目次

1. 背景及び概観 7
1.1 緒言 7
1.2 製剤開発過程 7
1.3 ヒト血漿中エプコリタマブの定量に用いた分析法 9
1.3.1 SMCIA-139 法 11
1.3.2 ECLIA-139 法 12
1.3.3 クロスバリデーション 13
1.4 ヒト血漿中及び血清中の抗エプコリタマブ抗体の検出に用いた分析法 14
1.4.1 エプコリタマブの免疫原性評価手順 15
2. 個々の試験結果の要約 19
2.1 01 試験：A Phase 1/2, Open-Label, Dose- Escalation Trial of Epcoritamab in Patients with Relapsed, Progressive or Refractory B-Cell Lymphoma 19
2.2 04 試験：Safety and Preliminary Efficacy of Epcoritamab (GEN3013; DuoBody®-CD3xCD20) in Japanese Subjects with Relapsed or Refractory (R/R) B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma (B-NHL) - A Phase 1/2, Open-Label, Dose-Escalation Trial with Expansion Cohorts 20
3. 全試験を通しての結果の比較と解析 20
3.1 投与された製剤処方別（市販予定処方製剤及び治験用処方製剤）の有効性及び安全性の比較 20
3.2 ヒト血漿中エプコリタマブの定量に用いた分析法の比較 22
4. 参考文献 23
5. 付録 25
5.1 生体試料分析法に関する結果の要約 25

表目次

Table 1 エプコリタマブ 4 mg 製剤の組成 8
Table 2 エプコリタマブ 48 mg 製剤の組成 8
Table 3 ヒト血漿中エプコリタマブ濃度の分析法別の検体数 10
Table 4 ヒト血漿中エプコリタマブ濃度の分析法 10
Table 5 ヒト血漿中及び血清中の抗エプコリタマブ抗体の分析法 15
Table 6 投与された製剤処方別の有効性の比較 （01 試験、用量拡大パート、aNHL コホート、FAS） 21
Table 7 投与された製剤処方別の安全性の比較 （01 試験、用量拡大パート、aNHL コホート、安全性解析対象集団） 22
Table 8 エプコリタマブの PK 評価に用いた分析法のライフサイクル 25

Table 9　SMCIA-139 法の要約 27
Table 10　ECLIA-139 法の要約 29
Table 11　エプコリタマブの PK 評価に用いた分析法の変更点及びクロスバリデーションの結果 33
Table 12　エプコリタマブの免疫原性評価に用いた分析法のライフサイクル 34
Table 13　ヒト血漿中 ADA 分析法のバリデーション 37
Table 14　ヒト血清中 ADA 分析法のバリデーション 39

図目次

Figure 1　SMCIA-139 法の模式図 11
Figure 2　ECLIA-139 法の模式図 12
Figure 3　エプコリタマブの免疫原性評価のフローチャート 16
Figure 4　スクリーニング検査及び力価測定（01 試験）の模式図 17
Figure 5　確認検査の模式図 18
Figure 6　3005a アームに対する力価測定（04 試験） 18
Figure 7　3001d アームに対する力価測定（04 試験） 19

略語・略号一覧

略語・略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
aNHL	aggressive B-cell non-Hodgkin lymphoma	アグレッシブ B 細胞性非ホジキンリンパ腫
B-NHL	B-cell non-Hodgkin lymphoma	B 細胞性非ホジキンリンパ腫
CTF	clinical trial formulation	治験用処方製剤
DLBCL	diffuse large B-cell lymphoma	びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫
ECL	electrochemiluminescence	電気化学発光
ECLIA	electrochemiluminescence immunoassay	電気化学発光免疫測定法
Fab	antigen-binding fragment	-
Fc	fragment crystallizable	-
FcRn	neonatal Fc receptor	胎児性 Fc 受容体
FcγR	Fc gamma receptor	Fcγ 受容体
GMP	Good Manufacturing Practice	医薬品の製造管理及び品質管理に関する基準
IgG1	immunoglobulin G1	免疫グロブリン G1
iNHL	indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma	インドレント B 細胞性非ホジキンリンパ腫
ISR	incurred sample reanalysis	-
LBCL	large B cell lymphoma	大細胞型 B 細胞リンパ腫
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
LPC	low positive control	-
mAb	monoclonal antibody	モノクローナル抗体
MCL	mantle cell lymphoma	マントル細胞リンパ腫
NHL	non-Hodgkin lymphoma	非ホジキンリンパ腫
PK	pharmacokinetics	薬物動態
QC	quality control	品質管理
SMCIA	single molecule counting immunoassay	1 分子カウント免疫アッセイ
TMF	to-be-marketed formulation	市販予定処方製剤
ULOQ	upper limit of quantification	定量上限

用語の定義一覧

用語	定義
試験の表記	本書では治験実施計画書番号を以下の略称記載とした。 01 試験：GCT3013-01 試験 04 試験：GCT3013-04 試験
薬剤名の表記	本書では薬剤名は一般名（JAN）をカタカナで記載した。なお、エプコリタマブ（遺伝子組換え）は、本書ではエプコリタマブと略称記載とした。

要旨

本概要ではエプコリタマブの製剤開発過程並びに本申請の裏付けとなる臨床試験で薬物動態（pharmacokinetics、PK）及び免疫原性の評価に用いた生体試料分析法を示す。本申請の裏付けとなる臨床試験では、再発又は難治性の大細胞型 B 細胞リンパ腫（large B cell lymphoma、LBCL）を有する成人患者と再発又は難治性の濾胞性リンパ腫（Grade 3B）を有する成人患者を対象とした。エプコリタマブは CD3 及び CD20 を標的とする二重特異性抗体である。免疫グロブリン G1（immunoglobulin G1、IgG1）構造及びヒト IgG1 に特徴的な生化学的特性を有するが、そのエフェクター機能は fragment crystallizable（Fc）領域への変異導入によって抑制されている。

製剤開発過程

- エプコリタマブは皮下注射用製剤であり、4 mg 製剤（5 mg/mL）及び 48 mg 製剤（60 mg/mL）が提供される。まず 4 mg 製剤を開発し、GCT3013-01 試験（01 試験）の高用量コホート用に 48 mg 製剤を開発した。GCT3013-04 試験（04 試験）開始時にはいずれの製剤も使用可能であった。プライミングドーズ 0.16 mg 及び中間ドーズ 0.8 mg の投与には 4 mg 製剤を希釈して用い、フルドーズ 48 mg の投与には 48 mg 製剤を用いる。
- エプコリタマブ製剤は、30 mM 酢酸緩衝液、150 mM ソルビトール、及び 0.04%ポリソルベート 80 を含む pH 5.5 の製剤である。ポリソルベート 80 は、不溶性微粒子の形成抑制を目的として臨床試験実施中に追加された。
- 臨床開発中に、中間体である 3001d 及び 3005a、並びにエプコリタマブの原薬及び製剤の製造を新たな製造拠点に移管し、市販予定製剤の製造のために製造工程を最適化してスケールアップした。01 試験の用量拡大パート実施中に製造移管後の市販予定製剤を導入したため、市販予定製剤を使用したときの PK、有効性、及び安全性のデータも本申請データに含まれている。異なる製造拠点で製造した製剤間で品質の同等性／同質性が確認されている。

生体試料分析法

- 01 試験の用量漸増パートで最低用量レベルのエプコリタマブを投与したときの検体でエプコリタマブ濃度を測定するために 1 分子カウント免疫アッセイ（single molecule counting immunoassay、SMCIA）-139 法を開発し、バリデートした。
- 01 試験の用量拡大パート及び 04 試験の全検体、並びに 01 試験の用量漸増パートで高用量（3 mg 以上のフルドーズ）のエプコリタマブを投与したときの検体でエプコリタマブ濃度を測定するために電気化学発光免疫測定法（electrochemiluminescence immunoassay、ECLIA）-139 法を開発し、バリデートした。
- 01 試験及び 04 試験で採取した PK 評価用検体の大部分（約 89%）に対して ECLIA-139 法を用いた。なお、01 試験の用量拡大パート及び 04 試験で採取した全ての PK 評価用検体に対して ECLIA-139 法を用いた。
- 一部重複した濃度範囲で SMCIA-139 法と ECLIA-139 法のクロスバリデーションを実施した結果、両分析法で一貫した結果は得られなかった。エプコリタマブの母集団薬物動態最終モデルの感度分析を実施した結果、SMCIA-139 法で測定した PK データを除外しても、

ほとんど影響がないことが確認された。したがって、ECLIA-139 法で測定した PK データのみを本申請に含めた。

- 01 試験（用量漸増パート及び用量拡大パート）で採取したヒト血漿検体中の抗エプコリタマブ抗体を検出して評価するために免疫原性分析法を開発し、バリデートした。この分析法では、スクリーニング検査、確認検査、及び力価測定を段階的に実施した。その後、パーシャルバリデーションを実施し、感度及び low positive control（LPC）濃度を決定した。
- 細胞を用いた中和抗体分析法のマトリックスとして血漿では限界があったため、04 試験以降の臨床試験では免疫原性分析用のマトリックスを血清に変更した。したがって、ヒト血清検体中の抗エプコリタマブ抗体を検出して評価するために新たな免疫原性分析法を開発し、バリデートした。この新たな分析法でもスクリーニング検査、確認検査、及び力価測定を段階的に実施した。なお、力価はエプコリタマブの抗原結合部位別に測定した。
- 抗エプコリタマブ抗体陽性であった被験者数が少なかったため、01 試験及び 04 試験でエプコリタマブに対する中和抗体は評価しなかった。

1. 背景及び概観

1.1 緒言

悪性リンパ腫は、リンパ組織由来細胞の悪性転化を特徴とする疾患である。リンパ腫はホジキンリンパ腫と非ホジキンリンパ腫（non-Hodgkin lymphoma、NHL）に分類される。悪性リンパ腫の大部分（90%超）はB細胞由来であり、T細胞由来は10%未満、ナチュラルキラー細胞由来は稀である。B細胞性リンパ腫の主な治療法は化学療法であり、多くは併用療法が用いられてきている。また、一次治療として抗CD20モノクローナル抗体（monoclonal antibody、mAb）が単剤又は化学療法との併用で用いられている。

エプコリタマブは、T細胞抗原CD3とB細胞抗原CD20を標的とする二重特異性抗体である。エプコリタマブは、標的となるT細胞上のCD3とB細胞又は腫瘍細胞上のCD20に同時に結合し、T細胞の活性化及び細胞傷害活性を誘導することで、標的細胞を死滅させる。エフェクター細胞としてT細胞が関与し、CD20陽性B細胞及び腫瘍細胞を死滅させる。これは、抗体依存性細胞傷害、抗体依存性細胞貪食、補体依存性細胞傷害、及びプログラム細胞死などのFc介在性エフェクター機能を介して細胞傷害を誘導する従来の抗CD20 mAbとは異なる、新しい作用機序の薬剤である。

エプコリタマブはGenmab社独自のDuoBody®技術を用いて生成される二重特異性抗体であり、IgG1構造及びヒトIgG1に特徴的な生化学的特性を有する。したがって、IgG1と同様に胎児性Fc受容体（neonatal Fc receptor、FcRn）と結合するため、IgG1に典型的な比較的長い血漿中濃度半減期を示す。また、エプコリタマブのFc領域は、Fc領域を介したエフェクター機能を抑制するように改変されている。したがって、Fcγ受容体（Fc gamma receptor、FcγR）を介したCD3への架橋によってT細胞を活性化させることはないが、FcRnへの結合能は保たれている。

1.2 製剤開発過程

エプコリタマブはCD3及びCD20を標的とする二重特異性抗体である。IgG1構造及びヒトIgG1に特徴的な生化学的特性を有するが、そのエフェクター機能はFc領域への変異導入によって抑制されている。エプコリタマブ原薬は、コントロール下でantigen-binding fragment（Fab）アームを交換するDuoBody®技術によって、3001d（IgG1-anti-CD20-FEAR）及び3005a（IgG1-anti-CD3-FEAL）の2種類の抗体（中間体）から生成される。これらの中間体の構造を3.2.S.1.2「Structure-3001d」及び3.2.S.1.2「Structure-3005a」に、エプコリタマブの構造を3.2.S.1.2「Structure-epcoritamab DS」に示した。

臨床開発中に、中間体である3001d及び3005a、並びにエプコリタマブの原薬及び製剤の製造を新たな製造拠点に移管し、市販予定製剤の製造のために製造工程を最適化してスケールアップした。製造工程の開発の詳細を3.2.S.2.6「Process Development History-3001d」及び3.2.S.2.6「Process Development History-3005a」に示した。なお、異なる製造拠点で製造した中間体間で品質の同等性／同質性が確認されている（3.2.S.2.6「Analytical Comparability Study-3001d」、3.2.S.2.6「Analytical Method Transfer-3001d」、3.2.S.2.6「Analytical Comparability Study-3005a」、3.2.S.2.6「Analytical Method Transfer-3005a」）。

開発当初はエプコリタマブ原薬を[redacted]社で製造した（DS プロセス 1）。DS プロセス 1 の初期のバッチは 30 mM 酢酸緩衝液及び 150 mM ソルビトールを含有した（pH 5.5）が、01 試験の用量漸増パート実施中に不溶性微粒子の形成抑制を目的としてポリソルベート 80 が追加され、その後のバッチは 30 mM 酢酸緩衝液、150 mM ソルビトール、及び 0.04%ポリソルベート 80 を含有した（pH 5.5）。その後、スケールアップして[redacted]社に移管した［DS プロセス 2（市販予定製剤の製造プロセス）］。DS プロセス 1 と DS プロセス 2 の相違点の詳細を 3.2.S.2.6「Process Development History-epcoritamab DS」に示した。異なる製造拠点で製造したエプコリタマブ原薬間で品質の同等性／同質性が確認されている（3.2.S.2.6「Analytical Comparability Study-epcoritamab DS」、3.2.S.2.6「Analytical Method Transfer-epcoritamab DS」）。

エプコリタマブ製剤として 4 mg 製剤（5 mg/mL）及び 48 mg 製剤（60 mg/mL）が提供され、有効成分であるエプコリタマブの濃度以外の組成は同じである。エプコリタマブ 4 mg 製剤及び 48 mg 製剤の組成を Table 1 及び Table 2 に示す。

Table 1　**エプコリタマブ 4 mg 製剤の組成**

Ingredients	Quantity per mL	Function	Quality Standard
Epcoritamab	5.0 mg	Active ingredient	In house
Sodium acetate trihydrate	3.53 mg	Buffering agent	USP-NF/Ph.Eur./JP
Acetic acid, glacial	0.24 mg	Buffering agent	USP-NF/Ph.Eur./JP
D-Sorbitol	27.3 mg	Tonicifier	USP-NF/Ph.Eur./JP
Polysorbate 80	0.4 mg	Surfactant	USP-NF/Ph.Eur./JP
Water for injection	add 1.00 mL	Solvent	USP-NF/Ph. Eur./JP

Abbreviations: JP = Japanese Pharmacopoeia; Ph.Eur. = European Pharmacopoeia; USP-NF = The United States Pharmacopeia-National Formulary.

