ガザイバ点滴静注1000 mg
（オビヌツズマブ（遺伝子組換え））
［CD20陽性の B 細胞性濾胞性リンパ腫］

第2部　（モジュール2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.4 薬物動態試験の概要文

中外製薬株式会社

略語一覧

略語	英名	和名
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
AUC	area under the serum concentration-time curve	血清中薬物濃度–時間曲線下面積
AUC_{inf}	AUC from time 0 to infinity	0時間から無限大時間まで外挿した AUC
AUC_{0-t}	AUC from time 0 to t	0時間から t 時間までの AUC
CL	clearance	クリアランス
C_{max}	maximum observed serum concentration	最高血清中濃度
CV	coefficient of variation	変動係数
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
ePPND	enhanced pre- and postnatal development	拡充型出生前及び出生後の発生
FcRn	neonatal Fc receptor	胎児性 Fc 受容体
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
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
PK	pharmacokinetics	薬物動態
$t_{1/2}$	terminal half-life	消失半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
T_{max}	time to reach maximum serum concentration	最高血清中濃度到達時間
V_c	volume of the central compartment	中央コンパートメントの分布容積
V_{ss}	volume of distribution at steady state	定常状態での分布容積

目次

頁

2.6.4 薬物動態試験の概要文 4
2.6.4.1 まとめ 4
2.6.4.2 分析法 5
2.6.4.2.1 オビヌツズマブ測定法（ELISA） 5
2.6.4.2.2 ADA 測定法（ELISA） 6
2.6.4.2.3 免疫複合体測定法（ELISA） 6
2.6.4.3 吸収 6
2.6.4.3.1 単回投与試験 6
2.6.4.3.1.1 マウス単回静脈内投与試験 6
2.6.4.3.1.2 カニクイザル単回静脈内投与試験 7
2.6.4.3.1.3 カニクイザル単回皮下投与試験 9
2.6.4.3.2 反復投与試験 10
2.6.4.3.2.1 カニクイザル 13 週間静脈内投与試験 10
2.6.4.3.2.2 カニクイザル 26 週間静脈内投与試験 11
2.6.4.3.2.3 カニクイザル 4 週間皮下投与試験 16
2.6.4.4 分布 16
2.6.4.5 代謝（動物種間の比較） 17
2.6.4.6 排泄 17
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 17
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 17
2.6.4.8.1 カニクイザルにおける拡充型出生前及び出生後の発生毒性試験（ePPND 試験） 17
2.6.4.9 考察及び結論 19
2.6.4.10 図表 20
2.6.4.11 参考文献 20

2.6.4　薬物動態試験の概要文

2.6.4.1　まとめ

オビヌツズマブ（遺伝子組換え）は，マウス抗ヒト CD20モノクローナル抗体 B-Ly1をヒト化して作製したヒト化抗 CD20モノクローナル抗体（IgG1）である。本抗体は，タイプ II 抗CD20抗体であり，タイプ I 抗 CD20抗体であるリツキシマブよりも，直接的な細胞死の誘導活性が強く，補体依存性細胞傷害（CDC）作用が低下している。また，Fc 領域に結合している糖鎖とエルボーヒンジ部に改変を施すことにより，免疫エフェクター細胞による細胞傷害活性及び直接的な細胞死の誘導活性が強化されている。

臨床における投与経路は静脈内投与である。このため，ほとんどの非臨床試験を静脈内投与で実施した。皮下投与は臨床での投与経路ではないが，皮下投与としての開発の可能性及びその安全性を評価するために，これまで単回投与と反復投与の試験をそれぞれ1試験ずつ実施している。

非臨床薬物動態（PK）は，マウス及びカニクイザルにおける単回投与試験とカニクイザルにおける反復投与毒性／トキシコキネティクス（TK）試験で評価した。マウスはヒト腫瘍を移植する宿主として抗腫瘍効果を評価するために使用された動物種であるが，げっ歯類ではCD20結合エピトープ相当領域のヒトとの相同性が低いため（2.6.3.2.4），オビヌツズマブはげっ歯類の CD20には結合しないと推測される。カニクイザルはオビヌツズマブに対して交差反応性を有する動物種であり，毒性試験で使用された。
PK 及び TK 評価はノンコンパートメント解析を用いて実施した。すべての TK 試験は GLP に準拠して実施したが，PK 試験は非 GLP 下で実施した。

以下に主な結果を示す。

マウスに1及び10 mg/kg の用量で単回静脈内投与した場合，オビヌツズマブのクリアランス（CL）は小さく（0.281～0.648 mL/h/kg），消失半減期（$t_{1/2}$）は長かった（125～288時間）。また定常状態での分布容積（V_{ss}）は小さく，マウスの血漿量文献値[1)]の約2倍相当であった。

カニクイザルに1及び10 mg/kg の用量で単回静脈内投与した場合，オビヌツズマブの CL は小さく（0.246～0.275 mL/h/kg），$t_{1/2}$は長く（172～194時間），V_{ss} は小さく，サルの血漿量文献値[1)]の約1.3倍相当であった。この投与量範囲では用量に比例した薬物動態を示した。また，オビヌツズマブの投与により，その薬力学的な指標である循環血中の B 細胞は枯渇するが，オビヌツズマブ濃度の低下に伴い B 細胞が回復することを確認した。

単回投与 PK 試験及び反復投与毒性／TK 試験における皮下投与後のオビヌツズマブの曝露量と静脈内投与後の曝露量とを比較したところ，オビヌツズマブの皮下投与でのバイオアベイラビリティは43～59%であった。
カニクイザルへの反復投与試験（13週間及び26週間静脈内投与試験，並びに4週間皮下投与試験）では，初回投与後の全身曝露量は概ね用量比例的に増加し，明らかな雌雄差は認められなかった。反復静脈内投与後の曝露量は初回投与時の2～3倍であった。また，オビヌツズマブの投与後には薬力学的な作用として期待する末梢血 B 細胞の急速な減少が認められた。いずれの反復投与試験においても，抗薬物抗体（ADA）の産生が認められ，ADA 陽性個体の一部ではオビヌツズマブの消失の加速とそれに続く早期の末梢血 B 細胞の回復も認められた。

拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）毒性試験において，薬物投与群のすべての母動物で投与期間中にオビヌツズマブの曝露を認めた。非妊娠雌カニクイザル（26週間静脈内投与試験）と比較して，最高血清中濃度（C_{max}）及び血清中薬物濃度–時間曲線下面積（AUC）は同様であることから，妊娠はオビヌツズマブの動態に影響を与えないことが推察された。出産後28日目における出生児の血清中オビヌツズマブ濃度は母動物と同様に比較的高かったこと，また，母動物の乳汁中オビヌツズマブ濃度は血清中濃度の0.5%未満であり，オビヌツズマブの乳汁への移行性は極めて低いと推察されたことから，オビヌツズマブが血液–胎盤関門を通過したことが示唆された。ADA 陽性率は母動物及び出生児でほぼ同じ（14及び15%）であり，これは，26週間静脈内投与試験の雌雄カニクイザルでみられたものと同程度であった。

2.6.4.2　分析法

動物血清中のオビヌツズマブ，ADA 及びオビヌツズマブと ADA の免疫複合体（オビヌツズマブ－ADA 免疫複合体），並びに乳汁中オビヌツズマブの濃度測定のために酵素免疫測定法（ELISA）を開発し，マウス及びカニクイザルでの試験に適用した。

2.6.4.2.1　オビヌツズマブ測定法（ELISA）

（資料番号4.2.2.1-1，4.2.2.1-2）

オビヌツズマブ測定用の2種の ELISA を確立し，カニクイザル及びマウス血清試料並びにカニクイザル乳汁試料の測定に使用した。

最初に開発した ELISA（4.2.2.1-1）では，[redacted]をそれぞれ捕捉抗体及び検出用抗体として使用した。この測定法では[redacted]を検出する。カニクイザル血清を用いたバリデーションの結果，定量下限は35.8 ng/mL であった。この測定法を単回静脈内及び皮下投与試験，4週間皮下投与 TK 試験及び13週間静脈内投与 TK 試験で使用した。なお，マウス血清中オビヌツズマブ測定に関してバリデーションは行っていないが，本法に準じた測定を実施し，定量下限は23.2 ng/mL であった。

次に開発した ELISA（4.2.2.1-2）では，捕捉用と検出用にオビヌツズマブの[redacted]を直接認識する異なる2種類の抗体を用いた。これらの[redacted]を用いることにより，[redacted]を検出した。定量下限はカニクイザル血清中（出生児血清を含む）で4.05 ng/mL であった。この測定法を26週間静脈内投与試験及び静脈内投与 ePPND 試験の TK 試料測定で使用した。なお，ePPND 試験におけるカニクイザル乳汁中のオビヌツズマブ測定は本測定法に準じて実施し，定量下限は4.05 ng/mL であった。

上記2種の ELISA 法のバリデーション結果については表 2.6.4.2.1-1に示した。

表 2.6.4.2.1-1　カニクイザル血清中オビヌツズマブの ELISA 測定法バリデーション結果

報告書	検量線範囲* (ng/mL)	LLOQ* (ng/mL)	日内再現性 真度 (%)	日内再現性 精度 (%)	日間再現性 真度 (%)	日間再現性 精度 (%)
4.2.2.1-1	35.8−800	35.8	92.2−112.7	4.0−5.2	92.4−104.1	6.2−11.4
4.2.2.1-2	4.05−400	4.05	99.1−111.7	1.2−9.7	88.9−96.2	2.7−12.2

LLOQ：定量下限
* 100%血清中濃度換算値を示す。

2.6.4.2.2　ADA 測定法（ELISA）

（資料番号4.2.2.1-3）

カニクイザル血清中の ADA 測定法として ELISA（4.2.2.1-3）を用いた。この測定法では，ビオチン標識及びジゴキシゲニン標識したオビヌツズマブをそれぞれ捕捉抗体及び検出用抗体として使用した。オビヌツズマブ非存在下で陽性対照試料を用いた場合の感度は20.2 ng equivalent/mL であった。本測定法ではオビヌツズマブの血清中濃度が約25 µg/mL まで上昇した場合でも1 µg equivalent/mL 程度の感度を確保可能である。

この測定法では陽性対照として[redacted]を用いた。また，測定に際しては，まずスクリーニング試験により ADA 陽性試料を検出し，次にその陽性試料に対してオビヌツズマブ競合下の確認試験を実施した。この測定法はすべての GLP 毒性／TK 試験に用いた。

なお，カニクイザル単回投与 PK 試験時には本測定法のバリデーションは完了していなかったが，上記測定法に準ずる方法にて実施した。

2.6.4.2.3　免疫複合体測定法（ELISA）

（資料番号4.2.3.2-3）

カニクイザル血清中のオビヌツズマブ–ADA 免疫複合体を測定する ELISA を開発し，26週間静脈内投与毒性試験で試料を測定した。ただしバリデーション試験は実施していない。この測定法では[redacted]をオビヌツズマブ–ADA 免疫複合体の捕捉抗体として用い，[redacted]を検出用抗体として使用した。陽性対照試料として[redacted]を用いた[2)]。この測定法は生体内で形成した免疫複合体を特異的に測定するものであり，原理上，遊離の ADA は検出されない。この測定法では陽性あるいは陰性という結果のみを得て，それを26週間静脈内投与毒性試験における腎臓での所見等を考察するために用いた。

2.6.4.3　吸収

2.6.4.3.1　単回投与試験

2.6.4.3.1.1　マウス単回静脈内投与試験

（資料番号4.2.2.2-1）

雄 NMRI マウス（各時点2例/投与群）にオビヌツズマブを1及び10 mg/kg の用量で単回静脈内投与し，オビヌツズマブの薬物動態を評価した。オビヌツズマブの血清中濃度推移を図 2.6.4.3.1.1-1に，薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.1.1-1に示す。

