フィアスプ注フレックスタッチ
フィアスプ注ペンフィル
フィアスプ注 100 単位/mL

2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

目次

ページ

目次 2
図目次 3
表目次 3
略語一覧 4
2.7.1.1 背景及び概観 5
2.7.1.1.1 製剤開発の経緯 5
2.7.1.1.2 バイオアベイラビリティ試験及び生物学的同等性試験の根拠及び全般的アプローチ 6
2.7.1.1.3 分析方法 7
2.7.1.1.3.1 ヒト血清中におけるインスリン アスパルトの分析 7
2.7.1.1.3.1.1 背景 7
2.7.1.1.3.1.2 インスリン アスパルトの分析法の詳細 7
2.7.1.1.3.1.3 インスリン アスパルト ELISA のバリデーションパラメータ 8
2.7.1.1.3.1.4 インスリン アスパルト ELISA の Incurred sample re-analysis（ISR）による評価 11
2.7.1.1.3.2 抗インスリン アスパルト抗体分析 11
2.7.1.1.3.2.1 背景 11
2.7.1.1.3.2.2 抗体分析法の詳細 12
2.7.1.1.3.2.3 抗体分析法のバリデーションパラメータ 13
2.7.1.1.3.2.4 システム適合性 17
2.7.1.1.3.2.5 薬物動態、薬力学的作用、有効性及び安全性に対する抗インスリン アスパルト抗体の潜在的影響の評価 19
2.7.1.2 個々の試験結果の要約 20
2.7.1.2.1 バイオアベイラビリティを検討した臨床試験結果の要約 20
2.7.1.3 全試験を通しての結果の比較と解析 22
参考文献 23

2.7.1.4 付録
2.7.1.4.1 Faster aspart の分析を実施した臨床試験における分析報告書及び分析法バリデーション報告書の一覧

図目次

ページ

図 2.7.1.1-1　インスリン アスパルト分子に結合する抗体の模式図（ヒトインスリンとインスリン アスパルトの分子構造上の違いは、黒く示した B 鎖 28 位のアスパラギン変異のみ）.....13
図 2.7.1.1-2　3852 試験における、計 10 バッチの放射性標識インスリン アスパルトのコントロール試料 QC3 の値（系列 D－F の%B/T、標識後 90 日まで）.....17

表目次

ページ

表 2.7.1.1–1　初期の処方〔FIA (A−D)及び FIA (R)〕ならびに最終処方（faster aspart）の製剤組成.....6
表 2.7.1.1–2　ヒト血清を対象とした総インスリン アスパルト及び遊離インスリン アスパルトの ELISA の性能.....9
表 2.7.1.1–3　抗インスリン アスパルト抗体の分析系列.....12
表 2.7.1.1–4　バリデーションパラメータ.....14
表 2.7.1.1–5　臨床薬理試験及び 3852 試験で使用されたシステム適合性試験のコントロール試料.....18
表 2.7.1.1–6　4101 及び 4131 試験で使用されたシステム適合性試験のコントロール試料.....18
表 2.7.1.2–1　健康被験者を対象とした腹部、三角筋部及び大腿部への皮下投与後における総インスリン アスパルト曝露量（$AUC_{IAsp,0\text{-}12h}$）及び最高血中インスリン アスパルト濃度（$C_{max,IAsp}$）の注射部位の比及び 95%信頼区間（3949 試験）.....21

略語一覧

$50\%C_{max}$	:	50% of maximum concentration（最高血清中インスリン アスパルト濃度の 50%）
Ab	:	antibody（抗体）
AUC	:	area under the curve（曲線下面積）
C_{max}	:	maximum concentration（最高血清中濃度）
CI	:	confidence interval（信頼区間）
CSII	:	continuous subcutaneous insulin infusion（持続皮下インスリン注入）
CV	:	coefficient of variation（変動係数）
ELISA	:	enzyme-linked immunosorbent assay（酵素免疫吸着測定法）
EMA	:	European Medicines Agency（欧州医薬品庁）
faster aspart	:	fast-acting insulin aspart
FIA	:	former abbreviation of 'fast-acting insulin aspart'（fast-acting insulin aspart の開発初期段階の略号）
FDA	:	Food and Drug Administration（米国食品医薬品局）
IAsp	:	insulin aspart（インスリン アスパルト）
ISR	:	incurred sample re-analysis（投与後試料の再分析による定量値の再現性確認）
LLOQ	:	lower limit of quantification（定量下限）
mAb	:	monoclonal antibody（モノクローナル抗体）
MRD	:	minimum required dilution（最少希釈率）
nM	:	nmol/L
PEG	:	polyethylene glycol（ポリエチレングリコール）
QC	:	quality control（品質管理）
RIA	:	radio-immunoassay（ラジオイムノアッセイ）
t_{max}	:	time to maximum concentration（最高血中濃度到達時間）
ULOQ	:	upper limit of quantification（定量上限）
%B/T	:	percent bound radioactivity (B) of the total amount of radioactivity (T), the %B/T value is proportional to the amount (titer) of antibody present in the sample〔全体の放射能（T）に対する結合した放射能（B）の割合。%B/T 値は試料中の抗体の量（力価）に比例する〕

本臨床概要では、本剤（治験成分記号：NN1218）は faster aspart（fast-acting insulin aspart）と記載する。

2.7.1.1 背景及び概観

2.7.1.1.1 製剤開発の経緯

Fast-acting insulin aspart（以下、faster aspart）は、既承認の超速効型インスリンアナログのノボラピッド®注と同じ有効成分であるインスリン アスパルト（遺伝子組換え）を含有し、ノボラピッド®注と比較して血糖降下作用がより早く発現する Bolus インスリンとして開発した製剤である。ノボラピッド®注は 2001 年に販売され、2009 年 10 月に再審査期間を終了している。現在、ノボラピッド®注は 1 型糖尿病患者及び 2 型糖尿病患者におけるインスリン療法で広く使用されている製剤である。

Faster aspart は、インスリン作用の発現がより速くなるようノボラピッド®注の処方を変更した製剤であり、このため薬剤学的特性がノボラピッド®注と異なる。添加物として追加されたニコチン酸アミドは、皮下投与後初期のインスリン アスパルトの吸収が速くなることに寄与しており、これにより初期の血糖降下作用が大きくなる。また、L-アルギニン塩酸塩は faster aspart 製剤の安定剤として追加されている。両添加物は日本薬局方に収載されており[1]、いずれも一日最大使用量は日本で承認されている一日最大使用量を超えていない。Faster aspart は、現在利用可能な治療法と比較して、食事時のより生理的なインスリン分泌パターンを模倣することを目指して開発したものである。

Faster aspart は無色澄明の溶液であり、糖尿病治療において Basal インスリンと併用する Basal-Bolus 療法に用いる製剤として開発した。さらにバイアル製剤はインスリンポンプを用いた持続皮下インスリン注入（CSII）療法に用いることができ、また必要に応じて、医療従事者が静脈内投与することも可能である。

Faster aspart 開発中に実施した臨床試験は、プロジェクトコード NN1218、及びそれに続く 4 桁の固有の試験 ID で特定する。本臨床概要中の臨床試験は、この固有の試験 ID を用いて「XXXX 試験」と記載する。

Faster aspart の開発過程では、臨床的有効性と製剤安定性のバランスを最適化する目的で、複数の処方を開発した。非臨床試験では FIA (A)、FIA (B)、FIA (C)、FIA (D)〔以下、FIA (A−D)〕、FIA (R)及び最終処方〔当時は FIA (Q)と記載〕の検討も実施したが、本臨床概要中では、市販予定の最終処方についてのみ記載する。臨床試験のうち 3978 試験では、開発を進めるべき製剤の処方を検討するため、FIA (R)処方及び最終処方〔FIA (Q)；faster aspart〕を使用した。有効性及び安定性のデータに基づき、FIA (Q)を市販予定の最終処方に採用し、第 3 相臨床試験でも同処方の製剤を使用した。

