サノフィ株式会社

デュピルマブ（遺伝子組換え）

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.4 非臨床試験の概括評価

Total number of pages: 37

目　　次

略号と用語の定義 5

1　非臨床試験計画概略 8

1.1　アトピー性皮膚炎の病態における IL-4 及び IL-13 の役割 8

1.2　デュピルマブ及び IL-4Rα 相同抗体（REGN1103 及び REGN646） 10

1.3　試験計画 12

2　薬理試験 14

2.1　デュピルマブ 14

2.2　マウス相同抗体（M2M1869N 及び REGN1103） 15

2.3　REGN646 16

2.4　安全性薬理試験 17

2.4.1　中枢神経系 17

2.4.2　心血管系 17

2.4.3　呼吸系 17

3　薬物動態試験 18

3.1　ラット及びサルを用いたデュピルマブの PK 試験 18

3.2　マウスを用いた REGN1103 の PK 試験 19

3.3　カニクイザルを用いた REGN646 の PK 試験 19

4　毒性試験 21

4.1　反復投与毒性試験 22

4.2 生殖発生毒性試験 23

4.3 曝露量及び抗薬物抗体産生 25

4.4 その他の毒性試験 26

5 総括及び結論 27

6 参考文献一覧 32

7 付録 36

7.1 付録 1-データ欠損の理由 36

表　目　次

表 1 - デュピルマブ、マウス相同抗体 M2M1869N 及び REGN1103、カニクイザル相同抗体 REGN646 の結合パラメータ 12

表 2 - デュピルマブの相同抗体 REGN1103 及び REGN646 についての毒性試験一覧 21

表 3 - GLP 適用のサルを用いた反復投与毒性試験の NOAEL における REGN646 への曝露量の要約..... 23

表 4 - ヒト試験におけるデュピルマブ曝露量比と相同抗体曝露量比の要約 31

図　目　次

図 1 - IL-4 及び IL-13 受容体系 10

略号と用語の定義

AD	Atopic Dermatitis／アトピー性皮膚炎
ADA	Anti-Drug Antibody／抗薬物抗体
ADCC	Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity／抗体依存性細胞傷害
AR	Allergic Rhinitis／アレルギー性鼻炎
AUC	Area Under the Concentration-Time Curve／濃度－時間曲線下面積
CCL17	Chemokine (C-C motif) Ligand 17／ケモカイン（C-C モチーフ）リガンド 17
CDC	Complement Dependent Cytotoxicity／補体依存性細胞傷害
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use／欧州医薬品庁ヒト用医薬品委員会
CHO	Chinese Hamster Ovary／チャイニーズハムスター卵巣
CNS	Central Nervous System／中枢神経系
C_{max}	Maximum serum concentration／最高血清中濃度
C_{trough}	Serum trough concentration／血清中トラフ濃度
EC_{50}	Half Maximal Effective Concentration／50%有効濃度
ECG	Electrocardiogram／心電図
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay／酵素結合免疫吸着測定法
EMA	European Medicines Agency／欧州医薬品庁
ePPND	Enhanced pre-/post-natal Developmental toxicology study／拡充型出生前及び出生後の発生毒性試験
Fc	Fragment crystallizable／Fc 領域
FDA	Food and Drug Administration／米国食品医薬品局
γc	Common gamma chain／共通ガンマ鎖
GLP	Good Laboratory Practice／医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HDM	House Dust Mite／チリダニ

hIL-4	Human IL-4／ヒト IL-4
hIL-4Rα	Human IL-4 receptor alpha subunit／ヒト IL-4 受容体 α サブユニット
IC_{50}	Half Maximal Inhibitory Concentration／50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonisation／日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IgE	Immunoglobulin E／免疫グロブリン E
IgG	Immunoglobulin G／免疫グロブリン G
IL-4	Interleukin 4／インターロイキン-4
IL-13	Interleukin 13／インターロイキン-13
ILC2	Innate lymphoid cells, group 2／グループ 2 自然リンパ球
IL-4Rα	IL-4 Receptor alpha subunit／IL-4 受容体 α サブユニット
IL-13Rα1	IL-13 Receptor alpha 1 subunit／IL-13 受容体 α1 サブユニット
INN	International Nonproprietary Name／国際一般名
IV	Intravenous／静脈内
LLOQ	Lower Limit Of Quantification／定量下限
mAb	Monoclonal antibody／モノクローナル抗体
Mf	*Macaca fascicularis,* cynomolgus monkey／カニクイザル
MfIL-4Rα	Cynomolgus monkey IL-4R alpha／カニクイザル IL-4Rα
mIL-4Rα	Mouse IL-4R alpha／マウス IL-4Rα
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect-Level／無毒性量
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell／末梢血単核球
PK	Pharmacokinetics／薬物動態
RLU	Relative Light Units／相対発光量
SC	Subcutaneous／皮下
SPR	Surface Plasmon Resonance／表面プラズモン共鳴
STAT6	Signal Transducer and Activator of Transcription 6／シグナル伝達兼転写活性化因子 6
$t_{1/2}$	Half Life／消失半減期
TARC	Thymus and Activation-Regulated Chemokine／胸腺及び活性化制御ケモカイン

TDAR	T cell-Dependent Antibody Response／T 細胞依存性抗体産生
T_H2	T helper 2／2 型ヘルパーT 細胞
TK	Toxicokinetics／トキシコキネティクス
TSLP	Thymic Stromal Lymphopoietin／胸腺間質性リンホポエチン

1　非臨床試験計画概略

デュピルマブは、ヒトインターロイキン-4（IL-4）/インターロイキン-13（IL-13）受容体構成要素のヒトIL-4受容体αサブユニット（hIL-4Rα）に特異的に結合し、IL-4及びIL-13の両シグナル伝達を阻害する完全ヒトモノクローナル抗体（mAb）である。デュピルマブは、げっ歯類及びヒト以外の霊長類のIL-4Rαに十分に結合しないため、これら動物種におけるIL-4Rα阻害作用についての検討には、相同抗体（マウスIL-4Rαに対するM2M1869N、REGN1103及びカニクイザルIL-4Rαに対するREGN646）を作製して使用した。

アトピー性皮膚炎（AD）は、IL-4及びIL-13シグナル伝達経路が重要な役割を担う病態の1つである。ADに対するデュピルマブの使用を裏付けるため、デュピルマブ又は相同抗体の薬理、薬物生体内分布及び非臨床安全性プロファイルを評価した。マウス及びカニクイザルにおいて、IL-4Rα阻害作用が最大となる用量の相同抗体の投与によっても、安全性上の問題は認められなかった。また、その他の非臨床試験結果からも、デュピルマブの臨床試験実施の妥当性が裏付けられた。これらの薬理試験、薬物動態（PK）試験及び毒性試験の結果の詳細及び考察は、それぞれ、Module 2.6.2、2.6.4、及び2.6.6項に示した。

本資料においては、国際一般名（INN）であるデュピルマブを主に用いたが、SAR231893（サノフィ社の開発コード）又はREGN668（Regeneron社の開発コード）も、報告書などにおいて使用した。非臨床毒性試験は、ICHガイダンス：S6（R1）バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価（2012）及び、必要に応じて、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に基づいて実施した。

なお、S3*　製造工程で製造されたデュピルマブ製剤には、[redacted]不純物としてA*　[redacted]が含まれていた。A*　[redacted]は、[redacted]デュピルマブの第IIb相試験及び第III相試験で用いた被験物質中に[redacted]ppm[redacted]含まれていた。3000例以上の患者において、75 mg/週～300 mg/週（A*　[redacted]週～[redacted]週）の用量範囲で最長2年間投与（N=12）して得られた既存の臨床安全性データから、A*　[redacted]の存在によってデュピルマブの安全性及び有効性は影響を受けないことが示されている（[Module 2.7.4]項）。

1.1　アトピー性皮膚炎の病態におけるIL-4及びIL-13の役割

ADは、皮膚の重度そう痒性（かゆみ）及び鱗屑性の乾燥性湿疹病変を特徴とする全身性の慢性又は再発性炎症性アレルギー疾患であり、しばしば食物アレルギー、アレルギー性鼻炎（AR）、及び喘息などのその他のアトピー性疾患を伴う(1)。ADの症状には、上述の乾燥性・鱗屑性・そう痒性皮疹（分泌液や滲出液を伴う場合がある）に加え、皮膚感染、皮膚肥厚などがある(2)。成人AD患者の約10%は、重大な心理的問題や重度の不眠による極度の障害を有する重度のADに罹患しており、生活の質の低下や高い社会経済的コストの原因となっている。ADの病態生理は、免疫系と環境要因との間の複雑な相互作用によって影響を受けている。ADの発症及び病態進行機序の仮説としては、競合

＊新薬承認情報提供時に置換

する 2 つの仮説が存在する。「アウトサイドーインモデル」（outside-in model）では、上皮細胞の遺伝的欠陥によって皮膚機能が損なわれ、皮膚バリアが脆弱化して感作、AD に至ると考えられており、「インサイドーアウトモデル」（inside-out model）では、免疫異常によって個体が免疫グロブリン E（IgE）を介して感作されやすくなり、AD に至ると考えられている(3)。

