2}$ (min)	CL/F[b] (mL/min/kg)	Vz/F (mL/kg)	AR AUC_{0-180m}
Day 1	6	50	M	4007	80.1	5.00	80,225	105,575	2112	NC	NC	NC	NC	NA
			F	3360	67.2	5.00	73,125	86,725	1735	NC	NC	NC	NC	NA
		Combined		3683	73.7	5.00	76,675	96,150	1923	NC	NC	NC	NC	NA
	7	150	M	13,550	90.3	15.0	371,850	375,150	2501	376,339	14.1	399	8133	NA
			F	13,733	91.6	5.00	230,875	279,625	1864	NC	NC	NC	NC	NA
		Combined		13,167	87.8	5.00	325,738	327,388	2183	327,614	11.8	458	7810	NA
	8	500	M	62,567	125	5.00	1,947,550	1,957,650	3915	1,955,161	15.7	256	5781	NA
			F	57,267	115	5.00	1,301,850	1,306,950	2614	1,305,171	13.5	383	7484	NA
		Combined		59,917	120	5.00	1,624,700	1,632,300	3265	1,630,171	15.0	307	6623	NA
Day 28	6	50	M	13,703	274	30.0	679,658	679,658	13,593	NC	NC	NC	NC	6.44
			F	5790	116	30.0	250,175	274,475	5490	NC	NC	NC	NC	3.16
		Combined		9747	195	30.0	477,067	477,067	9541	NC	NC	NC	NC	4.96
	7	150	M	73,333	489	15.0	3,381,317	3,381,317	22,542	3,451,743	31.8	43.5	1992	9.01
			F	36,633	244	15.0	1,043,417	1,079,517	7197	1,104,139	35.0	136	7012	3.86
		Combined		54,983	367	15.0	2,230,417	2,230,417	14,869	2,264,027	30.3	66.3	2898	6.81
	8	500	M	151,333	303	5.00	5,998,467	5,998,467	11,997	NC	NC	NC	NC	3.06
			F	214,867	430	15.0	10,313,983	10,313,983	20,628	10,344,591	15.2	48.3	1059	7.89
		Combined		137,950	276	15.0	8,156,225	8,156,225	16,312	8,449,947	31.9	59.2	2722	5.00

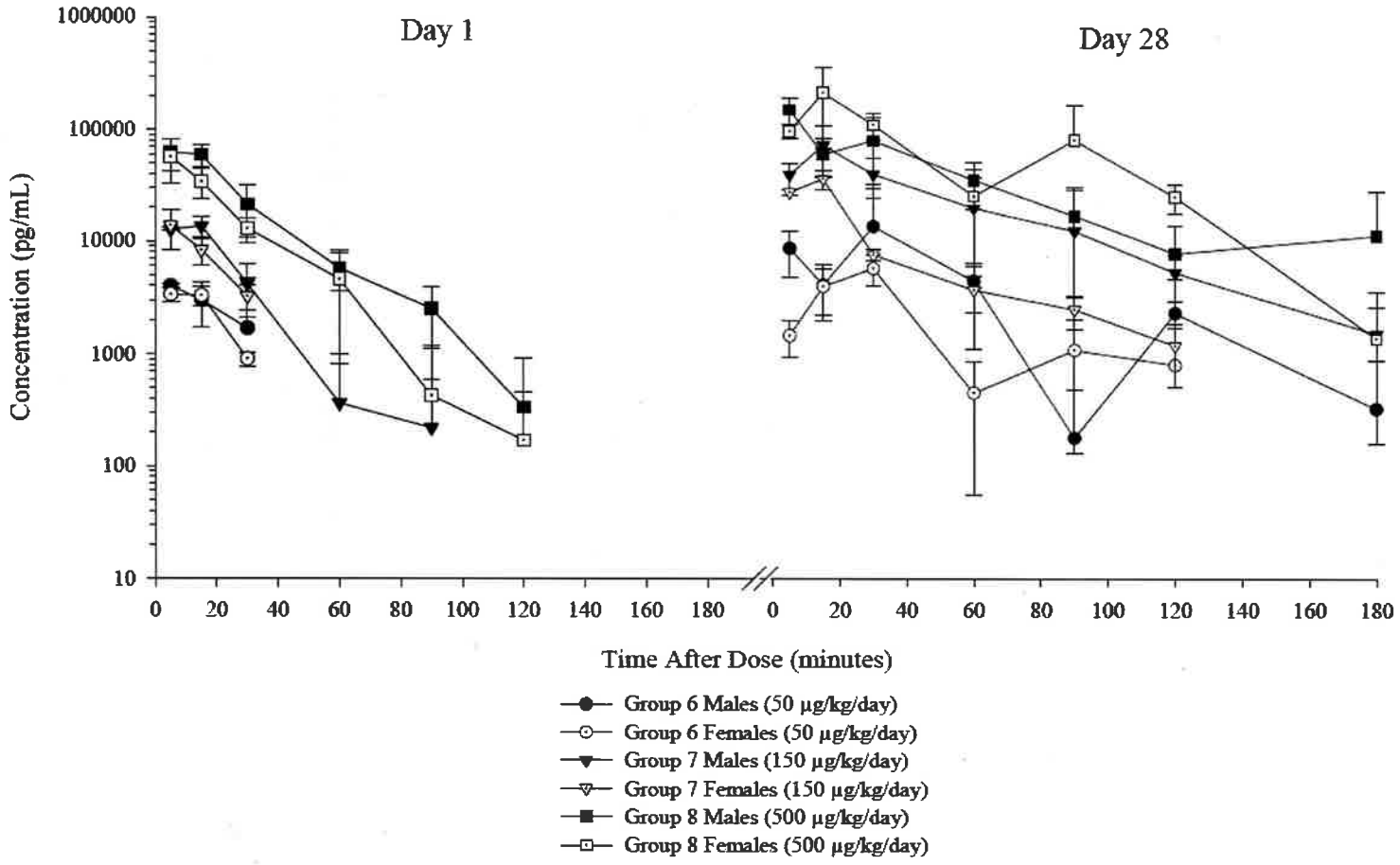
Note; TK parameters are derived from the mean concentration-time profile.

AR, accumulation ratio; AUC, area under the concentration-time curve; CL/F, apparent SC clearance; DN, dose normalized; F, female; min, minute; M, male; NA, not applicable; NC, not calculated; Vz/F, apparent SC volume of distribution

a) Day 28 $AUC_{0-\infty}$ presented for informational purposes only.

b) Note that CL/F values should be interpreted cautiously since concentrations were only collected out to 180 minutes.

図 2.6.4.3.2.2-1 雌雄ラット血漿中 BMN 111 濃度推移 平均値（±SD、各測定時点 n=3）：1 日目及び 28 日目



雄では、投与1日目のBMN 111曝露量が雌と比較しておおむね高く、C_{max}のM/F比は0.987～1.19、AUC_{0-180m}のM/F比は1.22～1.50であった（表 2.6.4.3.2.2-2）。しかし、その差は2倍以下であった。28日目、BMN 111への曝露量は雌と比較して雄でおおむね高く、M/F比はC_{max}及びAUC_{0-180m}でそれぞれ0.704～2.37及び0.582～3.13であった。28日目のM/F比は、低及び中投与量のみで2倍を超えていた。1日目と比較して28日目ではC_{max}とAUC_{0-180m}の数値が高くなった。AUC_{0-180m}でみた蓄積率（AR）は、全投与量で3.06～9.01であった（表 2.6.4.3.2.2-1）。

反復投与後の曝露量の増加は、投与間隔と比較して終末相の$t_{1/2}$が比較的短く、投与前の濃度が28日目で定量下限未満（BLQ）であることから、蓄積性のためとは考えにくい。

表 2.6.4.3.2.2-2 BMN 111の血漿中C_{max}及びAUC_{0-180m}の雌雄比

Interval	Group	Dose Level (μg/kg/day)	Gender	C_{max} (pg/mL)	M/F Ratio C_{max}	AUC_{0-180m} (pg·min/mL)	M/F Ratio AUC_{0-180m}
Day 1	6	50	M	4007	1.19	105,575	1.22
			F	3360		86,725	
	7	150	M	13,550	0.987	375,150	1.34
			F	13,733		279,625	
	8	500	M	62,567	1.09	1,957,650	1.50
			F	57,267		1,306,950	
Day 28	6	50	M	13,703	2.37	679,658	2.48
			F	5790		274,475	
	7	150	M	73,333	2.00	3,381,317	3.13
			F	36,633		1,079,517	
	8	500	M	151,333	0.704	5,998,467	0.582
			F	214,867		10,313,983	

AUC, area under the concentration-time curve; C_{max}, maximum observed concentration; F, female; M, male; min, minute

50～500 μg/kg/日における雌雄の血漿中C_{max}及びAUC_{0-180m}はおおむね投与量比例性を上回る増加を示した（表 2.6.4.3.2.2-3）。

表 2.6.4.3.2.2-3 ラット血漿中BMN 111の投与量比例性

Interval	Group	Dose Level (μg/kg/day)	Fold Increase	Males		Females		Combined	
				C_{max} Ratio	AUC_{0-180m} Ratio	C_{max} Ratio	AUC_{0-180m} Ratio	C_{max} Ratio	AUC_{0-180m} Ratio
Day 1	6	50	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
	7	150	3.0	3.4	3.6	4.1	3.2	3.6	3.4
	8	500	10	16	19	17	15	16	17
Day 28	6	50	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
	7	150	3.0	5.4	5.0	6.3	3.9	5.6	4.7
	8	500	10	11	8.8	37	38	14	17

