オニバイド®点滴静注 43mg

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

日本セルヴィエ株式会社

目次

1 まとめ 10

2 分析法 12

2.1 放射化学的手順 12

2.2 高速液体クロマトグラフィーの手順 12

3 吸収 16

3.1 単回投与時の薬物動態 16

3.1.1 SD ラットにおける BAX2398 単回静脈内投与後の血漿中濃度（パイロット試験）（PEP02-NC-N-PK-001 試験） 16

3.1.2 SD ラットにおける BAX2398 単回静脈内投与 PK 試験（PEP02-NC-G-PK-003 試験） 18

3.1.3 ビーグル犬における BAX2398 単回静脈内投与後の血漿中濃度（パイロット試験）（PEP02-NC-N-PK-004 試験） 22

3.1.4 ビーグル犬における BAX2398 単回静脈内投与後の血漿中封入型イリノテカン濃度（PEP02-NC-N-PK-006 試験） 25

3.1.5 ビーグル犬における BAX2398 の単回静脈内投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-007 試験） 26

3.2 反復投与時の薬物動態 29

3.2.1 SD ラットにおける BAX2398 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 2 週間回復試験（PEP02-NC-G-Tx-006 試験） 29

3.2.2 SD ラットにおける BAX2398 の 6 サイクル（1 サイクル 3 週間）静脈内投与毒性試験及び 6 週間回復試験（PEP02-NC-G-Tx-010 試験） 32

3.2.3 ビーグル犬における BAX2398 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-009 試験） 36

3.2.4 ビーグル犬における BAX2398 の 6 サイクル（1 サイクル 3 週間）静脈内投与毒性試験及び 6 週間回復試験（PEP02-NC-G-Tx-011 試験） 40

4 分布 46

4.1 ヒト HT-29 大腸癌異種移植 SCID マウスにおける BAX2398 及び CPT-11 単回静脈内投与後の組織内及び腫瘍内分布（PEP02-NC-N-PK-005 試験） 46

4.2 SD ラットにおける BAX2398 単回静脈内投与後の組織内分布（パイロット試験）（PEP02-NC-N-PK-002 試験） 47

4.3 雄 Long-Evans ラットにおけるリポソーム封入型製剤（^{14}C-BAX2398）及び ^{14}C-CPT-11 単回静脈内投与後の ^{14}C-CPT-11 の動態（PEP02-NC-N-PK-007 試験）.....48

4.4 担癌マウスでの点滴静注後の骨髄性及び非骨髄性細胞集団における BAX2398 の代替となる蛍光標識リポソームの分布.....50

4.4.1 結腸直腸癌及び膵臓癌の細胞株系由来及び患者由来異種移植腫瘍モデルにおける蛍光標識 BAX2398 の腫瘍内分布（MM-398-NC-N-Ph-029 試験）.....51

4.4.2 抗 CSF-1 抗体前処置あり又は前処置なしの NOD-SCID マウスにヒト HT-29 大腸癌を異種移植した腫瘍モデルにおける腫瘍細胞での蛍光標識リポソームの分布（MM-398-NC-N-Ph-019 試験）.....52

4.4.3 抗 CSF-1 抗体前処置あり又は前処置なしの C57BL/6J マウスにマウス LLC 細胞を同種移植した腫瘍モデルにおける腫瘍細胞での蛍光標識リポソームの分布（MM-398-NC-N-Ph-020 試験）.....55

4.4.4 抗 CSF-1 抗体前処置あり又は前処置なしの C57BL/6J マウスにマウス MC-38 大腸癌を同種移植した腫瘍モデルにおける腫瘍細胞での蛍光標識リポソームの分布（MM-398-NC-N-Ph-021 試験）.....58

4.4.5 要約及び結論.....60

5 代謝.....62

6 排泄.....63

6.1 SD ラットにおける ^{14}C-BAX2398 を静脈内投与後の放射能のマスバランス及び排泄（PEP02-NC-N-PK-008 試験）.....63

7 薬物動態学的薬物相互作用.....65

8 その他の薬物動態試験.....66

9 考察及び結論.....67

10 図表.....68

参考文献.....71

表目次

表 2.6.4-1 LC/MS/MS を用いたラット血漿中イリノテカン及び SN-38 のバリデーション試験成績の要約（128-0401 試験）.....13

表 2.6.4-2 LC/MS/MS を用いたイヌ血漿中イリノテカン及び SN-38 のバリデーション試験成績の要約（128-0402 試験）.....14

表 2.6.4-3 PEP02-NC-N-PK-001 試験計画概要.....16

表 2.6.4-4 PEP02-NC-N-PK-001 試験デザイン.....16

表 2.6.4-5 SD ラットに CPT-11 及び BAX2398 を 10 mg/kg で単回静脈内投与したときのイリノテカンの PK パラメータの概要.....17

表 2.6.4-6 PEP02-NC-G-PK-003 試験計画概要.....19

表 2.6.4-7 PEP02-NC-G-PK-003 試験デザイン.....19

表 2.6.4-8 雌雄ラットに CPT-11 及び BAX2398 を単回点滴静注したときのイリノテカンの PK パラメータの概要.....21

表 2.6.4-9 雌雄ラットに CPT-11 及び BAX2398 を単回点滴静注したときの SN-38 の PK パラメータの概要.....22

表 2.6.4-10 PEP02-NC-N-PK-004 試験計画概要.....23

表 2.6.4-11 PEP02-NC-N-PK-004 試験デザイン.....23

表 2.6.4-12 ビーグル犬に CPT-11 及び BAX2398 を単回静脈内投与したときのイリノテカンの PK パラメータの概要.....24

表 2.6.4-13 PEP02-NC-N-PK-006 試験計画概要.....25

表 2.6.4-14 PEP02-NC-N-PK-006 試験デザイン.....25

表 2.6.4-15 血漿中イリノテカン濃度と封入型イリノテカン濃度との比較.....26

表 2.6.4-16 PEP02-NC-G-Tx-007 試験計画概要.....27

表 2.6.4-17 PEP02-NC-G-Tx-007 試験デザイン.....27

表 2.6.4-18 血漿中イリノテカン及び SN-38 の TK パラメータの概要.....28

表 2.6.4-19 PEP02-NC-G-Tx-006TK 試験計画概要.....29

表 2.6.4-20 PEP02-NC-G-Tx-006TK 試験デザイン.....30

表 2.6.4-21 PEP02-NC-G-Tx-006TK 試験での第 1 日のイリノテカンの TK パラメータの概要.....30

表 2.6.4-22 PEP02-NC-G-Tx-006TK 試験での第 22 日のイリノテカンの TK パラメータの概要 31

表 2.6.4-23 PEP02-NC-G-Tx-006TK 試験での第 1 日の SN-38 の TK パラメータの概要 31

表 2.6.4-24 PEP02-NC-G-Tx-006TK 試験での第 22 日の SN-38 の TK パラメータの概要 32

表 2.6.4-25 PEP02-NC-G-Tx-010 試験計画概要 33

表 2.6.4-26 PEP02-NC-G-Tx-010 試験デザイン 33

表 2.6.4-27 PEP02-NC-G-Tx-010 試験での第 1 日のイリノテカンの TK パラメータの概要 34

表 2.6.4-28 PEP02-NC-G-Tx-010 試験での第 106 日のイリノテカンの TK パラメータの概要 34

表 2.6.4-29 PEP02-NC-G-Tx-010 試験での第 1 日の SN-38 の TK パラメータの概要 35

表 2.6.4-30 PEP02-NC-G-Tx-010 試験での第 106 日の SN-38 の TK パラメータの概要 35

表 2.6.4-31 PEP02-NC-G-Tx-009 試験計画概要 37

表 2.6.4-32 PEP02-NC-G-Tx-009 試験デザイン 37

表 2.6.4-33 PEP02-NC-G-Tx-009 試験での第 1 日のイリノテカンの TK パラメータの概要 38

表 2.6.4-34 PEP02-NC-G-Tx-009 試験での第 22 日のイリノテカンの TK パラメータの概要 38

表 2.6.4-35 PEP02-NC-G-Tx-009 試験での第 1 日の SN-38 の TK パラメータの概要 39

表 2.6.4-36 PEP02-NC-G-Tx-009 試験での第 22 日の SN-38 の TK パラメータの概要 39

表 2.6.4-37 PEP02-NC-G-Tx-011 試験計画概要 40

表 2.6.4-38 PEP02-NC-G-Tx-011 試験デザイン 41

表 2.6.4-39 PEP02-NC-G-Tx-011 試験での第 1 日のイリノテカンの TK パラメータの概要 42

表 2.6.4-40 PEP02-NC-G-Tx-011 試験での第 106 日のイリノテカンの TK パラメータの概要 43

表 2.6.4-41 PEP02-NC-G-Tx-011 試験での第 1 日の SN-38 の TK パラメータの概要 44

表 2.6.4-42 PEP02-NC-G-Tx-011 試験での第 106 日の SN-38 の TK パラメータの概要 45

表 2.6.4-43 PEP02-NC-N-PK-005 試験計画概要 46

表 2.6.4-44 PEP02-NC-N-PK-005 試験デザイン 46

表 2.6.4-45 PEP02-NC-N-PK-002 試験計画概要 47

表 2.6.4-46 PEP02-NC-N-PK-002 試験デザイン 48

表 2.6.4-47 PEP02-NC-N-PK-007 試験計画概要 49

表 2.6.4-48 PEP02-NC-N-PK-007 試験デザイン（BAX2398） 49

表 2.6.4-49 PEP02-NC-N-PK-007 試験デザイン（CPT-11） 50

表 2.6.4-50 MM-398-NC-N-Ph-029 試験計画概要 51

表 2.6.4-51 MM-398-NC-N-Ph-019 試験計画概要 53

表 2.6.4-52 NOD-SCID マウスにおける投与 24 時間後の HT-29 腫瘍のフローサイトメトリー解析 54

表 2.6.4-53 MM-398-NC-N-Ph-020 試験計画概要 56

表 2.6.4-54 C57BL/6J マウスにおける投与 24 時間後の LLC 腫瘍のフローサイトメトリー解析 57

表 2.6.4-55 MM-398-NC-N-Ph-021 試験計画概要 58

表 2.6.4-56 C57BL/6J マウスにおける投与 24 時間後の MC-38 腫瘍のフローサイトメトリー解析 59

表 2.6.4-57 PEP02-NC-N-PK-008 試験デザイン 63

表 2.6.4-58 PEP02-NC-N-PK-008 試験の試料採取デザイン 63

表 2.6.4-59 マウス、ラット、イヌ及びヒトでの BAX2398 及び CPT-11 静脈内投与後のイリノテカン及び SN-38 の PK・TK データ並びに曝露量の比較 68

図目次

図 2.6.4-1 SD ラットに CPT-11 及び BAX2398 を 10 mg/kg で単回静脈内投与したときの血漿中イリノテカン濃度推移 17

図 2.6.4-2 SD ラットに CPT-11 及び BAX2398 を 10 mg/kg で単回静脈内投与したときの血漿中 SN-38 濃度推移 18

図 2.6.4-3 SD ラットに BAX2398 を 6、20 及び 60 mg/kg で点滴静注したときの血漿中イリノテカン濃度推移 20

図 2.6.4-4 SD ラットに CPT-11 を 20 mg/kg で点滴静注したときの血漿中イリノテカン濃度推移 20

図 2.6.4-5 SD ラットに BAX2398 を 6、20 及び 60 mg/kg で点滴静注したときの血漿中 SN-38 濃度推移 21

図 2.6.4-6 SD ラットに CPT-11 を 20 mg/kg で点滴静注したときの血漿中 SN-38 濃度推移 22

図 2.6.4-7 ビーグル犬に CPT-11 及び BAX2398 を 10 mg/kg で単回静脈内投与したときの血漿中イリノテカン濃度推移 23

図 2.6.4-8 ビーグル犬に CPT-11 及び BAX2398 を 10 mg/kg で単回静脈内投与したときの血漿中 SN-38 濃度推移 24

略号及び用語の説明

記号	日本語	英語
AF	蓄積係数	accumulation factor
APC	イリノテカンのアミノ吉草酸代謝物	7-ethyl-10-[4-N-(5-aminopentanoic acid)-1-piperidino]-carbonyloxycamptothecin, aminopentanoic acid metabolite of irinotecan
API	医薬品有効成分	active pharmaceutical ingredient
AUC	濃度－時間曲線下面積	area under the concentration-time curve
$AUC_{0\text{-}inf}$	無限時間までの濃度－時間曲線下面積	area under the concentration-time curve extrapolated infinity
$AUC_{0\text{-}thr}$	0 時間から t 時間までの濃度－時間曲線下面積	area under the concentration-time curve from time 0 to t hours
BAX2398	ナノリポソーム型 CPT-11 別称：nLS-CPT-11、nal-IRI、Lipo-CPT-11、HBI-202、PEP02 及び MM-398	nanoliposomal CPT-11, nLS-CPT-11, nal-IRI, Lipo-CPT-11, HBI-202, PEP02 and MM-398
BDC	胆管カニューレ装着	bile duct cannulated
BLQ	定量限界未満	below lower limitation of quantification
CES	カルボキシルエステラーゼ	Carboxylesterase
CL	クリアランス	Clearance
C_{max}	最高濃度	maximum concentration
CPT-11	イリノテカン塩酸塩水和物（JAN）	irinotecan hydrochloride hydrate (Japanese Accepted Name)
CSF1	コロニー刺激因子 1	colony stimulating factor-1
CYP	シトクロム P450	cytochrome P450
DiI5	脂溶性カルボシアニン色素 $DiIC_{18}(5)$-DS 標識	fluorescent lipophilic carbocyanine $DiIC_{18}(5)$-DS tag
DNA	デオキシリボ核酸	deoxyribonucleic acid
EpCAM	上皮細胞接着分子	epithelial cell adhesion molecule
FITC	フルオレセインイソチオシアネート	fluorescein isothiocyanate
HPLC	高速液体クロマトグラフィー	high pressure liquid chromatography
λ (lambda)	消失速度定数	elemination rate constant
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析	liquid chromatography-tandem mass spectrometry
LLC	ルイス肺癌	Lewis lung carcinoma
LLOQ	定量下限	lower limit of quantification
MDSC	骨髄由来免疫抑制細胞	myeloid-derived suppressor cell
MFI	平均蛍光強度	mean fluorescence intensity
MO-MDSC	単球骨髄由来免疫抑制細胞	mononuclear MDSC
MRT	平均滞留時間	mean residence time
NOD	非肥満糖尿病	non obese diabetes

略号及び用語の説明（続き）

記号	日本語	英語
NPC	イリノテカンのアミノピペリジノ代謝物	7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-amino]-carbonyloxycamptothecin, amino-piperidino metabolite of irinotecan
PK	薬物動態	Pharmacokinetics
PMN-MDSC	多形核骨髄由来免疫抑制細胞	polymorphonuclear MDSC
RES	細網内皮系	reticuloendothelial system
SCID	重症複合免疫不全	severe combined immune deficiency
SD	標準偏差	standard deviation
SD ラット	Sprague Dawley ラット	Sprague Dawley rat
SN-38	イリノテカンの活性代謝物	7-ethyl-10-hydroxy-camptothecin, active metabolite of irinotecan
SN-38G	SN-38 グルクロン酸抱合代謝物	SN-38 glucuronide
$t_{1/2}$	消失半減期	elimination half-life
TK	トキシコキネティクス	Toxicokinetic
T_{max}	最高濃度到達時間	time to maximum concentration
UGT1A	ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素 1A	uridine diphosphate-glucuronosyl transferase 1A
V_d	分布容積	volume of distribution
V_{ss}	定常状態での分布容積	volume of distribution at steady-state

1　まとめ

BAX2398 は、医薬品有効成分（API）のイリノテカン塩酸塩水和物（CPT-11）を封入したリポソーム製剤である。本剤は、固形癌の単独及び併用療法のために開発された。

吸収を評価した全ての試験及び一部の分布試験において、1 用量以上の BAX2398 を CPT-11 と比較した。特に断りのない限り、BAX2398 投与後のイリノテカン濃度は、封入型イリノテカン及び非封入型イリノテカンを分離せずに測定しているため、これらの総濃度を表す。一部の試験では、イリノテカンの主要活性代謝物である SN-38 濃度を定量した。本項 4.4 に示す蛍光標識リポソームを用いた試験では、各投与量はリポソーム重量に基づき mg/kg で示した。それ以外の試験では、BAX2398 又は CPT-11 にかかわらず、各投与量は CPT-11 に基づき表示した。CPT-11 50 mg はイリノテカン 43 mg に相当する。

単回及び反復投与時のイリノテカン及び SN-38 の薬物動態（PK）は、独立した PK 試験又は毒性試験の一部として、マウス、ラット及びイヌで評価した。ラット及びイヌは毒性評価でも用いられた。ラット及びイヌは BAX2398 又は CPT-11 の単回静脈内ボーラス投与、若しくは 90 分間点滴静注を受けた。

投与後の様々な時間間隔で血液試料を採取し、イリノテカン及び SN-38 濃度を評価した。最高濃度（C_{max}）、濃度－時間曲線下面積（AUC）、消失半減期（$t_{1/2}$）を算出し、比較した。

イヌを用いた 1 試験では BAX2398 投与時のイリノテカン濃度に対する封入型イリノテカン濃度の割合を算出した。イヌに BAX2398 を 10 mg/kg の用量で単回静脈内ボーラス投与後の血漿試料では、投与後 36 時間にわたりイリノテカンの 75%以上が封入型であり、このことから、血漿中イリノテカン濃度の減少は封入型イリノテカン濃度の減少とほぼ一致することが示唆された。

BAX2398 を点滴静注したときのイリノテカンの C_{max} は、CPT-11 を同用量（mg/kg）投与したときと比較して高かった。BAX2398 を投与したときの血漿中イリノテカン及び SN-38 の AUC は、CPT-11 を同用量投与したときと比較して高かった。さらに、BAX2398 を投与したとき、イリノテカン及び SN-38 のいずれも全身循環からの消失が遅延した。これらのデータ及び BAX2398 投与時の $t_{1/2}$ が CPT-11 投与時に比べて延長することから明らかなように、イリノテカンの全身滞留時間は延長することが示された。

イリノテカン及び SN-38 は、血漿タンパクに対してそれぞれ中程度及び強く結合し、結合率はそれぞれ約 65%及び約 95%であった［1］。非臨床動物種での BAX2398 の血漿タンパク結合率は算出されていない。BAX2398 のヒト血漿タンパクに対する結合はごくわずかであり、結合する特定のタンパクも検出されなかった（2.7.2.2.2.1 項）。

ヒト HT-29 大腸癌異種移植マウス及びラット（2 試験）で組織内分布試験が実施された。

ヒト HT-29 大腸癌異種移植重症複合免疫不全（SCID）マウスでのデータから、BAX2398 投与時の血漿、腫瘍及び様々な組織中イリノテカン及び SN-38 の曝露量（AUC）は、CPT-11 投与時に比べて顕著に高いことが示された。

概して、^{14}C-CPT-11 のリポソーム封入型製剤（^{14}C-BAX2398）投与時のラット組織では、^{14}C-CPT-11 投与時と比較して組織中放射能濃度は高く、より長期間高濃度を維持した。しかしながら、ラットにおける ^{14}C-CPT-11 点滴静注後の消化管内容物中放射能濃度は、^{14}C-BAX2398 投

与時と比較して顕著に高かったことから、^{14}C-BAX2398 は ^{14}C-CPT-11 ほど速やかに消失しないことが示唆された。このことから、^{14}C-BAX2398 投与時のラットで高い組織中放射能濃度が長時間維持されることが説明できる。ラットにおける ^{14}C-BAX2398 投与時の中枢神経系での放射能濃度は、^{14}C-CPT-11 投与時と比較して高かったが、投与終了時の血漿中放射能濃度に対する中枢神経系での放射能濃度比は、^{14}C-BAX2398 投与時と比較して ^{14}C-CPT-11 投与時で大きかった。いずれの群でも、放射能が眼ブドウ膜で検出され、眼のメラニンに対する結合が示唆された。

概して、BAX2398 投与群での血漿、肝臓及び脾臓中イリノテカン及び SN-38 濃度は、評価した全ての時点において CPT-11 投与群より高かった。BAX2398 投与群では、脾臓及び肝臓中イリノテカンは投与 168 時間後まで検出され、脾臓及び肝臓中 SN-38 はそれぞれ投与 168 時間及び 72 時間後まで検出された。CPT-11 投与 48 時間後には脾臓及び肝臓中にイリノテカン及び SN-38 は検出されなかった。リポソーム化によって、血漿中イリノテカン及び SN-38 の滞留時間が効果的に延長し、また肝臓及び脾臓中イリノテカン及び SN-38 濃度が上昇した。BAX2398 及び CPT-11 投与後の骨髄中イリノテカン及び SN-38 濃度に明らかな差異は認められなかった。

BAX2398 と相互作用する可能性のある腫瘍細胞型に関する知見を得るため、様々な腫瘍モデル［HT29、ルイス肺癌（LLC）及び MC-38］のフローサイトメトリー解析を行った。得られたデータから、他の骨髄性又は非骨髄性細胞集団と比較して、F4/80 陽性成熟マクロファージはその集団サイズに比してはるかに大きい割合の全細胞内リポソーム負荷量を競合的に集積することが示唆された。また、成熟マクロファージは少なくともリポソーム到達 72 時間後まで薬物又はその代謝物を部分的に保持する可能性がある。画像からは、リポソームの「ホットスポット」が一貫して腫瘍間質の血管周囲領域に確認された。腫瘍細胞でのデオキシリボ核酸（DNA）損傷に付随する所見として、腫瘍細胞内に放出されたペイロードのバイオアベイラビリティが示されたが、これは間質領域では認められなかった。

非臨床の独立した代謝試験は実施しなかった。SN-38 はイリノテカンの活性代謝物であることが報告されている［1］。イリノテカンのカンプトテシン部位とジピペリジノ側鎖との間のカルバメート結合がカルボキシルエステラーゼ（CES）によって切断されることにより、SN-38 が生成される。非臨床の吸収及び分布試験において SN-38 の PK が評価された。SN-38 はその後、主にウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素 1A（UGT1A）分子種によって抱合され、SN-38 グルクロン酸抱合代謝物（SN-38G）となる。

排泄に関して、^{14}C-BAX2398 を用いたラットでのマスバランス試験の結果、主要排泄経路は糞中であることが示された。

結論として、PK 及びトキシコキネティクス（TK）試験から、BAX2398 はリポソーム医薬品の設計特性［滞留時間の延長、腫瘍組織への分布の増加、AUC の増加、クリアランス（CL）の低下及び分布容積（V_d）の低下］を満たすことが示された。

2　分析法

2.1　放射化学的手順

^{14}C-BAX2398 又は ^{14}C-CPT-11 投与後の生体試料中放射能の測定は、定量的全身オートラジオグラフィーで行った。血液、血漿、尿、糞及び胆汁中放射能濃度は液体シンチレーションカウンターによって測定した。CPT-11 の放射性標識体は文献［8］に記載されている手順に従って調製した。^{14}C-CPT-11 の構造を図 2.4-2 に示す。

2.2　高速液体クロマトグラフィーの手順

血漿及び組織中イリノテカン（封入型及び非封入型イリノテカン）及び SN-38 濃度は高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（LC/MS/MS）又は蛍光検出器で測定した。BAX2398 を投与したマウス、ラット及びイヌから採取した血漿及び組織中イリノテカン濃度から PK パラメータを算出した。

ラット及びイヌで実施した一連の PK 及び TK 試験を裏付けるため、LC/MS/MS 分析法が構築及びフルバリデートされた。いずれの種においても、試料採取後に *in vitro* でのイリノテカンから SN-38 への変換を最小限にするため、エチレンジアミン四酢酸カリウム血漿にテノイルトリフルオロアセトンを 2.5 mg/mL となるように添加した。バリデートされた LC/MS/MS 分析法では、血漿を除タンパク法により抽出し、逆相高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を備えたターボイオンスプレーMS/MS によりラット及びイヌ血漿中イリノテカン及び SN-38 濃度を定量した（ラット：128-0401 試験、イヌ：128-0402 試験）。イリノテカンの定量下限（LLOQ）はラット及びイヌでそれぞれ 0.2 及び 20 ng/mL、SN-38 の LLOQ はいずれの種でも 1 ng/mL であった。

ラット及びイヌ血漿中イリノテカン及び SN-38 のバリデーション試験成績はそれぞれ表 2.6.4-1 及び表 2.6.4-2 に要約する。

表 2.6.4-1 LC/MS/MS を用いたラット血漿中イリノテカン及び SN-38 のバリデーション試験成績の要約（128-0401 試験）

Parameter	Result	
	Irinotecan	SN-38
Linerity (Regression Analysis)	Liner fit from 0.2 to 200 ng/mL	Liner fit from 1 to 1000 ng/mL
Intraday Accuracy	8.0% at LLOQ of 0.2 ng/mL, -1.9 to 6.2% from 0.6 to 180 ng/mL	5.8% at LLOQ of 1 ng/mL, 1.5 to 6.8% from 3 to 900 ng/mL
Intraday Precision	6.9% at LLOQ of 0.2 ng/mL, 5.8 to 6.0% from 0.6 to 180 ng/mL	4.9% at LLOQ of 1 ng/mL, 2.4 to 3.1% from 3 to 900 ng/mL
Interday Accuracy	-0.5 to 7.4% from 0.6 to 180 ng/mL	2.4 to 7.7% from 3 to 900 ng/mL
Interday Precision	6.5 to 8.4% from 0.6 to 180 ng/mL	2.6 to 3.3% from 3 to 900 ng/mL
LLOQ	0.2 ng/mL	1 ng/mL
Specificity	0.0%	0.0%
Dilution Effect	6.8% (500 ng/mL was diluted by 100) 8.8% (8000 ng/mL was diluted by 1000)	3.3% (2500 ng/mL was diluted by 100)
Recovery	79.2 to 86.4% from 0.6 to 100 ng/mL	89.6 to 97.0% from 3 to 500 ng/mL
Matrix Effect	57.4 to 61.8% from 0.6 to 100 ng/mL	35.4 to 54.5% from 3 to 500 ng/mL
Stability (Room Temperature)	-0.5% at 0.6 ng/mL and 2.3% at 180 ng/mL for 15 hours	1.0% at 3 ng/mL and 4.8% at 900 ng/mL for 15 hours
Stability (freeze-thaw)	-3.7% at 0.6 ng/mL and 4.1% at 180 ng/mL for 3 freeze-thaw cycles	2.9% at 3 ng/mL and 7.4% at 900 ng/mL for 3 freeze-thaw cycles
Stability (Autosampler at 4ºC)	-4.2 to 4.8% from 60 to 18000 ng/mL for 110 hours	-17.2 to 3.6 from 3 to 900 ng/mL for 110 days
Stability (Analyte Stock Solution)	-10.0% with 881.8 µg/mL solution stored at -20ºC for 111 days and -7.3% with 12.791 mg/mL solution stored at room temperature for 18.5 hours	-7.4% with 336.0 µg/mL solution stored at -20ºC for 167 days and -9.9% with 1.058 mg/mL solution stored at room temperature for 18.5 hours
Stability (Long-Term Frozen at -70ºC)	-4.7% at 0.6 ng/mL and 0.0% at 180 ng/mL for 148 days	6.4% at 3 ng/mL and -3.6% at 900 ng/mL for 148 days

