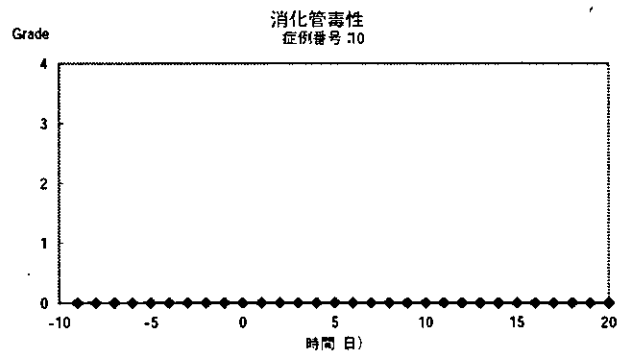
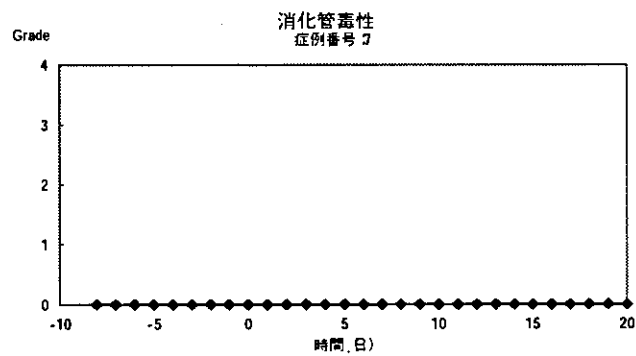
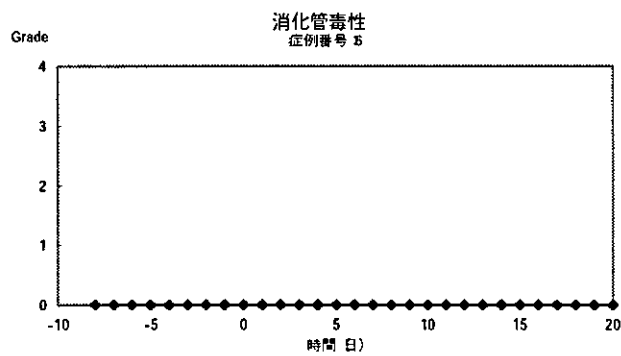
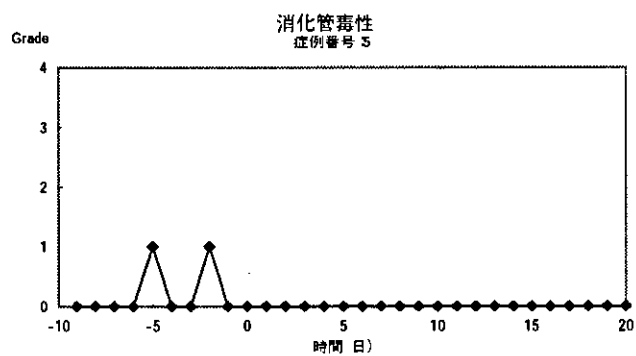
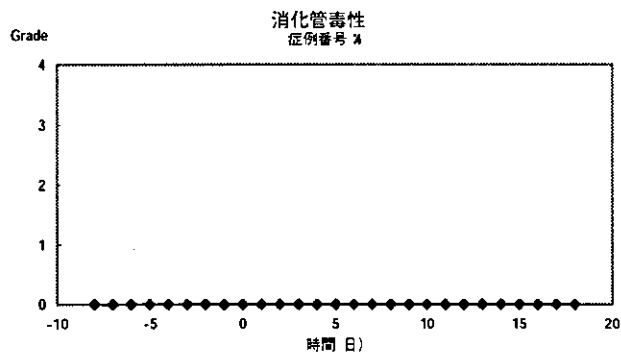
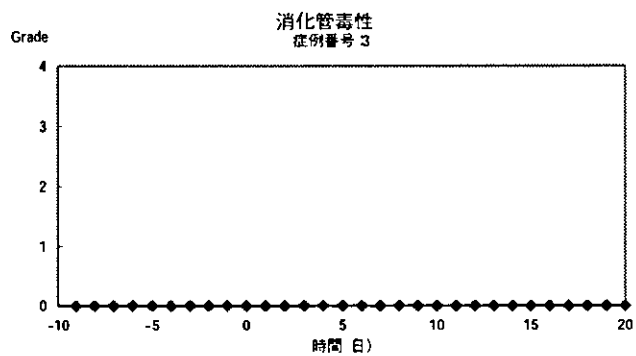
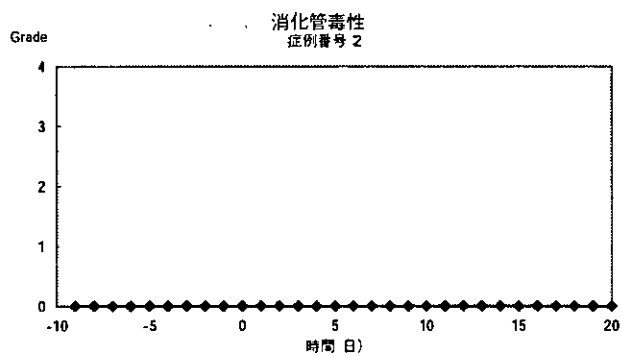
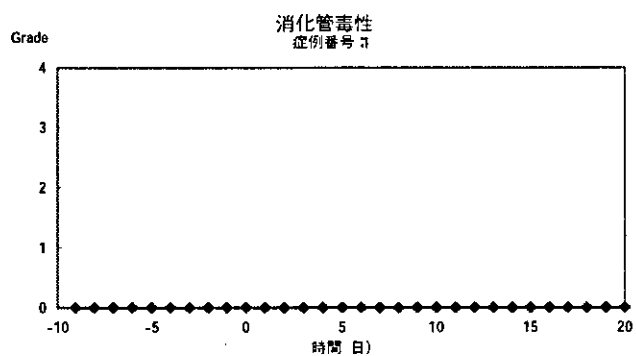
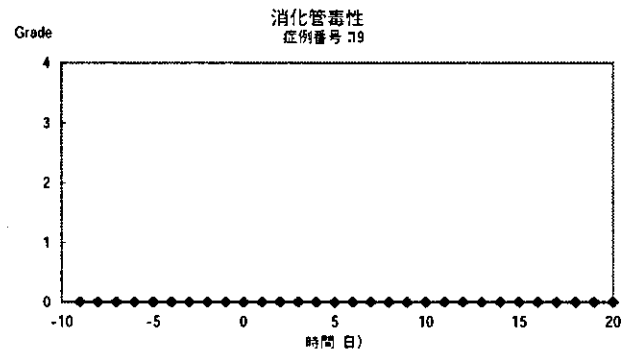
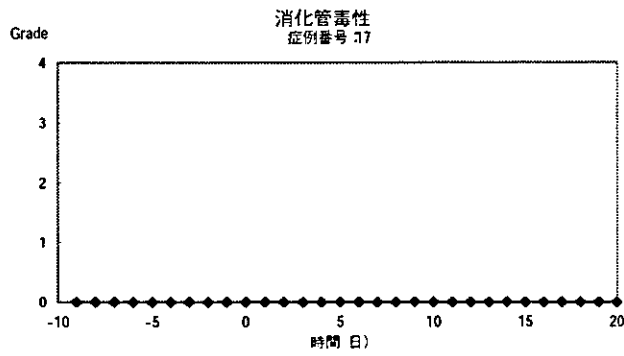
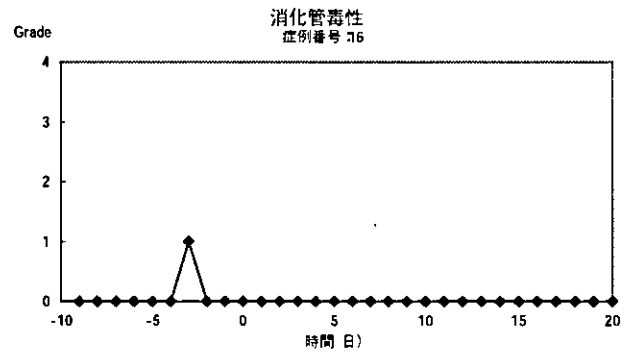
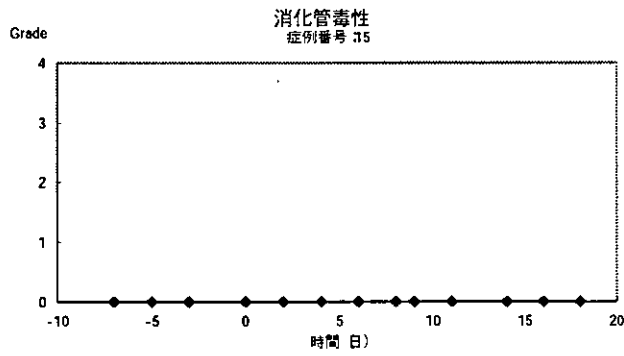
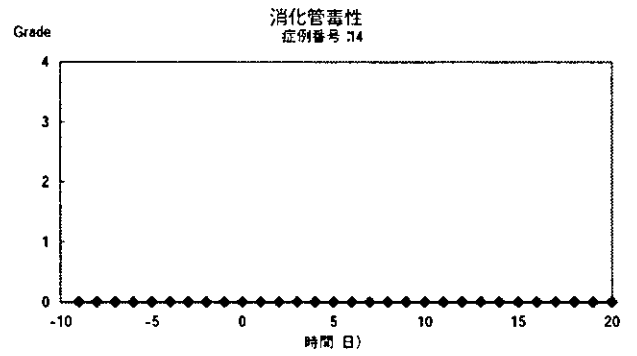
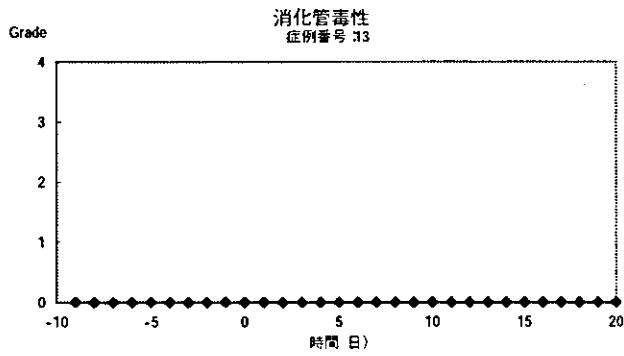
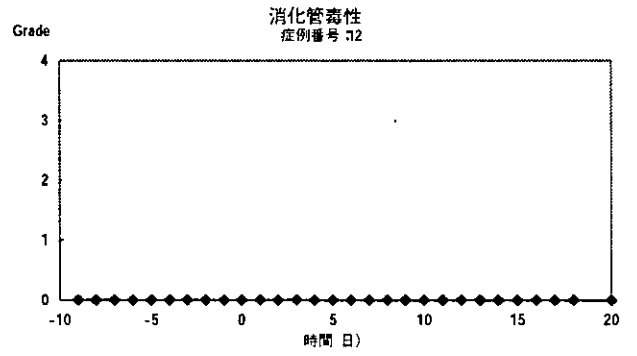
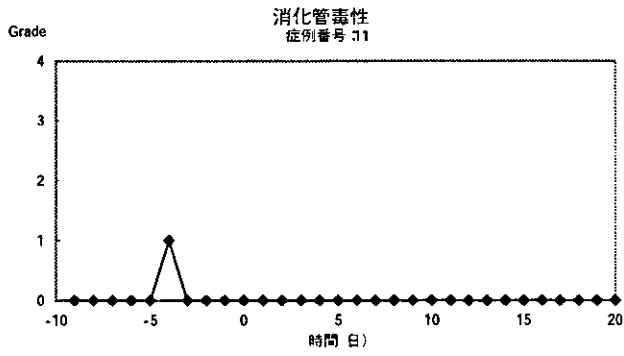