AUC, area under the concentration-time curve; C_{max}, maximum observed concentration

2.6.4.3.2.3 BMN 111 のラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に関する SC 投与試験（試験報告書[BMN111-14-060]）

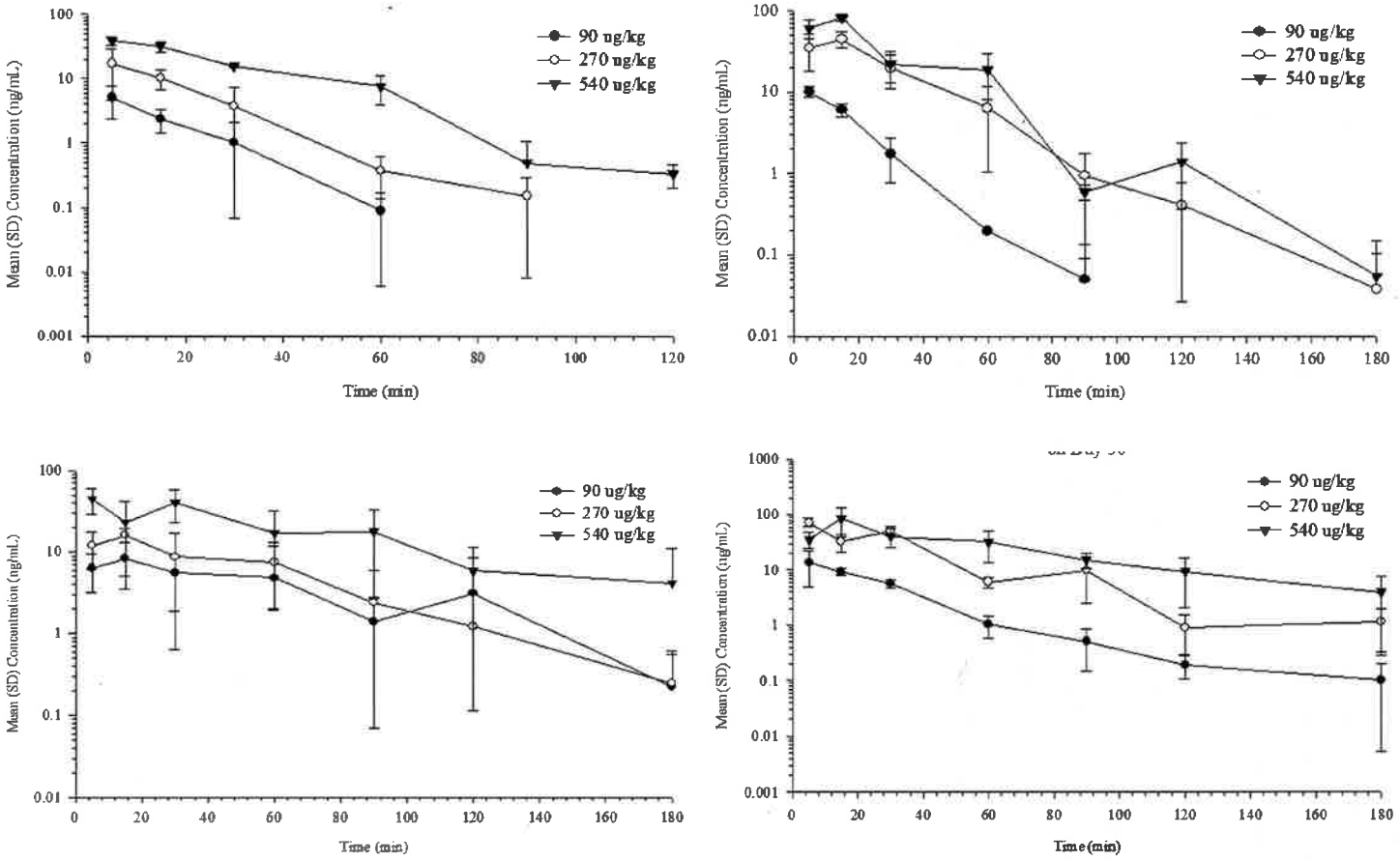
本 GLP 試験の目的は、交配前、交配及びに妊娠時期を通して雌雄ラットにおける BMN 111 の毒性及び TK を求めることであった。以下の要約では、雌雄 SD ラットに BMN 111 を単回及び連日の反復 SC 投与後の血漿中 TK について記載する。本試験は報告書 BMN111-14-060 及び[表 2.6.5.4-3]に要約した。

雄に BMN 111 又は溶媒対照を 1 日 1 回、交配 28 日前から交配期間中に投与し、剖検日まで投与を継続した（90、270 及び 540 μg/kg/日、各用量 n=6）。雌に BMN 111 又は溶媒対照を 1 日 1 回、交配 15 日前から交配期間中に投与し、妊娠が推定される 7 日目（GD 7）まで継続した（90、270 及び 540 μg/kg/日、各用量 n=6）。投与 1 日目（雌雄）、投与 50 日目（雄）及び GD 7（雌）に採血した。

薬物濃度推移を図 2.6.4.3.2.3-1 に、血漿中 BMN 111 の TK パラメータを表 2.6.4.3.2.3-1 に示す。表 2.6.4.3.2.3-2 に曝露パラメータの投与量比例性を示す。SC 投与後、雌雄ラットにおいて、BMN 111 は速やかに C_{max} に到達し、1 日目、GD 7 及び 50 日目に投与後 5 分又は 15 分であった。TK を求めた全ての日で、雌雄の血漿中 $t_{1/2}$ は 1 時間未満であった。

1 日目に性差が認められ、雌よりも雄の曝露が最大 4 倍高かったが、50 日目の雄の反復投与後では雌の GD 7 とおおむね類似していた。

図 2.6.4.3.2.3-1 雌雄ラット血漿中 BMN 111 濃度推移（上段左 1 日目雌；上段右 1 日目雄；下段左 GD 7；下段右 50 日目雄）



Mean±SD, n=3 at each time point

血漿中 C_{max} でみた BMN 111 の曝露は、おおむね投与量に比例して増加した（1:1）。BMN 111 の曝露量である AUC_{0-t} は、雌雄では投与 1 日目、雄では投与 50 日目に投与量比例性を上回る増加を示したが、GD 7 の雌ではほぼ投与量比例性を示した。反復投与後の曝露の増加は、雌では GD 7 と 1 日目を比較すると最大 7 倍、雄では 50 日目と 1 日目を比較すると 2 倍未満であった。反復投与による曝露の増加は、CL の減少に一部起因していた。CL も投与量の増加に伴い減少した。

表 2.6.4.3.2.3-1 雌雄ラットに BMN 111 の 90 µg/kg、270 µg/kg、540 µg/kg を SC 投与したときの血漿中 TK パラメータ

Gender	Day	Dose (µg/kg)	T_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng·min/mL)	AUC_{0-inf} (ng·min/mL)	$t_{1/2}$ (min)	Vz/F (mL/kg)	CL/F (mL/min/kg)
Female	1	90	5.00	5.06	91.7	92.9	9.36	13,100	969
	1	270	5.00	17.0	352	355	12.0	13,200	761
	1	540	5.00	38.3	1280	1290	14.8	8,990	420
	GD 7	90*	15.0	8.46	617	628	34.1	7040	143
	GD 7	270	15.0	16.3	854	864	27.2	12,300	313
	GD 7	540	5.00	45.0	3000	3280	45.9	10,900	165
Male	1	90	5.00	10.0	196	196	10.8	7140	458
	1	270	15.0	44.5	1490	1500	19.1	4970	180
	1	540	15.0	82.1	2620	2630	17.0	5040	206
	50	90	5.00	13.6	406	411	35.9	11,300	219
	50	270*	5.00	72.8	2660	2710	28.5	4090	99.7
	50	540	15.0	86.1	4250	4510	46.0	7940	120

Note: TK parameters are derived from the mean concentration-time profile.

AUC, area under the concentration-time curve; CL/F, apparent SC clearance; C_{max}, maximum observed concentration; GD, gestation day; T_{max}, time to reach maximum observed concentration; $t_{1/2}$, elimination phase half-life; Vz/F, apparent SC volume of distribution

* Fails the Rsq<0.800 criteria, therefore AUC_{0-inf}, $t_{1/2}$, Vz/F and CL/F listed for this group are for information purposes only and are not reportable.

