

サイモグロブリン

サイモグロブリン[®]点滴静注用 25mg

第2部（モジュール2）CTDの概要

2.6 非臨床試験の概要

ジェンザイム・ジャパン株式会社

目 次

2.6	非臨床の概要文及び概要表	1
2.6.1	緒言	1
2.6.1.1	本薬の構造及び薬理学的特性	1
2.6.1.2	予定される効能・効果、用法、用量	2
2.6.2	薬理試験の概要文	2
2.6.2.1	薬理試験のまとめ	2
2.6.2.2	効力を裏付ける試験	2
2.6.2.3	副次的薬理試験	12
2.6.2.4	安全性薬理試験	13
2.6.2.5	薬力学的薬物相互作用試験	13
2.6.2.6	考察及び結論	13
2.6.2.7	参考文献一覧	14
2.6.3	薬理試験概要表	15
2.6.4	薬物動態試験概要文	16
2.6.5	薬物動態試験概要表	16
2.6.6	毒性試験概要文	16
2.6.7	毒性試験概要表	16

略語・用語の定義一覧

略号	正式名（英語）	正式名（日本語）
ADCC	Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity	補体依存性細胞障害
ALG	Antilymphocyte Globulin	抗ヒトリンパ球免疫グロブリン
ALS	Antilymphocyte Serum	
ATG	Antithymocyte Globulin	抗胸腺細胞グロブリン
CD	Cluster of Differentiation	表面抗原分類（分化抗原群）
EB	Epstein-Barr	エプスタイン・バール
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay	酵素免疫測定（吸着）法
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorting	細胞表面抗原量測定機器
ICAM-1	Inter-Cellular Adhesion Molecule-1	細胞接着分子-1
Ig	Immunoglobulin	免疫グロブリン
IL	Interleukine	インターロイキン
JAN	Japan Accepted Name	一般的名称
LFA	Leukocyte Function-associated antigen-1	白血球機能関連抗原-1
MAC	Membrane Attack Complex	膜侵襲複合体
MHC	Major Histocompatibility Complex	主要組織適合遺伝子複合体
NK	Natural Killer	ナチュラルキラー
OKT-3	Orthoclone OKT 3	ムロモナーブ-CD3 注射液
PBMC	peripheral blood mononuclear cell	末梢血液単核細胞
TCR	T cell Receptor	T細胞受容体

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

抗ヒトリンパ球免疫グロブリン (ALG) 及び抗ヒト胸腺細胞免疫グロブリン (ATG) の免疫抑制剤としての開発の歴史は、1899年に Metchnikoff がウマをリンパ球で免疫することにより抗リンパ球血清 (ALS) を初めて作製したことに始まる。1937年には移植におけるウマ ALS の生物学的活性が報告された。1966～1969年、Pasteur Mérieux 社は、抗リンパ球グロブリンの開発と特性評価に関する最初の一連の試験を行った。この頃のグロブリンは、末梢血又は胸管から分離したヒトリンパ球で免疫したウマの血清から精製されたものであった。1974年、Pasteur Mérieux 社はリンフォグロブリン (ウマ由来) の販売を開始した。それ以降、リンフォグロブリンは広くヒトで用いられており、その安全性プロファイルは確立している。その後、製品が改良され、小児の心臓手術の際に摘出した胸腺切片から分離したヒト胸腺細胞が免疫に用いられた。1970年代以降、胸腺細胞による免疫の際に、他の動物種 (特にウサギ) を用いるようになった¹⁾。サイモグロブリン (ウサギ由来) は、ヒト胸腺細胞で過剰免疫 (hyper-immunized) したウサギの血清から精製され、1984年にフランスで上市されて以来、世界 58ヶ国で販売されている。これにより、治療の選択肢が増え、リンフォグロブリンとサイモグロブリンの間で、片方の薬剤に不耐性が生じた場合の他剤への切り替えが可能となった。

19■■年、生物原料由来である本剤の安全性をさらに確保するために、ウイルス不活化のプロセス (■■° C、■■時間の加熱処理) を製造工程に追加した。ウイルス不活化処理の影響試験 (4.2.1.1.2 参照) の結果、この製造工程の変更はサイモグロブリンの効力及び薬物動態には影響しないことが示された。特に記載のない限り、1992年以前の毒性・薬理試験でのサイモグロブリンは非加熱処理製剤、それ以降は加熱処理製剤を指す。

今回は「腎移植後の急性拒絶反応の治療」を効能・効果として申請するにあたり、必要な薬理試験の概要を記載し、さらに公表論文で作用機序等を補完した。

2.6.1.1 本薬の構造及び薬理学的特性

抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリン (JAN) は、ヒトの胸腺細胞を抗原とし、ウサギに免疫して得られた免疫グロブリン G である。本薬の本質は「ヒトの胸腺細胞を抗原とし、ウサギを免疫して得られた抗血清から分離精製されたポリクローナル抗体で、免疫グロブリン G に属するたん白質」である。

本薬が免疫グロブリン G であることはセルロースアセテート膜電気泳動、免疫沈降反応、免疫泳動及び SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって確認された。

サイモグロブリンは、T 細胞性表面抗原 (CD2、CD3、CD4、CD5、CD7、CD8、CD25、TCRαβ) 並びに白血球表面抗原 (CD11a) に対し高い親和性を示すポリクローナル抗体

であり、これらの抗原に結合して、主に T 細胞の傷害作用を引き起こすことにより免疫抑制効果を発現する。

2.6.1.2 予定される効能・効果、用法・用量

(1) 効能・効果

今回追加する効能・効果は以下のとおりである。

腎移植後の急性拒絶反応の治療

(2) 用法・用量

今回追加する効能・効果に関する用法・用量及び用法・用量に関連する使用上の注意は以下のとおりである。

通常、1日1回、体重1kgあたり抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリンとして1.5mgを、1バイアル（抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリンとして25mg）あたり、生理食塩液又は5%ブドウ糖注射液50mLで希釈して、6時間以上かけ緩徐に点滴静注する。投与期間は7～14日間とする。

