目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 6
2.6.4.1 緒言 6
2.6.4.1.1 PK 試験の要約 7
2.6.4.1.2 ADME 試験の要約 8
2.6.4.2 分析法 10
2.6.4.2.1 分析法概要 10
2.6.4.2.2 acMMAE 測定法 12
2.6.4.2.3 総抗体測定法 13
2.6.4.2.4 遊離型 MMAE 測定法 14
2.6.4.2.5 ADA 測定法 14
2.6.4.2.6 放射性標識化合物の分析 15
2.6.4.3 吸収 15
2.6.4.3.1 単回投与試験 16
2.6.4.3.1.1 SCID マウスにおけるポラツズマブ　ベドチン，サロゲート ADC，ポラツズマブ抗体，又はサロゲート抗体単回 IV 投与 16
2.6.4.3.1.2 カニクイザルにおけるサロゲート ADC 又はサロゲート抗体単回 IV 投与 16
2.6.4.3.1.3 カニクイザルにおける MMAE 単回 IV 投与 17
2.6.4.3.2 反復投与試験 18
2.6.4.3.2.1 ラットにおけるポラツズマブ　ベドチン 4 週間投与 18
2.6.4.3.2.2 カニクイザルにおけるポラツズマブ　ベドチン又はサロゲート ADC　3 週間間隔，4 回投与 19
2.6.4.4 分布 21
2.6.4.4.1 ラットにおける組織分布 21
2.6.4.4.1.1 [^{125}I]／[^{111}In]-polatuzumab vedotin 及び[^{125}I]／[^{111}In]-polatuzumab 抗体投与 21
2.6.4.4.1.2 Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE 投与 22
2.6.4.4.1.3 [^{3}H]MMAE 投与 23
2.6.4.4.2 MMAE の *in vitro* 血漿蛋白質結合及び血球移行 24
2.6.4.5 代謝（動物種間の比較） 25
2.6.4.5.1 *In vitro* 血漿中安定性 25
2.6.4.5.2 MMAE の *in vitro* 代謝 26
2.6.4.5.2.1 MMAE の肝クリアランス及び代謝関与酵素の同定 26
2.6.4.5.2.2 肝細胞及び肝ミクロソームにおける MMAE 代謝物の同定 26
2.6.4.5.3 ポラツズマブ　ベドチンの *in vivo* 代謝 28
2.6.4.5.3.1 ラットにおける polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE の代謝 28
2.6.4.5.4 ラットにおける MMAE の *in vivo* 代謝 31
2.6.4.6 排泄 33
2.6.4.6.1 ラットにおけるポラツズマブ　ベドチン投与後の 排泄及びマスバ

ランス 33
2.6.4.6.2 ラットにおける MMAE 投与後の排泄及びマスバランス 34
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 36
2.6.4.7.1 MMAE の CYP 阻害作用（*in vitro*） 36
2.6.4.7.2 MMAE の CYP 誘導能（*in vitro*） 36
2.6.4.7.3 MMAE と薬物トランスポーターとの相互作用 36
2.6.4.7.3.1 ヒト MDR1（P-gp）トランスポーターに対する MMAE の *in vitro* 相互作用試験 36
2.6.4.7.3.2 ヒト OATP1B1，OATP1B3，OCT1，OCT2，OAT1，OAT3，BCRP，BSEP，MRP2 トランスポーターとの *in vitro* 相互作用試験 36
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 37
2.6.4.8.1 免疫原性試験の要約 37
2.6.4.8.2 製剤間比較試験（v0.1 由来製剤・v1.0 由来製剤） 37
2.6.4.9 考察及び結論 38
2.6.4.10 図表 42
2.6.4.11 参考文献 42

表一覧

表 2.6.4.2-1　測定法一覧 12
表 2.6.4.2.3-1　総抗体測定用 ELISA のバリデーション結果 13
表 2.6.4.2.4-1　遊離型 MMAE 測定用 LC-MS/MS のバリデーション結果 14
表 2.6.4.2.5-1　抗薬物抗体（ADA）測定用 ELISA のバリデーション結果 15
表 2.6.4.3.1.1-1　SCID マウスにポラツズマブ抗体，ポラツズマブ　ベドチン，サロゲート抗体 又はサロゲート ADC を5 mg/kg 単回 IV 投与後の PK パラメータ 16
表 2.6.4.3.1.2-1　カニクイザルにサロゲート抗体又はサロゲート ADC を単回 IV 投与後のサロゲート抗体及び総抗体の PK パラメータ 17
表 2.6.4.3.1.3-1　カニクイザルに0.030及び0.063 mg/kg の MMAE を単回 IV 投与した後の MMAE の TK パラメータ 18
表 2.6.4.3.2.1-1　ラットにポラツズマブ　ベドチンを週1回，計4回静脈内投与時の 血清中総抗体の TK パラメータ平均値 19
表 2.6.4.3.2.2-1　カニクイザルにポラツズマブ　ベドチンを3週1回，計4回静脈内投与時の血清中総抗体の TK パラメータ 20
表 2.6.4.3.2.2-2　カニクイザルにサロゲート ADC を3週1回，計4回静脈内投与時の 血清中総抗体の TK パラメータ 21
表 2.6.4.4.2-1　ラット，カニクイザル，及びヒトの血漿における MMAE の 血漿蛋白結合率及び非結合率（平均値±標準偏差） 25
表 2.6.4.5.2.1-1　肝ミクロソーム及び肝細胞を用いて算出した MMAE の肝クリアランス（CL_{hep}） 26
表 2.6.4.5.3.1-1　Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を単回静脈内投与後のプールしたラット尿中及び胆汁中の MMAE 関連代謝物 30
表 2.6.4.8.2-1　雌ラットにポラツズマブ　ベドチン v0.1又は v1.0由来製剤を単回 IV 投与後

の PK パラメータ 38

図一覧

図 2.6.4.2-1　ポラツズマブ　ベドチンの化学構造 10
図 2.6.4.2-2　ポラツズマブ　ベドチン の疎水性相互作用クロマトグラム 11
図 2.6.4.2.6-1　放射性標識化合物の構造 15
図 2.6.4.4.1.2-1　Sprague-Dawley ラットに10 mg/kg の polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を 単回 IV ボーラス投与後の組織中放射能（平均値±標準偏差） 23
図 2.6.4.4.1.3-1　Sprague-Dawley ラットに0.2 mg/kg の[^{3}H]MMAE を単回 IV 投与後の 組織中放射能（平均値±標準偏差） 24
図 2.6.4.5.2.2-1　ヒト肝細胞及び肝ミクロソームにおける MMAE の推定代謝経路 27
図 2.6.4.5.3.1-1　ラットに10 mg/kg の polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を単回静脈内投与後の血漿中放射能推移（平均値） 28
図 2.6.4.5.3.1-2　ラットに10 mg/kg の polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を単回静脈内投与後の胆汁中ポラツズマブ　ベドチンの代謝物プロファイル 29
図 2.6.4.5.3.1-3　ラットに10 mg/kg の polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を単回静脈内投与後の尿中ポラツズマブ　ベドチンの代謝物プロファイル 29
図 2.6.4.5.4-1　ラットに0.2 mg/kg の [^{3}H]MMAE を単回静脈内投与後の胆汁（0～1時間）RP-HPLC ラジオクロマトグラム 31
図 2.6.4.5.4-2　ラット胆汁中代謝物による MMAE の推定代謝経路 32
図 2.6.4.6.1-1　ラットに polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE 10 mg/kg を単回静脈内投与後の尿中及び糞中放射能の累積排泄率（平均値±標準偏差） 33
図 2.6.4.6.1-2　BDC ラットに polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE 10 mg/kg を 単回静脈内投与後の胆汁中放射能の累積排泄率（平均値±標準偏差） 34
図 2.6.4.6.2-1　ラットに[^{3}H]MMAE 0.2 mg/kg を単回静脈内投与後の尿中及び糞中放射能の累積排泄率（平均値±標準偏差） 35
図 2.6.4.6.2-2　BDC ラットに[^{3}H]MMAE 0.2 mg/kg を単回静脈内投与後の胆汁中放射能の累積排泄率（平均値±標準偏差） 35
図 2.6.4.8.2-1　雌ラットにポラツズマブ　ベドチン v0.1又は v1.0由来製剤を単回 IV 投与後の 総抗体の血漿中濃度推移（平均値±標準偏差） 37
図 2.6.4.8.2-2　雌ラットにポラツズマブ　ベドチン v0.1又は v1.0由来製剤を単回 IV 投与後の acMMAE の血漿中濃度推移（平均値±標準偏差） 38

略語一覧

略語	英名	和名
acMMAE	antibody-conjugated monomethyl auristatin E	抗体結合型 MMAE
ACN	acetonitrile	アセトニトリル
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
ADC	antibody-drug conjugate	抗体薬物複合体
ADME	absorption, distribution, metabolism and elimination	吸収，分布，代謝及び排泄
AUC	area under the concentration-vs.-time curve	濃度－時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白質
BDC	bile duct-cannulated	胆管カニューレ挿入
B/P	blood to plasma ratio	全血中濃度／血漿中濃度比
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣細胞
CL	clearance	クリアランス
CL_{hep}	hepatic clearance	肝クリアランス
C_{max}	maximum concentration	最高濃度
CYP	cytochrome P450	シトクロム P450
CV	coefficient of variation	変動係数
DAR	drug-to-antibody ratio	薬物抗体比
DDI	drug-drug interaction	薬物相互作用
DLBCL	diffuse latge B-cell lymphoma	びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
GLP	Good Laboratory Practices	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HLM	human liver microsomes	ヒト肝ミクロソーム
HRP	horseradish peroxidase	西洋ワサビペルオキシダーゼ
IA	immunoaffinity	免疫親和性
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ID	injected radioactivity dose	投与放射能（量）
Ig	Immunogloblin	免疫グロブリン
IV	intravenous	静脈内
K_I	concentration of an inactivator that supports half the maximal rate of enzyme inactivation	最大不活性化速度の50％の速度をもたらす阻害薬の濃度
K_{inact}	maximal rate of enzyme inactivation	最大酵素不活化速度
LC-MS/MS	liquid chromatography tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
mc-vc-PAB	maleimidocaproyl-valine-citrulline-p-aminobenzyloxycarbonyl	maleimidocaproyl-valine-citrulline-p-aminobenzyloxycarbonyl
MDR1	multidrug resistance protein 1	多剤耐性蛋白質1
MMAE	monomethyl auristatin E	モノメチルアウリスタチン E
MQC	minimum quanfitable concentration	定量可能な最低濃度
MRD	minimum required dilution	最小必要希釈度
MRP	multidrug resistance-associated protein	多剤耐性関連蛋白質

略語	英名	和名
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
PAB	p-aminobenzyloxycarbonyl	p-aminobenzyloxycarbonyl
PD	pharmacodynamic	薬力学
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白質
PK	pharmacokinetic	薬物動態
RBC	red blood cell	赤血球
RP-HPLC	reverse phase high performance liquid chromatography	逆相高速液体クロマトグラフィー
SCID	severe combined immunodeficient	重度免疫不全
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
V_{ss}	steady-state volume of distribution	定常状態における分布容積
vcMMAE	mc-vc-PAB-MMAE	mc-vc-PAB-MMAE

2.6.4　薬物動態試験の概要文

2.6.4.1　緒言

ポラツズマブ　ベドチン（遺伝子組換え）（以下，ポラツズマブ　ベドチン）は抗 CD79b ヒト化免疫グロブリン（Ig）G1モノクローナル抗体と強力な有糸分裂阻害薬モノメチルアウリスタチン E（MMAE）を，プロテアーゼ切断性リンカーmaleimidocaproyl-valine-citrulline-p-aminobenzyloxycarbonyl（mc-vc-PAB）を介して共有結合させた抗体薬物複合体（ADC）である。CD79b は B 細胞の表面にある B 細胞受容体（BCR）のシグナル伝達を担う蛋白であり，CD79b に特異的に結合するポラツズマブ　ベドチン を投与することで，MMAE が B 細胞に選択的に移行し，B 細胞性悪性腫瘍に対して抗腫瘍効果をもたらすことが期待される。ポラツズマブ　ベドチンは，1抗体あたり平均約3.5の MMAE 分子が結合している［薬物抗体比（DAR）= 約3.5］(2.4.1)。

ヒト CD79b の発現は，形質細胞を除く B 細胞系の正常細胞及び悪性 B 細胞に限定されており，びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫（DLBCL）では90%の非常に高い割合で発現している。したがって，MMAE の移行はこれらの細胞にほぼ限定されることが予想される（2.4.1）。

ポラツズマブ　ベドチンは CD79b に結合後，速やかに細胞内に移行し，リンカーはリソソーム内でプロテアーゼにより切断され，MMAE が細胞内に放出される。放出された MMAE は微小管に結合し，細胞分裂を阻害してアポトーシスを誘導することにより，分裂中の細胞を死滅させる（2.4.1）。

ポラツズマブ　ベドチンはヒト B 細胞表面の CD79b を特異的に認識するが，ヒト以外の霊長類及びげっ歯類の CD79b は認識しないことから，薬物動態／毒性試験において標的を介した作用を評価するため，カニクイザルの CD79b に特異的に結合するサロゲート ADC を作成した。サロゲート ADC は，カニクイザルの CD79b に結合するヒト-マウスキメラ IgG1モノクローナル抗体に，MMAE をポラツズマブ　ベドチンと同一のリンカー用いて結合させたものである。サロゲート ADC は，ポラツズマブ　ベドチンと同様の結合特性を有し，DAR は平均3.5である（2.4.2.2）。サロゲート ADC を用いることにより，抗 CD79b ADC の薬物動態（PK）／薬力学（PD）及び毒性に対する B 細胞標的性，MMAE 関連作用，及び標的を介した分布／消失と非特異的分布／消失の両方の機序の複合的な評価が可能となった。

資料中，ポラツズマブ　ベドチン，サロゲート ADC，及び MMAE を結合させる前の抗体成分は，図表，報告書，及びその他の提出文書において以下の相当する別名称を使用している場合がある。

名称	相当する抗体／薬物の説明	相当する開発番号
ポラツズマブ　ベドチン	ヒト CD79b を認識する ADC（臨床試験及び非臨床試験で使用）	DCDS4501A，DCDS4501S
ポラツズマブ抗体	MMAE を結合させる前のポラツズマブ　ベドチンの抗体成分	MCDS4409A
サロゲート ADC	カニクイザル CD79b を認識する ADC（非臨床試験のみで使用）	DCDS5017A
サロゲート抗体	MMAE を結合させる前のサロゲート ADC の抗体成分	MCDS1358A

ADC：抗体薬物複合体，MMAE：モノメチルアウリスタチン E。

ポラツズマブ　ベドチンの開発では，PD 及び PK／吸収・分布・代謝・排泄（ADME）試験を実施した。これらの試験では，ポラツズマブ　ベドチン及び薬効成分である MMAE の非臨床薬物動態及びトキシコキネティクス（TK）を評価し，それらの曝露量を確認することにより薬理試験及び毒性試験結果を裏付けた。また，ポラツズマブ　ベドチン及び MMAE の血漿中安定性，組織分布，異化／代謝，及び排泄を評価した。更に，v0.1由来製剤（GO29365試験

の主要部分で使用）及び v1.0由来製剤（市販予定）の PK を比較し製法変更による影響の有無を評価した。

2.6.4.1.1　PK 試験の要約

マウス薬効試験並びにラット及びカニクイザルを用いた毒性試験結果を裏付けるため，ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC の PK を評価した。また，カニクイザルにおける MMAE 投与後の PK を評価した。更に，製法変更による PK への影響を確認するため，ラットにおける PK 試験を実施した。

ADC 投与後の PK は抗体結合型 MMAE（acMMAE），総抗体及び遊離型 MMAE を測定し，総合的に評価した[1), 2)]。acMMAE は，抗体に結合しているすべての MMAE の濃度，総抗体は，MMAE と結合及び非結合の抗体部分の総和の濃度，遊離型 MMAE は，抗体に結合していない MMAE の濃度である（2.6.4.2項を参照）。また，カニクイザルの試験においては，抗薬物抗体（ADA）も測定対象とした。

マウス，ラット及びカニクイザルで実施された PK 試験の主要な結果を以下に要約した。

- マウス，ラット及びカニクイザルにポラツズマブ　ベドチンあるいはサロゲート ADC を単回静脈内（IV）投与又は反復 IV 投与後，すべての動物種において，総抗体の血清中濃度推移は，分布相が短く消失相が長い特徴を示した。これは一般的なモノクローナル抗体薬に認められるものと同様である（4.2.2.2-1，4.2.3.2-2，4.2.1.1-13，及び4.2.3.2-4）。
- 交差反応性のないマウスにおけるポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC の総抗体の PK は同様であり，いずれも体内からの消失は遅く，消失半減期（$t_{1/2}$）は10～12日を示した（4.2.2.2-1）。
- サロゲート ADC との交差反応性を示すカニクイザルに，サロゲート ADC を0.3～3 mg/kg の用量で単回 IV 投与後，総抗体の全身曝露量は用量比以上の増加を示した（4.2.1.1-13）。サロゲート ADC で認められた非線形性は，B 細胞を介した ADC の消失経路の飽和によるものと考えられた。この試験の PD の結果は2.6.2.2項に記載した。
- ラットは交差反応性を示さない動物種であり，ラットにおける反復投与毒性試験では，ポラツズマブ　ベドチンの週1回 IV 投与後の総抗体の全身曝露量は，2～10 mg/kg で用量比例的に増加した。4回の反復投与により中程度の蓄積が認められ，1.10～1.71の蓄積比（TK Day 21から Day 28までの濃度-時間曲線下面積/TK Day 0から TK Day 7までの濃度－時間曲線下面積［$AUC_{21\text{-}28}/AUC_{0\text{-}7}$］）を示した（4.2.3.2-2）。
- カニクイザルはポラツズマブ　ベドチンに対しては交差反応性を示さず，サロゲート ADC に対して交差反応を有する動物種であるが，カニクイザル反復 IV 投与毒性試験において試験した用量範囲での総抗体の曝露量は，ポラツズマブ　ベドチン投与（1～5 mg/kg）及びサロゲート ADC 投与（3～5 mg/kg）ともに用量比例的であった。また，3週に1回，計4回投与の期間（TK Day 0から TK Day 70）を通じた総抗体の濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}70}$）は，ポラツズマブ　ベドチン投与群のほうが，サロゲート ADC 投与群より1.2～1.4倍程度大きかった。ポラツズマブ　ベドチンの蓄積性は認められなかった。サロゲート ADC の蓄積比［TK Day 63から TK Day 84までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{63\text{-}84}$）/ TK Day 0から TK Day 21までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}21}$）］は反復投与後のカニクイザルで1.22～1.52であった（4.2.3.2-4）。
- カニクイザルに MMAE を0.03又は0.063 mg/kg の用量で単回 IV 投与後，血漿中 MMAE 濃度は二相性の速やかな低下を示した。クリアランス（CL）は肝血流量の約30～60%であり，群平均値は16.6～22.7 mL/min/kg であった。定常状態における分布容積（V_{ss}）は，体内総水分量よりも40倍以上大きく，広く組織に分布することが示唆された（4.2.3.1-4）。
- ポラツズマブ　ベドチン又はサロゲート ADC を IV 投与後のラット及びカニクイザル血漿中

の遊離型 MMAE 濃度は概ね低く，いずれの試験でも用量にかかわらず血漿中濃度は1 ng/mL 未満であった（4.2.3.2-2，4.2.1.1-13，及び4.2.3.2-4）。ポラツズマブ　ベドチン，サロゲート ADC 又は MMAE を IV 投与のいずれの TK 試験でも，性差は認められなかった（4.2.3.2-2，4.2.3.1-4，及び4.2.3.2-4）。

- ADA の発現率は，ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC を反復投与したカニクイザルでそれぞれ43%及び20%であった（4.2.3.2-4）。サロゲート ADC を単回投与したカニクイザルでは，ADA の発現率は67%であった（4.2.1.1-13）。ADA 産生は総抗体及び遊離型 MMAE の曝露量に明確な影響を与えなかった。
- ポラツズマブ　ベドチンの v0.1及び v1.0由来製剤をラットに単回 IV 投与し PK を比較した。総抗体及び acMMAE の血漿中濃度推移は，2製剤間で類似しており，総抗体及び acMMAE のいずれの投与後定量可能な最終測定時点までの濃度－時間曲線下面積（AUC_{last}）及び最高濃度（C_{max}）に関しても，それらの幾何平均比は90%信頼区間で0.8～1.25の範囲であり，製法変更による PK への影響はないことが示唆された（4.2.2.7-1）。

2.6.4.1.2　ADME 試験の要約

組織分布，代謝及び排泄を評価するための試験をポラツズマブ　ベドチンあるいは MMAE 用いて実施した。ポラツズマブ　ベドチンは，IgG1骨格にいくつかの MMAE が mc-vc-PAB リンカーを介して結合している構造である（図 2.6.4.2-1参照）。したがって，ADME 試験は，ADC 構造内の低分子（MMAE）及び抗体成分の両方を考慮に入れて設定した。必要に応じ，非臨床試験で MMAE 及び2種の ADC（ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC）を評価した。更に必要な場合には，ポラツズマブ抗体及びサロゲート抗体を評価に含めた。

バイオ医薬品であるモノクローナル抗体の代謝は，通常，分子量の小さいペプチド及びアミノ酸への分解であるとされている（ICH S6 (R1)，平成24年3月23日 薬食審査発0323第1号 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）。したがってポラツズマブ　ベドチンの代謝の評価には，一般的に使用される薬物代謝の *in vitro* 試験系（例，肝ミクロソーム）は適用しなかった。

ADME 試験の主要な結果を以下に要約した。

ポラツズマブ　ベドチン

- ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC の安定性を，マウス，ラット，カニクイザル，及びヒトの血漿中でインキュベートして評価した。2種の ADC の acMMAE 濃度は経時的に同程度に低下したが，MMAE の約60%は96時間のインキュベーション後にも抗体に結合した状態であった。動物種間及び2種の ADC 間で安定性に実質的な差は認められなかった（4.2.2.4-1）。
- ラットに MMAE 部分を[^{3}H]標識したポラツズマブ　ベドチン（polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE）を単回 IV 投与後，血漿中の放射能の大部分（99%以上）は，投与後14日までのすべての時点でポラツズマブ抗体に結合したままであり，ごく少量が低分子の[^{3}H]MMAE 含有代謝物として認められた（4.2.2.3-2）。
- 抗体部分を放射性標識（[^{125}I]又は[^{111}In]）したポラツズマブ　ベドチンをトレーサーのみ，又は10 mg/kg の非標識体とともにラットに単回 IV 投与した。また，同様に放射性標識したポラツズマブ抗体をトレーサーのみ，又は10 mg/kg の非標識体とともに投与した。いずれの投与においても，放射能は肝臓，肺，心臓，腎臓，脾臓，副腎，卵巣，骨髄などの血流量の多い組織への非特異的な分布を示した。ポラツズマブ　ベドチンの組織分布は自身の抗体成分であるポラツズマブ抗体の組織分布と同様であり，MMAE との結合による変化は認められなかった（4.2.2.3-1）。

- ラットに polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を単回 IV 投与後，放射能は肝臓，肺，心臓，腎臓，脾臓，副腎，卵巣，骨髄などの血流量の多い組織への非特異的な分布を示し，いずれの組織でも，滞留性は認められなかった（4.2.2.3-2）。
- ラットに polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を単回 IV 投与後の血漿，尿，及び胆汁中で同定されたポラツズマブ　ベドチンの主な代謝物は，遊離型 MMAE（3種の生体試料中すべて），*O*-脱メチル化 MMAE（胆汁中のみ），MMAE のアミド加水分解及び水酸化を伴う *N*-脱メチル化（胆汁中のみ），及び cys-vc-MMAE（胆汁中のみ）であった（4.2.2.4-5）。
- ラットに polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を単回 IV 投与後14日までに，投与放射能の ＞ 95%が糞中に，また，投与放射能の約5%が尿中に回収された。マスバランスは良好であり，主な排泄経路は胆汁を介する糞中への排泄であることが示唆された（4.2.2.3-2, 4.2.2.5-2）。

MMAE

- 平衡透析法を用いて，ラット，カニクイザル，及びヒトの血漿中での MMAE の血漿蛋白結合を評価した。MMAE の血漿蛋白結合率はヒトを含むこれらの動物種で61.4%～90.8%であり，臨床において MMAE が血漿蛋白結合率の高い薬物の影響を受ける可能性は低いことが示唆された（4.2.2.3-4）。
- ヒト試料において，[^{3}H]MMAE 由来放射能の全血中濃度／血漿中濃度比（B/P）は1.34～1.65であり，MMAE は *in vitro* でヒト赤血球（RBC）には顕著な分布を示さなかった。一方，動物試料では MMAE の B/P は高く，2~20 nmol/L の濃度で，マウスで約16~20，ラットで約3~4，及びカニクイザルで約2~3であった（4.2.2.3-5）。
- ラットに[^{3}H]MMAE を単回 IV 投与（0.2 mg/kg）後，放射能は血液から速やかに消失し，肝臓，肺，心臓，腎臓，脾臓，骨髄，副腎などの複数の血流量の多い組織に速やかに分布した。脳ではわずかに放射能が検出された。検討したいずれの組織でも，投与後6日での滞留性は認められなかった（4.2.2.3-3）。
- MMAE の主要代謝関与シトクロム P450（CYP）分子種は CYP3A4/5であった。MMAE の代謝物は，主に水酸化，脱メチル化，脱水素反応，又は加水分解により生じる。MMAE の肝クリアランス（CL_{hep}）は，ラット，カニクイザル，及びヒトの肝ミクロソーム及び肝細胞における *in vitro* 試験に基づき，低～中程度と推定された（4.2.2.4-2）。
- ラットに[^{3}H]MMAE（0.2 mg/kg IV）を投与した際に，投与した放射能の大部分（ ＞ 90%）が胆汁／糞中で検出され，尿では少量（約9%）が検出された。胆汁中の放射能の大部分は[^{3}H]MMAE と同定された（約63%）。残りの胆汁中放射能より6種の代謝物が同定された。このうち4種の代謝物は *in vitro* 試験でも認められたものであった。排泄データより，投与後6日までに，投与した放射能がすべて排泄され，マスバランスは良好であった（4.2.2.3-3及び4.2.2.4-6）。
- MMAE は，ヒト凍結肝細胞において，予定臨床用量1.8 mg/kg でのポラツズマブ　ベドチン投与後のヒトにおける遊離型 MMAE の C_{max}（約10 nmol/L（DCS4968g 試験）あるいは約2.3 nmol/L（JO29138試験））よりもはるかに高い濃度である1 μmol/L でも，主要な CYP 分子種をいずれも誘導しなかった（4.2.2.6-2）。
- ヒト肝ミクロソーム（HLM）を用いた *in vitro* 試験において，MMAE は CYP3A4/5の弱い時間依存性阻害剤であり，最大不活性化速度の50%の速度をもたらす阻害薬の濃度（K_I）値1.12 μmol/L 及び阻害剤の飽和濃度で最大酵素不活性化速度（K_{inact}）値0.10 min^{-1}が認められた。しかし，K_I 値は予定臨床用量1.8 mg/kg でのポラツズマブ　ベドチン投与後のヒトにおける遊離型 MMAE の C_{max} より約100倍以上高いため，臨床使用上，併用薬との相互作用を生じる可能性は低い（4.2.2.6-1）。
- MMAE は，HLM を用いた *in vitro* 試験において，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，及び CYP2D6を阻害しなかった（50%阻害濃度［IC_{50}］ ＞ 100 μmol/L）。MMAE は CYP3A4/5を阻害（IC_{50} = 10 μmol/L）したが，予定臨床用量1.8 mg/kg でのポラツズマブ

ベドチン投与後のヒトにおける遊離型 MMAE の C_{max} よりも1000倍以上高いため，臨床使用上，併用薬との相互作用を生じる可能性は低い（4.2.2.6-1）。

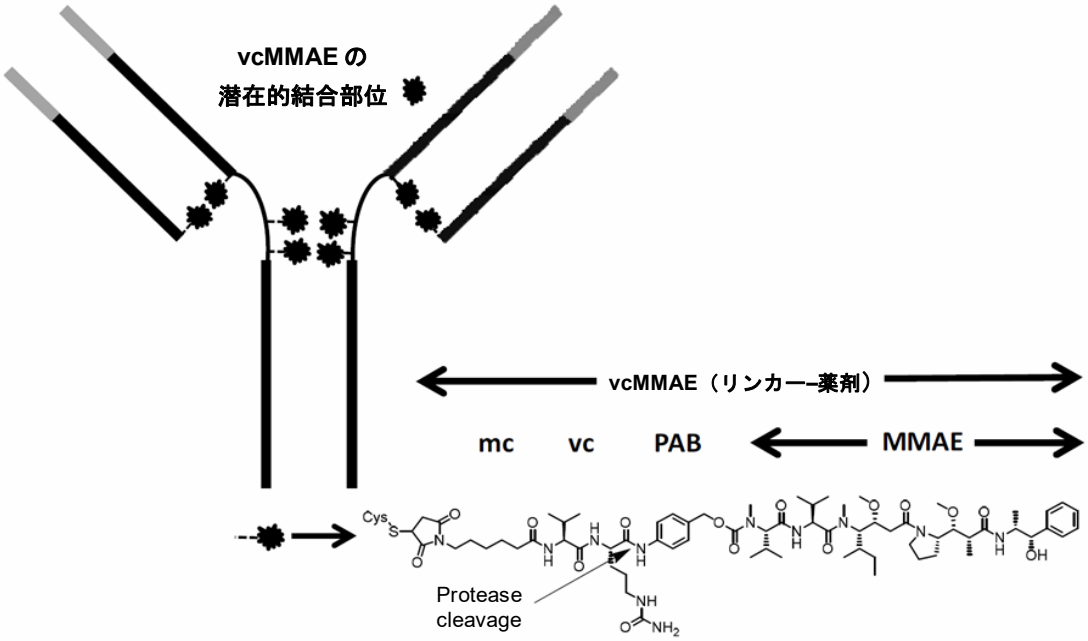
- *In vitro* 試験より，MMAE が多剤耐性蛋白質1（MDR1）／P-糖蛋白質（P-gp）の基質であるが，有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1，OATP1B3，有機カチオントランスポーター（OCT）2，有機アニオントランスポーター（OAT）1，OAT3，多剤耐性関連蛋白質（MRP）2，及び乳癌耐性蛋白質（BCRP）の基質ではないことを示している（4.2.2.6-3，4.2.2.6-4，4.2.2.6-5，4.2.2.6-6，4.2.2.6-7，4.2.2.6-8，及び4.2.2.6-9）。
- MMAE は MDR1，OATP1B1，OATP1B3，OAT1，OAT3，BCRP，MRP2，及び胆汁酸塩排出ポンプ（BSEP）を阻害しない（4.2.2.6-3，4.2.2.6-4，4.2.2.6-5，4.2.2.6-6，4.2.2.6-7，4.2.2.6-8，及び4.2.2.6-9）。5 μmol/L の MMAE 濃度で OCT1（29%）及び OCT2（23%）をわずかに阻害したが，この濃度は予定臨床用量のポラツズマブ　ベドチン投与後のヒトでの遊離型 MMAE の C_{max} よりも500倍以上高く，臨床使用上，併用薬との相互作用を生じる可能性は低いと考えられる（4.2.2.6-9）。

2.6.4.2　分析法

2.6.4.2.1　分析法概要

ポラツズマブ　ベドチンは，ヒト化抗ヒト CD79b モノクローナル抗体（IgG1骨格）と，強力な有糸分裂阻害剤である MMAE を，プロテアーゼ切断性リンカーである mc-vc-PAB を介して0，2，4，6，又は8個結合させた ADC である。非臨床試験に使用されるポラツズマブ　ベドチンのロットは，1抗体あたり平均約3.5個の mc-vc-PAB-MMAE（vcMMAE）分子を有する（図 2.6.4.2-1及び図 2.6.4.2-2）。サロゲート ADC は，抗カニクイザル CD79b モノクローナル抗体（サロゲート抗体）と MMAE を mc-vc-PAB を介して0，2，4，6，又は8個結合させたものである。非臨床試験に使用されるサロゲート ADC のロットは，1抗体あたり平均約3.5個の vcMMAE 分子を有する。

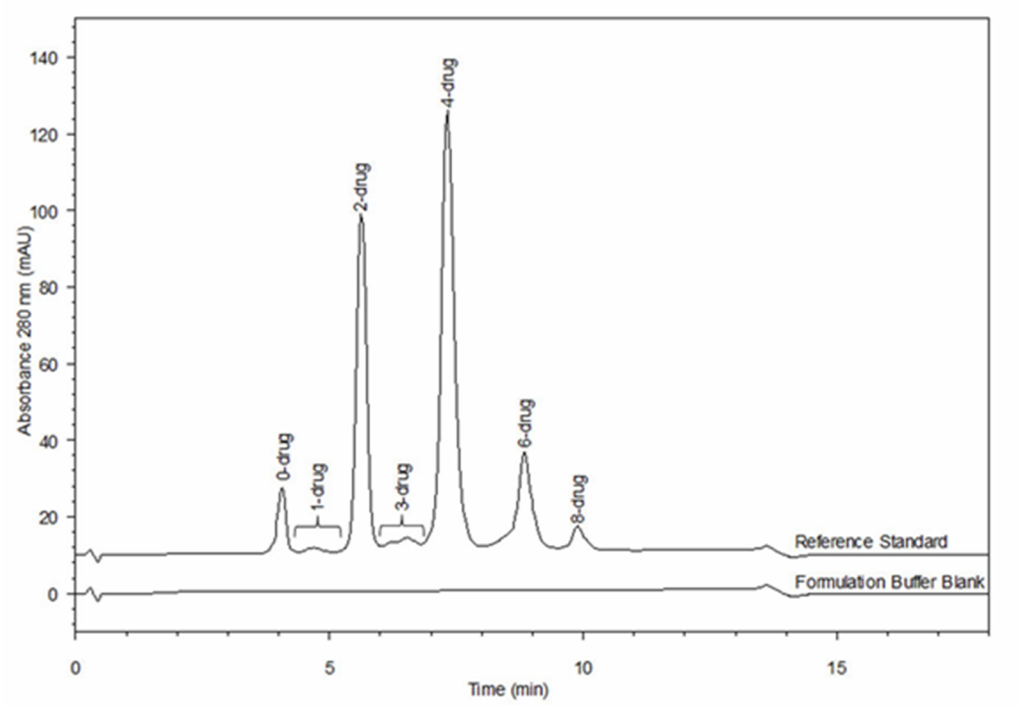
図 2.6.4.2-1　ポラツズマブ　ベドチンの化学構造



mc：maleimidocaproyl，MMAE：モノメチルアウリスタチン E，PAB：p-aminobenzyloxycarbonyl，
vc：valine-citrulline，vcMMAE：mc-vc-PAB-MMAE。

［図2.4.3.1-1再掲］

図 2.6.4.2-2　ポラツズマブ　ベドチン の疎水性相互作用クロマトグラム



［図2.3.S.3.1.2-11 再掲］

リンカーは，*in vivo* で比較的安定であり，B 細胞内に ADC が取り込まれたのち MMAE を放出するように設計されているが，投与後，血液中で化学的又は酵素的に若干の MMAE 放出が起き，異なる DAR の ADC が生じる可能性がある。したがって，それらにも対応できるよう，ポラツズマブ　ベドチンの測定には，抗体及び低分子化合物の定量用として酵素免疫測定法（ELISA）及び液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法（LC-MS/MS）を採用した。

ポラツズマブ　ベドチンの薬物動態を評価するために，3種の主な測定対象（結合型分子，総抗体，及び遊離型 MMAE）を設定し，分析法を開発した。また，ADA の産生を評価するための2段階アプローチの測定法も設定した[2), 3)]。

結合型分子に対する定量法としては，結合型抗体の濃度（1つ以上の MMAE が結合している抗体の測定）又は acMMAE の濃度（抗体に結合した MMAE の総量として測定）のいずれかを測定するように設定できるが，測定対象としては acMMAE がより有用と考えられる。これは，acMMAE が循環血中の ADC の安定性に直接関係している分子中の MMAE の濃度変化をより高感度で測定可能なためである。総抗体の測定では，完全結合型，部分的結合解離型，及び完全解離型のいずれのポラツズマブも含めて測定する。総抗体測定は，ADC の PK が抗体の挙動と同様で，MMAE との結合によって著しく変動しないことを示すのに有用である。遊離型 MMAE 測定では，細胞傷害性を有すると考えられる遊離型 MMAE の全身曝露量を測定する。ADC の測定法は，質量分析に基づく測定がより広く利用できるようになるに伴い，改良された[1), 2)]。

これらの測定法を表 2.6.4.2-1に一覧にし，以下示す。

表 2.6.4.2-1　測定法一覧

バリデーション報告書番号	測定法・測定対象
PK	
4.2.2.1-1 [a, b]	IA LC-MS/MS ラット血漿中 acMMAE
4.2.2.1-2	ELISA ラット及びサル血清中総抗体（huCD79（DCDS4501A））
4.2.2.1-3	ELISA サル血清中総抗体（cyCD79（DCDS5017A））
4.2.2.1-4 [a, b]	IA LC-MS/MS ラット血漿中総抗体
4.2.2.1-5	LC-MS/MS カニクイザル血漿中 MMAE（フルバリデーション）
4.2.2.1-6	LC-MS/MS カニクイザル血漿中 MMAE（定量）
4.2.2.1-7	LC-MS/MS ラット血漿中 MMAE（定量）
ADA	
4.2.2.1-8	ELISA サル血清中 ADA （抗 huCD79b-vc-MMAE（DCDS4501A）抗体）
4.2.2.1-9	ELISA サル血清中 ADA （抗 cyCD79b-vc-MMAE（DCDS5017A）抗体）

[a] 分析法性能評価報告書

[b] 測定法の適格性を確認した。

2.6.4.2.2　acMMAE 測定法

ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC 投与の非 GLP 試験から得られた血漿試料中の acMMAE の濃度測定に，免疫親和性（IA）LC-MS/MS 法を用いた。本測定法は，血漿中の ADC をプロテイン A の免疫親和性を用いて分離し，次いでその ADC を酵素処理して遊離した MMAE を LC-MS/MS で測定するものであり，抗体に結合しているすべての MMAE を測定することができる。

血漿試料中のポラツズマブ　ベドチンあるいはサロゲート ADC を，添加した ADC 内部標準（[redacted]）とともに [redacted]（[redacted]社）を使用して IA 捕捉により血漿試料から濃縮した。次に，固定化した ADC をパパインで分解し，MMAE 及び [redacted]（[redacted]，内部標準分析物）を遊離させ，それらをエタノール：水（70：30，v/v）で溶出させた。溶出液を処理後，MMAE 及び [redacted] を含む試料溶液を LC-MS/MS で分析した。この測定法を用いて，非 GLP 試験から得られたカニクイザル血漿試料（4.2.1.1-13）及びマウス血漿試料（4.2.2.2-1）について，acMMAE の薬物動態を評価した。また，同じ測定法に対してラット血漿試料での適格性を確認し（定量範囲0.359–35.9 ng/mL，分析単位内精度2.99–15.4%（変動係数），4.2.2.1-1），製剤間比較試験（4.2.2.7-1）のラット血漿試料中 acMMAE の薬物動態を評価した。更に，上記に準ずる測定法を非 GLP 試験である *in vitro* 安定性試験に適用し，マウス，ラット，カニクイザル，及びヒトの血漿試料について，acMMAE の濃度を測定した（4.2.2.4-1）。