Table 2　**エプコリタマブ 48 mg 製剤の組成**

Ingredients	Quantity per mL	Function	Quality Standard
Epcoritamab	60.0 mg	Active ingredient	In house
Sodium acetate trihydrate	3.53 mg	Buffering agent	USP-NF/Ph.Eur./JP
Acetic acid, glacial	0.24 mg	Buffering agent	USP-NF/Ph.Eur./JP
D-Sorbitol	27.3 mg	Tonicifier	USP-NF/Ph.Eur./JP
Polysorbate 80	0.4 mg	Surfactant	USP-NF/Ph.Eur./JP
Water for injection	add 1.00 mL	Solvent	USP-NF/Ph. Eur./JP

Abbreviations: JP = Japanese Pharmacopoeia; Ph.Eur. = European Pharmacopoeia; USP-NF = The United States Pharmacopeia-National Formulary.

まずエプコリタマブ 4 mg 製剤を開発し、臨床用量範囲に基づき、01 試験での高用量コホート用に 48 mg 製剤を開発した。04 試験開始時にはいずれの製剤も使用可能であり、01 試験のピボタルな用量拡大パートではいずれの製剤も使用された。

エプコリタマブ製剤は皮下注射用製剤であり、市販予定製剤の各バイアルの容量は 0.8 mL である。プライミングドーズ 0.16 mg 及び中間ドーズ 0.8 mg の投与にはエプコリタマブ 4 mg 製剤を 0.9%生理食塩液で用時希釈して用いる。フルドーズ 48 mg の投与にはエプコリタマブ 48 mg 製剤を用いる。エプコリタマブ製剤の詳細を 3.2.P.2.2「Drug Product」に示した。

初期の GMP 製剤ロットは[redacted]社で製造した（DP プロセス 1）。その後スケールアップして[redacted]社に移管した［DP プロセス 2（市販予定製剤の製造プロセス）］。

DP プロセス 1 では、4 mg 製剤（5 mg/mL）及び 48 mg 製剤（60 mg/mL）のいずれも、[redacted]、[redacted]及び[redacted]製造し、全数目視検査を実施した。

[redacted]に移管する際に、設備、充填工程、及び充填量を変更した。4 mg 製剤（5 mg/mL）の製造工程を変更し、[redacted]工程を追加した。この[redacted]工程を除き、4 mg 製剤及び 48 mg 製剤の製造工程は同じである。DP プロセス 1 と DP プロセス 2 の差異を 3.2.P.2.3「Manufacturing Process Development」Table 2 に示した。

異なる製造拠点で製造したエプコリタマブ製剤間で、製剤特性に基づく品質の同等性／同質性が確認されている（3.2.P.2.3「Manufacturing Process Development」）。

01 試験の用量拡大パート実施中に DP プロセス 2 で製造した市販予定製剤を導入したため、市販予定製剤を使用したときの PK、有効性、及び安全性のデータは本申請データに含まれている。一部の被験者には DP プロセス 1 及び DP プロセス 2 で製造したエプコリタマブ製剤の両方が投与された。

各製剤バッチで使用した原薬及び中間体のロットを 3.2.P.2.3「Manufacturing Process Development」に示した。

1.3　ヒト血漿中エプコリタマブの定量に用いた分析法

エプコリタマブ投与後の PK 評価のために、2 種類の分析法（SMCIA-139 法及び ECLIA-139 法）を用いてヒト血漿中エプコリタマブ（CD3 又は CD20 に結合していない遊離型）を定量した（Table 8）。これらの分析法の概略を 1.3.1 項及び 1.3.2 項に示す。

01 試験及び 04 試験で採取した PK 評価用検体の大部分（約 89%）に対して ECLIA-139 法を用いた。なお、01 試験の用量拡大パート及び 04 試験で採取した全ての PK 評価用検体に対して ECLIA-139 法を用いた。分析法別の検体数を Table 3 に示す。本申請に含まれる臨床試験で用いた分析法を Table 4 及び Table 8 に示す。

Table 3　ヒト血漿中エプコリタマブ濃度の分析法別の検体数

Full Dose Cohort	Number of Samples		Percent of Samples	
	SMCIA-139	ECLIA-139	SMCIA-139	ECLIA-139
GCT3013-01 Escalation				
0.0128 mg	15	0	100.0	0
0.04 mg	38	0	100.0	0
0.12 mg	160	0	100.0	0
0.38 mg	33	0	100.0	0
0.76 mg	203	17	92.3	7.7
1.5 mg	121	6	95.3	4.7
3 mg	122	176	40.9	59.1
6 mg	126	175	41.9	58.1
12 mg	112	238	32.0	68.0
24 mg	97	327	22.9	77.1
48 mg	60	365	14.1	85.9
60 mg	0	157	0	100.0
GCT3013-01 Expansion				
48 mg	0	5806	0	100.0
GCT3013-04				
24 mg	0	106	0	100.0
48 mg	0	1178	0	100.0
Total	1087	8551	11.3	88.7

Source: [2.7.2-Table 2]

Table 4　ヒト血漿中エプコリタマブ濃度の分析法

Assay	Analyte	Method	Matrix	Testing Facility	Validation Report Number	Used in Trial	Outline
PK	Epcoritamab	SMCIA-139	Human K_2EDTA plasma	[redacted] The Netherlands	[redacted]125EL-171253-B (5.3.1.4-1) and [redacted]125EL-171253-B Am01 (5.3.1.4-2)	Dose Escalation Part of GCT3013-01 trial: ·Main assay for PK samples from subjects who received full dose ≤1.5 mg. ·Also used for PK samples collected following priming and intermediate doses.	1.3.1 項
PK	Epcoritamab	ECLIA-139	Human K_2EDTA plasma	[redacted] USA	[redacted]20420-20420X-B (5.3.1.4-8) and [redacted]20420-20420X-B Am01 (5.3.1.4-9)	Dose Escalation Part of GCT3013-01 trial: ·Main assay for PK samples from subjects who received full dose ≥3 mg. Expansion Part of GCT3013-01 trial GCT3013-04 trial	1.3.2 項

Abbreviations: K_2EDTA = dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid.

エプコリタマブ臨床試験実施中に、もう 1 つの分析法として ECLIA-101 法を開発し、バリデートしたが、ECLIA-101 法を用いたデータは本申請に含まれていない。ECLIA-101 法では、SMCIA-139 法及び ECLIA-139 法とは異なる捕捉抗体を用いた。01 試験の用量漸増パート全体で一貫性を保つため、ECLIA-101 法を用いた PK 評価用検体を ECLIA-139 法で再分析した。

エプコリタマブの定量に用いた全ての生体試料分析法の開発及びバリデートは、関連する規制ガイダンス（SMCIA-139 法では European Medicines Agency, 2012 及び Food and Drug Administration, 2001、ECLIA 法では Food and Drug Administration, 2018）及び文献（DeSilva et al, 2003、Findlay et al, 2000、Kelley et al, 2007、Viswanathan et al, 2007、Stevenson et al, 2014）に基づいた。

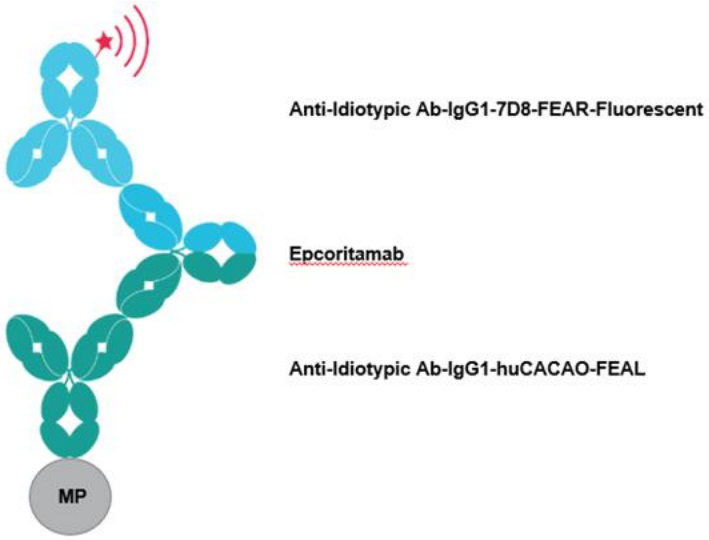
01 試験の用量漸増パートではエプコリタマブの定量に 2 種類の分析法を用いたため、クロスバリデーションを実施した。クロスバリデーションの結果を 1.3.3 項に示す。

1.3.1　SMCIA-139 法

SMCIA-139 法は、ヒト血漿中のエプコリタマブを定量する蛍光サンドイッチ免疫測定法である。SMCIA-139 法の模式図を Figure 1 に示す。

01 試験の用量漸増パートで、1.5 mg 以下のプライミングドーズ、中間ドーズ、及びフルドーズを投与したときに採取した検体に対して、SMCIA-139 法を用いてエプコリタマブ濃度を測定した（Table 3）。

Figure 1　SMCIA-139 法の模式図



Abbreviations: Ab = antibody; FEAL = L234F, L235E and D265A inertness, F405L DuoBody mutations; FEAR = L234F, L235E and D265A inertness, K409R DuoBody mutations; MP = microparticle.

SMCIA-139 法では、エプコリタマブのイディオタイプ（IgG1-huCACAO-FEAL）に対する微粒子結合捕捉抗体にエプコリタマブが結合する。次いでエプコリタマブのイディオタイプ（IgG1-7D8-FEAR）に対する蛍光標識検出抗体が、捕捉されたエプコリタマブ分子に結合する。その

後、溶出ステップでエプコリタマブ、微粒子結合捕捉抗体、及び蛍光標識検出抗体の相互作用を解離させ、Erenna システムを用いて蛍光分子を検出する。検出された蛍光分子数は、検体中のエプコリタマブ分子数に対応する。

バリデーションの結果、血漿中の定量下限（lower limit of quantification、LLOQ）は 60.0 pg/mL、定量上限（upper limit of quantification、ULOQ）は 500 pg/mL であった。1:250 の希釈倍率を適用すれば、125000 pg/mL まで定量することができる。

SMCIA-139 法は、オランダ（[redacted]）の[redacted]社（[redacted]）でバリデートされた（5.3.1.4-1）。バリデーション報告書は 1 回改訂され（5.3.1.4-2）、SMCIA-139 法が用いられなくなったため、安定性評価が中止された。−70°C での長期安定性評価で、エプコリタマブがヒト血漿中で 368 日間安定であることが確認されている。

01 試験の用量漸増パートの検体を用いて incurred sample reanalysis（ISR）を実施した結果、SMCIA-139 法の再現性が示された（5.3.1.4-4）。

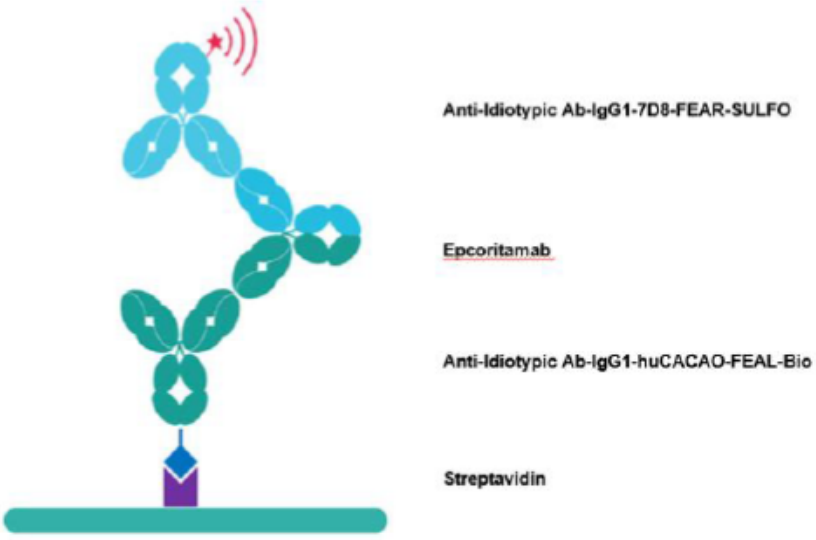
SMCIA-139 法の要約及びバリデーションパラメーターを Table 9 に示す。

1.3.2　ECLIA-139 法

ECLIA-139 法は、ヒト血漿中のエプコリタマブを定量する電気化学発光（electrochemiluminescence、ECL）サンドイッチ免疫測定法である。ECLIA-139 法の模式図を Figure 2 に示す。

ECLIA-139 法はエプコリタマブ濃度を定量するための主な分析法であり、01 試験の用量拡大パート及び 04 試験の全 PK 評価用検体、並びに 01 試験の用量漸増パートで高用量（3 mg 以上のフルドーズ）を投与したときの PK 評価用検体に対して用いられた（Table 3）。

Figure 2　ECLIA-139 法の模式図



Abbreviations: Ab = antibody; Bio = biotin; FEAL = L234F, L235E and D265A inertness, F405L DuoBody mutations; FEAR = L234F, L235E and D265A inertness, K409R DuoBody mutations.