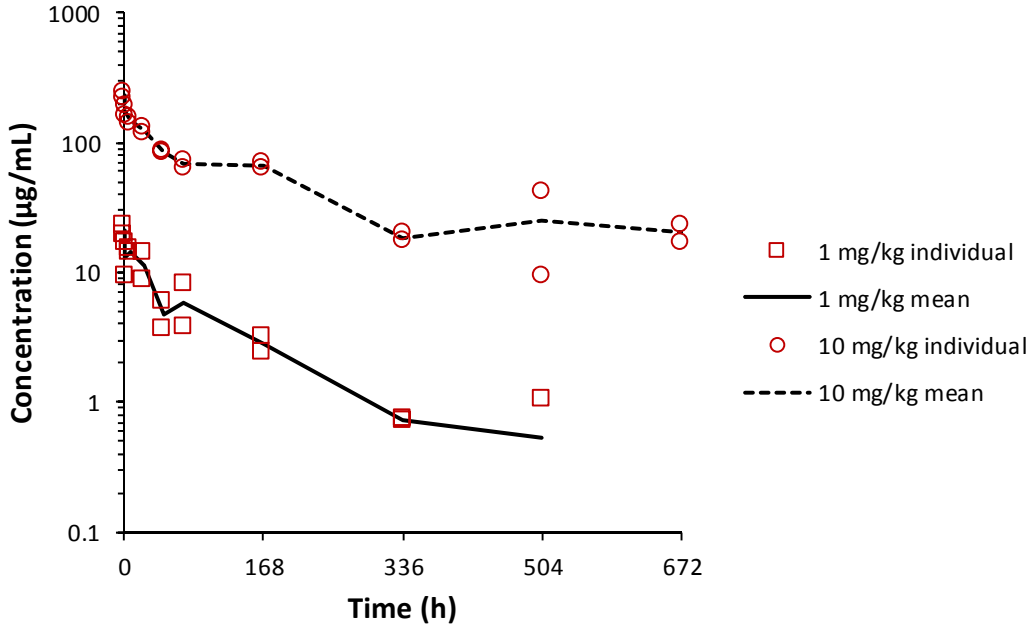
血清中濃度は二相性に減少し，CL は小さく（1及び10 mg/kg 投与群でそれぞれ0.648及び0.281 mL/h/kg，以下同様），$t_{1/2}$は長かった（それぞれ125及び288時間）。中央コンパートメントの分布容積（V_c）はそれぞれ45.3及び42.1 mL/kg であり，V_{ss} はマウスの血漿量文献値（50 mL/kg）[1)]の約2倍相当（それぞれ89.4及び107 mL/kg）であった。

表 2.6.4.3.1.1-1　マウスにオビヌツズマブ単回静脈内投与後の薬物動態パラメータ

Dose (mg/kg)	CL (mL/h/kg)	V_c (mL/kg)	V_{ss} (mL/kg)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{inf} (μg•h/mL)	$t_{1/2}$ (h)
1	0.648	45.3	89.4	21.2	1540	125
10	0.281	42.1	107	232	35600	288

値は各時点2例の濃度平均値を用いたノンコンパートメント解析結果を示す。
[4.2.2.2-1 Table 3より作成]

図 2.6.4.3.1.1-1　マウスにオビヌツズマブ単回静脈内投与後の血清中濃度推移



[4.2.2.2-1 Table 1及び Table 2より作成]

2.6.4.3.1.2　カニクイザル単回静脈内投与試験

（資料番号4.2.2.2-2）

雄カニクイザル（2例/投与群）にオビヌツズマブを1及び10 mg/kg の用量で単回静脈内投与し，オビヌツズマブの薬物動態を評価した。オビヌツズマブの血清中濃度推移を図2.6.4.3.1.2-1に示す。4例のうち3例で投与後216時間以降，ADA 産生によると思われる消失の加速が認められた。消失が加速した3例では投与後216時間まで，それ以外の1例では投与後672時間までの血清中濃度を用いて主要な PK 解析を実施した。1及び10 mg/kg 投与群での血清 CL はそれぞれ0.275及び0.246 mL/h/kg と小さく，$t_{1/2}$はそれぞれ172及び194時間であった（表2.6.4.3.1.2-1）。両投与群で CL が同様の値を示していることから，この用量間では投与量に比例した薬物動態を示すことが示唆された。V_c の平均値は両投与群でほぼ同様であり，V_{ss} の平均値（それぞれ63.2及び58.9 mL/kg）はサルの血漿量文献値（44.8 mL/kg）[1)]の約1.3倍相当であった。

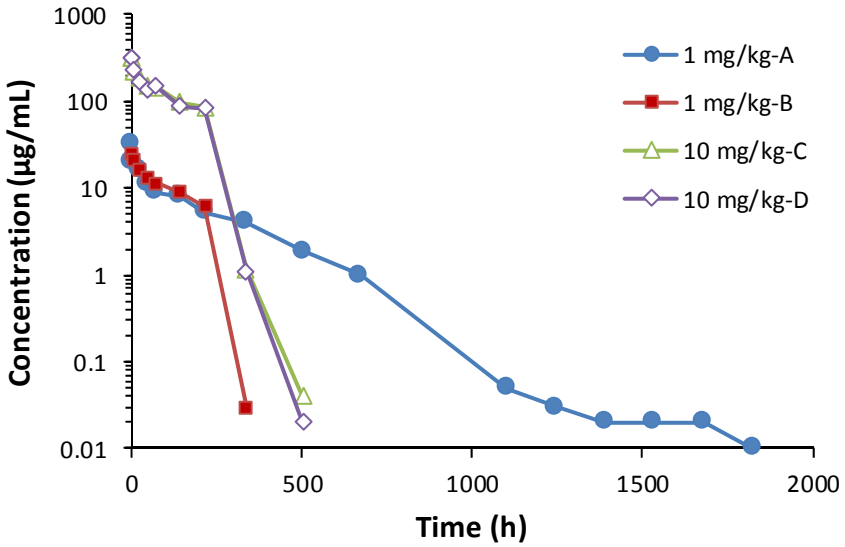
表 2.6.4.3.1.2-1　カニクイザルにオビヌツズマブ単回静脈内投与後の薬物動態パラメータ

	CL (mL/h/kg)	V_c (mL/kg)	V_{ss} (mL/kg)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}216h}$ (μg•h/mL)	AUC_{inf} (μg•h/mL)	$t_{1/2}$ (h)
1 mg/kg							
A	0.273	30.1	67.3	32.0	2110	3670	184
B	0.277	38.0	59.0	25.5	2380	3610	159
平均	0.275	34.1	63.2	28.8	2250	3640	172
10 mg/kg							
C	0.239	30.7	57.7	325	28300	41900	194
D	0.252	31.9	60.0	322	26900	39700	194
平均	0.246	31.3	58.9	324	27600	40800	194

値はノンコンパートメント解析による個別値及び2例の平均値を示す。消失速度定数（λz）の算出には個体 A は投与後672時間まで，個体 B，C 及び D は消失の加速が認められない投与後216時間までの血清中濃度を用いた。

[4.2.2.2-2 Table 3及び Table 4より作成]

図 2.6.4.3.1.2-1　カニクイザルにオビヌツズマブ単回静脈内投与後の血清中濃度推移

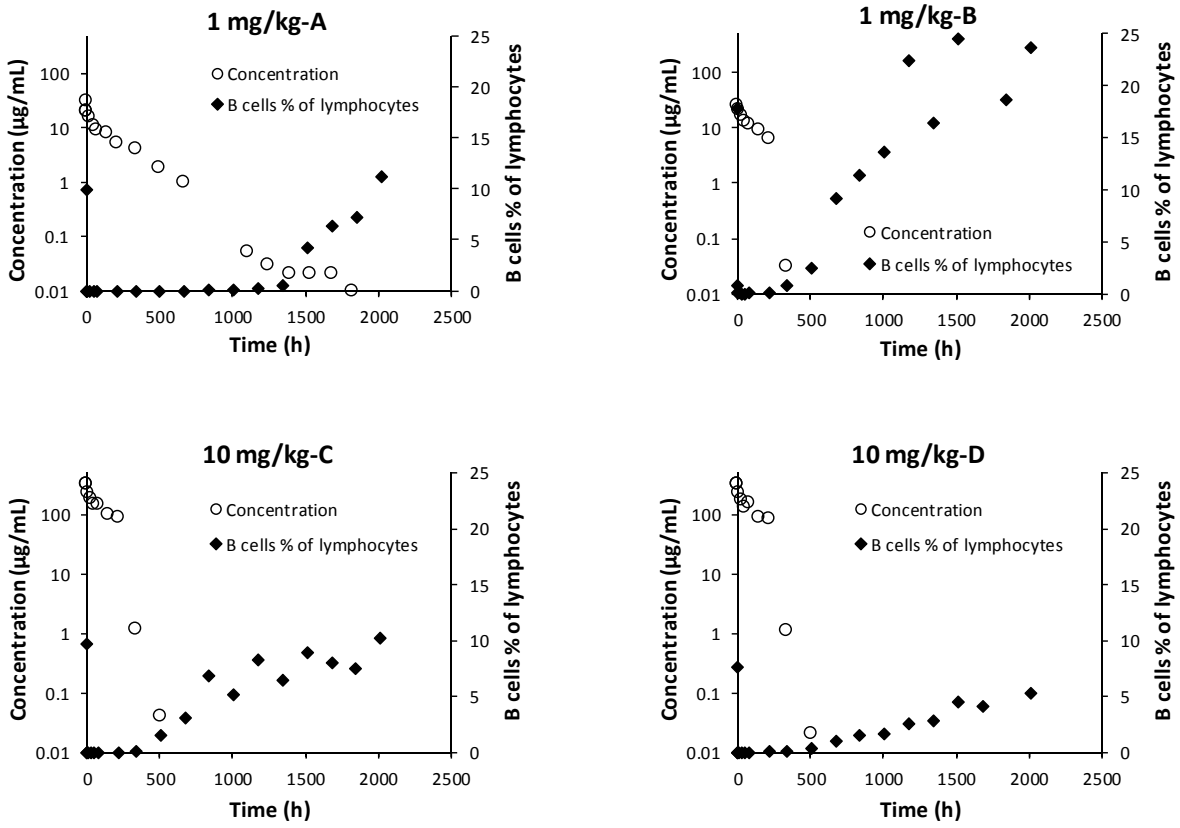


個体 A では ADA は検出されなかった。個体 B，C 及び D ではそれぞれ，投与後336，336及び504時間以降に ADA が検出された。

[4.2.2.2-2 Table 1及び Table 2より作成]

本試験においては，薬力学的な末梢血の B 細胞数変化に関しても，全リンパ球中の CD20陽性細胞割合（%リンパ球）として同様に経時的に調べた。オビヌツズマブの投与直後より，末梢血中の B 細胞はほぼ完全に枯渇し，その後，オビヌツズマブ濃度が十分に低下すると回復が始まることが認められた（図 2.6.4.3.1.2-2）。

図 2.6.4.3.1.2-2　カニクイザルにオビヌツズマブ単回静脈内投与後の血清中濃度推移及びB細胞割合推移比較



[4.2.2.2-2 Table 1，Table 2及び Appendix 2 Table 2より作成]

