

**アクテムラ皮下注162 mgシリンジ・AI  
(トシリズマブ (遺伝子組換え) )  
[関節リウマチ]**

第2部 (モジュール 2)  
CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

中外製薬株式会社

## 略語一覧

略語	英名	和名
AI	autoinjector	オートインジェクター
ESR	erythrocyte sedimentation rate	赤血球沈降速度
IgG1	immunoglobulin G1	免疫グロブリン G1
IL-6	interleukin-6	インターロイキン6
IL-6R	interleukin-6 receptor	インターロイキン6レセプター
mIL-6R	membrane bound interleukin-6 receptor	膜結合性インターロイキン6レセプター
RA	rheumatoid arthritis	関節リウマチ
sIL-6R	soluble interleukin-6 receptor	可溶性インターロイキン6レセプター

## 目次

	<u>頁</u>
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表.....	4
2.6.1 緒言.....	4
2.6.1.1 トシリズマブの構造.....	4
2.6.1.2 トシリズマブの作用と薬理学的特性.....	4
2.6.1.3 申請する効能・効果及び用法・用量.....	4
2.6.1.3.1 効能・効果.....	4
2.6.1.3.2 用法・用量.....	4
2.6.1.4 参考文献.....	4

## 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

### 2.6.1 緒言

関節リウマチ（RA）は多発する関節炎と進行性関節破壊を主症状とし、関節外症状として肺、腎臓、皮下組織等にも病巣が広がる全身性炎症疾患である。罹患関節においては滑膜細胞の増殖が亢進しており、炎症性細胞の浸潤と血管新生を伴う。RA患者の血清中及び関節滑液中には高濃度のIL-6が検出され<sup>1),2)</sup>、その濃度はRAの活動性と相関すること<sup>3)</sup>、可溶性IL-6レセプター（sIL-6R）がRA患者の滑液中で高値を示すこと<sup>4)</sup>が報告されている。また、RA患者が呈する主な症状、例えばESRの上昇、貧血、自己抗体の産生、関節組織の破壊等にIL-6の関与が示唆されており、IL-6はRAの病態を形成する主たる要因の一つであると考えられる。

トシリズマブは、ヒトIL-6Rに対し高い親和性を有するヒト化モノクローナル抗体であり<sup>5)</sup>、IL-6シグナルを遮断することにより、IL-6の生物活性を抑制することができる。実際に、RA患者にトシリズマブを投与することにより、IL-6が関与する病態の改善が認められている。

トシリズマブは、2005年4月11日付で点滴静注用製剤として、「キャッスルマン病に伴う諸症状及び検査所見の改善」を対象に初回の製造承認を取得し、2008年4月16日には、「関節リウマチ（関節の構造的損傷の防止を含む）、多関節に活動性を有する若年性特発性関節炎、全身型若年性特発性関節炎」の新効能・効果、用法・用量についても承認を取得した。今回、関節リウマチ適応について、162 mgのプレフィルドシリンジ製剤又はオートインジェクター（AI）製剤を2週間隔で皮下注射する、新投与経路の医薬品製造販売承認申請を行った。

#### 2.6.1.1 トシリズマブの構造

トシリズマブはIgG1サブクラスに属するヒト化抗ヒトIL-6レセプターモノクローナル抗体であり、214個のアミノ酸残基からなる軽鎖（L鎖）2分子と447、448又は449個のアミノ酸残基からなる重鎖（H鎖）2分子で構成される糖蛋白質である。

#### 2.6.1.2 トシリズマブの作用と薬理学的特性

IL-6は細胞膜上の膜結合性IL-6R（mIL-6R）と結合して複合体を形成した後、細胞膜上に存在するgp130<sup>6)</sup>と会合して細胞内にシグナルを伝達する。更に、IL-6Rには細胞内領域を欠いたsIL-6Rも存在し、IL-6と複合体を形成した後、細胞膜上のgp130と会合して細胞内にシグナルを伝達することができる<sup>7)</sup>。すなわち、IL-6はmIL-6RとsIL-6Rの2つの経路を介してシグナル伝達を行う。

抗ヒトIL-6レセプター抗体であるトシリズマブは、mIL-6RとsIL-6Rのいずれにも結合することができ、両IL-6RとリガンドであるIL-6との結合を阻害して、IL-6の様々な生物活性を抑制することができる<sup>8)</sup>。また、関節炎の動物モデルとして作製したカニクイザルコラーゲン誘発関節炎において、トシリズマブは炎症パラメータ及び関節腫脹に対する改善効果を示した<sup>9)</sup>。

