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）

2.7 臨床概要

2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法

中外製薬株式会社

略語一覧

略語	英語名	和名
[redacted]	[redacted]	[redacted]
ADA	anti-drug (obinutuzumab) antibody	抗オビヌツズマブ抗体
CD	cluster of differntiation	CD 分類
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
FDA	food and drug administration	アメリカ食品医薬品局
HRP	horseradish peroxidase	西洋ワサビペルオキシダーゼ
[redacted]	[redacted]	[redacted]
QC	quality control	品質管理
RO5072759	RO5072759	オビヌツズマブの開発コード番号
[redacted]	[redacted]	[redacted]

目次

頁

2.7 臨床概要 4
2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法 4
2.7.1.1 背景及び概観 4
2.7.1.1.1 製剤 4
2.7.1.1.2 分析法 4
2.7.1.1.2.1 ヒト血清中オビヌツズマブ濃度分析法 5
2.7.1.1.2.2 ヒト血清中抗オビヌツズマブ抗体（ADA）分析法 6
2.7.1.1.2.3 抗オビヌツズマブ抗体のスクリーニング法及び確認試験法 6
2.7.1.2 個々の試験結果の要約 7
2.7.1.3 全試験を通しての結果の比較と解析 7
2.7.1.4 付録 7

2.7 臨床概要

2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法

CD20陽性の B 細胞性濾胞性リンパ腫に対するガザイバ点滴静注1000 mg の生物薬剤学及び関連する分析法として，臨床試験で用いられたオビヌツズマブ製剤，血清中オビヌツズマブ濃度分析法及び抗オビヌツズマブ抗体分析法について述べる。なお，本剤は点滴静注製剤であることから，生物学的同等性試験，生物学的利用能試験及び食事の影響試験などの吸収に関わる試験は実施していない。

2.7.1.1 背景及び概観

2.7.1.1.1 製剤

国際共同試験を含む国内で実施した JO21900試験，BO21005試験，BO21223試験及び JO29737試験で用いたオビヌツズマブ製剤について述べる。また，JO21900試験，BO21005試験，BO21223試験及び JO29737試験で国内使用した製剤の製造番号を表 2.7.1.1.1-1に示した。

JO21900試験では1バイアルあたりオビヌツズマブを[redacted]を用いた。添加剤としてトレハロース水和物，L-ヒスチジン/L-ヒスチジン塩酸塩水和物及び[redacted]を含有した。

BO21005試験，BO21223試験及び JO29737試験では1バイアルあたり25 mg/mL の濃度でオビヌツズマブ 1000 mg を含む濃縮液製剤を用いた。添加剤としてトレハロース水和物，L-ヒスチジン/L-ヒスチジン塩酸塩水和物及びポロキサマー188を含有した。この濃縮液製剤が申請製剤である。

表 2.7.1.1.1-1　国内使用した製剤の製造番号

臨床試験	製造番号
JO21900	78262500，78262500A，78262500B
BO21005	PDH0000135，PDH0000144，H0012，H0014，H0016
BO21223	PDH0000135A，PDH0000144 A，H0012 A，H0014 A，H0040
JO29737	H0016，H0040A

本剤は点滴静注製剤であり，薬物動態に吸収過程は存在しない。したがって，これらの試験間の処方の差異は本剤の薬物動態に影響しない。

これら製剤の詳細については2.3に記載した。

2.7.1.1.2 分析法

臨床試料中のオビヌツズマブ濃度は酵素免疫測定（以下，ELISA）法により分析された。

以下にヒト試料中のオビヌツズマブ濃度及び抗オビヌツズマブ抗体の分析に用いられた分析方法の概略を記載する。それぞれの臨床試験に用いられた分析法を表 2.7.1.1.2-1に示す。臨床試料中のオビヌツズマブ濃度の分析は Guidance for Industry 2001: 10648（FDA）に従い実施された。臨床試験を通じてオビヌツズマブ濃度分析法は変更されていず，また，抗オビヌツズマブ抗体分析には第一世代法及び第二世代法の二法を用いた。

表 2.7.1.1.2-1　臨床試験試料の分析に用いられたオビヌツズマブ濃度分析法及び抗オビヌツズマブ抗体分析法

臨床試験	開発の相	オビヌツズマブ濃度分析	抗オビヌツズマブ抗体分析	
			第一世代スクリーニング/確認試験法	第二世代スクリーニング/確認試験法
BO20999	I/II	x	x	
BO21000	Ib	x	x	
BO21003	I/II	x	x	
BO21005	III	x		x
BO21223	III	x		x
GAO4753g	III	x		x
GAO4915g	II	x		x
JO21900	I	x	x	x
JO29737	II	x	実施せず。	