LLOQ: lower limit of quantification, SN-38: active metabolite of irinotecan

表 2.6.4-2 LC/MS/MS を用いたイヌ血漿中イリノテカン及び SN-38 のバリデーション試験成績の要約（128-0402 試験）

Parameter	Result	
	Irinotecan	SN-38
Linerity (Regression Analysis)	Liner fit from 20 to 20000 ng/mL	Liner fit from 1 to 1000 ng/mL
Intraday Accuracy	15.4% at LLOQ of 20 ng/mL, -12.3 to 11.1% from 60 to 18000 ng/mL	2.7% at LLOQ of 1 ng/mL, -10.2 to 6.1% from 3 to 900 ng/mL
Intraday Precision	7.9% at LLOQ of 20 ng/mL, 4.2 to 10.3% from 60 to 18000 ng/mL	18.5% at LLOQ of 1 ng/mL, 3.9 to 7.3% from 3 to 900 ng/mL
LLOQ	20 ng/mL	1 ng/mL
Specificity	0.0%	0.0%
Dilution Effect	-4.7% (60000 ng/mL was diluted by 1000)	-9.0% (3000 ng/mL was diluted by 1000)
Recovery	61.2 to 89.6% from 60 to 10000 ng/mL	57.1 to 80.6% from 3 to 500 ng/mL
Matrix Effect	1.8 to 91.5% from 60 to 10000 ng/mL	13.4 to 16.4% from 3 to 500 ng/mL
Stability (Room Temperature)	4.5% at 60 ng/mL and -12.8% at 18000 ng/mL for 16.5 hours	-9.1% at 3 ng/mL and -9.1% at 900 ng/mL for 16.5 hours
Stability (freeze-fhaw)	12.8% at 60 ng/mL and -1.8% at 18000 ng/mL for 3 freeze-thaw cycles	3.7% at 3 ng/mL and 3.2% at 900 ng/mL for 3 freeze-thaw cycles
Stability (Autosampler at 4°C)	-4.2 to 4.8% from 60 to 18000 ng/mL for 110 hours	-17.2 to 3.6% from 3 to 900 ng/mL for 110 days
Stability (Analyte Stock Solution)	-10.0% with 881.8 µg/mL solution stored at -20°C for 111 days and -7.3% with 12.791 mg/mL solution stored at room temperature for 18.5 hours	-7.4% with 336.0 µg/mL solution stored at -20°C for 167 days and -9.9% with 1.058 mg/mL solution stored at room temperature for 18.5 hours
Stability (Long-Term Frozen at -70°C)	1.7% at 60 ng/mL and 4.6% at 18000 ng/mL for 455 days	28.7% at 3 ng/mL and 1.3% at 900 ng/mL for 455 days

LLOQ: lower limit of quantification, SN-38: active metabolite of irinotecan

結論として、ラット及びイヌ血漿中イリノテカン及び SN-38 の測定法はバリデートされた。

一方、以前に血漿及び組織中濃度分析のための蛍光検出器を用いた HPLC 分析法が構築されたが、フルバリデートされなかった。しかしながら、本法はイリノテカン及び SN-38 の分析にあたって許容可能な感度及び選択性を有していた。マウス血漿、組織及び腫瘍中濃度の分析法において、血漿中イリノテカン及び SN-38 の LLOQ はいずれも 20 ng/mL、組織及び腫瘍内イリノテカン及び SN-38 の LLOQ はそれぞれ 2.5 及び 2 ng/mL であった。ラット及びイヌでのパイロット PK 試験において、血漿又は組織中濃度を確実に検出できるようにするため、蛍光検出法の LLOQ は採取時点ごとに異なっていた。

イヌ血漿では、封入型イリノテカンを分離するためゲルろ過クロマトグラフィー法が用いられた。非封入型イリノテカンは分子ふるいを受けるが、封入型イリノテカンは分子ふるいを受けな

いため排除限界として回収された。その後、排除限界に含まれる封入型イリノテカン濃度を HPLC で測定した。

3 吸収

3.1 単回投与時の薬物動態

3.1.1 SD ラットにおける BAX2398 単回静脈内投与後の血漿中濃度（パイロット試験）（PEP02-NC-N-PK-001 試験）

本試験の目的は、ラットに BAX2398 及び CPT-11 を単回静脈内ボーラス投与したときのイリノテカン及び SN-38 の PK プロファイルを検討することであった。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.4-3 及び表 2.6.4-4 に示す。

表 2.6.4-3 PEP02-NC-N-PK-001 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398、CPT-11、10 mg/kg、単回投与（5 mg/mL）
投与経路	静脈内ボーラス投与
動物種	雄 SD ラット、344～392 g
分析法	HPLC 蛍光検出器を用いて血漿中イリノテカン及び SN-38 を分析した。
PK 解析	指定された時間間隔［投与前（0 時点）、静脈内投与 0.083、1、2、4、8、12、24、48 及び 72 時間後］で頸動脈から約 0.5 mL の血液を採取した。非線形回帰法を用いてノンコンパートメント解析により PK パラメータを算出した。ノンコンパートメント解析及び一次反応速度論に従って以下のパラメータを算出した；$t_{1/2}$（0.693/λ）、無限時間までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}inf}$）、時点 t までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}t}$）、CL（Dose/$AUC_{0\text{-}inf}$）及び V_d（CL/λ）

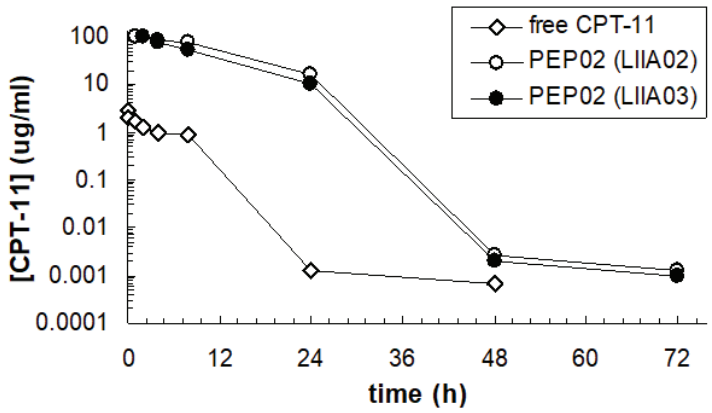
表 2.6.4-4 PEP02-NC-N-PK-001 試験デザイン

Group	Number of Animals/Sex	Dosing Regimens (mg/kg)
CPT-11	2 Male	10; IV x 1
BAX2398 Batch LIIA02	3 Male	10; IV x 1
BAX2398 Batch LIIA03	3 Male	10; IV x 1

BAX2398: nanoliposomal irinotecan, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, IV: intravenous

投与前に測定した体重に基づく用量を投与した。BAX2398 及び CPT-11 の 10 mg/kg 単回静脈内投与後 72 時間までの血漿中イリノテカン及び SN-38 濃度を定量した。BAX2398 及び CPT-11 を 10 mg/kg 単回静脈内投与後の血漿中イリノテカン濃度推移及び PK パラメータをそれぞれ図 2.6.4-1 及び表 2.6.4-5 に示す。

図 2.6.4-1 SD ラットに CPT-11 及び BAX2398 を 10 mg/kg で単回静脈内投与したときの血漿中イリノテカン濃度推移



BAX2398: nanoliposomal irinotecan, h: hours
Each point in graph presents the mean.
Free CPT-11 in legend indicates irinotecan hydrochloride hydrate.
PEP02 in legend indicates BAX2398.
CPT-11 in y axis indicates irinotecan.

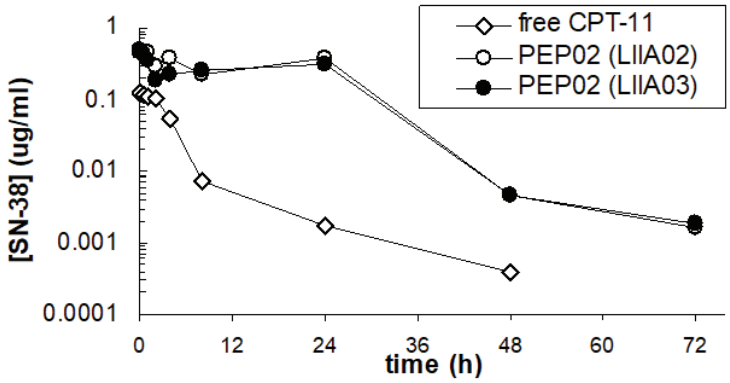
表 2.6.4-5 SD ラットに CPT-11 及び BAX2398 を 10 mg/kg で単回静脈内投与したときのイリノテカンの PK パラメータの概要

Test Article	Statistic	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (μg·hr/mL)	$AUC_{0\text{-}t}$ (μg·hr/mL)	CL (mL/hr/kg)	V_d (mL/kg)
CPT-11	Mean	1.79	15.99	15.99	630.95	1619.71
	SD	0.22	2.12	2.12	83.77	13.44
BAX2398 (LIIA02)	Mean	3.60	1477.24	1477.23	7.69	40.39
	SD	0.17	596.96	596.96	3.51	19.74
BAX2398 (LIIA03)	Mean	3.37	1188.92	1188.92	9.07	44.10
	SD	0.57	430.30	430.30	2.72	16.22

$AUC_{0\text{-}inf}$: area under the concentration-time curve extrapolated infinity, $AUC_{0\text{-}t}$: area under the concentration-time curve to sampling time t, BAX2398: nanoliposomal irinotecan, CL: cleareance, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, SD = standard deviation, $t_{1/2}$: elimination half-life, V_d: volume of distribution

BAX2398 及び CPT-11 を 10 mg/kg の用量で単回静脈内投与後の血漿中 SN-38 濃度推移を図 2.6.4-2 に示す。

図 2.6.4-2 SD ラットに CPT-11 及び BAX2398 を 10 mg/kg で単回静脈内投与したときの血漿中 SN-38 濃度推移



BAX2398: nanoliposomal irinotecan, h: hours, SN-38: active metabolite of irinotecan
Each point in graph presents the mean.
Free CPT-11 in legend indicates irinotecan hydrochloride hydrate.
PEP02 in legend indicates BAX2398.

BAX2398 の 2 つのロット間で血漿中イリノテカン及び SN-38 濃度推移は類似していた。リポソーム化によって血漿中イリノテカン濃度は上昇し、血漿中に検出される時点が延長した。

BAX2398 を投与したときのイリノテカンの $AUC_{0\text{-}inf}$ の平均値は、CPT-11 を投与したときと比較して約 74～92 倍高かった。PK 解析より、CPT-11 を投与したときのイリノテカンの $t_{1/2}$ は、いずれの BAX2398 を投与したときと比較しても短いことが示された。さらに、BAX2398 の 2 つのロット（LIIA02 及び LIIA03）投与 24 時間後のイリノテカン濃度は、CPT-11 を投与したときと比較してそれぞれ 12469 及び 8115 倍高かった。概して、リポソーム化によってラット血漿中イリノテカン及び SN-38 濃度は上昇し、循環血中の滞留時間が延長した。

3.1.2 SD ラットにおける BAX2398 単回静脈内投与 PK 試験（PEP02-NC-G-PK-003 試験）

本試験の目的は、SD ラットに 90 分にわたり BAX2398 及び CPT-11 を点滴静注したときの PK プロファイルを検討することであった。さらに、死亡及びケージサイドでの一般状態を 1 日 1 回観察及び記録した。割付け前及び投与前に全ての動物の摂餌下での体重を記録した。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.4-6 及び表 2.6.4-7 に示す。

表 2.6.4-6 PEP02-NC-G-PK-003 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398：6、20 及び 60 mg/kg、90 分間単回点滴静注 CPT-11：20 mg/kg、90 分間単回点滴静注
投与経路	90 分間点滴静注、6.67 mL/kg/hr
動物種	SD ラット、約 8 週齢の雄（体重：285～310 g）、約 12～13 週齢の雌（体重：262～306 g）
分析法	バリデートされた LC/MS/MS 分析法（128-0401 試験）を用いて血漿中イリノテカン及び SN-38 を分析した。
PK 解析	血液試料：投与前及び投与後の 9 時点（CPT-11 群では投与 0.083、1、4、8、12、16、20、24 及び 48 時間後；BAX2398 群では投与 0.083、1、6、12、24、36、48、72 及び 168 時間後）で採取した（各ラット 5 時点及び雌雄各 3 匹／時点／群）。 死亡及び一般状態：1 日 1 回。 摂餌下での体重：全ての動物で割付け前及び第 1 日の投与前に各 1 回。 終了手順：最終時点で試料を採取した後に安楽死させた。 イリノテカン及び SN-38 の PK データ解析を実施した。ノンコンパートメント解析により PK パラメータを算出した。C_{max}、最高濃度到達時間（T_{max}）、$t_{1/2}$、0 時間から測定可能な最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{0-t}）、AUC_{0-inf} を算出した。算出には既定の評価時間を用いた。

表 2.6.4-7 PEP02-NC-G-PK-003 試験デザイン

Group	Number of Animals/Sex	Dosing Regimens (mg/kg)
BAX2398	Male/Female 6/6	6; IV x 1
BAX2398	Male/Female 6/6	20; IV x 1
BAX2398	Male/Female 6/6	60; IV x 1
CPT-11	Male/Female 6/6	20; IV x 1

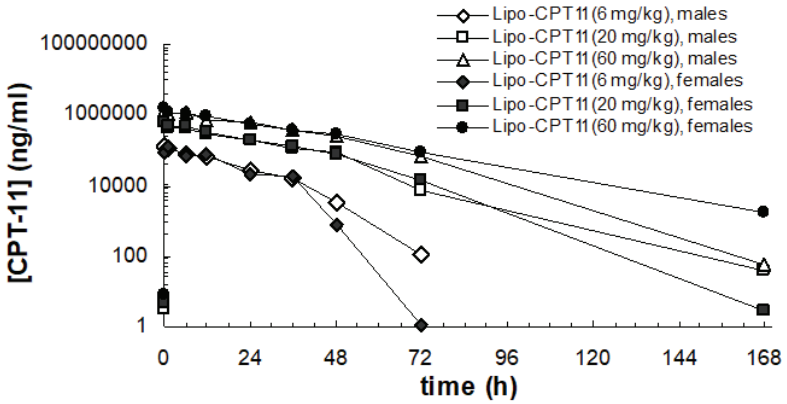
BAX2398: nanoliposomal irinotecan, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, IV: intravenous

ラットに BAX2398 及び CPT-11 を投与したときの血漿中イリノテカン濃度推移を図 2.6.4-3 及び図 2.6.4-4 に、PK パラメータを表 2.6.4-8 に示す。BAX2398 を 6、20 及び 60 mg/kg の用量で投与したときの血漿中イリノテカン濃度の消失は非線形を示し、$t_{1/2}$ は雄でそれぞれ 5.7、11.3 及び 10.1 時間、雌で 3.2、8.4 及び 16.9 時間であった。イリノテカンの AUC の増加は概ね用量比例的であった。

CPT-11 を 20 mg/kg の用量で単回点滴静注したときのイリノテカンの AUC_{0-inf} は、BAX2398 を同用量投与したときと比較して雌雄共に 1/1000 未満であった。CPT-11 を投与したときの定常状態の分布容積（V_{ss}）は、BAX2398 を同用量投与したときと比較して約 100 倍高く、その結果、CL は 1000 倍超高かった（表 2.6.4-8）。SN-38 の PK パラメータを表 2.6.4-9 に示す。SN-38 及びイリノテカンの濃度推移は類似しており、BAX2398 を 6 及び 20 mg/kg の用量で投与したときの SN-38 及びイリノテカンの $t_{1/2}$ も類似していた（図 2.6.4-5 及び図 2.6.4-6）。BAX2398 を点滴静注したときの血漿中 SN-38 の C_{max} 及び AUC は、CPT-11 を点滴静注したときと比較して高かっ

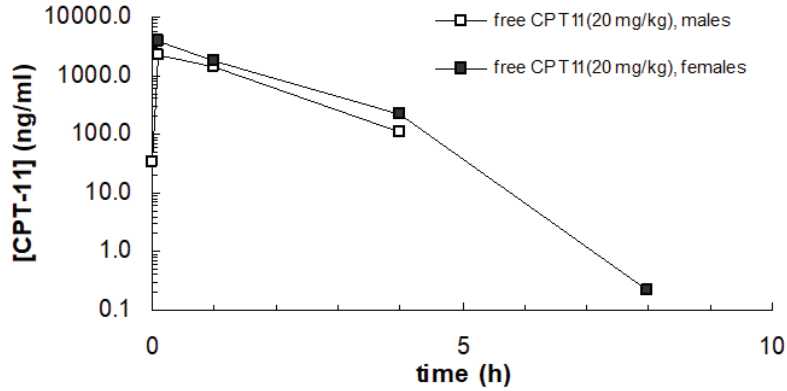
た。BAX2398 又は CPT-11 のいずれを投与したときでも、イリノテカン及び SN-38 の PK パラメータに顕著な性差はみられなかった。

図 2.6.4-3 SD ラットに BAX2398 を 6、20 及び 60 mg/kg で点滴静注したときの血漿中イリノテカン濃度推移



BAX2398: nanoliposomal irinotecan, h: hours
Each point in graph presents the mean.
Lipo-CPT11 in legend indicates BAX2398.
CPT-11 in y axis indicates irinotecan.

図 2.6.4-4 SD ラットに CPT-11 を 20 mg/kg で点滴静注したときの血漿中イリノテカン濃度推移



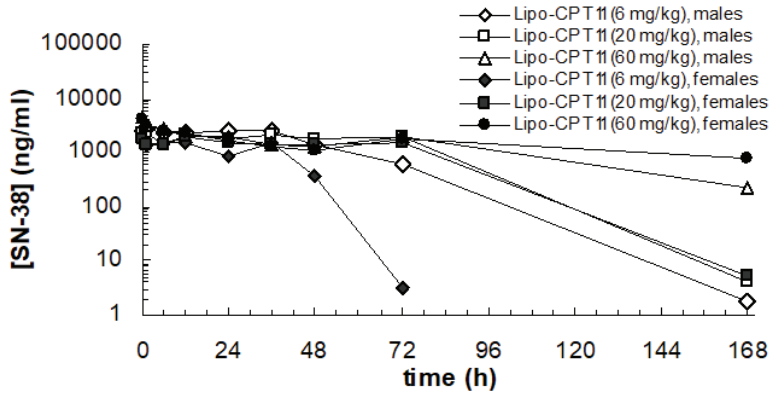
h: hours
Each point in graph presents the mean.
Free CPT-11 in legend indicates irinotecan hydrochloride hydrate.
CPT-11 in y axis indicates irinotecan.

表 2.6.4-8 雌雄ラットに CPT-11 及び BAX2398 を単回点滴静注したときのイリノテカンの PK パラメータの概要

Test item/Dose (mg/kg)	Sex	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·hr/mL)	CL (mL/hr/kg)	V_{ss} (mL/kg)
BAX2398/6	Male	5.7	2263708	2.65	40.1
	Female	3.2	1976596	3.04	40.7
BAX2398/20	Male	11.3	12362255	1.62	33.9
	Female	8.4	13517775	1.48	32.3
BAX2398/60	Male	10.1	37782171	1.59	41.4
	Female	16.9	40712578	1.47	41.0
CPT-11/20	Male	0.9	6121	3267	4833
	Female	0.5	9223	2169	3255

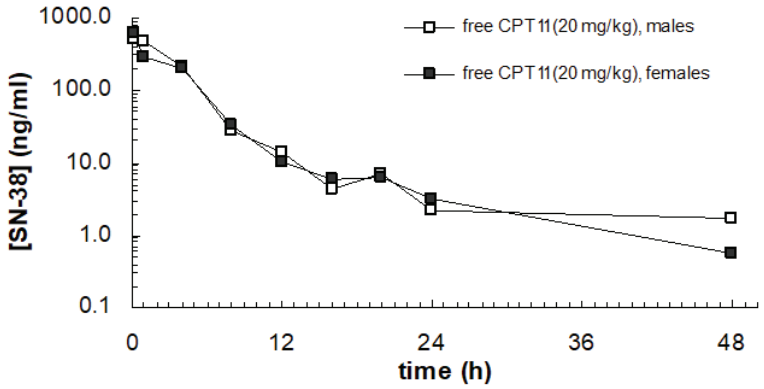
$AUC_{0\text{-}inf}$: area under the concentration-time curve extrapolated infinity, BAX2398: nanoliposomal irinotecan, CL: cleareance, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, $t_{1/2}$: elimination half-life, V_{ss}: volume of distribution at steady-state
Pharmacokinetic parameters are caluculated from mean concentration.

図 2.6.4-5 SD ラットに BAX2398 を 6、20 及び 60 mg/kg で点滴静注したときの血漿中 SN-38 濃度推移



BAX2398: nanoliposomal irinotecan, h: hours, SN-38: active metabolite of irinotecan
Each point in graph presents the mean.
Lipo-CPT11 in legend indicates BAX2398.

図 2.6.4-6 SD ラットに CPT-11 を 20 mg/kg で点滴静注したときの血漿中 SN-38 濃度推移



h: hours, SN-38: active metabolite of irinotecan
Each point in graph presents the mean.
Free CPT-11 in legend indicates irinotecan hydrochloride hydrate.

表 2.6.4-9 雌雄ラットに CPT-11 及び BAX2398 を単回点滴静注したときの SN-38 の PK パラメータの概要

Test item/Dose (mg/kg)	Sex	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·hr/mL)
BAX2398/6	Male	2718	1.0	12.4	169566
	Female	1783	0.083	5.5	64882
BAX2398/20	Male	2425	1.0	13.8	236185
	Female	1937	12.0	15.3	188153
BAX2398/60	Male	4525	0.083	48.1	202086
	Female	4265	0.083	ND	ND
CPT-11/20	Male	501	0.083	14.2	2613
	Female	600	0.083	8.6	2313

$AUC_{0\text{-}inf}$: area under the concentration-time curve extrapolated infinity, BAX2398: nanoliposomal irinotecan, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, ND: not determined (Could not be determined due to limited plasma concentration time data), $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration
Pharmacokinetic parameters are caluculated from mean concentration.

試験期間を通して死亡は認められなかった。BAX2398 を投与したときに毒性学的に意義のある臨床所見は認められず、CPT-11 を投与したときもいずれの動物でも有害な臨床所見は観察されなかった。

3.1.3 ビーグル犬における BAX2398 単回静脈内投与後の血漿中濃度（パイロット試験）（PEP02-NC-N-PK-004 試験）

本試験の目的は、イヌに BAX2398 及び CPT-11 を 10 mg/kg の用量で単回静脈内ボーラス投与したときのイリノテカン及び SN-38 の PK プロファイルを検討することであった。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.4-10 及び表 2.6.4-11 に示す。

表 2.6.4-10 PEP02-NC-N-PK-004 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398、CPT-11、10 mg/kg、単回投与
投与経路	静脈内ボーラス投与
動物種	雄ビーグル犬、4.88～6.00 kg
分析法	HPLC 蛍光検出器を用いて血漿中イリノテカン及び SN-38 を分析した。
PK 解析	血液試料：CPT-11 群では投与前並びに投与 0.083、1、4、8、12、16、20、24 及び 48 時間後、BAX2398 群では投与前並びに投与 0.083、1、6、12、24、36、48、72 及び 168 時間後に採取した。データは平均値±標準偏差（SD）で示した。非線形回帰法を用いてノンコンパートメント解析により PK パラメータを算出し、平均値±SD で示した。ノンコンパートメント解析及び一次反応速度論に従って以下のパラメータを算出した；$t_{1/2}$（0.693/λ）、$AUC_{0\text{-inf}}$、時点 t までの濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-t}}$）、CL（Dose/$AUC_{0\text{-inf}}$）及び V_d（CL/λ）

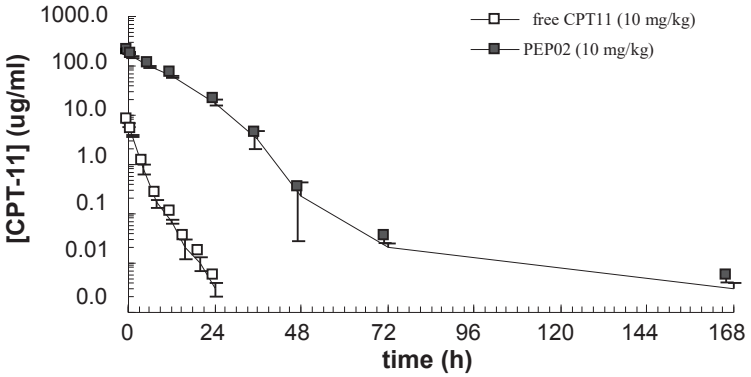
表 2.6.4-11 PEP02-NC-N-PK-004 試験デザイン

Group	Number of Animals/Sex[a]	Dosing Regimens (mg/kg)
CPT-11	3 Male	10; IV x 1
BAX2398	3 Male	10; IV x 1

BAX2398: nanoliposomal irinotecan, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, IV: intravenous
a: The same 3 dogs were used for both dosing regimens in succession
The dosing volume administered was based on body weight recorded before administration

投与前に測定した体重に基づく用量を投与した。血漿中イリノテカン濃度推移及び PK パラメータをそれぞれ図 2.6.4-7 及び表 2.6.4-12 に示す。

図 2.6.4-7 ビーグル犬に CPT-11 及び BAX2398 を 10 mg/kg で単回静脈内投与したときの血漿中イリノテカン濃度推移



BAX2398: nanoliposomal irinotecan, h: hours
Free CPT11 in legend indicates irinotecan hydrochloride hydrate.
PEP02 in legend indicates BAX2398.
CPT-11 in y axis indicates irinotecan.
Each point in graph presents the mean ± standard deviation.

表 2.6.4-12 ビーグル犬に CPT-11 及び BAX2398 を単回静脈内投与したときのイリノテカンの PK パラメータの概要

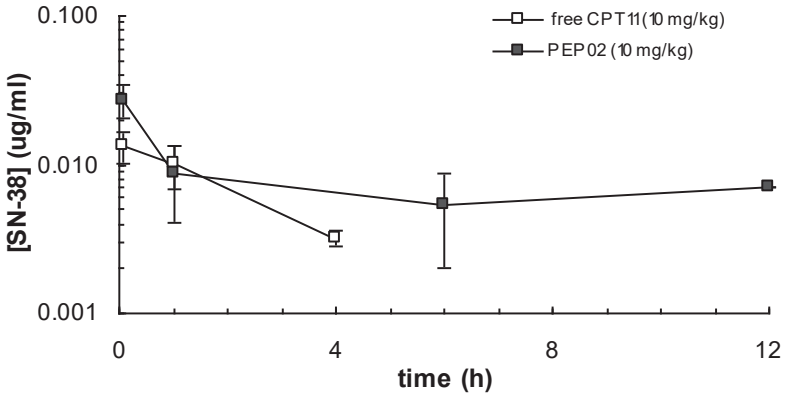
Test Article (Dose)	Statistic	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (μg·hr/mL)	$AUC_{0\text{-}t}$ (μg·hr/mL)	CL (mL/hr/kg)	V_d (mL/kg)
CPT-11 (10 mg/kg)	Mean	2.78	14.81	14.81	679.06	2707.01
	SD	0.28	1.35	1.35	65.09	36.09
BAX2398 (10 mg/kg)	Mean	24.89	1898.79	1898.69	5.27	190.70
	SD	5.26	96.97	97.01	0.26	47.97

$AUC_{0\text{-}inf}$: area under the concentration-time curve extrapolated infinity, $AUC_{0\text{-}t}$: area under the concentration-time curve to sampling time t, BAX2398: nanoliposomal irinotecan, CL: cleareance, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, SD: standard deviation, $t_{1/2}$: elimination half-life, V_d: volume of distribution

CPT-11 群及び BAX2398 群でのイリノテカンの $t_{1/2}$ はそれぞれ 2.78 及び 24.89 時間であった。BAX2398 を投与したときの $AUC_{0\text{-}inf}$ の平均値は、CPT-11 を投与したときと比較して約 128 倍高かった。

血漿中 SN-38 濃度は非常に速やかに低下し、CPT-11 群では投与 6 時間後、BAX2398 群では投与 24 時間後までに定量限界未満（BLQ）になったことを除き、SN-38 の濃度推移は投与群間で類似していた。血漿中 SN-38 濃度推移を図 2.6.4-8 に示す。

図 2.6.4-8 ビーグル犬に CPT-11 及び BAX2398 を 10 mg/kg で単回静脈内投与したときの血漿中 SN-38 濃度推移



BAX2398: nanoliposomal irinotecan, h: hours, SN-38: active metabolite of irinotecan
Free CPT11 in legend indicates irinotecan hydrochloride hydrate.
PEP02 in legend indicates BAX2398.
Each point in graph presents the mean ± standard deviation.