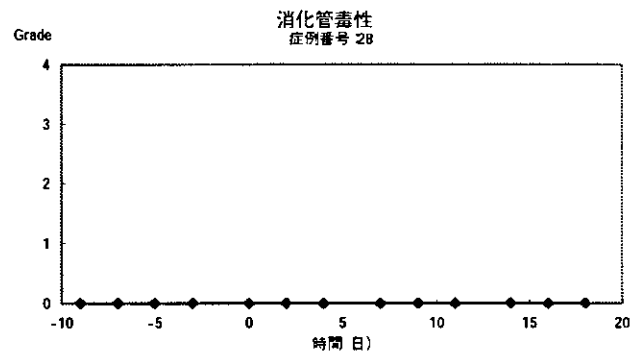
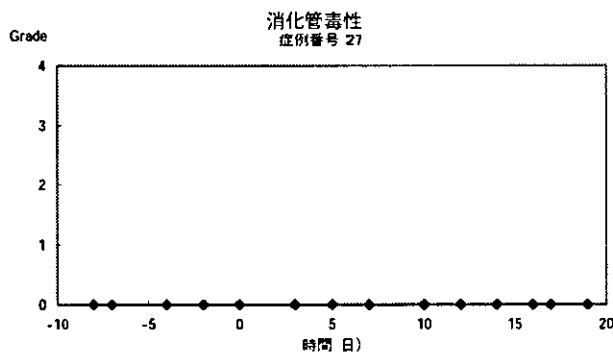
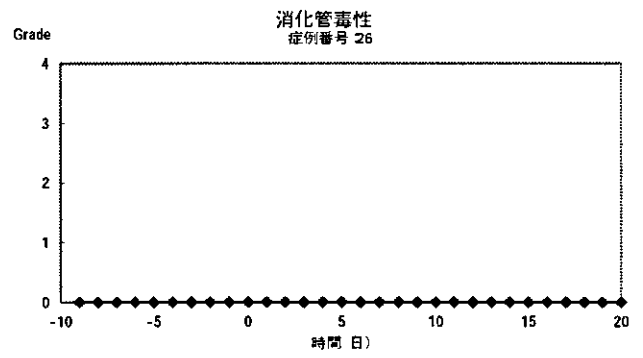
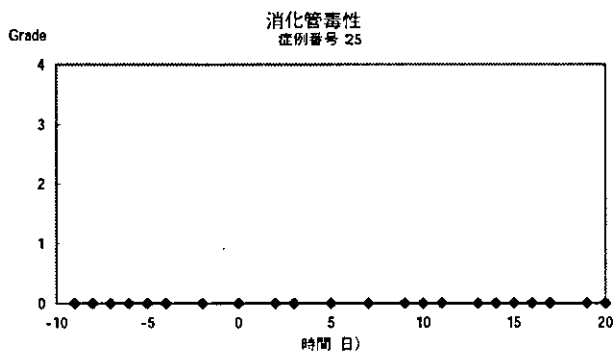
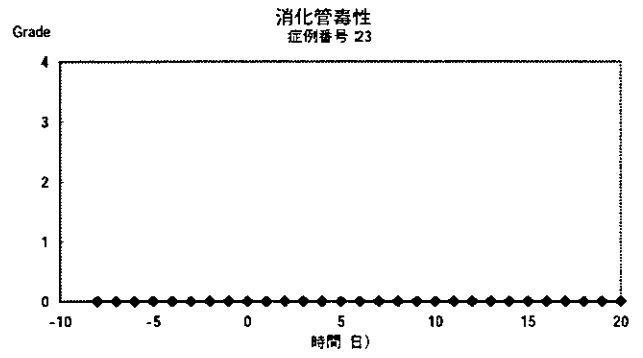
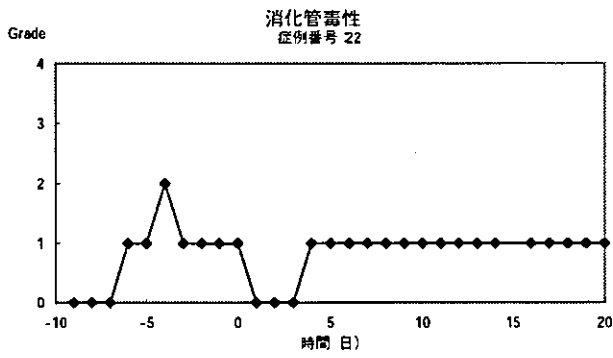
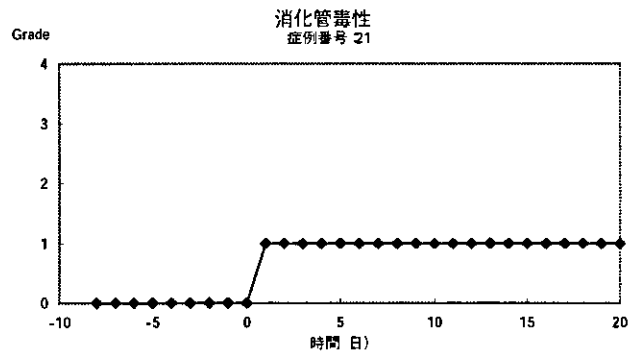
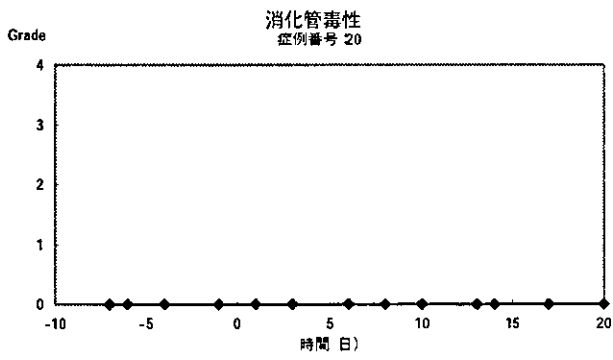
解析内容 前処置毒性の時点変化
解析対象 安全性採用例



