KHK4827

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

協和発酵キリン株式会社

CONFIDENTIAL

略号及び用語の定義一覧

略号

略号	略していない用語
Ig	Immunoglobulin（免疫グロブリン）
IL	Interleukin（インターロイキン）
R	Receptor（受容体）
TNF	Tumor necrosis factor（腫瘍壊死因子）

用語の定義

用語	定義
p55	腫瘍壊死因子受容体 1
p75	腫瘍壊死因子受容体 2
Th1 細胞	ヘルパーT 細胞の一つであり、IL-2、IFN-γ 等を産生する細胞
Th2 細胞	ヘルパーT 細胞の一つであり、IL-4、IL-5、IL-10、IL-13 等を産生する細胞
Th17 細胞	ヘルパーT 細胞の一つであり、IL-17A、IL-17F 等を産生する細胞

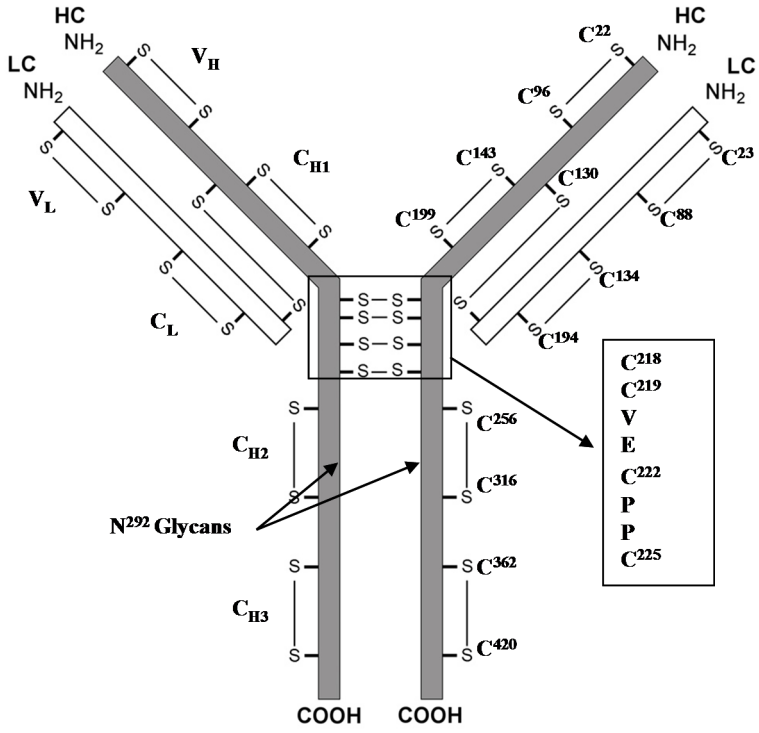
目次

略号及び用語の定義一覧 2
目次 3
2.6.1 緒言 4
2.6.1.1 図表 7
2.6.1.2 参考文献 7

2.6.1 緒言

KHK4827 は米国 Amgen Inc.が創製したチャイニーズハムスター卵巣細胞で産生される遺伝子組換え完全ヒト型免疫グロブリン（Ig）G2 抗体であり、IgG2 サブクラスの重鎖（γ 鎖）2 本と軽鎖（κ鎖）2本がジスルフィド結合により共有結合したヘテロ四量体構造を有する（図 2.6.1-1）。標準的な糖鎖付加部位である各々の重鎖の 292 位のアスパラギンに、N 型糖鎖が結合している。KHK4827 は 1312 個のアミノ酸残基で構成されており、分子量が約 147,000 の糖タンパク質である。

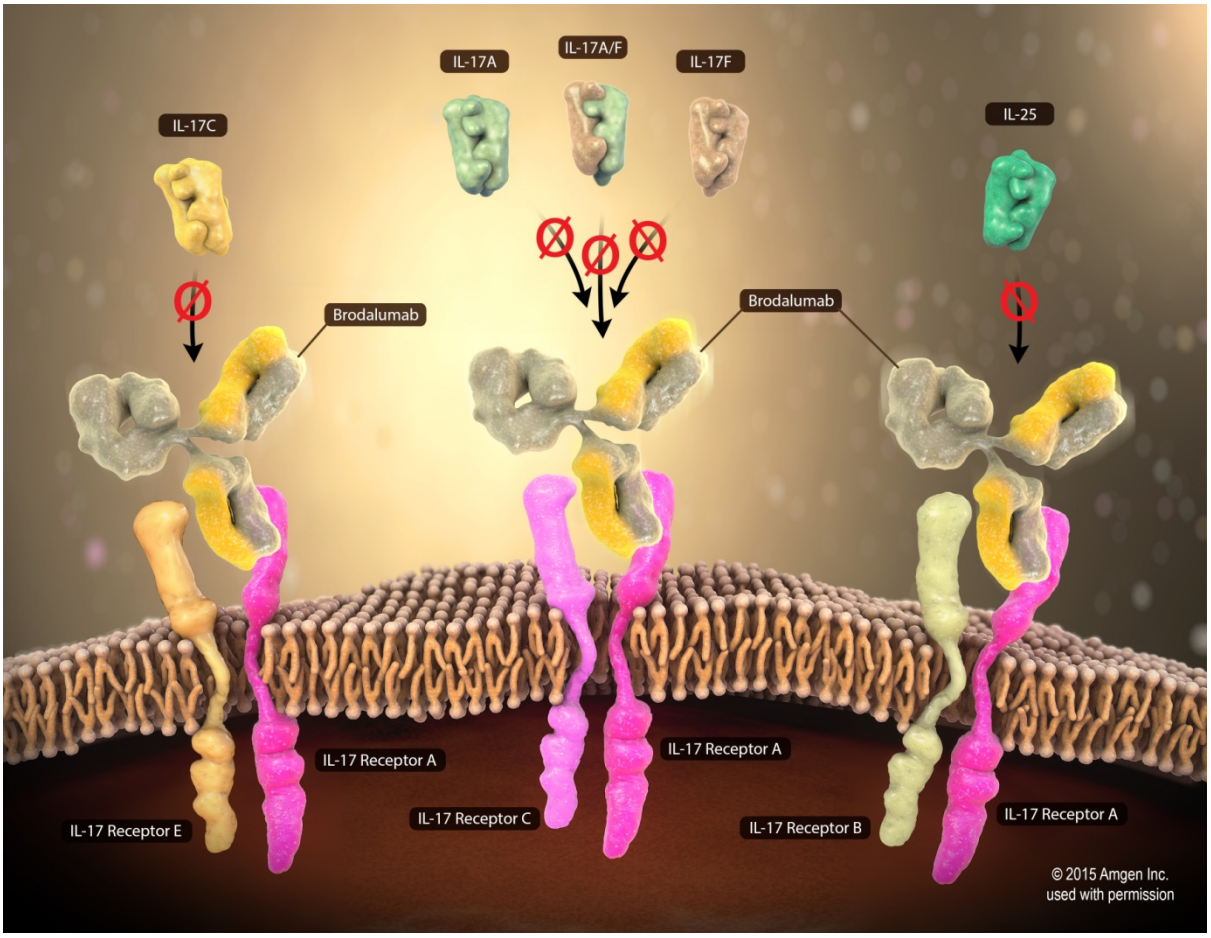
図 2.6.1-1　KHK4827 の構造



灰色：重鎖、白：軽鎖
V_H：重鎖可変領域、C_H：重鎖定常領域、V_L：軽鎖可変領域、C_L：軽鎖定常領域

KHK4827 はヒトインターロイキン（IL）-17 受容体（R）A に選択的に結合し、IL-17 ファミリーサイトカインである IL-17A、IL-17F、IL-17A/F ヘテロ二量体、及び IL-25（別名 IL-17E）の IL-17RA を介した生物活性を阻害する（図 2.6.1-2）。また、KHK4827 は IL-17C の IL-17RA を介した生物活性を非常に高い濃度において部分的に阻害する。

図 2.6.1-2　KHK4827 の IL-17RA への結合と各種 IL-17 ファミリーサイトカインの生物活性の阻害



Brodalumab = KHK4827

IL-17RA は、線維芽細胞、上皮細胞、単球等の多くの細胞に発現している I 型膜貫通受容体である（Yao et al, 1997）。IL-17RA は各種 IL-17 ファミリーサイトカインが生物活性を示す上で必要であり、IL-17A、IL-17F、IL-17A/F ヘテロ二量体、IL-17C 及び IL-25 は IL-17RA に結合して細胞内にシグナルを伝達する。IL-17A、IL-17F 及び IL-17A/F ヘテロ二量体は IL-17RA/IL-17RC 複合体、IL-17C は IL-17RA/IL-17RE 複合体、IL-25 は IL-17RA/IL-17RB 複合体をそれぞれ介して細胞内にシグナルを伝達する（Ramirez-Carrozzi et al, 2011; Song et al, 2011; Rickel et al, 2008; Wright et al, 2008; Toy et al, 2006; Gaffen, 2009）。

IL-17A、IL-17F 及び IL-17A/F は、Th17 細胞や自然免疫系細胞から産生される主要な炎症性サイトカインであり、上皮細胞、内皮細胞、線維芽細胞からの炎症性メディエーターの産生誘導、好中球の増殖・成熟・細胞遊走、樹状細胞の成熟等、多様な活性を有する（Cua and Tato, 2010; Ouyang et al, 2008; Kolls and Lindén, 2004; Antonysamy et al, 1999; Gaffen, 2009; Littman and Rudensky, 2010）。IL-17C は上皮細胞から産生され、その生物活性については多くの点が研究段階にあるものの、IL-17A 及び IL-17F に類似した活性が確認されている（Ramirez-Carrozzi et al, 2011; Song et al, 2011; Johnston et al, 2013）。IL-25 は、上皮細胞、Th2 細胞、好酸球及び好塩基球から産生され、喘息のような Th2 型の炎症の病態に深く関与している（Saenz et al, 2008; Wang et al, 2007; Fort el al, 2001）。

乾癬等の炎症性自己免疫性疾患の発症及び進展に対して、IL-17 ファミリーサイトカインの過剰なシグナル伝達が関与していることを示唆する報告は多く、尋常性乾癬患者の血液中及び皮膚病変部位では、Th17 細胞の増加に加え、IL-17A、IL-17F、IL-17C 等の IL-17 ファミリーサイトカインの発現上昇が認められる（Kagami et al, 2010; Zhang et al, 2010; Hvid et al, 2008; Johansen et al, 2009; Lowes et al, 2008）。また、関節症性乾癬患者では、滑液中の Th17 細胞数は変形性関節炎に比べて 10 倍高く（Raychaudhuri et al, 2012）、血液中 Th17 細胞数も健康成人に比べて顕著に増加している（Leipe et al, 2010; Jandus et al, 2008）。膿疱性乾癬患者では尋常性乾癬患者と同様に、血液中 IL-17 濃度や皮膚病変部位の IL-17 発現量及び IL-17 産生細胞数が上昇していることが報告されている（Yilmaz et al, 2012; Bissonnette et al, 2014; Yasukawa et al, 2009; Teraki et al, 2010）。また、乾癬性紅皮症患者の皮膚病変部位では、尋常性乾癬患者と同様に Th17 細胞の集積が認められる（Moy et al, 2015）。乾癬性紅皮症患者に対する生物学的製剤の使用経験として、これまでに抗腫瘍壊死因子（TNF）α 抗体や Th1/IL-12 及び Th17/IL-23 の両方の生物活性を抑制する抗 IL-12/23p40 抗体のウステキヌマブ（ステラーラ®）が報告されているが、抗 TNFα 抗体治療に比べてウステキヌマブの方が治療効果及び治療反応性が高い傾向にある（Stinco and Errichetti, 2015）。更に、抗 TNFα 抗体治療を含む様々な既存療法に不応の乾癬性紅皮症患者に対してウステキヌマブが有効との症例報告から、Th17/IL-23 が乾癬性紅皮症の病態に深く関与している可能性が示唆される（Santos-Juanes et al, 2010; Wang and Tsai, 2011）。以上より、尋常性乾癬、関節症性乾癬、膿疱性乾癬及び乾癬性紅皮症の病態に Th17 細胞や IL-17A、IL-17F、IL-17C 等の IL-17 ファミリーサイトカインの受容体を介した作用が関与していることが示唆される。

実験動物を用いた *in vivo* 試験においても同様に、乾癬や関節炎等の自己免疫性疾患や炎症性疾患における IL-17 サイトカインの疾患関連性が示唆されている。マウスに IL-17A 及び IL-17F を皮内投与すると乾癬患者の皮膚病変部位に高発現する炎症性メディエーターの産生が誘導され（Fujishima et al, 2010; Harper et al, 2009）、マウス乾癬モデルの皮膚病変部位では IL-17A 及び IL-17F の産生が増加している（van der Fits et al, 2009; Hvid et al, 2008）。更に、イミキモドの塗布により誘導される乾癬様皮膚症状に対して、IL-17RA 遺伝子欠損マウスは抵抗性を示す（van der Fits et al, 2009）。IL-17RA 遺伝子欠損マウスは、コラーゲン誘発関節炎に対しても同様に抵抗性を示し、関節炎の病態に IL-17 ファミリーサイトカインが関与していることが示唆される（Roeleveld and Koenders, 2015; Yamamoto and Kawahito, 2011）。

KHK4827 のサロゲート抗体である抗マウス IL-17RA 抗体は、腹腔内投与によりマウス乾癬モデルの乾癬様の皮膚炎症状を改善した。また、抗マウス IL-17RA 抗体の腹腔内投与により、マウス炎症性関節炎モデルの四肢の関節炎症状（発赤及び腫脹）と、それに伴う骨破壊及び軟骨びらんを改善した。更に、抗マウス IL-17RA 抗体は、p55/p75TNFR 遺伝子欠損マウスを用いた関節炎モデルの関節炎に対して改善効果を示した。

以上より、KHK4827 は IL-17RA に特異的に結合し、IL-17A、IL-17F、IL-17A/F ヘテロ二量体、IL-25 及び IL-17C の IL-17RA を介したシグナル伝達を阻害する作用を有する。したがって、これらの炎症性サイトカインが関連した自己免疫疾患や炎症性疾患に起因する臨床症状を抑制することが期待される、新規メカニズムの薬剤としての特徴を有する。

本申請における効能・効果及び用法・用量の案は次のとおりである。

【効能・効果（案）】

既存治療で効果不十分な下記疾患

尋常性乾癬、関節症性乾癬、膿疱性乾癬、乾癬性紅皮症

【用法・用量（案）】

通常、成人にはブロダルマブ（遺伝子組換え）として 1 回 210 mg を、初回、1 週後、2 週後に皮下投与し、以降、2 週間の間隔で皮下投与する。

2.6.1.1 図表

図表は本文中の適切な箇所に記載した。

2.6.1.2 参考文献

Antonysamy et al, 1999

Antonysamy M, Fanslow W, Fu F, Li W, Qian S, Troutt AB, et al. Evidence for a role of IL-17 in organ allograft rejection: IL-17 promotes the functional differentiation of dendritic cell progenitors. J Immunol. 1999;162(1):577-84.

Bissonnette et al, 2014

Bissonnette R, Nigen S, Langley RG, Lynde CW, Tan J, Fuentes-Duculan J, et al. Increased expression of IL-17A and limited involvement of IL-23 in patients with palmo-plantar (PP) pustular psoriasis or PP pustulosis; results from a randomised controlled trial. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2014;28 (10):1298-305.

Cua and Tato, 2010

Cua DJ, Tato CM. Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system. Nat Rev Immunol. 2010;10:479-90.

Fort el al, 2001

Fort MM, Cheung J, Yen D, Li J, Zurawski SM, Lo S, et al. IL-25 induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies in vivo. Immunity. 2001;15:985-95.

Fujishima et al, 2010

Fujishima S, Watanabe H, Kawaguchi M, Suzuki T, Matsukura S, Homma T, et al. Involvement of IL-17F via the induction of IL-6 in psoriasis. Arch Dermatol Res. 2010;302:499-505.

Gaffen, 2009

Gaffen SL. Structure and signalling in the IL-17 receptor family. Nat Rev Immunol. 2009;9:556-67.

Harper et al, 2009

Harper EG, Guo C, Rizzo H, Lillis JV, Kurtz SE, Skorcheva I, et al. Th17 cytokines stimulate CCL20 expression in keratinocytes in vitro and in vivo: implications for psoriasis pathogenesis. J Invest Dermatol. 2009;129:2175-83.

Hvid et al, 2008

Hvid H, Teige I, Kvist PH, Svensson L, Kemp K. TPA induction leads to a T_h17-like response in transgenic K14/VEGF mice: a novel in vivo screening model of psoriasis. Int Immunol. 2008;20:1097-106.

Jandus et al, 2008
Jandus C, Bioley G, Rivals JP, Dudler J, Speiser D, Romero P. Increased numbers of circulating polyfunctional Th17 memory cells in patients with seronegative spondylarthritides. Arthritis Rheum. 2008;58:2307-17.

Johansen et al, 2009
Johansen C, Usher PA, Kjellerup RB, Lundsgaard D, Iversen L, Kragballe K. Characterization of the interleukin-17 isoforms and receptors in lesional psoriatic skin. Br J Dermatol. 2009;160:319-24.

Johnston et al, 2013
Johnston A, Fritz Y, Dawes SM, Diaconu D, Al-Attar PM, Guzman AM, et al. Keratinocyte overexpression of IL-17C promotes psoriasiform skin inflammation. J Immunol. 2013;190(5):2252-62.

Kagami et al, 2010
Kagami S, Rizzo HL, Kurtz SE, Miller LS, Blauvelt A. IL-23 and IL-17A, but not IL-12 and IL-22, are required for optimal skin host defense against *Candida albicans*. J Immunol. 2010;185:5453-62.

Kolls and Lindén, 2004
Kolls JK, Lindén A. Interleukin-17 family members and inflammation. Immunity. 2004;21(4):467-76.

Leipe et al, 2010
Leipe J, Grunke M, Dechant C, Reindl C, Kerzendorf U, Schulze-Koops H, et al. Role of Th17 cells in human autoimmune arthritis. Arthritis Rheum. 2010;62:2876-85.

Littman and Rudensky, 2010
Littman DR, Rudensky AY. Th17 and regulatory T cells in mediating and restraining inflammation. Cell. 2010;140:845-58.

Lowes et al, 2008
Lowes MA, Kikuchi T, Fuentes-Duculan J, Cardinale I, Zaba LC, Haider AS, et al. Psoriasis vulgaris lesions contain discrete populations of Th1 and Th17 T cells. J Invest Dermatol. 2008;128:1207-11.

Moy et al, 2015
Moy AP, Murali M, Kroshinsky D, Duncan LM, Nazarian RM. Immunologic overlap of helper T-cell subtypes 17 and 22 in erythrodermic psoriasis and atopic dermatitis. JAMA Dermatol. 2015; doi: 10.1001/jamadermatol.2015.2.

Ouyang et al, 2008
Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation. Immunity. 2008;28(4):454-67.

Ramirez-Carrozzi et al, 2011
Ramirez-Carrozzi V, Sambandam A, Luis E, Lin Z, Jeet S, Lesch J, et al. IL-17C regulates the innate immune function of epithelial cells in an autocrine manner. Nat Immunol. 2011;12(12):1159-66.

Raychaudhuri et al, 2012
Raychaudhuri SP, Raychaudhuri SK, Genovese MC. IL-17 receptor and its functional significance in psoriatic arthritis. Mol Cell Biochem. 2012;359:419-29.

Rickel et al, 2008
Rickel EA, Siegel LA, Yoon BR, Rottman JB, Kugler DG, Swart DA, et al. Identification of functional roles for both IL-17RB and IL-17RA in mediating IL-25-induced activities. J Immunol. 2008;181(6):4299-310.

