2.7.1.2.3.5 ヒト血漿中及びヒト血清中の HPLC-蛍光法による MTX 及び DAMPA（PTU 030）

（期間：20■ 年■ 月～20■ 年■ 月）（添付資料：5.3.1.4-21）

血漿中及び血清中の MTX 及び DAMPA の測定法について，既に[redacted]，UK（PTU 018，2.7.1.2.3.4）にてバリデーションが実施されていたが，今回，HPLC-蛍光法による生体試料分析法が改良されたためパーシャルバリデーションが実施された．PTU 018 の試験法の変更はクロマトグラフィーに関する部分のみである．すなわち，アイソクラティックによる分析法から（移動相の）グラジエント分析法に変更された．

バリデーション試験は，Guidance for Industry on Bioanalytical Method Validation（生体試料分析法バリデーションに関する業界向けガイダンス），FDA（CDER）（2001 年 5 月）に基づいて，線形性，精度，真度及び感度について実施された．ただし，回収率，希釈度及び安定性については再検討しなかった．

MTX 及び DAMPA について，バリデーションされた検量線の範囲は，酸性化ヘパリン加血漿と酸性化ヘパリン加血清のいずれにおいても 0.1～10 μmol/L で行われた．バリデーションされた検量線の範囲において，MTX 又は DAMPA の測定に影響を及ぼすようなヒト血漿又は血清による妨害は認められなかった．

検量線から算出した定量値の血漿中の真度（RE で表示）は，MTX では－5.5～4.0%，DAMPA では－2.8～3.6%であり，判定基準内であった．血清中の真度は MTX では－2.5～1.0%，DAMPA では－6.3～4.0%であった．

QC 試料（0.3，1 及び 8 μmol/L）の 3 回の分析について，血漿中の MTX 及び DAMPA のバッチ内精度（CV%）は，それぞれ 1.6～3.0%，1.0～2.5%であった．血清中の MTX 及び DAMPA のバッチ内精度は，それぞれ 3.1～3.6%，1.4～1.9%であった．

QC 試料（0.3，1 及び 8 μmol/L）の 3 回の分析について，血漿中の MTX 及び DAMPA のバッチ内真度（RE）は，それぞれ－3.7～－2.8%，－6.2～1.0%であった．血清中の MTX 及び DAMPA のバッチ内真度は，それぞれ 3.9～5.0%，7.0～11.0%であった．

MTX 及び DAMPA の LLOQ（0.1 μmol/L）での精度は，血漿中でそれぞれ 5.2%，1.2%，血清中で 5.9%，2.8%であった．MTX 及び DAMPA の LLOQ での真度（RE）は，血漿中でそれぞれ－1.8%，－2.7%，血清中で－6.2%，1.0%であった．

2.7.1.2.3.6 ヒト血漿中及びヒト血清中の HPLC-蛍光法による MTX，OH-MTX 及び DAMPA（PR001-CLN-rptBA015）

（期間：20■ 年■ 月～20■ 年■ 月）（添付資料：5.3.1.4-22）

血漿中及び血清中の MTX，OH-MTX 及び DAMPA の測定については，HPLC-蛍光法[4)]に基づく生体試料分析法が開発され，[redacted]，UK にてバリデーションが実施された．

この方法は OH-MTX 及び血清マトリックスを含み，2.7.1.2.3.4 に記載した以前の方法で採用していたグラジエント法で行った．

この方法は，前処理したOasis HLB抽出カートリッジ（30 mg，1 cc）を用いて，ヒト血漿及びヒト血清の試料（200 μL）と塩酸（22 μL，1 mol/L）の混合液からMTX，DAMPA及び7-OH MTXを抽出する．カートリッジ吸着剤を水（1 mL）で洗浄し，その溶出液を廃棄した．MTX，DAMPA及び7-OH MTXを溶出試薬［1 mL，アンモニア液（0.2%）：メタノール，5：95］によって抽出カートリッジから溶出し，溶出液を＋45℃（設定温度）の窒素気流下で蒸発乾固した．残留物を水:アセトニトリル(200 μL, 90:10)に溶解し，溶解物(10 μL)をZorbax Rx-C8 5 μm分析用カラムに注入した．MTX，DAMPA及び7-OH MTXをグラジエントクロマトグラフィーで分離し，ポストカラム光誘導体化を行い，蛍光検出器により検出する．なお，励起波長は350 nm，発光波長は451 nmである．

バリデーション手順は，Guidance for Industry on Bioanalytical Method Validation（生体試料分析法バリデーションに関する業界向けガイダンス），FDA（CDER）（2001年5月）に基づいて実施した．特異性，線形性，精度・真度，感度，回収率，希釈度及び安定性を全て検討した．

血漿中及び血清中のMTX，OH-MTX及びDAMPAについて，バリデーションされた検量線の範囲は0.1～10 μmol/Lであった．検量線から算出した定量値の真度（REで表示）は，全ての分析物及びマトリックスについて－6.3～5.0%であった．

これら3化合物全体で，QC試料（0.3，1及び8 μmol/L）の3回測定値のバッチ内精度（CV%）は0.8～4.5%であった．QC試料（0.3，1及び8 μmol/L）の3回測定値のバッチ内真度（RE）は，－4.5～11.0%であった．LLOQ（0.1 μmol/L）での精度は1.2～11.6%であった．QC試料の3回測定値から得られた，LLOQでの真度（RE）は－5.0～13.0%であった．

検量線の範囲全体の回収率は，血漿中及び血清中のMTX及びDAMPAでは90.1～100.9%であり，血漿中及び血清中のOH-MTXでは78.5～98.6%であった．バリデーションされた検量線の範囲内で，MTX，OH-MTX又はDAMPAの測定に影響を及ぼすようなヒト血漿及びヒト血清による妨害は認められなかった．検量線を超えるような試料でも最大100 μmol/Lの濃度まで測定できるよう，希釈係数10でバリデーションを実施した．血漿中及び血清中のMTX，OH-MTX及びDAMPAは－70℃（設定温度）で保存した場合，少なくとも33日間，3回の凍結／融解サイクル及び＋22℃（設定温度）では少なくとも約2時間安定であることが示された．4℃（設定温度）で保存した抽出試料は，少なくとも6日間安定であった．別の試験（PR001-CLN-rpt027，添付資料：5.3.1.4-23）において，血漿中MTXは－70℃（設定温度）で保存したとき517日間安定であることが示された．

2.7.1.2.3.7　ヒト血漿中のLC-MS/MSによるMTX（PR001-NCL-rptBA017）

（期間：20■年■月～20■年■月）（添付資料：5.3.1.4-24）

血漿中MTX測定のための液体クロマトグラフィー質量分析法(LC-MS/MS)が開発され，[redacted], UKにてバリデーションが実施された．バリデーション手順は，Guidance for Industry on Bioanalytical Method Validation（生体試料分析法バリデーションに関する業界向けガイダンス），FDA（CDER）（2001年5月）に基づいて実施された．

特異性，線形性，精度・真度，感度，回収率，希釈度及び安定性を全て検討した．

この試験法は 96 ウェルプレートフォーマットを用いた Tomtec Quadra 3 ロボットピペッターで処理できるように開発され，バリデーションされた．酸性化血漿（ヘパリンリチウム加血漿 1 mL あたり 1 mol/L HCl 100 μL を添加）の一部（10 μL）に，標準溶液／QC 溶液 10 μL 及び内標準溶液 10 μL をスパイクした．全ての試料に対し 2%アンモニア溶液 250 μL を添加した．Tomtec を用いて，Oasis 10 mg MAX プレートをメタノール 450 μL，次いで 2%アンモニア溶液 450 μL で前処理した．試料をロードし 2%アンモニア溶液 450 μL，次いでメタノール 450 μL で洗浄した．次に，試料を 1%TFA メタノール溶液 250 μL×2 で清浄なマトリックスチューブに溶出した．前処理，ロード，洗浄及び溶出の全ての工程は軽く吸引することによって行った．溶出された試料を窒素下約 60℃で蒸発乾固した後 500 μL の 10 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液中 0.1%ギ酸に溶解した．

グラジエントクロマトグラフィーにて分離し（Ascentis Express C18 カラムを用い，注入量 5 μL，ランタイム 5 分），API5000，Applied Biosystems 質量分析装置（TurboIonSpray positive モード）にて検出した．

この方法で，試料容量 10 μL，0.01～10 μmol/L の濃度範囲でバリデーションを実施した．この方法の真度及び精度は，この範囲において判定基準内であった（RE 及び CV%が 15%未満）．MTX 及び MTX メチル-d3（内標準物質）の特異性が示された．MTX 及び MTX メチル-d3 について顕著なマトリックス効果は認められなかった．回収率は共に判定基準内であった．MTX については，低レベルのキャリーオーバーが認められたため，ルーチンの解析中には注意を要するが，MTX メチル-d3 については認められなかった．

ヒト血漿中の MTX は，室温で少なくとも 24 時間及び 5 回までの約－80℃での凍結／融解サイクルで安定であることが確認された．対照マトリックスによる 10 倍希釈及び 100 倍希釈は，本定量法の真度及び精度に影響しないことが確認された．ヒト血漿抽出液は，約 4℃で処理後 102 時間安定であった．MTX 溶液は，約 4℃で少なくとも 25 日間は安定であると判断された．

2.7.1.2.3.8　LC-MS/MS 法によるヒト血漿中 MTX 及び DAMPA の濃度測定法バリデーション（[redacted]852-012）

（期間：20[redacted] 年[redacted] 月～20[redacted] 年[redacted] 月）（添付資料：5.3.1.4-25）

LC-MS/MS 法によるヒト血漿中 MTX 及び DAMPA の濃度測定法バリデーションは [redacted] にて実施された．

本試験は，申請資料の信頼性の基準（「医薬品，医療機器等の品質，有効性及び安全性の確保等に関する法律施行規則」（昭和 36 年厚生省令第 1 号）第 43 条）に従った．

男女各 3 個体のブランク血漿を用いた特異性試験の結果，分析して得られたクロマトグラム上には，MTX，DAMPA 及び内標準物質（MTX-d3）の定量に影響を及ぼす妨害ピークは検出されなかった．検量線の直線性を確認するため，ピーク面積比を用いて検量線（0.5～400 ng/mL，n＝1，3 セット）を作成した．重み付けは $1/x^2$ で実施し，相関係数 r，真度及

び精度は判定基準を満たした．分析単位内変動及び分析単位間変動を検討した結果，いずれの濃度においても真度及び精度は，判定基準を満たした．

特異性，直線性，分析単位内変動及び分析単位間変動の結果から，判定基準を満たした検量線の最低濃度である 0.5 ng/mL を LLOQ，最高濃度である 400 ng/mL を ULOQ とした．MTX の回収率の結果は 1，20 及び 320 ng/mL のとき，それぞれ 90.3%，86.2%，88.0%であり，DAMPA の回収率の結果は 1，20 及び 320 ng/mL のとき，それぞれ 90.4%，88.9%，90.9%であった．また，MTX-d3 の回収率は 96 ng/mL のとき，89.6%であった．

検量線用試料（ブランク試料及び S0～S8）の直後にブランク試料（n＝2）を測定し，キャリーオーバーを確認した結果，測定値への影響はなかった．

LC-MS/MS 注入試料中の MTX 及び DAMPA は，オートサンプラー（設定値：4℃）中で 75 時間安定であった．血漿中の MTX 及び DAMPA は，室温で 24 時間，凍結保存（−20℃及び−80℃）で 137 日間安定であり，凍結融解操作を 6 回繰り返しても安定であった．

標準原液（ジメチルスルホキシド）中の DAMPA は，室温で 33 日間安定であった．

標準溶液（超純水）中の MTX 及び DAMPA は，室温で 24 時間，冷蔵保存（4℃）で 33 日間安定であった．

以上の結果から，ヒト血漿中 MTX 及び DAMPA の濃度測定法の信頼性が確認された．また，血漿中 MTX 及び DAMPA の安定性を確認した．

2.7.1.2.3.9 ヒト血漿中 MTX 及び DAMPA の濃度測定法パーシャルバリデーション（[redacted]354-023）

（期間：20[redacted]年[redacted]月～20[redacted]年[redacted]月）（添付資料：5.3.1.4-31）

FC 採血管（テルモ株式会社製）を用いて採取されたヒト血漿中 MTX 及び DAMPA の濃度分析法の信頼性を保証することを目的として，LC-MS/MS 法によるヒト血漿中 MTX 及び DAMPA の濃度測定法パーシャルバリデーションが実施された．また，グルカルピダーゼを添加した血漿中 MTX 及び DAMPA の安定性もあわせて確認した．

本試験は，申請資料の信頼性の基準（「医薬品，医療機器等の品質，有効性及び安全性の確保等に関する法律施行規則」（昭和 36 年厚生省令第 1 号）第 43 条）に従い，[redacted]にて実施された．

男女各 3 個体のブランク血漿を用いた選択性試験の結果，分析して得られたクロマトグラム上には，MTX，DAMPA 及び内標準物質（MTX-d_3）の定量に影響を及ぼす妨害ピークは検出されなかった．

検量線の直線性を確認するため，ピーク面積比を用いて検量線（0.5～400 ng/mL，n=1，3 セット）を作成した．重み付けは $1/x^2$ で実施し，真度及び精度は判定基準を満たしていた．分析単位内及び分析単位間変動を検討した結果，いずれの濃度においても平均真度及び精度は，判定基準を満たしていた．

選択性，検量線，分析単位内及び分析単位間変動の結果から，判定基準を満たした検量線の最低濃度である 0.5 ng/mL を LLOQ，最高濃度である 400 ng/mL を ULOQ とした．

2,000 Units/L 及び 3,000 Units/L グルカルピダーゼ含有 FC 血漿中の MTX 及び DAMPA は，室温及び氷冷下で 24 時間，凍結保存（−80°C）で 90 日間安定であり，凍結融解操作を 3 回繰り返しても安定であった．

また，DAMPA 分析法の改善のため，DAMPA の内標準物質として DAMPA-d_3 を用いてパーシャルバリデーションを実施した．

男女各 3 個体のブランク血漿を用いた選択性試験の結果，分析して得られたクロマトグラム上には，MTX，DAMPA 及び内標準物質（MTX-d_3，DAMPA-d_3）の定量に影響を及ぼす妨害ピークは検出されなかった．分析単位内変動を検討した結果，いずれの濃度においても平均真度及び精度は，判定基準を満たしていた．

選択性，検量線，分析単位内変動及び分析単位間変動の結果から，判定基準を満たした検量線の最低濃度である 0.5 ng/mL を LLOQ，最高濃度である 400 ng/mL を ULOQ とした．マトリックス効果の評価において平均真度及び精度は，判定基準を満たしていた．

以上の結果から，FC 採血管を用いて採取されたヒト血漿中 MTX 及び DAMPA の濃度測定法の信頼性が確認された．また，2,000 Units/L 及び 3,000 Units/L グルカルピダーゼ含有 FC 血漿中において MTX 及び DAMPA が安定であることを確認した．

2.7.1.2.4　LV 及び 5-MeTHF

2.7.1.2.4.1　ヒト血漿中の(6R)-LV，(6S)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF（PR001-CLN-rptBA003）

（期間：20■ 年■ 月～20■ 年■ 月）（添付資料：5.3.1.4-26）

血漿中の(6R)-LV，(6S)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF を測定するためのキラル HPLC-蛍光生物分析法が開発され，[redacted]，UK にてバリデーションが実施された．

この方法では，前処理した［メタノール（3 mL），水（3 mL）及びリン酸ナトリウム緩衝液（2×3 mL，0.1 mol/L，pH 6.5，アスコルビン酸 0.1 w/v%を含有）］C18 Strata 抽出カートリッジ（500 mg，3 mL）を用いて，ヒトヘパリン加血漿の一部（1 mL）と塩酸（111 μL，1 mol/L）の混合液から LV 及び 5-MeTHF を抽出する．カートリッジ吸着剤をリン酸ナトリウム緩衝液（3 mL，0.1 mol/L，pH 6.5，アスコルビン酸 0.1 w/v%を含有）で洗浄し，洗浄液を廃棄した．LV 及び 5-MeTHF をメタノール（3 mL）によって抽出カートリッジから溶出し，溶出液を窒素気流下＋50℃（設定温度）で蒸発乾固した．残留物をリン酸ナトリウム緩衝液（200 μL，0.1 mol/L，pH 6.5，アスコルビン酸 0.1 w/v%を含有）に溶解し，その一部（20 μL）を Chirobiotic T（250×4.6 mm）分析用カラムに注入した．(6R)-LV，(6S)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF をグラジエントクロマトグラフィーで分離し，カラム溶出後に光誘導体化を行い，蛍光検出器により検出した．なお，励起波長は 286 nm，発光波長は 363 nm とした．

本試験で従ったバリデーション手順は，Guidance for Industry on Bioanalytical Method Validation（生体試料分析法バリデーションに関する業界向けガイダンス），FDA（CDER）

（2001 年 5 月）に基づいて実施された．特異性，線形性，精度，真度，感度，回収率，希釈度及び安定性について全て検討した．

線形性，精度，真度及び特異性は 0.5～10 μmol/L の濃度範囲で判定基準内であった．1 mL の試料容量に基づく LLOQ は，全ての分析物に関して 0.5 μmol/L であった．

血漿からの(6R)-LV，(6S)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF の回収率は，検量線の範囲内で一定であった．ヒト血漿中に，分析物の測定に影響するような妨害ピークは認められなかった．バリデーションされた範囲を超えた濃度の(6R)-LV，(6S)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF を含む血漿試料は，ブランク血漿で 10 倍希釈した後に精密かつ正確に測定することができ，この方法を用いて最高濃度 100 μmol/L までの測定が可能となった．

血漿中の安定性は，室温（＋22℃，設定温度）で約 2 時間，－70℃（設定温度）で最長 6 日間及び 3 回の凍結／融解サイクルにおいて判定基準内であることが確認された．また，抽出試料中では＋4℃（設定温度）で少なくとも 6.5 日間，標準溶液中では＋22℃（設定温度）で少なくとも 6 時間安定であることが確認された．

別の安定性試験（PR001-CLN-rptBA010，添付資料：5.3.1.4-27）において，酸性化血漿中の(6R)-LV 及び(6S)-LV は－70℃（設定温度）で保存したとき，少なくとも 155 日間，3 回の凍結／融解サイクル及び＋22℃（設定温度）では少なくとも約 2 時間安定であることが示された．高濃度（8 μmol/L）では，酸性化血漿中の(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF は－70℃（設定温度）で保存したとき 155 日間，3 回の凍結／融解サイクル及び＋22℃（設定温度）では約 2 時間安定であることが示された．低濃度（0.5 μmol/L）では，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF の分解は－70℃（設定温度）で 155 日間の保存後で約 20%，＋22℃（設定温度）で約 2 時間保存した場合で約 45%，3 回の凍結／融解サイクル後で 100%であった．－70℃（設定温度）で 30 日間保存した場合の分解は約 40%であり，この見かけの分解は，155 日後に確認された分解の程度よりも大きかった．これは 155 日後の試料が少なくとも 1 時間かけて融解されたのに対し 30 日後の試料では 2 時間かけて融解されていたためと考えられた．

2.7.1.2.4.2　ヒト血漿中の(6R)-LV，(6S)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF（PR001-CLN-rptBA024）

（期間：20■ 年■ 月～20■ 年■ 月）（添付資料：5.3.1.4-28）

血漿中の(6R)-LV，(6S)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF を測定するためにキラル HPLC-蛍光法を用いた生体試料分析法が開発され，[redacted]，UK にてバリデーションが実施された．

この生体試料分析法では，前処理した［メタノール（1 mL），水（1 mL）及びリン酸ナトリウム緩衝液（100 μL，0.1 mol/L，pH 6.5，アスコルビン酸（0.1 w/v%）及びシステイン（0.05 w/v%）を含有）］C18 Bond Elut カートリッジ（100 mg，1 mL）を用いて，ヒトヘパリン加血漿（500 μL）と塩酸（50 μL，1 mol/L，アスコルビン酸 20 w/v%を含有）の混合液

から, LV 及び 5-MeTHF を抽出した. カートリッジ吸着剤をリン酸ナトリウム緩衝液水［1 mL, 0.1 mol/L，pH 6.5，アスコルビン酸（0.1 w/v%）及びシステイン（0.05 w/v%）を含有］で洗浄し，洗浄液を廃棄した．(6R)-LV，(6S)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF を，メタノール［1 mL，システイン（0.05 w/v%）を含有］で抽出カートリッジからリン酸緩衝液［50 µL，0.1 mol/L，pH 6.5，アスコルビン酸（0.1 w/v%）及びシステイン（0.05 w/v%）を含有］の入った回収チューブに溶出した．その後，溶出液を窒素気流下＋50℃（設定温度）で蒸発乾固し，蒸発後直ちに氷上に置いた．残留物をリン酸緩衝液［200 µL，0.1 mol/L，pH 6.5，アスコルビン酸（0.1 w/v%）及びシステイン（0.05 w/v%）を含有］に溶解し，その一部（10 µL）を X-Bridge 3.5 µm，50×4.5 mm 逆相分析カラムに注入し，このカラムから一定時間に溶出された部分を Chirobiotic T（250×4.6 mm）分析用キラルカラムに注入した．(6R)-LV，(6S)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF を，アイソクラティッククロマトグラフィーにて分離し蛍光により検出した（LV の測定についてはカラム溶出後に光誘導体化し検出）．なお，励起波長は 286 nm，発光波長は 363 nm である．

本試験で従ったバリデーション手順は，Guidance for Industry on Bioanalytical Method Validation（生体試料分析法バリデーションに関する業界向けガイダンス），FDA（CDER）（2001 年 5 月）に基づいて実施された．

線形性, 精度, 真度及び特異性は, (6R)-LV 及び(6S)-LV では 0.0500～10.0 µmol/L, (6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF では 0.0100～2.00 µmol/L の濃度範囲で判定基準内であった．500 µL の試料容積に基づく LLOQ は，(6R)-LV 及び(6S)-LV では 0.0500 µmol/L，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF では 0.0100 µmol/L であった．

ストリッピング処理／未処理のヒト血漿中のいずれにおいても定量に影響を与えるような妨害ピークは観察されなかった．内因性の(6) D/R-5-MeTHF が検出されたが，これらは検量線の範囲下限の 20%以下であった．

異なるヒト個体からのマトリックスによるばらつきが本方法の信頼性に及ぼす影響は，ごくわずかであった．ストリッピング処理したヒト血漿中で，(6R)-LV，(6S)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF の測定に影響を及ぼすような MTX，DAMPA 又は 7-ヒドロキシ MTX による妨害ピークは認められなかった．

ULOQ の検量線試料の抽出液の分析後にブランクマトリックスを注入したとき，いずれの分析物についてもキャリーオーバーは認められなかった．バリデーションされた範囲を超えた濃度の(6R)-LV，(6S)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF を含む血漿試料は，ブランク血漿で 10 倍希釈した後に精密かつ正確に測定することができ，(6R)-LV 及び(6S)-LV について最高濃度 100 µmol/L まで，(6) L/S-5-MeTHF 及び(6) D/R-5-MeTHF について最高濃度 20 µmol/L までの測定が可能となった．

血漿からの(6R)-LV，(6S)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF の回収率は，検量線の範囲内で一定であった．

各分析物は血漿中で，室温（＋22℃，設定温度）で約 2 時間，－70℃（設定温度）で少なくとも 92 日間，3 回の凍結／融解サイクルで安定であることが示された．抽出した試料中

では，+4℃（設定温度）で少なくとも 8 日間安定であることも示された．酸性比率の変動，酸によるシリンジの洗浄回数及び試験依頼者供給キットに含まれる酸の保管の影響は，ごくわずかであることが確認された．

2.7.1.2.4.3　ヒト血漿中の(6R)-LV，(6S)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF（PR001-CLN-BA034）

（期間：20■ 年■ 月～20■ 年■ 月）（添付資料：5.3.1.4-29）

血漿中の(6R)-LV，(6S)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF を測定するためのキラル HPLC-蛍光生物分析法が開発され，[redacted]，UK にて（パーシャル）バリデーションが実施された．

この方法は，5-MeTHF の分析で採用された逆相カラムによる分離条件を変更した以外，PR001-CLN-rptBA024（2.7.1.2.4.2）試験で述べた方法と同一である．本試験で従ったバリデーション手順は，Guidance for Industry on Bioanalytical Method Validation（生体試料分析法バリデーションに関する業界向けガイダンス），FDA（CDER）（2001 年 5 月）に基づいて実施された．

(6R)-LV 及び(6S)-LV について，線形性，精度，真度及び選択性・特異性は，0.05～10.0 μmol/L の濃度範囲全体で判定基準内であった．(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF について，線形性，精度，真度及び選択性・特異性は，0.01～2.00 μmol/L の濃度範囲全域で判定基準を満たしていた．試料容積 10 μL での，(6R)-LV 及び(6S)-LV の LLOQ は 0.05 μmol/L であった．試料容積 5 μL での(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF の LLOQ は 0.01 μmol/L であった．ヒト血漿中に，LV 及び 5-MeTHF の測定に影響を及ぼすような妨害ピークは認められなかった．

2.7.1.2.4.4　LC-MS/MS 法によるヒト血漿中 LV 及び 5-MeTHF の濃度測定法バリデーション（[redacted]852-011）

（期間：20■ 年■ 月～20■ 年■ 月）（添付資料：5.3.1.4-30）

LC-MS/MS 法によるヒト血漿中 LV 及び 5-MeTHF の濃度測定法バリデーションは，[redacted]にて実施された．

本試験は，申請資料の信頼性の基準（「医薬品，医療機器等の品質，有効性及び安全性の確保等に関する法律施行規則」（昭和 36 年厚生省令第 1 号）第 43 条）に従った．

男女各 3 個体のブランク血漿を用いた特異性試験の結果，分析して得られたクロマトグラム上には，内標準物質（LV-d4 及び 5-MeTHF-d3）の定量に影響を及ぼす妨害ピークは検出されなかった．検量線の直線性を確認するため，ピーク面積比を用いて検量線（5～1,000 ng/mL，n=1，3 セット）を作成した．重み付けは $1/x^2$ で実施し，RE 及び CV は判定基準を満たした．分析単位内及び分析単位間変動を検討した結果，いずれの濃度においても RE 及び CV は，判定基準を満たした．特異性，直線性，分析単位内及び分析単位間変動の結果から，判定基準を満たした検量線の最低濃度である 5 ng/mL を LLOQ，最高濃度である

1,000 ng/mL を ULOQ とした．LV の回収率の結果は 10，100 及び 800 ng/mL のとき，それぞれ 69.9%，70.1%，69.7%であり，5-MeTHF の回収率の結果は 10，100 及び 800 ng/mL のとき，それぞれ 68.5%，72.0%，73.4%であった．また，LV-d4 及び 5-MeTHF-d3 の回収率は 100 ng/mL のとき，それぞれ 66.9%，69.0%であった．検量線用試料（ブランク試料及び S0～S7）の直後にブランク試料（n＝2）を測定し，キャリーオーバーを確認した結果，測定値への影響はなかった．LC-MS/MS 注入試料中の LV 及び 5-MeTHF は，オートサンプラー（設定値：4℃）中で 72 時間安定であった．

血漿中の LV 及び 5-MeTHF は，氷冷下で 24 時間，凍結保存（－20℃及び－80℃）で 134 日間安定であり，凍結融解操作を 6 回繰り返しても安定であった．

標準原液（1 mg/mL アスコルビン酸含有 100 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液）中の LV 及び 5-MeTHF は，室温で 24 時間，冷凍－80℃（許容範囲：－70℃以下）で 43 日間安定であった．内標準原液の安定性については，LV 及び 5-MeTHF の標準原液中の安定性結果に準じた．

以上の結果から，ヒト血漿中 LV 及び 5-MeTHF の濃度測定法の信頼性が確認された．また，血漿中 LV 及び 5-MeTHF の安定性を確認した．

2.7.1.2.4.5　LC-MS/MS 法によるヒト血漿中 5-MeTHF の濃度測定法バリデーション（[redacted]852-003）

（期間：20[redacted]年[redacted]月～20[redacted]年[redacted]月）（添付資料：5.3.1.4-38）

LC-MS/MS 法によるヒト血漿中 5-MeTHF の濃度測定法バリデーションは，[redacted]にて実施された．

本試験は，申請資料の信頼性の基準（「医薬品，医療機器等の品質，有効性及び安全性の確保等に関する法律施行規則」（昭和 36 年厚生省令第 1 号）第 43 条）に従った．

男女各 3 個体のブランク血漿を用いた特異性試験の結果，分析して得られたクロマトグラム上には，内標準物質（5-MeTHF-d3）の定量に影響を及ぼす妨害ピークは検出されなかった．

