目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 3
2.6.4.1 まとめ 3
2.6.4.1.1 吸収 3
2.6.4.1.2 分布 3
2.6.4.1.3 代謝 4
2.6.4.1.4 排泄 4
2.6.4.1.5 薬物動態学的薬物相互作用 4
2.6.4.2 分析法 5
2.6.4.2.1 非標識体の分析 5
2.6.4.2.2 血清中抗 rhGM-CSF 抗体の測定 6
2.6.4.3 吸収 7
2.6.4.3.1 カニクイザル 26 週間間歇吸入投与（トキシコキネティクス） 7
2.6.4.3.2 アカゲザル単回投与 12
2.6.4.3.3 吸入投与時の生物学的利用率 13
2.6.4.4 分布 14
2.6.4.4.1 アカゲザル組織中濃度 14
2.6.4.4.2 マウス組織中濃度 17
2.6.4.4.3 胎盤通過 18
2.6.4.5 代謝 19
2.6.4.6 排泄 19
2.6.4.6.1 アカゲザル尿中排泄 19
2.6.4.6.2 マウス尿中排泄 20
2.6.4.6.3 胆汁中排泄 20
2.6.4.6.4 乳汁中排泄 20
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 20
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 20
2.6.4.9 考察及び結論 21
2.6.4.10 図表 23
2.6.4.11 参考文献 23

略語・略号一覧

略語・略号	内容
AUC	血漿中濃度時間曲線下面積
AUC_{0-24h}	投与後 24 時間までの血漿中濃度時間曲線下面積
BLQ	定量下限未満
CHO 細胞	チャイニーズハムスター卵巣細胞
CL	クリアランス
C_{max}	最高血漿中濃度
CYP	チトクローム P450
ELISA	酵素免疫測定法
G-CSF	顆粒球コロニー刺激因子
GM-CSF	顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
h	時間
HRP	西洋わさびペルオキシダーゼ
mGM-CSF	マウス顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
MSA	マウス血清アルブミン
n	例数
PBS	リン酸緩衝生理食塩水
rhGM-CSF	遺伝子組換えヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
TCA	トリクロロ酢酸
T_{max}	最高血漿中濃度到達時間（C_{max} 到達時間）
$T_{2/1\alpha}$	α相の消失半減期
$T_{2/1\beta}$	β相の消失半減期
$T_{2/1\gamma}$	γ相の消失半減期

2.6.4 薬物動態試験の概要文

NPC-26（一般名：sargramostim）は酵母に発現させた遺伝子組換えヒトGM-CSF（rhGM-CSF）であり、127個のアミノ酸から成る糖タンパク質である。nativeなhGM-CSFの23番目のアミノ酸がアルギニンからロイシンに置換されている。

NPC-26の臨床適用経路である吸入投与したときの吸収性については、カニクイザルにおける26週間間歇吸入投与毒性試験に付随したトキシコキネティクス試験のデータを利用して評価した。分布及び排泄については、微生物に発現させた糖鎖を持たないrhGM-CSF及びCHO細胞に発現させた糖鎖を有するrhGM-CSF、並びに精製したmGM-CSFを材料とした公表文献に基づき評価した。

NPC-26はバイオ医薬品であり、バイオ医薬品は投与後にペプチド及びアミノ酸に代謝分解されることが一般的に知られていること、及び上記の評価結果からrhGM-CSFも同様であることが確認されたことから、『「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」について』（薬食審査発0323第1号、平成24年3月23日（ICH-S6））を踏まえ、代謝試験を実施しなかった。また、『「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」について』（薬生薬審発0723第4号、平成30年7月23日）を踏まえ、薬物動態学的薬物相互作用試験を実施しなかった。

2.6.4.1 まとめ

2.6.4.1.1 吸収

NPC-26を雌雄カニクイザルにネブライザーを用いて吸入投与したときの血漿中rhGM-CSF濃度をELISA法により測定した。初回投与後、NPC-26は速やかに全身循環へ吸収され、T_{max}は0.25～0.75時間であった。C_{max}及び$AUC_{0\text{-}24h}$は投与量の増加に伴い上昇し、その程度は用量比よりも大きかった。雌雄の薬物動態パラメーターに明確な相違は見られなかった。吸入投与時の生物学的利用率は大きく見積もっても1%程度と推定された。NPC-26を雌雄カニクイザルに間歇吸入投与することにより、全ての個体から抗GM-CSF抗体が高濃度に検出された。

2.6.4.1.2 分布

[^{123}I]標識したrhGM-CSFを雌アカゲザルに単回静脈内投与した後、γ-シンチグラムにより放射能の組織分布を観察した。シンチグラム上では脾臓、肝臓、腎臓、心臓への放射能の分布が観察され、中でも腎臓には特に急速かつ高濃度の放射能の分布が観察された。

低タイターの抗GM-CSF抗体を有するアカゲザルに[^{123}I]標識したrhGM-CSFを単回静脈内投与した後の放射能の分布を観察した結果、肝臓への速やかかつ高濃度の放射能分布が認められ、抗GM-CSF抗体によりrhGM-CSFの主たる組織分布が腎臓から肝臓に変化することが示唆された。

[^{125}I]で標識したmGM-CSFをマウスに単回静脈内投与したとき、甲状腺＞尿＞腎臓＞唾液腺＞肝臓＝脾臓＞血液＞胸腺＞耳＞筋肉＝脳＞骨髄の順に高濃度の放射能が検出された。甲状腺に検出された高濃度の放射能は、遊離した[^{125}I]が甲状腺に取り込まれたものと考えられた。また、尿中の放射能は、TCAで沈殿しなかったことから低分子分解物であると考えられた。

2.6.4.1.3 代謝

該当する試験を実施しなかったが、NPC-26 はバイオ医薬品であり、バイオ医薬品は投与後にペプチド及びアミノ酸に代謝分解されることが一般的に知られている。このことは、[^{125}I]で標識した mGM-CSF をマウスに静脈内投与後に尿中に排泄された放射能が TCA で沈殿しなかったことからも支持された。

2.6.4.1.4 排泄

rhGM-CSF を[^{123}I]又は[^{35}S]で標識し、これら混合してアカゲザルに単回静脈内投与（15 μg/kg）又は単回皮下投与（10 μg/kg）したときの放射能の尿中排泄率を測定した。静脈内又は皮下投与後 15～90 分という早い時間に、尿中に[^{123}I]及び[^{35}S]が検出され、その後、時間の経過とともに排泄率が増加した。

静脈内投与後の[^{123}I]の累積排泄率は、投与後 6 時間までに 37%、42 時間までに 54%であり、[^{35}S]の累積排泄率は投与後 70 時間までに 12%であった。皮下投与後の[^{123}I]の累積排泄率は、投与後 42 時間までに 40%であり、[^{35}S]の累積排泄率は投与後 140 時間までに 27%であった。

[^{125}I]で標識した mGM-CSF をマウスに静脈内投与したとき、投与後 1 及び 6 時間の尿中に血液と比較して非常に高濃度の放射能が検出された。尿中放射能は TCA で沈殿しなかったことから、低分子分解物であると考えられた。

2.6.4.1.5 薬物動態学的薬物相互作用

該当する試験を実施しなかったが、NPC-26 はバイオ医薬品であり、バイオ医薬品は CYP で代謝されず薬物トランスポーターに輸送されないことから NPC-26 の薬物動態学的薬物相互作用のリスクは小さいと考えられる。

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 非標識体の分析

＜添付資料 4.2.2.1-1 参考＞

カニクイザル血漿中 rhGM-CSF 濃度は市販の ELISA キット（Quantikine® ELISA kit Human GM-CSF、R&D systems, Inc.）を使用し、取り扱い説明書[1)]に従い測定した。ただし、定量用標準物質にはキット添付の標準物質に代えて NPC-26 を使用した。抗 hGM-CSF 抗体を固相化した 96 well プレートに測定試料を加え、試料中の rhGM-CSF をトラップした後、HRP 標識した抗 hGM-CSF 抗体を加えて rhGM-CSF を検出した。バリデーション試験成績を表 2.6.4-1 に示した。

表 2.6.4-1 血漿中 rhGM-CSF 測定法のバリデーション試験成績

動物種	カニクイザル
マトリックス	血漿
測定方法	ELISA
測定キット	Quantikine® ELISA kit Human GM-CSF
メーカー	R&D systems, Inc.
血漿試料の前処理	なし（そのまま測定、必要に応じてブランク血漿で希釈）
定量用標準物質	NPC-26
定量範囲	7.86～500 pg/mL 血漿
検量線の回帰方法	Logistic/4 係数法
選択性	個体別ブランク血漿（n=10）：全例 BLQ（＜7.86 pg/mL） 個体別ブランク血漿に 15.7 pg/mL 添加したときの真度（n=10）：96.2～109.6%
日内再現性（n=3）	添加濃度：7.86, 15.7, 100, 350 及び 500 pg/mL ・真度：88.6～101.3% ・精度：1.7～3.6% ・トータルエラー：3.0～15.0%
日間再現性 （各日 n=3×6 日間、n=18）	添加濃度：7.86, 15.7, 100, 350 及び 500 pg/mL ・真度：95.0～104.5% ・精度：4.6～6.7% ・トータルエラー：7.1～10.4%
希釈直線性	12.5～200 倍
フック効果	認められない
血漿中での安定性（室温）	室温：24 時間／添加濃度：15.7 及び 350 pg/mL
血漿中での安定性（凍結融解）	5 サイクル（凍結：－80℃、融解：室温） 添加濃度：15.7 及び 350 pg/mL
血漿中での安定性（凍結）	－80 ℃：4 週間（28 日間）／添加濃度：15.7 及び 350 pg/mL
標準溶液の安定性	－80℃：4 週間（28 日間）／添加濃度：50000000 pg/mL
	4℃：4 週間（28 日間）／添加濃度：393 及び 25000 pg/mL
	室温：24 時間／添加濃度：393 及び 25000 pg/mL
試験施設	[redacted]
試験番号	[redacted]
適用した試験	試験番号：[redacted] 添付資料：＜4.2.3.2-5＞

2.6.4.2.2 血清中抗 rhGM-CSF 抗体の測定

＜添付資料 4.2.2.1-2 参考＞

カニクイザル血清中抗 GM-CSF 抗体濃度は ELISA 法により測定した。rhGM-CSF を固相化した 96 well プレートに測定試料を加え、試料中の抗 GM-CSF 抗体をトラップした後、peroxidase 標識抗ヒト IgG ヤギ抗体を加え抗 GM-CSF 抗体を検出した。バリデーション試験成績を表 2.6.4-2 に示した。