Roeleveld and Koenders, 2015
Roeleveld DM, Koenders MI. The role of the Th17 cytokines IL-17 and IL-22 in Rheumatoid Arthritis pathogenesis and developments in cytokine immunotherapy. Cytokine. 2015;74(1):101-7.

Saenz et al, 2008
Saenz SA, Taylor BC, Artis D. Welcome to the neighborhood: epithelial cell-derived cytokines license innate and adaptive immune responses at mucosal sites. Immunological Rev. 2008;226:172-90.

Santos-Juanes et al, 2010
Santos-Juanes J, Coto-Segura P, Mas-Vidal A, Galache Osuna C. Ustekinumab induces rapid clearing of erythrodermic psoriasis after failure of antitumour necrosis factor therapies. Br J Dermatol. 2010;162:1144-6.

Song et al, 2011
Song X, Zhu S, Shi P, Liu Y, Shi Y, Levin SD, et al. IL-17RE is the functional receptor for IL-17C and mediates mucosal immunity to infection with intestinal pathogens. Nat Immunol. 2011;12(12):1151-8.

Stinco and Errichetti, 2015
Stinco G, Errichetti E. Erythrodermic psoriasis: current and future role of biologicals. BioDrugs. 2015;29(2):91-101.

Teraki et al, 2010
Teraki Y, Tanaka S, Hitomi K, Izaki S. A case of generalized psoriasiform and pustular eruption induced by infliximab: evidence for skin-homing Th17 in the pathogenesis. Br J Dermatol. 2010;163:1347-51.

Toy et al, 2006
Toy D, Kugler D, Wolfson M, Vanden Bos T, Gurgel J, Derry J, et al. Cutting edge: interleukin 17 signals through a heteromeric receptor complex. J Immunol. 2006;177:36-9.

van der Fits et al, 2009
van der Fits L, Mourits S, Voerman JS, Kant M, Boon L, Laman JD, et al. Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. J Immunol. 2009;182:5836-45.

Wang et al, 2007
Wang Y-H, Angkasekwinai P, Lu N, Voo KS, Arima K, Hanabuchi S, et al. IL-25 augments type 2 immune responses by enhancing the expansion and functions of TSLP-DC-activated Th2 memory cells. J Exp Med. 2007;204(8):1837-47.

Wang and Tsai, 2011
Wang TS, Tsai TF. Clinical experience of ustekinumab in the treatment of erythrodermic psoriasis: a case series. J Dermatol. 2011;38:1096-9.

Wright et al, 2008
Wright JF, Bennett F, Li B, Brooks J, Luxenberg DP, Whitters MJ, et al. The human IL-17F/IL-17A heterodimeric cytokine signals through the IL-17RA/IL-17RC receptor complex. J Immunol. 2008;181(4):2799-805.

Yamamoto and Kawahito, 2011
Yamamoto A, Kawahito Y. New Helper T Cell "Th17". Kyofuidaishi. 2011;120:589-96.

Yao et al, 1997
Yao Z, Spriggs MK, Derry JM, Strockbine L, Park LS, VandenBos T, et al. Molecular characterization of the human interleukin (IL)-17 receptor. Cytokine. 1997;9(11):794-800.

Yasukawa et al, 2009
Yasukawa S, Dainichi T, Kokuba H, Moroi Y, Urabe K, Hashimoto T, et al. Bullous pemphigoid followed by pustular psoriasis showing Th1, Th2, Treg and Th17 immunological changes. Eur J Dermatol. 2009;19:69-71.

Yilmaz et al, 2012
Yilmaz SB, Cicek N, Coskun M, Yegin O, Alpsoy E. Serum and tissue levels of IL-17 in different clinical subtypes of psoriasis. Arch Dermatol Res. 2012;304:465-9.

Zhang et al, 2010
Zhang L, Yang XQ, Cheng J, Hui RS, Gao TW. Increased Th17 cells are accompanied by FoxP3^{+} Treg cell accumulation and correlated with psoriasis disease severity. Clin Immunol. 2010;135:108-17.

KHK4827

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

協和発酵キリン株式会社

CONFIDENTIAL

略号及び用語の定義一覧

略号

略号	略していない用語
ADCC	Antibody-dependent cellular cytotoxicity（抗体依存性細胞傷害）
AHR	Airway hyperresponsiveness（気道過敏性）
BALF	Bronchial lavage fluid（気管支肺胞洗浄液）
bDNA	Branched DNA（分岐 DNA）
CII	Type II collagen（II 型コラーゲン）
CFA	Complete freund's adjuvant（完全フロイントアジュバント）
C_H	Heavy chain constant region（重鎖定常領域）
CIA	Collagen-induced arthritis（コラーゲン誘発関節炎）
COMP	Cartilage oligomeric matrix protein（軟骨オリゴマー基質タンパク質）
DEFB4	Beta defensin-4（デフェンシン β4）
DSS	Dextran sulfate sodium（デキストラン硫酸ナトリウム）
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay（固相酵素結合免疫測定法）
FcRn	Neonatal Fc receptor（胎児性 Fc 受容体）
GRO	Growth-related oncogene（成長関連がん遺伝子）
HFF	Human foreskin fibroblasts（ヒト包皮線維芽細胞）
IC_{50}	50% Inhibit concentration（50%阻害濃度）
IFA	Incomplete freund's adjuvant（不完全フロイントアジュバント）
Ig	Immunoglobulin（免疫グロブリン）
IL	Interleukin（インターロイキン）
K_D	Dissociation constant（解離定数）
Ki	Inhibition constant（阻害定数）
MACE	Major adverse cardiovascular events（主要有害心血管イベント）
mRNA	Messenger RNA（メッセンジャーRNA）
NCDF	Normal cynomolgus dermal fibroblasts（カニクイザル皮膚線維芽細胞）
NHDF	Normal human dermal fibroblasts（ヒト皮膚線維芽細胞）
NHEK	Normal human epidermal keratinocytes（ヒト表皮角化細胞）
NHLF	Normal human lung fibroblasts（ヒト肺線維芽細胞）
NRDF	Normal rabbit dermal fibroblasts（ウサギ皮膚線維芽細胞）
OVA	Ovalbumin（卵白アルブミン）
PAS	Periodic acid-schiff（過ヨウ素酸シッフ）
PBMC	Peripheral blood mononuclear cell（末梢血単核細胞）
PBS	Phosphate buffered saline（リン酸緩衝食塩液）
PE	Phycoerythrin（フィコエリスリン）
R	Receptor（受容体）
rh	Recombinant human（遺伝子組換えヒト）
rm	Recombinant mouse（遺伝子組換えマウス）
RT-PCR	Reverse transcription polymerase chain reaction（逆転写ポリメラーゼ連鎖反応）
TLR	Toll-like receptor（Toll 様受容体）
TNF	Tumor necrosis factor（腫瘍壊死因子）
TPA	12-*O*-Tetradecanoylphorbol-13-acetate（12-*O*-テトラデカノイルホルボール-13-アセテート）
TSLP	Thymic stromal lymphopoietin（胸腺間質性リンパ球新生因子）

用語の定義

用語	定義
Biacore	表面プラズモン共鳴シグナルによる生体分子相互作用測定機器
CCL	C-C モチーフケモカインリガンド
CD45RB^{hi} T 細胞	白血球共通抗原である膜結合型チロシンフォスファターゼの B エキソン依存型アイソフォームが高発現の T 細胞
CXCL	C-X-C モチーフケモカインリガンド
DNA	デオキシリボ核酸
Fc	免疫グロブリンの結晶化可能断片領域
GAPDH	グリセルアルデヒド 3 リン酸脱水素酵素遺伝子（ハウスキーピング遺伝子の一種）
HEK293T	ヒト胎児由来腎臓細胞に SV40 ウイルス large T 抗原 を発現させることで株化した培養細胞
Helicobacter bilis	ヘリコバクター属の細菌の一種であり、mdr1a 遺伝子欠損マウスに感染させると大腸炎を誘発する
HPRT	ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ遺伝子（ハウスキーピング遺伝子の一種）
K14/mIL-1F6 遺伝子改変マウス	ケラチン（K）14 プロモーター下でマウス IL-1F6（IL-1 リガンドファミリーのメンバー、別名 IL-36α）を過剰発現するマウス
Mdr1a 遺伝子	多剤耐性遺伝子 1a のことであり、Mdr1a 遺伝子欠損マウスは Helicobacter bilis の感染により大腸炎を呈する
p55	腫瘍壊死因子受容体 1
p75	腫瘍壊死因子受容体 2
PR 間隔	心電図における P 波の開始から QRS 波の開始までの時間（房室伝道時間）
QRS 間隔	心電図における QRS 波の開始から終了までの時間（心室興奮時間）
QT 間隔	心電図における Q 波の開始から T 波の終了までの時間（電気的心室収縮時間）
QTc 間隔	心拍数で補正した QT 間隔
RNA	リボ核酸
RR 間隔	心電図における R 波と次の R 波までの時間
Th1 細胞	ヘルパーT 細胞の一つであり、IL-2、IFN-γ 等を産生する細胞
Th2 細胞	ヘルパーT 細胞の一つであり、IL-4、IL-5、IL-10、IL-13 等を産生する細胞
Th17 細胞	ヘルパーT 細胞の一つであり、IL-17A、IL-17F 等を産生する細胞

目次

略号及び用語の定義一覧 2
目次 4
2.6.2 薬理試験の概要文 6
2.6.2.1 まとめ 6
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 8
2.6.2.2.1 ヒト IL-17RA 細胞外ドメインに対する結合親和性（試験番号：R2006239）資料番号：4.2.1.1-1 8
2.6.2.2.2 IL-17A と IL-17RA の結合に対する競合阻害作用（試験番号：R2006240）資料番号：4.2.1.1-2 8
2.6.2.2.3 ヒト全血中 IL-17RA 陽性白血球細胞に対する結合性及びヒト全血の IL-17A 刺激依存的 IL-6 mRNA 発現に対する阻害作用（試験番号：R2006242、R20080191）資料番号：4.2.1.1-3、4.2.1.1-4 8
2.6.2.2.4 各種ヒト線維芽細胞の IL-17A、IL-17F 又は IL-17A/F ヘテロ二量体刺激依存的 GROα 産生に対する阻害作用（試験番号：R20090127、R2006244、R20070004）資料番号：4.2.1.1-5、参考 4.2.1.1-6、参考 4.2.1.1-7 8
2.6.2.2.5 ヒト表皮角化細胞の IL-17C 刺激依存的 DEFB4 mRNA 発現に対する阻害作用（試験番号：R20120145）資料番号：4.2.1.1-8 9
2.6.2.2.6 ヒト末梢血単核細胞の IL-25 刺激依存的 IL-5 産生に対する阻害作用（試験番号：R20080129）資料番号：4.2.1.1-9 10
2.6.2.2.7 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びカニクイザル IL-17RA に対する反応性（試験番号：R2006241、R20070242、110458）資料番号：4.2.1.1-10、4.2.1.1-11、4.2.1.1-12 11
2.6.2.2.8 抗マウス IL-17RA 抗体のマウス IL-17RA に対する阻害作用（試験番号：R2006447、R2006246、R20080147、R20080140）資料番号：参考 4.2.1.1-13、4.2.1.1-14、4.2.1.1-15、4.2.1.1-16 12
2.6.2.2.9 マウス乾癬モデルに対する作用（試験番号：R20090128）資料番号：4.2.1.1-17 13
2.6.2.2.10 マウス炎症性関節炎モデルに対する作用（試験番号：R2006348、R20070264、R2006248）資料番号：参考 4.2.1.1-18、4.2.1.1-19、4.2.1.1-20 15
2.6.2.3 副次的薬理試験 17
2.6.2.3.1 ヒト IL-17RB 及びヒト IL-17RC に対する結合活性（試験番号：R20090225、R20140114）資料番号：参考 4.2.1.2-1、参考 4.2.1.2-2 17
2.6.2.3.2 IL-17RA 活性化作用（試験番号：R20080048）資料番号：参考 4.2.1.2-3 18
2.6.2.3.3 マウス喘息モデルに対する作用（試験番号：R20090287）資料番号：4.2.1.2-4 18
2.6.2.3.4 炎症性腸疾患モデルマウスに対する作用（試験番号：R20090295、R20090296、R20090294）資料番号：参考 4.2.1.2-5、参考 4.2.1.2-6、参考 4.2.1.2-7 21
2.6.2.3.5 各種症状や疾患に対してリスクとなる可能性の検討 資料番号：参考 4.2.1.2-8、参考 4.2.3.4.3-1 21

2.6.2.3.5.1 活動性クローン病患者におけるクローン病の増悪 21
2.6.2.3.5.2 好中球、単球及びマクロファージの減少 22
2.6.2.3.5.3 感染症のリスク 22
2.6.2.3.5.4 予防接種の効果の減少 22
2.6.2.3.5.5 心血管系に対する影響 23
2.6.2.3.5.6 自殺念慮及び行動、うつに対する影響 23
2.6.2.3.5.7 骨吸収に対する影響 24
2.6.2.3.5.8 体重に対する影響 24
2.6.2.3.5.9 網膜視細胞に対する毒性 24
2.6.2.3.5.10 がん原性リスク 24
2.6.2.3.6 KHK4827 の Fc ドメインの機能 25
2.6.2.3.7 KD バリアントが Fc ドメイン機能に及ぼす影響 25
2.6.2.4 安全性薬理試験 25
2.6.2.4.1 循環器系及び呼吸器系に及ぼす影響 26
2.6.2.4.2 腎機能に及ぼす影響 26
2.6.2.4.3 中枢神経系に及ぼす影響 26
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用 26
2.6.2.6 考察及び結論 26
2.6.2.7 図表 29
2.6.2.8 参考文献 29

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

KHK4827 はインターロイキン（IL）-17 受容体（R）A に選択的に結合する完全ヒト型免疫グロブリン（Ig）G2 モノクローナル抗体であり、チャイニーズハムスター卵巣細胞で産生される。

IL-17RA/IL-17RC 複合体は IL-17A、IL-17F 及び IL-17A/F ヘテロ二量体、IL-17RA/IL-17RE 複合体は IL-17C、IL-17RA/IL-17RB 複合体は IL-25（別名 IL-17E）の受容体としてそれぞれ機能しており（Ramirez-Carrozzi et al, 2011; Song et al, 2011; Rickel et al, 2008; Wright et al, 2008; Toy et al, 2006; Gaffen, 2009）、IL-17RA は IL-17A、IL-17F、IL-17A/F ヘテロ二量体、IL-17C 及び IL-25 の生物活性の発現に関与している。

In vitro 薬理試験には KHK4827 を使用した。一方、KHK4827 はマウス IL-17RA に対して交差反応しないことから、マウスを用いた *in vivo* 薬理試験には KHK4827 サロゲート抗体として、マウス IL-17RA に結合し、阻害活性を示す抗マウス IL-17RA 抗体（M750 又は M751）を使用した。

効力を裏付ける試験として、*in vitro* 試験では KHK4827 のヒト IL-17RA 細胞外ドメインに対する結合親和性、ヒト IL-17A のヒト IL-17RA への結合に対する競合的阻害作用、各種ヒト細胞を用いたヒト IL-17A、IL-17F、IL-17A/F ヘテロ二量体、IL-17C 及び IL-25 刺激依存的な生物活性に対する阻害作用を評価した。また、非臨床試験に用いる動物種の選定のため、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びカニクイザルの IL-17RA に対する KHK4827 の結合活性及び阻害作用を評価した。マウスを用いた *in vivo* 薬理試験では、乾癬及び炎症性関節炎の病態モデル動物に対する KHK4827 サロゲート抗体の薬理作用を評価した。

KHK4827 はヒト IL-17RA に対して高い結合親和性を示し、ヒト IL-17A と競合的にヒト IL-17RA に結合した。KHK4827 はヒトのリンパ球、単球及び顆粒球の細胞表面に結合し、ヒト IL-17A の生物活性を阻害した。各種ヒト線維芽細胞を用いた評価において、KHK4827 はヒト IL-17A の生物活性を濃度依存的に阻害した。ヒト IL-17RA/IL-17RC 複合体の共通のリガンドであるヒト IL-17A、IL-17F 又は IL-17A/F ヘテロ二量体について、各リガンド刺激依存的な生物活性に対する KHK4827 の阻害作用を評価したところ、KHK4827 の阻害活性はリガンドによらずおおむね同等であった。ヒト IL-17RA/IL-17RE 複合体のリガンドであるヒト IL-17C の生物活性に対する阻害作用を評価したところ、KHK4827 は高濃度でのみヒト IL-17C の生物活性を部分的に阻害した。ヒト IL-17RA/IL-17RB 複合体のリガンドであるヒト IL-25 の生物活性に対する阻害作用を評価したところ、KHK4827 はヒト IL-25 の生物活性を阻害した。以上より、KHK4827 はヒト IL-17A、IL-17F、IL-17A/F ヘテロ二量体、IL-17C 及び IL-25 のヒト IL-17RA を介した生物活性を阻害することが明らかとなった。

KHK4827 はカニクイザル IL-17A 又は IL-17F のカニクイザル IL-17RA を介した作用を阻害し、IL-17RA に対する阻害活性はヒトとカニクイザルでおおむね同等であった。KHK4827 はウサギの単球及びリンパ球に結合し、ウサギ IL-17A のウサギ IL-17RA を介した作用を阻害したが、ウサギ IL-17RA に対する阻害活性はカニクイザル及びヒトに比較して弱かった。KHK4827 はマウス及びラットの単球及びリンパ球に結合しなかった。イヌ IL-17RA に対する KHK4827 の結合活性は、陰性対照抗体の非特異的結合により評価できなかった。

M751 及び M750 はマウス IL-17A 及び IL-17F のマウス IL-17RA を介した生物活性を阻害した。

K14/mIL-1F6 遺伝子改変マウスを用いた 12-*O*-テトラデカノイルホルボール-13-アセテート（TPA）誘発乾癬様皮膚炎モデルでは、病変部の皮膚病理所見として表皮過形成、表皮層内の好中球性膿胞、角化異常による表皮剥離及び真皮への炎症細胞浸潤が認められたが、M751 の投与により改善した。また、皮膚組織中の各種炎症性ケモカイン及びサイトカインのメッセンジャーRNA（mRNA）発現量も上昇していたが、M751 の投与により低下した。

マウスを用いたコラーゲン誘発関節炎（CIA）モデルにおいて、関節炎惹起後に関節炎の病態スコア（四肢の発赤及び腫脹）の上昇が認められたが、M750 の予防投与（発症前）又は治療投与（発症後）により関節炎の増悪が抑制された。M750 の治療投与は、p55/p75 腫瘍壊死因子（TNF）R 遺伝子欠損マウスを用いた CIA モデルにおいても同様に関節炎の病態スコアの上昇を抑制した。

副次的薬理試験として、*in vitro* 試験ではヒト IL-17RB 及び IL-17RC に対する KHK4827 の結合活性、並びに単独又は架橋した状態での KHK4827 のヒト IL-17RA 活性化作用を評価した。マウスを用いた *in vivo* 薬理試験では、喘息及び炎症性腸疾患の病態モデル動物に対する KHK4827 サロゲート抗体の薬理作用を評価した。また、KHK4827 の薬理学的作用が生体の恒常性や病原性に対して予期せぬ影響を及ぼす可能性について検討した。

KHK4827 はヒト IL-17RA に選択的に結合し、ヒト IL-17RB 及び IL-17RC には結合しなかった。単独又は二次抗体で架橋された KHK4827 はヒト IL-17RA を活性化しなかった。

マウス卵白アルブミン（OVA）誘発喘息モデルにおいて、気管支肺胞洗浄液（BALF）中の白血球数、Th2 細胞産生サイトカインである IL-5 及び IL-13 濃度、肺組織の病理学的炎症スコア、杯細胞過形成スコア、並びに気道過敏性（AHR）の上昇が認められたが、M751 の投与によりこれらの肺の炎症反応及び AHR は改善した。