検量線の直線性を確認するため，ピーク面積比を用いて検量線（5～1,000 ng/mL，n=1，3 セット）を作成した．重み付けは $1/x^2$ で実施し，真度及び精度は判定基準を満たしていた．

分析単位内及び分析単位間変動を検討した結果，いずれの濃度においても真度及び精度は，判定基準を満たしていた．

特異性，直線性，分析単位内及び分析単位間変動の結果から，判定基準を満たした検量線の最低濃度である 5 ng/mL を LLOQ，最高濃度である 1,000 ng/mL を ULOQ とした．5-MeTHF の回収率の結果は 10，100 及び 800 ng/mL のとき，それぞれ 98.2%，80.8%，82.6%であり，内標準物質の回収率は 100 ng/mL のとき，79.9%であった．

検量線用試料の直後にブランク試料（n＝2）を測定し，キャリーオーバーを確認した結果，測定値への影響はなく判定基準を満たした．

LC-MS/MS 注入試料中の 5-MeTHF は，オートサンプラー（設定値：4℃）中で 85 時間安

定であった．血漿中の 5-MeTHF は，氷冷下で 25 時間，冷凍−80℃（許容範囲：−70℃以下）で 126 日間安定であり，凍結融解操作を 3 回繰り返しても安定であった．

標準原液（1 mg/mL アスコルビン酸含有 100 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液）中の 5-MeTHF は，室温で 24 時間，冷凍−80℃（許容範囲：−70℃以下）で 37 日間安定であった．

内標準原液の安定性については，5-MeTHF の標準原液中の安定性結果に準じた．

以上の結果から，ヒト血漿中 5-MeTHF の濃度測定法の信頼性が確認された．また，血漿中 5-MeTHF の安定性を確認した．

2.7.1.3 全試験を通しての結果の比較と解析

表 2.7.1.3-1 グルカルピダーゼの生体試料分析法

分析物	方法	マトリックス	試験施設	バリデーションの参照試験番号	バリデーション試験日	試験番号
グルカルピダーゼ	UV 分光*1	血清	[redacted], UK	1845/017, 2.7.1.2.1.1	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月*2	PR001-CLN-005 試験及び PR001-CLN-010 試験
	ELISA 法*3	血清及び尿	[redacted], UK	1845/021, 2.7.1.2.1.2	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月*2	PR001-CLN-005 試験及び PR001-CLN-010 試験
	ELISA 法	血漿及び尿	[redacted]	[redacted]852-006, 2.7.1.2.1.4	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月	CPG2-PI 試験及び CPG2-PII 試験
	ELISA 法	血漿及び血清	[redacted]	[redacted]852-006, 2.7.1.2.1.4	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月	[redacted]354-027 試験

＊1：グルカルピダーゼ活性
＊2：追加安定性試験 1845/20（添付資料：5.3.1.4-3）も 20[redacted] 年[redacted] 月～20[redacted] 年[redacted] 月に実施
＊3：グルカルピダーゼ含有量

表 2.7.1.3-2 抗グルカルピダーゼ抗体の生体試料分析法

分析物	方法	マトリックス	試験施設	バリデーションの参照試験番号	バリデーション試験日	試験番号
抗グルカルピダーゼ抗体	ELISA 法	血清	[redacted], UK	1845/22, 2.7.1.2.2.1	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月	PR001-CLN-005 試験及び PR001-CLN-006 試験
	UV 分光*1	血清	[redacted], UK	1845/034*2, 2.7.1.2.2.2	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月	PR001-CLN-005 試験及び PR001-CLN-006 試験
	UV 分光*1	血清	[redacted], UK	1845/061, 2.7.1.2.2.2	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月	PR001-CLN-006 試験
	ELISA 法*3	血清	[redacted], UK	PR001-CLN-rptBA028, 2.7.1.2.2.3	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月	PR001-CLN-016 試験及び PR001-CLN-017 試験
	UV 分光*1	血清	[redacted], UK	1845/017, 2.7.1.2.1.1 PR001-CLN-rptBA031, 2.7.1.2.2.4 PR001-CLNrptBA049, 2.7.1.2.2.4	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月*4 20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月 20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月	PR001-CLN-016 試験
	ELISA 法	血漿	[redacted]	[redacted]852-007, 2.7.1.2.2.5	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月	CPG2-PI 試験及び CPG2-PII 試験
	ELISA 法	血漿及び血清	[redacted]	[redacted]852-007, 2.7.1.2.2.5	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月	[redacted]354-027 試験

＊1：抗グルカルピダーゼ活性の中和
＊2：試験法開発及び試料解析試験
＊3：スクリーニング／確認アッセイ
＊4：追加安定性試験 1845/20（添付資料：5.3.1.4-3）も 20[redacted] 年[redacted] 月～20[redacted] 年[redacted] 月に実施

表 2.7.1.3-3 MTX 及び DAMPA の生体試料分析法

分析物	方法	マトリックス	試験施設	バリデーションの参照試験番号	バリデーション試験日	試験番号
MTX 及び DAMPA	HPLC-UV	血漿	[redacted] USA	PR001-VTR-001, 2.7.1.2.3.3	20[redacted]年[redacted]月～20[redacted]年[redacted]月	PR001-CLN-006 試験
	HPLC-蛍光	血漿	[redacted], UK	PTU 018, 2.7.1.2.3.4	20[redacted]年[redacted]月～20[redacted]年[redacted]月	PTU 0039 試験
	HPLC-蛍光	血漿及び血清	[redacted], UK	PTU 030, 2.7.1.2.3.5	20[redacted]年[redacted]月～20[redacted]年[redacted]月	PR001-NCL-rptPK008 試験
	HPLC-蛍光*1	血漿及び血清	[redacted], UK	PR001-CLN-rptBA015, 2.7.1.2.3.6	20[redacted]年[redacted]月～20[redacted]年[redacted]月	PR001-CLN-017 試験
	LC-MS/MS*2	血漿	[redacted], UK	PR001-NCL-rptBA017, 2.7.1.2.3.7	20[redacted]年[redacted]月～20[redacted]年[redacted]月	PR001-CLN-017 試験
	LC-MS/MS	血漿	[redacted]852-012, 2.7.1.2.3.8		20[redacted]年[redacted]月～20[redacted]年[redacted]月	CPG2-PII 試験
	LC-MS/MS	血漿*3	[redacted]354-023, 2.7.1.2.3.9		20[redacted]年[redacted]月～20[redacted]年[redacted]月	OP-07-001 試験

＊1：MTX，OH-MTX，DAMPA
＊2：MTX
＊3：FC 採血管（フッ化ナトリウム，クエン酸，クエン酸ナトリウム，EDTA-2Na 含有）で採取した血漿

表 2.7.1.3-4 LV 及び 5-MeTHF の生体試料分析法

分析物	方法	マトリックス	試験施設	バリデーションの参照試験番号	バリデーション試験日	試験番号
LV 及び 5-MeTHF*1	HPLC-蛍光	血漿	[redacted], UK	PR001-CLN-rptBA003*2, 2.7.1.2.4.1	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月	PR001-CLN-010 試験
	HPLC-蛍光	血漿	[redacted], UK	PR001-CLN-rptBA024*3, 2.7.1.2.4.2	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月	PR001-CLN-017 試験
	HPLC-蛍光	血漿	[redacted], UK	PR001-CLN-BA034, 2.7.1.2.4.3	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月	PR001-CLN-017 試験
LV 及び 5-MeTHF	LC-MS/MS	血漿	[redacted]	[redacted]852-011, 2.7.1.2.4.4	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月	CPG2-PII 試験
5-MeTHF	LC-MS/MS	血漿	[redacted]	[redacted]852-003, 2.7.1.2.4.5	20[redacted] 年[redacted] 月～ 20[redacted] 年[redacted] 月	CPG2-PI 試験

＊1：(6R)-LV，(6S)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF
＊2：追加安定性試験 PR001-CLN-rptBA 010（添付資料：5.3.1.4-27）も 20[redacted] 年[redacted] 月～20[redacted] 年[redacted] 月に実施
＊3：追加安定性試験 PR001-CLN-rptBA026（添付資料：5.3.1.4-32）も 20[redacted] 年[redacted] 月～20[redacted] 年[redacted] 月に実施

2.7.1.4 付録

2.7.1.4.1 MTX 血液試料取扱い試験

一連の試験の目的は，血漿として処理及び保存される血液試料に関して，採取した試料中でのグルカルピダーゼによる MTX 分解の程度及び制御するための処理法を検討するために実施された．

2.7.1.4.1.1 ウサギ試料の取扱い試験（PR001-NCL-repIN001）

（添付資料：5.3.1.4-33）

本試験の目的は，雄性 New Zealand White ウサギに MTX＋LV＋グルカルピダーゼを静脈内投与した後，採取した血漿検体に異なる検体処理方法を実施した際の MTX の安定性を検討することであった．

本試験は，雄性 New Zealand White ウサギ 10 例に MTX 19 mg/kg（投与容量：0.19 mL/kg）を静脈内投与し，約 5 分以内に LV 2 mg/kg（投与容量：0.2 mL/kg）を静脈内投与した．更に LV を投与してから 26～28 分後にグルカルピダーゼ 50 Units/kg（投与容量：0.053 mL/kg）を静脈内投与した．血液検体はグルカルピダーゼ投与直前及び投与 15 分後に採取し，血漿に分離させた．グルカルピダーゼ投与 15 分後に採取した血漿検体は 4 種類の検体処理方法を実施した．具体的な検体処理方法としては，HCl 1 mol/L 添加（反応系 1 mL に対して 111 µL 添加），氷上でインキュベーション 5 分間した後に HCl 1 mol/L 添加（反応系 1 mL に対して 111 µL 添加），20～25℃でインキュベーション 1 時間した後に HCl 1 mol/L 添加（反応系 1 mL に対して 111 µL 添加），氷上でインキュベーション 5 分間であった．

結果は，グルカルピダーゼ投与前と比較して，グルカルピダーゼ投与後には全ての検体処理法で血漿中 MTX が顕著に低下した（＞99%）．

2.7.1.4.1.2 ヒト全血 MTX スパイク試験（PTU 0039）

（添付資料：5.3.1.4-34）

本試験の目的は，ヒト全血中，グルカルピダーゼ投与後及び異なるグルカルピダーゼ不活性化条件での MTX の安定性を検討することであった．

本試験では，ヒト全血検体に MTX 0.35 又は 849 µmol/L（最終濃度として）いずれかをスパイクした後，各 MTX 濃度を含む全血検体にグルカルピダーゼ 500 Units/L（最終濃度として）又は生理食塩水（0.9 w/v%）をスパイクした．スパイク後，37℃でインキュベーション 15 分実施し，血漿を約 10 分間遠心分離（室温環境）した．遠心分離した血漿検体に対して，グルカルピダーゼを不活性化するための 5 種類の検体処理法を実施した（検体 A～E）．その後，検体 B は－70℃で 2 時間保存，それ以外の検体は－70℃で一晩保存した．具体的な検体処理方法としては，検体 A は 50℃でインキュベーション 5 分，検体 B は HCl 1 mol/L を血漿検体に 1：10（HCl：血漿）の割合で添加し，50℃でインキュベーション 5 分，検体 C は HCl 1 mol/L を血漿に 1：10（HCl：血漿）の割合で添加，検体 D はアスコルビン酸 11 mg/mL（最終濃度 1 mg/mL）を含む HCl 1 mol/L を血漿に 1：10（HCl：血漿）の割合で添

加，検体 E は処理なし（対照検体）とした．

生理食塩水を添加した検体の結果から，検体処理方法の違いは MTX の測定濃度に影響しないと考えられた（データ示さず，詳細は表 2.7.1.4.1.2-1 及び 5.3.1.4-34 の Table 2 参照）．一方，グルカルピダーゼをスパイク後にインキュベーションした検体中の MTX 濃度は生理食塩水を添加した検体と比較して極めて低く，MTX 0.35 µmol/L をスパイクした検体では全て定量下限未満（BLQ）（＜0.1 µmol/L）であった（データ示さず，詳細は 5.3.1.4-34 の Table 1 参照）．MTX 849 µmol/L をスパイクした検体では，MTX 濃度は 6～8 µmol/L の範囲内にあり定量可能であった（表 2.7.1.4.1.2-1）．以上の結果より，異なるグルカルピダーゼ不活性化条件で処理された血漿検体中の MTX 濃度に顕著な差は認められなかった．

表 2.7.1.4.1.2-1　生理食塩水又はグルカルピダーゼ添加後の血漿中 MTX 濃度（MTX 設定開始濃度：849 µmol/L）

検体	不活性化条件		MTX 濃度（µmol/L）	
	加熱	酸	生理食塩水添加	グルカルピダーゼ添加
A	○	－	1,280	7.69
B	○	○	1,310	6.02
C	－	○	1,370	7.98
D	－	○	1,290	7.62
E	－	－	1,270	7.48

－：該当事項なし，○：該当事項あり
引用元：添付資料：5.3.1.4-34（PTU 0039）の Table 3，Table 4 から一部改変

2.7.1.4.1.3　ヒト血漿 MTX 添加試験（PR001-NCL-rptPK008）

（添付資料：5.3.1.4-35）

本試験の目的は，臨床試験で被験者から採取した検体中で顕著な MTX の分解が生じるか否かを明らかにすること及び HCl によるグルカルピダーゼの不活性化の効果を評価することであった．

本試験では 1，10，100 及び 1,000 µmol/L の MTX を含む 4 本のヒト血漿検体を各々12 本のガラスチューブに分注した．各 MTX 濃度に 12 本の検体を用意し，6 種類の検体処理方法（各 2 本）を実施した．処理方法としては，HCl を添加後にインキュベーションなし，水を添加後にインキュベーション 15 分してから HCl 添加，HCl 添加後にグルカルピダーゼを添加しインキュベーション 15 分，グルカルピダーゼを添加後にインキュベーション 15 分してから HCl 添加，グルカルピダーゼを添加後にインキュベーション 60 分してから HCl 添加，グルカルピダーゼを添加後にインキュベーション 15 分してから凍結し解凍後に HCl 添加であった．なお，HCl は 1 mol/L（反応系に対して 1/10 量を添加），グルカルピダーゼは 500 Units/L（最終濃度として）とし，インキュベーションは 37℃で行った．

結果を表 2.7.1.4.1.3-1 に示した．本試験結果から，水を添加後にインキュベーション 15

分してから HCl 添加した場合の MTX 濃度は，HCl 添加後にインキュベーションなしの場合と類似していた．同様に HCl 添加後にグルカルピダーゼを添加しインキュベーション 15 分した場合の MTX 濃度も，HCl 添加後にインキュベーションなしの場合と類似していた．以上から，HCl がグルカルピダーゼを効果的に不活性化したと考えられた．また，グルカルピダーゼを添加後にインキュベーション 15 分又は 60 分してから HCl 添加した場合の MTX 濃度は全て極めて低かった．HCl 添加後にインキュベーションなしの場合と比較すると MTX が 99.8%以上低下するか又は BLQ（＜0.1 µmol/L）となり，MTX 1,000 µmol/L の場合でも大部分の MTX がインキュベーション 15 分で加水分解された．しかし MTX 100 µmol/L 以上において，インキュベーション 15 分又は 60 分してから HCl 添加した場合に微量の MTX が残存していた．

表 2.7.1.4.1.3-1　様々な検体処理方法におけるヒト血漿中 MTX 濃度（n＝2）

検体処理方法	MTX 設定開始濃度（µmol/L）			
	1	10	100	1,000
	MTX 濃度（µmol/L）（%低下）	MTX 濃度（µmol/L）（%低下）	MTX 濃度（µmol/L）（%低下）	MTX 濃度（µmol/L）（%低下）
HCl を添加後にインキュベーションなし	0.947	8.99	59.2	773
水を添加後にインキュベーション 15 分してから HCl 添加	1.01	8.61	65.7	873
HCl 添加後にグルカルピダーゼを添加しインキュベーション 15 分	1.04	8.61	96.7	734
グルカルピダーゼを添加後にインキュベーション 15 分してから HCl 添加	BLQ（＞89.4%）	BLQ（＞98.9%）	0.126（99.8%）	0.827（99.9%）
グルカルピダーゼを添加後にインキュベーション 60 分してから HCl 添加	BLQ（＞89.4%）	BLQ（＞98.9%）	0.124（99.8%）	0.567（99.9%）
グルカルピダーゼを添加後にインキュベーション 15 分してから凍結し解凍後に HCl 添加	BLQ（＞89.4%）	BLQ（＞98.9%）	BLQ（＞99.8%）	0.569（99.9%）

BLQ：定量下限未満（＜0.1 µmol/L）
引用元：添付資料：5.3.1.4-35（PR001-NCL-rptPK008）の Table 4 から一部改変

2.7.1.4.1.4 グルカルピダーゼ含有血漿中での MTX 消失試験（[redacted]354-010）

（期間：20[redacted]年[redacted]月～20[redacted]年[redacted]月）（添付資料：5.3.1.4-1）

本試験は，グルカルピダーゼを含むヒトブランク血漿（ヘパリンナトリウム血漿，以下同様）中での 37℃における MTX の消失を確認することを目的に実施された（試験実施施設：[redacted]）．

なお，ヒト血漿中の MTX の濃度は[redacted]（[redacted]852-012，2.7.1.2.3.8）で信頼性が確認された LC-MS/MS 測定法により実施した．

MTX 濃度が 0，20，100 及び 1,000 μmol/L の血漿に，グルカルピダーゼ（血漿中濃度 0，500 及び 2,000 Units/L）を添加し，37℃で 0，1，3，5，10 及び 15 分間反応させた後の MTX 濃度を定量した．

MTX 濃度 20 及び 100 μmol/L の血漿においては，グルカルピダーゼ 500 及び 2,000 Units/L 添加のいずれにおいても，MTX 濃度は反応開始 1 分で初期濃度の 2%程度に低下した．反応時間を延ばしても，MTX は 2%を超える分解は認められなかった．

MTX 濃度 1,000 μmol/L の血漿においては，グルカルピダーゼ 500 Units/L 添加では反応開始 5 分以降，グルカルピダーゼ 2,000 Units/L 添加では 3 分以降に MTX 濃度は一定（初期濃度の 2%程度）となった．

一連の実験から，MTX をグルカルピダーゼで分解した際に微量の MTX が残存することが確認された．MTX の活性本体は L 体であるが，流通している MTX は L 体と少量の D 体（不活性体）が不純物として含まれている．D-MTX はグルカルピダーゼにより分解されないことから[5]，MTX 中に微量に含まれる D-MTX が残存したと考えられる．

2.7.1.4.1.5 ヒト血漿中 MTX 及び DAMPA の濃度測定法パーシャルバリデーションにおける予備検討（[redacted]354-013）

（期間：20[redacted]年[redacted]月～20[redacted]年[redacted]月）（添付資料：5.3.1.4-36）

ヒトブランク血漿中（ヘパリンナトリウム血漿）にグルカルピダーゼが存在する場合，MTX は直ちに加水分解を受ける（[redacted]354-010，2.7.1.4.1.4）．本試験は，血漿中 MTX 濃度を正確に測定することを目的に，採血直後から血中グルカルピダーゼ活性を抑制するための方法を検討した（試験実施施設：[redacted]）．

グルカルピダーゼは亜鉛要求性のホロ酵素であり[6]，これまでの検討結果から酸性付近ではその活性が抑制されることが明らかとなっている（PR001-NCL-rptPK008，2.7.1.4.1.3）．つまり，キレート剤の効果により亜鉛を取り除き，また，血液の pH を低くすることによって本酵素の活性を効果的に抑制することができるはずである．

FC 採血管は，フッ化ナトリウム，クエン酸，クエン酸ナトリウム，EDTA-2Na を含有するもので，採血の際に本酵素を不活性化するための上記条件を満たす．

本試験では，FC 採血管を用いて採取されたヒトブランク血漿にグルカルピダーゼを添加（2,000 Units/L）したマトリックスに MTX を添加し，室温における安定性を確認すること

によりグルカルピダーゼのMTX加水分解活性の抑制効果を検証した．なお，比較対象試料としてヘパリンナトリウムヒトブランク血漿を用いた．

グルカルピダーゼ含有FC血漿を使用した場合，室温保存5時間後の濃度（平均値±標準偏差，n=3）は理論値が1 ng/mL及び320 ng/mLに対して，1.059±0.040 ng/mL及び288.3±3.2 ng/mLであった．平均真度は105.9%及び90.1%であったことから，グルカルピダーゼ含有FC血漿中のMTXは室温で5時間は安定であることが確認された．

一方，グルカルピダーゼ含有ヘパリンナトリウム血漿を使用した場合，調製直後及び保存後5時間の低濃度側試料がBLQ，高濃度側試料では理論値の約1%となり，判定基準（理論値の±15%以内）を満たさなかった．MTX濃度1,000 μmol/mLの血漿において，グルカルピダーゼ2,000 Unit/L添加の3分以降にMTXは一定（初期濃度の2%程度）となることを関連実験（[redacted]354-010，2.7.1.4.1.4）で確認している．本試験において，グルカルピダーゼによるMTXの特異的な代謝物であるDAMPAをモニターしたところ，調製直後及び保存後のいずれの試料においてもDAMPAが検出された．したがって，グルカルピダーゼによるMTXからDAMPAへの代謝が速やかに進み，グルカルピダーゼ含有ヘパリンナトリウム血漿中のMTXが理論値どおりに検出できなかったと考えられた．

以上の結果から，グルカルピダーゼ含有FC血漿中のMTXは室温で少なくとも5時間は安定であり，血漿中MTXを正確に測定するのにFC採血管による採血は非常に有効であると判断した．

目次

2.7.2.1 背景及び概観.....5
2.7.2.2 個々の試験結果の要約.....7
2.7.2.2.1 日本人健康成人男性を対象とした試験（CPG2-PI 試験）.....7
2.7.2.2.1.1 試験方法.....7
2.7.2.2.1.2 試験結果.....7
2.7.2.2.2 大量メトトレキサート療法後にメトトレキサート排泄遅延を有する日本人患者を対象とした試験（CPG2-PII 試験）.....12
2.7.2.2.2.1 試験方法.....12
2.7.2.2.2.2 試験結果.....14
2.7.2.2.3 メトトレキサートの毒性に対する OP-07 の特例的使用を評価する試験（PR001-CLN-006 試験）.....17
2.7.2.2.3.1 試験方法.....17
2.7.2.2.3.2 試験結果.....18
2.7.2.2.4 大量メトトレキサート療法時にメトトレキサート排泄遅延を生じた日本人患者を対象とした試験（OP-07-001 試験）.....24
2.7.2.2.4.1 試験方法.....24
2.7.2.2.4.2 試験結果.....24
2.7.2.2.5 腎機能が正常な被験者及び腎機能障害を有する被験者を対象とした試験（PR001-CLN-005 試験）.....30
2.7.2.2.5.1 試験方法.....30
2.7.2.2.5.2 試験結果.....30
2.7.2.2.6 健康男性被験者を対象としたロイコボリンの薬物動態に及ぼすグルカルピダーゼの影響を評価した薬物相互作用試験（PR001-CLN-010 試験）.....34
2.7.2.2.6.1 試験方法.....34
2.7.2.2.6.2 試験結果.....34
2.7.2.2.7 大量メトトレキサート療法後の患者を対象としたロイコボリンの薬物動態に及ぼすグルカルピダーゼの影響を評価した薬物相互作用試験（PR001-CLN-017 試験）.42
2.7.2.2.7.1 試験方法.....42
2.7.2.2.7.2 試験結果.....42
2.7.2.3 全試験を通しての結果の比較と解析.....48
2.7.2.3.1 グルカルピダーゼの薬物動態.....48
2.7.2.3.1.1 健康成人の薬物動態.....50
2.7.2.3.1.2 日本人と外国人の比較.....50
2.7.2.3.1.3 MTX 排泄遅延患者と健康成人の比較.....50

2.7.2.3.1.4 内因性要因の検討.....51
2.7.2.3.2 MTX の薬物動態に及ぼすグルカルピダーゼの影響.....51
2.7.2.3.3 グルカルピダーゼの基質.....52
2.7.2.3.3.1 可能性のある内因性基質：NAAG（N-acetyl-L-aspartyl-L-glutamate）.....52
2.7.2.3.3.2 既知又は可能性のある外因性基質：葉酸（pteroylglutamic acid（PGA））.53
2.7.2.3.3.3 メトトレキサート.....53
2.7.2.3.3.4 ロイコボリン及び 5-メチル-テトラヒドロ葉酸.....53
2.7.2.3.3.5 4-アミノ葉酸（aminopterin）.....54
2.7.2.3.3.6 ペメトレキセド（アリムタ，日本イーライリリー）.....54
2.7.2.3.3.7 プララトレキサート（ジフォルタ，ムンディファーマ）.....54
2.7.2.3.3.8 共通する基質となる可能性のあるヒトカルボキシペプチダーゼ.....54
2.7.2.3.4 グルカルピダーゼの LV に対する薬物相互作用.....56
2.7.2.3.5 母集団薬物動態解析.....57
2.7.2.4 特別な試験.....57
2.7.2.4.1 免疫原性.....57
2.7.2.4.2 QT/QTc への影響.....58
2.7.2.5 付録.....59
2.7.2.5.1 CPG2-PII 試験.....61
2.7.2.5.2 PR001-CLN-017 試験.....63

略語等一覧

略語	英語	日本語
(6) D/R-5-MeTHF	D stereoisomer of 5-methyltetrahydrofolate	(6R)-5-メチルテトラヒドロ葉酸（ロイコボリンの不活性代謝物）
(6) L/S-5-MeTHF	L stereoisomer of 5-methyltetrahydrofolate	(6S)-5-メチルテトラヒドロ葉酸（ロイコボリンの活性代謝物）
(6R)-LV	D stereoisomer of leucovorin	ロイコボリンの D-立体異性体（ロイコボリンの不活性体）
(6S)-LV	L stereoisomer of leucovorin	ロイコボリンの L-立体異性体（ロイコボリンの活性体）
5-MeTHF	5-methyltetrahydrofolate	5-メチルテトラヒドロ葉酸（ロイコボリン活性代謝物）
ANOVA	Analysis of variance	分散分析
AUC_{X-Y}	Area under the concentration-time curve from X to Y	投与 X 時間から Y 時間までの血中濃度―時間曲線下面積
$AUC_{0-\tau}$	Area under the curve over a dosing	1 投与間隔の血中濃度―時間曲線下面積
BSA	Body surface area	体表面積
CL	Clearance	クリアランス
CL_{tot}	Total clearance	全身クリアランス
CrCl	Creatinine clearance	クレアチニンクリアランス
C_{last}	Last observed concentration after the first dose of OP-07	OP-07 初回投与後，最後に測定された血漿中濃度
C_{max}	Maximum concentration	最高血中濃度
$CrCl_{pre}$	Pre-OP-07 calculated CrCl, Pre- OP-07 (Arm A) or pre-LV (Arm B) creatinine clearance	OP-07 投与前のクレアチニンクリアランス，OP-07 投与前（Arm A）又はロイコボリン投与前（Arm B）のクレアチニンクリアランス
CV	Coefficient of variance	変動係数
DAMPA	4-deoxy-4-amino-N^{10}-methylpteroic acid	4-デオキシ-4-アミノ-N^{10}-メチルプテロイン酸（グルカルピダーゼによるメトトレキサート代謝物）
D_{LV}	Reference leucovorin dose	ロイコボリンの基準投与の用量
D_{MTX}	Methotrexate dose	メトトレキサートの投与量
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着測定法
FAS	Full analysis set	最大の解析対象集団
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GCP	Glutamate carboxypeptidase	グルタミン酸カルボキシペプチダーゼ

略語	英語	日本語
GCP II	Glutamate carboxypeptidase II	グルタミン酸カルボキシペプチダーゼ II
HD-MTX 療法	High-dose methotrexate therapy	大量メトトレキサート療法
HPLC	High-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
LV	Leucovorin	ロイコボリン（一般名ホリナートカルシウム，別名ロイコボリンカルシウム）
MTX	Methotrexate	メトトレキサート
NA	Not applicable	該当せず
NAAG	N-acetyl-L-aspartyl-L-glutamate	—
NC	Not calculated	算出せず
OP-07	—	グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）製剤
PGA	Pteroylglutamic acid	—
PGCP	Plasma glutamate carboxypeptidase	血漿グルタミン酸カルボキシペプチダーゼ
Q1	1st quartile	第 1 四分位
Q3	3rd quartile	第 3 四分位
RA_{AUC}	Observed accumulation ratio based on $AUC_{0-\tau}$	$AUC_{0-\tau}$ に基づく蓄積係数
RA_{Cmax}	Observed accumulation ratio based on C_{max}	C_{max} に基づく蓄積係数
SD	Standard deviation	標準偏差
$t_{1/2}$	Time to half-life	消失半減期
$t_{1/2pre}$	Apparent terminal elimination half-life for the period between the end of MTX infusion and first OP-07 dose	MTX 投与終了から OP-07 初回投与までの期間の消失半減期
t_{first}	Time of first observed concentration after the first dose of OP-07	OP-07 初回投与後の血漿中濃度の初回測定時間
t_z	Time of last quantifiable concentration	最終定量可能時点
t_{max}	Time to maximum concentration	最高血中濃度到達時間
$V_{d,ss}$	Volume of distribution at steady state	定常状態での分布容積
V_z	Apparent volume of distribution during the terminal phase	終末相での分布容積
VPC	Visual Predictive Check	—

