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）

2.7 臨床概要

2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法の概要

楽天メディカルジャパン株式会社

2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法の概要

略語一覧

略語	説明
ASP-1929	Cetuximab-IR700 Conjugate（セツキシマブ-IR700 複合体）
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor（上皮成長因子受容体）
ELISA	Enzyme-Linked Immunoassay（酸素結合免疫吸着測定法）
FDA	Food and Drug Administration（米国食品医薬品局）
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography（高速液体クロマトグラフィー）
IR700	IRDye® 700DX, a component of the investigational drug Cetuximab-IR700（治験薬セツキシマブ-IR700 の成分である IRDye® 700DX）
LLOQ	Lower Limit of Quantification（定量下限）
PIT690	PIT690.4-2500 レーザ装置を用いたレーザシステム
RM-1929	Cetuximab-IR700 Conjugate（セツキシマブ-IR700 複合体）

目次

1. 背景及び概観 4
1.1 背景 4
1.2 製剤 4
1.3 製剤開発の概要 5
1.4 生体試料分析法の概要 7
2. 個々の試験結果の要約 11
3. 全試験を通しての結果の比較と解析 11

2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法の概要

1. 背景及び概観

1.1 背景

本概要では、セツキシマブ　サロタロカンナトリウム（遺伝子組換え）（ASP-1929/RM-1929）（以下、本薬）の承認申請に用いた、生物薬剤学試験及び関連する分析法を要約する。

本薬と医療機器の BioBlade レーザシステムを併用する治療法は癌を標的とした新治療法であり、再発頭頸部癌患者の治療法として開発が進められている（以下、本治療）。

本治療は以下の順序による 2 段階の処置を必要とする。（1）本薬を静脈内投与する。（2）PIT690.4-2500（PIT690）レーザー装置のエネルギー（光フルエンス）を用いて波長 690 nm の赤色光を腫瘍へ照射することにより抗体と結合した IRDye® 700DX（IR700）を励起し、細胞死を誘導する。本薬を腫瘍内に集中的に分布させるため、通常は薬剤の投与から 24 時間後に光照射を行う。本治療の薬理作用は、本薬が結合した癌細胞の速やかな細胞死により、腫瘍壊死が誘導されることが特徴である。

本治療の作用機序は Module 2.6.2 項に示す。

本薬はセツキシマブと同様にヒト上皮成長因子受容体（EGFR）に特異的に結合する。本薬は癌細胞に過剰発現した EGFR に結合するため、本治療の光照射及び薬物活性は癌細胞選択的である。

1.2 製剤

市販予定製剤である ASP-1929 製剤は、静脈内投与用の無菌液剤として製造される。ASP-1929 は 50 mL 褐色ガラス製バイアルに充てんされ供給される。製剤は 5.0 mg/mL の濃度で、9%トレハロース及び 0.02%ポリソルベート 80 を含有する pH 7.1 の 10 mM リン酸ナトリウム緩衝液を含む注射剤として供給される。製剤に保存料は含有しない。ASP-1929 製剤は単回使用バイアルで、使用するまで出荷時の包装状態で 2～8℃で保存することとした。ASP-1929 は約 2 時間かけて静脈内投与される。

ASP-1929 はモノクローナル抗体のセツキシマブ（[redacted]）と色素である IR700 NHS エステルのタンパク質-色素共有結合の複合体である。結合前の IR700 は、リジン残基などの脂肪族第一アミンと安定なアミド結合を形成する、N-ヒドロキシサクシニミドエステルを有する。ASP-1929 の製造には、[redacted]及び[redacted]で承認を取得している、[redacted]社市販製品のセツキシマブを使用する。

2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法の概要

第 I/IIa 相（RM-1929-101）及び第 I 相臨床試験（RM-1929-102）では、ASP-1929 と同等の製剤である RM-1929 を用いて、セツキシマブ-IR700 複合体を用いる本治療の臨床的安全性及び有効性を評価した。RM-1929 の製造には、[redacted]により[redacted]で承認を取得している[redacted]社のセツキシマブ（[redacted]）を使用した。商業的に安定して製造するため、臨床開発計画の過程でセツキシマブの供給元を[redacted]社から[redacted]社に変更した。

