イルミア皮下注 100mg シリンジ

2.6.4　薬物動態試験の概要文

サンファーマ株式会社

目次

目次 …… 2
表一覧 …… 2
図一覧 …… 3
略語一覧 4
2.6.4.1　まとめ …… 5
2.6.4.2　分析法 …… 5
2.6.4.2.1　マウス血清を用いた分析法 …… 5
2.6.4.2.2　サル血清中及び乳汁中チルドラキズマブ濃度の分析法 …… 6
2.6.4.2.3　サル血清中抗チルドラキズマブ抗体の分析法 …… 6
2.6.4.2.4　サル血清中 IL-23 の分析法 …… 6
2.6.4.3　吸収 …… 7
2.6.4.3.1　マウスを用いた単回投与薬物動態試験 …… 7
2.6.4.3.2　サルを用いた単回投与薬物動態試験 …… 8
2.6.4.3.3　サルへの投与試験 …… 10
2.6.4.3.4　サルを用いた反復投与薬物動態試験 …… 10
2.6.4.4　分布 …… 10
2.6.4.4.1　チルドラキズマブを母ザルに皮下投与したときの胎仔へのチルドラキズマブ胎盤移行性 …… 11
2.6.4.5　代謝 …… 12
2.6.4.5.1　チルドラキズマブの血漿中安定性 …… 12
2.6.4.6　排泄 …… 12
2.6.4.6.1　母ザルにチルドラキズマブを皮下投与したときのチルドラキズマブ乳汁中移行 …… 12
2.6.4.7　薬物相互作用 …… 13
2.6.4.7.1　In vitro で IL-23 がヒトチトクローム P450 酵素に与える影響 …… 13
2.6.4.7.2　ヒト肝細胞培養中の IL-23 受容体の発現欠如 …… 15
2.6.4.8　その他の薬物動態試験 …… 16
2.6.4.9　考察及び結論 …… 16
2.6.4.10　参考文献 …… 17

表一覧

表 2.6.4.2- 1　カニクイザル血清試料中チルドラキズマブ濃度，ADA 及び IL-23 濃度の生物分析法バリデーション …… 7
表 2.6.4.3- 1　雄カニクイザルにチルドラキズマブを単回静脈内又は皮下投与したときの薬物動態パラメータの平均値 …… 9
表 2.6.4.4- 1　妊娠 140 日の母ザルにチルドラキズマブを皮下投与したときの胎仔へのチルドラキズマブ胎盤移行性 …… 11
表 2.6.4.4- 2　母ザルにチルドラキズマブを皮下投与したときの出生仔へのチルドラキズマブ胎盤移行性 …… 11

表 2.6.4.6- 1 母ザルにチルドラキズマブを皮下投与したときのチルドラキズマブ乳汁中/血清中濃度比……**13**

図一覧

図 2.6.4.3- 1 チルドラキズマブ[redacted](△) 又は溶液の PFS 製剤 (●) 4 mg/kg を単回皮下投与したときの平均と標準偏差血清中濃度 - 時間プロファイル ……**10**

図 2.6.4.7- 1 IL-6 又は IL-23 を加えて 72 時間処理したときの CYP1A2 及び CYP3A4 酵素の活性……**14**

図 2.6.4.7- 2 IL-6 又は IL-23 を加えて 72 時間処理したときの CYP1A2 及び CYP3A4 の遺伝子発現量……**15**

略語一覧

略語	定義
ADA	抗チルドラキズマブ抗体 (Anti-drug Antibodies)
AUC	血清中濃度 - 時間曲線下面積 (Area Under the Serum Concentration-Time Curve)
BD	出生日 (Birth Day)
CL	全身クリアランス (Total Body Clearance)
C_{max}	最高血清中濃度 (Maximum Observed Serum Concentration)
CRP	C 反応性タンパク質
C0	初期 (投与直後の) 血清中濃度 (Serum Concentration at Time 0)
CV	変動係数 (Coefficient of Variation)
CYP	チトクローム P (Cytochrome P)
ECL	電気化学発光 (Electrochemiluminescence)
EFD	胚･胎仔発生 (Embryo-Fetal Development)
ELISA	酵素結合免疫吸着測定法 (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)
Fc	結晶化可能断片 (Fragment Crystallizable)
GD	妊娠日 (Gestation Day)
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 (Good Laboratory Practice)
IgG	免疫グロブリン G (Immunoglobulin G)
IL	インターロイキン (Interleukin)
IV	静脈内 (Intravenous)
kDa	キロダルトン (Kilo Dalton)
LLOQ	定量下限 (Lower Limit of Quantitation)
LOD	検出限界 (Limit of Detection)
mAb（mAbs）	モノクローナル抗体 (Monoclonal Antibody)
MK-3222	チルドラキズマブの開発コード
MSD	Meso Scale Discovery
NAb	中和抗体 (Neutralizing Antidrug Antibodies)
PFS	プレフィルドシリンジ (Prefilled Syringe)
PK	薬物動態 (Pharmacokinetics)
PPD	出産後日数 (Postpartum Day)
PPND	出生前及び出生後の発生 (Pre- and Post-Natal Developmental)
SC	皮下 (Subcutaneous)
SCH 900222	チルドラキズマブの旧開発コード
SD	標準偏差 (Standard Deviation)
SE	標準誤差 (Standard Error)
SEC-HPLC	サイズ排除高速液体クロマトグラフィー (Size Exclusion High-Performance Liquid Chromatography)
$t_{½}$	消失半減期 (Half-Life)
T_{max}	最高血中濃度到達時間 (Time of Maximum Concentration)
ULOQ	定量上限（Upper Limit of Quantitation）
Vdss	定常状態の分布容積 (Volume of Distribution at Steady State)

2.6.4.1　まとめ

チルドラキズマブの薬物動態 (PK) について，マウス及びカニクイザルを用いて検討した。チルドラキズマブはマウスインターロイキン（IL）-23 に結合しないため (2.6.2.2.1.2 項)，マウス試験から得られた血清中濃度 - 時間プロファイル及び PK パラメータ推定値は，IL-23 結合による影響を反映していない。チルドラキズマブは，カニクイザル IL-23 に結合して中和することから，サルはチルドラキズマブの毒性及び PK を評価する上で適切な動物種と考えられた (2.6.2.2.1.2 項)。サルにチルドラキズマブを単回又は反復投与したときの PK パラメータは，他の免疫グロブリン G （IgG）1 モノクローナル抗体 (mAb) 投与と同様に全身クリアランス (CL) は低く，定常状態の分布容積 (Vdss) は小さく，消失半減期 ($t_{½}$) は長く，皮下投与 (SC) したときのバイオアベイラビリティは高い特徴を有していた。

サルにチルドラキズマブを単回又は反復投与した場合，血清中総 IL-23 濃度の上昇が認められ，当該所見は，チルドラキズマブが標的サイトカインと結合したことにより (*in vivo* での標的介在性)，IL-23 クリアランスが低下することと一致した。

チルドラキズマブの開発段階で剤形を数回変更した。非臨床試験で用いた MK-3222 液剤と，第 I 相及び第 IIb 相試験で用いたチルドラキズマブ[redacted]をブリッジングするための最初の PK 同等性試験にはマウスを用いた。その後，第 III 相臨床試験用としてプレフィルドシリンジ (PFS) に充填したチルドラキズマブ液剤を開発した。サルの単回皮下投与試験では，[redacted]と PFS 製剤の PK は同等であり，いずれの剤形でも免疫原性は認められなかった。

チルドラキズマブの開発では，放射標識体を用いたチルドラキズマブ分布試験は実施しなかった。胚･胎仔発生 (EFD) に関する毒性試験又は出生前及び出生後の発生 (PPND) に関する毒性試験で妊娠サルにチルドラキズマブを反復皮下投与したところ，胎仔及び出生仔のチルドラキズマブ濃度は母動物と同程度であった。雌サルにチルドラキズマブを妊娠 50 日目から分娩まで皮下投与したとき，乳汁中チルドラキズマブ平均濃度は，出産後 (PPD) 28 日目及び 91 日目の母動物血清中濃度の 0.3%未満であった。

チルドラキズマブの通常の代謝試験は実施しなかった。しかし，蛍光プローブで標識したチルドラキズマブは，*in vitro* サル又はヒト血漿中において 37°C で 7 日間安定であり，高分子複合体，凝集体又は異化産物の形成は認められなかった。

慢性炎症時にはサイトカインにより P450 酵素及び薬物トランスポーターの発現に影響し，特定の炎症性サイトカインを標的とする mAb との薬物相互作用 (又は薬物 - 疾患相互作用) が起こることが示されている。この可能性を検討するために，ヒト肝細胞のみ，又はヒト肝細胞にクッパー細胞を加えて共培養して *in vitro* 試験を実施し，標的である IL-23 の活性を減少させるかどうか P450 酵素の発現レベルを検討した。*In vitro* で凍結保存されたヒト肝細胞にヒト IL-23 を添加した結果，P450 酵素 (CYP1A2 及び 3A4) の活性及び発現量に影響は全く認められないか，極めて軽微な影響しか認められなかった。一方，陽性対照 (IL-6) を添加した結果，P450 の活性及び発現量が低下した。ヒト肝細胞のみの単独培養及びヒト肝細胞とクッパー細胞の共培養において IL-23 の影響が認められなかったのは，ヒト肝細胞の単培養や肝細胞とクッパー細胞の共培養で IL-23 受容体 (IL-23R) の mRNA が発現していないか，発現量が検出限界未満であることにより，IL-23 との直接相互作用が抑制されたと推察された。

2.6.4.2　分析法

2.6.4.2.1　マウス血清を用いた分析法

非 GLP 試験 (pk003mk3222, pk004mk3222) において，探索的なチルドラキズマブ検出用酵素結合免疫吸着測定法（ELISA） (定量下限 10 ng/mL) を用いて，マウス血清中のチルドラキズマブを定量した (2.6.5.3.1 項)。また pk004mk3222 試験では，マウス血清中の抗チルドラキズマブ抗体 (ADA) の発現を探索的な電気化学発光 (ECL) 法を用いて分析した。

2.6.4.2.2　サル血清中及び乳汁中チルドラキズマブ濃度の分析法

サルを用いた非 GLP 単回投与試験 (PK005mk3222) において，カニクイザル血清中チルドラキズマブ検出用の探索的な ELISA (定量下限 10 ng/mL) を用いて，血清中のチルドラキズマブを定量した (2.6.5.3.2 項)。

チルドラキズマブ リガンドを補足試薬，ヒト IL-23 を検出試薬として用いたブリッジング ECL 分析法のバリデーションを行ったところ (4.2.2.1 項， 報告書 MK-3222-Document No.54093, 2008)，未希釈血清中の定量範囲は 3.91 ng/mL (定量下限，LLOQ) ～250 ng/mL (定量上限，ULOQ) であった。GLP 適用毒性/トキシコキネティクス (TK) 試験 (2.6.7.1 項，報告書 SN 07184，SN 07329，及び SN 08292)及び異なる剤形間の同等性試験 (2.6.5.3.2 項， 報告書 pk001mk3222) において，当該 ECL 分析法を用いて，カニクイザル血清中チルドラキズマブを定量した。その後のチルドラキズマブの分析は，[redacted] ([redacted], [redacted]) に移管され，[redacted] でバリデーションを行ったところ (4.2.2.1 項，報告書 MK-3222 [redacted] Study 8266-922, 2012)，移管先での第二世代の分析でも，未希釈血清中の定量範囲は 3.91 ng/mL (LLOQ) ～250 ng/mL (ULOQ) であった。PPND GLP 適用毒性試験(2.6.7.1 項，報告書 TT#12-9004) も，当該 ECL 分析法を用い，当該定量範囲に基づいて実施した。GLP 適用毒性試験で用いたバリデーションされた分析法では，Meso Scale Discovery（MSD）社のプラットフォームを使用した。当該分析法を (表 2.6.4.2- 1) に示す。また，チルドラキズマブの ECL 分析法は，カニクイザル乳汁中チルドラキズマブ濃度の定量にも適用し，未希釈乳汁での定量範囲は 3.91 ng/mL (LLOQ) ～250 ng/mL (ULOQ) であった (4.2.2.1 項，報告書 MK-3222 [redacted] Laboratories Study 8291-973, 2013)。

