サノフィ株式会社

カプラシズマブ（遺伝子組換え）

CTD 第二部 ― 非臨床概要

2.6.4 薬物動態試験の概要文

Total number of pages: 24

目　　次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 1

目　　次 2

表　目　次 3

図　目　次 4

略号と用語の定義 5

1　　まとめ 6

2　　分析法 7

3　　吸収 14

4　　分布 18

5　　代謝（動物種間の比較） 19

6　　排泄 20

7　　薬物動態学的薬物相互作用 21

8　　その他の薬物動態試験 22

9　　考察及び結論 23

参 考 文 献 24

表　目　次

表 1 - 非臨床薬物動態及び毒性試験で用いた分析法の概要 9

表 2 - カニクイザル及びモルモット血漿中ADA検出法（ELISA法）の概要 12

表 3 - Gyrolabを用いたADA測定法とELISAを用いたADA測定法の比較 13

表 4 - カプラシズマブ薬物動態試験の概要 14

表 5 - カプラシズマブ (ALX-0081) 単回投与後の平均PK パラメータ 15

図　目　次

図 1 - ヒヒにカプラシズマブ（A: 10 µg/kg、B: 20 µg/kg、C: 40 µg/kg、D: 80 µg/kg）を静脈内投与したときの血漿中濃度推移（用量依存性） 16

図 2 - モルモットにカプラシズマブを静脈内又は皮下投与したときの血漿中濃度推移（用量依存性） 17

略号と用語の定義

ADA	抗カプラシズマブ抗体（Anti-drug antibody）
AUC_{inf}	投与開始から無限大時間まで外挿した血漿中濃度―時間曲線下面積（Area under the plasma concentration-time curve from time zero extrapolated to infinity）
CL	全身クリアランス（Total body clearance）
C_{max}	最高血漿中濃度（Maximum plasma concentration）
ELISA	酵素結合免疫吸着測定法（Enzyme linked immunosorbent assay）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice）
HiOC	高濃度 QC 試料（High integrity quality control）
HRP	ホースラディッシュペルオキシダーゼ（Horseradish peroxidase）
i.m.	筋肉内（intramuscular）
i.v.	静脈内（Intravenous）
LoQC	低濃度 QC 試料（Low integrity quality control）
PK	薬物動態（Pharmacokinetics）
s.c.	皮下（Subcutaneous）
$t_{1/2}$	消失半減期（Elimination half-life）
TK	トキシコキネティクス（Toxicokinetics）
t_{max}	最高血漿中濃度到達時間（Time to maximal plasma concentration）
TMB	テトラメチルベンジジン（Tetramethylbenzidine）
TTP	血栓性血小板減少性紫斑病（thrombotic thrombocytopenic purpura）
V	分布容積（Volume of distribution）
vWF	von Willebrand 因子（von Willebrand factor）

1　まとめ

カプラシズマブ（ALX-0081）の薬物動態（PK）特性を、カプラシズマブが von Willebrand 因子（vWF）と交差反応性を示す動物種のモルモット及びヒヒ、並びに交差反応性を示さない動物種のマウスを用いて評価した。マウス vWF に対するカプラシズマブの親和性が低いため、マウスモデルは薬理学的に適切な動物種ではないと考えられるが、これを用いることにより、標的分子を介した消失経路が無い条件での PK パラメータ（吸収、分布容積及びクリアランス）の特性評価が可能となる。^{125}I 標識体を用いて、遊離形カプラシズマブ又はヒト vWF に結合させたカプラシズマブ（結合形カプラシズマブ）をマウスに投与したときの分布を評価したところ、遊離形と結合形カプラシズマブの分布に有意な差が認められ、カプラシズマブと交差反応性を有する動物種で認められた 2 相性 PK を説明するのに役立つ知見が得られた。vWF 結合形カプラシズマブの半減期は、遊離形カプラシズマブとして循環するナノボディよりも有意に長かった。遊離形カプラシズマブは糸球体で濾過されるが、結合形カプラシズマブは vWF の挙動に従い、標的分子を介した PK 特性を示し、肝臓中で分解されると考えられる。

カプラシズマブの代謝を調べる試験は実施していない。カプラシズマブはタンパク質であるため、他のタンパク質と同様の異化経路を介して小さなペプチド又はアミノ酸に分解されると推察される。またタンパク質性医薬品であるカプラシズマブに対して特別な排泄試験を実施しなかったが、上記のようにマウスを用いた分布試験で消失経路が裏付けられた。さらに、カニクイザルを用いた毒性試験で採取した尿試料を用いたウェスタンブロット法により遊離形カプラシズマブが定性的に検出された。

毒性試験より得られた生体試料をバリデーション済みの分析法を用いて、カプラシズマブを反復投与したときの PK を主にモルモット及びカニクイザルを用いた毒性試験により評価した。トキシコキネティクス（TK）の結果及び考察は、Module [2.6.6]に示す。

2　分析法

非臨床試験を支持する目的で、マウス血清、モルモット血漿、カニクイザル血漿及びヒヒ血漿中のカプラシズマブ濃度を測定するため、ELISA による複数の生体試料分析法を開発した。分析法のバリデーションは、バリデーション試験に適用される FDA 及び ICH ガイドライン並びに参考文献(1)に従って実施した。各試験で使用した方法の分析性能の詳細を表 1に示す。

モルモット、カニクイザル及びヒヒ血漿中のカプラシズマブの検出に使用した分析法は、以下に説明する。二価の抗カプラシズマブナノボディを用いて、血漿試料中のカプラシズマブをマイクロタイタープレートに捕捉し、血漿中に含まれる vWF と結合した後、精製したウサギ抗 vWF ポリクローナル IgG を用いて検出した。この ELISA 法では、vWF との結合を介してカプラシズマブを検出する。過剰量の vWF 存在下では、全てのカプラシズマブが vWF と複合体を形成することから、この分析法で活性型カプラシズマブの総濃度を測定することができる。しかしながら、高親和性中和抗体が発現した場合には、カプラシズマブが検出できない可能性がある。また、これらの交差反応性を示す動物種におけるバイオマーカー測定値（vWF）の変化にも影響を受ける。したがって、この分析法を用いた試験では、PK と薬力学サンプリングは密接に関連している。

マウス血清中のカプラシズマブを検出する分析法では、捕捉ツールとして、抗カプラシズマブナノボディではなくヒト vWF を使用した。カプラシズマブはマウス vWF に結合せず、中和抗体が存在しない場合には PK 分析では、結果として、血清中に存在する全てのカプラシズマブがヒト vWF に結合する。vWF に結合したカプラシズマブは、ビオチン化二価抗カプラシズマブナノボディを用いて検出した。

各分析において、被験試料中のカプラシズマブ濃度は、シグモイド標準曲線に内挿することにより算出した。

毒性試験に用いた生体試料分析法のバリデーションの一部として、モルモット及びカニクイザル血漿中のカプラシズマブの安定性を評価した。適切な生体試料にカプラシズマブ原液を添加することにより、低濃度 QC（LoQC）試料及び高濃度 QC（HiQC）試料を調製した。短期間及び長期間保存後（ベンチトップ及び冷凍庫保存時の安定性）、並びに数回の凍結融解後の安定性を評価した。安定性試験で選択した条件は、実際の試料の取扱い及び分析中に起こる可能性が高い状況を反映したものであった。各試料で得られたデータから、カプラシズマブは異なる保存条件下で非常に安定であることが示された。安定性データを要約して表 1に示す。生体試料中のカプラシズマブ分析は、安定性データが得られている期間内に実施した。