表 2.6.4-2　血清中抗 rhGM-CSF 抗体測定法のバリデーション試験成績

動物種	カニクイザル
マトリックス	血清
測定方法	ELISA
血清試料の前処理	希釈液（0.1%ヤギ血清及び 0.1%Tween20 を含む PBS）で 3000 倍希釈
定量用標準物質	抗ヒト GM-CSF 抗体
定量範囲	0.781～50 ng/mL（標準液濃度として） 2.343～150 μg/mL（血清中濃度として）
検量線の回帰方法	Logistic/4 係数法
日内再現性	低濃度、中濃度及び高濃度試料をそれぞれ 3000 倍希釈した後、5 回繰り返し測定 ・低濃度：5.085±0.532 μg/mL CV%=10% ・中濃度：26.300±0.738 μg/mL CV%=3% ・高濃度：84.560±1.781 μg/mL CV%=2%
日間再現性	低濃度、中濃度及び高濃度試料を、1 回希釈法及び 2 段階希釈法でそれぞれ 3000 倍希釈した後、3 日間繰り返し測定 ＜1 回希釈法（血清試料 10 μL＋希釈液 30 mL）＞ ・低濃度：4.943±0.647 μg/mL CV%=13% ・中濃度：27.936±3.334 μg/mL CV%=12% ・高濃度：85.729±0.387 μg/mL CV%=0% ＜2 段階希釈法（50 倍希釈した後、さらに 60 倍希釈）＞ ・低濃度：5.116±0.754 μg/mL CV%=15% ・中濃度：29.115±4.041 μg/mL CV%=14% 高濃度：89.602±8.597 μg/mL CV%=10%
希釈直線性	3000～24000 倍
血清中凍結保存安定性	－80 ℃で 3 ヵ月間
試験施設	[redacted]
試験番号	[redacted]
適用した試験	試験番号：[redacted] 添付資料：＜4.2.3.2-5＞

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 カニクイザル 26 週間間歇吸入投与（トキシコキネティクス）

＜添付資料 4.2.3.2-5＞

【血漿中 rhGM-CSF 濃度】

NPC-26 を雌雄カニクイザルにネブライザーを用いて 26 週間間歇吸入投与（1 日 1 回、1 週間連日投与と 1 週間休薬の繰り返し）したときの ELISA 法により測定した血漿中 rhGM-CSF 濃度から算出した薬物動態パラメーターを表 2.6.4-3 に、血漿中濃度推移を図 2.6.4-1 に示した。

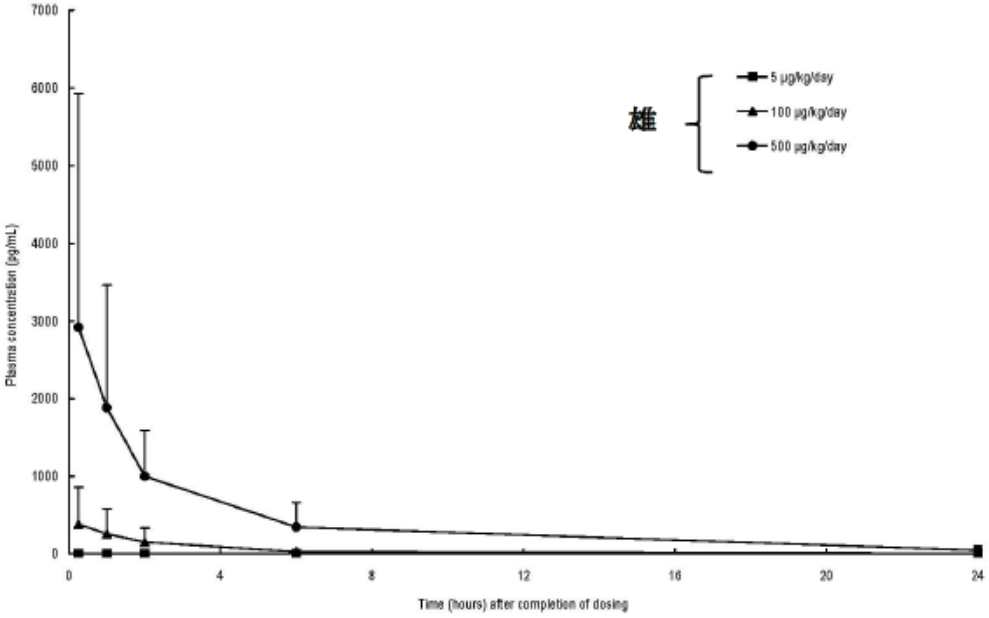
表 2.6.4-3　雌雄カニクイザルに NPC-26 を 26 週間間歇吸入投与したときの血漿中 rhGM-CSF 濃度推移から求めた薬物動態パラメーター

投与日	投与量（μg/kg/day）	雄			雌		
		C_{max} (pg/mL)	t_{max} (h)	AUC_{0-24h} (pg·h/mL)	C_{max} (pg/mL)	t_{max} (h)	AUC_{0-24h} (pg·h/mL)
1 日目	5	BLQ	NC	NC	BLQ	NC	NC
	100	384 ±478	0.500 ±0.433 (0.25)*	1060 ±1270	200 ±101	0.250 ±0.000 (0.25)*	639 ±199
	500	2960 ±2960	0.500 ±0.433 (0.25)*	9750 ±5360	3300 ±3020	0.750 ±0.433 (1)*	14100 ±8300
91 日目	5	BLQ	NC	NC	BLQ	NC	NC
	100	BLQ	NC	NC	48.0 ±83.1 (144) **	NC (1) **	337 ±583 (1010) **
	500	BLQ	NC	NC	BLQ	NC	NC
175 日目	5	BLQ	NC	NC	BLQ	NC	NC
	100	BLQ	NC	NC	26.2 ±45.4 (78.6) **	NC (2) **	258 ±447 (774) **
	500	6.10 ±10.57 (18.3) ***	NC (1) ***	59.0 ±102.2 (177) ***	BLQ	NC	NC

平均値±標準偏差（n=3）
BLQ：定量下限（7.86 pg/mL）未満、NC：算出せず
*：カッコ内は中央値
**：1/3 例（動物番号：[redacted]02）の個別値を表示
***：1/3 例（動物番号：[redacted]03）の個別値を表示

雌雄カニクイザルに NPC-26 を 5、100 及び 500 μg/kg の用量で 26 週間間歇吸入投与したときの初回投与後の血漿中 rhGM-CSF 濃度は、5 μ/kg 群では全例で定量下限未満であった。100 及び 500 μg/kg 群では、吸入投与したときの rhGM-CSF の吸収は速やかであり、血漿中 rhGM-CSF 濃度は 0.25～0.75 時間に C_{max} に達した。投与量の増加に伴い、C_{max} 及び AUC_{0-24h} ともに上昇し、その上昇率は投与量の増加率よりも大きかった。雌雄の薬物動態パラメーターに明確な相違は見られなかった。

間歇投与後では、雌雄各 1 例を除く全ての個体の血漿中 rhGM-CSF 濃度は定量限界未満であり、後述する抗 GM-CSF 抗体産生の影響によると考えられた。100 μg/kg 群の雌 1 例(動物番号[redacted]02)の投与 91 日及び 175 日、並びに 500 μg/kg 群の雄 1 例（動物番号[redacted]03）の投与 175 日のみにおいて低濃度の血漿中 rhGM-CSF 濃度が検出された。これらの個体の血清中抗 GM-CSF 抗体濃度は他の動物と比較して低値であった（表 2.6.4-4)。



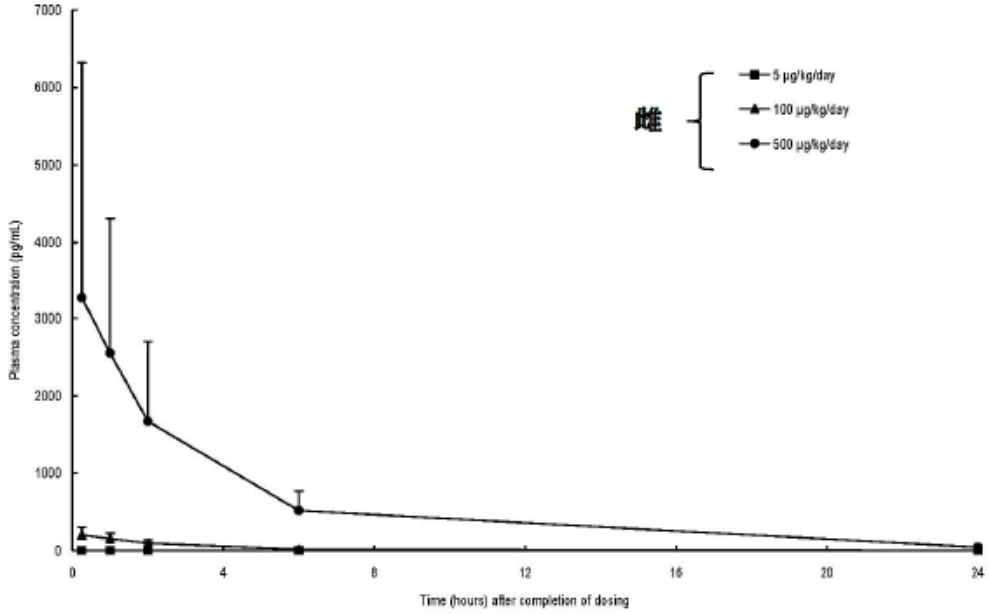


図 2.6.4-1　雌雄カニクイザルに NPC-26 を単回吸入投与したときの血漿中 rhGM-CSF 濃度推移
3 例の平均値+標準偏差

【血清中抗 GM-CSF 抗体】

投与開始前並びに投与開始 28、84 及び 182 日目に全ての動物から血清試料を採取し、抗 GM-CSF 抗体濃度を測定した。測定結果を表 2.6.4-4 に示した。

表 2.6.4-4　雌雄カニクイザルに NPC-26 を 26 週間間歇吸入投与したときの血清中抗 GM-CSF 抗体濃度（μg/mL）

性別	投与量（μg/kg/day）	投与開始前	28 日目	84 日目	182 日目
雄	0	0.000 ±0.000	0.150 ±0.260	0.143 ±0.091	0.050 ±0.058
	5	0.000 ±0.000	2.377 ±2.105	16.053 ±4.114	23.032 ±13.069
	100	0.000 ±0.000	37.416 ±23.088	41.337 ±8.212	61.025 ±3.769
	500	0.000 ±0.000 (0.000) *	24.267 ±6.426 (17.359) *	41.009 ±34.114 (13.282) *	47.258 ±47.578 (9.217) *
雌	0	0.172 ±0.297	0.172 ±0.245	0.028 ±0.030	0.000 ±0.000
	5	0.000 ±0.000	0.318 ±0.386	17.909 ±6.555	22.615 ±4.502
	100	0.000 ±0.000 (0.000) **	21.375 ±19.328 (0.001) **	20.314 ±16.502 (1.431) **	36.614 ±32.978 (4.133) **
	500	0.150 ±0.260	45.821 ±10.018	88.889 ±8.930	128.659 ±34.172

平均値±標準偏差（n=3）
*：[redacted]03 の個別値
**：[redacted]02 の個別値

投与開始前の測定では、雌の 0 及び 500 μg/kg/day 群のそれぞれ 1/3 例に低濃度の抗 GM-CSF 抗体が検出されたが、その他の群では抗 GM-CSF 抗体は検出されなかった。

投与 28 日の被験物質投与群では、雌 100 μg/kg/day 群の 1 例（[redacted]02）を除く全例で抗 GM-CSF 抗体の明確な上昇が認められた。0 μg/kg/day 群では、雄の 1/3 例、雌の 3/3 例に抗 GM-CSF 抗体が検出された。

