# 2.4 非臨床試験の概括評価

# 目　次

目　次 ..... 2
表 一 覧 ..... 2
略号一覧 ..... 3
1 緒言 ..... 4
2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性 ..... 6
3 薬理試験 ..... 6
4 薬物動態試験 ..... 6
5 毒性試験 ..... 6
5.1 全身曝露量の比較 ..... 6
6 不純物及び分解物 ..... 7
7 安全性の総合評価 ..... 7
8 結論 ..... 7
9 参考文献 ..... 8

# 表 一 覧

Table 5-1 マーモセット及びヒトにおける血清中濃度の比較 ..... 7

# 略号一覧

| 略号 | 省略していない表現（英） | 省略していない表現（日） |
|---|---|---|
| AUC | area under the drug serum concentration-time curve | 血清中薬物濃度-時間曲線下面積 |
| CAPS | cryopyrin associated periodic syndrome | クリオピリン関連周期性症候群 |
| Cav,ss | mean or average steady state drug serum concentration | 定常状態における平均血清中薬物濃度 |
| crFMF | colchicine resistant familial Mediterranean fever | コルヒチン抵抗性家族性地中海熱 |
| FMF | familial Mediterranean fever | 家族性地中海熱 |
| GTPase | guanosine triphosphatase | グアノシン三リン酸加水分解酵素 |
| HIDS | hyper IgD syndrome | 高 IgD 症候群（別名：メバロン酸キナーゼ欠損症，MKD） |
| Ig | immunoglobulin | 免疫グロブリン |
| IL | interleukin | インターロイキン |
| IL-1Ra | interleukin-1 receptor antagonist | インターロイキン-1 受容体アンタゴニスト |
| MDR | multidrug resistance | 多剤耐性蛋白質 |
| MKD | mevalonate kinase deficiency | メバロン酸キナーゼ欠損症 |
| PK | pharmacokinetics | 薬物動態（学） |
| QOL | quality of life | 生活の質 |
| TNF | tumor necrosis factor | 腫瘍壊死因子 |
| TRAPS | TNF receptor-associated periodic syndrome | TNF 受容体関連周期性症候群 |

# 1 緒言

カナキヌマブ（開発コード：ACZ885）は，ヒトインターロイキン-1β（IL-1β）に対する遺伝子組換えヒト IgG1 モノクローナル抗体であり，IL-1β に結合し IL-1β の IL-1β 受容体への結合を阻害することにより，その活性を中和する。

日本では，イラリス（Ilaris）という製品名で 2011 年 9 月にクリオピリン関連周期性症候群（cryopyrin-associated periodic syndrome，CAPS）に対する治療薬として承認を取得している。今回，CAPS と同じく遺伝性の周期性発熱症候群に属し，病態形成に IL-1β が関与する TNF 受容体関連周期性症候群（TNF receptor-associated periodic syndrome，TRAPS），メバロン酸キナーゼ欠損症（mevalonate kinase deficiency，MKD）／高 IgD 症候群（hyper IgD syndrome，HIDS），家族性地中海熱（familial Mediterranean fever，FMF）に対する治療薬としての効能追加申請を行う。

周期性発熱症候群はさまざまな原因遺伝子によって引き起こされることが報告されており，これらは常染色体優性または常染色体劣性の遺伝形式をとる（Holzinger et al. 2015, Aksentijevich and Kastner 2011）。TRAPS，MKD，及び FMF は，CAPS と同じく原因遺伝子の変異により，インフラマソーム活性化を介して IL-1β の分泌を促進すると考えられている。ヒトにおける IL-1β は発熱誘発物質であり（Elkordy et al. 1997），特発的な発熱の主な要因としてインフラマソーム活性化の調節異常が推察されている。