これらのデータに基づき、BAX2398 投与後では、CPT-11 投与と比較してイヌ血漿中イリノテカン及び SN-38 濃度は上昇し、リポソーム化によって循環血中の滞留時間が延長することが結論付けられた。

3.1.4 ビーグル犬における BAX2398 単回静脈内投与後の血漿中封入型イリノテカン濃度（PEP02-NC-N-PK-006 試験）

本試験の目的は、イヌに BAX2398 を単回静脈内ボーラス投与したときの封入型イリノテカンをイリノテカンの PK プロファイルと比較することであった。PEP02-NC-N-PK-004 試験では、イヌに BAX2398 を 10 mg/kg の用量で単回静脈内ボーラス投与したときの血漿中イリノテカン及び SN-38 濃度を評価し、その結果を要約した（本項 3.1.3）。PEP02-NC-N-PK-004 試験で得られた試料を用いて、PEP02-NC-N-PK-006 試験ではイヌ血漿中封入型イリノテカン濃度を測定した。イヌ血漿試料は 2～8°C で保管し、採取後 48 時間以内に分析した。ゲルろ過クロマトグラフィー法を用いてイヌ血漿中非封入型イリノテカンを分離した後、HPLC で封入型イリノテカン濃度を測定した。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.4-13 及び表 2.6.4-14 に示す。

表 2.6.4-13 PEP02-NC-N-PK-006 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398：10 mg/kg、単回投与
投与経路	静脈内ボーラス投与
動物種	雄ビーグル犬
分析法	ゲルろ過クロマトグラフィー法を用いて血漿中非封入型イリノテカンを分離した後、HPLC で封入型イリノテカン濃度を測定した。
PK 解析	BAX2398 投与 0.083、1、6、12、24、36、48 及び 72 時間後の血漿中封入型イリノテカン濃度を測定した。データは平均値±SD で示した。

表 2.6.4-14 PEP02-NC-N-PK-006 試験デザイン

Group	Number of Animals/Sex	Dosing Regimen (mg/kg)
BAX2398	3 Male	10; IV x 1

BAX2398: nanoliposomal irinotecan, IV: intravenous

各時点での血漿中封入型イリノテカン濃度とイリノテカン濃度との比較を表 2.6.4-15 に示す。

表 2.6.4-15 血漿中イリノテカン濃度と封入型イリノテカン濃度との比較

Time (hours)	Total irinotecan (μg/mL)[a]		Encapsulated irinotecan (μg/mL)		% (Encapsulated/Total)
	Mean	SD	Mean	SD	
0.083	186.8	8.0	140.7	6.4	75.3
1	154.8	4.6	122.1	8.3	78.9
6	95.6	1.3	71.3	1.4	74.6
12	61.5	4.3	47.9	2.1	77.9
24	18.0	2.3	15.2	1.7	84.3
36	3.2	1.7	2.8	1.4	85.8
48	0.2	0.2	<LOQ	-	-
72	0.02	0.005	<LOQ	-	-

LOQ: limit of quantitation, SD: standard deviation, -: not applicable
a: Data obtained from Study PEP02-NC-N-PK-004
n=3

PEP02-NC-N-PK-004 試験及び PEP02-NC-N-PK-006 試験の併合結果に基づき、イヌ血漿中で検出されたイリノテカンの大半が封入型であり、投与 36 時間後までではイリノテカンの約 75～86%に相当することが示された。さらに、イリノテカンと封入型イリノテカンの消失はほぼ一致していた。

3.1.5 ビーグル犬における BAX2398 の単回静脈内投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-007 試験）

本試験の目的は、BAX2398 の急性毒性を評価し、続くビーグル犬での週 1 回、4 週間点滴静注による BAX2398 の毒性及び TK を評価するための毒性試験で用いる適切な用量を設定することであった。本項では TK の結果を示す。毒性試験の結果は、2.6.6.2.3.3 項に記載されている。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.4-16 及び表 2.6.4-17 に示す。

表 2.6.4-16 PEP02-NC-G-Tx-007 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398：15、30 及び 50 mg/kg、90 分間点滴静注 CPT-11：30 mg/kg、90 分間点滴静注
投与経路	90 分間点滴静注、6.67 mL/kg/hr
動物種	ビーグル犬、5～6 ヵ月齢、雄（体重：6.3～7.5 kg）、雌（体重：5.3～6.9 kg）
分析法	バリデートされた LC/MS/MS 分析法（128-0402 試験）を用いて血漿中イリノテカン及び SN-38 濃度を測定し、TK パラメータを得た。
TK 解析	血液試料：CPT-11 群では投与前並びに投与 0.5、1、1.5、6、12、24、36 及び 48 時間後、BAX2398 群では投与前並びに投与 0.5、1、1.5、6、12、24、36、48、72 及び 168 時間後に採取した。 ノンコンパートメント解析により TK パラメータを算出した。血漿中濃度-時間曲線の終末消失相の線形回帰により、終末消失速度定数（λ）を得た。C_{max} 及び T_{max} は実測値を用いた。0 時間から x 時間までの濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}xhr}$、x = 168 又は 48）及び $AUC_{0\text{-}inf}$ は線形台形法により算出した。λ を算出するための許容基準は、消失相の少なくとも 3 時点から回帰したときの、丸め処理した R^2 が 0.8 以上とした。$t_{1/2}$ 及び AUC の算出には規定の評価時間を用いた。

表 2.6.4-17 PEP02-NC-G-Tx-007 試験デザイン

Group	No. of Animals/Sex	Dosing Regimens (mg/kg)	Dose Conc.(mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)
Liposome control[a]	Male/Female 3/3	0	0	10
BAX2398[b]	Male/Female 3/3	15	1.5	10
BAX2398[b]	Male/Female 3/3	30	3	10
BAX2398[b]	Male/Female 3/3	50	5	10
CPT-11	Male/Female 3/3	30	3	10

BAX2398: nanoliposomal irinotecan, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate
a: Liposome control article dosing solution prepared from bulk liposome control article with a phospholipid concentration of 41.56 mmol/L. Animals received 97.3 µmol/kg or approximately 77 mg/kg phospholipids.
b: Each dose level was expressed on the basis of the content of CPT-11 – 5.0 mg/mL – in BAX2398 under investigation

第 1 日に被験物質、比較対照物質及びリポソーム対照を既定の用量で各群の動物に 90 分にわたり橈側静脈から点滴静注後、14 日間の回復期間を設けた。

投与液の分析結果より、用いられた BAX2398 及び CPT-11 投与液中のイリノテカン濃度と理論濃度との誤差は 10%以内であることが確認された。したがって、BAX2398 及び CPT-11 投与液は本試験での使用に適すると考えられた。

血漿中イリノテカン及び SN-38 の TK パラメータを表 2.6.4-18 に要約する。

表 2.6.4-18 血漿中イリノテカン及び SN-38 の TK パラメータの概要

Test Article (mg/kg)	Sex/Analyte	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}inf}$[a] (ng·hr/mL)	$AUC_{0\text{-}48hr}$[b] or 168hr (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)
BAX2398 (15)	Male/Irinotecan	110431 ± 22753	1599473 ± 389535	1600942 ± 392022	20.6 ± 15.3
BAX2398 (30)	Male/Irinotecan	294324 ± 271864	3101254 ± NC	6016816 ± 4876754	5.9 ± NC
BAX2398 (50)	Male/Irinotecan	431175 ± 113906	10615163 ± 2924052	10471639 ± 2800307	12.2 ± 3.7
CPT-11 (30)	Male/Irinotecan	24304 ± 25377	98601 ± 46642	98517[a] ± 46543	4.5 ± 0.5
BAX2398 (15)	Female/ Irinotecan	117641 ± 26519	1515167 ± 66170	1516427 ± 66781	22.3 ± 13.9
BAX2398 (30)	Female/ Irinotecan	175156 ± 40309	3181581 ± NC	3385030 ± 633291	19.4 ± NC
BAX2398 (50)	Female/ Irinotecan	522922 ± 40371	13891337 ± NC	12494606 ± 3091486	14.3 ± NC
CPT-11 (30)	Female/ Irinotecan	13451 ± 4224	72942 ± 18194	72840[a] ± 17888	4.1 ± 0.9
BAX2398 (15)	Male/SN-38	10.9 ± 1.6	177 ± 11	151 ± 26	12.6 ± 5.4
BAX2398 (30)	Male/SN-38	29.3 ± 5.6	528 ± 101	515 ± 89	12.5 ± 3.8
BAX2398 (50)	Male/SN-38	44.6 ± 5.2	912 ± 170	859 ± 147	17.0 ± 3.6
CPT-11 (30)	Male/SN-38	35.1 ± 10.4	211 ± 45	201[a] ± 43	7.8 ± 0.4
BAX2398 (15)	Female/ SN-38	11.6 ± 2.6	174 ± 38	163 ± 39	10.8 ± 4.0
BAX2398 (30)	Female/ SN-38	29.6 ± 7.0	447 ± 107	430 ± 113	12.8 ± 0.2
BAX2398 (50)	Female/ SN-38	50.6 ± 11.5	926 ± 173	970 ± 191	15.4 ± 1.1
CPT-11 (30)	Female/ SN-38	25.8 ± 9.0	110 ± 66	108[a] ± 60	4.5 ± 3.9

$AUC_{0\text{-}inf}$: area under the concentration-time curve extrapolated infinity, $AUC_{0\text{-}thr}$: area under the concentration-time curve to t hours, BAX2398: nanoliposomal irinotecan, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, NC: not calculated; SD was not calculated due to n<3, SN-38: active metabolite of irinotecan, $t_{1/2}$: elimination half-life
Mean ± SD
a: Some $AUC_{0\text{-}inf}$ values were smaller than $AUC_{0\text{-}168hr}$ values, which could be attributed to the λ determination
b: $AUC_{0\text{-}48hr}$ following the administration of CPT-11

BAX2398 を投与したイヌでのイリノテカンの $t_{1/2}$ の平均値は 5.9～22.3 時間、CPT-11 投与では 4.1～4.5 時間であった。BAX2398 を投与したときのイリノテカンの曝露量（C_{max} 及び AUC）に、CPT-11 を投与したときと比較して顕著な差異が認められた。BAX2398 を投与したときのイリノテカンの C_{max} 及び AUC は、CPT-11 を同用量投与したときと比較して顕著に高かった。

BAX2398 又は CPT-11 を点滴静注したときのイヌでの SN-38 の生成は速く、90 分間の点滴静注終了時又はその近辺で C_{max} に達した。血漿中 SN-38 濃度は、イリノテカン濃度と比較して顕著に低かった。

BAX2398 及び CPT-11 を同用量投与したとき、SN-38 の C_{max} は同程度であったが、AUC は BAX2398 投与時の方が高く、SN-38 の $t_{1/2}$ が延長した。BAX2398 を投与したイヌでの $t_{1/2}$ の平均値は 10.8～17.0 時間、CPT-11 投与では 4.5～7.8 時間であった。

結論として、BAX2398 を点滴静注したときのイリノテカンの曝露量は、CPT-11 を同用量で投与したときと比較して高かった。さらに、BAX2398 によってイリノテカン及び SN-38 の $t_{1/2}$ が延長した。

3.2 反復投与時の薬物動態

3.2.1 SD ラットにおける BAX2398 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 2 週間回復試験（PEP02-NC-G-Tx-006 試験）

本試験の目的は BAX2398 の毒性及び TK プロファイルを評価することであった。本項では TK の結果を示す。毒性の結果は 2.6.6.3.1.1 項に記載されている。

SD ラットに BAX2398 を週 1 回、4 週間点滴静注した後、2 週間の回復期間を設けた。溶媒対照群ではリポソーム対照、比較対照群では CPT-11 を投与した。BAX2398 の 65、130 及び 260 mg/kg 並びに CPT-11 の 130 mg/kg をいずれの用量でも 90 分にわたり点滴静注した。本試験の TK 試料に手技的ミスが認められたため、PEP02-NC-G-Tx-006 試験と同条件下（各群雌雄各 6 匹）での TK プロファイルを得るために別試験 PEP02-NC-G-Tx-006TK を実施した。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.4-19 及び表 2.6.4-20 に示す。

表 2.6.4-19 PEP02-NC-G-Tx-006TK 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398：65、130 及び 260 mg/kg CPT-11：130 mg/kg
投与経路	90 分間点滴静注、10 mL/kg/hr
動物種	雌雄 SD ラット、約 7～10 週齢、体重：197～222 g
分析法	バリデートされた LC/MS/MS 分析法（128-0401 試験）を用いて血漿中イリノテカン及び SN-38 濃度を測定し、第 1 及び 22 日の TK パラメータを得た。
TK 解析	血液試料：第 1 及び 22 日に、CPT-11 群では投与前並びに投与 0.5、1、1.5、3、8、12、16、20、24 及び 48 時間後、BAX2398 群では投与前並びに投与 0.5、1、1.5、4、12、24、48、72 及び 168 時間後に採取した（各ラット 5 又は 6 時点及び雌雄各 3 匹／群／時点）。 ノンコンパートメント解析により TK パラメータを算出した。血漿中濃度-時間曲線の終末消失相の線形回帰により、λ を得た。C_{max} 及び T_{max} は実測値を用いた。$AUC_{0\text{-}xhr}$（x = 168 又は 48）及び $AUC_{0\text{-}inf}$ は線形台形法により算出した。λ を算出するための許容基準は、消失相の少なくとも 3 時点から回帰したときの、丸め処理した R^2 が 0.8 以上とした。$t_{1/2}$ 及び AUC の算出には規定の評価時間を用いた。

表 2.6.4-20 PEP02-NC-G-Tx-006TK 試験デザイン

Group	Number of Animals/Sex	Dosing Regimens (mg/kg)[a]	Dose Conc.(mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)
BAX2398	Male/Female 6/6	65	4.33	15
BAX2398	Male/Female 6/6	130	8.67	15
BAX2398	Male/Female 6/6	260	17.33	15
CPT-11	Male/Female 6/6	130	8.67	15

BAX2398: nanoliposomal CPT-11, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate
a: Each dose level was expressed on the basis of the content of CPT-11 in BAX2398 under investigation

第 1 及び 22 日のイリノテカンの TK パラメータをそれぞれ表 2.6.4-21 及び表 2.6.4-22 に、第 1 及び 22 日の SN-38 の TK パラメータをそれぞれ表 2.6.4-23 及び表 2.6.4-24 に要約する。

表 2.6.4-21 PEP02-NC-G-Tx-006TK 試験での第 1 日のイリノテカンの TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0\text{-}168hr}$ or $AUC_{0\text{-}48hr}$ (ng·hr/mL)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·hr/mL)
BAX2398 65 mg/kg	Male	1068840	1.5	17.2	29530261	27994368
BAX2398 130 mg/kg	Male	1752860	4.0	14.8	56700830	56732550
BAX2398 260 mg/kg	Male	2971558	1.5	16.5	131716900	131906725
CPT-11 130 mg/kg	Male	17728	1.5	2.1	80341[a]	80459
BAX2398 65 mg/kg	Female	1177427	1.5	13.2	22459065	21764798
BAX2398 130 mg/kg	Female	1883692	1.5	9.3	51260635	51261427
BAX2398 260 mg/kg	Female	2,376723	4.0	20.5	90063717	90437820
CPT-11 130 mg/kg	Female	17754	1.5	2.2	84371[a]	84587

$AUC_{0\text{-}inf}$: area under the concentration-time curve extrapolated infinity, $AUC_{0\text{-}thr}$: area under the concentration-time curve from time 0 to t hours, BAX2398: nanoliposomal CPT-11, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration
a: $AUC_{0\text{-}48hr}$ after administration of CPT-11
Pharmacokinetic parameters are calculated from mean concentration.

表 2.6.4-22 PEP02-NC-G-Tx-006TK 試験での第 22 日のイリノテカンの TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0\text{-}168hr}$ or $AUC_{0\text{-}48hr}$ (ng·hr/mL)	AF[b]
BAX2398 65 mg/kg	Male	2362126	1.5	11.7	41905975	1.5
BAX2398 130 mg/kg	Male	1434680	4.0	20.2	56287349	1.0
BAX2398 260 mg/kg	Male	2047713	4.0	20.4	108249296	0.8
CPT-11 130 mg/kg	Male	18006	1.5	2.2	82409[a]	1.0
BAX2398 65 mg/kg	Female	970249	4.0	9.9	36035932	1.7
BAX2398 130 mg/kg	Female	1792738	1.5	13.4	42360874	0.8
BAX2398 260 mg/kg	Female	2954585	4.0	16.4	102197690	1.1
CPT-11 130 mg/kg	Female	19989	1.0	2.0	83286[a]	1.0

$AUC_{0\text{-}thr}$: area under the concentration-time curve from time 0 to t hours, BAX2398: nanoliposomal CPT-11, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration
a: $AUC_{0\text{-}48hr}$ after administration of CPT-11
b: AF (Accumulation Factor) = Day 22 $AUC_{0\text{-}168hr}$ or Day 22 $AUC_{0\text{-}48hr}$ /Day 1 $AUC_{0\text{-}inf}$
Pharmacokinetic parameters are calculated from mean concentration.

表 2.6.4-23 PEP02-NC-G-Tx-006TK 試験での第 1 日の SN-38 の TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0\text{-}168hr}$ or $AUC_{0\text{-}48hr}$ (ng·hr/mL)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·hr/mL)
BAX2398 65 mg/kg	Male	1394	1.5	51.1	57353	65780
BAX2398 130 mg/kg	Male	1486	1.0	46.3	50318	53552
BAX2398 260 mg/kg	Male	501	1.0	ND	26627	ND
CPT-11 130 mg/kg	Male	95.0	0.5	4.2	598[a]	587
BAX2398 65 mg/kg	Female	1345	1.5	35.4	39640	40473
BAX2398 130 mg/kg	Female	1230	0.5	20.1	45895	45985
BAX2398 260 mg/kg	Female	507	4.0	ND	47532	ND
CPT-11 130 mg/kg	Female	70.7	1.5	3.8	443[a]	464

$AUC_{0\text{-}inf}$: area under the concentration-time curve extrapolated infinity, $AUC_{0\text{-}thr}$: area under the concentration-time curve from time 0 to t hours, BAX2398: nanoliposomal CPT-11, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, ND: not determined, insufficient data to determine PK parameters, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration
a: $AUC_{0\text{-}48hr}$ after administration of CPT-11
Pharmacokinetic parameters are calculated from mean concentration.

表 2.6.4-24 PEP02-NC-G-Tx-006TK 試験での第 22 日の SN-38 の TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0\text{-}168hr}$ or $AUC_{0\text{-}48hr}$ (ng·hr/mL)	AF[b]
BAX2398 65 mg/kg	Male	4264	1.5	16.2	152311	2.3
BAX2398 130 mg/kg	Male	539	48.0	45.7	43439	0.8
BAX2398 260 mg/kg	Male	1246	1.5	34.7	82238	NC
CPT-11 130 mg/kg	Male	59.8	1.0	4.8	403[a]	0.7
BAX2398 65 mg/kg	Female	4161	1.5	37.9	132538	3.3
BAX2398 130 mg/kg	Female	366	0.5	16.0	27815	0.6
BAX2398 260 mg/kg	Female	1391	1.5	37.7	46164	NC
CPT-11 130 mg/kg	Female	85.1	1.5	3.9	470[a]	1.0

$AUC_{0\text{-}thr}$: area under the concentration-time curve from time 0 to t hours, BAX2398: nanoliposomal CPT-11, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, NC: not calculated, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration
a: $AUC_{0\text{-}48hr}$ after administration of CPT-11
b: AF (Accumulation Factor) = Day 22 $AUC_{0\text{-}168hr}$ or Day 22 $AUC_{0\text{-}48hr}$ /Day 1 $AUC_{0\text{-}inf}$
Pharmacokinetic parameters are calculated from mean concentration.

SD ラットでのイリノテカンの C_{max} は、大半の投与群において 90 分間の点滴静注終了時に認められた。それ以外の群での T_{max} は投与開始 4 時間後であり、これは点滴静注終了後の最初の試料採取時点であった。

BAX2398 を投与したときのイリノテカンの曝露量は、CPT-11 を同用量（130 mg/kg）投与したときと比較して顕著に高く、C_{max} は約 80～106 倍、AUC は約 509～706 倍高かった。さらに、BAX2398 を投与したときのイリノテカン及び SN-38 の $t_{1/2}$ は、CPT-11 を投与したときと比較して 4 倍以上長かった。

BAX2398 を 65、130 及び 260 mg/kg の用量で週 1 回、4 週間点滴静注後にイリノテカンの蓄積のエビデンスは認められなかった。蓄積係数（AF）は投与量によって異なり、0.8～1.7 の範囲にあった。

BAX2398 又は CPT-11 の点滴静注後、ラットでの SN-38 の生成は速く、BAX2398 260 mg/kg 群の第 1 日における雌ラット及び BAX2398 130 mg/kg 群の第 22 日における雄ラットの 2 群を除き、C_{max} は投与開始後 1.5 時間以内に認められた。BAX2398 又は CPT-11 点滴静注後の SN-38 の生成は速かったが、イリノテカン濃度と比較して、SN-38 濃度はいずれの群でも顕著に低かった。CPT-11 を同用量（130 mg/kg）投与したときと比較して、BAX2398 投与後の SN-38 の C_{max} は約 4～17 倍、AUC は約 60～108 倍と顕著に高かった。

3.2.2 SD ラットにおける BAX2398 の 6 サイクル（1 サイクル 3 週間）静脈内投与毒性試験及び 6 週間回復試験（PEP02-NC-G-Tx-010 試験）

本試験の目的は、SD ラットに BAX2398 を 6 サイクル（各サイクルは単回投与と引き続く 3 週間の観察期間から成る）、各サイクルあたり 90 分にわたり点滴静注し、毒性及び TK プロファイルを検討することであった。さらに、6 週間の回復期間を設け、回復性を検討した。本項では

TK の結果を示す。毒性の結果は 2.6.6.3.1.2 項に記載されている。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.4-25 及び表 2.6.4-26 に示す。

表 2.6.4-25 PEP02-NC-G-Tx-010 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398：30、75 及び 190 mg/kg CPT-11：75 mg/kg
投与経路	90 分間点滴静注、10 mL/kg/hr
動物種	雌雄 SD ラット、約 8～9 週齢、体重：193～458 g
分析法	バリデートされた LC/MS/MS 分析法を用いて血漿中イリノテカン及び SN-38 濃度を測定し、第 1 及び 106 日の TK パラメータを得た。
TK 解析	血液試料：第 1 及び 106 日に、CPT-11 群では投与前並びに投与 0.5、1、1.5、4、12、16、20、24 及び 48 時間後、BAX2398 群では投与前並びに投与 0.5、1、1.5、4、12、24、48、72 及び 96 時間後に採取した。第 64 及び 85 日では投与前のみ採取した（各ラット 5 時点及び雌雄各 3 匹／群／時点）。 群及び性別の各時点での平均血漿中濃度を用いて、ノンコンパートメント解析によって、イリノテカン及び SN-38 の TK パラメータを算出した。

1 サイクル 90 分間の点滴静注後に 3 週間の観察期間を設け、連続 6 サイクル投与した。6 サイクル終了後、主試験群の動物を最終評価に供した。回復群の動物は最終評価前にさらに 6 週間飼育した。TK 群の動物は TK 評価にのみ使用した。

表 2.6.4-26 PEP02-NC-G-Tx-010 試験デザイン

Group	Dose Level (mg/kg)	Number of Animals					
		Main		Recovery		Toxicokinetic	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
Liposome control[a]	0	20	20	10	10	0	0
BAX2398	30	20	20	0	0	6	6
BAX2398	75	20	20	0	0	6	6
BAX2398	190	20	20	10	10	6	6
CPT-11	75	20	20	10	10	6	6

BAX2398: nanoliposomal CPT-11, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate
a: Liposome control article dosing solution at 22.7 mmol/L prepared from liposome with a phospholipid concentration of 43.64 mmol/L, 45.26 mmol/L or 40.22 mmol/L. Animals received 340.5 µmol/kg or approximately 269 mg/kg phospholipids

第 1 及び 106 日のイリノテカンの TK パラメータをそれぞれ表 2.6.4-27 及び表 2.6.4-28 に、第 1 及び 106 日の SN-38 の TK パラメータをそれぞれ表 2.6.4-29 及び表 2.6.4-30 に要約する。

表 2.6.4-27 PEP02-NC-G-Tx-010 試験での第 1 日のイリノテカンの TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	CL (mL/hr/kg)	V_{ss} (mL/kg)
BAX2398 30 mg/kg	Male	680688	1.5	15.84	19614732	1.52	37.6
BAX2398 75 mg/kg	Male	1726086	1.5	20.52	51302954	1.42	41.4
BAX2398 190 mg/kg	Male	4217100	4.0	23.34	116672588	1.54	47.4
CPT-11 75 mg/kg	Male	10698	1.5	9.79	38545	1943.56	4601.9
BAX2398 30 mg/kg	Female	575923	4.0	15.72	14137698	2.03	43.8
BAX2398 75 mg/kg	Female	1549373	1.5	21.07	45859924	1.56	46.2
BAX2398 190 mg/kg	Female	3981661	1.5	21.11	114271251	1.59	45.5
CPT-11 75 mg/kg	Female	9717	1.5	9.93	44309	1687.33	4913.6

AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, BAX2398: nanoliposomal CPT-11, CL: clearance, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration, V_{ss}: volume of distribution at steady-state
Pharmacokinetic parameters are calculated from mean concentration.

表 2.6.4-28 PEP02-NC-G-Tx-010 試験での第 106 日のイリノテカンの TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	AF[a]	CL (mL/hr/kg)	V_{ss} (mL/kg)
BAX2398 30 mg/kg	Male	1003822	1.5	28.40	37688134	1.92	0.73	28.8
BAX2398 75 mg/kg	Male	2170758	1.5	35.12	90277681	1.76	0.72	35.1
BAX2398 190 mg/kg	Male	5733163	1.5	34.58	251655062	2.16	0.65	31.4
CPT-11 75 mg/kg	Male	21182	1.5	4.79	82610	2.14	907.76	2396.4
BAX2398 30 mg/kg	Female	827748	1.5	17.98	24292002	1.72	1.20	33.0
BAX2398 75 mg/kg	Female	2160715	1.5	30.02	70220621	1.53	0.93	41.1
BAX2398 190 mg/kg	Female	5402741	1.5	31.30	221167057	1.94	0.76	33.2
CPT-11 75 mg/kg	Female	18530	1.5	5.02	82885	1.87	904.72	2298.7

AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, BAX2398: nanoliposomal CPT-11, CL: clearance, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration, V_{ss}: volume of distribution at steady-state
a: AF (Accumulation Factor) = Day 106 AUC_{0-t} / Day 1 AUC_{0-t}
Pharmacokinetic parameters are calculated from mean concentration.

表 2.6.4-29 PEP02-NC-G-Tx-010 試験での第 1 日の SN-38 の TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	CL (mL/hr/kg)	V_{ss} (mL/kg)
BAX2398 30 mg/kg	Male	3525	0.5	45.50	213117	103.68	7664.7
BAX2398 75 mg/kg	Male	5855	1.5	184.54	341765	65.95	17588.8
BAX2398 190 mg/kg	Male	3804	24.0	263.74	317037	121.93	47342.9
CPT-11 75 mg/kg	Male	2199	4.0	10.40	14688	5094.28	19188.3
BAX2398 30 mg/kg	Female	3184	12.0	19.14	194456	144.50	6493.1
BAX2398 75 mg/kg	Female	3935	48.0	59.83	293783	153.50	15549.9
BAX2398 190 mg/kg	Female	2992	48.0	155.01	251932	239.97	55635.5
CPT-11 75 mg/kg	Female	1211	1.0	9.36	5246	14220.22	65825.2

AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, BAX2398: nanoliposomal CPT-11, CL: clearance, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration, V_{ss}: volume of distribution at steady-state
Pharmacokinetic parameters are calculated from mean concentration.

表 2.6.4-30 PEP02-NC-G-Tx-010 試験での第 106 日の SN-38 の TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	AF[a]	CL (mL/hr/kg)	V_{ss} (mL/kg)
BAX2398 30 mg/kg	Male	3568	1.5	347.05	292360	1.37	15.94	8144.8
BAX2398 75 mg/kg	Male	4865	4.0	278.55	292338	0.86	54.31	21830.6
BAX2398 190 mg/kg	Male	5075	1.0	NC	334862	1.06	NC	NC
CPT-11 75 mg/kg	Male	1520	1.0	7.68	10478	0.71	7136.97	32337.6
BAX2398 30 mg/kg	Female	3041	0.5	NC	168940	0.87	NC	NC
BAX2398 75 mg/kg	Female	4435	48.0	366.50	310390	1.06	30.59	16871.8
BAX2398 190 mg/kg	Female	4103	72.0	NC	319692	1.27	NC	NC
CPT-11 75 mg/kg	Female	1252	1.0	4.50	4623	0.88	16214.90	83788.9

AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, BAX2398: nanoliposomal CPT-11, CL: clearance, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, NC: not calculated, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration, V_{ss}: volume of distribution at steady-state
a: AF (Accumulation Factor) = Day 106 AUC_{0-t} / Day 1 AUC_{0-t}
Pharmacokinetic parameters are calculated from mean concentration.