投与 84 日の被験物質投与群の各用量群では、投与 28 日と比較して高濃度又は同程度の抗 GM-CSF 抗体が全例で検出された。0 μg/kg/day 群では、雄の 3/3 例、雌の 2/3 例に抗 GM-CSF 抗体が検出された。

投与 182 日の被験物質投与群の各用量群でも、投与 84 日と比較して高濃度又は同程度の抗 GM-CSF 抗体が検出された。投与 28 日に低値を示した 1 例（[redacted]02）の血清中抗 GM-CSF 抗体濃度は他の個体と比較するとやはり低値であった。0 μg/kg/day 群では、雄の 2/3 例に抗 GM-CSF 抗体が検出され、雌では検出されなかった。間歇投与後に血漿中 GM-CSF 濃度が検出された 2 例（[redacted]02 及び [redacted]03、表 2.6.4-3）の血清中抗 GM-CSF 抗体濃度は他の個体と比較して低値であった。

以上のように、被験物質投与群では雌雄の全例において血清中に抗 GM-CSF 抗体が検出された。投与開始前あるいは 0 μg/kg/day 群においても抗 GM-CSF 抗体が検出されたが、散発的であり、被験物質投与群に比較していずれも低濃度であった。

2.6.4.3.2 アカゲザル単回投与

＜添付資料 4.2.2.2-1 参考＞

微生物に発現させた糖鎖を持たない rhGM-CSF を雄アカゲザルに単回静脈内投与（5 及び 50 μg/kg）及び皮下投与（5 μg/kg）したときの ELISA 法により測定した血漿中 rhGM-CSF 濃度推移から求めた薬物動態パラメーターを表 2.6.4-5 に、血漿中濃度推移を図 2.6.4-2 に示した。

表 2.6.4-5　雄アカゲザルに rhGM-CSF を単回静脈内及び皮下投与したときの薬物動態パラメーター

投与経路	静脈内		皮下
投与量（μg/kg）	5	50	5
$T_{1/2\alpha}$（h）	0.070±0.017	0.050±0.010	1.36±0.11
$T_{1/2\beta}$（h）	0.58±0.50	0.140±0.017	2.5±0.3
$T_{1/2\gamma}$（h）	4.1±5.6	1.40±0.17	－
Vc（mL）	444±52	446±61	－
CL（L/h）	2.3±0.4	2.17±0.21	2.2±0.3 [a)]
AUC（μg･h/L）	11.3±1.3	120±4	6.9±0.8
T_{max}（h）	－	－	2.65±0.14
C_{max}（μg/L）	－	－	0.93±0.16
生物学的利用率（%）	－	－	61 [b)]

平均値±標準偏差（n=3）
a：生物学的利用率 61%で補正した値
b：生物学的利用率＝皮下投与時の AUC の平均値÷静脈内投与時の AUC の平均値×100
－：該当しない

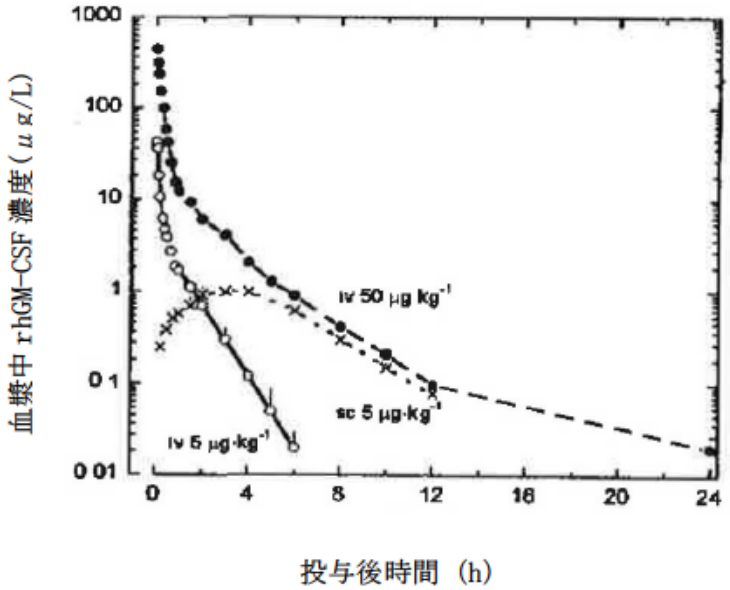


図 2.6.4-2　雄性アカゲザルに rhGM-CSF を単回静脈内及び皮下投与したときの血漿中 rhGM-CSF 濃度推移

微生物に発現させた糖鎖を持たないrhGM-CSFをアカゲザルに5及び50 μg/kgの用量で単回静脈内投与したとき、血漿中rhGM-CSF濃度は3相性を示して速やかに低下した。5及び50 μg/kg投与時のAUCはそれぞれ11.3及び120 μg･h/Lであり、投与量に比例して上昇し、Vcはそれぞれ444及び446 mL、CLはそれぞれ2.3及び2.17 L/hであり、投与量に依存した変化はみられなかったことから、rhGM-CSFの体内動態はこの用量範囲で線形性を示すと考えられた。

皮下投与（5 μg/kg）後、rhGM-CSFは速やかに吸収され、投与後2.6時間にC_{max}（0.93 μg/L）に達した。静脈内投与時のAUCに対する比として求めた生物学的利用率は61%であった。

2.6.4.3.3 吸入投与時の生物学的利用率

＜添付資料4.2.3.2-5、4.2.2.2-1参考＞

NPC-26の静脈内投与試験は実施していないため、微生物に発現させた糖鎖を持たないrhGM-CSFをアカゲザルに単回静脈内投与したときのAUC（表 2.6.4-5）に対する比として吸入投与時の生物学的利用率を推定し、表 2.6.4-6に示した。推定された生物学的利用率は0.28～1.25%と小さな値であった。

表 2.6.4-6　カニクイザルに吸入投与したときの生物学的利用率

投与経路	性別	投与量（μg/kg）	AUC_{0-24h}[a)]（pg･h/mL）	AUC[b)]（μg･h/L）	生物学的利用率（%）	
					5 μg/kgを基準	50 μg/kgを基準
吸入	雄	100	1060	－	0.47	0.44
	雌	100	639	－	0.28	0.27
	雄	500	9750	－	0.86	0.81
	雌	500	14100	－	1.25	1.18
静脈内	雄	5	－	11.3	－	－
		50	－	120	－	－

a：表 2.6.4-3から転載
b：表 2.6.4-5から転載
－：該当しない
生物学的利用率＝[吸入投与時のAUC/投与量]÷[静脈内投与時のAUC/投与量]×100

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 アカゲザル組織中濃度

＜添付資料 4.2.2.3-1 参考＞

CHO 細胞に発現させた糖鎖を有する rhGM-CSF を[^{123}I]又は[^{35}S]で標識し、これら混合して雌アカゲザルに単回静脈内投与（15 及び 300 μg/kg）した。首から骨盤を含むように背面からγ-カメラで撮像し、γ-シンチグラムにより放射能の組織分布を観察した。300 μg/kg の 1 例を代表例として図 2.6.4-3 に示した。

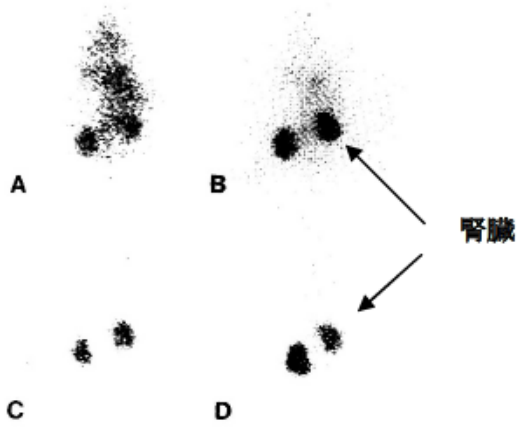


図 2.6.4-3　[^{123}I]rhGM-CSF をアカゲザルに単回静脈内投与（300 μg/kg）したときのγ-シンチグラム（A：投与後 1 分、B：投与後 5 分、C：投与後：10 分、D：投与後 30 分）

15 及び 300 μg/kg の用量群から得られたシンチグラムは非常に類似し、シンチグラム上では脾臓、肝臓、腎臓、心臓への放射能の分布が観察された。中でも腎臓には急速に高濃度の放射能の分布が観察された。

γ-シンチグラフィにより測定した心臓及び腎臓の放射能の経時推移を図 2.6.4-4 に示した。

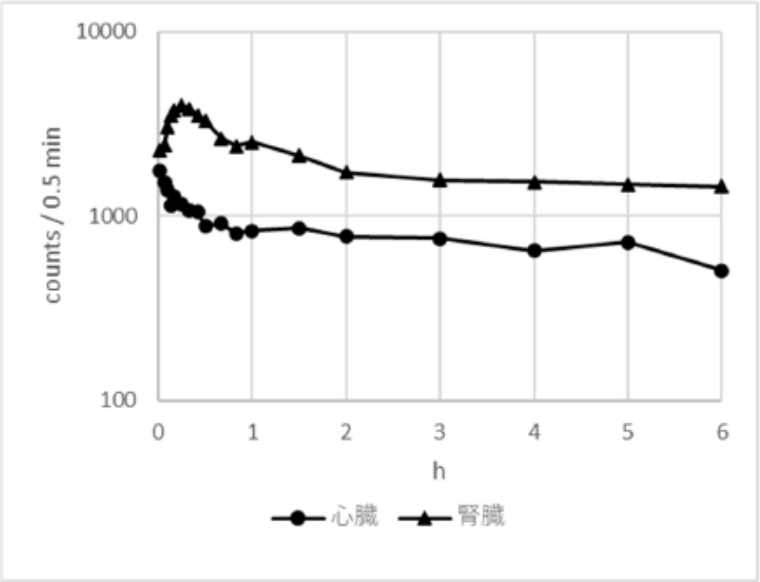


図 2.6.4-4　[^{123}I]rhGM-CSF をアカゲザルに単回静脈内投与（15 μg/kg）したときの心臓及び腎臓中放射能の推移（n=1）

心臓中放射能は投与直後に最高値を示した後 2 相性に消失した。消失半減期は $T_{1/2\alpha}$＝0.12～0.16 h 及び $T_{1/2\beta}$＝8.7～10.3 h であり、血漿中放射能の消失半減期（$T_{1/2\alpha}$＝0.15 h 及び $T_{1/2\beta}$＝5.3～7.0 h）と近似した値を示した。一方、腎臓中放射能は、投与後 15 分に最高値を示した後、心臓中放射能とほぼ並行して消失した。

アカゲザルの背面から検出した総カウントは、投与後 0.017 及び 6 h でそれぞれ 19670 及び 11506 counts/0.5 min であり、投与後 6 時間までに体内放射能の 42%が消失した。この結果は、投与後 6 時間までの[^{123}I]の尿中排泄率である 37%（2.6.4.6.1）と概ね一致した。

遠心分離により血液を血漿画分と細胞画分に分離したとき、細胞画分に放射能は検出されなかった。

低タイターの抗 GM-CSF 抗体（IgG 及び IgM）を有するアカゲザル 1 例に[^{123}I]rhGM-CSF を単回静脈内投与（15 μg/kg）したときのγ-シンチグラムを図 2.6.4-5 に示した。