各試験の定量下限等の概要は表 2.6.5.2-1に示した。

2.6.4.2.3　総抗体測定法

総抗体濃度（完全結合型，部分的結合解離型，及び完全解離型の総濃度）を測定するためのELISAを開発し，バリデートした（4.2.2.1-2及び4.2.2.1-3）。

ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲートADCの総抗体測定のための直接法ELISAでは，捕捉試薬としてそれぞれヒト及びカニクイザル[redacted]を用い，検出試薬として[redacted]及び[redacted]）を使用した。バリデートしたポラツズマブ　ベドチン総抗体用ELISA（4.2.2.1-2）は，GLP毒性試験のトキシコキネティクスの評価としてカニクイザル血清（4.2.3.2-4）及びSprague-Dawleyラット血清（4.2.3.2-2）での測定に使用した。サロゲートADC総抗体用ELISA（4.2.2.1-3）をカニクイザル血清試料についてバリデートし，GLP毒性試験4.2.3.2-4及び非GLPのPK試験（4.2.1.1-13）でそれぞれ総抗体のトキシコキネティクス及び薬物動態の評価に使用した。

非GLP試験である*in vitro*安定性試験（4.2.2.4-1）では，適性を確認した上記に準ずる測定法でマウス，ラット，カニクイザル，及びヒト血漿試料での総抗体の濃度を測定した。

総抗体濃度を測定するために，更に別のELISAを開発し，適性を確認した。このポラツズマブ　ベドチン及びサロゲートADCの総抗体測定のためのELISAでは，捕捉用試薬としてヒト又はカニクイザル[redacted]を用い，検出用試薬として[redacted]した[redacted]を使用した。適性を確認したこの測定法にて，非GLPのPK試験（4.2.2.2-1）のマウス血漿試料の総抗体の薬物動態を評価した。

ポラツズマブ　ベドチンの開発後期には，IA LC-MS/MS[4)]による測定法を開発し，適格性を確認してラット血漿試料中の総抗体濃度を測定した。このIA LC-MS/MSによる測定では，ポラツズマブ　ベドチンを，プロテインA磁気ビーズを用いたIA捕捉によってラットリチウムヘパリン血漿から濃縮し，その後「ビーズ上」でトリプシン処理し，ヒト抗体に特有で非臨床試験動物種には存在しないシグネチャートリプシンペプチド（GNE-P6，IgG1の重鎖定常領域フラグメント[5), 6)]）を，総抗体の定量の測定に用いた。内部標準として対応する安定同位体標識物質を使用し，LC-MS/MSにてGNE-P6（m/z: 937.70/836.60）及びGNE-P6内部標準（m/z: 941.60/840.60）をモニタリングした。確認のため，更に2つの独自のトリプシンペプチドをモニタリングした。この測定法（4.2.2.1-4）を使用して，ラット血漿試料の製剤間比較試験（4.2.2.7-1）で総抗体の薬物動態を評価した。

ELISAによる総抗体のバリデーション結果の概要を表 2.6.4.2.3-1に示す。

表 2.6.4.2.3-1　総抗体測定用ELISAのバリデーション結果

分析物	試料	定量範囲 (ng/mL)	MRD	MQC (ng/mL)	相対誤差 (%bias)	分析単位内精度 (% CV)	分析単位間精度 (% CV)
ポラツズマブ ベドチン 4.2.2.1-2	Cyno 血清	150–2500	1/100	150	−5–16	4–9	9–18
ポラツズマブ ベドチン 4.2.2.1-2	ラット 血清	200–3000	1/100	200	−6–15	3–6	6–9
サロゲートADC 4.2.2.1-3	Cyno 血清	60–2500	1/100	60	−15–1	3–6	5–10

ADC：抗体薬物複合体，CV：変動係数，Cyno：カニクイザル，ELISA：酵素免疫測定法，MQC：定量可能な最低濃度，MRD：最小必要希釈度。

2.6.4.2.4　遊離型 MMAE 測定法

バリデートした LC-MS/MS 法を用いて，リチウムヘパリン血漿試料中の遊離型 MMAE 濃度を測定した。内部標準（[redacted]を含有する MMAE）を加えて除蛋白後，上清の一部を処理して LC-MS/MS で分析した。この測定法で，カニクイザル血漿試料中（4.2.3.1-4，4.2.3.2-4）ラット血漿試料中（4.2.3.2-2）の遊離型 MMAE のトキシコキネティクスを評価した。

適性を確認した上記に準ずる LC-MS/MS 法でカニクイザル PK 試験（4.2.1.1-13）及び *in vitro* 安定性試験（4.2.2.4-1）の血漿試料中の遊離型 MMAE の濃度を測定した。

遊離型 MMAE 測定法のバリデーション結果の概要を表 2.6.4.2.4-1に示す。

表 2.6.4.2.4-1　遊離型 MMAE 測定用 LC-MS/MS のバリデーション結果

報告書番号	試料	定量範囲 (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)	相対誤差 (%bias)	分析単位内精度 (% CV)	分析単位間精度 (% CV)
4.2.2.1-5	カニクイザル血漿	0.0352–17.6	0.0352	-2.0–7.3	0.7–11.3	2.9–6.9
4.2.2.1-6	カニクイザル血漿	0.0359–17.9	0.0359	-4.6– -3.4	4.8–13.0	0.0–1.6
4.2.2.1-7	Sprague-Dawley ラット血漿	0.0359–17.9	0.0359	-5.6–1.1	3.6–9.1	0.0–9.1

CV：変動係数，LC-MS/MS：液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法，LLOQ：定量下限，MMAE：モノメチルアウリスタチン E。

2.6.4.2.5　ADA 測定法

ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC に対する ADA はブリッジング ELISA を開発し，バリデートして測定した（4.2.2.1-8，4.2.2.1-9）。ADA 測定には2段階アプローチを用いた[2), 3)]。試料はまずスクリーニング ADA 測定法でスクリーニングし，陽性と判定された試料に関してはその力価を測定した。

ブリッジング ELISA では，血清中の ADA と[redacted]標識ポラツズマブ　ベドチン（あるいはサロゲート ADA）及び[redacted]標識ポラツズマブ　ベドチン（あるいはサロゲート ADA）との複合体を形成させたのち，[redacted]で被覆したマイクロプレートに捕捉し，[redacted]標識[redacted]抗体を検出試薬として用いた。血清試料の最小希釈倍率は1/20とした。カットポイントは，ポラツズマブ　ベドチン又はサロゲート ADC に対する特異的抗体を検出できる最下限のシグナルと定義し，未投与のカニクイザル血清試料に対して5%の偽陽性率を示すカットポイント係数を，母分散より推定した。ADA についてスクリーニング陽性であった試料を連続希釈して力価を確認した。バリデートしたポラツズマブ　ベドチンの ADA 測定用の ELISA（4.2.2.1-8）をカニクイザル GLP 毒性試験（4.2.3.2-4）で，また，サロゲート ADC の ADA 測定用の ELISA（4.2.2.1-9）を GLP 毒性試験（4.2.3.2-4）及び PK 試験（4.2.1.1-13）で使用した。

バリデーション結果の概要を表 2.6.4.2.5-1に示す。

表 2.6.4.2.5-1　抗薬物抗体（ADA）測定用 ELISA のバリデーション結果

分析物	相対感度 (ng/mL)	共存薬物耐性 [a] (µg/mL)	陽性対照の分析単位内精度 (% CV)	陽性対照の分析単位間精度 (% CV)
ポラツズマブ ベドチン 4.2.2.1-8	38	60	PSC: 3%	PSC: 7% PTC: 3%
サロゲート ADC 4.2.2.1-9	51	30	PSC: 3%	PSC: 11% PTC: 3%

ADC：抗体薬物複合体，CV：変動係数，PSC：陽性スクリーン対照，PTC：陽性力価対照。

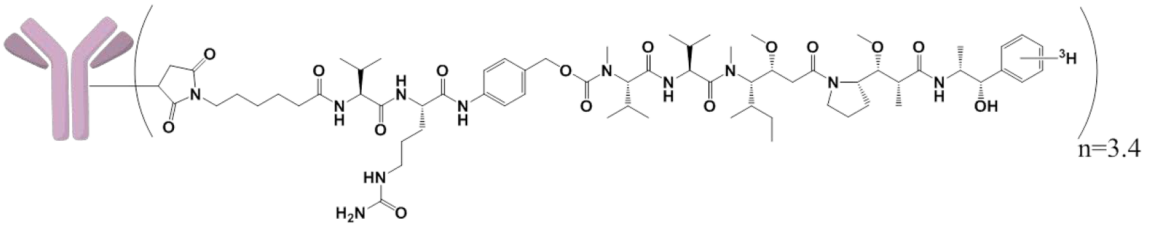
[a] 1000 ng/mL のヒツジ抗ヒト IgG が検出可能な試料中 ADC 混在濃度の上限。

2.6.4.2.6　放射性標識化合物の分析

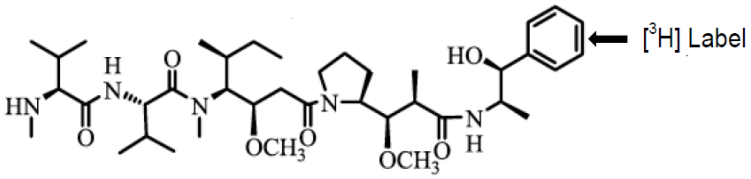
抗体部分を[^{125}I]又は[^{111}In]で標識した[^{125}I]／[^{111}In]-polatuzumab vedotin あるいは[^{125}I]／[^{111}In]-polatuzumab 抗体，MMAE 部分を[^{3}H]で標識した polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE 及び[^{3}H]MMAE を用いた試験で得た試料中の放射能は，ガンマカウンター又は液体シンチレーションカウンターを用いて計測した。一部の試料は，ラジオクロマトグラフィーにて放射能を測定した。

図 2.6.4.2.6-1　放射性標識化合物の構造

polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE



[^{3}H]MMAE



2.6.4.3　吸収

ポラツズマブ　ベドチンの臨床投与経路は IV 投与であるため，マウス，ラット，及びカニクイザルにおけるポラツズマブ　ベドチン又はサロゲート ADC を用いたすべての PK/TK 試験を，IV 投与で実施し，評価した。MMAE の PK はカニクイザルで評価した。

ポラツズマブ　ベドチン及び／又はサロゲート ADC の単回投与の薬物動態をマウス及びカニクイザルで評価した。

2.6.4.3.1　単回投与試験

2.6.4.3.1.1　SCID マウスにおけるポラツズマブ　ベドチン，サロゲート ADC，ポラツズマブ抗体，又はサロゲート抗体単回 IV 投与

（資料番号4.2.2.2-1）

雌の重症複合免疫不全（SCID）マウスに，ポラツズマブ　ベドチン，サロゲート ADC，ポラツズマブ抗体，又はサロゲート抗体を IV 投与し，総抗体及び acMMAE の血漿中濃度を測定し，薬物動態を評価した。総抗体の PK パラメータは2-コンパートメントモデル解析により算出した。

ポラツズマブ　ベドチン又はサロゲート ADC を5 mg/kg の用量で IV 単回投与した後の総抗体の PK プロファイルは，2種の ADC 間で類似しており，モノクローナル抗体薬の特徴である，短い分布相と長い消失相を示した。ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC の総抗体の血漿 CL はそれぞれ5.09 mL/day/kg 及び6.99 mL/day/kg であり，β 相の消失半減期（$t_{1/2,\beta}$）はそれぞれ11.8日及び10.5日であった。

acMMAE の血漿中濃度推移も2種の ADC で同程度であった（4.2.2.2-1 Figure 2）。acMMAE の血漿中濃度は，いずれの ADC についても総抗体濃度と同様に経時的に低下しており，ADC が生体内で急速に MMAE を解離することはなく，体循環中で MMAE は抗体に結合したまま存在していることが示唆された。

表 2.6.4.3.1.1-1　SCID マウスにポラツズマブ抗体，ポラツズマブ　ベドチン，サロゲート抗体又はサロゲート ADC を5 mg/kg 単回 IV 投与後の PK パラメータ

投与群	ポラツズマブ抗体	ポラツズマブベドチン	サロゲート抗体	サロゲート ADC
測定対象	ポラツズマブ	総抗体	サロゲート抗体	総抗体
PK パラメータ				
C_{max} (μg/mL)	112	114	100	96.5
AUC_{inf} (day•μg/mL)	1800	983	1030	715
CL (mL/day/kg)	2.78	5.09	4.84	6.99
$t_{1/2,\alpha}$ (day)	0.115	0.131	0.220	0.294
$t_{1/2,\beta}$ (day)	22.4	11.8	15.4	10.5
V_{ss} (mL/kg)	89.5	85.8	106	102

値は各時点3例の不連続採血から得られた血漿中濃度より，2-コンパートメントモデルで算出されたパラメータを示す。

ADC：抗体薬物複合体，AUC_{inf}：投与後無限大時間までの血清中濃度-時間曲線下面積（A/α ＋ B/β），C_{max}：最高血漿中濃度，PK：薬物動態，CL：クリアランス，$t_{1/2,\alpha}$：α 相の消失半減期 $t_{1/2,\beta}$：β 相の消失半減期，V_{ss}：定常状態での分布容積。

［4.2.2.2-1　Table 2 改変］

2.6.4.3.1.2　カニクイザルにおけるサロゲート ADC 又はサロゲート抗体単回 IV 投与

（資料番号4.2.1.1-13）

雄のカニクイザルにサロゲート ADC（0.3，1，又は3 mg/kg）あるいはサロゲート抗体（3 mg/kg）を単回 IV 投与し，総抗体及び acMMAE の PK を評価した。PK パラメータはノンコンパートメントモデル解析により算出した。

サロゲート ADC を単回 IV 投与後，総抗体の無限大時間までに外挿した血清中濃度-時間曲線下面積（AUC_{inf}）は，用量比以上に増加し，CL が用量増加に伴い低下した（表 2.6.4.3.1.2-

1）。3 mg/kg の用量では，サロゲート抗体の曝露量はサロゲート ADC の総抗体と比較してわずかに高かった。

サロゲート ADC の投与直後の acMMAE の濃度は高く，サロゲート ADC の動態に類似していた。サロゲート ADC の投与後の遊離型 MMAE 濃度は，一貫して低く（0.2 ng/mL 未満），定量下限（0.0359 ng/mL）以上は数時点のみであった。。

この試験の PD の結果は2.6.2.2項に要約した。

表 2.6.4.3.1.2-1　カニクイザルにサロゲート抗体又はサロゲート ADC を単回 IV 投与後のサロゲート抗体及び総抗体の PK パラメータ

投与群	サロゲート抗体 3 mg/kg IV (n =4)	サロゲート ADC 0.3 mg/kg IV (n =4)	サロゲート ADC 1 mg/kg IV (n =4)	サロゲート ADC 3 mg/kg IV (n =4)
測定対象	サロゲート抗体	総抗体	総抗体	総抗体
PK パラメータ				
C_{max} (μg/mL)	82.5 ± 4.93	9.61 ± 0.688	33.0 ± 1.89	98.3 ± 13.4
AUC_{inf} (day•μg/mL)	289 ± 54.6	7.74 ± 1.99	46.5 ± 6.19	217 ± 36.1
AUC_{0-3}(day •μg/mL)	125 ± 7.23	7.31 ± 1.51	36.2 ± 4.23	124 ± 16.1
C_{max}/D (kg •μg/mL/mg)	27.5 ± 1.65	32.0 ± 2.28	33.0 ± 1.89	32.8 ± 4.46
AUC_{inf}/D (day •kg•μg/mL/mg)	96.3 ± 18.2	25.8 ± 6.62	46.5 ± 6.19	72.1 ± 12.0
AUC_{0-3}/D (day •kg•μg/mL/mg)	41.7 ± 2.42	24.4 ± 5.03	36.2 ± 4.23	41.4 ± 5.32
CL (mL/day/kg)	10.6 ± 1.86	40.7 ± 10.2	21.8 ± 2.61	14.2 ± 2.60
V_{ss} (mL/kg)	45.7 ± 3.36	33.2 ± 5.71	34.2 ± 2.32	43.1 ± 3.09

値はノンコンパートメントモデル解析により算出したパラメータの 4 例の平均値 ± 標準偏差を示す。
ADC：抗体薬物複合体，AUC_{0-3}：投与時から Day 3 までの血清中濃度-時間曲線下面積，AUC_{0-3}/D：用量で標準化した AUC_{0-3}，AUC_{inf}：無限時間まで外挿した血清中濃度-時間曲線下面積（AUC_{last} + $C_{last}/\lambda z$），AUC_{inf}/D：用量で標準化した AUC_{inf}，C_{max}：最高血清中濃度，C_{max}/D：用量で標準化した C_{max}，IV：静脈内，PK：薬物動態，CL：全身クリアランス，V_{ss}：定常状態での分布容積。

［4.2.1.1-13　Appendix 5 Table 2 改変］

2.6.4.3.1.3　カニクイザルにおける MMAE 単回 IV 投与

（資料番号　4.2.3.1-4）

カニクイザル（雌雄各5例/群）に MMAE を 0.030又は0.063 mg/kg の用量で単回 IV 投与した際のトキシコキネティクスを評価した。

いずれの用量群でも血漿中濃度推移は二相性を示し，0.030及び0.063 mg/kg 投与後の平均 AUC_{last} は MMAE の用量にほぼ比例した（表 2.6.4.3.1.3-1）。CL は肝血流量の約30～60%であり，定常状態での分布容積（V_{ss}）は，サルの体内総水分量（693 mL/kg）[7]よりもかなり大きく，広く組織に分布することが示唆された。TK パラメータに性差は認められなかった。

表 2.6.4.3.1.3-1　カニクイザルに0.030及び0.063 mg/kg の MMAE を単回 IV 投与した後の MMAE の TK パラメータ

TK パラメータ	MMAE；0.030 mg/kg IV (n =10)	MMAE；0.063 mg/kg IV (n =10)
AUC_{inf} (ng•min/mL)	1350 ± 214	3930 ± 796
AUC_{last} (ng•min/mL)	1170 ± 160	2460 ± 342
C_{max} (ng/mL)	34.5 ± 14.2	65.9 ± 25.8
C_{max}/D (kg•ng/mL/mg)	1150 ± 471	1050 ± 408
AUC_{last}/D (ng•min/mL/mg/kg)	38900 ± 5330	39000 ± 5430
CL (mL/min/kg)	22.7 ± 3.85	16.6 ± 3.44
V_{ss} (mL/kg)	30900 ± 4080	47400 ± 10900

値は雌雄各 5 例（合計 10 例）の平均値 ± 標準偏差を示す。
AUC_{inf}：無限時間まで外挿した血漿中濃度-時間曲線下面積，AUC_{last}：投与後定量可能な最終測定時点までの血漿中濃度-時間曲線下面積，AUC_{last}/D：用量で標準化した AUC_{last}，C_{max}：最高血漿中濃度，C_{max}/D：用量で標準化した C_{max}，IV：静脈内，MMAE：モノメチルアウリスタチン E，TK：トキシコキネティクス，CL：全身クリアランス，V_{ss}：定常状態の分布容積。
［4.2.3.1-4　Appendix G　Table C1及び Table C2 より作成］

2.6.4.3.2　反復投与試験

2.6.4.3.2.1　ラットにおけるポラツズマブ　ベドチン 4週間投与

（資料番号4.2.3.2-2）

Sprague-Dawley ラット（雌雄各9例/群）にポラツズマブ　ベドチン を2，6，又は10 mg/kg 用量で週1回，計4回 IV 投与した際の血清試料及び血漿試料中の総抗体濃度及び遊離型 MMAE 濃度をそれぞれ測定した。総抗体 TK パラメータはノンコンパートメントモデル解析で算出した。

血清中総抗体の曝露量（C_{max} 及び AUC）は2～10 mg/kg のポラツズマブ　ベドチンの用量範囲で，ほぼ用量比例的に増加した（表 2.6.4.3.2.1-1）。総じて，血漿中遊離型 MMAE 濃度は低く，いずれの用量でも1 ng/mL を超えなかった。TK に性差は認められなかった。蓄積比（$AUC_{21\text{-}28}/AUC_{0\text{-}7}$）として1.10～1.71の中程度の総抗体の蓄積が4回投与後に認められたが，ポラツズマブ　ベドチンの反復投与後に，遊離型 MMAE の蓄積は認められなかった。

表 2.6.4.3.2.1-1　ラットにポラツズマブ　ベドチンを週1回，計4回静脈内投与時の血清中総抗体の TK パラメータ平均値

用量 (mg/kg)	性別	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (day)	AUC_{0-7} 又は AUC_{21-28} (μg•day/mL)
初回投与				
2	M	67.8	0.00347	132
	F	58.1	0.00347	97.8
	M/F	63.0	0.00347	115
6	M	260	0.00347	534
	F	216	0.00347	293
	M/F	238	0.00347	414
10	M	406	0.00347	658
	F	298	0.00347	594
	M/F	352	0.00347	626
最終投与（4回目投与）				
2	M	81.3	21.00347	177
	F	80.6	21.00347	122
	M/F	81.0	21.00347	150
6	M	258	21.00347	586
	F	174	21.00347	500
	M/F	216	21.00347	543
10	M	392	21.00347	923
	F	393	21.25	923
	M/F	375	21.25	923

M：雄，F：雌，AUC_{0-7}：TK Day 0 から TK Day 7 までの濃度-時間曲線下面積，AUC_{21-28}：TK Day 21 から Day 28 までの濃度-時間曲線下面積，C_{max}：最高血清中濃度，TK：トキシコキネティクス，T_{max}：初回投与後又は最終投与後の最高濃度到達時間。
注：T_{max} は，明確にするため有効桁数を追加して報告した。

［4.2.3.2-2　Appendix H　Table 1 改変］

2.6.4.3.2.2　カニクイザルにおけるポラツズマブ　ベドチン又はサロゲート ADC 3週間間隔，4回投与

（資料番号4.2.3.2-4）

カニクイザル（雌雄各5例/群）に1，3，又は5 mg/kg のポラツズマブ　ベドチン，あるいは3又は5 mg/kg のサロゲート ADC を3週に1回，計4回 IV 投与した際の血清試料及び血漿試料中の総抗体濃度及び遊離型 MMAE 濃度をそれぞれ測定した。総抗体の TK パラメータはノンコンパートメントモデル解析で算出した。

血清中総抗体の全身曝露量は，1～5 mg/kg のポラツズマブ　ベドチン及び3～5 mg/kg のサロゲート ADC のいずれの用量範囲でも用量に比例して増加した（表 2.6.4.3.2.2-1及び表 2.6.4.3.2.2-2）。ポラツズマブ　ベドチンの反復投与後に蓄積は認められなかったが，サロゲ

ート ADC の蓄積比（$AUC_{63\text{-}84}/AUC_{0\text{-}21}$）は1.22～1.52であった。総じて，血漿中遊離型 MMAE 濃度は，いずれの薬物投与後でも1 ng/mL を超えていなかった。総抗体又は遊離型 MMAE の曝露量に，性差は認められなかった。

2種の ADC を同一用量で比較すると，ポラツズマブ　ベドチン投与群における投与期間を通じた総抗体の曝露量（$AUC_{0\text{-}70}$）はサロゲート ADC 投与群より1.2～1.4倍程度高かったが，これは，サロゲート ADC には標的であるサル CD79b を介する飽和性の消失機序があることが要因と考えられる。ポラツズマブ　ベドチン投与群の MMAE 曝露量は，同一用量群のサロゲート ADC 投与群と同程度であった（表 2.6.5.4-2）。

表 2.6.4.3.2.2-1　カニクイザルにポラツズマブ　ベドチンを3週1回，計4回静脈内投与時の血清中総抗体の TK パラメータ

群	用量 mg/kg [a] ($\mu g/m^2$) [b]	性別	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}21}$ 又は $AUC_{63\text{-}84}$ (μg•day/mL)	$AUC_{0\text{-}70}$ (μg•day/mL)
初回投与					
2	1 (約220)	M	35.7 ± 3.19	134 ± 19.1	−
		F	32.3 ± 4.26	141 ± 35.3	−
		MF	34.0 ± 3.96	138 ± 27.0	−
3	3 (約659)	M	91.1 ± 7.06	454 ± 52.7	−
		F	90.1 ± 11.3	426 ± 42.1	−
		MF	90.6 ± 8.91	440 ± 47.4	−
4	5 (約1098)	M	158 ± 8.32	705 ± 56.3	−
		F	156 ± 22.7	782 ± 159	−
		MF	157 ± 16.2	744 ± 119	−
最終投与（4回目投与）					
2	1 (約220)	M	26.0 ± 6.38	31.0, 173	838 ± 93.3
		F	29.2 ± 4.10	168, 181	873 ± 90.3
		MF	27.6 ± 5.34	138 ± 71.8	855 ± 88.5
3	3 (約659)	M	96.5 ± 3.87	539, 519	2762 ± 301
		F	106 ± 19.1 [c]	396	2897 ± 331 [c]
		MF	101 ± 13.0 [d]	485 ± 77.9 [e]	2822 ± 302 [d]
4	5 (約1098)	M	174 ± 24.7	521, 918	4954 ± 298
		F	180 ± 17.7	848, 897	5388 ± 795
		MF	177 ± 20.5	796 ± 186	5171 ± 611

値は各群雌雄各 5 例の平均値及び標準偏差を示す。

M：雄，F：雌，$AUC_{0\text{-}21}$：TK Day 0 から TK Day 21 までの濃度-時間曲線下面積，$AUC_{63\text{-}84}$：TK Day 63 から TK Day 84 までの濃度-時間曲線下面積（雌雄各 2 例，計 4 例），$AUC_{0\text{-}70}$：TK Day 0 から TK Day 70 までの濃度-時間曲線下面積，C_{max}：最高血清中濃度，MMAE：モノメチルアウリスタチン E，TK：トキシコキネティクス。

[a] 用量はポラツズマブ　ベドチンの総量 mg/体重 kg として表した。

[b] MMAE の用量（$\mu g/m^2$）として表した。

[c] 4 例

[d] 9 例

[e] 3 例

［4.2.3.2-4　Appendix 8　Table 2.2～Table 2.4 改変］

表 2.6.4.3.2.2-2　カニクイザルにサロゲート ADC を3週1回，計4回静脈内投与時の血清中総抗体の TK パラメータ

群	用量 mg/kg [a] ($\mu g/m^2$) [b]	性別	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-21} 又は AUC_{63-84} (μg•day/mL)	AUC_{0-70} (μg•day/mL)
初回投与					
5	3 (約622)	M	78.9 ± 7.06	209 ± 34.5	−
		F	74.4 ± 9.83	223 ± 42.7	−
		MF	76.7 ± 8.41	216 ± 37.3	−
6	5 (約1038)	M	140 ± 10.7	382 ± 39.6	−
		F	140 ± 13.7	426 ± 28.2	−
		MF	140 ± 11.6	404 ± 39.9	−
最終投与（4回目投与）					
5	3 (約622)	M	85.2 ± 12.5	244, 310	2235 ± 256
		F	93.5 ± 5.87	311, 317	2324 ± 148
		MF	89.4 ± 10.2	295 ± 34.2	2279 ± 202
6	5 (約1038)	M	148 ± 30.3	561, 509	3681 ± 424 [c]
		F	146 ± 17.1	560, 462	3721 ± 458
		MF	147 ± 22.1	523 ± 47.5	3703 ± 416 [d]

値は各群雌雄各 5 例の平均値及び標準偏差を示す。

M：雄，F：雌，ADC：抗体薬物複合体，AUC_{0-21}：TK Day 0 から TK Day 21 までの濃度-時間曲線下面積，AUC_{63-84}：TK Day 63 から TK Day 84 までの濃度-時間曲線下面積（雌雄各 2 例，計 4 例），AUC_{0-70}：TK Day 0 から TK Day 70 までの濃度-時間曲線下面積，C_{max}：最高血清中濃度，MMAE：モノメチルアウリスタチン E，TK：トキシコキネティクス。

[a] 用量はサロゲート ADC の総量 mg/体重 kg として表した。

[b] MMAE の用量（$\mu g/m^2$）として表した。

[c] 4 例

[d] 9 例

［4.2.3.2-4　Appendix 8　Table 2.6及び Table 2.7 改変］

2.6.4.4　分布

2.6.4.4.1　ラットにおける組織分布

2.6.4.4.1.1　[^{125}I]／[^{111}In]-polatuzumab vedotin 及び[^{125}I]／[^{111}In]-polatuzumab 抗体投与

（資料番号4.2.2.3-1）

雌 Sprague-Dawley ラット（各群15例）に，抗体部分を[^{125}I]あるいは[^{111}In]標識したポラツズマブ　ベドチン及びポラツズマブ抗体（[^{125}I]／[^{111}In]-polatuzumab vedotin 及び[^{125}I]／[^{111}In]-polatuzumab）を，それぞれ IV 投与し，摘出した組織中の放射能をガンマカウンターで測定した。

いずれの群でも投与後数時間以内に，肝臓，肺，心臓，腎臓，脾臓，副腎，卵巣，骨髄などの複数の血流量の多い組織で放射能が検出された。

[^{125}I]プローブでは，組織中の放射能は血液より低いものの，投与後2時間でピークに達し，その後いずれの投与群でも，測定した組織中放射能は経時的に血中放射能の低下とともに減少した。組織中の[^{125}I]放射能は，トレーサーのみの投与群とトレーサーに10 mg/kg の非標識物質を加えた投与群の間で同程度であり，ポラツズマブ　ベドチン投与群とポラツズマブ抗体投与群の間でも同程度であった。一方，[^{111}In]プローブでは，トレーサーのみの投与群，又はト

レーサーに10 mg/kg の非標識物質を加えた投与群のいずれも，ポラツズマブ　ベドチンを投与したラットではポラツズマブ抗体投与群よりも，数種の組織（特に肝臓）でやや取り込みが多く，放射能が長く滞留した。肝臓，腎臓，脾臓，副腎，リンパ節，卵巣などの血流量の多い組織では，いずれの群でも残留性の低い[^{125}I]に対する [^{111}In]の放射能の比が経時的に上昇しており，ポラツズマブ　ベドチン及びポラツズマブ抗体がこれらの組織で代謝を受けることが示唆された。

総じてポラツズマブ　ベドチン及びポラツズマブ抗体は，トレーサーのみ，又は10 mg/kg の非標識物質の存在下で同様の非特異的な組織分布プロファイルを示しており，MMAE 分子の結合がポラツズマブの分布プロファイルに影響を及ぼさないことが示された。すなわちポラツズマブ　ベドチンの抗体成分が，その組織分布を反映していることが示唆された。

2.6.4.4.1.2　Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE 投与

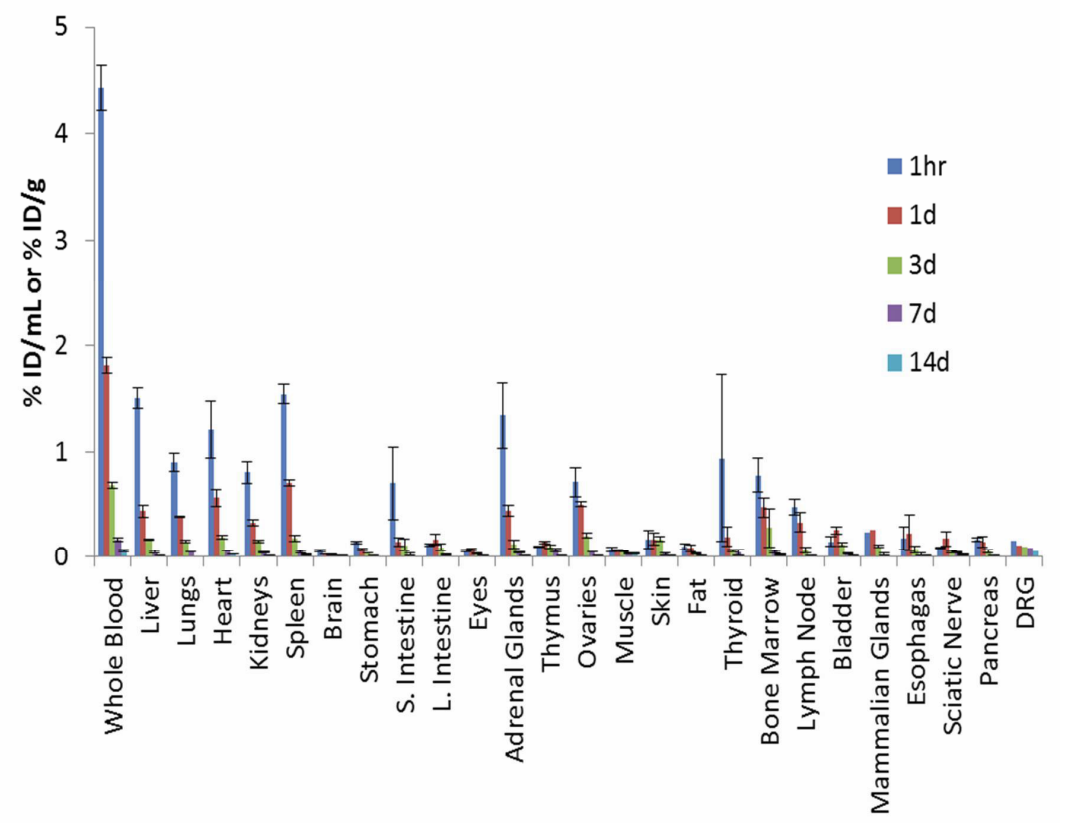
（資料番号4.2.2.3-2）

雌 Sprague-Dawley ラット（15例）に10 mg/kg（150 μCi/kg）の用量で MMAE 部分をトリチウム標識したポラツズマブ　ベドチン（polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE）を IV 投与し，組織内放射能を測定した。

血液試料中の濃度を下回っているものの，肝臓，肺，心臓，腎臓，脾臓，副腎，卵巣，骨髄などの複数の血流量の多い組織で放射能が検出された（図 2.6.4.4.1.2-1参照）。組織中放射能は投与後1時間でピークに達し，その後，血中放射能の低下と平行して経時的に減少した。試験期間全体にわたり，脳（0.00667%～0.0626%投与放射能［ID］/g）及び神経（坐骨神経及び後根神経節，0.0216%～0.178% ID/g）では放射能はほとんど検出されなかった。組織ホモジネートのアセトニトリル（ACN）処理では，測定した様々な組織で，ACN 不溶性分画に対する可溶性分画の割合が時間依存的に増加することが認められ（投与後1時間：6.11%～60.5%，投与後14日：9.96%～96.3%），ADC が組織内で様々な程度の代謝を受けたことが示唆された。

以上より，polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE は，ラットにおいて血流量の多い組織への非特異的な分布を示し，そこで滞留することなく様々な程度の代謝を受けると推察された。また，MMAE がポラツズマブへ結合することにより，MMAE の組織分布がモノクローナル抗体と同様に血流量の多い組織に制限されていることが示唆された。

図 2.6.4.4.1.2-1　Sprague-Dawley ラットに10 mg/kg の polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を単回 IV ボーラス投与後の組織中放射能（平均値±標準偏差）



d：日，DRG：後根神経節，ID：投与放射能量，hr：時間，IV：静脈内，L.：大，MMAE：モノメチルアウリスタチン E，S.：小，Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE：MMAE 部分をトリチウム標識したポラツズマブ　ベドチン。
注：n = 3

［4.2.2.3-2　Figure 4 再掲］

2.6.4.4.1.3　[^{3}H]MMAE 投与

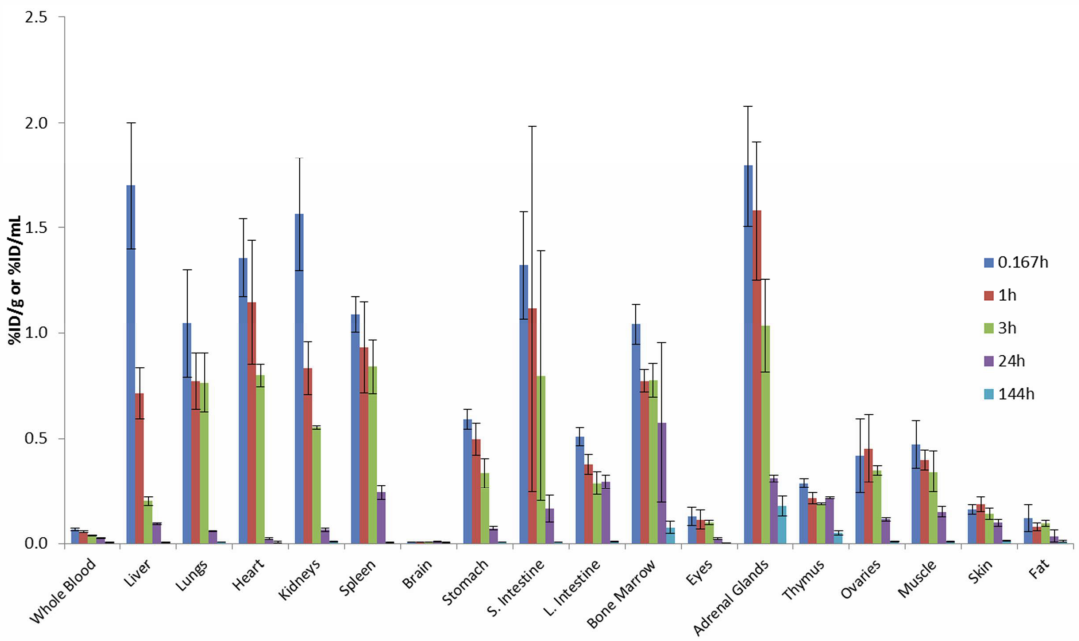
（資料番号4.2.2.3-3）

雌 Sprague-Dawley ラット（15例）に200 µg/kg の非標識 MMAE と混合した[^{3}H]MMAE（80 µCi/kg）を IV 投与後，放射能の組織内濃度を6日間にわたって測定した。

全血中の放射能は低く，投与後2分の全血中の濃度は0.272% ± 0.0667% ID/mL（0.109 ± 0.0267 µg-Eq/mL）であり，投与後10分で0.0668% ± 0.00605% ID/mL まで更に低下し，投与後3日にはほとんど検出されなかった。[^{3}H]MMAE では様々な組織への速やかな分布が見られ，投与後10分までに，MMAE の放射能は肝臓，肺，心臓，腎臓，脾臓，骨髄，副腎などの血流量の多い組織で顕著に検出され，他の組織でも検出された（図 2.6.4.4.1.3-1参照）。

以上より，[^{3}H]MMAE 投与後の放射能は多くの組織に速やかに分布することが示された。投与後の早い時点では，放射能の組織-血液濃度比は，MMAE のみを投与した場合の方が，MMAE がポラツズマブ抗体に結合しているポラツズマブ　ベドチンよりもはるかに高い（4.2.2.3-2）。6日間にわたって検討したいずれの組織でも，滞留性は認められなかった。