用法・用量に関連する使用上の注意

本剤は必ず日局注射用水5mLにて溶解後、生理食塩液又は5%ブドウ糖注射液で希釈して用いること。

腎移植後の急性拒絶反応の治療に本剤を投与するにあたっては、血小板を含む全血算値に十分注意しながら、以下に示す減量基準等を参考にし、適切な処置を行うこと。

(1) 血小板数が $50,000\sim 75,000/\text{mm}^3$ または白血球数が $2,000\sim 3,000/\text{mm}^3$ の場合には本剤の減量を考慮すること。

(2) 持続的で重度の血小板減少症（ $< 50,000/\text{mm}^3$ ）または白血球減少症（ $< 2,000/\text{mm}^3$ ）があらわれた場合には本剤の投与中止を考慮すること。

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 薬理試験のまとめ

サイモグロブリンはウサギ由来の免疫グロブリンであり、臓器移植及び血液領域で広く用いられている。非臨床の *in vitro* 及び *in vivo* 薬理試験は本剤が大量かつ急速に末梢 T 細胞を除去し、その結果、実験動物での皮膚及び循環器の同種移植期間の延長によって示される顕著な免疫抑制効果を発現することを示している。B 細胞は本剤の非常に高用量を投与した場合にのみ影響を受け、本剤は薬理的な主要な標的（T 細胞）以外の他の免疫系にほとんど影響しない。本剤の有効性及び安全性は、すでに数十年の臨床使用によって確認されているが、非臨床薬理試験においても裏付けられている。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

サイモグロブリンはウサギ由来の免疫グロブリンであり、臓器移植及び血液領域で広く用いられている。1980年代初期の開発の段階において、本剤の薬理作用の検討は、当時の科学技術の水準が原因で比較的乏しいものであった。

本剤はヒト胸腺細胞によって免疫されたウサギの IgG を滅菌した製剤である。抗体の特異性を検討するために、異なった条件下において種々の技術が用いられた²⁾。抗体の特異性は免疫系の調節に関わる以下のような主要な分子を認識する。

- CD3 及び T 細胞受容体 (TCR)
- 共役受容体である CD4 及び CD8
- 同時活性化あるいは接着分子、並びにそれらのリガンドである CD2、CD45 及び CD28 (T リンパ球に発現)、CD11a/CD18 (LFA-1) (すべての白血球に発現)、CD54 (ICAM-1) (多くのタイプの細胞に発現、特に白血球及び内皮細胞)
- 白血球抗原である CD5、CD6 及び CD7 (これらの役割と重要性についてはあまり解明されていない)

いくつかの抗原、特に CD2、CD3 及び CD11a などへの結合及びダウンモジュレーションの生物学的な意義については検討する必要がある。いくつかの標的抗原 (例えば CD3 や $\alpha\beta$ TCR) は T 細胞系に特異的であると考えられるが、他の標的抗原には幾種類かの細胞集団に共通なものがある (例: T 及び NK 細胞における CD2、T 細胞と一部の B 細胞における CD5)。そのため、サイモグロブリンは、他の ATG と同様に、リンパ球細胞以外、例えば赤血球、単球、好中球及び血小板にも発現する抗原を認識する³⁾。リンパ球と他の血球の共通抗原はウエスタンブロット法によって確認できる。

サイモグロブリンの生物学的力価は、*In vivo* でのヒトの免疫反応に類似したカニクイザルでの試験 (2.6.2.2 (1)) において検討している。

(1) カニクイザルでの試験 (██████████ 試験)

1) 試験方法

本試験では、カニクイザルにサイモグロブリンの 1、5 又は 20mg/kg を投与した。1 及び 5mg/kg 群については、同種移植日 (Day 0) の前 1 回 (Day -1) 及び後 7 回 (Day 0、1、3、5、8、10 及び 13) 投与し、20mg/kg 群については短期間投与群 (Day 0 及び 2 の 2 回投与)、長期間投与群 (Day -1、0、1、3 及び 6 の計 5 回投与) を設定した。本試験の中間用量である 5mg/kg (総投与量として 8 投与回数の 40mg/kg) は、ヒトにおける 1.0~1.5mg/kg に相当し、臨床用量である 1.5mg/kg に近いものであった。

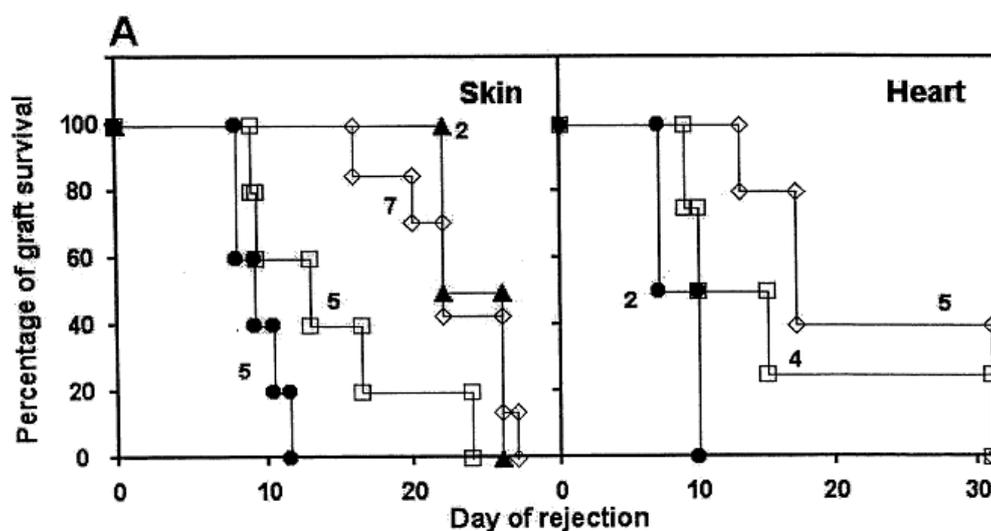
皮膚の同種移植は次のとおり行った。4 群 (対照、1、5 及び 20mg/kg) の各レシピエント動物は 2 匹の異なるドナー動物から 4 片の MHC 不適合ドナー動物からの移植を受けた。各群の 1 匹の自家移植対照群は腹部皮膚を移植した。また、心臓の同種移植は、

