サノフィ株式会社

セミプリマブ（遺伝子組換え）

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.4 薬物動態試験の概要文

Total number of pages: 27

目　　次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 1

目　　次 2

表　目　次 4

図　目　次 5

略号と用語の定義 6

1　　まとめ 7

2　　分析法 9

2.1　　サル血清中セミプリマブの測定 9

2.2　　サル血清中抗セミプリマブ抗体の検出 9

3　　吸収／薬物動態 12

3.1　　サル血清中セミプリマブの薬物動態評価 15

3.2　　サル血清中セミプリマブのトキシコキネティクス評価 17

4　　分布 18

5　　代謝（動物種間の比較） 19

6　　排泄 20

7　　免疫原性 21

7.1　　サル血清中でのセミプリマブの免疫原性 21

8　　薬物動態学的薬物相互作用 23

9 その他の薬物動態試験 24

10 考察及び結論 25

参 考 文 献 27

表　目　次

表 1 - セミプリマブ及び抗セミプリマブ抗体の分析法の概要 11

表 2 - サルにセミプリマブを単回静脈内又は皮下投与したときのサル血清中セミプリマブの薬物動態パラメータ平均値 13

表 3 - サルを用いた反復静脈内投与毒性試験の試験デザイン及びセミプリマブのトキシコキネティクスの概要 14

表 4 - サルにおけるセミプリマブの免疫原性 22

図　目　次

図 1 - 雌サルにセミプリマブを単回IV又はSC投与したときのセミプリマブの平均血清中濃度（REGN2810-PK-14065試験、REGN2810-PK-14152試験） 16

略号と用語の定義

略号	定義
ADA	抗セミプリマブ抗体（Anti-drug antibody）
AUC	（血清中）濃度－時間曲線下面積（Area under the concentration-time curve）
β相$t_{1/2}$（Beta $t_{1/2}$）	濃度－時間曲線のβ相から推定した消失半減期（Half-life estimated by the observed beta phase of the concentration-time curve）
Bio-REGN2810	ビオチン化セミプリマブ（Biotinylated REGN2810）
CL	クリアランス（Clearance）
C_{max}	最高（血清中）濃度（Maximum drug concentration）
ELISA	酵素結合免疫吸着測定法（Enzyme-linked immunosorbent assay）
F	バイオアベイラビリティ（Bioavailability）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice）
HRP	ホースラディッシュペルオキシダーゼ（Horseradish peroxidase）
ICH	医薬品規制調和国際会議（International council for harmonisation of technical requirements for pharmaceuticals for human use）
IgG	免疫グロブリンG（Immunoglobulin subtype G）
IV	静脈内（Intravenous）
LLOQ	定量下限（Lower limit of quantitation）
PD-1	Programmed cell death-1
PD-L1	Programmed cell death-ligand 1
PK	薬物動態（Pharmacokinetic(s)）
QC	品質管理（Quality control）
Ru-REGN2810	ルテニウム標識セミプリマブ（Ruthenium-labeled REGN2810）
SC	皮下（Subcutaneous）
最終相（Terminal $t_{1/2}$）	濃度－時間曲線の最終相から推定した消失半減期（Half-life estimated by the observed terminal phase of the concentration-time curve）
TK	トキシコキネティクス（Toxicokinetic(s)）
TMC	標的分子を介した消失（Target-mediated clearance）
t_{max}	最高血清中濃度到達時間（Time to maximum drug concentration）
V_{ss}	定常状態における分布容積（Volume of distribution at steady state）

1　まとめ

セミプリマブ（遺伝子組換え）（以下、セミプリマブ、開発コード REGN2810）は、受容体 programmed cell death-1（PD-1）に高い親和性で結合するヒト型 IgG4^{P} モノクローナル抗体であり、腫瘍特異的エフェクターT 細胞上の受容体 PD-1 と腫瘍細胞上の programmed cell death-ligand 1（PD-L1）の間の相互作用を阻害する。

非臨床毒性試験と併せて、臨床開発プログラムのため、セミプリマブの単回静脈内（IV）投与薬物動態（PK）試験及びトキシコキネティクス（TK）解析を伴う反復 IV 投与毒性試験を実施して PK の特性評価を行った。更に、臨床試験で皮下（SC）投与する可能性を考慮し、単回 SC 投与 PK 試験も実施した。

非臨床試験では、バリデートされた酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）を用いてサル血清中のセミプリマブ濃度を測定した後、ノンコンパートメント解析により PK パラメータを算出した。内因性の標的である PD-1 は膜結合型受容体である。ヒト血液中に可溶性 PD-1 が検出されるが、その血清中濃度は非常に低い（0.038～100 ng/mL）と報告されている(1)(2)。そのため、血中においてセミプリマブは PD-1 との結合部位のうち 1 つ以上が占有されていない結合能を有した形（機能性セミプリマブ）で存在すると推定される。したがって、ELISA を用いた本分析法の標的捕捉様式では、血中の全てのセミプリマブを検出可能と考えられる。

雌カニクイザルに用量 1～15 mg/kg のセミプリマブを単回 IV 又は SC 投与したときの PK を評価した（3.1項）。血清中濃度－時間推移は、短い分布相（IV 投与後）又は吸収相（SC 投与後）と、これに続く線形消失相（β 相）及び最終消失相によって特徴づけられる。抗セミプリマブ抗体（ADA）陽性による影響が小さかった少数動物で得られた PK プロファイルに基づくと、血清中セミプリマブ濃度が約 5 µg/mL 未満～20 µg/mL であった用量 5 mg/kg 以下の単回 IV 投与時には、非線形性の標的分子を介した消失（TMC）が顕著に認められた。しかし、この試験で高い ADA 陽性率が認められたことから、これら少数動物での消失過程における ADA の関与を無視することはできない。用量 15 mg/kg では、8 週間の試料採取期間終了時の濃度が標的分子を介した経路を飽和させるのに十分高い濃度に維持されていたことから、線形性の動態が認められた。用量 1～15 mg/kg のセミプリマブを単回 IV 投与したとき、認められたセミプリマブの非線形性と一致して、曝露量は用量比を上回る増加を示し、全身クリアランスは用量増加に伴って濃度依存的に低下した。全ての用量群で β 相での消失半減期は 10～12 日であった。SC 投与後のセミプリマブのバイオアベイラビリティは 86.5%と推定された。