BAX2398 及び CPT-11 を同用量（75 mg/kg）投与したとき、CPT-11 投与時と比較して BAX2398 投与時では C_{max} 及び AUC が顕著に高く（C_{max}：イリノテカンでは 100 倍超、SN-38 では約 3 倍、AUC：イリノテカンでは 847.2～1331.0 倍、SN-38 では 23.3～67.1 倍）、$t_{1/2}$ は延長し（イリノテカンでは 2.1～7.3 倍、SN-38 では 6.4～81.4 倍）、イリノテカン及び SN-38 ともに CL は低下し、V_{ss} も低下した。第 1 及び 106 日ともにイリノテカンの C_{max} 及び AUC は雌雄ともに用量比例的に増加したが、SN-38 ではこの傾向はみられなかった。BAX2398 及び CPT-11 を 6 サイクル投与後、第 106 日の値を第 1 日と比較したとき、イリノテカンでは若干の蓄積が認められたが（AF：1.53～2.16）、SN-38 では蓄積の傾向はみられなかった（AF：0.86～1.37）。第 64 及び 85 日の投与前試料で検出されたイリノテカン濃度は 3.24 ng/mL 以下とごくわずかであったことから、投与された BAX2398 の大半が次回投与前に全身循環から消失することが示唆された。本試験において SN-38 の $t_{1/2}$ は最高で 366.50 時間と想定外の高い値を示したが、この理由は得られた結果が SN-38 の終末消失相での PK を正しく反映していなかったためである。また、げっ歯類では血漿中 CES 活性が血中 SN-38 濃度に影響を及ぼすためと考えられる。

要約すると、第 1 及び 106 日ともにイリノテカンの C_{max} 及び AUC は雌雄ともに用量比例的に増加したが、SN-38 ではこの傾向はみられなかった。BAX2398 及び CPT-11 を同用量投与したとき、CPT-11 投与時と比較して BAX2398 投与時ではイリノテカン及び SN-38 ともに C_{max} 及び AUC は顕著に高く、$t_{1/2}$ は延長し、CL 及び V_{ss} は低下した。第 106 日を第 1 日と比較したとき、イリノテカンでは蓄積傾向を示したが、SN-38 ではこの傾向はみられなかった。

3.2.3 ビーグル犬における BAX2398 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-009 試験）

本試験の目的は、ビーグル犬に BAX2398 を週 1 回、4 週間点滴静注し、毒性及び TK プロファイルを検討することであった。さらに、14 日間の回復期間での投薬に関連した有害作用の回復性を評価することであった。

BAX2398 の投与量は 4、8 及び 16 mg/kg とし、結果をリポソーム対照及び CPT-11 と比較した。各動物に 90 分にわたり 6.67 mL/kg/hr の速度で点滴静注した。適切な群に回復群を設定し、主試験群と同じ方法で投与し、4 週間の投与期間後、14 日間の回復期間を設けた。本項では TK の結果を示す。毒性の結果は 2.6.6.3.2.1 項に記載されている。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.4-31 及び表 2.6.4-32 に示す。

表 2.6.4-31 PEP02-NC-G-Tx-009 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398：4、8 及び 16 mg/kg CPT-11：16 mg/kg
投与経路	90 分間点滴静注、6.67 mL/kg/hr
動物種	雌雄ビーグル犬、約 6～7 ヵ月齢、体重：5.7～8.5 kg
分析法	バリデートされた LC/MS/MS 分析法（128-0402 試験）を用いて血漿中イリノテカン及び SN-38 濃度を測定し、第 1 及び 22 日の TK パラメータを得た。
TK 解析	血液試料：第 1 及び 22 日に、CPT-11 群では投与前並びに投与 0.5、1、1.5、3、6、12、24、36 及び 48 時間後、BAX2398 群では投与前並びに投与 0.5、1、1.5、6、12、24、36、48、72 及び 168 時間後に採取した。 ノンコンパートメント解析により TK パラメータを算出した。血漿中濃度-時間曲線の終末消失相の線形回帰により、λ を得た。C_{max} 及び T_{max} は実測値を用いた。定量可能な最終時点までの濃度-時間曲線下面積（AUC_{0-t}）及び AUC_{0-inf} は線形台形法により算出した。

表 2.6.4-32 PEP02-NC-G-Tx-009 試験デザイン

Group	Number of Animals/Sex		Dosing Regimens(mg/kg)[b]	Dose Conc. (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)
	Main Study	Recovery Phase			
Liposome control[a]	Male/Female 3/3	Male/Female 2/2	0	0	10
BAX2398	Male/Female 3/3	0	4	0.4	10
BAX2398	Male/Female 3/3	0	8	0.8	10
BAX2398	Male/Female 3/3	Male/Female 2/2	16	1.6	10
CPT-11	Male/Female 3/3	Male/Female 2/2	16	1.6	10

BAX2398: nanoliposomal CPT-11, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate
a: Liposome control article dosing solution prepared from liposome control article with a phospholipid concentration of 19.33 mmol/L. Animals received 26 µmol/kg or approximately 21 mg/kg phospholipids
b: Each dose level was expressed on the basis of the content of CPT-11 – 5 mg/mL – in BAX2398 under investigation

第 1 及び 22 日のイリノテカンの TK パラメータをそれぞれ表 2.6.4-33 及び表 2.6.4-34 に、第 1 及び 22 日の SN-38 の TK パラメータをそれぞれ表 2.6.4-35 及び表 2.6.4-36 に要約する。

表 2.6.4-33 PEP02-NC-G-Tx-009 試験での第 1 日のイリノテカンの TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)
BAX2398 4 mg/kg	Male	76181	1.5	31.1	720746
BAX2398 8 mg/kg	Male	105478	1.5	17.5[a]	1297080
BAX2398 16 mg/kg	Male	283830	1.5	32.6	3568966
CPT-11 16 mg/kg	Male	7908	1.5	3.8	36022
BAX2398 4 mg/kg	Female	65981	1.5	17.6[a]	652140
BAX2398 8 mg/kg	Female	84496	1.5	25.9	803233
BAX2398 16 mg/kg	Female	271538	1.5	32.7[b]	3942032
CPT-11 16 mg/kg	Female	10573	1.3	4.0	44722

AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, BAX2398: nanoliposomal CPT-11, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration
Each data presents the mean (n = 3)
a: n = 2
b: n = 1

表 2.6.4-34 PEP02-NC-G-Tx-009 試験での第 22 日のイリノテカンの TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	AF[a]
BAX2398 4 mg/kg	Male	71601	1.5	9.1[b]	647401	0.9
BAX2398 8 mg/kg	Male	97172	1.5	19.7[c]	1411822	1.1
BAX2398 16 mg/kg	Male	301724[c]	1.5[c]	18.0[b]	5613457[c]	1.6[c]
CPT-11 16 mg/kg	Male	8892	1.5	3.9[b]	37990	1.1
BAX2398 4 mg/kg	Female	54697	1.5	38.8[c]	676355	1.0
BAX2398 8 mg/kg	Female	80812	1.5	8.9[b]	734539	0.9
BAX2398 16 mg/kg	Female	208396	1.5	23.2	3936777	1.0
CPT-11 16 mg/kg	Female	10513	1.3	4.5	38932	0.9

AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, BAX2398: nanoliposomal CPT-11, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration
Each data presents the mean (n = 3)
a: AF (Accumulation Factor) = Day 22 AUC_{0-t} / Day 1 AUC_{0-t}
b: n = 1
c: n = 2

表 2.6.4-35 PEP02-NC-G-Tx-009 試験での第 1 日の SN-38 の TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)
BAX2398 4 mg/kg	Male	5.32	1.5	10.4	48.2
BAX2398 8 mg/kg	Male	11.2	1.5	7.5[a]	138
BAX2398 16 mg/kg	Male	16.8	1.5	8.3[a]	187
CPT-11 16 mg/kg	Male	14.3	1.5	3.1	59.6
BAX2398 4 mg/kg	Female	4.72	1.3	10.4[a]	38.2
BAX2398 8 mg/kg	Female	7.93	1.3	11.2	68.5
BAX2398 16 mg/kg	Female	17.1	1.5	6.9	191
CPT-11 16 mg/kg	Female	16.1	1.3	2.4	62.2

AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, BAX2398: nanoliposomal CPT-11, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration
Each data presents the mean (n = 3)
a: n = 2

表 2.6.4-36 PEP02-NC-G-Tx-009 試験での第 22 日の SN-38 の TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	AF[a]
BAX2398 4 mg/kg	Male	2.71	1.5	15.0[b]	13.0	0.27
BAX2398 8 mg/kg	Male	7.17	2.8	11.2	98.3	0.71
BAX2398 16 mg/kg	Male	14.5[c]	1.5[c]	13.5[b]	174[c]	0.93
CPT-11 16 mg/kg	Male	15.2	1.3	1.7[c]	42.6	0.70
BAX2398 4 mg/kg	Female	3.79	1.5	13.8[b]	20.1	0.53
BAX2398 8 mg/kg	Female	7.51	1.5	11.3[c]	56.8	0.83
BAX2398 16 mg/kg	Female	15.9	1.5	7.5[c]	193	1.01
CPT-11 16 mg/kg	Female	13.4	1.2	2.4	45.8	0.74

AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, BAX2398: nanoliposomal CPT-11, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration
Each data presents the mean (n = 3)
a: AF (Accumulation Factor) = Day 22 AUC_{0-t} / Day 1 AUC_{0-t}
b: n = 1
c: n = 2

ビーグル犬でのイリノテカンの C_{max} は、大半の用量群において 90 分間の点滴静注終了時に認められた。T_{max} は投与開始 1.3～1.5 時間後の範囲にあった。BAX2398 を投与したときのイリノテカンの曝露量は用量依存的であり、CPT-11 を投与したときと比較して顕著に高かった。イリノテカンの T_{max} は両被験物質で同程度であったが、$t_{1/2}$ は BAX2398 投与群の方が最大で約 8 倍長かった。

BAX2398 を投与したときのイリノテカンの曝露量（C_{max} 及び AUC）は、CPT-11 投与と比較して顕著な差異が認められた。同用量（16 mg/kg）投与したとき、第 1 日での BAX2398 投与時の C_{max} 及び AUC は CPT-11 投与時と比較してそれぞれ最大 36 及び 99 倍高かった。BAX2398 又は CPT-11 の点滴静注後、雌雄イヌでの SN-38 の生成は速く、90 分間の点滴静注終了時又はその近

辺で C_{max} に達した。血漿中 SN-38 濃度は、イリノテカン濃度と比較して顕著に低かった。SN-38 の $t_{1/2}$ の範囲は BAX2398 及び CPT-11 投与群でそれぞれ 6.9～15.0 時間及び 1.7～3.1 時間であり、BAX2398 で $t_{1/2}$ が延長した。SN-38 の AUC は BAX2398（16 mg/kg）投与群で CPT-11 投与群より高かったが、C_{max} は同程度であった。BAX2398 及び CPT-11 ともに 4 週連続週 1 回投与した後（第 22 日）に血漿中イリノテカン又は SN-38 の蓄積は認められなかった。また、性差を示す所見はみられなかった。

3.2.4 ビーグル犬における BAX2398 の 6 サイクル（1 サイクル 3 週間）静脈内投与毒性試験及び 6 週間回復試験（PEP02-NC-G-Tx-011 試験）

本試験の目的は、ビーグル犬に BAX2398 を 6 サイクル（各サイクルは単回投与と引き続く 3 週間の観察期間から成る）、各サイクルあたり 90 分にわたり点滴静注し、毒性及び TK プロファイルを検討することであった。さらに、6 週間の回復期間での投薬に関連した作用の可逆性を評価した。試験開始時に 52 匹（雌雄各 26 匹）のビーグル犬を 5 群に割り付けた。第 2～4 群では、それぞれ 9、15 及び 36 mg/kg の BAX2398 を投与した。第 5 群では比較対照物質である CPT-11（36 mg/kg）を投与し、第 1 群はリポソーム対照を投与する対照群とした。死亡及び過度の毒性が BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg 群の動物に認められたため、別の 16 匹（雌雄各 8 匹）を 2 群（第 6 及び 7 群）に割り付け、それぞれ 21 mg/kg の BAX2398 及び CPT-11 を投与した。本項では TK の結果を示す。毒性の結果は 2.6.6.3.2.2 項に記載されている。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.4-37 及び表 2.6.4-38 に示す。

表 2.6.4-37 PEP02-NC-G-Tx-011 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398：9、15、21 及び 36 mg/kg CPT-11：21 及び 36 mg/kg
投与経路	90 分間点滴静注、10 mL/kg/hr
動物種	雌雄ビーグル犬、7～8 ヵ月齢、体重：5.6～9.4 kg
分析法	バリデートされた LC/MS/MS 分析法を用いて血漿中イリノテカン及び SN-38 濃度を測定し、第 1 及び 106 日の TK パラメータを得た。
TK 解析	血液試料：第 1 及び 106 日に、CPT-11 群では投与前並びに投与 0.5、1、1.5、3、6、12、24、36 及び 48 時間後、BAX2398 群では投与前並びに投与 0.5、1、1.5、6、12、24、36、48、72 及び 168 時間後に採取した。第 64 及び 85 日では投与前のみ採取した ノンコンパートメント解析により TK パラメータを算出した。血漿中濃度－時間曲線の終末消失相の線形回帰により、λ を得た。C_{max} 及び T_{max} は実測値を用いた。定量可能な最終時点までの濃度-時間曲線下面積（AUC_{0-t}）及び AUC_{0-inf} は線形台形法により算出した。

表 2.6.4-38 PEP02-NC-G-Tx-011 試験デザイン

Group	Number of Animals/Sex		Dose Level (mg/kg)[b]	Dose Conc. (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)
	Main Study	Recovery Phase			
1. Liposome control[a]	Male/Female 4/4	Male/Female 2/2	0	0	15
2. BAX2398	Male/Female 4/4	Male/Female 2/2	9	0.6	15
3. BAX2398	Male/Female 4/4	Male/Female 2/2	15	1.0	15
4. BAX2398	Male/Female 4/4	0	36	2.4	15
5. CPT-11	Male/Female 4/4	0	36	2.4	15
6. BAX2398	Male/Female 4/4	Male/Female 2/2	21	1.4	15
7. CPT-11	Male/Female 4/4	Male/Female 2/2	21	1.4	15

BAX2398: nanoliposomal irinotecan, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate
a: Liposome control article. Animals received 60 µmol/kg or approximately 47 mg/kg phospholipids
b: Each dose level was expressed on the basis of the content of CPT-11 – 5 mg/mL – BAX2398 under investigation

第 1 及び 106 日のイリノテカンの TK パラメータをそれぞれ表 2.6.4-39 及び表 2.6.4-40 に、第 1 及び 106 日の SN-38 の TK パラメータをそれぞれ表 2.6.4-41 及び表 2.6.4-42 に要約する。

表 2.6.4-39 PEP02-NC-G-Tx-011 試験での第 1 日のイリノテカンの TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-t} (μg·hr/mL)	CL (mL/hr/kg)	V_{ss} (mL/kg)	MRT_{0-inf} (hr)
2. BAX2398 9 mg/kg	Male	147	1.50	5.3	2075	4.28	43.1	10.2
3. BAX2398 15 mg/kg	Male	308	1.51	6.2	4088	3.99	45.3	11.9
6. BAX2398 21 mg/kg	Male	332	1.50	5.4	5750	3.98	47.8	12.3
4. BAX2398 36 mg/kg	Male	550	1.51	7.5	10198	3.78	53.7	15.3
7. CPT-11 21 mg/kg	Male	13.6	1.50	2.4	47.7	407	1268	3.3
5. CPT-11 36 mg/kg	Male	21.9	1.38	4.4	141	247	1459	6.2
2. BAX2398 9 mg/kg	Female	150	1.50	6.1	2080	4.37	45.4	10.9
3. BAX2398 15 mg/kg	Female	227	1.51	6.1	3446	4.56	52.0	11.5
6. BAX2398 21 mg/kg	Female	317	1.50	6.6	5394	4.06	50.7	12.6
4. BAX2398 36 mg/kg	Female	527	1.50	8.0	12663	2.73	49.6	18.4
7. CPT-11 21 mg/kg	Female	13.8	1.50	2.6	54.5	373	1242	3.6
5. CPT-11 36 mg/kg	Female	19.8	1.50	4.1	98.4	313	1672	5.6

AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, BAX2398: nanoliposomal irinotecan, CL: clearance, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, MRT_{0-inf}: mean residence time extrapolated infinity, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration
Each data presents the mean (n = 4)

表 2.6.4-40 PEP02-NC-G-Tx-011 試験での第 106 日のイリノテカンの TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-t} (μg·hr /mL)	AF[a]	CL (mL/hr/kg)	V_{ss} (mL/kg)	MRT_{0-inf} (hr)
2. BAX2398 9 mg/kg	Male	142	1.50	5.8	2344	1.13	3.07	38.5	12.6
3. BAX2398 15 mg/kg	Male	226	1.51	7.2	4660	1.14	3.02	46.3	15.8
6. BAX2398 21 mg/kg	Male	340	2.63	11.6	9423	1.64	2.02	44.0	22.9
7. CPT-11 21 mg/kg	Male	14.6	1.38	2.5	57.3	1.20	308	1001	3.4
2. BAX2398 9 mg/kg	Female	136	1.50	6.4	1748	0.84	4.28	45.2	10.8
3. BAX2398 15 mg/kg	Female	207	1.51	7.1	4127	1.20	3.3	49.2	15.2
6. BAX2398 21 mg/kg	Female	320	1.50	11.4	8775	1.63	2.2	46.3	22.0
7. CPT-11 21 mg/kg	Female	16.6	1.50	3.0	61.8	1.09	269	1073	4.1

AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, BAX2398: nanoliposomal irinotecan, CL: clearance, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, MRT_{0-inf}: mean residence time extrapolated infinity, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration
a: AF (Accumulation Factor) = Day 106 AUC_{0-t} /Day 1 AUC_{0-t}
Each data presents the mean (n = 4)

表 2.6.4-41 PEP02-NC-G-Tx-011 試験での第 1 日の SN-38 の TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	MRT_{0-inf} (hr)
2. BAX2398 9 mg/kg	Male	11.2	1.50	16.6	135	23.3
3. BAX2398 15 mg/kg	Male	21.6	1.51	29.9	287	31.0
6. BAX2398 21 mg/kg	Male	27	1.50	34.1	339	33.6
4. BAX2398 36 mg/kg	Male	47.4	1.51	25.3	527	29.4
7. CPT-11 21 mg/kg	Male	27.6	1.50	5.8	131	5.8
5. CPT-11 36 mg/kg	Male	43.9	1.51	7.8	294	8.9
2. BAX2398 9 mg/kg	Female	10.1	1.38	16.1	126	20.6
3. BAX2398 15 mg/kg	Female	20.2	1.38	20.6	250	25.3
6. BAX2398 21 mg/kg	Female	25.7	1.50	30.8	316	31.1
4. BAX2398 36 mg/kg	Female	45.1	1.50	28.3	589	34.4
7. CPT-11 21 mg/kg	Female	26.5	1.63	8.3	143	8.0
5. CPT-11 36 mg/kg	Female	31.3	1.00	7.5	172	7.5

AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, BAX2398: nanoliposomal irinotecan, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, MRT_{0-inf}: mean residence time extrapolated infinity, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration
Each data presents the mean (n = 4)

表 2.6.4-42 PEP02-NC-G-Tx-011 試験での第 106 日の SN-38 の TK パラメータの概要

Group	Sex	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	AF[a]	MRT_{0-inf} (hr)
2. BAX2398 9 mg/kg	Male	10.3	1.50	19.8	135	1.00	29.0
3. BAX2398 15 mg/kg	Male	17.1	1.38	38.6	267	0.93	44.2
6. BAX2398 21 mg/kg	Male	23.2	1.50	40.3	456	1.35	53.8
7. CPT-11 21 mg/kg	Male	34.8	1.13	4.6	154	1.18	4.8
2. BAX2398 9 mg/kg	Female	11.1	1.38	16.5	119	0.94	21.1
3. BAX2398 15 mg/kg	Female	18.2	1.51	36.0	269	1.08	39.2
6. BAX2398 21 mg/kg	Female	21.1	1.50	30.3	382	1.21	40.1
7. CPT-11 21 mg/kg	Female	42.9	1.38	5.6	211	1.48	6.0

AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, BAX2398: nanoliposomal irinotecan, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, MRT_{0-inf}: mean residence time extrapolated infinity, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration
a: AF (Accumulation Factor) = Day 106 AUC_{0-t} /Day 1 AUC_{0-t}
Each data presents the mean (n = 4)

イリノテカンの T_{max} は、大半の用量群で 90 分間の点滴静注終了時に認められ、BAX2398 又は CPT-11 投与群で投与開始 1.38～2.63 時間後の範囲にあった。SN-38 の T_{max} は、BAX2398 投与群ではばらつきが小さく、投与開始 1.38～1.51 時間後の範囲にあり、CPT-11 投与群では 1.00～1.63 時間後の範囲にあった。

BAX2398 及び CPT-11 を同用量投与したとき、CPT-11 投与と比較して BAX2398 投与でのイリノテカンの C_{max} は大きかったが（19～27 倍）、SN-38 の C_{max} は同程度であった（0.49～1.44 倍）。CPT-11 投与と比較して BAX2398 投与では AUC の顕著な増大（イリノテカンで 72～165 倍、SN-38 で 1.79～3.42 倍）、$t_{1/2}$ の延長（イリノテカンで 1.7～4.7 倍、SN-38 で 3.2～8.8 倍）、CL の低下（イリノテカンで 0.00657～0.0153 倍）及び V_{ss} の低下（イリノテカンで 0.0296～0.0440 倍）がみられた。さらに、BAX2398 投与群でのイリノテカンの平均滞留時間（MRT_{0-inf}）は CPT-11 投与群と比較して長かった。BAX2398 投与では、第 1 及び 106 日ともにイリノテカン及び SN-38 の C_{max} 及び AUC は、雌雄ともに用量比例的に増加した。イリノテカン及び SN-38 の TK パラメータに統計学的に有意な性差はみられなかった。BAX2398 及び CPT-11 の 6 サイクル（1 サイクル 3 週間）投与後のイリノテカン及び SN-38 濃度に顕著な蓄積は認められなかったことから、投与された BAX2398 の大半が次回投与前に全身循環から消失することが示唆された。

4　分布

4.1　ヒト HT-29 大腸癌異種移植 SCID マウスにおける BAX2398 及び CPT-11 単回静脈内投与後の組織内及び腫瘍内分布（PEP02-NC-N-PK-005 試験）

本試験の目的は、ヒト HT-29 大腸癌異種移植 SCID マウスにおける BAX2398 及び CPT-11 の単回静脈内ボーラス投与後の組織内及び腫瘍内分布を検討することであった。SCID マウスの 2 群にヒト大腸癌 HT-29 細胞を移植し、BAX2398 又は CPT-11 を単回静脈内投与した。イリノテカン及び SN-38 の組織内及び腫瘍内分布を測定するために、血液、腫瘍塊及び組織試料を採取した。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.4-43 及び表 2.6.4-44 に示す。

表 2.6.4-43 PEP02-NC-N-PK-005 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398、CPT-11、40 mg/kg、単回投与、10 mL/kg
投与経路	静脈内ボーラス投与
ヒト腫瘍	ヒト大腸腫瘍細胞株 HT-29
動物種	雄 SCID マウス：18～20 g イリノテカン及び SN-38 の組織内及び腫瘍内分布を測定するために、血液、腫瘍塊及び組織試料（肝臓、腎臓、小腸及び大腸）を投与後に採取した。血液試料は、マウスごとに安楽死前に採取した。
分析法	HPLC 蛍光分析器を用いて血漿、腫瘍塊及び組織中イリノテカン及び SN-38 を分析した。
PK 解析	イリノテカン及び SN-38 濃度は、血漿では ng/mL、組織では ng/g で示した。LLOQ 未満の濃度は全て BLQ と報告した。各採取時点での血漿、腫瘍塊及び組織中イリノテカン及び SN-38 濃度の平均値を用いて、ノンコンパートメント解析より PK パラメータを算出した。

表 2.6.4-44 PEP02-NC-N-PK-005 試験デザイン

Group A	Group Size and Dosing regimen (mg/kg)	Sampling After dosing				
BAX2398	15 Male 40; IV x 1	+ 1 hour	+ 8 hours	+ 24 hours	+ 72 hours	+ 168 hours
		3 animals	3 animals	3 animals	3 animals	3 animals
Group B	**Group Size and Dosing regimen (mg/kg)**	**Sampling After dosing**				
CPT-11	15 Male 40; IV x 1	+ 1 hour	+ 4 hours	+ 8 hours	+ 24 hours	+ 48 hours
		3 animals	3 animals	3 animals	3 animals	3 animals

BAX2398: nanoliposomal irinotecan, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, IV: intravenous

血漿、腫瘍及び組織中イリノテカン及び SN-38 濃度の平均値及び PK パラメータ（$AUC_{0\text{-}t}$、$AUC_{0\text{-}inf}$、C_{max}、MRT、T_{max} 及び $t_{1/2}$）を 2.6.5.5.1 項に要約する。

BAX2398 投与後の血漿、組織及び腫瘍中イリノテカン及び SN-38 の AUC は、CPT-11 投与後の値よりいずれも高く、より効率的に組織に分布することが示唆された。BAX2398 投与後の血

漿、腎臓、小腸及び大腸中イリノテカンの C_{max} は、CPT-11 投与時に比べて低かった。BAX2398 投与後の腫瘍中イリノテカンの C_{max} は CPT-11 投与時に比べて 60%高く、肝臓中イリノテカンの C_{max} は CPT-11 投与時に比べてわずかに（10%）高かった。これらの結果から、一部の組織でのイリノテカンの C_{max} は CPT-11 投与時に比べて低かったものの、BAX2398 投与時の血漿、腫瘍及び様々な組織中イリノテカン及び SN-38 の曝露量（AUC）は CPT-11 投与時に比べて顕著に高かった。

大半の組織での C_{max} が CPT-11 投与時と比較して低かったことから、BAX2398 投与時の毒性発現の可能性は CPT-11 に比べて低いことが示唆された。また、BAX2398 投与後の腫瘍中イリノテカン濃度は、CPT-11 投与と比較して 60%高く、BAX2398 投与後の腫瘍に対する有効性は CPT-11 投与より高い可能性が示唆された。

4.2 SD ラットにおける BAX2398 単回静脈内投与後の組織内分布（パイロット試験）（PEP02-NC-N-PK-002 試験）

本試験の目的は、ラットにおける BAX2398 及び CPT-11 の単回静脈内ボーラス投与後の組織内分布（血漿、肝臓、脾臓及び骨髄）を検討することであった。ラットに CPT-11 又は BAX2398 を 10 mg/kg の用量で単回静脈内投与後、イリノテカン及び SN-38 の組織内分布を評価した。投与後の 5 時点で組織試料（血漿、肝臓、脾臓及び骨髄）を採取し、組織中イリノテカン及び SN-38 濃度を HPLC で分析した。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.4-45 及び表 2.6.4-46 に示す。

表 2.6.4-45 PEP02-NC-N-PK-002 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398、CPT-11、10 mg/kg、単回投与
投与経路	10 秒以内の頸静脈内ボーラス投与
動物種	雄 SD ラット、268～333 g CPT-11 群では投与 1、4、8、24 及び 48 時間後；BAX2398 群では投与 1、8、24、72 及び 168 時間後に動物を殺処分した。殺処分前に血液試料を採取した。
分析法	HPLC 蛍光検出器を用いて血漿中イリノテカン及び SN-38 濃度を分析した。肝臓及び脾臓組織はホモジナイズ後、遠心分離し、その上清を血漿と同様に分析した。骨髄は、左大腿骨から洗い出した後、遠心分離処理して血漿と同様に分析した。
PK 解析	組織中イリノテカン濃度に組織重量を乗じて得られる組織中イリノテカンを用いて、以下の式によって投与量に対する血漿及び組織中イリノテカンの割合を算出した。 投与量に対する% = 血漿又は組織中イリノテカン／投与量

表 2.6.4-46 PEP02-NC-N-PK-002 試験デザイン

Group	Number of Animals/Sex	Dosing Regimens (mg/kg)
CPT-11	15 Male	10; IV x 1
BAX2398	15 Male	10; IV x 1

BAX2398: nanoliposomal irinotecan, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, IV: intravenous