図 2.6.4.4.1.3-1　Sprague-Dawley ラットに0.2 mg/kg の[^{3}H]MMAE を単回 IV 投与後の組織中放射能（平均値±標準偏差）



h：時間，ID：投与放射能量，IV：静脈内，L.：大，MMAE：モノメチルアウリスタチン E，S.：小。
注：n = 3。

［4.2.2.3-3　Figure 3 再掲］

2.6.4.4.2　　MMAE の *in vitro* 血漿蛋白質結合及び血球移行

（資料番号4.2.2.3-4，4.2.2.3-5）

雄 Sprague-Dawley ラット，雄カニクイザル，及び3例以上の男性ドナーのプール血漿を用い *in vitro* にて MMAE の血漿蛋白結合率を測定した（4.2.2.3-4）。MMAE の平均血漿蛋白結合率は，ラットで87.5%～90.8%，カニクイザルで61.4%～69.2%，及びヒトで70.6%～76.7%であった。血漿蛋白結合率は，いずれの動物種においても1～1000 nmol/L の範囲で濃度に影響されなかった（表 2.6.4.4.2-1参照）。

表 2.6.4.4.2-1　ラット，カニクイザル，及びヒトの血漿における MMAE の血漿蛋白結合率及び非結合率（平均値±標準偏差）

動物種	MMAE 総濃度 [a] (nmol/L)	%結合	%非結合
ラット	1	87.6 ± 0.9	12.4 ± 0.9
	10	90.8 ± 1.0	9.2 ± 1.0
	100	89.4 ± 0.4	10.6 ± 0.4
	1000	87.5 ± 0.8	12.5 ± 0.8
カニクイザル	1	61.4 ± 2.4	38.6 ± 2.4
	10	69.2 ± 1.4	30.8 ± 1.4
	100	64.0 ± 2.4	36.0 ± 2.4
	1000	65.5 ± 2.3	34.5 ± 2.3
ヒト	1	70.6 ± 1.0 [b]	29.4 ± 1.0 [b]
	10	73.4 ± 3.0	26.6 ± 3.0
	100	73.7 ± 2.4	26.3 ± 2.4
	1000	76.7 ± 1.3	23.3 ± 1.3

値はプール血漿を n=4 で測定した結果を示す。
MMAE：モノメチルアウリスタチン E
[a] MMAE 遊離塩基濃度。
[b] n=3

［4.2.2.3-4　Table 4 改変］

In vitro で濃度2～5000 nmol/L の[^{3}H]MMAE をヒト及び動物の全血に添加して，MMAE の B/P を算出し，血球移行を評価した（4.2.2.3-5）。

ヒト試料を用いて *in vitro* で試験したいずれの濃度（2，20，200，1000，5000 nmol/L）でも，B/P は1.34～1.65であり，MMAE がヒト RBC には顕著に分布しないことが確認された（表 2.6.5.8-1）。一方，他の動物種では，2～20 nmol/L の濃度で，それぞれマウスで約16～20，ラットで約3～4，及びカニクイザルで約2～3の B/P を示し，RBC への分布が認められた。しかし，高濃度（1000及び5000 nmol/L）では，B/P は飽和によると考えられる低下傾向を示した。以上より，MMAE の血球移行の程度は動物種により異なり，マウス，ラット，及びカニクイザルでは移行を示すが，ヒトではほとんど RBC への移行は認められなかった。

2.6.4.5　代謝（動物種間の比較）

ポラツズマブ　ベドチンの代謝の評価は，高分子（ポラツズマブ抗体）と低分子（MMAE）の両方の PK 特性を考慮して，MMAE 部分を[^{3}H]標識したポラツズマブ　ベドチン（polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE）を用いて実施した。MMAE の代謝プロファイルは，*in vitro* 及び *in vivo* の両方で評価した。

2.6.4.5.1　*In vitro* 血漿中安定性

（資料番号4.2.2.4-1）

マウス，ラット，カニクイザル，及びヒトの血漿中におけるポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC の安定性を *in vitro* で評価した。溶媒に0.5%ウシ血清アルブミンを添加した試料を対照溶液として使用した。また，試料中の総抗体濃度については ELISA で分析し，acMMAE は IA LC-MS/MS，及び遊離型 MMAE の濃度については LC-MS/MS で分析した。

対照溶液，マウス，ラット，カニクイザル，及びヒト血漿中でポラツズマブ　ベドチン，サロゲート ADC，ポラツズマブ抗体及びサロゲート抗体を96時間インキュベートした。両 ADC の総抗体濃度はいずれも約20%～30%低下したが，ポラツズマブ抗体及びサロゲート抗体の総抗体濃度は低下しなかった。ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC の acMMAE 濃度は同程度に経時的に低下したが，MMAE の約60%は96時間抗体に結合したままであった。全体として，ポラツズマブ　ベドチンとサロゲート ADC の血漿中安定性に差は認められず，種差も認められなかった。

2.6.4.5.2　MMAE の *in vitro* 代謝

2.6.4.5.2.1　MMAE の肝クリアランス及び代謝関与酵素の同定

（資料番号4.2.2.4-2）

MMAE（1，10，100，及び1000 nmol/L）を，ラット，カニクイザル，及びヒトの肝ミクロソーム及び肝細胞を用いてインキュベートし，MMAE の CL_{hep} を求めた。また，MMAE の代謝に関与する主なヒト CYP 分子種を同定した。

MMAE は，すべての動物種の肝ミクロソーム及び肝細胞で低～中程度の CL_{hep} を示したことから，*in vitro* での代謝に比較的安定であることが示唆された（表 2.6.4.5.2.1-1）。

表 2.6.4.5.2.1-1　肝ミクロソーム及び肝細胞を用いて算出した MMAE の肝クリアランス（CL_{hep}）

	CL_{hep} (mL/min/kg)	
動物種	肝ミクロソーム	肝細胞
ラット	30.2–35.6	12.5–20.3
カニクイザル	28.1–39.0	8.8–12.3
ヒト	10.1–17.2	1.2–3.5

CL_{hep}：肝クリアランス，MMAE：モノメチルアウリスタチン E。

［4.2.2.4-2　Table 4及び Table 5より作成］

CYP 分子種の特異的阻害剤の存在下，組換え CYP 及び HLM を用いた検討より，MMAE 代謝には CYP3A4/5が主に関与していることが示唆された。

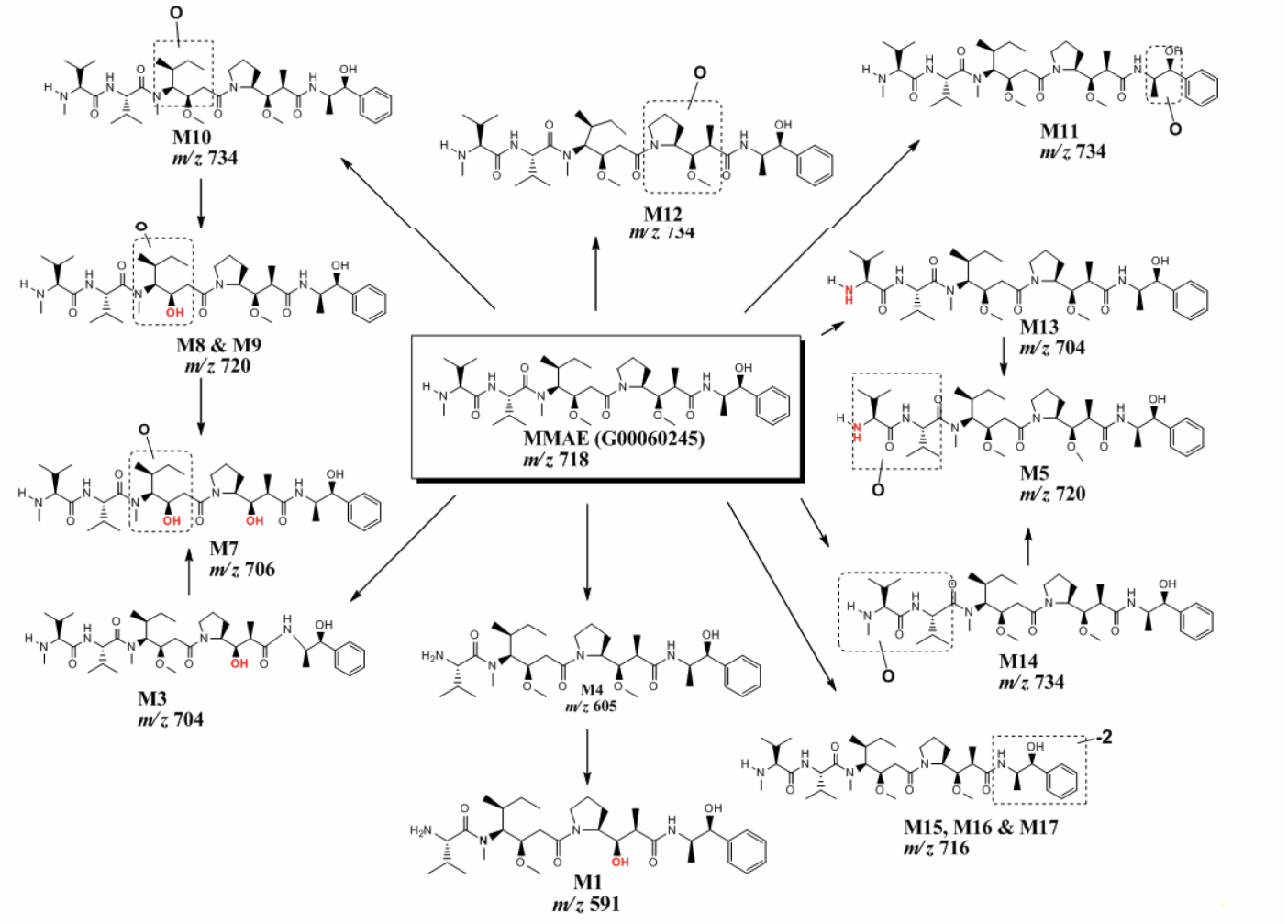
2.6.4.5.2.2　肝細胞及び肝ミクロソームにおける MMAE 代謝物の同定

（資料番号4.2.2.4-3）

MMAE（1 μmol/L）をラット，カニクイザル，及びヒトの凍結肝細胞及び肝ミクロソームを用いてインキュベートし，その試料の液体クロマトグラフィー分離及び MS/MS 断片化パターンに基づいて MMAE 代謝物を同定した。

ラット，カニクイザル，及びヒトの肝ミクロソーム及び肝細胞では，15種の MMAE 代謝物が検出された（図 2.6.4.5.2.2-1参照）。ヒト特異的な代謝物は検出されなかった。15種の代謝物はすべて，連続的な酸化や加水分解の結果として生成した第 I 相代謝物であった。

図 2.6.4.5.2.2-1　ヒト肝細胞及び肝ミクロソームにおける MMAE の推定代謝経路



m/z：質量電荷比，MMAE：モノメチルアウリスタチン E。
［4.2.2.4-3　Figure 3 再掲］

2.6.4.5.3　ポラツズマブ　ベドチンの *in vivo* 代謝

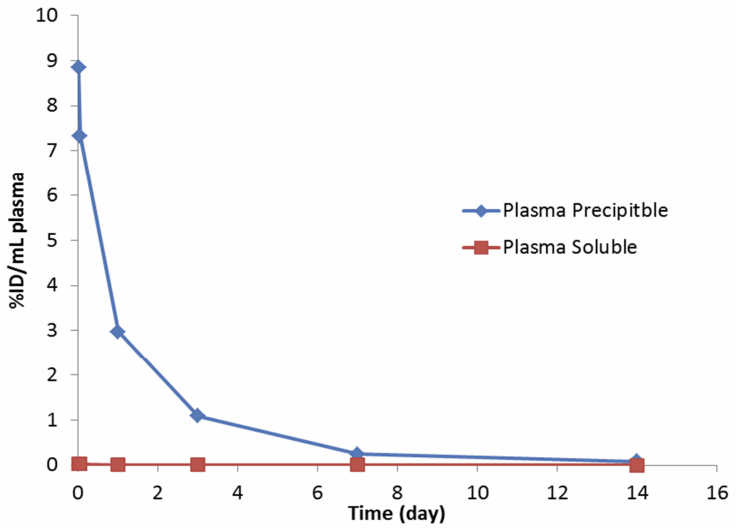
2.6.4.5.3.1　ラットにおける polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE の代謝

（資料番号4.2.2.3-2，4.2.2.4-5，4.2.2.5-2）

雌の Sprague-Dawley ラットに10 mg/kg（150 μCi/kg）の polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を単回 IV 投与した後，投与後1時間から14日までの血液，組織，尿，糞及び胆汁を採取し polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE の代謝物を調べた。血漿試料については，ACN で処理し，ACN 可溶性放射能（トリチウム含有低分子）及び ACN 沈殿放射能（蛋白質結合物）を計測した。

全血における放射能の大部分（72.7%～98.6%）は血漿中に存在し，少量（1.03%～27.1%）が血球成分中に存在した。血漿中のほぼすべての放射能（99%超）は ACN により沈殿し，ACN 可溶性分画中の放射能は少量であり，循環血中ではポラツズマブ　ベドチンが主な成分であることが示唆された。放射能は投与後1日以内に尿中及び糞中に検出され，糞中の放射能は主に ACN 可溶性であり，投与後2～3日にわたって急速に上昇し，試験終了まで毎日少量が排泄された。尿中では対照的に，試験期間全体にわたって，少量の放射能のみが検出され，大部分が ACN 可溶性であった（4.2.2.3-2）。

図 2.6.4.5.3.1-1　ラットに10 mg/kg の polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を単回静脈内投与後の血漿中放射能推移（平均値）



ID：投与放射能量，MMAE：モノメチルアウリスタチン E。

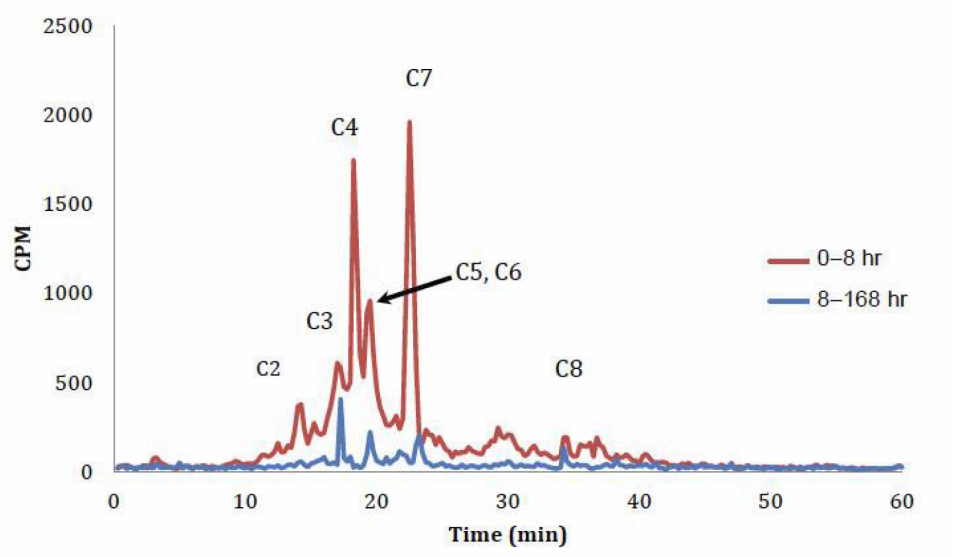
注：Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE：MMAE 部分をトリチウム標識したポラツズマブ　ベドチン。各時点 n = 3～6。

［4.2.2.3-2　Figure 3 再掲］

Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を単回 IV 投与後のラットから採取した胆汁及び尿についても LC-MS あるいは LC-MS/MS による代謝物の同定を実施した（4.2.2.4-5）。

ラットで同定されたポラツズマブ　ベドチンの主な代謝物は，遊離型 MMAE（尿中及び胆汁中でそれぞれ投与量の2.56%及び16.5%に相当），O-脱メチル化 MMAE（胆汁中で投与量の13.5%に相当），並びにアミド加水分解及び水酸化を伴う N-脱メチル化から生じる代謝物（胆汁中で投与量の12.2%に相当）であった。代謝物のプロファイル及び構造を図 2.6.4.5.3.1-2，図 2.6.4.5.3.1-3及び表 2.6.4.5.3.1-1に示す。

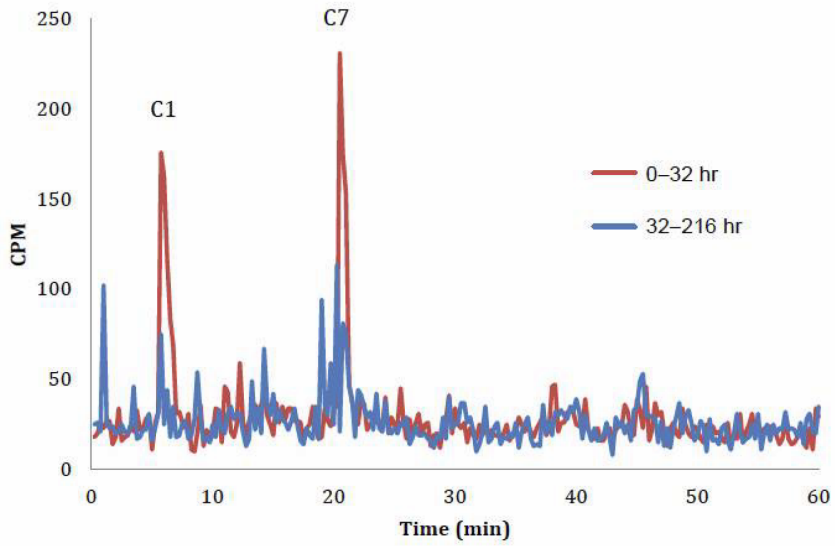
図 2.6.4.5.3.1-2　ラットに10 mg/kg の polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を単回静脈内投与後の胆汁中ポラツズマブ　ベドチンの代謝物プロファイル



CPM：カウント毎分，MMAE：モノメチルアウリスタチン E。
注：Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE：MMAE 部分をトリチウム標識したポラツズマブ　ベドチン。
n = 6。生体試料は 4.2.2.5-2 由来のもの。

［4.2.2.4-5　Figure 2 再掲］

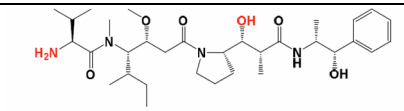
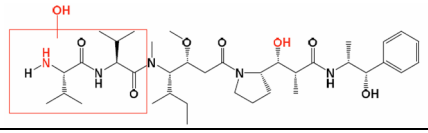
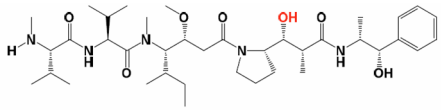
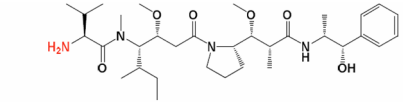
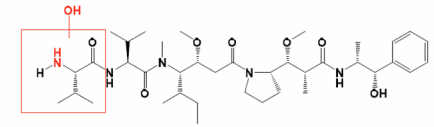
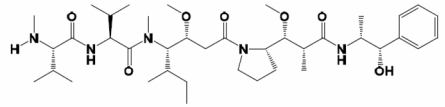
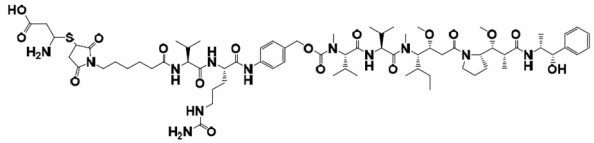
図 2.6.4.5.3.1-3　ラットに10 mg/kg の polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を単回静脈内投与後の尿中ポラツズマブ　ベドチンの代謝物プロファイル



CPM：カウント毎分，MMAE：モノメチルアウリスタチン E。
注：Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE：MMAE 部分をトリチウム標識したポラツズマブ　ベドチン。
n = 6。生体試料は 4.2.2.3-2 由来のもの。

［4.2.2.4-5　Figure 3 再掲］

表 2.6.4.5.3.1-1　Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を単回静脈内投与後のプールしたラット尿中及び胆汁中の MMAE 関連代謝物

代謝物		質量（Da）	溶出時間（分）	% of dose（尿）	% of dose（胆汁）	% of dose（尿+胆汁）	試料	構造
C1		NA	5.3	2.26	NA	2.26	尿	不明
C2：	アミド加水分解+*O*-脱メチル化	590.40	14.9	NA	3.94	3.94	胆汁	
C3：	*O*-，*N*-脱メチル化 + OH	705.47	16.8	NA	9.32	9.32	胆汁	
C4：	*O*-脱メチル化（-CH3）	703.48	18.5	NA	13.49	13.49	胆汁	
C5：	アミド加水分解	604.42	19.5 [a]	NA	12.16 [b]	12.16 [b]	胆汁	
C6：	*N*-脱メチル化+水酸化	719.48		NA			胆汁	
C7：	MMAE	717.50	21.6	2.56	16.48	19.04	血漿，尿，胆汁	
C8：	Cys-vc-MMAE	1436.79	34.3	NA	2.60	2.60	胆汁	

MMAE：モノメチルアウリスタチン E，NA：該当なし。

[a] 代謝物 C5と C6は溶出時間が同じ。

[b] 代謝物 C5と C6の合計。

［4.2.2.4-5　Table 7 改変］

2.6.4.5.4　ラットにおける MMAE の *in vivo* 代謝

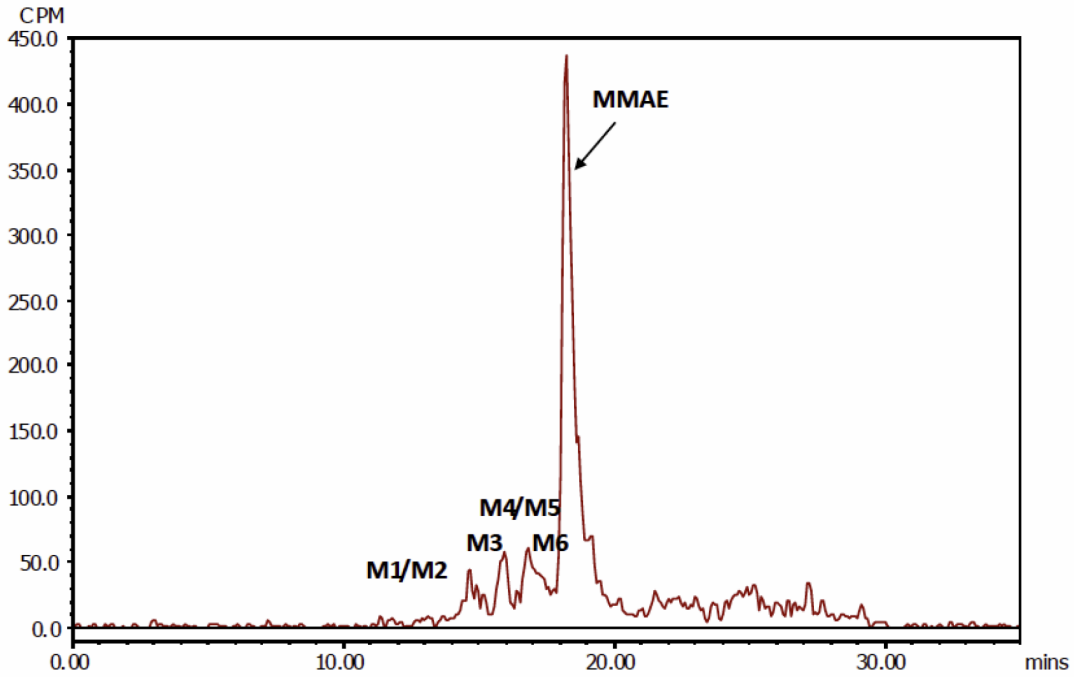
（資料番号4.2.2.4-6，4.2.2.3-3）

Sprague-Dawley ラットに[^{3}H]MMAE を0.2 mg/kg の用量で単回 IV 投与後の胆汁中の放射能を測定した（4.2.2.4-6）。MMAE の0.2 mg/kg の投与量は，10 mg/kg のポラツズマブ　ベドチンで投与される MMAE の量にほぼ等しい。放射能は投与後数時間以内に胆汁中で検出され，累積放射能は投与後24時間まで上昇した。逆相高速液体クロマトグラフィー（RP-HPLC）分析を用いた胆汁試料のラジオクロマトグラム（図 2.6.4.5.4-1）では，[^{3}H]MMAE に対応するピークが，胆汁試料中に検出された放射能の大半を占めていた（投与後6時間までに投与放射能の74%が胆汁中に回収され，その内の約63%，すなわち，投与放射能の約46%が MMAE）。この結果により，胆汁中に排泄される主要な成分は MMAE であり，他の代謝物は胆汁中にわずかしか排泄されないことが示唆された。

LC-MS/MS での分析により，M1～M6に対応する MMAE の6つの胆汁中代謝物が認められ，これらは *in vitro* 試験（4.2.2.4-3）で同定されたものと同一の代謝物であった（*in vivo* でしか見られなかった M2と M6を除く）。MMAE はラットにおいて全量が代謝を受けるわけではなく，投与量のほぼ1/2の放射能がラット胆汁中で未変化の MMAE として同定された。ラットにおける MMAE についての胆汁試料の代表的なラジオクロマトグラム及び推定代謝経路を図 2.6.4.5.4-1及び図 2.6.4.5.4-2に示す。

[^{3}H]MMAE を用量0.2 mg/kg で IV 投与後のラットの血漿及び尿中に検出された唯一の成分は MMAE であった（4.2.2.3-3）。

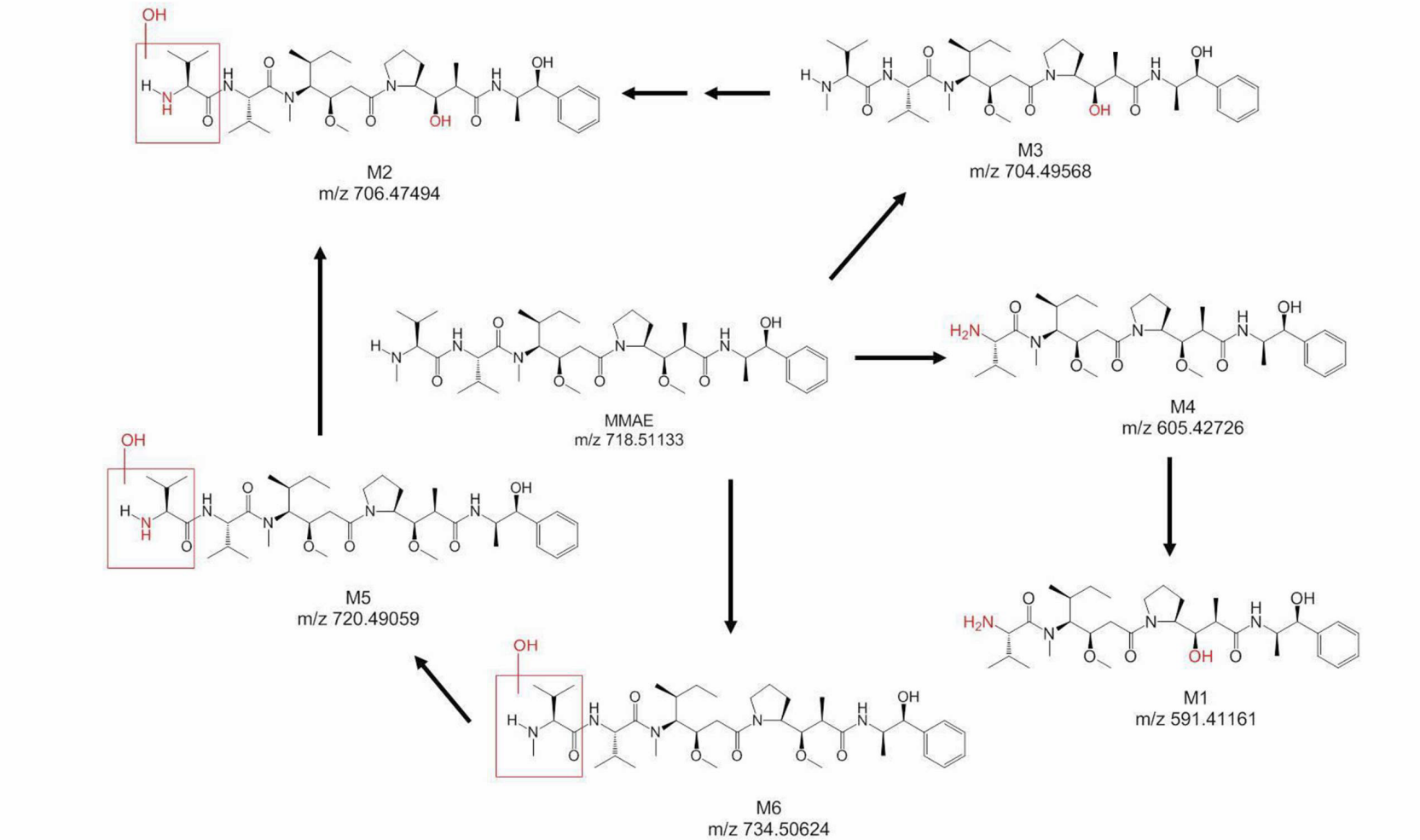
図 2.6.4.5.4-1　ラットに0.2 mg/kg の [^{3}H]MMAE を単回静脈内投与後の胆汁（0～1時間）RP-HPLC ラジオクロマトグラム



CPM：カウント毎分，MMAE：モノメチルアウリスタチン E，RP-HPLC：逆相高速液体クロマトグラフィー。
注：図中と表 2.6.4.5.3.1-1中の代謝物識別子は次のように関連づけている：M1 = C2，M2 = C3，M3 = C4，M4 = C5，M5 = C6，及び MMAE = C7。

［4.2.2.4-6　Figure 3 再掲］

図 2.6.4.5.4-2　ラット胆汁中代謝物による MMAE の推定代謝経路



m/z：質量電荷比，MMAE：モノメチルアウリスタチン E。

注：図中と表 2.6.4.5.3.1-1 中の代謝物識別子は次のように関連づけている：M1 = C2，M2 = C3，M3 = C4，M4 = C5，M5 = C6，及び MMAE = C7。

［4.2.2.4-6　Figure 4 再掲］

2.6.4.6　排泄

2.6.4.6.1　ラットにおけるポラツズマブ　ベドチン投与後の排泄及びマスバランス

（資料番号4.2.2.3-2，4.2.2.5-2）

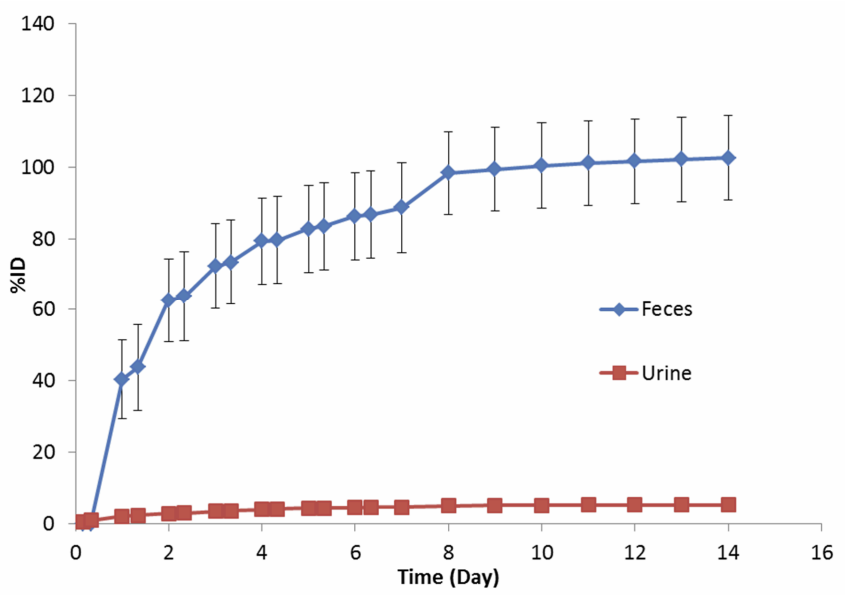
正常 Sprague-Dawley 雌ラットあるいは胆管カニューレ挿入（BDC）雌ラットに polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を10 mg/kg の用量で単回 IV 投与後のポラツズマブ　ベドチンの排泄経路及びマスバランスを評価した。

正常ラットでは，放射能は投与後1日以内に尿中及び糞中に検出され始め，糞中の放射能のほとんどは投与後2～3日までに回収され，試験終了まで毎日少量ずつ排泄された。尿中への排泄は少なく，最終的に投与後14日で投与量の約103±11.8%及び5.21±1.03%の放射能が，それぞれ糞及び尿に排泄された（図 2.6.4.6.1-1）。また，BDC ラットでは，投与量の約70%の放射能が投与後14日までに胆汁中に回収された（図 2.6.4.6.1-2）。

胆汁，尿，及び糞試料の ACN 処理により，放射能の大部分（> 80%）は可溶性分画に存在したことから，polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE が[^{3}H]MMAE 又はその他の[^{3}H]含有低分子代謝物の形で排泄されたことが示唆された。

以上より，polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE は IV 投与後，主に胆汁を介して糞中に排泄され，腎排泄の寄与はわずかであることが示唆された。また，マスバランスは良好であり，投与後14日までに投与放射能がすべて排泄されることが確認された。

図 2.6.4.6.1-1　ラットに polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE 10 mg/kg を単回静脈内投与後の尿中及び糞中放射能の累積排泄率（平均値±標準偏差）



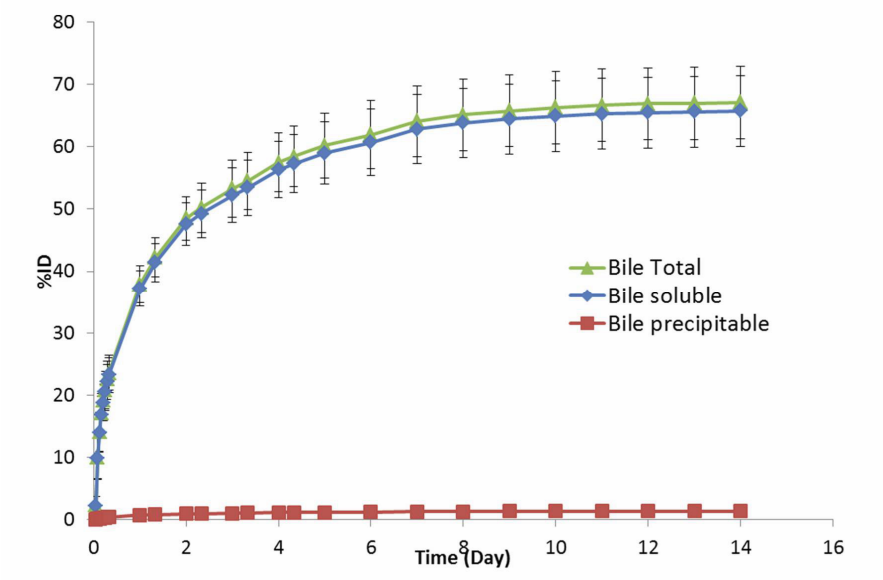
ID：投与放射能量，MMAE＝モノメチルアウリスタチン E。

注：Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE：MMAE 部分をトリチウム標識したポラツズマブ　ベドチン。

n=6 (0-7 日), n=3 (7-14 日)。

［4.2.2.3-2　Figure 6 再掲］

図 2.6.4.6.1-2　BDC ラットに polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE 10 mg/kg を単回静脈内投与後の胆汁中放射能の累積排泄率（平均値±標準偏差）



ID：投与放射能量，MMAE：モノメチルアウリスタチン E。
注：Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE：MMAE 部分をトリチウム標識したポラツズマブ　ベドチン。
n=6

［4.2.2.5-2　Figure 2 再掲］

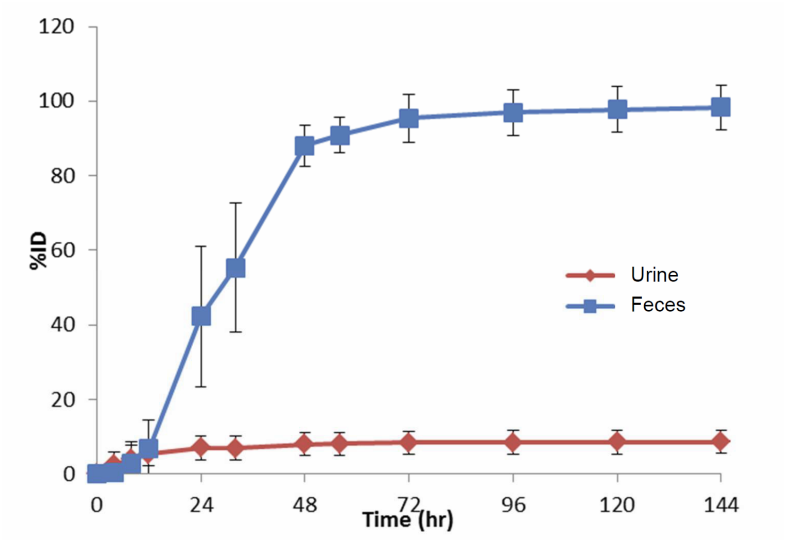
2.6.4.6.2　　ラットにおける MMAE 投与後の排泄及びマスバランス

（資料番号4.2.2.4-3，4.2.2.4-6）

正常あるいは BDC 雌ラットに[^{3}H]MMAE（0.2 mg/kg）を単回 IV 投与後の，MMAE の排泄経路及びマスバランスを評価した。

正常ラットでは投与後数時間以内に尿中及び糞中に放射能が検出され始め，投与後6日までに糞中に98.3±5.99%，尿中に8.61±3.16%の投与放射能が回収された（図 2.6.4.6.2-1）。BDC ラットでは投与後6日までに胆汁中に投与量の103±8.07%の放射能が回収された（図 2.6.4.6.2-2）。以上 MMAE は IV 投与後，主に胆汁を介して糞中に排泄され，腎排泄の寄与はわずかであることが示唆された。また，マスバランスは良好であり，投与後6日までに投与放射能がすべて排泄されることが確認された。

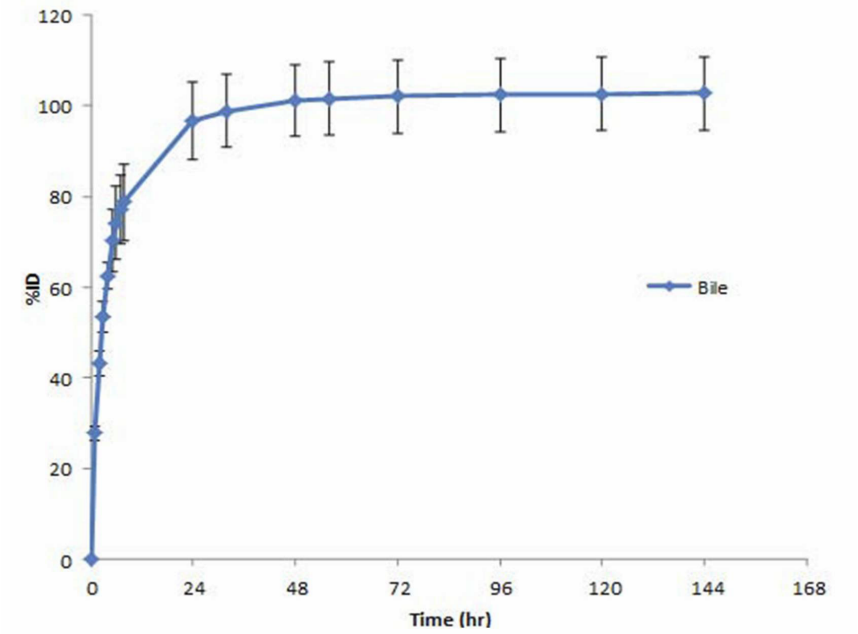
図 2.6.4.6.2-1　ラットに[^{3}H]MMAE 0.2 mg/kg を単回静脈内投与後の尿中及び糞中放射能の累積排泄率（平均値±標準偏差）