2.7.1.1.2.1　ヒト血清中オビヌツズマブ濃度分析法

ヒト血清中オビヌツズマブ濃度の分析には ELISA 法が用いられた。本分析法は2つの分析施設でバリデートされた[5.3.1.4-1及び5.3.1.4-5]。分析手順を以下に示す。試料（検量線用標準品，品質管理用[QC]試料及び臨床試料）を分析用緩衝液で希釈し，[redacted]と反応させた。この反応溶液を，ストレプトアビジンを固相化したマイクロプレートに添加した。[redacted]を検出した。[redacted]の検出には，発色基質（以下，[redacted]）を用いた。[redacted]を添加することにより反応を停止後に吸光度を分光光度計にて測定した。

オビヌツズマブ濃度の検出範囲は[redacted] ng/mL から[redacted] ng/mL であった。[redacted]に用いることにより，遊離で活性のあるオビヌツズマブを検出することができ，定量下限は[redacted] ng/mL であった。

本分析法は F･Hoffmann La-Roche 社（スイス，バーゼル，[5.3.1.4-1]，以下，ロシュ社）及び[redacted]で確立され，両社の研究所間でクロスバリデーションが成立することが確認された[5.3.1.4-3]。本分析法の再現性について表 2.7.1.1.2.1-1に示した。

本分析法は BO20999試験，BO21000試験，BO21003試験，BO21005試験，BO21223試験，GAO4753g 試験，GAO4915g 試験，JO21900試験及び JO29737試験の試料の分析に用いられた。

表 2.7.1.1.2.1-1　オビヌツズマブ濃度分析法の再現性

分析施設	定量範囲 (ng/mL)	真度 (%)		精度 (%)	
		測定内再現性	測定間再現性	測定内再現性	測定間再現性
ロシュ社[a]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted][b]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

a: ［5.3.1.4-1 Table 1及び Table 2を改変］
b: ［5.3.1.4.5-1 Table 3及び Table 4を改変］

2.7.1.1.2.2　ヒト血清中抗オビヌツズマブ抗体（ADA）分析法

モノクローナル抗体の臨床開発において免疫原性を検査する目的は，抗薬物抗体の発現の有無と抗薬物抗体が臨床症状に与える影響を検討することである（2.7.2.4.1）。

[redacted]を用いた中和抗体の分析法ではトラフレベルのヒト血清中オビヌツズマブが抗薬物抗体と干渉するため，抗薬物抗体の分析には目的に適合したアプローチ法（Fit for Purpose approach）が採用された。結果的には，中和抗体の分析法は薬物が消失した後にのみ適用可能であった。

臨床症状が発現した場合に抗薬物抗体との関連性を検討するために抗薬物抗体の分析が行われたが，他に薬物濃度，バイオマーカー，B 細胞の抑制などの薬効マーカーを検査することで抗薬物抗体発現の可能性を評価した。

オビヌツズマブの臨床開発における免疫原性の評価方針は以下のとおりである。

- 抗薬物抗体のスクリーニングで抗体陽性となり，確認試験でも抗体陽性が確認された場合には免疫グロブリンのアイソタイプを同定する。
- 抗薬物抗体陽性の試料について更に抗体の分析を実施する。

2.7.1.1.2.3　抗オビヌツズマブ抗体のスクリーニング法及び確認試験法

(1)　第一世代抗オビヌツズマブ抗体のスクリーニング法及び確認試験法

臨床開発の初期の段階では，ヒト血清中の抗オビヌツズマブ抗体を検出するために第一世代の ELISA 法が用いられた。すなわち，ストレプトアビジンを固相化したマイクロプレートにビオチン標識したオビヌツズマブを1時間反応させた後，洗浄した。続いて，定量用標準品，QC 試料及び臨床試料を分析用緩衝液で希釈後マイクロプレートに移し，1時間反応させた。洗浄後，オビヌツズマブに結合した抗薬物抗体をジゴキシゲニン標識したオビヌツズマブと反応させた。洗浄後，[redacted] 標識した抗ジゴキシゲニン抗体を添加した。洗浄後，[redacted] を添加し，反応停止後に吸光度を測定した。抗薬物抗体のスクリーニングにおいてカットポイント以上の反応を示した試料については，特異性を評価するためにスクリーニングの操作に免疫沈降の過程を加えて確認試験を実施した。確認試験において抗体陽性となった試料については，単位とした ng eq./mL で濃度を示した。

