レブコビ筋注 2.4mg

製造販売承認申請

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

帝人ファーマ株式会社

目次

2.7.1　生物薬剤学試験及び関連する分析法 5
2.7.1.1　背景及び概観 5
2.7.1.1.1　背景 5
2.7.1.1.2　アデノシンデアミナーゼの作用機序 5
2.7.1.1.3　製剤開発の経緯 6
2.7.1.2　生物薬剤学試験の概要 7
2.7.1.2.1　臨床試験概要 7
2.7.1.3　臨床試験に用いた分析法 8
2.7.1.3.1　血漿中 ADA 活性分析法 8
2.7.1.3.2　血清中 ADA 活性分析法 11
2.7.1.3.3　赤血球中 dAXP 分析法 14
2.7.1.3.4　血中 dAXP 分析法 15
2.7.1.3.5　抗薬物抗体分析法 17
2.7.1.4　個々の試験結果の要約 22
2.7.1.5　全試験を通しての結果の比較と解析 22
2.7.1.6　参考文献 23
2.7.1.7　付録 24

略号一覧表

略号	英名	日本語
ADA	Adenosine deaminase	アデノシンデアミナーゼ
ADP	Adenosine 5'-diphosphate	アデノシン 5'-二リン酸
[redacted]	[redacted]	[redacted]
AMP	Adenosine 5'-monophosphate	アデノシン 5'-一リン酸
ATP	Adenosine 5'-triphosphate	アデノシン 5'-三リン酸
[redacted]	[redacted]	[redacted]
CV	Coefficient of variation	変動係数
dAdo	2'-Deoxyadenosine	2'-デオキシアデノシン
dADP	2'-Deoxyadenosine 5'-diphosphate	2'-デオキシアデノシン 5'-二リン酸
dAMP	2'-Deoxyadenosine 5'-monophosphate	2'-デオキシアデノシン 5'-一リン酸
dATP	2'-Deoxyadenosine 5'-triphosphate	2'-デオキシアデノシン 5'-三リン酸
dAXP	Deoxyadenosine nucleotide	デオキシアデノシンヌクレオチド
DBS	Dried blood spot	乾燥血液スポット、ろ紙採血法の一種
DNA	Deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid	エデト酸ナトリウム水和物
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	エライザ（酵素結合免疫吸着法）
GLDH	Glutamate dehydrogenase	グルタミン酸デヒドロゲナーゼ
HPLC	High-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IgG	Immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IgM	Immunoglobulin M	免疫グロブリン M
ISR	Incurred sample reanalysis	－
LLOQ	Lower limit of quantification	定量下限
MRD	Minimum required dilution	最小希釈倍率
NA	Not applicable	該当なし
NADP	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (oxidized form)	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（酸化型）
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form)	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（還元型）
[redacted]	[redacted]	[redacted]
NF	Normalization factor	カットポイント（抗体陽性判定基準）のノーマライゼーションファクター
PEG	Polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
PEG-OA	PEGylated ovalbumin	ポリエチレングリコール修飾オボアルブミン
PK	Pharmacokinetic(s)	薬物動態
QC	Quality control	QC、品質管理
rADA	Recombinant adenosine deaminase	遺伝子組換えアデノシンデアミナーゼ類縁体
RE	Relative error	真度、相対誤差、理論値からの偏差（%）
RNA	Ribonucleic acid	リボ核酸

略号一覧表（続き）

略号	英名	日本語
SC	Succinimidyl carbamate	スクシンイミジルカルバメート
[redacted]	[redacted]	[redacted]
SS	Succinimidyl succinate	スクシンイミジルスクシナート
U	Unit	酵素活性の単位 ：毎分 1 μmol の基質を変化することができる酵素量
UV	Ultraviolet	紫外可視光

略号一覧表（製剤・有効成分）

略号	英名	日本語・定義
ADAGEN®	SS-PEG-ADA, PEG-ADA, PEGylated ADA	一般名：pegademase bovine 米国で承認されている（日本では未承認）の ADA 欠損症治療薬の販売名
EZN-2279	PEGylated recombinant bovine ADA with SC linker (SC-PEG-rADA), PEG-rADA	STM-279 の米国の治験成分記号 一般名：elapegademase 販売名：REVCOVI®
STM-279	PEGylated recombinant bovine ADA with SC linker (SC-PEG-rADA), PEG-rADA	日本での治験成分記号 一般名：エラペグアデマーゼ（遺伝子組換え） 販売名：レブコビ®筋注 2.4mg
PEG-ADA	PEGylated bovine ADA with SS linker（SS-PEG-ADA）	ポリエチレングリコール修飾ウシアデノシンデアミナーゼ。 ADAGEN®の有効成分。
PEG-rADA	PEGylated recombinant bovine ADA with SC linker (SC-PEG-rADA)	ポリエチレングリコール修飾遺伝子組換えウシアデノシンデアミナーゼ類縁体。 STM-279 又は EZN-2279 の有効成分。

2.7.1　生物薬剤学試験及び関連する分析法

2.7.1.1　背景及び概観

2.7.1.1.1 背景

本剤（治験成分記号：STM-279、米国では EZN-2279）は、Leadiant Biosciences, Inc.（以下：「Leadiant 社」）が処方設計したポリエチレングリコール（PEG）で化学修飾した大腸菌由来の遺伝子組換えウシアデノシンデアミナーゼ（PEG-rADA）を含む筋注用の水性注射剤である。米国での既承認薬である ADAGEN®との違いは、①ADAGEN®の原料はウシ腸から抽出した ADA であるが、本剤の原料は遺伝子組換えウシアデノシンデアミナーゼであること、②ADAGEN®は PEG 化の架橋剤にスクシンイミジルスクシナート（SS）を用いたが、本剤はスクシンイミジルカルバメート（SC）を用いて製剤の保存安定性を向上したこと、である。

本剤は ADA 欠損症を適応とする酵素補充療法剤であることから、薬物動態は ADA 欠損症患者の生体試料中 ADA 活性により評価した。米国第 III 相試験（STP-2279-002 試験）では、EZN-2279 を 7 日間隔で筋肉内投与し、定常状態における血漿中 ADA 活性値の推移を検討した。本邦の第 III 相試験（STM-279-301 試験）も STP-2279-002 試験の試験デザインを参考にして本剤の定常状態における血漿中 ADA 活性値の推移を検討した。本剤は分子量 5000 を超える高分子の筋注用液剤であるため、生物薬剤学としては患者の治療時の吸収性のみを評価した。薬物動態学的な薬物相互作用は考えられないため、*in vitro* 及び *in vivo* における薬物相互作用試験は実施していない。

2.7.1.1.2 アデノシンデアミナーゼの作用機序

ADA は、アデノシン、2'-デオキシアデノシン（dAdo）をそれぞれイノシン、2'-デオキシイノシンへ代謝する核酸代謝酵素である [1)]。アデノシンは主に内因性のアデノシン 5'-三リン酸（ATP）及びリボ核酸（RNA）の分解に由来し、dAdo は主に 2'-デオキシアデノシン 5'-三リン酸（dATP）及びデオキシリボ核酸（DNA）の分解から生成される。生成されたイノシン及び 2'-デオキシイノシンは更にヒポキサンチンに変換されて尿酸に至るか、サルベージ経路中で再利用されて別のモノヌクレオシドに再生される［図 2.7.1-1］。

