CTD 第 2 部

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

ブリストル・マイヤーズ株式会社

用語及び略語一覧

AUC(0-T)	area under the concentration vs time curve from 0 to time of the last measured concentration	投与後 0 時間から最終定量可能時間までの血中濃度曲線下面積
AUC(INF)	area under the concentration vs time curve from time zero extrapolated to infinite time	投与後 0 時間から無限時間まで外挿した血中濃度曲線下面積
BMS	Bristol-Myers Squibb	ブリストル・マイヤーズ スクイブ社
CLT	total clearance	総クリアランス
Cmax	maximum concentration	最高血中濃度
DCN	document control number	文書管理番号
ECL	electrochemiluminescence	電気化学発光
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫吸着測定
FITC	fluorescein isothiocyanate	フルオレセインイソチオシアネート
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
HBsAg	hepatitis virus B surface antigen	B 型肝炎ウイルス表面抗原
KLH	keyhole-limpet hemocyanin	キーホールリンペットヘモシアニン
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
mAb	monoclonal antibody	モノクローナル抗体
OD	optical density	光学密度
PBA	phosphate buffer containing bovine albumin	牛アルブミン含有リン酸緩衝液
PBS	phosphate-buffered saline	リン酸緩衝生理食塩液
PK	pharmacokinetics	薬物動態
pNPP	para nitrophenyl phosphate	p-ニトロフェニルリン酸
QC	quality control	品質管理
STM	standard test method	標準試験法
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
Vss	steady-state volume of distribution	定常状態分布容積

目次

1 まとめ 6
2 分析法 10
2.1 血漿中及び血清中 Ipilimumab 濃度測定 10
2.1.1 フローサイトメトリー法（[redacted]1477-00）による血清中 Ipilimumab 濃度測定 10
2.1.2 ELISA 法（[redacted] 1693）による血漿中 Ipilimumab 濃度測定 10
2.1.3 ELISA 法（[redacted]267.3 及び[redacted] 267.5）による血清中及び血漿中 Ipilimumab 濃度測定 11
2.2 抗 Ipilimumab 抗体測定 11
2.2.1 ELISA 法（[redacted]1699） 11
2.2.2 ブリッジング ELISA 法（[redacted] 3022） 12
2.2.3 ECL 法 12
3 吸収 13
3.1 単回投与後の薬物動態 13
3.1.1 単回静脈内投与製剤同等性試験（DS07167 試験）の血清中 Ipilimumab 濃度 13
3.1.2 3 ヵ月間（79 日間）間歇投与毒性・有効性試験（1416-128 試験）における初回投与後の血漿中 Ipilimumab 濃度 14
3.2 反復投与後の薬物動態 14
3.2.1 2 週間間歇投与毒性試験（0919-128 試験）の血清中 Ipilimumab 濃度 15
3.2.2 2 週間間歇投与毒性試験（7114-100 試験）の血清中 Ipilimumab 濃度 15
3.2.3 1 ヵ月間間歇投与毒性試験（DS06064 試験）の血清中 Ipilimumab 濃度 15
3.2.4 1 ヵ月間間歇併用投与毒性試験（[redacted]00106 試験）の血漿中 Ipilimumab 濃度 16
3.2.5 2 ヵ月間間歇投与毒性試験（0992-128 試験）の血漿中 Ipilimumab 濃度 16
3.2.6 3 ヵ月間間歇投与毒性・有効性試験（[redacted]00006 試験）の血漿中 Ipilimumab 濃度 17
3.2.7 3 ヵ月間(79 日間)間歇投与毒性・有効性試験(1416-128 試験)の血漿中 Ipilimumab 濃度 18
3.2.8 反復投与薬理試験（TIB-06-001 試験）の血清中及び血漿中 Ipilimumab 濃度 19
3.2.9 6 ヵ月間間歇投与毒性試験（01-3460 試験）の血漿中 Ipilimumab 濃度 20
4 分布 20
5 代謝 21
6 排泄 21
7 薬物動態学的薬物相互作用 21

8 その他の薬物動態試験 21
9 考察及び結論 21
10 参考文献 23

表一覧

表 1-1: 非臨床薬物動態及びトキシコキネティクス試験 8

図一覧

図 3.2.5-1: 0992-128 試験におけるカニクイザル血漿中 Ipilimumab 濃度推移（平均値±標準偏差） 17

1 まとめ

Ipilimumab（MDX-010、BMS-734016）は、細胞傷害性 T 細胞抗原 4（CTLA-4）に選択的な免疫グロブリン（Ig）G サブクラス 1（κ 軽鎖）の完全ヒト型モノクローナル抗体であり、がん治療の目的で開発されている CTLA-4 免疫チェックポイント阻害薬である。Ipilimumab の作用機序は、活性化した T 細胞サブセットに発現する CTLA-4 とプロフェッショナル抗原提示細胞上の B7（CD80/CD86）分子との相互作用の阻害と考えられている。その結果、Ipilimumab は活性化 T 細胞の抑制的調節を遮断し、腫瘍抗原特異的な T 細胞を増殖及び活性化させ、腫瘍増殖を抑制する。また、CTLA-4 の阻害は、制御性 T 細胞（Treg）の機能を低下させ、腫瘍免疫反応を亢進させる。更に、Ipilimumab は、腫瘍組織における Treg 数を選択的に減少させ、その結果、腫瘍内の活性化 T 細胞数と Treg 数の比（エフェクターT 細胞／Treg）が増加して腫瘍細胞死を誘導すると考えられる。

Ipilimumab はカニクイザルの CTLA-4 に結合し、他の動物種の CTLA-4 に結合しなかったことから、カニクイザルが Ipilimumab の非臨床試験に適する動物種であると判断し、すべての薬物動態（PK）試験にカニクイザルを用いた。PK 試験として、単回静脈内投与製剤同等性試験（DS07167 試験）、3 ヵ月間（79 日間）間歇投与毒性・有効性試験（1416-128 試験）で初回投与後 28 日まで収集したデータの PK 解析、1 ヵ月間間歇併用投与毒性試験（DS06064 試験）で最終投与後 9 週間に収集したデータに基づく消失半減期（$t_{1/2}$）の算出、反復投与薬理試験（TIB-06-001 試験）及び 6 ヵ月間までの反復投与毒性試験におけるトキシコキネティクス（TK）解析を実施した。これらの試験のうちで TK／PK 評価部分が医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠した試験は、3 ヵ月間（79 日間）間歇投与毒性・有効性試験（1416-128 試験）、1 ヵ月間間歇併用投与毒性試験（DS06064 試験）及び 1 ヵ月間間歇併用投与毒性試験（[redacted]00106 試験）で、免疫原性評価部分が GLP に準拠した試験は、1 ヵ月間間歇投与毒性試験（DS06064 試験）及び 1 ヵ月間間歇併用投与毒性試験（[redacted]00106 試験）であった（表 1-1）。

開発初期の 2 週間間歇投与毒性試験（0919-128 試験及び 7114-100 試験）で血清中 Ipilimumab を定量するため、フローサイトメトリー法を開発した。その後、高感度かつ特異的な酵素免疫吸着測定（ELISA）法を開発し、3 ヵ月間（79 日間）間歇投与毒性・有効性試験（1416-128 試験）、6 ヵ月間間歇投与毒性試験（01-3460 試験）及び 3 ヵ月間間歇投与毒性・有効性試験（[redacted]00006 試験）で血漿中 Ipilimumab の定量に用いた。また、血清中 Ipilimumab を定量するため分析法に改良を施し、単回静脈内投与製剤同等性試験（DS07167 試験）及び 1 ヵ月間間歇投与毒性試験（DS06064 試験）で用いた。さらに、本分析法が血漿中 Ipilimumab の定量に使用可能であることを検証した後、1 ヵ月間間歇併用投与毒性試験（[redacted]00106 試験）で血漿中 Ipilimumab の濃度測定に用いた。

初期の抗 Ipilimumab 抗体測定では、マイクロプレート表面に固定化した Ipilimumab の $F(ab')_2$ フラグメントに抗 Ipilimumab 抗体を捕獲させた後、抗ヒト IgG/Fc 特異的結合プローブにより抗 Ipilimumab 抗体を検出した。その後、ブリッジング ELISA 法を開発し、3 ヵ月間間歇投与毒性・有効性試験（[redacted]00006 試験）で用いた。また、電気化学発光（ECL）法を開発し、単回静脈内投与製剤同等性試験（DS07167 試験）、1 ヵ月間間歇投与毒性試験（DS06064 試験）、1 ヵ月間間歇併用投与毒性試験（[redacted]00106 試験）及び反復投与薬理試験（TIB-06-001 試験）で用いた。

臨床試験での投与経路は静脈内であることから、すべての非臨床 PK 及び TK 試験で Ipilimumab を静脈内投与した（表 1-1）。非臨床試験で多く用いた Ipilimumab 製剤は、Ipilimumab をリン酸緩衝生理食塩液（PBS）に溶解させた注射液であった。非臨床試験において、3 つの製造方法（プロセス A、B 及び C）で製造された Ipilimumab を使用した。プロセス A は、[redacted]を用いる

製造方法であり、プロセス A により製造された Ipilimumab は、試験報告書中で mAb 10D1 又は MDX-010-HYB と記載されている。プロセス B は、[redacted]を用いた、[redacted]、[redacted] 及び[redacted] L の規模の製造方法である。また、プロセス C は、[redacted]及び[redacted]を高めるために改良された製造方法である。プロセス A 及び B でそれぞれ製造された Ipilimumab の PK は、3 ヵ月間間歇投与毒性・有効性試験（1416-128 試験）で比較検討され、プロセス B 及び C でそれぞれ製造された Ipilimumab の PK は、単回静脈内投与製剤同等性試験（DS07167 試験）で比較検討された。

更に、[redacted]及び[redacted]をより確実に除去するため、プロセス C の[redacted]のひとつを変更してプロセス C.1 とした。プロセス C.1 は、国内で市販予定の Ipilimumab を製造するための製造方法である。プロセス C.1 及びプロセス C でそれぞれ製造された Ipilimumab の生物活性は同等であったことから【モジュール 2.3】、PK の比較検討は行わなかった。

Ipilimumab を 10 mg/kg の用量で単回静脈内投与後 28 日間に収集した血漿中濃度データを基に算出した消失半減期（$t_{1/2}$）は長く、203 ± 62.8 時間（平均値 ± 標準偏差）であった（1416-128 試験）。また、Ipilimumab を 10 mg/kg の用量で単回静脈内投与後 6 週間に収集した血中濃度データ（DS07167 試験）並びに 1 ヵ月間間歇併用投与試験の最終投与後 9 週間に収集した血中濃度データ（DS06064 試験）を基に算出した消失半減期は長く、それぞれ 339 ± 112 及び 302 ± 90.3 時間であった。Ipilimumab を単回投与したときの総クリアランス（CLT）は小さく、0.196 ± 0.037 mL/h/kg（1416-128 試験）及び 0.181 ± 0.025 mL/h/kg（DS07167 試験）であり、消失半減期が長いことと一致した。定常状態分布容積（Vss）は 44.1 ± 6.05 mL/kg（1416-128 試験）及び 80.9 ± 13.8 mL/kg（DS07167 試験）であり、サルの血漿量に類似していたことから、Ipilimumab は主に血管内に分布することが示唆された。反復投与 TK 試験結果から、Ipilimumab の全身曝露量は用量の増加に伴って増加し、4 試験中 2 試験では Ipilimumab の増加の程度は用量比を上回り、消失半減期は投与間隔よりも長く、Ipilimumab の蓄積傾向がみられた。Ipilimumab の PK に性差は認められず、プロセス A、B 及び C でそれぞれ製造した Ipilimumab の PK に違いはみられなかった。Ipilimumab と抗ヒト CD137mAb（BMS-663513）との間に薬物動態学的な相互作用は認められなかった。

免疫原性を測定した 106 匹中 9 匹（8%）に抗 Ipilimumab 抗体反応が認められた。なお、1 ヵ月間間歇併用投与毒性試験（[redacted]00106 試験）で抗 Ipilimumab 抗体反応が全測定数の 32%に認められたが、これは免疫活性化剤 MDX-1106 の併用投与が原因であるため、解析から除外した。抗 Ipilimumab 抗体価が増加した 9 匹中 4 匹で、抗 Ipilimumab 抗体が血中に存在したため、血中 Ipilimumab 濃度が低下した。Ipilimumab の PK に影響を及ぼす抗 Ipilimumab 抗体との反応は起こり得ることが示唆された。

Ipilimumab はヒト型抗体であり、サル体内では異物として認識されるため免疫原性の発現が予測されたが、サルにおける免疫原性の程度から、ヒトにおける免疫原性を予測することは困難であると考えられた。Ipilimumab の PK に及ぼす抗 Ipilimumab 抗体の影響を問わず、非臨床試験の動物における Ipilimumab の曝露量を示した。プロセス A、B 及び C でそれぞれ製造した Ipilimumab に免疫原性の違いは認められなかった。

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（薬食審査発 0323 第 1 号、平成 24 年 3 月 23 日）に基づき、Ipilimumab の組織内分布、代謝及びマスバランスに関する検討は行わなかった。

表 1-1: 非臨床薬物動態及びトキシコキネティクス試験

試験番号／投与期間又は投与日	原薬製造方法	ロット番号	溶媒	試験の種類
単回投与試験				
DS07167／単回	プロセス B	[redacted]887	20 mM トリス塩酸、100 mM 塩化ナトリウム、1%マンニトール、100 µM ジエチレントリアミン五酢酸、0.01%ポリソルベート 80	探索試験
	プロセス C	[redacted]T07		
1416-128／単回 [a]	プロセス B	[redacted]-01[redacted]	リン酸緩衝生理食塩液	GLP 試験
	プロセス A	[redacted]001		
反復投与試験				
0919-128／Day 1、4、7	プロセス A	[redacted]01[redacted]	リン酸緩衝生理食塩液	GLP 試験（PK 及び免疫原性試験は探索試験）
7114-100／Day 1、4、7	プロセス A	[redacted]01[redacted]	リン酸緩衝生理食塩液	GLP 試験（PK 及び免疫原性試験は探索試験）
0992-128／月 1 回 2 ヵ月間	プロセス A	[redacted]01[redacted]	リン酸緩衝生理食塩液	探索試験
1416-128／月 1 回 3 ヵ月間又は週 1 回 10 週間	プロセス B	[redacted]01[redacted]	リン酸緩衝生理食塩液	GLP 試験（免疫原性試験は探索試験）
	プロセス A	[redacted]001		
01-3460／Day 0、28、56、84、140	プロセス A	[redacted]001	リン酸緩衝生理食塩液	GLP 試験（PK 及び免疫原性試験は探索試験）
	プロセス A	[redacted]01[redacted]		
[redacted]00006／月 1 回 3 ヵ月間	プロセス B	[redacted]05[redacted]	20 mM トリス塩酸、100 mM 塩化ナトリウム、1%マンニトール、100 µM ジエチレントリアミン五酢酸、0.01% ポリソルベート 80	探索試験
TIB-06-001／Day 4、9、30、32、58、60、86、88	プロセス B	[redacted]359	生理食塩液	探索試験
DS06064／週 1 回 4 週間	プロセス B	[redacted]544	20 mM トリス塩酸、100 mM 塩化ナトリウム、1%マンニトール、100 µM ジエチレントリアミン五酢酸、0.01%ポリソルベート 80	GLP 試験
[redacted]00106／週 1 回 4 週間	プロセス B	[redacted]01[redacted]	20 mM トリス塩酸、100 mM 塩化ナトリウム、1%マンニトール、100 µM ジエチレントリアミン五酢酸、0.01%ポリソルベート 80	GLP 試験
DN10020／妊娠 20～22 日、その後 3 週間に 1 回、計 6 回投与	プロセス C	[redacted]105	20 mM トリス塩酸、100 mM 塩化ナトリウム、1%マンニトール、100 µM ジエチレントリアミン五酢酸、0.01%ポリソルベート 80	GLP 試験（乳汁移行試験は探索試験）