表 2.6.4.3.2.3-2 BMN 111 を 1 日目、GD 7、50 日目に SC 投与したときのラット血漿中 BMN 111 曝露量比例性

Gender	Day	Dose (µg/kg)	Dose Ratio	C_{max} (ng/mL)	C_{max} Ratio	AUC_{0-t} (ng·min/mL)	AUC_{0-t} Ratio
Female	1	90	1.0	5.06	1.0	91.7	1.0
		270	3.0	17.0	3.4	352	3.8
		540	6.0	38.3	7.6	1280	14
	GD 7	90	1.0	8.46	1.0	617	1.0
		270	3.0	16.3	1.9	854	1.4
		540	6.0	45.0	5.3	3000	4.9
Male	1	90	1.0	10.0	1.0	196	1.0
		270	3.0	44.5	4.5	1490	7.6
		540	6.0	82.1	8.2	2620	13
	50	90	1.0	13.6	1.0	406	1.0
		270	3.0	72.8	5.4	2660	6.6
		540	6.0	86.1	6.3	4250	10

AUC, area under the concentration-timecurve; C_{max}, maximum observed concentration; GD, gestation day

2.6.4.3.2.4 BMN 111 のラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する SC 投与試験（試験報告書[BMN111-18-103]）

本 GLP 試験の目的は、SD [Crl:CD(SD)]雌ラットに BMN 111 を着床から授乳期間をとおして離乳まで投与し、出生児の発達に及ぼす影響をを評価することであった。以下の要約では、妊娠期間及び授乳期間中の母動物、及び出生児における授乳期間中の試料についての TK 評価を述べる。本試験は、報告書 BMN111-18-103 及び[表 2.6.5.4-4]に要約した。

F_0 世代雌ラットに、妊娠（GD）6 日から授乳日齢（LD）20 日まで BMN 111（90、270 及び 540 µg/kg/日）を 1 日 1 回 SC 投与した。F1 世代の出生児には BMN 111 を直接投与しなかった。投与開始前の GD 6 及び LD 14 の投与後 30 分に、各群 5 匹の母動物から採血した。LD 14 の投与後 30 分に血液を採取した同じ 5 匹の母動物から乳汁を採取した。生後（PND）1 日の授乳前に、各群 2 腹の出生児雌雄各 1 例から血液を採取した。PND 14 に、各群 2 腹の出生児雌雄各 1 例から血液を採取した。血漿及び乳汁試料を、LLOQ が無希釈ラット血漿で 0.100 ng/mL、無希釈ラット乳汁で 0.410 ng/mL であるバリデートされた分析法を用いて測定した。

母動物の血漿及び乳汁中濃度を表 2.6.4.3.2.4-1 に、血漿中濃度に対する乳汁中濃度の比を表 2.6.4.3.2.4-2 示した。LD 14 における投与後 30 分の平均濃度でみたとき、母動物の血漿及び乳汁中の BMN 111 の曝露量は、90 から 540 µg/kg への投与量増加に伴って増加した。一般に、乳汁中の LD 14 における BMN 111 濃度は血漿の 5%未満であった。測定可能な値でみたとき、乳汁／血漿中濃度比は 270 µg/kg で 0.0130～0.0473、540 µg/kg で 0.0162～0.0502 であった。

GD 6 から LD 20 日まで BMN 111 を 1 日に 1 回投与した母動物の PND 1 及び PND 14 の出生児から採取された試料の BMN 111 は、BLQ であった。例外として、PND 1 の 540 µg/kg を投与した母動物から生まれたラット 1 例で、濃度は 0.137 ng/mL であった。

表 2.6.4.3.2.4-1 GD 6 から LD 20 まで BMN 111 を 1 日 1 回 SC 投与した母動物の GD 6 と LD 14 における血漿中濃度及び乳汁中濃度

Dose (µg/kg)	Matrix	Day	Time (min)	BMN 111 Concentration (ng/mL)						
				n	Mean	SD	Min	Median	Max	%CV
0	Plasma	GD 6	0	5	BLQ	NA	BLQ	BLQ	BLQ	NA
		LD 14	30	5	BLQ	NA	BLQ	BLQ	BLQ	NA
	Milk	LD 14	30	5	BLQ	NA	BLQ	BLQ	BLQ	NA
90	Plasma	GD 6	0	5	BLQ	NA	BLQ	BLQ	BLQ	NA
		LD 14	30	5	1.52	1.31	0.00	1.57	3.53	86.2
	Milk	LD 14	30	5	0.0904	0.202	0.00	0.00	0.452	224
270	Plasma	GD 6	0	5	BLQ	NA	BLQ	BLQ	BLQ	NA
		LD 14	30	5	16.9	12.4	10.8	11.8	39.1	73.5
	Milk	LD 14	30	5	0.299	0.277	0.00	0.421	0.563	92.9
540	Plasma	GD 6	0	5	BLQ	NA	BLQ	BLQ	BLQ	NA
		LD 14	30	5	28.2	13.1	16.0	23.1	42.3	46.7
	Milk	LD 14	30	5	0.896	0.457	0.489	0.684	1.57	51.0

BLQ, below limit of quantitation; n, number; CV, coefficient of variation; GD, gestation day; LD, lactation day; NA, not applicable; SD, standard deviation

表 2.6.4.3.2.4-2 母動物 SD ラットにおける BMN 111 の乳汁血漿濃度比

Dose (µg/kg)	Animal	Milk to Plasma Concentration Ratio on LD 14
90	1137	NA
	1138	NA
	1139	NA
	1140	NA
	1141	NA
270	1161	NA
	1162	NA
	1163	0.0357
	1164	0.0130
	1165	0.0473
540	1185	0.0306
	1186	0.0162
	1187	0.0335
	1188	0.0372
	1189	0.0502

LD, lactation day; NA, not applicable as quantifiable concentrations were not measured in both matrix from the same animal

2.6.4.3.2.5 BMN 111 の SD 系ラットにおける 26 週間反復 SC 投与毒性・TK 試験及び 28 日間回復性試験（試験報告書[BMN111-11-036]）

本研究の目的は、少なくとも 26 週間ラットに毎日 SC 投与したときの毒性を評価し、BMN 111 の TK を求めることであった。本試験は報告書 BMN111-11-036 及び[表 2.6.5.4-5]に要約した。

雌雄の Hsd:SD ラットを 8 群に割り付け、溶媒対照又は被験物質を投与した。試験開始時、ラットは 8 ヵ月齢以上であった。動物を 8 群に割り付け、背側（雄 n=9、雌 n=9、各投与量）に単回 SC 投与として、溶媒又は BMN 111 を 1 日 50、150 又は 500 μg/kg、26 週間（計 183 回）投与した。TK 試験用の動物を第 5 群（対照群）から第 8 群に割り付けた。雌雄各 3 匹／群／時点（第 6 群、第 7 群、第 8 群）の、1、85、176 日目の投与前、投与後 5、15、30、60、90、120 及び 180 分に採血した。第 5 群の雌雄各 3 匹から、投与後 30 分に採血した。免疫原性測定用のサンプルは、投与前期、投与期 176 日目の投与前、回復期 28 日目に全毒性試験用動物から採取した。

血漿中 BMN 111 の PK パラメータ及び投与量比例性を表 2.6.4.3.2.5-1 及び表 2.6.4.3.2.5-2 に、血漿中濃度推移を図 2.6.4.3.2.5-1 に示す。対照群の BMN 111 の濃度は全て BLQ（< 500 pg/mL）であった。SC 投与後、BMN 111 は速やかに吸収され、1、85、176 日目の T_{max} は 5.00～15.0 分であった（投与量依存性なし）。$t_{1/2}$ は、1 日目は 15.1～22.6 分、85 日目は 19.2～43.4 分、176 日目は 21.7～72.3 分であった。BMN 111 の曝露は、一般的に 50～500 μg/kg において投与量の増加に伴い増加した。C_{max} と $AUC_{0\text{-}180m}$ の増加は一貫して投与量に比例していなかった。雄の BMN 111 曝露は、1 日目及び 85 日目では雌と比較して一般的に高く、176 日目の曝露は概して同程度であった。このことは、BMN 111 の効果が、雄の方が高かったことが報告されていることと一致していた。C_{max} と $AUC_{0\text{-}180m}$ は、通常、反復投与後の方が高かった。

何匹かの毒性試験用動物では、176 日目及び Day 211 日目（該当する場合）に ADA の結果が陽性であった。ADA 陽性となったのは、50 μg/kg 投与群で 27 匹中 19 匹（70.4%）、150 μg/kg 投与群で 30 匹中 22 匹（73.3%）、500 μg/kg 投与群で 43 匹中 17 匹（39.5%）であった。しかし、試験デザインのため、これらの動物では TK サンプルが採取されなかったことから、ADA 陽性が BMN 111 の TK に及ぼす影響は評価できなかった。