麻酔下においてドナー動物から取り出した心臓を低温保存器に入れ、その後、各レシピエント動物に移植した。

皮膚の同種移植片の生着については肉眼的に、心臓の移植片の生着については腹部触診及び心電図によって測定した。生存期間中の死亡、一般状態の変化等についても観察を行い、フローサイトメトリにより末梢血球数及び遊離抗リンパ球抗体を、ELISAによりウサギ IgG 抗体を測定した。また、20mg/kg の長期間投与群の一部動物では投与 6 日目に末梢リンパ組織におけるリンパ球除去について、胸腺、腋窩リンパ節及び脾臓から摘出したリンパ球数の測定を行った。さらに、リンパ球除去に対するアポトーシスの影響を検討する目的でサイモグロブリン投与の 1 時間後の腋窩リンパ節中のアポトーシスに関連する細胞数の測定を行い、リンパ球への *in vivo* での結合を検討する目的で、胸腺、リンパ節、脾臓及び末梢血から採取したリンパ球に結合したウサギ抗体量をフローサイトメトリにより測定した。また、血漿中のウサギ IgG 抗体及び抗ウサギ IgG 抗体の総量を免疫酵素法により測定した。リンパ節、脾臓及び胸腺については免疫組織学的検査も行った。

2) 試験結果

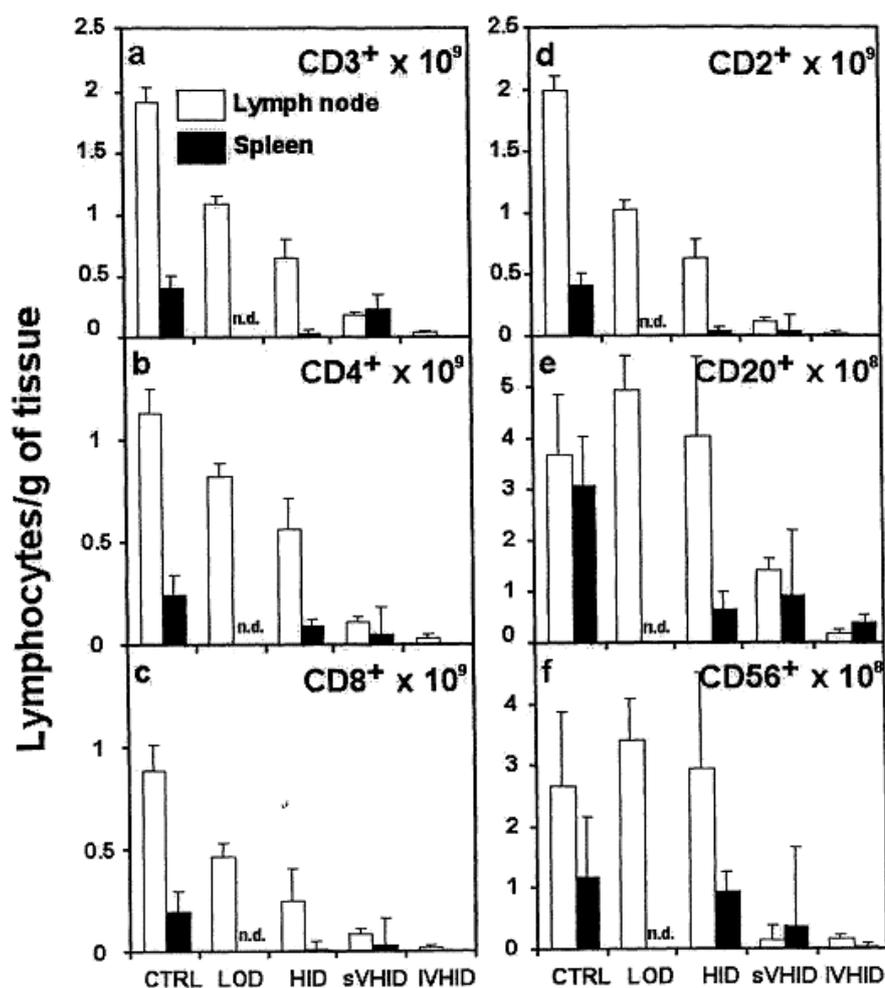
生存期間中の一般状態には特筆すべき変化はみられなかった。皮膚及び心臓の同種移植片の生着期間を用量依存的に延長した。非投与群の皮膚同種移植片の生着期間が平均 9.25 日であったのに対して、1mg/kg 群では 13 日、5mg/kg 群では 22 日であった。20mg/kg の長期間投与では 22 日及び 26 日であった。非投与群の心臓同種移植片の生着期間が平均 8.5 日であったのに対して、1mg/kg 群では 12.5 日、5mg/kg 群では 17 日であった (図 2.6.2.2-1)。