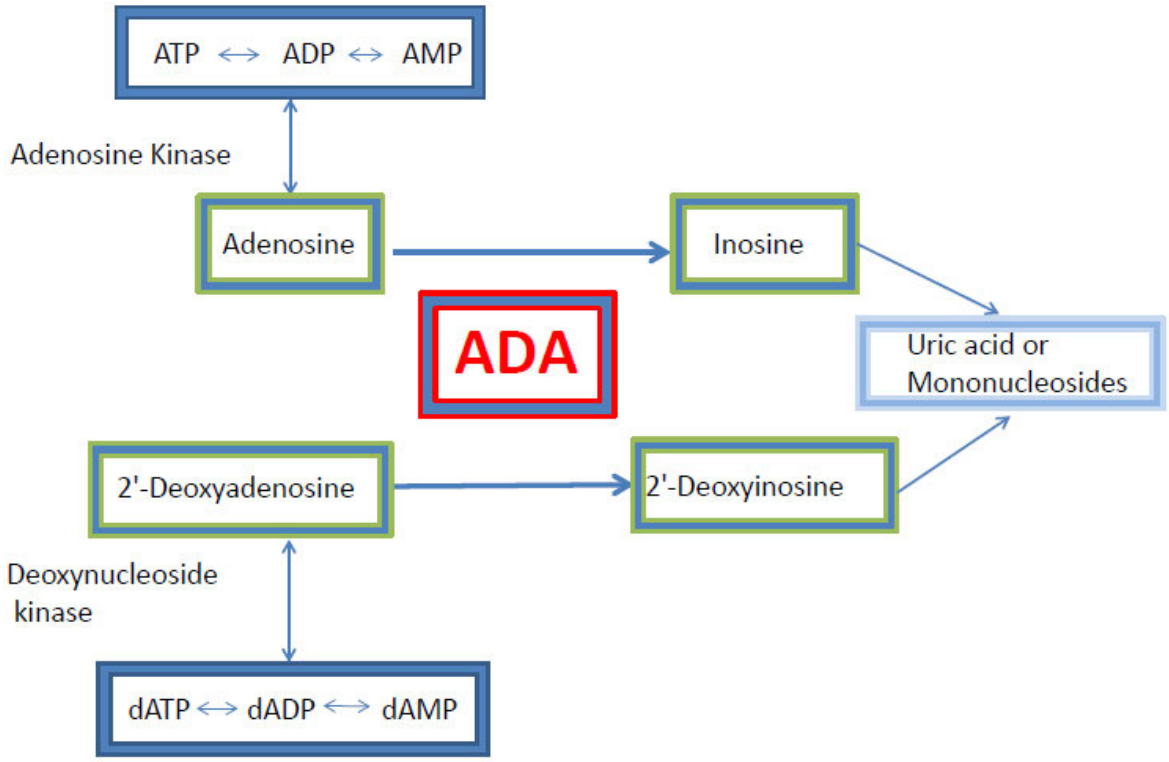


図 2.7.1-1　プリン代謝におけるアデノシンデアミナーゼ（ADA）の役割

Sauer et al., 2012 より一部改変
Adenosine: アデノシン, Inosine: イノシン, 2'-Deoxyadenosine: 2'-デオキシアデノシン,
2'-Deoxyinosine: 2'-デオキシイノシン

ADA 欠損症で生じたアデノシン濃度の上昇は、胸腺細胞のアポトーシス及び分化阻害に寄与し、マウス及びヒトにおいて重篤な T リンパ球減少症を引き起こすことが報告されている[2)、3)]。このため免疫細胞を適切に機能させるには、アデノシン及び dAdo 濃度を低レベルに維持することが非常に重要となる。

血中に補充された ADA は血漿中アデノシン濃度を低下させるが、濃度平衡により細胞内のアデノシン濃度も低下させる。したがって、血漿中 ADA 活性値の推移や曝露は本剤の有効性と密接に関係する。

一方、ADA 欠損症でよく着目される赤血球中のアデノシン類も血漿から供給される。赤血球中のアデノシン類の多くはリン酸化体（dAMP + dADP + dATP = dAXP）に変換されて蓄積される。このため赤血球中の dAXP 濃度は、補充された血漿中 ADA による細胞内での解毒効果を確認するための生物学的指標として代用されている。

2.7.1.1.3　製剤開発の経緯

生物薬剤学（吸収性の評価）及び臨床薬理学に関する試験は、本邦の第 III 相試験（STM-279-301 試験）及び米国の第 III 相試験（STP-2279-002 試験）で実施した。本剤は、PEG-rADA を含む筋注用液剤で、各臨床試験に使用した製剤は 1 規格である。1 バイアル中に表 2.7.1-1 に示す成分を含有する。

表 2.7.1-1　STM-279 の組成

成分 （1 バイアル中に下記組成の溶液 1.5 mL を含む。）		分量
有効成分	エラペグアデマーゼ（遺伝子組換え）	2.4 mg
添加物	塩化ナトリウム	12.75 mg
	リン酸水素ナトリウム七水和物	12.70 mg
	リン酸二水素ナトリウム一水和物	3.81 mg
	注射用水	適量

2.7.1.2　生物薬剤学試験の概要

2.7.1.2.1　臨床試験概要

（1）臨床試験概要

本剤の生物薬剤学の評価は、本邦で STM-279-301 試験及び米国で STP-2279-002 試験の 2 つの第 III 相試験で実施した。両試験の結果は 2.7.2.3 項に記載した。

（2）臨床試験に用いた分析法の概要と経緯

本申請では、①血漿中 ADA 活性（薬物動態：PK）、②血清中 ADA 活性（有効性）、③赤血球中 dAXP 濃度（有効性）、④血中 dAXP 濃度（有効性）、⑤抗薬物抗体（免疫原性）の評価系を構築した。各分析法の経緯を以下に示し、個々のバリデーション結果を 2.7.1.3 項に要約した。バリデーションは、各種ガイダンス・ガイドライン[4) -7)]を参考に分析原理・手法に応じた評価項目を検証し、精度管理基準を設定した。また、抗薬物抗体のカットポイントの算出と段階的評価は文献[8)]を参照した。

1）血漿中 ADA 活性（PK）

STM-279-301 試験及び STP-2279-002 試験での検体測定に適用した。ヒト血漿中の本剤又は ADAGEN®濃度は、ADA 活性として酵素活性法で測定した。STP-2279-002 試験に際し、血漿中の本剤又は ADAGEN®（STP-2279-002 試験でのみ実施）の分析法は、[redacted]（以下：「[redacted]」）にて各成分用にそれぞれ構築し、バリデーションを実施した。その後、[redacted]の事業終結に伴い、本法を[redacted]以下：「[redacted]」）に移管し、パーシャルバリデーションで分析法の妥当性を確認した［2.7.1.3.1（1）項］。加えて、STM-279-301 試験を実施するため、[redacted]及び[redacted]にてアジア人血漿を用いた本剤のパーシャルバリデーションを実施し、マトリックス効果に民族差がないことを確認した［2.7.1.3.1（2）項］。

2）血清中 ADA 活性（有効性）

STM-279-301 試験での検体測定にのみ適用した。本邦の臨床現場において迅速に ADA 活性を検査できる方法として、本邦にて既承認の診断薬キット（N-アッセイ ADA

ニットーボー）と自動分析装置を用い、[redacted] 以下：「[redacted]」）にて血清中 ADA 活性を測定した。本測定法のバリデーションでは血漿中及び血清中の内因性 ADA 活性の関係性、並びに STM-279 を血漿中及び血清中に添加したときの ADA 活性の関係性を確認した［2.7.1.3.2（1）項］。更に、STP-2279-002 試験の結果と比較するために、[redacted]と[redacted]又は[redacted]との間で施設間比較を実施し、分析施設間の ADA 活性の関係性を確認した［2.7.1.3.2（2）、（3）項］。

3）赤血球中 dAXP 濃度（有効性）

STM-279-301 試験及び STP-2279-002 試験での検体測定に適用した。赤血球中 dAXP 濃度の測定は、検体中の dAXP（dATP、dADP 及び dAMP）を酵素的に脱リン酸化して dAdo として UV-HPLC 法により検出した[9]。本法は[redacted]にてバリデーションを実施し、続いて STM-279-301 試験の実施に際し、分析値に民族差がないことを確認した。その後、[redacted]の事業終結に伴って本法を[redacted]に移管し、パーシャルバリデーションで妥当性を確認した［2.7.1.3.3 項］。