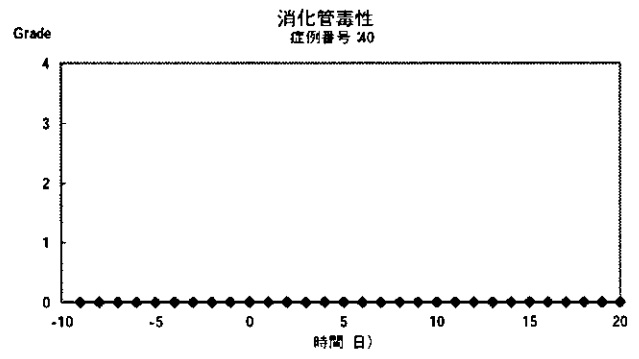
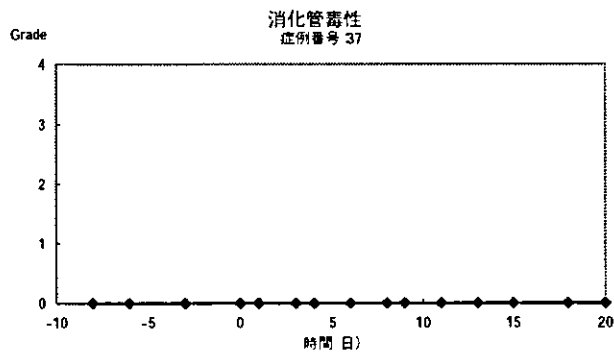
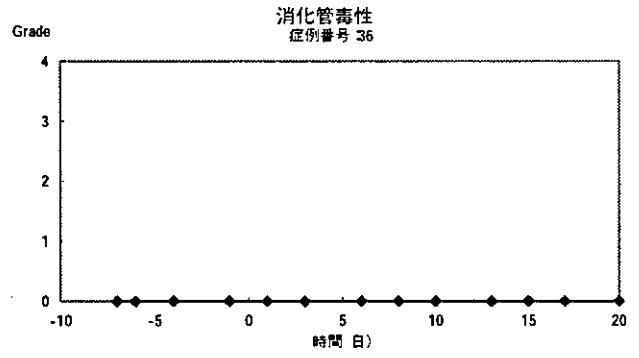
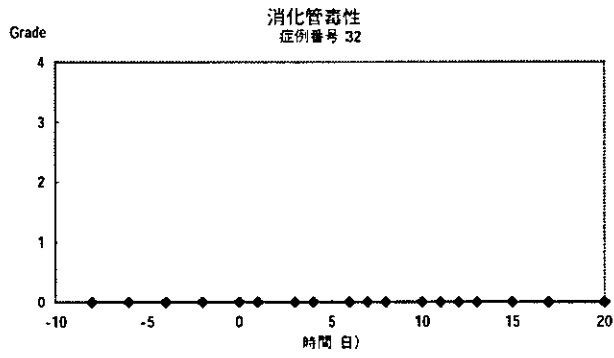
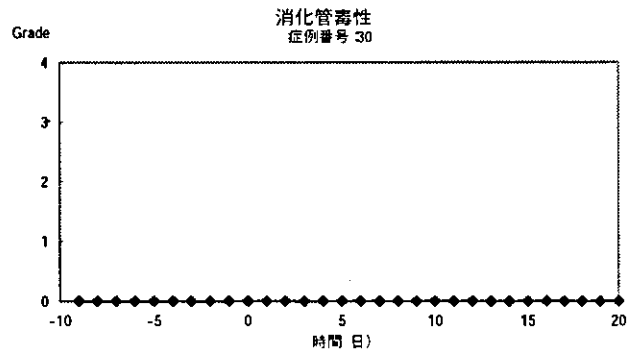
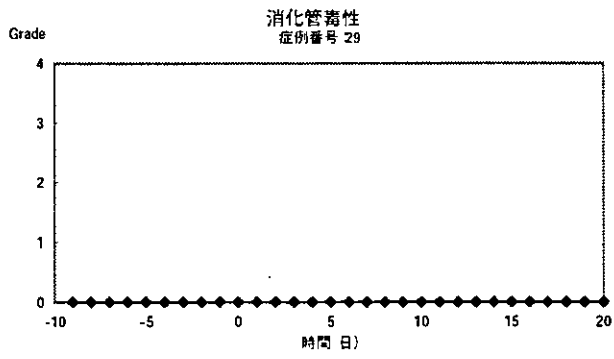
解析内容 前処置毒性の時点変化
解析対象 安全性採用例



