Table of Contents

1 まとめ....3
2 分析法....4
2.1 OPM2 異種移植 SCID マウス血清中 elotuzumab 濃度測定....4
2.2 アカゲザル血清中 elotuzumab 濃度測定....4
2.3 マウス及びアカゲザル血清中 ADA の分析....4
3 吸収....4
3.1 OPM2 異種移植 SCID マウスを用いた用量設定試験....4
3.2 アカゲザルを用いた単回投与毒性及び TK 試験....5
4 分布....5
5 代謝....5
6 排泄....5
7 薬物動態学的薬物相互作用....5
8 その他の薬物動態試験....6
9 考察及び結論....6

用語及び略号一覧

略号	英語	日本語
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
AUC(INF)	area under the serum concentration vs time curve extrapolated to infinity	投与後 0 時間から無限時間まで外挿した血清中濃度曲線下面積
BMS	Bristol-Myers Squibb	ブリストル・マイヤーズ スクイブ
CS1	CD2 subset 1	CD2 サブセット 1
CYP	cytochrome(s) P450	チトクローム P450
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫吸着測定
Fc	crystallizable fragment	－
HuCS1mFc	a fusion protein comprised of the extracellular domain of human CS1 and a murine IgG1 Fc	ヒト CS1 の細胞外ドメインとマウス IgG1 Fc で構成された融合蛋白
IgG1	immunoglobulin G1	免疫グロブリン G1
mAb	monoclonal antibody	モノクローナル抗体
QC	quality control	品質管理
SCID	severe combined immunodeficient	重症複合免疫不全
SLAMF7	signaling lymphocyte activation molecule family member 7	－
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
TMB	tetramethylbenzidine	テトラメチルベンジジン

1 まとめ

Elotuzumab（BMS-901608）は、signaling lymphocyte activation molecule family member 7［SLAMF7、CD2 サブセット 1（CS1）］を標的とするヒト化免疫グロブリン G1（IgG1）モノクローナル抗体（mAb）である。なお、SLAMF7 は、骨髄腫細胞及びナチュラルキラー細胞の表面に発現する糖蛋白である。

非臨床試験結果から、elotuzumab はヒト SLAMF7 蛋白のみを認識し、チンパンジー、カニクイザル、アカゲザル、イヌ、ミニブタ、ウサギ、ラット及びマウスの SLAMF7 蛋白を認識しないことが示された。一方、elotuzumab の非臨床安全性を評価する代替法を検討するため、ヒト SLAMF7 発現遺伝子導入マウスモデルが作製された。しかしながら、ヒト SLAMF7 遺伝子導入マウスは、休眠 T 細胞及び活性化 T 細胞におけるヒト SLAMF7 の発現がヒトよりも少なかったため、毒性試験の動物モデルとして適さないと考えられた。上述のように、種交差性及び有効な遺伝子導入動物モデルがなかったため、限定的な試験で評価した。したがって、elotuzumab の非臨床薬物動態を評価する試験は、標的以外への非特異的影響を検討するためのアカゲザルを用いた単回投与毒性及びトキシコキネティクス（TK）試験、並びに elotuzumab の血清中濃度と生物活性との相関性を検討するためのマウス OPM2（SLAMF7 を発現する多発性骨髄腫細胞株）異種移植モデルを用いた用量設定試験に限定された。

重症複合免疫不全（SCID）マウス及びアカゲザルの血清中 elotuzumab 濃度を測定するため、酵素免疫吸着測定（ELISA）法を用いた。マウス及びアカゲザル血清中 elotuzumab の定量範囲は、それぞれ 0.12～8.0 µg/mL 及び 0.3～6.0 µg/mL であった。マウス及びアカゲザル血清中の抗薬物抗体（ADA）の分析は行わなかった。

