キネレット皮下注 100 mg シリンジ

＜アナキンラ（遺伝子組換え）＞

第 2 部（モジュール 2）
CTD の概要（サマリー）

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

Swedish Orphan Biovitrum Japan 株式会社

Property of the SOBI group - strictly confidential

目次

2.6.4　薬物動態試験の概要文 6
2.6.4.1　まとめ 6
2.6.4.2　分析法 14
2.6.4.2.1　^{35}S 標識（比放射能及び生物活性）及びシンチレーションカウンターによる測定 14
2.6.4.2.2　酵素結合免疫吸着測定法によるラット、ウサギ及びサル血漿中アナキンラの測定 14
2.6.4.2.3　酵素結合免疫吸着測定法によるラット及びサル血清中の抗アナキンラ抗体の測定 15
2.6.4.3　吸収 16
2.6.4.3.1　アナキンラの PK 概要 16
2.6.4.3.2　単回投与 17
2.6.4.3.2.1　ラットに i.v.投与後の PK 17
2.6.4.3.2.2　ウサギに i.v.投与後の PK 19
2.6.4.3.2.3　サルに i.v.投与後の PK 21
2.6.4.3.3　反復投与 23
2.6.4.3.3.1　アナキンラの s.c.投与及びメトトレキサート（MTX）の p.o.投与で 4 週間投与したラットの毒性試験及び TK 試験（[redacted] 6271 122、[redacted] Study 960048） 23
2.6.4.3.3.2　アナキンラのラットにおける 6 ヵ月間 s.c.投与毒性試験（1 ヵ月間投与試験を含む）及び 1 ヵ月間回復性試験（[redacted] 86533、[redacted] SY05-T94-04） 25
2.6.4.3.3.3　雄 Sprague-Dawley ラットに PEG-sTNF-RI を反復投与したときのアナキンラの PK に及ぼす影響（100564 試験） 28
2.6.4.3.3.4　雄 Sprague-Dawley ラットにアナキンラを反復投与したときの PEG r-metHu-sTNF-RI の PK に及ぼす影響（[redacted] Study 100557） 29
2.6.4.3.3.5　アナキンラのアカゲザルにおける 4 週間 s.c.投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（[redacted] 0421-01、最終試験 960040） 30
2.6.4.3.3.6　アナキンラ及び sTNF-RI のカニクイザルにおける 1 ヵ月間 s.c.投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験（[redacted] 39-39、[redacted] Study 100484） 32
2.6.4.4　分布 34
2.6.4.4.1　ラットにおけるアナキンラの初期組織分布 34
2.6.4.4.2　ラットにおけるアナキンラの定常状態の組織分布 37
2.6.4.4.3　非妊娠動物 38
2.6.4.4.4　妊娠動物 38

2.6.4.5 代謝.....38
2.6.4.6 排泄.....39
2.6.4.6.1 ラットの定常状態におけるアナキンラの腎排泄.....39
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用.....40
2.6.4.8 その他の薬物動態試験.....40
2.6.4.9 考察及び結論.....40
2.6.4.10 参考文献.....46

表目次

表 2.6.4-1 PK 試験一覧..... 9
表 2.6.4-2 分析法及びバリデーション報告書の概要.....16
表 2.6.4-3 雄 Sprague-Dawley ラットにアナキンラの 1、3、10、30、100 mg/kg を単回 i.v.投与後のアナキンラの PK パラメーターの平均値（標準偏差）.....18
表 2.6.4-4 雄 Sprague-Dawley ラットにアナキンラの 1、3、10、30、100 mg/kg を単回 s.c.投与後のアナキンラの PK パラメーターの平均値（標準偏差）.....19
表 2.6.4-5 雄 New Zealand white ウサギにアナキンラの 10 又は 100 mg/kg を単回 i.v.投与後のアナキンラの PK パラメーターの平均値（標準偏差）.....20
表 2.6.4-6 雄 New Zealand white ウサギにアナキンラの 10 又は 100 mg/kg を単回 s.c.投与後のアナキンラの PK パラメーターの平均値.....20
表 2.6.4-7 雄性カニクイザルにアナキンラ 10 又は 100 mg/kg を単回 i.v.投与したときのアナキンラの PK パラメーターの平均値（標準偏差）.....22
表 2.6.4-8 雄性カニクイザルにアナキンラ 10 又は 100 mg/kg を単回 s.c.投与したときのアナキンラの PK パラメーターの平均値（標準偏差）.....22
表 2.6.4-9 雌ラットにアナキンラの 10 mg/kg を単独 s.c.投与又は MTX の 0.04 及び 0.20 mg/kg を併用投与したときの中央値を用いた TK パラメーター.....23
表 2.6.4-10 雌ラットにアナキンラの 100 mg/kg を単独 s.c.投与又は MTX の 0.04 及び 0.20 mg/kg を併用投与したときの中央値を用いた TK パラメーター.....24
表 2.6.4-11 雌ラットに MTX の 0.04 mg/kg 単独 p.o.投与及びアナキンラ 10 及び 100 mg/kg を s.c.併用投与したときの MTX の中央値を用いた TK パラメーター.....24
表 2.6.4-12 雌ラットに MTX の 0.2 mg/kg 単独 p.o.投与及びアナキンラ 10 及び 100 mg/kg を s.c.併用投与したときの MTX の中央値を用いた TK パラメーター.....25
表 2.6.4-13 アナキンラのプラセボ、2、20 及び 200 mg/kg/day を s.c.投与 2 時間後の血漿中アナキンラ濃度の中央値.....26
表 2.6.4-14 アナキンラのプラセボ、2、20 及び 200 mg/kg/day を s.c.投与 11 時間後の血清反応.....27

表 2.6.4-15 1ヵ月間中間群及び1ヵ月間回復群を含むラットにアナキンラを s.c.投与した6ヵ月間毒性試験における血漿中アナキンラ濃度及び抗アナキンラ抗体の発現率.27
表 2.6.4-16 ラットにアナキンラ 100 mg/kg 単独 i.v.投与及び PEG-sTNF-RI のプラセボ、1 及び 25 mg/kg を週 2 回 s.c.併用投与したときのアナキンラ PK パラメーターの平均値（標準偏差） 29
表 2.6.4-17 アカゲザルにアナキンラの 10、100 及び 200 mg/kg を 28 日間連日 s.c.投与したときのアナキンラの TK パラメーターの平均値（標準偏差） 31
表 2.6.4-18 アカゲザルにアナキンラのプラセボ、10、100 及び 200 mg/kg を連日 s.c.投与したときの投与前の血清反応 32
表 2.6.4-19 試験デザイン 32
表 2.6.4-20 カニクイザルに PEG-sTNF-RI のプラセボ及び 1、5、25 mg/kg を併用し、アナキンラの 100 mg/kg を反復 s.c.投与したときのアナキンラの TK パラメーター［平均値（標準偏差)］ 33
表 2.6.4-21 腎臓や肝臓への ^{35}S-アナキンラの分布による CL、平均値（標準偏差） 37
表 2.6.4-22 定常状態におけるアナキンラの平均（標準偏差）組織/血漿中濃度比.....38
表 2.6.4-23 ラット i.v.投与後のアナキンラと PAH のクリアランスの平均値（標準偏差）40
表 2.6.4-24 アナキンラの s.c.投与時のラット、ウサギ及びサルにおけるアナキンラ薬物動態パラメーターの平均値（標準偏差） 42
表 2.6.4-25 動物及びヒトにアナキンラを s.c.投与したときの薬物動態の比較 45

図目次

図 2.6.4-1 i.v.投与 5 分後に採取したラット血漿中の ^{35}S-アナキンラの溶出プロファイル 35
図 2.6.4-2 投与液及び i.v.投与 5 分後の組織ホモジネート上清中の ^{35}S-アナキンラの溶出プロファイル 35
図 2.6.4-3 i.v.投与 3 分後のラットにおける ^{35}S-アナキンラの組織分布 36
図 2.6.4-4 i.v.投与後の血漿、腎臓及び肝臓中の ^{35}S-アナキンラの放射能の経時変化.....37

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
AUC	Area under the curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}$	Area under the curve from time 0 to infinity	無限時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
CL	Clearance	クリアランス
CLr	Renal clearance	腎クリアランス
CYP	Cytochrome P450	チトクローム P450
DNA	Deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着測定法
ER	Extraction ratio	抽出率
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
[^{3}H]PAH	Tritiated p-aminohippuric acid	トリチウム標識 p-アミノ馬尿酸
IL-1	Interleukin-1	インターロイキン-1
IL-1α	Interleukin-1 alpha	インターロイキン-1 アルファ
IL-1β	Interleukin-1 beta	インターロイキン-1 ベータ
IL-1Ra	Interleukin-1 receptor antagonist	インターロイキン-1 受容体拮抗薬
i.v.	Intravenous(ly)	静脈内
MRT	Mean residence time	平均滞留時間
MTX	Methotrexate	メトトレキサート
PAH	P-aminohippuric acid	p-アミノ馬尿酸
PEG r-metHu-sTNF-RI	Polyethylene glycosylated recombinant methinonyl human-soluble tumor necrosis factor-receptor I	ポリエチレングリコールを結合した遺伝子組換えメチオニルヒト可溶性腫瘍壊死因子受容体 I 型
PEG-sTNF-RI	Polyethylene glycosylated-soluble tumor necrosis factor-receptor I	ポリエチレングリコシル化可溶性腫瘍壊死因子受容体 I 型
PK	Pharmacokinetic(s)	薬物動態
p.o.	Peroral	経口
rhIL-1Ra	Recombinant human interleukin-1 receptor antagonist	遺伝子組換えヒトインターロイキン-1 受容体拮抗薬
s.c.	Subcutaneous(ly)	皮下
sTNF-RI	Soluble tumor necrosis factor-receptor I	可溶性腫瘍壊死因子受容体 I 型
$t_{1/2}$	Half-life	半減期
TK	Toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
Vc	Volume of distribution in the central compartment	中央コンパートメントにおける分布容積
Vd_{ss}	Volume of distribution at steady state	定常状態における分布容積

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

アナキンラ（遺伝子組換え）又は遺伝子組換えヒトインターロイキン-1 受容体拮抗薬（IL-1Ra）は、大腸菌［*Escherichia coli*（*E. coli*）］を用いて遺伝子組換えデオキシリボ核酸（DNA）技術で作られる可溶性タンパク質である。IL-1Ra はインターロイキン-1（IL-1）サイトカインファミリーの一つである。IL-1 シグナル伝達経路は、2 つのアゴニスト［インターロイキン-1 アルファ（IL-1α）とインターロイキン-1 ベータ（IL-1β）］、2 つのクラスの受容体、膜結合型と可溶型の両方の形態で存在する IL-1 受容体 I 型と IL-1 受容体 II 型、及び 1 つの可溶性アンタゴニストである IL-1Ra からなる。様々な種類の細胞に存在する膜結合型 IL-1 受容体 I 型は、IL-1α 及び IL-1β の最初のシグナル伝達作用を担っている。循環している IL-1Ra は I 型受容体に結合し、IL-1α と IL-1β の作用に拮抗することにより、IL-1 を介した炎症過程を抑制する。アナキンラが IL-1Ra として作用し、サイトカインである IL-1α 及び IL-1β の作用を効率的に阻害することを示す多くの薬力学研究が報告されている。

アナキンラは、慢性的な炎症とそれに伴う関節リウマチ及びクリオピリノパシーの組織破壊を制御するために、定期的な皮下注射剤として開発されている。例えば、クリオピリン関連周期熱症候群、家族性地中海熱、及び全身型若年性特発性関節炎や成人発症スチル病などの他の IL-1 が起因となる疾患などである。アナキンラは、これらの適応症の治療を目的として、徴候及び症状を軽減し、単独又は疾患修飾性抗リウマチ薬を含む他の抗リウマチ薬との併用で構造的損傷を遅延させる。

ラット、ウサギ及びカニクイザルを用いた非臨床薬物動態（PK）試験及びトキシコキネティクス（TK）試験で、アナキンラの PK を検討した。3 つの PK 試験を実施した。すなわち、1～100 mg/kg の投与量で評価したラットの単回投与クロスオーバーPK 試験で、静脈内（i.v.）及び皮下（s.c.）投与後のアナキンラの PK を比較した。また、10 及び 100 mg/kg 投与で評価したウサギの単回投与クロスオーバーPK 試験で、i.v.及び s.c.投与後のアナキンラの PK を比較した。さらにカニクイザルの単回投与クロスオーバーPK 試験で、10 及び 100 mg/kg 投与で、i.v.及び s.c.投与後のアナキンラの PK を比較した。ラットを用いて PK 試験を実施し、遺伝子組換えポリエチレングリコシル化可溶性腫瘍壊死因子受容体 I 型（PEG-sTNF-RI）（1、25 mg/kg、s.c.）及びアナキンラ（100 mg/kg）の反復投与（週 2 回）が PEG-sTNF-RI 及びアナキンラの PK に及ぼす影響を評価した。また、ラットにアナキンラとメトトレキサート（MTX）を 28 日間併用［アナキンラの s.c.投与と MTX の経口（p.o.）投与］投与し、標的臓器に対する毒性とアナキンラの TK を検討した。

非臨床 PK 試験では、ラット、ウサギ、カニクイザルにアナキンラは i.v.投与後、限られた分布容積と効率的なクリアランス（CL）のため、血漿中から速やかに消失することが示された。終末相半減期（$t_{1/2}$）の平均値は、ラット、ウサギ及びカニクイザルでそれぞれ 1.09、1.76 及び 4.64 時間であった。PK パラメーターであるアナキンラの分布容積と CL は、各動物種の生理学的値と合致すると考えられた。

I.v.投与後のアナキンラの平均血漿 CL 値は、ラット、ウサギ及びカニクイザルでそれぞれ 7.36、5.15 及び 2.55 mL/min/kg であり、範囲は糸球体ろ過量と類似してした。ラットを用いた定常状態での試験結果から、アナキンラの血漿 CL の約 80%は腎臓が要因であることが示された。しかし、アナキンラの尿中回収率は投与量に対して低かった。したがって、アナキンラは腎臓で糸球体ろ過により除去され、その後腎尿細管で代謝されると考えられた。

ラット（100421 試験）、ウサギ（100422 試験）、カニクイザル（100420 試験）に単回 s.c.投与したところ、投与部位からのアナキンラの見かけ上の緩徐な吸収により、循環血漿中アナキンラ濃度が同投与量の i.v.投与後に認められた時間よりも長期間持続した。平均終末相 $t_{1/2}$ は、ラット、ウサギ及びカニクイザルでそれぞれ 0.891、1.18 及び 3.03 時間であった。吸収の程度は投与量に依存せず、絶対的バイオアベイラビリティはラット、ウサギ、サルでそれぞれ 61.5%、71.6%、88.4%であった。