ECLIA-139 法では、エプコリタマブのイディオタイプ（IgG1-huCACAO-FEAL）に対するビオチン化捕捉抗体にエプコリタマブが結合する。ビオチン化捕捉抗体はストレプトアビジンをコートしたマイクロタイターECL プレートに結合している。次いでエプコリタマブのイディオタイプ（IgG1-7D8-FEAR）に対する SULFO-TAG 標識検出抗体が、捕捉されたエプコリタマブ分子に結合する。インキュベーションした後に、MSD-ECL マルチアレイプレートの電極表面で電気化学的刺激を印加し、SULFO-TAG の励起発光（620 nm）を MSD-ECL プレートリーダーで検出する。発光強度は、検体中のエプコリタマブ濃度に対応する。

バリデーションの結果、血漿中の LLOQ は 10.0 ng/mL、ULOQ は 1000 ng/mL であった。1:10 の希釈倍率を適用すれば、10000 ng/mL まで定量することができる。バリデートされた希釈倍率範囲を超える倍率で検体を希釈する場合、該当する濃度で添加して希釈した品質管理（quality control、QC）試料を分析した。

ECLIA-139 法は、オランダ（ユトレヒト）の Genmab B.V.社で開発及び確立され、米国（[redacted]）の [redacted] 社でバリデートされた。

ECLIA-139 法及びバリデーションパラメーターの詳細をバリデーション報告書（5.3.1.4-8）に示した。バリデーション報告書は 1 回改訂され（5.3.1.4-9）、保存安定性が更新された。−70°C での長期安定性評価で、エプコリタマブがヒト血漿中でいずれの濃度でも 448 日間、750 ng/mL 以上では 603 日間安定であることが確認されている。

ECLIA-139 法の要約及びバリデーションパラメーターを Table 10 に示す。01 試験及び 04 試験の検体を用いて ISR を実施した結果、ECLIA-139 法の再現性が示された（5.3.1.4-6、5.3.1.4-11）。01 試験及び 04 試験の検体でのエプコリタマブ濃度－反応関係がキャリブレーション試料での濃度－反応関係と同様であることを示すために平行性を評価した（5.3.1.4-6、5.3.1.4-11）。

1.3.3　クロスバリデーション

01 試験の用量漸増パートではエプコリタマブの定量に 2 種類の分析法（SMCIA-139 法及び ECLIA-139 法）を用いたため、SMCIA-139 法と ECLIA-139 法のクロスバリデーションを実施し、両分析法で一貫した結果が得られるかを評価した。SMCIA-139 法及び ECLIA-139 法の分析対象濃度範囲が異なるため、重複した濃度範囲である約 30.0～100 ng/mL でのみクロスバリデーションが可能であった。

オランダ（[redacted]）の [redacted] 社で SMCIA-139 法を用いて分析した 01 試験で収集した 21 検体を、米国（[redacted]）の [redacted] 社で ECLIA-139 法を用いて分析し、結果を比較した。両分析法の差の許容範囲を「67%の検体で 30%以下の差」と事前に規定したが（European Medicines Agency, 2012 及び Food and Drug Administration, 2018）、21 検体中 9 検体（42.9%）のみが 30%以下の差（7.3%～29.1%）であった。

SMCIA-139 法と ECLIA-139 法のクロスバリデーションの結果、両分析法で重複した分析濃度範囲で一貫した結果が得られなかった。ECLIA-139 法による測定結果は、SMCIA-139 法による測定結果よりも高値であった。両分析法で分析濃度範囲が異なるため、SMCIA-139 法による測定では検体を複数の異なる希釈段階で大幅に希釈する必要があった。また、両分析法で手法に違

いがあった。SMCIA-139 法では、溶出ステップで蛍光標識検出抗体を解離させ、溶出液中の蛍光標識検出抗体をレーザーで検出する。これに対して ECLIA-139 法はプレート上での分析法である。この手法の違いが、両分析法で一貫した結果が得られなかった原因である可能性があった。

エプコリタマブの母集団薬物動態最終モデルの感度分析を実施した結果、SMCIA-139 法で測定した PK データを除外しても、ほとんど影響がないことが確認された（5.3.3.5-2 Section 5.2.4）。したがって、ECLIA-139 法で測定した PK データのみを本申請に含め（5.3.5.2-1、[2.7.2-1.3.1.1 項]）、上記の経緯を示し透明性を確保するために SMCIA-139 法及びその結果も本概要に含めた。

クロスバリデーションの結果をバリデーション報告書（5.3.1.4-10）に示し、要約を Table 11 に示す。

1.4　ヒト血漿中及び血清中の抗エプコリタマブ抗体の検出に用いた分析法

抗エプコリタマブ抗体を検出して評価するために、01 試験（用量漸増パート及び用量拡大パート）ではスクリーニング検査、確認検査、及び力価測定を段階的に実施した。04 試験（用量漸増及び用量拡大パートの単剤療法パート）でもスクリーニング検査、確認検査、及び力価測定を段階的に実施した。なお、04 試験では力価はエプコリタマブの抗原結合部位別に測定した。抗薬物抗体（anti-drug antibody、ADA）分析法の概要を 1.4.1 項に示す。本申請に含まれる臨床試験で用いた ADA 分析法を Table 5 及び Table 12 に示す。

免疫原性評価に用いた分析法は、関連するガイダンス（European Medicines Agency, 2012、European Medicines Agency, 2017、Food and Drug Administration, 2019）及び文献（Geng et al, 2005、Gupta et al, 2007、Mire-Sluis et al, 2004、Shankar et al, 2008、Devanarayan et al, 2017）に基づいた。

Table 5　ヒト血漿中及び血清中の抗エプコリタマブ抗体の分析法

Assay	Analyte	Method	Matrix	Testing Facility	Validation Report Number	Used In Trial	Outline
bADA	ADA against epcoritamab	ECLIA	Human K_2EDTA plasma	[redacted] The Netherlands	[redacted]125EL-171253-F (5.3.1.4-3) [redacted]21454-21454X-A (5.3.1.4-13)	GCT3013-01 (ESC and EXP)	1.4.1 項
bADA	ADA against epcoritamab ADA against the IgG1-huCACAO-FEAL (3005a) arm of epcoritamab ADA against the IgG1-7D8-FEAR (3001d) arm of epcoritamab	ECLIA	Human serum	[redacted] The Netherlands	[redacted]20472-20472X-B (5.3.1.4-14)	GCT3013-04 (ESC and EXP)	1.4.1 項

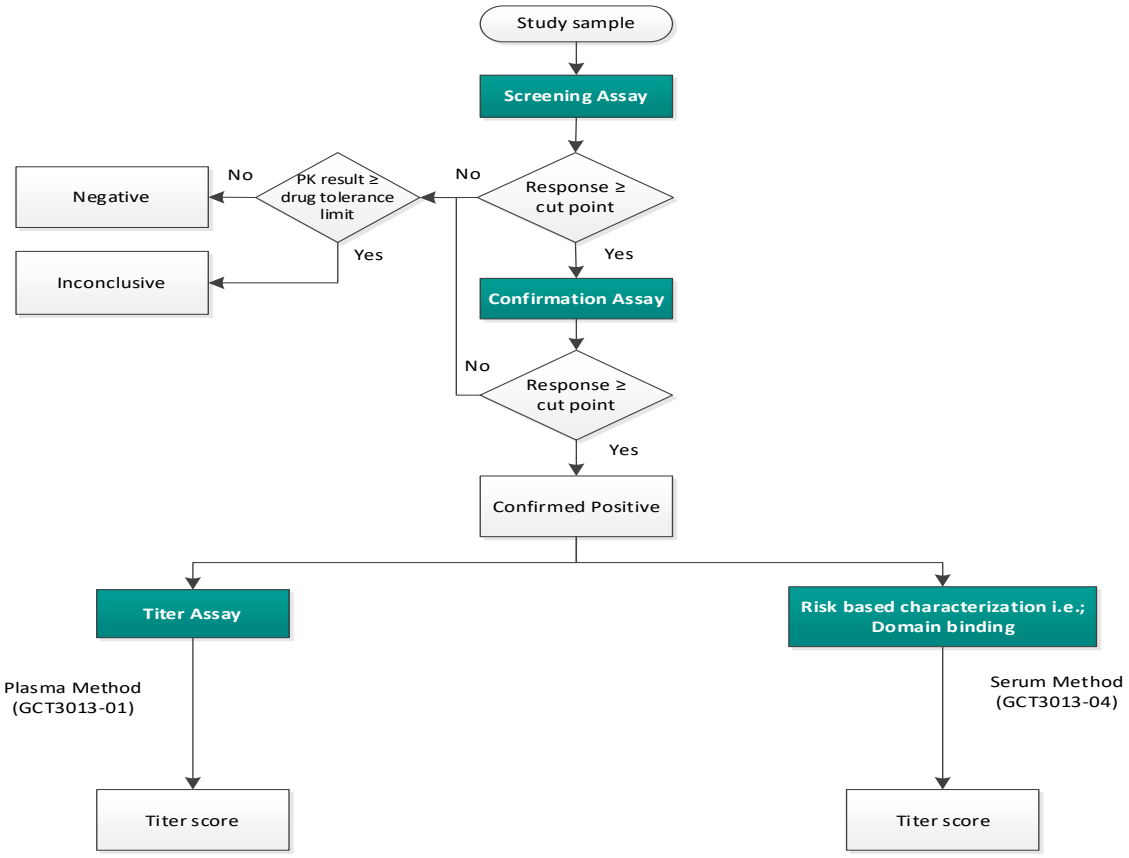
Abbreviations: bADA = binding anti-drug antibodies; ESC = dose escalation part; EXP = dose expansion part; FEAL = L234F, L235E and D265A inertness, F405L DuoBody mutations; FEAR = L234F, L235E and D265A inertness, K409R DuoBody mutations; K_2EDTA = dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid.

1.4.1　エプコリタマブの免疫原性評価手順

エプコリタマブの免疫原性評価のフローチャートを Figure 3 に示す。カニクイザルでのピボタル毒性試験（[2.6.4-2.6 項]）で用いたスクリーニング検査と同じ方針で、被験者から採取した検体中の抗エプコリタマブ抗体の有無をスクリーニング検査で評価した。陽性となった検体を、スクリーニング検査と同じ手順に、検体をエプコリタマブとインキュベートする手順を追加した確認検査で評価した。確認検査で陽性が確認された検体に対して力価を測定した。

細胞を用いた中和抗体分析では血漿を用いることができないため、04 試験以降の臨床試験では免疫原性分析用のマトリックスを血清に変更した。したがって、ヒト血清検体を用いた免疫原性分析法を新たに開発し、バリデートした。

Figure 3　エプコリタマブの免疫原性評価のフローチャート



01 試験では血漿検体を用いて抗エプコリタマブ抗体の力価を測定した。04 試験では血清検体を用いて異なる測定法でエプコリタマブの IgG1-huCACAO-FEAL（3005a）アーム及び IgG1-7D8-FEAR（3001d）アームの抗原結合部位別に力価を測定し、それぞれのカットポイントを下回るまで検体を希釈して力価を決定した。

抗エプコリタマブ抗体陽性であった被験者数が少なかったため、01 試験及び 04 試験でエプコリタマブに対する中和抗体は評価しなかった。

被験者から採取した検体でエプコリタマブの免疫原性を評価するための分析法（スクリーニング検査、確認検査、力価測定、及び 04 試験では抗原結合部位別の力価測定）はブリッジング免疫アッセイの原理に基づいており、検出システムとして ECL を用いる。

1.4.1.1　スクリーニング検査

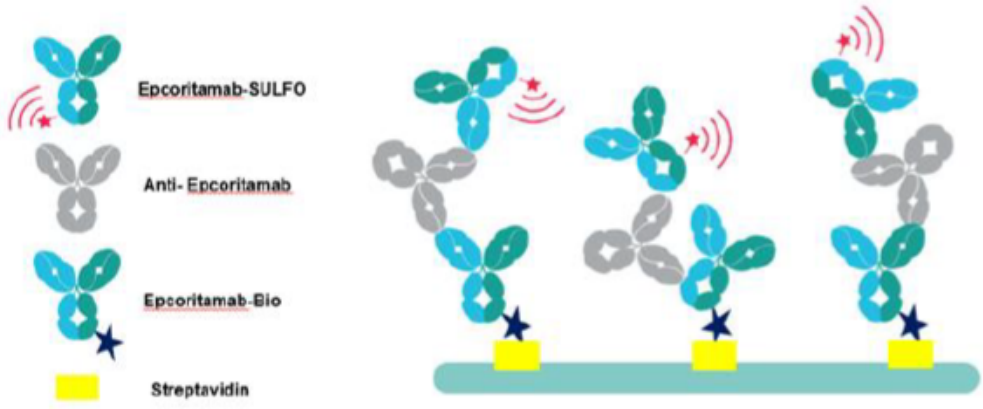
エプコリタマブと抗エプコリタマブ抗体を解離させるために、試料（対照試料及び被験者から採取した検体）を酢酸で前処理した。室温でインキュベートした後、中和してビオチン化エプコリタマブ及び SULFO-TAG 標識エプコリタマブと共に 2℃～8℃ で一晩インキュベートした。ストレプトアビジンをコートした 96 ウェルのマルチアレイプレート（strep-ECL プレート）をブロッキングした後に、ビオチン化エプコリタマブ、SULFO-TAG 標識エプコリタマブ、及び試料の複合体を添加して室温でインキュベートし、strep-ECL プレート上のストレプトアビジンに結合させた。プレートを洗浄して結合しなかったタンパク質を除去した後、read buffer を添加して