現在の AD 治療薬は、保湿剤、外用ステロイド薬、カルシニューリン阻害薬などであるが(4)(5)、中等症から重症の疾患における有効性は十分ではなく(6)(7)、多くの患者では、長期疾患コントロールのための安全かつ有効な選択肢がないために、疾患コントロールが不十分なままである(8)(9)。例えば、外用ステロイド薬治療は、多くの患者に急速な症状緩和をもたらすが、外用ステロイド薬による安全性上の問題のために、長期使用が制限される(10)(11)(12)。

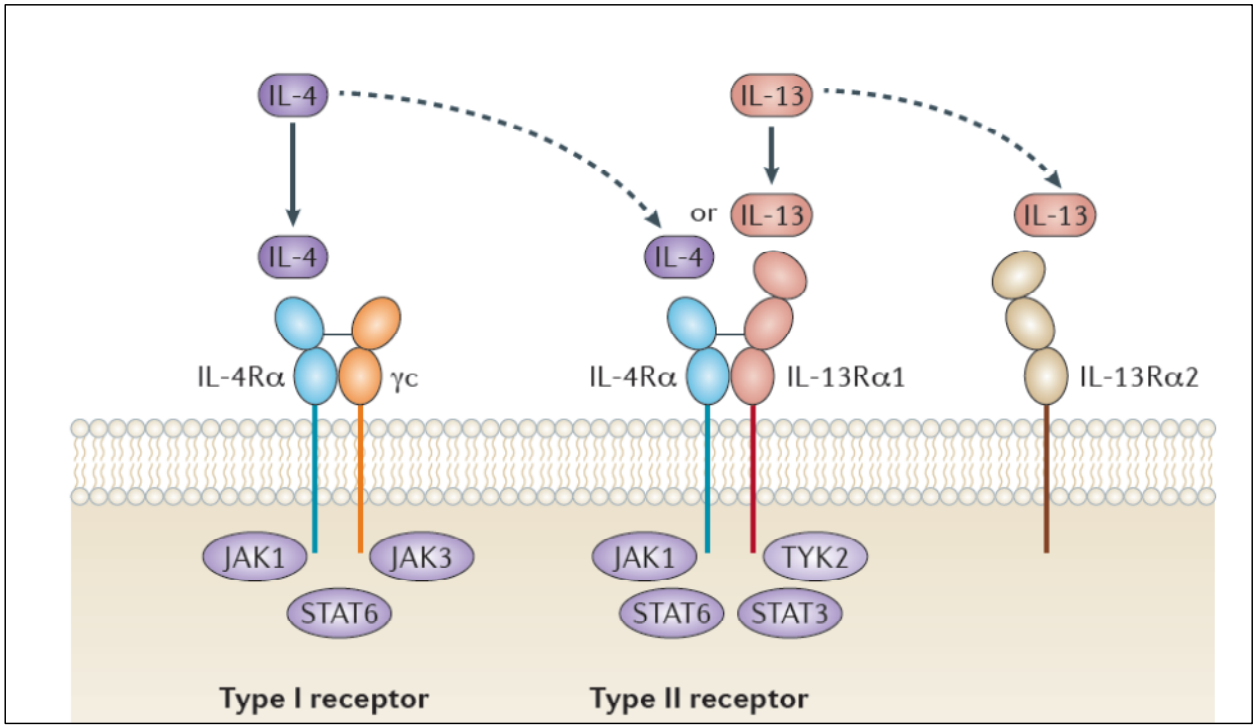
AD は、慢性又は過剰に活性化した 2 型免疫応答と関連し、多くの場合がアレルゲン応答によって惹起される病態（喘息、鼻ポリポーシス、AR、好酸球性食道炎、食物アレルギーなど）の 1 つである。2 型免疫応答には、自然免疫系と適応免疫系の協力作用が関与する。適応免疫応答は、B 細胞及び $CD4^+$ 2 型ヘルパーT 細胞（T_H2）の動員、活性化及び増殖、並びに B 細胞による IgE 及び免疫グロブリン G（IgG4［ヒト］若しくは IgG1［マウス］）抗体サブクラスの産生を特徴とする。自然免疫応答は、グループ 2 自然リンパ球（ILC2）、好酸球、好塩基球、肥満細胞、及び IL-4 若しくは IL-13 活性化マクロファージの活性化を伴う。いずれの応答も、IL-4、IL-5、IL-9、IL-13、胸腺及び活性化制御ケモカイン（TARC）といった複数のサイトカイン・ケモカインメディエーターのアップレギュレーション、並びに上皮性サイトカイン、胸腺間質性リンホポエチン（TSLP）、IL-25 及び IL-33 の増加を伴う(13)。

多くの AD 患者においては、全身性及び病変皮膚に 2 型炎症、すなわち、血中 IgE 濃度の上昇、並びに好酸球、好塩基球、ILC2 及び肥満細胞の増加、複数の 2 型サイトカイン・ケモカイン（TSLP、TARC、IL-4、IL-5、IL-13 など）の顕著な増加が認められる (3)(14)。IL-4 及び IL-13 は、2 型免疫応答の惹起及び維持に必要とされる主要なサイトカインである。IL-4 は T_H2 細胞の分化に重要であり、IgE 受容体（B 細胞上の CD23 など）を増加させる。これら両サイトカインの作用は、アレルギー性炎症の誘導期及び作用発現期において重要であり、好酸球促進因子（IL-5、エオタキシンなど）の産生を誘発することによって、エフェクター細胞（肥満細胞、好塩基球、好酸球など）の活性化及び血中から炎症部位への好酸球の遊走をもたらす(15)(16)。また、IL-4 シグナル伝達経路及び、より程度は少ないが IL-13 シグナル伝達経路の活性化によって、IgE 産生及び IgG1（マウス）若しくは IgG4（ヒト）産生への B 細胞免疫グロブリンのクラススイッチが促進される(17)(18)(19)(20)(21)(22)(23)。IL-4 及び IL-13 は、いずれも喘息患者及び AD 患者において高値を示し(24)(25)、皮膚バリア機能に関与するタンパク質（フィラグリン、ロリクリン、インボルクリンなど）レベルを低下させることによって AD の炎症反応の遷延化にも関与している(26)(27)。

IL-4/IL-13 受容体系は、異なる 2 つのヘテロ二量体シグナル伝達受容体によって制御されている（図 1）。IL-4 は、IL-4Rα サブユニット及び共通ガンマ鎖（γc）（別名 IL-2Rγ）で構成される I 型受容体複合体を介してシグナル伝達するが、IL-4 及び IL-13 は、IL-4Rα サブユニット及び IL-13 受容体 α1（IL-13Rα1）サブユニットで構成される II 型受容体複合体を介してシグナル伝達する。I 型受容体は主に造血系細胞（リンパ球、単球、マクロファージ、好酸球など）に局在しているが、II 型受容体は広範に分布し、

線維芽細胞、平滑筋細胞及び上皮細胞に発現している。また、骨髄系細胞及び活性化 B 細胞では、I 型受容体及び II 型受容体が共発現する(28)(29)。

図 1 - IL-4 及び IL-13 受容体系



IL-4 及び IL-13 の機能には異なるものと重複するものがあるが、これは、これらの受容体構成要素 IL-4Rα が共通することが一因である。I 型受容体は IL-4 のみと結合するが、II 型受容体複合体（IL-4Rα 及び IL-13Rα1）は、IL-13 の主受容体であるのみではなく、IL-4 とも結合する。IL-13 は別の受容体（IL-13Rα2）にも結合するが、その機能については不明である。Ghandi(13)の図を引用。

AD において IL-4 及び IL-13 サイトカインが重要であることは、疾患に関連して各種細胞から IL-4 及び IL-13 が遊離すること、hIL-4Rα 多型と IgE 濃度上昇及び疾患重症度の増加が相関していることなどの知見によって裏付けられている(30)(31)(32)(33)。また、ヒト単離 B 細胞において、AD に伴い、IL-4 によって CD23（FcεRII）発現が増加することも明らかにされている(30)。そのほかに、IL-4Rα、IL-4 又は IL-13 の遺伝子ノックアウトマウスにおいて、アレルゲン感作に対する IgE 反応の消失及び T_H2 細胞分化の著しい低下がみられる知見からも裏付けられている(19)(34)(35)(36)(37)。

1.2 デュピルマブ及び IL-4Rα 相同抗体（REGN1103 及び REGN646）

Regeneron 社は、AD 患者の治療を目的として、完全ヒト抗 IL-4Rα mAb であるデュピルマブを開発した。デュピルマブは、hIL-4Rα に高親和性で結合し、IL-4 及び IL-13 を介した両シグナル伝達を阻害することにより、炎症誘発性メディエーターの分泌を抑制する。