TRAPS は，I 型 TNF 受容体（以下 TNFRI）をコードする遺伝子である TNFRSF1A の異常によって引き起こされる（Aksentijevich and Kastner 2011）。TRAPS では TNFRI の変異により細胞内輸送機構が破綻しているため，変異蛋白が小胞体内に蓄積する。この小胞体ストレスによってミトコンドリアが刺激され，活性酸素の産生が亢進し，インフラマソームの活性化を介して IL-1β の産生につながると考えられている（Kimberley et al. 2007, Bulua et al. 2011）。近年，TNFRI の遺伝子に変異を導入したマウスでは，細胞内に TNFRI が蓄積し，炎症を悪化させることが報告されている（Simon et al. 2010, Fairclough et al. 2015）。一方で，TRAPS 患者では TNFRSF1A に異常が認められず正常アリルを有している者がいるが，このような患者は TNF の産生亢進により炎症を悪化させていると考えられている。このことから，一部の TRAPS 患者に TNF 阻害薬が奏効すると考えられたが，TNF 阻害による治療効果は持続しないことが報告されている（ter Haar et al. 2015）。Greco らは，TNFRSF1A の異なる遺伝子変異に対する Toll 様受容体及びサイトカイン受容体刺激の作用を *in vitro* で検討した。その結果，遺伝子の変異型によってサイトカイン誘導能及びシグナル伝達経路の活性化に違いがあることを報告している（Greco et al. 2015）。近年，海外の TRAPS 患者を対象とした試験で，カナキヌマブの有効性が報告された（Gattorno et al. 2012）。本臨床試験 D2203 では，小児及び成人の 20 名の TRAPS 患者を対象とし，カナキヌマブ 150 mg 又は 300 mg を 4 週間隔で 4 ヵ月間皮下投与し，追跡調査を行った。そのうち 19 名で投与開始 15 日目に完全／ほぼ完全寛解を達成し，炎症マーカーである血清アミロイド A 及び C 反応性蛋白は正常範囲付近まで有意に減少した。

MKD は HIDS（高 IgD 症候群）とも呼ばれ，メバロン酸キナーゼをコードする MVK 遺伝子の変異が関与する常染色体劣性の代謝疾患である。メバロン酸キナーゼはコレステロール及びイソプレノイド合成経路に重要な酵素である。本酵素の活性が低下すると，メバロン酸が蓄積し，その下流の代謝産物であるファルネシルピロリン酸及びゲラニルゲラニルピロリン酸といったイソプレノイドの欠乏を引き起こす（Normand et al. 2009）。これらイソプレノイドの不足は，small GTPase である Rho の活性低下を引き起こし，また Rac1/プロテインキナーゼ B 活性の上昇を促進することによって，ヒト単核系の細胞から IL-1β の過剰分泌を誘発することが示唆されている（van der Burgh et al. 2013）。MKD 患者から採取した末梢血単核細胞では，炎症性サイトカイン，特に IL-1β の産生が亢進していたことが報告されている（Massonnet et al. 2009）。同様に，メバロン酸代謝経路の阻害剤であるアレンドロン酸をマウスに投与すると，血清中サイトカイン濃度の上昇が認められている（Marcuzzi et al. 2013）。このように，メバロン酸キナーゼの欠乏あるいは活性低下は，炎症性経路の活性化，特にインフラマソームの活性化を介した IL-1β 産生促進を引き起こすものと思われる。このことから，カナキヌマブによる IL-1β の生物活性の中和は，MKD に対する有効な治療標的となることが期待されている（Bodar et al. 2011, Galeotti et al. 2012）。

FMF の原因遺伝子は MEFV であり，その遺伝形式は常染色体劣性である。MEFV の遺伝子産物である pyrin の変異が FMF の病態に深く関わっている（Chae et al. 2006, Stoffels et al. 2014）。Pyrin はインフラマソームに作用し，インフラマソームの活性を負に制御する。そしてインフラマソームは炎症性サイトカインである IL-1β の産生誘導に必要な分子群である。FMF 患者と同じ遺伝子変異をマウスに導入すると，pyrin の変異とともに IL-1β の過剰産生及び自己炎症が誘発されており，FMF 患者から採取した末梢血単核細胞では，リポ多糖の刺激により IL-1β 等の炎症性サイトカインの産生亢進が認められている（Chae et al. 2011, Papin et al. 2007）。Pyrin のインフラマソーム活性調節機構として，自己炎症に関わる蛋白 PSTPIP1 との相互作用，又は直接的なインフラマソームへの作用が考えられている（Aksentijevich and Kastner 2011）。コルヒチンはインフラマソーム活性化や好中球浸潤への抑制作用があることから，FMF の治療に用いられる（Leung et al. 2015, Martínez et al. 2015）。しかしながら，コルヒチンに治療抵抗性を示す FMF 患者も一部存在しており，その機序として MDR1 の遺伝子多型が示唆されている（Tufan et al. 2007）。コルヒチン抵抗性 FMF 患者にアナキンラやカナキヌマブ等の IL-1 阻害薬による治療が試みられ，臨床症状を改善したとの報告がある（Meinzer et al. 2011）。最近のコルヒチン抵抗性 FMF 患者を対象とした小規模オープンラベル試験において，カナキヌマブによる炎症再発の抑制及び QOL の改善が報告されている（Eroglu et al. 2015, Gül et al. 2015）。