投与前に測定した体重に基づく用量を投与した。

各時点での血漿、肝臓、脾臓及び骨髄中イリノテカン及び SN-38 濃度は 2.6.5.5.2 項に要約する。

概して、BAX2398 投与での血漿、肝臓、脾臓中イリノテカン及び SN-38 濃度は、評価した各時点で CPT-11 投与より高かった。BAX2398 投与時の肝臓及び脾臓におけるイリノテカンの最高濃度は 24 時間後にみられた。一方、CPT-11 投与時の同時点での濃度はごくわずかであった。BAX2398 投与では、脾臓及び肝臓中イリノテカン濃度は投与 168 時間後まで検出された。リポソーム化によって、循環血中でのイリノテカン及び SN-38 の滞留時間が効果的に延長した結果、肝臓及び脾臓中イリノテカン及び SN-38 濃度が上昇した。CPT-11 投与と比較して、BAX2398 投与での血漿中イリノテカン濃度は高く、投与 24 時間後まで検出されたが、骨髄中イリノテカン及び SN-38 濃度に明らかな差異は認められなかった。

BAX2398 の投与 1 時間後の血漿中イリノテカン濃度は、CPT-11 投与と比較して 177 倍高かった。リポソーム化によって血漿中イリノテカン濃度は上昇し、滞留時間も延長した。

リポソーム化によって血漿中 SN-38 濃度は上昇した。BAX2398 投与での投与 1 及び 8 時間後の血漿中 SN-38 濃度は、CPT-11 投与と比較してそれぞれ 8 及び 24 倍高かった。

4.3 雄 Long-Evans ラットにおけるリポソーム封入型製剤（^{14}C-BAX2398）及び ^{14}C-CPT-11 単回静脈内投与後の ^{14}C-CPT-11 の動態（PEP02-NC-N-PK-007 試験）

本試験の目的は、雄 Long-Evans ラットに ^{14}C-BAX2398 及び ^{14}C-CPT-11 を 90 分にわたり単回点滴静注したときの組織中放射能濃度及びその分布について、定量的全身オートラジオグラフィーを用いて検討することであった。試験計画概要並びに BAX2398 及び CPT-11 の試験デザインをそれぞれ表 2.6.4-47、表 2.6.4-48 及び表 2.6.4-49 に示す。

表 2.6.4-47 PEP02-NC-N-PK-007 試験計画概要

投与レジメン	10 mg/kg、単回投与 2 群から構成される 12 匹の雄 Long-Evans ラットに、^{14}C-BAX2398 又は ^{14}C-CPT-11 を 10 mg/kg（目標用量）で 90 分にわたり単回点滴静注した。 第 1 群：^{14}C-BAX2398；第 2 群：^{14}C-CPT-11 の 5%デキストロース水溶液
投与経路	90 分間点滴静注
動物種	雄 Long-Evans ラット、体重の平均値：274.5 g、約 8 週齢
分析法	定量的全身オートラジオグラフィー
PK 解析	血液及び血漿：^{14}C-BAX2398 投与群では、投与終了時、投与 8、24 時間後、投与 2、3 及び 7 日後に採取した。^{14}C-CPT-11 群では、投与終了時、投与 4、8、24 時間後、投与 2 及び 3 日後に採取した。 QC 調製用の血液試料に加えて、可能であれば、以下に示す組織試料又はマトリックスを得た：脂肪（褐色及び白色）、副腎、胆汁、心臓中の血液、脳（大脳及び小脳）、骨、骨髄、盲腸とその内容物、副睾丸、食道、眼ブドウ膜と水晶体、ハーダー腺、心筋（心臓）、腎皮質と髄質、大腸とその内容物、肝臓、肺、リンパ節、髄膜、鼻甲介、膵臓、脳下垂体、前立腺、唾液腺、精嚢、骨格筋、皮膚（有色及び白色）、胃とその内容物、小腸とその内容物、脾臓、脊髄、気管、精巣、胸腺、甲状腺、膀胱とその内容物

表 2.6.4-48 PEP02-NC-N-PK-007 試験デザイン（BAX2398）

Animal No.	Sampling Time	Body Weight (g)	Dose Weight (g)	Dose Administered		
				(µCi/rat)	(µCi/kg)	(mg/kg)[a]
1	End of infusion	279.7	0.7828	11.6	41.5	9.47
2	8 hours	289.4	0.6721	10.0	34.6	7.88
3	24 hours	283.3	0.8159	12.1	42.7	9.74
4	2 days	270.3	0.7110	10.6	39.2	8.95
5	3 days	283.9	0.8457	12.6	44.4	10.14
6	7 days	269.7	0.7032	10.4	38.6	8.79
Mean		279.4	0.7552	11.2	40.2	9.16
SD		7.9	0.0695	1.0	3.5	0.80

SD: standard deviation
Note: The concentration of radioactivity in the dose formulation was 14.8 µCi/g
a: Calculated using the specific activity of 4.380 µCi/mg

表 2.6.4-49 PEP02-NC-N-PK-007 試験デザイン（CPT-11）

Animal No.	Sampling Time	Body Weight (g)	Dose Weight (g)	Dose Administered		
				(μCi/rat)	(μCi/kg)	(mg/kg)[a]
7	End of infusion	273.0	0.7566	13.0	47.6	10.92
8	4 hours	287.7	0.8759	15.0	52.1	11.92
9	8 hours	254.1	0.6675	11.4	44.9	10.27
10	24 hours	256.1	0.6958	11.9	46.5	10.62
11	48 hours	287.2	0.8325	14.3	49.8	11.39
12	72 hours	259.1	0.6866	11.8	45.5	10.42
Mean		269.5	0.7525	12.9	47.7	10.92
SD		15.4	0.0854	1.5	2.8	0.63

SD: standard deviation
Note: The concentration of radioactivity in the dose formulation was 17.1 μCi/g
a: Calculated using the specific activity of 4.368 μCi/mg

試料重量（g）に対する CPT-11 当量（μg）で表した放射能濃度（μg equiv/g）を 2.6.5.5.3 項に要約する。

^{14}C-BAX2398 投与での血漿及び血液中放射能濃度は、^{14}C-CPT-11 投与と比較して 1～2 桁高い値を示した。ラットにおける ^{14}C-BAX2398 投与後の血漿中放射能濃度は、血液中放射能濃度の約 2 倍を示したが、^{14}C-CPT-11 投与後の放射能濃度は血漿及び血液で同程度であった。^{14}C-BAX2398 投与後の血液及び血漿中放射能濃度は投与 3 日後まで検出可能であったが、^{14}C-CPT-11 投与後では投与 4 時間後までしか検出されなかった。

^{14}C-BAX2398 及び ^{14}C-CPT-11 のいずれの投与でも放射能は組織に広範に分布した。いずれの投与でも、放射能濃度は大半の組織で投与終了時に C_{max} に達した。

概して、^{14}C-BAX2398 投与時の組織中放射能濃度は、^{14}C-CPT-11 投与時と比較して高く、より長期にわたり高濃度が維持された。しかしながら、^{14}C-CPT-11 投与後の消化管内容物中放射能濃度は、^{14}C-BAX2398 投与時と比較して顕著に高かったことから、^{14}C-BAX2398 は ^{14}C-CPT-11 ほど速やかに消失しないことが示唆された。このことから、^{14}C-BAX2398 投与時のラットで高い組織中濃度が長時間維持し続ける理由が説明できる。

^{14}C-BAX2398 投与終了時の小脳中放射能濃度は、^{14}C-CPT-11 投与と比較して 18 倍高かった。しかしながら、血漿中放射能濃度に対する中枢神経系での放射能濃度比は、^{14}C-BAX2398 投与（0.61～1.27%）に比べて、^{14}C-CPT-11 投与で大きかった（5.47%）。

^{14}C-BAX2398 及び ^{14}C-CPT-11 のいずれの投与でも放射能の眼ブドウ膜への結合が認められたことから、眼のメラニンに対する結合を示している可能性がある。

4.4 担癌マウスでの点滴静注後の骨髄性及び非骨髄性細胞集団における BAX2398 の代替となる蛍光標識リポソームの分布

これまでに、長時間循環する標的非指向性リポソームは効率的に腫瘍に浸潤し、腫瘍間質、特に細胞外間隙及び腫瘍随伴マクロファージ内に集積することが示された［5］。Clark らによっ

て、膵管腺癌の遺伝的マウスモデルにおいて自然発生腫瘍の間質で相当量のマクロファージ及び骨髄由来免疫抑制細胞（MDSC）の存在が示された［2］。本項では、選択した細胞集団における BAX2398 の代替となる蛍光標識リポソームの分布について、様々な異種及び同種移植腫瘍モデルの腫瘍組織から調製した細胞懸濁液のフローサイトメトリーによって、又は数人の患者及び細胞株由来膵臓及び結腸直腸腫瘍モデルの凍結腫瘍切片の画像化によって評価した。フローサイトメトリー試験の目的は、各腫瘍型での骨髄性細胞集団と非骨髄性細胞集団との割合を明らかにし、これらの集団でのリポソーム取り込みの分布及び程度を評価することであった。Daldrup-Link らによって、抗コロニー刺激因子 1（CSF1）抗体で前処置した動物の腫瘍（及び組織）マクロファージ枯渇後の分布パターンの変動も評価された［3］。本項では、選択して対比染色した血管、上皮、マクロファージ及び DNA 損傷マーカーの経時変化を含む、蛍光標識 BAX2398 の腫瘍内分布を評価した。

4.4.1 結腸直腸癌及び膵臓癌の細胞株系由来及び患者由来異種移植腫瘍モデルにおける蛍光標識 BAX2398 の腫瘍内分布（MM-398-NC-N-Ph-029 試験）

担癌マウスに蛍光標識リポソーム（脂溶性カルボシアニン色素 DiIC18(5)-DS 標識［DiI5］-BAX2398 又は DiI5-リポソーム対照）を 10 mg/kg の用量で単回静脈内ボーラス投与した。腫瘍採取前（大半のモデルでは投与 24～72 時間後）に、腫瘍コンパートメントから血液成分を除去するために心臓内灌流を行った。凍結及びホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍コアを染色及び画像化のために組織マイクロアレイに組み込んだ。リポソーム取り込みのマーカーとして DiI5、血管のマーカーとしてフルオレセインイソチオシアネート（FITC）-Lectin 又は CD31、ヒト上皮腫瘍成分のマーカーとしてサイトケラチンの免疫蛍光画像を得た。同時に、免疫組織学的手法を用いて F4/80 陽性マクロファージ及び DNA 損傷のマーカーとして γH2AX-pSer139 を画像化した。試験計画概要を表 2.6.4-50 に示す。

表 2.6.4-50 MM-398-NC-N-Ph-029 試験計画概要

投与レジメン	DiI5-BAX2398、DiI5-リポソーム対照、10 mg/kg
投与経路	尾静脈内ボーラス投与
動物種	雌非肥満糖尿病（NOD）-SCID マウス、4～6 週齢、4 匹／群
腫瘍モデル	HT-29 大腸癌細胞、AsPC-1 膵臓癌細胞、CFPAC-1 膵臓癌細胞 Tumorgraft モデル：CTG-0062（結腸直腸）；CTG-0288（膵臓）；CTG-0283（膵臓） 全てのモデルで皮下接種した。
評価されたマーカー	• 免疫蛍光染色 DiI5、FITC-Lectin、CD31、サイトケラチン • 免疫組織学 F4/80, γH2AX-pSer139

DiI5-BAX2398 の蛍光シグナルは 1～4 時間の早い時点で腫瘍内に認められ、概して CD31 で染色された血管と密接に関連し、FITC-Lectin による染色で示されるように機能的にアクセス可能でさえあった。投与 24 時間後では血管周囲 100 μm 超に分散していた。DiI5 シグナル強度は 72

時間後、CEPAC-1 モデルでは 168 時間後でも維持されたことから、蛍光標識体自体の保持及びリポソーム担体の延長による可能性が示された。コア内での DiI5 標識リポソーム集積領域は、サイズ及びシグナル強度ともに多分散を示し、幾つかのモデルを通して血管周囲に沈着している「ホットスポット」が認められた。

CTG-062 及び CFPAC-1 モデルで示されるように、*in vivo* でのリポソーム沈着は、好中球により浸潤された高密度線維血管間質及び組織球性炎症と密接に関連していた。CFPAC-1 モデルでは、DiI5 標識リポソームを上皮汎サイトケラチンマーカーで対比染色し、BAX2398 の沈着が上皮／間質比に関係なく主に間質領域に限定されることが確認された。重要なこととして、CTG-062 モデルで γH2AX-pSer139 染色により確認された DNA 損傷は、腫瘍細胞中に離散的に局在したが、間質領域ではみられなかった。同様の所見は、OCIP51 膵臓モデルでも認められた（MM-398-NC-N-Ph-023A1）。

4.4.2 抗 CSF-1 抗体前処置あり又は前処置なしの NOD-SCID マウスにヒト HT-29 大腸癌を異種移植した腫瘍モデルにおける腫瘍細胞での蛍光標識リポソームの分布（MM-398-NC-N-Ph-019 試験）

HT-29 大腸癌異種移植モデルでは、蛍光標識リポソーム（DiI5-BAX2398 又は DiI5-リポソーム対照）を 10 mg/kg の用量で単回静脈内ボーラス投与した。マクロファージ枯渇試験では、マウスにラットモノクローナル抗 CSF-1 抗体を 8 日にわたり 3 回投与して前処置した。蛍光標識リポソーム投与 24 又は 72 時間後に腫瘍を切除し、分解処理及び攪拌によって細胞懸濁液を調製した。HT-29 細胞のマーカーとしてヒト上皮細胞接着分子（EpCAM）、リンパ球及び骨髄細胞のマーカーとして CD45、CD11b、Ly6C、GR1 及び F4/80、リポソーム取り込みのマーカーとして DiI5、生細胞識別マーカーとして Sytox Blue を用いて、フローサイトメトリー解析により細胞集団を明らかにした。イリノテカン及びその代謝物は、405 nm の紫色レーザーによる励起後のシグナルに寄与した。試験計画概要を表 2.6.4-51 に示す。

表 2.6.4-51 MM-398-NC-N-Ph-019 試験計画概要

投与レジメン	DiI5-BAX2398、DiI5-リポソーム対照：皮下接種後、第 20 日に 10 mg/kg 抗 CSF1 抗体：第 12 日に導入用量として 1 mg、第 15 及び 19 日にフォローアップとして 0.5 mg（腹腔内投与）
投与経路	尾静脈内ボーラス投与
動物種	雌 NOD-SCID マウス、4〜5 週齢、3〜4 匹／群
腫瘍モデル	HT-29 大腸癌細胞、皮下接種
評価されたパラメータ	生細胞 腫瘍細胞集団のサイズ：x DiI5-リポソーム陽性集団の割合：y DiI5 陽性細胞の平均蛍光強度（MFI）：z 細胞集団でのリポソーム負荷（x×y×z によって算出されるスケール因子）
統計処理	Student's *t*-test（対応なし）

DiI5 標識リポソーム（DiI5-BAX2398 及び DiI5-リポソーム対照を含む）投与 24 時間後に採取した HT-29 腫瘍は 1174 ± 426 mm^3 であった。HT-29 腫瘍の *ex vivo* フローサイトメトリーにおいて、試料中の生細胞の割合は 18.01 ± 4.05%であった。CD45 又は CD11b で染色されない細胞では、EpCAM マーカーは、EpCAM 陽性 HT29 腫瘍細胞と他の EpCAM 陰性腫瘍細胞とを区別した。F4/80^{hi} 成熟マクロファージ、GR1^{lo}LY6C^{hi} 単核骨髄由来免疫抑制細胞（MO-MDSCs）及び GR1^{hi}LY6C^{lo} 多形核 MDSC（PMN-MDSCs）が主な細胞集団であった。

生細胞ゲーティングは、細胞膜の損傷により Sytox Blue で死細胞に特徴的な高強度シグナルとなった細胞を排除することによって達成した。DiI5-BAX2398 の存在下、ペイロードであるイリノテカンは追加の蛍光シグナルに寄与する。このシグナルはその強度及び DiI5 標識リポソームのシグナルに相関しているという点で、DiI5-リポソーム対照を投与した腫瘍試料で検出された Sytox Blue 由来シグナル（405 nm で励起）と区別できる。このような薬物含有生細胞は全生細胞の 1.66 ± 0.81%であったが、細胞集団での DiI5 標識リポソーム負荷の増加により大きく寄与した。このシグナルの大部分は、F4/80^{hi} 成熟マクロファージに存在していた。フローサイトメトリー解析の結果を表 2.6.4-52 に示す。

表 2.6.4-52 NOD-SCID マウスにおける投与 24 時間後の HT-29 腫瘍のフローサイトメトリー解析

Cell Population	Control or DiI5-empty liposome		DiI5-BAX2398		DiI5-BAX2398 w/ Anti-CSF1 antibody	
	Population size (%)					
	n = 3		n = 4		n = 4	
HT-29 tumor cells	61.14 ± 9.37		59.75 ± 9.75		72.55 ± 3.76	
Non-EpCAM cells	10.01 ± 2.73		10.47 ± 5.07		16.79 ± 1.03	
Mature MQ	17.92 ± 4.12		19.10 ± 4.35		3.83 ± 1.02	
MO-MDSCs	1.64 ± 0.64		1.18 ± 0.63		0.92 ± 0.55	
PMN-MDSCs	1.68 ± 0.49		1.57 ± 0.33		2.55 ± 1.22	
	DiI5+ signals in cell population					
	%	MFI	%	MFI	%	MFI
HT-29 tumor cells	4.98 ± 1.94	47.70 ± 17.17	9.07 ± 7.35	21.68 ± 7.24	4.73 ± 1.51	51.60 ± 2.26
Non-EpCAM cells	69.35 ± 11.01	150.58 ± 65.60	54.35 ± 11.58	82.93 ± 20.42	75.33 ± 8.45	210.25 ± 70.22
Mature MQ	76.55 ± 3.45	1022.5 ± 230.5	67.70 ± 7.54	786.5 ± 216.63	88.70 ± 4.34	1760.25 ± 237.07
MO-MDSCs	81.15 ± 7.60	334.75 ± 146.89	58.23 ± 9.22	153.13 ± 80.08	85.30 ± 5.02	422.00 ± 90.61
PMN-MDSCs	18.10 ± 5.81	4028.5 ± 1157.51	9.18 ± 3.94	1091.75 ± 251.66	8.78 ± 0.94	714.00 ± 238.87
	Fractional Distribution of Liposomal Load (%)					
HT-29 tumor cells	1.05 ± 0.22		0.69 ± 0.39		1.90 ± 0.35	
Non-EpCAM cells	5.96 ± 2.19		4.13 ± 1.60		28.13 ± 2.29	
Mature MQ	83.23 ± 3.65		92.14 ± 1.95		63.95 ± 2.87	
MO-MDSCs	2.03 ± 0.40		0.85 ± 0.36		3.34 ± 1.15	
PMN-MDSCs	7.32 ± 2.06		1.39 ± 0.33		1.54 ± 0.22	

BAX2398: nanoliposomal CPT-11, CSF1: colony stimulating factor-1, DiI5: fluorescent lipophilic carbocyanine DiIC18(5)-DS tag, EpCAM: epithelial cell adhesion molecule, MFI: mean fluorescence intensity, MO-MDSCs: mononuclear myeloid-derived suppressor cells, MQ: macrophage, PMN-MDSCs: polymorphonuclear myeloid-derived suppressor cells

HT29 腫瘍モデルでの細胞集団のサイズは、DiI5-BAX2398 投与 24 時間後でも変化はみられなかった。抗 CSF1 抗体によって成熟マクロファージ集団を枯渇させたが、他の骨髄性細胞には影響を及ぼさなかった。HT29 及び EpCAM 陰性腫瘍細胞の代償性増加が認められた。

主な細胞集団のうち、EpCAM 陰性腫瘍細胞、成熟マクロファージ及び MO-MDSCs 細胞で各細胞の 50%超において DiI5 標識リポソームの集積（すなわち、DiI5 標識リポソームなしの対照細胞と比較して DiI5 シグナルが高値を示すこと）がみられた。MFI で示された通り、成熟マクロファージで最も高い細胞中集積が認められた。DiI5-BAX2398 の存在下では、DiI5 陽性の割合及び MFI は大半の細胞集団で減少した。抗 CSF1 抗体前処置下では、DiI5 陽性の割合及び MFI は増加し（特に MFI の増加は顕著であった）、これは非枯渇細胞でのリポソーム取り込みの代償及び細網内皮系（RES）に依存的なリポソームの PK の変動を反映している。注目すべきことと

して、DiI5 陽性 PMN-MDSCs 集団は非常に小さく、例外的に高い MFI を示した。このシグナルは、BAX2398 の存在及び／又はマクロファージの枯渇によって顕著に影響を受けた。

これらの細胞集団において、細胞集団のサイズ、細胞集団中 DiI5 陽性細胞の割合及び DiI5 の MFI を用いて細胞へのリポソーム負荷が算出される。これは、試料ごとに全体的なリポソーム負荷を概算し、全ての細胞集団の合計値より得られる。マクロファージ枯渇がない場合、DiI5-リポソーム対照の各腫瘍溶解液から算出した細胞の負荷は 1457.61 ± 491.75、DiI5-BAX2398 では 1195.65 ± 622.55 であった。抗 CSF1 抗体前処置で枯渇させた場合、DiI5-BAX2398 の細胞の負荷は 974.86 ± 465.09 であった。それ故、BAX2398 存在下及び成熟マクロファージ枯渇後の全体的な細胞のリポソーム取り込みには、統計学的に有意な変化はみられなかった（それぞれ P = 0.53 及び P = 0.59）。

枯渇がない場合のマクロファージは生細胞の約 18%～19%であったが、リポソーム負荷の 83%～92%を占めていた。腫瘍細胞の大部分（60%～67%）は EpCAM 陽性であったが、リポソーム負荷の約 1%であった。腫瘍細胞の約 9%～10%が EpCAM 陰性であり、リポソーム負荷の約 4%～6%を占めていた。枯渇後、マクロファージの割合は 4%未満に減少したが、依然としてリポソーム負荷の約 64%を占めていた。枯渇後の EpCAM 陽性細胞及び EpCAM 陰性腫瘍細胞集団の割合の合計値は約 90%に増加した。EpCAM 陰性腫瘍細胞は、リポソーム負荷の約 28%を保持し、非枯渇時と比較して 5 倍超増加した。

4.4.3 抗 CSF-1 抗体前処置あり又は前処置なしの C57BL/6J マウスにマウス LLC 細胞を同種移植した腫瘍モデルにおける腫瘍細胞での蛍光標識リポソームの分布（MM-398-NC-N-Ph-020 試験）

LLC 同種移植モデルに蛍光標識リポソーム対照（DiI5-リポソーム対照）を 10 mg/kg の用量で単回静脈内ボーラス投与した。マクロファージ枯渇試験では、マウスにラットモノクローナル抗 CSF-1 抗体を 9 日にわたり 3 回投与して前処置した。腫瘍を切除し、分解処理及び攪拌によって細胞懸濁液を調製した。LLC 細胞のマーカーとしてマウス EphA2、リンパ球及び骨髄細胞のマーカーとして CD45、CD11b、Ly6C、GR1 及び F4/80、リポソーム取り込みのマーカーとして DiI5、生細胞識別マーカーとして Sytox Blue を用いて、フローサイトメトリー解析により細胞集団を明らかにした。試験計画概要を表 2.6.4-53 に示す。

表 2.6.4-53 MM-398-NC-N-Ph-020 試験計画概要

投与経路	DiI5-リポソーム対照[a]：皮下接種後、第 18 日に 10 mg/kg 抗 CSF1 抗体：第 9 日に導入用量として 1 mg、第 13 及び 17 日にフォローアップとして 0.5 mg（腹腔内投与）
投与経路	尾静脈内ボーラス投与
動物種	雌 C57BL/6J マウス、4～5 週齢、4 匹／群
腫瘍モデル	LLC 細胞、皮下接種
評価されたパラメータ	生細胞 腫瘍細胞集団のサイズ：x DiI5-リポソーム陽性集団の割合：y DiI5 陽性細胞の MFI：z 細胞集団でのリポソーム負荷（x×y×z によって算出されるスケール因子）
統計処理	Student's *t*-test（対応なし）

a: DiI5-labelled liposomes, representative of those used in BAX2398

DiI5-リポソーム対照を投与した 24 時間後に採取した LLC 腫瘍は 1914 ± 560 mm^3 であった。LLC 腫瘍の *ex vivo* フローサイトメトリーにおいて、試料中の生細胞の割合は 66.53 ± 7.91%であった。EphA2 陽性 LLC 腫瘍細胞、F4/80^{hi} 成熟マクロファージ、GR1^{lo}LY6C^{hi} MO-MDSCs 及び GR1^{hi}LY6C^{lo} PMN-MDSCs が主な細胞集団であった。

フローサイトメトリー解析の結果を表 2.6.4-54 に示す。

表 2.6.4-54 C57BL/6J マウスにおける投与 24 時間後の LLC 腫瘍のフローサイトメトリー解析

Cell Population	Control or DiI5-empty liposome		DiI5-liposome w/ anti-CSF1 antibody	
	Population size (%)			
	n = 4		n = 4	
LLC tumor cells	69.24 ± 3.97		89.55 ± 1.87	
Mature MQ	17.25 ± 1.23		1.94 ± 0.28	
MO-MDSCs	5.07 ± 1.90		2.48 ± 0.50	
PMN-MDSCs	3.65 ± 1.14		3.64 ± 1.05	
	DiI5+ signals in cell population			
	%	MFI	%	MFI
LLC tumor cells	37.47 ± 4.72	95.75 ± 9.18	56.97 ± 10.01	168.73 ± 72.51
Mature MQ	70.61 ± 6.59	706.51 ± 212.95	71.63 ± 8.14	984.87 ± 469.47
MO-MDSCs	73.11 ± 7.77	187.34 ± 51.80	62.96 ± 14.12	169.22 ± 75.46
PMN-MDSCs	38.19 ± 11.24	775.63 ± 142.96	32.14 ± 13.30	178.54 ± 114.39
	Fractional Distribution of Liposomal Load (%)			
LLC tumor cells	19.19 ± 4.84		79.71 ± 4.17	
Mature MQ	65.45 ± 5.09		12.55 ± 3.21	
MO-MDSCs	5.26 ± 2.47		2.43 ± 0.58	
PMN-MDSCs	7.29 ± 1.54		2.05 ± 1.39	

CSF1: colony stimulating factor-1, DiI5: fluorescent lipophilic carbocyanine DiIC18(5)-DS tag, LLC: lewis lung carcinoma, MFI: mean fluorescence intensity, MO-MDSCs: mononuclear myeloid-derived suppressor cells, MQ: macrophage, PMN-MDSCs: polymorphonuclear myeloid-derived suppressor cells

抗 CSF1 抗体前処置は同種移植 LLC 腫瘍モデルでの成熟マクロファージ集団を強く枯渇させ、MO-MDSC 集団のサイズも減少した。LLC 腫瘍細胞の代償性増加が認められた。

主な細胞集団ではいずれも DiI5-リポソームの集積は大きな割合を占め、その平均値は 37%～73%の範囲にあった。MFI で示された通り、成熟マクロファージは最も高い細胞中集積が認められた細胞集団の 1 つであった。抗 CSF1 抗体の前処置により成熟マクロファージにおける DiI5 陽性の割合は変化しなかったが、MFI は顕著に増加した。LLC 腫瘍細胞集団においてのみ、抗 CSF1 抗体前処置により DiI5 陽性の割合は顕著に増加し、それと並行して MFI も増加した。逆に、MO-MSDCs 及び PMN-MDSCs では抗 CSF1 抗体前処置により DiI5 陽性の割合及び MFI ともに減少した。注目すべきこととして、DiI5 陽性 PMN-MDSCs は、成熟マクロファージに匹敵する高い MFI を示した。このシグナルはマクロファージの枯渇によって顕著に影響を受けた。

これらの細胞集団において、細胞集団のサイズ、細胞集団中の DiI5 陽性細胞の割合及び DiI5 の MFI から細胞のリポソーム負荷が算出される。これは、試料ごとに全体的なリポソーム負荷を概算し、全ての細胞集団の合計値より得られる。マクロファージ枯渇がない場合、各腫瘍溶解液から算出した細胞の負荷は 1340.90 ± 371.56 であった。抗 CSF1 抗体の前処置により枯渇させた場合、細胞の負荷は 1144.58 ± 730.83 であった。それ故、成熟マクロファージ枯渇後の有無で全体的な細胞によるリポソーム取り込みに統計学的に有意な変化はみられなかった（P = 0.65）。

これらの値を HT29 又は MC-38 腫瘍を用いた試験と比較できるように、フローサイトメトリー中の電圧設定には約 0.182 倍の補正係数を用いた。

C57BL/6J マウスで増殖した LLC 腫瘍では、マクロファージは生細胞の約 17%であったが、リポソーム負荷の 65%を占めていた。EphA2 陽性 LLC 腫瘍細胞は生細胞の約 69%であったが、リポソーム負荷の約 19%であった。枯渇後、マクロファージの割合は 2%未満に減少し、リポソーム負荷は約 12%～13%のみであった。枯渇後の LLC 腫瘍細胞集団の割合の合計値は約 90%に増加し、リポソーム負荷の約 80%を占めた。