セミプリマブの TK 及び免疫原性プロファイルに実質的な性差は認められなかった。したがって、ここでは、雌雄の結果を統合して考察する。

サルに用量 2～50 mg/kg/週のセミプリマブを最長 6 か月間にわたり週 1 回 IV 投与した後、最長 12 週間の回復期間を設けた毒性試験でセミプリマブの TK を評価した（3.2項）。曝露量は用量に依存し、最長 26 週間の投与期間を通して、2 mg/kg/週投与群の 45%の動物及び 50 mg/kg/週投与群の 79%の動

物で持続的な曝露が認められた。また、8～12 週間の回復期間を通して、10 mg/kg/週以上の投与群の63%以上の動物で検出可能な濃度のセミプリマブが認められた。週 1 回の投与期間中、曝露量が用量に比例して増加したことから、標的分子を介した経路が飽和することが示された。回復期間中、用量 10 mg/kg/週以上で線形動態が認められる一方、2 mg/kg/週投与群では TMC が顕著であった。サルに用量 10 mg/kg/週以上のセミプリマブを 4～6 か月間投与したとき、定常状態における曝露量は初回投与時の 2～4 倍であった。13 週間及び 26 週間毒性試験で週 1 回投与したとき、8 回目投与後に定常状態に達した。

サル血清中 ADA（7.1項）の検出には、バリデートされた非定量的な電気化学発光に基づくブリッジングイムノアッセイ法を使用した。全ての試験を通して、全用量群で免疫原性は中等度～高度（33～100%）であり、ADA の発現率と用量の間に逆相関関係が認められた。ADA 陽性であった動物の多くで、ADA 陰性動物に比べてセミプリマブ濃度が低下したことから、ADA を介したセミプリマブ消失の促進が示唆された。セミプリマブはヒト型抗体であるため、サルにセミプリマブを投与したときに ADA が発現するのは予想外のことではない。また、サルで免疫原性が認められたことは、必ずしもヒトでの免疫原性を予測するものではない。なお、これらの試験におけるセミプリマブの PK 及び安全性プロファイルの特性評価に対する ADA の影響はなかったと考えられる。

全ての非臨床 PK 試験及び TK 評価を伴う非臨床毒性試験の概要、並びにその GLP 適用状況を Module [2.6.5.1]に示す。GLP 非適用の PK 試験は、GLP の一般原則の下で実施した。これらの試験の信頼性に影響を及ぼした可能性のある予期せぬ状況は認められなかった。

非臨床試験で使用したセミプリマブ製剤とヒト初回投与試験（REGN2810-ONC-1423）用の臨床試験用製剤で組成は類似しており、10 mmol/L ヒスチジン、10%（w/v）精製白糖［REGN2810-PK-14065 試験及び REGN2810-TX-14059 試験では 5%（w/v）精製白糖］及び 0.1%（w/v）ポリソルベート 80 を含有し、pH 6.0 に調整したセミプリマブ水性緩衝液であった。

要約すると、セミプリマブに関して得られた非臨床 PK データは全ての試験を通して一貫していた。サルに反復投与したときに認められた蓄積比が予想通りであったことから裏付けられるように、セミプリマブを反復投与したときの動態は単回投与後と同様であった。結論として、サルを用いて実施した非臨床 PK 及び TK 試験結果はセミプリマブの製造販売承認申請を支持するものであった。

2　分析法

2.1　サル血清中セミプリマブの測定

サル血清中のセミプリマブ濃度は、バリデートされた ELISA 法（Module 4.2.2.1-1 [REGN2810-AV-14064]）を用いて測定した。この ELISA 法では、マイクロタイタープレートにヒト PD-1 の細胞外ドメインを固相化し、標準物質としてセミプリマブを使用する。ELISA プレートに捕捉されたセミプリマブは、ビオチン化マウス抗ヒト IgG4 特異的モノクローナル抗体を添加した後、ホースラディッシュペルオキシダーゼ標識 NeutrAvidin（NeutrAvidin-HRP）を用いて検出する。ペルオキシダーゼに特異的なルミノール系の基質を添加して得られるシグナル強度は、セミプリマブ濃度に正比例する。この分析はマトリックスとして 2%サル血清を用いて実施し、未希釈のサル血清中での定量下限（LLOQ）は 78 ng/mL である。

内因性の標的である PD-1 は、膜結合型受容体である。ヒト血液中に可溶性 PD-1 が検出されるが、その血清中濃度は非常に低い（0.038～100 ng/mL）と報告されている(1)(2)。そのため、血中においてセミプリマブは PD-1 との結合部位のうち 1 つ以上が占有されていない結合能を有した形（機能性セミプリマブ）で存在すると推定される。したがって、ELISA を用いた本分析法の標的捕捉様式では、血中の全てのセミプリマブが検出可能と考えられる。

2.2　サル血清中抗セミプリマブ抗体の検出

サル血清中の抗セミプリマブ抗体（ADA）は、バリデートされた非定量的ブリッジングイムノアッセイ法（Module 4.2.2.1-2 [REGN2810-AV-14103]）を用いて検出した。この分析法では、フローティングカットポイントを用いて、陰性対照に基づいて試料で陽性反応が認められるかどうかを判定した。ビオチン化セミプリマブ（Bio-REGN2810）及びルテニウム標識セミプリマブ（Ru-REGN2810）とともに試料をインキュベートすると、陽性対照又は試料中に存在する抗セミプリマブ抗体が Bio-REGN2810 及び Ru-REGN2810 の両方に結合し、ブリッジが形成される。次に、ストレプトアビジンを固相化したマイクロプレートに被験試料又は対照試料を添加し、架橋結合した複合体をマイクロプレートウェルの表面に結合させることにより、Bio-REGN2810 を捕捉する。その後、トリプロピルアミンを含む読み取り緩衝液をマイクロプレートウェルに添加し、電気化学発光測定用のマイクロプレートリーダーを用いて読み取りを行う。結果として生じる電気化学発光シグナル（カウント）は陽性対照又は血清試料中に存在する ADA 量に比例する。

この分析では、スクリーニング試験及び確認試験の 2 種類の試験を行う。すなわち、最初にスクリーニング試験を実施し、陽性となった試料について、確認試験を行う。確認試験では、標識架橋成分と競合する過剰量の非標識セミプリマブ存在下、試料の再分析を行う。試料中に ADA が存在する場

