目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 5
2.6.4.1 まとめ 5
2.6.4.1.1 ペルツズマブ，トラスツズマブ及び rHuPH20 の SC 併用投与後の吸収 5
2.6.4.1.2 トラスツズマブ及び rHuPH20 の SC 投与後の吸収 5
2.6.4.1.3 rHuPH20 の SC 投与後の吸収及び分布 6
2.6.4.2 分析法 6
2.6.4.2.1 カニクイザル血清中のトラスツズマブの定量法 6
2.6.4.2.2 カニクイザル血清中の抗トラスツズマブ抗体の測定法 6
2.6.4.2.3 ミニブタ血漿中のペルツズマブ及びトラスツズマブの測定法 7
2.6.4.2.4 カニクイザル血漿中のヒアルロニダーゼ（rHuPH20）活性の測定法 7
2.6.4.2.5 ビオチン化ヒアルロン酸基質を用いたヒアルロニダーゼ活性の測定法 8
2.6.4.2.6 カニクイザル血漿中の rHuPH20 反応性抗体のブリッジング ELISA による定量法 8
2.6.4.2.7 カニクイザル血漿における rHuPH20 ヒアルロニダーゼ活性に対する中和活性力価の測定方法 9
2.6.4.3 吸収 9
2.6.4.3.1 ペルツズマブ、トラスツズマブ及び rHuPH20 の併用投与 9
2.6.4.3.1.1 ミニブタにおけるペルツズマブ及びトラスツズマブの単回 IV 及び SC 投与後の PK 試験 9
2.6.4.3.2 トラスツズマブ及び rHuPH20 の併用投与 11
2.6.4.3.2.1 マウスにおけるトラスツズマブ＋rHuPH20 の単回 IV 及び SC 投与後の薬物動態試験 11
2.6.4.3.2.2 ミニブタにおけるトラスツズマブ＋rHuPH20 の単回 IV 及び SC 投与後の薬物動態試験 12
2.6.4.3.2.3 カニクイザルにおけるトラスツズマブ＋rHuPH20 の単回 SC 投与後の薬物動態試験 14
2.6.4.3.2.4 カニクイザルにおけるトラスツズマブ＋rHuPH20 の反復 SC 投与後の薬物動態試験 15
2.6.4.3.3 rHuPH20 単独投与 15
2.6.4.3.3.1 CD-1 マウスにおける rHuPH20 の単回 IV 投与後の薬物動態試験 15
2.6.4.3.3.2 雌カニクイザルにおける rHuPH20 の単回 IV 又は SC 投与後の薬物動態試験 16
2.6.4.3.3.3 カニクイザルにおける rHuPH20 の 7 日間反復 IV 及び SC 投与後のトキシコキネティクス 19
2.6.4.3.3.4 カニクイザルにおける rHuPH20 の 39 週間反復 SC 投与毒性試験のトキシコキネティクス 21

2.6.4.4 分布 22
2.6.4.4.1 マウスにおける rHuPH20 の皮内投与後の皮膚，リンパ及び血漿への分布試験 22
2.6.4.5 代謝（動物種間の比較） 23
2.6.4.6 排泄 23
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 23
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 24
2.6.4.9 考察及び結論 24
2.6.4.10 図表 25
2.6.4.11 参考文献 25

表一覧

表 2.6.4.2.1-1 カニクイザル血漿中のトラスツズマブ濃度測定法のバリデーション 6
表 2.6.4.2.2-1 カニクイザル血清中の抗トラスツズマブ抗体測定法のバリデーション 7
表 2.6.4.2.4-1 カニクイザル血漿中のヒアルロニダーゼ（rHuPH20）活性測定法のバリデーション 8
表 2.6.4.2.5-1 ビオチン化ヒアルロン酸基質を用いたヒアルロニダーゼ活性測定法のバリデーション 8
表 2.6.4.2.6-1 カニクイザル血漿中の rHuPH20反応性抗体のブリッジング ELISA による定量法のバリデーション 9
表 2.6.4.2.7-1 カニクイザル血漿における rHuPH20ヒアルロニダーゼ活性に対する中和活性力価の測定法バリデーション 9
表 2.6.4.3.1.1-1 雄ミニブタに単回 IV 又は SC 投与後の血漿中ペルツズマブの薬物動態パラメータ 11
表 2.6.4.3.2.2-1 雌ミニブタにおけるトラスツズマブ及び各用量の rHuPH20との単回併用 SC 投与後のトラスツズマブのノンコンパートメント PK パラメータ 14
表 2.6.4.3.3.1-1 CD-1マウスにおける rHuPH20の IV 投与後の平均 PK パラメータ 16
表 2.6.4.3.3.2-1 雌カニクイザルにおける rHuPH20の IV 投与後のノンコンパートメント解析による PK パラメータ 18
表 2.6.4.3.3.2-2 雌カニクイザルにおける rHuPH20 IV 投与後の平均濃度時間データを用いたコンパートメント解析による PK パラメータ 18
表 2.6.4.3.3.2-3 雌カニクイザルにおける rHuPH20 SC 投与後のノンコンパートメント解析による PK パラメータ 19
表 2.6.4.3.3.3-1 カニクイザルにおける rHuPH20 7日間 IV 又は SC 投与時の TK パラメータ 21
表 2.6.4.3.3.4-1 カニクイザルにおける rHuPH20 2.0 mg/kg の39週間週1回 SC 投与時の血漿中ヒアルロニダーゼ活性の TK パラメータ 22

図一覧

図 2.6.4.3.1.1-1 ペルツズマブ及び rHuPH20，又はペルツズマブ，トラスツズマブ及び rHuPH20を雄ミニブタに単回 SC 投与後の平均血漿中濃度 - 時間推移 10
図 2.6.4.3.2.1-1 雌ヌードマウスにおけるトラスツズマブ10 mg/kg 単回 IV 又は SC 投与後

のトラスツズマブの平均血清中濃度推移 12
図 2.6.4.3.2.2-1 雌ミニブタにおけるトラスツズマブ9.0 mg/kg 単回 IV 投与後のトラスツズマブの平均血清中濃度推移 13
図 2.6.4.3.2.2-2 雌ミニブタにおけるトラスツズマブ108 mg/動物及び各用量の rHuPH20含有製剤単回 SC 投与後のトラスツズマブの平均血清中濃度推移 14
図 2.6.4.3.2.3-1 雄カニクイザルにおけるトラスツズマブ25 mg/kg 及び rHuPH20の単回 SC 投与後のトラスツズマブの平均血清中濃度推移 15
図 2.6.4.3.3.2-1 雌カニクイザルに rHuPH20を IV 投与後の平均血漿中ヒアルロニダーゼ活性–時間推移 17
図 2.6.4.3.3.2-2 雌カニクイザルに rHuPH20を SC 投与後の平均血漿中ヒアルロニダーゼ活性-時間推移 17
図 2.6.4.3.3.3-1 カニクイザルにおける rHuPH20 5 mg/kg の7日間 IV 投与後の血漿中ヒアルロニダーゼ活性–時間推移 20
図 2.6.4.3.3.3-2 カニクイザルにおける rHuPH20 5 mg/kg の7日間 SC 投与後の血漿中ヒアルロニダーゼ活性-時間推移 20
図 2.6.4.3.3.4-1 カニクイザルにおける rHuPH20 2.0 mg/kg の39週間週1回 SC 投与時の血漿中ヒアルロニダーゼ活性時間推移 22
図 2.6.4.4.1-1 マウスに ID 投与後の皮膚投与部位におけるヒアルロニダーゼ活性 23

略語一覧

略語	英語名	和名
AUC	Area under the plasma/serum concentration-time curve	血漿（血清）中濃度–時間曲線下面積
AUC_{0-1h}	AUC from time 0 to 1h	投与後0時間から1時間までの AUC
AUC_{0-168h}	AUC from time 0 to 168h	投与後0時間から168時間までの AUC
AUC_{0-672h}	AUC from time 0 to 672h	投与後0時間から672時間までの AUC
AUC_{0-last}	AUC from time 0 to the last measurable time point	投与後0時間から測定された最終時点までの AUC
AUC_{inf}	AUC from time 0 extraporated to infinite time	無限大時間まで補完された面積を含む AUC
CL	Clearance	クリアランス
CL_2	Clearance for the linear elimination pathway	線形消失経路のクリアランス
CL/F	Apparent clearance	見かけのクリアランス
CL_{total}	Total body clearance	全身クリアランス
C_{max}	Maximum concentration in plasma/serum	最高血漿（血清）中濃度
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着測定法
F	Bioavailability	バイオアベイラビリティ
HA	Hyaluronic acid	ヒアルロン酸
HRP	Horseradish peroxidase	西洋ワサビペルオキシダーゼ
ID	Intradermal	皮内
IgG	Immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IV	Intravenous	静脈内
k_a	Absorption rate	吸収速度定数
K_m	Michaelis-menten constant	ミカエリスメンテン定数
MRT	Mean residence time	平均滞留時間
PH FDC SC	Pertuzumab and trastuzumab fixed dose combination for SC injection	ペルツズマブ/トラスツズマブ配合皮下注射剤
PK	Pharmacokinetics	薬物動態
rHuPH20	Recombinant human hyaluronidase	ボルヒアルロニダーゼ　アルファ（遺伝子組換え）
SC	Subcutaneous	皮下
$t_{1/2}$	Half-life	半減期
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
T_{max}	Time to maximum observed plasma/serum concentration	最高血漿（血清）中濃度到達時間
TMB	Tetramethyl benzidine	テトラメチルベンジジン
V_{ss}	Volume of distribution at steady-state	定常状態の分布容積

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

ペルツズマブ/トラスツズマブ配合皮下注射剤（以下，PH FDC SC）は，rHuPH20（ボルヒアルロニダーゼ アルファ [遺伝子組換え] ）を含み，皮下投与時の大容量の薬剤の拡散を改善するために開発された SC 製剤（浸透吸収促進製剤）である。

現在までペルツズマブ静脈内（IV）及びトラスツズマブ IV 投与製剤を中心に，多くの薬物動態（PK）評価が実施されてきた。今回ミニブタを用いて，ペルツズマブ＋トラスツズマブ（rHuPH20を含む）の単回皮下（SC）併用投与後の非臨床 PK 評価を実施した。また，マウス，カニクイザル及びミニブタを用いて，トラスツズマブ及び rHuPH20を SC 併用投与したときのトラスツズマブの吸収に対する rHuPH20の影響を評価した。

更に，rHuPH20をマウス及びカニクイザルに単独で SC，IV，又は皮内（ID）投与したときの PK を評価した。

本申請資料における主な PK に関する情報を以下に示す。

2.6.4.1.1 ペルツズマブ，トラスツズマブ及び rHuPH20の SC 併用投与後の吸収

- Göttingen ミニブタに，120 mg/動物ペルツズマブ＋2000 U/動物 rHuPH20，又は 120 mg/動物ペルツズマブ＋120 mg/動物トラスツズマブ+2000 U/動物 rHuPH20 を単回 SC 投与後のペルツズマブの PK を評価した。ペルツズマブ及び rHuPH20 の併用投与において，ペルツズマブの吸収は比較的速く，投与後 7~48 時間後に最高血漿中濃度（C_{max}）を示した。C_{max} 及び投与後 0 時間から 672 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}672h}$）は，それぞれ 138 µg/mL 及び 52800 µg•h/mL であった。半減期（$t_{1/2}$）は 524 時間で，IV 投与時と同様であった。SC 投与後のペルツズマブの平均バイオアベイラビリティ（F）は 73.8%であった。
- ペルツズマブ及びトラスツズマブの SC 併用投与によって，ペルツズマブの吸収への影響は認められなかった。本試験では血漿中のペルツズマブ及びトラスツズマブを分けて測定せずヒト免疫グロブリン G（IgG）として測定したが，ペルツズマブ＋トラスツズマブ投与後の両抗体を合わせた曝露（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}672h}$）はペルツズマブ単独投与の約 2 倍であったことから，ペルツズマブの SC 吸収がトラスツズマブとの併用によって低下しないことが確認された。

2.6.4.1.2 トラスツズマブ及び rHuPH20の SC 投与後の吸収

- BALB/c nu/nu マウスを用いて，10 mg/kg トラスツズマブ及び 4600 U/mL rHuPH20 の単回 SC 投与後の PK を評価した結果，トラスツズマブの吸収は比較的速く，投与 7 時間後に C_{max} を示し，F は 83.4%であった。
- Göttingen ミニブタを用いて，rHuPH20 の含有及び非含有でのトラスツズマブ（108 又は 216 mg/動物）の単回 SC 投与後の PK を評価した。rHuPH20 含有製剤では非含有製剤と比べて吸収速度が速く，最高血清中濃度到達時間（T_{max}）は rHuPH20 含有製剤で 24 時間，非含有製剤で 72 時間と含有製剤のほうが短かった。rHuPH20 の添加濃度（2000 及び 6000 U/mL）の違いによる吸収速度への影響は認められなかった。2000 及び 6000 U/mL の rHuPH20 を含有したときの F はそれぞれ 81.8%及び 87.2%で，rHuPH20 非含有の 90.2%と明らかな違いは認められなかった。
- カニクイザルを用いて，トラスツズマブ 25 mg/kg 及び 6000 U/mL rHuPH20 の単回 SC 投与後の PK を評価したところ，トラスツズマブの rHuPH20 含有製剤の SC 投与において高い全身曝露が認められた。

2.6.4.1.3 rHuPH20の SC 投与後の吸収及び分布

- CD-1 マウスを用いて，rHuPH20 を単独で単回 IV 投与後の PK を評価した。0.433 mg/kg rHuPH20 の IV 投与後，rHuPH20 の血漿中濃度は急速に減少し，投与後 30 分までに定量下限（0.625 U/mL）未満となった。血漿中の $t_{1/2}$ は 3 分未満であった。
- 雌カニクイザルを用いて，rHuPH20 の単回 IV（0.3～30 mg/kg）及び単回 SC 投与（1～30 mg/kg）後の PK を評価した。IV 投与後，血漿中の rHuPH20 濃度は用量比以上に増加し，投与後 0 時間から 1 時間までの AUC （$AUC_{0\text{-}1h}$）は非線形性を示した。0.3 mg/kg rHuPH20 を IV 投与したときの血漿中 rHuPH20 の消失は速く，$t_{1/2}$ は約 5 分であった。rHuPH20 の SC 投与後の全身曝露は非常に低く，F は 1.5%～4.0%であったが，全身曝露はほぼ用量に比例して増加した。
- カニクイザルに 0.02, 0.2 又は 2.0 mg/kg rHuPH20 を週 1 回 39 週間反復 SC 投与し，トキシコキネティクス（TK）を評価したところ，0.02 及び 0.2 mg/kg では試験期間を通して投与前又はそれ未満の血漿中濃度（約 25 U/mL 以下）であったが，2.0 mg/kg の雄では Day 185 まで，雌では Day 267 まで低い曝露が認められた。
- 雌 NCr-nu/nu マウスを用い，rHuPH20 を皮内（ID）投与したときの投与局所における分布を評価したところ，ヒアルロニダーゼ活性は投与後 1 及び 15 分をピークとした後減少し，60 分まで投与部位の皮膚に検出された後定量下限未満（約 0.7 U/mL）となった。一方，ほとんどの血漿サンプルでは定量下限未満（<0.62 U/mL）であったことから，マウスに rHuPH20 を ID 投与後のヒアルロニダーゼ活性は，一時的に投与部位に残存するものの全身にはほとんど分布しないことが確認された。

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 カニクイザル血清中のトラスツズマブの定量法

（資料番号4.2.2.1-1）

バリデートされた酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）を用い，カニクイザル血清中のトラスツズマブ濃度を測定した。

