アキャルックス点滴静注 250 mg

第 2 部（モジュール 2）CTD の概要（サマリー）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.4 薬物動態試験の概要文

楽天メディカルジャパン株式会社

目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 3
1. まとめ 3
2. 分析法 5
3. 吸収 7
3.1 ラット単回投与 7
3.1.1 雄性 SD ラットにおける IR 700 カルボン酸体の薬物動態及び忍容性の評価 7
3.1.2 SD ラットにおける 2 週間の回復期間を伴う IR 700-CO_2 の単回 IV 投与試験 8
3.2 サル単回投与 10
3.2.1 カニクイザルにおける RM-1929 の単回投与毒性試験及び薬物動態試験 10
3.2.2 カニクイザルに RM-1929 を単回 IV 持続投与したときの毒性及びトキシコキネティクス試験 13
4. 分布 22
4.1 RM-1929 の生体内分布—RM-1929 のカニクイザル単回投与 GLP 毒性試験の一部 22
5. 代謝 24
6. 排泄 24
7. 薬物動態学的相互作用 25
8. その他の薬物動態試験 25
9. 考察及び結論 26
表 18 予定臨床用量における安全域 27
10. 参考文献 29

2.6.4　薬物動態試験の概要文

1.　まとめ

セツキシマブ　サロタロカンナトリウム（ASP-1929/RM-1929）は、モノクローナル抗体セツキシマブと非熱性赤色光色素である IRDye®700DX NHS エステル（IR 700）との色素タンパク複合体である。遊離色素 IR 700 は、N-ヒドロキシスクシンイミドエステルとして入手可能であり、リジン残基などの脂肪族第一アミンと安定したアミド結合を形成する。ASP-1929 の最終製剤（ロット番号 [redacted]）と GLP 適用下で実施したサルの毒性試験で用いたロット（ロット番号 [redacted]）では、同じ抗体に対する色素の比率（DAR）2.9 が示された。アミド結合は安定ではあるが、血漿中アミダーゼにより、色素の主要化学構造が含まれる遊離 IR 700 カルボン酸体（IR 700-CO_2）が放出される可能性がある。ASP-1929 は滅菌された注射用液剤として供給される。セツキシマブと同じく、ASP-1929 は上皮成長因子受容体（EGFR）に特異的に結合する。ASP-1929 を利用した光免疫療法（PIT）は、EGFR 過剰発現がん細胞が ASP-1929 と結合して光照射と薬物活性化により選択的標的となることからがん特異的である。

再発頭頸部癌（HNC）患者の PIT を目的として、ASP-1929 及び新規 690 nm 非熱性赤色レーザ照射器 ML7710-690-ASP を開発した。ASP-1929 の PIT は、対象患者集団において既存の治療法より高い有効性が示唆される結果が示された。

ASP-1929 のトキシコキネティクス（TK）及び生体内分布はカニクイザルに対し単回 IV 持続投与により示され、遊離 IR 700 カルボン酸体（IR 700-CO_2）の TK は Sprague-Dawley（SD）ラットに単回 IV 投与して評価した。全ての主要な試験は GLP に準拠して実施した。また、ASP-1929 の開発は、医薬品規制調和国際会議（ICH）及び関連するガイダンスに従って実施された。なお、非臨床試験は RM-1929 のみを用いて実施している。RM-1929 は ASP-1929 と同じくセツキシマブと IR 700 の複合体であるが、[redacted] 社ではなく [redacted] 社が製造するセツキシマブを用いて製造されたものである。RM-1929 と ASP-1929 の同等性は、物理化学的試験で確立しており、ASP-1929 を用いた試験は繰り返し実施していない。以降の非臨床試験に関する記載は便宜上 RM-1929 を用いる。

RM-1929 及び IR 700-CO_2 で実施した TK 試験を表 1 に示した。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 1　RM-1929 及び IR 700-CO_2 を用いた薬物動態試験

Study Type	Study No. CRO/ Aspyrian	Species	Route of Administration	Dose Level (mg/kg)	GLP Compliance
Toxicokinetic Studies					
Single Dose TK	EB10-039-016C/MC13B-0228	SD Rats	IV bolus	Single Dose: IR 700-CO_2 0 (vehicle), 2.6, 7.8, 26	Non-GLP
Single Dose TK	20065734/ ASPY-0927A	SD Rats	IV bolus	Single Dose: IR 700-CO_2 10, 30, 100	GLP
Single Dose TK	11108	Cynomolgus Monkey	IV Infusion	Single Dose: RM-1929 (plus 4.1% of free IR 700-CO_2)	Non-GLP
Single Dose TK	11286	Cynomolgus Monkey	IV Infusion	Single Dose: RM-1929 0, 40, 80	GLP
Biodistribution					
Biodistribution	11286	Cynomolgus Monkey	IV Infusion	Single Dose: RM-1929 0, 40, 80	Non-GLP[1]

GLP = Good Laboratory Practices; IV = intravenous; TK = toxicokinetics.
[1] The GLP toxicity study included a biodistribution study evaluating the tissue distribution of RM-1929 administered to cynomolgus monkeys; this component of the study was non-GLP.

Rakuten Medical, Inc.で実施された薬物動態試験の概要表は Module 2.6. 5 に示した。試験報告書は Module 4 に示した。

2. 分析法

IR 700-CO_2、RM-1929 及びセツキシマブ定量のために高感度で特性が高く再現性のある分析法を開発した。予備的な非 GLP 試験（試験番号 EB10-039-016C/MC13B-0228）をサポートするために、MicroConstants 社ではラット血清及び尿中 IR 700-CO_2 濃度測定用のバリデートしていない、蛍光検出器を接続した逆相高速液体クロマトグラフィー（HPLC-RP）法を開発した（試験番号 MN13096）。GLP ラット毒性試験（試験番号 20065734/ASPY-0927A）は、GLP に準拠してバリデートした同じ HPLC-RP を使用した。非 GLP サル単回投与毒性試験（試験番号 11108）において、Celerion 社は、血清中セツキシマブ及び RM-1929 濃度を測定するためバリデートしていない酵素結合免疫吸着測定（ELISA）法を開発した。さらに、サル血清中 IR 700-CO_2 及び RM-1929 定量のために蛍光検出器を接続したサイズ排除高速液体クロマトグラフィー（HPLC-SEC）法を開発した。これらの測定法は、GLP 適用サル試験（試験番号 11286）のために後でバリデートされた。

ELISA 法の詳細の要約を表 2 に、HPLC-SEC 法の詳細を表 3 に、IR 700-CO_2 測定用 HPLC 法を表 4 に示した。

ELISA 法及び HPLC 法は、サル血清中 RM-1929 及びセツキシマブ濃度測定に使用した。

表 2 ELISA 法によるサル試料中セツキシマブ及び RM-1929 の分析法バリデーションの要約

Matrix (Report No.)	Analyte	LLOQ (µg/mL)	ULOQ (µg/mL)	Precision	Accuracy	Stability
Cetuximab						
Monkey Serum (11286/ CA13802-01)	Cetuximab	0.5	6.0	Met acceptable criteria[1]	Met acceptable criteria[2]	Long-term stability of 58 days in polypropylene tubes at -80°C has been established
RM-1929						
Monkey Serum (11286/ CA13802-02)	Cetuximab IR 700	0.5	6.0	Met acceptable criteria[1]	Met acceptable criteria[2]	Long-term stability of 122 days in polypropylene tubes at -20°C has been established

LLOQ = lower limit of quantification; ULOQ = upper limit of quantification.
[1] Precision (% CV) must be ≤ 25.0% for LLOQ and ULOQ QC, and ≤20% for low, medium, and high QCs.

[2] Accuracy (% Bias) must be within ± 25.0% for LLOQ and ULOQ QC, and within ±20% for low, medium, and high QCs.

表 3　HPLC-SEC 法によるサル試料中 RM-1929 の分析法バリデーションの要約

Matrix (Report No.)	Analyte	LLOQ (µg/mL)	ULOQ (µg/mL)	Precision	Accuracy	Stability
Monkey Serum (11286/CA13888-01)	Cetuximab IR 700	2.00	500	Met acceptable criteria[1]	Met acceptable criteria[2]	Long-term stability: 122 days in polypropylene tubes at -20°C.

LLOQ = lower limit of quantification; ULOQ = upper limit of quantification.
[1] Precision (% CV) for must be ≤ 20.0% for LLOQ QC and ≤15% for low, medium, and high QCs.
[2] Accuracy (% Bias) must be within ± 20.0% for LLOQ QC and within ±15% for low, medium, and high QCs.

