目次

2.7 臨床概要 4
2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法 4
2.7.1.1 背景及び概観 4
2.7.1.2 個々の試験結果の要約 40
2.7.1.3 全試験を通しての結果の比較と解析 44
2.7.1.4 付録 47

生物薬剤学試験及び関連する分析法の略号一覧表

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）
Aβ	amyloid beta	アミロイドベータ
Aβ(1-40)	amyloid beta monomer from amino acid 1 to 40	アミロイドベータ(1-40)
Aβ(1-42)	amyloid beta monomer from amino acid 1 to 42	アミロイドベータ(1-42)
Aβ(1-x)	amyloid beta monomer from amino acid 1 to x	アミロイドベータ(1-x)
AD	Alzheimer's disease	アルツハイマー病
ADA	anti-lecanemab antibodies	抗レカネマブ抗体
ALP	alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
AMPPD	3-(2'-spiroadamantane)-4-methoxy-4-(3"-phosphoryloxy) phenyl-1, 2-dioxetane	–
APOE	apolipoprotein E	アポリポタンパク E
APOE4	apolipoprotein E4	アポリポタンパク E4
$AUC_{(0\text{-}inf)}$	area under the concentration-time curve from zero time extrapolated to infinite time	投与時から投与後無限大までの濃度-時間曲線下面積
CCP	confirmatory cut points	確認試験カットポイント
CHO	chinese hamster ovary	チャイニーズハムスターの卵巣
CLEIA	chemiluminescence enzyme immunoassay	化学発光酵素免疫測定法
CLIA	Clinical Laboratory Improvement Amendments	臨床検査室改善法
C_{max}	maximum observed concentration	最高濃度
CPF	cut point factor	カットポイント係数
CSF	cerebrospinal fluid	脳脊髄液
CVQC	cross-validation quality control	クロスバリデーション用 QC
DP	drug product	製剤
DS	drug substance	原薬
EAD	early Alzheimer's disease	早期アルツハイマー病（早期 AD）
ECL	electrochemiluminescence	電気化学発光
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
GFAP	glial fibrillary acidic protein	グリア線維性酸性タンパク質
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
HRP	horseradish peroxidase	西洋わさびペルオキシダーゼ
HSA	human serum albumin	ヒト血清アルブミン
h-tau	human tau	ヒトタウタンパク質
HT9	tryptic digest peptide of lecanemab	レカネマブのトリプシン消化ペプチド
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IgG1	immunoglobulin G1	免疫グロブリン G1

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）
INN	International Nonpropriety Names	国際一般名
IP	immunopurification	免疫精製
IS	internal standard	内標準物質
IV	intravenous	静脈内
K2EDTA	dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid	エチレンジアミン四酢酸二カリウム塩
LC-MS/MS	liquid chromatography with tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析
LEC2.5-BW	lecanemab 2.5 mg/kg biweekly	レカネマブ 2.5 mg/kg 隔週群
LEC5-BW	lecanemab 5 mg/kg biweekly	レカネマブ 5 mg/kg 隔週群
LEC10-BW	lecanemab 10 mg/kg biweekly	レカネマブ 10 mg/kg 隔週群
LEC5-M	lecanemab 5 mg/kg monthly	レカネマブ 5 mg/kg 月 1 回群
LEC10-M	lecanemab10 mg/kg monthly	レカネマブ 10 mg/kg 月 1 回群
LLOD	lower limit of detection	検出下限
mAb	monoclonal antibody	モノクローナル抗体
MAD	multiple ascending dose	用量漸増反復投与
MRD	minimum required dilution	–
MSD	meso scale discovery	–
NAb	neutralizing anti-lecanemab antibodies	抗レカネマブ中和抗体（中和抗体）
NfL	neurofilament light chain	ニューロフィラメント軽鎖
OLE	open label extension	非盲検継続投与
PBS	phosphate-buffered saline	リン酸緩衝生理食塩水
PCR	polymerase chain reaction	ポリメラーゼ連鎖反応
PEG	polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
PK	pharmacokinetics	薬物動態
p-tau181	human tau protein phosphorylated at threonine in position 181	リン酸化タウ 181
QC	quality control	品質管理
RLU	relative light unit	相対発光量
RTP	Biogen- Research Triangle Park	–
SAD	single ascending dose	用量漸増単回投与
SC	subcutaneous	皮下
SNP	single nucleotide polymorphism	一塩基多型
$t_{½}$	terminal elimination phase half-life	最終消失半減期
t-tau	total tau	総タウ
t_{max}	time at which the highest drug concentration occurs	最高濃度到達時間
TMB	3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine	3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン
USAN	United States Adopted Names	米国一般名

2.7 臨床概要

2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法

2.7.1.1 背景及び概観

レカネマブは，可溶性アミロイドベータ（Aβ）凝集体に結合する新規のヒト化免疫グロブリン G1（IgG1）モノクローナル抗体であり，ジスルフィド結合により重鎖 2 本及び軽鎖 2 本が結合したものである。レカネマブはアルツハイマー病（AD）の治療薬として開発されている。本申請は，早期 AD 患者（AD による軽度認知障害［MCI due to AD］及び軽度認知症［軽度 AD-D］）に対するレカネマブの承認取得を目的とするものである。

レカネマブは，チャイニーズハムスターの卵巣（CHO）細胞により産生され，可溶性 Aβ 凝集体に選択的に結合して，AD 患者の脳内アミロイド斑を除去するとともに，シナプス機能の障害を引き起こす可溶性 Aβ 凝集体を中和・除去すると考えられている。

レカネマブは，高分子量の可溶性プロトフィブリルに対して，Aβ モノマーよりも選択的に（1000 倍以上），また不溶性フィブリルよりも優先的に（最大で約 10 倍）結合する。したがって，レカネマブは AD 病理に関与する最も毒性の高い Aβ 種に対して，より高い活性を有すると考えられている。

臨床試験においては，レカネマブ製剤はバイアルに充填された水溶液として提供し，静脈内投与の前に生理食塩液と混合した。市販製剤も同様であり，静脈内投与を予定している。現在，皮下投与製剤の開発を行っているが，本申請時には，皮下投与製剤は承認申請しない。

また，臨床試験における薬物動態評価を目的とした血清及び脳脊髄液（CSF）中のレカネマブ濃度，血清中抗レカネマブ抗体（以下，ADA）及び抗レカネマブ中和抗体（以下，NAb）の測定は，ガイダンスに基づき選択性，精度，感度及び安定性等がバリデートされた方法で実施された。

臨床試験における液性（血漿及び CSF）バイオマーカーの測定及びアポリポタンパク E4（*APOE4*）遺伝子型決定は，適切な感度と再現性が確認された市販キットあるいは臨床検査室改善法（CLIA）の認定を受けた検査施設で実施された。

2.7.1.1.1 生物薬剤学的特性

開発コード：	BAN2401
USAN：	lecanemab
INN：	lecanemab
化学名：	レカネマブは，抗ヒトアミロイドベータプロトフィブリルモノクローナル抗体（IgG1）であり，ジスルフィド結合により重鎖 2 本及び軽鎖 2 本が結合したものである。

構造：

重鎖



軽鎖

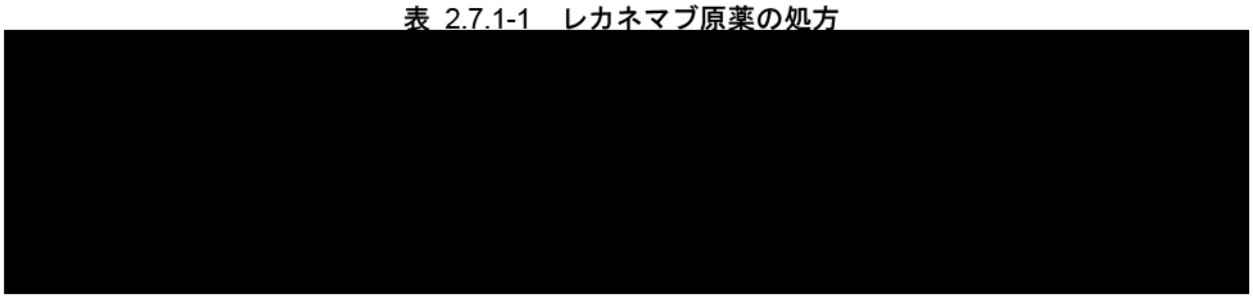


下線部分は相補性決定領域。重鎖 454 番目のリジン残基は培養中に切断される。重鎖 304 番目のアスパラギン残基（太字部分）は糖鎖が付加する。

2.7.1.1.2 処方

レカネマブは治験用に 3 種類の処方で製造した。原薬の各処方を表 2.7.1-1 に示す。Formulation C（処方 C）が市販用である。いずれの処方においても非経口薬剤において一般的に使用される添加剤を使用しており，使用前例の範囲内である。

表 2.7.1-1 レカネマブ原薬の処方



2.7.1.1.3 製造方法の概要

Process A-1（プロセス A-1）（Formulation A［処方 A］の製造方法）がレカネマブの最初の製造方法である。本プロセスで製造した治験用の薬剤を [redacted]，[redacted] 並びに [redacted] の [redacted]

（以下，[redacted]）及び[redacted]（以下，[redacted]）に使用した。

Process B-1（プロセス B-1）（Formulation B［処方 B］の製造方法）はレカネマブの[redacted]（[redacted]ため），[redacted]が実施できるようにするために導入された。プロセス B-1 で製造したレカネマブを[redacted]，[redacted]（[redacted]）の[redacted]（以下，[redacted]）及び[redacted]（以下，[redacted]）に使用した。

Process C（プロセス C）（Formulation C［処方 C］の製造方法）は[redacted]を含まない製剤を製造する。プロセス C の開発により，[redacted]で投与することができ，市販用に十分な量の薬剤を供給できる。

プロセス C はさらに[redacted]により区別される。プロセス C-1 は原薬及び製剤ともに[redacted]で製造したものであり，プロセス C-2 は[redacted]で製造した原薬を用いて[redacted]又は[redacted]で製剤を製造したものである。最初の市販用にはプロセス C-2（[redacted]で製剤化したもの）を予定している。

原薬及び製剤の製造パラメータの概要を表 2.7.1-2 に示す。

上記 3 つの製造方法により製造した薬剤は，物理化学的及び生物学的特性について，同等／同質であることが十分に特性解析されている。ICH Q5E に従い，同等性／同質性試験を実施し，プロセス A-1 からプロセス B-1，プロセス B-1 からプロセス C-1 及びプロセス C-1 からプロセス C-2 への変更を支持する結果が得られた（2.3.S.2.6.4）。

表 2.7.1-2　開発に用いたレカネマブ原薬及び製剤の概要



表 2.7.1-3　治験で使用したレカネマブのロット番号

Study Number	Phase	Process	Formulation	Lecanemab Dose		Lot No.[a]
Phase 1:　Subjects with AD and Healthy Subjects						
BAN2401-A001-101 (Completed)	1	[redacted]	[redacted]	SAD 0.1 mg/kg (SAD1) 0.3 mg/kg (SAD2) 1 mg/kg (SAD3) 3 mg/kg (SAD4) 10 mg/kg (SAD5) 15 mg/kg (SAD6)	MAD 0.3 mg/kg (MAD1) 1 mg/kg (MAD2) 3 mg/kg (MAD3) 10 mg/kg (MAD4)	[redacted]
BAN2401-J081-104 (Completed)	1	[redacted]	[redacted]	2.5 mg/kg (Cohort 1) 5 mg/kg (Cohort 2) 10 mg/kg (Cohort 3)		[redacted]
BAN2401-A001-004 (Completed)	1	[redacted]	[redacted]	10 mg/kg (IV) (Treatment A) Fixed 700 mg SC (Treatment B)		[redacted]

表 2.7.1-3　治験で使用したレカネマブのロット番号

Study Number	Phase	Process	Formulation	Lecanemab Dose	Lot No.[a]	
Phase 2 and 3: Studies in Subjects with EAD						
BAN2401-G000-201 (Core [Completed] and OLE [Ongoing])	2	[redacted]	[redacted]	2.5 mg/kg biweekly (LEC2.5-BW) 5 mg/kg monthly (LEC5-M) 5 mg/kg biweekly (LEC5-BW) 10 mg/kg monthly (LEC10-M) 10 mg/kg biweekly (LEC10-BW)	Core [redacted]	Extension [redacted]
BAN2401-G000-301 (Core [Completed] and OLE [Ongoing])	3	[redacted]	[redacted]	LEC10-BW	Core [redacted]	OLE Phase [redacted]

AD = Alzheimer's Disease, EAD = Early Alzheimer's Disease, IV = intravenous, LEC = lecanemab, LEC2.5-BW = lecanemab 2.5 mg biweekly, LEC5-BW = lecanemab 5 mg biweekly, LEC5-M = lecanemab 5 mg monthly, LEC10-BW = lecanemab 10 mg biweekly, LEC10-M = lecanemab 10 mg monthly, MAD = multiple ascending dose, OLE = open-label extension, SAD = single ascending dose, SC = subcutaneous.
a: Lot numbers are added only for lecanemab

2.7.1.1.4 濃度測定の概略

臨床試験で測定した血清及び CSF 中レカネマブ濃度，血清中抗レカネマブ抗体（ADA）及び血清中抗レカネマブ中和抗体（NAb），並びに血漿及びCSF 中バイオマーカーの一覧を表 2.7.1-4 に，各臨床試験で使用した測定法及び報告書一覧を表 2.7.1-5 に示す。各測定法の要約及び詳細を 2.7.1.4 付録に示す。全ての測定法（レカネマブ濃度，ADA 及びNAb）は，真度，特異性及び再現性を保証するためにフルバリデートした。加えて，室温保存安定性，凍結融解安定性及び凍結保存安定性の評価を実施した。

血清中レカネマブ濃度測定：

ヒト血清中レカネマブ濃度を測定するために，酵素免疫測定法（ELISA）による測定法を開発しバリデートした（報告書番号 TCAR10-120）。その検量線範囲は 6.00～75.0 µg/mL であった。本測定法を用いて，101 試験における用量漸増単回投与（SAD）1，SAD2，SAD3，SAD4（Day 10 と Day 21 を除く）及び SAD5（Day 21 と Day 28 を除く），並びに用量漸増反復投与（MAD）1（Day 1，2，21，28，49，56）の各コホートの血清サンプルを測定した（報告書番号 TCAR10-048）。

その後，より高感度で広い検量線範囲（0.500～150 µg/mL）を有する免疫精製と液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析を組み合わせたハイブリッドアッセイ（IP-LC-MS/MS）法を開発した（報告書番号 EIS-R1696）。本測定法を用いて，101 試験の残りのヒト血清サンプル，すなわち，SAD4（Day 10 及び Day 21），SAD5（Day 21 及び Day 28），MAD1（Day 84 及び Day 85），MAD2，MAD3 及び MAD4 のレカネマブ濃度を測定した（報告書番号 EIS-R1760）。

IP-LC-MS/MS 法と ELISA のクロスバリデーションは，血清にレカネマブを添加して調製したクロスバリデーション用 QC（CVQC）サンプルと 101 試験で得られた実試料 32 サンプルを用いて評価した。その結果，CVQC サンプルについては真度及び精度がそれぞれ±20%以内及び 20%以下，実試料については 2 つの測定法間の測定値の差が±30%以内であり，許容基準を満たした（報告書番号 EIS-R1696）。なお，IP-LC-MS/MS 法は血清中の総レカネマブ濃度（抗原非結合レカネマブ及び抗原結合レカネマブ）を測定するものである。

104 試験（報告書番号 EIS-R2740），並びに 201 試験 Core（報告書番号 EIS-R3653R1）及び OLE（報告書番号 110-R10679 及び 110-R10679A1），301 試験 Core 及び OLE（報告書番号 110-R10680），並びに BAN2401-A001-004 試験（004 試験）（報告書番号 110-R12282）の血清サンプルは IP-LC-MS/MS 法を用いて測定した。

