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

MSD 株式会社

目次

頁
表一覧 2
図一覧 3
略号及び用語の定義 4
2.6.4.1　まとめ 5
2.6.4.2　分析法 5
2.6.4.3　吸収 7
2.6.4.4　分布 11
2.6.4.5　代謝 11
2.6.4.6　排泄 12
2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用 12
2.6.4.8　その他の薬物動態試験 13
2.6.4.9　考察及び結論 13
2.6.4.10　参考文献 13

Confidential

表一覧

頁

表2.6.4: 1　生物分析法及びアッセイの詳細 7
表2.6.4: 2　雌カニクイザルに MK-3475を単回静脈内投与したときの PK パラメータの要約（SN[redacted]S00372試験） 8
表2.6.4: 3　カニクイザルに MK-3475を週1回反復静脈内投与したときの TK パラメータの要約（1ヵ月間、SN[redacted]396試験） 10
表2.6.4: 4　カニクイザルに MK-3475を2週に1回反復静脈内投与したときの TK パラメータの要約（6ヵ月間、TT #[redacted]-1084試験） 11

Confidential

図一覧

頁

図2.6.4: 1　野生型 IgG4混合物（抗 PD1 + 抗 PCSK9、各抗体300 µg／匹）又は MK-3475と抗 PCSK9 wt の混合物（各抗体300 µg／匹）を雌 C.B17 SCID マウスに単回静脈内投与したときの血清中 IgG4ハイブリッド抗体分子濃度（TRPT-002743試験）...12

Confidential

略号及び用語の定義

略号	定義	
ADA	Anti-Drug Antibody	抗薬物抗体（抗 MK-3475抗体）
AUC	Area Under the Curve	濃度－時間曲線下面積
CL	Clearance	クリアランス
C_{max}	Observed Maximum Concentration	最高血清中濃度
CYP	Cytochrome P450	チトクロム P450
DDI	Drug-Drug Interaction	薬物相互作用
ECL	Electrochemiluminescence	電気化学発光
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着
Fab	Fragment Antigen Binding	抗原結合性フラグメント
Fc	Fragment Crystallizable	結晶性フラグメント
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
ICH	International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
PK	Pharmacokinetics	薬物動態
SCID	Severe Combined Immunodeficiency	重症複合免疫不全
$t_{1/2}$	Elimination Half-Life	消失半減期
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
wt	Wild Type	野生型

Confidential

2.6.4.1　まとめ

ペムブロリズマブ（遺伝子組換え）（以下、MK-3475）（SCH 900475、ORG 307488-0）の薬物動態（PK）を、「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）」非準拠のカニクイザルを用いた単回投与 PK 試験1試験及び GLP 準拠のカニクイザルを用いた反復投与トキシコキネティクス（TK）試験2試験（1及び6ヵ月）で評価した。

MK-3475（研究用被験薬、バッチ番号[redacted]）を0.3、3.0又は30 mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき、血清中濃度は多相性を示しながら消失した。曝露量は0.3と3.0 mg/kg の間では用量比をわずかに上回って増加し、3.0と30 mg/kg の間ではほぼ用量に比例して増加した。MK-3475の抗薬物抗体（ADA）は投与した大部分の動物で検出された。クリアランス（CL）及び消失半減期（$t_{1/2}$）は試験した用量範囲で用量依存性を示し、CL は3.7～5.7 mL/day/kg、$t_{1/2}$は4～10日であった。

1ヵ月間反復投与 TK 試験では、カニクイザルに6、40又は200 mg/kg の MK-3475（非臨床毒性試験用被験薬、バッチ番号[redacted]）を週1回、合計5回静脈内投与した後、4ヵ月間の回復期間を設けた。6 mg/kg 群の12匹中7匹及び40 mg/kg 群の12匹中1匹で ADA が検出され、これらの動物では CL の増加が認められた。ADA 陰性動物の $t_{1/2}$の平均は全用量で15.7～22.3日であった。投与後7日間の曝露量に性差は認められず、曝露量は用量の増加に伴って増加した。初回投与後の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}7\ days}$ は試験した用量範囲においてほぼ用量比例性を示した。また、5回目の投与後7日間の曝露量は初回投与後と比較して増加した（最大5.58倍）。

6ヵ月間反復投与 TK 試験では、カニクイザルに6、40又は200 mg/kg の MK-3475（非臨床毒性試験用被験薬、バッチ番号[redacted]）を2週に1回、合計12回静脈内投与した後、4ヵ月間の回復期間を設けた。6 mg/kg 群の10匹中5匹で投与期間中の43、71又は99日目に ADA が検出され、これらの動物では CL の増加が認められた。ADA 陽性動物を除外した $t_{1/2}$の平均は全用量で21～22日であった。MK-3475の曝露量に性差は認められなかった。ADA 陽性動物を除外した平均 $AUC_{0\text{-}14\ days}$ 及び平均 C_{max} は、1日目の6と40 mg/kg の間でわずかに用量比を上回って増加したことを除けば、1、71及び141日目ともにほぼ用量比例性を示した。MK-3475は、71日目には定常状態に達していることが示唆された。71日目の6回目の反復投与後14日間の曝露量は初回投与後の値と比較してわずかに増加した（最大1.8倍）。

従来の組織分布試験、代謝試験及び排泄試験は実施していない。ただし、MK-3475が Fab アーム（又は半分子）交換しないことを確認するため、マウスを用いた in vivo 試験を実施した。その結果、MK-3475は他の IgG4分子と in vivo で Fab アーム交換を行わなかった。

完了した PK 試験の一覧を[2.6.5.1 項]に示す。

2.6.4.2　分析法

PK/TK 試験における血清中 MK-3475濃度の分析にはイムノアッセイを用いた[表2.6.4: 1]。GLP 非準拠のカニクイザルを用いた単回投与 PK 試験では、酵素結合免疫吸着（ELISA）法を用いた。カニクイザルを用いた反復投与 TK 試験は GLP に準拠しており、これらの試験の血清中 MK-3475濃度は、電気化学発光（ECL）法を用いて測定した。ELISA 法及び ECL 法とも、サルの血清中