4）血中（乾燥ろ紙血）dAXP 濃度（有効性）

STM-279-301 試験での検体測定にのみ適用した。血中 dAXP 濃度の測定は、採血ろ紙に滴下した血液（DBS）を検体とし、LC-MS/MS 法による dATP、dADP 及び dAMP の同時定量により 3 成分の和を dAXP 濃度とした。本法は[redacted]（以下：「[redacted]」）にてバリデーションを実施した［2.7.1.3.4 項］。

5）抗薬物抗体（免疫原性）

STM-279-301 試験及び STP-2279-002 試験での検体測定に適用した。抗薬物抗体分析は、①スクリーニング試験、②確認試験及び③特性解析の 3 ステップにより段階的に評価した。スクリーニング試験及び確認試験では ELISA 法を、特性解析として抗 EZN-279 IgM 抗体と抗 PEG 抗体の分析では ELISA 法を、抗 ADA 活性中和抗体の分析では酵素活性法をそれぞれ確立した。各分析法は[redacted]にてバリデーションを実施したが、その後[redacted]の事業終結に伴って本法を[redacted]に移管し、パーシャルバリデーションで妥当性を確認した［2.7.1.3.5 項］。

2.7.1.3　臨床試験に用いた分析法

本邦及び米国臨床試験の薬物動態評価、有効性評価及び免疫原性評価に用いた分析法の原理と概要を以下に示し、バリデーション結果の概要を表 2.7.1-2～表 2.7.1-13 に示す。

2.7.1.3.1　血漿中 ADA 活性分析法

STM-279-301 試験及び STP-2279-002 試験で用いた血漿中 ADA 活性の測定原理を図 2.7.1-2 に示す。血漿中の本剤及び ADAGEN®の ADA 活性は、アデノシン（基質）からイノシン（産物）への変換速度を吸光光度法により測定した。本法は 37±2°C における吸光度の低下（基質の消失）を 15 分間測定する。測定値が直線性を示す初期の 5 分間の反応速度を別途調製した本剤又は ADAGEN®の標準品を段階希釈して作成した反応速度の検量線に当てはめ、ADA 活性を mU/mL

で算出した。1 U は、1 分間あたり 1 μmol のイノシンを生成する酵素活性と定義しているが、血漿中 ADA 活性は特に断りのない限りμmol/h/mL 単位に換算して報告値とした。なお、本剤及び ADAGEN®の標準品は規格試験方法の違いにより表示活性に差異が生じるため、本剤の ADA 活性は測定値を 2.1 で除して補正した値を用いた［4.2.3.7.6］。

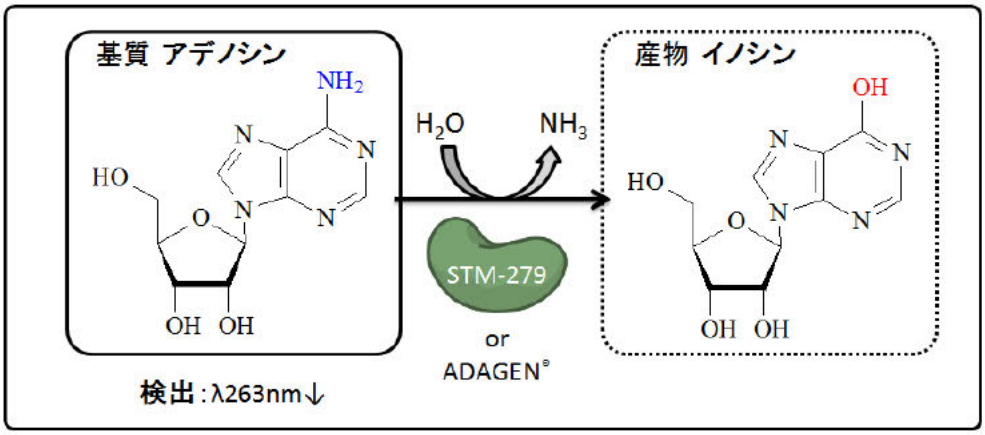


図 2.7.1-2　血漿中 ADA 活性測定法の原理

(1) 血漿中 EZN-2279 又は ADAGEN®濃度分析法バリデーション試験（試験番号：[redacted]［5.3.1.4-1］、[redacted]［5.3.1.4-2］、[redacted]［5.3.1.4-3］）

STM-279-301 試験及び STP-2279-002 試験で実施した血漿中 ADA 活性（EZN-2279 又は ADAGEN®）濃度の測定は同一の酵素活性法を採用した。目的の分析対象物を添加した検量線用試料及び精度管理（QC）試料、若しくは臨床検体をそれぞれ緩衝液で 10 倍希釈し、二重測定になるように 96 穴マイクロプレートにセットして基質液（アデノシン）を添加した。37°C±2 度に設定したプレートリーダー中でアデノシンの減少速度を測定した。直線回帰した検量線より血漿中 ADA 活性（EZN-2279 又は ADAGEN®）濃度を算出した。バリデーション結果を表 2.7.1-2、表 2.7.1-3 に示す。

表 2.7.1-2　血漿中 EZN-2279 及び ADAGEN®濃度分析法バリデーション結果（[redacted]）

分析施設		[redacted]			
試験番号		[redacted]		[redacted]	
分析方法		酵素活性法		酵素活性法	
分析対象物質		ADAGEN®	EZN-2279	ADAGEN®	EZN-2279
マトリックス（抗凝固剤）		外国人血漿（ヘパリン）	外国人血漿（ヘパリン）	外国人血漿（EDTA）	外国人血漿（EDTA）
最小希釈倍率（MRD）		1:10	1:10	1:10	1:10
定量範囲（血漿試料中濃度）		250～2500 mU/mL（15～150 μmol/h/mL）	250-2500 mU/mL（15～150 μmol/h/mL）	150-2500 mU/mL（9～150 μmol/h/mL）	150-2500 mU/mL（9～150 μmol/h/mL）
検量線範囲		25～250 mU/mL	25～250 mU/mL	15-250 mU/mL	15-250 mU/mL
日内再現性	QC 真度（RE）	-4.6～-0.4%	-14.1～-6.7%	NA	NA
	QC 精度（CV）	1.8～5.0%	1.1～2.5%	NA	NA
日間再現性	QC 真度（RE）	-15.2～3.2%	-7.1～-0.5%	-7.5～0.5%	-7.4～5.1%
	QC 精度（CV）	2.3～8.1%	2.9～5.3%	1.7～7.7%	3.4～4.9%
保存安定性	保存条件	4°C, 24 時間	4°C, 24 時間	NA	NA
	凍結融解	3 回	3 回	NA	NA
選択性（添加回収率）		85.1～103.6%	83.4～103.7%	NA	NA
希釈直線性		128 倍希釈	32 倍希釈	NA	NA

NA：該当なし

表 2.7.1-3　血漿中 EZN-2279 及び ADAGEN®濃度分析法バリデーション結果（[redacted]）

分析施設		[redacted]	
試験番号		[redacted]	
分析方法		酵素活性法	
分析対象物質		ADAGEN®	EZN-2279
マトリックス（抗凝固剤）		外国人血漿（EDTA）	外国人血漿（EDTA）
MRD		1:10	1:10
定量範囲（血漿試料中濃度）		150～2500 mU/mL（9～150 μmol/h/mL）	150～2500 mU/mL（9～150 μmol/h/mL）
検量線範囲		15～250 mU/mL	15～250 mU/mL
日内再現性	QC 真度（RE）	-13.3～7.9%	-4.5～3.3%
	QC 精度（CV）	4.5～7.2%	2.3～2.5%
日間再現性	QC 真度（RE）	-7.1～1.0%	-1.7～2.9%
	QC 精度（CV）	1.9～4.2%	2.9～6.9%

