



サノフィ株式会社

サークリサ点滴静注 100mg／同点滴静注 500mg

CTD 第二部 – 非臨床概要

2.6.4 薬物動態試験の概要文

Total number of pages: 45

目 次

2.6.4 薬物動態試験の概要文	1
目 次	2
表 目 次	4
図 目 次	5
略号と用語の定義	6
1 まとめ	8
2 分析法	9
2.1 イサツキシマブ	9
2.2 免疫原性	10
2.3 標的分子（CD38）の発現量	11
3 薬物動態パラメータ	12
4 吸収	15
4.1 単回投与試験	15
4.2 反復投与試験	17
4.2.1 マウス	17
4.2.2 サル	17
5 分布	19
6 代謝	20
7 排泄	21

8	薬物動態学的薬物相互作用	22
9	その他の薬物動態試験	23
9.1	MABEL 及びヒト初回投与試験の開始用量の算出	23
9.1.1	In vitro MABEL 算出	23
9.1.2	In vivo MABEL 算出	24
9.1.3	MABEL 及び標的分子（CD38）占有率	24
9.1.4	ヒト初回投与試験の開始用量の推定及び用量設定根拠	25
9.2	母集団薬物動態／薬力学（PK/PD）関係	27
9.3	免疫原性.....	29
10	考察及び結論	30
11	参考文献	32
12	付録 1	33
12.1	MABEL の算出	33
12.1.1	In vitro MABEL 算出	33
12.1.2	In vivo MABEL 算出	38
12.1.3	MABEL 及び標的分子の占有率	41
12.2	付録 1 の参考文献	45

表 目 次

表 1 - 血漿中イサツキシマブ濃度の測定に使用した分析法	10
表 2 - 動物にイサツキシマブを単回及び反復静脈内投与したときの血漿中濃度から算出した薬物動態パラメータの平均値-コンパートメントモデル解析	13
表 3 - 動物にイサツキシマブを単回静脈内投与したときの血漿中濃度から算出した薬物動態パラメータの平均値-ノンコンパートメント解析	14
表 4 - 非担がん SCID 雌マウスにおける PK パラメータの製剤間比の推定値及び 90%信頼区間 (n = 5)	16
表 5 - 担がん SCID 雌マウスにおける異なる保存条件及び製剤間での PK パラメータの比の推定値及び 90%信頼区間 (n = 5)	17
表 6 - ADCC、CDC 及びアポトーシス促進活性に関するイサツキシマブの EC ₂₀ 値	23
表 7 - 種々のヒト腫瘍細胞株及び正常ヒト血液細胞における標的分子 (CD38) の発現量及びイサツキシマブによる標的分子の占有に対する EC ₂₀ 、EC ₅₀ 及び EC ₉₀	25
表 8 - MABEL データの概要.....	26
表 9 - 3 種類の母集団 PK モデルにより得られた母集団 PK パラメータ推定値 (CV%)	28
表 10 - PK/PD モデル : 腫瘍増殖モデルパラメータ推定値	29
表 I - Ramos 細胞に対する ADCC 活性の EC ₅₀ 及び EC ₂₀ 値.....	34
表 II - DND-41 腫瘍細胞株に対する CDC 活性の EC ₅₀ 及び EC ₂₀ 値.....	36
表 III - アポトーシス促進活性の EC ₅₀ 及び EC ₂₀ 値.....	37
表 IV - 半減期及び投与間隔から予測した典型的な体重 70 kg の患者での用量	41
表 V - 標的分子 (CD38) の総濃度の算出.....	42
表 VI - ヒト腫瘍細胞株における標的分子 (CD38) の発現量及びイサツキシマブによる標的分子の占有に対する EC ₂₀ 、EC ₅₀ 及び EC ₉₀	43
表 VII - 正常ヒト単核細胞における標的分子 (CD38) の発現量及びイサツキシマブによる標的分子の占有に対する EC ₂₀ 、EC ₅₀ 及び EC ₉₀	43

目 次

図 1 - 非担がん SCID 雌マウスにイサツキシマブ 40 mg/kg を単回静脈内投与したときの血漿中濃度－時間推移（平均値 ± 標準偏差、n = 5）	15
図 2 - 担がん SCID 雌マウスに異なる保存条件並びに製剤（製法 I* 及び 申請製法*）のイサツキシマブ 40 mg/kg を単回静脈内投与したときの血漿中濃度－時間推移（平均 ± 標準偏差、n = 5）	16
図 3 - イサツキシマブの最高血漿中濃度の用量比例性（投与 1 週目及び 3 週目、n=3）	18
図 4 - イサツキシマブの血漿中濃度－時間曲線下面積の用量比例性（投与 1 週目 [AUC _{0-7d}] 及び 3 週目 [AUC _{0-3d}]、n=3）	18
図 5 - イサツキシマブによる理論的な標的分子の占有率とイサツキシマブの in vitro 及び in vivo 活性並びに血漿中濃度の関係	26
図 I - ADCC 活性の用量－反応曲線	35
図 II - CDC 活性の用量－反応曲線の典型例	36
図 III - アポトーシス促進活性の用量－反応曲線	37
図 IV - PK 試験における腫瘍体積中央値	39
図 V - イサツキシマブを反復静脈内ボラス投与したときに予測される血漿中濃度及び腫瘍体積	40
図 VI - 正常 B 細胞、T 細胞及び単核細胞上の標的分子占有率の理論値及び測定値の比較	44

略号と用語の定義

ADA:	anti-drug antibody / 抗薬物抗体、抗イサツキシマブ抗体
ADCC:	antibody-dependent cellular cytotoxicity / 抗体依存性細胞傷害
ADCP:	antibody-dependent cellular phagocytosis / 抗体依存性細胞貪食
AUC:	area under the plasma concentration-time curve (extrapolated to infinity) / (無限大時間まで外挿した) 血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC _{0-3d} :	area under the plasma concentration-time curve from 0 to 3 days / 週 1 回投与したときの初回投与から投与 3 日目までの血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC _{0-7d} :	area under the plasma concentration-time curve from 0 to 7 days / 週 1 回投与したときの 3 回目投与から投与 7 日目までの血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC _{0-49d} :	area under the plasma concentration-time curve from 0 to 49 days / 時間 0 から投与後 49 日までの血漿中濃度-時間曲線下面積
C ₀ :	extrapolated concentration at time 0 after intravenous bolus administration / 静脈内ボラス投与したときに外挿した時間 0 における血漿中濃度
██████:	██████、██████、██████ / ██████、██████、██████
██████:	██████、██████、██████ / ██████、██████、██████
CCP:	specificity cut point / 確認試験でのカットポイント
CD38 RD:	CD38 receptor density / 標的分子 (CD38) 発現量
CD38 RO:	CD38 receptor occupancy / イサツキシマブによる標的分子 (CD38) 占有率
CDC:	complement-dependent cytotoxicity / 補体依存性細胞傷害
CL:	total body clearance / 全身クリアランス
C _{ss min} :	trough concentration at steady-state / 定常状態におけるトラフ濃度
CT:	threshold isatuximab concentration for SU-DHL-8 tumor eradication / SU-DHL-8 腫瘍消失に必要なイサツキシマブの閾値血漿中濃度
CV:	coefficient of variation / 変動係数
EC ₂₀ :	effective concentration that produces 20% of the maximum effective response / 最大効果の 20% を誘導するのに必要な有効濃度
EC ₅₀ :	effective concentration that produces 50% of the maximum effective response / 最大効果の 50% を誘導するのに必要な有効濃度
EC ₉₀ :	effective concentration that produces 90% of the maximum effective response / 最大効果の 90% を誘導するのに必要な有効濃度

2.6.4 薬物動態試験の概要文

SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

ECL:	electrochemiluminescence／電気化学発光
EDTA・3K:	tripotassium ethylenediaminetetraacetic acid／エチレンジアミン四酢酸三カリウム塩
ELISA:	enzyme-linked immunosorbent assay／酵素結合免疫吸着測定法
FIH:	first-in-human／ヒト初回投与
GLP:	good laboratory practice／医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
IgG:	immunoglobulin G／免疫グロブリン G
IgG1:	immunoglobulin G1／免疫グロブリン G1
K _D :	dissociation constant／解離定数
LLOQ:	lower limit of quantitation／定量下限
mAb:	monoclonal antibody／モノクローナル抗体
MABEL:	minimal anticipated biological effect level／推定最小薬理作用量
MM:	multiple myeloma／多発性骨髄腫
MSD:	Meso Scale Discovery
NCA:	noncomportemental analysis／ノンコンパートメント解析
NHL:	non-Hodgkin's lymphoma／非ホジキンリンパ腫
NK:	natural killer／ナチュラルキラー
PandA:	polyethylene glycol precipitation and acidification／ポリエチレングリコール沈殿及び酸性化
PBS:	phosphate buffered saline／リン酸緩衝生理食塩水
PD:	pharmacodynamics／薬力学
PEG:	polyethylene glycol／ポリエチレングリコール
PK:	pharmacokinetics／薬物動態
SCID:	severe combined immunodeficient／重症複合型免疫不全症
SCP:	screening cut point／スクリーニング試験でのカットポイント
T-ALL:	T-acute lymphoblastic leukemia／T細胞性急性リンパ性白血病
TK:	toxicokinetics／トキシコキネティクス
TMDD:	target-mediated drug disposition／標的分子を介した薬物動態
V ₁ :	central volume／中心コンパートメントの分布容積
V _d :	distribution volume／分布容積

1 まとめ

毒性試験 (カニクイザル) 及び薬理試験 (ヒト腫瘍を異種移植した又は異種移植していない免疫抑制マウス) で使用した動物種及び系統におけるイサツキシマブ (SAR650984) の薬物動態 (PK) を検討した。

イサツキシマブの PK 特性を評価する動物試験は、ヒトで予定されている投与経路である静脈内投与により実施した。投与量及び投与 (注入) 時間は、毒性試験及び薬理試験で使用した範囲から選択した。イサツキシマブはモノクローナル抗体 (mAb) であり、ヒト CD38 以外に特異的に結合する生体内分子がないことから、特別な吸収、分布、代謝及び排泄試験は実施しなかった。

患者を対象としたヒト初回投与 (FIH) 試験の開始用量は、推定最小薬理作用量 (MABEL) 及び *in vitro* でのイサツキシマブによる標的分子 (CD38) の占有率 (CD38 RO) に基づいて選択した。イサツキシマブを評価するために適切で利用可能な毒性試験動物モデル及び骨髄腫動物モデルがないことから、この方法を使用した。MABEL 法で得られた結果の裏付けとなるデータを収集するため、重症複合型免疫不全症 (SCID) マウスを用いた PK 試験及び CD38 感受性腫瘍異種移植モデルである担がん SCID マウス (ヒトリンパ腫由来 SU-DHL-8 細胞を皮下移植して作製) を用いた PK/薬力学 (PD) 試験を実施した。マウスを用いた *in vivo* PK 及び PK/PD 試験では、非臨床薬理試験と同様、リン酸緩衝生理食塩液 (PBS) を用いて調製した静脈内投与液としてイサツキシマブを投与した。

臨床試験での「 、 、 」 (製法 I*) 製剤から「 、 、 」 (申請製法*; 市販予定) 製剤への変更の影響を評価するとともに、様々な保存条件の影響を評価するため、非担がん SCID マウスを用いた PK 試験を実施した。

サル反復投与毒性試験で測定したイサツキシマブの全身曝露量の詳細は [Module 2.6.6 の 3 項] に示す。

PK 試験の概要を [Module 2.6.5.1] に示す。

毒性試験における曝露量の評価は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 (GLP) を完全に遵守して実施した。その他の GLP 非適用試験は、試験実施計画書及び社内標準手順書に従って実施した。これらの試験の信頼性に影響を及ぼしたと考えられる予期せぬ状況はなかった。試験中に記録された逸脱は軽微であり、結果の完全性及び解釈に悪影響を及ぼしたとは考えられなかった。

2 分析法

マウス及びサル両方でイムノアッセイ法を用いて血漿中イサツキシマブ濃度を測定した ([Module 4.2.2.1-3]、 [Module 4.2.2.1-4]及び DOS1712 試験 [Module 4.2.2.1-1])。各動物種における定量下限 (LLOQ) を表 1 に示す。マウス血漿中イサツキシマブ濃度測定に使用した酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) は、 (USA) で開発され、その後、固相化試薬の濃度を最適化するため、軽微な改良が加えられた (DPK0244 試験 [Module 4.2.2.7-1])。

GLP 適用のサル毒性試験において抗イサツキシマブ抗体 (ADA) を検出するため、免疫原性分析法を開発し、バリデーションを行った (DOS1711 試験 [Module 4.2.2.1-2])。

様々な試験系における標的分子 (CD38) の発現量 (CD38 RD) 及び CD38 RO を測定するため、GLP 非適用の定量的フローサイトメトリー法を開発した (DMD0308 試験 [Module 4.2.2.1-5])。

2.1 イサツキシマブ

イサツキシマブのマウス血漿中 PK プロファイルを評価するため、GLP 非適用の ELISA (LLOQ : 0.0785 µg/mL) 法を用いてヘパリン処理血漿試料中のイサツキシマブ濃度を測定した。この ELISA 法では、遺伝子組換えヒト CD38-Fc を固相化したマイクロタイタープレートを使用し、イサツキシマブ標準品を用いて検量線を作成した。次に、ホースラディッシュペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ヒト免疫グロブリン G (IgG) 抗体を用いて、プレートに捕捉されたイサツキシマブを検出した。ペルオキシダーゼに特異的な基質であるテトラメチルベンジジンを添加し、イサツキシマブ濃度に正比例するシグナル強度を測定した ([Module 4.2.2.1-3]及び [Module 4.2.2.1-4])。

マウス血漿中のイサツキシマブ濃度を定量する ELISA 法は最初に で開発された。Sanofi 社に移管された際、軽微な改良が加えられ、固相化試薬である遺伝子組換えヒト CD38-Fc の濃度を 0.5 µg/mL から 1.50 µg/mL にすることにより最適化された。改良した方法の LLOQ は 0.078 µg/mL であった (DPK0244 試験 [Module 4.2.2.7-1])。

イサツキシマブのサル血漿中トキシコキネティクス (TK) プロファイルを評価するため、バリデーション済みのイムノアッセイ法を用いてイサツキシマブ濃度を測定した。この分析法は段階的なサンドイッチ法であり、Gyrolab Bioaffy 微細構造ディスク内のストレプトアビジンビーズカラムに固相化した精製ピオチン化ウサギ抗イサツキシマブポリクローナル抗体を用いてイサツキシマブを捕捉した後、Alexa-CD38 抗原を使用して検出し、Gyrolab xP プラットフォーム内でオンカラム法により蛍光強度を測定した。本分析法の LLOQ は 5.00 µg/mL であった。

表 1 - 血漿中イサツキシマブ濃度の測定に使用した分析法

分析法の種類	動物種	試料	定量対象物質	定量下限 (µg/mL)	定量範囲 (µg/mL)	試験番号
ELISA	マウス	血漿	イサツキシマブ	0.0785 ^a	0.0785~1.319 ^a	Module 4.2.2.1-3] Module 4.2.2.1-4]
ELISA	マウス	血漿	イサツキシマブ	0.078 ^a	0.078~2.5 ^a	DPK0244 [Module 4.2.2.7-1]
イムノアッセイ	サル	血漿	イサツキシマブ	5.00	5.00~500 ^b	DOS1712 [Module 4.2.2.1-1]

略語：ELISA＝酵素結合免疫吸着測定法

a 試料の 1：50 希釈を考慮した濃度。すなわち、定量範囲 0.0785~1.319 µg/mL の上限値である 1.319 µg/mL は、試験報告書に記載されている上限値の 26.38 ng/mL に希釈倍率の 50 を乗じた値である。

b サル血漿の場合、試料の最大希釈係数 13.3 を用いて、定量範囲は 6670 µg/mL まで拡大可能

マウス血漿試料中のイサツキシマブ濃度測定に使用した ELISA 法の性能は許容可能なものであった。サル血漿試料に使用したイムノアッセイ法は、検量線範囲内での直線性、真度及び精度、選択性、定量下限及び特異性の点でバリデーション基準を満たしていた。

サル血漿試料（プール血漿）中でのイサツキシマブの短期保存安定性を確認した（DOS1712 試験 [Module 4.2.2.1-1]）。サル血漿中でのイサツキシマブは、37°C で 30 分間、室温及び 5°C で 24 時間、-80°C で 3 か月間にわたり安定であった。また、サル血漿中でイサツキシマブは、-20°C 又は -80°C で 6 回以内の凍結／融解サイクルで安定であった。

2.2 免疫原性

エチレンジアミン四酢酸三カリウム塩（EDTA・3K）処理サル血漿中の ADA を検出するため、ポリエチレングリコール（PEG）沈殿及び酸性化（Precipitation and Acidification ; PandA）を行い、電気化学発光（ECL）法により検出するイムノアッセイ法を開発し、バリデーションを行った（DOS1711 試験 [Module 4.2.2.1-2]）。この方法は、以前にヒト血漿でバリデーションを行った PEG を用いて PandA を行う方法と同様である（DOH1297 試験 [Module 2.7.1 の 2.3 項]）。試料中の ADA を評価する場合、最初にスクリーニング試験で陽性を示す試料を特定した後、確認試験で偽陽性でないことを確認するという 2 種類の方法で段階的に評価した。