[redacted]で承認されたセツキシマブと[redacted]で承認されたセツキシマブは、同一のアミノ酸配列で、同一のハイブリドーマ細胞株（Sp2/O）から産生される（[redacted]）。Rakuten Medical 社は、[redacted]で承認されたセツキシマブと[redacted]及び[redacted]で承認されたセツキシマブ、並びに RM-1929 と ASP-1929 の物理化学的同等性に基づき、ASP-1929 を第 III 相臨床試験（ASP-1929-301 試験）に使用した。同等性の詳細を Module 3.2.P.2.2 項及び Module 3.2.S.2.6 項に示す。

ASP-1929 及び RM-1929 のいずれも、抗体 1 分子につき平均 2～3 個の IR700 が結合している。抗体と IR700 の間のアミド結合は安定しているが、血漿中のアミダーゼによって切断され、IR700 のコア全体を含むカルボン酸型の IR700（IRDye® 700DX-CO_2）が抗体から遊離する可能性がある。

1.3 製剤開発の概要

臨床開発の過程で製剤を RM-1929 から ASP-1929 に変更する際、以下 2 つの目的で[redacted]を変更した。（1）液剤の[redacted]を改善するため、[redacted]として[redacted]及び[redacted]を追加、[redacted]を除去、並びに[redacted]緩衝液を[redacted]緩衝液に[redacted]した。（2）投与[redacted]を減らすため、[redacted]濃度を[redacted] mg/mL から[redacted] mg/mL に[redacted]した。

RM-1929 と ASP-1929 の[redacted]の違いを表2.7.1-1に示す。[redacted]の変更の妥当性を検証する試験を Module 3.2.P.2.1.2 項に示す。

2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法の概要

表 2.7.1-1:　　開発中の[redacted]の変更点

[redacted]

セツキシマブはヒト EGFR の細胞外ドメインに特異的に結合する遺伝子組換えヒト／マウスキメラ型モノクローナル抗体である。セツキシマブはマウス抗 EGFR 抗体の Fv 領域並びにヒト IgG1 の重鎖及び κ 軽鎖の定常部から構成される。セツキシマブは、ジスルフィド結合により対になった 2 本の重鎖と 2 本の軽鎖から構成される。ASP-1929 の抗体成分の主な目的は、EGFR 発現癌細胞を標的とすることである。

色素 IR700 の化学名は silicate(4-), [2,5-dioxo-1-pyrrolidinyl 6-[[[3-[(29H,31H-phthalocyanin-1-yl κN29, κN30, κN31, κN32)oxy]propoxy] carbonyl]amino]hexanoato(2-)]bis[N-[3-[(hydroxy-kO)dimethylsilyl]propyl]-3-sulfo-N,N-bis(3 -sulfopropyl)-1-propanaminiumato(4-)]-,sodium (1:4)である（Module 3.2.S.1.1 項参照）。IR700 の目的は赤色光（690 nm）の照射（非熱的）により、細胞死を誘導することである。

抗体-色素複合体の模式図を下記に示す。

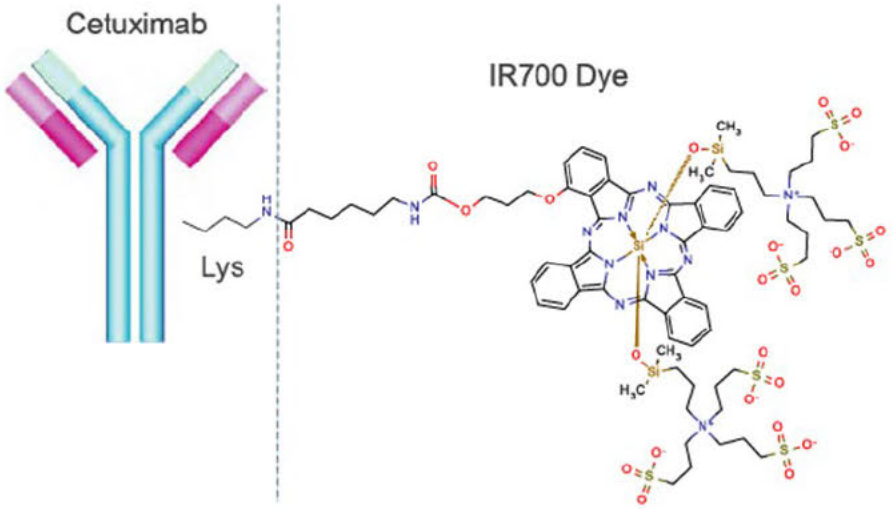


Figure note: Figure shows conjugation of the IR700 dye to cetuximab through a lysine (Lys) residue; there is an average of 2 – 3 dye molecules per molecule of cetuximab.