ヒト血清中レカネマブ濃度測定法の要約を 2.7.1.4.1 に示す。

CSF 中レカネマブ濃度測定：

CSF 中レカネマブを測定するために，electrochemiluminescence-meso scale discovery（ECL-MSD）法による測定法を開発しバリデートした（報告書番号 TCAR10-050）。その検量線範囲は 3.00～75.0 ng/mL であった。本測定法を用いて，101 試験の CSF サンプルを測定した（報告書番号 TCAR10-051）。

その後，より広い検量線範囲（5.00～500 ng/mL）を有する IP-LC-MS/MS 法を開発し（報告書

番号 EIS-R1663），104 試験（報告書番号 EIS-R2740），201 試験 Core（報告書番号 EIS-R3653R1）並びに 301 試験 Core 及び OLE（報告書番号 110-R10680）の CSF サンプルを測定した。

ヒト CSF 中レカネマブ濃度測定法の要約を 2.7.1.4.2 に示す。

血清中抗レカネマブ抗体（ADA）測定：

ヒト血清中の ADA を測定するために，ECL-MSD 法を使用したスクリーニングアッセイ及び確認アッセイからなる ADA 測定法を開発した。ADA は，薬物 ADA 複合体としてストレプトアビジンをコーティングしたマイクロプレートで捕捉し，ECL 発光量から半定量的に検出した（報告書番号 TCAR10-069）。この測定法は，[redacted]社（[redacted]）で開発し，101 試験の血清サンプルの測定に用いた（報告書番号 TCAR10-070）。

ADA 測定法は，酸解離処理を伴う方法に改良し，フルバリデートした（報告書番号 TCAR12-038）。本測定法は，201 試験 Core の大部分のサンプル測定に用いた（報告書番号 TNJR14-226）。その後，施設の閉鎖により，本測定法を[redacted]社（[redacted]）に移譲し，酸解離処理を含めてパーシャルバリデーションを実施した（報告書番号 TNJR14-225）。本測定法は，104 試験の一部の血清サンプル測定に用いた（報告書番号 TNJR14-227）。

その後，測定法を[redacted]社に移譲し，スクリーニングカットポイント，特異性カットポイント，感度，選択性，タイター精度，QC 精度及びシステム適合性を含むフルバリデーション試験を実施した。ADA 検出が可能な最大共存薬物濃度（以下，薬物耐性）と安定性については，[redacted]社（[redacted]）が実施したバリデーション試験で適切に評価したため，[redacted]社では実施しなかった。同じ測定法を用いて 2 つ以上の独立した施設において ADA を測定したことから，測定結果の品質を保証するため，クロスバリデーションを実施した。この評価は，201 試験 Core の血清サンプルを用いて実施し，その結果，施設間の結果は同等であった（報告書番号 BAV-0039-R v00）。本測定法は，104 試験のサンプルの再測定（報告書番号 BAS-0044-R）及び 201 試験 Core の残りのサンプルの測定（報告書番号 BAS-0051-R v00）に用いた。

測定法は，さらに[redacted]社から[redacted]社に移譲しフルバリデートした（報告書番号 45-1807 及び 45-1807 addendum1）。本測定法は，201 試験 OLE（報告書番号 45-1809 及び 45-1809 interim2），301 試験 Core 及び OLE（報告書番号 45-1908），並びに 004 試験（報告書番号 45-2103A）のサンプル測定に用いた。

ヒト血清中 ADA 測定法の要約を 2.7.1.4.3 に示す。

血清中抗レカネマブ中和抗体（NAb）測定：

NAb を検出するために，[redacted] 及び[redacted] 細胞並びに細胞溶解液中のプロトフィブリル Aβ42 のサブユニットを測定するための MSD Aβ42 測定キットを使用した細胞ベースのレカネマブ力価測定法の開発を検討した。[redacted] 細胞溶解液中の変性 Aβ42 プロトフィブリルモノマーを測定したところ，細胞への Aβ42 取り込みレベルは培養液中のレカネマブ濃度依存的であった。非変性のプロトフィブリルは低レベルの結合を示した。この細胞ベースの測定系は感度が低く，ヒト血清の存在下では再現性が得られなかった。日間変動が大きいという課題が解決できなかったため，非細胞ベースの競合リガンド結合 NAb 測定法を開発し，バリデート

した。

NAb 測定のためのスクリーニングアッセイ及び確認アッセイは，ECL-MSD 法を使用して[redacted]社で開発及びバリデートした（報告書番号 BAV-0031-R v02）。これは，ADA 陽性と確認されたサンプルがビオチン化 Aβ(1-16)へのレカネマブの結合を阻害する能力を測定する方法である。本測定法は，104 試験（報告書番号 BAS-0044-R）及び 201 試験 Core（報告書番号 BAS-0052-R v00）のサンプルの測定に用いた。その後，測定法を[redacted]社に移譲しフルバリデートした（報告書番号 45-1808）。本測定法は，201 試験 OLE（報告書番号 45-1810 及び 45-1810 interim2），301 試験の Core 及び OLE（報告書番号 45-1909），並びに 004 試験（報告書番号 45-2103B）のサンプル測定に用いた。

ヒト血清中 NAb 測定法の要約を 2.7.1.4.4 に示す。

表 2.7.1-4　臨床試験でバリデートされた方法により測定された測定対象一覧

Clinical Study	Lecanemab Dose	Serum Concentration	CSF Concentration	Immunogenicity	Genotype	CSF and Plasma Biomarkers
Phase 1:　Subjects with AD and Healthy Subjects						
BAN2401-A001-101	SAD 0.1 mg/kg (SAD1) 0.3 mg/kg (SAD2) 1 mg/kg (SAD3) 3 mg/kg (SAD4) 10 mg/kg (SAD5) 15 mg/kg (SAD6) MAD 0.3 mg/kg (MAD1) 1 mg/kg (MAD2) 3 mg/kg (MAD3) 10 mg/kg (MAD4)	Lecanemab	Lecanemab	ADA	*APOE4*	Plasma Aβ(1-40), Aβ(1-42), Aβ(1-x) CSF Aβ(1-42), t-tau, p-tau181
BAN2401-J081-104	2.5 mg/kg (Cohort 1) 5 mg/kg (Cohort 2) 10 mg/kg (Cohort 3)	Lecanemab	Lecanemab	ADA NAb	*APOE4*	CSF Aβ(1-42), t-tau, p-tau181
BAN2401-A001-004	10 mg/kg (IV) (Treatment A) Fixed 700 mg SC (Treatment B)	Lecanemab	NA	ADA NAb	NA	NA

表 2.7.1-4　臨床試験でバリデートされた方法により測定された測定対象一覧

Clinical Study	Lecanemab Dose	Serum Concentration	CSF Concentration	Immunogenicity	Genotype	CSF and Plasma Biomarkers
Phase 2 and 3:　Studies in Subjects with EAD						
BAN2401-G000-201 (Core [Completed] and Extension [Ongoing])	LEC2.5-BW LEC5-M LEC5-BW LEC10-M LEC10-BW	Lecanemab	Lecanemab	ADA NAb	*APOE4*	Plasma NfL, Aβ(1-40), Aβ(1-42), p-tau181 CSF[a] Aβ(1-42), t-tau, p-tau181, Neurogranin, NfL, Contactin-2, YKL-40
BAN2401-G000-301 (Core [Completed] and OLE Phase [Ongoing])	LEC10-BW	Lecanemab	Lecanemab	ADA NAb	*APOE4*	Plasma Aβ(1-40), Aβ(1-42), NfL, p-tau181, GFAP CSF Aβ(1-40), Aβ(1-42), t-tau, p-tau181, Neurogranin, NfL

Aβ = amyloid-beta, Aβ(1-40) = amyloid beta monomer from amino acid 1 to 40, Aβ(1-42) = amyloid beta monomer from amino acid 1 to 42, Aβ(1-x) = amyloid beta monomer from amino acid 1 to x, AD = Alzheimer's disease, ADA = anti-drug (lecanemab) antibodies, *APOE4* = apolipoprotein E4, CSF = cerebrospinal fluid, EAD = early AD, GFAP = glial fibrillary acidic protein, IV = intravenous, LEC = lecanemab, LEC2.5-BW = lecanemab 2.5 mg biweekly, LEC5-BW = lecanemab 5 mg biweekly, LEC5-M = lecanemab 5 mg monthly, LEC10-BW = lecanemab 10 mg biweekly, LEC10-M = lecanemab 10 mg monthly, MAD = multiple ascending dose, MTBR = microtubule binding region, NA = not applicable, NAb = neutralizing anti-drug (lecanemab) antibodies, NfL = neurofilament light chain, p-tau181 = phosphorylated tau181, SAD = single ascending dose, SC= subcutaneous, t-tau = total tau.
a:　CSF assessments were only applicable to Study 201 Core.

表 2.7.1-5　臨床試験で用いた PK 及びバイオマーカー測定法一覧

Analyte or Gene	Matrix	Assay Platform	Sensitivity/ LLOQ	Validation	Sample Analysis Report	Clinical Study[a]	Laboratory
Lecanemab	Human Serum	ELISA	6.00 µg/mL	TCAR10-120 [5.3.1.4.1]	TCAR10-048 [5.3.1.4.23]	101	[redacted]
Lecanemab	Human Serum	LC-MS/MS	0.5 µg/mL	EIS-R1696 [5.3.1.4.2]	EIS-R1760 [5.3.1.4.24]	101	[redacted]
				EIS-R1696A2 [5.3.1.4.4]	EIS-R2740 [5.3.1.4.27]	104	
					EIS-R3653R1 [5.3.1.4.30] 110-R10679 [5.3.1.4.89] 110-R10679A1 [5.3.1.4.90]	201 Core and OLE Phase	
					110-R10680 [5.3.1.4.95]	301 Core and OLE Phase	
					110-R12282 [5.3.1.4.98]	004	
Lecanemab	Human CSF	ECL-MSD	3 ng/mL	TCAR10-050 [5.3.1.4.7]	TCAR10-051 [5.3.1.4.25]	101	[redacted]
Lecanemab	Human CSF	LC-MS/MS	5 ng/mL	EIS-R1663 [5.3.1.4.8]	EIS-R2740 [5.3.1.4.27]	104	[redacted]
				EIS-R1663A2 [5.3.1.4.10]	EIS-R3653R1 [5.3.1.4.30]	201 Core	
					110-R10680 [5.3.1.4.95]	301 Core and OLE Phase	
ADA	Human Serum	ECL-MSD	9.77 ng/mL	TCAR10-069 [5.3.1.4.13]	TCAR10-070 [5.3.1.4.26]	101	[redacted]

表 2.7.1-5　臨床試験で用いた PK 及びバイオマーカー測定法一覧

Analyte or Gene	Matrix	Assay Platform	Sensitivity/ LLOQ	Validation	Sample Analysis Report	Clinical Study[a]	Laboratory
ADA	Human Serum	ECL-MSD	3.388 ng/mL	TCAR12-038 [5.3.1.4.14] TNJR14-225 [5.3.1.4.15]	TNJR14-226 [5.3.1.4.33] TNJR14-227 [5.3.1.4.28]	201 Core 104	[redacted]
ADA	Human Serum	ECL-MSD	3.9 ng/mL	BAV-0039-R v00 [5.3.1.4.17]	BAS-0044-R [5.3.1.4.29] BAS-0051-R v00 [5.3.1.4.31]	104 201 Core	[redacted]
ADA	Human Serum	ECL-MSD	3.47 ng/mL (screening assay) 12.2 ng/mL (confirmatory assay) 1.09 ng/mL (screening assay) 6.84 ng/mL (confirmatory assay)	45-1807 [5.3.1.4.18] 45-1807 addendum1 [5.3.1.4.19]	45-1809 [5.3.1.4.91] 45-1809 interim2 [5.3.1.4.92] 45-1908 [5.3.1.4.96] 45-2103A [5.3.1.4.99]	201 OLE Phase 301 Core and OLE Phase 004	[redacted]
NAb	Human Serum	ECL-MSD	584 ng/mL	BAV-0031-R v02 [5.3.1.4.21]	BAS-0044-R [5.3.1.4.29] BAS-0052-R v00 [5.3.1.4.32]	104 201 Core	[redacted]

表 2.7.1-5　臨床試験で用いた PK 及びバイオマーカー測定法一覧

Analyte or Gene	Matrix	Assay Platform	Sensitivity/ LLOQ	Validation	Sample Analysis Report	Clinical Study[a]	Laboratory
NAb	Human Serum	ECL-MSD	1385 ng/mL	45-1808 [5.3.1.4.22]	45-1810 [5.3.1.4.93] 45-1810 interim2 [5.3.1.4.94] 45-1909 [5.3.1.4.97] 45-2103B [5.3.1.4.100]	201 OLE Phase 301 Core and OLE Phase 004	[redacted]
Aβ(1-40)	Plasma	IBL ELISA kit	[redacted]pg/mL	Aβ40_Plasma_20[redacted] [5.3.1.4.49]	NA[a]	101(MAD)	[redacted]
Aβ(1-42)	Plasma	IBL ELISA kit	[redacted]pg/mL	Aβ42_Plasma_20[redacted] [5.3.1.4.48]	NA[a]	101(MAD)	[redacted]
Aβ40	Plasma	IP LC-MS/MS	[redacted]pg/mL	135087.126 [5.3.1.4.84] Aβ42_40 Drug Spike_Plasma_20[redacted] [5.3.1.4.54] STUDY 162 [5.3.1.4.88]	STUDY 113 [5.3.1.4.57] STUDY 122 [5.3.1.4.83]	201 Core and OLE Phase 301 Core and OLE Phase	[redacted]

表 2.7.1-5　臨床試験で用いた PK 及びバイオマーカー測定法一覧

Analyte or Gene	Matrix	Assay Platform	Sensitivity/ LLOQ	Validation	Sample Analysis Report	Clinical Study[a]	Laboratory
Aβ42	Plasma	IP LC-MS/MS	[redacted]pg/mL	135087.126 [5.3.1.4.84] Aβ42_40 Drug Spike_Plasma _20[redacted] [5.3.1.4.54] STUDY 162 [5.3.1.4.88]	STUDY 113 [5.3.1.4.57] STUDY 122 [5.3.1.4.83]	201 Core and OLE Phase 301 Core and OLE Phase	[redacted]
Aβ(1-x)	Plasma	IBL ELISA kit	[redacted]pg/mL	TCAR10-001 [5.3.1.4.58]	TCAR10-056 [5.3.1.4.59]	101	[redacted]
p-tau181	plasma	Quanterix-Simoa	[redacted]pg/mL	110-R11817-R1 [5.3.1.4.50] 110-R11817A1 [5.3.1.4.51] 110-R11817A2 [5.3.1.4.52] 110-R11817A3 [5.3.1.4.53]	110-R12068 [5.3.1.4.56] 110-R12754 [5.3.1.4.62]	201 Core and OLE Phase 301 Core and OLE Phase	[redacted]
NfL	Plasma	Quanterix (Simoa)	[redacted]pg/mL	NfL_Plasma_20[redacted] [5.3.1.4.45] NfL-Plasma-20[redacted]R1 [5.3.1.4.46]	SAR-[redacted]-NFLP/NRGN/YKL-40/CNTN-2 [5.3.1.4.47]	201 Core	[redacted]
NfL	Plasma	Quanterix (Simoa)	[redacted]pg/mL	1629-R11293 [5.3.1.4.60]	110-R12755 [5.3.1.4.63]	301 Core and OLE Phase	[redacted]