マイクロタイタープレートを[redacted]でコートし，ブロッキング，洗浄後，標準サンプル，QC 試料及び測定試料とインキュベートした。検出用抗体として西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）標識[redacted]を添加し，再度インキュベート後，HRP の基質であるテトラメチルベンジジン（TMB）を加えて発色させ吸光度を測定した。標準品を用いて作成した検量線より，血清中トラスツズマブ濃度を算出した。カニクイザル血清中のトラスツズマブの測定範囲は20～2000 ng/mL であった。

カニクイザル血清中のトラスツズマブは室温で16時間，–15°C～–30°C 又は–60°C～–80°C の凍結保存条件下で最長12カ月，–60°C～–80°C の凍結融解サイクル6回まで安定であった。バリデーション結果を表 2.6.4.2.1-1に示す。

表 2.6.4.2.1-1 カニクイザル血清中のトラスツズマブ濃度測定法のバリデーション

資料番号	測定範囲 (ng/mL)	日内（分析単位内）		日間（分析単位間）	
		真度 (%)	精度 (%)	真度 (%)	精度 (%)
4.2.2.1-1	20.0～2000.0	87.5～115.3	0.9～17.2	100.1～105.3	4.3～9.6

真度 =（測定値／理論値）× 100；精度 = 標準偏差／測定値の平均値 × 100

[資料番号4.2.2.1-1, Table 2を改変]

2.6.4.2.2 カニクイザル血清中の抗トラスツズマブ抗体の測定法

（資料番号4.2.2.1-2）

カニクイザル血清中の抗トラスツズマブ抗体の測定法をバリデートした。測定は以下の2段

階，1）スクリーニングアッセイとして抗トラスツズマブ抗体を検出（陽性スクリーニング），2）確認アッセイとしてスクリーニング陽性の特異性を確認（陽性確認），にて実施した。

対照及び試料を0.3 mol/L クエン酸で2倍希釈し，室温で1時間インキュベートした。酸処理後，試料をビオチン及びルテニウム修飾したトラスツズマブを含む0.5 mol/L トリス塩酸バッファー（pH 8.5）と室温で1時間，96ウェルプレート中でインキュベートした。この混液の一部をブロッキング済みのストレプトアビジンでコートしたプレートに移し，室温で更に1時間インキュベートした。洗浄後リードバッファーを添加し，プレートリーダーで測定した。確認アッセイのために，個別試料は10 µg/mL トラスツズマブ存在下及び非存在下で測定した。

陽性対照に対する本方法の感度は約1.45 ng/mL であった。カニクイザル血清中の抗トラスツズマブ抗体は室温で16時間，2°C～8°C の冷蔵保存で3日間，–15°C～–30°C 又は–60°C～–80°C の凍結保存条件下で最長12カ月，–60～–80°C の凍結融解サイクル6回まで安定であった。バリデーション結果を表 2.6.4.2.2-1に示す。

表 2.6.4.2.2-1 カニクイザル血清中の抗トラスツズマブ抗体測定法のバリデーション

資料番号	定量感度 (ng/mL)	日内（分析単位内）		日間（分析単位間）	
		真度 (%)	精度 (%)	真度 (%)	精度 (%)
4.2.2.1-2	約1.45	非該当	0.4～15.7	非該当	8.9～11.6

精度 = 標準偏差／測定値の平均値 × 100

[資料番号4.2.2.1-2, Validation Summary p.19-20及び Table 5, 6を改変]

2.6.4.2.3 ミニブタ血漿中のペルツズマブ及びトラスツズマブの測定法

（資料番号4.2.2.2-1）

ミニブタ血漿中のペルツズマブ単独，又はペルツズマブ及びトラスツズマブ併用時の濃度は，血漿5%（vol%）における[redacted]を検出するジェネリックサンドイッチ ELISA 法を用いて測定した。

[redacted]に対するビオチン標識モノクローナル抗体（[redacted]）を，ストレプトアビジンコートしたマイクロプレートの各ウェルに添加した。ミニブタ血漿試料を[redacted]に対するジゴキシゲニン標識モノクローナル抗体（[redacted]）とプレインキュベートした。プレインキュベート後の試料を，ストレプトアビジンでコートしたマイクロプレートに添加してインキュベートした。マイクロプレート上に結合した免疫複合体は，ジゴキシゲニンに対する HRP 標識 Fab フラグメント及び HRP の発色基質である2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)の添加により検出した。ドデシル硫酸ナトリウムにて HRP の反応停止後，405及び490 nm の2波長マイクロプレートリーダーで吸光度を測定した。本測定法ではペルツズマブ及びトラスツズマブを分離して測定はできない。本 ELISA の測定範囲は血漿中濃度として12.5～800 ng/mL であり，定量下限は12.5 ng/mL であった。

2.6.4.2.4 カニクイザル血漿中のヒアルロニダーゼ（rHuPH20）活性の測定法

（資料番号4.2.2.1-3）

血漿中のヒアルロニダーゼ活性は，ヒアルロン酸（HA）と酸性化血清との不溶性沈殿物の生成を基にした，米国薬局方（USP）比濁法を用いて測定した。カニクイザルの血漿試料及び HA 基質を1時間インキュベートし，酸性化血清の添加によって生じた未分解の HA による沈殿を640 nm の吸光度で測定した。このときの濁度の減少により，各試料中のヒアルロニダーゼ活性を測定した。

本方法の測定範囲は10～100 U rHuPH20/mL であった。カニクイザル血漿におけるバリデーション結果を表 2.6.4.2.4-1に示す。

表 2.6.4.2.4-1 カニクイザル血漿中のヒアルロニダーゼ（rHuPH20）活性測定法のバリデーション

資料番号	測定範囲（U/mL）	日内（分析単位内）		日間（分析単位間）	
		真度（%）	精度（%）	真度（%）	精度（%）
4.2.2.1-3	10～100	–2.5～0	0.6～2.2	非該当	非該当

真度 =（測定値 − 理論値）／理論値 × 100；精度 = 標準偏差／測定値の平均値 × 100

[資料番号4.2.2.1-3, Results and Discussion p.9及び Table 3を改変]

2.6.4.2.5 ビオチン化ヒアルロン酸基質を用いたヒアルロニダーゼ活性の測定法

（資料番号4.2.2.1-4）

Frost 及び Stern の方法（Frost and Stern 1997）[1)] を基に改変したヒアルロニダーゼ活性測定法を用いて，マウス血漿中の rHuPH20レベルを測定した。

ビオチン標識したヒアルロン酸（bHA）基質をマイクロタイタープレートにコートした。rHuPH20を含む標準品及び試料を bHA コートしたプレートに添加し，一定時間インキュベートした。rHuPH20及び分解された bHA を洗浄した後，残存する bHA をストレプトアビジン結合 HRP（SA-HRP）及び発色基質である TMB とともにインキュベートした。吸光度は各試料中のヒアルロニダーゼ活性と逆比例した。マウス血漿の rHuPH20検量線の測定範囲は0.00625 ~ 0.200 U/mL であった。マウス血漿中のヒアルロニダーゼ活性は，室温で融解4時間，–70°C の凍結保存条件下で73日間，–70°C の凍結融解サイクル3回まで安定であった。バリデーション結果を表 2.6.4.2.5-1に示す。

表 2.6.4.2.5-1 ビオチン化ヒアルロン酸基質を用いたヒアルロニダーゼ活性測定法のバリデーション

資料番号	測定範囲（U/mL）	日内（分析単位内）		日間（分析単位間）	
		真度（%）	精度（%）	真度（%）	精度（%）
4.2.2.1-4	0.00625～0.200	–9.89～5.66	5.75～13.3	–7.13～14.4	6.04～7.21

真度 =（測定値 − 理論値）／理論値 × 100；精度 = 標準偏差／測定値の平均値 × 100

[資料番号4.2.2.1-4, Results and Discussion p.9, 10及び Table 3, 4を改変]

2.6.4.2.6 カニクイザル血漿中の rHuPH20反応性抗体のブリッジング ELISA による定量法

（資料番号4.2.2.1-5）

定量的ブリッジング ELISA を用いて，カニクイザルの K-2 EDTA 血漿中の rHuPH20反応性抗体の検出法を開発し，バリデートした。

血漿試料を ELISA プレートに固相化した rHuPH20とインキュベートした。洗浄後，結合した抗体をビオチン標識した rHuPH20とインキュベートし，SA-HRP を添加して TMB 基質溶液で発色させた。rHuPH20に対するウサギポリクローナル抗体を陽性対照として使用した。陽性対照試料の日内及び日間の精度は，それぞれ5.0～8.4%及び10.5～12.6%であった。10%カニクイザル血漿中の陽性対照は室温で24時間，–70°C の凍結融解サイクル5回まで安定であった。定量感度は1.6 ng/mL であった。バリデーション結果を表 2.6.4.2.6-1に示す。

表 2.6.4.2.6-1 カニクイザル血漿中の rHuPH20反応性抗体のブリッジング ELISA による定量法のバリデーション

資料番号	測定感度 (ng/mL)	日内（分析単位内）		日間（分析単位間）	
		PC 真度 (%)	PC 精度 (%)	PC 真度 (%)	PC 精度 (%)
4.2.2.1-5	1.6	非該当	5.0～8.4	非該当	10.5～12.6

精度 = 標準偏差／測定値の平均値 × 100；PC =陽性対照

[資料番号4.2.2.1-5, Method Validation Results p.6-8及び Table 1, 5を改変]

2.6.4.2.7 カニクイザル血漿における rHuPH20ヒアルロニダーゼ活性に対する中和活性力価の測定方法

（資料番号4.2.2.1-6）

2.6.4.2.4項に記載した USP 比濁法によるヒアルロニダーゼ活性測定法を基に，カニクイザル血漿中のヒアルロニダーゼに対する中和活性力価を測定した。本方法では HA と酸性化血清の結合によって生じる不溶性の沈殿がヒアルロニダーゼ活性と相関するため，ヒアルロニダーゼ活性が中和抗体で抑制されると，HA と酸性化血清の沈殿が増加し濁度が上昇する。カニクイザル血漿の希釈試料を一定量のヒアルロニダーゼとインキュベートし，抗血清／酵素複合体とともに基質（HA）と反応させた後，酸性化血清の添加により未分解の HA を沈殿させた。濁度を650 nm で測定し，力価曲線を作成した。中和力価は，力価曲線を基にヒアルロニダーゼ活性を50%阻害（IC_{50}）するのに必要な希釈率の逆数である。カニクイザル中和抗体（陽性対照）の IC_{50}力価の日内及び日間の精度は，それぞれ1.9%～4.6%及び11.4%であった。バリデーション結果を表 2.6.4.2.7-1に示す。

表 2.6.4.2.7-1 カニクイザル血漿における rHuPH20ヒアルロニダーゼ活性に対する中和活性力価の測定法バリデーション

資料番号	測定感度 (ng/mL)	日内（分析単位内）		日間（分析単位間）	
		PC 真度 (%)	PC 精度 (%)	PC 真度 (%)	PC 精度 (%)
4.2.2.1-6	非該当	非該当	1.9～4.6	非該当	11.4

精度 = 標準偏差／測定値の平均値 × 100；PC =陽性対照

[資料番号4.2.2.1-6, Results and Discussion p. 9及び Table 3, 4より作成]

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 ペルツズマブ、トラスツズマブ及び rHuPH20の併用投与

2.6.4.3.1.1 ミニブタにおけるペルツズマブ及びトラスツズマブの単回 IV 及び SC 投与後の PK 試験

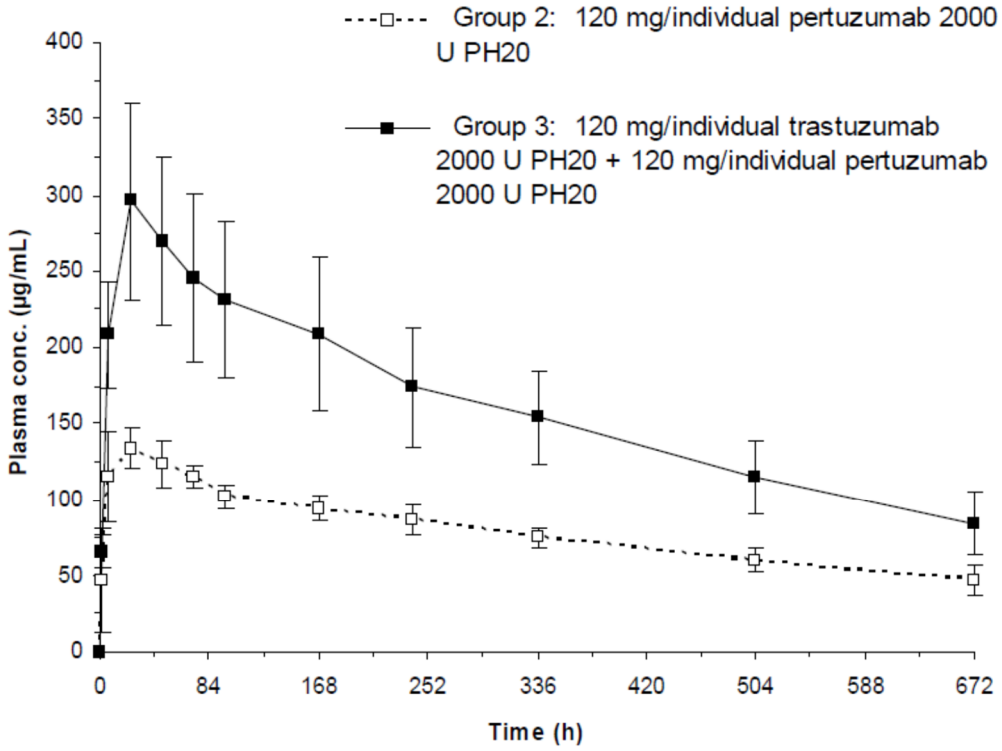
（資料番号4.2.2.2-1）

ペルツズマブ及びトラスツズマブを rHuPH20とともに Göttingen ミニブタ（各群5例）に単回投与したときの PK を評価した。本試験では10 mg/kg ペルツズマブの IV 投与群（グループ1），120 mg/動物 ペルツズマブ＋2000 U/動物 rHuPH20の SC 投与群（グループ2），120 mg/動物 ペルツズマブ＋2000 U/動物 rHuPH20，及び120 mg/動物 トラスツズマブ＋2000 U/動物 rHuPH20の SC 併用投与群（グループ3）を設けた。本試験は，ペルツヅマブを単独で rHuPH20と SC 投与したときと，トラスツズマブと伴に rHuPH20と SC 併用投与したときの F を調べる目的で実施した。ペルツズマブの血漿中濃度推移及び PK パラメータを図 2.6.4.3.1.1-1及び表 2.6.4.3.1.1-1に示す。

ペルツズマブの IV 投与後のクリアランス（CL）は0.00158 mL/min/kg であり，定常状態の分

布容積（V_{ss}）及び $t_{1/2}$は，それぞれ0.0782 L/kg 及び612時間であった。ペルツズマブ＋rHuPH20の SC 投与後のペルツズマブは比較的速く吸収され，投与後7~48時間に C_{max} を示した。平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}672h}$ は，それぞれ138 µg/mL 及び52800 µg•h/mL であった。ペルツズマブの $t_{1/2}$は524時間であり，F の平均は73.8%であった。トラスツズマブ＋rHuPH20の SC 投与は，ペルツズマブ＋rHuPH20の SC 吸収に明らかな影響は与えなかった。ペルツズマブとトラスツズマブを分けて測定していないものの（2.6.4.2.3），ペルツズマブ及びトラスツズマブ投与後の両抗体を合わせた曝露（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}672h}$）は，それぞれ296 µg/mL 及び108000 µg•h/mL であり，ペルツズマブ単独投与の2倍であった。以上のことから，ペルツズマブの皮下吸収はトラスツズマブとの併用投与によって低下しないと考えられた。