スクリーニング試験では、試料を PEG で処理することにより、免疫グロブリンを含む全ての蛋白質を沈殿させて抽出した後、酢酸処理により、イサツキシマブから ADA を解離させた。酸性化試料を高結合性 Meso Scale Discovery（MSD）マイクロプレートに添加し、一定時間放置することで試料中の ADA を十分に固相化した後、sulfo-tag 標識イサツキシマブを含むスクリーニング用混合緩衝液を添加した。高結合性 MSD マイクロプレート（固相化段階）及び sulfo-tag 標識イサツキシマブ（検出段階）の両方に対して結合した ADA が検出される。この分析法では、動物種に特異的な二次抗体

2.6.4 薬物動態試験の概要文 SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

を使用する必要がなく、ADA が結合能を有する限り、理論的にすべてのクラスの免疫グロブリンを検出することができる。

確認試験は、試料を 2 分割し、sulfo-tag 標識イサツキシマブを含むスクリーニング用混合緩衝液並びに sulfo-tag 標識イサツキシマブ及び非標識イサツキシマブを含む確認用混合緩衝液を用いて検出することを除いて、スクリーニング試験と同様の方法で行った。非標識イサツキシマブを添加したときの ECL のシグナル減少により、試験でみられた陽性反応が ADA に対する特異的なものであることを確認した。バリデーション試験では、スクリーニング試験でのカットポイント（SCP）、確認試験でのカットポイント（CCP）並びにスクリーニング試験と確認試験の精度及び感度を評価した。また、サル EDTA・3K 処理血漿を用いて、drug tolerance limit（ADA 検出の妨害が認められない最大薬物濃度）及び様々な条件下での ADA の安定性を評価した。

被験試料及び性能対照試料はすべて、最低限必要な 10 倍希釈後に分析した。統計学的計算により、SCP の式中の補正係数は 1.083 と算出され、CCP はシグナル低下率 23.2% と算出された。サル血漿では、スクリーニング試験の測定間精度は変動係数 5.9% 以下と算出され、確認試験の測定間精度はシグナル低下率の変動係数 2.1% 以下と算出された。感度は 0.25 µg/mL と設定した。陰性対照を用いて検討したプレート内での精度は、プレート全体での変動係数が 8.5% 以下であった。この分析法の drug tolerance limit は、イサツキシマブ及び酸化型イサツキシマブのいずれに対しても 5000 µg/mL であった。EDTA・3K 処理サル血漿中で、ADA は、室温及び 5°C で 24 時間、-80°C で 13 週間にわたり安定であり、また、-80°C での 6 回以内の凍結／融解サイクルで安定であった（DOS1711 試験 [Module 4.2.2.1-2]）。

2.3 標的分子（CD38）の発現量

GLP 非適用の定量的フローサイトメトリー法を用いて、SU-DHL-8 細胞（非ホジキンリンパ腫 [NHL] 細胞）、Daudi 細胞（NHL 細胞株）、DND-41 細胞（T 細胞性急性リンパ性白血病 [T-ALL] 細胞株）、LP-1 細胞（多発性骨髄腫 [MM] 細胞株）、Ramos 細胞（NHL 細胞株）、並びに健康ドナーのヒト全血に由来する 3 種類のリンパ球サブセット（B 細胞、CD4⁺ T 細胞及び CD8⁺ T 細胞）の種々の試験系における CD38 RD 及び CD38 RO を測定した。この評価は、CD38 の 2 つの異なるエピトープに結合する 2 種類の mAb を用いて実施した。mAb1 はイサツキシマブと同じエピトープに特異的に結合するため、非結合型（非占有型）CD38 の結合部位を反映する。一方、mAb2 はイサツキシマブとは異なるエピトープに特異的に結合し、CD38 陽性細胞が含まれていることを示す陽性対照となり、また *in vitro* でイサツキシマブを添加したときに細胞表面に残存する CD38 の定量的評価に使用される。これら 2 種類の mAb を用いて間接的に CD38 を検出し、キャリブレーションとして添加したビーズより作成した検量線を用いる方法により、イサツキシマブの CD38 に対する結合能を変化させることなく、非結合型 CD38 と細胞表面に残存するすべての CD38 を定量することが可能であることが示された。これらの結果を組み合わせることにより、細胞当たりの CD38 RD 及び CD38 RO が算出される（DMD0308 試験 [Module 4.2.2.1-5]）。

3 薬物動態パラメータ

非担がん SCID 雌マウスに単回静脈内投与 (ボラス投与) (POH0252 試験 [Module 2.6.5.3 C]) 及び担がん SCID 雌マウスに反復静脈内投与 (ボラス投与) (腫瘍移植後 11、14、18、21 及び 26 日目に投与) (POH0252 試験 [Module 2.6.5.3 D]) したときの PK パラメータを投与群ごとにコンパートメントモデル解析により算出した。

FIH 試験で使用する用量設定の根拠となる情報の一部として、コンパートメントモデル解析により投与群ごとに算出した PK パラメータを用いて PK/PD 解析を実施した (9.1.2 項及び 9.1.4 項)。コンパートメントモデル解析に加えて、9.2 項で詳述するように、母集団 PK 及び母集団 PK/PD モデル解析を実施して、マウスの腫瘍消失に必要な閾値血漿中濃度を算出し、FIH 試験で使用する用量の指針とした。さらに、ノンコンパートメント解析 (NCA) により、SCID マウスを用いた 2 種類の単回投与製剤比較試験における PK パラメータも算出した (DPK0244 試験 [Module 2.6.5.3 A] 及び ABS0709 試験 [Module 2.6.5.3 B])。コンパートメントモデル解析により得られたマウスの PK パラメータを表 2 に示す一方、NCA により得られた PK パラメータを表 3 に示す。

In vivo PK 及び PK/PD 試験で使用したイサツキシマブの投与液は、非臨床薬理試験で使用した投与液と同様であり、PBS (Invitrogen 10010-023、3 mmol/L リン酸ナトリウム、1.1 mmol/L リン酸カリウム、155 mmol/L 塩化ナトリウム、pH 7.4) を用いて濃度 6.2 mg/mL となるように調製した。総投与容量をマウス 1 匹当たり 200~280 µL の範囲に維持するため、この溶液を適宜希釈した。製剤比較試験では、臨床試験と同じ投与液 (製法 I* 製剤は ■mg/mL 静脈内投与用濃縮液、申請製法* 製剤は 20 mg/mL 静脈内投与用濃縮液) を使用した。この溶液は、添加剤として、注射用蒸留水、スクロース、ヒスチジン (塩基及び塩酸塩) 並びにポリソルベート 80 を含有していた。希釈には、製法 I* 製剤の場合、■■■■■■■■■■ 及び ■■■■■■■■■■ (pH ■■■) を、申請製法* 製剤の場合、20 mmol/L ヒスチジン及び 10% (w/v) スクロース (pH 6.0) を使用し、最終イサツキシマブ濃度が 4 mg/mL となるように調製した。

2.6.4 薬物動態試験の概要文
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

表 2 - 動物にイサツキシマブを単回及び反復静脈内投与したときの血漿中濃度から算出した薬物動態パラメータの平均値－コンパートメントモデル解析

動物種	製剤	性別 (動物 数)	投与経路 ^a	投与量 (mg/kg)	C _{max} (µg/mL)	t _{1/2z} (day)	AUC (µg·day/mL)	V _{ss} (mL)	CL (mL/day)	試験番号
非担がん SCID マウス ^b	製法 I*	雌 (3)	IV	10 (単回)	117	14.3	1240	3.27	0.161	POH0252 [Module 2.6.5.3 C]
	製法 I*	雌 (3~4)	IV	2.5 (反復)	22.5	2.40	62.9	2.72	0.795	
担がん SCID マウス ^b	製法 I*	雌 (3~4)	IV	10 (反復)	102	7.48	774	2.76	0.258	POH0252 [Module 2.6.5.3 D]
	製法 I*	雌 (3~4)	IV	40 (反復)	445	11.7	4690	2.86	0.171	

値は有効数字 3 桁以下に四捨五入した。

略語：AUC=無限大時間まで外挿した血漿中濃度-時間曲線下面積、製法 I* = ■■■、■■■、■■■ (■■■mg/mL 静脈内投与用濃縮液を 4 mg/mL に希釈)、申請製法* = ■■■、■■■、■■■ (20 mg/mL 静脈内投与用濃縮液を 4 mg/mL に希釈)、CL=全身クリアランス、C_{max}=最高血漿中濃度 (静脈内ボラス投与後、最初に採取した血漿試料中の濃度)、IV=静脈内 (ボラス投与)、SCID=重症複合型免疫不全症、t_{1/2z}=最終相での消失半減期、V_{ss}=定常状態における分布容積

^a 静脈内ボラス投与

^b 非担がんマウスの PK パラメータは単回投与後 48 日間にわたり採取した試料から算出したのに対して、担がんマウス (反復投与群) の PK パラメータは週 2 回投与の最終 (5 回目) 投与後 28 日間 (非担がんマウスより短期間) にわたり採取した試料から算出した。

2.6.4 薬物動態試験の概要文
SAR650984 - イサツキシマブ (遺伝子組換え)

表 3 - 動物にイサツキシマブを単回静脈内投与したときの血漿中濃度から算出した薬物動態パラメータの平均値 - ノンコンパートメント解析

動物種	製剤	製剤の 保存条件	性別 (動物 数)	投与 経路 ^a	投与量 (mg/kg)	C ₀ (µg/mL)	t _{1/2z} (day)	AUC _{0-49d} (µg·day/mL)	AUC (µg·day/mL)	V _{ss} (mL)	CL (mL/day)	試験番号
非担がん SCID マ ウス	製法 I *	4°C	雌 (5)	IV	40	781	25.5	10100	13900	2.46	0.066	DPK0244 [Module 2.6.5.3 A]
	申請製法*	4°C	雌 (5)	IV	40	762	23.5	9370	11900	2.44	0.0759	
	製法 I *	4°C	雌 (5)	IV	40	962	26.0	10600	14200	2.39	0.0674	ABS0709 [Module 2.6.5.3 B]
	申請製法*	4°C	雌 (5)	IV	40	897	36.5 ^b	10300	16400 ^b	2.93 ^b	0.0586 ^b	
	申請製法*	25°C/4°C	雌 (5)	IV	40	861	28.3	9970	13600	2.63	0.0697	

略語：AUC=無限大時間まで外挿した血漿中濃度-時間曲線下面積、AUC_{0-49d}=時間 0 から 49 日目までの血漿中濃度-時間曲線下面積、C₀=静脈内ボラス投与後 0 時間における外挿濃度、製法 I * = []、[]、[] ([] mg/mL 静脈内投与用濃縮液を 4 mg/mL に希釈)、申請製法* = []、[]、[] (20 mg/mL 静脈内投与用濃縮液を 4 mg/mL に希釈)、CL=全身クリアランス、IV=静脈内 (ボラス投与)、SCID=重症複合型免疫不全症、t_{1/2z}=最終相での消失半減期、V_{ss}=定常状態における分布容積

^a 静脈内ボラス投与

^b 外挿部分の面積 (AUC_{ext}) が 30% を超えていた (37%) ことから参考値とする。

4 吸収

イサツキシマブは静脈内投与されるので、吸収相は存在しない。本項では、イサツキシマブのマウスにおける PK 特性及びサルにおける TK 特性について概説する。

4.1 単回投与試験

製法 I* 製剤及び 申請製法* 製剤を比較するため、SCID マウスを用いたイサツキシマブの PK 試験を用量 40 mg/kg で実施した (DPK0244 試験 [Module 2.6.5.3 A])。なお、この用量は薬理試験である ONVV0095 試験で投与した最高用量であった ([Module 2.6.2 の 2.6.2 項])。2 製剤を比較したとき、濃度-時間推移は重なり合い (図 1)、PK パラメータは類似していた (表 3)。

対数変換した曝露量パラメータである静脈内ボラス投与後 0 時間における外挿濃度 (C_0) 及び時間 0 から投与後 49 日までの血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC_{0-49d}) に関して、統計解析を実施した。得られた平均値の投与群間での差及びその 90%信頼区間を算出し、逆対数変換により平均値の比に変換した。 C_0 及び AUC_{0-49d} の製剤間比の点推定値はそれぞれ 0.98 及び 0.93 であり、 C_0 及び AUC_{0-49d} の製剤間比の 90%信頼区間は、いずれも基準範囲内 (0.80~1.25) に収まっていた。統計解析の結果 (表 4) から、製剤を製法 I* から 申請製法* に変更しても、イサツキシマブの PK に対する影響はないことが示された。

図 1 - 非がん SCID 雌マウスにイサツキシマブ 40 mg/kg を単回静脈内投与したときの血漿中濃度-時間推移 (平均値 ± 標準偏差、n = 5)

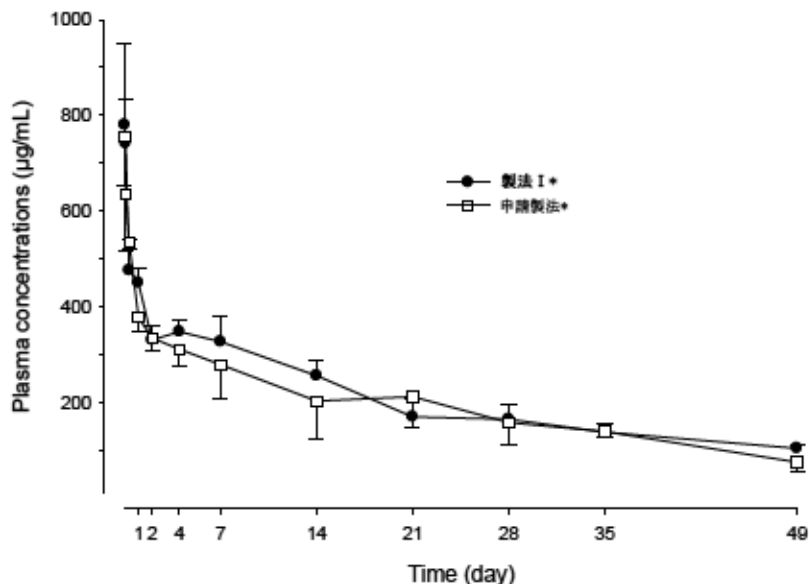


表 4 - 非担がん SCID 雌マウスにおける PK パラメータの製剤間比の推定値及び 90%信頼区間 (n = 5)

パラメータ	比較	推定値	90% CI
C ₀	申請製法* vs 製法 I*	0.98	[0.82 - 1.15]
AUC _{0-49d}	(両製剤は標準的保存条件である 4°C で保存)	0.93	[0.87 - 1.00]

略語：AUC_{0-49d}=時間 0 から 49 日目までの血漿中濃度-時間曲線下面積、C₀=静脈内ボラス投与後 0 時間における外挿濃度、製法 I* = \square mg/mL 静脈内投与用濃縮液 (\square 、 \square 、 \square)、申請製法* = 20 mg/mL 静脈内投与用濃縮液 (\square 、 \square 、 \square)、CI=信頼区間

非担がん SCID マウスを用いて別の単回投与 PK 試験 (40 mg/kg 静脈内投与) を実施し、常に同じ温度 (4°C) で保存した 製法 I* 製剤と、異なる条件下で保存した 申請製法* 製剤を比較した。申請製法* で評価した保存条件は、(a) 常に 4°C で保存、又は (b) 25°C で 3 か月間保存した後、4°C に維持であった (ABS0709 試験 [Module 2.6.5.3 B])。製法 I* 製剤は、常に標準的保存条件である 4°C で保存した (DPK0244 試験 [Module 2.6.5.3 A])。

製法 I* 製剤と 申請製法* 製剤を比較したとき、申請製法* 製剤の保存条件に関係なく、血漿中濃度 - 時間推移は重なり合い (図 2)、PK パラメータは類似していた (表 3)。

上述の試験と同様に実施した統計解析の結果 (表 5) でも、C₀ 及び AUC_{0-49d} の製剤間比の点推定値は 1 に近く (0.93~0.97)、C₀ 及び AUC_{0-49d} の製剤間比の 90%信頼区間はすべて基準範囲内 (0.80~1.25) に収まっていた。これらの結果から、製剤を 製法 I* から 申請製法* に変更しても、また、保存条件を変更しても、イサツキシマブの PK に対する影響はないことが示された。

図 2 - 担がん SCID 雌マウスに異なる保存条件並びに製剤 (製法 I* 及び 申請製法*) のイサツキシマブ 40 mg/kg を単回静脈内投与したときの血漿中濃度-時間推移 (平均 ± 標準偏差、n = 5)