ASP-1929 製剤の組成を各成分の配合目的、品質規格及び分量とともに表2.7.1-2に示す。

表 2.7.1-2: ASP-1929-301 試験に使用した ASP-1929 製剤及び市販予定製剤の成分

Component	Function	Grade	Amount per Vial[1]
ASP-1929	Active ingredient	In-house specification	250 mg
Sodium phosphate, dibasic, anhydrous	[redacted]	[redacted]	42.6 mg
Sodium phosphate, monobasic, monohydrate	[redacted]	[redacted]	27.6 mg
Trehalose, dihydrate	[redacted]	[redacted]	4.5 mg
Polysorbate-80	[redacted]	[redacted]	10 mg
Water for Injection	Vehicle	[redacted]	q.s. 50 mL

Abbreviations: q.s. = quantity sufficient (to reach volume)
[1] Amount calculated based on an extractable volume of 50 mL

1.4 生体試料分析法の概要

RM-1929-101 試験及び RM-1929-102 試験で採取したヒト血清中の RM-1929 濃度及び IR700 濃度を定量するための生体試料分析法として、バリデート済みの蛍光検出による内標準法を用いた高速液体クロマトグラフィー（HPLC）（それぞれ [redacted] Validation Study CA15331-01 及び CA15331-02）を用いた。さらに、RM-1929-101 試験及び RM-1929-102 試験で採取したヒト血清中の抗 RM-1929 抗体の定量及び分析に、バリデー

ト済みの酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）（[redacted] Validation Study CA17849-01）を用いた。ヒト血清中の RM-1929 及び抗 RM-1929 抗体の分析に用いたバリデート済みの生体試料分析法をそれぞれ表2.7.1-3及び表2.7.1-4に要約する。これらの生体試料分析法は薬物動態解析を実施した RM-1929 の臨床試験で使用された。

表 2.7.1-3: ヒト血清中 RM-1929 及び IR700 の分析に用いた HPLC／蛍光検出による生体試料分析法の要約

Analyte	Matrix	Vendor	Methods	Internal Standard	LLOQ (µg/mL)	Linear Range (µg/mL)	MVR Number	MVR Issuance Date	Clinical Study Supported
RM-1929	Human Serum	[redacted]	BAM SOP CA15331-01	NA	2.00	2.00–500	CA15331-01	30 May 2018	RM-1929-101 RM-1929-102
IR700	Human Serum	[redacted]	BAM SOP CA15331-02	NA	0.025	0.0250–10.0	CA15331-02	30 May 2018	RM-1929-101 RM-1929-102

Abbreviations: BAM = bioanalytical method; HPLC = high-performance liquid chromatography; LLOQ = lower limit of quantification; MVR = Method Validation Report; NA = not applicable; RM-1929 = ASP-1929; SOP = standard operating procedure

表 2.7.1-4: ヒト血清中抗 RM-1929 抗体の分析に用いた ELISA による生体試料分析法の要約

Analyte	Matrix	Vendor	Methods	LPC (ng/mL)	MPC (ng/mL)	HPC (ng/mL)	MVR Number	MVR Issuance Date	Clinical Study Supported
Anti-RM-1929 Antibodies	Human Serum	[redacted]	BAM SOP CA17849-01	20.0	100	500	CA17849-01	30 Jul 2018	RM-1929-101 RM-1929-102

Abbreviations: BAM = bioanalytical method; ELISA = enzyme linked immunoassay; MVR = Method Validation Report; RM-1929 = ASP-1929; SOP = standard operating procedure