図 2.6.4.3.1.1-1 ペルツズマブ及び rHuPH20，又はペルツズマブ，トラスツズマブ及び rHuPH20を雄ミニブタに単回 SC 投与後の平均血漿中濃度 - 時間推移



グループ2: 120 mg/動物ペルツズマブ＋2000 U rHuPH20の SC 投与，グループ3: 120 mg/動物ペルツズマブ＋120 mg/動物トラスツズマブ＋2000 U rHuPH20の SC 投与，グループ3の血漿中濃度はペルツズマブ及びトラスツズマブの総濃度として測定

n=5，平均 ± SD

[資料番号4.2.2.2-1，Appendix 6 Phase report − Pharmacokinetic evaluation，Figure 2を再掲]

表 2.6.4.3.1.1-1 雄ミニブタに単回 IV 又は SC 投与後の血漿中ペルツズマブの PK パラメータ

パラメータ	投与グループ（n=5/グループ）		
	10 mg/kg ペルツズマブ (IV)	120 mg/動物 ペルツズマブ + 2000 U rHuPH20 (SC)	120 mg/動物 ペルツズマブ + 2000 U rHuPH20及び 120 mg/動物トラスツズマブ + 2000 U rHuPH20 (SC)
T_{max} (h)	0.0833 ± 0	25.4 ± 14.6	24 ± 0
C_{max} (µg/mL)	288 ± 23.7	138 ± 16.1	296 ± 64.4
$t_{1/2}$ (h)	612 ± 107	524 ± 146	396 ± 21.1
AUC_{inf} (µg•h/mL)	108000 ± 17500	90000 ± 21400	157000 ± 33800
$AUC_{0\text{-}672h}$ (µg•h/mL)	59600 ± 5350	52800 ± 4970	108000 ± 22900
CL (mL/min/kg)	0.00158 ± 0.000314	NC	NC
V_{ss} (L/kg)	0.0782 ± 0.00664	NC	NC
MRT (h)	844 ± 146	752 ± 204	570 ± 33.5
F* (%)	NC	73.8 ± 9.6	NC

T_{max} = 最高血漿中濃度到達時間；C_{max} = 最高血漿中濃度；$t_{1/2}$ =半減期；AUC_{inf} = 無限大時間まで補完された面積を含む血漿中濃度–時間曲線下面積；$AUC_{0\text{-}672h}$ = 投与後0時間から672時間までの AUC；CL =クリアランス；V_{ss} = 定常状態の分布容積 ；MRT = 平均滞留時間；F = バイオアベイラビリティ

平均 ± SD を示す。NC: 算出せず

*: すべてのミニブタの体重を10 kg として F を算出した。

[資料番号4.2.2.2-1, Appendix 6 Phase report − Pharmacokinetic evaluation, Tables 7~9を改変]

2.6.4.3.2 トラスツズマブ及び rHuPH20の併用投与

トラスツズマブの SC 投与における rHuPH20添加の吸収への影響を評価した。また，トラスツズマブはペルツズマブと同様に HER2に結合し，類似の PK 特性を有することから，これらの結果をペルツズマブの吸収特性の理解の一助とした。

2.6.4.3.2.1 マウスにおけるトラスツズマブ＋rHuPH20の単回 IV 及び SC 投与後の薬物動態試験

（資料番号4.2.2.2-2）

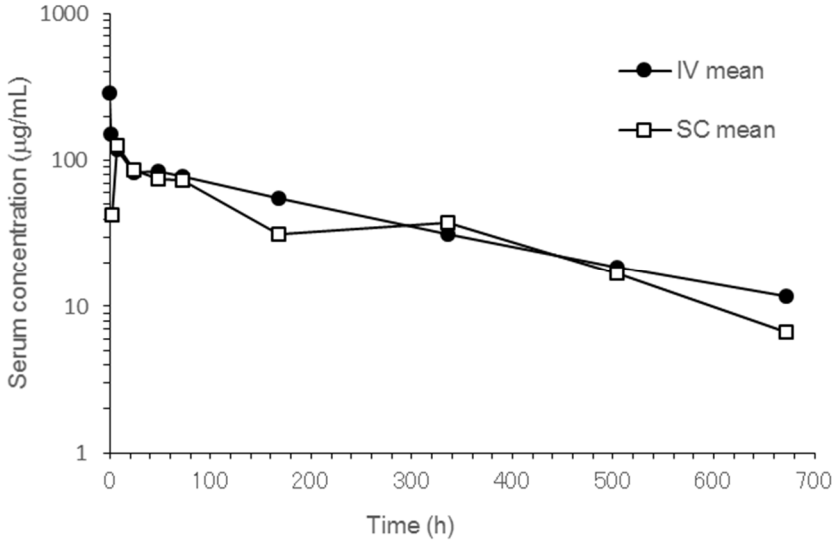
10 mg/kg トラスツズマブを雌 BALB/c nu/nu マウスに単回 IV 又は SC 投与し，トラスツズマブの PK を評価した。トラスツズマブ SC 製剤には，2 mg/mL トラスツヅマブ及び4600 U/mL rHuPH20が含まれている。血清中トラスツズマブの濃度–時間推移を図 2.6.4.3.2.1-1に示す。

IV 投与後の血清中トラスツズマブ濃度（n=2動物/時点/投与経路）は二相性の消失を示し，$t_{1/2}$は221時間（9.2日相当）であった。CL は7.82 mL/day/kg であり，V_{ss}は98.7 mL/kg であった。

SC 投与後の血清中トラスツズマブ濃度は7時間後に C_{max}（平均125 µg/mL）を示した。$t_{1/2}$は199時間（8.3日に相当）であり，IV 投与後の $t_{1/2}$と同様であった。トラスツズマブの吸収は良好で，SC 投与後の F は83.4%であった。

以上の結果より，IV 投与後のトラスツズマブの PK は IgG と同様の性質を示し，低い CL，小さい V_{ss} 及び長い $t_{1/2}$であった。rHuPH20を含む SC 投与では高い F が認められ，投与7時間以降は IV 投与と同様の濃度推移を示した。

図 2.6.4.3.2.1-1 雌ヌードマウスにおけるトラスツズマブ10 mg/kg 単回 IV 又は SC 投与後のトラスツズマブの平均血清中濃度推移



各濃度は n=2／時点／投与経路の平均値を表示。

[資料番号4.2.2.2-2, Table 1, 2の平均値より作成]

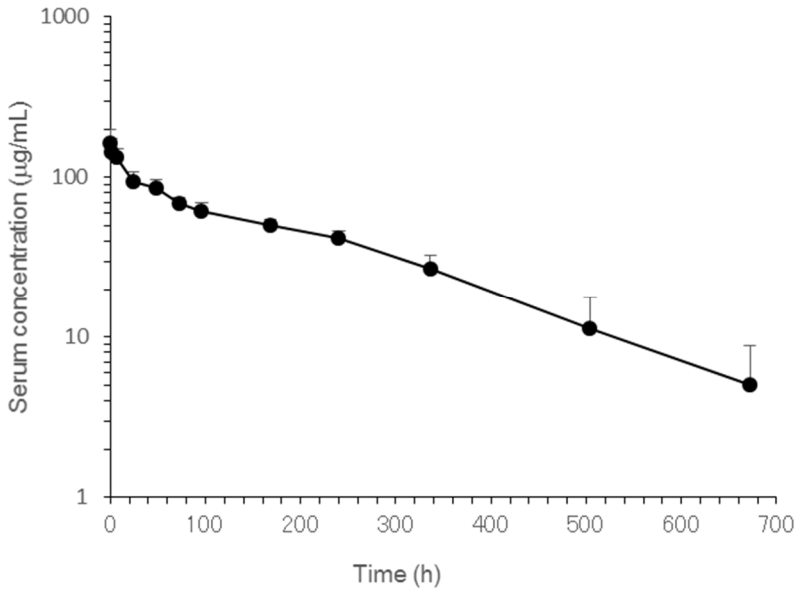
2.6.4.3.2.2 ミニブタにおけるトラスツズマブ＋rHuPH20の単回 IV 及び SC 投与後の薬物動態試験

（資料番号4.2.2.2-3, 4.2.2.2-4）

雌ミニブタ（各群5例）を用いて，複数用量の rHuPH20によるトラスツズマブの SC 吸収への影響を評価した。本試験では，9.0 mg/kg トラスツズマブ単回 IV 投与群，108 mg/動物トラスツズマブ及び0, 2000又は6000 U/動物 rHuPH20との単回 SC 併用投与群（0, 2000又は6000 U/mL rHuPH20を1 mL 投与），並びに216 mg/動物トラスツズマブ及び4000 U/動物 rHuPH20との単回 SC 併用投与群（2000 U/mL rHuPH20を2 mL 投与）を設定した。IV 投与後の平均血清中トラスツズマブ濃度–時間推移を図 2.6.4.3.2.2-1に，108 mg/動物トラスツズマブ及び0, 2000又は6000 U/動物 rHuPH20の単回 SC 投与後の平均血清中トラスツズマブ濃度–時間推移及び PK パラメータを，それぞれ図 2.6.4.3.2.2-2及び表 2.6.4.3.2.2-1に示した。

IV 投与後のトラスツズマブの血清中濃度は三相性の消失を示し，最終相の $t_{1/2}$は136 ± 45.8時間（5.7日相当）であった。CL は0.00616 ± 0.00103 mL/min/kg（8.87 mL/day/kg）であり，V_{ss} は0.0776 ± 0.0108 L/kg (平均 ± SD)であった。

図 2.6.4.3.2.2-1 雌ミニブタにおけるトラスツズマブ9.0 mg/kg 単回 IV 投与後のトラスツズマブの平均血清中濃度推移



n=5, 平均 ＋SD

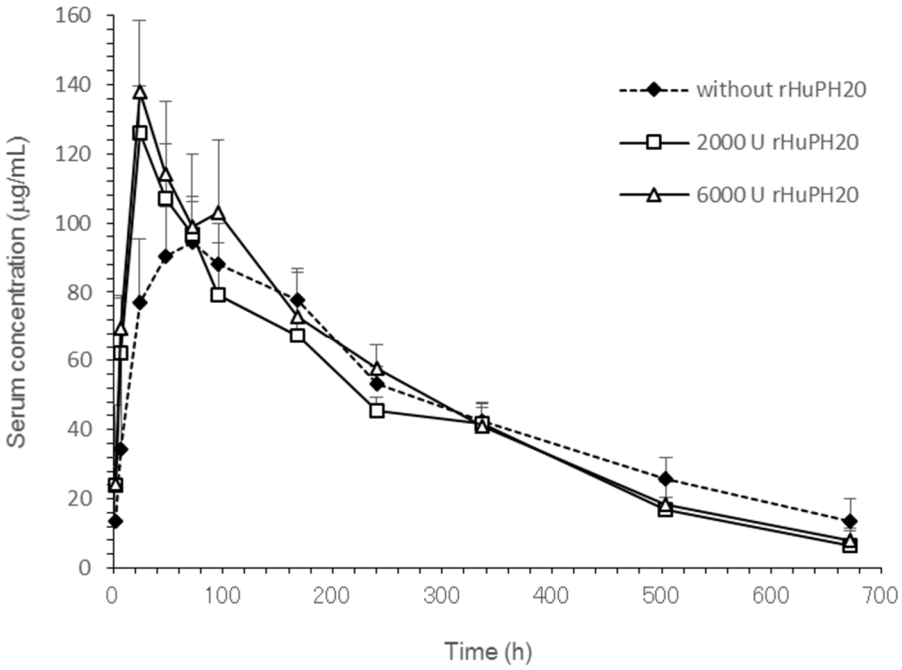
[資料番号4.2.2.2-3, Appendix 2 Pharmacokinetics, Table 1より作成]

SC 投与後のトラスツズマブの吸収は rHuPH20含有製剤でより速く，T_{max} の中央値は，rHuPH20非含有製剤の72時間に対し，すべての rHuPH20含有製剤では24時間であった（表2.6.4.3.2.2-1及び図 2.6.4.3.2.2-2）。rHuPH20含有製剤におけるトラスツズマブの C_{max} は，rHuPH20非含有製剤での C_{max} に比べて高い傾向を示した（0, 2000及び 6000 U/動物 rHuPH20：それぞれ101 ± 21.7, 126 ± 13.2及び129 ± 6.78 µg/mL（平均 ± SD））。108 mg/動物トラスツズマブ投与群及び各用量の rHuPH20との併用 SC 投与のノンコンパートメント PK 解析による F は，rHuPH20の用量に関わらず同様であった（0, 2000及び 6000 U/動物 rHuPH20：それぞれ90.2 ± 23.1%, 81.8 ± 10.2%及び87.2 ± 10.8%（平均 ± SD））。108 mg/動物トラスツズマブの SC 投与に対して，2倍量の216 mg/動物を SC 投与したときの曝露はほぼ2倍であった。

また，コンパートメント PK 解析の結果、rHuPH20含有製剤の吸収速度定数（k_a）は rHuPH20非含有製剤に比べて約2倍大きく，0, 2000及び6000 U/動物 rHuPH20群ではそれぞれ0.0345, 0.0691及び0.0714 h^{-1}であった。

以上の結果より，rHuPH20非含有製剤と比較して rHuPH20含有製剤ではトラスツズマブの皮下吸収が約2倍速く，rHuPH20の吸収促進作用が期待された。

図 2.6.4.3.2.2-2 雌ミニブタにおけるトラスツズマブ108 mg/動物及び各用量の rHuPH20含有製剤単回 SC 投与後のトラスツズマブの平均血清中濃度推移



n=5／グループ，平均 ＋SD

[資料番号4.2.2.2-3, Appendix 2 Pharmacokinetics, Table 2~4より作成]

表 2.6.4.3.2.2-1 雌ミニブタにおけるトラスツズマブ及び各用量の rHuPH20との単回併用 SC 投与後のトラスツズマブのノンコンパートメント PK パラメータ

パラメータ	投与レジメン（n=5動物／投与グループ）			
	108 mg/動物トラスツズマブ 0U rHuPH20	108 mg/動物トラスツズマブ 2000U rHuPH20	108 mg/動物トラスツズマブ 6000U rHuPH20	216 mg/動物トラスツズマブ 4000U rHuPH20
C_{max} (µg/mL)	101 ± 21.7	126 ± 13.2	129 ± 6.78	266 ± 47.5
T_{max} [a] (h)	72	24	24	24
$AUC_{0\text{-}672h}$ (µg• h/mL)	31900 ± 9600	29600 ± 3360	31300 ± 3530	73600 ± 15200
CL/F (mL/min/kg)	0.0564 ± 0.0273	0.0584 ± 0.00846	0.0546 ± 0.00763	0.0428 ± 0.00869
F (%)	90.2 ± 23.1	81.8 ± 10.2	87.2 ± 10.8	NC

C_{max} = 最高血清中濃度；T_{max} = 最高血清中濃度到達時間；$AUC_{0\text{-}672h}$ = 投与後0時間から672時間までの血清中濃度–時間曲線下面積； CL/F = 見かけのクリアランス；F = バイオアベイラビリティ；NC = 算出せず

脚注 [a] を除き，平均 ±SD を示す。

[a] 中央値

[資料番号4.2.2.2-3, Appendix 2 Pharmacokinetics, Table 7~10, 12~16より作成]