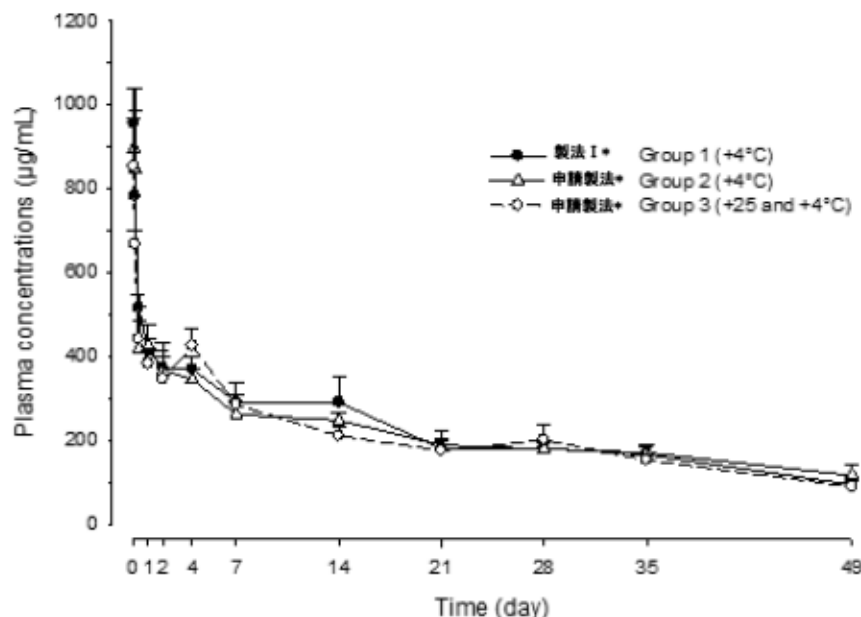


表 5 -担がん SCID 雌マウスにおける異なる保存条件及び製剤間での PK パラメータの比の推定値及び 90%信頼区間 (n = 5)

パラメータ	比較	推定値	90% CI
C ₀ AUC _{0-49d}	申請製法* (4°C) vs 製法 I * (4°C) (両製剤の標準的保存条件: 4°C)	0.93 0.97	[0.86 - 1.01] [0.93 - 1.01]
C ₀ AUC _{0-49d}	申請製法* (25°C/4°C) vs 製法 I * (4°C)	0.90 0.94	[0.80 - 1.00] [0.89 - 0.99]
C ₀ AUC _{0-49d}	申請製法* (25°C/4°C) vs 申請製法* (4°C)	0.96 0.97	[0.86 - 1.06] [0.92 - 1.01]

略語: AUC_{0-49d}=時間 0 から 49 日目までの血漿中濃度-時間曲線下面積、C₀=静脈内ボラス投与後 0 時間における外挿濃度、製法 I * = \square mg/mL 静脈内投与用濃縮液 (\square 、 \square 、 \square)、申請製法*=20 mg/mL 静脈内投与用濃縮液 (\square 、 \square 、 \square)、CI=信頼区間

4.2 反復投与試験

4.2.1 マウス

担がん SCID マウスにイサツキシマブ 2.5、10 又は 40 mg/kg を週 2 回反復静脈内投与（腫瘍移植後 11、14、18、21 及び 26 日目）したとき、全身クリアランス (CL) は最低用量 2.5 mg/kg での 0.795 mL/day から、最高用量 40 mg/kg での 0.171 mL/day へと、用量増加に伴って減少した (POH0252 試験 [Module 2.6.5.3 D] 及び表 2)。その結果、5 回目投与後の曝露量（無限大時間まで外挿した血漿中濃度-時間曲線下面積 [AUC]）は、2.5 mg/kg から 40 mg/kg への 16 倍の用量増加で用量比を上回る 75 倍の増加を示した (表 2)。週 2 回反復投与したとき、モデル解析により推定された反復投与に伴う曝露量の増加は 10 mg/kg で初回投与時に比べて約 3 倍、40 mg/kg で約 4 倍であった (POH0252 試験 [Module 2.6.5.3 D])。

4.2.2 サル

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験において、1 群当たり雌雄各 3 匹の動物に用量 20、50 又は 100 mg/kg/週のイサツキシマブを週 1 回 3 週間にわたり反復静脈内投与（0.5 時間注入）した (TSK0154 試験 [Module 2.6.6 の 3.2 項] 及び [Module 2.6.7.7 A])。TK 評価用の血漿試料は、初回投与後 1 週間及び 3 回目投与後 3 日間にわたり採取した。1 週目（初回投与から投与 7 日目までの血漿中濃度-時間曲線下面積 [AUC_{0-7d}]）及び 3 週目（週 1 回投与したときの 3 回目投与から投与 3 日目までの血漿中濃度-時間曲線下面積 [AUC_{0-3d}]）のいずれにおいても、雌雄のサルの曝露量は用量 20~100 mg/kg/週の範囲で用量にほぼ比例して増加した。

用量 20~100 mg/kg/週のイサツキシマブを初回静脈内投与したときの曝露量 (AUC_{0-7d}) は、5 倍の用量増加に対して、雄及び雌でそれぞれ 4.42 倍及び 4.60 倍増加した。また、イサツキシマブを週 1

2.6.4 薬物動態試験の概要文
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

回3週間投与した後の曝露量（ AUC_{0-3d} ）は、5倍の用量増加に対して、雄及び雌でそれぞれ5.04倍及び4.55倍増加した。 C_{max} でも同様の増加が認められた。サルにおけるイサツキシマブのTKパラメータの詳細を[Module 2.6.6の3.2項]に示すとともに、 C_{max} 及び血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）の用量比例性をそれぞれ図3及び図4にグラフで示す。

図3 - イサツキシマブの最高血漿中濃度の用量比例性（投与1週目及び3週目、n=3）

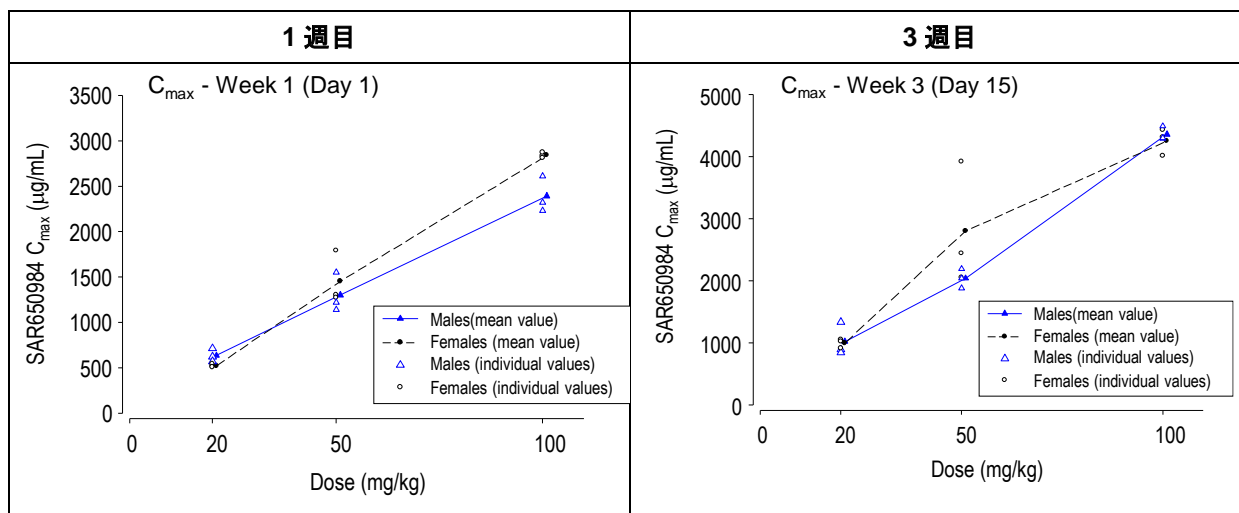
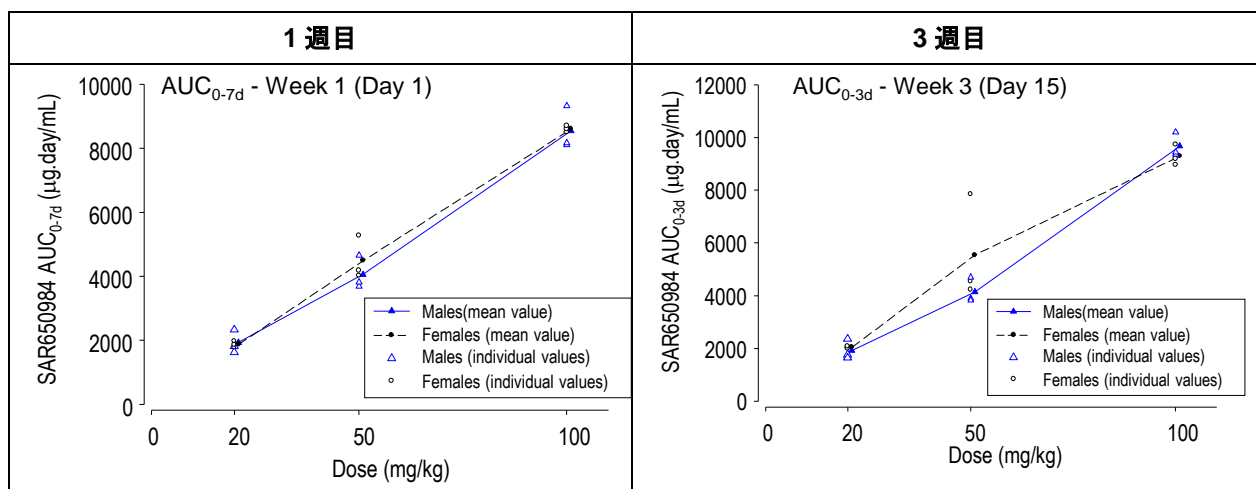


図4 - イサツキシマブの血漿中濃度－時間曲線下面積の用量比例性（投与1週目 [AUC_{0-7d}] 及び3週目 [AUC_{0-3d}]、n=3）



初回投与後と3回目の投与後のイサツキシマブの AUC_{0-3d} を比較したところ、性別及び用量に関係なく、1週目に比べて3週目の AUC_{0-3d} では1.84~2.27倍の増加が認められた。検討したいずれの用量についても、1週目及び3週目のAUCに明白な性差は認められなかった。

5 分布

放射性標識化合物を用いた特別な組織分布試験は実施しなかった。組織切片を用いて、イサツキシマブの分布を免疫組織化学染色法により評価した（[Module 2.6.2 の 3.1 項]）。

マウスにおけるイサツキシマブの分布の特徴として、分布容積は小さく（2.39～3.27 mL）、マウス血液量に相当することが明らかになった（表 2 及び表 3）。

6 代謝

イサツキシマブの代謝試験は実施していない。蛋白質であるイサツキシマブは、非飽和性の蛋白分解異化過程により代謝されると予想される。

7 排泄

特別な排泄試験は実施しなかった。蛋白質であるイサツキシマブは、非飽和性の蛋白分解異化過程により消失すると予想される。

イサツキシマブの標的分子であるヒト CD38 が存在しない SCID マウスにイサツキシマブを単回静脈内投与したときの PK パラメータは、IgG1 抗体に典型的なものであり、CL は小さく（0.0662～0.161 mL/day）、最終相の消失半減期は長かった（14～28 日）（表 2 及び表 3）（POH0252 試験 [Module 2.6.5.3 C] 及び DPK0244 試験 [Module 2.6.5.3 A]）。

イサツキシマブの標的分子であるヒト CD38 を発現する腫瘍片を異種移植した担がんマウスにおいて、CL は最低用量 2.5 mg/kg での 0.795 mL/day から最高用量 40 mg/kg での 0.171 mL/day へと用量増加に伴って減少した（表 2）（POH0252 試験 [Module 2.6.5.3 D]）。用量 10 mg/kg における CL は、非担がんマウス（0.161 mL/day）に比べて担がんマウス（0.258 mL/day）の方が大きかった。用量 40 mg/kg における担がんマウスの CL は、非担がん SCID マウスの用量 10 mg/kg での CL と同程度であった。イサツキシマブは腫瘍異種移植片に発現するヒト CD38 に対して高い親和性を示すことから、これらのデータは標的分子を介した薬物動態（TMDD）に関連した非線形性の薬物消失がみられることを示唆するものと考えられた。担がん SCID マウスに用量 10 mg/kg を反復投与したときの最終相の消失半減期は 7.48 日であり、非担がん SCID マウスに単回投与したときの半減期 14.3 日に比べて短かった（POH0252 試験 [Module 2.6.5.3 C] 及び [Module 2.6.5.3 D]）。ただし、この結果は反復投与群における最終投与後の PK 試料の採取期間（28 日間）が単回投与群（48 日間）に比べて短かった（表 2、POH0252 試験 [Module 2.6.5.3 C] 及び [Module 2.6.5.3 D]）ことに起因する可能性がある。

8 薬物動態学的薬物相互作用

イサツキシマブの非臨床薬物相互作用試験は実施しなかった。

サイトカインレベルの変化を介してシトクロム P450 の発現が変化することにより、その基質となる併用薬の PK にイサツキシマブが影響する可能性に関する評価は、[\[Module 2.7.2 の 3.2.2.2 項\]](#)に示す。

9 その他の薬物動態試験

9.1 MABEL 及びヒト初回投与試験の開始用量の算出

非臨床安全性試験に適切な動物モデルがないことから、患者を対象とした FIH 試験（TED10893 試験 [Module 2.7.2 の 2.7.1.1 項]）の開始用量は、MABEL 法及び *in vitro* で算出した CD38 RO に基づいて選択した。様々な試験系を用いて *in vitro* 及び *in vivo* の両方で MABEL の評価を行い、すべての *in vitro* 及び *in vivo* データを考慮して開始用量を決定した。

9.1.1 *In vitro* MABEL 算出

イサツキシマブは抗体依存性細胞傷害（ADCC）、抗体依存性細胞貪食（ADCP）、補体依存性細胞傷害（CDC）及び直接的アポトーシスなど、複数の生物学的メカニズムを介して *in vitro* で CD38 発現腫瘍細胞を死滅させることができる。数種の *in vitro* 試験系を用いて、これら様々なメカニズムを介したイサツキシマブの CD38 発現腫瘍細胞殺傷能を評価した。これら各 *in vitro* モデルにおいて最大効果の 20% を誘導するのに必要な有効濃度（EC₂₀ 値）を MABEL と規定した。この方法により規定された MABEL は、安全性を重視した低い値となっている。

In vitro 試験系及びこれらのモデルから得られた *in vitro* での MABEL 推定値を要約して以下に示すとともに（表 6）、より詳細な評価及び考察を付録 1（12 項）に示す。

表 6 - ADCC、CDC 及びアポトーシス促進活性に関するイサツキシマブの EC₂₀ 値

In vitro メカニズム	EC ₂₀					
	Ramos 細胞		SU-DHL-8 細胞		DND-41 細胞	
	(ng/mL)	(mol/L)	(ng/mL)	(mol/L)	(ng/mL)	(mol/L)
ADCC 活性	0.15	9.98 x10 ⁻¹³	–	–	–	–
CDC 活性	–	–	–	–	19.1	1.27 x10 ⁻¹⁰
アポトーシス促進活性	–	–	1.13	7.54 x10 ⁻¹²	6.57	4.38 x10 ⁻¹¹

試験 [Module 2.6.2 の 2.2 項]

略語：ADCC＝抗体依存性細胞傷害、CDC＝補体依存性細胞傷害、EC₂₀＝最大反応の 20% を誘導するのに必要な有効濃度

ng/mL から mol/L に変換する際には、本抗体の分子量を 150 kDa と仮定した。

アポトーシス促進活性に関して、SU-DHL-8 細胞は DND-41 細胞に比べてイサツキシマブに対する感受性が高かった。SU-DHL-8 細胞でのアポトーシス細胞の割合は最大で 93%であったのに対して、DND-41 細胞では最大で 57%であった。したがって、MABEL を算出するための *in vivo* 試験では SU-DHL-8 細胞を選択した。

9.1.2 In vivo MABEL 算出

SU-DHL-8 細胞を移植した SCID マウスを用いて PK/PD 試験を実施し、抗腫瘍効果に必要なイサツキシマブの最小有効濃度を推定した (POH0252 試験 [Module 2.6.5.3 C] 及び [Module 2.6.5.3 D])。解析は、XXXXXXXXXX 試験及び XXXXXXXXXX 試験で得られたイサツキシマブの濃度-時間データ

([Module 4.2.2.1-3]及び[Module 4.2.2.1-4]) 並びに XXXXXXXXXX 試験で得られた対応する薬力学データ ([Module 2.6.2 の 2.4.2.1 項]) に基づいて実施した。

用量 10 mg/kg のイサツキシマブを単回静脈内投与した非担がん SCID マウス 9 匹及び用量 0~40 mg/kg のイサツキシマブを週 2 回反復投与 (腫瘍移植後 11、14、18、21 及び 26 日目) した担がん SCID マウス 36 匹からデータを収集した。最小有効量 (2.5 mg/kg) での定常状態におけるトラフ濃度 ($C_{ss\ min}$) は約 10 µg/mL であり、この濃度をこの in vivo 有効性モデルでの MABEL と規定した。

マウス in vivo 有効性モデルでの MABEL (すなわち、 $C_{ss\ min}$) に等しい定常状態での血漿中濃度を得るために必要な隔週投与時のヒト用量は 0.21 mg/kg と推定された。

In vivo PK/PD 試験及びデータを要約して本項に示すとともに、より詳細な評価及び考察を付録 1 (12 項) に示す。

9.1.3 MABEL 及び標的分子 (CD38) 占有率

ヒトにおける理論的な CD38 RO、並びに腫瘍細胞株及び正常ヒト細胞を用いて in vitro で実測された CD38 RO の概要を本項に示すとともに、より詳細な評価及び考察、並びに試験参考資料を付録 1 (12 項) に示す。