表 2.7.1-5　臨床試験で用いた PK 及びバイオマーカー測定法一覧

Analyte or Gene	Matrix	Assay Platform	Sensitivity/ LLOQ	Validation	Sample Analysis Report	Clinical Study[a]	Laboratory
GFAP	Plasma	Quanterix-Simoa	[redacted]pg/mL	1679-R12607 [5.3.1.4.64]	110-R12753 [5.3.1.4.61]	301 Core and OLE Phase	[redacted]
Aβ(1-42) t-tau p-tau181	CSF	Innogenetics Innotest (ELISA)	[redacted]pg/mL (Aβ[1-42]) [redacted]pg/mL (p-tau181) [redacted]pg/mL (t-tau)	pT181, Aβ42 and hTauAg_CSF_20[redacted] [5.3.1.4.42]	NA BAR79/E97 [5.3.1.4.43]	101 104	[redacted]
Aβ(1-42) t-tau p-tau181	CSF	Fujirebio Innotest (ELISA)	[redacted]pg/mL (Aβ[1-42]) [redacted]pg/mL (t-tau) [redacted]pg/mL (p-tau181)	DV-CMF-103-02 [5.3.1.4.87] DV-CMF-101-02 [5.3.1.4.85] DV-CMF-102-02 [5.3.1.4.86]	NA BAR79/E97 [5.3.1.4.43] MSE6Q-BAR86 [5.3.1.4.44]	101 104 201 Core	[redacted]

表 2.7.1-5　臨床試験で用いた PK 及びバイオマーカー測定法一覧

Analyte or Gene	Matrix	Assay Platform	Sensitivity/ LLOQ	Validation	Sample Analysis Report	Clinical Study[a]	Laboratory
Aβ(1-40) Aβ(1-42) p-tau181 t-tau	CSF	Fujirebio Lumipulse	[redacted]pg/mL (Aβ[1-40]) [redacted]pg/mL (Aβ[1-42]) [redacted]pg/mL (p-tau181) [redacted]pg/mL (t-tau)	Aβ40-CSF-Lumipulse-20[redacted] [5.3.1.4.71] Aβ42-CSF-Lumipulse-20[redacted] [5.3.1.4.72] Pt181-CSF-Lumipulse-20[redacted] [5.3.1.4.73] Ttau-CSF-Lumipulse-20[redacted] [5.3.1.4.74]	Aβ40-CSF-Lumipulse-SAR-20[redacted] [5.3.1.4.76] Aβ42-CSF-Lumipulse-SAR-20[redacted] [5.3.1.4.75] Pt181-CSF-Lumipulse-SAR-20[redacted] [5.3.1.4.78] Ttau-CSF-Lumipulse-SAR-20[redacted] [5.3.1.4.77]	301 Core and OLE Phase	[redacted]
NfL	CSF	Uman DX ELISA	[redacted]pg/mL	NfL_CSF-20[redacted] [5.3.1.4.36] NfL-CSF-20[redacted]R1 [5.3.1.4.37]	SAR-[redacted]-NFLP/NRGN/YKL-40/CNTN-2 [5.3.1.4.47]	201 Core	[redacted]
NfL	CSF	Quanterix Simoa	[redacted]pg/mL	NfL-CSF-20[redacted] [5.3.1.4.79]	SAR-[redacted]-NFL-NRGN-CSF20[redacted] [5.3.1.4.80]	301 Core and OLE Phase	[redacted]

表 2.7.1-5　臨床試験で用いた PK 及びバイオマーカー測定法一覧

Analyte or Gene	Matrix	Assay Platform	Sensitivity/ LLOQ	Validation	Sample Analysis Report	Clinical Study[a]	Laboratory
Neurogranin	CSF	Euroimmun (ELISA)	[redacted] pg/mL	Neurogranin_CSF_20[redacted] [5.3.1.4.34] NRGN-CSF-20[redacted]R1 [5.3.1.4.35]	SAR-[redacted]-NFLP/NRGN/YKL-40/CNTN-2 [5.3.1.4.47] SAR-[redacted]-NFL-NRGN-CSF20[redacted] [5.3.1.4.80]	201 Core 301 Core and OLE Phase	[redacted]
Contactin-2	CSF	DuoSet ELISA	[redacted] pg/mL	Contactin-2_CSF_20[redacted] [5.3.1.4.40] Contactin-2-CSF-20[redacted]R1 [5.3.1.4.41]	SAR-[redacted]-NFLP/NRGN/YKL-40/CNTN-2 [5.3.1.4.47]	201 Core	[redacted]
YKL-40	CSF	MicroVue ELISA	[redacted] ng/mL	YKL-40_CSF_20[redacted] [5.3.1.4.38] YKL-40-CSF-20[redacted]R1 [5.3.1.4.39]	SAR-[redacted]-NFLP/NRGN/YKL-40/CNTN-2 [5.3.1.4.47]	201 Core	[redacted]
APOE4[b]	Whole blood	PCR TaqMan	NA	–	R19012034V1 [5.3.1.4.55]	201 Core and OLE Phase	[redacted]
APOE4	Whole blood	PCR TaqMan	NA	ApoE_Whole Blood_20[redacted] [5.3.1.4.81]	ApoE-[redacted]-20[redacted] [5.3.1.4.82]	301 Core and OLE Phase	[redacted]

Aβ = amyloid beta, Aβ(1-40) = amyloid beta monomer from amino acid 1 to 40, Aβ(1-42) = amyloid beta monomer from amino acid 1 to 42, Aβ(1-x) = amyloid beta monomer from amino acid 1 to x, ADA = anti-drug (lecanemab) antibodies, *APOE4* = Apolipoprotein E4, [redacted], ATRI = Alzheimer's Therapeutic Research Institute, [redacted], CSF = cerebrospinal fluid, [redacted], ECL = electrochemiluminescence, ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, GFAP = glial fibrillary acidic protein, IP = immunoprecipitation, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, LLOQ = lower limit of quantification, MSD = meso scale discovery, NA = not available, NAb = neutralizing anti-drug (lecanemab) antibodies, NfL = neurofilament light chain, [redacted] OLE = open label extension, [redacted], PCR

= polymerase chain reaction, p-tau181 = phosphorylated tau181, t-tau = total tau, [redacted].

a: Sample analysis were not provided for these exploratory biomarkers.
b: Validation was performed by CLIA registered assay and the certificate of registration is available.

2.7.1.1.4.1 生体試料中濃度測定法の開発及びバリデーション

2.7.1.1.4.1.1 ELISA による血清中レカネマブ濃度測定法

ヒト血清中レカネマブ濃度測定のための ELISA は，[redacted]社でバリデートした（報告書番号 TCAR10-120）。

この測定法では，ヒト血清中のレカネマブを，ストレプトアビジンプレートに結合したビオチン化プロトフィブリルで捕捉し，ウサギ抗レカネマブ抗体を検出抗体として反応させ，続いて Horseradish Peroxidase（HRP）標識ヤギ抗ウサギ IgG 抗体を反応させ，次に発色基質である 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine（TMB）を HRP 標識抗体と反応させた。得られた発色強度は捕捉されたレカネマブ量に比例しており，検量線サンプルの発色強度の回帰式から血清中レカネマブ濃度を求めた。

本測定法の検量線範囲は 6.00～75.0 μg/mL であり，定量下限は 6.00 μg/mL であった。バリデーション試験において，検量線，真度・精度，希釈直線性及びマトリックス効果（選択性），凍結融解安定性，室温保存安定性，冷蔵保存（1～8°C）安定性，–70°C での 199 日間の凍結保存安定性の各評価項目は合格基準を満たした。本測定法の詳細を 2.7.1.4.6 に示す。

2.7.1.1.4.1.2 LC-MS/MS による血清中レカネマブ濃度測定法

LC-MS/MS 法によるヒト血清中レカネマブの濃度測定法（測定法番号 BTM-1425-R0～R3）は[redacted]社でバリデートした。BTM-1425-R0 は誤記修正等により BTM-1425-R1 と BTM-1425-R2 を経て，最終的に BTM-1425-R3 まで更新した。

BTM-1425-R0 法は，免疫精製と LC-MS/MS を組み合わせた測定法（IP-LC-MS/MS）であり，内標準物質（IS）として[redacted]を用いて，ヒト血清中のレカネマブを測定するためにフルバリデートした（報告書番号 EIS-R1696）。この方法では，レカネマブ及び[redacted]に特異的なトリプシン消化ペプチドである HT9 及び[redacted]（アミノ酸配列）をそれぞれ測定した。[redacted]カラム（50 × 3 mm, 3 μm）を用いた逆相高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により分離し，LC-MS/MS により，Turbo IonSpray の陽イオンモードで，HT9 の *m/z* [redacted] → [redacted] と[redacted]の *m/z* [redacted] → [redacted] を検出した（図 2.7.1-1）。

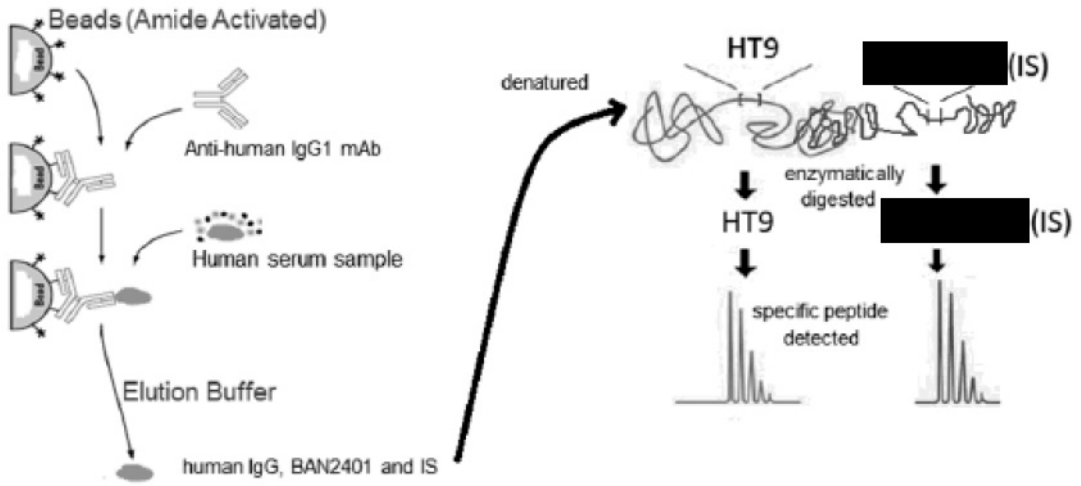


図 2.7.1-1　免疫精製と LC-MS/MS 法による血清中レカネマブ濃度測定法の原理

HT = tryptic digest peptide of lecanemab, IgG1 = immunoglobulin G1, IS = internal standard, LC-MS/MS = liquid chromatography and tandem mass spectrometry, mAb = monoclonal antibody.

本測定法は，10 µL のヒト血清を用いて，レカネマブの定量下限は 0.500 µg/mL であり，検量線範囲は 0.500～150 µg/mL であった。検量線上限を超えたサンプルはヒト血清を用いて最大 20 倍まで希釈可能であった。レカネマブはヒト血清中で少なくとも 3 回の凍結融解及び室温で少なくとも 19 時間放置しても安定であった。

また，2 社間（[redacted]社と[redacted]社）で臨床サンプルと CVQC サンプルを用いたクロスバリデーションも実施した。その CVQC サンプルの精度は 7.9%以下で，真度は 99.4%であり，実試料における 2 社間の測定値の差は 25.5%以内であった。本測定法の詳細を 2.7.1.4.5 に示す。

BTM-1425-R3 法は，効率化のために，次のとおり方法を変更しバリデートした。１）個別チューブから 96-well プレートへ変更した。２）洗浄工程に自動化機器の KingFisher を使用し，KingFisher に合わせて洗浄バッファーの容量を変更した。3）トリプシン消化の条件を「37°C で 4～16 時間」から「60°C で 1.5 時間」に変更した。４）API 5500 と API 6500 の 2 つの質量分析計でバリデートした。さらに，安定性試験（室温保存安定性，凍結融解安定性，長期凍結保存安定性）を評価した。使用血清量（10 µL）及び検量線範囲（0.500～150 µg/mL）は変更していない。パーシャルバリデーション試験では，日内及び日間の真度及び精度，選択性，感度，直線性，回収率，希釈の妥当性，前処理後のサンプル安定性，血清中室温安定性，マトリックス効果，溶血及び高脂血症による影響，バッチサイズ，再注入の安定性，凍結融解安定性，キャリーオーバー及び測定対象による IS への影響を評価した。検量線上限を超えたサンプルはヒト血清を用いて最大 4 倍まで希釈可能であった。レカネマブは血清中で少なくとも凍結融解を 5 回繰り返しても安定であり，室温及び–70°C でそれぞれ少なくとも 6 時間及び 371 日間安定であった。前処理後のサンプルは少なくとも 4°C で 175 時間安定であり，4°C で 191.5 時間再注入による再現性があった。また，測定対象から IS への妨害は検出されなかった（報告書番号 EIS-R1696A2）。さらに，10 倍希釈の妥当性及び–20°C で 444 日間の安定性（報告書番号 EIS-R1696A3）

並びに–70°C で 866 日間の安定性（EIS-R1696A4）を評価した。本測定法の詳細を 2.7.1.4.7 に示す。

2.7.1.1.4.1.3 ECL-MSD による CSF 中レカネマブ濃度測定法

[redacted]社において，ECL-MSD 法による CSF 中レカネマブ濃度測定法をバリデートした（報告書番号 TCAR10-050）。

レカネマブをストレプトアビジンプレートに結合したビオチン化プロトフィブリルで捕捉し，ウサギ抗レカネマブ抗体（レカネマブを免疫したウサギ抗血清から IgG を精製したもの）を検出抗体としてプレートにて反応させ，次にルテニウム標識ヤギ抗ウサギ IgG 抗体を反応させた。プレートに発光補助試薬である read buffer T 溶液を添加後，ECL-MSD で発光強度を測定し CSF 中のレカネマブ濃度を測定した。

本測定法の検量線範囲は 3.00～75.0 ng/mL であった。バリデーション試験において，検量線，真度・精度，希釈直線性，マトリックス効果（選択性），凍結融解安定性，室温保存安定性，冷蔵（1～8°C）保存安定性，94 日間凍結保存安定性の各評価項目は，試験計画書で定めた合格基準を満たした。本測定法の詳細を 2.7.1.4.8 に示す。

2.7.1.1.4.1.4 LC-MS/MS による CSF 中レカネマブ濃度測定法

[redacted]社は，IP-LC-MS/MS 法を用いてヒト CSF 中のレカネマブの濃度測定法をフルバリデートした（測定法番号 BTM-1416-R0，報告書番号 EIS-R1663）。さらに，サンプル処理の効率化のために測定法を改良しパーシャルバリデートした（測定法番号 BTM-1416-R1，報告書番号 EIS-R1663A2）。

これらの測定法は，レカネマブ及び[redacted]（IS）のトリプシン消化ペプチドである HT9 及び[redacted]（アミノ酸配列）をそれぞれ測定した。[redacted]カラム（50 × 3 mm, 3 µm）を用いて逆相 HPLC による分離を行った。LC-MS/MS の検出は，Turbo IonSpray の陽イオンモードで，HT9 の *m/z* [redacted] → [redacted] と [redacted] の *m/z* [redacted] → [redacted] で行った。

フルバリデーションでは，500 µL のヒト CSF 量でレカネマブの定量下限は 5.00 ng/mL であり，検量線範囲は 5.00～500 ng/mL であった。レカネマブは CSF 中で少なくとも凍結融解を 3 回繰り返しても安定であり，室温及び–70°C でそれぞれ少なくとも 16 時間及び 594 日間安定であった。前処理後のサンプルは室温で少なくとも 101.5 時間安定であった（報告書番号 EIS-R1663 及び EIS-R1663A1R1）。本測定法の詳細を 2.7.1.4.9 に示す。