[a] 3 ヵ月間間歇投与試験であったが、Ipilimumab の単回投与時の薬物動態を推測するため、初回投与後の十分な数の時点及び 2 回目投与直前に採取した血漿試料を分析した。

2 分析法

2.1 血漿中及び血清中Ipilimumab濃度測定

開発初期の試験でバリデーションを実施していない分析法を用いたが、後期の試験では、分析能力を高めるため及び生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイダンス [1)]に準拠するため改良を施し、バリデーションを実施した分析法を用いた。

2.1.1 フローサイトメトリー法（[redacted]1477-00）による血清中Ipilimumab濃度測定

開発初期の 2 週間間歇投与毒性試験（0919-128 試験及び 7114-100 試験）で得られた血清試料中の Ipilimumab 濃度は、バリデーションを実施していないフローサイトメトリー法（[redacted] 1477-00）【モジュール 4.2.2.1-1】を用いて測定された。

本分析法の要約は以下のとおりである。蛍光色素であるフルオレセインイソチオシアネート（FITC）で標識した Ipilimumab（FITC - Ipilimumab）の存在下で、血清試料を 58αβCLTA4 細胞とともにインキュベートした。このとき、血清試料中の Ipilimumab は、FITC - Ipilimumab と競合して 58αβCLTA4 細胞に結合する。次に、細い流液中に 58αβCLTA4 細胞を高速度で流し、レーザー光を照射して蛍光を測定した。血清試料中の Ipilimumab 濃度は、Ipilimumab 濃度に対する Ipilimumab - FITC 結合の阻害率をプロットした標準曲線から求めた。

2.1.2 ELISA法（[redacted]1693）による血漿中Ipilimumab濃度測定

3 ヵ月間（79 日間）間歇投与毒性・有効性試験（1416-128 試験）、6 ヵ月間間歇投与毒性試験（01-3460 試験）及び 3 ヵ月間間歇投与毒性・有効性試験（[redacted]00006 試験）で得られた血漿試料中の Ipilimumab 濃度は、バリデーションを実施した ELISA 法（[redacted] 1693）【モジュール 4.2.2.1-2】を用いて測定された。開発初期の 2 ヵ月間間歇投与毒性試験（0992-128 試験）で得られた血漿試料中の Ipilimumab 濃度は、バリデーション前の本分析法を用いて測定された。

本分析法の操作手順は以下のとおりである。1 μg/mL の遺伝子組換え型ヒト CTLA-4/Fc キメラ蛋白溶液をマイクロプレートの各ウェルに 100 μL 加え、2～8°C で一晩インキュベーションを行った。インキュベーション終了後、ウェルを洗浄し、牛アルブミン含有 5%リン酸緩衝液（PBA）200 μL を加え、室温で 2 時間インキュベーションを行った。本操作は、固相表面をアルブミンで覆い、血漿試料中の蛋白が固相表面に非特異的に結合するのを防ぐ目的で行われた。ウェルを洗浄後、1% PBA で 100～4000 倍に希釈した血漿試料 100 μL をウェルに加えた。また、1% PBA で希釈した標準溶液をウェルに加えた。なお、標準曲線は 0.012～0.111 μg/mL の濃度範囲で直線性を示し、血漿試料は最小で 100 倍に希釈されるため、定量下限は 1.2 μg/mL であった。マイクロプレートを室温で 1.5 時間インキュベーションを行った後、ウェルを洗浄した。次に、アルカリフォスファターゼ標識ヤギ抗ヒト IgG/F(ab')$_2$ を各ウェルに 100 μL 加え、室温で 1.5 時間インキュベーションを行った。ウェルを洗浄後、1 mg/mL p-ニトロフェニルリン酸（pNPP）溶液を各ウェルに 100 μL 加え、室温で 15 分間反応させた。その後、1N 水酸化ナトリウム水溶液 100 μL を各ウェルに加え、酵素反応を停止させた。測定波長 405 及び 650 nm で酵素反応溶液の吸光度を測定した。405 nm の吸光度から 650 nm の吸光度を差し引き、相対吸光度を求めた。Ipilimumab 濃度の対数をグラフの横軸にとり、また、標準溶液の吸光度をグラフの縦軸にとり、座標上に点で表し、4-パラメータロジスティック曲線を当てはめた。標準曲線を用いて、各試料溶液の吸光度から Ipilimumab 濃度を求めた。

分析法のバリデーションを実施した結果、分析単位間の精度は 20%以下、分析単位内の精度は 17%以下、真度は理論値の±31%以内であった。サル血漿試料中の Ipilimumab は、3 回の凍結融解繰返しに対して安定であり、−80°C 保存で 12 ヵ月間安定であり、また、4°C 保存で 7 日間安定であった。これらのデータから、ELISA 法（[redacted] 1693）はカニクイザル血漿試料中の Ipilimumab の分析に適すると考えられた。

2.1.3 ELISA法（[redacted] 267.3 及び[redacted]267.5）による血清中及び血漿中Ipilimumab濃度測定

単回静脈内投与製剤同等性試験（DS07167 試験）、1 ヵ月間間歇併用投与毒性試験（DS06064 試験）及び反復投与薬理試験（TIB-06-001 試験）で得られた血清試料中の Ipilimumab 濃度は、バリデーションを実施した ELISA 法（[redacted] 267.3）【モジュール 4.2.2.1-3】により測定された。また、1 ヵ月間間歇併用投与毒性試験（[redacted]00106 試験）で得られた血漿試料中の Ipilimumab 濃度は、バリデーションを別途実施した ELISA 法（[redacted] 267.5）【モジュール 4.2.2.1-4】により測定された。

本分析法は 2.1.2 項で述べた ELISA 法を基にしており、遺伝子組換え型ヒト CTLA-4/Fc キメラ蛋白をマイクロプレートのウェル表面に吸着させた後、試料中の Ipilimumab と反応させる方法である。分析法を変更し、血清又は血漿を用いて調製した標準溶液及び QC 試料を使用した。本項における分析法の変更は、分析能力を改善し、ガイダンス [1)]に準拠するためである。100%血清又は血漿を用いて調製した標準溶液及び QC 試料並びに実試料は、緩衝液を用いて 1000 倍に希釈した（血清及び血漿の最終濃度は 0.1%になる）。遺伝子組換え型ヒト CTLA-4/Fc キメラ蛋白に捉えられた Ipilimumab は、市販の精製されたアルカリフォスファターゼ標識ヤギ抗ヒト IgG/F(ab')$_2$ を用いて検出した。濃度範囲が 0.4～25.6 µg/mL（定量範囲は 0.8～25.6 µg/mL）の標準曲線を 4-パラメータロジスティック回帰モデルに当てはめた。

血清中 Ipilimumab 濃度測定法のバリデーションにおいて、真度・精度・直線性及び定量下限は、測定を 3 回繰り返して検討した。その結果、分析単位間の精度は 4.78%以下、分析単位内の精度は 4.45%以下、真度は理論値の±9.11%以内であった。定量下限は 0.8 µg/mL であった。特異性の検討において、Ipilimumab を血清中に 0.8 µg/mL（定量下限）になるように添加して調製した疑似試料（10 ロット）を分析した結果、測定値の真度は理論値の±20%以内であったことから、血清中の夾雑物による分析への影響はないことが示唆された。本分析法は、希釈した血清試料中の Ipilimumab 濃度を正確に測定可能であった。カニクイザル血清中の Ipilimumab は、凍結融解を 7 回繰り返しても安定であり、室温保存で少なくとも 26 時間安定であり、−70°C 保存では最大 25 日間安定であった。

血漿中 Ipilimumab 濃度測定法のバリデーションにおいて、真度及び精度は測定を 2 回繰り返して検討し、特異性及び定量下限は 1 回の測定で検討し、安定性の検討では測定を 3 回繰り返して検討した。その結果、分析単位間の精度は 6.9%以下、分析単位内の精度は 8.3%以下で、真度は理論値の±12.9%以内であった。また、本分析法の定量範囲（0.8～25.6 µg/mL）は、血清中濃度測定法と同じであった。血漿試料中の Ipilimumab は、凍結融解を 4 回繰り返しても安定であり、室温保存で少なくとも 24 時間、−70°C 保存では最大 25 日間安定であった。

2.2 抗Ipilimumab抗体測定

2.2.1 ELISA法（[redacted] 1699）

3 ヵ月間（79 日間）間歇投与毒性・有効性試験（1416-128 試験）及び 6 ヵ月間間歇投与毒性試験（01-3460 試験）において、血漿試料中の抗 Ipilimumab 抗体を ELISA 法（[redacted] 1699）【モジュール 4.2.2.1-5】

を用いて測定した。また、2 週間間歇投与毒性試験（0919-128 試験）及び 2 ヵ月間間歇投与毒性試験（0992-128 試験）において、抗 Ipilimumab 抗体を[redacted]1699 に準じた分析法を用いて測定した。

本分析法では、マイクロプレートに固定化した Ipilimumab の $F(ab')_2$ フラグメントにより抗 Ipilimumab 抗体を捕捉し、抗 Ipilimumab 抗体を抗ヒト IgG/Fc 特異的結合プローブを用いて測定した。抗体価は、バックグラウンドの光学密度（OD = 0.100）に最も近い OD 値を生じた最高希釈倍率の逆数とした。本分析法のバリデーションを実施する際に、抗 Ipilimumab 抗体の標準品を入手できなかったため、代わりに抗 Ipilimumab 抗体を含む血漿試料を用いた。6 つの血漿試料の抗体価の分析単位内及び分析単位間の変動を調べた結果、抗体価の変動は 4 倍以内（1:1600～1:6400）であった。以上より、本分析法は血漿試料中の抗 Ipilimumab 抗体を測定可能であることが示され、測定結果を基に本分析法はバリデートされたものと考えられた。本分析法は適宜変更されたが、バリデーションが必要になる変更はなかったことから、バリデーションは再度実施しなかった。

2.2.2 ブリッジングELISA法（[redacted]3022）

本分析法において、抗 Ipilimumab 抗体は、マイクロプレートに固定化された Ipilimumab とビオチン結合 Ipilimumab との間でブリッジを形成することから、特異的かつ高感度での抗 Ipilimumab 抗体の検出が可能であった。本分析法の要約は以下のとおりである。

96 穴マイクロプレートのウェルに Ipilimumab（1 µg/mL）のリン酸緩衝生理食塩液を加えて 2～8°C で一晩インキュベーションを行い、ウェルを Ipilimumab でコーティングし、血漿中の抗 Ipilimumab 抗体を捕捉させた。ウェルを洗浄後、ビオチン結合 Ipilimumab をウェルに加え、Ipilimumab に捕捉された抗 Ipilimumab 抗体と結合させた。室温で 1 時間インキュベーションを行った後、ウェルを洗浄し、アルカリフォスファターゼ標識ストレプトアビジンを加えた。室温で 1 時間反応させた後、ウェルを洗浄し、pNPP 溶液を加えた。15 分後、測定波長 405 及び 650 nm でウェル内の酵素反応溶液の吸光度を測定し、405 nm の吸光度から 650 nm の吸光度を差し引き、相対吸光度を求めた。なお、本分析法では、ウサギ抗ヒト IgG ポリクロナール抗血清を陽性対照として用いた。本分析法では、ヒト血漿試料の分析から求めたカットオフ値（OD = 0.090）を採用し、OD 値が 0.090 以下の試料は抗 Ipilimumab 抗体陰性とし、OD 値が 0.090 を上回る試料は抗 Ipilimumab 抗体陽性とした。

本分析法のバリデーションは、ヒト血漿を用いて実施された【モジュール 4.2.2.1-6】。その結果、本分析法は血漿中の抗 Ipilimumab 抗体を特異的かつ高感度で検出可能であることが確認された。また、バリデーションの結果から、血漿中の Ipilimumab が抗 Ipilimumab 抗体の検出に干渉し、抗体陰性と判定される可能性のあることが示された。本分析法はヒト血漿中の抗 Ipilimumab 抗体を特異的かつ高感度で検出可能であったことから、カニクイザル血漿中の抗 Ipilimumab 抗体も検出可能であると判断し、3 ヵ月間間歇投与毒性・有効性試験（[redacted]00006 試験）で得られたカニクイザル血漿試料中の抗 Ipilimumab 抗体の検出に用いた。

2.2.3 ECL法

単回静脈内投与製剤同等性試験（DS07167 試験）、1 ヵ月間間歇投与毒性試験（DS06064 試験）、1 ヵ月間間歇併用投与毒性試験（[redacted]00106 試験）及び反復投与薬理試験（TIB-06-001 試験、Ipilimumab の単独投与又は Ipilimumab と BMS-663513 の併用投与）において、血清試料中の抗 Ipilimumab 抗体を半定量的に測定するため、ECL 法【モジュール 4.2.2.1-7】を開発し、バリデーションを実施した。

本分析法では、薬物未投与のカニクイザル由来のプール血清を陰性 QC 試料として用い、アフィニティークロマトグラフィーにより精製されたサル抗 Ipilimumab 抗体を添加したサル血清を陽性 QC 試料として用いた。さらに、カットポイント［陽性と判断するためのシグナル対ノイズ比（陽性 QC 試料／陰性 QC 試料の比）］を前もって決定するため、薬物未投与のサルの血清（23 ロット分）を分析した。本分析法の概略は以下のとおりである。陰性 QC 試料、陽性 QC 試料及び血清試料を丸底のポリエチレンプレートの各ウェルに加えて 10 倍希釈し、ビオチン結合 Ipilimumab 及びルテニウム標識 Ipilimumab を加えて室温で一晩インキュベーションを行った後、各試料をストレプトアビジン固定化プレートに移した。2 時間のインキュベーションを行った後、トリプロピルアミンを含む MSD Read Buffer T を各ウェルに加え、吸光度を測定した。