初期の FIA (A−D) 処方及び FIA (R) 処方、ならびに最終処方の製剤組成を表 2.7.1.1–1 に示す。

表 2.7.1.1–1　　初期の処方〔FIA (A−D)及び FIA (R)〕ならびに最終処方（faster aspart）の製剤組成

Name of components	FIA (A-D)	FIA (R)	Faster aspart	Function	Reference to standards
Active substance					
Insulin aspart	600 nmol~100 U			Drug substance	Novo Nordisk A/S
Excipients					
Zinc acetate	[redacted]	[redacted] µg	19.6 µg	Stabilising agent	USP/JPE/Ph. Eur.
[redacted]	[redacted] µg	[redacted]	-	Stabilising agent	USP/JP/Ph. Eur.
Phenol	1.50 mg[a)]			Preservative	USP/JP/Ph. Eur.
Metacresol	1.72 mg[a)]			Preservative	USP/Ph. Eur.
Disodium hydrogen phosphate dihydrate	[redacted] mg	[redacted] mg	0.53 mg	Buffer	USP/Ph. Eur.
Glycerol	[redacted]	[redacted] mg	3.3 mg	Tonicity agent	USP/JP/Ph. Eur.
[redacted]	[redacted] mg	-	-	Tonicity agent	USP/JP/Ph. Eur.
L-Arginine hydrochloride	[redacted] mg	[redacted] mg	3.48 mg	Stabilising agent	USP/JP/Ph. Eur.
[redacted]	[redacted] µg	[redacted]	-	Stabilising agent	USP/Ph. Eur.
Nicotinamide	[redacted] mg	[redacted] mg	20.76 mg	Absorption modifier	USP/JP/Ph. Eur.
Sodium hydroxide	q.s[b]			pH adjusting agent	USP/JP/Ph. Eur.
Hydrochloric acid	q.s[b]			pH adjusting agent	USP/JP/Ph. Eur.
Water for injections	To make 1.00 mL			Solvent	USP/JP/Ph. Eur.

JP: Japanese pharmacopoeia[1]; JPE: Japanese Pharmaceutical Excipients; Ph. Eur: EU pharmacopoeia[2]; USP: US Pharmacopeia[3]
a) An average of 3% of the preservatives (phenol and metacresol) is added to compensate for loss during manufacturing
b) Quantity as much as needed to obtain target pH for the specific formulation; FIA (A−D): [redacted], FIA (R) and faster aspart: 7.1

2.7.1.1.2　　バイオアベイラビリティ試験及び生物学的同等性試験の根拠及び全般的アプローチ

今回の承認申請における臨床開発プログラムに含めたすべての臨床試験は、市販予定の最終処方製剤を用いて実施したため、生物学的同等性試験は実施していない。

3949 試験では、腹部、三角筋部（上腕）及び大腿部への皮下投与における faster aspart の相対的バイオアベイラビリティを検討した。なお 3949 試験では、副次的目的として faster aspart の絶対的バイオアベイラビリティを検討した。当該試験の結果の要約は 2.7.1.2.1 項に示す。

3949 試験は以下のガイドラインの推奨に従い実施した。

- FDA: Code of Federal Regulations (CFR) Title 21 CFR Part 320 Bioavailability and Bioequivalence Requirements, April 2012.
- EMA: Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98), Rev. 1, January 2010.

2.7.1.1.3 分析方法

2.7.1.1.3.1 ヒト血清中におけるインスリン アスパルトの分析

2.7.1.1.3.1.1 背景

Faster aspart の薬物動態特性の評価のため、ヒト血清中のインスリン アスパルト濃度を特異的サンドイッチ酵素免疫吸着測定法（ELISA）により定量した。ELISA による測定はノボラピッド®注でも用いられていたが、測定法の改良はノボラピッド®注の初回承認以降もなされてきた。当初の ELISA（「総インスリン アスパルト ELISA」とする）は、インスリン アスパルトの遊離画分だけでなく、抗体やその他の高分子血清タンパクと結合した画分も含めて測定した。改良された ELISA（「遊離インスリン アスパルト ELISA」とする）は、インスリン アスパルトの遊離画分のみを測定する。本臨床概要に示す faster aspart の薬物動態特性は、いずれも遊離インスリン アスパルト濃度に基づくものである（詳細は Module 2.7.2）。

総インスリン アスパルト ELISA 及び遊離インスリン アスパルト ELISA に対し、現行のガイドライン及び white paper の判定基準に準拠してバリデーションを実施した[4,5,6,7,8,9,10]。本臨床概要中では分析法の概要及びバリデーションパラメータを提示し、個々の分析法バリデーション報告書は M 5.3.1.4 に示す。また試験ごとの分析報告書及び関連する分析法バリデーション報告書の概要は、付録 2.7.1.4.1 に一覧で提示する。試験ごとの分析報告書は各総括報告書の EOT Appendix 16.1.10 に含まれる。なお、遊離インスリン アスパルト ELISA 導入前に作成した分析報告書及び分析法バリデーション報告書では、総インスリン アスパルト ELISA を単に「insulin aspart ELISA」と記載している。

2.7.1.1.3.1.2 インスリン アスパルトの分析法の詳細

ヒト血清中の遊離インスリン アスパルト濃度を、特異的サンドイッチ ELISA により定量した。臨床試験で採取した薬物濃度分析用の試料にポリエチレングリコール（PEG）を添加し沈殿させた上で、遊離インスリン アスパルト濃度を測定した。PEG 沈殿は確立された技術であり、免疫グロブリン（抗体）を含む高分子タンパクを PEG が沈殿させる[11,12]。試料中のインスリン アスパルトのうち、抗インスリン抗体又はその他の高分子タンパクと結合した分子は沈殿するため、上澄液中に残った遊離インスリン アスパルト画分のみを分析することが可能となる。沈殿処理後の試料を、ヒトインスリン特異的な捕捉抗体（[redacted]）、ビオチン標識したインスリン アスパルト特異的な検出抗体（[redacted]）、な

らびに [redacted] を用いた、3 段階の間接的サンドイッチ ELISA により分析した。定量には、主波長 [redacted] nm での光学濃度（副波長 [redacted] nm での光学濃度も求め減算）を用いた。$1/Y^2$ の重みを付けた 4 つのパラメータのロジスティック関数を用い、非線形回帰法で当てはめた曲線を検量線とした。1 試料あたり 2 回ずつ分析を行い、2 回の平均濃度を定量結果として報告した。

較正試料、Quality Control（QC）試料及び沈殿 QC 試料は、分析単位ごとに含めた。加えて、希釈した試料を分析する際は、当該分析単位に希釈 QC 試料も含めた。

なお総インスリン アスパルト ELISA では、遊離インスリン アスパルト ELISA と異なり PEG 沈殿を行わず、また [redacted] の代わりに [redacted] を用いるが、それ以外の手順は両 ELISA とも同様である。