4.4.4 抗 CSF-1 抗体前処置あり又は前処置なしの C57BL/6J マウスにマウス MC-38 大腸癌を同種移植した腫瘍モデルにおける腫瘍細胞での蛍光標識リポソームの分布（MM-398-NC-N-Ph-021 試験）

MC-38 大腸癌同種移植モデルに蛍光標識リポソーム（DiI5-BAX2398 又は DiI5-リポソーム対照）を 10 mg/kg の用量で単回静脈内ボーラス投与した。マクロファージ枯渇試験では、マウスにラットモノクローナル抗 CSF-1 抗体を 6 日にわたり 2 回投与して前処置した。腫瘍を切除し、分解処理及び攪拌によって細胞懸濁液を調製した。マウス MC-38 細胞のマーカーとして EphA2、リンパ球及び骨髄細胞のマーカーとして CD45、CD11b、Ly6C、GR1 及び F4/80、リポソーム取り込みのマーカーとして DiI5、生細胞識別マーカーとして Sytox Blue を用いてフローサイトメトリーにより細胞集団を明らかにした。試験計画概要を表 2.6.4-55 に示す。

表 2.6.4-55 MM-398-NC-N-Ph-021 試験計画概要

投与レジメン	DiI5-BAX2398、DiI5-リポソーム対照：皮下接種後、第 13 日に 10 mg/kg 抗 CSF1 抗体：第 7 日に導入用量として 1 mg、第 12 日にフォローアップとして 0.5 mg（腹腔内投与）
投与経路	尾静脈内ボーラス投与
動物種	雌 C57BL/6J マウス、4～5 週齢、4 匹／群
腫瘍モデル	MC-38 大腸癌細胞、皮下接種
評価されたパラメータ	生細胞 腫瘍細胞集団のサイズ：x DiI5-リポソーム陽性集団の割合：y DiI5 陽性細胞の平均蛍光強度（MFI）：z 細胞集団でのリポソーム負荷（x×y×z によって算出されるスケール因子）
統計処理	Student's *t*-test（対応なし）

DiI5 標識リポソーム（DiI5-BAX2398 及び DiI5-リポソーム対照を含む）投与 24 時間後に採取した MC-38 腫瘍は 872 ± 418 mm^3 であった。MC-38 腫瘍の *ex vivo* フローサイトメトリーにおいて、抗 CSF-1 抗体前処置下及び非処置下での試料中生細胞の割合はそれぞれ 9.34 ± 3.23%及び 22.75 ± 9.51%であった（P = 0.017）。MC-38 腫瘍細胞、$F4/80^{hi}$ 成熟マクロファージ、$GR1^{lo}LY6C^{hi}$

MO-MDSCs 及び GR1^{hi}LY6C^{lo} PMN-MDSCs が DiI5-リポソームの集積が認められた主な細胞集団であった。

フローサイトメトリー解析の結果を表 2.6.4-56 に示す。

表 2.6.4-56 C57BL/6J マウスにおける投与 24 時間後の MC-38 腫瘍のフローサイトメトリー解析

Cell Population	Control or DiI5-empty liposome		DiI5- BAX2398		DiI5- BAX2398 w/ anti-CSF1 antibody	
	Population size (%)					
	n = 4		n = 4		n = 4	
MC-38 tumor cells	76.96 ± 6.29		68.93 ± 5.46		67.23 ± 2.81	
Mature MQ	1.79 ± 0.51		2.78 ± 0.37		0.85 ± 0.34	
MO-MDSCs	9.45 ± 3.19		13.10 ± 3.26		6.69 ± 4.18	
PMN-MDSCs	7.65 ± 3.29		8.80 ± 2.54		19.21 ± 4.25	
	DiI5+ signals in cell population					
	%	MFI	%	MFI	%	MFI
MC-38 tumor cells	41.28 ± 3.06	13.49 ± 3.28	24.13 ± 4.84	8.30 ± 2.53	31.43 ± 10.96	10.14 ± 3.94
Mature MQ	70.38 ± 10.53	812.25 ± 203.32	49.18 ± 7.63	357.25 ± 106.74	51.20 ± 13.53	456.75 ± 224.68
MO-MDSCs	64.93 ± 6.51	278.00 ± 96.77	52.60 ± 13.42	115.33 ± 26.87	51.25 ± 12.19	124.30 ± 40.47
PMN-MDSCs	37.98 ± 5.75	746.00 ± 175.25	27.80 ± 10.01	327.00 ± 68.83	10.10 ± 7.34	282.25 ± 94.23
	Fractional Distribution of Liposome Signal (%)					
MC-38 tumor cells	9.97 ± 1.16		6.41 ± 1.37		19.19 ± 11.35	
Mature MQ	25.42 ± 4.14		22.49 ± 2.14		13.92 ± 2.40	
MO-MDSCs	34.70 ± 3.65		35.98 ± 3.25		29.99 ± 13.08	
PMN-MDSCs	29.28 ± 3.44		34.87 ± 6.02		36.08 ± 10.04	

BAX2398: nanoliposomal CPT-11, CSF1: colony stimulating factor-1, DiI5: fluorescent lipophilic carbocyanine DiIC18(5)-DS tag, MFI: mean fluorescence intensity, MO-MDSCs: mononuclear myeloid-derived suppressor cells, MQ: macrophage, PMN-MDSCs: polymorphonuclear myeloid-derived suppressor cells

MC-38 腫瘍モデルでの成熟マクロファージ集団のサイズは非常に小さかったが、他の骨髄 MDSCs 集団のサイズは LLC 腫瘍モデル（MM-398-NC-N-Ph-020 試験）及び HT-29 腫瘍モデル（MM-398-NC-N-Ph-019 試験）に比べて大きかった。DiI5-BAX2398 存在下、投与 24 時間後の MC-38 集団サイズの平均値の減少は中等度であったが、他の主な細胞集団と比較すると統計学的に有意であった（P = 0.0048）。抗 CSF1 抗体の前処置によって、未処置でも既に小さかった成熟マクロファージ集団は枯渇し、MO-MDSCs 集団サイズも 50%減少した。PMN-MDSCs 集団では枯渇に伴いサイズが顕著に増大したが、MC-38 腫瘍細胞の割合に変化はみられなかった。

主な細胞集団ではいずれも DiI5 リポソームの集積は大きな割合を占め、その平均値は 38%～70%の範囲にあった。DiI5-BAX2398 存在下、DiI5 陽性の割合及び MFI はこれらの細胞集団で低

下した。抗 CSF-1 抗体の前処置による枯渇の影響は中程度であった。MFI で示された通り、成熟マクロファージは最も高い細胞中集積が認められた集団の 1 つであったが、抗 CSF1 抗体の前処置により DiI5 陽性の割合は変化せず、MFI が中等度に増加するのみであった。最も顕著なこととして、PMN-MDSCs 細胞集団は、枯渇後に DiI5 陽性の割合が顕著に減少し、これらの細胞では MFI はさらに減少した。MO-MDSCs 集団については、枯渇による明らかな影響は認められなかったが、MC-38 腫瘍細胞では DiI5 陽性の割合がわずかに増加した。

これらの細胞集団において、細胞集団のサイズ、集団中の DiI5 陽性細胞の割合及び DiI5 の MFI から細胞のリポソーム負荷が算出される。これは、試料ごとに全体的なリポソーム負荷を概算し、全ての細胞集団の合計値より得られる。マクロファージ枯渇がない場合、DiI5-リポソーム対照の各腫瘍溶解液から算出された細胞の負荷は 455.21 ± 147.32、DiI5-BAX2398 では 219.43 ± 89.62 であったこと、DiI5-BAX2398 の存在によりリポソーム負荷は顕著に減少した（P = 0.034）。抗 CSF1 抗体の前処置下での DiI5-BAX2398 の細胞の負荷は 157.74 ± 127.40 であった。それ故、成熟マクロファージ枯渇後の全体的な細胞のリポソーム取り込みには、統計学的に有意な変化はみられなかった（P = 0.46）。フローサイトメトリー中の電圧設定が同じであるため、HT29 腫瘍を用いた試験の値（MM-398-NC-N-Ph-019 試験）との直接比較が可能である。

C57BL/6J マウスで増殖した MC-38 大腸癌腫瘍では、マクロファージは生細胞の約 2%～3%であったが、リポソーム負荷の約 22%～25%を占めていた。MC-38 腫瘍細胞は生細胞の約 69%～76%であったが、リポソーム負荷は約 6%～10%であった。MO-MDSCs 及び PMN-MDSCs 集団は約 8%～13%であり、リポソーム負荷の約 33%を占めていた。枯渇後、マクロファージの割合は 1%未満に減少し、リポソーム負荷は約 14%のみであった。MC-38 腫瘍細胞の割合は変動しなかったが、リポソーム負荷は約 19%であった。DiI5 陽性細胞の割合は約 1/3 に減少し、これらの細胞の全体的なリポソーム負荷に変化はみられなかったが、PMN-MDSCs 集団のサイズは 19%に増加した。

4.4.5　要約及び結論

蛍光標識リポソームを用いた免疫組織学的手法によって、腫瘍内での BAX2398 の集積及び薬力学的効果を部位別に評価し、γH2AX-pSer139 染色によって示される DNA 損傷に対する BAX2398 の抗腫瘍効果をイリノテカン/SN-38 の既知の効果と関係づけた。画像からは、リポソームの「ホットスポット」が一貫して腫瘍間質の血管周辺領域にあることが示された。腫瘍細胞での DNA 損傷に付随する所見として、腫瘍細胞内に放出されたペイロードのバイオアベイラビリティが示されたが、これは間質領域では認められなかった。

蛍光標識リポソームを投与後 24 時間以上経過した腫瘍試料から調製した細胞懸濁液のフローサイトメトリー解析によって、F4/80 陽性成熟マクロファージは、他の骨髄性又は非骨髄性細胞集団と比較して、集団サイズあたりの全体的な細胞のリポソーム負荷の割合が非常に大きかった。しかしながら、腫瘍中の成熟マクロファージ量が非常に少ない場合、他の骨髄性細胞でさえも十分な量のリポソームを取り込むことができる。マクロファージ及び骨髄集団は、細胞の蛍光標識リポソーム取り込みの大半を占め、その割合は腫瘍モデルごとに異なり 78%～94%であった。これらの試験の一部では、特に高レベルのリポソームを取り込んだ細胞においてイリノテカ

ン及びその代謝物の存在が示された。これらの細胞の大半は成熟マクロファージであり、おそらく貪食作用によって細胞内にリポソームが集積する傾向が再度示された。

腫瘍組織で（主に）成熟マクロファージの枯渇後に観察されたリポソーム取り込みパターンの変化は、リポソームを集積するための異なる細胞集団間の競合があることを示すものである。これは、RES におけるマクロファージ枯渇後の全体的なリポソームの PK の変動、リポソームの細胞への接近しやすさ及びリポソーム分布時の細胞のターンオーバー、そして特にペイロードであるイリノテカンの存在によって影響を受ける可能性がある。マクロファージ自体の枯渇は、他の骨髄性細胞集団の浸潤や分布にも影響を及ぼし得る。さらに、抗 CSF1 抗体による枯渇効果によって、これまで過小評価されていた BAX2398 に対する LLC や他の腫瘍成分の親和性が明らかにされ、成熟マクロファージの枯渇後でも全体的な細胞のリポソーム取り込みは顕著に変動しないという代償的機構も明確になった。

5　代謝

ラット又はイヌでの代謝試験は実施しなかった。イリノテカンの代謝は文献で広範に特徴付けられている［6、8、9］。SN-38 はイリノテカンの活性代謝物であることが報告されている［1］。イリノテカンのカンプトテシン部位とジピペリジノ側鎖との間のカルバメート結合が CES によって切断されることにより、SN-38 が生成される。SN-38 は、イリノテカンの約 100～1000 倍の細胞傷害活性を有する［6］。非臨床試験での吸収及び分布試験において SN-38 の PK が評価された。

イリノテカンは SN-38 への変換に加え、シトクロム P450（CYP）3A4 によって様々な代謝物、特にアミノ吉草酸代謝物（APC）及びアミノピペリジノ代謝物（NPC）に代謝される［6］。NPC は CES によって SN-38 に変換されるが、APC は SN-38 に変換されず、その活性は SN-38 の 1/100 以下であるため、*in vivo* でイリノテカンの活性及び毒性プロファイルに直接影響しない［7］。非臨床試験では、これらの代謝物は定量しなかった。

最終的に、SN-38 は UGT1A 分子種によって活性を有しない SN-38G に代謝される［6、9］。

6 排泄

6.1 SD ラットにおける ^{14}C-BAX2398 を静脈内投与後の放射能のマスバランス及び排泄（PEP02-NC-N-PK-008 試験）

本試験の目的は、SD ラット［一部は胆管カニューレ装着（BDC）］に ^{14}C-BAX2398 を 90 分にわたり単回点滴静注後の尿、糞及び胆汁中累積排泄率並びに排泄の推移を検討することであった。ラットに ^{14}C-BAX2398 を 90 分にわたり単回点滴静注したときの血漿中総放射能濃度推移を検討し、尿及び糞中排泄並びに血漿中濃度推移の性差を評価した。試験デザイン及び試料採取デザインをそれぞれ表 2.6.4-57 及び表 2.6.4-58 に示す。累積排泄率を 2.6.5.13 項に要約する。

表 2.6.4-57 PEP02-NC-N-PK-008 試験デザイン

Group Number	Number/Sex	Dose Regimen	Dose Level (mg/kg)[a]	Dose Conc. (mg/mL)[a]	Dose Volume (mL/kg)	Infusion Rate (mL/kg/hr)	Radioactivity Dose (μCi/kg)
1 (FVC)	3Male / 3Female	IV infusion for 90 min	5	2.5	2	1.33	50
2 (BDC/FVC)	3Male	IV infusion for 90 min	5	2.5	2	1.33	50
3 (FVC)	18Male / 18Female	IV infusion for 90 min	5	2.5	2	1.33	50

BDC: bile duct cannulated, FVC: femoral vein cannulated, IV: intravenous
a: Dose level and concentration are expressed in terms of CPT-11 (Irinotecan hydrochloride hydrate).

表 2.6.4-58 PEP02-NC-N-PK-008 試験の試料採取デザイン

Group Number	Urine	Feces	Bile	Blood (Plasma)	Cage Rinse	Cage Wash & Wipe
1 (FVC)	Pre-dose, 0-4, 4-8, 8-24, and 24 hr intervals to 168 hr	Pre-dose, 24 hr intervals to 168 hr	N/A	N/A	24 hr intervals to 144 hr	168 hr
2 (BDC/FVC)	Pre-dose, 0-4, 4-8, 8-24, 24 hr intervals to 96 hr	Pre-dose, 24 hr intervals to 96 hr	Pre-dose, 0-4, 4-8, 8-24, and 24 hr intervals to 96 hr	N/A	24 hr intervals to 72 hr	96 hr
3 (FVC)	N/A	N/A	N/A	Pre-dose, 1.5 hr (right before the end of infusion), 6, 24, 48 and 96 hr	N/A	N/A

BDC: bile duct cannulated, FVC: femoral vein cannulated, N/A: not applicable (no sample collection)

合計 45 匹の SD ラットに ^{14}C-BAX2398 を単回点滴静注した［第 1 群では雌雄各 3 匹、第 2 群では BDC 雄 3 匹、第 3 群では雌雄各 18 匹］。大腿静脈カニューレを用いて、1.33 mL/kg/hr の投与速度で 90 分にわたり、投与放射能が約 50 μCi/kg 及び投与量が約 5 mg/kg となるように投与した。第 1 群のラットでは、尿及び糞を投与開始後 168 時間まで採取した。第 2 群の BDC ラット

では、尿、糞及び胆汁を投与開始後 96 時間まで採取した。第 3 群のラットでは、血漿試料を投与開始後 96 時間までの様々な時点で採取した。尿、糞、胆汁、血漿及びケージ中残存物（ケージ洗浄液、最終の試料採取時点のケージ拭き取り洗浄液及びケージ拭き取り物）の投与後に採取した全ての試料の放射能を測定した。

ラット（第 1 群、雌雄各 3 匹）での主要排泄経路は糞中であり、^{14}C-BAX2398 の投与放射能に対する 168 時間までの放射能排泄率は雌雄でそれぞれ 83.4%及び 78.3%であった。大半は 48 時間以内に糞中に排泄され、48 時間までの放射能排泄率は雌雄でそれぞれ 63.7%及び 63.0%であった。168 時間までの尿中放射能排泄率は雌雄でそれぞれ 16.5%及び 22.9%であった。放射能の総回収率の平均値は雌雄ともに 100%超であった。排泄及びマスバランスに顕著な性差はみられなかった。

^{14}C-BAX2398 投与 BDC ラット（第 2 群、雄 3 匹）での 96 時間までの胆汁中放射能排泄率は、投与放射能の 57.3%を占めた。糞中放射能排泄率は、投与放射能の 17.3%を占めた。尿中排泄率は投与放射能の 27.4%であり、胆管カニューレ非装着雄ラットに比べて若干高い値を示した。96 時間までの胆汁、尿、糞、ケージ洗浄液、最終の試料採取時点のケージ拭き取り洗浄液及びケージ拭き取り物を含めた放射能の総回収率の平均値は 100%超であった。

ラット（第 3 群、3 匹／時点）での ^{14}C-BAX2398 投与後の血漿中放射能は、1.5 時間（点滴静注終了時）に C_{max} が認められ、雌雄でそれぞれ 150.582 μg equivalents/mL 及び 129.284 μg equivalents/mL であった。$t_{1/2}$ は雌雄でそれぞれ 9.6 時間及び 9.8 時間であり、96 時間までに検出されなくなった。血漿中総放射能濃度推移又は PK パラメータに明らかな性差はみられなかった。

7　薬物動態学的薬物相互作用

BAX2398 と併用される可能性がある薬剤との相互作用の可能性を特に評価するための非臨床試験は実施しなかった。しかしながら、イリノテカン及び SN-38 は、それぞれ CYP3A4 及び UGT1A 分子種によって代謝される［6］。イリノテカンと CYP3A4 又は UGT1A 分子種の阻害剤との併用投与では、イリノテカン又は SN-38 の曝露量が増加する可能性がある［1］。

8　その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施しなかった。

9　考察及び結論

これまでに示したマウス、ラット及びイヌでの吸収及び分布試験の結果、CPT-11 のリポソーム製剤である BAX2398 は血液中での滞留時間を延長させることにより、イリノテカン及び SN-38 の曝露量を増加させることが明確に示された。イヌでの BAX2398 投与後の血漿中 PK は、リポソームからの放出後は CPT-11 投与と非常に類似することが示された。重要なこととして、イヌにおける BAX2398 投与 36 時間後までの血漿中では封入型イリノテカンが 75%～86%を占めていた。

想定通り、BAX2398 投与後の組織内分布では、CPT-11 投与と比較して、より高い組織中イリノテカン濃度がより長時間持続した。

ヒト HT-29 大腸癌異種移植マウス及びラット（2 試験）において、組織内分布を評価した。

大腸癌異種移植マウスにおける血漿中、組織及び腫瘍内分布試験から、BAX2398 投与後組織及び標的臓器組織（すなわち、腫瘍）での AUC 及び MRT は CPT-11 投与に比べて大きく、$t_{1/2}$ は延長した。これらの結果から、BAX2398 のヒトでの至適用量は CPT-11 に比べて低く、正常組織に対する毒性を増強することなく標的組織に対する効果を高めることが示唆される。

概して、^{14}C-BAX2398 投与後のラット組織では、^{14}C-CPT-11 投与と比較して組織中放射能濃度は高く、より長時間にわたって高い濃度が維持された。しかしながら、ラットにおける ^{14}C-CPT-11 点滴静注後の消化管内容物中放射能濃度は、^{14}C-BAX2398 投与と比較して顕著に高かったことから、^{14}C-BAX2398 は ^{14}C-CPT-11 ほど速やかに消失しないことが示唆された。このことから、^{14}C-BAX2398 投与後のラットで高い組織中放射能濃度が長時間にわたって維持されることが説明できる。ラットにおける ^{14}C-BAX2398 投与後の中枢神経系での放射能濃度は、^{14}C-CPT-11 投与と比較して高かったが、投与終了時の血漿中放射能濃度に対する中枢神経系での放射能濃度比は、^{14}C-BAX2398 投与に比べて ^{14}C-CPT-11 投与で大きかった。いずれの投与でも、放射能が眼ブドウ膜で検出され、眼のメラニンに対する結合が示唆される。

様々な腫瘍モデル（HT29、LLC 及び MC-38）でのフローサイトメトリー解析で得られたデータから、他の骨髄性又は非骨髄性細胞集団と比較して、F4/80 陽性成熟マクロファージはその集団サイズに比してはるかに大きい割合の全細胞内リポソーム負荷量を競合的に集積することが示唆される。成熟マクロファージはまた、リポソームの到達後少なくとも 72 時間まで、薬物又はその代謝物を部分的に保持する可能性がある。さらに画像から、リポソームの「ホットスポット」が一貫して腫瘍間質の血管周囲領域に確認された。腫瘍細胞での DNA 損傷に付随する所見として、腫瘍細胞内に放出されたペイロードのバイオアベイラビリティが示されたが、これは間質領域では認められなかった。

ラットでの ^{14}C-BAX2398 を用いたマスバランス試験の結果、主要排泄経路は糞中であることが示された。概して、排泄パターンは ^{14}C-CPT-11 投与後の患者での所見と非常に類似しており、患者での尿中排泄は投与放射能の 32%、糞中排泄は 64%であった［8］。

マウス、ラット及びイヌでの PK 及び TK プロファイルの比較を表 2.6.4-59 に示す。結論として、PK 及び TK 試験から、BAX2398 はリポソーム医薬品の設計特性（滞留時間の延長、腫瘍組織への分布の増加、AUC の増加、CL の低下及び V_d の低下）を満たすことが示された。

10 図表

表 2.6.4-59 マウス、ラット、イヌ及びヒトでの BAX2398 及び CPT-11 静脈内投与後のイリノテカン及び SN-38 の PK・TK データ並びに曝露量の比較

Species	Frequency	Route	N, Sex	Dose (mg/kg | mg/m^2 [a])	Irinotecan			SN-38			Study No.
					C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}t}$ [b] (μg·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}t}$ [b] (μg·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	
HT-29 Xenograft SCID Mouse	Single Dose (Day 1)	IV bolus	15, Male	40 | 120 (BAX2398)	214	9119	12.28	0.18	4.3	ND	PEP02-NC-N-PK-005
			15, Male	40 | 120 (CPT-11)	4525	3873	83.29	0.03	0.13	ND	
Sprague Dawley Rat	Single dose (Day 1)	90 min IV Infusion	6, Male	30 | 180 (BAX2398)	681	19615	15.8	3.5	213	45.5	PEP02-NC-G-Tx-010
			6, Male	75 | 450 (BAX2398)	1726	51303	20.5	5.9	342	184.5	
			6, Male	190 | 1140 (BAX2398)	4217	116673	23.3	3.8	317	263.7	
			6, Male	75 | 450 (CPT-11)	10.7	39	9.8	2.2	14.7	10.4	
			6, Female	30 | 180 (BAX2398)	576	14138	15.7	3.2	194	19.1	
			6, Female	75 | 450 (BAX2398)	1549	45860	21.1	3.9	294	59.8	
			6, Female	190 | 1140 (BAX2398)	3982	114271	21.1	3.0	252	155.0	
			6, Female	75 | 450 (CPT-11)	9.7	44	9.9	1.2	5.3	9.4	
Sprague Dawley Rat	Repeat Dose (Day 106)	90 min IV Infusion, once every three weeks for 6 cycles	6, Male	30 | 180 (BAX2398)	1004	37688	28.4	3.6	292	347.1	PEP02-NC-G-Tx-010
			6, Male	75 | 450 (BAX2398)	2171	90278	35.1	4.9	292	278.6	
			6, Male	190 | 1140 (BAX2398)	5733	251655	34.6	5.1	335	NC	
			6, Male	75 | 450 (CPT-11)	21.2	83	4.8	1.5	10.5	7.7	
			6, Female	30 | 180 BAX2398)	828	24292	18.0	3.0	169	NC	
			6, Female	75 | 450 (BAX2398)	2161	70221	30.0	4.4	310	366.5	
			6, Female	190 | 1140 (BAX2398)	5403	221167	31.3	4.1	320	NC	
			6, Female	75 | 450 (CPT-11)	18.5	83	5.0	1.3	4.6	4.5	

表 2.6.4-59 マウス、ラット、イヌ及びヒトでの BAX2398 及び CPT-11 静脈内投与後のイリノテカン及び SN-38 の PK・TK データ並びに曝露量の比較（続き）

Species	Frequency	Route	N, Sex	Dose (mg/kg | mg/m^2 [a])	Irinotecan			SN-38			Study No.
					C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-t}[b] (μg·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-t}[b] (μg·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	
Beagle Dog	Single dose (Day 1)	90 min IV Infusion	4, Male	9 | 180 (BAX2398)	147	2075	5.3	0.011	0.135	16.6	PEP02-NC-G-Tx-011
			4, Male	15 | 300 (BAX2398)	308	4088	6.2	0.022	0.287	29.9	
			4, Male	21 | 420 (BAX2398)	332	5750	5.4	0.027	0.339	34.1	
			4, Male	21 | 420 (CPT-11)	14	48	2.4	0.028	0.131	5.8	
			4, Female	9 | 180 (BAX2398)	150	2080	6.1	0.010	0.126	16.1	
			4, Female	15 | 300 (BAX2398)	227	3446	6.1	0.020	0.250	20.6	
			4, Female	21 | 420 (BAX2398)	317	5394	6.6	0.026	0.316	30.8	
			4, Female	21 | 420 (CPT-11)	14	55	2.6	0.027	0.143	8.3	
Beagle Dog	Repeat Dose (Day 106)	90 min IV Infusion, once every three weeks for 6 cycles	4, Male	9 | 180 (BAX2398)	142	2344	5.8	0.010	0.135	19.8	PEP02-NC-G-Tx-011
			4, Male	15 | 300 (BAX2398)	226	4660	7.2	0.017	0.267	38.6	
			4, Male	21 | 420 (BAX2398)	340	9423	11.6	0.023	0.456	40.3	
			4, Male	21 | 420 (CPT-11)	15	57	2.5	0.035	0.154	4.6	
			4, Female	9 | 180 (BAX2398)	136	1748	6.4	0.011	0.119	16.5	
			4, Female	15 | 300 (BAX2398)	207	4127	7.1	0.018	0.269	36.0	
			4, Female	21 | 420 (BAX2398)	320	8775	11.4	0.021	0.382	30.3	
			4, Female	21 | 420 (CPT-11)	17	62	3.0	0.043	0.211	5.6	

表 2.6.4-59 マウス、ラット、イヌ及びヒトでの BAX2398 及び CPT-11 静脈内投与後のイリノテカン及び SN-38 の PK・TK データ並びに曝露量の比較（続き）

Species	Frequency	Route	N, Sex	Dose (mg/kg | mg/m^{2} [a])	Irinotecan			SN-38			Study No.
					C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-t}[b] (µg·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-t}[b] (µg·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	
Human Patients with Solid Tumors	Single dose (Day 1)	90 min IV Infusion	3-3, Male-Female	2.2 | 80 (BAX2398+5-FU/LV)	29.2	1212	32.1	0.008	0.502	53.8	Summary of Clinical Data, Module 2
			1-1, Male-Female	3.2 | 120 (BAX2398+5-FU/LV)	47.9	1262	30.7	0.017	0.474	26.2	2.7.2 Summary of Clinical Pharmacology Studies, Table 2

5-FU: 5-Fluorouracil, AUC_{0-inf}: area under the concentration-time curve extrapolated infinity, AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, BAX2398: nanoliposomal irinotecan, C_{max}: maximum concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate, FDA: Food and Drug Administration, IV: intravenous, LV: Leucovorin, ND: Not Determined, NC: Not Calculated, [redacted], SN-38: active metabolite of irinotecan, SCID: severe combined immune deficiency, $t_{1/2}$: elimination half-life

a: "mg/m^{2}" was calculated using a conversion factor of 3 for mouse, 6 for rat, 20 for dog and 37 for human as indicated in the FDA guidance document (FDA 2005, Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers [4])

b: AUC_{0-inf} represents human data, not AUC_{0-t}

参考文献

1. Campto 20mg/ml concentrate for solution for infusion, Summary of Product Characteristics, Last Updated on eMC 09-Feb-2016
https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/12508

2. Clark CE, Hingorani SR, Mick R, Combs C, Tuveson DA Vonderheide RH. Dynamics of the immune reaction to pancreatic cancer from inception to invasion. Cancer Res 2007; 67:9518-27.