2.6.4.2.3　サル血清中抗チルドラキズマブ抗体の分析法

初期のサルを用いた非 GLP 試験では，探索的な半定量的 ECL 分析法(pk005mk3222) を用いて ADA を検出した (2.6.5.3.2 項)。その後，ADA の定量的分析法としてビオチン化チルドラキズマブで補足後，ルテニル化チルドラキズマブで検出する手法を開発しバリデーションを行った (4.2.2.1 項，報告書 MK-3222-Document No. 50271, 2007)。標準品 (陽性対照) として，プロテイン G を用いて精製したウサギポリクローナル抗体(抗チルドラキズマブ)を用いた。当該分析法は定量的分析法であり，定量範囲は未希釈血清中で 0.781～50 µg/mL であった (4.2.2.1 項，報告書 MK-3222-Document No. 50271, 2007)。サルを用いた 3 及び 9 ヵ月反復投与毒性試験 (SN 07184, SN 07329) では当該分析法を用いた。胚･胎仔発生 (EFD) に関する試験 (SN 08292) 及び異なる剤形間の PK 同等性試験 (pk001mk3222) では，更に感度の高い，定量範囲 100 ng/mL (LLOQ) ～12800 ng/mL (ULOQ) のバリデートされた定量的分析法を用いた (4.2.2.1 項，報告書 MK-3222-Study No. DM27870, 2009)。その後，抗チルドラキズマブ抗体の分析は，[redacted] ([redacted], [redacted]) に移管され，[redacted] で定性的分析法に改善し，バリデートした上で (4.2.2.1 項，報告書 MK-3222-[redacted] Study 8266-924, 2013)，出生前及び出生後の発生 (PPND) に関する毒性試験 (TT#12-9004) に用いた。ウサギポリクローナル抗体を陽性対照に用いたとき，本分析法の感度は 8.52 ng/mL であった。

EFD 試験 (SN 08292) では，バリデートされた ECL 法に基づく中和抗体の分析法 (4.2.2.1 項，報告書 MK-3222-Study No. DM27749, 2009) を用いた。GLP 適用の毒性試験で用いたバリデートされた ADA ECL 免疫測定法は，MSD 社製プラットフォームに基づいており，表 2.6.4.2- 1 に記載している。

2.6.4.2.4　サル血清中 IL-23 の分析法

初期のサルを用いた非 GLP 試験(2.6.5.3.2 項，報告書 pk005mk3222) では，総血清中 IL-23 濃度を，定量限界 (LLOQ) 9 pg/mL の MSD 社製プラットフォームを用いた探索的 ECL 法で測定した。

初期のサル毒性試験 (SN 07184) では，バリデートされた ECL 法 (未希釈血清中 LLOQ：250 pg/mL) (4.2.2.1 項，報告書 MK-3222-Document No. 50350, 2008) を用いた。本分析法では，ビオチン標識及びチルドラキズマブとは異なる IL-23 上のエピトープを認識する SULFO-TAG™標識抗ヒト IL-23 mAb を用いた。サルを用いたその後の毒性試験 (SN 07329) では，未希釈血清中

LLOQ が 16 pg/mL のバリデートされた分析法 (4.2.2.1 項，報告書 MK-3222-Document No. DM27624, 2008) を用いた。GLP 適用毒性試験の IL-23 測定に用いたバリデートされた ECL 免疫測定法は，MSD 社製プラットフォームに基づいており，表 2.6.4.2- 1 に記載している。

表 2.6.4.2- 1　カニクイザル血清試料中チルドラキズマブ濃度，ADA 及び IL-23 濃度の生物分析法バリデーション

Method Description	Toxicity Study Supported	Bioanalytical Validation Report Title	Report Number	Sensitivity	Parameter of Sensitivity	GLP
Drug assay	SN 07184 SN 07329 SN 08292	Quantitation of SCH 900222 Drug Levels in Cynomolgus Monkey Serum Using an Electrochemiluminescence (ECL) Assay on MSD Sector Imager 6000 Analyzer	D54093	3.91 ng/mL	LLOQ	Yes
	TT #12-9004	Validation of an Electrochemiluminescence Immunoassay Method to Quantify MK-3222 in Cynomolgus Monkey Serum Using Meso Scale Discovery's Sector Imager 6000	8266-922	3.91 ng/mL	LLOQ	Yes
ADA assay	SN 07184 SN 07329	Quantitation of Anti-SCH 900222 Antibodies in Cynomolgus Monkey Serum Using an ECL Assay on MSD Sector Imager 6000 Analyzer	D50271	0.781 µg/mL	LLOQ (no LOD established)	Yes
	SN 08292	Quantitation of Anti-SCH 900222 Antibodies in Cynomolgus Monkey Serum Using an ECL Assay on MSD Sector Imager 6000 Analyzer	DM27870	20 ng/mL	LOD LLOQ = 100 ng/mL	Yes
	TT #12-9004	Validation of an ECL Method for Detection of anti-MK-3222 Antibodies in Cynomolgus Monkey Serum	8266-924	8.52 ng/mL	LOD (no LLOQ established)	Yes
NAb assay	SN 08292	ECL Assay for the Detection of Anti-SCH 900222 Neutralizing Antibodies in Cynomolgus Monkey Serum Using the Meso Scale Discovery Sector Imager 6000 (MSD)	DM27749	500 ng/mL	LOD (no LLOQ established)	Yes
IL-23 assay	SN 07184	Quantitation of Total IL-23 in Cynomolgus Monkey Serum Using an Electrochemiluminescence (ECL) assay on the MSD Sector Imager 6000 Analyzer	D50350	250 pg/mL	LLOQ	Yes
	SN 07329	Quantitation of total IL-23 in Cynomolgus Monkey Serum Using an Electrochemiluminescence (ECL) assay on the MSD Sector Imager 6000 Analyzer	DM27624	16 pg/mL	LLOQ	Yes

MK-3222 = tildrakizumab or SCH 900222, GLP = Good Laboratory Practices, ADA = antidrug antibody; Nab = neutralizing antibody; LLOQ = lower limit of quantitation; LOD = limit of detection

2.6.4.3　吸収

2.6.4.3.1　マウスを用いた単回投与薬物動態試験

チルドラキズマブはマウス IL-23 に結合しないため (2.6.2.2.1.2 項)，マウスを使用した試験から得られた血清中濃度―時間プロファイルと PK パラメータの推定値は，IL-23 結合の潜在的な効果を反映したものではない。チルドラキズマブ 4 mg/kg を雌の CD-1 マウスに単回静脈内（IV）又は SC 投与した後の $t_{1/2}$ は，それぞれ 11.2 日，9.38 日と同程度であった。血清中チルドラキズマブ濃度は，SC 投与後急速に上昇し，16 時間後 (0.667 日) にピークに達し，バイオアベイラビリティは 87.6%であった (2.6.5.3.1 項)。

臨床試験開始に先立って，チルドラキズマブの臨床開発プログラムで使用する目的で開発された[redacted]と初期の毒性試験で使用された液剤を比較するマウス PK 試験を実施した。チルドラキズマブ液剤は，[redacted]，[redacted]及び[redacted]の水溶液 ([redacted])として供給された。チルドラキズマブ[redacted]は，滅菌水を用いて再懸濁したとき，[redacted]，[redacted]及び[redacted]を含有し，[redacted]となるように設計された。各剤形のチルドラキズマブ 25 mg/kg を CD-1 雌マウスに IV 投与した結果，[redacted]の PK パラメータは，液剤と同程度で，[redacted]及び液剤の $AUC_{(0\text{-}28\ days)}$（AUC，血清中濃度 - 時間曲線下面積）はそれぞれ 4191 及び 3565 μg·day/mL，投与直後の血清中濃度（C0）は 525 及び 631 μg/mL であった (2.6.5.3.1 項)

2.6.4.3.2　サルを用いた単回投与薬物動態試験

チルドラキズマブは，カニクイザルの IL-23 と結合し中和することから (2.6.2.2.1.2 項)，サルは毒性及び PK の評価に適した動物種であると判断された。チルドラキズマブを雄カニクイザルに単回 IV 投与 (40 mg/kg) したとき，血清中濃度 - 時間プロファイルは 2 相性を示し，投与直後の数日間に全身に分布し，その後 12 週間で緩徐に消失した。チルドラキズマブを IV 投与したときの消失速度は遅く (平均 CL=2.66 mL/日/kg，$t_{½}$=22.8 日)，Vdss (62.2 mL/kg) も低かったことから，サルでは血管外の組織中への分布は少ないことが示唆された。チルドラキズマブを単回 SC 投与 (0.4，4，又は 40 mg/kg) したときの吸収は緩徐で，最高血中濃度到達時間 (T_{max}) は平均で 3.33～4.67 日であった。全身暴露量 ［$AUC_{(0\text{-}INF)}$ 及び最高血清中濃度 (C_{max})］ は，0.4～40 mg/kg の用量範囲で，用量に比例して増加した。チルドラキズマブを SC 投与したとき，全身循環血中からの消失速度は遅く，平均 $t_{½}$は 10.0～21.3 日であった。更に，チルドラキズマブを SC 投与したときの消失相 (終末相) は，IV 投与時と類似していた。バイオアベイラビリティ (F) は 40.4%～91.5%であった (2.6.5.3.2 項) (表 2.6.4.3- 1)。チルドラキズマブ 40 mg/kg SC 投与群の ADA 陰性動物 1 頭で $t_{½}$が最も短く，バイオアベイラビリティも最も低かったが，その原因は不明であった。また 3 頭の動物で PK に ADA の影響が認められた。これらの動物については以下の項で論じる。

チルドラキズマブを IV 又は SC 投与したとき，動物 12 頭中 4 頭 (40 mg/kg IV 群 1 頭，40 mg/kg SC 群 2 頭，4 mg/kg SC 群 1 頭) から採取した試料中で早いものでは投与後 28 日から ADA が検出された (2.6.5.3.2 項)。4 mg/kg 群の ADA 陽性動物 1 頭については，ADA 陽性の試料は 1 時点のみであり，また，当該動物のチルドラキズマブ濃度は，同一投与群の他の 2 頭の同一時点の薬物濃度と同程度であったことから，平均 PK パラメータの算出に含めた。40 mg/kg 群の動物 3 頭の PK パラメータは，最初に ADA 陽性が認められた以降全ての測定時点で ADA は陽性で，薬物濃度が同一群の ADA 陰性動物の薬物濃度と異なっていたことから，PK パラメータの平均値の算出あるいは PK パラメータの測定値範囲には含めなかった。PK パラメータの算出から除外した動物の個々のパラメータは 2.6.5.3.2 項に示す。

40 mg/kg SC 投与群の ADA 陰性動物 1 頭は，$t_{½}$が最も短く，且つバイオアベイラビリティが最低であったが，原因は不明であった (表 2.6.4.3- 1) (2.6.5.3.2 項)。当該動物の C_{max} (439 μg/mL) は，同一投与群の他の 2 頭の C_{max} (475 及び 512 μg/mL) と同程度であり，4 mg/kg 投与群の C_{max} の約 10 倍であったことから，投与の誤りが原因であったとは考えられなかった。薬物曝露量が低く，$t_{½}$が短い動物では，恐らく血清試料中の高濃度チルドラキズマブによる干渉が原因で，ADA 分析法では検出不可能な低濃度の ADA が産生された可能性が示唆された。抗チルドラキズマブ抗体の検出に干渉しない試料中チルドラキズマブの許容濃度は 6 μg/mL 以下であり，6 μg/mL を上回ると偽陰性が生じる可能性があった。高用量を SC 投与したサル 1 頭において，投与後 56 日まで，チルドラキズマブ濃度が許容濃度 6 μg/mL を超えたため，抗チルドラキズマブ抗体の検出が干渉された可能性があった。

表 2.6.4.3- 1　雄カニクイザルにチルドラキズマブを単回静脈内又は皮下投与したときの薬物動態パラメータの平均値

Dosing Route	n	Nominal Dose (mg/kg)	$AUC_{(0\text{-}INF)}$ (μg·day/mL)	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (day)	$t_{½}$ (days)	F (%)[a]
IV	2[b]	40	16200	1470[c]	NA	22.8	NA
SC	3	0.4	148	5.13	4.67	21.3	91.5
	3	4	1200	45.5	3.33	18.9	74.3
	1[d]	40	6520	439	3.00	10.0	40.4

a: Calculated based on $AUC_{(0\text{-}INF)}$.

b: n = 2. One monkey was excluded from calculation of PK parameters because ADA were detected in samples at multiple time points.

c: C0 value, estimated by extrapolation to time 0.

d: n = 1. Two monkeys were excluded from calculation of PK parameters because ADA were detected in samples at multiple time points.

$AUC_{(0\text{-}INF)}$ = area under the serum concentration-time curve extrapolated to infinity; C0 = Concentration extrapolated to time 0; C_{max} = maximum observed serum concentration; F = bioavailability; IV = intravenous; n = number of animals; NA = not applicable; SC = subcutaneous;. $t_{½}$ = terminal phase half-life; T_{max} = time of maximum observed serum concentration.

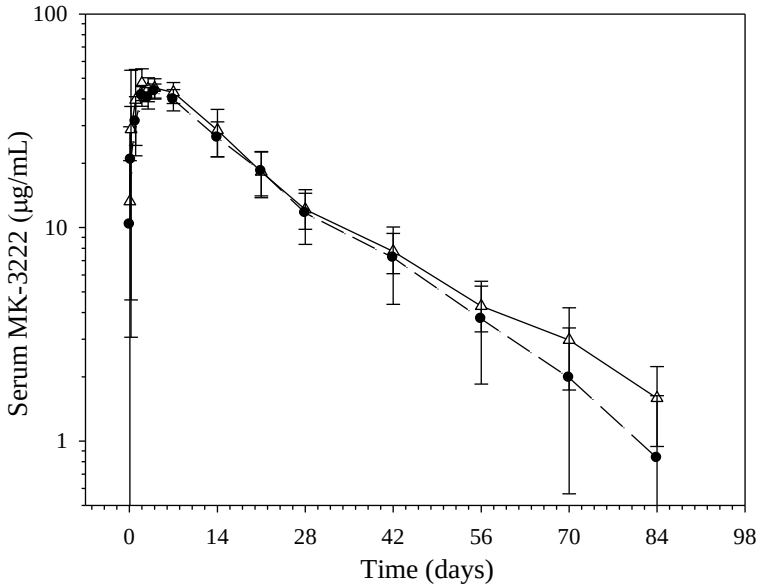
(Sec. 2.6.5.3.2).