表 2.6.4.3.2.5-1 BMN 111 を連日 SC 投与したラットにおける血漿中 PK パラメータ

Interval	Group	Dose Level (µg/kg/day)	Gender	C_{max} (pg/mL)	DN C_{max} [(pg/mL)/(µg/kg/day)]	T_{max} (min)	AUC_{0-t} (pg·min/mL)	AUC_{0-180m} (pg·min/mL)	DN AUC_{0-180m} [(pg·min/mL)/(µg/kg/day)]	$t_{1/2}$ (min)	CL/F (mL/min/kg)	Vz/F (mL/kg)	AR AUC_{0-180m}
1	6	50	M	12,667	253	5.00	404,204	411,754	8235	17.5	120	3026	
			F	6063	121	15.0	145,417	147,967	2959	20.9	332	10,002	
			Combined	8455	169	5.00	274,810	279,860	5597	18.1	176	4611	
	7	150	M	22,060	147	5.00	762,758	859,608	5731	NC	NC	NC	
			F	32,600	217	5.00	682,408	699,558	4664	18.3	210	5559	
			Combined	27,330	182	5.00	722,583	779,583	5197	NC	NC	NC	
	8	500	M	101,167	202	15.0	4,780,983	4,780,983	9562	NC	NC	NC	
			F	99,500	199	5.00	2,634,433	2,649,833	5300	15.1	189	4128	
			Combined	93,917	188	5.00	3,715,408	3,715,408	7431	22.6	134	4367	
85	6	50	M	50,433	1009	15.0	1,851,217	1,851,217	37,024	NC	56.4	NC	4.50
			F	18,917	378	15.0	783,308	783,308	15,666	38.5	158	8800	5.29
			Combined	34,675	694	15.0	1,336,913	1,336,913	26,738	33.7	80.7	3929	4.78
	7	150	M	99,400	663	15.0	4,464,550	4,464,550	29,764	NC	76.9	NC	5.19
			F	54,667	364	15.0	2,673,133	2,673,133	17,821	28.8	160	6667	3.82
			Combined	77,033	514	15.0	3,568,842	3,568,842	23,792	NC	104	NC	4.58
	8	500	M	555,000	1110	5.00	29,684,542	29,684,542	59,369	NC	45.4	NC	6.21
			F	133,933	268	15.0	8,580,967	8,580,967	17,162	19.2	184	5113	3.24
			Combined	340,083	680	5.00	18,848,404	18,848,404	37,697	43.4	72.9	4559	5.07
176	6	50	M	19,830	397	15.0	592,675	592,675	11,854	27.6	83.4	3318	1.44
			F	16,800	336	15.0	635,775	635,775	12,716	72.3	73.6	7675	4.30
			Combined	18,315	366	15.0	614,401	614,401	12,288	43.8	79.2	4997	2.20
	7	150	M	38,067	254	15.0	1,436,808	1,436,808	9579	NC	NC	NC	1.67
			F	27,817	185	15.0	1,317,208	1,317,208	8781	21.7	113	3550	1.88

Interval	Group	Dose Level (µg/kg/day)	Gender	C_{max} (pg/mL)	DN C_{max} [(pg/mL)/(µg/kg/day)]	T_{max} (min)	AUC_{0-t} (pg·min/mL)	AUC_{0-180m} (pg·min/mL)	DN AUC_{0-180m} [(pg·min/mL)/(µg/kg/day)]	$t_{1/2}$ (min)	CL/F (mL/min/kg)	Vz/F (mL/kg)	AR AUC_{0-180m}
			Combined	32,942	220	15.0	1,377,008	1,377,008	9180	NC	NC	NC	1.77
	8	500	M	495,667	991	15.0	25,410,983	25,410,983	50,822	NC	NC	NC	5.32
			F	163,333	327	5.00	8,715,225	8,715,225	17,430	24.4	56.9	2000	3.29
			Combined	356,300	713	15.0	18,369,410	18,369,410	36,739	NC	NC	NC	4.94

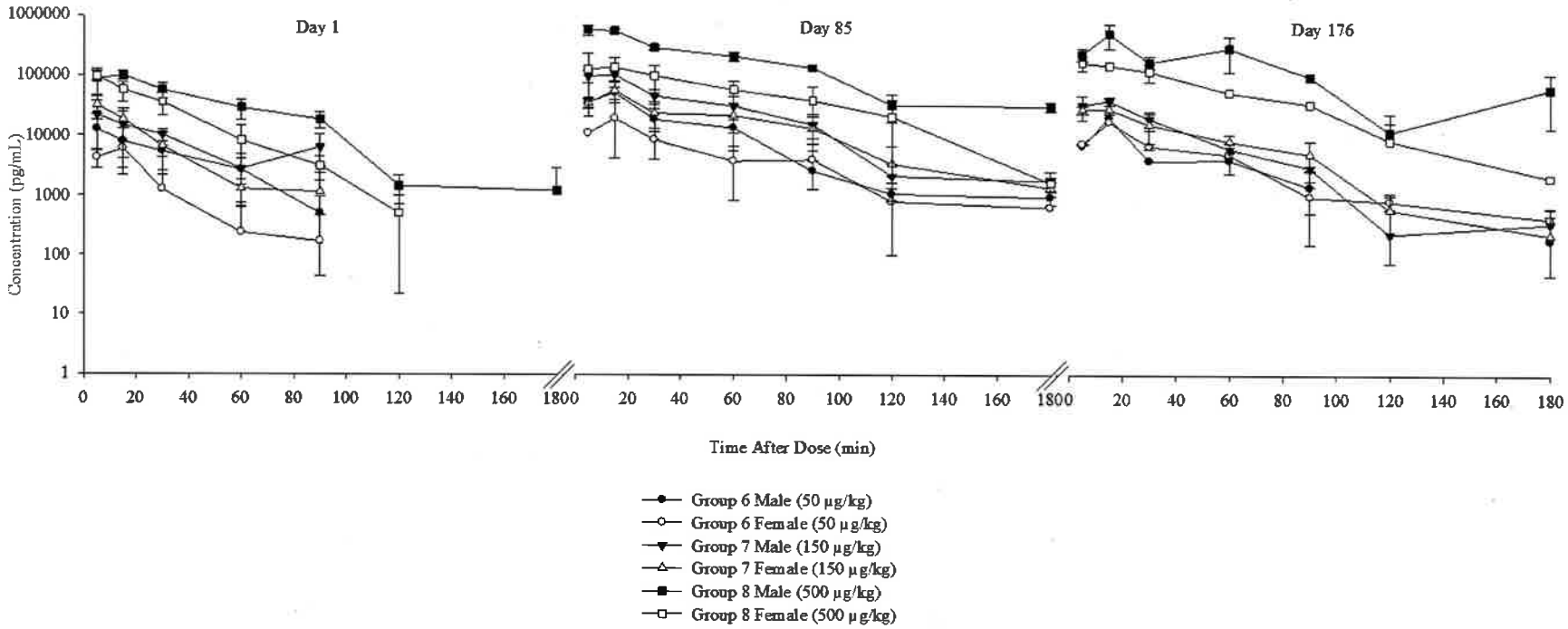
AR, accumulation ratio; AUC, area under the concentration-time curve; CL/F, apparent SC clearance; C_{max}, maximum observed concentration; DN, dose normalized; F, female; M, male; min, minute; NC, not calculated; T_{max}, time to reach maximum observed concentration; $t_{1/2}$, elimination phase half-life; Vz/F, apparent SC volume of distribution
TK parameters are derived from the mean concentration-time profile.

表 2.6.4.3.2.5-2 ラット血漿中における BMN 111 の投与量比例性

Interval	Group	Dose Level (µg/kg/day)	Fold Increase	Males		Females		Combined	
				C_{max} Ratio	AUC_{0-180m} Ratio	C_{max} Ratio	AUC_{0-180m} Ratio	C_{max} Ratio	AUC_{0-180m} Ratio
1	6	50	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
	7	150	3.0	1.7	2.1	5.4	4.7	3.2	2.8
	8	500	10	8.0	11.6	16.4	17.9	11.1	13.3
85	6	50	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
	7	150	3.0	2.0	2.4	2.9	3.4	2.2	2.7
	8	500	10	11.0	16.0	7.1	11.0	9.8	14.1
176	6	50	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
	7	150	3.0	1.9	2.4	1.7	2.1	1.8	2.2
	8	500	10	25.0	42.9	9.7	13.7	19.5	29.9

AUC, area under the concentration-time curve; C_{max}, maximum observed concentration

図 2.6.4.3.2.5-1 雌雄ラット血漿中 BMN 111 濃度推移（各測定時点の平均値±SD、n=3）：投与 1、85 及び 176 日目



2.6.4.3.2.6 BMN 111 の幼若ラットにおける 26 週間 SC 投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（試験報告書[BMN111-11-052]）

本試験の目的は、1 日目［生後 7 日目（PND 7）］及び 182 日目［生後 188 日目（PND 188）］の BMN 111 の TK を求め、BMN 111 投与終了時の免疫原性反応を評価することであった。本試験は報告書 BMN111-11-052 及び[表 2.6.5.4-6]に要約した。

TK 用動物に、PND 7 から PND 188 まで、溶媒対照又は BMN 111 の 10、30 及び 90 µg/kg を 1 日 1 回背側に SC 投与した。PND 7 の TK 採血用ラットは PND 7 のみに投与し、イソフルラン麻酔後、翼状針を用いて心臓穿刺により採血した。血液（6 時点で各 n=3）を投与前、PND 7（投与 1 日目；雌雄各 n=18）の投与後 5、15、30、60 及び 120 分に採取した。溶媒対照を投与した対照動物（雌雄各 n=3、第 1 群）から、PND 7 に溶媒投与後 15 分に採血した。PND 188 のラットについては、ラット（投与 182 日目；雌雄各 n=9）から頸静脈穿刺により血液を採取した。各動物から最大 3 時点で採血した。PND 188 の投与前、投与後 5、15、30、60、120 及び 180 分に血液（n=3）を採取した（第 2～4 群）。第 1 群の溶媒対照については、溶媒投与前及び溶媒投与後 15 分に採血した。

免疫原性測定用の試料は、投与期の 188 日目の投与前、及び回復期の PND 230 の投与前に全 TK 動物から採取した。BMN 111 及び抗 BMN 111 抗体について、それぞれ血漿及び血清サンプルを測定し、その結果得られたデータを TK 報告書の作成に用いた。

曝露に関する PK パラメータの投与量比例性を表 2.6.4.3.2.6-1 に示した。薬物濃度推移を図 2.6.4.3.2.6-1 に、血漿中 BMN 111 の詳細な PK パラメータを表 2.6.4.3.2.6-2 に示す。BMN 111 の ADA 発現率及び程度を表 2.6.4.3.2.6-3 に、さらに性別で層別したものを表 2.6.4.3.2.6-4 に示す。

