

#### **2.6.4 薬物動態試験の概要文**

## 目 次

目 次 .....	2
表 一 覧 .....	2
図 一 覧 .....	2
略号一覧 .....	3
1 まとめ .....	4
2 分析法 .....	4
3 吸収 .....	5
4 分布 .....	5
5 代謝（動物種間の比較） .....	7
6 排泄 .....	7
7 薬物動態学的薬物相互作用 .....	7
8 その他の薬物動態試験 .....	7
9 考察及び結論 .....	9

## 表 一 覧

Table 4-1	組織切片における CD3 染色強度 .....	6
-----------	-------------------------	---

## 図 一 覧

Figure 8-1	白血病性 NOD-SCID マウスに T 細胞を投与後 4 週における末梢血中 CD4 <sup>+</sup> 及び CD8 <sup>+</sup> T 細胞数 .....	8
Figure 8-2	白血病性 NOD-SCID マウスに T 細胞を投与後 4 週における末梢血中 CAR 発現 T 細胞 (GFP <sup>+</sup> ) 中の CD4 <sup>+</sup> 及び CD8 <sup>+</sup> の% (平均値±標準誤差) .....	8
Figure 8-3	非白血病性 NOD-SCID マウスに T 細胞を投与後 4 週における末梢血中 CAR 発現 T 細胞 (GFP <sup>+</sup> ) 中の CD4 <sup>+</sup> 及び CD8 <sup>+</sup> の% (平均値±標準誤差) .....	9

## 略号一覧

略号	省略していない表現 (英)	省略していない表現 (日)
ALL	acute lymphoblastic leukemia	急性リンパ芽球性白血病
CAR	chimeric antigen receptor	キメラ抗原受容体
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
IHC	immunohistochemistry	免疫組織化学的
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
NOD	Non-obese diabetic	非肥満糖尿病
NOG	NOD/scid IL-2R $\gamma$ c null	—
PCR	polymerase chain reaction	ポリメラーゼ連鎖反応
SCID	Severe combined immunodeficiency	重症複合免疫不全

## 1 まとめ

CTL019 は、*ex vivo* でレンチウイルスベクターを用いて抗 CD19 キメラ抗原受容体 (CAR) 発現遺伝子を患者自身の T 細胞に導入した、CAR 発現生 T 細胞を主成分とする細胞加工製品である。そのため、通常医薬品で実施されるような非臨床薬物動態試験は実施しておらず、マウスにおける非臨床薬理試験及び毒性試験において、同時に CAR 発現細胞の分布について検討した結果が得られているのみである。

免疫不全マウスである NOD/scid IL-2Rγ<sup>null</sup> (NOG) マウスに患者由来のヒト B 細胞性急性リンパ芽球性白血病細胞 (ALL) を移植したモデルマウスを用いて、CAR 発現 T 細胞を投与後の CAR 発現 T 細胞の体内分布を検討した。この試験では、レンチウイルスベクター-LTG118 (αCD19-ζ CAR) 及び LTG119 (αCD19-BB-ζ CAR, CTL019) を用いて作成した 2 種類の CAR 発現 T 細胞の 1:1 混合物を投与後の組織を採取し、組織試料から抽出した DNA 中の LTG118 及び LTG119 を定量することによって T 細胞の分布を評価した。この試験は、XXXXXXXXXX で実施されたが、一部の試料のみの測定が実施され、特に肝臓、脳、及び心臓試料については多くが未測定であったため、これらの組織に対する T 細胞の分布については本資料中に記載しなかった。また、血液試料についてもほとんど採取されていないため、結果を記載しなかった。本資料では、評価に十分なデータが得られている脾臓、肺、腎臓及び骨髄に対する T 細胞の分布に関する結果を記載した。

2 種類の CAR の混合物を 20×10<sup>6</sup> 個の用量で NOG マウスに投与後 21 日及び 35 日において、35 日の 1 例の腎臓を除く全試料 (脾臓、肺、腎臓及び骨髄) で LTG118 及び LTG119 ベクターが検出された。5×10<sup>6</sup> 個または 1×10<sup>6</sup> 個の用量で投与した場合には、肺以外の組織ではほとんど T 細胞は検出されなかった。投与後 21 日及び 35 日の組織中のベクター数 (copy/500 ng DNA) は、脾臓、腎臓及び骨髄で同程度であり、肺ではこれらの組織に比べて高い傾向がみられた。