解析内容 前処置毒性の時点変化
 解析対象 安全性採用例



解析内容 前処置毒性の時点変化
解析対象 安全性採用例



14.2.2.3 GVHD の頻度・重症度の検討

急性 GVHD grade III 以上の割合の比較、急性 GVHD の頻度・重症度(器官別)、Time to Grade 3 以上における GVHD 発生までの時間(日)曲線;急性 GVHD、に関する解析結果を以下に示す。なお、急性 GVHD の頻度・重症度、grade II 以上の急性 GVHD 発生までの時間、grade II 以上の急性 GVHD 発生までの時間曲線、grade III 以上の急性 GVHD 発生までの時間(日)、慢性 GVHD の発現率(全体、extensive type/limited type)に関する解析結果は、「11.4.1.2.3 GVHD の頻度・重症度の検討」に記載している。

解析内容：副次評価項目 急性GVHD GradeIII 以上の割合の比較
 解析対象：FAS採用例

治療薬剤群	割合	95%信頼区間(%)
全体	10.0%(3/30)	2.1~26.5

Program : HE0101-MID\he0101.06-032z_fas.sas / Output : he0101mid.06-032z_fas.jp8
 実行日時 : 14JAN2005 15:20

解析内容：表 急性GVHDの頻度・重症度(器官別)
 解析対象：FAS採用例

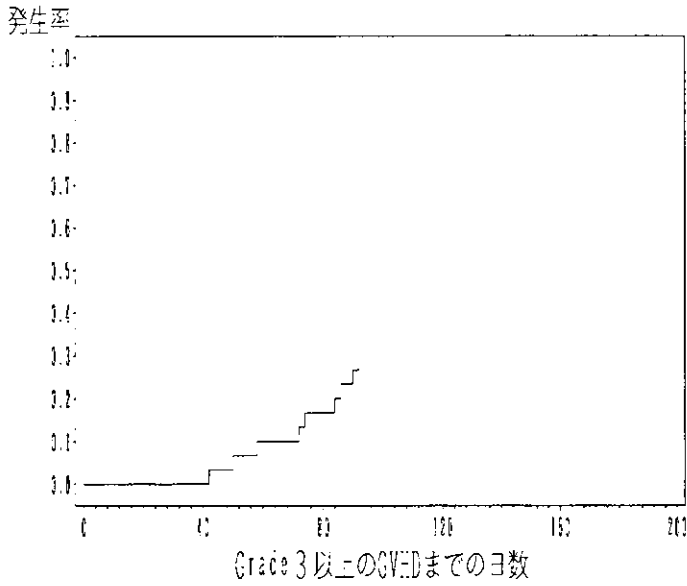
治療薬剤群	器官別	合計	STAGE				
			0	1	2	3	4
全体	皮膚stage	30	11	5	5	9	0
	肝stage	30	25	2	3	0	0
	消化管stage	30	19	8	2	1	0

Program : HE0101-MID\he0101.06-033z_fas.sas / Output : he0101mid.06-033z_fas.jp8
 実行日時 : 14JAN2005 15:22

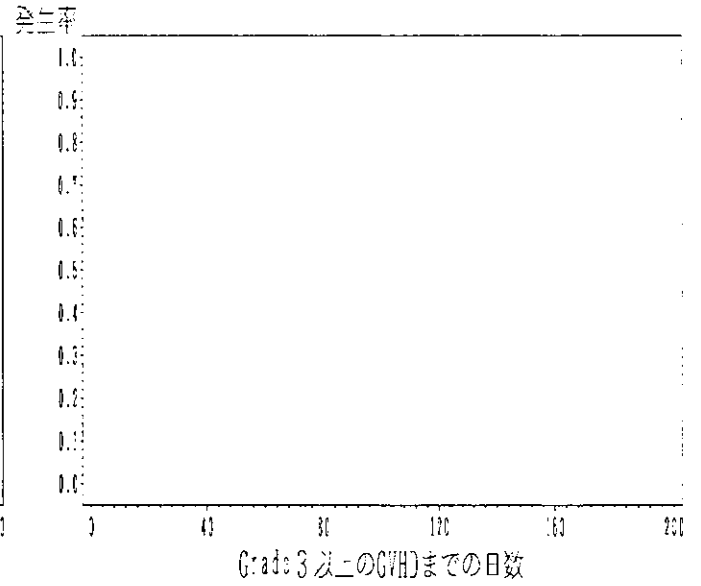
解析内容: Time to Grade3以上におけるGVHD発生までの時間(三日単位全群)

解析対象: 安全性採用例

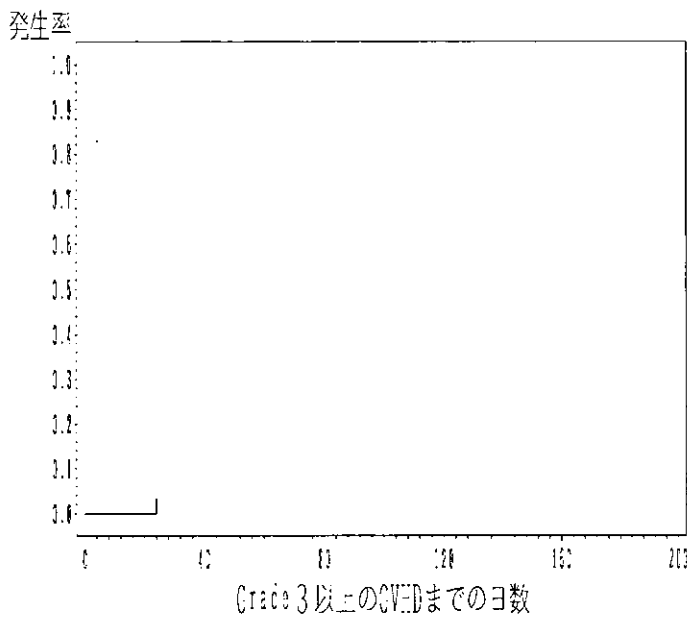
急性GVHD(皮膚stage)