図 2.6.4-5　抗 rhGM-CSF 抗体を有するアカゲザルに[^{123}I]rhGM-CSF を投与したときのγ-シンチグラム

肝臓への速やかかつ高濃度の放射能分布が認められた。抗 GM-CSF 抗体を持たないサルで見られた腎臓への高濃度の分布（図 2.6.4-3）が認められず、抗 GM-CSF 抗体により rhGM-CSF の主たる組織分布が腎臓から肝臓に変化することが示された。

2.6.4.4.2 マウス組織中濃度

＜添付資料 4.2.2.3-2 参考＞

[^{125}I]標識した mGM-CSF 又はマウス血清アルブミン（MSA）をマウスに単回静脈内投与したときの組織中放射能濃度を表 2.6.4-7 に示した。

表 2.6.4-7　[^{125}I]標識したmGM-CSF 又はMSA をマウスに単回静脈内投与したときの組織中放射能濃度

組織/臓器	放射能濃度（% of dose/g）			
	投与後 1 h [a)]		投与後 6 h [b)]	
	[^{125}I]mGM-CSF	[^{125}I]MSA	[^{125}I]mGM-CSF	[^{125}I]MSA
肝臓	28.5	15.3	12.2	8.9
脾臓	28.5	12.8	8.6	7.9
腎臓	71.3	43.4	20.8	6.5
唾液腺	42.8	38.3	63.2	64.8
胸腺	14.3	14.3	7.0	7.2
脳	5.7	2.6	0.8	0.7
筋肉	5.7	5.1	2.6	2.4
耳	11.4	6.1	6.0	7.2
甲状腺 [c)]	600	2300	5000	11000
尿	200	383	122	422
血液	17.1	7.7	1.3	0.7
骨髄	5.1	2.6	1.0	1.2

a：4 例の平均値
b：8 例の平均値
c：% of dose/whole organ（$\times 10^3$）

[^{125}I]標識したmGM-CSF をマウスに静脈内投与後 1 時間に最も高い放射能濃度が認められたのは甲状腺であった。次いで、尿＞腎臓＞唾液腺＞肝臓＝脾臓＞血液＞胸腺＞耳＞筋肉＝脳＞骨髄の順に高濃度の放射能が検出された。投与後 6 時間には、甲状腺及び唾液腺中放射能は上昇したが、その他の組織中放射能は減少した。

[^{125}I]標識したMSA をマウスに静脈内投与後 1 時間に最も高い放射能濃度が認められたのは甲状腺であった。次いで、尿＞腎臓＞唾液腺＞肝臓＞胸腺＞脾臓＞血液＞耳＞筋肉＞脳＝骨髄の順に高濃度の放射能が検出された。投与後 6 時間には、甲状腺、尿、唾液腺及び耳の放射能が上昇したが、その他の組織中放射能は減少した

[^{125}I]mGM-CSF と[^{125}I]MSA 投与後の放射能の分布傾向は概ね一致し、明確な相違は見られなかった。いずれ場合にも甲状腺に高濃度の放射能が検出されたが、遊離した[^{125}I]が甲状腺に取り込まれたものと考えられる。また、尿中の放射能は、TCA で沈殿しなかったことから低分子分解物であると考えられた。

2.6.4.4.3 胎盤通過

＜添付資料 4.2.2.3-3 参考＞

正常分娩後の妊婦の胎盤を用いて rhGM-CSF の胎盤通過性を検討した。母体側動脈及び反対（胎児）側臍帯動脈からそれぞれ同時にかん流を開始し、母体側かん流液に rhGM-CSF を添加（9.718～54.815 μg/mL）した。母体側かん流液及び胎児側かん流液をそれぞれ経時的に採取して、ELISA により測定したかん流液中 rhGM-CSF 濃度を表 2.6.4-8 に示した。

表 2.6.4-8　ヒト胎盤かん流実験における GM-CSF の胎盤通過性

かん流液中 rhGM-CSF 濃度（ng/mL）			
胎盤番号	母体側	胎児側	胎児/母体 %
1	7324.278	130.057	1.775
2	32726.285	9.642	0.029
3	40653.142	696.857	1.714
4	7894.642	223.785	2.834
5	16692.5	258.0	1.545
6	16822.428	99.785	0.593
7	22995.857	372.0	1.617
8	6966.428	340.785	4.891
9	8274.428	458.0	5.535
10	14832.0	545.5	3.677
平均値 標準偏差 95%信頼区間	計算していない	計算していない	2.421 0.567 1.183-3.704

母体側かん流液に rhGM-CSF を添加後、胎児側かん流液に rhGM-CSF が検出され、rhGM-CSF が胎盤を通過することが確認された。胎児側かん流液中の rhGM-CSF 濃度は、母体側かん流液中濃度の 2.4%と低濃度であった。

2.6.4.5 代謝

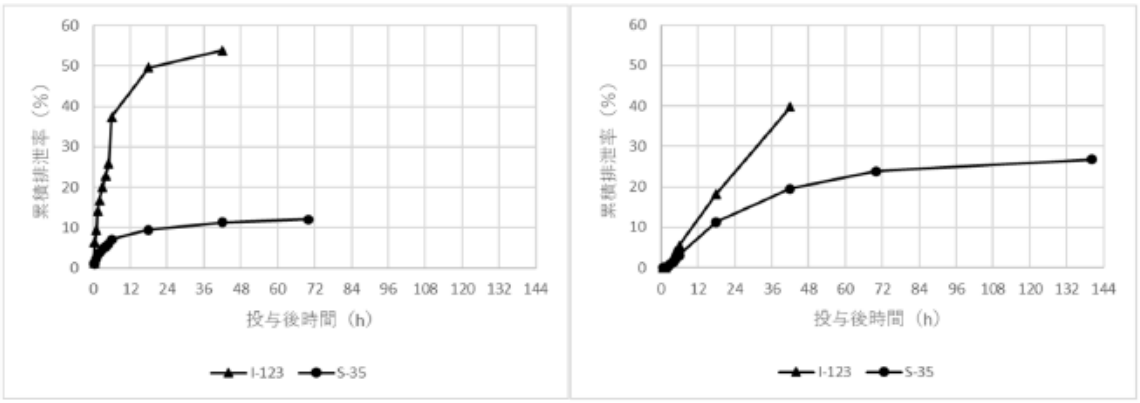
該当する試験を実施しなかった。

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 アカゲザル尿中排泄

＜添付資料 4.2.2.3-1 参考＞

CHO 細胞に発現させた糖鎖を有する rhGM-CSF を[^{123}I]又は[^{35}S]で標識し、これら混合してアカゲザルに単回静脈内投与（15 μg/kg）又は単回皮下投与（10 μg/kg）したときの放射能（[^{123}I]及び[^{35}S]）の尿中累積排泄率を図 2.6.4-6 に示した。



静脈内投与（n=1）　　皮下投与（n=1）

図 2.6.4-6　[^{123}I]及び[^{35}S]の尿中累積排泄率

静脈内又は皮下投与後 15～90 分という早い時間に、尿中に[^{123}I]及び[^{35}S]が検出され、その後、時間の経過とともに排泄率が増加した。

静脈内投与後の[^{123}I]の累積排泄率は、投与後 6 時間までに 37%、42 時間までに 54%であり、[^{35}S]の累積排泄率は投与後 70 時間までに 12%であった。投与後 6 時間までの[^{123}I]の累積排泄率（37%）は、γ-シンチグラフィにより測定した放射能の減少率（42%、2.6.4.4.1）と概ね一致した。

皮下投与後の[^{123}I]の累積排泄率は投与後 42 時間までに 40%であり、[^{35}S]の累積排泄率は投与後 140 時間までに 27%であった。いずれの投与経路においても[^{35}S]の排泄は[^{123}I]に比較して遅延したが、代謝/分解物である[^{35}S]メチオニンが尿細管から再吸収されるためであろうと推測した。

2.6.4.6.2 マウス尿中排泄

＜添付資料 4.2.2.3-2 参考＞

[^{125}I]で標識した mGM-CSF 又は MSA をマウスに静脈内投与したときの尿中放射能濃度を測定し、表 2.6.4-9 に示した。

表 2.6.4-9　[^{125}I]標識した mGM-CSF 又は MSA をマウスに静脈内投与したときの尿中放射能濃度

尿及び血液中放射能濃度（% of dose/g）[a]				
試料	投与後 1 h [b]		投与後 6 h [c]	
	[^{125}I]mGM-CSF	[^{125}I]MSA	[^{125}I]mGM-CSF	[^{125}I]MSA
尿	200	383	122	422
血液	17.1	7.7	1.3	0.7
尿/血液	11.7	49.7	93.8	603

a：表 2.6.4-7 から転載
b：4 例の平均値
c：8 例の平均値

[^{125}I]で標識した mGM-CSF をマウスに静脈内投与したとき、高濃度の放射能が尿中に検出された。投与後 1 及び 6 時間における尿中放射能濃度は、それぞれ 200 及び 122% of dose/g であり、血液中放射能濃度のそれぞれ 11.7 倍及び 93.8 倍であった。尿中放射能は TCA で沈殿しなかったことから、低分子分解物であると考えられた。

[^{125}I]で標識した MSA をマウスに静脈内投与したときと比較して、[^{125}I]mGM-CSF の尿中放射能濃度が低く、血液中放射能濃度が高いことから[^{125}I]mGM-CSF の代謝及び排泄は[^{125}I]MSA と比較してやや緩徐であると推察された。

2.6.4.6.3 胆汁中排泄

該当する試験を実施しなかった。

2.6.4.6.4 乳汁中排泄

該当する試験を実施しなかった。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

該当する試験を実施しなかった。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

該当する試験を実施しなかった。

2.6.4.9 考察及び結論

【吸収】

NPC-26 を雌雄カニクイザルに 26 週間間歇吸入投与したとき、初回投与後の血漿中に rhGM-CSF が検出されたことから、NPC-26 は吸入投与により全身循環へ吸収されることが明らかとなった。T_{max} は 0.25～0.75 時間であり、吸入投与時の NPC-26 の吸収は速やかであった。C_{max} 及び AUC_{0-24h} は投与量の増加に伴い上昇し、その上昇率は投与量の増加率よりも大きかった。雌雄の薬物動態パラメーターに明確な相違は見られなかった。

NPC-26 の静脈内投与試験は実施していないため、微生物に発現させた糖鎖を持たない rhGM-CSF をアカゲザルに単回静脈内投与したときの AUC に対する比として吸入投与時の生物学的利用率を推定した。生物学的利用率の推定値は 0.28～1.25%と小さな値であり、吸入投与時の NPC-26 の全身循環への移行はわずかであることが明らかとなった。

Hovgaard et al.(1993)[2] は、rhGM-CSF の体内動態に及ぼす糖鎖の影響をヒトにおいて比較している。それによると、大腸菌に発現させた糖鎖を持たない rhGM-CSF と CHO 細胞に発現させた糖鎖を有する rhGM-CSF を被験者に単回静脈内投与したときの AUC は、糖鎖を有する rhGM-CS の方が糖鎖を持たない rhGM-CSF に比較して 2.4 倍大きかった。また、糖鎖の影響に関しては、G-CSF についても同様の比較がラットにおいて検討されており、静脈内投与後の AUC は糖鎖を有する rhG-CS の方が糖鎖を持たない rhG-CSF に比較して大きいことが報告されている[3]。