表 1に示すように、主要な毒性試験で用いた一部の分析法に関するバリデーション試験（Module 4.2.2.1 [[redacted]/029-044]及び Module 4.2.2.1 [[redacted]/029-020]）は、GLP 下で実施したものではなかった。しかし、これらのバリデーション試験は、バリデーション計画書、その修正版及び[redacted]社の標準操作手順書に従って実施したものであった。さらに、これらの試験データ及び報

告書について、独立した信頼性保証担当者による監査を行い、報告書と生データが一致していることを確認した。GLP 適用の毒性試験で採取した血漿試料の分析は、上述のバリデーション済みの分析法を用いて GLP 下で実施し、検量線用標準液、QC 試料及び ISR（incurred sample reanalysis）に基づき、予め規定した許容基準に照らして、その分析結果は有効であると考えられた。

したがって、GLP 毒性試験を裏付けるためのこれらの生体試料分析の結果は、有効かつ信頼できると考える。

表 1 - 非臨床薬物動態及び毒性試験で用いた分析法の概要

Matrix	Range, LLOQ-ULOQ (ng/mL)	Bias QC samples	Precision QC samples	Stability (<20% RE)			Method validation report reference	GLP-compliant validation	Applied in Studies
				bench top	long term	freeze-thaw			
Mouse Serum	10-150	< |20| % (at least 4/6)	< |20| % (at least 4/6)	not assessed	not assessed	not assessed	Research assay	No[a]	A001-PHA-[redacted]-ISR-001-v1 (SD PK)
Guinea pig Plasma	180-600	< |25| %	< 25 %	not assessed	not assessed	not assessed	[redacted] 2710-011	Yes	AB-[redacted]-02 (SD PK); [redacted] 20216/[redacted] (RD PK)
Guinea pig Plasma	30-350	< |20| % (at least 4/6)	< |20| % (at least 4/6)	3h at room temp.	22 months at -70°C	3 cycles at -70°C	A001-PHA-[redacted]-MVR-002-v1; A001-PHA-[redacted]-MVR-002-v1 amendment1	No[a]	A001-PHA-[redacted]-ISR-002-v1 (SD PK); [redacted] 21724 (SD PK)
Guinea pig Plasma	30-280	< |20| %	< 20 %	24 h at 25°C	40 months at -70°C	3 cycles at -70°C	[redacted] [redacted]/029-044; [redacted] [redacted]/029-050 (LTS)	No[a]	[redacted] 20179/[redacted] (EFD); [redacted] 24023 (13w Tox); [redacted] 25265 (PK in pregnant animals)
Cynomolgus monkey Plasma	40-250	< |25| %	< 25 %	not assessed	not assessed	not assessed	[redacted] 2710-005	Yes	[redacted] 20094/[redacted] (DRF); [redacted] 20095/[redacted] (2w Tox)
Cynomolgus monkey Plasma	80-1200	< |20| %	< 20 %	24 h at 25°C	7.5 months at -70°C	3 cycles at -70°C	[redacted] [redacted]/029-020; [redacted] [redacted]/029-049 (LTS)	No[a]	[redacted] 22630/1 (SD Tox); [redacted] 22631 (2w Tox); [redacted] 24024 (13w Tox); AA93337 (26w Tox)

Matrix	Range, LLOQ-ULOQ (ng/mL)	Bias QC samples	Precision QC samples	Stability (<20% RE)			Method validation report reference	GLP-compliant validation	Applied in Studies
				bench top	long term	freeze-thaw			
Baboon Plasma	-	No QC samples included	No QC samples included	not assessed	not assessed	not assessed	Research assay	No[a]	ALX-0081 TR007 (SD PK)

SD: single dose; PK: pharmacokinetic study; Tox: toxicity study; w: week; EFD: study on embryo-fetal development; DRF: dose range finding study; QC: quality control; LLOQ: lower limit of quantification; ULOQ: upper limit of quantification; LTS: long-term stability

a conducted before the EMA Guideline on bioanalytical method validation came into force

さらに、[redacted]社で抗カプラシズマブ抗体（ADA）を検出するための方法を開発し、GLP 下でバリデートした。これらのバリデーション結果については、Module 4.2.2.1 [[redacted]/029-010]（モルモット）及び Module 4.2.2.1 [[redacted]/029-005]（カニクイザル）で報告した。カニクイザルを用いた 26 週間毒性試験用に drug tolerance を向上させた追加の ADA 分析法を開発し、GLP 下でバリデーションを行った。このバリデーション結果については、Module 4.2.2.1 [A068-NC-20[redacted]-005]で報告した。

種々の毒性試験において、スクリーニング試験及び確認試験により、試料中の ADA の有無を評価した。26 週間毒性試験で ADA 陽性であった試料については、抗体価測定によりさらに特徴付けた。

26 週間毒性試験を除く全ての毒性試験では、スクリーニング試験及び確認試験のためにブリッジング ELISA 法を使用した。

- 96 ウェルマイクロタイタープレートにカプラシズマブを直接固相化した。カニクイザル又はモルモット血漿を用い、被験試料中の ADA をマイクロタイタープレートに捕捉した。
- ビオチン化カプラシズマブ及びホースラディッシュペルオキシダーゼ（HRP）標識した ExtrAvidin を用いて、HRP 基質であるテトラメチルベンジジン（TMB）を介して可視化することにより、結合した抗体を検出した。
- この分析法は動物種に依存せず、モルモット及びカニクイザル血漿の両方に使用した。全ての試料について、最初にスクリーニング分析を実施し、プレート固有のカットポイントを用いるスクリーニング分析のカットオフ値に基づいて、抗体陰性／陽性の評価を行った。このカットオフ値は、適切な統計手法を用いて、カニクイザル又はモルモットの個別ブランク血漿試料のバックグラウンド値に基づいて算出した。カットオフ値の計算には、5%の偽陽性試料が検出できるように、95%信頼区間を適用した。カニクイザル試験のスクリーニングカットポイントは、試験とは無関係の個別カニクイザル血漿試料のシグナルに基づき、モルモット試験のスクリーニングカットポイントは投与前の試験試料に基づいて計算した。
- スクリーニング分析で陽性となった試料について、薬物置換法（過剰濃度のカプラシズマブ存在下でのスクリーニング分析法）で再分析を行い、スクリーニング陽性結果の特異性を確認した。

該当するガイドライン及び White Paper(2)(3)に従って、これらの分析法のバリデーションを行い、分析性能を要約して表 2に示す。

表 2 - カニクイザル及びモルモット血漿中 ADA 検出法（ELISA 法）の概要

	Cynomolgus monkey	Guinea pig
Assay format	Sequential bridging ELISA	
Capture antigen	ALX-0081 (caplacizumab)	
Detection reagent	Biotinylated ALX-0081	
Test matrix	Sodium citrate plasma	
Minimum required dilution	1/4	
Positive control	Purified polyclonal anti-ALX-0081 monkey pAb/purified polyclonal anti-ALX-0081 rabbit pAb	
LOD in undiluted matrix	406 ng/mL[a]	406 ng/mL[a]
Drug tolerance	High Positive Control < cutpoint in presence of 380 ng/mL ALX-0081	
Precision	≤ 20%	
In support of study	[redacted] 20094/[redacted] [redacted] 20095/[redacted] [redacted] 22630/1 [redacted] 22631 [redacted] 24024	[redacted] 20179/[redacted] [redacted] 24023
Validation report reference	[redacted]/029-005	[redacted]/029-010

a Based on purified polyclonal anti-ALX-0081 monkey pAb

26 週間毒性試験用に、drug tolerance を改善した ADA 分析法として、Gyrolab を用いたホモジニアスブリッジングアッセイを開発した。

- 被験試料を酸性化して薬物-抗体の解離を誘導し、試料中に存在する遊離形カプラシズマブに対する drug tolerance を向上させた。次に、過剰量のビオチン化 Alexa Fluor 647 標識カプラシズマブを含むマスターミックスで試料を中和した。ADA を標識カプラシズマブに結合させた後、これらの混合液を Gyrolab システムの Bioaffy CD 上の NeutrAvidin でコーティングした微細構造物に移した。Gyrolab プラットフォームに組み込まれたレーザー誘起蛍光検出器を用いて、微細構造物当たりの蛍光量を測定した。該当するガイドライン(2)(3)に従って、これらの分析法のバリデーションを行い、分析性能を要約して表 3に示す。