2.7.1.1.3.1.3　インスリン アスパルト ELISA のバリデーションパラメータ

遊離インスリン アスパルト ELISA のバリデーションは、総インスリン アスパルト ELISA のバリデーションに必要な項目を追加する形で実施した。遊離インスリン アスパルト ELISA に特異的な 2 つのバリデーションを [redacted] 社（Zürich）で実施した：主要なバリデーション（M 5.3.1.4、Study AA96216）、及びより低い定量下限（LLOQ）に対するパーシャルバリデーション（M 5.3.1.4、Study CA10798）。加えて、総インスリン アスパルト ELISA 及び遊離インスリン アスパルト ELISA の双方をカバーする 2 つのパーシャルバリデーションを実施した：分析の自動化に際してのバリデーション（M 5.3.1.4、Study ZZ36951 及び ZZ41765）、及びプレートコーティング最適化のバリデーション（M 5.3.1.4、Study ZZ36951）。

当初の総インスリン アスパルト ELISA は、ノボラピッド®注開発の一環として Novo Nordisk A/S が開発し、バリデーションを実施していた（M 5.3.1.4、Study 970046）。同分析法のフルバリデーションは、分析業務の移管に伴い、[redacted] 社（Montreal、CA）で実施した（M 5.3.1.4、Study AA81208）。その後 [redacted] 社の経営変更により、社名は [redacted] に変更され、Montreal の施設は閉鎖された。そのため [redacted] 社（Lincoln、NE、US）において、同分析法のバリデーション（M 5.3.1.4、Study ZZ32463-01）に加え、[redacted] 社と [redacted] 社の施設間バリデーション（M 5.3.1.4、Study ZZ29614）を実施した。Faster aspart の臨床開発プログラムにおけるすべての実試料は [redacted] 社で分析した。また様々な切り口から、複数の軽微パーシャルバリデーションを実施した：分析の自動化（M 5.3.1.4、Study ZZ36951 及び ZZ41765）、プレートコーティング最適化（M 5.3.1.4、Study ZZ33712 及び ZZ36951）、試料の安定性期間の延長（M 5.3.1.4、Study CA20958）、特異性（交叉反応性）（M 5.3.1.4、Study CA21882）及び平行性（M 5.3.1.4、Study CA21883）。その後 Novo Nordisk A/S にて、同社をバックアップ用の分析施設とするためフルバリデーション（M 5.3.1.4、Study 301181）を実施している。

遊離インスリン アスパルト ELISA 及び総インスリン アスパルト ELISA 双方に関するバリデーション試験結果は表 2.7.1.1–2 に要約し、各試験の分析報告書に関連する分析法バリデーションの報告書は付録 2.7.1.4.1 に一覧で提示する。

表 2.7.1.1–2　ヒト血清を対象とした総インスリン アスパルト及び遊離インスリン アスパルトの ELISA の性能

Parameter[4,5,6,7,8,9,10]	**Acceptance criteria**	**Results**	**Validation report**
Range	Acceptance criteria fulfilled for accuracy and precision, i.e. mean concentration is within 20% of the nominal value at each concentration level (25% at LLOQ and ULOQ) and %CV should not exceed 20% (25% at LLOQ and ULOQ), respectively[5,6,7,8,9,10]	Within the limits of acceptance LLOQ =10 pmol/L ULOQ =400 pmol/L LLOQ =20 pmol/L ULOQ =800 pmol/L	M 5.3.1.4 AA81208, CA10798, ZZ29614, ZZ32463-01, Z33712, ZZ36951, ZZ41765, 301181 M 5.3.1.4 AA96216, ZZ36951
Accuracy	Mean concentration is within 20% of the nominal value at each concentration level (25% at LLOQ and ULOQ)[5,6,7,8,9,10]	Within the limits of acceptance	M 5.3.1.4 AA81208, AA96216, CA10798, ZZ29614, ZZ32463-01, ZZ33712, ZZ36951, ZZ41765, 301181
Precision	%CV should not exceed 20% (25% at LLOQ and ULOQ)[5,6,7,8,9,10]	Within the limits of acceptance	M 5.3.1.4 AA81208, AA96216, CA10798, ZZ29614, ZZ32463-01, ZZ33712, ZZ36951, ZZ41765, 301181
Total error[a)]	Total error should not exceed 30% (40% at LLOQ and ULOQ)[5,6,7,10]	Within the limits of acceptance	M 5.3.1.4 AA81208, AA96216, CA10798, ZZ29614, ZZ32463-01, ZZ33712, ZZ36951, ZZ41765, 301181
Curve fit[b)]	75% of the calibrators should have back-fitted concentrations within 20% of the nominal value (25% at LLOQ and ULOQ)[5,6,7,8,9,10]	Curve fit confirmed Four-parameter logistic weighted $1/Y^2$	M 5.3.1.4 AA81208, AA96216, CA10798, ZZ29614, ZZ32463-01, 301181
Selectivity – Healthy and disease state	For 80% of selectivity samples, un-spiked samples should measure below LLOQ, and measured concentrations should be within 25% of nominal concentration for LLOQ and 20% at other concentrations[5,6,7,10]	Within the limits of acceptance	M 5.3.1.4 AA81208, AA96216, CA10798, ZZ29614, ZZ32463-01, ZZ36951, 301181
Selectivity - other	For at least 80% of selectivity samples, measured concentrations	Haemolysis: Interference of severe haemolysis (more than [redacted]%); no impact	M 5.3.1.4 AA81208, CA10798

Parameter[4,5,6,7,8,9,10]	**Acceptance criteria**	**Results**	**Validation report**
	should be within 20% of nominal concentration[7,10]	on accuracy below or equal to [redacted]% Turbidity: No impact on accuracy	 M 5.3.1.4, AA81208
Dilution linearity	Back-calculated concentration for each dilution should be within 20% of nominal concentration after correction for dilution.[5,6,9]	Within the limits of acceptance for samples diluted up to [redacted] times (free insulin aspart) and [redacted] times (total insulin aspart), covering the dilutions used during sample analysis	M 5.3.1.4 AA81208, AA96216, ZZ29614, ZZ32463-01, ZZ36951, ZZ41765
Parallelism	Precision between samples in a dilution series should not exceed 30%[7]	Within the limits of acceptance	M 5.3.1.4, CA21883
Stability	Stability sample results should be within 20% of nominal concentrations[5,6,7,9,10]	Within the limits of acceptance Long-term stability: [redacted] days at -20°C [redacted] days at -80ºC Short-term stability: [redacted] hours at ambient temperature Freeze and thaw stability: [redacted] cycles at -80°C [redacted] cycles at -20°C Whole-blood stability: [redacted] minutes at room temperature prior to processing Stock solution stability: [redacted] days at -20°C [redacted] freeze and thaw cycles at -20°C [redacted] hours at ambient temperature Stability of coated plate: [redacted] days at 5°C (in coating so ution) [redacted] days at 5°C (dry plate)	 M 5.3.1.4 CA20958 AA81208 M 5.3.1.4 CA20958 M 5.3.1.4 AA81208 CA20958, 301181 M 5.3.1.4 ZZ32463-01 M 5.3.1.4 AA81208 ZZ32463-01 M 5.3.1.4 ZZ29614 ZZ36951
Stability in precipitated serum	Stability sample results should be within 20% of nominal concentrations[5,6,7,9,10]	Within the limits of acceptance Long-term stability: [redacted] days at -20°C [redacted] days at -80°C Freeze/thaw stability: [redacted] cyc es at -20°C and -80°C ([redacted] pmol/L) [redacted] cycles at -20°C ([redacted] pmol/L)	 M 5.3.1.4 ZZ41765 AA96216 M 5.3.1.4 AA96216 CA10798