SC 投与後、BMN 111 は速やかに吸収され、T_{max} は単回投与 1 日目（PND 7）の 5.0 分から投与 182 日目（PND 188）の 5.0～30 分であった。C_{max} に達した後、BMN 111 は迅速に減少し、182 日目の $t_{1/2}$ は 40.1～44.1 分であった。投与 1 日目の $t_{1/2}$、CL/F 及び Vz/F の PK パラメータは、λz の算出に必要な十分な定量可能な BMN 111 濃度値が不足していたため、全ての投与量で算出できなかった。

BMN 111 の曝露は、1 日目（PND 7）よりも 182 日目（PND 188）の反復投与後の方が大きかった。10～90 µg/kg において曝露は投与量の増加に伴って増加した。C_{max} と AUC_{0-t} の増大は一貫して投与量に比例していなかった。PND 7 日の初回投与時（C_{max} のみ）の曝露は投与量比を下回る増加を示し、PND 188 の 26 週間投与時（C_{max} 及び AUC_{0-t}）の曝露は投与量比を上回る増加が認められた。単回及び反復投与した場合の BMN 111 曝露は、一般に雄の方が雌よりも高かった。

PND 188 における ADA 陽性率は 3 投与群とも同程度であり、56～67%であった。この時点で、力価の平均値及び中央値の用量依存的な上昇も確認された。3 投与群の平均力価は 138（10 µg/kg）、767（30 µg/kg）、1368（90 µg/kg）であった。6 週間の回復期間後、発現率及び力価は低下した。いずれの時点でも、発現率又は抗体価の平均値及び中央値に有意な性差はみられ

なかった。性差は投与群間で変動したが、一定の傾向は明らかではなかった。ADA による BMN 111 曝露の低下の証拠はみられなかった。

表 2.6.4.3.2.6-1 投与 1 日目及び 182 日目の雌雄を合わせた血漿中薬物動態パラメータ C_{max} 及び AUC_{0-t} における BMN 111 の投与量比例性

Dose (Day)	Dose (µg/kg)	C_{max} (pg/mL)	AUC_{0-t} (pg·min/mL)	Dose Ratio	C_{max} Ratio	AUC Ratio
1	10	1645	NC	1.0	1.0	NC
1	30	1597	NC	3.0	0.971	NC
1	90	3007	NC	9.0	1.83	NC
182	10	603	16,488	1.0	1.0	1.0
182	30	2922	112,208	3.0	4.85	6.81
182	90	21,525	597,397	9.0	35.7	36.2

Note: TK parameters are derived from the mean concentration-time profile.
AUC, area under the concentration-time curve; C_{max}, maximum observed concentration; NC, not calculated due to < 3 plasma concentration values above LLOQ

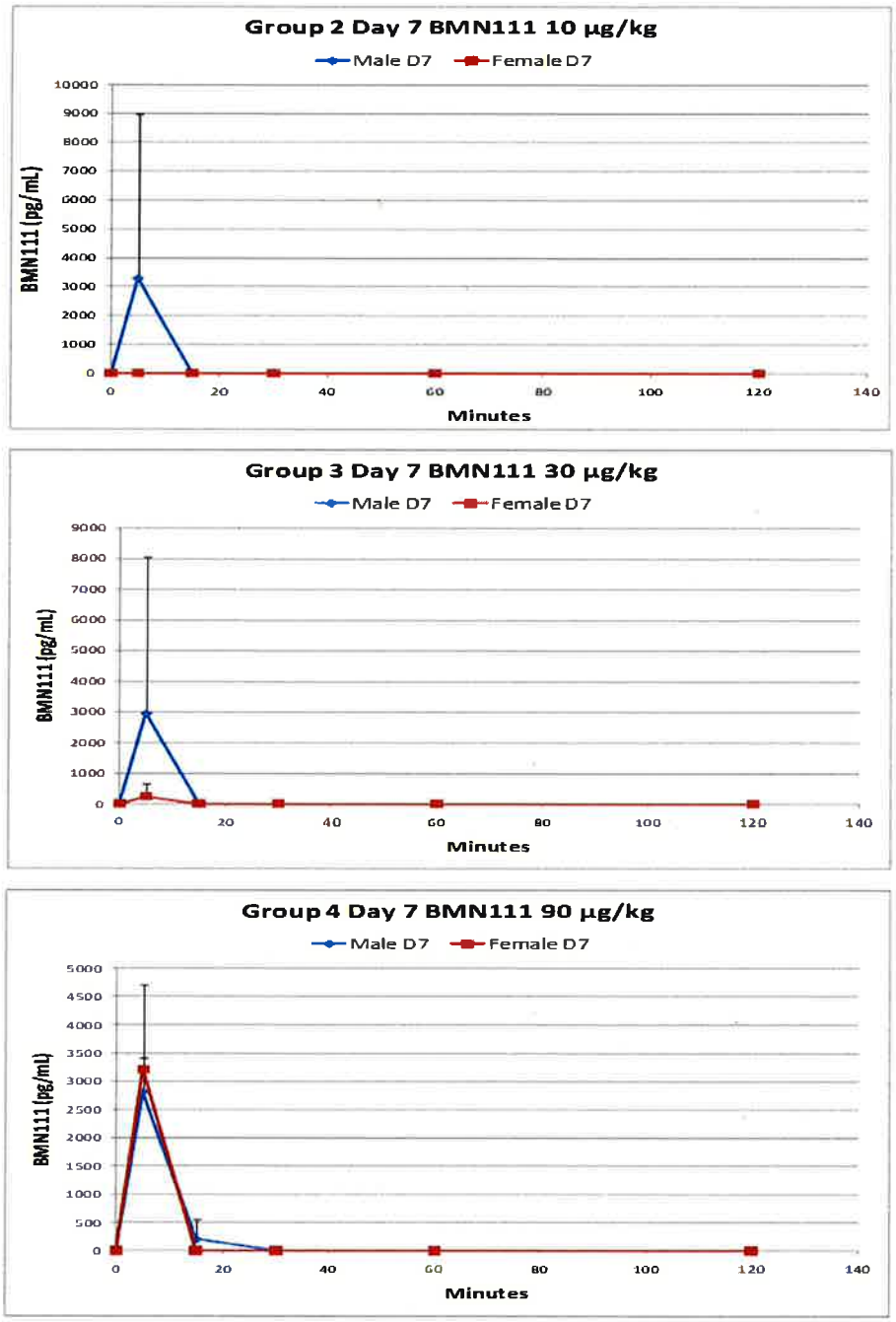
表 2.6.4.3.2.6-2 1日目並びに182日目におけるラットにBMN 111を単回及び連日反復投与したときのBMN111のPKパラメータ

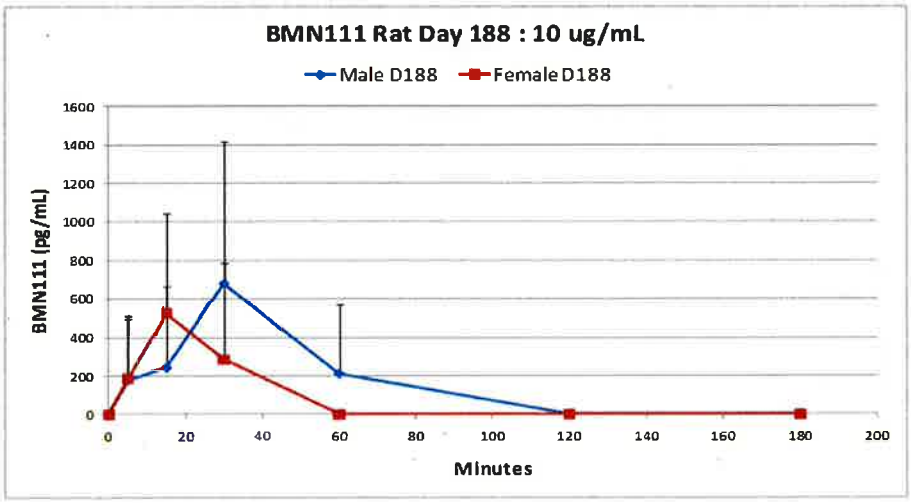
Group	Dose Level (μg/kg)	Dose (Day)	Gender	C_{max} (pg/mL)	T_{max} (min)	$t_{1/2}$ (min)	AUC_{0-t} (pg·min/mL)	AUC_{0-inf} (pg·min/mL)	CL/F (mL/min/kg)	Vz/F (mL/kg)
2	10	1	F	0	NA	NC	0	NC	NC	NC
2	10	1	M	3290	5.0	NC	NC	NC	NC	NC
mean				**1645**	NC	NA	NC	NA	NA	NA
2	10	182	F	527	15	NC	10,133	NC	NC	NC
2	10	182	M	680	30	NC	22,842	NC	NC	NC
mean				**603**	**22.5**	NA	**16,488**	NA	NA	NA
3	30	1	F	240	5.0	NC	NC	NC	NC	NC
3	30	1	M	2953	5.0	NC	NC	NC	NC	NC
mean				**1597**	**5.0**	NA	NA	NA	NA	NA
3	30	182	F	1987	15	NC	84,208	NC	NC	NC
3	30	182	M	3857	15	NC	140,208	NC	NC	NC
mean				**2922**	**15.0**	NA	**112,208**	NA	NA	NA
4	90	1	F	3210	5.0	NC	NC	NC	NC	NC
4	90	1	M	2803	5.0	NC	NC	NC	NC	NC
mean				**3007**	**5.0**	NA	NA	NA	NA	NA
4	90	182	F	16,900	5.0	44.1	459,917	512,291	176	11,176
4	90	182	M	26,150	15	40.1	734,877	807,642	111	6453
mean				**21,525**	**10.0**	**42.1**	**597,397**	**659,967**	**144**	**8814**