表 4　HPLC 法によるラット試料中（HPLC-RP）及びサル試料中（HPLC-SEC）IR 700-CO_2 の分析法バリデーションの要約

Matrix (Repot No.)	Analyte	LLOQ (µg/mL)	ULOQ (µg/mL)	Precision	Accuracy	Stability
Rat serum (MC14B-0222)	IR 700-CO_2	1.0	500	Passed	Passed	Long-term stability of 27 days at -20°C and -80°C has been established
Monkey serum (11286/CA13888-02)	IR 700-CO_2	0.0233	9.32	Met acceptable criteria[1]	Met acceptable criteria[2]	Long-term stability of 127 days in polypropylene tubes at -20°C has been established.

LLOQ = lower limit of quantification; ULOQ = upper limit of quantification.
[1] Precision (% CV) for must be ≤ 20.0% for LLOQ QC and ≤15% for low, medium, and high QCs.
[2] Accuracy (% Bias) for must be within ± 20.0% for LLOQ QC and within ±15% for low, medium, and high QCs.

3 サイクルの凍結融解によるヒト血清中 RM-1929 の短期安定性試験では良好な回収率が得られ（試験番号 11286/CA13888-01a）、ヒト試料中 RM-1929 定量法の開発が適切であることが示唆された。

3. 吸収

RM-1929 の臨床での予定投与経路は、IV 投与である。そのため、血管外投与試験は実施しなかった。遊離色素（IR 700-CO_2）の TK プロファイルは、IV（急速）投与したラットで評価し、カニクイザルに IV 持続投与して RM-1929、セツキシマブ及び IR 700-CO_2 の TK 評価を行った。単回静脈内投与したときの GLP 及び非 GLP 試験の要約を以下に示す。

3.1 ラット単回投与

3.1.1 雄性 SD ラットにおける IR 700 カルボン酸体の薬物動態及び忍容性の評価

この予備的な非 GLP 試験の目的は、SD ラットに IR 700-CO_2 を単回投与したときの TK 及び一般的な忍容性を評価することである（試験番号 EB10-039-016C/MC13B-0228）。この試験において、IR 700-CO_2 を雄性ラットに単回 IV 投与し、IR 700-CO_2 濃度測定のため全血及び尿（6 項参照）を種々の時点で採取した。試験デザインを表 5 に示す。

表 5 雄性 SD ラットにおける IR 700-CO_2 の単回投与試験

Group No.	IR 700-CO_2 (mg/kg)[1]	No. of Males
0	Vehicle（PBS）	2
1	2.6	6
2	7.8	6
3	26	6

[1] The dose volume for all groups was 4.0 mL/kg.
PBS, phosphate buffered saline

血清中濃度は、図 1 に示すように投与量増加と共に増加した。TK パラメータを表 6 に示す。最高濃度（C_{max}）の平均値は、2.6、7.8 及び 26 mg/kg の投与量でそれぞれ 27.4、72.7 及び 239 µg/mL であった。投与後無限時間までの濃度-時間曲線下面積（AUC_{inf}）の平均値は、それぞれ 11.8、36.4 及び 115 µg·h/mL であった。C_{max} 及び AUC_{inf} は、試験した投与量範囲で投与量比例性を示した。最高濃度到達時間（T_{max}）は、全投与量群で最初の試料採取時点（投与後 1 分）であった。

最終相に従属したパラメータ（クリアランス：CL、定常状態における分布容積：V_{ss}、消失半減期：$T_{1/2}$）は、全投与量範囲で比較的一定であった。例えば、CL は 2.6、7.8 及び 26 mg/kg の投与量でそれぞれ 187、178 及び 196 mL/h/kg であった。V_{ss} の平均値は、試験した投与量内で約 262 mL/kg であり、ほぼ細胞外液量に相当する分布容積を示した。TK 解析は、IR 700-CO_2 の血清中濃度が迅速に減少し、1.5 時間未満の短い $T_{1/2}$ であることを示した。

図 1　雄性ラットに IR 700-CO_2 を単回 IV 投与したときの血清中濃度推移（リニアスケール）

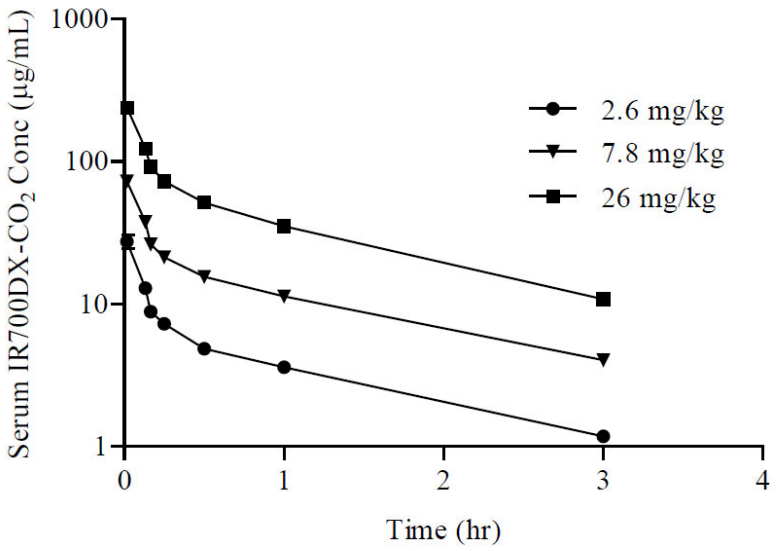


表 6　雄性ラットに IR 700-CO_2 を単回 IV 投与したときの薬物動態パラメータ平均値 [1]

Dose (mg/kg)	$T_{1/2}$ (h)	T_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{inf} (µg·h/mL)	CL (mL/h/kg)	V_{ss} (mL/kg)
2.6	1.23	0.0167	27.4	11.8	187	260
7.8	1.30	0.0167	72.7	36.4	178	273
26	1.13	0.0167	239	115	196	253

[1] Note: TK curves and the associated TK parameters were derived from a concentration data set that was a composite of data from multiple animals; no descriptive statistics are shown.

3.1.2　SD ラットにおける 2 週間の回復期間を伴う IR 700-CO_2 の単回 IV 投与試験

本 GLP 適用試験の目的は、雌雄 SD ラットにおける IR 700-CO_2 の TK 及び毒性を評価することである（試験番号 20065734/ASPY-0927A）。本試験では、IR 700-CO_2 を 0（PBS［リン酸緩衝生理食塩液］：溶媒対照）、10、30 又は 100 mg/kg（投与液量 10 mL/kg）の投与量で単回 IV 急速投与し、投与後 2 週間までの無投与の回復期間を設けた。主要な試験動物は投与 3 日目に試験を終了し、回復群及び TK 用のサテライト動物は 15 日目に試験を終了した。試験デザインを表 7 に示す。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

表 7　雌雄ラットにおける IR 700-CO_2 の単回 IV 投与試験概略

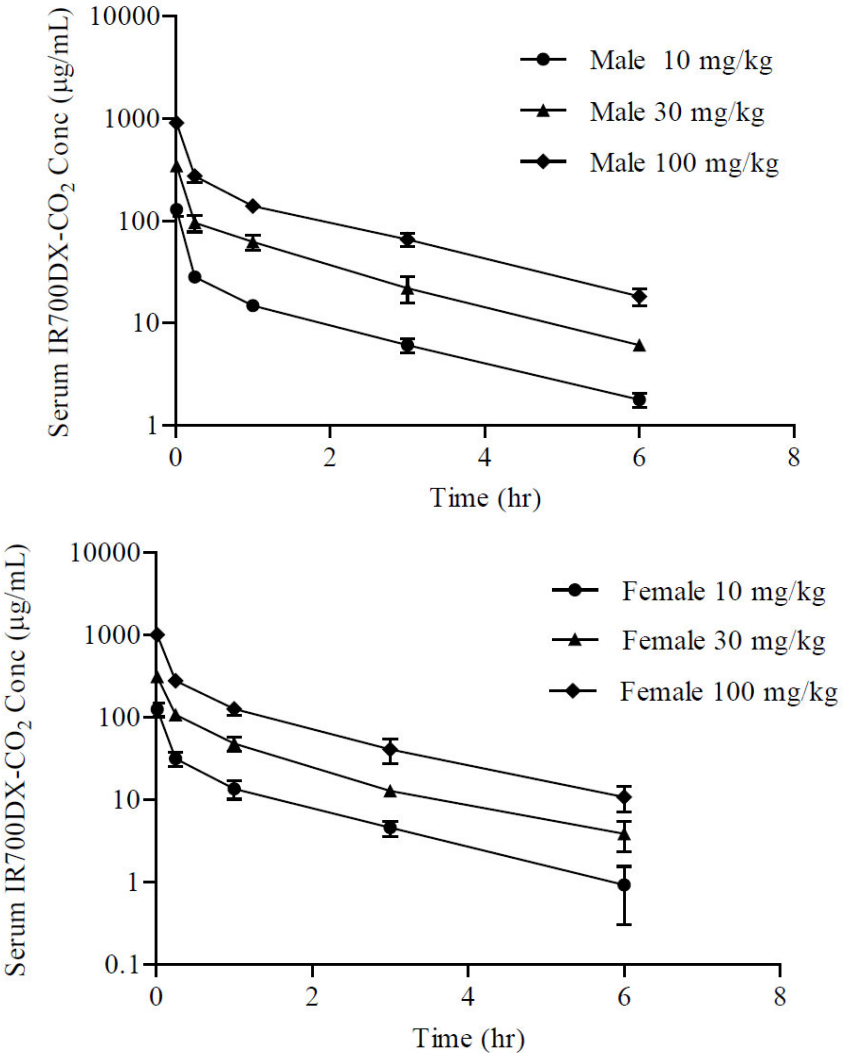
Dose (mg/kg)		Male	Female
Control	0	3	3
IR 700-CO_2	10	8	8
	30	8	8
	100	8	8