## 2 分析法

ヘモグロビン、塩、タンパク等の PCR の阻害物質の影響を最小化し、効率的にゲノム DNA が得られるようにマウス組織からの DNA 抽出法を最適化して、Puregene Gentra システムを用いた 2 種類の単離法 (組織用及び末梢血用) を作成した。検出下限が 10 copy/μg DNA の PCR 法を用いて、抽出した DNA を測定した [Table 2.6.5.2]。

FDA のガイダンスである「Gene Therapy Clinical Trials-Observing Subjects for Delayed Adverse Events」に準じて、LTG118 ベクター (ζプライマーセット) 及び LTG119 ベクター (4-1BB-ζプライマーセット) に特異的なプライマーを用いて、計 2 μg (1 μg×2 回) のゲノム DNA について検討を行った。各プライマーセットについて、動物由来の組織 DNA を含む PCR ウェルそれぞれに 4-1BB-ζプラスミド及び ζプラスミドを各 20 copy 添加することにより、FDA で推奨される必要検出限界である 50 copy/μg で標的シーケンスが検出可能であることを確認した。

### 3 吸収

該当する試験は実施していない。

### 4 分布

免疫不全マウスである NOG マウスを用いた非 GLP 毒性試験 (ACGT-10 試験) において、CAR 発現 T 細胞の体内分布を評価した。ACGT-10 試験は [REDACTED] で実施、及び結果についてのオリジナルレポート [Table 2.6.5.5-ACGT-10] が作成され、ノバルティス社で生データの確認、データのレビュー及び再評価を実施してその結果を報告書 [Table 2.6.5.5-ACGT-10-FRA1, ACGT-10-FRA2] としてまとめた。

NOG マウスに ALL を移植し (試験 0 日目)、3 週間後に CAR 発現 T 細胞を  $1 \times 10^6$  個、 $5 \times 10^6$  個、又は  $20 \times 10^6$  個の用量で投与した (試験 21 日目)。投与した CAR 発現 T 細胞は、レンチウイルスベクターとして LTG118 ( $\alpha$ CD19- $\zeta$  CAR) 及び LTG119 ( $\alpha$ CD19-BB- $\zeta$  CAR, CTL019) を用いて作成した 2 種類の CAR 発現 T 細胞の 1 対 1 の割合の混合物を用いた。投与後 21 日 (試験 42 日目) 及び 35 日 (試験 56 日目) に各 4 例の動物を屠殺して組織を採取し、試験終了時点 (試験 217 日目) に全例を屠殺して組織を採取した。採取した組織から DNA を抽出し、PCR 法を用いて LTG118 及び LTG119 を測定した。

[REDACTED] で作成されたオリジナルレポートでは一部の試料のみが測定され、特に肝臓、脳、及び心臓試料の多くが未測定であったため、これらの組織に対する T 細胞の分布に関する結果については記載しなかった。また、血液試料についてもほとんど採取されていないため、結果を記載しなかった。評価に十分なデータが得られている脾臓、肺、腎臓及び骨髄に対する T 細胞の分布に関する結果を以下に記載した。

2 種類の CAR の混合物を  $20 \times 10^6$  個の用量で NOG マウスに投与後 21 日目及び 35 日目において、35 日目の 1 例の腎臓を除く全試料 (脾臓、肺、腎臓及び骨髄) で LTG118 及び LTG119 ベクターが検出された [Table 2.6.5.5]。  $5 \times 10^6$  個または  $1 \times 10^6$  個の用量で投与した場合には、肺以外の組織ではほとんど T 細胞は検出されなかった。投与後 21 日目及び 35 日目の組織中のベクター数 (copy/500 ng DNA) は脾臓、腎臓及び骨髄で同程度であったが、肺ではこれらの組織に比べて高い傾向がみられた [4.2.2.3-2-ACGT-10-FRA1-Table 4-2, Table 4-3, Table 4-5, Table 4-9]。試験 217 日目には、LTG119 ベクターは  $5 \times 10^6$  個の用量で投与された 1 例の脾臓、腎臓及び骨髄で検出されたのみであり、骨髄、脾臓、腎臓の順に高かった。この 1 例における LTG118 ベクター数は、骨髄に比べて脾臓で高く腎臓では検出されなかった。

