オンキャスパー点滴静注用 3750

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6.1　緒言

日本セルヴィエ株式会社

目次

1. 緒言 4
2. 参考文献一覧 13

図表目次

図 1:1　ペグアスパルガーゼの構造 4
表 1:1　PEG-L-アスパラギナーゼ非臨床試験一覧 7

略語・略号一覧

略語・略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
ALL	Acute Lymphoblastic Leukaemia	急性リンパ性白血病
i m.	Intramuscular	筋肉内
i.p.	Intraperitoneal	腹腔内
i.v.	Intravenous	静脈内
mPEG	Monomethoxypolyethylene Glycol	モノメトキシポリエチレングリコール
PD	Pharmacodynamic	薬理学
PEG	Polyethylene Glycol	ポリエチレングリコール
PK	Pharmacokinetics	薬物動態
PK/PD	Pharmacokinetics and Pharmacodynamic	薬物動態／薬理学
s.c.	Subcutaneous	皮下
SS	Succinimidyl Succinate	スクシンイミジルコハク酸

1.　緒言

非臨床試験に係る概要文及び概要表では、リンパ系腫瘍を対象とした多剤化学療法の一剤として使用することを意図する本剤の製造販売承認申請を支持する非臨床試験成績等の概要を示す。

本剤に係る国際一般名称（INN）は pegasparagase、本邦での一般的名称（JAN）はペグアスパルガーゼ、化学名は monomethoxypolyethylene glycol succinimidyl L-asparaginase である。本剤は、*E. coli* 由来のアスパラギナーゼにスクシンイミジルコハク酸（succinimidyl succinate　以下 SS）リンカーを介してモノメトキシポリエチレングリコール（mPEG）を共有結合させた複合体である。構造を図 1:1 に示す。*E. coli* アスパラギナーゼは、4 つの同一サブユニットから構成されるホモ四量体で、四量体で 1 つの活性部位を持つ。分子量約 5000 Da の mPEG は、SS リンカーを介して L-アスパラギナーゼの N 末端ロイシン及びリジン残基に共有結合する。製剤は、ペグアスパルガーゼ 3750 U を含む凍結乾燥粉末で、5.2 mL の注射用水で溶解しペグアスパルガーゼ 750 U/mL の等張液とした後に静脈内投与する。1 U のペグアスパルガーゼは、pH 7.3 及び 37°C で、1 分あたり 1 μM のアンモニアを遊離させるために必要な酵素量と定義されている。U と IU（国際単位）は同じ定義である。

SS-PEG

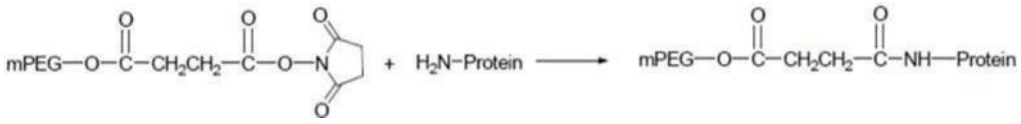


図 1:1　ペグアスパルガーゼの構造

L-アスパラギナーゼの作用機序は、アスパラギンをアスパラギン酸とアンモニアに変換する酵素的切断による血漿中のアスパラギン枯渇である。正常細胞と異なり、リンパ性腫瘍細胞はアスパラギンを合成できないと考えられており、アスパラギン枯渇は細胞のタンパク質合成を阻害し細胞壊死をもたらす。アスパラギンが細胞外から供給されない限り、L-アスパラギナーゼは白血球細胞以外を保護しながら白血球細胞を攻撃し、本剤はこのような作用機序を持つ特異的化学療法剤である［7］。

PEG 化によって改善された本剤の特性は、（ i ）抗 L-アスパラギナーゼ抗体に対する免疫反応性の低下、（ii）免疫原性の低下、（iii）クリアランスの低下による血漿半減期の延長である。

本剤は、1994 年に米国及びドイツにおいて急性リンパ性白血病（ALL）の第二選択薬として最初に液剤として承認された。リンパ性疾患の治療において約 20 年間日常的に使用され、多くの情報及び関連する研究が発表されている。本申請ではこれらのデータを要約し、薬理学的及び毒性学的プロファイル、薬物動態／薬理学（PK/PD）データに関する情報を示す。本剤はネイティブ L-アスパラギナーゼに非常に類似しているが、薬物動態（PK）特性は本質的に大きく異なっている。

本薬の液剤は、5 mL のリン酸生理食塩水（PBS）pH 7.3 にペグアスパルガーゼ 3750 U（750 U/mL）を含む単回使用バイアルの等張滅菌液として市販されてきた。本剤の凍結乾燥剤は、有効期間 8 カ月の液剤と比較して、有効期間を 36 カ月に延長して安定性を改善するために開発され、連続的な製剤の可用性を確実にする。包括的な分析的同等性【CTD 3.2.P.2.3_DTC_S095014_PF_R_FOR_55418_EN_1.0】及び変更前後の非臨床評価から、両剤形が非常に類似した血漿曝露量（AUC）及び最高血中濃度（C_{max}）を示すことが示唆された（関連する非臨床試験は CTD 2.6.4 を参照）。剤形変更前後で、ヒトでの PK 又は PD における潜在的な差を示すシグナルは認められなかった。

本剤は、2022 年 1 月 14 日時点で 54 カ国（EU27 カ国、欧州経済領域 3 カ国、米国、イギリス、カナダ、オーストラリアを含むその他 24 カ国）で Oncaspar（オンキャスパー）の販売名で承認されている。*E. coli* の L-アスパラギナーゼ療法に過敏反応を示す ALL 患者に対する第二選択薬として 1994 年に最初に承認された後、ALL 治療の第一選択薬として液剤で承認（米国 2006 年、EU 中央承認 2016 年）され、これらの承認の大半は凍結乾燥剤へと変更されている。現在の凍結乾燥剤は、分析試験及び非臨床試験の比較評価に基づいて、EU で 2017 年、スイスで 2018 年、オーストラリアで 2019 年に承認された。

製造販売承認申請における本剤の予定効能・効果は以下のとおりである。

効能・効果	急性リンパ性白血病、悪性リンパ腫
用法・用量	他の抗悪性腫瘍剤との併用において、通常、ペグアスパルガーゼとして、下記の用量で 2 週間間隔で点滴静注する。 小児（1 歳～21 歳） 体表面積 0.6m^2 以上の患者には 1 回 2500 単位（本剤 3.3mL に相当）/m^2（体表面積）を、体表面積 0.6m^2 未満の患者には 1 回 82.5 単位（本剤 0.1 mL に相当）/kg（体重）を投与する。なお、患者の状態により適宜減量する。 成人（22 歳以上） 1 回 2000 単位（本剤 2.67 mL に相当）/m^2（体表面積）を投与する。なお、患者の状態により適宜減量する。

本申請では、非臨床パッケージとして、液剤で行った初期の試験及び凍結乾燥剤の溶解液と液剤で行った同等性を示す追加試験のデータを提出する。これは、凍結乾燥剤が局所忍容性、血液適合性及び薬物動態に影響を与えないこと、その結果、本剤の有効性及び安全性に影響を与えないことを検討するために行った 3 試験の成績である。今般承認申請を行う製品は、1 バイアル中 3750 U の有効成分を含む凍結乾燥剤であり、注射用水で溶解することにより 750 U/mL の溶液となる。

本申請に含める非臨床試験の一覧を表 1:1 に示す。この中で、CTD 4.2.2.2.8_Study 15-3297 – Report NP39227（Oncaspar 凍結乾燥剤の効力を裏付ける試験：イヌにおける 2 剤形の単回及び 4 週間反復静脈内投与の比較 PK/PD 同等性試験［15-3297 試験］）、CTD 4.2.3.6.1_Study 5900193 – Report NP39209（マウスの足底内投与局所刺激性試験）及び CTD 4.2.3.7.7.1_Study 15-7530 -

NP39212（イヌ及びヒトの全血における血液適合性試験）は、特に凍結乾燥剤の非臨床における同等性を証明するために行われた試験であった。

分析法、PK、PK/PD 及び毒性試験の概要文は、本薬の液剤で行った試験及びその結果、本申請に関連する文献の要約も併せて記載し、それぞれの試験概要表にも示した（表 1:1 参照）。

表 1:1　PEG-L-アスパラギナーゼ非臨床試験一覧

Study code	Study Type	Species	GLP	Doses	Duration of dosing	Route of administration	WS[a]	TS[b]
Pharmacology								
Primary pharmacodynamics								
(Abuchowski, 1984) [PE0150533]［1］	Preliminary antitumor efficacy study in mice	Mouse	No	0.5, 1, 2, 2.5, 5 IU/mouse	Single dose	i.p.	Yes	No
(Abuchowski, 1984) [PE0150533]［1］	Preliminary antitumor efficacy study in mice	Mouse	No	5, 10, 20 IU/mouse	Single dose	i.p.	Yes	No
Study #6 NP39148 4.2.1.1.1	Antitumor efficacy of PEG-L-asparaginase in mice	Mouse	No	5, 10 IU/mouse (i.p.) 10, 20, 30 IU/mouse (i.m.)	Single dose	i.p. i.m.	Yes	No
1st Study (MacGrath) NP39259 4.2.1.1.2	Efficacy Studies In Dog - 1st study	Dog	No	15-200 IU/kg	Weekly or bi-weekly administration	i.p.	Yes	No
2nd Study (MacEwen, 1987) [PE0150565]［5］	Efficacy Studies In Dog – 2nd study	Dog	No	10, 30 IU/kg 30 IU/kg in combination with chemotherapy	Weekly with or without combination chemotherapy	i.p.	Yes	No
3rd Study (MacEwen, 1992) [PE0150564]［6］	Efficacy Studies In Dog – 3rd study	Dog	No	30 IU/kg	Bi-weekly in combination chemotherapy	i.m.	Yes	No