上記の NPC-26 の生物学的利用率の推定においては、糖鎖を持たない rhGM-CSF を基準としているため、糖鎖を有する NPC-26 を基準とした場合には、更に小さな値となる可能性がある。このことから、吸入投与時の NPC-26 の生物学的利用率は大きく見積もったとしても 1%程度であろうと推察した。

NPC-26 の間歇投与後では、全てのカニクイザルの血清中に抗 GM-CSF 抗体が検出された。26 週間間歇吸入投与毒性試験において、投与 8 日に認められた rhGM-CSF の薬理作用と考えられる変化が投与 92 日及び 176 日にはほぼ消失したことから＜CTD2.6.6.3.2.4＞、rhGM-CSF と抗 GM-CSF 抗体が免疫複合体を形成し薬理作用を中和した可能性が考えられた。後述するように、rhGM-CSF と抗 GM-CSF 抗体との免疫複合体の生成は、分布試験からも示唆されている。

投与 91 日及び 175 日の血漿中には rhGM-CSF が検出されなかった。血漿中 rhGM-CSF 濃度は ELISA により測定しており、この方法では抗 rhGM-CSF 抗体により rhGM-CSF をサンドイッチすることにより検出している。従って、試料中の rhGM-CSF と抗 GM-CSF 抗体が免疫複合体を形成したために、ELISA に検出されなかった可能性が考えられた[4]。

【分布、代謝及び排泄】

微生物に発現させた rhGM-CSF をアカゲザルに 5 及び 50 μg/kg の用量で単回静脈内投与したとき、ELISA で測定した血漿中 rhGM-CSF 濃度推移から求めた中央コンパートメントの分布容積は、それぞれ 444 及び 446 mL であった。これらの値は、サルの血漿容積（224 mL）[5]と細胞外容積（1040 mL）[5]の中間の値であったことから、rhGM-CSF は血管内腔から細胞間隙に移行するものの、細胞内への移行性は大きくはないものと推察された。

CHO 細胞に発現させた糖鎖を有する rhGM-CSF の[^{123}I]標識体及び[^{35}S]標識体を混合してアカゲザルに単回静脈内投与したとき、[^{123}I]は高濃度かつ速やかに腎臓に分布し、投与後 15 分に最高値を示した。その後の腎臓中[^{123}I]は血漿中[^{123}I]とほぼ並行して消失し、投与後 6 時間には最高濃度の 36.8%に低下した。同様に、静脈内投与後の尿中排泄を検討した結果、投与後 6 時間までに投与した[^{123}I]の 37%が尿中に排泄された。これらのことから、静脈内投与後の rhGM-CSF は速やかに腎臓に分布した後、尿中に排泄されるものと推察された。

[^{125}I]標識した mGM-CSF をマウスに単回静脈内投与したときにも同様の結果が得られた。[^{125}I]標識した mGM-CSF をマウスに単回静脈内投与したとき、投与後 1 及び 6 時間の腎臓に高濃度の放射能が分布するとともに、同時点の尿中に高濃度の放射能が検出された。尿中放射能の大部分は TCA 可溶性の低分子成分であったことから、rhGM-CSF は静脈内投与後腎臓に分布し、ペプチド、アミノ酸等の低分子に代謝され、尿中に排泄されるものと考えられた。

rhGM-CSF の体内動態に対する抗 GM-CSF 抗体の影響を調べるために、抗 GM-CSF 抗体を有するアカゲザルに[^{123}I]で標識した rhGM-CSF を単回静脈内投与した。その結果、肝臓への放射能の集積が認められ、抗 GM-CSF 抗体を持たないアカゲザルに投与したときに認められた腎臓への集積とは異なった結果となった。また、マウス抗体をアカゲザルに投与したときにも、マウス抗体に対する抗体の存在により、マウス抗体の分布が腎臓から肝臓に変化したことが報告されている[6)]。これらのことから、rhGM-CSF が抗 GM-CSF 抗体と結合した免疫複合体が肝臓に分布したものと推察された。

[^{123}I]で標識した rhGM-CSF を静脈内投与（15 μg/kg）した後の血液を遠心分離により血漿画分と細胞画分に分画したとき、細胞画分には放射能が検出されなかったことから、rhGM-CSF は末梢の血球への移行性は低いことが示された。

ヒト摘出胎盤を用いた in vitro 胎盤かん流試験により rhGM-CSF の胎盤通過性を評価した結果、rhGM-CSF は胎盤を通過することが示された。

乳汁中排泄試験は実施していないが、ヒト母乳中には血清中濃度を上回る GM-CSF の存在が報告されている[7)]ことから、GM-CSF は乳汁中に移行すると考えられる。この報告では、母乳又は調製ミルクを出生後 5 日間摂取した新生児の血清中 GM-CSF 濃度に差がなかったことから、経口摂取した GM-CSF は全身循環に吸収されないであろうと推測している。

【薬物動態学的薬物相互作用】

該当する試験を実施しなかったが、NPC-26 はバイオ医薬品であり、バイオ医薬品は CYP で代謝されず薬物トランスポーターに輸送されないため、NPC-26 の薬物動態学的薬物相互作用のリスクは小さいと考えられる。

【結論】

以上のことから、吸入投与したときのNPC-26の投与部位からの吸収は極めて僅かであり、吸収され全身循環に移行したrhGM-CSFは速やかに腎臓に分布する一方、ペプチド又はアミノ酸等の低分子に代謝され尿中に排泄されるものと考えられた。また、循環血中に抗GM-CSF抗体が存在する場合、rhGM-CSFは抗GM-CSF抗体と結合して免疫複合体を形成し、肝臓へ移行することが示唆された。

2.6.4.10 図表

本文中に記載した。

2.6.4.11 参考文献

1) Quantikine® ELISA Human GM-CSF Immunoassay. 2015; R&D Systems, Inc.
2) Hovgaard D, Mortensen BT, Schifter S, et al. Comparative pharmacokinetics of single-dose administration of mammalian and bacterially-derived recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. Eur J Haematol 1993;50(1):32-6
3) 岡野健ら. 遺伝子組換え型ヒト顆粒球コロニー形成刺激因子(rG･CSF)の体内動態における糖鎖の役割(1)：脱糖鎖型rG･CSFおよび大腸菌産生rG-CSFを用いた検討. 薬物動態. 1993;8(6):1181-90
4) Nakano R, Nakagaki K, Itoh Y, et al. Assay system development to measure the concentration of sargramostim with high specificity in patients with autoimmune pulmonary alveolar proteinosis after single-dose inhalation. J Immunol Methods 2018;460:1-9
5) Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. Pharm Res 1993;10(7):1093-5
6) Burchiel SW, Hadjian RA, Hladik WB, et al. Pharmacokinetic evaluation of technetium-99-metallothionein-conjugated mouse monoclonal antibody B72.3 in rhesus monkeys. J Nucl Med 1989;30(8):1351-7
7) Gasparoni A, Chirico G, De Amici M, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in human milk. Eur J Pediatr 1996;155(1):69

目次

略語・略号一覧 2
2.6.5 薬物動態試験概要表 3
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 3
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 5
2.6.5.3 薬物動態試験：吸収 7
2.6.5.4 薬物動態試験：分布 13
2.6.5.5 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 19
2.6.5.6 薬物動態試験：代謝 22
2.6.5.7 薬物動態試験：排泄 23
2.6.5.8 薬物動態試験：薬物相互作用 24
2.6.5.9 薬物動態試験：その他 24

略語・略号一覧

略語・略号	内容
AUC	血漿中濃度時間曲線下面積
AUC_{0-24h}	投与後 24 時間までの血漿中濃度時間曲線下面積
BLQ	定量下限未満
CHO 細胞	チャイニーズハムスター卵巣細胞
CL	クリアランス
C_{max}	最高血漿中濃度
ELISA	酵素免疫測定法
GM-CSF	顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
h	時間
LSC	液体シンチレーションカウンター
mGM-CSF	マウス顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
MSA	マウス血清アルブミン
n	例数
PBS	リン酸緩衝生理食塩水
rhGM-CSF	遺伝子組換えヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
TCA	トリクロロ酢酸
T_{max}	最高血漿中濃度到達時間(C_{max} 到達時間)
$T_{2/1\alpha}$	α 相の消失半減期
$T_{2/1\beta}$	β 相の消失半減期
$T_{2/1\gamma}$	γ 相の消失半減期

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

試験の種類		試験系	投与方法	実施施設又は出典	試験番号	添付資料
分析方法及びバリデーション試験						
	測定対象：GM-CSF	カニクイザル血漿	－	[redacted]	[redacted]	＜4.2.2.1-1 参考＞
	測定対象：抗 GM-CSF 抗体	カニクイザル血清	－	[redacted]	[redacted]	＜4.2.2.1-2 参考＞
吸収						
	反復投与（トキシコキネティクス）	カニクイザル	26 週間間歇吸入	[redacted]	[redacted]	＜4.2.3.2-5＞
	単回投与	アカゲザル	静脈内、皮下	Acta pharmacologica Sinica 1998;19(1):50-3	－	＜4.2.2.2-1 参考＞
分布						
	組織中濃度	アカゲザル	静脈内	Int J Immunopharmacol 1994;16(2):75-90	－	＜4.2.2.3-1 参考＞
		マウス	静脈内	Exp Hematol 1977;5(6):456-64	－	＜4.2.2.3-2 参考＞
妊娠又は授乳動物における試験						
	胎盤通過	ヒト摘出胎盤	in vitro	J Soc Gynecol Investig 1999;6(6):307-10	－	＜4.2.2.3-3 参考＞
	乳汁排泄	該当する試験を実施していない				
代謝		該当する試験を実施していない				
排泄						
	尿中排泄	アカゲザル	静脈内、皮下	Int J Immunopharmacol 1994;16(2):75-90	－	＜4.2.2.3-1 参考＞
		マウス	静脈内	Exp Hematol 1977;5(6):456-64	－	＜4.2.2.3-2 参考＞
	胆汁中排泄	該当する試験を実施していない				

薬物動態学的薬物相互作用	該当する試験を実施していない

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

2.6.5.2.1 カニクイザル血漿中 GM-CSF 濃度測定法のバリデーション

＜添付資料 4.2.2.1-1 参考＞

動物種	カニクイザル
マトリックス	血漿
測定方法	ELISA
測定キット	Quantikine® ELISA kit Human GM-CSF
メーカー	R&D systems, Inc.
血漿試料の前処理	なし（そのまま測定、必要に応じてブランク血漿で希釈）
定量用標準物質	NPC-26
定量範囲	7.86～500 pg/mL 血漿
検量線の回帰方法	Logistic/4 係数法
選択性	個体別ブランク血漿（n=10）：全例 BLQ（＜7.86 pg/mL） 個体別ブランク血漿に 15.7 pg/mL 添加したときの真度（n=10）：96.2～109.6%
日内再現性（n=3）	添加濃度：7.86, 15.7, 100, 350 及び 500 pg/mL ・真度：88.6～101.3% ・精度：1.7～3.6% ・トータルエラー：3.0～15.0%
日間再現性 （各日 n=3×6 日間、n=18）	添加濃度：7.86, 15.7, 100, 350 及び 500 pg/mL ・真度：95.0～104.5% ・精度：4.6～6.7% ・トータルエラー：7.1～10.4%
希釈直線性	12.5～200 倍
フック効果	認められない
血漿中での安定性（室温）	室温：24 時間／添加濃度：15.7 及び 350 pg/mL
血漿中での安定性（凍結融解）	5 サイクル（凍結：－80℃、融解：室温） 添加濃度：15.7 及び 350 pg/mL
血漿中での安定性（凍結）	－80 ℃：4 週間（28 日間）／添加濃度：15.7 及び 350 pg/mL
標準溶液の安定性	－80℃：4 週間（28 日間）／添加濃度：50000000 pg/mL
	4℃：4 週間（28 日間）／添加濃度：393 及び 25000 pg/mL
	室温：24 時間／添加濃度：393 及び 25000 pg/mL
試験施設	[redacted]
試験番号	[redacted]
適用した試験	試験番号：[redacted] 添付資料：＜4.2.3.2-5＞