その結果、カットポイントは 1.6 であった。血清試料中に遊離型 Ipilimumab が存在しない場合、抗 Ipilimumab 抗体の測定感度は 78.1 ng/mL であった。一方、血清試料中に遊離型 Ipilimumab が濃度 10 µg/mL で存在した場合、抗 Ipilimumab 抗体の測定感度は 600 ng/mL であった。分析単位内の精度は、陽性 QC 試料で 11.7%、陰性 QC 試料では 5.2%であった。プレート間精度は陽性 QC 試料で 15.2%、陰性 QC 試料では 3.6%であった。分析単位間の精度は、陽性 QC 試料で 18.5%、陰性 QC 試料では 13.3%であった。サル血清中の抗 Ipilimumab 抗体は、室温で 26.5 時間安定であり、血清試料の凍結融解を繰返し 6 回行っても安定であった。抗 Ipilimumab 抗体は血清中から高率で回収され、マトリックス効果はみられなかった。血清中に BMS-663513 及び抗 BMS-663513 抗体を濃度 10 µg/mL まで添加した場合、測定結果への影響はみられなかった。また、抗 Ipilimumab 抗体と Ipilimumab との反応の量的関係だけでなく、その特異性を確認するため、陽性反応を示した全試料を免疫除去の実験手法を用いて再分析した。本試験では、陽性反応を示した試料中に Ipilimumab、精製 Ipilimumab $F(ab')_2$、HuCD40Ig 又は IgG1 をあらかじめ添加し、抗 Ipilimumab 抗体の測定を行った。その結果、IgG1 を除き、Ipilimumab、精製 Ipilimumab $F(ab')_2$ 及び HuCD40Ig の添加による抗 Ipilimumab 抗体測定への影響が確認された。

3 吸収

Ipilimumab の投与経路は静脈内のみであるため、吸収試験は実施しなかった。本項では、Ipilimumab を静脈内投与したときの TK 及び PK パラメータを要約する。

3.1 単回投与後の薬物動態

3.1.1 単回静脈内投与製剤同等性試験（DS07167 試験）の血清中Ipilimumab濃度

プロセス C で製造された Ipilimumab とプロセス B で製造された Ipilimumab の PK プロファイルを比較検討した。雌性 4 匹にプロセス B 又はプロセス C で製造された Ipilimumab を 10 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。投与前、投与後 5～10 分、0.5、1、2、4、8、24、48 及び 72 時間及び 7、11、15、22、29、36 及び 42 日に採血して血清試料を調製し、Ipilimumab を ELISA 法により定量した。また、投与前及び投与後毎週採取した血清試料中の抗 Ipilimumab 抗体を ECL 免疫測定法により測定した。なお、Ipilimumab の PK パラメータは、ノンコンパートメント解析により算出した【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.3B】。

本試験は生物学的同等性を検証するための検出力をもたないが、血清中濃度曲線下面積（AUC）値は、他の PK パラメータを含め、プロセス B で製造された Ipilimumab を投与したサルとプロセス C で製造された Ipilimumab を投与したサルとの間で類似していた。そこで、両投与群のデータを合わせ、平均値（N = 8）を求めた。その結果、消失半減期は極めて長く（339 ± 112 時間）、平均滞留時

間（MRT）も長かった（458 ± 128 時間）。CLT は小さく（0.181 ± 0.025 mL/h/kg）、消失半減期が長いことと矛盾しなかった。Vss（80.9 ± 13.8 mL/kg）はサルの血漿量 [2)]と類似していたことから、Ipilimumab は主に血管内に分布することが示唆された。

プロセス B で製造された Ipilimumab の投与を受けた 1 匹が、採血最終日（Day 42）にわずかな抗体陽性反応を示した。また、プロセス C で製造された Ipilimumab の投与を受けた 1 匹の抗体価が、Day 1（投与前）、29、36 及び 42 に減少傾向を示した。2 回目の分析のための血清試料量が足りなかったため、これらの試料の陽性反応及び真の反応性を免疫除去法により確認できなかった。しかしながら、抗体価を示したサルの血清中 Ipilimumab 濃度は、他のサルの同一採取時点での血清中 Ipilimumab 濃度と類似していたことから、血清中の抗体は Ipilimumab の曝露量に影響を及ぼさなかったと考えられた。

3.1.2 3 ヵ月間（79 日間）間歇投与毒性・有効性試験（1416-128 試験）における初回投与後の血漿中Ipilimumab濃度

2 つの異なる製造方法（プロセス B 及びプロセス A）で製造された Ipilimumab の毒性及び有効性を GLP に準拠して検討した。初回投与後 28 日まで採血して得られた血漿試料を分析し、血漿中 Ipilimumab 濃度データから PK パラメータ値を算出した。1 群雌雄各 3 匹にプロセス B で製造された Ipilimumab を 0.1、1 及び 10 mg/kg の用量で静脈内投与し、また、雌雄各 3 匹にプロセス A で製造された Ipilimumab を 10 mg/kg の用量で静脈内投与した。Day 1 の投与後 1、2、4、6、8 及び 24 時間並びに Day 4、8、11、14 及び 29（2 回目投与前）に採血した。血漿試料を ELISA 法（[redacted] 1693）により分析し、PK パラメータ値をノンコンパートメント解析により算出した【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.3A】。なお、本試験における PK は、GLP に準拠して評価された。

プロセス B で製造された Ipilimumab を 0.1 mg/kg の用量で投与したとき、すべての採血時点の血漿中濃度は定量下限（1.2 μg/mL）未満又は定量下限をわずかに上回った程度のため、PK パラメータ値を算出できなかった。プロセス B で製造された Ipilimumab を 1 mg/kg の用量で投与したとき、最終測定可能時点から無限時間までの血漿中濃度曲線下面積値は、0 時間から無限時間までの血漿中濃度曲線下面積［AUC(INF)］の 18%～48%であったことから、AUC(INF)値の信頼性は低いと考えられた。このことから、本投与群では、最高血漿中濃度（Cmax）及び 0 時間から最終測定可能時間までの血漿中濃度曲線下面積［AUC(0-T)］を求めた。

カニクイザルに Ipilimumab を 10 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの PK プロファイルを性別又は製造方法を問わずに評価した。すなわち、性別毎及び製造方法毎のデータを合わせ、PK パラメータの平均値（N = 12）を求めた。その結果、1 mg/kg と 10 mg/kg の用量間で、AUC(0-T)及び Cmax 値の増加の程度は用量比を上回っていた。MRT（233 ± 55.5 時間）及び $t_{1/2}$（203 ± 62.8 時間）は長かった。CLT（0.196 ± 0.0372 mL/h/kg）は小さく、$t_{1/2}$ が長いことと矛盾しなかった。Vss（44.1 ± 6.05 mL/kg）は、サルの血漿量 [2)]と類似していたことから、Ipilimumab は血管内に分布することが示唆された。

3.2 反復投与後の薬物動態

各種の反復投与試験において、カニクイザルに Ipilimumab を同用量で投与したとき、血中 Ipilimumab 濃度は類似していた。

3.2.1 2 週間間歇投与毒性試験（0919-128 試験）の血清中Ipilimumab濃度

雄性 2 匹に 3 mg/kg の用量で、また雌雄各 2 匹に 10 mg/kg の用量で Ipilimumab を Day 1、4 及び 7 に静脈内投与した。Day 1、4 及び 7 の投与前並びに Day 14 の剖検時に採血後、血清試料を調製し、Ipilimumab をフローサイトメトリー法により定量し、抗 Ipilimumab 抗体を[redacted]1699 に準じた分析法により測定した。なお、本試験の安全性評価は GLP に準拠したが、PK 及び免疫原性評価は GLP に準拠しなかった。

濃度データを基に Cmax 及び AUC 値を求めることはできなかった。血清中 Ipilimumab 濃度は雌雄で類似していたが、雄性では 3 及び 10 mg/kg の用量に比例して増加した【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.4A】。Day 7 の Ipilimumab のトラフ濃度は Day 4 のそれの約 2 倍であったことから、Ipilimumab を 3 日に 1 回投与したときの蓄積が示唆された。

3 mg/kg 投与群の 2 匹中 1 匹で、Day 14 に抗 Ipilimumab 抗体価の増加（16 倍）が認められたことから、Ipilimumab に対する抗体反応が起こり得ることが示唆された。抗体価が増加した個体において、Day 14 の血清中 Ipilimumab 濃度は定量下限未満であったが、同群の他の 1 匹の血清中 Ipilimumab 濃度は 79 µg/mL であった。これは Ipilimumab の PK に及ぼす抗 Ipilimumab 抗体の影響と考えられた。

3.2.2 2 週間間歇投与毒性試験（7114-100 試験）の血清中Ipilimumab濃度

雄性 2 匹に 3 mg/kg の用量で、また雌雄各 2 匹に 30 mg/kg の用量で Ipilimumab を Day 1、4 及び 7 に静脈内投与した。Day 4 及び 7 の投与前並びに Day 14 の剖検時に採血し、得られた血液から血清試料を調製し、Ipilimumab をフローサイトメトリー法により定量し、抗 Ipilimumab 抗体を[redacted]1699 により測定した。なお、本試験の安全性評価は GLP に準拠したが、PK 及び免疫原性評価は GLP に準拠しなかった。

濃度データを基に Cmax 又は AUC 値を求めることはできなかった。血清中 Ipilimumab 濃度は雌雄で類似していたが、雄性では Day 4 及び 7 に 3 及び 30 mg/kg の用量比を上回る増加が認められた【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.4B】。最初の 2 週間間歇投与毒性試験（0919-128 試験）と同様に、Day 7 の Ipilimumab のトラフ濃度は Day 4 の約 2 倍であったことから、Ipilimumab を 3 日に 1 回投与したときの蓄積が示唆された。

3 mg/kg 投与群で抗 Ipilimumab 抗体反応が観察されなかったものの、30 mg/kg 投与群の 4 匹中 1 匹では、Day 14 に抗 Ipilimumab 抗体価の 64 倍の増加が認められた。抗 Ipilimumab 抗体価が増加した個体において、Day 14 の血清中 Ipilimumab 濃度は低かった（他の 3 匹の平均血清中濃度は 621 ± 50 µg/mL であったのに対して 241 µg/mL）が、これは Ipilimumab の PK に及ぼす抗 Ipilimumab 抗体の影響と考えられた。

3.2.3 1 ヵ月間間歇投与毒性試験（DS06064 試験）の血清中Ipilimumab濃度

Ipilimumab の単独投与時又は BMS-663513［抗ヒト CD137(4-1BB) mAb］との併用投与時の Ipilimumab 及び抗 Ipilimumab 抗体の PK 並びに免疫原性を GLP に準拠して検討した。雌雄各 5 匹に Ipilimumab（10 mg/kg）を単独で又は BMS-663513（100 mg/kg）の静脈内投与直後に、週 1 回、4 週間静脈内投与した。Day 10（2 回目投与の 2 日後）に、T 細胞依存性抗原であるキーホールリンペットヘモシアニン（KLH）10 mg をすべてのカニクイザルに筋肉内注射した。Ipilimumab 及び抗 Ipilimumab 抗体を分析するため、Day 1、8、15 及び 22 の投与前並びに Day 1 及び 22 の投与後およそ 5～10 分、4 及び

48 時間に採血した。各投与群の 2 匹については、最終投与後 9 週間、週 1 回の頻度で採血した。得られた血液から血清試料を調製し、Ipilimumab を ELISA 法により定量し、抗 Ipilimumab 抗体を ECL 免疫測定法により測定した。

その結果、最終投与後 63 日（Day 85）までの血清試料中に Ipilimumab が検出された【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.4C】。Cmax 及び AUC(0-48 h)値は、Ipilimumab を単独投与したサルと Ipilimumab 及び BMS-663513 を併用投与したサルとで類似していた。曝露量に性差が認められなかったため、雌雄のデータを合わせた。全群のデータ（N = 20）を合わせたとき、週 1 回投与による曝露量の増加が観察された。Day 1 と Day 22 との間で、平均 Cmax 及び AUC(0-48 h)値はそれぞれ 54%及び 66%増加し、また、Day 8 と Day 22 との間で、平均トラフ濃度は 72%増加した。Day 29 から Day 85 にかけて採血した 7 匹の血清中濃度データから算出した $t_{1/2}$ 値は 302 ± 90.3 時間（12.6 ± 3.76 日）であり、1416-128 試験で Ipilimumab を単回投与したときの $t_{1/2}$ に比べて長かった。Ipilimumab の蓄積が認められたが、これは投与間隔が消失半減期よりも短いためと考えられた。

Ipilimumab と BMS-663513 を併用投与した 1 匹で、Day 15 の投与前に採血して得られた血清試料中に抗 Ipilimumab 抗体価のわずかな増加が認められた。本例では、抗体価の増加による PK への明らかな影響はみられなかった。また、本例の Day 15 の投与前以外の血清試料及び他のサルの血清試料では、抗体価の増加はみられなかった。

3.2.4 1 ヵ月間間歇併用投与毒性試験（[redacted]00106 試験）の血漿中Ipilimumab濃度

完全ヒト型抗 PD-1 抗体である MDX-1106 を併用投与したときの Ipilimumab の毒性を GLP に準拠して検討した。1 群雌雄各 5 匹に Ipilimumab 及び MDX-1106 をそれぞれ 3 及び 10 mg/kg（低用量群）並びに 10 及び 50 mg/kg（高用量群）の用量で週 1 回、計 4 回静脈内投与した。Day 1 及び 22 の投与後 1、8 及び 24 時間並びに Day 22 の投与前に採血し、得られた血液から血漿試料を調製し、Ipilimumab を ELISA 法により定量した。また、Day 28 及び Day 58 に採血し、得られた血液から血清試料を調製し、ECL 免疫測定法により抗 Ipilimumab 抗体を測定した。なお、PK 及び免疫原性は GLP に準拠して評価した。

その結果、血漿中 Ipilimumab 濃度は投与量にほぼ比例して増加し、雌雄間で類似していた【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.4D】。Day 1 と Day 22 の濃度値を比較すると、Ipilimumab を週 1 回、計 3 回投与したときのわずかな蓄積が認められた。抗 Ipilimumab 抗体価の増加が、Day 28 で 19 匹（高用量群の 1 匹が Day 23 に死亡）中 2 匹（Ipilimumab 10 mg/kg 投与群の雌雄各 1 匹）に観察され、また、Day 58 で血清試料が得られた 8 匹中 4 匹（3 mg/kg 投与群の 2 匹及び 10 mg/kg 投与群の 2 匹）に観察された。したがって、本試験における抗 Ipilimumab 抗体の総発現率は 32%（19 匹中 6 匹）であった。総発現率 32%は、免疫原性を評価した他の試験における総発現率 8%よりも高い値であり、MDX-1106 の併用投与が原因であると考えられた。

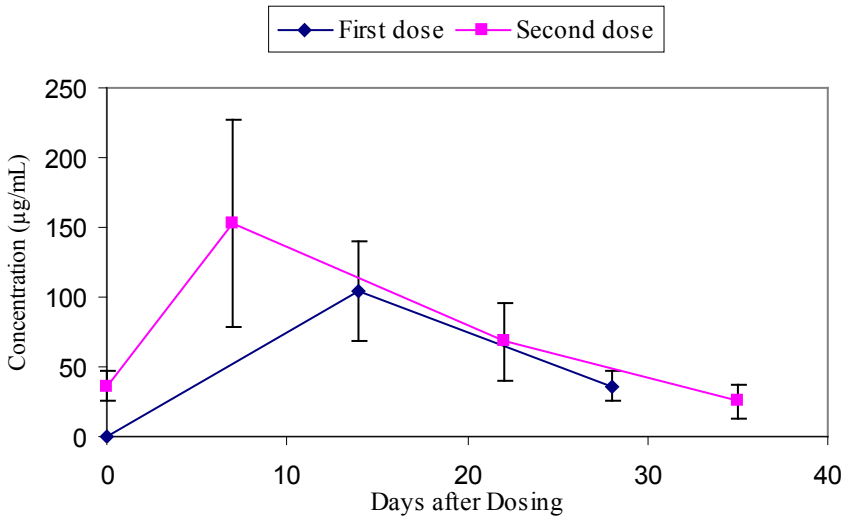
3.2.5 2 ヵ月間間歇投与毒性試験（0992-128 試験）の血漿中Ipilimumab濃度