2.6.4.3.1.3　カニクイザル単回皮下投与試験

（資料番号4.2.2.2-3）

雄カニクイザル（2例）にオビヌツズマブを20 mg/body（約3 mg/kg）の用量で単回皮下投与したところ，血清中濃度は緩やかに上昇し，投与後72時間あるいは144時間に最高値を示した（図 2.6.4.3.1.3-1）。投与後240時間以降，2例のうち1例の血清中濃度が急速に低下したが，もう1例の血清中濃度の消失は非常に緩やかであった。急速な血清中濃度低下は ADA 産生のためと考えられたが，本試験では ADA を測定していないため確認はされていない。平均の C_{max} 及び AUC_{inf} はそれぞれ17.4 µg/mL 及び5120 µg•h/mL であった（表 2.6.4.3.1.3-1）。本試験における $AUC_{0\text{-}216h}$ を1 mg/kg 単回静脈内投与時の $AUC_{0\text{-}216h}$（平均値2250 µg•h/mL，表 2.6.4.3.1.2-1）と比較して得られるバイオアベイラビリティは43～50%であった。

本試験において末梢血中の B 細胞は投与後24時間までに完全に枯渇し，投与後567時間以降で回復し始めた。

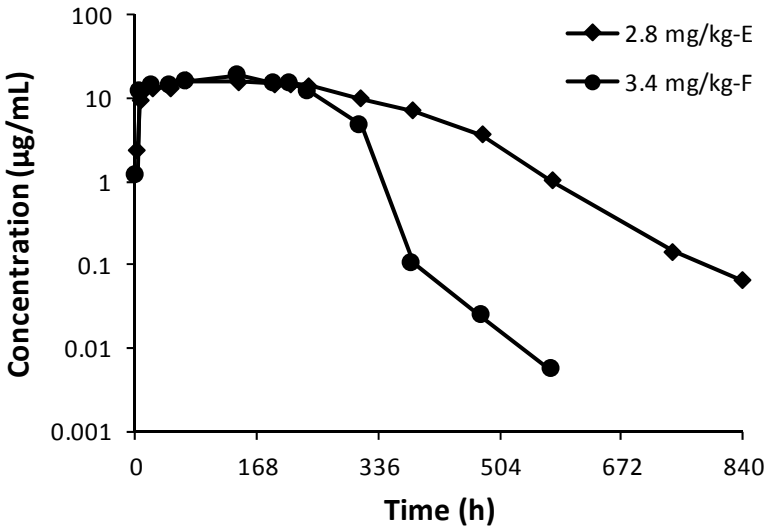
表 2.6.4.3.1.3-1　カニクイザルにオビヌツズマブ単回皮下投与後の薬物動態パラメータ

	Dose (mg/kg)	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (h)	$AUC_{0\text{-}216h}$ (μg•h/mL)	AUC_{inf} (μg•h/mL)
E	2.8	16.1	72	3140	5810
F	3.4	18.6	144	3320	4420
平均	3.1	17.4	108	3230	5120

値はノンコンパートメント解析による個別値及び2例の平均値を示す。 T_{max}：最高血清中濃度到達時間

[4.2.2.2-3 Table 2より作成]

図 2.6.4.3.1.3-1　カニクイザルにオビヌツズマブ単回皮下投与後の血清中濃度推移



各個体の血清中濃度推移を示す

[4.2.2.2-3 Table 1より作成]

2.6.4.3.2　反復投与試験

2.6.4.3.2.1　カニクイザル13週間静脈内投与試験

（資料番号4.2.3.2-2）

雌雄カニクイザルにオビヌツズマブを10，30及び100 mg/kg の用量で週1回，13週間静脈内投与し，オビヌツズマブの薬物動態を評価した（10及び30 mg/kg 群：雌雄各3例，100 mg/kg 群：雌雄各5例）。TK パラメータを表 2.6.4.3.2.1-1に示す。

初回投与時（投与1日目）の $AUC_{0\text{-}168h}$ 及び C_{max} は概ね用量比例的に増加した。12回目投与時（投与78日目）での曝露量は初回投与時のほぼ2倍であり，30及び100 mg/kg の用量間では概ね用量に比例して増加した。明らかな雌雄差は認められなかった。ADA の産生は 10 mg/kg 群でのみ，6例中3例に認められた。ADA 産生が確認された3例に関しては，反復投与期間中に血清中濃度の著しい低下（消失の加速）が認められたが，本試験においてはこれらの個体のデータを除外せず TK 評価を実施した。

表 2.6.4.3.2.1-1　カニクイザルにオビヌツズマブ週1回，13週間反復静脈内投与時の TK パラメータ

	投与1日目			投与78日目		
	10 mg/kg	30 mg/kg	100 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	100 mg/kg
雄						
C_{max} (μg/mL)	268 (6.5)	907 (22.5)	3080 (10.8)	606 (19.9)	1610 (22.1)	5110 (33.5)
$AUC_{0\text{-}168h}$ (μg•h/mL)	22000 (7.8)	69100 (27.2)	219000 (12.4)	59900 (45.0)	154000 (37.7)	470000 (41.2)
雌						
C_{max} (μg/mL)	273 (9.2)	966 (11.4)	3350 (10.3)	332 (23.5)	1470 (11.2)	5210 (9.2)
$AUC_{0\text{-}168h}$ (μg•h/mL)	20100 (8.5)	72700 (7.2)	226000 (6.4)	10900 (148.8)	139000 (10.4)	462000 (15.7)
雌雄						
C_{max} (μg/mL)	271 (7.2)	937 (16.1)	3210 (10.9)	469 (37.4)	1540 (16.8)	5160 (23.0)
$AUC_{0\text{-}168h}$ (μg•h/mL)	21000 (8.8)	70900 (17.6)	222000 (9.4)	35400 (94.3)	147000 (26.4)	466000 (29.6)

ノンコンパートメント解析を行った。
投与22日目以降に ADA 産生が確認された個体（10 mg/kg 投与群の雄1例，雌2例）を含めて評価した。
値は平均値（変動係数；CV%)を示す（10及び30 mg/kg 投与群は雌雄各3例，100 mg/kg 投与群は雌雄各5例）。
[4.2.3.2-2 Addendum 9 Table 7より作成]

2.6.4.3.2.2　カニクイザル26週間静脈内投与試験

（資料番号4.2.3.2-3）

雌雄カニクイザル（雌雄各6例／投与群）にオビヌツズマブを5，25及び50 mg/kg の用量で週1回，26週間静脈内投与し，オビヌツズマブの薬物動態を評価した。TK パラメータを表2.6.4.3.2.2-1に示す。

初回投与時（投与1日目）での $AUC_{0\text{-}168h}$ 及び C_{max} はほぼ用量比例的に増加した。26回目投与時（投与176日目）での曝露量は初回投与時のほぼ2～3倍であり，明らかな雌雄差は認められなかった。ADA は5 mg/kg 群で6例（個体番号1632M，1633M，1634M，1657F，1659F，1660F），25 mg/kg 群で1例（個体番号1663F）に確認され，陽性率は19%（36例中7例）であった。個体番号1632M（投与63日目で安楽死処置）及び個体番号1659F（回復期間中の1時点のみ ADA 確認）を除き，ADA が確認された動物では反復投与後に血清中濃度の著しい低下が認められた（図 2.6.4.3.2.2-1）。免疫複合体は薬物投与群で7例［5 mg/kg 群2例（個体番号1632M，1633M），25 mg/kg 群3例（個体番号1643M，1663F，1666F），50 mg/kg 群2例（個体番号1644M，1648M）］で確認され，このうちの一部の動物では糸球体腎炎などの過敏反応が認められた（2.6.6.3.3）。

表 2.6.4.3.2.2-1　カニクイザルにオビヌツズマブ週1回，26週間反復静脈内投与時の TK パラメータ

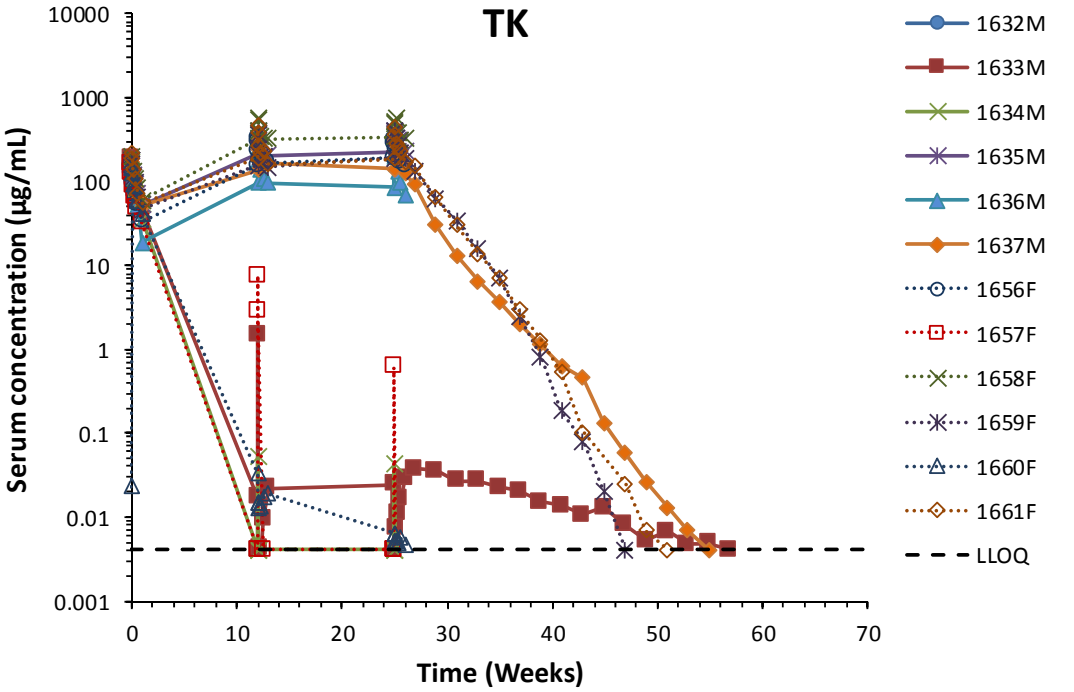
	投与1日目			投与176日目		
	5 mg/kg	25 mg/kg	50 mg/kg	5 mg/kg	25 mg/kg	50 mg/kg
雄						
C_{max} (μg/mL)	178 (6.4)	902 (9.0)	1800 (9.6)	309[a] (28.4)	1770 (13.8)	3170 (16.6)
$AUC_{0\text{-}168h}$ (μg•h/mL)	12700 (11.1)	70000 (4.5)	137000 (10.3)	33400[a] (45.9)	220000 (18.6)	379000 (34.6)
雌						
C_{max} (μg/mL)	174 (15.4)	907 (24.2)	1800 (11.9)	427[b] (24.7)	1170[b] (17.7)	2670 (22.6)
$AUC_{0\text{-}168h}$ (μg•h/mL)	13300 (19.9)	68200 (22.2)	128000 (7.0)	44500[b] (29.8)	128000[b] (38.4)	303000[c] (12.2)
雌雄						
C_{max} (μg/mL)	176 (11.2)	904 (17.4)	1800 (10.3)	377[d] (29.2)	1530[e] (24.6)	2920 (20.6)
$AUC_{0\text{-}168h}$ (μg•h/mL)	13000 (15.7)	69100 (15.2)	133000 (9.2)	39800[d] (35.7)	183000[e] (34.6)	344000[f] (30.0)

ノンコンパートメント解析を行った。
ADA 陽性で濃度推移への影響が確認された個体は影響が認められた投与日の評価からは除外した。
値は平均値 (CV%)を示す（試験開始時　雌雄各6例，[a]3例，[b]4例，[c]5例，[d]7例，[e]10例，[f]11例）。
[4.2.3.2-3 Toxicokinetics Phase Report Table 11及び Table 12より作成]