- : 対照群
- : 1mg/kg 群
- ◇ : 5mg/kg 群
- ▲ : 20mg/kg 群

図 2.6.2.2-1 移植後の生着期間 (日)

用量依存的な T 細胞除去が、末梢血中及び少ない程度ではあるがリンパ節と脾臓においてもみられたが、胸腺においてはみられなかった。1 及び 5mg/kg 群では B 細胞及び好中球への影響はみられず、20mg/kg 群において軽度のみであった。T 細胞の除去は急速に進み (約 24 時間)、20mg/kg 群で最大であった。リンパ節においてはサイモグロブリンにより誘導されたアポトーシスが T 細胞除去の主な原因と考えられた。投与第 1 週の移植片の生着は血中のリンパ球減少に相関性があると考えられた (図 2.6.2.2-2)。



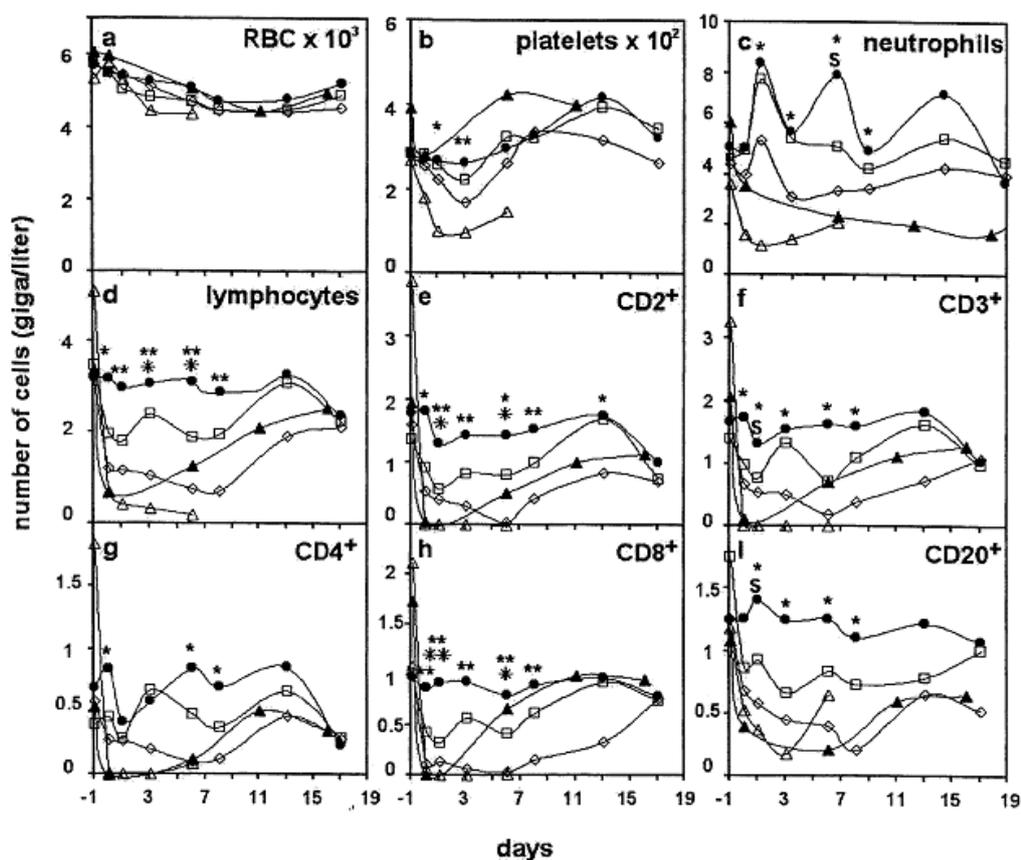
CTRL : 対照群、LOD : 1mg/kg 群 (総投与量 8mg/kg)、HID : 5mg/kg 群 (総投与量 40mg/kg)、sVHID : 20mg/kg 短期群 (総投与量 40mg/kg)、IVHID : 20mg/kg 長期群 (総投与量 100mg/kg)

図 2.6.2.2-2 リンパ節及び脾臓でのリンパ球除去

すべての投与群において抗サイモグロブリン抗体反応は投与 8 日 (Day 8) と 11 日目 (Day 11) の間にみられたが、これらの反応は血中サイモグロブリンの急速な消失の結果であると考えられる。

除去されなかった T 細胞はサイモグロブリンにコートされ、いくつかの膜レセプター (CD3、TCR) 及び共役レセプター (CD2、CD4、CD8) の発現の減少、並びに混合した白血球反応性の低下を伴って機能的に変化した。これら表面マーカーのダウンモジュレーションは投与 5 日目 (Day 5) にピークになったが、8 日目 (Day 8) においても

顕著であった（図 2.6.2.2-3）。これらは、同時に測定した除去されたリンパ球の増加に一致するものである。



● : 対照群、□ : 1mg/kg 群、◇ : 5mg/kg 群、
▲ : 20mg/kg 短期群、△ : 20mg/kg 長期群

図 2.6.2.2-3 末梢における細胞数の変化

このカニクイザルの実験モデルでは、臨床では実施困難なサイモグロブリンの異なる用量の T 細胞除去効果を評価することが可能であり、用量依存的な反応がみられた。

(2) 作用機序

サイモグロブリンの主要な生物学的活性は T 細胞の除去及び他の細胞の機能的な変化である⁴⁾。その作用は急速で抗原特異的であり、さらに抗体量及び表面抗原の濃度、ターゲット細胞の運動能に依存する⁵⁾。