MSD-ECL マルチアレイプレートの電極表面で電気化学的刺激を印加し、SULFO-TAG の励起発光（620 nm）を MSD-ECL プレートリーダーで検出することで strep-ECL プレート上のストレプトアビジンに結合した複合体を可視化した（Figure 4）。ECL は抗エプコリタマブ抗体の有無の尺度となる。事前に規定した閾値であるスクリーニング検査カットポイントを上回った検体をスクリーニング検査陽性、上回らなかった検体をスクリーニング検査陰性とした。ただし、スクリーニング検査カットポイントを上回らなかった検体が PK 評価での定量限界を上回るエプコリタマブを含有していた場合は、薬物干渉の可能性が考えられるため、結論は得られないと判断した。

01 試験で用いた血漿中 ADA 分析法のバリデーションの結果、陽性対照ポリクローナル抗体に基づく感度は 39.1 ng/mL、抗エプコリタマブ抗体濃度 100 ng/mL での free drug tolerance はエプコリタマブ 50 µg/mL であった。

04 試験で用いた血清中 ADA 分析法のバリデーションの結果、陽性対照ポリクローナル抗体に基づく感度は 11.8 ng/mL、抗エプコリタマブポリクローナル抗体濃度 100 ng/mL での free drug tolerance はエプコリタマブ 62.5 µg/mL であった。なお、スクリーニング検査はオランダ（[redacted]）の [redacted] 社でバリデートされた。

Figure 4　**スクリーニング検査及び力価測定（01 試験）の模式図**

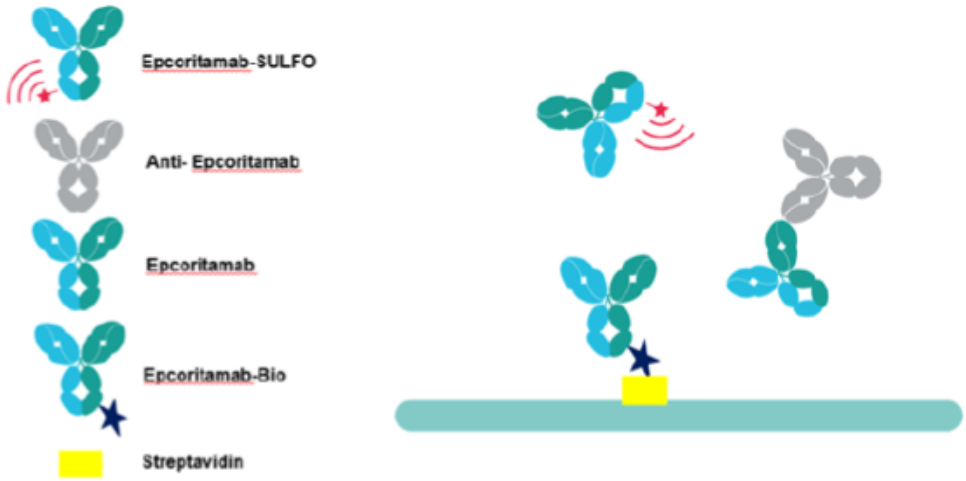


Abbreviations: Bio = biotin.

1.4.1.2　確認検査

スクリーニング検査と同様の方法で確認検査を実施した。スクリーニング検査陽性の検体を、遊離エプコリタマブの存在下及び非存在下でビオチン化エプコリタマブ及び SULFO-TAG 標識エプコリタマブと共にインキュベートし（Figure 5）、遊離エプコリタマブ非存在下と比較した遊離エプコリタマブ存在下でのシグナル強度の低下率を算出した。事前に規定した低下率である確認検査カットポイントを上回った検体を抗エプコリタマブ抗体陽性、上回らなかった検体を抗エプコリタマブ抗体陰性と確定した。なお、確認検査はオランダ（[redacted]）の [redacted] 社でバリデートされた。

Figure 5　確認検査の模式図

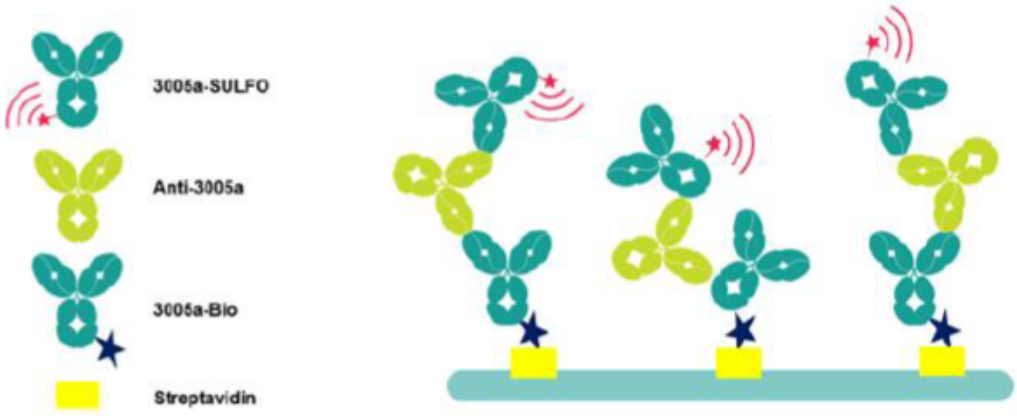


Abbreviations: Bio = biotin.

1.4.1.3　力価測定

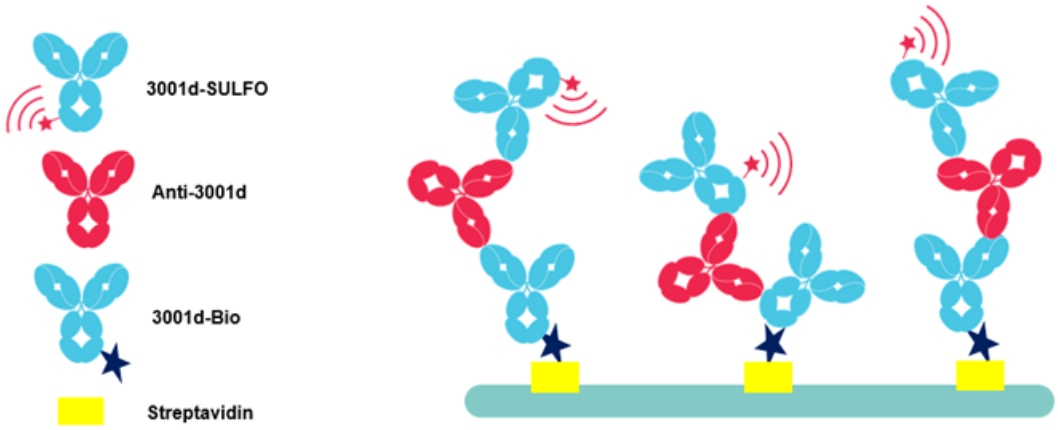
スクリーニング検査と同様の方法で力価を測定した。01 試験では抗エプコリタマブ抗体陽性検体を連続希釈してビオチン化エプコリタマブ及び SULFO-TAG 標識エプコリタマブと共にインキュベートし、力価カットポイントを上回った最高希釈倍率を力価とした。04 試験では抗エプコリタマブ抗体陽性検体で、ビオチン化された 3005a 及び 3001d、並びに SULFO-TAG 標識された 3005a 及び 3001d を用いて同様にエプコリタマブの IgG1-huCACAO-FEAL（3005a）アームに対する力価（Figure 6）及び IgG1-7D8-FEAR（3001d）アームに対する力価（Figure 7）を測定した。なお、力価測定はオランダ（[redacted]）の [redacted] 社でバリデートされた。

Figure 6　3005a アームに対する力価測定（04 試験）



Abbreviations: Bio = biotin.

Figure 7　3001d アームに対する力価測定（04 試験）



Abbreviations: Bio = biotin.

ヒト血漿中 ADA 分析法及びバリデーションパラメーターをバリデーション報告書（5.3.1.4-3）及びパーシャルバリデーション報告書（5.3.1.4-13）に示した。現行の規制要件に従って、感度及び LPC 濃度を検討するためにパーシャルバリデーションを実施した。ヒト血漿中 ADA 分析法の結果を Table 13 に示す。

ヒト血清中 ADA 分析法及びバリデーションパラメーターをバリデーション報告書（5.3.1.4-14）に示した。また、要約を Table 14 に示す。

2.　個々の試験結果の要約

エプコリタマブの生物薬剤学試験は実施されなかった。01 試験及び 04 試験はエプコリタマブの PK 評価を副次目的としており、PK データを収集した。

2.1　01 試験：A Phase 1/2, Open-Label, Dose- Escalation Trial of Epcoritamab in Patients with Relapsed, Progressive or Refractory B-Cell Lymphoma

01 試験は、再発性、進行性、又は難治性の B 細胞性リンパ腫を有する成人患者を対象とした第 I/II 相、非盲検、国際共同、初回ヒト投与、単群試験であり、複数のコホートからなる用量漸増パート及び用量拡大パートで構成された。01 試験は本申請時点で継続中である。

用量漸増パートでは 12 種類のエプコリタマブのフルドーズ（0.0128～60 mg）を評価した。28 日間を 1 Cycle として、Cycle 1 及び 2 では週 1 回、Cycle 3～6 では 2 週ごと、Cycle 7 以降は 4 週ごとにエプコリタマブを投与した。01 試験の用量漸増パート実施中に、エプコリタマブ製剤にポリソルベート 80 を追加した。用量漸増パートの大部分の被験者に対して当初の製造工程である DP プロセス 1 で製造した製剤を使用したが、長期間にわたって試験に参加した一部の被験者に対しては DP プロセス 2 で製造した製剤も使用した。用量漸増パートの結果の詳細を[2.7.2-2.1.1 項]に示す。

用量拡大パートはアグレッシブ B 細胞性非ホジキンリンパ腫（aggressive B-cell non-Hodgkin lymphoma、aNHL）コホート［びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫（diffuse large B-cell

lymphoma、DLBCL）患者を含む]、インドレントB細胞性非ホジキンリンパ腫（indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma、iNHL）コホート、及びマントル細胞リンパ腫（mantle cell lymphoma、MCL）コホートから構成され、フルドーズ48 mgでエプコリタマブを投与した。28日間を1 Cycleとして、Cycle 1～3では週1回、Cycle 4～9では2週ごと、Cycle 10以降では4週ごとに投与した。治験薬の再供給時にDPプロセス2で製造した市販予定製剤を導入したため、用量拡大パートではDPプロセス1及びDPプロセス2で製造した製剤の両方が使用された。また、大部分の被験者に対してポリソルベート80を添加した市販予定処方製剤（to-be-marketed formulation、TMF）を使用した。用量拡大パートの結果の詳細を[2.7.2-2.1.2項]に示す。

2.2　04試験：Safety and Preliminary Efficacy of Epcoritamab (GEN3013; DuoBody®-CD3xCD20) in Japanese Subjects with Relapsed or Refractory (R/R) B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma (B-NHL) - A Phase 1/2, Open-Label, Dose-Escalation Trial with Expansion Cohorts

04試験は、再発又は難治性B細胞性非ホジキンリンパ腫（B-cell non-Hodgkin lymphoma、B-NHL）を有する日本人患者を対象とした第I/II相、非盲検、国内試験であり、複数のコホートからなる用量漸増パート及び用量拡大パートで構成された。04試験は本申請時点で継続中である。用量漸増パートではフルドーズ24又は48 mg、用量拡大パートではフルドーズ48 mgでエプコリタマブを投与した。いずれのパートでも28日間を1 Cycleとして Cycle 1～3では週1回、Cycle 4～9では2週ごと、Cycle 10以降では4週ごとにエプコリタマブを投与した。治験薬の再供給時にDPプロセス2で製造した市販予定製剤を導入したため、04試験ではDPプロセス1及びDPプロセス2で製造した製剤の両方が使用された。いずれのパートでもポリソルベート80を添加したTMFを使用した。04試験の結果の詳細を[2.7.2-2.1.3項]に示す。

3.　全試験を通しての結果の比較と解析

3.1　投与された製剤処方別（市販予定処方製剤及び治験用処方製剤）の有効性及び安全性の比較

臨床開発中に、ポリソルベート80が含まれていない治験用処方製剤（clinical trial formulation、CTF）からポリソルベート80を処方に含めたTMFに変更した。01試験の用量漸増パート実施中にCTFからTMFへの切り替えを開始し、01試験の用量拡大パートaNHLコホートの大部分（90%以上）及び04試験の全ての被験者に対してTMFが用いられた。