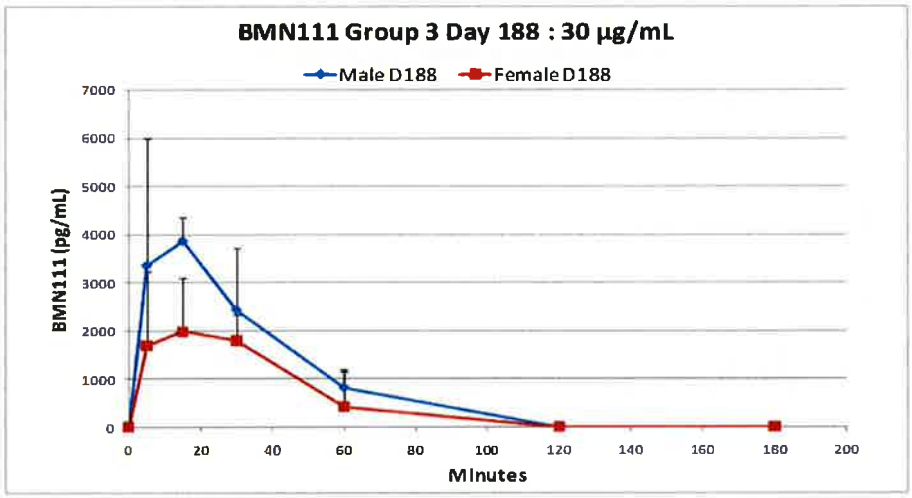
Note: TK parameters are derived from the mean concentration-time profile.

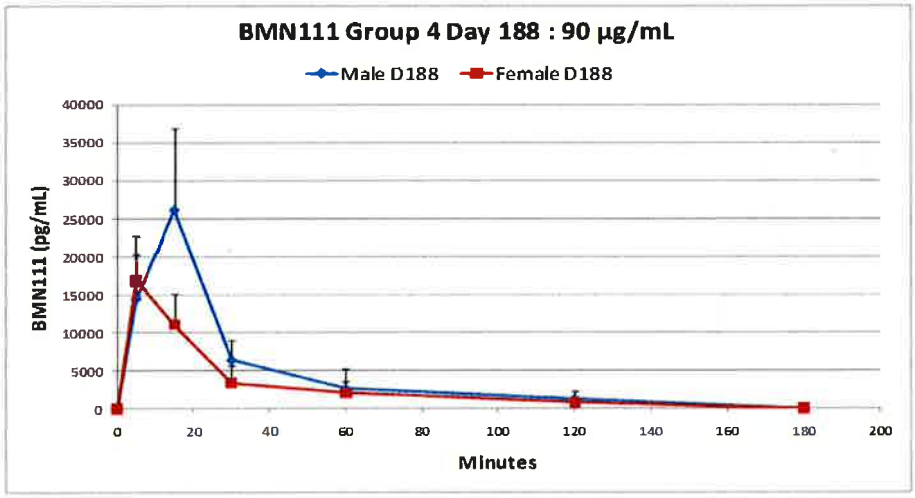
AUC, area under the concentration-time curve; CL/F, apparent SC clearance; C_{max}, maximum observed concentration; F, female; M, male; min, minute; NA, not applicable; NC, not calculated; T_{max}, time to reach maximum observed concentration; $t_{1/2}$, elimination phase half-life; Vz/F, apparent SC volume of distribution

図 2.6.4.3.2.6-1 生後 7 日目及び 188 日のラットに BMN 111 を単回投与したときの血漿中濃度推移









Mean±SD, n=3 at each time point

表 2.6.4.3.2.6-3 抗 BMN 111 抗体の発現率及び用量群別・試験日別データ

Dose	PND	n Total	Incidence[a]		ADA Titer			
			n Positive	% Positive	Median	Mean	Min	Max
0 µg/kg	188	12	0	0	0	0	0	0
10 µg/kg	188	18	12	67	20	138	0	500
30 µg/kg	188	18	10	56	100	767	0	2500
90 µg/kg	188	18	11	61	300	1368	0	12,500
0 µg/kg	230	12	0	0	0	0	0	0
10 µg/kg	230	18	7	39	0	74	0	500
30 µg/kg	230	18	10	56	100	322	0	2500
90 µg/kg	230	18	7	39	0	234	0	2500

ADA, antidrug antibody; Max, maximum ADA titer value; Min, minimum ADA titer value; n, number; PND, postnatal day
a) Screened and confirmed positive samples

表 2.6.4.3.2.6-4 抗 BMN 111 抗体の発現率と性別によるデータ

			Incidence[a]		ADA Titer	
PND	Dose (µg/kg)	Gender	n Positive	% Positive	Mean	Median
188	10	F	7	77.8	247	100
188	10	M	5	55.6	29	20
188	30	F	4	44.4	889	0
188	30	M	6	66.7	644	100
188	90	F	5	55.6	678	100
188	90	M	6	66.7	2058	500
230	10	F	5	55.6	136	20
230	10	M	2	22.2	13	0
230	30	F	6	66.7	511	500
230	30	M	4	44.4	133	0
230	90	F	5	55.6	189	100
230	90	M	2	22.2	280	0

ADA, antidrug antibody; F, female; M, male; n, number; PND, postnatal day
a) Screened and confirmed positive samples

2.6.4.3.2.7 BMN 111 のウサギにおける胚・胎児発生に関する SC 投与用量設定試験（試験報告書[BMN111-14-055]）

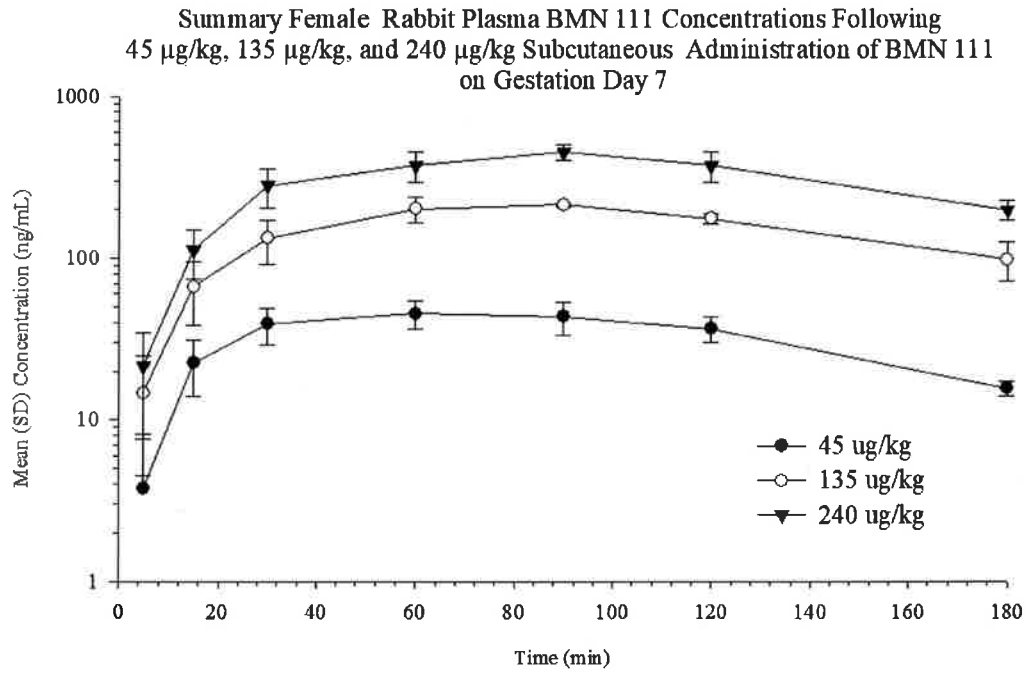
BMN 111 の TK を、母動物と胎児の両方について検討した。本報告では、妊娠雌 New Zealand White ウサギに BMN 111 の 45、135 及び 240 μg/kg/日の 3 投与量を GD 7 から GD 20 まで単回及び反復 SC 投与した後の BMN 111 の血漿中 TK について述べる。本試験は報告書 BMN111-14-055 及び[表 2.6.5.4-7]に要約した。