合、非標識セミプリマブを添加しなかった試料に比べて、シグナルが減少する。確認試験で陽性となった試料を ADA 陽性と判断する。

バリデートされたこの分析法の感度は、マウスモノクローナル抗体（REGN2567）陽性対照に基づいて、セミプリマブ非存在下、未希釈サル血清中で約 1.3 ng/mL である。未希釈サル血清において、陽性対照（500 ng/mL）試料のシグナルがプレートカットポイント値にまで低下する薬物濃度を表す、drug tolerance limit（DTL）は約 1284 µg/mL であった。

表 1 - セミプリマブ及び抗セミプリマブ抗体の分析法の概要

動物種	分析対象物質	マトリックス	標準試料 (ng/mL)[a]	QC 試料 (ng/mL)	感度 (ng/mL)[b]	参考資料
PKアッセイ						
サル	セミプリマブ	2%サル血清	1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, 100	4.5, 20, 75	1.56	Module 4.2.2.1-1 [REGN2810-AV-14064]
ADAアッセイ						
サル	抗セミプリマブ抗体	3.3%サル血清	NA	0.25, 2, 40	1.3	Module 4.2.2.1-2 [REGN2810-AV-14103]

QC = 品質管理、PK = 薬物動態、ADA = 抗薬物抗体、NA = 該当なし

a 標準試料及びQC試料は、公称分析濃度で表す。

b PK アッセイの場合、未希釈血清を用いた感度である。ADA アッセイの場合、セミプリマブ非存在下、未希釈血清を用いたときの陽性対照 REGN2567（マウス抗ヒト IgG 抗体、Fc 特異的モノクローナル抗体）の感度である。未希釈サル血清において、陽性対照（500 ng/mL）試料のシグナルがプレートカットポイント値にまで減少する薬物濃度を表す drug tolerance limit（DTL）は約 1284 µg/mL である。

3　吸収／薬物動態

サルを用いたPK試験でノンコンパートメント解析により得られたセミプリマブのPKパラメータを要約して表 2に示す（Module 2.6.5 [REGN2810-PK-14065] 試験及び[REGN2810-PK-14152] 試験）。サルを用いた毒性試験の概要及びセミプリマブの主な PK パラメータを表 3に示す。毒性試験の詳細については、Module [2.6.6] 及び Module 2.6.7 [REGN2810-TX-14059] 試験、[REGN2810-TX-14153] 試験及び[REGN2810-TX-15151] 試験に記載した。

表 2 - サルにセミプリマブを単回静脈内又は皮下投与したときのサル血清中セミプリマブの薬物動態パラメータ平均値

試験番号（GLP 適用）	投与経路	投与量 (mg/kg)	動物数（雌）	t_{max} (day)	C_{max} (µg/mL)	C_{max}/投与量 ([µg/mL]/[mg/kg])	最終相 $t_{1/2}$[a] (day)	β 相 $t_{1/2}$ (day)	AUC[b] (µg•day/mL)	AUC/投与量[b] ([µg•day/mL]/[mg/kg])	V_{ss} (mL/kg)	CL (mL/day/kg)	F[c] (%)
[REGN2810-PK-14065] (GLP非適用) Module 4.2.2.2-1	静脈内	1	5	0.130	33.3	33.3	1.19	9.84	168	168	37.3	5.99	NA
		5	5	0.0471	121	24.1	2.02	10.9	1100	220	63.4	4.56	
		15	5	0.0979	355	23.7	9.85	12.4	3950	263	65.6	3.68	
[REGN2810-PK-14152] (GLP適用) Module 4.2.2.2-2	皮下	1	5	3	12.1	12.1	NA	9.72	77.0	77.0	NA	NA	86.5
		5	5	3	67.7	13.5		11.9	428	85.6			
		15	5	4	188	12.6		16.2	1250	83.3			

t_{max} = 最高血清中濃度到達時間、C_{max} = 最高血清中濃度、最終相$t_{1/2}$ = 濃度－時間曲線の最終相から推定した消失半減期、β相$t_{1/2}$ = 濃度－時間曲線のβ相から推定した消失半減期、AUC = 濃度－時間曲線下面積、V_{ss} = 定常状態における分布容積、CL = クリアランス、F = バイオアベイラビリティ、GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、NA = 該当なし

a 試験期間が限られていたため、15 mg/kg群では、最終相の消失半減期は真の最終相半減期を表していない可能性がある。

b REGN2810-PK-14065試験では、AUC_{last}（投与開始から定量下限以上の濃度が得られた最終時点までのAUC）を、REGN2810-PK-14152試験では、$AUC_{0\text{-}8days}$（投与開始からいずれかの動物でADA反応が認められる前の最終時点までのAUC）を報告する。

c バイオアベイラビリティは、サルを用いたセミプリマブのIV投与PK試験及び毒性試験（REGN2810-PK-14065試験及びREGN2810-TX-14059試験）で得られたデータを総合して、母集団PK解析により推定した（REGN2810-PK-14152試験）。

表 3 - サルを用いた反復静脈内投与毒性試験の試験デザイン及びセミプリマブのトキシコキネティクスの概要

試験番号	Module 2.6.7 相互参照	試験の種類（GLP 適用）	投与経路	動物数／TK 投与群	投与量／投与頻度（総投与回数）	蓄積比[a]	定常状態に達するまでの投与回数[c]	性差
[REGN2810-TX-14059] Module 4.2.3.2-1	表2.6.7.3A	4週間毒性試験及び 8 週間回復性試験（GLP適用）	静脈内	雄5／雌5	2 mg/kg/週（4回）	1.85	ND	なし
					10 mg/kg/週（4回）	1.56	ND	
					50 mg/kg/週（4回）	1.18	ND	
[REGN2810-TX-15151] Module 4.2.3.5.1-1	表2.6.7.3C	13週間受胎能試験及び12週間回復性試験（GLP適用）	静脈内	雄6／雌6	10 mg/kg/週（13回）	2.98	8	なし
					50 mg/kg/週（13回）	3.07	8	
[REGN2810-TX-14153] Module 4.2.3.2-2	表2.6.7.3B	26週間毒性試験及び12週間回復性試験（GLP適用）	静脈内	雄6／雌6	2 mg/kg/週（26回）	ND[b]	ND	なし
					10 mg/kg/週（26回）	3.90	8	
					50 mg/kg/週（26回）	2.26	8	