TK 濃度推移及び関連する TK パラメータは、複数動物の混合データから成る濃度データセットから算出し、記述統計量は示さなかった。溶媒対照群及び投与 1 日目の投与前の試料には、血清中 IR 700-CO_2 濃度を定量できた試料がなかった。IR 700-CO_2 濃度は、投与後 1 分から全般的に投与後 6 時間まで観察された。IR 700-CO_2 の曝露量（AUC_{inf}）は 10～100 mg/kg 間でおおむね投与量比例傾向で増加したが、C_{max} は 10～100 mg/kg 間で投与量比例性を下回って増加した。C_{max} に続いて IR 700-CO_2 は双指数関数的減衰を示し、$T_{1/2}$ が 1.3～1.7 時間の範囲であった。CL 及び V_{ss} は、それぞれ 117～169 mL/h/kg 及び 283～356 mL/kg の範囲であった。C_{max} 及び AUC_{inf} には雌雄差はみられなかった（表 8、図 2）。

表 8　雌雄ラットにおける IR 700-CO_2 の平均 TK パラメータ

Dose (mg/kg)	Sex	$T_{1/2}$ (h)	T_{max} (h)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{inf} (μg·h/mL)	CL (mL/h/kg)	V_{ss} (mL/kg)
10	Female	1.30	0.0167	127	66.0	151	283
	Male	1.64	0.0167	129	73.5	136	322
30	Female	1.40	0.0167	316	208	144	290
	Male	1.45	0.0167	345	256	117	246
100	Female	1.42	0.0167	1010	590	169	348
	Male	1.70	0.0167	911	687	146	356

図 2　雌雄ラットに 10、30 又は 100 mg/kg 単回 IV 急速投与したときの血清中 IR 700-CO_2 濃度推移



3.2　サル単回投与

3.2.1　カニクイザルにおける RM-1929 の単回投与毒性試験及び薬物動態試験

この予備的な非 GLP 試験の目的は、カニクイザルに 1.8 時間の単回 IV 投与したときの RM-1929 の TK 及び潜在毒性（試験報告書中セツキシマブ-IR 700 の項参照）を評価することである（試験番号 11108）。本試験では、雄性カニクイザルに PBS（溶媒対照）、RM-1929 の 32 mg/kg（投与終了後の製剤分析で実投与量は 35 mg/kg であった）又はセツキシマブの 32 mg/kg を単回投与した。体循環に遊離色素の存在する可能性のモデル化及び製剤中遊離色素の存在に起因する毒性の可能性の説明のため、IR 700-CO_2 としての遊離色素が、投与する RM-1929 試料に添加された。添加後の最終 RM-1929 試料は、4.1%の

遊離 IR 700-CO_2 色素を含む（総遊離色素 vs 試料中 RM-1929 としての総遊離色素複合体のパーセンテージ[w/w]）。また、RM-1929 の毒性プロファイルがセツキシマブと比較して異なっているかを評価するため、セツキシマブ単独（32 mg/kg）でサルの追加群に投与した。試験デザインを表 9 に示す。

表 9　雄性カニクイザルにおける RM-1929 の単回投与試験

Group No.	Test Article	Dose (mg/kg)	No. of Males	Dose Volume（mL/kg/h）
1	Vehicle Control（PBS）	0	2	8.9
2	Cetuximab	32	2	8.9
3	RM-1929	32（35）[1,2]	2	7.2

[1] Dose in parenthesis indicates the actual dose administered based on the results of the dose formulation analysis completed after dose administration.
[2] RM-1929 used in the study contained about 4.1% of free dye (carboxylate) that was added to the sample prior to dose administration so any potential toxicity of free dye in RM-1929 could be evaluated.

血清中 RM-1929、セツキシマブ及び遊離色素濃度を測定した。本試験では 2 つの異なる分析法を用いた。血清試料中セツキシマブ及び RM-1929 濃度は ELISA 法で分析し、RM-1929 及び遊離色素濃度は HPLC-SEC 法で測定した。ELISA 法で測定したセツキシマブ及び RM-1929 の TK パラメータの個別値及び平均値を表 10 に、血清中濃度推移を図 3 に示す。HPLC-SEC 法で測定した RM-1929 の TK パラメータの個別値及び平均値を表 11 に示す。遊離色素濃度は定量下限未満であり、完全な TK プロファイルを算出できなかった。

TK 分析（ELISA 法）は、セツキシマブ及び RM-1929 両方の T_{max} 平均値が類似（それぞれ 0.63 及び 0.25 時間）していることを示した。RM-1929 の曝露量（AUC_{inf}）平均値は 9,707 µg·h/mL であり、セツキシマブの曝露量（87,657 µg·h/mL）の 11%であった。セツキシマブの C_{max} は 894.5 µg/mL であるのに対して、RM-1929 の C_{max} は約 50%小さかった（468.5 µg/mL）。RM-1929 の $T_{1/2}$ は 25 時間であり、セツキシマブの $T_{1/2}$ よりかなり短かった（113 時間）。RM-1929 の V_{ss} はセツキシマブと比較してほぼ 2 倍大きく（それぞれ 111.37 mL/kg 及び 57.89 mL/kg）、RM-1929 の CL はセツキシマブと比較した場合ほぼ 1 桁大きかった（それぞれ 3.31 mL/h/kg 及び 0.37 mL/h/kg）。これら要因の両方とも、類似の投与量においてセツキシマブに比べて RM-1929 の低い血清中濃度及び短い半減期に寄与すると考えられた。

HPLC-SEC 法による RM-1929 濃度の TK 分析では、ELISA 法と類似した TK パラメータを算出した。全体的に ELISA 法で RM-1929 の曝露量がやや大きかった。

表 10　ELISA 法によるセツキシマブ及び RM-1929 の TK パラメータ個別値及び平均値

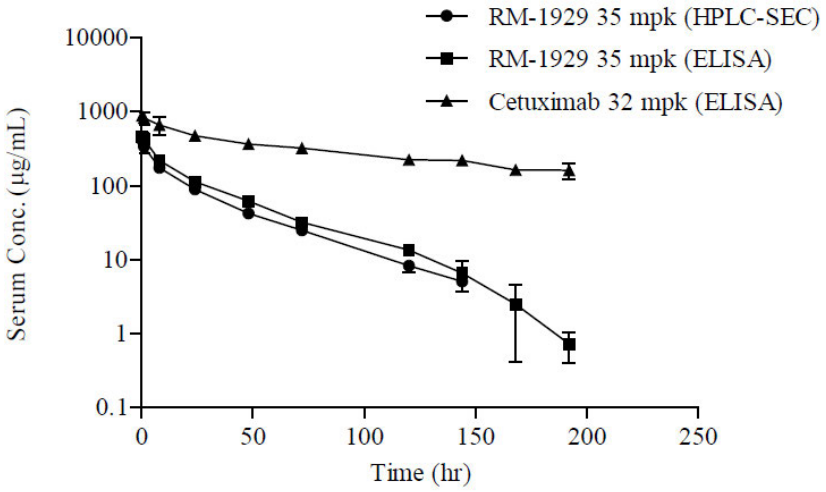
Treatment	Animal	$T_{1/2}$ (h)	T_{max}[1] (h)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24} (µg·h/mL)	AUC_{last} (µg·h/mL)	AUC_{inf} (µg·h/mL)	V_{ss} (mL/kg)	CL (mL/h/kg)
Cetuximab (32 mg/kg)	131798	138.52	0.25	845.00	15365.41	60119.00	98289.48	64.04	0.33
	131831	87.64	1.00	944.00	14455.16	60081.04	77024.03	51.73	0.42
	平均	**113.08**	**0.63**	**894.50**	**14910.28**	**60100.02**	**87656.75**	**57.89**	**0.37**
	SD	**35.98**	**0.53**	**70.00**	**643.64**	**26.84**	**15036.94**	**8.71**	**0.06**
RM-1929 (35 mg/kg)	131720	26.96	0.25	506.00	5588.22	10319.05	10356.24	106.14	3.09
	131822	23.16	0.25	431.00	4725.98	9023.67	9057.76	116.59	3.53
	平均	**25.06**	**0.25**	**468.50**	**5157.10**	**9671.36**	**9707.00**	**111.37**	**3.31**
	SD	**2.69**	**0.00**	**53.03**	**609.70**	**915.97**	**918.17**	**7.39**	**0.31**