カニクイザルを用いた 9 ヵ月毒性試験においてチルドラキズマブ 10，30，及び 100 mg/kg を反復 SC 投与したときの PK を評価した (2.6.7.1 項)。チルドラキズマブの全身曝露量に性差は認められず，全身曝露量は投与量に比例して増加した。より多くのサルを用いた 9 ヵ月間毒性試験 (SN 07329) では，初回投与後及び反復投与後のいずれにおいてもチルドラキズマブの PK は投与量に比例してほぼ線形性を示した。

その後，雌カニクイザルを用いたチルドラキズマブ[redacted]とチルドラキズマブ溶液のプレフィルドシリンジ (PFS) 製剤の PK を比較した。チルドラキズマブ[redacted]は，初期の第 I 相臨床試験 (P05661，P05776，P06306，及び P05382) 及び第 IIb 相試験 (P05495) で使用した。チルドラキズマブ[redacted]の組成は，マウスを用いた同等性試験に記載した (2.6.4.3.1 項)。チルドラキズマブ溶液の PFS 製剤は第 III 相臨床試験 (P010 及び P011) 及び薬物相互作用試験 (P009) で使用した。チルドラキズマブ溶液の PFS 製剤は[redacted]，[redacted]及び[redacted]を含有し，[redacted]に調節している。臨床での投与経路が SC 投与であること，また，サルにおけるチルドラキズマブの $t_{½}$ が長かったことから，同等性試験は，チルドラキズマブ 4 mg/kg を単回 SC 投与する平行群間比較するデザインで実施した。

チルドラキズマブ[redacted]及びチルドラキズマブ溶液の PFS 製剤を単回 SC 投与したときの PK プロファイルの特徴として，吸収過程は数日間と緩徐であり，平均 T_{max} はチルドラキズマブ[redacted]では 2.38 日，PFS 製剤では 3.67 日であった。チルドラキズマブの消失は，IgG1 mAb と同様に全身クリアランスが緩徐であることを示唆していた。平均血清中濃度プロファイルは[redacted]と溶液製剤とで類似し (図 2.6.4.3- 1)，両剤形の製剤間で平均 $AUC_{(0\text{-}INF)}$ (%CV) ［1170 (16) 及び 1050 (20) μg day/mL］ 及び平均 C_{max} (%CV) ［50.6 (21) 及び 45.4 (5) μg/mL］ は同程度であった。血清中 ADA が陽性の動物は認められなかった。以上の結果から，チルドラキズマブ[redacted]とチルドラキズマブ溶液の PFS 製剤の PK パラメータは類似し，いずれの剤形においても免疫原性は認められないことが示された (2.6.5.3.2 項)。

図 2.6.4.3- 1　チルドラキズマブ[redacted] (△) 又は溶液の PFS 製剤 (●) 4 mg/kg を単回皮下投与したときの平均と標準偏差血清中濃度 - 時間プロファイル



(Ref. 4.2.2.2: PK001MK3222)

2.6.4.3.3　サルへの投与試験

チルドラキズマブ投与後の血清中総 IL-23 濃度 (遊離＋結合) を用いて，*in vivo* における標的サイトカインの関与を評価した。サルにチルドラキズマブを単回又は反復投与した後，ベースライン時に血清中総 IL-23 濃度は，検出されなかったが，チルドラキズマブ投与後は一過性又は持続的に上昇し，チルドラキズマブの標的サイトカインへの結合が示唆された (2.6.5.3.2 項) (2.6.7.1 項, 報告書 SN 07329)。血清中総 IL-23 濃度の増加は，チルドラキズマブ：IL-23 複合体が形成され，IL-23 のクリアランスが低下したことによると推察された。チルドラキズマブとの複合体形成により IL-23 の生物学的活性が抑制されることから (2.6.2.2.1.1 項)，複合体は不活性である。更に，IL-23 のベースラインでの血清中濃度は低く (2 つの IL-23 測定法の LLOQ：<9 ～16 pg/mL)，薬物の体内動態に IL-23 が影響する可能性は低く，実際のところそのような所見は見られなかった。

2.6.4.3.4　サルを用いた反復投与薬物動態試験

サルを用いた 3 ヵ月 (SN 07184) 及び 9 ヵ月 (SN 07329) チルドラキズマブの反復投与試験で毒性及びトキシコキネティクスを評価した (2.6.7.1 項)。全体として，チルドラキズマブの全身曝露量に性差は認められず，投与量の増加及び反復投与により曝露量は増加した。全用量群を通して，チルドラキズマブは $t_{1/2}$18.9 日で血清中より消失し，SC 投与時のバイオアベイラビリティは，7 回投与後 (SN 07184) の $AUC_{(0\text{-}14\ days)}$ に基づき，約 86%と高かった (2.6.7.1 項)。

カニクイザルを用いた 3 及び 9 ヵ月間反復投与試験において，抗チルドラキズマブ抗体の発現率は低く (72 頭中 1 頭)，明らかなチルドラキズマブの消失速度の増加が認められたが，毒性プロファイルには影響がなかった (2.6.7.1 項)。

2.6.4.4　分布

現行の日米欧医薬品規制調和国際会議 (ICH) S6 (R1) のガイダンス「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」に従い，チルドラキズマブでは，通常の放射性標識組織分布 (マスバランス) 試験は実施しなかった。

雌 CD-1 マウスにおけるチルドラキズマブの分布を，蛍光色素 (DyLight-649) で標識したチルドラキズマブを用いて評価した (2.6.5.4 項)。蛍光色素標識チルドラキズマブを静脈内投与したとき，

蛍光色素標識チルドラキズマブの組織対血液比の平均値は，全ての測定時点 (投与後 1 時間，1，4，7 及び 9 日) で 0.5 未満であったことから，チルドラキズマブの臓器取込又は蓄積の証拠は認められなかった。チルドラキズマブの臓器中動態は，概ね非特異的な内因性 IgG 免疫グロブリンと同様であった。

2.6.4.4.1　チルドラキズマブを母ザルに皮下投与したときの胎仔へのチルドラキズマブ胎盤移行性

チルドラキズマブの全身組織分布はサルでは評価しなかった。胚･胎仔発生 (FED) に関する試験で妊娠カニクイザルにチルドラキズマブを反復 SC 投与したところ (2.6.7.1 項)，剖検日 (妊娠 140 日) の胎仔血清試料中でチルドラキズマブの濃度が定量可能であった (2.6.5.5.1 項)。胎仔血清中チルドラキズマブ濃度は，同日の母動物血清中チルドラキズマブ濃度と同程度で，用量に比例した増加傾向が認められ，胎盤を介した胎仔へのチルドラキズマブの移行が示された (表 2.6.4.4-1)。

表 2.6.4.4- 1　妊娠 140 日の母ザルにチルドラキズマブを皮下投与したときの胎仔へのチルドラキズマブ胎盤移行性

Dose[a]	Mean MK-3222 µg/mL ± SE (Dam)	Mean MK-3222 µg/mL ± SE (Fetus)	Ratio ± SE (Fetus/Dam)
10 mg/kg	54.4 ± 4.29	40.4 ± 3.45	0.824 ± 0.132
100 mg/kg[b, c]	462 ± 37.3	245 ± 36.8	0.612 ± 0.0711
300 mg/kg[b]	1209 ± 133	965 ± 179	0.770 ± 0.0874

SE=Standard Error.
a: animals were dosed once every 14 days from Gestation Days 20-118, Cesarean section was performed on Gestation Day 140. N = 12 per group unless otherwise noted.
b: One dam was removed from the study due to fetal loss from each of 100 and 300 mg/kg groups.
c: The serum concentration from one dam could not be determined for technical reasons, hence the number of dams in the mean was 10, fetus n = 11 and ratio n = 10.

(Sec. 2.6.5.5.1).

同様の所見は出生前及び出生後の発生に関する毒性試験 (2.6.7.1 項) でも認められ，出産後 (PPD)/出生後 (出生日，BD) 7 日目及び 28 日目の出生仔血清中チルドラキズマブ濃度は母動物血清中チルドラキズマブ濃度と同程度であった (出生仔/母動物比：0.963～1.36)。その後の測定時点である PPD/BD 91 及び 180 ± 2 には，血清中チルドラキズマブ濃度の出生仔/母動物比は 2.17～4.9 であった (表 2.6.4.4- 2) (2.6.5.5.2 項)。

表 2.6.4.4- 2　母ザルにチルドラキズマブを皮下投与したときの出生仔へのチルドラキズマブ胎盤移行性

Day[a,b]	Dose[c] (mg/kg/dose)	Infant Serum Concentration[d] (µg/mL)	Adult Female Serum Concentration[d] (µg/mL)	Infant/Adult Female Ratio
7	10	49.3 ± 5.52	51.2 ± 7.88	0.963
	100	466 ± 26.1	468 ± 56.6	0.996
28	10	22.7 ± 2.58	19.7 ± 3.66	1.15
	100	213 ± 18.2	157 ± 22.7	1.36
91	10	2.53 ± 0.456	0.864 ± 0.250	2.93
	100	21.9 ± 2.90	8.32 ± 3.08	2.63
178-182	10	0.0745 ± 0.0164	0.0152 ± 0.00551	4.90
	100	0.598 ± 0.155	0.275 ± 0.150	2.17

[a] MK-3222 concentrations in serum from all control group animals (including adult females on PPD 7, 28, 91, and 180 ± 2, and infants on BD 7, 28, 91 and 180 ± 2) were below the lower limit of quantitation (LLQ=0.00391 µg/mL) of the bioanalytical method.

[b] Birth Day (BD) for infants and Postpartum Day (PPD) for adult females.
[c] Maternal animals were dosed once every two weeks from Gestation Day 50 until parturition.
[d] Mean ± SE
(Sec. 2.6.5.5.2).

カニクイザルを用いた EFD 及び PPND 試験で，抗チルドラキズマブ抗体 (及び/又は中和抗体) が検出され，チルドラキズマブ消失速度の明らかな増加が認められたが，毒性プロファイルに対する影響は認められなかった (2.6.7.1 項)。

2.6.4.5　代謝

チルドラキズマブは，異化作用により通常のタンパク質分解過程を介して分解されて体内から消失する。したがってチトクローム P450 酵素等の典型的な低分子医薬品の代謝経路は，チルドラキズマブのクリアランスに影響を及ぼさないと考えられる。現行の ICH S6 (R1) ガイダンス「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」に従い，通常のチルドラキズマブの代謝試験は実施しなかった。

2.6.4.5.1　チルドラキズマブの血漿中安定性

チルドラキズマブの血漿中安定性及び血漿との相互作用の可能性について，蛍光色素 (Dylight-649) 標識チルドラキズマブを用いて *in vitro* で検討した。蛍光プローブ標識チルドラキズマブは IL-23 に対する結合親和性を保持していたことから，蛍光色素による標識はチルドラキズマブの生物学的活性を阻害しないことが示された。蛍光プローブ標識チルドラキズマブのサイズ排除高速液体クロマトグラフ (SEC-HPLC) 溶出プロファイルにおいて約 158 kDa の単一性の均一なピークが認められ，蛍光色素標識チルドラキズマブはインタクトな単量体 IgG 免疫グロブリンとして存在することが示唆された。SEC-HPLC を用いて検討したところ，蛍光プローブ標識チルドラキズマブはサル又はヒト血漿中において 37°C で 7 日間まで (*in vitro*) 安定であることが示され，高分子量複合体，凝集体又は異化産物の形成は認められなかった (2.6.5.5.3 項)。高分子量複合体は免疫原性の原因の 1 つであることが知られており，血漿中でチルドラキズマブの凝集体が形成されないことはチルドラキズマブの免疫原性が低いことを示している。更に，チルドラキズマブは 7 日後の血漿中でも異化産物が限られていることから，チルドラキズマブの薬理活性は長期間持続すると予測される。

2.6.4.6　排泄

現行の ICH S6 (R1) ガイダンス「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」に準拠し，チルドラキズマブの排泄試験は実施しなかった。マウス，サル及びヒトにおいて遊離 IgG 及び低分子量の非沈降 IgG 複合体は，主として Fc 受容体との相互作用並びに液相エンドサイトーシスを介する非特異的なタンパク質分解により体内から排泄される (Takai, 2002)，(Nash, 2001)，(Rojas, 2005)。遊離チルドラキズマブ及び予測される低分子量の可溶性免疫複合体は，主として上記の経路を介して排泄されると考えられる。