また、CAR 発現 T 細胞を投与され単核細胞浸潤が確認された動物の組織標本の CD3 細胞を染色し、免疫組織化学的 (immunohistochemistry, IHC) 測定により組織への細胞分布について検討した (Table 4-1)。この測定法では細胞中の LTG118 と LTG119 を区別することはできず、また単核細胞浸潤が認められた場合にのみ IHC 法で測定したため、この結果では投与された細胞の真の分布を必ずしも反映していない可能性がある。

**Table 4-1 組織切片における CD3 染色強度**

動物番号	群	用量	組織	コメント	IHC CD3+
193	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Skin	moderate	+
193	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Kidney	minimal	+++
193	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Liver	moderate	++
193	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Lung	severe	++++
193	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Spleen	moderate	+++
235	3	1 x 10 <sup>6</sup>	BM	Severe	-
235	3	1 x 10 <sup>6</sup>	Kidney	minimal	-
235	3	1 x 10 <sup>6</sup>	Liver	leukemic/tumor cells	-
235	3	1 x 10 <sup>6</sup>	Spleen	moderate	+
221	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Liver	minimal	-
221	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Lung	mild	+++
221	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Spleen	mild	+
224	2	5 x 10 <sup>6</sup>	Spleen	moderate	-
225	3	1 x 10 <sup>6</sup>	BM	severe	-
225	3	1 x 10 <sup>6</sup>	Liver	minimal	-
237	3	1 x 10 <sup>6</sup>	Skin	moderate	+++
237	3	1 x 10 <sup>6</sup>	Liver	moderate/leukemic	+++
237	3	1 x 10 <sup>6</sup>	Spleen	severe	-
238	2	5 x 10 <sup>6</sup>	Spleen	severe	missing slide
324	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Kidney	minimal	+++
324	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Liver	moderate	+++
324	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Lung	severe	++++
324	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Pancreas	mild	+
324	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Spleen	moderate	++++
337	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Lung	minimal	++
337	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Spleen	severe	missing slide
338	3	1 x 10 <sup>6</sup>	BM	tumor-severe	-
338	3	1 x 10 <sup>6</sup>	Liver	leukemic-mild	-
338	3	1 x 10 <sup>6</sup>	Spleen	tumor-moderate	-
340	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Kidney	minimal	++
340	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Liver	minimal	+
340	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Lung	mild	+++
343	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Skin	severe	++++
343	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Testes	moderate	++++
343	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Kidney	moderate	++++
343	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Liver	severe	+++
343	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Lung	severe	++++
343	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Pancreas	mild	++
343	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Spleen	severe	++++
352	3	1 x 10 <sup>6</sup>	Pancreas	minimal	+
359	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Liver	mild	+
359	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Lung	mild	+
359	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Pancreas	minimal	-
359	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Spleen	moderate	+



動物番号	群	用量	組織	コメント	IHC CD3+
362	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Liver	mild	++
362	1	20 x 10 <sup>6</sup>	Lung	moderate	+++
366	3	1 x 10 <sup>6</sup>	BM	moderate	-

Source: 4.2.2.3-2-ACGT-10-FRA1-Table 2-3, Table 3-4

## 5 代謝（動物種間の比較）

該当する試験は実施していない。

## 6 排泄

該当する試験は実施していない。

## 7 薬物動態学的薬物相互作用

CTL019 は CAR 発現遺伝子を導入して増殖させた自己末梢血 T 細胞からなる、単回投与される細胞製品であり、一般に想定される薬物間相互作用は生じないと考えられることから、薬物相互作用試験は実施していない。CTL019 が遺伝子導入前の T 細胞と同じ性質を有しているかについては不明であるが、T 細胞は免疫抑制剤の影響を受ける可能性があることから、ステロイド、化学療法剤、mTOR 阻害剤等免疫抑制作用を有する薬剤の投与により CTL019 の細胞動態が影響を受ける可能性は否定できない。また、CTL019 の投与により IL-6 等のサイトカインが変動して、CYP 酵素がダウンレギュレーションを受ける可能性も考えられる。