2.7.2.1 背景及び概観

グルカルピダーゼ（遺伝子組換え）（以下，グルカルピダーゼ）の静脈内投与用製剤 OP-07 の承認申請にあたり，本項では，国内 3 試験（CPG2-PI 試験，CPG2-PII 試験及び OP-07-001 試験）及び国外 4 試験（PR001-CLN-005 試験，PR001-CLN-006 試験，PR001-CLN-010 試験及び PR001-CLN-017 試験）の計 7 試験の臨床薬理試験の結果を示した．臨床薬理試験の概要を表 2.7.2.1-1 に，詳細を表 2.7.2.5-1 に示した．

本項では，血漿中又は血清中（以下，血中）グルカルピダーゼ濃度の測定は全て酵素結合免疫吸着測定法（ELISA 法）による結果を示した．グルカルピダーゼの薬物動態プロファイルは，CPG2-PI 試験，CPG2-PII 試験，OP-07-001 試験，PR001-CLN-005 試験及び PR001-CLN-010 試験で OP-07 を 5 分間かけて静脈内投与したときの血中グルカルピダーゼ濃度を基にノンコンパートメント法により評価した. 血中グルカルピダーゼ濃度は, 国内 3 試験（CPG2-PI 試験，CPG2-PII 試験及び OP-07-001 試験）では血漿中濃度，国外 2 試験（PR001-CLN-005 試験及び PR001-CLN-010 試験）では血清中濃度を用いた．血漿及び血清試料中グルカルピダーゼの測定値の変化率はいずれも 80～120%の範囲内であり，異なるマトリックスにおけるグルカルピダーゼ定量値の差は認められていない（2.7.1 参照）．

表 2.7.2.1-1　臨床薬理試験の概要

試験番号 （試験の相） 添付資料番号	実施 地域	対象	OP-07 の投与方法	OP-07 投与 被験者数	試験の目的
CPG2-PI （第 I 相） 5.3.3.1-1	日本	健康成人男性	1 回目：OP-07 20 U/kg 又は 50 U/kg を静脈内投与 2 回目：1 回目投与の 46～50 時間後に 1 回目と同様に投与	16 例 （各用量 8 例）	安全性 薬物動態
CPG2-PII （第 II 相） 5.3.5.2-1	日本	HD-MTX 療法後に MTX 排泄遅延が認められる被験者	1 回目：OP-07 50 U/kg を静脈内投与 2 回目：1 回目投与の 48 時間後の血漿中 MTX 濃度が 1 μmol/L 以上であった場合に，1 回目と同様に投与	15 例	有効性 安全性 薬物動態
OP-07-001 （第 II 相） 5.3.5.2-4	日本	HD-MTX 療法後に MTX 排泄遅延が認められる被験者	OP-07 50 U/kg を静脈内に単回投与	4 例	有効性 安全性 薬物動態
PR001-CLN-005 （第 I 相） 5.3.3.1-2	米国	腎機能が正常な被験者，又は重度の腎機能障害を有する被験者	OP-07 50 U/kg を静脈内に単回投与	12 例	薬物動態
PR001-CLN-006 （コンパッショネートユース試験） 5.3.5.2-2	米国，カナダ及びオーストラリア	HD-MTX 療法を受け, MTX の排泄遅延が認められる被験者	1 回目：OP-07 50 U/kg を静脈内投与 2 回目：1 回目投与の 48 時間後の血漿中 MTX 濃度が 100 μmol/L を超える場合に投与	149 例	有効性 安全性
PR001-CLN-010 （第 I 相） 5.3.3.4-1	英国	健康成人男性	OP-07 50 U/kg を静脈内に単回投与	6 例	薬物相互作用 : ロイコボリンの薬物動態に対するグルカルピダーゼの影響
PR001-CLN-017 （第 I 相） 5.3.3.4-2	米国	HD-MTX 療法後にロイコボリンの静脈内投与を要する被験者	OP-07 50 U/kg を静脈内に単回投与	11 例	薬物相互作用 : ロイコボリンの薬物動態に対するグルカルピダーゼの影響

2.7.2.2　個々の試験結果の要約

以下に個々の試験の薬物動態の結果を示した. 有効性及び安全性の結果は, それぞれ 2.7.3 及び 2.7.4 に示した.

2.7.2.2.1　日本人健康成人男性を対象とした試験（CPG2-PI 試験）

2.7.2.2.1.1　試験方法

本試験は，日本人健康成人男性を対象に実施した第 I 相，薬物動態試験であり，グルカルピダーゼの薬物動態を評価した.

コホート 1 では OP-07 20 U/kg，コホート 2 では OP-07 50 U/kg と 2 用量のコホートを設定し，いずれも 5 分間かけて静脈内投与した．各コホートの被験者数を 8 例とし，コホート 1 で安全性を確認した後にコホート 2 を実施した．1 回目投与開始後 46～50 時間に 1 回目と同じ投与量及び投与方法で 2 回目の投与を実施した.

1 回目の OP-07 投与開始前，投与開始後 5（投与終了時），15 分，2，8，12，24 時間及び 2 回目の投与開始前（1 回目投与開始の 48 時間後），投与開始後 5 分（投与終了時），8，12，24 及び 48 時間に血液検体を採取し，血漿中グルカルピダーゼ濃度を測定した．1 回目投与開始から 0～2 時間，2～12 時間，12～24 時間の蓄尿検体を採取し，グルカルピダーゼの尿中排泄量を評価した.

2.7.2.2.1.2　試験結果

各コホート 8 例，計 16 例が本試験に組み入れられた．全ての被験者が OP-07 投与を 2 回受けた．これら 16 例を対象に薬物動態を評価した.

2.7.2.2.1.2.1　グルカルピダーゼの薬物動態

OP-07 の 2 用量（コホート 1：20 U/kg，コホート 2：50 U/kg）を 2 回静脈内投与したときの血漿中グルカルピダーゼ濃度の推移を図 2.7.2.2.1.2.1-1 に，血漿中グルカルピダーゼ濃度の要約統計量を表 2.7.2.2.1.2.1-1 に，グルカルピダーゼの薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.1.2.1-2 に示した.

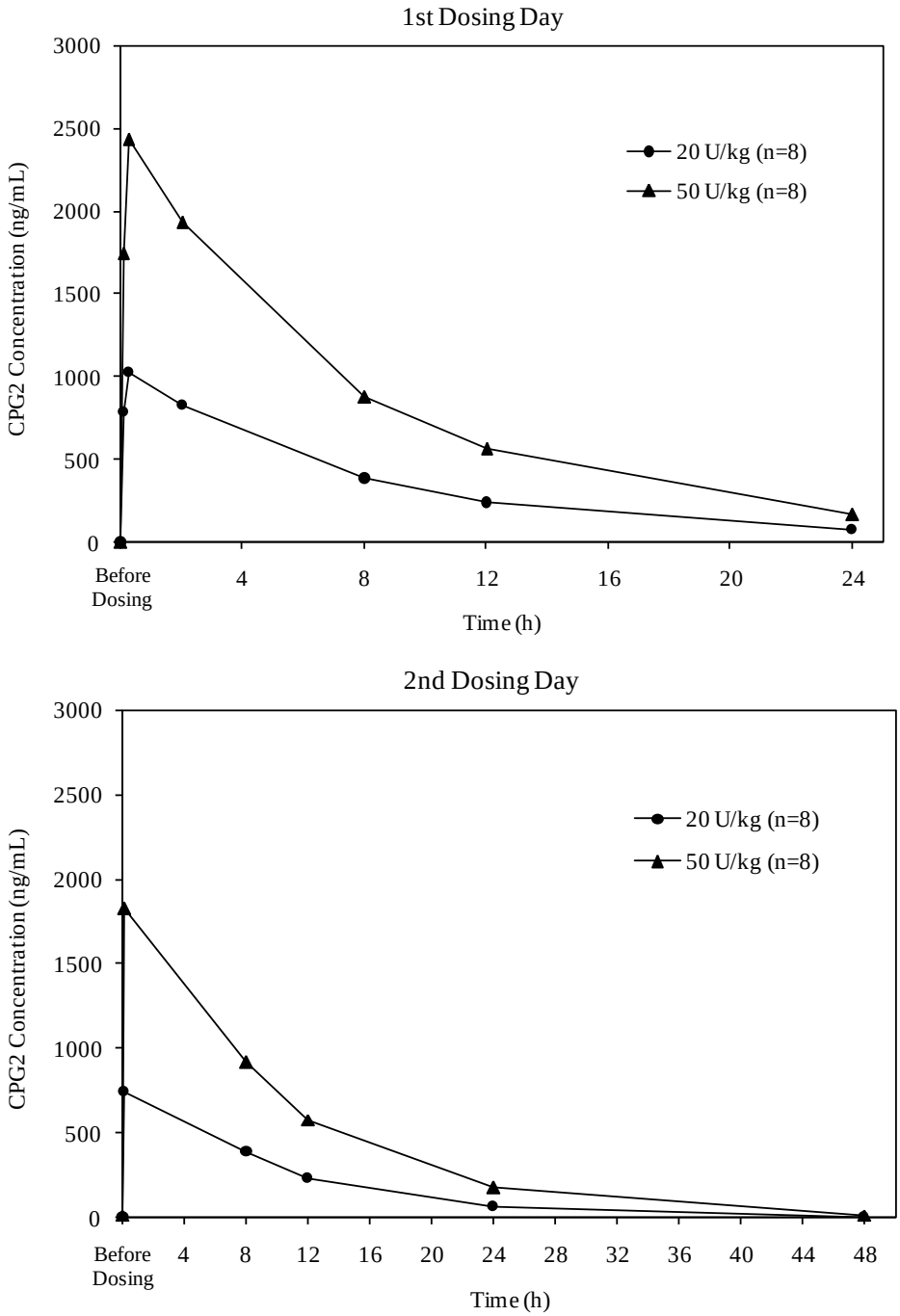
OP-07 1 回目投与後の血漿中グルカルピダーゼ濃度（平均値±標準偏差）は，2 コホート共に投与開始 15 分後に最高値に達し，コホート 1 で 1,025.86±97.95 ng/mL，コホート 2 で 2,430.45±336.32 ng/mL であった．その後，血漿中グルカルピダーゼ濃度は時間の経過と共に低下し，投与 24 時間後にコホート 1 で 76.67±11.61 ng/mL，コホート 2 で 170.48±33.16 ng/mL であった．OP-07 2 回目投与後の血漿中グルカルピダーゼ濃度は，2 コホート共に 1 回目投与後と類似した推移を示した.

OP-07 1 回目投与後の最高血中濃度（C_{max}）（平均値±標準偏差）は，コホート 1 で 1,025.86±97.95 ng/mL，コホート 2 で 2,430.45±336.32 ng/mL，投与 0 時間から 24 時間までの血中濃度―時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24}$）はそれぞれ 8.64±0.49 μg· h/mL，19.99±2.94 μg· h/mL であった．OP-07 2 回目投与後の C_{max} は，コホート 1 で 748.05±178.63 ng/mL，コホート 2 で

1,826.99±182.86 ng/mL，AUC_{0-24} はそれぞれ 7.66±0.70 μg· h/mL，18.55±1.98 μg· h/mL であった．C_{max} 及び AUC_{0-24} は，2 回の投与共に投与量に応じて増加し，コホート 2 ではコホート 1 と比較して，約 2.3～2.4 倍大きかった．一方，最高血中濃度到達時間（t_{max}）は 2 コホートで同じ値であり，消失半減期（$t_{1/2}$），全身クリアランス（CL_{tot}）及び定常状態での分布容積（$V_{d,ss}$）はコホート間並びに 2 回の投与間でほぼ同程度であった．

尿中にグルカルピダーゼの未変化体が検出された被験者はいなかった（尿中グルカルピダーゼの定量下限：1 ng/mL）．

図 2.7.2.2.1.2.1-1　血漿中グルカルピダーゼ（CPG2）濃度の推移（平均値）（線形目盛）（FAS）（CPG2-PI 試験）



引用元：5.3.3.1-1（CPG2-PI 試験_CSR_161214）の図 11.4-1

表 2.7.2.2.1.2.1-1　血漿中グルカルピダーゼ濃度の要約統計量（FAS）（CPG2-PI 試験）

用量 コホート		血漿中グルカルピダーゼ濃度（ng/mL）												
		1 回目投与							2 回目投与					
		投与前	5 分後	15 分後	2 時間後	8 時間後	12 時間後	24 時間後	投与前（1 回目投与の 48 時間後）	5 分後	8 時間後	12 時間後	24 時間後	48 時間後
コホート 1	平均値	0.00	790.88	1,025.86	828.92	388.82	242.43	76.67	8.80	748.05	394.36	236.08	71.16	8.60
	SD	0.00	168.41	97.95	66.87	23.21	26.4	11.61	2.61	178.63	36.22	22.99	13.56	3.00
	n	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
コホート 2	平均値	0.00	1,746.96	2,430.45	1,930.52	881.66	566.03	170.48	18.67	1,826.99	921.15	582.00	182.24	20.34
	SD	0.00	272.54	336.32	294.83	156.90	78.76	33.16	5.95	182.86	120.41	87.64	43.74	6.30
	n	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

引用元：5.3.3.1-1（CPG2-PI 試験_CSR_161214）の表 11.4-1 から一部改変

表 2.7.2.2.1.2.1-2　グルカルピダーゼの薬物動態パラメータ（FAS）（CPG2-PI 試験）

用量 コホート		1 回目投与							2 回目投与						
		C_{max} (ng/mL)	t_{max} (min)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{0-24} (μg·h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (μg·h/mL)	CL_{tot} (mL/min)	$V_{d,ss}$ (mL)	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (min)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{0-24} (μg·h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (μg·h/mL)	CL_{tot} (mL/min)	$V_{d,ss}$ (mL)
コホート 1	平均値	1,025.86	15	7.38	8.64	9.74	4.19	2,270	748.05	5	7.45	7.66	8.71	4.71	2,690
	SD	97.95	0	0.47	0.49	0.60	0.40	240	178.63	0	0.58	0.70	0.72	0.62	580
	Q1	971.04	NC	7.07	8.38	9.29	3.84	2,140	599.92	NC	6.95	7.21	8.29	4.08	2,230
	中央値	1,015.42	NC	7.30	8.59	9.68	4.27	2,220	778.00	NC	7.45	7.62	8.71	4.82	2,720
	Q3	1,100.02	NC	7.59	8.94	10.26	4.55	2,390	886.56	NC	7.71	8.27	9.35	5.24	3,060
	n	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
コホート 2	平均値	2,430.45	15	7.25	19.99	22.44	4.70	2,490	1,826.99	5	7.38	18.55	21.20	4.95	2,790
	SD	336.32	0	0.41	2.94	3.42	0.92	430	182.86	0	0.46	1.98	2.55	0.91	390
	Q1	2,186.88	NC	7.05	17.91	19.93	3.97	2,210	1,750.94	NC	7.21	17.00	19.17	4.13	2,600
	中央値	2,284.00	NC	7.21	19.54	22.04	4.64	2,450	1,811.34	NC	7.49	18.79	21.33	4.81	2,710
	Q3	2,679.79	NC	7.44	22.06	24.91	5.47	2,850	1,926.60	NC	7.62	20.11	22.99	5.64	3,020
	n	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

引用元：5.3.3.1-1（CPG2-PI 試験_CSR_161214）の表 11.4-2 から一部改変

2.7.2.2.1.2.2 結論

グルカルピダーゼの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は，投与量に応じて増加し，50 U/kg 投与時の曝露量は 20 U/kg 投与時より約 2.3～2.4 倍大きかった. t_{max} は投与量によらず同様な値を示した. $t_{1/2}$，CL_{tot} 及び $V_{d,ss}$ に投与量及び投与回数による違いは認められなかった.

OP-07 50 U/kg を静脈内投与したとき，血漿中グルカルピダーゼ濃度（平均値）は投与開始後 15 分に最高値に達し，以降，時間経過と共に徐々に低下した．$t_{1/2}$（中央値）は 7.21 時間であった.

2.7.2.2.2 大量メトトレキサート療法後にメトトレキサート排泄遅延を有する日本人患者を対象とした試験（CPG2-PII 試験）

2.7.2.2.2.1 試験方法

本試験は，大量メトトレキサート（HD-MTX）療法後にメトトレキサート（MTX）排泄遅延を発症した日本人患者を対象に実施した第 II 相，非盲検，有効性・安全性試験であり，グルカルピダーゼの薬物動態, 並びに MTX, 4-deoxy-4-amino-N^{10}-methylpteroic acid（DAMPA），ロイコボリン（LV）及びその活性代謝物 5-メチルテトラヒドロ葉酸（5-MeTHF）の血漿中濃度を評価した. 本試験では，試験開始前に HD-MTX 療法（MTX 1 g/m^2 以上）を受け，MTX 投与終了時から 15 時間以上が経過している患者で，MTX 排泄遅延（MTX 濃度が通常の濃度域を大きく上回る異常高値又は MTX 濃度が通常の濃度域以上でかつ血清クレアチニン上昇が認められる）を有する者を対象とした．なお，適格基準に年齢に関する規定は設けなかった.

最後の LV 投与から 2 時間以上経過していることを確認し，OP-07 50 U/kg を 5 分間かけて静脈内投与した．1 回目の OP-07 投与 48 時間後の血漿中 MTX 濃度が 1 μmol/L 以上の際には，1 回目と同様に最後の LV 投与から 2 時間以上経過していることを確認し，1 回目と同じ投与量及び投与方法で 2 回目の OP-07 を投与した.

1 回目の OP-07 投与 2 時間後より LV 救援療法を開始し，少なくとも最後の OP-07 投与（1 回目又は 2 回目投与）48 時間後まで継続し，48 時間後以降は，血漿中 MTX 濃度が 0.1 μmol/L 未満となるまで LV の投与を継続した．LV は 10 mg/m^2 以上を 5 分間かけて静脈内投与とし，具体的な投与量及び投与方法は治験実施計画書に記載された LV の推奨用量（血漿中 MTX 濃度及び MTX 投与後の経過時間によって指定される投与量及び投与方法）を基に決定した．なお，臨床症状などにより必要がある場合を除き，LV の投与量及び投与方法は OP-07 投与 2 時間後から 48 時間後まで一定とした．LV の投与量及び投与方法決定のための血漿中 MTX 濃度評価時点を図 2.7.2.5.1-1 に示した.

本試験では，MTX 排泄遅延に対して，水分補給，利尿剤の投与，尿のアルカリ化，血液透析及び血漿交換などの支持療法を必要とする被験者には，これらの支持療法を実施した.

グルカルピダーゼ，MTX，DAMPA，LV 及び 5-MeTHF の血漿中濃度測定用検体の採血時点を表 2.7.2.2.2.1-1 に示した.

表 2.7.2.2.2.1-1　グルカルピダーゼ，MTX，DAMPA，LV 及び 5-MeTHF の血漿中濃度測定用検体の採血時点（CPG2-PII 試験）

実施時間 / 対象物質	投与 1 日目				
	1 回目	2 回目	3 回目	4 回目	5 回目*1
	OP-07 投与前	1 回目の OP-07 投与後 20 分	1 回目の OP-07 投与後 2 時間（LV 投与直前）	1 回目の OP-07 投与後 3 時間	1 回目の OP-07 投与後 5～8 時間（LV 投与直前）
グルカルピダーゼ	0	20 分	2 時間	―	5～8 時間
MTX	0	20 分	2 時間	―	5～8 時間
DAMPA	0	20 分	2 時間	―	5～8 時間
LV	―	―	0	1 時間	3～6 時間
5-MeTHF	―	―	0	1 時間	3～6 時間

実施時間 / 対象物質	2 日目			3 日目	4 日目	5 日目
	1 回目	2 回目	3 回目*1	1 回目	1 回目	1 回目
	1 回目の OP-07 投与後 14～20 時間（LV 投与直前）	1 回目の OP-07 投与後 15～21 時間（LV 投与後 1 時間）	1 回目の OP-07 投与後 20～26 時間（LV 投与直前）	1 回目の OP-07 投与後 48 時間	1 回目の OP-07 投与後 72 時間	1 回目の OP-07 投与後 96 時間
グルカルピダーゼ	*2	―	*2	48 時間	―	―
MTX	―	―	*2	48 時間	72 時間	96 時間
DAMPA	―	―	*2	―	―	―
LV	0	1 時間	3～6 時間	―	―	―
5-MeTHF	0	1 時間	3～6 時間	―	―	―

＊1：1 日目 5 回目，2 日目 3 回目について，LV の $t_{1/2}$ からは 6 時間以上が望ましいが，LV 投与法が最小 3 時間，最大 6 時間の間隔と血中 MTX 濃度により変化し，LV 救援療法レジメンによっても異なるため，次回の LV 投与直前としている．
＊2：2 日目の採血時点は OP-07 投与時間により可変とした．
引用元：5.3.5.2-1（CPG2-PII 試験_CSR_Ver.2）の 9.5.1.5 章から一部改変

2.7.2.2.2.2 試験結果

14 例が本試験に組み入れられ，2 回登録された 1 例（被験者識別コード：4（1 回目）及び 5（2 回目））を含むのべ 15 例を薬物動態解析対象集団とした．本試験に組み入れられた全 14 例が OP-07 1 回目の投与を受け，このうち 4 例が 2 回目の投与を受けた．薬物動態解析対象集団の 15 例の人口統計学的特性及び他の基準値の特性を表 2.7.2.5.1-1 に示した．15 例の年齢（範囲，以下同様）は 1～75 歳，体重は 10.7～78.1 kg，初診時病理診断結果の内訳は，骨肉腫 9 例，急性リンパ性白血病 3 例，非ホジキンリンパ腫 1 例，その他 2 例（びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫 1 例，小脳髄芽腫 1 例）であった．試験期間中に血液透析又は血漿交換を実施した被験者はいなかった（5.3.5.2-1（CPG2-PII 試験_CSR_Ver.2）の表 14.1-4 参照）．

2.7.2.2.2.2.1 グルカルピダーゼの薬物動態

1 回目に OP-07 50U/kg を 5 分間かけて静脈内投与したときの血漿中グルカルピダーゼ濃度の推移を表 2.7.2.2.2.2.1-1 に，薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.2.2.1-2 に示した．

血漿中グルカルピダーゼ濃度（平均値±標準偏差）は OP-07 投与開始後 20 分に C_{max}（2,318.57±616.84 ng/mL）に達した．以降，時間経過と共に徐々に低下し，OP-07 投与 48 時間後には 4.27±3.33 ng/mL となった．

OP-07 投与後の t_{max}（中央値）は 20 分であり，$AUC_{0\text{-}24}$ 及び投与 0 時間から∞時間までの血中濃度―時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}\infty}$）（平均値）は，それぞれ 15.05 μg· h/mL，15.88 μg· h/mL であった．また，$t_{1/2}$ の平均値は 5.61 時間，中央値は 5.68 時間であった．

表 2.7.2.2.2.2.1-1　グルカルピダーゼ，MTX，DAMPA，LV 及び 5-MeTHF の血漿中濃度推移（薬物動態解析対象集団）（CPG2-PII 試験）

対象物質	血漿中濃度 (ng/mL)										
		1 回目の OP-07 投与後									
	OP-07 投与前	20 分	2 時間 (LV 投与直前)	3 時間	5～8 時間 (LV 投与直前)	14～20 時間 (LV 投与直前)	15～21 時間 (LV 投与後 1 時間)	20～26 時間 (LV 投与直前)	48 時間	72 時間	96 時間
グルカルピダーゼ											
平均値	0.00 ＊	2,318.57	1,531.03	-	841.88	136.25	-	66.93	4.27	-	-
SD	0.00	616.84	255.62	-	260.55	87.26	-	28.33	3.33	-	-
n	15	15	15	-	14	15	-	15	15	-	-
MTX											
平均値	27,200	261.0	220.8	-	216.8	-	-	112.1	198.5	153.4	167.5
SD	54,790	586.1	530.1	-	555.5	-	-	310.5	275.5	188.7	188.5
n	15	15	15	-	14	-	-	15	15	15	15
DAMPA											
平均値	118.5	18,370	10,580	-	7,073	-	-	971.9	411.5	187.7	107.2
SD	NC	46,560	29,420	-	21,104	-	-	2,620.6	1,125.5	460.1	253.9
n	1	15	15	-	14	-	-	15	15	15	15
LV											
平均値	-	-	5,143	9,301	6,663	13,642	18,652	23,244	-	-	-
SD	-	-	5,524.9	6,800.2	5,547.7	13,761.8	18,798.8	31,918.6	-	-	-
n	-	-	15	14	14	15	15	15	-	-	-
5-MeTHF											
平均値	-	-	267	293	195	520	703	652	-	-	-
SD	-	-	581.9	542.7	323.7	540.4	604.0	650.1	-	-	-
n	-	-	12	13	13	15	15	15	-	-	-

- ：該当せず

＊：全ての被験者で定量下限値未満であった.

引用元：5.3.5.2-1（CPG2-PII 試験_CSR_Ver.2）の表 11.4-17，5.3.5.2-1（CPG2-PII 試験_CSR16.1.10_Ver.2）最終報告書（PBC852-009）の Table 1-2，Table 1-3 及び Table 1-4 並びに 5.3.5.2-1（CPG2-PII 試験_薬物動態解析報告書_最終報告書変更書（PBC852-009））の Table 1-1（変更後）から一部改変

表 2.7.2.2.2.2.1-2　グルカルピダーゼ，MTX，DAMPA，LV 及び 5-MeTHF の薬物動態パラメータ（薬物動態解析対象集団）（CPG2-PII 試験）

対象物質	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (min)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{0-24} (μg·h/mL)	AUC_{0-tz} (μg·h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (μg·h/mL)	CL_{tot} (mL/min)	$V_{d,ss}$ (mL)
グルカルピダーゼ								
平均値	2,318.57	21	5.61	15.05	-	15.88	4.95	1,760
SD	616.84	3	0.76	3.07	-	3.40	2.19	870
Q1	1,997.16	20	5.21	11.88	-	12.12	3.56	1,280
中央値	2,181.58	20	5.68	15.19	-	16.20	5.11	1,720
Q3	2,523.05	21	6.05	17.22	-	18.64	6.41	2,490
n	15	15	15	15	-	15	15	15
MTX								
平均値	27,200	2,787	44.82	197.2	638.7	910.5	1,928	7,263,000
SD	54,790	1,247	29.94	329.9	1,394.2	1,668.8	3,943	18,995,000
Q1	2,800	1,654	26.27	15.06	92.29	163.4	291.0	950,000
中央値	11,860	2,940	33.78	71.43	266.8	341.6	599.0	1,121,000
Q3	24,620	3,213	53.21	216.9	473.4	522.1	1,428	2,264,000
n	15	15	10	15	15	10	10	10
DAMPA								
平均値	18,370	2,833	19.39	120.3	533.7	537.4	-	-
SD	46,560	1,236	6.56	271.3	1,580.7	1,588.1	-	-
Q1	1,300	1,680	15.17	3.249	47.37	47.56	-	-
中央値	5,243	2,970	17.89	26.47	109.9	112.8	-	-
Q3	13,450	3,235	20.93	134.5	241.8	241.9	-	-
n	15	15	15	15	15	15	-	-
LV								
平均値	27,480	972	65.74	325.6	241.9	1,054	-	-
SD	34,040	403	39.63	167.6	192.9	323	-	-
Q1	5,903	959	37.72	132.4	80.85	825.4	-	-
中央値	7,880	1,136	65.74	412.7	130.2	1,054	-	-
Q3	47,800	1,140	93.76	431.8	412.7	1,282	-	-
n	15	15	2	3	15	2	-	-
5-MeTHF								
平均値	815.0	1,001	37.42	12.73	8.114	38.39	-	-
SD	760.9	406	26.43	12.43	8.600	16.89	-	-
Q1	260.3	1,071	18.73	4.872	2.082	26.44	-	-
中央値	389.3	1,137	37.42	6.266	4.666	38.39	-	-
Q3	1,454	1,140	56.11	27.06	13.85	50.33	-	-
n	15	15	2	3	15	2	-	-

- ：該当せず
引用元：5.3.5.2-1（CPG2-PII 試験_CSR_Ver.2）の表 11.4-5，表 11.4-8，表 11.4-11，表 11.4-12，表 11.4-18 から一部改変

2.7.2.2.2.2.2　OP-07 投与後の MTX 及び DAMPA の血漿中濃度推移

1 回目 OP-07 投与後の MTX 及び DAMPA の血漿中濃度推移を表 2.7.2.2.2.2.1-1 に，薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.2.2.1-2 に示した．

1 回目の OP-07 投与直前の血漿中 MTX 濃度（平均値±標準偏差）は 27,200±54,790 ng/mL であった．OP-07 投与後，血漿中 MTX 濃度は急速に低下し，OP-07 投与開始後 20 分に 261.0±586.1 ng/mL，投与開始後 2 時間に 220.8±530.1 ng/mL，投与開始後 5～8 時間に 216.8±555.5 ng/mL となった．t_{max}（中央値）は 2,940 分（49 時間）で，AUC_{0-24}，投与 0 時間から最終定量可能時間までの血中濃度―時間曲線下面積（AUC_{0-tz}）及び $AUC_{0-\infty}$（平均値）は，それぞれ 197.2 μg· h/mL，638.7 μg· h/mL，910.5 μg· h/mL であった．$t_{1/2}$ の平均値は 44.82 時間，

中央値は 33.78 時間であった.