表 1:1　PEG-L-アスパラギナーゼ非臨床試験一覧（続き）

Study code	Study Type	Species	GLP	Doses	Duration of dosing	Route of administration	WS[a]	TS[b]
Secondary pharmacodynamics								
Sapra 2005 [NP39159] 4.2.1.2.3	*In vitro* cytotoxicity of Oncaspar against pancreatic cell lines	Not applicable	No	Serial dilution up to 20 IU/mL	4 days incubation at 37°C	*in vitro*	Yes	No
Denis 1 NP39162 4.2.1.2.2	*In vitro* activity of Oncaspar against pancreatic cell lines and tissue specimens	Not applicable	No	Serial dilution	14 days incubation at 37°C/5%CO2	*in vitro*	Yes	No
Denis 2 NP39163 4.2.1.2.1	*In vivo* therapeutic efficacy of Oncaspar as a single agent and in combination with gemcitabine in a xenograft model of human pancreatic cancer (MiaPaCa-2)	Mouse	No	PEG: 12500; 25000 IU/kg; Gemcitabine: 80 mg/kg	PEG: single dose Gemcitabine: twice weekly for 2 weeks	i.p.	Yes	No
Pharmacokinetics								
Analytical and validation								
#06-8473 NP39151 4.2.2.1.1	Validation of an enzyme activity assay for the determination of Oncaspar (PEG-L-asparaginase) in sodium heparinized rat plasma	Not applicable	No	Not applicable	Not applicable	Not applicable	Yes	Yes
#06-8481 NP39147 4.2.2.1.2	Validation of an enzyme activity assay for the determination of Oncaspar (PEG-L-asparaginase) in sodium heparinized dog plasma	Not applicable	No	Not applicable	Not applicable	Not applicable	Yes	Yes
#06-8938 NP39158 4.2.2.1.3	Validation of a liquid chromatographic method with MS/MS detection for the determination of L-asparagine and L- glutamine in dog and rat plasma	Not applicable	No	Not applicable	Not applicable	Not applicable	Yes	Yes

表 1:1　PEG-L-アスパラギナーゼ非臨床試験一覧（続き）

Study code	Study Type	Species	GLP	Doses	Duration of dosing	Route of administration	WS[a]	TS[b]
Absorption and PK/PD								
(Abuchowski, 1984) [PE0150533]［1］	Plasma asparaginase levels in un- immunized and pre-immunized mice	Mouse	No	5 IU/mouse ≈250 IU/kg	Single dose	i.p.	Yes	Yes
#7 - NP39223 4.2.2.2.4	Blood circulating life of PEG-L-asparaginase in mice	Mouse	No	260 IU/kg	Single dose	i.p., i.v., i m.	Yes	Yes
#53 - NP39224 4.2.2.2.2	Blood circulating life of PEG-L-asparaginase and unmodified L-asparaginase administered i.m. to mice	Mouse	No	400 IU/kg	Single dose	i.m.	Yes	Yes
#04-2861 NP39226 4.2.2.2.1	Compounds [redacted], [redacted], and Oncaspar. Comparative single dose pharmacokinetics and pharmacodynamic study in rats via intravenous or intramuscular injection	Rat	No	26, 87 and 260 IU/kg	Single dose	i.v., i.m.	Yes	Yes
(Ho, 1988) [PE0151770]［3］	Plasma asparaginase levels in rabbits	Rabbit	No	40 IU/kg	Single dose	i.v.	Yes	Yes
#04-3082 NP39178 4.2.2.2.3	Compounds [redacted], [redacted], and Oncaspar. A comparative single dose pharmacokinetics and pharmacodynamic study in dogs using the intravenous or intramuscular injection	Dog	No	26, 87 and 260 IU/kg	Single dose	i.v., i.m.	Yes	Yes
NIH Study – NP39179 4.2.2.2.6 (Berg, 1993)［2］	Plasma asparaginase levels in monkeys	Monkey	No	2500 IU/m^2 (≈ 208 IU/kg)	Single dose	i.m.	Yes	Yes

表 1:1　PEG-L-アスパラギナーゼ非臨床試験一覧（続き）

Study code	Study Type	Species	GLP	Doses	Duration of dosing	Route of administration	WS[a]	TS[b]
15-3297 NP39227 4.2.2.2.8	Comparative, Single-Dose and 4-Week Repeat-Dose, Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Study of Two Oncaspar Formulations	Dog	No	500 IU /kg	Single dose and Days 1, 15, 22, 29 and 36	i.v.	Yes	Yes
Toxicokinetics								
#824-015 NP39217 4.2.3.1.2	A single intravenous dose comparative pharmacokinetics, pharmacodynamic and toxicity study between [redacted] and [redacted] (ONCASPAR) in rats	Rat	Yes	0, 100 and 500 IU/kg	Single dose	i.v.	Yes	Yes
#824-016 NP39211 4.2.3.1.3	A single intravenous dose comparative pharmacokinetics, pharmacodynamic and toxicity study between [redacted] and [redacted] (ONCASPAR) in Beagle dogs	Dog	Yes	0, 100 and 500 IU/kg	Single dose	i.v.	Yes	Yes
#3 - NP39218 4.2.3.2.4	4-week intramuscular toxicity study of PEG-L-asparaginase in rats	Rat	No	100, 200 and 400 IU/rat	5 time a week	i.m.	Yes	Yes
#4a - NP39220 4.2.3.2.3 #4b - NP39221 4.2.3.2.6	Toxicity of PEG-L- asparaginase in dogs	Dog	No	200 and 1200 IU/kg	Once a week for 2 weeks	i.m., i.v.	Yes	Yes

表 1:1　PEG-L-アスパラギナーゼ非臨床試験一覧（続き）

Study code	Study Type	Species	GLP	Doses	Duration of dosing	Route of administration	WS[a]	TS[b]
Toxicology								
Single-dose								
#1 - NP39222 4.2.3.1.1	Maximum tolerated dose of PEG-L-asparaginase in a single dose study	Mouse	No	0 – 5,000 - 10000 - 25000 - 40000 - 100000 IU/kg	Single dose	i.p.	Yes	Yes
#824-015 NP39217 4.2.3.1.2	A single intravenous dose comparative pharmacokinetic, pharmacodynamic and toxicity study between [redacted] and [redacted] (Oncaspar) in rats	Rat	Yes	0 – 100 – 500 IU/kg	Single dose	i.v.	Yes[c]	Yes
#824-016 NP39211 4.2.3.1.3	A single intravenous comparative pharmacokinetics, pharmacodynamic and toxicity study between [redacted] and [redacted] (Oncaspar) in Beagle dogs	Dog	Yes	0 – 100 – 500 IU/kg	Single dose	i.v.	Yes[c]	Yes
Repeat-dose								
#4a - NP39220 4.2.3.2.3 #4b - NP39221 4.2.3.2.6	Toxicity of PEG-L- asparaginase in dogs	Dog	No	200 – 1200 IU/kg	Once a week for 2 weeks	i.m., i.v.	Yes	Yes
#2 - NP39233 4.2.3.2.5	Subacute toxicity of PEG-L-asparaginase administered i.p. to rats – a 28 day study	Rat	No	0 - 10 - 30 - 60 IU/kg	5 time a week for 4 weeks	i.p.	Yes	Yes
#3 - NP39218 4.2.3.2.4	Subacute toxicity study of PEG-L-asparaginase administered i.m. to rats - a five week study	Rat	No	0 - 100 – 200 - 400 IU/kg	5 time a week for 4 weeks	i.m.	Yes	Yes

表 1:1　PEG-L-アスパラギナーゼ非臨床試験一覧（続き）

Study code	Study Type	Species	GLP	Doses	Duration of dosing	Route of administration	WS[a]	TS[b]
#8 - NP39213 4.2.3.2.1	Additional subacute toxicity of PEG- L-asparaginase administered i.p. to rats	Rat	No	0 - 400 IU/kg	5 time a week for 4 weeks	i.p.	Yes	Yes
#5 - NP39210 4.2.3.2.2	Subchronic toxicity of PEG-L-asparaginase In mice : a three month study	Mouse	No	0 - 50 – 200 - 500 IU/kg	Once a week for 13 (i.p.) or 17 (i.m.) weeks	i m., i.p.	Yes	Yes
(Lorke, 1970)[d] [PE0150563]［4］	Experimental studies on the toxicity of crasnitin in animals	Rat	No	0 - 200 – 800 - 3000 IU/kg	5 times a week for 13 weeks	i.p.	Yes	No
(Lorke, 1970)[d] [PE0150563]［4］	Experimental studies on the toxicity of crasnitin in animals	Dog	No	0 – 200 – 800 - 3000 IU/kg	5 times a week for 13 weeks	i.v.	Yes	No
Genotoxicity								
49515 NP39215 4.2.3.3.1.1	Mutagenicity study	*Salmonella typhimurium* (TA97a, TA98, TA100 and TA102 strains)	Yes	75 IU/plate, with and without S-9 activation	Not applicable	*in vitro* study	Yes	No
Local Tolerance								
#5900193 - NP39209 4.2.3.6.1	Nociceptive Effects Following Intra- plantar Injection in Mice	Mouse, C57BL/6	No	Dose volume 50µl	Once	Intra-plantar s.c.	Yes	Yes
#29 - NP39219 4.2.3.7.2.1	Determination of immunogenic properties of PEG-L-asparaginase	Mouse	No	10.5 IU/mouse ≈ 525 IU/kg	Once a week for 12 weeks	i m., i.p.	Yes	Yes
#15-7530 - NP39212 4.2.3.7.7.1	Determination of Hemocompatibility in Dog and Human Whole Blood	*In vitro* (Dog, Human blood)	No	750 IU/ml	Not applicable	Not applicable	Yes	Yes

a　Written summary
b　Tabulated summary
c　Written summary reported at the very beginning of 2.6.6 Toxicology Written Summary
d　Test Item: L-asparaginase