2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法の概要

ヒト血清を用いた RM-1929 の定量及び分析法のフルバリデーションの要約を分析法バリデーション報告書 CA15331-01 に示す。治験中、採取したヒト血清検体に対して変性処理を行い、蛍光検出 HPLC により分析及び分離した。バリデーションにおける測定間の真度及び精度は良好であった。品質管理（QC）試料の検討範囲［定量下限（LLOQ）から QC 試料の上限濃度までの範囲］において、測定間の正確性（理論値からの%バイアス）は 1.5～3.2%、測定間の精度［変動係数（%CV）］は 3.0～5.8%の範囲であった。1,000 µg/mL まで希釈能をバリデートした（希釈倍率 10 倍）。凍結融解を 6 回繰り返したとき、並びにポリプロピレン製チューブ内、白色光下及び室温の条件下で 27 時間保管したときの RM-1929 の安定性が確認された。冷凍保存条件下では、−20℃で 1,107 日間、及び−80℃で 1,107 日間の長期安定性が確認された。

ヒト血清を用いた IR700 の定量及び分析法のフルバリデーションの要約を分析法バリデーション報告書 CA15331-02 に示す。治験中、採取したヒト血清検体に対して変性処理を行い、蛍光検出 HPLC により分析及び分離した。バリデーションにおける測定間の真度及び精度は良好であった。QC 試料の検討範囲（LLOQ から QC 試料の上限濃度までの範囲）において、測定間の正確性（理論値からの%バイアス）は−1.9～3.5%、測定間の精度（%CV）は 1.5～7.0%の範囲であった。35.0 µg/mL まで希釈能をバリデートした（希釈倍率 10 倍）。凍結融解を 6 回繰り返したとき、並びにポリプロピレン製チューブ内、白色光下及び室温の条件下で 27 時間保管したときの IR700 の安定性が確認された。冷凍保存条件下では、−20℃で 742 日間、及び−80℃で 146 日間の長期安定性が確認された。

抗 RM-1929 抗体の定量及び分析法のフルバリデーションの要約を分析法バリデーション報告書 CA17849-01 に示す。治験中、採取したヒト血清検体（0.025 mL 以上）に対してブリッジング ELISA を用いて分析した。この分析法ではビオチンとジゴキシゲニンで標識した RM-1929 に抗抗体を結合させ、この抗体複合体をストレプトアビジンでコーティングしたマイクロプレートに固定させて、抗ジゴキシゲニン抗体にて検出、吸光度をマイクロプレート用分光測色器で測定する。分析感度及びマトリックスにおける選択性を確認するため、99%信頼水準の感度に対応する濃度の抗 RM-1929 抗体を、個別の 10 ロットのヒト血清に添加した。この 10 ロット中 8 ロットで、抗 RM-1929-抗体を添加した血清中の抗体価が検出可能であり、添加していない血清中では抗体価が検出されないことを確認した。凍結融解を 6 回繰り返したときの抗 RM-1929 抗体の安定性が確認された。冷凍保存条件下では、ポリプロピレン製チューブ内及び−20℃の条件下で 666 日間の長期安定性が確認された。なお、抗 RM1929 抗体陽性とされた試料については、その試料中抗体の中和能について、細胞系を用いた ADCC 法により確認した。この測定

手法では（分析法バリデーション報告書 CA19629-01）RM-1929 又はセツキシマブに結合して ADCC 活性を低下させる抗体を検出する。すなわち、RM-1929 やセツキシマブの抗原である EGFR との結合、又は Fc 受容の RM-1929 やセツキシマブへの結合を阻害する抗体を検知する。

2. 個々の試験結果の要約

該当せず。これまでにバイオアベイラビリティ又は食事の影響に関連する *in vivo* の生物薬剤学試験は実施していない。[redacted]で承認されたセツキシマブと[redacted]及び[redacted]で承認されたセツキシマブの、*in vitro* での物理化学的、分析的、生物学的な比較を Module 3.2.P.2.2 項に示す。RM-1929 と ASP-1929 の同様の比較を Module 3.2.S.2.6 項に示す。

3. 全試験を通しての結果の比較と解析

該当せず。ヒトを対象とする総合的な生物薬剤学分析は実施していない。