(2) アジア人血漿中 EZN-2279 濃度分析法バリデーション試験（試験番号：[redacted] [5.3.1.4-4]、[redacted] [5.3.1.4-5]）

STM-279-301 試験の実施に際し、既にバリデーションを実施した血漿中 EZN-2279 濃度分析法に基づき、アジア人血漿中 EZN-2279 濃度分析のパーシャルバリデーションを実施した。アジア人の個体別血漿に既知量の EZN-2279 を添加し、外国人血漿を用いて調製し

た検量線から算出した測定値は、いずれの個体も理論値の±20%以内であった。また、アジア人血漿中の EZN-2279 の安定性について、-20°C で 9 ヵ月間、-65°C 以下で 1 年間の凍結保存安定性を確認した。バリデーション結果を表 2.7.1-4 に示す。

マトリックス効果について民族差が認められなかったことから、本法により日本人血漿中 ADA 活性の評価が可能であることを確認した。

表 2.7.1-4　アジア人血漿中 EZN-2279 濃度分析法バリデーション結果

分析施設		[redacted]	[redacted]
試験番号		[redacted]	[redacted]
分析方法		酵素活性法	酵素活性法
分析対象物質		EZN-2279	EZN-2279
マトリックス （抗凝固剤）		アジア人血漿 （EDTA）	アジア人血漿 （EDTA）
MRD		1:10	1:10
定量範囲 （血漿試料中濃度）		150-2500 mU/mL （9～150 μmol/h/mL）	150-2500 mU/mL （9～150 μmol/h/mL）
検量線範囲		15-250 mU/mL	15-250 mU/mL
日間 再現性	QC 真度 （RE）	-11.7～2.6%	NA
	QC 精度 （CV）	3.4～12.0%	NA
保存 安定性	保存条件	-20°C, 3 ヵ月 -65°C 以下, 3 ヵ月	-20°C, 9 ヵ月間 -65°C 以下, 12 ヵ月間
選択性（添加回収率）		NA	89.4～104.9%

NA：該当なし

（3）日本人血漿中試料における Incurred Sample Reanalysis（STM-279-301 試験［5.3.5.2.1］）

STM-279-301 試験において分析した全 2 例の被験者から得られた治験検体を用いて Incurred Sample Reanalysis （以下 ISR）を評価した。検体は各被験者の PK 評価時期 4 時点と PK 評価時期以外の用量維持期 2 時点を選択した。初回定量値と ISR により得られた定量値の乖離度は-28.86%～5.99%と 12 検体すべてにおいて±30%以内であり、実試料分析における定量値の妥当性が確認された。

2.7.1.3.2　血清中 ADA 活性分析法

STM-279-301 試験において、血清中 ADA 活性を本邦で既に承認されている診断薬キット（N-アッセイ ADA ニットーボー）と自動分析装置を用いて測定した。本キットは本邦で汎用的に流通しており、臨床検査ラボにおける再現性は高く、臨床検査として速やかに信頼性の高い結果が得られる。また、本キットは米国測定施設の血漿中 ADA 活性測定法よりも少量の検体で測定が可能であるため、採血量が制限される乳児などの ADA 活性評価においても有益である。本キットに

よる血清中 ADA 活性の測定原理を図 2.7.1-3 に示す。検体中の ADA 活性は、アデノシン（基質）からイノシン（産物）への変換過程で発生するアンモニアと α－ケトグルタル酸が GLDH 及び NADPH の存在下で反応する際の NADPH 減少量を吸光光度法により測定した。

なお、本キットのキャリブレーションに用いられる標準品はウシ由来 ADA であり、本法による ADA 活性は特に断りのない限りキット標準品活性相当の U/L で表した。

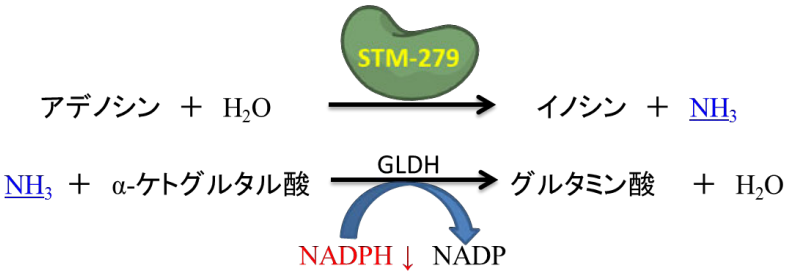


図 2.7.1-3　血清中 ADA 活性測定法の原理

（1）血清中及び血漿中 ADA 活性分析法バリデーション試験（試験番号：[redacted] ［5.3.1.4-6］）

本剤の ADA 活性のモニタリング方法として診断薬キット（N-アッセイ ADA ニットーボー）を用いた血清中 ADA 活性測定法を採用するに際し、分析法バリデーションを実施した。本キットで血清中及び血漿中の内因性 ADA 活性値を比較した結果、高い正の相関性（相関係数：0.9793）が確認された。更に、血清及び血漿に対して EZN-2279 を添加し、特異性、日内及び日間再現性を評価したところ良好な結果が得られた。また、本キットで血清中及び血漿中に EZN-2279 を添加したときの ADA 活性値を比較した結果、高い正の相関性（相関係数：0.9999）が確認された。このことから、本キットによる血清中 ADA 活性値と血漿中 ADA 活性値は互換性があると考えられた。バリデーション結果を表 2.7.1-5 に示す。

表 2.7.1-5　ADA 活性診断薬キット（N-アッセイ ADA ニットーボー）を用いた血清中及び血漿中 ADA 活性分析法バリデーション結果

分析施設		[redacted]	
試験番号		[redacted]	
分析方法		UV 法（酵素法）	
分析対象物質		EZN-2279	
マトリックス（抗凝固剤）		外国人及び日本人血清 a)	外国人及び日本人血漿 a)（EDTA）
MRD		1:10	1:10
直線性（測定範囲）		10～220 U/L	NA
定量範囲（報告範囲）		100～2200 U/L	NA
日内再現性	QC 真度（RE）	＋29.5～＋35.8%	＋31.0～＋36.3%
	QC 精度（CV）	0.2～0.9%	0.2～1.9%
日間再現性	QC 真度（RE）	＋31.0～＋33.0%	＋32.0～＋34.3%
	QC 精度（CV）	0.8～1.7%	0.9～1.9%
特異性	真度（RE）	＋15.8～＋26.8%	＋20.0～＋29.8%
	精度（CV）	1.0～2.3%	0.7～2.6%

NA：該当なし
a) 日本人血清及び血漿は、内因性 ADA 活性値の比較、EZN-2279 添加試料の ADA 活性値の比較、及び特異性の評価に用いた

(2) 血漿中 ADA 活性値の施設間比較試験①（試験番号：[redacted] [5.3.1.4-7]、[redacted] [5.3.1.4-4]）

ADA 活性の診断薬キットを用いた血清中 ADA 活性値は血漿中 ADA 活性値と変わらないことが確認されたことから（[redacted] [5.3.1.4-6]）、[redacted]と[redacted]社における血漿中 ADA 活性値の施設間比較をクロスバリデーションの要領で検討した。双方の施設で異なる 10 名の個体別ブランク血漿にそれぞれ本剤を 4 濃度水準になるよう添加した QC 血漿試料を調製し、双方の施設で測定した。測定結果の比較を図 2.7.1-4 に示す。両施設の血漿中 ADA 活性値は高い正の相関性（相関係数：0.9868）を示し、得られた回帰直線から、治療目標値である血漿中 ADA 活性値 15 μmol/h/mL は、血清中 ADA 活性値 1100 U/L に相当することが示された。