C Confidential

MK-3475濃度は、リガンド（hPD1-Fc）で捕捉後、抗ヒト kappa 鎖抗体（Ab）で検出して測定した。MK-3475の抗原結合ドメインは固定化 hPD1と結合するため、結合していない抗原結合ドメインを有する MK-3475のみが測定された。ADA の検出ではブリッジング ECL 法を用い、ビオチン化 MK-3475で捕捉後、ルテニル化 MK-3475で検出した。標準品としてはアフィニティーカラムで精製したウサギ抗 MK-3475ポリクローナル抗体を用いた。中和抗体は、MK-3475濃度測定において ADA 存在下での MK-3475のシグナルの減少又は消失から求めた。マウスを用いた in vivo での野生型（wt）IgG4の Fab アーム交換を検討する試験では、ECL 法及び ELISA 法を用いて、それぞれハイブリッド抗体分子及び親抗体分子を検出した。分析法の詳細を[2.6.5.2 項]に示す。

C Confidential

表 2.6.4: 1　　生物分析法及びアッセイの詳細

Assay	Study Number	試験名	動物種	詳細
MK-3475濃度測定 GLP 非準拠薬物動態試験	PK001 (SN [redacted]S00372)	雌カニクイザルに MK-3475を単回静脈内投与したときの GLP 非準拠薬物動態、薬力学的及び忍容性試験	カニクイザル	目的:血清中 MK-3475 の濃度測定 アッセイ法:ELISA 法
ADA 測定 GLP 非準拠薬物動態試験	PK001 (SN [redacted]S00372)	雌カニクイザルに MK-3475を単回静脈内投与したときの GLP 非準拠薬物動態、薬力学的及び忍容性試験	カニクイザル	目的:血清中 ADA の濃度測定 アッセイ法:ブリッジング ELISA 法
MK-3475濃度測定 1ヵ月投与毒性試験	PK002 (DM27759)	MSD Sector Imager 6000 Analyzer を用いた ECL 法によるカニクイザル血清中の MK-3475の濃度測定	カニクイザル	目的:血清中 MK-3475 の濃度測定 アッセイ法:ECL 法
ADA 測定 1ヵ月投与毒性試験	PK003 (DM27757)	MSD Sector Imager 6000 Analyzer を用いた ECL 法によるカニクイザル血清中の ADA の濃度測定	カニクイザル	目的:血清中 ADA の濃度測定 アッセイ法:ブリッジング ECL 法
ADA 中和抗体測定 1ヵ月投与毒性試験	PK004 (DM27756)	MSD Sector Imager 6000 Analyzer を用いた ECL 法によるカニクイザル血清中の ADA 中和抗体の測定	カニクイザル	目的:血清中 ADA 中和抗体測定 アッセイ法:ブリッジング ECL 法
MK-3475濃度測定 6ヵ月投与毒性試験	PK005 (AR3607)	Meso Scale Discovery's Sector Imager 2400を用いた ECL イムノアッセイによるカニクイザル血清中の MK-3475濃度測定のバリデーション（トランスファー用）	カニクイザル	DM27759アッセイ法の移管と[redacted]での再バリデーション 目的:血清中 MK-3475 の濃度測定 アッセイ法:ECL 法
ADA 測定 6ヵ月投与毒性試験	PK006 (3608)	Meso Scale Discovery's Sector Imager 2400を用いた ECL イムノアッセイによるカニクイザル血清中の ADA 濃度測定の再バリデーション	カニクイザル	DM27757アッセイ法の移管と[redacted]での再バリデーション 目的:血清中 ADA の濃度測定 アッセイ法:ブリッジング ECL 法
ハイブリッド抗体分子及び親抗体分子濃度測定 Fab アーム交換試験	PK007 (TRPT-002743)	MK-3475（抗-PD1）の Fab アーム（半分子）交換がないことを確認する試験	マウス/ C.B17 SCID	目的:血清中 IgG4ハイブリッド抗体分子及び親抗体分子の濃度測定 アッセイ法:ELISA 法及び ECL 法

[2.6.5.2 項]

2.6.4.3　吸収

本項で考察する MK-3475の PK 試験は、薬理学的に適切な動物種であるカニクイザル（MK-3475のサル PD-1に対する結合親和性については[2.6.2.2 項]を参照）を用いた GLP 非準拠の単回投与 PK 試験1試験及び GLP 準拠の反復投与 TK 試験2試験（1及び6ヵ月）である。PK 試験における

Confidential

MK-3475の投与経路はいずれも静脈内とした。MK-3475の臨床投与経路としては静脈内投与を予定しているため、血管外投与による試験は行わなかった。

MK-3475（研究用被験薬、バッチ番号[redacted]）を0.3、3.0又は30 mg/kg の用量で雌カニクイザルに単回静脈内投与したとき、血清中濃度は多相性を示しながら消失した。$AUC_{0\text{-last}}$ は、0.3と3.0 mg/kg の間では用量比をわずかに上回って増加し、3.0と30 mg/kg の間ではほぼ用量に比例した[表2.6.4: 2]。ADA は MK-3475を投与した動物のほとんど（0.3及び3.0 mg/kg 群の6匹すべて並びに30 mg/kg 群の3匹中2匹）で検出され、その大部分が、0.3 mg/kg 群では投与後10及び21日目並びに3.0及び30 mg/kg 群では投与後21日目に検出された。CL は試験した用量範囲で用量依存性を示し、0.3、3.0及び30 mg/kg 群ではそれぞれ5.7 ± 0.2、4.2 ± 0.4及び3.7 ± 0.1 mL/day/kg であった。また、$t_{1/2}$も ADA の有無にかかわらず用量依存性を示し、3.0及び0.3 mg/kg 群の $t_{1/2}$（約4～6日）に比べて30 mg/kg 群の $t_{1/2}$（約10日）は長かった。このような MK-3475の非線形薬物動態は標的介在性の薬物消失の可能性を示唆している。しかし、低用量でより大きな影響を及ぼすと考えられる ADA がほとんどの動物にて検出されたことから、ADA の関与も否定できない。なお、本試験に使用した溶媒には10 mM クエン酸塩、7%（w/v）スクロース及び0.02%（w/v）ポリソルベート80（pH 5.5）が含まれていた。サルを用いた単回投与時の PK データの要約を[表2.6.4: 2]及び[2.6.5.3.1 項]（[資料4.2.2.2.1: PK001]評価資料）に示す。