表 3 - Gyrolab を用いた ADA 測定法と ELISA を用いた ADA 測定法の比較

	ELISA-based assay	Gyrolab-based assay
Laboratory	[redacted], [redacted], UK	[redacted], [redacted], UK
Assay format	Sequential bridging assay	Homogeneous bridging assay
Platform	ELISA	Gyrolab
Capture antigen	ALX-0081	Biotinylated ALX-0081
Detection reagent	Biotinylated ALX-0081	Alexa labeled ALX-0081
Minimal required dilution	1/4	1/10
Acid dissociation	No	Yes
Positive control	Purified polyclonal anti-ALX-0081 monkey pAb	Anti-ALX-0081 mAb
LOD in undiluted matrix	Cynomolgus monkey: 406 ng/mL Guinea pig: 105 ng/mL	66.1 ng/mL
Drug tolerance	High positive control (200 – 1000 ng/mL[a]) < cutpoint in presence of 380 ng/mL ALX-0081	180 ng/mL positive control > cutpoint in presence of 25 µg/mL ALX-0081
In support of studies	see above	AA93337
Method validation report reference	see above	A068-NC-20[redacted]-005

a Based on the assumption that rabbit serum contains 10 mg/mL IgG's of which 1-5% is anti-caplacizumab specific

3　吸収

マウス、モルモット及びヒヒに単回静脈内投与、並びにマウス及びモルモットに単回皮下投与後のカプラシズマブの PK を検討した。さらに、モルモットに単回及び反復筋肉内投与、並びに反復皮下投与後の評価も行った。これらの試験の概要を表 4に示す。

表 4 - カプラシズマブ薬物動態試験の概要

Study Type and Number	Species/Strain	Administration Route
Single-dose PK A001-PHA-[redacted]-ISR-001-v1	male BALB/C mouse	intravenous bolus or subcutaneous injection
Single-dose PK A001-PHA-[redacted]-ISR-002-v1	female Dunkin Hartley guinea pig	intravenous bolus or subcutaneous injection
Single-dose PK [redacted] 21724	female Dunkin Hartley guinea pig	intravenous or intramuscular bolus injection
Single-dose PK/PD study with intra-individual dose escalation ALX-0081 TR007	male baboon	intravenous bolus
30-day repeat-dose PK AB-[redacted]-02 (PK report) [redacted] 20216/[redacted] (in vivo)	female Dunkin Hartley guinea pig	subcutaneous or intramuscular bolus injection

カプラシズマブに対する親和性がヒトに比べて低い vWF を発現する動物種であるマウスを用いた試験において、皮下投与後の曝露量（AUC_{inf}）は同じ用量を静脈内投与したときに比べて高く、カプラシズマブは吸収過程が律速段階となった。（Module 2.6.5 [表 2.6.5.3 A]）

交差反応性を示す動物種を用いて実施した単回投与試験で得られた PK パラメータを要約して表 5に示す。カプラシズマブに対して交差反応性を示す vWF を発現する動物種であるモルモットを用いた試験において、皮下投与後及び筋肉内投与後の両方で高いバイオアベイラビリティが得られることが示唆された。同じ用量を単回皮下投与及び筋肉内投与したときに同程度の曝露量に達した（Module 2.6.5 [表 2.6.5.3 B]、Module 2.6.5 [表 2.6.5.3 C]）。これら 3 投与経路では、曝露量の増加は用量比を下回っていた。

ヒヒに低用量を静脈内投与した試験でも、曝露量の非線形性が確認された（Module 2.6.5 [表 2.6.5.3 D]）。モルモット反復投与試験（Module 2.6.5 [表 2.6.5.4]）において、30 日目に詳細な PK プロファイルは得られなかったが、複数の試験日の最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）付近で試料を採取した。この試験では、連日皮下及び筋肉内投与したとき、10 日目まで安定した血漿中濃度－時間推移が得

られた。投与後約 10 日のカプラシズマブ濃度、特に皮下投与後の濃度は、一部のモルモットで明らかに上昇した。

表 5 - カプラシズマブ (ALX-0081) 単回投与後の平均 PK パラメータ

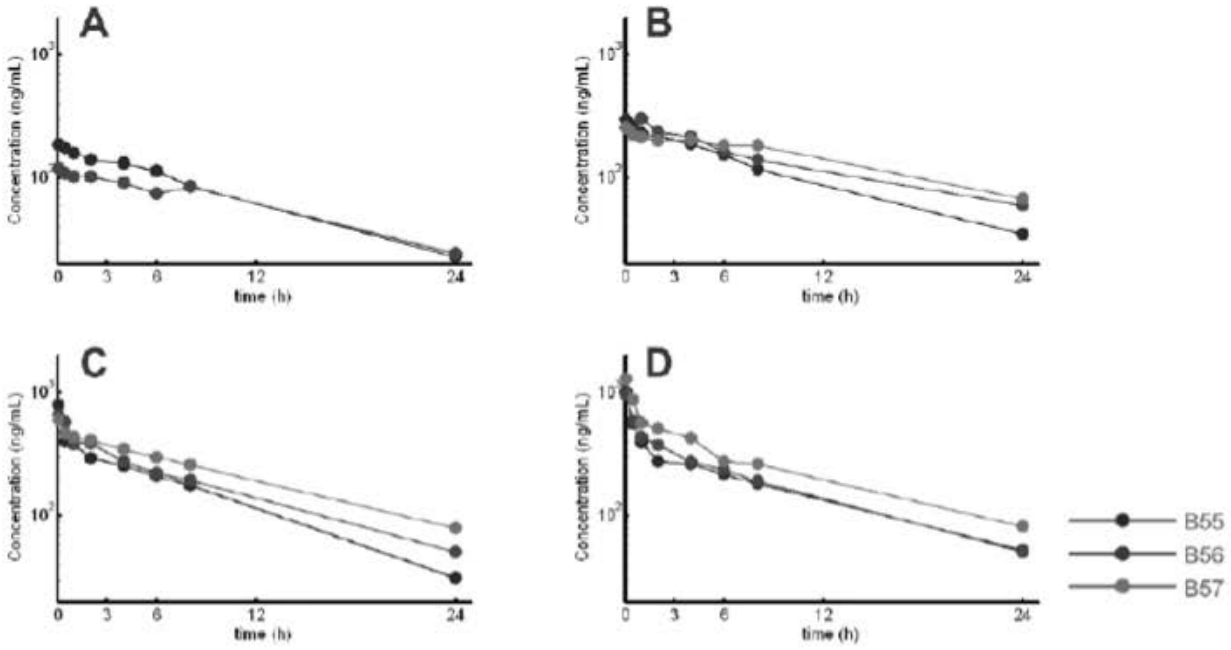
Type of study[a]	Test system	Route of administration	Dose (mg/kg)	Parameter[b]					Study report
				C_{max}[c]	CL	V	AUC_{inf}	$t_{1/2}$	
SD	Guinea pig	i.v.	1	16.0	61.1	578	17.3	7.76	A001-PHA-[redacted]-ISR-002-v1[d]
			7	109[f]	152[f]	1152	46.1[f]	11.5	
			20	248	184	1415	115	16.3	
		s.c.	1	1.11	--	--	31.4	--	
			7	3.79	--	--	45.3	--	
			20	9.61[f]	--	--	91.0	--	
SD	Guinea pig	i.v.	1	13.5	58.4	1032	17.4	12.3	[redacted] 21724[e]
			7	107	141	2357	50.4	12.0	
			20	306	142	2823	143	13.7	
		i.m.	1	1.24	--	--	30.3	--	
			7	3.77	--	--	51.3	--	
			20	6.66	--	--	83.9	--	
SD	Baboon	i.v.	0.01	0.19	4.6	52.7	2.18	7.96	ALX-0081 TR007[e]
			0.02	0.27	5.1	76.5	4.07	10.76	
			0.04	0.68	7.8	88.8	5.30	8.09	
			0.08	1.08	14.2	176.1	5.84	8.67	