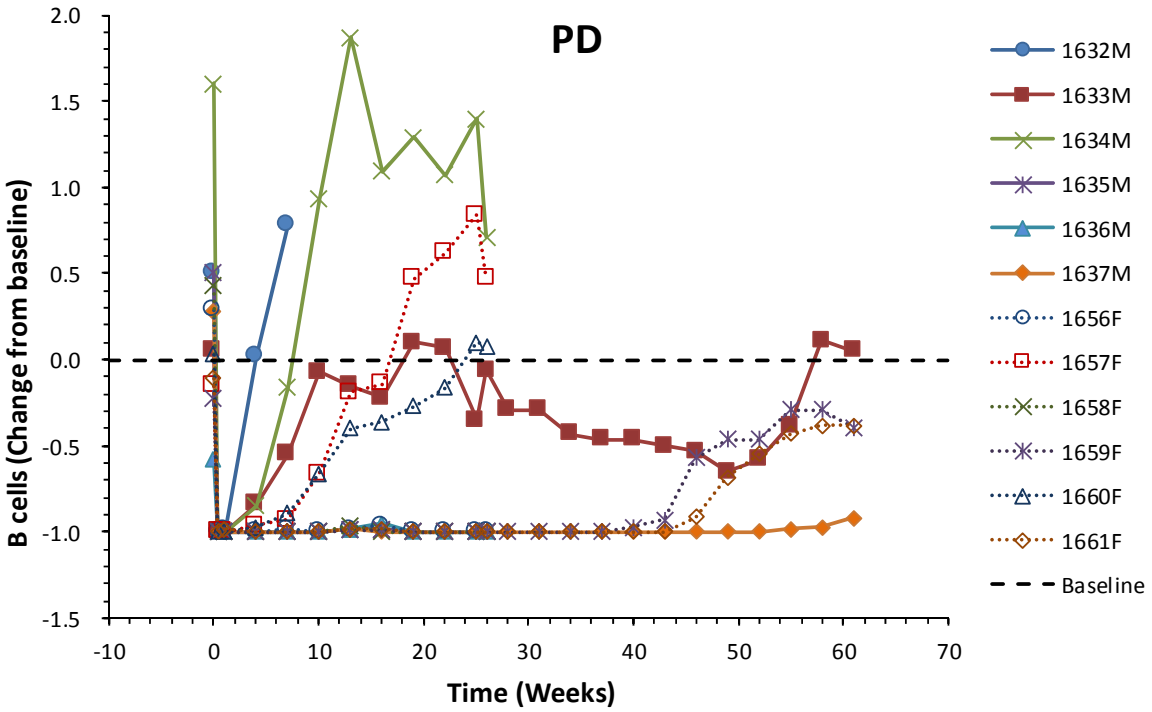
オビヌツズマブの投与後，すべての動物において末梢血 B 細胞数の著明な低下が認められた（図 2.6.4.3.2.2-1）。B 細胞数は投与期間中では検出されないか，極めて低値の状態を保っているが，単回静脈内投与試験（2.6.4.3.1.2）と同様にオビヌツズマブの濃度が低下すると，B 細胞数が回復した。B 細胞が早期に回復し始めた動物（個体番号　5 mg/kg 群：1633M，1634M，1657F，1660F，25 mg/kg 群：1663F）ではいずれも ADA の産生が確認され，投与期間中のオビヌツズマブ血清中濃度の低下も認められた。

図 2.6.4.3.2.2-1　カニクイザルにオビヌツズマブ週1回，26週間反復静脈内投与後の個体別オビヌツズマブ血清中濃度推移（TK）及び血液中 B 細胞数推移（PD）

（1）5 mg/kg

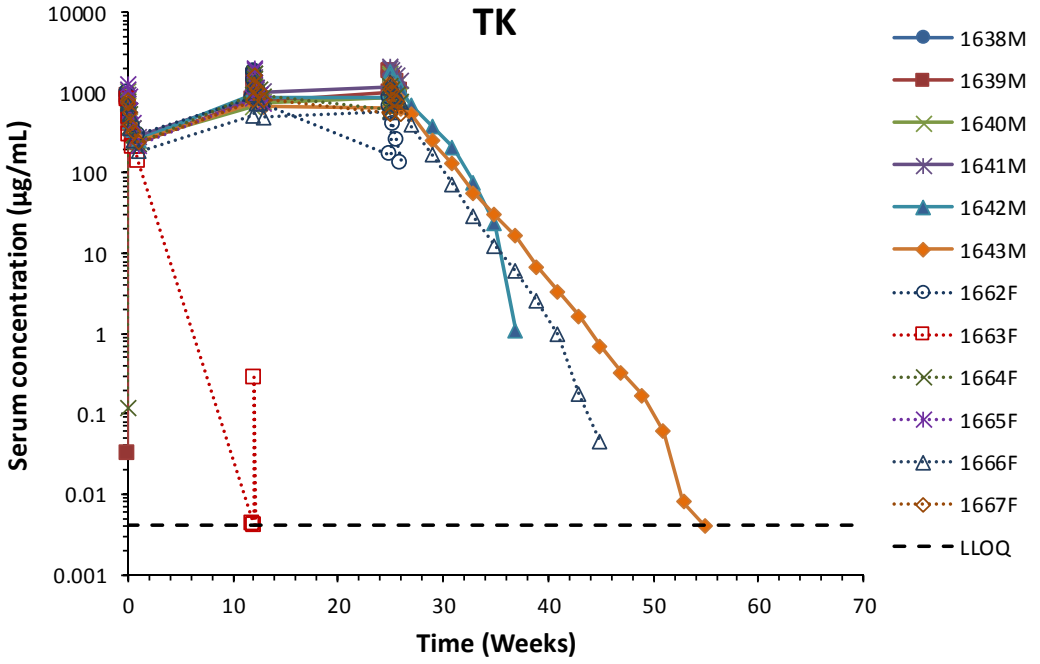


LLOQ: 0.00405 µg/mL

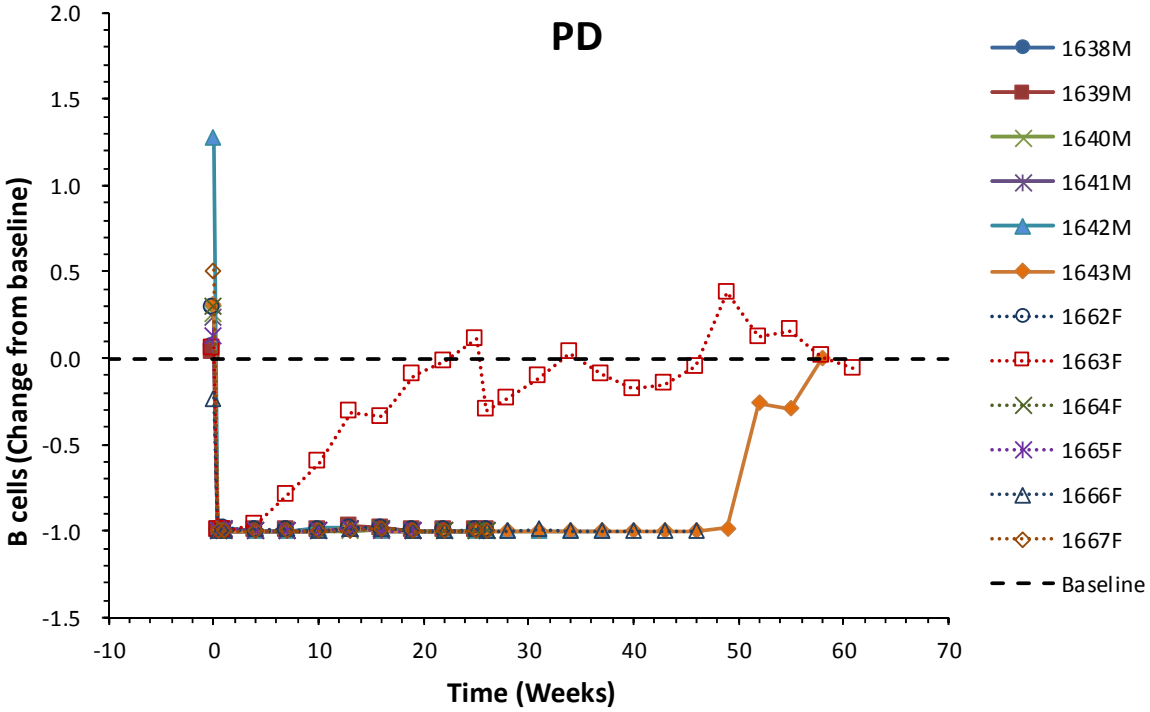


B cells (Change from baseline) : (各時点の B 細胞数測定値)／(B 細胞数測定値のベースライン) – 1
個体番号1632M は投与63日目での安楽死処置のため，TK は初回投与後168時間（1 week）まで，PD は7 week までの結果を示す。

