トフェルセン

第 2 部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.4 薬物動態試験の概要文

バイオジェン・ジャパン株式会社

目次

頁

略語・略号一覧表 4
1 まとめ 6
2 分析法 8
3 吸収 10
3.1 マウスの 12 週間反復投与毒性試験 10
3.1.1 マウスでの血漿中曝露 10
3.2 マウスの 26 週間反復投与毒性試験 11
3.2.1 マウスでの血漿中曝露 11
3.3 マウスの受胎能及び胚・胎児発生に関する試験 12
3.3.1 妊娠マウスでの血漿中曝露 12
3.4 ウサギの胚・胎児発生に関する試験 14
3.4.1 妊娠ウサギでの血漿中曝露 14
3.5 サルの 13 週間反復投与毒性試験 16
3.5.1 カニクイザルでの CSF 中曝露 16
3.5.2 カニクイザルでの血漿中曝露 18
3.6 サルの 9 ヵ月間反復投与毒性試験 22
3.6.1 カニクイザルでの CSF 中曝露 22
3.6.2 カニクイザルでの血漿中曝露 23
3.7 動物種間の比較 25
4 分布 26
4.1 組織分布 26
4.1.1 マウスの 12 週間反復投与毒性試験 26
4.1.2 ラットの急性毒性試験 28
4.1.3 サルの 13 週間反復投与毒性試験 29
4.1.4 サルの 9 ヵ月間反復投与毒性試験 32
4.2 動物種間の比較 33
4.3 タンパク結合及び血球中への移行 33
4.4 妊娠動物での組織分布 34
5 代謝 35
5.1 マウスの 12 週間反復投与毒性試験 35
5.2 13 週間不純物安全性確認試験 36
6 排泄 37
7 薬物動態学的薬物相互作用 38
7.1 タンパク結合 38
7.2 代謝 38
7.3 トランスポーター 38
8 その他の薬物動態試験 39
9 考察及び結論 40

10 図表 42
11 参考文献 65

略語・略号一覧表

略語・略号	略していない表現	
	英語	日本語
2′-MOE	2′-O-(2-methoxyethyl)	2'-O-(2-メトキシエチル)
aCSF	artificial cerebrospinal fluid	人工脳脊髄液
ALS	amyotrophic lateral sclerosis	筋萎縮性側索硬化症
ASO	antisense oligonucleotide	アンチセンスオリゴヌクレオチド
$AUC_{0\text{-}24h}$	area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours	投与後 0 時間から 24 時間までの濃度時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}48h}$	area under the concentration-time curve from 0 to 48 hours	投与後 0 時間から 48 時間までの濃度時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク
BLQ	below limit of quantification	定量下限未満
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
C_{max}	maximum observed concentration	最高濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CSF	cerebrospinal fluid	脳脊髄液
CYP450	cytochrome P450	シトクロム P450
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
FDA	Food and Drug Administration	アメリカ食品医薬品局
GD	gestation day	妊娠日齢
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IT	intrathecal	髄腔内
LC/MS	liquid chromatography/mass spectrometry	液体クロマトグラフィー／質量分析
LC/MS/MS	liquid chromatography/tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
MATE	multidrug and toxin extrusion protein	多剤・毒性化合物排出タンパク
MDR1	multiple drug resistance protein 1	多剤耐性タンパク 1
MOE	methoxyethyl	メトキシエチル
mRNA	messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸

略語・略号	略していない表現	
	英語	日本語
$MRT_{0\text{-}24h}$	mean residence time from 0 to 24 hours	投与後 0 時間から 24 時間までの平均滞留時間
$MRT_{0\text{-}48h}$	mean residence time from 0 to 48 hours	投与後 0 時間から 48 時間までの平均滞留時間
NA	not applicable	該当なし
NZW	New Zealand White	ニュージーランドホワイト
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
PBS	10 mM phosphate sodium, 144 mM sodium chloride solution	−
PD	pharmacodynamic(s)	薬力学
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
$RAUC_{0\text{-}24h}$	accumulation ratio	累積比
SC	subcutaneous	皮下
SD	standard deviation	標準偏差
SLC	solute carrier	溶質キャリア
SOD1	superoxide dismutase 1	スーパーオキサイドジスムターゼ 1
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
T_{max}	time of maximum observed concentration	最高濃度到達時間

1 まとめ

トフェルセン（開発コード：BIIB067 又は ISIS 666853）は、ヒトのスーパーオキサイドジスムターゼ 1（SOD1）メッセンジャーリボ核酸（mRNA）を低下させるように設計されたアンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）である。トフェルセンは、SOD1 遺伝子変異を原因とする筋萎縮性側索硬化症（ALS）の治療薬として開発されている。

トフェルセンの非臨床薬物動態（PK）特性は、サル 13 週間反復腰髄髄腔内（IT）ボーラス投与試験（666853-AS01 試験）、マウス 12 週間反復皮下（SC）ボーラス投与試験（666853-AS02 試験）、ラット単回 IT ボーラス投与試験（666853-AS03 試験）、サル 9 ヵ月間反復腰髄 IT ボーラス投与試験（P067-[redacted]-01 試験）及びマウス 26 週間反復 SC ボーラス投与試験（P067-[redacted]-03 試験）により評価した。さらに、妊娠マウス（P067-17-02 試験）及び妊娠ウサギ（P067-17-05 試験）の反復 SC ボーラス投与試験でもトフェルセンの非臨床 PK 特性を評価した。マウス反復 SC ボーラス投与後（666853-AS02 試験）の組織（肝臓及び腎臓）及びサル反復 IT 投与後（P067-[redacted]-06 試験及び DMPK-20[redacted]-0003BT 試験）の組織（肝臓及び腎臓）を用い、トフェルセンの代謝物（未変化体及び短鎖オリゴヌクレオチドを含む各種代謝物）の同定及びそのプロファイリングを実施した。マウス、サル及びヒトにおける血漿タンパク結合率は限外ろ過法（*in vitro*）により評価した（666853-IS03 試験）。非臨床 PK 試験の概要を表 13 に示す。

サルの脳脊髄液（CSF）、血漿及び組織中、並びにマウス及びウサギの血漿中トフェルセン濃度は、バリデーション済みのハイブリダイゼーションに基づく定量的酵素免疫測定法（ELISA）により測定した。マウス及びラットの組織中のトフェルセン濃度は、それぞれ信頼性を確認した高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法及び液体クロマトグラフィー／質量分析（LC/MS）法により定量した。代謝物としての短鎖オリゴヌクレオチドは、マウス組織（肝臓及び腎臓）では HPLC 法により、サル組織（肝臓及び腎臓）では LC/MS 及び液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析（LC/MS/MS）法により、同定し定量した。CSF（サルのみ）、血漿（サル、マウス、妊娠マウス及び妊娠ウサギ）並びに検討した組織（サル、マウス及びラット）で得られた濃度の結果から、トフェルセンの PK 特性を評価した。

予定臨床投与経路は IT 投与であることから、IT 投与によりトフェルセンの PK 特性を十分に評価できるサルを用いた（666853-AS01 試験及び P067-[redacted]-01 試験）。サルの IT 投与による CSF 中トフェルセン濃度は、多相性に低下し、急速な分布相（CSF からのクリアランスが大部分を占めた）に続く、より緩徐で持続した消失相を伴っていた。急速な分布相は、CSF から中枢神経系（CNS）組織への迅速で広範な分布によるものであり、これには全身循環への移行によるさらなるクリアランスも含まれている。CSF 中の推定消失半減期（$t_{1/2}$）は 20～45 日であり、CNS 組織中の $t_{1/2}$（31～40 日）と同程度を示していたことから、CSF と CNS 組織の間で薬物濃度は平衡状態に達していることが示唆された。血漿中トフェルセン濃度は、IT ボーラス投与後 1～4 時間にピークに達し、投与後 48 時間以内に急速に低下し、その後、より緩徐な消失相を示した。血漿中濃度の急速な低下は、主に全身組織への速やかな分布によるものであることが示唆される。血漿中濃度の $t_{1/2}$ は 22～51 日と推定され、CSF 及び CNS 組織における報告値と同程度であった。さらに、トフェルセンの CNS 組織への分布は、ラット PK 試験でも評価した（666853-AS03 試験）。ラットにトフェルセン 0.1、0.3、1、又は 3 mg の単回 IT 投与後に、CNS 組織中における用量依存的な曝露が観察された。

マウスに SC 投与後、トフェルセンは血漿から肝臓及び腎臓に急速かつ広範に分布し、脳には分布しなかった（666853-AS02 試験及び P067-[redacted]-03 試験）。血漿中トフェルセン濃度は投与後 0.5～1 時間にピークに達したことから、全身循環への吸収が速やかであることが示され、その後、サルと同様、全身組織への広範な分布により、投与後 24～48 時間で急速に減少した。

トフェルセンの用量依存的な組織分布は、評価したすべての動物種（サル、マウス及びラット）で確認され、組織分布に明らかな性差を示す明確な又は一貫した証拠は認められなかった（666853-AS01 試験、P067-[redacted]-01 試験、666853-AS02 試験及び 666853-AS03 試験）。サルに IT 投与後、トフェルセンは CNS 組織に広く分布し、CNS 組織中の濃度は CSF 中濃度の少なくとも 90 倍であった。最も高濃度を示した組織は腰髄であった。肝臓及び腎臓で比較的高濃度が認められ、投与されたトフェルセンの高い割合が CSF から全身循環中に分布することが示された。サルと同様、ラットに IT 投与後、トフェルセンは CNS 組織に広く分布した。

類似の ASO（2'-O-(2-メトキシエチル)［2'-MOE］修飾 ASO など）に関する以前の報告［Geary 2003、Yu 2007］から予測されるように、ヌクレアーゼによる代謝と一致するトフェルセンのオリゴヌクレオチド推定代謝物が腎臓及び肝臓中に認められた。マウスで観察された主要な代謝物は、短鎖オリゴヌクレオチド N-1、N-2、N-8（肝臓のみ）及び N-10（肝臓のみ）であったが、個々の代謝物量は総オリゴヌクレオチドの 3%未満であった。トフェルセン未変化体がオリゴヌクレオチドの中で最も多く、Day 86 の腎臓及び肝臓中総オリゴヌクレオチドのそれぞれ 89%及び 81%（総ピーク面積に対する%）を占めていた（666853-AS02 試験）。サルにおいて確認されたすべての代謝物は、肝臓中の総ピーク面積の 6%未満及び腎皮質中の総ピーク面積の 2%未満であった（P067-[redacted]-06 試験及び DMPK-20[redacted]-0003BT 試験）。トフェルセン未変化体は最も多い分子種であり、プールされた肝臓試料中の総薬物由来ピーク面積に対して雄で 80%、雌で 75%を占め、プールされた腎皮質試料中の総薬物由来ピーク面積に対して雌雄共に 92%を占めた（DMPK-20[redacted]-0003BT 試験）。凍結保存されたヒト初代培養肝細胞を用いた *in vitro* 試験の結果から、トフェルセンはシトクロム P450（CYP450）による酸化的代謝に対して誘導作用も（DMPK-20[redacted]-0020IV 試験）、阻害作用も（DMPK-20[redacted]-0015-C 試験）示さないことが確認され、この代謝経路に関して他の薬物と競合することはないと考えられる。

非臨床試験においてトフェルセンの尿中排泄は評価していないが、他の 5-10-5 メトキシエチル（MOE）ギャップマー型 ASO の SC 投与の結果から、トフェルセンの尿中排泄はわずかであると予想される［Geary 2003］。類似する ASO は、組織中で緩徐な代謝を受けた後、微量成分の未変化体と共に、代謝物は尿中排泄されることが報告されている［Geary 2003］。トフェルセンも同様の排泄過程を示すことが予想される。

以上、トフェルセンの非臨床における CSF、血漿及び組織中の PK は、予定臨床投与経路の IT 投与を用いて、反復投与後のサルで十分に評価された。IT 投与後のトフェルセンは CNS 組織へ広範に分布した。CSF 及び CNS 組織からの消失速度が同程度であったことから、CSF 及び CNS 組織中のトフェルセン濃度は分布後に平衡状態に達した可能性が高く、CSF 及び血漿中濃度は CNS 組織中濃度のサロゲートとして使用可能であることを示唆している。サルで観察された CSF 及び CNS 組織中の $t_{1/2}$ が長かったことから、IT 投与により投与頻度のより少ない月 1 回の臨床投与の妥当性が裏付けられる。

2 分析法

［4.2.2.1-1］666853-MV01、［4.2.2.1-2］666853-MV02、［4.2.2.1-3］666853-MV03、［4.2.2.1-4］666853-MV04、［4.2.2.1-5］TS067-015VR-R.1、［4.2.2.1-6］TS067-025QR、［4.2.2.1-7］666853-MV05、［4.2.2.1-8］666853-AS03BA01

カニクイザルにおけるトフェルセン未変化体濃度は、ハイブリダイゼーション・ヌクレアーゼベース ELISA（以下、ハイブリダイゼーション ELISA）法を用いて定量した（表 1）。この方法は、薬理作用を示す濃度よりも大幅に低濃度でのトフェルセンの PK 特性を明らかにするための十分な感度を有していた。カニクイザルの CSF、血漿及び組織中のトフェルセン濃度は、アメリカ食品医薬品局（FDA）の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）ガイドラインに準拠したフルバリデーション済みの方法及び試料を用いて分析した。

ハイブリダイゼーション ELISA 法を用いて、カニクイザルの CSF、血漿及び組織中トフェルセンを定量した。ハイブリダイゼーションは高いスループットの方法であり、最小限のサンプルクリーンアップで高い真度及び精度を実現できる［Yu 2002、Yu 2004a］。感度及び選択性の高いハイブリダイゼーション ELISA 法により、CSF、血漿及び組織中の ASO の終末消失相を含めた PK プロファイルの特性を十分に明らかにすることが可能である。PK プロファイルにより、PK/薬力学（PD）試験における組織中濃度と薬理活性の相関性を確認し、分布後の血漿中濃度を用いて曝露－反応関係を確立することが可能となる。この分析法は、頑健性及び再現性が高いことが示されており、両端にそれぞれ標識を付けた相補的配列のデオキシリボ核酸（DNA）キャプチャープローブを使用した。1 つ目の標識は分析対象物質を固相支持体（ヘテロジニアスアッセイフォーマット）に結合させるために使用し、2 つ目の標識は検出のために使用した。ヌクレアーゼに対する感受性の差により、トフェルセンとハイブリダイズしたプローブをハイブリダイズしていないプローブから識別した。次に、酵素標識した抗体をハイブリダイズしたプローブに結合させた後、蛍光検出を行った。ハイブリダイゼーション ELISA 法は、カニクイザルの血漿、CSF 及び組織、マウス血漿、ウサギ血漿並びにマウス乳汁中のトフェルセン未変化体の定量に用いられたが、この方法は、鎖長の長い短鎖オリゴヌクレオチド代謝物（例えば 19-mer など）ともある程度交差反応する可能性があることが知られている。しかし、これらの試験で採取された試料中の短鎖代謝物の割合は比較的少ないと考えられる（15%未満）。したがって、この分析法は、この種の薬物の未変化体に対して特異的であるとみなすことができる［Sewell 2002］。

ハイブリダイゼーション ELISA 法は、サルの CSF、血漿及び組織（666853-MV01 試験［血漿］、666853-MV02 試験［CSF］及び 666853-MV03 試験［組織］）、マウス血漿（666853-MV04 試験）並びにウサギ血漿（TS067-015VR-R.1 試験）中のトフェルセンを十分に定量でき、直線性、再現性、精度、真度及び選択性から定量に適していることが示された。トフェルセンのマトリクス中での安定性に関しては、サル血漿、CSF 及び組織、マウス血漿並びにウサギ血漿中において 5 回までの凍結融解サイクル（−80°C で凍結）での安定性が確認された。トフェルセンの長期凍結保存安定性（−80°C）が、サルの脳（448 日間）、脊髄（400 日間）、肝臓（520 日間）、腎皮質（394 日間）、CSF（379 日間）、血漿（373 日間）、マウス血漿（379 日間）及びウサギ血漿（371 日間）で確認された。

信頼性を確認したハイブリダイゼーション ELISA 法を用いてマウス乳汁中のトフェルセンを

定量した。このハイブリダイゼーション ELISA 法は、マウスの乳汁量には量的な限界があるため、代用マトリクスとしてラットの乳汁を用いて検証し、トフェルセンを定量するための直線性、再現性、精度及び真度から定量に適していることが示された（TS067-025QR 試験）。

マウス組織中のトフェルセンを定量するために、信頼性を確認した HPLC 法を用いた（表 1）。この HPLC 法は、マウスの肝臓及び腎臓中のトフェルセンに対して、選択性、直線性、再現性、精度及び真度から測定に適していることが示された（666853-MV05 試験）。

シングル四重極型質量分析計（Agilent 社）を用いた LC/MS 法により、ラットの脳皮質及び腰髄中のトフェルセンを定量した（666853-AS03BA01 試験、表 1）

表 1　　トフェルセンの開発に用いた生体試料中薬物濃度分析法

方法	動物種	試料	感度（LLOQ）	未変化体に対する選択性の有無	定量範囲	代謝物の定量可否	定量的又は定性的
ハイブリダイゼーション ELISA	カニクイザル	CSF、血漿及び組織	0.5000 ng/mL（CSF 及び血漿）、15.00 ng/g（組織）	有	CSF 及び血漿：0.5000～100.0 ng/mL、組織：15.00～1200 ng/g	否	定量的
ハイブリダイゼーション ELISA	マウス	血漿	0.5000 ng/mL	有	0.5000～100.0 ng/mL	否	定量的
HPLC	マウス	組織	10.0 µg/g	有	10.0～1500 µg/g	否	定量的
LC/MS	ラット	組織	0.71 µg/g（脳皮質）、3.56 µg/g（腰髄）	有	脳皮質：0.71～178 µg/g、腰髄：3.56～356 µg/g	否	定量的
ハイブリダイゼーション ELISA	ウサギ	血漿	0.500 ng/mL	有	0.500～100 ng/mL	否	定量的
ハイブリダイゼーション ELISA	マウス[a]	乳汁	0.250 ng/mL	有	0.250～25.0 ng/mL	否	定量的

[a] ラット乳汁を代用マトリクスとして使用。
LLOQ = 定量下限

3 吸収

カニクイザルの血漿及び CSF 中トフェルセンの非臨床 PK は、以下の 2 種類の毒性・PK 試験、すなわち、1）サル 13 週間反復 IT 投与試験（666853-AS01 試験）及び、2）サル 9 ヵ月間反復 IT 投与試験（P067-[redacted]-01 試験）で評価した。マウスの血漿中トフェルセンの非臨床 PK は、以下の 2 種類の毒性･PK 試験、すなわち、1）マウス 12 週間反復 SC 投与試験（666853-AS02 試験）及び、2）マウス 26 週間反復 SC 投与試験（P067-[redacted]-03 試験）で評価した。さらに、妊娠動物の血漿中トフェルセンの非臨床 PK は、以下の 2 種類の毒性・PK 試験、すなわち、1）マウス受胎能及び胚・胎児発生に関する反復 SC 投与試験（P067-17-02 試験）及び、2）妊娠 New Zealand White（NZW）ウサギ胚・胎児発生に関する反復 SC 投与試験（P067-17-05 試験）で評価した。

3.1 マウスの 12 週間反復投与毒性試験

［4.2.3.2-1］666853-AS02

マウスの 12 週間反復投与試験では、CD-1 マウスに溶媒（0.9%生理食塩液）（第 1 群）又はトフェルセン（第 2～5 群）のいずれかを投与した。第 1～3 群（毒性試験群）の動物に、それぞれ 0、25、及び 150 mg/kg を、Day 1、14、28、42、56、70、及び 84 に SC 投与した（初回投与日を Day 1 とした）。第 4 及び 5 群（PK 試験群）の動物には、それぞれ 25 及び 150 mg/kg を、Day 1 に単回 SC 投与した。

3.1.1 マウスでの血漿中曝露

マウスに 25 mg/kg（第 4 群）及び 150 mg/kg（第 5 群）を単回 SC ボーラス投与し、血漿中濃度を測定した。いずれの群においても、SC 投与後トフェルセンは速やかに全身循環中に吸収され、最高濃度到達時間（T_{max}）は投与後 0.5 時間であった。血漿中濃度は、最高濃度（C_{max}）に達した後、投与後 24～48 時間にかけて急速に低下し、トフェルセンの組織への迅速かつ広範な分布が示唆される（表 2 及び図 1）。

トフェルセン単回 SC 投与後の血漿における C_{max}、投与後 0 時間から 24 時間までの濃度時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24h}$）及び投与後 0 時間から 48 時間までの濃度時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}48h}$）は、用量に比例して増加した（表 2）。

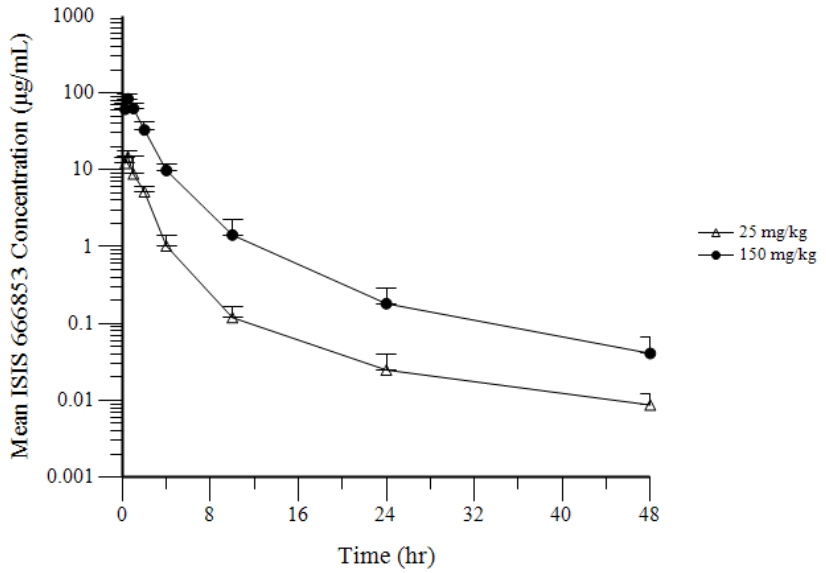
投与後 48 時間以内における血漿中から組織へのトフェルセンの初期における迅速でほぼ完全な分布を反映する指標として、投与後 0 時間から 48 時間までの平均滞留時間（$MRT_{0\text{-}48h}$）を算出した結果、検討した用量範囲で 2.44～2.84 時間であった。評価した用量範囲では、血漿中濃度又は PK パラメータに大きな性差は認められなかった。

表 2　　マウスに単回 SC 投与後の血漿中トフェルセンの PK パラメータ（雌雄合算）

群	用量 (mg/kg)	T_{max} (h)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-24h} (μg*h/mL)	AUC_{0-48h} (μg*h/mL)	MRT_{0-48h} (h)
4	25	0.50	14.9	28.4	28.8	2.44
5	150	0.50	83.6	198	201	2.84

6～7 例／時点のスパースサンプリングからパラメータを算出。
Data source: M4.2.3.2-1_In-text Table 4

図 1　　マウスにおける単回 SC 投与後の血漿中トフェルセン濃度の推移（雌雄合算）



図中の各点は、6～7 例の平均値＋ 標準偏差（SD）を示す。
Data source: M4.2.3.2-1_Appendix 8_Figure 1

3.2　　マウスの 26 週間反復投与毒性試験

［4.2.3.2-2］ P067-[redacted]-03

マウスの 26 週間反復投与試験においては、雌雄の CD-1 マウスに対照（PBS、pH 7.4）（第 1 群）又はトフェルセン（第 2～4 群）のいずれかを投与した。第 1～4 群の動物に、それぞれ 0、6、30、及び 150 mg/kg を、Day 1、15、29、43、57、71、85、99、113、127、141、155、169、及び 183 に SC 投与した。

3.2.1　　マウスでの血漿中曝露

トフェルセンを投与したすべての CD-1 マウスにおいて、Day 1 及び 183 の投与後 1、2、4、8、及び 24 時間にトフェルセンによる血漿中曝露が確認された。トフェルセンの血漿中濃度及び PK（トキシコキネティクス［TK］）パラメータを検討したところ、全身曝露は雌雄間で類似していた。試験したすべての用量で、T_{max} は投与後 1 時間であった（表 3）。トフェルセンの全身曝露量（AUC_{0-24h}）は、Day 1 及び 183 において、用量の増加に伴い増加した。曝露量の増加は、用量比例性を示した雄の Day 1 における 30 及び 150 mg/kg 間、並びに Day 183 における 6 及び 30 mg/kg 間を除き、全体的に用量比を上回る増加であった。トフェルセンの全身曝露量（C_{max}）は、Day 1

及び 183 において、ほぼ用量に比例して増加した。トフェルセン 6、30、及び 150 mg/kg を 2 週間に 1 回、26 週間 SC 投与した結果、反復投与によりトフェルセンの曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）のわずかな蓄積が認められた。

表 3　　マウスにおける Day 1 及び 183 の反復 SC 投与後の血漿中トフェルセンの PK パラメータ（雌雄合算）（P067-[redacted]-03 試験）

Day	群	用量 (mg/kg)	T_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg*h/mL)	$RAUC_{0\text{-}24h}$ [a]
1	2	6	1	2.65	4.75	NA
	3	30	1	15.5	34.9	NA
	4	150	1	90.7	198	NA
183	2	6	1	5.19	9.67	2.04
	3	30	1	20.3	53.8	1.54
	4	150	1	125	380	1.92

[a] 累積比（=［Day 183 の $AUC_{0\text{-}24h}$］/［Day 1 の $AUC_{0\text{-}24h}$］）、NA = 該当なし
Data source: M4.2.3.2-2_Appendix 16_Table 6.1 & Table 6.2