#### 2.6.1.3 申請する効能・効果及び用法・用量

##### 2.6.1.3.1 効能・効果

既存治療で効果不十分な関節リウマチ（関節の構造的損傷の防止を含む）

##### 2.6.1.3.2 用法・用量

通常、成人には、トシリズマブ（遺伝子組換え）として1回162 mgを2週間隔で皮下注射する。

#### 2.6.1.4 参考文献

1) Hirano T, Matsuda T, Turner M, Miyasaka N, Buchan G, Tang B, et al. Excessive production of

- interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol* 1988;18:1797-801.
- 2) Houssiau FA, Devogelaer J-P, Van Damme J, de Deuxchaisnes CN, Van Snick J. Interleukin-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides. *Arthritis Rheum* 1988;31:784-8.
  - 3) Madhok R, Crilly A, Watson J, Capell HA. Serum interleukin 6 levels in rheumatoid arthritis: correlations with clinical and laboratory indices of disease activity. *Ann Rheum Dis* 1993;52:232-4.
  - 4) Desgeorges A, Gabay C, Silacci P, Novick D, Roux-Lombard P, Grau G, et al. Concentrations and origins of soluble interleukin 6 receptor- $\alpha$  in serum and synovial fluid. *J Rheumatol* 1997;24:1510-6.
  - 5) Sato K, Tsuchiya M, Saldanha J, Koishihara Y, Ohsugi Y, Kishimoto T, et al. Reshaping a human antibody to inhibit the interleukin 6-dependent tumor cell growth. *Cancer Res* 1993;53:851-6.
  - 6) Hibi M, Murakami M, Saito M, Hirano T, Taga T, Kishimoto T. Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp130. *Cell* 1990;63:1149-57.
  - 7) Kallen K-J. The role of transsignalling via the agonistic soluble IL-6 receptor in human diseases. *Biochim Biophys Acta* 2002;1592:323-43.
  - 8) Mihara M, Kasutani K, Okazaki M, Nakamura A, Kawai S, Sugimoto M, et al. Tocilizumab inhibits signal transduction mediated by both mIL-6R and sIL-6R, but not by the receptors of other members of IL-6 cytokine family. *Int Immunopharmacol* 2005;5:1731-40.
  - 9) Uchiyama Y, Yorozu K, Hashizume M, Moriya Y, Mihara M. Tocilizumab, a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody, ameliorates joint swelling in established monkey collagen-induced arthritis. *Biol Pharm Bull* 2008;31:1159-63.

**アクテムラ皮下注162 mg シリンジ・AI**  
**(トシリズマブ (遺伝子組換え) )**  
**[関節リウマチ]**

第2部 (モジュール 2)

CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2 薬理試験の概要文

中外製薬株式会社

## 略語一覧

略語	英名	和名
CNTF	ciliary neurotrophic factor	毛様体神経栄養因子
CPK	creatine phosphokinase	クレアチンホスホキナーゼ
CRP	C-reactive protein	C 反応性蛋白
dP/dt max	maximal rate of pressure rise	最大圧立ち上がり速度
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
FITC	fluorescein isothiocyanate	フルオレセインイソチオシアネート
IgG1	immunoglobulin G1	免疫グロブリン G1
IL-1 $\beta$	interleukin-1 $\beta$	インターロイキン1 $\beta$
IL-2	interleukin-2	インターロイキン2
IL-6	interleukin-6	インターロイキン6
IL-6R	interleukin-6 receptor	インターロイキン6レセプター
IL-11	interleukin-11	インターロイキン11
IL-15	interleukin-15	インターロイキン15
i.v.	intravenous	静脈内 (投与)
JIA	juvenile idiopathic arthritis	若年性特発性関節炎
LIF	leukemia inhibitory factor	白血病抑制因子
MRA	tocilizumab (genetical recombination)	トシリズマブ (遺伝子組換え)
OSM	oncostatin M	オンコスタチン M
PHA	phytohemagglutinin	フィトヘムアグルチニン
PIP 関節	proximal interphalangeal joint	近位指節間関節
RA	rheumatoid arthritis	関節リウマチ
sIL-6R	soluble interleukin-6 receptor	可溶性インターロイキン6レセプター
TNF- $\alpha$	tumor necrosis factor- $\alpha$	腫瘍壊死因子 $\alpha$

## 目次

	<u>頁</u>
2.6.2 薬理試験の概要文.....	4
2.6.2.1 まとめ.....	4
2.6.2.2 効力を裏付ける試験.....	10
2.6.2.3 副次的薬理試験.....	10
2.6.2.4 安全性薬理試験.....	10
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験.....	10
2.6.2.6 考察及び結論.....	10
2.6.2.7 図表.....	10