免疫反応に及ぼす Ipilimumab の影響を評価するため、雌雄各 2 匹に Ipilimumab（10 mg/kg）を Day 1 及び 29 に静脈内投与し、さらに、B 型肝炎ウイルス表面抗原（HBsAg）を Day 2 及び 30 に筋肉内注射した。また、別群（雌雄各 2 匹）に Ipilimumab を上記の群と同様に投与し、さらに Day 2 にオリゴヌクレオチドアジュバントである Oligo-CpG を筋肉内注射した。Day 15、29（投与前）、36、51 及び 64 に採血し、得られた血液から血漿試料を調製し、血漿試料中の Ipilimumab を [redacted] 1693 によ

り定量した。また、Day 64 の血漿試料中の抗 Ipilimumab 抗体を[redacted] 1699 に準じた分析法により測定した。

濃度データを基に Cmax 又は AUC 値を求めることはできなかった。血漿中 Ipilimumab 濃度は、性別又は Oligo-CpG 投与の有無に関係なく類似していた【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.4E】。Ipilimumab は最終投与から 5 週間後（Day 64）でも検出された（25.4 ± 13.0 µg/mL）。初回投与と 2 回目投与の採血時点が一致しなかったが、濃度データ（図 3.2.5-1）から Ipilimumab の蓄積は認められなかった。このことは、Ipilimumab の蓄積がみられた他の反復投与試験結果とは異なっていた。本試験では、抗 Ipilimumab 抗体価の増加はみられなかった。

図 3.2.5-1: 0992-128 試験におけるカニクイザル血漿中Ipilimumab濃度推移（平均値±標準偏差）



3.2.6 3 ヵ月間間歇投与毒性・有効性試験（[redacted]00006 試験）の血漿中Ipilimumab濃度

Ipilimumab の毒性並びに免疫刺激物質（HBsAg、DNP-Ficoll 及び SK-mel 細胞）に対する体液性免疫反応に及ぼす Ipilimumab の影響を検討した。なお、有効性の検討結果は薬理試験の概要文に記載した。雌雄各 3 匹に Ipilimumab（10 mg/kg、静脈内）、HBsAg（10 µg、筋肉内）及び SK-mel（皮下）を Day 1、29 及び 57 に投与し、DNP-Ficoll（100 µg、皮内）を Day 1 及び 29 に投与した。Day 1（投与後 1 及び 24 時間）、14、29（投与前及び投与後 24 時間）、43、57（投与前及び投与後 24 時間）及び 71 に採血し、得られた血液から血漿試料を調製し、Ipilimumab を[redacted]1693 により定量した。Day 14、43 及び 71 の血漿試料中の抗 Ipilimumab 抗体を[redacted] 3022 により測定した。

濃度データを基に Cmax 又は AUC 値を求めることはできなかった。本試験における血漿中 Ipilimumab 濃度【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.4F】は、1416-128 試験及び 01-3460 試験で Ipilimumab を 10 mg/kg の用量で月 1 回投与したときの血漿中濃度と類似していた。血漿中濃度に性差は認められなかった。初回投与（Day 1）と 2 回目投与（Day 29）の投与後 24 時間、14 日及び 28 日の血漿中濃度を比較検討した結果、増加傾向は認められなかった。また、Day 14、43 及び 71 に抗 Ipilimumab 抗体の増加は認められなかった。

3.2.7 3 ヵ月間（79 日間）間歇投与毒性・有効性試験（1416-128 試験）の血漿中Ipilimumab濃度

2 つの異なる製造方法（プロセス B 及びプロセス A）で製造された Ipilimumab の毒性、PK 及び有効性を GLP に準拠して検討した。なお、本試験における Day 1 から Day 29 の投与前までの、Ipilimumab を単回投与したときの薬物動態については 3.1 項に記載した。1 群雌雄各 3 匹にプロセス B で製造した Ipilimumab（0.1、1 及び 10 mg/kg）を月 1 回、計 3 回静脈内投与し、また、別の 1 群雌雄各 3 匹に、プロセス A で製造した Ipilimumab（10 mg/kg）を月 1 回、計 3 回静脈内投与した。さらに、別の 1 群雌雄各 3 匹には、プロセス B で製造した Ipilimumab（1 mg/kg）を週 1 回、計 10 回静脈内投与した。免疫反応を引き起こすため、筋肉内に HBsAg 又は皮下に SK-mel 細胞を投与した。Day 1 の投与後 1、2、4、6、8 及び 24 時間並びに Day 4、8、11、14、29（投与前）、30、43、57（投与前）、58 及び 71 に採血し、得られた血液から血漿試料を調製し、Ipilimumab を [redacted] 1693 により定量した。また、Day 71 の血漿試料中の抗 Ipilimumab 抗体を [redacted] 1699 により測定した。

Ipilimumab を 1 mg/kg の用量で週 1 回投与したとき、全測定時点で Ipilimumab が測定可能であり、トラフ濃度は反復投与に伴って増加し、Day 8 の 5.05 ± 0.48 µg/mL から Day 57 の 30.9 ± 11.2 µg/mL に増加した【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.4G】。

Ipilimumab を 1 及び 10 mg/kg の用量で初回投与したときの濃度データから、Cmax 及び AUC(0-T)値を求めることができたものの【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.3A】、2 回目投与以降の濃度データからは、Cmax 又は AUC 値を求めることはできなかった。

Ipilimumab を 0.1 mg/kg の用量で月 1 回投与したときの血漿中濃度は、全測定時点で定量下限（1.2 µg/mL）付近又は定量下限未満であった。

Ipilimumab を 1 mg/kg の用量で月 1 回投与したとき、各投与後 24 時間（Day 1、30 及び 58）の平均血漿中濃度は、それぞれ 7.57、12.2 及び 10.2 µg/mL であった。一方、各投与後 14 日（Day 14、43 及び 71）の平均血漿中濃度は、それぞれ 2.65、3.59 及び 2.42 µg/mL であった。初回及び 2 回目投与後 28 日（Day 29 及び 57 の投与前）の平均血漿中濃度は、それぞれ定量下限未満及び 1.7 µg/mL であった。これらのデータから、1 mg/kg の用量で月 1 回投与したときの Ipilimumab の蓄積はないことが示された。

プロセス B 又はプロセス A で製造した Ipilimumab を 10 mg/kg の用量で月 1 回投与したとき、Ipilimumab の血漿中濃度は類似していたことから、両投与群の濃度データを合わせた（N = 12）。Ipilimumab を 10 mg/kg の用量で月 1 回、計 3 回投与したとき、各投与後 24 時間（Day 1、30 及び 58）及び 14 日（Day 14、43 及び 71）の平均血漿中濃度は、それぞれ 197、314 及び 320 µg/mL 並びに 47.7、64.6 及び 61.3 µg/mL であった。初回及び 2 回目投与後 28 日（Day 29 及び 57）の平均血漿中濃度は、それぞれ 14.6 及び 19.0 µg/mL であった。したがって、Ipilimumab を 10 mg/kg の用量で投与したとき、初回投与と 2 回目投与の間で血漿中濃度の増加傾向が認められ、投与後 24 時間の濃度の増加が顕著であった。

2 週間間歇投与毒性試験（7114-100 試験）の 3 及び 30 mg/kg 投与群の曝露量と同様に、1 mg/kg から 10 mg/kg への用量増加に伴い、曝露量は用量比を上回る増加を示した。また、0.1 mg/kg 投与群の血漿中濃度は大部分の測定時点で定量下限未満であったため、得られた血漿中濃度データはわずかであったが、0.1 mg/kg から 1 mg/kg への用量増加に伴い、血漿中濃度が用量比を上回る増加を示した。

Ipilimumab に対する抗体反応が 3 匹で観察された。プロセス B で製造された Ipilimumab を 1 mg/kg の用量で週 1 回投与した 2 匹で、抗体価の軽度な増加が認められたが、Ipilimumab の PK に影響はみられなかった。プロセス A で製造した Ipilimumab を 10 mg/kg の用量で月 1 回投与した 6 匹中 1 匹で、抗体価が顕著に（256 倍）増加した。本例における Day 29、43、57 及び 71 の血漿中 Ipilimumab 濃度は定量下限未満であり、プロセス A 又はプロセス B で製造した Ipilimumab を 10 mg/kg の用量で投与した 11 匹の血漿中濃度（平均値 ± 標準偏差）は、Day 29、43、57 及び 71 でそれぞれ 14.6 ± 5.48、64.6 ± 9.26、19.0 ± 5.37 及び 61.3 ± 17.5 μg/mL であった。また、抗体価の増加がみられた 1 匹の Day 58 の血漿中 Ipilimumab 濃度は 78.3 μg/mL（他の 11 匹では 342 ± 106 μg/mL）であったことから、本例における抗 Ipilimumab 抗体反応は、Ipilimumab の PK に影響を及ぼしたことが示唆された。プロセス A で製造した Ipilimumab を 10 mg/kg の用量で月 1 回、計 3 回投与した 6 匹中 1 匹で、抗 Ipilimumab 抗体反応が Day 71 に認められた。プロセス B で製造した Ipilimumab を 0.1、1 及び 10 mg/kg の用量で月 1 回、計 3 回投与した 18 匹では、抗 Ipilimumab 抗体反応が認められなかった。また、プロセス B で製造した Ipilimumab を週 1 回、計 10 回投与した 6 匹中 2 匹で、抗 Ipilimumab 抗体反応が Day 71 に認められた。これらの結果から、プロセス A で製造した Ipilimumab とプロセス B で製造した Ipilimumab の免疫原性に違いはないと考えられた。

3.2.8 反復投与薬理試験（TIB-06-001 試験）の血清中及び血漿中Ipilimumab濃度

サル免疫不全ウイルス DNA ワクチンを Day 1、2、29、30、57、58、85 及び 86 に筋肉内注射したカニクイザルの免疫反応に及ぼす、Ipilimumab 又は BMS-663513 の単独投与並びに両剤の併用投与の影響を検討した。Ipilimumab（10 mg/kg）を単独で又は BMS-663513（10 mg/kg）と併用して Day 4、9、30、32、58、60、86 及び 88 に静脈内投与した。なお、Ipilimumab を単独投与した 6 匹中 1 匹（動物番号 085-337）が Day 58 にインフュージョンリアクションを示したため、Day 60、86 及び 88 の投与を中止した。Day 4、9、30、32、58、60、86 及び 88 の Ipilimumab 投与後約 5 分に採血し、血清試料を調製した。本例については、Day 211 に投与を再開し、投与前、投与後 5 分、0.5、2 及び 24 時間に採血した。また、上記とは別に全例から Day 16、44、72、116、185 及び 212 に採血し、血漿試料を調製した。血清試料中及び血漿試料中の Ipilimumab を ELISA 法により定量した。ただし、血清中の Ipilimumab を定量するための ELISA 法のバリデーションを実施したが、血漿中の Ipilimumab を定量するための ELISA 法のバリデーションを実施しなかったため、血漿中濃度データは参考値扱いとした。抗 Ipilimumab 抗体は、バリデーションを実施した ECL 免疫測定法により測定した。

その結果、血清試料中及び血漿試料中に Ipilimumab が検出された【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.4H】。血清中及び血漿中 Ipilimumab 濃度は、Ipilimumab の単独投与群と Ipilimumab 及び BMS-663513 の併用投与群で類似しており、性差は認められなかった。Day 58 にインフュージョンリアクションを示した 1 匹（動物番号 085-337）の Day 4、9 及び 16 の血中 Ipilimumab 濃度は、他の 11 匹の平均血中 Ipilimumab 濃度と類似していた。しかしながら、本例の Day 30、32、44、58、72、116 及び 185 の血中 Ipilimumab 濃度は、他の 11 匹の平均血中 Ipilimumab 濃度よりも著しく低く、Day 44 では定量下限未満（< 0.8 μg/mL、他の 11 匹では 126 ± 44 μg/mL）、Day 58 では 72.8 μg/mL（他の 11 匹では 344 ± 85 μg/mL）であった。

Ipilimumabに対する抗体反応が2匹で検出された。Ipilimumabを単独投与した1匹(動物番号085-309)で、抗 Ipilimumab 抗体価のわずかな増加が Day 116 に認められたが（他の測定時点の抗体価が 10 未満に対して 25）、血中 Ipilimumab 濃度に及ぼす影響は認められなかった。なお、Day 185 及び 212 では十分な量の試料が得られず、抗体価を測定できなかった。また、Day 58 にインフュージョンリアクションを示した 1 匹（動物番号 085-337）では、Day 16 に抗体価の顕著な増加（抗体価 = 625）

が観察された。Day 30 及び 32 に抗体は検出されず、また、Day 60、86 及び 88 には抗体価の測定に必要な量の試料が得られなかったものの、その他の試験日では抗体価の顕著な増加が認められ、Day 44、72、116 及び 211 の抗体価は 78000 を上回った。上述のとおり、動物番号 085-337 における Day 30 以降の血中 Ipilimumab 濃度は、他のサルの平均血中濃度よりも著しく低かった。投与を Day 211 に再開した結果、投与後 5 分の血中濃度（347 μg/mL）は、他の 11 匹の Day 30、58 及び 86 の平均血中濃度に類似しており、本例の Day 58 の血中濃度（72.8 μg/mL）よりも高かった。このことは約 22 週間の休薬で免疫反応が弱くなったことを示唆するが、Day 211 の投与前の抗体価は 78000 を上回る高値であり、Ipilimumab 濃度は最終採血時（投与後 24～25 時間）に低下していた。したがって、動物番号 085-337 で Ipilimumab の血中濃度が低いのは、Ipilimumab の消失速度が抗体の影響により増加したためと考えられた。

3.2.9 6 ヵ月間間歇投与毒性試験（01-3460 試験）の血漿中Ipilimumab濃度

カニクイザルに Ipilimumab を単独で又は免疫反応を増大させる SK-mel 細胞を併用して投与し、Ipilimumab の毒性及び有効性を GLP に準拠して検討した。Day 0、28、56、84 及び 140 に、雌雄各 2 匹に Ipilimumab（10 mg/kg）を単独投与し、雌雄各 3 匹に Ipilimumab（10 mg/kg）と SK-mel 細胞（5×10^6 cells）を併用投与した。なお、Ipilimumab は静脈内投与し、SK-mel 細胞は皮下投与した。Day 1、13、28（投与前）、29、41、56（投与前）、57、69、84（投与前）、97、112、125、140（投与前）、141 及び 167 又は 168 に採血し、得られた血液から血漿試料を調製し、Ipilimumab を [redacted] 1693 により定量した。また、Day 112 及び 141 の血漿試料中の抗 Ipilimumab 抗体を [redacted] 1699 により測定した。なお、本試験の安全性評価は GLP に準拠したが、PK 及び免疫原性評価は GLP に準拠しなかった。