3.3　　マウスの受胎能及び胚・胎児発生に関する試験

［4.2.3.5.1-1］P067-17-02

反復投与試験では、雌雄の CD-1 マウスに対照（PBS、pH 7.4）（第 1 群）又はトフェルセン（第 2～4 群）のいずれかを投与した。第 1～4 群の動物に、それぞれ 0、3、10、及び 30 mg/kg を SC 投与した。雄マウスには、交配前 28 日から交配期間中及び計画した安楽死の前日まで、隔日投与した。雌マウスには、交配の 15 日前から交配期間中及び妊娠日齢（GD）2、4、6、8、10、12、及び 14 に隔日投与した。妊娠マウスの GD 6 及び GD 14 に PK 用試料を採取した。

3.3.1　　妊娠マウスでの血漿中曝露

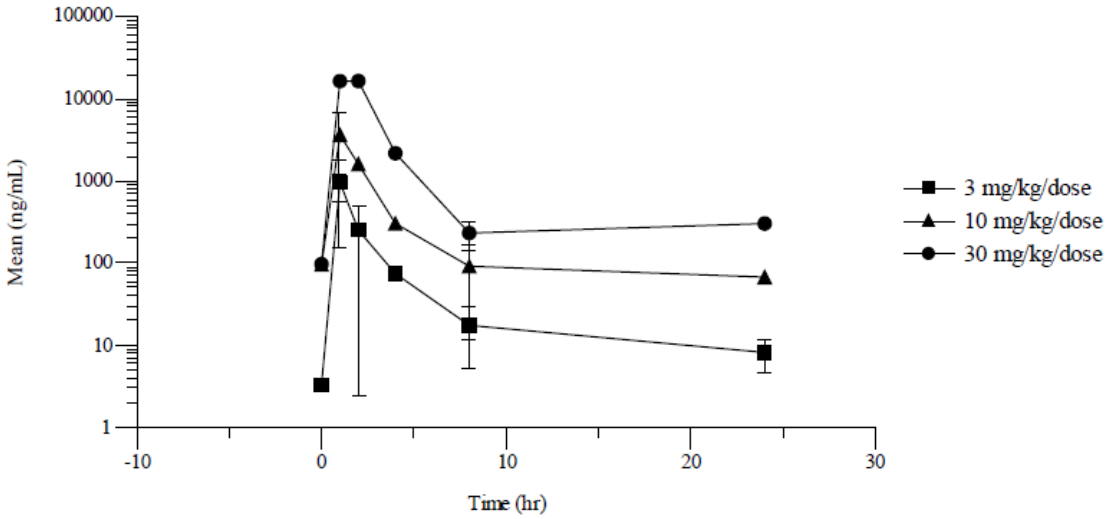
すべての群で、血漿中濃度に大きなばらつきが認められた（図 2 及び図 3）。血漿中濃度は投与後 24 時間まで定量可能であり、GD 6 及び GD 14 における T_{max} は投与後 1 又は 2 時間であった。妊娠マウス（GD 6 及び GD 14）において、トフェルセン SC 投与後における血漿中 PK は、全体的に、用量に依存したピーク（C_{max}）及び総曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）が認められた（表 4）。血漿中曝露量はほぼ用量に比例して増加したが、GD 6 における 10 及び 30 mg/kg 間のみ用量比を上回って増加した。トフェルセン 3 及び 10 mg/kg の反復 SC 投与後の $AUC_{0\text{-}24h}$ に基づくと、トフェルセンの曝露量のわずかな増加（蓄積）が認められた。トフェルセン 30 mg/kg 反復 SC 投与後の $AUC_{0\text{-}24h}$ からは、トフェルセンの曝露量の増加（蓄積）は認められなかった。

表 4　　妊娠マウス（GD 6 及び GD 14）における 3、10、及び 30 mg/kg 反復 SC 投与後の血漿中トフェルセンの PK パラメータ（P067-17-02 試験）

GD	用量 (mg/kg)	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	$RAUC_{0\text{-}24h}$ [a]
6	3	1	963	1810	NA
	10	1	3630	8460	NA
	30	2	16400	52300	NA
14	3	1	1390	3420	1.89
	10	2	5860	17200	2.04
	30	1	12800	50500	0.965

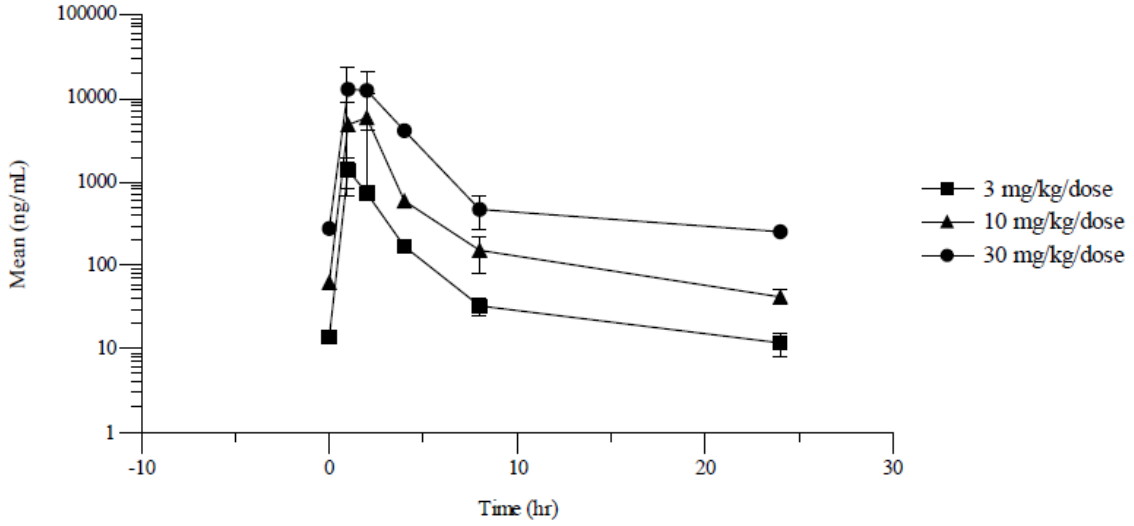
[a] 累積比（=［GD 14 の $AUC_{0\text{-}24h}$］/［GD 6 の $AUC_{0\text{-}24h}$］）、NA = 該当なし
Data source: M4.2.3.5.1-1_Appendix 23_Table 5.1 & Table 5.2

図 2　　妊娠マウス（GD 6）における SC 投与後の血漿中トフェルセン濃度の推移（P067-17-02 試験）



図中の各点は、2～3 例の平均値 ± SD を示す。
Data source: M4.2.3.5.1-1_Appendix 23_Figure 1.1

図 3　　妊娠マウス（GD 14）における SC 投与後の血漿中トフェルセン濃度の推移



図中の各点は、1～3 例の平均値 ± SD を示す。
Data source: M4.2.3.5.1-1_Appendix 23_Figure 1.2

3.4　　ウサギの胚・胎児発生に関する試験

［4.2.3.5.2-3］P067-17-05

反復投与試験では、妊娠 NZW ウサギの GD 7～19 において、対照（PBS、pH 7.4）（第 1 群）又はトフェルセン（第 2～4 群）のいずれかを隔日で SC 投与した。第 1～4 群の動物に、それぞれ 0、3、10、及び 30 mg/kg の用量で投与した。妊娠ウサギの GD 7 及び GD 19 に PK 用試料を採取した。

3.4.1　　妊娠ウサギでの血漿中曝露

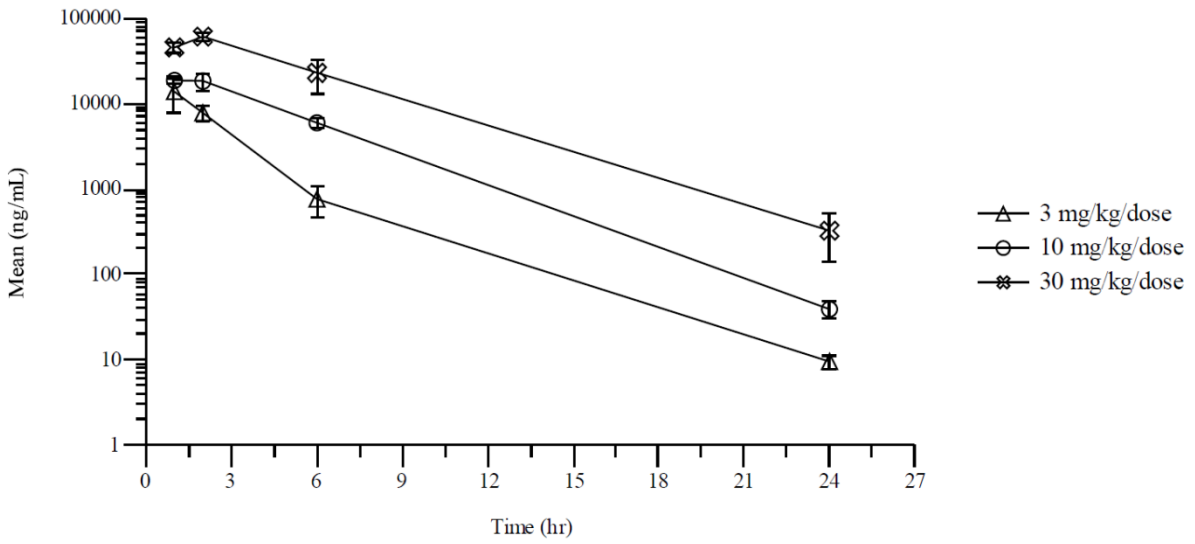
GD 7 及び GD 19 における T_{max} は投与後 1 又は 2 時間であった（表 5、図 4 及び図 5）。全体的に、GD 7 及び GD 19 におけるトフェルセンの全身曝露量（平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は用量依存的に増加した（表 5）。観察された C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ の増加はほぼ用量に比例したが、GD 7 における 3 及び 10 mg/kg 間の C_{max} のみ用量比を下回って増加した。トフェルセンを隔日に反復 SC 投与しても、GD 7 及び GD 19 における平均 $AUC_{0\text{-}24h}$ で評価した蓄積は認められなかった。

表 5　　妊娠 NZW ウサギ（GD 7 及び GD 19）における 3、10、及び 30 mg/kg SC 投与後の血漿中トフェルセンの PK パラメータ（P067-17-05 試験）

GD	群	用量 (mg/kg)	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	$RAUC_{0\text{-}24h}$ [a]
7	2	3	1 (1 - 2)	14200 ± 5190	41900 ± 1990	NA
	3	10	1 (1 - 2)	19900 ± 2990	131000 ± 15400	NA
	4	30	2 (2 - 2)	60900 ± 7630	454000 ± 121000	NA
19	2	3	2 (2 - 2)	4140 ± 2030	23800 ± 6070	0.573 ± 0.172
	3	10	2 (1 - 2)	11900 ± 2630	87500 ± 13600	0.666 ± 0.0314
	4	30	2 (2 - 2)	41100 ± 4600	283000 ± 31800	0.641 ± 0.0974

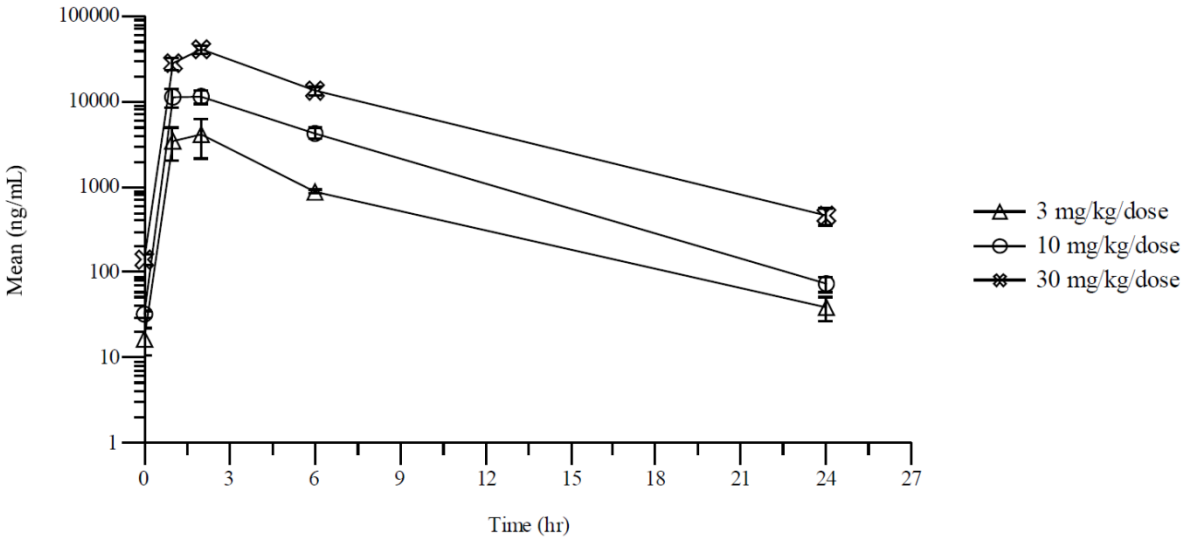
値は平均値 ± SD （n = 3）。ただし、T_{max} は中央値（最小値 – 最大値）。
[a] 累積比（=［GD 19 の $AUC_{0\text{-}24h}$］/［GD 7 の $AUC_{0\text{-}24h}$］）、NA = 該当なし
Data source: M4.2.3.5.2-3_Appendix 17_Table 6.1 & Table 6.2

図 4　　妊娠 NZW ウサギ（GD 7）における SC 投与後の血漿中トフェルセン濃度の推移（P067-17-05 試験）



凡例：用量
図中の各点は、3 例の平均値 ± SD を示す。
Data source: M4.2.3.5.2-3_Appendix 17_Figure 1.1

図 5　　妊娠 NZW ウサギ（GD 19）における SC 投与後の血漿中トフェルセン濃度の推移（P067-17-05 試験）



凡例：用量
図中の各点は、3 例の平均値 ± SD を示す。
Data source: M4.2.3.5.2-3_Appendix 17_Figure 1.2

3.5　　サルの 13 週間反復投与毒性試験

［4.2.3.2-4］666853-AS01

カニクイザルにおけるトフェルセン IT ボーラス投与後の CSF 及び血漿中濃度を評価した。この試験では、雌雄のサルに溶媒対照（第 1 群）又はトフェルセン（第 2～5 群）を投与した。第 1 群の動物には、Day 1、14、28、56、及び 84 に溶媒（人工脳脊髄液［aCSF］）を腰髄 IT ボーラス投与した。第 2～4 群の動物には、それぞれ 4、12、及び 35 mg を Day 1、14、28、56、及び 84 に腰髄 IT ボーラス投与し、第 5 群の動物には、12 mg を Day 1、14、及び 28 に腰髄 IT ボーラス投与した。

3.5.1　　カニクイザルでの CSF 中曝露

カニクイザルにおける単回及び反復 IT ボーラス投与後の CSF 中濃度を測定した。トフェルセンを反復 IT 投与したすべてのカニクイザルにおいて、用量依存的な CSF 中曝露が認められた（表 14）。トフェルセンの CSF 中濃度は雌雄のサルで同程度であった。そのため、全般的に、雌雄を合算した平均値を PK 解析及び考察に用いた。

サル（第 5 群）の Day 1 における CSF 中濃度の結果から、トフェルセンは急速な分布相（投与後 4～16 時間）を示し、その後、より緩徐な消失相を示した（表 14 及び図 6）。第 4 群（Day 84）及び第 5 群（Day 28）の投与後の平均 CSF 濃度を用いて $t_{1/2}$ を算出すると、それぞれ 19.8 及び 37.2 日であった（表 6）

全体的に、各投与前の平均 CSF 中トフェルセン濃度は、Day 14 及び 28 の間で CNS 組織中での

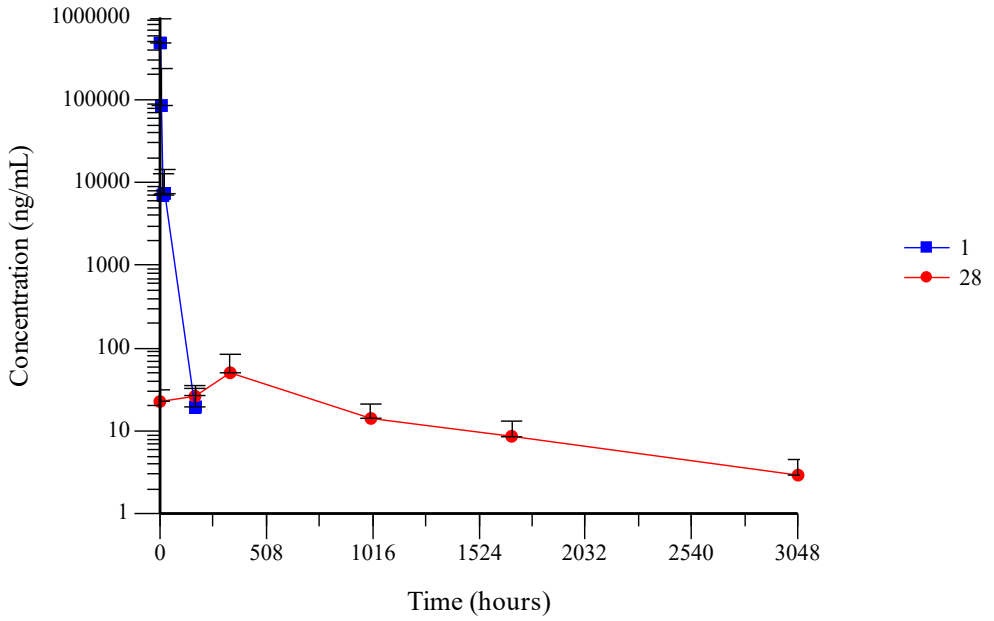
蓄積によると考えられる増加が認められ、Day 56 及び 84 における濃度は、Day 28 と同程度の濃度（又は第 4 群では増加傾向）であり、定常状態に達していることが示唆された（図 7）。

表 6　　カニクイザルにおける IT ボーラス投与後の各組織中トフェルセンの終末相 $t_{1/2}$（666853-AS01 試験）

組織	$t_{1/2}$（days）		組織	$t_{1/2}$（days）	
	第 4 群、35 mg（5 回投与）	第 5 群、12 mg（3 回投与）		第 4 群、35 mg（5 回投与）	第 5 群、12 mg（3 回投与）
CSF	19.8	37.2	頸髄	33.4	38.2
血漿	50.6	22.4	胸髄	32.5	34.7
小脳	34.9	30.8	腰髄	35.1	36.8
脳皮質	35.5	33.2	腎皮質	18.4	22.5
海馬	35.2	39.9	肝臓	15.3	19.8
脳橋	36.8	31.1			

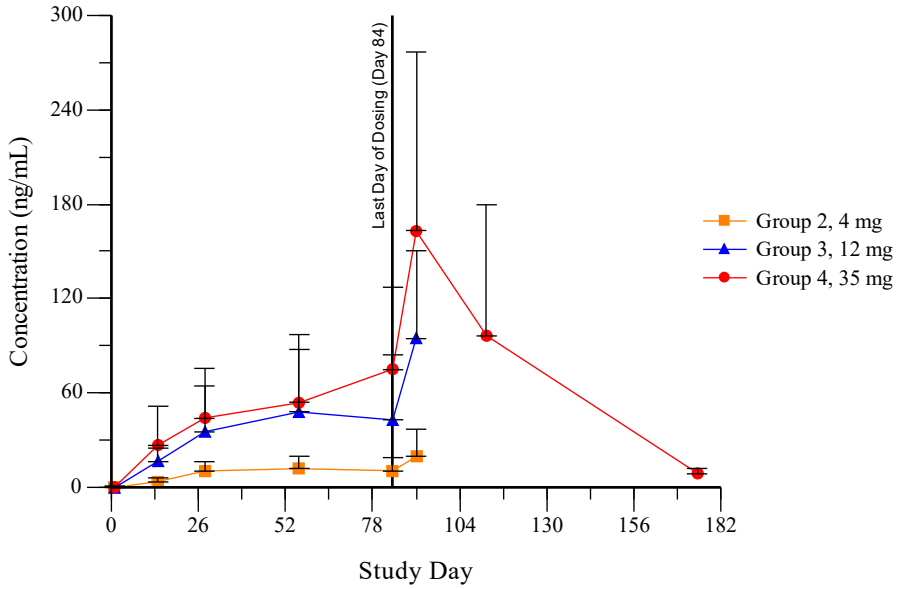
Data source: M4.2.3.2-4_Toxicokinetic Phase Report_Table 7

図 6　　カニクイザルにおける IT ボーラス投与後の CSF 中トフェルセン濃度の推移（第 5 群、雌雄合算）（666853-AS01 試験）



凡例：投与日
図中の各点は、3～16 例の平均値 + SD を示す。
Data source: M4.2.3.2-4_Toxicokinetic Phase Report_Figure 2

図 7　　カニクイザルにおける IT ボーラス投与後の CSF 中トフェルセン濃度の推移（第 2～4 群、雌雄合算）（666853-AS01 試験）



凡例：群、用量
図中の各点は、4～14 例の平均値＋SD を示す。
各投与前の CSF 試料は、Day 1、14、28、56、及び 84 に採取された。
Data source: M4.2.3.2-4_Toxicokinetic Phase Report_Figure 1

3.5.2　　カニクイザルでの血漿中曝露

カニクイザルにおける単回及び反復 IT ボーラス投与後の血漿中濃度を測定した。トフェルセンを反復 IT 投与したすべてのカニクイザルにおいて、用量依存的な血漿中曝露が確認された。トフェルセンの血漿中濃度は雌雄のサルで同程度であった。そのため、全般的に、雌雄を合算した平均値を用いて PK 解析及び考察を行った。

トフェルセンの反復 IT 投与後の T_{max}（中央値）は、すべての群及び試験日において投与後 1.5～4 時間の範囲であった。さらに、反復投与後の T_{max} は、それぞれの試験日において同程度の値を示す傾向が見られた（表 7、図 8 及び図 9）。血漿中濃度は投与後 48 時間以内に急速に低下し（分布相）、分布後、より緩徐な消失相を示した。

表 7　　カニクイザルにおける IT ボーラス投与後の血漿中トフェルセンの PK パラメータ（雌雄合算）（666853-AS01 試験）

群	用量（mg）	投与日	N	C_{max}（ng/mL）	T_{max}（h）	AUC_{0-48h}（ng*h/mL）	MRT_{0-48h}（h）
2	4	1	6	2760 ± 1450	1.5 (1 - 2)	8500 ± 3020	4.12 ± 0.791
		84	6	1010 ± 492	2 (1 - 4)	6140 ± 2110	6.29 ± 1.33
3	12	1	6	10800 ± 6070	2 (1 - 4)	46200 ± 13800	4.42 ± 1.32
		84	6	6860 ± 3270	4 (2 - 4)	36000 ± 8630	5.51 ± 1.10
4	35	1	14	35100 ± 11200	2 (1 - 4)	209000 ± 36300	5.37 ± 0.916
		84	14	26400 ± 15700	4 (1 - 8)	175000 ± 42100	6.59 ± 1.86
5	12	1	16	9660 ± 4360	2 (1 - 4)	48900 ± 14900	4.87 ± 1.07
		28	14	8480 ± 6570	4 (1 - 4)	40100 ± 9310	5.37 ± 1.63

値は平均値 ± SD。ただし、T_{max} は中央値（最小値 – 最大値）。
Data source: M4.2.3.2-4_Toxicokinetic Phase Report_Table 3

全用量で、Day 84（5 回投与後）における血漿中濃度推移及び曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-48h}）は、Day 1 と比較して若干低い傾向が見られた（表 7）。血漿中 PK の結果から、カニクイザルにトフェルセンの IT 投与後の Day 1 及び 84 における C_{max} 及び総曝露量（AUC_{0-48h}）は用量依存的に増加することが示された（表 7）。IT 投与後の血漿中曝露量は用量比を上回って増加した。第 2 群（4 mg/1 回）に対する第 4 群（35 mg/1 回）の用量比が 8.8 倍であるのに対し、Day 1 及び 84 における C_{max} はそれぞれ約 13 倍及び 26 倍増加し、AUC_{0-48h} はそれぞれ約 25 倍及び 29 倍増加した。

投与後 48 時間以内の血漿中から組織中へのトフェルセンの初期の迅速でほぼ完全な分布を反映する指標として、初回投与（Day 1）、3 回目投与（Day 28）及び 5 回目投与（Day 84）にける MRT_{0-48h} を算出した。その結果、MRT_{0-48h}（平均値）は 4.12～6.59 時間の範囲であった（表 7）。すべての群で、血漿中トフェルセンは多相性に消失する傾向が見られ、トフェルセンの血漿中から組織中への分布が比較的速やかであることを示している。最終投与後のデータから算出した分布後の血漿中 $t_{1/2}$ は、第 4 及び 5 群において、それぞれ 50.6 及び 22.4 日であった（表 6）。