OPM2 異種移植 SCID マウスを用いた用量設定試験において、用量反応相関性が認められた。Elotuzumab を 0.1～10 mg/kg の用量で 3 日に 1 回、計 7 回腹腔内投与した結果、elotuzumab の平均血清中濃度は用量増加に伴って増加した。血清中濃度が 70～430 µg/mL（10 mg/kg 投与時の最低濃度～最高濃度）のとき抗腫瘍効果は最大となり、生物学的活性を示す最小血清中濃度は 2～13 µg/mL（0.5 mg/kg 投与時の最低濃度～最高濃度）であることが示された。

アカゲザルに elotuzumab を 30 及び 100 mg/kg の用量で単回静脈内投与した結果、elotuzumab の全身曝露量は用量に比例して増加し、明らかな性差はみられなかった。投与後 0 時間から無限時間まで外挿した血清中濃度曲線下面積［AUC(INF)］は、30 mg/kg の用量で 118～194 mg·h/mL、100 mg/kg の用量では 335～447 mg·h/mL であった。分布容積は 46.3～61.5 mL/kg と小さかったことから、elotuzumab は主に血管内に分布することが示唆された。全身血清クリアランスは、0.155～0.299 mL/hr/kg であった。見かけの消失半減期は、8～14.8 日であった。動物を用いた代謝試験は行わなかったものの、mAb である elotuzumab は、*in vivo* でチトクローム P450（CYP）酵素に依存しない生化学的経路を介して小さなペプチド及び個々のアミノ酸へと分解されると考えられた。

2 分析法

2.1 OPM2 異種移植SCIDマウス血清中elotuzumab濃度測定

OPM2 異種移植 SCID マウスを用いた用量設定試験【モジュール 4.2.2.7-1】を実施し、ELISA 法【モジュール 4.2.2.1-1】により血清試料中 elotuzumab 濃度を測定した。

標準曲線作成用標準試料及び品質管理（QC）試料を正常マウスのプール血清を用いて調製した。ヒト CS1（SLAMF7）の細胞外ドメインとマウス IgG1 Fc で構成された融合蛋白である HuCS1mFc を血清試料中 elotuzumab の捕獲物質として用い、ホースラディシュペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ヒトκ 軽鎖を用いて elotuzumab を検出した。酵素基質としてテトラメチルベンジジン（TMB）を用いた。

濃度に対する吸光度をプロットして作成した 4 パラメーターの S 字型標準曲線を用い、マウス血清中 elotuzumab 濃度を求めた。定量範囲は 0.12～8.0 μg/mL であった。標準曲線から求められた各標準試料濃度の真度及び各 QC 試料濃度測定値の真度及び精度を基に、本分析法はマウス血清中の elotuzumab を正確かつ精度良く定量可能であることが示された。

2.2 アカゲザル血清中elotuzumab濃度測定

アカゲザルを用いた単回投与毒性及び TK 試験【モジュール 4.2.2.2-1】を実施し、ELISA 法【モジュール 4.2.2.1-2】により血清試料中 elotuzumab 濃度を測定した。

標準曲線作成用標準試料及び QC 試料を正常アカゲザルのプール血清を用いて調製した。血清試料中 elotuzumab の捕獲物質として HuCS1mFc を用い、ホースラディシュペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ヒトκ軽鎖を用いて elotuzumab を検出した。酵素基質として TMB を用いた。

濃度に対する吸光度をプロットして作成した 4 パラメーターの S 字型標準曲線を用い、アカゲザル血清中 elotuzumab 濃度を求めた。定量範囲は 0.3～6.0 μg/mL であった。標準曲線から求められた各標準試料濃度の真度及び各 QC 試料濃度測定値の真度及び精度を基に、本分析法はアカゲザル血清中の elotuzumab を正確かつ精度良く定量可能であることが示された。