その結果、血漿試料中に Ipilimumab が検出された【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.4I】。性差は認められず、SK-mel 細胞の投与による影響もみられなかったことから、すべてのデータ（N = 10）を合算した結果、各回投与後の Ipilimumab 濃度に増加傾向がみられ、Day 13（初回投与の 13 日後）と Day 97（4 回目投与の 13 日後）の間では 70 ± 38%の有意な増加がみられた（$p < 0.01$、一元配置分散分析）。

Day 112（4 回目投与の 4 週間後）又は Day 141（最終投与の 1 日後）に抗 Ipilimumab 抗体価の増加は認められなかった。

4 分布

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（薬食審査発 0323 第 1 号、平成 24 年 3 月 23 日）に基づき、Ipilimumab の分布試験を行わなかった。通常の分布試験は、放射性同位体で標識された薬物を用いて実施される。しかしながら、放射性同位体で標識された蛋白は、*in vivo* での代謝が速く、小さな分子へと分解されて他の蛋白及びペプチドに取り込まれて再利用されることから、放射能測定又はオートラジオグラフィーのデータに基づく薬物の組織内分布の解釈は困難と考えられた。以上の理由から、Ipilimumab についてもその分布に関する検討は行わなかった。また、Ipilimumab の血清蛋白結合を評価するための試験も行わなかった。

3 ヵ月間間歇投与毒性・有効性試験（1416-128 試験）及び単回静脈内投与製剤同等性試験（DS07167 試験）において、カニクイザルに Ipilimumab を 10 mg/kg の用量で静脈内投与したときの Vss 値は、それぞれ 44.1 ± 6.05 及び 80.9 ±13.8 mL/kg で、サルの血漿量 [2)] と類似していたことから、Ipilimumab は血管外には分布しないことが示唆された【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.3A】【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.3B】。

妊娠カニクイザルに Ipilimumab を 10 又は 30 mg/kg の用量で、妊娠 20～22 日から分娩まで 3 週間に 1 回の頻度で計 6 回静脈内投与した。その結果、母動物の乳汁中 Ipilimumab 濃度（母動物血清中 Ipilimumab 濃度の 0.2%～0.4%）は分娩後 21 日まで低かったことから、Ipilimumab の乳汁への移行はほとんどないことが示された【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5-7】。また、出生児の血清中 Ipilimumab 濃度は分娩後 3 ヵ月までの母動物の血清中 Ipilimumab 濃度と類似していたことから、母動物及び出生児の Ipilimumab 消失速度は同様であることが示された。乳汁中 Ipilimumab 濃度が著しく低かったことから、出生児の血清中 Ipilimumab は出生前の曝露に起因し、出生後の乳汁摂取に起因しないことが示された。このことから、Ipilimumab が胎盤を通過することが示唆された。

5 代謝

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（薬食審査発 0323 第 1 号、平成 24 年 3 月 23 日）において、「バイオ医薬品の期待される代謝は、小さなペプチド及び各アミノ酸への分解である。したがって、その代謝経路は一般によく分かっている。一般の医薬品で実施される従来の生体内変化を調べる試験は必要ない」と記載されており、Ipilimumab についてもその代謝に関する検討は行わなかった。

6 排泄

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（薬食審査発 0323 第 1 号、平成 24 年 3 月 23 日）において、「物質収支を評価するための画一的な試験からはあまり有益な情報は得られない」と記載されていることから、Ipilimumab についてもその排泄に関する検討は行わなかった。

7 薬物動態学的薬物相互作用

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（薬食審査発 0323 第 1 号、平成 24 年 3 月 23 日）に基づき、動物における Ipilimumab の代謝及び代謝経路に関する検討は行わなかった。モノクローナル抗体は、*in vivo* においてチトクローム P450 酵素に依存しない生化学的経路により小さなペプチド及びアミノ酸へと分解される。したがって、Ipilimumab のような典型的なモノクローナル抗体は、チトクローム P450 酵素により代謝される化合物との相互作用を引き起こさないと考えられた。

Ipilimumab と他の化合物との薬物相互作用を検討するための試験は行わなかったが、Ipilimumab を単独投与したとき、又は Ipilimumab 及び BMS-663513 を併用投与したときの毒性を検討した GLP 試験（DS06064 試験）において、Ipilimumab の単独投与時と Ipilimumab 及び BMS-663513 の併用投与時の Cmax 又は AUC(0-48h)値は類似していた【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.4C】。本試験デザインは、BMS-663513 の PK に及ぼす Ipilimumab の影響を評価するものではないが、Ipilimumab と BMS-663513 との間に薬物動態学的な相互作用は認められなかった。

8 その他の薬物動態試験

該当試験なし。

9 考察及び結論

カニクイザルに Ipilimumab を単回静脈内投与したときの PK は、消失半減期が長いこと、総クリアランスが小さいこと及び定常状態分布容積が小さいことが特徴的であった。用量が 1 つ以上の反復投与

TK 試験の結果から、Ipilimumab の全身曝露量は用量の増加に伴って増加した。1～10 mg/kg 及び 3～30 mg/kg の用量範囲において、曝露量は用量比以上の増加を示した。しかしながら、3 及び 10 mg/kg の間では、曝露量は用量に比例して増加した。PK に性差は認められなかった。概して、1 mg/kg 以上の用量及び投与間隔が 1 ヵ月未満の場合には、Ipilimumab の蓄積傾向が認められ、消失半減期が長いことと一致した。プロセス A で製造した Ipilimumab の PK とプロセス B で製造した Ipilimumab の PK は類似していた。また、プロセス B で製造した Ipilimumab の PK とプロセス C で製造した Ipilimumab の PK は類似していた。

概して、Ipilimumab はサルで顕著な免疫原性を示さなかったが、少数例［免疫原性試験の 106 匹中 9 匹（8%）］で、抗 Ipilimumab 抗体反応が陽性であった。なお、[redacted]00106 試験で抗 Ipilimumab 抗体反応が全測定数の 32%に認められたが、これは免疫活性化剤 MDX-1106 の併用投与により Ipilimumab に対する免疫反応が増大したためと考えられ、解析から除外した。抗 Ipilimumab 抗体反応が陽性であった 9 匹のうちの 7 匹で、Ipilimumab の投与頻度は月に 1 回以上であった。蛋白医薬品の投与頻度を増やすと免疫原性の発現が増大することから [3)]、月 1 回以上の Ipilimumab 投与により抗 Ipilimumab 抗体反応が陽性になったと考えられた。9 匹中 4 匹で、抗 Ipilimumab 抗体価が増加し、血中 Ipilimumab 濃度が低かった。これらの結果から、Ipilimumab の PK に影響を及ぼす抗 Ipilimumab 抗体との反応が起こり得ることが示唆された。しかしながら、Ipilimumab を 3 mg/kg の用量で 3 日に 1 回投与したとき（0919-128 試験）、30 mg/kg の用量で 3 日に 1 回投与したとき（7114-100 試験）、10 mg/kg の用量で毎月の初週に 2 回投与したとき（TIB-06-001 試験）及び 10 mg/kg の用量で月に 1 回投与したとき（1416-128 試験）、いずれの投与計画でも Ipilimumab の PK に及ぼす影響が認められたため、投与計画と PK に及ぼす影響の発現との関連性を明らかにすることができなかった。Ipilimumab はヒト型抗体であり、サル体内では異物として認識されるため、免疫原性の発現が予測されたが、サルにおける免疫原性の程度から、ヒトにおける免疫原性を予測することは困難であると考えられた。プロセス A、B 及び C でそれぞれ製造した Ipilimumab に免疫原性の違いは認められなかった。

異なる抗 Ipilimumab 抗体分析法がそれぞれ違った試験で使用されたため、免疫原性の比較検討は困難であると考えられた。さらに、試料中の薬物が抗体の検出に影響を及ぼす（抗体が薬物によって捕獲される）ため [4)]、薬物濃度が低いとき、可能ならば消失半減期の 6～7 倍の時期に試料を採取することが推奨される [5)]。しかしながら、1416-128 試験、0919-128 試験、7114-100 試験及び [redacted]00006 試験では、Ipilimumab の最終投与後から消失半減期（DS06064 試験の $t_{1/2}$ = 302 時間を使用）の 2 倍以内の時間に採取した試料を用いて免疫原性を評価した。また、DS06064 試験、0992-128 試験及び 01-3460 試験では、投与後から消失半減期の 5 倍以内の時間、すなわち血清中又は血漿中 Ipilimumab 濃度（7.3 μg/mL 以上）が理論上抗体分析に干渉し得る範囲内にあるとき、免疫原性を評価した。したがって、いくつかの試料で抗体反応が検出されなかった可能性があり、また、抗体反応は実測値よりも大きかった可能性がある。

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（薬食審査発 0323 第 1 号、平成 24 年 3 月 23 日）に基づき、Ipilimumab の組織内分布、代謝及びマスバランスに関する検討は行わなかった。

妊娠カニクイザルを用いた Ipilimumab 投与試験結果から、Ipilimumab は胎盤を通過するものの、乳汁中にほとんど移行しないことが示された。これらの試験結果から、Ipilimumab の投与を受けている女性の胎児は Ipilimumab に曝露される可能性があるものの、Ipilimumab の投与を受けている女性から授乳中の乳児は Ipilimumab にほとんど曝露されないことが示唆された。

10 参考文献

1) Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation, May 2001. US Food and Drug Administration.

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

3) Working PK. Potential effects of antibody induction by protein drugs. In: Ferraiolo BL, Mohler MA Gloff CA, eds. Protein Pharmacokinetics and Metabolism. New York: Plenum Press, 1992, pp 73-92.

4) Tang L, Persky AM, Hochhaus G, Meibohm B. Pharmacokinetic aspects of biotechnology products. J Pharm Sci. 2004; 93:2184-2204.

5) Guideline on the Clinical Investigation of the Pharmacokinetics of Therapeutic Proteins. CHMP/EWP/89249/2004, 24 Jan 2007. European Medicines Agency.

CTD 第 2 部

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

ブリストル・マイヤーズ株式会社

目次

1 薬物動態試験：一覧表....3
2 分析方法及びバリデーション試験....4
3 薬物動態試験：単回投与後の吸収....5
4 薬物動態試験：反復投与後の吸収....8
5 薬物動態試験：分布 21
6 薬物動態試験：蛋白結合....21
7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験....22
8 その他の分布試験 24
9 薬物動態試験：*In vivo* での代謝....24
10 薬物動態試験：*In vitro* での代謝....24
11 薬物動態試験：推定代謝経路....24
12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害....24
13 薬物動態試験：排泄 24
14 薬物動態試験：胆汁中排泄....24
15 薬物動態試験：薬物相互作用....24
16 薬物動態試験：その他....24

1 薬物動態試験：一覧表

Table 2.6.5.1: Pharmacokinetics: Overview

			Test Article: Ipilimumab		
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Document Control Number**	**Location in Dossier**
Absorption					
Single Dose	Monkey	IV	[redacted]	930009973	4.2.2.2.1
Single Dose	Monkey	IV	Syracuse	930032302	4.2.2.2.2
Repeated Dosing, 2 weeks	Monkey	IV	[redacted]	930009982	4.2.2.2.3
Repeated Dosing, 2 weeks	Monkey	IV	[redacted]	930009970	4.2.2.2.4
Repeated Dosing, 3 monthly doses	Monkey	IV	[redacted]	930021733	4.2.2.2.8
Repeated Dosing, 4 weekly doses	Monkey	IV	Syracuse	930021064	4.2.2.2.5
Repeated Dosing, 4 weekly doses	Monkey	IV	[redacted]	930036346	4.2.2.2.6
Repeated Dosing, 2 monthly doses	Monkey	IV	[redacted]	930009968	4.2.2.2.7
Repeated Dosing, 3 monthly doses or 10 weekly doses	Monkey	IV	[redacted]	930009973	4.2.2.2.1
Repeated Dosing, doses on Days 4, 9, 30, 32, 58, 60, 86 and88	Monkey	IV	Bristol-Myers Squibb	930022368	4.2.2.2.9
Repeated Dosing, doses on Days 0, 28, 56, 84 and 140	Monkey	IV	[redacted]	930009980	4.2.2.2.10
Distribution					
Infant / maternal serum concentration ratio	Monkey	IV	[redacted]	930056635	4.2.2.3.1
Distribution into milk	Monkey	IV		930056635	4.2.2.3.1
Metabolism					
None					
Excretion					
None					
Other					
None					

2 分析方法及びバリデーション試験

Table 2.6.5.2: Analytical Methods

Species **Method Number**	**Cynomolgus Monkey** [redacted] **1477-00**	**Cynomolgus Monkey** [redacted] **1693**	**Cynomolgus Monkey** [redacted] **267.3**	**Cynomolgus Monkey** [redacted] **267.5**
Validation	Not validated	Reference No.VR1794		
Matrix	Serum	Plasma	Serum	Plasma
Analyte	Ipilimumab	Ipilimumab	Ipilimumab	Ipilimumab
Method	Flow Cytometry	ELISA	ELISA	ELISA
Standard Curve Range	0.001 - 20 µg/mL	1.2 - 11.1 µg/mL	0.4 - 25.6 µg/mL	0.4 - 25.6 µg/mL
Regression Model	Linear regression	Four parameter logisitic	Four parameter logisitic	Four parameter logisitic
Precision: (% CV)				
Intra Assay	ND	≤ 17%	≤ 4.45%	≤ 8.3%
Inter Assay	ND	≤ 20%	≤ 4.78%	≤ 6.9%
Accuracy (%Deviation)	ND	Within ± 31%	Within ± 9.1%	Within ± 12.9%
Stability				
Room Temperature			26 h	24 h
4°C		7 days		
-70°C			25 days	25 days
Freeze Thaw		3 freeze-thaws	7 freeze-thaws	4 freeze-thaws
DCN	930021714	930021725	930018676	930029217
Documents Where Methods Were Used	930009982, 930009970	930009968, 930009980, 930009973, 930021733	930021064, 930032302, 930022368	930036346
Additional Information: ND = not determined				

3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

Table 2.6.5.3A: Pharmacokinetics: Absorption After a Single Dose

Study Description or Title: Pharmacokinetics of Ipilimumab in Cynomolgus Monkeys after a Single Dose

Test Article: Ipilimumab
Study Type: GLP
Study No./Document Control Number: 1416-128 / 930009973
Location in Dossier: 4.2.2.2.1

Species: Cynomolgus monkey
Gender (M/F) / Number of Animals: M/3 and F/3 (M/6 and F/6 for combined 10 mg/kg data)
Feeding condition: Fed
Vehicle/Formulation: Phosphate-buffered saline
Method of Administration: Intravenous injection
Dose (mg/kg): 1, 10 (Process B-[redacted] L), 10 (Process A)
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.): Plasma
Analyte: Ipilimumab
Assay: ELISA, [redacted] 1693