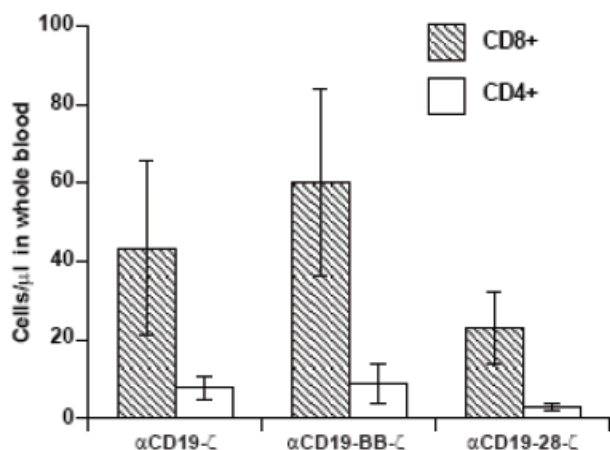
## 8 その他の薬物動態試験

3 種の異なるタイプの CAR 遺伝子を発現した T 細胞を投与したときの体内での持続性について、マウス担癌モデルを用いて比較した [Table 2.6.5.16]。検討には、共刺激ドメインを有しない  $\alpha$ CD19- $\zeta$ 、及び共刺激ドメインを有する  $\alpha$ CD19-28- $\zeta$  及び  $\alpha$ CD19-BB- $\zeta$  の 3 種類の導入遺伝子配列の CAR 発現 T 細胞を用いた。

NOD-SCID- $\gamma^{-/-}$ マウスに ALL 細胞  $2 \times 10^6$  個を投与した 3 週間後に、3 種類の CAR 発現 T 細胞  $8 \times 10^6$  個を投与した。CAR 発現細胞の生着及び持続性は導入された共刺激ドメインにより異なり、3 種類の中で  $\alpha$ CD19-BB- $\zeta$  の CAR 発現 T 細胞 (CTL019) を投与したときの総 T 細胞数が最も高く (Figure 8-1)、T 細胞は CD4 及び CD8 を発現した CAR 発現 T 細胞であった (Figure 8-2)。CAR 発現 T 細胞の割合は、 $\alpha$ CD19- $\zeta$  の CAR 発現 T 細胞と比較して、CTL019 が有意に高く ( $p < 0.01$ )、 $\alpha$ CD19-28- $\zeta$  の CAR 発現 T 細胞では差がなかった。また、ALL 細胞を投与していない NOD-SCID- $\gamma^{-/-}$ マウスに T 細胞を投与したときの CAR 発現 CD4<sup>+</sup>及び CD8<sup>+</sup> T 細胞の割合を Figure 8-3 に示す。Figure 8-2 に示した ALL 細胞を投与したマウスと同様に、ALL 細胞を投与していないマウスにおいても CTL019 を投与したときに CAR 発現 CD4<sup>+</sup>及び CD8<sup>+</sup> T 細胞の生着及び