Parameter[4,5,6,7,8,9,10]	Acceptance criteria	Results	Validation report
		Short-term stability: [redacted] hours at room temperature ([redacted] pmol/L) [redacted] hours at room temperature ([redacted] pmol/L)	M 5.3.1.4 AA96216 CA10798
Specificity (interference and cross-reactivity) [c)]	Mean concentration is within 25% of the nominal value at LLOQ and ULOQ[5,6,7,8,9,10]	No interference up to a concentration of Human insulin, human pro-insulin and C-peptide: 500 pmol/L Insulin Detemir: 5000 pmol/L Insulin Degludec: 10000 pmol/L Insulin Glargine: 300 pmol/L Insulin Lispro: 1000 pmol/L	M 5.3.1.4 CA21882

[a)] Total error was not calculated in all validation reports, but the sum of the absolute values of the % relative error and %CV was within the acceptance criteria.
[b)] Based on development data, it was concluded that the best curve fit was obtained us ng the regression model four-parameter logistic weighted $1/Y^2$. In validation M 5.3.1.4, Study ZZ32463-01 (site [redacted], Lincoln), the regression model four-parameter logistic weighted 1/Y was used and found acceptable (no clinical samples were analysed at that site).
[c)] Specificity in terms of cross-reactivity and interference was originally validated in M 5.3.1.4, Studies 970046, 200184 and 208206. Specificity was re-validated in M 5.3.1.4, Study CA21882, in order to comply with current guidelines and white papers.[5,6,7,8,9,10]

2.7.1.1.3.1.4 インスリン アスパルト ELISA の Incurred sample re-analysis（ISR）による評価

インスリン アスパルト ELISA による分析の再現性は、日本人 1 型糖尿病患者及び臨床開発プログラムを代表する被験者集団〔すなわち健康被験者及び特別な被験者集団（高齢者、若年成人、小児又は青年期の 1 型糖尿病患者）〕を網羅した投与後試料を用い、incurred sample re-analysis（ISR；投与後試料の再分析による定量値の再現性確認）を実施することにより評価した。ISR に用いる投与後試料の数は、分析方法のバリデーションに関する厚生労働省及び EMA のガイダンスに基づいて選択した（すなわち、最初の 1000 試料中の 10%に加え、1000 試料を超えた場合はその試料数の 5%）[5,6,7]。すべての ISR 評価が判定基準の範囲内（すなわち、ISR 対象試料の少なくとも [redacted] が初回分析値の± [redacted] %以内）の場合に、それぞれの分析法は再現性があると判断した。ISR の結果は、各試験の総括報告書の EOT Appendix 16.1.10 中の分析報告書に示す（付録 2.7.1.4.1 に一覧で提示する）。

2.7.1.1.3.2 抗インスリン アスパルト抗体分析

2.7.1.1.3.2.1 背景

臨床試験で faster aspart 又はノボラピッド®注を投与した際の抗インスリン アスパルト抗体の分析は、放射性標識したインスリン アスパルトを用いたラジオイムノアッセイ（RIA）により実施した（詳細

は 2.7.1.1.3.1.2 項）。特異的な抗インスリン アスパルト抗体（以下、インスリン アスパルト特異抗体）の値、及びヒトインスリンと交叉反応する抗インスリンアスパルト抗体（以下、ヒトインスリン交叉抗体）の値は、3 通りの分析系列から得られた値に基づき算出した。分析法のバリデーション及び実施は、現行のガイドライン及び white paper に準拠した[13,14,15,16,17,18]。分析法及びバリデーションの概要は以下に示す。

2.7.1.1.3.2.2　抗体分析法の詳細

実試料の血清に放射性標識インスリン アスパルトを添加し一晩インキュベートさせた後、試料中の抗体と結合したインスリン アスパルトを PEG 沈殿させた。沈殿物の放射能を分析し「全体の放射能（T）」に対する「抗体と結合した放射能（B）」の比率（%）を算出した。この%B/T 値を、試料中の抗体の量的指標として用いた。臨床的濃度の範囲内では抗体濃度と%B/T 値に直線的関係が認められる（M 5.3.1.4、Study 215373）。各試料を 2 回ずつ分析した。

インスリン アスパルト特異抗体とヒトインスリン交叉抗体を区別するため、血清試料に放射性標識インスリン アスパルトを混合後、過剰の非標識インスリン アスパルトを添加した「系列 E」、過剰の非標識ヒトインスリンを添加した「系列 F」及び緩衝剤を添加した「系列 D」の、3 つの並行する系列に分けてインキュベートし分析した（詳細は表 2.7.1.1–3）。系列 E に用いた非標識インスリン アスパルト及び系列 F に用いた非標識ヒトインスリンはいずれも濃度 [redacted] µg/mL（[redacted] µmol/L）であり（M 5.3.1.4、Study CA10238、CA12787 及び CA17290）、インスリン分子（モル）に換算すると、放射性標識インスリン アスパルト濃度（[redacted] pmol/L）の [redacted] 倍余りの過剰量に相当する。

表 2.7.1.1–3　抗インスリン アスパルト抗体の分析系列

Series	Assay mixture	Result represent the sum of:
D	Sample + buffer+ insulin aspart tracer	Background, and insulin aspart-specific and cross-reacting antibodies
E	Sample + unlabelled insulin aspart + insulin aspart tracer	Background
F	Sample + unlabelled human insulin + insulin aspart tracer	Background, and insulin aspart-specific antibodies (not cross-reacting to human insulin)

インスリン アスパルト特異抗体（ヒトインスリンと交叉反応しない抗体）の量は、系列 F の%B/T 値から系列 E の%B/T 値を差し引いて算出した（F－E）。ヒトインスリン交叉抗体の量は D と F の差（D－F）から算出した。総インスリン アスパルト抗体量は D と E の差（D－E）から、もしくはインスリン アスパルト特異抗体量（F－E）とヒトインスリン交叉抗体量（D－F）の和から算出した（図 2.7.1.1-1）。