PK parameters (mean ± SD):

Treatment:	**Process B-[redacted] L** 1 mg/kg		**Process A** 10 mg/kg		**Process B-[redacted] L** 10 mg/kg		**Combined Process A and Process B-[redacted] L 10 mg/kg (N = 12)**
Sex:	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Males and Females**
Cmax (µg/mL)	27.6 ± 2.97	21.7 ± 2.69	459 ± 68.7	420 ± 49.1	560 ± 97.4	503 ± 96.6	486 ± 87.8
AUC(0-T)[a] (µg•h/mL)	1,610 ± 109[b]	1,730 ± 519[c]	44,900 ± 13,600[d]	45,300 ± 7,980	51,600 ± 2,630	49,600 ± 2,490	47,800 ± 7,490
AUC(INF) (µg•h/mL)	NC	NC	48,900 ± 15,200	48,200 ± 10,600	59,500 ± 4,350	53,900 ± 1,310	52,600 ± 9,410
CLT (mL/h/kg)	NC	NC	0.217 ± 0.0572	0.214 ± 0.0425	0.169 ± 0.0118	0.186 ± 0.00456	0.196 ± 0.0372
Vss (mL/kg)	NC	NC	38.3 ± 5.76	43.1 ± 3.51	50.0 ± 3.69	44.9 ± 6.15	44.1 ± 6.05
T1/2 (h)	NC	NC	169 ± 76.4	173 ± 52.4	275 ± 38.8	194 ± 24.7	203 ± 62.8
MRT (h)	NC	NC	184 ± 44.5	207 ± 45.5	298 ± 33.9	241 ± 27.4	233 ± 55.5

Table 2.6.5.3A: Pharmacokinetics: Absorption After a Single Dose

Study Description or Title: Pharmacokinetics of Ipilimumab in Cynomolgus Monkeys after a Single Dose

Test Article: Ipilimumab
Study Type: GLP
Study No./Document Control Number: 1416-128 / 930009973
Location in Dossier: 4.2.2.2.1

Additional Information: The monkeys also received hepatitis B surface antigen (10 μg) intramuscularly or SK-mel vaccine ($5x10^6$ cells) subcutaneously to induce an immune response. Ipilimumab tested was produced using 2 different manufacturing processes (Process B-[redacted] L and Process A).
The single-dose data in this table were obtained from monkeys in the 29 days following the first of 3 monthly doses of ipilimumab; the repeat-dose data from this study are summarized in Table 2.6.5.4G. Other groups of animals in this study received 0.1 or 1 mg/kg monthly IV doses or 1 mg/kg weekly IV doses of Process B-[redacted] L ipilimumab. In the monthly 0.1-mg/kg dose group, plasma levels of ipilimumab were below or just above the lower limit of quantification at all time points, so no PK parameters could be calculated. In the monthly 1-mg/kg dose group, the extrapolated area under the plasma concentration vs time curve (AUC) values from the last quantified time point to infinity were 18-48% of the AUC(INF), indicating that the AUC(INF) values may be unreliable, so only Cmax and AUC(0-T) were calculated. Because of the short dosing interval relative to the T1/2 of ipilimumab, PK parameters were not calculated for the weekly 1-mg/kg dose group.
SD = standard deviation, NC = not calculated

[a] Unless otherwise indicated, AUC(0-672 h).

[b] For all animals, AUC(0-312 h)

[c] For 2 animals, AUC(0-312 h)

[d] For 1 animal, AUC(0-312 h)

Table 2.6.5.3B: Pharmacokinetics: Absorption After a Single Dose

Study Description or Title:	Pharmacokinetics of Ipilimumab in Cynomolgus Monkeys after a Single Dose		
		Test Article:	Ipilimumab
		Study Type:	Exploratory
		Study No./Document Control Number:	DS07167 / 930032302
		Location in Dossier:	4.2.2.2.2
Species:	Cynomolgus monkey		
Gender (M/F) / Number of Animals:	F/4		
Feeding condition:	Fed		
Vehicle/Formulation:	20 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 1% mannitol, 100 µM DTPA, 0.01% Polysorbate 80		
Method of Administration:	Intravenous injection		
Dose (mg/kg):	10		
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.):	Serum		
Analyte:	Ipilimumab		
Assay:	ELISA, [redacted]		

PK parameters (mean ± SD):

Treatment:	**Process B**	**Process C**	**Combined Process B and Process C (N = 8)**
Cmax (µg/mL)	252 ± 13.0	234 ± 29.9	243 ± 23.6
AUC(0-1008 h) (µg•h/mL)	52,100 ± 4810	46,700 ± 4630	49,400 ± 5240
AUC(INF) (µg•h/mL)	57,500 ± 4950	55,200 ± 12,100	56,400 ± 8640
CLT (mL/h/kg)	0.175 ± 0.0148	0.187 ± 0.0338	0.181 ± 0.0249
Vss (mL/kg)	71.7 ± 10.6	90.2 ± 9.98	80.9 ± 13.8
T1/2 (h)	307 ± 71.1	370 ± 146	339 ± 112
MRT (h)	410 ± 48.8	507 ± 173	458 ± 128

Additional Information: Ipilimumab tested was produced using 2 different manufacturing processes (Process B and Process C). SD = standard deviation.

4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

Table 2.6.5.4A: Pharmacokinetics: Absorption After Repeated Doses

Study Description or Title:	Serum Ipilimumab Concentrations in a Two-week Intermittent-dose Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys			
			Test Article:	Ipilimumab
			Study Type:	GLP (PK and immunogenicity assessments were exploratory)
			Study No./Document Control Number:	Study 0919-128 / 930009982
			Location in Dossier:	4.2.2.2.3
Species:	Cynomolgus monkey			
Gender (M/F) / Number of Animals:	M/2 (3 and 10 mg/kg) and F/2 (10 mg/kg)			
Feeding condition:	Fed			
Vehicle/Formulation:	Phosphate-buffered saline			
Method of Administration:	Intravenous injection			
Dose (mg/kg):	3 (males) and 10 (males and females) on Days 1, 4, and 7			
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.):	Serum			
Analyte:	Ipilimumab			
Assay:	Flow cytometry assay, [redacted] 1477-00			
Dose (mg/kg):	**3**	**10**	**10**	**10**
Sex:	**Male**	**Male**	**Female**	**Male and Female**
PK parameters:	**Ipilimumab Serum Concentration (µg/mL): {individual values} Mean**			**Mean ± SD (N = 4)**
Study Day				
Day 4 (predose)	{23.7, 52.3} 38.0	{106, 135} 121	{87.5, 162} 125	123 ± 32.7
Day 7 (predose)	{82.9, 84.8} 83.9	{228, 248} 238	{247, 237} 242	240 ± 9.42
Day 14 (at necropsy)	79.0[a]	{281, 257} 269	{276, 203} 239	254 ± 35.7
Additional Information: SD = standard deviation				

[a] The value of one animal was below detectable limit; this animal exhibited a 16-fold increase in anti-ipilimumab antibody titer and was the animal in the study that exhibited an increase. The value of the remaining animal is shown.

Table 2.6.5.4B: Pharmacokinetics: Absorption After Repeated Doses

Study Description or Title:	Serum Ipilimumab Concentrations in a Two-week Intermittent-dose Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys			
			Test Article:	Ipilimumab
			Study Type:	GLP (PK and immunogenicity assessments were exploratory)
			Study No./Document Control Number:	7114-100 / 930009970
			Location in Dossier:	4.2.2.2.4
Species:	Cynomolgus monkey			
Gender (M/F) / Number of Animals:	M/2 (3 and 30 mg/kg) and F/2 (30 mg/kg)			
Feeding condition:	Fed			
Vehicle/Formulation:	Phosphate-buffered saline			
Method of Administration:	Intravenous injection			
Dose (mg/kg):	3 and 30 on Days 1, 4, and 7			
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.):	Serum			
Analyte:	Ipilimumab			
Assay:	Flow cytometry assay, [redacted] 1477-00			
Dose (mg/kg):	**3**	**30**	**30**	**30**
Sex:	**Male**	**Male**	**Female**	**Male and Female**
PK parameters:	**Ipilimumab Serum Concentration (µg/mL): {individual values} Mean**			**Mean ± SD (N = 4)**
Study Day				
Day 4 (predose)	{22.1, 17.9} 20.0	{388, 459} 424	{313, 319} 316	370 ± 68.5
Day 7 (predose)	{53.9, 43.6} 48.8	{640, 799} 719	{687, 603} 645	682 ± 85.1
Day 14 (at necropsy)	{51.1, 59.5} 55.3	{576, 674} 625	{612, 241[a]} 427	526 ± 194
Additional Information: SD = standard deviation				

[a] This animal exhibited a 64-fold increase in anti-ipilimumab antibody titer and was the only animal in the study that exhibited an increase.

Table 2.6.5.4C: Pharmacokinetics: Absorption After Repeated Doses

Study Description or Title:	Pharmacokinetics of Ipilimumab in a One-month Intermittent-dose Combination Toxicity Study with BMS-663513 in Cynomolgus Monkeys
Test Article:	Ipilimumab
Study Type:	GLP
Study No./Document Control Number:	DS06064 / 930021064
Location in Dossier:	4.2.2.2.5
Species:	Cynomolgus monkey
Gender (M/F) / Number of Animals:	M/5 and F/5 through Day 22, then M/2 and F/2
Feeding condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	Ipilimumab 20 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 1% mannitol, 100 µM DTPA, 0.01% Polysorbate 80 BMS-663513 in 5 mM succinate buffer, pH 5, containing 2 mg/mL poloxamer 188 in saline
Method of Administration:	Intravenous injection
Dose:	Ipilimumab, 10 mg/kg and BMS-663513, 100 mg/kg on Days 1, 8, 15, 22
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.):	Serum
Analyte:	Ipilimumab
Assay:	Ipilimumab cynomolgus monkey serum ELISA

PK parameters (Mean ± SD):

Treatment:	**Ipilimumab alone**	**Ipilimumab alone**	**Ipilimumab and BMS-663513**	**Ipilimumab and BMS-663513**	**All Animals** (N = 20)
Sex:	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male and Female**
Cmax Day 1 (µg/mL)	209 ± 14.9	233 ± 25.1	225 ± 19.3	212 ± 38.4	220 ± 25.8
Cmax Day 22 (µg/mL)	352 ± 35.7	368 ± 25.6[a]	351 ± 21.3	286 ± 55.3	339 ± 46.5[b]
AUC(0-48 h) Day 1 (µg•h/mL)	7,070 ± 622	7,220 ± 731	7,730 ± 1,840	6,580 ± 548	7,160 ± 1,080
AUC(0-48 h) Day 22 (µg•h/mL)	13,000 ± 1730	12,600 ± 2,170 [a]	12,000 ± 1,610	10,100 ± 2,470	11,900 ± 2,160 [b]
AUC(0-168 h) Day 1 (µg•h/mL)	17,500 ± 1,830	17,700 ± 1,760	18,800 ± 4,990	16,100 ± 1,470	17,500 ± 2,830
AUC(0-168 h) Day 1 (µg•h/mL) animals on study after Day 24 [c]	16,300 15,100	16,800 17,200	27,400 15,900	17,300 17,900	18,000 ± 3,900 [d]
AUC(0-168 h) Day 22 (µg•h/mL) animals on study after Day 24 [c]	36,800 36,000	32,000	29,600 37,300	27,800 21,800	31,600 ± 5,680 [e]
AUC(0-1512 h) following last dose (µg•h/mL) [c]	119,000 97,100	90,200	90,600 116,000	77,000 44,000	90,600 ± 25,300 [e]
MRT, Day 22-85 (h) [c]	553 418	429	453 399	456 313	432 ± 72.0 [e]
T1/2, Day 29-85 (h) [c]	408 247	339	326 129	354 308	302 ± 90.3 [e]

Table 2.6.5.4C: Pharmacokinetics: Absorption After Repeated Doses

Study Description or Title: Pharmacokinetics of Ipilimumab in a One-month Intermittent-dose Combination Toxicity Study with BMS-663513 in Cynomolgus Monkeys

Test Article: Ipilimumab
Study Type: GLP
Study No./Document Control Number: DS06064 / 930021064
Location in Dossier: 4.2.2.2.5

Ipilimumab Mean ± SD Trough Serum Concentration (µg/mL):

Treatment:	**Ipilimumab alone**	**Ipilimumab alone**	**Ipilimumab and BMS-663513**	**Ipilimumab and BMS-663513**	**All Animals** (N = 20)
Sex:	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male and Female**
Day 8 (predose)	67.9 ± 10.4	71.0 ± 12.8	65.4 ± 5.35	65.0 ± 8.75	67.3 ± 9.26
Day 15 (predose)	105 ± 12.8	118 ± 13.7	103 ± 5.90	92.2 ± 11.8	105 ± 14.1
Day 22 (predose)	123 ± 11.3	136 ± 20.6 [a]	119 ± 15.8	90.0 ± 30.8	116 ± 25.7 [b]
Day 85	16.9, 7.87 [c]	7.09 [c]	6.88, 3.69 [c]	6.23, 2.40 [c]	7.29 ± 4.67 [e]

Additional Information: BMS-663513 is an anti-human CD-137 monoclonal antibody. Ipilimumab was administered as soon as possible (within 15 minutes) after administration of BMS-663513 or vehicle. Sampling times are after the start of the bolus infusion.
One female animal in the Ipilimumab alone group was misdosed on Day 22. Data from this animal were excluded from calculations after that time.
All samples were assessed for immunogenicity. Other than a minimal increase in anti-ipilimumab antibody titer on Day 15 in 1 animal receiving both ipilimumab and BMS-663513 (which had no apparent effect on plasma concentration), no anti-ipilimumab immune response was observed in this study.
SD = standard deviation

[a] N = 4

[b] N = 19

[c] Data from the 2 animals continued on study after Day 24.