ラットにアナキンラ 2、20 及び 200 mg/kg/日を 1 日 2 回、14 日間 s.c.投与したとき、血漿中アナキンラ濃度の有意な蓄積（最大 48 倍）が認められた。アカゲザルに 100 及び 200 mg/kg を 28 日間反復 s.c.投与したとき、血漿中アナキンラ濃度の蓄積は認められなかったが、10 mg/kg では中等度の蓄積（74%）が認められた。ラット及びアカゲザルにおけるアナキンラの PK に明らかな性差は認められなかった。

各動物種において、中央コンパートメントにおける分布容積（Vc）の値は生理学的血漿量（約 40 mL/kg）への初期分布と合致していた。ラットでの血漿から他の組織へのアナキンラの初期分布を評価した結果、筋肉、腎臓、肝臓、腸、及び肺がアナキンラの初期分布の重要な部位であることが示された。分布は全ての器官への受動拡散によって起こると考えられた。定常状態における分布容積（Vd_{ss}）は、細胞外液量（約 200 mL/kg）と同程度の容積へのその後の分布を意味していると考えられた。ラットの定常状態における組織対血漿のアナキンラ濃度比は、腎臓を除く全ての組織で生理学的細胞外液量の分布と類似していた。腎臓については、定常状態における組織対血漿のアナキンラ濃度比が腎臓の細胞外液量よりはるかに大きく、腎臓が循環系からアナキンラを排泄する主要部位であることを示している。

ラットにおいて、アナキンラ（s.c.）と MTX（p.o.）、アナキンラ（i.v.）と PEG-sTNF-RI（s.c.）、アナキンラ（s.c.）と PEG-sTNF-RI（i.v.）の併用効果を評価した。PEG-sTNF-RI は、当時[redacted]が関節リウマチの治療のための開発中の腫瘍壊死因子阻害剤である。各薬剤単独の PK プロファイルに比較して、アナキンラと MTX の PK は併用による影響を受けなかった。血清中アナキンラ濃度約 20000 ng/mL で 1 週間、10600～290000 ng/mL で 1 ヵ月間を維持した時、アナキンラは PEG-sTNF-RI の i.v.投与後の PK を変化させなかった。PEG-sTNF-RI の s.c.反復投与はアナキンラの i.v.投与後の PK に明らかな影響を及ぼさなかった。

別のサイトカインアンタゴニスト、可溶性腫瘍壊死因子受容体 I 型（sTNF-RI）とアナキンラを併用したときの影響をカニクイザルで検討した。PEG-sTNF-RI の 1～25 mg/kg での単回投与では、

アナキンラ（s.c.）の PK は変化しなかった。13 及び 27 日目において、PEG-sTNF-RI の投与量増加に伴いアナキンラの CL が増加する傾向が認められたが、統計学的に有意ではなかった。

アナキンラ（非臨床 PK）試験の一覧を表 2.6.4-1 に示す。これらの試験から得られた主な PK/TK 所見は、本 PK 試験の概要文（2.6.4 項）及び概要表（[2.6.5] 項）に要約する。

表 2.6.4-1 PK 試験一覧

Type of study (GLP compliance)	Test system	Method of administration	Duration of dosing (number of doses or frequency)	Doses (mg/kg[a])	Testing facility	Study number	eCTD location
Absorption - single dose							
A single-dose, crossover study in male Sprague-Dawley rats to compare the PK of anakinra following i.v. and s.c. administration of anakinra	Sprague-Dawley rat	s.c. bolus, i.v.	NA (single dose)	1, 3, 10, 30, and 100	[redacted] Japan	100421	[4.2.2.2]
A single-dose, crossover study in male New Zealand white rabbits to compare the PK of anakinra following i.v. and s.c. administration of anakinra	New Zealand white rabbit	s.c. bolus, i.v.	NA (single dose)	10 and 100	[redacted] Japan	100422	[4.2.2.2]
A single-dose, crossover study in male cynomolgus monkeys to compare the PK of anakinra following i.v. and s.c. administration of anakinra	Cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*)	s.c. bolus, i.v.	NA (single dose)	10 and 100	[redacted] Japan	100420	[4.2.2.2]
Absorption - repeat dose							

Type of study (GLP compliance)	Test system	Method of administration	Duration of dosing (number of doses or frequency)	Doses (mg/kg[a])	Testing facility	Study number	eCTD location
A 4-week, toxicity, and TK study of s.c.-administered anakinra and orally-administered MTX in rats (PK and TK data only reported here; GLP-compliant, toxicity data reported in Module [2.6.6])	Sprague-Dawley rat	s.c. anakinra p.o. MTX	4 weeks (q.d.)	Anakinra – 0, 1, 10, and 100 MTX – 0, 0.04, and 0.2	[redacted] USA	960048	[4.2.3.2]
A 6-month, toxicity study in rats treated with s.c. anakinra, including 1-month interim and 1-month recovery groups (PK and TK data only reported here; GLP-compliant, toxicity data reported in Module [2.6.6])	Sprague-Dawley rat	s.c.	1 and 6 months (b.i.d.)	0, 2, 20, and 200 mg/kg/day	[redacted] Canada	SY05-T94-04	[4.2.3.2]
The effect of multiple-dose administration of PEG-sTNF-RI on the PK of anakinra in male Sprague-Dawley rats	Sprague-Dawley rat	i.v. anakinra s.c. PEG-sTNF-RI	4 weeks (anakinra on Days 1 and 27; PEG-sTNF-RI b.i.w. from Day 2)	Anakinra – 100 PEG-sTNF-RI – placebo and 1 and 25	[redacted] USA	100564	[4.2.2.2]

Type of study (GLP compliance)	Test system	Method of administration	Duration of dosing (number of doses or frequency)	Doses (mg/kg[a])	Testing facility	Study number	eCTD location
The effect of multiple-dose administration of anakinra on the PK of PEG r-metHu-sTNF-RI in male Sprague-Dawley rats	Sprague-Dawley rat	s.c. anakinra, i.v. PEG-sTNF-RI	21 days (anakinra q.d.; PEG-sTNF-RI on Days 1 and 21)	Anakinra – 0 and 100 PEG-sTNF-RI – 1 and 25	[redacted] USA	100557	[4.2.2.2]
A 4-week, toxicity study of anakinra administered by s.c. injection to rhesus monkeys with a 4-week recovery period (PK data only reported here; GLP toxicity data reported in Module [2.6.6] and Module [2.6.7])	Rhesus monkey (*Macaca mulatta*)	s.c.	28 days (q.d.)	0, 10, 100, and 200	[redacted] USA	960040	[4.2.3.2]
A 1-month, toxicity study of anakinra and PEG-sTNF-RI administered s.c. in cynomolgus monkeys with a 1-month recovery period	Cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*)	s.c. anakinra, PEG sTNF RI	1 month of dosing (anakinra q.d.; PEG-sTNF-RI q.w.)	Anakinra – 0, 100 PEG-sTNF-RI – 0, 1, 5, and 25	[redacted] Japan	100484	[4.2.3.2]
Distribution							
A study was published by Kim et al. 1995 that described the tissue distribution and elimination of anakinra in rats (Kim 1995).							
Metabolism							
NA							
Excretion							
See Study SY05-T94-04 and Study 960040							
Pharmacokinetic drug interactions							

Type of study (GLP compliance)	Test system	Method of administration	Duration of dosing (number of doses or frequency)	Doses (mg/kg[a])	Testing facility	Study number	eCTD location
A 4-week toxicity and toxicokinetics study of s.c. administration of anakinra and p.o. administration of methotrexate in rats	Sprague-Dawley rat	s.c.; Anakinra p.o.; MTX	4 weeks	Anakinra 0, 10, 100 MTX 0, 0.04, 0.2	[redacted] USA	960048	[4.2.3.2]
A 4-week study of PEG-sTNF-RI administration on the pharmacokinetics of r-metHuIL-1Ra (anakinra) in male Sprague-Dawley rats	Sprague-Dawley rat	i.v.; Anakinra s.c.; PEG-sTNF-RI	4 weeks	Anakinra 100, on Days 1 and 27. PEG-sTNF-RI 0, 1, 25 (b.i.w.)	[redacted] USA	100564	[4.2.2.2]
The effect of multiple-dose administration of anakinra on the pharmacokinetics of PEG r-metHu-sTNF-RI in male Sprague Dawley rats	Sprague-Dawley rat	s.c.; Anakinra daily i.v.; PEG-sTNF-RI Day 1, Day 21	21 days	Anakinra 0, 100 PEG-sTNF-RI 1, 25	[redacted] USA	100557	[4.2.2.2]
A 1 month, toxicity study of anakinra and sTNF-RI administered subcutaneously in cynomolgus monkeys	Cynomolgus monkey	s.c.; Anakinra daily s.c.; sTNF-RI weekly	1 month	Anakinra 0, 100 sTNF-RI 0, 1, 5, 25	[redacted] Japan	100484	[4.2.3.2]
Other							
NA							

Abbreviations: b.i.d., Twice daily; b.i.w., Twice a week; eCTD, electronic Common Technical Document; GLP, Good Laboratory Practice; i.v., Intravenous(ly); MTX, Methotrexate; NA, Not applicable/available; NOAEL, No-observed-adverse-effect level; PEG r-metHu-sTNF-RI, Polyethylene glycosylated recombinant methinonyl human-soluble tumor necrosis factor-receptor I; PEG-sTNF-RI, Polyethylene glycosylated-soluble tumor necrosis factor-receptor I; PK, Pharmacokinetic(s); p.o., Peroral; q.d., Once daily; q.w., Once weekly; s.c., Subcutaneous(ly); TK, Toxicokinetic(s).

[a] Unless otherwise specified, for repeat-dose toxicity, the highest NOAEL is underlined.

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 ^{35}S 標識（比放射能及び生物活性）及びシンチレーションカウンターによる測定

^{35}S 標識は、Dripps らの方法（Dripps 1991）に従って行った。簡潔に以下に述べる。アナキンラは、細菌における発現のために最適化されたコドンを有するベクターを用いて、*E. coli* における tac プロモーターから発現される。*E. coli* を ^{35}S 硫酸塩を含む M9 培地で培養し、イソプロピル-β-D-チオガラクトピラノシドで誘導した。遠心分離する前に細菌を溶解した。得られた上清は Mono-S クロマトグラフィーを用いて精製した。^{35}S の取り込みは 20%から 30%の範囲であった。

標識タンパク質の比放射能は 280 µCi/µg であった。生物活性における非標識アナキンラとの類似性を、結合性により検証した。EL4 細胞上の見かけの解離定数（0.2 nmol/L）は、IL-1α と IL-1β（Dripps 1991）について以前に報告されたそれらと同等であり、拮抗薬としての挙動と一致した。スキャッチャード解析では直線が得られ、単一クラスの受容体への均一な結合と一致した。標識タンパク質の直接結合又は非標識タンパク質との競合に由来する 70Z/3 細胞上のその受容体に対する ^{35}S - アナキンラの見かけの解離定数の推定値は同様（0.08 nmol/L）であり、標識及び非標識アナキンラの挙動は類似していた（Dripps 1991）。

放射性標識タンパク質（^{35}S）は、ベックマン LS1800 シンチレーションカウンターを用いて、下限を 0、上限を 67 とし、バックグラウンドを差し引かないチャンネルで測定した。正規化係数 1.0 を用いた。クエンチ限界は 4 及び 398 であった。

2.6.4.2.2 酵素結合免疫吸着測定法によるラット、ウサギ及びサル血漿中アナキンラの測定

ラット、ウサギ及びサルの血漿中アナキンラ濃度は酵素結合免疫吸着測定（ELISA）法（100821 試験 amendment no. 1、100822 試験 amendment no. 1、及び 100820 試験 amendment no. 1）を用いて測定した。以下に簡潔に示す。アナキンラに対するモノクローナル抗体でコーティングしたマイクロタイタープレートを利用した。検量線、コントロール及び試料（20%正常ヤギ血清で希釈）をプレートに加え、存在するアナキンラを固定化抗体でプレートに結合させた。二次ビオチン化アナキンラポリクローナル抗体を添加し、プレートを洗浄後、ストレプトアビジン - 西洋ワサビペルオキシダーゼを添加した。最後に、ホスファターゼ基質溶液（3,3',5,5'-テトラメチルベンジジンペルオキシダーゼ基質及びペルオキシダーゼ溶液 B）を添加した。マイクロプレートリーダーを用いて吸光度を測定した。

ELISA 法によるアナキンラの検出に対する内因性抗体の影響を直接的に測定した。20 ng/mL アナキンラにより生成されたシグナルを、緩衝液、1:20 希釈でインキュベートした高力価抗アナキンラを有するウサギ血清（最終力価 2560）、又は陽性対照であるアフィニティー精製、ポリクローナル抗アナキンラ（最終濃度 140 µg/mL）又はモノクローナル、抗アナキンラ抗体（最終濃度 1.26 mg/mL）とプレインキュベーションした後に測定した。設定した 20 ng/mL のアナキンラ試料での測定値は、緩衝液では 16.41 ng/mL、高力価ウサギ血清では 11.72 ng/mL、陽性対照ポリクロ

ーナル抗体及びモノクローナル抗体の両方で＜2 ng/mL であった。陽性対照抗体はそれぞれシグナルの 88%超が競合して低下したが、アナキンラを投与したウサギにおける高力価の内因性抗体はシグナルの 28%のみが競合して低下した。これは、これは、おそらく ELISA 法でアナキンラを検出するために必要なエピトープとは異なるエピトープをウサギ抗体が認識した結果である可能性がある。アナキンラを投与した動物において内因性に生成された抗体の存在下では、アナキンラからのシグナルが過小評価される可能性があるかもしれないが、より高い力価の試料においては約 28%過小評価される可能性がある。

分析法バリデーション報告書の概要を表 2.6.4-2 に示す。全体として、定量下限は 0.32 ng/mL であり、本法はアナキンラの検出に頑健であり、他の様々なタンパク質（例えば、sTNF-RI、分泌性白血球プロテアーゼ阻害剤、レプチン、組換えヒトグリア細胞株由来神経栄養因子）との有意な交差反応性や干渉は認められず、各動物種の血漿との干渉も認められなかった。分析バリデーションの結果を、［2.6.5.2］項に示す。

2.6.4.2.3 酵素結合免疫吸着測定法によるラット及びサル血清中の抗アナキンラ抗体の測定

ラット及びサル血清中の抗アナキンラ抗体を、ELISA 法（2260.7059 試験及び 2260.7060 試験）により測定した。以下に簡潔に示す。アナキンラに対するモノクローナル抗体でコーティングされたマイクロタイタープレートを用いた。陽性対照（ウサギ抗アナキンラ抗体）及び試料（20%正常ヤギ血清で希釈）をプレートに加え、存在するアナキンラをいずれも固定化抗体に結合させた。次に、アルカリホスファターゼを結合させた免疫グロブリン G 抗体［ヤギ抗ラット（ラット試料での測定)、ヤギ抗サル（サル試料での測定）又は抗ウサギ（陽性対照)］を添加した。最後にホスファターゼ基質溶液（p-ニトロフェニルリン酸緩衝溶液）を添加した。マイクロプレートリーダーを用いて光吸度を測定した。

分析法バリデーション報告書の概要を表 2.6.4-2 に示す。全体として、本法の感度の指標である検出下限値は、ラット血清で 0.273 µg/mL（50 倍希釈前 13.65 ng/mL)、サル血清で 0.547 µg/mL（50 倍希釈前 27.35 ng/mL）であった。本法は抗アナキンラ抗体の検出に頑健であり、動物の血漿との有意な干渉は認められなかった。分析バリデーションの結果を、［2.6.5.2］項に示す。

表 2.6.4-2 分析法及びバリデーション報告書の概要

Species/strain	Analyte	Matrix	LLOQ (ng/mL)	Study report/method validation/evaluation report	Method used in study report
Rat/NR	Anakinra	Plasma[a]	0.32	100421, 960048, SY05-T94-04, 100557, and 100564/100821 (amendment no. 1)	PK9905IL1ra001
Rabbit/NR	Anakinra	Plasma[a]	0.32	100422/100822 (amendment no. 1)	PK9905IL1ra001
Monkey/NR	Anakinra	Plasma[a]	0.32	100420, 100484, and 960040/100820 (amendment no. 1)	PK9905IL1ra001
Rat/NR	Anti-anakinra antibodies	Serum	13.65 prior to 50-fold dilution[b]	SY05-T94-04 and 100557/2260.7059	PK9905IL1ra003
Monkey/NR	Anti-anakinra antibodies	Serum	27.35 prior to 50-fold dilution[b]	100484 and 960040/2260.7060	PK9905IL1ra003

Abbreviations: LLOD, Lower limit of detection; LLOQ, Lower limit of quantification; NR, Not reported; QC, Quality control.
[a] The standards, controls, and samples were diluted in 20 % normal goat serum.
[b] The LLOD, a measurement of sensitivity, was reported for this assay.