持続性の増加がみられたことから、4-1BB 共刺激ドメインを導入した CTL019 でみられた T 細胞の生着及び持続性の増加は、抗原に依存しないと考えられた。

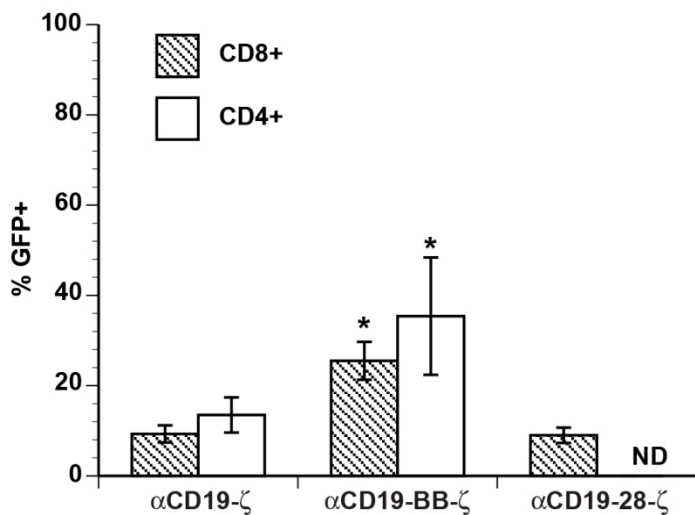
**Figure 8-1** 白血病的 NOD-SCID マウスに T 細胞を投与後 4 週における末梢血中 CD4<sup>+</sup> 及び CD8<sup>+</sup> T 細胞数



データは各群 4 例以上のマウスで得られた末梢血 1 mL 中の細胞数の平均値±標準誤差

Source: 4.2.1.1-2- CART-19 preclinical animal studies-FRA1-Figure 5.3-2

**Figure 8-2** 白血病的 NOD-SCID マウスに T 細胞を投与後 4 週における末梢血中 CAR 発現 T 細胞 (GFP<sup>+</sup>) 中の CD4<sup>+</sup> 及び CD8<sup>+</sup> の% (平均値±標準誤差)



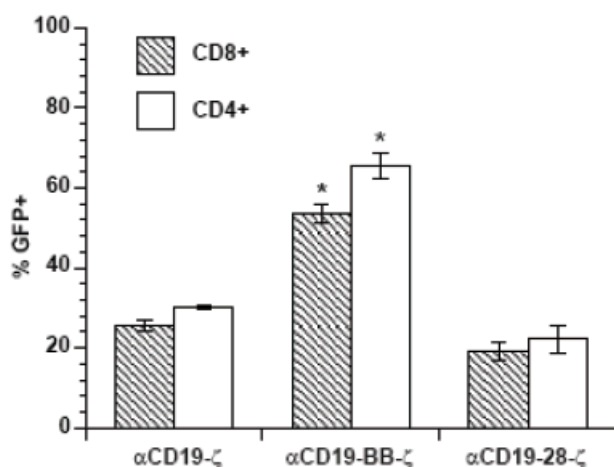
一元配置分散分析における F 検定で、各群の平均値に有意差があった (p<0.01)

\* は他の 2 群との事後比較において有意差があったことを示す (Scheffe F 検定で p=0.05)

Source: 4.2.1.1-2- CART-19 preclinical animal studies-FRA1-Figure 5.3-2



**Figure 8-3** 非白血病性 NOD-SCID マウスに T 細胞を投与後 4 週における末梢血中 CAR 発現 T 細胞 (GFP<sup>+</sup>) 中の CD4<sup>+</sup> 及び CD8<sup>+</sup> の% (平均値±標準誤差)



一元配置分散分析における F 検定で、各群の平均値に有意差があった ( $p < 0.01$ )

\* は他の 2 群との事後比較において有意差があったことを示す (Scheffe F 検定で  $p = 0.05$ )

Source: 4.2.1.1-2- CART-19 preclinical animal studies-FRA1-Figure 5.3-2

## 9 考察及び結論

2 種類の CAR を発現した T 細胞の混合物を NOG マウスに投与したとき、 $20 \times 10^6$  個の用量では投与後 21 日目及び 35 日目において、35 日目の 1 例の腎臓を除く全試料 (脾臓、肺、腎臓及び骨髄) で LTG118 及び LTG119 ベクターが検出され、組織への分布及び持続性が認められた (4 項)。さらに、予備的な肝臓、脳、心臓、及び血液に関する結果からも、広く組織に分布することが示唆されている。 $5 \times 10^6$  個または  $1 \times 10^6$  個の低用量を投与した場合には、肺以外の組織ではほとんど T 細胞は検出されなかった。試験 217 日目には、組織中の T 細胞は  $5 \times 10^6$  個の用量で投与された 1 例の脾臓、腎臓及び骨髄で検出されたのみであった。末梢血中の T 細胞は投与後に増殖した後で時間経過とともに低下し、増殖の程度は用量に依存して増加する傾向が示唆された。