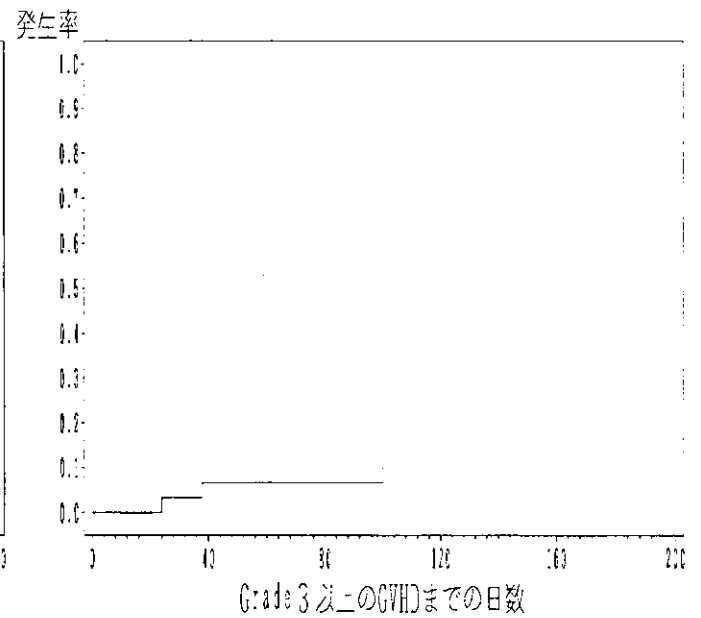
急性GVHD(肝stage)



急性GVHD(消化管stage)



急性GVHD(Grade)



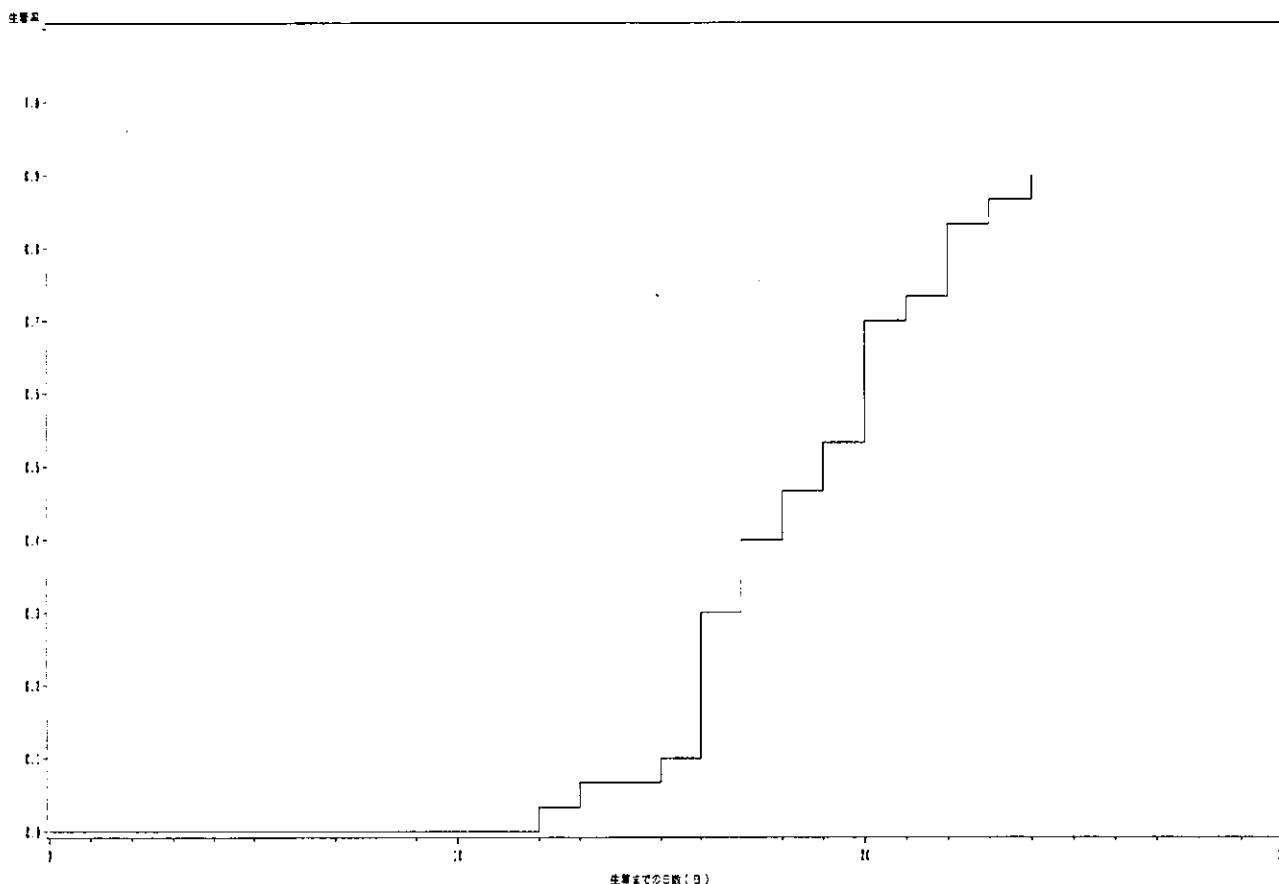
Program : H30101-MID*to0101.03-321z_spop.sas