デュピルマブは、IgG1 ヒンジ配列（CPPC）を再現して IgG4 を安定化するために、ヒンジ領域のセリンをプロリン（EU 番号 S228P、アクセッション番号 P01861）にアミノ酸置換した完全ヒト IgG4 抗体（$IgG4^P$ と称す）である。デュピルマブは、Regeneron 社の [redacted] プラットフォームを用いて作製され(38)(39)、細胞表面に存在するヘテロ二量体の I 型受容体（IL-4 シグナル伝達）及び II 型受容体（IL-4/IL-13 シグナル伝達）に共通する hIL-4Rα サブユニットに特異的に結合する。チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞株において抗体を作製するために、選択した抗 IL-4Rα ハイブリドーマから得たヒト可変領域を、ヒト定常領域を含有する発現ベクター内でクローン化した。このため、作製される mAb は、完全にヒト配列から得られる。デュピルマブは、ヒト κ 型軽鎖とそれぞれジスルフィド結合を介して共有結合している同一のヒト重鎖 2 本がジスルフィド結合によって結合している共有結合性のヘテロ 4 量体である。本抗体の IL-4Rα 結合部位を形成するために、重鎖及び軽鎖の可変領域を組み合わせている。

表 1に示すように、*in vitro* 結合試験から、デュピルマブは、hIL-4Rα 単量体に高親和性で結合するが、マウス IL-4Rα（mIL-4Rα）への結合は検出されず、カニクイザル（*Macaca fascicularis*）IL-4Rα（MfIL-4Rα）への結合は非常に弱いことが示された。また、デュピルマブは、アカゲザル（*Macaca mulatta*）及びコモンマーモセット（*Callithrix jacchus*）の IL-4Rα 単量体に対しても、MfIL-4Rα への結合親和性と同程度の弱い結合親和性しか示さなかった（それぞれ、$K_D = 5.76 \times 10^{-7}$ mol/L 及び $K_D = 1.19 \times 10^{-6}$ mol/L）。このため、これらの動物種を用いてデュピルマブの毒性試験を実施することは不適切であると考えられた。そこで、mIL-4Rα 特異的なマウス相同抗体及び MfIL-4Rα 特異的なサル相同抗体を作製した。マウス相同抗体として、M2M1869N 及び REGN1103 を作製した。SPR-Biacore 結合分析において、REGN1103 は M2M1869N よりも mIL-4Rα 単量体に高親和性に結合したため、マウスにおける毒性評価には REGN1103 を用いた。REGN1103 はマウス IgG1 抗体である。マウス IgG1 は Fc 領域（Fc）がヒト $IgG4^P$ と類似しているため選択された。したがって、REGN1103 は、デュピルマブと同様に、Fcγ 受容体結合能及びそれを介したエフェクター機能が低いと予想された。サル相同抗体として、MfIL-4Rα 単量体に高親和性に結合した REGN646 を作製した。REGN646 の Fc はデュピルマブと同一である。

REGN1103 及び REGN646 は、それぞれマウス及びカニクイザル IL-4Rα に結合し、その親和性はデュピルマブの hIL-4Rα に対する親和性と同程度であった。また、マウス及びカニクイザルの細胞を用いた *in vitro* アッセイにおいて、REGN1103 及び REGN646 は、IL-4 及び IL-13 シグナル伝達を阻害した。これら相同抗体の結合特性及び機能的特性は、デュピルマブの hIL-4Rα に対する結合特性及び機能的特性とほぼ同様であることから、両相同抗体をそれぞれの動物種で検討することにより、デュピルマブの薬理及び安全性を評価する上で生物学的意義のある情報が得られると考えられた。

表 1 - デュピルマブ、マウス相同抗体 M2M1869N 及び REGN1103、カニクイザル相同抗体 REGN646 の結合パラメータ

mAb	マウス IL-4Rα 単量体（K_D、mol/L）	サル IL-4Rα（K_D、mol/L）		ヒト IL-4Rα（K_D、mol/L）	
		単量体	二量体[a]	単量体	二量体[a]
M2M1869N	640×10^{-12}	NT	NT	NT	NT
REGN1103	86.7×10^{-12}	NT	NT	NT	NT
REGN646	NB	2.5×10^{-9}	31.0×10^{-12}	NB	NB
デュピルマブ	NB	8.3×10^{-7}	5.3×10^{-9}	33×10^{-12}	12×10^{-12}

定義：NT = 検討せず、NB = 試験条件下で結合は検出されなかった

a SPR-Biacore 結合分析における組換え IL-4Rα 二量体タンパク質へのデュピルマブ及び REGN646 の結合は、抗体の結合活性による細胞表面 IL-4Rα への結合をより正確に示すものである。

1.3 試験計画

In vitro において mAb としてのデュピルマブの IL-4Rα 阻害作用を評価すること、及び 2 型炎症疾患モデルにおいて *in vivo* での有効性を示すことを目的として、試験を計画した。マウス及びカニクイザル IL-4Rα に対する各相同抗体（M2M1869N、REGN1103 及び REGN646）についても、デュピルマブと同様に、*in vitro* 及び *in vivo* 非臨床薬理試験において有効性及び生物学的性質を明らかにした。REGN1103 及び REGN646 がデュピルマブの相同抗体として適切であることを示す試験結果により、これらの抗体を、IL-4Rα 阻害作用の安全性を評価する毒性試験に用いることの妥当性が裏付けられた。毒性試験の結果、デュピルマブの臨床試験実施の妥当性が裏付けられた。

非 GLP 試験でラット及びサルにデュピルマブを単回静脈内及び皮下投与したときの血清中総デュピルマブの標的非依存性の PK プロファイルを評価するとともに、カニクイザルに相同抗体である REGN646 を静脈内及び皮下投与したときの PK プロファイルを評価した。また、GLP 毒性試験の一部として、マウス及びカニクイザルにそれぞれ REGN1103 及び REGN646 を投与したときの全身曝露量を算出するため、TK を評価した。GLP 非適用の PK 試験及び毒性試験はすべて、GLP の一般原則に基づき実施され、試験実施中に記録された逸脱は軽微なもので、試験の完全性又は結果の解釈に悪影響を及ぼすと考えられるものはなかった。すべての薬理試験は試験実施施設の内部手続き及び手順に従って実施され、結果の信頼性及び解釈に影響するような不測の事態は認められなかった。独立した GLP 適用の安全性薬理試験は実施しなかったが、ICH S6(R1)に従い、心血管系、呼吸系及び中枢神経系（CNS）に対する影響は、カニクイザルに相同抗体である REGN646 を投与した GLP 適用の反復投与毒性試験において評価した。

マウス（探索的 5 週間皮下投与）及びカニクイザル（5 週間静脈内投与、13 週間皮下投与及び 6 ヵ月間静脈内又は皮下投与）における反復投与毒性試験を、それぞれマウス相同抗体 REGN1103 及びサル相同抗体 REGN646 を用いて実施した。これらの試験の投与経路は、デュピルマブの臨床投与経路（皮下）及び、REGN646 の曝露量を最大にする目的（静脈内）で選択した。相同抗体を用いた毒性試

験で得られた血清中トラフ濃度（C_{trough}）は、*ex vivo* 細胞ベースアッセイで算出された IC_{90} 値より大幅に高かったことから、標的の飽和が確認された。また、REGN646 の曝露量に対する抗薬物抗体（ADA）の影響、及び ADA 産生に関連する毒性の有無を評価するため、毒性試験で抗体価を測定した。マウスを用いた REGN1103 の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験並びにカニクイザルを用いた REGN646 の拡充型出生前及び出生後の発生毒性（ePPND）試験を実施した。最後に、デュピルマブ及び REGN646 について、それぞれ正常ヒト組織及び正常カニクイザル組織を用いた *in vitro* 組織交差反応性試験を実施した。

動物を用いた薬理試験及び毒性試験において、デュピルマブ及びその相同抗体に関する依存性及び乱用性を示唆するエビデンスは認められなかったため、薬物乱用性評価試験は実施しなかった。すなわち、いずれの毒性試験においても、行動変化や CNS の病理学的変化はみられなかった。*Ex vivo* 試験において、デュピルマブはヒト CNS 組織に特異的な結合を示さず、乱用性に関連する受容体及びトランスポーターに対するデュピルマブの結合のエビデンスは認められなかった。デュピルマブの分子量は約 150 kDa であるため、血液脳関門通過の可能性は低いこと、mAb は分解により代謝されて、ほとんど生物学的活性を有さない小ペプチド及び個々のアミノ酸になるため、薬物依存性及び乱用性は低いことが一般的に認識されている。

他の非臨床試験（薬物間相互作用試験、代謝及び排泄試験、遺伝毒性試験など）は、予定している適応症に関するデュピルマブの承認申請には該当しないか又は必要でないため、実施しなかった。これらの試験を実施しなかった理由を7.1項に示す。

動物を用いた毒性試験結果及び IL-4/IL-13 受容体に関する薬理作用の文献評価による重要性に基づいたがん原性リスク評価により、デュピルマブによるがんリスクの増加はないと考えられた。したがって、デュピルマブのがん原性を評価するための非臨床試験は必要ないと考えられた。欧州医薬品庁（EMA）、欧州医薬品庁ヒト用医薬品委員会（CHMP）、カナダ保健省及び米国 FDA は、このリスク評価を審査した結果、[redacted]と判断した。