（2）25 mg/kg

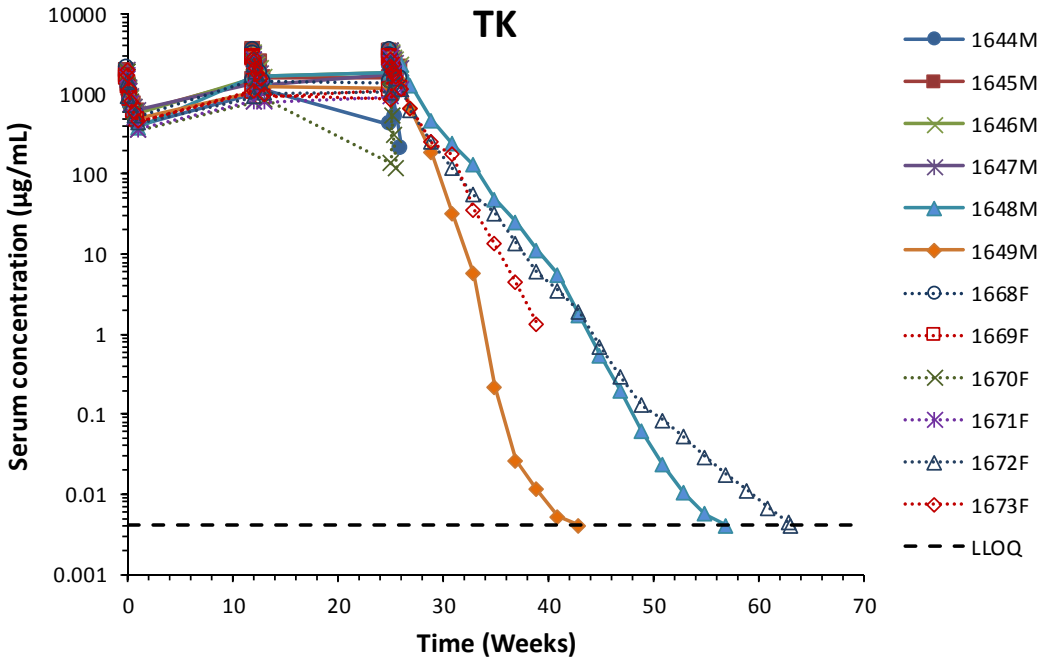


LLOQ: 0.00405 µg/mL

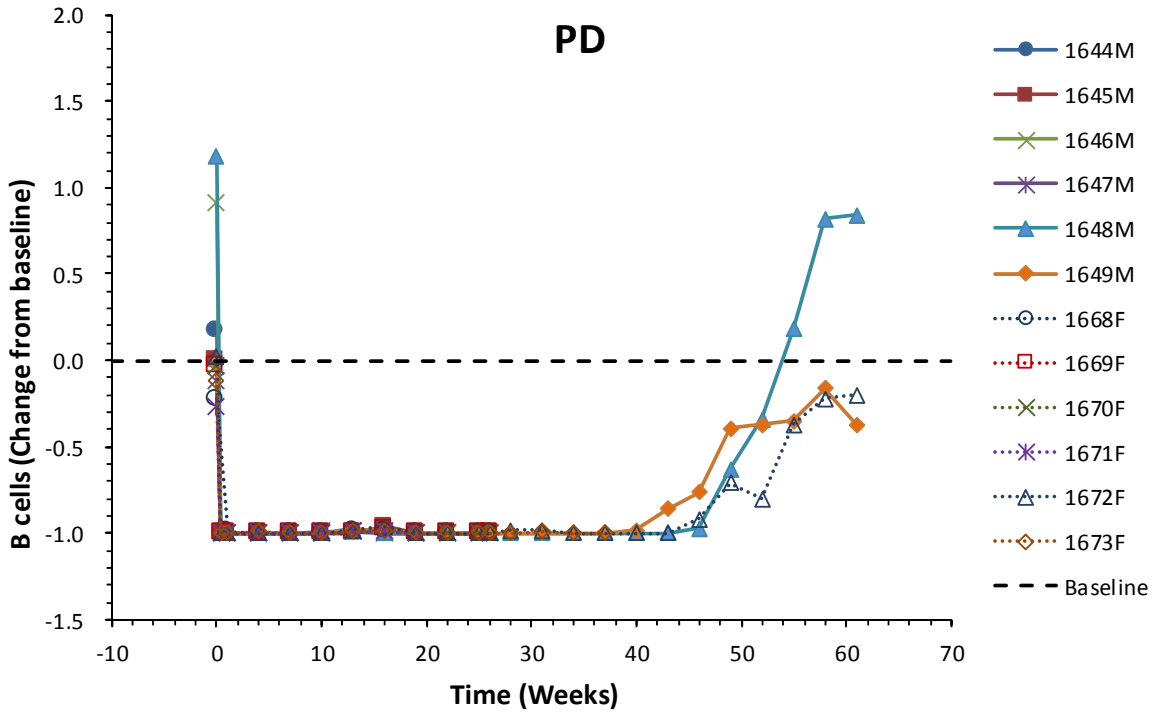


B cells (Change from baseline) : (各時点の B 細胞数測定値)／(B 細胞数測定値のベースライン) − 1

（3）50 mg/kg



LLOQ: 0.00405 µg/mL



B cells (Change from baseline) : (各時点の B 細胞数測定値) ／(B 細胞数測定値のベースライン) − 1

[4.2.3.2-3 Toxicokinetics Phase Report Table 2～Table 4及び Immunophenotyping Report Page 164～179より作成]

2.6.4.3.2.3　カニクイザル4週間皮下投与試験

（資料番号4.2.3.2-4）

雌雄カニクイザル（雌雄各5例／投与群）にオビヌツズマブを30及び120 mg/body の用量で週1回，4週間皮下投与し，オビヌツズマブの薬物動態を評価した。TK パラメータを表2.6.4.3.2.3-1に示す。

血清中濃度は投与後24～72時間で T_{max} となり，$AUC_{0\text{-}168h}$ 及び C_{max} は初回投与時（投与1日目）ではほぼ用量比例的に増加し，4回目投与時（投与22日目）では用量比を上回る増加を示した。明らかな雌雄差は認められなかった。ADA は 30 mg 群で5例，120 mg 群で1例に確認され，これらの6例のうち，投与期間中に ADA が発現した30 mg 群の4例で消失の加速が認められた。120 mg 群では反復投与後の曝露量は初回投与後の約1.3倍であった。

30 mg 群の初回投与前後の測定体重から算出した平均体重4.8 kg より投与量を6.25 mg/kg と見積もり，13週間静脈内投与試験の10 mg/kg 群のデータ（表 2.6.4.3.2.1-1）を用いて初回投与時の平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ を投与量で標準化して比較した場合，バイオアベイラビリティは約59%であった。

表 2.6.4.3.2.3-1　カニクイザルにオビヌツズマブ週1回，4週間反復皮下投与時の TK パラメータ

	投与1日目		投与22日目	
	30 mg	120 mg	30 mg	120 mg
雄				
C_{max} (μg/mL)	48.5 (16.0)	205 (16.4)	40.9 (70.9)	291 (47.7)
$AUC_{0\text{-}168h}$ (μg•h/mL)	6660 (14.0)	29800 (13.3)	5380 (70.0)	39700 (56.0)
T_{max} (h)	72 (72-72)	72 (24-72)	72 (24-72)	24 (24-72)
雌				
C_{max} (μg/mL)	64.4 (14.2)	267 (23.1)	43.9 (102.7)	371 (31.2)
$AUC_{0\text{-}168h}$ (μg•h/mL)	8890 (15.9)	35000 (23.6)	5700 (126.3)	46500 (35.9)
T_{max} (h)	72 (72-72)	72 (24-72)	24 (6-72)	24 (24-72)
雌雄				
C_{max} (μg/mL)	56.4 (20.5)	236 (24.1)	42.4 (84.3)	331 (38.6)
$AUC_{0\text{-}168h}$ (μg•h/mL)	7780 (21.0)	32400 (20.7)	5540 (97.8)	43100 (43.8)
T_{max} (h)	72 (72-72)	72 (24-72)	72 (6-72)	24 (24-72)

ノンコンパートメント解析を行った。
投与22日目に ADA 産生が確認された個体（30 mg 投与群の雄1例，雌3例）を含めて評価した。
値は平均値（CV%）を示す。ただし T_{max} の場合は中央値（範囲）を示す（雌雄各5例）。

[4.2.3.2-4 Addendum 9 Table 5より作成]

2.6.4.4　分布

ICH S6 (R1) ガイドライン（バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価）に基づき，オビヌツズマブを用いた *in vivo* 組織分布試験はいずれの動物種においても実施していない。

単回静脈内投与試験での血漿量の1.3～2倍相当の V_{ss} 値から，マウス及びカニクイザルにおけるオビヌツズマブの組織への分布の程度は小さいことが示唆される（2.6.4.3.1.1及び2.6.4.3.1.2）。また，ヒトにおいても組織への分布の程度が小さいことは，オビヌツズマブをヒトに投与した際の分布容積から同様に示唆される（2.7.2.2.6）。

オビヌツズマブの組織交差反応性試験（2.6.6.8.1）では，ヒト組織において，リンパ組織（胃と小腸の腸管関連リンパ組織，リンパ節，脾臓，胸腺及び扁桃腺）の常在性リンパ球，乳

腺のリンパ球，骨髄中のリンパ球又は造血細胞，及び他組織（甲状腺）の遊走リンパ球でオビヌツズマブの特異的反応性が認められた。カニクイザルは交差反応性を有する動物種であり，ヒト組織と同様の特異的反応性がカニクイザル組織においてもみられた。

ePPND 毒性試験結果（2.6.4.8.1）より，カニクイザルにおいてオビヌツズマブは血液–胎盤関門を通過することが示唆された。

2.6.4.5　代謝（動物種間の比較）

ICH S6 (R1) ガイドラインに基づき，オビヌツズマブの代謝に関する試験は実施していない。モノクローナル抗体や内因性の IgG は低分子ペプチドや各アミノ酸に分解されると考えられる。

2.6.4.6　排泄

ICH S6 (R1) ガイドラインに基づき，オビヌツズマブの排泄に関する試験は実施していない。

ePPND 毒性試験の結果（2.6.4.8.1）より，カニクイザルにおいてオビヌツズマブは乳汁中に移行するものの，その量は極めて少ないと考える。

2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用

オビヌツズマブの薬物相互作用に関する試験は実施していない。

一般的な抗体の性質を考慮した場合，オビヌツズマブが P450酵素や薬物トランスポーターの活性に直接影響することはないと考える。臨床での薬物相互作用についての評価は2.7.2.3.3に記載した。

2.6.4.8　その他の薬物動態試験

2.6.4.8.1　カニクイザルにおける拡充型出生前及び出生後の発生毒性試験（ePPND 毒性試験）

（資料番号4.2.3.5.3-1）

妊娠カニクイザルに妊娠20日目より出産まで週1回，25 及び50 mg/kg の用量で静脈内投与した。母動物の血清試料は血清中濃度推移確認のため妊娠20及び139日目（投与前，投与後7，24，96及び168時間）に採取した。また ADA 確認のために妊娠20，24，27，139，143及び146日目，並びに出産後28日目及び剖検時（240日目付近）の血清試料を用いた。更に，出産後28日目の乳汁，母動物血清及び出生児血清中のオビヌツズマブ濃度を測定し，オビヌツズマブの血液–胎盤関門通過性を検討した。出生児血清での ADA 測定は出産後168日目及び剖検時の試料で実施した。

表 2.6.4.8.1-1に示したように，妊娠20及び139日目の C_{max} と $AUC_{0\text{-}168h}$ はほぼ用量比例的に増加した。18回投与後の曝露量は初回投与時のおよそ2倍であった。C_{max} と $AUC_{0\text{-}168h}$ の値は26週間静脈内投与試験での非妊娠雌カニクイザルの結果（表 2.6.4.3.2.2-1）と同様であり，妊娠はオビヌツズマブの薬物動態に影響を与えないことが示唆された。

表 2.6.4.8.1-1　妊娠カニクイザルにオビヌツズマブを週1回，反復静脈内投与時の TK パラメータ

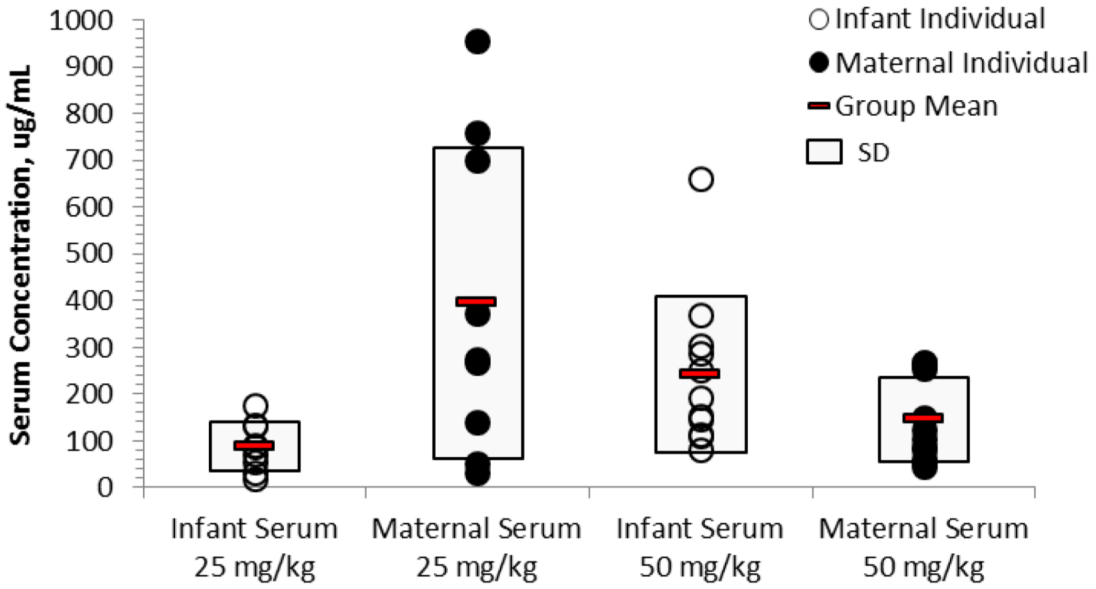
	妊娠20日目（初回投与）		妊娠139日目（18回目投与）	
	25 mg/kg[a]	50 mg/kg[b]	25 mg/kg[c]	50 mg/kg[d]
C_{max} (μg/mL)	709 (11.5)	1460 (13.2)	1220 (18.7)	2470 (23.1)
$AUC_{0\text{-}168h}$ (μg•h/mL)	66900 (8.94)	122000 (32.9)	125000 (24.6)	250000 (35.4)

値は平均値 (CV%)を示す（[a]19例，[b]17例，[c]12例，[d]14例）

[4.2.3.5.3-1 Appendix 27 Table 9～Table 12より作成]