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 アナキンラの PK 概要

ラット、ウサギ及びカニクイザルに単回又は反復 i.v.投与したとき、アナキンラは循環血から速やかに消失した（$t_{1/2}$ はそれぞれ 1、1.8 及び 4.6 時間）。血漿での CL は投与量に依存しなかった。中央コンパートメントの分布容積は血漿の容積に近かった。ラットにおける組織分布試験の結果から、アナキンラはおそらく受動拡散により組織に移行し、肝臓、筋肉、腎臓、腸、及び肺において早期に顕著なレベルになることが示唆された。定常状態では、Vd_{ss} は細胞外液量と同様であった。ラットでは、組織と血漿における濃度比は 0.1～0.4 であり、約 4 であった腎臓を除き、全ての組織で細胞外容積に近かった。

ラット、ウサギ及びカニクイザルの血漿での CL は、それぞれ 7.4、5.2 及び 2.6 mL/min であり、糸球体ろ過量に近かった。ラットでは排泄の約 80%が腎臓を介して行われたが、尿中濃度が非常に低かったことから、他の多くのタンパク質でみられるように、尿細管でのろ過、再吸収、代謝が行われている可能性が高いと考えられる（Kim 1995、Maack 1979）。

同種動物における s.c.投与では、i.v.投与に比べて吸収が遅く、測定可能な血漿中濃度の延長を示したが、$t_{1/2}$ は i.v.投与時と同様であった。s.c.投与後のバイオアベイラビリティは、ウサギ、ラット及びカニクイザルでそれぞれ 62%、72%及び 88%であった。ラットでは、アナキンラ 1～100 mg/kg を 1 日 2 回 14 日間 s.c.投与したとき、血漿では投与 1 日目の 48 倍まで顕著な蓄積が認められたが、これは抗アナキンラ抗体又は他のタンパク質との結合に続くアナキンラの糸球体ろ

過量の減少によるものと考えられた。しかし、アカゲザルでは、100 又は 200 mg/kg/day の s.c.投与を 28 日間行っても蓄積性は認められなかったが、10 mg/kg/day 投与後の同時期の蓄積性は 74%であり、これもおそらく抗体形成によるものと考えられた。

アナキンラの代謝の詳細は検討していないが、他の研究から多くの情報が入手できる。

Kim らが 1995 年に報告したラットの ^{35}S で標識した遺伝子組換えヒトインターロイキン-1 受容体拮抗薬（^{35}S-rhIL-1Ra）を用いた実験では、腎臓が定常状態における全身 CL の約 80%を占め、腎臓と肝臓は共に i.v.投与初期に約 20%の CL を占めることが示された（Kim 1995）。腎では約 10 倍濃度の ^{35}S-rhIL-1Ra が認められたが、これは糸球体ろ過の後の尿細管吸収によるものと考えられ、多くの低分子タンパクと同様に尿細管上皮細胞でタンパク分解が続くものと考えられた。文献では「rhIL-1Ra」全体を指しているが、全ての研究ではタンパク質のメチオニル化体が使用されていたことに留意すべきである。

非ラベル体又は ^{35}S 標識アナキンラを s.c.投与したラットの尿中にアナキンラが存在しないことは、この機序と一致する。毒性試験で非常に高投与量のアナキンラを投与したところ、微量のアナキンラが ELISA 法で検出されたことが報告されている。このメカニズムを実験的に検証していないことでアナキンラのリスク評価を損なうとは考えられない。

アナキンラを最長 6 ヵ月間 s.c.投与したラットと最長 4 週間連日投与したアカゲザルの血清中濃度から TK 解析を行った。

前述のように、6 ヵ月間のラット試験では、予測どおり、血清中濃度は 8 日目までに明らかな定常状態に達したが、14 日目までには全群で最大 48 倍の蓄積が認められた。これは抗アナキンラ抗体が形成され、その全身 CL が低下したためと考えられる。抗体レベルは 13 週目までに低下し、27 週目の終了時までに消失していた。

サルを用いた 4 週間の試験でも、アナキンラ 10 mg/kg/day を皮下投与した動物に何らかの抗体形成の証拠が認められたが、100 又は 200 mg/kg/day を投与した動物では認められなかった。

2.6.4.3.2 単回投与

2.6.4.3.2.1 ラットに i.v.投与後の PK

2.6.4.3.2.1.1 雄 Sprague-Dawley ラットにアナキンラをクロスオーバー法により単回 i.v.又は s.c.投与したときのアナキンラの PK の比較（100421 試験）

本 100421 試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適用下で実施された単回投与 2 期クロスオーバー試験である。20 匹の雄 Sprague-Dawley ラット（0.352～0.378 kg）を無作為に割り付け、アナキンラの 1、3、10、30、100 mg/kg を単回投与した。アナキンラの処方は、10 mmol/L のクエン酸塩、140 mmol/L の塩化ナトリウム、0.5 mmol/L のエチレンジアミン

四酢酸、0.1%の Tween-80 で pH 6.5（Lot [redacted]）であった。i.v.又は s.c.投与（4 匹/投与量/投与経路）で投与した。5 日間の休薬期間後、ラットに同投与量を投与経路をクロスして投与した。

コンパートメント解析から推定した PK パラメーターを表 2.6.4-3 に示す。5 投与量群の平均血漿 CL 値は類似しており、アナキンラの消失は投与量に依存しないことが示唆された。血漿 CL の平均値は、1、3、10、30 及び 100 mg/kg 群でそれぞれ 6.63、7.30、8.33、6.93 及び 7.43 mL/min/kg であり、ラットの糸球体ろ過量（5.24 mL/min/kg）（Davies 1993）と類似した範囲であった。i.v. 投与後、血漿中アナキンラ濃度は 3-コンパートメントで消失し、平均終末相 $t_{1/2}$ は 1.09 時間であった。全ての投与群において、アナキンラは初期に中央コンパートメントに分布容積 46.0 mL/kg で分布し、その後 Vd_{ss} は 72.6 mL/kg となった。

表 2.6.4-3 雄 Sprague-Dawley ラットにアナキンラの 1、3、10、30、100 mg/kg を単回 i.v. 投与後のアナキンラの PK パラメーターの平均値（標準偏差）

Parameter	1 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	100 mg/kg	All
n	4	4	4	4	4	20
C_{max} (ng/mL)	28700	65500	152000	774000	2250000	NA
$t_{1/2}$ (h)	1.07	0.831	1.05	1.03	1.44	1.09 (0.22)
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	3360	8600	23500	94400	283000	NA
Vc (mL/kg)	34.9 (11.4)	45.8 (12.2)	65.8 (12.2)	38.8 (11.9)	44.4 (12.5)	46.0 (11.9)
Vd_{ss} (mL/kg)	47.3	71.3	114	53.2	77.4	72.6 (26.1)
CL (mL/min/kg)	6.63 (1.16)	7.30 (0.96)	8.33 (0.73)	6.93 (1.10)	7.43 (1.07)	7.36 (0.66)
MRT (h)	0.159	0.204	0.267	0.167	0.219	0.202 (0.044)

Source: Study 100421.
Abbreviations: $AUC_{0-\infty}$, Area under the curve from time 0 to infinity; CL, Clearance; C_{max}, Maximum plasma concentration; MRT, Mean residence time; n, Number of animals; NA, Not applicable; SD, Standard deviation; $t_{1/2}$, Half-life; Vc, Volume of distribution in the central compartment; Vd_{ss}, Volume of distribution at steady-state.
In each dose group, mean (SD) values were estimated using compartmental analysis of naïve-pooled data.
In the all group, mean (SD) values were calculated from the mean value of each dose group.

S.c.投与後、血漿中アナキンラ濃度は投与後 1～2 時間で最高濃度に達した（表 2.6.4-4）。S.c. 投与部位からのアナキンラの見かけ上の遅い吸収のため、同投与量の i.v.投与後よりも明らかに血漿中アナキンラ濃度が長時間持続した。平均滞留時間（MRT）の平均値は i.v.投与後は 0.202 時間であったのに対し、s.c.投与後 2.18 時間であった。アナキンラの s.c.投与後の絶対的バイオアベイラビリティは約 60%であり、投与量とは無関係であると考えられた。

表 2.6.4-4 雄 Sprague-Dawley ラットにアナキンラの 1、3、10、30、100 mg/kg を単回 s.c. 投与後のアナキンラの PK パラメーターの平均値（標準偏差）

Parameter	1 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	100 mg/kg	All
n	4	4	4	4	4	20
C_{max} (ng/mL)	447	1750	4640	13800	33700	NA
t_{max} (h)	1.00	1.00	1.50	1.50	2.00	1.40 (0.42)
$t_{1/2}$ (h)	0.892	0.778	0.860	0.820	1.10	0.891 (0.126)
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	1180	4640	13700	44100	137000	NA
MRT (h)	1.89	1.89	2.10	2.22	2.79	2.18 (0.37)
F (%)	47.5	68.3	68.8	61.7	61.3	61.5 (8.6)

Source: Study 100421.
Abbreviations: $AUC_{0-\infty}$, Area under the curve from time 0 to infinity; C_{max}, Maximum plasma concentration; F, Bioavailability; MRT, Mean residence time; n, Number of animals; NA, Not applicable; SD, Standard deviation; $t_{1/2}$, Half-life, t_{max}, Time to reach maximum concentration.
Mean (SD) were calculated from the mean value of each dose group.

2.6.4.3.2.2 ウサギに i.v.投与後の PK

2.6.4.3.2.2.1 雄 New Zealand white ウサギにアナキンラをクロスオーバー法により単回 i.v. 又は s.c.投与したときのアナキンラの PK の比較（100422 試験）

本 100422 試験は、GLP 適用下で実施された単回投与 2 期クロスオーバー試験である。8 匹の雄 New Zealand white ウサギ（1.95～2.20 kg）を無作為に割り付け、アナキンラの 10 又は 100 mg/kg を単回投与した。アナキンラの処方は、10 mmol/L のクエン酸塩、140 mmol/L の塩化ナトリウム、0.5 mmol/L のエチレンジアミン四酢酸、0.1%の Tween-80 で pH 6.5（Lot[redacted]）であった。I.v. 又は s.c.（4 匹/投与量/投与経路）で投与した。5 日間の休薬期間後、ウサギに同投与量を投与経路をクロスして投与した。

1 回目はアナキンラの 100 mg/kg の s.c.投与、2 回目は i.v.投与した 2 匹がアナキンラに対して陽性の血清反応を示したため、解析から除外した。コンパートメント解析から推定した PK パラメーターを表 2.6.4-5 に示す。

I.v.投与後、血漿中アナキンラ濃度は 3-コンパートメントで消失し、10 及び 100 mg/kg 群の終末相 $t_{1/2}$ の平均値はそれぞれ 1.25 及び 2.27 時間であった。

表 2.6.4-5 雄 New Zealand white ウサギにアナキンラの 10 又は 100 mg/kg を単回 i.v.投与後のアナキンラの PK パラメーターの平均値（標準偏差）

Parameter	10 mg/kg	100 mg/kg
n	4	2
C_{max} (ng/mL)	172000	1370000
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	37700	375000
Vc (mL/kg)	58.2 (16.4)	72.9 (17.7)
Vd_{ss} (mL/kg)	85.0	117
CL (mL/min/kg)	5.24 (0.70)	5.05 (0.58)
$t_{1/2}$ (h)	1.25	2.27
MRT (h)	0.321	0.440

Source: Study 100422.
Abbreviations: $AUC_{0-\infty}$, Area under the curve from time 0 to infinity; CL, Clearance; C_{max}, Maximum plasma concentration; MRT, Mean residence time; n, Number of animals; SD, Standard deviation; $t_{1/2}$, Half-life; Vc, Volume of distribution in the central compartment; Vd_{ss}, Volume of distribution at steady-state.
Mean (SD) were estimated using compartmental analysis of naïve-pooled data.

S.c.投与後、血漿中アナキンラ濃度は投与後 1～2 時間で最高濃度に達した（表 2.6.4-6）。S.c.投与部位からのアナキンラの見かけ上の遅い吸収のため、同投与量の i.v.投与後よりも明らかに血漿中アナキンラ濃度が長時間持続した。MRT の平均値は、アナキンラ 10 及び 100 mg/kg の i.v.投与後ではそれぞれ 0.321 及び 0.440 時間であったのに対し、アナキンラ 10 及び 100 mg/kg の s.c.投与後それぞれ 2.43 及び 3.64 時間であった。皮下投与後の絶対的バイオアベイラビリティの平均値は、10 及び 100 mg/kg でそれぞれ 80.8%及び 62.3%であった。

表 2.6.4-6 雄 New Zealand white ウサギにアナキンラの 10 又は 100 mg/kg を単回 s.c.投与後のアナキンラの PK パラメーターの平均値

Parameter	10 mg/kg	100 mg/kg
n	4	4
C_{max} (ng/mL)	8060	40400
t_{max} (h)	1.54	2.03
$t_{1/2}$ (h)	0.937	1.43
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	25500	204000
MRT (h)	2.43	3.64
F (%)	80.8	62.3

Source: Study 100422.
Abbreviations: $AUC_{0-\infty}$, Area under the curve from time 0 to infinity; C_{max}, Maximum plasma concentration; F, Bioavailability; MRT, Mean residence time; n, Number of animals; $t_{1/2}$, Half-life; t_{max}, Time to reach maximum concentration.
Mean data were estimated using compartmental analysis of naïve-pooled data.