2 薬理試験

デュピルマブ並びに相同抗体 M2M1869N、REGN1103 及び REGN646 の生物学的特性を明らかにするため、ヒト、マウス及びサル由来の標本もしくは細胞を用いた *in vitro* 薬理試験を実施した。デュピルマブの IL-4Rα 阻害作用による *in vivo* 薬理作用は、ヒト IL-4（hIL-4）及び hIL-4Rα 外部ドメインを発現する二重ヒト化（*Il4ra*$^{hu/hu}$ *Il4*$^{hu/hu}$）マウスを用いて評価した。M2M1869N、REGN1103 については、野生型 Balb/c マウスを用いて評価した（[Module 2.6.2] 項）。

2.1 デュピルマブ

表面プラズモン共鳴（SPR）を用いた Biacore 結合分析及びフローサイトメトリーによって、デュピルマブがその標的抗原（IL-4Rα）に結合することが確認された。デュピルマブは、hIL-4Rα 単量体及び二量体にそれぞれ K_D 値 33 pmol/L 及び 12 pmol/L で結合するが（表 1）、mIL-4Rα には結合せず、ヒト以外の霊長類（カニクイザル、アカゲザル及びコモンマーモセット）の IL-4Rα への親和性は非常に弱かった。フローサイトメトリー試験では、デュピルマブは、リンパ球表面の内因性 hIL-4Rα に結合するが、ヒト以外の霊長類のリンパ球細胞表面の天然 IL-4Rα には結合しないことが示された。また、Biacore 結合分析では、デュピルマブは、固定化した hIL-4Rα への hIL-4 の結合を阻害することが示された。

I 型及び II 型受容体を介した IL-4 シグナル伝達、並びに II 型受容体を介した IL-13 シグナル伝達に対するデュピルマブの阻害効果を評価するために、細胞を用いた *in vitro* アッセイを実施した。レポーター技術を用いたアッセイにおいて、デュピルマブは hIL-4 及び hIL-13 を介した両 STAT6 シグナル伝達を阻害した。また、デュピルマブは、I 型及び II 型受容体を発現するヒト末梢血単核球（PBMC）、並びに I 型受容体のみを発現する Ramos Burkitt 細胞において、IL-4 を介した B 細胞活性化マーカー（CD23）のアップレギュレーションを阻害した。ヒト全血では、デュピルマブは hIL-4 及び hIL-13 で誘導される胸腺及び活性化制御ケモカイン／ケモカイン C-C モチーフリガンド 17（TARC/CCL17：2 型免疫応答及びヒトのアトピー性疾患と非常に関連しているケモカイン）の分泌を阻害した。0.5 nmol/L の hIL-4 で刺激した TARC 分泌に対するデュピルマブの阻害作用の IC_{90} 値は、ヒトドナー1 で 1.07 nmol/L（0.16 µg/mL）、ヒトドナー2 で 2.82 nmol/L（0.43 µg/mL）と算出された。1.0 nmol/L の hIL-13 で刺激した TARC 分泌に対するデュピルマブの阻害作用の IC_{90} 値は、ヒトドナー1 で 0.58 nmol/L（0.09 µg/mL）、ヒトドナー2 で 0.67 nmol/L（0.1 µg/mL）と算出された。

抗体依存性は細胞傷害（ADCC）及び補体依存性細胞傷害（CDC）の *in vitro* 細胞アッセイでは、デュピルマブの Fc 領域（Fc）エフェクター機能活性は検出されなかった。

これらの *in vitro* 試験結果から、デュピルマブの薬理活性の主な作用機序は、I 型及び II 型受容体の IL-4Rα サブユニットに結合することによる IL-4 及び IL-13 シグナル伝達の直接阻害であることが裏付けられた。

2 型サイトカインの IL-4 及び IL-13 を過剰発現するトランスジェニックマウスは、肺の喘息様病状のほかに、AD 様皮膚病変を自然発症することから、IL-4 及び IL-13 は両疾患において共通する主要誘発因子であると考えられる(40)。AD の病理機構に関連する経路に対するデュピルマブの調節作用については、マウス 2 型炎症モデルを用いて確認した。デュピルマブは mIL-4Rα に結合しないため、mIL-4 及び mIL-4Rα 外部ドメインの代わりに hIL-4 及び hIL-4Rα 外部ドメインを発現する二重ヒト化（*Il4ra*$^{hu/hu}$ *Il4*$^{hu/hu}$）マウスを用いて試験を実施した。また、本マウスを用いて、2 型サイトカイン IL-25 の過剰発現、又はチリダニ（HDM）アレルゲンの投与によって誘導される 2 型免疫応答に対するデュピルマブの阻害作用を評価した。

マウスにおいて、2 型サイトカイン IL-25 の過剰発現は IL-4 及び IL-13 の発現を誘導することが報告されている(41)。流体力学的 DNA 送達法（発現プラスミド含有生理食塩液を急速静脈内投与することで、対象遺伝子が肝臓で発現する）を用いて、二重ヒト化（*Il4ra*$^{hu/hu}$ *Il4*$^{hu/hu}$）マウスに IL-25 を過剰発現させ、2 型炎症に対する作用を評価した。IL-25 によって IL-4 及び IL-13 発現を誘導すると、気道杯細胞化生が増加し、血中総 IgE 濃度が上昇した（2 型炎症に関連する特徴）。デュピルマブを 25 mg/kg 以上の用量で投与すると、杯細胞化生は有意に抑制され、血中 IgE 濃度は有意に低下した。一方、アイソタイプ対照抗体の投与では、杯細胞化生及び IgE 濃度に対する作用はみられなかった。

二重ヒト化（*Il4ra*$^{hu/hu}$ *Il4*$^{hu/hu}$）マウスを用いたアレルゲン（HDM）誘発性 2 型炎症モデルにおいても、デュピルマブの有効性を評価した。HDM アレルゲンによる本肺炎モデルは古典的 2 型免疫応答を示し、肺好酸球浸潤の増加、杯細胞化生の増加並びに血清中総 IgE 濃度及び血清中アレルゲン特異的 IgG1 濃度の上昇が誘発される。HDM 感作 *Il4ra*$^{hu/hu}$ *Il4*$^{hu/hu}$ マウスに、25 mg/kg のデュピルマブを週 2 回、4 週間投与した。本試験においては、有効性及び作用機序を確認するために高用量のみを選択した。デュピルマブを投与した HDM 感作 *Il4ra*$^{hu/hu}$ *Il4*$^{hu/hu}$ マウスは、非投与 HDM 感作マウス及び対照抗体を投与した HDM 感作マウスと比較して、血中 IgE 濃度及び血中 HDM 特異的 IgG1 濃度が有意に低かった。また、デュピルマブ投与マウスは、対照抗体投与マウスと比較して、肺における総好酸球の割合の低下傾向を示し、活性化好酸球の浸潤が有意に少なく、杯細胞化生も有意に少なかった。評価したすべてのエンドポイントにおいて有効性が認められ、hIgG 抗体特異的な酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）によって測定した 30 日目（最終抗体投与 4 日後）の安楽殺時の平均血清中デュピルマブ濃度は 377.5 µg/mL であった。以上のように、本マウスモデルにおいて、デュピルマブは、アレルゲン誘発性肺炎に対する 2 型免疫応答を抑制した。

2.2　マウス相同抗体（M2M1869N 及び REGN1103）

第 1 世代のマウス相同抗体である M2M1869N は、SPR-Biacore 結合分析において mIL-4Rα 単量体に結合し、その K_D は 640 pmol/L であった。第 2 世代のマウス相同抗体である REGN1103 の K_D は 86.7 pmol/L であり、M2M1869N よりも mIL-4Rα 単量体に高親和性に結合したため、マウスにおける毒性評価には REGN1103 を用いた。REGN1103 は、マウス T 細胞株（HT-2）を用いた I 型受容体シグナル伝達のバイオアッセイでは、mIL-4 によって誘導された細胞増殖を効果的に阻害すること（1 nmol/L の IL-4 に

よって誘導された受容体シグナル伝達に対する REGN1103 の阻害作用の IC_{90} 値は 5.9 nmol/L（0.89 µg/mL））が示された。また、REGN1103 は、マウス B 細胞株（B9）を用いた II 型受容体シグナル伝達のバイオアッセイにおいて、mIL-13 刺激による細胞増殖を効果的に阻害した（100 pmol/L の mIL-13 によって誘導された受容体シグナル伝達に対する REGN1103 の阻害作用の IC_{90} 値は 110 pmol/L（0.017 µg/mL））。REGN1103 は、HT-2 マウス細胞において CDC を誘発しなかった。

In vivo 試験は、Balb/c マウスを用いたハプテン誘発接触過敏症モデルにおいて、M2M1869N の 20 mg/kg 投与はアイソタイプ対照群と比較し、耳介腫脹を抑制する傾向を示した。この抑制傾向は、IL-4 Rα の阻害が AD 様の 2 型炎症に対し効果的な治療法である可能性を示唆するものであった。この試験以降の *in vivo* 試験は、第 2 世代のマウス相同抗体である REGN1103 を用い、2 型炎症マウスモデルにおいて実施した。