1 回目 OP-07 投与直前の血漿中 DAMPA 濃度は 1 例で 118.5 ng/mL であり，その他の被験者では，液体クロマトグラフィーの保持時間が異なっていたため，要約統計量の計算から除外した．OP-07 投与後，血漿中 DAMPA 濃度は顕著に上昇し，OP-07 投与開始後 20 分の血漿中 DAMPA 濃度（平均値±標準偏差）は 18,370±46,560 ng/mL であった．その後 OP-07 投与 5 日目にかけて徐々に低下し，OP-07 投与 5 日目の血漿中 DAMPA 濃度は 107.2±253.9 ng/mL であった.

OP-07 投与開始後の DAMPA の C_{max}（平均値）は 18,370 ng/mL，t_{max}（中央値）は 2,970 分で，AUC_{0-24}，AUC_{0-tz} 及び $AUC_{0-\infty}$（平均値）は，それぞれ 120.3 μg· h/mL，533.7 μg· h/mL，537.4 μg· h/mL であった．$t_{1/2}$ の平均値は 19.39 時間，中央値は 17.89 時間であった.

2.7.2.2.2.2.3　OP-07 投与後の LV 及び 5-MeTHF の血漿中濃度推移

1 回目 OP-07 投与後の LV 及び 5-MeTHF の血漿中濃度推移を表 2.7.2.2.2.2.1-1 に，薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.2.2.1-2 に示した.

OP-07 投与後の LV 及び 5-MeTHF の血漿中濃度は LV の投与に伴って上昇し，LV 及び 5-MeTHF の曝露量は一定以上で推移した.

2.7.2.2.2.2.4　結論

血漿中グルカルピダーゼ濃度（平均値±標準偏差）は OP-07 投与開始後 20 分に最高値（2,318.57±616.84 ng/mL）に達し，以降，時間経過と共に徐々に低下し，OP-07 投与 48 時間後には 4.27±3.33 ng/mL となった．薬物動態パラメータの解析では，グルカルピダーゼの C_{max}（平均値±標準偏差）は 2,318.57±616.84 ng/mL，t_{max} の中央値（第 1 四分位（Q1），第 3 四分位（Q3））は 20（20，21）分で，AUC_{0-24} 及び $AUC_{0-\infty}$（平均値±標準偏差）は，それぞれ 15.05±3.07 μg·h/mL，15.88±3.40 μg·h/mL であった．また，グルカルピダーゼの $t_{1/2}$ の平均値±標準偏差は 5.61±0.76 時間，中央値（Q1，Q3）は 5.68（5.21，6.05）時間であった.

2.7.2.2.3　メトトレキサートの毒性に対する OP-07 の特例的使用を評価する試験（PR001-CLN-006 試験）

2.7.2.2.3.1　試験方法

本試験は，HD-MTX 療法による腎毒性及び MTX 排泄遅延が認められる被験者を対象に実施したコンパッショネートユース，非盲検，有効性・安全性試験であり，MTX（施設測定及び中央測定），DAMPA（中央測定）の血漿中濃度及び薬物動態パラメータを解析した．なお，被験者は OP-07 投与開始前から LV の静脈内投与を継続的に受けていることとした.

最後の LV 投与から 2 時間以上経過していることを確認し，OP-07 50 U/kg を 5 分間かけて静脈内投与した．OP-07 投与直前の血漿中 MTX 濃度が 100 μmol/L 以下の被験者には，OP-07 を 1 回投与した．血漿中 MTX 濃度が 100 μmol/L を超える被験者には，OP-07 初回投与の 48 時間後に 2 回目の OP-07 投与を行ってもよいこととした.

OP-07 投与開始前の LV の投与量及び投与方法は，1,000 mg/m² を 6 時間ごと又は試験実施国（米国，カナダ及びオーストラリア）における標準的な投与量及び投与方法のいずれかであることとした．OP-07 投与後は，LV 250 mg/m² を 6 時間ごとに合計 48 時間まで静脈内投与することとした．その後は，施設内で測定した血漿中 MTX 濃度に基づき，LV の投与量を調節可とした．

濃度測定用の血漿中 MTX 及び DAMPA 濃度の検体は，1 回目の OP-07 投与開始前，投与終了後 15，30 分，1，2，4，24，48，72，96，120，144，168，192，360 及び 528 時間に採取可能な被験者から採取した．また，薬物動態パラメータ算出には，MTX（中央測定）は投与開始前，投与終了後 15，30 分，1 及び 2 時間，MTX（施設測定）及び DAMPA は 2 回目 OP-07 投与前の全てのデータを使用した．

2.7.2.2.3.2 試験結果

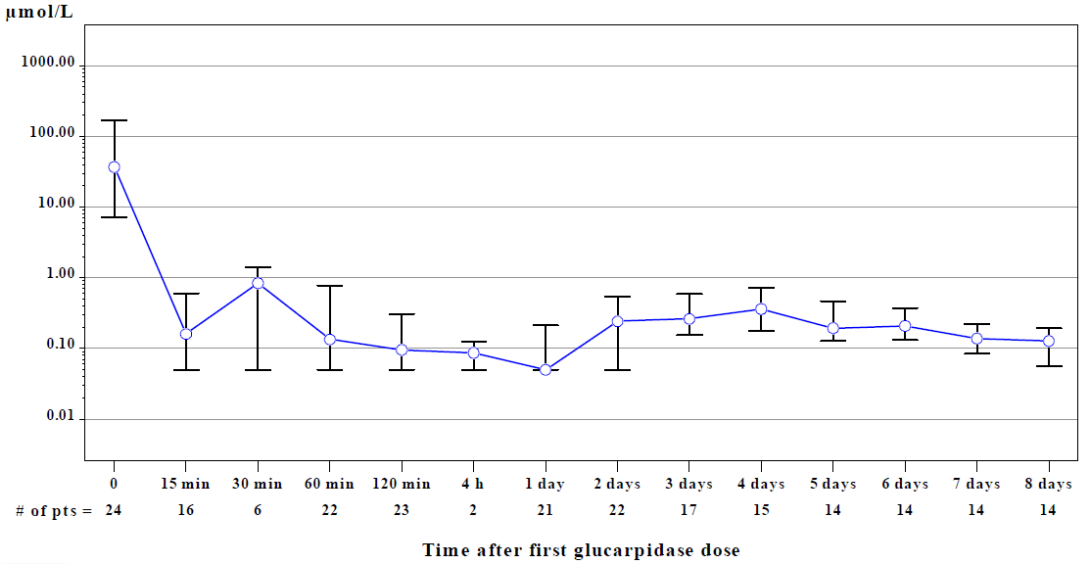
計 184 例が本試験に組み入れられ，OP-07 初回投与後の血漿中濃度データを有していた中央測定 MTX 高速液体クロマトグラフィー（HPLC）解析集団の 27 例及び施設測定 MTX 解析集団の 134 例を対象として評価した．

2.7.2.2.3.2.1 MTX の濃度推移

中央測定 MTX HPLC 解析集団における血漿中 MTX 濃度（中央値，四分位数）の経時的推移を図 2.7.2.2.3.2.1-1 に示した．OP-07 初回投与終了後 15 分の中央値は 0.16 µmol/L であり，投与終了後 15 分以降（投与終了後 30 分から 8 日まで）の全ての評価時点において，血漿中 MTX 濃度の中央値は 1 µmol/L 未満であった．

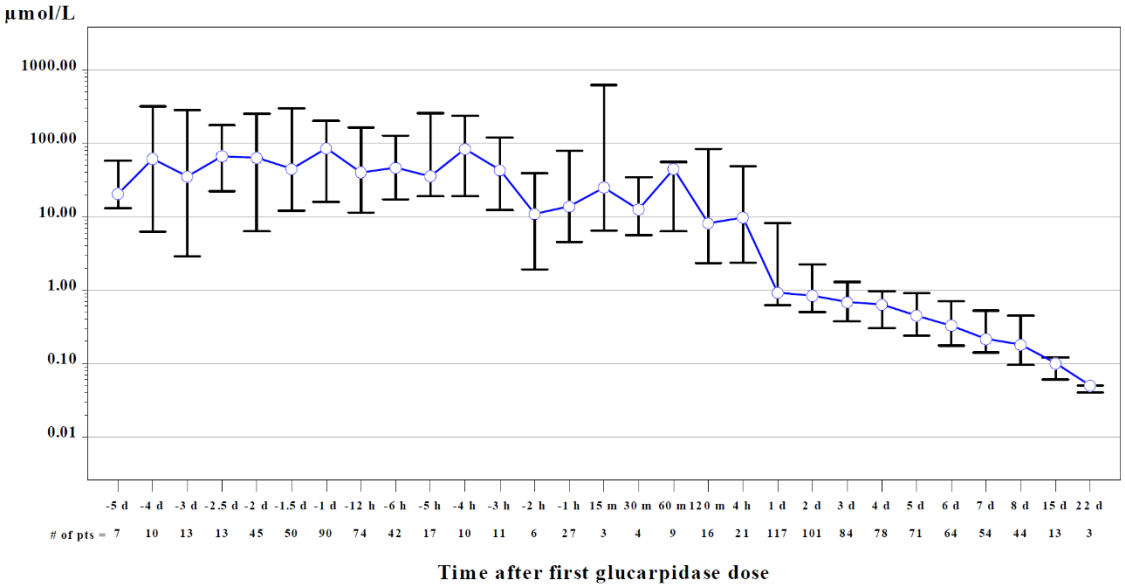
施設測定 MTX 解析集団における血漿中 MTX 濃度（中央値，四分位数）の経時的推移を図 2.7.2.2.3.2.1-2 に示した．OP-07 初回投与終了後 15 分の中央値は 25.00 µmol/L であり，投与終了後 1 日及び 2 日の血漿中 MTX 濃度（施設測定）の中央値は 1 µmol/L 未満であった．また，初回投与後 22 日までの全ての評価時点においても，血漿中 MTX 濃度（施設測定）の中央値は 1 µmol/L 未満に維持された．なお，OP-07 初回投与終了後 15 分から 4 時間までの時点で評価した被験者数はわずか 3～21 例であり，被験者数が少なかったことが血漿中 MTX 濃度のより大きなばらつきの原因となった可能性が考えられた．さらに，これら早期の評価時点での MTX 濃度測定は DAMPA による干渉を受けることを考慮する必要がある．

図 2.7.2.2.3.2.1-1　血漿中 MTX 濃度（中央値，四分位数）の経時的推移
（中央測定 MTX HPLC 解析集団）（PR001-CLN-006 試験）



引用元：5.3.5.2-2（pr001-cln-006）の Fig 3

図 2.7.2.2.3.2.1-2　血漿中 MTX 濃度（中央値，四分位数）の経時的推移
（施設測定 MTX 解析集団）（PR001-CLN-006 試験）



引用元：5.3.5.2-2（pr001-cln-006）の Fig 14.7.4.2

2.7.2.2.3.2.2　MTX 及び DAMPA の薬物動態

中央測定による MTX 及び DAMPA の薬物動態パラメータ，並びに施設測定による MTX の薬物動態パラメータの要約を表 2.7.2.2.3.2.2-1 に示した.

中央測定による MTX の OP-07 初回投与前の血漿中濃度（2.7.2.2.3 では以下，C_0）の平均値は DAMPA の C_0 の平均値と比較して高く，通常の生理的条件下において DAMPA が MTX

の微量代謝物であることと一致していた.

MTX の C_0 及び OP-07 投与後最初に測定された血漿中濃度（以下，C_{first}）から，中央測定及び施設測定共に初回投与終了後約 15 分以内に血漿中 MTX 濃度の平均値は大きく低下した（中央測定：99.35%，施設測定：73.18%）．また，中央測定に関しては，血漿中 MTX 濃度の低下に伴い血漿中 DAMPA 濃度の平均値が大きく上昇した（99.81%）.

施設測定による MTX の投与 0 時間から 2 時間までの血中濃度―時間曲線下面積（AUC_{0-2}）の平均値は，中央測定による MTX の AUC_{0-2} の平均値と比較して 8.56 倍大きかった．この結果は，施設内における MTX 濃度測定が DAMPA による干渉を受けることと一致していた.

中央測定による MTX の OP-07 初回投与後の $t_{1/2}$ は算出できなかったが，施設測定の OP-07 初回投与後の $t_{1/2}$ の平均値（51.980 時間）は，MTX 投与終了から OP-07 初回投与までの期間の $t_{1/2}$（$t_{1/2pre}$）の平均値（11.240 時間）と比較して 4.62 倍長く，高用量で投与したときの MTX の通常の $t_{1/2}$（8～15 時間，米国における MTX の添付文書）と比較して 3.47～6.50 倍長かった．また，中央測定による DAMPA の OP-07 初回投与後の $t_{1/2}$ の平均値（10.270 時間）と比較して 5.06 倍長かった．この違いは，施設内での MTX 濃度測定に対する DAMPA による干渉などが原因と考えられた.

表 2.7.2.2.3.2.2-1 中央測定による MTX 及び DAMPA の薬物動態パラメータ，並びに施設測定による MTX の薬物動態パラメータの要約（PR001-CLN-006 試験）

薬物動態パラメータ	統計量	中央測定		施設測定
		MTX*	DAMPA	MTX
AUC_{0-2}（μmol·h/L）	n	15	24	4
	平均値（SD）	36.210 (50.01)	181.670 (347.84)	309.910 (565.58)
	%CV	138.12	191.47	182.50
C_2（μmol/L）	n	16	22	16
	平均値（SD）	0.900 (1.51)	88.000 (171.71)	81.830 (135.10)
	%CV	167.94	195.12	165.09
C_{max}（μmol/L）	n	19	24	107
	平均値（SD）	1.410 (1.86)	119.840 (198.87)	46.900 (147.90)
	%CV	132.08	165.95	315.32
t_{max}（h）	n	19	24	107
	平均値（SD）	0.950 (0.73)	0.580 (0.48)	17.480 (27.37)
	%CV	77.49	83.58	156.61
C_0（μmol/L）	n	19	24	107
	平均値（SD）	176.300 (240.55)	0.210 (0.58)	156.690 (321.00)
	%CV	136.45	273.17	204.86
C_{first}（μmol/L）	n	19	24	107
	平均値（SD）	1.140 (1.44)	108.300 (177.18)	42.030 (139.54)
	%CV	126.53	163.60	332.03
t_{first}（h）	n	19	24	107
	平均値（SD）	0.540 (0.52)	0.400 (0.23)	9.370 (7.89)
	%CV	96.86	57.14	84.20
AUC_{0-tz}（μmol·h/L）	n	NC	24	107
	平均値（SD）	NC	2,076.450 (3,870.21)	1,331.380 (2,687.17)
	%CV	NC	186.39	201.83
C_{last}（μmol/L）	n	NC	24	107
	平均値（SD）	NC	8.490 (19.63)	19.340 (117.46)
	%CV	NC	231.34	607.36
t_z（h）	n	NC	24	107
	平均値（SD）	NC	42.510 (38.54)	188.890 (183.99)
	%CV	NC	90.66	97.41
$t_{1/2}$（h）	n	NC	16	65
	平均値（SD）	NC	10.270 (5.40)	51.980 (36.01)
	%CV	NC	52.57	69.28
$AUC_{0-\infty}$（μmol·h/L）	n	NC	16	65
	平均値（SD）	NC	3,376.380 (4,877.35)	954.800 (2,192.26)
	%CV	NC	144.46	229.60
$t_{1/2pre}$（h）	n	NC	NC	33
	平均値（SD）	NC	NC	11.240 (7.05)
	%CV	NC	NC	62.75

C_2 = OP-07 初回投与開始から 2 時間後の血漿中濃度
C_{last} = OP-07 初回投与後，最後に測定された血漿中濃度，CV = 変動係数
＊：OP-07 初回投与 2 時間後までのデータに基づく薬物動態パラメータ．なお，大多数が定量下限未満であったため，一部の薬物動態パラメータは算出しなかった．
引用元：5.3.5.2-2（pr001-cln-006）の Table 14.13.1 から一部改変

2.7.2.2.3.2.3 MTX の投与量，ベースラインの血漿中 MTX 濃度及び CrCl で標準化した薬物動態パラメータ

表 2.7.2.2.3.2.2-1 に示されているように，MTX の薬物動態パラメータのばらつきは用いた測定法に関わらず大きく，DAMPA の薬物動態パラメータのばらつきも大きかった．そのため，中央測定による MTX 及び DAMPA の薬物動態パラメータ，並びに施設測定による

MTX の薬物動態パラメータについて，MTX の投与量，C_0 及びベースラインのクレアチニンクリアランス（CrCl）で標準化を行い，結果をそれぞれ表 2.7.2.2.3.2.3-1，表 2.7.2.2.3.2.3-2，表 2.7.2.2.3.2.3-3 に示した．

施設測定による MTX の薬物動態パラメータのばらつきには，ある程度の C_0 の寄与が認められたが，中央測定による MTX の薬物動態パラメータにおいては，$AUC_{0\text{-}2}$ のばらつきに対してのみ寄与が認められた．なお，MTX の投与量及びベースラインの CrCl は，中央測定による MTX 及び DAMPA の薬物動態パラメータ，並びに施設測定による MTX の薬物動態パラメータのいずれのばらつきにもほとんど寄与していなかった．なお，薬物動態パラメータのばらつきは，MTX 投与後の MTX 及び DAMPA の血漿中濃度測定用検体の採取時間が統一化されていなかったことにも起因すると考えられた．

表 2.7.2.2.3.2.3-1　MTX の投与量で標準化した薬物動態パラメータの要約
（PR001-CLN-006 試験）

薬物動態パラメータ	統計量	中央測定		施設測定
		MTX*1	DAMPA	MTX
$AUC_{0\text{-}2}/D_{MTX}$ ([μmol·h/L]/[g/m^2])	n	15	24	4
	平均値（SD）	5.380 (9.24)	37.270 (119.88)	146.440 (288.15)
	%CV	171.77	321.68	196.76
	CV の変化率*2	24.36	68.01	7.81
C_2/D_{MTX} ([μmol/L]/[g/m^2])	n	16	22	16
	平均値（SD）	0.200 (0.57)	19.100 (62.22)	13.710 (32.61)
	%CV	277.59	325.67	237.79
	CV の変化率*2	65.29	66.91	44.04
C_{max}/D_{MTX} ([μmol/L]/[g/m^2])	n	19	24	107
	平均値（SD）	0.260 (0.53)	21.660 (59.78)	9.260 (32.96)
	%CV	205.51	275.96	355.89
	CV の変化率*2	55.60	66.29	12.87
C_0/D_{MTX} ([μmol/L]/[g/m^2])	n	19	NA	107
	平均値（SD）	27.870 (57.15)	NA	22.100 (42.85)
	%CV	205.05	NA	193.87
	CV の変化率*2	50.27	NA	-5.36
C_{last}/D_{MTX} ([μmol/L]/[g/m^2])	n	NA	24	107
	平均値（SD）	NA	0.800 (1.81)	2.010 (9.62)
	%CV	NA	227.36	478.43
	CV の変化率*2	NA	-1.72	-21.23

C_2 = OP-07 初回投与開始から 2 時間後の血漿中濃度
C_{last} = OP-07 初回投与後，最後に測定された血漿中濃度
＊1：OP-07 初回投与 2 時間後までのデータに基づく薬物動態パラメータ
＊2：CV の変化率は以下の式を用いて算出した．
CV =（標準化されたパラメータの CV－標準化されていないパラメータの CV）
/（標準化されていないパラメータの CV）×100
引用元：5.3.5.2-2（pr001-cln-006）の Table 14.13.1 から一部改変

表 2.7.2.2.3.2.3-2　ベースラインの血漿中 MTX 濃度で標準化した薬物動態パラメータの要約（PR001-CLN-006 試験）

分析対象物質 薬物動態パラメータ	中央測定		施設測定	
	n	平均値±SD （CV の変化率*1）	n	平均値±SD （CV の変化率*1）
MTX*2				
$AUC_{0\text{-}2}/C_0$	14	0.170 ± 0.05 (-77.27)	4	0.740 ± 0.77 (-42.58)
C_2/C_0	16	0.010 ± 0.02 (15.26)	16	0.290 ± 0.31 (-34.48)
C_{max}/C_0	18	0.020 ± 0.03 (46.39)	107	0.520 ± 1.27 (-22.94)
C_{last}/C_0	NA	NA	107	0.060 ± 0.12 (-66.69)

C_2 = OP-07 初回投与開始から 2 時間後の血漿中濃度
C_{last} = OP-07 初回投与後，最後に測定された血漿中濃度
＊1：CV の変化率は以下の式を用いて算出した．
CV =（標準化されたパラメータの CV－標準化されていないパラメータの CV）
/（標準化されていないパラメータの CV）×100
＊2：OP-07 初回投与 2 時間後までのデータに基づく薬物動態パラメータ
引用元：5.3.5.2-2（pr001-cln-006）の Table 14.13.1 から一部改変

表 2.7.2.2.3.2.3-3　ベースラインのクレアチニンクリアランスで標準化した薬物動態パラメータの要約（PR001-CLN-006 試験）

薬物動態パラメータ	統計量	中央測定		施設測定
		MTX*1	DAMPA	MTX
$AUC_{0\text{-}2}/CrCl_{pre}$ （[μmol·h/L]/[mL/min]）	n	15	24	4
	平均値（SD）	1.520 (2.98)	7.080 (15.15)	9.890 (18.54)
	%CV	195.99	213.85	187.51
	CV の変化率*2	41.90	11.69	2.75
$C_2/CrCl_{pre}$ （[μmol/L]/[mL/min]）	n	16	22	16
	平均値（SD）	0.030 (0.05)	3.380 (7.08)	2.930 (4.72)
	%CV	162.87	209.65	161.12
	CV の変化率*2	-3.02	7.45	-2.40
$C_{max}/CrCl_{pre}$ （[μmol/L]/[mL/min]）	n	19	24	107
	平均値（SD）	0.050 (0.06)	4.800 (9.87)	1.920 (7.05)
	%CV	135.42	205.51	367.00
	CV の変化率*2	2.53	23.84	16.39
$C_0/CrCl_{pre}$ （[μmol/L]/[mL/min]）	n	19	NA	107
	平均値（SD）	7.350 (14.00)	NA	6.100 (14.29)
	%CV	190.32	NA	234.34
	CV の変化率*2	39.48	NA	14.39
$C_{last}/CrCl_{pre}$ （[μmol/L]/[mL/min]）	n	NA	24	107
	平均値（SD）	NA	0.360 (0.87)	0.970 (6.36)
	%CV	NA	240.83	655.85
	CV の変化率*2	NA	4.10	7.98

C_2 = OP-07 初回投与開始から 2 時間後の血漿中濃度
C_{last} = OP-07 初回投与後，最後に測定された血漿中濃度
＊1：OP-07 初回投与 2 時間後までのデータに基づく薬物動態パラメータ
＊2：CV の変化率は以下の式を用いて算出した．
CV =（標準化されたパラメータの CV－標準化されていないパラメータの CV）
/（標準化されていないパラメータの CV）×100
引用元：5.3.5.2-2（pr001-cln-006）の Table 14.13.1 から一部改変

2.7.2.2.3.2.4　結論

中央測定においては，血漿中 MTX 濃度は OP-07 初回投与後約 15 分以内に大きく低下し，それに伴い血漿中 DAMPA 濃度が大きく上昇した．最終的に，中央測定及び施設測定共に

中央値は 1 μmol/L 未満に維持された．幾つかの施設測定による MTX の薬物動態パラメータに関しては，施設内での MTX 濃度測定に対する DAMPA による干渉の影響が示唆された．薬物動態パラメータのばらつきに関しては，MTX の薬物動態パラメータは用いた測定法に関わらず大きく，DAMPA も同様に大きかった．なお，施設測定による MTX の薬物動態パラメータのばらつきには，MTX の C_0 の寄与が認められた．しかしながら，MTX の投与量及びベースラインの CrCl は，中央測定による MTX 及び DAMPA の薬物動態パラメータ，並びに施設測定による MTX の薬物動態パラメータのいずれのばらつきにも寄与していなかった．

2.7.2.2.4 大量メトトレキサート療法時にメトトレキサート排泄遅延を生じた日本人患者を対象とした試験（OP-07-001 試験）

2.7.2.2.4.1 試験方法

本試験は，HD-MTX 療法時に MTX 排泄遅延を生じた日本人患者を対象に実施した第 II 相，非盲検，有効性・安全性試験であり，グルカルピダーゼの薬物動態，並びに MTX 及び DAMPA の血漿中濃度を評価した．

治験責任医師又は治験分担医師は，支持療法の LV 投与後 2 時間以上経過していることを確認し，OP-07 50 U/kg を 5 分間かけて静脈内投与した．

OP-07 投与開始前，投与開始後 20 分，2，24 及び 48 時間後に血液検体を採取し，血漿中グルカルピダーゼ濃度を測定した．また，OP-07 投与開始前，投与開始後 20 分，2，8，24，48，72 及び 96 時間に血液検体を採取し，血漿中 MTX 濃度及び血漿中 DAMPA 濃度を測定した．

2.7.2.2.4.2 試験結果

4 例が本試験に組み入れられ，全例が薬物動態解析対象集団に採用された．

2.7.2.2.4.2.1 グルカルピダーゼの薬物動態

薬物動態解析対象集団 4 例について，採血時点ごとの血漿中グルカルピダーゼ濃度を表 2.7.2.2.4.2.1-1 及び図 2.7.2.2.4.2.1-1 に示した．また，血漿中グルカルピダーゼ濃度の薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.4.2.1-2 に示した．