2. 参考文献一覧

1) Abuchowski A, Kazo GM, Verhoest CR Jr, Van Es T, Kafkewitz D, Nucci ML, Viau AT, Davis FF. Cancer therapy with chemically modified enzymes. I. Antitumor properties of polyethylene glycol-asparaginase conjugates. Cancer Biochem Biophys. 1984 Jun;7(2):175-86 [PE0150533]

2) Berg SL, Balis FM, McCully CL, Godwin KS, Poplack DG. Pharmacokinetics of PEG-L-asparaginase and plasma and cerebrospinal fluid L-asparagine concentrations in the rhesus monkey. Cancer Chemother Pharmacol.1993; 32(4): 310-4 [PE0150557]

3) Ho DH, Wang CY, Lin JR, Brown N, Newman RA, Krakoff IH. Polyethylene glycol-L-asparaginase and L-asparaginase studies in rabbits. Drug Metab Dispos. Jan-Feb 1988; 16(1):27-29 [PE0151770]

4) Lorke D, Tettenborn D. Experimental studies on the toxicity of crasnitin in animals. Recent Result Cancer Res. 1970:33;174-80 [PE0150563]

5) MacEwen EG, Rosenthal R, Matus R, Viau AT, Abuchowski A. A preliminary study on the evaluation of asparaginase. Polyethylen glycol conjugate against canine malignant lymphoma. Cancer. 1987 Jun 15;59(12):2011-5 [PE0150565]

6) MacEwen, Rosenthal RC, Fox LE, Loar AS, Kurzman ID. Evaluation of L-asparaginase: polyethylene glycol conjugate versus native L-asparaginase combined with chemotherapy. A randomized double-blind study in canine lymphoma. J Vet Intern Med. Jul-Aug 1992;6(4):230-4 [PE0150564]

7) Machelle MS. 1994 Biotechnology drug approvals. American Pharmacy 1995 Mar;NS35(3):12 3 [PE0150566]

オンキャスパー点滴静注用 3750

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6.2　薬理試験の概要文

日本セルヴィエ株式会社

目次

1.　まとめ 5
1.1　PEG-L-アスパラギナーゼ 5
2.　効力を裏付ける試験 10
2.1　マウスにおける抗腫瘍活性の予備的試験 10
2.1.1　6C3HED 細胞 10
2.1.2　L5178Y 細胞 11
2.2　マウスにおける PEG-L-アスパラギナーゼの抗腫瘍活性【CTD 4.2.1.1.1_Study #6 - Report NP39148】 12
2.3　イヌにおける有効性試験 1【CTD 4.2.1.1.2_Study MacGrath – Report NP39259】 13
2.4　イヌにおける有効性試験 2 14
2.5　イヌにおける有効性試験 3 15
2.6　Oncaspar 凍結乾燥剤の効力を裏付ける試験：イヌにおける 2 剤形の単回及び 4 週間反復静脈内投与の比較 PK/PD 同等性試験（15-3297 試験）【CTD 4.2.2.2.8_Study 15-3297 – Report NP39227】 18
3.　副次的薬理試験 18
3.1　膵臓癌細胞株に対する *in vitro* 細胞毒性 18
3.2　膵臓細胞株及び組織検体に対する *in vitro* 活性 19
3.3　ヒト膵臓癌細胞（MiaPaCa-2）の異種移植モデルにおける *in vivo* 治療効果 20
4.　安全性薬理試験 22
5.　薬力学的薬物相互作用試験 22
6.　考察及び結論 23
7.　参考文献 24

図表目次

図 3.3:1　MiaPaCa-2 異種移植モデルにおける PEG-L-アスパラギナーゼ単剤及びゲムシタビン併用の抗腫瘍活性 21

表 1.1:1　PEG-L-アスパラギナーゼの薬理試験の一覧 7
表 1.1:2　Oncaspar（液剤と凍結乾燥剤）の PD 同等性試験 10
表 3.1:1　膵臓細胞株に対する PEG-L-アスパラギナーゼの *in vitro* 細胞毒性 19

略語・略号一覧

略語・略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
CR	Complete Remission	完全奏効
DIC	Disseminated Intravascular Coagulation	播種性血管内凝固症候群
F	Female	雌
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
IC_{50}	Half Maximal Inhibitory Concentration	50%阻害濃度
i m.	Intramuscular	筋肉内
i.p.	Intraperitoneal	腹腔内
i.v.	Intravenous	静脈内
IU	International Unit	国際単位
M	Male	雄
MTS	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulphophenyl)-2H-tetrazolium	MTS テトラゾリウム化合物
MTT	3-(4,5-dimethylthial-2-yl)-2,5-diphenyltetrazalium bromide	MTT テトラゾリウム塩
NR	No Response	無奏効
p.o.	Per Os	経口
PBS	Phosphate Buffer Saline	リン酸緩衝生理食塩水
PEG	Polyethylene Glycol	ポリエチレングリコール
PR	Partial Remission	部分奏効
TGI	Tumour Growth Inhibition	腫瘍増殖阻害
TS	Tumour Shrinkage	腫瘍縮小

1.　まとめ

1.1　PEG-L-アスパラギナーゼ

PEG-L-アスパラギナーゼ（国際一般名称：pegaspargase、本邦での一般的名称：ペグアスパルガーゼ）はポリエチレングリコール（PEG）を結合させた *E. coli* L-アスパラギナーゼ（タイプ EC-2）である。*E. coli* L-アスパラギナーゼは 4 つの同一サブユニットから構成されるホモ四量体であり、四量体で 1 つの活性部位を有する。分子量約 5000 Da のモノメトキシポリエチレングリコールが、スクリンイミジルコハク酸リンカーを介して L-アスパラギナーゼ内の N 末端ロイシン及びリジン残基に共有結合する。

L-アスパラギナーゼは、L-アスパラギンを L-アスパラギン酸とアンモニアに加水分解する酵素である。L-アスパラギンは、アスパラギン合成酵素によってアスパラギン酸とグルタミンから合成される非必須アミノ酸である。急性リンパ性白血病（ALL）細胞を含むある種の悪性細胞は、アスパラギン合成酵素を欠損しており L-アスパラギンを合成する能力を持たないため、細胞膜外から L-アスパラギンを取り込んでいる。これらの細胞では、L-アスパラギンの欠乏はタンパク質合成を速やかに阻害し、その後の核酸合成を阻害することから、正常細胞の損傷を伴わずに細胞毒性効果を発揮する［3］。

Oncaspar（開発コード S95014_[redacted]）は、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）pH 7.3 中に PEG-L-アスパラギナーゼ 3750 mL/5mL（750 U/mL）を含む等張滅菌溶液の単回使用バイアルとして液剤で上市された。現在の Oncaspar（開発コード S95014_[redacted]）は 3750 U/バイアルの凍結乾燥剤形であり、5.2 mL の注射用水に溶解することで PEG-L-アスパラギナーゼ 750 U/mL PBS となる。

液剤の Oncaspar を用いて行われた非臨床薬理試験の一覧を表 1.1:1 に示した。その後、液剤の Oncaspar（有効期間 8 カ月）の安定性改善を目的として、凍結乾燥剤の Oncaspar（有効期間 36 カ月）が開発された。凍結乾燥剤の Oncaspar を支持するデータを得るため、分析による剤形間の相対評価【CTD 3.2.S.2.6_DTC_S095014_PA_R_FAB_52212_EN_1.0、CTD 3.2.P.2.3_DTC_S095014_PF_R_FOR_55418_EN_1.0】及び非臨床試験【CTD 2.4　非臨床試験の概括評価】を行い、凍結乾燥剤の溶解液が液剤と同等性を有することが示されたことから、両剤形の薬力学（PD）及び薬物動態（PK）をイヌにおいて比較する試験（2.6 項）を行った（表 1.1:2）。

PEG-L-アスパラギナーゼの有効性試験は、腫瘍移植マウスモデル及びリンパ肉腫担がんイヌで行った。6C3HED 細胞移植マウスを用いた試験では、1 例あたり PEG-L-アスパラガーゼ 5 IU（約 250 IU/kg）を腹腔内（i.p.）投与し、5 例中 4 例（2.1.2 項）又は 5 例中 5 例（2.1.1 項）が治癒したが、ネイティブ L-アスパラギナーゼは同じ投与量で効果が認められなかった。これらの試験では、PEG-L-アスパラギナーゼ 2.5 IU 投与で 5 例全例の移植マウスが治癒した。

6C3HED 細胞移植マウスに対する PEG-L-アスパラギナーゼの筋肉内（i.m.）投与では、1 例あたり 30 IU（約 1500 IU/kg）投与で 5 例中 4 例が治癒した（2.2 項）。

ネイティブ L-アスパラギナーゼ又は PEG-L-アスパラギナーゼ投与後に L5178Y 細胞を移植した試験（2.1.2 項）では、PEG-L-アスパラギナーゼ 10 IU（約 500 IU/kg）i.p.投与で 3 例が治癒したが、ネイティブ L-アスパラギナーゼ（10 IU 又は 20 IU/マウス）では効果が認められなかった。

単剤投与時の PEG-L-アスパラギナーゼの有効性を雌雄のリンパ肉腫担がんイヌで評価した。従来の化学療法後に再発した動物の大半は、PEG-L-アスパラギナーゼ（10 又は 30 IU/kg、i.p.）で完全奏効（CR）又は部分奏効（PR）を示した。PEG-L-アスパラギナーゼ（30 IU/kg）は、未治療のリンパ肉腫担がんイヌにおいて、化学療法併用でネイティブ L-アスパラギナーゼ（400 IU/kg）を 2 週間に 1 回 i.m.投与した場合と同じ治療効果を示した。

イヌの大半は PEG-L-アスパラギナーゼに対する忍容性が非常に良好で、有害作用はなく、治療と関連する血液学的又は血液化学的変化は認められなかった。毒性の内訳は、大量の腫瘍細胞崩壊による死亡（2 例）、腫瘍退縮と関連する播種性血管内凝固症候群（1 例）、嘔吐（3 例）、軟便（3 例）、運動失調及び無気力（1 例）、過敏反応（1 例）であった。1 例あたりの PEG-L-アスパラギナーゼの最大投与回数は 60 回であった。この結果から、PEG-L-アスパラギナーゼは単剤又は他の化学療法剤との併用で、イヌのリンパ肉腫に対して抗腫瘍活性を有することが示され、評価した用量で良好に忍容された。