出産後28日目の母動物の血清中濃度（平均値 ± 標準偏差）は25及び50 mg/kg 投与群でそれぞれ394 ± 333及び144 ± 90.6 μg/mL であり，出生児の血清中濃度も比較的高値を示し，それぞれ86.6 ± 51.6及び241 ± 166 μg/mL であった（図 2.6.4.8.1-1）。一方で，乳汁中濃度は25及び50 mg/kg 投与群でそれぞれ0.0557 ± 0.0253及び0.188 ± 0.181 μg/mL と非常に低く，対応する投与群の母動物血清中濃度の0.5%を上回る例はなかった。以上より，出生児で認められた血清中オビヌツズマブは，主に妊娠中の母動物に投与されたオビヌツズマブの血液–胎盤関門通過に起因すると考えられた。

図 2.6.4.8.1-1　出産後28日目のカニクイザルにおける血清中オビヌツズマブ濃度



[4.2.3.5.3-1 Appendix 27 Figure 8　再掲]

37例のうち5例（14%）の母動物で ADA 陽性となった。この陽性率は26週間静脈内投与試験での雌雄カニクイザルでの値（19%）と同様である。ADA を測定した20例の出生児のうち3例（25 mg/kg 群1例，50 mg/kg 群2例）で ADA 陽性であった。この出生児の3例の陽性例のうち，2例の母動物は試験期間を通じて ADA 陰性であったが，他の1例では母動物も剖検時に ADA 陽性であった。ADA 陽性の出生児の血清中オビヌツズマブ濃度は ADA 陰性の出生児の濃度と同様であった。

2.6.4.9 考察及び結論

オビヌツズマブの薬物動態をマウス及びカニクイザルにそれぞれ1～10 mg/kg 及び1～100 mg/kg の範囲で投与して評価した。両動物種ともに，CL 及び V_{ss} は小さく，$t_{1/2}$は長かった。これは，文献上知られている IgG タイプの抗体薬の特徴と一致する[3)-5)]。交差反応性を有するカニクイザルでは単回静脈内投与試験（1～10 mg/kg）及び反復静脈内投与試験（5～100 mg/kg/週）の投与量範囲において，ほぼ用量比例的な薬物動態が認められた。このことから，正常なカニクイザルでのオビヌツズマブの CD20への結合は，この投与量範囲ではオビヌツズマブの薬物動態に大きな影響を与えないことが示唆される。

カニクイザル血清中オビヌツズマブの測定のために2種類の ELISA を開発したが，最初の ELISA は抗ヒト Fcγ 抗体を使用した動物血清中のヒト化抗体の定量法であり，次に開発した ELISA は抗イディオタイプ抗体を使用し，結合活性を有するオビヌツズマブを定量する方法であった。最初の ELISA で測定した13週間静脈内投与試験と後から開発された ELISA で測定した26週間静脈内投与試験の初回投与後の曝露量データは，投与量で標準化した場合には同程度で，試験間の比較は可能であった。

オビヌツズマブの反復投与 TK 試験において明らかな雌雄差は認められず，試験した投与量範囲（静脈内投与5～100 mg/kg，皮下投与30～120 mg/body）で曝露量が概ね用量比例的に増加することが認められた。週1回の反復投与による蓄積は2～3倍程度であったが，これは本薬の長い消失半減期に基づくものと考えられる。

末梢血中の CD20陽性 B 細胞の枯渇はオビヌツズマブの薬理効果を反映しており，薬力学的マーカーとして用いられている。カニクイザルにおいてオビヌツズマブの濃度が低下すると B 細胞が回復することを確認した。このような薬力学的な末梢血 B 細胞の変動は単回投与試験及び反復投与試験でほぼ同様であった。

カニクイザルでの ADA の産生が単回投与試験及び反復投与毒性／TK 試験で確認された。ADA 産生が認められたカニクイザルの一部では血清中オビヌツズマブ濃度が急速に低下し，これにより26週間静脈内投与試験では，個体によっては末梢血 B 細胞が早期回復に至っている。26週間静脈内投与試験での薬物投与群の ADA 陽性率は19%であったが，動物における免疫原性はヒトでの潜在的な免疫原性を予測するものではないとされる（ICH S6 (R1) ガイドライン）。現在までに得られた臨床知見では，ADA の陽性率は3.4%（BO20999試験，BO21000試験，BO21003試験，BO21004試験，GAO4753g 試験，GAO4915g 試験及び BO21223試験の1454例中49例）であるが，低悪性度非ホジキンリンパ腫（iNHL）又はびまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫（DLBCL）患者ではオビヌツズマブ投与後に ADA の発現は認められていない。また，JO21900試験では12例中1例にオビヌツズマブ投与後に ADA の発現が認められたが，オビヌツズマブの薬物動態への ADA 発現の影響は認められていない（2.7.2.4.1）。

ePPND 毒性試験の TK 解析より，妊娠カニクイザルでの TK 及び ADA 陽性率は他の TK 試験で得られた非妊娠動物のものと同様であった。また，母動物の乳汁中オビヌツズマブ濃度は血清中濃度の0.5%未満であり，オビヌツズマブの乳汁への移行はわずかであることから，出生児で認められたオビヌツズマブの曝露は，妊娠中の母動物に投与されたオビヌツズマブが血液–胎盤関門を通過したことを示唆している。これらのことは，サルにおいて妊娠第2三半期及び第3三半期に血液–胎盤関門を通過して IgG が胎児に移行するという知見[6)]と一致している。

ICH S6 (R1) ガイドラインに基づき，体内分布，代謝，排泄のための動物での *in vivo* 試験は実施していない。

分布に関し，これまで確認されているオビヌツズマブの血中動態，組織交差性試験の結果（2.6.6.8.1），及び標的である CD20の発現が B 細胞に限定されていること[7)]を考慮すると，組織への分布は制限されていると考えられる。

消失や代謝に関し，モノクローナル抗体ではターゲットを介する特異的な機構と非特異的な機構の両方が寄与するものと考えられる。非特異的なクリアランスは異化経路によるものであり，モノクローナル抗体や内因性の IgG は ICH S6 (R1) ガイドラインにも示されているように，低分子ペプチドや各アミノ酸に分解されると考えられる。また，その後一部は尿中に排泄されると推察される。更に IgG のクリアランスにおいては，胎児性 Fc 受容体（FcRn）がモノクローナル抗体や内因性 IgG の異化を調節するサルベージレセプターの役割を果たしているとされている[8)]。オビヌツズマブはヒトとカニクイザルの FcRn に対して同程度の親和性を有しており（2.6.3.2.4），カニクイザルとヒトにオビヌツズマブを投与後いずれも長い半減期を示すのは，FcRn によってオビヌツズマブが体循環にリサイクルされているためだと考えられる。

以上，実施した非臨床 PK 及び TK 試験の結果は，安全性評価，曝露量安全域の推定，及び CD20陽性の血液腫瘍患者でのオビヌツズマブの臨床開発の妥当性を支持するものである。

2.6.4.10　図表

本文中に記載した。

2.6.4.11　参考文献

1) Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. Pharm Res 1993;10:1093-5.
2) Stubenrauch K, Wessels U, Essig U, Vogel R, Schleypen J. Evaluation of a generic immunoassay with drug tolerance to detect immune complexes in serum samples from cynomolgus monkeys after administration of human antibodies. J Pharm Biomed Anal 2010;52:249-54.
3) Deng R, Iyer S, Theil FP, Mortensen DL, Fielder PJ, Prabhu S. Projecting human pharmacokinetics of therapeutic antibodies from nonclinical data: what have we learned? MAbs 2011;3:61-6.
4) Deng R, Jin F, Prabhu S, Iyer S. Monoclonal antibodies: what are the pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations for drug development? Expert Opin Drug Metab Toxicol 2012;8:141-60.
5) Dirks NL, Meibohm B. Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. Clin Pharmacokinet 2010;49:633-59.
6) Pentsuk N, van der Laan JW. An interspecies comparison of placental antibody transfer: new insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol 2009;86:328-44.
7) Uchida J, Lee Y, Hasegawa M, Liang Y, Bradney A, Oliver JA, et al. Mouse CD20 expression and function. Int Immunol 2004;16:119-29.
8) Tabrizi MA, Tseng CM, Roskos LK. Elimination mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies. Drug Discov Today 2006;11:81-8.

ガザイバ点滴静注1000 mg
（オビヌツズマブ（遺伝子組換え））

［CD20陽性の B 細胞性濾胞性リンパ腫］

第2部　（モジュール2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.5 薬物動態試験概要表

中外製薬株式会社

略語一覧

略語	英名	和名
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
AUC	area under the serum concentration-time curve	血清中薬物濃度－時間曲線下面積
AUC_{inf}	AUC from time 0 to infinity	0時間から無限大時間まで外挿した AUC
AUC_{0-t}	AUC from time 0 to t	0時間から t 時間までの AUC
CL	clearance	クリアランス
C_{max}	maximum observed serum concentration	最高血清中濃度
CV	coefficient of variation	変動係数
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
ePPND	enhanced pre- and postnatal development	拡充型出生前及び出生後の発生
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
IgG	immunoglobulin class G	免疫グロブリン G
IV	intravenous	静脈内
PK	pharmacokinetics	薬物動態
SC	subcutaneous	皮下
$t_{1/2}$	terminal half-life	消失半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
T_{max}	time to reach maximum serum concentration	最高血清中濃度到達時間
V_c	volume of the central compartment	中央コンパートメントの分布容積
V_{ss}	volume of distribution at steady state	定常状態での分布容積

目次

頁

2.6.5 薬理動態試験概要表 4
2.6.5.1 薬物動態試験一覧表 4
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 5
2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 7
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 10
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 15
2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合 15
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 15
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 15
2.6.5.9 薬物動態試験：*In Vivo* における代謝 15
2.6.5.10 薬物動態試験：*In Vitro* における代謝 15
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 16
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 16
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 16
2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄 16
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 16
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 17

2.6.5　薬物動態試験概要表

2.6.5.1　薬物動態試験一覧表

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Location in CTD	Report No.
Absorption:					
Single Dose PK	Mouse	IV	F. Hoffmann-La Roche Ltd. (Basel, Switzerland)	4.2.2.2-1	1024804
Single Dose PK/PD	Cynomolgus monkey	IV	F. Hoffmann-La Roche Ltd. (Basel, Switzerland)	4.2.2.2-2	1020938
Single Dose PK/PD	Cynomolgus monkey	SC	F. Hoffmann-La Roche Ltd. (Basel, Switzerland)	4.2.2.2-3	1024122
Repeated dose toxicity/TK (13-week)	Cynomolgus monkey	IV	[redacted] Germany)	4.2.3.2-2	1024830 [a]
Repeated dose toxicity/TK (26-week)	Cynomolgus monkey	IV	[redacted] USA)	4.2.3.2-3	1036190 [a]
Repeated dose toxicity/TK (4-week)	Cynomolgus monkey	SC	[redacted], Germany)	4.2.3.2-4	1024838 [a]
Others:					
Embryo-fetal and pre- and postnatal development (enhanced design)	Cynomolgus monkey	IV	[redacted], Germany)	4.2.3.5.3-1	1045612 [a]

IV = intravenous; SC = subcutaneous; PK = pharmacokinetics; PD = pharamacodynamics; TK = toxicokinetics

[a] good laboratory practice (GLP) study

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験

表 2.6.5.2-1　オビヌツズマブ測定法　(ELISA)

Matrix	Location in CTD (Report No.)	Standard Curve Range[a] (ng/mL)	LLOQ[a] (ng/mL)	Intra-Assay Accuracy (%)	Intra-Assay Precision (%)	Inter-Assay Accuracy (%)	Inter-Assay Precision (%)
Cynomolgus monkey serum	4.2.2.1-1 (1026210)	35.8−800	35.8	92.2–112.7	4.0−5.2	92.4−104.1	6.2−11.4
Cynomolgus monkey serum	4.2.2.1-2 (1051562)	4.05−400	4.05	99.1–111.7	1.2−9.7	88.9−96.2	2.7−12.2
Additional information: RO5072759 (obinutuzumab) in monkey serum was stable at room temperature for 48 h, for three freeze-thaw cycles and for up to 9 months storage at -20°C (1026210). Obinutuzumab in monkey serum was stable at room temperature for 24 h, for five freeze-thaw cycles and for up to 25 months storage at -20°C (1051562).							

ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay

LLOQ＝lower limit of quantification.

The ELISA was conducted at a constant serum concentration of 5 and 10% for 1026210 and 1051562, respectively.

[a] The values were expressed as in 100% serum.

表 2.6.5.2-2　抗薬物抗体（ADA）測定法　（ELISA）

Matrix	Location in CTD (Report No.)	Standard Curve Range[a] (ng-equiv./mL)	Assay sensitivity[a] (ng-equiv./mL in abesence of obinutuzumab)	Intra-assay Accuracy (%)	Intra-assay Precision (%)	Inter-assay Accuracy (%)	Inter-assay Precision (%)
Cynomolgus monkey serum	4.2.2.1-3 (1031899)	31.3–2000	20.2	91.2–101.0	1.4–3.4	97.7–115.8	1.6–12.4

The ELISA was conducted at a constant serum concentration of 10%.

ng-equive./mL = ng-equivalent per milliliter

[a] Standard curve range and assay sensitivity were established using [redacted]. The value is expressed as in 100% serum.

Drug tolerance factor of the ELISA was 20-25. This means that the ELISA allows the measurement of ADA for obinutuzumab with a sensitivity of 1000 ng/mL at an obinutuzumab concentrations of up to about 25 μg/mL.

2.6.5.3　薬物動態試験：単回投与後の吸収

表 2.6.5.3-1　単回静脈内投与（マウス）

Test Article: obinutuzumab
Location in CTD: 4.2.2.2-1
Report No.: 1024804

Species/Strain	NMRI mice	
Gender (M, F)/No. of Animals	M/20 (2 per time point)/group	
Feeding Condition	Non fasted	
Vehicle/Formulation	9.4 mg/mL solution diluted with a buffer to 0.5 or 5 mg/mL	
Method of Administration	IV	
Dose (mg/kg)	1, 10	
Sample	Serum	
	0.08, 1, 7, 24, 48, 72, 168, 336, 504, 672 h postdose	
Analyte	obinutuzumab	
Assay	ELISA	
PK Parameters		
(calculated using mean concentrations)		
Dose (mg/kg)	1	10
C_{max} (µg/mL)	21.2	232
CL (mL/h/kg) [a]	0.648	0.281
V_c (mL/kg) [b]	45.3	42.1
V_{ss} (mL/kg) [b]	89.4	107
AUC_{inf} (µg•h/mL)	1540	35600
$t_{1/2}$ (h)	125	288
(Time for calculation)	(48-504 h)	(48-672 h)
Additional information: The study was conducted as non-GLP; the test compound was analyzed with a non-validated bioanalytical method. The PK parameters were obtained from a non-compartmental analysis.		

AUC_{inf} = area under the serum concentration−time curve from time 0 to infinity; CL = clearance; C_{max} = maximum observed serum concentration; IV = intravenous; GLP = good laboratory practice; PK = pharmacokinetics; $t_{½}$ = terminal half-life; V_c = volume of the central compartment; V_{ss} = volume of distribution at steady state.

[a] The unit of parameter was converted from mL/min/kg to mL/h/kg.

[b] The unit of parameter was converted from L/kg to mL/kg.

表 2.6.5.3-2　単回静脈内投与（カニクイザル）

Test Article: obinutuzumab
Location in CTD: 4.2.2.2-2
Report No.: 1020938

Species/Strain	Cynomolgus monkey	
Gender (M, F)/No. of Animals	M/2/group	
Feeding Condition	Non fasted	
Vehicle/Formulation	20 mM histidine/histidine hydrochloride/240 mM trehalose/0.02% polysorbate 20, pH 6.0	
Method of Administration	IV	
Dose (mg/kg)	1, 10	
Sample	Serum	
	0.08, 1, 7, 24, 48, 72, 144, 216, 336, 504, 672, 1104, 1248, 1392, 1536, 1680, and 1824 h postdose	
Analyte	obinutuzumab	
Assay	ELISA	
PK Parameters: Mean (individual values)		
Dose (mg/kg)	1	10
C_{max} (µg/mL)	28.8 (32.0, 25.5)	324 (325, 322)
CL (mL/h/kg) [a]	0.275 (0.273, 0.277)	0.246 (0.239, 0.252)
V_c (mL/kg) [b]	34.1 (30.1, 38.0)	31.3 (30.7, 31.9)
V_{ss} (mL/kg) [b]	63.2 (67.3, 59.0)	58.9 (57.7, 60.0)
AUC_{inf} (µg•h/mL)	3640 (3670, 3610)	40800 (41900, 39700)
$AUC_{0–216h}$ (µg•h/mL)	2250 (2110, 2380)	27600 (28300, 26900)
$t_{1/2}$ (h)	172 (184, 159)	194 (194, 194)
(Time for calculation)	(216-672 h, 48-216 h)	(72-216 h, 72-216 h)
Additional Information: Although this was a non-GLP study, the test drug concentration was measured with a validated bioanalytical method. The PK parameters were obtained from a non-compartmental analysis. Apparent $t_{1/2}$ was calculated using the concentrations during the first phase of elimination before the immune response set in. Anti-drug antibodies (ADA) were detected in 1 animal of 1 mg/kg group and 2 animals in 10 mg/kg group.		

AUC_{0-216h} = area under the serum concentration−time curve from time 0 to 216 hours post-dose

[a] The unit of parameter was converted from mL/min/kg to mL/h/kg.

[b] The unit of parameter was converted from L/kg to mL/kg.

表 2.6.5.3-3　単回皮下投与（カニクイザル）

Test Article: obinutuzumab
Location in CTD: 4.2.2.2-3
Report No.: 1024122

Species/Strain	Cynomolgus monkey	
Gender (M, F)/No. of Animals	M/1/dose	
Feeding Condition	Non fasted	
Vehicle/Formulation	20 mM histidine/histidine hydrochloride/240 mM trehalose/0.02% polysorbate 20, pH 6.0	
Method of Administration	SC	
Dose (mg/kg)	2.8, 3.4	
Sample	Serum	
	0, 2, 7, 24, 48, 72, 144, 192, 216, 240, 312, 384, 480, 576, 744, and 840 h postdose	
Analyte	obinutuzumab	
Assay	ELISA	
PK Parameters		
Dose (mg/kg)	2.8	3.4
C_{max} (μg/mL)	16.1	18.6
T_{max} (h)	72	144
$t_{1/2}$ (h) (Time for calculation)	65 (576-840 h)	45 (384-576 h)
AUC_{inf} (μg•h/mL)	5810	4420
$AUC_{0–216h}$ (μg•h/mL)	3140	3320
Bioavailability (%) [a]	50	43
Additional Information: Although the study was conducted as non-GLP study, the test compound was measured with a validated bioanalytical method. The PK parameters were obtained from a non-compartmental analysis. The formation of ADA was not monitored in this study.		

SC＝subcutaneous; T_{max}＝time to reach maximum serum concentration

[a] Bioavailability was calculated with the mean $AUC_{0–216h}$ value after 1 mg/kg of obinutuzumab intravenous administration from Report 1020938 (2250 μg•h/mL, 表 2.6.5.3-2).

2.6.5.4　薬物動態試験：反復投与後の吸収

表 2.6.5.4-1　13週間反復静脈内投与（カニクイザル）

Test Article: obinutuzumab
Location in CTD: 4.2.3.2-2
Report No.: 1024830

Species/Strain	Cynomolgus monkey					
Gender (M, F)/No. of Animals	M/3-5, F/3-5 /group					
Feeding Condition	Non fasted					
Vehicle/Formulation	20 mM L-Histidine/240 mM Trehalose/0.02% Polysorbate 20, pH 6.0					
Method of Administration	IV, once weekly					
Dose (mg/kg/dose)	10, 30, 100					
Sample	Serum Predose, 0.083, 7, 24, 48, 96, 168 h postdose (Day 1, 29, 78) Predose (Day 15, 22, 43, 57)					
Analyte	obinutuzumab					
Assay	ELISA					
TK Parameters Mean(%CV)						
Dose (mg/kg/dose)	10	10	30	30	100	100
Gender	M (n=3)	F (n=3)	M (n=3)	F (n=3)	M (n=5)	F (n=5)
C_{max} (μg/mL)						
Day 1 (1st dosing)	268 (6.5)	273 (9.2)	907 (22.5)	966 (11.4)	3080 (10.8)	3350 (10.3)
Day 29 (5th dosing)	588(7.7)	299 (24.3)	1320 (60.5)	1470 (6.5)	4970 (16.2)	4460 (8.9)
Day 78 (12th dosing)	606 (19.9)	332 (23.5)	1610 (22.1)	1470 (11.2)	5110 (33.5)	5210 (9.2)
AUC_{0-168h} (μg•h/mL)						
Day 1 (1st dosing)	22000 (7.8)	20100 (8.5)	69100 (27.2)	72700 (7.2)	219000 (12.4)	226000 (6.4)
Day 29 (5th dosing)	37400 (72.9)	7410 (81.7)	134000 (72.2)	118000 (23.3)	456000 (28.2)	368000 (14.2)
Day 78 (12th dosing)	59900 (45.0)	10900 (148.8)	154000 (37.7)	139000 (10.4)	470000 (41.2)	462000 (15.7)
Additional Information: The test compound was measured using a validated bioanalytical method. The formation of ADA was monitored via a validated ELISA and confirmed in 3 (1 male and 2 females) of 6 animals from the 10 mg/kg/dose group. The TK parameters were obtained from a non-compartmental analysis and included ADA positive animals' data for the statistics. No relevant gender differences were observed. On Day 78, drug accumulation was about 2-fold.						

AUC_{0-168h} = area under the serum concentration−time curve from time 0 to 168 hours post-dose; CV = coefficient of variation; TK = toxicokinetics.

表 2.6.5.4-1　13週間反復静脈内投与（カニクイザル）（続）

Species/Strain	Cynomolgus monkey		
Gender (M, F)/No. of Animals	M/3-5, F/3-5 /group		
Feeding Condition	Non fasted		
Vehicle/Formulation	20 mM L-Histidine/240 mM Trehalose/0.02% Polysorbate 20, pH 6.0		
Method of Administration	IV, once weekly		
Dose (mg/kg/dose)	10, 30, 100		
Sample	Serum Predose, 0.083, 7, 24, 48, 96, 168 h postdose (Day 1, 29, 78) Predose (Day 15, 22, 43, 57)		
Analyte	obinutuzumab		
Assay	ELISA		
TK Parameters Mean(%CV)			
Dose (mg/kg/dose)	10	30	100
Gender	M&F (n=6)	M&F (n=6)	M&F (n=10)
C_{max} (μg/mL)			
Day 1 (1^{st} dosing)	271 (7.2)	937 (16.1)	3210 (10.9)
Day 29 (5^{th} dosing)	444 (37.8)	1390 (36.9)	4710 (13.9)
Day 78 (12^{th} dosing)	469 (37.4)	1540 (16.8)	5160 (23.0)
AUC_{0-168h} (μg•h/mL)			
Day 1 (1^{st} dosing)	21000 (8.8)	70900 (17.6)	222000 (9.4)
Day 29 (5^{th} dosing)	22400 (107.7)	126000 (50.9)	412000 (25.1)
Day 78 (12^{th} dosing)	35400 (94.3)	147000 (26.4)	466000 (29.6)
Additional Information: The test compound was measured using a validated bioanalytical method. The formation of ADA was monitored via a validated ELISA and confirmed in 3 (1 male and 2 females) of 6 animals from the 10 mg/kg/dose group. The TK parameters were obtained from a non-compartmental analysis and included ADA positive animals' data for the statistics. No relevant gender differences were observed. On Day 78, drug accumulation was about 2-fold.			