9.1.3.1 理論的な標的分子占有率

汎用性及び機構的性質を考慮し、TMDD モデルが CD38 RO の推定に適したシステムであると判断した。解離定数 (K_D)、CD38 RD 及び総イサツキシマブ濃度の値に基づいて、CD38 RO を算出した。

9.1.3.2 ヒト腫瘍細胞株及び正常ヒト細胞で測定した標的分子占有率

定量的フローサイトメトリー法を用いて、複数の in vitro 試験系 (SU-DHL-8、Daudi、DND-41 及び LP-1 細胞) で CD38 RO (%) を測定し (DMD0308 試験 [Module 4.2.2.1-5])、MABEL と CD38 RO の関係の評価した。さらに、非がん患者から採取した B 細胞及び T 細胞 (細胞当たりの CD38 RD が小さい) の CD38 RO も評価した。これらの細胞株におけるイサツキシマブによる標的分子の占有に関する最大効果の 20%、50%及び 90%を誘導するのに必要な有効濃度 (それぞれ EC_{20} 、 EC_{50} 及び EC_{90} 値) を表 7 に示す。

表 7 - 種々のヒト腫瘍細胞株及び正常ヒト血液細胞における標的分子（CD38）の発現量及びイサツキシマブによる標的分子の占有に対する EC₂₀、EC₅₀ 及び EC₉₀

ヒト腫瘍細胞株				
細胞株	Daudi	DND-41	LP-1	SU-DHL-8
標的分子発現量 (mAb1 を用いた sABC より算出)	169890	300489	172393	104187
EC ₂₀ (µg/mL)	0.114	0.063	0.189	0.053
EC ₅₀ (µg/mL)	0.267	0.343	0.332	0.114
EC ₉₀ (µg/mL)	1.037	2.381	0.754	0.311
正常ヒト血液細胞				
細胞種	T4 細胞	T8 細胞	B 細胞	単球
標的分子発現量 (mAb1 を用いた sABC より算出)	2879	1195	2778	9840
EC ₂₀ (µg/mL)	0.004	0.010	0.016	0.010
EC ₅₀ (µg/mL)	0.024	0.019	0.020	0.027
EC ₉₀ (µg/mL)	0.755	0.043	0.035	0.080 ^a

DMD0308 試験 [Module 4.2.2.1-5]

略語：EC₂₀、EC₅₀、EC₉₀=最大反応の 20、50 又は 90%を誘導するのに必要な有効濃度、mAb=モノクローナル抗体、sABC=特異的抗体結合能

^a EC₉₀ではなく EC₈₀

実験で得られた CD38 RO の測定値は、TMDD 式を用いて算出した理論値と合致していた。

9.1.4 ヒト初回投与試験の開始用量の推定及び用量設定根拠

種々の in vitro 試験系及び in vivo マウス PK/PD モデルより得られた MABEL 値に対応するイサツキシマブ濃度及び推定ヒト用量のデータからは、薬理活性を得るのに必要なイサツキシマブの血漿中濃度によって示される感受性及び理論的 CD38 RO に、実験系による大きな違いがあることが示された（表 8、図 5 及び付録 1 [12 項]）。

表 8 - MABEL データの概要

システム	試験系	MABEL の定義	MABEL (mol/L)	MABEL (ng/mL)	概算ヒト用 量	CD38 RO (%)
In vitro	ADCC 活性 (Ramos 細胞) ^a	EC ₂₀	9.98 x10 ⁻¹³	0.150	0.005 µg/kg	0.4
In vitro	アポトーシス促進活性 (SU-DHL-8 細胞) ^a	EC ₂₀	7.54 x10 ⁻¹²	1.13	0.04 µg/kg	2.9
In vitro	CDC 活性 (DND-41 細胞) ^a	EC ₂₀	1.27 x10 ⁻¹⁰	19.08	0.68 µg/kg	34.7
In vivo	SU-DHL-8 移植マウス ^b	C _{ss min}	6.65 x10 ⁻⁸	10000	0.20 mg/kg ^c	99.7

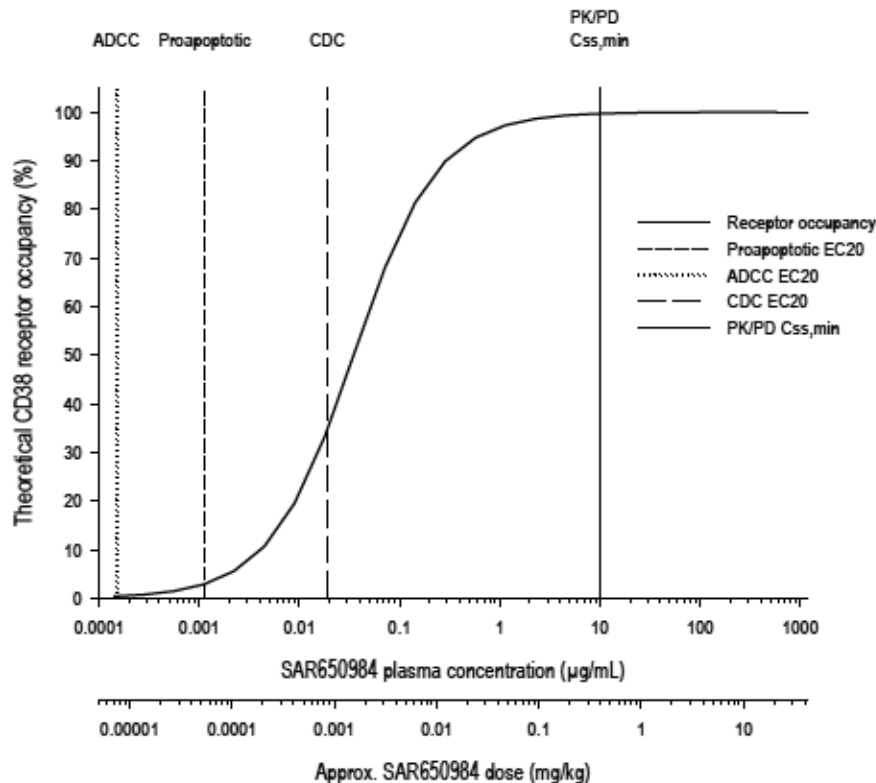
略語 : ADCC=抗体依存性細胞傷害、CDC=補体依存性細胞傷害、C_{ss min}=定常状態におけるトラフ濃度、EC₂₀=最大反応の 20%を誘導するのに必要な有効濃度、MABEL=推定最小薬理作用量、PD=薬力学、PK=薬物動態

^a ████████ 試験 [Module 2.6.2 の 2.2 項]

^b POH0252 試験 [Module 2.6.5.3 D]

^c IgG1 抗体の典型的消失半減期を 21 日、投与間隔を 2 週間と仮定して、PK/PD 法を用いて in vivo マウス有効性モデルから予測した有効量

図 5 - イサツキシマブによる理論的な標的分子の占有率とイサツキシマブの in vitro 及び in vivo 活性並びに血漿中濃度の関係



略語 : ADCC=抗体依存性細胞傷害、CDC=補体依存性細胞傷害、C_{ss min}=定常状態におけるトラフ濃度、EC₂₀=最大反応の 20%を誘導するのに必要な有効濃度、PD=薬力学、PK=薬物動態

最も感受性の高い *in vitro* モデル (ADCC) を用いて算出した MABEL では、患者で非常に低い開始用量 (0.000005 mg/kg) を用いることが示されたが、CD38 RO が 0.5%未満であった。対照的に、*in vivo* PK/PD モデルでの最小薬理作用に対応する用量 (0.2 mg/kg) での理論的 CD38 RO は 99.7%であった。これらのデータを総合して、FIH 試験で推奨されるヒト開始用量は、正常ヒト B 細胞及び T 細胞での CD38 RO 推定値が約 10%となる 0.0001 mg/kg と判断した。この用量は、*in vivo* PK/PD モデルに基づく推定有効用量 0.2 mg/kg の 2000 分の 1 であった。

9.2 母集団薬物動態/薬力学 (PK/PD) 関係

母集団 PK 解析により非担がん SCID マウス及び SU-DHL-8 移植した担がん SCID マウスにおけるイサツキシマブの PK を評価し、腫瘍増殖阻害に関する PK/PD モデルを確立して腫瘍消失に必要な閾値血漿中濃度を推定した (POH0214 試験 [Module 2.6.5.3 E])。この解析は、9.1.2 項で解説した PK/PD 解析に用いたものと同じデータ (██████████ 試験 [Module 4.2.2.1-3]及び ██████████ 試験 [Module 4.2.2.1-4]で得られたイサツキシマブ血漿中濃度-時間データ並びに ██████████ 試験で得られた対応する薬力学データ [Module 2.6.2 の 2.4.2.1 項]) に基づいて実施した。

用量 10 mg/kg のイサツキシマブを単回静脈内投与した非担がん SCID マウス 9 匹、及び用量 2.5~40 mg/kg のイサツキシマブを週 2 回反復投与した担がん SCID マウス 27 匹からのデータを非担がん及び担がんマウスごとの解析並びにこれらを併合した解析に使用した。非担がん及び担がんマウスごとの解析では、いずれのマウスにおけるイサツキシマブの PK も、中心コンパートメントからの線形消失過程を有する 2-コンパートメントモデルによって最も適切に表された。一方で、非担がん及び担がんマウスを併合した解析では、Michaelis-Menten 型の消失過程を有する 2-コンパートメントモデルがイサツキシマブの濃度-時間推移に最も適合していた (表 9)。

担がんマウスにおいて、CL は最低用量 2.5 mg/kg での 0.568 mL/day から、最高用量 40 mg/kg での 0.164 mL/day へと、用量増加に伴って減少した (POH0214 試験 [Module 2.6.5.3 E])。用量 10 mg/kg における CL は、非担がんマウス (0.156 mL/day) に比べて担がんマウス (0.303 mL/day) の方が大きかった (POH0214 試験 [Module 2.6.5.3 E])。併合解析から、非担がんマウスと担がんマウスの間での PK パラメータの差及び担がんマウスでの用量増加に伴う CL の明確な減少が確認された (POH0214 試験 [Module 2.6.5.3 E])。

以上から、イサツキシマブは腫瘍異種移植片に発現するヒト CD38 に対して高い親和性を示すことを考慮すると、これらの非担がん及び担がんマウスごと及びこれらを併合して実施したコンパートメントモデルを用いた母集団 PK 解析 (表 9) より、イサツキシマブの消失過程における非線形性が TMDD に関連していることが示唆された。

表 9 - 3 種類の母集団 PK モデルにより得られた母集団 PK パラメータ推定値（CV%）

データ	非担がん SCID マウス	担がん SCID マウス	非担がん及び担がん SCID マウスの併合データ
母集団 PK モデル	線形消失過程を有する 2-コンパートメントモデル	線形消失過程を有する 2-コンパートメントモデル	Michaelis-Menten 型消失過程を有する 2-コンパートメントモデル
CL (mL/day)	0.156 (3.26)	0.180 (17.7)	-
V_{max} ($\mu\text{g/day}$)	-	-	112 (17.9)
K_m ($\mu\text{g/mL}$)	-	-	248 (29.4)
V_1 (mL)	1.78 (5.14)	1.99 (6.9)	1.81 (4.1)
V_2 (mL)	1.65 (10.3)	1.58 (15.7)	1.14 (12.1)
Q (mL/day)	2.60 (26.7)	3.54 (37.9)	4.76 (29)
$t_{1/2 \lambda 1}$ (h)	5.40	4.10	-
$t_{1/2 \lambda z}$ (h)	371 (=15.5 日)	333 (=13.9 日)	-

略語：CL=全身クリアランス、 V_{max} =最大消失速度、 K_m =Michaelis-Menten 定数、 V_1 =中心コンパートメントの分布容積、 V_2 =末梢コンパートメントの分布容積、Q=コンパートメント間クリアランス、CV%=変動係数として表されるパラメータ精度、 $t_{1/2 \lambda 1}$ =初期相での消失半減期、 $t_{1/2 \lambda z}$ =最終相での消失半減期

次に、母集団 PK モデル解析に基づいて推定した担がんマウスの PK パラメータを腫瘍増殖阻害モデルに基づく母集団 PK/PD 解析に使用した。Simeoni(1)及び Rochetti(2)(3)の方法を用いて、腫瘍増殖阻害モデルの特性評価を行った。

イサツキシマブによる腫瘍細胞傷害から細胞死に至る過程に遅延があると仮定するトランジットコンパートメントモデルを用いた種々のモデルを試みたが、これらの中に遅延を含まない（すなわち複数のトランジットコンパートメント及びコンパートメント間の速度定数 k_1 を含まない）モデルが最も良好にイサツキシマブの薬効を記述した（表 10）。

表 10 - PK/PD モデル：腫瘍増殖モデルパラメータ推定値

パラメータ	固定効果	個体間変動		残差変動	
	推定値 (RSE%)	ω (%) (RSE%)	σ_a (mm ³) (RSE%)	σ_p (%) (RSE%)	
W_0 (mm ³)	3.56 (18)	36.6 (30)	33.6 (9)	17.7 (10)	
λ_0 (day ⁻¹)	0.322 (4)	3.74 (143)	-	-	
λ_1 (mm ³ ·day ⁻¹)	341 (7)	25.1 (32)	-	-	
k_2 (mL·day ⁻¹ · μ g ⁻¹)	0.0025 (21)	131 (16)	-	-	
CT (μ g/mL)	128.8	-	-	-	

略語：RSE%=相対標準誤差、 λ_0 及び λ_1 =それぞれ指数増殖及び線形増殖の速度定数、 W_0 =腫瘍移植時点 ($t=0$) における腫瘍体積、 k_2 =薬効強度を示す係数、 ω =個体間変動、 σ_a =付加誤差、 σ_p =比例誤差、CT=SU-DHL-8 腫瘍消失に必要なイサツキシマブの閾値血漿中濃度 (λ_0/k_2)

イサツキシマブは検討したすべての用量 (2.5~40 mg/kg) で効果を示し、用量と抗腫瘍効果の間に明確な関連性が認められた (9.1.2 項)。指数増殖速度定数 (λ_0) 及び薬効強度を示す係数 (k_2) に基づいて、SU-DHL-8 腫瘍消失に必要なイサツキシマブの閾値血漿中濃度 (λ_0/k_2) は 128.8 μ g/mL と算出された。

9.3 免疫原性

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験では、1 群当たり雌雄各 3 匹の動物に用量 20、50 又は 100 mg/kg/週 のイサツキシマブ (申請製法* 製剤、バッチ C1053598) を週 1 回 3 週間にわたり反復静脈内投与 (0.5 時間で注入) した (TSK0154 試験 [Module 2.6.6 の 3.2 項] [Module 2.6.7.7 A])。この試験には、主試験動物と同じ条件でイサツキシマブ 100 mg/kg/週 を投与した追加群も含まれていたが、この群では有効期限を過ぎたイサツキシマブが使用された (バッチ VAB-LCX1-000004、製造後約 28 か月)。

バッチ C1053598 (20、50 及び 100 mg/kg/週) を投与した動物から採取した試料はすべて ADA 陰性であったが、有効期限を過ぎたバッチ VAB-LCX1-000004 を投与した動物 6 匹中 4 匹から投与後に採取した試料の大部分は ADA 陽性であり、抗体価は 160~320 の範囲であった。ADA 陽性試料のイサツキシマブ濃度は、ADA 陰性試料の濃度に比べてわずかに低かった (17%未満の血漿中曝露量の減少)。

10 考察及び結論

SCID マウス（腫瘍異種移植あり又はなし）及びカニクイザル（毒性試験の一部として実施）にイサツキシマブを単回又は反復静脈内投与したときの PK を評価した。また、イサツキシマブの臨床開発を支援するための追加の PK 試験として、臨床試験で使用する 2 種類の製剤の曝露プロファイルの比較及び製剤保存条件の影響について評価することを目的とした非担がん SCID マウスを用いた試験を実施した。イサツキシマブを用いた特別な分布、代謝及び排泄試験は実施しなかった。

非担がん SCID マウスに用量 10 mg/kg のイサツキシマブを投与したときの分布容積は限られており（マウスの血液量に相当）、血漿中濃度から算出した CL は小さく、半減期は約 14 日と長かった。担がんマウスのデータのみを用いてコンパートメントモデル解析に基づいて血漿中濃度から算出した CL は、最低用量 2.5 mg/kg での 0.795 mL/day から、最高用量 40 mg/kg での 0.171 mL/day へと、用量増加に伴って減少した。用量 10 mg/kg における CL は、非担がんマウス（0.161 mL/day）に比べて担がんマウス（0.258 mL/day）の方が大きかった。母集団 PK モデル解析でも CL に同様の傾向が認められた。イサツキシマブは腫瘍異種移植片に発現するヒト CD38 抗原に対して高い親和性を示すことから、これらのデータは担がんマウスでの TMDD に関連したイサツキシマブの非線形性消失過程があることを示唆するものと考えられた。

マウス及びサル両方において、イサツキシマブを単回又は反復投与したときの血漿中曝露量は用量増加に伴って増加した。血漿中曝露量は、サルでは概ね用量に比例して増加し、担がんマウスでは TMDD のため用量比を上回る増加を示した。マウス及びサル両方で、反復投与に伴うイサツキシマブ血漿中濃度の増加が認められ、反復投与後のイサツキシマブ血漿中曝露量は初回投与後に比べて、マウス（週 2 回投与）で約 3~4 倍、サル（週 1 回投与）で約 2 倍に増加した。サルでは、ADA の存在がイサツキシマブの曝露量に影響すると考えられたが、その程度は限定的であった（17%未満の血漿中曝露量の減少）。