2.6.5.2.2 カニクイザル血清中抗 GM-CSF 抗体濃度測定法のバリデーション

＜添付資料 4.2.2.1-2 参考＞

動物種	カニクイザル
マトリックス	血清
測定方法	ELISA
血清試料の前処理	希釈液（0.1%ヤギ血清及び 0.1%Tween20 を含む PBS）で 3000 倍希釈
定量用標準物質	抗ヒト GM-CSF 抗体
定量範囲	0.781～50 ng/mL（標準液濃度として） 2.343～150 μg/mL（血清中濃度として）
検量線の回帰方法	Logistic/4 係数法
日内再現性	低濃度、中濃度及び高濃度試料をそれぞれ 3000 倍希釈した後、5 回繰り返し測定 ・低濃度：5.085±0.532 μg/mL CV%=10% ・中濃度：26.300±0.738 μg/mL CV%=3% ・高濃度：84.560±1.781 μg/mL CV%=2%
日間再現性	低濃度、中濃度及び高濃度試料を、1 回希釈法及び 2 段階希釈法でそれぞれ 3000 倍希釈した後、3 日間繰り返し測定 ＜1 回希釈法（血清試料 10 μL＋希釈液 30 mL）＞ ・低濃度：4.943±0.647 μg/mL CV%=13% ・中濃度：27.936±3.334 μg/mL CV%=12% ・高濃度：85.729±0.387 μg/mL CV%=0% ＜2 段階希釈法（50 倍希釈した後、さらに 60 倍希釈）＞ ・低濃度：5.116±0.754 μg/mL CV%=15% ・中濃度：29.115±4.041 μg/mL CV%=14% ・高濃度：89.602±8.597 μg/mL CV%=10%
希釈直線性	3000～24000 倍
血清中凍結保存安定性	－80 ℃で 3 ヵ月間
試験施設	[redacted]
試験番号	[redacted]
適用した試験	試験番号：[redacted] 添付資料：＜4.2.3.2-5＞

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収

2.6.5.3.1 カニクイザル 26 週間間歇吸入投与（トキシコキネティクス）

＜添付資料 4.2.3.2-5＞

被験物質：NPC-26

動物種／投与開始時齢	カニクイザル/雄：3 歳、雌：3～4 歳
性別／動物数	雌雄／各群 3 例
給餌	採血日は投与終了後 4 時間以降に給餌した
媒体	1 L 中に Tris（pH 7.4）1.2 g，Mannitol 40 g 及び Sucrose 10 g を含む溶液
投与方法／投与回数	吸入投与／動物をモンキーチェアに保定し，吸入用マスクを装着した。マスクにネブライザー（パリ・LC スプリントスターネブライザー、パリ・ジャパン株式会社）を接続してネブライザー内に投与液を入れ、投与液がなくなるまで吸入させた。1日1回、1 週間連日投与，1 週間休薬を繰り返した。
投与量	5、100、500 μg/kg/day
測定対象（1）／試料／定量法	rhGM-CSF／血漿（抗凝固剤：ヘパリンナトリウム）／ELISA
測定対象（2）／試料／定量法	抗 GM-CSF 抗体／血清／ELISA

NPC-26 をカニクイザルに吸入投与したときの血漿中 rhGM-CSF 濃度及び薬物動態パラメーター（投与 1 日目）

性別	投与量（μg/kg/day）	rhGM-CSF 濃度（μg/mL） 0.25 h	1 h	2 h	6 h	24 h	C_{max} (pg/mL)	T_{max} (h)	AUC_{0-24h} (pg·h/mL)
雄	0	－	BLQ	－	－	－	－	－	－
	5	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	NC	NC
	100	376±485	254±324	150±181	24.5±28.3	BLQ	384±478	0.500±0.433 (0.25)*	1060±1270
	500	2920±3010	1880±1590	1000±590	343±319	42.8±52.2	2960±2960	0.500±0.433 (0.25)*	9750±5360
雌	0	－	BLQ	－	－	－	－	－	－
	5	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	NC	NC
	100	200±101	152±73	95.1±40.1	15.3±4.9	BLQ	200±101	0.250±0.000 (0.25)*	639±199
	500	3270±3050	2550±1760	1670±1030	517±251	43.6±20.7	3300±3020	0.750±0.433 (1)*	14100±8300

平均値±標準偏差（n=3）、*：中央値（最終報告書の個体別データより申請者が抽出）
BLQ：定量下限（7.86 pg/mL）未満、NC：算出せず

NPC-26 をカニクイザルに吸入投与したときの血漿中 rhGM-CSF 濃度及び薬物動態パラメーター（投与 91 日目）

性別	投与量（μg/kg/day）	rhGM-CSF 濃度（pg/mL）						C_{max} (pg/mL)	T_{max} (h)	AUC_{0-24h} (pg·h/mL)
		Pre	0.25 h	1 h	2 h	6 h	24 h			
雄	0	－	－	BLQ	－	－	－	－	－	－
	5	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	NC	NC
	100	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	NC	NC
	500	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	NC	NC
雌	0	－	－	BLQ	－	－	－	－	－	－
	5	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	NC	NC
	100	BLQ (8.04) *	BLQ (112) *	BLQ (144) *	BLQ (121) *	BLQ (47.7) *	BLQ (BLQ) *	48.0±83.1 (144) *	NC (1) *	337±583 (1010) *
	500	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	NC	NC

BLQ：定量下限（7.86 pg/mL）未満、NC：算出せず
＊：1/3 例（動物番号：[redacted]02）のみ血漿中 rhGM-CSF が検出されたので個別値を表示

NPC-26 をカニクイザルに吸入投与したときの血漿中 rhGM-CSF 濃度及び薬物動態パラメーター（投与 175 日目）

性別	投与量 (μg/kg/day)	rhGM-CSF 濃度 (pg/mL)						C_{max} (pg/mL)	T_{max} (h)	AUC_{0-24h} (pg·h/mL)
		Pre	0.25 h	1 h	2 h	6 h	24 h			
雄	0	–	–	BLQ	–	–	–	–	–	–
	5	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	NC	NC
	100	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	NC	NC
	500	BLQ (BLQ) *	BLQ (10.2) *	BLQ (18.3) *	BLQ (16.9) *	BLQ (10.3) *	BLQ (BLQ) *	6.10±10.57 (18.3) *	NC (1) *	59.0±102.2 (177) *
雌	0	–	–	BLQ	–	–	–	–	–	–
	5	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	NC	NC
	100	BLQ (BLQ) *	BLQ (62.1) **	BLQ (74.3) **	BLQ (78.6) **	BLQ (43.8) **	BLQ (BLQ) **	26.2±45.4 (78.6) **	NC (2) **	258±447 (774) **
	500	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	NC	NC

BLQ：定量下限（7.86 pg/mL）未満、NC：算出せず
*：1/3 例（動物番号：[redacted]03）のみ血漿中 rhGM-CSF が検出されたので個別値を表示
**：1/3 例（動物番号：[redacted]02）のみ血漿中 rhGM-CSF が検出されたので個別値を表示

NPC-26 をカニクイザルに吸入投与したときの血清中抗 GM-CSF 抗体濃度（μg/mL）						
性別	投与量（μg/kg/day）	動物番号	投与開始前	28 日目	84 日目	182 日目
雄	0	[redacted]01	0.000	0.450	0.240	0.000
		[redacted]02	0.000	0.000	0.129	0.036
		[redacted]03	0.000	0.000	0.059	0.113
		平均	0.000	0.150	0.143	0.050
		標準偏差	0.000	0.260	0.091	0.058
	5	[redacted]01	0.000	4.355	20.284	35.947
		[redacted]02	0.000	2.611	15.807	23.336
		[redacted]03	0.000	0.164	12.067	9.814
		平均	0.000	2.377	16.053	23.032
		標準偏差	0.000	2.105	4.114	13.069
	100	[redacted]01	0.000	14.196	33.183	56.766
		[redacted]02	0.000	37.683	49.606	62.380
		[redacted]03	0.000	60.370	41.222	63.929
		平均	0.000	37.416	41.337	61.025
		標準偏差	0.000	23.088	8.212	3.769
	500	[redacted]01	0.000	30.068	79.104	100.605
		[redacted]02	0.000	25.375	30.641	31.953
		[redacted]03	0.000	17.359	13.282	9.217
		平均	0.000	24.267	41.009	47.258
		標準偏差	0.000	6.426	34.114	47.578

NPC-26 をカニクイザルに吸入投与したときの血清中抗 GM-CSF 抗体濃度（μg/mL）						
性別	投与量 （μg/kg/day）	動物番号	投与開始前	28 日目	84 日目	182 日目
雌	0	[redacted]01	0.000	0.455	0.025	0.000
		[redacted]02	0.515	0.030	0.059	0.000
		[redacted]03	0.000	0.030	0.000	0.000
		平均	0.172	0.172	0.028	0.000
		標準偏差	0.297	0.245	0.030	0.000
	5	[redacted]01	0.000	0.129	18.164	23.507
		[redacted]02	0.000	0.762	24.332	26.604
		[redacted]03	0.000	0.062	11.230	17.734
		平均	0.000	0.318	17.909	22.615
		標準偏差	0.000	0.386	6.555	4.502
	100	[redacted]01	0.000	37.626	31.968	70.067
		[redacted]02	0.000	0.001	1.431	4.133
		[redacted]03	0.000	26.497	27.544	35.641
		平均	0.000	21.375	20.314	36.614
		標準偏差	0.000	19.328	16.502	32.978
	500	[redacted]01	0.000	51.303	85.427	99.372
		[redacted]02	0.000	51.902	99.032	166.203
		[redacted]03	0.450	34.259	82.208	120.401
		平均	0.150	45.821	88.889	128.659
		標準偏差	0.260	10.018	8.930	34.172