2.3 マウス及びアカゲザル血清中ADAの分析

試験で得られた血清試料中の ADA の分析は行わなかった。

3 吸収

3.1 OPM2 異種移植SCIDマウスを用いた用量設定試験

ヒトにおける投与開始用量を探索するため、OPM2 異種移植 SCID マウスにおける elotuzumab の血清中濃度と薬理活性との関係を検討した【モジュール 4.2.2.7-1】【モジュール 4.2.2.7-2】。OPM2 の平均サイズが 83 mm^3（45～146 mm^3 の範囲）に達したとき、OPM2 異種移植 SCID マウスを各処置群に無作為に割り付けた。対照群にアイソタイプ型対照抗体を 10 mg/kg の用量で投与した。投与群には elotuzumab を 0.1、0.5、1、5 及び 10 mg/kg の用量で腹腔内に 3 日に 1 回、計 7 回投与した。1 時点あたり少なくとも 3 匹から採血した。初回投与の 8 時間後、2 回目投与直前、7 回目投与直前、最終投与の 8 時間後及び最終投与の 1 投与間隔経過後に採血した。得られた血液から血清試料を調製し、ELISA 法により血清試料中 elotuzumab 濃度を測定した。

その結果、初回投与と 6 又は 7 回目投与との間で elotuzumab の平均血清中濃度が増加したことから、投与期間中の elotuzumab の蓄積が示唆された。また、elotuzumab の平均血清中濃度が 0.1 mg/kg から 10 mg/kg までの用量増加に伴って増加したことから、明らかな用量反応性が示された【モジュール 2.6.5、Table 2.6.5.4】。OPM2 異種移植 SCID マウスにおいて、血清中濃度と抗腫瘍活性の相関関係から、血清中濃度が 70～430 µg/mL（10 mg/kg 投与時の最低濃度～最高濃度）のとき、抗腫瘍効果は最大となり、生物学的活性を示す最小血清中濃度は 2～13 µg/mL（0.5 mg/kg 投与時の最低濃度～最高濃度）であることが示された。

3.2 アカゲザルを用いた単回投与毒性及びTK試験

アカゲザル 6 匹を 3 群（1 群雌雄各 1 匹）に無作為に割り付け、elotuzumab を 0（溶媒）、30 及び 100 mg/kg の用量で 30 分間点滴静脈内投与した。投与液は、20 mM クエン酸ナトリウム、120 mM 塩化ナトリウム及び 0.05% Tween 80 を含有する溶媒（pH 6）を用いて調製した。Day 1 の投与開始前 1 時間以内、投与開始後 1、2、4、8、24 及び 72 時間に採血し、更に Day 8、15、22、36 及び 43 に 1 回採血した。得られた血液から血清試料を調製し、血清試料中 elotuzumab 濃度を ELISA 法により測定した。

Day 22 までの血清中濃度データを 2 コンパートメントモデルに当てはめ、elotuzumab の TK データを求めた。Elotuzumab の全身曝露量は、30 mg/kg と 100 mg/kg の間で用量に比例して増加し、雌雄間で類似していた。30 mg/kg の用量で投与したときの AUC(INF)値は、雄性及び雌性でそれぞれ 194 及び 118 mg·h/mL、100 mg/kg の用量で投与したときの AUC(INF)値は、雄性及び雌性でそれぞれ 335 及び 447 mg·h/mL であった。全身血清クリアランスは、0.155～0.299 mL/hr/kg であった。消失半減期は 8～14.8 日であった【モジュール 4.2.2.2-1】。

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、ICH S6(R1)ガイドライン）に基づき、動物を用いた elotuzumab の分布試験を行わなかった。しかしながら、アカゲザルに elotuzumab を単回投与したときの分布容積は 46.3～61.5 mL/kg と小さかったことから、elotuzumab は血管内に分布することが示唆された【モジュール 4.2.2.2-1】。

5 代謝

ICH S6(R1)ガイドラインに基づき、動物を用いた elotuzumab の代謝試験を行わなかった。しかしながら、mAb である elotuzumab は、*in vivo* で CYP 酵素に依存しない生化学的経路を介して小さなペプチド及び個々のアミノ酸へと分解されると考えられた。