また、導入遺伝子配列に 4-1BB 共刺激ドメインを導入した場合、投与 4 週後の末梢血中に CAR 発現 T 細胞が認められていることから血液中においても持続性が示唆され、さらに、抗原非依存的に CAR 発現 T 細胞の体内での生着及び持続性の増加が得られると考えられた。

## 2.6.5 藥物動態試驗概要表

## 目 次

目 次 .....	2
略号一覧 .....	3
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧.....	4
2.6.5.2 薬物動態試験：分析方法.....	5
2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収.....	7
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収.....	8
2.6.5.5 薬物動態試験：分布.....	9
2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合.....	11
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠動物における試験.....	12
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験.....	13
2.6.5.9 薬物動態試験： <i>in vivo</i> における代謝.....	14
2.6.5.10 薬物動態試験： <i>in vitro</i> における代謝.....	15
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路.....	16
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害.....	17
2.6.5.13 薬物動態試験：累積排泄.....	18
2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄.....	19
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用.....	20
2.6.5.16 薬物動態試験：その他.....	21

**略号一覧**

略号	省略していない表現 (英)	省略していない表現 (日)
ALL	acute lymphoblastic leukemia	急性リンパ芽球性白血病
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
GAPDH	glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	グリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素
IV	intravenous	静脈内
LOQ	limit of quantitation	定量限界
NOD	non-obese diabetic	非肥満糖尿病
NOG	NOD/scid IL-2R $\gamma$ c null	—
PCR	polymerase chain reaction	ポリメラーゼ連鎖反応
SCID	severe combined immunodeficiency	重症複合免疫不全

**2.6.5.1 藥物動態試驗：一覽**

Type of study	Test system(s), Species, Strain, Sex, Feeding	Administration, Sample(s), Batch(es)	Duration of dosing	Analyte(s), Dose(s), Concentrations	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Pharmacokinetics: Organ Distribution	Mouse; NOD/ <i>scid</i> IL-2R $\gamma$ <sup>null</sup> (NOG), Male and Female	IV	Single dose	Analytes: LTG118 vector and LTG119 vector  Doses: 1 x 10 <sup>6</sup> cells; 5 x 10 <sup>6</sup> cells; 20 x 10 <sup>6</sup> cells of 1:1 mixture of T cells containing either LTG118 vector ( $\alpha$ CD19- $\zeta$ ) and LTG119 vector ( $\alpha$ CD19-BB- $\zeta$ )	No	██████	[ACGT-10] [ACGT-10-FRA1] [ACGT-10-FRA2]	4.2.2.3-1 4.2.2.3-2 4.2.2.3-3
Pharmacokinetics: Other Studies	Mouse: NOD-SCID- $\gamma$ - /-	IV	Single dose	Analytes: CD4+ and CD8+ T cell counts or % of CAR+GFP+CD4+ and CD8+ T cells  Doses: 1x10 <sup>6</sup> of cells; 5x10 <sup>6</sup> cells; 10x10 <sup>6</sup> cells of T cells expressing one of four CART-19 receptor constructs: $\alpha$ CD19- $\zeta$ , $\alpha$ CD19-BB- $\zeta$ , $\alpha$ CD19-28- $\zeta$ , and $\alpha$ CD19-28-BB- $\zeta$ .	No	██████	[CART-19 preclinical animal studies-FRA1]	4.2.1.1-2