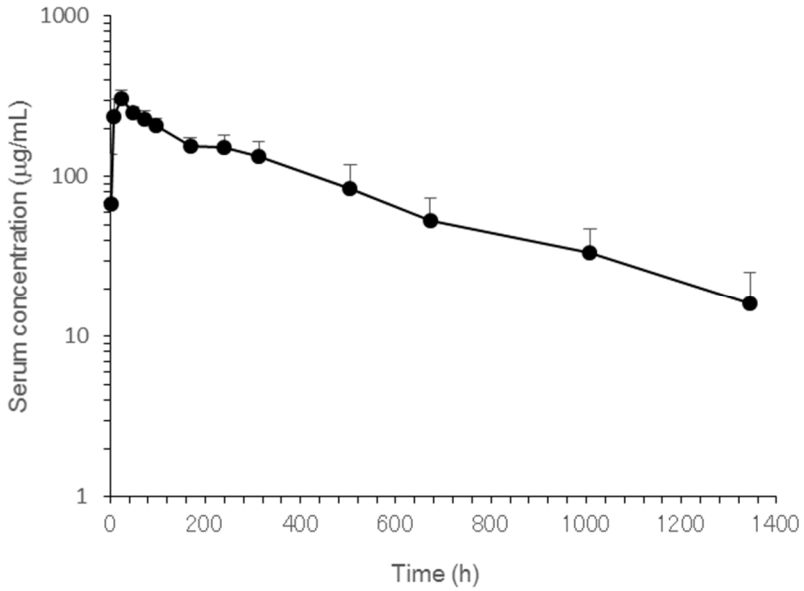
2.6.4.3.2.3 カニクイザルにおけるトラスツズマブ＋rHuPH20の単回 SC 投与後の薬物動態試験

（資料番号4.2.2.2-5）

雄カニクイザル3例に25 mg/kg トラスツズマブを単回 SC 投与（6000 U/mL rHuPH20を含む）したときのトラスツズマブの PK を評価した。雄カニクイザルにおけるトラスツズマブ SC 投与後のトラスツズマブの濃度–時間推移を図 2.6.4.3.2.3-1に示す。

血清中トラスツズマブ濃度は投与後24時間で T_{max} となり，C_{max} は307 ± 39.3 µg/mL（平均 ± SD）であった。$t_{1/2}$は295 ± 66.2時間（12.3日相当）であった。SC 投与後の見かけのクリアランス（CL/F）は 0.00377 ± 0.0009 mL/min/kg（5.43 mL/day/kg に相当）であり，カニクイザルにおけるトラスツヅマブ IV 投与後の線形 PK の用量における文献値（5.52 mL/day/kg）[2)] と同様であった。以上の結果から，カニクイザルにおけるトラスツズマブの rHuPH20含有 SC 製剤は高い曝露を示すことが確認された。

図 2.6.4.3.2.3-1 雄カニクイザルにおけるトラスツズマブ25 mg/kg 及び rHuPH20の単回 SC 投与後のトラスツズマブの平均血清中濃度推移



n=3，平均 + SD

[資料番号4.2.2.2-5, Table 2より作成]

2.6.4.3.2.4 カニクイザルにおけるトラスツズマブ＋rHuPH20の反復 SC 投与後の薬物動態試験

（資料番号4.2.3.2-1）

トラスツズマブの反復 SC 投与時の PK は，反復投与毒性試験（2.6.6.3.1）での TK データを用いて評価した（表2.6.5.4-1）。カニクイザル（雌雄各5例）に，30 mg/kg トラスツズマブ及び3000 U/kg rHuPH20（12000 U/mL rHuPH20を0.25 mL 投与）を週1回13週間 SC 投与した。トラスツズマブの雌雄合わせた平均血清中 C_{max} は，初回投与後の407 µg/mL から12回投与後の1160 µg/mL に増加し，$AUC_{0\text{-}168h}$ 値は47400から166000 µg•h/mL に増加した。初回投与に対する C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}168h}$ の蓄積係数は，2.2～3.6であった。曝露に雌雄差は認められなかった。

抗トラスツズマブ抗体を17週間までの回復期間の動物（雌雄各2例）を用いて測定したところ，1例において回復期間中の3試料で検出された。rHuPH20の血漿中濃度は非常に低かったが，抗 rHuPH20中和抗体が20例中7例に認められた。

2.6.4.3.3 rHuPH20単独投与

2.6.4.3.3.1 CD-1マウスにおける rHuPH20の単回 IV 投与後の薬物動態試験

（資料番号4.2.2.2-6）

雄 CD-1マウス（6例／時点）に，0.433 mg/kg rHuPH20を低速 IV 投与（約30秒）したときの

rHuPH20の PK を評価した。個別のデータから構成した濃度–時間データを用いて，ノンコンパートメント解析した PK パラメータを表 2.6.4.3.3.1-1に示す。

平均血漿中濃度は IV 投与後急速に減少し，投与後30分までに定量下限未満（0.625 U/mL）となった。血漿中の $t_{1/2}$は，0.038時間（2.3分）と算出された。本試験結果より、rHuPH20は IV 投与後マウスの全身循環から急速に消失することが示された。

表 2.6.4.3.3.1-1 CD-1マウスにおける rHuPH20の IV 投与後の平均 PK パラメータ

被験物質	$t_{1/2}$ (h)	$C_{initial}$ (U/mL (ng/mL)*)	AUC_{inf} (U•h/mL (ng•h/mL)*)	CL (mL/h/kg)	MRT (h)	V_{ss} (mL/kg)
rHuPH20	0.038	119 (1176)	8.0 (79.6)	5440	0.030	160

$t_{1/2}$ =半減期；$C_{initial}$ = 最高濃度測定値；AUC_{inf} = 無限大時間まで補完された面積を含む血漿中濃度–時間曲線下面積；CL =クリアランス；MRT = 平均滞留時間；V_{ss} = 定常状態の分布容積

rHuPH20（Lot No. [redacted]）の比活性は100970 U/mg,

*:資料番号4.2.2.2-6では ng/mL 及び ng•h/mL で記載されており，比活性より U/mL を算出した。

[資料番号4.2.2.2-6, Pharmacokinetic Report, Table 4を改変]

2.6.4.3.3.2 雌カニクイザルにおける rHuPH20の単回 IV 又は SC 投与後の薬物動態試験

（資料番号4.2.2.2-7）

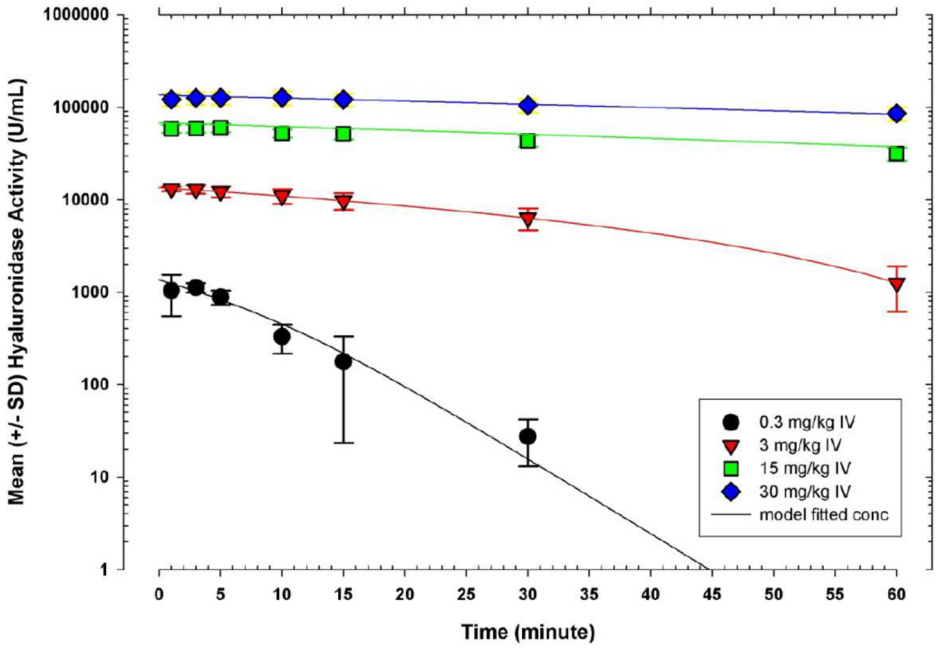
雌カニクイザルに rHuPH20を SC 投与（1, 3, 10, 及び30 mg/kg，各群3例）又は IV 投与（0.3, 3, 15, 及び30 mg/kg，各群3例）したときの rHuPH20の PK を評価した。IV 投与では投与後1, 2.5, 5, 10, 15, 30及び60分に，SC 投与では投与後15, 30分, 1, 4, 8, 24及び48時間に経時的に血漿を採取した。IV 及び SC 投与後の平均血漿中ヒアルロニダーゼ活性–時間推移を，それぞれ図 2.6.4.3.3.2-1及び図 2.6.4.3.3.2-2に示す。IV 及び SC 投与後のノンコンパートメントモデルによる PK パラメータをそれぞれ表 2.6.4.3.3.2-1及び表 2.6.4.3.3.2-3に，IV 投与後のコンパートメントモデルによる PK パラメータを表 2.6.4.3.3.2-2に示す。

IV 投与したときの C_{max} は用量に比例して増加したが，AUC は用量比以上に増加し非線形性を示した。全身クリアランスは線形及び非線形クリアランスが並行する1-コンパートメントモデルに従い，低用量の0.3 mg/kg では消失が速く，血漿中濃度がミカエリスメンテン定数（K_m, 1117.75 U/mL）よりも低い領域であった。一方，3 mg/kg では消失が遅く，K_m に近い血漿中濃度では消失が速まるものの，高用量の15及び30 mg/kg では K_m よりも明らかに高い濃度で消失は非常に遅かった。高濃度ではクリアランスが飽和するため血漿中の rHuPH20の消失が非常に遅く，非線形性を示すと考えられた。そのため，3～30 mg/kg における $t_{1/2}$は評価できなかった。0.3 mg/kg 群の $t_{1/2}$は非常に短く約5分であった。

SC 投与群の C_{max} は，同用量の IV 投与群の C_{max} と比べて1/100未満であった。SC 低用量群の 1 mg/kg ではほとんどの濃度が定量下限未満であった。3～30 mg/kg 群の曝露量（C_{max} 及び AUC_{inf}）は，ほぼ用量に比例した増加がみられた。1, 3及び10 mg/kg SC 投与の血漿中濃度は，いずれも飽和を示す濃度（IV 投与の K_m）よりも低く，消失は線形であった。一方，30 mg/kg の C_{max} は K_m に近い濃度であり，非線形性の寄与が考えられた。SC 投与後の $t_{1/2}$は IV 投与と比べて10.3～15.7時間と長かったが，これは SC 投与後の吸収律速によるものと考えられる。IV 及び SC のコンパートメントモデルによる AUC から算出した SC 投与時の F は，1.5%～4.0%と低かった。

以上より，雌カニクイザルに rHuPH20を IV 投与後の全身循環からの速い消失，及び SC 投与後の低い全身曝露が示された。

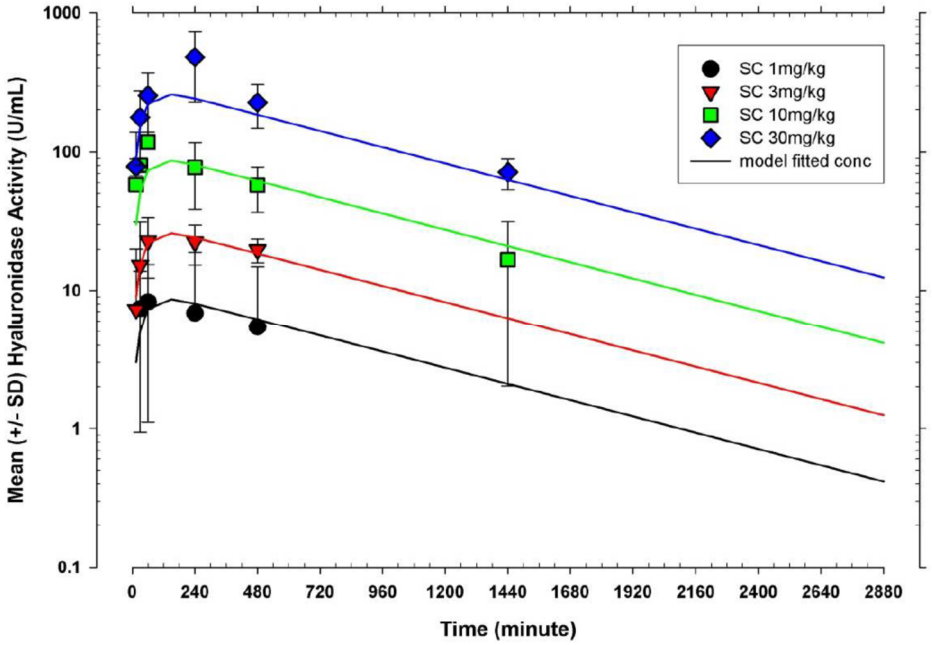
図 2.6.4.3.3.2-1 雌カニクイザルに rHuPH20を IV 投与後の平均血漿中ヒアルロニダーゼ活性–時間推移



n=3, 平均 ± SD

[資料番号4.2.2.2-7, Appendix 6 Pharmacokinetics Analysis Report, Figure 1を再掲]

図 2.6.4.3.3.2-2 雌カニクイザルに rHuPH20を SC 投与後の平均血漿中ヒアルロニダーゼ活性-時間推移



n=3, 平均 ± SD

[資料番号4.2.2.2-7, Appendix 6 Pharmacokinetics Analysis Report, Figure 4を再掲]

表 2.6.4.3.3.2-1 雌カニクイザルにおける rHuPH20の IV 投与後のノンコンパートメント解析による PK パラメータ

PK パラメータ [a]	rHuPH20用量（mg/kg）			
	0.3	3	15	30
C_{max} (U/mL)	1243 ± 180	13393 ± 1160	60700 ± 6300	129750 ± 22551
$AUC_{0\text{-}1h}$ (U•h/mL)	174 ± 47.4	6724 ± 1249	43997 ± 5722	106167 ± 17493
AUC_{inf} (U•h/mL)	178 ± 49.5	7201 ± 1139	NR	NR
CL (mL/h/kg)	207.7 ± 65.6	49.1 ± 7.26	NR	NR
V_{ss} (mL/kg)	23.4 ± 2.4	19.4 ± 5.55	NR	NR
MRT (h)	0.12 ± 0.03	0.40 ± 0.09	NR	NR

[a] C_{max} = 最高血漿中濃度；$AUC_{0\text{-}1h}$ = 投与後0時間から1時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積；AUC_{inf} =無限大時間まで補完された面積を含む血漿中濃度–時間曲線下面積；CL = クリアランス；V_{ss} = 定常状態の分布容積；MRT = 平均滞留時間；NR = 報告なし（非線形のため評価に使用せず）

n=3/グループ

データは平均 ± SD を表す。

[資料番号4.2.2.2-7, Appendix 6 Pharmacokinetics Analysis Report, Table 4を改変]

表 2.6.4.3.3.2-2 雌カニクイザルにおける rHuPH20 IV 投与後の平均濃度－時間データを用いたコンパートメント解析による PK パラメータ

PK モデルパラメータ

CL_2	(mL/h/kg)	9.29
V_{max}	(h^{-1})	2.68
K_m	(U/mL)	1117.75
	(μg/mL)	9.64
V	(mL/kg)	25.68

2次的 PK パラメータ

	0.3 mg/kg	3 mg/kg	15 mg/kg	30 mg/kg
k_{el} (h^{-1})	5.26	1.19	0.54	0.45
CL_{total} (mL/h/kg)	135.07	30.50	13.81	11.57
AUC_{inf} (U•h/mL)	258	11412	125999	300787