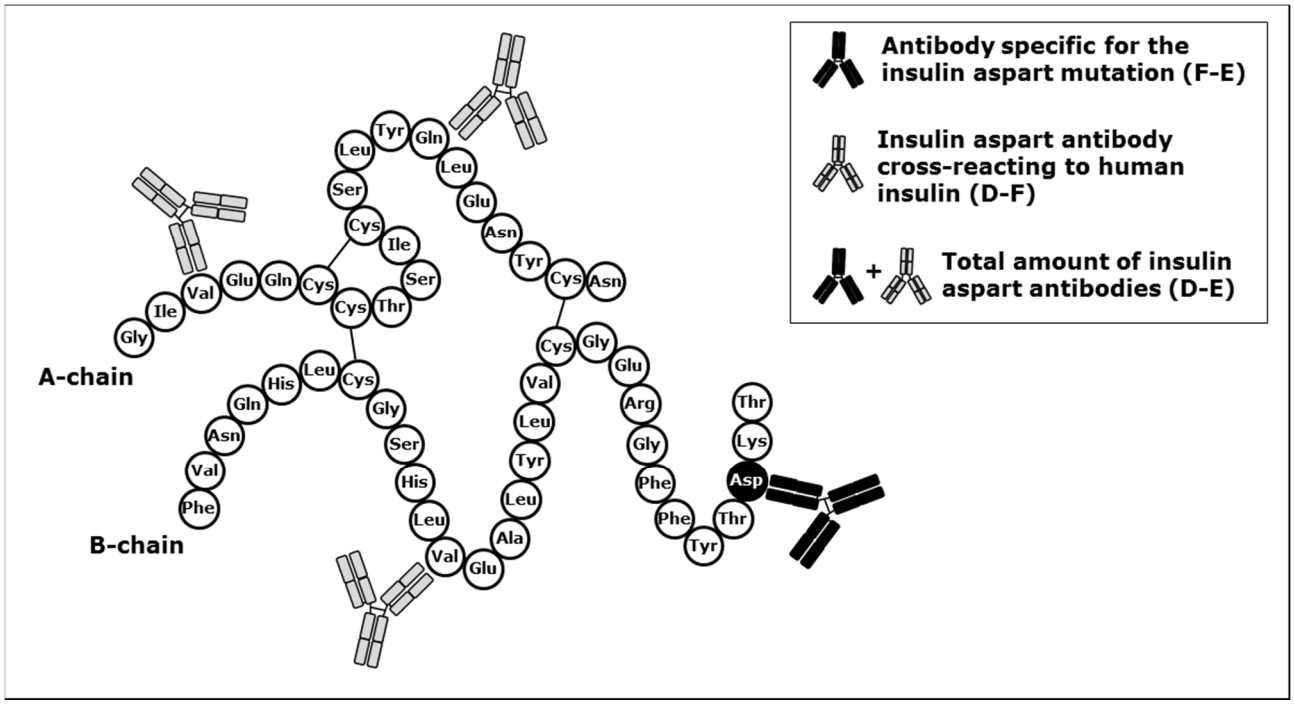


図 2.7.1.1-1　　インスリン アスパルト分子に結合する抗体の模式図（ヒトインスリンとインスリン アスパルトの分子構造上の違いは、黒く示した B 鎖 28 位のアスパラギン変異のみ）

また臨床薬理試験では、治験薬投与開始前のベースラインにおいても総インスリン アスパルト抗体の量を分析した。緩衝剤を添加した「系列 D」と過剰の非標識インスリン アスパルトを添加した「系列 E」の 2 系列（表 2.7.1.1–3）を並行して分析し、両系列の差（D－E）から総インスリン アスパルト抗体の量を算出した。

検証的試験（3852、4101 及び 4131 試験）では、ベースライン、無作為割り付け後 12 週及び 26 週（ならびに 3852 試験では無作為割り付け後 40 週及び 52 週）時点で抗インスリン アスパルト抗体の 3 系列（D、E 及び F）を分析し、インスリン アスパルト特異抗体量（F－E の差）及びヒトインスリン交叉抗体量（D－F）を算出した。

2.7.1.1.3.2.3　　抗体分析法のバリデーションパラメータ

抗インスリン アスパルト抗体の分析法は元々、Novo Nordisk A/S でヒト血清に対するバリデーションを実施していたものを、[redacted] 社（Switzerland）へ移管した（M 5.3.1.4, Studies 960358, 970145, 571511）。分析法の性能評価のため、当初のバリデーションに必要な項目を追加する形で、追加バリデーション試験及び計算を実施した（Study 215373、216352、300047、300053 及び 300084；表 2.7.1.1–4）。

表 2.7.1.1–4　　バリデーションパラメータ

Parameter[a)]	**Results D-E series Total insulin aspart antibodies , i.e. (D-E) = (D-F) + (F-E)**	**Results D-F series Anti-insulin aspart antibodies cross-reacting to human insulin**	**Results F-E series Antibodies specific for insulin aspart**	**Validation report**
Fixed cut-point (1% false positive rate)	Positive if ≥ 1.9 %B/T	Positive if ≥ 0.7 %B/T	Positive if ≥ 1.9 %B/T	M 5.3.1.4, Study 215373
Sensitivity	[redacted] ng/mL	[redacted] ng/mL	[redacted] ng/mL	M 5.3.1.4, Studies 215373 and 300047
Drug tolerance Detection of 100 ng/mL Ab is possible in the presence of:	[redacted] nM insulin aspart [redacted] nM insulin detemir [redacted] nM human insulin [redacted] nM insulin degludec	[redacted] nM insulin aspart [redacted] nM insulin detemir [redacted] nM human insulin [redacted] nM insulin degludec	[redacted] nM insulin aspart [redacted] nM insulin detemir [redacted] nM human insulin [redacted] nM insulin degludec	M 5.3.1.4, Study 216352
Selectivity and Recovery	[redacted] out of 15 individual sera spiked with [redacted] ng/mL monoclonal antibody [redacted] were all ≥ cu point	[redacted] out of 15 individual sera spiked with [redacted] ng/mL monoclonal antibody [redacted] were all ≥ cu point	[redacted] out of 15 individual sera spiked with [redacted] ng/mL monoclonal antibody [redacted] were all ≥ cu point	M 5.3.1.4, Study 300047
Inter-assay precision	QClow: < [redacted] %CV QCmedium: < [redacted] %CV QChigh: < [redacted] %CV	QClow: < [redacted] %CV QCmedium: < [redacted] %CV QChigh: < [redacted] %CV	QClow: < [redacted] %CV QCmedium: < [redacted] %CV QChigh: < [redacted] % CV	M 5.3.1.4, Study 300047
In study intra-assay and inter-assay precision *N=303*	NA[b)]	Intra-assay: [redacted] %CV Inter-assay: [redacted] %CV	Intra-assay: [redacted] %CV Inter-assay: 5 %CV	M 5.3.1.4. Study CA10238.
Robustness	Positive controls stable for: at least [redacted] freeze-thaw cycles, at benchtop conditions for up to 24 hours at long-term storage for 12 month at -20 °C. Radiolabeled insulin aspart tracer: labelling efficiency and batch-to-batch consistency for [redacted] different tracer batches; see 図 2.7.1.1-2.			M 5.3.1.4, Studies 216352, 300047, CA10238, 300053 Antibody analysis reports in Trial 3852 (M 5.3.5.1) Appendix 16.1.10
Interference from haemolysis, lipids	A slight increase in assay signal upon addition of haemoglobin was seen. The minor effect ([redacted]%) was not significant. No influence of addition of lipids or bilirubin in the physiological relevant range was seen.			M 5.3.1.4, Study 960358
Minimum Required Dilution	[redacted] final dilution of serum during incubation with tracer. No pre-dilution			M 5.3.1.4, Study 300084

[a)] Validation parameters in accordance to April 2016 FDA Draft Guidance[14]

[b)] NA: not applicable since only D-F and F-E series were reported in Studies CA10238, CA17287 and.CA17290

カットポイント

インスリン治療歴のある糖尿病被験者の多くは、治験参加時点でインスリン抗体を有しているため、ベースライン時点の実試料に基づいて抗体陽性のカットポイントを決定することができない。各来院時の抗インスリン アスパルト陽性被験者数を特定するため（発現率）、分析法のバリデーション中にインスリン治療歴のない健康な 50 人の試料を 6 回分析した結果に基づき、系列「D－E」「D－F」及び「F－E」それぞれのカットポイントを算出した（表 2.7.1.1–4）。結果の統計的評価に基づき、カットポイントは固定値を採用した（M 5.3.1.4、Study 215373）[15]。

分析感度

抗体分析法の分析感度は [redacted] ng/mL 未満であった（3 つの異なるコントロール抗体により検証した時、[redacted] ng/mL の範囲内）（M 5.3.1.4、Study 215373 及び 300047）。すなわち、FDA ガイダンス（ドラフト、2016 年 4 月）[14]の推奨する分析感度の指標（100 ng/mL 又はそれ以下）を満たしていた。

残存薬物の影響

試料中の残存薬物による抗体分析法への影響を検討した。試料中にインスリン アスパルトが [redacted] nmol/L の濃度（検討時に設定した最高濃度）で残存している場合、ならびにインスリン デテミルが [redacted] nmol/L、インスリン デグルデクが [redacted] nmol/L 又はヒトインスリンが [redacted] nmol/L 残存している場合においても、抗体分析法の分析感度は [redacted] ng/mL 未満であった（M 5.3.1.4、Study 216352）。