両群とも、分布容積は初期において生理学的血漿容積（44 mL/kg）への分布と類似し、その後、定常状態の分布容積は、細胞外液容積（200 mL/kg）（Davies 1993）と同程度であった。平均 Vc

及び Vd_{ss} は、10 mg/kg 群でそれぞれ 58.2 及び 85.0 mL/kg、100 mg/kg 群でそれぞれ 72.9 及び 117 mL/kg であった。

10 及び 100 mg/kg 群の平均血漿 CL は同程度（5.24 及び 5.05 mL/min/kg）であり、アナキンラの消失は投与量に依存しないことが示唆された。血漿 CL の平均値はウサギの糸球体ろ過量（3.12 mL/min/kg）（Davies 1993）と類似した範囲であった。

2.6.4.3.2.3 サルに i.v.投与後の PK

2.6.4.3.2.3.1 雄カニクイザルにアナキンラをクロスオーバー法により単回 i.v.又は s.c.投与したときのアナキンラの PK の比較（100420 試験）

本 100420 試験は、GLP 適用下で実施された単回投与 2 期クロスオーバー試験である。8 匹の雄カニクイザル（6.16～6.51 kg）を無作為に割り付け、アナキンラの 10 又は 100 mg/kg を単回投与した。アナキンラの処方は、10 mmol/L のクエン酸塩、140 mmol/L の塩化ナトリウム、0.5 mmol/L のエチレンジアミン四酢酸、0.1%の Tween-80 で pH 6.5（Lot[redacted]）であった。i.v.又は s.c.投与（4 匹/投与量/投与経路）で投与した。4 日間の休薬期間後、サルに同投与量を投与経路をクロスして投与した。

i.v.投与後、血漿中アナキンラ濃度は 3-コンパートメントで消失し、$t_{1/2}$ は 10 及び 100 mg/kg 群でそれぞれ 3.72 及び 5.55 時間であった（表 2.6.4-7）。両群とも、初期の分布容積は、生理学的血漿容積（45 mL/kg）と類似し、その後、定常状態の分布容積は細胞外液容積（200 mL/kg）（Davies 1993）と同程度であることが認められた。平均 Vc 及び Vd_{ss} は、10 mg/kg 群でそれぞれ 65.3 及び 176 mL/kg、100 mg/kg 群でそれぞれ 47.1 及び 166 mL/kg であった。

10 mg/kg（2.75 ± 0.39 mL/min/kg）群と 100 mg/kg（2.35 ± 0.38 mL/min/kg）群の平均血漿 CL に有意差は認められず（t 検定、p 値 = 0.202）、アナキンラの消失は投与量に依存しないことが示唆された。平均血漿 CL（2.35 及び 2.75 mL/min/kg）は糸球体ろ過量（2.08 mL/min/kg）と類似する範囲であった。

表 2.6.4-7 雄性カニクイザルにアナキンラ 10 又は 100 mg/kg を単回 i.v.投与したときのアナキンラの PK パラメーターの平均値（標準偏差）

Parameter	10 mg/kg	100 mg/kg
n	4	4
C_{max} (ng/mL)	157000 (28 000)	2220000 (570000)
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	61600 (8500)	723000 (117000)
Vc (mL/kg)	65.3 (12.1)	47.1 (10.3)
Vd_{ss} (mL/kg)	176 (86)	166 (76)
CL (mL/min/kg)	2.75 (0.39)	2.35 (0.38)
$t_{1/2}$ (h)	3.72 (1.35)	5.55 (2.84)
MRT (h)	1.07 (0.51)	1.23 (0.73)

Source: Study 100420.
Abbreviations: $AUC_{0-\infty}$, Area under the curve from time 0 to infinity; CL, Clearance; C_{max}, Maximum plasma concentration; MRT, Mean residence time; n, Number of animals; SD, Standard deviation; $t_{1/2}$, Half-life; Vc, Volume of distribution in the central compartment; Vd_{ss}, Volume of distribution at steady-state.
Mean (SD) values were estimated using noncompartmental analysis of individual data.

アナキンラの 10 mg/kg を s.c.投与後、血漿中アナキンラ濃度は投与 2 時間後に最高濃度に達した（表 2.6.4-8）。投与量が 100 mg/kg に増加するにつれて、最高濃度は遅い時間（4.5 時間）で発現し、その後は緩やかに低下したことから、高投与量では吸収速度が低下することが示唆された。平均 MRT は 10 mg/kg 群（5.26 時間）よりも 100 mg/kg 群（11.4 時間）の方が長く、100 mg/kg を s.c.投与後の吸収が遅いことが示唆された。$t_{1/2}$ の平均値は 10 及び 100 mg/kg 群でそれぞれ 2.61 及び 3.44 時間であった。絶対的バイオアベイラビリティの平均値は、10 及び 100 mg/kg 群でそれぞれ 92%及び 84%であった。

S.c.投与部位からのアナキンラの見かけ上の遅い吸収により、同投与量の i.v.投与後よりも明らかに血漿中アナキンラ濃度が長時間持続した。MRT の平均値は、アナキンラの 10 及び 100 mg/kg を i.v.投与後ではそれぞれ 1.07 及び 1.23 時間であったのに対し、アナキンラの 10 及び 100 mg/kg を s.c.投与後それぞれ 5.26 及び 11.4 時間であった。

表 2.6.4-8 雄性カニクイザルにアナキンラ 10 又は 100 mg/kg を単回 s.c.投与したときのアナキンラの PK パラメーターの平均値（標準偏差）

Parameter	10 mg/kg	100 mg/kg
n	4	4
C_{max} (ng/mL)	8480 (930)	34500 (6300)
t_{max} (h)	2.00 (0.00)	4.50 (2.52)
$t_{1/2}$ (h)	2.61 (0.53)	3.44 (0.99)
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	57100 (9600)	597000 (77000)
CL (mL/min/kg)	2.99 (0.57)	2.83 (0.40)
MRT (h)	5.26 (0.94)	11.4 (2.1)
F (%)	92.4 (5.2)	84.3 (19.0)

Source: Study 100420.

Abbreviations: $AUC_{0-\infty}$, Area under the curve from time 0 to infinity; CL, Clearance; C_{max}, Maximum plasma concentration; F, Bioavailability; MRT, Mean residence time; n, Number of animals; SD, Standard deviation; $t_{1/2}$, Half-life; t_{max}, Time to reach maximum concentration.
Mean (SD) values were estimated using noncompartmental analysis of individual data.

2.6.4.3.3 反復投与

2.6.4.3.3.1 アナキンラの s.c.投与及びメトトレキサート（MTX）の p.o.投与で 4 週間投与したラットの毒性試験及び TK 試験（[redacted]6271 122、[redacted]Study 960048）

この PK 及び GLP 準拠毒性試験の 960048 試験は、［2.6.6.3.6］項でも記載する。960048 試験の目的は、28 日間アナキンラ及び MTX をラットに s.c.投与（アナキンラ）及び p.o.投与（MTX）で連日投与し、標的臓器に対する毒性及びその投与薬物の相互作用を評価するためその TK を明らかにすることであった。GLP 非適用の TK の結果を以下に要約する。

実薬群のラットにアナキンラを投与した。アナキンラの反復投与後、血漿アナキンラ濃度の有意な蓄積が観察され、これはアナキンラを単独投与した場合にも観察された。この蓄積は、抗アナキンラ抗体又は他のタンパク質への結合に続くアナキンラの腎糸球体ろ過の減少に起因すると考えられた。中央値データを使用したノンコンパートメント解析による TK パラメーターを表 2.6.4-9 及び表 2.6.4-10 に示す。最高血漿中濃度及び血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）は増加し、見かけのクリアランス（CL/F）は s.c.反復投与後に減少した。MTX を併用した場合、アナキンラの TK パラメーターの明確な変化見られなかった。

表 2.6.4-9 雌ラットにアナキンラの 10 mg/kg を単独 s.c.投与又は MTX の 0.04 及び 0.20 mg/kg を併用投与したときの中央値を用いた TK パラメーター

Parameter	Anakinra alone			Anakinra with 0.04 mg/kg MTX			Anakinra with 0.20 mg/kg MTX		
	Day 1	Day 14	Day 28	Day 1	Day 14	Day 28	Day 1	Day 4	Day 28
t_{max} (h)	1.0	0.5	4.0	2.0	0.5	4.0	1.0	1.0	1.0
C_{max} (ng/mL)	3110	7420	20900	3530	12100	19200	3850	4580	14700
$t_{1/2}$ (h)	0.625	2.96	1.42	0.651	0.326	2.48	2.34	0.776	1.46
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	9490	23300	151000	12100	44100	96200	11700	11700	38600
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	9490	-	-	12100	-	-	11700	-	-
CL/F (mL/min/kg)	17.6	7.16	1.10	13.8	3.78	1.73	14.2	14.3	4.31
AR	-	2.45	15.9	-	3.66	7.97	-	0.996	3.29

Source: Study 960048.
Abbreviations: AR, Accumulation ratio; AUC_{0-24}, Area under the curve from time 0 to 24 hours; $AUC_{0-\infty}$, Area under the curve from time 0 to infinity; CL/F, Apparent clearance; C_{max}, Maximum plasma concentration; MTX, Methotrexate; $t_{1/2}$, Half-life; t_{max}, Time to reach maximum concentration.

表 2.6.4-10 雌ラットにアナキンラの 100 mg/kg を単独 s.c.投与又は MTX の 0.04 及び 0.20 mg/kg を併用投与したときの中央値を用いた TK パラメーター

Parameter	Anakinra alone			Anakinra with 0.04 mg/kg MTX			Anakinra with 0.20 mg/kg MTX		
	Day 1	Day 14	Day 28	Day 1	Day 14	Day 28	Day 1	Day 14	Day 28
t_{max} (h)	2.0	4.0	2.0	2.0	2.0	1.0	0.5	2.0	4.0
C_{max} (ng/mL)	32900	56100	210000	58800	80700	167000	28700	33500	136000
$t_{1/2}$ (h)	2.72	1.83	1.17	1.87	1.64	9.75	1.80	1.58	1.03
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	122000	310000	1440000	165000	296000	1410000	94000	148000	578000
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	122000	-	-	165000	-	-	94000	-	-
CL/F (mL/min/kg)	13.7	5.38	1.16	10.1	5.63	1.18	17.7	11.2	2.89
AR	-	2.55	11.8	-	1.80	8.57	-	1.58	6.15

Source: Study 960048.

Abbreviations: AR, Accumulation ratio; AUC_{0-24}, Area under the curve from time 0 to 24 hours; $AUC_{0-\infty}$, Area under the curve from time 0 to infinity; CL/F, Apparent clearance; C_{max}, Maximum plasma concentration; MTX, Methotrexate; $t_{1/2}$, Half-life; t_{max}, Time to reach maximum concentration.

中央値を用いたノンコンパートメント解析による MTX の PK パラメーターを表 2.6.4-11 及び表 2.6.4-12 に示す。アナキンラの併用は p.o.投与後の MTX の PK に影響を及ぼさなかった。

表 2.6.4-11 雌ラットに MTX の 0.04 mg/kg 単独 p.o.投与及びアナキンラ 10 及び 100 mg/kg を s.c.併用投与したときの MTX の中央値を用いた TK パラメーター

Parameter	MTX alone			MTX with 10 mg/kg anakinra			MTX with 100 mg/kg anakinra		
	Day 1	Day 14	Day 28	Day 1	Day 14	Day 28	Day 1	Day 14	Day 28
t_{max} (h)	0.50	0.50	0.50	0.50	1.0	0.50	0.50	1.0	0.50
C_{max} (ng/mL)	9.65	16.1	21.2	5.25	11.5	18.4	8.94	13.7	32.7
$t_{1/2}$ (h)	3.74	15.6	10.6	15.2	15.9	3.12	11.7	12.8	20.0
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	11.7	32.7	45.1	9.07	30.7	40.2	13.6	32.7	49.8
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	11.7	-	-	10.2	-	-	14.5	-	-
CL/F (mL/min/kg)	57.0	20.4	14.8	65.6	21.7	16.6	46.1	20.4	13.4
AR	-	2.79	3.84	-	3.38	4.43	-	2.40	3.66

Source: Study 960048.

Abbreviations: AR, Accumulation ratio; AUC_{0-24}, Area under the curve from time 0 to 24 hours; $AUC_{0-\infty}$, Area under the curve from time 0 to infinity; CL/F, Apparent clearance; C_{max}, Maximum plasma concentration; MTX, Methotrexate; $t_{1/2}$, Half-life; t_{max}, Time to reach maximum concentration.

表 2.6.4-12 雌ラットに MTX の 0.2 mg/kg 単独 p.o.投与及びアナキンラ 10 及び 100 mg/kg を s.c.併用投与したときの MTX の中央値を用いた TK パラメーター

Parameter	MTX alone			MTX with 10 mg/kg anakinra			MTX with 100 mg/kg anakinra		
	Day 1	Day 14	Day 28	Day 1	Day 14	Day 28	Day 1	Day 14	Day 28
t_{max} (h)	0.50	0.50	0.50	1.0	1.0	0.50	0.5	0.5	0.5
C_{max} (ng/mL)	52.1	74.1	76.9	51.7	70.0	62.9	51.1	51.6	79.0
$t_{1/2}$ (h)	12.3	38.8	19.5	13.3	7.33	8.65	21.8	22.6	25.4
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	117	144	144	107	127	142	106	129	123
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	123	-	-	111	-	-	112	-	-
CL/F (mL/min/kg)	27.1	23.2	23.1	30.1	26.3	23.5	29.8	25.8	27.2
AR	-	1.22	1.23	-	1.19	1.34	-	1.22	1.16

Source: Study 960048.
Abbreviations: AR, Accumulation ratio; AUC_{0-24}, Area under the curve from time 0 to 24 hours; $AUC_{0-\infty}$, Area under the curve from time 0 to infinity; CL/F, Apparent clearance; C_{max}, Maximum plasma concentration; MTX, Methotrexate; $t_{1/2}$, Half-life; t_{max}, Time to reach maximum concentration.