ID：投与放射能量，MMAE：モノメチルアウリスタチン E。
n=6 (0-24 時間), n=3 (24-144 時間)。

［4.2.2.3-3　Figure 4 再掲］

図 2.6.4.6.2-2　BDC ラットに[^{3}H]MMAE 0.2 mg/kg を単回静脈内投与後の胆汁中放射能の累積排泄率（平均値±標準偏差）



ID：投与放射能量，MMAE：モノメチルアウリスタチン E。
n=3。

［4.2.2.4-6　Figure 2 再掲］

2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用

MMAE の CYP 阻害及び誘導作用に関し，ヒト肝細胞又は HLM を用いて評価した。また，MMAE と薬物トランスポーターとの相互作用についても *in vitro* 試験で評価した。

2.6.4.7.1　MMAE の CYP 阻害作用（*in vitro*）

（資料番号4.2.2.6-1）

HLM を用い MMAE（濃度0.1～100 μmol/L）の CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，及び CYP3A4/5（2つの異なる基質を使用）に対する阻害能を評価した。

ミダゾラム1'-水酸化活性の測定より，MMAE は CYP3A4/5の直接的な阻害剤であり，IC_{50}値は10 μmol/L であることが認められた。テストステロン6β-水酸化活性及びミダゾラム1'-水酸化活性はプレインキュベーションによって阻害の増加が認められ，MMAE が CYP3A4/5の時間依存的な阻害剤であることが示唆された。テストステロン6β-水酸化活性の MMAE による阻害はk_{inact}値が0.10 min^{-1}であり，K_I値は1.12 μmol/L であった。HLM 試料では約455 nm で吸収極大が認められたことから，MMAE は CYP3A4/5と不可逆的な阻害複合体を形成したものと考えられた。

2.6.4.7.2　MMAE の CYP 誘導能（*in vitro*）

（資料番号4.2.2.6-2）

個別のヒト凍結肝細胞3ロットを用い CYP1A2，CYP2B6，及び CYP3A4/5の誘導能を評価した。CYP1A2，CYP2B6，及び CYP3A4/5の mRNA レベル並びに活性ともに濃度依存的な低下が認められたが，これは細胞毒性によるものではなかった。

MMAE は1 μmol/L までの濃度では CYP1A2，CYP2B6，及び CYP3A4/5の誘導能はないと考えられた。

2.6.4.7.3　MMAE と薬物トランスポーターとの相互作用

トランスポーターに関する薬物相互作用（DDI）の *in vitro* 試験は，米国食品医薬品局（FDA）のガイダンス[8), 9)]に従って実施した。ラットにおいて MMAE の腎排泄の寄与が小さい（10%未満）ことから，MATE1及び MATE2-K に対する阻害作用は検討しなかった。ポラツズマブベドチンの予定臨床用量（1.8 mg/kg）で患者に認められた遊離型 MMAE が低濃度（C_{max}約10 nmol/L（DCS4968g 試験，2.7.2.2.3.3）あるいは約2.3 nmol/L（JO29138試験，2.7.2.2.3.1））であることを考慮すると，MMAE とこれらのトランスポーターとの間に臨床的に意味のある相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。

2.6.4.7.3.1　ヒト MDR1（P-gp）トランスポーターに対する MMAE の *in vitro* 相互作用試験

（資料番号4.2.2.6-3）

ヒト排出トランスポーターである MDR1に対して，MMAE が基質あるいは阻害剤となる可能性を小胞輸送アッセイ及びヒト結腸癌由来細胞株 Caco-2を用いたモデルで評価した。MMAE は Caco-2単層モデルにおいて MDR1によって能動輸送されるが，MDR1を介したジゴキシン輸送を阻害しないことが確認された。

2.6.4.7.3.2　ヒト OATP1B1，OATP1B3，OCT1，OCT2，OAT1，OAT3，BCRP，BSEP，MRP2トランスポーターとの *in vitro* 相互作用試験

（資料番号4.2.2.6-4，4.2.2.6-5，4.2.2.6-6，4.2.2.6-7，4.2.2.6-8，4.2.2.6-9）

OATP1B1，OATP1B3，OCT1，OCT2，OAT1及び OAT3 に対して MMAE が基質あるいは阻害剤となる可能性を，それぞれのトランスポーターを導入したチャイニーズハムスター卵巣

（CHO）細胞株あるいはヒト胎児腎臓（HEK）293細胞株を用い，*in vitro* で評価した。また，BCRP，BSEP 及び MRP2は，発現細胞から調整したベシクルを用いて評価した。

MMAE は，OATP1B1，OATP1B3，OCT2，OAT1，OAT3，MRP2，及び BCRP の基質ではなかった。また，MMAE は，BCRP，BSEP，MRP2，OAT1，OAT3，OATP1B1，及び OATP1B3 を阻害しなかった（阻害率20%未満）。しかし，最高試験濃度（5 µmol/L）では MMAE は，OCT1（29%）及び OCT2（23%）をわずかに阻害した。

2.6.4.8　その他の薬物動態試験

2.6.4.8.1　免疫原性試験の要約

ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC に対する ADA 産生はバリデートしたアッセイを用いて確認し，スクリーニング測定法で陽性であった試料を連続希釈して力価を得た。

ADA の発現率は，ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC を反復投与したカニクイザルでそれぞれ43%及び20%であった（4.2.3.2-4）。サロゲート ADC を単回投与したカニクイザルでは，ADA の発現率は67%であった（4.2.1.1-13）。ADA の産生は総抗体及び遊離型 MMAE の曝露の評価に影響しなかった。

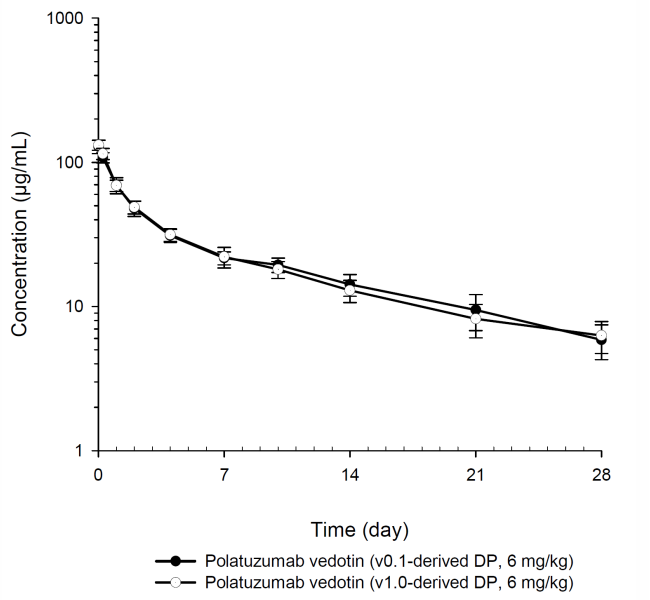
2.6.4.8.2　製剤間比較試験（v0.1由来製剤・v1.0由来製剤）

（資料番号4.2.2.7-1）

雌の Sprague-Dawley ラット（各群25例）を用い，v0.1由来製剤（GO29365試験の主要部分で使用）及び製法の異なる v1.0由来製剤（市販予定；140 mg/バイアル）を，それぞれ 6 mg/kg の用量で単回 IV 投与し，総抗体及び acMMAE の PK を比較した。PK パラメータはノンコンパートメント解析により算出した。

総抗体及び acMMAE の濃度推移（図 2.6.4.8.2-1及び図 2.6.4.8.2-2），並びに PK パラメータ（AUC_{last} 及び C_{max}）の幾何平均比（90%信頼区間で0.8～1.25の範囲内）から，製法変更がその PK に影響を与える可能性は低いことが示唆された（表 2.6.4.8.2-1参照）。

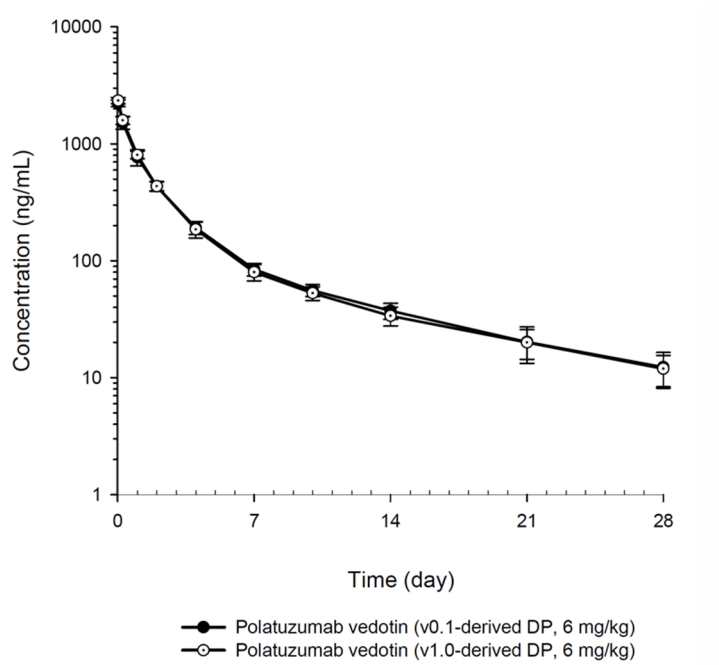
図 2.6.4.8.2-1　雌ラットにポラツズマブ　ベドチン v0.1又は v1.0由来製剤を単回 IV 投与後の総抗体の血漿中濃度推移（平均値±標準偏差）



DP：製剤。

［4.2.2.7-1　Appndex D Figure 1 再掲］

図 2.6.4.8.2-2　雌ラットにポラツズマブ　ベドチン v0.1又は v1.0由来製剤を単回 IV 投与後の acMMAE の血漿中濃度推移（平均値±標準偏差）



acMMAE：抗体結合型モノメチルアウリスタチン E，DP：製剤。

［4.2.2.7-1　Appndex D Figure 2 再掲］

表 2.6.4.8.2-1　雌ラットにポラツズマブ　ベドチン v0.1又は v1.0由来製剤を単回 IV 投与後の PK パラメータ

分析物	PK パラメータ	v1.0 vs. v0.1 幾何平均比（90% CI）
総抗体	C_{max} (μg/mL)	1.03 (0.987～1.07)
	AUC_{last} (day•μg/mL)	0.984 (0.927～1.04)
acMMAE	C_{max} (ng/mL)	1.05 (1.02～1.09)
	AUC_{last} (day•ng/mL)	1.01 (0.973～1.05)

acMMAE：抗体結合型モノメチルアウリスタチン E，AUC_{last}：投与後定量可能な最終測定時点までの血漿中濃度-時間曲線下面積，CI：信頼区間，C_{max}：最高血漿中濃度，PK：薬物動態。

n = 25 例/群。

［4.2.2.7-1　Appndex D Table 7及び Table 8より作成］

2.6.4.9　　考察及び結論

薬物動態／トキシコキネティクス

ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC を単回 IV 投与又は反復 IV 投与時のマウス，ラット及びカニクイザルにおける総抗体の PK は，抗 CD79b 抗体に基づくものであり，他のモノクローナル抗体薬で認められる PK 特性と同様である。交差反応性に基づいて想定されるように，ポラツズマブ　ベドチンの PK はマウス，ラット，及びカニクイザルで用量比例的であり，カニクイザルにおけるサロゲート ADC の PK は，標的介在性の消失経路が存在するため，低用量（< 3 mg/kg）では非線形性を示した。4回の反復 IV 投与（3週に1回）期間を通じた総抗体の全身曝露量（AUC_{0-70}）は，ポラツズマブ　ベドチン投与群のほうがサロゲート

ADC 投与群より1.2～1.4倍程度高かった（4.2.3.2-4）。なお，総抗体曝露量の高いポラツズマブ　ベドチン投与群のほうが，サロゲート ADC 投与群より，重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は高値であった（2.4.5.2）。

ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC の投与後の遊離型 MMAE 濃度は，用量の増加とともに上昇した。遊離型 MMAE 濃度は，ラット及びカニクイザルの試験において1 ng/mL 未満であり，限られた時点でのみ検出可能であった。MMAE 濃度が低いことは，ポラツズマブ　ベドチン又はサロゲート ADC からの MMAE の解離がわずかである（又は遅い）こと（4.2.2.4-1），あるいは解離後の MMAE 自体の分布容積が大きく，消失も速やかであること（4.2.3.1-4）による可能性が高い。

マウス及びカニクイザルにおいて，抗 CD79b 抗体単体の PK と，対応する ADC の総抗体の PK とを比較した（4.2.2.2-1及び4.2.1.1-13）。同用量での，ポラツズマブ抗体及びサロゲート抗体の CL は，マウスにおいて対応する ADC の総抗体の CL よりやや小さかった（4.2.2.2-1）。同様に，サロゲート抗体の全身曝露量は，カニクイザルではサロゲート ADC の総抗体よりわずかに高く（4.2.1.1-13），抗体の CL に対して MMAE との結合が若干影響を与えていることを示唆している。

いずれの非臨床 TK 試験でも，性差は認められなかった（4.2.3.2-4，4.2.3.2-2，及び4.2.3.1-4）。カニクイザルでは，ADA の発現率は20～67%であった。ADA の産生は総抗体及び遊離型 MMAE 曝露量の評価に影響せず，薬物への曝露は，ADA 陽性動物を含むポラツズマブ　ベドチン又はサロゲート ADC 投与後のすべての動物で確認され（4.2.1.1-13及び4.2.3.2-4），ADA 又は免疫複合体形成に起因する毒性は認められなかった（2.6.6.1）。

ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC の安定性は，マウス，ラット，カニクイザル，及びヒトの *in vitro* 血漿中安定性試験並びにマウス及びカニクイザルの *in vivo* PK 試験結果により評価した。血漿中安定性試験では，acMMAE 濃度の低下は動物種間及び2種の ADC 間で同程度であった。すべての動物種においてインキュベーション開始後96時間まで，MMAE の約60%が抗体に結合したままであることが認められた（4.2.2.4-1）。総抗体の薬物動態と acMMAE の薬物動態との比較により，*in vivo* でのリンカー安定性に関する情報が得られた（4.2.2.2-1及び4.2.1.1-13）。総抗体濃度の低下は，蛋白分解等による典型的な抗体の消失経路の寄与を示し，一方，acMMAE 濃度の変化は，典型的な抗体の消失経路及び ADC からの MMAE の放出の両方が寄与した結果である。したがって，総抗体濃度及び acMMAE 濃度に同程度の低下が認められたことは，MMAE の ADC からの解離が acMMAE の濃度の低下における寄与がわずかであることを示唆している。この *in vivo* での所見は *in vitro* の血漿中安定性データと一致しており，MMAE の大部分が ADC と結合した状態であり，また，動物種による違いはほとんどないことが推察される。

ポラツズマブ　ベドチンの v0.1及び v1.0由来製剤を投与したラット PK 試験での総抗体及び acMMAE の濃度推移及び PK パラメータ（AUC_{last} 及び C_{max}）の幾何平均比（90%信頼区間で0.8～1.25の範囲内）から，その製法変更がポラツズマブ　ベドチンの薬物動態に影響を与える可能性は低いことが示唆された。

ポラツズマブ　ベドチンの組織分布

ポラツズマブ　ベドチンの分布は，モノクローナル抗体薬として典型的であり，抗体部分が[^{125}I]／[^{111}In]で標識されているか，MMAE 部分が[^{3}H]で標識されているかにかかわらず，投与後すべての時点で，放射能は他の組織と比較して血中で最も高かった。組織としては血流量の多い組織での放射能が比較的高かったが，いずれの組織でも放射能は滞留しなかったことから，ポラツズマブ　ベドチン及びポラツズマブ　ベドチンの代謝物は，蓄積しないことが示唆された。これらのデータは，抗体薬では一般的に組織分布が限られることと一致している[10), 11)]。ポラツズマブ　ベドチンの組織分布とポラツズマブ抗体単体の組織分布に差は認められず，

MMAE との結合はポラツズマブ抗体部分の体内分布に影響を及ぼさず，ポラツズマブ　ベドチンのモノクローナル抗体部分がその組織分布を決定していることが示唆された。

ポラツズマブ　ベドチンの血漿中安定性

ポラツズマブ　ベドチン投与後の異化／分解機序として，下記の3つが考えられる。

第1の機序は，マレイミドの置換であり，アルブミン，システイン，又はグルタチオン付加物を形成し，モノクローナル抗体部分は細胞又は血漿中で基本的に未変化のままとなるものである[12)]。

第2の機序は，MMAE の解離であり，citrulline–p-aminobenzyloxycarbonyl (PAB) アミド結合のカテプシン B の蛋白質分解によるものである。これにより生じた PAB 結合の MMAE は安定な中間体ではなく，結果として MMAE を生じる。

第3の機序は，一般的な IgG と同様にポラツズマブ　ベドチンの細胞取り込み及び異化作用[10), 11), 13)]により，モノクローナル抗体及び MMAE 含有代謝物由来のアミノ酸を生じる。

抗体に MMAE を結合させるリンカーは，生理学的条件下で安定であるように設計されており，酵素的，pH，又は還元的処理によって容易に切断されるとは考えられない。ポラツズマブ　ベドチンの血漿中安定性試験では，ADC 濃度が経時的に徐々に低下することが示されたが，MMAE の大部分（約60%）は96時間にわたって抗体に結合した状態であった（4.2.2.4-1）。ポラツズマブ　ベドチンとサロゲート ADC の血漿中安定性に実質的な種差は認められなかった。

リンカーの安定性は，ポラツズマブ　ベドチンの *in vivo* 試験によって確認された。ラットに polatuzumab vedotin-[^{3}H] MMAE を投与後，血漿中の放射能の99%は常に蛋白質に結合しており（ADC として存在することを意味する），1%未満が蛋白質に結合していなかった（低分子量[^{3}H]-含有 MMAE 関連物質であることを意味する）（4.2.2.3-2）。

ポラツズマブ　ベドチンの代謝及び排泄経路

前述のように，ポラツズマブ　ベドチンの体内からの消失経路の1つは，細胞／組織に内在化された後の細胞取り込み及び異化／代謝であると予想される。抗体の代謝を検討するための *in vitro* 試験は確立されていないため，ラットに polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を投与して代謝物を同定し，その存在量を調べた。代謝によって薬理学的に不活性なアミノ酸及びペプチドが生成されると考えられているポラツズマブ抗体そのものとは異なり，ポラツズマブ　ベドチンの代謝は薬理学的活性を有する MMAE のような代謝物を生成する可能性がある。

Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE を正常ラットに投与後の[^{3}H]MMAE 関連代謝物の濃度は，循環血中の総放射能の1%未満であり，MMAE の解離が少ないこと，及び MMAE 自体の分布容積が大きく体内からの消失が速いことと一致していた。血漿中の MMAE 関連代謝物は，遊離型 MMAE として同定された（4.2.2.4-5）。

ポラツズマブ　ベドチンは抗体としての構造を有しており，未変化体として尿又は胆汁中には排泄されない[10)]。ラットに polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE 投与後14日間で，投与した放射能の95%以上及び約70%がそれぞれ糞及び胆汁中で検出され，少量の放射能（総量の約5%）が尿中に検出された（4.2.2.5-2及び4.2.2.3-2）。胆汁，尿，及び糞の分析では，大部分の放射能が有機溶媒 ACN に可溶であり，MMAE 関連放射能が低分子の代謝物の形で排泄されたことを示唆している。詳細な代謝物プロファイリングでは，放射能が，遊離型 MMAE（尿中及び胆汁中でそれぞれ用量の2.56%及び16.5%に相当），O-脱メチル化 MMAE（胆汁中で用量の13.5%に相当），並びにアミド加水分解及び水酸化を伴う N-脱メチル化（胆汁中で用量の12.2%に相当）から成ることが示された。以上より，ポラツズマブ　ベドチンが体内で代謝を受け，MMAE 及び他の代謝物を生じることが示唆された。ポラツズマブ　ベドチン投与後，MMAE は血漿，尿，胆汁中で検出され，他の MMAE 関連代謝物は胆汁中でのみ検出された。

MMAE の *in vitro* 代謝及び薬物相互作用

ポラツズマブ　ベドチンは，抗体を基本骨格とし，CYP が関与しないプロセスを介して代謝されると予想される[10), 11)]ため，ポラツズマブ　ベドチンを用いた *in vitro* 代謝試験は実施していない。

一方，動物及びヒトへのポラツズマブ　ベドチン投与後，血漿中に非常に低濃度であるものの遊離型 MMAE が検出されるため，MMAE の主要代謝酵素及び DDI の可能性を調べた。MMAE は主に CYP3A4/5によって代謝されるが，*in vitro* では高率な代謝を受けなかった。MMAE は MDR1の基質であることが認められた。

In vitro 試験より，MMAE は臨床的に意味のある DDI をもたらす可能性が低いことが示唆された。MMAE は *in vitro* で CYP3A4/5の弱い時間依存的阻害剤である（K_I 値が1.12 μmol/L，K_{inact} 値が0.10 min^{-1}）ものの，臨床においてポラツズマブ　ベドチン1.8 mg/kg 投与後の遊離型 MMAE の C_{max}（約10 nmol/L（DCS4968g 試験，2.7.2.2.3.3）あるいは約2.3 nmol/L（JO29138試験，2.7.2.2.3.1））に比較し，その K_I 値が約100倍以上高いことを考慮すると，ポラツズマブ ベドチン投与後に認められる遊離型 MMAE は他の CYP3A 基質となる薬物の代謝を臨床的に意味のあるほど阻害する可能性は低いと考えられる。同様に，MMAE は，*in vitro* で CYP3A4/5を阻害するが，その IC_{50}値（10 μmol/L）は，上述の臨床での遊離型 MMAE の C_{max} よりも1000倍以上高かった（4.2.2.6-1）。さらに，MMAE は，*in vitro* で評価された他の CYP 分子種の活性を阻害も誘導もせず，MDR1又は他のトランスポーターに対しても臨床濃度で阻害を示さなかった。

また，他の CYP3A 阻害剤が CYP3A を介して MMAE 代謝に影響を与える可能性は低いと考えられる。ラットでは，MMAE は未変化体として又は CYP を介した経路及び CYP を介さない経路（例：加水分解）で代謝され排泄される。MMAE の体内からの消失経路が複数あることを考慮すると， CYP3A が阻害されても MMAE の薬物動態に対して臨床的に明らかな影響が及ぶリスクは低いと考えられる。CYP3A 及び P-gp の阻害剤であるケトコナゾールを併用投与した brentuximab vedotin（ポラツズマブ　ベドチンと同一のリンカー及び MMAE を含む）の臨床 DDI 試験では，MMAE 曝露量の増加は1.4倍未満であった[14)]。更に，ポラツズマブ　ベドチンの臨床での薬物動態学的薬物相互作用の評価において，併用剤によりポラツズマブ　ベドチンの投与量を調整する必要はなく，またポラツズマブ　ベドチンの投与により併用剤の投与量も調整する必要はないものと考えられている（2.7.2.3.5.1）。

MMAE の *in vivo* 代謝及び排泄経路

MMAE の代謝及び排泄経路を調べるため，[^{3}H]MMAE（0.2 mg/kg の IV 投与）を正常ラット又は BDC ラットに投与した。血液，胆汁，尿，及び糞を採取し，放射能並びに一部の試料では代謝物を分析した（4.2.2.3-3及び4.2.2.4-6）。正常ラットに投与した際，循環血中の放射能は投与後速やかに低下し，投与後1日で投与量の約45%及び投与後2日で投与量の約90%の放射能が糞中に排泄された。6日間の試験の終了時までに，投与放射能の98.3±5.99%が糞中に，8.61±3.16%が尿中に回収されたこと，及び BDC ラットでは投与後6日までに投与放射能の103%が胆汁中に回収されたことから，MMAE 及びその代謝物は主に胆汁を介して糞中に排泄され，腎排泄の寄与はわずかであることが示唆された。血漿試料及び尿試料の RP-HPLC 分析では，MMAE に対応する単一のピークが認められた。

胆汁試料の RP-HPLC 分析においても MMAE に対応する主ピークが認められた。これは，胆汁試料中に検出された放射能の大半を占めており（投与後6時間までに投与放射能の74%が胆汁中に回収され，その内の約63%，すなわち，投与放射能の約46%が MMAE），MMAE が胆汁中に排泄される主成分であり，生体内で投与量の半分程度が代謝を受けずに排泄されることが示唆された。残りの放射能は，同定された6種類の微量な代謝物（M1～M6）であった。代

謝物 M1，M3，M4，及び M5は，*in vitro* 試験（4.2.2.4-3）で同定されたものと同じであり，代謝物 M2及び M6は *in vivo* でのみ認められた（4.2.2.4-6）。ラットにおける MMAE の推定代謝経路は図 2.6.4.5.4-2に示した。

以上より，[^{3}H]MMAE はラットの循環血中から速やかに消失するが，これは MMAE の分布容積が大きいこと，及び排泄が速やかであることによる可能性が高い。MMAE は *in vitro* でも *in vivo* でもあまり代謝を受けず，投与した放射能の半分程度は，主に未変化体の MMAE として胆汁中に排泄され，腎排泄の寄与はほとんどなかった。MMAE の排泄経路は，ポラツズマブ　ベドチン代謝物の排泄経路と一致している。データは，肝 CL 又は肝機能が MMAE の代謝及び消失において重要な役割を果たす可能性があるが，腎 CL の寄与はわずかであることを示唆している。

結論

非臨床 PK，TK，及び ADME 試験の結果から，DLBCL 患者へのポラツズマブ　ベドチンの使用に関する有効性及び安全性が裏付けられた。試験したすべての非臨床動物種における抗体由来の PK 特性より，ポラツズマブ　ベドチンは3週に1回の投与スケジュールが適切であることが示唆される。MMAE が相互作用薬又は被相互作用薬として DDI を生じる可能性は低い。ラットにおける製剤間比較 PK 試験の結果より，その製法変更がポラツズマブ　ベドチンの薬物動態に影響を与える可能性は低いことが示唆された。

2.6.4.10　図表

本文中に記載した。

2.6.4.11　参考文献

1) Gorovits B, Alley SC, Bilic S, Booth B, Kaur S, Oldfield P, et al. Bioanalysis of antibody-drug conjugates: American Association of Pharmaceutical Scientists Antibody-Drug Conjugate Working Group position paper. Bioanalysis 2013;5:997-1006.
2) Kaur S, Xu K, Saad OM, Dere RC, Carrasco-Triguero M. Bioanalytical assay strategies for the development of antibody-drug conjugate biotherapeutics. Bioanalysis 2013;5:201-26.
3) Gorovits B, Wakshull E, Pillutla R, Xu Y, Manning MS, Goyal J. Recommendations for the characterization of immunogenicity response to multiple domain biotherapeutics. J Immunol Methods 2014;408:1-12.
4) Kaur S, Liu L, Cortes DF, Shao J, Jenkins R, Mylott Jr WR, et al. Validation of a biotherapeutic immunoaffinity-LC-MS/MS assay in monkey serum: 'plug-and-play' across seven molecules. Bioanalysis 2016;8:1565-77.
5) Furlong MT, Ouyang Z, Wu S, Tamura J, Olah T, Tymiak A, et al. A universal surrogate peptide to enable LC-MS/MS bioanalysis of a diversity of human monoclonal antibody and human Fc-fusion protein drug candidates in pre-clinical animal studies. Biomed Chromatogr 2012; 26:1024-32.
6) Li H, Ortiz R, Tran L, Hall M, Spahr C, Walker K, et al. General LC-MS/MS method approach to quantify therapeutic monoclonal antibodies using a common whole antibody internal standard with application to preclinical studies. Anal Chem 2012;84:1267-73.
7) Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. Pharm Res 1993;10:1093-5.
8) [FDA] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry. Clinical Drug Interaction Studies-Study Design, Data Analysis, and Clinical Implications. Draft Guidance 2017.
9) [FDA] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for

Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry. In Vitro Metabolism- and Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction Studies. Draft Guidance 2017.

10) Dirks NL, Meibohm B. Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. Clin Pharmacokinet 2010;49:633-59.

11) Keizer RJ, Huitema ADR, Schellens JHM, Beijnen JH. Clinical pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. Clin Pharmacokinet 2010;49:493-507.

12) Shen BQ, Xu K, Liu L, Raab H, Bhakta S, Kenrick M, et al. Conjugation site modulates the *in vivo* stability and therapeutic activity of antibody-drug conjugates. Nat Biotechnol 2012;30:184-9.

13) Sukumaran S, Zhang C, Leipold DD, Saad OM, Xu K, Gadkar K, et al. Development and translational application of an integrated, mechanistic model of antibody-drug conjugate pharmacokinetics. AAPS J 2017;19:130-40.

14) Han TH, Gopal AK, Ramchandren R, Goy A, Chen R, Matous JV, et al. CYP3A-mediated drug-drug interaction potential and excretion of brentuximab vedotin, an antibody-drug conjugate, in patients with CD30-positive hematologic malignancies. J Clin Pharmacol 2013; 53:866-77.

目次

2.6.5 薬物動態試験概要表 5
2.6.5.1 薬物動態試験一覧表 5
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 8
2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 12
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 17
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 22
2.6.5.5.1 ラット組織内分布（[^{125}I]/[^{111}In] polatuzumab vedotin, [^{125}I]/[^{111}In] polatuzumab antibody） 22
2.6.5.5.2 ラット組織内分布（polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE） 28
2.6.5.5.3 ラット組織内分布（[^{3}H]MMAE） 31
2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合 33
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 34
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 35
2.6.5.9 薬物動態試験：*In Vivo* における代謝 36
2.6.5.9.1 ポラツズマブ　ベドチン投与後のラットにおける代謝 36
2.6.5.9.2 MMAE 投与後のラットにおける代謝 41
2.6.5.10 薬物動態試験：*In Vitro* における代謝 43
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 49
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 51
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 55
2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄 59
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 63
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 70

表一覧

表 2.6.5.1-1 薬物動態試験一覧 5
表 2.6.5.2-1 抗体結合型 MMAE 分析法 8
表 2.6.5.2-2 総抗体分析法 9
表 2.6.5.2-3 遊離型 MMAE 分析法 10
表 2.6.5.2-4 抗薬物抗体（ADA）分析法 11
表 2.6.5.3-1 マウス ポラツズマブ　ベドチン 及びサロゲート ADC 単回投与 12
表 2.6.5.3-2 サル　サロゲート ADC 単回投与 14
表 2.6.5.3-3 サル MMAE 単回投与 16
表 2.6.5.4-1 ラット反復投与 17
表 2.6.5.4-2 サル反復投与 19
表 2.6.5.5.1-1 ラット組織内分布（[^{125}I]/[^{111}In] polatuzumab vedotin, [^{125}I]/[^{111}In] polatuzumab antibody） 22

表 2.6.5.5.2-1　ラット組織内分布（polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE）.....28
表 2.6.5.5.3-1　ラット組織内分布（[^{3}H]MMAE）.....31
表 2.6.5.6-1　*In vitro* 血漿蛋白結合.....33
表 2.6.5.8-1　*In vitro* 血球移行.....35
表 2.6.5.9.1-1　Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE 投与後の血漿及び組織 ACN 処理分画.....36
表 2.6.5.9.1-2　Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE 投与後の血漿中，尿中及び胆汁中 MMAE 関連代謝物.....38
表 2.6.5.9.2-1　[^{3}H]MMAE 投与後のラット胆汁中代謝物.....41
表 2.6.5.10-1　ポラツズマブ　ベドチンの血漿中安定性.....43
表 2.6.5.10-2　MMAE の肝クリアランス及び CYP フェノタイピング.....44
表 2.6.5.10-3　ヒト及び動物の肝細胞及び肝ミクロソームでの MMAE の代謝.....47
表 2.6.5.12-1　MMAE による *in vitro* CYP 誘導.....51
表 2.6.5.12-2　MMAE による *in vitro* CYP 阻害.....53
表 2.6.5.13-1　Polatuzumab vedotin–[^{3}H]MMAE 投与後のラット尿糞中排泄.....55
表 2.6.5.13-2　[^{3}H]MMAE 投与後のラット尿糞中排泄.....57
表 2.6.5.14-1　Polatuzumab vedotin–[^{3}H]MMAE 投与後のラット胆汁中排泄.....59
表 2.6.5.14-2　[^{3}H]MMAE 投与後のラット胆汁中排泄.....61
表 2.6.5.15-1　MDR1に対する MMAE の相互作用.....63
表 2.6.5.15-2　MMAE の取り込みトランスポーター基質としての評価.....66
表 2.6.5.15-3　トランスポーターに対する MMAE の相互作用.....67
表 2.6.5.16-1　製造工程の異なる製剤間比較（v0.1・v1.0）.....70

図一覧

図 2.6.5.5.1-1　[^{125}I] polatuzumab vedotin 投与後の組織中放射能推移.....24
図 2.6.5.5.1-2　[^{125}I] polatuzumab 投与後の組織中放射能推移.....25
図 2.6.5.5.1-3　[^{111}In] polatuzumab vedotin 投与後の組織中放射能推移.....26
図 2.6.5.5.1-4　[^{111}In] polatuzumab 投与後の組織中放射能推移.....27
図 2.6.5.5.2-1　Polatuzumab vedotin–[^{3}H]MMAE 投与後の組織中放射能推移.....30
図 2.6.5.5.3-1　[^{3}H]MMAE 投与後の組織中放射能推移（Mean ± SD）.....32
図 2.6.5.9.1-1　血漿中及び組織中 ACN-Soluble 並びに ACN-Precipitable 放射能.....37
図 2.6.5.9.1-2　Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE 投与後の尿中及び胆汁中 MMAE 関連代謝物ラジオクロマトグラム.....40
図 2.6.5.9.2-1　胆汁（0-1 h）の RP-HPLC ラジオクロマトグラム.....42
図 2.6.5.10-1　ポラツズマブ　ベドチンの血漿中安定性.....43
図 2.6.5.11-1　ラット胆汁中代謝物による MMAE の推定代謝経路.....49
図 2.6.5.11-2　ヒト肝試料を用いた *in vitro* 試験からの MMAE の推定代謝経路.....50

略語一覧

略語	英名	和名
acMMAE	antibody-conjugated MMAE	抗体結合型 MMAE
ACN	acetonitrile	アセトニトリル
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
ADC	antibody-drug conjugate	抗体薬物複合体
AMP	adenosine monophosphate	アデノシン一リン酸
amu	atomic mass unit	原子質量単位
ATP	adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
AUC	area under the concentration-time curve	濃度-時間曲線下面積
AUC_{inf}	area under the concentration-time curve from Time 0 to infinity	投与後無限大時間まで外挿した濃度-時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the concentration-time curve from Time 0 to time of the last measurable concentration	投与後定量可能な最終測定時点までの濃度-時間曲線下面積
AVR	assay validation report	分析バリデーション報告書
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白質
BE	bioequvalence	生物学的同等性
BSA	bovine serum albumin	ウシ血清アルブミン
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
B/P	blood-to-plasma	全血中濃度／血漿中濃度比
CH	cynomolgus monkey hepatocyte	カニクイザル肝細胞
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣細胞
CI	confidence interval	信頼区間
CL	clearance	クリアランス
CL_{hep}	hapatic clearance	肝クリアランス
CL_{int}	intrinsic clearance	固有クリアランス
CLM	cynomolgus monkey liver microsome	カニクイザル肝ミクロソーム
C_{max}	maximum observed concentration	最高濃度
Conc.	concentration	濃度
CPM	counts per minute	毎分あたりのカウント
cps	counts per second	毎秒あたりのカウント
CSA	cyclosporine A	シクロスポリン A
CYP	cytochrome P450	シトクロム P450
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DP	drug product	製剤
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
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
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
HH	human hepatocyte	ヒト肝細胞
HK	Henseleit-Krebs	クレブスーヘンゼライト
HLM	human liver microsome	ヒト肝ミクロソーム
IA LC-MS/MS	immunoaffinity liquid chromatography tandem mass spectrometry	免疫親和性　液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ID	injected radioactivity dose	投与された放射能線量
IV	intravenous	静脈内
K_I	concentration of an inactivator that supports half the maximal rate of enzyme inactivation	最大不活性化速度の50%の速度をもたらす阻害薬の濃度
K_{inact}	maximal rate of enzyme inactivation	最大酵素不活化速度
LC-MS/MS	liquid chromatography tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法

略語	英名	和名
LDH	lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
MDR1	multidrug resistance protein 1	多剤耐性蛋白質1
[M+H]+	protonated molecular ion	プロトン化分子イオン
MMAE	monomethyl auristatin E	モノメチルアウリスタチン E
MRM	multiple-reaction monitoring	多重反応モニタリング
MRP	multidrug resistance-associated protein	多剤耐性関連蛋白質
m/z	mass-to-charge ratio	質量電荷比
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
PD	pharmacodynamic	薬力学
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白質
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
RBC	red blood cell	赤血球
rCYP	recombinant cytochrome P450	組換えシトクロム P450
RH	rat hepatocyte	ラット肝細胞
RLM	rat liver microsome	ラット肝ミクロソーム
RP-HPLC	reversed-phase high-performance liquid chromatography	逆相高速液体クロマトグラフィー
SCID	severe combined immunodeficient	重度免疫不全
SEC-HPLC	size-exclusion high-performance liquid chromatography	サイズ排除高速液体クロマトグラフィー
TFA	trifluoroacetic acid	トリフルオロ酢酸
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
V_{ss}	volume of distribution at steady state	定常状態の分布容積
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期

2.6.5　薬物動態試験概要表

2.6.5.1　薬物動態試験一覧表

表 2.6.5.1-1　薬物動態試験一覧

Test Article: Polatuzumab vedotin, Surrogate ADC, Polatuzumab antibody, Surrogate antibody, MMAE

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Location in CTD
Absorption				
Single-dose pharmacokinetics of polatuzumab vedotin, polatuzumab antibody, surrogate ADC, surrogate antibody	Mouse: C.B-17 SCID	IV	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.2-1 [redacted]-1571
Single-dose pharmacokinetics of surrogate ADC, surrogate antibody	Cynomolgus Monkey: *Macaca fascicularis*	IV	[redacted] ([redacted] USA)	4.2.1.1-13 [redacted]-0899
Single-dose toxicokinetics of MMAE	Cynomolgus Monkey: *Macaca fascicularis*	IV	[redacted] ([redacted] USA)	4.2.3.1-4 [a] [redacted]-0609
Repeat-dose toxicokinetics of polatuzumab vedotin	Rat: Sprague-Dawley	IV	[redacted] ([redacted] USA)	4.2.3.2-2 [a] [redacted]-0898
Repeat-dose toxicokinetics of polatuzumab vedotin, surrogate ADC	Cynomolgus Monkey: *Macaca fascicularis*	IV	[redacted] ([redacted] USA)	4.2.3.2-4 [a] [redacted]-0044
Distribution				
Tissue distribution of polatuzumab vedotin, polatuzumab antibody	Rat: Sprague-Dawley	IV	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.3-1 [redacted]-0596
Tissue distribution of polatuzumab vedotin	Rat: Sprague-Dawley	IV	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.3-2 [redacted]-2852
Tissue distribution of MMAE	Rat: Sprague-Dawley	IV	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.3-3 [redacted]-2085
Plasma–protein binding of MMAE	Sprague-Dawley rat, cynomolgus monkey, and human plasma	*in vitro*	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.3-4 [redacted]-0293
Red blood cell partitioning of MMAE	Mouse, rat, cynomolgus monkey, and human whole blood	*in vitro*	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.3-5 [redacted]-0271

表 2.6.5.1-1　薬物動態試験一覧（続）

Test Article: Polatuzumab vedotin, MMAE

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Location in CTD
Metabolism				
Catabolite profile of polatuzumab vedotin	Rat: Sprague-Dawley	IV	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.3-2 [redacted]2852
Catabolite profile of polatuzumab vedotin in plasma, urine, and bile	Rat: Sprague-Dawley	IV	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.4-5 [redacted]-2563
Metabolic profile of MMAE in bile	Rat: Sprague-Dawley	IV	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.4-6 [redacted]-2086
Plasma stability of polatuzumab vedotin, surrogate ADC	Mouse, rat, cynomolgus monkey, and human plasma	*in vitro*	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.4-1 [redacted]1636
Intrinsic clearance determination and reaction phenotyping of MMAE	Rat, cynomolgus monkey, and human hepatocytes and liver microsomes	*in vitro*	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.4-2 [redacted]-0733
Metabolite identification of MMAE	Rat, cynomolgus monkey, and human hepatocytes and liver microsomes	*in vitro*	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.4-3 [redacted]-1319
Excretion				
Excretion of polatuzumab vedotin	Rat: Sprague-Dawley	IV	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.3-2 [redacted]-2852
Excretion of MMAE	Rat: Sprague-Dawley	IV	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.3-3 [redacted]-2085
Excretion of polatuzumab vedotin in bile	Rat: Sprague-Dawley	IV	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.5-2 [redacted]2851
Excretion of MMAE in bile	Rat: Sprague-Dawley	IV	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.4-6 [redacted]-2086

表 2.6.5.1-1　薬物動態試験一覧（続）

Test Article: Polatuzumab vedotin, MMAE

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Location in CTD
Pharmacokinetic Drug Interactions				
CYP induction potential by MMAE	Human hepatocytes	*in vitro*	Genentech, Inc. (South San Francisco, USA)	4.2.2.6-2 [redacted]-0732
CYP inhibition by MMAE	Human liver microsomes	*in vitro*	[redacted] ([redacted] USA)	4.2.2.6-1 XT085021
Interaction of MMAE with human efflux transporter MDR1/P-gp	Vesicular transport system and Caco-2 monolayer system	*in vitro*	[redacted] ([redacted] Hungary)	4.2.2.6-3 XT108004
Interaction of MMAE with human OATP1B1	Chinese hamster ovary cells	*in vitro*	[redacted] ([redacted] USA)	4.2.2.6-4 PDM-0008
Interaction of MMAE with human OATP1B3	Chinese hamster ovary cells	*in vitro*	[redacted] ([redacted] USA)	4.2.2.6-5 PDM-0009
Interaction of MMAE with human OCT2	Chinese hamster ovary cells	*in vitro*	[redacted] ([redacted] USA)	4.2.2.6-6 PDM-0010
Interaction of MMAE with human OAT1	Chinese hamster ovary cells	*in vitro*	[redacted] USA)	4.2.2.6-7 PDM-0011
Interaction of MMAE with human OAT3	Human embryonic kidney cells	*in vitro*	[redacted] ([redacted] USA)	4.2.2.6-8 PDM-0012
Interaction of MMAE with multiple transporters	Vesicular transport system, Chinese hamster ovary and human embryonic kidney cells	*in vitro*	[redacted] ([redacted] Hungary)	4.2.2.6-9 [redacted]-3234
Other				
Comparability of v0.1-derived and v1.0-derived polatuzumab vedotin materials	Rat: Sprague-Dawley	IV	[redacted] ([redacted] USA)	4.2.2.7-1 [redacted]-0268

ADC＝antibody–drug conjugate; CYP＝cytochrome P450; IV＝intravenous; MDR＝multidrug resistance; MMAE＝monomethyl auristatin E; OAT＝organic anion transporter; OATP＝organic anion transporting polypeptide; OCT＝organic cation transporter; P-gp＝p-glycoprotein; SCID＝severe combined immunodeficient.