表 2.6.4: 2　雌カニクイザルに MK-3475 を単回静脈内投与したときの PK パラメータの要約（SN[redacted]S00372 試験）

Dose	0.3 mg/kg[a]	3 mg/kg[a]	30 mg/kg[a]	30 mg/kg[b]
Number of Animals	3	3	3	1
PK Parameters	Values (Mean ± SEM)			
C_{max} (µg/mL)	15.3 ± 4.3	117.7 ± 5.2	1265 ± 73	1188
$AUC_{0\text{-last}}$ (µg•day/mL)[c]	41.0 ± 2.9	700.0 ± 76.5	6374 ± 767	7616
CL (mL/day/kg)	5.7 ± 0.2	4.2 ± 0.4	3.7 ± 0.1	3.9
$t_{1/2}$ (days)	3.9 ± 0.7	5.9 ± 1.6	10.6 ± 0.4	10.4
V_{ss} (mL/kg)	30.9 ± 6.0	36.8 ± 4.6	54.8 ± 5.7	60.0

SEM：標準誤差
a　各群3匹のサルをすべて解析に含めた。
b　ADA 陰性の動物のみを解析に含めた。
c　ADA のため、1 mg/L 未満の濃度のサンプルは計算から除外した。このため、$AUC_{0\text{-last}}$ の期間は動物によって異なり、0.3 mg/kg 群の3匹の最終時点は14、7及び14日目、3 mg/kg 群の3匹の最終時点は42、28及び14日目、30 mg/kg 群の3匹の最終時点は28、14及び63日目であった。
[2.6.5.3.1 項]

GLP 準拠の1ヵ月間反復投与 TK 試験では、カニクイザル（雄6匹、雌6匹）に6、40又は200 mg/kg の MK-3475（非臨床毒性試験用被験薬、バッチ番号[redacted]）を週1回、合計5回静脈内投与した後、4ヵ月間の回復期間を設けた。TK パラメータは初回及び5回目の投与後7日間の間隔で算出した[表2.6.4: 3]。ADA は6 mg/kg 群の12匹中7匹及び40 mg/kg 群の12匹中1匹で検出され

C Confidential

た。ADA 陽性の大部分は、6 mg/kg 群では試験21日目、40 mg/kg 群では試験98日目（回復期間）に検出された。ほとんどの ADA 陽性サンプルは中和活性を有し、これらの動物では MK-3475濃度の著しい低下との関連性が示唆された。ADA 陰性動物の $t_{1/2}$の平均は全用量で15.7～22.3日であった。投与後7日間の曝露量に性差は認められず、曝露量は用量の増加に伴って増加した。初回投与後の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}7\ days}$ は試験した用量範囲においてほぼ用量比例性を示した。しかしながら、5回目の投与後（28日目）の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}7\ days}$ は6～200 mg/kg にて用量比例的な増加を上回った。また、5回目の投与後7日間の曝露量は初回投与後よりも大きかった（最大5.58倍）。なお、本試験の MK-3475は臨床で使用している処方で調製した［10 mM ヒスチジン、7%（w/v）スクロース及び0.02%（w/v）ポリソルベート80含有（pH 5.5）］。サルを用いた1ヵ月間反復投与時の TK データの要約を[表2.6.4: 3]及び[2.6.5.3.2 項]（[資料4.2.3.2.1: SN[redacted]396]評価資料）に示す。

C Confidential

表 2.6.4: 3　　カニクイザルに MK-3475 を週 1 回反復静脈内投与したときの TK パラメータの要約（1 ヵ月間、SN [redacted]396 試験）

Dosing day (# of Doses[a])	Day 1 (1)			Day 28 (5)		
Dose (mg/kg)	6	40	200	6	40	200
C_0 (μg/mL)[b]	322[e]	2950	14800	338	4390	58900
C_{max} (μg/mL)[b]	292[e]	2510	14800	350	4770	86200
T_{max} (hr)[c]	1 (1-24)	1 (1-168)[f]	1 (1-48)	2 (1-24)	2 (1-168)[f]	3 (1-24)
$t_{1/2}$ (days)	ND	ND	ND	15.7[g]	22.3[g]	19.8[g]
$AUC_{0\text{-}7\ days}$ (μg•day/mL)[b]	923	7240	49700	1790 (2350)[i]	24100[h]	170000[h]
R[b, d]	N/A	N/A	N/A	1.78[j]	3.12[j]	5.58[j]

ND：算出せず；N/A：該当なし
a　特に規定しない限り、各群12匹（雄6匹、雌6匹）
b　特に規定しない限り、算術平均
c　中央値（最小値 - 最大値）
d　AUC 比：R = 5回目投与後の $AUC_{0\text{-}7\ days}$ ／初回投与後の $AUC_{0\text{-}7\ days}$；個々の動物から得られた R の平均値を算出
e　N = 13
f　T_{max} = 168時間は、40 mg/kg 群の12匹のうち、初回投与後に1匹で、5回目投与後に別の1匹で認められた。
g　$t_{½}$は回復群に割り付けられた動物より算出した。
h　推定上限値。4匹（雌雄2匹ずつ）から得られた $AUC_{0\text{-}7\ days}$ の算術平均値
i　括弧内の AUC は ADA 陽性を除外した値
j　N = 4（雌雄2匹ずつ）
[2.6.5.3.2 項]

6ヵ月間反復投与 TK 試験では、カニクイザル（雄5匹、雌5匹）に6、40又は200 mg/kg の MK-3475（非臨床毒性試験用被験薬、バッチ番号[redacted]）を2週に1回、合計12回静脈内投与した後、4ヵ月間の回復期間を設けた。TK パラメータは初回（1日目）、6回目（71日目）及び11回目（141日目）の投与後14日間の間隔で算出した[表2.6.4: 4]。ADA は6 mg/kg 群の10匹中5匹で投与期間中の43、71又は99日目に検出され、これらの動物では MK-3475濃度の著しい低下との関連性が示唆された。投与期間中、40及び200 mg/kg 群では、ADA は検出されなかった。ADA 陰性動物について最終投与（12回目投与：155日目）後に $t_{1/2}$を算出した結果、$t_{1/2}$の平均は全用量で21～22日であった。1ヵ月間反復投与 TK 試験と同様、MK-3475の曝露量に性差は認められなかった。71日目の曝露量は141日目と同程度であり、71日目までに定常状態に達していたことが示唆され、その期間は MK-3475の $t_{1/2}$の約3.5倍に相当した。ADA 陽性動物以外の1、71及び141日目の平均 $AUC_{0\text{-}14\ days}$及び平均 C_{max}は、1日目の6と40 mg/kg の間でわずかに用量比を上回ったことを除けば、試験した用量範囲でほぼ用量比例性を示した。71日目（6回目投与）の投与後14日間の曝露量は初回投与後の値と比較してわずかに増加した（最大1.8倍）。なお、本試験の MK-3475は臨床で使用している処方で調製した［10 mM ヒスチジン、7%（w/v）スクロース及び0.02%（w/v）ポリソルベート80含有（pH 5.5）］。サルを用いた6ヵ月間反復投与時の TK データの要約を[表2.6.4: 4]及び[2.6.5.3.3 項]（[資料4.2.3.2.2: TT[redacted]1084]評価資料）に示す。