各種マウス炎症性腸疾患モデルに対して、M751 は大腸炎の症状に影響を及ぼさない、又は悪化させた。

IL-17RA、IL-17 サイトカイン及び Th17 細胞の生理作用及び疾患関連性について各種公開情報に基づき調査したところ、重要な特定されたリスク及び重要な潜在的リスクに加え、単球及びマクロファージの減少、予防接種の効果の減少、心血管系への影響、骨吸収に対する影響、体重に対する影響、網膜視細胞に対する毒性、並びにがん原性リスクが仮説として想定される KHK4827 の意図しない影響として抽出された。これらについて、試験成績との比較検討をふまえた考察の結果、仮説として想定される KHK4827 の意図しない影響として抽出されたものはいずれも起こる可能性が低いと考えられた。

独立した安全性薬理試験は実施せず、雌雄のカニクイザルを用いた 1、3 及び 6 ヵ月間反復投与毒性試験の中で、KHK4827 の主要な生理的機能（循環器系、呼吸器系、腎臓及び中枢神経系）に及ぼす影響を評価した。一般状態観察、心電図、心拍数、血圧、呼吸数及び体温の各検査項目において、KHK4827 の循環器系及び呼吸器系への影響を示唆する変化は認められなかった。血液生化学的検査における尿素窒素、クレアチニン及び電解質並びに尿検査の各検査項目において、KHK4827 の腎臓への影響を示唆する変化は認められなかった。一般状態観察及び体温測定において、KHK4827 の中枢神経系への影響を示唆する変化は認められなかった。

薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

すべての報告書において、KHK4827 は AMG 827 と表記された。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 ヒトIL-17RA細胞外ドメインに対する結合親和性（試験番号：R2006239）資料番号：4.2.1.1-1

KHK4827をセンサーチップに固定化し、Biacore® 3000を用いて遺伝子組換えヒト（rh）IL-17RA細胞外ドメインペプチド（0.46~1000 nmol/L）に対する結合親和性を評価した。rhIL-17RA細胞外ドメインペプチドとKHK4827の結合に対する解離定数（K_D）は239 pmol/Lであった。

2.6.2.2.2 IL-17AとIL-17RAの結合に対する競合阻害作用（試験番号：R2006240）資料番号：4.2.1.1-2

ヒト包皮線維芽細胞（HFF）を用いて、ヒトIL-17Aとヒト IL-17RAの結合に対するKHK4827の競合阻害作用を評価した。

HFF（6×10^5個）をKHK4827又は非標識rhIL-17A（各5 pmol/L~100 nmol/L）存在下において^{125}I標識rhIL-17A（420 pmol/L）とともに37°Cで2時間反応させた後、ガンマカウンターを用いてHFFに結合した^{125}I標識rhIL-17A量を定量した。KHK4827及び非標識rhIL-17Aは^{125}I標識rhIL-17AのHFFへの結合を濃度依存的に阻害し、阻害定数（Ki）はそれぞれ157 pmol/L及び1601 pmol/Lであった。

以上より、KHK4827はヒトIL-17Aと競合的にヒトIL-17RAに結合し、KHK4827のヒトIL-17RAに対する結合活性はヒトIL-17Aに比べて約10倍強いことが明らかとなった。

2.6.2.2.3 ヒト全血中IL-17RA陽性白血球細胞に対する結合性及びヒト全血のIL-17A刺激依存的IL-6 mRNA発現に対する阻害作用（試験番号：R2006242、R20080191）資料番号：4.2.1.1-3、4.2.1.1-4

ヒト末梢血細胞に対するKHK4827の特異的結合を調べた。

フィコエリスリン（PE）標識KHK4827（5 µg/mL）、陰性対照抗体（2 µg/mL）又はビオチン標識rhIL-17A（10 µg/mL）とともにヒト全血を4°Cで30分間反応させた後、フローサイトメーターを用いて陽性細胞を解析した。KHK4827の特異的結合が認められた細胞はリンパ球、単球及び顆粒球であり、ビオチン標識rhIL-17Aと同様の結合選択性を示した（R2006242）。

ヒト全血を用いてヒトIL-17Aの生物活性に対するKHK4827の阻害作用を評価した。

KHK4827（16 ng/mL~50 µg/mL）を添加したヒト全血を、rhTNFα（3 ng/mL）共存下でrhIL-17A（333 ng/mL）で37°C、4時間刺激し、分岐DNA（bDNA）検出システムを用いてIL-6 mRNA発現量を測定した。rhTNFα共存下でrhIL-17A刺激によりヒト全血中で誘導されるIL-6 mRNA発現量は、KHK4827の濃度依存的に低下した（R20080191）。

以上より、KHK4827はIL-17RA発現ヒト末梢血細胞に結合し、ヒトIL-17Aのヒト IL-17RAを介した生物活性を阻害することが明らかとなった。

2.6.2.2.4 各種ヒト線維芽細胞のIL-17A、IL-17F又はIL-17A/Fヘテロ二量体刺激依存的GROα産生に対する阻害作用（試験番号：R20090127、R2006244、R20070004）資料番号：4.2.1.1-5、参考 4.2.1.1-6、参考 4.2.1.1-7

各種ヒト線維芽細胞を用いてヒトIL-17A、IL-17F又はIL-17A/Fヘテロ二量体の生物活性に対するKHK4827の阻害作用を評価した。

ヒト皮膚線維芽細胞（NHDF）（6.5×10^4個）にKHK4827（191 pg/mL~100 µg/mL）又は陰性対照抗体を加えて45分間反応させた後、rhTNFα（5 ng/mL）及びrhIL-17A（5 ng/mL）、rhIL-17F

（200 ng/mL）又は rhIL-17A/F ヘテロ二量体（200 ng/mL）で 37°C、24 時間刺激し、固相酵素結合免疫測定法（ELISA）を用いて培養上清中の成長関連がん遺伝子（GRO）α 濃度を測定した。rhTNFα 共存下で rhIL-17A、rhIL-17F 又は rhIL-17A/F ヘテロ二量体の刺激により NHDF から産生される GROα 量は、KHK4827 の濃度依存的に低下した（R20090127）。KHK4827 の阻害活性は、rhIL-17A、rhIL-17F 及び rhIL-17A/F ヘテロ二量体のいずれに対してもおおむね同等であった（表 2.6.2.2.4-1）。

また、HFF 及びヒト肺線維芽細胞（NHLF）からのヒト IL-17A 刺激依存的な GROα 産生量も、KHK4827 の濃度依存的に低下した（R2006244、R20070004）。

以上より、KHK4827 は各種ヒト線維芽細胞において、ヒト IL-17A、IL-17F 及び IL-17A/F ヘテロ二量体の生物活性を阻害することが明らかとなった。

表 2.6.2.2.4-1 NHDF からの IL-17A、IL-17F 又は IL-17A/F ヘテロ二量体刺激依存的 GROα 産生に対する KHK4827 の阻害作用

リガンド（濃度）	IC_{50}（pmol/L）
rhIL-17A（5 ng/mL）	42
rhIL-17F（200 ng/mL）	21
rhIL-17A/F ヘテロ二量体（200 ng/mL）	55

2 回の評価の平均値

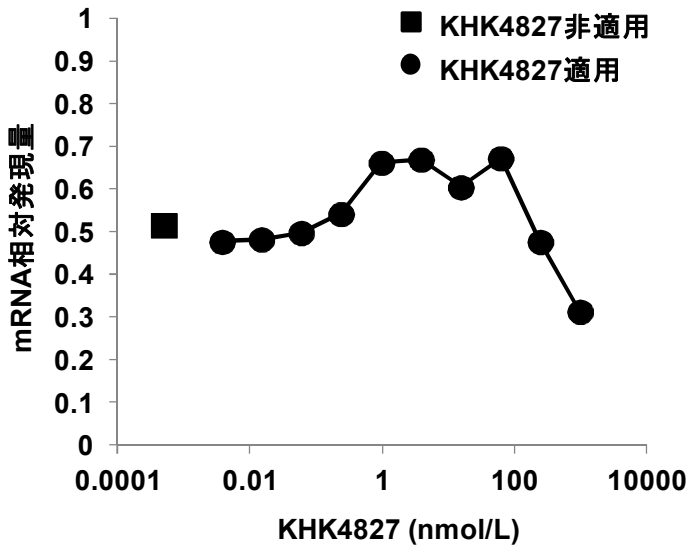
2.6.2.2.5 ヒト表皮角化細胞の IL-17C 刺激依存的 DEFB4 mRNA 発現に対する阻害作用（試験番号：R20120145）資料番号：4.2.1.1-8

ヒト表皮角化細胞（NHEK）を用いてヒト IL-17C の生物活性に対する KHK4827 の阻害作用を評価した。

NHEK（1×10^5 個）に KHK4827（0.0038~1000 nmol/L）を加えて 37°C で 20 分間反応させた後、rhTNFα（100 ng/mL）及び rhIL-17C（100 ng/mL）で 37°C、48 時間刺激し、定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）を用いてデフェンシン β4（DEFB4）mRNA 発現量を測定し、HPRT mRNA に対する相対発現量を算出した。rhTNFα 共存下で rhIL-17C 刺激により NHEK で誘導される DEFB4 mRNA 発現量は、最高濃度の KHK4827（1000 nmol/L）で約 40%低下した。

以上より、KHK4827 はヒト IL-17C の生物活性を部分的に阻害することが明らかとなった（図 2.6.2.2.5-1）。

図 2.6.2.2.5-1　NHEK からの IL-17C 刺激依存的 DEFB4 mRNA 発現に対する KHK4827 の阻害作用



1 回の評価の平均値（n=2）

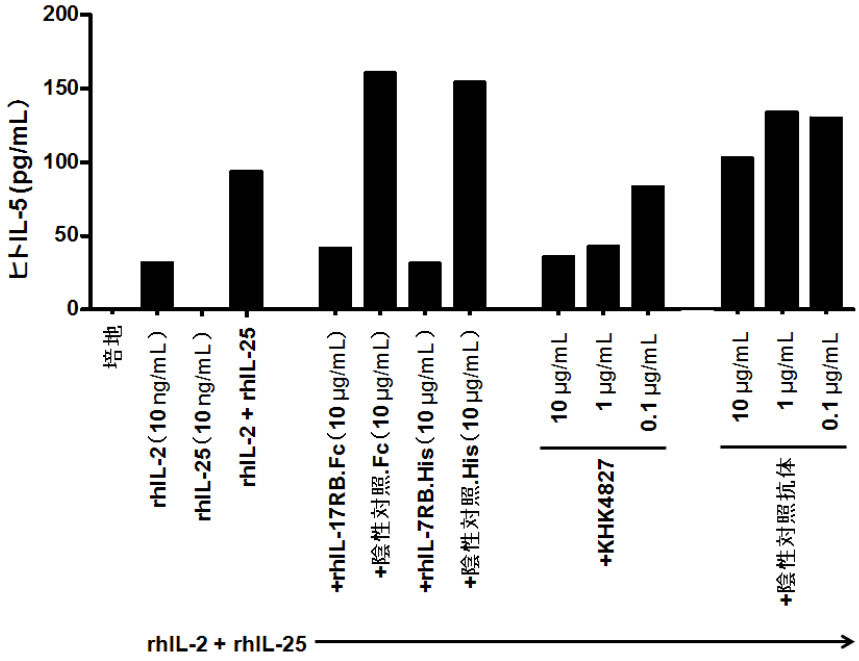
2.6.2.2.6　ヒト末梢血単核細胞の IL-25 刺激依存的 IL-5 産生に対する阻害作用（試験番号：R20080129）資料番号：4.2.1.1-9

ヒト末梢血単核細胞（PBMC）を用いて、ヒト IL-25 の生物活性に対する KHK4827 の阻害作用を評価した。

ヒト PBMC（4×10^6 個）に rh 胸腺間質性リンパ球新生因子（TSLP）（100 ng/mL）を加えて 24 時間刺激し、KHK4827（0.1~10 μg/mL）又は陰性対照抗体を加えて室温で 30 分間反応させた後、更に rhIL-2（10 ng/mL）及び rhIL-25（10 ng/mL）で 37°C、72 時間刺激し、ELISA を用いて培養上清中の IL-5 濃度を測定した。rhIL-2 共存下で rhIL-25 刺激によりヒト PBMC から産生される IL-5 量は、KHK4827 の濃度依存的に低下した（図 2.6.2.2.6-1）。

以上より、KHK4827 はヒト IL-25 の生物活性を阻害することが明らかとなった。

図 2.6.2.2.6-1　ヒト PBMC からの IL-25 刺激依存的 IL-5 産生に対する KHK4827 の阻害作用



1 回の評価の平均値（n=2）

2.6.2.2.7　マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びカニクイザル IL-17RA に対する反応性（試験番号：R2006241、R20070242、110458）資料番号：4.2.1.1-10、4.2.1.1-11、4.2.1.1-12

マウス、ラット、ウサギ及びイヌ IL-17RA に対する KHK4827 の結合活性を評価した。

マウス、ラット、ウサギ及びイヌ PBMC に KHK4827（10 μg/mL）又は陰性対照抗体（10 μg/mL）を加えて 4°C で 30 分間反応させた後、ビオチン標識抗ヒト IgG 抗体及び PE 標識ステレプトアビジンを用いて染色し、フローサイトメーターを用いて単球及びリンパ球の画分の陽性細胞を解析した。ウサギ PBMC では KHK4827 の特異的結合が認められた（R2006241）。一方、マウス及びラット PBMC では KHK4827 の特異的結合は認められなかった。イヌ末梢血細胞では陰性対照抗体が非特異的結合を示したため、KHK4827 の特異的結合を評価できなかった。

カニクイザル又はウサギ IL-17RA に対する KHK4827 の生物活性を評価した。

カニクイザル皮膚線維芽細胞（NCDF）（6.5×10^4 個）及び NHDF（6.5×10^4 個）に KHK4827（0.002~100 μg/mL）を加えて 45 分間反応させた後、NCDF は遺伝子組換えカニクイザル IL-17A（10 ng/mL）又は IL-17F（300 ng/mL）、NHDF は rhIL-17A（100 ng/mL）又は IL-17F（300 ng/mL）でそれぞれ 37°C、48 時間刺激し、ELISA を用いて培養上清中の IL-6 濃度を測定した。遺伝子組換えカニクイザル IL-17A 及び IL-17F 刺激により NCDF から産生される IL-6 は、KHK4827 の濃度依存的に低下した（R20070242）。また、IL-17A と IL-17F のどちらで刺激した場合も、NCDF 及び NHDF からの IL-6 産生に対する KHK4827 の阻害活性は同程度であった（表 2.6.2.2.7-1）。

ウサギ皮膚線維芽細胞（NRDF）（5×10^5 個）及び NHDF（5×10^5 個）に KHK4827（0.001~300 μg/mL）を加えて 60 分間反応させた後、それぞれ遺伝子組換えウサギ IL-17A（100 ng/mL）又は rhIL-17A（100 ng/mL）で 24 時間刺激し、定量的 RT-PCR 法を用いて IL-6 mRNA 発現量を測定し、GAPDH mRNA に対する相対発現量を算出した。IL-17A 刺激により NRDF 及び NHDF で誘導される IL-6

mRNA 発現量は、KHK4827 の濃度依存的に低下した（110458）。ウサギ IL-17RA に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）はヒト IL-17RA に対する IC_{50} に比べて明らかに高かった（表 2.6.2.2.7-1）。

以上より、KHK4827 はラット及びマウス IL-17RA の生物活性を阻害せず、ヒトに加えてウサギ及びカニクイザル IL-17RA の生物活性を阻害することが明らかとなった。また、KHK4827 のウサギ IL-17RA に対する阻害活性はヒト及びカニクイザル IL-17RA に比べて明らかに弱かった。

表 2.6.2.2.7-1　ヒト、カニクイザル及びウサギの各皮膚線維芽細胞の反応に対する KHK4827 の阻害作用

細胞	リガンド（濃度）	IC_{50}（pmol/L）	IC_{50}（pmol/L）	IC_{50}（pmol/L）
NHDF	rhIL-17A（100 ng/mL）	995.83	230.28	221
NCDF	遺伝子組換えカニクイザル IL-17A（10 ng/mL）	2657	228.13	NT
NRDF	遺伝子組換えウサギ IL-17A（100 ng/mL）	NT	NT	18514
NHDF	rhIL-17F（300 ng/mL）	2.01	17.08	NT
NCDF	遺伝子組換えカニクイザル IL-17F（300 ng/mL）	5.76	377.22	NT
試験番号		R20070242	R20070242	110458

独立した 1 回の評価（n=1、R20070242）。
独立した 2 回の評価の平均値（n=1、110458）。
NT: 未実施

2.6.2.2.8　抗マウス IL-17RA 抗体のマウス IL-17RA に対する阻害作用（試験番号：R2006447、R2006246、R20080147、R20080140）資料番号：参考 4.2.1.1-13、4.2.1.1-14、4.2.1.1-15、4.2.1.1-16

KHK4827 はマウス IL-17RA を阻害しないことから、KHK4827 サロゲート抗体として M750（ラット抗マウス IL-17RA モノクローナル IgG2b 抗体）及び M751（マウス IgG1 の定常領域とラット抗マウス IL-17RA モノクローナル抗体の可変領域のキメラ抗体）を作製した。

マウス IL-17A とマウス IL-17RA の結合に対する M750 の競合阻害作用を評価した。

マウス胎仔由来線維芽細胞株の NIH3T3 細胞（1.2×10^6 個）を M750 又は非標識の遺伝子組換えマウス（rm）IL-17A（各 0.565 pmol/L~100 nmol/L）存在下で ^{125}I 標識 rmIL-17A（500 pmol/L）とともに 37°C で 2.5 時間反応させた後、ガンマカウンターを用いて NIH3T3 細胞に結合した ^{125}I 標識 rmIL-17A 量を測定した。M750 及び非標識 rmIL-17A は ^{125}I 標識 rmIL-17A の NIH3T3 細胞への結合を濃度依存的に阻害し、Ki はそれぞれ 89.4 pmol/L 及び 1254 pmol/L であった（R2006447）。

次に、マウス IL-17A 又は IL-17F の生物活性に対する M750 の阻害作用を評価した。

NIH3T3 細胞に M750（0.11~100 μg/mL）を加えて 45 分間反応させた後、rhTNFα（0.5 ng/mL）共存下で rmIL-17A（10 ng/mL）で 37°C、24 時間刺激し、ELISA を用いて培養上清中の IL-6 濃度を測定した。同様に、NIH3T3 細胞に M750（100 μg/mL）を加えて 45 分間反応させた後、rhTNFα（0.5 ng/mL）共存下で rmIL-17F（300 ng/mL）で 37°C、24 時間刺激し、ELISA を用いて培養上清中の IL-6 濃度を測定した。rmIL-17A 刺激による IL-6 産生量は M750 の濃度依存的に低下した（R2006246）。また、rmIL-17F 刺激による IL-6 産生量も M750 により低下した。

同様に、M751 のマウス IL-17A 又は IL-17F の生物活性に対する阻害作用を評価した。

NIH3T3 細胞に M751（0.03~30 μg/mL）を加えて 45 分間反応させた後、rhTNFα（0.5 ng/mL）共存下で rmIL-17A（10 ng/mL）又は rmIL-17F（300 ng/mL）で 37°C、24 時間刺激し、ELISA を

用いて培養上清中の IL-6 濃度を測定した。rmIL-17A 又は rmIL-17F 刺激による IL-6 産生量は、M751 の濃度依存的に低下した（R20080147）。

M751 のマウス IL-25 の生物活性に対する阻害作用を評価した。

マウス脾臓細胞に M751（0.5 ng/mL~50 μg/mL）とともに rmIL-25（10 ng/mL）を加えて 37°C で 72 時間刺激し、ELISA を用いて培養上清中の IL-5 濃度を測定した。rmIL-25 刺激による IL-5 産生量は、M751 の濃度依存的に低下した（R20080140）。