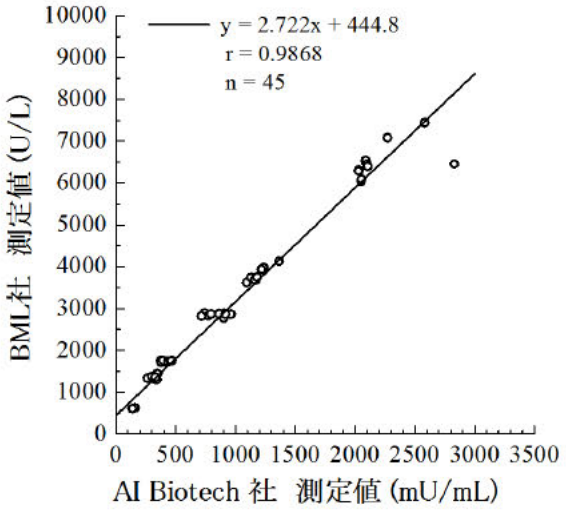


図 2.7.1-4　[redacted]と[redacted]の血漿中 ADA 活性値の比較相関図

（3）血漿中 ADA 活性値の施設間比較試験②（試験番号:[redacted] 5.3.1.4-8]、[redacted] ［5.3.1.4-9］）

[redacted]の事業終結を受け、血漿中 ADA 活性分析法を[redacted]に移管した。本対応に伴い、[redacted]と[redacted]における血漿中 ADA 活性値の施設間比較を前述の[redacted]試験と同じ要領で実施した。両施設の血漿中 ADA 活性値は高い正の相関性（相関係数:0.9906）を示し、[redacted]での血漿中 ADA 活性値と[redacted]での血清中 ADA 活性値は相互に換算可能と考えられた。

2.7.1.3.3　赤血球中 dAXP 分析法

STM-279-301 試験及び STP-2279-002 試験において、有効性評価項目として血液中の dAXP 濃度を UV-HPLC 法により分析した。採取した血液は EDTA を添加して速やかに遠心分離により赤血球画分を調製し検体とした。

（1）赤血球中 dAXP 濃度分析法バリデーション試験（試験番号：[redacted] ［5.3.1.4-10］、[redacted] ［5.3.1.4-11］、[redacted] ［5.3.1.4-12］）

赤血球中の dAXP（= dATP + dADP + dAMP）は、アルカリホスファターゼで dAdo に変換し、UV-HPLC にて検出した。HPLC への総注入量（pmol）とピーク面積から検量線を作成し、dAXP 濃度として算出した。[redacted]及び[redacted]でのバリデーション結果を表 2.7.1-6 に示す。両施設において定量範囲に大きな違いはなく、[redacted]でも赤血球中の dAXP の評価が可能と判断した。なお、[redacted]での検討で 12 例のアジア人について選択性を評価した結果、添加標品の回収率は 95～128%であり、民族差がないことを確認した［5.3.1.4-11］。

表 2.7.1-6　赤血球中 dAXP 分析法バリデーション結果

項目			分析施設	
			[redacted]	[redacted]
試験番号			[redacted]	[redacted]
分析方法			HPLC（UV 検出）	HPLC（UV 検出）
分析対象物質			dAdo	dAdo
マトリックス			外国人血液（赤血球）	外国人血液（赤血球）
定量範囲			70～9400 pmol	70～10000 pmol
日間再現性	検量線真度（|%RE|）	濃度：LLOQ	12.28%	3.82%
		濃度：＞LLOQ	≦ 26.02%	≦ 5.06%
	検量線精度（%CV）	濃度：LLOQ	7.19%	2.38%
		濃度：＞LLOQ	≦ 3.64%	≦ 1.01%
	QC 真度（|RE|）		NA	≦ 5.47%
	QC 精度（CV）		NA	≦ 3.26%
QC のピーク面積の精度（CV）		日内再現性	≦ 4.67%	≦ 1.37%
		日間再現性	≦ 3.92%	≦ 5.73%

NA：該当なし

2.7.1.3.4　　血中 dAXP 分析法

STM-279-301 試験において、血液中の dAXP 濃度を LC-MS/MS 法により分析した。試料には全血を含浸させた乾燥ろ紙（DBS）を用いた。

（1）血中 dAXP 濃度分析法バリデーション試験（試験番号：[redacted] ［5.3.1.4-13］）

DBS からパンチで打ち出した試料よりろ紙血中の dAXP を抽出した。抽出液中の dATP、dADP 及び dAMP の 3 化合物を LC-MS/MS にて同時検出した。代替マトリックスには緩衝液を用い、代替マトリックスによる検量線で抽出液中の dATP、dADP 及び dAMP の濃度を算出した。バリデーションで確認した DBS 試料の回収率で補正し、血中の各成分の濃度を求めた。報告値は dATP、dADP 及び dAMP の 3 成分の和を dAXP とした。代替マトリックス及び DBS 試料を用いたバリデーション結果を表 2.7.1-7 に示す。

表 2.7.1-7　血中 dAXP 分析法バリデーション結果

試験項目			代替マトリックス（緩衝液）	DBS 試料（全血）
選択性	標準物質	dAMP	保持時間付近に妨害ピークは確認されなかった	0.196～0.426 nmol/mL[a]
		dADP		0.123～0.414 nmol/mL[a]
		dATP		0.163～0.402 nmol/mL[a]
	内標準物質	dAMP ($^{13}C^{15}N$)	保持時間付近に妨害ピークは確認されなかった	保持時間付近に妨害ピークは確認されなかった
		dATP ($^{13}C^{15}N$)		
回収率（平均±標準偏差）		dAMP	—[d]	61.7±15.6%
		dADP	—[d]	86.7±29.6%
		dATP	—[d]	190.5±50.1%
直線性（重み：$1/X^2$）		dAMP	0.5～100 nmol/mL	0.810～162 nmol/mL
		dADP	0.5～100 nmol/mL	0.577～115 nmol/mL
		dATP	0.5～100 nmol/mL	0.262～52.5 nmol/mL
日内再現性[b),c)]（n = 5）		dAMP	RE: -1.4～6.4%, CV: 3.9～12.6%	RE: 12.0%, CV: 6.4%
		dADP	RE: -1.0～8.0%, CV: 2.8～8.5%	RE: 18.4%, CV: 8.4%
		dATP	RE: -3.9～5.8%, CV: 4.6～13.1%	RE: 16.8%, CV: 8.2%
日間再現性[b),c)]（3 日間, n=15）		dAMP	RE: -4.2～1.2%, CV: 3.5～10.0%	RE: 11.2%, CV: 5.0%
		dADP	RE: -2.4～7.3%, CV: 6.6～9.3%	RE: 16.0%, CV: 6.6%
		dATP	RE: -1.6～5.4%, CV: 3.4～9.2%	RE: 10.4%, CV: 9.8%
定量下限		dAMP	0.5 nmol/mL	0.810 nmol/mL
		dADP	0.5 nmol/mL	0.577 nmol/mL
		dATP	0.5 nmol/mL	0.262 nmol/mL
希釈妥当性[c)]（10 倍希釈）		dAMP	—[d]	RE: 23.6%, CV: 3.9%
		dADP	—[d]	RE: 4.4%, CV: 10.0%
		dATP	—[d]	RE: 1.2%, CV: 8.7%
キャリーオーバー	標準物質	dAMP	100 nmol/mL 注入した直後、妨害ピークは検出されなかった	—[d]
		dADP		—[d]
		dATP		—[d]
	内標準物質	dAMP ($^{13}C^{15}N$)		—[d]
		dATP ($^{13}C^{15}N$)		—[d]
オートサンプラー内保存安定性（4℃）		dAMP	前処理後溶液中で 81 時間安定	前処理後試料中で 85 時間安定
		dADP		
		dATP		
検体（ろ紙血）中冷蔵保存安定性（4℃）		dAMP	—[d]	3 ヵ月間（101 日間）安定
		dADP	—[d]	
		dATP	—[d]	
検体（ろ紙血）中保存安定性（室温）		dAMP	—[d]	3 ヵ月間（101 日間）安定
		dADP	—[d]	
		dATP	—[d]	

a）測定した 10 名（男女各 5 名）のうちの検出可能であった血液中濃度（外挿値含む）
b）QC 試料として、代替マトリックスは 0.5、1、25、80 nmol/mL の 4 濃度水準、DBS 試料は 25 nmol/mL の 1 濃度水準で評価した
c）RE: 真度、CV: 変動係数
d）—: 実施せず