[a] GLP study.

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験

表 2.6.5.2-1　抗体結合型 MMAE 分析法

Test Article: Polatuzumab vedotin, Surrogate ADC

	Validation Report			
	PK [a]			*in vitro* Stability [a]
Test Article:	Surrogate ADC	Polatuzumab vedotin, Surrogate ADC	Polatuzumab vedotin	Polatuzumab vedotin, Surrogate ADC
AVR No.:	—	—	LCMSC 553.1[b]	—
Location in CTD:	—	—	4.2.2.1-1	—
Species:	Cynomolgus monkey	Mouse	Sprague-Dawley rat	Mouse, rat, cynomolgus monkey, and human
Sample/Matrix:	Plasma	Plasma	Plasma	Formulation buffer/0.5% BSA and plasma
Analyte:	acMMAE	acMMAE	acMMAE	acMMAE
Assay Type:	IA LC-MS/MS	IA LC-MS/MS	IA LC-MS/MS	IA LC-MS/MS
Lower Limit of Quantification:	0.195 nmol/L MMAE	0.195 nmol/L MMAE	0.500 nmol/L MMAE	0.781 nmol/L MMAE
Location in CTD:	4.2.1.1-13 [redacted]-0899	4.2.2.2-1 [redacted]-1571	4.2.2.7-1 [redacted]0268	4.2.2.4-1 [redacted]-1636

acMMAE＝antibody-conjugated MMAE; ADC＝antibody–drug conjugate; AVR＝assay validation report; BSA＝bovine serum albumin; IA LC-MS/MS＝immunoaffinity liquid chromatography tandem mass spectrometry; MMAE＝monomethyl auristatin E; PK＝pharmacokinetic.

[a] Assay was qualified.

[b] Method Performance Evaluation Report.

表 2.6.5.2-2　総抗体分析法

Test Article: Polatuzumab vedotin, Surrogate ADC

	Validation Report						
	PK				PK [a]		*in vitro* Stability [a]
Test Article:	Polatuzumab vedotin	Polatuzumab vedotin	Surrogate ADC	Surrogate ADC	Polatuzumab vedotin, Surrogate ADC	Polatuzumab vedotin	Polatuzumab vedotin, Surrogate ADC
AVR No.:	BA.MET.CD79.005.AVR_0	BA.MET.CD79.005.AVR_0	BA.MET.CD79.007.AVR_0	BA.MET.CD79.007.AVR_0	—	LCMSD 889 [b]	—
Location in CTD:	4.2.2.1-2	4.2.2.1-2	4.2.2.1-3	4.2.2.1-3	—	4.2.2.1-4	—
Species:	Cynomolgus monkey	Sprague-Dawley rat	Cynomolgus monkey	Cynomolgus monkey	Mouse	Sprague-Dawley rat	Mouse, rat, cynomolgus monkey, and human
Sample/Matrix:	Serum	Serum	Serum	Serum	Plasma	Plasma	Formulation buffer/0.5% BSA and Plasma
Analyte:	Total antibody	Total antibody	Total antibody	Total antibody	Total antibody	Total antibody	Total antibody
Assay Type:	Direct ELISA	Direct ELISA	Direct ELISA	Direct ELISA	semi-homogeneous ELISA	IA LC-MS/MS	Direct ELISA
Lower Limit of Quantification:	150 ng/mL	200 ng/mL	60 ng/mL	60 ng/mL	15.6 ng/mL	1 µg/mL	0.391 ng/mL (polatuzumab vedotin), 0.313 ng/mL (surrogate ADC)
Location in CTD:	4.2.3.2-4 [redacted]-0044	4.2.3.2-2 [redacted]-0898	4.2.3.2-4 [redacted]-0044	4.2.1.1-13 [redacted]-0899	4.2.2.2-1 [redacted]-1571	4.2.2.7-1 [redacted]-0268	4.2.2.4-1 [redacted]1636

ADC＝antibody–drug conjugate; AVR＝assay validation report; BSA＝bovine serum albumin; ELISA＝enzyme-linked immunosorbent assay; IA LC-MS/MS＝immunoaffinity liquid chromatography tandem mass spectrometry; PK＝pharmacokinetic.

[a] Assay was qualified.

[b] Method Performance Evaluation Report.

表 2.6.5.2-3　遊離型 MMAE 分析法

Test Article: Polatuzumab vedotin, Surrogate ADC, MMAE

	Validation Report			
	PK			*in vitro* Stability [a]
Test Article:	MMAE	Polatuzumab vedotin, Surrogate ADC	Polatuzumab vedotin	Polatuzumab vedotin, Surrogate ADC
AVR No.:	[redacted]-0492	[redacted]-0803	[redacted]-0804	—
Location in CTD:	4.2.2.1-5	4.2.2.1-6	4.2.2.1-7	—
Species:	Cynomolgus monkey	Cynomolgus monkey	Sprague-Dawley rat	Mouse, rat, cynomolgus monkey, and human
Sample/Matrix:	Plasma	Plasma	Plasma	Formulation buffer/0.5% BSA and Plasma
Analyte:	Unconjugated MMAE	Unconjugated MMAE	Unconjugated MMAE	Unconjugated MMAE
Assay Type:	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Lower Limit of Quantification:	0.0352 ng/mL (0.049 nmol/L)	0.0359 ng/mL (0.050 nmol/L)	0.0359 ng/mL (0.050 nmol/L)	0.0704 ng/mL (0.098 nmol/L)
Location in CTD:	4.2.3.1-4 [redacted]-0609	4.2.3.2-4, 4.2.1.1-13 [redacted]-0044, [redacted]-0899	4.2.3.2-2 [redacted]-0898	4.2.2.4-1 [redacted]-1636

ADC＝antibody–drug conjugate; AVR＝assay validation report; BSA＝bovine serum albumin; LC-MS/MS＝liquid chromatography tandem mass spectrometry; MMAE＝monomethyl auristatin E; PK＝pharmacokinetic.

[a] Assay was qualified.

表 2.6.5.2-4　抗薬物抗体（ADA）分析法

Test Article: Polatuzumab vedotin, Surrogate ADC

	Validation Report	
	ADA	
Test Article:	Polatuzumab vedotin	Surrogate ADC
AVR No.:	BA.MET.CD79.006.AVR_0	BA.MET.CD79.008.AVR_0
Location in CTD:	4.2.2.1-8	4.2.2.1-9
Species:	Cynomolgus monkey	Cynomolgus monkey
Sample/Matrix:	Serum	Serum
Analyte:	ADA to polatuzumab vedotin	ADA to surrogate ADC
Assay Type:	Bridging ELISA	Bridging ELISA
Location in CTD	4.2.3.2-4 [redacted]-0044	4.2.3.2-4, 4.2.1.1-13 [redacted]-0044, [redacted]-0899

ADA＝anti-drug antibody; ADC＝antibody–drug conjugate; AVR＝assay validation report; ELISA＝enzyme-linked immunosorbent assay.

2.6.5.3　薬物動態試験：単回投与後の吸収

表 2.6.5.3-1　マウス ポラツズマブ　ベドチン 及びサロゲート ADC 単回投与

Test Article: Polatuzumab vedotin, Surrogate ADC, Polatuzumab antibody, Surrogate antibody

Location in CTD: 4.2.2.2-1

Species:	C.B-17 SCID mice (6–8 weeks old)	**Doses (mg/kg):**	5
Sex (M/F)/No. of Animals:	F/33 (in dosing group)	**Sample:**	Plasma
Vehicle/Formulation:	Not stated	**Sampling time:**	5 min, 1, 6, 24 h, 2, 3, 7, 10, 14, 21, 28 day post-dose
Method of Administration:	Intravenous	**Analyte:**	Total antibody, acMMAE
Feeding condition:	Not stated	**Assay:**	ELISA (Total antibody) IA LC-MS/MS (acMMAE)

PK parameters:	Polatuzumab IV	Polatuzumab vedotin IV	Surrogate Ab IV	Surrogate ADC IV
Analyte	Polatuzumab	Total antibody	Surrogate Ab	Total antibody
C_{max} (µg/mL)	112	114	100	96.5
AUC_{inf} (day•µg/mL)	1800	983	1030	715
CL (mL/day/kg)	2.78	5.09	4.84	6.99
$t_{1/2,\beta}$ (day)	22.4	11.8	15.4	10.5
V_{ss} (mL/kg)	89.5	85.8	106	102
C_{max}/Dose (kg•µg/mL/mg)	22.4	22.7	20.0	19.3
AUC_{inf} /Dose (day•kg•µg/mL/mg)	360	197	207	143
Analyte		acMMAE		acMMAE
C_{max} (nmol/L)		2530		2520
AUC_{inf} (day•nmol/L)		8230		7280
$t_{1/2}$ (day)		11.0		8.69

表 2.6.5.3-1　マウス ポラツズマブ　ベドチン 及びサロゲート ADC 単回投与（続）

Additional information:
Plasma PK parameters for the antibodies and acMMAE were estimated using a two-compartmental model and a non-compartmental model, respectively. Overall, PK profiles of total antibody following single IV administration of polatuzumab vedotin or the surrogate ADC were similar between the two ADCs and were characterized by a short distribution phase and a long elimination phase, as expected for a therapeutic monoclonal antibody. The acMMAE plasma concentration-time profiles were also comparable between the two ADCs. In addition, acMMAE plasma concentrations decreased over time in a manner similar to the total antibody concentrations for both ADCs. This similarity demonstrates that the ADCs do not rapidly deconjugate *in vivo*, but rather the MMAE remains linked to the antibodies, emulating the pharmacokinetics of the antibody component of both ADCs.

acMMAE = antibody-conjugated MMAE; ADC = antibody–drug conjugate; AUC_{inf} =area under the concentration-time curve from Time 0 to infinity; CL = clearance; C_{max}= maximum observed concentration; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; IV = intravenous; MMAE = monomethyl auristatin E; PK = pharmacokinetic; SCID = severe combined immunodeficient; $t_{1/2}$ = elimination half-life; $t_{1/2,\beta}$ = half-life of the beta phase (ln[2]/β) ; V_{ss} = volume of distribution at steady state.

表 2.6.5.3-2　サル　サロゲート ADC 単回投与

Test Article: Surrogate antibody, Surrogate ADC
Location in CTD: 4.2.1.1-13

Species:	Cynomolgus Monkey	**Doses (mg/kg):**	0.3, 1, 3 (Surrogate ADC), 3 (Surrogate Ab)
Sex (M/F)/No. of Animals:	M/4 (in dosing group)	**Sample:**	Serum, plasma
Vehicle/Formulation:	20 mmol/L histidine acetate, pH 5.5, 240 mmol/L sucrose, 0.02% polysorbate 20	**Sampling time:**	predose, 0.00347, 0.167, 0.5, 1, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42 day post-dose
Method of Administration:	Intravenous	**Analyte:**	Total antibody (serum), unconjugated MMAE (plasma), acMMAE (plasma), ADA (serum)
Feeding condition:	Non-fasted	**Assay:**	ELISA (total antibody, ADA) LC-MS/MS (unconjugated MMAE), IA LC-MS/MS (acMMAE)

PK parameters: mean ± SD	Surrogate Ab 3 mg/kg	Surrogate ADC 0.3 mg/kg	Surrogate ADC 1 mg/kg	Surrogate ADC 3 mg/kg
Analyte	Surrogate Ab	Total antibody	Total antibody	Total antibody
C_{max} (µg/mL)	82.5 ± 4.93	9.61 ± 0.688	33.0 ± 1.89	98.3 ± 13.4
AUC_{inf} (day•µg/mL)	289 ± 54.6	7.74 ± 1.99	46.5 ± 6.19	217 ± 36.1
AUC_{0-3}(day •µg/mL)	125 ± 7.23	7.31 ± 1.51	36.2 ± 4.23	124 ± 16.1
C_{max}/D (kg •µg/mL/mg)	27.5 ± 1.65	32.0 ± 2.28	33.0 ± 1.89	32.8 ± 4.46
AUC_{inf}/D (day •kg•µg/mL/mg)	96.3 ± 18.2	25.8 ± 6.62	46.5 ± 6.19	72.1 ± 12.0
AUC_{0-3}/D (day •kg•µg/mL/mg)	41.7 ± 2.42	24.4 ± 5.03	36.2 ± 4.23	41.4 ± 5.32
CL (mL/day/kg)	10.6 ± 1.86	40.7 ± 10.2	21.8 ± 2.61	14.2 ± 2.60
V_{ss} (mL/kg)	45.7 ± 3.36	33.2 ± 5.71	34.2 ± 2.32	43.1 ± 3.09
Analyte			unconjugated MMAE	unconjugated MMAE
C_{max} (ng/mL)			0.0575 ± 0.00425	0.0930 ± 0.0178
T_{max} (day)			2.79 ± 3.05	2.00 ± 1.15
AUC_{last} (day•ng/mL)			0.477 ± 0.419	0.496 ± 0.0868
Analyte		acMMAE	acMMAE	acMMAE
AUC_{inf} (day•nmol/L)		134 ± 27.9	799 ± 83.2	3930 ± 547
AUC_{0-3}(day•nmol/L)		128 ± 21.0	659 ± 63.8	2290 ± 184

表 2.6.5.3-2　サル　サロゲート ADC 単回投与（続）

Additional information:
Plasma and serum PK parameters for the antibodies, unconjugated MMAE and acMMAE were estimated using non-compartmental models. After a single IV administration of 0.3, 1, or 3 mg/kg surrogate ADC, the AUC_{inf} of total antibody increased more than dose proportionally, indicating that CL decreased with increasing dose in the range of 0.3-3 mg/kg surrogate ADC. At the same dose level of 3 mg/kg, exposure of the surrogate antibody was slightly higher compared to the total antibody of the surrogate ADC, suggesting a modest effect of the MMAE conjugation on the antibody CL or that differences may exist between the target antigen-mediated disposition of the ADC and unconjugated antibody.
The concentrations of acMMAE were high immediately following administration of the surrogate ADC and emulated the overall disposition of the surrogate ADC. Unconjugated MMAE concentrations following administration of the surrogate ADC were consistently low (< 0.2 ng/mL) and could only be detected at limited timepoints due to the assay sensitivity.
Positive titers were detected in 4 of 4 animals in 3 mg/kg surrogate antibody, 4 of 4 animals in 0.3 mg/kg surrogate ADC, 3 of 4 animals in 1 mg/kg surrogate ADC, and 1 of 4 animals in 3 mg/kg surrogate ADC. Altogether, 4 of 4 cynomolgus monkeys treated with surrogate antibody (100%) developed positive titers to surrogate antibody, and 8 of 12 cynomolgus monkeys treated with surrogate ADC (67%) developed positive titers to surrogate ADC.
PD results from this study are summarized in Module 2, Section 2.6.3.2.

acMMAE = antibody-conjugated MMAE; ADC = antibody–drug conjugate; AUC_{0-3} =area under the concentration-time curve from Time 0 to Day 3; AUC_{inf} =area under the concentration-time curve from Time 0 to infinity; AUC_{last} =area under the concentration-time curve from Time 0 to time of the last measurable concentration; CL = clearance; C_{max}= maximum observed concentration; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; IV = intravenous; LC-MS/MS = liquid chromatography tandem mass spectrometry; MMAE = monomethyl auristatin E; PD = pharmacodinamic; PK = pharmacokinetic; T_{max} = time of maximum observed concentration; V_{ss} = volume of distribution at steady state.

表 2.6.5.3-3　サル MMAE 単回投与

Test Article: MMAE
Location in CTD: 4.2.3.1-4

Species:	Cynomolgus Monkey	**Doses (mg/kg):**	0.030, 0.063
Sex (M/F)/No. of Animals:	M5/F5 (in dosing group)	**Sample:**	plasma
Vehicle/Formulation:	MMUC3333A vehicle	**Sampling time:**	predose and 2, 10, and 30 minutes, and 1, 3, 10, 24, 48, 168 240 and 504 hours postdose.
Method of Administration:	Intravenous	**Analyte:**	unconjugated MMAE
Feeding condition:	Non-fasted	**Assay:**	LC-MS/MS

PK parameters: mean ± SD	0.030 mg/kg	0.030 mg/kg	0.030 mg/kg	0.063 mg/kg	0.063 mg/kg	0.063 mg/kg
	M (n=5)	F (n=5)	MF (n=10)	M (n=5)	F (n=5)	MF (n=10)
AUC_{inf} (ng•min/mL)	1390 ± 198	1320 ± 246	1350 ± 214	4310 ± 718	3550 ± 739	3930 ± 796
AUC_{last} (ng•min/mL)	1210 ± 150	1120 ± 173	1170 ± 160	2400 ± 402	2520 ± 303	2460 ± 342
C_{max} (ng/mL)	35.8 ± 12.4	33.2 ± 17.2	34.5 ± 14.2	65.7 ± 28.9	66.0 ± 25.6	65.9 ± 25.8
C_{max}/D (kg•ng/mL/mg)	1190 ± 413	1100 ± 570	1150 ± 471	1040 ± 458	1050 ± 405	1050 ± 408
AUC_{last}/D (ng•min/mL/mg/kg)	40400 ± 5020	37400 ± 5750	38900 ± 5330	38000 ± 6380	40100 ± 4810	39000 ± 5430
CL (mL/min/kg)	21.9 ± 3.08	23.5 ± 4.70	22.7 ± 3.85	14.9 ± 2.59	18.3 ± 3.56	16.6 ± 3.44
V_{ss} (mL/kg)	29200 ± 3950	32600 ± 3830	30900 ± 4080	54700 ± 8910	40200 ± 7480	47400 ± 10900
$t_{1/2}$ (min)	1070 ± 136	1130 ± 204	1100 ± 167	2790 ± 110	1720 ± 529	2260 ± 667

Additional information:
PK parameters were estimated using non-compartmental analysis.　Overall, the plasma concentration-time profiles of both dose groups exhibited apparent biphasic disposition.　The mean AUC_{last} parameter estimates were dose proportional at 0.030 and 0.063 mg/kg MMAE.　No sex related differences in the PK parameters were observed.
Toxicity results from this study are summarized in Module 2, Section 2.6.7.5.

AUC_{inf} =area under the concentration-time curve from Time 0 to infinity; AUC_{last} = area under the concentration–time curve from Time 0 to time of the last measurable concentration; C_{max}= maximum observed concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography tandem mass spectrometry; MMAE = monomethyl auristatin E. PK = pharmacokinetic; $t_{1/2}$ = elimination half-life; V_{ss} = volume of distribution at steady state.

2.6.5.4　薬物動態試験：反復投与後の吸収

表 2.6.5.4-1　ラット反復投与

Test Article: Polatuzumab vedotin
Location in CTD: 4.2.3.2-2

Species:	Sprague-Dawley Rat	**Doses (mg/kg):**	2, 6, 10 (once weekly)
Sex (M/F)/No. of Animals:	M9/F9 (in dosing group)	**Sample:**	Serum, plasma
Vehicle/Formulation:	20 mmol/L histidine acetate, pH 5.5, 240 mmol/L sucrose, and 0.02% polysorbate 20	**Sampling time:**	predose and 0.00347, 0.25, 1，4，7，21，21.00347, 21.25，22，25，28，35，42，49，63 day
Method of Administration:	Intravenous	**Analyte:**	Total antibody (serum), unconjugated MMAE (plasma)
Feeding condition:	Non-fasted	**Assay:**	ELISA (total antibody) LC-MS/MS (unconjugated MMAE)

PK parameters: Total antibody	1st dosing			4th dosing		
	M	F	MF	M	F	MF
2 mg/kg/week						
C_{max} (µg /mL)	67.8	58.1	63.0	81.3	80.6	81.0
T_{max} (day)	0.00347	0.00347	0.00347	21.00347	21.00347	21.00347
AUC_{0-7} or AUC_{21-28} (µg•day/mL)	132	97.8	115	177	122	150
6 mg/kg/week						
C_{max} (µg/mL)	260	216	238	258	174	216
T_{max} (day)	0.00347	0.00347	0.00347	21.00347	21.00347	21.00347
AUC_{0-7} or AUC_{21-28} (µg•day/mL)	534	293	414	586	500	543
10 mg/kg/week						
C_{max} (µg/mL)	406	298	352	392	393	375
T_{max} (day)	0.00347	0.00347	0.00347	21.00347	21.25	21.25
AUC_{0-7} or AUC_{21-28} (µg•day/mL)	658	594	626	923	923	923

表 2.6.5.4-1　ラット反復投与（続）

PK parameters: unconjugated MMAE	1st dosing			4th dosing		
	M	F	MF	M	F	MF
2 mg/kg/week						
C_{max} (ng/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
T_{max} (day)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
AUC_{0-4} or AUC_{21-25} (ng•day/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
6 mg/kg/week						
C_{max} (ng/mL)	0.169	0.136	0.152	0.216	0.157	0.186
T_{max} (day)	1.00	1.00	1.00	22.0	22.0	22.0
AUC_{0-4} or AUC_{21-25} (ng•day/mL)	0.498	0.382	0.440	0.703	0.450	0.577
10 mg/kg/week						
C_{max} (ng/mL)	0.367	0.253	0.310	0.457	0.323	0.390
T_{max} (day)	1.00	1.00	1.00	22.0	22.0	22.0
AUC_{0-4} or AUC_{21-25} (ng•day/mL)	0.976	0.717	0.847	1.33	0.979	1.16

Additional information:
PK parameters were estimated using non-compartmental analysis. Exposure of total antibody and unconjugated MMAE generally increased with the increase in polatuzumab vedotin dose level from 2 to 10 mg/kg. The increases in total antibody C_{max} and AUC were dose proportional. Overall, unconjugated MMAE concentrations were low in the rat, with concentrations generally never exceeding 1 ng/mL for any dose level. No sex-related PK differences were observed. A modest total antibody accumulation with an accumulation ratio (AUC_{21-28}/AUC_{0-7}) ranging from 1.10 to 1.71 was observed across the four doses, but no accumulation of unconjugated MMAE was observed after multiple dosing of polatuzumab vedotin in rats.
Toxicity results from this study are summarized in Module 2, Section 2.6.7.5.

AUC = area under the concentration–time curve; AUC_{0-4} = AUC from TK Day 0 to TK Day 4; AUC_{0-7} = AUC from TK Day 0 to TK Day 7; AUC_{21-25} = AUC from TK Day 21 to TK Day 25; AUC_{21-28} = AUC from TK Day 21 to TK Day 28; C_{max} = maximum observed concentration; ELISA =enzyme linked immunosorbent assay; LC-MS/MS = liquid chromatography tandem mass spectrometry; MMAE = monomethyl auristatin E; NA=not applicable; PK = pharmacokinetic.

表 2.6.5.4-2　サル反復投与

Test Article: Polatuzumab vedotin, Surrogate ADC
Location in CTD: 4.2.3.2-4

Species:	Cynomolgus Monkeys	**Doses (mg/kg):**	1, 3, 5 (every three weeks) for polatuzumab vedotin 3, 5 (every three weeks) for surrogate ADC
Sex (M/F)/No. of Animals:	M5/F5 (in dosing group)	**Sample:**	Serum, plasma
Vehicle/Formulation:	20 mmol/L histidine acetate, pH 5.5, 240 mmol/L sucrose, 0.02% polysorbate 20	**Sampling time:**	predose and 0.0104, 0.25, 1, 3, 7, 14, 21, 21.0104, 42, 42.0104, 63, 63.0104, 63.25, 64, 66, 70, 77, 84, 105, 126 day
Method of Administration:	Intravenous	**Analyte:**	Total antibody (serum), unconjugated MMAE (plasma), ADA (serum)
Feeding condition:	fasted or non-fasted	**Assay:**	ELISA (Total antibody, ADA), LC-MS/MS (unconjugated MMAE)

PK parameters: mean ± SD **Total antibody**	1st dosing			4th dosing		
	M	F	MF	M	F	MF
Polatuzumab vedotin						
1 mg/kg (~220 μg/m^2 as MMAE)						
C_{max} (μg/mL)	35.7 ± 3.19	32.3 ± 4.26	34.0 ±3.96	26.0 ± 6.38	29.2 ± 4.10	27.6 ± 5.34
$AUC_{0\text{-}21}$ or $AUC_{63\text{-}84}$ (μg•day/mL)	134 ± 19.1	141 ± 35.3	138 ± 27.0	31.0, 173[a]	168, 181[a]	138 ±71.8[b]
$AUC_{0\text{-}70}$ (μg•day/mL)	–	–	–	838 ± 93.3	873 ± 90.3	855 ± 88.5
3 mg/kg (~659 μg/m^2 as MMAE)						
C_{max} (μg/mL)	91.1 ± 7.06	90.1 ± 11.3	90.6 ±8.91	96.5 ± 3.87	106 ± 19.1[b]	101 ± 13.0[c]
$AUC_{0\text{-}21}$ or $AUC_{63\text{-}84}$ (μg•day/mL)	454 ± 52.7	426 ± 42.1	440 ±47.4	539, 519[a]	396[a]	485 ± 77.9[d]
$AUC_{0\text{-}70}$ (μg•day/mL)	–	–	–	2762 ± 301	2897 ± 331[b]	2822 ± 302[c]
5 mg/kg (~1098 μg/m^2 as MMAE)						
C_{max} (μg/mL)	158 ± 8.32	156 ± 22.7	157 ±16.2	174 ± 24.7	180 ± 17.7	177 ± 20.5
$AUC_{0\text{-}21}$ or $AUC_{63\text{-}84}$ (μg•day/mL)	705 ± 56.3	782 ± 159	744 ± 119	521, 918[a]	848, 897[a]	796 ± 186[b]
$AUC_{0\text{-}70}$ (μg•day/mL)	–	–	–	4954 ± 298	5388 ± 795	5171 ± 611
Surrogate ADC						
3 mg/kg (~622 μg/m^2 as MMAE)						
C_{max} (μg/mL)	78.9 ± 7.06	74.4 ± 9.83	76.7 ± 8.41	85.2 ± 12.5	93.5 ± 5.87	89.4 ± 10.2
$AUC_{0\text{-}21}$ or $AUC_{63\text{-}84}$ (μg•day/mL)	209 ± 34.5	223 ± 42.7	216 ± 37.3	244, 310[a]	311, 317[a]	295 ± 34.2[b]
$AUC_{0\text{-}70}$ (μg•day/mL)	–	–	–	2235 ± 256	2324 ± 148	2279 ± 202
5 mg/kg (~1038 μg/m^2 as MMAE)						
C_{max} (μg/mL)	140 ± 10.7	140 ± 13.7	140 ±11.6	148 ± 30.3	146 ± 17.1	147 ± 22.1
$AUC_{0\text{-}21}$ or $AUC_{63\text{-}84}$ (μg•day/mL)	382 ± 39.6	426 ± 28.2	404 ± 39.9	561, 509[a]	560, 462[a]	523 ± 47.5[b]
$AUC_{0\text{-}70}$ (μg•day/mL)	–	–	–	3681 ± 424[b]	3721 ± 458	3703 ± 416[c]

表 2.6.5.4-2　サル反復投与（続）

PK parameters: mean ± SD unconjugated MMAE	1st dosing			4th dosing		
	M	F	MF	M	F	MF
Polatuzumab vedotin						
3 mg/kg (~659 μg/m^2 as MMAE)						
T_{max} (day), median	1	2[b]	1[c]	3	1, 3[a]	3[e]
C_{max} (ng/mL)	0.0788 ± 0.0134	0.0649 ± 0.00384[b]	0.0726 ± 0.0122[c]	0.0761 ± 0.00839	0.0620, 0.0661[a]	0.0726 ± 0.00910[e]
$AUC_{0\text{-}t}$ or $AUC_{63\text{-}t}$ (ng•day/mL)	0.430 ± 0.0814	0.317 ± 0.111[b]	0.380 ± 0.107[c]	0.441 ± 0.0348	0.164, 0.392[a]	0.394 ± 0.107[e]
$AUC_{0\text{-}3}$ or $AUC_{63\text{-}66}$ (ng•day/mL)	0.179 ± 0.0243	0.161 ± 0.0177[b]	0.171 ± 0.0226[c]	0.186 ± 0.0181	0.164, 0.171[a]	0.181 ± 0.0174[e]
5 mg/kg (~1098 μg/m^2 as MMAE)						
T_{max} (day), median	3	3	3	3	3	3
C_{max} (ng/mL)	0.0992 ± 0.0200	0.0944 ± 0.0230	0.0968 ± 0.0205	0.111 ± 0.0144	0.0965 ± 0.0262	0.104 ± 0.0213
$AUC_{0\text{-}t}$ or $AUC_{63\text{-}t}$ (ng•day/mL)	0.483 ± 0.171	0.508 ± 0.127	0.496 ± 0.143	0.602 ± 0.0655	0.528 ± 0.118	0.565 ± 0.0984
$AUC_{0\text{-}3}$ or $AUC_{63\text{-}66}$ (ng•day/mL)	0.237 ± 0.0434	0.229 ± 0.0531	0.233 ± 0.0459	0.274 ± 0.0313	0.233 ± 0.0568	0.253 ± 0.0484
Surrogate ADC						
3 mg/kg (~622 μg/m^2 as MMAE)						
T_{max} (day), median	1	1	1	2[b]	3[b]	3[f]
C_{max} (ng/mL)	0.0793 ± 0.0108	0.0870 ± 0.0178	0.0832 ± 0.0145	0.0725 ± 0.00828[b]	0.0733 ± 0.00924[b]	0.0729 ± 0.00814[f]
$AUC_{0\text{-}t}$ or $AUC_{63\text{-}t}$ (ng•day/mL)	0.282 ± 0.104	0.344 ± 0.0979	0.313 ± 0.101	0.400 ± 0.0514[b]	0.361 ± 0.144[b]	0.381 ± 0.102[f]
$AUC_{0\text{-}3}$ or $AUC_{63\text{-}66}$ (ng•day/mL)	0.199 ± 0.0133	0.208 ± 0.0420	0.204 ± 0.0298	0.179 ± 0.0293[b]	0.177 ± 0.0277[b]	0.178 ± 0.0264[f]
5 mg/kg (~1038 μg/m^2 as MMAE)						
T_{max} (day), median	1	3	2	2[b]	3	3[c]
C_{max} (ng/mL)	0.117 ± 0.0285	0.113 ± 0.00611	0.115 ± 0.0195	0.119 ± 0.0272[b]	0.0978 ± 0.0119	0.107 ± 0.0218[c]
$AUC_{0\text{-}t}$ or $AUC_{63\text{-}t}$ (ng•day/mL)	0.644 ± 0.127	0.592 ± 0.0515	0.618 ± 0.0957	0.644 ± 0.124[b]	0.533 ± 0.0586	0.583 ± 0.105[c]
$AUC_{0\text{-}3}$ or $AUC_{63\text{-}66}$ (ng•day/mL)	0.304 ± 0.0635	0.277 ± 0.0119	0.291 ± 0.0453	0.288 ± 0.0687[b]	0.244 ± 0.0278	0.263 ± 0.0518[c]

表 2.6.5.4-2　サル反復投与（続）

Additional information:
PK parameters for the total antibodies and unconjugated MMAE were estimated using non-compartmental models. Total antibody systemic exposure was observed to increase in proportion with the increase in polatuzumab vedotin dose level from 1 to 5 mg/kg and in surrogate ADC dose level from 3 to 5 mg/kg. No accumulation was observed after multiple doses of polatuzumab vedotin, whereas the accumulation ratio (AUC_{63-84}/AUC_{0-21}) for the surrogate ADC ranged from 1.22 to 1.52. There were no observed sex related differences in total antibody or unconjugated MMAE exposure. Overall, unconjugated MMAE concentrations never exceeded 1 ng/mL for any dose group.
Comparing the two ADCs at the same dose levels, the systemic exposure (AUC_{0-70}) of total antibody following IV administration of polatuzumab vedotin was about 1.2 to 1.4 fold higher than that of the surrogate ADC due to the contribution of saturable target mediated CL to the total CL of the surrogate ADC. MMAE exposure of polatuzumab vedotin was similar to that of the surrogate ADC in equivalent dose groups.
Positive ADA responses from animals that received polatuzumab vedotin or surrogate ADC were observed in 5 of 10 animals in Group 2 (polatuzumab vedotin 1 mg/kg), 5 of 10 animals in Group 3 (polatuzumab vedotin 3 mg/kg), 3 of 10 animals in Group 4 (polatuzumab vedotin 5 mg/kg), 3 of 10 animals in Group 5 (surrogate ADC 3 mg/kg), and 1 of 10 animals in Group 6 (surrogate ADC 5 mg/kg). Overall, after dosing with polatuzumab vedotin, 13 of 30 animals (43%) developed positive titers and after dosing with surrogate ADC, 4 of 20 animals (20%) developed positive titers
PD results from this study are summarized in Module 2, Section 2.6.3.2-1.
Safety pharmacology results from this study are summarized in Module 2, Section 2.6.3.4.
Toxicity results from this study are summarized in Module 2, Section 2.6.7.7.3.

ADC＝antibody–drug conjugate; AUC＝area under the concentration–time curve; AUC_{0-t}＝AUC from TK Day 0 to TK Day of the last measurable concentration (1st dosing);; AUC_{0-3}＝AUC from TK Day 0 to TK Day 3; AUC_{0-21}＝AUC from TK Day 0 to TK Day 21; AUC_{63-t}＝AUC from TK Day 63 to TK Day of the last measurable concentration (4th dosing); AUC_{63-66}＝AUC from TK Day 63 to TK Day 66; AUC_{63-84}＝AUC from TK Day 63 to TK Day 84; AUC_{0-70}＝AUC from TK Day 0 to TK Day 70; CL＝clearance; C_{max}＝maximum observed concentration; ELISA ＝enzyme linked immunosorbent assay; IV＝intravenous; LC-MS/MS ＝ liquid chromatography tandem mass spectrometry; MMAE＝monomethyl auristatin E; PD＝pharmacodynamic; PK ＝ pharmacokinetic; TK＝toxicokinetic
a: individual value, b: n=4, c: n=9, d: n=3, e: n=7, f: n=8.