1) T 細胞不活化及び除去

T 細胞は拒絶反応における主要な因子であり、サイモグロブリンは T 細胞の不活化及びその後の除去作用を有する。除去は単に末梢においてのみでなくリンパ節及び脾臓においてもみられ、長期間作用が持続する。ポリクローナル抗体産生のため、サイモグロブリンは、免疫反応及び細胞接着のみならず細胞アポトーシス等の反応に関与する広範囲の表面抗原に結合する⁵⁾。

①アポトーシスによる細胞除去

補体依存性細胞溶解は血液分画中での細胞除去の主要な作用機序である。その作用は抗原特異的ではなく、サイモグロブリン投与量及び細胞の表面をコートする抗体の濃度の両方に依存する。高濃度では B 細胞、NK 細胞及び樹枝状細胞の除去も起きるが、T 細胞が主なターゲットである⁴⁾。これらの作用はカニクイザルの血液及びリンパ組織においてみられた⁶⁾。本剤は CD20⁺ B 細胞及び CD56⁺ NK 細胞に比べて CD4⁺及び CD8⁺ T 細胞の除去に対してより強い作用を示す⁶⁾。除去作用の強さは投与量に密接に関連していた。ヒトでの臨床投与量である 5mg/kg 以上に相当する高用量において、CD3⁺細胞は本剤の投与 (Day 0) 後 2 時間以内に完全に消失し、3 日後の投与 (Day 3) まで継続した。

ATG、特にサイモグロブリンは、活性化により誘導された細胞死と呼ばれる、予め活性化した T 細胞のアポトーシスを促進すると考えられる⁷⁾。In vitro で 10µg/mL のような低用量においても、本剤は分裂促進因子 (mitogen) 活性化末梢血液リンパ球の 30~40% のアポトーシスを誘発した。一方で残りの末梢血液リンパ球は誘発されなかった。アポトーシス活性は、Fas/Fas リガンド結合に依存し、抗 Fas モノクローナル抗体アンタゴニストによって完全に阻害される。本剤は未感作細胞の Fas 発現、並びに未感作及び初期抗原刺激を受けた T 細胞の両方での Fas 結合遺伝子の発現の誘因となる⁷⁾。さらに、Fas/Fas リガンドアポトーシスに対する本剤を処理した細胞の感受性は、IL-2 の存在に依存し、IL-2 の発現を遺伝子転写レベルで阻害する cyclosporine 及び FK-506、IL-2 のシグナリングを阻害する rapamycin によって阻止される。

二次的なリンパ組織での細胞溶解は古典的な活性化によって媒介されるのではなく、アポトーシス細胞死によって誘発され、IL-2 及び細胞死レセプターから独立したものである。細胞死は cathepsin B に関連したものであり、活性化に誘発されたリンパ球の再生に依存していると考えられる⁸⁾。この活性化に関連したアポトーシスは用量依存的であり、抗体結合後約 6 時間で始まり 48 時間以内に完了する。

これらの *in vitro* の結果から本剤の作用機序は T 細胞に対する作用に基づくものであり、B 細胞への影響はわずかである。

②除去されなかった T 細胞の機能的な変化

サイモグロブリンの免疫抑制効果は、初回の T 細胞除去を免れ、低濃度の抗体にコートされた残りの T 細胞の機能的な変化も影響を与えていることが考えられる。

低濃度 (10 μ g/mL) において、本剤あるいは他の ATG 製剤は不完全な T 細胞活性化及び免疫低応答性を誘発する⁷⁾⁹⁾。この作用は低濃度の場合のみに起こる。T 細胞は早期の活性化マーカーである CD69 及び CD95 を発現するが、IL-2 を添加した場合においても CD25 は発現せず、G1 期から S 期への進展も起こさない⁷⁾。これらの T 細胞は他の実験系、例えば OKT-3 の細胞分裂濃度においても完全な活性化が困難になる。

2) 細胞表面分子のモジュレーション

モジュレーション (抗原-抗体複合体の結合後の内在化) は細胞除去以外ではサイモグロブリンの主要な作用である。モジュレーションにより、表面抗原は発現せず、関連した発現経路は抗体が存在する限り抑制される。

サイモグロブリン投与後の *in vitro* でのリンパ球表面抗原のダウンモジュレーションは FACS 分析により実証された¹⁰⁾。また、*in vivo* 試験においても確認された⁶⁾。内在化は一時的かつ用量依存的に発現する。

従って、T 細胞活性化に関与する他の細胞受容体、例えば CD2、CD3、CD4 あるいは CD8 及び CD11a/CD18 のような接着因子が減少する。T 細胞レセプター/CD3 複合体、CD2、CD4、CD8、CD5 及び CD6 のような T 細胞活性化を制御する分子のダウンモジュレーションは本剤の低濃度において 2 時間以内に起き、4 週間継続すると考えられる。表面抗原のダウンモジュレーションは血液分画によって制限されないが、リンパ系組織においても二次的に生じる⁶⁾。

LFA-1 (CD11a/CD18) の表面発現はサイモグロブリンのようなウサギ ATG により急速にダウンモジュレートされ¹⁰⁾、細胞接着を防ぐ。本剤の細胞接着を抑制する能力はモノクローナル抗体とは共通のものではない。一つのエピトープへのモノクローナル抗体の結合は LFA-1 の組織的な抑制には十分ではないと考えられる。本剤の抗接着効果はサルを用いた *in vivo* 試験によって検討されており¹¹⁾、内皮細胞への白血球の回転及び接着の有意な減少がみられた。

3) その他のエピトープ結合性

高用量での治療においてサイモグロブリンは特定の細胞系への結合ではなく様々な細胞への結合を示す³⁾。臨床的にはこの作用は一時的な好中球減少及び血小板減少に関連しているが、この特異的な効果はまた、樹状細胞及び B 細胞においてもみられる。樹状細胞はドナーの抗原に対する免疫反応の一次的な刺激の媒体として関与している。本剤は樹状細胞を介したリンパ球再生の抑制及び樹状細胞の補体依存性溶解により T 細胞活性化を妨害することが示されている¹²⁾。