REGN1103 は、デュピルマブの検討にも用いた 4 週間 HDM アレルゲン誘発性肺炎モデルにおいて、T_H2 免疫応答の重症度を低下させることが示された。REGN1103 を 25 mg/kg の用量で週 2 回投与した HDM 感作野生型 Balb/c マウスは、非投与 HDM 感作マウス及び対照抗体を投与した HDM 感作マウスと比較して、血中 IgE 濃度、血中 HDM 特異的 IgG1 濃度、肺における総好酸球及び活性化好酸球が有意に低かった。また、REGN1103 を投与した HDM 感作マウスは、対照抗体投与マウスと比較して、気道杯細胞化生も有意に少なかった。評価したすべてのエンドポイントにおいて有効性が認められ、安楽殺時（最終抗体投与 4 日後の 30 日目）の平均血清中 REGN1103 濃度は 387.07 µg/mL であった。Balb/c マウスを用いた HDM 誘発性肺炎モデルにおける REGN1103 の有効性は、*Il4ra*$^{hu/hu}$ *Il4*$^{hu/hu}$ マウスにおいて認められたデュピルマブの有効性と同程度（同程度の血清中抗体濃度でのすべての評価エンドポイントに基づく）であった。

2.3 REGN646

REGN646 相同抗体は、ヒト以外の霊長類の毒性試験で使用するために作製したヒト IgG4^P カニクイザル IL-4Rα 抗体である。REGN646 は、*in vitro* で MfIL-4Rα に高親和性で結合し（MfIL-4Rα 単量体及び二量体に対する K_D 値はそれぞれ 2.5 nmol/L 及び 31 pmol/L）、SPR-Biacore 結合分析においては、MfIL-4 及び hIL-4 の固定化 MfIL-4Rα への結合を阻害した。これらの試験において、REGN646 は、hIL-4Rα に結合しなかった。また、REGN646 は、カニクイザルリンパ球表面の IL-4Rα にも特異的に結合したが、ヒトリンパ球表面の内因性 IL-4Rα には結合しなかった。hIL-4Rα の膜貫通ドメイン及び細胞質ドメインに融合したカニクイザル IL-4Rα 外部ドメインを含有するキメラ IL-4Rα を安定発現するヒト胎児腎臓 293 細胞株（HEK293）を用いたバイオアッセイにおいて、REGN646 は、カニクイザル IL-4 及び IL-13 によって誘導される STAT6/レポーターのルシフェラーゼ活性を強力に阻害した。さらに、REGN646 は、カニクイザル全血の初代細胞を用いたアッセイにおいて、0.5 nmol/L の hIL-4 及び 1.0 nmol/L の hIL-13 で誘導される TARC 分泌を阻害し、その IC_{90} 値はそれぞれ 536 nmol/L（80.3 µg/mL）及び 157 nmol/L（23.6 µg/mL）であった。

2.4　安全性薬理試験

独立したデュピルマブの安全性薬理試験は実施しなかったが、カニクイザルを用いた REGN646 の反復投与毒性試験及びマウスを用いた REGN1103 の反復投与毒性試験に安全性薬理エンドポイントを組み入れた。カニクイザルでは、100 mg/kg/週の用量を最長 6 ヵ月間投与し、マウスでは、200 mg/kg/週の用量を最長 7 週間投与した（[Module 2.6.6] 項）。

2.4.1　中枢神経系

カニクイザルに REGN646 を投与した反復投与毒性試験及びマウスに REGN1103 を投与した反復投与毒性試験において、被験物質に関連する中枢神経系の一般状態の変化及び体温への影響はみられなかった。これらの試験期間中、動物の瀕死状態又は生死の有無を 1 日 2 回以上観察した。サルの一般状態検査は、投与期間中に 1 日 1 回以上実施した。また、カニクイザルの試験期間中、詳細な身体検査を週 1 回以上実施した。マウスの一般状態検査は、投与期間中に 1 日 2 回（投与前に 1 回と投与 1～2 時間後に 1 回）実施した。

2.4.2　心血管系

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験のいずれの試験においても、REGN646 に関連する心拍数、血圧及び心電図（ECG）パラメータの変化は認められなかった。5 週間反復投与毒性試験では、投与開始前、投与期間中に 2 回及び回復期間終了時に血圧及び ECG を評価した。ECG の評価には、I、II、III、aVR、aVL 及び aVF 誘導を用いた。13 週間反復投与毒性試験では、投与開始前、投与期間中に 3 回及び回復期間終了時に血圧及び ECG を評価した。ECG の評価には、I、II、aVF、CV_4RL 及び CV_4LL 誘導を用いた。6 ヵ月間反復投与毒性試験では、投与開始前、投与期間中に 2 回及び回復期間中に心拍数、血圧及び ECG を評価した。ECG の評価には、I、II、III、aVR、aVL 及び aVF 誘導を用いた。

2.4.3　呼吸系

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験において、被験物質に関連する呼吸系の一般状態の変化はみられなかった。評価は、一般状態検査と同時に行った。

3　薬物動態試験

PK試験では、薬効用量及び毒性用量の両方で、デュピルマブ並びに相同抗体REGN1103及びREGN646の *in vivo* でのPKの特徴を評価した（[Module2.6.4]項）。ラット及びサルを用いてデュピルマブの非臨床PK試験を実施し、これらの動物種にデュピルマブを投与したときの標的に依存しないPKプロファイル及びバイオアベイラビリティを評価した。

カニクイザルを用いて、相同抗体REGN646の非臨床PK試験及び毒性試験におけるTKプロファイル評価、並びにADAに関する分析を実施した。また、マウスに相同抗体REGN1103を投与したときの安全性を評価するための毒性試験の一部として、REGN1103のTKプロファイルを評価した。

サルを用いて実施したREGN646のPK及び毒性試験を除いて、PK試験及び毒性試験で使用したデュピルマブ及びREGN646投与液の組成は同様であり、[redacted]mmol/L L-ヒスチジン、[redacted]、[redacted]mmol/L酢酸ナトリウム及び[redacted]% (w/v) スクロース（pH[redacted]）から構成されていた。また、マウスを用いた毒性試験で使用したREGN1103投与液は、[redacted] mmol/L ヒスチジン、[redacted]% (w/v) スクロース、[redacted]、[redacted] mmol/L 酢酸ナトリウム及び[redacted] mmol/L L-アルギニン（pH[redacted]）から構成されていた。さらに、非臨床試験で使用した投与液に含まれる添加剤は、最終臨床製剤（20 mmol/L ヒスチジン、12.5 mmol/L 酢酸塩、0.2% (w/v) ポリソルベート80、5% (w/v) スクロース及び25 mmol/L アルギニン塩酸塩を含有するデュピルマブ水溶液、pH 5.9）と同様であった。

3.1　ラット及びサルを用いたデュピルマブのPK試験

PK試験で採取したラット及びサル血清中の総デュピルマブ濃度は、定量下限（LLOQ）0.39 µg/mLのELISA法を用いて測定した。デュピルマブはラットIL-4Rαには結合せず、サルIL-4Rαに対する結合親和性も低いことから、ラット及びサル血清試料中に存在する可溶性IL-4Rαは、デュピルマブの測定に影響しない。したがって、このELISA法では、ラット及びサル血清中総デュピルマブ濃度として測定される。

Sprague-Dawleyラット又はカニクイザルに用量1～15 mg/kgのデュピルマブを単回静脈内又は皮下投与したときの総デュピルマブのPKを評価した。デュピルマブはラット及びサルIL-4Rαに結合しないため、これらの動物種において総デュピルマブ濃度は用量に比例した線形性のPKを示した。ラット及びカニクイザルのいずれについても、血清中総デュピルマブ濃度推移は、初期の分布相（静脈内投与後）又は吸収相（皮下投与後）に続いて、投与経路に依存せず、一相性の消失によって表された。静脈内投与後の平均半減期（$t_{1/2}$）はラットで4.8～7.0日、サルで11.8～17.1日であり、皮下投与後でも同様であった。ラット及びサルに皮下投与したときの血清中濃度－時間曲線下面積（AUC）に基づいて算出した総デュピルマブの絶対バイオアベイラビリティはそれぞれ、84.2%及び92.5%以上であった。デュピルマブを投与したサルの19%で用量に依存しないADAが認められ、ADA陽性のサルでは

デュピルマブのクリアランスが増加した。いずれの動物種についても、デュピルマブの PK に性差は認められなかった。

3.2　マウスを用いた REGN1103 の PK 試験

マウス血清中の総 REGN1103 濃度は、バリデートされた ELISA 法を用いて測定した。雌雄のマウスを用いた予備反復投与毒性試験で REGN1103 を 10 又は 100 mg/kg の用量で週 1 回又は週 2 回、5 週間皮下投与したときの血清中 REGN1103 の TK プロファイル、及びその後の受胎能試験で雄及び雌マウスに 25～200 mg/kg/週の用量で週 1 回それぞれ 5 又は 7 週間にわたり皮下投与したときの TK プロファイルを評価した。すべての用量群（10～200 mg/kg/週）について、投与期間全体を通して、すべてのマウスで血清中 REGN1103 濃度は LLOQ 以上であった。受胎能試験（200 mg/kg/週投与群）において、雌及び雄 Balb/c マウスでそれぞれ 5 週目（雌）及び 7 週目（雄）に測定した REGN1103 の平均 C_{trough} を調べた。平均 C_{trough} は、マウス T 細胞株である HT-2 を用いた mIL-4 誘発性 T 細胞増殖試験で算出された *ex vivo* での REGN1103 による阻害作用の IC_{90} 値に比べて 2700 倍以上高かった（C_{trough} 平均値：2415 µg/mL、[Module 2.6.6.6.1]；IC_{90} 値：0.89 µg/mL、[Module 2.6.2.2.3.3]）。これらの結果から、*in vivo* での標的との結合の飽和が確認された。低用量（10 及び 20 mg/kg/週）では、曝露量は用量比をやや上回る増加を示したが、用量 25 mg/kg/週以上では、概して線形性の PK が認められ、曝露量は用量にほぼ比例して増加した。