3852、4101 及び 4131 試験の被験者は、少なくとも直近 8 時間は絶食かつインスリン投与を受けていない状態で、抗インスリン アスパルト抗体分析用の実試料を採取することとした。インスリン アスパルトは半減期が短いため、試料採取日のすべての採血が完了するまでインスリン投与を行わなければ、抗インスリン アスパルト抗体分析用の血清試料中にはインスリン アスパルトが残存しない。

3852 試験の被験者は、Bolus インスリンに加え、Basal インスリンとしてインスリン デテミル 1 日 1 回又は 1 日 2 回投与を受けていた。定常状態におけるインスリン デテミルの薬物動態特性として、大部分の被験者で血漿中インスリン デテミル濃度が [redacted] nmol/L 未満となることが示されている[19]。一方、[redacted] nmol/L までの濃度のインスリン デテミルは抗インスリン アスパルト抗体分析法の結果に干渉しないことから、同治験における被験者の体内に残存したインスリン デテミルは、抗体分析の結果に干渉しなかったものと判断できる。

4101 及び 4131 試験の被験者は、Basal インスリンとしてインスリン デグルデク投与を受けていた。定常状態のインスリン デグルデクは、大部分の被験者で血漿中濃度が [redacted] nmol/L 未満であったことから[20]、体内に残存したインスリン デグルデクは抗体分析の結果に干渉しなかったと判断できる。

3852、4101 及び 4131 試験の 1 型糖尿病患者はいずれも治療にヒトインスリンを用いておらず、仮に実試料中にわずかな内因性ヒトインスリンが存在したとしても、濃度は [redacted] nmol/L をはるかに下回るはずであり、抗体分析の感度に影響はなかったと判断できる[21,22]。

結論として、臨床試験で抗インスリン アスパルト抗体分析用の実試料採取時点では、被験者体内に残存するインスリン アスパルト、インスリン デテミル、インスリン デグルデク又は内因性ヒトインスリンの試料中濃度は、抗体分析の結果に干渉しうる濃度よりも十分に低かった。

特異性及び選択性

抗体分析前に実試料の血清の希釈はしていない。ただし、放射性標識体等とのインキュベートを経た血清の最終的な希釈〔最少希釈率（MRD）〕は[redacted]となる（血清[redacted]µL、緩衝剤／過剰インスリン アスパルト／ヒトインスリン[redacted]µL、放射性標識インスリン アスパルト[redacted]µL）。

当該 MRD は、ヒト血清のマトリックス効果に関する評価から支持された（M 5.3.1.4、Study 300084）。

さらに 15 人分のヒト血清と、分析感度を若干上回る濃度の抗体〔モノクローナル抗体（mAb）[redacted]で[redacted]ng/mL、交叉反応性 mAb [redacted]で[redacted]ng/mL〕を含む分析用緩衝液を用いて回収率を検討し、当該分析法の選択性を評価した。[redacted]のヒト血清において、ごく低濃度の mAb を添加した条件での回収率は、分析用緩衝液と同程度の値を示した。またいずれの回収率も、対応する系列（D－E、D－F 又は F－E）の分析カットポイントを上回ったことにより、抗体分析法の選択性が確認された（M 5.3.1.4、Study 300047）。

精度

Study 300047 の結果より、inter-assay 精度は QC 試料の濃度に依存するが、変動係数は[redacted]%以下であることが示された（表 2.7.1.1–4）。予測されたとおり、intra-assay 精度は inter-assay 精度よりも概ね良好であった（M 5.3.1.4、Study 300047）。実試料の分析データ（治験での分析精度）から、intra-assay 精度は変動係数[redacted]%以下であり、intra-assay 精度は変動係数[redacted]%以下であった（M 5.3.1.4、Study CA10238）。これらの分析精度は FDA ドラフトガイダンス（2016 年 4 月）[14]で推奨された「変動係数 20%未満」を満たしていた。

頑健性

陽性コントロールに使用された抗体（[redacted]、[redacted] anti-insulin、[redacted]）については、少なくとも[redacted]回の凍結融解サイクルにおける安定性、室温条件下の[redacted]時間までの安定性、及び−20℃での[redacted]ヵ月長期保存安定性が示された（M 5.3.1.4、Study 216352、300047 及び 300053）。3852 試験の抗体に関する分析報告書は、当該試験の総括報告書の EOT Appendix 16.1.10 に提示した。また、計[redacted]バッチの放射性標識インスリン アスパルトについて、標識効率及びバッチ間の均一性を確認した（M 5.3.1.4, CA10238 及び図 2.7.1.1-2）。

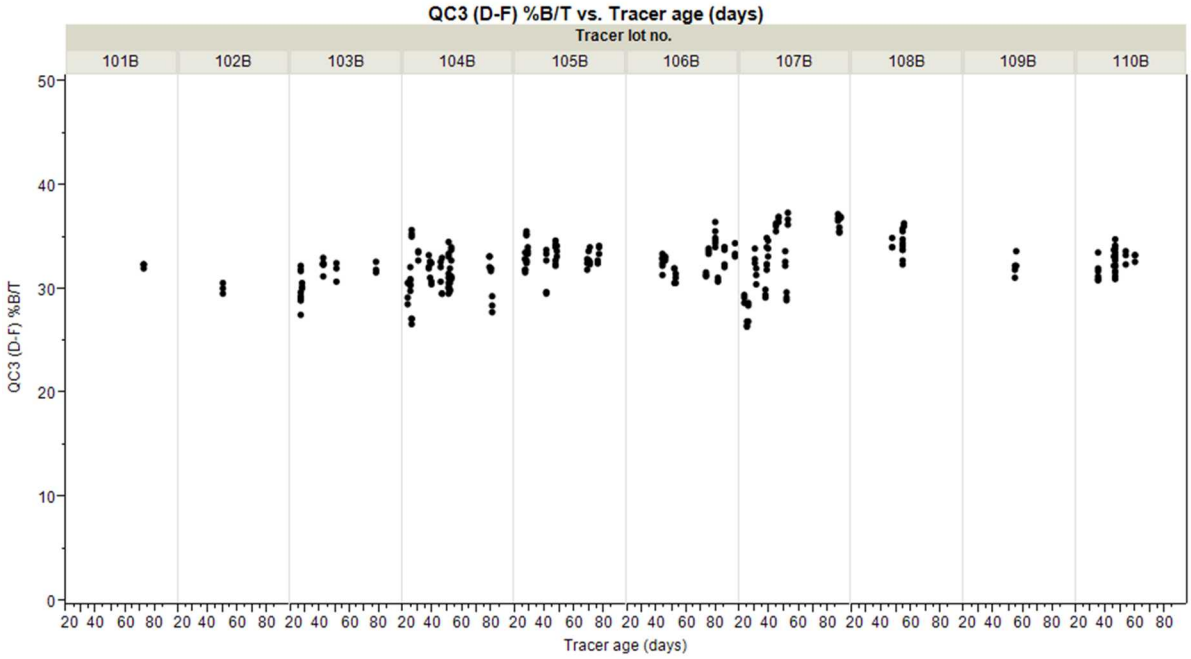


図 2.7.1.1-2　　3852 試験における、計 [redacted] バッチの放射性標識インスリン アスパルトのコントロール試料 QC3 の値（系列 D－F の%B/T、標識後 [redacted] 日まで）

ヘモグロビン、ビリルビン及び脂質による干渉

抗体分析系にヘモグロビンを添加すると、分析シグナルにわずかな増加がみられた。%B/T シグナルの増加は軽微であり（[redacted]%）、抗インスリン アスパルト抗体の分析結果に重大な影響はないと考えられた。ビリルビン又は脂質を生理学的な濃度範囲で添加した際の影響はみられなかった（M 5.3.1.4、Study 960358）。