PEG-L-アスパラギナーゼの薬理試験の一覧を表 1.1:1 に示した。

表 1.1:1 PEG-L-アスパラギナーゼの薬理試験の一覧

Primary pharmacodynamics							
Animal model	**Study code**	**Status**	**Number of animals**	**Doses**	**Route**	**Duration**	**Outcome**
C3H/HeJ mouse infected with 6C3HED tumor	(Abuchowski, 1984) [PE0150533]［1］	Preliminary study	5 female mice/group	PEG: 0.5, 1, 2, 2.5, 5 IU/mouse Native: 0.5, 1, 2, 4 ,5 IU/mouse	i.p.	Single dose	PEGylated enzyme showed antitumour activity. Native enzyme was ineffective or less effective when administered at equivalent doses. PEG-L-asparaginase was more active after i.p. than after i m. route.
BDF1 mouse infected with L5178Y tumor	(Abuchowski, 1984) [PE0150533]［1］	Preliminary study	5 female mice/group	PEG: 5, 10, 20 IU/mouse Native: 0, 5, 10, 20 IU/mouse	i.p.	Single dose	
C3H/HeJ mouse infected with 6C3HED tumor	Study #6 NP39148 4.2.1.1.1	Definitive GLP study	5 female mice/group	i.p.: PEG: 5, 10 IU/mouse i.m.: PEG: 10, 20, 30 IU/mouse	i.p. i.m.	Single dose	
Dog with lymphosarcoma	Study MacGrath NP39259 4.2.1.1.2	Definitive study	12 dogs/group (9F; 3M)	PEG: 15-200 IU/kg	i.p.	Weekly or bi-weekly administration	PEGylated enzyme (30 IU/kg weekly via i.p. route) was effective as a single agent and in combination therapy.
Dog with lymphosarcoma	(MacEwen, 1987) [PE0150565]［4］	Definitive study	Group 1: 10 dogs /dose (9F; 11M) Group 2: 17 dogs (9F; 8M)	Group 1: PEG: 10, 30 IU/kg, Group 2: PEG: 30 IU/kg with combination chemotherapy	i.p.	Weekly with or without combination chemotherapy	

表 1.1:1 PEG-L-アスパラギナーゼの薬理試験の一覧（続き）

Primary pharmacodynamics							
Animal model	**Study code**	**Status**	**Number of animals**	**Doses**	**Route**	**Duration**	**Outcome**
Dog with lymphosarcoma	(MacEwen, 1992) [PE0150564]［5］	Definitive study	35 dogs (PEG group) 34 dogs (native group) (40F; 29M)	PEG: 30 IU/kg Native: 400 IU/kg	i.m.	Bi-weekly with combination chemotherapy	PEGylated enzyme (30 IU/kg weekly i.m.) was as effective as 400 IU/kg i m. native enzyme given at the same dose interval. Remission rate (complete + partial): 94.3% vs. 94.1%. Median remission time: 217 days vs. 214 days. Median survival: 356 days vs. 319 days. (All results are for PEG and native enzyme respectively).
Secondary pharmacodynamics							
Animal model	**Study code**	**Status**	**Number of animals**	**Doses**	**Route**	**Duration**	**Outcome**
MiaPaCa-2, PANC-I, ASPC-I, Panc 10.05, BxPC3 CFPAC-1, CAPAN-1, CAPAN-2 cells	Sapra 2005 NP39159 4.2.1.2.3	Preliminary study	not applicable (cytotoxicity)	Serial dilution up to 20 IU/mL	*in vitro*	4 days incubation at 37°C	Potent cytotoxicity against MiaPaCa- 2, PANC-I, ASPC-I, and Panc 10.05 cell lines, with the 4-day IC_{50} values less than 1.0 IU/mL. CAPAN-2 cells were moderately sensitive; BxPC3, CFPAC-1 and CAPAN-l cells were not sensitive at the highest concentration tested (20 IU/mL).
MiaPaCa-2, PANC-I, BxPC3 cells with and without gemcitabine combination	Denis 1 NP39162 4.2.1.2.2	Preliminary study	not applicable (antiproliferative activity)	Serial dilution up to 10 IU/mL	*in vitro*	14 days incubation at 37°C/5%CO_2	61% and 100% inhibition of tumour colony formation for PANC-I and MiaPaCa-2 cells (1.0 IU/mL); 51% inhibition for BxPC-3 (10 IU/mL). Additive antiproliferative effects of the combination of PEG-L-asparaginase and gemcitabine on MiaPaCa-2 cells.

表 1.1:1 PEG-L-アスパラギナーゼの薬理試験の一覧（続き）

Secondary pharmacodynamics							
Animal model	**Study code**	**Status**	**Number of animals**	**Doses**	**Route**	**Duration**	**Outcome**
MiaPaCa-2 human pancreatic cancer xenograft model with and without gemcitabine combination	Denis 2 NP39163 4.2.1.2.1	Preliminary study	10 nude mice/group	PEG: 12,500-25,000 IU/kg; Gemcitabine: 80 mg/kg	i.p.	PEG: single dose Gemcitabine: twice weekly for 2 weeks	PEG 12.5 IU/g resulted in 59% tumour growth inhibition (TGI). Gemcitabine resulted in TGI of 64%, the combination resulted in TGI of 86%.

イヌにおいて 2 つの剤形（液剤及び凍結乾燥剤）の PD 及び PK を比較する目的で、下表に示した 1 試験【CTD 4.2.2.2.8_Study 15-3297 – Report NP39227】を行った。

表 1.1:2 Oncaspar（液剤と凍結乾燥剤）の PD 同等性試験

Primary pharmacodynamics							
Animal model	**Study code**	**Status**	**Number of animals**	**Doses**	**Route**	**Duration**	**Outcome**
Beagle dog	#15-3297 (4.2.2.2.8 NP39227)	GLP Study	5/sex/group	500 IU/kg BW	i.v.	Single dose, repeat dose (Days 1, 15, 22, 29 and 36)	The study provides strong evidence for the PK comparability of Oncaspar (liquid) and Oncaspar (lyophilized) after single and multiple dosing.

PK 試験の結果を 2.6.4 薬物動態試験の概要文【CTD 2.6.4.3 吸収】及び 2.6.5 薬物動態試験概要表に、抗薬物抗体試験の結果を 2.6.6 毒性試験の概要文【CTD 2.6.6.8.3 オンキャスパー製剤（液体及び凍結乾燥製剤）のイヌ静脈内単回及び 4 週間反復投与における抗薬物抗体、薬物動態及び薬力学的検討（Report NP39227）】に示した。

2.　効力を裏付ける試験

2.1　マウスにおける抗腫瘍活性の予備的試験

目的

本試験の目的は、マウス腫瘍細胞（6C3HED 及び L5178Y）において PEG-L-アスパラギナーゼとネイティブ L-アスパラギナーゼの抗腫瘍活性を比較することであった。本試験は Good Laboratory Practice（GLP）非準拠で行われ、結果を参考文献から要約した［1］。

2.1.1　6C3HED 細胞

方法

C3H/HeJ マウス（体重約 20 g）を 5 例/群に分け、1 例あたり 1×10^6 個の 6C3HED 細胞を腹腔内移植した。移植 1 日後、マウスに以下の処理を行った。

Group	Doses
Vehicle (Controls)	0.1 mL/mouse Phosphate buffer (PBS)
Asparaginase	0.5 IU/mouse i.p. (about 25 IU/kg)
	1 IU/mouse i.p. (about 50 IU/kg)
	2 IU/mouse i.p. (about 100 IU/kg)
	4 IU/mouse i.p. (about 200 IU/kg)
	5 IU/mouse i.p. (about 250 IU/kg)
PEG-L-asparaginase	0.5 IU/mouse i.p. (about 25 IU/kg)
	1 IU/mouse i.p. (about 50 IU/kg)
	2 IU/mouse i.p. (about 100 IU/kg)
	2.5 IU/mouse i.p. (about 125 IU/kg)
	5 IU/mouse i.p. (about 250 IU/kg)

各 0.1 mL を投与し、60 日間生存したマウスを治癒とみなした。

結果

腫瘍細胞を移植した対照マウスは、全例が移植後 14 日以内に死亡した。ネイティブ L-アスパラギナーゼは 0.5～4 IU/マウスの用量でマウスの死亡を抑制することができず、5 IU/マウスの用量で 5 例中 5 例が治癒した。対照的に PEG-L-アスパラギナーゼは 0.5、1 又は 2 IU/マウスで 5 例中 1～2 例が治癒し、2.5 及び 5 IU/マウスで 5 例全例が治癒した。

2.1.2　L5178Y 細胞

方法

雌 BDF1 マウス（体重約 20 g）を 5 例/群に分け、ネイティブ L-アスパラギナーゼ又は PEG-L-アスパラギナーゼを免疫した。最終免疫の 2 週間後、1 例あたり 1×10^6 個の L5178Y 細胞を腹腔内移植し、移植 1 日後、マウスに以下の処理を行った。

Group	Doses
Vehicle (Controls)	0.1 mL/mouse Phosphate buffer (PBS)
Asparaginase	5 IU/mouse i.p. (about 250 IU/kg)
	10 IU/mouse i.p. (about 500 IU/kg)
	20 IU/mouse i.p. (about 1000 IU/kg)
PEG-L-asparaginase	5 IU/mouse i.p. (about 250 IU/kg)
	10 IU/mouse i.p. (about 500 IU/kg)
	20 IU/mouse i.p. (about 1000 IU/kg)