TMFが投与された被験者とCTFが投与された被験者との間で有効性及び安全性を比較するため、01試験の用量拡大パートaNHLコホートで少なくとも1回治験薬を投与された被験者を、投与された製剤処方別［TMFのみ、TMF及びCTFの両方（TMF＋CTF）、CTFのみ］に評価した。

aNHLコホートの投与された製剤処方別の内訳は、DLBCL患者でTMFのみが51名、TMF＋CTFが85名、CTFのみが投与された被験者は3名であり、LBCL患者でTMFのみが58名、TMF＋CTFが95名、CTFのみが投与された被験者は4名であった。CTFのみを投与された被験

者（DLBCL 患者で 3 名、LBCL 患者で 4 名）の投与期間はサイクル 1 のみであったため、比較評価対象としなかった。

TMF のみが投与された被験者と TMF＋CTF が投与された被験者の間での有効性の比較を Table 6 に、安全性の比較を Table 7 に示す。両被験者間で有効性及び安全性の結果に明確な差異は認められなかったことから、製剤処方の変更がエプコリタマブの評価に影響を及ぼした可能性は低いと考えられた。

Table 6　投与された製剤処方別の有効性の比較
（01 試験、用量拡大パート、aNHL コホート、FAS）

	DLBCL		Other		LBCL	
	TMF (N=51)	TMF + CTF (N=85)	TMF (N=7)	TMF + CTF (N=10)	TMF (N=58)	TMF + CTF (N=95)
Best Overall Response						
Complete Response (CR)	19 (37.3%)	35 (41.2%)	2 (28.6%)	5 (50.0%)	21 (36.2%)	40 (42.1%)
Partial Response (PR)	11 (21.6%)	21 (24.7%)	3 (42.9%)	3 (30.0%)	14 (24.1%)	24 (25.3%)
Stable Disease (SD)	3 (5.9%)	1 (1.2%)	0	1 (10.0%)	3 (5.2%)	2 (2.1%)
Progressive Disease (PD)	9 (17.6%)	23 (27.1%)	2 (28.6%)	1 (10.0%)	11 (19.0%)	24 (25.3%)
Not Evaluable (NE)	9 (17.6%)	5 (5.9%)	0	0	9 (15.5%)	5 (5.3%)
Overall Response Rate (ORR)[a]	30 (58.8%)	56 (65.9%)	5 (71.4%)	8 (80.0%)	35 (60.3%)	64 (67.4%)
(95% CI)[b]	(44.2%, 72.4%)	(54.8%, 75.8%)	(29.0%, 96.3%)	(44.4%, 97.5%)	(46.6%, 73.0%)	(57.0%, 76.6%)
Complete Response Rate (CRR)	19 (37.3%)	35 (41.2%)	2 (28.6%)	5 (50.0%)	21 (36.2%)	40 (42.1%)
(95% CI)[b]	(24.1%, 51.9%)	(30.6%, 52.4%)	(3.7%, 71.0%)	(18.7%, 81.3%)	(24.0%, 49.9%)	(32.0%, 52.7%)
Disease Control Rate (DCR)[c]	33 (64.7%)	57 (67.1%)	5 (71.4%)	9 (90.0%)	38 (65.5%)	66 (69.5%)
(95% CI)[b]	(50.1%, 77.6%)	(56.0%, 76.9%)	(29.0%, 96.3%)	(55.5%, 99.7%)	(51.9%, 77.5%)	(59.2%, 78.5%)

Abbreviations: CI = confidence interval, CMC = Chemistry, Manufacturing and Control, FAS = full analysis set, IRT = Interactive Response Technology.

Note: Percentages calculated based on number of subjects in FAS. TMF, TMF + CTF, and CTF grouping are based on the IRT and CMC data.

a. CR+PR

b. Based on the Clopper- Pearson method.

c. CR+PR+SD

Source: 5.3.5.2-2 Efficacy and Safety Summaries by Study Drug Formulation Table 14.2.1.1.1

Table 7　投与された製剤処方別の安全性の比較
（01 試験、用量拡大パート、aNHL コホート、安全性解析対象集団）

	DLBCL				Other				LBCL			
	TMF (N=51)		TMF + CTF (N=85)		TMF (N=7)		TMF + CTF (N=10)		TMF (N=58)		TMF + CTF (N=95)	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Number of patients with at least one TEAE	50	(98.0)	85	(100)	7	(100)	10	(100)	57	(98.3)	95	(100)
Related TEAE	43	(84.3)	72	(84.7)	5	(71.4)	10	(100)	48	(82.8)	82	(86.3)
Grade 3 and higher TEAE	32	(62.7)	52	(61.2)	2	(28.6)	7	(70.0)	34	(58.6)	59	(62.1)
Grade 3 and higher related TEAE	13	(25.5)	25	(29.4)	1	(14.3)	3	(30.0)	14	(24.1)	28	(29.5)
TEAE by worst toxicity grade												
Grade 1	8	(15.7)	10	(11.8)	2	(28.6)	0		10	(17.2)	10	(10.5)
Grade 2	10	(19.6)	23	(27.1)	3	(42.9)	3	(30.0)	13	(22.4)	26	(27.4)
Grade 3	18	(35.3)	34	(40.0)	2	(28.6)	3	(30.0)	20	(34.5)	37	(38.9)
Grade 4	10	(19.6)	15	(17.6)	0		4	(40.0)	10	(17.2)	19	(20.0)
Grade 5	4	(7.8)	3	(3.5)	0		0		4	(6.9)	3	(3.2)
Serious TEAE	29	(56.9)	49	(57.6)	2	(28.6)	6	(60.0)	31	(53.4)	55	(57.9)
Serious related TEAE	17	(33.3)	32	(37.6)	2	(28.6)	4	(40.0)	19	(32.8)	36	(37.9)
TEAE leading to treatment discontinuation	4	(7.8)	6	(7.1)	0		1	(10.0)	4	(6.9)	7	(7.4)
TEAE leading to dose delay/interruption	18	(35.3)	27	(31.8)	2	(28.6)	5	(50.0)	20	(34.5)	32	(33.7)
Fatal TEAE	4	(7.8)	3	(3.5)	0		0		4	(6.9)	3	(3.2)
Fatal related TEAE	1	(2.0)	0		0		0		1	(1.7)	0	
AESI												
CRS	23	(45.1)	45	(52.9)	4	(57.1)	6	(60.0)	27	(46.6)	51	(53.7)
ICANS	4	(7.8)	5	(5.9)	1	(14.3)	0		5	(8.6)	5	(5.3)
CTLS	1	(2.0)	1	(1.2)	0		0		1	(1.7)	1	(1.1)

Abbreviations: AESI = adverse event of special interest, CMC = Chemistry, Manufacturing and Control, CRS = cytokine release syndrome, CTCAE = Common Terminology Criteria for Adverse Events, CTLS = clinical tumor lysis syndrome, ICANS = immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, IRT = Interactive Response Technology, MedDRA = Medical Dictionary for Regulatory Activities, TEAE = treatment emergent adverse event.

Note: Percentages calculated based on number of subjects in Safety Analysis Set. TMF, TMF + CTF, and CTF grouping are based on the IRT and CMC data.

Note: Adverse events are classified using MedDRA 24.1 and CTCAE v5.0, and are counted only once per category. ICANS is graded according to Lee et al, 2019, CRS as per Lee et al, 2019, and CTLS according to Cairo-Bishop (Coiffier et al, 2008).

Source: 5.3.5.2-2 Efficacy and Safety Summaries by Study Drug Formulation Table 14.3.1.1.1

3.2　ヒト血漿中エプコリタマブの定量に用いた分析法の比較

01 試験及び 04 試験で採取した PK 評価用検体の大部分（88.7%）で、バリデートされた ECLIA-139 法を用いてエプコリタマブ濃度を定量した。01 試験の用量拡大パート（aNHL コホート、iNHL コホート、及び MCL コホート）及び 04 試験の全検体、並びに 01 試験の用量漸増パートで 3 mg 以上のフルドーズを投与したときの検体に対して ECLIA-139 法を用いた。ECLIA-139 法の LLOQ は 10.0 ng/mL であった。

SMCIA-139 法は、01 試験の用量漸増パートでエプコリタマブ濃度が低値と考えられる検体の測定を目的として開発され、バリデートされた。SMCIA-139 法の LLOQ は 60.0 pg/mL であった。しかし、SMCIA-139 法と ECLIA-139 法のクロスバリデーションの結果、両分析法で重複した分析濃度範囲で一貫した結果が得られなかったため、ECLIA-139 法で測定した PK データのみを本申請に含め、母集団薬物動態モデルの構築に用いた。したがって、ECLIA-139 法が主なエプコリタマブの PK 分析法である。

エプコリタマブの母集団薬物動態最終モデルの感度分析を実施した結果、SMCIA-139 法で測定した PK データを除外しても、ほとんど影響がないことが確認された（1.3.3 項）。また、LLOQ 未満の測定値が母集団薬物動態最終モデル（Model 154）に及ぼす影響を評価するため、LLOQ 未満の測定値をデータに加え、LLOQ 未満のデータを組み込んだモデル（Model 154bql）を尤度アプローチによって再推定した（5.3.3.5-2 Section 5.2.3）。Model 154bql のパラメーター推定値は最終モデル（Model 154）の推定値と同様であった。さらに、両モデルの個別予測値及び母集団予測値はほぼ一致していた。したがって、LLOQ 未満のデータを除外しても母集団薬物動態最終モデルにほとんど影響しないことが確認された。

以上より、ECLIA 分析法で測定したデータが限定的又は全くない被験者の曝露量の予測に、ECLIA-139 法で測定したデータのみを用いて構築した母集団薬物動態最終モデルを適用することの妥当性が裏付けられた。

4. 参考文献

Coiffier, B., Altman, A., Pui, C. H., Younes, A., and Cairo, M. S. (2008). Guidelines for the management of pediatric and adult tumor lysis syndrome: an evidence-based review. J Clin Oncol 26, 2767-2778.

DeSilva, B., Smith, W., Weiner, R., Kelley, M., Smolec, J., Lee, B., Khan, M., Tacey, R., Hill, H., and Celniker, A. (2003). Recommendations for the bioanalytical method validation of ligand-binding assays to support pharmacokinetic assessments of macromolecules. Pharm Res 20, 1885-1900.

Devanarayan, V., Smith W.C., Brunelle, R.L., Seger M.E., Krug K., Bowsher R.R.. 2017. Recommendations for Systematic Statistical Computation of Immunogenicity Cut Points. The AAPS Journal, Vol. 19, No. 5: 1487-1498.

European Medicines Agency. (2012). Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2.

European Medicines Agency. (2012). Guideline on immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended for in vivo clinical use. EMA/CHMP/BMWP/86289/2010.

European Medicines Agency. (2017). Guideline on immunogenicity assessment of therapeutic proteins. EMEA/CHMP/BMWP/14327/2006 Rev 1.

Findlay, J.W., Smith, W.C., Lee, J.W., Nordblom, G.D., Das, I., DeSilva, B.S., Khan, M.N., and Bowsher, R.R. (2000). Validation of immunoassays for bioanalysis: a pharmaceutical industry perspective. J Pharm Biomed Anal 21, 1249-1273.

Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). (2001). Guidance for Industry – Bioanalytical Method Validation.

Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). (2018). Guidance for Industry – Bioanalytical Method Validation.

Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). (2019). Guidance for Industry – Assay Development and Validation for Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products.

Geng,, D., Shankar, G., Schantz, A., Rajadhyaksha, M., Davis, H., and Wagner, C.. 2005. Validation of immunoassays used to assess immunogenicity to therapeutic monoclonal antibodies. J Pharm Biomed Anal 39: 364-375.

Gupta, S., Indelicato, S.R., Jethwa, V., Kawabata, T., Kelley, M., Mire-Sluis, A.R., Richards, S. M., Rup, B., Shores, E., Swanson, S.J., and Wakshull, E.. 2007. Recommendations for the design, optimization, and qualification of cell-based assays used for the detection of neutralizing antibody responses elicited to biological therapeutics. J Immunol Methods 321: 1-18.

Kelley, M., and DeSilva, B. (2007). Key elements of bioanalytical method validation for macromolecules. AAPS J 9, E156-163.

Lee, D. W., Santomasso, B. D., Locke, F. L., Ghobadi, A., Turtle, C. J., Brudno, J. N., Maus, M. V., Park, J. H., Mead, E., Pavletic, S., et al. (2019). ASTCT Consensus Grading for Cytokine Release Syndrome and Neurologic Toxicity Associated with Immune Effector Cells. Biol Blood Marrow Transplant 25, 625-638.

Mire-Sluis, A.R., Barrett, Y.C., Devanarayan, V., Koren, E., Liu, H., Maia, M., Parish, T., Scott, G., Shankar, G., Shores, E., Swanson, S.J., Taniguchi, G., Wierda, D., and Zuckerman, L.A.. 2004. Recommendations for the design and optimization of immunoassays used in the detection of host antibodies against biotechnology products. J Immunol Methods 289: 1-16.

Shankar, G., Devanarayan, V., Amaravadi, L., Barrett, Y. C., Bowsher, R., Finco-Kent, D., Fiscella, M., Gorovits, B., Kirschner, S., Moxness, M., et al. (2008). Recommendations for the validation of immunoassays used for detection of host antibodies against biotechnology products. J Pharm Biomed Anal 48, 1267-1281.

Stevenson, L., Kelley, M., Gorovits, B., Kingsley, C., Myler, H., Osterlund, K., Muruganandam, A., Minamide, Y., and Dominguez, M. (2014). Large molecule specific assay operation: recommendation for best practices and harmonization from the global bioanalysis consortium harmonization team. Aaps j 16, 83-88.