CL_2 = 線形消失経路のクリアランス

V_{max} = 最高速度定数

K_m = ミカエリスメンテン定数

V = 分布容積

k_{el} = 消失速度定数

CL_{total} = 全身クリアランス = 非線形 CL + 線形 CL

AUC_{inf} = 無限大時間まで補完された面積を含む血漿中濃度–時間曲線下面積（報告書の単位 μg•h/mL を U•h/mL に変換）

rHuPH20の比活性を116000 U/mg として計算

[資料番号4.2.2.2-7, Appendix 6 Pharmacokinetics Analysis Report, Table 3を改変]

表 2.6.4.3.3.2-3 雌カニクイザルにおける rHuPH20 SC 投与後のノンコンパートメント解析による PK パラメータ

PK パラメータ [a, b]	rHuPH20用量（mg/kg）			
	1	3	10	30
C_{max} (U/mL)	11.0 ± 10.4	26.4 ± 5.8	140.5 ± 118.7	480.2 ± 252.9
T_{max} (h)	2.5 ± 2.1	3.3 ± 4.0	4.3 ± 3.5	4.0 ± 0.0
AUC_{inf} (U•h/mL)	NC	561.6 ± 139.9	1585 ± 276	6102 ± 1981
CL/F (mL/h/kg)	NC	639.5 ± 159.3	748.8 ± 145.0	615.1 ± 210.4
MRT (h)	NC	22.9 ± 16.0	17.7 ± 16.0	13.9 ± 4.27

[a] C_{max} = 最高血漿中濃度；T_{max} = 最高血漿中濃度到達時間；AUC_{inf} =無限大時間まで補完された面積を含む血漿中濃度–時間曲線下面積；CL/F = 見かけのクリアランス；MRT = 平均滞留時間；NC = 算出せず

[b] rHuPH20（[redacted]）の比活性は116000 U/mg

データは平均 ± SD を表す。

[資料番号4.2.2.2-7, Appendix 6 Pharmacokinetics Analysis Report, Table 7を改変]

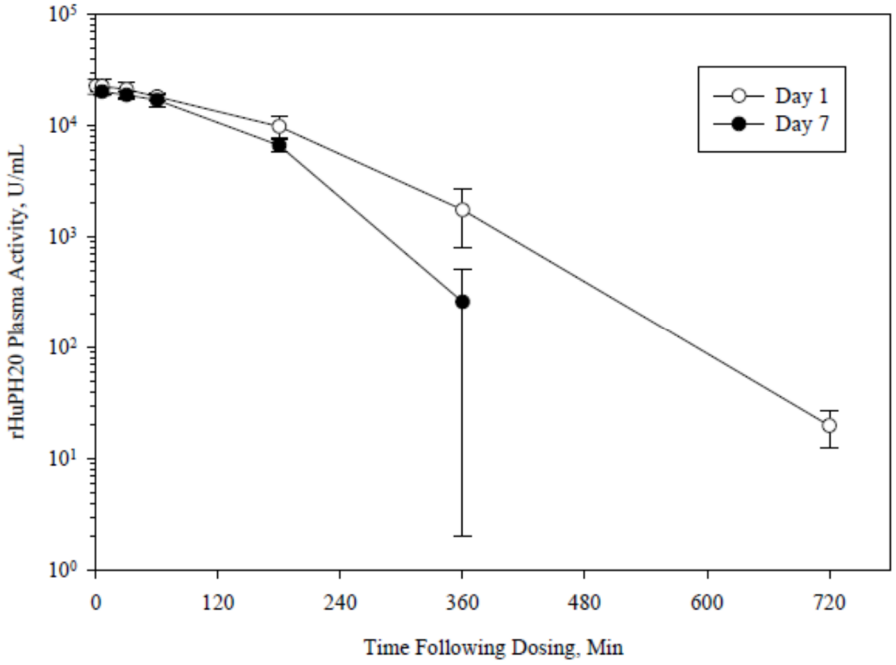
2.6.4.3.3.3 カニクイザルにおける rHuPH20の7日間反復 IV 及び SC 投与後のトキシコキネティクス

（資料番号4.2.3.2-2）

雌雄カニクイザル（各群雌雄各2例）に，5 mg/kg（580,000 U/kg に相当）rHuPH20を1日1回7日間反復 IV 又は SC 投与したときの rHuPH20の PK を評価した。IV 及び SC 投与後の平均血漿中活性–時間推移を，それぞれ図 2.6.4.3.3.3-1及び図 2.6.4.3.3.3-2に示す。ノンコンパートメントモデルによる雌雄を合わせた TK パラメータの平均を表 2.6.4.3.3.3-1に示す。

5 mg/kg rHuPH20を1日1回7日間反復 SC 投与したときの投与後0時間から測定された最終時点までの AUC（$AUC_{0\text{-}last}$）は IV 投与に比べて約5.5%と著しく低かった（表 2.6.4.3.3.3-1）。IV 投与後の V_{ss} は17.0 mL/kg であった。SC 投与後の T_{max} の中央値は1時間であった（表 2.6.4.3.3.3-1）。これらの結果より，5 mg/kg rHuPH20を1日1回7日間反復 SC 投与したときの rHuPH20の全身曝露は低いことが示された。

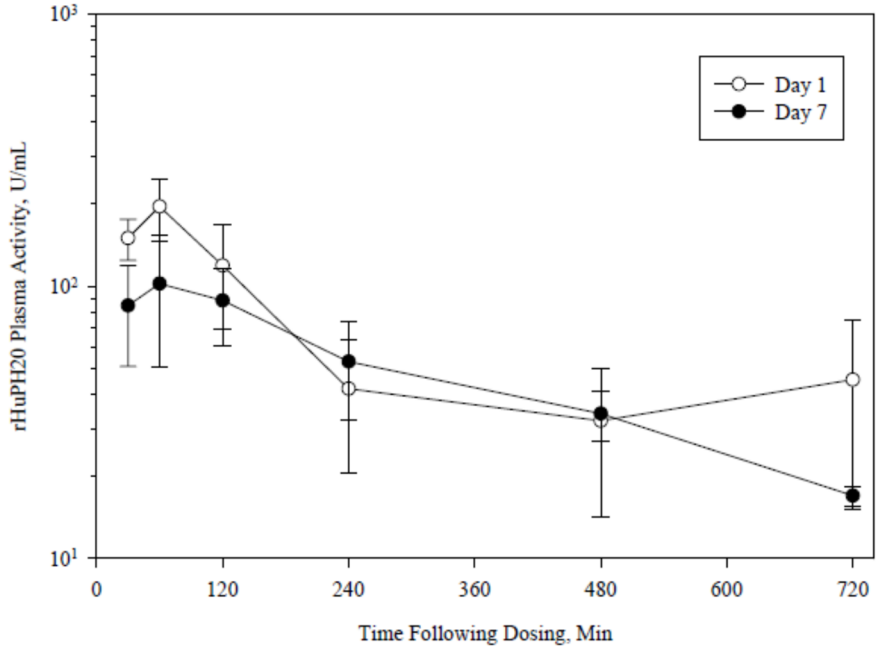
図 2.6.4.3.3.3-1　カニクイザルにおける rHuPH20 5 mg/kg の7日間 IV 投与後の血漿中ヒアルロニダーゼ活性–時間推移



n=4，平均 ± SD

[資料番号4.2.3.2-2, Appendix 6 Toxicokinetics Report, Figure 1を再掲]

図 2.6.4.3.3.3-2　カニクイザルにおける rHuPH20 5 mg/kg の7日間 SC 投与後の血漿中ヒアルロニダーゼ活性-時間推移



n=4，平均 ± SD

[資料番号4.2.3.2-2, Appendix 6 Toxicokinetics Report, Figure 2を再掲]

表 2.6.4.3.3.3-1 カニクイザルにおける rHuPH20 7日間 IV 又は SC 投与時の TK パラメータ

TK パラメータ [a, b]	用量（mg/kg）／経路			
	5/IV		5/SC	
	Day 1	Day 7	Day 1	Day 7
$AUC_{0\text{-}last}$ (U•h/mL)	11800 ± 2470	8730 ± 820	642 ± 150	502 ± 165
AUC_{inf} (U•h/mL)	11900 ± 2350	8800 ± 885	NC	NC
C_{max} (U/mL)	NC	NC	200 ± 45.4	115 ± 46.1
T_{max} (h)[c]	NC	NC	1.0 (0.5–1.02)	1.0 (0.5–3.98)
V_{ss} (mL/kg)	17.0 ± 1.75	16.7 ± 0.996	NC	NC

[a] IV = 静脈内；SC = 皮下；$AUC_{0\text{-}last}$ = 投与後0時間から測定された最終時点までの血漿中濃度–時間曲線下面積；AUC_{inf} =無限大時間まで補完された面積を含む血漿中濃度–時間曲線下面積；U = ヒアルロニダーゼ活性ユニット；C_{max} = 最高血漿中濃度；T_{max} = 最高血漿中濃度到達時間；NC = 算出せず；V_{ss} = 定常状態の分布容積

AUC は報告書に記載の単位 U•min/mL を、U•h/mL に変換して表記した。

[b] 本試験で使用した rHuPH20（[redacted]）の比活性は116000 U/mg であった。

[c] T_{max} は中央値及び（ ）内に範囲を示す。報告書の min 表示を h に変換した。

[資料番号4.2.3.2-2, Appendix 6 Toxicokinetics Report, Tables 1~4を改変]

2.6.4.3.3.4 カニクイザルにおける rHuPH20の39週間反復 SC 投与毒性試験のトキシコキネティクス

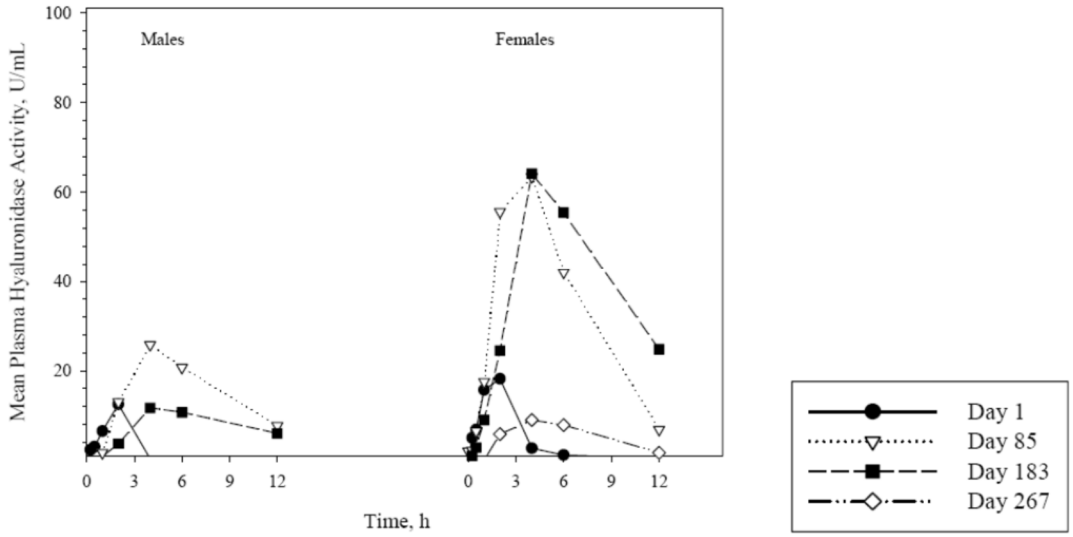
（資料番号4.2.3.2-3）

雌雄カニクイザル（各群雌雄各6例）に rHuPH20を週1回39週間反復 SC 投与（0.02, 0.2又は2.0 mg/kg）したときの rHuPH20の PK を評価した。血漿中ヒアルロニダーゼの時間推移を図 2.6.4.3.3.4-1に，TK パラメータを表 2.6.4.3.3.4-1に示す。

血漿中ヒアルロニダーゼ活性の測定値は，投与前に採取した血漿中の内因性ヒアルロニダーゼ活性値（約10～25 U/mL）を各動物の全時点の試料から差し引いて補正した。補正後の0, 0.02及び0.2 mg/kg 投与群では，血漿中ヒアルロニダーゼ活性は検出されなかった。2.0 mg/kg 投与群の血漿ヒアルロニダーゼ活性は，Day 1から Day 85に増加し，Day 183から Day 267には減少した（表 2.6.4.3.3.4-1）。C_{max} の最高値は雌雄ともに Day 85に認められたが，雄の Day 267には定量下限未満となり，雌では Day 1より低い値が測定された。$AUC_{0\text{-}last}$ の最高値は雄では Day 85に，雌では Day 183に認められた。雄よりも雌で高い曝露が認められたものの，例数が少ないため明確な雌雄差によるものかは不明である。2.0 mg/kg 投与群における反復投与による曝露の低下は，血漿中のヒアルロニダーゼ中和活性によるものと考えられた（2.6.6.3.3項参照）。

これらの結果から，2.0 mg/kg の高用量においても rHuPH20の週1回反復 SC 投与における全身曝露は限定的で低いことが示された。

図 2.6.4.3.3.4-1 カニクイザルにおける rHuPH20 2.0 mg/kg の39週間週1回 SC 投与時の血漿中ヒアルロニダーゼ活性－時間推移



図の値は内因性ヒアルロニダーゼ活性を差し引いて補正した値である。

[資料番号4.2.3.2-3, Appendix 8 Toxicokinetics Report, Figure 1を再掲]

表 2.6.4.3.3.4-1 カニクイザルにおける rHuPH20 2.0 mg/kg の39週間週1回 SC 投与時の血漿中ヒアルロニダーゼ活性の TK パラメータ

TK パラメータ [a]	雄				雌			
	Day 1	Day 85	Day 183	Day 267	Day 1	Day 85	Day 183	Day 267
$AUC_{0\text{-last}}$ (U•h/mL)	20.5	177	89.6	NC	47.8	395	467	56.2
C_{max} (U/mL)	12.5	28.8	12.0	NC	20.8	64.7	64.2	10.0
中央値 T_{max} (h)	2.0	6.0	4.0	NC	2.0	4.0	4.0	4.0

[a] $AUC_{0\text{-last}}$ =投与後0時間から測定された最終時点までの血漿中濃度–時間曲線下面積；U = ヒアルロニダーゼ活性ユニット；C_{max} = 最高血漿中濃度；T_{max} = 最高血漿中濃度到達時間；NC = 算出せず

[資料番号4.2.3.2-3, Appendix 8 Toxicokinetics Report, Table 8を再掲]

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 マウスにおける rHuPH20の皮内投与後の皮膚，リンパ及び血漿への分布試験