2.7.1.1.3.2.4　　システム適合性

臨床薬理試験及び 3852 試験では、抗インスリン アスパルト抗体の分析単位ごとに、システム適合性評価のコントロール試料を 2 種類含めた（表 2.7.1.1–5）。分析結果の適否は、分析単位ごとに 3 試料ずつ含めたシステム適合性評価のコントロール試料に基づき判定した。コントロール試料の [redacted] 以上が判定基準の範囲内（理論値± [redacted]%、棄却率 [redacted]%に相当）の時、当該分析単位は適合とする。各コントロール試料の理論値は、治験の実試料に先立ち分析した、少なくとも [redacted] 分析単位における%B/T 値の平均値を採用した（M 5.3.1.4、Study CA10238）。

表 2.7.1.1–5　　臨床薬理試験及び 3852 試験で使用されたシステム適合性試験のコントロール試料

QC level	Antibody	Mean signal (%B/T)	Series
QC2	[redacted] ng/mL ant insulin aspart-specific Ab, [redacted][a)]	[redacted] %B/T	F-E series Antibodies specific for insulin aspart
QC3	[redacted] ng/mL [redacted] anti-insulin Ab	[redacted] %B/T	D-F series Cross-reacting antibodies

[a)]: Monoclonal anti-insulin aspart [redacted] targets an epitope specific for insulin aspart and can therefore not be used for measuring antibodies cross-react n between insulin aspart and human insulin
[b)]: Polyclonal guinea pig polyclonal anti-human insulin antibody targets epitopes in common for insulin aspart and human insulin and can therefore not be used for measuring insulin aspart specific antibodies.

4101 及び 4131 試験では、すべての分析単位ごとに 2 種類のコントロール試料（QC1：F－E 系列用、及び QC2：D－F 系列用）を 2 回ずつ含めた（表 2.7.1.1–6）。すべての陽性 QC 試料中 [redacted] 以上が、及び陽性 QC 試料の各濃度において [redacted] 回以上の測定値が、それぞれ事前に規定された判定基準の範囲内である時、当該分析は適合となる。これらの判定基準は、当該コントロール試料の理論値及び標準偏差に基づき、少なくとも [redacted] 分析単位分の分析を実施した時の棄却率が [redacted] %となるように算出した。

表 2.7.1.1–6　　4101 及び 4131 試験で使用されたシステム適合性試験のコントロール試料

QC level[a)]	Antibody for QC	Mean signal (%B/T)	QC for series
QC1low	[redacted] ng/mL anti-insulin aspart-specific Ab, [redacted][b)]	[redacted] %B/T	F-E series Antibodies specific for insulin aspart
QC1med	[redacted] ng/mL ant insu in aspart-specific Ab, [redacted][b)]	[redacted] %B/T	F-E series Antibodies specific for insulin aspart
QC1high	[redacted] ng/mL ant insu in aspart-specific Ab, [redacted][b)]	[redacted] %B/T	F-E series Antibodies specific for insulin aspart
QC2low	[redacted] ng/mL anti-human insulin Ab [redacted][c)]	[redacted] %B/T	D-F series Cross-reacting antibodies
QC2med	[redacted] ng/mL anti-human insulin Ab [redacted][c)]	[redacted] %B/T	D-F series Cross-reacting antibodies
QC2high	[redacted] ng/mL anti-human insulin Ab [redacted][c)]	[redacted] %B/T	D-F series Cross-reacting antibodies

[a)]: The QCs were prepared in validation study 300047 and used afterwards in trials 4101 and 4131, and are not equal to QC2, QC2low and QC3 applied in other validations and during analyses of samples from clinical pharmacology trials and trial 3852.
[b)]: Monoclonal anti-insulin aspart [redacted] targets an epitope specific for insulin aspart and can therefore not be used for measuring antibodies cross-reacting between insulin aspart and human insulin.
[c)]: Monoclonal anti-human insulin [redacted] targets an epitope in common for insulin aspart and human insulin and can therefore not be used for measuring insu in aspart specific antibodies.

2.7.1.1.3.2.5　薬物動態、薬力学的作用、有効性及び安全性に対する抗インスリン アスパルト抗体の潜在的影響の評価

抗インスリン アスパルト抗体による潜在的影響を評価するため、抗インスリン アスパルト抗体と薬物動態パラメータ及び薬力学的作用パラメータ（Module 2.7.2）、有効性パラメータ（Module 2.7.3）及び安全性パラメータ（Module 2.7.4）との関係を分析した。

2.7.1.2 個々の試験結果の要約

2.7.1.2.1 バイオアベイラビリティを検討した臨床試験結果の要約

3949 試験では、白人健康被験者を対象に、faster aspart を腹部、三角筋部及び大腿部に単回皮下投与（0.2 単位/kg）した後の、絶対的バイオアベイラビリティ及び相対的バイオアベイラビリティを検討した。絶対的バイオアベイラビリティを推定するため、faster aspart の静脈内投与（0.02 単位/kg）も実施した。Faster aspart の腹部、三角筋部又は大腿部への皮下投与後のインスリン アスパルトの絶対的バイオアベイラビリティは、おおよそ 80%であった〔3949 試験（M 5.3.1.1）Table 11-10〕。

インスリン アスパルト曝露の出現（薬物動態パラメータ用語の定義は、これ以降を含め Module 2.7.2 参照）は、onset of appearance、50%$C_{max,IAsp}$ 到達時間及び $t_{max,IAsp}$ の各エンドポイントを用いて評価した。Faster aspart の腹部、三角筋部及び大腿部投与における onset of appearance の中央値はいずれも約 3 分、$t_{max,IAsp}$ の中央値は 50.0～57.5 分であった〔3949 試験（M 5.3.1.1）Table 11-1〕。記述統計量に基づくと、腹部投与時と三角筋部投与時で 50%$C_{max,IAsp}$ 到達時間に大きな差はなかった〔3949 試験（M 5.3.1.1）Table 11-1〕が、大腿部との比較は行わなかった。これは大腿部投与時の $C_{max,IAsp}$ に差があったためで（表 2.7.1.2–1）、C_{max} が同程度でなければ、50%$C_{max,IAsp}$ 到達時間をもってインスリン アスパルト曝露の出現の差を評価することは適切とみなされない[23]。

Faster aspart 皮下投与後初期のインスリン曝露量（$AUC_{IAsp,0\text{-}1h}$ 及び $AUC_{IAsp,0\text{-}2h}$）は、腹部投与時及び三角筋部投与時で同程度であったが、大腿部投与時で小さかった〔3949 試験（M 5.3.1.1）Table 11-2〕。総曝露量（$AUC_{IAsp,\ 0\text{-}12h}$）は腹部投与時、三角筋部投与時及び大腿部投与時で同程度であった（表 2.7.1.2–1）。また皮下投与後の最高血中インスリン アスパルト濃度（$C_{max,IAsp}$）に腹部及び三角筋部への投与間で差はみられなかった。$C_{max,IAsp}$ は腹部及び三角筋部のいずれと比較しても大腿部への投与で小さかった。

結論として、faster aspart は腹部、三角筋部又は大腿部のいずれに皮下投与しても、総曝露量については同程度であった。

表 2.7.1.2–1　健康被験者を対象とした腹部、三角筋部及び大腿部への皮下投与後における総インスリン アスパルト曝露量（$AUC_{IAsp,0-12h}$）及び最高血中インスリン アスパルト濃度（$C_{max,IAsp}$）の注射部位の比及び 95%信頼区間（3949 試験）