バッチ C1053598（20、50 及び 100 mg/kg/週）のイサツキシマブを投与したサルから採取した ADA 評価用試料はすべて ADA 陰性であったが、有効期限を過ぎたバッチ VAB-LCX1-000004（100 mg/kg/週）のイサツキシマブを投与したサル 6 匹中 4 匹は ADA 陽性であり（サル 4 匹から採取した合計 6 試料が ADA 陽性）、抗体価は 160~320 の範囲であった。

2 種類の臨床製剤（製法 I* 及び申請製法*）を非担がん SCID マウスに単回静脈内投与したときのイサツキシマブ曝露量は同程度であった。さらに、25°C で 3 か月間保存した後、4°C で維持した製剤と常に 4°C で保存した製剤を比較したとき、保存条件の影響は認められなかった。

非臨床安全性試験に適切な動物モデルがないことから、MABEL 法及び *in vitro* 試験より得られた CD38 RO のデータを用いて、FIH 試験の開始用量を推定した。*In vitro* 試験系（腫瘍及び非腫瘍細胞株）及び *in vivo* 試験系（担がん SCID マウス）から得られた MABEL 値、並びに CD38 RO に基づき推定した用量は、0.000005 mg/kg（*in vitro* モデル）~0.2 mg/kg（*in vivo* モデル）の範囲であった。こ

2.6.4 薬物動態試験の概要文 SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

これらのデータを総合して、FIH 試験で推奨されるヒト開始用量は、正常ヒト B 細胞及び T 細胞で測定した CD38 RO の推定値が約 10%に相当する 0.0001 mg/kg と判断した。この用量は、in vivo PK/PD モデルに基づく推定用量である 0.2 mg/kg の 2000 分の 1 であった。腫瘍（SU-DHL-8）消失に必要なイサツキシマブの閾値血漿中濃度（CT）である 128.8 µg/mL を患者で薬理活性を達成するための指針として使用し、FIH 試験（TED10893 試験）では、用量 20 mg/kg（10 mg/kg 及び 20 mg/kg コホート）まで増量した（[Module 2.7.2 の 2.7.1.1 項]及び[Module 2.7.2 の 2.7.4.1 項]）。

11 参考文献

1. Simeoni M, Magni P, Cammia C, De Nicolao G, Croci V, Pesenti E, et al. Predictive pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of tumor growth kinetics in xenograft models after administration of anticancer agents. *Cancer Res.* 2004; 64(3): 1094–101.
2. Rocchetti M, Poggesi I, Germani M, Fiorentini F, Pellizzoni C, Zugnoni P, et al. A pharmacokinetic-pharmacodynamic model for predicting tumour growth inhibition in mice: a useful tool in oncology drug development. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2005; 96(3): 265–8.
3. Rocchetti M, Simeoni M, Pesenti E, De Nicolao G, Poggesi I. Predicting the active doses in humans from animal studies: a novel approach in oncology. *Eur J Cancer.* 2007; 43(12): 1862–8.

12 付録 1

12.1 MABEL の算出

非臨床安全性試験に適切な動物モデルがないことから、患者を対象とした FIH 試験 (TED10893 試験 [Module 2.7.2 の 2.7.1.1 項]) での開始用量を MABEL 法及び *in vitro* で算出した CD38 RO に基づいて選択した。様々な試験系を用いて、*in vitro* 及び *in vivo* MABEL の評価を行った。

イサツキシマブは ADCC、ADCP、CDC 及び直接的アポトーシスなど、複数の生物学的メカニズムを介して *in vitro* で CD38 発現腫瘍細胞を死滅させることができる。したがって、様々な試験系を用いて *in vitro* 活性を測定することにより、イサツキシマブの MABEL を評価した。

各 *in vitro* モデルでは、最大反応の 20% を誘導するのに必要な有効濃度 (EC₂₀ 値) を MABEL と定義し、*in vivo* モデルでは、最小有効量での定常状態におけるトラフ濃度を MABEL と定義した。

開始用量は、すべての *in vitro* 及び *in vivo* データを考慮して決定した。

12.1.1 *In vitro* MABEL 算出

12.1.1.1 ADCC 活性に関する MABEL

イサツキシマブの ADCC 活性を測定するための最も感受性の高い細胞株は Ramos 細胞であった。異なる 5 ロットのイサツキシマブを用い、様々なドナー細胞を用いて 5 回の独立したアッセイを実施した。異なる正常ドナーから得られたナチュラルキラー (NK) エフェクター細胞活性に起因する潜在的な変動を確認するため、複数回の分析を実施した。合計 9 回の分析を実施し、10 倍希釈系列を用いて、イサツキシマブ濃度 0.01 ng/mL ~ 10 µg/mL でそれぞれ用量-反応曲線を作成した (██████████ 試験 [Module 2.6.2 の 2.2.2 項])。ADCC 活性は、精製ヒト NK 細胞存在下、イサツキシマブと 4 時間インキュベーション後の乳酸脱水素酵素の遊離により測定した。各アッセイでヒト IgG アイソタイプ対照抗体を使用して、イサツキシマブによる細胞傷害の抗原特異性を検証した。各アッセイで用量-反応曲線の当てはめを行い、EC₅₀ 及び EC₂₀ 値を算出した (██████████ 試験 [Module 2.6.2 の 2.2.2 項])。Ramos 細胞での EC₅₀ 及び EC₂₀ 値を表 I に示す。

表 I - Ramos 細胞に対する ADCC 活性の EC₅₀ 及び EC₂₀ 値

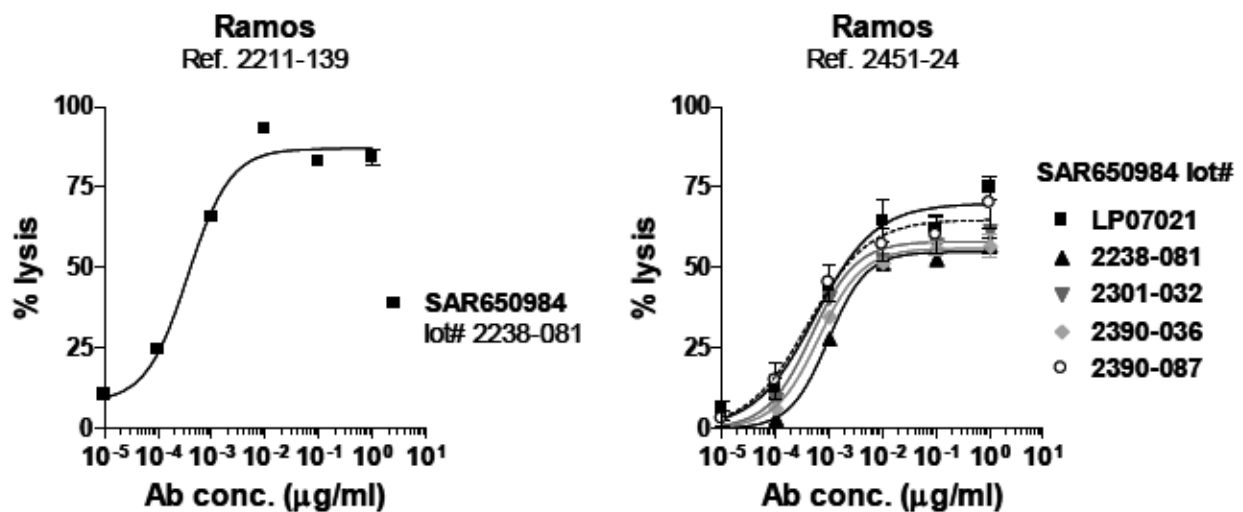
分析 参照番号	イサツキシマブ ロット番号	EC ₅₀		EC ₂₀	
		濃度(ng/mL)	濃度(mol/L)	濃度(ng/mL)	濃度(mol/L)
2451-39	2238-081	1.212	8.08 x10 ⁻¹²	0.296	1.98 x10 ⁻¹²
2211-195	2238-081	0.170	1.13 x10 ⁻¹²	0.049	3.28 x10 ⁻¹³
2211-139	2238-081	0.362	2.41 x10 ⁻¹²	0.102	6.82 x10 ⁻¹³
2211-129	2238-081	0.643	4.28 x10 ⁻¹²	0.128	8.56 x10 ⁻¹³
2451-24	LP07021	0.559	3.73 x10 ⁻¹²	0.093	6.17 x10 ⁻¹³
2451-24	2238-081	0.975	6.50 x10 ⁻¹²	0.310	2.07 x10 ⁻¹²
2451-24	2301-032	0.479	3.19 x10 ⁻¹²	0.126	8.41 x10 ⁻¹³
2451-24	2390-036	0.644	4.29 x10 ⁻¹²	0.174	1.16 x10 ⁻¹²
2451-24	2390-087	0.413	2.76 x10 ⁻¹²	0.069	4.57 x10 ⁻¹³
平均値		0.606	4.04 x10⁻¹²	0.150	9.98 x10⁻¹³
SD		0.319	2.12 x10⁻¹²	0.094	6.28 x10⁻¹³

エフェクター細胞として精製ヒト NK 細胞存在下、合計 9 回の分析で ADCC 活性を測定した。表に示すように、異なるヒトドナー細胞及び異なる 5 ロットのイサツキシマブを用いて、合計 5 回の独立したアッセイを実施した。独立したアッセイで得られた値の変動は、分析時点での細胞密度又は継代数など、標的細胞株の増殖条件の差に起因する可能性が高い。さらに、ADCC 分析の結果は、各アッセイで異なるドナーに由来する NK エフェクター細胞の影響を受けている可能性がある。

略語：ADCC＝抗体依存性細胞傷害、EC₂₀＝最大反応の 20%を誘導するのに必要な有効濃度、EC₅₀＝最大反応の 50%を誘導するのに必要な有効濃度、NK＝ナチュラルキラー、SD＝標準偏差

各用量－反応曲線の個別値及び 9 つの曲線すべての平均値を示す。ng/mL から mol/L への変換では、イサツキシマブの分子量を 150 kDa と仮定した。Ramos 細胞を用いた 2 回のアッセイの典型的な用量－反応曲線を図 I に示す。Ramos 細胞はイサツキシマブによる ADCC 活性に感受性を示し、EC₅₀ 平均値は 0.61 ng/mL、EC₂₀ 平均値は 0.15 ng/mL であった。

図 I - ADCC 活性の用量-反応曲線



略語：ADCC=抗体依存性細胞傷害

12.1.1.2 CDC 活性に関する MABEL

イサツキシマブの CDC 活性を測定するための最も感受性の高い細胞株は DND-41 細胞であった。異なる 5 ロットのイサツキシマブを用いて、5 回の独立したアッセイを実施した。合計 11 回のアッセイを実施し、3 倍希釈系列を用いて、イサツキシマブ濃度 2.3 ng/mL ~ 5 µg/mL でそれぞれ用量-反応曲線を作成した (██████████ 試験 [Module 2.6.2 の 2.2.3 項])。

抗 CD38 抗体の CDC 活性は、Gazzano-Santoro らの方法を改良して測定した(1)。

DND-41 細胞での EC₅₀ 及び EC₂₀ 値を表 II に示す。異なる 5 ロットのイサツキシマブを用いて、5 回の独立したアッセイを実施した。各用量-反応曲線の個別値及び 11 回のアッセイすべての平均値を示す (██████████ 試験 [Module 2.6.2 の 2.2.3 項])。ng/mL から mol/L への変換では、イサツキシマブの分子量を 150 kDa と仮定した。DND-41 細胞を用いたアッセイの典型的な用量-反応曲線の例を図 II に示す。

DND-41 細胞はイサツキシマブによる CDC 活性に感受性を示し、EC₅₀ 平均値は 36.7 ng/mL、EC₂₀ 平均値は 19.1 ng/mL であった。

表 II - DND-41 腫瘍細胞株に対する CDC 活性の EC₅₀ 及び EC₂₀ 値

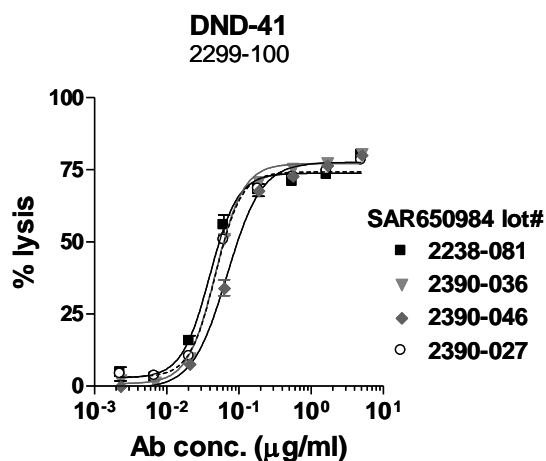
分析参照番号	イサツキシマブ ロット番号	EC ₅₀		EC ₂₀	
		濃度(ng/mL)	濃度[mol/L]	濃度(ng/mL)	濃度[mol/L]
2299-37	2238-081	15.66	1.04 x10 ⁻¹⁰	7.18	4.79 x10 ⁻¹¹
2299-45	2238-081	16.34	1.09 x10 ⁻¹⁰	10.52	7.01 x10 ⁻¹¹
2299-90	2238-081	24.05	1.60 x10 ⁻¹⁰	11.97	7.98 x10 ⁻¹¹
2299-90	2390-027	31.19	2.08 x10 ⁻¹⁰	18.60	1.24 x10 ⁻¹⁰
2299-90	2390-001	21.29	1.42 x10 ⁻¹⁰	10.54	7.03 x10 ⁻¹¹
2299-100	2238-081	39.63	2.64 x10 ⁻¹⁰	21.35	1.42 x10 ⁻¹⁰
2299-100	2390-036	47.49	3.17 x10 ⁻¹⁰	25.67	1.71 x10 ⁻¹⁰
2299-100	2390-046	68.56	4.57 x10 ⁻¹⁰	31.96	2.13 x10 ⁻¹⁰
2299-100	2390-027	47.54	3.17 x10 ⁻¹⁰	26.78	1.79 x10 ⁻¹⁰
2299-100	2390-001	66.02	4.40 x10 ⁻¹⁰	33.08	2.21 x10 ⁻¹⁰
2299-176	2238-081	25.61	1.71 x10 ⁻¹⁰	12.18	8.12 x10 ⁻¹¹
平均値		36.67	2.44 x10 ⁻¹⁰	19.08	1.27 x10 ⁻¹⁰
SD		18.78	1.25 x10 ⁻¹⁰	9.25	6.17 x10 ⁻¹¹

CDC 活性はヒト補体存在下、合計 11 回の分析で測定した。表に示すように、異なる 5 ロットのイサツキシマブを用いて、合計 5 回の独立したアッセイを実施した。

独立したアッセイで得られた値の変動は、分析時点での細胞密度又は継代数など、標的細胞株の増殖条件の差に起因する可能性が高い。

略語：CDC＝補体依存性細胞傷害、EC₂₀＝最大反応の 20%を誘導するのに必要な有効濃度、EC₅₀＝最大反応の 50%を誘導するのに必要な有効濃度、SD＝標準偏差

図 II - CDC 活性の用量－反応曲線の典型例



略語：CDC＝補体依存性細胞傷害

12.1.1.3 アポトーシス促進活性に関する MABEL

イサツキシマブのアポトーシス促進活性を測定するための最も感受性の高い2種類の細胞株は、SU-DHL-8及びDND-41細胞であった。全体として、各細胞株につき用量範囲を拡大して1回の試験を実施し、イサツキシマブ濃度 0.01 ng/mL～10 µg/mL（10倍希釈系列）を用いて、インキュベーション時間 24時間で用量-反応曲線を作成した（XXXXXXXXXX試験 [Module 2.6.2の2.2.4項]）。

フルオレセインイソチオシアネート標識 Annexin-Vで染色後、フローサイトメトリー法によりアポトーシスの程度を測定した。片対数グラフを用いて、二重測定試料の平均値として、Annexin-V陽性細胞の割合をイサツキシマブ濃度に対してプロットした（図 III）。用量-反応曲線から EC₅₀及び EC₂₀値を算出した（表 III）。