2.7.1.3.5　抗薬物抗体分析法

(1) 抗薬物抗体分析法バリデーション試験（試験番号：[redacted]［5.3.1.4-14］、[redacted] 5.3.1.4-15］、[redacted] 5.3.1.4-16］、[redacted] ［5.3.1.4-2］）

本剤に対する抗体（以下、抗 EZN-2279 抗体）の評価は、スクリーニング試験、確認試験及び特性解析からなる 3 段階で行った。スクリーニング試験は 96 穴マイクロプレートに EZN-2279 を固定し、その後固相に結合した抗 EZN-2279 抗体を酵素標識したプロテイン L で検出するサンドイッチ ELISA 法を構築した。スクリーニング試験において、健康成人血漿のブランクシグナルから基準値として 5%の偽陽性を含むカットポイントを算出し、検体のシグナルがカットポイント以下であった場合に抗 EZN-2279 抗体は陰性と判定した。スクリーニング試験で陽性となった検体は、確認試験において大過剰の EZN-2279 を添加したときのシグナルの阻害率より抗体の薬剤に対する特異性を評価した。シグナルの阻害率がバリデーションで求めた確認試験のカットポイントを超えていた場合に抗 EZN-2279 抗体は陽性と判定した。また、抗 EZN-2279 抗体陽性検体については、特性解析として抗体価を評価した。抗 ADAGEN®抗体についても同様に、96 穴マイクロプレートに ADAGEN®を固定した ELISA 法を構築した。[redacted]でのバリデーション結果を表 2.7.1-8 に、[redacted]でのバリデーション結果を表 2.7.1-9 に示す。なお、[redacted]の検討でアジア人血漿と外国人血漿のブランクシグナルはほぼ等しく、民族差による違いは認められなかった。

表 2.7.1-8　血漿中抗薬物抗体分析法バリデーション結果（[redacted]）

分析施設		[redacted]				[redacted]
試験番号		[redacted]				[redacted]
分析方法		ELISA				ELISA
分析対象物質		抗 ADAGEN® 抗体	抗 EZN-2279 抗体	抗 ADAGEN® 抗体	抗 EZN-2279 抗体	抗 EZN-2279 抗体
マトリックス（抗凝固剤）		外国人血漿（ヘパリン）	外国人血漿（ヘパリン）	外国人血漿（EDTA）	外国人血漿（EDTA）	外国人及びアジア人血漿（EDTA）
MRD		1:50	1:50	1:50	1:50	1:50
スクリーニング試験 NF		-0.036	-0.013	0.023（0.035[a)]）	0.019（0.040[a)]）	-0.013[b)]
スクリーニング試験カットポイント		陰性対照の分析値 ＋NF	陰性対照の分析値 ＋NF	陰性対照の分析値 ＋NF	陰性対照の分析値 ＋NF	陰性対照の分析値 ＋NF
日間再現性	QC 真度（RE）	-4.7～3.2%	-8.9～4.7%	NA	-10.4～8.8%	-7.47～-0.16%（外国人血漿） 5.56～8.83%（アジア人血漿）
	QC 精度（CV）	7.0～24.5%	8.6～18.4%	NA	6.9～17.6%	6.17～17.3%（外国人血漿） 12.8～14.5%（アジア人血漿）
薬剤添加耐性		750 mU/mL ADAGEN®まで（抗体:2 µg/mL）	750 mU/mL EZN-2279 まで（抗体:2 µg/mL）	NA	NA	NA
保存安定性	条件（1）	室温, 3 時間	室温, 3 時間	NA	NA	NA
	条件（2）	4°C, 24 時間	4°C, 24 時間	NA	NA	NA
	凍結融解	3 回	3 回	NA	NA	NA

NA：該当なし
a）標準品の製剤処方の変更後に再評価した NF（試験番号：[redacted]）
b）外国人 36 名及びアジア人 12 名（計 48 名）の個体別ブランク血漿より評価した

表 2.7.1-9　血漿中抗薬物抗体分析法バリデーション結果（[redacted]）

分析施設		[redacted]	
試験番号		[redacted]	
分析方法		ELISA	
分析対象物質		抗 ADAGEN®抗体	抗 EZN-2279 抗体
マトリックス（抗凝固剤）		外国人血漿（EDTA）	外国人血漿（EDTA）
MRD		1:50	1:50
スクリーニング試験 NF		0.047	0.057
スクリーニング試験カットポイント		陰性対照の分析値 ＋NF	陰性対照の分析値 ＋NF
確認試験カットポイント		29.71%	30.06%
日間再現性	QC 真度（RE）	-1.0～8.0%	-0.7～6.7%
	QC 精度（CV）	5.4～23.0%	5.3～18.5%

（2）抗薬物抗体（IgM）分析法バリデーション試験（試験番号：[redacted] [5.3.1.4-17]、[redacted] 5.3.1.4-18]、[redacted] 5.3.1.4-19]、[redacted] [5.3.1.4-2]）

特性解析の一環として、抗薬物抗体のうち IgM 抗体に特異的な抗体を検出するための ELISA 法を構築した。96 穴マイクロプレートに EZN-2279（又は ADAGEN®）を固定し、

その後固相に結合した抗薬物抗体に対し、酵素標識した抗ヒト IgM 抗体を結合させて検出した。[redacted]でのバリデーション結果を表 2.7.1-10 に、[redacted]でのバリデーション結果を表 2.7.1-11 に示す。[redacted]の検討でアジア人血漿と外国人血漿にウサギ抗 EZN-2279 抗体（IgM）を添加したときの真度及び精度に大きな違いは認められなかった。

表 2.7.1-10　血漿中抗 EZN-2279 抗体（IgM）分析法バリデーション結果（[redacted]）

分析施設		[redacted]				
試験番号		[redacted]				[redacted]
分析方法		ELISA				ELISA
分析対象物質		抗 ADAGEN® 抗体（IgM）	抗 EZN-2279 抗体（IgM）	抗 ADAGEN® 抗体（IgM）	抗 EZN-2279 抗体（IgM）	抗 EZN-2279 抗体（IgM）
マトリックス（抗凝固剤）		外国人血漿（ヘパリン）	外国人血漿（ヘパリン）	外国人血漿（EDTA）	外国人血漿（EDTA）	外国人及びアジア人血漿（EDTA）
MRD		1:50	1:50	1:50	1:50	1:50
スクリーニング試験 NF		0.029	-0.081	0.068（0.036[a)]）	0.043（-0.115[a)]）	0.0209[b)]
スクリーニング試験カットポイント		陰性対照の分析値 ＋NF	陰性対照の分析値 ＋NF	陰性対照の分析値 ＋NF	陰性対照の分析値 ＋NF	陰性対照の分析値 ＋NF
日間再現性	QC 真度（RE）	-19.6～6.0%	-11.1～3.7%	NA	-13.5～-7.6%	-9.45～-4.22%（外国人血漿） -7.27～1.46%（アジア人血漿）
日間再現性	QC 精度（CV）	6.4～10.0%	3.5～7.8%	NA	5.3～9.7%	8.47～9.22%（外国人血漿） 3.30～6.72%（アジア人血漿）
薬剤添加耐性		750 mIU/mL ADAGEN®まで（1/400 抗血清）	750 mIU/mL EZN-2279 まで（1/400 抗血清）	NA	NA	NA
保存安定性	条件（1）	室温, 3 時間	室温, 3 時間	NA	NA	NA
保存安定性	条件（2）	4°C, 24 時間	4°C, 24 時間	NA	NA	NA
保存安定性	凍結融解	3 回	3 回	NA	NA	NA