（資料番号4.2.2.3-1）

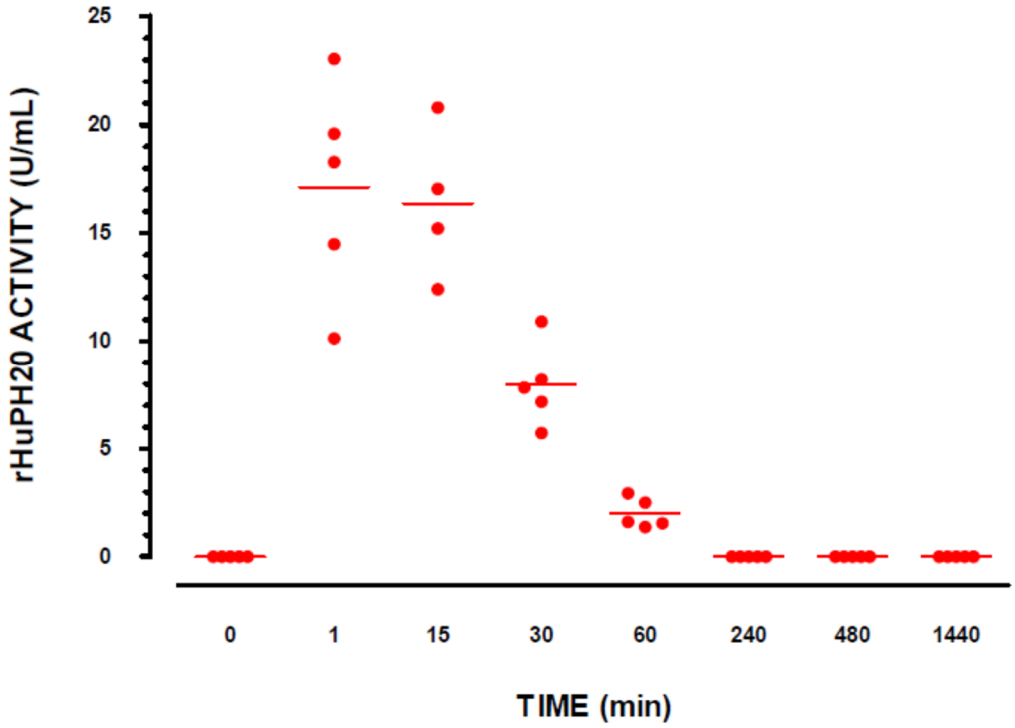
雌 NCr-nu/nu マウスの左側腹部に，16,700 ng/mL (2000 U/mL) rHuPH20溶液を40 µL 皮内（ID）投与したときの組織／マトリックス（皮膚，リンパ，血漿）への rHuPH20の局所的な分布を評価した。げっ歯類の ID 空間は，溶液の容積圧に関してヒトの SC 空間に似ており，ヒトの皮下におけるヒアルロニダーゼの作用を評価する適切な投与経路として ID を選択した（2.6.2.2.3）。ID 投与後，経時的に採血後，十分な厚さの皮膚投与部位（筋肉までを含むパンチバイオプシー）及び流入領域リンパ節を採取し，血漿又は組織ホモジネートのヒアルロニダーゼ活性を測定した。皮膚投与部位におけるヒアルロニダーゼ活性を図 2.6.4.4.1-1に示す。

ヒアルロニダーゼ活性は投与後60分まで皮膚に検出され，その後定量下限未満（約0.7 U/mL 皮膚パンチバイオプシー1個を含む組織溶解バッファー）に低下した。投与後1及び15分に皮膚のヒアルロニダーゼ活性は最高値を示し，その後低下した。ヒアルロニダーゼ活性の皮膚における $t_{1/2}$は，13~20分であった。流入領域リンパ節のヒアルロニダーゼ活性は非常に低く，ばらつきが大きく一定の傾向は認められなかった。血漿中のヒアルロニダーゼ活性はほとんどの試

料（39/40試料）で定量下限未満（<0.62 U/mL 希釈後のマトリックス中）であった。

本試験の結果から，投与部位における rHuPH20活性は，一時的かつ局所的であることが示された。

図 2.6.4.4.1-1 マウスに ID 投与後の皮膚投与部位におけるヒアルロニダーゼ活性



n=5／時点
各点は個別動物を示す。
－ ：平均を示す。
定量下限（約0.7 U/mL，皮膚パンチバイオプシー1個を含む組織溶解バッファー）より低い値はゼロとして示す。

[資料番号4.2.2.3-1，Figure 2を再掲]

2.6.4.5 代謝（動物種間の比較）

PH FDC SC の代謝/異化に関する試験は実施していない。また，rHuPH20の代謝に関する試験は実施していない。バイオ医薬品であるモノクローナル抗体の代謝は，通常，分子量の小さいペプチド及びアミノ酸への分解であり，その代謝経路は一般的によく分かっているとされている（ICH S6 (R1)ガイダンス）。

2.6.4.6 排泄

PH FDC SC の排泄に関する試験は実施していない。また，rHuPH20の排泄に関する試験は実施していない。一般的に，IgG は尿又は胆汁中にほとんど排泄されず，主にリソソームによる分解で生じた小ペプチド及びアミノ酸は尿に排泄されるか，内因性アミノ酸プールに入る[3)，4)]。ペルツズマブ及びトラスツズマブの体内からの排泄は，内因性 IgG や他の IgG モノクローナル抗体薬と同様であると考えられる。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

PH FDC SC の薬物動態学的薬物相互作用に関する試験は実施していない。また，rHuPH20の

薬物動態学的薬物相互作用に関する試験は実施していない。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

PH FDC SC 及び rHuPH20について，その他の薬物動態試験は実施していない。

2.6.4.9 考察及び結論

PH FDC SC の PK を評価する目的で，ミニブタを用いてペルツズマブ＋トラスツズマブ（rHuPH20を含む）の単回 SC 併用投与後の非臨床 PK 評価を実施した。また，マウス，カニクイザル及びミニブタを用いて，トラスツズマブ（rHuPH20を含む）を単回 SC 投与したときのトラスツズマブの吸収に対する rHuPH20の影響を評価した。更に，マウス及びカニクイザルに rHuPH20を単独で SC，IV，又は ID 投与したときの rHuPH20の PK を評価した。

ミニブタに，120 mg/動物ペルツズマブ＋2000 U/動物 rHuPH20の単回 SC 投与後，又は120 mg/動物ペルツズマブ＋120 mg/動物トラスツズマブ+2000 U/動物 rHuPH20の単回 SC 投与後のペルツズマブの吸収は比較的速かった。ペルツズマブ及び rHuPH20の SC 投与では投与後7~48時間に C_{max} を示し，C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}672h}$ はそれぞれ138 µg/mL 及び52800 µg•h/mL であった。ペルツズマブの血漿中 $t_{1/2}$は524時間で IV 投与時の値と同様であった。SC 投与での F の平均は73.8%であった。本試験では血漿中のペルツズマブ及びトラスツズマブを分けて測定していないものの，ペルツズマブ＋トラスツズマブ投与後の両抗体を合わせた曝露（C_{max} 及び AUC）はペルツズマブ単独投与の約2倍であったことから，ペルツズマブの SC 吸収がトラスツズマブとの併用によって低下しないことが確認された。

10 mg/kg トラスツズマブ（4600 U/mL rHuPH20を含む）を雌 BALB/c nu/nu マウスに単回 IV 又は SC 投与したとき，IV 投与後の血清中トラスツズマブ濃度は二相性の消失を示し，$t_{1/2}$は221時間（9.2日相当）であった。CL は7.82 mL/day/kg であり，V_{ss} は98.7 mL/kg であった。SC 投与後の C_{max}（平均125 µg/mL）は7時間後に認められた。トラスツズマブの吸収は良好であり，F は83.4%であった。$t_{1/2}$は199時間（8.3日に相当）であり，IV 投与後の $t_{1/2}$と同様であった。

雌ミニブタを用いて，複数用量の rHuPH20によるトラスツズマブの SC 吸収への影響を評価した。SC 投与後のトラスツズマブの吸収は rHuPH20含有製剤でより速く，T_{max} の中央値は rHuPH20非含有製剤の72時間に比べて，すべての rHuPH20含有製剤で24時間に短縮した。rHuPH20含有製剤の血清中トラスツズマブ濃度の平均 C_{max} は，rHuPH20非含有製剤での C_{max} に比べて高かったが，F は rHuPH20の用量に関わらず同様であった。また，コンパートメント PK 解析により，rHuPH20含有製剤の k_a は rHuPH20非含有製剤に比べて約2倍大きいことが示された。108 mg トラスツズマブの SC 投与に対して，2倍量の216 mg を SC 投与したときの曝露はほぼ2倍であった。これらの結果より，rHuPH20非含有製剤と比較して rHuPH20含有製剤ではトラスツズマブの皮下吸収が約2倍速く，rHuPH20が皮下組織におけるトラスツズマブの分散及び吸収を促進することが確認された。この吸収促進作用は，試験したいずれの rHuPH20の用量でも同様であった。

雄カニクイザルに25 mg/kg トラスツズマブ（6000 U/mL rHuPH20を含む）を，単回 SC 投与したときのトラスツズマブの PK を評価した。投与後24時間までのトラスツズマブの C_{max} は307 ± 39.3 µg/mL（平均 ± SD）であり，$t_{1/2}$は295 ± 66.2時間（12.3日相当）であった。SC 投与後の見かけのクリアランス（CL/F, 0.00377 ± 0.0009 mL/min/kg 又は5.43 mL/day/kg）は，カニクイザルにおける IV 投与後の線形 PK の用量における文献値（5.52 mL/day/kg）[2] と同様であった。以上の結果から，カニクイザルにおけるトラスツズマブの rHuPH20含有 SC 製剤は高い曝露を示すことが確認された。

カニクイザルに，30 mg/kg トラスツズマブ（12000 U/mL rHuPH20を含む）を週1回13週間 SC 投与した TK 試験において，トラスツズマブの平均 C_{max} 及び平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ 値は反復 SC 投与で増加し，初回投与に対する蓄積係数は2.2～3.6であった。トラスツズマブの曝露に雌雄差は認められなかった。

rHuPH20単独の PK 評価では，マウスに0.433 mg/kg 又はカニクイザルに0.3 mg/kg を単回 IV 投与したとき，いずれの動物種においても全身循環からの速やかな消失が認められた。また，rHuPH20を単独でカニクイザルに単回又は反復 SC 投与したとき，rHuPH20の全身曝露は著しく低く単回 SC 投与時の F は1.5%～4.0%と低かった。

雌の NCr-nu/nu マウスに2000 U/mL rHuPH20溶液を40 µL ID 投与し，組織／マトリックス（皮膚，リンパ，血漿）への rHuPH20の局所的な分布を評価した。ヒアルロニダーゼ活性は投与後60分まで皮膚に検出されたが，その後定量下限未満に低下し，ヒアルロニダーゼ活性の皮膚における $t_{1/2}$は13~20分であった。流入領域リンパ節のヒアルロニダーゼ活性は非常に低く，ばらつきが大きく一定の傾向は認められなかった。これらのことから，マウスに rHuPH20を ID 投与後のヒアルロニダーゼ活性は，一時的に投与部位に残存するものの全身にはほとんど分布しないことが確認された。

以上の結果より，rHuPH20を含むペルツズマブ及びトラスツズマブの SC 併用投与は，臨床において許容可能な PK 及び ADME プロファイルを有することが推定され，PH FDC SC 製剤の患者における有効性及び安全性が期待される。

2.6.4.10 図表

図表は必要に応じ本文中に記載した。

2.6.4.11 参考文献

1) Frost GI and Stern R. A microtiter-based assay for hyaluronidase activity not requiring specialized reagents. Anal. Biochem 1997;251:263-9.
2) Deng R, Lyer S, Theil FP, Mortensen DL, Fielder PJ, Prabhu S. Projecting human pharmacokinetics of therapeutic antibodies from nonclinical data - What have we learned? mAbs 2011;3:61-6.
3) Dirks NL and Meibohm B. Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. Clin. Pharmacokinet. 2010;49:633-59.
4) Keizer RJ, Huitema AD, Schellens JH, Beijnen JH. Clinical pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. Clin.Pharmacokinet. 2010;49:493-507.

目次

2.6.5 薬物動態試験概要表 3
2.6.5.1 薬物動態試験一覧表 3
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 5
2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 7
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 15
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 18
2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合 19
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 19
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 19
2.6.5.9 薬物動態試験：*In Vivo* における代謝 19
2.6.5.10 薬物動態試験：*In Vitro* における代謝 19
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 19
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 20
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 20
2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄 20
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 20

表一覧

表 2.6.5.1-1 薬物動態試験一覧 3
表 2.6.5.2-1 分析方法及びバリデーション試験一覧 5
表 2.6.5.3-1 ミニブタ皮下及び静脈内投与試験（ペルツズマブ ＋ トラスツズマブ ＋ rHuPH20） 7
表 2.6.5.3-2 マウス皮下及び静脈内投与試験（トラスツズマブ ＋rHuPH20） 8
表 2.6.5.3-3 ミニブタ皮下及び静脈内投与試験（トラスツズマブ ＋rHuPH20） 9
表 2.6.5.3-4 カニクイザル皮下投与試験（トラスツズマブ ＋rHuPH20） 11
表 2.6.5.3-5 マウス静脈内投与試験（rHuPH20） 12
表 2.6.5.3-6 カニクイザル皮下及び静脈内投与試験（rHuPH20） 13
表 2.6.5.4-1 カニクイザルにおけるトラスツズマブ及び rHuPH20の反復皮下投与試験 15
表 2.6.5.4-2 カニクイザルにおける rHuPH20の反復皮下及び静脈内投与試験 16
表 2.6.5.4-3 カニクイザルにおける rHuPH20の反復皮下投与試験 17
表 2.6.5.5-1 マウスにおける rHuPH20皮内投与後の組織内分布試験（rHuPH20） 18

略語一覧

略語	英語名	和名
AUC	Area under the plasma/serum concentration-time curve	血漿（血清）中濃度–時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}168h}$	AUC from time 0 to 168h	投与後0時間から168時間までのAUC
$AUC_{0\text{-}672h}$	AUC from time 0 to 672h	投与後0時間から672時間までのAUC
$AUC_{0\text{-}last}$	AUC from time 0 to the last measurable time point	投与後0時間から測定された最終時点までの AUC
AUC_{inf}	AUC from time 0 extrapolated to infinite time	無限大時間まで補完された面積を含む AUC
BLQ	Below the limit of quantification	定量限界未満
$C_{initial}$	Initial concentration	初期濃度
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 concentration in plasma/serum	最高血漿（血清）中濃度
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着測定法
ID	Intradermal	皮内
IV	Intravenous	静脈内
K_m	Michaelis-menten constant	ミカエリスメンテン定数
MRT	Mean residence time	平均滞留時間
NC	Not calculated	計算せず
NC-BB	Not calculated due to below baseline plasma level	血漿中ベースライン未満のため計算せず
NCA	Non compartmental analysis	ノンコンパートメント解析
ND	Not detected	検出せず
NR	Not reported	報告せず
PK	Pharmacokinetics	薬物動態
rHuPH20	Recombinant human hyaluronidase	ボルヒアルロニダーゼ　アルファ（遺伝子組換え）
SC	Subcutaneous	皮下
SD	Standard deviation	標準偏差
$t_{1/2}$	Half-life	半減期
T_{max}	Time to maximum observed plasma/serum concentration	最高血漿（血清）中濃度到達時間
U	Units of hyaluronidase activity	ヒアルロニダーゼ活性単位
V_{ss}	Volume of distribution at steady-state	定常状態の分布容積

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験一覧表

表 2.6.5.1-1 薬物動態試験一覧

試験タイプ	動物種	投与方法	試験施設	記載箇所 [報告書番号]
吸収				
単回投与（ペルツズマブ，トラスツズマブ及び rHuPH20）	ミニブタ，Göttingen	皮下，静脈内	[redacted], England	4.2.2.2-1 [1038750]
単回投与（トラスツズマブ及び rHuPH20）	マウス，BALB/c ヌード（nu/nu）	静脈内，皮下	Pharma Research, F. Hoffmann-La Roche Ltd., Basel, Switzerland	4.2.2.2-2 [1032235]
単回投与（トラスツズマブ及び rHuPH20）	ミニブタ，Göttingen	静脈内，皮下	[redacted], Denmark, Pharma Research, F. Hoffmann-La Roche Ltd., Basel, Switzerland	4.2.2.2-3 [1029906], 4.2.2.2-4 [1043726]
単回投与（トラスツズマブ及び rHuPH20）	カニクイザル	皮下	Pharma Research, F. Hoffmann-La Roche Ltd., Basel, Switzerland	4.2.2.2-5 [1031088]
単回投与（rHuPH20）	マウス, CD-1	静脈内	[redacted], USA	4.2.2.2-6 [1040393]
単回投与（rHuPH20）	カニクイザル	静脈内，皮下	[redacted], USA	4.2.2.2-7 [1041746]
反復投与（トラスツズマブ及び rHuPH20）	カニクイザル	皮下	[redacted], USA	4.2.3.2-1 [1027259]
反復投与（rHuPH20）	カニクイザル	静脈内，皮下	[redacted], USA	4.2.3.2-2 [1034926]
反復投与（rHuPH20）	カニクイザル	皮下	[redacted], USA	4.2.3.2-3 [1017117]