図 III - アポトーシス促進活性の用量-反応曲線

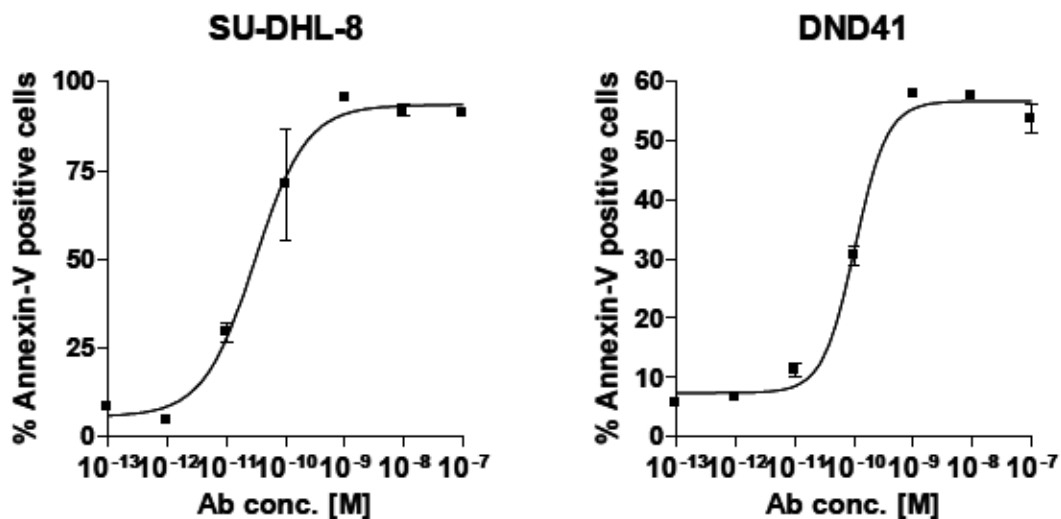


表 III - アポトーシス促進活性の EC₅₀ 及び EC₂₀ 値

細胞株	SU-DHL-8		DND-41	
	値	濃度	値	濃度
	(ng/mL)	[mol/L]	(ng/mL)	[mol/L]
EC ₅₀	4.545	3.03 x10 ⁻¹¹	15.675	1.05 x10 ⁻¹⁰
EC ₂₀	1.131	7.54 x10 ⁻¹²	6.569	4.38 x10 ⁻¹¹

略語：EC₂₀=最大反応の20%を誘導するのに必要な有効濃度、EC₅₀=最大反応の50%を誘導するのに必要な有効濃度

2.6.4 薬物動態試験の概要文 SAR650984 - イサツキシマブ (遺伝子組換え)

SU-DHL-8 細胞はイサツキシマブ処理に対して最も高い感受性を示し、EC₅₀ 値は 4.5 ng/mL、EC₂₀ 値は 1.1 ng/mL であった (████████ 試験 [Module 2.6.2 の 2.2.4 項])。この細胞株でのアポトーシス細胞の最大割合は 93% に増加した。In vivo MABEL 算出用にこの細胞株を選択した。

DND-41 細胞はイサツキシマブ処理に対して SU-DHL-8 細胞よりわずかに低い感受性を示し、EC₅₀ 値は 15.7 ng/mL、EC₂₀ 値は 6.6 ng/mL であった。この細胞株でのアポトーシス細胞の最大割合は 57% に増加した。

12.1.2 In vivo MABEL 算出

12.1.2.1 PK/PD 評価

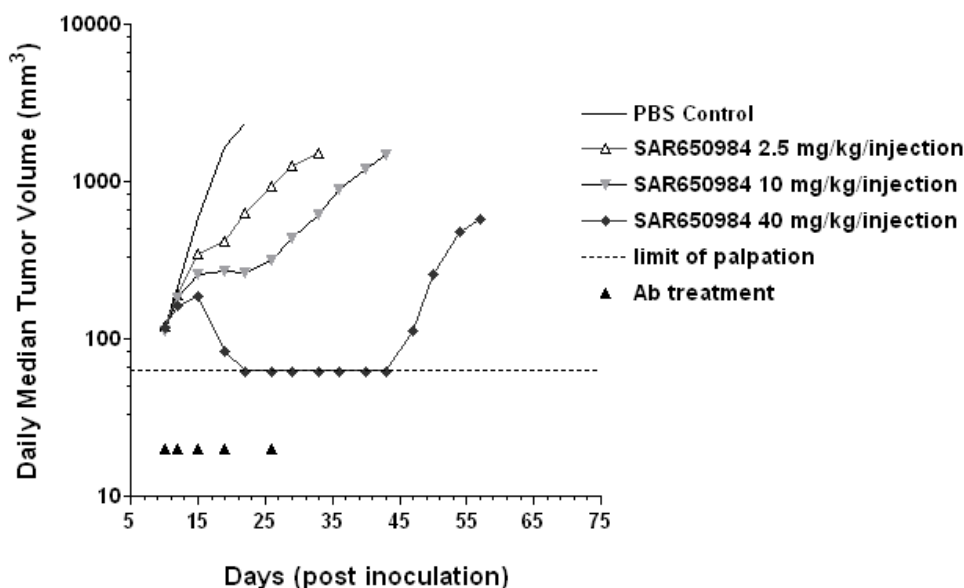
SU-DHL-8 細胞を移植した SCID マウスを用いて PK/PD 試験を実施し、in vivo での抗腫瘍効果に必要なイサツキシマブの最小有効濃度を推定した (POH0252 試験 [Module 2.6.5.3 D])。

試験デザインは以下のとおりである。担がんマウスを 4 つの投与群、すなわち、対照としての溶媒 (PBS) 投与群及びイサツキシマブ 2.5、10、40 mg/kg 投与群に分割し、5 回投与した。最低用量 (2.5 mg/kg) は無効量又は最小有効量を得るために選択した。更に詳細に説明すると、腫瘍細胞接種 10 日後にマウスを腫瘍体積別に 4 つの群 (n=9) に無作為割付けした。各群あたり 9 匹のマウスに 5 回 (腫瘍移植後 11、14、18、21 及び 26 日目)、イサツキシマブを短時間注入により静脈内投与した。初回及び最終 (5 回目) イサツキシマブ投与後の指定された時点で血液試料を採取した (████████ 試験 [Module 2.6.2 の 2.4.2.1 項])。

モデル化は、最初に単回静脈内投与試験から PK モデル構造を決定した後、最初の段階で推定したパラメータを用いて反復投与データの当てはめを行うという逐次アプローチに基づいて実施した。したがって、非担がん SCID マウスを用いた単回静脈内投与 (10 mg/kg) PK 試験を最初に評価した (POH0252 試験 [Module 2.6.5.3 C])。薬力学的エンドポイントは、in vivo 有効性モデルでの最小有効濃度と定義した。この最小有効濃度を in vitro での薬理学的有効濃度と比較することにより、FIH 試験の裏付けとなる MABEL を算出した。エンドポイントは、経験的に最小有効量で認められた定常状態における最低血漿中濃度 (C_{ss min}) として決定した。

各投与群の腫瘍体積中央値を計算し、得られた結果を接種後日数に対して片対数プロットしたところ (図 IV)、明確な用量-反応関係が明らかになった。検討したすべての用量でイサツキシマブは活性を示し、log cell kill total は、40、10 及び 2.5 mg/kg 投与群でそれぞれ、4.9、2.6 及び 1.2 であった (log cell kill 値 0.7 以上である場合、活性ありとみなした) (████████ 試験 [Module 2.6.2 の 2.4.2.1 項])。

図 IV - PK 試験における腫瘍体積中央値



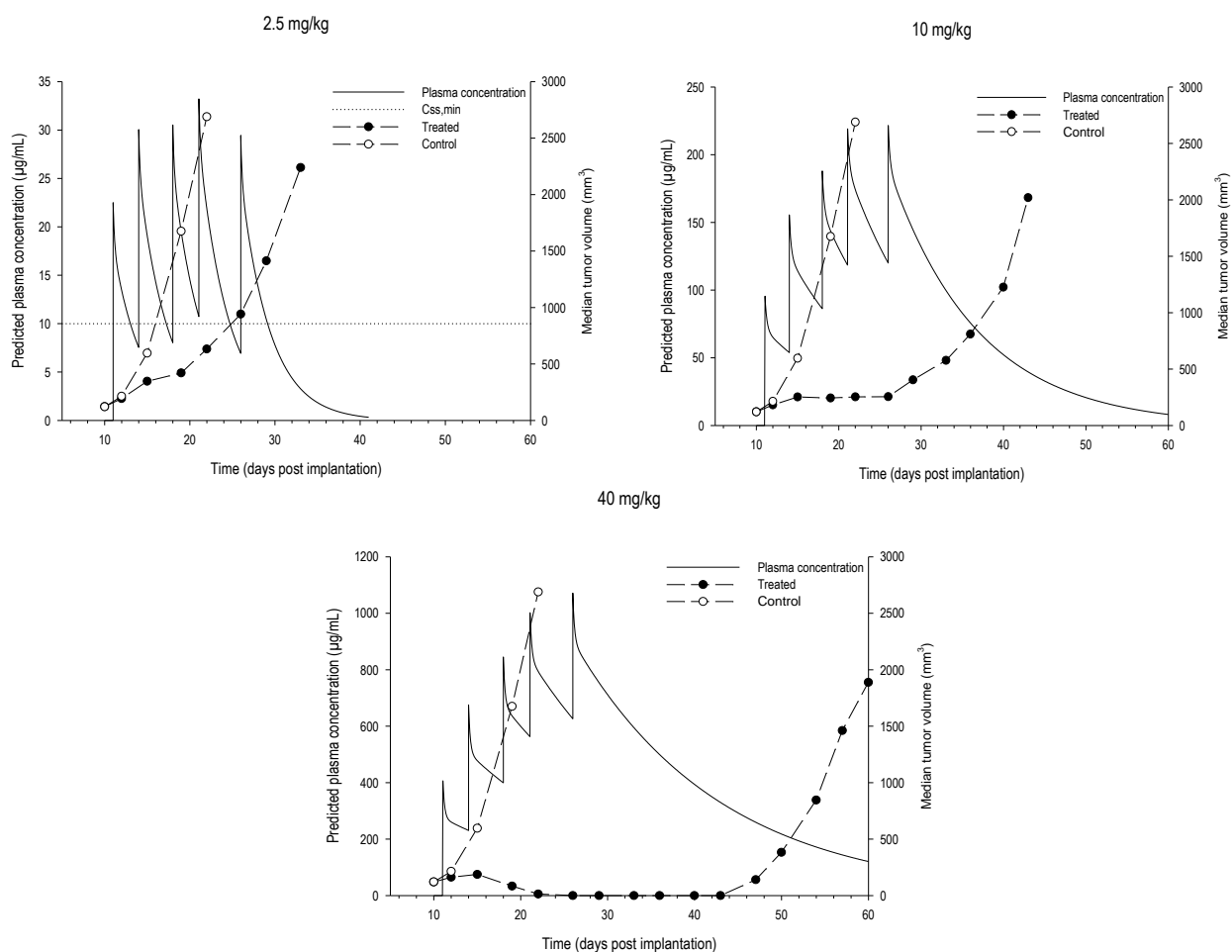
PK 結果に関して、一次消失過程を伴う 2-コンパートメントモデルを選択し、 $1/y^2$ 重み付け法を用いて非担がん SCID マウスで得られたデータの当てはめを行った。このモデルによるデータ当てはめは良好であり、モデル主要パラメータの精度 (CV%) は妥当で、系統的偏りはなく、重み付き残差は時間を通して不規則に分散していた。次に、非担がんマウスで得られたパラメータを初期パラメータ推定値として、前述の PK モデルを用いて担がんマウスで得られたデータの当てはめを行った。すべての用量群で、このモデルはデータに十分適合し、 V_1 及び CL の精度 (CV%) は妥当で、系統的偏りはなく、重み付き残差は時間を通して不規則に分散していた。

非担がんマウスに用量 10 mg/kg を単回静脈内投与及び担がんマウスに用量 2.5、10、40 mg/kg を反復静脈内投与したときのイサツキシマブの PK パラメータを 3 項に示す。

最小有効量 (2.5 mg/kg) での定常状態におけるトラフ濃度 ($C_{ss\ min}$) は約 10 $\mu\text{g/mL}$ であり、この値をこの *in vivo* 有効性モデルでの MABEL として定義した (図 V)。これらのデータから、血漿中濃度が 100~200 $\mu\text{g/mL}$ の高い範囲にある場合、腫瘍増殖抑制効果が持続されることが示唆された。

2.6.4 薬物動態試験の概要文
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

図 V - イサツキシマブを反復静脈内ポーラス投与したときに予測される血漿中濃度及び腫瘍体積



12.1.2.2 マウスからヒトへの有効用量の外挿

ヒトに反復静脈内投与したとき、マウス *in vivo* 有効性モデルで得られた最小有効濃度に等しい定常状態における血漿中濃度、すなわち、 $C_{ss,min}$ を得るために必要な用量は以下のように算出した。

静脈内投与での F を 1 と仮定して、式 $C_{ss,min} = \frac{F \cdot Dose \cdot e^{-k\tau}}{V_d(1-e^{-k\tau})}$ から $Dose = \frac{C_{ss,min} \cdot V_d \cdot (1-e^{-k\tau})}{e^{-k\tau}}$ を導き出

した。

以下の仮定に基づいて、この式から用量を算出した。

- IgG1 の分布容積 (V_d) は血漿容量、すなわち、2.5 L に等しい
- k は次の式から求める。 $k = \frac{\ln(2)}{t_{1/2}}$

2.6.4 薬物動態試験の概要文
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

- $C_{ss\ min}$ は SCID マウスを用いて実施した PK/PD 試験で有意な腫瘍体積の減少を示した 2.5 mg/kg 群から得られる。反復投与後の $C_{ss\ min}$ は 10 $\mu\text{g/mL}$ と推定された（9.1.2 項）。

これらの仮定、並びに IgG1 で通常報告されている $t_{1/2}$ （最終相の消失半減期）及び τ （投与間隔）の範囲を用いて、表 IV に示すように、典型的な体重 70 kg の患者の用量（mg/kg）を算出することができる。

表 IV - 半減期及び投与間隔から予測した典型的な体重 70 kg の患者での用量

投与間隔（日）	$t_{1/2}$ （日）						
	10	12	15	18	21	25	28
7	0.22	0.18	0.14	0.11	0.09	0.08	0.07
14	0.59	0.44	0.32	0.26	0.21	0.17	0.15
21	1.17	0.84	0.59	0.44	0.36	0.28	0.24
28	2.13	1.44	0.95	0.69	0.54	0.42	0.36

単位：mg/kg

略語： $t_{1/2}$ = 最終相の消失半減期

典型的な消失半減期を 21 日、投与間隔を 2 週間と仮定して、10 $\mu\text{g/mL}$ の $C_{ss\ min}$ を得るために必要なヒト用量は 0.2 mg/kg（表中の 0.21 mg/kg を四捨五入した値）と考えられる。

12.1.3 MABEL 及び標的分子の占有率

12.1.3.1 理論的な標的分子の占有率

CD38 RO 推定の枠組みとして、一般的 TMDD モデルの汎用性及び機構的性質を利用した。 K_D 、総標的分子（CD38 結合部位）濃度（ $T_{a\ tot}$ ）及び総イサツキシマブ濃度（ Ab_{tot} ）の組合せに対して、以下の式より CD38 RO を算出することができる(2)。ただし、総イサツキシマブ濃度はイサツキシマブ投与量の関数として表される。

$$RO = \frac{K_D + Ab_{tot} + Ta_{tot} - \sqrt{(-K_D - Ab_{tot} - Ta_{tot})^2 - 4 \cdot Ab_{tot} \cdot Ta_{tot}}}{2 \cdot Ta_{tot}} \quad (\text{式 1})$$

血漿に曝露された $T_{a\ tot}$ (nmol/L) は以下のように算出される。

$$T_{a\ tot} = (\text{血液 1 L あたりの CD38 総結合部位数} \times 10^9) \times (\text{血液容積/血漿容積}) / N_A \quad (\text{式 2})$$

ここで、 N_A はアボガドロ定数である。

表 V に示した値から標的分子の総濃度（血液 1 L あたりの標的分子の総発現量）を計算する。

表 V - 標的分子（CD38）の総濃度の算出

	血液 1 L あたりの 細胞数	sABC *	血液 1 L あたりの 標的分子の結合部位数
T4 細胞	1.10 x10 ⁹	2879	3.17 x10 ¹²
T8 細胞	6.50 x10 ⁸	1195	7.77 x10 ¹¹
B 細胞	3.91 x10 ⁸	2778	1.09 x10 ¹²
PMN	3.20 x10 ⁹	1500	4.80 x10 ¹²
単球	3.40 x10 ⁸	9840	3.35 x10 ¹²
血液 1 L あたりの標的 分子の総結合部位数 (標的分子の総濃度)			1.32 x10¹³

*: DMD0308 試験 [Module 4.2.2.1-5]

略語：PMN＝多形核好中球、sABC＝特異的抗体結合能

$$Ta_{tot} = (1.32 \times 10^{13} \times 10^9) \times (5 / 2.5) / (6.023 \times 10^{23}) = 0.045 \text{ nmol/L} \quad (\text{式 3})$$

K_D を 2.1×10⁻¹⁰ mol/L、分子量を 150 kDa と仮定したときの、CD38 RO と血漿中濃度の関係の概要を 9.1.3.2 項及び 9.1.4 項に示す。

これらの血漿中濃度に対応するヒト用量は、分布容積が血漿容量、すなわち、2.5 L（体重 70 kg の患者の場合）に等しいと仮定して、簡易式：投与量（mg/kg）＝濃度（μg/mL）×V_d（L/kg）を用いて概算した。

12.1.3.2 ヒト腫瘍細胞株及び正常ヒト血液細胞で測定したイサツキシマブによる標的分子の占有率

定量的フローサイトメトリー法を用いて、数種の in vitro 試験系で CD38 RO を測定し（DMD0308 試験 [Module 4.2.2.1-5]）、MABEL と CD38 RO の関係を評価した。

SU-DHL-8（NHL 細胞株）、Daudi（NHL 細胞株）、DND-41（白血病細胞株）、LP-1（多発性骨髄腫細胞株）上の CD38 RO を、非臨床モデルで使用した濃度を含む濃度（0.005～20 μg/mL）で 37°C、30 分間インキュベートした後、評価した。