6 排泄

ICH S6(R1)ガイドラインに基づき、動物を用いた elotuzumab のマスバランス試験を行わなかった。

7 薬物動態学的薬物相互作用

mAb は *in vivo* で CYP 酵素に依存しない生化学的経路を介して分解されることから、elotuzumab のような典型的な mAb は、CYP 酵素により代謝される化合物との相互作用を起こす可能性は低いと考えられた。

8 その他の薬物動態試験

該当試験なし。

9 考察及び結論

OPM2 異種移植 SCID マウスに elotuzumab を 3 日に 1 回、計 7 回投与したところ、すべての用量で初回投与と 6 又は 7 回目投与との間に elotuzumab の平均血清中濃度の増加が認められたことから、投与期間中の elotuzumab の蓄積が示唆された。更に、elotuzumab の平均血清中濃度は、0.1～10 mg/kg までの用量増加に伴って増加した。血清中濃度と抗腫瘍活性の相関関係から、血清中濃度が 70～430 µg/mL（10 mg/kg 投与時の最低濃度～最高濃度）のとき、抗腫瘍効果は最大となり、生物学的活性を示す最小血清中濃度は 2～13 µg/mL（0.5 mg/kg 投与時の最低濃度～最高濃度）であることが示された。

アカゲザルに elotuzumab を単回静脈内投与したときの TK は、小さい分布容積、小さい全身クリアランス及び長い消失半減期という特性を示した。アカゲザルに elotuzumab を 30 及び 100 mg/kg の用量で単回静脈内投与したところ、全身曝露量は用量に比例して増加し、明らかな性差はみられなかった。

ICH S6(R1)ガイドラインに基づき、動物を用いた elotuzumab の代謝試験は行わなかったものの、mAb である elotuzumab は、*in vivo* で CYP 酵素に依存しない生化学的経路を介して小さなペプチド及び個々のアミノ酸へと分解されると考えられた。したがって、elotuzumab が CYP 酵素を介して代謝される化合物との薬物相互作用を起こす可能性は低いと考えられた。

Table of Contents

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

1 薬物動態試験：一覧表

Table 2.6.5.1: Pharmacokinetics: Overview

Test Article: Elotuzumab

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number / DCN	Location
Absorption					
Single-dose PK	Monkey	IV	[redacted]	TR[redacted]50 / 930046731	4.2.2.2-1
Repeat-dose PK	Mouse	IP	[redacted]	RTR15 / 930046215	4.2.2.7-1
	Mouse	IP	[redacted]	TR[redacted]11 / 930046307	4.2.2.7-2
Distribution					
None					
Metabolism					
None					
Excretion					
None					
Pharmacokinetic Drug Interactions					
None					

IV: intravenous. IP: intraperitoneal.

2 分析方法及びバリデーション試験

Document Control Number:	930046508	930046709
Species	Mouse	Monkey
Matrix	Serum	Serum
Analyte	Elotuzumab[a]	Elotuzumab[a]
Method	Enzyme-linked Immunosorbent Assay	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
Capture	HuCS1mFc[b]	HuCS1mFc[b]
Detector	Goat anti-human kappa light chain-horseradish peroxidase	Goat anti-human kappa light chain-horseradish peroxidase
Validation	Validated	Qualified
Regression Model	4-parameter	4-parameter
Quantification Range (100% Matrix)	0.12 to 8.0 µg/mL	0.3 to 6.0 µg/mL
QC Precision (% CV)		
Intra Assay	≤ 7.78%	≤ 15.8%
Inter Assay	≤ 10.3%	≤ 13.4%
QC Accuracy (% Deviation)	Within 20%	Within 20%
Stability		
RT	24 hours	24 hours
Freeze Thaw	6 cycles	3 cycles[c]
Studies in Which Method was Used	930046307	930046731

[a] Elotuzumab is referred to HuLuc63 in the validation and study reports.
[b] A SLAMF7 fusion protein comprised of the extracellular domain of human SLAMF7 and murine IgG1 Fc (fragment crystallizable). In the validation and study reports, SLAMF7 is referred to as CS1.
[c] Freeze-thaw stability was determined during method development.
HuLuc63: humanized anti-CS1 monoclonal antibody. CS1: CD2 subset 1. RT: room temperature. SLAMF7: signaling lymphocyte activation molecule family member 7.