3. Daldrup-Link HE, Golovko D, Ruffell B, DeNardo DG, Castaneda R, Ansari C, et al. MRI of tumor-associated macrophages with clinically applicable iron oxide nanoparticles. Clin Cancer Res 2011; 17: 5695-704.

4. FDA. Guidance for Industry: Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. 2005

5. Kirpotin DB, Drummond DC, Shao Y, Shalaby MR, Hong K, Nielsen UB, et al. Antibody targeting of long-circulating lipidic nanoparticles does not increase tumor localization but does increase internalization in animal models. Cancer Res 2006; 66:6732-40.

6. Mathijssen RHJ, van Alphen RJ, Verweij J, Loos WJ, Nooter K, Stoter G, et al. Clinical pharmacokinetics and metabolism of irinotecan (CPT-11). Clin cancer Res 2001; 7:2182-94.

7. Rivory LP, Riou JF, Haaz MC, Sable S, Vuilhorgne M, Commerçon A, et al. Identification and properties of a major plasma metabolite of irinotecan (CPT-11) isolated from the plasma of patients. Cancer Res 1996; 56:3689-94.

8. Slatter JG, Schaaf LJ, Sams JP, Feenstra KL, Johnson MG, Bombardt PA, et al. Pharmacokinetics, metabolism, and excretion of irinotecan (CPT-11) following I.V. infusion of [^{14}C]CPT-11 in cancer patients. Drug Metab Dispos 2000; 28:423-33.

9. Xie R, Mathijssen RHJ, Sparreboom A, Verweij J, Karlsson MO. Clinical pharmacokinetics of irinotecan and its metabolites: a population analysis. J Clin Oncol 2002; 20:3293-301.

オニバイド®点滴静注 43mg

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

日本セルヴィエ株式会社

目次

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 6

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与 7

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与 9

2.6.5.4.1 ラットにおける 4 週間試験 9

2.6.5.4.2 ラットにおける 18 週間試験 11

2.6.5.4.3 ビーグル犬における 4 週間試験 13

2.6.5.4.4 ビーグル犬における 18 週間試験 15

2.6.5.5 薬物動態試験：組織内分布 17

2.6.5.5.1 HT-29 ヒト大腸癌異種移植 SCID マウスにおける BAX2398 及び CPT-11 単回静脈内投与後の組織内及び腫瘍内分布 17

2.6.5.5.2 ラットにおける BAX2398 単回静脈内投与後の組織内分布（パイロット試験） 20

2.6.5.5.3 雄 Long-Evans ラットにおけるリポソーム封入型製剤（^{14}C-BAX2398）及び ^{14}C-CPT-11 単回静脈内投与後の ^{14}C-CPT-11 の動態 22

2.6.5.5.4 担癌マウスでの点滴静注後の骨髄性及び非骨髄性腫瘍細胞における BAX2398 の代替となる蛍光標識リポソームの分布 25

2.6.5.5.4.1 結腸直腸癌（CTG-062）、大腸癌（HT-29）及び膵臓癌（AsPC-1、CFPAC-1、CTG-283 及び CTG-288）の細胞株系由来並びに患者由来異種移植腫瘍モデルにおける蛍光標識 BAX2398 の腫瘍内分布 25

2.6.5.5.4.2 抗 CSF-1 抗体前処置あり又は前処理なしの NOD-SCID マウスにヒト HT-29 大腸癌を移植した腫瘍モデル、C57BL/6J マウスにマウス LLC 肺癌を移植した腫瘍モデル及び C57BL/6J マウスにマウス MC-38 結腸癌を移植した腫瘍モデルにおける腫瘍細胞での蛍光標識リポソームの分布 26

2.6.5.6 薬物動態試験：血漿タンパク結合 27

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 27

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 27

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In vivo* 27

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In vitro* 27

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 27

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 27

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 28

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中 29

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 29

2.6.5.16 薬物動態試験：その他 29

本資料中、BAX2398 又は CPT-11 にかかわらず、各投与量は CPT-11 に基づき表示する。CPT-11 50 mg はイリノテカン 43 mg に相当する。

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number (CRO Number)	Location
Absorption						
Single-dose plasma PK study	No	SD rats	IV bolus	[redacted], Taiwan	PEP02-NC-N-PK-001	4.2.2.2.1
Single-dose plasma PK study	Yes	SD rats	IV infusion	[redacted], Canada	PEP02-NC-G-PK-003 ([redacted] 7095)	4.2.2.2.2
Single-dose plasma PK study	No	Beagle dogs	IV bolus	[redacted], Taiwan	PEP02-NC-N-PK-004	4.2.2.2.3
Single-dose plasma PK study	No	Beagle dogs	IV bolus	[redacted], Taiwan	PEP02-NC-N-PK-006	4.2.2.2.4
Single-dose toxicity (TK)	Yes	Beagle dogs	IV infusion	[redacted], Canada	PEP02-NC-G-Tx-007 ([redacted] 6151)	4.2.3.1.6
Repeat-dose toxicity/once weekly for 4 weeks (TK)	Yes	SD rats	IV infusion	[redacted], Canada	PEP02-NC-G-Tx-006TK ([redacted] 7391)	4.2.3.2.2
Repeat-dose toxicity/once every 3 weeks for 18 weeks (TK)	Yes[b]	SD rats	IV infusion	[redacted], Canada	PEP02-NC-G-Tx-010 (1005-3071)	4.2.3.2.3
Repeat-dose toxicity/once weekly for 4 weeks (TK)	Yes	Beagle dogs	IV infusion	[redacted], Canada	PEP02-NC-G-Tx-009 ([redacted] 6152)	4.2.3.2.4
Repeat-dose toxicity/once every 3 weeks for 18 weeks (TK)	Yes[b]	Beagle dogs	IV infusion	[redacted], Canada	PEP02-NC-G-Tx-011 (1006-2162)	4.2.3.2.5
Distribution						
Single-dose tissue distribution	No	HT-29 tumor bearing mice	IV bolus	[redacted], Taiwan [redacted], Taiwan	PEP02-NC-N-PK-005	4.2.2.3.1
Single-dose tissue distribution	No	SD rats	IV bolus	[redacted], Taiwan	PEP02-NC-N-PK-002	4.2.2.3.2
Quantitative whole-body autoradiography study	No	Long-Evans rats	IV infusion	[redacted], United States	PEP02-NC-N-PK-007	4.2.2.3.3

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Intratumoral distribution	No	NOD-SCID mice/ AsPC-1, CFPAC-1, CTG-283, CTG-288 [pancreatic cancer]; HT-29, CTG-062 [colorectal cancer]	IV bolus	Merrimack Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA, United States	MM-398-NC-N-Ph-029	4.2.2.3.4
Distribution in tumor cell populations	No	NOD-SCID mice / HT-29 colon cancer C57Bl/6J mice/ LLC lung and MC-38 colon cancer	IV bolus	Merrimack Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA, United States	MM-398-NC-N-Ph-019 (HT29) MM-398-NC-N-Ph-020 (LLC) MM-398-NC-N-Ph-021 (MC-38)	4.2.2.3.5 4.2.2.3.6 4.2.2.3.7
Excretion						
Mass balance and excretion study	No	SD rats	IV infusion	[redacted], United States	PEP02-NC-N-PK-008	4.2.2.5.1

[redacted], GLP: Good Laboratory Practice, SD: Sprague Dawley, IV: intravenous, PK: pharmacokinetics, [redacted], TK: toxicokinetics

[a] An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.

[b] Partially No. Parts of the studies (Dosing formulation analysis, Bioanalysis and 'Toxicokinetics) were performed at subcontractors in Taiwan. Chinese Taipei is neither a provisional nor a full adherent to mutual acceptance of data (MAD), but [redacted] (PEP02-NC-G-Tx-010) and [redacted] (PEP02-NC-G-Tx-011) meet GLP compliance requirements.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

Type of Study / Description	GLP	Method Validation	Testing Facility	Study Number	Location
Validation of a HPLC Method with UV Detection for the Determination of CPT-11 Concentration in Dose Formulations	Yes	Selectivity, calibration range, carry-over, accuracy, precision, stock solution stability, injection medium stability, dose formulation stability	[redacted], United States	20045567	4.2.2.1.1
HPLC Analytical Method Validation for the Assay of CPT-11 in Dosing Formulations	Yes	Specificity, linearity and range, precision, accuracy, robustness, ruggedness, stability	[redacted], Canada	4299	4.2.2.1.2
LC/MS/MS Assay Validation of Irinotecan and SN-38 in Rat Plasma	Yes	Regression analysis, precision and accuracy, lower limit of quantification, specificity, dilution test, recovery, matrix effect, stability	[redacted], US	128-0401	4.2.2.1.3
LC/MS/MS Assay Validation of Irinotecan and SN-38 in Dog Plasma	Yes	Regression analysis, precision and accuracy, selectivity, matrix effect, recovery, sensitivity, dilution test, stability	[redacted], US	128-0402	4.2.2.1.4

CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN), GLP: Good Laboratory Practice, HPLC: high-performance liquid chromatography, LC/MS/MS: liquid chromatography-tandem mass spectrometry, [redacted], SN-38: active metabolite of irinotecan, US: United States, UV: ultraviolet

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与

Species	Mouse		Rat		Rat				Dog		Dog	Dog			
Study No.	PEP02-NC-N-PK-005		PEP02-NC-N-PK-001		PEP02-NC-G-PK-003				PEP02-NC-N-PK-004		PEP02-NC-N-PK-006	PEP02-NC-G-Tx-007			
Gender (M/F) / Number of animals	3M/timepoint		2-3M/group		6M, 6F/group				3M/group		3M	3M, 3F/group			
Formulation	BAX2398 containing 16.93 mg/mL of CPT-11		BAX2398 containing 5 mg/mL of CPT-11		BAX2398 containing 16.64 mg/mL of CPT-11				BAX2398 containing 15.72 mg/mL of CPT-11		BAX2398 containing 15.72 mg/mL of CPT-11	BAX2398 containing 5 mg/mL of CPT-11			
Method of Administration	IV bolus		IV bolus		90 min IV Infusion				IV bolus		IV bolus	90 min IV Infusion			
Sample	Plasma		Plasma		Plasma				Plasma		Plasma	Plasma			
Analyte	Irinotecan, SN-38		Irinotecan, SN-38		Irinotecan, SN-38				Irinotecan, SN-38		Encapsulated Irinotecan	Irinotecan, SN-38			
Assay	HPLC		HPLC		LC/MS/MS				HPLC		HPLC	LC/MS/MS			
PK parameters (Mean):															
Group	BAX 2398	CPT-11	BAX2398[a]	CPT-11	BAX2398[b]			CPT-11[b]	BAX 2398	CPT-11	BAX2398	BAX2398[b]			CPT-11[b]
Dose mg/kg	40	40	10	10	6	20	60	20	10	10	10	15	30	50	30
Irinotecan															
C_{max} (µg/mL)	213.9	4525.3	122.3 /132.3	2.88	119.9, 121.7	639.1, 576.8	1357.6, 1452.7	2.4, 4.0	186.8	6.3	140.7	110, 118	294, 175	431, 523	24.3, 13.4
$AUC_{0\text{-last}}$ (µg×hr/mL)	9119.3	3872.9	1477 /1189	15.99	2263, 1977	12362, 13518	37781, 40668	6.2, 9.2	1899	14.8	---	1601, 1516	6017, 3385	10472, 12495	98.5, 72.8
$AUC_{0\text{-inf}}$ (µg×hr/mL)	9120.3	3901.4	1477 /1189	15.99	2264, 1977	12362, 13518	37782, 40713	6.1, 9.2	1899	14.8	---	1599, 1515	3101, 3182	10615, 13891	98.6, 72.9
$t_{1/2}$ (hr)	12.3	83.3	3.60 /3.37	1.79	5.7, 3.2	11.3, 8.4	10.1, 16.9	0.9, 0.5	24.9	2.8	---	20.6, 22.3	5.9, 19.4	12.2, 14.3	4.5, 4.1

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

Species	Mouse		Rat		Rat				Dog		Dog	Dog			
Group	BAX2398	CPT-11	BAX2398[a]	CPT-11	BAX2398[b]			CPT-11[b]	BAX2398	CPT-11	BAX2398	BAX2398[b]			CPT-11[b]
Dose mg/kg	40	40	10	10	6	20	60	20	10	10	10	15	30	50	30
Irinotecan															
MRT (hr)	23.4	1.7	---	---	---	---	---	---	---	---	---	9.29, 8.54	12.7, 16.2	18.0, 21.4	5.90, 3.73
CL (mL/hr/kg)	---	---	7.69 /9.07	630.95	2.65, 3.04	1.62, 1.48	1.59, 1.47	3267, 2169	5.3	679	---	---	---	---	---
V_d (mL/kg)	---	---	40.39 /44.10	1619.7	40.1, 40.7	33.9, 32.3	41.4, 41.0	4833, 3255	190.7	2707	---	---	---	---	---
SN-38:															
C_{max} (μg/mL)	0.185	0.025	0.504 /0.470	0.128	2.7, 1.8	2.4, 1.9	4.5, 4.3	0.5, 0.6	0.0272	0.0133	---	0.0109, 0.0116	0.0293, 0.0296	0.0446, 0.0506	0.0351, 0.0258
$AUC_{0\text{-last}}$ (μg×hr/mL)	4.315	0.127	---	---	170, 65	236, 188	186, 206	2.6, 2.3	---	---	---	0.151, 0.163	0.515, 0.430	0.859, 0.970	0.201, 0.108
$AUC_{0\text{-inf}}$ (μg×hr/mL)	---	---	---	---	170, 65	236, 188	202, ND	2.6, 2.3	---	---	---	0.177, 0.174	0.528, 0.447	0.912, 0.926	0.211, 0.11
$t_{1/2}$ (hr)	---	---	---	---	12.4, 5.5	13.8, 15.3	48.1, ND	14.2, 8.6	---	---	---	12.6, 10.8	12.5, 12.8	17.0, 15.4	7.8, 4.5

$AUC_{0\text{-inf}}$: area under the concentration-time curve extrapolated infinity, $AUC_{0\text{-last}}$: area under the concentration-time curve extrapolated last sampling time, CL: clearance, C_{max}: maximal concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN), F: Female, HPLC: high-performance liquid chromatography, IV: intravenous, M: Male, MRT: mean residence time, ND: not determined due to limited plasma concentration-time data, SN-38: active metabolite of irinotecan, $t_{1/2}$: elimination half-life, V_d: distribution of volume, ---: not applicable

[a] Two lots: LIIA02/LIIA03

[b] Values indicate ‘Male, Female’.

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与

2.6.5.4.1 ラットにおける 4 週間試験

A 4-Week Study of the Toxicokinetics of BAX2398 administered by Intravenous Infusion to Sprague-Dawley Rats				
Species/Strain:	Rat/ Sprague Dawley	Duration of Dosing:	4 weeks	Study No. PEP02-NC-G-Tx-006TK
Initial Age:	7 to 10 weeks	Duration of Postdose:	2 weeks	Location in CTD: 4.2.3.2.2
Date of First Dose:	Julu 21, 2004	Method of Administration:	90-minute intravenous infusion	GLP Compliance: Yes
		Vehicle/Formulation:	Liposome preparation / BAX2398 Liposomal Phospholipids	
Special Features:		One reference group treated with parent drug CPT-11. Toxicokinetic evaluation performed separately in Study No. PEP02-NC-G-Tx-006TK. The toxicity study is Study No. PEP02-NC-G-Tx-006		
No Observed Adverse Effect Level:		Not defined		

2.6.5.4.1 ラットにおける 4 週間試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		65 (Low Dose)		130 (Mid Dose)		260 (High Dose)		130 (Reference)	
Number of Animals (Toxicokinetic phase)		M: 0	F: 0	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Toxicokinetics: Irinotecan											
Day 1 (ng•hr/mL)	$AUC_{0\text{-}168hr \text{ or } 0\text{-}48hr}$	-	-	29530261	22459065	56700830	51260635	131716900	90063717	80341	84371
	$AUC_{0\text{-}inf}$	-	-	1068840	1177427	1752860	1883692	2971558	2376723	17728	17754
	C_{max} (ng/mL)	-	-	1.5	1.5	4.0	1.5	1.5	4.0	1.5	1.5
	T_{max} (hr)	-	-	17.2	13.2	14.8	9.3	16.5	20.5	2.1	2.2
	$t_{1/2}$ (hr)										
Day 22 (ng•hr/mL)	$AUC_{0\text{-}168hr \text{ or } 0\text{-}48hr}$	-	-	41905975	36035932	56287349	42360874	108249296	102197690	82409	83286
	$AUC_{0\text{-}inf}$	-	-	2362126	970249	1434680	1792738	2047713	2954585	18006	19989
	C_{max} (ng/mL)	-	-	1.5	4.0	4.0	1.5	4.0	4.0	1.5	1.0
	T_{max} (hr)	-	-	11.7	9.9	20.2	13.4	20.4	16.4	2.2	2.0
	$t_{1/2}$ (hr)	-	-	1.5	1.7	1.0	0.8	0.8	1.1	1.0	1.0
	AF[a]										
SN-38:											
Day 1 (ng•hr/mL)	$AUC_{0\text{-}168hr \text{ or } 0\text{-}48hr}$	-	-	57353	39640	50318	45895	26627	47532	598	443
	$AUC_{0\text{-}inf}$	-	-	1394	1345	1486	1230	501	507	95.0	70.7
	C_{max} (ng/mL)	-	-	1.5	1.5	1.0	0.5	1.0	4.0	0.5	1.5
	T_{max} (hr)	-	-	51.1	35.4	46.3	20.1	ND	ND	4.2	3.8
	$t_{1/2}$ (hr)										
Day 22 (ng•hr/mL)	$AUC_{0\text{-}168hr \text{ or } 0\text{-}48hr}$	-	-	152311	132528	43439	27815	82238	46164	403	470
	$AUC_{0\text{-}inf}$	-	-	4264	4161	539	366	1246	1391	59.8	85.1
	C_{max} (ng/mL)	-	-	1.5	1.5	48.0	0.5	1.5	1.5	1.0	1.5
	T_{max} (hr)	-	-	16.2	37.9	45.7	16.0	34.7	37.7	4.8	3.9
	$t_{1/2}$ (hr)										

$AUC_{0\text{-}inf}$: area under the concentration-time curve extrapolated infinity, $AUC_{0\text{-}thr}$: area under the concentration-time curve to t hours, C_{max}: maximal concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN), F: Female, GLP: Good Laboratory Practice, M: Male, SN-38: active metabolite of irinotecan, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration, -: not applicable

[a] AF (accumulation factor) = Day 22 AUC ($_{0\text{-}168hr \text{ or } 0\text{-}48hr}$)/ Day 1 $AUC_{0\text{-}inf}$

2.6.5.4.2 ラットにおける 18 週間試験

A 6-cycle (3 weeks per cycle) Infusion Toxicity Study in Sprague Dawley Rat followed by a 6-week Recovery Period				
Species/Strain:	Rat/ Sprague Dawley	Duration of Dosing:	18 weeks	Study No. PEP02-NC-G-Tx-010
Initial Age:	Approximately 8 to 9 weeks	Duration of Postdose:	6 weeks	Location in CTD: 4.2.3.2.3
Date of First Dose:	Jan 30, 2006	Method of Administration:	90-minute intravenous infusion	GLP Compliance: Yes[b]
		Vehicle/Formulation:	Liposome preparation/ BAX2398 Liposomal Phospholipids	
Special Features:		One reference group treated with parent drug CPT-11.		
No Observed Adverse Effect Level:		30 mg/kg		

2.6.5.4.2 ラットにおける 18 週間試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		30 (Low Dose)		75 (Mid Dose)		190 (High Dose)		75 (Reference)	
Number of Animals (Toxicokinetic phase)		M: 0	F: 0	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Toxicokinetics of Irinotecan											
Day 1	AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	-	-	19614732	14137698	51302954	45859924	116672588	114271251	38545	44309
	C_{max} (ng/mL)	-	-	680688	575923	1726086	1549373	4217100	3981661	10698	9717
	T_{max} (hr)	-	-	1.5	4.0	1.5	1.5	4.0	1.5	1.5	1.5
	$t_{1/2}$ (hr)	-	-	15.84	15.72	20.52	21.07	23.34	21.11	9.79	9.93
Day 106	AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	-	-	37688134	24292002	90277681	70220621	251655062	221167057	82610	82885
	C_{max} (ng/mL)	-	-	1003822	827748	2170758	2160715	5733163	5402741	21182	18530
	T_{max} (hr)	-	-	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
	$t_{1/2}$ (hr)	-	-	28.40	17.98	35.12	30.02	34.58	31.30	4.79	5.02
	AF[a]	-	-	1.92	1.72	1.76	1.53	2.16	1.94	2.14	1.87
SN-38:											
Day 1	AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	-	-	213117	194456	341765	293783	317037	251932	14688	5246
	C_{max} (ng/mL)	-	-	3525	3184	5855	3935	3804	2992	2199	1211
	T_{max} (hr)	-	-	0.5	12.0	1.5	48.0	24.0	48.0	4.0	1.0
	$t_{1/2}$ (hr)	-	-	45.50	19.14	184.54	59.83	263.74	155.01	10.40	9.36
Day 106	AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	-	-	292360	168940	292338	310390	334862	319692	10478	4623
	C_{max} (ng/mL)	-	-	3568	3041	4865	4435	5075	4103	1520	1252
	T_{max} (hr)	-	-	1.5	0.5	4.0	48.0	1.0	72.0	1.0	1.0
	$t_{1/2}$ (hr)	-	-	347.05	NC	278.55	366.50	NC	NC	7.68	4.50
	AF[a]	-	-	1.37	0.87	0.86	1.06	1.06	1.27	0.71	0.88

AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, C_{max}: maximal concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN), F: Female, GLP: Good Laboratory Practice, M: Male, NC: not calculated, SN-38: active metabolite of irinotecan, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration, -: not applicable

[a] AF (accumulation factor) = Day 106 AUC_{0-t}/ Day 1 AUC_{0-t}

[b] Partially No. Parts of the study (Dosing formulation analysis, Bioanalysis and 'Toxicokinetics) were performed at [redacted] in Taiwan. Chinese Taipei is neither a provisional nor a full adherent to mutual acceptance of data (MAD), but [redacted] meets GLP compliance requirements.

2.6.5.4.3 ビーグル犬における 4 週間試験

BAX2398: A 4-Week Intravenous Infusion Toxicity Study in Beagle Dogs				
Species/Strain:	Dog, beagle	Duration of Dosing:	Once weekly for 4 weeks	Study No. PEP02-NC-G-Tx-009
Initial Age:	6 to 7 months	Duration of Postdose:	14 days	Location in CTD 4.2.3.2.4
Date of First Dose:	June 13, 2005	Method of Administration:	90-minute intravenous infusion	
		Vehicle/Formulation:	Liposome preparation/ BAX2398 Liposomal Phospholipids	GLP Compliance: Yes
Special Features:		One reference group treated with parent drug CPT-11.		
No Observed Adverse Effect Level:		8 mg/kg		

2.6.5.4.3 ビーグル犬における 4 週間試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		4 (Low Dose)		8 (Mid Dose)		16 (High Dose)		16 (Reference)	
Number of Animals (Toxicokinetic phase)		M: 0	F:0	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Toxicokinetics (Mean): Irinotecan											
Day 1	$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	-	-	720746	652140	1297080	803233	3568966	3942032	36022	44722
	C_{max} (ng/mL)	-	-	76181	65981	105478	84496	283830	271538	7908	10573
	T_{max} (hr)	-	-	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.3
	$t_{1/2}$ (hr)	-	-	31.1	17.6	17.5	25.9	32.6	32.7	3.8	4.0
Day 22	$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	-	-	647401	676355	1411822	734539	5613457	3936777	37990	38932
	C_{max} (ng/mL)	-	-	71601	54697	97172	80812	301724	208396	8892	10513
	T_{max} (hr)	-	-	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.3
	$t_{1/2}$ (hr)	-	-	9.1	38.8	19.7	8.9	18.0	23.2	3.9	4.5
	AUC Ratio (Day22/Day1)	-	-	0.9	1.0	1.1	0.9	1.5	1.0	1.1	0.9
SN-38:											
Day 1	$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	-	-	48.2	38.2	138	68.5	187	191	59.6	62.2
	C_{max} (ng/mL)	-	-	5.32	4.72	11.2	7.93	16.8	17.1	14.3	16.1
	T_{max} (hr)	-	-	1.5	1.3	1.5	1.3	1.5	1.5	1.5	1.3
	$t_{1/2}$ (hr)	-	-	10.4	10.4	7.5	11.2	8.3	6.9	3.1	2.4
Day 22	$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	-	-	13.0	20.1	98.3	56.8	174	193	42.6	45.8
	C_{max} (ng/mL)	-	-	2.71	3.79	7.17	7.51	14.5	15.9	15.2	13.4
	T_{max} (hr)	-	-	1.5	1.5	2.8	1.5	1.5	1.5	1.3	1.2
	$t_{1/2}$ (hr)	-	-	15.0	13.8	11.2	11.3	13.5	7.5	1.7	2.4
	AUC Ratio (Day22/Day1)	-	-	0.2	0.5	0.7	0.8	1.0	1.0	0.7	0.8

$AUC_{0\text{-}t}$: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, C_{max}: maximal concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN), F: Female, GLP: Good Laboratory Practice, M: Male, SN-38: active metabolite of irinotecan, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration, -: not applicable

2.6.5.4.4 ビーグル犬における 18 週間試験

A 6-cycle (3 weeks per cycle) Infusion Toxicity Study of BAX2398 in Beagle Dogs followed by a 6-week Recovery Period				
Species/Strain:	Dog, beagle	Duration of Dosing:	18 weeks	Study No. PEP02-NC-G-Tx-011
Initial Age:	7 to 8 months	Duration of Postdose:	6 weeks	Location in CTD 4.2.3.2.5
Date of First Dose:	Nov 22, 2006	Method of Administration:	90-minute intravenous infusion	
		Vehicle/Formulation:	Liposomal Phospholipids/ BAX2398 Liposomal Phospholipids	GLP Compliance: Yes[b]
Special Features:		Two reference groups treated with parent drug CPT-11.		
No Observed Adverse Effect Level:		9 mg/kg		

2.6.5.4.4 ビーグル犬における 18 週間試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Low Dose)		21 (Mid High Dose)		36 (High Dose)		21 (Reference)		36 (Reference)	
Number of Animals (Toxicokinetic phase)		M:0	F:0	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics (Mean): Irinotecan															
Day 1	AUC_{0-t} (µg•hr/mL)	-	-	2075	2080	4088	3446	5750	5394	10198	12663	47.7	54.5	141	98.4
	C_{max} (µg/mL)	-	-	147	150	308	227	332	317	550	527	13.6	13.8	21.9	19.8
	T_{max} (hr)	-	-	1.50	1.50	1.51	1.51	1.50	1.50	1.51	1.50	1.50	1.50	1.38	1.50
	$t_{1/2}$ (hr)	-	-	5.3	6.1	6.2	6.1	5.4	6.6	7.5	8.0	2.4	2.6	4.4	4.1
Day 106	AUC_{0-t} (µg•hr/mL)	-	-	2344	1748	4660	4127	9423	8775	-	-	57.3	61.8	-	-
	C_{max} (µg/mL)	-	-	142	136	226	207	340	320	-	-	14.6	16.6	-	-
	T_{max} (hr)	-	-	1.50	1.50	1.51	1.51	2.63	1.50	-	-	1.38	1.50	-	-
	$t_{1/2}$ (hr)	-	-	5.8	6.4	7.2	7.1	11.6	11.4	-	-	2.5	3.0	-	-
	AF[a]	-	-	1.13	0.84	1.14	1.20	1.64	1.63	-	-	1.20	1.09	-	-
SN-38:															
Day 1	AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	-	-	135	126	287	250	339	316	527	589	131	143	294	172
	C_{max} (ng/mL)	-	-	11.2	10.1	21.6	20.2	27	25.7	47.4	45.1	27.6	26.5	43.9	31.3
	T_{max} (hr)	-	-	1.50	1.38	1.51	1.38	1.50	1.50	1.51	1.50	1.50	1.63	1.51	1.00
	$t_{1/2}$ (hr)	-	-	16.6	16.1	29.9	20.6	34.1	30.8	25.3	28.3	5.8	8.3	7.8	7.5
Day 106	AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	-	-	135	119	267	269	456	382	-	-	154	211	-	-
	C_{max} (ng/mL)	-	-	10.3	11.1	17.1	18.2	23.2	21.1	-	-	34.8	42.9	-	-
	T_{max} (hr)	-	-	1.50	1.38	1.38	1.51	1.50	1.50	-	-	1.13	1.38	-	-
	$t_{1/2}$ (hr)	-	-	19.8	16.5	38.6	36.0	40.3	30.3	-	-	4.6	5.6	-	-
	AF[a]	-	-	1.00	0.94	0.93	1.08	1.35	1.21	-	-	1.18	1.48	-	-

AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration, C_{max}: maximal concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN), F: Female, GLP: Good Laboratory Practice, M: Male, SN-38: active metabolite of irinotecan, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration, -: not applicable

[a] AF (accumulation factor) = Day 106 AUC_{0-t}/ Day 1 AUC_{0-t}

[b] Partially No. Parts of the study (Dosing formulation analysis, Bioanalysis and 'Toxicokinetics) were performed at [redacted] in Taiwan. Chinese Taipei is neither a provisional nor a full adherent to mutual acceptance of data (MAD), but [redacted] meets GLP compliance requirements.