結論

MTX を併用した場合、アナキンラの TK に明確な変化はみられなかった。さらに、アナキンラは p.o.投与した MTX の曝露に明らかな影響を及ぼさなかった。

2.6.4.3.3.2 アナキンラのラットにおける 6ヵ月間 s.c.投与毒性試験（1ヵ月間投与試験を含む）及び 1ヵ月間回復性試験（[redacted] 86533、[redacted] SY05-T94-04）

ラットを用いて実施した主要な（GLP）反復投与毒性試験（SY05-T94-04 試験）については、［2.6.6.3.3］項に記載した。本試験では、アナキンラの血漿中濃度分析を実施し以下に要約する。

試験方法

各群雌雄 5 匹ずつを 6 ヵ月間の剖検群から無作為に選び、濃度測定を行った。血漿試料は、投与開始日を 1 日目として、4 日目、8 日目、15 日目、及び 8 週目（56 日目）、13 週目（91 日目）、26 週目（183～185 日目）の朝の投与前と投与後 2 時間に採取した。追加の採血を、4、8、15 日及び 8 週目の最終投与 11 時間後、並びに 13 時間後及び 27 週目の剖検前に実施し、抗体の測定を行った。

TK の結果

実薬投与群の全動物がアナキンラに曝露された。投与 2 時間後の血漿中アナキンラ濃度は投与量にほぼ比例して増加した。体内動態に性差は認められなかった（p 値＞0.05）。本試験において、血漿中アナキンラ濃度は、いずれの投与群においても投与 4 及び 8 日目で定常状態にあると考えられたが、全ての群で投与 14 日目以降に有意に上昇した（最大 48 倍）。また、個体間変動も同様に有意に増加した（表 2.6.4-13）。ラットにおける単回 s.c.投与のアナキンラの PK に基づくと、

反復 s.c.投与後の血漿中アナキンラ濃度の蓄積は小さいと考えられる。反復投与後のアナキンラの全身 CL の低下は、抗アナキンラ抗体又は他のタンパク質との結合による腎糸球体ろ過量の低下に起因すると考えられる。

免疫原性の結果

投与 11 時間後の抗アナキンラ血清反応データを表 2.6.4-14 に示す。対照動物では 8 週目に抗体が発現したがこの原因は誤ってアナキンラが投与されたのではないかと考えられた。実薬群では、抗体は 15 日目に発現し、投与量に反比例しているように思われた。すなわち、投与量の増加に伴い、抗体反応を示した動物が少なくなった。抗体レベルは 13 週目に低下し、27 週目にはいずれの群でも検出できなかった。1 日投与量に対するアナキンラの 24 時間尿中回収率は 1%未満であった。

表 2.6.4-13 アナキンラのプラセボ、2、20 及び 200 mg/kg/day を s.c.投与 2 時間後の血漿中アナキンラ濃度の中央値

Dose (mg/kg/day)	Plasma anakinra concentration (ng/mL)						
	Predose	Day 4	Day 8	Day 15	Week 8	Week 13	Week 26
Male							
Placebo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2	0.0	191.6	204.2	1329	370.9	285.2	350.0
20	0.0	2488	2380	7096	43380	38580	20490
200	0.0	20080	20310	39140	273000	187000	210000
Female							
Placebo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2	0.0	175.1	163.6	976.1	471.1	558.7	365.1
20	0.0	1895	2878	23370	91600	38910	12340
200	0.0	19560	17140	67080	504000	328000	240000

Source: Study SY05-T94-04.

表 2.6.4-14 アナキンラのプラセボ、2、20 及び 200 mg/kg/day を s.c.投与 11 時間後の血清反応

Dose (mg/kg/day)	Predose	Day 4	Day 8	Day 15	Week 8	Week 13	Week 27
Male							
Placebo	0/5	0/5	0/5	0/5	4/5	4/5	0/5
2	0/5	0/5	0/5	4/5	4/5	4/5	0/5
20	0/5	0/5	0/5	2/5	2/5	1/5	0/5
200	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Female							
Placebo	0/5	0/5	0/5	0/5	4/5	4/5	0/5
2	0/5	0/5	0/5	3/5	4/5	2/4	0/4
20	0/5	0/5	0/5	3/5	1/5	1/5	0/5
200	0/5	0/5	0/5	3/5	0/5	0/5	0/5

Source: Study SY05-T94-04.
Abbreviation: OD, Optical density.
Serum samples were diluted 1:50 into diluent.
Samples were considered reactive when the OD ratio of post-treatment to pretreatment was greater than 2000.

血漿の濃度分析により、アナキンラへの曝露が確認された（表 2.6.4-13）。体内動態に性差は認められなかった。投与 15 日目における抗アナキンラ抗体の出現は、アナキンラの血漿中定常状態濃度の上昇に関連している可能性があると考えられる（表 2.6.4-15）。しかしながら、抗体産生の発現率は投与量の増加及び時間の経過に伴って低下することから、抗アナキンラ抗体は、15 日目以降にみられた血漿中アナキンラ濃度の上昇を十分に説明することはできない。しかし、抗アナキンラ抗体に結合したアナキンラが抗アナキンラ抗体測定で検出されにくい可能性は否定できず、本試験で観察された抗体発現率の見かけ上の低下の原因と考えられる。また、血漿中アナキンラ濃度は検出されなかったが、対照群の動物で抗アナキンラ抗体が時折認められた。

表 2.6.4-15 1ヵ月間中間群及び 1ヵ月間回復群を含むラットにアナキンラを s.c.投与した 6ヵ月間毒性試験における血漿中アナキンラ濃度及び抗アナキンラ抗体の発現率

Dose	Predose (Day 0)	Day 4	Day 15	Week 27
2 mg/kg/day (males)	0	191.6 (0/5)[a]	1329 (4/5)	350.0 (0/5)
2 mg/kg/day (females)	0	175.1 (0/5)	976.1 (3/5)	365.1 (0/4)
20 mg/kg/day (males)	0	2488 (0/5)	7096 (2/5)	20490 (0/5)
20 mg/kg/day (females)	0	1895 (0/5)	23370 (3/5)	12340 (0/5)
200 mg/kg/day (males)	0	20080 (0/5)	39140 (0/5)	210000 (0/5)
200 mg/kg/day (females)	0	19560 (0/5)	67080 (3/5)	240000 (0/5)

Source: Study SY05-T94-04.
Abbreviations: ELISA, Enzyme-linked immunosorbent assay; IgG, Immunoglobulin G; s.c., Subcutaneous.

[a] Anakinra levels are in terms of ng/mL at 2 hours post s.c. dose. Values in parentheses are the number of animals with anti-anakinra antibodies (IgG) determined by ELISA.

2.6.4.3.3.3 雄 Sprague-Dawley ラットに PEG-sTNF-RI を反復投与したときのアナキンラの PK に及ぼす影響（100564 試験）

試験方法

この 1 ヵ月投与毒性試験（100564 試験）では、12 匹の雄 Sprague-Dawley ラットに 1 日目に 100 mg/kg のアナキンラを i.v.投与した。2 日目から、ラットにプラセボ（第 1 群）、又は PEG-sTNF-RI の 1 mg/kg（第 2 群）、又は PEG-sTNF-RI の 25 mg/kg（第 3 群）を 27 日目まで週 2 回（計 8 回）s.c.投与した。27 日目に、ラットに PEG-sTNF-RI の最終 s.c.投与後 10 分以内にアナキンラ 100 mg/kg の 2 回目の i.v.投与をした。アナキンラ投与後 1 日目及び 27 日目に、アナキンラ測定のため投与後 48 時間まで血漿試料を採取した。PEG-sTNF-RI 測定のための血漿試料を、各 PEG-sTNF-RI 投与の 24 時間後に採取した。

PK の結果

概して、3 群（100 mg/kg のアナキンラ単独又は 1 又は 25 mg/kg の PEG-sTNF-RI の併用）のアナキンラ濃度の推移は並行に低下した。アナキンラ 100 mg/kg 単独初回 i.v.投与後の平均最高血漿中濃度、$t_{1/2}$ 及び Vd_{ss} は群間で類似していた（表 2.6.4-16）。しかし、平均無限時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0-\infty}$）と CL は有意に異なっていた（p 値＜0.05）。また、PK パラメーター値は単回 i.v.投与試験（2.6.4.3.2.1.1 項）で認められた値と大きく異なっていた。本試験では、CL 及び Vd_{ss} はそれぞれ少なくとも 3 倍及び 10 倍高かった。これらの差異を引き起こした原因は明らかではない。

アナキンラ $AUC_{0-\infty}$は、いずれの群においてもアナキンラ初回 i.v.投与後よりもアナキンラ 2 回目の i.v.投与後の方が高値を示し、理由は不明であるが、アナキンラ血漿 CL は 2 回目投与後に低値を示した。アナキンラの i.v.投与したときの PK に対する PEG-sTNF-RI の複数回の s.c.投与の影響を、2 回目に i.v.投与したアナキンラ投与後の第 1 群、第 2 群及び第 3 群のアナキンラの PK パラメーターを比較することにより検討した。3 群間で PK パラメーターに大きな差はなかった。したがって、このことは、PEG-sTNF-RI を複数回 s.c.投与したとき、アナキンラを i.v.投与したときの PK に明らかな影響を及ぼさないことが示唆された。

PEG-sTNF-RI の 1 mg/kg を複数回 s.c.投与した後、血漿中 PEG-sTNF-RI 濃度は 2 回目の投与後に低下し始めた。27 日目までに、4 匹中 3 匹のラットの血漿中 PEG-sTNF-RI 濃度は定量下限未満となった。一方、25 mg/kg 群では血漿中 PEG-sTNF-RI 濃度が、15000～45000 ng/mL の範囲で維持された。

表 2.6.4-16 ラットにアナキンラ 100 mg/kg 単独 i.v.投与及び PEG-sTNF-RI のプラセボ、1 及び 25 mg/kg を週 2 回 s.c.併用投与したときのアナキンラ PK パラメーターの平均値(標準偏差)

Parameter	PEG-sTNF-RI placebo	1 mg/kg PEG-sTNF-RI	25 mg/kg PEG-sTNF-RI	p-value
Anakinra alone (Day 1)				
n	4	4	4	
C_{max} (ng/mL)	85600 (22100)	109000 (28000)	116000 (25000)	0.244
$t_{1/2}$ (h)	1.05 (0.07)	0.906 (0.180)	0.956 (0.111)	0.298
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	56200 (8400)	71200 (14300)	83400 (14000)	0.0396
CL (mL/min/kg)	30.1 (4.0)	24.3 (5.9)	20.4 (3.1)	0.0383
Vd_{ss} (mL/kg)	1200 (290)	978 (365)	821 (128)	0.209
Anakinra with PEG-sTNF-RI (Day 27)				
n	4	4	4	
C_{max} (ng/mL)	135000 (23000)	154000 (44000)	172000 (55000)	0.510
$t_{1/2}$ (h)	1.12 (0.06)	0.950 (0.033)	2.44 (2.74)	0.385
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	82600 (10000)	109000 (42000)	120000 (40000)	0.312
CL (mL/min/kg)	20.4 (2.5)	17.0 (6.1)	15.0 (4.8)	0.306
Vd_{ss} (mL/kg)	778 (152)	671 (196)	646 (158)	0.531

Source: Study 100564.
Abbreviations: $AUC_{0-\infty}$, Area under the curve from time 0 to infinity; CL, Clearance; C_{max}, Maximum plasma concentration; n, Number of animals; PEG-sTNF-RI, Polyethylene glycosylated-soluble tumor necrosis factor-receptor I; $t_{1/2}$, Half-life; Vd_{ss}, Volume of distribution at steady-state.

2.6.4.3.3.4 雄 Sprague-Dawley ラットにアナキンラを反復投与したときの PEG r-metHu-sTNF-RI の PK に及ぼす影響 ([redacted] Study 100557)

100557 試験の目的は、雄 Sprague-Dawley ラットにおいてアナキンラの連日投与がポリエチレングリコールを結合した遺伝子組換えメチオニルヒト可溶性腫瘍壊死因子受容体 I 型（PEG r-metHu-sTNF-RI）の PK に影響を及ぼすかどうかを検討することであった。

試験方法

16 匹の雄ラットに、100 mg/kg のアナキンラの連日 s.c.投与の有り無しの条件下で、1 日目と 21 日目に 1 又は 25 mg/kg の PEG-sTNF-RI を i.v.投与した。1 及び 21 日目（それぞれ PEG-sTNF-RI の初回及び 2 回目の投与）の投与前、投与 30 分後、1、4、8、24、48、96、144、168 及び 192 時間後、PK 解析用の血液試料を全試験系から採取した。投与 1 日目の投与 336 時間後に追加検体を採取した。sTNF-RI、PEG-sTNF-RI、アナキンラに対する免疫グロブリン G 抗体産生について、1 日目（投与前と投与後 336 時間）と 21 日目（投与前と投与後 192 時間）の血清を分析した。

PK の結果

雄ラットに PEG-sTNF-RI を単回及び反復 i.v.投与し、100 mg/kg のアナキンラを毎日 s.c.投与したとき、PEG-sTNF-RI は投与量非依存性の薬物動態を示した。アナキンラの有無にかかわらず、同じ投与量の PEG-sTNF-RI を投与した群間で PK パラメーターに有意差は認められなかったことから、アナキンラの血清中濃度が約 20000 ng/mL で 1 週間及び 10600～290000 ng/mL で 1 ヵ月維

持したとき、PEG-sTNF-RI を i.v.投与したときの薬物動態に変化は認められないと結論した。PEG-sTNF-RI の反復投与後の全身 CL は、アナキンラ投与にかかわらず、全投与量群で平均約 3 mL/h/kg であった。全投与群（アナキンラ投与及び無投与）で、$t_{1/2}$ は平均 12.2 ± 5.49～23.2 ± 0.734 時間であり、Vd_{ss} は平均約 59.3～76.6 mL/kg であった。

PEG-sTNF-RI の初回投与後の PEG-sTNF-RI 濃度の蓄積はみられず、血清濃度は 2 回目の投与前に概ね定量限界未満であった。アナキンラを投与した群と投与しなかった群で、2 回目投与後の $AUC_{0-\infty}$ でみた全身曝露量は初回投与時のそれぞれ約 1.3 倍、約 1.2 倍となり、時間依存的な薬物動態が示された。

免疫原性の結果

16 匹のうち 13 匹は、21 日目（投与前）に sTNF-RI に対する血清反応性を示したが、PEG-sTNF-RI に対して血清反応陽性を示したのは 16 匹のうち 5 匹のみであった。PEG-sTNF-RI に対して検査した場合、血清反応陽性試料と血清反応陰性試料と比較して CL に有意差はなかった（p = 0.1638）。しかし、sTNF-RI 捕捉抗原を用いて抗体を測定した場合、抗体陽性試料における CL は、抗体陰性試料の CL と比較して有意に増加した（p = 0.0068）。16 匹のうち 3 匹のみがアナキンラに抗体陽性であり、3 匹は全て 100 mg/kg のアナキンラを投与されていた。しかし、アナキンラ抗体の存在は PEG-sTNF-RI の CL に影響を及ぼさなかった。

2.6.4.3.3.5　アナキンラのアカゲザルにおける 4 週間 s.c.投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（[redacted]0421-01、最終試験 960040）