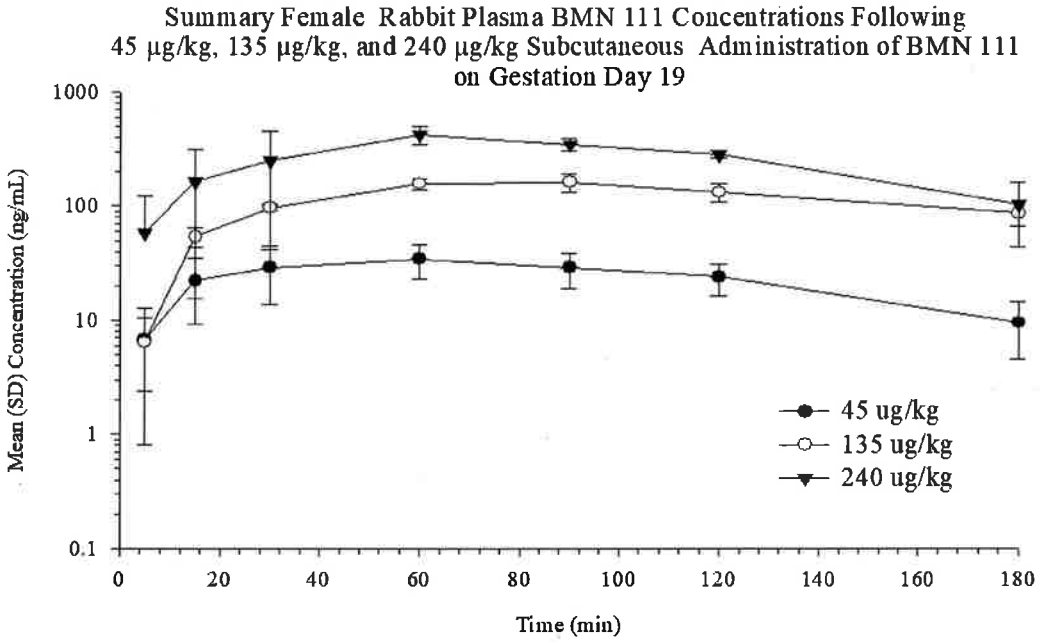
妊娠雌ウサギに、GD 7 から GD 20 にかけて BMN 111 を投与した（各時点で 45、135 及び 240 μg/kg/日、n=3）。GD 7 及び GD 19 の各 TK 動物から、投与前、投与後 5、15、30、60、90、120 及び 180 分に採血した。GD 20 に TK 試験用ウサギから、母動物に投与後約 30 分±10 分に、生存胎児を断頭し血液を採取した。同腹児ごとにサンプルをプールした。血漿を、バリデートされた分析法により定量した。

濃度推移を図 2.6.4.3.2.7-1 に、TK パラメータを表 2.6.4.3.2.7-1 に示す。BMN 111 の血漿中濃度がピークに達するまでの時間は、GD 7 及び GD 19 の投与後 60 又は 90 分であった。T_{max} は投与量と共に延長する傾向があり、低投与量では 30～60 分間、中及び高投与量群では 60～90 分間の T_{max} が観察された。C_{max} 後、BMN 111 濃度は減少し、GD 7 及び GD 19 の母動物の群平均の $t_{1/2}$ は約 1 時間と推定された。妊娠母動物に最終 BMN 111 投与後から約 30 分の GD 20 におけるプールした胎児血液に定量可能（<0.100 ng/mL）な BMN 111 は認められなかった。中用量群及び高用量群のほどんどの動物において、最終消失相は得られず、CL/F 及び Vz/F 値の解釈は最低投与量群に限られた。低用量群の CL/F は、GD 7 から GD 19 にかけて分布容積の増加と共に約 50%増加した。

予想されたように、平均血漿 $t_{1/2}$ は大きく変化しなかった（GD 7 で 52.1 分であったのに対し、GD 19 では 42.0 分であった）。C_{max} と AUC_{0-t} でみた BMN 111 の曝露は、投与量比を上回る増加を示した（>1:1）。投与量が全体で 5.33 倍に増加したとき、GD 7 では C_{max} 及び AUC_{0-t} がそれぞれ 9.93 倍及び 9.25 倍に増加し、GD 19 では C_{max} が 12.3 倍並びに AUC_{0-t} が 11.1 倍に増加した。全ての投与量で、妊娠期間中に BMN 111 の曝露量はわずかに低下し、GD 7 と比較して GD 19 で AUC_{0-t} は 15～29%低下し、C_{max} は 6.8～25%低下した。BMN 111 の投与期間中に観察された曝露の減少は、反復投与による蓄積がないことを示していた。

図 2.6.4.3.2.7-1 雌ウサギにおける血漿中 BMN 111 濃度推移





Mean±SD, n=3 at each time point

表 2.6.4.3.2.7-1 BMN 111 の 45、135 及び 240 µg/kg を SC 投与したときの GD 7 及び GD 19 における雌ウサギ血漿中 TK パラメータ

Dose (µg/kg)	Day	Statistic	T_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng·min/mL)	AUC_{0-inf} (ng·min/mL)	$t_{1/2}$ (min)	Vz/F (mL/kg)	CL/F (mL/min/kg)
45	7	Mean	60.0	45.6	5990	7610	52.1	454	6.00
		SD	0.00	9.12	1220	NA	NA	NA	NA
		n	3	3	3	2	2	2	2
	19	Mean	50.0	34.3	4250	4810	42.0	629	10.4
		SD	17.3	11.0	1390	NA	NA	NA	NA
		n	3	3	3	2	2	2	2
135	7	Mean	70.0	219	27,200	32,500	52.1	312	4.15
		SD	17.3	5.13	1750	NA	NA	NA	NA
		n	3	3	3	1	1	1	1
	19	Mean	80.0	167	21,000	NA	NA	NA	NA
		SD	17.3	21.5	2660	NA	NA	NA	NA
		n	3	3	3	0	0	0	0
240	7	Mean	90.0	453	55,400	NA	NA	NA	NA
		SD	0.00	49.3	7560	NA	NA	NA	NA
		n	3	3	3	0	0	0	0
	19	Mean	60.0	422	47,000	54,200	40.1	248	4.66
		SD	0.00	75.7	8930	NA	NA	NA	NA
		n	3	3	3	2	2	2	2

AUC, area under the concentration-time curve; CL/F, apparent SC clearance; C_{max}, maximum observed concentration; min, minute; n, number; NA, not applicable; T_{max}, time to reach maximum observed concentration; $t_{1/2}$, elimination phase half-life; Vz/F, apparent SC volume of distribution

表 2.6.4.3.2.7-2 雌ウサギに BMN 111 を SC 投与したときの BMN 111 曝露量の比例性

Day	Dose (μg/kg)	Dose Proportionality	C_{max} (ng/mL)	C_{max} Ratio	AUC_{0-t} (ng·min/mL)	AUC_{0-t} Ratio
7	45	1.0	45.6	1.00	5990	1.00
7	135	3.0	219	4.80	27200	4.54
7	240	5.3	453	9.93	55400	9.25
19	45	1.0	34.3	1.00	4250	1.00
19	135	3.0	167	4.87	21000	4.94
19	240	5.3	422	12.3	47000	11.1

AUC, area under the concentration-time curve; C_{max}, maximum observed concentration; min, minute

2.6.4.3.2.8 BMN 111 のウサギにおける胚・胎児発生に関する SC 投与試験（試験報告書 [BMN111-14-081]）

以下の要約では、妊娠雌 New Zealand White ウサギに BMN 111 の 45、135 及び 240 μg/kg/日の 3 投与量を GD 7 から GD 20 まで連日 SC 投与後における BMN 111 の単回及び反復投与血漿 TK について記載する。本試験は報告書 BMN111-14-081 及び[表 2.6.5.4-8]に要約した。

雌ウサギに、主試験では GD 7～19 に BMN 111 又は対照を 1 日 1 回、TK 試験用動物には GD 7～20 に 45、135 及び 240 μg/kg/日（n=3）を投与した。投与量は、最も近く記録された体重に基づいて調製し、毎日ほぼ同じ時刻に投与した。

GD 7 及び GD 19 に、各 TK 用動物から投与前、投与後 5、15、30、60、90、120、180、240 及び 360 分に、個々の母ウサギから採血した。対照群 1 の動物では、GD 7 及び GD 19 の投与後 5 分のみ採血した。TK 用ウサギ母動物に投与後約 30±10 分で、GD 20 の生存胎児を断頭し血液を採取し、同腹児ごとにプールした。

薬物濃度推移を図 2.6.4.3.2.8-1 に、血漿中 BMN 111 の TK パラメータを表 2.6.4.3.2.8-1 に示す。

表 2.6.4.3.2.8-2 に曝露パラメータの投与量比例性を示した。個々のウサギの C_{max} は、投与後 30～120 分に観察された。平均 $t_{1/2}$ は GD 7 で 46.3～60.7 分、GD 19 で 31.4～48.2 分であり、GD 7 から GD 19 にかけて全投与群で $t_{1/2}$ が短くなることが認められた。

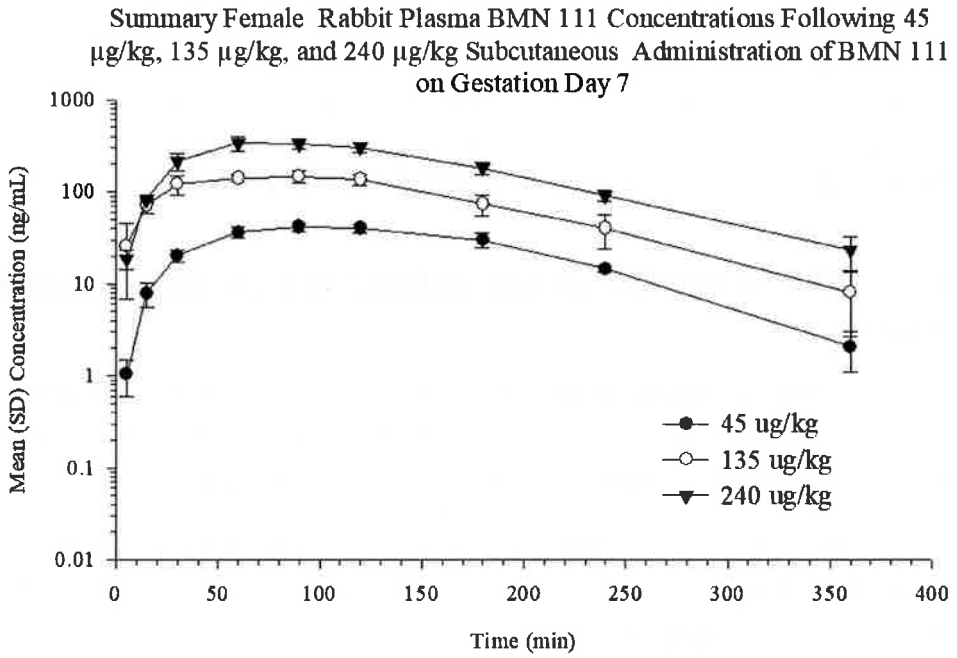
プールした胎児における BMN 111 濃度は、対照群及び低投与量の 45 μg/kg で LLOQ 未満（<0.100 ng/mL）であった。胎児における BMN 111 濃度は、母動物の中及び高投与量で定量可能であった。プールした胎児試料の 135 μg/kg での平均濃度は 0.253 ng/mL であり、240 μg/kg では 0.460 ng/mL（投与量が 1.8 倍に増加すると濃度が比例して 1.8 倍に増加）であり、全体的に採血時間を一致させた母体での濃度の数百分の 1 であった。