各 0.1 mL を投与し、60 日間生存したマウスを治癒とみなした。

結果

L5178Y 細胞は、L-アスパラギナーゼに対して他のマウス腫瘍より抵抗性を示す。マウスはネイティブ L-アスパラギナーゼ 5 及び 10 IU/マウスで治癒せず、20 IU/マウスで 5 例中 2 例が治癒した。対照的に PEG-L-アスパラギナーゼは試験した全用量で 5 例中 3～4 例のマウスが治癒した。

結論

6C3HED 細胞及び L5178Y 細胞の両方で、PEG-L-アスパラギナーゼはネイティブ L-アスパラギナーゼより有用性が高いことを示した。

2.2　マウスにおける PEG-L-アスパラギナーゼの抗腫瘍活性【CTD 4.2.1.1.1_Study #6 - Report NP39148】

目的

本試験の目的は、PEG-L-アスパラギナーゼを様々な用量で i.p.又は i.m.投与し、抗腫瘍活性を評価することであった。本試験は GLP 準拠で行われ、結果を参考文献から要約した［1)］。

方法

雌 C3H/HeJ マウス（体重 25～26 g）に 1 例あたり 1×10^6 個の 6C3HED 細胞を腹腔内移植し、移植 24 時間後に以下のとおりマウスに PEG-L-アスパラギナーゼを投与した。

Group	Animals and Doses
Vehicle (Controls)	5 animals received PBS
i.p. administration	5 animals received 5 IU/mouse (about 200 IU/kg)
	5 animals received 10 IU/mouse (about 400 IU/kg)
i.m. administration	5 animals received 10 IU/mouse (about 400 IU/kg)
	5 animals received 20 IU/mouse (about 800 IU/kg)
	5 animals received 30 IU/mouse (about 1200 IU/kg)

試験物質（ロット番号：[redacted]）を i.p.投与で 5～10 IU/0.1mL、i.m.投与で 10～30 IU/mL になるように PBS で希釈した。マウスを 70 日間観察し、死亡数を記録した。2 カ月間生存したマウスを治癒したとみなした。

結果

対照マウス全例が腫瘍細胞移植後 12～16 日で死亡した。PEG-L-アスパラギナーゼは全用量でマウスの生存期間を腫瘍細胞移植後 29～70 日以上に延長した。i.p.投与では 10 IU/マウスで 5 例全例、5 IU/マウスで 4 例が治癒した。i.m.投与では 10 IU/マウスで 2 例、30 IU/マウスで 4 例が治癒した。

生存例全例は良好で正常に行動し、腫瘍の徴候は認められなかった（立毛なし、腹部膨満なし、消化管の活動低下なし）。腫瘍細胞移植 70 日後、生存例全例を治癒とみなした。

結論

試験の結果、PEG-L-アスパラギナーゼは6C3HED腫瘍移植マウスの治癒に効果があることを示した。i.m.投与がi.p.投与と同じ効果を得るためには、3倍の用量が必要であった。

2.3　イヌにおける有効性試験 1【CTD 4.2.1.1.2_Study MacGrath – Report NP39259】

目的

本試験の目的は、リンパ肉腫担がんイヌにおいて PEG-L-アスパラギナーゼ i.p.投与の治療効果を評価することであった。本試験は GLP 非準拠で行われた。

方法

PEG-L-アスパラギナーゼの治療効果は、[redacted]の[redacted]において、雌9例及び雄3例のリンパ肉腫担がんイヌを用いて調査した。雌6例は避妊術を受けていた。イヌの年齢は3～12歳であった。

臨床評価は骨髄及び末梢リンパ節の組織学的検査に加え、病歴、理学的検査、末梢リンパ節の測定、血液学及び血液化学検査、尿検査を行い、さらに全例で胸部及び腹部レントゲン検査を行った。12 例全例で多中心性リンパ節腫脹が認められ、9 例で肝脾腫が認められた。リンパ節バイオプシーによって全例のリンパ肉腫の状態を観察した。

全例に既存薬（ビンクリスチン、サイトキサン、プレドニゾロン）を投与し、そのうち一部にネイティブ L-アスパラギナーゼを投与した。全例が試験に組み入れられた時点で再発していた。PEG-L-アスパラギナーゼ（ロット番号：[redacted]）を単剤化学療法薬として週 1 回又は 2 週に 1 回 15～200 IU/kg を i.p.投与し、血液学及び血液化学データ、リンパ節サイズ及び体調に基づいて奏効を評価した。

結果

1.　有効性

12 例中 9 例が PEG-L-アスパラギナーゼ治療に奏効し、奏効は非常に速やかであった。初回投与後 7～10 日以内に、1 例で肥大化したリンパ節が縮小した。イヌは奏効状態では無症状であった。奏効期間は 2～14 週であり、1 例では最低 7 カ月奏効が持続した。3 例は PEG-L-アスパラギナーゼに奏効しなかった。奏効の誘導及び維持は、20～200 IU/kgの間で用量依存的ではなかった。

2.　有害反応

11 例で PEG-L-アスパラギナーゼ治療による有害反応は認められなかった。1 例（6 歳、雌、ジャーマンシェパード）で後肢脱力、運動失調、無気力及び食欲不振からなる軽度の有害反応が各回投与後に観察された。これらの症状は 2 日続いたが、治療せずに改善した。PEG-L-アスパラギナーゼは全例で免疫反応を引き起こさなかった。その中には、過去にネイティブ L-アスパラギナーゼに対してアナフィラキシー型反応を示した 1 例が含まれていた。

結論

本試験結果は、PEG-L-アスパラギナーゼが 12 例中 11 例で有害反応を誘発することなく、リンパ肉腫担がんイヌに投与することで臨床的奏効を誘導し、潜在的に維持することを示した。

2.4　イヌにおける有効性試験 2

目的

本試験の目的は、自然発生悪性リンパ種担がんイヌにおける PEG-L-アスパラギナーゼ単剤又は併用 i.p.投与による抗腫瘍活性の評価であった。本試験は GLP 非準拠で行われ、結果を参考文献から要約した［4］。

方法

PEG-L-アスパラギナーゼの治療効果は、University of Wisconsin の School of Veterinary Medicine において、雄 19 例雌 18 例（中央値 7 歳）の多中心性リンパ肉腫のバイオプシーで評価した。血液学及び血液化学検査、胸部及び腹部レントゲン検査、リンパ節バイオプシー及び骨髄穿刺によって、疾患の程度を評価した。最初の試験をグループ 1、次の試験をグループ 2 として、それぞれ次の処理を行った。

グループ 1	20 例（雄 11 例及び雌 9 例）に PEG-L-アスパラギナーゼ単剤 10 又は 30 IU/kg を週 1 回 i.p.投与した。20 例のうち 8 例は過去に治療を受けており、化学療法耐性であった。残りの 12 例は、過去に治療を受けていなかった。
グループ 2	過去に化学療法を受けていない 17 例（雄 8 例及び雌 9 例）を追加し、PEG-L-アスパラギナーゼ単剤 30 IU/kg を週 1 回 i.p.投与し、その後 1 カ月は週一回の併用化学療法（ビンクリスチン、シクロホスファミド、メトトレキサート、及びプレドニゾン）を行った。

奏効持続中は、両グループに PEG-L-アスパラガーゼを 2 週に 1 回投与した。本試験に供した PEG-L-アスパラギナーゼのロット番号は、[redacted]、[redacted]、[redacted]及び[redacted]であった。

結果

1.　有効性

グループ 1 では、PEG-L-アスパラギナーゼ単剤を投与した 20 例中、CR が 7 例、PR が 7 例、無奏効（NR）が 5 例、評価不可能が 1 例で、全体的奏効率は 70%であった。20 例中 8 例は前段階の化学療法による治療不成功例で、そのうち 4 例が奏効（CR1 例、PR3 例）を示し、奏効は 14～60 日間持続した。20 例中 11 例は化学療法を受けていないが、そのうち 9 例が PEG-L-アスパラギ

ナーゼで奏効（CR6 例、PR3 例）を示した。奏効は 14～102 日間持続し、中央値は 48 日であった。

グループ 2 では、PEG-L-アスパラギナーゼを投与し 1 カ月間化学療法を併用した 17 例中、CR が 13 例、PR が 2 例、NR が 2 例で、全体的奏効率は 88%であった。奏効は 7～441 日超持続し、中央値は 126 日超であった。4 例は PEG-L-アスパラギナーゼ単剤による維持療法で 16 カ月超～28 カ月超の奏効持続が認められた。本グループの試験動物は過去に化学療法を受けていなかった。

2.　有害反応

大半例は PEG-L-アスパラギナーゼの忍容性が良好であったが、2 例は大規模な腫瘍崩壊及びその後の腎不全で死亡し、1 例は PEG-L-アスパラギナーゼ投与後 6 時間以内に播種性血管内凝固症候群（Disseminated Intravascular Coagulation［DIC］）の発現が認められた。DIC は大規模な腫瘍崩壊と関連する可能性が最も高かったが、治療に成功し、PEG-L-アスパラギナーゼ投与を継続した。3 例で投与後まもなくの嘔吐、3 例で 2～3 日軟便が認められたが、ほとんどの場合 48 時間以内に回復した。1 例は PEG-L-アスパラギナーゼの初回投与後に衰弱した。本例は事前にネイティブ L-アスパラギナーゼ投与を受けていなかったが、アナフィラキシー型反応と思われる。アナフィラキシー型反応又は気管支痙攣反応は、ヒトにおいて様々な医薬品（蛋白質医薬品以外も含む）の投与後に呈することが知られている非特異的反応であり、反応発現に関する説明は文献中になかった。PEG-L-アスパラギナーゼ投与に関連する血液学的又は血液化学的変化は記載されていなかった。4 例に PEG-L-アスパラギナーゼを長期間投与（1 例あたり 25 回以上）したが、有害反応は認められなかった。

結論

以上から、本試験結果は自然発生悪性リンパ腫担がんイヌにおいて PEG-L-アスパラギナーゼが低濃度で抗腫瘍活性を有することを示した。短期併用化学療法を追加することで、奏効持続期間が拡大した。PEG-L-アスパラギナーゼは忍容性が良好であった。他の化学療法剤との併用でも安全であると思われる。

2.5　イヌにおける有効性試験 3

目的

本試験の目的は、悪性リンパ腫担がんイヌで PEG-L-アスパラギナーゼとネイティブ L-アスパラギナーゼの安全性及び有効性を比較することであった。本試験は GLP 非準拠で行われ、参考文献から結果を要約した［5］。

方法

悪性リンパ腫に対する前治療を受けていない様々な品種のイヌ 69 例をランダム化し二重盲検化した。治療開始前評価には、理学的検査、リンパ節触診及び測定、血液学検査、血液化学検査、

リンパ節バイオプシー、骨髄穿刺、胸部及び腹部レントゲン検査を実施した。試験開始前にWHO のステージ分類に従って以下のとおり臨床的分類を行った。

Stage I:	Involvement limited to a single node or lymphoid tissue in a single organ.
Stage II:	Involvement of many lymph nodes in a regional area.
Stage III:	Generalized lymph node enlargement.
Stage IV:	Liver and/or spleen involvement.
Stage V:	Involvement of the bone marrow.