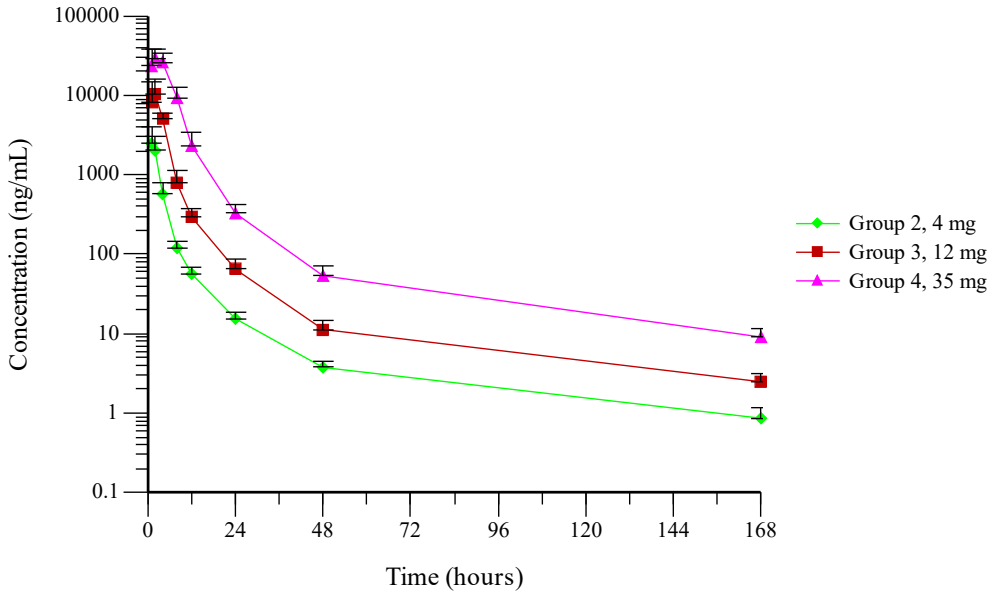
さらに、血漿中トラフ（投与前）濃度を、Day 1、14、28、56、及び 84 に測定した（表 8）。トラフ濃度は、概して用量依存的であった。分布後の CSF 及び血漿中の平均濃度を比較した場合、分布後の CSF 中平均濃度は、概して対応する血漿中濃度よりも高かった（表 15）。

表 8　　カニクイザルにおける反復 IT ボーラス投与後の各投与前（トラフ）の血漿中トフェルセン濃度（雌雄合算）（666853-AS01 試験）

群	用量（mg）	試験日	投与回数	N	トフェルセン濃度（ng/mL）
2	4	1	0	6	BLQ
		14	1	6	0.426 ± 0.339
		28	2	6	0.576 ± 0.294
		56	3	6	0.183 ± 0.285
		84	4	6	0.292 ± 0.497
3	12	1	0	6	BLQ
		14	1	6	1.67 ± 0.496
		28	2	6	2.23 ± 0.447
		56	3	6	1.55 ± 0.530
		84	4	6	414 ± 999 [a]
4	35	1	0	14	BLQ
		14	1	14	4.49 ± 1.29
		28	2	14	6.08 ± 2.23
		56	3	14	6.67 ± 2.87
		84	4	14	9.32 ± 8.76
5	12	1	0	16	BLQ
		14	1	14	2.11 ± 0.762
		28	2	14	3.53 ± 1.08

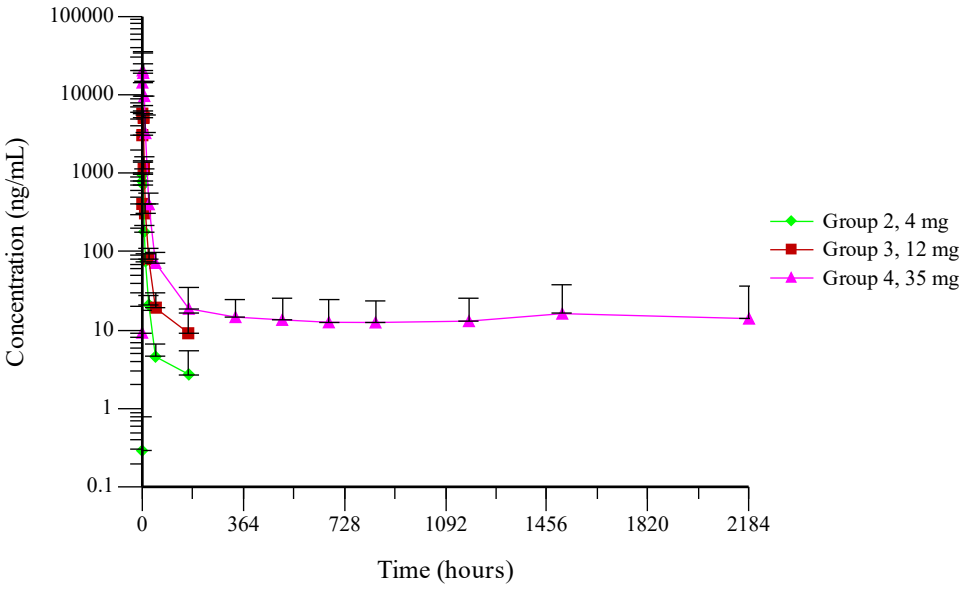
[a] 動物番号 19288 の投与前及び投与後 1 時間の濃度は、同一群内のほかの動物の傾向と一致しなかった。
値は平均値 ± SD 。BLQ = 定量下限未満
Data source: M4.2.3.2-4_Toxicokinetic Phase Report_Table 4

図 8　　カニクイザルにおける Day 1 の IT ボーラス投与後の血漿中トフェルセン濃度の推移（雌雄合算）（666853-AS01 試験）



凡例：群、用量
図中の各点は、6～14 例の平均値 + SD を示す。
Data source: M4.2.3.2-4_Toxicokinetic Phase Report_Figure 3

図 9　　カニクイザルにおける Day 84 の IT ボーラス投与後の血漿中トフェルセン濃度の推移（雌雄合算）（666853-AS01 試験）



凡例：群、用量
図中の各点は、4～14 例の平均値 + SD を示す。
Data source: M4.2.3.2-4_Toxicokinetic Phase Report_Figure 4

3.6 サルの 9 ヵ月間反復投与毒性試験

［4.2.3.2-5］P067-[redacted]-01

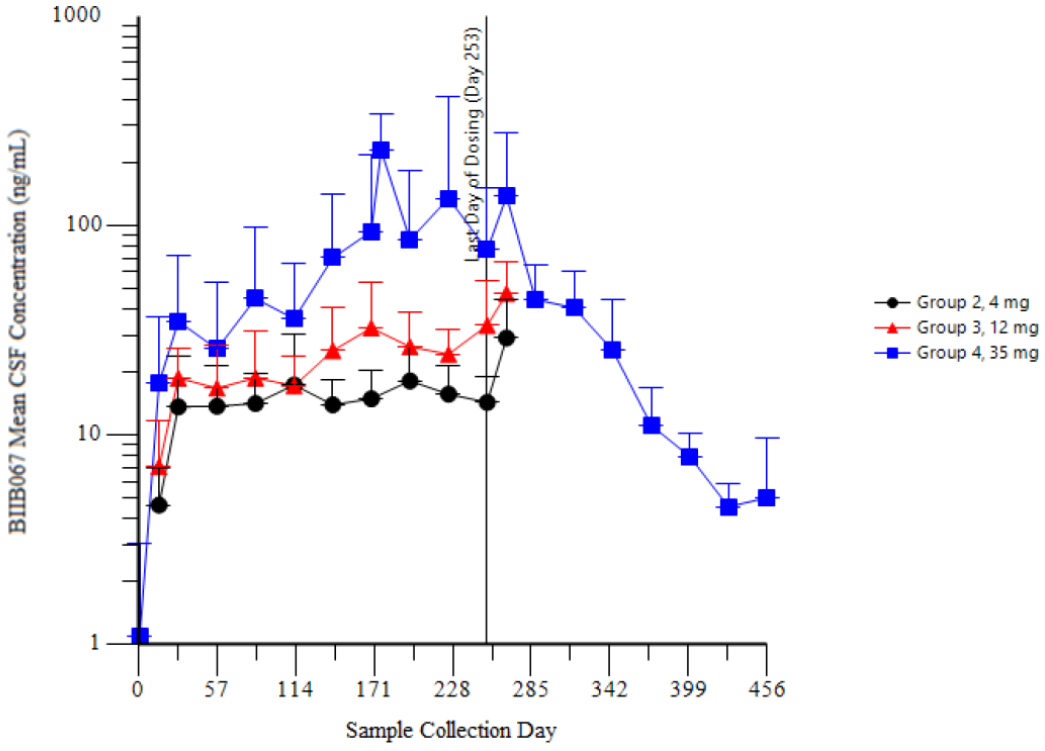
トフェルセンをカニクイザルに反復 IT ボーラス投与後の CSF 及び血漿中 PK を評価した。この試験では、雌雄のサルに溶媒（第 1 群）又はトフェルセン（第 2～4 群）のいずれかを投与した。第 1 群の動物には、Day 1、15、29、57、85、113、141、169、197、225、及び 253 に溶媒（aCSF）を腰髄 IT ボーラス投与した。第 2～4 群の動物には、それぞれ 4、12、及び 35 mg の用量で Day 1、15、29、57、85、113、141、169、197、225、及び 253 に腰髄 IT ボーラス投与した。

3.6.1 カニクイザルでの CSF 中曝露

トフェルセンを反復 IT 投与したすべてのサルで、用量依存的な CSF 中曝露が確認された。

トフェルセンの CSF 中濃度の結果から、雌雄のサルは同程度の CSF 中濃度を示した（表 16）。このことより、雌雄を合算した平均値を用いて PK 解析及び考察を行った。すべての群で各投与前の CSF 中トフェルセン濃度の平均値は、Day 15 から 29 の間で著しく増加し、その後、すべての用量で試験期間中にわずかに増加し続けた（図 10、表 16）。Day 253（第 4 群）の最終投与後、CSF 中濃度は回復期間中に徐々に減少し、$t_{1/2}$ は 45 日であった。

図 10 カニクイザルにおける IT ボーラス投与後の CSF 中トフェルセン濃度の推移（第 2～4 群、雌雄合算）（P067-[redacted]-01 試験）



凡例：群、用量
図中の各点は、3～20 例の平均値 + SD を示す。
Data source: M4.2.3.2-5_Toxicokinetic Phase Report - Plasma, CSF and Special Tissue_Figure 1

3.6.2 カニクイザルでの血漿中曝露

トフェルセンを反復 IT 投与したすべてのサルで、用量依存的な全身血漿中曝露が確認された。トフェルセンの血漿中曝露は雌雄のサルで同程度であったため、雌雄を合算した平均値を用いて PK 解析及び考察を行った。

トフェルセンの反復 IT 投与後の T_{max}（中央値）は、すべての群及び試験日において投与後 2～4 時間の範囲であった（表 9）。血漿中濃度は投与後 48 時間以内に急速に低下し（分布相）、分布後、より緩徐な消失相を示した（図 11 及び図 12）。

第 3 群（12 mg）を除いて、Day 253 における血漿中曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は、概して Day 1 と同程度であった（表 9）。第 3 群の Day 253 における平均 C_{max} は、Day 1 と比較して明らかに低かったが、動物個体間のばらつきが大きく、本試験結果の解釈は困難であった。

反復 IT 投与後の血漿中濃度は速やかに低下した。投与後 24 時間以内の血漿中から組織中へのトフェルセンの初期の迅速でほぼ完全な分布を反映する指標として、初回（Day 1）及び最終（Day 253）IT 投与における投与後 0 時間から 24 時間までの平均滞留時間（$MRT_{0\text{-}24h}$）を算出した（表 9）。IT 投与後の平均 $MRT_{0\text{-}24h}$ は、4.07～7.70 時間の範囲であった。すべての群で、血漿中トフェルセンは多相性で消失する傾向が見られ、血漿から組織への比較的速やかな分布が示唆された（図 11 及び図 12）。

血漿中 PK の結果から、トフェルセンをカニクイザルに IT 投与後の Day 1 及び 253 における C_{max} 及び総曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）は用量依存的であることが示された。IT 投与後の血漿中曝露量は用量比を上回って増加した。第 2 群（4 mg）に対する第 4 群（35 mg）の用量比が 8.8 倍であるのに対し、Day 1 及び 253 における C_{max} はそれぞれ約 23 及び 37 倍増加し、$AUC_{0\text{-}24h}$ はそれぞれ約 25 及び 23 倍増加した。血漿中トラフ（投与前）濃度を、Day 1、15、29、57、85、113、141、169、197、225、及び 253 に測定した。全体的に、血漿中トラフ濃度は用量依存的であった（表 10）。

表 9　カニクイザルにおける IT ボーラス投与後の血漿中トフェルセンの PK パラメータ（雌雄合算）（P067-[redacted]-01 試験）

群	用量 (mg)	投与日 (名目)	N	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	$MRT_{0\text{-}24h}$ (h)
2	4	1	8	1250 ± 327	2.0 (1.0 - 4.0)	6260 ± 1160	5.21 ± 0.649
		253	8	995 ± 276	2.0 (1.0 - 4.0)	7730 ± 3390	7.70 ± 1.58
3	12	1	8	11600 ± 4240	2.0 (2.0 - 4.0)	45100 ± 13900	4.07 ± 0.702
		253	7	4840 ± 2370	4.0 (2.0 - 10)	30000 ± 11100	6.77 ± 2.41
4	35	1	20	29100 ± 10600	2.0 (2.0 - 4.0)	159000 ± 30300	5.28 ± 1.55
		253	8	36800 ± 19900	3.0 (1.0 - 4.0)	179000 ± 67700	5.51 ± 1.21

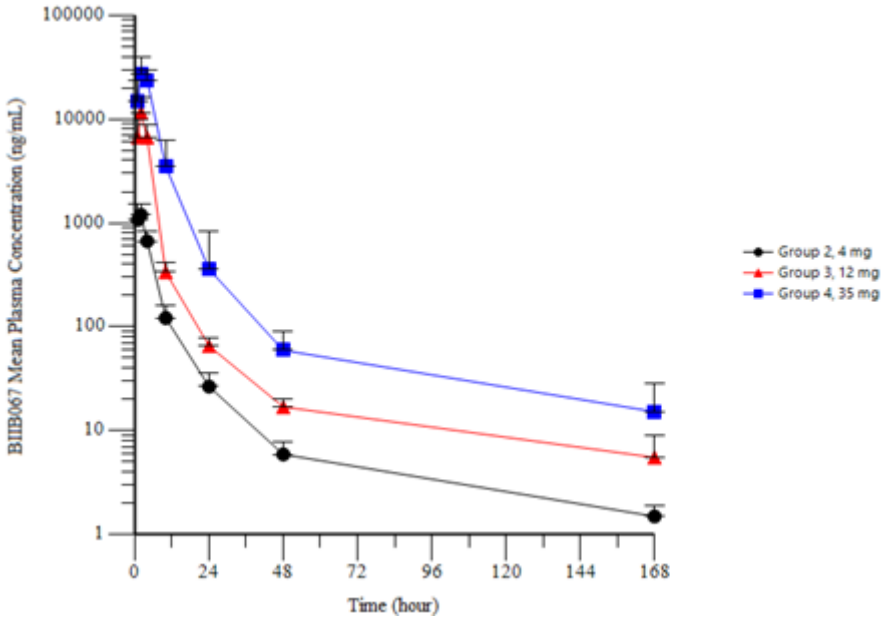
値は平均値 ± SD。ただし、T_{max} は中央値（最小値 – 最大値）。
Data source: M4.2.3.2-5_Toxicokinetic Phase Report - Plasma, CSF and Special Tissue_Table 3

表 10　　カニクイザルにおける反復 IT ボーラス投与後の各投与前の血漿中トフェルセン濃度（雌雄合算）（P067-[redacted]-01 試験）

採取日	用量 4 mg		用量 12 mg		用量 35 mg	
	第 2 群		第 3 群		第 4 群	
	N	トフェルセン（ng/mL）	N	トフェルセン（ng/mL）	N	トフェルセン（ng/mL）
1	8	BLQ	8	BLQ	20	BLQ
15	8	0.522 ± 0.351	8	2.46 ± 1.52	20	5.69 ± 1.82
29	8	2.68 ± 5.01	8	2.89 ± 1.41	20	9.16 ± 3.82
57	8	7.63 ± 12.5	8	2.43 ± 1.8	20	7.96 ± 9.29
85	8	8.43 ± 13.7	7	14.0 ± 17.0	20	13.1 ± 20.1
113	8	14.7 ± 18.8	7	28.9 ± 33.7	20	37.6 ± 82.3
141	8	11.8 ± 14.6	7	39.5 ± 55.0	20	51.9 ± 89.7
169	8	11.1 ± 10.8	7	51.3 ± 56.1	20	69.7 ± 135
197	8	11.6 ± 14.8	7	74.9 ± 97.0	12	52.4 ± 56.3
225	8	13.1 ± 20.0	7	74.0 ± 108	12	71.9 ± 94.3
253	8	11.6 ± 15.0	7	65.2 ± 106	12	68.3 ± 55.5

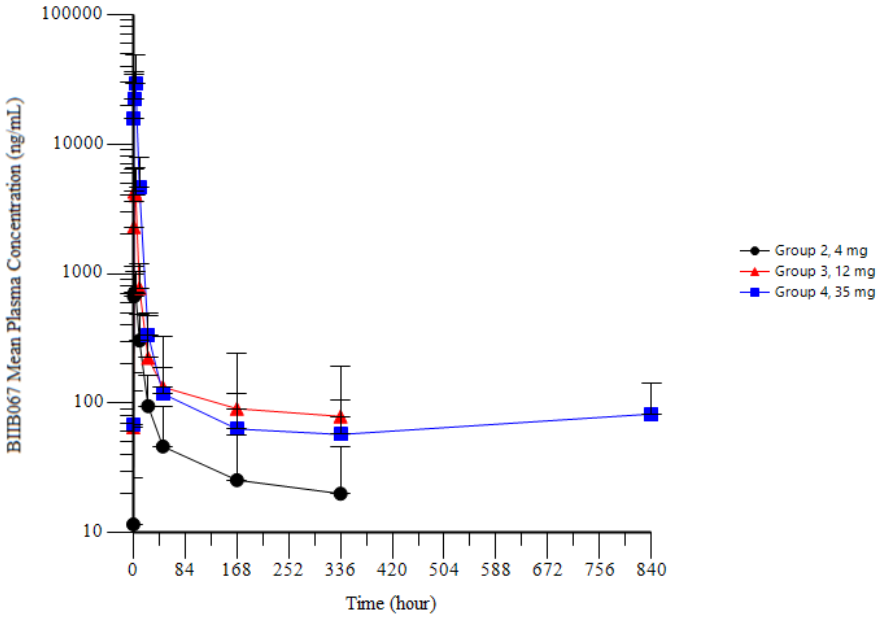
値は平均値 ± SD 。
Data source: M4.2.3.2-5_Toxicokinetic Phase Report - Plasma, CSF and Special Tissue_Table 4

図 11　　カニクイザルにおける Day 1 の IT ボーラス投与後の血漿中トフェルセン濃度の推移（雌雄合算）（P067-[redacted]-01 試験）



凡例：群、用量
図中の各点は、8～20 例の平均値 + SD を示す。
Data source: M4.2.3.2-5_Toxicokinetic Phase Report - Plasma, CSF and Special Tissue_Figure 2

図 12　　カニクイザルにおける Day 253 の IT ボーラス投与後の血漿中トフェルセン濃度の推移（雌雄合算）（P067-[redacted]-01 試験）



凡例：群、用量
図中の各点は、4～12 例の平均値 + SD を示す。
Data source: M4.2.3.2-5_Toxicokinetic Phase Report - Plasma, CSF and Special Tissue_Figure 3

3.7　　動物種間の比較

非臨床での CSF 中トフェルセンの PK 特性は、カニクイザルでのみ評価した。非臨床におけるトフェルセンの血漿中 PK 特性は、カニクイザルの 13 週間及び 9 ヵ月間反復 IT ボーラス投与試験並びに CD-1 マウスの 12 週間及び 26 週間反復 SC ボーラス投与試験により評価した。トフェルセンの血漿中濃度は、IT ボーラス投与後の全身循環中への移行又は SC ボーラス投与後の全身循環中への吸収後に多相性の消失を示し、急速な分布相、及びそれに続く緩徐で持続的な消失相を示した。C_{max} に到達後のカニクイザル及び CD-1 マウスの血漿中 PK は、全般的に類似しており、トフェルセンの血漿中濃度は、投与 48 時間後までに全身組織への広範な分布により急速に低下した。

4 分布

4.1 組織分布

臨床投与経路は IT 投与を予定しているため、カニクイザルを用いてトフェルセンの IT 反復投与後の CNS 及び全身組織への分布を詳細に評価した。トフェルセンの組織分布の推移は、2 種類の毒性・PK 試験、すなわち、1）サル 13 週間反復 IT 投与試験（666853-AS01 試験）及び、2）サル 9 ヵ月間反復 IT 投与試験（P067-[redacted]-01 試験）で評価した。CNS 組織への分布は、ラット IT 投与急性毒性試験（666853-AS03 試験）でも評価した。さらに、SC 投与後のトフェルセンの組織分布は、マウス 12 週間反復 SC 投与試験（666853-AS02 試験）で反復投与後の PK 試験として評価した。

4.1.1 マウスの 12 週間反復投与毒性試験

［4.2.3.2-1］666853-AS02

マウスでの反復 SC 投与試験における投与方法の詳細は、3.1 項に示す。単回及び反復 SC ボーラス投与後の脳、肝臓及び腎臓組織中の濃度を測定した。トフェルセンは、オリゴヌクレオチド化合物の主要な分布臓器である腎臓及び肝臓［Geary 2003、Yu 2007］に広く分布した。

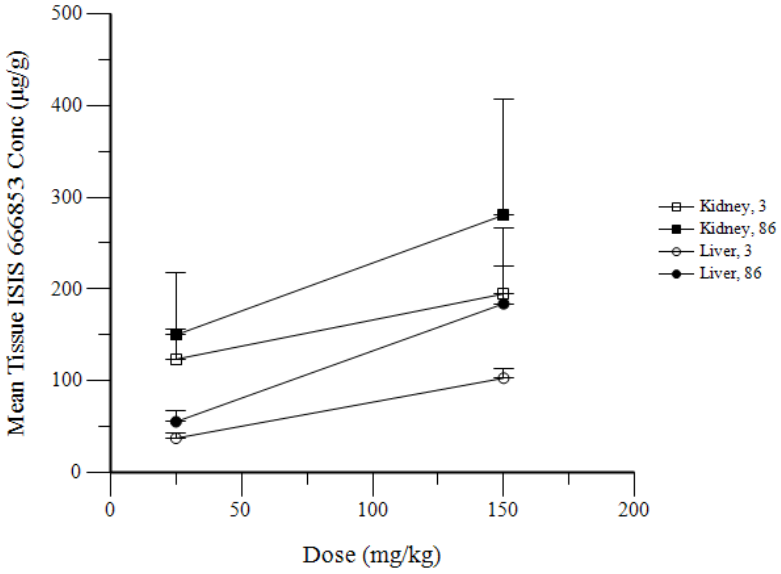
脳（前頭葉）中トフェルセン濃度は、測定したすべての試料で定量下限未満であり、さらなる脳組織中濃度の評価は実施しなかった。初回及び 7 回投与後 48 時間（それぞれ Day 3 及び Day 86）に測定した腎臓及び肝臓中濃度は用量依存的であり、用量比を下回る増加を示した（図 13）。PK 特性を解析するため、初回投与後の数時点で組織中濃度を測定した。初回投与後、腎臓又は肝臓中濃度の T_{max} は、投与後約 10 時間であった（表 11、図 14 及び図 15）。腎臓及び肝臓中の C_{max} は用量依存的に増加したが、その増加は用量比を下回った。

表 11 マウスにおける単回 SC 投与後の組織中トフェルセンの PK パラメータ（雌雄合算）（666853-AS02 試験）

群	用量（mg/kg）	組織	T_{max}（h）	C_{max}（μg/g）
4	25	腎臓	10	192
		肝臓	10	48.5
5	150	腎臓	10	252
		肝臓	24	105

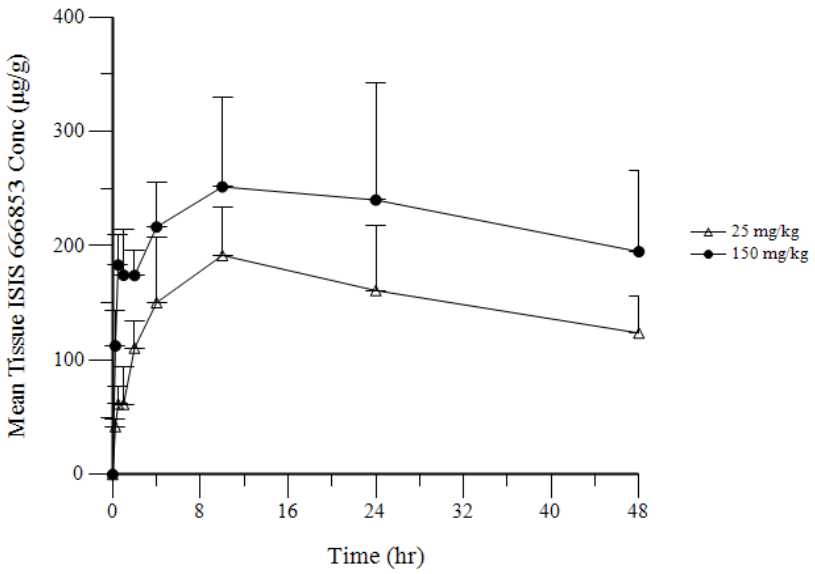
5～7 例／時点の平均濃度からパラメータを算出。
脳組織中濃度はいずれも BLQ（LLOQ は 10～25 μg/g）であり、PK パラメータは算出できず。
Data source: M4.2.3.2-1_In-text Table 6