2.6.4.6.1　母ザルにチルドラキズマブを皮下投与したときのチルドラキズマブ乳汁中移行

PPND 毒性試験 (TT#12-9004) において，チルドラキズマブの乳汁中への移行はごくわずかであることが示された。母動物にチルドラキズマブを妊娠日（GD）50 から出産日まで 2 週間毎に SC 投与した結果，平均乳汁中チルドラキズマブ濃度は，PPD 28 の母動物血清中濃度の約 0.161～0.201%，PPD 91 の母動物血清中濃度の 0.0904～0.177%であった (表 2.6.4.6- 1) (2.6.5.5.4 項)。留意すべき点として，10 mg/kg を投与したときの PPD 91 の平均乳汁中チルドラキズマブ濃度は，乳汁中薬物濃度測定の LLOQ (0.00391 µg/mL) 未満であったことがあげられる。

表 2.6.4.6- 1　母ザルにチルドラキズマブを皮下投与したときのチルドラキズマブ乳汁中/血清中濃度比

Day[a]	Dose[b] (mg/kg/dose)	Milk Concentration[c] (µg/mL)	Serum Concentration[c] (µg/mL)	Milk/Serum Ratio
PPD 28	10	0.0396 ± 0.0111	19.7 ± 3.66	0.00201
	100	0.252 ± 0.0397	157 ± 22.7	0.00161
PPD 91	10	0.000781 ± 0.000781	0.864 ± 0.250	0.000904
	100	0.0147 ± 0.00537	8.32 ± 3.08	0.00177

PPD = Postpartum Day.
a: MK-3222 concentrations in serum and milk from all control group animals on PPD 28 and 91 were below the lower limit of quantitation (LLOQ = 0.00391 µg/mL) of the bioanalytical method.
b: Maternal animals were dosed once every two weeks from Gestation Day 50 until parturition.
c: Mean ± SE

(Sec. 2.6.5.5.4)

2.6.4.7　薬物相互作用

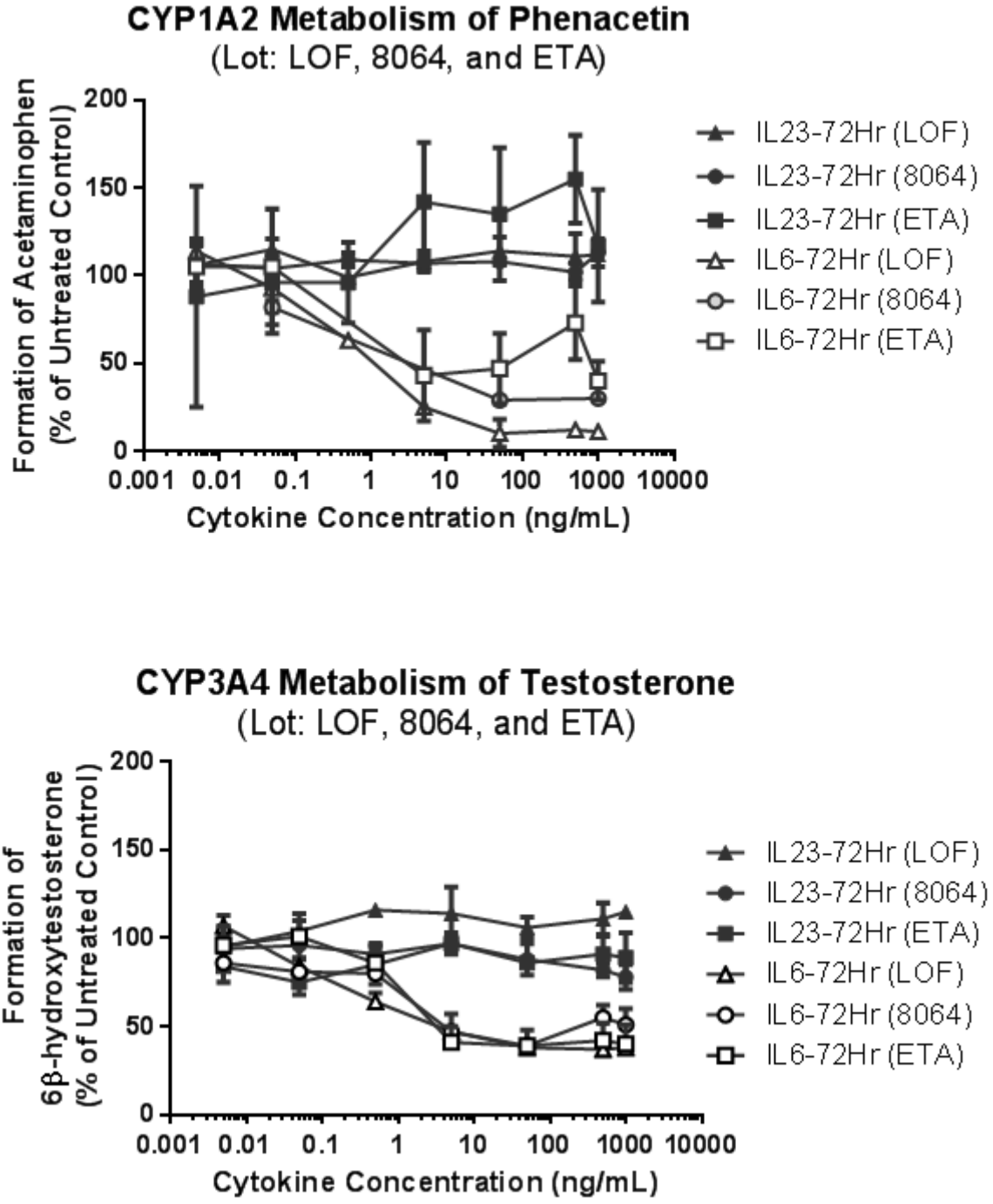
免疫グロブリンは，一般的なタンパク分解プロセスで構成要素のアミノ酸に異化され，腎又は肝臓経路から排出されることはない。したがって，低分子でみられる代謝酵素やトランスポーターとの薬物相互作用はチルドラキズマブでは生じないと考えられる。しかし，ある種の慢性炎症では，サイトカインが P450 酵素と薬物トランスポーターの発現を変化させ，特定の炎症性サイトカインを標的とした一部の mAbs との間で薬物相互作用 (又は薬物-疾患相互作用) が生じることが示されている (Morgan, 2009)，(Petrovic, 2007)，(Schmitt, 2011)。そのため，炎症性サイトカインを標的とする一部の mAbs は，P450 発現の正常化を介した薬物相互作用をもたらすことがある。

2.6.4.7.1　*In vitro* で IL-23 がヒトチトクローム P450 酵素に与える影響

ヒト肝細胞を使用した *in vitro* 試験を行い，チルドラキズマブの標的である IL-23 が P450 酵素の活性又は発現を低下させるかどうかを評価した。この *in vitro* 試験では，炎症性サイトカイン (組換え型ヒト IL-6) を陽性対照に用いた。ヒト肝細胞を IL-6 に曝露すると，C 反応性タンパク質 (CRP)の mRNA の発現がアップレギュレートされたが，組換え型ヒト IL-23 に曝露しても，CRP mRNA の発現はアップレギュレートされなかった (2.6.5.8.1 項)。CRP は，炎症に反応して肝臓で産生されるタンパク質である。

IL-6 の処理は，P450 酵素 (CYP1A2 及び 3A4) の活性及び mRNA 発現を低下させた (2.6.5.8.2 項)。対照的に，IL-23 で処理しても P450 酵素活性 (図 2.6.4.7- 1) 又は mRNA 発現 (図 2.6.4.7- 2) には影響が認められないか，あるいは極めて軽微な影響しか認められなかった。ヒト肝細胞とクッパー細胞の共培養を用いた同様の試験でも，IL-23 は CYP3A4 活性に有意な影響を与えないことが示された (Nguyen, 2015)。これらの結果から，肝臓のクッパー細胞の炎症性サイトカイン産生による，IL-23 の P450 酵素に対する間接作用はないことが示唆された。

図 2.6.4.7- 1　IL-6 又は IL-23 を加えて 72 時間処理したときの CYP1A2 及び CYP3A4 酵素の活性

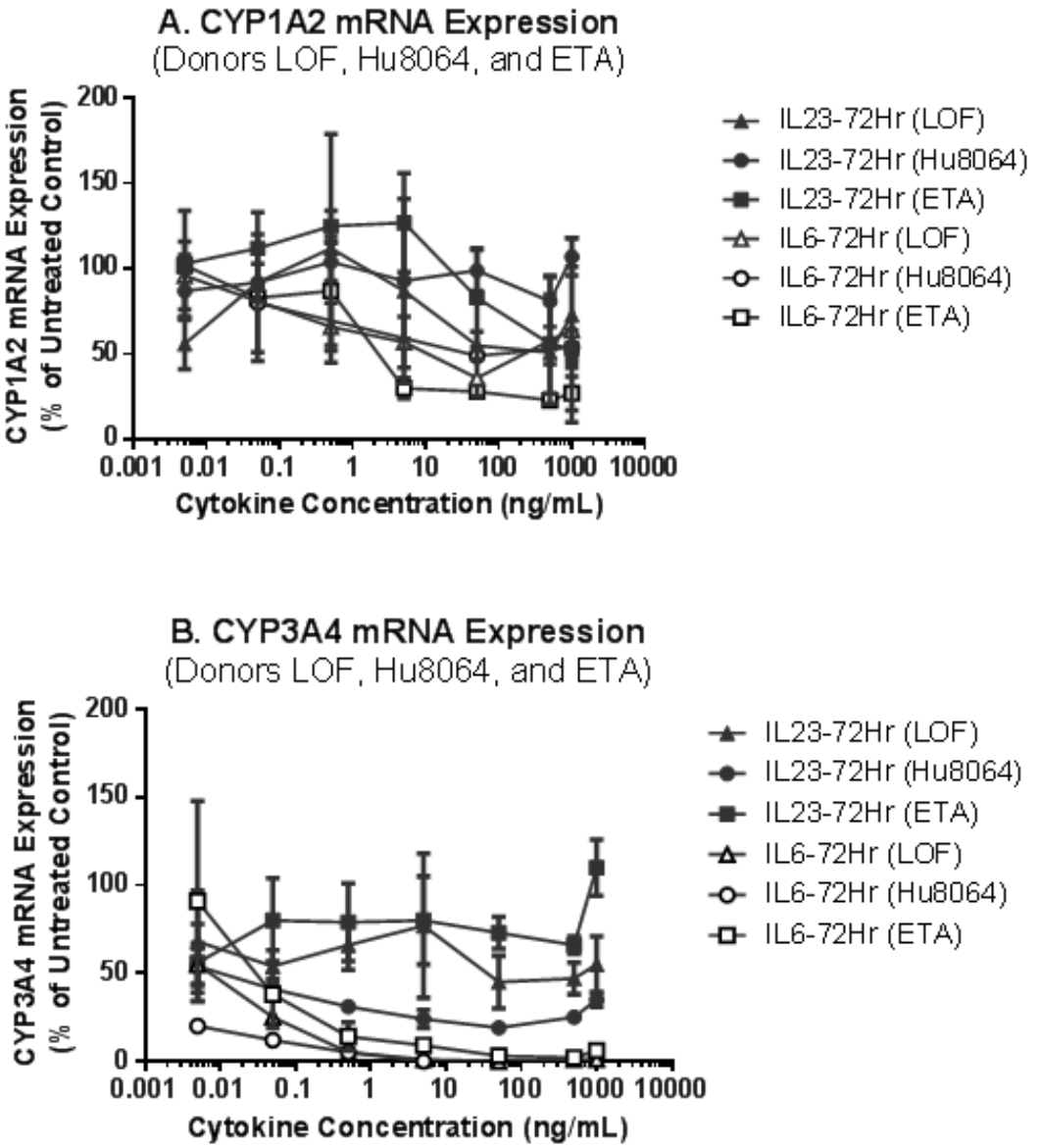


Enzymatic activities of CYP1A2 and CYP3A4 following 72 hr treatment with either IL-6 or IL-23 (0.005-1000 ng/mL). Increased IL-6 concentrations resulted in suppression of CYP1A2 and CYP3A activity in all three donors (LOF, Hu8064, and ETA). Incubation with IL-23 did not suppress these CYP450 activities.

N=3 ± SD.

(Ref. 4.2.2.6: PK002MK3222)

図 2.6.4.7- 2　IL-6 又は IL-23 を加えて 72 時間処理したときの CYP1A2 及び CYP3A4 の遺伝子発現量



Gene expression of CYP1A2 and CYP3A4 following 72 hr treatment with either IL-6 or IL-23 (0.005-1000 ng/mL). Effects of cytokines on CYP1A2 mRNA levels were not clear due to high data variability. IL-6 mediated CYP3A4 mRNA suppression to a greater extent than IL-23. N=3±SD.