年齢 3～14 歳、中央値 7 歳のイヌを雌 40 例、雄 29 例）をステージに基づいて層別化し、PEG-L-アスパラギナーゼ（ロット番号：[redacted]）投与群又はネイティブ L-アスパラギナーゼ投与群のいずれかに無作為化した。投与スケジュールは以下のとおりであった。

GROUP A	GROUP B
Week 1:	
PEG-L-asparaginase 30 IU/kg i.m.	L-asparaginase 400 IU/kg i.m.
Week 2:	
PEG-L-asparaginase 30 IU/kg i.m.	L-asparaginase 400 IU/kg i.m.
Week 3:	
Vincristine 0.7 mg/m^2 i.v. Prednisone 2.0 mg/kg p.o. daily	Vincristine 0.7 mg/m^2 i.v. Prednisone 2.0 mg/kg p.o. daily
Week 4:	
Cyclophosphamide 200 mg/m^2 i.v. Prednisone 1.5 mg/kg p.o. daily PEG-L-asparaginase 30 IU/kg i m.	Cyclophosphamide 200 mg/m^2 i.v. Prednisone 1.5 mg/kg p.o. daily L-asparaginase 400 IU/kg i.m.
Week 5:	
Vincristine 0.7 mg/m^2 i.v. Prednisone 1.0 mg/kg p.o. daily	Vincristine 0.7 mg/m^2 i.v. Prednisone 1.0 mg/kg p.o. daily
Week 6:	
Doxorubicin 30 mg/m^2 i.v. Prednisone 0.5 mg/kg p.o. daily PEG-L-asparaginase 30 IU/kg i.m.	Doxorubicin 30 mg/m^2 i.v. Prednisone 0.5 mg/kg p.o. daily L-asparaginase 400 IU/kg i.m.

プレドニゾン量を減量しながら第 3 週から化学療法を併用し、第 12 週以降は PEG-L-アスパラギナーゼ又はネイティブ L-アスパラギナーゼ単剤に切り替え、維持療法として腫瘍が再発するまで 2 週間に 1 回単剤投与した。

担がんイヌに対するネイティブ L-アスパラギナーゼの標準用量を 400 IU/kg とし、再発が認められた場合は、その時点で本プロトコルから除外された。奏効は 3 カ所のリンパ節を測定し、以下のとおり定義した。

Complete remission (CR):	100% regression of all lymph nodes to normal size
Partial remission (PR):	at least 50% regression of lymph node size
No response (NR):	less than 50% regression of lymph node size

奏効期間は、リンパ節肥大に対する奏効が認められた日からリンパ節サイズが投与前と比較して 50%以上小さくなった期間とした。生存期間は、診断日（組織学的確認日）から死亡までの期間とした。

PEG-L-アスパラギナーゼ投与例は 35 例、ネイティブ L-アスパラギナーゼ投与例は 34 例で、1 例がステージ II、17 例がステージ III、35 例がステージ IV、16 例がステージ V であった。

結果

1.　有効性

PEG-L-アスパラギナーゼ又は L-アスパラギナーゼの単剤投与による奏効について、投与開始 2 週間後の時点で 2 群間に統計学的有意差は認められなかった。2 群の化学療法による全奏効は下表のとおりであった。

	Chemotherapy + PEG-L-ASPARAGINASE		**Chemotherapy + L-ASPARAGINASE**	
	NUMBER	**(%)**	**NUMBER**	**(%)**
TOTAL NUMBER OF DOGS	35		34	
CR	30	(85.7)	32	(94)
PR	3	(8.6)	0	
NR	2	(5.7)	2	(6)
MEDIAN REMISSION	217 days		214 days	
MEDIAN SURVIVAL	356 days		319 days	

PEG-L-アスパラギナーゼ投与群の生存期間は 19～1030 日、ネイティブ L-アスパラギナーゼ投与群の生存期間は 25～1019 日であった。2 群間に奏効率、奏効及び生存期間の統計学的有意差を認めなかった。さらに性別及び疾患ステージは予後の指標ではなかった。試験中の PEG-L-アスパラギナーゼの最大投与回数は 60 回であった。

2.　有害反応

概して、両剤とも忍容性は良好であった。PEG-L-アスパラギナーゼ投与群 1 例で反復投与後に全身性蕁麻疹が認められたが、ネイティブ L-アスパラギナーゼ投与群で認められた有害反応（投与部位の浮腫 1 例、アナフィラキシーショック及び発作 1 例）はより重篤と思われた。両剤の投与と関連する血液学的又は血液化学的変化は文献に記載されていなかった。

結論

PEG-L-アスパラギナーゼは単剤投与、それに続く他剤との併用投与において、未治療リンパ肉腫担がんイヌの治療に有効であった。PEG-L-アスパラギナーゼ 30 IU/kg は、ネイティブ L-アスパラギナーゼ 400 IU/kg の 2 週間に 1 回 i.m.投与と同様に有効であった。PEG-L-アスパラギナーゼは担がんイヌで忍容性が良好であった。

2.6　Oncaspar 凍結乾燥剤の効力を裏付ける試験：イヌにおける 2 剤形の単回及び 4 週間反復静脈内投与の比較 PK/PD 同等性試験（15-3297 試験）【CTD 4.2.2.2.8_Study 15-3297 – Report NP39227】

GLP 準拠の 15-3297 試験は、2 剤形の PK、PD 及び抗薬物抗体検出を比較するために行ったイヌを用いた単回静脈内（i.v.）投与及び 4 週間反復 i.v.投与 PK/PD 試験である。詳細は 2.6.4 薬物動態試験の概要文【CTD 2.6.4.3.12】及び 2.6.5 薬物動態試験概要表【CTD2.6.5.4.2】に示した。

ビーグル犬に単回又は週 1 回（1、15、22、29 及び 36 日）、液剤（ロット番号：[redacted]）又は溶解した凍結乾燥剤（ロット番号：[redacted]）0.667 mL/kg を低速ボーラス i.v.投与後、HPLC で血漿アスパラギナーゼを定量して PD を評価した【CTD 3.2.S.2.6_DTC_S095014_PA_R_FAB_52212_EN_1.0、CTD 3.2.P.2.3_DTC_S095014_PF_R_FOR_55418_EN_1.0】。

血漿アスパラギン濃度は単回及び初回投与前の時点で定量可能であったが、両剤形のいずれかを約 2 分かけて単回ボーラス投与することで、投与 10 分後には定量下限（200 ng/mL）未満まで減少し、最終測定時点である 552 時間後まで定量下限未満のままであった。反復投与では両剤形ともに 36 日の投与前の時点で定量下限未満であり、凍結乾燥剤を投与した雄 1 例（36 日投与の 336 時間後まで定量下限未満）を除き、全例が 36 日投与の 552 時間後まで定量下限未満のままであった。

結論として、アスパラギン濃度が 41 例全例で投与 336 時間後、41 例中 40 例で投与 552 時間後まで完全に抑えられたことから、両剤形の活性でアスパラギンの実質的減少が予想されることを示した。

3.　副次的薬理試験

膵臓細胞株及び卵巣細胞株を含む数種の癌細胞株を用いて PEG-L-アスパラギナーゼの *in vitro* 細胞毒性を評価した。自然発生腫瘍担がん動物モデルを除けば、PEG-L-アスパラギナーゼに関する限定された固形癌の *in vivo* 動物試験データが利用可能である。ヒト膵臓癌細胞株である MiaPaCa-2 細胞の皮下異種移植モデルを用いて、PEG-L-アスパラギナーゼの有効性を単剤及びゲムシタビン併用下で評価した。

3.1　膵臓癌細胞株に対する *in vitro* 細胞毒性

目的

本試験の目的は、ヒト膵臓癌細胞株（MiaPaCa-2、PANC-1、ASPC-1、Panc 10.05、BxPC3、CFPAC-1、CAPAN-1、CAPAN-2）に対する PEG-L-アスパラギナーゼの *in vitro* 細胞毒性を、3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulphophenyl)-2H-tetrazolium（MTS）アッセイを用いて調査することであった【CTD 4.2.1.2.3_Sapra 2005 – Report NP39159】。

方法

細胞株を 37°C で一晩培養し、次の日に段階希釈した PEG-L-アスパラギナーゼを添加後、37°C で 4 日間培養した。培養終了後、MTS 試薬を添加し 37°C で 2～3 時間培養後、プレートリーダーで 490 nm の吸光度を測定した。細胞生存率（%）は次式により算出した。