CD38 RO は規格化した値（%）を表示した（表 VI 及び表 VII）。

CD38 を十分に発現する細胞株で実施したこれらの分析に加えて、細胞当たりの CD38 数が少ない非がん患者由来の正常ヒト単核細胞上の CD38 RO についても、腫瘍細胞株と同じ条件を用いて測定した（9.1.3 項及び表 VII 参照）。

2.6.4 薬物動態試験の概要文
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

表 VI - ヒト腫瘍細胞株における標的分子（CD38）の発現量及びイサツキシマブによる標的分子の占有に
対する EC₂₀、EC₅₀ 及び EC₉₀

	Daudi	DND-41	LP-1	SU-DHL-8
標的分子発現量（mAb1 を用いた sABC より算出）	169890	300489	172393	104187
EC ₂₀ (µg/mL) ^a	0.114	0.063	0.189	0.053
EC ₅₀ (µg/mL) ^a	0.267	0.343	0.332	0.114
EC ₉₀ (µg/mL) ^a	1.037	2.381	0.754	0.311

DMD0308 試験 [Module 4.2.2.1-5]

略語：EC₂₀、EC₅₀、EC₉₀=最大反応の 20、50 又は 90%を誘導するのに必要な有効濃度、mAb=モノクローナル抗体、sABC=特異的抗体結合能

a 規格化した標的分子占有率を基に算出した値を表示

表 VII - 正常ヒト単核細胞における標的分子（CD38）の発現量及びイサツキシマブによる標的分子の占有
に対する EC₂₀、EC₅₀ 及び EC₉₀

	T4 細胞	T8 細胞	B 細胞	単球
標的分子発現量（mAb1 を用いた sABC より算出）	2879	1195	2778	9840
EC ₂₀ (µg/mL) ^a	0.004	0.010	0.016	0.010
EC ₅₀ (µg/mL) ^a	0.024	0.019	0.020	0.027
EC ₉₀ (µg/mL) ^a	0.755	0.043	0.035	0.080 ^b

DMD0308 試験 [Module 4.2.2.1-5]

略語：EC₂₀、EC₅₀、EC₉₀=最大反応の 20、50 又は 90%を誘導するのに必要な有効濃度、mAb=モノクローナル抗体、sABC=特異的抗体結合能

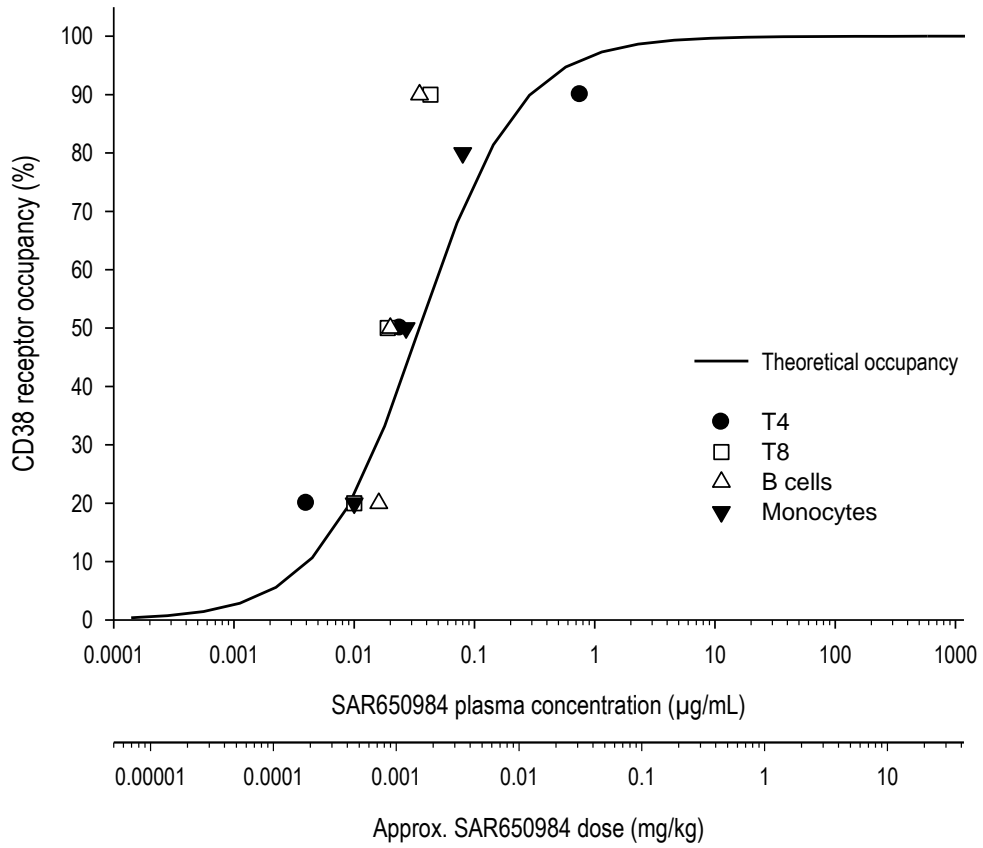
a 規格化した標的分子占有率を基に算出した値を表示

b EC₉₀ではなく EC₈₀

正常 B 細胞及び T 細胞で実験的に得られた規格化した CD38 RO より算出した EC₂₀、EC₅₀ 及び EC₉₀測定値と理論的な CD38 RO を比較してプロットした（図 VI）。実験で得られた CD38 RO の実測値は、TMDD 式を用いて算出した理論値と合致していた。

2.6.4 薬物動態試験の概要文
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

図 VI - 正常 B 細胞、T 細胞及び単核細胞上の標的分子占有率の理論値及び測定値の比較



12.2 付録 1 の参考文献

1. Gazzano-Santoro H, Ralph P, Ryskamp TC, Chen AB, Mukku VR. A non-radioactive complement-dependent cytotoxicity assay for anti-CD20 monoclonal antibody. *J Immunol Methods*. 1997; 202(2): 163-71.
2. Muller PY, Brennan FR. Safety assessment and dose selection for first-in-human clinical trials with immunomodulatory monoclonal antibodies. *Clin Pharmacol Ther*. 2009; 85(3): 247–58.



サノフィ株式会社

サークリサ点滴静注 100mg／同点滴静注 500mg

CTD 第二部 – 非臨床概要

2.6.5 薬物動態試験概要表

Total number of pages: 29

目 次

2.6.5 薬物動態試験概要表.....	1
目 次.....	2
図 表 目 次.....	4
略号と用語の定義.....	5
1 薬物動態試験一覧表.....	7
2 薬物動態試験－分析法及びバリデーション試験.....	9
3 薬物動態試験－単回投与後の吸収.....	10
4 薬物動態試験－反復投与後の吸収.....	18
5 薬物動態試験－分布.....	19
6 薬物動態試験－たん白結合.....	20
7 薬物動態試験－妊娠または授乳動物における試験.....	21
8 薬物動態試験－その他の分布試験.....	22
9 薬物動態試験－In Vivo における代謝.....	23
10 薬物動態試験－In Vitro における代謝.....	24
11 薬物動態試験－推定代謝経路.....	25
12 薬物動態試験－薬物代謝酵素の誘導/阻害.....	26
13 薬物動態試験－累積排泄.....	27
14 薬物動態試験－胆汁中排泄.....	28

2.6.5 薬物動態試験概要表
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

15	薬物動態試験－薬物相互作用.....	29
----	--------------------	----

図 表 目 次

表 2.6.5.1 - 薬物動態試験一覧表	7
表 2.6.5.2 - 薬物動態試験－分析法及びバリデーション試験	9
表 2.6.5.3 A - 薬物動態試験－非担がん SCID マウスにおける単回投与後の薬物動態（製剤間での比較）	10
表 2.6.5.3 B - 薬物動態試験－非担がん SCID マウスにおける単回投与後の薬物動態（異なる保存条件間での比較）	12
表 2.6.5.3 C - 薬物動態試験－非担がん SCID マウスにおける単回投与後の薬物動態	14
表 2.6.5.3 D - 薬物動態試験－担がん SCID マウスにおける反復投与後の薬物動態.....	15
表 2.6.5.3 E - 薬物動態試験－非担がん及び担がん SCID マウスにおける薬物動態データを併合して実施した母集団 PK/PD 解析	16

略号と用語の定義

ADA:	anti-drug antibody / 抗薬物抗体、抗イサツキシマブ抗体
AUC:	area under the plasma concentration-time curve extrapolated to infinity / 無限大時間まで外挿した血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC _{0-49d} :	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to Day 49 / 時間 0 から 49 日までの血漿中濃度-時間曲線下面積
BSA:	bovine serum albumin / ウシ血清アルブミン
C ₀ :	extrapolated concentration at time 0 after IV bolus administration / 静脈内ボラス投与したときに外挿した時間 0 における血漿中濃度
██████:	██████, ██████, ██████ / ██████, ██████, ██████
██████:	██████, ██████, ██████ / ██████, ██████, ██████
CD38:	cluster of differentiation 38 / 分化抗原群 38
CI:	confidence interval / 信頼区間
CL:	total body clearance / 全身クリアランス
C _{max} :	maximum plasma concentration / 最高血漿中濃度
ELISA:	enzyme-linked immunosorbent assay / 酵素結合免疫吸着測定法
GLP:	good laboratory practice / 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
IV:	intravenous / 静脈内
k ₂ :	measure of drug potency / 薬効強度を示す係数
K _m :	Michaelis-Menten constant / ミカエリス定数
mAb:	monoclonal antibody / モノクローナル抗体
PandA:	polyethylene glycol precipitation and acidification / ポリエチレングリコール沈殿及び酸性化
PEG:	polyethylene glycol / ポリエチレングリコール
PD:	pharmacodynamic(s) / 薬力学
PK:	pharmacokinetic(s) / 薬物動態
Q:	intercompartmental clearance / コンパートメント間での移行クリアランス
SCID:	severe combined immunodeficiency / 重症複合型免疫不全症
t _{1/2z} :	terminal half-life / 最終相での消失半減期
TBS:	Tris-buffered saline / トリス緩衝生理食塩水
V ₁ :	central volume of distribution / 中心コンパートメントの分布容積

2.6.5 薬物動態試験概要表

SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

V_2 :	peripheral volume of distribution / 末梢コンパートメントの分布容積
V_{ss} :	volume of distribution at steady state / 定常状態での分布容積
W_0 :	tumor weight at the inoculation time ($t=0$) / 腫瘍移植時点における腫瘍体積
λ_0 :	rate of exponential growth / 指数増殖の速度定数
λ_1 :	rate of linear growth / 線形増殖の速度定数
ω :	interindividual variability / 個体間変動
ω_{CL} :	interindividual variability for CL / クリアランスの個体間変動
ω_{K_m} :	interindividual variability for K_m / ミカエリス定数の個体間変動
ω_{V_2} :	interindividual variability for V_2 / 末梢コンパートメントの分布容積の個体間変動
$\omega_{V_{max}}$:	interindividual variability for V_{max} / 非線形性クリアランスの最大速度の個体間変動
σ_a :	residual variability for additive part / 残差変動の付加誤差
σ_p :	residual variability for proportional part / 残差変動の比例誤差

1 薬物動態試験一覧表

表 2.6.5.1 - 薬物動態試験一覧表

Test Article: isatuximab					
Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	Location
Absorption					
No specific absorption studies were conducted	NA	NA	NA	NA	
Distribution					
No specific distribution studies with radiolabelled Isatuximab were conducted	NA	NA	NA	NA	
Metabolism					
No specific metabolism studies were conducted	NA	NA	NA	NA	
Elimination and excretion					
No specific elimination and excretion studies were conducted	NA	NA	NA	NA	
Drug interactions					
No specific drug interaction studies were conducted	NA	NA	NA	NA	
Other pharmacokinetic studies					
PK of clinical drug products	Mouse (SCID) - female	IV, single dose	sanofi recherche & développement, Alfortville, France	DPK0244	[Module 4.2.2.7-1]
PK of clinical drug products stored under different conditions	Mouse (SCID) - female	IV, single dose	sanofi recherche & développement, Alfortville, France	ABS0709	[Module 4.2.2.7-2]

2.6.5 薬物動態試験概要表

SAR650984 - イサツキシマブ (遺伝子組換え)

Test Article: isatuximab					
Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	Location
PK, single dose	Analysis using data from ██████████ (Mouse (SCID, non-tumor-bearing) – female)	Analysis using data from ██████████ (IV, single dose)	sanofi recherche & développement, Alfortville, France	POH0252	[Module 4.2.2.7-3]
PK and PD, repeated dose	Analysis using data from ██████████ (Mouse (SCID, tumor-bearing) – female)	Analysis using data from ██████████ (IV, repeated doses)	sanofi recherche & développement, Alfortville, France	POH0252	[Module 4.2.2.7-3]
Population PK/PD	Analysis using data from ██████████ and ██████████ (Mouse (SCID, non-tumor-bearing and tumor-bearing, respectively))	Analysis using data from ██████████ and ██████████ (IV, single and repeated doses, respectively)	sanofi recherche & développement, Chilly-Mazarin, France	POH0214	[Module 4.2.2.7-4]

Abbreviations: IV: intravenous; NA: Not Applicable; PD: pharmacodynamics; PK: pharmacokinetics; SCID: severe combined immunodeficient.

2 薬物動態試験－分析法及びバリデーション試験

表 2.6.5.2 - 薬物動態試験－分析法及びバリデーション試験

Test article: isatuximab					
Type of study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	Location
Methods of analysis: Quantitative Assay - Compound					
ELISA (Immunoassay using Gyrolab xP platform) – SAR650984 (Isatuximab, anti-CD38 mAb)	Monkey plasma	NA	sanofi recherche & développement, Alfortville, France	DOS1712	[Module 4.2.2.1-1]
ELISA (Electrochemiluminescence immunoassay with PEG Precipitation and Acidification (Panda)) – anti-SAR650984 antibodies (ADA)	Monkey plasma	NA	sanofi recherche & développement, Alfortville, France	DOS1711	[Module 4.2.2.1-2]
ELISA (direct ELISA on recombinant Human CD38-Fc) – SAR650984 (Bioanalytical Report)	Plasma from tumor-bearing SCID mice	NA	██████████ ██████████ ██████████, USA	██████████	[Module 4.2.2.1-3]
ELISA (direct ELISA on recombinant Human CD38-Fc) – SAR650984 (Bioanalytical Report)	Plasma from non-tumor bearing SCID mice	NA	██████████ ██████████ ██████████, USA	██████████	[Module 4.2.2.1-4]
Flow Cytometry assay to determine CD38 receptor density and occupancy by isatuximab - SAR650984	In vitro cell lines (tumor cell lines and human B and T cells from human whole blood)	NA	sanofi recherche & développement, Alfortville, France	DMD0308	[Module 4.2.2.1-5]
ELISA method optimisation (for PK of phase I and II clinical batches)	Mouse (SCID) - female	NA	sanofi recherche & développement, Alfortville, France	DPK0244	[Module 4.2.2.7-1]

Abbreviations: ADA: anti-drug antibodies; CD38: cluster of differentiation 38; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; GLP: Good Laboratory Practices; mAb: monoclonal antibody; NA: not applicable; PEG: Polyethylene Glycol; SCID: severe combined immunodeficiency.

3 薬物動態試験－単回投与後の吸収

表 2.6.5.3 A - 薬物動態試験－非担がん SCID マウスにおける単回投与後の薬物動態 (製剤間での比較)

Species (strain)	Mouse (SCID)	
Study no.	DPK0244 [Module 4.2.2.7-1]	
No. of animals	40	
Feeding conditions	Not fasted, free access to food	
Test article	Isatuximab	
Vehicle/formulation	Drug Product 製法 I *: ██████████ ██████████ pH ███	Drug Product 申請製法*: 20 mM Histidine, 10% (w/V) sucrose, 0.02% (w/V) polysorbate 80, pH 6.0
Method of administration	IV (bolus)	
Dose (mg/kg)/dose regimen	40, single dose	
Sample/sampling times	Plasma (composite sampling, n=5 animals per timepoint) / 0.083, 2, 8, 24, 48, 96, 168, 336, 504, 672, 840 and 1176 hours (0.003, 0.083, 0.33, 1, 2, 4, 7, 14, 21, 28, 35 and 49 days) post-dose	
Analyte	Isatuximab (SAR650984)	
Analytical method	ELISA	
Gender	F	
PK parameters:	製法 I *	申請製法*
C ₀ (µg/mL)	781	762
AUC _{0-49d} (µg.day/mL)	10100	9370
AUC (µg.day/mL)	13900	11900
t _{1/2z} (days)	25.5	23.5
CL (mL/day)	0.0662	0.0759
C _{max} Ratio ^a (Estimate [90% CI])	0.98 [0.82 to 1.15]	

2.6.5 薬物動態試験概要表

SAR650984 - イサツキシマブ (遺伝子組換え)

Species (strain)	Mouse (SCID)
AUC _{0-49d} Ratio ^a (Estimate [90% CI])	0.93 [0.87 to 1.00]
Additional information: PK parameter values were determined by noncompartmental analysis and are rounded to 3 significant figures	

Abbreviations: AUC: area under the concentration-time curve extrapolated to infinity; AUC_{0-49d}: area under the concentration-time curve from time zero to Day 49; C₀: extrapolated concentration at time 0 after IV bolus administration; 製法 I *: ■■■■, ■■■■, ■■■■ (■ mg/mL concentrate for solution for infusion diluted to 4 mg/mL); 申請製法*: ■■■■, ■■■■, ■■■■ (20 mg/mL concentrate for solution for infusion diluted to 4 mg/mL); CI: confidence interval; CL: clearance; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; F: female; IV: intravenous; NA: not applicable; PK: pharmacokinetic; SCID: severe combined immunodeficiency; t_{1/2z}: terminal half-life.