図 13　　マウスにおける単回又は反復 SC 投与後の用量と組織中トフェルセン濃度の関係（雌雄合算）（666853-AS02 試験）



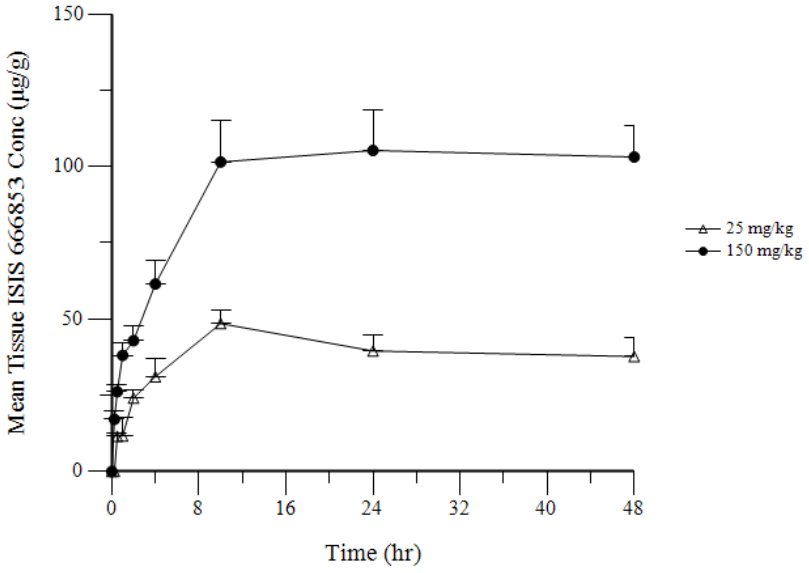
凡例：組織、採取日
図中の各点は、6～12 例の平均値＋SD を示す。
Data source: M4.2.3.2-1_Appendix 8_Figure 5

図 14　　マウスにおける単回 SC 投与後の腎臓中トフェルセン濃度の推移（雌雄合算）（666853-AS02 試験）



凡例：用量
図中の各点は、5～7 例の平均値＋SD を示す。
Data source: M4.2.3.2-1_Appendix 8_Figure 2

図 15　　マウスにおける単回 SC 投与後の肝臓中トフェルセン濃度の推移（雌雄合算）（666853-AS02 試験）



凡例：用量
図中の各点は、6～7 例の平均値＋SD を示す。
Data source: M4.2.3.2-1_Appendix 8_Figure 3

4.1.2　　ラットの急性毒性試験

［4.2.3.1-1］666853-AS03

ラットの単回投与試験では、雌雄の Sprague Dawley ラットに溶媒（第 1 群）又はトフェルセン（第 2～5 群）のいずれかを投与した。第 1 群の動物には、溶媒（aCSF）を Day 1 に IT ボーラス投与した。第 2～5 群の動物には、トフェルセンをそれぞれ 0.1、0.3、1、及び 3 mg で Day 1 に IT ボーラス投与した。

ラットに単回 IT ボーラス投与後のトフェルセンの組織中濃度を測定するために、特定の組織試料を採取した。

評価したラットの CNS 組織におけるトフェルセンの平均曝露量は、すべての群で用量依存的であった（表 12）。トフェルセンを投与したすべての群において、平均腰髄中濃度は平均脳皮質中濃度よりも高かった。この結果から、ラットの CNS 組織はトフェルセンの単回 IT 投与により曝露されることが示された。

表 12　　ラットにおける単回 IT 投与後の CNS 組織中のトフェルセン濃度
（666853-AS03 試験）

群	用量（mg）	試験日	性別	投与回数	N	組織中濃度（μg/g）	
						脳皮質	腰髄
2	0.1	15	雌	1	6	2.28 ± 0.625	9.84 ± 5.10
			雄	1	6	2.63 ± 1.05	11.3 ± 8.97
			雌雄合算	1	12	2.46 ± 0.842	10.6 ± 7.00
3	0.3	15	雌	1	6	4.62 ± 3.92	15.6 ± 4.02
			雄	1	6	5.89 ± 4.80	14.9 ± 4.70
			雌雄合算	1	12	5.25 ± 4.23	15.2 ± 4.19
4	1.0	15	雌	1	6	10.6 ± 6.63	27.3 ± 5.17
			雄	1	6	4.19 ± 4.06	19.9 ± 7.94
			雌雄合算	1	12	7.40 ± 6.22	23.6 ± 7.49
5	3.0	15	雌	1	6	18.2 ± 14.5	39.1 ± 19.4
			雄	1	6	15.8 ± 8.28	28.6 ± 15.1
			雌雄合算	1	12	17.0 ± 11.4	33.9 ± 17.5

値は平均値 ± SD 。
Data source: M4.2.3.1-1_Appendix J_Table A

4.1.3　　サルの 13 週間反復投与毒性試験

［4.2.3.2-4］666853-AS01

カニクイザルの反復 IT 投与試験における投与方法の詳細は、3.5 項に示す。脊髄、脳組織、肝臓及び腎臓中のトフェルセン濃度を測定した。組織中トフェルセン濃度の解析から、組織分布に性差を示す明確な又は一貫した証拠は認められなかった。そのため、全般的に、雌雄を合算した平均値を用いて PK 解析及び考察を行った。

CNS 組織（脳及び脊髄）中濃度の平均値は、Day 84 の最終投与後において全般的に用量比を下回って増加したが、小脳、皮質及び海馬組織中濃度の平均値は用量に比例して上昇した（表 19）。3 回目（Day 28）及び 5 回目（Day 84）投与後、トフェルセンの CNS 組織中平均濃度は、評価したすべての用量において全般的に腰髄（IT 投与でのボーラス注射部位に一致）で最高値を示した（表 19）。また、それと同程度又は若干低い濃度が胸髄、頸髄及び脳組織で認められた（図 17）。

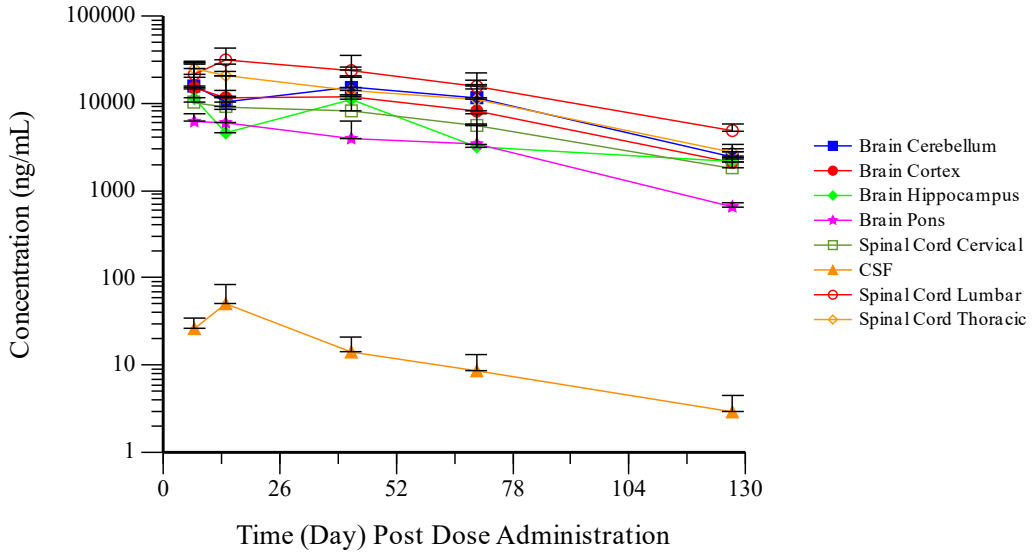
腎臓及び肝臓は、オリゴヌクレオチド化合物が全身投与後に分布する主要臓器である［Geary 2003、Yu 2007］。Day 84 の最終投与後において、腎皮質及び肝臓中の濃度は用量依存的に増加した（表 19 及び図 18）。腎皮質では 3.5 倍に増加し、用量比を下回る増加であったが、肝臓では 14 倍に増加し、用量比を上回る増加であった（表 19）。Day 84 における肝臓及び腎皮質中の平均濃度は、CNS 組織中の平均濃度よりも高かったことから（図 17 及び図 18）、IT 投与されたトフェルセンの高い割合が CSF から全身循環中に分布したことが示された。

投与したすべての動物の CSF 中濃度に対する CNS 組織中濃度を評価すると、全般的に CNS 組

織中濃度は CSF 中濃度より 100 倍以上高かった（表 15）。CSF に対する組織中濃度の比に若干のばらつきが認められるが、終末消失相における CSF 及び組織中の濃度は、全般的に並行して減少した（図 16）。

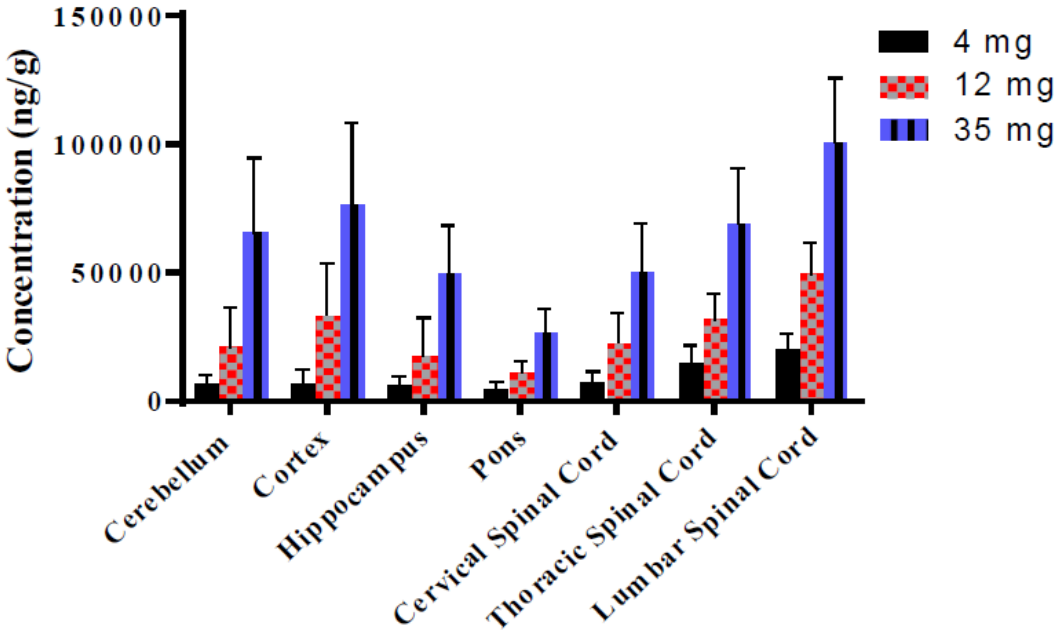
回復期間中、トフェルセンの CNS 組織中からの消失は非常に緩徐であった（表 6）。見かけの終末消失相における組織中 $t_{1/2}$ の値は、第 4 群（Day 84）及び第 5 群（Day 28）の個々の終末相組織中濃度を用いて、スパースサンプリングによるノンコンパートメント解析モデルにより算出した。CNS 組織中トフェルセンの推定 $t_{1/2}$ は、30.8～39.9 日であった。腎皮質中の推定 $t_{1/2}$ は 22.5 日（第 5 群）及び 18.4 日（第 4 群）、肝臓中の推定 $t_{1/2}$ は 19.8 日（第 5 群）及び 15.3 日（第 4 群）であった。

図 16　　カニクイザルにおける IT ボーラス投与後の CNS 組織及び CSF 中トフェルセン濃度の推移（第 5 群、雌雄合算）（666853-AS01 試験）



凡例：組織
図中の各点は、2～14 例の平均値 + SD を示す。
Data source: M4.2.3.2-4_Toxicokinetic Phase Report_Figure 6

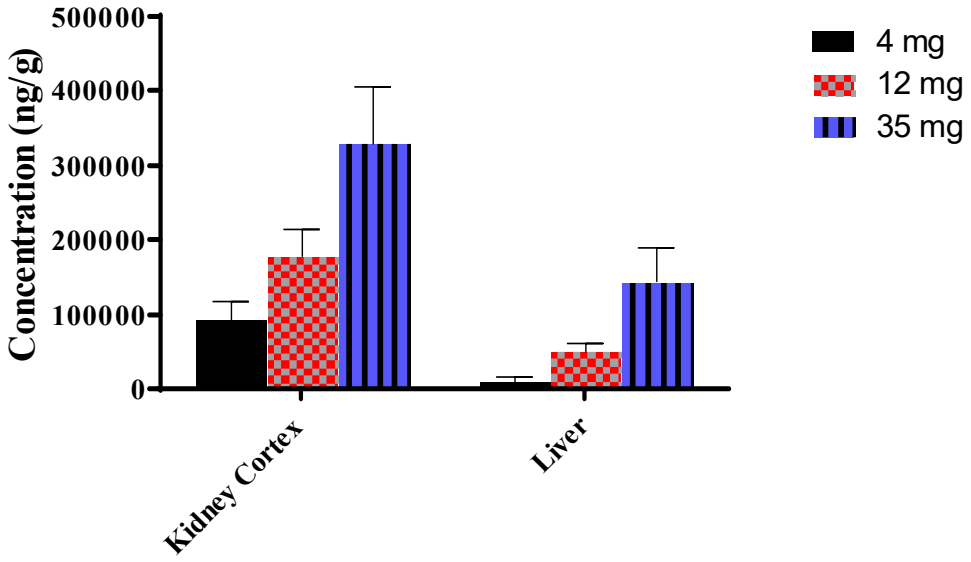
図 17　　カニクイザルにおける Day 84 の IT ボーラス投与後の脳及び脊髄中トフェルセン濃度（雌雄合算）（666853-AS01 試験）



凡例：用量

値は平均値 + SD （n = 6）
Data source: M4.2.3.2-4_Toxicokinetic Phase Report_Figure 9

図 18　　カニクイザルにおける Day 84 の IT ボーラス投与後の肝臓及び腎皮質中トフェルセン濃度（雌雄合算）（666853-AS01 試験）



凡例：用量
値は平均値 + SD （n = 6）
Data source: M4.2.3.2-4_Toxicokinetic Phase Report_Figure 10

4.1.4 サルの 9 ヵ月間反復投与毒性試験

［4.2.3.2-5］P067-[redacted]-01

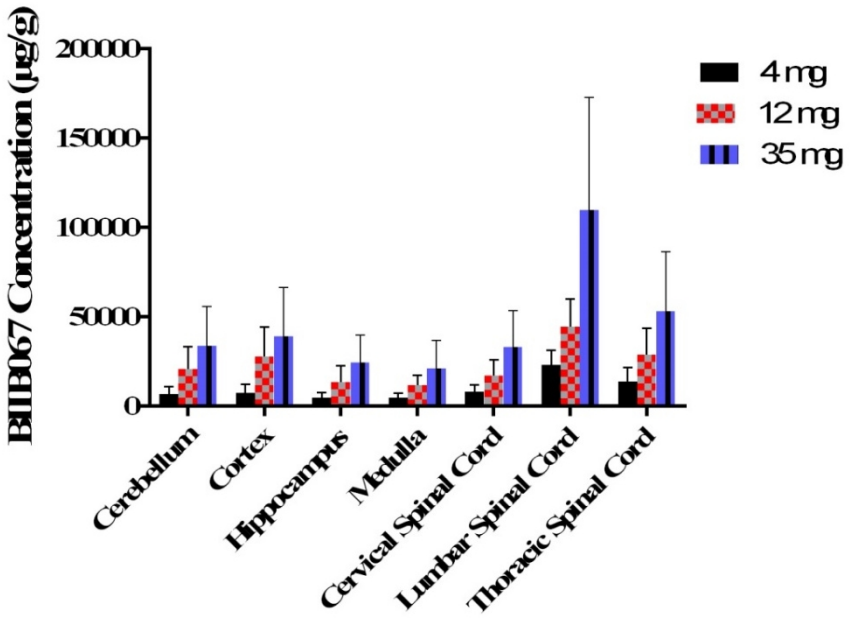
サルの反復 IT 投与試験における投与方法の詳細は、3.6 項に示す。脊髄、脳組織、肝臓及び腎臓中のトフェルセン濃度を測定した。トフェルセンの組織中濃度の解析から、組織分布に性差を示す明確な又は一貫した証拠は認められなかった。そのため、全般的に、雌雄を合算した平均値を用いて PK 解析及び考察を行った。

CNS 組織（脳及び脊髄）中濃度の平均値は、全体的に最終（Day 253）投与後に用量比を下回って増加した（表 20）。8 回目（Day 169）及び最終（Day 253）投与後、トフェルセンの CNS 組織中平均濃度（表 20）は、評価したすべての用量において、全般的に腰髄（IT 投与でのボーラス注射部位に一致）で最高値を示し、それより若干低い濃度が胸髄、頸髄及び脳組織で認められた（図 19）。

腎臓及び肝臓は、オリゴヌクレオチド化合物の全身投与後に分布する主要臓器である［Geary 2003、Yu 2007］。全般的に、最終（Day 253）投与後の腎皮質及び肝臓中濃度は用量依存的に増加した（表 20 及び図 20）。観察された濃度の増加は、腎皮質では用量比を下回り、肝臓では用量比を上回った。脳組織と比較して、肝臓及び腎皮質中で比較的高い濃度が確認されたことから（図 19 及び図 20）、IT 投与されたトフェルセンの高い割合が CSF から全身循環中に分布したことが示された。

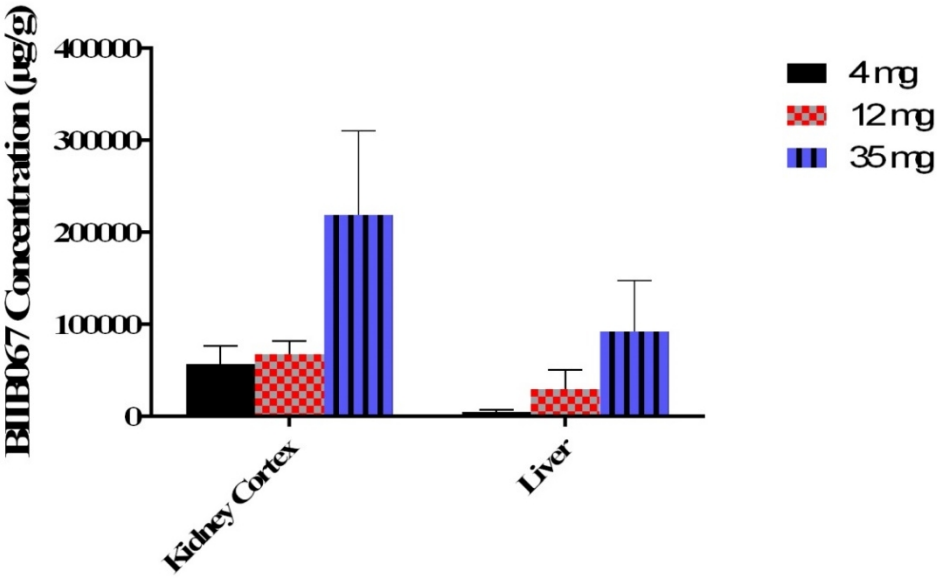
投与したすべての動物の CSF 中濃度に対する CNS 組織中濃度を評価すると、全般的に CNS 組織中濃度は CSF 中濃度より 100 倍以上高かった（表 17）。

図 19　カニクイザルにおける IT ボーラス投与（Day 267）後の脳及び脊髄中トフェルセン濃度（雌雄合算）（P067-[redacted]-01 試験）



凡例：用量
値は平均値 + SD （n = 7～8）
Data source: M4.2.3.2-5_Toxicokinetic Phase Report - Plasma, CSF and Special Tissue_Figure 6

図 20　　カニクイザルにおける Day 267 の IT ボーラス投与後の肝臓及び腎皮質中トフェルセン濃度（雌雄合算）（P067-[redacted]-01 試験）



凡例：用量
値は平均値＋SD （n＝7～8）
Data source: M4.2.3.2-5_Toxicokinetic Phase Report - Plasma, CSF and Special Tissue_Figure 7

4.2　　動物種間の比較

評価したすべての動物種（カニクイザル、CD-1 マウス及びラット）において、用量依存的なトフェルセンの組織分布が確認され、組織分布に性差を示す明確な又は一貫した証拠は認められなかった。

臨床投与経路は、IT 投与を予定している。IT 投与後、サル及びラットのいずれでも脊髄及び脳を含む CNS 組織に広く分布した。組織分布に関する傾向もサルとラットで類似しており、いずれの動物種でもトフェルセンの最高濃度が認められた CNS 組織は腰髄であり、これは投与経路が IT のボーラス投与であることに起因すると考えられた。

カニクイザル及び CD-1 マウスにおけるトフェルセンの全身分布は、類似クラスの ASO（2'-MOE 修飾 ASO など）の主要な分布臓器が腎臓及び肝臓であるという報告［Geary 2003、Yu 2007］と一致していた。マウスにおいて、トフェルセンは SC 投与後、血漿から肝臓及び腎臓に急速かつ広範に分布した。サルに IT 投与した場合、肝臓及び腎臓で比較的高い濃度が確認されたことから、IT 投与されたトフェルセンの高い割合が CSF 中から全身循環中に分布したことが示された。

4.3　　タンパク結合及び血球中への移行

［4.2.2.3-1］666853-IS03

血漿（CD-1 マウス、カニクイザル及びヒト）中のトフェルセンのタンパク結合を、限外ろ過法及びハイブリダイゼーション後のヌクレアーゼ処理を用いた ELISA 法を用いて評価した

（666853-IS03 試験）。マウス、サル及びヒトでは、臨床有効血漿中濃度又はそれ以上の濃度（0.1 及び 30 µg/mL）で血漿タンパク結合率は高く（95%以上）、これによりトフェルセンは糸球体でろ過されず（尿中排泄が制限され）、全身組織への分布が促進される。

トフェルセンの血球中への移行は評価されていない。

4.4 妊娠動物での組織分布

［4.2.3.5.3-1］P067-[redacted]-01

妊娠動物でのトフェルセンの組織分布は、マウスの出生前及び出生後発生試験において、妊娠 6～22 日及び分娩後（授乳）1～21 日までの間に隔日反復皮下投与（3、10、及び 30 mg/kg）により評価した（P067-[redacted]-01 試験）。トフェルセンを投与した授乳日齢 21 日のマウス母動物肝臓中で用量に依存した濃度のトフェルセンが検出された。さらに、トフェルセンを投与したすべてのマウスの授乳日齢 13 日の乳汁中にトフェルセンが検出された。しかし、授乳による薬物曝露にもかかわらず、生後 21 日のマウス出生児の肝臓及び脳試料中に測定可能な濃度のトフェルセンは検出されなかった。

5 代謝

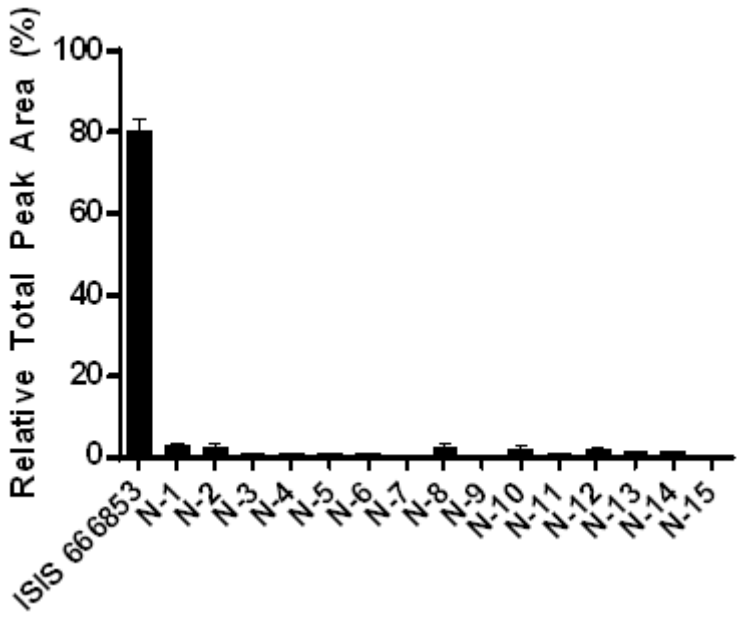
トフェルセンの代謝は、CD-1 マウスの 12 週間反復 SC ボーラス投与試験（666853-AS02 試験）及びカニクイザルの 13 週間不純物安全性確認毒性試験（P067-[redacted]-06 試験及び DMPK-20[redacted]-0003BT 試験）で評価した。これらの結果は、類似の ASO（2'-MOE 修飾 ASO など）で報告されている結果［Geary 2003、Yu 2007］と一致していた。未変化体に加え、ヌクレアーゼによる代謝と一致するオリゴヌクレオチド推定代謝物が肝臓及び腎臓試料中で認められた。

5.1 マウスの 12 週間反復投与毒性試験

［4.2.3.2-1］666853-AS02

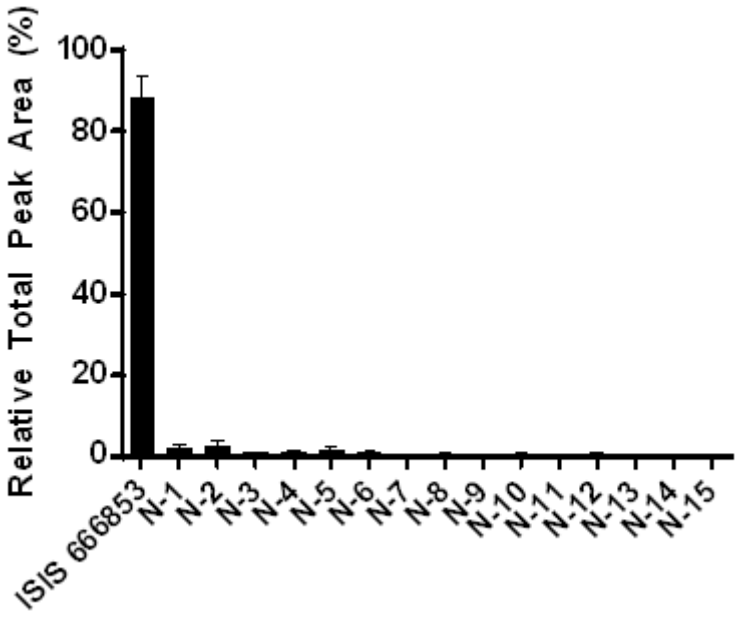
トフェルセンの代謝を、CD-1 マウスの 12 週間反復 SC ボーラス投与試験（666853-AS02 試験）で評価した。その結果は、類似の ASO（2'-MOE 修飾 ASO など）で報告されている結果［Geary 2003、Yu 2007］と一致している。未変化体と共に、ヌクレアーゼによる代謝と一致するオリゴヌクレオチド推定代謝物が、第 3 群の Day 86 に採取された肝臓及び腎臓試料中に認められた（図 21 及び図 22）。存在する個々の代謝物の平均値は総ピーク面積の 3%未満であり、ほとんどの代謝物はそれ以下であった。主要代謝物（総ピーク面積の 2%を超える代謝物）は N-1、N-2、N-8（肝臓のみ）及び N-10（肝臓のみ）であった。最も多く検出されたオリゴヌクレオチド種はトフェルセン未変化体であり、Day 86 における腎臓及び肝臓組織中に存在する全オリゴヌクレオチドの総ピーク面積に対する未変化体の割合は、それぞれ 89%及び 81%であった。