表 2.6.5.1-1 薬物動態試験一覧（続）

試験タイプ	動物種	投与方法	試験施設	記載箇所 [報告書番号]
分布				
単回投与（rHuPH20）	マウス，NCr ヌード（nu/nu）	皮内	Halozyme Therapeutics, Inc., San Diego, CA, USA	4.2.2.3-1 [1040358]
代謝				
未実施				
排泄				
未実施				
薬物動態学的薬物相互作用				
未実施				
その他の薬物動態試験				
未実施				

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

表 2.6.5.2-1 分析方法及びバリデーション試験一覧

記載箇所	分析物質	測定法	動物種／マトリックス	定量範囲	実施施設	主要結果
4.2.2.1-1	トラスツズマブ	ELISA	カニクイザル／血清	20–2000 ng/mL	[redacted], USA	日内の真度及び精度はそれぞれ87.5%~115.3%及び0.9%~13.3%，日間の真度及び精度はそれぞれ100.1%~105.3%及び4.3%~9.6%であった。カニクイザル血清中のトラスツズマブは室温で16時間，–15°C~–30°C 又は–60°C~–80°C の凍結保存条件下で最長12カ月，–60°C~–80°C の凍結融解サイクル6回まで安定であった。
4.2.2.1-2	抗トラスツズマブ抗体	Ligand binding assay	カニクイザル／血清	測定感度：約1.45 ng/mL，陽性抗体範囲：7–300 ng/mL	[redacted], USA	日内及び日間の精度はそれぞれ0.4%~15.7%及び8.9%~11.6%であった。カニクイザル血清中の抗トラスツズマブ抗体は室温で16時間，2°C~8°C の冷蔵保存で3日間，–15°C~–30°C 又は–60°C~–80°C の凍結保存条件下で最長12カ月，–60°C~–80°C の凍結融解サイクル6回まで安定であった。
4.2.2.2-1	ペルツズマブ及びトラスツズマブ	ELISA	ミニブタ／血漿	12.5–800 ng/mL	Pharma Research F. Hoffmann-La Roche Ltd., Basel, Switzerland	QC 試料の真度及び精度は，それぞれ100.0°C ~–109.0%及び4.9°C ~7.3%であった。

表 2.6.5.2-1 分析方法及びバリデーション試験一覧（続）

記載箇所	分析物質	測定法	動物種／マトリックス	定量範囲	実施施設	主要結果
4.2.2.1-3	ヒアルロニダーゼ（rHuPH20）活性	米国薬局方（USP）比濁法	カニクイザル／血漿	10–100 U/mL	[redacted] USA	日内の真度及び精度はそれぞれ–2.5%~0%及び0.6%~2.2%であった。ISR試料の91.7%が初めの測定値の±30%以内であった。
4.2.2.1-4	ヒアルロニダーゼ（rHuPH20）活性	ビオチン標識ヒアルロン酸基質を用いたアッセイ	マウス／血漿	0.00625–0.200 U/mL	[redacted] USA	日内の真度及び精度はそれぞれ–9.89%~5.66%及び5.75%~13.3%，日間の真度及び精度はそれぞれ–7.13%~14.4%及び6.04%~7.21%であった。マウス血漿中のヒアルロニダーゼ活性は，室温で融解4時間，–70°C の凍結保存条件下で73日間，–70°C の凍結融解サイクル3回まで安定であった。
4.2.2.1-5	rHuPH20反応性抗体	ELISA	カニクイザル／血漿	定量感度：1.6 ng/mL, 陽性抗体範囲：12.5–100 ng/mL	[redacted], USA	日内及び日間の精度はそれぞれ5.0%~8.4%及び10.5%~12.6%であった。カニクイザル血漿中の陽性抗体は室温で24時間，–70°C の凍結融解サイクル5回まで安定であった。
4.2.2.1-6	ヒアルロニダーゼ活性に対する中和抗体力価	USP 比濁法の変法	カニクイザル／血漿	非該当	[redacted] USA	カニクイザル中和抗体の IC_{50}力価の日内及び日間の精度は，それぞれ1.9%~4.6%及び11.4%であった。

2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

表 2.6.5.3-1 ミニブタ皮下及び静脈内投与試験（ペルツズマブ + トラスツズマブ + rHuPH20）

被験物質：ペルツズマブ及びトラスツズマブ（rHuPH20含む）
記載箇所：4.2.2.2-1
報告書番号：1038750

動物種	ミニブタ	ミニブタ	ミニブタ
雌雄／N	雄／5	雄／5	雄／5
溶媒／製剤	記載なし／ペルツズマブ	記載なし／ペルツズマブ＋rHuPH20	記載なし／ペルツズマブ＋rHuPH20，トラスツズマブ＋rHuPH20
投与方法	IV	SC	SC
用量	10 mg/kg ペルツズマブ	120 mg/動物 ペルツズマブ＋2000 U/動物 rHuPH20	120 mg/動物 ペルツズマブ＋2000 U/動物 rHuPH20, 120 mg/動物 トラスツズマブ＋2000 U/動物 rHuPH20
サンプル	血漿	血漿	血漿
分析対象	ペルツズマブ	ペルツズマブ	ペルツズマブ＋トラスツズマブ
測定方法	ELISA	ELISA	ELISA
PK パラメータ（平均値±SD）			
T_{max} (h)	0.0833 ± 0	25.4 ± 14.6	24 ± 0
C_{max} (µg/mL)	288 ± 23.7	138 ± 16.1	296 ± 64.4
$t_{1/2}$ (h)	612 ± 107	524 ± 146	396 ± 21.1
AUC_{inf} (µg •h/mL)	108000 ± 17500	90000 ± 21400	157000 ± 33800
$AUC_{0\text{-}672h}$ (µg •h/mL)	59600 ± 5350	52800 ± 4970	108000 ± 22900
CL (mL/min/kg)	0.00158 ± 0.000314	NC	NC
V_{ss} (L/kg)	0.0782 ± 0.00664	NC	NC
MRT (h)	844 ± 146	752 ± 204	570 ± 33.5
バイオアベイラビリティ (%)	NC	73.8 ± 9.6	NC

T_{max} = 最高血漿中濃度到達時間；C_{max} = 最高血漿中濃度；$t_{1/2}$ =半減期；AUC_{inf} = 無限大時間まで補完された面積を含む血漿中濃度–時間曲線下面積；$AUC_{0\text{-}672h}$ = 投与後0時間から672時間までの AUC；CL =クリアランス；V_{ss} = 定常状態の分布容積；MRT = 平均滞留時間；NC = 計算せず

表 2.6.5.3-2 マウス皮下及び静脈内投与試験（トラスツズマブ + rHuPH20）

被験物質：トラスツズマブ（rHuPH20含む）
記載箇所：4.2.2.2-2
報告書番号：1032235

動物種	マウス（BALB/c nu/nu）	マウス（BALB/c nu/nu）
雌雄／N	雌／2（時点あたり）	雌／2（時点あたり）
溶媒／製剤	5 mmol/L ヒスチジン，60 mmol/L トレハロース，0.1 mg/mL ポリソルベート20／トラスツズマブ 2 mg/mL	5 mmol/L ヒスチジン，60 mmol/L トレハロース，0.1 mg/mL ポリソルベート20／トラスツズマブ 2 mg/mL、HuPH20 4600 U/mL
投与方法	IV	SC
用量（mg/kg）	10	10
サンプル	血清	血清
分析対象	トラスツズマブ	トラスツズマブ
測定方法	ELISA	ELISA
PK パラメータ		
T_{max} (h)	NC	7
C_{max} (µg/mL)	287	125
$t_{1/2}$ (h)	221	199
（計算に用いた時間 – h）	72–672	72 − 672
AUC_{inf} (µg •h/mL)	30700	25600
CL/F (mL/min/kg)	NC	0.0065
CL (mL/min/kg)	0.00543	NC
V_{ss} (L/kg)	0.0987	NC
MRT (h)	303	285
バイオアベイラビリティ (%)	NC	83.4

PK パラメータは，各時点での各投与経路2例の平均血清中濃度–時間データを統合して算出した値を示す。

T_{max} = 最高血清中濃度到達時間；C_{max} = 最高血清中濃度；$t_{1/2}$ =半減期；AUC_{inf} = 無限大時間まで補完された面積を含む血清中濃度–時間曲線下面積； CL/F = 見かけのクリアランス；CL =クリアランス；V_{ss} = 定常状態の分布容積；MRT = 平均滞留時間；NC = 計算せず

表 2.6.5.3-3 ミニブタ皮下及び静脈内投与試験（トラスツズマブ + rHuPH20）

被験物質：トラスツズマブ（rHuPH20含む）
記載箇所：4.2.2.2-3, 4.2.2.2-4
報告書番号：1029906，1043726

動物種	ミニブタ	ミニブタ	ミニブタ	ミニブタ	ミニブタ
雌雄／N	雌／5	雌／5	雌／5	雌／4	雌／5
溶媒／製剤	記載なし／トラスツズマブ* 108 mg/mL	記載なし／トラスツズマブ* 108 mg/mL	記載なし／トラスツズマブ* 108 mg/mL, rHuPH20 2000 U/mL	記載なし／トラスツズマブ* 108 mg/mL, rHuPH20 6000 U/mL	記載なし／トラスツズマブ* 108 mg/mL, rHuPH20 2000 U/mL
投与方法	IV	SC	SC	SC	SC
投与容量	0.083 mL/kg	1.0 mL/動物	1.0 mL/動物	1.0 mL/動物	2.0 mL/動物
用量	9.0 mg/kg トラスツズマブ	108 mg/動物トラスツズマブ+ 0 U/動物 rHuPH20	108 mg/動物トラスツズマブ+ 2000 U/動物 rHuPH20	108 mg/動物トラスツズマブ+ 6000 U/動物 rHuPH20	216 mg/動物トラスツズマブ+ 4000 U/動物 rHuPH20
サンプル	血清	血清	血清	血清	血清
分析対象	トラスツズマブ	トラスツズマブ	トラスツズマブ	トラスツズマブ	トラスツズマブ
測定方法	ELISA	ELISA	ELISA	ELISA	ELISA
PK パラメータ（平均値±SD, T_{max} は中央値）					
T_{max} (h)	0.08	72	24	24	24
C_{max} (µg/mL)	164 ± 33.7	101 ± 21.7	126 ± 13.2	129 ± 6.78	266 ± 47.5
$t_{1/2}$ (h)	136 ± 45.8	206 ± 66.2	148 ± 44.5	156 ± 42.9	256 ± 40.9
（計算に用いた時間 – h）	240–672	240–672	240–672	240–672	240–672
$AUC_{0\text{-}672h}$ (µg •h/mL)	23700 ± 3360	31900 ± 9600	29600 ± 3360	31300 ± 3530	73600 ± 15200
CL/F (mL/min/kg)	NC	0.0564 ± 0.0273	0.0584 ± 0.00846	0.0546 ± 0.00763	0.0428 ± 0.00869
CL (mL/min/kg)	0.00616 ± 0.00103	NC	NC	NC	NC
V_{ss} (L/kg)	0.0776 ± 0.0108	NC	NC	NC	NC
MRT (h)	216 ± 52.3	320 ± 85.6	242 ± 39.0	248 ± 39.0	358 ± 44.7
バイオアベイラビリティ (%)	NC	90.2 ± 23.1	81.8 ± 10.2	87.2 ± 10.8	NC

表 2.6.5.3-3 ミニブタ皮下及び静脈内投与試験（トラスツズマブ + rHuPH20）（続）

*: 理論値である120 mg/mL ではなく，トラスツズマブの実濃度である108 mg/mL を用いて PK を算出した。

IV 投与後の血清中濃度推移プロファイルの形状から，ミニブタにおいてトラスツズマブは非線形薬物動態を示すことが示唆された。SC 投与後のトラスツズマブの吸収は，rHuPH20を含む製剤ではより速かった。rHuPH20含有製剤では C_{max} が高い傾向を示した。rHuPH20 2000及び6000 U を含むトラスツズマブ108 mg 製剤投与群では，トラスツズマブの吸収は同様であった。トラスツズマブの2倍用量では，SC 投与の吸収に差はみられなかった。トラスツズマブ216 mg SC 投与後の曝露は，トラスツズマブ108 mg SC 投与の曝露のほぼ2倍であった。

1043726
・ コンパートメント PK モデルでは，rHuPH20含有製剤では非含有製剤に比べて吸収速度定数が約2倍大きかった。rHuPH20濃度を2000から6000 U/mL に上げても，吸収速度の更なる増加は認められなかった（投与容量 1 mL における0, 2000及び6000 U/mL の吸収速度定数は，それぞれ0.0345, 0.0691及び0.0714 h^{-1}であった）。 ・ コンパートメント PK 解析によって，中央コンパートメントの分布容積及び末梢コンパートメントの分布容積はそれぞれ61.6 mL/kg 及び37.4 mL/kg と算出されたが，トラスツズマブ IV 投与後の NCA によるパラメータとほぼ同様であった。コンパートメントモデルでは，飽和及び非飽和のクリアランス経路が含まれている。非飽和の CL は0.211 mL/h/kg（0.00352 mL/min/kg に相当）と算出され，NCA によって求められた値（両クリアランス経路を含む）と近いものの，小さい値であった。

T_{max} = 最高血清中濃度到達時間；C_{max} = 最高血清中濃度；$t_{1/2}$ =半減期；$AUC_{0\text{-}672h}$ = 投与後0時間から672時間までの血清中濃度–時間曲線下面積；CL/F = 見かけのクリアランス；CL =クリアランス；V_{ss} = 定常状態の分布容積；MRT = 平均滞留時間；NC = 計算せず

表 2.6.5.3-4　カニクイザル皮下投与試験（トラスツズマブ + rHuPH20）

被験物質：トラスツズマブ（rHuPH20含む）
記載箇所：4.2.2.2-5
報告書番号：1031088

動物種	カニクイザル
雌雄／N	雄／3
溶媒／製剤	注射用滅菌水溶液／トラスツズマブ120 mg/mL、rHuPH20 6000 U/mL
投与方法	SC
用量（mg/kg）	25
サンプル	血清
分析対象	トラスツズマブ
測定方法	ELISA
PK パラメータ（平均値±SD, T_{max} は平均値のみ）	
T_{max} (h)	24
C_{max} (µg/mL)	307 ± 39.3
$t_{1/2}$ (h)	295 ± 66.2
（計算に用いた時間 – h）	312–1344 h (n=2)又は96–672 h (n=1)
AUC_{inf} (µg •h/mL)	116000 ± 31800
CL/F (mL/min/kg)	0.00377 ± 0.0009
MRT (h)	426 ± 95.3
バイオアベイラビリティ (%)	算出せず

T_{max} = 最高血清中濃度到達時間；C_{max} = 最高血清中濃度；$t_{1/2}$ =半減期；AUC_{inf} = 無限大時間まで補完された面積を含む血清中濃度–時間曲線下面積；CL/F = 見かけのクリアランス；MRT = 平均滞留時間