## 2.6.2 薬理試験の概要文

### 2.6.2.1 まとめ

トシリズマブは、ヒト IL-6レセプター (IL-6R) に対するヒト化モノクローナル抗体であり、点滴静注用製剤として、2005年4月11日付けでキャッスルマン病を適応として初回承認取得後、2008年4月16日付けで関節リウマチ (RA) 及び若年性特発性関節炎 (JIA) に対する適応追加の承認を取得した。今回、新投与経路医薬品として皮下投与製剤の承認申請を行うにあたり、新たな薬理試験は実施していないが、初回承認時及び RA/JIA 承認時に申請資料として提出した効力を裏付ける試験を表 2.6.2.1-1及び表 2.6.2.1-2に示した。

表 2.6.2.1-1 効力を裏付ける試験 (*in vitro*) 一覧表

試験項目	実験方法・測定項目	濃度・投与量・投与方法	試験成績	実施施設	資料番号
可溶性 IL-6R との結合	ELISA	0, 0.457-9000 ng/mL	MRA は濃度依存的にヒト可溶性 IL-6R に結合	CSK	初回承認 ホ-1
膜結合性 IL-6R との結合	Flow cytometry 解析	10 µg/mL	MRA はヒト膜結合性 IL-6R に結合	CSK	初回承認 ホ-2
	スキャッチャード解析 (解離定数)	0, 11, 33, 77, 165, 341, 11000 nmol/L	解離定数 MRA96D03: 2.82 nmol/L MRA00D01: 2.54 nmol/L	CSK	初回承認 ホ-3
Biacore による解離定数の測定	可溶性 IL-6R に対する解離定数	0.4 µg/mL	解離定数 0.713 nmol/L	CSK	RA/JIA 承認 4.2.1.1-1
IL-6/sIL-6R 複合体の解離作用	ELISA	0, 0.001-10 µg/mL	MRA は IL-6/sIL-6R 複合体を解離させる	CSK	RA/JIA 承認 4.2.1.1-2
各種 IL-6R に対する中和活性	IL-6による PHA 刺激 T リンパ球の増殖	ヒト (0, 0.02, 0.1, 0.5, 2.5 µg/mL) , カニクイザル・ラット・マウス (0, 0.2, 1, 5, 25 µg/mL)	MRA はヒトとカニクイザルでは中和活性を示すが、マウスとラットでは中和活性を示さない	CSK	初回承認 ホ-4, 5
ヒト gp130 family cytokine レセプターに対する中和活性	IL-6, IL-11, OSM, LIF, CNTF に依存して増殖する組換え細胞の増殖	0, 2, 10, 50, 250 µg/mL	MRA は IL-6R 以外のヒト gp130 family cytokine レセプターに中和活性を示さない	CSK	初回承認 追-ホ-1
TNF-α, IL-1β, IL-15及び IL-2のシグナル伝達に対する影響	サイトカイン感受性細胞の生細胞数	0, 2-250 µg/mL	MRA は、これらのサイトカインによるシグナル伝達に対し直接的な阻害活性を示さない	CSK	RA/JIA 承認 4.2.1.1-3

CSK：中外製薬（株），資料番号：初回承認時あるいは RA/JIA 承認時の資料番号

MRA：トシリズマブ

(1.13.1-3 初回承認時資料概要 表ホ-1及び表ホ-2に1.13.1-3 RA/JIA 承認時資料概要の成績を追記して改変)

表 2.6.2.1-1 効力を裏付ける試験 (*in vitro*) 一覧表 (続)

試験項目	実験方法・測定項目	濃度・投与量・投与方法	試験成績	実施施設	資料番号
<i>In vitro</i> IL-6活性の阻害	ELISA	0, 0.19 ng/mL–300 µg/mL	IL-6の sIL-6R への結合を阻害	CSK	初回承認ホ-1
	IL-6/sIL-6R 複合体による BAF-h130細胞の増殖	0, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µg/mL	sIL-6R を介した細胞増殖を抑制	CSK	初回承認ホ-6
	IL-6による KPMM2細胞の増殖	0, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µg/mL	膜結合性 IL-6R を介した細胞増殖を抑制	CSK	初回承認ホ-7
MRA/sIL-6R 複合体の活性	MRA/sIL-6R 複合体による BAF-h130細胞の増殖	0, 1, 10, 100 µg/mL	MRA/sIL-6R 複合体には IL-6活性はない	CSK	初回承認ホ-8