以上より、M750 及び M751 はマウス IL-17A、IL-17F 及び IL-25 の生物活性を阻害することが明らかとなった。よって、マウスを用いた *in vivo* 薬理試験に KHK4827 サロゲート抗体として M750 及び M751 を使用することは妥当と判断した。

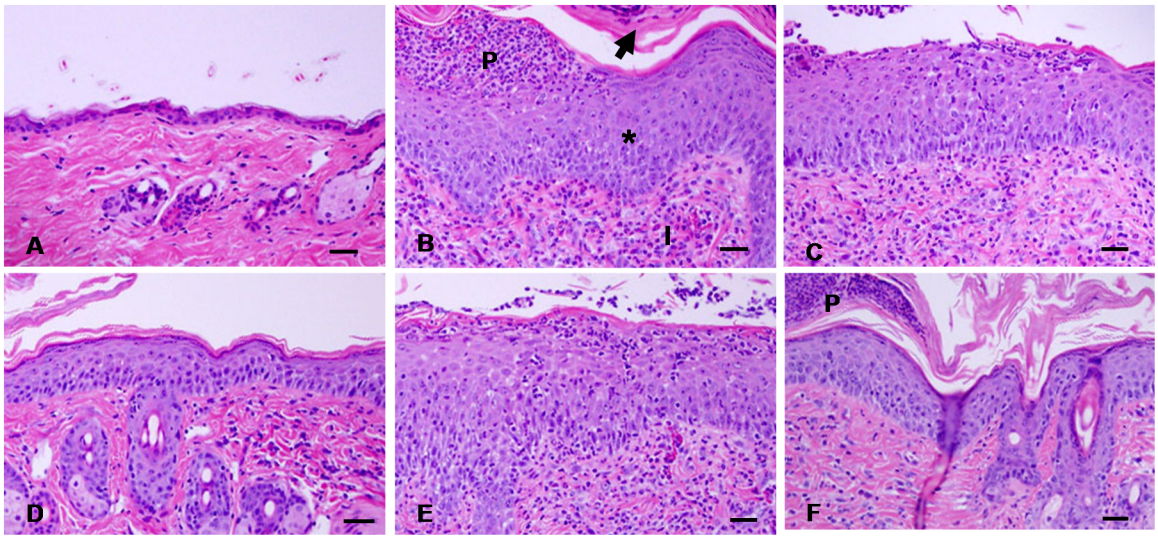
2.6.2.2.9 マウス乾癬モデルに対する作用（試験番号：R20090128）資料番号：4.2.1.1-17

K14/mIL-1F6 遺伝子改変マウスの皮膚に TPA を塗布すると乾癬の病理学的特徴である皮膚炎症、錯角化及び表皮の肥厚が誘導されることから（Blumberg et al, 2007）、同マウスを用いて、KHK4827 サロゲート抗体のマウス乾癬モデルに対する作用を評価した。

K14/mIL-1F6 遺伝子改変マウス（5 匹/群、雄、8~9 週齢）の背部に、Day 0（塗布初日）及び 4 に TPA（12.5 μg/匹）を 1 日 2 回塗布して乾癬様症状を惹起した。非発症群として TPA を塗布しない群を設けた。TPA を塗布した動物には M751、M210（ラット抗マウス IL-17A 抗体）又は陰性対照抗体（マウス IgG 又はラット IgG）を Day −1 及び 3 に 1 匹あたり 500 μg ずつ腹腔内投与した。Day 6 に皮膚を回収してヘマトキシリン・エオジン染色により病理組織像を確認するとともに、定量的 RT-PCR 法を用いて皮膚組織中の各種炎症性ケモカイン及びサイトカインの mRNA 発現量を定量した。病理組織像を用いて、表皮過形成、錯角化、表皮肥厚及び微小膿瘍の形成を指標とした皮膚の病理スコア（個体ごとに 0：症状なし、1：軽微の表皮過形成、2：軽度の錯角化、表皮肥厚、微小膿瘍、3：中程度の錯角化、表皮肥厚、微小膿瘍、4：重度の錯角化、表皮肥厚、微小膿瘍、5：重篤な錯角化、表皮肥厚、微小膿瘍（1 個体の最大スコア：5）で評価）を測定した。

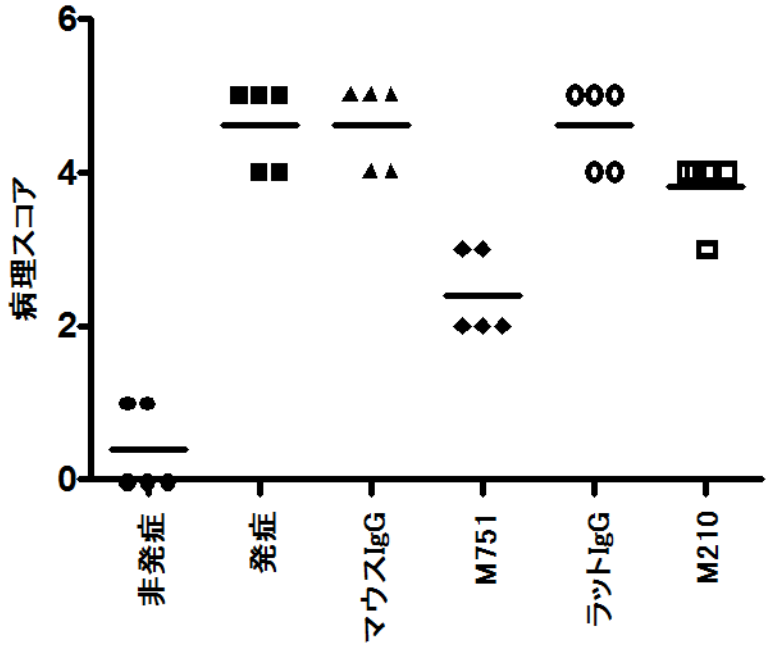
乾癬様症状を惹起した K14/mIL-1F6 遺伝子改変マウスの皮膚の病理所見として認められた表皮過形成、角化異常による表皮剥離及び表皮層内の好中球性膿胞形成は、M751 の投与により抑制された（図 2.6.2.2.9-1）。M210 は K14/mIL-1F6 遺伝子改変マウスの皮膚組織における表皮過形成及び角化異常による表皮剥離を抑制したが、表皮層内の好中球性膿胞形成は抑制しなかった。真皮への炎症細胞浸潤は、M751 及び M210 の投与により抑制されなかった。皮膚の病理スコアは M751 の投与により低下し、その程度は M210 投与群に比べて強かった（図 2.6.2.2.9-2）。

図 2.6.2.2.9-1　TPA 塗布 K14/mIL-1F6 遺伝子改変マウスの乾癬様皮膚の病理組織像



ヘマトキシリン・エオジン染色した皮膚の病理組織像。棒目盛は 50 μm
表皮過形成（*）、表皮層内好中球性膿胞（P）、角化異常による表皮剥離（矢印）、真皮への炎症細胞浸潤（I）
非発症 K14/mIL-1F6 マウス（A）、TPA 塗布 K14/mIL-1F6 マウス（B）、マウス IgG 投与 TPA 塗布 K14/mIL-1F6 マウス（C）、M751 投与 TPA 塗布 K14/mIL-1F6 マウス（D）、ラット IgG 投与 TPA 塗布 K14/mIL-1F6 マウス（E）、M210 投与 TPA 塗布 K14/mIL-1F6 マウス（F）

図 2.6.2.2.9-2　TPA 塗布 K14/mIL-1F6 遺伝子改変マウスの皮膚の病理スコア



各点は個体ごとの皮膚の病理スコア、各線は平均値
M751: 抗マウス IL-17RA キメラ抗体、M210: 抗マウス IL-17A 抗体

また、M751 投与群の皮膚組織中の炎症性ケモカイン（CCL3、CCL4、CXCL10、CXCL1 等）及び炎症性サイトカイン（IL-23、IL-12、IL-1β 等）の mRNA 発現量は、陰性対照抗体投与群に比べて低下した（R20090128）。

以上より、KHK4827 が乾癬に対し改善作用を有する可能性が示唆された。

2.6.2.2.10 マウス炎症性関節炎モデルに対する作用（試験番号：R2006348、R20070264、R2006248）資料番号：参考 4.2.1.1-18、4.2.1.1-19、4.2.1.1-20

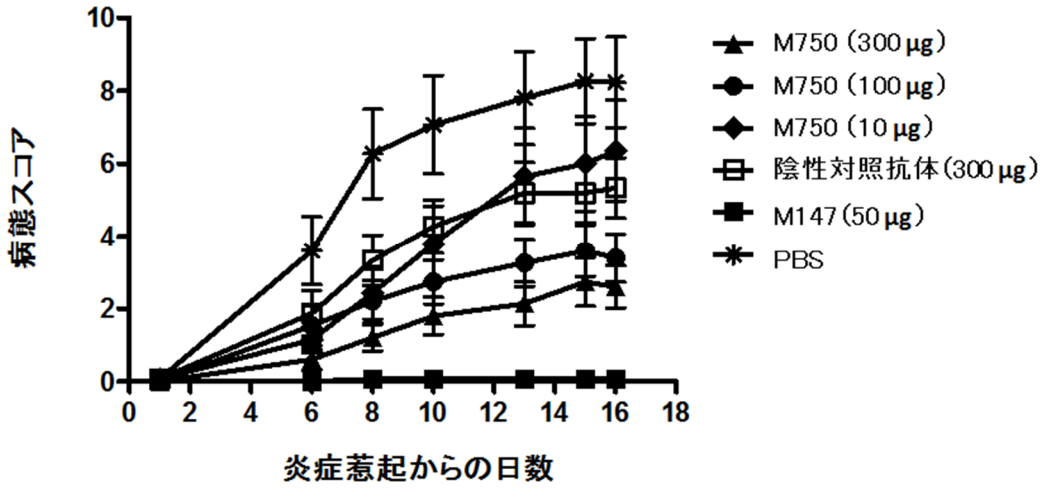
IL-17RA 遺伝子欠損マウス（C57BL/6）を用いて作製した CIA モデルは、野生型マウスを用いて作製した CIA モデルに比べて炎症性関節炎の病態が軽度であり、関節の炎症や軟骨及び骨の破壊がほとんど認められなかった（R2006348）。

マウス CIA モデルを用いて、KHK4827 サロゲート抗体を予防投与（病態発症前から投与）又は治療投与（病態発症後から投与）したときの炎症性関節炎に対する作用を評価した。

DBA/1 マウス（15 匹/群、雄、10 週齢以下）に関節炎惹起日を Day 0 として、Day −21 に II 型コラーゲン（CII、200 μg）と完全フロイントアジュバント（CFA）の乳剤を尾部に皮内投与して感作し、Day 0 に CII（200 μg）と不完全フロイントアジュバント（IFA）の乳剤を同様に尾部に皮内投与して炎症性関節炎を惹起した。M750（10、100 及び 300 μg）、陽性対照抗体として M147（ラット抗マウス IL-1R 抗体、50 μg）、陰性対照抗体（300 μg）又はリン酸緩衝食塩液（PBS）を Day 0 から Day 15 まで週 3 回腹腔内投与した（予防投与）。Day 1 から Day 16 までの間、関節炎症状として四肢の発赤及び腫脹を指標とした病態スコア（個体ごとに四肢の関節炎症状を手足一本ごとに 0：症状なし、1：1~3 本の指の発赤や腫脹、2：4 本以上の指の発赤や腫脹、又は軽微な足の発赤や腫脹、3：軽微から中程度の発赤を伴った足の腫脹、4：足全体の重度の発赤と腫脹（1 個体の最大スコア：16）で評価）を測定した。各群の Day 16 における病態スコアの群間比較は、一元配置分散分析の後、Bonferroni の多重比較法を用いて実施した。更に、Day 16 に血清を回収し、関節破壊に伴って産生される軟骨オリゴマー基質タンパク質（COMP）の濃度を、ELISA を用いて測定した。また、後肢を回収してヘマトキシリン・エオジン染色により病理組織像を確認した。

M750 の予防投与は、病態スコアの上昇を用量依存的に抑制した（R20070264）（図 2.6.2.2.10-1）。一方、M147 の予防投与は病態スコアの上昇を完全に抑制した。Day 16 の M750 100 μg 投与群及び 300 μg 投与群の病態スコアは PBS 投与群に比べて有意に低かったが（それぞれ $P<0.01$、$P<0.001$）、陰性対照抗体投与群との間に有意な差はなかった（$P>0.05$）。病理組織像において、M750 300 μg 投与群では病態スコアの減少に伴い骨破壊や関節軟骨のびらんの減少が認められた。また、M750 及び M147 投与群の血清中 COMP 濃度は、PBS 及び陰性対照抗体投与群に比べて低下した。

図 2.6.2.2.10-1　M750 の予防投与によるマウス CIA モデルの病態進行抑制

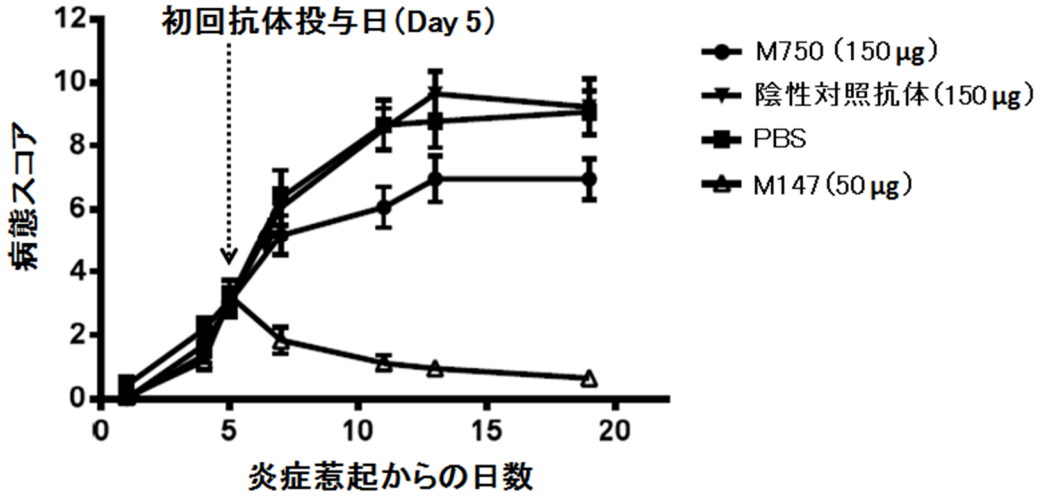


各群の平均値±標準誤差（各群 n=15）
M750: 抗マウス IL-17RA 抗体、M147: 抗マウス IL-1R 抗体

DBA/1 マウス（17~20 匹/群、雄、6~8 週齢）に、関節炎惹起日を Day 0 として、Day −21 に CII（200 μg）と CFA の乳剤を尾部に皮内投与して感作し、Day 0 に CII（200 μg）と IFA の乳剤を同様に尾部に皮内投与して炎症性関節炎を惹起した。M750（150 μg）、M147（50 μg）、陰性対照抗体（150 μg）又は PBS を Day 5 から Day 19 まで週 3 回腹腔内投与した（治療投与）。Day 0 から Day 19 までの間、関節炎症状として四肢の発赤及び腫脹を指標に病態スコア（個体ごとに四肢の関節炎症状を手足一本ごとに 0：症状なし、1：1~3 本の指の発赤や腫脹、2：4 本以上の指の発赤や腫脹、軽微な足の発赤や腫脹、3：軽微から中程度の発赤を伴った足の腫脹、4：足全体の重度の発赤と腫脹（1 個体の最大スコア：16）で評価）を測定した。

M750 投与群の病態スコアは、陰性対照抗体又は PBS 投与群に比べて上昇が抑制された（R2006248）（図 2.6.2.2.10-2）。

図 2.6.2.2.10-2　M750 の治療投与によるマウス CIA モデルの病態進行抑制



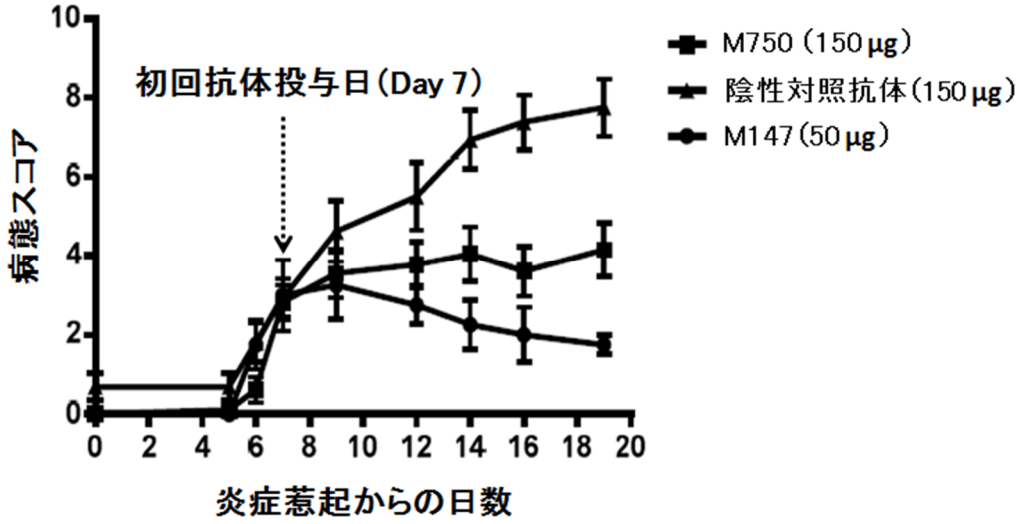
各群の平均値±標準誤差
M750: 抗マウス IL-17RA 抗体（n=20）、陰性対照抗体（n=19）、PBS（n=17）、M147: 抗マウス IL-1R 抗体（n=17）

また、p55/p75TNFR 遺伝子欠損 DBA/1 マウス（4~18 匹/群、雄、9~10 週齢）に、関節炎惹起日を Day 0 として、Day −21 に CII（200 μg）と CFA の乳剤を尾部に皮内投与して感作し、Day 0 に CII（200 μg）と IFA の乳剤を同様に尾部に皮内投与して炎症性関節炎を惹起した。M750（150 μg）、M147（50 μg）、又は陰性対照抗体（150 μg）を Day 7 から Day 17 まで週 3 回腹腔内投与した（治療的投与）。Day 0 から Day 19 までの間、関節炎症状として四肢の発赤及び腫脹を指標に病態スコア（個体ごとに四肢の関節炎症状を手足一本ごとに 0：症状なし、1：1~3 本の指の発赤や腫脹、2：4 本以上の指の発赤や腫脹、軽微な足の発赤や腫脹、3：軽微から中程度の発赤を伴った足の腫脹、4：足全体の重度の発赤と腫脹（1 個体の最大スコア：16）で評価）を測定した。

M750 投与群の病態スコアは、陰性対照抗体投与群に比べて上昇が抑制された（図 2.6.2.2.10-3）。

以上より、KHK4827 が炎症性関節炎に対して改善作用を有する可能性が示唆された。また、p55/p75TNFR 遺伝子欠損マウスの病態を改善したことから、IL-17 は TNFα に非依存的に炎症性関節炎の病態に関与しており、TNFα 阻害による治療が無効の炎症性関節炎患者に対して KHK4827 が有効である可能性が示唆された。

図 2.6.2.2.10-3　M750 の治療投与による p55/p75 TNFR 遺伝子欠損マウス CIA モデルの病態進行抑制



各群の平均値±標準誤差
M750: 抗マウス IL-17RA 抗体（n=18）、陰性対照抗体（n=16）、M147: 抗マウス IL-1R 抗体（n=9）

2.6.2.3　副次的薬理試験

2.6.2.3.1　ヒト IL-17RB 及びヒト IL-17RC に対する結合活性（試験番号：R20090225、R20140114）資料番号：参考 4.2.1.2-1、参考 4.2.1.2-2