細胞生存率（%）＝［(検体の吸光度－ブランクの吸光度）/（陰性対照の吸光度－ブランク吸光度)］×100

用量反応曲線を被験物質濃度の対数プロットで作成し、50%阻害濃度（IC_{50}）を GraphPad Prism ソフトウェアで算出した。

結果及び結論

各細胞株に対する PEG-L-アスパラギナーゼの IC_{50} を表 3.1:1 に示した。PEG-L-アスパラギナーゼは、MiaPaCa-2、PANC-1、ASPC-1 及び Panc10.05 細胞に対して細胞毒性を示し、4 日後の IC_{50} は 1.0 IU/mL 未満であった。CAPAN-2 細胞は PEG-L-アスパラギナーゼに対して中等度の感受性を示し、BxPC3、CFPAC-1 及び CAPAN-1 細胞は最高濃度（20 IU/mL）に対して感受性を示さなかった。

表 3.1:1 膵臓細胞株に対する PEG-L-アスパラギナーゼの *in vitro* 細胞毒性

Cell line	IC_{50} (IU/mL)
MiaPaCa-2	0.66
PANC-1	0.27
ASPC-1	0.56
Panc 10.05	0.43
CAPAN-2	10
BxPC3	> 20
CFPAC-1	> 20
CAPAN-1	> 20

3.2　膵臓細胞株及び組織検体に対する *in vitro* 活性

目的

本試験の目的は、PEG-L-アスパラギナーゼ単剤又はゲムシタビンとの併用下におけるヒト膵臓細胞株及び組織検体に対する増殖抑制作用を評価することであった【CTD 4.2.1.2.2_Denis Study 1 - Report NP39162】［2］。

方法

ヒト膵臓細胞株及び組織検体と PEG-L-アスパラギナーゼを 2 層培地の軟寒天クローニングシステムを用いて 37°C 及び 5%二酸化炭素の条件下で 14 日間培養後、細胞で形成されたコロニーを計数することで細胞毒性を評価した。溶媒又は培地対照が 10 コロニー/プレートで陽性対照がそ

の 30%以下の場合、サンプルを評価可能とした。コロニー形成阻害は、コロニー数が溶媒又は培地対照の 50%以下と定義づけた。

PEG-L-アスパラギナーゼ単剤又はゲムシタビンとの併用下における *in vitro* 細胞毒性を、3-(4,5-dimethylthial-2-yl)-2,5-diphenyltetrazalium bromide（MTT）アッセイでも評価した。MiaPaCa-2、PANC-1 及び BxPC-3 細胞を 37°C で 24 時間培養後、段階希釈した PEG-L-アスパラギナーゼ単剤又は PEG-L-アスパラギナーゼ及びゲムシタビンを添加して 37°C で 3 日間以上培養した。MTT を添加後 37°C で 4 時間培養し、生じたホルマザン結晶を酸／アルコールで可溶化し、570 nm（サンプル）及び 630 nm（レファレンス）で吸光度を測定した。結果は、培地対照に対する腫瘍細胞死（%）で示した。

結果及び結論

コロニーアッセイの結果、PEG-L-アスパラギナーゼ 1 IU/mL の持続的暴露により PANC-1 及び MiaPaCa-2 細胞でそれぞれ 61%及び 100%、10 IU/mL の持続的暴露により BcPC-3 細胞で 51%のコロニー形成阻害を示した。新たに拡大培養したヒト膵臓組織検体においても同様の活性が認められた。MTT アッセイの結果、MiaPaCa-2 及び PANC-1 細胞に対する IC_{50} はそれぞれ 0.13 及び 0.25 IU/mL であった。PEG-L-アスパラギナーゼとゲムシタビンを併用することで相加効果が認められた。

3.3　ヒト膵臓癌細胞（MiaPaCa-2）の異種移植モデルにおける *in vivo* 治療効果

目的

本試験の目的は、ヌードマウスの MiaPaCa-2 皮下異種移植モデルにおける PEG-L-アスパラギナーゼ単剤及びゲムシタビン併用の *in vivo* での有効性の評価であった【CTD 4.2.1.2.1_Denis Study 2 - Report NP39163】[2]。

方法

皮下注射でヌードマウスの右腋窩に MiaPaCa-2 細胞の腫瘍を形成させ、腫瘍重量が 50～65 mg に達したマウスを下表に示した 5 群（10 例/群）に分類した。

Group	Treatment	N of mice	Dose	Route	Dosing schedule
1	Control	10	Saline	i.p.	Qdx1
2	PEG-L-asparaginase	10	12500 IU/kg	i.p.	Qdx1
3	PEG-L-asparaginase	10	25000 IU/kg	i.p.	Qdx1
4	gemcitabine	10	80 mg/kg	i.p.	Days 1, 4, 7, 10
5	PEG-L-asparaginase + gemcitabine	10	12500 IU/kg 80 mg/kg	i.p.	Qdx1 Days 1, 4, 7, 10

腫瘍増殖阻害（tumour growth inhibition　以下 TGI）及び腫瘍縮小（tumour shrinkage　以下 TS）は次式により算出した。

TGI = 100 - 最終投与後の腫瘍重量平均値（mg）/最終投与後の対照群の腫瘍重量平均値（mg）×100

TS = 最終投与後の腫瘍重量平均値（mg）/初回投与後の腫瘍重量平均値（mg）×100

結果及び結論

図 3.3:1 に示すとおり、対照群では腫瘍が徐々に増殖した。

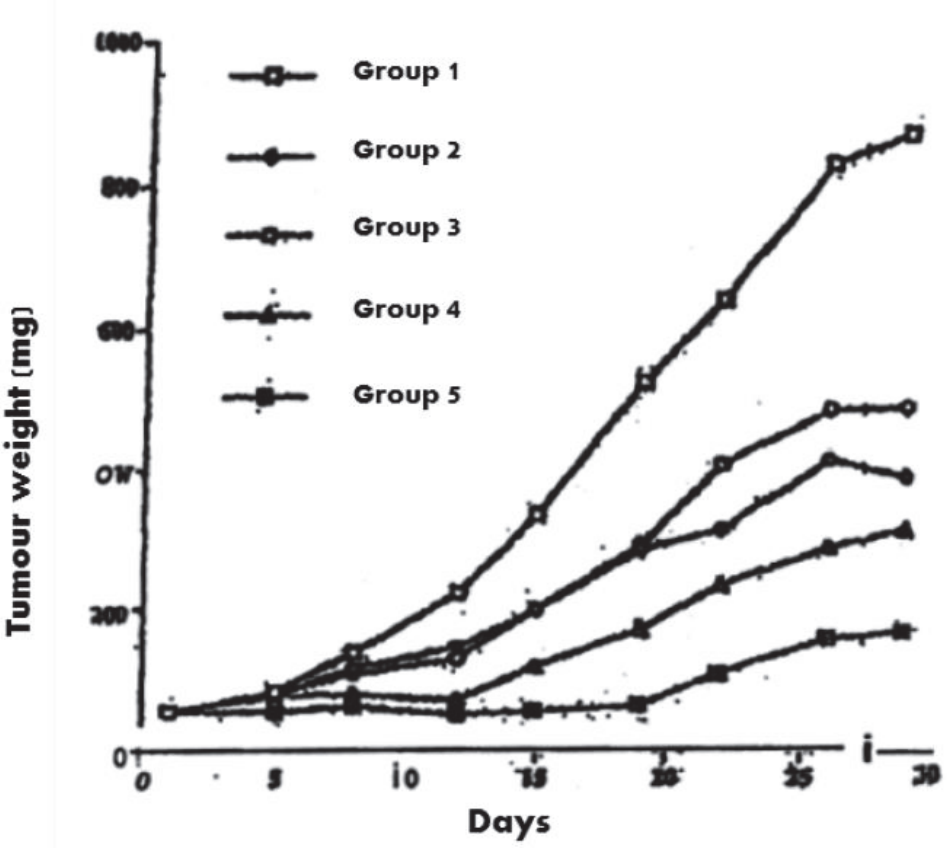


図 3.3:1 MiaPaCa-2 異種移植モデルにおける PEG-L-アスパラギナーゼ単剤及びゲムシタビン併用の抗腫瘍活性

PEG-L-アスパラギナーゼ 12500 IU/kg 単回投与は 59%の TGI を示し、最大用量である 25000 IU/kg で有意な増加は認められなかった。ゲムシタビン単剤（80 mg/kg 週 2 回投与）は 64%の TGI を示し、両剤を併用することで TGI は 86%となった。

結論として、ヒト膵臓癌細胞 MiaPaCa-2 異種移植モデルにおいて、PEG-L-アスパラギナーゼは単剤で有意な抗腫瘍効果を示し、さらにゲムシタビンを併用することで両剤の単剤投与よりも有意な抗腫瘍活性が認められた。

4.　安全性薬理試験

申請者による安全性薬理試験は実施されておらず、文献でも公表されていない。健常動物では予測性が欠如していること、ヒトにおいて安全性データが既に収集されていることを考慮し、追加の安全性試験は必要ないと判断した。

毒性試験デザインにおける安全性薬理のエンドポイントは、PEG-L-アスパラギナーゼが中枢神経系、心臓、腎臓及び呼吸器の機能に影響を及ぼさないことが示唆された。しかしながら、いくつかの理由で、健常動物ではヒトで観察されている副作用が十分に予測できないことがあることから、本剤のような化合物の安全性研究に適したモデルとならない場合がある。逆に、自然発生腫瘍担がん動物は有効性及び安全性のいずれかに関して予測的であることが見いだされていることから、ヒトにおける安全性の適切な外挿モデルである。

イヌにおける有効性試験に加え、非ホジキンリンパ腫担がんイヌにおいて、PEG-L-アスパラギナーゼ及びネイティブ L-アスパラギナーゼの有効性又は安全性の比較を目的とした試験を行った［7］。イヌを PEG-L-アスパラギナーゼ投与群（10 IU/kg　22 例、30 IU/kg　20 例、i.m.）又はネイティブ L-アスパラギナーゼ投与群（400 IU/kg　20 例）にランダム化し、それぞれ 2 回の投与と 10 週間の導入化学療法、進行開始までアスパラギナーゼによる維持療法を行った。PEG-L-アスパラギナーゼはネイティブ L-アスパラギナーゼと同様に有効性を示し、好ましい忍容性プロファイルを示した。観察された有害反応には、アナフィラキシーショック、食欲不振又は嘔吐、過敏症に関連する浮腫、発作及び急性膵炎が含まれていたが、いずれの例においても凝固時間、フィブリノーゲン量又はアンチトロンビン III 量の異常は認められなかった。これらの有害反応はヒトで観察されている有害事象と類似しており、PEG-L-アスパラギナーゼよりネイティブ L-アスパラギナーゼで高頻度に発生した。心臓、呼吸器又は腎臓機能に関連する兆候は、イヌ又はヒトのいずれでも認められなかった。