以上より，TRAPS，MKD，及び FMF においても CAPS と同様にインフラマソーム活性化を介した IL-1β 産生が病態形成に関与すると考えられ，カナキヌマブは，これらの疾患における IL-1β の過剰産生による慢性的な炎症反応や進行性の組織障害を抑制することが期待される。

# 2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性

カナキヌマブに関する非臨床試験として実施した薬理試験，薬物動態試験，及び毒性試験の成績は，先の承認申請時（CAPS）に提出済みであり，既に評価されている。今回の TRAPS，MKD，及び FMF に対する適応追加申請に際しては，TRAPS，MKD，及び FMF 患者の曝露量を用いた血清中濃度比について記載した。

# 3 薬理試験

CAPS を適応症とした承認申請資料において，カナキヌマブはヒト及びマーモセットの IL-1β に特異的に結合し，IL-1β 以外のヒト IL-1 ファミリー（IL-1α，IL-1Ra，IL-1F4，IL-1F5，IL-1F6，IL-1F7，IL-1F8，IL-1F9，及び IL-1F11）との交差反応性がないこと，さらにヒト IL-1β 誘発性のマウスモデルで炎症の発現を抑制し，ラットではヒト IL-1β の投与による発熱を抑制することを報告している（1.13.1-1-2.6.2）。カナキヌマブを用いて適切に評価できる TRAPS，MKD，及び FMF の動物モデルは確立されていないことから，新たに「効力を裏付ける試験」は実施していない。

# 4 薬物動態試験

カナキヌマブに関する新たな非臨床薬物動態試験は実施していない。

# 5 毒性試験

カナキヌマブに関する新たな非臨床毒性試験は実施していない。患者におけるヒト推定曝露量とマーモセットの無毒性量における全身暴露量との比較を以下に示す。

## 5.1 全身曝露量の比較

TRAPS，MKD，又はコルヒチン抵抗性あるいは不耐容の FMF（colchicine resistant familiar Mediterranean fever，crFMF）患者を対象とした N2301 試験及び TRAPS 患者を対象とした D2203 試験，並びに CAPS 患者での第 III 相試験（D2304 試験，D2306 試験，D2308 試験）より得られた血清中カナキヌマブ濃度を用いて母集団 PK 解析を行った [2.7.2-2.4 項]。推定された PK パラメータを用いて，体重 55 kg の患者（母集団 PK 解析に用いた患者の体重の中央値）に 150 mg の用量で 4 週間隔で皮下投与したときの定状状態における平均濃度（Cav,ss）を算出した。

ヒトの推定曝露量と，マーモセットの無毒性量における曝露量との比較をTable 5-1に示す。マーモセットを用いた 13 週間反復皮下投与毒性試験及び 26 週間反復静脈内投与毒性試験の無毒性量における血清中濃度は，ヒト予定投与初回用量である 150 mg を投与したときの血清中濃度と比較して，89 及び 114 倍（Cav,ss）であった。

**Table 5-1 マーモセット及びヒトにおける血清中濃度の比較**

| ヒト投与量（4 週に 1 回，皮下投与） | ヒト推定値 [a] | マーモセット実測値／ヒト推定値 | |
|---|---|---|---|
| | Cav,ss (μg/mL) | マーモセット皮下投与 [b] 150 mg/kg | マーモセット静脈内投与 [c] 100 mg/kg |
| | | Cav,ss | Cav,ss |
| 150 mg | 22.7 | 89 | 114 |