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、ND = 特定できず

a 各試験の最初の投与間隔と最後の投与間隔のAUC_{tau}平均値（週1回の投与間隔内の濃度－時間曲線下面積）を比較して算出した。

b ADAの存在が曝露量評価の障害となったため、蓄積比を算出することはできなかった。

c 初回投与から最終投与までの曝露量の増加が十分ではなかった場合、定常状態に達するまでの投与回数を特定できなかった（ND）とした。

3.1　サル血清中セミプリマブの薬物動態評価

雌カニクイザルに用量 1、5 及び 15 mg/kg のセミプリマブを単回 IV 又は SC 投与したときの血清中セミプリマブの PK プロファイルを評価した（表 2、図 1、Module 2.6.5.3　[REGN2810-PK-14065] 試験及び[REGN2810-PK-14152] 試験）。

投与前及びその後あらかじめ規定した時点で逐次血液試料を採取し、得られた血清中のセミプリマブ濃度をバリデートされた ELISA 法を用いて測定した（表 1）。

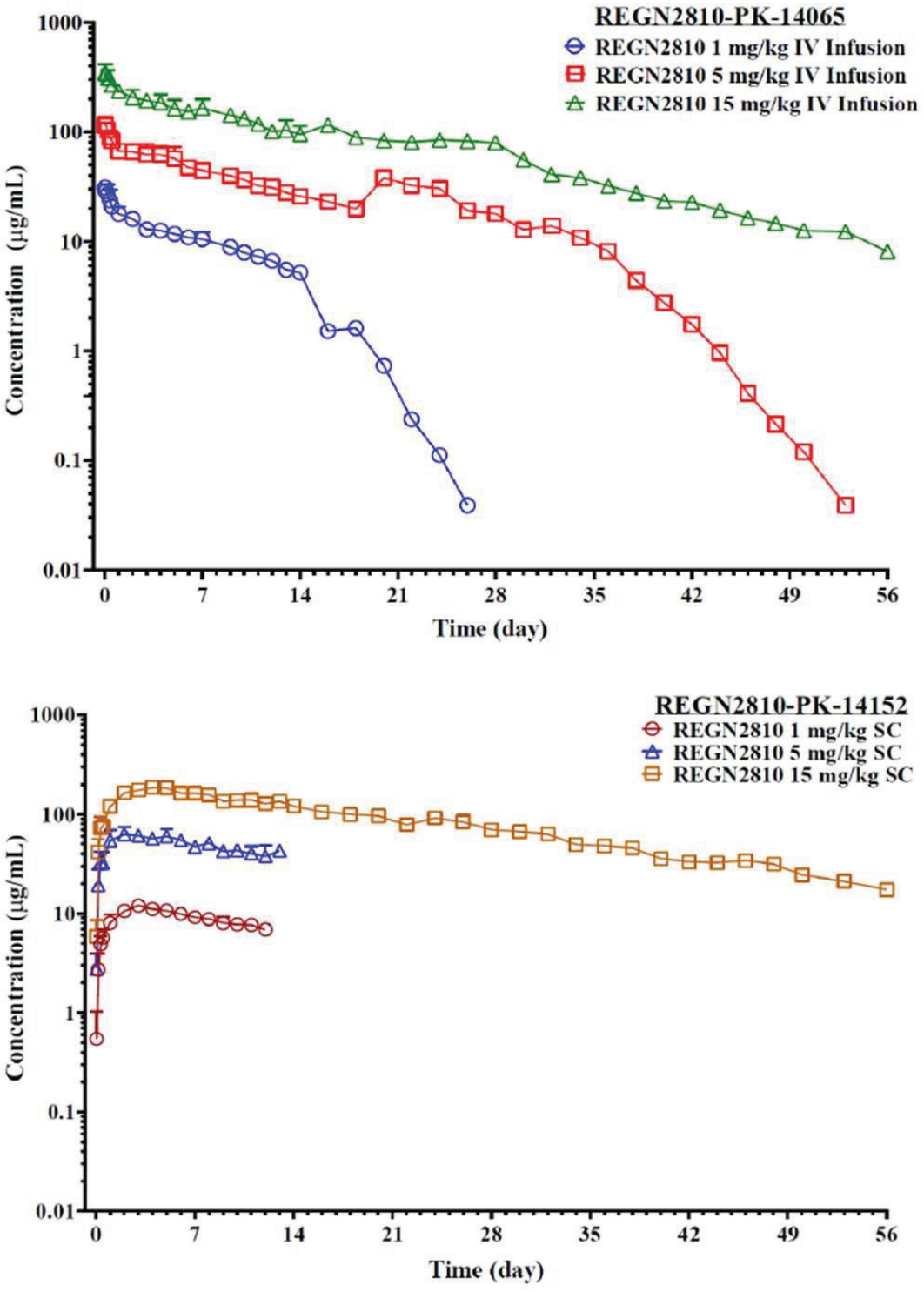
セミプリマブの血清中濃度－時間推移は、短い分布相（IV 投与後）又は吸収相（SC 投与後）と、これに続く線形消失相（β 相）及び最終消失相によって特徴づけられた。ADA 陽性による影響が小さかった少数動物で得られた PK プロファイルに基づくと、血清中セミプリマブ濃度が約 5 µg/mL 未満～20 µg/mL であった用量 5 mg/kg 以下の単回 IV 投与時には、非線形性の TMC が顕著であった。しかし、この試験で高い ADA 陽性率が認められたことから、これら少数動物での消失過程における ADA の関与を無視できない。用量 15 mg/kg では、8 週間の試料採取期間終了時の濃度が標的分子を介した経路を飽和させるのに十分高い濃度に維持されていたことから、線形性の動態が認められた。単回 SC 投与後は、ADA の存在によって TMC が不明瞭になったため、TMC 相は認められなかった。

濃度－時間推移と一致して、セミプリマブは非線形性の動態を示した。曝露量（AUC_{last}）は用量比を上回る増加を示し、用量 1～15 mg/kg の範囲で単回 IV 投与後の用量で補正した AUC_{last} 値は 1.6 倍増加した。セミプリマブで認められた非線形性と一致して、用量増加及びこれに対応するセミプリマブ濃度上昇に伴ってクリアランスは低下し（1 mg/kg IV 投与時の 5.99 mL/day/kg から 15 mg/kg IV 投与時の 3.68 mL/day/kg に低下）、高用量での標的分子を介した経路の飽和を反映していると考えられた。1～15 mg/kg 単回 IV 投与後の β 相での消失半減期は約 10～12 日であった。認められたセミプリマブの非線形性と一致して、用量 5 mg/kg 以下を IV 投与したときの最終相の消失半減期推定値は短かった。

サルに用量1～15 mg/kgのセミプリマブを単回SC投与したとき、C_{max}は用量にほぼ比例して上昇し、t_{max}は約 4 日であった。15 mg/kg 単回 SC 投与後のバイオアベイラビリティは 86.5%であった。