a SD: single-dose
b C_{max} in µg/mL, CL in mL/h/kg, V in mL/kg, AUC_{inf} in µg•h/mL, $t_{1/2}$ in h
c After i.v. administration C_{max} is the estimated C_0
d PK parameters were derived via compartmental analysis
e PK parameters were derived via non-compartmental analysis
f Arithmetic mean values calculated from the raw data provided in the report

ヒヒに低用量を投与したときの分布容積はほぼ血漿量に相当すると考えられ、低用量では、全てのカプラシズマブが vWF に結合し、分布が血漿中にほぼ限定されることが示唆された。より高用量では、用量増加に伴って分布容積が増大し、遊離形カプラシズマブが全身循環血外に分布することが示唆された。血漿中濃度－時間推移でみられる総カプラシズマブの消失は、腎臓からの遊離形カプラシズマブの消失と恐らく肝臓からの vWF 結合形カプラシズマブの消失が組み合わさったものである。後者の方が遅い消失（律速段階）であることから、総カプラシズマブの最終相半減期はカプラシズマブ-vWF 複合体の半減期を反映している（Module 4.2.1.1 [A068-NC-20[redacted]-005]）。複合体形成量は vWF の利用率に依存することから、カプラシズマブ濃度が高いときには、循環血中の全ての vWF がカプ

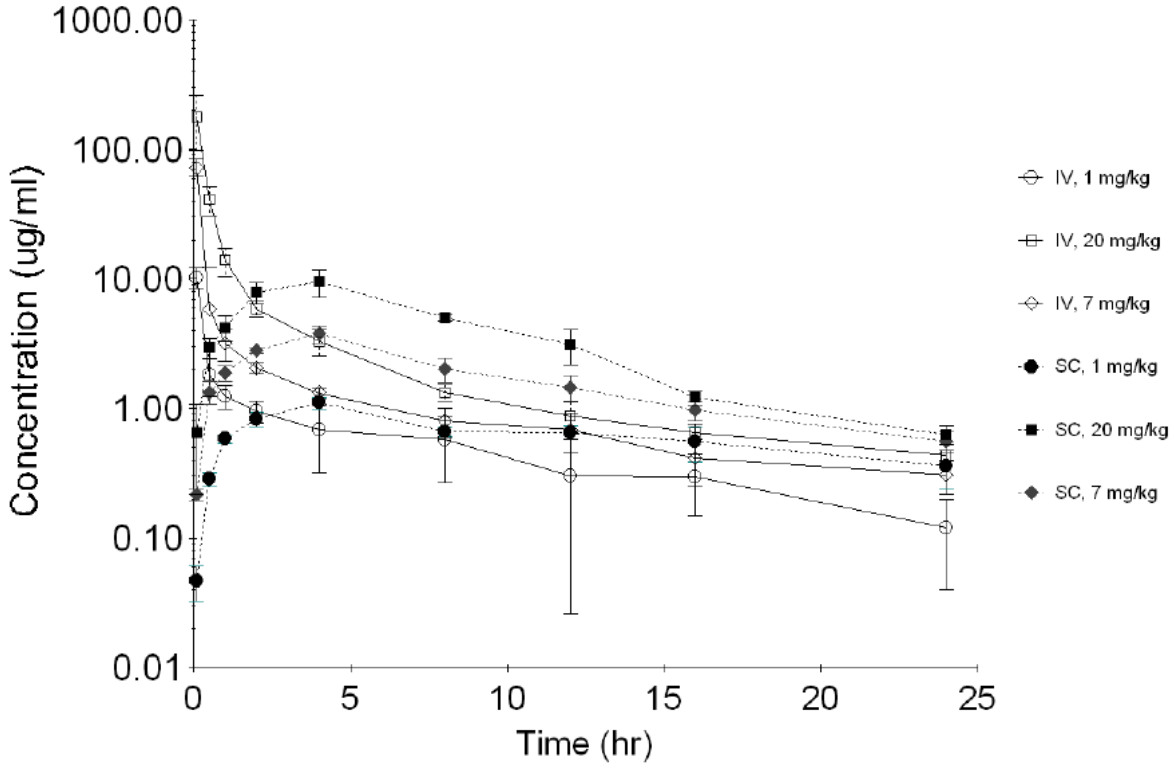
ラシズマブで飽和し、残りのカプラシズマブは糸球体濾過を介して消失することになる。結果として、低用量投与時に比べて高用量投与時には、比較的多量の遊離形カプラシズマブが腎臓を介して消失すると考えられる。したがって、クリアランス及び分布容積が用量増加に伴って増大する（消失速度が一定である）とみられる傾向は、ノンコンパートメント解析で実施した計算に固有の所見であり、コンパートメントモデルを用いたデータ解析では、クリアランス及び分布容積の両方をより正確に推定することができる。これは、図 1に示すヒヒで認められた用量依存性の PK に非常によく反映されている（Module 2.6.5 [表 2.6.5.3 D]）。モルモットに静脈内投与したときにも、同じ二相性の PK が認められた（図 2）。

図 1 - ヒヒにカプラシズマブ（A: 10 µg/kg、B: 20 µg/kg、C: 40 µg/kg、D: 80 µg/kg）を静脈内投与したときの血漿中濃度推移（用量依存性）



カプラシズマブを皮下投与したときのバイオアベイラビリティは非常に高かった。A001-PHA-[redacted]-ISR-002-v1 試験で検討した 3 用量から明らかなように、カプラシズマブを皮下投与したときの見かけのバイオアベイラビリティは 20 mg/kg 投与時における 79%から、最低用量 1 mg/kg での約 200%と高かったが、恐らく吸収が律速となる PK が原因の一つであると考えられた。この試験で得られた血漿中濃度—時間推移を図 2に示す。

図 2 - モルモットにカプラシズマブを静脈内又は皮下投与したときの血漿中濃度推移（用量依存性）



モルモットに皮下投与したときの吸収速度は用量に依存しないと考えられ、最高血漿中濃度（C_{max}）及び曝露量は用量増加に伴って増大したが、用量比例性は認められなかった。

モルモットにおける単回皮下投与後と単回筋肉内投与後の吸収動態を比較したとき、t_{max} は 2～4 時間の範囲で、C_{max} 値は同程度であった。さらに、両投与経路での曝露量及び最終相パラメータは、様々な用量群間で同等であった。このように、モルモットに単回皮下及び筋肉内投与したとき、同様の吸収動態が認められた（表 5）。