図 21 マウスにおける 12 週間 SC 投与後の肝臓組織中トフェルセン及び推定代謝物の相対割合（第 3 群、雌雄合算）（666853-AS02 試験）



値は平均値 + SD （n = 12）
Data source: M4.2.3.2-1_Appendix 8_Figure 6

図 22　　マウスにおける 12 週間 SC 投与後の腎臓組織中トフェルセン及び推定代謝物の相対割合（第 3 群、雌雄合算）（666853-AS02 試験）



値は平均値 + SD （n = 12）
Data source: M4.2.3.2-1_Appendix 8_Figure 7

5.2　　13 週間不純物安全性確認試験

［4.2.3.7.6-1］P067-[redacted]-06、［4.2.2.4-1］DMPK-20[redacted]-0003BT

トフェルセンの代謝は、カニクイザルの 13 週間不純物安全性確認毒性試験（P067-[redacted]-06 試験）において 10 mg トフェルセンを腰髄 IT ボーラス投与した肝臓及び腎皮質を用いて評価した。

カニクイザルにトフェルセンを Day 1、15、29、57、及び 85 に 5 回腰髄内ボーラス投与後、LC/MS で測定した総薬物由来ピーク面積の 1%を超える短鎖オリゴヌクレオチドは、Day 92 の雄のプール肝臓で 6 種類、雌のプール肝臓で 12 種類がそれぞれ確認され、5'末端から欠失した N-2、N-15 及び N-16 並びに 3'末端から欠失した N-6、N-7、N-8、N-9、N-10、N-11、N-12、N-13 及び N-14 が含まれた。確認されたこれらの短鎖オリゴヌクレオチドは、すべて総薬物由来ピーク面積の 6%未満の代謝物であった。オリゴヌクレオチドの中で最も多く検出された分子種はトフェルセン未変化体であり、総薬物由来ピーク面積に対する割合は、雄のプール肝臓で 80%、雌のプール肝臓で 75%であった（DMPK-20[redacted]-0003BT 試験）。

同様に、総薬物由来ピーク面積の 1%を超える短鎖オリゴヌクレオチド代謝物が、雄のプール腎皮質で 3 種類、雌のプール腎皮質で 2 種類が、それぞれ確認され、5'末端から欠失した N-2 及び 3'末端から欠失した N-6 及び N-7 の代謝物が含まれた。確認されたこれらの短鎖オリゴヌクレオチドは、すべて総薬物由来ピーク面積の 2%未満の代謝物であった。オリゴヌクレオチド代謝物の中で最も多く検出された分子種はトフェルセン未変化体であり、総薬物由来ピーク面積に対する割合は、雌雄ごとのプール腎皮質でいずれも 92%であった（DMPK-20[redacted]-0003BT 試験）。

6 排泄

非臨床試験においてトフェルセンの尿中排泄は評価していない。類似の ASO では、組織中で比較的緩徐な代謝を受けた後、代謝物及び残存未変化体の尿中への排泄が起こる。これは 5-10-5 MOE ギャップマー構造を有する化合物の全身クリアランスの主要排泄経路であり［Geary 2003、Yu 2004b、Yu 2007］、トフェルセンの排泄も同様と考えられる。

7 薬物動態学的薬物相互作用

7.1 タンパク結合

［4.2.2.3-1］666853-IS03

臨床有効血漿中濃度又はそれ以上の濃度（0.1 及び 30 μg/mL）のトフェルセンによるマウス、サル及びヒトの血漿タンパク結合率は高く（平均結合率は、マウス：96.18%～96.40%、サル：98.33%～98.42%、ヒト：97.90%～98.12%）、この高いタンパク結合が糸球体ろ過を制限し、トフェルセンの尿中排泄及び腎クリアランスが低下する（666853-IS03 試験）。しかし、類似の ASO の血漿タンパク結合は比較的弱く（平衡解離定数は μM オーダー）、ASO のような親水性薬物の結合部位は、低分子量の疎水性薬物の結合部位とは異なっている［Watanabe 2006］。したがって、血漿タンパク結合の競合により薬物間相互作用を起こす可能性は非常に低い。

7.2 代謝

［4.2.3.2-1］666853-AS02、［4.2.2.4-1］DMPK-20[redacted]-0003BT、
［4.2.2.6-3］DMPK-20[redacted]-0020IV、［4.2.2.6-4］DMPK-20[redacted]-0015-C

マウス（666853-AS02 試験）及びサル（DMPK-20[redacted]-0003BT 試験）における腎臓及び肝臓試料で確認されたトフェルセンの代謝物から、トフェルセンは主にエキソヌクレアーゼ（3'-及び 5'-エキソヌクレアーゼ）による加水分解により緩徐に代謝されることが示唆されている。

凍結保存されたヒト初代培養肝細胞を用いた *in vitro* 試験の結果から、トフェルセンは CYP450 による酸化的代謝（CYP1A2、CYP2B6、又は CYP3A4/5）に対して誘導作用も（検討濃度：100 μg/mL、DMPK-20[redacted]-0020IV 試験）、CYP450 による酸化的代謝（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 又は CYP3A4）に対して阻害作用も（検討濃度：0.1～100 μM、DMPK-20[redacted]-0015-C 試験）示さない。したがって、この代謝経路において他の薬剤と競合することはないと考えられる。

7.3 トランスポーター

［4.2.2.6-1］DMPK-20[redacted]-0015-B、［4.2.2.6-2］DMPK-20[redacted]-0015-A

トフェルセン（1 及び 10 μM）は、*in vitro* において排出トランスポーター（BCRP 及び MDR1）及び SLC トランスポーター（MATE1、MATE2-K、OAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3、OCT1 及び OCT2）の基質とはならない（DMPK-20[redacted]-0015-B 試験）。さらに、トフェルセン（10 及び 100 μM）は、*in vitro* において排出トランスポーター（BCRP、BSEP 及び MDR1）及び SLC トランスポーター（MATE1、MATE2-K、OAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3、OCT1 及び OCT2）の阻害剤にもならない（DMPK-20[redacted]-0015-A 試験）。したがって、これらのトランスポーターの競合又は阻害により薬物間相互作用を引き起こす可能性は非常に低い。

8　その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施されていない。

9 考察及び結論

トフェルセンの予定臨床投与経路はIT投与である。このことから、カニクイザルにおけるトフェルセンの非臨床PKは、13週間反復IT投与試験（666853-AS01試験）及び9ヵ月間反復IT投与試験（P067-[redacted]-01試験）により評価した。カニクイザルにトフェルセンをIT投与すると、CSF中トフェルセン濃度は多相性に低下し、急速な分布相（CSFからのクリアランスが大部分を占めた）に続く、より緩徐で持続した消失相を伴った。急速な分布相は、CSFからCNS組織への迅速で広範な分布と全身循環への移行によるさらなるクリアランスに起因している。CSF中の推定終末相$t_{1/2}$は20～45日であり、CNS組織中の$t_{1/2}$（31～40日）と同程度であったことから、CSF及びCNS組織中濃度が分布後に平衡状態に達した可能性が高いことが示唆される。カニクイザルにおける血漿中トフェルセン濃度は、CSF中トフェルセン濃度と同様に、全身循環に移行後、多相性を示しながら低下した。カニクイザルにおける血漿中トフェルセン濃度は、ITボーラス投与後1～4時間にピークに達し、投与後48時間以内に急速に低下し、その後、より緩徐な消失相を示した。血漿中トフェルセン濃度の急速な減少は、主に全身組織への広範な分布によるものであることが示唆される。血漿中の推定終末相$t_{1/2}$は22～51日であり、CSF及びCNS組織と同程度であった。

CD-1マウスにおけるトフェルセンの非臨床PK（血漿中）は、12週間反復SCボーラス投与試験（666853-AS02試験）及び26週間反復SCボーラス投与試験（P067-[redacted]-03試験）により評価した。カニクイザルと同様に、マウスの血漿中トフェルセン濃度は、SCボーラス投与による全身循環への吸収後、多相性を示しながら低下した。血漿中トフェルセン濃度は、投与後0.5～1時間でピークに達したことから、全身循環への速やかな吸収が示唆され、その後、全身組織への広範な分布により、投与後24～48時間で急速に減少した。

トフェルセンの組織分布の推移は、前出のサルを用いた試験及びマウスの12週間反復SCボーラス投与試験、並びにラットの単回ITボーラス投与試験（666853-AS03試験）で評価した。トフェルセンの用量依存的な組織分布は、評価したすべての動物種で確認され、組織分布に明らかな性差を示す明確な又は一貫した証拠は認められなかった。

IT投与後、サル及びラットにおけるCNS組織への分布は広範であり、腰髄で最も高いCNS組織中濃度が認められ、これは投与経路がITのボーラス投与であることに起因すると考えられた。サルにIT投与したとき、トフェルセンのCNS組織中濃度はCSF中濃度の少なくとも90倍高かった。

サル及びマウスにおけるトフェルセンの全身分布は、類似クラスのASO（2'-MOE修飾ASOなど）の主要な分布臓器が腎臓及び肝臓であるという報告［Geary 2003、Yu 2007］と一致していた。サルにIT投与後、肝臓及び腎臓で比較的高い濃度がみられたことから、投与されたトフェルセンの高い割合がCSFから全身循環に分布したことが示された。マウスにトフェルセンをSC投与すると、血漿から肝臓及び腎臓に急速かつ広範に分布した。

類似クラスのASO（2'-MOE修飾ASOなど）の報告［Geary 2003、Yu 2007］から予測されるように、ヌクレアーゼによる代謝と一致するトフェルセンのオリゴヌクレオチド推定代謝物が腎臓及び肝臓中に認められた。マウスで認められた主要代謝物は、短鎖オリゴヌクレオチドN-1、N-2、N-8（肝臓のみ）及びN-10（肝臓のみ）であったが、個々の代謝物は総オリゴヌクレオチド

の 3%未満であった。トフェルセン未変化体はオリゴヌクレオチドの中で最も多く検出され、Day 86 の腎臓及び肝臓中に存在する総オリゴヌクレオチドのそれぞれ 89%及び 81%（総ピーク面積に対する%）を占めていた（666853-AS02 試験）。サルでは、確認されたすべての代謝物は、肝臓中の総ピーク面積の 6%未満及び腎皮質中の総ピーク面積の 2%未満であった（P067-[redacted]-06 試験）。トフェルセン未変化体は最も多く検出された分子種であり、プールされた肝臓試料中の総薬物由来ピーク面積に対して雄で 80%、雌で 75%を占め、プールされた腎皮質試料中の総薬物由来ピーク面積に対して雌雄共に 92%を占めた（DMPK-20[redacted]-0003BT 試験）。

凍結保存されたヒト初代培養肝細胞を用いた *in vitro* 試験の結果から、トフェルセンは CYP450 による酸化的代謝に対して誘導作用も（DMPK-20[redacted]-0020IV 試験）、阻害作用も（DMPK-20[redacted]-0015-C 試験）示さず、この代謝経路に関して他の薬物と競合することはないと考えられる。

非臨床試験において、トフェルセンの尿中排泄の評価は実施していない。類似の ASO では組織中で緩徐な代謝を受けた後、微量成分の未変化体と共に、主に代謝物の尿中への排泄が続くと報告されており［Geary 2003、Yu 2007］、トフェルセンについても同様の排泄過程が予想される。

結論として、トフェルセンの非臨床における CSF、血漿及び組織中の PK 特性は、サルへの反復 IT 投与で十分に評価されている。トフェルセンの IT 投与後の CNS 組織への分布は広範であった。CSF（$t_{1/2}$：20～45 日）、血漿（$t_{1/2}$：22～51 日）及び CNS 組織（$t_{1/2}$：31～40 日）からの消失速度が同程度であったことから、CSF 及び CNS 組織中の濃度が分布後に平衡状態に達した可能性が高いことを示唆している。CSF 中濃度は CNS 組織中濃度のサロゲートマーカーとして使用できる可能性がある。カニクイザルで観察された CSF 及び CNS 組織中の $t_{1/2}$ が長かったことから、IT 投与により投与頻度の低い月 1 回の臨床投与方法の妥当性が裏付けられる。

10 図表

一部の図表は、本文中の適切な箇所に記載した。

表 13 トフェルセンの非臨床 PK 試験の概要

試験番号及び試験内容	動物種	用法・用量
マウスにおけるトフェルセンの単回及び反復投与後の血漿中 PK 特性		
［4.2.3.2-1］666853-AS02 CD-1 マウスを用いた 12 週間反復 SC 投与毒性試験におけるトフェルセンの血漿中動態及び組織分布	CD-1 マウス	25 又は 150 mg/kg、 SC 投与
［4.2.3.2-2］P067-[redacted]-03 CD-1 マウスを用いた 26 週間反復 SC 投与毒性及び 8 週間回復性試験におけるトフェルセンの血漿中動態	CD-1 マウス	6、30、又は 150 mg/kg、 SC 投与
サルにおけるトフェルセンの反復投与後の CSF 及び血漿中 PK 特性		
［4.2.3.2-4］666853-AS01 カニクイザルを用いた 13 週間反復 IT 投与毒性及び PK 並びに 13 週間回復性試験におけるトフェルセンの血漿中、CSF 中及び組織内動態	カニクイザル	4、12、又は 35 mg、 IT 投与
［4.2.3.2-5］P067-[redacted]-01 カニクイザルを用いた 9 ヵ月間反復 IT 投与毒性及び PK 並びに 6 ヵ月間回復性試験におけるトフェルセンの血漿中、CSF 中及び組織内動態	カニクイザル	4、12、又は 35 mg、 IT 投与
妊娠マウス又は妊娠ウサギにおけるトフェルセンの反復投与後の血漿中 PK 特性		
［4.2.3.5.1-1］P067-17-02 マウスを用いた受胎能及び胚・胎児発生試験におけるトフェルセン SC 投与後の血漿中動態	CD-1 マウス	3、10、又は 30 mg/kg、 SC 投与
［4.2.3.5.2-3］P067-17-05 妊娠 New Zealand White ウサギを用いた胚・胎児発生試験におけるトフェルセン SC 投与後の血漿中動態	New Zealand White ウサギ	3、10、又は 30 mg/kg、 SC 投与
マウスにおける反復投与後のトフェルセンの組織分布		
［4.2.3.2-1］666853-AS02 CD-1 マウスを用いた 12 週間反復 SC 投与毒性試験におけるトフェルセンの血漿中及び組織内動態	CD-1 マウス	25 又は 150 mg/kg、 SC 投与
ラットにおける単回投与後のトフェルセンの組織分布		
［4.2.3.1-1］666853-AS03 Sprague Dawley ラットを用いた単回 IT ボーラス投与急性毒性試験におけるトフェルセンの組織曝露	Sprague Dawley ラット	0.1、0.3、1、又は 3 mg、 IT 投与

表 13　　トフェルセンの非臨床 PK 試験の概要（続き）

試験番号及び試験内容	動物種	用法・用量
サルにおける反復投与後のトフェルセンの組織分布		
［4.2.3.2-4］666853-AS01 カニクイザルを用いた 13 週間反復 IT 投与毒性及び PK 並びに 13 週間回復性試験におけるトフェルセンの血漿中、CSF 中及び組織内動態	カニクイザル	4、12、又は 35 mg、 IT 投与
［4.2.3.2-5］P067-[redacted]-01 カニクイザルを用いた 9 ヵ月間反復 IT 投与毒性及び PK 並びに 6 ヵ月間回復性試験におけるトフェルセンの血漿中、CSF 中及び組織内動態	カニクイザル	4、12、又は 35 mg、 IT 投与
In vitro 血漿中タンパク結合		
［4.2.2.3-1］666853-IS03 ヒト、サル及びマウス血漿中におけるトフェルセンのタンパク結合率（*in vitro* 限外ろ過法）の評価	血漿（CD-1 マウス、カニクイザル及びヒト）	0.1 又は 30 µg/mL、 *in vitro*
妊娠動物での組織分布		
［4.2.3.5.3-1］P067-[redacted]-01 CD-1 マウスを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験におけるトフェルセン SC 投与後の組織内動態	CD-1 マウス	3、10、又は 30 mg/kg、 SC 投与
マウスにおける反復投与後のトフェルセンの組織内代謝		
［4.2.3.2-1］666853-AS02 CD-1 マウスを用いた 12 週間反復 SC 投与毒性試験におけるトフェルセンの血漿中及び組織内動態	CD-1 マウス	25 又は 150 mg/kg、 SC 投与
サルにおける反復投与後のトフェルセンの組織内代謝		
［4.2.3.7.6-1］P067-[redacted]-06、［4.2.2.4-1］DMPK-20[redacted]-0003BT カニクイザルを用いた腰髄 IT ボーラス投与による 13 週間反復投与不純物安全性確認毒性試験	カニクイザル	10 mg、 IT 投与
薬物代謝酵素の誘導／阻害		
［4.2.2.6-3］DMPK-20[redacted]-0020IV ヒト初代培養肝細胞を用いたトフェルセンの CYP450 誘導能評価（*in vitro*）	ヒト肝細胞	100 µg/mL、 *in vitro*
［4.2.2.6-4］DMPK-20[redacted]-0015-C ヒト初代培養肝細胞を用いたトフェルセンの CYP450 阻害能評価（*in vitro*）	ヒト肝細胞	0.1、0.33、1、3.3、10、33、又は 100 µM、*in vitro*

表 13　　トフェルセンの非臨床 PK 試験の概要（続き）

試験番号及び試験内容	動物種	用法・用量
トランスポーターに関わる薬物動態学的薬物相互作用		
［4.2.2.6-1］DMPK-20[redacted]-0015-B トフェルセンのヒト排出トランスポーター及び取込みトランスポーターの基質性評価（*in vitro*）	MDCKII 及び HEK293 細胞	1 又は 10 μM、*in vitro*
［4.2.2.6-2］DMPK-20[redacted]-0015-A トフェルセンのヒト排出トランスポーター及び取込みトランスポーターの阻害能評価（*in vitro*）	MDCKII 及び HEK293 細胞（膜小胞を含む）	10 又は 100 μM、*in vitro*

表 14　　カニクイザルに IT ボーラス投与後の CSF 中トフェルセン濃度（666853-AS01 試験）

群	用量（mg）	投与日	前回投与からの時間（h）	投与回数	雌		雄		雌雄合算	
					N	トフェルセン濃度（ng/mL）	N	トフェルセン濃度（ng/mL）	N	トフェルセン濃度（ng/mL）
2	4	1	投与前	0	3	BLQ	3	BLQ	6	BLQ
		14	投与前	1	3	3.47 ± 3.00	3	4.48 ± 2.40	6	3.98 ± 2.49
		28	投与前	2	3	9.68 ± 8.66	3	11.6 ± 4.41	6	10.6 ± 6.23
		56	投与前	3	3	8.64 ± 3.72	3	15.5 ± 9.52	6	12.0 ± 7.47
		84	投与前	4	3	7.81 ± 3.23	3	13.7 ± 12.3	6	10.8 ± 8.64
			168	5	3	10.4 ± 4.64	3	28.8 ± 22.3	6	19.6 ± 17.6
3	12	1	投与前	0	3	BLQ	3	BLQ	6	BLQ
		14	投与前	1	3	15.9 ± 3.01	3	17.9 ± 12.4	6	16.9 ± 8.11
		28	投与前	2	3	30.6 ± 11.9	3	40.6 ± 44	6	35.6 ± 29.3
		56	投与前	3	3	37.2 ± 4.27	3	58.9 ± 75.6	6	48.1 ± 49.3
		84	投与前	4	3	34.8 ± 16.0	3	51.3 ± 61.7	6	43.0 ± 41.3
			168	5	3	85.0 ± 37.1	3	105 ± 77	6	95.0 ± 55.1
4	35	1	投与前	0	7	0.208 ± 0.355	7	0.389 ± 0.504	14	0.298 ± 0.429
		14	投与前	1	7	31.0 ± 23.7	7	23.2 ± 26.4	14	27.1 ± 24.4
		28	投与前	2	7	50.1 ± 44.1	7	38.5 ± 9.3	14	44.3 ± 31.2
		56	投与前	3	7	70.3 ± 40.5	7	37.6 ± 15.2	14	54 ± 33.9
		84	投与前	4	7	72.1 ± 60.4	7	78.5 ± 46.2	14	75.3 ± 51.8
			168	5	7	190 ± 155	7	136 ± 48.2	14	163 ± 114
			672	5	2	69.5 ± 72.4	2	123 ± 112	4	96.5 ± 83.0
			2184	5	2	7.53 ± 3.60	2	10.6 ± 0.679	4	9.09 ± 2.78

表 14　　カニクイザルに IT ボーラス投与後の CSF 中トフェルセン濃度（666853-AS01 試験）（続き）

群	用量（mg）	投与日	前回投与からの時間（h）	投与回数	雌		雄		雌雄合算	
					N	トフェルセン濃度（ng/mL）	N	トフェルセン濃度（ng/mL）	N	トフェルセン濃度（ng/mL）
5	12	1	投与前	0	8	BLQ	8	BLQ	16	BLQ
			4	1	2	530000 ± 640000	1	384000	3	481000 ± 460000
			8	1	2	157000 ± 216000	2	11700 ± 971	4	84600 ± 150000
			16	1	2	3410 ± 2940	3	9350 ± 6450	5	6970 ± 5790
			24	1	2	10900 ± 5380	1	494	3	7420 ± 7100
			168	1	8	14.5 ± 9.17	8	24.0 ± 14.8	16	19.3 ± 12.8
		14	投与前	1	7	9.00 ± 4.31	6	12.6 ± 12.8	13	10.7 ± 9.00
		28	投与前	2	7	19.4 ± 6.53	7	26.1 ± 10.6	14	22.7 ± 9.14
			168	3	2	24.3 ± 11.2	1	30.4 ± 0.00	3	26.3 ± 8.67
			336	3	3	47.7 ± 25.8	3	53.4 ± 44.3	6	50.6 ± 32.6
			1008	3	5	11.9 ± 7.40	4	17.1 ± 4.93	9	14.2 ± 6.65
			1680	3	3	6.58 ± 3.51	3	10.7 ± 5.51	6	8.65 ± 4.71
			3048	3	2	2.82 ± 2.30	1	3.18	3	2.94 ± 1.64

値は平均値 ± SD 。

表 15　　カニクイザルに IT ボーラス投与後に分布した CSF、血漿及び CNS 組織中トフェルセン濃度の比較（雌雄合算）（666853-AS01 試験）

群	前回投与からの時間（h）	組織	トフェルセン濃度（ng/mL 又は ng/g）、平均値 ± SD	血漿に対する組織中濃度の比	CSF に対する組織中濃度の比
2	168	CSF	19.6 ± 17.6	7.16	1.00
		血漿	2.74 ± 2.70	1.00	0.140
		小脳	7190 ± 3320	2630	367
		脳皮質	7170 ± 5020	2620	366
		海馬	5980 ± 3630	2180	305
		脳橋	5060 ± 2630	1850	259
		頸髄	7650 ± 3760	2800	391
		胸髄	14900 ± 6660	5430	759
		腰髄	20700 ± 5940	7580	1060
3	168	CSF	95.0 ± 55.1	10.4	1.00
		血漿	9.16 ± 7.56	1.00	0.0964
		小脳	21200 ± 15300	2320	224
		脳皮質	34200 ± 19300	3730	360
		海馬	18100 ± 14600	1970	190
		脳橋	11500 ± 3930	1260	122
		頸髄	23200 ± 11400	2530	244
		胸髄	32200 ± 10000	3520	339
		腰髄	49700 ± 12100	5420	523
4	168	CSF	163 ± 114	8.66	1.00
		血漿	18.8 ± 15.8	1.00	0.115
		小脳	65700 ± 29100	3490	403
		脳皮質	76600 ± 31300	4070	470
		海馬	49900 ± 18600	2650	306
		脳橋	27200 ± 8900	1450	167
		頸髄	50100 ± 18900	2660	308
		胸髄	68800 ± 21900	3660	422
		腰髄	101000 ± 25000	5350	617

表 15　　カニクイザルに IT ボーラス投与後に分布した CSF、血漿及び CNS 組織中トフェルセン濃度の比較（雌雄合算）（666853-AS01 試験）（続き）