さらに，この測定法は，効率化のために以下の通り方法を変更しバリデートした。１）個別チューブから 96-well プレートへ変更した。２）洗浄工程に自動化機器の KingFisher を使用し，KingFisher に合わせて洗浄バッファーの容量を変更した。3）トリプシン消化の条件を「37°C で 4～16 時間」から「60°C で 1.5 時間」に変更した。４）API 5500 と API 6500 の 2 つの質量分析計でバリデートした。さらに，安定性試験（室温保存安定性，凍結融解安定性，長期凍結保存安定性）を評価した。５）使用するヒト CSF 量を 500 µL から 200 µL に変更した。レカネマブの検量線範囲は変更前と同じ 5.00～500 ng/mL であった。レカネマブは，ヒト CSF 中では少なくとも凍結融解 5 回及び室温で少なくとも 7 時間安定であった。前処理後のサンプルは，少なくとも 4°C で 56.0 時間安定であり，4°C で 301.5 時間の再注入による再現性があった。このバリデーシ

ョンで報告された結果は，許容基準を満たしていた（報告書番号EIS-R1663A2）。さらに，–20℃で 387 日間及び–70℃ で 792 日間の安定性を評価した（報告書番号 EIS-R1663A3 及び EIS-R1663A4）。本測定法の詳細を 2.7.1.4.10 に示す。

2.7.1.1.4.1.5 ECL-MSD による血清中抗レカネマブ抗体（ADA）測定法

ADA 測定は段階的なアプローチで測定した。つまり最初にスクリーニング試験，続いて確認試験，そしてタイター測定の順で実施し，各測定は ECL-MSD 法で行った。スクリーニング試験で ADA 陽性となったサンプルはレカネマブを添加して競合による阻害を確認する試験によって最終的に陽性かどうかを確認した。確認試験で最終的に ADA 陽性となったサンプルはタイター値を測定した。測定法におけるカットポイント設定，スクリーニング試験やタイター測定時の精度，感度，選択性，薬物耐性及びレカネマブ添加後の阻害による ADA 陽性確認について，以下の通りバリデーション試験を行った。

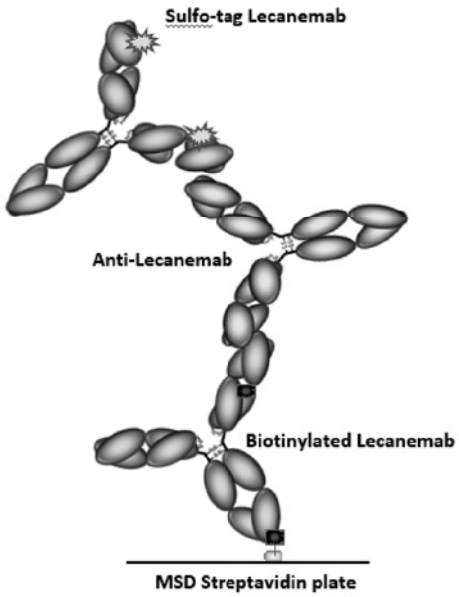


図 2.7.1-2　ECL-MSD による血清中抗レカネマブ抗体（ADA）測定法の原理

Aβ = amyloid beta, ADA = anti-lecanemab antibodies, ECL = electrochemiluminescence, MSD = meso scale discovery.

報告書番号 TCAR10-069

ADA 測定法は，最初に[redacted]社（[redacted]）でバリデートした。バリデーション試験は，カットポイント設定，スクリーニング試験及びタイター測定での精度，感度，選択性（マトリックス効果），薬物耐性及びレカネマブ添加による阻害確認について実施した（報告書番号 TCAR10-069）。

本測定法は，サンプルをビオチン標識レカネマブ及びルテニウム標識レカネマブを含んだ溶液で希釈し，生成した免疫複合体（ビオチン標識レカネマブ－ADA－ルテニウム標識レカネマ

ブ）をストレプトアビジンコーティングプレートに結合させ，プレート洗浄後に read buffer T を添加し ECL-MSD により ADA を測定した。ADA が存在するサンプルでは免疫複合体が生成され，それにより生じる ECL シグナル強度を測定した（図 2.7.1-2）。

カットポイントは，[redacted]個体（男性と女性は同数）の血清を 3 回の異なる測定回で 2 人の測定者が 2 日以上かけて測定して設定した。3 サンプルが Box プロットにより外れ値として同定されてカットポイント算出から除外され，計 [redacted]サンプルをカットポイント算出のデータとして用いた。95 パーセンタイル値をスクリーニング試験でのカットポイントとしたところ 69 RLU と算出された。陰性対照サンプルの平均シグナル強度が 62 RLU であったためカットポイント係数（CPF）は 7 と算出された（カットポイントの RLU－陰性対照サンプルの平均 RLU）。確認試験のカットポイントは，[redacted]個体の血清サンプルに 250 μg/mL となるレカネマブを添加し，非添加のシグナルに対する吸収率の 1%偽陽性率として算出したところ 12.1%であった。ADA 検出の感度は用いた陽性対照の濃度として 9.77 ng/mL と算出された。薬物耐性評価の結果から 500 ng/mL の ADA が陽性と判定される共存可能な最大のレカネマブ濃度は 31.3 μg/mL であった。本測定法の詳細を 2.7.1.4.12 に示す。

報告書番号 TCAR12-038

[redacted]社（[redacted]）において，薬物耐性評価に AD 患者から得られた血清を用い，酸解離処理を伴う方法でバリデートした（報告書番号 TCAR12-038）。

本測定法においても，ADA は，ビオチン標識レカネマブ及びルテニウム標識レカネマブと生成した免疫複合体として検出される。血清サンプル，QC サンプル，陰性対照サンプルを酢酸にて酸解離処理し，その後，1.5 mol/L トリス溶液の添加により中和後，マスターミックス（ビオチン標識レカネマブとルテニウム標識レカネマブを含んだ溶液）とインキュベートした。その結果生成した免疫複合体（ビオチン標識レカネマブ－ADA－ルテニウム標識レカネマブ）を，ストレプトアビジンコーティングプレートのウェルに加えて結合させた。プレート洗浄により免疫複合体を形成していない物質を除去し，read buffer T を添加後，ECL-MSD にて ECL シグナル強度を測定することにより免疫複合体として ADA を測定した。

以下に示す CPF は，測定精度確認及びサンプル測定について測定回に依らずそれぞれ固定された値を用いた。

測定精度確認のための CPF は，2 人の測定者が 2 日以上かけて[redacted]個体の個別血清を 3 回測定した結果から求めた。シグナル値の精度は全サンプルで 25%以内であった。外れ値を除外したデータが正規分布していたため，パラメトリック法で CPF を算出した。Box プロット解析により外れ値と判定された 3 サンプルを除外したデータを用い 95 パーセント信頼区間上限値から CPF を算出したところ 1.11 であった。

サンプル測定用の CPF については臨床試験の[redacted]個体の投与前サンプルを 2 人の測定者が 2 日以上かけて 3 回測定した結果から算出した。Box プロットにより 2 サンプルが外れ値と判定され解析から除外した。シグナル値の精度は全サンプルで 25%以内であった。カットポイントはノンパラメトリック法解析により 95 パーセンタイル値として算出され 56 RLU であった。陰性対照サンプルの平均シグナル値が 50 RLU であったため，CPF は 6 と算出された（カットポイントの RLU－陰性対照サンプルの平均 RLU）。この CPF をサンプル測定において ADA の陰性・陽性

の判定及びタイター値算出に用いた。

ADA 測定の確認試験におけるカットポイントは[redacted]個体の AD 患者の血清を用いて算出した。250 μg/mL のレカネマブ添加及び非添加血清の測定結果より得られた吸収率からカットポイントを算出したところ 13.3%であった。

ADA 測定法の測定感度は 3.388 ng/mL であり，薬物耐性は，ADA が 50.0 ng/mL（低濃度 QC）及び 1000 ng/mL（中濃度 QC）の測定において，それぞれ，レカネマブ濃度は 31.3 及び 215.9 μg/mL であった。本測定法の詳細を 2.7.1.4.15 に示す。

報告書番号 TNJR14-225

[redacted]社（[redacted]）でバリデートした ADA 測定法は[redacted]社（[redacted]）に移譲し，パーシャルバリデーションを実施した（報告書番号 TNJR14-225）。精度及び追加の室温安定性に加えて，[redacted]社（[redacted]）で ADA 測定した 201 試験 Core のサンプルを[redacted]社（[redacted]）でも測定し，測定結果の相関を評価した。その結果，計 26 サンプルの全サンプルが両施設で同様な結果であることを確認した。本測定法の詳細を 2.7.1.4.16 に示す。

その後，測定法は[redacted]社（[redacted]）から[redacted]社に移譲した。

報告書番号 BAV-0039-R v00

[redacted]社でバリデーション試験を実施し，スクリーニング試験及び確認試験に用いるそれぞれのカットポイントの算出，感度，選択性，タイター測定時の精度，QC サンプル測定の精度，システム適合性を評価した（報告書番号 BAV-0039-R v00）。薬物耐性及び安定性については以前に[redacted]社で実施したバリデーション試験で適切に評価したため[redacted]社で追加評価は行わなかった。ADA 測定結果の施設間における同等性を確認するため，[redacted]社と[redacted]社の間でクロスバリデーション試験を実施した。感度については，サロゲートであるウサギポリクロ―ナル抗レカネマブ抗体を陽性対照として用いたところ 3.9 ng/mL であった。精度についてはスクリーニング試験及び確認試験において精度が 20.0%以下であり再現性の高い結果が得られた。バリデーション試験において，他の評価項目も基準を満たしたことから，本測定法は血清サンプル中の ADA を低い濃度から検出することに適していることが明らかとなった。本測定法の詳細を 2.7.1.4.11 に示す。

報告書番号 45-1807

その後，ADA 測定法は[redacted]社から[redacted]社へ移譲した。[redacted]社でバリデーション試験を実施し，日内及び日間精度，薬物耐性，選択性，安定性，感度，スクリーニング試験及び確認試験用カットポイント設定を評価した（報告書番号 45-1807）。レカネマブ投与歴のない AD 患者[redacted]個体の血清サンプルを用い，統計学的手法によりカットポイントを算出した。血清サンプルを 16 倍希釈し，70.3 μg/mL レカネマブの存在下若しくは非存在下で 3 日間以上にわたり 6 回測定した。スクリーニング試験での CPF は，外れ値を除外した全てのカットポイント設定での評価バッチの結果を用い 95%信頼区間上限から 1.07 と算出した。スクリーニング試験でのカットポイント設定では全評価バッチの結果を用い 95%及び 99.9%信頼区間上限から CPF を算出した

ところ，それぞれ 1.07 及び 1.15 であった。201 試験 OLE では 1.07 を CPF として用い，004 試験では 1.15 を CPF として用いてサンプル測定を実施した。確認試験でのカットポイント設定では 99%及び 99.9%信頼性区間上限値から 2 種類を設定した。外れ値を除外し[redacted]個体の AD 患者から得られた血清サンプルに 70.3 µg/mL レカネマブ存在下でのシグナルの吸収率から設定した。確認試験でのカットポイント（CCP）は 99%及び 99.9%信頼性区間上限値からそれぞれ 11.7%及び 14.9%と算出した。201 試験 OLE では 14.9%を CCP として用いサンプル測定を実施した。本測定法の詳細を 2.7.1.4.13 に示す。

報告書番号 45-1807 addendum1

新ロットの SulfoTag 標識レカネマブを用いて測定した陽性対照は想定より高いシグナル強度を示したため，サンプル測定のための基準を更新した（報告書番号 45-1807 addendum1）。薬物耐性と測定感度（モノクローナル及びポリクローナル抗レカネマブ抗体を陽性対照として使用）を再評価し，陽性対照の許容基準は元のバリデーション試験の片側 1%の偽陽性率に基づいて再計算した。さらに，ポリクローナル抗レカネマブ抗体を用いて，精度，感度および薬物耐性を評価し，測定法の特徴を明らかにした。

薬物耐性は，100 ng/mL のモノクローナル陽性対照を用いたときのレカネマブ濃度は 31.3 µg/mL であったが，100 ng/mL のポリクローナル陽性対照を用いたときは 80.0 µg/mL であった。新ロットの SulfoTag 標識レカネマブを用いた影響は，測定感度のわずかな上昇であった。本測定法の詳細を 2.7.1.4.14 に示す。

2.7.1.1.4.1.6 ECL-MSD による血清中抗レカネマブ中和抗体（NAb）測定法

[redacted]社で血清中 NAb 測定法のバリデーション試験を実施した（報告書番号 BAV-0031-Rv02）。段階的なアプローチを用い，NAb 測定の後，陽性サンプルの評価を実施した。最初に偽陽性率 1%の高感度な NAb 測定法を用い，陽性の可能性があるサンプルを検出するスクリーニング測定を実施した。それぞれの測定バッチにおいて決定されるカットポイントを超えるシグナル減少率が認められたサンプルについては，さらにタイター測定により相対的な中和活性強度を測定した。

NAb 測定では，サロゲート抗原として Aβ の[redacted]を使用した。ストレプトアビジンコーティングプレートにビオチン標識レカネマブを結合させ，ビオチン標識レカネマブに結合した ADA とルテニウム標識した抗原（[redacted]）の相互作用を，ECL シグナル強度を測定することで検出する測定系を確立した（図 2.7.1-3）。

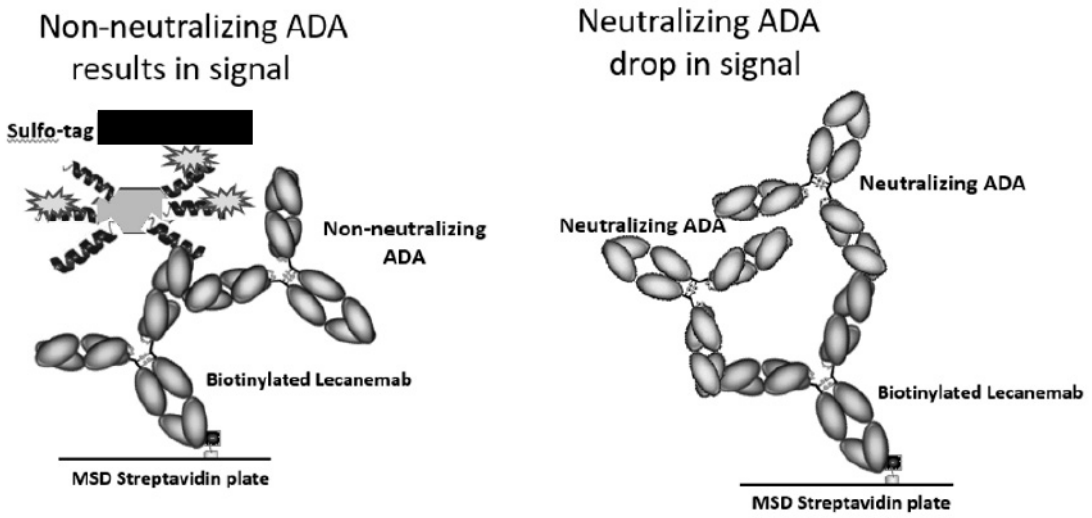


図 2.7.1-3　ECL-MSD による血清中抗レカネマブ中和抗体（NAb）測定法の原理

Aβ = amyloid beta (β), ADA = anti-lecanemab antibodies, ECL = electrochemiluminescence, [redacted], NAb = Neutralizing anti-drug (lecanemab) antibodies.