C Confidential

表 2.6.4: 4　　カニクイザルに MK-3475 を 2 週に 1 回反復静脈内投与したときの TK パラメータの要約（6 ヵ月間、TT #[redacted]-1084 試験）

Dosing day (#of Doses)	Day 1 (1)			Day 71 (6)			Day 141 (11)		
Dose[a] (mg/kg)	6	40	200	6	40	200	6	40	200
C_{max} (µg/mL)[b]	174 ± 7.72 (168 ± 7.90)[c]	1840 ± 216	7470 ± 529	215 ± 43.8 (332 ±67.6)[c]	1930 ± 93.8	10,500 ± 489	224 ± 33.9 (326 ± 18.6)[c]	1890 ± 180	10,400 ± 772
T_{max} (hr)[b]	0.33 ± 0.083 (0.36 ± 0.11)[c]	1.6 ± 0.59	4.8 ± 2.2	1.3 ± 0.58 (2.6 ± 1.3)[c]	2.0 ± 0.75	0.55 ± 0.12	0.25 ± 0.0 (0.25 ± 0.0)[c]	1.5 ± 0.56	1.1 ± 0.55
$AUC_{0\text{-}14\ days}$ (µg·day/mL)[b]	892 ± 34 (917±38)[c]	7333± 458	35333 ±2517	1004±353 (2021±347)[c]	13042 ±688	64167± 2463	1200 ± 401 (2463±78)[c]	13417 ±1125	67500± 4458
R[d]				1.13 (2.2)	1.78	1.81	1.34 (2.69)	1.83	1.91

追記：$t_{1/2}$は、ADA 陽性でなかった動物の最終投与（155日目の12回目投与）後に評価した。6、40及び200 mg/kg 群の平均 $t_{1/2}$はそれぞれ21、21 ± 2及び22 ± 2日であった。

a　各群の動物数：雌5匹、雄5匹
b　算術平均 ± 標準誤差
c　ADA 陽性を除外した値
d　AUC 比：71日目の R = 71日目投与後の $AUC_{0\text{-}14\ days}$／1日目投与後の $AUC_{0\text{-}14\ days}$；141日目の R = 141日目投与後の $AUC_{0\text{-}14\ days}$／1日目投与後の $AUC_{0\text{-}14\ days}$。6 mg/kg 群については2つの値があるが、括弧内は ADA 陽性を除外した R である。

[2.6.5.3.3 項]

2.6.4.4　分布

日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）S6（R1）のガイダンス「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」に従い、MK-3475の組織分布試験は実施していない。

2.6.4.5　代謝

ICH S6（R1）のガイダンス「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」に従い、MK-3475について従来の代謝試験は実施していない。

MK-3475に Fab アーム（又は半分子）交換がないことを確認するため、in vivo 試験を実施した。IgG4 wt 分子は、in vitro 及び in vivo において、Fab アームを別の IgG4の Fab アームと入れ替えることで Fab アーム交換と呼ばれる分子内転移をし、それによってハイブリッド抗体（又は二重特性）を産生する[資料4.3: 17]。IgG4のコアヒンジ領域における点突然変異体（S228P）は、Fab アーム交換を抑制することが示されている[資料4.3: 17][資料4.3: 37]。MK-3475は S228P 変異を有するため、この交換は起きないことが期待される。実際、in vitro での試験より、MK-3475は、最高臨床用量10 mg/kg を投与した患者での濃度よりはるかに高いと推定される濃度においても、リン酸緩衝生理食塩液中又はヒト血清中において、別の IgG4 wt モノクローナル抗体又はヒト IgG プールと Fab アーム交換をしないことが示されている。さらに、MK-3475が in vivo で Fab アーム交換をしないことを確認するため、雌 C.B17 重症複合免疫不全（SCID）マウスに MK-3475と抗 PCSK9 IgG4野生型分子（抗 PCSK9 wt）の混合物を投与し、ハイブリッド抗体の生成を調べた。

C Confidential

その結果、[図2.6.4: 1]に示すように、in vivo で同時投与したとき、MK-3475は別の IgG4分子とハイブリッド分子を生成しなかったが、対応する wt 分子（抗 PD-1 wt と抗 PCSK9 wt）はハイブリッド抗体を生成した（[2.6.5.5.1 項] [資料4.2.2.4.1: PK007]評価資料）。

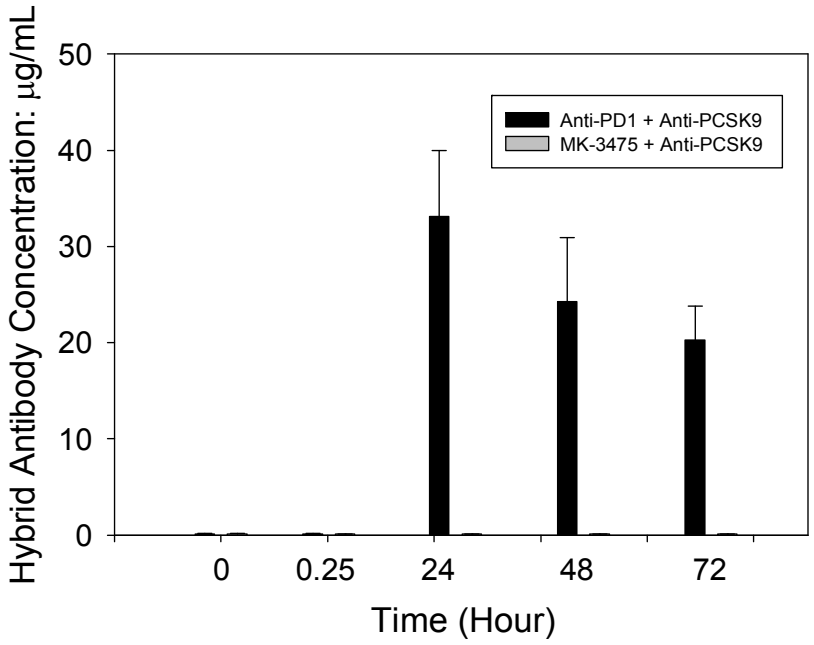


図 2.6.4: 1　　野生型 IgG4 混合物（抗 PD1 + 抗 PCSK9、各抗体 300 µg／匹）又は MK-3475 と抗 PCSK9 wt の混合物（各抗体 300 µg／匹）を雌 C.B17 SCID マウスに単回静脈内投与したときの血清中 IgG4 ハイブリッド抗体分子濃度（TRPT-002743 試験）