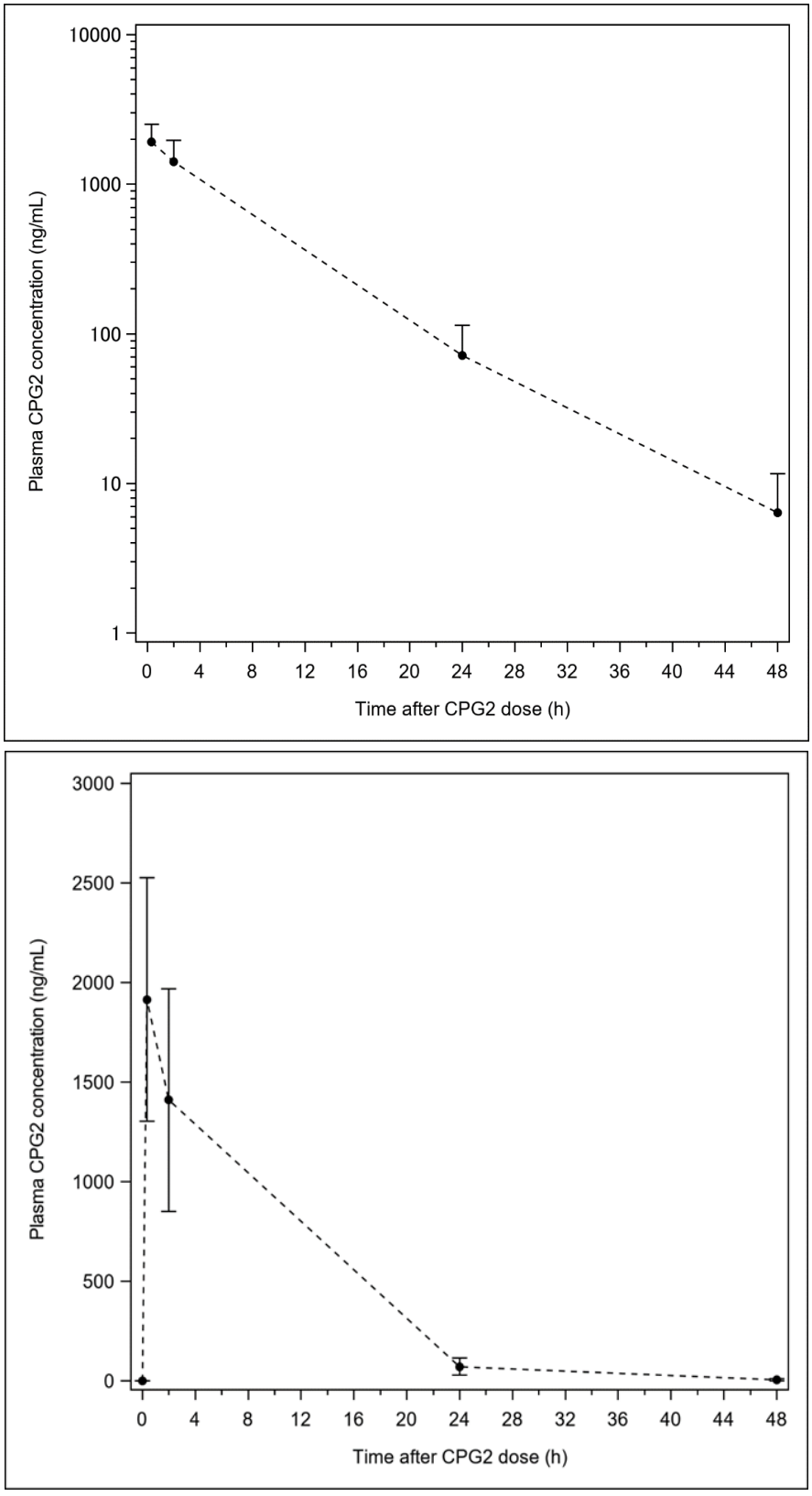
薬物動態解析対象集団 4 例における OP-07 投与後の血漿中グルカルピダーゼ濃度は投与開始後 20 分に C_{max}（1,479.89～2,789.73 ng/mL，平均値±標準偏差：1,914.92±610.06 ng/mL）に達し，以降，時間経過と共に徐々に低下し，投与開始後 48 時間には 1.37～13.22 ng/mL（平均値±標準偏差：6.368±5.259 ng/mL）であった．$AUC_{0\text{-}24}$ は，8.84～20.48 μg·h/mL（平均値±標準偏差：12.87±5.41 μg·h/mL）であり，$AUC_{0\text{-}\infty}$ は，9.23～21.78 μg·h/mL（平均値±標準偏差：13.56±5.88 μg·h/mL）であった．$t_{1/2}$ は 4.77～6.26 時間（平均値±標準偏差：5.72±0.70 時間）であった．

表 2.7.2.2.4.2.1-1　採血時点ごとの血漿中グルカルピダーゼ濃度の要約（薬物動態解析対象集団）（OP-07-001 試験）

項目	被験者識別コード	OP-07 投与直前（0 分）	投与開始後 20 分	投与開始後 2 時間	投与開始後 24 時間	投与開始後 48 時間
血漿中グルカルピダーゼ濃度 (ng/mL)	OP07-01-01	BLQ	2,789.73	2,215.74	121.88	13.22
	OP07-01-02	BLQ	1,479.89	1,112.50	32.84	1.37
	OP07-02-01	BLQ	1,514.37	970.55	40.76	3.28
	OP07-02-02	BLQ	1,875.67	1,342.45	92.59	7.60
	被験者数	-	4	4	4	4
	平均値	-	1,914.915	1,410.310	72.018	6.368
	標準偏差	-	610.061	558.391	42.510	5.259
	最大値	-	2,789.73	2,215.74	121.88	13.22
	中央値	-	1,695.020	1,227.475	66.675	5.440
	最小値	-	1,479.89	970.55	32.84	1.37

BLQ: 定量下限値未満
引用元：5.3.5.2-4（OP-07-001 試験_CSR）の表 11.4-5

図 2.7.2.2.4.2.1-1　平均血漿中グルカルピダーゼ濃度の推移図（薬物動態解析対象集団）（OP-07-001 試験）



引用元：5.3.5.2-4（OP-07-001 試験_CSR）の図 14.2-6

表 2.7.2.2.4.2.1-2　血漿中グルカルピダーゼ濃度の薬物動態パラメーター一覧の要約（薬物動態解析対象集団）（OP-07-001 試験）

項目 被験者識別コード	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (min)	AUC_{0-24} (μg·h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (μg·h/mL)	V_z (mL)	$V_{d,ss}$ (mL)	CL_{tot} (mL/mim)	$t_{1/2}$ (h)
OP07-01-01	2,789.73	20	20.48	21.78	542	497	1.00	6.26
OP07-01-02	1,479.89	20	9.17	9.42	4,560	4,300	11.04	4.77
OP07-02-01	1,514.37	24	8.84	9.23	1,150	1,020	2.36	5.61
OP07-02-02	1,875.67	22	12.99	13.84	3,590	3,340	6.66	6.22
被験者数	4	4	4	4	4	4	4	4
平均値	1,914.92	22	12.87	13.56	2,460	2,290	5.27	5.72
標準偏差	610.06	2	5.41	5.88	1,920	1,820	4.54	0.70
最大値	2,789.73	24	20.48	21.78	4,560	4,300	11.04	6.26
中央値	1,695.02	21	11.08	11.63	2,370	2,180	4.51	5.91
最小値	1,479.89	20	8.84	9.23	542	497	1.00	4.77

引用元：5.3.5.2-4（OP-07-001 試験_CSR）の表 11.4-6 から一部改変

2.7.2.2.4.2.2　OP-07 投与後の MTX 及び DAMPA の血漿中濃度推移

全ての採血時点の MTX 及び DAMPA の血中又は血漿中濃度を表 2.7.2.2.4.2.2-1 に示した．

有効性解析対象集団 4 例共に OP-07 投与後，血漿中 MTX 濃度（中央測定）は急速に低下した．一方，血漿中 DAMPA 濃度は血漿中 MTX 濃度（中央測定）の低下に伴い急激に増加し（平均の最大濃度到達時間は 20 分），その後緩やかに血漿中から消失した．施設測定の血中 MTX 濃度は，中央測定の結果と比較して，緩やかに血中から消失した．また，4 例における OP-07 投与後の血漿中 MTX 濃度（中央測定）の減少の程度は，血漿中 DAMPA 濃度の増加の程度と類似していた．

表 2.7.2.2.4.2.2-1　採血時点ごとの血漿中 DAMPA 濃度，施設測定及び中央測定による血中 MTX 濃度の被験者データ（有効性解析対象集団）（OP-07-001 試験）

項目	被験者識別コード	OP-07 投与直前（0 分）	投与開始後 20 分	投与開始後 2 時間	投与開始後 8 時間	投与開始後 24 時間	投与開始後 48 時間	投与開始後 72 時間	投与開始後 96 時間
DAMPA 濃度 (μmol/L)	OP07-01-01	< 0.001537	0.7571	0.4912	0.2795	0.1127	0.05398	0.02172	0.008966
	OP07-01-02	0.05874	2.041	1.443	0.8450	0.4334	0.3421	0.09338	0.05195
	OP07-02-01	< 0.001537	0.7223	0.5988	0.2923	0.1326	0.02575	0.004728	0.002180
	OP07-02-02	< 0.001537	1.093	0.4377	0.2311	0.07070	0.01680	0.004396	0.001644
MTX 濃度（施設測定） (μmol/L)	OP07-01-01	NA	NA	NA	NA	0.12	0.08	0.11	0.15
	OP07-01-02	NA	NA	NA	NA	0.61	0.48	0.48	0.42
	OP07-02-01	NA	NA	NA	NA	0.14	0.09	0.07	0.08
	OP07-02-02	NA	NA	NA	NA	0.13	0.05	0.07	0.06
MTX 濃度（中央測定） (μmol/L)	OP07-01-01	1.483	0.01870	0.02053	0.01094	0.02306	0.05552	0.1131	0.1605
	OP07-01-02	2.746	0.02181	0.01949	0.01904	0.03510	0.1058	0.2085	0.2999
	OP07-02-01	1.810	0.02645	0.02185	0.02922	0.07761	0.1032	0.1230	0.1027
	OP07-02-02	2.073	0.02251	0.01554	0.01451	0.03314	0.06326	0.06866	0.06718

引用元：5.3.5.2-4（OP-07-001 試験_CSR）の表 14.2-7

2.7.2.2.4.2.3 結論

薬物動態解析対象集団 4 例の血漿中グルカルピダーゼ濃度は，初回の採血時点である投与開始後 20 分に C_{max}［1,914.915 ng/mL（平均値）］を示し，以降，血漿中から 1 相性に消失した．血漿中からの $t_{1/2}$ の平均値は 5.72 時間，$V_{d,ss}$ の平均値は 2,290 mL 及びクリアランス（CL）の平均値は 5.27 mL/min であった．グルカルピダーゼの $V_{d,ss}$ はほぼ血漿量に近く，CL は血流速度に比較して小さいことから，グルカルピダーゼは低分布容積かつ低クリアランスな薬剤であった．

2.7.2.2.5 腎機能が正常な被験者及び腎機能障害を有する被験者を対象とした試験（PR001-CLN-005 試験）

2.7.2.2.5.1 試験方法

本試験は，腎機能が正常な被験者（算出クレアチニンクリアランスが 80 mL/min を超える）及び重度の腎機能障害（算出クレアチニンクリアランスが 30 mL/min 未満）を有する被験者を対象に実施した第 I 相，非盲検，薬物動態試験であり，腎機能が異なる被験者のグルカルピダーゼの薬物動態を評価した．

全ての被験者に OP-07 50 U/kg を 5 分間かけて単回静脈内投与した．

OP-07 投与開始前，投与開始後 5（投与終了時），15，30 分，1，2，4，6，8，12，18，24，48，72 及び 96 時間に血液検体を採取し，血清中グルカルピダーゼ濃度を測定した．投与開始から 0～2 時間，2～4 時間，4～8 時間，8～24 時間の蓄尿検体を採取し，グルカルピダーゼの尿中排泄量を評価した．

2.7.2.2.5.2 試験結果

本試験に登録された被験者は合計 12 例（腎機能が正常な被験者 8 例，腎機能障害を有する被験者 4 例）であった．全ての被験者が OP-07 50 U/kg の投与を受け，試験を完了した．これら 12 例を対象にグルカルピダーゼの薬物動態を評価した．

2.7.2.2.5.2.1 グルカルピダーゼの薬物動態

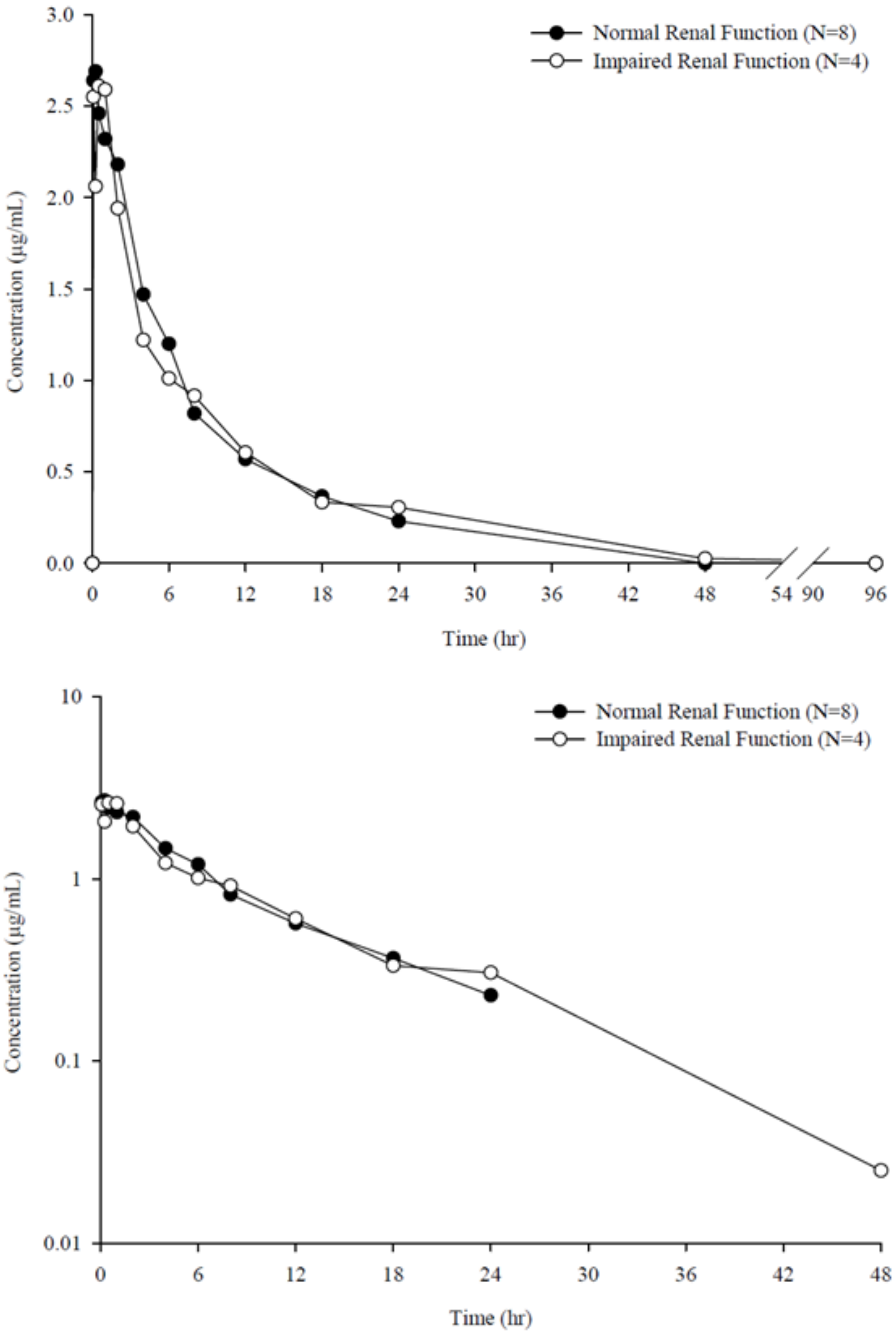
OP-07 50 U/kg を単回静脈内投与したときの血清中グルカルピダーゼ濃度の推移を図 2.7.2.2.5.2.1-1 に，グルカルピダーゼの薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.5.2.1-1 に示した．

腎機能障害を有する被験者の C_{max} の平均値は，腎機能が正常な被験者と比較して約 7%低かった．一方，$AUC_{0-\infty}$の平均値は，腎機能が正常な被験者と比較して腎機能障害を有する被験者でわずか（約 5%）に高かった．$t_{1/2}$ の平均値に，腎機能が正常な被験者と腎機能障害を有する被験者との差は認められなかった（腎機能が正常な被験者：9.00 時間，腎機能障害を有する被験者：9.97 時間）．$V_{d,ss}$ は小さく，グルカルピダーゼの分布は血漿中に限定されることが示唆された．グルカルピダーゼの CL（mL/min）は肝血流速度（1,400 mL/min）より低かった．

1 例を除き，尿中にグルカルピダーゼが検出（尿中グルカルピダーゼの定量下限：12 ng/mL）

された被験者は認められなかった.

図 2.7.2.2.5.2.1-1　血清中グルカルピダーゼ濃度の推移（平均値）（ELISA 法）（上：線形目盛，下：片対数目盛）（PR001-CLN-005 試験）



引用元：5.3.3.1-2（pr001-cln-005）の Fig 14.2.1-3，Fig 14.2.1-4

表 2.7.2.2.5.2.1-1 グルカルピダーゼの薬物動態パラメータ（ELISA 法）（PR001-CLN-005 試験）

薬物動態パラメータ*1	腎機能障害を有する被験者（n=4）	腎機能が正常な被験者（n=8）
C_{max} (μg/mL)	2.86 (0.828)	3.08 (0.843)
t_{max} (h) *1	0.550 (0.100, 1.00)	0.250 (0.100, 2.00)
$AUC_{0\text{-}tz}$ (μg·h/mL)	21.5 (10.49)	20.2 (5.22)
$AUC_{0\text{-}\infty}$ (μg·h/mL)	24.5 (9.43)	23.4 (6.85)
$t_{1/2}$ (h)	9.97 (2.061)	9.00 (3.180)
CL (mL/min)	7.68*2 (2.62)	7.51*2 (1.57)
$V_{d,ss}$ (L)	6.14*2 (3.12)	5.01*2 (1.33)

＊1：t_{max} は中央値（最小値，最大値）を示し，その他の薬物パラメータは全て平均値（標準偏差）を示す．
＊2：CL（mL/min/kg）及び $V_{d,ss}$（mL/kg）を各被験者の体重で補正することにより算出．
引用元：5.3.3.1-2（pr001-cln-005）の Table 11.4.1.1-1，Listing 16.2.9-7 から一部改変

2.7.2.2.5.2.2 グルカルピダーゼの薬物動態パラメータの統計学的な比較

グルカルピダーゼの C_{max} 及び AUC を腎機能が正常な被験者と腎機能障害を有する被験者との間で統計学的に比較した結果を表 2.7.2.2.5.2.2-1 に示した．

腎機能障害を有する被験者では，腎機能が正常な被験者と比較して C_{max} は約 7%低く，$AUC_{0\text{-}\infty}$は約 4%高かった．C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}\infty}$平均値の比の 90%信頼区間はいずれも生物学的同等性の基準である 80～125%の範囲外であった．しかしながら，腎機能障害を有する被験者数が限られていたことを考慮して，この結果は注意深く解釈する必要がある．

本試験の結果，グルカルピダーゼの薬物動態に及ぼす腎機能障害の影響はわずかであることが示された．

表 2.7.2.2.5.2.2-1　グルカルピダーゼの C_{max} 及び AUC の腎機能が正常な被験者と腎機能障害を有する被験者との比較（ELISA 法）（PR001-CLN-005 試験）

パラメータ	単位	試験群の平均値*1 （腎機能障害を有する被験者）	対照群の平均値*1 （腎機能が正常な被験者）	平均値の比 （試験群／対照群）*2	平均値の比の 90%信頼区間*3
ln (C_{max})	μg/mL	2.77	2.97	93.1	67.3, 129
ln (AUC_{0-tz})	μg·h/mL	19.8	19.5	102	69.3, 150
ln ($AUC_{0-\infty}$)	μg·h/mL	23.3	22.4	104	71.8, 150

＊1：分散分析（ANOVA）により求めた最小二乗平均値．自然対数変換した薬物動態パラメータから算出した平均値を逆対数変換して算出した（幾何平均値）．
＊2：自然対数変換した薬物動態パラメータの平均値の比を逆対数変換し，百分率として示した．
＊3：自然対数変換した薬物動態パラメータの平均値の比の 90%信頼区間を逆対数変換し，百分率として示した．
引用元：5.3.3.1-2（pr001-cln-005）の Table 11.4.1.2-1 から一部改変

2.7.2.2.5.2.3 結論

グルカルピダーゼの薬物動態パラメータは，腎機能が正常な被験者と腎機能障害を有する被験者でほぼ同程度であったことから，グルカルピダーゼの薬物動態に及ぼす腎機能障害の影響はわずかであることが示された.

グルカルピダーゼの $V_{d,ss}$ は小さく，グルカルピダーゼの分布は血漿内に限定されることが示された.

グルカルピダーゼの CL は肝血流速度より遅かった.

2.7.2.2.6 健康男性被験者を対象としたロイコボリンの薬物動態に及ぼすグルカルピダーゼの影響を評価した薬物相互作用試験（PR001-CLN-010 試験）

2.7.2.2.6.1 試験方法

本試験は，健康男性被験者を対象に実施した二重盲検，プラセボ対照，無作為化，2 期，クロスオーバーにより実施した第 I 相，薬物相互作用試験である．本試験では，LV の活性体の薬物動態に及ぼすグルカルピダーゼの影響を評価した．LV の血漿中濃度は，LV の活性体（LV の L-立体異性体（(6S)-LV））及び不活性体（LV の D-立体異性体（(6R)-LV））を測定し，LV の代謝物は，活性代謝物(6S)-5-メチルテトラヒドロ葉酸（(6) L/S-5-MeTHF）及び不活性代謝物(6R)-5-メチルテトラヒドロ葉酸（(6) D/R-5-MeTHF）を測定した.

本試験における被験薬は OP-07，対照薬はプラセボ（生理食塩水）であった.

OP-07 50 U/kg を単回静脈内投与（時期 1）後にプラセボを単回静脈内投与（時期 2）（以下，投与順 A）又はプラセボを単回静脈内投与（時期 1）後に OP-07 50 U/kg を単回静脈内投与（時期 2）（以下，投与順 B）のいずれかの投与順に，被験者を 1 : 1 の割合で無作為化した．いずれの時期においても，OP-07 又はプラセボの投与から 2，8，14，20 及び 26 時間後に，LV を 150 mg/m^2 の用量で静脈内投与した（6 時間ごとに計 5 回投与）.

時期 1 と時期 2 の間隔は 14 日間以上とした.

時期 1 及び 2 の OP-07 又はプラセボ投与前，投与開始後 10 分，1，2，6，14 及び 26 時間に血液検体を採取し，グルカルピダーゼの血清中濃度を測定した．1 回目及び 5 回目の LV の投与前，投与開始後 3，5，10，15，30，45，60，90，120，180，240 及び 360 分（2 回目の LV 投与前），並びに 2，3 及び 4 回目の LV の投与前及び投与開始後 5 分に血液検体を採取し，(6S)-LV，(6R)-LV，(6) L/S-5-MeTHF 及び(6) D/R-5-MeTHF の血漿中濃度を測定した.

2.7.2.2.6.2 試験結果

計 6 例（投与順 A : 3 例，投与順 B : 3 例）が本試験に組み入れられ，全ての被験者が割り付けられた投与順序に従って治験薬の投与を受けた．これら 6 例を薬物動態解析対象集団とした.

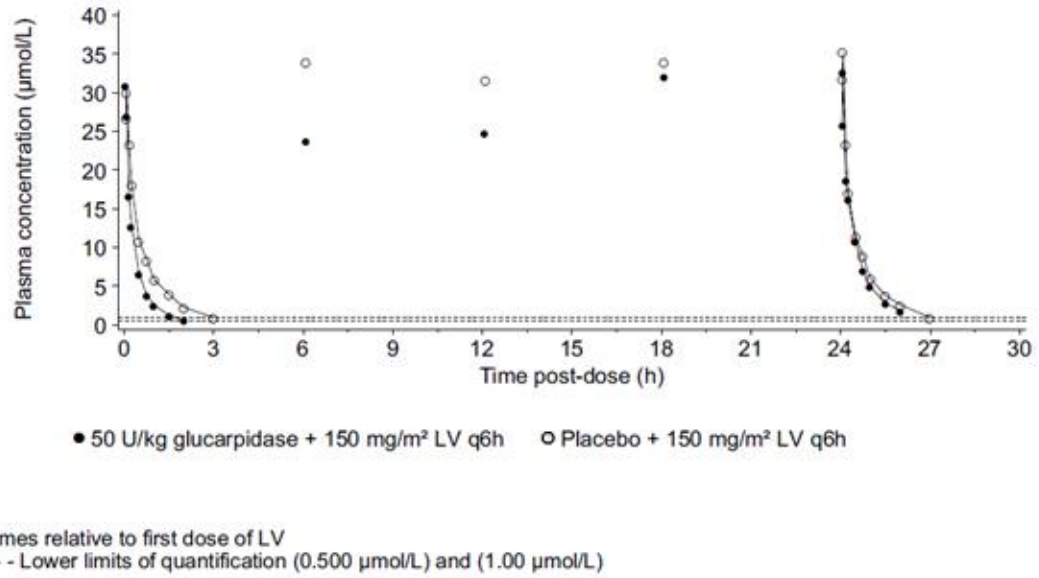
2.7.2.2.6.2.1　(6S)-LV 及び(6R)-LV の血漿中薬物動態

OP-07 又はプラセボ投与 2 時間後から 6 時間ごとに LV を 5 回反復静脈内投与したときの血漿中(6S)-LV 濃度の推移（幾何平均値）を図 2.7.2.2.6.2.1-1 に，1 回目及び 5 回目投与時の(6S)-LV の薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.6.2.1-1 に示した．

プラセボとの併用（グルカルピダーゼ非存在下）では，LV の活性異性体(6S)-LV の薬物動態パラメータ（全身曝露量（1 投与間隔の血中濃度―時間曲線下面積（$AUC_{0-\tau}$），C_{max}），CL，分布容積）は，LV の 1 回目投与時と 5 回目投与時で同程度であった．

OP-07 との併用（グルカルピダーゼ存在下）では，プラセボ併用時と比較して(6S)-LV の $AUC_{0-\tau}$ は顕著に減少し，CL は上昇した．この変化は，LV の 1 回目及び 5 回目の両投与時に認められたが，その程度は 1 回目投与時の方が大きかった．OP-07 併用時に(6S)-LV の全身曝露量は最大約 50%減少した．しかし，グルカルピダーゼの MTX に対する親和性が LV に対する親和性よりも 10 倍高いことを考慮すると，MTX 濃度が高い HD-MTX 排泄遅延患者に実際に OP-07 を投与した場合には，グルカルピダーゼによる(6S)-LV の曝露量減少の程度は本試験で得られた結果より小さくなる可能性がある．

図 2.7.2.2.6.2.1-1　OP-07 又はプラセボ投与 2 時間後から 6 時間ごとに LV 150 mg/m² を 5 回反復静脈内投与したときの血漿中(6S)-LV 濃度の推移（幾何平均値）（線形目盛）（PR001-CLN-010 試験）



引用元：5.3.3.4-1（pr001-cln-010）の Fig 12-1

表 2.7.2.2.6.2.1-1　OP-07 又はプラセボ投与 2 時間後から 6 時間ごとに LV 150 mg/m² を 5 回反復静脈内投与したときの 1 回目及び 5 回目投与時の(6S)-LV の薬物動態パラメータの要約（PR001-CLN-010 試験）

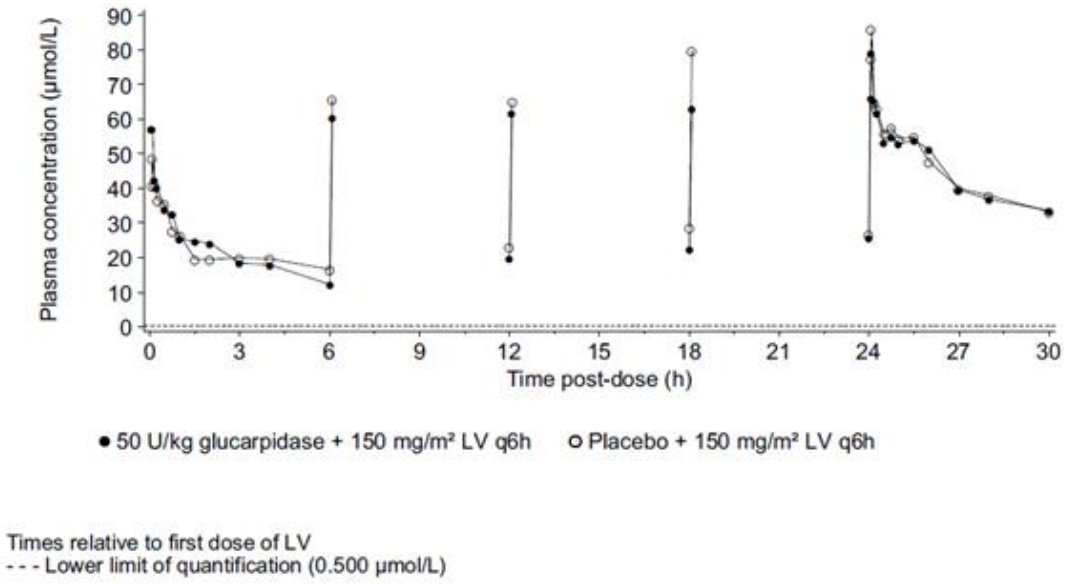
薬物動態パラメータ*	OP-07 50 U/kg + LV 150 mg/m²（6 時間ごと）		プラセボ + LV 150 mg/m²（6 時間ごと）		最小二乗平均値の比（OP-07 併用時／プラセボ併用時）及び 95%信頼区間	
	1 回目 (n=6)	5 回目 (n=6)	1 回目 (n=6)	5 回目 (n=6)	1 回目	5 回目
$AUC_{0-\tau}$（μmol·h/L）	10.9 (30.3)	16.3 (26.4)	20.7 (39.5)	20.9 (36.0)	0.528 (0.431, 0.648)	0.782 (0.638, 0.958)
C_{max}（μmol/L）	31.8 (34.5)	26.5 (50.5)	35.0 (58.5)	38.9 (47.7)	0.909 (0.670, 1.23)	0.679 (0.501, 0.922)
t_{max}（h）	0.0667 (0.0500, 0.0833)	0.0833 (0.0500, 0.183)	0.0583 (0.0500, 0.167)	0.0667 (0.0500, 0.0833)	NA	NA
$t_{1/2}$（h）	0.448 (18.3)	0.634 (5.62)	0.806 (14.0)	0.774 (11.0)	NA	NA
CL（mL/min）	859 (28.4)	577 (26.3)	451 (44.1)	451 (40.0)	NA	NA
V_z（L）	33.3 (17.0)	31.7 (23.0)	31.5 (48.3)	30.2 (44.3)	NA	NA
$V_{d,ss}$（L）	27.4 (24.3)	28.9 (37.9)	25.4 (57.4)	25.5 (50.8)	NA	NA
RA_{AUC}	NA	1.49 (19.4)	NA	1.01 (15.1)	NA	NA
RA_{Cmax}	NA	0.831 (34.3)	NA	1.11 (22.0)	NA	NA

＊：t_{max} は中央値（最小値, 最大値）を示し, その他の薬物動態パラメータは全て幾何平均値（変動係数（%））を示す.
引用元：5.3.3.4-1（pr001-cln-010）の Table 12-1 から一部改変

OP-07 又はプラセボ投与 2 時間後から 6 時間ごとに LV を 5 回反復静脈内投与したときの血漿中(6R)-LV 濃度の推移（幾何平均値）を図 2.7.2.2.6.2.1-2 に，1 回目及び 5 回目投与時の(6R)-LV の薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.6.2.1-2 に示した.