(Ref. 4.2.2.6: PK002MK3222)

2.6.4.7.2　ヒト肝細胞培養中の IL-23 受容体の発現欠如

IL-23 の影響が認められなかったのは，初代培養ヒト肝細胞の単独培養及び肝細胞とクッパー細胞の共培養のいずれにおいても RT-PCR の測定で IL-23 受容体 (IL-23R) の mRNA が全く発現していないか，又は検出限界未満であったことから，IL-23 のこれら細胞に対する直接作用が限定的であったことが原因である可能性がある (Nguyen, 2015)。その結果，IL-23 濃度の変化は，肝臓の CYP1A2 及び 3A4 発現量に直接的な影響を及ぼさないと考えられる。別の試験でも，ヒト肝細胞において，IL-23 及び IL-12 はさまざまな P450 酵素 (CYP2B6，CYP2C9，CYP2C19，及び CYP3A4) の発現量または活性に影響しなかった (Dallas, 2013)。IL-23 は肝臓の P450 発現量に影響

を与えないことから，P450 経路を介するチルドラキズマブの薬物相互作用が臨床で起こる可能性はないと考えられる。

中等度から重症の乾癬患者を対象とした薬物相互作用試験 (P009) を実施して，チルドラキズマブが異なる P450 酵素により代謝される薬物の代謝に及ぼす影響を検討した。この試験では，CYP1A2，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A4 による代謝を評価するためのプローブカクテルとして，カフェイン，ワルファリンオメプラゾール，デキストロメトルファン及びミダゾラムを被験者に投与した。全てのプローブ基質の PK パラメータは，チルドラキズマブ投与前後で類似していた (2.7.2.2.2.5 項)。これらのデータは，*in vitro* 肝細胞培養で観察された結果と一致していた。

2.6.4.8　その他の薬物動態試験

その他の PK 試験は実施しなかった。

2.6.4.9　考察及び結論

マウス及びカニクイザルを用いてチルドラキズマブの PK パラメータを評価した。チルドラキズマブはマウス IL-23 と結合しないため，マウス試験から得られた血清中濃度 - 時間プロファイル及び PK パラメータの推定値は，IL-23 結合により起こりえる影響を反映していない。チルドラキズマブはカニクイザルの IL-23 に対する親和性が高いことから，チルドラキズマブの毒性試験にはカニクイザルを用いた。

カニクイザルにチルドラキズマブを単回 IV 投与したとき，チルドラキズマブの体内からの消失は緩徐で，Vdss が小さかったことから，サルでは血管外分布が少ないことが示唆された。チルドラキズマブチを単回 SC 投与したとき，チルドラキズマブの吸収速度は遅く，終末相 $t_{1/2}$ は，IV 投与時と同程度であった (2.6.4.3.2 項)。多くのサルを用いた毒性試験で，チルドラキズマブの PK は用量に比例してほぼ線形性を示した (2.6.4.3.2 項)。チルドラキズマブは血清中から緩徐に消失し，全用量を通じての $t_{1/2}$ は 18.9 日であった。また，SC 投与時のバイオアベイラビリティは高く，約 86%であった (2.6.4.3.4 項)。

非臨床毒性試験では ADA の発現率は低く，チルドラキズマブの消失速度に明らかな増加が認められたが，チルドラキズマブの毒性プロファイルに対する影響は認められなかった。

チルドラキズマブ投与後の血清中総 IL-23 濃度 (遊離及び結合) を用いて，*in vivo* での標的サイトカインとの結合を評価した。サルにチルドラキズマブを単回又は反復投与したところ，血清中の総 IL-23 濃度は増加し，チルドラキズマブが標的サイトカインに結合していることが示唆された (2.6.4.3.3 項)。更に，血清中 IL-23 のベースラインでの濃度が低いことから，標的介在性の薬物動態の可能性も低く，これまで観察もされていない。

マウスを用いた PK 試験では，初期の非臨床試験で用いた液剤と初期の臨床試験で用いた[redacted]の PK が同等であることが示された (2.6.4.3.1 項)。サルを用いた平行群間比較試験デザインの試験では，雌カニクイザルに[redacted]及び最終製品段階のプレフィルドシリンジ製剤 (市販予定剤形：[redacted]，[redacted]，[redacted]を含有し，[redacted]に調整) 4 mg/kg を単回 SC 投与し，薬物動態を比較した。チルドラキズマブ[redacted]及びチルドラキズマブ溶液の PFS 製剤の平均血清中濃度プロファイルは類似し，平均 $AUC_{(0\text{-}INF)}$ (1170 及び 1050 µg day/mL) 及び平均 C_{max} (50.6 及び 45.4 µg day/mL) は同程度であった。[redacted]又は PFS 製剤のいずれにおいても免疫原性は認められなかった (2.6.4.3.2 項)。

EFD 試験と PPND 毒性試験で妊娠サルに反復 SC 投与した後の胎仔又は出生仔における濃度は，母動物における濃度と同様であった (2.6.4.4.1 項)。妊娠サルに GD 50 から出産まで SC 投与したところ，PPD 28 と PPD 91 の母乳中の平均濃度は母動物の血清中における濃度の 0.3%未満と低かった (2.6.4.6.1 項)。

In vitro 試験では，蛍光プローブで標識したチルドラキズマブは，サルとヒトの血漿中で 37°C にて 7 日間まで安定であり，高分子量の複合体，凝集，異化産物の形成は認められなかった (2.6.4.5.1 項)。

In vitro ヒト肝細胞の単独培養，又はヒト肝細胞とクッパー細胞の共培養において IL-23 で処理した結果，P450 酵素に対する影響は極めて軽微又は全く認められなかった。一方，陽性対照 (IL-6) は，P450 酵素の発現量及び活性を大幅に低下させた (2.6.4.7.1 項)。IL-23 の影響が認められなかったのは，ヒト肝細胞の単独培養及び肝細胞とクッパー細胞の共培養のいずれにおいても IL-23 受容体が全く発現していないか，又は発現量が検出限界未満であったことから，IL-23 のこれら細胞に対する直接作用が限定的であったことが原因である可能性がある (2.6.4.7.2 項)。標準のプローブカクテルを用いた乾癬被験者を対象とした臨床試験 P009 では，チルドラキズマブが P450 基質に影響しないことが示された (2.7.2.2.2.5 項)。

2.6.4.10　参考文献

Dallas S, Chattopadhyay S, Sensenhauser C, Batheja A, Singer M, Silva J. Interleukins-12 and -23 do not alter expression or activity of multiple cytochrome P450 enzymes in cryopreserved human hepatocytes. Drug Metab Dispos. 2013 Apr; 41(4): 689-93

MK-3222 - Document No. 50350. Quantitation of Total IL-23 in Cynomolgus Monkey Serum Using An Electrochemiluminescence (ECL) Assay on the MSD Sector Imager 6000 Analyzer, 09-Jan-2008

MK-3222. [redacted] Laboratories Study 8291-973. Development and Qualification of an ECL Method for Quantitation of MK-3222 in Cynomolgus Monkey Milk Breast Milk, 19-Nov-2013

MK-3222. [redacted] Study 8266-922. Validation of an Electrochemiluminescence Immunoassay Method to Quantify MK-3222 in Cynomolgus Monkey Serum Using Meso Scale Discovery's Sector Imager 6000, Addendum1, 11-Dec-2012

MK-3222 - Document No. 54093. Quantitation of SCH 900222 Drug Levels in Cynomolgus Monkey Serum Using an Electrochemiluminescence (ECL) Assay on MSD Analyzer, 08-Jan-2008

MK-3222 - Document No. 50271. Quantitation of Anti-SCH 900222 Antibodies in Cynomolgus Monkey Serum Using an Electrochemiluminescence (ECL) Assay on the MSD Sector Imager 6000 Analyzer, 17-Sep-2007

MK-3222 - Document No. DM27624. Quantitation of Total IL-23 in Cynomolgus Monkey Serum Using an Electrochemiluminescence (ECL) Assay on the MSD Sector Imager 6000 Analyzer, 03-Jul-2008

MK-3222. [redacted] Study 8266-924. Validation of an ECL Method for Detection of Anti-MK-3222 Antibodies in Cynomolgus Monkey Serum, Addendum 1, 29-Jul-2013

MK-3222 - Study No. DM27749. ECL Assay for the Detection of Anti-SCH 900222 Neutralizing Antibodies in Cynomolgus Monkey Serum Using the Meso Scale Discovery Sector Imager 6000 (MSD), 18-Aug-2009

MK-3222 - Study No. DM27870. Validation of a Quantitative Electrochemiluminescence Immunoassay Using the Meso Scale Discovery Sector Imager 6000 (MSD) for the Determination of Anti-SCH 900222 Antibodies in Cynomolgus Monkey Serum, 05-Oct-2009

Morgan ET. Impact of infectious and inflammatory disease on cytochrome P450-mediated drug metabolism and pharmacokinetics. Clin Pharmacol Ther 2009; 85(4): 434-8

Nash JP, Taylor PR, Botto M, Norsworthy PJ, Davies KA, Walport MJ. Immune complex processing in C1q-deficient mice. Clin Exp Immunol 2001; 123: 196-202

Nguyen TV, Ukairo O, Khetani SR, McVay M, Kanchagar C, Seghezzi W, et al. Establishment of a hepatocyte-kupffer cell coculture model for assessment of proinflammatory cytokine effects on metabolizing enzymes and drug transporters. Drug Metab Dispos. 2015 May; 43(5): 774-85

Petrovic V, Teng S, Piquette-Miller M. Regulation of drug transporters during infection and inflammation. Mol Interv. 2007 Apr; 7(2): 99-111

Rojas JR, Taylor RP, Cunningham MR, Rutkoski TJ, Vennarini J, Jang H, et al. Formation, distribution, and elimination of infliximab and anti-infliximab immune complexes in cynomolgus monkeys. J Pharmacol Exp Ther 2005; 313(2): 578-85

Schmitt C, Kuhn B, Zhang X, Kivitz AJ, Grange S. Disease-drug-drug interaction involving tocilizumab and simvastatin in patients with rheumatoid arthritis. Clin Pharmacol Ther 2011; 89(5): 735-40

Takai T. Roles of Fc receptors in autoimmunity. Nature 2002; 2: 580-92

イルミア皮下注 100mg シリンジ

2.6.5　薬物動態試験概要表

サンファーマ株式会社

目次

目次 ……2
2.6.5.1　薬物動態試験一覧表 ……3
2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験 ……5
2.6.5.3　薬物動態試験：単回投与後の吸収 ……6
2.6.5.3.1　マウスにおける単回投与後の吸収 ……6
2.6.5.3.2　サルにおける単回投与後の吸収 ……8
2.6.5.4　薬物動態試験：臓器･組織分布 ……11
2.6.5.5　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 ……13
2.6.5.5.1　胚・胎仔発生に関する試験におけるチルドラキズマブの胎盤通過性 ……13
2.6.5.5.2　チルドラキズマブを母ザルに皮下投与したときの出生仔/母動物血清中チルドラキズマブ濃度比 ……16
2.6.5.5.3　薬物動態試験：血漿中安定性 ……17
2.6.5.5.4　薬物動態試験：チルドラキズマブを母ザルに皮下投与したときの乳汁中/血清中チルドラキズマブ濃度比 ……18
2.6.5.6　薬物動態試験：薬物相互作用 ……19
2.6.5.6.1　IL-6 又は IL-23 で処理したときの C 反応性蛋白 (CRP) mRNA 発現量 ……19
2.6.5.7　薬物動態試験：薬物相互作用 ……20
2.6.5.7.1　ヒト肝細胞を IL-6 又は IL-23 で 72 時間処理したときの CYP1A2 及び CYP3A4 酵素活性 ……20
2.6.5.8　薬物動態試験：薬物相互作用 ……22
2.6.5.8.1　ヒト肝細胞を IL-6 又は IL-23 で 72 時間処理したときの CYP1A2 及び CYP3A4 mRNA 発現量 ……22
2.6.5.8.2　IL-23 処理あり又はなしでのヒト肝細胞における IL-23 受容体 mRNA 発現量 ……24
2.6.5.9　薬物動態試験：その他 ……25

2.6.5.1　薬物動態試験一覧表

Test Article: Tildrakizumab

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number
Absorption after single dose				
Single IV or SC Dose Pharmacokinetics in CD-1 in Female Mice	CD-1 mice	IV and SC	[redacted], [redacted], USA	(pk003mk3222 - MK-3222, 2008, D-54073)
Comparability Assessment of Solution and [redacted] Following a Single Intravenous Dose to Female CD-1 Mice	CD-1 mice	IV	[redacted], [redacted], [redacted]	(pk004mk3222 - MK-3222, 2010, DM27585)
Rising Single Dose SC or IV Pharmacokinetics and Tolerability in Male Cynomolgus Monkeys	Cynomolgus monkeys	IV and SC	[redacted], [redacted]	(pk005mk3222 - MK-3222, 2008, D-54072)
Comparability Assessment of [redacted] and Solution Formulations following a Single Subcutaneous Dose to Female Cynomolgus Monkeys	Cynomolgus monkeys	SC	[redacted], [redacted], USA	(pk001mk3222 - MK-3222, 2016, DM28052)
Distribution				
Tissue Distribution in CD-1 Female Mice	CD-1 mice	IV	[redacted], [redacted], USA	(pk006mk3222 - MK-3222, 2008, D-54349)
Placental Transfer in Monkeys	Cynomolgus monkeys	SC	[redacted], [redacted], USA	SN08292 (Section 2.6.7.1)
Placental Transfer in Monkeys	Cynomolgus monkeys	SC	[redacted]	TT#12-9004 (Section 2.6.7.1)
Metabolism				
Stability in Monkey and Human Plasma	Cynomolgus monkey plasma Human plasma	In vitro	[redacted], [redacted], USA	(pk006mk3222 - MK-3222, 2008)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number
Excretion				
Excretion into Milk	Cynomolgus monkeys	SC	[redacted]	TT#12-9004 (Section 2.6.7.1)
Pharmacokinetic Drug Interactions				
Evaluation of IL-6 and IL-23 Effects on CYP450 Enzymes in Human Primary Hepatocytes	Human hepatocytes	In vitro	[redacted], USA	(pk002mk3222 - MK-3222, 2016)