[2.6.5.5.1 項]

2.6.4.6　排泄

ICH S6（R1）のガイダンス「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」に従い、MK-3475の排泄試験は実施していない。

2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用

MK-3475が薬物動態学的薬物相互作用（DDI）を受ける又は誘発することを評価する非臨床薬物動態試験は実施していない。MK-3475は IgG 分子であるため、蛋白分解経路で消失する。チトクロム P450（CYP）及び他の代謝酵素に影響を与える薬物は IgG 代謝に影響を与えないと考えられる。また、一般に IgG は、薬物の消失に関与する CYP、その他の代謝酵素及びトランスポーターの発現を直接阻害又は誘導しない。さらに、in vitro 試験及び非臨床の動物試験は、治療用蛋白質のヒトでの DDI の予測には有用ではないことが示されている[資料4.3: 16]。

C Confidential

2.6.4.8　その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施されていない。

2.6.4.9　考察及び結論

MK-3475を0.3、3.0又は30 mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき、MK-3475の曝露量は0.3と3.0 mg/kg の間では用量比をわずかに上回って増加し、3.0と30 mg/kg の間で曝露量は、ほぼ用量に比例して増加した。CL 及び $t_{1/2}$は用量依存性を示し、高用量群では CL が低く、$t_{1/2}$が延長する傾向にあったことから、低用量における標的介在性の薬物消失の関与の可能性が示唆された。しかしながら、MK-3475における薬物動態の非線形性については ADA の関与も否定できない。

MK-3475を6、40又は200 mg/kg の用量で週1回（1ヵ月間試験）又は2週に1回（6ヵ月間試験）投与したとき、MK-3475の曝露量に性差は認められなかった。反復投与後の MK-3475の曝露量は初回投与後に比べて1ヵ月間試験では顕著に増加し、6ヵ月間試験ではわずかに増加した。反復投与毒性試験において、1ヵ月間及び6ヵ月間反復投与 TK 試験の初回投与後、並びに6ヵ月間反復投与 TK 試験の反復投与後の MK-3475の曝露量は、試験した用量範囲で概して用量比例性を示した。一方、1ヵ月間反復投与 TK 試験では反復投与後の MK-3475の曝露量は6～200 mg/kg にて用量比例的な増加を上回った。使用動物数が少数であり（N＝2匹／性／群）それに伴ってデータがばらついたため、MK-3475の薬物動態は非線形性であると断定することはできないものの、本試験にて非線形を示した理由としては、低用量群（6 mg/kg 群）では ADA の検出率が高かったことから、曝露量が減少し、見かけ上用量比例的な増加が認められなかった可能性がある。高用量群（40及び200 mg/kg 群）で低用量群よりも ADA 検出率が低かった理由としては、ADA を測定する際に、高い血清中 MK-3475濃度が ADA の検出を妨げた可能性が考えられる。なお、MK-3475が ADA の検出を有意に抑制することの詳細については、バリデーション報告書に示す（[資料4.2.2.1.2: PK003]評価資料、[資料4.2.2.1.5: PK006]評価資料）。さらに、高用量の可溶性タンパク質を動物及びヒトに投与すると、体液性（抗体）及び細胞性（T 細胞）免疫反応の低下を示すいわゆる高量域免疫寛容（high zone tolerance）を引き起こすことが報告されていることから[資料4.3: 38]、高用量群で低用量群よりも ADA 検出率が低かった理由として、免疫寛容が寄与している可能性も考えられる。

SCID マウスを用いて実施した in vivo 試験では、MK-3475を IgG4 wt 分子と in vivo で同時投与したとき、検出可能レベルのハイブリッド抗体は生成されなかった。この結果は、MK-3475の in vitro での詳細な試験結果とも矛盾が無く、ヒンジ領域の228位に S から P への変異を有する MK-3475がヒトにおいて Fab アーム交換をする可能性は低いことを示している。

2.6.4.10　参考文献

[資料 4.3: 16]　Evers R, Dallas S, Dickamnn LJ, Fahmi OA, Kenny JR, Kraynov E, et al. Critical review of preclinical approaches to investigate cytochrome P450-mediated therapeutic

C Confidential

protein drug-drug interactions and recommendations for best practices: a white paper. Drug Metab Dispos. 2013; 41: 1598-609.

[資料 4.3: 17]　Van Der Neut Kolfschoten M, Schuurman J, Losen M, Bleeker WK, Martínez P, Vermeulen E, et al. Anti-inflammatory activity of human IgG4 antibodies by dynamic fab arm exchange. Science. 2007; 317: 1554-7.

[資料 4.3: 37]　Labrijn AF, Buijsse AO, van den Bremer ETJ, Verwilligen AYW, Bleeker WK, Thorpe SJ, et al. Therapeutic IgG4 antibodies engage in Fab-arm exchange with endogenous human IgG4 in vivo. Nat Biotechnol. 2009; 27: 767-71.

[資料 4.3: 38]　Somerfield J, Hill-Cawthorne GA, Lin A, Zandi MS, McCarthy C, Jones JL, et al. A novel strategy to reduce the immunogenicity of biological therapies.J. Immunol. 2010, 185: 763‑8.