本剤は他の ATG 製剤と同様に、B リンパ球の再生及び分化を抑制する¹³⁾。さらに、*in vitro*での活性化 B 細胞、EB ウイルス転換 B 細胞系、バーキットリンパ腫細胞系及び多くの他の B 細胞リンパ腫細胞系のアポトーシスを起こす¹⁴⁾。B 細胞アポトーシスの誘導は本剤の濃度が除去されずに残った T 細胞を活性化させる最適濃度にある場合にみられる。

B 細胞のアポトーシスは特異的なアゴニスト抗体の存在に関連していると思われる。しかしこれらの抗体が何を特異的に認識しているかについてはまだ不明である。実際に、ヒト扁桃腺から単離した B 細胞を IL-4 の存在化あるいは非存在化で SAC または CD40 と 48 時間培養したものに対するサイモグロブリンのアポトーシス効果は完全に抑制される。反対に、ATG をアポトーシス抵抗性の B 細胞系と培養すると、細胞障害活性は維持される。¹⁴⁾ Fas 陰性及び Fas 抵抗性のいずれの B 細胞系も ATG の作用には感受性である。

(3) ウイルス不活化処理の影響 (██████████ 試験)

安全性の向上のため、19█████年に製造工程中に加熱処理 (█████℃、█████時間) を加えた。その際に新たな薬理試験を実施した。殺菌工程の追加によりサイモグロブリンの薬理活性に影響を及ぼさなかった。

1) 試験方法

サイモグロブリンの薬理作用に対するウイルス不活化処理 (加熱処理) の影響について、以下の 3 つの *in vitro* 試験で検討を行った。3 ロットの製剤を用い、不活化処理と非不活化処理について同一ロットで比較した。

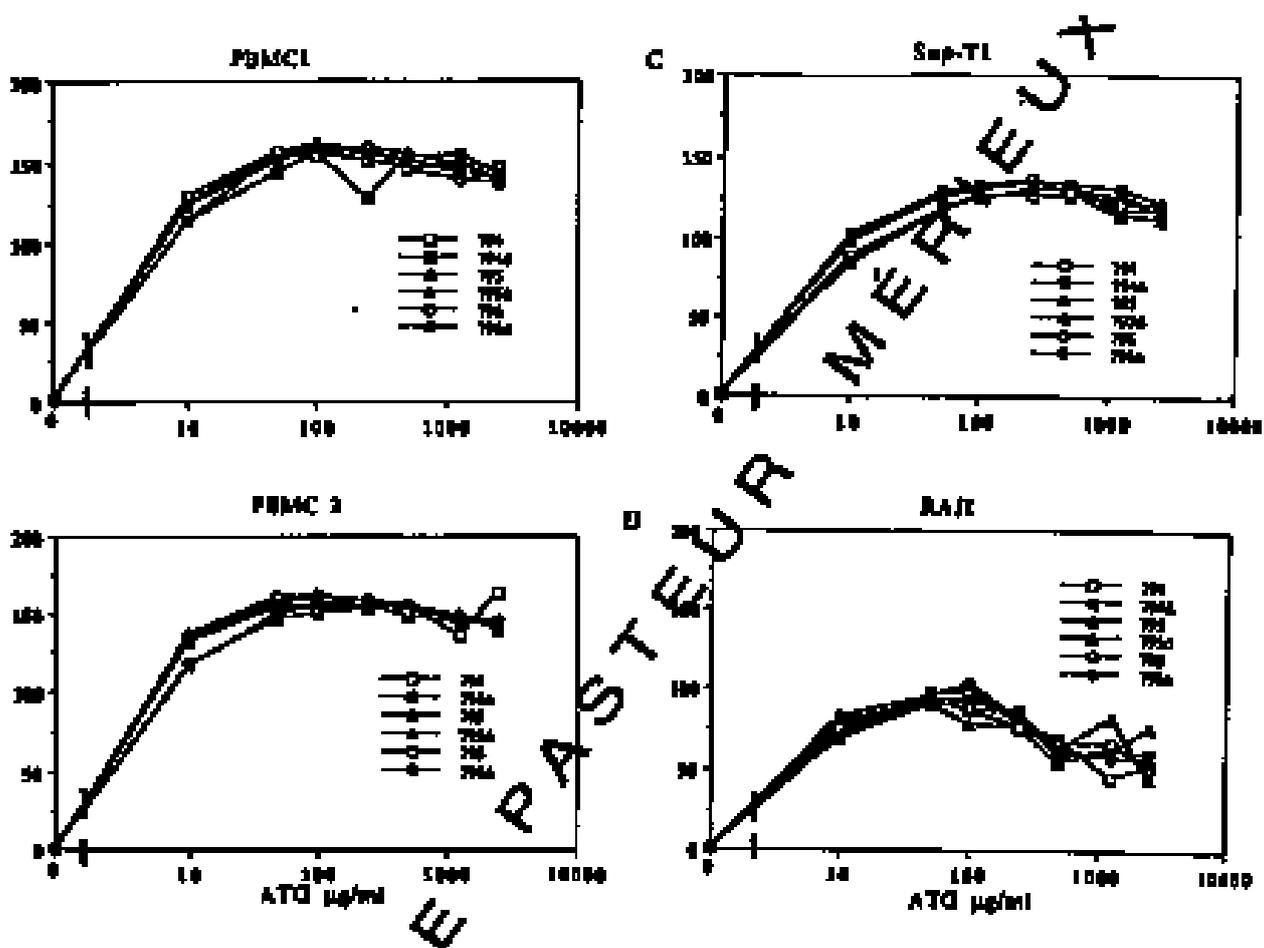
末梢血液単核細胞 (PBMC)、T 細胞及び B 細胞へのサイモグロブリンの結合を、フローサイトメトリを用いた免疫蛍光測定法により検討した。