ヒト IL-17RA に対する選択性を確認するために、KHK4827 のヒト IL-17RB 及びヒト IL-17RC に対する結合活性を評価した。

KHK4827（1 μg/mL）はプレート上の rhIL-17RA-Fc に結合したのに対し、rhIL-17RB-Fc には結合しなかった（R20090225）。また、ヒト IL-17RA 又はヒト IL-17RC 発現細胞に KHK4827（10 μg/mL）を反応させると、ヒト IL-17RA には明らかな結合反応を示すのに対して、ヒト IL-17RC には全く結合しなかった（R20140114）。

2.6.2.3.2 IL-17RA 活性化作用（試験番号：R20080048）資料番号：参考 4.2.1.2-3

KHK4827 のヒト IL-17RA への結合による IL-17RA 活性化作用を評価した。

単独の KHK4827 又はあらかじめ二次抗体で架橋した KHK4827 は HFF からの GROα 産生を誘導しなかった。また、二次抗体で架橋した KHK4827 は、IL-17A 刺激による HFF からの GROα 産生を阻害した。

以上より、KHK4827 は単独又は架橋した状態で IL-17RA を活性化しないことが確認された。

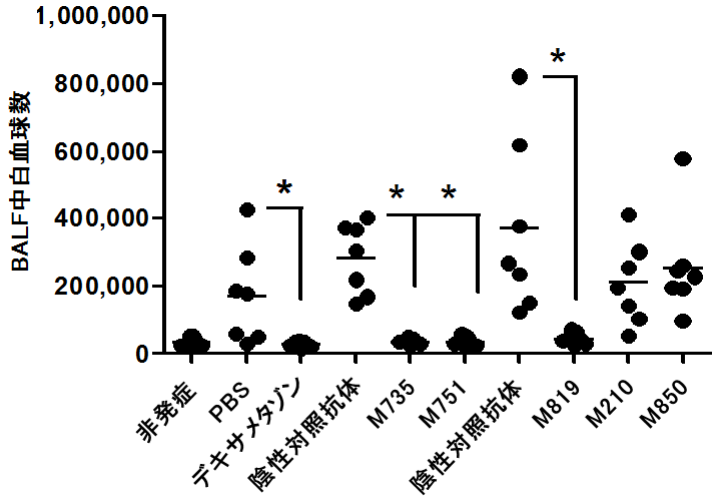
2.6.2.3.3 マウス喘息モデルに対する作用（試験番号：R20090287）資料番号：4.2.1.2-4

KHK4827 サロゲート抗体のマウス喘息モデルに対する作用を評価した。

BALB/c マウス（15~19 匹/群、雌、7 週齢）に初回の OVA 接種日を Day 1 として、Day −21、−14 及び−7 に OVA（10 μg）/水酸化アルミニウムを腹腔内投与して感作し、Day 1、2 及び 3 に 5%（w/v）の OVA/PBS を 20 分間噴霧して喘息を惹起した。Day −1 に、M751、M735（マウス抗マウス IL-17RB 抗体）、M819（ラット抗マウス IL-25 抗体）、M210（ラット抗マウス IL-17A 抗体）、M850（ラット抗マウス IL-17F 抗体）又はそれぞれに対する陰性対照抗体を 500 μg ずつ単回腹腔内投与した。また、陽性対照薬のデキサメタゾン（1 mg）又はその陰性対照である PBS を喘息の各惹起 30 分前に腹腔内投与した。非発症群として OVA 感作のみで OVA 接種は行わない群を設けた。Day 6 に BALF を回収して BALF 中に浸潤した白血球数を計測した。また、Day 6 に肺組織を回収してヘマトキシリン・エオジン染色及び過ヨウ素酸シッフ（PAS）染色を実施し、肺組織の病理学的炎症スコア（杯細胞過形成、間質性肺炎、気管支周囲又は血管周囲の炎症について 0： 通常、1：軽微、2：軽度、3：中程度、4：重度の 5 段階で評価、1 個体の最大スコア：16）及び杯細胞過形成スコア（杯細胞過形成について 0：通常、1：軽微、2：軽度、3：中程度、4：重度の 5 段階で評価、1 個体の最大スコア：4）を測定した。BALF 中の白血球数は一元配置分散分析法を、肺組織の病理学的炎症スコア及び杯細胞過形成スコアは、M751、M735、M819、M210、M850 及びデキサメタゾンとそれぞれの陰性対照抗体又は PBS の各群について student's *t* 検定を用いて比較した。

M751、M735、M819 及びデキサメタゾン投与群の BALF 中の白血球数は、それぞれの陰性対照群に比べて有意に減少した（図 2.6.2.3.3-1）。

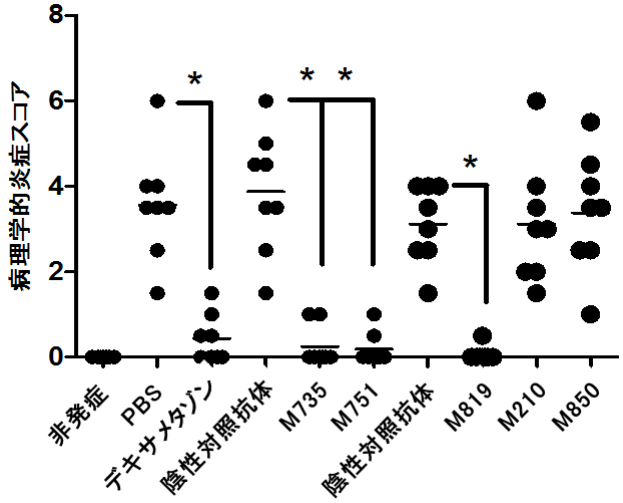
図 2.6.2.3.3-1　OVA 誘発喘息モデルの BALF 中白血球数に対する作用



各点は個体ごとの BALF 中の白血球数、各線は平均値
* p< 0.05（one-way analysis of variance）
M735: 抗マウス IL-17RB 抗体、M751: 抗マウス IL-17RA キメラ抗体、M819: 抗マウス IL-25 抗体、M210: 抗マウス IL-17A 抗体、M850: 抗マウス IL-17F 抗体

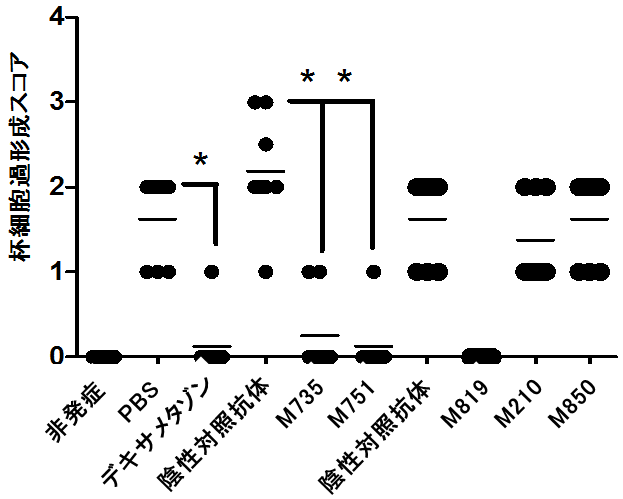
また、M751 投与群の肺組織の病理学的炎症スコア及び杯細胞過形成スコアは、それぞれの陰性対照群に比べて有意に減少した（図 2.6.2.3.3-2、図 2.6.2.3.3-3）。

図 2.6.2.3.3-2　OVA 誘発喘息モデルの肺組織の病理学的炎症スコアに対する作用



各点は個体ごとの病理学的炎症スコア、各線は平均値
* p< 0.05（student's *t*-test）
M735: 抗マウス IL-17RB 抗体、M751: 抗マウス IL-17RA キメラ抗体、M819: 抗マウス IL-25 抗体、M210: 抗マウス IL-17A 抗体、M850: 抗マウス IL-17F 抗体

図 2.6.2.3.3-3　OVA 誘発喘息モデルの肺組織の杯細胞過形成スコアに対する作用



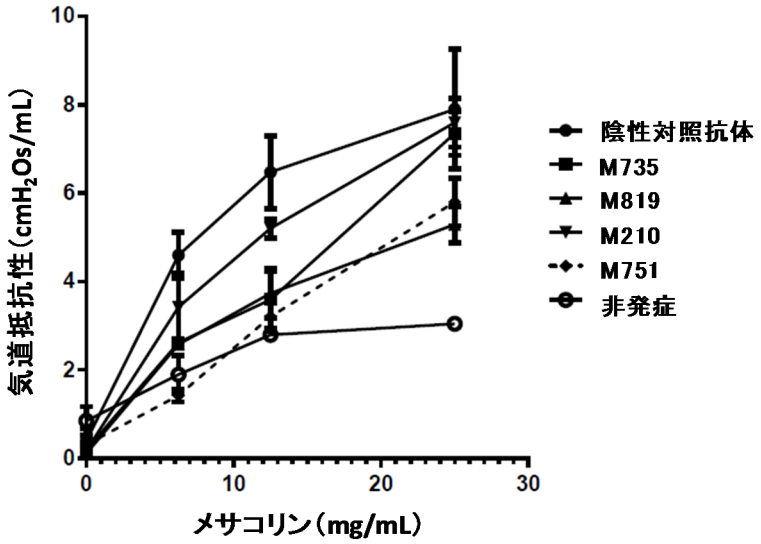
各点は個体ごとの肺細胞過形成スコア、各線は平均値
* p< 0.05（student's *t*-test）
M735: 抗マウス IL-17RB 抗体、M751: 抗マウス IL-17RA キメラ抗体、M819: 抗マウス IL-25 抗体、M210: 抗マウス IL-17A 抗体、M850: 抗マウス IL-17F 抗体

M751、M735、M210 及び M819 投与群の各群 4~5 例を用いて、Day 6 にメサコリン吸入による気道抵抗性の変化を指標に AHR を評価した。

メサコリン 6.25 及び 12.5 mg/mL の吸入による M735 投与群の気道抵抗性の上昇は、陰性対照抗体投与群に比べて抑制された。また、M751 投与群及び M819 投与群において、メサコリン 6.25、12.5 及び 25 mg/mL の吸入による気道抵抗の上昇が陰性対照抗体投与群に比べて抑制された（図 2.6.2.3.3-4）。

以上より、KHK4827 が喘息に対して改善作用を有する可能性が示唆された。

図 2.6.2.3.3-4　OVA 誘発喘息モデルにおける AHR に対する作用



各群の平均値±標準誤差
陰性対照抗体（n=4）、M735: 抗マウス IL-17RB 抗体（n=4）、M819: 抗マウス IL-25 抗体（n=5）、M210: 抗マウス IL-17A 抗体（n=4）、M751: 抗マウス IL-17RA キメラ抗体（n=4）投与群又は非発症（n=3）

2.6.2.3.4 炎症性腸疾患モデルマウスに対する作用（試験番号：R20090295、R20090296、R20090294）資料番号：参考 4.2.1.2-5、参考 4.2.1.2-6、参考 4.2.1.2-7

KHK4827 サロゲート抗体を用いて、各種マウス炎症性腸疾患モデルに対する薬理作用を評価した。

デキストラン硫酸ナトリウム（DSS）誘導大腸炎モデル及び CB17 Prkdc^{scid} マウスを用いた CD4^{+}/CD62L^{+}（CD45RB^{hi}）T 細胞移入大腸炎モデルの大腸炎は、M751 の投与により改善しなかった（R20090295、R20090296）。一方、mdr1a 遺伝子欠損マウスを用いた Helicobacter bilis 感染大腸炎モデルでは M751 投与により大腸炎が悪化した（R20090294）。

以上より、IL-17 シグナル経路のマウス炎症性大腸炎モデルにおける腸の炎症症状に対する役割は複雑であり、増悪因子又は改善因子といった画一的な作用を担っているのではない可能性が示唆される。

2.6.2.3.5 各種症状や疾患に対してリスクとなる可能性の検討　資料番号：参考 4.2.1.2-8、参考 4.2.3.4.3-1

KHK4827 の作用機序、非臨床及び臨床試験成績、並びに関連する薬剤の臨床試験成績に基づき、好中球数減少、重篤な感染症、活動性クローン病患者におけるクローン病の増悪及び重篤な過敏症を KHK4827 の重要な特定されたリスクと定義した。また、悪性腫瘍、免疫原性、炎症性腸疾患及び自殺念慮及び行動（自殺企図及び既遂）を KHK4827 の重要な潜在的リスクと定義した。IL-17RA を介したシグナル伝達は様々な生理作用又は病態生理作用に関与している可能性があることから、IL-17RA、IL-17 サイトカイン及び Th17 細胞の生理作用及び疾患関連性について各種公開情報に基づき調査した。その結果、前述の重要な特定された又は潜在的リスクに加え、単球及びマクロファージの減少、予防接種の効果の減少、心血管系に対する影響、骨吸収に対する影響、体重に対する影響、網膜視細胞に対する毒性、並びにがん原性リスクが、仮説として想定される KHK4827 の意図しない影響として抽出された。これらについて、KHK4827 の非臨床薬理試験、非臨床毒性試験及び臨床試験の成績との比較検討をふまえ、KHK4827 の薬理学的作用を介して起こりうる可能性を考察した。なお、重篤な過敏症及び免疫原性は生物学的製剤に共通して想定されるリスクであり、本項における検討範囲の対象から除外した。

検討の結果、仮説として想定される KHK4827 の意図しない影響として抽出されたものは、いずれも起こる可能性が低いと考えられた。また、KHK4827 の重要な特定された又は潜在的リスクのうち、自殺念慮及び行動については、KHK4827 の薬理学的作用を介して起こる可能性は認められなかった。一方、その他の重要な特定された又は潜在的リスクについては、いずれも KHK4827 の薬理学的作用を介して起こる可能性が認められた。

なお、それぞれのリスクや影響に関する検討と考察の詳細、公表文献等は参考 4.2.1.2-8 に記載した。また、がん原性リスクの検討と考察の詳細、公表文献等は 2.6.6.5 及び参考 4.2.3.4.3-1 に記載した。

2.6.2.3.5.1 活動性クローン病患者におけるクローン病の増悪

活動性クローン病患者を対象とした海外第 II 相臨床試験（20090072 試験及び 20100008 試験）では、KHK4827 群で重篤な有害事象としてクローン病の増悪がプラセボ群に比べて高頻度に発現した。同様に、ヒト抗 IL-17A モノクローナル抗体であるセクキヌマブ（コセンティクス®）の第 II 相臨床試験において、活動性クローン病患者におけるクローン病の増悪が報告されてい

る。腸の炎症と IL-17 シグナル経路の関連性については、促進的と保護的の相反する作用に関する報告があり、IL-17 シグナル経路の腸炎における役割は非常に複雑で、画一的ではないことが示唆される。カニクイザルを用いた非臨床毒性試験において、KHK4827 の腸に対する影響は認められなかった。一方、KHK4827 サロゲート抗体はマウスを用いた DSS 誘発大腸炎モデル、CB17 Prkdc^{scid} マウス CD4^{+}/CD62L^{+}（CD45RB^{hi}）T 細胞移入大腸炎モデル及び mdr1a 遺伝子欠損マウス細菌感染モデルの腸炎の病態に対して、病態増悪又は治療効果の欠如を示した（2.6.2.3.4）。以上より、KHK4827 が活動性クローン病患者におけるクローン病を増悪させる可能性はあると考えられた。

2.6.2.3.5.2 好中球、単球及びマクロファージの減少

IL-17 シグナル経路は顆粒球の生成促進や好中球の活性化等の作用を有する。KHK4827 の作用機序に基づき、KHK4827 は好中球数を減少させる可能性が示唆されるが、KHK4827 の非臨床毒性試験において、カニクイザルの好中球数に毒性学的意義のある変化は認められなかった。一方、KHK4827 の臨床試験において、好中球数減少が認められた。以上より、KHK4827 が好中球数を減少させる可能性はあると考えられた。しかし、重篤な感染症を伴わず、おおむね軽微でかつ一過性の変化で、回復性も認められたことから、その臨床的影響は小さいと考えられた。

また、IL-17 シグナル経路は単球及びマクロファージの制御に関与することが示唆されていることから、KHK4827 の作用機序に基づき、仮説として想定される KHK4827 の意図しない影響の一つとして、単球及びマクロファージの減少が抽出された。しかし、KHK4827 の非臨床毒性試験及び臨床試験において、単球数の減少は認められなかった。以上より、KHK4827 が単球及びマクロファージを減少させる可能性は低いと考えられた。

2.6.2.3.5.3 感染症のリスク

IL-17 シグナル経路は感染に対する生体防御機構に重要であることが示唆されている。一貫した報告ではないものの、IL-17 シグナル経路は細胞外細菌感染、真菌感染及び寄生虫感染に対しては保護的に、ウイルス感染に対しては悪化因子として働くことを示唆する報告が多く、細胞内細菌感染に対する影響についてはどちらとも言えない。カニクイザルを用いた 6 ヵ月間反復皮下投与毒性試験では、一部の動物で常在微生物（酵母及び細菌）の異常増殖を伴う皮膚炎や角質層に菌糸体を伴う舌炎が認められた。また、3 ヵ月間反復投与毒性試験では 1 例で投与部位に膿瘍が認められた。更に、KHK4827 の臨床試験において口腔カンジダ症や足部白癬等の真菌感染症の発現割合が KHK4827 群で高く、発現割合は投与量に依存していた。以上より、KHK4827 が特定の病原体による感染症、特に真菌感染症のリスクとなる可能性はあると考えられた。

2.6.2.3.5.4 予防接種の効果の減少

KHK4827 は免疫調節薬であること、IL-17 シグナル経路が予防接種の効果に重要な役割を果たしている可能性を示唆する報告があることから、KHK4827 の作用機序に基づき、仮説として想定される KHK4827 の意図しない影響の一つとして予防接種に対する効果の減少が抽出された。しかし、カニクイザルを用いた非臨床毒性試験において、KHK4827 の T 細胞依存性の抗体産生に対する影響は認められず、外来抗原に対する免疫応答反応は維持されることが確認された。以上より、KHK4827 が予防接種の効果を減少させる可能性は低いと考えられた。

2.6.2.3.5.5 心血管系に対する影響

乾癬患者は心血管系疾患に対するリスクを有しており、MACE（心筋梗塞、卒中、心血管死）等の発現頻度が高いことが報告されている。IL-17 シグナル経路は心筋梗塞後の修復過程において炎症誘導により増悪因子として働くことが示唆されることから、KHK4827 はその作用機序に基づき心筋リモデリングに対して保護的に働くと考えられる。また、IL-17 シグナル経路はアテローム性動脈硬化症及び急性冠症候群においてアテローム生成促進作用を有することが示唆されることから、KHK4827 はその作用機序に基づきアテローム生成を抑制すると考えられる。カニクイザルを用いた非臨床毒性試験において、KHK4827 の心血管系に対する影響は認められなかった。臨床試験において、MACE の発現率は自然発生率に比べて低く、また MACE が発現した被験者はいずれも複数の心血管系リスク因子を有しており KHK4827 投与との間に関連性は認められなかった。以上より、KHK4827 が心血管系疾患のリスクとなる可能性は低いと考えられた。

2.6.2.3.5.6 自殺念慮及び行動、うつに対する影響

カニクイザルを用いた非臨床毒性試験において、KHK4827 の中枢神経系への影響を示唆する変化は認められなかった。なお、自殺念慮又は行動の評価に適切な非臨床試験系はなく、これらの評価のための試験は実施していない。KHK4827 及び IL-17 は分子量がそれぞれ約 147 kDa 及び約 32 kDa のタンパクであり、その大きさから血液脳関門を通過して中枢に移行する割合は極めて低いと考えられる。よって、末梢における KHK4827 及び IL-17 の作用について、自殺念慮及び行動、うつに対して影響を及ぼす可能性を検討した。