プラセボとの併用（グルカルピダーゼ非存在下）では，LV の不活性異性体(6R)-LV の $AUC_{0-\tau}$ 及び C_{max} は，LV の 1 回目投与時より 5 回目投与時で高かった．グルカルピダーゼ非存在下において不活性異性体(6R)-LV の CL は活性異性体(6S)-LV の CL より小さく，その結果，5 回目投与時に最大 2 倍の蓄積が認められた．しかし，(6S)-LV とは異なり，(6R)-LV の全身曝露量及び CL にプラセボ併用時と OP-07 併用時との顕著な差は認められず，(6R)-LV の全身曝露量に OP-07 投与による影響は認められなかった．これらの結果より，グルカルピダーゼは基質に対して立体選択性を有することが示唆された.

図 2.7.2.2.6.2.1-2　OP-07 又はプラセボ投与 2 時間後から 6 時間ごとに LV 150 mg/m² を 5 回反復静脈内投与したときの血漿中(6R)-LV 濃度の推移（幾何平均値）（線形目盛）（PR001-CLN-010 試験）



引用元：5.3.3.4-1（pr001-cln-010）の Fig 12-3

表 2.7.2.2.6.2.1-2　OP-07 又はプラセボ投与 2 時間後から 6 時間ごとに LV 150 mg/m² を 5 回反復静脈内投与したときの 1 回目及び 5 回目投与時の(6R)-LV の薬物動態パラメータの要約（PR001-CLN-010 試験）

薬物動態パラメータ*	OP-07 50 U/kg + LV 150 mg/m²（6 時間ごと）		プラセボ + LV 150 mg/m²（6 時間ごと）		最小二乗平均値の比（OP-07 併用時／プラセボ併用時）及び 95%信頼区間	
	1 回目 (n=6)	5 回目 (n=6)	1 回目 (n=6)	5 回目 (n=6)	1 回目	5 回目
$AUC_{0-\tau}$（µmol·h/L）	128 (21.2)	265 (21.4)	129 (35.8)	269 (42.4)	0.988 (0.793, 1.23)	0.985 (0.791, 1.23)
C_{max}（µmol/L）	61.8 (23.7)	73.0 (29.2)	54.9 (41.6)	87.9 (42.7)	1.13 (0.929, 1.37)	0.831 (0.686, 1.01)
t_{max}（h）	0.0667 (0.0500, 0.0833)	0.125 (0.0833, 1.50)	0.0833 (0.0667, 0.500)	0.0667 (0.0500, 0.0833)	NA	NA
CL（mL/min）	NC	35.6 (20.8)	NC	35.0 (46.9)	NA	NA
RA_{AUC}	NA	2.07 (7.42)	NA	2.08 (23.3)	NA	NA
RA_{Cmax}	NA	1.18 (10.0)	NA	1.60 (18.7)	NA	NA

＊：t_{max} は中央値（最小値, 最大値）を示し, その他の薬物動態パラメータは全て幾何平均値（変動係数（%））を示す.

引用元：5.3.3.4-1（pr001-cln-010）の Table 12-2 から一部改変

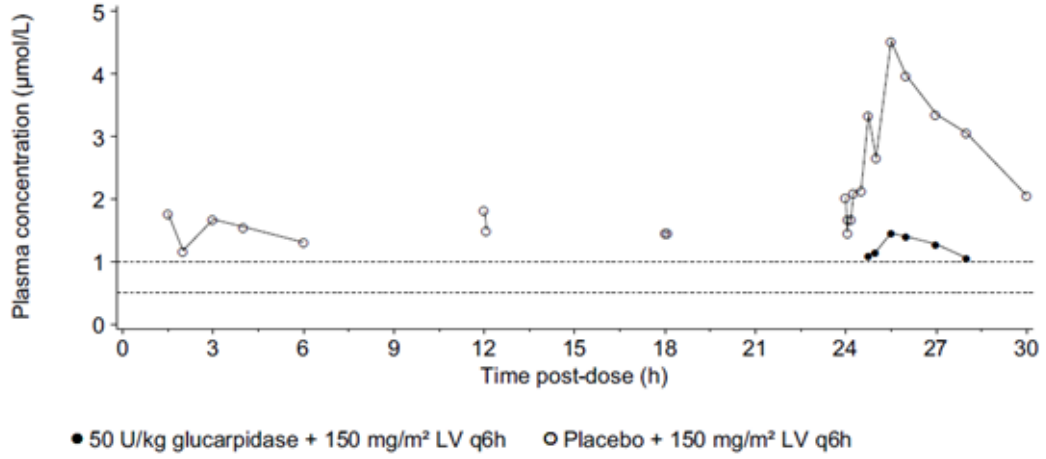
2.7.2.2.6.2.2 (6) L/S-5-MeTHF 及び(6) D/R-5-MeTHF の血漿中薬物動態

OP-07 又はプラセボ投与 2 時間後から 6 時間ごとに LV を 5 回反復静脈内投与したときの血漿中(6) L/S-5-MeTHF 濃度の推移（幾何平均値）を図 2.7.2.2.6.2.2-1 に，LV の 1 回目及び 5 回目投与時の(6) L/S-5-MeTHF の薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.6.2.2-1 に示した．

OP-07 との併用により，(6) L/S-5-MeTHF の曝露量は(6S)-LV と同様に変化した．すなわち，OP-07 との併用（グルカルピダーゼ存在下）では，LV の 1 回目投与時の血漿中(6) L/S-5-MeTHF 濃度は定量下限未満であったのに対し，プラセボとの併用（グルカルピダーゼ非存在下）では，LV の 1 回目投与時の血漿中(6) L/S-5-MeTHF 濃度は定量下限以上であった．LV の 5 回目投与時の(6) L/S-5-MeTHF の全身曝露量は，プラセボ併用時と比較して OP-07 併用時に大きく減少した．このように，OP-07 併用により(6) L/S-5-MeTHF の全身曝露量が減少したことは，グルカルピダーゼが(6S)-LV に作用することにより間接的に(6) L/S-5-MeTHF の生成量が減少した，又はグルカルピダーゼが(6) L/S-5-MeTHF を直接代謝した，若しくはその両方が要因として考えられた．ただし，クロマトグラフィーによる定量では，(6) L/S-5-MeTHF のピークの一部が(6R)-LV の極めて大きなピークによって妨害され，血漿中(6) L/S-5-MeTHF 濃度を正確に定量できなかったため，結果の解釈には留意すべきである（2.7.6.6.2.2.1.3 参照）．

OP-07 の併用の有無に関わらず，血漿中(6) D/R-5-MeTHF 濃度は LV の 1 回目から 5 回目の全ての投与時で定量下限未満であった．

図 2.7.2.2.6.2.2-1　OP-07 又はプラセボ投与 2 時間後から 6 時間ごとに LV 150 mg/m² を 5 回反復静脈内投与したときの血漿中(6) L/S-5-MeTHF 濃度の推移（幾何平均値）（線形目盛）（PR001-CLN-010 試験）



Times relative to first dose of LV
(6) L/S-5-MeTHF plasma concentration data are estimated
- - - Lower limits of quantification (0.500 µmol/L) and (1.00 µmol/L)

各時点において，(6) L/S-5-MeTHF の幾何平均血漿中濃度は個別値の 50%以上が定量下限以上であった場合にのみ算出した．幾何平均値の算出においては偏りを最小限にするため，定量下限未満の濃度値を定量下限値の半分の値で置換した．

引用元：5.3.3.4-1（pr001-cln-010）の Fig 12-4 から一部改変

表 2.7.2.2.6.2.2-1　OP-07 又はプラセボ投与 2 時間後から 6 時間ごとに LV 150 mg/m² を 5 回反復静脈内投与したときの 1 回目及び 5 回目投与時の(6) L/S-5-MeTHF の薬物動態パラメータ（薬物動態解析対象集団）（PR001-CLN-010 試験）

薬物動態パラメータ*1	OP-07 50 U/kg + LV 150 mg/m²（6 時間ごと）		プラセボ + LV 150 mg/m²（6 時間ごと）		最小二乗平均値の比（OP-07 併用時／プラセボ併用時）及び 95%信頼区間
	1 回目 (n=6)	5 回目 (n=6)	1 回目 (n=6)	5 回目 (n=6)	5 回目
$AUC_{0-\tau}$（µmol·h/L）	NC	5.35 (28.4)	9.59*2 (34.3)	19.8*2 (35.8)	0.255 (0.162, 0.401)
C_{max}（µmol/L）	<1.0 (0)	1.56 (16.1)	2.02 (82.8)	3.19 (128)	0.490 (0.151, 1.59)
t_{max}（h）	NC	2.00 (1.50, 3.00)	3.00*2 (1.50, 3.00)	1.50*2 (1.50, 2.00)	NA

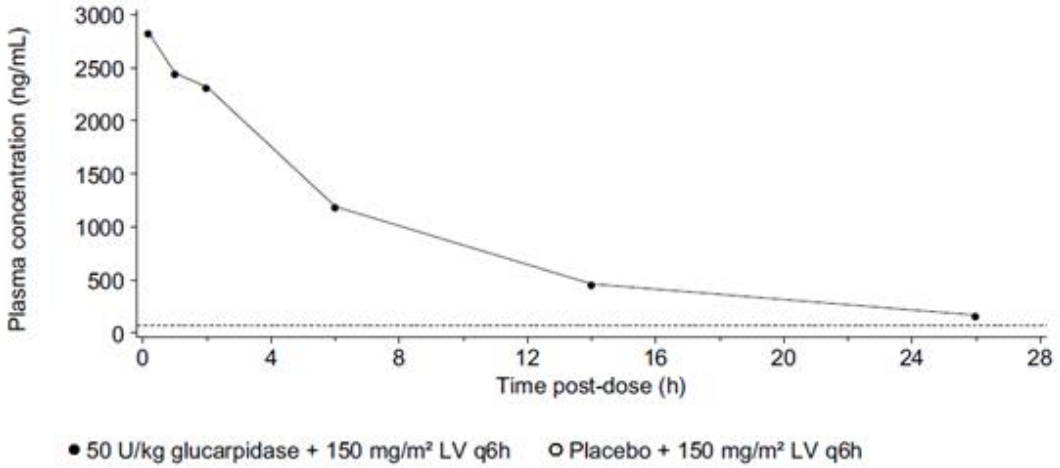
＊1：t_{max} は中央値（最小値，最大値）を示し，その他の薬物パラメータは全て幾何平均値（変動係数（%））を示す．
＊2：要約統計量の算出には，血漿中濃度がほとんどの時点で定量下限（0.5 又は 1.0 µmol/L）未満だったためパラメータ値が算出できなかった被験者番号 2 を除く 5 例の値を用いた．
引用元：5.3.3.4-1（pr001-cln-010）の Table 12-3 から一部改変

2.7.2.2.6.2.3　グルカルピダーゼの薬物動態

LV の反復静脈内投与（6 時間ごとに 5 回）との併用で OP-07 を単回静脈内投与したときの血清中グルカルピダーゼ濃度の推移（幾何平均値）を図 2.7.2.2.6.2.3-1 に，グルカルピダーゼの薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.6.2.3-1 に示した．

血清中グルカルピダーゼ濃度は投与約 0.167 時間後（投与 10 分後）に速やかに C_{max} に到達し，その後は一相性の消失を示した．$t_{1/2}$ の幾何平均値は 7.13 時間であった．

図 2.7.2.2.6.2.3-1　LV の反復静脈内投与（6 時間ごとに 5 回）との併用で OP-07 を単回静脈内投与したときの血清中グルカルピダーゼ濃度の推移（幾何平均値）（線形目盛）（PR001-CLN-010 試験）



引用元：5.3.3.4-1（pr001-cln-010）の Fig 12-5

表 2.7.2.2.6.2.3-1 LV の反復静脈内投与（6 時間ごとに 5 回）との併用で OP-07 を単回静脈内投与したときのグルカルピダーゼの薬物動態パラメータ（薬物動態解析対象集団）（PR001-CLN-010 試験）

薬物動態パラメータ*	投与
	OP-07 50 U/kg + LV 150 mg/m^2（6 時間ごと）(n=6)
$AUC_{0\text{-}tz}$（ng·h/mL）	20,976 (12.0)
$AUC_{0\text{-}\infty}$（ng·h/mL）	22,768 (11.2)
C_{max}（ng/mL）	2,836 (16.8)
t_{max}（h）	0.167 (0.167, 1.00)
$t_{1/2}$（h）	7.13 (12.0)
CL（mL/min）	6.08 (14.8)
V_z（L）	3.75 (24.1)
$V_{d,ss}$（L）	3.46 (22.7)

＊：t_{max} は中央値（最小値，最大値）を示し，その他の薬物パラメータは全て幾何平均値（変動係数（%））を示す.
引用元：5.3.3.4-1（pr001-cln-010）の Table 12-4 から一部改変

2.7.2.2.6.2.4 結論

LV 投与 2 時間前に OP-07 を投与したとき（LV の 1 回目投与時），(6S)-LV の $AUC_{0\text{-}\tau}$ 及び C_{max} はプラセボ投与時と比較してそれぞれ 47%，9%低下した.

LV 投与 26 時間前に OP-07 を投与したとき（LV の 5 回目投与時），(6S)-LV の $AUC_{0\text{-}\tau}$ 及び C_{max} はプラセボ投与時と比較してそれぞれ 22%，32%低下した.

OP-07 投与により(6) L/S-5-MeTHF の曝露量も減少した.

上記のように，OP-07 併用時に(6S)-LV の曝露量の減少が認められたが，グルカルピダーゼの MTX に対する親和性が LV に対する親和性よりも 10 倍高いことを考慮すると，MTX 濃度が高い HD-MTX 排泄遅延患者に実際に OP-07 を投与した場合には，グルカルピダーゼによる(6S)-LV の曝露量減少の程度は本試験で得られた結果より小さくなる可能性がある.

(6R)-LV の曝露量（$AUC_{0\text{-}\tau}$ 及び C_{max}）は，グルカルピダーゼ存在下と非存在下で差はなかった.

グルカルピダーゼ存在下で(6) L/S-5-MeTHF の曝露量（$AUC_{0\text{-}\tau}$ 及び C_{max}）は減少し，その程度は LV の 5 回目投与時（LV 投与 26 時間前に OP-07 を投与）より 1 回目投与時（LV 投与 2 時間前に OP-07 を投与）の方が大きく，1 回目投与時の血漿中(6) L/S-5-MeTHF 濃度は定量下限未満であった.

血漿中(6) D/R-5-MeTHF 濃度はグルカルピダーゼ存在下及び非存在下のいずれの場合でも，LV の 1 回目から 5 回目の全ての投与時で定量下限未満であった.

2.7.2.2.7 大量メトトレキサート療法後の患者を対象としたロイコボリンの薬物動態に及ぼすグルカルピダーゼの影響を評価した薬物相互作用試験（PR001-CLN-017 試験）

2.7.2.2.7.1 試験方法

本試験は，HD-MTX 療法後の患者を対象に実施した第 I 相，非盲検，非無作為化，薬物間相互作用試験であり，LV 及びその活性体（(6S)-LV）の薬物動態に及ぼすグルカルピダーゼの影響を評価した．また，MTX，(6R)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF の薬物動態に及ぼすグルカルピダーゼの影響についても評価した．

HD-MTX 療法（MTX 1 g/m^2 以上）を受けた患者のうち，MTX 排泄遅延及び腎機能障害を有し，OP-07 投与を要する患者を Arm A（OP-07 投与群），OP-07 投与が不要の患者（すなわち，MTX 排泄遅延がなく，腎機能が正常）を Arm B（OP-07 非投与群）に割り付けた．

Arm A では，OP-07 を 50 U/kg を静脈内投与した．

Arm A 及び Arm B のいずれの投与群でも HD-MTX 療法実施後に LV 救援療法を開始した．

Arm A では，LV 救援療法として 15 mg 以上又は約 10 mg/m^2 以上，6 時間ごとの静脈内投与を必要とする被験者を組み入れ，具体的な投与量及び投与方法は，米国の LV の添付文書に記載された推奨用量を基に決定した（15 mg 又は 150 mg）．なお，LV は OP-07 投与前後 2～4 時間を避けて投与することを推奨した．米国の LV の添付文書における推奨用量を表 2.7.2.5.2-1 に示した．OP-07 投与は，適格基準に該当した後，治験薬が実施医療機関に届き次第，速やかに行われた．

Arm B では LV 静脈内投与の用量が 25 mg/m^2 以下の被験者を組み入れた．

また，本試験では，MTX 排泄遅延に対して，水分補給，利尿剤の投与，尿のアルカリ化，血液吸着及び透析などの支持療法を必要とする被験者には，これらの支持療法を併用した．

Arm A では OP-07 投与後の最初の LV 投与，Arm B では MTX 投与後の最初の LV 投与を基準投与と定義し，基準投与の投与開始前，投与 5，30 分後，1，2 及び 3 時間後に血液検体を採取し，MTX，(6S)-LV，(6R)-LV，(6) D/R-5-MeTHF 及び(6) L/S-5-MeTHF の薬物動態を評価した．

2.7.2.2.7.2 試験結果

Arm A 11 例，Arm B 9 例の計 20 例が本試験に組み入れられた．このうち，Arm A の 8 例及び Arm B の 9 例，計 17 例を薬物動態解析対象集団とした．

血漿中(6) D/R-5-MeTHF 濃度は全ての検体において定量下限（0.01 μmol/L）未満であったため，(6) D/R-5-MeTHF の薬物動態パラメータは算出しなかった．

2.7.2.2.7.2.1 (6S)-LV，(6R)-LV 及び(6) L/S-5-MeTHF の薬物動態

LV 基準投与開始後の血漿中(6S)-LV 濃度の推移を図 2.7.2.2.7.2.1-1 に，(6S)-LV，(6R)-LV 及び(6) L/S-5-MeTHF の薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.7.2.1-1 に，LV の基準投与の用量（D_{LV}）で補正した薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.7.2.1-2 に示した．

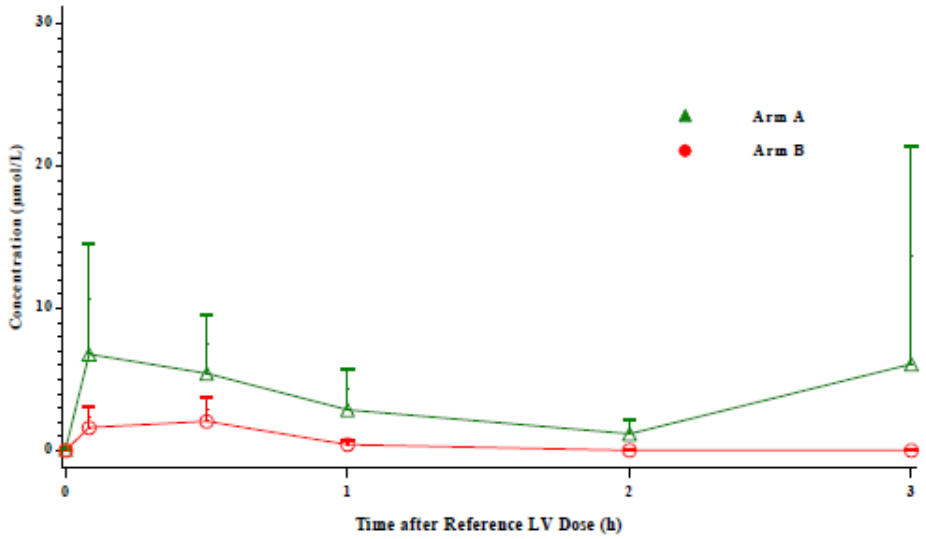
(6S)-LV の投与 0 時間から 3 時間までの血中濃度―時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}3}$），C_{max}，LV 基準投与前の血漿中濃度（2.7.2.2.7 項では以下，C_0）及び LV 基準投与後 3 時間の血漿中濃度（以下，C_3）の平均値は，Arm B より Arm A で高く，この結果は，LV の投与量が Arm B より Arm A で高かったことと一致した．Arm A（OP-07 投与群）の(6S)-LV の曝露量は，Arm B（OP-07 非投与群）の腎機能正常者の曝露量を下回ることはなかった．D_{LV} で補正した(6S)-LV の $AUC_{0\text{-}3}/D_{LV}$ 及び C_{max}/D_{LV} の平均値は，両群で同程度であった．したがって，OP-07 投与後少なくとも 48 時間において，OP-07 投与前の MTX 濃度に基づき LV の投与量及び投与方法を決定し，LV 救援療法を実施することで，OP-07 投与下でも LV を適切な濃度で維持できた．

D_{LV} で補正した(6R)-LV の $AUC_{0\text{-}3}/D_{LV}$，C_{max}/D_{LV}，C_0/D_{LV} 及び C_3/D_{LV} の平均値は，Arm B より Arm A で高かった．(6R)-LV の $AUC_{0\text{-}3}$ の平均値が Arm B より Arm A で高かったことは，Arm A の被験者は LV の基準投与前に LV の投与を受けており，Arm B の被験者は LV の基準投与前に LV の投与を受けていないため，(6R)-LV の C_0 が Arm B より Arm A で高いことが要因であった．したがって，C_0 が高値であれば C_0 が低値の被験者より $AUC_{0\text{-}3}$ 値は高いが，(6R)-LV の薬理学的活性は(6S)-LV より弱く，Arm A と Arm B の $AUC_{0\text{-}3}$ 及び C_{max} の差は臨床的に重要ではないと考えられた．

(6) L/S-5-MeTHF の $AUC_{0\text{-}3}$，C_{max} 及び C_3 の平均値は両群で同程度であったが，D_{LV} で補正した $AUC_{0\text{-}3}/D_{LV}$，C_{max}/D_{LV} 及び C_3/D_{LV} の平均値は，Arm B より Arm A で低く，グルカルピダーゼによる作用が示唆された．(6S)-LV に対するグルカルピダーゼの顕著な作用は認められなかったが，(6) L/S-5-MeTHF に対するグルカルピダーゼの顕著な作用が認められたことは，グルカルピダーゼの K_m 値が(6) L/S-5-MeTHF（34 μM）では(6S)-LV（120 μM）より低い[1)] ためと考えられた．

薬物動態パラメータの変動係数（%CV）の変化率から，D_{LV} は，Arm A 及び Arm B の(6S)-LV 及び(6R)-LV，並びに Arm B の(6) L/S-5-MeTHF の薬物動態パラメータのばらつきの要因であると考えられた．一方，OP-07 投与前（Arm A）又は LV 投与前（Arm B）のクレアチニンクリアランス（$CrCl_{pre}$）は，(6S)-LV，(6R)-LV 及び(6) L/S-5-MeTHF のばらつきの一貫した要因とは認められなかった．

図 2.7.2.2.7.2.1-1　LV 基準投与開始後の血漿中(6S)-LV 濃度の推移
（平均値+標準偏差，線形目盛）（薬物動態解析対象集団）（PR001-CLN-017 試験）



引用元：5.3.3.4-2（pr001-cln-017）の Fig 2

表 2.7.2.2.7.2.1-1　(6S)-LV，(6R)-LV，及び(6) L/S-5-MeTHF の薬物動態パラメータ（薬物動態解析対象集団）（PR001-CLN-017 試験）

薬物動態パラメータ	Arm A		Arm B	
	n	平均値±SD（%CV）	n	平均値±SD（%CV）
(6S)-LV				
$AUC_{0\text{-}3}$（µmol· h/L）	8	8.70±5.56 (63.85)	9	1.31±0.78 (59.43)
C_{max}（µmol/L）	8	13.26±15.22 (114.75)	9	2.48±1.41 (56.99)
t_{max}（h） *1	8	0.34 (0.08, 3.22)	9	0.50 (0.05, 0.70)
C_3（µmol/L）	6 *2	9.02±19.65 (217.89)	1 *2	0.07
C_0（µmol/L）	8	0.08±0.13 (161.27)	9	0.00 ±0.00
(6R)-LV				
$AUC_{0\text{-}3}$（µmol· h/L）	8	187.82±119.91 (63.85)	9	8.99±1.57 (17.44)
C_{max}（µmol/L）	8	86.31±50.65 (58.69)	9	5.68±1.22 (21.38)
t_{max}（h） *1	8	0.46 (0.08, 3.22)	9	0.50 (0.05, 0.70)
C_3（µmol/L）	8	68.56±47.68 (69.54)	9	2.13±0.41 (19.36)
C_0（µmol/L）	8	40.30±20.76 (51.51)	9	0.01±0.02 (300.0)
(6) L/S-5-MeTHF				
$AUC_{0\text{-}3}$（µmol· h/L）	8	0.68±0.63 (92.95)	9	0.73±0.26 (35.58)
C_{max}（µmol/L）	8	0.29±0.26 (90.47)	9	0.34±0.11 (32.84)
t_{max}（h） *1	8	2.04 (0.35, 3.00)	9	1.00 (0.05, 1.25)
C_3（µmol/L）	8	0.24±0.25 (101.53)	9	0.19±0.09 (44.96)
C_0（µmol/L）	8	0.13±0.11 (85.52)	9	0.01±0.01 (153.20)

＊1：t_{max} は中央値（最小値，最大値）を示した.
＊2：Arm A の 8 例中 2 例及び Arm B の 9 例中 8 例で，3 時間後の(6S)-LV が定量下限未満となった.
引用元：5.3.3.4-2（pr001-cln-017）の Table 9 から一部改変

表 2.7.2.2.7.2.1-2　(6S)-LV，(6R)-LV 及び(6) L/S-5-MeTHF（LC-MS/MS 測定法）の薬物動態パラメータ：D_{LV} による補正値（薬物動態解析対象集団）（PR001-CLN-017 試験）

薬物動態パラメータ	Arm A			Arm B		
	n	平均値±SD（%CV）	%CV 変化率 *1	n	平均値±SD（%CV）	%CV 変化率 *1
(6S)-LV						
$AUC_{0\text{-}3}/D_{LV}$ (μmol· h/L/(mg/m^2))×10^2	8	10.02±4.83 (48.24)	-24.45	9	9.79±5.18 (52.87)	-11.04
C_{max}/D_{LV} (μmol/L/(mg/m^2))×10^2	8	17.33±17.28 (99.71)	-13.11	9	18.79±9.75 (51.87)	-8.98
C_3/D_{LV} (μmol/L/(mg/m^2))×10^2	6 *2	9.42±20.97 (222.55)	2.14	1 *2	0.46	-
C_0/D_{LV} (μmol/L/(mg/m^2))×10^2	8	0.09±0.14 (154.86)	-3.97	9	0.00±0.00	-
(6R)-LV						
$AUC_{0\text{-}3}/D_{LV}$ (μmol· h/L/(mg/m^2))×10^2	8	211.51±74.58 (35.26)	-44.78	9	68.67±7.78 (11.33)	-35.03
C_{max}/D_{LV} (μmol/L/(mg/m^2))×10^2	8	97.02±35.49 (36.58)	-37.67	9	43.21±6.37 (14.73)	-31.10
C_3/D_{LV} (μmol/L/(mg/m^2))×10^2	8	75.78±37.22 (49.12)	-29.36	9	16.42±3.03 (18.46)	-4.65
C_0/D_{LV} (μmol/L/(mg/m^2))×10^2	8	48.65±21.22 (43.62)	-15.32	9	0.04±0.12 (300.00)	0.00
(6) L/S-5-MeTHF						
$AUC_{0\text{-}3}/D_{LV}$ (μmol· h/L/(mg/m^2))×10^2	8	1.04±1.15 (110.50)	18.88	9	5.55±1.69 (30.53)	-14.19
C_{max}/D_{LV} (μmol/L/(mg/m^2))×10^2	8	0.43±0.44 (104.06)	15.02	9	2.54±0.65 (25.66)	-21.86
C_3/D_{LV} (μmol/L/(mg/m^2))×10^2	8	0.35±0.37 (105.77)	4.18	9	1.44±0.58 (40.12)	-10.77
C_0/D_{LV} (μmol/L/(mg/m^2))×10^2	8	0.17±0.14 (83.05)	-2.89	9	0.05±0.07 (159.58)	4.16