Viswanathan, C.T., Bansal, S., Booth, B., DeStefano, A.J., Rose, M.J., Sailstad, J., Shah, V. P., Skelly, J.P., Swann, P.G., and Weiner, R. (2007). Quantitative bioanalytical methods validation and implementation: best practices for chromatographic and ligand binding assays. Pharm Res 24, 1962-1973.

5.　付録

5.1　生体試料分析法に関する結果の要約

Table 8　エプコリタマブの PK 評価に用いた分析法のライフサイクル

	Method Validation SMCIA-139	Method Validation ECLIA-139	Clinical Trial GCT3013-01	Clinical Trial GCT3013-04
Analyte	Epcoritamab	Epcoritamab	Epcoritamab	Epcoritamab
Validation type	Full validation	Full validation	In-study	In-study
Method ID	[redacted]-NL-LML-2079 (versions 01, 02, 03, 04, 08 and 11)	[redacted]-US-LML-0552 (versions 01, 03, 05, 08 and 09)	[redacted]-NL-LML-2079 (versions 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10 and 11) [redacted]-US-LML-0552 (versions 03, 04, 05, 06, 07, 08 and 09)	[redacted]-US-LML-0552 (versions 01, 02, 03, 07, 08 and 09)
Duration of time method is in use	[redacted] 20[redacted]-[redacted] 20[redacted]	[redacted] 20[redacted]-[redacted]20[redacted]	[redacted] 20[redacted]-[redacted] 20[redacted] ([redacted]-NL-LML-2079) [redacted] 20[redacted]-[redacted] 20[redacted] ([redacted]-US-LML-0552)	[redacted] 20[redacted]-[redacted]20[redacted] ([redacted]-US-LML-0552)
Bioanalytical site	[redacted] The Netherlands	[redacted] [redacted]USA	[redacted] [redacted]The Netherlands (SMCIA-139) [redacted] USA (ECLIA-139)	[redacted] [redacted]USA
Matrix	K_2EDTA plasma	K_2EDTA plasma	K_2EDTA plasma	K_2EDTA plasma
Platform	Single molecule counting (SMC)	Meso scale discovery electrochemiluminescence (MSD-ECL)	Single molecule counting (SMC) (SMCIA-139) Enhanced chemiluminescence (ECL) (ECLIA-139)	Enhanced chemiluminescence (ECL) (ECLIA-139)

	Method Validation SMCIA-139	Method Validation ECLIA-139	Clinical Trial GCT3013-01	Clinical Trial GCT3013-04
Format	A validated sandwich format using [redacted] as capture and [redacted] as detection.	A validated sandwich format using [redacted] as capture and [redacted] as detection.	A validated sandwich format using [redacted] as capture and [redacted] as detection (SMCIA-139). A validated sandwich format using [redacted] as capture and [redacted] as detection (ECLIA-139).	A validated sandwich format using [redacted] as capture and [redacted] as detection.
Stock reference, lot number, expiration date	GEN3013, lot　被験物質 5*　, expiration date [redacted] 20[redacted]	GEN3013, lot　被験物質 5*　, expiration date [redacted] 20[redacted]	GEN3013, lot　被験物質 5*　, expiration date [redacted] 20[redacted] (SMCIA-139) GEN3013, lot　被験物質 5*　, expiration date [redacted] 20[redacted] (ECLIA-139)	GEN3013, lot　被験物質 5*　, expiration date [redacted] 20[redacted]
Calibration range from the lower limit of quantitation (LLOQ) to the upper limit of quantitation (ULOQ)	60 pg/mL to 500 pg/mL	10.0 ng/mL to 1000 ng/mL	60 pg/mL to 500 pg/mL (SMCIA-139) 10.0 ng/mL to 1000 ng/mL (ECLIA-139)	10.0 ng/mL to 1000 ng/mL
Matrix trial population	Healthy, cancer	Healthy, cancer	Cancer	Cancer
Link to reports and applicable amendments	Report [redacted]125EL-171253-B (5.3.1.4-1) and Report [redacted]125EL-171253-B Am 01 (5.3.1.4-2)	Report [redacted]20420-20420X-B (5.3.1.4-8) and Report [redacted]20420-20420X-B Am 01 (5.3.1.4-9)	Report [redacted]012EL-170123-A (5.3.1.4-4) (SMCIA-139) Report [redacted]012EL-170123-C (5.3.1.4-6); Report [redacted]012EL-170123-C Am 01 (5.3.1.4-7) (ECLIA-139)	Report [redacted]20899-20899X-A (5.3.1.4-11)
Synopsis of amendment history	Remove stability time-points due to unavailability of method.	NA	NA	NA

Abbreviations: GEN3013 = epcoritamab; ID = identification; K_2EDTA = dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid; MSD = mesoscale discovery; NA = not applicable; SMC = single molecule counting.

＊新薬承認情報提供時に置換

Table 9　SMCIA-139 法の要約

Bioanalytical method validation report name, amendments, and hyperlinks	Validation of a method for the determination of GEN3013 in human K_2EDTA plasma samples by single molecule counting technology, method validation report [Report [redacted]125EL-171253-B (5.3.1.4-1)] and amendment 01 to the method validation report [Report [redacted]125EL-171253-B Am 01 (5.3.1.4-2)].		
Method description	Epcoritamab binds to the microparticles (MPs) coupled capture antibody ([redacted]) directed against the idiotype of IgG1-huCACAO-FEAL of epcoritamab. A fluorescently labeled detection antibody directed against the idiotype of IgG1-7D8-FEAR of epcoritamab binds to the captured epcoritamab molecule. After the elution step, all interactions within the complex are disrupted and the fluorochrome are detected by the Erenna instrument. The number of detected fluorescent molecules is an indirect readout for the number of soluble epcoritamab molecules in the sample.		
Materials used for standard calibration curve and concentration	Blank human K_2EDTA plasma; Epcoritamab:　被験物質 5*　, 4.9 mg/mL		
Validated assay range	60.0 to 500 pg/mL, with anchor points at 15.0 pg/mL, 30.0 pg/mL, and 600 pg/mL		
Material used for quality controls and concentration	Blank human K_2EDTA plasma; Epcoritamab:　被験物質 5*　, 4.9 mg/mL		
Minimum required dilutions	1:8		
Source and lot of reagents	[redacted] (Genmab, the Netherlands, lot: [redacted] and [redacted] [redacted] (Genmab, the Netherlands, lot: [redacted])		
Regression model and weighting	5 Parameter Logistic (DE and EP) and 4 Parameter Logistic (TP)		
Validation parameters	Method validation summary		Source location
Standard calibration curve performance	Number of standard calibrators from LLOQ to ULOQ	8 calibrators	Tables 2 and 3 of Report [redacted]125EL-171253-B
	Cumulative accuracy (% bias) from LLOQ to ULOQ	−20.2 to 6.4%	Tables 2 and 3 of Report [redacted]125EL-171253-B
	Cumulative precision (% CV) from LLOQ to ULOQ	≤ 6.5%	Tables 2 and 3 of Report [redacted]125EL-171253-B
Performance of QCs during accuracy and precision runs	Cumulative accuracy (% bias) in 5 QCs	−18.7 to −0.1%	Table 6 of Report [redacted]125EL-171253-B
	Inter-batch % CV	≤ 6.9%	Table 6 of Report [redacted]125EL-171253-B
	Total error (TE)	≤ 25.4%	Table 6 of Report [redacted]125EL-171253-B
Selectivity & matrix effect	Unspiked (< LLOQ; 100% within acceptance criteria) and spiked at 80.0 pg/mL (bias −21.8% to 26.4%; 90% within acceptance criteria) and at 400 pg/mL (bias −21.3% to 10.8%; 90% within acceptance criteria) in 10 samples of the diseased population.		Table 12 of Report [redacted]125EL-171253-B
Interference & specificity	NA		NA
Hemolysis effect	1 for unspiked (< LLOQ), 3 at 80 pg/mL (Bias −22.8% to −5.0%) at 2% hemolysis		Table 13 of Report [redacted]125EL-171253-B

＊新薬承認情報提供時に置換

Lipemic effect	1 for unspiked (< LLOQ), 3 at 80 pg/mL (Bias −19.7% to −5.8%) at > 400 mg/dL triglyceride	Table 14 of Report [redacted]125EL-171253-B
Dilution linearity & hook effect	Highest concentration 100,000 pg/mL, diluted 100-fold (100,000 pg/mL to 1,000 pg/mL), 2.5-fold (1,000 pg/mL to 400 pg/mL) and 1.6-fold (400 pg/mL, 250 pg/mL, 156 pg/mL, 97.7 pg/mL, 61.0 pg/mL and 38.1 pg/mL) with no hook effect (Bias −22.2% to 4.0%). Bias of −22.2% was observed for a concentration in the middle of the dilution curve. Integrity of dilution: highest concentration 125,000 pg/mL, diluted 250-fold	Tables 8 and 9 of Report [redacted]125EL-171253-B
Bench-top/process stability	24 hours at room temperature/72 hours at 2 to 8°C	Tables 15 and 17 of Report [redacted]125EL-171253-B
Freeze-Thaw stability	3 cycles at −20°C and 5 cycles at −70°C	Table 16 of Report [redacted]125EL-171253-B
Long-term storage	Storage for at least 368 days at both −20°C and −70°C.	Table 18 of Report [redacted]125EL-171253-B
Parallelism	NA	NA
Carry over	No carry over observed.	Table 11 of Report [redacted]125EL-171253-B
Method Performance in the GCT3013-01 Trial Determination of GEN3013 in Human K_2EDTA Plasma Samples by SMCIA and ECLIA: Report [redacted]012EL-170123-A (5.3.1.4-4)		
Assay passing rate	78.6% (81/103 analytical runs)	Table 9 of Report [redacted]012EL-170123-A
Standard curve performance	• Cumulative bias range: −18.5 to 8.2% • Cumulative precision: ≤ 6.0% CV	Table 10 of Report [redacted]012EL-170123-A
QC performance	• Cumulative bias range: −13.5 to 6.2% • Cumulative precision: ≤ 8.2% CV • TE: NC	Table 12 of Report [redacted]012EL-170123-A
Method reproducibility	Incurred sample re-analysis was performed in 2.1% (26 out of 1224) of trial samples, and 84.6% of the samples met the pre-specified criteria.	Table 13 of Report [redacted]012EL-170123-A
Trial sample analysis/ stability	The maximum storage period at −70°C between blood sampling and sample analysis was 526 days. Storage stability at −70°C was demonstrated for 368 days. For 1 sample, the obtained result was not reported because it was analyzed outside the validated storage stability.	Section 8 of Report [redacted]012EL-170123-A
Standard calibration curve performance during accuracy and precision runs	8 calibration samples	

Abbreviations: CV = coefficient of variation; DE = detected events; EP = event photons; FEAL = L234F, L235E and D265A inertness, F405L DuoBody mutations; FEAR = L234F, L235E and D265A inertness, K409R DuoBody mutations; FL = fluorescent; K_2EDTA = dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid; MP = microparticle; NA = not applicable; NC = not calculated; TE = total error; TP = total photons.

Table 10　ECLIA-139 法の要約

Bioanalytical method validation report name, amendments, and hyperlinks	Validation of a method for the determination of GEN3013 in human K_2EDTA plasma samples by ECLIA [Report [redacted]20420-20420X-B (5.3.1.4-8) and Report [redacted]20420-20420X-B Am 01(5.3.1.4-9)].		
Method description	Epcoritamab is captured with a biotinylated antibody ([redacted]), directed against the idiotype of IgG1-huCACAO-FEAL of epcoritamab, which is bound to a streptavidin-coated microtiter plate. A SULFO-TAG conjugated detection antibody directed against the IgG1-7D8-FEAR arm of epcoritamab binds to the captured epcoritamab molecule. After incubation, electrochemical stimulation is initiated at the electrode surfaces of the MSD multi-array ECL plate. Elicited SULFO-TAG label emits light at 620 nm, which is measured with an MSD-ECL plate reader. The amount of emitted light is an indirect readout for the concentration of epcoritamab in the sample.		
Materials used for standard calibration curve and concentration	Blank human K_2EDTA plasma; GEN3013:　被験物質 5*　, 4.73 mg/mL		
Validated assay range	10.0 to 1000 ng/mL, with anchor points at 1.00 ng/mL, 7.50 ng/mL and 1500 ng/mL		
Material used for QCs and concentration	Blank human K_2EDTA plasma; GEN3013:　被験物質 5*　, 4.73 mg/mL		
Minimum required dilutions	1:20		
Source and lot of reagents	[redacted] (Genmab, the Netherlands, lot: [redacted] [redacted] (Genmab, the Netherlands, lot: [redacted]		
Regression model and weighting	4-parameter logistic with $1/Y^2$ weighting factor		
Validation parameters	Method validation summary		Source location
Standard calibration curve performance	Number of standard calibrators from LLOQ to ULOQ	8 calibrators	Table 2 of Report [redacted]20420-20420X-B
	Cumulative accuracy (%bias) from LLOQ to ULOQ	−2.2 to 1.8%	Table 2 of Report [redacted]20420-20420X-B
	Cumulative precision (%CV) from LLOQ to ULOQ	≤ 3.7%	Table 2 of Report [redacted]20420-20420X-B
Performance of QCs during accuracy and precision runs	Cumulative accuracy (%bias) in 5 QCs	−2.4 to −5.5%	Table 5 of Report [redacted]20420-20420X-B
	Inter-batch %CV	≤ 13.9%	Table 5 of Report [redacted]20420-20420X-B
	Total error (TE)	≤ 19.4%	Table 5 of Report [redacted]20420-20420X-B