NAb 陽性は，レカネマブと抗原の結合を阻害する程度から判定した。中和活性測定のカットポイントを超えるシグナル減少率を示した場合はレカネマブと抗原の結合を阻害したことを意味し中和活性陽性と判定され，カットポイントを超えないシグナル減少率を示した場合はレカネマブと抗原の結合を阻害していないため中和活性陰性と判定される。NAb 測定法のバリデーション試験において，中和活性カットポイント，感度，タイター測定精度，バッチ内・バッチ間測定精度，選択性，システム適合性，薬物耐性，安定性及び頑健性について評価した（報告書番号 BAV-0031-R v02）。

測定感度は，サロゲートであるマウス抗レカネマブモノクローナル抗体を用いた場合 584 ng/mL と算出した。薬物耐性については，31.3 µg/mL のレカネマブ存在下で 5.0 µg/mL の NAb の検出が可能であった。血清中のサロゲート中和抗体の安定性について，室温保存安定性，凍結融解保存安定性，冷蔵保存安定性（2～8°C），12 ヵ月間凍結保存安定性（–20°C）及び最大 3 年間凍結保存安定性（–80°C）を評価した。本測定法の詳細を 2.7.1.4.17 に示す。

その後，NAb 測定法は[redacted]社に移譲し，フルバリデーション試験を実施した（報告書番号 45-1808）。測定感度は，プールした抗レカネマブモノクローナル抗体を用いたところ 1.385 µg/mL であった。薬物耐性評価の結果，少なくとも 0.25 µg/mL レカネマブ存在下でも 1.385 µg/mL の NAb の検出が可能であった。

スクリーニング試験でのカットポイント設定は，[redacted]個体の健康人から得た血清サンプル及びレカネマブ投与歴のない[redacted]個体の AD 患者から得た血清サンプルを用い実施した。10 倍希釈したサンプルを 2 人の測定者が 3 日間以上にわたり測定した。スクリーニング試験でのカットポイントは，外れ値を除外し信頼区間 99%下限値に基づき決定し，0.832 をスクリーニング CPF 値として算出した。

抗体価算出用の CPF 値は，99.9%及び 99%信頼区間下限値の 2 種を算出し，それぞれ 0.770

（CPF1）及び 0.832（CPF2）であった。

中和活性測定結果の相関評価を，201 試験 Core サンプルを用いて実施した。[redacted]社で測定した結果を[redacted]社で測定した結果と比較したところ，評価したサンプルの 85%が同様の結果であった。

サロゲート中和抗体の血清中安定性は，室温下で少なくとも 6 時間，凍結融解は–70°C と –20°C でそれぞれ 5 回繰り返しても安定であった。本測定法の詳細を 2.7.1.4.18 に示す。

2.7.1.1.4.2 バイオマーカーのバリデーション方法

レカネマブの臨床試験において，Aβ のアイソフォームやタウタンパク質（tau）のような疾患に関連する液性バイオマーカーに対するレカネマブの効果を，副次目的あるいは探索的な目的で検討した。CSF のサンプル採取は，CSF 採取のサブスタディに参加した一部の被験者においてのみ行った。CSF 採取のサブスタディへの参加は任意であった。

101 試験では，血漿バイオマーカーとして Aβ(1-40)，Aβ(1-42)，Aβ(1-x)を測定した。SAD のコホートにおいて，血漿中 Aβ(1-40)，Aβ(1-42)は IBL 社の市販キットの ELISA を使用し，製品の測定プロトコールに従ってエーザイ内で測定した。エーザイでは本 ELISA に対する追加の検討やバリデーション試験は行わなかった。血漿中 Aβ(1-x)は，[redacted]社にてサンドイッチ免疫測定法により測定した（報告書番号 TCAR10-001）。MAD のコホートでは，血漿中 Aβ(1-40)，Aβ(1- 42)は IBL 社の市販の測定キットの ELISA を使用し，あらためて分析的性能評価を行った（報告書番号 Aβ40_Plasma_20[redacted]，Aβ42_Plasma_20[redacted]）。希釈直線性と平行性に課題があったため，全ての血漿サンプルは一回の minimum required dilution（MRD）で測定をする必要があった。CSF 中のリン酸化タウ 181（p-tau181），総タウ（t-tau）及び Aβ(1-42)の測定には，Innogenetics 社の INNOTEST®の各 ELISA キットを使用し，[redacted]社において性能を確認した上で，サンプル測定を実施した。

104 試験では，[redacted]社でバリデートされた方法で CSF 中の Aβ(1-42)，t-tau 及び p-tau181 を測定した。

201 試験では，血漿サンプルは Core Study と OLE 期の全ての被験者から採取した。血漿中の Aβ(1-40)と Aβ(1-42)は LC-MS/MS で測定し（報告書番号 135087.126）（Kirmess, et al., 2021），p-tau181 は Quanterix 社の Simoa® p-tau181 アッセイキットを用いて測定した。Neurofilament light chain （NfL）は Quanterix 社の Simoa NF-L®キットを用いて，Core Study の血漿のみ測定した。

201 試験では，Core Study における任意参加のサブスタディの中で CSF を採取し，OLE 期では採取しなかった。1 つ以上のタイムポイントがある被験者の CSF 中のバイオマーカーの Aβ(1-42)，t-tau 及び p-tau181 は，[redacted]社において Fujirebio 社の INNOTEST を用いて測定した。追加の新規 CSF のバイオマーカーとして neurogranin，NfL，contactin-2 及び YKL-40 も測定した。Neurogranin は，バリデートされた Euroimmun 社の ELISA で測定した。NfL は Uman Diagnostics 社のバリデートされた ELISA で測定した。Contactin-2 は，サンプル中及び遺伝子組み換え体の Contactin-2 を DuoSet ELISA Development キットで測定した。YKL-40 は MicroVue YKL-40 ELISA キットで測定した。

301 試験 Core 及び 301 試験 OLE では，血漿バイオマーカーとして Aβ(1-40)，Aβ(1-42)，NfL，p-tau181 及び glial fibrillary acidic protein（GFAP）を測定した。血漿中の Aβ(1-40)と Aβ(1-42)は，

LC-MS/MS で測定し（報告書番号 135087.126）（Kirmess, et al., 2021），NfL，p-tau181 及び GFAP は Quanterix 社の Simoa キットで測定した（報告書番号 1629-R11293，110-R11817-R1，1679-R12607）。CSF のバイオマーカーとして Aβ(1-40)，Aβ(1-42)，p-tau181 及び t-tau は，Fujirebio 社のルミパルスで測定した（報告書番号 Aβ40-CSF-Lumipulse-20[redacted]，Aβ42-CSF-Lumipulse-20[redacted]，Ptau181-CSF-Lumipulse-20[redacted]，Ttau-CSF-Lumipulse-20[redacted]）。さらに CSF のバイオマーカーとして neurogranin と NfL を測定し，血液で *APOE4* の遺伝子型を確認した。

2.7.1.1.4.2.1 ELISA による血漿中の Aβ(1-40)の測定法

血漿中の Aβ(1-40)の測定は，IBL 社の ELISA キットを使用した。[redacted]社において精度・真度，感度，希釈直線性及び安定性について ELISA によるバリデーションを実施した（報告書番号 Aβ40_Plasma_20[redacted]）。

このバリデーションにおいて，ethylenediaminetetraacetic acid（EDTA）を含む血漿中に存在する Aβ(1-40)を，測定用プレート上にあらかじめ固相化した抗ヒト Aβ(35-40)マウス IgG モノクローナル抗体と結合させるために一晩 4°C で反応させ，洗浄した後に，HRP 標識した抗ヒト Aβ（N，82E1）マウス IgG モノクローナル抗体を添加し，基質として TMB を加えて発色させた後，波長 450 nm の吸光度を測定した。吸光度は結合した Aβ(1-40)の量に比例した。

日内のサンプル測定精度は，15%以下の精度の合格基準を満たした。日間，実験者間，ロット間の測定精度も事前設定した 20%以下の合格基準を満たした。測定系としての定量下限は[redacted]pg/mL で，MRD である[redacted]倍希釈を考慮した実質的なサンプルの定量下限は[redacted]pg/mL であった。

測定系としての真度は，高濃度コントロールの[redacted]pg/mL で±15%以内，低濃度コントロールの[redacted]pg/mL で±20%以内の合格基準をそれぞれ満たした。さらに，短期間の安定性試験では，分析前の血漿は室温で最大[redacted]時間保存できるが，[redacted]時間の冷蔵保存では安定性を確認できなかった。凍結融解は[redacted]回まで許容された。

血漿中 Aβ(1-40)の測定法の要約を 2.7.1.4.19 に記載した。血漿中 Aβ(1-40)の測定性能を 2.7.1.4.39 に記載した。

2.7.1.1.4.2.2 ELISA による血漿中 Aβ(1-42)の測定法

血漿中の Aβ(1-42)の測定は，IBL 社の ELISA キットを使用した。測定方法は，[redacted]社において精度・真度，感度，希釈直線性及び安定性について ELISA によるバリデーションを実施した（報告書番号 Aβ42_Plasma_20[redacted]）。

このバリデーション方法において，EDTA を含む血漿中の Aβ(1-42)は，測定用プレート上にあらかじめ固相化した抗ヒト Aβ(38-42)マウス IgG モノクローナル抗体と結合させるために一晩 4°C で反応させ，洗浄した後に，HRP 標識した抗ヒト Aβ(N，82E1)マウス IgG モノクローナル抗体を添加し，基質として TMB を加えて発色させた後，波長 450 nm の吸光度を測定した。吸光度は結合した Aβ(1-42)の量に比例した。

日内のサンプル測定精度は，15%以下の合格基準を満たした。測定系としての定量下限は[redacted]pg/mL で，MRD である[redacted]倍希釈を考慮した実質的なサンプルの定量下限は[redacted]pg/mL であった。測定系としての真度は，高濃度コントロールの[redacted]pg/mL で±15%以内，低濃度コントロー

ルの [redacted]pg/mL で±20%以内の合格基準をそれぞれ満たした。さらに，短期間の安定性試験では，分析前の血漿の室温及び冷蔵での保存安定性を確認できなかった。凍結融解も避けるべき結果であった。血漿サンプルは，融解後に直ちに分析し，再測定が必要な場合はバックアップのサンプルを用いて実施されるべき結果であった。

血漿中 Aβ(1-42)の測定法の要約を 2.7.1.4.20 に記載した。血漿中 Aβ(1-42)の測定性能を 2.7.1.4.40 に記載した。

2.7.1.1.4.2.3 ELISA による血漿中 Aβ(1-x)の測定法

血漿中の Aβ(1-x)の濃度測定は，ELISA キットを使用した。測定方法は，[redacted]社（[redacted]）でバリデートした（報告書番号 TCAR10-001）。この測定方法においては，EDTA を含む血漿中の Aβ(1-x)はサンドイッチ免疫測定法で定量した。ELISA プレートは，アフィニティー精製された抗ヒト Aβ（N，82E1）マウス IgG モノクローナル抗体が固相化されており，Aβ(1-x)を含む血漿サンプルをプレートに加え，HRP 標識した抗体と反応するために発色試薬である TMB を基質として添加した。発色強度は，結合した Aβ(1-x)量に比例した。

定量可能な範囲は，[redacted]～[redacted] pg/mL であった。本法は，101 試験の血漿サンプルの Aβ(1-x)の測定に使用した（報告書番号 TCAR10-056）。

血漿中 Aβ(1-x)の測定法の要約を 2.7.1.4.21 に記載した。血漿中 Aβ(1-x)の測定性能を 2.7.1.4.41 に記載した。

2.7.1.1.4.2.4 免疫沈降と LC-MS/MS の併用による血漿中 Aβ42/40 の測定法

血漿中に含まれる Aβ はモノクローナル抗体[redacted]（Aβ のアミノ酸残基[redacted]）をコートした磁性ビーズで免疫沈降することにより抽出した。[redacted]分間の免疫沈降反応後に，Aβ が結合した磁性ビーズを metalloendopeptidase Lys-N（Thermo Fisher Scientific）0.94 ng/µL を含む 37°C の triethylammonium bicarbonate 溶液に加えることで，捕捉した Aβ を酵素消化し Aβ([redacted])ペプチド（アミノ酸配列[redacted]）及び Aβ([redacted])ペプチド（アミノ酸配列[redacted]）にした。120 分後に，2%ギ酸を添加して酵素反応を停止した。逆相系の固相抽出によって精製した後，溶出した Aβ ペプチドを真空乾燥し，10%アセトニトリル/10%ギ酸溶液 16 µL に再溶解して，LC-MS/MS に注入した。Aβ42/40 の比率は，それぞれの Aβ ペプチド定量法に基づいて算出した（報告書番号 135087.126）（Kirmess, et al., 2021）。本測定法におけるレカネマブの影響について確認した（報告書番号 Aβ42_40 Drug Spike_Plasma_20[redacted], STUDY 162）。本測定法は 201 試験 Core 及び 201 試験 OLE の血漿サンプルの測定（報告書番号 STUDY 113）と 301 試験 Core 及び 301 試験 OLE の血漿サンプルの測定（報告書番号 STUDY 122）に使用した。

血漿中 Aβ40 及び Aβ42 の測定法の要約を 2.7.1.4.63 に記載した。血漿中 Aβ40 及び Aβ42 の測定性能を 2.7.1.4.64 に記載した。

2.7.1.1.4.2.5 Simoa による血漿中 p-tau181 の測定法

血漿中の p-tau181 の定量は，Quanterix 社から販売されている Simoa pTau-181 Advantage V2 Kit を使用した。抗 p-tau181 抗体をコートした捕捉用常磁性ビーズ及びビオチン標識した抗 p-tau181

抗体をサンプル希釈液で希釈したサンプルとともに反応させた。サンプル中の p-tau181 は，抗 p-tau181 抗体でコートした磁性ビーズに捕捉され，同時にビオチン標識した抗 p-tau181 抗体と結合した。磁性ビーズを洗浄し，ストレプトアビジン-β-ガラクトシダーゼ標識体と混和した。ストレプトアビジン-β-ガラクトシダーゼ標識体がビオチン標識した抗体と結合することで捕捉した p-tau181 を酵素標識した。捕捉用磁性ビーズを resorufin β-D-galactopyranoside 基質溶液に懸濁して Simoa ディスクに移し，アレイのマイクロウェル内に封入した。蛍光シグナルは，磁性ビーズ数当たりの平均酵素数に変換し，検量線から得られた 4-パラメーターの回帰曲線から外挿してサンプル中の p-tau181 濃度を算出した（Karikari, et al., 2020）。

測定法は，[redacted]社でバリデートされ，K2EDTA 処理された血漿中の p-tau181 の測定に適していることを確認した（報告書番号 110-R11817-R1）。この測定の定量範囲は [redacted]pg/mL から [redacted]pg/mL で，MRD は[redacted]倍であった。K2EDTA 処理された血漿中の p-tau181 は，室温で[redacted]時間[redacted]分まで，冷蔵（4～8°C）で[redacted]時間[redacted]分まで，–70°C（理論温度）から室温への凍結融解は[redacted]回まで安定であった。

本測定法は，[redacted]社により 201 試験 Core 及び 201 試験 OLE のサンプル中（報告書番号 110-R12068）、301 試験 Core 及び 301 試験 OLE のサンプル中（報告書番号 110-R12754）の p-tau181 の測定に使用した。

本測定法は 3 回の補遺があった。補遺 1 は，Quanterix 社の Simoa で K2EDTA 処理された血漿中の p-tau181 を定量する測定法である測定法番号 BTM-3467 の長期保存安定性をまとめた（報告書番号 110-R11817A1）。K2EDTA 処理された血漿中の p-tau181 は，–70°C（理論温度）で[redacted]日まで安定であった。

補遺 2 は，BTM-3467 における干渉作用についてまとめた（報告書番号 110-R11817A2）。血漿中に[redacted]mg/dL の脂質又は[redacted]あるいは[redacted]μg/mL のレカネマブが存在しても，p-tau181 の定量に影響はなかった。

補遺 3 は，BTM-3467 の長期保存安定性をまとめた（報告書番号 110-R11817A3）。K2EDTA 処理された血漿中の p-tau181 は，–70°C（理論温度）で[redacted]日まで安定であった。