CSK：中外製薬（株），資料番号：初回承認時の資料番号

MRA：トシリズマブ

(1.13.1-3 初回承認時資料概要 表ホ-1及び表ホ-2に1.13.1-3 RA/JIA 承認時資料概要の成績を追記して改変)

表 2.6.2.1-2 効力を裏付ける試験 (*in vivo*) 一覧表

試験項目	測定項目	投与量・投与方法	試験成績	実施施設	資料番号
<i>In vivo</i> IL-6活性の阻害	CRP 及び血小板数	0, 5 mg/kg 単回静脈内投与	カニクイザルに投与された IL-6の活性発現を抑制	CSK	初回承認 ホ-9
カニクイザルコラーゲン誘発関節炎に対する治療効果	関節の X 線撮影, PIP 関節の平均橢円面積, 血液生化学的検査, 血清中骨代謝マーカー, 血漿中 IL-6, sIL-6R, MRA 及び抗 MRA 抗体	0, 30 mg/kg 静脈内投与	炎症パラメーターを改善し, 関節腫脹に対し改善効果を示した。	■■■■■ ■■■■■	RA/JIA 承認 4.2.1.1-4
カニクイザルコラーゲン誘発関節炎に対する予防効果 (参考資料)	腫脹関節数 手足の浮腫 (体積) CRP	0, 0.1, 1.0, 10 mg/kg 静脈内投与	10 mg/kg 投与群で関節腫脹スコア及び手足の浮腫が悪化するのを抑制し, CRP の上昇を阻害した。	CSK	RA/JIA 承認 4.2.1.1-5
ヒト IL-6トランスジェニックマウスでの効果 (参考資料)	赤血球数 IgG1濃度 脾臓重量 生存率	MR16-1 (抗マウス IL-6R 抗体) : 初回に2 mg/マウスを静脈内投与し, その翌週より100 µg/マウスを週2回, 18週齢まで皮下投与	キャッスルマン病様の病態発症を抑制し, 生存日数を延長	CSK	初回承認 参-ホ-1
続発性アミロイドーシスモデルマウスでの効果 (参考資料)	脾臓, 肝臓, 腎臓へのアミロイド沈着	MR16-1 100 mg/kg を単回, 腹腔内投与	脾臓, 肝臓, 腎臓へのアミロイド沈着を完全に抑制	CSK	初回承認 参-ホ-2

CSK : 中外製薬 (株), 資料番号 : 初回承認時あるいは RA/JIA 承認時の資料番号

MRA : トシリズマブ

(1.13.1-3 初回承認時資料概要 表ホ-2及び表ホ-3に1.13.1-3 RA/JIA 承認時資料概要の成績を追記して改変)

これらの結果より, トシリズマブが結合した IL-6R は, IL-6に対する結合能力を失い, IL-6 シグナルを伝達できなくなることが明らかになった。これは, IL-6が病態に深く関与している RA などの疾患において, トシリズマブを投与することにより, 病態を改善し, 治療効果が期待できることを示唆している。

交差反応性については、今回の申請において新たな実験は実施しなかった。初回承認時にヒト及びカニクイザルを対象として検討した試験成績を表 2.6.2.1-3に示した（1.13.1-3 初回承認時資料概要 ホ項 3. 交差反応性試験参照）。

表 2.6.2.1-3 交差反応性試験成績

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び動物数／群	特記すべき所見	資料番号
38種の臓器	ヒト組織	免疫組織化学的染色	FITC 標識 MRA (標識率 8.80 mol/mol) 5, 20 µg/mL	各臓器3例以上	陽性臓器：血液におけるリンパ球、骨髄、リンパ節、扁桃、小腸・消化管付属リンパ組織、大腸・消化管付属リンパ組織における単核細胞、副腎・腎臓・肝臓・膀胱の遊走性単核細胞	初回承認 追-ホ-2
心臓を含む6臓器	カニクイザル	静脈内単回持続投与	10	雄1例、雌2例	陽性臓器： <ul style="list-style-type: none"> <li>• 心筋並びに伝導系に隣接する間質結合組織</li> <li>• 心臓、肝臓、肺、脾臓、腎臓：血管内皮細胞</li> <li>• 肝臓：肝門脈結合組織、類洞細胞</li> <li>• 肺：肺胞壁細胞、肺胞マクロファージ</li> <li>• リンパ節：胚中心、マントル帯、洞内皮、高内皮小静脈</li> <li>• 脾臓：胚中心、マントル帯、辺縁帯、脾柱表面、赤脾髄</li> <li>• 腎臓：糸球体、皮質尿細管上皮</li> </ul> 陰性臓器： 心筋、伝導系線維	初回承認 ホ-10