精製した[redacted]を陽性コントロールとして用いた。定量範囲は[redacted] ng eq./mL であった。ヒト血清中の陽性コントロールの感度は[redacted] ng eq./mL であった。抗薬物抗体と薬物が共存する時に，[redacted] µg/mL の抗薬物抗体が検出できる薬物濃度の上限は[redacted] µg/mL であり，その比は[redacted]であった。

第一世代の抗薬物抗体のスクリーニング法及び確認試験法はロシュ社で確立された。バリデーション試験において得られたその分析法の成績を表 2.7.1.1.2.3-1に示した。

本分析法は BO20999試験，BO21000試験，BO21003試験及び JO21900試験の試料の分析に用いられた。

表 2.7.1.1.2.3-1　第一世代抗オビヌツズマブ抗体スクリーニング法及び確認試験法

分析施設	定量範囲 (ng eq./mL)	スクリーニングカットポイントの感度 (ng eq./mL)	薬物/抗薬物抗体濃度比	真度 (%)		精度 (%)	
				測定内再現性	測定間再現性	測定内再現性	測定間再現性
ロシュ社	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

［5.3.1.4-2 Table 6及び Table 7を改変］

(2)　第二世代抗オビヌツズマブ抗体のスクリーニング法及び確認試験法

第一世代の抗薬物抗体分析法は，オビヌツズマブ濃度が低い血清試料中の抗オビヌツズマブ抗体を分析するためには非常に高感度であったが，患者血清中ではオビヌツズマブ濃度が比較

的高く，共存する薬物の影響を受けやすいため，抗薬物抗体が検出されない可能性があった。そのため，共存する薬物の影響を受けにくい第二世代の分析法がロシュ社で開発され，[redacted]でバリデートされた（5.3.1.4-4）。改良された分析法は2段階のブリッジング ELISA 法から構成される。

第二世代の分析法の手順を以下に示す。ビオチン標識したオビヌツズマブとジゴキシゲニン標識したオビヌツズマブの混合液に臨床試料と QC 試料をそれぞれ添加し，16 – 24時間インキュベートすることで免疫複合体を形成させた。インキュベーション後，ストレプトアビジンを固相化したマイクロプレートに免疫複合体を移し，1時間インキュベートした。マイクロプレートに結合した免疫複合体に[redacted]標識した抗ジゴキシゲニン抗体を添加し，続いて[redacted]を添加した。硫酸を添加して反応停止後，吸光度を測定した。抗オビヌツズマブ抗体の反応については，バリデーション試験で決定した吸光度により区分した。カットポイント以上の吸光度を示した試料については，スクリーニング陽性と区分し，確認試験を実施した。確認試験では，過剰のオビヌツズマブの共存下あるいは非共存下でインキュベートした試料について，スクリーニング法と同様な方法で分析した。過剰なオビヌツズマブを添加することにより，オビヌツズマブに特異的な抗体を含む試料においてのみ吸光度が減少する。過剰なオビヌツズマブを添加した試料の吸光度とオビヌツズマブを添加しない試料の吸光度を比較し，吸光度の減少の程度により抗薬物抗体を区分した。確認試験において抗薬物抗体陽性と判断された試料については，抗体価を測定した。抗体価は，吸光度がカットポイント以上となる最大の希釈率と定義される。

精製した[redacted]を陽性コントロールとして用いた。バリデーション試験において得られたその分析法の成績を表 2.7.1.1.2.3-2に示した。ヒト血清中の陽性コントロールの感度は[redacted]ng eq./mL であった。抗薬物抗体と薬物が共存する時に，[redacted] µg/mL の抗薬物抗体が検出できる薬物濃度の上限は[redacted] µg/mL であり，その比は[redacted]であった。

本分析法は，PPD 社でバリデートされ，BO21005試験，BO21223試験，GAO4753g 試験，GAO4915g 試験及び JO21900試験の分析に用いられた。

表 2.7.1.1.2.3-2　第二世代抗オビヌツズマブ抗体スクリーニング法及び確認試験法

分析施設	スクリーニングカットポイントの感度 (ng eq./mL)	薬物/抗薬物抗体濃度比	精度 (%)	
			測定内再現性	測定間再現性
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

［5.3.1.4-4 Table 4，Table 5a，Table 5b 及び Table 5c を改変］

2.7.1.2　個々の試験結果の要約

該当せず。

2.7.1.3　全試験を通しての結果の比較と解析

該当せず。

2.7.1.4　付録

該当せず。