＊新薬承認情報提供時に置換

Selectivity & matrix effect	Unspiked (< LLOQ; 90% within acceptance criteria) and spiked at 10.0 ng/mL (bias −1.2% to 131.8%; 90% within acceptance criteria) and at 750 ng/mL (bias 1.4% to 23.7%; 90% within acceptance criteria) in 10 samples of healthy donors. Unspiked (< LLOQ; 100% within acceptance criteria) and spiked at 10.0 ng/mL (bias −23.5% to 82.7%; 63.3% within acceptance criteria) and at 750 ng/mL (bias −20.1% to 11.4%; 96.7% within acceptance criteria) in 30 samples of the diseased population. For selectivity in disease state samples, spiked at 10.0 ng/mL (LLOQ), 11 out of 30 (36.7%) samples showed a high bias, ie, above 25%. This high bias was predominantly seen in a particular assay run, where 5 out of 7 samples showed a bias between 26.5% and 37.9%. The LLOQ spike controls in this assay run also showed a high bias with a mean bias of 24.6%. This high bias of the LLOQ spike controls gave an indication of the performance of this specific assay run at LLOQ level and as such also the higher bias in the individual samples spiked at LLOQ level. The selectivity at HQC level tested in the samples of the diseased population were all within specifications (100%). The back calculated values for 80.0% of disease state samples were similar (absolute bias ≤ 25.0% at the LLOQ level and ≤ 20.0% at the HQC level) to the spike controls (normal, healthy plasma) across all disease state selectivity runs. As selectivity was demonstrated in healthy samples, the use of spike controls was appropriate to demonstrate similar recovery in disease state matrix. While the assay did not meet acceptance criteria for disease state selectivity at 10.0 ng/mL, the use of spike controls as the new nominal presents that the disease state matrix did not impact the ability of the assay to quantify between disease state and normal, healthy matrix, thus presenting the method as suitable for trial sample analysis.	Tables 8, 9, and 10 of Report [redacted]20420-20420X-B
Interference & specificity	NA	NA
Hemolysis effect	1 for unspiked (< LLOQ), 3 at 10.0 ng/mL (Bias 13.1% to 27.7%) at 2% hemolysis	Table 11 of Report [redacted]20420-20420X-B
Lipemic effect	1 for unspiked (< LLOQ), 3 at 10.0 ng/mL (Bias −22.0% to −15.0%) at > 300 mg/dL triglycerides	Table 12 of Report [redacted]20420-20420X-B
Dilution linearity & hook effect	Highest concentration 7500 ng/mL, 2-fold serial dilution from 7500 ng/mL to 3.66 ng/mL with no hook effect (Bias −26.2% to 2.0%). For 2 of 3 dilutional linearity experiments, the lowest concentration showed a bias greater than 20%. It appeared that the dilution linearity sample had been spiked low since all samples were trending with negative bias. As the other dilutions met the acceptance criteria, and because the other dilutional linearity run did not show the bias issue, there was no impact on the overall dilutional linearity results. Integrity of dilution: highest concentration 7500 ng/mL, diluted 10-fold	Tables 6 and 7 of Report [redacted]20420-20420X-B
Bench-top/process stability	24 hours at room temperature	Table 15 of Report [redacted]20420-20420X-B
Freeze-thaw stability	5 cycles at both −20°C and −70°C	Table 14 of Report [redacted]20420-20420X-B

Long-term storage	Storage for 78 days at −20°C, at least 448 days at −70°C for all concentrations and at least 603 days at −70°C for concentrations above 750 ng/mL.	Table 16 of Report [redacted]20420-20420X-B Table 5 of Report [redacted]20420-20420X-B Am 01
Parallelism	Performed in-trial; GCT3013-01: % CV of the back-calculated concentrations within the calibration range between 8.8 and 17.1; 100% within acceptance criteria in 10 trial samples. GCT3013-04: % CV of the back-calculated concentrations within the calibration range between 1.8 and 8.5; 100% within acceptance criteria in 10 trial samples.	Table 9 of Report [redacted]012EL-170123-C Table 10 of Report [redacted]20899-20899X-A
Carry over	NA	NA
Method performance in the GCT3013-01 trial Quantification of GEN3013 in Human K_2EDTA Plasma Samples Collected in the GCT3013-01 Trial by ECLIA: Report [redacted]012EL-170123-C (5.3.1.4-6) and Report [redacted]012EL-170123-C Am-01 (5.3.1.4-7)		
Assay passing rate	68.0% (310/456 analytical runs)	Table 2 of Report [redacted]012EL-170123-C
Standard curve performance	• Cumulative bias range: −1.9 to 1.8% • Cumulative precision: ≤ 7.6% CV	Table 3 of Report [redacted]012EL-170123-C
QC performance	• Cumulative bias range: 1.1 to 1.9% • Cumulative precision: ≤ 9.2% CV • TE: NC	Table 5 of Report [redacted]012EL-170123-C
Method reproducibility	Incurred sample re-analysis was performed in 6.9% (501 out of 7297) of trial samples, and 79.2% of the samples met the pre-specified criteria.	Table 7 of Report [redacted]012EL-170123-C
Trial sample analysis/ stability	The maximum storage period at −70°C between blood sampling and sample analysis was 819 days. Storage stability at −70°C was demonstrated for 448 days at all concentrations and for 603 days at concentrations ≥ 750 ng/mL. For 393 samples of the escalation part and 3 samples of the expansion part, the obtained result was not reported because it was analyzed outside the validated storage stability.	Section 4.1 of Report [redacted]012EL-170123-C Am 01
Standard calibration curve performance during accuracy and precision runs	8 calibration samples	
Method performance in the GCT3013-04 trial Quantification of GEN3013 in Human K_2EDTA Plasma Samples Collected in the GCT3013-04 trial by ECLIA: Report [redacted]20899-20899X-A (5.3.1.4-11)		
Assay passing rate	79.6% (74/93 analytical runs)	Table 2 of Report [redacted]20899-20899X-A
Standard curve performance	• Cumulative bias range: −1.2 to 1.7% • Cumulative precision: ≤ 5.3% CV	Table 3 of Report [redacted]20899-20899X-A
QC performance	• Cumulative bias range: −2.6 to 4.5% • Cumulative precision: ≤ 8.8% CV • TE: NC	Table 5 of Report [redacted]20899-20899X-A
Method reproducibility	Incurred sample re-analysis was performed in 9.7% (124 out of 1284) of trial samples, and 71.8% of the samples met the pre-specified criteria.	Table 7 of Report [redacted]20899-20899X-A

Trial sample analysis/ stability	The maximum storage period at −70°C between blood sampling and sample analysis was 311 days. Storage stability at −70°C was demonstrated for 448 days. All samples were analyzed within the validated storage stability.	Section 11 of Report [redacted]20899-20899X-A
Standard calibration curve performance during accuracy and precision runs	8 calibration samples	

Abbreviations: CV = coefficient of variation; FEAL = L234F, L235E and D265A inertness, F405L DuoBody mutations; FEAR = L234F, L235E and D265A inertness, K409R DuoBody mutations; GEN3013 = epcoritamab; HQC = high quality control; K_2EDTA = dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid; MSD = mesoscale discovery; NA = not applicable; NC = not calculated; TE = total error.

Table 11　エプコリタマブの PK 評価に用いた分析法の変更点及びクロスバリデーションの結果

Bioanalytical method validation report name and hyperlink	Cross validation for the quantification of GEN3013 in human plasma samples by SMCIA-139 and ECLIA, cross-validation report: [Report [redacted]20126-20126X-A (5.3.1.4-10)].		
Changes in method	Different analysis technique, ie from SMCIA to ECLIA and as such, the assay range was changed.		
New validated assay range if any	SMCIA-139 assay range of 60.0 pg/mL to 500 pg/mL was changed to 10.0 ng/mL to 1000 ng/mL for ECLIA-139		
Validation parameters	Cross-validation performance SMCIA-139		Source location
Standard calibration curve performance	Cumulative accuracy (% bias) in standard calibrators from LLOQ to ULOQ	−5.6 to 7.8%	Table 2 of Report [redacted]20126-20126X-A
	Cumulative precision (% CV) from LLOQ to ULOQ	≤ 17.6%	Table 2 of Report [redacted]20126-20126X-A
Performance of QCs	Cumulative accuracy (% bias) in 3 QCs	−11.6 to 10.7%	Table 4 of Report [redacted]20126-20126X-A
	Inter-batch % CV	≤ 11.3%	Table 4 of Report [redacted]20126-20126X-A
	Percent TE	≤ 23.0%	Table 4 of Report [redacted]20126-20126X-A
Validation parameters	Cross-validation performance ECLIA-139		Source location
Standard calibration curve performance	Cumulative accuracy (% bias) in standard calibrators from LLOQ to ULOQ	NA; part of calculations of all assay runs	NA
	Cumulative precision (% CV) from LLOQ to ULOQ	NA	NA
Performance of QCs	Cumulative accuracy (% bias) in 3 QCs	NA; part of calculations of all assay runs	NA
	Inter-batch % CV	NA; part of calculations of all assay runs	NA
	Percent TE	NA; part of calculations of all assay runs	NA
Cross-validation SMCIA-139 versus ECLIA-139	9 of 21 (42.9%) of pooled incurred samples were within acceptance criteria (% difference ≤ 30% for 67% of samples tested)		Table 9 of Report [redacted]20420-20420X-B
List other parameters	NA		NA

Abbreviations: CV = coefficient of variation; NA = not applicable; TE = total error.

Table 12　エプコリタマブの免疫原性評価に用いた分析法のライフサイクル

Project(s)	GCT3013-01		GCT3013-04		
Methods ID(s)	-NL-LML-2108, versions 03, 05, and 06		-NL-LML-2399 (immunogenicity assay against whole epcoritamab), versions 03, 04, 05, and 06 -NL-LML-2400 (immunogenicity titration/characterization assay against IgG1-huCACAO-FEAL (3005a) arm of epcoritamab), version 03 -NL-LML-2401 (immunogenicity titration/characterization assay against the IgG1-7D8-FEAR (3001d) of epcoritamab), version 02		
Validation ID(s)	125EL-171253-F (5.3.1.4-3) and 21454-21454X-A (5.3.1.4-13)		20472-20472X-B (5.3.1.4-14)		
Method Use Dates	20 to present		20 to present		
Bioanalytical Site	The Netherlands				
Analyte	Anti-epcoritamab antibodies				
Critical Reagents	Analyte/Reagent	Source/Lot(s)		Expiry or retest date	
		GCT3013-01	GCT3013-04	GCT3013-01	GCT3013-04
Capture reagent	Biotin-epcoritamab	, , , and	, , , ,	20 (), 20 (), 20 (), 20 (), 20 (), 20 ()	20 (), 20 (), 20 ()
Detection reagent	Ruthenylated-epcoritamab	, , , and	, , , ,	20 (), 20 (), 20 (), 20 (), 20 (), 20 ()	20 (), 20 (), 20 ()
Capture reagent	Biotin-3005a	NA		NA	20
Detection reagent	Ruthenylated-3005a	NA		NA	20
Capture reagent	Biotin-3001d	NA		NA	20
Detection reagent	Ruthenylated-3001d	NA		NA	20

Positive control/s	Anti-epcoritamab assay: [redacted]: Affinity purified mouse anti-drug mAb against the IgG1-7D8-FEAR arm (3001d) of epcoritamab	[redacted] and [redacted]	[redacted]	[redacted] 20[redacted] ([redacted]) [redacted] 20[redacted] ([redacted]) ([redacted])	[redacted] 20[redacted]
	Anti-3005a assay: [redacted]: Affinity purified mouse anti-drug mAb against the IgG1-huCACAO-FEAL arm (3005a) of epcoritamab	NA	[redacted]	NA	[redacted] 20[redacted]
	Anti-3001d assay: [redacted]: Affinity purified mouse anti-drug mAb against the IgG1-7D8-FEAR arm (3001d) of epcoritamab	NA	[redacted]	NA	[redacted] 20[redacted]
Negative control/s	Healthy human plasma (for GCT3013-01) and healthy human serum (for GCT3013-04)	[redacted], [redacted] and [redacted]	[redacted]	[redacted] 20[redacted] ([redacted]) [redacted] 20[redacted] ([redacted]) [redacted] 20[redacted] ([redacted])	[redacted] 20[redacted]

Assay information	Platform	Electrochemiluminescence (MSD-ECL)
	Format	Bridging
	Sample Pre-treatment	80-fold minimum required dilution (plasma method; used in GCT3013-01 trial) 80-fold minimum required dilution, (serum methods; used in GCT3013-04 trial)
	Drug conc. In confirm tier (µg/mL)	200 µg/mL
	Sample volume collected (mL)	500 µL – 1 mL
	Sample volume required for 3-tier analysis	100 µL – 150 µL
Sample storage	–60°C or colder for up to 36 months	

Control Criteria	Tier	Control (conc.)	Run Acceptance Criteria
	Screen	NC	≤ 20% CV between duplicates
		LPC (6.42 ng/mL)	≤ 20% CV between duplicates LPC ≥ SCP
		HPC (5000 ng/mL)	≤ 20% CV between duplicates HPC > SCP
	Confirm	NC-I	NC-I < CCP If Signal reduction > CCP, run is only rejected when Neg-QC without drug > SCP
		LPC-I HPC-I	LPC-I ≥ CCP or to values below the plate specific SCP
			HPC-I ≥ CCP or to values below the plate specific SCP
	Titer	Titer controls	≤ 20% CV for dilution involved in titer calculations
			LPC ≥ TCP HPC ≥ TCP
Sample Criteria	Tier	% CV	Result Reporting
	Screen	≤ 20% CV between duplicates	Samples with mean replicate response ≥ the SCP are considered "potential positive" and progress to confirmatory analysis.
			Samples with mean replicate response < the SCP are reported as "negative".
	Confirm	≤ 20% CV between duplicates	Samples with % inhibition ≥ CCP are considered "positive" and progress to titer analysis.
			Samples with % inhibition < CCP are reported as "negative".
	Titer	≤ 20% CV (titer calculation dilutions)	≥ 1 dilution must be < SCP.
			The last dilution above the titer cut point will be used to report sample titer.
Links to reports and amendments	Report [redacted]012EL-170123-B (5.3.1.4-5) (GCT3013-01) and Report [redacted]20899-20899X-B (5.3.1.4-12) (GCT3013-04)		

Abbreviations: CCP = confirmatory cut point; CV = coefficient of variation; FEAL = L234F, L235E and D265A inertness, F405L DuoBody mutations; FEAR = L234F, L235E and D265A inertness, K409R DuoBody mutations; HPC = high positive control; I = inhibited; ID = identification; MSD = mesoscale discovery; NA = not applicable; NC = negative control; SCP = screening cut point; TCP = titer cut point.