セミプリマブを IV 投与した全ての動物及びセミプリマブを SC 投与した大部分（93%）の動物で ADA が認められた（7.1項）。

図 1 - 雌サルにセミプリマブを単回 IV 又は SC 投与したときのセミプリマブの平均血清中濃度
（REGN2810-PK-14065 試験、REGN2810-PK-14152 試験）



3.2　サル血清中セミプリマブのトキシコキネティクス評価

雌雄のカニクイザルを用いて実施した毒性試験の一部として、用量 2～50 mg/kg/週のセミプリマブを週 1 回、4、13 又は 26 週間投与し、最終投与後 8 又は 12 週間にわたる回復期間を設けて、セミプリマブの血清中 TK プロファイルを評価した（表 3、Module 2.6.7.3 [REGN2810-TX-14059] 試験、[REGN2810-TX-14153] 試験及び[REGN2810-TX-15151] 試験）。

反復 IV 投与後、2 mg/kg/週投与群の 45%の動物で 4 週間及び 26 週間の投与期間を通して持続的曝露が認められるとともに、10 及び 50 mg/kg/週投与群のそれぞれ 65%及び 79%の動物で 4、13 及び 26 週間の投与期間を通して持続的な曝露が認められた。8～12 週間の回復期間を通して、試験の全ての試料採取時点において、セミプリマブ投与群の 63%以上の動物で検出可能な濃度のセミプリマブが認められた。

週 1 回の投与期間中、曝露量が用量に比例して増加したことから、標的分子を介した経路が飽和することが示された。回復期間中、用量 10 mg/kg/週以上で線形動態が認められたが、血清中セミプリマブ濃度が約 5 µg/mL 未満～20 µg/mL であった 2 mg/kg/週投与後には、TMC が顕著であった。しかし、この試験で高い ADA 陽性率が認められたことから、消失過程における ADA の関与を無視できない。サルに用量 10 mg/kg/週以上のセミプリマブを 4～6 か月間投与したとき、蓄積が認められ、蓄積比は約 2.3～3.9 であった。週 1 回投与したとき、8 回目投与後に定常状態に達した。

サルに反復 IV 投与したとき、セミプリマブの曝露量（TK プロファイル）及び免疫原性に性差は認められなかった。

全ての毒性試験を通して、全用量群で免疫原性（ADA）の発現率は中等度～高度（33～100%）であり、ADA の発現率と用量の間に逆相関関係が認められた（10 mg/kg/週以上で 70%以下、2 mg/kg/週で 92%以上；7.1項）。

4　分布

分布試験は実施しなかった。

5　代謝（動物種間の比較）

ICH ガイドライン S6(R1)「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」(3)によると、バイオテクノロジー応用医薬品（モノクローナル抗体）で予想される代謝は、小さなペプチド及び各アミノ酸への分解である。したがって、セミプリマブの代謝経路はおおむね把握されており、従来の代謝試験は実施していない。

6　排泄

セミプリマブはタンパク質であるため､アミノ酸へと異化され､内因性アミノ酸プールに入った後、内因性タンパク質に組み込まれると予想されることから、排泄試験は実施しなかった。多くの免疫グロブリンはヒト乳汁中に排泄されるが、サル乳汁からの IgG4 の経口吸収はごくわずかであると予想されることから(4)(5)(6)(7)、セミプリマブの乳汁排泄試験は実施しなかった。

7　免疫原性

7.1　サル血清中でのセミプリマブの免疫原性

雌サルを用いた 2 件の PK 試験（1、5 又は 15 mg/kg の単回 IV 又は SC 投与）及び 3 件の毒性試験（2～50 mg/kg/週の 4～26 週間反復 IV 投与）でセミプリマブの免疫原性を評価した（表 4、Module 2.6.5 [REGN2810-PK-14065] 試験及び[REGN2810-PK-14152] 試験、並びに Module 2.6.7 [REGN2810-TX-14059] 試験、[REGN2810-TX-14153] 試験及び[REGN2810-TX-15151] 試験）。PK 試験では投与前及び投与後 56 日まで、毒性試験では投与期間及び回復期間中に試料を採取し、バリデートされたブリッジングイムノアッセイ法により、ADA の分析を行った（2.2項）。

単回投与 PK 試験及び反復投与毒性試験の全ての用量群を通して ADA 反応が認められた。用量 1～15 mg/kg のセミプリマブを単回 IV 投与した全てのサル（100%）及び用量 1～15 mg/kg のセミプリマブを単回 SC 投与した大部分のサル（93%）で、投与後 28 日までに ADA 反応が認められた。毒性試験で反復投与したときの ADA 発現率は用量群全体を通して様々であり、発現頻度及び反応強度に関して、ADA 反応と用量の間に逆相関関係が認められた。用量 2 mg/kg/週では、92%以上で ADA 反応が認められた。10 mg/kg/週及び 50 mg/kg/週ではそれぞれ、70%以下及び 60%以下で ADA 反応が認められた。ADA 陽性動物では、ADA 陰性動物に比べて、ADA の存在がセミプリマブ曝露量の減少に関連しており、ADA を介したセミプリマブ消失の促進が示唆された。

評価した全ての用量で、セミプリマブ濃度の多くが分析法の DTL（約 1284 µg/mL）未満であった。したがって、ADA 分析結果の解釈にセミプリマブ濃度が干渉した可能性はないと考えられた。ADA の存在と、反復投与毒性試験中のセミプリマブの総投与回数の間に明らかな又は一貫した相関関係は認められなかった（表 3）。

概して、毒性試験における ADA の発現頻度に実質的な性差は認められなかった（表 3）。

要約すると、セミプリマブを反復投与したとき、用量と逆相関関係を示す ADA 反応が認められた。ADA 陽性となったサルの大部分で、ADA の存在とセミプリマブ濃度減少の間に相関関係が認められた。10 mg/kg/週以上で ADA 反応が低くなったことは、高用量での drug tolerance を反映している可能性がある。セミプリマブはヒト型抗体であるため、サルにセミプリマブを投与したときに ADA が発現するのは予想外のことではない。しかし、サルで免疫原性が認められたことは、必ずしもヒトでの免疫原性を予測するものではない。これらの試験におけるセミプリマブの PK 及び安全性プロファイルの特性評価に ADA の存在は影響しなかったと考えられる。