[redacted]; SC: subcutaneous, IV: intravenous

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験

Analyte: Tildrakizumab				
Matrix	Mouse serum	Monkey serum		
Method	ELISA	ELISA	ECL (MSD Sector Imager 6000 Analyzer)	ECL (MSD Sector Imager 6000 Analyzer)
Facility			[redacted]	[redacted]
Range	10–1280 ng/mL	≥ 10 ng/mL	3.910–250.0 ng/mL	3.910–250.0 ng/mL
Precision			%CV for repeatability and the intermediate precision are ≤ 30%	RE within ±20% (+25% for LLOQ and ULOQ)
Accuracy			80% or more of the %recovery for each QC concentration are within ±30%	CV ≤ 20% (≤25% for LLOQ and ULOQ)
Linearity			r ≥ 0.990 Slope: 0.8–1.2	Dilution Linearity: Accuracy for each dilution within the assay range is within ±20% of the nominal concentration Precision of the final concentrations within the assay range across all dilutions for each DQC does not exceed 20%.
Specificity /Matrix Selectivity			Specific for tildrakizumab	80% or more of the samples for each QC concentration recover within ±25% of the nominal concentration.
Freeze and Thaw Stability			Stable for up to 5 F/T cycles	Stable for up to 5 F/T cycles
Short-term Stability			Stable for up to 7 days at room temperature, 4°C, -20°C and -80°C.	Stable for up to 24 hours at 15–30°C. Stable for up to 24 hours at 2–8°C.
Long-term Stability			Stable for up to 12 months at -20°C and -80°C.	–
Validation Study	BLI-029.01	BLI-051.01	D-54093	8266-922
Studies to which the method was applied	D-54073 DM27585	D-54072	SN 07184, SN 07329, SN 08292, PK001	TT#12-9004

2.6.5.3　薬物動態試験：単回投与後の吸収

2.6.5.3.1　マウスにおける単回投与後の吸収

Test Article: Tildrakizumab

Species/Strain	Mouse/CD-1	
Study Number	(pk003mk3222 - MK-3222, 2008, D-54073)	
Number of animals/Gender	IV: 90 and SC: 84 (6 per time point)/female	
Test article/Formulation	Humanized x IL-23_P19_H mAb (LDP783-737.13B8) IgG, Lot No.: 36ABU Vehicle: [redacted], [redacted], [redacted], [redacted]	
Dose (mg/kg)	4 mg/kg	
Sample (matrix)	serum	
Analyte	MK-3222 (Tildrakizumab)	
Assay	ELISA	
Method of administration	IV (bolus)	SC
PK parameters:		
C0 (µg/mL)	93.1	NA
Cmax (µg/mL)	NA	33.9
Tmax (day)	NA	0.667
AUC (0-tf days) (µg day/mL)	534	493
AUC (0-INF) (µg day/mL)	653	572
t½ (days)	11.2	9.38
CL (mL/day/kg)	6.13	NA
Vdss (mL/kg)	100	NA
Bioavailability (%)	NA	87.6%

Additional Information:
Note: Anti-drug antibody was not measured.
C0=approximate extrapolated value of concentration at t=0; $AUC_{(0\text{-tf days})}$=area under the concentration-time curve from time 0 to the time of final quantifiable sample.
$AUC_{(0\text{-INF})}$=area under the concentration-time curve from time 0 to infinity.
NA=not applicable; MK-3222=tildrakizumab=SCH 900222; ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay, IV=intravenous; SC=subcutaneous; [redacted]=[redacted].

Test Article: Tildrakizumab

Species/Strain	Mouse/CD-1	
Study Number	(pk004mk3222 - MK-3222, 2010, DM27585)	
Number of animals/Gender	Total 125: Solution formulation n=60; [redacted] n=60; Predose n=5; (5 per time point)/female	
Method of administration	IV	
Dose (mg/kg)	25 mg/kg	
Sample (matrix)	Serum	
Analyte	MK-3222 (Tildrakizumab)	
Assay	ELISA	
Test Article/Formulation	Solution Formulation: (Batch No. 07U-900222P-07042) [redacted]	[redacted]: (Batch No. 66282-70) After [redacted], formulation was designed to contain [redacted]
PK parameters[a]:		
C0 (µg/mL)	631	525
AUC (0-28 days)(µg day/mL)	3565	4191
ADA status	No samples reported positive for ADA	No samples reported positive for ADA

Additional Information:

[a] % extrapolation of AUC exceeds 25%, hence $AUC_{(0-INF)}$, $t_{½}$, CL and Vdss parameters may not be reliable and were not reported.

C0=approximate extrapolated value of concentration at t=0; MK-3222=tildrakizumab=SCH 900222; ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay; ADA=antidrug antibody; IV=intravenous; SC=subcutaneous; [redacted] = [redacted].

2.6.5.3.2　サルにおける単回投与後の吸収

Test Article: Tildrakizumab

Species/Strain	Monkey/Cynomolgus			
Study Number	(pk005mk3222 - MK-3222, 2008, D-54072)			
Number of animals/Gender	15 total: 3 per group/male			
Vehicle/Formulation	Humanized x IL-23_P19_H mAb (LPD783-737.13B8) IgG1; Day 0 dosing: [redacted] Lot No. 36ABU ([redacted] Lot No. 63701-027) in [redacted], [redacted], [redacted], [redacted], [redacted] Lot No. 49ABU			
Sample	Serum			
Analyte	MK-3222 (Tildrakizumab)			
Assay	ELISA			
Dose (mg/kg):	0.4	4	40[a]	40[b]
Method of administration: IV and SC	SC	SC	SC	IV (bolus)
PK parameters:	Mean (SD)			Mean
N included in mean	3	3	1	2
Cmax (µg/mL)	5.13 (0.668)	45.5 (7.11)	439	NA
C0 (µg/mL)	NA	NA	NA	1470
Tmax (day)	4.67 (2.08)	3.33 (0.577)	3.00	NA
AUC (0-tf) (µg day/mL)	139 (24.6)	1150 (50.6)	6500	15100
AUC (0-INF) (µg day/mL)	148 (26.3)	1200 (50.4)	6520	16200
$t_{½}$ (days)	21.3 (0.049)	18.9 (1.74)	10.0	22.8
CL (mL/day/kg)	NA	NA	NA	2.66
Vdss (mL/kg)	NA	NA	NA	62.2
Bioavailability[c] (%)	91.5 (16.3)	74.3 (3.12)	40.4	NA
Antidrug Antibody Positive (n/N in dose group)	0/3	1/3; positive animal was not excluded from mean PK	2/3; positive animals were excluded from mean PK	1/3; positive animal was excluded from mean PK

Test Article: Tildrakizumab

Individual parameters of excluded animals[d]			
	ADA positive animal	ADA positive animal	ADA positive animal
Dose (mg/kg)/Dose route	40/SC	40/SC	40/IV
Animal No.	4001	4002	5001
Cmax (μg/mL)	475	512	NA
C0 (μg/mL)	NA	NA	1750
Tmax (day)	3.00	1.00	NA
AUC (0-tf) (μg day/mL)	7560	8250	9960
AUC (0-INF) (μg day/mL)	7770	8480	10600
t 1/2 (days)	5.71	7.11	4.61
CL (mL/day/kg)	NA	NA	3.76
Vdss (mL/kg)	NA	NA	31.2
	Days ≥42 excluded from individual analysis[e]	Days ≥49 excluded from individual analysis[f]	Days ≥28 excluded from individual analysis[g]

Additional Information:
[a] Data from only one animal that was not ADA positive up to Day 85 post-dose. The two other animals were ADA-positive on Days ≥42 and 49 post-dose, respectively. Group mean and SD were not calculated.
[b] Group average was based on two animals which were not ADA positive up to Day 85 post-dose. The other animal was ADA positive starting on Day 28. SD was not calculated because n=2.
[c] Calculated based on $AUC_{(0\text{-}INF)}$.
[d] Includes PK parameters in ADA positive animals that were not included in the calculation of the reported mean parameters.
[e] Every time point from Day 42 thru Day 85 was positive for ADA, hence these time points were not used to calculate the PK parameters for this animal.
[f] Every time point from Day 49 thru Day 85 was positive for ADA, hence these time points were not used to calculate the PK parameters for this animal.
[g] Every time point from Day 28 thru Day 85 was positive for ADA, hence these time points were not used to calculate the PK parameters for this animal.
Note: Increases in serum total IL-23 were observed as early as Day 1 and remained elevated from Day 7 to Day 56 for all dose groups, suggesting successful binding of MK-3222 with its target cytokine.
C0=approximate extrapolated value of concentration at t=0; $AUC_{(0\text{-}tf\ days)}$=area under the concentration-time curve from time 0 to the time of final quantifiable sample. $AUC_{(0\text{-}INF)}$=area under the concentration-time curve from time 0 to infinity; $t_{½}$=half-life; CL= total body clearance; Vdss=volume of distribution, steady state; NA=not applicable; [redacted]=[redacted], [redacted]=[redacted], [redacted], IV=intravenous; SC=subcutaneous; SD=standard deviation; [redacted]=[redacted].

Test Article: Tildrakizumab

Species/Strain	Monkey/Cynomolgus	
Study number	(pk001mk3222 - MK-3222, 2016, DM28052)	
Number of animals/Gender	12 total; 6 per dose group/Female	
Method of administration	SC	
Dose (mg/kg)	4	
Sample (matrix)	Serum	
Analyte	MK-3222(Tildrakizumab)	
Assay	Electrochemiluminescence method, validated	
Test article/Formulation	[redacted]: (batch # W-H02420) [redacted] and [redacted]	Solution Formulation in PFS: (64668-117-[redacted], Formulated Drug Substance Batch # 10U-900222P-10051) [redacted]
PK parameters	arithmetic mean (%CV)	arithmetic mean (%CV)
Cmax (μg/mL)	50.6 (21)	45.4 (5)
Tmax (days)	2.38 (66)	3.67 (51)
AUC (0-84 days) (μg·day/mL)	1120 (16)	1030 (18)
AUC (0-INF) (μg·day/mL)	1170 (16)	1050 (20)
t½ (day)	18.4 (20)	13.8 (25)

Additional Information:
Note: No samples tested positive in the antidrug antibody assay. No animals were excluded from the PK analysis.
SC=subcutaneous; CV=coefficient of variation; [redacted]=[redacted]; PFS=prefilled syringe; $AUC_{(0\text{-}INF)}$=area under the concentration-time curve from time 0 to infinity; $t_{½}$=half-life.