3例中1例において，投与6週間後よりトラスツズマブのクリアランスの増加が認められた。このクリアランスの増加は，この動物におけるトラスツズマブに対する免疫反応の可能性が考えられた。このクリアランスの増加部分を除外して PK 評価を実施した。

表 2.6.5.3-5 マウス静脈内投与試験（rHuPH20）

被験物質：rHuPH20
記載箇所：4.2.2.2-6
報告書番号：1040393

動物種	マウス, CD-1
雌雄／N／グループ	雄／6／時点
溶媒／製剤	記載なし／rHuPH20 ([redacted]: Lot No: [redacted]) 0.087 mg/mL
投与方法	IV
用量	0.433 mg/kg
サンプル	血漿
分析対象	rHuPH20
測定方法	ビオチン標識ヒアルロン酸基質を用いたヒアルロニダーゼ活性測定法
PK パラメータ（平均値）	
$C_{initial}$ (U/mL (ng/mL))	119 (1176)
AUC_{inf} (U•h/mL (ng•h/mL)	8.0 (79.6)
CL (mL/h/kg)	5440
V_{ss} (mL/kg)	160
MRT (h)	0.030
$t_{1/2}$ (h)	0.038

$C_{initial}$ = 初期濃度；AUC_{inf} = 無限大時間まで補完された面積を含む血漿中濃度–時間曲線下面積；CL =クリアランス；V_{ss} = 定常状態の分布容積；MRT = 平均滞留時間；$t_{1/2}$ =半減期；データはノンコンパートメント解析により算出した。

rHuPH20のロット [redacted] の比活性は100,970 U/mg であった。

0.433 mg/kg 静脈内投与後の血漿中濃度は $t_{1/2}$ = 3分未満で急速に減少し，投与後30分までに定量下限（0.625 U/mL）未満に減少した。

表 2.6.5.3-6 カニクイザル皮下及び静脈内投与試験（rHuPH20）

被験物質：rHuPH20
記載箇所：4.2.2.2-7
報告書番号：1041746

動物種	カニクイザル			
雌雄／N	雌／3／グループ			
溶媒／製剤	10 mmol/L ヒスチジン, 130 mmol/L NaCl, pH 6.0／rHuPH20 (lot No. [redacted]) 10 mg/mL			
投与方法	IV，SC			
サンプル	血漿			
分析対象	rHuPH20			
測定方法	ヒアルロニダーゼ活性（USP 比濁法）			
用量（IV）	0.3 mg/kg (34,800 U/kg)	3 mg/kg (348,000 U/kg)	15 mg/kg (1,740,000 U/kg)	30 mg/kg (3,480,000 U/kg)
PK パラメータ（平均値±SD），**IV ノンコンパートメント解析**				
C_{max} (U/mL)	1242.50 ± 180.07	13393.33 ± 1160.06	60700.00 ± 6300.60	129750.00 ± 22551.33
$AUC_{0\text{-}1h}$ (U•h/mL)	174.48 ± 47.38	6724.03 ± 1249.21	43997.29 ± 5722.37	106166.67 ± 17492.94
AUC_{inf} (U•h/mL)	177.91 ± 49.48	7201.32 ± 1139.44	NR	NR
CL (mL/h/kg)	207.69 ± 65.64	49.09 ± 7.26	NR	NR
V_{ss} (mL/kg)	23.39 ± 2.39	19.44 ± 5.55	NR	NR
MRT (h)	0.12 ± 0.03	0.40 ± 0.09	NR	NR
$t_{1/2}$ (min)	5.04 ± 0.61	NR	NR	NR
用量（SC）	1 mg/kg (116,000 U/kg)	3 mg/kg (348,000 U/kg)	10 mg/kg (1,160,000 U/kg)	30 mg/kg (3,480,000 U/kg)
PK パラメータ（平均値±SD），**SC ノンコンパートメント解析**				
C_{max} (U/mL)	10.97 ± 10.36	26.40 ± 5.76	140.50 ± 118.73	480.20 ± 252.93
T_{max} (h)	2.50 ± 2.12	3.33 ± 4.04	4.33 ± 3.51	4.00 ± 0.00
AUC_{inf} (U•h/mL)	NC	561.56 ± 139.90	1584.76 ± 276.48	6101.82 ± 1980.63
CL/F (mL/h/kg)	NC	639.54 ± 159.32	748.83 ± 144.99	615.06 ± 210.36
MRT (h)	NC	22.89 ± 15.97	17.70 ± 15.97	13.88 ± 4.27
$t_{1/2}$ (h)	NC	15.68 ± 11.32	11.79 ± 9.95	10.31 ± 2.84
バイオアベイラビリティ(%)	1.5～4.0			

C_{max} = 最高血漿中濃度；$AUC_{0\text{-}1h}$ =投与後 0 時間から 1 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積；AUC_{inf} = 無限大時間まで補完された面積を含む AUC；CL =クリアランス；V_{ss} = 定常状態の分布容積；MRT = 平均滞留時間；$t_{1/2}$ =半減期；T_{max} = 最高血漿中濃度到達時間；CL/F = 見かけのクリアランス；NC = 計算せず；NR = 報告せず
本試験で使用した rHuPH20 の比活性は 116,000 U/mg であった。

表 2.6.5.3-6　カニクイザル皮下及び静脈内投与試験（rHuPH20）（続）

雌カニクイザルにおける rHuPH20の IV 及び SC 投与後の PK 解析では，IV 投与後 rHuPH20は急速に消失し，SC 投与では全身暴露が低く1–30 mg/kg の血漿中濃度は低かった。1 mg/kg SC の平均 C_{max}（約11 U/mL）は定量下限（10 U/mL）付近であったが，AUC_{inf} は SC 投与の用量範囲では線形であった。一方，IV 投与の用量範囲では非線形を示し，より高い血漿中濃度では消失の飽和が推定された。

線形及び非線形クリアランスを含む非線形1-コンパートメント PK モデルを用いて，rHuPH20のカニクイザルにおける非線形 PK を解析した。本モデルでは線形クリアランスは9.29 mL/h/kg，分布容積は25.68 mL/kg と算出された。非線形クリアランスの最大速度定数及びミカエリスメンテン定数（K_m）は，それぞれ2.68 h^{-1}及び1117.75 U/mL と算出された。SC 投与後，すべての rHuPH20血漿中濃度は K_m 値よりも十分低かった。本試験では rHuPH20の SC 投与後の全身暴露は低く，rHuPH20は全身循環から速く消失することが確認された。

2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

表 2.6.5.4-1 カニクイザルにおけるトラスツズマブ及び rHuPH20の反復皮下投与試験

被験物質：トラスツズマブ（rHuPH20含む）
記載箇所：4.2.3.2-1
報告書番号：1027259

GLP 適合試験			
動物種	カニクイザル		
雌雄／N	雄／5，雌／5		
溶媒／製剤	20 mmol/L ヒスチジン，210 mmol/L トレハロース，10 mmol/L メチオニン，0.04%ポリソルベート 20, pH 5.5 ／120 mg/mL トラスツズマブ，12000 U/mL rHuPH20		
投与方法	SC，週1回13週間		
用量	30 mg/kg トラスツズマブ，3000 U/kg rHuPH20		
サンプル	血清		
分析対象	トラスツズマブ		
測定方法	ELISA		
PK パラメータ（平均値±SD）	雄	雌	雌雄
1日目			
C_{max} (µg/mL)	403 ± 45.6	411 ± 34.3	407 ± 38.3
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg •h/mL)	48500 ± 4240	46300 ± 5310	47400 ± 4670
29日目			
C_{max} (µg/mL)	955 ± 206	956 ± 325	956 ± 256
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg •h/mL)	129000 ± 18100	122000 ± 39400	125000 ± 29100
78日目			
C_{max} (µg/mL)	1220 ± 147	1110 ± 331	1160 ± 249
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg •h/mL)	174000 ± 22900	158000 ± 48400	166000 ± 36800

C_{max} = 最高血清中濃度；$AUC_{0\text{-}672h}$ = 投与後0時間から672時間までの血清中濃度–時間曲線下面積

報告書では ng/mL 及び ng •h/mL 表示のところ，µg/mL 及び µg •h/mL に変換して表示。

雌雄合わせた平均値の初回投与に対する C_{max} 及び AUC の蓄積係数は2.2～3.6であった。曝露に雌雄差は認められなかった。

表 2.6.5.4-2 カニクイザルにおける rHuPH20の反復皮下及び静脈内投与試験

被験物質：rHuPH20
記載箇所：4.2.3.2-2
報告書番号：1034926

GLP 適合試験				
動物種	カニクイザル			
雌雄／N	雄／2，雌／2			
溶媒／製剤	10 mmol/L ヒスチジン, 130 mmol/L NaCl, pH 6.0／rHuPH20 (Lot No.: [redacted]) 10.6 mg/mL			
投与方法	IV，SC，1日1回（7日間）			
サンプル	血漿			
分析対象	rHuPH20			
測定方法	ヒアルロニダーゼ活性（USP 比濁法）			
1日当たりの用量／経路	5 mg/kg (580,000 U/kg)／IV		5 mg/kg (580,000 U/kg)／SC	
投与日	1	7	1	7
PK パラメータ（雌雄4例の平均値±SD, T_{max} は中央値（範囲））				
$AUC_{0\text{-}last}$ (U•h/mL)	11800 ± 2470	8730 ± 820	642 ± 150	502 ± 165
AUC_{inf} (U•h/mL)	11900 ± 2350	8800 ± 885	NC	NC
CL (mL/min/kg)	0.836 ± 0.156	1.11 ± 0.105	NC	NC
V_{ss} (mL/kg)	17.0 ± 1.75	16.7 ± 0.996	NC	NC
$t_{1/2}$ (min)	10.3 ± 1.11	7.53 ± 1.2	NC	NC
C_{max} (U/mL)	NC	NC	200 ± 45.4	115 ± 46.1
T_{max} (h)	NC	NC	1.0 (0.5–1.02)	1.0 (0.5–3.98)

$AUC_{0\text{-}last}$ =投与後0時間から測定された最終時点までの血漿中濃度–時間曲線下面積；AUC_{inf} = 無限大時間まで補完された面積を含む AUC；CL =クリアランス；V_{ss} = 定常状態の分布容積；$t_{1/2}$ =半減期；C_{max} = 最高血漿中濃度；T_{max} = 最高血漿中濃度到達時間；NC = 計算せず；

PK データは雌雄のデータ（N=4 トータル）からノンコンパートメント解析により算出した。

本試験で使用した rHuPH20のロット [redacted] の比活性は116,000 U/mg であった。

AUC は報告書に記載の単位 U•min/mL を、U•h/mL に変換して表記した。

表 2.6.5.4-3 カニクイザルにおける rHuPH20の反復皮下投与試験

被験物質：rHuPH20
記載箇所：4.2.3.2-3
報告書番号：1017117

GLP 適合性試験								
動物種	カニクイザル							
雌雄／N	主群：雌雄各4，回復群：雌雄各2							
溶媒／製剤	10 mmol/L ヒスチジン，130 mmol/L NaCl，pH 6.0／rHuPH20 (Lot No. [redacted]) 11.00 mg/mL，(Lot No. [redacted]) 11.38 mg/mL							
投与方法	SC，週1回39週間（回復期間：4週間）							
サンプル／分析対象	血漿／rHuPH20							
測定方法	ヒアルロニダーゼ活性（USP 比濁法）							
PK パラメータ（平均値±SD, T_{max} は中央値（範囲））								
週1回用量	0 mg/kg (0 U/kg)		0.02 mg/kg (約2,300 U/kg)		0.2 mg/kg (約23,000 U/kg)		2.0 mg/kg (約230,000 U/kg)	
雌雄	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
1日目								
$AUC_{0\text{-}last}$ (U•h/mL)	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	20.5 ± 22.8	47.8 ± 34.2
C_{max} (U/mL)	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	12.5 ± 5.21	20.8 ± 9.54
T_{max} (h)	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	2 (2 – 2)	2 (0.25 – 2)
85日目								
$AUC_{0\text{-}last}$ (U•h/mL)	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	177 ± 274	395 ± 433
C_{max} (U/mL)	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	28.8 ± 48.4	64.7 ± 61.1
T_{max} (h)	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	6 (4 – 6)	4 (2 – 4)
183日目								
$AUC_{0\text{-}last}$ (U•h/mL)	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	89.6 ± 176	467 ± 795
C_{max} (U/mL)	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	12.0 ± 22.4	64.2 ± 110
T_{max} (h)	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	4 (4 – 6)	4 (4 – 4)
267日目								
$AUC_{0\text{-}last}$ (U•h/mL)	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	56.2 ± 68.3
C_{max} (U/mL)	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	10 ± 11.2
T_{max} (h)	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	NC-BB	4 (4 – 6)

$AUC_{0\text{-}last}$ =投与後 0 時間から測定された最終時点までの血清中濃度–時間曲線下面積；C_{max} = 最高血清中濃度；T_{max} = 最高血清中濃度到達時間；PK データはノンコンパートメント解析により算出した。NC-BB: 血漿中ベースライン未満のため計算せず。
本試験で使用した rHuPH20 の各ロット（[redacted] 及び [redacted]）の比活性は，それぞれ 116,000 及び 100,970 U/mg であった。
2.0 mg/kg 群の長期投与後の血漿中曝露の低下は，267 日におけるヒアルロニダーゼ中和活性の検出と一致した。カニクイザルにおいて rHuPH20 の 39 週間週 1 回反復 SC 投与における全身曝露は低いことが確認された。

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

表 2.6.5.5-1 マウスにおける rHuPH20皮内投与後の組織内分布試験（rHuPH20）

被験物質：rHuPH20
記載箇所：4.2.2.3-1
報告書番号：1040358

動物種	マウス NCr-nu/nu												
雌雄／N	雌／5／時点												
摂餌状態	食餌												
溶媒／製剤	10 mmol/L ヒスチジン, 130 mmol/L NaCl, 1 mg/mL ヒト血清アルブミン(HSA), pH 6.5												
投与方法	ID，IV												
用量（mg/kg）	80 U / 投与（投与容量40 µL）												
ヒアルロニダーゼ活性	2000 U/mL												
分析対象	rHuPH20 (lot No. [redacted])												
測定方法	ビオチン標識ヒアルロン酸基質を用いたヒアルロニダーゼ活性測定法												
投与経路	ID								IV				
	投与後採取時間（分）								**投与後採取時間（分）**				
	1	**15**	**30**	**60**	**240**	**480**	**1440**	**$t_{1/2}$ (min)**	**1**	**15**	**30**	**60**	**240**
血漿 (U rHuPH20/mL)	BLQ	BLQ[a]	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	NC	17.4	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
皮膚 (U rHuPH20/mg 組織)	0.207	0.270[b]	0.120	0.031	BLQ	BLQ	BLQ	13–20	NR	NR	NR	NR	NR
リンパ節 (U rHuPH20/mg 組織)	0.025	0.011[b]	0.021	0.037	0.037	0.028	0.015	NC	NR	NR	NR	NR	NR

[a]: BLQ = 0.62 U/mL 血漿，約 0.02 U/mg 皮膚，約 0.015 U/mg リンパ節

[b]: N = 4 動物／グループ

表中の値は平均値を示す。

rHuPH20のロット [redacted] の比活性は124,000 U/mg であった。

NC: 算出せず，NR: 報告なし

2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合

該当なし

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

該当なし

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

該当なし

2.6.5.9 薬物動態試験：*In Vivo* における代謝

該当なし

2.6.5.10 薬物動態試験：*In Vitro* における代謝

該当なし

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

該当なし

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

該当なし

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

該当なし

2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄

該当なし

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

該当なし