4　分布

カプラシズマブの in vivo での組織分布及び体内からの消失を調べるため、カプラシズマブを ^{125}I で標識し、C57Bl/6J マウスの尾静脈に投与した（Module 4.2.2.3 [ALX-0081 TR038]）。マウスの vWF はカプラシズマブと交差反応しないことから、2 群の動物を用い、一方の群には遊離形カプラシズマブを、もう一方の群にはヒト vWF 結合形カプラシズマブを投与した。これにより、遊離形カプラシズマブの分布と標的結合形カプラシズマブの組織分布を比較することができる。

投与後の指定された時点で採血を行った後、種々の臓器（心臓、肺、肝臓、胃、脾臓、腎臓及び左上肢）を採取した。採取した臓器を洗浄し、乾燥させた後、重量を測定し、残存放射能量を分析した。また、血液中の残存放射能量も測定した。収集したデータを解析し、放射性標識カプラシズマブの回収率（体内からの消失）及び組織分布を調べた。

静脈内投与後 3 分の放射性標識カプラシズマブは、遊離形カプラシズマブ投与時とヒト vWF 結合形カプラシズマブ投与時の双方でほぼ完全に回収された。

遊離形カプラシズマブを投与したとき、放射能の大部分は血液、腎臓及び肝臓中に認められ、その他の臓器では、ほとんど放射能は検出されなかった（Module 2.6.5 [表 2.6.5.5]）。他のタンパク質で報告されているのと同様(4)、胃内に一定量の放射能が認められた。投与後 15 分の時点で、血中放射能量は 16%に減少したが、腎臓中放射能量は 41%に増加した。その後、数時間にわたり血中残存放射能は緩徐に減少した。

ヒト vWF 結合形放射性標識カプラシズマブをマウスに投与したとき、投与後 30 分の時点で、放射能の大部分は肝臓（20%）及び血中（63%）に認められ、少量が腎臓（3%）に検出された（Module 4.2.2.3 ALX-0081 TR038 [12.2 項]）。

これらの結果から、vWF 結合形カプラシズマブは主に肝臓に移行し、肝臓が vWF 結合形カプラシズマブの異化作用の主要臓器である可能性が高いことが示唆された。このことは、ヒト又はマウス vWF の主要な移行臓器は肝臓であり、vWF の取り込みに対する他の臓器の寄与は僅かであることを示した過去のマウス所見と一致している(5)。対照的に、大部分の非結合形カプラシズマブは腎臓に分布し、腎臓から排泄されると推定される。

妊娠モルモットを用いた TK 試験（Module 4.2.3.5.2 [[redacted] 25265]）で胎児曝露を評価した。胎児曝露が定性的に示されたことから（Module 2.6.5 [表 2.6.5.7]）、カプラシズマブがモルモットの胎盤を通過することが示されたが、正確な濃度を測定することはできなかった。

5　代謝（動物種間の比較）

カプラシズマブの代謝を評価する試験は実施していない。カプラシズマブはタンパク質であるため、標的分子との結合形カプラシズマブは最終的に他のタンパク質と同様の異化経路により小さなペプチド又はアミノ酸に分解されると推定される。

6　排泄

カプラシズマブの排泄を調べるための特別な試験は実施していない。しかし、放射性標識（^{125}I-）カプラシズマブを用いたマウス分布試験（Module 4.2.2.3 [ALX-0081 TR038]）で得られたデータから、遊離形カプラシズマブが腎臓で糸球体濾過を受ける一方、vWF 結合形カプラシズマブは vWF の主要な移行臓器である肝臓で異化される可能性が示唆された。

マウスに放射性標識カプラシズマブを投与したとき（カプラシズマブはマウス vWF に対して交差反応性を示さない）、遊離形カプラシズマブの腎臓中濃度は速やかにピークに達し、腎臓で糸球体濾過により排泄されると推定された。一方、ヒト vWF 結合形カプラシズマブを投与したときの全身クリアランスは（遊離形カプラシズマブ投与時に比べて）小さかった。さらに、vWF 結合形カプラシズマブは主に肝臓で検出された。したがって、vWF 結合形カプラシズマブは肝臓内で vWF とともに分解されると推定された。

以上、交差反応性を示す動物種において、vWF 濃度を超える血漿中カプラシズマブは腎臓濾過によって速やかに消失するが、vWF 結合形カプラシズマブは肝臓での異化作用を介して緩徐に消失すると推定される。この仮定は、適切な動物種であるヒヒにおいて用量依存的な血漿中濃度－時間推移が認められたことによって裏付けられた（3項）。カニクイザルを用いた毒性試験で得られた TK データから、カプラシズマブの動態はヒヒと同様であることが明らかになった（Module 2.6.7 [表 2.6.7.3]）。　2 週間毒性試験（Module 4.2.3.2 [[redacted] 20095/[redacted]]）で尿試料を採取し、ウェスタンブロット法によりカプラシズマブの分析を行った結果、遊離形カプラシズマブの尿中排泄が確認された（Module 4.2.2.5 [A001-NC-20[redacted]-005-06]）。これらの結果は定量的なものではなかったが、vWF に結合していない大部分のカプラシズマブは尿中に排泄されるという結論が明確に裏付けられた。

7　薬物動態学的薬物相互作用

薬物動態学的薬物相互作用試験は実施していない。

8　その他の薬物動態試験

その他の非臨床 PK 試験は実施していない。

9　考察及び結論

実施した全ての PK 試験及び TK 試験の一致する結果として、カプラシズマブは標的分子を介した PK に従う。カプラシズマブの消失は、動物種ごとに異なる標的分子の発現量及びカプラシズマブと標的分子の親和性に依存する。vWF 結合形カプラシズマブは、恐らく標的（vWF）特異的経路を介して肝臓で消失し、大部分の非結合形カプラシズマブは速やかに腎臓での糸球体濾過を介して排泄されると考えられる。放射性標識カプラシズマブを用いたマウス分布試験により、この仮説が裏付けられ、ヒト vWF 結合形カプラシズマブは主に肝臓内で検出されるのに対して、非結合形カプラシズマブは腎臓で速やかにピークに達することが明らかになった。その結果として、カプラシズマブは非線形性の PK を示す。全ての動物種において、静脈内投与直後又は皮下／筋肉内投与時の最高血漿中濃度到達後の高濃度での PK は、速やかな血漿中濃度の低下を特徴とする初期消失相によって説明することができる。これは、非結合形カプラシズマブの速やかな分布と腎臓（糸球体濾過）を介した速やかな消失によるものと考えられる。静脈内、皮下又は筋肉内投与後の曝露量は用量比を下回る増加を示す。

臨床で予定されている投与経路は静脈内投与及び皮下投与である。カプラシズマブを皮下投与したときの見かけのバイオアベイラビリティは高く、カニクイザルで 82%～97%、モルモットで 79%～約 200%の範囲であった。

カプラシズマブはタンパク質であり、（カニクイザルの尿試料から明らかなように）尿を介して未変化体として排泄されるか、又は肝臓内で標的分子である vWF とともに小さなペプチド及びアミノ酸に異化されるかのいずれかにより消失することから、代謝及び薬物動態学的薬物相互作用試験は必要ないと考えた。

以上、カプラシズマブの PK に関する詳細な特性評価が行われ、後天性 TTP 患者に使用することの妥当性が裏付けられた。

参 考 文 献

1. DeSilva, B., et al. (2003). Recommendations for the bioanalytical method validation of ligand-binding assays to support pharmacokinetic assessments of macromolecules. Pharmaceutical Research. 20(11):1885-1900.
2. Geng, D., et al. (2005) Validation of immunoassays used to assess immunogenicity to therapeutic monoclonal antibodies. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 39(3-4):364-375.
3. Mire-Sluis, A. R., et al. (2004) Recommendations for the design and optimization of immunoassays used in the detection of host antibodies against biotechnology products. Journal of Immunological Methods 289(1-2):1-16.
4. Lahorte, C. M. M., et al. (2003) Biodistribution and dosimetry study of 123I-rh-annexin V in mice and humans. Nuclear Medicine Communications 24(8):871-880.
5. Lenting, P. J., et al. (2004) An experimental model to study the in vivo survival of von Willebrand factor. Basic aspects and application to the R1205H mutation. The Journal of Biological Chemistry. 279(13):12102-12109.