C Confidential

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

MSD 株式会社

TABLE OF CONTENTS

2.6.5.1 Pharmacokinetics: Overview 2
2.6.5.2 Pharmacokinetics: Analytical Methods 3
2.6.5.3 Pharmacokinetics: Absorption 7
2.6.5.3.1 Pharmacokinetics After Single Dose (PK001; SN [redacted]S00372) 7
2.6.5.3.2 Toxicokinetics After One Month Repeat Dose (SN [redacted]396) 8
2.6.5.3.3 Toxicokinetics After Six Month Repeat Dose (TT #[redacted]-1084) 9
2.6.5.5 Pharmacokinetics: Metabolism 10
2.6.5.5.1 In Vivo Fab-Arm Exchange of MK-3475 Molecule (PK007; TRPT-002743) 10

C Confidential

2.6.5.1 Pharmacokinetics: Overview

Test Article: MK-3475 (SCH 900475)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location Vol. Section
Absorption					
Pharmacokinetics and Pharmacodynamics after single dose	Female Cynomolgus Monkey	Intravenous injection	MRL OSS, the Netherlands	PK001 (SN [redacted]S00372)	[Ref. 4.2.2.2.1: PK001]
Toxicokinetics after repeat dose (one month)	Cynomolgus Monkey	Intravenous injection	MRL Lafayette, US	SN[redacted]396	[Ref. 4.2.3.2.1: SN[redacted]396]
Toxicokinetics after repeat dose (Six month)	Cynomolgus Monkey	Intravenous injection	MRL West Point, US	TT #[redacted]-1084	[Ref. 4.2.3.2.2: TT[redacted]1084]
Distribution					
No studies conducted					
Metabolism					
In vivo stability (Ig4 Fab-arm exchange)	Female C.B17 SCID Mouse	Intravenous injection	MRL Palo Alto, US	PK007 (TRPT-002743)	[Ref. 4.2.2.4.1: PK007]
Excretion					
No studies conducted					

C Confidential

2.6.5.2 Pharmacokinetics: Analytical Methods

Test Article: MK-3475 (SCH 900475)

	Study Number	Study Title	Species/Strain	GLP	Method details
Drug assay for non-GLP PK study	PK001 (SN[redacted]S00372) [Ref. 4.2.2.2.1: PK001]	Non-GLP Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Tolerability of SCH 900475/Org 307488-0 Following a Single Intravenous Dose Administration in Female Cynomolgus Monkeys	Monkey/ Cynomolgus	No	Assay purpose: Determination of drug level Assay Matrix: Monkey serum Assay Type: ELISA Internal Standard: MK-3475 (SCH900475, SPP2094107, SPRI BSPD lot# [redacted]) Assay format: Ligand (hPD1-Fc) as capture, anti-human kappa chain Ab as detection. Assay Range:0.015-1000 ng/mL in 2% Cynomolgus Monkey Serum (CMS)
Anti-drug antibody (ADA) assay for non-GLP PK study	PK001 (SN[redacted]S00372) [Ref. 4.2.2.2.1: PK001]	Non-GLP Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Tolerability of SCH 900475/Org 307488-0 Following a Single Intravenous Dose Administration in Female Cynomolgus Monkeys	Monkey/ Cynomolgus	No	Assay purpose: Qualitative measurement of anti-MK3475 antibody Assay Matrix: Monkey serum Assay Type: Bridging ELISA Assay Format: MK-3475 (SCH900475, SPP2094107, SPRI BSPD lot# [redacted]) as capture, biotinylated MK-3475 as detection

C Confidential

2.6.5.2 Pharmacokinetics: Analytical Methods

Test Article: MK-3475 (SCH 900475)

	Study Number	Study Title	Species/Strain	GLP	Method details
Drug assay for one month tox study	PK002 (DM27759) [Ref. 4.2.2.1.1: PK002]	Quantitation of SCH 900475 Drug Levels in Cynomolgus Monkey Serum Using an Electrochemiluminescence (ECL) Assay on the MSD Sector Imager 6000 Analyzer	Monkey/ Cynomolgus	No	Assay purpose: Quantitation of MK-3475 level Assay Matrix: Serum Assay Type: Electrochemiluminescence (ECL) Internal Standard: MK-3475 (SCH900475 Batch# [redacted]) Assay format: Biotinylated ligand (hPD1-Fc) as capture, ruthenylated goat anti-human kappa chain Ab as detection. Assay Range:0.137-100 ng/mL in 100% CMS
ADA assay for one-month tox study	PK003 (DM27757) [Ref. 4.2.2.1.2: PK003]	Quantitation of Anti-SCH 900475 Antibodies in Cynomolgus Monkey Serum Using an Electrochemiluminescence (ECL) Assay on the MSD Sector Imager 6000 Analyzer	Monkey/ Cynomolgus	No	Assay purpose: Quantitation of monkey anti-MK-3475 antibodies Assay Matrix: Serum Assay Type: Bridging Electrochemiluminescence (ECL) Anti-MK3475 Standard: Affinity Purified Rabbit Polyclonal MK-3475 standard: SCH900475 Batch# [redacted] Assay format: biotinylated MK-3475 as capture, ruthenylated MK-3475 as detection Assay Range:7.81-500 ng/mL in 100% CMS with no drug present Drug tolerance: approximately 500 ng/mL in the presence of 10 µg/mL of MK-3475; 125 ng/mL in the presence of 1µg/mL of MK-3475

C Confidential

2.6.5.2 Pharmacokinetics: Analytical Methods

Test Article: MK-3475 (SCH 900475)

	Study Number	Study Title	Species/Strain	GLP	Method details
Neutralizing ADA assay for one month tox study	PK004 (DM27756) [Ref. 4.2.2.1.3: PK004]	Detection of Anti-SCH 900475 Neutralizing Antibodies in Cynomolgus Monkeys Using an Electrochemiluminescence (ECL) Assay on the MSD Sector Imager 6000 Analyzer	Monkey/ Cynomolgus	No	Assay purpose: Determination of monkey anti-MK-3475 neutralizing antibodies Assay Matrix: Monkey serum Assay Type: Bridging Electrochemiluminescence (ECL) Anti-MK3475 Standard: Affinity Purified Rabbit Polyclonal MK-3475 standard: SCH900475 Batch# [redacted] Assay format: abrogation of drug assay signal by anti-MK-3475 antibodies Lower limit of detection: 500 ng/mL in 100% CMS
Drug assay for 6 month tox study	PK005 (AR3607) [Ref. 4.2.2.1.4: PK005]	MK-3475: Transfer Validation of a Quantitative ECL Immunoassay Using Meso Scale Discovery's Sector Imager 2400 for the Detection of MK-3475 Concentrations in Cynomolgus Monkey Serum	Monkey/ Cynomolgus	No	DM27759 assay transfer and revalidation at [redacted] Assay purpose: Quantitation of MK-3475 level Assay Matrix: Monkey serum Assay Type: Electrochemiluminescence (ECL) Internal Standard: MK-3475 Batch# [redacted] Assay format: Biotinylated ligand (hPD1-Fc) as capture, ruthenylated goat anti-human kappa chain Ab as detection. Assay Range:0.4-80 ng/mL in 100% CMS