5.　薬力学的薬物相互作用試験

異なる動物モデルの腫瘍治療で用いた PEG-L-アスパラギナーゼと他剤との既知の薬力学的薬物相互作用については、文献情報が利用可能である。

自然発生悪性リンパ腫担がんイヌで抗腫瘍活性を試験した。20 例のイヌに PEG-L-アスパラギナーゼ単剤（10～30 IU/kg i.p.、週 1 回投与）、又は 1 サイクルの化学療法（ビンクリスチン、シクロホスファミド、メトトレキサート及びプレドニゾン）後に PEG-L-アスパラギナーゼ（30 IU/kg i.p.、週 1 回投与、17 例）による維持療法を行った。単剤では奏効率（CR+PR）が 70%（14 例/20 例）であったのに対し、化学療法剤との併用では奏効率が 88%（15 例/17 例）であった［4］。

MiaPaCa-2 腫瘍異種移植モデルにおいて、PEG-L-アスパラギナーゼとゲムシタビンを併用することで相乗的な抗腫瘍活性が認められた。PEG-L-アスパラギナーゼ及びゲムシタビンを単剤又は併用で投与し未処理の対照群と比較した TGI は、PEG-L-アスパラギナーゼ単剤で 59%、ゲムシタ

ビン単剤で 64%、両剤併用で 86%であった。PEG-L-アスパラギナーゼの増量に伴う奏効の増加は認められなかった【CTD 4.2.1.2.1_Denis Study 2 - Report NP39163】［2］。

6.　考察及び結論

L-アスパラギナーゼ及び PEG-L-アスパラギナーゼは L-アスパラギンアミド加水分解酵素（タイプ EC-2）を含んでおり、この酵素は L-アスパラギンから L-アスパラギン酸とアンモニアへの加水分解を阻害する。正常細胞が L-アスパラギンを合成可能で L-アスパラギナーゼに対する感受性が低いのに対して、白血球細胞、特にリンパ芽球は外因性 L-アスパラギンを必要とする。L-アスパラギナーゼは、細胞周期の G_1 周期に特異的である［6］。

PEG 化することで L-アスパラギナーゼの免疫応答誘導性又は抗体に対する反応性が変わり、細胞内皮によって体循環から除去されるまで、血漿プロテアーゼによる攻撃から保護される。その結果として、ネイティブ L-アスパラギナーゼと比較して PEG-L-アスパラギナーゼは免疫原性が低く半減期が長いと特性付けられる【CTD 2.6.4、CTD 2.6.6】。

本剤の有効性は、限られた数の非臨床試験で評価され、ヒト治療のモデルとして、自然発生腫瘍担がんイヌにおいて試験した。多くの面でイヌのリンパ腫とヒトのリンパ腫には共通点が存在することから、従来の異種移植マウスモデルと比較して多くの利点があり注目されている［8］。

本剤は単剤投与又は化学療法併用投与のいずれにおいてもネイティブ L-アスパラギナーゼと同様又はそれ以上の有効性を有し、良好な忍容性プロファイルを示した。ネイティブ L-アスパラギナーゼ又は PEG-L-アスパラギナーゼのいずれかの投与後にイヌモデルに生じた有害反応として、細菌由来酵素の免疫原性に関連する過敏反応、食欲不振、嘔吐に加えて、散発的な発作と膵炎の投与経過が認められた。これらの有害反応はネイティブ L-アスパラギナーゼと PEG-L-アスパラギナーゼで定性的に同等であったが、ネイティブ L-アスパラギナーゼ投与後の方が高頻度で発現した。

最後に、本剤は、ゲムシタビンの存在下及び非存在下で膵臓癌細胞株に対して *in vitro* 及び *in vivo* で活性を示した。

イヌを用いた液剤（S95014_[redacted]）と凍結乾燥剤（S95014_[redacted]）のアスパラギン抑制を比較した試験では、41 例全例で最長 336 時間、41 例中 40 例で最長 552 時間まで完全に抑制し、両剤の活性として予期されるアスパラギンの実質的減少を示した。

7. 参考文献

1) Abuchowski A, Kazo GM, Verhoest CR Jr, Van Es T, Kafkewitz D, Nucci ML, Viau AT, Davis FF. Cancer therapy with chemically modified enzymes. I. Antitumor properties of polyethylene glycol-asparaginase conjugates. Cancer Biochem Biophys. 1984 Jun;7(2):175-86 [PE0150533]

2) Denis LJ, Izbicka E, Davidson K, Lawrence R, Marty J, Barrera H, Medina L, Moore R, Weitman S, Von Hoff DD. Preclinical evaluation of PEG L asparaginase treatment for pancreatic cancer. Proc Am Assoc Cancer Res. 1999;40:343 44. (Abstract 2274) [PE0151478]

3) Ettinger AR. Pegasparaginase (Oncaspar®). J Pediatr Oncol Nurs. 1995 Jan;12(1),46-8 [PE0150560]

4) MacEwen EG, Rosenthal R, Matus R, Viau AT, Abuchowski A. A preliminary study on the evaluation of asparaginase. Polyethylene glycol conjugate against canine malignant lymphoma. Cancer. 1987 Jun 15;59(12):2011-5 [PE0150565]

5) MacEwen EG, Rosenthal RC, Fox LE, Loar AS, Kurzman ID. Evaluation of L-asparaginase: polyethylene glycol conjugate versus native L-asparaginase combined with chemotherapy. A randomized double-blind study in canine lymphoma. J Vet Intern Med. 1992 Jul-Aug;6(4):230-4 [PE0150564]

6) Solimando DA. Updates of Asparaginase and Pegaspargase. Hospital Pharmacy 1997; (32)7: 992-7 [PE0151486]

7) Teske E, Rutteman GR, van Heerde P, Misdorp W. Polyethylene glycol-L-asparaginase versus native L-asparaginase in canine non-Hodgkin's lymphoma. Eur J Cancer. 1990; 26(8):891-5 [PE0150585]

8) Vail DM, MacEwen EG. Spontaneously occurring tumors of companion animals as models for human cancer. Cancer Invest. 2000; 18(8):781-92 [PE0151469]

オンキャスパー点滴静注用 3750

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6.3　薬理試験概要表

日本セルヴィエ株式会社

目次

1. 薬理試験：一覧表 4
2. 効力を裏付ける試験 6
3. 副次的薬理試験 6
4. 安全性薬理試験 6
5. 薬力学的薬物相互作用試験 6

略語・略号一覧

略語・略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
i m.	Intramuscular	筋肉内
i.p.	Intraperitoneal	腹腔内
i.v.	Intravenous	静脈内

1.　薬理試験：一覧表

表 1:1　薬理試験一覧表

Test Article	Comparative Agent	Species/ Strain	Route	Duration of Dosing	Testing Facility	Report Number
Primary Pharmacodynamics						
PEG-L-asparaginase	Native Asparaginase	C3H/HeJ mouse infected with 6C3HED tumor	i.p.	once	-	Abuchowski 1984 [PE0150533]
PEG-L-asparaginase	Native Asparaginase	BDF1 mouse infected with L5178Y tumor	i.p.	once	-	Abuchowski 1984 PE0150533]
PEG-L-asparaginase	-	C3H/HeJ mouse infected with 6C3HED tumor		once	-	Study #6 - NP39148 4.2.1.1.1
PEG-L-asparaginase	-	Dog with lymphosarcoma	i.p., i.m.	Weekly or bi-weekly administration	-	Study MacGrath NP39259 4.2.1.1.2
PEG-L-asparaginase	-	Dog with lymphosarcoma	i.p.	Weekly with or without combination chemotherapy	-	MacEwen 1987 [PE0150565]
PEG-L-asparaginase	Native Asparaginase	Dog with lymphosarcoma	i.m.	Bi-weekly with combination chemotherapy	-	MacEwen 1992 [PE0150564]
Oncaspar lyophilized	Oncaspar liquid	Beagle Dog	i.v.	Single dose and repeated dosing on days 1, 15, 22, 29 and 36	[redacted]	Study #15-3297a NP39227 4.2.2.2.8
Secondary Pharmacodynamics						
PEG-L-asparaginase	-	MiaPaCa-2, PANC-I, ASPC-I, Panc 10.05, BxPC3 CFPAC-1, CAPAN-1, CAPAN-2 cells	n.a.	n.a.		Sapra 2005 - NP39159 4.2.1.2.3
PEG-L-asparaginase	-	MiaPaCa-2, PANC-I, BxPC3 cells with and without gemcitabine combination	n.a.	n.a.		Denis 1 - NP39162 4.2.1.2.2
PEG-L-asparaginase	-	MiaPaCa-2 human pancreatic cancer xenograft model with and without gemcitabine combination	i.p.	once		Denis 2 - NP39163 4.2.1.2.1

表 1:2　薬理試験一覧表 （続き）

Test Article	Comparative Agent	Species/ Strain	Route	Duration of Dosing	Testing Facility	Report Number
Safety Pharmacology						
Not conducted						
Pharmacodynamic Drug Interactions						
Not conducted						

2.　効力を裏付ける試験

【CTD 2.6.2　薬理試験の概要文】参照。

3.　副次的薬理試験

【CTD 2.6.2　薬理試験の概要文】参照。

4.　安全性薬理試験

【CTD 2.6.2　薬理試験の概要文】参照。

5.　薬力学的薬物相互作用試験

【CTD 2.6.2　薬理試験の概要文】参照。