1　T_{max} time points are set after the termination of the 1.8 hour infusion.

表 11　HPLC-SEC 法による RM-1929 の TK パラメータ個別値及び平均値

Treatment	Animal	$T_{1/2}$ (h)	T_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24} (µg·h/mL)	AUC_{last} (µg·h/mL)	AUC_{inf} (µg·h/mL)	V_{ss} (mL/kg)	CL (mL/h/kg)
RM-1929 (35 mg/kg)	131720	29.52	0.25	486.00	4431.18	7760.07	7977.27	135.46	4.01
	131822	27.50	0.25	348.00	3802.32	6712.02	7001.26	152.59	4.57
	Mean	**28.51**	**0.25**	**417.00**	**4116.75**	**7236.05**	**7489.27**	**144.02**	**4.29**
	SD	**1.43**	**0.00**	**97.58**	**444.67**	**741.08**	**690.14**	**12.11**	**0.40**

図 3　雄性サルにおける RM-1929 及びセツキシマブの血清中濃度推移



結論として、カニクイザルにおいて RM-1929 はセツキシマブと比べて短い $T_{1/2}$ 及び迅速な CL を示し、これが両抗体を類似した投与量で投与したときに RM-1929 の曝露量が低い原因であった。

3.2.2　カニクイザルに RM-1929 を単回 IV 持続投与したときの毒性及びトキシコキネティクス試験

本試験の目的は、カニクイザルに 2 時間の単回 IV 持続投与したときの RM-1929 の TK 及び毒性の評価をすることであった（試験番号 11286）。本試験における RM-1929 の平均 DAR は、セツキシマブ 1 分子当たり IR 700-CO_2 色素が 2.9 分子であった。本試験では、雌雄カニクイザルに PBS（溶媒対照）又は RM-1929 の 40 又は 80 mg/kg が単回投与された。さらに、RM-1929 とセツキシマブ単独の毒性プロファイルを比較するため、セツキシマブ 16 mg/kg の単回投与群を設定した。試験デザインを表 12 に示す。

表 12　カニクイザルにおける GLP 適用単回投与毒性試験

Treatment	Dose (mg/kg)	Approximate Infusion Rate (mL/kg/h)	Animals/Sex Terminated Day 3	Animals/Sex Terminated Day 15	Animals/Sex Terminated Day 28
Vehicle Control (PBS)	0	8	-[2]	3M/3F	2M/2F
RM-1929	40	4	2M/2F[1]	3M/3F	-[2]
RM-1929	80	8	-[2]	3M/3F	2M/2F
Cetuximab Alone	16	4	-[2]	3M/3F	-[2]

[1] Two animal/sex in Group 2 were designated for biodistribution analysis only and terminated on Day 3 (no safety endpoints were collected from these animals).
[2] Dash indicates no animals in this group.

溶媒対照群及びセツキシマブ 16 mg/kg 投与群の試料は、セツキシマブ濃度を ELISA 法で測定した。RM-1929 の 40 及び 80 mg/kg 投与群の血清試料は、血清中 RM-1929 濃度を HPLC-SEC 法及び ELISA 法を用いて測定した。RM-1929 の 40 及び 80 mg/kg 投与群の血清試料中 IR700-CO_2 濃度は、HPLC-SEC 法を用いて測定した。ELISA 法及び HPLC-SEC 法で分析した RM-1929 の TK パラメータをそれぞれ表 13 及び表 14 に示す。雌雄動物において ELISA 法で測定した RM-1929 及びセツキシマブの血清中濃度平均値を図 4 に、雌雄動物において HPLC-SEC 法で測定した RM-1929 の血清中濃度平均値を図 5 に示す。ELISA 法で測定したセツキシマブの TK パラメータを表 15 に示す。IR 700-CO_2 の TK パラメータを表 16 に、雌雄動物の IR 700-CO_2 濃度平均値を図 6 に示す。

雄性動物に RM-1929 の 40 mg/kg を投与したときの曝露量平均値は、C_{max}、定量可能な最終時点までの濃度-時間曲線下面積（AUC_{last}）及び AUC_{inf} がそれぞれ 934.80 µg/mL、16,694.01 及び 17,575.02 µg·h/mL であった。雌性動物では、曝露量平均値はやや小さく、C_{max}、AUC_{last} 及び AUC_{inf} がそれぞれ 894.80 µg/mL、13,595.03 及び 15,428.99 µg·h/mL であった。雄性及び雌性動物の T_{max} はそれぞれ 2 及び 2.2 時間であり、$T_{1/2}$ はそれぞれ 30.22 及び 35.04 時間であった。CL の平均値は、雄性動物で 2.40 mL/h/kg、雌性動物で 2.61 mL/h/kg と類似していた。80 mg/kg 投与群において、雄性動物の曝露量は、C_{max}、AUC_{last} 及び AUC_{inf} がそれぞれ 1,624.20 µg/mL、45,241.10 及び 43,098.30 µg·h/mL であった。雌性動物における C_{max}、AUC_{last} 及び AUC_{inf} は、それぞれ 1,173.80 µg/mL、39,061.76 及び 41,092.44 µg·h/mL であった。T_{max} は雄性及び雌性動物共に 2.4 時間であり、$T_{1/2}$ はそれぞれ 51.70 及び 47.88 時間であった。雄性及び雌性動物の V_{ss} 平均値は、40 mg/kg 投与群でそれぞれ 95.45 及び 130.72 mL/kg、80 mg/kg 投与群でそれぞれ 128.94 及び 138.7 mL/kg であった。

雄性及び雌性動物において、RM-1929 の投与量が 40 から 80 mg/kg に増加するのに伴い C_{max} はそれぞれ 1.7 及び 1.3 倍に増加した。投与後 24 時間までの濃度-時間曲線下面積

（AUC_{0-24}）は雌雄動物共に 1.9～2. 0 倍と増加した。しかしながら、AUC_{last} 及び AUC_{inf} は、雄性及び雌性動物で 2.7 及び 2.9、並びに 2.5 及び 2. 7 倍と増加した。この投与量比例性を上回る増加は ELISA 法及び HPLC-SEC 法で類似していた。全体的に、雌雄動物の T_{max} は 2.0～2. 4 時間でほぼ持続投与時間であった。雌雄動物の $T_{1/2}$ は投与量 40 及び 80 mg/kg で類似していた。各投与量での CL は雌雄両性間で類似しており、投与量増加に伴い CL が減少する傾向があった。

ELISA 法及び HPLC-SEC 法での RM-1929 の TK パラメータは類似していた。前項で論じたように（3.2.1 項）、ELISA 法では全般的に HPLC-SEC 法と比較して高い曝露量（C_{max} 及び濃度-時間曲線下面積［AUC］）であった。ELISA 法の濃度データにより算出した場合、HPLC-SEC 法による数値と比較して低い V_{ss} 及び CL となる若干の傾向がみられた。