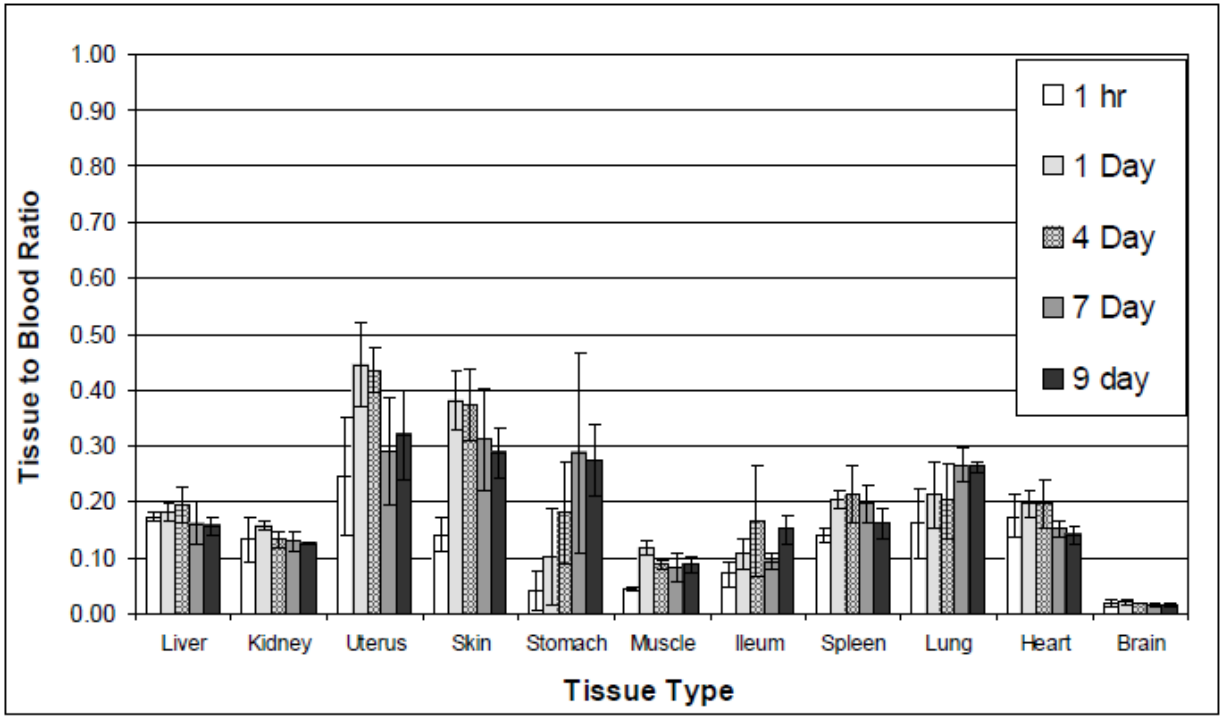
2.6.5.4　　薬物動態試験：臓器･組織分布

Test Article: Tildrakizumab

Type of study: Tissue Distribution of MK-3222 Following IV Administration in Female CD-1 Mice		**Study No.**: (pk006mk3222 - MK-3222, 2008)
Species: CD-1 Mouse	**Number of animals:** 15, 3 mice per time point, female	**Test article:** SCH 900222 (hu x IL-23_P19_H mAb (PI-LDP783-737.13B8) IgG1), DyLight-649 labeled (lot: 29ABT)
Vehicle/Formulation: Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline	**Method of administration:** Intravenous	**Dose (mg/kg):** 5.8 mg/kg
Method: Mice were dosed IV with fluoroprobe labeled tildrakizumab. Tissues (table below) and fluids (whole blood, plasma, urine) were collected at 1 hr, and 1, 4, 7, and 9 days post dose, 3 mice per time point. Aliquots from tissue lysates or biomatrices were transferred to assay plates. Total fluorescence intensity was measured using a microplate multimode reader equipped with a fluorescence optical kit filter with excitation/emission wavelengths of 625/660-72 nm, respectively. A set of corresponding blank tissue lysates was used for background correction.		

Sampling Time:	1 hr	1 day	4 days	7 days	9 days
Tissue	Ratio (Tissue/Blood)[a]	Ratio (Tissue/Blood)[a]	Ratio (Tissue/Blood)[a]	Ratio (Tissue/Blood)[a]	Ratio (Tissue/Blood)[a]
Liver	0.1 to 0.2	0.1 to 0.2	0.1 to 0.2	0.1 to 0.2	0.1 to 0.2
Kidney	0.1 to 0.2	0.1 to 0.2	0.1 to 0.2	0.1 to 0.2	0.1 to 0.2
Uterus	0.2 to 0.3	0.4 to 0.5	0.4 to 0.5	0.2 to 0.3	0.3 to 0.4
Skin	0.1 to 0.2	0.3 to 0.4	0.3 to 0.4	0.3 to 0.4	0.2 to 0.3
Stomach	0 to 0.1	0 to 0.1	0.1 to 0.2	0.2 to 0.3	0.2 to 0.3
Muscle	0 to 0.1	0.1 to 0.2	0 to 0.1	0 to 0.1	0 to 0.1
Ileum	0 to 0.1	0.1 to 0.2	0.1 to 0.2	0 to 0.1	0.1 to 0.2
Spleen	0.1 to 0.2	0.2 to 0.3	0.2 to 0.3	0.1 to 0.2	0.1 to 0.2
Lungs	0.1 to 0.2	0.2 to 0.3	0.1 to 0.2	0.2 to 0.3	0.2 to 0.3
Heart	0.1 to 0.2	0.1 to 0.2	0.1 to 0.2	0.1 to 0.2	0.1 to 0.2
Brain	0 to 0.1	0 to 0.1	0 to 0.1	0 to 0.1	0 to 0.1

Additional Information:
[a] Mean of N=3 mice.
Note: Data in tabular form above for are also represented in graphical form below for the tissue distribution of MK-3222 following IV administration in female CD-1 mice.



Organs and biomatrices were collected and processed for microplate format fluorescent analysis. Values are expressed as tissue-to-blood ratios. The results represent the average of 3 mice per time point. Standard deviation is shown by the error bars.

2.6.5.5　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

2.6.5.5.1　胚・胎仔発生に関する試験におけるチルドラキズマブの胎盤通過性

Test Article: Tildrakizumab

Type of Study: Placental Transfer			**Study No.**: SN 08292 (Section 4.2.3.5.2.1)
Species: Cynomolgus Monkey			
Gestation day / Number of animals: Gestation Day 140/12 animals per dose group			
Formulation: MK-3222 (Tildrakizumab), Solution, Lots 07U-900222P-07021-A, 07U-900222P-07042-A ([redacted], [redacted], [redacted])			
Method of administration: SC			
Dose (mg/kg/14 days): 0, 10, 100, 300			
Analyte: MK-3222 (Tildrakizumab)			
Assay: ECL Assay for Quantitation of MK-3222 Drug Levels in Cynomolgus Monkey Serum using the MSD Sector Imager 6000 Analyzer (METH-002087)			
10 mg/kg			
	Concentration (μg/mL) at Day 140		
Animal No.	Dam	Fetus	Ratio (Fetus/Dam)
25	18.7	40.7	2.18
27	45.7	38.8	0.849
29	72.9	69.6	0.955
31	53.9	51.2	0.950
33	54	35.2	0.652
35	49.9	41.4	0.830
37	60.5	32.2	0.532
39	73.6	34.8	0.473
41	40.9	21.2	0.518
43	61	40.6	0.666
45	58.7	32.2	0.549
47	62.7	46.5	0.742
Mean ± SE	54.4 ± 4.29	40.4 ± 3.45	0.824 ± 0.132

Test Article: Tildrakizumab

100 mg/kg			
Animal No.	Dam	Fetus	Ratio (Fetus/Dam)
49	502	344	0.685
51	527	458	0.869
53	453	348	0.768
55	313	260	0.831
57	445	218	0.490
59	676	291	0.430
61	NA[a]	0.0438	NA
63	408	201	0.493
65	411	203	0.494
67	592	116	0.196
69	NA[b]	NA[b]	NA[b]
71	293	252	0.860
Mean ± SE	462 ± 37.3	245 ± 36.8	0.612 ± 0.0711

Test Article: Tildrakizumab

300 mg/kg			
Animal No.	Dam	Fetus	Ratio (Fetus/Dam)
73	751	943	1.256
75	2130	1910	0.897
77	1290	887	0.688
79	880	634	0.720
81	1610	2180	1.354
83	1700	1330	0.782
85	1070	516	0.482
87	NA[b]	NA[b]	NA[b]
89	1230	711	0.578
91	737	424	0.575
93	978	539	0.551
95	925	544	0.588
Mean ± SE	1209 ± 133	965 ± 179	0.770 ± 0.0874

Additional Information:
[a] Serum concentration was indeterminate.
[b] No measurement because fetus was aborted.
NA=not applicable; SE=standard error; No.=number; ECL=electrochemiluminescence.

2.6.5.5.2　チルドラキズマブを母ザルに皮下投与したときの出生仔/母動物血清中チルドラキズマブ濃度比

Test Article: Tildrakizumab

Type of study: Placental transfer	**Study No.:** TT#12-9004 (Section 4.2.3.5.3.1)
Species: Cynomolgus monkey	
Postpartum day / Number of animals: 7, 28, 91, 180 ± 2 days /15 pregnant monkeys per dose group	
Formulation: MK-3222 (Tildrakizumab), solution for injection, Batch (Lot) No.: WL00045008	
Method of administration: Subcutaneous Injection	
Dose (mg/kg): 0, 10, and 100	
Analyte: MK-3222 (Tildrakizumab)	
Assay: ECL Assay for MK-3222 (Tildrakizumab) in Cynomolgus Monkey Serum ([redacted] Method ECL-0117-002)	

Day[a,b]	Dose[c] (mg/kg)	Infant Serum Concentration[d] (µg/mL)	Adult Female Serum Concentration[d] (µg/mL)	Infant/Adult Female Ratio
7	10	49.3 ± 5.52	51.2 ± 7.88	0.963
	100	466 ± 26.1	468 ± 56.6	0.996
28	10	22.7 ± 2.58	19.7 ± 3.66	1.15
	100	213 ± 18.2	157 ± 22.7	1.36
91	10	2.53 ± 0.456	0.864 ± 0.250	2.93
	100	21.9 ± 2.90	8.32 ± 3.08	2.63
178-182	10	0.0745 ± 0.0164	0.0152 ± 0.00551	4.90
	100	0.598 ± 0.155	0.275 ± 0.150	2.17

Additional Information;
[a] MK-3222 concentrations in serum from all control group animals (including adult females on PPD 7, 28, 91, and 180 ± 2, and infants on BD 7, 28, 91, and 180 ± 2) were below the lower limit of quantitation (LLOQ=0.00391 µg/mL) of the bioanalytical method.
[b] Birth Day (BD) for infants and Postpartum Day (PPD) for adult females.
[c] Maternal animals were dosed once every two weeks from Gestation Day 50 until parturition.
[d] Mean ± SE (standard error of the mean)

2.6.5.5.3　薬物動態試験：血漿中安定性

Test Article: Tildrakizumab

Study system: In vitro human and monkey plasma	**Study No.**: (pk006mk3222 - MK-3222, 2008)
Target entity, Test system and Method: Fluorophore (DyLight-649) labeled MK-3222(Tildrakizumab), Human and monkey plasma, 37°C, SEC-HPLC (size exclusion-high performance liquid chromatography) Samples were run on a BioSep-SEC-S 3000 Phenomenex column at 1mL/minute elution rate. The effluent was monitored for absorbance at 280 nm and for total fluorescence intensity at excitation/emission of 646/674 nm, respectively. The percentage of peak area was calculated by dividing the area of the main monomeric intact IgG peak by the total fluorescent area of each chromatographic profile.	
Test Article: DyLight-649 labeled MK-3222 (Tildrakizumab); batch #29ABT; Degree of labeling ratio 3.09:1; % total IgG peak area=99.4; ELISA EC50: labeled (230 ng/mL), unlabeled (335 ng/mL).	

Species	Time point	Retention Time (min)	MK-3222 Stability (% Total IgG Peak Area)	MK-3222 Recovery (% of Initial Time Point IgG Peak)
Monkey	0.5 min	8.21	97.7	100
Monkey	1 hr	8.20	97.7	100
Monkey	2 hr	8.20	97.6	99.9
Monkey	4 hr	8.20	97.3	99.6
Monkey	6 hr	8.20	97.3	99.6
Monkey	1 day	8.20	96.6	98.9
Monkey	2 days	8.20	96.4	98.7
Monkey	5 days	8.21	96.0	98.3
Monkey	7 days	8.21	94.4	96.6
Human	0.5 min	8.21	96.0	100
Human	1 hr	8.21	96.0	100
Human	2 hr	8.21	96.0	100
Human	4 hr	8.21	95.5	99.5
Human	6 hr	8.21	95.6	99.6
Human	1 day	8.21	95.1	99.1
Human	2 days	8.21	94.8	98.8
Human	5 days	8.21	95.0	99.0
Human	7 days	8.21	95.1	99.1

2.6.5.5.4　薬物動態試験：チルドラキズマブを母ザルに皮下投与したときの乳汁中/血清中チルドラキズマブ濃度比

Test Article: Tildrakizumab

Type of Study: Excretion into milk	**Study No.**: TT#12-9004 (Section 4.2.3.5.3.1)
Species: Cynomolgus monkey	
Lactating day / Number of animals: 15 pregnant monkeys per dose group	
Formulation: MK-3222 (Tildrakizumab), solution for injection, Batch (Lot) No.: WL00045008	
Method of administration: Subcutaneous injection	
Dose (mg/kg): 0, 10, and 100	
Analyte: MK-3222 (Tildrakizumab)	
Assay: ECL assay for MK-3222 in Cynomolgus Monkey Breast Milk ([redacted]Method ECL-0149-002)	

Day[a]	Dose[b] (mg/kg)	Milk Concentration[c] (µg/mL)	Serum Concentration[c] (µg/mL)	Milk/Serum Ratio
PPD 28	10	0.0396 ± 0.0111	19.7 ± 3.66	0.00201
	100	0.252 ± 0.0397	157 ± 22.7	0.00161
PPD 91	10	0.000781 ± 0.000781	0.864 ± 0.250	0.000904
	100	0.0147 ± 0.00537	8.32 ± 3.08	0.00177

Additional Information;
[a] MK-3222 concentrations in serum and milk from all control group animals on PPD 28 and 91 were below the lower limit of quantitation (LLOQ=0.00391 µg/mL) of the bioanalytical method.
[b] Maternal animals were dosed once every two weeks from Gestation Day 50 until parturition.
[c] Mean ± Standard Error.
LLOQ = lower limit of quantification; ECL = electrochemiluminescence.