＊1：%CV 変化率=（（補正後の薬物動態パラメータの CV－ 補正前の薬物動態パラメータの CV）/補正前の薬物動態パラメータの CV）× 100
＊2：Arm A の 8 例中 2 例及び Arm B の 9 例中 8 例で，3 時間後の(6S)-LV が定量下限未満となった．
引用元：5.3.3.4-2（pr001-cln-017）の Table 10 から一部改変

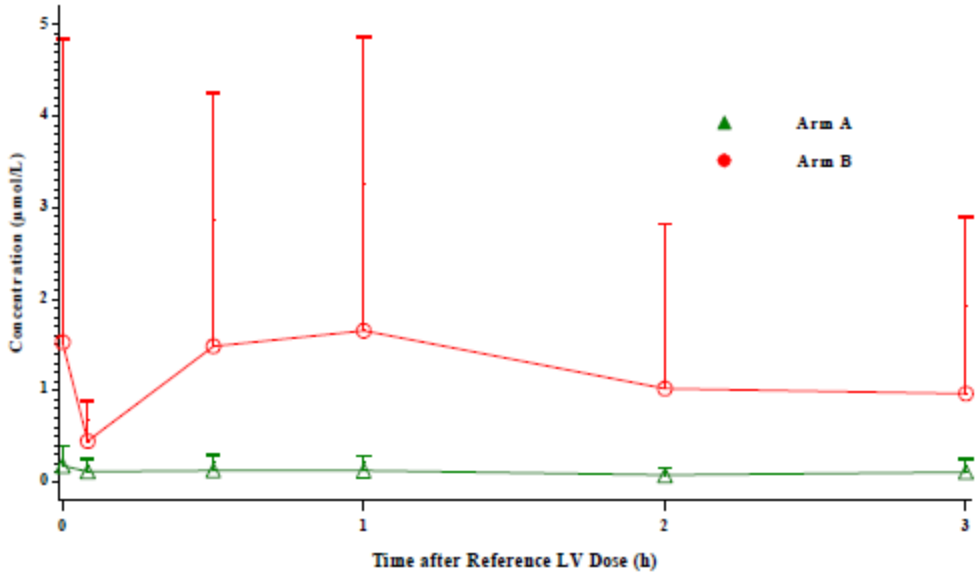
2.7.2.2.7.2.2　MTX（LC-MS/MS 測定法）の薬物動態

LV 基準投与開始後の MTX（LC-MS/MS 測定法）の血漿中濃度推移を図 2.7.2.2.7.2.2-1 に，MTX の薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.7.2.2-1 に，MTX 投与量（D_{MTX}）で補正した薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.7.2.2-2 に示した．

MTX の $AUC_{0\text{-}3}$，C_{max}，C_3 及び C_0 の平均値は，Arm A が Arm B より低く，OP-07 を投与したことによる MTX 濃度の急速な低下と一致していた．さらに，MTX 投与量（D_{MTX}）による補正値でも，$AUC_{0\text{-}3}/D_{MTX}$，C_{max}/D_{MTX}，C_3/D_{MTX} 及び C_0/D_{MTX} の平均値は，Arm A が Arm B より低く，OP-07 投与により MTX 濃度が急速に低下することと一致していた．%CV 変化率から，D_{MTX} はいずれの群でも MTX の薬物動態パラメータのばらつきの重要な要因と考えられた．

$CrCl_{pre}$ は Arm B においてのみ，MTX の薬物動態パラメータのばらつきの重要な要因と考えられ，この要因は，OP-07 投与前（Arm A）及び LV 投与前（Arm B）のクレアチニンクリアランスのばらつきが Arm A（44.17～111.04 mL/min）より Arm B（128.70～269.10 mL/min）で大きいためと考えられた（5.3.3.4-2（pr001-cln-017）の Table 14.1.2.1 参照）．

図 2.7.2.2.7.2.2-1　LV 基準投与開始後の MTX（LC-MS/MS 測定法）の血漿中濃度推移（平均値+標準偏差，線形目盛）（薬物動態解析対象集団）（PR001-CLN-017 試験）



引用元：5.3.3.4-2（pr001-cln-017）の Fig 5

表 2.7.2.2.7.2.2-1　MTX（LC-MS/MS 測定法）の薬物動態パラメータ（薬物動態解析対象集団）（PR001-CLN-017 試験）

薬物動態パラメータ	Arm A		Arm B	
	n	平均値±SD（%CV）	n	平均値±SD（%CV）
MTX				
AUC_{0-3}（µmol· h/L）	8	0.31±0.50 (162.26)	8	3.87±7.84 (202.27)
C_{max}（µmol/L）	8	0.12±0.19 (155.87)	8	1.70±3.41 (200.33)
t_{max}（h）*	8	0.08 (0.00, 2.50)	8	0.58 (0.08, 0.92)
C_3（µmol/L）	8	0.08±0.15 (172.52)	8	1.01±2.06 (204.65)
C_0（µmol/L）	8	0.12±0.19 (161.97)	8	1.53±3.32 (217.13)

＊：t_{max} は中央値（最小値，最大値）を示した.
引用元：5.3.3.4-2（pr001-cln-017）の Table 9 から一部改変

表 2.7.2.2.7.2.2-2　MTX（LC-MS/MS 測定法）の薬物動態パラメータ：D_{MTX} による補正値（薬物動態解析対象集団）（PR001-CLN-017 試験）

薬物動態パラメータ	Arm A			Arm B		
	n	平均値±SD（%CV）	%CV 変化率*	n	平均値±SD（%CV）	%CV 変化率*
AUC_{0-3}/D_{MTX} (µmol·h/L/(g/m^2))×10^2	8	3.93±5.11 (129.96)	-19.91	8	55.96±57.27 (102.34)	-49.40
C_{max}/D_{MTX} (µmol/L/(g/m^2))×10^2	8	1.65±2.20 (132.97)	-14.69	8	25.47±25.45 (99.92)	-50.12
C_3/D_{MTX} (µmol/L/(g/m^2))×10^2	8	0.93±1.23 (132.82)	-23.01	8	14.23±14.75 (103.66)	-49.35
C_0/D_{MTX} (µmol/L/(g/m^2))×10^2	8	1.61±2.22 (138.16)	-14.70	8	20.07±24.91 (124.11)	-42.84

＊：%CV 変化率 =（（補正後の薬物動態パラメータの CV – 補正前の薬物動態パラメータの CV）/補正前の薬物動態パラメータの CV）× 100
引用元：5.3.3.4-2（pr001-cln-017）の Table 10 から一部改変

2.7.2.2.7.2.3 結論

本剤の米国添付文書の LV 救援療法との併用に関する注意「本剤投与後 48 時間経過後：測定したメトトレキサート濃度に基づきロイコボリンの用量を決定すること．ロイコボリン救援療法閾値未満の 1 回のメトトレキサート濃度測定値に基づきロイコボリンの投与を中止しないこと．」に従って LV 救援療法を実施すれば，OP-07 投与下でも，LV を適切な血中濃度で維持できることが裏付けられた．

(6S)-LV の $AUC_{0\text{-}3}$ 及び C_{max} の平均値は Arm B より Arm A で高く，$AUC_{0\text{-}3}/D_{LV}$ 及び C_{max}/D_{LV} の平均値は Arm A と Arm B で同程度であった．

(6) L/S-5-MeTHF の $AUC_{0\text{-}3}$ 及び C_{max} の平均値は Arm A と Arm B で同程度であり，$AUC_{0\text{-}3}/D_{LV}$ 及び C_{max}/D_{LV} の平均値は Arm A より Arm B で高かった．

(6R)-LV の $AUC_{0\text{-}3}$ 及び C_{max} の平均値は，D_{LV} による補正の有無に関わらず，Arm B より Arm A で高かった．この結果は，Arm A の被験者は LV の基準投与前に LV の投与を受けており，Arm B の被験者は LV の基準投与前に LV の投与を受けていないため，(6R)-LV の C_0 が Arm B より Arm A で高いことが要因であった．しかし，(6R)-LV の薬理学的活性は(6S)-LV より弱く，Arm A と Arm B の $AUC_{0\text{-}3}$ 及び C_{max} の差は臨床的に重要ではないと考えられた．

$AUC_{0\text{-}3}/D_{MTX}$，C_{max}/D_{MTX}，C_3/D_{MTX} 及び C_0/D_{MTX} の平均値は，Arm A が Arm B より低く，OP-07 投与により MTX 濃度が急速に低下することと一致していた．

腎機能障害による MTX 排泄遅延患者に LV と併用して OP-07 を投与したとき，(6S)-LV の $AUC_{0\text{-}3}/D_{LV}$ 及び C_{max}/D_{LV} は，腎機能が正常で OP-07 未投与の患者と同程度であった．

なお，米国食品医薬品局（FDA）による審査では，体表面積が両群で不均衡であったため，体表面積あたりの LV の投与量（mg/m²）ではなく，基準 LV 用量（mg）により補正した薬物動態パラメータが算出された（表 2.7.2.2.7.2.3-1 参照）．LV の投与量は Arm A が Arm B より高く，中央値の比較で体表面積あたりの用量（mg/m²）では 6.7 倍（89.88，13.51），用量（mg）では 10 倍（150，15）であった．

表 2.7.2.2.7.2.3-1 基準 LV 用量（mg）により補正した薬物動態パラメータ（FDA 審査官による解析）

対象物質	薬物動態パラメータ	Arm A（n=8）	Arm B（n=9）	幾何平均の比率（90%信頼区間）Arm A /Arm B	減少率
(6S)-LV	$AUC_{0\text{-}3}$ (nmol·h/L)/(mg)	45.7 (69.9)	67.8 (68.9)	0.67 (0.39, 1.15)	33%
	C_{max} (nmol/L)/(mg)	61.8 (132.9)	128 (74.5)	0.48 (0.23, 0.99)	52%
(6) L/S-5-MeTHF	$AUC_{0\text{-}3}$ (nmol·h/L)/(mg)	3.3 (120.6)	41.5 (51.0)	0.08 (0.04, 0.15)	92%
	C_{max} (nmol/L)/(mg)	1.4 (124.2)	19.2 (51.1)	0.07 (0.04, 0.14)	93%

薬物動態パラメータ：幾何平均（CV%）
減少率＝（1－幾何平均の比率）×100（%）
引用元：5.4-5（FDA 審査資料 Clinical-Pharmacology-and-Biopharmaceutics-Review(s)）の Table 14, Fig 10, Fig 11 から一部改変

米国添付文書では，OP-07 と LV との相互作用について，これらの値を用いて以下のように記載されている．

大量メトトレキサート（≧1 g/m^2）投与及びロイコボリン救援療法を受けたがん被験者において，ロイコボリン投与 2 時間前に本剤 50 Units/kg を静脈内投与した結果，(6S)-ロイコボリンの $AUC_{0\text{-}3h}$ が 33%，C_{max} が 52%低下し，活性代謝物(6S)-5-methyltetrahydrofolate の $AUC_{0\text{-}3h}$ が 92%，C_{max} が 93%低下した［薬物相互作用（7.1）参照］．

2.7.2.3 全試験を通しての結果の比較と解析

OP-07 50 U/kg を 5 分間かけて単回静脈内投与したときのグルカルピダーゼの薬物動態パラメータの結果を以下に記載した．

2.7.2.3.1 グルカルピダーゼの薬物動態

CPG2-PI 試験，CPG2-PII 試験，OP-07-001 試験，PR001-CLN-005 試験及び PR001-CLN-010 試験で OP-07 50 U/kg を 5 分間かけて単回静脈内投与したときのグルカルピダーゼの薬物動態パラメータを表 2.7.2.3.1-1 に示した．

表 2.7.2.3.1-1　OP-07 50 U/kg を 5 分間かけて単回静脈内投与したときのグルカルピダーゼの薬物動態パラメータ（CPG2-PI 試験，CPG2-PII 試験，OP-07-001 試験，PR001-CLN-005 試験，PR001-CLN-010 試験）

試験 （実施国）	CPG2-PI 試験 （日本）	CPG2-PII 試験 （日本）	OP-07-001 試験 （日本）	PR001-CLN-005 試験 （米国）		PR001-CLN-010 試験 （英国）
対象被験者	健康成人男性	HD-MTX 療法後に MTX 排泄遅延を有する患者	HD-MTX 療法後に MTX 排泄遅延を有する患者	重度の腎機能障害を有する被験者	腎機能が正常な被験者	健康成人男性
OP-07 投与量及び投与方法	50 U/kg を 5 分間かけて単回静脈内投与					
被験者数	n=8	n=15	n=4	n=4	n=8	n=6
C_{max} (μg/mL)	2.43 (0.336)	2.32 (0.62)	1.91(0.61)	2.86 (0.828)	3.08 (0.843)	2.84 (16.8)*1
t_{max} (h)*2	NC (0.25, 0.25)	0.333 (0.233, 0.433)	0.35 (0.333, 0.4)	0.550 (0.100, 1.00)	0.250 (0.100, 2.00)	0.167 (0.167, 1.00)
$AUC_{0\text{-}tz}$ (μg· h/mL)	19.99 (2.94) *3	15.05 (3.07) *3	12.87 (5.41) *3	21.5 (10.49) *4	20.2 (5.22) *4	20.98 (12.0) *1,*5
$AUC_{0\text{-}\infty}$ (μg· h/mL)	22.44 (3.42)	15.88 (3.40)	13.56 (5.88)	24.5 (9.43)	23.4 (6.85)	22.77 (11.2) *1
$t_{1/2}$ (h)	7.25 (0.41)	5.61 (0.76)	5.72 (0.70)	9.97 (2.061)	9.00 (3.180)	7.13 (12.0) *1
CL_{tot} (mL/min/kg)	0.0896 (0.0000)	0.0822 (0.0024)	5.27 (4.54) *6	0.0860 (0.02855)	0.0892 (0.03018)	6.08 (14.8) *1, *6
$V_{d,ss}$ (mL/kg)	51.9 (0.00)	56.0 (0.20)	2,290 (1,820) *7	67.9 (29.64)	58.0 (18.08)	3.46 (22.7) *1, *8

平均値 (標準偏差)

＊1：幾何平均値 (CV%)　＊2：中央値 (最小値, 最大値)　＊3：$AUC_{0\text{-}24}$　＊4：最終検体採取時点は OP-07 投与後 96 時間

＊5：最終検体採取時点は OP-07 投与後 26 時間　＊6：CL_{tot} (mL/min)　＊7：$V_{d,ss}$ (mL)　＊8：$V_{d,ss}$ (L)

引用元：5.3.3.1-1（CPG2-PI 試験_CSR_161214）の表 11.4-2，5.3.5.2-1（CPG2-PII 試験_CSR_Ver.2）の表 11.4-18，表 11.4-26 及び表 11.4-27，5.3.5.2-4（OP-07-001 試験_CSR）の表 11.4-6，5.3.3.1-2（pr001-cln-005）の Table 11.4.1.1-1，5.3.3.4-1（pr001-cln-010）の Table 12-4 からそれぞれ一部改変

2.7.2.3.1.1 健康成人の薬物動態

CPG2-PI 試験で日本人健康成人 8 例に OP-07 50 U/kg を 5 分間かけて単回静脈内投与したとき，血漿中グルカルピダーゼ濃度は投与 15 分後には最高値に達した（表 2.7.2.2.1.2.1-1 参照）．その後時間経過と共に低下し，$t_{1/2}$（平均値）は 7.25 時間であった．C_{max}（平均値）は 2.43 μg/mL，$AUC_{0-\infty}$（平均値）は 22.44 μg· h/mL，CL_{tot}（平均値）は 4.70 mL/min，$V_{d,ss}$（平均値）は 2.490 L であった（表 2.7.2.2.1.2.1-2 参照）．OP-07 20 U/kg 投与時と OP-07 50 U/kg 投与時のグルカルピダーゼの薬物動態パラメータを比較した結果，C_{max} 及び AUC_{0-24} は OP-07 の投与量に応じて増加した．

PR001-CLN-005 試験で腎機能が正常な 18 歳以上の被験者 8 例に OP-07 50 U/kg を単回静脈内投与したとき，グルカルピダーゼの $t_{1/2}$（平均値）は 9.00 時間，C_{max}（平均値）は 3.08 μg/mL，$AUC_{0-\infty}$（平均値）は 23.4 μg· h/mL，CL（平均値）は 7.51 mL/min，$V_{d,ss}$（平均値）は 5.01 L であった（表 2.7.2.2.5.2.1-1 参照）．

いずれの試験の結果でも，$V_{d,ss}$ は小さく，グルカルピダーゼの分布は血漿中に限定されることが示唆された．また，いずれの試験でも，グルカルピダーゼの未変化体は尿中にはほとんど排泄されなかった．グルカルピダーゼはアミノ酸からなるタンパク質であり，タンパク分解を受けアミノ酸に代謝されると推測されるため，尿中に未変化体としてはほとんど排出されないと考えられた．

2.7.2.3.1.2 日本人と外国人の比較

OP-07 50 U/kg を単回静脈内投与したときのグルカルピダーゼの薬物動態パラメータを，日本人健康成人 8 例（CPG2-PI 試験）と外国人健康成人 8 例（PR001-CLN-005 試験）とで比較した．その結果，日本人の C_{max} は外国人より約 20%低かったが（日本人 2.43 μg/mL，外国人 3.08 μg/mL，以下同順），$AUC_{0-\infty}$は同程度であった（22.4 μg· h/mL，23.4 μg· h/mL）．$t_{1/2}$ は日本人で 7.25 時間，外国人で 9.00 時間であり，日本人でやや短かったが，体重あたりの CL_{tot} 及び $V_{d,ss}$ は，日本人と外国人で同程度であった（CL_{tot}：0.0896 mL/min/kg，0.0892 mL/min/kg，$V_{d,ss}$：51.9 mL/kg，58.0 mL/kg）．

これらの結果より，グルカルピダーゼの薬物動態パラメータに日本人と外国人との差はないと考えられた．

2.7.2.3.1.3 MTX 排泄遅延患者と健康成人の比較

OP-07 50 U/kg を単回静脈内投与したときのグルカルピダーゼの薬物動態パラメータを，HD-MTX 療法後に MTX 排泄遅延を有する日本人患者 15 例（CPG2-PII 試験）と日本人健康成人 8 例（CPG2-PI 試験）とで比較した．その結果，C_{max}（平均値）は MTX 排泄遅延患者と健康成人で同程度であった（MTX 排泄遅延患者 2.32 μg/mL，健康成人 2.43 μg/mL，以下同順）．一方，$AUC_{0-\infty}$は MTX 排泄遅延患者で約 30%低かった（15.88 μg·h/mL, 22.44 μg·h/mL）．$t_{1/2}$ は MTX 排泄遅延患者でやや短く，$V_{d,ss}$ も MTX 排泄遅延患者でやや小さかったが，体重あたりの CL_{tot} は MTX 排泄遅延患者と健康成人で同程度であった（0.0822 mL/min/kg,

0.0896 mL/min/kg）．CPG2-PII 試験における血漿中 MTX 濃度低減効果を指標としたグルカルピダーゼの有効性は，国外 PR001-CLN-006 試験の成績と同程度若しくはそれ以上の結果が得られており（2.7.3.3.2.1 参照），MTX 排泄遅延患者において認められた曝露量（$AUC_{0-\infty}$）の減少は臨床的に重要ではないと考えられた．なお，CPG2-PII 試験と同様に HD-MTX 療法後に MTX 排泄遅延を有する日本人患者対象の OP-07-001 試験での薬物動態パラメータは，CPG2-PII 試験と同様の傾向が認められた．

2.7.2.3.1.4 内因性要因の検討

2.7.2.3.1.4.1 人種及び民族

人種及び民族に関する結果を 2.7.2.3.1.2 に示したように，グルカルピダーゼの薬物動態パラメータに日本人と外国人との差はないと考えられた．

2.7.2.3.1.4.2 腎機能障害

腎機能が正常な被験者及び重度の腎機能障害（算出クレアチニンクリアランスが 30 mL/min 未満）を有する被験者に OP-07 を投与した結果，グルカルピダーゼの薬物動態に及ぼす腎機能障害の影響はわずかであることが示された（PR001-CLN-005 試験）．また，外国人健康成人 14 例（PR001-CLN-005 試験 8 例，PR001-CLN-010 試験 6 例）と重度の腎機能障害を有する MTX 未投与の被験者（非がん患者）4 例（PR001-CLN-005 試験）との比較においても薬物動態パラメータは同程度であり，グルカルピダーゼの薬物動態プロファイルに腎機能による差は認められなかった．したがって，HD-MTX 療法実施中の腎機能障害を有する患者に OP-07 を投与する際には，OP-07 の用量調節は不要であり，腎機能障害患者にも OP-07 を投与できることが示唆された．

2.7.2.3.2 MTX の薬物動態に及ぼすグルカルピダーゼの影響

MTX の薬物動態に及ぼすグルカルピダーゼの影響を CPG2-PII 試験，OP-07-001 試験，PR001-CLN-006 試験及び PR001-CLN-017 試験で評価した．

HD-MTX 療法後の MTX 排泄障害を有する日本人がん患者に OP-07 を投与したとき，血漿中 MTX 濃度は OP-07 投与後に急速に低下し，投与開始後 20 分には 1%未満となった．CPG2-PII 試験において，OP-07 投与前の平均値は 27,200 ng/mL（59.85 μmol/L），OP-07 投与開始後 20 分の平均値は 261.0 ng/mL（0.5743 μmol/L）であった*．OP-07-001 試験において，血漿中 MTX 濃度は OP-07 投与前で 1.483～2.746 μmol/L，OP-07 投与開始後 20 分で 0.01870～0.02645 μmol/L であった．

HD-MTX 療法を受け，MTX の排泄遅延が認められる被験者に投与したとき，中央測定に関して，血漿中 MTX 濃度は OP-07 初回投与開始後約 20 分以内に平均値は大きく低下した．また，最終的に中央測定及び施設測定共に中央値は 1 μmol/L 未満に維持された．

HD-MTX 療法後のがん患者に OP-07 を投与したとき，MTX の投与量で補正した AUC_{0-3}/D_{MTX}，C_{max}/D_{MTX}，C_3/D_{MTX} 及び C_0/D_{MTX} の平均値は OP-07 非投与患者と比較して低

く，OP-07 投与により血漿中 MTX 濃度が急速に低下することと一致した（PR001-CLN-017 試験）．

＊：CPG2-PII 試験においては ng/mL で算出したが，他の試験の結果との比較を可能にするために，μmol/L に換算した値を括弧内に記載した．

2.7.2.3.3　グルカルピダーゼの基質

グルカルピダーゼは，葉酸及び葉酸関連分子の N-カルボキシ末端のグルタミン酸を加水分解する酵素であるため，グルカルピダーゼの基質には，葉酸及び葉酸アナログに加えて，加水分解に適した N-カルボキシ末端のグルタミン酸を有する物質が含まれる可能性がある[2)]．つまり，グルカルピダーゼは，MTX 及び LV 以外の外因性物質又は内因性物質と相互作用を引き起こす可能性が考えられる．そのため，本項ではグルカルピダーゼの潜在的な基質に関する検討を行った．

ヒトでは複数のカルボキシペプチダーゼが存在することが知られているが，それらはグルカルピダーゼとは全く異なる機能を有し，以下に示す 2 つの例外を除いて血漿中には存在しない[3-9)]．1 つ目はアルギニン残基及びリジン残基に特異的なカルボキシペプチダーゼ R[10)] であり，2 つ目は血漿グルタミン酸カルボキシペプチダーゼ（PGCP）である．末端のグルタミン酸に特異的ではないヒトカルボキシペプチダーゼは，ペプチドホルモンの分解（カルボキシペプチダーゼ M[11)]），ブラジキニンの分解（カルボキシペプチダーゼ Y[12)]）などのさまざまな機能を有するが，公表文献ではこれらのヒトカルボキシペプチダーゼに，グルカルピダーゼと同じ基質が存在することを示すエビデンスは報告されていない．グルカルピダーゼの潜在的な基質として，2.7.2.3.3.1 以降に記載した化合物が特定されている．

なお，臨床試験の一環として，既知の基質である LV との薬物間相互作用試験を 2 試験実施し，(6S)-LV，(6R)-LV，(6) L/S-5-MeTHF 及び(6) D/R-5-MeTHF の薬物動態に対するグルカルピダーゼの影響を評価している．PR001-CLN-010 試験では，健康男性被験者を対象にグルカルピダーゼの存在下及び非存在下で, LV と LV の代謝物の薬物動態を評価した. PR001-CLN-017 試験では，HD-MTX 療法を受けた患者を対象に LV と LV の活性代謝物の曝露量が，グルカルピダーゼ投与により，グルカルピダーゼ未投与の患者の曝露量未満に減少するかどうかを検討した．これらの試験結果において，MTX 非投与下では，グルカルピダーゼ投与により，(6S)-LV 及び(6) L/S-5-MeTHF の曝露量は減少し，MTX 投与下（グルカルピダーゼを LV 投与 2 時間前又は 2 時間後のいずれかの時点で投与）では，(6S)-LV 及び(6) L/S-5-MeTHF の曝露量は臨床的に意味のある範囲で維持されたことが示されている．

2.7.2.3.3.1　可能性のある内因性基質：NAAG（N-acetyl-L-aspartyl-L-glutamate）

N-acetyl-L-aspartyl-L-glutamate（NAAG）（脳内神経伝達物質の 1 種）は，ヒト遺伝子組換え膜グルタミン酸カルボキシペプチダーゼ II（GCP II）により加水分解されることが報告されている[13)]．しかし，グルカルピダーゼは分子量の大きなタンパク質であり，通常の状態では血液脳関門を通過できないことから，NAAG を加水分解しないと考えられている[14)]．

2.7.2.3.3.2 既知又は可能性のある外因性基質：葉酸（pteroylglutamic acid（PGA））

葉酸は特定の食品に含まれるビタミン B の一つであり，特定の高分子，特にデオキシリボ核酸を構成するプリン及びピリミジンの生合成に必要とされているが，葉酸とその前駆物質及び葉酸の活性代謝物は，グルカルピダーゼの潜在的な基質である．そのため，HD-MTX 療法を受けている患者では MTX により細胞内の葉酸濃度は低下するが，グルカルピダーゼを投与することにより残留葉酸も加水分解される可能性がある．しかし，PR001-CLN-017 試験では，HD-MTX 療法を受けている患者に，グルカルピダーゼを LV 投与 2 時間前又は 2 時間後のいずれかの時点で投与したとき，LV 及び 5-MeTHF の曝露量は臨床的に意味のある範囲で維持されることが示された．

2.7.2.3.3.3 メトトレキサート

MTX は，グルカルピダーゼの投与を受ける全ての患者で投与されると考えられる．グルカルピダーゼは MTX をグルタミン酸と DAMPA に分解（$K_m = 8\times10^{-6}$ M）するが，DAMPA は MTX の 0.7%のジヒドロ葉酸還元酵素阻害活性を有する [15)]．また，MTX の一部は，患者の腸管内で内因性の腸内カルボキシペプチダーゼによっても分解される．下記に述べるヒト遺伝子組換えグルタミン酸カルボキシペプチダーゼは，腸粘膜細胞内の MTX ポリグルタミン酸を分解し，MTX の代謝全般に寄与していることが示されているが，グルカルピダーゼは細胞内に取り込まれないため，本プロセスには関与しないと考えられる．