C Confidential

2.6.5.2 Pharmacokinetics: Analytical Methods

Test Article: MK-3475 (SCH 900475)

	Study Number	Study Title	Species/Strain	GLP	Method details
ADA assay for 6 month tox study	PK006 (3608) [Ref. 4.2.2.1.5: PK006]	MK-3475: Validation of an Immunoassay Using Meso Scale Discovery's Sector Imager 2400 for the Detection of Anti-MK-3475 Antibodies in Cynomolgus Monkey Serum	Monkey /Cynomolgus	No	DM27757 assay transfer and revalidation at [redacted] Assay purpose: Quantitation of monkey anti-MK-3475 antibodies Assay Matrix: Monkey serum Assay Type: Bridging Electrochemiluminescence (ECL) Anti-MK3475 Standard: Affinity Purified Rabbit Polyclonal MK-3475 standard: Batch# [redacted] Assay format: Biotinylated MK-3475 as capture, Ruthenylated MK-3475 as detection Relative sensitivity: 17.5 ng/mL in 100% CMS with no drug present Drug tolerance: 500 ng/mL in the presence of 1000 ng/mL of MK-3475; 100 ng/mL in the presence of 100 ng/mL of MK-3475 and 20 ng/mL in the presence of 10 ng/mL of MK-3475
Drug assays for Fab-arm exchange study	PK007 (TRPT-002743) [Ref. 4.2.2.4.1: PK007]	Lack of Fab-Arm (Half Molecule) Exchange in MK-3475 (Anti-PD1)	Mouse/C.B17 SCID	No	Assay purpose: Quantitation of hybrid and parental IgG4 molecules Assay Matrix: Mouse Serum Assay Type: for measuring hybrid antibody, MSD-ECL; for measuring anti-hPD1 wt or MK-3475: ELISA and for measuring anti-PCSK9 wt: MSD-ECL

C Confidential

2.6.5.3 Pharmacokinetics: Absorption

2.6.5.3.1 Pharmacokinetics After Single Dose (PK001; SN [redacted]S00372)

Test Article: MK-3475 (SCH 900475)
Study No.: PK001 (SN [redacted]S00372)
Location in CTD: **Vol.** **Section** [Ref. 4.2.2.2.1: PK001]

Dose (mg/kg)	0.3	3	30	30
ADA status	All 3 positive	All 3 positive	2/3 With ADA data include both ADA + and ADA -	Without ADA (N=1)
Species	Cynomolgus Monkey	Cynomolgus Monkey	Cynomolgus Monkey	Cynomolgus Monkey
Study Number	[redacted]S00372	[redacted]S00372	[redacted]S00372	[redacted]S00372
Gender/Number of Animals	Female/3	Female/3	Female/3	Female/1
Feeding condition	Not fasted	Not fasted	Not fasted	Not fasted
Vehicle/Formulation	10 mM sodium citrate, 7% sucrose (w/v), 0.02% (w/v) polysorbate-80, pH 5.5			
Method of Administration	Intravenous	Intravenous	Intravenous	Intravenous
Sample	Serum	Serum	Serum	Serum
Analyte	MK-3475 (lot#[redacted])	MK-3475 (lot#[redacted])	MK-3475 (lot#[redacted])	MK-3475 (lot#[redacted])
Assay	ELISA	ELISA	ELISA	ELISA
PK Parameters	Values (Mean ± SEM)			
C_{max} (µg/mL)	15.3 ± 4.3	117.7 ± 5.2	1265 ± 73	1188
$AUC_{0\text{-last}}$ (µg•day/mL)*	41.0 ± 2.9	700.0 ± 76.5	6374 ± 767	7616
$AUC_{0\text{-inf}}$ (µg•day/mL)	51.1 ± 1.5	729.3 ± 79.5	8124 ± 416	7725
AUC_{extrap} (%)	19.5 ± 6.7	4.0 ± 1.3	21.0 ± 11.2	1.2
CL (mL/day/kg)	5.7 ± 0.2	4.2 ± 0.4	3.7 ± 0.1	3.9
$t_{1/2}$ (days)	3.9 ± 0.7	5.9 ± 1.6	10.6 ± 0.4	10.4
V_{ss} (mL/kg)	30.9 ± 6.0	36.8 ± 4.6	54.8 ± 5.7	60.0

*Because of ADA, samples that are less than 1mg/L were excluded from calculation. Therefore, AUC last is different for different animals: the last time point for three monkeys for 0.3mg/kg were 14, 7 and 14 days; for 3mg/kg were 42, 28 and 14 days; for 30mg/kg were 28, 14 and 63 days.

C Confidential

2.6.5.3.2 Toxicokinetics After One Month Repeat Dose (SN [redacted]396)

Test Article: MK-3475 (SCH 900475)
Study No.: SN [redacted]396
Location in CTD: **Vol.** **Section** [Ref. 4.2.3.2.1: SN [redacted]396]

	Toxicokinetics following once weekly repeat dose for one month					
Species	Cynomolgus Monkeys					
Gender/Number of Animals	F=6, M=6 unless otherwise noted					
Vehicle/Formulation	10mM histidine, 7% (w/v) sucrose, 0.02% (w/v) polysorbate 80, pH 5.5					
Method of Administration	Intravenous					
Sample	Serum					
Assay	Electrochemiluminescence (ECL) on Meso Scale Discovery (MSD) Platform					
Analyte	MK-3475/ SCH900475 batch [redacted]					
PK parameters						
Dosing day (# of Doses)	Day 1 (1)			Day 28 (5)		
Dose (mg/kg)	6	40	200	6	40	200
C_0 (µg/mL)[a]	322[d]	2950	14800	338	4390	58900
C_{max} (µg/mL)[a]	292[d]	2510	14800	350	4770	86200
T_{max} (hr)[b]	1 (1-24)[d]	1 (1-168)[e]	1 (1-48)	2 (1-24)	2 (1-168)[e]	3 (1-24)
$t_{1/2}$ (days)				15.7[f]	22.3[f]	19.8[f]
$AUC_{0\text{-}7\ days}$ (µg•day/mL)[a]	923	7240	49700	1790 (2350)[g h]	24100[g]	170000[g]
R[a, c]	N/A	N/A	N/A	1.78[i]	3.12[i]	5.58[i]

a Arithmetic means unless otherwise noted.
b Median (Minimum-Maximum)
c AUC ratio: $R=AUC_{(0\text{-}7\ days)}$Dosing Interval 5 ÷ $AUC_{(0\text{-}7\ days)}$Dosing Interval 1; mean calculated from R values from individual animals
d N=13
e Out of the 12 animals in the 40 mg/kg dose group, T_{max} = 168 hour was observed for 1 animal after the first dose and was observed for a different animal after the 5th dose
f $t_{1/2}$ were determined for the animals assigned to the recovery period.
g Upper estimate; arithmetic mean of $AUC_{(0\text{-}7\ days)}$ from 4 animals (2/sex)
h AUC (in the bracket) after exclusion of ADA positive samples.
i n=4 (2/sex)