3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

Table 2.6.5.3: Pharmacokinetics - Absorption After a Single Dose (Monkey)

Test Article: Elotuzumab
Location in Dossier: 4.2.2.2-1
Study No./ Document Control No: TR[redacted]50 / 930046731

Species/ Strain: Monkey/ Rhesus
Feeding condition: Non-fasted
Vehicle/ Formulation: 20 mM sodium citrate, 120 mM sodium chloride, 0.05% Tween 80, pH 6/ Solution
Method of administration: Infusion (30 minutes)
Route: Intravenous
Sample: Blood samples were collected for serum elotuzumab analysis at 1 hour before the infusion start time on Day 1, and 1, 2, 4, 8, 24, and 72 hours after the initiation of the infusion, and once on Days 8, 15, 22, 36, and 43.
Assay: Enzyme-linked immunosorbent assay
Analyte: Elotuzumab

Dose (mg/kg):	**30**		**100**	
Gender / Number of Animals	**Male / 1**	**Female / 1**	**Male / 1**	**Female / 1**
Cmax (μg/mL)	640	644	1657	2065
AUC(INF) (mg•h/mL)[a]	194	118	335	447
Tmax (h)	1.00	1.00	2.00	8.00
CLTs (mL/hr/kg)	0.155	0.254	0.299	0.224
V_1 (mL/kg)	46.3	46.4	61.5	49.9
T-HALF (day)	14.8	8.00	8.39	9.74

Additional Information: Values are from individual animals.

[a] Mean combined-sex AUC values were 156 and 391 mg•h/mL at 30 and 100 mg/kg, respectively.

4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

Table 2.6.5.4: Pharmacokinetics - Absorption After Repeated Doses (Tumor-bearing SCID Mouse)

	Test Article: Elotuzumab
	Location in Dossier: 4.2.2.7-1 and 4.2.2.7-2
	Study No./ Document Control No: RTR15 / 930046215
	TR[redacted]11 / 930046307
Species/ Strain:	Mouse / SCID
Number of Animals:	9 per dose group; minimum of 3 per timepoint
Feeding condition:	Non-fasted
Method of administration:	Injection
Route:	Intraperitoneal
Sample:	Serum
Assay:	Enzyme-linked immunosorbent assay
Analyte:	Elotuzumab

	Serum Elotuzumab Concentration (μg/mL)				
Dose (mg/kg)[a]:	**0.1**	**0.5**	**1**	**5**	**10**
C1 maximum	0.48 ± 0.19	3.55 ± 0.81	8.25 ± 2.09	43.1 ± 18.8	98.0 ± 24.8
C1 minimum	0.13 ± 0.25	1.88 ± 1.09	3.15 ± 2.15	34.0 ± 6.22	68.5 ± 6.42
C6 minimum	0.43 ± 0.96	6.90 ± 6.27	18.9 ± 10.2	127 ± 19.7	272 ± 55.9
C7 maximum	0.87 ± 0.81	13.0 ± 7.23	23.8 ± 18.1	176 ± 37.0	429 ± 85.9
Terminal bleed	0.30 ± 0.56	7.05 ± 6.12	14.0 ± 11.0	109 ± 21.2	257 ± 54.9

Additional Information: Values are mean ± standard deviation. SCID: severe combined immunodeficient. C1maximum: serum concentration obtained 8 hours after first dose. C1 minimum: serum concentration obtained immediately before the second dose. C6 minimum: serum concentration obtained immediately before the seventh dose. C7 maximum: serum concentration obtained 8 hours after the last dose. Terminal bleed: 1 dose-interval (3days) after the last dose.

[a] Mice were dosed once every 3 days for a total of 7 doses.

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

該当試験なし

8　薬物動態試験：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