サノフィ株式会社

カプラシズマブ（遺伝子組換え）

CTD 第二部 ― 非臨床概要

2.6.5 薬物動態試験概要表

Total number of pages: 25

目　　次

2.6.5 薬物動態試験概要表 1

目　　次 2

図 表 目 次 3

略号と用語の定義 4

1　　薬物動態試験ー覧表 5

2　　薬物動態試験ー分析法及びバリデーション試験 7

3　　薬物動態試験ー単回投与後の吸収 9

4　　薬物動態試験ー反復投与後の吸収 13

5　　薬物動態試験ー分布 14

6　　薬物動態試験ーたん白結合 15

7　　薬物動態試験ー妊娠または授乳動物における試験 16

8　　薬物動態試験ーその他の分布試験 17

9　　薬物動態試験ーIn Vivoにおける代謝 18

10　　薬物動態試験ーIn Vitroにおける代謝 19

11　　薬物動態試験ー推定代謝経路 20

12　　薬物動態試験ー薬物代謝酵素の誘導/阻害 21

13　　薬物動態試験ー累積排泄 22

14　　薬物動態試験ー胆汁中排泄 23

15　　薬物動態試験ー薬物相互作用 24

16　　薬物動態試験ーその他 25

図 表 目 次

表2.6.5.1 薬物動態試験一覧表 5
表2.6.5.2 薬物動態試験－分析法及びバリデーション試験 7
表2.6.5.3 A - 薬物動態試験－単回投与後の薬物動態パラメータ – マウス 9
表2.6.5.3 B - 薬物動態試験－単回投与後の薬物動態パラメータ – モルモット 10
表2.6.5.3 C - 薬物動態試験－単回投与後の薬物動態パラメータ – モルモット 11
表2.6.5.3 D - 薬物動態試験－単回投与後の薬物動態パラメータ – ヒヒ 12
表2.6.5.4 薬物動態試験－反復投与後の吸収 13
表2.6.5.5 薬物動態試験－分布 14
表2.6.5.7 薬物動態試験－妊娠または授乳動物における試験 16

略号と用語の定義

AUC_{inf}	投与開始から無限大時間まで外挿した血漿中濃度―時間曲線下面積（Area under the plasma concentration-time curve from time zero extrapolated to infinity）
AUC_{last}	投与開始から定量下限以上の濃度が得られた最終時点までの血漿中濃度―時間曲線下面積（Area under the plasma concentration-time curve from time zero to the real time corresponding to the last concentration above the lower limit of quantification）
CL	全身クリアランス（Total body clearance）
C_0	静脈内投与後の時間 0 における外挿した血漿中濃度（Plasma concentration extrapolated to time zero after intravenous administration）
C_{5min}	投与 5 分後における血漿中濃度（Plasma concentration observed 5 minutes after injection）
C_{max}	最高血漿中濃度（Maximum plasma concentration）
GD	妊娠日数（Gestation day）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice）
i.v.	静脈内（Intravenous）
PD	薬力学（Pharmacodynamics）
PK	薬物動態（Pharmacokinetics）
$t_{1/2}$	消失半減期（Elimination half-life）
TK	トキシコキネティクス（Toxicokinetics）
t_{max}	最高血漿中濃度到達時間（Time to maximal plasma concentration）
TTP	血栓性血小板減少性紫斑病（thrombotic thrombocytopenic purpura）
V	分布容積（Volume of distribution）
vWF	von Willebrand 因子（von Willebrand factor）

1　薬物動態試験一覧表

表 2.6.5.1 薬物動態試験一覧表

被験物質：Caplacizumab

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number
Absorption				
Single-dose PK	male BALB/C mouse	intravenous bolus or subcutaneous injection	Ablynx NV, Belgium and [redacted] Germany	Module 4.2.2.2 [A001-PHA-[redacted]-ISR-001-v1] Module 4.2.2.2 [[redacted] 22300] (*in vivo* part)
Single-dose PK	female Dunkin Hartley guinea pig	intravenous bolus or subcutaneous injection	Ablynx NV, Belgium and [redacted] Germany	Module 4.2.2.2 [A001-PHA-[redacted]-ISR-002-v1] Module 4.2.2.2 [[redacted] 22344] (*in vivo* part)
Single-dose PK	female Dunkin Hartley guinea pig	intravenous or intramuscular bolus injection	[redacted] Germany	Module 4.2.2.2 [[redacted] 21724] (multi-site study)
Single-dose PK/PD study with intra-individual dose escalation	male baboon	intravenous bolus	Ablynx NV, Belgium and [redacted] South Africa	Module 4.2.2.2 [ALX-0081 TR007] Module 4.2.1.1 [A068-NC-20[redacted]-005]
30-day repeat-dose PK	female Dunkin Hartley guinea pig	subcutaneous or intramuscular bolus injection	[redacted] Germany; [redacted] Germany; [redacted] UK	Module 4.2.2.2 [AB-[redacted]-02] (GLP) Module 4.2.2.2 [GLP-0067] (AB-07-02- NCA reanalysis) Module 4.2.2.2 [[redacted] 20216/[redacted]] (*in vivo* part)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number
			and [redacted] UK	Module 4.2.2.2 [redacted] 2710/028] (non-GLP bioanalysis) Module 4.2.2.2 [redacted]/029-009] (GLP bioanalysis)
Distribution				
Biodistribution and clearance of ^{125}I-caplacizumab	C57Bl/6J mouse	intravenous bolus	Ablynx NV, Belgium	Module 4.2.2.3 [ALX-0081 TR038]
35-day repeat-dose TK/PD in pregnant animals	female, pregnant Dunkin Hartley guinea pig	intramuscular injection	[redacted] [redacted] [redacted]Germany	Module 4.2.3.5.2 [redacted] 25265] (multi-site study)
Metabolism				
not assessed				
Excretion				
Qualitative detection of ALX-0081 in urine samples	Cynomolgus monkey	intravenous bolus	Ablynx NV, Belgium	Module 4.2.2.5 [A001-NC-20[redacted]-005-06]
Pharmacokinetic Drug Interactions				
No relevant Drug-interaction studies supportive for the TTP indication were performed.				
Other				
not assessed				

2　薬物動態試験－分析法及びバリデーション試験

表 2.6.5.2 薬物動態試験－分析法及びバリデーション試験

被験物質：Caplacizumab

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number
Method validation for ALX-0081(non-GLP)	guinea pig plasma	not applicable (n.a.)	Ablynx NV, Belgium	Module 4.2.2.1 [A001-PHA-[redacted]-MVR-002-v1] Module 4.2.2.1 [A001-PHA-[redacted]-MVR-002-v1 amendment1]
Method validation for ALX-0081(non-GLP)	guinea pig plasma	n.a	[redacted] UK	Module 4.2.2.1 [[redacted]/029-044] Module 4.2.2.1 [[redacted]/029-050] (long-term stability)
Method validation for anti-ALX-0081 antibodies (GLP)	guinea pig plasma	n.a	[redacted] UK	Module 4.2.2.1 [[redacted]/029-010]
Method validation for ALX-0081(GLP)	guinea pig plasma	n.a	[redacted] UK	Module 4.2.2.1 [[redacted] 2710-011]
Method validation for ALX-0081(non-GLP)	Cynomolgus monkey plasma	n.a.	[redacted] UK	Module 4.2.2.1 [[redacted]/029-020] Module 4.2.2.1 [[redacted]/029-049] (long-term stability)
Method validation for anti-ALX-0081 antibodies (GLP)	Cynomolgus monkey plasma	n.a	[redacted] UK	Module 4.2.2.1 [[redacted]/029-005]
Method validation for anti-ALX-0081 antibodies (GLP)	Cynomolgus monkey plasma	n.a	[redacted] UK	Module 4.2.2.1 [A068-NC-20[redacted]-005]