群	前回投与からの時間（h）	組織	トフェルセン濃度（ng/mL 又は ng/g）、平均値 ± SD	血漿に対する組織中濃度の比	CSF に対する組織中濃度の比
4	2184	CSF	9.09 ± 2.78	0.646	1.00
		血漿	14.1 ± 22.2	1.00	1.55
		小脳	12400 ± 1870	881	1360
		脳皮質	14900 ± 7650	1060	1630
		海馬	9520 ± 3030	676	1050
		脳橋	5590 ± 708	397	615
		頸髄	8750 ± 2820	621	962
		胸髄	11400 ± 4420	813	1260
		腰髄	19200 ± 2660	1360	2110
5	168	CSF	26.3 ± 8.67	4.22	1.00
		血漿	6.25 ± 2.93	1.00	0.237
		小脳	15800 ± 12800	2520	599
		脳皮質	15000 ± 14300	2390	568
		海馬	11300 ± 8450	1810	429
		脳橋	6150 ± 1270	983	233
		頸髄	10100 ± 4120	1620	384
		胸髄	24700 ± 2930	3950	938
		腰髄	21400 ± 9130	3430	813
5	336	CSF	50.6 ± 32.6	13.3	1.00
		血漿	3.79 ± 1.88	1.00	0.0750
		小脳	10300 ± 9980	2720	204
		脳皮質	11500 ± 11200	3030	227
		海馬	4570 ± 4010	1210	90.4
		脳橋	5960 ± 6150	1570	118
		頸髄	8980 ± 5020	2370	178
		胸髄	20700 ± 6850	5450	409
		腰髄	31200 ± 11600	8220	616

表 15　　カニクイザルに IT ボーラス投与後に分布した CSF、血漿及び CNS 組織中トフェルセン濃度の比較（雌雄合算）（666853-AS01 試験）（続き）

群	前回投与からの時間（h）	組織	トフェルセン濃度（ng/mL 又は ng/g）、平均値 ± SD	血漿に対する組織中濃度の比	CSF に対する組織中濃度の比
5	1008	CSF	14.2 ± 6.65	7.73	1.00
		血漿	1.84 ± 1.55	1.00	0.129
		小脳	15300 ± 11000	8290	1070
		脳皮質	11800 ± 8390	6410	830
		海馬	11000 ± 8670	5970	773
		脳橋	3930 ± 2320	2130	276
		頸髄	8130 ± 4290	4420	572
		胸髄	13900 ± 5600	7580	981
		腰髄	23500 ± 11200	12800	1650
5	1680	CSF	8.65 ± 4.71	10.9	1.00
		血漿	0.797 ± 1.63	1.00	0.0921
		小脳	11400 ± 10500	14300	1320
		脳皮質	8120 ± 8060	10200	938
		海馬	3170 ± 2360	3970	366
		脳橋	3410 ± 2260	4280	394
		頸髄	5520 ± 2120	6940	639
		胸髄	11000 ± 3460	13800	1270
		腰髄	15500 ± 2560	19400	1790
5	3048	CSF	2.94 ± 1.64	0.689	1.00
		血漿	4.26 ± 6.77	1.00	1.45
		小脳	2420 ± 364	568	824
		脳皮質	2090 ± 386	490	711
		海馬	2150 ± 791	505	732
		脳橋	651 ± 58.2	153	222
		頸髄	1790 ± 528	419	609
		胸髄	2730 ± 611	641	930
		腰髄	4840 ± 982	1140	1650

表 16　　カニクイザルに IT ボーラス投与後の CSF 中トフェルセン濃度（P067-[redacted]-01 試験）

群	用量（mg）	採取日	雌		雄		雌雄合算	
			N	トフェルセン濃度（ng/mL）	N	トフェルセン濃度（ng/mL）	N	トフェルセン濃度（ng/mL）
2	4	1	4	BLQ	4	BLQ	8	BLQ
		15	4	5.23 ± 2.48	4	4.04 ± 2.36	8	4.63 ± 2.33
		29	4	12.3 ± 8.88	4	15.0 ± 12.8	8	13.6 ± 10.3
		57	4	16.2 ± 6.99	4	11.2 ± 8.31	8	13.7 ± 7.6
		85	4	13.7 ± 5.27	4	14.6 ± 6.7	8	14.1 ± 5.6
		113	4	11.7 ± 4.39	4	23.0 ± 16.5	8	17.4 ± 12.7
		141	4	13.1 ± 0.824	4	14.8 ± 6.53	8	14 ± 4.41
		169	4	11.8 ± 2.68	4	18.1 ± 5.98	8	14.9 ± 5.45
		197	4	16.1 ± 10.4	4	20.1 ± 6.71	8	18.1 ± 8.41
		225	4	14.3 ± 5.06	4	17.0 ± 6.67	8	15.7 ± 5.67
		253	4	12.5 ± 3.21	4	16.2 ± 5.48	8	14.3 ± 4.62
		267	4	31.3 ± 18.8	4	26.9 ± 12.4	8	29.1 ± 14.9

表 16　　カニクイザルに IT ボーラス投与後の CSF 中トフェルセン濃度（P067-[redacted]-01 試験）（続き）

群	用量（mg）	採取日	雌		雄		雌雄合算	
			N	トフェルセン濃度（ng/mL）	N	トフェルセン濃度（ng/mL）	N	トフェルセン濃度（ng/mL）
3	12	1	4	BLQ	4	BLQ	8	BLQ
		15	4	6.38 ± 6.35	4	7.74 ± 2.63	8	7.06 ± 4.56
		29	4	20.8 ± 9.19	4	16.6 ± 5.47	8	18.7 ± 7.37
		57	4	21.2 ± 13.4	4	12.3 ± 2.64	8	16.8 ± 10.2
		85	3	23.5 ± 19.7	4	15.1 ± 5.48	7	18.7 ± 12.8
		113	3	15.4 ± 6.93	4	18.6 ± 6.62	7	17.2 ± 6.39
		141	3	31.0 ± 22.7	4	21.0 ± 9.18	7	25.3 ± 15.6
		169	3	40.1 ± 32.9	4	26.7 ± 7.41	7	32.5 ± 21
		197	3	29.6 ± 12.6	4	24.1 ± 13.5	7	26.4 ± 12.4
		225	3	26.5 ± 4.16	4	22.7 ± 9.43	7	24.3 ± 7.39
		253	3	43.9 ± 27.3	4	25.5 ± 14.4	7	33.4 ± 21.2
		267	3	52.4 ± 19.3	4	43.6 ± 21.8	7	47.4 ± 19.6

表 16　　カニクイザルに IT ボーラス投与後の CSF 中トフェルセン濃度（P067-[redacted]-01 試験）（続き）

群	用量（mg）	採取日	雌		雄		雌雄合算	
			N	トフェルセン濃度（ng/mL）	N	トフェルセン濃度（ng/mL）	N	トフェルセン濃度（ng/mL）
4	35	1	10	1.12 ± 1.95	10	1.06 ± 2.01	20	1.09 ± 1.92
		15	10	19.2 ± 22.9	10	16.1 ± 15.3	20	17.7 ± 19.0
		29	10	25.1 ± 10.0	10	44.8 ± 50.0	20	35.0 ± 36.5
		57	10	32.1 ± 38.1	10	19.4 ± 10.6	20	25.8 ± 27.9
		85	10	40.3 ± 43.4	10	49.4 ± 64.6	20	44.8 ± 53.8
		113	9[a]	45.0 ± 36.8	10	27.7 ± 20.0	19	35.9 ± 29.7
		141	10	94.7 ± 90.2	10	45.5 ± 39.2	20	70.1 ± 72.2
		169	8	123 ± 165	10	70.4 ± 79.9	18	93.8 ± 124
		176	4	249 ± 94.2	4	210 ± 143	8	229 ± 114
		197	5	92.5 ± 110	6	79.7 ± 98.9	11	85.5 ± 98.9
		225	5	224 ± 388	5	45.8 ± 42.3	10	135 ± 277
		253	6	88.5 ± 72	6	64.3 ± 80.1	12	76.4 ± 73.7
		267	6	190 ± 178	6	86.2 ± 72.7	12	138 ± 141
		288	1	23.2	2	55.0 ± 18.1	3	44.4 ± 20.5
		316	2	35.1 ± 37.7	2	46.0 ± 28.6	4	40.5 ± 20.3
		344	2	30.5 ± 43.8	2	20.3 ± 6.99	4	25.4 ± 19.1
		372	2	6.82 ± 3.75	2	15.4 ± 6.25	4	11.1 ± 5.80
		400	2	6.64 ± 3.53	2	9.13 ± 2.14	4	7.89 ± 2.22
		428	2	4.92 ± 2.62	2	4.18 ± 1.48	4	4.55 ± 1.30
		456	2	7.68 ± 8.76	2	2.36 ± 0.983	4	5.02 ± 4.73

[a] 動物番号 70137（第 4 群、雌）の Day 113 の値（250966.9 ng/mL）は異常値と判断し、平均値の算出からは除外した。
値は平均値 ± SD 。ただし、n = 2 の場合は平均値 ± 範囲を表示。

表 17　　カニクイザルに IT ボーラス投与後に分布した CSF、血漿及び CNS 組織中トフェルセン濃度の比較（雌雄合算）（P067-[redacted]-01 試験）

群	用量（mg）	採取日	組織	トフェルセン濃度（ng/mL 又は ng/g）、平均値 ± SD	血漿に対する組織中濃度の比	CSF に対する組織中濃度の比
2	4	267	CSF	29.1 ± 14.9	1.45	1.00
			血漿	20.0 ± 26.3	1.00	0.688
			小脳	6550 ± 4430	327	225
			脳皮質	7430 ± 4590	372	255
			海馬	4590 ± 2890	230	158
			脳髄質	4560 ± 2510	228	157
			頸髄	7900 ± 3930	395	272
			腰髄	23100 ± 8180	1150	793
			胸髄	13600 ± 7840	679	467
3	12	267	CSF	47.4 ± 19.6	0.599	1.00
			血漿	79.0 ± 115	1.00	1.67
			小脳	20500 ± 12800	260	433
			脳皮質	27800 ± 16400	352	587
			海馬	13200 ± 9350	167	278
			脳髄質	11700 ± 5580	148	247
			頸髄	17000 ± 8940	215	359
			腰髄	44400 ± 15300	562	938
			胸髄	28800 ± 14900	364	608

表 17　　カニクイザルに IT ボーラス投与後に分布した CSF、血漿及び CNS 組織中トフェルセン濃度の比較（雌雄合算）（P067-[redacted]-01 試験）（続き）

群	用量（mg）	採取日	組織	トフェルセン濃度（ng/mL 又は ng/g）、平均値 ± SD	血漿に対する組織中濃度の比	CSF に対する組織中濃度の比
4	35	176	CSF	229 ± 114	NA	1.00
			小脳	52300 ± 21200	NA	228
			脳皮質	68500 ± 13000	NA	299
			海馬	42900 ± 13300	NA	187
			脳髄質	35000 ± 9960	NA	152
			頸髄	58900 ± 23000	NA	257
			腰髄	170000 ± 45800	NA	740
			胸髄	63800 ± 16500	NA	278
4	35	267	CSF	138 ± 141	2.40	1.00
			血漿	57.3 ± 47.5	1.00	0.416
			小脳	33500 ± 22100	584	243
			脳皮質	39100 ± 27400	681	283
			海馬	24300 ± 15500	424	176
			脳髄質	21000 ± 15700	367	153
			頸髄	32800 ± 20600	573	238
			腰髄	110000 ± 63100	1910	795
			胸髄	53000 ± 33300	923	384
4	35	456	CSF	5.02 ± 4.73	NA	1.00
			小脳	3130 ± 1950	NA	623
			脳皮質	4640 ± 5300	NA	924
			海馬	3430 ± 3560	NA	684
			脳髄質	1440 ± 1130	NA	287
			頸髄	4480 ± 4430	NA	892
			腰髄	8470 ± 6890	NA	1690
			胸髄	3820 ± 2460	NA	760

表 18　　マウスに単回又は反復 SC 投与後の組織中トフェルセン濃度（雌雄合算）
（666853-AS02 試験）

組織	群	用量 (mg/kg)	投与回数	試験日	時間 (h)	N	トフェルセン濃度 (μg/g)、平均値 ± SD
腎臓	2	25	7	86	48	12	150 ± 67.3
	3	150	7	86	48	12	281 ± 126
	4	25	0	1	0.0	6	BLQ
			1	1	0.25	6	41.8 ± 6.12
			1	1	0.50	7 [a]	61.8 ± 14.9
			1	1	1.0	6	61.5 ± 32.7
			1	1	2.0	6	111 ± 23.1
			1	1	4.0	6	150 ± 56.9
			1	1	10	6	192 ± 41.9
			1	2	24	6	161 ± 56.8
			1	3	48	6	124 ± 32.7
	5	150	0	1	0.0	6	BLQ
			1	1	0.25	6	112 ± 31.4
			1	1	0.50	6	183 ± 26.5
			1	1	1.0	6	174 ± 40.4
			1	1	2.0	6	174 ± 22.2
			1	1	4.0	6	217 ± 39.3
			1	1	10	5 [b]	252 ± 78.6
			1	2	24	6	240 ± 103
			1	3	48	7 [a]	195 ± 71.2

表 18　　マウスに単回又は反復 SC 投与後の組織中トフェルセン濃度（雌雄合算）（666853-AS02 試験）（続き）

組織	群	用量（mg/kg）	投与回数	試験日	時間（h）	N	トフェルセン濃度（μg/g）、平均値 ± SD
肝臓	2	25	7	86	48	12	55.6 ± 12.6
	3	150	7	86	48	12	184 ± 41.3
	4	25	0	1	0.0	6	BLQ
			1	1	0.25	6	BLQ
			1	1	0.50	7 [a]	11.5 ± 1.18
			1	1	1.0	6	11.7 ± 6.07
			1	1	2.0	6	24.1 ± 2.73
			1	1	4.0	6	31.1 ± 5.90
			1	1	10	6	48.5 ± 4.57
			1	2	24	6	39.5 ± 5.08
			1	3	48	6	37.7 ± 6.25
	5	150	0	1	0.0	6	BLQ
			1	1	0.25	6	17.1 ± 2.73
			1	1	0.50	6	26.2 ± 2.45
			1	1	1.0	6	38.1 ± 3.95
			1	1	2.0	6	42.9 ± 4.80
			1	1	4.0	6	61.5 ± 7.71
			1	1	10	6	102 ± 13.7
			1	2	24	6	105 ± 13.2
			1	3	48	7 [a]	103 ± 10.3

[a] 予備動物追加による n 数増加。
[b] ラベルの誤表示による n 数減少。
脳（前頭葉）中のトフェルセン濃度は、測定したすべての試料で BLQ であったため、表に示していない。

表 19　　カニクイザルに IT ボーラス投与後の組織中トフェルセン濃度（666853-AS01 試験）

組織	群	用量（mg）	投与日	投与回数	前回投与からの時間（h）	雌		雄		雌雄合算	
						N	トフェルセン濃度（ng/g）	N	トフェルセン濃度（ng/g）	N	トフェルセン濃度（ng/g）
小脳	2	4	84	5	168	3	8400 ± 4720	3	5990 ± 1020	6	7190 ± 3320
	3	12	84	5	168	3	27900 ± 20200	3	14600 ± 6460	6	21200 ± 15300
	4	35	84	5	168	3	57700 ± 19000	3	73700 ± 39600	6	65700 ± 29100
				5	2184	2	12600 ± 1950	2	12200 ± 2570	4	12400 ± 1870
	5	12	1	1	168	1	6530	1	12800	2	9640 ± 4400
	5	12	28	3	168	1	6750	1	24800	2	15800 ± 12800
				3	336	1	4010	2	13500 ± 11800	3	10300 ± 9980
				3	1008	2	12000 ± 13300	1	21700	3	15300 ± 11000
				3	1680	1	4800	2	14700 ± 12400	3	11400 ± 10500
				3	3048	2	2620 ± 166	1	2020	3	2420 ± 364
脳皮質	2	4	84	5	168	3	6670 ± 4470	3	7670 ± 6500	6	7170 ± 5020
	3	12	84	5	168	3	43200 ± 21800	3	25200 ± 14500	6	34200 ± 19300
	4	35	84	5	168	3	67300 ± 18800	3	85900 ± 42800	6	76600 ± 31300
				5	2184	2	11400 ± 5130	2	18300 ± 10100	4	14900 ± 7650
	5	12	1	1	168	1	7260	1	19800	2	13600 ± 8900
	5	12	28	3	168	1	4850	1	25100	2	15000 ± 14300
				3	336	1	6270	2	14100 ± 14400	3	11500 ± 11200
				3	1008	2	8720 ± 9150	1	18000	3	11800 ± 8390
				3	1680	1	3080	2	10600 ± 9580	3	8120 ± 8060
				3	3048	2	2300 ± 145	1	1660	3	2090 ± 386

表 19　　カニクイザルに IT ボーラス投与後の組織中トフェルセン濃度（666853-AS01 試験）（続き）

組織	群	用量（mg）	投与日	投与回数	前回投与からの時間（h）	雌		雄		雌雄合算	
						N	トフェルセン濃度（ng/g）	N	トフェルセン濃度（ng/g）	N	トフェルセン濃度（ng/g）
海馬	2	4	84	5	168	3	7580 ± 4180	3	4370 ± 2780	6	5980 ± 3630
	3	12	84	5	168	3	26800 ± 17100	3	9340 ± 3000	6	18100 ± 14600
	4	35	84	5	168	3	48000 ± 18700	3	51700 ± 22400	6	49900 ± 18600
				5	2184	2	10200 ± 3360	2	8850 ± 3810	4	9520 ± 3030
	5	12	1	1	168	1	6620	1	33400	2	20000 ± 18900
	5	12	28	3	168	1	5340	1	17300	2	11300 ± 8450
				3	336	1	1560	2	6080 ± 4320	3	4570 ± 4010
				3	1008	2	9400 ± 11600	1	14100	3	11000 ± 8670
				3	1680	1	3220	2	3140 ± 3330	3	3170 ± 2360
				3	3048	2	2550 ± 538	1	1350	3	2150 ± 791
脳橋	2	4	84	5	168	3	5600 ± 3170	3	4530 ± 2540	6	5060 ± 2630
	3	12	84	5	168	3	9770 ± 1740	3	13300 ± 5110	6	11500 ± 3930
	4	35	84	5	168	3	24100 ± 6980	3	30300 ± 11000	6	27200 ± 8900
				5	2184	2	5280 ± 753	2	5900 ± 744	4	5590 ± 708
	5	12	1	1	168	1	3060	1	5260	2	4160 ± 1550
	5	12	28	3	168	1	5250	1	7040	2	6150 ± 1270
				3	336	1	2050	2	7910 ± 7270	3	5960 ± 6150
				3	1008	2	3840 ± 3270	1	4110	3	3930 ± 2320
				3	1680	1	2930	2	3650 ± 3150	3	3410 ± 2260
				3	3048	2	627 ± 58.9	1	698	3	651 ± 58.2

表 19　　カニクイザルに IT ボーラス投与後の組織中トフェルセン濃度（666853-AS01 試験）（続き）

組織	群	用量（mg）	投与日	投与回数	前回投与からの時間（h）	雌		雄		雌雄合算	
						N	トフェルセン濃度（ng/g）	N	トフェルセン濃度（ng/g）	N	トフェルセン濃度（ng/g）
頸髄	2	4	84	5	168	3	7420 ± 4290	3	7880 ± 4100	6	7650 ± 3760
	3	12	84	5	168	3	28500 ± 15000	3	17900 ± 3670	6	23200 ± 11400
	4	35	84	5	168	3	54100 ± 21000	3	46100 ± 20000	6	50100 ± 18900
				5	2184	2	9980 ± 4200	2	7520 ± 338	4	8750 ± 2820
	5	12	1	1	168	1	5620	1	9420	2	7520 ± 2690
	5	12	28	3	168	1	7190	1	13000	2	10100 ± 4120
				3	336	1	6980	2	9980 ± 6660	3	8980 ± 5020
				3	1008	2	7120 ± 5540	1	10200	3	8130 ± 4290
				3	1680	1	6200	2	5190 ± 2880	3	5520 ± 2120
				3	3048	2	2040 ± 399	1	1270	3	1790 ± 528
胸髄	2	4	84	5	168	3	13400 ± 8430	3	16300 ± 5810	6	14900 ± 6660
	3	12	84	5	168	3	37900 ± 9880	3	26600 ± 7730	6	32200 ± 10000
	4	35	84	5	168	3	70700 ± 28200	3	67000 ± 19800	6	68800 ± 21900
				5	2184	2	13000 ± 6960	2	9940 ± 966	4	11400 ± 4420
	5	12	1	1	168	1	11400	1	15800	2	13600 ± 3080
	5	12	28	3	168	1	26800	1	22600	2	24700 ± 2930
				3	336	1	15400	2	23300 ± 7180	3	20700 ± 6850
				3	1008	2	13700 ± 7890	1	14500	3	13900 ± 5600
				3	1680	1	11700	2	10600 ± 4800	3	11000 ± 3460
				3	3048	2	3080 ± 1.91	1	2030	3	2730 ± 611

表 19　　カニクイザルに IT ボーラス投与後の組織中トフェルセン濃度（666853-AS01 試験）（続き）

組織	群	用量（mg）	投与日	投与回数	前回投与からの時間（h）	雌		雄		雌雄合算	
						N	トフェルセン濃度（ng/g）	N	トフェルセン濃度（ng/g）	N	トフェルセン濃度（ng/g）
腰髄	2	4	84	5	168	3	20300 ± 7160	3	21100 ± 6040	6	20700 ± 5940
	3	12	84	5	168	3	53300 ± 9170	3	46100 ± 15600	6	49700 ± 12100
	4	35	84	5	168	3	110000 ± 30300	3	91000 ± 19300	6	101000 ± 25000
				5	2184	2	18600 ± 4370	2	19800 ± 821	4	19200 ± 2660
	5	12	1	1	168	1	14600	1	14400	2	14500 ± 139
	5	12	28	3	168	1	15000	1	27900	2	21400 ± 9130
				3	336	1	23600	2	35000 ± 13400	3	31200 ± 11600
				3	1008	2	19800 ± 12900	1	31000	3	23500 ± 11200
				3	1680	1	13000	2	16700 ± 2010	3	15500 ± 2560
				3	3048	2	5390 ± 331	1	3740	3	4840 ± 982
腎皮質	2	4	84	5	168	3	106000 ± 25400	3	80900 ± 16500	6	93300 ± 23500
	3	12	84	5	168	3	199000 ± 27600	3	156000 ± 32900	6	178000 ± 35700
	4	35	84	5	168	3	347000 ± 30500	3	311000 ± 113000	6	329000 ± 76500
				5	2184	2	18300 ± 14100	2	9300 ± 3330	4	13800 ± 9830
	5	12	1	1	168	1	206000	1	200000	2	203000 ± 4150
	5	12	28	3	168	1	235000	1	143000	2	189000 ± 65500
				3	336	1	77800	2	145000 ± 84500	3	122000 ± 71200
				3	1008	2	23400 ± 8300	1	45000	3	30600 ± 13800
				3	1680	1	8670	2	22900 ± 6370	3	18200 ± 9380
				3	3048	2	2520 ± 418	1	2150	3	2400 ± 364

表 19　　カニクイザルに IT ボーラス投与後の組織中トフェルセン濃度（666853-AS01 試験）（続き）

組織	群	用量（mg）	投与日	投与回数	前回投与からの時間（h）	雌		雄		雌雄合算	
						N	トフェルセン濃度（ng/g）	N	トフェルセン濃度（ng/g）	N	トフェルセン濃度（ng/g）
肝臓	2	4	84	5	168	3	10900 ± 8820	3	9540 ± 2180	6	10200 ± 5790
	3	12	84	5	168	3	55300 ± 8180	3	45600 ± 11100	6	50400 ± 10200
	4	35	84	5	168	3	157000 ± 53100	3	130000 ± 43900	6	144000 ± 46000
				5	2184	2	2440 ± 1940	2	3950 ± 2750	4	3200 ± 2130
	5	12	1	1	168	1	55000	1	29700	2	42300 ± 17900
	5	12	28	3	168	1	59700	1	46100	2	52900 ± 9630
				3	336	1	105000	2	41100 ± 6690	3	62300 ± 37100
				3	1008	2	3710 ± 1690	1	14900	3	7420 ± 6550
				3	1680	1	686	2	1240 ± 805	3	1060 ± 654
				3	3048	2	191 ± 205	1	550	3	310 ± 253

値は平均値 ± SD 。

表 20　　カニクイザルに IT ボーラス投与後の組織中トフェルセン濃度（P067-[redacted]-01 試験）

組織	群	用量（mg）	採取日	雌		雄		雌雄合算	
				N	トフェルセン濃度（ng/g）	N	トフェルセン濃度（ng/g）	N	トフェルセン濃度（ng/g）
小脳	2	4	267	4	7490 ± 3670	4	5610 ± 5460	8	6550 ± 4430
	3	12	267	3	18300 ± 12700	4	22200 ± 14500	7	20500 ± 12800
	4	35	176	4	43600 ± 21900	4	61000 ± 19300	8	52300 ± 21200
			267	4	47600 ± 13100	4	19400 ± 20900	8	33500 ± 22100
			456	2	3670 ± 4470	2	2580 ± 733	4	3130 ± 1950
脳皮質	2	4	267	4	11100 ± 1890	4	3740 ± 3010	8	7430 ± 4590
	3	12	267	3	31300 ± 18600	4	25200 ± 16800	7	27800 ± 16400
	4	35	176	4	65800 ± 12900	4	71200 ± 14400	8	68500 ± 13000
			267	4	55800 ± 16900	4	22300 ± 26700	8	39100 ± 27400
			456	2	6650 ± 11600	2	2630 ± 906	4	4640 ± 5300
海馬	2	4	267	4	6240 ± 2220	4	2950 ± 2700	8	4590 ± 2890
	3	12	267	3	13800 ± 12500	4	12700 ± 8350	7	13200 ± 9350
	4	35	176	4	48600 ± 12800	4	37200 ± 12500	8	42900 ± 13300
			267	4	33800 ± 2230	4	14800 ± 17800	8	24300 ± 15500
			456	2	5020 ± 7490	2	1850 ± 373	4	3430 ± 3560

表 20　　カニクイザルに IT ボーラス投与後の組織中トフェルセン濃度（P067-[redacted]-01 試験）（続き）

組織	群	用量 (mg)	採取日	雌		雄		雌雄合算	
				N	トフェルセン濃度 (ng/g)	N	トフェルセン濃度 (ng/g)	N	トフェルセン濃度 (ng/g)
脳髄質	2	4	267	4	6530 ± 1780	4	2600 ± 1120	8	4560 ± 2510
	3	12	267	3	12300 ± 4300	4	11200 ± 7030	7	11700 ± 5580
	4	35	176	4	36000 ± 5610	4	34000 ± 14000	8	35000 ± 9960
			267	4	31400 ± 13300	4	10700 ± 10500	8	21000 ± 15700
			456	2	1880 ± 2430	2	996 ± 470	4	1440 ± 1130
頸髄	2	4	267	4	10900 ± 1840	4	4860 ± 2840	8	7900 ± 3930
	3	12	267	3	16300 ± 2240	4	17600 ± 12500	7	17000 ± 8940
	4	35	176	4	65200 ± 25600	4	52600 ± 21700	8	58900 ± 23000
			267	4	46800 ± 13400	4	18900 ± 17200	8	32800 ± 20600
			456	2	7540 ± 6480	2	1420 ± 847	4	4480 ± 4430
腰髄	2	4	267	4	28600 ± 1080	4	17500 ± 8470	8	23100 ± 8180
	3	12	267	3	45900 ± 21000	4	43300 ± 13100	7	44400 ± 15300
	4	35	176	4	175000 ± 42100	4	164000 ± 55200	8	170000 ± 45800
			267	4	140000 ± 63700	4	78800 ± 52000	8	110000 ± 63100
			456	2	8970 ± 16200	2	7970 ± 4350	4	8470 ± 6890
胸髄	2	4	267	4	19900 ± 5130	4	7280 ± 3310	8	13600 ± 7840
	3	12	267	3	33300 ± 21000	4	25400 ± 10600	7	28800 ± 14900
	4	35	176	4	71100 ± 10300	4	56600 ± 19600	8	63800 ± 16500
			267	4	73200 ± 32000	4	32700 ± 21500	8	53000 ± 33300
			456	2	4710 ± 5450	2	2920 ± 397	4	3820 ± 2460

表 20　　カニクイザルに IT ボーラス投与後の組織中トフェルセン濃度（P067-[redacted]-01 試験）（続き）

組織	群	用量（mg）	採取日	雌		雄		雌雄合算	
				N	トフェルセン濃度（ng/g）	N	トフェルセン濃度（ng/g）	N	トフェルセン濃度（ng/g）
腎臓	2	4	267	4	61300 ± 27000	4	52900 ± 11100	8	57100 ± 19600
	3	12	267	3	69800 ± 22300	4	66000 ± 9170	7	67600 ± 14600
	4	35	176	4	338000 ± 162000	4	233000 ± 105000	8	285000 ± 139000
			267	4	281000 ± 92400	4	157000 ± 26700	8	219000 ± 91500
			456	2	1100 ± 448	2	643 ± 512	4	873 ± 384
肝臓	2	4	267	4	5830 ± 3610	4	3550 ± 1320	8	4690 ± 2790
	3	12	267	3	48500 ± 19300	4	15800 ± 5160	7	29800 ± 21000
	4	35	176	4	152000 ± 38300	4	105000 ± 22000	8	128000 ± 38400
			267	4	119000 ± 67400	4	66200 ± 24300	8	92700 ± 54800
			456	2	71.7 ± 44.2	2	219 ± 44.1	4	146 ± 89.1

値は平均値 ± SD 。ただし、n = 2 の場合は平均値 ± 範囲を表示。

11 参考文献

Geary RS, Yu RZ, Watanabe T, Henry SP, Hardee GE, Chappell A, et al. Pharmacokinetics of a tumor necrosis factor-α phosphorothioate 2'-O-(2-methoxyethyl) modified antisense oligonucleotide: comparison across species. Drug Metab Dispos. 2003;31(11):1419-28.