用量 10～200 mg/kg/週で週 1 回又は週 2 回投与したとき、3 週目から 5 週目までに REGN1103 の曝露量に極わずかな（1.5 倍以下）増加が認められた。雄マウスに REGN1103 を 25～200 mg/kg/週の用量で週 1 回投与したとき、5 回投与後に定常状態に達した（雌マウスでは、データが不十分なため、定常状態に達したかどうか評価できなかった）。

3.3　カニクイザルを用いた REGN646 の PK 試験

サル血清中の総 REGN646 濃度を測定するため、ELISA 法を開発し、バリデーションを行った。また、抗 REGN646 抗体を測定するため、非定量的な電気化学発光法に基づくブリッジングイムノアッセイ法（Module2.6.4）を開発し、バリデーションを行った。カニクイザルに用量 1～15 mg/kg の REGN646 を単回静脈内又は皮下投与したときの REGN646 の PK プロファイルを評価した。サル血清中の REGN646 濃度推移は、初期の分布相（静脈内投与後）又は吸収相（皮下投与後）に続いて、標的分子との結合が飽和する濃度以上の濃度での長い β 消失相（線形性、標的飽和）と標的分子との結合が飽和する濃度より低い濃度での短い最終消失相からなる二相性の消失によって表された。サル IL-4Rα に結合する抗体であることから、サルにおいて REGN646 は非線形性の標的分子を介在する PK を示した。標的分子を介在する消失は、1 及び 3 mg/kg 投与後の低濃度で顕著であった。サルにおける REGN646 の $t_{1/2}$ 平均値は濃度に依存し、β 消失相の $t_{1/2}$ は 7.2～9.1 日、最終消失相の $t_{1/2}$ は 1.5～2.0 日と推定された。サルに皮下投与したときの REGN646 のバイオアベイラビリティは 70%であり、REGN646 の PK プロファイルに性差は認められなかった。

雌雄のカニクイザルを用いて実施した反復投与毒性試験の一部として、用量範囲 1～100 mg/kg/週の REGN646 を最長 26 週間にわたり週 1 回静脈内又は皮下投与後、及び最長 13 週間の回復期間中の血清中 TK プロファイルを評価した。すべての試験において、25 mg/kg/週以上の投与群の大多数の動物で投与期間を通して、また、100 mg/kg/週投与群のすべての動物で回復期間を通して、標的分子との結合が飽和する濃度を超える REGN646 濃度が測定された。用量 25 又は 100 mg/kg の REGN646 週 1 回投与により、カニクイザル全血を用いた *ex vivo* 試験の hIL-4 誘発性 TARC 遊離に対する REGN646 阻害作用の IC_{90}（80.3 µg/mL；[Module 2.6.2.2.5.5]）に比べて、それぞれ 9.3 倍及び 52 倍高い C_{trough} が得られた（[Module 2.6.6.3.2.1.4]）。このように、*ex vivo* IC_{90} 値より何倍も高い C_{trough} が得られたことから、*in vivo* では用量 25 mg/kg/週以上で IL-4Rα との結合が飽和することが示された。用量 1～25 mg/kg/週で非線形性の PK が認められ、REGN646 の曝露量は用量比を上回る増加を示す一方、用量 25～100 mg/kg/週の範囲では、最長 6 ヵ月間の投与期間及び最長 3 ヵ月間の回復期間を通して、REGN646 は線形性の PK を示した。用量 25 mg/kg/週以上を反復投与したサルで 1.60～4.59 倍の REGN646 の蓄積が認められたが、用量 25 mg/kg/週未満を反復投与したサルでは、ほとんど蓄積は認められなかった。REGN646 の曝露量に性差は認められなかった。用量 25 mg/kg/週未満では、投与期間全体を通して検出可能な REGN646 濃度は維持されず、おそらく抗 REGN646 抗体に関連した消失の促進によると考えられた。

ePPND 毒性試験の一部として、妊娠サルに 25 又は 100 mg/kg/週の REGN646 を妊娠 20 日から自然分娩時まで継続して皮下投与したときの TK プロファイルを評価した。この試験において、妊娠中及び分娩後 91 日間を通して、25 又は 100 mg/kg/週投与群のそれぞれ>70%又は>85%の母動物の血清中で REGN646 濃度が検出された。REGN646 を反復投与したとき、母動物で 2.62～3.80 倍の REGN646 蓄積が認められた。各投与間隔中、大多数の動物で標的 IL-4Rα との結合が飽和する濃度を十分上回る REGN646 濃度が維持された。

25 及び 100 mg/kg/週投与群の母動物から生まれた出生児の血清のそれぞれ 75%及び 100%で出生後 28 日まで総 REGN646 が検出され、100 mg/kg/週投与群では、出生児 12 例中 11 例で出生後 91 日まで、REGN646 が検出された。出生時の腸管から測定可能な量の生物製剤が吸収されるとは考えにくいことから(42)(43)(44)(45)、出生児の REGN646 曝露は、母動物の乳汁中に分泌された REGN646 の経口吸収によるものではなく、胎盤通過によるものであると推定された。母動物への投与量（25 又は 100 mg/kg/週）に依存して、出生児の血清中 REGN646 濃度は増加した。

4 毒性試験

In vitro 薬理試験により、デュピルマブはバイオ治療薬の毒性評価に通常使用されるげっ歯類、カニクイザル、アカゲザル及びコモンマーモセットなどの動物種の IL-4Rα と十分に相互作用しないことが示された。このため、[Module 2.6.6]項に示したように、マウス及びカニクイザルの IL-4Rα に対する相同抗体（それぞれ REGN1103 及び REGN646）を用いて、デュピルマブの毒性学的プロファイルを評価した。REGN646 の評価を、カニクイザルを用いた最長 6 ヵ月間の反復投与毒性試験及び 6 ヵ月間の生後観察を伴う ePPND 毒性試験で実施した。また、デュピルマブと正常ヒト組織及び REGN646 と正常カニクイザル組織の *in vitro* 組織交差反応性試験を実施した。REGN1103 については、探索的 5 週間反復投与毒性試験並びに受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験を、いずれも成獣の CD-1 マウスを用いて実施した。2 つの探索的反復投与毒性試験（マウス及びサルのそれぞれ 1 試験）以外の試験は GLP に従って実施した。非臨床安全性評価に使用した毒性試験のリストを表 2に示す。

表 2 - デュピルマブの相同抗体 REGN1103 及び REGN646 についての毒性試験一覧

試験の種類及び期間（GLP 適用の有無）	総用量[a]（mg/kg/週）	投与経路	投与頻度	動物種	試験番号
反復投与毒性試験					
REGN1103 の探索的 5 週間反復皮下投与毒性試験（非 GLP 適用）	0、10、20、100、200	皮下	週 1 回又は週 2 回[b]、連続 5 週間	マウス [Crl:CD1(ICR)]	[REGN1103-TX-[redacted]054]
REGN646 の探索的 1 ヵ月間（5 回）反復静脈内持続投与毒性試験（非 GLP 適用）	0、5、25、100	静脈内（30 分間持続投与）	週 1 回、連続 5 週間	カニクイザル	[REGN646-TX-[redacted]046]
REGN646 の 5 週間反復静脈内投与毒性及び TK 試験並びに 8 週間回復性試験（GLP 適用）	0、1、5、25、100	静脈内（30 分間持続投与）	週 1 回、連続 5 週間	カニクイザル	[REGN646-TX-[redacted]053]
REGN646 の 13 週間反復皮下投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（GLP 適用）	0、1、5、25、100	皮下	週 1 回、連続 14 週間	カニクイザル	[REGN646-TX-[redacted]056]
REGN646 の 6 ヵ月間反復静脈内及び皮下投与毒性試験並びに 3 ヵ月間回復性試験（GLP 適用）	静脈内：0、25 皮下：0、25、100	静脈内（30 分間持続投与）、皮下	週 1 回、6 ヵ月間（合計 27 回）	カニクイザル	[REGN646-TX-[redacted]004]