CD2、CD3、CD4、CD8、CD11a 及び CD18 抗体の存在を、モノクローナル抗体へ結合阻害により検討した (免疫蛍光測定法)。

PBMC でのサイモグロブリンによる細胞分裂活性について、3 日間の培養期間のうち最終の 12 時間での [³H]-thymidine の取り込みにより測定した。

2) 試験結果

末梢血液単核細胞 (PBMC)、T 細胞及び B 細胞へのサイモグロブリンの結合を、フローサイトメトリを用いた免疫蛍光測定法により測定した結果、加熱処理及び非処理のロット間でサイモグロブリンの結合に対する変化はみられなかった。

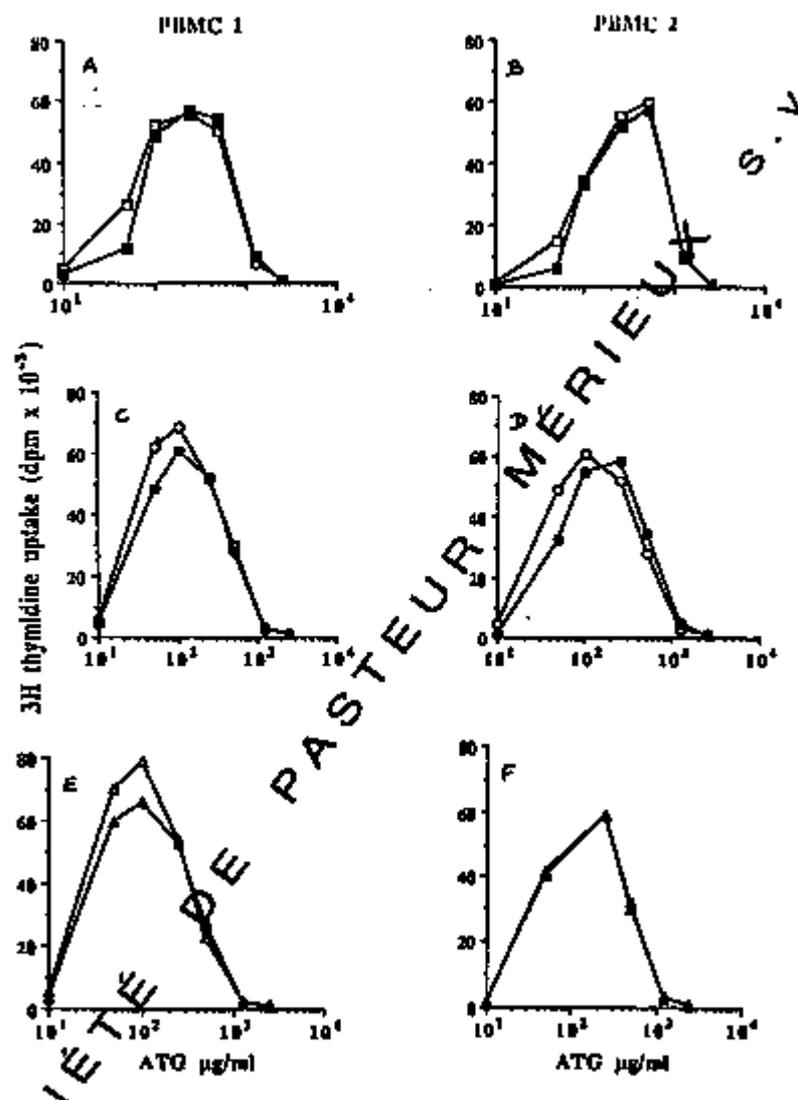


PBMC : 末梢血液単核細胞、Sep-T1 : T細胞、RAJI : B細胞

図 2.6.2.2-4 BBMC, T細胞及びB細胞に対する結合の影響

CD2、CD3、CD4、CD8、CD11a 及び CD18 抗体の存在を、モノクローナル抗体へ結合阻害により検討した。3種類の加熱及び非加熱のロットの組み合わせにおいて、いずれも加熱処理の影響はみられなかった。

PBMCでのサイモグロブリンによる細胞分裂活性について、3日間の培養期間のうち最終の12時間での ^3H -thymidineの取り込みにより測定した結果、いずれのロットにおいても用量反応性がみられたが、1ロット(図 2.6.2.2-5 C)においてのみ減弱がみられた。

図 2.6.2.2-5 $[^3\text{H}]$ -thymidine の取り込み

以上のことから、3 試験ともウイルス不活化のための加熱処理の影響はみられなかったが、細胞分裂活性のみ 3 ロット中の 1 ロットで減弱がみられた。

2.6.2.3 副次的薬理試験

カニクイザルでの試験 (BR0022/01 試験) において、サイモグロブリンによる末梢リンパ球の除去は T 細胞に限定され、B 細胞への影響は非常に高い用量においてのみみられることが示された。

サイモグロブリンの *in vitro* 及び *in vivo* 試験において、他の免疫系への影響は明らかになっていない。

2.6.2.4 安全性薬理試験

該当する資料なし。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

カニクイザルとアカゲザルを用いて副腎皮質ステロイド（6-メチルプレドニゾロン 10mg/kg）の投与がサイモグロブリン（20mg/kg）による強力な T 細胞除去作用及び皮膚の同種移植の拒絶反応を遅らせる作用に対して影響を与えないことが報告されている⁶⁾。