NA：該当なし
a）標準品の製剤処方の変更後に再評価した NF（試験番号：[redacted]）
b）外国人 36 名及びアジア人 12 名（計 48 名）の個体別ブランク血漿より評価した

表 2.7.1-11　血漿中抗 EZN-2279 抗体（IgM）分析法バリデーション結果（[redacted]）

分析施設		[redacted]	
試験番号		[redacted]	
分析方法		ELISA	
分析対象物質		抗 ADAGEN®抗体（IgM）	抗 EZN-2279 抗体（IgM）
マトリックス（抗凝固剤）		外国人血漿（EDTA）	外国人血漿（EDTA）
MRD		1:50	1:50
スクリーニング試験 NF		0.001	0.001
スクリーニング試験カットポイント		陰性対照の分析値 ＋NF	陰性対照の分析値 ＋NF
確認試験カットポイント		35.25%	37.44%
日間再現性	QC 真度（RE）	-13.1～1.3%	1.6～3.6%
	QC 精度（CV）	16.4～20.5%	13.9～16.9%

（3）抗 PEG 抗体分析法バリデーション試験（試験番号：[redacted]［5.3.1.4-20］、[redacted] 5.3.1.4-21］、[redacted] 5.3.1.4-22］、[redacted] ［5.3.1.4-2］）

特性解析の一環として、PEG に親和性を持つ抗体を検出するための ELISA 法を構築した。PEG 化したオボアルブミン（PEG-OA）を 96 穴マイクロプレートに固定し、その後固相に結合した抗 PEG 抗体と酵素標識したプロテイン L を結合させて検出した。[redacted]及び[redacted]でのバリデーション結果を表 2.7.1-12 に示す。[redacted]の検討でアジア人血漿と外国人血漿にウサギ抗 PEG 抗体（精製 IgG）を添加した QC 試料の真度及び精度に大きな違いは認められなかった。

表 2.7.1-12　血漿中抗 PEG 抗体分析法バリデーション結果

分析施設		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
試験番号		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
分析方法		ELISA	ELISA	ELISA	ELISA
分析対象物質		抗 PEG 抗体	抗 PEG 抗体	抗 PEG 抗体	抗 PEG 抗体
マトリックス（抗凝固剤）		外国人血漿（ヘパリン）	外国人血漿（EDTA）	外国人及びアジア人血漿（EDTA）	外国人血漿（EDTA）
MRD		1:50	1:50	1:50	1:50
スクリーニング試験 NF		0.1403	0.0659	-0.0598[a)]	0.103
スクリーニング試験カットポイント		陰性対照の分析値 + NF	陰性対照の分析値 + NF	陰性対照の分析値 + NF	陰性対照の分析値 + NF
確認試験カットポイント		NA	NA	NA	18.29%
日間再現性	QC 真度（RE）	-8.4～2.6%	NA	-6.67～9.08%（外国人血漿） -13.4～22.6%（アジア人血漿）	-5.7～3.7%
	QC 精度（CV）	11.6～17.3%	NA	5.81～15.6%（外国人血漿） 11.9～30.0%（アジア人血漿）	5.7～9.4%
薬剤添加耐性		0.3 mU/mL ADAGEN®まで 0.3 mU/mL EZN-2279 まで （抗体：40 ng/mL）	NA	NA	NA
保存安定性	条件（1）	室温, 3 時間	NA	NA	NA
	条件（2）	4°C, 24 時間	NA	NA	NA
	凍結融解	3 回	NA	NA	NA

NA：該当なし
a）外国人 36 名及びアジア人 12 名（計 48 名）の個体別ブランク血漿より評価した

（4）ADA 中和抗体分析法バリデーション試験（試験番号：[redacted]［5.3.1.4-23］、[redacted]［5.3.1.4-24］、[redacted]［5.3.1.4-25］、[redacted]［5.3.1.4-2］）

特性解析の一環として、ADA 活性に対して中和作用を有する抗体を検出するための分析法を酵素活性法により構築した。血漿中に本剤が高濃度で存在する場合には測定が妨害されることが想定されたため、イオン交換樹脂により検体中の EZN-2279 又は ADAGEN®を除去する前処理法を採用した。前処理後の試料は既知量の EZN-2279 又は ADAGEN®とプレインキュベーションして、2.7.1.3.1 項に記述した方法で ADA 活性を測定し、活性の低下率から中和抗体の有無を評価した。バリデーション結果を表 2.7.1-13 に示す。なお、[redacted]の検討でアジア人血漿と外国人血漿に中和抗体のカットポイントに大きな違いは認められなかった。

表 2.7.1-13　血漿中中和抗体分析法バリデーション結果（[redacted]）

分析施設		[redacted]		[redacted]		
試験番号		[redacted]		[redacted]		[redacted]
分析方法		酵素活性法		酵素活性法		酵素活性法
分析対象物質		抗 ADAGEN® 中和抗体	抗 EZN-2279 中和抗体	抗 ADAGEN® 中和抗体	抗 EZN-2279 中和抗体	抗 EZN-2279 中和抗体
マトリックス（抗凝固剤）		外国人血漿（EDTA）	外国人血漿（EDTA）	外国人血漿（EDTA）	外国人血漿（EDTA）	アジア人血漿（EDTA）
MRD		1:10	1:10	1:10	1:10	1:10
NF		4.26%（3.85%[a)]）	5.14%（1.55%[a)]）	NA	NA	NA
中和試験カットポイント		陰性対照の活性阻害率 ＋NF		3.97%（固定値）	4.05%（固定値）	4.20%（固定値）
日間再現性 QC	精度（CV）	21.9～31.7%	9.2～44.1%	19.6～34.1%	16.8～43.4%	NA
薬剤添加耐性		625 mU/mL ADAGEN®まで（抗体:4.1 mg/mL）	625 mU/mL EZN-2279 まで（抗体：2 mg/mL）	NA	NA	NA
保存安定性	冷蔵	4°C, 7 日間	4°C, 7 日間	NA	NA	NA
	凍結融解	NA	NA	5 回	5 回	NA

NA：該当なし
a）標準品の製剤処方の変更後に再評価した NF（試験番号：[redacted]）

2.7.1.4　個々の試験結果の要約

本剤の臨床開発の過程では、生物薬剤学に関する臨床試験は実施していない。本邦の第 III 相試験（STM-279-301 試験）［5.3.5.2.1 項］及び米国の第 III 相試験（STP-2279-002 試験）［5.3.5.2.2 項］にて、ADA 欠損症患者を対象に薬物動態評価の指標として血漿中 ADA 活性を測定した。個々の試験の薬物動態の結果の要約は 2.7.2.3 項に記載した。

2.7.1.5　全試験を通しての結果の比較と解析

全試験を通しての薬物動態の結果比較と解析は 2.7.2.4 項に記載した。

2.7.1.6　参考文献

1）Sauer AV, Brigida I, Carriglio N, Aiuti A. Autoimmune dysregulation and purine metabolism in adenosine deaminase deficiency. Front Immunol. 2012; 3: 265. 5.4-29

2）Apasov SG, Blackburn MR, Kellems RE, Smith PT, Sitkovsky MV. Adenosine deaminase deficiency increases thymic apoptosis and causes defective T cell receptor signaling. J Clin Invest. 2001; 108(1): 131-41. 5.4-30

3）Gaspar HB, Aiuti A, Porta F, Candotti F, Hershfield MS, Notarangelo LD. How I treat ADA deficiency. Blood. 2009; 114: 3524-3532. 5.4-9

4）平成 9 年 10 月 28 日 医薬審第 338 号 厚生省医薬安全局審査管理課長通知「分析法バリデーションに関するテキスト（実施方法）について」 5.4-31

5）平成 25 年 7 月 11 日 薬食審査発 0711 第 1 号 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「医薬品開発における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ドライン」について 5.4-32