血漿中 p-tau181 の測定法の要約を 2.7.1.4.22 に記載した。血漿中 p-tau181 の測定性能を 2.7.1.4.42 に記載した。

2.7.1.1.4.2.6 Simoa による血漿中 NfL の測定法

血漿中 NfL の測定には，Quanterix 社から販売されている Simoa NF-L 測定キットを使用し，EDTA 処理した血漿を 4 倍希釈して Simoa HD-1 を用いて測定した（報告書番号 NfL_Plasma_20[redacted]）。抗 NfL 抗体をコートした捕捉用常磁性ビーズとビオチン標識した抗 NfL 抗体をサンプル希釈液で希釈したサンプルと反応させた。サンプル中の NfL は，抗 NfL 抗体コートした磁性ビーズに捕捉され，検出抗体は NfL と結合した。磁性ビーズを洗浄し，ストレプトアビジン-β-ガラクトシダーゼ標識体と混和した。ストレプトアビジン-β-ガラクトシダーゼ標識体は，ビオチン標識した抗 NfL 抗体と結合することで，捕捉した NfL を酵素標識した。磁性ビーズは 2 回目の洗浄後に resorufin β-D-galactopyranoside 基質溶液に懸濁して Simoa ディスクに移し，アレイのマイクロウェル内に封入した。捕捉した NfL は β-ガラクトシダーゼが resorufin β-D-galactopyranoside を加水分解して生成する蛍光シグナルにより検出した。サンプル中の NfL 濃度

は検量線から内挿して算出した。

本測定方法の検出下限（LLOD）は[redacted]pg/mL で，測定精度と直線性は 15%未満であった。本測定法は，[redacted]でバリデートされた。

本測定法は 201 試験 Core の血漿サンプルの測定に使用した（報告書番号 SAR-[redacted]-NFLP/NRGN/YKL-40/CNTN-2）。

本測定法は，[redacted]社でもバリデーションを行い，定量下限は[redacted]pg/mL であった。精度と希釈直線性は，事前に設定した合格基準内（20%以内）であった（報告書番号 1629-R11293）。

本測定法は，301 試験 Core 及び 301 試験 OLE の血漿中の NfL の測定に使用した（報告書番号 110-R12755）。

血漿中 NfL の測定法の要約を 2.7.1.4.23 及び 2.7.1.4.24 に記載した。血漿中 NfL の測定性能を 2.7.1.4.43 及び 2.7.1.4.44 に記載した。

2.7.1.1.4.2.7 Simoa による血漿中 GFAP の測定法

血漿中 GFAP の測定は，Quanterix 社から販売されている Simoa GFAP Discovery Kit を使用し，[redacted]社によってバリデートされた方法を使用した（報告書番号 1679-R12607）。最初のステップとして，捕捉抗体の抗 GFAP 抗体を結合した常磁性ビーズとビオチン化した抗 GFAP 抗体をサンプルと反応させた。サンプル中に含まれる GFAP は，常磁性ビーズに結合した抗 GFAP 抗体で捕捉され，捕捉された GFAP は検出用のビオチン化抗体と結合した。常磁性ビーズを洗浄し，ストレプトアビジン-β-ガラクトシダーゼ標識体と混和した。ストレプトアビジン-β-ガラクトシダーゼ標識体は，ビオチン標識した抗 GFAP 抗体と結合することで，捕捉した GFAP を酵素標識した。捕捉ビーズを洗浄後，resorufin β-D-galactopyranoside 基質溶液に懸濁し，Simoa ディスクへ移してアレイのマイクロウェル内に封入した。捕捉された GFAP は，β-ガラクトシダーゼが resorufin β-D-galactopyranoside を加水分解して生成する蛍光シグナルにより検出した。

バリデーション試験のデータは，検量線，真度，精度，干渉作用，平行性・希釈直線性，安定性（室温，4°C，凍結融解）についてすべて合格基準を満たした。

干渉作用に関しては，[redacted]%又は[redacted]%の溶血率あるいは血漿中に[redacted]又は[redacted]mg/dL の[redacted]が存在しても GFAP の定量に影響はなかった。本測定法の定量範囲は，[redacted]～[redacted]pg/mL で，サンプルの MRD は[redacted]倍であった。血漿中の GFAP は，4°C で[redacted]時間[redacted]分まで，室温で[redacted]時間[redacted]分まで安定であり，–70°C（理論温度）に保存した場合，凍結融解[redacted]回まで安定であった。

本測定法は，301 試験 Core 及び 301 試験 OLE の血漿 GFAP の測定に使用した（報告書番号 110-R12753）。

血漿中 GFAP の測定法の要約を 2.7.1.4.25 に記載した。血漿中 GFAP の測定性能を 2.7.1.4.45 に記載した。

2.7.1.1.4.2.8 ELISA による CSF 中 p-tau181，Aβ(1-42)及び t-tau の測定法

CSF 中のバイオマーカーは，Innogenetics 社の INNOTEST キット（報告書番号 pT181, Aβ42 and hTauAg_CSF_20[redacted]）及び Fujirebio 社の INNOTEST キット（報告書番号 DV-CMF-101-02, DV-CMF-102-02, DV-CMF-103-02）を用いて ELISA にて測定した。

INNOTEST PHOSPHO-TAU(181P)は，p-tau181 あるいはペプチドフラグメントを一次モノクロ

ーナル抗体 HT7 で捕捉する ELISA である。CSF サンプルを添加し，ビオチン標識したヒト特異的 AT270 抗体とインキュベートした。この抗原抗体複合体をペルオキシダーゼ標識したストレプトアビジンにより検出し，基質溶液を加えることで発色させた。発色強度からサンプル中の p-tau181 を定量した。

INNOTEST β-AMYLOID(1-42)は，Aβ(1-42)を一次モノクローナル抗体 21F12 で捕捉する ELISA である。CSF サンプルを添加し，ビオチン標識抗体である 3D6bio とインキュベートした。この抗原抗体複合体をペルオキシダーゼ標識したストレプトアビジンにより検出し，基質溶液を加えることで発色させた。発色強度からサンプル中の Aβ(1-42)を定量した。

INNOTEST h-TAU Ag は，t-tau 及びペプチドフラグメントを一次モノクローナル抗体 AT120 で捕捉する ELISA である。CSF サンプルを添加し，2 つのビオチン標識抗体である HT7bio 及び BT2bio とインキュベートした。この抗原抗体複合体をペルオキシダーゼ標識したストレプトアビジンにより検出し，基質溶液を加えることで発色させた。発色強度からサンプル中の t-tau を定量した。

Innogenetics 社 INNOTEST の ELISA キットの各測定系は，精度，定量下限，直線性及び安定性についてバリデーションを実施した（報告書番号 pT181, Aβ42 and hTauAg_CSF_20[redacted]）。日内の測定精度は，一種類のプールした CSF サンプルを同じ日にプレートの一部を使用して，p-tau181 と Aβ(1-42)は n=[redacted]で，t-tau は n=[redacted]の測定結果から評価した。日間の測定精度は，[redacted]種類のプールした CSF を用いて[redacted]回分（異なる[redacted]日分）の測定結果から評価した。Aβ(1-42), p-tau181 の日内及び Aβ(1-42), p-tau181, t-tau の日間の測定精度は 15%未満であった。Aβ(1- 42)，p-tau181 及び t-tau の定量下限は，それぞれ[redacted]，[redacted]及び[redacted]pg/mL であった。これらの測定方法は 101 試験，104 試験（報告書番号 BAR79/E97）に使用した。

Fujirebio 社 INNOTEST の ELISA キットは，日内及び日間の測定精度についてバリデーションが行われ，Innogenetics 社 INNOTEST の ELISA キットとのクロスバリデーションも行われた（報告書番号 DV-CMF-101-02, DV-CMF-102-02, DV-CMF-103-02）。日内及び日間の測定精度はそれぞれ 10%未満及び 15%未満で，2 つのアッセイは同等であった。Aβ(1-42)，t-tau 及び p-tau181 の LLOQ は，それぞれ[redacted]，[redacted]及び[redacted]pg/mL であった。これらの測定方法は，104 試験（報告書番号 BAR79/E97），201 試験 Core の CSF 中の Aβ(1-42)，t-tau 及び p-tau181 の測定に使用した（報告書番号 MSE6Q-BAR86）。

CSF 中の Aβ(1-42)，p-tau181 及び t-tau の測定法の要約を 2.7.1.4.26 ，2.7.1.4.27 及び 2.7.1.4.28 に記載した。CSF 中の Aβ(1-42)，p-tau181 及び t-tau の測定性能を 2.7.1.4.46 ，2.7.1.4.47 ，2.7.1.4.48 ，2.7.1.4.49 ，2.7.1.4.50 及び 2.7.1.4.51 に記載した。

2.7.1.1.4.2.9 ルミパルスによる CSF 中の Aβ(1-40)，Aβ(1-42)，p-tau181 及び t-tau の測定法

Aβ(1-40)，Aβ(1-42)，p-tau181 及び t-tau の定量的な測定にルミパルス定量キットを使用した（報告書番号 Aβ40-CSF-Lumipulse-20[redacted]，Aβ42-CSF-Lumipulse-20[redacted]，Pt181-CSF-Lumipulse-20[redacted]及び Ttau-CSF-Lumipulse-20[redacted]）。

ルミパルス Aβ(1-40)は，2 ステップの化学発光酵素免疫測定法である。抗 Aβ(1-40)モノクローナル抗体（マウス）結合粒子は，抗原抗体免疫複合体を形成する反応に利用し，二次反応は粒子上の抗原抗体免疫複合体の Aβ(1-40)に特異的に結合するアルカリフォスファターゼ（ALP）標

識した抗 Aβ モノクローナル抗体（マウス）を使用した。3-(2'-spiroadamantane)-4-methoxy-4-(3"-phosphoryloxy) phenyl-1, 2-dioxetane（AMPPD）を含む基質溶液を粒子に添加し混和した。ALP により脱リン酸化された AMPPD は最大波長 477 nm の発光を生じ、発光信号をサンプル中の Aβ(1-40)の量として定量した。

ルミパルス Aβ(1-42)は免疫測定法で，抗 Aβ(1-42)モノクローナル抗体（マウス）結合粒子とビオチン化抗 Aβ モノクローナル抗体（マウス）でサンプル中に含まれる抗原と免疫複合体を形成させ，二次反応は粒子上の抗原抗体免疫複合体のビオチンに特異的に結合するストレプトアビジン ALP による免疫複合体を形成させた。AMPPD を含む基質溶液を粒子に添加し混和した。AMPPD は ALP により脱リン酸化され，最大波長 477 nm の発光を生じ，発光信号をサンプル中の Aβ(1-42)の量として定量した。

ルミパルス p-tau181 は免疫測定法で，抗 p-tau181 モノクローナル抗体（マウス）結合粒子とサンプル中に含まれる抗原で免疫複合体を生じさせ，二次反応は抗 p-tau181 抗体を介して結合したサンプル中の p-tau181 を ALP 標識した抗 tau モノクローナル抗体（マウス）により免疫複合体を形成させた。AMPPD を含む基質溶液を粒子に添加し混和した。AMPPD は ALP により脱リン酸化され，最大波長 477 nm の発光を生じ，発光信号をサンプル中の p-tau181 の量として定量した。

ルミパルス t-tau は免疫測定法で，抗 t-tau モノクローナル抗体（マウス）結合粒子とビオチン化抗 t-tau モノクローナル抗体（マウス）でサンプル中に含まれる抗原と免疫複合体を形成させ，二次反応は粒子上の抗原抗体免疫複合体のビオチンに特異的に結合するストレプトアビジン ALP による免疫複合体を形成させた。AMPPD を含む基質溶液を粒子に添加し混和した。AMPPD は ALP により脱リン酸化され，最大波長 477 nm の発光を生じ，発光信号をサンプル中の t-tau の量として定量した。

測定方法は，精度，定量下限，希釈直線性，感度及び安定性をバリデートした。日間精度は[redacted]日間，[redacted]回測定して評価した。日内及び日間測定の精度は，全てのパラメータにおいて合格基準内であった。Aβ(1-40)，Aβ(1-42)，p-tau181 及び t-tau の定量下限は，それぞれ[redacted]及び[redacted]pg/mL であった。

本測定法は、301 試験 Core 及び 301 試験 OLE の CSF の測定に使用した（報告書番号 Aβ42-CSF-Lumipulse-SAR-20[redacted]，Aβ40-CSF-Lumipulse-SAR-20[redacted]，Pt181-CSF-Lumipulse-SAR-20[redacted]及び Ttau-CSF-Lumipulse-SAR-20[redacted]）。

CSF 中の Aβ(1-40)，Aβ(1-42)，p-tau181 及び t-tau の測定法の要約を 2.7.1.4.29 ，2.7.1.4.30 ，2.7.1.4.31 及び 2.7.1.4.32 に記載した。CSF 中の Aβ(1-40)，Aβ(1-42)，p-tau181 及び t-tau の測定性能を 2.7.1.4.52 ，2.7.1.4.53 ，2.7.1.4.54 ，2.7.1.4.55 及び 2.7.1.4.56 に記載した。

2.7.1.1.4.2.10 ELISA による CSF 中 NfL の測定法

CSF 中の NfL の定量は，Uman Diagnostics 社の ELISA キットを使用した。測定キットは[redacted]にてバリデートされた。定量下限は[redacted]pg/mL で，日内及び日間の測定精度，希釈直線性は 15%

未満であった。

CSF 中の NfL は，[redacted]回までの凍結融解及び 37°C，20°C，4°C 及び–20°C で[redacted]日までの長期保存の条件下において安定であった（報告書番号 NfL_CSF-20[redacted]）。本測定法は 201 試験 Core の CSF 中の NfL 測定に使用した（報告書番号 SAR-[redacted]-NFLP/NRGN/YKL-40/CNTN-2）。

CSF 中の NfL の測定法の要約を 2.7.1.4.33 に記載した。CSF 中の NfL の測定性能を 2.7.1.4.57 に記載した。

2.7.1.1.4.2.11 Simoa による CSF 中 NfL の測定法

CSF 中の NfL は，Quanterix 社の Simoa NF-L 測定キットを用いて定量した。最初のステップとして，抗 NfL 抗体をコートした捕捉用常磁性ビーズとビオチン標識した抗 NfL 抗体をサンプル希釈液で希釈したサンプルと反応させた。サンプル中の NfL は，抗 NfL 抗体コートした磁性ビーズに捕捉され，ビオチン標識した検出抗体は NfL と結合した。磁性ビーズを洗浄し，ストレプトアビジン-β-ガラクトシダーゼ標識体と混和した。ストレプトアビジン-β-ガラクトシダーゼ標識体がビオチン標識した抗 NfL 抗体と結合することで，捕捉した NfL を酵素標識した。2 回目の洗浄をした磁性ビーズを resorufin β-D-galactopyranoside 基質溶液に懸濁して Simoa ディスクに移し，アレイのマイクロウェル内に封入した。捕捉した NfL を β-ガラクトシダーゼが resorufin β-D-galactopyranoside を加水分解して生成する蛍光シグナルにより検出した。

定量範囲は[redacted]～[redacted]pg/mL で，精度は合格基準内であった（報告書番号 NfL-CSF-20[redacted]）。

本測定法は，301 試験 Core 及び 301 試験 OLE の CSF 中の NfL 測定に使用した（報告書番号 SAR-[redacted]-NFL-NRGN-CSF20[redacted]）。