2.6.5.5　薬物動態試験：分布

2.6.5.5.1　ラット組織内分布（[^{125}I]/[^{111}In] polatuzumab vedotin, [^{125}I]/[^{111}In] polatuzumab antibody）

表 2.6.5.5.1-1　ラット組織内分布（[^{125}I]/[^{111}In] polatuzumab vedotin, [^{125}I]/[^{111}In] polatuzumab antibody）

Test Article: Polatuzumab vedotin, Polatuzumab antibody

Location in CTD: 4.2.2.3-1

Species:	Sprague-Dawley Rat
Sex (M/F)/No. of Animals:	F15 (3/time point in dosing group)
Vehicle/Formulation:	Not stated
Method of Administration:	Intravenous
Feeding condition:	Not stated
Specific radioactivity:	[^{125}I] polatuzumab vedotin: 11.4 μCi/μg [^{111}In] polatuzumab vedotin: 17.6 μCi/μg [^{125}I] polatuzumab antibody: 15.2 μCi/μg [^{111}In] polatuzumab antibody: 27.7 μCi/μg
Doses (mg/kg):	tracer, tracer + 10 mg/kg
Dosed radioactivity:	^{125}I: 48 μCi/kg, ^{111}In: 48 μCi/kg　(simultaneous administration of both labeled materials)
Sample:	blood cell pellet fractions, plasma, liver, lungs, heart, kidneys, spleen, brain, eyes, stomach, small and large intestine, adrenal glands, ovaries, muscle, femur bone marrow, sciatic nerves, thymus, lymph nodes, dorsal skin, and abdominal fat.
Sampling time:	2 h, 1, 3, 7, 14 day post-dose
Analyte:	radioacticity
Assay:	Blood and tissue samples were analyzed for radioactivity using a gamma counter. The blood and tissue radioactivity data were calculated as percentage of ID normalized by blood volume (% ID/mL) or tissue weight (% ID/g).　Selected plasma samples were also analyzed by size-exclusion high-performance liquid chromatography (SEC-HPLC) with an in-line gamma detector.

表 2.6.5.5.1-1　ラット組織内分布（[^{125}I]/[^{111}In] polatuzumab vedotin, [^{125}I]/[^{111}In] polatuzumab antibody）（続）

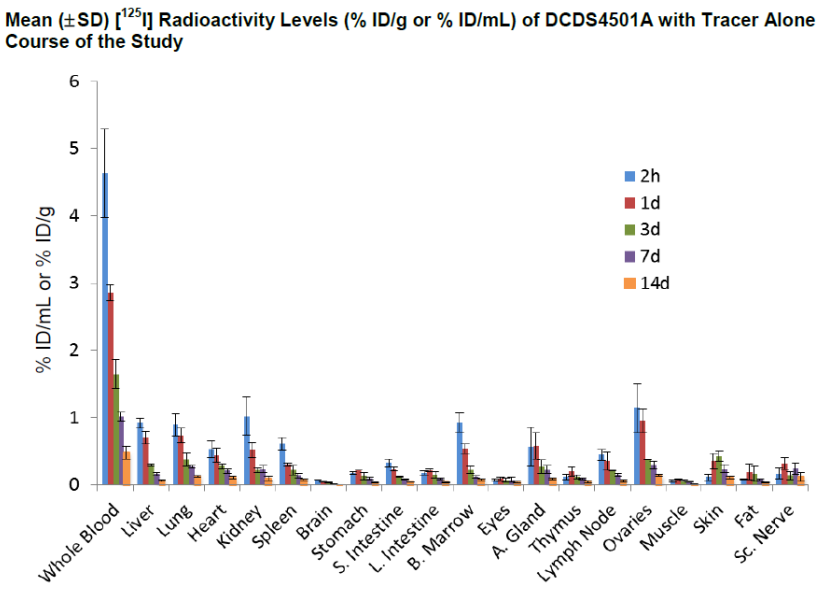
Results: Radioactivity was detected in multiple highly perfused tissues, including liver, lungs, heart, kidneys, spleen, adrenal gland, ovaries, and bone marrow, within hours post-dose in all groups. For [^{125}I] probes, the radioactivity levels in tissues peaked at 2 hours post-dose and then decreased in parallel to the decrease of blood radioactivity over time without persistence in any tissue analyzed in any groups. The [^{125}I] radioactivity levels in tissues were below that in the corresponding blood samples and were similar between polatuzumab vedotin and the polatuzumab antibody either in the absence or presence of 10 mg/kg of unlabeled materials. However, rats dosed with [^{111}In]–polatuzumab vedotin had slightly higher uptake and longer retention of radioactivity in several tissues, particularly in the liver, than that in rats dosed with [^{111}In]–polatuzumab antibody either as tracer alone or tracer plus unlabeled materials. The ratio of radioactivity from the residualized [^{111}In] to the non-residualized [^{125}I] increased over time in several highly perfused tissues such as liver, kidney, spleen, adrenal gland, lymph node, and ovaries in all groups, suggesting that polatuzumab vedotin and the polatuzumab antibody underwent catabolism in these tissues.

Overall, polatuzumab vedotin and the polatuzumab antibody showed similar tissue distribution profiles either as tracer alone or in the presence of 10 mg/kg of unlabeled materials.

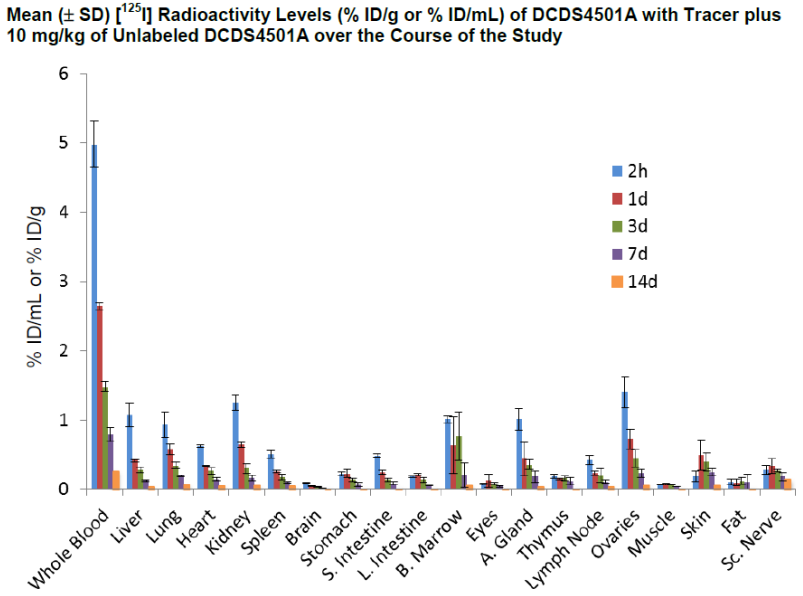
DCDS4501A＝polatuzumab vedotin; ID＝injected radioactivity dose; SEC-HPLC＝size-exclusion high-performance liquid chromatography.

図 2.6.5.5.1-1　[^{125}I] polatuzumab vedotin 投与後の組織中放射能推移

Tracer alone (Mean ± SD)



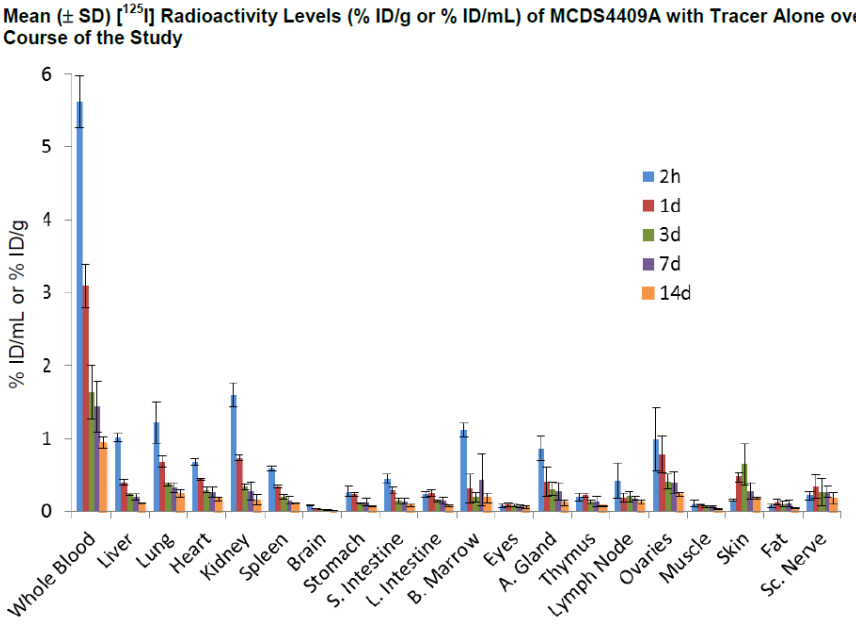
Tracer plus 10 mg/kg of unlabeled polatuzumab vedotin (Mean ± SD)



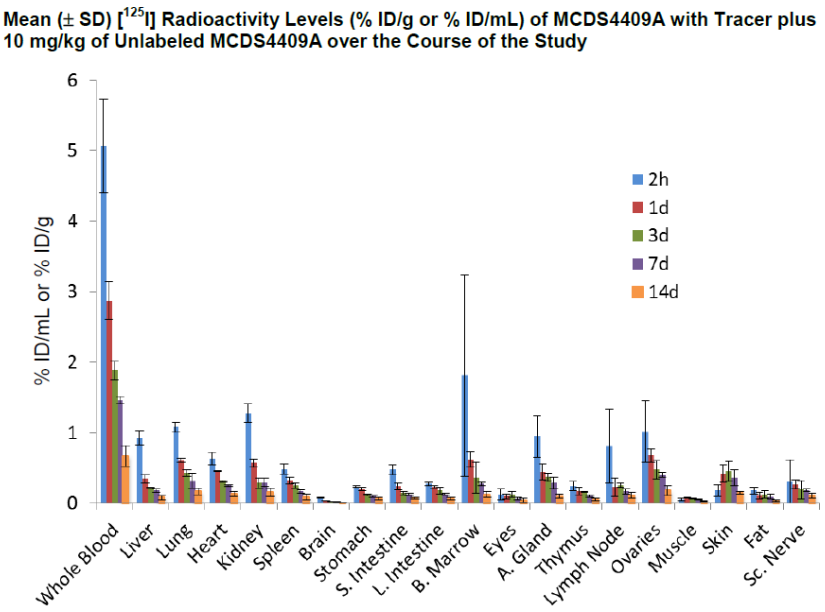
[^{125}I] = iodide-125; A. = adrenal; B. = bone; d = day; ID= injected radioactivity dose; h = hour; L. = large; S. = small; Sc. = sciatic

図 2.6.5.5.1-2　[125I] polatuzumab 投与後の組織中放射能推移

Tracer alone (Mean ± SD)



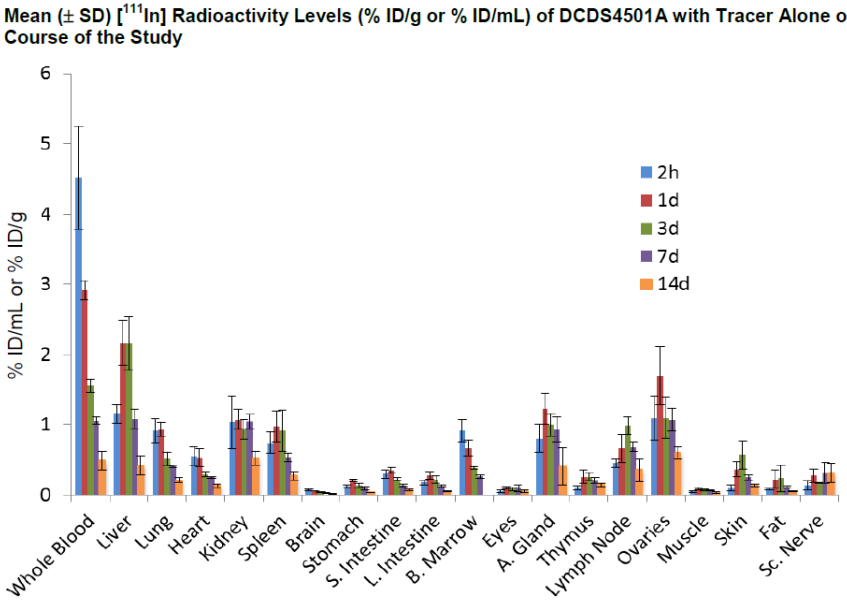
Tracer plus 10 mg/kg of unlabeled polatuzumab antibody (Mean ± SD)



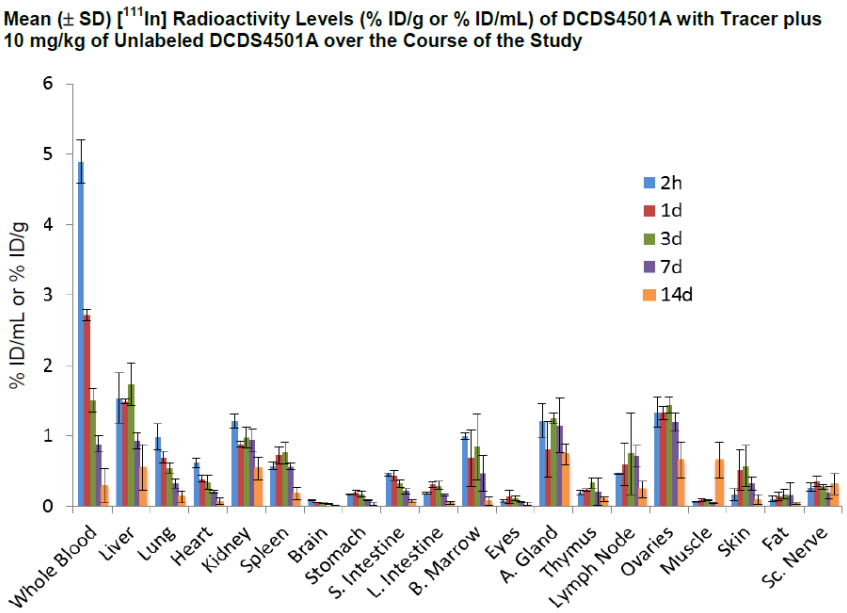
[125I] = iodide-125; A. = adrenal; B. = bone; d = day; ID= injected radioactivity dose; h = hour; L. = large; S. = small; Sc. = sciatic

図 2.6.5.5.1-3　[^{111}In] polatuzumab vedotin 投与後の組織中放射能推移

Tracer alone (Mean ± SD)



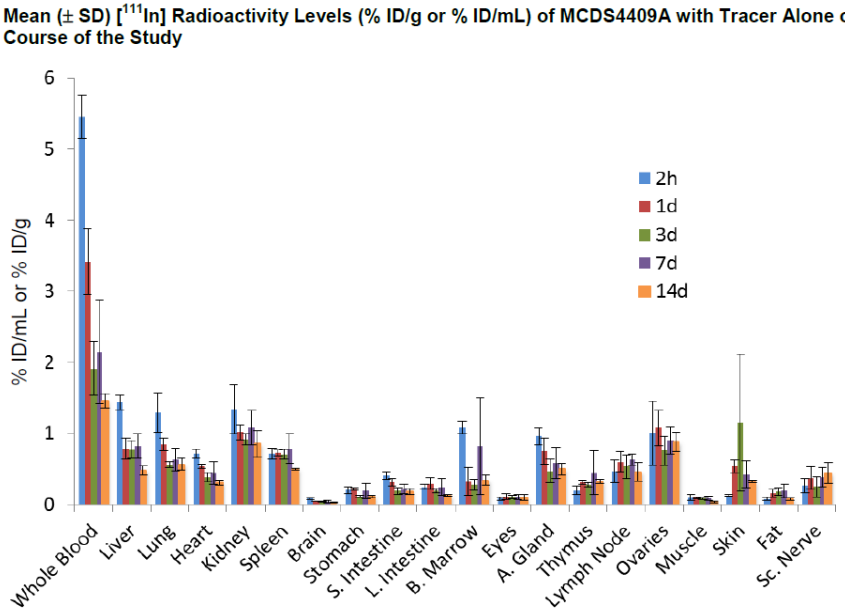
Tracer plus 10 mg/kg of unlabeled polatuzumab vedotin (Mean ± SD)



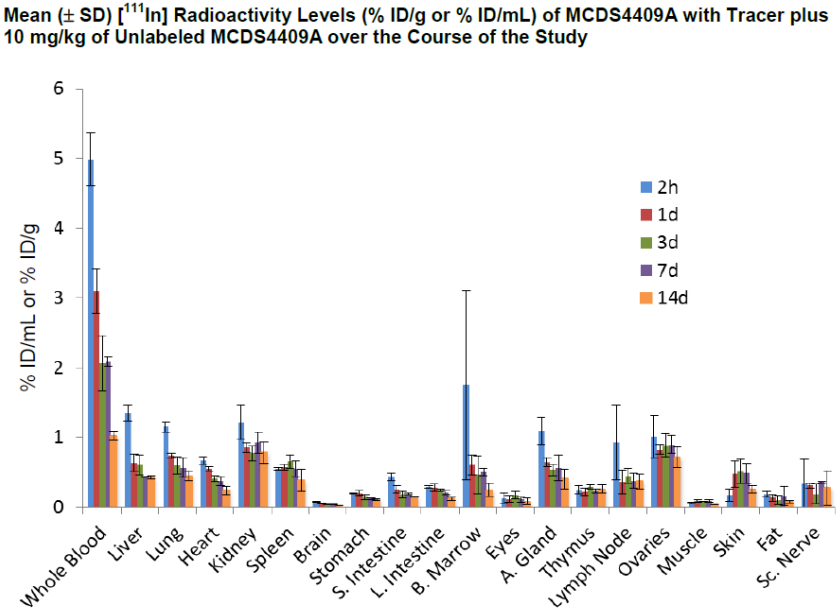
[^{111}In] = indium-111; A. = adrenal; B. = bone; d = day; ID = injected radioactivity dose; h = hour; L. = large; S. = small; Sc. = sciatic.

図 2.6.5.5.1-4　[111In] polatuzumab 投与後の組織中放射能推移

Tracer alone (Mean ± SD)



Tracer plus 10 mg/kg of unlabeled polatuzumab antibody (Mean ± SD)



[111In] = indium-111; A. = adrenal; B. = bone; d = day; ID = injected radioactivity dose; h = hour; L. = large; S. = small; Sc. = sciatic.

2.6.5.5.2　ラット組織内分布（polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE）

表 2.6.5.5.2-1　ラット組織内分布（polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE）

Test Article: Polatuzumab vedotin
Location in CTD: 4.2.2.3-2

Species:	Sprague-Dawley Rat
Sex (M/F)/No. of Animals:	F15 (3-6/time point/dosing group)
Vehicle/Formulation:	Not stated
Method of Administration:	Intravenous
Feeding condition:	Not stated
Specific radioactivity:	polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE:　33.3 μCi/mg
Doses (mg/kg):	tracer + 10 mg/kg
Dosed radioactivity:	^{3}H: 150 μCi/kg,
Sample:	blood, plasma, liver, lungs, heart, kidneys, spleen, brain, eyes, stomach, small and large intestine, adrenal glands, ovaries, muscle, femur bone marrow, sciatic nerve, thymus, lymph nodes, mammary glands, thyroid, urinary bladder, esophagus, pancreas, dorsal root ganglia, dorsal skin, and abdominal fat, urine, feces.
Sampling time:	0.25 (blood, plasma), 1 h, 1, 3, 7, 14 day (blood, plasma, tissues) post-dose
Analyte:	radioacticity
Assay:	Tissues were harvested at the selected timepoints and a portion of each tissue was homogenized.　The homogenized portion was sampled, solubilized, and analyzed for total radioactivity by liquid scintillation counting.　A second homogenate sample was processed by TFA/ACN precipitation and the soluble and precipitable portion (after solubilization) were each assayed for radioactivity by liquid scintillation counting. The blood and tissue radioactivity data were calculated as percentage of ID normalized by blood volume (% ID/mL) or tissue weight (% ID/g).

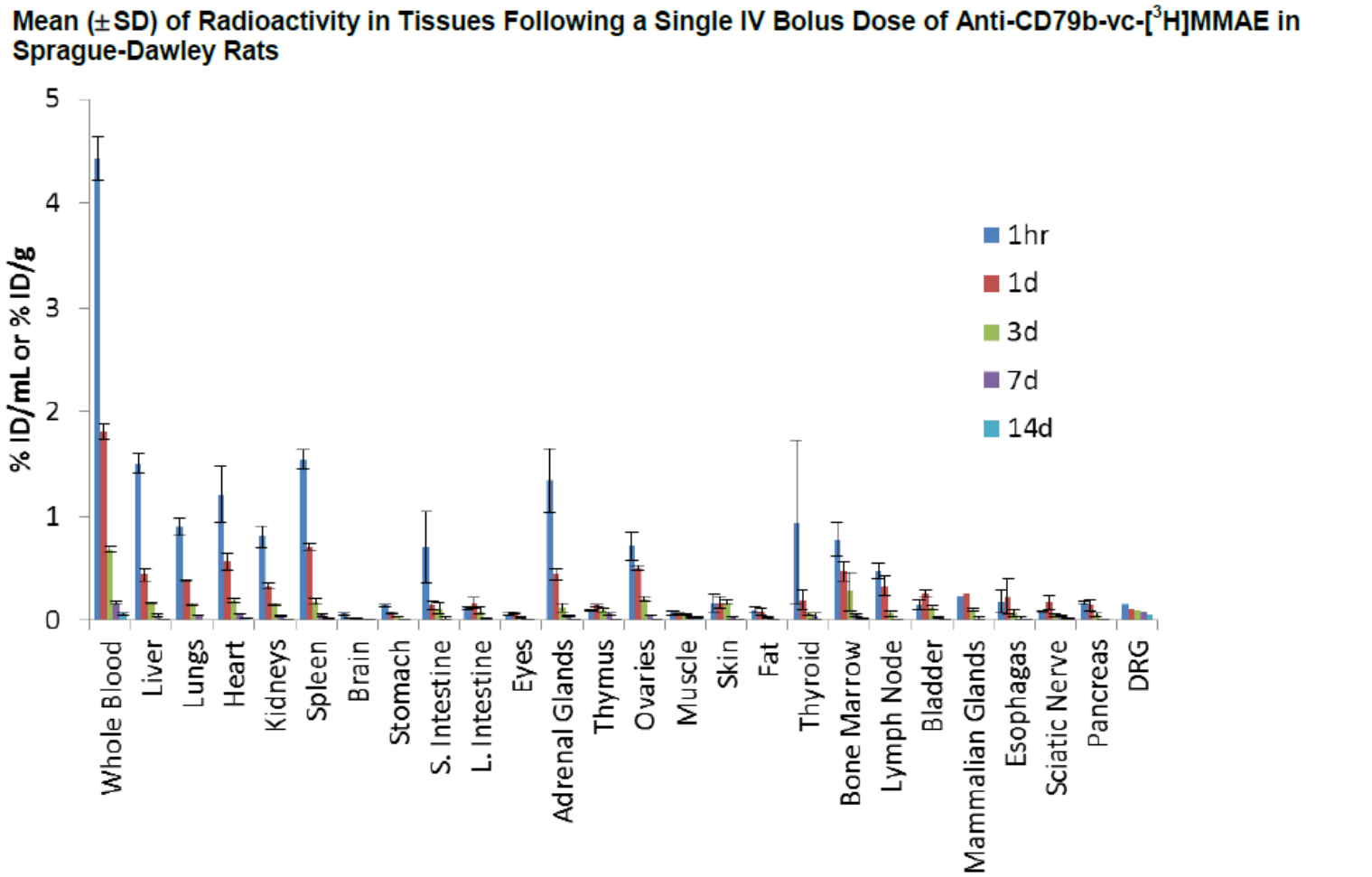
表 2.6.5.5.2-1　ラット組織内分布（polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE）（続）

Results: Following an IV bolus dose of polatuzumab vedotin–[^{3}H]MMAE at 10 mg/kg (150 μCi/kg), radioactivity was detected in multiple highly perfused tissues including liver, lungs, heart, kidneys, spleen, adrenal gland, ovaries, and bone marrow at levels that were all below that in the corresponding blood samples. Radioactivity levels in tissue peaked at 1 hour post-dose and then decreased in parallel to the decrease of blood radioactivity over time without persistence in any tissue analyzed. There was little radioactivity detected in the brain (0.00667%–0.0626% ID/g) and nerves (sciatic nerve and dorsal root ganglia, 0.0216%–0.0874% ID/g) over the whole study period. ACN extraction of tissue homogenates showed a time-dependent increase in the relative ACN-soluble fractions ranging from 6.11%–60.5% at 1 hour post-dose to 9.96%–96.3% at 14 days post-dose across tissues analyzed, indicating that polatuzumab vedotin underwent various levels of catabolism in tissues. In conclusion, polatuzumab vedotin–[^{3}H]MMAE showed nonspecific distribution to several highly perfused tissues where it underwent various levels of catabolism without persistency in rats. Plasma and urine samples were further analyzed for catabolite profile and identification, and the results are reported in 4.2.2.4-5.

ACN＝acetonitrile; ID＝injected radioactivity dose; IV＝intravenous; MMAE＝monomethyl auristatin E; TFA＝trifluoroacetic acid.

Note: Polatuzumab vedotin–[^{3}H]MMAE＝polatuzumab vedotin with tritium-labeled MMAE＝anti-CD79b-vc-[^{3}H]MMAE.

図 2.6.5.5.2-1　Polatuzumab vedotin−[^{3}H]MMAE 投与後の組織中放射能推移



d＝day; DRG＝dorsal root ganglia; ID＝injected dose; hr＝hour; IV＝intravenous; L.＝large; MMAE＝mono-methyl auristatin E; S.＝small.

2.6.5.5.3　ラット組織内分布（[^{3}H]MMAE）

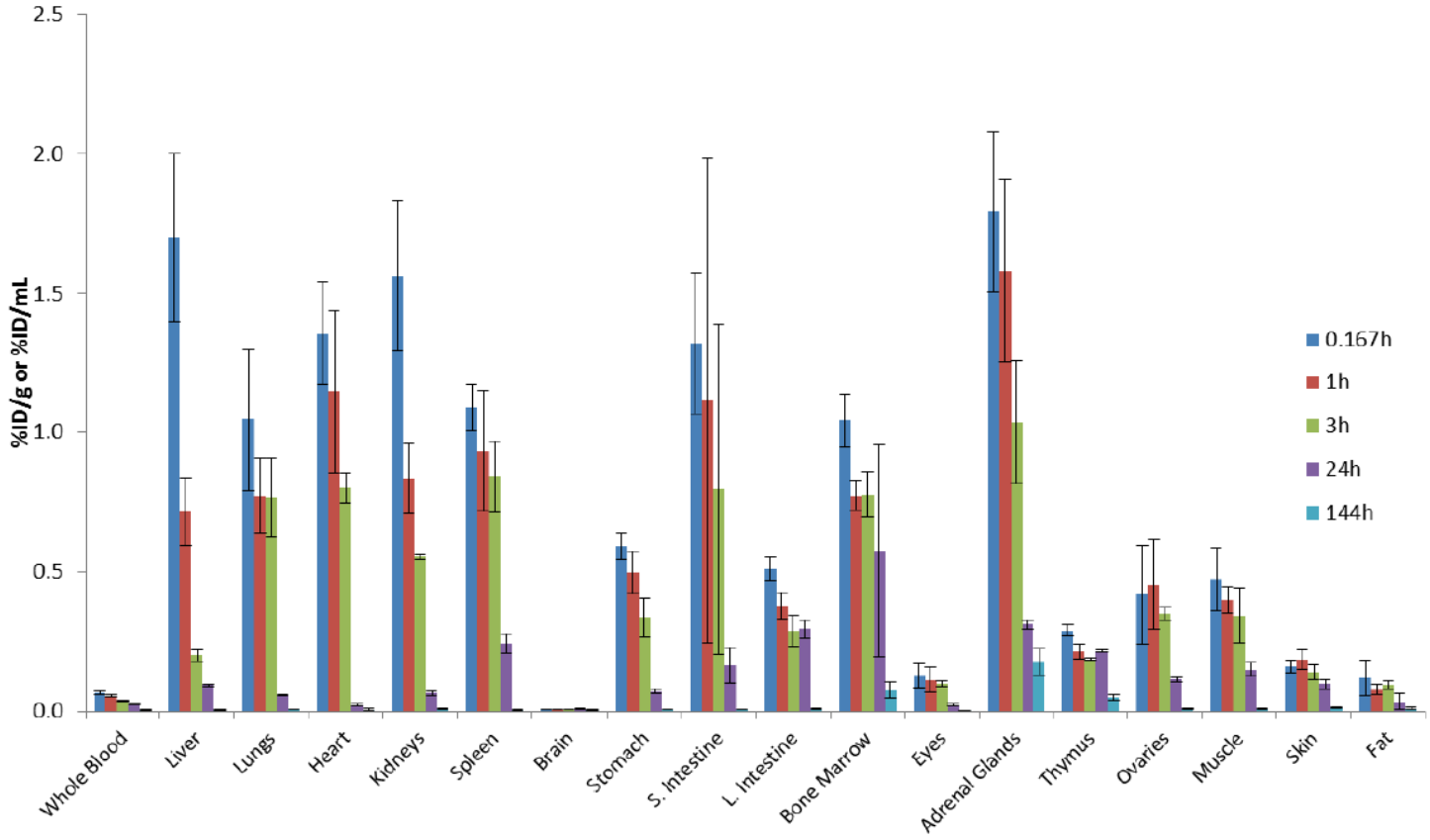
表 2.6.5.5.3-1　ラット組織内分布（[^{3}H]MMAE）

Test Article: MMAE
Location in CTD: 4.2.2.3-3

Species:	Sprague-Dawley Rat
Sex (M/F)/No. of Animals:	F15 (3/time point/dosing group)
Vehicle/Formulation:	Not stated
Method of Administration:	Intravenous
Feeding condition:	Not stated
Specific radioactivity:	[^{3}H]MMAE:　33.8 μCi/μg
Doses (μg/kg):	200
Dosed radioactivity:	^{3}H: 16 μCi/rat (ca.80 μCi/kg)
Sample:	blood, plasma, liver, lungs, heart, kidneys, spleen, brain, eyes, stomach, small and large intestine, adrenal glands, ovaries, muscle, femur bone marrow, thymus, dorsal skin, and abdominal fat, urine, feces.
Sampling time:	0.167, 1, 3, 24, 144 h post-dose
Analyte:	radioacticity
Assay:	Tissues were harvested at the selected timepoints and a portion of each tissue was homogenized. The homogenized portion was sampled, solubilized, and analyzed for total radioactivity by liquid scintillation counting. The blood and tissue radioactivity data were calculated as percentage of ID normalized by blood volume (% ID/mL) or tissue weight (% ID/g).
Results:	Following IV administration of [^{3}H]MMAE (80 μCi/kg) mixed with unlabeled MMAE at 200 μg/kg, radioactivity levels in whole blood decreased rapidly such that after 2 minutes, the level in whole blood was only 0.272%±0.0667% ID/mL (0.109±0.0267 μg-Eq/mL). The level further decreased to 0.0668%±0.00605% ID/mL at 10 minutes post-dose and was barely detectable at 3 days post-dose. [^{3}H]MMAE showed a rapid distribution to various tissues. By 10 minutes post-dose, MMAE radioactivity was markedly detected in several highly perfused tissues, including liver, lungs, heart, kidneys, spleen, bone marrow, and adrenal gland, and to a lesser extent in other tissues. No persistency was observed over the study period in any tissue examined.

ID＝injected radioactivity dose; IV＝intravenous; MMAE＝monomethyl auristatin E.

図 2.6.5.5.3-1　[^{3}H]MMAE 投与後の組織中放射能推移（Mean ± SD）



ID＝injected dose; IV＝intravenous; L.＝large; MMAE＝mono-methyl auristatin E; S.＝small.

2.6.5.6　　薬物動態試験：たん白結合

表 2.6.5.6-1　*In vitro* 血漿蛋白結合

Test Article: MMAE
Location in CTD: 4.2.2.3-4

Study system:	*in vitro*
Test matrix:	Male Sprague-Dawley rats, male cynomolgus monkeys, and male human donors　(pooled plasma (n ≥ 3))
Test system:	equilibrium dialysis
Analyte:	MMAE
Assay:	LC-MS/MS
Method:	MMAE (at final concentrations of 1, 10, 100, and 1000 nmol/L) or control (tolbutamide or quinidine; 5 µmol/L) was spiked into plasma and incubated at 37°C for 4 hours using a rapid equilibrium dialysis device.　After incubation, dialysate and plasma retentate samples were analyzed using LC-MS/MS.　MMAE containing 8 deuteriums (0.5 nmol/L) was used as an internal standard.　Percentage recovery and fraction unbound in plasma were determined for data analysis.
Results:	The mean plasma protein binding of MMAE was 87.5%–90.8% bound in rat, 61.4%–69.2% bound in monkey, and 70.6%–76.7% bound in human.　The protein binding in plasma was independent of concentration between 1 and 1000 nmol/L for all species.

Species	Total MMAE Concentration [a] (nM)	% Bound	% Unbound
Human	1	70.6±1.0	29.4±1.0
	10	73.4±3.0	26.6±3.0
	100	73.7±2.4	26.3±2.4
	1000	76.7±1.3	23.3±1.3
Rat	1	87.6±0.9	12.4±0.9
	10	90.8±1.0	9.2±1.0
	100	89.4±0.4	10.6±0.4
	1000	87.5±0.8	12.5±0.8
Monkey	1	61.4±2.4	38.6±2.4
	10	69.2±1.4	30.8±1.4
	100	64.0±2.4	36.0±2.4
	1000	65.5±2.3	34.5±2.3

[a] MMAE (free base equivalents).

LC-MS/MS = liquid chromatography tandem mass spectrometry; MMAE = monomethyl auristatin E.

2.6.5.7　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

該当なし

2.6.5.8　薬物動態試験：その他の分布試験

表 2.6.5.8-1　*In vitro* 血球移行

Test Article: MMAE
Location in CTD: 4.2.2.3-5

Study system:	*in vitro*
Test matrix:	mouse, rat, cynomolgus monkey, and human whole blood
Analyte:	[^{3}H]MMAE
Assay:	liquid scintillation counter
Method:	One microcurie of [^{3}H]MMAE was mixed with unlabeled MMAE at final concentrations of 2, 20, 200, 1000, and 5000 nmol/L. The mixture was spiked into mouse, rat, cynomolgus monkey, and human whole blood and then incubated at 37°C for 1 hour. At the end of incubation, each sample was split into two equal aliquots, one processed for plasma and the other as whole blood. [^{3}H]chloroquine was used as the positive control and [^{3}H]verapamil was used as the negative control; both were incubated in blood using the same conditions used for MMAE. The radioactivity in all samples was analyzed using a liquid scintillation counter. The ratio of the amount of radioactivity in blood to the amount in plasma (B/P) was calculated. A B/P ratio of 2 and above was defined as positive RBC partitioning.
Results:	The B/P ratios for MMAE were greater than 2 in mouse, rat, and monkey at concentrations of 2, 20, and 200 nmol/L, but less than 2 at concentrations of 1000 and 5000 nmol/L. In contrast, MMAE B/P ratios in human were less than 2 for all concentrations tested. In summary, MMAE showed species-dependent RBC partitioning with positive RBC partitioning in mouse, rat, and cynomolgus monkey blood, and negative RBC partitioning in human blood. MMAE RBC partitioning in mouse, rat, and cynomolgus monkey appears to be concentration-dependent, with higher RBC partitioning at lower MMAE concentrations (200 nmol/L and below) and minimal RBC partitioning at higher concentrations (1000 nmol/L and above).

[^{3}H]MMAE + unlabeled MMAE	Blood-to-plasma radioactivity amount ratio (B/P ratio) mean ± SD			
	human	cynomolgus monkey	rat	mouse
2 nmol/L	1.65 ± 0.105	2.62 ± 0.0417	3.93 ± 0.138	19.6 ± 0.485
20 nmol/L	1.57 ± 0.0173	2.33 ± 0.0599	3.10 ± 0.0135	15.8 ± 0.260
200 nmol/L	1.35 ± 0.0620	1.89 ± 0.0282	2.22 ± 0.0925	3.80 ± 0.165
1000 nmol/L	1.34 ± 0.0351	1.83 ± 0.00895	1.71 ± 0.0900	1.97 ± 0.0415
5000 nmol/L	1.36 ± 0.0460	2.03 ± 0.294	1.59 ± 0.0324	1.78 ± 0.0569

MMAE = monomethyl auristatin E; RBC = red blood cell.

2.6.5.9　薬物動態試験：*In Vivo* における代謝

2.6.5.9.1　ポラツズマブ　ベドチン投与後のラットにおける代謝

表 2.6.5.9.1-1　Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE 投与後の血漿及び組織 ACN 処理分画

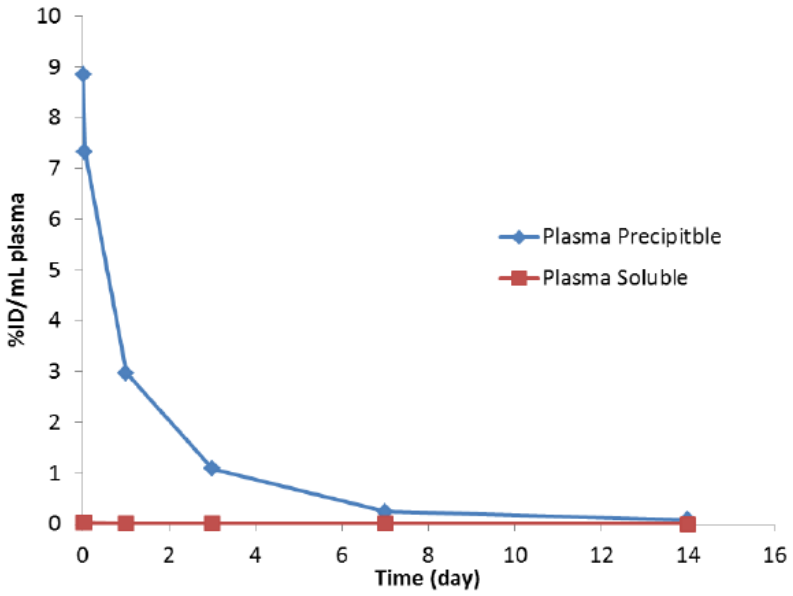
Test Article: Polatuzumab vedotin
Location in CTD: 4.2.2.3-2

Species:	Sprague-Dawley Rat
Sex (M/F)/No. of Animals:	F15 (3/time point/dosing group)
Vehicle/Formulation:	Not stated
Method of Administration:	Intravenous
Feeding condition:	Not stated
Specific radioactivity:	polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE:　33.3 µCi/mg
Doses (mg/kg):	tracer + 10 mg/kg
Dosed radioactivity:	^{3}H: 150 µCi/kg,
Sample:	blood, plasma, liver, lungs, heart, kidneys, spleen, brain, eyes, stomach, small and large intestine, adrenal glands, ovaries, muscle, femur bone marrow, sciatic nerve, thymus, lymph nodes, mammary glands, thyroid, urinary bladder, esophagus, pancreas, dorsal root ganglia, dorsal skin, and abdominal fat.
Sampling time:	1 h, 1, 3, 7, 14 day post-dose
Analyte:	radioacticity
Assay:	Samples were analyzed for total, TFA/ACN-precipitable (named ACN-precipitable, protein-bound), and TFA/ACN-soluble (named ACN-soluble, low-molecular-weight species) radioactivity using liquid scintillation counting.
Resutls:	Blood radioactivity was eliminated in a biphasic manner.　The majority (72.7% − 98.6%) of radioactivity in whole blood was associated with the plasma and a minor amount (1.03% − 27.1%) was in the blood cell pellet.　Nearly all radioactivity (> 99%) in the plasma was ACN-precipitable with a small amount in the ACN-soluble fraction, suggesting that polatuzumab vedotin was the major species in circulation.　Plasma and urine samples were further analyzed for catabolite profile and identification; the results are reported in 4.2.2.4-5 (Study 16-2563).