2.6.5.6　薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.6.1　IL-6 又は IL-23 で処理したときの C 反応性蛋白 (CRP) mRNA 発現量

Test Article: Human IL-6 and IL-23

Type of study: In vitro study in human hepatocytes to measure the mRNA expression of C-reactive protein (CRP) following treatment with either IL-6 or IL23. CRP is a protein produced by the liver in response to inflammation.	**Study No.**: (pk002mk3222 - MK-3222, 2016)
Method: Primary cryopreserved hepatocytes were thawed and plated in 24-well BIOCOAT plates in maintenance media. Cell cultures were incubated at 37°C, 95% humidity, and 5% CO_2 overnight to allow for recovery prior to initiating cytokine incubation. At the start of the study, culture media was removed and replaced with new maintenance media containing either IL-6 or IL-23 (0.005-1000 ng/mL). Cytokine incubation media was replaced daily. Following 72 hr of cytokine exposure, media was removed and cell cultures were washed with pre-warmed buffer. RNA samples were subsequently processed from the cell cultures and gene expression of CRP was analyzed by TaqMan RT-PCR. Results were calculated according to the ΔΔCt method.	
Tabulated results: Increased concentrations of IL-6 resulted in dose dependent up-regulation of CRP mRNA expression. At the highest IL-6 dose (1000 ng/mL), CRP expression ranged from 2788% to 9817% of untreated controls. In contrast, IL-23 exposure did not produce similar up-regulation of CRP. At the top IL-23 dose (1000 ng/mL), CRP expression ranged from 112% to 137% of untreated controls.	

Cytokine Treatment (ng/mL)	IL-23 Treatment			IL-6 Treatment	
	Donor LOF[a]	Donor Hu8064[a]		Donor LOF[a]	Donor Hu8064[a]
	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD		Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD
0	100	100		100	100
0.005	91 ± 17	85 ±12		85 ± 17	74 ± 8
0.05	105 ± 19	87 ± 2		81 ± 16	64 ± 5
0.5	92 ± 11	83 ± 15		456 ± 257	111 ± 27
5	87 ± 30	70 ± 8		5312 ± 2601	700 ± 134
50	94 ± 21	74 ± 3		9438 ± 5592	1584 ± 290
500	84 ± 18	98 ± 16		6250 ± 841	1801 ± 221
1000	112 ± 29	137 ± 40		9817 ± 3992	2788 ± 294

Additional Information:
[a] Mean ± standard deviation (SD) values of n=3 wells/treatment are listed.

2.6.5.7　薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.7.1　ヒト肝細胞を IL-6 又は IL-23 で 72 時間処理したときの CYP1A2 及び CYP3A4 酵素活性

Test Article: Human IL-6 and IL-23

Type of study: In vitro study in human hepatocytes to measure the enzymatic activity of CYP1A2 and CYP3A4 following 72 hr. treatment with either IL-6 or IL-23.	**Study No.**: (pk002mk3222 - MK-3222, 2016)

Method: Primary cryopreserved hepatocytes were thawed and plated in 24-well BIOCOAT plates in maintenance media. Cell cultures were incubated at 37°C, 95% humidity, and 5% CO_2 overnight to allow for recovery prior to initiating cytokine incubation. At the start of the study, culture media was removed and replaced with new maintenance media containing either IL-6 or IL-23 (0.005 - 1000 ng/mL). Cytokine incubation media was replaced daily. Following 72 hr of cytokine exposure, media was removed and cell cultures were washed with pre-warmed buffer. CYP450 enzymatic activities were assessed by incubating cell cultures with either 100 μM phenacetin (for CYP1A2 activity) or 250 μM testosterone (for CYP3A4 activity) in buffer for 30 min. At the completion of incubation, reactions were quenched and samples were analyzed by LC/MS/MS for metabolite formation (acetamidophenol for CYP1A2 activity and 6ß-hydroxy testosterone for CYP3A4 activity).

Tabulated results: Increased concentrations of IL-6 resulted in an inflammatory response as indicated by a down-regulation of CYP450 activity in all studied donors. At the highest IL-6 dose (1000 ng/mL), activities of CYP1A2 and CYP3A4 were reduced to ranges between 11% to 40% and 38% to 51% of untreated controls, respectively. In contrast, IL-23 exposure did not produce similar down-regulation of CYP450 enzymes.

CYP1A2 Enzyme Activity

	IL-23 Treatment			IL-6 Treatment		
Cytokine Treatment (ng/mL)	Donor LOF[a]	Donor HU8064[a]	Donor ETA[a]	Donor LOF[a]	Donor HU8064[a]	Donor ETA[a]
	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD
0	100	100	100	100	100	100
0.005	106 ± 15	107 ± 11	88 ± 63	114 ± 6	b	105 ± 12
0.05	115 ± 6	104 ± 3	96 ± 17	93 ± 7	82 ± 15	105 ± 33
0.5	99 ± 3	109 ± 4	96 ± 23	63 ± 3	b	c
5	108 ± 6	107 ± 4	142 ± 34	25 ± 2	b	43 ± 26
50	114 ±8	108 ± 2	135 ± 38	10 ± 8	29 ± 2	47 ± 20
500	111 ±13	102 ± 5	155 ± 25	12 ± 2	b	73 ± 21
1000	112 ± 2	113 ± 8	117 ± 32	11 ± 1	30 ± 1	40 ± 11

Test Article: Human IL-6 and IL-23

CYP3A4 Enzyme Activity						
	IL-23 Treatment			IL-6 Treatment		
Cytokine Treatment (ng/mL)	Donor LOF[a]	Donor HU8064[a]	Donor ETA[a]	Donor LOF[a]	Donor HU8064[a]	Donor ETA[a]
	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD
0	100	100	100	100	100	100
0.005	95 ± 11	94 ± 7	84 ± 9	107 ± 6	86 ± 11	96 ± 11
0.05	104 ± 6	96 ± 8	75 ± 7	84 ± 5	81 ± 4	101 ± 13
0.5	116 ± 1	91 ± 4	85 ± 11	64 ± 5	80 ±6	86 ± 11
5	114 ± 15	97 ± 6	97 ± 4	47 ±3	47 ± 10	41 ± 9
50	106 ± 6	88 ± 9	86 ± 3	38 ± 4	39 ± 9	39 ± 4
500	111 ± 9	82 ± 4	91 ± 10	37 ± 4	55 ± 7	42 ± 10
1000	115 ± 3	78 ± 7	89 ± 14	38 ± 3	51 ± 9	40 ± 11

Additional Information:
[a] Each treatment represents the average of n=3 wells.
[b] Data not obtained due to experimental set up error.
[c] The result (371 ± 242) was considered an outlier and not included in summary graph.
SD=standard deviation (n=3).

2.6.5.8　薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.8.1　ヒト肝細胞を IL-6 又は IL-23 で 72 時間処理したときの CYP1A2 及び CYP3A4 mRNA 発現量

Test Article: Human IL-6 and IL-23

Type of study: In vitro study in human hepatocytes to measure the mRNA expression of CYP1A2 and CYP3A4 following 72 hr. treatment with either IL-6 or IL-23.	**Study No**.: (pk002mk3222 - MK-3222, 2016)
Method: Primary cryopreserved hepatocytes were thawed and plated in 24-well BIOCOAT plates in maintenance media. Cell cultures were incubated at 37°C, 95% humidity, and 5% CO_2 overnight to allow for recovery prior to initiating cytokine incubation. At the start of the study, culture media was removed and replaced with new maintenance media containing either IL-6 or IL-23 (0.005-1000 ng/mL). Cytokine incubation media was replaced daily. Following 72 hr of cytokine exposure, media was removed and cell cultures were washed with pre-warmed buffer. RNA samples were subsequently processed from the same cell cultures and gene expression analyzed by TaqMan RT-PCR. Results were calculated according to the ΔΔCt method.	
Results: In contrast to enzyme activity, the effects of cytokines on CYP1A2 mRNA levels were not as clear due to the high variability associated the data. However, IL-6 exposure showed clear indication of CYP3A4 mRNA suppression, whereas IL-23 results were highly variable between donors.	

CYP1A2 mRNA Expression

	IL-23 Treatment			IL-6 Treatment		
Cytokine Treatment (ng/mL)	Donor LOF[a]	Donor HU8064[a]	Donor ETA[a]	Donor LOF[a]	Donor HU8064[a]	Donor ETA[a]
	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD
0	100	100	100	100	100	100
0.005	56 ± 15	87 ± 15	103 ± 5	96 ± 20	b	102 ± 32
0.05	92 ± 41	92 ±11	112 ± 3	c	80 ± 1	83 ± 37
0.5	112 ± 67	104 ± 11	125 ± 9	66 ± 14	b	87 ± 32
5	87 ± 54	93 ±34	127 ± 29	57 ± 15	b	30 ± 6
50	55 ± 8	99 ± 12	83 ± 29	36 ± 11	49 ± 3	28 ± 4
500	51 ± 7	81 ± 15	56 ± 29	58 ± 37	b	23 ± 4
1000	73 ± 28	107 ±11	53 ± 11	64 ± 54	54 ± 7	27 ± 10

Test Article: Human IL-6 and IL-23

CYP3A4 mRNA Expression						
	IL-23 Treatment			IL-6 Treatment		
Cytokine Treatment (ng/mL)	Donor LOF[a]	Donor HU8064[a]	Donor ETA[a]	Donor LOF[a]	Donor HU8064[a]	Donor ETA[a]
	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD	Mean % of Untreated Control ± SD
0	100	100	100	100	100	100
0.005	68 ± 29	54 ± 10	56 ± 22	55 ± 12	20 ± 3	91 ± 57
0.05	54 ± 9	41 ± 6	80 ± 24	25 ± 2	12 ± 3	38 ± 19
0.5	66 ± 14	31 ± 3	79 ± 22	5 ± 0	5 ± 4	14 ±8
5	77 ± 41	24 ± 5	80 ± 25	1 ± 0	0 ± 0	9 ±2
50	45 ± 15	19 ± 3	73 ± 9	0 ± 0	d	3 ±0
500	47 ± 9	25 ± 3	66 ± 5	1 ± 0	d	2 ±1
1000	55 ± 16	35 ± 4	110 ± 16	1 ± 0	d	6 ±3

Additional Information:
[a] Each treatment represents the average of n=3 wells.
[b] Data not obtained due to experimental set up error.
[c] Result (279 ± 112*)* was considered an outlier and not included in summary graph.
[d] CYP3A4 mRNA was undetectable.
SD=standard deviation (n=3).

2.6.5.8.2　IL-23 処理あり又はなしでのヒト肝細胞における IL-23 受容体 mRNA 発現量

Test Article: IL-23

Type of study: In vitro study in human hepatocytes to measure the mRNA expression of IL-23 receptor (IL-23R) with and without IL-23	**Study No**.: (pk002mk3222 - MK-3222, 2016)

Method: Primary cryopreserved hepatocytes were thawed and plated in 24-well BIOCOAT plates in maintenance media. Cell cultures were incubated at 37°C, 95% humidity, and 5% CO_2 overnight to allow for recovery prior to initiating cytokine incubation. At the start of the study, culture media was removed and replaced with new maintenance media containing IL-23 (0.05-500 ng/mL). Cytokine incubation media was replaced daily. Following 72 hr of cytokine exposure, media was removed and cell cultures were washed with pre-warmed buffer. RNA samples were subsequently processed from the cell cultures and gene expression of IL-23R was analyzed by TaqMan RT-PCR. Quantitation of IL-23R mRNA in all samples was normalized to 18S ribosomal RNA (ΔCt=CtIL23R-Ct18S) and the difference in expression in hepatocytes relative to the untreated positive control Baf/3 cells was calculated (ΔΔCt=ΔCtBaf/3-ΔCthep).

Results: RT-PCR analysis of IL-23R mRNA showed minimal (≤0.0002%) or no expression relative to positive control Baf/3 cells (raw IL-23R Ct values ranged between 14 to 16 for $3x10^5$ Baf/3 cells and 33 to 37 or "undetermined" for hepatocytes at a similar cell density). The negligible or lack of IL-23R expression on human primary hepatocytes may explain the minimal effects elicited by IL-23 treatment with regard to an inflammatory response (CRP) and altered CYP450 enzyme activities.

Cell Types	IL-23 Treatment	Mean % of Positive Control		
	Cytokine Treatment (ng/mL)	Donor LOF	Donor Hu8064	Donor ETA
Baf/3 cells (Positive Control)	Untreated	100	100	100
Human Hepatocytes	Untreated	a	b	a
Human Hepatocytes	0.05	a	b	a
Human Hepatocytes	5	a	b	a
Human Hepatocytes	500	a	b	a

[a] IL-23R mRNA was undetectable in Donors LOF and ETA
[b] IL-23R mRNA was minimally detected (≤0.0002% of positive control Baf/3 cells) in Donor Hu8064; n = 3

2.6.5.9　薬物動態試験：その他

該当なし