実行日時 : 17JAN2005 16:04

14.2.2.4 造血回復までの期間、完全キメラ達成までの期間、ならびに移植後 120 日、及び 180 日での完全キメラ達成率

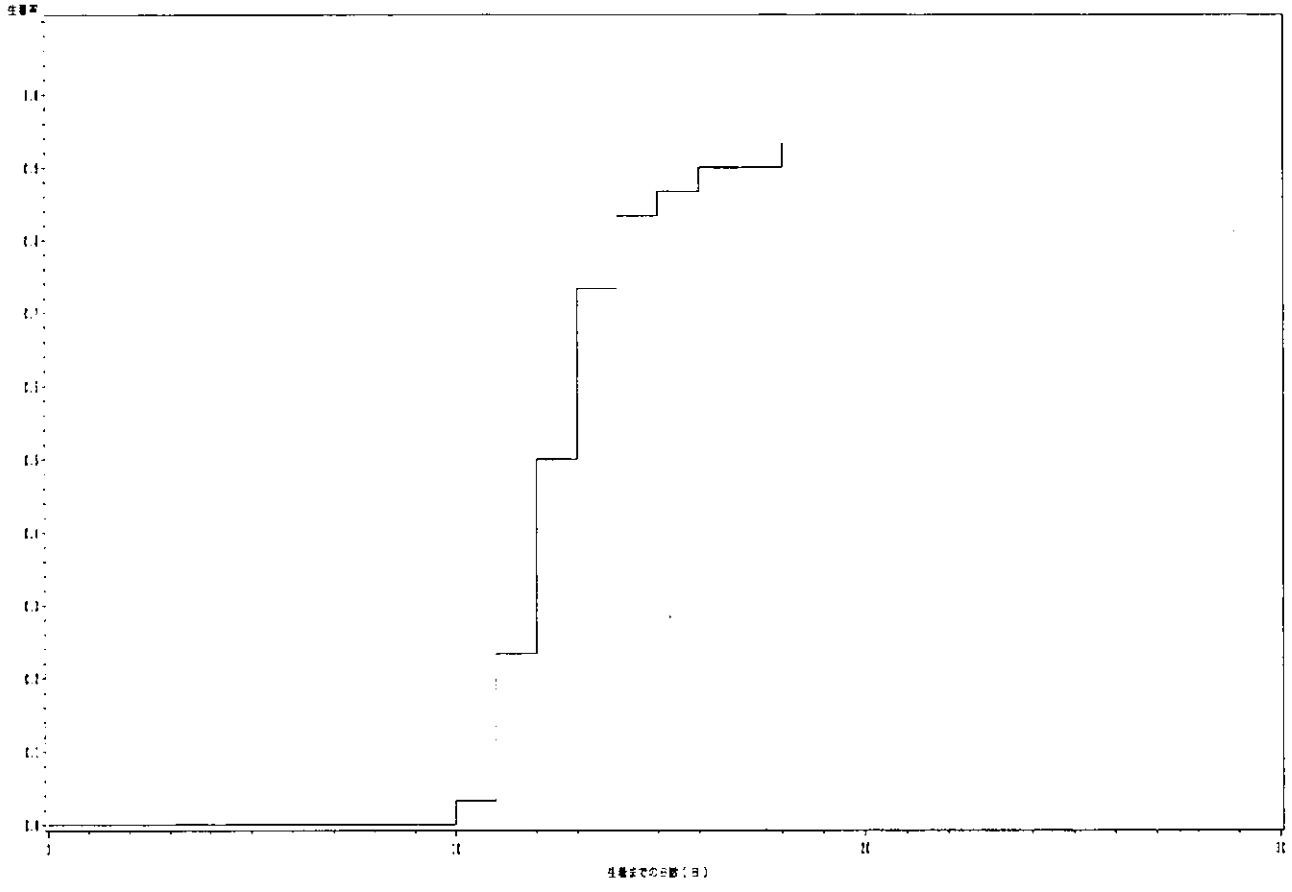
造血回復までの時間 (生着までの日数)、造血回復までの生着時間(好中球)、造血回復までの生着時間(血小板 20,000/ μ L)、完全キメラ達成までの日数、完全キメラの達成率(day90, day120, day180: FAS)の解析結果及び症例ごとのキメリズム解析結果の推移は、「11.4.1.2.4 造血回復までの期間、完全キメラ達成までの期間、ならびに移植後 120 日、及び 180 日での完全キメラ達成率」に記載している。造血回復までの生着時間(血小板 50,000/ μ L)、造血回復までの生着時間(白血球数)、完全キメラの達成率 (day90, day120, day180:PPS)に関する解析結果を以下に示す。

解析内容:「全体の造血回復までの生着時間(血小板50,000/ μ L)」
解析対象: FAS症例列



Program : 3e0101-M10#he0101-3e12e_fas.sas
実行日時 : 20080104 13:08

解析内容：'全体の造血回復までの生存時間（白血球数）'
 解析対象：FAS採用例



Program : be0101-MIDYbe0101.06-0412a_fas.sas
 実行日時 : 27DEC2004 13:18

解析内容：副次評価項目 完全キメラ達成率<day100>（キメラの検査結果なしで生存例を含む／死亡例を除く）
 解析対象：PPS採用例

治療薬剤群	完全キメラ 達成率	95%信頼区間(%)
全体	72.4%(21/29)	52.8~87.3

実行日時：3FEB2005

解析内容：副次評価項目 完全キメラ達成率<day120>（キメラの検査結果なしで生存例を含む／死亡例を除く）
 解析対象：PPS採用例

治療薬剤群	完全キメラ 達成率	95%信頼区間(%)
全体	75.9%(22/29)	56.5~89.7

実行日時：3FEB2005

解析内容：副次評価項目 完全キメラ達成率<day180>(キメラの検査結果なしで生存例を含む/死亡例を除く)
解析対象：PPS採用例

治療薬剤群	完全キメラ 達成率	95%信頼区間(%)
全体	84.6%(22/26)	65.1~95.6

実行日時：3FEB2005

解析内容：副次評価項目 完全キメラ達成率<day100>(キメラの検査結果なしで生存例は除外/死亡例を除く)
解析対象：PPS採用例

治療薬剤群	完全キメラ 達成率	95%信頼区間(%)
全体	72.4%(21/29)	52.8~87.3

Program : he0101-MID\he0101.06-0431z_pps.sas / Output : he0101mid.06-0431z_pps.jp8
実行日時：27DEC2004 18:18

解析内容：副次評価項目 完全キメラ達成率<day120>(キメラの検査結果なしで生存例は除外/死亡例を除く)
解析対象：PPS採用例

治療薬剤群	完全キメラ 達成率	95%信頼区間(%)
全体	81.5%(22/27)	61.9~93.7

Program : he0101-MID\he0101.06-0431z_pps.sas / Output : he0101mid.06-0431z_pps.jp8
実行日時：27DEC2004 18:18

解析内容：副次評価項目 完全キメラ達成率<day180>(キメラの検査結果なしで生存例は除外/死亡例を除く)
解析対象：PPS採用例

治療薬剤群	完全キメラ 達成率	95%信頼区間(%)
全体	91.7%(22/24)	73.0~99.0

Program : he0101-MID\he0101.06-0431z_pps.sas / Output : he0101mid.06-0431z_pps.jp8
実行日時：27DEC2004 18:18

14.2.2.5 移植後の免疫能回復

移植後のCD4/8/19陽性細胞数、CD4陽性細胞数の推移、CD8陽性細胞数の推移、CD19陽性細胞数の推移、移植後のIgG/A/M量、IgGの推移、IgAの推移、IgMの推移に関する解析結果を以下に示す。

解析内容：副次評価項目 移植後のCD4/8/19陽性細胞数
解析対象：FAS採用例

項目	治療薬剤群		day30	day60	day90
CD4陽性細胞数	全体	Mean±SD	1239.0±846.76	1000.6±549.69	1260.9±860.86
		中央値	1115.5	893.0	965.0
		最小値-最大値	151.0-4313.0	180.0-2399.0	204.0-4199.0
CD8陽性細胞数	全体	Mean±SD	934.6±694.01	1453.4±889.39	1521.6±659.04
		中央値	764.5	1188.0	1589.5
		最小値-最大値	89.0-3219.0	190.0-3548.0	227.0-2896.0
CD19陽性細胞数	全体	Mean±SD	53.9±42.26	256.4±265.78	633.7±913.09
		中央値	44.5	153.5	202.0
		最小値-最大値	4.0-184.0	6.0-1141.0	4.0-2676.0

Program : he0101-MID\he0101.06-051z_fas.sas / Output : he0101mid.06-051z_fas.jp8
実行日時 : 27DEC2004 18:20

解析内容：副次評価項目 移植後のIgG/A/M量
解析対象：FAS採用例

項目	治療薬剤群		day30	day60	day90
IgG	全体	Mean±SD	1398.9±486.98	1256.8±432.06	1068.0±430.28
		中央値	1262.0	1224.5	1078.0
		最小値-最大値	772.0-3030.0	529.0-2262.0	314.0-2312.0
IgA	全体	Mean±SD	206.8±83.17	174.7±87.70	121.9±88.93
		中央値	200.0	182.5	103.0
		最小値-最大値	81.6-384.0	59.0-403.0	24.0-431.0
IgM	全体	Mean±SD	104.3±71.32	115.4±103.69	139.0±106.43
		中央値	82.0	82.5	99.0
		最小値-最大値	21.0-333.0	22.0-450.0	30.0-391.0