2.6.5.5 薬物動態試験：組織内分布

2.6.5.5.1 HT-29 ヒト大腸癌異種移植 SCID マウスにおける BAX2398 及び CPT-11 単回静脈内投与後の組織内及び腫瘍内分布

Study No. PEP02-NC-N-PK-005											
Species:		SCID Mouse									
Gender (M/F) / No. of Animals:		15M/group (3M/each time point)									
Feeding Condition:		No information									
Vehicle/Formulation:		BAX2398 containing 16.93 mg/mL of CPT-11									
Method of Administration:		IV bolus									
Dose (mg/kg):		40									
Sampling Time:		BAX2398: 1, 8, 24, 72 and 168 hr, CPT-11: 1, 4, 8, 24 and 48 hr									
Assay		HPLC									
Concentrations		Group A (BAX2398)					Group B (CPT-11)				
Tissues/organs		1 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr
Irinotecan (ng/mL or ng/g)											
Plasma	Mean	102639.17	117175.83	213919.67	7127.08	55.00	792134.17	4544.78	351.57	187.24	236.86
	SD	36864.77	33398.50	134850.39	7259.33	47.82	127204.67	1407.32	87.46	31.47	52.47
	CV (%)	35.9	28.5	63.0	101.9	86.9	16.1	31.0	24.9	16.8	22.2
Tumor	Mean	30232.89	47555.28	31094.98	30011.17	11935.00	30084.94	21125.50	6974.70	530.07	66.90
	SD	1105.99	11255.74	17969.41	1482.03	5701.83	2838.77	1917.73	165.51	170.74	17.06
	CV (%)	3.7	23.7	57.8	4.9	47.8	9.4	9.1	2.4	32.2	25.5
Liver	Mean	188279.03	313977.94	332745.98	127788.06	8916.39	292078.09	45542.68	6405.86	609.31	184.06
	SD	42317.17	71726.55	70172.41	19361.86	3461.19	85832.46	17407.69	1735.50	121.70	88.91
	CV (%)	22.5	22.8	21.1	15.2	38.8	29.4	38.2	27.1	20.0	48.3
Kidney	Mean	185268.35	117978.78	76867.83	16067.18	2970.31	288213.34	38931.55	4357.57	333.83	136.51
	SD	42965.01	32310.12	17933.50	1593.63	995.74	83971.62	10502.68	820.50	52.44	ND
	CV (%)	23.2	27.4	23.3	9.9	33.5	29.1	27.0	18.8	15.7	ND

2.6.5.5.1 HT-29 ヒト大腸癌異種移植 SCID マウスにおける BAX2398 及び CPT-11 単回静脈内投与後の組織内及び腫瘍内分布（続き）

Concentrations		Group A (BAX2398)					Group B (CPT-11)				
Tissues/organs		1 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr
Irinotecan (ng/mL or ng/g)											
Small Intestine [a]	Mean	77046.37	126046.37	117894.21	38951.74	4822.41	282560.53	38714.61	8922.91	439.34	677.86
	SD	39346.34	20830.62	26588.20	8247.52	703.30	164524.32	10702.36	6887.24	280.36	700.11
	CV (%)	51.1	16.5	22.6	21.2	14.6	58.2	27.6	77.2	63.8	103.3
Large Intestine [a]	Mean	34071.27	43630.92	50616.54	4219.06	2304.63	77281.51	43737.59	11093.62	3031.41	1635.97
	SD	12543.08	8012.03	30870.27	484.81	970.55	25283.95	12736.29	3979.83	2185.31	319.48
	CV (%)	36.8	18.4	61.0	11.5	42.1	32.7	29.1	35.9	72.1	19.5
SN-38 (ng/mL or ng/g)											
Plasma	Mean	184.91	57.43	91.08	ND	ND	25.32	21.70	ND	ND	ND
	SD	60.51	16.28	62.80	ND	ND	1.80	1.04	ND	ND	ND
	CV (%)	32.7	28.4	69.0	ND	ND	7.1	4.8	ND	ND	ND
Tumor	Mean	390.46	712.16	936.19	514.52	189.44	853.46	1021.18	853.29	139.08	25.37
	SD	80.14	230.48	217.65	111.16	65.66	128.07	385.70	169.47	6.27	8.21
	CV (%)	20.5	32.4	23.2	21.6	34.7	15.0	37.8	19.9	4.5	32.4
Liver	Mean	16468.78	15271.52	12969.61	3303.73	88.68	12796.13	4941.53	1005.68	81.72	102.99
	SD	8014.83	9158.75	7055.96	653.87	30.50	5592.03	2603.03	359.57	36.40	106.84
	CV (%)	48.7	60.0	54.4	19.8	34.4	43.7	52.7	35.8	44.5	103.7
Kidney	Mean	5367.19	4217.83	3196.50	391.06	64.36	5161.43	1944.94	312.79	42.56	ND
	SD	3265.03	1246.11	150.48	30.04	6.25	811.98	272.35	109.31	ND	ND
	CV (%)	60.8	29.5	4.7	7.7	9.7	15.7	14.0	34.9	ND	ND
Small Intestine [a]	Mean	4774.29	2314.09	2927.18	773.33	78.25	8712.92	2480.05	1345.38	152.12	343.00
	SD	4112.28	834.43	1641.17	264.90	13.00	6492.74	637.45	969.13	90.92	293.47
	CV (%)	86.1	36.1	56.1	34.3	16.6	74.5	25.7	72.0	59.8	85.6
Large Intestine [a]	Mean	881.93	2719.15	2305.99	404.92	116.57	1920.22	3896.95	993.04	121.35	ND
	SD	415.25	1792.13	2224.78	279.35	15.84	618.82	1004.86	899.84	40.07	ND
	CV (%)	47.1	65.9	96.5	69.0	13.6	32.2	25.8	90.6	33.0	ND

2.6.5.5.1 HT-29 ヒト大腸癌異種移植 SCID マウスにおける BAX2398 及び CPT-11 単回静脈内投与後の組織内及び腫瘍内分布（続き）

PK parameters	Group A (BAX2398)								Group B (CPT-11)							
Tissues/ organs	AUC_{0-t} (ng· hr/mL or ng·hr/g)[b]	AUC_{0-inf} (ng· hr/mL or ng·hr/g)[b]	AUC_{0-t} / AUC_{0-inf}	C_{max} (ng/mL or ng/g)[b]	T_{max} (hr)	MRT (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	RSQ	AUC_{0-t} (ng · hr/mL or ng·hr/g)[b]	AUC_{0-inf} (ng· hr/mL or ng·hr/g)[b]	AUC_{0-t} /AUC_{0-inf}	C_{max} (ng/mL or ng/g)[b]	T_{max} (hr)	MRT (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	RSQ
Irinotecan																
Plasma	9119297.8	9120272.3	100.0	213919.67	24.00	23.36	12.28	0.9922	3872912.6	3901379.4	99.3	4525269.58	0.00	1.71	83.29	0.2768
Tumor	4396541.0	6084185.3	72.3	47555.28	8.00	131.88	97.99	0.9122	215260.3	215848.1	99.7	30084.94	1.00	5.75	6.09	0.9687
Liver	24640461.0	24990033.0	98.6	332745.98	24.00	43.70	27.17	0.9943	822009.1	824157.4	99.7	292078.09	1.00	2.74	8.09	0.9123
Kidney	5857012.0	5992781.1	97.7	185268.35	1.00	34.52	31.68	0.9719	764577.4	766228.3	99.8	288213.34	1.00	2.36	8.38	0.8574
Small Intestine[a]	8566334.7	8784192.7	97.5	126046.37	8.00	44.36	31.31	0.9998	806772.3	818475.2	98.6	282560.53	1.00	3.89	11.96	0.5132
Large Intestine[a]	2672164.3	2791643.9	95.7	50616.54	24.00	39.31	35.93	0.7462	498840.6	534324.7	93.4	77281.51	1.00	12.21	15.03	0.9026
SN-38																
Plasma	4314.7	ND	ND	184.91	1.00	ND	ND	ND	126.6	ND	ND	25.32	1.00	ND	ND	ND
Tumor	85848.2	103073.9	83.3	936.19	24.00	91.60	63.02	0.9979	16900.0	17193.1	98.3	1021.18	4.00	10.65	8.01	0.9823
Liver	898650.0	901179.4	99.7	16468.78	1.00	33.03	19.77	0.9958	55814.8	57806.5	96.6	12796.13	1.00	7.06	13.40	0.5632
Kidney	203507.3	205989.5	98.8	5367.19	1.00	28.76	26.73	0.9463	21109.2	21356.5	98.8	5161.43	1.00	4.23	4.03	0.9080
Small Intestine[a]	198814.3	201948.2	98.4	4774.29	1.00	38.49	27.76	0.9985	46718.2	58629.8	79.7	8712.92	1.00	24.15	24.07	0.2770
Large Intestine[a]	143339.0	149280.6	96.0	2719.15	8.00	42.64	35.32	0.9207	29837.2	30588.9	97.5	3896.95	4.00	7.15	4.29	0.9558

AUC_{0-inf}: area under the concentration-time curve extrapolated infinity, AUC_{0-t}: area under the concentration-time curve from time zero to the time of last quantifiable concentration, C_{max}: maximal concentration, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN), CV: coefficient of variation, F: Female, HPLC: high-performance liquid chromatography, IV: intravenous, M: Male, MRT: mean residence time, ND: not determined, SCID: severe combined immune deficiency, SD: standard deviation, SN-38: active metabolite of irinotecan, $t_{1/2}$: elimination half-life, T_{max}: time to maximum concentration

[a] Small and large intestines with contents

[b] C_{max}: ng/mL for plasma, ng/g for organs, AUC: ng· h/mL for plasma, ng· h/g for organs

2.6.5.5.2 ラットにおける BAX2398 単回静脈内投与後の組織内分布（パイロット試験）

Study No. PEP02-NC-N-PK-002											
Species		Sprague Dawley Rat									
Gender (M/F) / No. of Animals:		15M/Group									
Feeding Condition:		No information									
Vehicle/Formulation:		BAX2398 containing 15.72 mg/mL of CPT-11									
Method of Administration:		IV bolus									
Dose (mg/kg):		10									
Sampling Time		CPT-11: 1, 4, 8, 24 and 48 hr, BAX2398: 1, 8, 24, 72 and 168 hr,									
Assay		HPLC									
		Group 1 (CPT-11)					Group 2 (BAX2398)				
		1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr	1 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr
Irinotecan											
Body Weight (g)	Mean (3 rats/timepoint)	283	287	293	288	283	289	304	311	303	316
	SD	21	10	16	12	14	7	20	21	21	15
Tissues/organs											
Plasma	Mean Volume (mL)	8.78	8.91	9.09	8.92	8.76	8.96	9.43	9.63	9.39	9.79
	SD	0.64	0.29	0.48	0.36	0.44	0.22	0.63	0.65	0.37	0.47
	Mean Conc. (µg/mL)	0.72	0.10	0.01	BQL	BQL	127.64	97.45	10.23	BQL	BQL
	% of Dose	0.22	0.03	0.00	BQL	BQL	39.57	30.21	3.17	BQL	BQL
Liver	Mean Weight (g)	13.31	13.98	10.84	13.43	13.94	12.79	13.39	14.51	14.88	14.52
	SD	0.42	0.51	0.73	1.34	1.15	0.62	1.44	1.48	1.00	1.17
	Mean Conc. (µg/g)	15.15	4.84	1.85	0.04	0.01	16.53	25.06	26.86	3.26	0.07
	% of Dose	7.11	2.36	0.68	0.02	0.00	7.32	11.01	12.55	1.60	0.03
Spleen	Mean Weight (g)	0.70	0.72	0.73	0.75	0.85	0.65	1.11	0.76	0.74	0.89
	SD	0.14	0.07	0.10	0.20	0.44	0.09	0.47	0.08	0.14	0.09
	Mean Conc. (µg/g)	16.84	3.14	0.78	0.02	0.01	57.67	55.98	69.91	19.16	9.02
	% of Dose	0.40	0.08	0.02	0.00	0.00	1.28	1.85	1.72	0.49	0.25
Bone Marrow	Mean Conc. (µg/mg protein)	0.0431	0.0191	0.0060	0.0001	0.0000	0.0881	0.0736	0.0219	0.0004	---

2.6.5.5.2 ラットにおける BAX2398 単回静脈内投与後の組織内分布（パイロット試験）（続き）

		Group 1 (CPT-11)					Group 2 (BAX2398)				
		1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr	1 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr
SN-38											
Body Weight (g)	Mean (3 rats/timepoint)	283	287	293	288	283	289	304	311	303	316
	SD	21	10	16	12	14	7	20	21	21	15
Tissues/organs											
Plasma	Mean Volume (mL)	8.78	8.91	9.09	8.92	8.76	8.96	9.43	9.63	9.39	9.79
	SD	0.64	0.29	0.48	0.36	0.44	0.22	0.63	0.65	0.64	0.47
	Mean Conc. (µg/mL)	0.093	0.057	0.019	BQL	BQL	0.706	0.451	0.571	0.001	BQL
Liver	Mean Weight (g)	13.31	13.98	10.84	13.43	13.94	12.79	13.39	14.51	14.88	14.52
	SD	0.42	0.51	0.73	1.34	1.15	0.62	1.44	1.48	1.00	1.17
	Mean Conc. (µg/g)	0.122	0.075	0.027	---	---	0.046	0.101	0.071	0.004	---
Spleen	Mean Weight (g)	0.70	0.72	0.73	0.75	0.85	0.65	1.11	0.76	0.74	0.89
	SD	0.14	0.07	0.10	0.20	0.44	0.09	0.47	0.08	0.14	0.09
	Mean Conc. (µg/g)	0.013	0.008	0.004	---	---	0.041	0.034	0.043	0.028	0.023
Bone Marrow	Mean Conc. (µg/mg protein)	0.0001	0.0001	0.0000	---	---	0.0001	0.0001	0.0000	---	---

BQL: below quantifiable levels, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN), F: Female, HPLC: high-performance liquid chromatography, IV: intravenous, M: Male, SD: standard deviation, SN-38: active metabolite of irinotecan

2.6.5.5.3 雄 Long-Evans ラットにおけるリポソーム封入型製剤（^{14}C-BAX2398）及び ^{14}C-CPT-11 単回静脈内投与後の ^{14}C-CPT-11 の動態

Study No. PEP02-NC-N-PK-007													
Species:		Long-Evans Rat											
Gender (M/F) / No. of Animals:		1M/each time point											
Feeding Condition:		No information											
Vehicle/Formulation:		^{14}C-CPT-11 and ^{14}C-BAX2398 infusion formulations of 4 mg/mL by mixing in 5% dextrose solution											
Method of Administration:		90 min IV infusion											
Dose (mg/kg):		10											
Radionuclide:		^{14}C-BAX2398											
Specific Activity:		^{14}C-BAX2398: 4.38 µCi/mg, ^{14}C-CPT-11: 4.368 µCi/mg											
Sampling Time:		^{14}C-BAX2398: End of infusion, 8, 24, 48, 72, and 168 hr, ^{14}C-CPT-11: End of infusion, 4, 8, 24, 48, and 72 hr.											
Assay		Total Radioactivity (percent recovery) / Liquid Scintillation Counting (LSC)											
		Concentration (µg equiv/g tissue)											
		Group 1 (^{14}C-BAX2398)						Group 2 (^{14}C-CPT-11)					
Tissues/organs		End of infusion	8 hr	24 hr	48 hr	72 hr	168 hr	End of infusion	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr	72 hr
Adipose	Adipose (brown)	17.437	13.504	3.117	1.789	0.343	0.282	14.320	2.921	0.715	BQL	BQL	BQL
	Adipose (white)	0.946	1.606	BQL	BQL	BQL	BQL	0.539	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Alimentary Canal	Cecum	5.716	9.613	18.109	9.486	1.244	BQL	11.424	5.333	48.912	NI	BQL	NI
	Cecum (contents)	3.282	22.883	31.844	14.322	6.264	0.852	43.972	322.085	394.893	NI	1.103	0.288
	Esophagus	5.482	5.673	0.864	1.056	0.310	BQL	6.401	1.283	1.611	NI	NI	NI
	Large Intestine	4.792	2.857	4.403	1.460	1.735	BQL	5.258	3.273	2.730	0.302	BQL	BQL
	Large Intestine (contents)	BQL	25.699	49.954	35.985	12.575	0.851	11.739	524.450	26.975	29.670	1.470	0.759
	Small Intestine	6.271	9.622	21.095	22.673	3.538	BQL	11.255	13.442	25.535	0.293	NI	BQL
	Small Intestine (contents)	7.275	6.219	26.863	8.478	5.460	0.317	250.623	107.696	177.518	1.266	NI	BQL
	Stomach (contents)	0.333	4.461	8.889	BQL	2.354	0.248	26.340	3.275	2.762	1.415	BQL	BQL

2.6.5.5.3 雄 Long-Evans ラットにおけるリポソーム封入型製剤（^{14}C-BAX2398）及び ^{14}C-CPT-11 単回静脈内投与後の ^{14}C-CPT-11 の動態（続き）

		Concentration (μg equiv/g tissue)											
		Group 1 (^{14}C-BAX2398)						Group 2 (^{14}C-CPT-11)					
Tissues/organs		End of infusion	8 hr	24 hr	48 hr	72 hr	168 hr	End of infusion	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr	72 hr
Alimentary Canal	Stomach (gastric mucosa)	6.864	3.486	4.771	2.345	0.577	BQL	27.409	5.711	1.148	0.259	BQL	NI
Central Nervous System	Brain (cerebellum)	3.370	1.370	0.779	0.342	BQL	BQL	0.188	BQL	BQL	NI	BQL	BQL
	Brain (cerebrum)	1.622	0.846	0.582	0.221	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	NI	BQL	BQL
	Spinal Cord	2.161	1.073	0.597	0.258	BQL	NI	BQL	BQL	BQL	NI	NI	NI
Dermal	Skin (pigmented)	2.799	5.352	3.536	1.933	1.089	0.225	5.074	1.418	1.502	0.748	0.834	0.511
	Skin (non-pigmented)	2.056	2.626	4.400	2.670	2.096	0.266	4.812	1.137	1.195	0.870	BQL	0.353
Endocrine	Adrenal Gland	45.614	22.127	15.674	11.722	2.338	0.361	30.148	6.254	3.566	0.661	0.433	0.391
	Pituitary Gland	14.546	2.187	5.564	3.695	0.940	0.679	32.897	12.506	14.089	1.059	0.271	1.693
	Thyroid	15.173	9.718	30.455	15.293	6.164	0.330	32.080	10.503	2.038	2.355	0.199	NI
Excretory/ Metabolic	Bile (in duct)	128.105	198.577	58.171	43.288	41.328	NI	95.132	27.902	5.479	NI	NI	NI
	Renal Cortex	41.056	26.644	18.136	9.661	2.712	1.049	35.332	5.022	2.269	0.409	0.251	0.287
	Renal Medulla	50.635	31.319	20.240	7.502	0.969	BQL	20.996	3.041	1.215	BQL	BQL	BQL
	Liver	49.940	23.405	19.568	11.231	3.104	0.908	31.142	5.809	3.043	0.295	0.201	0.251
	Urinary Bladder	4.897	3.899	1.088	1.263	3.171	NI	81.447	3.360	0.685	1.785	NI	NI
	Urinary Bladder (contents)	1.767	21.492	0.717	1.197	0.877	NI	165.456	56.448	13.686	0.440	BQL	NI
Ocular	Eye (lens)	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	0.204	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Eye (uveal tract)	2.980	3.671	4.567	5.526	7.672	9.584	25.586	19.137	25.855	20.153	14.161	20.277
Reproductive	Epididymis	2.318	4.335	7.206	7.871	1.274	0.854	2.761	2.621	1.253	BQL	NI	BQL

2.6.5.5.3 雄 Long-Evans ラットにおけるリポソーム封入型製剤（^{14}C-BAX2398）及び ^{14}C-CPT-11 単回静脈内投与後の ^{14}C-CPT-11 の動態（続き）

		Concentration (μg equiv/g tissue)											
		Group 1 (^{14}C-BAX2398)						Group 2 (^{14}C-CPT-11)					
Tissues/organs		End of infusion	8 hr	24 hr	48 hr	72 hr	168 hr	End of infusion	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr	72 hr
Reproductive	Prostate Gland	3.323	5.386	2.447	0.721	0.286	NI	11.384	7.930	2.349	4.629	NI	NI
	Seminal Vesicles	0.651	1.585	0.464	0.362	0.211	NI	2.812	2.255	2.472	0.749	0.223	NI
	Testis	1.638	1.234	1.658	1.253	0.650	0.427	0.837	0.549	0.543	0.195	BQL	BQL
Respiratory Tract	Lung	68.836	36.539	26.677	10.320	1.848	0.455	15.299	1.950	0.564	BQL	BQL	BQL
	Trachea	19.967	6.374	3.152	1.615	2.401	NI	6.570	1.629	0.538	NI	NI	NI
Secretory	Harderian Gland	2.746	2.068	2.222	1.367	0.255	BQL	15.932	10.935	9.728	0.484	NI	BQL
	Pancreas	3.816	27.813	10.690	5.976	2.133	0.186	43.169	17.219	10.047	0.830	BQL	NI
	Salivary Gland	5.986	4.662	2.972	1.232	0.349	BQL	39.049	11.878	8.569	BQL	NI	BQL
Skeletal/ Muscular	Bone	0.798	0.657	0.446	0.273	0.255	NI	1.143	0.196	0.405	NI	NI	NI
	Heart	25.416	17.304	18.252	10.944	3.803	0.604	8.668	1.064	0.425	BQL	NI	NI
	Skeletal Muscle	0.891	1.441	0.761	0.322	BQL	BQL	5.466	0.973	0.355	NI	NI	BQL
Vascular/ Lymphatic	Blood (by QWBA)	142.038	70.180	37.122	14.529	1.387	BQL	2.643	0.592	0.267	NI	NI	NI
	Blood (by LSC)	129.795	85.160	40.069	13.585	1.598	BQL	2.633	0.458	BQL	BQL	BQL	BQL
	Plasma (by LSC)	264.840	149.886	69.977	23.174	2.968	BQL	3.434	0.344	BQL	BQL	BQL	BQL
	Bone Marrow	21.229	32.833	14.059	9.524	1.681	NI	23.819	5.832	1.770	NI	NI	NI
	Lymph Node	10.797	6.503	8.202	3.821	1.630	BQL	12.361	4.449	1.840	NI	NI	NI
	Spleen	33.096	66.967	97.421	134.896	60.255	15.404	34.146	6.464	2.722	0.196	BQL	BQL
	Thymus	4.317	5.175	2.524	1.637	0.457	BQL	5.926	3.543	3.234	NI	NI	NI

BQL: below quantifiable levels, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN), F: Female, IV: intravenous, LLOQ: lower limit of quantification, LSC: liquid scintillation counting, M: male, NI: not identified on autoradioluminograph, QWBA: quantitative whole body autoradiography
QWBA LLOQ = 0.181 μg equivalent / g tissue, LSC LLOQ = 0.013 μg equivalent / g tissue

2.6.5.5.4 担癌マウスでの点滴静注後の骨髄性及び非骨髄性腫瘍細胞における BAX2398 の代替となる蛍光標識リポソームの分布

2.6.5.5.4.1 結腸直腸癌（CTG-062）、大腸癌（HT-29）及び膵臓癌（AsPC-1、CFPAC-1、CTG-283 及び CTG-288）の細胞株系由来並びに患者由来異種移植腫瘍モデルにおける蛍光標識 BAX2398 の腫瘍内分布

Study No.MM-398-NC-N-Ph-029	
Species:	NOD-SCID Mouse
Gender (M/F) / No. of Animals:	4F
Vehicle/Formulation:	DiI5-BAX2398, DiI5-liposome
Method of Administration:	IV bolus, single dose
Dose (mg/kg):	10
Sampling Time:	HT-29: 4, 24, 48 and 72 hr, CTG-062: 24 and 72 hr, AsPC-1: 24 and 72 hr, CFPAC-1: 1, 6, 24, 72, 120 and 168 hr, CTG-283: 24 hr, CTG-288: 24 and 72 hr
Assay	Immunofluorescence, Immunohistochemistry
The results are summarized in 2.6.4 Pharmacokinetic Written Summary, Section 4.4.1	

DiI5: fluorescent lipophilic carbocyanine $DiIC_{18}(5)$-DS tag, F: female, IV: intravenous, M: male, SCID: severe combined immune deficiency

2.6.5.5.4.2 抗 CSF-1 抗体前処置あり又は前処理なしの NOD-SCID マウスにヒト HT-29 大腸癌を移植した腫瘍モデル、C57BL/6J マウスにマウス LLC 肺癌を移植した腫瘍モデル及び C57BL/6J マウスにマウス MC-38 結腸癌を移植した腫瘍モデルにおける腫瘍細胞での蛍光標識リポソームの分布

Study No.MM-398-NC-N-Ph-019 (HT29), MM-398-NC-N-Ph-020 (LLC), MM-398-NC-N-Ph-021 (MC-38)	
Species:	NOD-SCID Mouse, C57BL/6J Mouse
Gender (M/F) / No. of Animals:	3-4F
Vehicle/Formulation:	DiI5-BAX2398, DiI5-liposome
Method of Administration:	IV bolus, single dose
Dose (mg/kg):	10
Sampling Time:	24 hr
Assay	Flow cytometry
The results are summarized in 2.6.4 Pharmacokinetic Written Summary, Sections 4.4.2, 4.4.3 and 4.4.4	

DiI5: fluorescent lipophilic carbocyanine $DiIC_{18}(5)$-DS tag, F: female, IV: intravenous, M: male, SCID: severe combined immune deficiency

2.6.5.6 薬物動態試験：血漿タンパク結合

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：代謝：*In vivo*

該当なし。

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In vitro*

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

Study number	PEP02-NC-N-PK-008									
Species	Sprague Dawley Rat									
	Group 1						Group 2[a]			
Gender (M/F) / Number of animals:	3M			3F			3M			
Feeding condition	Not fasted			Not fasted			Not fasted			
Vehicle/Formulation	Liposome encapsulated [^{14}C]CPT-11			Liposome encapsulated [^{14}C]CPT-11			Liposome encapsulated [^{14}C]CPT-11			
Method of Administration	IV infusion			IV infusion			IV infusion			
Dose (mg/kg) :	5			5			5			
Analyte	Radioactivity			Radioactivity			Radioactivity			
Assay	LSC			LSC			LSC			
	Cumulative % Recovery (Mean)									
Excretion route	Feces	Urine	Total	Feces	Urine	Total	Feces	Urine	Bile	Total
Time										
4 hr	--	1	1	--	1	1	--	1	4	5
8 hr	--	3	3	--	2	2	--	4	10	14
24 hr	28	14	42	33	10	43	3	17	34	54
48 hr	63	20	83	64	14	78	15	24	51	90
72 hr	74	22	96	78	16	94	17	27	56	100
96 hr	76	22	98	81	16	97	17	27	57	101
120 hr	77	23	100	82	16	98				
144 hr	78	23	101	83	16	99				
168 hr	78	23	101	83	17	100				

F: female, IV: intravenous, LSC: liquid scintillation counting, M: male
a A separated group of the bile duct cannulated rats

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

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

該当なし。