[d] N = 8

[e] N = 7

Table 2.6.5.4D: Pharmacokinetics: Absorption After Repeated Doses

Study Description or Title:	Pharmacokinetics of Ipilimumab in a One-month Intermittent-dose Combination Toxicity Study with MDX1106 in Cynomolgus Monkeys
Test Article:	Ipilimumab
Study Type:	GLP
Study No./Document Control Number:	[redacted]00106 / 930036346
Location in Dossier:	4.2.2.2.6
Species:	Cynomolgus monkey
Gender (M/F) / Number of Animals:	M/5 and F/5, except where noted
Feeding condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	20 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 1% mannitol, 100 µM DTPA, 0.01% Polysorbate 80
Method of Administration:	Slow bolus intravenous injection
Dose:	Group 2: 3 mg/kg Ipilimumab and 10 mg/kg MDX1106 on Days 1, 8, 15, 22 Group 3: 10 mg/kg Ipilimumab and 50 mg/kg MDX1106 on Days 1, 8, 15, 22
Sample:	Plasma
Analyte:	Ipilimumab
Assay:	Ipilimumab cynomolgus monkey plasma ELISA

	PK Parameters: Ipilimumab Mean ± SD Plasma Concentration (µg/mL)			
	Group 2 (3 mg/kg Ipilimumab, 10 mg/kg MDX1106)		**Group 3 (10 mg/kg Ipilimumab, 50 mg/kg MDX1106)**	
Sex:	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Day 1, 1 hour	80.6 ± 9.20	85.4 ± 7.70	256 ± 26.3	425 ± 253
Day 1, 8 hours	84.3 ± 16.0	79.2 ± 12.5	200 ± 24.4	227 ± 32.8
Day 1, 24 hours	47.6 ± 3.80	51.2 ± 6.4	141 ± 20.4	160 ± 25.5
Day 22 (predose)	43.0 ± 9.40	36.6 ± 6.00 [a]	99.6 ± 22.1	90.3 ± 34.9
Day 22, 1 hour	134 ± 21.7	126 ± 46.4	333 ± 57.8	341 ± 37.4
Day 22, 8 hours	111 ± 17.4	86.9 ± 30.7	252 ± 71.2 [a]	289 ± 62.1
Day 22, 24 hours	93.6 ± 12.7	65.3 ± 29.5	220 ± 59.9 [a]	221 ± 58.5

Additional Information: MDX1106 (HuMab™) is a fully-human monoclonal IgG4 antibody. Ipilimumab was administered after administration of MDX1106. Samples were assessed for immunogenicity; on Day 28, an increase in anti-ipilimumab antibody titer was observed in 2 out of 19 animals (both in Group 3). While plasma ipilimumab concentrations were not determined on Day 28, generally, both of these animals had the lowest Day 22 concentrations in their respective treatment group. Increases in anti-ipilimumab antibody titer were also observed in 4 out of 8 animals (2 from Group 2 and 2 from Group 3) on Day 58.
SD = standard deviation

[a] N = 4

Table 2.6.5.4E: Pharmacokinetics: Absorption After Repeated Doses

Study Description or Title: Plasma Ipilimumab Concentrations in a Two-month Intermittent-dose Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys

Test Article: Ipilimumab
Study Type: Exploratory
Study No./Document Control Number: 0992-128 / 930009968
Location in Dossier: 4.2.2.2.7

Species: Cynomolgus monkey
Gender (M/F) / Number of Animals: M/2 and F/2
Feeding condition: Fed
Vehicle/Formulation: Ipilimumab in phosphate-buffered saline. HBsAg and Oligo-CpG in aqueous solutions.
Method of Administration: Injection: Ipilimumab, intravenous. HBsAg and Oligo-CpG, intramuscular.
Dose (mg/kg): Ipilimumab, 10 mg/kg (Days 1 and 29). HBsAg, 10 µg (Days 2 and 30). Oligo-CpG, 500 µg (Day 2).
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.): Plasma
Analyte: Ipilimumab
Assay: ELISA, [redacted]1693

PK parameters: Ipilimumab Plasma Concentration (µg/mL): {individual values} Mean

Treatment:	Ipilimumab and HBsAg	Ipilimumab and HBsAg	Ipilimumab and HBsAg Mean ± SD (N = 4)	Ipilimumab, HBsAg, and Oligo-CpG	Ipilimumab, HBsAg, and Oligo-CpG	Ipilimumab, HBsAg, and Oligo-CpG Mean ± SD (N = 4)	All Animals Mean ± SD (N = 8)
Sex:	**Male**	**Female**	**Male + Female**	**Male**	**Female**	**Male + Female**	**Male + Female**
Day 15	{105, 85.5} 95.3	99.3[a]	96.6 ± 10.0[b]	{100, 190} 145	{57.9, 91.6} 74.8	110 ± 56.2	104 ± 40.8[c]
Day 29(predose)	{39.6, 37.7} 38.7	{33.6, 47.1} 40.4	39.5 ± 5.7	{38.1, 50.5} 44.3	{10.5, 31.3} 20.9	32.6 ± 16.7	36.1 ± 12.1
Day 36	{171, 162} 167	{49.8, 167} 108	138 ± 58.6	{173, 309} 241	{41.9, 152} 97	169 ± 109.6	153 ± 83.1
Day 51	{87.2, 86.0} 86.6	{84.9, 86.0} 85.5	86.0 ± 0.9	{63.6, 94.1} 78.9	{9.4, 32.5} 21.0	49.9 ± 36.9	68.0 ± 30.9
Day 64	{25.4, 34.1} 29.8	{33.4, 38.9} 36.2	33.0 ± 5.6	{19.5, 36.1} 27.8	{0.6, 15.3} 8.0	17.9 ± 14.6	25.4 ± 13.0

Additional Information: HBsAg, hepatitis B surface antigen. No anti-ipilimumab immune response was observed on Day 64 in this study.
SD = standard deviation

[a] Value for only one animal was reported.

[b] N = 3

[c] N = 7

Table 2.6.5.4F: Pharmacokinetics: Absorption After Repeated Doses

Study Description or Title:	Plasma Ipilimumab Concentrations in a Three-month Investigative Intermittent-dose Toxicity and Efficacy Study in Cynomolgus Monkeys
	Test Article: Ipilimumab
	Study Type: Exploratory
	Study No./Document Control Number: [redacted]00006 / 930021733
	Location in Dossier: 4.2.2.2.8
Species:	Cynomolgus monkey
Gender (M/F) / Number of Animals:	M/3 and F/3
Feeding condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	Ipilimumab: 20 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 1% mannitol, 100 µM DTPA, 0.01% Polysorbate 80. HBsAg, DNP-Ficoll, and SK-mel: saline
Method of Administration:	Injection: Ipilimumab, intravenous. HBsAg, intramuscular. SK-mel, subcutaneous. DNP-Ficoll, intradermal.
Dose:	Ipilimumab, 10 mg/kg; HBsAg, 10 µg; and SK-mel, 5 x 10^6 cells on Days 1, 29, and 57. DNP-Ficoll 100 µg on Days 1 and 29
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.):	Plasma
Analyte:	Ipilimumab
Assay:	ELISA, [redacted] 1693

PK parameters: Ipilimumab Mean ± SD Plasma Concentration (µg/mL)

Sex:	Male	Female	Male and Female (N = 6)
Day 1, 1 h	409 ± 15.5	261 ± 214	335 ± 158
Day 1, 24 h	250 ± 23.0	228 ± 138	239 ± 89.0
Day 14	66.7 ± 26.8	60.9 ± 2.11	63.8 ± 17.3
Day 29 (predose)	41.8 ± 14.8	22.1 ± 5.31	31.9 ± 14.7
Day 29, 24 h	229 ± 57.5	248 ± 20.5	239 ± 39.8
Day 43	68.9 ± 8.92	35.6 ± 26.2 [a]	52.3 ± 25.3 [a]
Day 57 (predose)	68.9 ± 41.4	{10.6, 29.7} 20.2 [b]	49.4 ± 40.2 [c]
Day 57, 24 h	240 ± 79.5	{192, 247}220 [b]	232 ± 60.8 [c]
Day 71	103 ± 27.1	{50.8, 99.6} 75.2 [b]	92.1 ± 30.0 [c]

Additional Information: HBsAg, hepatitis B surface antigen.
No anti-ipilimumab immune response (assessed on Days 14, 43 and 71) was observed in this study.
SD = standard deviation

[a] For 1 animal, sample was collected on Day 42 prior to unscheduled necropsy. Value for that sample (12.7 µg/mL) is included in the means for Day 43.

[b] {Individual values} Mean

[c] N = 5

Table 2.6.5.4G: Pharmacokinetics: Absorption After Repeated Doses

Study Description or Title:	Plasma Ipilimumab Concentrations in a Repeat-dose Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys
Test Article:	Ipilimumab
Study Type:	GLP (immunogenicity assessment was exploratory)
Study No./Document Control Number:	1416-128 / 930009973
Location in Dossier:	4.2.2.2.1
Species:	Cynomolgus monkey
Gender (M/F) / Number of Animals:	M/3 and F/3
Feeding condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	Phosphate-buffered saline
Method of Administration:	Intravenous injection
Dose:	Process B-[redacted] L, 1 mg/kg on Days 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, and 0.1, 1, 10 mg/kg on Days 1, 29, 57. Process A, 10 mg/kg on Days 1, 29, 57
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.):	Plasma
Analyte:	Ipilimumab
Assay:	ELISA, [redacted] 1693

PK parameters: Ipilimumab Mean ± SD Plasma Concentration (µg/mL), Combined Male and Female (N = 6)

Treatment:	**Process B-[redacted] L** 1 mg/kg weekly	**Process B-[redacted] L** 0.1 mg/kg monthly	**Process B-[redacted] L** 1 mg/kg monthly	**Process B-[redacted] L** 10 mg/kg monthly	**Process A** 10 mg/kg monthly	**Combined Process A** and Process B-[redacted] L (N = 12) 10 mg/kg monthly
Day 1, 1 h	23.1 ± 3.27	{1.65, 1.94} 1.80 [a]	24.6 ± 4.10	506 ± 82.3	412 ± 75.1	459 ± 89.8
Day 1, 2 h	23.6 ± 7.80	{1.62, 1.70} 1.66 [a]	22.1 ± 3.02	480 ± 87.4	421 ± 62.2	450 ± 78.6
Day 1, 4 h	20.3 ± 3.90	{1.47, 1.55} 1.51 [a]	19.6 ± 2.77	431 ± 61.9	422 ± 63.0	426 ± 59.7
Day 1, 6 h	19.2 ± 3.12	not analyzed	13.9 ± 3.15	407 ± 37.8	394 ± 36.2	400 ± 35.9
Day 1, 8 h	16.9 ± 3.18	not analyzed	16.4 ± 3.63	313 ± 54.4	322 ± 47.2	318 ± 48.8
Day 1, 24 h	7.09 ± 3.00	not analyzed	7.57 ± 2.63	211 ± 21.5	183 ± 45.9	197 ± 37.1
Day 4	7.56 ± 2.05	not analyzed	4.73 ± 0.47	160 ± 17.8	175 ± 48.1	167 ± 35.4
Day 8	5.05 ± 0.48	not analyzed	3.92 ± 0.52	87.5 ± 14.1	85.5± 20.0	86.5 ± 16.5
Day 11	14.6 ± 4.05	not analyzed	3.34 ± 0.32	57.1 ± 9.80	57.0 ± 8.27	57.0 ± 8.65
Day 14	9.45 ± 2.15	not analyzed	2.65 ± 0.35	54.5 ± 3.50	40.8 ± 9.81	47.7 ± 10.0
Day 29 (predose)	16.6 ± 6.52	not analyzed	{1.26} [b]	17.6 ± 3.40	11.0 ± 5.57 [c]	14.6 ± 5.48 [d]
Day 30	23.2 ± 6.32	all below LLOQ	12.2 ± 3.97	329 ± 56.9	300 ± 59.1	314 ± 57.3
Day 43	28.3 ± 8.01	not analyzed	3.59 ± 1.00	67.1 ± 8.86	61.6 ± 9.81 [c]	64.6 ± 9.26 [d]
Day 57 (predose)	30.9 ± 11.2	not analyzed	1.70 ± 0.31 [g]	21.2 ± 3.53	16.4 ± 6.40 [c]	19.0 ± 5.37 [d]
Day 58	46.9 ± 16.1	{1.47, 1.21} 1.34 [a]	10.2 ± 5.75	386 ± 110	289 ± 82.7 [e]	320 ± 127
Day 71	28.3 ± 17.3 [f]	not analyzed	2.42 ± 0.34	65.1 ± 12.1	56.7 ± 23.1 [c]	61.3 ± 17.5 [d]

Table 2.6.5.4G: Pharmacokinetics: Absorption After Repeated Doses

Study Description or Title:	Plasma Ipilimumab Concentrations in a Repeat-dose Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys
Test Article:	Ipilimumab
Study Type:	GLP (immunogenicity assessment was exploratory)
Study No./Document Control Number:	1416-128 / 930009973
Location in Dossier:	4.2.2.2.1

Additional Information: The ipilimumab administered was derived from 2 different manufacturing processes (Process B-[redacted] L and Process A). The animals also received hepatitis B surface antigen intramuscularly (IM) or SK-mel vaccine subcutaneously (SC) to induce an immune response. Single-dose PK values derived from Day 1 to Day 29 data of the Process B-[redacted] L and Process A 10 mg/kg monthly dose groups are presented in Table 2.6.5.3.
An anti-ipilimumab immune response was observed on Day 71 in 1 animal receiving monthly 10 mg/kg doses of Process A ipilimumab (see footnote c) and 2 animals receiving weekly 1 mg/kg doses of Process B-[redacted]L ipilimumab (see footnote f).
SD = standard deviation

[a] Reflects {individual values} mean. Only 2 out of the 6 animals had plasma concentrations above the LLOQ (1.2 µg/mL).

[b] Only 1 out of the 6 animals had a plasma concentration above the LLOQ (1.2 µg/mL).

[c] N = 5. A 256-fold increase in anti-ipilimumab antibodies was observed in Animal 22436 in this group on Day 71. Plasma ipilimumab concentrations in this animal were <LLOQ at the indicated time points; this value was excluded from the mean ± SD calculation for these timepoint.

[d] N = 11

[e] N = 5. While the plasma ipilimumab concentration for Animal 22436 on Day 58 was 78.3 µg/mL, this value was excluded from the mean ± SD calculation for consistency.

[f] A 16-fold increase in anti-ipilimumab antibody titer was observed in 2 animals in this group, but it had no apparent an effect on the PK of the drug.