Source : 1.13.1-1-2.6.6

a 150 mg の用量で 4 週に 1 回皮下投与したときのデータに基づく母集団 PK モデルで得られた値

b マーモセット 13 週間反復皮下投与毒性試験（0470033）：150 mg/kg までのカナキヌマブを週 2 回，13 週間反復皮下投与，Cav,ss；2023 μg/mL（AUC0-24h より算出，雌雄の平均）

c マーモセット 26 週間反復静脈内投与毒性試験（0380070）：100 mg/kg までのカナキヌマブを週 2 回，26 週間反復静脈内投与，Cav,ss； 2579 μg/mL（AUC0.083-96h より算出，雌雄の平均）

# 6 不純物及び分解物

該当資料なし

# 7 安全性の総合評価

先の承認申請時に提出したとおり，カナキヌマブ及び 01BSUR（マウス相同抗体）の最長 13 週間（皮下投与）または 26 週間（静脈内投与）までの反復投与毒性試験，生殖発生毒性試験（胚・胎児発生，受胎能及び着床までの初期胚発生，出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験），幼若動物を用いた毒性試験，局所刺激性試験，及び免疫毒性試験において，毒性学的意義のある変化はみられなかった。マーモセットを用いた 13 週間反復皮下投与及び 26 週間反復静脈内投与毒性試験での無毒性量における曝露量は，臨床用量の 150 mg を 4 週に 1 回皮下投与した患者における推定曝露量の 89 及び 114 倍（Cav,ss）であった。これらの非臨床安全性成績及び曝露量比は，予定された用法用量に従った TRAPS，MKD，及び FMF の患者への投与を支持するものと考えられた。

# 8 結論

非臨床薬理学的評価により，カナキヌマブがヒト IL-1β の生物活性を強力かつ選択的に中和することが示されている。IL-1β は周期性発熱症候群の病態に関与することから，カナキヌマブは TRAPS，MKD，及び FMF の治療薬として薬効を示すことが期待される。また，非臨床安全性試験成績及び曝露量比から，カナキヌマブを予定された用法・用量に従って使用することは妥当と考えられた。

# 9 参考文献

[Aksentijevich I and Kastner DL (2011)] Genetics of monogenic autoinflammatory diseases: past successes, future challenges. Nat Rev Rheumatol; 7(8):469-78.

[Bodar EJ, Kuijk LM, Drenth JP, et al. (2011)] On-demand anakinra treatment is effective in mevalonate kinase deficiency. Ann Rheum Dis; 70(12):2155-8.

[Bulua AC, Simon A, Maddipati R, et al. (2011)] Mitochondrial reactive oxygen species promote production of proinflammatory cytokines and are elevated in TNFR1-associated periodic syndrome (TRAPS). J Exp Med; 208(3):519-33.

[Chae JJ, Wood G, Masters SL, et al. (2006)] The B30.2 domain of pyrin, the familial Mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1beta production. Proc Natl Acad Sci USA; 103(26):9982-7.

[Chae JJ, Cho YH, Lee GS, et al. (2011)] Gain-of-function Pyrin mutations induce NLRP3 protein-independent interleukin-1β activation and severe autoinflammation in mice. Immunity; 34(5):755-68.

[Elkordy M, Crump M, Vredenburgh JJ, et al. (1997)] A phase I trial of recombinant human interleukin-1β (OCT-43) following high-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation. Bone Marrow Transplant; 19(4):315-22.

[Eroglu FK, Beşbaş N, Topaloglu R, et al. (2015)] Treatment of colchicine-resistant Familial Mediterranean fever in children and adolescents. Rheumatol Int; 35(10):1733-7.

[Fairclough LC, Stoop AA, Negm OH, et al. (2015)] Tumour necrosis factor receptor I blockade shows that TNF-dependent and TNF-independent mechanisms synergise in TNF receptor associated periodic syndrome. Eur J Immunol; 45(10):2937-44.