アカゲザル（960040 試験）で実施された 4 週間の回復期を伴う主要な（GLP）4 週間の毒性試験については、［2.6.6.3.11］項及び［2.6.7.6］項にも記載している。本試験では、アナキンラの GLP 非適用 TK 解析を実施し以下に要約する。

試験方法

アカゲザルを用いたこの 4 週間毒性試験では、アカゲザルの雄 16 匹と雌 16 匹（2.9～4.2 kg）にプラセボ又は 10、100、200 mg/kg のアナキンラを 1 日 1 回 s.c.投与した。投与 1 日目及び 28 日目の投与 24 時間後まで継続的に血漿試料を採取した。

TK の結果

実薬群のアカゲザルは投与量にほぼ比例してアナキンラに曝露され、血漿 CL（CL/F）は投与量に依存しなかった（約 5 mL/min/kg、表 2.6.4-17）。アナキンラの PK に性差は認められなかった（p 値＞0.3）。100 及び 200 mg/kg 群では、アナキンラの 4 週間反復投与後に平均血漿中濃度の蓄積は認められなかった。10 mg/kg 群では、ばらつきが大きいものの、投与 28 日目の平均血漿中濃度の蓄積（74%）が認められた。1 日投与量に対する割合で表したアナキンラの 2 時間尿中回収率は 0.026%～3.2%であった。

表 2.6.4-17 アカゲザルにアナキンラの 10、100 及び 200 mg/kg を 28 日間連日 s.c.投与したときのアナキンラの TK パラメーターの平均値（標準偏差）

Parameter	10 mg/kg	100 mg/kg	200 mg/kg
Day 1			
n	6	6	10
C_{max} (ng/mL)	5841 (430)	40 660 (20 110)	59 580 (9660)
t_{max} (h)	1.7 (0.5)	2.5 (1.2)	3.8 (1.8)
$t_{1/2}$ (h)	1.96 (0.13)	2.14 (0.84)	2.81 (0.73)
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	32490 (1870)	344800 (81900)	670700 (114700)
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	32510 (1870)	347100 (85700)	677000 (114600)
CL/F (mL/min/kg)	5.142 (0.316)	5.045 (1.198)	5.048 (0.826)
Day 28			
n	6	5	10
C_{max} (ng/mL)	7849 (4250)	38390 (8850)	56040 (14070)
t_{max} (h)	2.0 (1.1)	2.0 (1.2)	2.7 (1.2)
$t_{1/2}$ (h)	2.72 (0.69)	3.36 (0.88)	4.74 (1.30)
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	57150 (36760)	375600 (156500)	606400 (138700)
CL/F (mL/min/kg)	3.908 (1.963)	4.921 (1.495)	5.769 (1.353)
AR	1.74 (1.07)	1.07 (0.34)	0.92 (0.27)

Source: Study 960040.

Abbreviations: AR, Accumulation ratio; AUC_{0-24}, Area under the curve from time 0 to 24 hours; $AUC_{0-\infty}$, Area under the curve from time 0 to infinity; CL/F, Apparent clearance; C_{max}, Maximum plasma concentration; F, Oral bioavailability; n, Number of animals; $t_{1/2}$, Half-life; t_{max}, Time to reach maximum concentration.

血漿中アナキンラ濃度の TK 結果により、アナキンラへの曝露が確認された。アナキンラの TK における性差は確認されなかった。平均血漿中濃度から、投与 28 日目の低投与量（10 mg/kg）群を除き、アナキンラの明らかな蓄積は認められなかった。本投与群におけるアナキンラの蓄積は、抗体のためにアナキンラの全身 CL が減少したことによるものと考えられる。投与 1 日目の AUC_{0-24} は、10、100 及び 200 mg/kg 投与でそれぞれ 32490、344800 及び 670700 ng·h/mL であった。投与 28 日目における AUC_{0-24} は、10、100 及び 200 mg/kg 群でそれぞれ 57150、375600 及び 606400 ng·h/mL であった。

免疫原性の結果

蓄積性は、抗アナキンラ抗体の存在のためにアナキンラの全身 CL が低下することに起因すると考えられた（表 2.6.4-18）。

表 2.6.4-18 アカゲザルにアナキンラのプラセボ、10、100 及び 200 mg/kg を連日 s.c.投与したときの投与前の血清反応

Dose (mg/kg)	Day 1	Day 7	Day 14	Day 21	Day 28
Placebo	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
10	0/6	0/6	3/6	4/6	4/6
100	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5
200	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

Source: Study 960040.
Abbreviation: OD, optical density.
Serum samples were diluted 1:50 into diluent.
Samples were considered reactive when the OD ratio of post-treatment to pretreatment was greater than 2000.

2.6.4.3.3.6 アナキンラ及び sTNF-RI のカニクイザルにおける 1 ヵ月間 s.c.投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験（[redacted] 39-39、[redacted] Study 100484）

100484 試験の目的は、カニクイザルを用いて PEG r-metHu-sTNF-RI（sTNF-RI）とアナキンラを併用し、1 ヵ月間投与したときの毒性及び TK を評価することであった。

試験方法

本試験は、[redacted] が実施した。本試験は、米国食品医薬品局、経済協力開発機構、厚生労働省の GLP 規制を遵守して実施した。アナキンラ（Lot[redacted]）は 1 日 1 回 s.c.投与したが、sTNF-RI（Lot[redacted]）は週 1 回 s.c.投与した。試験デザインを表 2.6.4-19 に示す。

表 2.6.4-19 試験デザイン

Group	Test article	Dose mg/kg	Number of animals Day 28 necropsy	Number of animals recovery
1	Anakinra sTNF-RI	0 0	2 male 2 female	1 male 1 female
2	Anakinra sTNF-RI	0 1	2 male 2 female	1 male 1 female
3	Anakinra sTNF-RI	0 5	2 male 2 female	1 male 1 female
4	Anakinra sTNF-RI	0 25	3 male 3 female	1 male 1 female
5	Anakinra sTNF-RI	100 0	2 male 2 female	1 male 1 female
6	Anakinra sTNF-RI	100 1	2 male 2 female	1 male 1 female
7	Anakinra sTNF-RI	100 5	2 male 2 female	1 male 1 female
8	Anakinra sTNF-RI	100 25	3 male 3 female	1 male 1 female

Source: Study 100484.
Abbreviation: sTNF-RI, soluble tumor necrosis factor-receptor I.

アナキンラ又は sTNF-RI に対する抗体は、試験開始前、1、2、4 週目、及び回復期の週 1 回測定した。アナキンラの TK は、投与初日、13 日目及び最終日に評価し、sTNF-RI の TK は、投与の最初の週にわたって数回の間隔で評価し、その後は週 2 回程度評価した。

TK の結果

実薬群のサルでは、0、13 及び 27 日目にアナキンラが曝露された。0 日目、アナキンラ単独投与群と PEG-sTNF-RI とアナキンラを併用投与した群間で、アナキンラの TK パラメーターに有意差は認められなかった（p 値＞0.05）（表 2.6.4-20）。このように、PEG-sTNF-RI を 1～25 mg/kg で単回投与しても、アナキンラを単回 s.c.投与（100 mg/kg）したときのアナキンラの薬物動態と変わらなかった。13 及び 27 日目において、PEG-sTNF-RI の投与量増加に伴いアナキンラの CL が増加する傾向が認められたが、統計学的に有意ではなかった。

表 2.6.4-20 カニクイザルに PEG-sTNF-RI のプラセボ及び 1、5、25 mg/kg を併用し、アナキンラの 100 mg/kg を反復 s.c.投与したときのアナキンラの TK パラメーター[平均値(標準偏差)]

Parameter	Anakinra alone	Anakinra with 1 mg/kg PEG-sTNF-RI	Anakinra with 5 mg/kg PEG-sTNF-RI	Anakinra with 25 mg/kg PEG-sTNF-RI
Day 0				
n	6	6	6	8
t_{max} (h)	2.67 (1.03)	2.08 (1.11)	2.33 (0.816)	2.50 (0.926)
C_{max} (ng/mL)	44900 (15000)	50600 (8690)	37900 (10200)	35500 (8860)
$t_{1/2}$ (h)	5.04 (1.66)	3.90 (0.809)	3.79 (0.490)	4.25 (0.795)
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	442000 (72400)	490000 (39700)	376000 (62500)	403000 (56300)
CL/F (mL/min/kg)	3.85 (0.64)	3.42 (0.29)	4.55 (0.89)	4.20 (0.55)
MRT (h)	8.50 (2.30)	7.48 (0.744)	7.61 (0.821)	8.21 (0.989)
Day 13				
t_{max} (h)	1.75 (0.612)	2.00 (0.00)	2.00 (0.00)	2.50 (0.926)
C_{max} (ng/mL)	46700 (17800)	42500 (8640)	36800 (9900)	31600 (5790)
$t_{1/2}$ (h)	4.33 (1.02)	3.50 (0.611)	3.74 (1.21)	3.38 (0.729)
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	425000 (157000)	371000 (38000)	311000 (77000)	292000 (75000)
CL/F (mL/min/kg)	4.35 (1.46)	4.53 (0.45)	5.65 (1.40)	6.00 (1.26)
Day 27				
t_{max} (h)	2.67 (1.03)	2.08 (1.11)	1.75 (0.612)	2.25 (0.707)
C_{max} (ng/mL)	46000 (15500)	38900 (5700)	36000 (5390)	39900 (14000)
$t_{1/2}$ (h)	4.44 (1.36)	3.86 (0.46)	3.81 (0.532)	3.75 (1.13)
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	462000 (166000)	369000 (41800)	330000 (65500)	372000 (166000)
CL/F (mL/min/kg)	3.98 (1.25)	4.57 (0.49)	5.22 (1.10)	5.28 (2.12)

Source: Study 100484.

Abbreviations: AUC_{0-24}, Area under the curve from time 0 to 24 hours; $AUC_{0-\infty}$, Area under the curve from time 0 to infinity; CL/F, Apparent clearance; C_{max}, Maximum plasma concentration; MRT, Mean residence time; n, Number of animals; PEG-sTNF-RI, Polyethylene glycosylated-soluble tumor necrosis factor-receptor I; $t_{1/2}$, Half-life; t_{max}, Time to reach maximum concentration.

免疫原性の結果

アナキンラ投与群（第5群～第8群）のいずれについても、アナキンラに対する抗体は、僅かな動物にしか認められなかった（1ヵ月間の投与後、1群あたり1匹以下）。この抗体価は低かった（≦1:400）。sTNF-RIに対する抗体は、sTNF-RIを投与した全群でみられた。1ヵ月後の抗体産生率は投与量の増加と逆の傾向があった（すなわち、第2群の発現率は67%、第3群は50%、第4群は38%）。アナキンラを併用投与した群も同様の傾向を示したが、抗体産生の群別の発生率はsTNF-RI単独群よりも高かった。sTNF-RI単独又はアナキンラとの併用のいずれかを受けた群で、抗体価は概ね同程度であった。

結論

要約すると、PEG-sTNF-RIの反復s.c.投与は、アナキンラの反復s.c.投与後のアナキンラのPKに明らかな影響を及ぼさなかった。

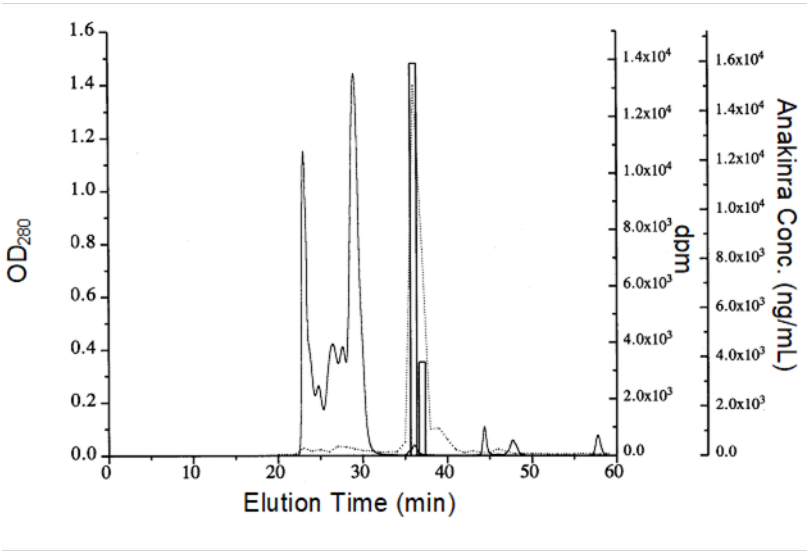
2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 ラットにおけるアナキンラの初期組織分布

Kimら（Kim 1995）の報告を示す。雄のSprague-Dawleyラット（0.290～0.380 kg）に、プールしたラット血漿350 µLに溶解したトレース量の^{35}S-アナキンラ（1～2 µCi）を含む溶液をi.v.投与し、投与後5分まで継続して血漿試料を採取した。i.v.投与した1、2、3、4、5分後にラットを安楽死させ、肝臓、腎臓、肺、脳、胃、脾臓、筋肉、腸を採取した。各組織の10%（容量当たりの重量）ホモジネートを調製した。組織ホモジネートを4°Cで遠心分離し上清を得た。組織ホモジネートの上清中の^{35}S放射能の回収率は投与量の90%超であった。

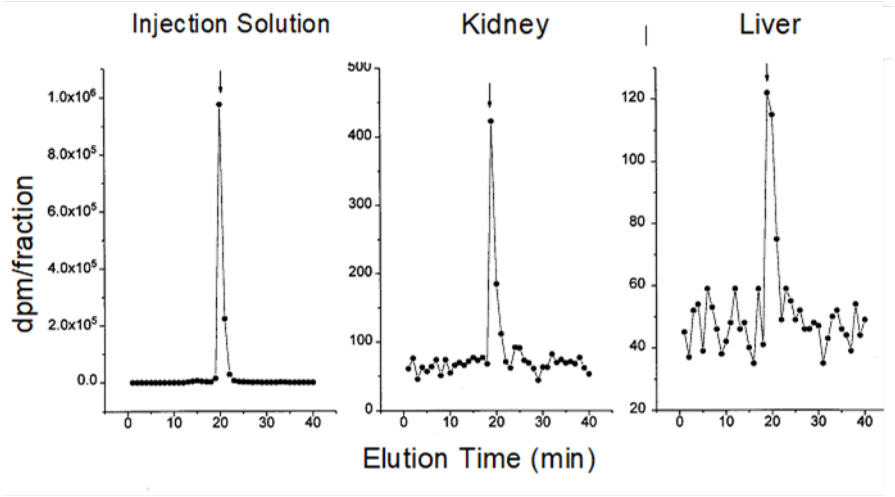
投与5分後に採取した血漿及び上清をサイズ排除高速液体クロマトグラフィーにより分画し、ラットにおけるアナキンラ代謝物を検討した。カラムから毎分採取した画分の^{35}S-放射能を測定し、ELISA法によりアナキンラ濃度を測定した。^{35}S-放射能の値（崩壊数/分）は、ELISA法によるアナキンラ濃度と対応していた（図 2.6.4-1）。投与液及びi.v.投与5分後の組織ホモジネート上清中の^{35}S-アナキンラの溶出プロファイルを図 2.6.4-2に示す。本データは、アナキンラi.v.投与後の最初の5分間、アナキンラはアナキンラと分子サイズが明確に異なる代謝物に分解されないことが示された。

図 2.6.4-1　i.v.投与 5 分後に採取したラット血漿中の ^{35}S-アナキンラの溶出プロファイル



Source: Kim 1995.
Abbreviations: Conc., Concentration; dpm, Disintegrations per minute; id, Interior diameter; OD_{280}, Optical density at 280 nanometer wavelength; SE-HPLC, Size-exclusion high-performance liquid chromatography.
Solid line, OD; Dotted line, dpm; solid dark rectangle, anakinra concentration. The sample was loaded onto SE-HPLC columns (Progel-TSK G2000 SWXL, 5 µm, 30 cm × 7.8 mm id; Supelco, Bellefonte, PA; 2 columns connected in series).