CSF 中 NfL の測定法の要約を 2.7.1.4.34 に記載した。CSF 中 NfL の測定性能を 2.7.1.4.58 に記載した。

2.7.1.1.4.2.12 ELISA による CSF 中 Neurogranin の測定法

CSF 中の neurogranin は Euroimmun 社の ELISA キットにて定量した。本測定系は，75 位プロリンで C 端が脱落した neurogranin を検出し，LLOD は[redacted]pg/mL であった。測定精度，直線性は 15%未満であった。CSF 中の neurogranin は，4°C あるいは室温保存で[redacted]週間及び–20°C 保存で[redacted]月安定であることを確認した（報告書番号 Neurogranin_CSF_20[redacted]）。本測定法は 201 試験 Core の CSF 中の neurogranin の測定（報告書番号 SAR-[redacted]-NFLP/NRGN/YKL-40/CNTN-2），301 試験 Core 及び 301 試験 OLE の CSF 中の neurogranin の測定に使用した（報告書番号 SAR-[redacted]-NFL-NRGN-CSF20[redacted]）。

CSF 中 neurogranin の測定法の要約を 2.7.1.4.35 に記載した。CSF 中 neurogranin の測定性能を 2.7.1.4.59 に記載した。

2.7.1.1.4.2.13 ELISA による CSF 中 Contactin-2 の測定法

DuoSet ELISA は 96 ウェル ELISA プレートにマウス抗ヒト contactin-2 抗体を捕捉抗体として吸着させた ELISA である。CSF サンプルを試薬希釈液で[redacted]倍希釈してウェルに加え，検出抗体を添加し，ビオチン標識したマウス抗ヒト contactin-2 抗体と反応させた。この抗原抗体複合体をペルオキシダーゼ標識したストレプトアビジンにより検出し，基質溶液を加えた後，波長 450 nm

に設定したマイクロプレートリーダーで吸光度を測定した。反応溶液の発色強度はサンプル中の contactin-2 濃度に比例した。定量下限は，[redacted]pg/mL であった。本測定方法は，[redacted]で性能評価され，ヒト CSF サンプル中の contactin-2 の測定に適していることを確認した（報告書番号 Contactin-2_CSF_20[redacted]）。

本測定法は、201 試験 Core の CSF 中の contactin-2 測定に使用した（報告書番号 SAR-[redacted]-NFLP/NRGN/YKL-40/CNTN-2）。

CSF 中 contaction-2 の測定法の要約を 2.7.1.4.36 に記載した。CSF 中 contactin-2 の測定性能を 2.7.1.4.60 に記載した。

2.7.1.1.4.2.14 ELISA による CSF 中 YKL-40 の測定法

MicroVue YKL-40 ELISA キットは，YKL-40 を検出する 3 ステップの ELISA である。最初のステップでは，ビオチン標識した抗ヒト YKL-40 マウスモノクローナル抗体の F(ab)フラグメントを含む溶液及びサンプルをあらかじめアビジンを吸着させたウェルに加えることで，抗体に結合した YKL-40 をマイクロプレートのウェル内に固定化した。第二のステップでは，ALP 標識したウサギ抗 YKL-40 抗体を加え，第一ステップでマイクロプレートに結合した YKL-40 複合体と結合させた。第三のステップでは，発色性の基質である p-nitrophenyl phosphate を添加し，YKL-40 複合体と結合している ALP が基質と反応することにより溶液が黄色に発色した。反応液を波長 405 nm で分光光度法により測定し，発色強度は YKL-40 濃度に比例した。

[redacted] で本測定法を性能評価し，ヒト CSF サンプル中の YKL-40 の測定に適していることを確認した。定量範囲は，[redacted]～[redacted]ng/mL であった（報告書番号 YKL-40_CSF_20[redacted]）。

本測定法は，201 試験 Core の CSF 中の YKL-40 測定に使用した（報告書番号 SAR-[redacted]-NFLP/NRGN/YKL-40/CNTN-2）。

CSF 中 YKL-40 の測定法の要約を 2.7.1.4.37 に記載した。CSF 中 YKL-40 の測定性能を 2.7.1.4.61 に記載した。

2.7.1.1.4.3 遺伝子型決定法

2.7.1.1.4.3.1 ABI TaqMan キットを用いた Polymerase Chain Reaction (PCR)による *APOE4* 遺伝子多型解析

APOE4 遺伝子多型解析は，Thermo-Fisher Scientific 社から市販されている *APOE4* 遺伝子の一塩基多型（single nucleotide polymorphism [SNP]）である rs429358 と rs7412 を検出する TaqMan のキットを使用し，[redacted] 社で CLIA に基づいてバリデーションを実施した。全血（EDTA 処理した血液 6 mL）から抽出試薬を用いて核酸（DNA）を単離し，核酸量を定量した。[redacted]それぞれ確認した。DNA は 2 本のチューブに分注され，1 本は対立遺伝子を区別するために使用され，もう 1 本は–70°C に凍結保存された。ABI 社の対立遺伝子特異的 TaqMan プローブは，特異的な蛍光色素と PCR プライマーのペアにより，特異的な SNP の rs429358（T112C）及び rs7412（C158T）を検出した。

本測定法は 201 試験 Core のサンプルの解析に使用した（報告書番号 R19012034V1）。

TaqMan アッセイは，[redacted]社が，rs429358 及び rs7412 を迅速かつ正確に遺伝子

決定できることを CLIA に基づいてバリデートした（報告書番号 ApoE_Whole Blood_20[redacted]）。さらに TaqMan の[redacted]，2 つの SNP の遺伝子決定法が堅牢で正確かつ特異的であることを確認した（報告書番号 ApoE_Whole Blood_20[redacted]）。

本測定は、301 試験 Core 及び 301 試験 OLE のサンプルの解析に使用した（報告書番号 ApoE-[redacted]-20[redacted]）。

APOE4 遺伝型決定法の要約を 2.7.1.4.38 に記載した。*APOE4* 遺伝子型決定法を 2.7.1.4.62 に記載した。

2.7.1.2 個々の試験結果の要約

現在，レカネマブの静脈内投与製剤及び皮下投与製剤の開発を行っているが，本申請では静脈内投与製剤を承認申請する。レカネマブを静脈内又は皮下投与した場合，食事による暴露への影響はないと考えられるため，食事による薬物動態に及ぼす影響を検討する試験は実施しなかった。表 2.7.1-2 に示すように，治験薬の製造には 3 つの製造方法が用いられた。3 つの製造方法により製造した薬剤は，物理化学的及び生物学的特性について，同等／同質であることが十分に特性解析されている。ICH Q5E に従い，同等性／同質性試験を実施し，プロセス A-1 からプロセス B-1 及びプロセス B-1 からプロセス C-1 への変更を支持する結果が得られた（2.3.S.2.6.4 項及び 2.3.P.2.3.3 項）。

2.7.1.2.1 In Vitro 溶出データ

該当データなし

2.7.1.2.2 バイオアベイラビリティ

2.7.1.2.2.1 BAN2401-A001-004 試験（004 試験）（完了）

試験名

健康成人を対象にレカネマブの単回皮下投与の絶対的バイオアベイラビリティの評価を目的とした無作為化非盲検並行群間比較試験

目的

主要目的は，健康成人にレカネマブを単回皮下投与した際の絶対的バイオアベイラビリティ及び薬物動態を評価することであった。

副次目的は，健康成人にレカネマブを皮下及び静脈内に単回投与した際の安全性，免疫原性及び忍容性を評価し，日本人健康成人にレカネマブを皮下投与した際の薬物動態を評価することであった。

試験デザイン及び方法

本治験は，健康成人を対象とした単施設，無作為化，非盲検，並行群間試験である。皮下投与製剤は腹部に投与した。治験完了例として評価可能な被験者を少なくとも 24 例確保するため，18 歳から 65 歳までの健康な被験者 60 例（各群 30 例）を，静脈内投与群又は皮下投与群へ無作為に割り付けた。ただし，日本人被験者 5 例は，全て皮下投与群に割り付けた。

薬物動態パラメータ算出及び免疫原性の評価のため，治験薬投与前及び事前に規定した時刻に採血を行った。

結果

レカネマブ 10 mg/kg を静脈内投与（30 例）及び 700 mg 皮下投与（29 例）したときの平均血清中濃度推移を図 2.7.1-4 に，薬物動態パラメータの要約統計量を表 2.7.1-6 に示した。10 mg/kg 静脈内投与後は 2 時間（中央値）でピークに達し，C_{max} の平均値は 265 µg/mL であった。皮下投与後，レカネマブの血清中濃度は 72.2 時間（中央値）でピークに達し，C_{max} の平均値は 63.5 µg/mL であり，静脈内投与の C_{max} の約 4 分の 1 であった。静脈内投与と比較して皮下投与では，レカネマブの AUC は約半分であった。レカネマブの $t_{½}$は静脈内投与時と皮下投与時で同様であった（約 7 日）。日本人に皮下投与したところ，レカネマブの血清中濃度は 71.5 時間（中央値）でピークに達した。日本人及び非日本人に皮下投与したときの C_{max}，$AUC_{(0\text{-}inf)}$及び $t_{½}$の平均値は同様であった。

レカネマブ 700 mg 皮下投与時の絶対的バイオアベイラビリティは 49.74%（90%信頼区間：43.54%～56.83%）であった（表 2.7.1-7）。

静脈内投与と比較し，皮下投与後の t_{max} が延長し，C_{max} 及び AUC が低下したことは，1 時間の静脈内投与と比較して皮下投与後の血清中濃度の上昇が相対的に緩やかであり，またバイオアベイラビリティが低下したことを反映している。

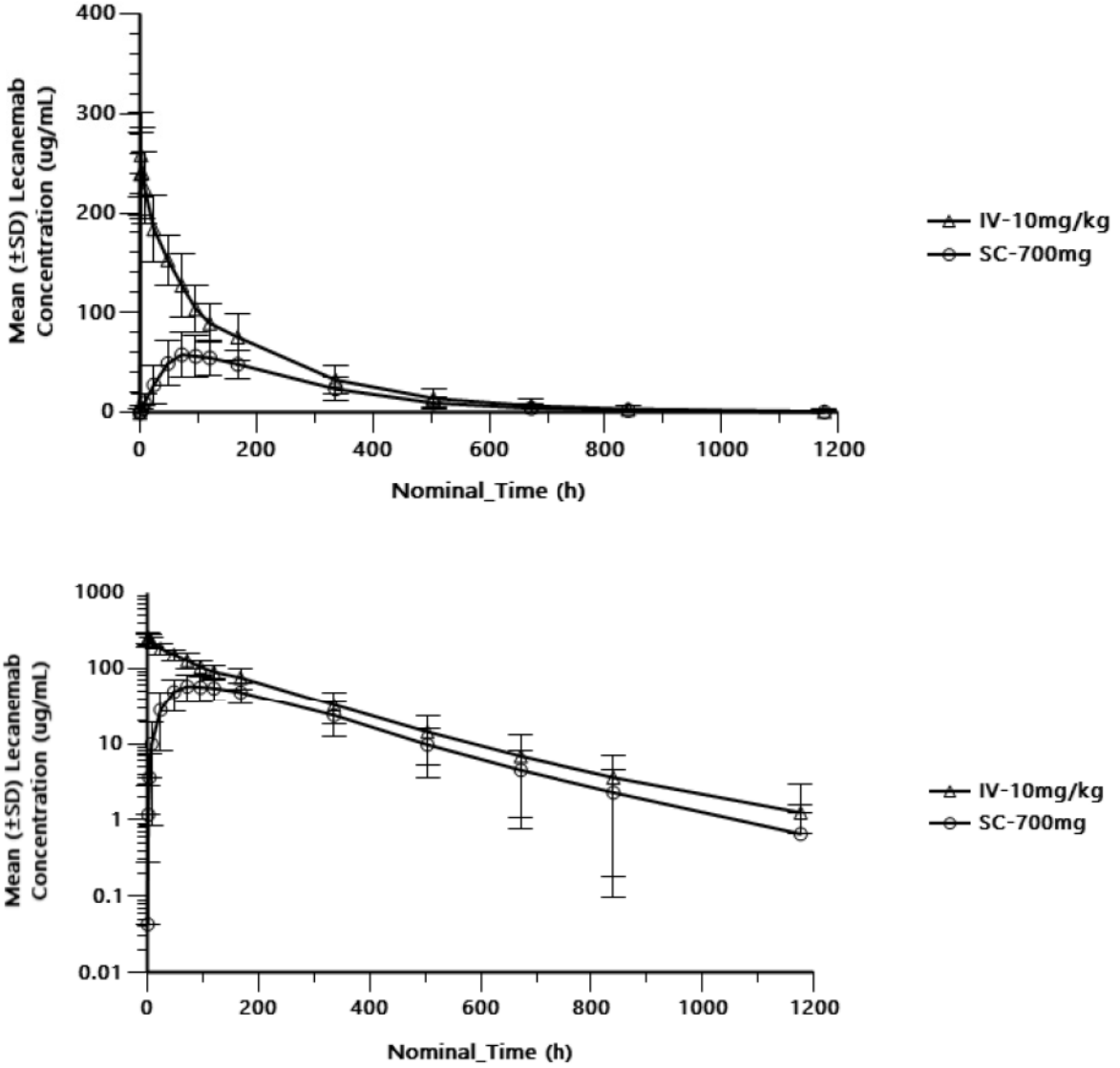


図 2.7.1-4　レカネマブ 10 mg/kg 静脈内投与及び 700 mg 皮下投与したときの平均血清中レカネマブ濃度推移（上図：線形表示，下図：片対数表示）（薬物動態解析対象集団，004 試験）

IV-10 mg/kg (n=30):　レカネマブ 10 mg/kg を約 1 時間かけて点滴静脈内投与した
SC-700 mg (n=29):　レカネマブ 700 mg 固定用量を腹部へ皮下投与した

（添付資料 5.3.1.1.1 の Figure 14.2.2.1 を引用）

表 2.7.1-6　レカネマブ 10 mg/kg 静脈内投与及び 700 mg 皮下投与したときのレカネマブの薬物動態パラメータ（薬物動態解析対象集団，004 試験）

Statistic	t_{max} (h)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{(0\text{-}inf)}$ (μg•h/mL)	$t_{1/2}$ (h)
	Intravenous Dose - 10 mg/kg			
n	30	30	30	30
Mean	2.27	265	37,400	167
SD	1.31	43.3	9710	49.1
CV%	57.8	16.3	26.0	29.5
Geometric Mean	2.05	262	36,300	160
Geometric CV%	44.6	16.4	24.8	29.2
Min	1.00	179	22,400	84.4
Median	2.00	264	35,300	153
Max	8.00	362	66,900	309
	Subcutaneous Dose - 700 mg			
n[a]	29	29	27	27
Mean	92.4	63.5	17,700	154
SD	35.5	22.4	5940	37.7
CV%	38.5	35.3	33.6	24.5
Geometric Mean	86.9	59.8	16,700	150
Geometric CV%	35.7	36.5	37.4	25.3
Min	47.5	33.8	8760	87.2
Median	72.2	58.7	20,200	150
Max	168	109	30,200	247

Intravenous Dose - 10 mg/kg:　レカネマブ 10 mg/kg を約 1 時間かけて点滴静脈内投与した
Subcutaneous Dose - 700 mg :　レカネマブ 700 mg 固定用量を腹部へ皮下投与した
a:　日本人被験者 5 例は，皮下投与群の合計 29 例に含まれる

（添付資料 5.3.1.1.1 の Table 14.2.3.1 を引用）

表 2.7.1-7　レカネマブ 700 mg 皮下投与の 10 mg/kg 静脈内投与に対する絶対的バイオアベイラビリティ（薬物動態解析対象集団，004 試験）

Parameter	N SC	N IV	GeoMean[a] SC	GeoMean[a] IV	Ratio (%)[b] (SC/IV)	90% CI [c] Lower	90% CI [c] Upper
$AUC_{(0\text{-}t)}$/Dose (μg•h/mL/mg)	29	30	24.1	46.9	51.41	44.95	58.80
$AUC_{(0\text{-}inf)}$/Dose (μg•h/mL/mg)	27	30	23.6	47.5	49.74	43.54	56.83

a:　Geometric Mean based on Least Squares Mean.
b:　Ratio (%) = Geometric Mean (SC)/Geometric Mean (IV).
c:　90% Confidence Interval.
The actual dose in mg for each subject form the IV group was used in the dose-normalization.