[g] N = 5

Table 2.6.5.4H: Pharmacokinetics: Absorption After Repeated Doses

Study Description or Title:	Plasma and Serum Ipilimumab Concentrations in a Repeat-dose Pharmacology Study in Cynomolgus Monkeys
Test Article:	Ipilimumab
Study Type:	Exploratory
Study No./Document Control Number:	TIB-06-001 / 930022368
Location in Dossier:	4.2.2.2.9
Species:	Cynomolgus monkey
Gender (M/F) / Number of Animals:	M/4 and F/2 for group 1 - 4, M/3 and F/3 for group 5
Feeding condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	Ipilimumab: 0.9% Sodium chloride for injection, USP BMS-663513: 5 mM Sodium succinate buffer, pH 5, containing 2 mg/mL poloxamer 188 in 0.9% sodium chloride for injection, USP.
Method of Administration:	Intravenous infusion
Dose:	Ipilimumab, 10 mg/kg on Days 4, 9, 30, 32, 58, 60, 86, and 88, or Ipilimumab, 10 mg/kg and BMS-663513, 10 mg/kg, in two separate infusions on Days 4, 9, 30, 32, 58, 60, 86, and 88. One animal (085-337) in the Ipilimumab-only group received an additional dose on Day 211.
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.):	Serum [from blood collected ~5 minutes after the end of each drug infusion on dosing days (Days 4, 9, 30, 32, 58, 60, 86, and 88) and plasma (from blood collected between 8 and 10 AM on Days 16, 44, 72, 116, 185 and 212).
Analyte:	Ipilimumab
Assay:	Ipilimumab cynomolgus monkey ELISA (validated for serum, but not for plasma)

	Ipilimumab Mean ± SD Trough Serum and Plasma Concentration (µg/mL)		
	Treatment Group		
Sampling Time	**Ipilimumab alone**	**Ipilimumab and BMS-663513**	**All Animals [a]**
Day 4	169 ± 96.6 (N = 5)	160 ± 149 (N = 6)	164 ± 122 (N = 11)
Day 9	283 ± 55.7 (N = 5)	301 ± 53.1 (N = 6)	293 ± 52.4 (N = 11)
Day 16	117 ± 7.8 (N = 5)	105 ± 51.0 (N = 6)	111 ± 37.0 (N = 11)
Day 30	356 ± 157 (N = 5)	315 ± 103 (N = 6)	334 ± 125 (N = 11)
Day 32	428 ± 26.8 (N = 5)	415 ± 47.1 (N = 6)	421 ± 38.1 (N = 11)
Day 44	131 ± 16.2 (N = 5)	122 ± 60.1 (N = 6)	126 ± 44.0 (N = 11)
Day 58	367 ± 41.1 (N = 5)	324 ± 110 (N = 6)	344 ± 85.0 (N = 11)
Day 60	452 ± 12.0 (N = 4)	416 ± 39.0 (N = 6)	430 ± 35.0 (N = 10)
Day 72	147 ± 23.1 (N = 5)	150 ± 12.4 (N = 6)	149 ± 17.1 (N = 11)
Day 86	330 ± 3.10 (N = 4)	318 ± 59.5 (N = 6)	323 ± 44.8 (N = 10)
Day 88	411 (N = 2)	425 ± 83.9 (N = 5)	421 ± 68.9 (N = 7)
Day 116	67.5 ± 12.8 (N = 5)	84.0 ± 18.0 (N = 6)	76.5 ± 17.4 (N = 11)
Day 185	4.18 ± 2.05 (N = 5)	16.9 ± 23.9 (N = 6)	11.1 ± 18.2 (N = 11)
Day 212	1.52 ± 1.05 (N = 5)	20.3 ± 43.0 (N = 6)	11.7 ± 32.0 (N = 11)

Table 2.6.5.4H: Pharmacokinetics: Absorption After Repeated Doses

Study Description or Title: Plasma and Serum Ipilimumab Concentrations in a Repeat-dose Pharmacology Study in Cynomolgus Monkeys

Test Article: Ipilimumab
Study Type: Exploratory
Study No./Document Control Number: TIB-06-001 / 930022368
Location in Dossier: 4.2.2.2.9

Data for Animal 085-337 (experienced an infusion reaction, see Additional Information box)

	Ipilimumab Concentration (µg/mL)	Anti-Ipilimumab Antibody Titer
Day 4	242	b
Day 9	336	b
Day 16	98.4	625
Day 30	167	b
Day 32	286	b
Day 44	< LLOQ	> 78000
Day 58	72.8	25
Day 60	No sample	No sample
Day 72	< LLOQ	> 78000
Day 86	No sample	No sample
Day 88	No sample	No sample
Day 116	1.67	> 78000
Day 185	< LLOQ	625
Day 211, Pre-dose	< LLOQ	> 78000
Day 211, 5 minutes	347	3125
Day 211, 30 minutes	281	3125
Day 211, 2 hours	234	3125
Day 211, 24 hours	122	125
Day 212, 0 to 1 hours	109	5

Additional Information: BMS-663513 is an anti-human CD137 monoclonal antibody. All animals received intramuscular injections of Simian Immunodeficiency Virus DNA vaccines on Days 1, 2, 29, 30, 57, 58, 85, and 86. BMS-663513 and Ipilimumab were administered in 2 separate infusions. In the animals receiving both, BMS-663513 was administered first at 5 mL/kg and Ipilimumab was administered at 2 mL/kg within 1 minute after the end of BMS-663153 dose. Infusion rate was ~ 3 mL/minute.

All samples were assessed for immunogenicity. An increase in anti-ipilimumab antibody titer was observed in 2 animals receiving ipilimumab. Animal 085-309 exhibited a minimal increase (titer = 25 vs background of < 10) in anti-ipilimumab antibody titer on Day 116, which had no apparent effect on serum or plasma concentration. Insufficient sample was available for the antibody assessment on Days 185 and 212.

Animal 085-337, which received ipilimumab alone, exhibited a marked increase in anti-ipilimumab antibody titer (see above). This animal also experienced an infusion reaction on Day 58, and did not receive the scheduled doses on Days 60, 86 or 88; on Day 211 it was rechallenged with a 10 mg/kg dose of ipilimumab to investigate the cause of the infusion reaction. SD = standard deviation

[a] Excluding Animal 085-337 (ipilimumab alone group); this animal exhibited a marked increase in anti-ipilimumab antibody titer which appeared to affect its the serum and

plasma ipilimumab concentrations, which were considerably lower than the mean concentrations of the other monkeys from Day 30 onwards.

[b] Negative in the analysis (possible drug interference)

Table 2.6.5.4I: Pharmacokinetics: Absorption After Repeated Doses

Study Description or Title: Plasma Ipilimumab Concentrations in a Six-month Intermittent-dose Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys

Test Article: Ipilimumab
Study Type: GLP (PK and immunogenicity assessments were exploratory)
Study No./Document Control Number: 01-3460 / 930009980
Location in Dossier: 4.2.2.2.10

Species: Cynomolgus monkey
Gender (M/F) / Number of Animals: Ipilimumab alone, M/2 and F/2. Ipilimumab plus SK-mel cells, M/3 and F/3
Feeding condition: Fed
Vehicle/Formulation: Ipilimumab in phosphate-buffered saline. SK-mel cells in saline.
Method of Administration: Injection: Ipilimumab intravenous. SK-mel cells subcutaneous.
Dose: Ipilimumab, 10 mg/kg and SK-mel cells, 5 x 10^6 cells, on Days 0, 28, 56, 84, and 140
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.): Plasma
Analyte: Ipilimumab
Assay: ELISA, [redacted] 1693

PK parameters: Ipilimumab Plasma Levels (µg/mL): {individual values} Mean

Treatment:	Ipilimumab	Ipilimumab	Ipilimumab and SK-mel cells	Ipilimumab and SK-mel cells	All Animals Mean ± SD (N = 10)
Sex:	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male and Female**
Day 1	{11.6, 221} 116	{214, 301} 258	{253, 190, 148} 197	{193, 121, 187} 167	184 ± 78.8
Day 13	{63.1, 42.5} 52.8	{89.2, 99.1} 94.2	{76.6, 73.0, 41.3} 63.6	{62.8, 64.4, 60.6} 62.6	67.3 ± 18.2
Day 28 (predose)	{26.0, 17.8} 21.9	{53.7, 32.7} 43.2	{39.9, 43.1, 24.9} 36.0	{30.5, 30.8, 24.3} 28.5	32.4 ± 10.6
Day 29	{183, 171} 177	{234, 230} 232	{285, 233, 204} 241	{212, 214, 226} 217	219 ± 31.4
Day 41	{73.7, 60.9} 67.3	{72.7, 90.7} 81.7	{89.3, 104, 74.7} 89.2	{68.7, 93.1, 59.0} 73.6	78.6 ± 14.8
Day 56 (predose)	{37.5, 27.0} 32.3	{84.2, 37.9} 61.1	{41.4, 66.5, 29.5} 45.8	{35.0, 51.0, 34.4} 40.1	44.4 ± 18.0
Day 57	{162, 342} 252	{214, 268} 241	{264, 330, 247} 280	{222, 228, 212} 221	249 ± 54.9
Day 69	{70.5, 48.6} 59.6	{66.2, 126} 96.3	{125, 183, 156} 155	{69.3, 80.0, 80.5} 76.6	101 ± 44.3
Day 84 (predose)	{44.5, 26.4} 35.5	{89.5, 65.6} 77.6	{45.9, 75.8, 44.2} 55.3	{31.9, 44.7, 25.5} 34.0	49.4 ± 21.2
Day 97	{98.7, 75.2} 87.0	{181, 116} 149	{127, 112, 98.1} 112	{73.1, 131, 103} 102	111 ± 31.0
Day 112	{34.3, 29.9} 32.1	{94.9, 45.4} 70.2	{50.8, 78.0, 49.9} 59.6	{33.9, 44.6, 23.2} 33.9	48.5 ± 22.3
Day 125	{27.1, 13.6} 20.4	{76.7, 33} 54.9	{30.3, 63.8, 29.4} 41.2	{22.1, 34.3, 15.9} 24.1	34.6 ± 20.2
Day 140 (predose)	{14.4, 69.8} 42.1	{55.5, 22.3} 38.9	{17.1, 35.6, 16.3} 23.0	{13.9, 19.5, 5.4} 12.9	27.0 ± 20.6
Day 141	{218, 279} 248	{229, 334} 282	{350, 270, 218} 279	{205, 237, 271} 238	261 ± 49.6
Day 167/168	{53.5, 110} 81.6	{29.0, 49.7} 39.4	{41.5, 81.7, 52.0} 58.4	{37.9, 44.0, 22.4} 34.8	52.1 ± 25.8

Additional Information: SK-mel cells = human melanoma cell line. The first day of dosing was designated Day 0: Note that for all other studies (Tables 2.6.5.4A-G), the first day of dosing was designated Day 1. No anti-ipilimumab immune response was observed on Days 112 or 141 in this study.
SD = standard deviation

5 薬物動態試験：分布

該当試験なし

6 薬物動態試験：蛋白結合

該当試験なし

7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

Table 2.6.5.7: Pharmacokinetics: Study in Pregnant or Nursing Animals

Study Description or Title:	Serum Ipilimumab Concentrations in a Pre-and Postnatal Development Intravenous Toxicity Study with Ipilimumab in Cynomolgus Monkeys
Test Article:	Ipilimumab
Study Type:	GLP (milk concentration measurement was exploratory)
Study No./Document Control Number:	DN10020 / 930056635
Location in Dossier:	4.2.2.3.1
Species/Strain:	Monkey/ cynomolgus (pregnant)
Gender /Number of Animals:	Female/initially, 20 at each dose level
Feeding Condition:	Non-fasted
Vehicle/Formulation:	20 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 1% Mannitol, 100 µM DTPA, 0.01% polysorbate 80
Method of Administration:	Intravenous (slow bolus injection)
Sample:	Serum from mother and infant
Sampling Days:	Gestational Days 20 and 125; Postpartum Days 7, 21, 84 and 182
Analyte:	Ipilimumab
Assay:	Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
Dose:	10 or 30 mg/kg on Gestation Day 20-22, and every 3 weeks thereafter until parturition (six doses)

Dose (mg/kg every 3 weeks, prepartum)	**AUC(0-T) (µg•h/mL)**		**Serum Concentration (µg/mL)**						**Infant / Maternal** Serum Concentration Ratio		
			Maternal			**Infant**					
	GD20 - 22	**GD125 - 127**	**PD7**	**PD21**	**PD84**	**BD7**	**BD21**	**BD84**	**PD/BD7**	**PD/BD21**	**PD/BD84**
10	42,400 ± 4610 (N = 20)	50,500 ± 17,800 (N = 17)	65.0 ± 31.1 (N = 12)	35.7 ± 22.1 (N = 10)	4.78 ± 4.98 (N = 10)	56.9 ± 19.4 (N = 12)	31.7 ± 11.9 (N = 10)	3.00 ± 1.50 (N = 10)	1.1 ± 0.6 (N = 11)	1.2 ± 0.6 (N = 9)	1.3 ± 0.8 (N = 6)
30	119,000 ± 19,900 (N = 20)	115,000 ± 53,700 (N = 16)	112 ± 79.7 (N = 9)	60.6 ± 44.0 (N = 8)	6.02 ± 6.04 (N = 8)	122 ± 26.6 (N = 8)	65.5 ± 14.8 (N = 8)	4.35 ± 2.39 (N = 8)	1.4 ± 0.9 (N = 7)	1.7 ± 1.1 (N = 7)	1.6 ± 1.0 (N = 5)

Additional Information: GD: gestation day. PD: postpartum day. BD: birth day (days after birth). Values are mean ± standard deviation. To the extent possible, infants were maintained with their mothers for the entire postnatal period. Values were calculated with the inclusion of data from animals with detectable anti-ipilimumab antibodies. The individual ipilimumab serum concentrations of BD182 infants were less than LLOQ (0.800 ng/mL) of bioanalytical assay, and so the infant / maternal serum concentration ratio values of PD/BD182 are not applicable.

Table 2.6.5.7: Pharmacokinetics: Study in Pregnant or Nursing Animals

Study Description or Title: Serum and Milk Ipilimumab Concentrations in a Pre-and Postnatal Development Intravenous Toxicity Study with Ipilimumab in Cynomolgus Monkeys

Test Article: Ipilimumab
Study Type: GLP (milk concentration measurement was exploratory)
Study No./Document Control Number: DN10020 / 930056635
Location in Dossier: 4.2.2.3.1

Species/Strain: Monkey / cynomolgus (pregnant)
Gender /Number of Animals: Female/20 at each dose level
Feeding Condition: Non-fasted
Vehicle/Formulation: 20 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 1% Mannitol, 100 µM DTPA, 0.01% polysorbate 80
Method of Administration: Intravenous (slow bolus injection)
Sample: Maternal serum and milk
Sampling Days: Postpartum Days 3, 7, 21
Analyte: Ipilimumab
Assay: Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
Dose: 10 or 30 mg/kg on Gestation Day 20-22, and every 3 weeks thereafter until parturition (six doses)

Dose (mg/kg every 3 weeks, prepartum)	Concentration (µg/mL)						Milk / Maternal Serum Concentration Ratio		
	Maternal Serum			Milk					
	PD3	PD7	PD21	PD3	PD7	PD21	PD3	PD7	PD21
10	84.5 ± 45.1 (N = 12)	65.0 ± 31.1 (N = 12)	35.7 ± 22.1 (N = 10)	0.226 ± 0.260 (N = 12)	0.142 ± 0.118 (N = 12)	0.114 ± 0.049 (N = 7)	0.003 ± 0.004 (N = 10)	0.002 ± 0.002 (N = 10)	0.004 ± 0.002 (N = 4)
30	154 ± 119 (N = 10)	112 ± 79.7 (N = 9)	60.6 ± 44.0 (N = 8)	0.407 ± 0.478 (N = 9)	0.368 ± 0.378 (N = 9)	0.177 ± 0.130 (N = 7)	0.002 ± 0.001 (N = 8)	0.003 ± 0.001 (N = 7)	0.003 ± 0.002 (N = 3)

Additional Information: PD: postpartum day. Values are mean ± standard deviation. To the extent possible, infants were maintained with their mothers for the entire postnatal period. Values were calculated with the inclusion of data from animals with detectable anti-ipilimumab antibodies.

8 その他の分布試験

該当試験なし

9 薬物動態試験：*In vivo*での代謝

該当試験なし

10 薬物動態試験：*In vitro*での代謝

該当試験なし

11 薬物動態試験：推定代謝経路

該当試験なし

12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

該当試験なし

13 薬物動態試験：排泄

該当試験なし

14 薬物動態試験：胆汁中排泄

該当試験なし

15 薬物動態試験：薬物相互作用

該当試験なし

16 薬物動態試験：その他

該当試験なし