2.7.2.3.3.4 ロイコボリン及び 5-メチル-テトラヒドロ葉酸

HD-MTX 療法の救援療法として使用されるロイコボリン及び代謝物である 5-MeTHF は，グルカルピダーゼの競合的基質である（$K_m = 120$ μM）[1,15)]．LV は細胞内に取り込まれ，還元型葉酸の代替的供給源となることにより MTX の作用を減弱するが，細胞内に取り込まれる際に MTX と競合することがわかっている．LV は，グルカルピダーゼ及び MTX の投与を受ける全ての患者で投与されるが，グルカルピダーゼの潜在的な基質である．しかし，グルカルピダーゼは LV と異なり細胞内に流入できないことから，血漿中の LV のみがグルカルピダーゼの潜在的な基質となる．また，LV は *in-vivo* において(6) L/S-5-MeTHF に代謝され，LV の投与を受けた患者では，血漿中の全ての(6) L/S-5-MeTHF もグルカルピダーゼの潜在的な基質となる [1,15)]．

in-vitro のデータとして，ヒト血漿を用いた一連の *in-vitro* 酵素反応試験で LV 及び 5-MeTHF の生物学的活性を有する S 異性体の加水分解についての検討が行われた（PR001-NCL-PK008）．一連の試験で推定された比活性は，値の大きさの順序としては(6R)-LV＜(6S)-LV＜(6) L/S-5-MeTHF＜MTX であった．K_m に関しては，これらの基質の加水分解率は MTX よりも低く，酵素飽和を示唆する結果が認められなかったため，定量的推定は不可能であった．基質の低濃度域では，反応速度は存在する基質量と酵素量に比例していた．

さらに，グルカルピダーゼ含有ヒト血漿中における LV 及び 5-MeTHF の安定性も検討した．結果は，塩酸及びアスコルビン酸を添加することにより，グルカルピダーゼが不活性化

され，室温で最大 2 時間置いた後に凍結融解を 1 回行っても分析対象物質は分解されずに安定していた．

なお，PR001-CLN-010 試験の結果から，OP-07 投与後少なくとも 48 時間は，OP-07 投与前の MTX 濃度に基づいて決定した投与量及び投与方法で LV を投与し，更に OP-07 投与前後 2～4 時間を避けて LV を投与することにより，LV 及び活性代謝物の濃度を適切に維持できることが示されている（2.7.2.3.4 参照）．

2.7.2.3.3.5　4-アミノ葉酸（aminopterin）

Aminopterin は様々な悪性腫瘍の治療に使用される葉酸代謝拮抗剤であり，グルカルピダーゼの潜在的な基質である[2)]．しかしながら，MTX 及びグルカルピダーゼの投与を受けている患者に，通常は aminopterin を併用投与しないと考えられる．

2.7.2.3.3.6　ペメトレキセド（アリムタ，日本イーライリリー）

ペメトレキセドは葉酸代謝拮抗剤であり，シスプラチンとの併用による胸膜中皮腫の治療薬及び非小細胞肺癌の 2 次治療薬として承認されている．2005 年 4 月に実施した *in-vitro* 試験では，K_m の平均値は 25.4 μmol/L，kcat は 1,808/秒であり，ペメトレキセドはグルカルピダーゼの良好な基質である可能性が示された（PR001-CMC-rpt001 試験）．しかしながら，MTX 及びペメトレキセドはいずれも同様の作用機序を有するため，通常はグルカルピダーゼの投与を受けている患者に，ペメトレキセドを併用しないと考えられる．

2.7.2.3.3.7　プララトレキサート（ジフォルタ，ムンディファーマ）

プララトレキサートは aminopterin と関連する葉酸代謝拮抗剤であり，再発又は難治性の末梢性 T 細胞リンパ腫の治療薬として米国において承認されており[16)]，国内においても，同じ効能又は効果で承認されている．プララトレキサートがグルカルピダーゼの基質であるかは不明であるが，潜在的にはグルカルピダーゼの基質になると考えられている．しかしながら，MTX 及びプララトレキサートはいずれも同様の作用機序を有するため，通常はグルカルピダーゼの投与を受けている患者に，プララトレキサートを併用しないと考えられる．

2.7.2.3.3.8　共通する基質となる可能性のあるヒトカルボキシペプチダーゼ

ヒトの体内で C 末端のグルタミン酸の加水分解に関与するヒトグルタミン酸カルボキシペプチダーゼ（GCP）の基質がグルカルピダーゼの基質にもなり得るか評価した．ヒトグルタミン酸カルボキシペプチダーゼは，グルタミン酸の加水分解の機能を共有しているため，グルカルピダーゼと最も類似していると考えられている．グルタミン酸の分解が可能なヒトグルタミン酸カルボキシペプチダーゼでは，主に血漿中に存在している PGCP と膜タンパクである GCP II の 2 つの存在が知られているが，他の既知のヒトカルボキシペプチダーゼは，ヒトでは異なる機能を有していると考えられている．

ヒト GCP II と同じ酵素ファミリーであるヒト PGCP（相同性 27.1%）は，最初にヒト胎盤から精製され，主に血漿中に存在している[4]．PGCP は 541 個のアミノ酸で，GCP II は 750 個のアミノ酸で構成されており，両酵素とも 390 個のアミノ酸で構成されるグルカルピダーゼよりも分子量が大きい．機能はペプチドの切断と考えられており，基質は小さなペプチドである．また，PGCP はエンドペプチダーゼ及びエキソペプチダーゼの両方の機能を有する．後述した以外の PGCP 基質については同定されていないため，PGCP の基質がグルカルピダーゼの基質になるかどうかは不明である．

ヒト GCP II 酵素は脳，前立腺及び腎臓，小腸などの組織に発現する膜結合型メタロプロテアーゼである．GCP II はエキソペプチダーゼの機能を有し，特定のペプチドを切断できる．前述したように GCP II は脳内で NAAG を加水分解するが，グルカルピダーゼは通常の状態では血液脳関門を通過できないため, 脳内の NAAG には到達できないと考えられる[13]. また GCP II は，食事性葉酸である pterolypoly gamma-glutamate を細胞内に取り込むために腸内で pteroyl monoglutamate に変換することから，MTX の代謝に寄与していると考えられている[17]．なお，pteroylpoly gamma-glutamate はグルカルピダーゼの基質になる可能性もあるが，グルカルピダーゼは静脈内に投与される製剤であり，高分子であることから血中以外に分布する可能性は低く，pteroylpoly gamma-glutamate の加水分解には関与しないと考えられる．また，GCP II は前立腺癌の腫瘍マーカーの前立腺特異的膜抗原と同一であることが明らかになっている[13]．

上述したように，GCP II 及び PGCP のいずれも，グルタミン酸を含む小さな分子量のペプチドと，グルタミン酸を含まない他のペプチドを分解することができる．GCP II の既知のペプチド基質には Ac-Glu-Met, Ac-Asp-Met, Ac-Ala-Glu 及び Ac-Ala-Met があり，PGCP の既知のペプチド基質には Ac-Asp-Glu, succinyl-leu-phe-7-amido-4-methylcoumarin, succinyl-phe-leu-phe-p-nitroanilide, benzyloxycarbonyl-gly-gly-leu-p-nitoanilide 及び benzyloxy-carbonyl-phe-p-nitroanilide がある．したがって，PGCP の既知のグルタミン酸カルボキシペプチダーゼ活性は，Ac-Asp-Glu に対するものだけであり[4]，PGCP のその他の基質は，エンドペプチダーゼ活性及びエステラーゼ活性によって分解される[4]．一方，グルカルピダーゼは葉酸及び葉酸アナログの C 末端グルタミン酸残基の加水分解，つまりグルタミン酸を含むペプチドの分解のみ報告されている[18]．そのため．グルカルピダーゼの潜在的なペプチド基質は，加水分解のための末端にグルタミン酸を有する Ac-Ala-Glu 及び Ac-Asp-Glu のみである．なお，現状報告されていないだけで，グルカルピダーゼもグルタミン酸を含まないペプチドを分解する可能性は捨てきれない．

ヒトカルボキシペプチダーゼがグルカルピダーゼと基質を共有する可能性についての検討に加えて，抗グルカルピダーゼ抗体がヒトカルボキシペプチダーゼ A 及び B（いずれもヒトグルタミン酸カルボキシペプチダーゼではない）に結合する可能性についても検討した．市販の上記 2 つの酵素のいずれとも交差反応は認められなかった（1845/19，添付資料：5.3.1.4-37）．

結論として，グルカルピダーゼは，ヒトグルタミン酸カルボキシペプチダーゼと同じ，グ

ルタミン酸の加水分解能をもっているため，他のヒトカルボキシペプチダーゼよりもヒトグルタミン酸カルボキシペプチダーゼと基質を共有している可能性が高いと考えられた．2種類のヒトグルタミン酸カルボキシペプチダーゼの存在が知られているが，それらはアミノ酸数，体内に存在する部位（グルカルピダーゼ及び PGCP はいずれも血漿中に存在し，GCP II は膜結合型である），又は少なくともいくつかの基質特異性（GCP II 及びグルカルピダーゼはいずれも葉酸と MTX を分解するが，PGCP ではこの活性を有することが示されていない）において，グルカルピダーゼとは異なる．なお，グルカルピダーゼは，末端にグルタミン酸を有すれば，グルタミン酸以外の部位を分解できる可能性も捨てきれない．しかしながら，2 つのヒトグルタミン酸カルボキシペプチダーゼとグルカルピダーゼの基質特異性が完全には解明されていないため，葉酸と MTX 以外の基質について，細菌とヒトとの間で基質が共有されているかどうかについては結論づけることはできない．

2.7.2.3.4 グルカルピダーゼの LV に対する薬物相互作用

グルカルピダーゼの LV の薬物動態パラメータに及ぼす影響を PR001-CLN-010 試験，PR001-CLN-017 試験及び CPG2-PII 試験で評価した．

健康被験者に LV 投与 2 時間前に OP-07 を投与したとき，LV の活性 L-立体異性体(6S)-LV の $AUC_{0-\tau}$ 及び C_{max}（幾何平均値）はプラセボ投与時と比較してそれぞれ 47%及び 9%低下した．LV 投与約 26 時間前に OP-07 を投与したとき，(6S)-LV の $AUC_{0-\tau}$ 及び C_{max}（幾何平均値）はプラセボ投与時と比較してそれぞれ 22%及び 32%低下した．OP-07 投与により，活性代謝物(6) L/S-5-MeTHF の曝露量も低下した（PR001-CLN-010 試験）．

HD-MTX 療法（MTX 1 g/m^2 以上）後のがん患者に OP-07 併用下（MTX 排泄遅延及び腎機能障害を有する患者）又は非併用下（MTX 排泄遅延及び腎機能障害がない患者）で LV 救援療法を実施したときの LV の薬物動態を評価した（PR001-CLN-017 試験）．本試験では，LV の投与量及び投与方法は OP-07 投与後少なくとも 48 時間は OP-07 投与前の MTX 濃度に基づいて決定し，OP-07 投与前後 2～4 時間を避けて LV を投与した．(6S)-LV の AUC_{0-3}，C_{max}，C_0 及び C_3 の平均値は，OP-07 非投与群より OP-07 投与群で高く，この結果は，OP-07 非投与群より OP-07 投与群で LV の投与量が高かったことと一致した．OP-07 投与群の(6S)-LV の曝露量は，OP-07 非投与群の腎機能正常者の曝露量を下回ることはなかった．LV の基準投与の用量（D_{LV}）で補正した(6S)-LV の AUC_{0-3}/D_{LV} 及び C_{max}/D_{LV} の平均値は，OP-07 投与群と非投与群で同程度であった．

HD-MTX 療法（MTX 1 g/m^2 以上）後の MTX 排泄遅延を有する日本人患者を対象に，OP-07 併用下で LV を投与したときの LV 及び活性代謝物(6) L/S-5-MeTHF の血漿中濃度を評価した（CPG2-PII 試験）．LV は PR001-CLN-017 試験と同様の方法で投与した．その結果，OP-07 投与後の LV 及び(6) L/S-5-MeTHF の血漿中濃度は，LV の投与に伴って上昇し，LV 及び(6) L/S-5-MeTHF の曝露量は一定以上で推移した．

以上より，HD-MTX 療法実施中の患者に LV 救援療法を実施する際には，OP-07 投与後少なくとも 48 時間は，OP-07 投与前の MTX 濃度に基づいて決定した投与量及び投与方法で

LV を投与し，更に OP-07 投与前後 2～4 時間を避けて LV を投与することにより，グルカルピダーゼの LV 及び(6) L/S-5-MeTHF に及ぼす影響を避けることが可能であり，OP-07 投与下でも，LV 及び活性代謝物の濃度を適切に維持できる．

2.7.2.3.5　母集団薬物動態解析

CPG2-PI 試験の OP-07 20 及び 50 U/kg の投与を受けた 8 例, CPG2-PII 試験で OP-07 50 U/kg の投与を受けた 15 例の血漿中グルカルピダーゼ濃度データを用いて，母集団薬物動態解析を実施した（5.3.5.2-1（CPG2-PII 試験_CSR16.1.10_Ver.2）母集団薬物動態解析報告書参照）．データの解析は，いずれも非線形混合効果モデル（Nonlinear Mixed Effect Model）を用いた．

CPG2-PI 試験では，CL 及び $V_{d,ss}$ に対する共変量として，CL 及び $V_{d,ss}$ それぞれに身長，体重及び体表面積（BSA）を，CPG2-PII 試験では，CL 及び $V_{d,ss}$ に対する共変量として，CL 及び $V_{d,ss}$ それぞれに身長，体重，BSA 及び年齢をモデルに組み込んだ．両試験の最終モデルは，いずれも点滴静注 1 コンパートメントモデルであり，CL 及び $V_{d,ss}$ のそれぞれに対する共変量として BSA が特定された．構築された最終モデルは，CPG2-PI 試験は CL（L/h）：$0.0589\times BSA^{3.23}$（CV 3.15%），$V_{d,ss}$（L）：$0.957\times BSA^{2.25}$（CV 6.38%），CPG2-PII 試験は CL（L/h）：$0.238\times BSA^{1.44}$（CV 17.4%），$V_{d,ss}$（L）：$1.20\times BSA^{1.56}$（CV 22.1%）であった．Visual Predictive Check（VPC）によるモデルバリデーションの結果，両モデルは実測値を適切に反映していた．

CPG2-PI 試験の最終モデルの post hoc より得られた健康成人男性における母集団平均薬物動態パラメータ（95%信頼区間）は，CL : 0.329（0.302, 0.356）L/h，$V_{d,ss}$: 3.17（2.97, 3.36）L と推定され，体重あたりのパラメータは CL：0.0896 mL/min/kg，$V_{d,ss}$：51.9 mL/kg であった．CPG2-PII 試験の最終モデルの post hoc より得られた腎機能低下患者を含む被験者における母集団平均薬物動態パラメータ（95%信頼区間）は，CL : 0.380（0.289, 0.470）L/h，$V_{d,ss}$: 2.04（1.47, 2.60）L と推定され，体重あたりのパラメータは CL：0.0822 mL/min/kg，$V_{d,ss}$：56.0 mL/kg であった．国外 PR001-CLN-005 試験で得られた腎機能が正常な被験者及び腎機能障害を有する被験者における薬物動態パラメータは，それぞれ CL：0.0892 mL/min/kg, $V_{d,ss}$: 58.0 mL/kg 及び CL : 0.0860 mL/min/kg, $V_{d,ss}$: 67.9 mL/kg であり，最終モデルの post hoc より得られた母集団薬物動態パラメータの値と大きな差は認められず，母集団薬物動態解析の結果は，グルカルピダーゼの薬物動態に日本人と外国人との差がないことを裏付けるものであった．

2.7.2.4　特別な試験

2.7.2.4.1　免疫原性

OP-07 は遺伝子組換えのタンパク製剤であり，抗グルカルピダーゼ抗体産生を誘導する可能性があるため，抗グルカルピダーゼ抗体産生を指標にグルカルピダーゼの免疫原性を評価した．グルカルピダーゼの免疫原性の結果を 2.7.4.2.3 に記載した．なお，OP-07 は短期間で静脈内に単回投与される製剤であり，$t_{1/2}$ も短いため，グルカルピダーゼの曝露量と抗グ

ルカルピダーゼ抗体産生との関係は評価していない.

2.7.2.4.2　QT/QTc への影響

本薬は高分子タンパク質（分子量約 83,000）であり，イオンチャネルに直接作用する可能性が低いこと及びイヌの反復投与試験において QT 延長作用が認められなかったことから，ヒト QT/QTc 評価試験を実施しなかった.

2.7.2.5 付録

表 2.7.2.5-1 グルカルピダーゼの薬物動態を検討した臨床試験の試験デザイン及び薬物動態パラメータの一覧（次頁に続く）

試験番号 （試験の相） 添付資料番号	試験の目的	対象被験者 被験者数(男/女) 年齢(歳) (中央値[範囲]) 体重(kg) (中央値[範囲])	OP-07 の投与量及び投与方法	グルカルピダーゼの薬物動態パラメータ 平均値(標準偏差)						
				C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-24} (μg·h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (μg·h/mL)	t_{max} *1 (h)	$t_{1/2}$ (h)	CL (mL/min)	$Vd_{,ss}$ (L)
CPG2-PI （第 I 相） 5.3.3.1-1	安全性 薬物動態	日本人健康成人男性 16 (16/0) 22.0 (20.0-43.0) 61.45 (54.30-66.90)	1 回目：OP-07 20 U/kg 又は 50 U/kg を 5 分間かけて静脈内投与 2 回目：1 回目投与の 46～50 時間後に 1 回目と同様に投与	1 回目 20 U/kg 投与時						
				1.03 (0.098)	8.64 (0.49)	9.74 (0.60)	NC (0.25, 0.25)	7.38 (0.47)	4.19 (0.40)	2.27 (0.24)
				1 回目 50 U/kg 投与時						
				2.43 (0.336)	19.99 (2.94)	22.44 (3.42)	NC (0.25, 0.25)	7.25 (0.41)	4.70 (0.92)	2.49 (0.43)
CPG2-PII （第 II 相） 5.3.5.2-1	有効性 安全性 薬物動態	HD-MTX 療法後に MTX 排泄遅延を有する日本人がん患者 15 (9/6) 15.0 (1-75) 47.00 (10.7-78.1)	1 回目：OP-07 50 U/kg を 5 分間かけて静脈内投与 2 回目：1 回目投与の 48 時間後の血漿中 MTX 濃度が 1 μmol/L 以上であった場合に，1 回目と同様に投与	2.32 (0.617)	15.05 (3.07)	15.88 (3.40)	0.333 (0.233, 0.433)	5.61 (0.76)	4.95 (2.19)	1.76 (0.87)
OP-07-001 （第 II 相） 5.3.5.2-4	有効性 安全性 薬物動態	HD-MTX 療法後に MTX 排泄遅延を有する日本人がん患者 4 (3/1) NC ([redacted]) 33.85 ([redacted])	OP-07 50 U/kg を 5 分間かけて単回静脈内投与	1,914.92 (610.06) ※	12.87 (5.41)	13.56 (5.88)	0.35 (0.333, 0.4)	5.72 (0.70)	5.27 (4.54)	2,290 (1,820) *2

表 2.7.2.5-1 グルカルピダーゼの薬物動態を検討した臨床試験の試験デザイン及び薬物動態パラメータの一覧（続き）

試験番号 （試験の相） 添付資料番号	試験の 目的	対象被験者 被験者数(男/女) 年齢(歳) (中央値[範囲]) 体重(kg) (中央値[範囲])	OP-07 の投与量及び投与方法	グルカルピダーゼの薬物動態パラメータ 平均値(標準偏差)						
				C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24}$ (μg·h/mL)	$AUC_{0\text{-}\infty}$ (μg·h/mL)	t_{max} *2 (h)	$t_{1/2}$ (h)	CL (mL/min)	$V_{d,ss}$ (L)
PR001-CLN-005 （第 I 相） 5.3.3.1-2	薬物動態	外国人被験者 (1) 重度の腎機能障害を有する被験者 4 (3/1) 41 (32-51) 87.5 (75.3-106.5) (2) 腎機能が正常な被験者 8 (6/2) 42 (22-50) 83.4 (67.4-114.7)	OP-07 50 U/kg を 5 分間かけて単回静脈内投与	(1) 腎機能障害を有する被験者						
				2.86 (0.828)	21.5 (10.49) *3	24.5 (9.43)	0.550 (0.100, 1.00)	9.97 (2.061)	7.68 (2.62)	6.14 (3.12)
				(2) 腎機能が正常な健康被験者						
				3.08 (0.843)	20.2 (5.22) *3	23.4 (6.85)	0.250 (0.100, 2.00)	9.00 (3.180)	7.51 (1.57)	5.01 (1.33)
PR001-CLN-010 （第 I 相） 5.3.3.4-1	薬物相互作用：ロイコボリンの薬物動態に対するグルカルピダーゼの影響	外国人健康成人男性 6 (6/0) 39 (20-57) 77.6 (63.2-85.1)	OP-07 50 U/kg を 5 分間かけて単回静脈内投与	2.84 (16.8) *4	20.98 (12.0) *3,4	22.77 (11.2) *4	0.167 (0.167, 1.00)	7.13 (12.0) *4	6.08 (14.8) *4	3.46 (22.7) *4
PR001-CLN-017 （第 I 相） 5.3.3.4-2	薬物相互作用：ロイコボリンの薬物動態に対するグルカルピダーゼの影響	HD-MTX 療法後の外国人がん患者 (1) MTX 排泄遅延及び腎機能障害を有する患者 8 (6/2) 18.0 (12-43) 85.55 (36.0-108.8) (2) MTX 排泄遅延及び腎機能障害がない患者 9 (7/2) 9.0 (7-31) 33.20 (24.3-80.0)	OP-07 50 U/kg を 5 分間かけて単回静脈内投与	-	-	-	-	-	-	-

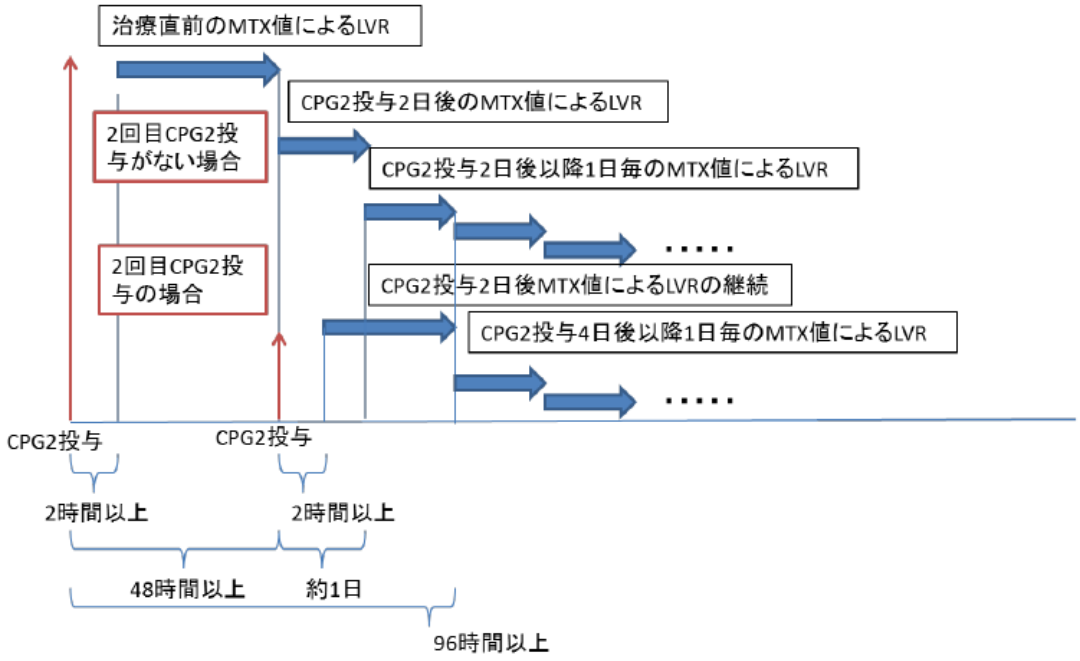
-：該当せず，※：ng/mL

＊1：中央値 (最小値，最大値)　　＊2：$V_{d,ss}$ (mL)

＊3：$AUC_{0\text{-}tz}$「最終検体採取時点：OP-07 投与後 96 時間（PR001-CLN-005）及び OP-07 投与後 26 時間（PR001-CLN-010）」　　＊4：幾何平均値 (CV%)

2.7.2.5.1　CPG2-PII 試験

図 2.7.2.5.1-1　LV の投与量及び投与方法決定のための血漿中 MTX 濃度評価時点（CPG2-PII 試験）



LVR：Leucovorin rescue（ロイコボリン救援療法）
引用元：5.3.5.2-1（CPG2-PII 試験_CSR16.1.1_Ver.2）の治験実施計画書（Ver1.8.0）9 章

表 2.7.2.5.1-1　人口統計学的特性及び他の基準値の特性（薬物動態解析対象集団）
（CPG2-PII 試験）

項目	区分		薬物動態解析対象集団
性別	男		9 (60.0%)
	女		6 (40.0%)
初診時病理診断結果	急性リンパ性白血病		3 (20.0%)
	非ホジキンリンパ腫		1 (6.7%)
	骨肉腫		9 (60.0%)
	その他		2 (13.3%)
	その他内訳	びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫	1
		小脳髄芽腫	1
薬物アレルギー	無		15 (100.0%)
	有		0 (0.0%)
年齢（歳）	測定数		15
	平均（標準偏差）		20.5 (19.1)
	中央値（最小-最大）		15.0 (1-75)
	Q1，Q3		12.0，27.0
	0 歳以上 2 歳未満		2 (13.3%)
	2 歳以上 10 歳未満		1 (6.7%)
	10 歳以上 14 歳未満		2 (13.3%)
	14 歳以上 18 歳未満		6 (40.0%)
	18 歳以上		4 (26.7%)
身長（cm）	測定数		15
	平均（標準偏差）		150.41 (31.19)
	中央値（最小-最大）		156.00 (78.5-177.5)
	Q1，Q3		149.20，175.10
体重（kg）	測定数		15
	平均（標準偏差）		45.73 (21.01)
	中央値（最小-最大）		47.00 (10.7-78.1)
	Q1，Q3		33.20，65.80
MTX 排泄遅延診断時の血中 MTX 濃度（μmol/L）	測定数		15
	平均（標準偏差）		85.411 (171.736)
	中央値（最小-最大）		51.000 (1.02-692.32)
	Q1，Q3		6.960，63.300
最終時 LV 投与量（mg/m^2）	測定数		15
	平均（標準偏差）		16.3680 (8.7341)
	中央値（最小-最大）		15.5000 (0.000-30.000)
	Q1，Q3		15.0000，24.7000

引用元：5.3.5.2-1（CPG2-PII 試験_CSR_Ver.2）の表 14.1-2 から一部改変

2.7.2.5.2 PR001-CLN-017 試験

表 2.7.2.5.2-1 LV（USP 名：ロイコボリンカルシウム）の添付文書（Bedford Laboratories）における推奨用量（PR001-CLN-017 試験）

臨床的状態	臨床検査所見	LV の投与量及び投与方法
MTX 排泄遅延なし	投与 24 時間後の血清中 MTX 濃度が約 10 μmol/L，投与 48 時間後の血清中 MTX 濃度が 1 μmol/L，及び投与 72 時間後の血清中 MTX 濃度が 0.2 μmol/L 以下	15 mg を 6 時間間隔で 60 時間経口，筋注又は静脈内投与 (MTX 投与開始 24 時間後から 10 回投与)
MTX 投与後一定時間経過後に MTX 排泄遅延あり	投与 72 時間後の血清中 MTX 濃度が 0.2 μmol/L を超える，及び投与 96 時間後の血清中 MTX 濃度が 0.05 μmol/L を超える	血清中 MTX 濃度が 0.05 μmol/L 未満となるまで 15 mg を 6 時間間隔で経口，筋注又は静脈内投与
下記のいずれか，又は両方： ・MTX 投与後早期に MTX 排泄遅延あり ・MTX 投与後に急性腎機能障害あり	投与 24 時間後の血清中 MTX 濃度が 50 μmol/L 以上又は投与 48 時間後の血清中 MTX 濃度が 5 μmol/L 以上， 若しくは 投与 24 時間後の血清中クレアチニン値が 2 倍を超えて上昇(例, 0.5 mg/dL から 1 mg/dL 以上への上昇)	血清中 MTX 濃度が 1 μmol/L 未満となるまで 150 mg を 3 時間間隔で静脈内投与し，その後，血清中 MTX 濃度が 0.05 μmol/L 未満となるまで 15 mg を 3 時間間隔で静脈内投与

LV 50 mg は体表面積換算で約 10 mg/m^2 に相当
引用元：5.3.3.4-2（pr001-cln-017-e3-16-1-01）の治験実施計画書（Amendment 2）Appendix C:から一部改変