これまでに、自殺念慮及び行動と IL-17 シグナル経路の関係に関する報告はない。抑うつや不安症状といった自殺念慮及び行動のリスク要因と考えられる情動障害と、IL-17 サイトカインや Th17 細胞が関連している可能性を示唆する臨床報告があるものの、その因果関係は明らかではない。非臨床研究において、IL-17 サイトカインや Th17 細胞により抑うつ様行動が誘導されることや、抗 IL-17A 抗体により抑うつ様行動が改善されることが報告されており、KHK4827 はその作用機序に基づき、うつ等の情動障害に対して抑制的に働く可能性が考えられる。

乾癬患者の抱える精神的負担は大きく、抑うつ、不安症状、自殺念慮などの情動障害を抱える割合が高いこと、その原因が皮膚症状である割合が高いことが報告されている。国内外で乾癬治療に用いられる生物学的製剤であり、炎症性サイトカインの制御を介して皮膚炎改善効果を発揮するウステキヌマブ（ステラーラ®）やエタネルセプト（エンブレル®）は乾癬患者における抑うつ及び／又は不安症状を改善することが報告されている。KHK4827 は他の乾癬治療に用いられる生物学的製剤と同様に乾癬における炎症性サイトカインを制御し、皮膚炎の症状を改善するため、炎症性サイトカイン又は皮膚症状に伴ううつ等の情動障害に対して抑制的に働くと考えられる。KHK4827 と同様に IL-17 シグナル経路に対して抑制的に作用する抗 IL-17A 抗体のセクキヌマブ（コセンティクス®）及びイキセキズマブ、抗 IL-23p19 の Guselkumab 及び Tildrakizumab、抗 IL-12/23p40 抗体のウステキヌマブ（ステラーラ®）及び Briakinumab の乾癬患者を対象とした臨床試験において、自殺関連リスクの報告はない。

少なくとも、IL-17 シグナル経路及び KHK4827 について自殺念慮や行動との関連性を説明しうる作用機序は特定されず、末梢において KHK4827 が精神状態の悪化、自殺念慮及び行動を直接的又は間接的に誘導する可能性を示唆又は説明するような情報も確認されなかった。また、KHK4827 の臨床試験において、自殺念慮及び行動の発現に曝露期間や投与後の期間に一致したパターンや傾向は認められず、薬物治療による神経精神学的作用ではないと考えられた。また、

KHK4827 投与に関連したうつ病等の精神疾患関連の有害事象の発現率の増加は認められなかった。

以上より、KHK4827 の薬理学的作用、非臨床試験成績、臨床試験成績から KHK4827 が自殺念慮及び行動、うつ等の情動障害のリスクは示唆されず、リスクとなる可能性は低いと考えられた。

2.6.2.3.5.7 骨吸収に対する影響

炎症性関節炎における骨吸収及び骨破壊、並びに閉経後の骨量減少に対して、IL-17 シグナル経路は増悪因子として働くことが示唆されており、KHK4827 はその作用機序に基づき、骨吸収に対して保護的に働く可能性が考えられる。KHK4827 サロゲート抗体はマウスを用いたコラーゲン誘発炎症性関節炎モデルの関節炎を改善し、骨破壊や軟骨びらんを減少させた。KHK4827 は関節症性乾癬患者の関節炎症状を改善したことから、関節症性乾癬に伴う骨吸収に対して保護的に作用する可能性があると考えられた。

一方、歯根膜感染症における骨喪失に対する IL-17 シグナル経路の関与については促進的と保護的の相反する作用が示唆されており、KHK4827 の影響は不明である。一方、カニクイザルを用いた非臨床毒性試験において、KHK4827 の骨に対する影響は認められなかった。

2.6.2.3.5.8 体重に対する影響

肥満は、乾癬の発症及び増悪のリスク因子の一つである可能性が示唆されている。IL-17A 遺伝子欠損マウスや IL-17RA 遺伝子欠損マウスは各野生型マウスに比べて体重、体脂肪率、血中レプチン濃度の増加を呈し、飼料による肥満誘導に高感受性であるとの報告がある。よって、KHK4827 の作用機序に基づき、仮説として想定される KHK4827 の意図しない影響の一つとして体重増加が抽出された。一方、非臨床毒性試験において、カニクイザルの体重に毒性学的意義のある変化は認められなかった。また、臨床試験において KHK4827 投与に関連した体重増加は認められなかった。以上より、KHK4827 が体重に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

2.6.2.3.5.9 網膜視細胞に対する毒性

ぶどう膜炎併発マウス脊椎関節炎モデルにおいて、抗 IL-17A 及び抗 IL-17A/F 抗体の全身性投与により網膜視細胞に対する毒性の発現頻度が上昇することが報告されている。よって、KHK4827 の作用機序に基づき、仮説として想定される KHK4827 の意図しない影響の一つとして網膜視細胞に対する毒性が抽出された。一方、カニクイザルを用いた非臨床毒性試験において、KHK4827 の眼に対する影響は認められていない。以上より、KHK4827 の網膜視細胞に対する毒性が発現する可能性は低いと考えられた。

2.6.2.3.5.10 がん原性リスク

IL-17 シグナル経路は、特定の条件下では腫瘍形成に対して抑制的に作用するという報告があるものの、多くの報告では腫瘍形成に対して促進的に作用することが示されている。よって、KHK4827 の作用機序に基づき、KHK4827 が直接的又は間接的に発がん性、腫瘍形成及び増殖促進作用、転移促進作用を示す可能性は低いことが示唆される。また、KHK4827 は免疫抑制薬ではなく免疫調節作用薬である。カニクイザルを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験において、KHK4827 投与終了後に増殖性病変や前がん病変、若しくは全身的な免疫抑制作用は認められなかった。更に、KHK4827 の臨床試験においてがん原性のリスクは認められなかった。以上より、KHK4827 のがん原性リスクは低いと考えられた（2.6.6.5）。

2.6.2.3.6 KHK4827 の Fc ドメインの機能

KHK4827 の Fc ドメインの機能として、エフェクター活性及び胎児性 Fc 受容体（FcRn）に対する結合活性を評価した。これらの評価結果の詳細は 3.2.S.3.1 に記載されている。

抗原発現細胞と結合した抗体の Fc 領域はエフェクター細胞の Fcγ 受容体に結合し、エフェクター細胞の抗原発現細胞に対する抗体依存性細胞傷害（ADCC）作用を誘導する。IgG2 抗体は Fcγ 受容体に対する結合活性が低く（Jefferis and Lund, 2002）、Fc を介したエフェクター活性が低いことが知られていることから、KHK4827 の薬理作用の発現機序に ADCC 活性は関与していないと考えられる。IgG2 抗体は、FcγRI 及び FcγRIIIb には全く結合せず、FcγRIIa 及び FcγRIIIa には結合活性は低いものの結合することが確認されている（Bruhns et al, 2009）。KHK4827 のエフェクター活性として、KHK4827 の FcγRIIa に対する結合活性と、KHK4827 を介した白血球（エフェクター細胞）の IL-17RA 発現線維芽細胞（標的細胞）に対する ADCC 活性を評価した。KHK4827 は濃度依存的に FcγRIIa に結合したが、ADCC 活性は認められなかった（3.2.S.3.1）。

IgG の Fc 領域は弱酸性条件下（~pH 6）で FcRn と結合し、中性から塩基性条件下（~pH 7.4）で解離するが、FcRn はこの高い pH 依存性によって成人の血中 IgG 濃度を調節し、IgG の恒常性維持を担っている（Roopenian and Akilesh, 2007）。IgG の Fc と FcRn の結合は、IgG 抗体の半減期など、薬物動態に影響を及ぼす。細胞膜表面に FcRn を発現している HEK293T 細胞を使用して、KHK4827 の FcRn に対する結合活性を評価した。KHK4827 は FcRn に濃度依存的に結合した（3.2.S.3.1）。よって、KHK4827 の Fc ドメインの機能は保持されていることが確認された。

2.6.2.3.7 KD バリアントが Fc ドメイン機能に及ぼす影響

KHK4827 には、重鎖定常領域（C_H）2 ドメインに 2 アミノ酸置換（[redacted]）を有する重鎖変異体（以下、KD バリアントと記載）が含まれている。抗体の抗原結合性は可変領域で決定付けられることから、KD バリアントの 2 アミノ酸置換は KHK4827 の抗原結合性に影響を及ぼさないと考えられた。

2 アミノ酸置換が C_H2 ドメインに位置することから、KD バリアントが Fc ドメインの機能に及ぼす影響として FcγRIIa、FcγRIIIa 及び FcRn に対する結合活性を評価した。

KD バリアントは FcγRIIa に対する結合活性に影響を及ぼさなかったが、FcγRIIIa への結合をわずかに低下させた。KHK4827 は ADCC 活性を示さないことから、KD バリアントの影響は FcγRIIIa に対する結合低下であり、エフェクター活性を亢進させる可能性は極めて低いと考えられた。

KD バリアントは pH 6 では FcRn に対して非変異 KHK4827 に比べて高い結合活性を示したが、pH 7.4 では KD バリアントと非変異 KHK4827 の FcRn 結合活性はほとんど変らなかった（3.2.S.3.1）。KHK4827 市販予定製剤に用いる原薬の KD バリアント含量は [redacted]%以下に制御される予定であり、生理的条件において KD バリアントが KHK4827 の薬物動態に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

2.6.2.4 安全性薬理試験

独立した安全性薬理試験は実施せず、雌雄のカニクイザルを用いた反復投与毒性試験の中で主要な生理的機能（循環器系、呼吸器系、腎臓及び中枢神経系）に及ぼす影響を評価した。

2.6.2.4.1 循環器系及び呼吸器系に及ぼす影響

カニクイザルを用いた 1 ヵ月間反復皮下又は静脈内投与毒性試験（最高用量：350 mg/kg 群、試験番号：107059、資料番号：4.2.3.2-1）、3 ヵ月間反復皮下投与毒性試験（最高用量：350 mg/kg 群、試験番号：107713、資料番号：4.2.3.2-2）及び 6 ヵ月間反復皮下投与毒性試験（最高用量：90 mg/kg 群、試験番号：107714、資料番号：4.2.3.2-3）において、KHK4827 の循環器系及び呼吸器系に対する影響を評価した。一般状態観察、心電図（RR 間隔、PR 間隔、QRS 間隔、QT 間隔及び QTc 間隔）、心拍数、血圧（3 ヵ月間反復皮下投与毒性試験のみ）、呼吸数及び体温の各検査項目において、KHK4827 の循環器系及び呼吸器系への影響を示唆する変化は認められなかった。各試験の検査頻度又は検査日については、以下の表 2.6.2.4.1-1 に記載した。

表 2.6.2.4.1-1 反復投与毒性試験における各検査の検査頻度又は検査日（初回投与日：Day 1）

検査項目	一般状態観察	心電図 [a]	心拍数 [a]、血圧 [a,b]、呼吸数 [a]、体温 [a]
1 ヵ月間反復投与毒性試験	1 回以上/日	Day 4 及び 25（皮下投与群） Day 1 及び 22（静脈内投与群）	Day 25
3 ヵ月間反復投与毒性試験	1 回以上/日	Day 87	Day 3 及び 87（血圧） Day 88（心拍数、呼吸数、体温）
6 ヵ月間反復投与毒性試験	1 回以上/日	Day 4 及び 172	1 回/月（呼吸数、体温） Day 4 及び 172（心拍数）

a：麻酔下で測定。
b：3 ヵ月間反復投与毒性試験のみで測定。

2.6.2.4.2 腎機能に及ぼす影響

カニクイザルを用いた 1 ヵ月間反復皮下又は静脈内投与毒性試験（試験番号：107059、資料番号：4.2.3.2-1）、3 ヵ月間反復皮下投与毒性試験（試験番号：107713、資料番号：4.2.3.2-2）及び 6 ヵ月間反復皮下投与毒性試験（試験番号：107714、資料番号：4.2.3.2-3）において、KHK4827 の腎機能に対する影響を評価した。血液生化学的検査における尿素窒素、クレアチニン及び電解質並びに尿検査の各検査項目において、KHK4827 の腎臓への影響を示唆する変化は認められなかった。

2.6.2.4.3 中枢神経系に及ぼす影響

カニクイザルを用いた 1 ヵ月間反復皮下又は静脈内投与毒性試験（試験番号：107059、資料番号：4.2.3.2-1）、3 ヵ月間反復皮下投与毒性試験（試験番号：107713、資料番号：4.2.3.2-2）及び 6 ヵ月間反復皮下投与毒性試験（試験番号：107714、資料番号：4.2.3.2-3）において、KHK4827 の中枢神経系に対する影響を評価した。一般状態観察及び体温測定において、KHK4827 の中枢神経系への影響を示唆する変化は認められなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用

該当する試験は実施していない。

2.6.2.6 考察及び結論

KHK4827 はヒト IL-17RA に対して高い結合親和性を示し、ヒト IL-17A と競合的にヒト IL-17RA に結合した。ヒト IL-17RA はヒト IL-17A、IL-17F、IL-17A/F、IL-17C 及び IL-25 を介した生物活性の発現に必要な共通の受容体サブユニットである。したがって、ヒト IL-17RA に特異的に結合する KHK4827 は複数の IL-17 ファミリーサイトカインの生物活性を阻害すると考えられた。NHDF を用いた評価系においてヒト IL-17A、IL-17F 及び IL-17A/F ヘテロ二量体刺激依存的な生物活性に対する KHK4827 の阻害作用を比較した結果、KHK4827 の阻害活性はいず

れのリガンド刺激に対してもおおむね同等であった。ヒト IL-17A、IL-17F 及び IL-17A/F ヘテロ二量体に対する KHK4827 の阻害活性は濃度依存的に上昇し、高濃度ではいずれの生物活性も完全に阻害した。ヒト IL-17C 及び IL-25 とヒト IL-17A は、それぞれ評価系が異なるため各リガンド刺激依存的な生物活性に対する阻害活性を比較することはできなかった。KHK4827 はヒト IL-25 刺激依存的な生物活性を完全に阻害した。KHK4827 のヒト IL-17C 依存的な生物活性に対する阻害活性は部分的であった。

KHK4827 はヒト IL-17RC 及び IL-17RB には結合しなかった。ヒト IL-17RC 及び IL-17RB はヒト IL-17RA に最も相同性が高い IL-17R ファミリーメンバーであるが、ヒト IL-17RA に対するヒト IL-17RB 及び IL-17RC のアミノ酸配列の相同性はそれぞれ 26%及び 23%であることから、KHK4827 がヒト IL-17RB 及び IL-17RC に結合しないことは妥当と考えられた（Toy et al, 2006; Lee et al, 2001）。

KHK4827 はカニクイザル IL-17A 及び IL-17F の生物活性に対してヒト IL-17A とおおむね同等の阻害活性を示した。一方、ウサギ IL-17A の生物活性に対する阻害活性はヒト IL-17A と比較して明らかに弱かった。マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びカニクイザルの IL-17RA に対する KHK4827 の結合活性及び生物活性の評価結果から、ヒト及び動物種間の相対的な標的結合活性及び生物活性を考慮し、カニクイザルを薬物動態試験及び毒性試験に用いる動物種として選択することは適切であると考えられた。なお、ビオチン標識 KHK4827 のヒト、カニクイザル及びウサギの正常組織に対する組織交差反応性の評価において、陽性細胞の種類や存在部位、染色の強度はいずれも同様であり（2.6.6.8.1）、KHK4827 に特異的な陽性反応が認められた部位は既報の IL-17R 発現部位とおおむね一致していた（Miossec et al, 2009）。

尋常性乾癬患者の血液中及び皮膚病変部位では Th17 細胞の増加に加えて IL-17A、IL-17F、IL-17C 等の IL-17 ファミリーサイトカインの発現上昇が認められている（Kagami et al, 2010; Zhang et al, 2010; Johansen et al, 2009; Lowes et al, 2008）。関節症性乾癬患者の滑液中 Th17 細胞数は変形性関節炎に比べて 10 倍高く（Raychaudhuri et al, 2012）、血液中 Th17 細胞数も健康成人に比べて顕著に増加している（Leipe et al, 2010; Jandus et al, 2008）。膿疱性乾癬患者においても、血液中 IL-17 濃度や皮膚病変部位の IL-17 発現量及び IL-17 産生細胞数の上昇が報告されている（Yilmaz et al, 2012; Bissonnette et al, 2014; Yasukawa et al, 2009; Teraki et al, 2010）。また、抗 TNFα 抗体製剤を含む様々な既存療法に不応の乾癬性紅皮症患者に対して、Th1/IL-12 及び Th17/IL-23 の生物活性を抑制する抗 IL-12/23p40 抗体のウステキヌマブ（ステラーラ®）が有効との症例報告がある（Santos-Juanes et al, 2010; Wang and Tsai, 2011）。以上より、Th17 細胞や IL-17/IL-17RA 経路が尋常性乾癬、関節症性乾癬、膿疱性乾癬及び乾癬性紅皮症の病態に関与している可能性が示唆される。

マウス皮内への IL-17A 及び IL-17F の投与により乾癬患者の皮膚病変部位で高発現する炎症性メディエーターの産生が誘導されることや（Fujishima et al, 2010; Harper et al, 2009）、マウス乾癬モデルの皮膚病変部位では IL-17A 及び IL-17F の産生が増加していること（van der Fits et al, 2009; Hvid et al, 2008）が報告されている。IL-17RA 遺伝子欠損マウスは Toll 様受容体（TLR）7 及び 8 のリガンドであるイミキモドの塗布により誘導される乾癬様皮膚症状に対して抵抗性を示すことが報告されているが（van der Fits et al, 2009）、これは KHK4827 サロゲート抗体がマウス乾癬モデルの皮膚炎を改善したことに一致する。関節炎の病態における IL-17 ファミリーサイトカインの関与を示唆する報告や、IL-17RA 遺伝子欠損マウスが関節炎症状に抵抗性を示すことは、KHK4827 サロゲート抗体がマウス炎症性関節炎モデルの病態を改善したことに一致する（Roeleveld and Koenders, 2015; Yamamoto and Kawahito, 2011）。TNFα 阻害治療に抵抗性を

示す関節炎患者が存在することから、関節炎において TNFα に非依存的な病態メカニズムが存在する可能性が示唆される（Feldmann, 2002）。KHK4827 サロゲート抗体が p55/p75TNFR 遺伝子欠損マウスの炎症性関節炎に対して病態改善作用を示したことから、KHK4827 は TNFα 阻害治療に抵抗性の関節炎患者に対しても効果を有する可能性が考えられる。以上より、KHK4827 が乾癬患者及び炎症性関節炎患者に対して治療効果を示す可能性が示唆された。

喘息は本申請における適応症ではないが、マウス OVA 誘発喘息モデルの AHR や、マウス及びヒト喘息由来平滑筋の収縮力に IL-17A 刺激が影響を及ぼすことが報告されており（Kudo et al, 2012）、IL-17RA を介したシグナル伝達が喘息の病態に関与している可能性が示唆される。また、IL-17A や IL-25 の阻害によりオゾン、OVA、チリダニや真菌といったアレルゲン誘発性の AHR 及び肺の炎症症状が抑制されることは（Pichavant et al, 2008; Lajoie et al, 2010; Angkasekwinai et al, 2007; Ballantyne et al, 2007）、KHK4827 サロゲート抗体がマウス OVA 誘発喘息モデルにおいての病態改善作用を示したことに一致する。