製法 I *: ■ mg/mL concentrate for solution for infusion (■■■■, ■■■■), 申請製法*: 20 mg/mL concentrate for solution for infusion (■■■■, ■■■■)

^a 申請製法* vs 製法 I * comparison. When the estimated 90% CI is included in [0.80, 1.25], the two formulations are considered to be equivalent.

2.6.5 薬物動態試験概要表
SAR650984 - イサツキシマブ (遺伝子組換え)

表 2.6.5.3 B - 薬物動態試験 - 非担がん SCID マウスにおける単回投与後の薬物動態 (異なる保存条件間での比較)

Species (strain)	Mouse (SCID)		
Study no.	ABS0709 [Module 4.2.2.7-2]		
No. of animals	60		
Feeding conditions	Fed		
Test article	Isatuximab		
Vehicle/formulation & storage temperature ^a (°C)	Group 1 Drug Product 製法 I*: [REDACTED] pH [REDACTED] +4°C	Group 2 Drug Product 申請製法*: 20 mM Histidine, 10% (w/V) Sucrose, 0.02% (w/V) Polysorbate 80, pH 6.0 +4°C	Group 3 Drug Product 申請製法*: 20 mM Histidine, 10% (w/V) Sucrose, 0.02% (w/V) Polysorbate 80, pH 6.0 +25°C/+4°C
Method of administration	IV (bolus)		
Dose (mg/kg)/dose regimen	40, single dose		
Sample/sampling times	Plasma (composite sampling, n = 5 animals per timepoint) / 0.083, 2, 8, 24, 48, 96, 168, 336, 504, 672, 840 and 1176 hours (0.003, 0.083, 0.33, 1, 2, 4, 7, 14, 21, 28, 35 and 49 days) post-dose		
Analyte	SAR650984		
Analytical method	ELISA		
Gender	F		
PK parameters:	Group 1	Group 2	Group 3
C ₀ (µg/mL)	962	897	861
AUC _{0-49d} (µg.day/mL)	10600	10300	9970
AUC (µg.day/mL)	14200	16400 ^b	13600
t _{1/2z} (days)	26.0	36.5 ^b	28.3
CL (mL/day)	0.0674	0.0586 ^b	0.0697
V _{ss} (mL)	2.39	2.93 ^b	2.63

2.6.5 薬物動態試験概要表

SAR650984 - イサツキシマブ (遺伝子組換え)

Species (strain)	Mouse (SCID)		
Study no.	ABS0709 [Module 4.2.2.7-2]		
Vehicle/formulation & storage temperature ^a (°C)	Group 1 Drug Product 製法 I *: [REDACTED] [REDACTED] pH [REDACTED] +4°C	Group 2 Drug Product 申請製法*: 20 mM Histidine, 10% (w/V) Sucrose, 0.02% (w/V) Polysorbate 80, pH 6.0 +4°C	Group 3 Drug Product 申請製法*: 20 mM Histidine, 10% (w/V) Sucrose, 0.02% (w/V) Polysorbate 80, pH 6.0 +25°C/+4°C
Dose (mg/kg)/dose regimen	40, single dose		
Comparison : Group 2 vs Group 1			
C_{max} Ratio (Estimate (90% CI))	NA	0.93 [0.86, 1.01]	NA
AUC _{0-49d} Ratio (Estimate (90% CI))	NA	0.97 [0.93, 1.01]	NA
Comparison : Group 3 vs Group 1			
C_{max} Ratio (Estimate (90% CI))	NA	NA	0.90 [0.80, 1.00]
AUC _{0-49d} Ratio (Estimate (90% CI))	NA	NA	0.94 [0.89, 0.99]
Comparison : Group 3 vs Group 2			
C_{max} Ratio (Estimate (90% CI))	NA	NA	0.96 [0.86, 1.06]
AUC _{0-49d} Ratio (Estimate (90% CI))	NA	NA	0.97 [0.92, 1.01]
Additional information: PK parameter values were determined by noncompartmental analysis and are rounded to 3 significant figures			

AUC: area under the concentration-time curve extrapolated to infinity; AUC_{0-49d}: area under the concentration-time curve from time zero to Day 49; C₀: extrapolated concentration at time 0 after IV bolus administration; 製法 I *: [REDACTED] (4 mg/mL concentrate for solution for infusion diluted to 4 mg/mL); 申請製法*: [REDACTED] (20 mg/mL concentrate for solution for infusion diluted to 4 mg/mL); CI: confidence interval (when the estimated 90% confidence interval is included in [0.80, 1.25], the two batches being compared are considered to be equivalent); CL: clearance; F: female; IV: intravenous; NA: not applicable; PK: pharmacokinetic; SCID: severe combined immunodeficiency; t_{1/2z}: terminal half-life; V_{ss}: volume of distribution at steady state.

a 製法 I * maintained at +4°C (Group 1), 申請製法* maintained at +4°C (Group 2), 申請製法* stored at +25°C (3 months) then maintained at +4°C (Group 3).

b Indicative values only, as % AUC extrapolated (AUC_{ext}) was >30% (37%).

2.6.5 薬物動態試験概要表
SAR650984 - イサツキシマブ (遺伝子組換え)

表 2.6.5.3 C - 薬物動態試験 – 非担がん SCID マウスにおける単回投与後の薬物動態

Species (strain)	Mouse (CB.17 SCID)
Study no.	POH0252 [Module 4.2.2.7-3] (in-life information and concentration-time data for PK analysis are from Bioanalytical Report [REDACTED] [Module 4.2.2.1-4])
No. of animals	9
Feeding conditions	Not documented
Test article	Isatuximab
Vehicle/formulation	1% BSA/TBS (製法 I * drug product)
Method of administration	IV bolus injection
Dose (mg/kg)	10
Sample/sampling times	Plasma (composite sampling, n = 3 animals per timepoint) / 0.03, 0.5, 2, 4 and 8 hours, then 1, 2, 3, 6, 9, 13, 17, 22, 34, 41 and 48 days post-dose
Analyte	isatuximab
Analytical method	ELISA
Gender	F
PK parameters:	
C_{max} (µg/mL)	117
AUC (days*µg/mL)	1240
$t_{1/2z}$ (days)	14.3
CL (mL/day)	0.161
V_{ss} (mL)	3.27
Additional information:	
	(1) PK parameter values are rounded to 3 significant figures, (2) Actual V_{ss} of SAR650984 may be higher than the value reported here because the compartmental model used for the PK analysis does not take into consideration the possibility of antibodies being eliminated from sites that are not in rapid equilibrium with plasma.

Abbreviations: AUC: area under the concentration-time curve extrapolated to infinity; BSA: bovine serum albumin; 製法 I *: [REDACTED] mg/mL concentrate for solution for infusion diluted to 4 mg/mL); C_{max} : maximum plasma concentration; CL: clearance; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; F: female; IV: intravenous; NA: not applicable; PK: pharmacokinetic; $t_{1/2z}$: terminal half-life; SCID: severe combined immunodeficiency; TBS: Tris-Buffered Saline; V_{ss} : volume of distribution at steady state.

* This study had 5 bi-weekly doses, with the PK results of the first dose presented here (表 2.6.5.3 C) and the 5th dose presented in 表 2.6.5.3 D. Details of the PD methodology and data can be found in Report [REDACTED] [Module 4.2.1.1-22].

2.6.5 薬物動態試験概要表

SAR650984 - イサツキシマブ (遺伝子組換え)

表 2.6.5.3 D - 薬物動態試験 - がん SCID マウスにおける反復投与後の薬物動態

Species (strain)	Mouse (CB.17 SCID mice bearing SU-DHL-8 lymphoma tumors)		
Study no.	POH0252 [Module 4.2.2.7-3] (in-life information and concentration-time data for PK analysis are from Bioanalytical Report [REDACTED] [Module 4.2.2.1-3])		
No. of animals	36 (9 mice/dose group)		
Feeding conditions	Not documented		
Test article	SAR650984		
Vehicle/formulation	1% BSA/TBS (製法 I * drug product)		
Method of administration	IV bolus injection		
Dose (mg/kg)/dose regimen	0, 2.5, 10, and 40 mg/kg / 5 bi-weekly doses administered on Days 11, 14, 18, 21, and 26 days post-tumor cell implantation		
Sample/sampling times	Plasma (composite sampling, n= 3 to 4 animals/timepoint) / at 0.5, 4, 24 and 72 hours after first dose, at 0.5 and 72 hours after third dose, and at 0.5, 4, 24, 72, 168, 240, 336, 504 and 672 hours (0.5 and 4 hours, then 1, 3, 7, 10, 14, 21, and 28 days) after the last (5 th) dose		
Analyte	isatuximab		
Analytical method	ELISA		
Gender	F		
PK parameters after the last (5th) dose:	2.5 mg/kg	10 mg/kg	40 mg/kg
C _{max} (µg/mL)	22.5	102	445
AUC (day*µg/mL)	62.9	774	4690
t _{1/2z} (day)	2.40	7.48	11.7
CL (mL/day)	0.795	0.258	0.171
V _{ss} (mL)	2.72	2.76	2.86
Additional information:			
(1) PK parameter values are rounded to 3 significant figures			
(2) Accumulation index in tumor-bearing mice was estimated using the following equation for extent of accumulation between single dose and plateau: $1/(1 - e^{-kt})$. Based on this approach, the accumulation index was approximately 3 at 10 mg/kg and approximately 4 at 40 mg/kg dose levels.			

Abbreviations: AUC: area under the concentration-time curve extrapolated to infinity; BSA: bovine serum albumin; 製法 I *: [REDACTED] ([REDACTED] mg/mL concentrate for solution for infusion diluted to 4 mg/mL); C_{max}: maximum plasma concentration; CL: clearance; F: female; IV: intravenous; NA: not applicable PK: pharmacokinetic; SCID: severe combined immunodeficiency; t_{1/2z}: terminal half-life; TBS: Tris-Buffered Saline; V_{ss}: volume of distribution at steady state.

This study had 5 bi-weekly doses, with the PK results of the first dose presented in 表 2.6.5.3 C and the 5th dose presented here (表 2.6.5.3 D). Details of the PD methodology and data can be found in Report [REDACTED] [Module 4.2.1.1-22].

2.6.5 薬物動態試験概要表
SAR650984 - イサツキシマブ (遺伝子組換え)

表 2.6.5.3 E - 薬物動態試験 - 非担がん及び担がん SCID マウスにおける薬物動態データを併合して実施した母集団 PK/PD 解析

Species (strain)	Mouse (CB.17 SCID, non-tumor-bearing and tumor-bearing)		
Study no.	POH0214 [Module 4.2.2.7-4] (in-life information and concentration-time data for the analyses are from Bioanalytical Reports [Module 4.2.2.1-3] and [Module 4.2.2.1-4])		
Study information – single dose	表 2.6.5.3 C 参照		
Study information – repeated doses	表 2.6.5.3 D 参照		
Population PK/PD analysis: brief summary of methodology	First a population PK model was developed (NONMEM VI) in 9 non-tumor-bearing SCID mice that received a single iv infusion of isatuximab at 10 mg/kg. Then a population PK model was developed in 36 tumor-bearing mice that received repeated doses of isatuximab from 2.5 to 40 mg/kg. Then a pooled analysis was performed using both data from non-tumor-bearing and tumor-bearing mice. Finally, the population PK/PD ^a analysis of tumor growth inhibition was performed in tumor-bearing mice using the Stochastic Approximation Expectation Maximization (SAEM) algorithm for nonlinear mixed-effects models implemented in MONOLIX software. Secondary parameters, such as threshold concentration for tumor eradication, were estimated.		
Population PK estimates:	Single dose data from non-tumor-bearing SCID mice (Basic PK Model)	Repeat dose data from tumor-bearing SCID mice (Basic PK Model)	Pooled data (Michaelis-Menten model)
	Parameter value (CV%)		
CL (mL/day)	0.156 (3.26)	0.180 (17.7)	-
V _{max} (µg/day)	-	-	112 (17.9)
K _m (µg/mL)	-	-	248 (29.4)
V ₁ (mL)	1.78 (5.14)	1.99 (6.9)	1.81 (4.1)
V ₂ (mL)	1.65 (10.3)	1.58 (15.7)	1.14 (12.1)
Q (mL/day)	2.6 (26.7)	3.54 (37.9)	4.76 (29)
ω _{CL} (%)	-	83.3 (45.7)	-
ω _{Vmax} (%)	-	-	53.9 (46.4)
ω _{Km} (%)	-	-	123 (33.9)
ω _{V2} (%)	-	59.7 (71.7)	-
correlation	-	-	0.87
σ _p (%)	19.5 (21.6)	23.9 (45.3)	24.9 (31.2)
σ _a	-	-	10.9 (50.6)

2.6.5 薬物動態試験概要表

SAR650984 - イサツキシマブ (遺伝子組換え)

Population PK estimates (continued):	Single dose data from non-tumor-bearing SCID mice (Basic PK Model)	Repeat dose data from tumor-bearing SCID mice (Basic PK Model)	Pooled data (Michaelis-Menten model)	
$t_{1/2 \lambda_1}$ (h)	5.4	4.10		
$t_{1/2 \lambda_2}$ (h)	371 (15.5 days)	333 (13.9 days)		
PK/PD model: Tumor growth model parameter estimates				
Fixed effects	Interindividual Variability		Residual Variability	
Parameter:	Estimate (RSE%)	ω (%) (RSE%)	σ_a (mm3) (RSE%)	σ_p (%) (RSE%)
W_0 (mm3)	3.56 (18)	36.6 (30)	33.6 (9)	17.7 (10)
λ_0 (day ⁻¹)	0.322 (4)	3.74 (143)	-	-
λ_1 (mm3.day ⁻¹)	341 (7)	25.1 (32)	-	-
k_2 (mL.day ⁻¹ . μ g ⁻¹)	0.0025 (21)	131 (16)	-	-
Population PK estimates (continued):	Dose (mg/kg)	Single dose data from non-tumor-bearing SCID mice (Basic PK Model)	Repeat dose data from tumor-bearing SCID mice (Basic PK Model)	
Mean (CV%) Clearance (mL/day)	2.5	-	0.568 (14.7)	
	10	0.156 (3.26)	0.303 (25.5)	
	40	-	0.164 (49.9)	
Additional information: (1) PK parameter values were determined by population PK approach and are rounded to 3 significant figures or less. (2) The value for measure of drug potency (k_2) of 0.0025 mL.day ⁻¹ . μ g ⁻¹ led to a threshold isatuximab concentration for tumor (SU-DHL-8) eradication of 128.8 μ g/mL.				

Abbreviations: ; SCID: severe combined immunodeficiency ; CL: clearance; V_{max} : maximal rate of elimination; K_m : Michaelis-Menten constant; V_1 : central volume of distribution; V_2 : peripheral volume of distribution; Q : intercompartmental clearance; ω_{CL} : interindividual variability for CL; $\omega_{V_{max}}$: interindividual variability for V_{max} ; ω_{K_m} : interindividual variability for K_m ; σ_p : residual variability for the proportional part; σ_a : residual variability for the additive part; CV%: parameter precision expressed as a coefficient of variation; $t_{1/2 \lambda_1}$: half-life for the first phase; $t_{1/2 \lambda_2}$: terminal half-life; RSE%: relative standard error; ω : interindividual variability; W_0 : tumor weight at the inoculation time ($t = 0$); λ_0 and λ_1 parameters characterizing the rate of exponential and linear growth, respectively; k_2 : measure of drug potency.

a Details of the PD methodology and data can be found in Report [REDACTED] [Module 4.2.1.1-22].

2.6.5 薬物動態試験概要表
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

4 薬物動態試験－反復投与後の吸収

以下を参照。

カニクイザルを用いた反復（週 1 回 3 週間）静脈内投与（0.5 時間持続投与）毒性試験（GLP 適用）（TSK0154 試験 [[Module 4.2.3.2-2](#)])
[[Module 2.6.7.7 A](#)]

5 薬物動態試験一分布

以下を参照。

正常ヒト組織におけるイサツキシマブの GLP 適用組織交差反応性試験（IHX0003 試験 [Module 4.2.1.2-1]） [Module 2.6.3.3.1]

正常ヒト組織におけるイサツキシマブの GLP 非適用組織交差反応性試験（XXXXXXXXXX 試験 [Module 4.2.1.2-2]） [Module 2.6.3.3.1]

2.6.5 薬物動態試験概要表
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

6 薬物動態試験－たん白結合

該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

7 薬物動態試験－妊娠または授乳動物における試験

該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

8 薬物動態試験—その他の分布試験

該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

9 薬物動態試験—In Vivo における代謝

該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

10 薬物動態試験—In Vitro における代謝

該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

11 薬物動態試験－推定代謝経路

該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

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 薬物動態試験概要表
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

13 薬物動態試験－累積排泄

該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

14 薬物動態試験－胆汁中排泄

該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表
SAR650984 - イサツキシマブ（遺伝子組換え）

15 薬物動態試験－薬物相互作用

該当なし