ACN = acetonitrile; MMAE = monomethyl auristatin E; Polatuzumab vedotin–[^{3}H]MMAE = polatuzumab vedotin with tritium-labeled MMAE = anti-CD79b-vc-[^{3}H]MMAE; TFA＝trifluoroacetic acid.

図 2.6.5.9.1-1　血漿中及び組織中 ACN-Soluble 並びに ACN-Precipitable 放射能

Plasma Radioactivity in ACN-Soluble and ACN-Precipitable Fractions



ACN-Soluble and ACN-Precipitable Radioactivity in Tissues

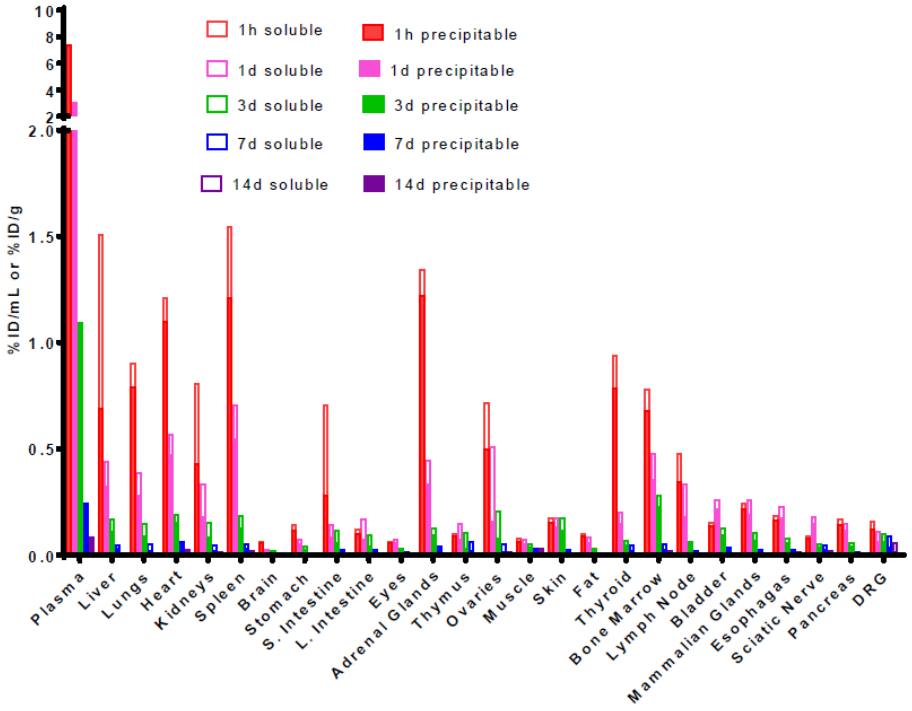


表 2.6.5.9.1-2　Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE 投与後の血漿中，尿中及び胆汁中 MMAE 関連代謝物

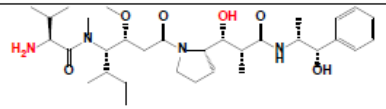
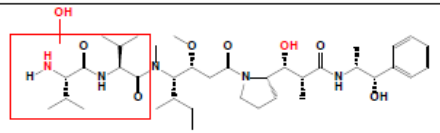
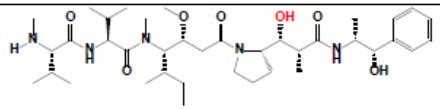
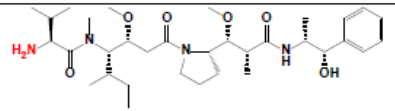
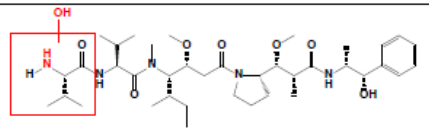
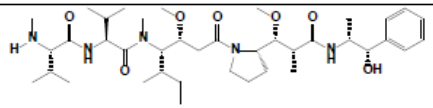
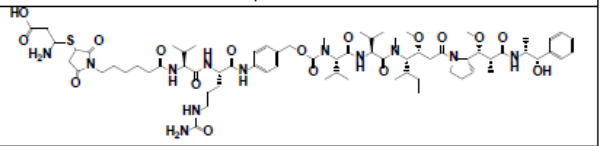
Test Article: Polatuzumab vedotin

Location in CTD: 4.2.2.4-5

Species:	Sprague-Dawley Rat
Sex (M/F)/No. of Animals:	F3-6 in pooled sample from 4.2.2.3-2 (14-2852) or 4.2.2.5-2 (14-2851)
Vehicle/Formulation:	Not stated
Method of Administration:	Intravenous
Feeding condition:	Not stated
Specific radioactivity:	polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE:　33.3 μCi/mg
Doses (mg/kg):	tracer + 10 mg/kg
Dosed radioactivity:	^{3}H: 150 μCi/kg,
Sample:	plasma, urine, bile
Sampling time:	plasma: 15 min, 1 h, 1, 3, 7, 14 day post-dose (Study 14-2852) urine: 0-32 h, 32-216 h (Study 14-2852) bile: 0-8 h, 8-168 h (Study 14-2851)
Method:	Plasma, urine, and bile samples were analyzed by radioprofile, LC-MS, and LC-MS/MS to characterize the catabolite profile and identify the catabolites.
Resutls:	The major catabolites of polatuzumab vedotin identified in rats were unconjugated MMAE (in all three matrices, representing 2.56% and 16.5% of dose in urine and bile, respectively), *O*-demethylated MMAE (representing 13.5% of dose in bile), and metabolites resulting from amide hydrolysis and *N*-demethylation with hydroxylation (representing 12.2% of dose in bile).

LC-MS＝liquid chromatography mass spectrometry; LC-MS/MS＝liquid chromatography tandem mass spectrometry; MMAE＝monomethyl auristatin E.
Note:　Polatuzumab vedotin–[^{3}H]MMAE＝polatuzumab vedotin with tritium-labeled MMAE.

表 2.6.5.9.1-2　Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE 投与後の血漿中，尿中及び胆汁中 MMAE 関連代謝物（続）

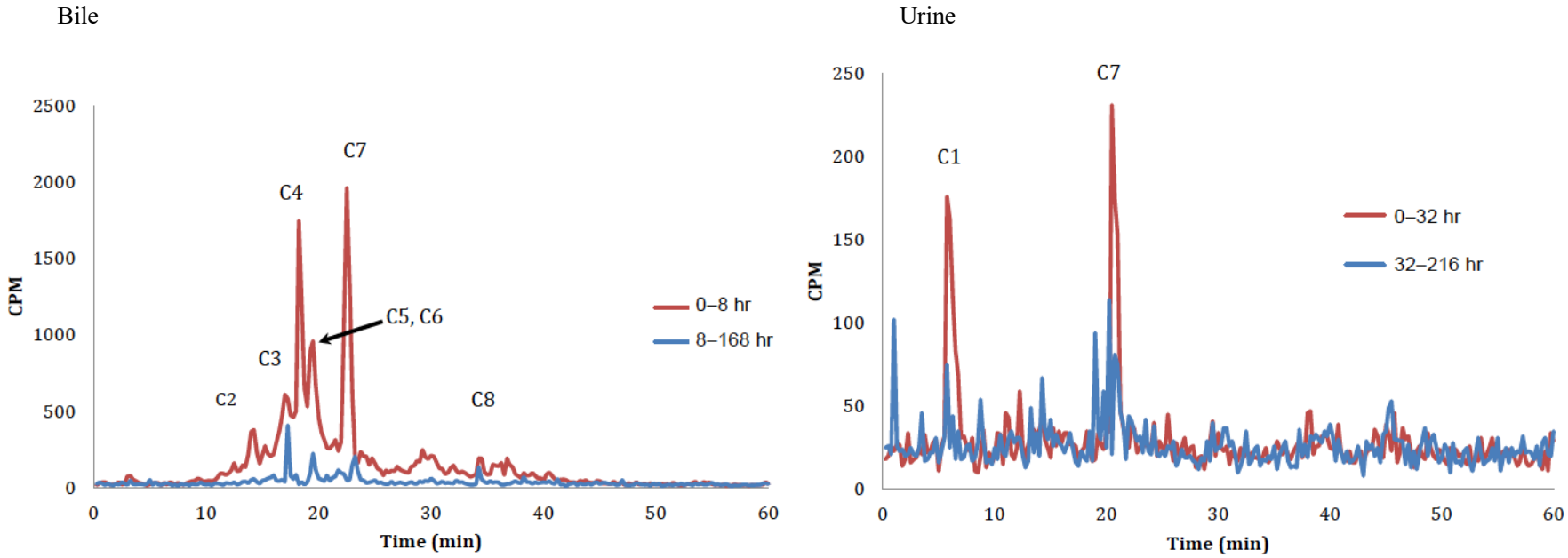
Catabolite	Mass (Da)	Retention Time (min)	% Dosed (Urine)	% Dosed (Bile)	% Dosed (Urine+Bile)	Matrix	Structure
C1	NA	5.3	2.26	NA	2.26	Urine	Unknown
C2: Amide hydrolysis+ *O*-demethylation	590.40	14.9	NA	3.94	3.94	Bile	
C3: *O*-, *N*-demethylation+ OH	705.47	16.8	NA	9.32	9.32	Bile	
C4: *O*-demethylation (-CH3)	703.48	18.5	NA	13.49	13.49	Bile	
C5: Amide hydrolysis	604.42	19.5 [a]	NA	12.16 [b]	12.16 [b]	Bile	
C6: *N*-demethylation+ hydroxylation	719.48		NA			Bile	
C7: MMAE	717.50	21.6	2.56	16.48	19.04	Plasma, Urine, Bile	
C8: Cys-vc-MMAE	1436.79	34.3	NA	2.60	2.60	Bile	

NA＝not applicable.

[a] Catabolites C5 and C6 share the same retention time.

[b] Combined total % dose of catabolites C5 and C6.

図 2.6.5.9.1-2　Polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE 投与後の尿中及び胆汁中 MMAE 関連代謝物ラジオクロマトグラム



CPM = count per minute; MMAE = monomethyl auristatin E.
n = 6.

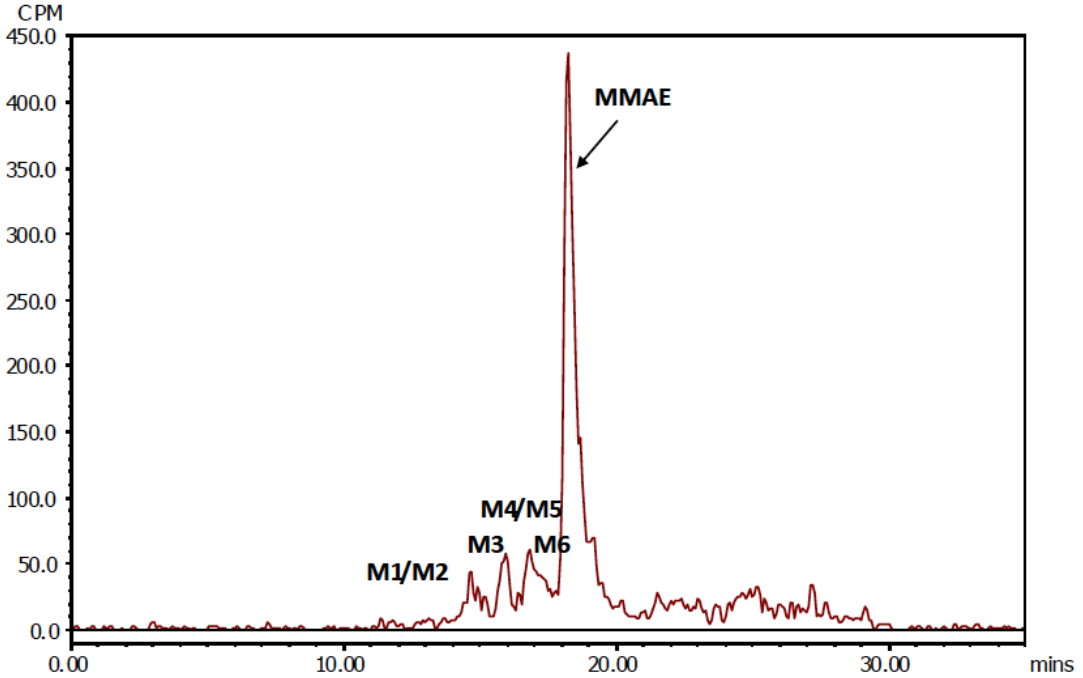
2.6.5.9.2　MMAE 投与後のラットにおける代謝

表 2.6.5.9.2-1　[^{3}H]MMAE 投与後のラット胆汁中代謝物

Test Article: MMAE
Location in CTD: 4.2.2.4-6

Species:	Sprague-Dawley Rat
Sex (M/F)/No. of Animals:	F3(bile duct–cannulated)/group
Vehicle/Formulation:	Not stated
Method of Administration:	Intravenous
Feeding condition:	Not stated
Specific radioactivity:	[^{3}H]MMAE:　33.8 μCi/μg
Doses (mg/kg):	tracer + 0.2 mg/kg 0.2 mg/kg (cold)
Dosed radioactivity:	^{3}H: 16 μCi/rat
Sample:	bile
Sampling time:	0-1, 1-2, 2-3, 3-4, 4-5, 5-6, 6-7, 7-8, 8-24, 24-32, 32-48, 48-56, 56-72, 72-96, 96-120, 120-144 h
Method:	All rats were placed in the cages from 1 to 2 nights before dosing for acclimatization and were kept in the cages for up to 6 days post-dose.　Bile was collected at predose and at various timepoints throughout the study.　Only the bile samples from rats that received [^{3}H]MMAE were analyzed for radioactivity and profiles using liquid scintillation counting and RP-HPLC in this study.
Resutls:	Radioactivity was detected in bile within hours post-dose and cumulative radioactivity increased steadily over the first 24 hours post-dose.　The radiochromatogram of the bile samples using RP-HPLC analysis showed a main peak corresponding to the [^{3}H]MMAE and accounted for the large part (62.9% of the 74.2% total dosed radioactivity recovered in bile up to 6 hours post-dose) of the radioactivity detected in bile samples (表 2.6.5.14-2).　This result suggested that MMAE is the main component excreted into the bile while other metabolites were minor in the bile sample. Further analysis of the bile samples using a LC gradient with in-line MS/MS detection showed six metabolites of MMAE corresponding to M1 to M6 generated in the bile, which were the same metabolites (except for M2 and M6 only seen *in vivo*) identified from *in vitro* Study 14-1391 (4.2.2.4-3).　Therefore, MMAE does not appear to undergo extensive metabolism *in vivo* in rats.　About half of the dose was identified as intact MMAE in rat bile.

図 2.6.5.9.2-1　胆汁（0-1 h）の RP-HPLC ラジオクロマトグラム



CPM＝count per minute; MMAE＝monomethyl auristatin E; RP-HPLC＝reversed-phase high-performance liquid chromatography.
Note: Metabolite identifiers used in this submission are correlated as follows:　M1＝C2, M2＝C3, M3＝C4, M4＝C5, M5＝C6, and MMAE＝C7.

2.6.5.10　薬物動態試験：*In Vitro* における代謝

表 2.6.5.10-1　ポラツズマブ　ベドチンの血漿中安定性

Test Article: Polatuzumab vedotin, Surrogate ADC
Location in CTD: 4.2.2.4-1

Species for plasma :	Human, cynomolgus monkey, rat, mouse (matrix control: vehicle (20mM histidine acetate, pH5.5, 240mM sucrose and 0.02% Polysorbate 20) + 0.5% bovine serum albumin)
Concentration (µg/mL):	100
Sampling time:	0, 6, 24, 48, 96 h (37°C incubation)
Methods:	The stability of polatuzumab vedotin and the surrogate ADC was assessed in mouse, rat, cynomolgus monkey, and human plasma *in vitro*. Samples were analyzed by ELISA for total antibody concentrations and by LC-MS/MS for acMMAE and unconjugated MMAE concentrations.
Results:	There was about a 20% − 30% decrease in the total antibody concentration of the conjugated antibodies, but not of the unconjugated antibodies following 96-hour incubation in the matrix control and in plasma from mice, rats, cynomolgus monkeys, and humans. Polatuzumab vedotin, surrogate ADC, and acMMAE levels gradually decreased by a similar degree over time, but the majority (approximately 60%) of the MMAE remained conjugated to antibodies for 96 hours. Overall, there was no difference in the plasma stability of polatuzumab vedotin and the surrogate ADC among the different species or between the two conjugates.

acMMAE = antibody-conjugated MMAE; ADC = antibody–drug conjugate; DCDS4501A = polatuzumab vedotin; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; LC-MS/MS = liquid chromatography tandem mass spectrometry; MMAE = monomethyl auristatin E.

図 2.6.5.10-1　ポラツズマブ　ベドチンの血漿中安定性

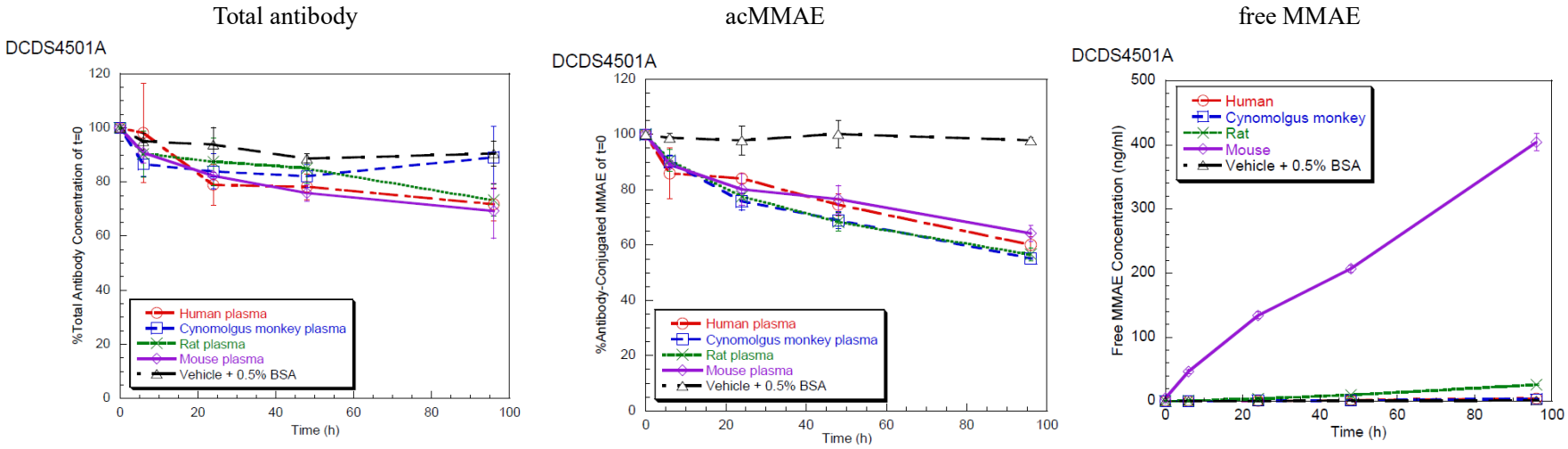


表 2.6.5.10-2　MMAE の肝クリアランス及び CYP フェノタイピング

Test Article: MMAE
Location in CTD: 4.2.2.4-2

Species :	Human, cynomolgus monkey, rat liver microsomes and cryopreserved hepatocytes (pooled) Recombinant CYPs 1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C18, 2C19, 2D6, 3A4, 3A5
Concentration (nmol/L):	1, 10, 100, 1000 for clearance determination 1000 for reaction phenotyping and for rCYP incubation
Methods:	For clearance determination, MMAE (1, 10, 100, and 1000 nmol/L) was incubated at 37°C in rat, cynomolgus monkey, and human liver microsomes (0.5 mg/mL final protein concentration; incubated up to 60 minutes with 1 mmol/L NADPH) and in rat, cynomolgus monkey, and human hepatocytes (0.5×10^6 cells/mL; incubated up to 180 minutes). For reaction phenotyping, HLMs (0.5 mg/mL) and NADPH (1 mmol/L) were incubated with MMAE (1000 nmol/L) plus chemical inhibitors for 60 minutes at 37°C. For rCYP incubation, rCYP (40 pmol/mL), NADPH (1 mmol/L), and MMAE (1000 nmol/L) were incubated for 60 minutes at 37°C. The samples were analyzed for MMAE by LC-MS/MS.
Results:	The CL_{hep} in liver microsomes and hepatocytes for all species were low to moderate. The reaction phenotyping studies using rCYP enzymes or HLMs in the presence of specific CYP isoform inhibitors suggest that the CYP enzyme responsible for MMAE metabolism was CYP3A4/5.

CL_{hep}=hepatic clearance; CYP=cytochrome P450; HLM=human liver microsome; LC-MS/MS=liquid chromatography tandem mass spectrometry; MMAE=monomethyl auristatin E; rCYP=recombinant cytochrome P450

表 2.6.5.10-2　MMAE の肝クリアランス及び CYP フェノタイピング（続）

Hepatic clearance (CL_{hep}) using liver microsome

Conc. of MMAE (nM)	Percent Remaining (%)			Half-life (min)			CL_{int} (mL/min/kg)			CL_{hep} (mL/min/kg)		
	HLM	RLM	CLM	HLM	RLM	CLM	HLM	RLM	CLM	HLM	RLM	CLM
1	14.3 ± 3.2	24.0 ± 4.1	11.3 ± 1.2	23.8 ± 3.1	34.4 ± 4.5	25.3 ± 4.1	73.9 ± 9.0	72.9 ± 9.0	80.1 ± 12.1	16.1 ± 0.5	31.3 ± 1.7	28.1 ± 1.6
10	9.5 ± 1.2	20.8 ± 2.0	0.9 ± 0.0	17.3 ± 0.8	24.8 ± 1.0	10.1 ± 0.8	101 ± 4	100 ± 4.0	199 ± 15	17.2 ± 0.1	35.6 ± 0.5	35.7 ± 0.5
100	14.1 ± 1.1	21.8 ± 1.6	0.0 ± 0.0	21.5 ± 1.6	27.1 ± 0.5	5.4 ± 0.2	81.1 ± 6.2	91.5 ± 1.6	370 ± 15	16.5 ± 0.3	34.4 ± 0.2	39.0 ± 0.2
1000	58.6 ± 2.1	32.0 ± 2.6	1.1 ± 0.0	89.0 ± 7.0	37.2 ± 2.3	9.8 ± 0.1	19.6 ± 1.5	67.0 ± 4.1	203 ± 1	10.1 ± 0.4	30.2 ± 0.8	35.9 ± 0.0

Hepatic clearance (CL_{hep}) using hepatocytes

Conc. of MMAE (nM)	Percent Remaining (%)			Half-life (min)			CL_{int} (mL/min/kg)			CL_{hep} (mL/min/kg)		
	HH	RH	CH	HH	RH	CH	HH	RH	CH	HH	RH	CH
1	92.6 ± 14.8	54.5 ± 5.3	72.2 ± 15.8	1500 ± 1010	208 ± 24	419 ± 249	4.5 ± 3.1	32.3 ± 4.1	17.7 ± 8.8	3.5 ± 2.0	20.3 ± 1.6	12.1 ± 4.6
10	101 ± 8	74.4 ± 2.1	75.4 ± 7.5	2730 ± 2200	414 ± 36	606 ± 322	2.7 ± 1.8	16.1 ± 1.4	11.6 ± 5.1	2.3 ± 1.4	12.5 ± 0.9	9.0 ± 3.3
100	94.8 ± 6.9	65.4 ± 1.9	68.0 ± 8.0	4410 ± 4530	286 ± 27	355 ± 59	2.1 ± 1.7	23.4 ± 2.1	17.2 ± 3.1	1.9 ± 1.4	16.4 ± 1.0	12.3 ± 1.6
1000	106 ± 5	61.6 ± 3.3	78.2 ± 3.4	6360 ± 3970	258 ± 26	549 ± 97	1.3 ± 1.2	26.0 ± 2.7	11.1 ± 1.8	1.2 ± 1.1	17.6 ± 1.2	8.8 ± 1.2

CH = monkey hepatocytes; CL_{int} = intrinsic clearance; CL_{hep} = hepatic clearance; CLM = monkey liver microsomes; Conc. = concentration; CYP =cytochrome P450; HH = human hepatocytes; HLM = human liver microsomes; min = minutes; MMAE = monomethyl auristatin E; RH = rat hepatocytes; RLM = rat liver microsomes.

表 2.6.5.10-2　MMAE の肝クリアランス及び CYP フェノタイピング（続）

CYP phenotyping

CYP Isoforms	Relative Percentage [a]				
	MMAE	M3	M13	M15	M17
rCYP1A2	100±11	0.0±0.0	0.6±0.3	0.6±0.1	0.0±0.0
rCYP2A6	110±7	0.0±0.0	0.4±0.1	0.2±0.1	0.0±0.0
rCYP2B6	99.2±2.0	0.0±0.0	0.3±0.1	0.2±0.0	0.0±0.0
rCYP2C8	107±9	0.0±0.0	0.2±0.1	0.2±0.1	0.0±0.0
rCYP2C9	97.0±6.9	0.1±0.0	1.2±0.3	0.7±0.4	0.0±0.0
rCYP2C18	96.6±4.8	0.0 ±0.0	0.1 ±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0
rCYP2C19	102±5	0.0±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.0±0.0
rCYP2D6	101±2	0.0±0.0	0.8±0.1	0.1±0.0	0.0±0.0
rCYP3A4	86.6±3.3	11.8±0.6	17.9±1.5	68.3±4.2	70.6±6.9
rCYP3A5	48.5±6.7	100±15	100±17	100±10	100±5

CYP＝cytochrome P450; rCYP＝recombinant CYP.

[a] Relative percentages (n＝3; ±SD) of remaining MMAE were calculated relative to the amount present at the 0-minute timepoint (set at 100%) and percentages (n＝3; ±SD) of metabolites present were calculated by setting the maximum amount present after the 60-minute incubation at 100%.

表 2.6.5.10-3　ヒト及び動物の肝細胞及び肝ミクロソームでの MMAE の代謝

Test Article: MMAE
Location in CTD: 4.2.2.4-3

Species :	Cryopreserved hepatocytes: male Sprague-Dawley rats, male cynomolgus monkeys, humans Liver microsomes: male Sprague-Dawley rats male cynomolgus monkeys, humans
Concentration (nmol/L):	1000
Methods:	MMAE (1 μmol/L) was incubated in rat, monkey, and human cryopreserved hepatocytes (for 3 hours) and liver microsomes (for 1 hour). Various MS/MS functionalities were used for analysis, including full mass spectrometry scans, product ion scans, and MRM ion scans in positive ion electrospray mode.
Results:	MMAE metabolites were identified and characterized based on liquid chromatography separation and MS/MS fragmentation patterns. There were 15 MMAE metabolites detected and characterized in rat, monkey, and human liver microsomes and hepatocytes. Across both matrices, no human-specific metabolites were detected. All 15 metabolites were Phase I metabolites formed as the result of oxidation and/or hydrolysis with several sequential metabolites.

MS/MS＝ tandem mass spectrometry; MMAE＝monomethyl auristatin E; MRM＝multiple-reaction monitoring;.

表 2.6.5.10-3　ヒト及び動物の肝細胞及び肝ミクロソームでの MMAE の代謝（続）

Analyte	$[M+H]^+$ (*m/z*)	RLM	CLM	HLM	RH	CH	HH	Biotransformation
M7	706	+	++	+	++	++	+	Double *O*-demethylation+oxidation (–28+16 amu)
M8	720	++	+++	++	++	++	+	*O*-demethylation+oxidation (–14+16 amu)
M1	591	++	++	+	++	++	++	Amide hydrolysis+*O*-demethylation (–127 amu)
M9	720	ND	+++	++	++	++	ND	*O*-demethylation+oxidation (–14+16 amu)
M10	734	++	+++	++	++	+++	++	Oxidation (+16 amu)
M11	734	ND	ND	+	ND	++	++	Oxidation (+16 amu)
M12	734	++	++	++	++	++	++	Oxidation (+16 amu)
M3	704	+++	+++	+++	++	+++	+++	*O*-demethylation (–14 amu)
M4	605	++	++	++	++	+++	+++	Amide hydrolysis (–113 amu)
M5	720	++	++	++	++	++	++	*N*-demethylation+oxidation (–14+16 amu)
M13	704	+++	+++	+++	++	++	++	*N*-demethylation (–14 amu)
M14	734	++	ND	+++	ND	++	++	Oxidation (+16 amu)
M15	716	+++	+++	+++	++	++	+++	Oxidation and dehydrogenation or dehydrogenation (–2 amu)
M16	716	++	+++	++	++	++	++	Oxidation and dehydrogenation or dehydrogenation (–2 amu)
M17	716	++	+++	+++	++	+++	++	Oxidation and dehydrogenation or dehydrogenation (–2 amu)

amu=atomic mass unit; CH=cynomolgus monkey hepatocytes; CLM=cynomolgus monkey liver microsomes; cps=counts per second; HH=pooled human hepatocytes; HLM=human liver microsomes; $[M+H]^+$=protonated molecular ion; MMAE=mono-methyl auristatin E; MRM=multiple-reaction monitoring; *m/z*=mass-to-charge ratio; ND=not detected; RH=Sprague-Dawley rat hepatocytes; RLM=rat liver microsomes.

Notes: Because MMAE and its metabolites gave very poor ultraviolet signals, mass spectrometry response as cps was used for qualitative comparison. The relative amount of metabolite formed for in vitro results was based on peak areas of the MRM chromatogram and was calculated relative to the peak area of MMAE metabolites at the 3-hour timepoint. The relative amount of metabolites generated was divided into the following three groups by MRM response: +=≤10×10^4; ++=between 10×10^4 and 10×10^6 cps; and +++=≥10×10^6 cps.

2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路

図 2.6.5.11-1　ラット胆汁中代謝物による MMAE の推定代謝経路

Location in CTD: 4.2.2.4-6

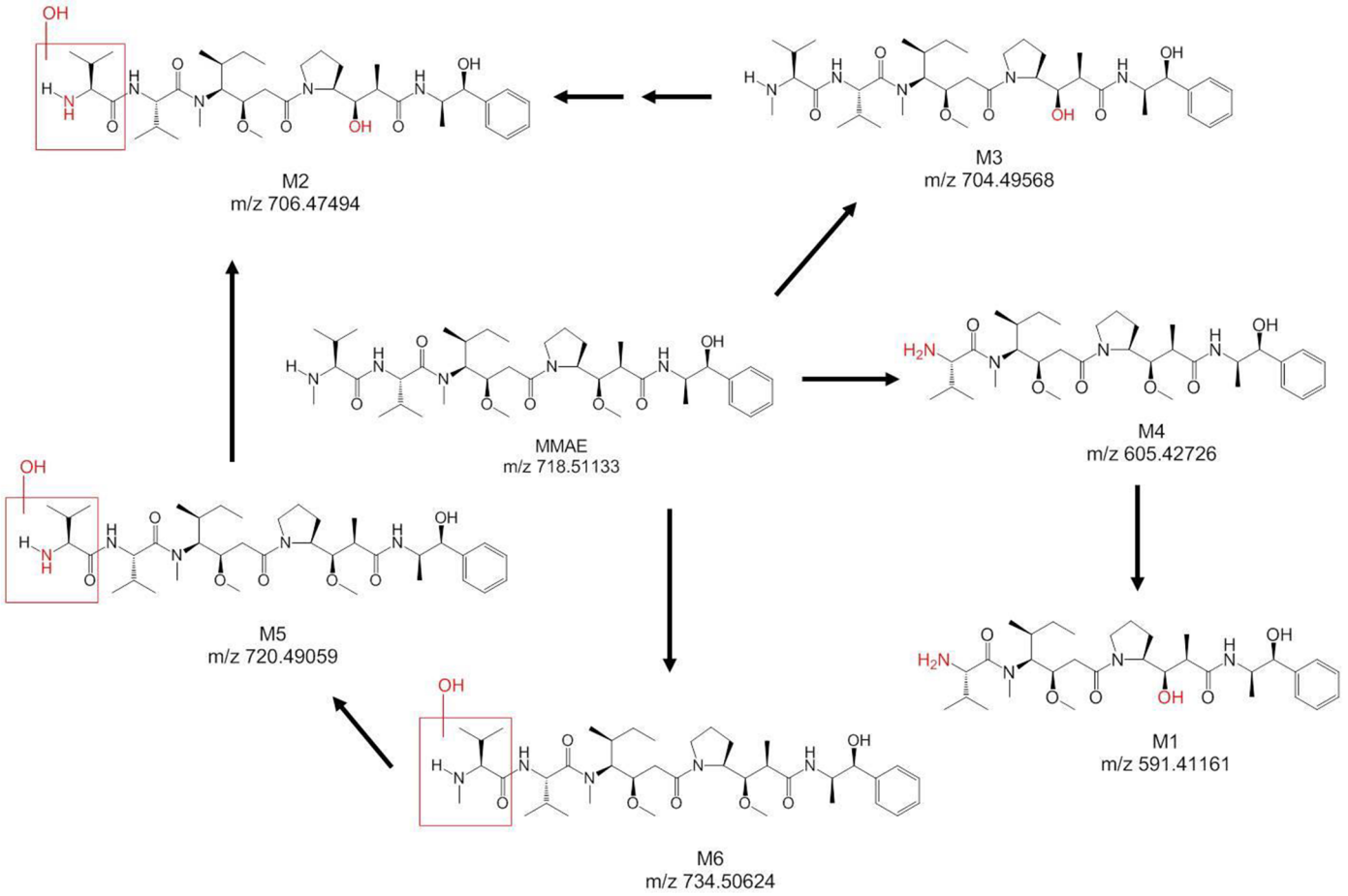
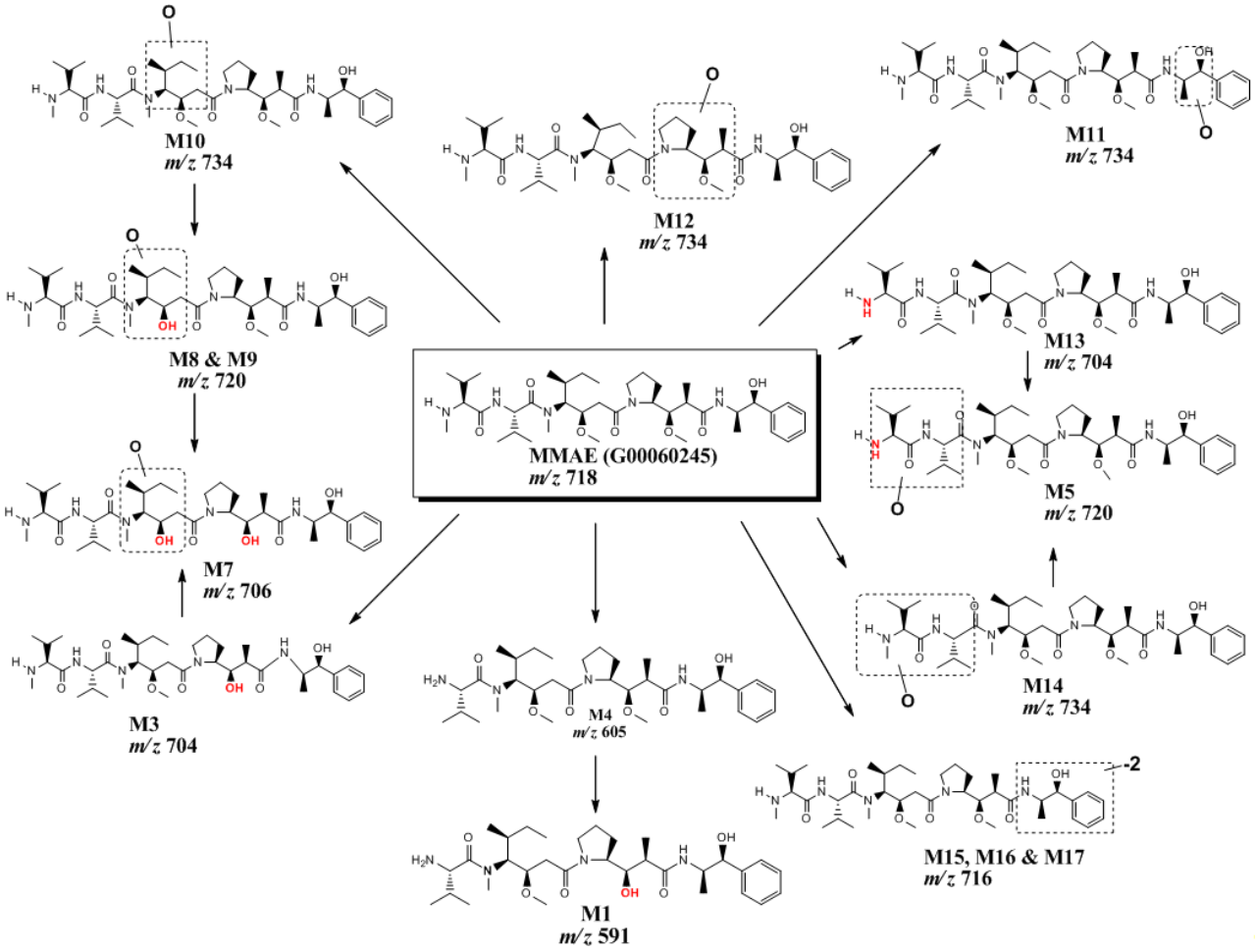


図 2.6.5.11-2　ヒト肝試料を用いた *in vitro* 試験からの MMAE の推定代謝経路

Location in CTD: 4.2.2.4-3



2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

表 2.6.5.12-1　MMAE による *in vitro* CYP 誘導

Test Article: MMAE
Location in CTD: 4.2.2.6-2

Type of Study: *in vitro*; CYP induction potential by MMAE

Methods: Three separate cryopreserved human hepatocyte lots were used for the CYP induction assessment. Both mRNA levels and CYP activity for CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4/5 were used as markers for CYP induction. Acetaminophen (a metabolite of phenacetin) was used as a marker for CYP1A2 activity, hydroxybupropion (a metabolite of bupropion) was used as a marker for CYP2B6 activity, and 6β-hydroxytestosterone (a metabolite of testosterone) was used as a marker for CYP3A4/5 activity. Positive induction controls were 3-methylcholanthrene (1 µmol/L) for CYP1A2, phenobarbital (1000 µmol/L) for CYP2B6, and rifampicin (10 µmol/L) for CYP3A4. Cytotoxicity was assessed in the assay using PrestoBlue® and LDH activity assays.

Results: Concentration-dependent decreases in CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4 mRNA levels as well as CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4/5 activities were observed and were apparently not due to cytotoxicity. CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4/5 activities did not increase in cells exposed to MMAE (0.0001 − 1 µmol/L) for 48 hours (for any of the three donor lots) compared with vehicle control or positive controls. Similar to mRNA, concentration-dependent decreases in the activity of CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4/5 were observed in cells incubated with MMAE up to 1 µmol/L. Cytotoxicity, as assessed by the PrestoBlue® cell viability reagent and LDH activity assays, was not apparent in hepatocytes treated with MMAE (0.0001 − 1 µmol/L).
On the basis of the results, MMAE does not appear to be an inducer of CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4/5 at concentrations up to 1 µmol/L MMAE.