試験の種類及び期間（GLP 適用の有無）	総用量[a]（mg/kg/週）	投与経路	投与頻度	動物種	試験番号
生殖発生毒性試験					
REGN1103のマウスを用いた皮下投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（GLP 適用）	0、25、75、**200**	皮下	週 1 回で 9 回（雄）；週 1 回で 4～6 回（雌）	マウス [Crl:CD1(ICR)]	[REGN1103-TX-[redacted]097]
REGN646 の拡充型出生前及び出生後の発生毒性試験並びに 6 ヵ月間生後観察（GLP 適用）	0、25、**100**	皮下	妊娠 20～22 日に初回投与し、妊娠終了まで週 1 回	カニクイザル	[REGN646-TX-[redacted]099]
その他の毒性試験					
正常ヒト組織（デュピルマブ）及び正常サル組織（REGN646）との *ex vivo* 組織交差反応性試験（GLP 適用）	N/A	*Ex vivo*	N/A	ヒト及びカニクイザルの組織	[[redacted]00057]

定義：TK = トキシコキネティクス；N/A = 該当せず；NOAEL = 無毒性量

a 太字の用量は NOAEL を示す。

b REGN1103 について 20 及び 200 mg/kg の用量を得るため、10 及び 100 mg/kg の用量で週 2 回投与した。

4.1 反復投与毒性試験

マウス IL-4Rα に対する相同抗体（REGN1103）及びサル IL-4Rα に対する相同抗体（REGN646）を用いてデュピルマブの毒性学的プロファイルを評価した。

CD-1 マウスを用いた毒性試験において、REGN1103 を 10 又は 100 mg/kg の用量で週 1 回又は週 2 回皮下投与したところ、検出可能な濃度の血清中 REGN1103 が全ての用量群で 5 週間の投与期間を通して維持されたが、REGN1103 関連の死亡や一般状態の変化はみられなかった。被験物質関連の変化は体重増加量減少のみであったが、体重増加量の差に関連する絶対体重の減少や、一般状態、臨床検査パラメータ及び試験中に測定したその他の指標の変化はみられなかったことから、毒性変化ではないと考えられた（[Module2.6.6]項）。

サルを用いた反復投与毒性試験において、REGN646 を検討した最高用量で静脈内持続投与（100 mg/kg/週）又は最長 6 ヵ月間にわたり皮下投与（100 mg/kg/週まで）したときの忍容性は良好であった。被験物質関連の死亡及び一般状態の変化はみられず、体重、体温、血圧、ECG 及び臨床検査（血液学的検査、凝固検査、血清生化学的検査及び尿検査）に、被験物質関連の変化は認められなかった。器官重量、臨床検査及び病理学的検査（剖検及び病理組織学的検査）において、被験物質関連の変化はみられなかった。T 細胞依存性抗体産生（TDAR）試験では、REGN646 関連の二次的免疫機能の変化は認められなかった。CRP、IgE 及び IgG には、REGN646 関連の変化はみられなかった。被験物質関連の感染症の増加はみられず、リンパ球サブセット［B 細胞（$CD20^+$）、総 T 細胞（$CD3^+$）、$T_{Cytotoxic}$ 細胞（$CD3^+/CD8^+$）、$T_{Regulatory}$ 細胞（$CD4^+/CD25^+$）、ナチュラルキラー（NK）細胞（$CD3^-/CD16^+$）］

及び単球（$CD3^-/CD14^+$）には、被験物質関連の変化は認められなかった。軽微から中等度の血管周囲リンパ球浸潤が、25 mg/kg/週以上の用量で皮下投与部位に観察されたが、この所見は投与中止により回復し、毒性変化ではないと考えられる。REGN646 の各試験における無毒性量（NOAEL）での全身曝露量を表 3に示す。

表 3 - GLP 適用のサルを用いた反復投与毒性試験の NOAEL における REGN646 への曝露量の要約

TK パラメータ[a]	5 週間 静脈内	13 週間 皮下	6 ヵ月間 静脈内	6 ヵ月間 皮下
NOAEL（mg/kg/週）	**100**	**100**	**25**	**100**
C_{trough} (µg/mL) [b]	2470	3650	746	4150
C_{max} (µg/mL)	4554	4670	1480	5320
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg•h/mL)	513868	684000	149000	791000

定義：GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；NOAEL = 無毒性量；AUC = 濃度ー時間曲線下面積；C_{trough} = 投与区間終了時点の濃度；C_{max} = 最高血清中濃度

a TK パラメータ値は、以下の時点での全例の平均値を示す：5 週間静脈内投与の 5 週目、13 週間皮下投与の 13 週目、6 ヵ月間静脈内投与の 26 週目、6 ヵ月間皮下投与の 26 週目

b すべての C_{trough} は、*ex vivo* カニクイザル全血アッセイにおける REGN646 を介した hIL-4 刺激性 TARC 分泌阻害作用の IC_{90} の 9 倍超であった。

4.2 生殖発生毒性試験

REGN1103（mIL-4Rα に対するデュピルマブの相同抗体）を、CD-1 マウス（約 8～9 週齢）に、25、75 又は 200 mg/kg/週の用量で週 1 回皮下投与した。すべての用量の全例において、REGN1103 への持続的な全身曝露量が、投与期間を通して維持された（[Module2.6.4]項）。REGN1103 関連の死亡はみられず、一般状態、体重、体重増加量及び摂餌量の変化も認められなかった。雌雄のマウスの交尾及び受胎能に関するいずれのパラメータにも被験物質関連の変化はみられず、雌マウスの性周期並びに卵巣及び子宮のパラメータにも REGN1103 の影響は認められなかった。0、25、75 及び 200 mg/kg/週群において、それぞれ 24 匹（100.0%）、21 匹（87.5%）、22 匹（91.7%）及び 23 匹（95.8%）のマウスが妊娠した。雌雄の生殖組織には、REGN1103 関連の病理組織学的所見はみられなかった（[Module2.6.6]項）。本試験の受胎能、生殖能及び胚生存性に関する NOAEL は、最高用量の 200 mg/kg/週と判断された。雌雄の Balb/c マウスを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（200 mg/kg/週）において、5 週目及び 7 週目に測定した REGN1103 の平均 C_{trough} は、REGN1103 を介した *ex vivo* での mIL-4 誘導性 HT-2 マウス T 細胞増殖抑制作用に関する IC_{90} の 2700 倍を上回っていた（平均 C_{trough} の 2415 µg/mL（Module 2.6.6 項）に対して、*ex vivo* 1 nmol/L mIL-4 誘導性 HT-2 マウス T 細胞増殖抑制に対する IC_{90} は 0.89 µg/mL（[Module 2.6.2]項））。これらの結果は、*in vivo* での標的飽和を証拠づけるものである。

妊娠カニクイザルを用いて、6 ヵ月間の生後観察期間を含む REGN646 の ePPND 試験を実施した。REGN646 を、妊娠カニクイザルに、0、25 又は 100 mg/kg/週の用量で、妊娠 20 日ごろから分娩（妊娠

160 日ごろ）まで継続的に皮下投与した。母動物毒性はみられず、25 mg/kg/週群の 70%を上回る母動物及び 100 mg/kg/週群の 85%を上回る母動物において、REGN646 への持続的全身曝露量が、投与期間を通して標的分子が飽和する濃度に維持された。25 mg/kg/週群の 75%（8 匹中 6 匹）の出生児で、測定可能な REGN646 の血清中濃度が、生後 1 ヵ月間（出生から 28 日目まで）を通して認められた。100 mg/kg/週群の 92%の出生児で、生後 91 日に、測定可能な REGN646 の血清中濃度がみられた（[Module2.6.4]項）。いずれの用量においても、母動物、胎児及び出生児のリンパ球サブセット（$CD20^+$ B リンパ球、$CD3^+$ T リンパ球及び $CD3^+/CD4^+$ ヘルパーT リンパ球）には、被験物質関連の変化は認められなかった。

REGN646 のいずれの用量においても母動物の忍容性は良好で、死亡や被験物質関連の一般状態の変化は認められなかった。摂餌量、体重、血液学的検査、凝固検査、血清生化学的検査及びイムノフェノタイピングにおいて変化はみられなかった。胎児検査及び妊娠日数には REGN646 関連の変化は認められなかった。全体の胚・胎児死亡率は、溶媒対照群が 5/20（25%）、両方の REGN646 群が 13/38（34.2%）［25 mg/kg/週：10/20（50%）；100 mg/kg/週：3/18（16.7%）］であった（[Module2.6.6]項）。これらの結果は可溶性 IL-4R を投与されたサルにおける公表データと一致するものであった (46)。しかしながら、25 及び 100 mg/kg/週群の REGN646 の C_{trough} は、カニクイザル全血を用いた *ex vivo* hIL-4 刺激性 TARC 分泌に対する REGN646 の阻害作用の IC_{90}（80.3 µg/mL、0.5 nmol/L の hIL-4 刺激による TARC 分泌に対する IC_{90}；[Module 2.6.2]項）の 5.4 及び 27.5 倍と十分に高く、両用量群とも標的分子が飽和状態であるため、胎児の死亡発現頻度データを合算し、試験実施施設の背景対照データと比較した。その結果、標的分子が飽和する 2 用量での胚・胎児死亡率は、この試験施設で 20[redacted]～20[redacted] 年に実施した同様のデザインの 17 の ePPND 試験において対照動物でみられた胎児死亡率の背景対照範囲（6.7～38.9%）の範囲内であった。したがって、これらの胚・胎児死亡率は偶発的なもので、被験物質との関連はないと考えられた。