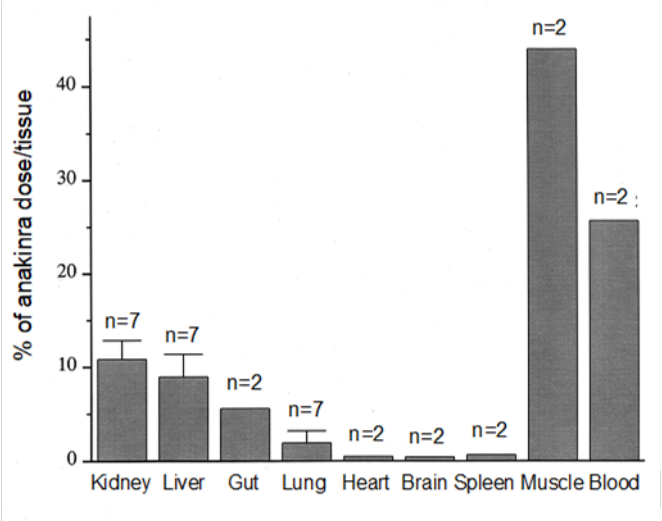
図 2.6.4-2　投与液及び i.v.投与 5 分後の組織ホモジネート上清中の ^{35}S-アナキンラの溶出プロファイル



Source: Kim 1995.
Abbreviations: dpm, Disintegrations per minute; id, Interior diameter; SE-HPLC, Size-exclusion high-performance liquid chromatography.
The sample was loaded onto a single SE-HPLC column (Progel-TSK G2000 SWXL, 5 µm, 30 cm × 7.8 mm id; Supelco, Bellefonte, PA).

I.v.投与 3 分後の各種組織へのアナキンラの分布を図 2.6.4-3 に示す。筋肉、腎臓、肝臓、腸、及び肺は、アナキンラの初期分布の重要な部位であり、投与量の 43%、11%、9%、6%、及び 2%が、それぞれ筋肉、腎臓、肝臓、腸、及び肺に分布した。アナキンラ投与量の約 26%が血漿中に残存した。筋肉中及び血漿中の投与量の割合は、文献（Kim 1995）の値すなわち平均体重 0.34 kg のラットにおける総筋肉量（170 g）及び総血漿量（12.9 mL）を用いて推定した。

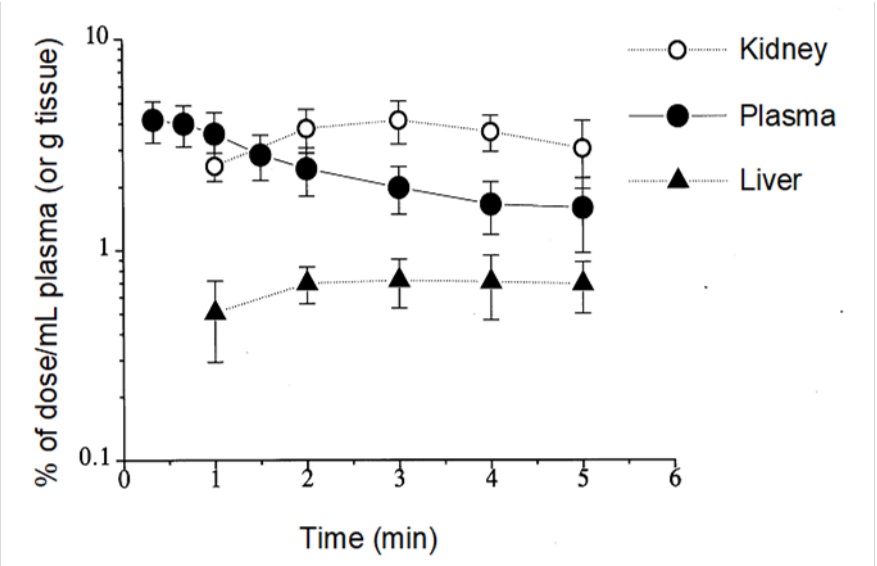
図 2.6.4-3 i.v.投与 3 分後のラットにおける ^{35}S-アナキンラの組織分布



Source: Kim 1995.
Abbreviation: n, Number of animals.

腎臓及び肝臓組織へのアナキンラ組織分布の経時変化を図 2.6.4-4 に示す。腎臓及び肝臓組織中のアナキンラ濃度は 3 分まで増加し、その後プラトーに達するか又は減少し始めた。この同時期に、血漿アナキンラ濃度は i.v.投与後に持続的に低下した。腎臓の分布 CL は、組織 1 g 当たりの肝臓流入 CL の約 5 倍であった（表 2.6.4-21）。しかし、1 g あたりではなく臓器あたりで示した場合、肝臓 CL は、腎 CL に類似していた。腎臓と肝臓を合わせると、アナキンラの i.v.投与後の初期相におけるアナキンラの血漿 CL の 20%を占める。腎臓及び肝臓におけるアナキンラの CL は非標識アナキンラ 5 mg の併用によって変化しなかったことから、アナキンラの CL は、大きな容積を持つ CL 機構によって行われていることを示していると考えられる。

図 2.6.4-4 i.v.投与後の血漿、腎臓及び肝臓中の ^{35}S-アナキンラの放射能の経時変化



Source: Kim 1995.

表 2.6.4-21 腎臓や肝臓への ^{35}S-アナキンラの分布による CL、平均値（標準偏差）

Dose	n	Distribution CL to kidneys (CLr)			Distribution CL to liver (CLh)		
		mL/min/g kidney	mL/min/kg body weight	mL/min/rat	mL/min/g liver	mL/min/kg body weight	mL/min/rat
5 ng	21	0.55 (0.02)	4.1 (0.3)	1.4 (0.1)	0.11 (0.01)	4.2 (0.3)	1.4 (0.1)
5 mg	7	0.57 (0.08)	4.1 (0.6)	1.4 (0.2)	0.092 (0.009)	3.6 (0.3)	1.2 (0.1)

Source: Kim 1995.
Abbreviations: CL, Clearance; CLh, Hepatic/liver clearance; CLr, Renal clearance; n, Number of animals.

2.6.4.4.2 ラットにおけるアナキンラの定常状態の組織分布

アナキンラを 5 時間持続投与し、採取組織中のアナキンラ濃度を ELISA 法で測定することにより、定常状態におけるアナキンラの組織分布を検討した（Kim 1995）。アナキンラ（8.35 µg/min、又は約 1.3 mg/kg/h、0.1%ラット血漿及び 3 mg/mL マンニトールを含む生理食塩液に溶解）を大腿静脈に持続投与し、投与 5 時間後に大腿動脈及び腎静脈から血液サンプルを採取した。5 時間の持続投与の最後に、肝臓、腎臓、肺、脳、心臓、胃、脾臓、筋肉、及び腸を採取し、血漿及び 10%組織ホモジネートの上清中のアナキンラ濃度を ELISA 法により測定した。組織中アナキンラ濃度（ng/g 組織）を投与 5 時間後の血漿中アナキンラ濃度（ng/mL 血漿）で除し、組織中濃度/血漿中濃度比を算出した。

組織/血漿中濃度比は、腎臓を除く全ての組織で報告されている細胞外液量とほぼ類似しており（表 2.6.4-22）、アナキンラの定常状態における分布はこれらの組織の細胞外液に限られることが示唆された。腎臓への見かけの分布が大きいことは、アナキンラと分子サイズが類似した他のタンパク質で示されているように、糸球体ろ過後の尿細管細胞において予想されるアナキンラの取

り込み及び代謝と一致している。文献によれば、アナキンラの大きさ（17.3 kDa）のタンパク質は、糸球体で循環血中からろ過され、その後、近位尿細管細胞に再吸収され、そこで代謝されるという証拠が得られている（Maack 1979、Emmanouel 1980、Nielsen 1990）。これらのタンパク質は体循環血に再び入るとは考えられず、尿から回収されるタンパク質は非常に少ない。

表 2.6.4-22 定常状態におけるアナキンラの平均（標準偏差）組織/血漿中濃度比

Tissue	Tissue/plasma ratio (mL/g of tissue, n = 3)	Extracellular fluid volume (mL/g of tissue)
Kidney	4.1 (3.1)	0.40
Liver	0.12 (0.01)	0.29
Lung	0.44 (0.19)	0.38
Gut	0.21 (0.11)	0.094
Brain	0.10 (0.03)	0.015 to 0.035
Heart	0.21 (0.03)	0.30
Spleen	0.13 (0.05)	0.30
Muscle	0.13 (0.07)	0.13

Source: Kim 1995.
Abbreviation: n, Number of animals.

2.6.4.4.3 非妊娠動物

雌ラットを用いたアナキンラの分布試験は実施していない。

2.6.4.4.4 妊娠動物

妊娠動物を用いたアナキンラの分布試験は実施していない。

2.6.4.5 代謝

アナキンラはタンパク質であり、したがって、他のタンパク質と同様に、その代謝は小さなペプチドや個々のアミノ酸への分解である。その代謝と CL が研究されており、代謝と CL の主な経路は腎臓を介していると考えられている。

アナキンラの生体内変化に関する試験はこれ以上実施されておらず、また不要と考えられる。このアプローチは、日米 EU 医薬品規制調和国際会議 S6 ガイドライン「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」(欧州医薬品委員会/日米 EU 医薬品規制調和国際会議/302/95)と一致している。

2.6.4.6 排泄

アナキンラを投与した患者は、体内からの排泄が無視できるほどアナキンラを完全に代謝すると考えられる。

ラットでは排泄の約 80%が腎臓を介して行われたが、尿中濃度が非常に低かったことから、他の多くのタンパク質でみられるように、尿細管でのろ過、再吸収、代謝が行われている可能性が高いと考えられる（Kim 1995、Maack 1979）。

アナキンラをラットに s.c.投与した 6 ヵ月毒性試験（SY05-T94-04 試験）において、1 日投与量に対するアナキンラの 24 時間尿中回収率は 1%以下であった。アナキンラをアカゲザルに s.c.投与した 4 週間毒性試験（960040 試験）では 1 日投与量に対する割合で表したアナキンラの 2 時間尿中回収率は 0.026%～3.2%であった。

2.6.4.6.1 ラットの定常状態におけるアナキンラの腎排泄

アナキンラの血漿 CL に対する腎クリアランス（CLr）の寄与を推定するために、アナキンラをラットに i.v.持続投与した。輸液はアナキンラ（0.167 mg/mL）、トリチウム標識 p-アミノ馬尿酸（[^{3}H] PAH）（4 μCi/mL）、マンニトール（3 mg/mL）、ラット血漿（0.1%）、ペントバルビタールナトリウム（2 mg/mL）生理食塩液とした（Kim 1995）。投与速度は 50 μL/min（8.35 μg/min 又は約 1.3 mg/kg/h）とした。[^{3}H] PAH は、腎血漿流量を測定するためにアナキンラ投与液に添加した。持続投与中、大腿動脈及び腎静脈から 2、4、5、6 時間後にエチレンジアミン四酢酸含有試験管に採血し、1 時間毎に尿検体を採取した。血漿及び尿試料中のアナキンラ濃度を ELISA 法で測定し、[^{3}H] PAH 濃度を液体シンチレーションカウンターにより測定した。

アナキンラ及び PAH の血漿及び腎臓の CL を表 2.6.4-23 に示す。PAH を用いて推定した腎血漿流量は 26 mL/min/kg であった。アナキンラの腎抽出率（ER）及び CLr 値はそれぞれ 0.25 及び 6.4 mL/min/kg であった（表 2.6.4-23）。アナキンラの CLr 値は糸球体ろ過量（5.24 mL/min/kg）と一致する範囲であった（Kim 1995）。アナキンラが糸球体ろ過に加えて腎排泄機構によって除去された場合、腎臓の ER 及び CLr は、PAH（腎臓 ER = 0.85 及び CLr = 21 mL/min/kg）の場合と同様に大きくなると考えられる。

CLr は一般に、薬物の尿中排泄率を血漿中濃度で除して推定される。薬物の代謝が腎臓で起こる場合、この CL 計算法は薬物の真の CLr を過小評価する。これはアナキンラの場合にあてはまり、CLr は 6.4 mL/min/kg であるが、尿中回収率に基づく CLr は 0.0030 ± 0.0021 mL/min/rat に過ぎない。

アナキンラの CLr とアナキンラの総血漿 CL（CLr/CL）を比較すると、血漿からアナキンラの CL の 78%が腎臓を経て生じることが示される。この値は、ラットにおけるアナキンラの主要な排泄臓器が腎臓であることを示しているが、排泄に寄与する残りの組織は不明である。初期の組織分布データは、腎臓以外では、肝臓がアナキンラ血漿 CL に寄与している可能性が高い組織であることを示唆している。

表 2.6.4-23 ラット i.v.投与後のアナキンラと PAH のクリアランスの平均値（標準偏差）

Parameter	Anakinra	PAH
n	3	3
CL (mL/min/kg)[a]	8.2 (1.4)	22 (3)
ER	0.25 (0.09)	0.85 (0.02)
CLr (mL/min/kg)[a]	6.4 (2.4)	21 (3)
CLr,u (mL/min/kg)[a]	0.0078 (0.0055)	21 (3)
CLr/CL	0.78 (0.11)	0.96 (0.05)

Source:Kim 1995.
Abbreviations: CL, Clearance; CLr, Renal clearance; CLr,u, Renal clearance based on urinary recovery; ER, Extraction ratio; n, Number of animals; PAH, P-aminohippuric acid.
[a] Values re-calculated as mL/min/kg.