2.6.5 薬物動態試験概要表
カプラシズマブ（遺伝子組換え）

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number
Method validation for ALX-0081(GLP)	Cynomolgus monkey plasma	n.a	[redacted] UK	Module 4.2.2.1 [[redacted] 2710-005]
Validation of Ristocetin Cofactor Assay	Cynomolgus monkey plasma	n.a	[redacted] UK	Module 4.2.2.1 [29910]
Set a threshold value for RICO	Human plasma ot human platelets	n.a.	Ablynx NV, Belgium	Module 4.2.2.1 [A001-BST-[redacted]-ANR-008-V1]
Method validation for RICO activity	Cynomolgus monkey plasma	n.a.	Ablynx NV, Belgium	Module 4.2.2.1 [A068-NC-20[redacted]-002/15]
Method qualification for RICO activity	Cynomolgus monkey plasma	n.a.	[redacted] Netherlands	Module 4.2.2.1 [AYX215EL-092153-A]
Method qualification for RICO activity	guinea pig plasma	n.a.	[redacted] Netherlands	Module 4.2.2.1 [AYX216EL-092163-A]

3　薬物動態試験－単回投与後の吸収

表 2.6.5.3 A - 薬物動態試験－単回投与後の薬物動態パラメータ – マウス

Study Number:	Module 4.2.2.2 [A001-PHA-[redacted]-ISR-001-v1] and Module 4.2.2.2 [[redacted] 22300] (*in vivo* part)				
Species	BALB/C mouse				
Gender (M/F) / Number of animals	18 males, 9 per dose route				
Feeding condition	not specified				
Vehicle / Formulation	D-PBS, 0.2 M glycine, 0.02% Tween 80; pH 7.1 ± 0.1				
Method of Administration	intravenous bolus or subcutaneous injection				
Dose	200 µg/animal				
Sample	serum				
Analyte	caplacizumab (ALX-0081)				
Assay	ELISA				
Serum PK parameters:	**C_0**	**C_{max}**	**t_{max}**	**AUC_{inf}**	**CL**
intravenous	90.6 µg/mL	n.a.	n.a.	11.3 µg•h/mL	17.7 mL/h
subcutaneous	n.a.	2.5 µg/mL	0.93 h	17.8 µg•h/mL	n.a.

Additional Information: Parameters were calculated with compartmental modelling.
n.a.: not applicable

表 2.6.5.3 B - 薬物動態試験ー単回投与後の薬物動態パラメータ – モルモット

Study Number:	Module 4.2.2.2 [A001-PHA-[redacted]-ISR-002-v1] and Module 4.2.2.2 [[redacted] 22344] (*in vivo* part)				
Species	Dunkin Hartley guinea pig				
Gender (M/F) / Number of animals	24 females; 4 animals per group				
Feeding condition	fed				
Vehicle / Formulation	D-PBS, 0.2 M Glycine, 0.02% Tween 80; pH 7.1 ± 0.1				
Method of Administration	intravenous bolus or subcutaneous injection				
Dose	1, 7 or 20 mg/kg				
Sample	sodium citrate plasma				
Analyte	caplacizumab (ALX-0081)				
Assay	ELISA				
Average Plasma PK parameters:	**C_0**	**C_{max}**	**t_{max}**	**AUC_{inf}**	**CL**
intravenous					
1 mg/kg	16.0 µg/mL	n.a.	n.a.	17.3 µg•h/mL	61.1 mL/h/kg
7 mg/kg	109 µg/mL[a]	n.a.	n.a.	46.1 µg•h/mL[a]	152 mL/h/kg[a]
20 mg/kg	248 µg/mL	n.a.	n.a.	115 µg•h/mL	184 mL/h/kg
subcutaneous					
1 mg/kg	n.a.	1.11 µg/mL	not calculated	31.4 µg•h/mL	n.a.
7 mg/kg	n.a.	3.79 µg/mL	not calculated	45.3 µg•h/mL	n.a.
20 mg/kg	n.a.	9.61 µg/mL[a]	not calculated	91.0 µg•h/mL	n.a.

Additional Information: Parameters were calculated with compartmental modelling. For i.v. data, only 2-compartmental data were averaged (one animal omitted at 1 mg/kg, two animals at 7 mg/kg). n.a.: not applicable,

a Arithmetic mean values calculated from the raw data provided in the report

表 2.6.5.3 C - 薬物動態試験－単回投与後の薬物動態パラメータ – モルモット

Study Number:	Module 4.2.2.2 [[redacted] 21724]					
Species	Dunkin Hartley guinea pig					
Gender (M/F) / Number of animals	24 females; 4 animals per group					
Feeding condition	fed					
Vehicle / Formulation	D-PBS, 0.2 M Glycine, 0.02% Tween 80; pH 7.1 ± 0.1					
Method of Administration	intravenous bolus or intramuscular injection					
Dose	1, 7 or 20 mg/kg					
Sample	sodium citrate plasma					
Analyte	caplacizumab (ALX-0081)					
Assay	ELISA					
Plasma PK parameters:	**C_0**	**C_{max} (i.v.: C_{5min})**	**t_{max}**	**$t_{1/2}$**	**AUC_{inf}**	**CL**
intravenous						
1 mg/kg	13.5 µg/mL	9.78 µg/mL	n.a.	12.3 h	17.4 µg•h/mL	58.4 mL/h/kg
7 mg/kg	107 µg/mL	69.4 µg/mL	n.a.	12.0 h	50.4 µg•h/mL	141 mL/h/kg
20 mg/kg	306 µg/mL	214 µg/mL	n.a.	13.7 h	143 µg•h/mL	142 mL/h/kg
intramuscular						
1 mg/kg	n.a.	1.24 µg/mL	4.0 h	15.9 h	30.3 µg•h/mL	n.a.
7 mg/kg	n.a.	3.77 µg/mL	3.0 h	10.7 h	51.3 µg•h/mL	n.a.
20 mg/kg	n.a.	6.66 µg/mL	2.0 h	6.2 h	83.9 µg•h/mL	n.a.

Additional Information: none
n.a.: not applicable

表 2.6.5.3 D - 薬物動態試験－単回投与後の薬物動態パラメータ – ヒヒ

Study Number:	Module 4.2.2.2 [ALX-0081 TR007]					
Species	baboon					
Gender (M/F) / Number of animals	3 males					
Feeding condition	fed					
Vehicle / Formulation	saline					
Method of Administration	intravenous bolus					
Dose	10, 20, 40 and 80 µg/kg (intra-individual escalation with 1-2 week intervals)					
Sample	plasma					
Analyte	caplacizumab (ALX-0081)					
Assay	ELISA					
Plasma PK parameters:	**t_{max}**	**C_{max} (C_{5min})**	**$t_{1/2}$**	**AUC_{last}**	**AUC_{inf}**	**CL**
10 µg/kg	5 min	0.19 µg/mL	7.96 h	1.92 µg•h/mL	2.18 µg•h/mL	4.6 mL/h/kg
20 µg/kg	5 min	0.27 µg/mL	10.8 h	3.19 µg•h/mL	4.07 µg•h/mL	5.1 mL/h/kg
40 µg/kg	5 min	0.68 µg/mL	8.09 h	4.64 µg•h/mL	5.30 µg•h/mL	7.8 mL/h/kg
80 µg/kg	5 min	1.08 µg/mL	8.67 h	5.06 µg•h/mL	5.84 µg•h/mL	14.2 mL/h/kg

Additional Information: No anti-drug antibodies were detected in the animals using two independent methods.