CYP＝cytochrome P450; LDH＝lactate dehydrogenase; MMAE＝monomethyl auristatin E.

表 2.6.5.12-1　MMAE による *in vitro* CYP 誘導（続）

CYP isoform	Test Material	Conc.(μmol/L)	mRNA levels (%)		Activity (%)	
			Relative to Vehicle Control [a]	Relative to Positive Control [b]	Relative to Vehicle Control [a]	Relative to Positive Control [b]
CYP1A2	MMAE	0.0001	105 ± 13	0.4 ± 2.0	104 ± 14	−2.2 ± 1.6
		0.001	113 ± 7	1.7 ± 1.3	104 ± 19	−2.2 ± 1.8
		0.005	99.8 ± 17.4	0.0 ± 2.8	88.4 ± 15.9	−2.3 ± 1.9
		0.01	104 ± 8	0.5 ± 1.2	83.5 ± 8.7	−2.6 ± 1.4
		0.1	34.0 ± 8.7	−9.2 ± 5.2	35.9 ± 12.8	−3.7 ± 0.3
		0.5	16.5 ± 1.8	−11.2 ± 5.4	28.5 ± 13.4	−3.9 ± 0.1
		1	12.9 ± 1.4	−11.5 ± 5.3	25.7 ± 14.7	−3.9 ± 0.1
	0.1% DMSO [a]	NA	100 ±NA	0.0 ± 0.0	100 ±NA	0.0 ± 0.0
	3-Methylcholantrene [b]	2	1020 ± 548	100 ± 0	1750 ± 783	100 ± 0
CYP2B6	MMAE	0.0001	103 ± 14	0.0 ± 4.0	108 ± 7	1.1 ± 1.1
		0.001	110 ± 19	2.7 ± 6.8	103 ± 16	0.4 ± 3.2
		0.005	99.8 ± 25.7	−2.4 ± 7.2	107 ± 24	0.7 ± 4.5
		0.01	98.1 ± 4.8	−0.9 ± 1.9	106 ± 18	0.4 ± 2.7
		0.1	19.2 ± 4.7	−28.8 ± 11.2	63.7 ± 9.5	−6.3 ± 3.6
		0.5	9.0 ± 1.3	−32.6 ± 12.9	54.1 ± 15.4	−8.1 ± 5.0
		1	7.5 ± 1.8	−33.2 ± 13.2	46.2 ± 16.1	−9.6 ± 5.7
	0.1% DMSO [a]	NA	100 ±NA	0.0 ± 0.0	100 ±NA	0.0 ± 0.0
	Phenobarbital [b]	1000	420 ± 157	100 ± 0	830 ± 430	100 ± 0
CYP3A4	MMAE	0.0001	105 ± 8	0.2 ± 0.2	95.4 ± 4.7	−0.4 ± 0.5
		0.001	92.4 ± 8.0	−0.2 ± 0.2	85.5 ± 10.9	−1.3 ± 1.4
		0.005	98.2 ± 8.5	−0.1 ± 0.2	86.3 ± 17.5	−1.4 ± 2.0
		0.01	90.8 ± 12.9	−0.2 ± 0.2	88.0 ± 12.1	−1.1 ± 1.2
		0.1	19.4 ± 2.1	−2.1 ± 0.7	67.2 ± 25.5	−2.9 ± 2.6
		0.5	10.2 ± 4.9	−2.3 ± 0.9	56.2 ± 28.2	−3.8 ± 3.1
		1	7.7 ± 6.3	−2.4 ± 1.0	42.6 ± 28.1	−4.8 ± 3.4
	0.1% DMSO [a]	NA	100 ±NA	0.0 ± 0.0	100 ±NA	0.0 ± 0.0
	Rifampicin [b]	10	4470 ± 1920	100 ± 0	1600 ± 635	100 ± 0

Conc. = concentration; CYP= cytochrome P450; DMSO= dimethyl sulfoxide; MMAE=mono-methyl auristatin E; NA= not applicable.

Note: n = 3 replicates (mean ± SD).

[a] DMSO was used as the vehicle control.

[b] 3-methylcholantrene, phenobarbital, or rifampicin was used as the positive control.

表 2.6.5.12-2　MMAE による *in vitro* CYP 阻害

Test Article: MMAE
Location in CTD: 4.2.2.6-1

Type of Study:	*in vitro*; CYP inhibition by MMAE
Methods:	The ability of MMAE to inhibit the major CYP enzymes (namely CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, and CYP3A4/5 [using two different substrates]) was assessed in HLMs to determine the potential of MMAE to inhibit the metabolism of concomitantly administered drugs. HLMs were from donated livers of a pool of 16 mixed-gender individuals and were incubated with marker substrates in the presence or absence of MMAE. The target concentrations of MMAE ranged from 0.1 to 100 µmol/L.
Results:	The results showed that MMAE is a direct inhibitor of CYP3A4/5, as measured by midazolam 1′-hydroxylation with an IC_{50} value of 10 µmol/L. MMAE is a time-dependent inhibitor of CYP3A4/5, as measured by testosterone 6β-hydroxylation and midazolam 1′-hydroxylation; an increase in inhibition was observed with pre-incubation. MMAE is a mechanism-based inhibitor of CYP3A4/5, as measured by testosterone 6β-hydroxylation with a k_{inact} value of 0.10 min^{-1} and a K_I value of 1.12 µmol/L. MMAE formed a metabolite-inhibitory complex with CYP3A4/5; an increase in absorption from 380 to 520 nm (absorbance maxima at approximately 455 nm) was observed with an HLM sample (Sample 79) which contained high levels of CYP3A4/5, suggesting that the metabolism inhibition observed was quasi-irreversible.

CYP = cytochrome P450; HLM = human liver microsome; IC_{50} = half-maximal inhibitory concentration; K_I = concentration of an inactivator that supports half the maximal rate of enzyme inactivation; K_{inact} = maximal rate of enzyme inactivation; MMAE = monomethyl auristatin E.

表 2.6.5.12-2　MMAE による *in vitro* CYP 阻害（続）

		Direct inhibition		Time-dependent inhibition		
		Zero-minute preincubation		30-minute preincubation		Potential for time-dependent inhibition [c]
Enzyme	CYP reaction	IC_{50} (μM) [a]	Maximum inhibition at 100 μM (%) [b]	IC_{50} (μM) [a]	Maximum inhibition at 100 μM (%) [b]	
CYP1A2	Phenacetin *O*-deethylation	>100	17	>100	19	Little or no
CYP2B6	Bupropion hydroxylation	>100	2.6	>100	NA	Little or no
CYP2C8	Amodiaquine *N*-dealkylation	>100	NA	>100	NA	Little or no
CYP2C9	Diclofenac 4´-hydroxylation	>100	NA	>100	2	Little or no
CYP2C19	*S*-Mephenytoin 4´-hydroxylation	>100	17	>100	18	Little or no
CYP2D6	Dextromethorphan *O*-demethylation	>100	10	>100	10	Little or no
CYP3A4/5	Testosterone 6β-hydroxylation	>100	27	0.6	92	Yes[d, e, f]
CYP3A4/5	Midazolam 1´-hydroxylation	10	89	0.4	97	Yes

a　Average data (i.e., percent of control activity) obtained from duplicate samples for each test article concentration were used to calculate IC_{50} values. IC_{50} values were calculated with XLFit.

b　Indicates Maximum inhibition (%) is calculated with the following formula and data for the highest concentration of test article evaluated (results are rounded to two significant figures): Maximum inhibition (%) = 100% − Percent solvent control.

c　Time-dependent inhibition was determined by comparison of IC_{50} values with and without preincubation, by comparison of the maximum inhibition (%) with and without preincubation and by visual inspection of the IC_{50} plot.

d　Time dependent inhibition of CYP3A4/5 as measured by testosterone 6β-hydroxylation was found to be partially reversed with microsomal re-isolation and fully reversed with treatment by potassium ferricyanide prior to re-isolation.

e　MMAE was found to be a mechanism based inhibitor of CYP3A4/5 as measured by testosterone 6β-hydroxylation with a K_I of 1.12 μM and a k_{inact} of 0.10 (min^{-1}).

f　MMAE was found to form a Metabolite Inhibitory Complex (MIC) with CYP3A4/5.

NA　Not applicable. No value was obtained as the rates at the highest concentration of MMAE evaluated (100 μM) were higher than the control rates.

2.6.5.13　薬物動態試験：排泄

表 2.6.5.13-1　Polatuzumab vedotin–[^{3}H]MMAE 投与後のラット尿糞中排泄

Test Article: Polatuzumab vedotin
Location in CTD: 4.2.2.3-2

Species:	Sprague-Dawley Rat
Sex (M/F)/No. of Animals:	F3 or 6 for excreta collection
Vehicle/Formulation:	Not stated
Method of Administration:	Intravenous
Feeding condition:	Not stated
Specific radioactivity:	polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE:　33.3 μCi/mg
Doses (mg/kg):	tracer + 10 mg/kg
Dosed radioactivity:	^{3}H: 150 μCi/kg,
Sample:	urine, feces
Sampling time:	0−4, 4−8, 8−24, 24−32, 32−48, 48−56, 56−72, 72−80, 80−96, 96−104, 104−120, 120−128, 128−144, 144−152, 152−168, 168−192, 192−216, 216−240, 240−264, 264−288, 288−312, and 312−366 hours post-dose
Analyte:	radioacticity
Assay:	Radioactivity of total, TFA/ACN soluble and precipitable fractions were analyzed using liquid scintillation counting.
Resutls:	Radioactivity appeared in urine and feces within the first day post-dose.　The level of radioactivity in feces increased steadily over the first 2–3 days and a smaller amount was eliminated daily until the end of the study.　In contrast, only a small amount of radioactivity was detected in urine over whole study period.　Cumulatively, about 103%±11.8% and 5.21%±1.03% ID was eliminated in feces and urine, respectively, over the 14-day study.　ACN precipitation of the urine and feces samples showed that the vast majority of radioactivity (> 80% for most timepoints) was in the ACN-soluble fraction, indicating that polatuzumab vedotin–[^{3}H]MMAE eliminated in the form of [^{3}H]MMAE or other [^{3}H]-containing low-molecular-weight catabolites.　These data suggest that polatuzumab vedotin–[^{3}H]MMAE was mainly eliminated via the biliary–fecal pathway, with minor elimination through renal excretion in the form of catabolites.　Overall, mass balance was achieved; all dosed radioactivity was recovered, indicating that elimination was complete in rats over the 14-day study period.

ACN＝acetonitrile; ID＝injected radioactivity dose; IV＝intravenous; MMAE＝monomethyl auristatin E; TFA＝trifluoroacetic acid.

表 2.6.5.13-1　Polatuzumab vedotin–[^{3}H]MMAE 投与後のラット尿糞中排泄（続）

	Cumulative % of dose (n=3 or 6)					
	Urine		Feces		Total	
Time (h)	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
0-4 (n=6)	0.415	0.279	0.0224	0.0184	0.438	0.286
-8 (n=6)	0.897	0.252	0.0254	0.0169	0.922	0.241
-24 (n=6)	1.98	0.343	40.3	11.1	42.3	11.3
-48 (n=6)	2.80	0.450	62.7	11.7	65.5	11.9
-72 (n=6)	3.37	0.522	72.3	11.9	75.6	12.2
-96 (n=6)	3.95	0.703	79.3	12.1	83.3	12.5
-120 (n=6)	4.26	0.778	82.7	12.2	87.0	12.6
-144 (n=6)	4.46	0.805	86.3	12.1	90.8	12.5
-168 (n=6)	4.59	0.809	88.7	12.6	93.3	12.9
-240 (n=3)	5.09	1.02	100	11.8	106	11.7
-288 (n=3)	5.16	1.03	102	11.8	107	11.7
-336 (n=3)	5.21	1.03	103	11.8	108	11.7

表 2.6.5.13-2　[^{3}H]MMAE 投与後のラット尿糞中排泄

Test Article: MMAE
Location in CTD: 4.2.2.3-3

Species:	Sprague-Dawley Rat
Sex (M/F)/No. of Animals:	F3 or 6 for excreta colletion
Vehicle/Formulation:	Not stated
Method of Administration:	Intravenous
Feeding condition:	Not stated
Specific radioactivity:	[^{3}H]MMAE:　33.8 μCi/μg
Doses (μg/kg):	200
Dosed radioactivity:	^{3}H: 16 μCi/rat (ca.80 μCi/kg)
Sample:	urine, feces
Sampling time:	0-4, 4-8, 8-12, 12-24, 24-32, 32-48, 48-56, 56-72, 72-96, 96-120, and 120-144 hours post-dose
Analyte:	radioacticity
Assay:	The samples from rats given [^{3}H]MMAE were analyzed using a liquid scintillation counter and by in-line RP-HPLC with a radio-detector.
Results:	Radioactivity was detected in urine and feces within a few hours post-dose. The levels of radioactivity steadily increased in feces over the first 48 hours. Cumulatively, about 45% ID after 1 day post-dose and about 90% ID after 2 days post-dose were eliminated in feces. Meanwhile, only a small amount of radioactivity was detected in the urine. By the end of the 6-day study, 98.3% ± 5.99% ID was recovered in feces and 8.61% ± 3.16% ID was recovered in urine, indicating MMAE was mainly eliminated by the biliary–fecal pathway with minimal renal excretion. RP-HPLC analysis of urine samples showed a single peak with the retention time corresponding to the MMAE. The majority of the dosed [^{3}H]MMAE was recovered in feces with a minor amount detected in urine. Overall, mass balance was achieved in 2 days, suggesting that elimination was complete.

ID＝injected radioactivity dose; MMAE＝monomethyl auristatin E; RP-HPLC＝reversed-phase high-performance liquid chromatography.

表 2.6.5.13-2　[^{3}H]MMAE 投与後のラット尿糞中排泄（続）

	Cumulative % ID　mean ± SD		
Time (h)	Urine	Feces	Total
0-4 (n=6)	2.51 ± 3.25	0.246 ± 0.138	2.75 ± 3.26
-8 (n=6)	4.17 ± 3.59	2.75 ± 6.00	6.92 ± 4.94
-24 (n=6)	7.00 ± 3.31	42.3 ± 18.8	49.3 ± 19.8
-48 (n=3)	7.99 ± 3.10	88.1 ± 5.56	96.1 ± 5.02
-96 (n=3)	8.50 ± 3.17	96.9 ± 6.08	105 ± 4.81
-120 (n=3)	8.57 ± 3.16	97.8 ± 6.12	106 ± 4.82
-144 (n=3)	8.61 ± 3.16	98.3 ± 5.99	107 ± 4.74

2.6.5.14　薬物動態試験：胆汁中排泄

表 2.6.5.14-1　Polatuzumab vedotin–[^{3}H]MMAE 投与後のラット胆汁中排泄

Test Article: Polatuzumab vedotin

Location in CTD: 4.2.2.5-2

Species:	Sprague-Dawley Rat
Sex (M/F)/No. of Animals:	F6 (bile duct–cannulated)
Vehicle/Formulation:	Not stated
Method of Administration:	Intravenous
Feeding condition:	Not stated
Specific radioactivity:	polatuzumab vedotin-[^{3}H]MMAE:　33.3 μCi/mg
Doses (mg/kg):	tracer + 10 mg/kg
Dosed radioactivity:	^{3}H: 150 μCi/kg,
Sample:	bile
Sampling time:	at predose; at 60-minute increments for the first 8 hours; and at 8−24, 24−32, 32−48, 48−56, 56−72, 72−80, 80−96, 96−104, 104−120, 120−144, 144−168, 168−192, 192−216, 216−240, 240−264, 264−288, 288−312, and 312−336 hours post-dose.
Analyte:	radioacticity
Assay:	Bile samples were analyzed for total, ACN-precipitable, and ACN-soluble radioactivity using liquid scintillation counting.
Resutls:	Radioactivity was detected in bile within 2 hours post-dose and increased steadily over the first 4 days.　Radioactivity then increased in small amounts (approximately 10%) over the rest of the 14-day study.　Cumulatively, about 60% of the dosed radioactivity was eliminated in bile during the first 4 days and 70% of the dosed radioactivity was eliminated over the 14-day study.　ACN precipitation showed that the vast majority (> 95%) of radioactivity detected in the bile was in the soluble fraction, indicating that polatuzumab vedotin–[^{3}H]MMAE eliminated as catabolites.　Bile samples were further analyzed for catabolite profile and identification; the results are reported in Study 16-2563.

ACN＝acetonitrile; ID＝injected radioactivity dose; MMAE＝monomethyl auristatin E.

表 2.6.5.14-1　Polatuzumab vedotin–[^{3}H]MMAE 投与後のラット胆汁中排泄（続）

Cumulative % ID (n=6)				% of soluble radioactivity (n=6)		
Time (h)	Mean	SD		Fraction time (h)	Mean	SD
0-1	2.32	1.40		0-1	98.6	0.242
-2	9.98	3.43		1-2	98.7	0.313
-4	17.1	3.09		3-4	97.4	0.555
-8	23.6	2.81		7-8	98.3	0.451
-24	37.9	3.00		8-24	97.7	0.306
-48	48.5	3.47		32-48	98.0	0.464
-72	53.3	4.52		56-72 (n=5)	98.0	0.467
-96	57.5	4.71		80-96	98.4	0.499
-120	60.2	5.18		104-120	98.3	0.419
-144	61.9	5.45		120-144 (n=5)	97.7	0.270
-168 (n=5)	64.1	5.67		144-168 (n=5)	96.7	1.46
-240 (n=5)	66.3	5.80		216-240 (n=5)	96.9	0.872
-288 (n=5)	66.8	5.77		264-288 (n=5)	96.8	0.432
-336 (n=5)	67.1	5.81		312-336 (n=4)	95.4	4.53

表 2.6.5.14-2　[^{3}H]MMAE 投与後のラット胆汁中排泄

Test Article: MMAE
Location in CTD: 4.2.2.4-6

Species:	Sprague-Dawley Rat
Sex (M/F)/No. of Animals:	F3(bile duct–cannulated)/group
Vehicle/Formulation:	Not stated
Method of Administration:	Intravenous
Feeding condition:	Not stated
Specific radioactivity:	[^{3}H]MMAE:　33.8 μCi/μg
Doses (mg/kg):	tracer + 0.2 mg/kg
Dosed radioactivity:	^{3}H: 16 μCi/rat
Sample:	bile
Sampling time:	0-1, 1-2, 2-3, 3-4, 4-5, 5-6, 6-7, 7-8, 8-24, 24-32, 32-48, 48-56, 56-72, 72-96, 96-120, 120-144 h
Analyte:	radioacticity
Assay:	Bile samples were analyzed for radioactivity using liquid scintillation counting and RP-HPLC.
Resutls:	Radioactivity was detected in bile within hours after dosing and cumulative radioactivity increased steadily over the first 24 hours post-dose.　Cumulatively, there was about 50% ID eliminated in the bile during the first 3 hours and about 95% ID over the first day.　By the end of the 6-day study, 103% ± 8.07% ID was recovered in the bile. RP-HPLC analysis showed a main peak corresponding to the [^{3}H]MMAE accounted for the majority (62.9% of the 74.2% total radioactivity dosed in bile at 6 hours post-dose) of the radioactivity detected in the bile samples. In summary, nearly all dosed radioactivity was eliminated in the bile and mostly as the unchanged form of [^{3}H]MMAE over 6 days following a single IV dose in Sprague-Dawley rats.　The data suggest that biliary excretion is a major route for MMAE elimination in Sprague-Dawley rats.

ID＝injected radioactivity dose; MMAE＝monomethyl auristatin E; RP-HPLC＝reversed-phase high-performance liquid chromatography.

表 2.6.5.14-2　[^{3}H]MMAE 投与後のラット胆汁中排泄（続）

	Cumulative % ID　mean ± SD (n=3)		
Time (h)	Total radioactivity	Intact MMAE	% of intact MMAE in bile
0-1	27.7 ± 1.49	18.5 ± 2.71	66.9 ± 10.1
-2	43.1 ± 2.74	28.7 ± 3.69	66.8 ± 10.5
-3	53.6 ± 3.30	34.8 ± 4.20	65.2 ± 10.8
-4	62.6 ± 3.00	39.8 ± 4.87	63.9 ± 9.71
-6	74.2 ± 8.04	46.4 ± 5.39	62.9 ± 8.20
-8	78.8 ± 8.39		
-24	96.6 ± 8.56		
-48	101 ± 8.00		
-72	102 ± 8.11		
-96	102 ± 8.10		
-120	103 ± 8.08		
-144	103 ± 8.07		

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用

表 2.6.5.15-1　MDR1に対する MMAE の相互作用

Test Article: MMAE
Location in CTD: 4.2.2.6-3

Type of Study:	*In vitro*; The objective of this study was to assess the interactions (substrate and inhibition) of MMAE with the human efflux transporter P-gp/MDR1.
Methods:	Specifically, the goals were to determine the efflux ratio of MMAE, to evaluate the effect of MDR1 inhibitors on the efflux ratio of MMAE, and to investigate whether MMAE is an inhibitor of MDR1. A preliminary experiment was conducted in the vesicular transport system to evaluate whether MMAE interacts with MDR1, then, further assessment in the Caco-2 monolayer test system was examined. **Part 1a** of the study evaluated whether MMAE is actively transported in the Caco-2 monolayer efflux assay. The bidirectional permeability of MMAE was studied at three concentrations (1, 10 and 100 µmol/L). **Part 1b** of this study evaluated whether MDR1 is the drug transporter responsible for the efflux of MMAE in the B-A direction on Caco-2 cells. To study the role of MDR1 in more detail, two specific inhibitors were applied. MMAE (10 µmol/L) was incubated in the presence of MDR1 inhibitors (PSC833, 10 µmol/L and verapamil, 60 µmol/L). The applied MMAE concentration (10 µmol/L) and incubation time (120 min) were determined based on the results obtained in Part 1a (linear conditions). **Part 2a** of this study evaluated whether MMAE (50 µmol/L) is an inhibitor of MDR1 by measuring inhibition of digoxin transport in Caco-2 cells.
Results:	The results demonstrated that MMAE is actively transported by MDR1 in the Caco-2 monolayer. MMAE only modestly inhibited digoxin transport in the Caco-2 experiments; therefore, MMAE is not an inhibitor of MDR1-mediated digoxin transport.

MMAE＝monomethyl auristatin E; P-gp＝P-glycoprotein, MDR1＝multidrug resistance protein 1.

表 2.6.5.15-1　MDR1に対する MMAE の相互作用（続）

Part1a, bidirectional permeability				
Compound		**P_{app} A-B** (10^{-6} cm/sec)	**P_{app} B-A** (10^{-6} cm/sec)	**ER**
Controls	antipyrine	58 ± 2.7	NA	ND
	Lucifer Yellow	0.2 ± 0.0	NA	ND
	digoxin	1.3 ± 0.1	19 ± 1.4	14 ± 0.1
MMAE	1 µM MMAE (at 120 min)	0.5 ± 0.0	8.1 ± 1.1	15 ± 0.8
	10 µM MMAE (at 120 min)	0.2 ± 0.0	6.8 ± 1.6	34 ± 1.1
	100 µM MMAE (at 120 min)	0.1 ± 0.0	6.7 ± 0.4	49 ± 0.3

Part1b, bidirectional permeability in the presence of MDR1 inhibitors

First experiment				
Compound		**P_{app} A-B** (10^{-6} cm/sec)	**P_{app} B-A** (10^{-6} cm/sec)	**ER**
Controls	antipyrine	48 ± 0.4	NA	ND
	Lucifer Yellow	0.2 ± 0.0	NA	ND
MMAE	10 µM MMAE	0.3 ± 0.0	8.4 ± 2.1	28 ± 0.3
	+ 10 µM PSC833	1.7 ± 0.2	2.3 ± 0.6	1.3 ± 0.3
	+ 60 µM verapamil	1.9 ± 0.4	5.5 ± 0.3	2.9 ± 0.2
digoxin	10 µM	1.4 ± 0.1	22 ± 2.4	16 ± 0.2
	+ 10 µM PSC833	8.0 ± 0.8	6.3 ± 0.2	0.8± 0.1
	+ 60 µM verapamil	7.1 ± 0.9	8.6 ± 1.1	1.2 ± 0.2

表 2.6.5.15-1　MDR1に対する MMAE の相互作用（続）

Part2b, inhibitory effect of MMAE on digoxin transport

First experiment				
Compound		**P_{app} A-B** (10^{-6} cm/sec)	**P_{app} B-A** (10^{-6} cm/sec)	**ER**
Controls	antipyrine	58 ± 2.7	NA	ND
	Lucifer Yellow	0.2 ± 0.0	NA	ND
digoxin	10 µM	1.3 ± 0.1	19 ± 1.4	14 ± 0.1
	+ 60 µM verapamil	4.2 ± 1.2	6.3 ± 0.4	1.5 ± 0.3
	+ 50 µM MMAE	1.5± 0.1	17 ± 1.4	11 ± 0.1

ER＝efflux ratio.

表 2.6.5.15-2　MMAE の取り込みトランスポーター基質としての評価

Test Article: MMAE
Location in CTD: 4.2.2.6-4, 4.2.2.6-5, 4.2.2.6-6, 4.2.2.6-7, 4.2.2.6-8

Type of Study:	*In vitro*; The objective of this study was to evaluate MMAE as a substrate of the uptake transporter OATP1B1 OATP1B3, OCT2, OAT1 and OAT3.
Methods:	CHO control cells and CHO cells over-expressing OATP1B1, OATP1B3, OCT2 or OAT1 were cultured in 96-well plates with 5 mmol/L sodium butyrate for 16–20 hours before the experiment. In addition, HEK293 control cells and HEK cells over-expressing OAT3 were cultured in 96-well plates with 5 mmol/L sodium butyrate for 16–20 hours before the experiment. Prior to beginning the uptake experiment, all cells were rinsed and equilibrated for 5 minutes with Hank's balanced salt solution (transport buffer). The probe substrates and the test article [^{3}H]MMAE were each incubated on both the control cells and transporter over-expressing cells for 10 minutes in the presence of increasing concentrations of the inhibitors, as well as in the absence of them. The cells were washed and analyzed for fluorescence or alternatively lysed and added to scintillation fluid for liquid scintillation counting of radioactivity.
Results:	MMAE did not appear to be a substrate of OATP1B1, OATP1B3, OCT2, OAT1 and OAT3. The accumulation of MMAE was similar in control cells and transporter over-expressing cells. The accumulation of MMAE in either cell line was independent of inhibitor concentrations. Active uptake was not a significant contributor to MMAE movement across cell membranes, suggesting a primarily diffusion-mediated process.

CHO＝Chinese hamster ovary; CSA＝cyclosporine A; HEK＝human embryonic kidney; IC_{50}＝half-maximal inhibitory concentration; MMAE＝monomethyl auristatin E; OAT＝organic anion transporter; OATP＝organic anion transporting polypeptide; OCT＝organic cation transporter

Transporter	Cell line	Test article	Substrate	inhibitor	IC_{50} (µmol/L)
OATP1B1	CHO	[^{3}H]oestrone-3-sulfate (1 µmol/L)	Yes	CSA (0.05 - 50 µmol/L)	0.54 ± 0.09
		[^{3}H]MMAE (10 and 100 nmol/L)	No	CSA (0.05 - 50 µmol/L)	NA
OATP1B3	CHO	Fluo-3 (100 nmol/L)	Yes	CSA (0.05 - 50 µmol/L)	0.29 ± 0.24
		[^{3}H]MMAE (10 and 100 nmol/L)	No	CSA (0.05 - 50 µmol/L)	NA
OCT2	CHO	[^{14}C]metformin (1 µmol/L)	Yes	cimetidine (0.2 - 200 µmol/L)	6.33 ± 1.44
		[^{3}H]MMAE (100 nmol/L)	No	cimetidine (0.2 - 200 µmol/L)	NA
OAT1	CHO	[^{3}H]methotrexate (1 µmol/L)	Yes	probenecid (0.4 - 400 µmol/L)	83.28 ± 35.11
		[^{3}H]MMAE (100 nmol/L)	No	probenecid (0.4 - 400 µmol/L)	NA
OAT3	HEK293	[^{3}H]oestrone-3-sulfate (1 µmol/L)	Yes	probenecid (0.4 - 400 µmol/L)	3.77 ± 1.27
		[^{3}H]MMAE (100 nmol/L)	No	probenecid (0.4 - 400 µmol/L)	NA

NA = not applicable.

表 2.6.5.15-3　トランスポーターに対する MMAE の相互作用

Test Article: MMAE
Location in CTD: 4.2.2.6-9

Type of Study: *In vitro*; The purpose of this study was to provide data on the interaction of MMAE with the human ABC (efflux) transporters (BCRP, BSEP, and MRP2) and the human SLC (uptake) transporters (OAT1, OAT3, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, and OCT2).
Methods: Vesicular transport inhibition assays (BCRP, BSEP, and MRP2) : Vesicular transport assays were performed with inside-out membrane vesicles prepared from cells over-expressing human ABC transporters. The transporters of interest were expressed in HEK293 cells stably transfected with BSEP and MRP2, or in proprietary "M" cells that were chemically selected for BCRP. MMAE was incubated with membrane vesicle preparations (total protein of 25 µg/well for BCRP and 50 µg/well for BSEP and MRP2) and the probe substrate. Incubations were carried out in the presence of 4 mmol/L ATP or AMP to distinguish between transporter-mediated uptake and passive diffusion into the vesicles. For MRP2, reactions were carried out in the presence of 2 mmol/L glutathione. MMAE was added to the reaction mixture in 0.75 µL of solvent (1% of the final incubation volume). Reaction mixtures were pre-incubated for 10 minutes at 32°C ± 1°C for BCRP and 37°C ± 1°C for BSEP and MRP2. Reactions were initiated by the addition of 25 µL of 12 mmol/L MgATP (or 12 mmol/L AMP in assay buffer as a background control), pre-incubated separately. Reactions were quenched by the addition of 200 µL of ice-cold washing buffer and immediate filtration via glass fiber filters mounted to a 96-well plate (filter plate). The filters were washed (5 × 200 µL of ice-cold washing buffer) and dried. The amount of substrate inside the filtered vesicles was determined by liquid scintillation counting. Vesicular transport substrate assay (MRP2) : The uptake of MMAE into membrane vesicles was determined using inside-out membrane vesicles (total protein: 50 µg/well) prepared from cells overexpressing human MRP2 as well as from control cells. Accumulation of MMAE was investigated at two concentrations (0.01 and 0.1 µmol/L) and two incubation time points (2 and 20 min) in the presence of ATP or AMP, to determine whether MMAE is actively transported into the vesicles. In a follow-up substrate assay MMAE was applied at 0.1 µmol/L and incubated for 2 minutes with and without reference inhibitor benzbromarone (100 µmol/L). In both assays, the main assay steps were similar to the vesicular inhibition assay with the difference that the amount of accumulated MMAE retained inside the vesicles was determined by LC-MS/MS detection after extracting the content of the vesicles by 2 times applying and collecting 100 µL MeOH:H_2O (2:1). Uptake transporter inhibition assays (OAT1, OAT3, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, and OCT2): Uptake experiments were performed using CHO or HEK293 cells stably expressing the respective uptake transporters. Cells were cultured at 37°C ± 1°C in an atmosphere of 95:5 air:CO_2 and were plated onto standard 96-well tissue culture plates (with or without coating) at 1×10^5 cells/well. Before the experiment, the medium was removed and the cells were washed twice with 100 µL HK buffer at pH 7.4. In OAT3 assays, cells were pre-incubated with glutaric acid (5 mmol/L) prior to starting the assays. Uptake experiments were carried out at 37°C ± 1°C in 50 µL HK buffer (pH 7.4) containing the probe substrate, MMAE, reference inhibitor, and/or vehicle control solvent. The organic solvent concentration was equal in all wells and did not exceed 1% (v/v). After the experiment, cells were washed twice with 100 µL HK buffer and lysed with 50 µL 0.1 mol/L NaOH. Radiolabeled probe substrate transport was determined by measuring an aliquot (35 µL) from each well for liquid scintillation counting.

表 2.6.5.15-3　トランスポーターに対する MMAE の相互作用（続）

MDCKII monolayer substrate assays (BCRP): The monolayer assays were performed using parental and BCRP transfected MDCKII cell monolayers. Bidirectional transport of MMAE was determined across parental and MDCKII-BCRP cell monolayers. Cells were pre-incubated in assay buffer for 10 minutes. Assay buffer containing MMAE at three concentrations (0.01, 0.1, and 1 μmol/L) was added to the appropriate apical (400 μL) or basolateral chamber (800 μL). The final concentration of DMSO in the incubations did not exceed 0.5% (v/v). The prazosin efflux ratio, with and without inhibitor Ko134, was determined as a positive control for BCRP function. After incubation at 37°C ± 1°C, aliquots (100 μL) were taken from the receptor chambers to determine the amount of translocated MMAE and controls. Samples were taken from the donor chambers before and after incubation to determine the initial concentration and recovery of the test compound and the controls. Bidirectional transport of MMAE in parental and MDCKII-BCRP cells was determined by LC-MS/MS. **Results:** MMAE did not inhibit (defined as inhibition < 20%) BCRP, BSEP, MRP2, OAT1, OAT3, OATP1B1, and OATP1B3. However, MMAE at the highest applied concentration of 5 μmol/L slightly inhibited OCT1 (29%) and OCT2 (23%). MMAE is unlikely a substrate of MRP2 and BCRP.

AMP＝adenosine monophosphate; ATP＝adenosine triphosphate; BCRP＝breast cancer resistance protein; BSEP＝bile salt export pump; CHO＝Chinese hamster ovary; DMSO＝dimethyl sulfoxide; HEK＝human embryonic kidney; HK＝Henseleit-Krebs; LC-MS/MS＝liquid chromatography tandem mass spectrometry; MMAE＝monomethyl auristatin E; MRP＝multidrug resistance-associated protein; OAT＝organic anion transporter; OATP＝organic anion transporting polypeptide; OCT＝organic cation transporter.

表 2.6.5.15-3　トランスポーターに対する MMAE の相互作用（続）

Transporter and assay type	Inhibition Results: Maximum Inhibition (% of control)	Substrate Results: Maximum Effect (Fold Accumulation or net ER)			Substrate
		Initial experiment	*Follow-up experiment*		
			Without inhibitor	*With inhibitor*	
BCRP VT	NIO	NT	NT	NT	NT
BSEP VT	NIO	NT	NT	NT	NT
MRP2 VT	NIO	2.0-fold (MRP2) 2.4-fold (CTRL)	1.2-fold (MRP2) 1.09-fold (CTRL)	1.03-fold (MRP2) 1.00-fold (CTRL)	No
OAT1 UPT	NIO	NT	NT	NT	NT
OAT3 UPT	NIO	NT	NT	NT	NT
OATP1B1 UPT	NIO	NT	NT	NT	NT
OATP1B3 UPT	NIO	NT	NT	NT	NT
OCT1 UPT	29	NT	NT	NT	NT
OCT2 UPT	23	NT	NT	NT	NT
BCRP ML	NT	0.6 net ER	NT	NT	No

NA: not applicable, NIO: no interaction observed, defined as inhibition <20%, NT: not tested, UPT: uptake assay, VT: vesicular transport assay

2.6.5.16　薬物動態試験：その他

表 2.6.5.16-1　製造工程の異なる製剤間比較（v0.1・v1.0）

Test Article: Polatuzumab vedotin
Location in CTD: 4.2.2.7-1

Species:	Sprague-Dawley Rat
Sex (M/F)/No. of Animals:	F/25/group
Vehicle/Formulation:	Group 1: 20 mM L-histidine acetate, 240 mM sucrose, 0.02% (w/v) Polysorbate 20, pH 5.5 Group 2: 10 mM sodium succinate, 120 mM sucrose, 0.12% (w/v) Polysorbate 20, pH 5.3
Method of Administration:	Intravenous
Feeding condition:	Non-fasted
Doses (mg/kg):	6 Group 1: Polatuzumab Vedotin, v0.1-derived DP Group 2: Polatuzumab Vedotin, v1.0-derived DP
Sampling time:	0, 0.0208, 0.25, 1, 2, 4, 7, 10, 14, 21, 28 day post-dose
Sample:	Plasma
Analyte:	Total antibody, acMMAE
Assay:	IA LC-MS/MS (total antibody, acMMAE)

PK parameters: mean ± SD	Group 1 v0.1 -derived DP	Group 2 v1.0 -derived DP		Group 1 v0.1 -derived DP	Group 2 v1.0 -derived DP
Analyte	Total antibody	Total antibody	**Analyte**	acMMAE	acMMAE
C_{max} (µg/mL)	129 ± 13.4	132 ± 9.20	C_{max} (ng/mL)	2230 ± 151	2350 ± 142
AUC_{last} (day•µg/mL)	568 ± 68.7	558 ± 66.0	AUC_{last} (day•ng/mL)	3700 ± 300	3750 ± 320
CL (mL/day/kg)	9.28 ± 1.44	9.35 ± 1.42	CL (mL/day/kg)	27.2 ± 2.62	27.7 ± 2.73
$t_{1/2}$ (day)	10.1 ± 2.21	10.4 ± 2.11	$t_{1/2}$ (day)	8.13 ± 2.20	8.31 ± 2.04
V_{ss} (mL/kg)	112 ± 13.9	115 ± 15.4	V_{ss} (mL/kg)	144 ± 27.2	139 ± 22.6

表 2.6.5.16-1　製造工程の異なる製剤間比較（v0.1・v1.0）（続）

PK parameters:	Group 1 v0.1 -derived DP	Group 2 v1.0 -derived DP		Group 1 v0.1 -derived DP	Group 2 v1.0 -derived DP
Analyte	Total antibody	Total antibody	**Analyte**	acMMAE	acMMAE
Geometric mean C_{max} (μg/mL)	128	132	Geometric mean C_{max} (ng/mL)	2230	2340
Geometric mean AUC_{last} (day•μg/mL)	563	554	Geometric mean AUC_{last} (day•ng/mL)	3690	3740
Geometric mean ratio C_{max} (90% CI)	1.03 (0.987-1.07)		Geometric mean ratio C_{max} (90% CI)	1.05 (1.02-1.09)	
Geometric mean ratio AUC_{last} (90% CI)	0.984 (0.927-1.04)		Geometric mean ratio AUC_{last} (90% CI)	1.01 (0.973-1.05)	
Results: Concentration–time data for each treatment group (v0.1 and v1.0) were analyzed by a non-compartmental PK analysis to determine key PK parameters; BE analysis was performed using the v0.1-derived drug product as the reference material. The PK profiles of total antibody and acMMAE were comparable between the two drug products. The two materials, v0.1 and v1.0, were bioequivalent (BE criteria of 0.8–1.25 with 90% CI) in rats with respect to the AUC_{last} and C_{max} for both total antibody and acMMAE.					

acMMAE＝antibody-conjugated monomethyl auristatin E; AUC_{last}＝area under the plasma concentration–time curve from Time 0 to time of the last measurable concentration; BE＝bioequivalence; CI＝confidence interval; C_{max}＝maximum observed concentration; DP＝drug product; IA LC-MS/MS＝immunoaffinity liquid chromatography tandem mass spectrometry; PK＝pharmacokinetic; $t_{1/2}$ = elimination half-life; V_{ss} = volume of distribution at steady state.