### 2.6.5.2 薬物動態試験：分析方法

Study title:	Transfer of chimeric antigen receptors for tumor immunotherapy CART-19 PCR validation
GLP compliance:	No
Study No.	<a href="#">[CART-19 PCR Validation]</a>
Location in CTD:	4.2.2.1-1
Method:	Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR)
Instrument:	ABI 7900 thermocycler
Substance analyzed:	LTG118 (ζ ; zeta) and LTG119 (4-1BB-ζ; 4-1BB-zeta) vector DNA
Reference compound:	Not Applicable
Internal standard:	Not Applicable
Sample preparation:	Genomic DNA was extracted from blood and tissue samples using the Puregene Gentra system
Results:	The assay was validated with a LOQ of 10 copies of vector/μg DNA
Selectivity	Not applicable
Stability	Not applicable
Intra-day accuracy and precision	Not applicable
Inter-day accuracy and precision	The following data were generated from a comparison of results from 3 to 4 different analyses by 1 or 2 analysts. 4-1BB-zeta: CV (%) ranged from 1.47~5.31% across the range of 5~1,000,000 copies/500 ng DNA. Zeta: CV (%) ranged from 1.50~3.02% across the range of 5~1,000,000 copies/500 ng DNA. GAPDH: CV (%) ranged from 0.32~1.83% across the range of 20~200,000 copies/500 ng DNA.
LOQ	10 copies/μg genomic DNA
Relative recovery	Not applicable

#### 追記:

- 天然のヒトシグナル伝達鎖との交差反応を避けるため、BB-ζのプライマーはBBおよびζシグナル伝達ドメインの接合領域を増幅し、ζのみのプライマーはζ鎖とCD8膜貫通領域間の接合領域を増幅する。これらの接合領域は天然には存在しない。
- 反応混合物を45サイクル反応し、9600サーマルサイクリング法を用いてABI 7900システムで分析した。
- 4-1BB-ζおよびζのみの各プライマーセットについて、動物由来の組織DNA（ゲノムDNAとして1 μg×2回）を20 copyの4-1BB-ζおよびζプラスミドとPCRウェルにスパイクして、FDAの要求検出感度である50 copy/μg DNA以下の標的配列の検出を確認した。各組織及びプライマーセットには、スパイク対照の2つのウェルを含めた。

## 2.6.5 薬物動態試験概要表

CTL019

- 以下の基準によりバリデートした。
  - GAPDH の理論値に対する CV%が 20%以下
  - BB- $\zeta$ ,  $\zeta$ 値が理論値の 80%以内
  - コントロールが 2.5 copy/well 未満, 5 copy/ $\mu$ g DNA (検出限界の 1/2) 未満
- 以下のプライマー, プローブを用いた。
  - Probes: 5'
    - CD19 41BB MGB probe: VIC ACT CTC AGT TCA CAT CCT C
    - CD19 Zeta MGB probe: FAM CTT TAC TGC AGA GTG AAG T
    - GAPDH MGB probe: VIC AGC CTT GAC GGT GCC
  
  - Primers: 5'
    - CD19 41BB F primer: TGC CGA TTT CCA GAA GAA GAA GAA G
    - CD19 41BB R primer: GCG CTC CTG CTG AAC TTC
    - CD19 Zeta F primer: TCC TGT CAC TGG TTA TCA CCC TTT A
    - CD19 Zeta R primer: GTT CTG GCC CTG CTG GTA
    - GAPDH F primer: TGA TGA CAA GCT TCC CGT TCT
    - GAPDH R primer: CCC CAG GTT TAC ATG TTC CAA TAT