Program : he0101-MID\he0101.06-055z_fas.sas / Output : he0101mid.06-055z_fas.jp8
実行日時 : 27DEC2004 18:20

14.2.2.6 術前療法による薬剤の薬物動態

日本シエーリング株式会社が作成した以下の資料を添付する。

「リン酸フルダラビン及びびブスルファンの体内薬物動態:

骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植に関する研究

～ 骨髄非破壊的前処置療法の有用性、ならびに急性 GVHD の予防方法に関する検討 ～」

表紙

リン酸フルダラビン及びブスルファンの体内薬物動態：
 骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植に関する研究
 ~ 骨髄非破壊的前処置療法の有用性、ならびに急性 GVHD の予防方法に関する検討 ~

 総括責任医師：
 高上 洋一

 著者：
 長澤 俊樹

 日付：
 24 Mar 2004

Study period from (experimental phase): 01 Nov 2001	to: 30 Jul 2002	Archiving: 日本シエーリング株式会社臨床開発運営部及び 株式会社エスシージー試験研究部
---	--------------------	--

Function	Name	Signature, date
日本シエーリング株式会社 臨床開発運営部 臨床薬理チーム	長澤 俊樹	
日本シエーリング株式会社 臨床開発運営部 臨床薬理チーム	森 光宏	

試験に従事した者の氏名並びにその所属

Internal		
Name	Affiliation / Address	Responsibility
長澤 俊樹	日本シエーリング株式会社、臨床開発運営部、臨床薬理チーム / 大阪市淀川区西宮原 2-6-64	薬物動態学的評価及び報告書作成
森 光宏	日本シエーリング株式会社、臨床開発運営部、臨床薬理チーム / 大阪市淀川区西宮原 2-6-64	臨床薬理チームの長

External		
Name	Affiliation / Address	Responsibility
高上 洋一	国立がんセンター中央病院 / 東京都中央区築地 5-1-1	平成 13 年度厚生科学研究費補助金(ヒトゲノム・再生医療等研究事業)「骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植の開発」班長、総括責任医師、並びに本試験委託者
小崎 秀人	株式会社エスシージー、分析事業本部、試験研究部 / 埼玉県比企郡吉見町吉見 1694-2	血漿中薬物濃度測定試験責任者
張 暁波	株式会社エスシージー、分析事業本部、試験研究部 / 埼玉県比企郡吉見町吉見 1694-2	血漿中薬物濃度測定試験担当者
中西 利之	株式会社エスシージー、分析事業本部、試験研究部 / 埼玉県比企郡吉見町吉見 1694-2	血漿中薬物濃度測定試験担当者

目次

1. 表紙	53
1.1 試験に従事した者の氏名並びにその所属	54
2. 目次	55
2.1 表の目次	55
2.2 グラフ/図の目次	56
3. 要約	57
3.1 試験目的	57
3.2 試験方法	57
3.3 結果の要約	57
3.4 結論	58
4. レポート部	59
4.1 緒言	59
4.2 試験方法	59
4.2.1 試験デザイン	59
4.2.2 血漿中薬物濃度測定方法	59
4.2.3 薬物動態学的評価方法	60
4.3 結果	62
4.3.1 血漿中 2F-ara-A 濃度	62
4.3.2 血漿中ブスルファン濃度	63
4.4 考察	64
4.5 引用文献	66
4.6 表	67
5. 添付資料	68

表の目次

TT 1: Precision and accuracy for 2F-ara-A QC samples	60
TT 2: Precision and accuracy for busulfan QC samples	60
TT 3: Pharmacokinetic parameters evaluated in this study	61

TT 4: Mean pharmacokinetic parameters of 2F-ara-A in plasma in 6 patients after the start of the 4th infusion in the treatment of once-daily repeated 30-minute intravenous infusion of fludarabine phosphate 30 mg/m² over 6 days 63

TT 5: Mean pharmacokinetic parameters of busulfan in plasma in 6 patients after the 6th administration in the treatment of every 6-hour repeated oral administration of busulfan 4mg/kg/day over 2 days 64

グラフ/図の目次

TF 1: Mean and individual plasma concentrations of 2F-ara-A in plasma in 6 patients after the start of the 4th infusion in the treatment of once-daily repeated 30-minute intravenous infusion of fludarabine phosphate 30 mg/m² over 6 days (arithmetic mean ± SD) 63

TF 2: Mean and individual plasma concentrations of busulfan in plasma in 6 patients after the 6th administration in the treatment of every 6-hour repeated oral administration of busulfan 4mg/kg/day over 2 days (arithmetic mean ± SD).....64

TF 3: Mean plasma concentrations of 2F-ara-A in plasma in 6 patients (dose-normalized to 30mg/m²) after the start of the 4th infusion in the treatment of once-daily repeated 30-minute intravenous infusion of fludarabine phosphate 30mg/m² over 6 days (HE0101) and after the start of the 5th infusion in the treatment of once-daily repeated 30-minute intravenous infusion of fludarabine phosphate 25mg/m² over 5 days (94615) 65

要約

試験目的

リン酸フルダラビンは水溶性のプロドラッグであり、ヒト（癌患者）及び種々の動物（マウス、ラット、イヌ、ミニブタ及びサル）に静脈内投与（i.v.）及び経口投与（p.o.）したとき、速やかに完全に脱リン酸化されてヌクレオシド 2F-ara-A に変換される。このため、骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植に関する研究において、ヒト血漿中のリン酸フルダラビン代謝物 2F-ara-A 及びブスルファンの薬物動態学的評価を行った。

試験方法

骨髄非破壊的前処置療法として、6例の患者に対しリン酸フルダラビン 30mg/m²/day の6日間（-8から-3日目）1日1回30分間静脈内持続投与及びブスルファン 4mg/kg/day の2日間（-6から-5日目）1日4回経口投与が並行して行われた。それぞれの薬剤の反復投与後、以下の時間に血液が採取され、血漿を得た。

リン酸フルダラビン: 4回目投与開始前、投与開始後 0.5（投与終了直後）、1、1.5、2.5、5.5 及び 24 時間後（5回目投与開始前）

ブスルファン: 6回目投与前、投与後 0.5、1、1.5、2、3 及び 6 時間後（7回目投与前）

血漿中リン酸フルダラビン代謝物 2F-ara-A 及びブスルファン濃度は、それぞれバリデーションにより確認された蛍光検出及び UV 検出を用いる高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法により株式会社エスシージー（埼玉県、日本）にて測定された。

血漿中 2F-ara-A 及びブスルファン濃度を基に、薬物動態学的評価を日本シエーリング株式会社にて行った。薬物動態パラメータは、薬物動態解析プログラムソフトウェア（TOPFIT version 2.11）を用いてモデルに依存しない解析法により算出した。

結果の要約

リン酸フルダラビン 30mg/m²/day を 1日1回6日間反復投与したときの4回目投与後の平均血漿中 2F-ara-A 濃度は、投与終了時以降、二相性に消失し、終末相半減期は 8.59 ± 1.67 時間であった。4回目投与後の血漿中 2F-ara-A 濃度は、既に定常状態に到達していると推察された。また、本試験で得られたリン酸フルダラビンの薬物動態パラメータは、リン酸フルダラビン単独反復投与時の薬物動態パラメータと同様な値を示した。