表 4 - サルにおけるセミプリマブの免疫原性

試験	Module 2.6.5 又は 2.6.7 相互参照	総投与回数（頻度）	性別、動物数	投与量（投与経路）(mg/kg)	ADA 発現頻度（ADA 陽性数/総数）	ADA 陽性の性別分布	総 ADA 陽性率（%）	クリアランスに対する影響
単回投与PK試験								
[REGN2810-PK-14065] Module 4.2.2.2-1	表2.6.5.16A	1	雌5	1（静脈内）	5 / 5	NA	100%	↑
				5（静脈内）	5 / 5	NA	100%	↑
				15（静脈内）	5 / 5	NA	100%	↑
[REGN2810-PK-14152] Module 4.2.2.2-2	表2.6.5.16B	1	雌5	1（皮下）	5 / 5	NA	100%	↑
				5（皮下）	5 / 5	NA	100%	↑
				15（皮下）	4 / 5	NA	80%	↑
反復投与毒性試験								
[REGN2810-TX-14059] Module 4.2.3.2-1	表2.6.7.3A	4（週1回）	雄5 / 雌5	2（静脈内）	10 / 10	雄5 / 雌5	100%	↑
				10（静脈内）	7 / 10	雄4 / 雌3	70%	↑
				50（静脈内）	6 / 10	雄3 / 雌3	60%	↑
[REGN2810-TX-15151] Module 4.2.3.5.1-1	表2.6.7.3C	13（週1回）	雄6 / 雌6	10（静脈内）	6 / 12	雄4 / 雌2	50%	↑
				50（静脈内）	2 / 12	雄2 / 雌0	17%	↑
[REGN2810-TX-14153] Module 4.2.3.2-2	表2.6.7.3B	26（週1回）	雄6 / 雌6	2（静脈内）	11 / 12	雄5 / 雌6	92%	↑
				10（静脈内）	4 / 12	雄2 / 雌2	33%	↑
				50（静脈内）	4 / 12	雄3 / 雌1	33%	↑

ADA = 抗薬物抗体、PK = 薬物動態、↑ = クリアランス上昇

8　薬物動態学的薬物相互作用

薬物動態学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

9　その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施しなかった。

10　考察及び結論

サルにセミプリマブを投与したときの PK は非線形性を示した。サルにおけるセミプリマブの血清中濃度－時間推移は、初期の分布相（IV 投与後）又は吸収相（SC 投与後）と、これに続く線形消失相（β相）及び最終消失相によって特徴づけられた。血清中セミプリマブ濃度が約 5 μg/mL 未満～20 μg/mL であった用量 5 mg/kg 以下の単回 IV 投与時には、TMC が顕著であった。しかし、この試験で高い ADA 陽性率が認められたことから、消失過程における ADA の関与を無視することはできない。用量 15 mg/kg では、8 週間の試料採取期間終了時の濃度が標的分子を介した経路を飽和させるのに十分高い濃度に維持されていたことから、線形性の動態が認められた。

用量 1～15 mg/kg を単回 IV 投与したとき、認められたセミプリマブの非線形性と一致して、曝露量は用量比を上回る増加を示し、全身クリアランスは用量増加に伴って濃度依存的に低下した。全ての用量群でβ相での消失半減期は 10～12 日であった。サルに SC 投与したときのセミプリマブのバイオアベイラビリティは 86.5%と推定された。

サルに用量 2～50 mg/kg/週のセミプリマブを最長 6 か月間にわたり週 1 回 IV 投与したとき、全ての試験において、用量 10 mg/kg/週以上の投与群の 63%以上の動物で 4、13 及び 26 週間の投与期間を通して持続的な曝露が認められた。また、8～12 週間の回復期間を通して、10 mg/kg/週以上の投与群の 63%以上の動物で検出可能な濃度のセミプリマブが認められた。週 1 回の投与期間中、曝露量が用量に比例して増加したことから、標的分子を介した経路の飽和が示された。回復期間中、用量 10 mg/kg/週以上で線形動態が認められたが、2 mg/kg/週投与後には TMC が顕著であった。サルに用量 10 mg/kg/週以上のセミプリマブを 4～6 か月間投与したとき、定常状態における曝露量は初回投与後に比べて 2～4 倍であった。13 週間及び 26 週間毒性試験で週 1 回投与したとき、8 回目投与後に定常状態に達した。

サルにおけるセミプリマブの TK 及び免疫原性プロファイルに実質的な性差は認められなかった。

全ての試験を通して、全用量群で免疫原性は中等度～高度（33～100%）であり、ADA の発現率と用量の間に逆相関関係が認められた。ADA 陽性であった動物の多くで、ADA の存在に関連して、ADA 陰性動物に比べて、セミプリマブ濃度が低下したことから、ADA を介したセミプリマブ消失の加速が示唆された。セミプリマブはヒト型抗体であるため、サルにセミプリマブを投与したときに ADA が発現するのは予想外のことではない。しかし、サルで免疫原性が認められたことは、必ずしもヒトでの免疫原性を予測するものではない。これらの試験におけるセミプリマブの PK 及び安全性プロファイルの特性評価に ADA の存在は影響しなかったと考えられる。

要約すると、セミプリマブで得られた非臨床 PK データは全ての単回投与 PK 試験及び反復投与毒性試験を通して一貫していた。サルに反復投与したときに認められた蓄積比が予想通りであったことから裏付けられるように、セミプリマブを反復投与したときの動態は単回投与後と同様であった。結論

として、サルを用いて実施した非臨床 PK 及び TK 試験データはセミプリマブの製造販売承認申請を支持するものであった。

参 考 文 献

1. Kruger S, Legenstein ML, Rösgen V, Haas M, Modest DP, Westphalen CB, et al. Serum levels of soluble programmed death protein 1 (sPD-1) and soluble programmed death ligand 1 (sPD-L1) in advanced pancreatic cancer. Oncoimmunology 2017 Mar 31;6(5):e1310358. doi: 10.1080/2162402X.2017.1310358. eCollection 2017. PubMed PMID: 28638732.
2. Liu C, Jiang J, Gao L, Wang X, Hu X, Wu M, et al. Soluble PD-1 aggravates progression of collagen-induced arthritis through Th1 and Th17 pathways. Arthritis Res Ther. 2015 Nov 25;17:340. doi: 10.1186/s13075-015-0859-z. PubMed PMID:26608464.
3. ICH S6(R1) バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価, 2012
4. Kane SV, Acquah LA. Placental transport of immunoglobulins: A clinical review for gastroenterologists who prescribe therapeutic monoclonal antibodies to women during conception and pregnancy. Am J Gastroenterol 2009; 104: 228-233.
5. Pentsuk N, van der Laan JW. An interspecies comparison of placental antibody transfer: New insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies. Birth Defects Res (Part B) 2009; 86: 328-344.
6. Stengel JZ, Arnold HL. Is infliximab safe to use while breastfeeing? World J Gastroenterol 2008; 14(19): 3085-3087.
7. Vasiliauskas EA, Church JA, Silverman N, Barry M, Targan SR, Dubinsky MC. Case report: evidence for transplacental transfer of maternally administered infliximab to the newborn. Clin Gastroenterol Hepatol. 2006; 4: 1255–8.