活動期のクローン病患者の大腸粘膜では非活動期に比べて IL-17A の発現が亢進しており（Hölttä et al, 2008; Rovedatti et al, 2009）、IL-17A 及び IL-17RA 遺伝子の発現とクローン病発症リスクの間に関連性が認められることから（McGovern et al, 2010）、IL-17A 及び IL-17RA が大腸炎の増悪因子として働く可能性が示唆される。一方、マウス炎症性大腸炎モデルを用いた検討からは、IL-17 ファミリーサイトカイン及び IL-17RA の腸炎症における役割について一致した見解は得られていない。IL-17A（Ito et al, 2008）、IL-17F（Yang et al, 2008）及び IL-17RA（Zhang et al, 2006）の各遺伝子欠損マウスでは薬剤誘導マウス大腸炎モデルの病態が軽度であることや、抗 IL-17A 抗体が免疫不全マウスを用いた $CD45RB^{hi}$ T 細胞移入大腸炎モデルの病態を改善することは（Leppkes et al, 2009; Yen et al, 2006）、IL-17 シグナル経路が大腸炎の増悪因子として働く可能性を示唆する。一方、免疫不全マウスに IL-17A 遺伝子欠損 $CD45RB^{hi}$ T 細胞を移入すると病態が悪化することも報告されており（O'Connor et al, 2009）、大腸炎に対する IL-17 ファミリーの役割は未だ不明である。KHK4827 サロゲート抗体を用いた評価ではマウス炎症性大腸炎モデルにおける腸の炎症症状に対して治療効果は認められず、IL-17 シグナル経路の腸炎における役割は複雑であり、増悪因子又は改善因子といった画一的な作用を担っているのではない可能性が示唆される。KHK4827 の中等症から重症の活動性クローン病患者を対象とした海外第 II 相臨床試験（20090072 試験及び 20100008 試験）では KHK4827 の臨床的な有効性は認められず、重篤な有害事象としてクローン病の増悪がプラセボ群に比べて KHK4827 投与群で高頻度に発現した。同様に、抗 IL-17A モノクローナル抗体であるセクキヌマブ（コセンティクス®）の活動性クローン病患者を対象とした臨床試験においてもクローン病の増悪が報告されている（Hueber et al, 2012）。なお、活動性クローン病患者におけるクローン病の増悪は重要な特定されたリスクとされた。

カニクイザルにおける 1、3 及び 6 ヵ月間反復投与毒性試験において、350 mg/kg/週までの KHK4827 は主要な生理的機能（循環器系、呼吸器系、腎臓及び中枢神経系）に対して影響を及ぼさなかった。

以上のことから、KHK4827 はヒト IL-17RA に選択的に結合し、各種 IL-17RA 発現細胞において IL-17A、IL-17F、IL-17A/F、IL-17C 及び IL-25 の IL-17RA を介した生物活性を阻害することが明らかになった。KHK4827 サロゲート抗体がマウス乾癬モデルにおける皮膚炎の病態を改善したことから、KHK4827 は IL-17A、IL-17F、IL-17A/F、IL-17C 等の IL-17 ファミリーサイトカインが関与した乾癬の治療薬となることが期待される。また、KHK4827 サロゲート抗体がマウ

ス炎症性関節炎モデルにおける関節炎の病態を改善したことから、KHK4827 は関節症性乾癬等の IL-17 ファミリーサイトカインが関与した関節炎の治療薬となることが期待される。

2.6.2.7 図表

図表は本文中の適切な箇所に記載した。

2.6.2.8 参考文献

Angkasekwinai et al, 2007

Angkasekwinai P, Park H, Wang YH, Wang YH, Chang SH, Corry DB, et al. Interleukin 25 promotes the initiation of proallergic type 2 responses. J Exp Med. 2007;204:1509-17.

Ballantyne et al, 2007

Ballantyne SJ, Barlow JL, Jolin HE, Nath P, Williams AS, Chung KF, et al. Blocking IL-25 prevents airway hyperresponsiveness in allergic asthma. J Allergy Clin Immunol. 2007;120:1324-31.

Bissonnette et al, 2014

Bissonnette R, Nigen S, Langley RG, Lynde CW, Tan J, Fuentes-Duculan J, et al. Increased expression of IL-17A and limited involvement of IL-23 in patients with palmo-plantar (PP) pustular psoriasis or PP pustulosis; results from a randomised controlled trial. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2014;28 (10):1298-305.

Blumberg et al, 2007

Blumberg H, Dinh H, Trueblood ES, Pretorius J, Kugler D, Weng N, et al. Opposing activities of two novel members of the IL-1 ligand family regulate skin inflammation. J Exp Med. 2007;204:2603-14.

Bruhns et al, 2009

Bruhns P, Iannascoli B, England P, Mancardi DA, Fernandez N, Jorieux S, et al. Specificity and affinity of human Fcgamma receptors and their polymorphic variants for human IgG subclasses. Blood. 2009;113:3716-25.

Feldmann, 2002

Feldmann M. Development of anti-TNF therapy for rheumatoid arthritis. Nat Rev Immunol. 2002;2:364-71.

Fujishima et al, 2010

Fujishima S, Watanabe H, Kawaguchi M, Suzuki T, Matsukura S, Homma T, et al. Involvement of IL-17F via the induction of IL-6 in psoriasis. Arch Dermatol Res. 2010;302:499-505.

Gaffen, 2009

Gaffen SL. Structure and signalling in the IL-17 receptor family. Nat Rev Immunol. 2009;9:556-67.

Harper et al, 2009

Harper EG, Guo C, Rizzo H, Lillis JV, Kurtz SE, Skorcheva I, et al. Th17 cytokines stimulate CCL20 expression in keratinocytes *in vitro* and *in vivo*: implications for psoriasis pathogenesis. J Invest Dermatol. 2009;129:2175-83.

Hölttä et al, 2008

Hölttä V, Klemetti P, Sipponen T, Westerholm-Ormio M, Kociubinski G, Salo H, et al. IL-23/IL-17 immunity as a hallmark of Crohn's disease. Inflamm Bowel Dis. 2008;14:1175-84.

Hueber et al, 2012
Hueber W, Sands BE, Lewitzky S, Vandemeulebroecke M, Reinisch W, Higgins PD, et al. Secukinumab, a human anti-IL-17A monoclonal antibody, for moderate to severe Crohn's disease: unexpected results of a randomised, double-blind placebo-controlled trial. Gut. 2012;61:1693-700.

Hvid et al, 2008
Hvid H, Teige I, Kvist PH, Svensson L, Kemp K. TPA induction leads to a T_h17-like response in transgenic K14/VEGF mice: a novel *in vivo* screening model of psoriasis. Int Immunol. 2008;20:1097-106.

Ito et al, 2008
Ito R, Kita M, Shin-Ya M, Kishida T, Urano A, Takada R, et al. Involvement of IL-17A in the pathogenesis of DSS-induced colitis in mice. Biochem Biophys Res Commun. 2008;377:12-6.

Jandus et al, 2008
Jandus C, Bioley G, Rivals JP, Dudler J, Speiser D, Romero P. Increased numbers of circulating polyfunctional Th17 memory cells in patients with seronegative spondylarthritides. Arthritis Rheum. 2008;58:2307-17.

Jefferis and Lund, 2002
Jefferis R, Lund J. Interaction sites on human IgG-Fc for FcgammaR: current models. Immunol Lett. 2002;82:57-65.

Johansen et al, 2009
Johansen C, Usher PA, Kjellerup RB, Lundsgaard D, Iversen L, Kragballe K. Characterization of the interleukin-17 isoforms and receptors in lesional psoriatic skin. Br J Dermatol. 2009;160:319-24.

Kagami et al, 2010
Kagami S, Rizzo HL, Kurtz SE, Miller LS, Blauvelt A. IL-23 and IL-17A, but not IL-12 and IL-22, are required for optimal skin host defense against Candida albicans. J Immunol. 2010;185:5453-62.

Kudo et al, 2012
Kudo M, Melton AC, Chen C, Engler MB, Huang KE, Ren X, et al. IL-17A produced by alphabeta T cells drives airway hyper-responsiveness in mice and enhances mouse and human airway smooth muscle contraction. Nat Med. 2012;18:547-54.

Lajoie et al, 2010
Lajoie S, Lewkowich IP, Suzuki Y, Clark JR, Sproles AA, Dienger K, et al. Complement-mediated regulation of the IL-17A axis is a central genetic determinant of the severity of experimental allergic asthma. Nat Immunol. 2010;11:928-35.

Lee et al, 2001
Lee J, Ho WH, Maruoka M, Corpuz RT, Baldwin DT, Foster JS, et al. IL-17E, a novel proinflammatory ligand for the IL-17 receptor homolog IL-17Rh1. J Biol Chem. 2001;276:1660-4.

Leipe et al, 2010
Leipe J, Grunke M, Dechant C, Reindl C, Kerzendorf U, Schulze-Koops H, et al. Role of Th17 cells in human autoimmune arthritis. Arthritis Rheum. 2010;62:2876-85.

Leppkes et al, 2009
Leppkes M, Becker C, Ivanov II, Hirth S, Wirtz S, Neufert C, et al. RORgamma-expressing Th17 cells induce murine chronic intestinal inflammation via redundant effects of IL-17A and IL-17F. Gastroenterology. 2009;136:257-67.

Lowes et al, 2008
Lowes MA, Kikuchi T, Fuentes-Duculan J, Cardinale I, Zaba LC, Haider AS, et al. Psoriasis vulgaris lesions contain discrete populations of Th1 and Th17 T cells. J Invest Dermatol. 2008;128:1207-11.

McGovern et al, 2010
McGovern DP, Gardet A, Törkvist L, Goyette P, Essers J, Taylor KD, et al. Genome-wide association identifies multiple ulcerative colitis susceptibility loci. Nat Genet. 2010;42:332-7.

Miossec et al, 2009
Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. N Engl J Med. 2009;361:888-98.

O'Connor et al, 2009
O'Connor W Jr, Kamanaka M, Booth CJ, Town T, Nakae S, Iwakura Y, et al. A protective function for interleukin 17A in T cell-mediated intestinal inflammation. Nat Immunol. 2009;10:603-9.

Pichavant et al, 2008
Pichavant M, Goya S, Meyer EH, Johnston RA, Kim HY, Matangkasombut P, et al. Ozone exposure in a mouse model induces airway hyperreactivity that requires the presence of natural killer T cells and IL-17. J Exp Med. 2008;205:385-93.

Ramirez-Carrozzi et al, 2011
Ramirez-Carrozzi V, Sambandam A, Luis E, Lin Z, Jeet S, Lesch J, et al. IL-17C regulates the innate immune function of epithelial cells in an autocrine manner. Nat Immunol. 2011;12:1159-66.

Raychaudhuri et al, 2012
Raychaudhuri SP, Raychaudhuri SK, Genovese MC. IL-17 receptor and its functional significance in psoriatic arthritis. Mol Cell Biochem. 2012;359:419-29.

Rickel et al, 2008
Rickel EA, Siegel LA, Yoon BR, Rottman JB, Kugler DG, Swart DA, et al. Identification of functional roles for both IL-17RB and IL-17RA in mediating IL-25-induced activities. J Immunol. 2008;181(6):4299-310.

Roeleveld and Koenders, 2015
Roeleveld DM, Koenders MI. The role of the Th17 cytokines IL-17 and IL-22 in Rheumatoid Arthritis pathogenesis and developments in cytokine immunotherapy. Cytokine. 2015;74:101-7.

Roopenian and Akilesh, 2007
Roopenian DC, Akilesh S. FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. Nat Rev Immunol. 2007;7:715-25.

Rovedatti et al, 2009
Rovedatti L, Kudo T, Biancheri P, Sarra M, Knowles CH, Rampton DS, Corazza GR, et al. Differential regulation of interleukin 17 and interferon gamma production in inflammatory bowel disease. Gut. 2009;58:1629-36.

Santos-Juanes et al, 2010
Santos-Juanes J, Coto-Segura P, Mas-Vidal A, Galache Osuna C. Ustekinumab induces rapid clearing of erythrodermic psoriasis after failure of antitumour necrosis factor therapies. Br J Dermatol. 2010;162:1144-6.

Song et al, 2011
Song X, Zhu S, Shi P, Liu Y, Shi Y, Levin SD, et al. IL-17RE is the functional receptor for IL-17C and mediates mucosal immunity to infection with intestinal pathogens. Nat Immunol. 2011;12:1151-8.

Teraki et al, 2010
Teraki Y, Tanaka S, Hitomi K, Izaki S. A case of generalized psoriasiform and pustular eruption induced by infliximab: evidence for skin-homing Th17 in the pathogenesis. Br J Dermatol. 2010;163:1347-51.

Toy et al, 2006
Toy D, Kugler D, Wolfson M, Vanden Bos T, Gurgel J, Derry J, et al. Cutting edge: interleukin 17 signals through a heteromeric receptor complex. J Immunol. 2006;177:36-9.

van der Fits et al, 2009
van der Fits L, Mourits S, Voerman JS, Kant M, Boon L, Laman JD, et al. Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. J Immunol. 2009;182:5836-45.

Wang and Tsai, 2011
Wang TS, Tsai TF. Clinical experience of ustekinumab in the treatment of erythrodermic psoriasis: a case series. J Dermatol. 2011;38:1096-9.

Wright et al, 2008
Wright JF, Bennett F, Li B, Brooks J, Luxenberg DP, Whitters MJ, et al. The human IL-17F/IL-17A heterodimeric cytokine signals through the IL-17RA/IL-17RC receptor complex. J Immunol. 2008;181:2799-805.

Yamamoto and Kawahito, 2011
Yamamoto A, Kawahito Y. New Helper T Cell “Th17”. Kyofuidaishi. 2011;120:589-96.

Yang et al, 2008
Yang XO, Chang SH, Park H, Nurieva R, Shah B, Acero L, et al. Regulation of inflammatory responses by IL-17F. J Exp Med. 2008;205:1063-75.

Yasukawa et al, 2009
Yasukawa S, Dainichi T, Kokuba H, Moroi Y, Urabe K, Hashimoto T, et al. Bullous pemphigoid followed by pustular psoriasis showing Th1, Th2, Treg and Th17 immunological changes. Eur J Dermatol. 2009;19:69-71.

Yen et al, 2006
Yen D, Cheung J, Scheerens H, Poulet F, McClanahan T, McKenzie B, et al. IL-23 is essential for T cell-mediated colitis and promotes inflammation via IL-17 and IL-6. J Clin Invest. 2006;116:1310-6.

Yilmaz et al, 2012
Yilmaz SB, Cicek N, Coskun M, Yegin O, Alpsoy E. Serum and tissue levels of IL-17 in different clinical subtypes of psoriasis. Arch Dermatol Res. 2012;304:465-9.

Zhang et al, 2010
Zhang L, Yang XQ, Cheng J, Hui RS, Gao TW. Increased Th17 cells are accompanied by FoxP3^{+} Treg cell accumulation and correlated with psoriasis disease severity. Clin Immunol. 2010;135:108-17.

Zhang et al, 2006
Zhang Z, Zheng M, Bindas J, Schwarzenberger P, Kolls JK. Critical role of IL-17 receptor signaling in acute TNBS-induced colitis. Inflamm Bowel Dis. 2006;12:382-8.

KHK4827

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

2.6.3　薬理試験概要表

協和発酵キリン株式会社

CONFIDENTIAL

目次

目次 2
2.6.3 薬理試験概要表 3
2.6.3.1 薬理試験：一覧表（1/4） 3
2.6.3.2 効力を裏付ける試験（1/6） 7
2.6.3.3 副次的薬理試験（1/2） 13
2.6.3.4 安全性薬理試験 15
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 16

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（1/4）

Test Article: KHK4827

Organ Systems Evaluated	Test system	Method of administration	Test Facility	Study Number	Location
Primary Pharmacology					
Determination of Binding of Human IL-17R for KHK4827 via Biacore	A flag-polyHIS-tagged human IL-17R extracellular domain	*In vitro*	Amgen	R2006239	4.2.1.1-1
Inhibition of Human IL-17 Binding to Human Foreskin Fibroblast Cells by KHK4827	Human Foreskin Fibroblasts	*In vitro*	Amgen	R2006240	4.2.1.1-2
KHK4827 Binding to Lymphocytes, Monocytes and Neutrophils in Whole Blood	Whole blood (human)	*In vitro*	Amgen	R2006242	4.2.1.1-3
KHK4827 Inhibition of IL-17-induced Responses in Whole Blood	Whole blood (human)	*In vitro*	Amgen	R20080191	4.2.1.1-4
KHK4827 Inhibition of IL-17A, IL-17F, and IL-17A/F-induced GROα Production From Normal Human Dermal Fibroblasts	Normal Human Dermal Fibroblasts	*In vitro*	Amgen	R20090127	4.2.1.1-5
KHK4827 Inhibition of IL-17-induced GROα in Human Foreskin Fibroblasts	Human Foreskin Fibroblasts	*In vitro*	Amgen	R2006244	参考 4.2.1.1-6
KHK4827 Inhibition of IL-17-induced GROα Production in Human Lung Fibroblast Cultures	Normal Human Lung Fibroblasts	*In vitro*	Amgen	R20070004	参考 4.2.1.1-7
KHK4827 Inhibition of IL-17C-induced DEFB4 mRNA Expression in Normal Epidermal Keratinocytes	Normal Human Epidermal Keratinocytes	*In vitro*	Amgen	R20120145	4.2.1.1-8
KHK4827 Blockade of IL-25-induced IL-5 Production from Peripheral Blood Mononuclear Cells	PBMCs (human)	*In vitro*	Amgen	R20080129	4.2.1.1-9
Examination of KHK4827 Cross-Reactivity with Rabbit, Dog, Rat and Mouse IL-17R	PBMCs (dog, rabbit, rat and mouse)	*In vitro*	Amgen	R2006241	4.2.1.1-10
KHK4827 Inhibition of IL-17A and IL-17F-induced IL-6 from Human and Cynomolgus Dermal Fibroblasts	Normal Human Dermal Fibroblasts, Normal Cynomolgus Dermal Fibroblasts	*In vitro*	Amgen	R20070242	4.2.1.1-11

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（2/4）

Test Article: KHK4827 or KHK4827 surrogate antibodies

Organ Systems Evaluated	Test system	Method of administration	Test Facility	Study Number	Location
KHK4827 Inhibition of IL-17A-induced Signaling in Rabbit and Human Dermal Fibroblasts	Human Dermal Fibroblasts, Rabbit Dermal Fibroblasts	*In vitro*	Amgen	110458	4.2.1.1-12
Inhibition of Murine IL-17 Binding to NIH 3T3 Cells by Rat Anti-Murine IL-17R-M750 IgG2b	Mouse Fibroblast-like Cell Lines	*In vitro*	Amgen	R2006447	参考 4.2.1.1-13
Assessment of Rat Anti-Mouse Anti-IL-17RA Antibody Combinations on IL-17A or IL-17F-induced Responses from NIH 3T3 cells	Mouse Fibroblast-like Cell Lines	*In vitro*	Amgen	R2006246	4.2.1.1-14
Inhibition of IL-17A- and IL-17F-induced IL-6 production from NIH 3T3 cells by Anti-Mouse IL-17RA mAb M751	Mouse Fibroblast-like Cell Lines	*In vitro*	Amgen	R20080147	4.2.1.1-15
Inhibition of IL-25-induced IL-5 Production From Mouse Splenocytes by Anti-Mouse IL-17RA mAb M751	Splenocytes (mouse)	*In vitro*	Amgen	R20080140	4.2.1.1-16
Effect of IL-17R Blockade on TPA-induced Psoriasis in FVB K14mIL-1F6 Transgenic Mice	FVB K14mIL-1F6 transgenic mouse, Psoriasis Model	IP	Amgen	R20090128	4.2.1.1-17
Assessment of Collagen-induced Arthritis (CIA) in IL-17R KO Mice	IL-17R KO mouse, CIA Model	NA	Amgen	R2006348	参考 4.2.1.1-18
Dose Titration of Anti-IL-17R M750 in a Mouse Model of CIA	Mouse, CIA Model	IP	Amgen	R20070264	4.2.1.1-19
Therapeutic Treatment with Anti-IL-17R M750 in the TNFR p55/p75 KO and WT DBA CIA Mouse Model	TNFR DKO mouse, CIA Model	IP	Amgen	R2006248	4.2.1.1-20