### 2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

該当する試験は実施していない。

#### **2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収**

該当する試験は実施していない。

**2.6.5.5 藥物動態試驗：分布**

Study title:	Summary Report and Data Analysis: Evaluation of CART-19 Biototoxicity and Biodistribution in Human Immune-reconstituted NOG Mice					
GLP compliance:	No					
Study No:	<a href="#">[ACGT-10]</a> , <a href="#">[ACGT-10-FRA1]</a> , <a href="#">[ACGT-10-FRA2]</a>					
Location in CTD:	4.2.2.3-1, 4.2.2.3-2, 4.2.2.3-3					
Species:	Mouse; NOD/ <i>scid</i> IL-2R $\gamma$ <sup>null</sup> (NOG)					
Number of animals:	104					
Feeding condition:	Not applicable					
Vehicle / formulation:	Not applicable					
Method of administration:	Intravenous					
Dose:	1 x 10 <sup>6</sup> cells; 5 x 10 <sup>6</sup> cells; 20 x 10 <sup>6</sup> cells. Dose is of transduced T cells. 1:1 mixture of T cells containing either LTG118 vector ( $\alpha$ CD19- $\zeta$ ) and LTG119 vector ( $\alpha$ CD19-BB- $\zeta$ ) Cells containing LTG119 vector ( $\alpha$ CD19-BB- $\zeta$ ) are equivalent to CTL019					
Radionuclide:	Not applicable					
Specific activity:	Not applicable					
Analyte / assay (unit):	Copies LTG118 vector/500 ng DNA Copies LTG119 vector/500 ng DNA Incidence of animals with detectable vector ( $\geq 5$ copies/500 ng DNA)					
Sampling time:	Study Day 42 (42 days after B-ALL administration; 21 days after T-cell administration) Study Day 56 (56 days after B-ALL administration; 35 days after T-cell administration) Additional samples were obtained when animals were moribund and at the end of the study (Study Day 217)					
Tissues / organs:	Number of animals with detectable vector ( $\geq 5$ copies/500 ng DNA)					
	20 x 10 <sup>6</sup> cells Day 42	5 x 10 <sup>6</sup> cells Day 42	1 x 10 <sup>6</sup> cells Day 42	20 x 10 <sup>6</sup> cells Day 56	5 x 10 <sup>6</sup> cells Day 56	1 x 10 <sup>6</sup> cells Day 56
LTG118 vector						
Spleen	3/3	1/4	0/4	3/3	0/4	0/4
Lung	4/4	2/3	0/3	4/4	3/4	0/3
Kidneys	4/4	1/4	0/4	3/4	0/3	0/3
Bone Marrow	1/1	1/2	0/1	3/3	0/1	0/2

## 2.6.5 藥物動態試驗概要表

CTL019

---

Study title:	Summary Report and Data Analysis: Evaluation of CART-19 Biototoxicity and Biodistribution in Human Immune-reconstituted NOG Mice					
LGT119 vector						
Spleen	4/4	1/4	0/3	3/3	0/4	2/4
Lung	3/3	2/3	0/3	4/4	2/3	1/4
Kidneys	4/4	0/3	0/4	2/3	0/3	0/2
Bone Marrow	No valid results	0/1	2/3	3/3	0/2	0/1

---

### 2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合

該当する試験は実施していない。

### 2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠動物における試験

該当する試験は実施していない。

### 2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

該当する試験は実施していない。



### 2.6.5.9 薬物動態試験 : *in vivo* における代謝

該当する試験は実施していない。

### 2.6.5.10 薬物動態試験：*in vitro* における代謝

該当する試験は実施していない。

### 2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

該当する試験は実施していない。

### 2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

該当する試験は実施していない。

### 2.6.5.13 薬物動態試験：累積排泄

該当する試験は実施していない。

#### **2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄**

該当する試験は実施していない。

### 2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

該当する試験は実施していない。



**2.6.5.16 薬物動態試験：その他**

---

Study title:	CART-19 preclinical animal studies
GLP compliance:	No
Study No:	<a href="#">[CART-19 preclinical animal studies-FRA1]</a>
Location in CTD:	4.2.1.1-2
Test article:	Four CART-19 receptor constructs: $\alpha$ CD19- $\zeta$ , $\alpha$ CD19-BB- $\zeta$ , $\alpha$ CD19-28- $\zeta$ , and $\alpha$ CD19-28-BB- $\zeta$
Type of study:	Single dose PK/efficacy
Species:	NOD-SCID- $\gamma$ $-/-$ mice
Method:	$5 \times 10^5$ to $2 \times 10^6$ viable primary ALL cells via the tail vein in a volume of 0.3 mL. $\alpha$ CD19: $\zeta_{\text{truncated}}$ expressing T cells (as a control for an allogeneic effect) were intravenously injected in animals 35 days following ALL injection as indicated via the tail vein at a dose of $1 \times 10^6$ , $5 \times 10^6$ or $10 \times 10^6$ per mouse or T cells expressing CD19: $\zeta$ at a dose of $5 \times 10^6$ per mouse.
Tabulated results:	Results were presented graphically. Data cannot be tabulated.
Additional information:	Data suggest that the 41BB signaling domain confers an antigen-independent effect to enhance survival and/or proliferation of CART-19 cells in vivo.

---