サノフィ株式会社

セミプリマブ（遺伝子組換え）

CTD 第二部 ― 非臨床概要

2.6.5 薬物動態試験概要表

Total number of pages: 22

目　　次

セミプリマブ（遺伝子組換え） **1**

2.6.5 薬物動態試験概要表 **1**

目　　次 **2**

図 表 目 次 **3**

1　　薬物動態試験ー覧表 **4**

2　　薬物動態試験ー分析法及びバリデーション試験 **5**

3　　薬物動態試験ー単回投与後の吸収 **6**

4　　薬物動態試験ー反復投与後の吸収 **9**

5　　薬物動態試験ー分布 **10**

6　　薬物動態試験ーたん白結合 **11**

7　　薬物動態試験ー妊娠または授乳動物における試験 **12**

8　　薬物動態試験ーその他の分布試験 **13**

9　　薬物動態試験ーIn Vivoにおける代謝 **14**

10　　薬物動態試験ーIn Vitroにおける代謝 **15**

11　　薬物動態試験ー推定代謝経路 **16**

12　　薬物動態試験ー薬物代謝酵素の誘導/阻害 **17**

13　　薬物動態試験ー累積排泄 **18**

14　　薬物動態試験ー胆汁中排泄 **19**

15　　薬物動態試験ー薬物相互作用 **20**

16　　薬物動態試験ーその他 **21**

図 表 目 次

表2.6.5.1 薬物動態試験一覧表 4
表2.6.5.2 薬物動態試験－分析法及びバリデーション試験 5
表2.6.5.3 A 薬物動態試験－単回投与後の吸収（IV投与） 6
表2.6.5.3 B 薬物動態試験－単回投与後の吸収（SC投与） 8
表2.6.5.16 A 薬物動態試験－その他：免疫原性（IV投与） 21
表2.6.5.16 B 薬物動態試験－その他：免疫原性（SC投与） 22

1　薬物動態試験一覧表

表 2.6.5.1 薬物動態試験一覧表

Test Article: REGN2810

Type of Study (GLP Status)	Test System (Sex)	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Absorption					
Single dose – PK (non-GLP)	Cynomolgus monkey (F)	Intravenous infusion	[redacted]	[REGN2810-PK-14065]	Module 4.2.2.2-1
Single dose – PK (GLP)	Cynomolgus monkey (F)	Subcutaneous injection	[redacted]	[REGN2810-PK-14152]	Module 4.2.2.2-2
Distribution - Not Applicable					
Metabolism - Not Applicable					
Excretion - Not Applicable[a]					
Drug Interactions - Not Applicable					

PK = Pharmacokinetic; F = Female; GLP = Good laboratory practice

a. Clearance and $t_{1/2}$ are reported in the absorption studies.

2　薬物動態試験－分析法及びバリデーション試験

表 2.6.5.2 薬物動態試験－分析法及びバリデーション試験

Test Article: REGN2810

Study Number	**Species**	**Title**
[REGN2810-AV-14064] (Module 4.2.2.1-1)	Monkey	Validation of a Bioanalytical Method for the Quantitative Measurement of REGN2810 in Monkey Serum
[REGN2810-AV-14103] (Module 4.2.2.1-2)	Monkey	Validation of a Bioanalytical Method for Detection of Anti-REGN2810 Antibodies in Monkey Serum

3　薬物動態試験－単回投与後の吸収

表 2.6.5.3 A 薬物動態試験－単回投与後の吸収（IV 投与）

Test Article: REGN2810

Study Number	[REGN2810-PK-14065] (Module 4.2.2.2-1)		
Species	Cynomolgus Monkey (*Macaca fascicularis*)		
Vehicle/Formulation	Aqueous buffered vehicle, pH 6.0, containing 10 mmol/L histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose		
Method of Administration	Intravenous infusion		
Dose Level (mg/kg)	1, 5, 15		
Sample	Serum		
Analyte	REGN2810		
Assay	ELISA (LLOQ = 0.078 µg/mL in neat serum)		
Route	**IV**		
Dose Level (mg/kg)	**1**	**5**	**15**
Mean (±SD) PK Parameters[a]	**REGN2810**		
Sex (Number of Animals)	**f (5)**	**f (5)**	**f (5)**
C_{max} (µg/mL)	33.3 (1.91)	121 (10.2)	355 (64.7)
C_{max}/Dose ([µg/mL]/[mg/kg])	33.3(1.91)	24.1 (2.03)	23.7 (4.32)
t_{max} (day)	0.130 (0.142)	0.0471 (0.0209)	0.0979 (0.144)
AUC_{last} (µg•day/mL)	168 (NC)	1100 (NC)	3950 (NC)
AUC_{last}/Dose ([µg•day/mL]/[mg/kg])	168 (NC)	220 (NC)	263 (NC)
terminal $t_{1/2}$ (day)	1.19 (NC)	2.02 (NC)	9.85 (NC)
beta $t_{1/2}$ (day)	9.84 (1.13)	10.9 (3.82)	12.4 (1.67)
V_{ss} (mL/kg)	37.3 (NC)	63.4 (NC)	65.6 (NC)

CL (mL/day/kg)	5.99 (NC)	4.56 (NC)	3.68 (NC)

ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; LLOQ = Lower limit of quantitation; IV = Intravenous; f = Female; SD = Standard deviation (not calculated when n<3); PK = Pharmacokinetic(s); C_{max} = Maximum drug concentration; t_{max} = Time of maximum drug concentration; AUC_{last} = Area under the concentration-time curve computed from time zero to the time of the last measurable concentration; terminal $t_{1/2}$ = Half-life estimated by the observed terminal phase of the concentration-time curve; beta $t_{1/2}$ = Half-life estimated by the observed beta phase of the concentration-time curve; V_{ss} = Volume of distribution at terminal phase; CL = Clearance; NC = Not calculated

a. Concentrations considered to be impacted by ADA were excluded (REGN2810-PK-14065).