	Injection region ratio	**[95%CI]**
$AUC_{IAsp,0-12h}$		
deltoid/abdomen	0.92	[0.84;1.01]
thigh/abdomen	0.93	[0.85;1.01]
thigh/deltoid	1.00	[0.92;1.09]
$C_{max,IAsp}$		
deltoid/abdomen	0.92	[0.74;1.14]
thigh/abdomen	0.70	[0.56;0.87]
thigh/deltoid	0.76	[0.61;0.95]

Number of subjects: abdomen 20 subjects, deltoid 20 subjects, thigh 20 subjects. Based on free insulin aspart concentrations

薬物動態エンドポイントの概要は Module 2.7.2 の付録 2.7.2.5.1、総括報告書は 3949 試験（M.5.3.1.1）を参照のこと。

2.7.1.3 全試験を通しての結果の比較と解析

生物薬剤学試験及び関連する分析法に関する臨床試験は 1 試験のみ（3949 試験）であったため、全試験を通しての結果の比較と解析は実施していない。3949 試験の結果の要約は 2.7.1.2.1 項に示す。

参考文献

1 第十七改正日本薬局方（平成 28 年 3 月 7 日付、厚生労働省告示第 64 号）

2 European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare. European Pharmacopoeia. 9th ed. 2017.

3 United States Pharmacopeial Convention. United States Pharmacopeia 38 National Formulary 33. 16 ed. 2015.

4 Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Verterinary Medicine (CVM). Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation. 5/2001 2001.

5 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（平成 26 年 4 月 1 日付、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別添）

6 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質疑応答集（Q&A）（平成 26 年 4 月 1 日付、薬食審査発 0401 第 1 号　厚生労働省医薬食品局審査管理課事務連絡別添）

7 European Medicines Agency, Committee for medicinal products for human use (CHMP). Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2**. 21 July 2011. 21 Jul 2011.

8 Viswanathan CT, Bansal S, Booth B, DeStefano AJ, Rose MJ, Sailstad J, et al. Quantitative bioanalytical methods validation and implementation: best practices for chromatographic and ligand binding assays. Pharm Res. 2007;24(10):1962-73.

9 DeSilva B, Smith W, Weiner R, Kelley M, Smolec J, Lee B, et al. Recommendations for the bioanalytical method validation of ligand-binding assays to support pharmacokinetic assessments of macromolecules. Pharm Res. 2003;20(11):1885-900.

10 Booth B, Arnold ME, DeSilva B, Amaravadi L, Dudal S, Fluhler E, et al. Workshop report: Crystal City V--quantitative bioanalytical method validation and implementation: the 2013 revised FDA guidance. AAPS J. 2015;17(2):277-88.

11 Hanning I, Home PD, Alberti KG. Measurement of free insulin concentrations: the influence of the timing of extraction of insulin antibodies. Diabetologia. 1985;28(11):831-5.

12 Arnqvist H, Olsson PO, von Schenck H. Free and total insulin as determined after precipitation with polyethylene glycol: analytical characteristics and effects of sample handling and storage. Clin. Chem. 1987; 33, 93–6.

13 Food and Drug Administration, CDER and CBER. Guidance for Industry. Assay Development for Immunogenicity Testing of Therapeutic Proteins, draft guidance. Dec 2009.

14 Food and Drug Administration, CDER, CBER and CDRH. Guidance for Industry. Assay development and validation for immunogenicity testing of therapeutic protein products, draft guidance. Apr 2016.

15 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. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2008;48(5):1267-81.

16 European Medicines Agency. Guideline on immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins (EMEA/CHMP/BMWP/14327/2006). 13 Dec 2007.

17 European Medicines Agency. Guideline on immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins (EMEA/CHMP/BMPW/14327/2006 Rev. 1, draft. 24 Sep 2015.

18 Mire-Sluis AR, Barrett YC, Devanarayan V, Koren E, Liu H, Maia M, et al. Recommendations for the design and optimization of immunoassays used in the detection of host antibodies against biotechnology products. Journal of Immunological Methods. 2004;289(1-2):1-16.

19 Bott S, Tusek C, Jacobsen LV, Endahl L, Draeger E, Kapitza C, et al. Insulin detemir under steady-state conditions: no accumulation and constant metabolic effect over time with twice daily administration in subjects with Type 1 diabetes. Diabetic Medicine. 2006;23(5):522-8.

20 Heise T, Hövelmann U, Nosek L, HermanskiL, Bøttcher SG & Haahr H. Comparison of the pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles of insulin degludec and insulin glargine. Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. (2015) 11(8):1193-1201

21 Berger B, Stenström G & Sundkvist G. Randon C-peptide in the classification of diabetes. Scand J Clin Lab Invest. 2000; 60:687-694.

22 Jones AG & Hattersley AT. THe clinical utility of C-peptide measurement in the care of patients with diabetes. Diabet Med. 2013; 30:803-817.

23 Jain L, Parks MH, Sahajwalla C. Determination of time to onset and rate of action of insulin products: importance and new approaches. J Pharm Sci. 2013;102(1):271-9.

フィアスプ注フレックスタッチ
フィアスプ注ペンフィル
フィアスプ注 100 単位/mL

2.7.1.4. 付録
1. Faster aspart の分析を実施した臨床試験における分析報告書及び分析法バリデーション報告書の一覧

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

Table of contents

Page

Table of contents **1**

1 List of bioanalytical and assay validation reports in clinical trials with insulin aspart bioanalysis **3**

1 List of bioanalytical and assay validation reports in clinical trials with insulin aspart bioanalysis

Trial ID	Matrix	Assay Principle	Laboratory	Bioanalytical Report Study no	Assay Validation Report Study no
NN1218-3887	Serum	ELISA	[redacted]	AA96506 Dec-2014	Free insulin aspart: AA96216, ZZ36951, CA10798 M 5.3.1.4
NN1218-3888	Serum	ELISA	[redacted]	AA96507 Dec-2014	Free insulin aspart: AA96216, ZZ36951, CA10798, ZZ41765 M 5.3.1.4
NN1218-3889	Serum	ELISA	[redacted]	AA96508 April-2014	Free insulin aspart: AA96216, ZZ36951, CA10798 M 5.3.1.4
NN1218-3890	Serum	ELISA	[redacted]	AA96509 May-2014	Free insulin aspart: AA96216, ZZ36951, CA10798, ZZ41765 M 5.3.1.4
NN1218-3891	Serum	ELISA	[redacted]	AA96510 Dec-2014	Free insulin aspart: AA96216, ZZ36951, CA10798, ZZ41765 M 5.3.1.4
NN1219-3918	Serum	ELISA	[redacted]	AA96542 May-2014	Free insulin aspart: AA96216, ZZ36951, CA10798 Total Insulin Aspart: AA81208, ZZ29614, ZZ33712 M 5.3.1.4
NN1218-3921	Serum	ELISA	[redacted]	AA96512 Oct-2014	Free insulin aspart: AA96216, ZZ36951, CA10798 M 5.3.1.4
NN1218-3978	Serum	ELISA	[redacted]	AA98569 Dec-2012	Free insulin aspart: AA96216, ZZ36951

Trial ID	Matrix	Assay Principle	Laboratory	Bioanalytical Report Study no	Assay Validation Report Study no
					Total insulin aspart: AA81208, ZZ29614, ZZ33712, ZZ36951 M 5.3.1.4
NN1218-3949	Serum	ELISA	[redacted]	CA12059 Dec-2014	Free insulin aspart: AA96216, ZZ36951, CA10798
NN1218-3852	Serum	ELISA	[redacted]	CA10654 Jul-2015	Free insulin aspart: AA96216, ZZ36951, CA10798, ZZ41765