ブスルファン 4mg/kg/day を 2日間1日4分割反復経口投与したときの6回目投与後の平均血漿中ブスルファン濃度は、投与開始 0.75 時間後に最高血漿中濃度(1.37 ± 0.34 µg/mL)に達した後、消失半減期 2.88 ± 0.65 時間で消失した。6回目投与後の血漿中ブスルファン濃度は、既に定常状態に到達していると推察された。定常状態時の平均血漿中ブスルファン濃度(C_{av}: 808 ± 178 ng/mL)は、成人での至適濃度範囲（600-900 ng/mL）内であった。

結論

リン酸フルダラビン及びブスルファンの骨髄非破壊的前処置療法において、リン酸フルダラビンの薬物動態はブスルファン併用投与の影響を受けないと考えられ、リン酸フルダラビン併用投与時の血漿中ブスルファン濃度は成人での至適濃度範囲内に維持された。

レポート部

緒言

リン酸フルダラビンは水溶性のプロドラッグであり、ヒト（癌患者）及び種々の動物（マウス、ラット、イヌ、ミニブタ及びサル）に静脈内投与（i.v.）及び経口投与（p.o.）したとき、速やかに完全に脱リン酸化されてヌクレオシド 2F-ara-A に変換される。このため、骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植に関する研究において、ヒト血漿中のリン酸フルダラビンの代謝物 2F-ara-A 及びブスルファンの薬物動態学的評価を行ったので、その結果を報告する。

試験方法

試験デザイン

骨髄非破壊的前処置療法として、6例の患者に対して day -8 から day-3 までの6日間にわたりリン酸フルダラビン 30mg/m²/day が30分間点滴静注により投与された。また、同じ患者に対して day -6 と day -5 の2日間にブスルファン 4mg/kg/day が4分割内服投与された。それぞれの薬剤の反復投与後、以下の時間に血液 5mL が採取された。

-5 日目: 12 時, 12 時 30 分, 13 時, 13 時 30 分, 14 時, 15 時, 18 時

-4 日目: 12 時 30 分

これら採血時間はそれぞれ、

リン酸フルダラビン: 4 回目投与開始 30 分前, 投与開始直前、投与開始 0.5 (投与終了直後), 1, 1.5, 2.5, 5.5 及び 24 時間後 (5 回目投与開始前) 並びに

ブスルファン: 6 回目投与前、投与 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 6 時間後 (7 回目投与前) 及び 8 回目投与後 12.5 時間後、に相当する。

血液試料はヘパリン及び erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl)-adenine 添加チューブに採取され、遠心分離 (4℃, 3000rpm, 15 分) により血漿が分取された。血漿試料は分析に供するまで -20℃ で保存された。薬剤投与および試料採取は国立がんセンター中央病院で実施された。

血漿中薬物濃度測定方法

血漿中リン酸フルダラビン代謝物 2F-ara-A 及びブスルファン濃度は、それぞれバリデーションにより確認された蛍光検出及び UV 検出を用いる高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法により株式会社エスジー (埼玉県、日本) にて測定された。測定法の詳細及び測定結果を記載した分析試験報告書を Appendix I に添付した。測定時の精度管理は、QC サンプルにより実施された。2F-ara-A 及びブスルファンの QC サンプルの測定結果をそれぞれ TT 1 及び TT 2 に示す。

TT 1: Precision and accuracy for 2F-ara-A QC samples

Nominal QC conc. [nmol/mL]	0.06	0.3	1.5
Number	4	4	4
Mean	0.06	0.29	1.50
SD	0.01	0.01	0.02
CV [%]	16.7	3.4	1.3
Bias [%]	0.0	-3.3	0.0

SD: standard deviation

CV: coefficient of variation

TT 2: Precision and accuracy for busulfan QC samples

Nominal QC conc. [µg/mL]	0.2	2.5	4.0
Number	6	6	6
Mean	0.22	2.51	4.05
SD	0.01	0.06	0.05
CV [%]	4.5	2.4	1.2
Bias [%]	10.0	0.4	1.3

SD: standard deviation

CV: coefficient of variation

薬物動態学的評価方法

血漿中 2F-ara-A 及びブスルファン濃度を基に、薬物動態学的評価を日本シエーリング株式会社にて行った。薬物動態パラメータは、薬物動態解析プログラムソフトウェア (TOPFIT version 2.11) を用いてモデルに依存しない解析法により算出した。薬物動態パラメータの算出には予定採血時間を用いた。本試験において解析する薬物動態パラメータをTT 3に示す。

TT 3: Pharmacokinetic parameters evaluated in this study

記号	定義	解析物
C_{peak}	持続投与終了時の最高血漿中濃度	2F-ara-A
C_{max}	最高血漿中濃度	ブスルファン
t_{max}	最高血漿中濃度到達時間	ブスルファン
$t_{1/2}$	終末相消失半減期	2F-ara-A、ブスルファン (可能な場合 ¹)
AUC(0-24h)	投与開始から投与開始 24 時間後までの血漿中濃度時間曲線下面積	2F-ara-A
AUC(0-6h)	投与時から投与 6 時間後までの血漿中濃度時間曲線下面積	ブスルファン
AUC	無限時間まで外挿した血漿中濃度時間曲線下面積	2F-ara-A、ブスルファン (可能な場合 ²)
CL_{ss}	投与量と対応する AUC(0-24h)値の割合として算出した定常状態における総クリアランス	2F-ara-A
CL/f_{ss}	投与量と対応する AUC(0-6h)値の割合として算出した定常状態における見かけの総クリアランス	ブスルファン

持続投与終了時の最高血漿中濃度(C_{peak} : 2F-ara-A)、最高血漿中濃度(C_{max} : ブスルファン)と C_{max} に達する時間(t_{max} : ブスルファン)は、直接データから読み取った。

投与開始から投与開始 24 時間後 (2F-ara-A) 及び 6 時間後 (ブスルファン) までの血漿中濃度時間曲線下面積(AUC(0-24h)及び AUC(0-6h))は、台形法により算出した。

最終消失速度定数 (terminal disposition rate constant) (λ_z) は、片対数プロットから直線として認識される部分の回帰分析により算出した (λ_z : 回帰直線の傾き)。対応する消失半減期 ($t_{1/2}$) は以下のよう
に算出した:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda_z}$$

直線として認識される部分の時間範囲が半減期の 2 倍に満たない場合は、個々の半減期は検討しない。

無限時間まで外挿した血漿中濃度時間曲線下面積 (AUC) を以下の公式に従って算出した:

$$AUC = AUC(0-24h) + \frac{C_{24h}}{\lambda_z} \text{ (2F-ara-A)}$$

$$AUC = AUC(0-6h) + \frac{C_{6h}}{\lambda_z} \text{ (ブスルファン)}$$

1 半対数プロットの曲線で認められる直線部分が 3 点以上の血漿中濃度より成立する場合のみ、消失半減期を算出する。
 2 消失半減期が算出できる場合にのみ、AUC を算出する。