2.6.5.3.2 微生物に発現させた rhGM-CSF のアカゲザル単回投与

＜添付資料 4.2.2.2-1 参考＞

被験物質：微生物に発現させた糖鎖を持たない rhGM-CSF

動物種／投与時齢／体重	アカゲザル／記載なし／4～5 kg		
性別／動物数	雄／各群 3		
投与方法	静脈内		皮下
食餌	記載なし	記載なし	記載なし
媒体	記載なし	記載なし	記載なし
投与量（μg/kg）	5	50	5
試料	血漿	血漿	血漿
定量法	ELISA	ELISA	ELISA
定量物質	rhGM-CSF	rhGM-CSF	rhGM-CSF
薬物動態パラメーター			
$T_{1/2\alpha}$（h）	0.070±0.017	0.050±0.010	1.36±0.11
$T_{1/2\beta}$（h）	0.58±0.50	0.140±0.017	2.5±0.3
$T_{1/2\gamma}$（h）	4.1±5.6	1.40±0.17	—
Vc（mL）	444±52	446±61	—
CL（L/h）	2.3±0.4	2.17±0.21	2.2±0.3 [a)]
AUC（μg･h/L）	11.3±1.3	120±4	6.9±0.8
T_{max}（h）	—	—	2.65±0.14
C_{max}（μg/L）	—	—	0.93±0.16
生物学的利用率（%） [b)]	—	—	61

平均値±標準偏差（n=3）
a：生物学的利用率（61%）で補正した値
b：生物学的利用率＝[皮下投与時の AUC の平均値]÷[静脈内投与時（5 μg/kg）の AUC の平均値]×100

定量法（ELISA）のバリデーション
定量範囲：7.8～250 ng/L
日内変動（CV%、n=6）：≤6.5
日間変動（CV%、n=6）：≤5.6
平均の真度：94.9±6.5%

2.6.5.4 薬物動態試験：分布

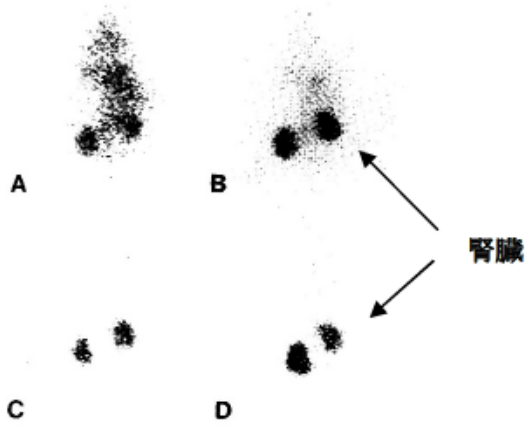
2.6.5.4.1 アカゲザル組織中濃度

＜添付資料 4.2.2.3-1 参考＞

被験物質：CHO 細胞に発現させた糖鎖を有する rhGM-CSF

動物種／性別／体重	アカゲザル／雌／4～8 kg
投与方法	rhGM-CSF の[^{123}I]標識体と[^{35}S]標識体を混合して単回静脈内投与 ＜標識方法＞ [^{123}I]標識体：穏やかなクロラミン T 法 [^{35}S]標識体：[^{35}S]メチオニンを用いた生合成法
投与量／動物数	15 及び 300 μg/kg／それぞれ n=3
測定方法	＜γ-シンチグラフィ＞首から骨盤を含むように背面からγ-カメラで経時的に撮像し、シンチグラムを得た。さらにシンチグラム上の総放射能（^{123}I）、並びに心臓及び腎臓に対応する領域の放射能（^{123}I）を選択して測定した。
	＜血漿中濃度＞γ-カメラによる撮像と同時点に血漿を採取し、血漿中放射能を測定し、消失半減期を求めた。

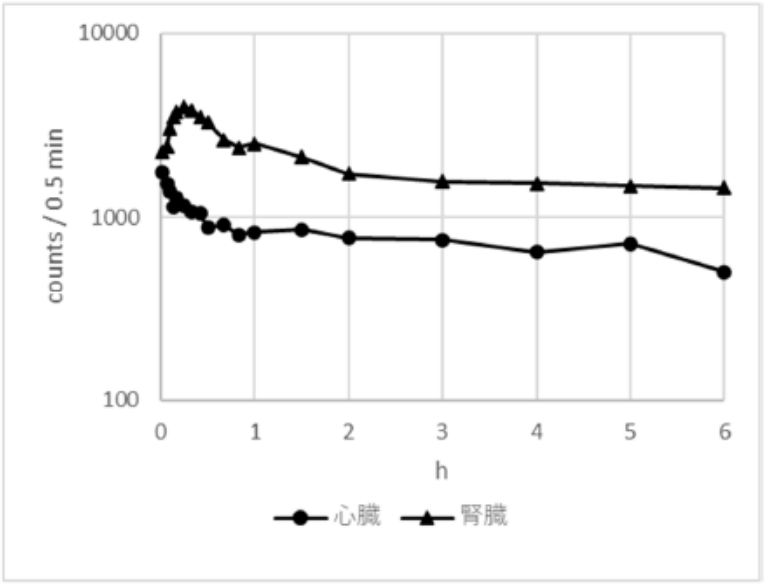
静脈内投与後のγ-シンチグラム（300 μg/kg の 1 例）



（A：投与後 1 分、B：投与後 5 分、C：投与後：10 分、D：投与後 30 分）

静脈内投与後の放射能の経時推移（1 例の成績、15 μg/kg、動物番号：88-359）				
投与後時間（h）	心臓		腎臓	
	count/0.5 min	最大値に対する%	count/0.5 min	最大値に対する%
0.017	1777	100.0	2280	58.1
0.067	1532	86.2	2414	61.6
0.100	1389	78.2	3038	77.5
0.133	1150	64.7	3539	90.2
0.167	1280	72.0	3779	96.4
0.25	1170	65.8	3992	100.0
0.33	1070	60.2	3827	97.6
0.42	1050	59.1	3526	89.8
0.50	890	50.1	3276	83.5
0.67	910	51.2	2647	67.5
0.83	804	45.2	2405	61.3
1.00	833	46.9	2513	64.1
1.5	857	48.2	2130	54.3
2	775	43.6	1730	44.1
3	758	42.7	1570	40.0
4	648	36.5	1535	39.1
5	719	40.5	1479	37.7
6	507	28.5	1445	36.8
シンチグラム上の総放射能（count/0.5 min） 投与後 0.017 h：19,670 投与後 6 h：11,506				

前頁のデータを申請者が作図



血漿及び心臓中放射能（^{123}I）の消失半減期（15 μg/kg、2 例の成績）

動物番号	血漿			心臓		
	$T_{1/2\alpha}$ (h)	$T_{1/2\beta}$ (h)	MRT	$T_{1/2\alpha}$ (h)	$T_{1/2\beta}$ (h)	MRT
88-359	0.15	7.0	9.6	0.16	10.3	14.7
88-361	0.15	5.3	7.2	0.12	8.7	12.4

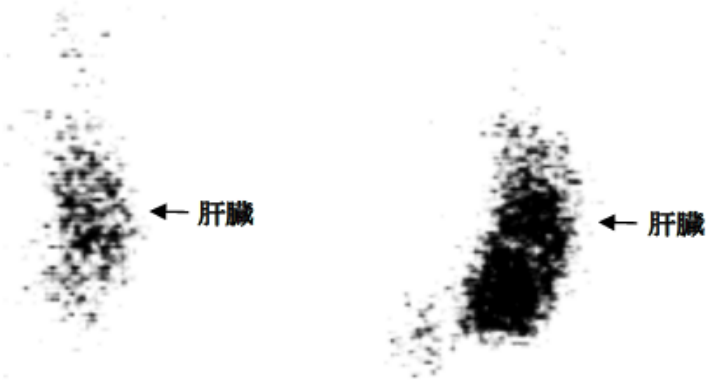
2.6.5.4.2 抗 rhGM-CSF 抗体を有するアカゲザルにおける組織分布

＜添付資料 4.2.2.3-1 参考＞

被験物質：CHO 細胞に発現させた糖鎖を有する rhGM-CSF

動物種／性別	アカゲザル／雌（低タイターの抗 rhGM-CSF IgG 及び IgM を有する）
投与方法	rhGM-CSF の[^{123}I]標識体と[^{35}S]標識体を混合して単回静脈内投与 ＜標識方法＞ [^{123}I]標識体：穏やかなクロラミン T 法 [^{35}S]標識体：[^{35}S]メチオニンを用いた生合成法
投与量／動物数	15 μg/kg／n=1
測定方法	＜γ-シンチグラフィ＞首から骨盤を含むように背面からγ-カメラで経時的に撮像し、シンチグラムを得た。

静脈内投与後のγ-シンチグラム



投与後 1 分　　投与後 30 分

2.6.5.4.3 マウス組織中濃度

＜添付資料 4.2.2.3-2 参考＞

被験物質：[^{125}I]標識した mGM-CSF

動物種／系統	マウス／C_{57}BL
性別／月齢	記載なし／3
溶媒	生理食塩水
投与方法	静脈内投与
投与量	記載なし
放射性核種	^{125}I
標識方法	クロラミンＴ法
定量対象物質	放射能
定量方法	シンチレーションカウンティング

組織中放射能濃度

組織/臓器	筋肉に対する比				% of dose/g [a)]			
	1 h [b)]		6 h [c)]		1 h		6 h	
	mGM-CSF	MSA	mGM-CSF	MSA	mGM-CSF	MSA	mGM-CSF	MSA
肝臓	5.0	3.0	4.7	3.7	28.5	15.3	12.2	8.9
脾臓	5.0	2.5	3.3	3.3	28.5	12.8	8.6	7.9
腎臓	12.5	8.5	8.0	2.7	71.3	43.4	20.8	6.5
唾液腺	7.5	7.5	24.3	27.0	42.8	38.3	63.2	64.8
胸腺	2.5	2.8	2.7	3.0	14.3	14.3	7.0	7.2
脳	1.0	0.5	0.3	0.3	5.7	2.6	0.8	0.7
筋肉	1.0	1.0	1.0	1.0	5.7	5.1	2.6	2.4
耳	2.0	1.2	2.3	3.0	11.4	6.1	6.0	7.2
甲状腺 [d)]	–	–	–	–	600	2300	5000	11000
尿	35	75	47	176	200	383	122	422
血液	3.0	1.5	0.5	0.3	17.1	7.7	1.3	0.7
骨髄	0.9	0.5	0.4	0.5	5.1	2.6	1.0	1.2

a：原資料には筋肉の値のみ記載されていたため、[筋肉に対する比]と以下の式を用いて申請者が計算
[各組織の % of dose/g]＝[筋肉の % of dose/g]×[筋肉に対する比]
b：4 例の平均値
c：8 例の平均値
d：% of dose/whole organ （×10^3）