NA: not applicable
IP: intraperitoneal

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（3/4）

Test Article: KHK4827 or KHK4827 surrogate antibodies

Organ Systems Evaluated	Test system	Method of administration	Test Facility	Study Number	Location
Secondary Pharmacology					
Assessment of KHK4827 Binding to IL-17RA, IL-17RB and IL-25	Chinese Hamster Ovary Cells	*In vitro*	Amgen	R20090225	参考 4.2.1.2-1
Assessment of KHK4827 Binding to IL-17RC	Mouse Tail Fibroblasts	*In vitro*	Amgen	R20140114	参考 4.2.1.2-2
Assessment of the effects of KHK4827 binding to the Surface of Human Fibroblasts on GROα Secretion	Human Foreskin Fibroblasts	*In vitro*	Amgen	R20080048	参考 4.2.1.2-3
IL-17RA Blockade in a Mouse OVA Asthma Model	Mouse, OVA Asthma Model	IP	Amgen	R20090287	4.2.1.2-4
Blockade of IL-17RA with M751 in DSS-Induced Colitis	Mouse, DSS-Induced Colitis Model	IP	Amgen	R20090295	参考 4.2.1.2-5
Prophylactic Inhibition of IL-17RA with M751 in Colitis Induced by the Adoptive Transfer of $CD4^+$ $CD62L^+$ T Cells into Immunodeficient Mice	CB17 $Prkdc^{scid}$ Mouse, $CD4^+/CD62L^+(CD45RB^{hi})$ T cell adoptive transfer Colitis Model	IP	Amgen	R20090296	参考 4.2.1.2-6
Prophylactic Treatment with Anti-IL-17RA M751 in colitis in $mdr1a^{-/-}$ Mice Infected with Helicobacter bilis	$Mdr1a^{-/-}$ mouse, Colitis model infected with Helicobacter bilis	IP	Amgen	R20090294	参考 4.2.1.2-7

IP: intraperitoneal

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（4/4）

Test Article: KHK4827

Organ Systems Evaluated	Test system	Method of administration	Test Facility	Study Number	Location
Safety Pharmacology					
Assessment of KHK4827 functional effects to cardiovascular, respiratory and CNS in 1-month repeat-dose toxicity study	Cynomolgus monkey	SC/IV	[redacted]	107059[a]	4.2.3.2-1
Assessment of KHK4827 functional effects to cardiovascular, respiratory and CNS in 3-month repeat-dose toxicity study	Cynomolgus monkey	SC	[redacted]	107713[a]	4.2.3.2-2
Assessment of KHK4827 functional effects to cardiovascular, respiratory and CNS in 6-month repeat-dose toxicity study	Cynomolgus monkey	SC	[redacted]	107714[a]	4.2.3.2-3

SC: subcutaneous, IV: intravenous, CNS: central nervous system
a: GLP compliance study

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（1/6）

Organ Systems Evaluated	Species/strain	Test article	Method of Administration	Doses	Gender, No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Determination of Binding of Human IL-17R for KHK4827 via Biacore	A flag-polyHIS -tagged human IL-17R extracellular domain	KHK4827	*In vitro*	250 ng/mL	NA	HuIL-17R bound to KHK4827 with an apparent k_a of 2.60×10^5 $(mol/L)^{-1}s^{-1}$, k_d of 6.22×10^{-5} s^{-1}, and K_D of 239 pmol/L.	R2006239	4.2.1.1-1
Inhibition of Human IL-17 Binding to Human Foreskin Fibroblast Cells by KHK4827	Human Foreskin Fibroblasts	KHK4827	*In vitro*	5 pmol/L -100 nmol/L	NA	The apparent Ki values for KHK4827 inhibition of ^{125}I-huIL-17A binding to cell surface expressed huIL-17R was 157 pmol/L (95% CI: 40 pmol/L, 620 pmol/L). The affinity of KHK4827 for cell surface expressed huIL-17R was approximately 10-fold stronger than that of huIL-17A.	R2006240	4.2.1.1-2
KHK4827 Binding to Lymphocytes, Monocytes and Neutrophils in Whole Blood	Whole blood (human)	KHK4827	*In vitro*	5 µg/mL	NA	Binding of PE-conjugated-KHK4827 and biotinylated -huIL-17.Fc could be detected on lymphocytes, monocytes and granulocytes in whole blood.	R2006242	4.2.1.1-3
KHK4827 Inhibition of IL-17-induced Responses in Whole Blood	Whole blood (human)	KHK4827	*In vitro*	16 ng/mL-50 µg/mL	NA	IL-17A plus TNFα induced IL-6 mRNA in a dose-dependent manner in whole blood. KHK4827 was capable of inhibiting IL-17A-induced IL-6 mRNA in a dose-dependent manner.	R20080191	4.2.1.1-4

NA: not applicable

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（2/6）

Organ Systems Evaluated	Species/strain	Test article	Method of Administration	Doses	Gender, No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
KHK4827 Inhibition of IL-17A, IL-17F, and IL-17A/F-induced GROα Production From Normal Human Dermal Fibroblasts	Normal Human Dermal Fibroblasts	KHK4827	*In vitro*	191 pg/mL -100 µg/mL	NA	KHK4827 inhibited IL-17A+TNFα-induced GROα production with an IC_{50} = 6 ng/mL. KHK4827 inhibited IL-17F+TNFα-induced GROα production with an IC_{50} = 3.08 ng/mL and IL-17A/F+TNFα-induced GROα production with an IC_{50} = 7.85 ng/mL.	R20090127	4.2.1.1-5
KHK4827 Inhibition of IL-17-induced GROα in Human Foreskin Fibroblasts	Human Foreskin Fibroblasts	KHK4827	*In vitro*	45 pg/mL -8 µg/mL	NA	KHK4827 antagonized IL-17A-induced GROα production with IC_{50} = 0.004 µg/mL.	R2006244	参考 4.2.1.1-6
KHK4827 Inhibition of IL-17-induced GROα Production in Human Lung Fibroblast Cultures	Normal Human Lung Fibroblasts	KHK4827	*In vitro*	1.526 pmol/L -100 nmol/L	NA	KHK4827 inhibited IL-17A-stimulated production of GROα with a mean IC_{50} value of 268 pmol/L ± a standard deviation of 342 pmol/L.	R20070004	参考 4.2.1.1-7
KHK4827 Inhibition of IL-17C-induced DEFB4 mRNA Expression in Normal Epidermal Keratinocytes	Normal Human Epidermal Keratinocytes	KHK4827	*In vitro*	0.0038 -1000 nmol/L	NA	KHK4827 at a dose of 1000 nmol/L inhibited IL-17C+TNFα-induced DEFB4 mRNA expression from NHEK cells by 40%.	R20120145	4.2.1.1-8
KHK4827 Blockade of IL-25-induced IL-5 Production from Peripheral Blood Mononuclear Cells	PBMCs (human)	KHK4827	*In vitro*	0.1-10 µg/mL	NA	KHK4827 was found to inhibit IL-25-induced IL-5 production in a dose dependent manner. The inhibition was reproducible across multiple donors.	R20080129	4.2.1.1-9

NA: not applicable, PBMCs: Peripheral Blood Mononuclear Cells

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（3/6）

Organ Systems Evaluated	Species/strain	Test article	Method of Administration	Doses	Gender, No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Examination of KHK4827 Cross-Reactivity with Rabbit, Dog, Rat and Mouse IL-17R	PBMCs (dog, rabbit /New Zealand White, rat /Lewis, mouse /DBA/1)	KHK4827	*In vitro*	10 µg/mL	NA	KHK4827 cross-reacts IL-17R on rabbit monocytes and lymphocytes. No KHK4827 staining was observed on rat or mouse monocytes or lymphocytes. Due to non-specific binding issues with the reagents used, it was not possible to confirm cross-reactivity of KHK4827 with IL-17R on dog monocytes and lymphocytes.	R2006241	4.2.1.1-10
KHK4827 Inhibition of IL-17A and IL-17F-induced IL-6 from Human and Cynomolgus Dermal Fibroblasts	Normal Human Dermal Fibroblasts, Normal Cynomolgus Dermal Fibroblasts	KHK4827	*In vitro*	0.002 -100 µg/mL	NA	At the highest concentrations tested, KHK4827 inhibited IL-6 release from NHDF or NCDF in response to IL-17A or IL-17F stimulation. The KHK4827 IC_{50} values were comparable between species in each experiment, but varied across replicate experiments.	R20070242	4.2.1.1-11
KHK4827 Inhibition of IL-17A-induced Signaling in Rabbit and Human Dermal Fibroblasts	Human Dermal Fibroblasts, Rabbit Dermal Fibroblasts	KHK4827	*In vitro*	0.001 -300 µg/mL	NA	KHK4827 inhibited rabbit IL-17-induced activation of rabbit dermal fibroblasts. However, the potency of KHK4827 to block human IL-17-induced activation of human foreskin fibroblasts (IC_{50} = 0.03 µg/mL) is 89-fold higher than its ability to block rabbit IL-17-induced activation of rabbit dermal fibroblasts (IC_{50} = 2.67 µg/mL).	110458	4.2.1.1-12

NA: not applicable, PBMCs: Peripheral Blood Mononuclear Cells

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（4/6）

Organ Systems Evaluated	Species/strain	Test article	Method of Administration	Doses	Gender, No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Inhibition of Murine IL-17 Binding to NIH 3T3 Cells by Rat Anti-Murine IL-17R-M750 IgG2b	Mouse Fibroblast-like Cell Lines	M750[a]	*In vitro*	0.565 pmol/L -100 nmol/L	NA	Anti-mouse IL-17RA (M750) inhibited binding of ^{125}I-murine IL-17 flag to NIH 3T3 cells with a Ki = 89.4 pmol/L (95% CI: 49.9 pmol/L, 160 pmol/L).	R2006447	参考 4.2.1.1-13
Assessment of Rat Anti-Mouse Anti-IL-17RA Antibody Combinations on IL-17A or IL-17F-induced responses from NIH 3T3 cells	Mouse Fibroblast-like Cell Lines	M750[a], M751[a]	*In vitro*	M750: 0.11-100 µg/mL M751: 3.33, 100 µg/mL	NA	Anti-mouse IL-17RA (M750) alone could not fully inhibit IL-17A-induced IL-6 production from NIH 3T3 cells. However, a combination of M750 with M751 reduced IL-17A+TNFα- or IL-17F+TNFα-induced IL-6 secretion to the level induced by TNFα alone.	R2006246	4.2.1.1-14
Inhibition of IL-17A- and IL-17F-induced IL-6 production from NIH 3T3 cells by Anti-Mouse IL-17RA mAb M751	Mouse Fibroblast-like Cell Lines	M751[a]	*In vitro*	0.03-30 µg/mL	NA	At a concentration of 30 µg/mL, anti-mouse IL-17RA (M751) inhibited IL-17A+TNFα- or IL-17F+TNFα-induced IL-6 production from NIH 3T3 cells.	R20080147	4.2.1.1-15
Inhibition of IL-25-induced IL-5 Production From Mouse Splenocytes by Anti-Mouse IL-17RA mAb M751	Splenocytes (mouse/BALB/c)	M751[a]	*In vitro*	0.5 -50000 ng/mL	NA	Anti-mouse IL-17RA (M751) inhibited IL-25-induced IL-5 production by mouse splenocytes in a dose dependent manner in 2 experiments (IC_{50} = 5.15 and 2.74 ng/mL).	R20080140	4.2.1.1-16

NA: not applicable
a: KHK4827 surrogate antibodies

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（5/6）

Organ Systems Evaluated	Species/strain	Test article	Method of Administration	Doses	Gender, No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Effect of IL-17R Blockade on TPA-induced Psoriasis in FVB K14mIL-1F6 Transgenic Mice	K14mIL-1F6 Transgenic mouse/FVB	M751[a]	IP	0.5 mg (Day -1 and 3)	Male, n = 5/group	Treatment with anti-IL-17RA (M751) reduced the skin inflammation to a greater extent than anti-IL-17A (M210). H&E staining results show a reduction in epidermal thickness, parakeratotic scaling and intra-epidermal pustules with treatment with anti-IL-17RA and to a lesser extent with anti-IL-17A. Anti-IL-17RA and anti-IL-17A antibodies reduced expression of many proinflammatory genes (cytokines and chemokines) and similar profiles were seen with skin protein expression.	R20090128	4.2.1.1-17
Assessment of Collagen-induced Arthritis (CIA) in IL-17R KO Mice	Mouse/C57BL/6, IL-17R KO mouse/C57BL/6	NA	NA	NA	Exp 1: IL-17RKO, Male: n = 34 WT, Male: n = 35 Exp 2: IL-17RKO, Male: n = 19, Female: n = 30 WT, Male: n = 20, Female: n = 25	In both studies IL-17R KO mice were not as susceptible to clinical, histopathologic, or radiographic evidence of disease compared to the WT control mice. Serum COMP levels were significantly reduced in IL-17R KO female mice compared with WT mice.	R2006348	参考 4.2.1.1-18

NA: not applicable, IP: intraperitoneal, Exp: Experiment
a: KHK4827 surrogate antibodies

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（6/6）

Organ Systems Evaluated	Species/strain	Test article	Method of Administration	Doses	Gender, No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Dose Titration of Anti-IL-17R M750 in a Mouse Model of CIA	Mouse/DBA/1	M750[a]	IP	10, 100, 300 µg (3 times per week, Day 0-15)	Male, 15/group	Prophylactic treatment with anti-mouse IL-17RA (M750) at 300 µg or 100 µg reduced disease scores in a model of CIA in WT DBA/1 mice. Treatment with 300 µg of M750 significantly reduced mean histopathology scores for subchondral bone erosion, articular cartilage erosion and reactive bone formation.	R20070264	4.2.1.1-19
Therapeutic Treatment with Anti-IL-17R M750 in the TNFR p55/p75 KO and WT DBA CIA Mouse Model	Exp1: Mouse /DBA/1 Exp2: TNFR DKO mouse /DBA/1	M750[a]	IP	150 µg (3 times per week) Exp1: Day 5-19 Exp2: Day 7-17	Exp1: WT, Male: 17-20/group. Exp 2: TNFRDKO, Male: 4-18/group.	Anti-mouse IL-17RA (M750) produced a small but significant reduction in mean clinical score compared to Rat IgG2b (protein control) when administered in a therapeutic treatment regimen in the WT CIA model.	R2006248	4.2.1.1-20

IP: intraperitoneal, Exp: Experiment
a: KHK4827 surrogate antibodies

2.6.3.3 副次的薬理試験（1/2）

Organ Systems Evaluated	Species/strain	Test article	Method of Administration	Doses	Gender, No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Assessment of KHK4827 Binding to IL-17RA, IL-17RB and IL-25	Chinese Hamster Ovary Cells	KHK4827	*In vitro*	1 µg/mL	NA	KHK4827 binds to IL-17RA but not IL-17RB.	R20090225	参考 4.2.1.2-1
Assessment of KHK4827 Binding to IL-17RC	Mouse Tail Fibroblasts	KHK4827	*In vitro*	10 µg/mL	NA	KHK4827 binds cell surface expressed human IL-17RA but not human IL-17RC.	R20140114	参考 4.2.1.2-2
Assessment of the effects of KHK4827 binding to the Surface of Human Fibroblasts on GROα Secretion	Human Foreskin Fibroblasts	KHK4827	*In vitro*	0.1 -5 µg/mL	NA	Cross-linking KHK4827 on the surface of HFF cells in the absence of IL-17A stimulation had no detectable impact on GROα supernatant concentrations.	R20080048	参考 4.2.1.2-3
IL-17RA Blockade in a Mouse OVA Asthma Model	Mouse/BALB/c	M751[a]	IP	500 µg	Female, n = 15-19 /group	Treatment with 500 µg of anti-mouse IL-17RA (M751) significantly reduced BALF total leukocytes, eosinophils, lymphocytes, and BALF IL-5 and IL-13 concentrations, total serum IgE concentrations, lung inflammation histology scores, goblet cell hyperplasia and AHR compared with control antibody-treated mice in this mouse OVA asthma model.	R20090287	4.2.1.2-4

NA: not applicable, IP: intraperitoneal
a: KHK4827 surrogate antibodies

2.6.3.3 副次的薬理試験（2/2）

Organ Systems Evaluated	Species/strain	Test article	Method of Administration	Doses	Gender, No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Blockade of IL-17RA with M751 in DSS-induced Colitis	Mouse/C57BL/6	M751[a]	IP	250 µg	Female, n = 5-10/group	Treatment with anti-mouse IL-17RA (M751) had no impact on clinical scores or colon pathology resulting from DSS-induced colitis. In regards to DSS-induced weight loss, blockade of IL-17RA had slight, but significant, exacerbating effects relative to control IgG1 treatment.	R20090295	参考 4.2.1.2-5
Prophylactic Inhibition of IL-17RA with M751 in Colitis Induced by the Adoptive Transfer of $CD4^+$ $CD62L^+$ T Cells into Immunodeficient Mice	Mouse/BALB/c, CB17 $Prkdc^{scid}$ mouse/BALB/c	M751[a]	IP	500 µg (1 time per week from Day 0-21)	Male, n = 10/group	Treatment of adoptively transferred mice with anti-mouse IL-17RA (M751) reduced weight loss relative to mice given T cells alone, although this effect was not significantly different from control IgG1 antibody treatment. M751 did not reduce diarrhea scores, spleen weight, colon histopathology scores, or inflammatory gene expression. M751 did induce a slight improvement in colon weight:length ratio.	R20090296	参考 4.2.1.2-6
Prophylactic Treatment with Anti-IL-17RA M751 in colitis in $mdr1a^{-/-}$ Mice Infected with Helicobacter bilis	$Mdr1a^{-/-}$ mouse/FVB	M751[a]	IP	500 µg (1 time per week from Day 0-41)	Female, n = 10/group	Treatment with anti-mouse IL-17RA (M751) had significant exacerbating effects on clinical scores and expression of pro-inflammatory genes in the colon in the H. bilis-induced $mdr1a^{-/-}$ model of colitis without affecting onset, incidence, or gut pathology.	R20090294	参考 4.2.1.2-7

NA: not applicable, IP: intraperitoneal
a: KHK4827 surrogate antibodies

2.6.3.4 安全性薬理試験

Organ Systems Evaluated	Species/strain	Test article	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Gender, No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Renal function[a], Respiratory (RR) Cardiovascular (ECG, HR) CNS (Behavior, BT) in 1M repeat TOX study	Cynomolgus monkey	KHK4827	SC, IV	0, 25, 90, 350 (SC) 350 (IV) (weekly)	5M/5F	None	107059[b]	4.2.3.2-1
Renal function[a], Respiratory (RR) Cardiovascular (ECG, BP, HR) CNS (Behavior, BT) in 3M repeat TOX study	Cynomolgus monkey	KHK4827	SC	0, 25, 90, 350 (weekly)	6M/6F	None	107713[b]	4.2.3.2-2
Renal function[a], Respiratory (RR) Cardiovascular (ECG, HR) CNS (Behavior, BT) in 6M repeat TOX study	Cynomolgus monkey	KHK4827	SC	0, 10, 25, 90 (weekly)	6M, 6F (0, 90 mg/kg) 4M, 4F (10, 25 mg/kg)	None	107714[b]	4.2.3.2-3

BP: blood pressure, BT: body temperature, CNS: central nervous system, ECG: electrocardiogram, F = female
GLP: good laboratory practice, HR: heart rate, M: male, RR: respiratory rate, SC: subcutaneous, IV: intravenous
a: Renal function was evaluated in the clinical chemistry (creatinine, urea nitrogen, electrolytes) and urinalysis.
b: GLP compliance study

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当する試験は実施していない。