Sewell KL, Geary RS, Baker BF, Glover JM, Mant TGK, Yu RZ, et al. Phase I trial of ISIS 104838, a 2'-methoxyethyl modified antisense oligonucleotide targeting tumor necrosis factor-α. J Pharmacol Exp Ther. 2002;303(3):1334-43.

Watanabe TA, Geary RS, Levin AA. Plasma protein binding of an antisense oligonucleotide targeting human ICAM-1 (ISIS 2302). Oligonucleotides. 2006;16(2):169-80.

Yu RZ, Baker B, Chappell A, Geary RS, Cheung E, Levin AA. Development of an ultrasensitive noncompetitive hybridization-ligation enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of phosphorothioate oligodeoxynucleotide in plasma. Anal Biochem. 2002;304(1):19-25.

Yu RZ, Geary RS, Levin AA. Application of novel quantitative bioanalytical methods for pharmacokinetic and pharmacokinetic/pharmacodynamic assessments of antisense oligonucleotides. Curr Opin Drug Discov Devel. 2004a;7(2):195-203.

Yu RZ, Geary RS, Monteith DK, Matson J, Truong L, Fitchett J, et al. Tissue disposition of 2'-O-(2-methoxy) ethyl modified antisense oligonucleotides in monkeys. J Pharm Sci. 2004b;93(1):48-59.

Yu RZ, Kim T-W, Hong A, Watanabe TA, Gaus HJ, Geary RS. Cross-species pharmacokinetic comparison from mouse to man of a second-generation antisense oligonucleotide, ISIS 301012, targeting human apolipoprotein B-100. Drug Metab Dispos. 2007;35(3):460-8.

トフェルセン

第 2 部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

バイオジェン・ジャパン株式会社

目次

頁

1 薬物動態試験：一覧表 3
1.1 一覧表 3
2 分析方法及びバリデーション試験 7
2.1 分析方法及びバリデーション試験一覧 7
3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 11
3.1 マウスに単回皮下投与後の血漿中曝露 11
4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 13
4.1 マウスに反復皮下投与後の血漿中曝露 13
4.2 妊娠マウスに反復皮下投与後の血漿中曝露 15
4.3 妊娠ウサギに反復皮下投与後の血漿中曝露 16
4.4 サルに 13 週間反復髄腔内投与後の血漿中曝露 17
4.5 サルに 9 ヵ月間反復髄腔内投与後の血漿中曝露 18
5 薬物動態試験：分布 19
5.1 マウスに単回皮下投与後の全身組織分布 19
5.2 ラットに単回髄腔内投与後の中枢神経系組織分布 21
5.3 サルに 13 週間反復髄腔内投与後の全身及び中枢神経系組織分布 22
5.4 サルに 9 ヵ月間反復髄腔内投与後の全身及び中枢神経系組織分布 23
5.5 薬物動態パラメータ：サルに反復髄腔内投与後の血漿、全身、及び中枢神経系組織中の消失半減期（$t_{1/2}$） 24
6 薬物動態試験：血漿タンパク結合 25
7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 26
8 薬物動態試験：その他の分布試験 28
9 薬物動態試験：代謝：*In vivo* 29
9.1 マウスに反復皮下投与後の組織内代謝 29
9.2 サルに反復髄腔内投与後の組織内代謝 30
10 薬物動態試験：代謝：*In vitro* 31
11 薬物動態試験：推定代謝経路 32
12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 33
12.1 薬物代謝酵素の誘導能評価（*in vitro*） 33
12.2 薬物代謝酵素の阻害能評価（*in vitro*） 34
13 薬物動態試験：排泄 35
14 薬物動態試験：排泄：胆汁中 36
15 薬物動態試験：薬物相互作用 37
15.1 ヒトトランスポーターへの基質性評価（*in vitro*） 37
15.2 ヒトトランスポーターに対する阻害評価（*in vitro*） 38
16 薬物動態試験：その他 39

1 薬物動態試験：一覧表

1.1 一覧表

概要					被験物質：トフェルセン	
試験の種類／内容	動物種	投与方法	試験施設	試験番号	GLP 適用	CTD での記載箇所
吸収						
PK/TK	CD-1 マウス	SC 投与	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted]	666853-AS02	適	4.2.3.2-1
PK/TK	CD-1 マウス	SC 投与	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted]	P067-[redacted]-03	適	4.2.3.2-2
PK/TK	カニクイザル	腰髄 IT ボーラス投与	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted]	666853-AS01	適	4.2.3.2-4
PK/TK	カニクイザル	腰髄 IT ボーラス投与	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted]	P067-[redacted]-01	適	4.2.3.2-5

1.1 一覧表（続き）

概要					被験物質：トフェルセン	
試験の種類／内容	動物種	投与方法	試験施設	試験番号	GLP 適用	CTD での記載箇所
PK/TK（妊娠動物）	CD-1 マウス	SC 投与	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted]	P067-17-02	適	4.2.3.5.1-1
PK/TK（妊娠動物）	NZW ウサギ	SC 投与	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted]	P067-17-05	適	4.2.3.5.2-3
分布						
組織／臓器分布	CD-1 マウス	SC 投与	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted]	666853-AS02	適 [a]	4.2.3.2-1
組織／臓器分布	Sprague Dawley ラット	腰髄 IT ボーラス投与	In-Life: [redacted] Bioanalytical: Isis Pharmaceuticals, Inc.	666853-AS03	適 [a]	4.2.3.1-1
組織／臓器分布	カニクイザル	腰髄 IT ボーラス投与	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted]	666853-AS01	適	4.2.3.2-4

1.1 一覧表（続き）

概要					被験物質：トフェルセン	
試験の種類／内容	動物種	投与方法	試験施設	試験番号	GLP 適用	CTD での記載箇所
組織／臓器分布	カニクイザル	腰髄 IT ボーラス投与	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted]	P067-[redacted]-01	適	4.2.3.2-5
血漿タンパク結合	CD-1 マウス、カニクイザル、ヒト	*In vitro*	Bioanalytical: [redacted], [redacted]	666853-IS03	非適用	4.2.2.3-1
組織／臓器分布（妊娠動物）	CD-1 マウス	SC 投与	In-Life: [redacted], [redacted] Bioanalytical: [redacted]	P067-[redacted]-01	適 [a]	4.2.3.5.3-1
代謝						
代謝（*in vivo* 代謝物の同定）	CD-1 マウス	SC 投与	Bioanalytical: [redacted], [redacted]	666853-AS02	適 [a]	4.2.3.2-1
代謝（*in vivo* 代謝物の同定）	カニクイザル	腰髄 IT ボーラス投与	Bioanalytical: Department of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Biogen, Inc.	P067-[redacted]-06, DMPK-20[redacted]-0003BT	非適用	4.2.2.4-1
薬物代謝酵素の誘導（*in vitro*）	ヒト肝細胞	*In vitro*	Bioanalytical: Department of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Biogen, Inc.	DMPK-20[redacted]-0020IV	非適用	4.2.2.6-3
薬物代謝酵素の阻害（*in vitro*）	ヒト肝細胞	*In vitro*	Bioanalytical: [redacted]	DMPK-20[redacted]-0015-C	非適用	4.2.2.6-4

1.1 一覧表（続き）

概要					被験物質：トフェルセン	
試験の種類／内容	動物種	投与方法	試験施設	試験番号	GLP 適用	CTD での記載箇所
薬物相互作用						
トランスポーターの基質性（*in vitro*）	MDCKII 及び HEK293 細胞	*In vitro*	Bioanalytical: [redacted]	DMPK-20[redacted]-0015-B	非適用	4.2.2.6-1
トランスポーターの阻害（*in vitro*）	MDCKII 及び HEK293 細胞（膜小胞を含む）	*In vitro*	Bioanalytical: [redacted]	DMPK-20[redacted]-0015-A	非適用	4.2.2.6-2

[a] 生体試料中濃度の測定は GLP 非適用。
GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、IT = 髄腔内、NZW = ニュージーランドホワイト、PK = 薬物動態、SC = 皮下、TK = トキシコキネティクス

2 分析方法及びバリデーション試験

2.1 分析方法及びバリデーション試験一覧

被験物質：トフェルセン								
試験番号	分析対象	動物種／マトリックス	定量範囲	分析方法	前処理方法	重要な結果（精度及び真度）	GLP 適用	CTD での記載箇所
666853-AS01	トフェルセン	サル／血漿	0.5000 – 100.0 ng/mL	ハイブリダイゼーション ELISA	該当なし		適	4.2.3.2-4
	トフェルセン	サル／CSF	0.5000 – 100.0 ng/mL	ハイブリダイゼーション ELISA	該当なし		適	
	トフェルセン	サル／組織（脳、脊髄、肝臓、及び腎臓）	15.00 – 1200 ng/g	ハイブリダイゼーション ELISA	フェノール／クロロホルムによる液体抽出	分析法バリデーションの結果から、ULOQ を 1500 ng/g から 1200 ng/g に変更	適	

2.1 分析方法及びバリデーション試験一覧（続き）

被験物質：トフェルセン								
試験番号	分析対象	動物種／マトリックス	定量範囲	分析方法	前処理方法	重要な結果（精度及び真度）	GLP 適用	CTD での記載箇所
666853-AS02	トフェルセン	マウス／血漿	0.500 – 100 ng/mL	ハイブリダイゼーション ELISA	該当なし		適	4.2.3.2-1
	トフェルセン	マウス／組織（腎臓、肝臓、及び脳）	10.0 – 1500 µg/g	HPLC	フェノール／クロロホルム／イソアミルアルコールによる液体抽出後、固相抽出及び除タンパク		非適用	
	代謝物	マウス／組織（腎臓、肝臓、及び脳）		HPLC			非適用	
666853-AS03	トフェルセン	ラット／組織（脳及び脊髄）	脳皮質：0.71 – 178 µg/g 腰髄：3.56 – 356 µg/g	LC/MS	フェノール／クロロホルム／イソアミルアルコールによる液体抽出後、固相抽出及び除タンパク		非適用	4.2.3.1-1

2.1 分析方法及びバリデーション試験一覧（続き）

被験物質：トフェルセン								
試験番号	分析対象	動物種／マトリックス	定量範囲	分析方法	前処理方法	重要な結果（精度及び真度）	GLP 適用	CTD での記載箇所
P067-[redacted]-01	トフェルセン	サル／血漿	0.5000 – 100.0 ng/mL	ハイブリダイゼーション ELISA	該当なし		適	4.2.3.2-5
	トフェルセン	サル／CSF	0.5000 – 100.0 ng/mL	ハイブリダイゼーション ELISA	該当なし		適	
	トフェルセン	サル／組織（脳、脊髄、肝臓、及び腎臓）	15.00 – 1200 ng/g	ハイブリダイゼーション ELISA	フェノール／クロロホルムによる液体抽出	分析法バリデーションの結果から、ULOQ を 1500 ng/g から 1200 ng/g に変更	適	
P067-[redacted]-03	トフェルセン	マウス／血漿	0.5000 – 100.0 ng/mL	ハイブリダイゼーション ELISA	該当なし		適	4.2.3.2-2
P067-17-02	トフェルセン	マウス／血漿	0.500 – 100 ng/mL	ハイブリダイゼーション ELISA	該当なし		適	4.2.3.5.1-1
P067-17-05	トフェルセン	ウサギ／血漿	0.500 – 100 ng/mL	ハイブリダイゼーション ELISA	該当なし		適	4.2.3.5.2-3

2.1 分析方法及びバリデーション試験一覧（続き）

被験物質：トフェルセン								
試験番号	分析対象	動物種／マトリックス	定量範囲	分析方法	前処理方法	重要な結果（精度及び真度）	GLP 適用	CTD での記載箇所
P067-[redacted]-01	トフェルセン	マウス／乳汁	0.250 – 25.0 ng/mL	ハイブリダイゼーション ELISA	該当なし	マウス乳汁量が少なく、ラット乳汁を代用マトリクスとして使用した。精度及び真度において、4 回実施のうち 1 回で理論値より高い値が得られ基準外であった。	非適用	4.2.3.5.3-1

CSF = 脳脊髄液、ELISA = 酵素免疫測定法、GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、HPLC = 高速液体クロマトグラフィー、LC/MS = 液体クロマトグラフィー／質量分析、ULOQ = 定量上限

3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

3.1 マウスに単回皮下投与後の血漿中曝露

CD-1 マウスを用いたトフェルセンの 12 週間反復皮下投与毒性試験	被験物質：トフェルセン
	CTD での記載箇所：4.2.3.2-1
	試験番号：666853-AS02

動物種	CD-1 マウス
給餌条件	摂餌
溶媒／投与形態	0.9%塩化ナトリウム注射液、USP（滅菌生理食塩液）
分析対象	トフェルセン
分析法	ハイブリダイゼーション ELISA
試料	血漿
データ分析ソフトウェア	[redacted], Version [redacted]
投与方法	SC 投与
用量（mg/kg）／期間	25、150／単回投与（Day 1）

3.1 マウスに単回皮下投与後の血漿中曝露（続き）

CD-1 マウスを用いたトフェルセンの 12 週間反復皮下投与毒性試験		被験物質：トフェルセン
		CTD での記載箇所：4.2.3.2-1
		試験番号：666853-AS02
PK パラメータ [a]		
用量（mg/kg）	25	150
性別（雄／雌）／動物数	（27／27）[b] 3／性／時点	（27／27）[b] 3／性／時点
C_{max}（µg/mL）	14.9	83.6
T_{max}（h）	0.50	0.50
$AUC_{0\text{-}48h}$（µg*h/mL）	28.8	201
$MRT_{0\text{-}48h}$（h）	2.44	2.84

[a] 平均血漿中曝露に性差が認められなかったため、雌雄合算の平均パラメータを表示。
[b] 試料欠失に基づく時点ごとの動物数の変動は、毒性試験報告書に記載されている。
$AUC_{0\text{-}48h}$ = 投与後 0 時間から 48 時間までの濃度時間曲線下面積、C_{max} = 最高濃度、ELISA = 酵素免疫測定法、$MRT_{0\text{-}48h}$ = 投与後 0 時間から 48 時間までの平均滞留時間、PK = 薬物動態、SC = 皮下、T_{max} = 最高濃度到達時間

4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

4.1 マウスに反復皮下投与後の血漿中曝露

トフェルセン：CD-1 マウスを用いたトフェルセンの 26 週間反復皮下投与毒性及び 8 週間回復性試験（GLP）		被験物質：トフェルセン
		CTD での記載箇所：4.2.3.2-2
		試験番号：P067-[redacted]-03
動物種	CD-1 マウス	
給餌条件	摂餌	
溶媒／投与形態	リン酸緩衝生理食塩液（10 mM リン酸ナトリウム、144 mM 塩化ナトリウム、pH 7.4）	
分析対象	トフェルセン	
分析法	ハイブリダイゼーション ELISA	
試料	血漿	
データ分析ソフトウェア	[redacted], [redacted], Version [redacted]	
投与方法	SC 投与	
用量（mg/kg）／期間	6、30、及び 150／Day 1、15、29、43、57、71、85、99、113、127、141、155、169、及び 183	

4.1 マウスに反復皮下投与後の血漿中曝露（続き）

トフェルセン：CD-1 マウスを用いたトフェルセンの 26 週間反復皮下投与毒性及び 8 週間回復性試験（GLP）					被験物質：トフェルセン	
					CTD での記載箇所：4.2.3.2-2	
					試験番号：P067-[redacted]-03	
PK パラメータ [a]						
用量（mg/kg）	6		30		150	
性別（雄／雌）／動物数	（15／15） 3／性／時点		（15／15） 3／性／時点		（15／15） 3／性／時点	
投与日	Day 1	Day 183	Day 1	Day 183	Day 1	Day 183
C_{max}（μg/mL）	2.65	5.19	15.5	20.3	90.7	125
T_{max}（h）	1	1	1	1	1	1
$AUC_{0\text{-}24h}$（μg*h/mL）	4.75	9.67	34.9	53.8	198	380
$RAUC_{0\text{-}24h}$	2.04		1.54		1.92	

[a] 平均血漿中曝露に性差が認められなかったため、雌雄合算の平均パラメータを表示。

$AUC_{0\text{-}24h}$ = 投与後 0 時間から 24 時間までの濃度時間曲線下面積、C_{max} = 最高濃度、ELISA = 酵素免疫測定法、GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、PK = 薬物動態、$RAUC_{0\text{-}24h}$ = 累積比（=［Day 183 の $AUC_{0\text{-}24h}$］/［Day 1 の $AUC_{0\text{-}24h}$］）、SC = 皮下、T_{max} = 最高濃度到達時間

4.2 妊娠マウスに反復皮下投与後の血漿中曝露

トフェルセン：皮下投与によるマウスを用いた受胎能及び胚・胎児発生試験	被験物質：トフェルセン
	CTD での記載箇所：4.2.3.5.1-1
	試験番号：P067-17-02

動物種	CD-1 マウス					
給餌条件	摂餌					
溶媒／投与形態	リン酸緩衝生理食塩液（10 mM リン酸ナトリウム、144 mM 塩化ナトリウム、pH 7.4）					
分析対象	トフェルセン					
分析法	ハイブリダイゼーション ELISA					
試料	血漿					
データ分析ソフトウェア	[redacted], [redacted], Version [redacted]					
投与方法	SC 投与					
用量（mg/kg）／期間	3、10、及び 30／隔日反復投与（交配の 15 日前から交配期間中及び GD 2、4、6、8、10、12、及び 14）					
PK パラメータ						
用量（mg/kg）	3		10		30	
性別（雌）／動物数	3		3		3	
投与日	GD 6	GD 14	GD 6	GD 14	GD 6	GD 14
C_{max}（ng/mL）	963	1390	3630	5860	16400	12800
T_{max}（h）	1	1	1	2	2	1
$AUC_{0\text{-}24h}$（ng*h/mL）	1810	3420	8460	17200	52300	50500
$RAUC_{0\text{-}24h}$	1.89		2.04		0.965	

$AUC_{0\text{-}24h}$ = 投与後 0 時間から 24 時間までの濃度時間曲線下面積、C_{max} = 最高濃度、ELISA = 酵素免疫測定法、GD = 妊娠日齢、PK = 薬物動態、$RAUC_{0\text{-}24h}$ = 累積比（=［GD 14 の $AUC_{0\text{-}24h}$］/［GD 6 の $AUC_{0\text{-}24h}$］）、SC = 皮下、T_{max} = 最高濃度到達時間

4.3 妊娠ウサギに反復皮下投与後の血漿中曝露

トフェルセン：皮下投与による妊娠 New Zealand White ウサギを用いた胚・胎児発生試験	被験物質：トフェルセン
	CTD での記載箇所：4.2.3.5.2-3
	試験番号：P067-17-05

動物種	NZW ウサギ					
給餌条件	摂餌					
溶媒／投与形態	リン酸緩衝生理食塩液（10 mM リン酸ナトリウム、144 mM 塩化ナトリウム、pH 7.4）					
分析対象	トフェルセン					
分析法	ハイブリダイゼーション ELISA					
試料	血漿					
データ分析ソフトウェア	[redacted], [redacted], Version [redacted]					
投与方法	SC 投与					
用量（mg/kg）／期間	3、10、及び 30／隔日反復投与（GD 7～19）					
PK パラメータ						
用量（mg/kg）	3		10		30	
性別（雌）／動物数	3		3		3	
投与日	GD 7	GD 19	GD 7	GD 19	GD 7	GD 19
C_{max}（ng/mL）	14200	4140	19900	11900	60900	41100
T_{max}（h）[a]	1（1 - 2）	2（2 - 2）	1（1 - 2）	2（1 - 2）	2（2 - 2）	2（2 - 2）
$AUC_{0\text{-}24h}$（ng*h/mL）	41900	23800	131000	87500	454000	283000
$RAUC_{0\text{-}24h}$	0.573		0.666		0.641	

[a] 中央値（最小 - 最大）

$AUC_{0\text{-}24h}$ = 投与後 0 時間から 24 時間までの濃度時間曲線下面積、C_{max} = 最高濃度、ELISA = 酵素免疫測定法、GD = 妊娠日齢、NZW = ニュージーランドホワイト、PK = 薬物動態、$RAUC_{0\text{-}24h}$ = 累積比（= ［GD 19 の $AUC_{0\text{-}24h}$］/［GD 7 の $AUC_{0\text{-}24h}$］）、SC = 皮下、T_{max} = 最高濃度到達時間

4.4 サルに 13 週間反復髄腔内投与後の血漿中曝露

カニクイザルを用いたトフェルセンの 13 週間反復髄腔内投与毒性及び薬物動態試験並びに 13 週間回復性試験					被験物質：トフェルセン CTD での記載箇所：4.2.3.2-4 試験番号：666853-AS01			
動物種	カニクイザル							
給餌条件	摂餌							
溶媒／投与形態	人工 CSF／溶液							
分析対象	トフェルセン							
分析法	ハイブリダイゼーション ELISA							
試料	血漿							
データ分析ソフトウェア	[redacted], Version [redacted]							
投与方法	腰髄 IT ボーラス投与							
用量（mg）／期間	4、12、及び 35／Day 1、14、28、56、及び 84 に反復投与、12 [a]／Day 1、14、及び 28 に反復投与							
PK パラメータ [b]								
用量（mg）	4		12		35		12 [a]	
性別（雄／雌）／動物数	3／3		3／3		7／7		8／8	
投与日	Day 1	Day 84	Day 1	Day 84	Day 1	Day 84	Day 1	Day 28
C_{max}（ng/mL）	2760	1010	10800	6860	35100	26400	9660	8480
T_{max}（h）[c]	1.5（1 - 2）	2（1 - 4）	2（1 - 4）	4（2 - 4）	2（1 - 4）	4（1 - 8）	2（1 - 4）	4（1 - 4）
$AUC_{0\text{-}48h}$（ng*h/mL）	8500	6140	46200	36000	209000	175000	48900	40100
$MRT_{0\text{-}48h}$（h）	4.12	6.29	4.42	5.51	5.37	6.59	4.87	5.37