6）平成 26 年 4 月 1 日 薬食審査発 0401 第 1 号 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法（リガンド結合法）のバリデーションに関するガイドライン」について 5.4-33

7）平成 25 年 12 月 26 日付 厚生労働省医薬食品局審査管理課事務連絡「コンパニオン診断薬及び関連する医薬品に関する技術的ガイダンス等について」 5.4-34

8）Shankar G, Devanarayan V, Amaravadi L, Barrett YC, Bowsher R, Finco-Kent D, et al. Recommendations for the validation of immunoassays used for detection of host antibodies against biotechnology products. J Pharm Biomed Anal. 2008; 48: 1267-1281. 5.4-35

9）Hershfield MS, Buckley RH, Greenberg ML, Melton AL, Schiff R, Hatem C, et al. Treatment of adenosine deaminase deficiency with polyethylene glycol–modified adenosine deaminase. N Engl J Med. 1987; 316: 589-96. 5.4-12

2.7.1.7　付録

表 2.7.1.7- 1　生体試料中の分析法バリデーション一覧（ADA 活性）

分析法	分析施設	試験番号：試験報告書参照箇所／題名	適用試験
血漿中 ADA 活性 （酵素活性法）	[redacted] ([redacted])	[redacted] [5.3.1.4-1] Validation of an Assay for Determination of PEG-Adenosine Deaminase (Adagen or EZN-2279) Enzyme Activity in Human Plasma	STP-2279-002 STM-279-301
		[redacted] [5.3.1.4-2] Requalification of a New Formulation of EZN-2279 (PEG-Adenosine deaminase)	
		[redacted] [5.3.1.4-4] Validation of an Assay for Determination of PEG-Adenosine Deaminase (EZN-2279) Enzyme Activity in Asian Plasma	STM-279-301
	[redacted] ([redacted])	[redacted] [5.3.1.4-3] Tech Transfer and Validation of an Assay for Determination of PEG-Adenosine Deaminase (Adagen or EZN-2279) Enzyme Activity in Human Plasma	STP-2279-002 STM-279-301
		[redacted] [5.3.1.4-5] Partial Validation of an Assay for Determination of PEG-Adenosine Deaminase (EZN-2279) Enzyme Activity in Asian EDTA Plasma	STM-279-301
		Partial Validation of an Assay for Determination of PEG-Adenosine Deaminase (EZN-2279) Enzyme Activity in Asian EDTA Plasma : Long Term Stability of EZN-2279 in Asian EDTA Plasma	
		[redacted] [5.3.1.4-9] Dual Lab Study of ADA Activity Assays of Spiked Asian EDTA Plasma Samples Prepared at [redacted] and at [redacted] [redacted]:	
血清中 ADA 活性 （酵素活性法）	[redacted] ([redacted])	[redacted]: [5.3.1.4-6] ADA 活性測定法バリデーション試験	STM-279-301
		[redacted]: [5.3.1.4-7] ADA 活性測定クロスバリデーション試験	
		[redacted]: [5.3.1.4-8] ADA 活性測定施設間比較試験	

表 2.7.1.7-2　生体試料中の分析法バリデーション一覧（dAXP）

分析法	分析施設	試験番号：試験報告書参照箇所／題名	適用試験
赤血球中 dAXP（UV-HPLC 法）	[redacted]	[redacted] [5.3.1.4-10] Validation of Reverse-Phase HPLC as an Analytical Method for the Determination of Total Cellular AXP and dAXP	STP-2279-002 STM-279-301
	[redacted]	[redacted] [5.3.1.4-12] Validation of Reverse-Phase HPLC as an Analytical Method for the Determination of Total Cellular AXP and dAXP using Asian Red Blood Cells	STM-279-301
	[redacted]	[redacted] [5.3.1.4-11] Tech Transfer and Validation of Reverse Phase HPLC as an Analytical Method for Determination of Total Cellular Adenine Ribo- and Deoxyribonucleotides (AXP and dAXP)	STP-2279-002 STM-279-301
血中 dAXP（LC-MS/MS 法）	[redacted]	[redacted] [5.3.1.4-13] DBS-LC/MS/MS 法によるヒト全血中 dAXP 濃度測定法バリデーション	STM-279-301

表 2.7.1.7- 3　生体試料中の分析法バリデーション一覧（免疫原性）

分析法	分析施設	試験番号：試験報告書参照箇所／題名	適用試験
抗薬物抗体（ELISA 法）	[redacted]	[redacted] [5.3.1.4-14] Validation of an ELISA assay for Determination of anti-Adagen and anti-EZN-2279 Antibodies	STP-2279-002 STM-279-301
		[redacted] [5.3.1.4-2] Requalification of a New Formulation of EZN-2279 (PEG-Adenosine deaminase)	
		[redacted] [5.3.1.4-15] Partial Validation of a Method for the Determination of anti-EZN-2279 Antibodies in Asian Plasma by ELISA Immunoassay	STM-279-301
	[redacted]	[redacted] [5.3.1.4-16] Validation of a Method for Determination of anti-Adagen and anti-EZN- 2279 Antibodies in Human Serum or Human Plasma by ELISA Immunoassay	STP-2279-002 STM-279-301
抗薬物 IgM 抗体（ELISA 法）	[redacted]	[redacted] [5.3.1.4-17] Validation of a Method for Determination of anti-PEG-ADA IgM Antibodies in Human Serum or Human Plasma by ELISA Immunoassay	STP-2279-002 STM-279-301
		[redacted] [5.3.1.4-2] Requalification of a New Formulation of EZN-2279 (PEG-Adenosine deaminase)	
		[redacted] [5.3.1.4-18] Partial Validation of a Method for the Determination of anti-PEG-ADA IgM Antibodies in Asian Plasma by ELISA Immunoassay	STM-279-301
	[redacted]	[redacted] [5.3.1.4-19] Validation of a Method for Determination of IgM Antibodies Directed Against Adagen or EZN-2279 in Human Plasma by ELISA	STP-2279-002 STM-279-301
抗 PEG 抗体（ELISA 法）	[redacted]	[redacted] [5.3.1.4-20] Validation of a Method for Determination of anti-PEG Antibodies in Human Serum or Human Plasma by ELISA Immunoassay	STP-2279-002 STM-279-301
		[redacted] [5.3.1.4-2] Requalification of a New Formulation of EZN-2279 (PEG-Adenosine deaminase)	
		[redacted] [5.3.1.4-21] Partial Validation of a Method for the Determination of anti-PEG Antibodies in Asian Plasma by ELISA Immunoassay	STM-279-301
	[redacted]	[redacted] [5.3.1.4-22] Tech Transfer and Validation of a Method for Determination of anti- PEG Antibodies in Human Plasma by ELISA Immunoassay	STP-2279-002 STM-279-301

表 2.7.1.7- 4　生体試料中の分析法バリデーション一覧（免疫原性・中和活性）

分析法	分析施設	試験番号：試験報告書参照箇所／題名	適用試験
ADA 中和抗体 （酵素活性法）	[redacted]	[redacted]［5.3.1.4-23］ Validation of an Assay for Detection of Neutralizing Antibodies to PEG-Adenosine Deaminase (Adagen or EZN-2279) Enzyme Activity in Human Plasma	STP-2279-002 STM-279-301
		[redacted]［5.3.1.4-2］ Requalification of a New Formulation of EZN-2279 (PEG-Adenosine deaminase)	
	[redacted]	[redacted]［5.3.1.4-24］ Tech Transfer and Validation of an Assay for Detection of Neutralizing Antibodies to PEG-Adenosine Deaminase (Adagen or EZN-2279) Enzyme Activity in Human Plasma	STP-2279-002 STM-279-301
		[redacted]［5.3.1.4-25］ Partial Validation of an Assay for Detection of Neutralizing Antibodies to Pegylated Adenosine Deaminase (EZN-2279) Enzyme Activity in Asian EDTA Plasma	STM-279-301