2.6.5.4.4 血漿蛋白結合

該当する試験を実施していない。

2.6.5.5 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

2.6.5.5.1 胎盤通過性

＜添付資料 4.2.2.3-3 参考＞

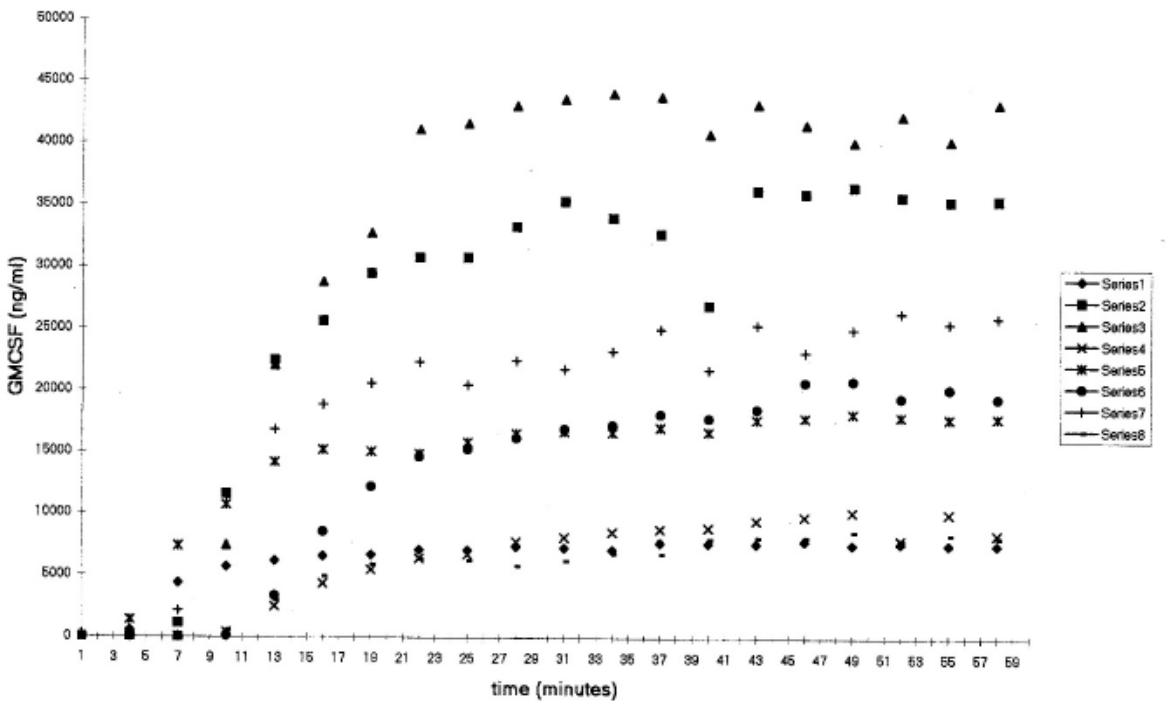
ヒト摘出胎盤を用いた in vitro 胎盤通過性試験	
被験物質	rhGM-CSF（Sandz, Vienna, Austria：モルグラモスチム）
胎盤	・特に問題のない妊娠経過で薬剤を使用していない妊婦から採取 ・感染の兆候のみられる妊婦の胎盤は使用していない ・使用した胎盤の妊娠期間：38～41 週（出生児の体重：3～4 kg） ・その他に、33～34 週に経腟分娩した胎盤 2 例も使用 ・経腟分娩の胎盤が 7 例、帝王切開の胎盤が 4 例、計 11 例 ・うち 1 例は基準を満たさず不採用、10 例の実験結果を採用
実験方法	・母体側動脈及び反対（胎児）側臍帯動脈からそれぞれ同時にかん流 ・母体側かん流液に rhGM-CSF を添加（9.718～54.815 μg/mL） ・かん流時間：60 分（2 例では 3 時間） ・母体側静脈及び反対側（胎児側）臍帯静脈からそれぞれかん流液を採取 ・採取間隔：3 分ごと ・採取したかん流液中 rhGM-CSF 濃度を ELISA により測定

かん流液中 GM-CSF 濃度（ng/mL）[a)]

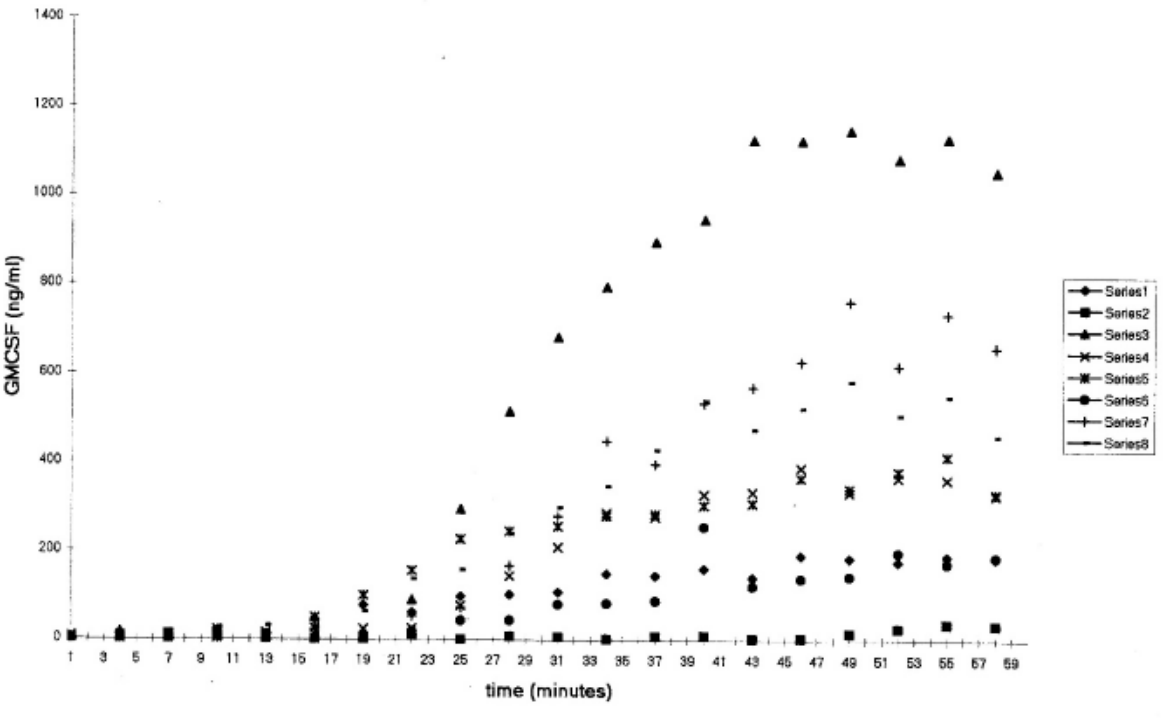
胎盤番号	母体側	胎児側	胎児/母体 %
1	7324.278	130.057	1.775
2	32726.285	9.642	0.029
3	40653.142	696.857	1.714
4	7894.642	223.785	2.834
5	16692.5	258.0	1.545
6	16822.428	99.785	0.593
7	22995.857	372.0	1.617
8	6966.428	340.785	4.891
9	8274.428	458.0	5.535
10	14832.0	545.5	3.677
平均値 標準偏差 95%信頼区間	計算していない	計算していない	2.421 0.567 1.138-3.704

a：母体側及び胎児側のそれぞれから経時的に採取したかん流液試料の 6 番目から 19 番目までの rhGM-CSF 濃度を平均した（次ページのグラフ参照）

母体側かん流液中 GM-CSF 濃度（ng/mL）



胎児側かん流液中 GM-CSF 濃度（ng/mL）



2.6.5.5.2 乳汁排泄

該当する試験を実施していない。

2.6.5.6 薬物動態試験：代謝

該当する試験を実施していない。

2.6.5.7 薬物動態試験：排泄

2.6.5.7.1 アカゲザル尿中排泄

＜添付資料 4.2.2.3-1 参考＞

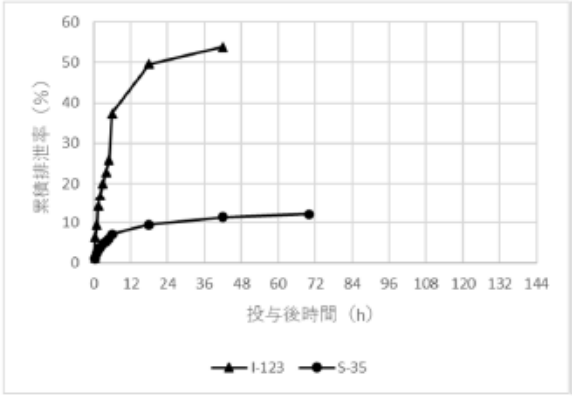
被験物質：CHO 細胞に発現させた糖鎖を有する rhGM-CSF

動物種／性別	アカゲザル／雌
投与方法	rhGM-CSF の[^{123}I]標識体と[^{35}S]標識体を混合して単回静脈内及び皮下投与
投与量／動物数	静脈内投与：15 μg/kg／n=1（動物番号：88-361） 皮下投与：10 μg/kg／n=1（動物番号：88-379）
測定方法	[^{123}I]：γ-counter、[^{35}S]：LSC

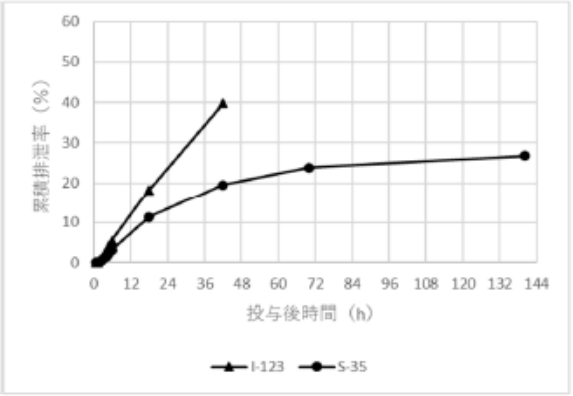
放射能の尿中排泄率（%）

投与後時間 (h)	静脈内投与		皮下投与	
	[^{123}I]	[^{35}S]	[^{123}I]	[^{35}S]
0.25	1.1	0.9	—	—
0.50	5.3	0.3	＜0.1	＜0.1
1	3.0	1.0	＜0.1	＜0.1
1.5	4.8	1.2	0.1	＜0.1
2	2.5	0.5	0.5	0.2
3	3.4	0.8	0.8	0.4
4	2.7	0.6	1.2	0.7
5	3.0	0.6	1.5	0.9
6	11.6	1.2	1.4	0.9
16-18	12.2	2.4	12.7	8.2
18-42	1.5	1.8	21.5	8.2
42-70	—	0.2	—	4.4
70-140	—	—	—	2.6
合計	53.8	12.1	39.7	26.8

上記のデータを累積排泄率として申請者が作図



静脈内投与



皮下投与

2.6.5.7.2 マウス尿中排泄

＜添付資料 4.2.2.3-2 参考＞

被験物質：[^{125}I]標識した mGM-CSF

動物種／系統	マウス／C_{57}BL/6J
性別／月齢	記載なし／3
溶媒	生理食塩液
投与方法	静脈内投与
投与量	記載なし
放射性核種	[^{125}I]
標識方法	クロラミン T 法
定量対象物質	放射能
定量方法	シンチレーションカウンティング

尿及び血液中放射能濃度（% of dose/g）[a)]

試料	投与後 1 h [b)]		投与後 6 h [c)]	
	mGM-CSF	MSA	mGM-CSF	MSA
尿 [d)]	200	383	122	422
血液	17.1	7.7	1.3	0.7
尿/血液 [e)]	11.7	49.7	93.8	603

a：2.6.5.4.3 から転載
b：4 例の平均値
c：8 例の平均値
d：尿中放射能は TCA で沈殿しなかった
e：表中の値を用いて申請者が算出

2.6.5.7.3 胆汁中排泄

該当する試験を実施していない。

2.6.5.8 薬物動態試験：薬物相互作用

該当する試験を実施していない。

2.6.5.9 薬物動態試験：その他

該当する試験を実施していない。