表 13　ELISA 法による RM-1929 の TK パラメータ平均値

Treatment	Sex	T_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)	$T_{1/2}$ (h)	V_{ss}[1] (mL/kg)	CL (mL/h/kg)	AUC_{0-24} (µg·h/mL)	AUC_{last} (µg·h/mL)	AUC_{inf} (µg·h/mL)
40 mg/kg RM-1929	Male	2	934.80 (± 138.16)	30.22 (± 14.29)	95.45 (± 32.81)	2.40 (± 0.62)	9550.27 (± 583.36)	16694.01 (± 5239.42)	17575.02 (± 4490.95)
	Female	2.2	894.80 (± 249.91)	35.04 (± 10.20)	130.72 (± 35.00)	2.61 (± 0.25)	7737.28 (± 677.37)	13595.03 (± 1930.13)	15428.99 (± 1403.08)
80 mg/kg RM-1929	Male	2.4	1624.20 (± 489.71)	51.70 (± 13.11)	128.94 (± 23.35)	1.89 (± 0.29)	18282.81 (± 2674.49)	45241.10 (± 7628.50)	43098.30 (± 6453.48)
	Female	2.4	1173.80 (± 315.61)	47.88 (± 7.50)	138.70 (± 27.35)	2.02 (± 0.46)	15784.69 (± 2061.32)	39061.76 (± 8137.59)	41092.44 (± 8239.68)

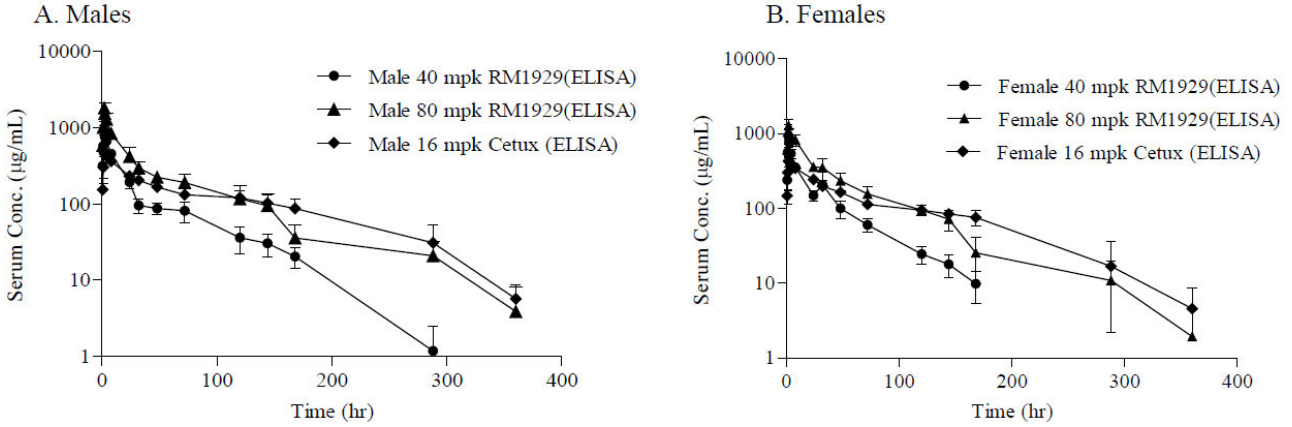
[1] This parameter was labeled Vd in Study No. 11286.

表 14　HPLC-SEC 法による RM-1929 の TK パラメータ平均値

Treatment	Sex	T_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)	$T_{1/2}$ (h)	V_{ss}[1] (mL/kg)	CL (mL/h/kg)	AUC_{0-24} (µg·h/mL)	AUC_{last} (µg·h/mL)	AUC_{inf} (µg·h/mL)
40 mg/kg RM-1929	Male	2	887.67 (± 92.68)	41.67 (± 5.28)	145.58 (± 18.19)	2.45 (± 0.48)	8326.39 (± 6265.94)	16210.78 (± 3402.98)	16724.82 (± 3235.44)
	Female	2	732 (± 35.79)	35.68 (± 3.49)	172.21 (± 20.75)	3.34 (± 0.08)	6488.36 (± 371.94)	11644.6 (± 394.49)	11981.17 (± 297.08)
80 mg/kg RM-1929	Male	2.2	1704.00 (± 173.58)	57.00 (± 16.32)	169.39 (± 47.73)	2.07 (± 0.27)	16934.40 (± 1760.66)	38249.45 (± 5386.14)	39164.34 (± 5073.52)
	Female	2.2	1453.40 (± 427.86)	50.93 (± 6.85)	205.67 (± 20.40)	2.86 (± 0.63)	13082.95 (± 2185.36)	28593.35 (± 6128.70)	29039.94 (± 6347.19)

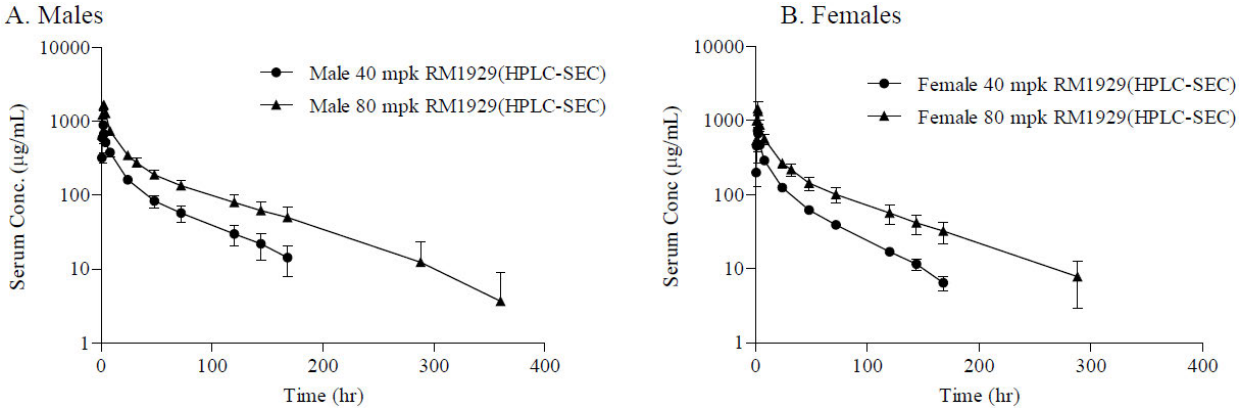
[1] This parameter was labeled Vd in Study No. 11286.

図 4　ELISA 法で測定した雄（A）雌（B）における RM-1929 及びセツキシマブの平均血清中濃度推移



試験報告書 Figure 1、Figure 2 を改変

図 5　HPLC-SEC 法で測定した雄（A）雌（B）における RM-1929 の平均血清中濃度推移



試験報告書 Figure 3、Figure 4 を改変

表 15　ELISA 法によるセツキシマブの平均 TK パラメータ

Treatment	Sex	T_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)	$T_{1/2}$ (h)	V_{ss}[1] (mL/kg)	CL (mL/h/kg)	AUC_{0-24} (µg·h/mL)	AUC_{last} (µg·h/mL)	AUC_{inf} (µg·h/mL)
16 mg/kg Cetuximab	Male	2	482 (± 46.77)	66.2 (± 20.48)	46.35 (± 6.28)	0.47 (± 0.12)	7644.67 (± 444.51)	34327.02 (± 5897.47)	35359.13 (± 8850.43
	Female	2.33	429.67 (± 44.50)	64.68 (± 12.56)	49.39 (± 2.95)	0.54 (± 0.08)	7316.99 (± 403.65)	29508.22 (± 4489.64)	30138.36 (± 4726.81)