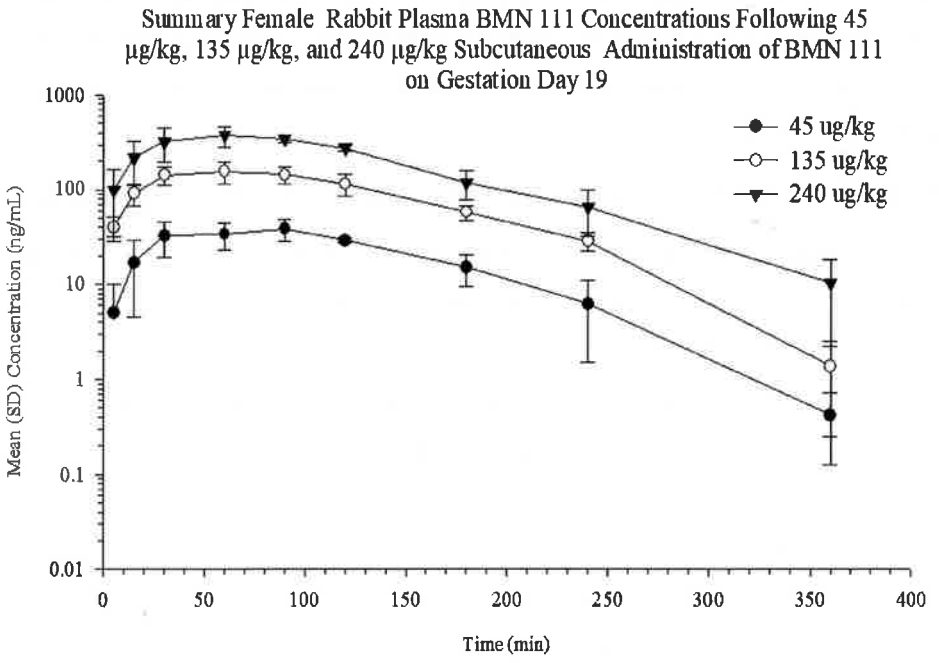
BMN 111 の血漿中曝露は、45～240 μg/kg で投与量比例性（>1:1）を上回る増加を示した。

投与量が全体で 5.3 倍に増加した場合、GD 7 では C_{max} 及び AUC_{0-t} がそれぞれ 8.3 倍及び 7.6 倍に増加し、GD 19 では C_{max} 及び AUC_{0-t} がそれぞれ 9.8 倍及び 9.8 倍に増加した。

反復投与後、GD 7 から GD 19 まで観察された妊娠期間中、曝露は一貫しており、反復投与による蓄積が無いことを示している。

図 2.6.4.3.2.8-1 雌ウサギの血漿中 BMN 111 濃度推移





Mean±SD, n=3 at each time point

表 2.6.4.3.2.8-1 BMN 111 の 45、135 及び 240 µg/kg を SC 投与したときの GD 7 及び GD 19 における雌ウサギ血漿中 BMN 111 の TK パラメータ

Dose (µg/kg)	Day	Statistics	T_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng·min/mL)	AUC_{0-inf} (ng·min/m L)	$t_{1/2}$ (min)	Vz/F (mL/kg)	CL/F (mL/min/kg)
45	7	Mean	110	42.5	7920	8070	46.3	376	5.59
		SD	17	2.57	441	358	10.6	99.1	0.242
		n	3	3	3	3	3	3	3
	19	Mean	70	38.5	5950	5970	33.2	362	7.54
		SD	35	9.54	236	221	3.41	50.0	0.276
		n	3	3	3	3	3	3	3
135	7	Mean	60	149	27,100	27,800	53.8	380	4.95
		SD	30	22.1	4500	4950	10.7	70.7	0.833
		n	3	3	3	3	3	3	3
	19	Mean	70	155	24,900	24,900	31.4	255	5.58
		SD	17	40.1	5390	5380	6.23	77.7	1.20
		n	3	3	3	3	3	3	3
240	7	Mean	80	351	60,300	62,500	60.7	337	3.90
		SD	17	53.3	8280	9210	13.0	50.9	0.628
		n	3	3	3	3	3	3	3
	19	Mean	80	379	58,000	58,800	48.2	288	4.10
		SD	17	88.2	5260	4990	15.6	106	0.366
		n	3	3	3	3	3	3	3

AUC, area under the concentration-time curve; CL/F, apparent SC clearance; C_{max}, maximum observed concentration; min, minute; n, number; SD, standard deviation; T_{max}, time to reach maximum observed concentration; $t_{1/2}$, elimination phase half-life; Vz/F, apparent SC volume of distribution

表 2.6.4.3.2.8-2 雌ウサギに BMN 111 を漸増 SC 投与したときの BMN 111 の投与量比例性

Study Day	Dose (μg/kg)	Dose Proportionality	Mean C_{max} (ng/mL)	C_{max} Ratio	Mean AUC_{0-t} (ng·min/mL)	AUC_{0-t} Ratio
7	45	1.0	42.5	1.00	7920	1.00
7	135	3.0	149	3.51	27,100	3.43
7	240	5.3	351	8.26	60,300	7.62
19	45	1.0	38.5	1.00	5950	1.00
19	135	3.0	155	4.03	24,900	4.18
19	240	5.3	379	9.84	58,000	9.75

AUC, area under the concentration-time curve; C_{max}, maximum observed concentration; min, minute

2.6.4.3.2.9 BMN 111 のカニクイザルにおける 28 日間反復 SC 投与毒性・TK 試験及び 7 日間回復性試験（試験報告書[BMN111-11-019]）

本 GLP 試験の目的は、カニクイザルに BMN 111 を 1 日 1 回 28 日間 SC 投与し、その後 7 日間休薬することにより、その毒性及び TK パラメータを評価することであった。本試験は報告書 BMN111-11-019 及び[表 2.6.5.4-9]に要約した。

雌雄カニクイザル（*Macaca fascicularis*）は約 2～3 年齢であり、試験開始時の体重は雄 2.4～3.4 kg、雌 2.2～3.1 kg であった。BMN 111 の 20 及び 90 μg/kg/日を雌雄各 4 匹／群（第 2 群及び第 3 群）に、0（対照）及び 300 μg/kg/日を雌雄各 7 匹／群（第 1 群及び第 4 群）に投与した。投与量は、実際のペプチド濃度 1.96 mg/mL を用いて補正した。投与 2 日目及び投与 28 日目の投与前、投与後約 5、15、30、60、120、240、360 及び 600 分に、全動物から採血した。

サル血漿中 BMN 111 の TK パラメータの平均値を表 2.6.4.3.2.9-1 に示した。BMN 111 の投与量比例性を表 2.6.4.3.2.9-2 に示す。平均濃度推移を図 2.6.4.3.2.9-1 に示した。BMN 111 の C_{max} と 0 時間から 600 分までの濃度－時間曲線下面積（AUC_{0-600m}）との性別の比較を表 2.6.4.3.2.9-3 に示す。

対照群の BMN 111 の濃度はいずれも LLOQ（250 pg/mL）未満であった。

SC 投与後、BMN 111 は迅速に吸収され、2 日目及び 28 日目の平均 T_{max} は 5.00～15.0 分であった。C_{max} に達した後、BMN 111 は直ちに減少し、平均 $t_{1/2}$ は 2 日目に 23.3～34.7 分、28 日目に 22.2～83.6 分であった。平均 $t_{1/2}$ は、2 日目には全投与群でおおむね同程度であったが、28 日目の 300 μg/kg/日で長かった。

CL/F の平均値は投与 2 日目で 86.5～196 mL/min/kg、投与 28 日目で 26.5～317 mL/min/kg であった。Vz/F の平均値は投与 2 日目で 3302～5640 mL/kg、投与 28 日目で 3104～12895 mL/kg であった。CL/F 及び Vz/F の平均値は投与量の増加に伴い低下するように見えたが、この結果はバイオアベイラビリティ（F）の変化と交絡する可能性が考えられた。

20 μg/kg/日の平均 λz 依存パラメータ（$t_{1/2}$、CL/F、Vz/F、$AUC_{0-\infty}$）は、評価可能なパラメータを持つ個体の数が限られているため、慎重に解釈する必要がある。