Table 13　ヒト血漿中 ADA 分析法のバリデーション

Validation Report Titles	Validation of a method for the detection, confirmation, and titration of anti-GEN3013 antibodies in human plasma samples by bridging ECLIA Partial validation of a method for the detection, confirmation, and titration of anti-GEN3013 antibodies in human K2EDTA plasma samples by bridging ECLIA				
Validation IDs	[redacted]125EL-171253-F (5.3.1.4-3) [redacted]21454-21454X-A (5.3.1.4-13)				
Screening Cut Point (Floating)	Source Data		Population (n)	SCPF	
	Val report [redacted]125EL-171253-F Table 2		Healthy (50)	1.35	
	In-Study Bioanalytical Report [redacted]012EL-170123-B (5.3.1.4-5) Table 24		B cell lymphoma (54)	1.33	
Confirmatory Cut Point (% inhibition)	Source Data		Population (n)	CCP	
	Val report [redacted]125EL-171253-F Table 3 and Table 4		Healthy (50)	8.5%	
	In-Study Bioanalytical Report [redacted]012EL-170123-B; Table 27		B cell lymphoma (54)	12.3%	
Titer Cut Point (Floating)	Source Data		Population (n)	TCPF	
	Val report [redacted]125EL-171253-F Table 2		Healthy (50)	1.35	
	In-Study Bioanalytical Report [redacted]012EL-170123-B Table 25		B cell lymphoma (54)	1.51	
Sensitivity	Source Data	Tier	CP (Population)	Conc. (ng/mL)	
	Val report [redacted]125EL-171253-F; Table 10 and Table 11	Screen	1.35 (Healthy)	19.5 ng/mL (monoclonal anti-epcoritamab antibody) 39.1 ng/mL (polyclonal anti-epcoritamab antibody)	
	Partial val report [redacted]21454-21454X-A Table 3	Screen	1.63 (Healthy)	6.45 ng/mL (monoclonal anti-epcoritamab antibody)	
	Partial val report [redacted]21454-21454X-A Table 4	Confirm	8.5% (Healthy)	0.985 ng/mL (monoclonal anti-epcoritamab antibody)	
Drug Tolerance	Source Data	Tier	CP (Population)	PC Conc. (ng/mL)	Tolerated Drug Conc. (µg/mL)
	Val report [redacted]125EL-171253-F Table 13	Screen	1.35 (Healthy)	100 ng/mL	50.0 µg/mL

Control Precision (Val report [redacted]125EL-171253-F Table 5, Table 6, Table 7, and Table 8)	Level	Conc. (ng/mL)	Screen % CV Signal		Confirm % CV % Inhibition	
			Intra-Assay	Inter-Assay	Intra-Assay	Inter-Assay
	HPC pAb	5000	3.5	16.6	1.0	1.4
	HPC mAb	5000	3.5	16.7	1.6	0.4
	MPC pAb	500	4.4	17.0	NA	NA
	MPC mAb	500	3.0	13.9	NA	NA
	LPC pAb	50.0	6.4	18.3	5.5	2.5
	LPC mAb	25.0	5.8	17.6	6.2	4.1
	NC	0.0	6.1	27.7	NA	NA

Selectivity	Source Data	Tier	Population	CP	PC Conc. (ng/mL)	Met Criteria
	[redacted]125EL-171253-F Table 14	Screen	Healthy	1.35	Blank	10/10
					LPC (50.0 ng/mL)	10/10
					HPC (5000 ng/mL)	10/10
		Confirm	Healthy	8.5%	Blank	10/10
					LPC (50.0 ng/mL)	10/10
					HPC (5000 ng/mL)	10/10
	[redacted]125EL-171253-F Table 15	Screen	B cell lymphoma	1.35	Blank	6/10
					LPC (50.0 ng/mL)	10/10
					HPC (5000 ng/mL)	10/10
		Confirm	B cell lymphoma	8.5%	Blank	10/10
					LPC (50.0 ng/mL)	10/10
					HPC (5000 ng/mL)	10/10

Hemolysis	[redacted]125EL-171253-F Table 16	No effect up to 2% hemolysis
Lipemia	[redacted]125EL-171253-F Table 16	No effect up to 400 mg/dL
Hook Effect	[redacted]125EL-171253-F Table 12	No apparent hook effect observed at concentrations up to 50,000 ng/mL
Thawed matrix stability	[redacted]125EL-171253-F Table 17 and Table 18	24 hours at RT
Processed sample stability	NA	NA
Freeze-thaw stability	[redacted]125EL-171253-F Table 19 and Table 20	6 cycles thawed for hours cumulatively at RT
Long-term storage of control samples	[redacted]125EL-171253-F Table 21	Storage for at least 183 days at −70°C

Abbreviations: CCP = confirmatory cut point; CP = cut point; CV = coefficient of variation; HPC = high positive control; ID = identification; K_2EDTA = dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid; MPC = middle positive control; NA = not applicable; NC = negative control; pAb = polyclonal antibody; PC = positive control; RT = room temperature; SCPF = screening cut point factor; TCPF = titer cut point factor; val = validation.

Table 14　ヒト血清中 ADA 分析法のバリデーション

Validation Report Title	Validation of a method for the screening, confirmation and titration of anti-GEN3013 antibodies in human serum samples by ECLIA									
Validation ID	[redacted]20472-20472X-B (5.3.1.4-14)									
Screening Cut Point (Floating)	Source Data				Population (n)			SCPF		
	Val report [redacted]20472-20472X-B Table 3 and Table 4				Healthy (50)			1.23 (blank matrix [redacted]) 1.28 (blank matrix [redacted])		
	In-Study Bioanalytical Report [redacted]20899-20899X-B (5.3.1.4-12) Table 11				B cell lymphoma (54)			2.51		
Confirmatory Cut Point (% inhibition)	Source Data				Population (n)			CCP		
	Val report [redacted]20472-20472X-B Table 6 and Table 7				Healthy (50)			11.3%		
	In-Study Bioanalytical Report [redacted]20899-20899X-B Table 12				B cell lymphoma (54)			15.0%		
Titer Cut Point (Floating)	Source Data				Population (n)			TCPF		
	Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 29 Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 40				Healthy (50) Healthy (50)			1.29 (anti-3001d antibody assay) 1.30 (anti-3005a antibody assay)		
Sensitivity	Source Data				Tier	CP (Population)		Conc. (ng/mL)		
	Val report [redacted]20472-20472X-B Table 12 and Table 13				Screen	1.23 (Healthy)		2.83 ng/mL (monoclonal anti-epcoritamab antibody) 11.8 ng/mL (polyclonal anti-epcoritamab antibody)		
					Confirm	11.3% (Healthy)		1.51 ng/mL (monoclonal anti-epcoritamab antibody) 5.56 ng/mL (polyclonal anti-epcoritamab antibody)		
Drug Tolerance	Source Data			Tier	CP (Population)			PC Conc. (ng/mL)	Tolerated Drug Conc. (µg/mL)	
	Val report [redacted]20472-20472X-B Table 16 and Table 17			Screen	1.28 (Healthy)			100 ng/mL (monoclonal anti-epcoritamab antibody)	250 µg/mL	
								100 ng/mL (polyclonal anti-epcoritamab antibody)	62.5 µg/mL	
Control Precision (Val report [redacted]20472-20472X-B Table 8, Table 9, Table 10)	Level	Conc. (ng/mL)	Screen % CV Signal or Ratio				Confirm % CV % Inhibition			
			Intra-Assay		Inter-Assay		Intra-Assay		Inter-Assay	
			Reagent Batch 1	Reagent Batch 2	Reagent Batch 1	Reagent Batch 2	Reagent Batch 1	Reagent Batch 2	Reagent Batch 1	Reagent Batch 2
	HPC	5000	2.3	NA	5.3	14.9	0.4	NA	0.7	1.4
	MPC	500	2.7	NA	4.3	14.1	0.4	NA	0.8	1.5
	pLPC	10.0	NA	NA	6.8	13.7	NA	NA	6.3	9.7
	LPC	6.42	NA	NA	NA	4.6	NA	NA	NA	7.2
	LPC	4.42	1.2	NA	NA	10.3	2.1	NA	NA	14.5
	NC	0.0	3.8	NA	11.3	20.3	NA	NA	NA	NA

Selectivity	Source Data	Tier	Population	CP	PC Conc. (ng/mL)	Met Criteria
	Val report [redacted]20472-20472X-B Table 18	Screen	Healthy	1.28	Blank	7/10
					LPC (4.42 ng/mL)	9/10
					HPC (5000 ng/mL)	10/10
		Confirm	Healthy	11.3%	Blank	10/10
					LPC (4.42 ng/mL)	10/10
					HPC (5000 ng/mL)	10/10
	Val report [redacted]20472-20472X-B Table 19	Screen	B cell lymphoma	1.28	Blank	15/30
					LPC (4.42 ng/mL)	29/30
					HPC (5000 ng/mL)	30/30
		Confirm	B cell lymphoma	11.3%	Blank	27/30
					LPC (4.42 ng/mL)	29/30
					HPC (5000 ng/mL)	30/30
Hemolysis			Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 20		No effect up to 2% hemolysis	
Lipemia			Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 21		No effect up to 300 mg/dL	
Hook effect			Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 15		No apparent hook effect observed at concentrations up to 100 µg/mL	
Thawed matrix stability			Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 22		24 hours at RT	
Processed sample stability			NA		NA	
Freeze-thaw stability			Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 23		7 cycles thawed for 2 hrs. cumulatively at RT	
Long-term storage of control samples			Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 24		Storage for at least 176 days at −20°C and −70°C	

Domain Specificity IgG1-7D8-FEAR (3001d)	Source Data		Population (n)	TCPF
Titration Cut Point (Floating)	Val report [redacted]20472-20472X-B Table 29		Healthy (50)	1.29
Control Precision (Val report [redacted]20472-20472X-B Table 30)	Level	Conc. (ng/mL)	Titration % CV Signal or Ratio	
			Intra-Assay	Inter-Assay
	HPC	5000	≤ 3.5	12.3
	MPC	500	≤ 3.7	9.8
	LPC	30.0	≤ 2.6	6.9
	NC	0.0	NA	NA

Selectivity	Source Data	Tier	Population	CP	PC Conc. (ng/mL)	Met Criteria
	Val report [redacted]20472-20472X-B Table 32	Titer	B cell lymphoma	1.29	MPC (500 ng/mL)	10/10
Hemolysis			Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 32		No effect up to 2% hemolysis	
Lipemia			Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 32		No effect up to 300 mg/dL	
Thawed matrix stability			Val report [redacted]20472-20472X-B Table 33		24 hours at RT	
Freeze-thaw stability			Val report [redacted]20472-20472X-B Table 34		6 cycles thawed for 2 hours cumulatively at RT	

Long-term storage of control samples			Val report [redacted]20472-20472X-B Table 35		Storage for at least 188 days at −20°C and −70°C	
Domain Specificity IgG1-huCACAO-FEAL (3005a)	Source Data		Population (n)		TCPF	
Titration Cut Point (Floating)	Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 40		Healthy (50)		1.30	
Control Precision (Val report [redacted]20472-20472X-B Table 41)	Level	Conc. (ng/mL)	Titration % CV Signal or Ratio			
			Intra-Assay		Inter-Assay	
	HPC	5000	≤ 4.9		19.6	
	MPC	500	≤ 3.2		12.3	
	LPC	150	≤ 3.6		7.6	
	NC	0.0	NA		NA	
Selectivity	Source Data	Tier	Population	CP	PC Conc. (ng/mL)	Met Criteria
	Val report [redacted]20472-20472X-B Table 43	Titer	B cell lymphoma	1.30	MPC (500 ng/mL)	8/10
Hemolysis			Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 43		No effect up to 2% hemolysis	
Lipemia			Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 43		No effect up to 300 mg/dL	
Thawed matrix stability			Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 44		24 hours at RT	
Freeze-thaw stability			Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 45		6 cycles thawed for 2 hrs. cumulatively at RT	
Long-term storage of control samples			Val report [redacted]20472-20472X-B; Table 46		Storage for at least 188 days at −20°C and −70°C	

Abbreviations: CCP = confirmatory cut point; CP = cut point; CV = coefficient of variation; FEAL = L234F, L235E and D265A inertness, F405L DuoBody mutations; FEAR = L234F, L235E and D265A inertness, K409R DuoBody mutations; HPC = high positive control; ID = identification; MPC = middle positive control; NA = not applicable; NC = negative control; PC = positive control; pLPC = preliminary low positive control; RT = room temperature; SCPF = screening cut point factor; TCPF = titer cut point factor; val = validation.