2.6.2.6 考察及び結論

サイモグロブリンはウサギ由来の免疫グロブリンであり、臨床使用においては数日間の 1 日 1 回投与で臓器移植の拒絶反応の予防あるいは治療に用いられる。本剤は抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリンであり、通常の実験動物モデルを用いた試験はウサギ蛋白へ抗原抗体反応により薬理作用の検討を行うには適切ではないと考えられ、臨床効果を予測する上ではあまり意味のないものであると考えられる。しかしながら、霊長類であるサルはヒトに対して免疫学的な類似性を示しているため、抗ヒト胸腺細胞グロブリンの投与によって、カニクイザルにおける皮膚同種移植の拒絶反応の遅延が認められた。

サルにおいてサイモグロブリンは大量かつ急速な末梢 T 細胞の除去を引き起こした。この主要な薬理作用の機序については、現在でも積極的な研究が続けられている。カニクイザルでの試験（BR0022/01 試験）でも示したように、*in vitro* におけるサイモグロブリンの濃度が 100 μ g/mL 以上で起こると考えられる補体依存性細胞溶解が、一時的に *in vivo* 試験での血中で起きているのではないかと考えられる。中間用量では、オプソニン作用とそれに続く肝臓、脾臓及び肺マクロファージによる貪食作用により、サイモグロブリンで覆われた細胞が除去されると考えられる。しかしながら、カニクイザルでの試験（BR0022/01 試験）によって示された T 細胞除去の重要なメカニズムは、末梢リンパ組織でのサイモグロブリンに誘発されたアポトーシスである。

薬理試験では、末梢 T 細胞に対するサイモグロブリンの特異的な作用が、期待される薬力学的な効果である免疫抑制作用に関連していることを示している。

2.6.2.7 参考文献一覧

- 1) Schwick HG. A Survey of the Production of Plasma Derivatives for Clinical Use. *Vox Sang* 1972, 23:82-91.
- 2) Bonnefoy-Berard N, Vincent C, Revillard JP. Antibodies Against Functional Leukocyte Surface Molecules in Polyclonal Antilymphocyte and Antithymocyte Globulins. *Transplantation* 1991, 51(3): 669-673.
- 3) Preville X, Nocolas L, Flacher M, Revillard JP. A Quantitative Flow Cytometry assay for the Preclinical Testing and Pharmacological Monitoring of rabbit Antilymphocyte Globulins (rATG). *J. Immunol Methods*. 2000, 245: 45-54.
- 4) Mueller TF. Thymoglobulin: An Immunologic Overview. *Curr Opin Organ Transplant* 2003, 305-312.
- 5) Revillard JP, Bonnefoy-Berard N, Préville X, Fournel S, Genestier L, Flacher M et al. Immunopharmacology of Thymoglobulin. *Graft* 1999; 2(Suppl):S6-S9.
- 6) Preville X, Flacher M, LeMauff B, Beauchard S, Davelu P, Tiollier J, Revillard JP. Mechanisms involved in antithymocyte globulin immunosuppressive activity in a nonhuman primate model. *Transplantation*. 2001 Feb 15;71(3):460-8.
- 7) Genestier L, Fournel S, Flacher M, Assossou O, Revillard JP, Bonnefoy-Berard N. Induction of Fas (Apo-1, CD95)-mediated apoptosis of activated lymphocytes by polyclonal antithymocyte globulins. *Blood* 1998; 91(7):2360-2368.
- 8) Michallet MC, Saltel F, Préville X, Flacher M, Revillard JP, Genestier L. Cathepsin B-dependent apoptosis triggered by antithymocyte globulins (ATGs): a novel mechanism of T cell depletion. *Blood* 2003; 102(10):3719-3726.
- 9) Merion RM, Howell T, Bromberg JS. Partial T-Cell Activation and Anergy Induction by Polyclonal Antithymocyte Globulin. *Transplantation* 1998; 65(11): 1481-1489.
- 10) Michallet MC, Préville X, Flacher M, Fournel S, Genestier L, Revillard JP. Functional antibodies to leukocyte adhesion molecules in antithymocyte globulins. *Transplantation* 2003; 75(5):657-662.
- 11) Hammer C, Thein E. Visualization of the effect of polyclonal antithymocyte globulins on adhesion of leukocytes. *Transplant Proc* 2002; 34(6):2486-2487.
- 12) Monti P, Allavena P, di C, V, Piemonti L. Effects of anti-lymphocytes and anti-thymocytes globulin on human dendritic cells. *Int Immunopharmacol* 2003; 3(2):189-196.
- 13) Bonnefoy-Berard N, Flacher M, Revillard JP. Antiproliferative effect of antilymphocyte globulins on B cells and B-cell lines. *Blood* 1992; 79(8):2164-2170.
- 14) Bonnefoy-Berard N, Genestier L, Flacher M, Rouault JP, Lizard G, Revillard JP. Apoptosis induced by polyclonal antilymphocyte globulins in human B-cell lines. *Blood* 1994; 83:1051-1059.

2.6 非臨床の概要

2.6.3 薬理試験概要表

一覧表

被験物質：anti-human thymocyte immunoglobulin, rabbit

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
効力を裏付ける試験					
カニクイサルでの試験	カニクイサル	静脈内			4.2.1.1
ウイルス不活化処理の影響	ヒト末梢血単核球	in vitro			4.2.1.2
副次的薬理試験					
カニクイサルでの試験	カニクイサル	静脈内			4.2.1.1

2.6.4 薬物動態試験の概要文

該当する資料なし。

2.6.5 薬物動態試験概要表

該当する資料なし。

2.6.6 毒性試験の概要文

該当する資料なし。

2.6.7 毒性試験の概説表

該当する資料なし。