4　薬物動態試験－反復投与後の吸収

表 2.6.5.4 薬物動態試験－反復投与後の吸収

Study Number: Module 4.2.2.2 [AB-[redacted]-02] and Module 4.2.2.2 [[redacted] 20216/06] (in vivo part); Module 4.2.2.2 [[redacted] 2710/028] (non-GLP bioanalysis) and Module 4.2.2.2 [[redacted]/029-009] (GLP bioanalysis): Module 4.2.2.2 [GLP-0067] (AB-[redacted]-02- NCA reanalysis)					
Species	Dunkin Hartley guinea pigs				
Gender (M/F) / Number of animals	16 females; 8 per dose route				
Feeding condition	fed				
Vehicle / Formulation	D-PBS, 0.2 M Glycine, 0.02% Tween-80, pH 7.1 ± 0.1				
Method of Administration	subcutaneous or intramuscular injection				
Dose	747.7 µg/kg/day				
Sample	sodium citrate plasma				
Analyte	caplacizumab (ALX-0081)				
Assay	ELISA				
Plasma PK parameters:	**C_{max}**	**t_{max}**	**$t_{1/2}$**	**AUC_{last}**	**AUC_{inf}**
subcutaneous (single dose)	1.55 µg/mL	2.00 h	25.32 h	9.26 µg•h/mL	51.57 µgh/mL
intramuscular (single dose)	1.51 µg/mL	1.38 h	19.58 h	15.71 µg•h/mL	30.09 µgh/mL
subcutaneous (single dose – GLP-0067)	1.54 µg/mL	2.0 h	9.15 h	16.8 µg•h/mL	23.4 µgh/mL
intramuscular (single dose – GLP-0067)	1.43 µg/mL	3.3 h	not calculated	15.3 µg•h/mL	not calculated
subcutaneous (day 1-30)	7.60 µg/mL	667.0 h	not calculated	2967 µg•h/mL	not calculated
intramuscular (day 1-30)	3.02 µg/mL	666.5 h	not calculated	1184 µg•h/mL	not calculated
Additional Information: PK parameters were calculated from the results of the GLP-compliant bioanalysis; Module 4.2.2.2 [[redacted]/029-009]. Parameters for day 1-30 were calculated from samples obtained predose, one hour after administration on days 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25 and 30, and 7 and 14 days after the last dose.					

5　薬物動態試験－分布

表 2.6.5.5 薬物動態試験－分布

Study Number:	Module 4.2.2.3 [ALX-0081 TR038]
Species	C57Bl/6J mouse
Gender (M/F) / Number of animals	not specified / 3 animals per time point
Feeding condition	not specified
Vehicle / Formulation	PBS containing 3 % BSA
Dose and Method of Administration	30 µg/kg (~$9x10^5$ cpm/animal) by intravenous bolus
Radionuclide and Specific Activity	^{125}I; $15x10^5$ cpm/µg
Sampling Time(s)	3; 15 and 30 minutes and 1; 1.5; 2; 2.5, 3; 4; 5.5; 8 and 24 hours post dose

	Concentration (% of dose administered)											
Tissues/ Organs	**3 min**	**15 min**	**30 min**	**1 h**	**1.5 h**	**2 h**	**2.5 h**	**3 h**	**4 h**	**5.5 h**	**8 h**	**24 h**
Blood	80.4	15.9	16.4	15.7	12.9	10.0	14.8	14.1	13.4	7.9	9.2	0.2
Heart	1.2	0.4	0.4	0.3	0.3	0.4	0.5	0.3	0.3	0.3	0.2	0.0
Lung	1.7	0.7	1.2	1.0	0.7	0.5	0.8	0.6	0.6	0.4	0.4	0.0
Liver	8.7	2.8	2.8	2.9	2.5	1.9	2.8	2.9	2.5	1.5	1.6	0.1
Liver (vWF-complex)	*8.2*	--	*19.9*	*24.9*	--	--	--	*7.1*	--	--	*2.2*	*0.2*
Stomach	0.9	1.6	6.8	3.7	6.0	9.3	9.1	6.5	6.0	5.2	6.8	0.1
Spleen	0.6	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.1	0.2	0.0
Kidney	13.6	41.1	14.0	4.8	2.8	1.7	1.7	1.6	1.4	1.0	0.8	0.1
Leg	0.9	1.2	1.4	1.0	0.9	0.6	0.8	1.0	0.8	0.4	0.5	0.0
Sum[a]	**108.0**	**63.9**	**43.4**	**29.5**	**26.3**	**24.6**	**30.8**	**27.1**	**25.2**	**16.8**	**19.7**	**0.4**

Additional Information: **When ALX-0081 was administered in complex with human von-Willebrand factor to a separate group of animals, a slower clearance was observed (compared to ALX-0081 alone). In addition, the ALX-0081-vWF complex was predominantly detected in the liver, whereas ALX-0081 alone appeared to be rapidly cleared via the kidneys, as it displayed a short, high peak in this organ. The signal detected in the stomach is discussed in module 2.6.4 [4 項].**

a Data in the line “sum” are based on raw data and may differ from the sum of the rounded values above.

6　薬物動態試験－たん白結合

該当なし

7　薬物動態試験－妊娠または授乳動物における試験

表 2.6.5.7 薬物動態試験－妊娠または授乳動物における試験

Placental Transfer	**Study Number:** Module 4.2.3.5.2 [[redacted] 25265]			
Species	Dunkin Hartley guinea pigs			
Gestation day / Number of animals	GD 41 and 61: 5 dams and all fetuses, each			
Vehicle / Formulation	D-PBS, 0.2 M Glycine, 0.02% Tween-80, pH 7.1 ± 0.1			
Method of Administration	intramuscular injection			
Dose	20 and 40 mg/kg			
Analyte	caplacizumab (ALX-0081)			
Assay	ELISA			
Time (hours)	2 h post dosing (immediately before laparotomy)			
Concentration in plasma	**20 mg/kg**		**40 mg/kg**	
	GD 41	**GD 61**	**GD 41**	**GD 61**
Dam (plasma, geometric mean)	38.6 µg/mL	38.2 µg/mL	41.5 µg/mL	34.2 µg/mL
Fetus (plasma, geometric mean)	*0.13* µg/mL (N=12)	*1.3* µg/mL (N=14)	*0.18* µg/mL (N=10)	*0.66* µg/mL (N=14)
Ratio Dam/Fetus	*297*	*29*	*231*	*52*

Additional Information: As accurate quantification of ALX-0081 was not possible in fetal plasma, these data are presented in *italics* and have to be interpreted with caution. Concentrations in fetuses were measurable but low.

8　薬物動態試験－その他の分布試験

該当なし

9　薬物動態試験－In Vivo における代謝

該当なし

10　薬物動態試験－In Vitro における代謝

該当なし

11　薬物動態試験－推定代謝経路

該当なし

12　薬物動態試験－薬物代謝酵素の誘導/阻害

該当なし

13　薬物動態試験－累積排泄

該当なし

14　薬物動態試験－胆汁中排泄

該当なし

15　薬物動態試験－薬物相互作用

該当なし

16　薬物動態試験－その他

該当なし