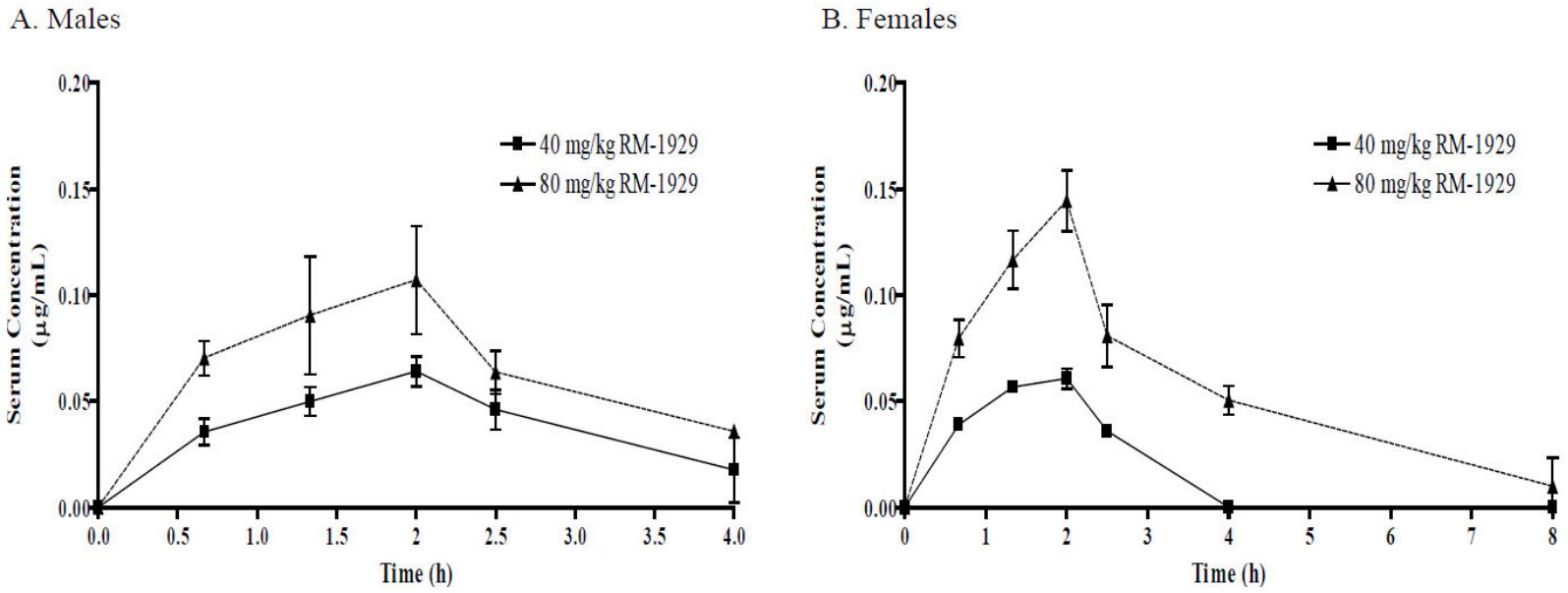
[1] This parameter was labeled V_d in Study No. 11286

表 16　HPLC-SEC 法による IR 700-CO_2 の平均 TK パラメータ

Treatment	Sex	T_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)	$T_{1/2}$ (h)	AUC_{last} (µg·h/mL)	AUC_{inf} (µg·h/mL)
40 mg/kg RM-1929	Male	2	0.06 (± 0.00)	-[1]	0.1 (NC)	-
	Female	2	0.06 (NC)	-	0.14 (NC)	-
80 mg/kg RM-1929	Male	1.87	0.14 (NC)	3.06 (NC)	0.36 (NC)	0.61 (NC)
	Female	1.87	0.1 (NC)	-	0.24 (NC)	-

[1] Due to a poorly defined elimination phase, parameters dependent on estimation of the slope of the terminal phase (e.g., $T_{1/2}$、AUC_{inf}) could not be calculated.
NC: Not calculated

図 6　HPLC-SEC 法で測定した雄（A）雌（B）における IR 700-CO_2 の平均血清中濃度推移



2.6.4 薬物動態試験の概要文

セツキシマブ 16 mg/kg を投与したとき、雌雄動物は類似の TK プロファイルを示した（ELISA 法）。雄性動物において C_{max}、AUC_{last}、AUC_{inf} で測定される曝露量の平均値は、それぞれ 482.00 µg/mL、34,327.02 及び 35,359.13 µg·h/mL であった。雌性動物において、曝露量平均値は僅かに小さく、C_{max}、AUC_{last}、AUC_{inf} がそれぞれ 429.67 µg/mL、29,508.22 及び 30,138.36 µg·h/mL であった。雄性及び雌性動物の T_{max} はそれぞれ 2 及び 2.33 時間であり、$T_{1/2}$ はそれぞれ 66.20 及び 64.68 時間であった。この群のセツキシマブの CL は、RM-1929 の低投与量群及び高投与量群と比較して緩徐であり（雄性及び雌性動物でそれぞれ 0.47 及び 0.54 mL/h/kg）、これが RM-1929 の低投与量群及び高投与量群と比較して長い $T_{1/2}$ 及び高い曝露量をもたらした。V_{ss} はセツキシマブ 16 mg/kg 投与群で RM-1929 の低投与量群及び高投与量群（いずれの測定法でも）と比較して小さかった（雄性及び雌性動物でそれぞれ 46.35 及び 49.39 mL/kg）。

投与後 4 時間を超えた時点での IR 700-CO_2 の血清中濃度は 40 mg/kg 投与で定量下限未満（BLQ）となるのに対して、80 mg/kg 投与では投与後 4 時間以上 8 時間までの間で BLQ となった。したがって、検出可能な遊離色素が低濃度のため、限定的な TK プロファイルが観察された。AUC_{last} は低投与量の雄性及び雌性動物でそれぞれ 0.10 及び 0.14 µg·h/mL であり、高投与量の雄性及び雌性動物でそれぞれ、0.36 及び 0.24 µg·h/mL であった。高投与量の雄性動物において、AUC_{inf} は 0.61 µg·h/mL で $T_{1/2}$ は短く（3.06 時間）、消失は速やかであった。消失相が明確でないため、最終相の傾きから推定される従属パラメータ（$T_{1/2}$、AUC_{inf}）は低投与量群の雌雄動物及び高投与量群の雌性動物で算出不能であった。雄性動物において、RM-1929 投与量を 40 から 80 mg/kg に増加すると、C_{max} 及び AUC_{last} による IR 700-CO_2 の曝露量は投与量比例性を超えてそれぞれ 2.3 及び 3.6 倍に増加した。雌性動物では、投与量を 2 倍にしたときの曝露量の増加は投与量比例性を僅かに下回った（C_{max} 及び AUC_{last} 両方とも 1.7 倍）。しかしながら、この傾向の意義は本試験における動物数が少ないことから評価することが難しいことを注意すべきである。

要約すると、カニクイザルにおいて実施した GLP 適用 TK 解析は、雌雄サルにおいて RM-1929 とセツキシマブの TK パラメータに差があり、セツキシマブより RM-1929 が高い CL、大きな V_{ss}、短い $T_{1/2}$、低い総曝露量（AUC）であることを示した。また、TK 解析は、遊離色素が迅速に消失し、IR 700-CO_2 の曝露量が RM-1929 及びセツキシマブよりかなり低いことも示した。

この単回投与毒性試験は、RM-1929、セツキシマブ及び IR 700-CO_2 が測定可能な曝露量であり、異なる投与量とそれに対応する異なる曝露量での毒性エンドポイントの評価を可能にしていることを示した。

4. 分布

4.1 RM-1929 の生体内分布—RM-1929 のカニクイザル単回投与 GLP 毒性試験の一部

RM-1929 の組織分布は、サル単回投与毒性試験（試験番号 11286）の一部として実施した。組織分布試験部分は GLP 非適用であり、試験は試験計画書及び測定用コントロールを確立後に実施した。組織分布の測定は、生体内組織では非特異的バックグラウンドにほとんど存在しない波長 700 nm での発光を伴うセツキシマブとの色素複合体、IR 700 の内部蛍光に基づいた。本試験では、雌雄カニクイザルに PBS（溶媒対照）、RM-1929 の 40 及び 80 mg/kg 並びにセツキシマブの 16 mg/kg を 2 時間で IV 投与した。組織分布試験では、組織は RM-1929 の最大蓄積の評価のため早期（3 日目；RM-1929 40 mg/kg のみ）及び RM-1929 の残留の可能性の評価のため投与後数日の遅期（15 日目；RM-1929 80 mg/kg）に処置動物から採取した。また、組織は蛍光検出のバックグラウンド用のコントロールとして（セツキシマブは組織中で測定されなかった）セツキシマブ投与動物（16 mg/kg；雌雄各 2 匹）からも採取した。組織分布は低投与量の 15 日目処置動物及び 28 日目処置の回復動物では評価しなかった。試験デザインを表 17 に示す。

表 17 カニクイザルにおける単回投与 GLP 毒性試験

Group	Treatment	Dose (mg/kg)	Approximate Infusion Rate (mL/kg/h)	Animals/Sex Terminated Day 3	Animals/Sex Terminated Day 15	Animals/Sex Terminated Day 28
1	Vehicle Control	0	8	-[1]	3M/3F	2M/2F
2	RM-1929	40	4	2M/2F[2]	3M/3F	-
3	RM-1929	80	8	-	3M/3F[3]	2M/2F
4	Cetuximab Alone	16	4	-	3M/3F[3]	-

[1] Dash indicates no animals in this group
[2] 2 animal/sex in Group 2 were designated for biodistribution analysis only and terminated on Day 3 (no safety endpoints were collected from these animals).
[3] 2 animals/sex in Groups 3 and 4 terminated on Day 15 had tissue samples collected for biodistribution analysis and histopathologic evaluation. The remaining animals/sex in each group had only tissues for histopathologic evaluation taken.