C Confidential

2.6.5.3.3　Toxicokinetics After Six Month Repeat Dose (TT #[redacted]-1084)

Test Article: MK-3475 (SCH 900475)
Study No.: TT #[redacted]-1084
Location in CTD: **Vol.** **Section** [Ref. 4.2.3.2.2: TT[redacted]1084]

Species	Cynomolgus Monkeys								
Gender/# of Animals	F=5, M=5 unless otherwise noted								
Vehicle/Formulation	10mM histidine, 7% (w/v) sucrose, 0.02% (w/v) polysorbate 80, pH 5.5								
Method of Administration	Intravenous								
Sample	Serum								
Assay	Electrochemiluminescence (ECL) on Meso Scale Discovery (MSD) Platform								
Analyte	MK-3475/ SCH900475 batch [redacted]								
PK parameters									
Dosing day (#of Doses)	Day 1 (1)			Day 71 (6)			Day 141 (11)		
Dose (mg/kg)	6	40	200	6	40	200	6	40	200
C_{max} (µg/mL)[a]	174 ± 7.72 (168 ± 7.90)[b]	1840 ± 216	7470 ± 529	215 ± 43.8 (332 ±67.6)[b]	1930 ± 93.8	10,500 ± 489	224 ± 33.9 (326 ± 18.6)[b]	1890 ± 180	10,400 ± 772
T_{max} (hr)[a]	0.33 ± 0.083 (0.36 ± 0.11)[b]	1.6 ± 0.59	4.8 ± 2.2	1.3 ± 0.58 (2.6 ± 1.3)[b]	2.0 ± 0.75	0.55 ± 0.12	0.25 ± 0.0 (0.25 ± 0.0)[b]	1.5 ± 0.56	1.1 ± 0.55
$AUC_{0\text{-}14\ days}$ (µg•day/mL)[a]	892 ± 34 (917±38)[b]	7333±458	35333± 2517	1004±353 (2021±347)[b]	13042± 688	64167± 2463	1200 ± 401 (2463±78)[b]	13417± 1125	67500± 4458
R[c]				1.13 (2.2)	1.78	1.81	1.34 (2.69)	1.83	1.91

a　Arithmetic means unless otherwise noted.

b　Values after exclusion of ADA positive samples.

c　AUC ratio: Day 71 R= $AUC_{0\text{-}14\ days}$ of day 71 interval÷$AUC_{0\text{-}14\ days}$ of day 1interval; Day 141 R= $AUC_{0\text{-}14\ days}$ of day 141interval÷$AUC_{0\text{-}14\ days}$ of day 1interval; 6 mg/kg dose has two values with one in the bracket being the R after exclusion of ADA positive samples.

Additional information: $t_{1/2}$ was evaluated after the last dose (dose 12 at day 155) from animals that had no ADA positive samples. The mean $t_{1/2}$ value was 21, 21 ± 2 and 22 ± 2 days for 6 mg/kg, 40 mg/kg and 200 mg/kg, respectively.

C Confidential

2.6.5.5 Pharmacokinetics: Metabolism

2.6.5.5.1 In Vivo Fab-Arm Exchange of MK-3475 Molecule (PK007; TRPT-002743)

Test Article: MK-3475 (SCH 900475)
Study No.: PK007 (TRPT-002743)
Location in CTD: **Vol.** **Section** [Ref. 4.2.2.4.1: PK007]

Species /Strain	Mouse/C.B 17 SCID					
Study Number	TRPT-002743					
Gender/Number of Animals	Female/5 per time point					
Feeding condition	Not Fasted					
Vehicle/Formulation	For Anti-PCSK9 wt: 10 mM Sodium Citrate, 4.2% Mannitol, 1.68% Sucrose, 0.02% polysorbate 80 pH 5.0. For Anti-PD1 wt: 10mM histidine, 7% (w/v) sucrose, 0.02% (w/v) polysorbate 80, pH 5.5 For MK-3475: 10mM histidine, 7% (w/v) sucrose, 0.02% (w/v) polysorbate 80, pH 5.5					
Method of Administration	Intravenous					
Sample	Serum					
Analyte	Anti-PCSK9 wt, Anti-PD1 wt, MK-3475, Purified hybrid standards					
	Anti-PD1 Ab Concentration (µg/ml)[a]		**Anti-PCSK9 Ab Concentration (µg/ml)**		**Hybrid Concentration (µg/mL)**	
Treatments/ Mixtrues	Anti-PD1 wt + Anti-PCSK9 wt	MK3475 + Anti-PCSK9 wt	Anti-PD1 wt + Anti-PCSK9 wt	MK3475 + Anti-PCSK9 wt	Anti-PD1 wt + Anti-PCSK9 wt	MK3475 + Anti-PCSK9 wt
Time (hr)						
0.25	N/A[b]	311.4 ± 18.2	233.6 ± 8.8	256 ± 47.1	BLOQ	BLOQ
24	115.8 ± 22.1	125.8 ± 8.2	82.6 ± 14.6	142.7 ± 7.0	33.1 ± 6.9	BLOQ
48	86.6 ± 2.7	114.8 ± 9.2	69.9 ± 3.1	125.7 ± 10.1	24.3 ± 6.6	BLOQ
72	80.7 ± 3.6	98.4 ± 13.9	62.5 ± 5.3	120.4 ± 10.1	20.3 ± 3.5	BLOQ

a The same assay was used to detect the anti-PD1 wt mAb and the MK-3475 (s/p).

b The value at 0.25 hr for anti-PD1 wt concentration is not shown due to a dosing error in this group for this time point. BLOQ: Below limit of quantitation.

C Confidential