表 2.6.5.4-2　26週間反復静脈内投与（カニクイザル）

Test Article: obinutuzumab
Location in CTD: 4.2.3.2-3
Report No.: 1036190

Species/Strain	Cynomolgus monkey					
Gender (M, F)/No. of Animals	M/6, F/6 /group					
Feeding Condition	Non fasted					
Vehicle/Formulation	20 mM Histidine/240 mM Trehalose/0.02% Poloxamer 188, pH 6.0					
Method of Administration	IV, once weekly					
Dose (mg/kg/dose)	5, 25, 50					
Sample	Serum					
	Predose, 1, 7, 24, 48, 96, 168 h postdose (Day 1, 85, 176)					
Analyte	obinutuzumab					
Assay	ELISA					
TK Parameters Mean (%CV)						
Dose (mg/kg/dose)	5	5	25	25	50	50
Gender	M	F	M	F	M	F
C_{max} (μg/mL)						
Day1 (1st dosing)	178 (6.4)	174 (15.4)	902 (9.0)	907 (24.2)	1800 (9.6)	1800 (11.9)
Day 85 (13th dosing)	327 (20.0) [a]	429 (25.4) [b]	1620 (3.7)	1700 (13.9) [c]	3230 (5.2)	2900 (10.2)
Day 176 (26th dosing)	309 (28.4) [a]	427 (24.7) [b]	1770 (13.8)	1170 (17.7) [b]	3170 (16.6)	2670 (22.6)
AUC_{0-168h} (μg•h/mL)						
Day 1 (1st dosing)	12700 (11.1)	13300 (19.9)	70000 (4.5)	68200 (22.2)	137000 (10.3)	128000 (7.0)
Day 85 (13th dosing)	32100 (28.8) [a]	41600 (30.8) [b]	171000 (6.4)	172000 (14.7) [c]	335000 (14.0)	260000 (16.3)
Day 176 (26th dosing)	33400 (45.9) [a]	44500 (29.8) [b]	220000 (18.6)	128000 (38.4) [b]	379000 (34.6)	303000 (12.2) [c]
Additional Information: The test compound was measured using a validated bioanalytical method. The formation of ADA was monitored via validated ELISA method and confirmed in 7 of 36 animals. The TK parameters were obtained from a non-compartmental analysis and excluded ADA positive animals' data from the statistics. No relevant gender differences were observed. On Day 176, drug accumulation was about 2- to 3-fold.						

[a] n = 3, [b] n = 4, [c] n = 5

表 2.6.5.4-2　26週間反復静脈内投与（カニクイザル）（続）

Species/Strain	Cynomolgus monkey		
Gender (M, F)/No. of Animals	M/6, F/6 /group		
Feeding Condition	Non fasted		
Vehicle/Formulation	20 mM Histidine/240 mM Trehalose/0.02% Poloxamer 188, pH 6.0		
Method of Administration	IV, once weekly		
Dose (mg/kg/dose)	5, 25, 50		
Sample	Serum		
	Predose, 1, 7, 24, 48, 96, 168 h postdose (Day 1, 85, 176)		
Analyte	obinutuzumab		
Assay	ELISA		
TK Parameters Mean (%CV)			
Dose (mg/kg/dose)	5	25	50
Gender	M&F	M&F	M&F
C_{max} (μg/mL)			
Day1 (1st dosing)	176 (11.2)	904 (17.4)	1800 (10.3)
Day 85 (13th dosing)	385 (26.4) [a]	1660 (9.8) [b]	3060 (9.4)
Day 176 (26th dosing)	377 (29.2) [a]	1530 (24.6) [c]	2920 (20.6)
AUC_{0-168h} (μg•h/mL)			
Day 1 (1st dosing)	13000 (15.7)	69100 (15.2)	133000 (9.2)
Day 85 (13th dosing)	37500 (31.1) [a]	172000 (10.4) [b]	298000 (19.5)
Day 176 (26th dosing)	39800 (35.7) [a]	183000 (34.6) [c]	344000 (30.0) [b]
Additional Information: The test compound was measured using a validated bioanalytical method. The formation of ADA was monitored via validated ELISA method and confirmed in 7 of 36 animals. The TK parameters were obtained from a non-compartmental analysis and excluded ADA positive animals' data from the statistics. No relevant gender differences were observed. On Day 176, drug accumulation was about 2- to 3-fold.			

[a] n = 7, [b] n = 11, [c] n = 10

表 2.6.5.4-3　4週間反復皮下投与（カニクイザル）

Test Article: obinutuzumab
Location in CTD: 4.2.3.2-4
Report No.: 1024838

Species/Strain	Cynomolgus monkey					
Gender (M, F)/No. of Animals	M/5, F/5 /group					
Feeding Condition	Non fasted					
Vehicle/Formulation	20 mM L-Histidine/240 mM Trehalose/0.02% Polysorbate 20, pH 6.0					
Method of Administration	SC, once weekly					
Dose (mg/animal/dose)	30, 120					
Sample	Serum Predose, 6, 24, 72, 168 h postdose (Day 1, 22) Predose (Day 15)					
Analyte	obinutuzumab					
Assay	ELISA					
TK Parameters Mean (%CV)						
Dose (mg/animal/dose)	30	30	30	120	120	120
Gender	M	F	M&F	M	F	M&F
C_{max} (µg/mL), Day1 (1st dosing)	48.5 (16.0)	64.4 (14.2)	56.4 (20.5)	205 (16.4)	267 (23.1)	236 (24.1)
C_{max} (µg/mL), Day 22 (4th dosing)	40.9 (70.9)	43.9 (102.7)	42.4 (84.3)	291 (47.7)	371 (31.2)	331 (38.6)
AUC_{0-168h} (µg•h/mL), Day 1 (1st dosing)	6660 (14.0)	8890 (15.9)	7780 (21.0)	29800 (13.3)	35000 (23.6)	32400 (20.7)
AUC_{0-168h} (µg•h/mL) Day 22 (4th dosing)	5380 (70.0)	5700 (126.3)	5540 (97.8)	39700 (56.0)	46500 (35.9)	43100 (43.8)
T_{max} (h), Day 1 (1st dosing)	72 (72-72) [b]	72 (72-72) [b]	72 (72-72) [b]	72 (24-72) [b]	72 (24-72) [b]	72 (24-72) [b]
T_{max} (h), Day 22 (4th dosing)	72 (24-72) [b]	24 (6-72) [b]	72 (6-72) [b]	24 (24-72) [b]	24 (24-72) [b]	24 (24-72) [b]
Bioavailability (%, Day 1 only)	-	-	59 [a]			NA
Additional Information: A validated bioanalytical method was used to measure obinutuzumab. The formation of ADA was monitored via a validated ELISA and confirmed in 5 animals from the 30 mg/animal/dose group and 1 animal from the 120 mg/animal/dose group. The TK parameters were obtained from a non-compartmental analysis and included ADA positive animals' data for the statistics. No large gender differences were observed. On Day 22, drug accumulation was about 1.3- to 1.4-fold in the 120 mg/animal/dose group.						

NA = not applicable

[a] Mean AUC_{0-168h} value was used to calculate bioavailability using an average body weight of 4.8 kg (dose: 6.25 mg/kg) and compared with the mean value of 13W-TK 10 mg/kg (M&F) Day1 AUC_{0-168h}. 21000 µg•h/mL (表 2.6.5.4-1)

[b] Median (range) of T_{max} values was provided.

2.6.5.5　薬物動態試験：分布

該当なし

2.6.5.6　薬物動態試験：たん白結合

該当なし

2.6.5.7　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

該当なし

2.6.5.8　薬物動態試験：その他の分布試験

該当なし

2.6.5.9　薬物動態試験：*In Vivo* における代謝

該当なし

2.6.5.10　薬物動態試験：*In Vitro* における代謝

該当なし

2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路

該当なし

2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

該当なし

2.6.5.13　薬物動態試験：排泄

該当なし

2.6.5.14　薬物動態試験：胆汁中排泄

該当なし

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用

該当なし

2.6.5.16　薬物動態試験：その他

表 2.6.5.16-1　拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）毒性試験（カニクイザル）

Test Article: obinutuzumab
Location in CTD: 4.2.3.5.3-1
Report No.: 1045612

Maternal serum level				
Species/Strain	Cynomolgus Monkey			
Gender (M, F)/No. of Animals	F/17-19 (Day20), F/12-14 (Day139) /group			
Feeding Condition	Non fasted			
Vehicle/Formulation	20 mM Histidine/240 mM Trehalose/0.02% Poloxamer 188, pH 6.0			
Method of Administration	IV, once weekly (from Day 20 post-coitum to birth)			
Dose (mg/kg/dose)	25, 50			
Sample	Serum Predose,7, 24, 96, 168 h postdose			
Analyte	obinutuzumab			
Assay	ELISA			
TK Parameters Mean (%CV)				
Dose (mg/kg/dose)	25	25	50	50
Time point	Day 20 post-coitum (1^{st} dosing, n=19)	Day 139 post-coitum (18^{th} dosing, n=12)	Day 20 post-coitum (1^{st} dosing, n=17)	Day 139 post-coitum (18^{th} dosing, n=14)
C_{max} (μg/mL)	709 (11.5)	1220 (18.7)	1460 (13.2)	2470 (23.1)
AUC_{0-168h} (μg•h/mL)	66900 (8.94)	125000 (24.6)	122000 (32.9)	250000 (35.4)

Additional Information: A validated bioanalytical method was used to measure obinutuzumab in treated groups. The formation of anti-drug antibodies was monitored via a validated ELISA. The TK parameters were obtained from a non-compartmental analysis.

表 2.6.5.16-1　拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）毒性試験（カニクイザル）（続）

Placental transfer and Milk excretion		
Species/Strain	Cynomolgus Monkey	
Gestation Day/Number of Animals	Day 28 post-partum/9-12 [a]/group	
Feeding Condition	Non fasted	
Vehicle/Formulation	20 mM Histidine/240 mM Trehalose/0.02% Poloxamer 188, pH 6.0	
Method of Administration	IV, once weekly (from Day 20 post-coitum to birth)	
Dose (mg/kg/dose)	25, 50	
Sample	Serum, Milk	
Analyte	obinutuzumab	
Assay	ELISA	
Concentration Mean (%CV)[b]		
Dose (mg/kg/dose)	25	50
Time point	Day 28 post-partum	Day 28 post-partum
Maternal Serum (μg/mL)	394 (84.5) [c]	144 (62.9) [d]
Infant Serum (μg/mL)	86.6 (59.6) [c]	241 (68.9) [e]
Infant Serum/Maternal Serum	0.764 (143)[c]	2.44 (77.0) [c]
Milk (μg/mL)	0.0557 (45.4) [c]	0.188 (96.3) [f]
Milk/Maternal Serum	0.000447 (158) [c]	0.00125 (54.1) [f]
Additional Information: A non-validated bioanalytical method was used to measure obinutuzumab in breast milk. The formation of anti-drug antibodies was monitored via a validated ELISA.		

[a] Only one serum sample was collected on Day 28 post-partum from each animals.

[b] To be consistent with the rest of the document, %CV (＝standard deviation/mean・100%) was calculated and reported, while in the original study report, the standard deviation values were provided.

[c] n = 9,　[d] n = 12,　[e] n = 11

[f] One animal sample was collected on Day 29 post-partum, n=10