組織分布試験は、University of Alabama at Birmingham で実施され、第 I 相試験（NCT01987375）の IND サポートのため行われた試験と同一のプロトコール及び実験機器が使用された。血清及び EGFR 発現頻度の高い組織（皮膚、結腸、眼など）を含む 56 個の組織は別群から採取した。遊離色素（IR 700）及び RM-1929 の分布及び濃度は、3 種類の方法で測定した：1）採取組織の未処置断片の 700 nm での蛍光分析；2）同じ組織断片のホモジネート試料のゲル電気泳動後の 700 nm の蛍光スキャン；及び 3）組織切片

の 700 nm での蛍光イメージング。既知濃度の RM-1929 と蛍光レベルをプロットした検量線は、組織中蛍光強度を RM-1929 の μg 量に換算するために使用し、その際、組織重量補正（～20 mg）及び RM-1929 の総投与量補正（単位重量当たりの投与量パーセントを得るため）をした。IR 700 からの全蛍光シグナルがセツキシマブと関連したものと仮定し、組織重量当たりの RM-1929 の μg 量又は組織重量当たりの投与量パーセントを算出するため RM-1929 の検量線で校正した。さらに、組織中遊離 IR 700 のパーセンテージは、ゲル電気泳動分析から算出した。切片は蛍光イメージングシステム（Odyssey; LICOR）で画像化し、また、これらの切片は個々の組織中 IR 700 蛍光の局在化を検討するためヘマトキシリン・エオシン（H&E）染色切片と比較した。ゲル電気泳動による組織ホモジネート中未変化 RM-1929 分析では、遊離 IR 700 のパーセントだけでなく組織中 RM-1929 レベルを示すため総蛍光シグナルのパーセントとして報告した。また、未処置組織断片中 RM-1929 レベルを検討するため、抗体-色素複合体が未変化であり、測定した IR 700 蛍光レベルが RM-1929 量を表すものと仮定した。

採取した未処置組織試料の分析は、グループ 2 の動物（RM-1929 40 mg/kg 投与後 3 日）における最高蛍光レベルが肝臓、胆嚢及び腋窩リンパ節でみられ、最低レベルが脳及び脊髄であることを明らかにした。グループ 3 の動物（RM-1929 80 mg/kg 投与後 15 日）における最高蛍光レベルは、リンパ節（鼠径部、腸間膜、腋窩）及び前立腺で測定され、最低レベルは脳及び脊髄で検出された。投与後 3 日のグループ 2 の動物から採取した全組織中の総蛍光は、平均値が 45,925 μg で総投与量の 38.4 ± 1.6%であった。投与後 15 日のグループ 3 の動物から採取した全組織から推定した総 RM-1929 は、平均値が 7,130 μg で総投与量の 2.84 ± 0.75%であった。

ゲル電気泳動を使用した組織ホモジネートにおいて、投与後 3 日のグループ 2 の動物の最高蛍光レベルは、血液、肺、肝臓、胆嚢及び皮膚（前腕内側）で測定され、最低レベルは、脳組織及び大腿骨骨髄でみられた。投与後 15 日のグループ 3 の動物において、推定された RM-1929 量は全組織で 1 μg/g 未満（総投与量の 10%以下が検出された）であり、RM-1929 が組織中に蓄積せず投与後 2 週間以内に組織中から消失することを示している。

組織切片のイメージングは、グループ 2 の動物の最高蛍光レベルが腋窩リンパ節、胆嚢、膣、皮膚（前腕内側）及び肝臓で測定され、最低レベルが、脳、脊髄及び骨でみられたことを示した。グループ 3 の動物では、最高蛍光レベルは胆嚢、膀胱、十二指腸及び皮膚（前腕外側）で測定され、最低レベルは脊髄、脳下垂体、子宮及び肺であった。投与後 3 日（グループ 2）及び 15 日（グループ 3）に処置した動物から採取した組織中の蛍光分布に明確な差は無かった。その時点で、皮膚の蛍光は主に真皮で検出され、分布が多局所に拡散していた。肝臓を除き、他の組織で検出された蛍光は大部分が結合組

織に局在し、肝臓では蛍光は門脈域で検出され、肝実質では中等度の拡散分布を伴った。蛍光は他の組織で検出され、網膜、眼球色素上皮、角膜、胸骨及び大腿骨の骨梁、脾臓の赤脾髄、並びに尿細管が含まれた。

要約すると、蛍光レベル及び局在部位は、未処置組織から検出可能であり、カニクイザルに RM-1929 を単回投与（40 又は 80 mg/kg）後 3 日又は 15 日に採取した無処置組織切片、ホモジネート試料及び組織切片間で相関していた。全体的に、検出された蛍光の分布は組織での既知の EGFR 発現と一致し、蛍光の組織分布が EGFR 発現組織への RM-1929 の分布と関連する可能性を示唆している。すなわち、検出された RM-1929 の蛍光レベルは、既知の EGFR 発現レベルと相関した [1), 2), 3), 4), 5)]。

5. 代謝

RM-1929、セツキシマブ及び IR 700 の代謝試験は以下の理由から実施していない。

- 薬食審査発 0323 第 1 号 平成２４年３月２３日付け 薬食審査発 0323 第 1 号 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知 「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」中に「バイオ医薬品の期待される代謝は、小さなペプチド及び各アミノ酸への分解である。したがって、その代謝経路は一般によく分かっている。一般の医薬品で実施される従来の生体内変化を調べる試験は必要ない。」と記載されている。RM-1929 の構成成分であるセツキシマブはモノクローナル抗体であり、モノクローナル抗体については代謝試験及び ADME 試験は、通常行われていない。
- RM-1929 の結合薬剤 (IR700)は、非切断性リンカーを用いて抗体と共有結合する。このため、RM-1929 投与後の HNSCC 患者の体循環中に検出される IR700 の血中濃度は、非常に低いか検出不可能であった。安全性上の問題となるヒトの代謝物は、定常状態における薬物に関連した総曝露量の 10%を超える濃度で生成される代謝物である。したがって、IR700 は RM-1929 の主要な循環代謝物ではないと考えられ、循環代謝物及び IR700 の ADME 特性は評価していない。

6. 排泄

RM-1929 及びセツキシマブの排泄試験は以下の理由から実施していない。

- 薬食審査発 0323 第 1 号 平成２４年３月２３日付け 薬食審査発 0323 第 1 号 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知 「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」中に「バイオ医薬品の期待される代謝は、小さなペプチド及び各アミノ酸への分解である。したがって、その代謝経路は一般によく分

かっている。一般の医薬品で実施される従来の生体内変化を調べる試験は必要ない。」と記載されている。RM-1929 の構成成分であるセツキシマブはモノクローナル抗体であり、モノクローナル抗体については代謝試験及び ADME 試験は、通常行われていない。

- RM-1929 の結合薬剤 (IR700) は、非切断性リンカーを用いて抗体と共有結合する。このため、RM-1929 投与後の HNSCC 患者の体循環中に検出される IR700 の血中濃度は、非常に低いか検出不可能であった。安全性上の問題となるヒトの代謝物は、定常状態における薬物に関連した総曝露量の 10%を超える濃度で生成される代謝物である。したがって、IR700 は RM-1929 の主要な循環代謝物ではないと考えられ、循環代謝物及び IR700 の ADME 特性は評価していない。

限定的な尿中濃度データ（投与後 3 時間）を雄性ラットに IR 700 カルボン酸体（IR 700-CO_2）を単回投与後に収集した（試験番号 EB10-039-016C/MC13B-0228）。IR 700-CO_2 は、RM-1929 複合体が血清エステラーゼにより分解されて体循環中に放出される可能性のある色素化合物で、RM-1929 から分離する遊離色素の分布を試験するモデル分子として使用された。2.6、7.8 及び 26 mg/kg を単回 IV 投与後、尿中 IR700-CO_2 濃度は投与量に伴い増加し、それぞれ 323、659 及び 1979 µg/mL と高濃度で検出され、腎排泄が遊離色素の消失に寄与することを示したが、TK 試験デザインのため蓄尿による総尿量が得られず、総排泄量は求まらなかった。一方、本試験及び雌雄ラットに IR 700-CO_2 を単回投与（10、30 又は 100 mg/kg）した TK 試験（試験番号 20065734/ASPY-0927A）にて得られた、血漿中 IR 700-CO_2 濃度‐時間成績から推定された IR 700-CO_2 の CL 値は、2.6～26 mg/kg 用量の試験で 178～196 mL/h/kg、10～100 mg/kg 用量の試験で（雌雄動物を通じ）117～169 mL/h/kg と、いずれもラットの糸球体濾過速度と類似する値であった。IR 700-CO_2 分子の極めて高い極性・水溶性と分子量（1,750）、更に尿中に未変化 IR 700-CO_2 が高濃度で排泄されたことを併せて鑑みると、本色素の排泄には腎排泄、特に糸球体濾過が主として関与すると推定された。