[Galeotti C, Meinzer U, Quartier P, et al. (2012)] Efficacy of interleukin-1-targeting drugs in mevalonate kinase deficiency. Rheumatology (Oxford); 51(10):1855-9.

[Gattorno M, Obici L, Meini A, et al. (2012)] Efficacy and Safety of Canakinumab in Patients with TNF Receptor Associated Periodic Syndrome. Arthritis Rheum; 64(s10):s322.

[Greco E, Aita A, Galozzi P, et al. (2015)] The novel S59P mutation in the TNFRSF1A gene identified in an adult onset TNF receptor associated periodic syndrome (TRAPS) constitutively activates NF-κB pathway. Arthritis Res Ther; 17:93.

[Gül A, Ozdogan H, Erer B, et al. (2015)] Efficacy and safety of canakinumab in adolescents and adults with colchicine-resistant familial Mediterranean fever. Arthritis Res Ther; 17(1):243.

[Holzinger D, Kessel C, Omenetti A, et al. (2015)] From bench to bedside and back again: translational research in autoinflammation. Nat Rev Rheumatol; 11(10):573-85.

[Kimberley FC, Lobito AA, Siegel RM, et al. (2007)] Falling into TRAPS - receptor misfolding in the TNF receptor 1-associated periodic fever syndrome. Arthritis Res Ther; 9(4):217.

[Leung YY, Yao Hui LL, Kraus VB (2015)] Colchicine - Update on mechanisms of action and therapeutic uses. Semin Arthritis Rheum; 45(3):341-50.

[Marcuzzi A, Zanin V, Kleiner G, et al. (2013)] Mouse model of mevalonate kinase deficiency: comparison of cytokine and chemokine profile with that of human patients. Pediatr Res; 1-6.

[Martínez GJ, Robertson S, Barraclough J, et al. (2015)] Colchicine Acutely Suppresses Local Cardiac Production of Inflammatory Cytokines in Patients With an Acute Coronary Syndrome. J Am Heart Assoc; 4(8):1-10.

[Massonnet B, Normand S, Moschitz R, et al. (2009)] Pharmacological inhibitors of the mevalonate pathway activate pro-IL-1 processing and IL-1 release by human monocytes. Eur Cytokine Netw; 20(3):112-20.

[Meinzer U, Quartier P, Alexandra JF, et al. (2011)] Interleukin-1 targeting drugs in familial Mediterranean fever: a case series and a review of the literature. Semin Arthritis Rheum; 41(2):265-71.

[Normand S, Massonnet B, Delwail A, et al. (2009)] Specific increase in caspase-1 activity and secretion of IL-1 family cytokines: a putative link between mevalonate kinase deficiency and inflammation. Eur Cytokine Netw; 20(3):101-7.

[Papin S, Cuenin S, Agostini L, et al. (2007)] The SPRY domain of Pyrin, mutated in familial Mediterranean fever patients, interacts with inflammasome components and inhibits proIL-1beta processing. Cell Death Differ; 14(8):1457-66.

[Simon A, Park H, Maddipati R, et al. (2010)] Concerted action of wild-type and mutant TNF receptors enhances inflammation in TNF receptor 1-associated periodic fever syndrome. Proc Natl Acad Sci USA; 107(21):9801-6.

[Stoffels M, Szperl A, Simon A, et al. (2014)] MEFV mutations affecting pyrin amino acid 577 cause autosomal dominant autoinflammatory disease. Ann Rheum Dis; 73(2):455-61.

[ter Haar NM, Oswald M, Jeyaratnam J, et al. (2015)] Recommendations for the management of autoinflammatory diseases. Ann Rheum Dis; 74(9):1636-44.

[Tufan A, Babaoglu MO, Akdogan A, et al. (2007)] Association of drug transporter gene ABCB1 (MDR1) 3435C to T polymorphism with colchicine response in familial Mediterranean fever. J Rheumatol; 34(7):1540-4.

[van der Burgh R, ter Haar NM, Boes ML, et al. (2013)] Mevalonate kinase deficiency, a metabolic autoinflammatory disease. Clin Immunol; 147(3):197-206.