表 2.6.5.3 B 薬物動態試験ー単回投与後の吸収（SC 投与）

Test Article: REGN2810

Study Number	[REGN2810-PK-14152] (Module 4.2.2.2-2)		
Species	Cynomolgus Monkey (*Macaca fascicularis*)		
Vehicle/Formulation	Aqueous buffered vehicle, pH 6.0, containing 10 mmol/L histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 10% (w/v) sucrose		
Method of Administration	Subcutaneous injection		
Dose Level (mg/kg)	1, 5, 15		
Sample	Serum		
Analyte	REGN2810		
Assay	ELISA (LLOQ = 0.078 µg/mL in neat serum)		
Route	**SC**		
Dose Level (mg/kg)	**1**	**5**	**15**
Mean (±SD) PK Parameters[a]	**REGN2810**		
Sex (Number of Animals)	**f (5)**	**f (5)**	**f (5)**
C_{max} (µg/mL)	12.1 (1.38)	67.7 (5.78)	188 (13.2)
C_{max}/Dose ([µg/mL]/[mg/kg])	12.1 (1.38)	13.5 (1.16)	12.6 (0.878)
t_{max} (day)	3 (0.4)	3 (0.9)	4 (0.7)
$AUC_{0\text{-}8days}$(µg•day/mL)	77.0 (7.51)	428 (41.4)	1250 (78.4)
$AUC_{0\text{-}8days}$/Dose ([µg•day/mL]/[mg/kg])	77.0 (7.51)	85.6 (8.28)	83.3 (5.23)
beta $t_{1/2}$ (day)	9.72 (2.08)	11.9 (6.74)	16.2 (3.12)
Bioavailability (%)[b]	86.5 (NC)		

ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; LLOQ = Lower limit of quantitation; SC = Subcutaneous; f = Female; SD = Standard deviation (not calculated when n<3); PK = Pharmacokinetic(s); C_{max} = Maximum drug concentration; t_{max} = Time of maximum drug concentration; $AUC_{0\text{-}8days}$= Area under the concentration-time curve computed from time zero to the last time point before an ADA response was observed in any animal; terminal $t_{1/2}$ = Half-life estimatedby the observed terminal phase of the concentration-time curve; beta $t_{1/2}$ = Half-life estimated by the observed beta phase of the concentration-time curve;

NC = Not calculated

a. Concentrations considered to be impacted by ADA were excluded (REGN2810-PK-14152).

b. Bioavailability was estimated together with data from a PK and a toxicology study following IV dosing of REGN2810 in the monkey (REGN2810-PK-14065 and REGN2810-TX-14059) by a population PK approach (REGN2810-PK-14152).

4　薬物動態試験－反復投与後の吸収

以下を参照。

カニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験（ Module 4.2.3.2-1 [REGN2810-TX-14059] 試験）、及びカニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験（ Module 4.2.3.2-2 [REGN2810-TX-14153] 試験）、Module [2.6.7.7]

5　薬物動態試験－分布

該当なし

6　薬物動態試験ーたん白結合

該当なし

7　薬物動態試験－妊娠または授乳動物における試験

該当なし

8　薬物動態試験－その他の分布試験

該当なし

9　薬物動態試験－In Vivo における代謝

該当なし

10　薬物動態試験－In Vitro における代謝

該当なし

11　薬物動態試験－推定代謝経路

該当なし

12　薬物動態試験－薬物代謝酵素の誘導/阻害

該当なし

13　薬物動態試験－累積排泄

該当なし

14　薬物動態試験－胆汁中排泄

該当なし

15　薬物動態試験－薬物相互作用

該当なし

16　薬物動態試験－その他

表 2.6.5.16 A 薬物動態試験－その他：免疫原性（IV 投与）

Test Article: REGN2810

Study Number	[REGN2810-PK-14065] (Module 4.2.2.2-1)		
Species	Cynomolgus Monkey (*Macaca fascicularis*)		
Vehicle/Formulation	Aqueous buffered vehicle, pH 6.0, containing 10 mmol/L histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose		
Method of Administration	Intravenous infusion		
Dose (mg/kg)	1, 5, 15		
Sample	Serum		
Assay	Bridging immunoassay (drug tolerance limit, ie, the concentration of drug that will reduce the signal of a sample containing 500 ng/mL of the positive control to the plate cut point, is approximately 1284 µg/mL of REGN2810 in neat monkey serum)		
Route	**IV**		
Dose Level (mg/kg)	**1**	**5**	**15**
Sex (Number of Animals)	**f (5)**	**f (5)**	**f (5)**
Time Point (Study Day)			
0 hours (Predose)	0 / 5	0 / 5	0 / 5
672 hours (Day 28)	5 / 5	5 / 5	5 / 5
1344 hours (Day 56)	5 / 5	5 / 5	4 / 5
Overall	5 / 5	5 / 5	5 / 5

IV = Intravenous; f = Female

Note: Ratios reflect the number of positive ADA animals relative to the total number of animals assessed at each time point or overall.

表 2.6.5.16 B 薬物動態試験－その他：免疫原性（SC 投与）

Test Article: REGN2810

Study Number	[REGN2810-PK-14152] (Module 4.2.2.2-2)		
Species	Cynomolgus Monkey (*Macaca fascicularis*)		
Vehicle/Formulation	Aqueous buffered vehicle, pH 6.0, containing 10 mmol/L histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 10% (w/v) sucrose		
Method of Administration	Subcutaneous injection		
Dose (mg/kg)	1, 5, 15		
Sample	Serum		
Assay	Bridging immunoassay (drug tolerance limit, ie, the concentration of drug that will reduce the signal of a sample containing 500 ng/mL of the positive control to the plate cut point, is approximately 1284 µg/mL of REGN2810 in neat monkey serum)		
Route	**SC**		
Dose Level (mg/kg)	**1**	**5**	**15**
Sex (Number of Animals)	**f (5)**	**f (5)**	**f (5)**
Time Point (Study Day)			
0 hours (Predose)	0 / 5	0 / 5	0 / 5
1344 hours (Day 56)	5 / 5	5 / 5	4 / 5
Overall	5 / 5	5 / 5	4 / 5

SC = Subcutaneous; f = Female

Note: Ratios reflect the number of positive ADA animals relative to the total number of animals assessed at any time point during the study period.