MRA：トシリズマブ、資料番号：初回承認時の資料番号

(1.13.1-3 初回承認時資料概要 別表ホ-2一部抜粋して改変)

安全性薬理試験については、今回の申請において新たな実験は実施しなかった。初回承認時に申請資料として提出した一般薬理試験の項目とそれらの試験成績一覧表を表 2.6.2.1-4に示した(1.13.1-3 初回承認時資料概要 ホ項 4. 一般薬理試験参照)。

表 2.6.2.1-4 一般薬理試験一覧表

試験項目		試験方法 実験条件	動物 (例数)	投与経路	投与量 (mg/kg)	試験成績	実施施設	資料番号
一般症状・ 中枢神経系	一般症状・ 行動	症状観察	マウス (3匹/群)	i.v.	0, 1.33, 13.34, 133.4	影響なし	CSK	ホ-11, 12, 13
	自発運動	Animex 法	マウス (7~8匹/群)					
	正常体温	直腸温						
	麻酔作用	バルビタール睡眠						
	抗痙攣作用	最大電撃痙攣法	ラット (8匹/群)					
鎮痛作用	圧刺激法							
平滑筋・ 消化器系	摘出回腸	単独作用	モルモット (7匹)	<i>in vitro</i>	20, 67, 200 µg/mL	影響なし	CSK	ホ-14
	摘出回腸縦走 筋	アセチルコリン収 縮 ヒスタミン収縮 塩化バリウム収縮	モルモット (7匹)	<i>in vitro</i>	200 µg/mL	影響なし	CSK	ホ-14
	小腸輸送能	バリウム輸送	マウス (8匹/群)	i.v.	0, 1.33, 13.34, 133.4	影響なし	CSK	ホ-18
	胃幽門運動 十二指腸運動 回腸運動	麻酔下 strain gauge	サル (3頭)	i.v.	0, 133.4	影響なし	CSK	ホ-16

CSK : 中外製薬 (株) , 資料番号 : 初回承認時の資料番号

(1.13.1-3 初回承認時資料概要 表ホ-5再掲)

表 2.6.2.1-4 一般薬理試験一覧表 (続)

試験項目	試験方法 実験条件	動物 (例数)	投与経路	投与量 (mg/kg)	試験成績	実施施設	資料番号
呼吸数 平均血圧 心拍数 左心室内圧 左心室内圧 dP/dt max 大動脈血流量 総末梢血管抵抗 腎動脈血流量 腎動脈血管抵抗 総頸動脈血流量 総頸動脈血管抵抗 心電図	麻酔下	イヌ (4頭/群)	i.v.	0, 66.7	影響なし	CSK	ホ-15
呼吸数 平均血圧 心拍数 左心室内圧 左心室内圧 dP/dt max 大動脈血流量 総末梢血管抵抗 総頸動脈血流量 総頸動脈血管抵抗 心電図	麻酔下	サル (3頭)	i.v.	0, 133.4	影響なし	CSK	ホ-16
心電図 血清中 CPK CPK アイソザイム 血小板凝集能	麻酔下	サル (3頭/群)	i.v.	1, 10, 50 mg/kg を2週間以上の 休薬期間を 設け、同じ動 物に同用量を 3回投与	影響なし	■	ホ-17
尿量 尿 pH 尿浸透圧 尿中 Na 排泄量 尿中 K 排泄量 尿中 Cl 排泄量	6時間蓄尿	ラット (8匹/群)	i.v.	0, 1.33, 13.34, 133.4	影響なし	CSK	ホ-19

CSK：中外製薬（株）， ■： ■， 資料番号：初回承認時の資料番号

(1.13.1-3 初回承認時資料概要 表ホ-5再掲)

これらの結果より、トシリズマブは交差反応性を示すカニクイザルにおいて呼吸・循環器系、消化管運動及び血小板凝集能に影響を及ぼさないことが明らかとなった。また、一般症状及び行動、中枢神経系、平滑筋、消化器系、呼吸・循環器系及び水・電解質代謝に対して、薬効薬理作用以外の非特異的な薬理作用も示さないと考えられた。

### 2.6.2.2 効力を裏付ける試験

該当なし

### 2.6.2.3 副次的薬理試験

該当なし

### 2.6.2.4 安全性薬理試験

該当なし

### 2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当なし

### 2.6.2.6 考察及び結論

該当なし

### 2.6.2.7 図表

本文中に記載。