7. 薬物動態学的相互作用

RM-1929、セツキシマブ及び IR 700-CO_2 の薬物相互作用試験は実施しなかった。

8. その他の薬物動態試験

RM-1929、セツキシマブ及び IR 700-CO_2 のその他の薬物動態試験は実施しなかった。

9. 考察及び結論

今般製造販売承認申請する RM-1929 の薬物動態を評価した。非 GLP 及び GLP 毒性試験では、ラット及びサルにおける薬物動態プロファイルの検討を実施し、同時に、組織、組織切片及び組織ホモジネート中 IR 700 色素の 700 nm の蛍光放出を測定して RM-1929 の分布を評価した。

主要な GLP サル毒性試験（3.2.2 項、試験番号 11286）において、RM-1929 の全身曝露は測定可能であり、投与量を 40 から 80 mg/kg に増加させると投与量比例性を僅かに上回って増加した。この試験で収集された情報は、RM-1929 が 30～57 時間の範囲の中等度の $T_{1/2}$ であることを示した（ELISA 法及び HPLC-SEC 法の両方の結果を使用）。同試験において、RM-1929 と比較すると低投与量にも関わらずセツキシマブ（色素複合体ではない）は、約 64～66 時間の半減期、低分布容積、低クリアランス及び高曝露量であった。試験した投与量で RM-1929（40 及び 80 mg/kg）とセツキシマブ（16 mg/kg）を比較すると TK に差が見られた。

11286 試験において、RM-1929 の DAR は、セツキシマブ 1 分子当たり IR 700-CO_2 色素 2. 9 分子が共有結合していた。IR 700-CO_2 の TK 試験は、色素が体内で放出された場合、曝露量が低く、CL が迅速で腎クリアランスが消失経路に寄与することが示唆された。

サル組織中 RM-1929 の生体内分布については、RM-1929 を単回投与後 3 及び 15 日のカニクイザルから採取した未処置組織試料、ゲル電気泳動用組織ホモジネート試料及び組織切片の蛍光を測定した。未処置組織試料において、RM-1929 の 40 mg/kg 投与後 3 日の動物での最高蛍光強度は、肝臓、胆嚢及び腋窩リンパ節でみられ、80 mg/kg 投与後 15 日の動物ではリンパ節（鼠径部、腸間膜、腋窩）及び前立腺であった。ゲル電気泳動分析した組織ホモジネートでは、RM-1929 の 40 mg/kg 投与後 3 日の動物での最高蛍光強度は、血液、肺、肝臓、胆嚢及び皮膚（前腕内側）でみられ、RM-1929 の 80 mg/kg 投与後 15 日の動物での最高蛍光強度は、全ての組織で 1 µg/g 未満（総投与量の 10%以下が検出された）であり、RM-1929 及び IR 700 が組織中に蓄積せず投与後 2 週間以内に組織から消失することが示唆される。組織切片の画像化は、40 mg/kg 群の投与後 3 日の最高蛍光シグナルが腋窩リンパ節、胆嚢、膣及び皮膚（前腕内側）にみられ、80 mg/kg 投与後 15 日では最高蛍光シグナルが胆嚢、膀胱、十二指腸及び皮膚（前腕外側）にみられることを示した。投与後 3 日及び投与後 15 日の動物から採取した組織中の蛍光分布に明確な差は無かった。蛍光が検出された他の組織は、網膜、眼球色素上皮、角膜、胸骨及び大腿骨の骨梁、脾臓の赤脾髄及び尿細管が含まれた。蛍光のレベル及び局在は、未処置組織、ホモジネート試料及び組織切片で関連付けられた。組織中の蛍光の分布は、既知の EGFR 発現レベルと一致した。さらに、ゲル電気泳動分析は、分析した組織中未変化

RM-1929 を検出可能であり、検出した蛍光が EGFR 発現組織と RM-1929 の分布に関連していることを示す。

ヒトへの外挿及び安全域

GLP 適用下で実施したサル毒性試験の TK 結果は、最初の臨床試験でのヒトの曝露量の推定に使用した。投与量 80 mg/kg は NOAEL と判断され、ヒトの安全域算出の根拠を形成する。6 倍の safety margin（mg/kg スケール）としたとき、ヒト等価用量（HED）は 13.33 mg/kg 又は約 540 mg/m^2 である。

ヒトの安全な投与量は、CL のアロメトリックスケーリングからも推定でき、その後のヒトの曝露量の推定が可能である。サル血清 CL のアロメトリックスケーリングは、RM-1929 のヒト血清 CL を推定するために実施した。文献の前例は、タンパク製剤に対するサルの体重及び CL によるスケーリングでは、一般にヒト CL の予測値が *in vivo* で観察されたヒト CL の 2 倍以内であった [6]。下式を使用して、

$$CL_{human} = CL_{cyno} \times (BW_{human} / BW_{cyno})^{0.8}$$

ここで、BW_{human} はヒト標準体重（70 kg）、BW_{cyno} は推定値 2.7 kg（11286 試験のサルの平均体重を基にした）、CL_{cyno} は 80 mg/kg 投与時の平均 CL（5.27 mL/h）相当（11286 試験：ELISA 法）である。ヒト投与量 500 mg/m^2 において、推定した AUC_{inf} は 12,180 µg·h/mL であり、安全域が約 3.4 倍となった（表 18）。ヒトにおいて投与量比例性の PK が適用可能（高投与量の抗体で）であり、22 及び 30 mg/kg での高投与量の安全域が得られると推察された。

表 18　予定臨床用量における安全域

Proposed Clinical Human Dose (mg/kg)	Proposed Clinical Human Dose (mg/m^2)	Anticipated Human AUC_{inf} (µg·h/mL)	Safety Margin Based on AUC_{inf} at the Monkey 80 mg/kg Dose
12.4	500	12,180	3.4
22	900	21,873	1.9
30	1200	29,164	1.4

臨床使用における注意点として、セツキシマブ 100 mg の前処置を局所刺激性評価のために実施する。セツキシマブ 100 mg の前処置により、セツキシマブの曝露量は約 1,000 µg·h/mL 増加する。この曝露量を表 18 に示す RM-1929 曝露量に追加した場合、見積もられた安全域に顕著な変更はなかった。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

サルに 80 mg を投与したときの mg/kg でのスケーリング及び安全係数 6 倍に基づくと、安全な HED は 13.33 mg/kg となった。サル CL からヒトへのアロメトリックスケーリングを使用し、見積もられたヒト AUC_{inf} とサル AUC_{inf}（RM-1929 80 mg/kg 投与後）の比に基づくと、投与量 12.4 mg/kg の安全域を 3.4 とするべきである。

トキシコキネティクス、組織分布及び排泄のデータは、明確な異常所見がみられず、RM-1929 の安全性及び有効性を示している（Module 2.6.6 参照）

10. 参考文献

1. FDA. Erbitux, FDA Summary Basis of Approval. 2004.
2. Nanney LB, McKanna JA, Stoscheck CM, Carpenter G, King LE. Visualization of epidermal growth factor receptors in human epidermis. The Journal of investigative dermatology. 1984;82(2):165-9.
3. Playford RJ, Hanby AM, Gschmeissner S, Peiffer LP, Wright NA, McGarrity T. The epidermal growth factor receptor (EGF-R) is present on the basolateral, but not the apical, surface of enterocytes in the human gastrointestinal tract. Gut. 1996;39(2):262-6.
4. Yano S, Kondo K, Yamaguchi M, Richmond G, Hutchison M, Wakeling A, et al. Distribution and function of EGFR in human tissue and the effect of EGFR tyrosine kinase inhibition. Anticancer research. 2003;23(5A):3639-50.
5. FDA. Vectibix, FDA Summary Basis of Approval. 2006.
6. Wang W, Prueksaritanont T. Prediction of human clearance of therapeutic proteins: simple allometric scaling method revisited. Biopharmaceutics & drug disposition. 2010;31(4):253-63.