[a] Day 28 まで投与した追加の 12 mg 用量群。Day 8 に雌雄各 1 例を剖検のため除外。
[b] 平均血漿中曝露に性差が認められなかったため、雌雄合算の平均パラメータを表示。
[c] 中央値（最小 - 最大）
$AUC_{0\text{-}48h}$ = 投与後 0 時間から 48 時間までの濃度時間曲線下面積、C_{max} = 最高濃度、CSF = 脳脊髄液、ELISA = 酵素免疫測定法、IT = 髄腔内、$MRT_{0\text{-}48h}$ = 投与後 0 時間から 48 時間までの平均滞留時間、PK = 薬物動態、T_{max} = 最高濃度到達時間

4.5 サルに 9 ヵ月間反復髄腔内投与後の血漿中曝露

カニクイザルを用いたトフェルセンの 9 ヵ月間反復髄腔内投与毒性及び薬物動態試験並びに 6 ヵ月間回復性試験	被験物質：トフェルセン CTD での記載箇所：4.2.3.2-5 試験番号：P067-[redacted]-01

動物種	カニクイザル					
給餌条件	摂餌					
溶媒／投与形態	人工 CSF／溶液					
分析対象	トフェルセン					
分析法	ハイブリダイゼーション ELISA					
試料	血漿					
データ分析ソフトウェア	[redacted], Version [redacted]					
投与方法	腰髄 IT ボーラス投与					
用量（mg）／期間	4、12、及び 35／Day 1、15、29、57、85、113、141、169、197、225、及び 253 に反復投与					
PK パラメータ [a]						
用量（mg）	4		12		35	
性別（雄／雌）／動物数	4／4	4／4	4／4	4／3	10／10	4／4
投与日	Day 1	Day 253	Day 1	Day 253	Day 1	Day 253
C_{max}（ng/mL）	1250	995	11600	4840	29100	36800
T_{max}（h）[b]	2.0（1.0 - 4.0）	2.0（1.0 - 4.0）	2.0（2.0 - 4.0）	4.0（2.0 - 10）	2.0（2.0 - 4.0）	3.0（1.0 - 4.0）
$AUC_{0\text{-}24h}$（ng*h/mL）	6260	7730	45100	30000	159000	179000
$MRT_{0\text{-}24h}$（h）	5.21	7.70	4.07	6.77	5.28	5.51

[a] 平均血漿中曝露に性差が認められなかったため、雌雄合算の平均パラメータを表示。

[b] 中央値（最小 - 最大）

$AUC_{0\text{-}24h}$ = 投与後 0 時間から 24 時間までの濃度時間曲線下面積、C_{max} = 最高濃度、CSF = 脳脊髄液、ELISA = 酵素免疫測定法、IT = 髄腔内、$MRT_{0\text{-}24h}$ = 投与後 0 時間から 24 時間までの平均滞留時間、PK = 薬物動態、T_{max} = 最高濃度到達時間

5 薬物動態試験：分布

5.1 マウスに単回皮下投与後の全身組織分布

CD-1 マウスを用いたトフェルセンの 12 週間反復皮下投与毒性試験	被験物質：トフェルセン
	CTD での記載箇所：4.2.3.2-1
	試験番号：666853-AS02

動物種	CD-1 マウス
給餌条件	摂餌
溶媒／投与形態	0.9%塩化ナトリウム注射液、USP（滅菌生理食塩液）
分析対象	トフェルセン
分析法	HPLC
試料	脳（前頭葉）[a]、肝臓、及び腎臓
データ分析ソフトウェア	[redacted], Version [redacted]
投与方法	SC 投与
用量（mg/kg）／期間	25 及び 150／単回投与（Day 1）

5.1 マウスに単回皮下投与後の全身組織分布（続き）

CD-1 マウスを用いたトフェルセンの 12 週間反復皮下投与毒性試験					被験物質：トフェルセン			
					CTD での記載箇所：4.2.3.2-1			
					試験番号：666853-AS02			
PK パラメータ [a]								
用量（mg/kg）	25				150			
組織試料	肝臓		腎臓		肝臓		腎臓	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
性別（雄／雌）／動物数	（27／27）[b] 3～4／性／時点				（27／27）[b] 2～4／性／時点			
C_{max}（µg/g）	47.0	50.0	159	224	111	103	196	334
T_{max}（h）	10	10	10	10	10	24	10	10
$AUC_{0\text{-}48h}$（µg*h/mL）	1750	1980	5520	9080	4820	4370	7740	14300

[a] すべての脳試料中トフェルセン濃度は、定量下限（10～25 µg/g）を下回った。
[b] 試料欠失に基づく時点ごとの動物数の変動は、毒性試験報告書に記載されている。
$AUC_{0\text{-}48h}$ = 投与後 0 時間から 48 時間までの濃度時間曲線下面積、C_{max} = 最高濃度、HPLC = 高速液体クロマトグラフィー、PK = 薬物動態、SC = 皮下、T_{max} = 最高濃度到達時間

5.2 ラットに単回髄腔内投与後の中枢神経系組織分布

Sprague Dawley ラットを用いたトフェルセンの単回髄腔内ボーラス投与急性毒性試験	被験物質：トフェルセン
	CTD での記載箇所：4.2.3.1-1
	試験番号：666853-AS03

動物種	Sprague Dawley ラット			
給餌条件	摂餌			
溶媒／投与形態	人工 CSF／溶液			
分析対象	トフェルセン			
分析法	LC/MS			
試料	脳皮質及び腰髄			
データ分析ソフトウェア	[redacted], Version [redacted]			
投与方法	IT ボーラス投与			
用量（mg）／期間	0.1、0.3、1、及び 3／単回投与（Day 1）			
試料採取時点	単回投与後 14 日目（Day 15）			
用量（mg）	0.1	0.3	1	3
性別（雄／雌）／動物数	6／6	6／6	6／6	6／6
	組織中濃度（µg/g）[a]			
脳皮質	2.46	5.25	7.40	17.0
腰髄	10.6	15.2	23.6	33.9

[a] 濃度に性差が認められなかったため、雌雄合算の平均濃度を表示。
CSF = 脳脊髄液、IT = 髄腔内、LC/MS = 液体クロマトグラフィー／質量分析

5.3 サルに 13 週間反復髄腔内投与後の全身及び中枢神経系組織分布

カニクイザルを用いたトフェルセンの 13 週間反復髄腔内投与毒性及び薬物動態試験並びに 13 週間回復性試験	被験物質：トフェルセン CTD での記載箇所：4.2.3.2-4 試験番号：666853-AS01

動物種	カニクイザル
給餌条件	摂餌
溶媒／投与形態	人工 CSF／溶液
分析対象	トフェルセン
分析法	ハイブリダイゼーション ELISA
試料	CNS 及び全身組織
投与方法	腰髄 IT ボーラス投与
用量（mg）／期間	4、12、及び 35／Day 1、14、28、56、及び 84 に反復投与、12[a]／Day 1、14、及び 28 に反復投与
試料採取時点	最終投与後 168 時間

組織中濃度（ng/g）[b]

用量（mg）	4	12	35	12[a]	用量（mg）	4	12	35	12[a]
性別（雄／雌）／動物数	3／3	3／3	3／3	1／1	性別（雄／雌）／動物数	3／3	3／3	3／3	1／1
小脳	7190	21200	65700	15800	胸髄	14900	32200	68800	24700
脳皮質	7170	34200	76600	15000	腰髄	20700	49700	101000	21400
海馬	5980	18100	49900	11300	肝臓	10200	50400	144000	52900
脳橋	5060	11500	27200	6150	腎臓	93300	178000	329000	189000
頸髄	7650	23200	50100	10100					

[a] Day 28 まで投与した追加の 12 mg 用量群。Day 8 に雌雄各 1 例を剖検のため除外。
[b] 平均濃度に性差が認められなかったため、雌雄合算の平均濃度を表示。
CNS = 中枢神経系、CSF = 脳脊髄液、ELISA = 酵素免疫測定法、IT = 髄腔内

5.4 サルに 9 ヵ月間反復髄腔内投与後の全身及び中枢神経系組織分布

カニクイザルを用いたトフェルセンの 9 ヵ月間反復髄腔内投与毒性及び薬物動態試験並びに 6 ヵ月間回復性試験	被験物質：トフェルセン CTD での記載箇所：4.2.3.2-5 試験番号：P067-[redacted]-01

動物種	カニクイザル
給餌条件	摂餌
溶媒／投与形態	人工 CSF／溶液
分析対象	トフェルセン
分析法	ハイブリダイゼーション ELISA
試料	CNS 及び全身組織
投与方法	腰髄 IT ボーラス投与
用量（mg）／期間	4、12、及び 35／Day 1、15、29、57、85、113、141、169、197、225、及び 253 に反復投与
試料採取時点	Day 267

組織中濃度（ng/g）[a]

用量（mg）	4	12	35	用量（mg）	4	12	35
性別（雄／雌）／動物数	4／4	4／3	4／4	性別（雄／雌）／動物数	4／4	4／3	4／4
小脳	6550	20500	33500	頸髄	7900	17000	32800
脳皮質	7430	27800	39100	胸髄	13600	28800	53000
海馬	4590	13200	24300	腰髄	23100	44400	110000
脳髄質	4560	11700	21000	肝臓	4690	29800	92700
				腎臓	57100	67600	219000

[a] 平均濃度に性差が認められなかったため、雌雄合算の平均濃度を表示。
CNS = 中枢神経系、CSF = 脳脊髄液、ELISA = 酵素免疫測定法、IT = 髄腔内

5.5 薬物動態パラメータ：サルに反復髄腔内投与後の血漿、全身、及び中枢神経系組織中の消失半減期（$t_{1/2}$）

カニクイザルを用いたトフェルセンの 13 週間反復髄腔内投与毒性及び薬物動態試験並びに 13 週間回復性試験	被験物質：トフェルセン
	CTD での記載箇所：4.2.3.2-4
	試験番号：666853-AS01

動物種	カニクイザル
給餌条件	摂餌
溶媒／投与形態	人工 CSF／溶液
分析対象	トフェルセン
分析法	ハイブリダイゼーション ELISA
試料	血漿、CSF、CNS、及び全身組織
データ分析ソフトウェア	[redacted], Version [redacted]
投与方法	腰髄 IT ボーラス投与
用量（mg）／期間	12／Day 1、14、及び 28 に反復投与
半減期算出に使用した測定時点	$t_{1/2}$ [a] は、Day 28 の投与後に得られた濃度データ（Day 35～155）を使用して算出された。

組織	$t_{1/2}$ [a]（日）	組織	$t_{1/2}$ [a]（日）
血漿	22.4	頸髄	38.2
CSF	37.2	胸髄	34.7
小脳	30.8	腰髄	36.8
脳皮質	33.2	肝臓	19.8
海馬	39.9	腎臓	22.5
脳橋	31.1		

[a] 見かけの終末相消失半減期の値は、スパースサンプリングによるノンコンパートメント解析モデルにより算出した。
CNS = 中枢神経系、CSF = 脳脊髄液、ELISA = 酵素免疫測定法、IT = 髄腔内、$t_{1/2}$ = 消失半減期

6 薬物動態試験：血漿タンパク結合

血漿タンパク結合			被験物質：トフェルセン
			CTD での記載箇所：4.2.2.3-1
			試験番号：666853-IS03
分析対象	トフェルセン		
試験の種類	*In vitro* 血漿タンパク結合試験		
分析法	限外ろ過／ハイブリダイゼーション・ヌクレアーゼベース ELISA（3 回測定／動物種／濃度）		
動物種	ヒト	サル	マウス
血漿中濃度（μg/mL）	%結合（平均値 ± 標準偏差）		
0.1	98.12 ± 0.18	98.42 ± 0.35	96.40 ± 2.07
30	97.90 ± 0.21	98.33 ± 0.02	96.18 ± 2.38

ELISA = 酵素免疫測定法

7　　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験	被験物質：トフェルセン
	CTD での記載箇所：4.2.3.5.3-1
	試験番号：P067-[redacted]-01

動物種	CD-1 マウス
給餌条件	摂餌
溶媒／投与形態	リン酸緩衝生理食塩液（10 mM リン酸ナトリウム、144 mM 塩化ナトリウム、pH 7.4）
分析対象	トフェルセン
分析法	ハイブリダイゼーション ELISA（乳汁）、HPLC（肝臓及び脳）
試料	乳汁、肝臓及び脳
投与方法	SC 投与
用量（mg/kg）／期間	3、10、及び 30／隔日反復投与（投与期間：妊娠 6～22 日及び分娩後 1～21 日まで）

7. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験			被験物質：トフェルセン	
			CTD での記載箇所：4.2.3.5.3-1	
			試験番号：P067-[redacted]-01	
乳汁及び組織中濃度				
F_0 母動物（n = 5～7）	トフェルセン濃度（乳汁：ng/mL、肝臓：μg/g）（平均値 ± 標準偏差）			
用量（mg/kg）	0（溶媒）	3	10	30
乳汁 - LD13	< LLOQ [a]	22.2 ± 33.7	96.9 ± 114.0	88.3 ± 54.9
肝臓 - LD21	< LLOQ	48.2 ± 10.9	127.2 ± 18.5	352.2 ± 111.5
F_1 雄（離乳後）（n = 3）	トフェルセン濃度（μg/g）			
用量（mg/kg）	0（溶媒）	3	10	30
脳 - PND21	< LLOQ	NA	NA	< LLOQ
肝臓 - PND21	< LLOQ	NA	NA	< LLOQ
F_1 雌（離乳後）（n = 3）	トフェルセン濃度（μg/g）			
用量（mg/kg）	0（溶媒）	3	10	30
脳 - PND21	< LLOQ	NA	NA	< LLOQ
肝臓 - PND21	< LLOQ	NA	NA	< LLOQ

[a] 6 例中 3 例でトフェルセンが測定されたが、それらは異常値と判断（試料量が少なく、再分析は実施不可）。
ELISA = 酵素免疫測定法、HPLC = 高速液体クロマトグラフィー、LD = 授乳日数、LLOQ = 定量下限（乳汁：0.250 ng/mL、組織：10.0 μg/g）、NA = 該当なし、PND = 出生後日数、SC = 皮下

8 薬物動態試験：その他の分布試験

その他の分布試験は実施されてない。

9 薬物動態試験：代謝：*In vivo*

9.1 マウスに反復皮下投与後の組織内代謝

CD-1 マウスを用いたトフェルセンの 12 週間反復皮下投与毒性試験	被験物質：トフェルセン
	CTD での記載箇所：4.2.3.2-1
	試験番号：666853-AS02

動物種	CD-1 マウス
給餌条件	摂餌
溶媒／投与形態	0.9%塩化ナトリウム注射液、USP（滅菌生理食塩液）
分析対象	トフェルセン及び代謝物
分析法	HPLC
試料	肝臓及び腎臓（Day 86）
投与方法	SC 投与
用量（mg/kg）／期間	150／Day 1、14、28、42、56、70、及び 84
性別（雄／雌）／動物数	6／性

組織試料（Day 86）：		総ピーク面積に対する相対%（雌雄合算）															
		トフェルセン	N-1	N-2	N-3	N-4	N-5	N-6	N-7	N-8	N-9	N-10	N-11	N-12	N-13	N-14	N-15
肝臓	平均値	80.8	2.76	2.68	0.842	0.831	0.739	0.824	0.253	2.26	0.137	2.20	0.787	1.76	1.48	1.40	0.220
	標準偏差	2.72	0.391	0.449	0.246	0.160	0.0997	0.0748	0.0593	0.504	0.0649	0.450	0.231	0.365	0.230	0.297	0.0174
腎臓	平均値	88.9	2.22	2.53	0.668	0.909	1.34	0.963	0.226	0.563	0.0752	0.411	0.171	0.470	0.276	0.228	0.0177
	標準偏差	5.01	0.397	1.09	0.566	0.700	0.535	0.414	0.194	0.371	0.0436	0.325	0.154	0.220	0.158	0.0879	0.0307

HPLC = 高速液体クロマトグラフィー、SC = 皮下

9.2 サルに反復髄腔内投与後の組織内代謝

サル肝臓及び腎臓中トフェルセンの *in vivo* 代謝物	被験物質：トフェルセン
	CTD での記載箇所：4.2.2.4-1
	試験番号：DMPK-20[redacted]-0003BT

動物種	カニクイザル
給餌条件	摂餌
溶媒／投与形態	人工 CSF／溶液
分析対象	トフェルセン及び代謝物
分析法	LC/MS 及び LC/MS/MS
試料	肝臓及び腎皮質（Day 92）、4 例／性をプール（P067-[redacted]-06 で採取した試料）
データ分析ソフトウェア	[redacted]
投与方法	腰髄 IT ボーラス投与
用量（mg）／期間	10／Day 1、15、29、57、及び 85
性別（雄／雌）／動物数	4／性をプールし、1 回／性で測定

組織試料（Day 92）：		総ピーク面積に対する相対%												
		トフェルセン	5’末端から欠失			3’末端から欠失								
			N-2	N-15	N-16	N-6	N-7	N-8	N-9	N-10	N-11	N-12	N-13	N-14
肝臓	雄	80.2	< 1	2.3	< 1	< 1	3.1	< 1	4.9	4.3	3	< 1	< 1	1.5
	雌	74.5	2.1	5.3	1.4	1.4	1.4	1.2	1.6	1.5	1	1.3	1	2.9
腎皮質	雄	91.9	1.1	< 1	< 1	1	1.1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
	雌	91.6	< 1	< 1	< 1	1.2	1.2	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1

CSF = 脳脊髄液、IT = 髄腔内、LC/MS = 液体クロマトグラフィー／質量分析、LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析

10 薬物動態試験：代謝：*In vitro*

In vitro 代謝試験は実施されていない。

11　　薬物動態試験：推定代謝経路

推定代謝経路に関する試験は実施されていない。

12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

12.1 薬物代謝酵素の誘導能評価（*in vitro*）

ヒト初代培養肝細胞を用いたトフェルセンの CYP450 誘導能評価（*in vitro*）	被験物質：トフェルセン
	CTD での記載箇所：4.2.2.6-3
	試験番号：DMPK-20[redacted]-0020IV

分析対象	mRNA 発現量
試験の種類	ヒト初代培養肝細胞を用いた CYP450 誘導能評価（*in vitro*）
分析法	定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（qRT-PCR）による mRNA 発現量の測定（3 回測定／ロット）
被験物質濃度	100 µg/mL

肝細胞ロット	処理	溶媒対照[a]に対する倍数変化（平均値 ± 標準偏差）			陽性対照[b]に対する相対誘導%（平均値 ± 標準偏差）		
		CYP1A2	CYP2B6	CYP3A4/5	CYP1A2	CYP2B6	CYP3A4/5
1424	トフェルセン	0.80 ± 0.16	0.81 ± 0.12	1.12 ± 0.15	−1.81 ± 1.45	−5.01 ± 3.22	0.69 ± 0.82
	陽性対照[b]	11.9 ± 2.3	4.81 ± 0.96	18.8 ± 1.8	100 ± 21	100 ± 25	100 ± 10
4156	トフェルセン	1.05 ± 0.21	0.98 ± 0.15	0.71 ± 0.04	0.14 ± 0.58	−0.27 ± 1.93	−0.99 ± 0.14
	陽性対照[b]	36.8 ± 5.2	8.82 ± 0.49	30.7 ± 1.5	100 ± 15	100 ± 6	100 ± 5
8200	トフェルセン	1.05 ± 0.08	1.13 ± 0.08	1.26 ± 0.19	0.26 ± 0.47	1.05 ± 0.60	0.20 ± 0.15
	陽性対照[b]	18.4 ± 1.4	13.6 ± 1.0	129 ± 27	100 ± 8	100 ± 8	100 ± 21

[a] 溶媒対照：ジメチルスルホキシド（0.1% v/v）
[b] 陽性対照：オメプラゾール（100 µM、CYP1A2）、フェノバルビタール（1 mM、CYP2B6）、リファンピシン（10 µM、CYP3A4/5）
CYP450 = シトクロム P450、mRNA = メッセンジャーリボ核酸

12.2 薬物代謝酵素の阻害能評価（*in vitro*）

ヒト初代培養肝細胞を用いたトフェルセンの CYP450 阻害能評価（*in vitro*）	被験物質：トフェルセン
	CTD での記載箇所：4.2.2.6-4
	試験番号：DMPK-20[redacted]-0015-C

分析対象	CYP450 典型基質の代謝物
試験の種類	ヒト初代培養肝細胞を用いた CYP450 阻害能評価（*in vitro*）
分析法	LC/MS/MS
被験物質濃度	0.1、0.33、1、3.3、10、33、及び 100 μM

CYP450 アイソザイム	典型基質の代謝反応	トフェルセンの IC_{50}（μM）	陽性対照	陽性対照の IC_{50}（μM）
CYP1A2	フェナセチン O- 脱エチル化	> 100	フルボキサミン	0.0911
CYP2B6	ブプロピオン ヒドロキシ化	> 100	クロピドグレル	1.07
CYP2C8	パクリタキセル 6- ヒドロキシ化	> 100	ゲムフィブロジルグルクロニド	43.3
CYP2C9	ジクロフェナク 4'-ヒドロキシ化	> 100	スルファフェナゾール	2.01
CYP2C19	S-メフェニトイン 4'-ヒドロキシ化	> 100	チクロピジン	4.15
CYP2D6	デキストロメトルファン O- 脱メチル化	> 100	キニジン	0.210
CYP2E1	クロルゾキサゾン 6- ヒドロキシ化	> 100	クロルメチアゾール	246
CYP3A4	ミダゾラム 1'-ヒドロキシ化	> 100	ケトコナゾール	0.393
	テストステロン 6β- ヒドロキシ化	> 100	ケトコナゾール	0.337

CYP450 = シトクロム P450、IC_{50} = 50%阻害濃度、LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析

13　　薬物動態試験：排泄

排泄に関する試験は実施されていない。

14　　薬物動態試験：排泄：胆汁中

胆汁中排泄に関する試験は実施されていない。

15 薬物動態試験：薬物相互作用

15.1 ヒトトランスポーターへの基質性評価（*in vitro*）

トフェルセンのヒト排出トランスポーター及び取込みトランスポーターの基質性評価（*in vitro*）	被験物質：トフェルセン
	CTD での記載箇所：4.2.2.6-1
	試験番号：DMPK-20[redacted]-0015-B

分析対象	トフェルセン
試験の種類	ヒトトランスポーター発現細胞又は単層膜を用いた基質性評価（*in vitro*）
分析法	ハイブリダイゼーション ELISA
被験物質濃度	1 及び 10 μM

トランスポーター	試験系	net Efflux Ratio（最大値）	トランスポーター特異的細胞内取込み比（最大値）	基質性
BCRP	MDCKII 細胞単層膜	< 2.0	NA	なし
MDR1	MDCKII 細胞単層膜	< 2.0	NA	なし
MATE1	MDCKII 細胞	NA	< 2.0	なし
MATE2-K	MDCKII 細胞	NA	< 2.0	なし
OAT1	HEK293 細胞	NA	< 2.0	なし
OAT3	HEK293 細胞	NA	< 2.0	なし
OATP1B1	HEK293 細胞	NA	< 2.0	なし
OATP1B3	HEK293 細胞	NA	< 2.0	なし
OCT1	HEK293 細胞	NA	< 2.0	なし
OCT2	HEK293 細胞	NA	< 2.0	なし

BCRP = 乳癌耐性タンパク、ELISA = 酵素免疫測定法、HEK293 = ヒト胎児腎臓、MATE = 多剤・毒性化合物排出タンパク、MDCKII = Madin-Darby イヌ腎臓、MDR1 = 多剤耐性タンパク 1、NA = 該当なし、OAT = 有機アニオントランスポーター、OATP = 有機アニオン輸送ポリペプチド、OCT = 有機カチオントランスポーター

15.2 ヒトトランスポーターに対する阻害評価（*in vitro*）

トフェルセンのヒト排出トランスポーター及び取込みトランスポーターに対する阻害能評価（*in vitro*）	被験物質：トフェルセン
	CTD での記載箇所：4.2.2.6-2
	試験番号：DMPK-20[redacted]-0015-A

分析対象	トランスポーター典型基質
試験の種類	ヒトトランスポーター発現細胞又は膜小胞を用いた阻害能評価（*in vitro*）
分析法	液体シンチレーションカウンター
被験物質濃度	10 及び 100 μM

トランスポーター	試験系	トフェルセン 100 μM での阻害率（%）	IC_{50}（μM）	阻害作用
BCRP	HEK293 膜小胞	37	NA [a]	なし
BSEP	HEK293 膜小胞	＜20	ND	なし
MDR1	HEK293 膜小胞	＜20	ND	なし
MATE1	MDCKII 細胞	＜20	ND	なし
MATE2-K	MDCKII 細胞	＜20	ND	なし
OAT1	HEK293 細胞	＜20	ND	なし
OAT3	HEK293 細胞	＜20	ND	なし
OATP1B1	HEK293 細胞	＜20	ND	なし
OATP1B3	HEK293 細胞	＜20	ND	なし
OCT1	HEK293 細胞	＜20	ND	なし
OCT2	HEK293 細胞	＜20	ND	なし

[a] IC_{50} 値は最大検討濃度範囲を上回ると予測されたため、算出せず。
BCRP = 乳癌耐性タンパク、BSEP = 胆汁酸塩排出ポンプ、HEK293 = ヒト胎児腎臓、IC_{50} = 50%阻害濃度、MATE = 多剤・毒性化合物排出タンパク、MDCKII = Madin-Darby イヌ腎臓、MDR1 = 多剤耐性タンパク 1、NA = 該当なし、ND = 決定せず、OAT = 有機アニオントランスポーター、OATP = 有機アニオン輸送ポリペプチド、OCT = 有機カチオントランスポーター

16　　薬物動態試験：その他

その他の薬物動態試験は実施されていない。