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

MTX を p.o.で併用しても、ラットにおけるアナキンラの全身曝露に明らかな影響はなかった。また、アナキンラは p.o.投与された MTX の全身曝露に影響を与えなかった（960048 試験）。PEG-sTNF-RI の複数回 s.c.投与は、アナキンラの単回 i.v.投与の薬物動態に影響を与えなかった（100564 試験）。アナキンラの有無にかかわらず、同じ投与量の PEG-sTNF-RI を投与された群間で薬物動態パラメーターに有意な差はなかった（100557 試験）。PEG-sTNF-RI の単回投与は、アナキンラの単回 s.c.投与の薬物動態を変化させなかった（100484 試験）。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

その他の PK 試験は実施しなかった。

2.6.4.9 考察及び結論

ラット、ウサギ及びカニクイザルに s.c.投与したときの血漿中アナキンラ濃度は、同投与量を i.v.投与したときより長時間体内に持続したことから、体内の薬物動態においては吸収過程が最も遅い過程であることが示唆された。この吸収の延長は、投与部位からアナキンラが緩徐に移動すること、及び/又はアナキンラ投与量の一部が全身循環への経路でリンパ系を移動する際に緩徐な動態を示すことに起因すると考えられる。3 種の動物にわたり、アナキンラはより大きな動物種でより緩徐な薬物動態を示す傾向があり、MRT はラット、ウサギ、サルでそれぞれ 2.18、3.04、8.33 時間に増加した。また、動物種の体格が大きくなるにつれて、終末相 $t_{1/2}$ が長くなる傾向が認められた（表 2.6.4-24）。

ラット、ウサギ、カニクイザルに単回 s.c.投与後、皮下投与部位からのアナキンラの見かけ上の緩徐な吸収により、同投与量の i.v.投与後よりも長期間持続する循環血漿中アナキンラ濃度を示した。平均終末相 $t_{1/2}$ は、ラット、ウサギ及びカニクイザルでそれぞれ 0.891、1.18 及び 3.03 時間

であった。吸収の程度は投与量に依存せず、絶対的バイオアベイラビリティはラット、ウサギ、サルでそれぞれ 61.5%、71.6%、88.4%であった。

ラットにアナキンラ 2、20 及び 200 mg/kg/day を 1 日 2 回 14 日間以上 s.c.投与したとき、血漿中アナキンラ濃度の有意な蓄積（最大 48 倍）が認められた。アカゲザルに 100 及び 200 mg/kg を 28 日間連日 s.c.投与したとき、血漿中アナキンラ濃度の蓄積は認められなかったが、10 mg/kg ではばらつきが大きいものの蓄積性（74%）が認められた。この蓄積は、抗アナキンラ抗体又は他のタンパク質への結合に続くアナキンラの腎糸球体ろ過の減少によるものと考えられた。ラット及びアカゲザルにおけるアナキンラの PK に明らかな性差は認められなかった。

非臨床 PK 試験では、ラット、ウサギ、カニクイザルへの i.v.投与後、限られた分布容積と効率的な消失（CL）機序により、アナキンラは血漿中から速やかに消失することが示された。平均終末相 $t_{1/2}$ は、ラット、ウサギ及びカニクイザルでそれぞれ 1.09、1.76 及び 4.64 時間であった。アナキンラの分布と CL での PK パラメーターは、動物種の生理学的値と一致すると考えられた。

i.v.投与後の血漿中アナキンラの平均 CL 値は、ラット、ウサギ及びカニクイザルでそれぞれ 7.36、5.15 及び 2.55 mL/min/kg であり、糸球体ろ過量と類似する範囲であった。ラットにおける定常状態試験の結果から、アナキンラの血漿 CL の約 80%は腎臓によることが示された。しかし、アナキンラの尿中回収率は投与量に対して低かった。このことから、アナキンラは腎臓で糸球体ろ過により除去され、その後腎尿細管で代謝されると考えられた。

アナキンラ（s.c.）と MTX（p.o.）、アナキンラ（i.v.）と PEG-sTNF-RI（s.c.）、及びアナキンラ（s.c.）と PEG-sTNF-RI（i.v.）の併用の効果をラットで評価した。PEG-sTNF-RI は、当時[redacted]が関節リウマチの治療のための開発中の腫瘍壊死因子阻害剤である。各薬剤単独の PK に比べて、アナキンラと MTX の PK は、併用による影響を受けなかった。アナキンラの血清中濃度約 20000 ng/mL で 1 週間、10600～290000 ng/mL で 1 ヵ月間を維持したとき、PEG-sTNF-RI を i.v.投与後の PEG-sTNF-RI の PK をアナキンラは変化させなかった。PEG-sTNF-RI の複数回の s.c.投与はアナキンラの i.v.投与後の PK に明らかな影響を及ぼさなかった。

別のサイトカインアンタゴニスト、sTNF-RI と併用したアナキンラの効果をカニクイザルで検討した。PEG-sTNF-RI の 1～25 mg/kg での単回投与では、アナキンラ（s.c.）の PK は変化しなかった。13 及び 27 日目において、PEG-sTNF-RI の投与量増加に伴いアナキンラの CL が増加する傾向が認められたが、統計学的に有意ではなかった。

全体として、PEG-sTNF-RI の複数回の s.c.投与は、ラットにおけるアナキンラの単回 i.v.投与後のアナキンラの PK 又は複数回 s.c.投与後のカニクイザルのアナキンラの PK に明らかな影響を及ぼさなかった。アナキンラの PK の明確な変化の傾向は示されなかった。

表 2.6.4-24 アナキンラの s.c.投与時のラット、ウサギ及びサルにおけるアナキンラ薬物動態パラメーターの平均値（標準偏差）

Study	Species	Dosing regimen	Day[a]	Dose (mg/kg)	n	C_{max} (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	$AUC_{0-\infty}$[b] (ng·h/mL)
100421[c]	Rat	Single dose	1	1	4	447	0.892	1.0	1180
			1	3	4	1750	0.778	1.0	4640
			1	10	4	4640	0.860	1.5	13700
			1	30	4	13800	0.820	1.5	44100
			1	100	4	33700	1.10	2.0	137000
100422[c]	Rabbit	Single dose	1	10	4	8060	0.937	1.5	25500
			1	100	4	40400	1.43	2.0	204000
100420[d]	Cynomolgus monkey	Single dose	1	10	4	8480 (930)	2.61 (0.53)	2.0 (0.0)	57100 (9600)
			1	100	4	34500 (6300)	3.44 (0.99)	4.5 (2.5)	597000 (77000)
960040[d]	Rhesus monkey	Multiple dose	1	10	6	5841 (430)	1.96 (0.13)	1.7 (0.5)	32510 (1870)
			1	100	6	40660 (20 110)	2.14 (0.84)	2.5 (1.2)	347100 (85700)
			1	200	10	59580 (9660)	2.81 (0.73)	3.8 (1.8)	677000 (114600)
			28	10	6	7849 (4250)	2.72 (0.69)	2.0 (1.1)	57150 (36760)
			28	100	5	38390 (8850)	3.36 (0.88)	2.0 (1.2)	375600 (156500)
			28	200	10	56040 (14070)	4.74 (1.30)	2.7 (1.2)	606400 (138700)
960048[e]	Rat	Multiple dose	1	10	12	3110	0.625	1.0	9490
			1	100	12	32900	2.72	2.0	122000
			14	10	12	7420	2.96	0.5	23300
			14	100	12	56100	1.83	4.0	310000
			28	10	12	20900	1.42	4.0	151000
			28	100	12	210000	1.17	2.0	1440000
100484[d]	Cynomolgus monkey	Multiple dose	0	100	6	44900 (15000)	5.04 (1.66)	2.7 (1.0)	442000 (72400)
			13	100	6	46700 (17800)	4.33 (1.02)	1.8 (0.6)	425000 (157000)
			27	100	6	46000 (15500)	4.44 (1.36)	2.7 (1.0)	462000 (166000)
0502[f]	Subjects with Rh A	Multiple dose	1	1	3	930.0 (48.7)	5.73 (2.67)	3.7 (0.6)	12780 (2650)
			7	1	3	880.7 (66.5)	-	7.3 (1.2)	13 370 (250)

Abbreviations: AUC_{0-24}, Area under the curve from time 0 to 24 hours; $AUC_{0-\infty}$, Area under the curve from time 0 to infinity; C_{max}, Maximum plasma concentration; n, Number of animals; Rh A, Rheumatoid arthritis; $t_{1/2}$, Half-life; t_{max}, Time to reach maximum concentration.

[a] First day of dosing was designated as Day 1 for all studies except for Study 100484, which was designated as Day 0.

[b] AUC_{0-24} reported after multiple doses.

[c] Estimated using compartmental analysis of naïve-pooled data.

[d] Estimated using noncompartmental analysis of individual data.

[e] Estimated using noncompartmental analysis of median data; each animal (n = 12) contributed 2 samples to a population profile.

[f] Data are included for reference purposes. Details of the human PK are presented in the Human Pharmacokinetics and Bioavailability Report ([redacted]100786).

各動物種において、Vc の値は生理学的血漿量（約 40 mL/kg）への初期分布と矛盾しなかった。血漿から他の組織へのアナキンラの初期分布を評価したラット試験の結果は、筋肉、腎臓、肝臓、腸、及び肺がアナキンラの初期分布の重要な部位であることを示した。分布は全ての器官への受動拡散によって起こると考えられた。Vd_{ss} は、細胞外液量（約 200 mL/kg）と同程度の容積へのその後の分配を意味した。ラットの定常状態における組織対血漿アナキンラ濃度比は、腎臓を除く全ての組織について生理学的細胞外液量への分布と類似した。腎臓については、定常状態での組織/血漿アナキンラ濃度比は腎臓の細胞外液量よりもはるかに大きく、腎臓が循環系からアナキンラを排泄する主要な部位であることが示された。

アナキンラの *in vitro* での薬物相互作用は検討していない。慢性炎症の間、CYP 酵素の生成はサイトカイン（例えば、IL-1）の濃度上昇によって抑制される。したがって、チトクローム P450（CYP）酵素の生成は、IL-1Ra について予想されるように、アナキンラ投与の間に増加させることができると考えられる（すなわち、正常濃度まで増加させる）。これは、治療係数が狭い CYP 基質（例えば、ワルファリン）に臨床的に関連する可能性がある。

アナキンラは、家族性地中海熱患者の多くにコルヒチンの追加療法として使用されることが期待されている。コルヒチンは CYP3A4 の基質であることから、アナキンラ治療の開始は理論的にはコルヒチンの血中濃度を低下させ、それによって臨床効果を低下させる可能性がある。しかし、コルヒチンに対する追加療法としてアナキンラを用いた既報の臨床試験では、アナキンラ療法開始時に抗炎症効果が全体的に増大した。このことはヒト血清アミロイド A、C 反応性タンパク、赤血球沈降速度の低下及び正常化によって示されている（Ben-Zvi 2017、Akar 2018）。

アナキンラの PK 及び代謝は、実験動物において単純なパターンに従うと考えられた。本剤は s.c.投与後良好なバイオアベイラビリティを示し、その分布は細胞外空間にあり、その CL は糸球体ろ過により急速で、おそらく尿細管再吸収とタンパク質分解が続く。アナキンラの 1%未満が未変化体のまま尿中に排泄される。腎臓以外に臓器蓄積はなかった。

ラット及びアカゲザルに数週間毎日投与した後、この異種タンパク質は抗体産生を引き起こし、これがおそらく血漿中からの消失の減少及び蓄積の原因であると考えられた。ラットでは、抗体レベルは投与の継続によって低下し、4 週目までに検出されたが 13 週目までに低下し、27 週目までに消失した。

いずれの動物種においても、胎盤通過性に関する試験は実施していない。このことは、母動物及び胎児毒性試験の結果を解釈する際に考慮しなければならない。

反復投与後の薬物動態は、実験動物とヒトで類似していた。アナキンラに対する抗体は、クリオピリン関連周期熱症候群患者におけるアナキンラの治療効果を妨げることはないと考えられ（Wikén 2018）、そのため、スチル病患者における安全性及び有効性が抗薬物抗体の影響を受ける可能性は低いと考えられる。

全試験動物種対ヒトにおけるアナキンラの全身曝露量の比較を表 2.6.4-25 に示す。

表 2.6.4-25 動物及びヒトにアナキンラを s.c.投与したときの薬物動態の比較

Species	Dose mg/kg s.c.	C_{max} ng/mL	$t_{1/2}$ h	t_{max} h	CL/F mL/min/kg	$AUC_{0-\infty}$ ng·h/mL
Rat[a,b] 28 days	100	210000	1.2	2	1.2	1440000
Rhesus monkey[a] 28 days	100	38390	3.4	2	4.9	375600
Cynomolgus monkey[a] 28 days	100	46000	4.4	2.7	4.0	462000
Human (healthy subjects)[c] Single dose	100	773	5.24	4.0	170*	10188

* mL/min

Abbreviations: $AUC_{0-\infty}$, Area under the curve from time 0 to infinity; CL/F, Apparent clearance; C_{max}, Maximum plasma concentration; F, bioavailability; Rh A, Rheumatoid arthritis; $t_{1/2}$, Half-life; t_{max}, Time to reach maximum concentration.

[a] Source: Nonclinical Pharmacokinetics report ([redacted]100787).

[b] F 61 %; Source: Nonclinical Pharmacokinetics report ([redacted]100787).

[c] Source: Open-label, Single-dose Study of the Pharmacokinetics of Anakinra (r-metHuIL-1ra) in Subjects With Various Degrees of Renal Function ([redacted]20000268).

2.6.4.10 参考文献

Akar S, Cetin P, Kalyoncu U, Karadag O, Sari I, Cınar M, et al. Nationwide experience with off-label use of interleukin-1 targeting treatment in familial Mediterranean fever patients. Arthritis Care Res (Hoboken) 2018;70:1090-1094.

Ben-Zvi I, Kukuy O, Giat E, Pras E, Feld O, Kivity S, et al. Anakinra for colchicine-resistant familial Mediterranean fever: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Arthritis Rheumatol 2017;69:854-862.

Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans [commentary]. Pharm Res 1993;10:1093-1095.

Dripps DJ, Brandhuber BJ, Thompson RC, Eisenberg SP. Interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist binds to the 80-kDa IL-1 receptor but does not initiate IL-1 signal transduction. J Biol Chem 1991;266:10331-10336.

Emmanouel DS, Lindheimer MD, Katz AI. Role of the kidney in hormone metabolism and its implications in clinical medicine. Klin Wochenschr 1980;58:1005-1012.

Kim DC, Reitz B, Carmichael DF, Bloedow DC. Kidney as a major clearance organ for recombinant human interleukin-1 receptor antagonist. J Pharm Sci 1995;84:575-580.

Maack T, Johnson V, Kau ST, Figueiredo J, Sigulem D. Renal filtration, transport, and metabolism of low-molecular-weight proteins: a review. Kidney Int 1979;16:251-270.

Nielsen JT. Handling of proteins in isolated and *in vitro* perfused proximal tubules from rabbit kidney. Dan Med Bull 1990;37:197-210.

Wikén M, Hallén B, Kullenberg T, Koskinen LO. Development and effect of antibodies to anakinra during treatment of severe CAPS: sub-analysis of a long-term safety and efficacy study. Clin Rheumatol 2018;37:3381-3386.