（添付資料 5.3.1.1.1 の Table 14.2.4.1 を引用）

結論

- レカネマブ皮下投与時の絶対的バイオアベイラビリティは 49.74%（90%信頼区間：43.54%～56.83%）であった。
- 皮下投与後約 72 時間で C_{max} に到達し，皮下投与後の C_{max} は，静脈内投与後と比較し約 4 分

の 1 であった。静脈内投与と比較して皮下投与では，レカネマブの AUC は約半分であった。当該結果は，1 時間の静脈内投与と比較して皮下投与後の血清中濃度の上昇が相対的に緩やかであり，またバイオアベイラビリティが低下したことを反映している。レカネマブの $t_{½}$ は静脈内投与時と皮下投与時で同様であった（約 7 日）。

- 日本人に皮下投与したときのレカネマブの薬物動態は，非日本人と同様であった。

2.7.1.3 全試験を通しての結果の比較と解析

現在，レカネマブの静脈内投与製剤及び皮下投与製剤の開発を行っているが，本申請では静脈内投与製剤を承認申請する。レカネマブを静脈内又は皮下投与した場合，食事による暴露への影響はないと考えられるため，食事による薬物動態に及ぼす影響を検討する試験は実施しなかった。

<u>レカネマブの製造方法の比較</u>

製造方法について，臨床試験用と市販用では，セルバンク，製造工程及び処方において違いがある。表 2.7.1-2 に示したとおり，臨床開発において，治験薬の製造には 3 つの製造方法が用いられた。3 つの製造方法により製造した薬剤は，物理化学的及び生物学的特性について，同等／同質であることが十分に特性解析されている。さらに，プロセス B-1 及びプロセス C-1 で製造された製剤と初期に製造されたプロセス A-1 を投与したときのレカネマブの薬物動態を比較した結果を以下に示す。

201 試験及び 301 試験において，プロセス A-1 製剤又はプロセス B-1 製剤を用いてレカネマブ 10 mg/kg 隔週投与したときの定常状態における血清中レカネマブ濃度推移を図 2.7.1-5 に示す。レカネマブの血清中濃度はプロセス A-1 製剤とプロセス B-1 製剤間で同様であることが示された。

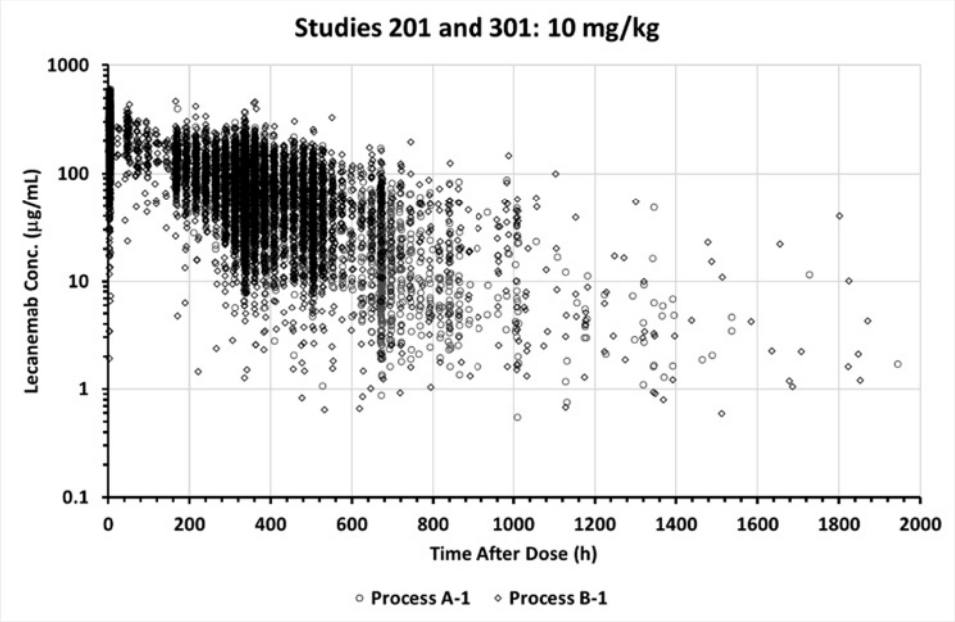


図 2.7.1-5　201 試験及び 301 試験におけるプロセス A-1 製剤又はプロセス B-1 製剤を用いてレカネマブ 10 mg/kg 隔週投与したときの定常状態における血清中レカネマブ濃度推移

（添付資料 5.3.3.5.1 の Figure 2 を引用）

101 試験，104 試験，201 試験 Core 及び OLE 並びに 301 試験 Core 及び OLE のデータを用いた母集団薬物動態解析により，プロセス A-1 製剤及びプロセス B-1 製剤の相対的バイオアベイラビリティを評価した。10 mg/kg 隔週投与後の定常状態におけるプロセス A-1 に対するプロセス B-1 の AUC 及び C_{max} の比はそれぞれ 90%（90%信頼区間：88%～93%），90%（90%信頼区間：89%～92%）であった。相対的バイオアベイラビリティの信頼区間は生物学的同等性の基準である 80%～125%の範囲内であった（添付資料 5.3.3.5.1 の 9.3 項）。

101 試験の SAD 5 コホートでプロセス A-1 製剤，004 試験でプロセス C-1 製剤をそれぞれ用いてレカネマブ 10 mg/kg 単回静脈内投与したときの両製剤間の薬物動態パラメータに大きな違いはなく，両製剤間のレカネマブの暴露は同程度であった（表 2.7.1-8）。

表 2.7.1-8　プロセス A-1 製剤及びプロセス C-1 製剤を用いたレカネマブ 10 mg/kg 単回静脈内投与時の薬物動態パラメータ

PK Parameter	Process A-1	Process C-1
	Study 101 Cohort SAD 5	Study 004 Intravenous Dose
N	6	30
C_{max} (µg/mL)	264 (32.4)	265 (43.3)
t_{max} (h)	2.00 (1.23, 5.13)	2.00 (1.00, 8.00)
$AUC_{(0\text{-}inf)}$ (µg•h/mL)	38000 (7340)	37400 (9710)
$t_{½}$ (h)	165 (45.5)	167 (49.1)

表中の数値は平均値（標準偏差）を示す。ただし t_{max} は中央値（最小値，最大値）を示す。
（添付資料 5.3.4.2.1 の Table 15 及び添付資料 5.3.1.1.1 の Table 10 を引用）

市販予定のレカネマブ製剤は，臨床試験で使用された製剤とは異なり，プロセス C-2 で製造される予定である（表 2.7.1-2）。2.3.S.2.6.4 項及び 2.3.P.2.3.3 項に示すように，ICH Q5E に基づき，治験薬及び市販製剤の分析における類似性が確認されている。これらの結果及び開発中に用いた異なる製造方法による製剤から得た薬物動態の評価により，異なる製造方法による製剤間のレカネマブの薬物動態は同様であることが示唆された。

2.7.1.4 付録

2.7.1.4.1 ヒト血清中レカネマブ濃度測定法要約

	Method Validation #1	Method Validation #2	Method Validation #3
Analyte	Lecanemab	Lecanemab	Lecanemab
Validation type	Full	Full	Partial
eCTD reference number	5.3.1.4	5.3.1.4	5.3.1.4
Method ID	tcam-040 (Report No. tcar10-120)	btm-1425-r0 (Report No. eis-r1696, eis-r1696a1)	btm-1425-r3 (Report No. eis-r1696a2, eis-r1696a3, eis-r1696a4)
Duration of time method is in use	[redacted]	[redacted]	[redacted]
Bioanalytical site	[redacted] SA	[redacted]	[redacted]
Matrix	Human Serum		
Platform	ELISA	LC-MS/MS	
Format	In the method, the amount of exogenously administered BAN2401 in human serum samples was measured by an ELISA	Method btm-1425-r0 was an immunopurification and LC-MS/MS method for the determination of BAN2401 in human serum. Peptide HT9 was monitored as a surrogate of BAN2401 for quantitation. [redacted] was used as the internal standard (IS) and the tryptic digest peptide [redacted] (amino acid sequence) was monitored as a surrogate for [redacted] (IS)	
Stock reference, lot number, expiration date	Biotinylated protofibrils by Eisai, Inc., Lot# E090407, (expiry date not available); BAN2401 by Eisai, Inc., Lot# [redacted]	BAN2401 by Eisai, Lot# [redacted] (Aug 20[redacted]); [redacted] by Eisai, Lot# W0005265 ([redacted] 20[redacted])	BAN2401 by Eisai, Lot# [redacted] ([redacted] 20[redacted]); [redacted] by Eisai, Lot# 13-0092-D-ARS ([redacted] 20[redacted])
Calibration range from the lower limit of quantitation (LLOQ) to the upper limit of quantitation (ULOQ)	6.00 to 75.0 µg/mL	0.500 to 150 µg/mL	0.500 to 150 µg/mL
Matrix study population	Normal or AD	Normal or AD	Normal
Link to reports and applicable amendments	tcar10-120 ([redacted] 20[redacted])	eis-r1696 ([redacted] 20[redacted]) eis-r1696a1 ([redacted] 20[redacted])	eis-r1696a2 [redacted] 20[redacted]) eis-r1696a3 ([redacted] 20[redacted]) eis-r1696a4 ([redacted] 20[redacted])

2.7.1.4.1 ヒト血清中レカネマブ濃度測定法要約

	Method Validation #1	Method Validation #2	Method Validation #3
Synopsis of amendment history	NA	NA	NA

AD = Alzheimer's disease, ID = identification, eCTD = electronic common technical document, ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, LC-MS/MS = liquid chromatography and tandem mass spectrometry, NA = not applicable, PK = pharmacokinetic.
Source: tcar10-120, eis-r1696, eis-r1696a1, eis-r1696a2, eis-r1696a3, eis-r1696a4.

2.7.1.4.1.1 ヒト血清中レカネマブ濃度測定法要約

	Clinical Study #1 BAN2401-A001-101	Clinical Study #1 BAN2401-A001-101	Clinical Study #2 BAN2401-J081-104	Clinical Study #3 BAN2401-G000-201 Core	Clinical Study #4 BAN2401-G000-201 OLE Phase
Analyte	Lecanemab	Lecanemab	Lecanemab	Lecanemab	Lecanemab
Validation type	In-study	In-study	In-study	In-study	In-study
eCTD reference number	5.3.1.4	5.3.1.4	5.3.1.4	5.3.1.4	5.3.1.4
Method ID	tcam-040	btm-1425-r0	btm-1425-r0	btm-1425-r0 btm-1425-r1	btm-1425-r3
Duration of time method is in use	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
Bioanalytical site	[redacted] USA	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
Matrix	Human Serum				
Platform	ELISA	LC-MS/MS			
Format	In the method, the amount of exogenously administered BAN2401 in human serum samples was measured by an ELISA	An immunopurification and LC-MS/MS method for the determination of BAN2401 in human serum. The tryptic digest peptide of BAN2401, HT9 was monitored as a surrogate for BAN2401. [redacted] was used as the internal standard (IS) and the tryptic digest peptide of [redacted] (amino acid sequence) was monitored as a surrogate.			
Stock reference, lot number, expiration date	BAN2401 by Eisai Inc., Lot# [redacted] (Retest date: [redacted]) Human Serum by [redacted] Lot# (N016-009): BRH362230, and BRH362279, ([redacted])	BAN2401 by Eisai Inc, Lot# [redacted] (Retest date: [redacted]) [redacted] by [redacted] Lot# W0005265 (Retest date: [redacted]) Human serum from [redacted] Lot# BRH486716, BRH486717, BRH486718, BRH486719, BRH486720, and BRH486721.	BAN2401 by Eisai Co., Ltd., Lot# [redacted]) [redacted] by [redacted] Inc., Lot# W0005265 (Retest date: [redacted])	BAN2401 by Eisai/[redacted] Lot# [redacted]) [redacted] by Eisai/[redacted] Lot# W0005265 ([redacted])	BAN2401 by Eisai, Lot# [redacted]) [redacted] by Eisai, Lot# 13-0092-D-ARS ([redacted])

2.7.1.4.1.1 ヒト血清中レカネマブ濃度測定法要約

	Clinical Study #1 BAN2401-A001-101	Clinical Study #1 BAN2401-A001-101	Clinical Study #2 BAN2401-J081-104	Clinical Study #3 BAN2401-G000-201 Core	Clinical Study #4 BAN2401-G000-201 OLE Phase
Calibration range from the lower limit of quantitation (LLOQ) to the upper limit of quantitation (ULOQ)	6.00 to 75.0 µg/mL	0.50 to 10 µg/mL	0.50 to 150 µg/mL	0.50 to 150 µg/mL	0.50 to 150 µg/mL
Matrix study population	Subjects with mild to moderate AD	Subjects with mild to moderate AD	Subjects with mild cognitive impairment due to AD and mild AD	Subjects with early AD	Subjects with early AD
Link to reports and applicable amendments	tcar10-048 ([redacted] 20[redacted])	eis-r1760 ([redacted] 20[redacted])	eis-r2740 ([redacted] 20[redacted])	eis-r3653r1 ([redacted] 20[redacted])	110-r10679 ([redacted] 20[redacted]) 110-r10679a1 ([redacted] 20[redacted])
Synopsis of amendment history	NA	NA	NA	NA	NA

AD = Alzheimer's disease, CSR = clinical study report, eCTD = electronic common technical document, ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, ID = identification, IS = internal standard, LC-MS/MS = liquid chromatography and tandem mass spectrometry, LLOQ = lower limit of quantitation, NA = not applicable, OLE = open-label extension, PK = pharmacokinetic, ULOQ = upper limit of quantitation.
Source: tcar10-048, eis-r1760, eis-r2740, eis-r3653r1, 110-r10679, 110-r10679a1.

2.7.1.4.1.2 ヒト血清中レカネマブ濃度測定法要約

	Clinical Study #5 BAN2401-A001-004	Clinical Study #6 BAN2401-G000-301 Core and OLE Phase
Analyte	Lecanemab	Lecanemab
Validation type	In-study	In-study
eCTD reference number	5.3.1.4	5.3.1.4
Method ID	btm-1425-r3	btm-1425-r3
Duration of time method is in use	[redacted]	[redacted]
Bioanalytical site	[redacted]	[redacted]
Matrix	Human Serum	Human Serum
Platform	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Format	An immunopurification and LC-MS/MS method for the determination of BAN2401 in human serum. The tryptic digest peptide of BAN2401, HT9 was monitored as a surrogate for BAN2401. [redacted] was used as the internal standard (IS) and the tryptic digest peptide of [redacted] (amino acid sequence) was monitored as a surrogate.	
Stock reference, lot number, expiration date	BAN2401 by Eisai Co., Ltd., Lot# [redacted] [redacted] 13-0092-D-ARS, [redacted]	BAN2401 by Eisai Co., Ltd., Lot# [redacted] [redacted] by Eisai Co., Ltd., Lot# 13-0092-D-ARS, [redacted]
Calibration range from the lower limit of quantitation (LLOQ) to the upper limit of quantitation (ULOQ)	0.500 to 150 µg/mL	0.500 to 150 µg/mL
Matrix study population	Healthy subjects	Subjects with early AD
Link to reports and applicable amendments	110-r12282 ([redacted])	110-r10680 ([redacted])
Synopsis of amendment history	NA	NA

AD = Alzheimer's disease, eCTD = electronic common technical document, ID = identification, LLOQ = lower limit of quantitation, NA = not applicable, PK = pharmacokinetic, ULOQ = upper limit of quantitation.
Source: 110-r10680, 110-r12282.