生後 6 ヵ月間観察した出生児では、一般状態観察、体重、身体検査、出生児測定、神経行動検査、血液学的検査、末梢リンパ球のイムノフェノタイピング、免疫グロブリン（IgM、IgG 及び IgE）濃度及び骨格検査において、被験物質関連の変化は認められなかった。100 mg/kg/週までの用量を投与された母動物の出生児では、TDAR における REGN646 関連の変化はみられなかった。剖検、器官重量、器官重量比、外表検査、内臓検査及び病理組織学的検査において、被験物質関連の所見は認められなかった。全体の新生児死亡発現率（すべての群で 6/40(15%)）はマカク属についての文献に報告された背景データに一致しており、ここでも同様にマカク属での薬物に関連しない胚・胎児死亡が報告されている(47)(48)。

以上、妊娠中のカニクイザルの母動物には REGN646 関連の変化はみられず、6 ヵ月間の生後観察期間中の母動物及びその出生児にも変化は認められなかった。試験中のいずれの時点においても、出生児で評価した発生、行動及び免疫機能のパラメータには、毒性変化はみられなかった。本試験条件下での母動物毒性及び新生児発生毒性に関する NOAEL は、最高用量の 100 mg/kg/週と判断された。

4.3　曝露量及び抗薬物抗体産生

デュピルマブの安全性プロファイルを、それぞれマウス及びサルの相同抗体である REGN1103 及び REGN646 を用いて、*ex vivo* 標的飽和濃度と比較して高い曝露量比が得られる用量で適正に評価した。標的飽和は、REGN646 による初代培養細胞を用いたアッセイでの hIL-4 刺激性 TARC 分泌阻害作用及び REGN1103 によるマウス T 細胞（HT-2）バイオアッセイでの mIL-4 刺激性 I 型受容体シグナル伝達阻害作用に関する IC_{90} 値に基づくものであった。

反復投与毒性試験において、マウスに対する REGN1103 の週 1 回又は週 2 回皮下投与を、探索的毒性試験では 10 又は 100 mg/kg の用量で 5 週間、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では 25～200 mg/kg/週の用量で 5～7 週間にわたって実施した。いずれの試験においても、REGN1103 の血清中濃度が、すべての用量（10～200 mg/kg/週）で、投与期間（5～7 週間）を通して、すべてのサンプル採取時点で検出された。マウスの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（200 mg/kg/週）での Balb/c マウスにおける平均 C_{trough} に基づく REGN1103 の曝露量比（雌で 5 週目、雄で 7 週目）は、*ex vivo* HT-2 マウス T 細胞バイオアッセイでの mIL-4 刺激性 I 型受容体シグナル伝達阻害作用に関する REGN1103 を介した IC_{90} 値と比較して 2713 倍高かった。

26 週間反復投与毒性試験では、REGN646 をサルに 1～100 mg/kg/週の用量範囲で週 1 回静脈内又は皮下投与した。25 mg/kg/週以上の用量における REGN646 の全身曝露量は、投与間隔を通して維持された。さらに、25 及び 100 mg/kg/週の用量で静脈内及び皮下投与したときの REGN646 の血清中濃度は、標的分子を介在するクリアランスが消失の主体となると予想される REGN646 の濃度範囲を 10 倍以上上回って維持された。また、NOAEL の 100 mg/kg における REGN646 の C_{trough} も、カニクイザル全血を用いた *ex vivo* での hIL-4 刺激性 TARC 分泌に対する REGN646 を介した阻害作用の IC_{90} より約 52 倍高かった。同様に、ePPND 試験において NOAEL の 100 mg/kg で得られた C_{trough} は、*ex vivo* での IC_{90} より 27.4 倍高かった。

サル血清中の抗 REGN646 抗体を、バリデートされた非定量的電気化学発光法を用いたブリッジングイムノアッセイを用いて検出した。REGN646 投与後における ADA の発現率には用量との逆相関がみられ、同じ用量では、ADA 陽性動物での血清中薬物濃度は、ADA 陰性動物よりも低かった。

反復投与毒性試験において、REGN646 を 1～5 mg/kg/週の用量で単回投与又は週 1 回反復静脈内若しくは皮下投与されたサルの大半で ADA がみられたのに対し、REGN646 を 25 mg/kg/週以上の用量で静脈内又は皮下投与されたサルのうち、ADA がみられたのは 50%未満であった。全体として、25 mg/kg/週以上の用量では分析法への薬物の影響が許容範囲を超えていたことから、これらの用量では ADA が過小に見積もられている可能性が示唆される。

妊娠サルを用いた REGN646 の ePPND 試験において、30%の母動物が ADA 陽性であった。ADA 陽性の発現頻度には REGN646 用量との逆の関連がみられ、ADA の存在による REGN646 曝露量の減少が、反復投与毒性試験でみられたのと同程度に認められた。ADA の存在にも関わらず、REGN646 の十分な安全性評価を行うための十分な曝露量が示された。

デュピルマブに特異的な ADA 分析法がないため、デュピルマブの PK 試験では、抗 REGN646 抗体の分析法を用いて、デュピルマブと REGN646 が共有するヒト定常領域に対する抗体を検出した。デ

ュピルマブの PK 試験において、デュピルマブを 1 又は 15 mg/kg の用量で単回静脈内又は皮下投与したサルのうち、用量非依存的な ADA がみられたのは 20%未満であった。16 匹のデュピルマブ投与動物のうち、3 匹（19%）の動物（1 及び 15 mg/kg 静脈内投与群の各 1 匹並びに 1 mg/kg 皮下投与群の 1 匹）で、投与後に ADA 陽性がみられた。これら 3 匹の ADA 陽性動物では、ADA の存在に関連して、それぞれの投与群の ADA 陰性動物でみられた値より低いデュピルマブ濃度が認められた。

4.4 その他の毒性試験

デュピルマブと正常ヒト組織及びサル相同抗体 REGN646 と正常カニクイザル組織の *ex vivo* 組織交差反応性試験を実施した（[Module 2.6.6]項）。デュピルマブ及び REGN646 を、それぞれヒト及びカニクイザルの組織の凍結切片に適用し、ビオチン標識抗ヒト IgG4 二次抗体を用いて免疫組織化学的染色を検出した。いずれの正常ヒト組織においてもデュピルマブ特異的染色はみられず、いずれの正常カニクイザル組織においても REGN646 特異的染色は認められなかった。いずれの試験においても、陽性対照サンプルは、デュピルマブ又は REGN646 とのインキュベーションにより、中等度から顕著な強度の染色を示した。組換え hIL-4Rα 単量体又は組換えカニクイザル IL-4Rα 単量体のいずれかに共有結合させたセファロースクロマトグラフィービーズを、それぞれデュピルマブ及び REGN646 の陽性対照とした。組換えヒト神経成長因子に結合させたセファロースビーズを、デュピルマブ及び REGN646 の陰性対照サンプルとしたところ、これらのアッセイにおいて陰性対照サンプルの特異的染色は認められなかった。

がん原性リスクの評価を実施した。デュピルマブの動物を用いた毒性試験及び IL-4/IL-13 受容体系の文献評価で得られた重要性に基づく評価により、これらのデータからデュピルマブの長期投与によるがんのリスク増加はないとの結論が裏付けられた。EMA-CHMP、カナダ保健省及び米国 FDA は、当社のリスク評価を審査した結果、[redacted]と判断した。デュピルマブのがん原性を評価するための特異的な非臨床試験は[redacted]。

カニクイザルの CNS に対する REGN646 関連の影響のエビデンスはみられず、デュピルマブの依存性及び乱用性を示唆する動物の毒性試験及び薬理試験のエビデンスも認められなかった。デュピルマブの薬物乱用性に関する最終評価により、[redacted]、米国 FDA は[redacted]。

5　総括及び結論

ADは、慢性又は過剰に活性化した2型免疫応答と関連する多くの病態（喘息、AR、好酸球性食道炎、アナフィラキシーなど）の1つである。2型免疫応答には、自然免疫系と適応免疫系の協力作用が関与し、2型細胞の動員及び活性化を特徴とする(13)。ADをもたらす炎症反応を媒介するサイトカインとして多くのサイトカインが関与しているものの、重要なサイトカインはIL-4及びIL-13である。多くのAD患者において血中IgE濃度が上昇し、複数の2型サイトカイン・ケモカイン（TSLP、TARC、IL-4、IL-5、IL-13など）が顕著に増加すること、並びに好酸球、好塩基球、2型サイトカインを産生する自然免疫のリンパ系細胞及び肥満細胞の増加がみられることから、AD患者の全身及び病変皮膚に2型炎症が認められることが示されている(3)(14)。IL-4及びIL-13は、喘息患者及びアレルギー疾患患者（ADを含む）において高値を示している(24)(25)。このことから、IL-4及びIL-13は、ADの原因に重要な役割を担うと考えられている。現在のAD治療薬として、保湿剤、外用ステロイド薬、カルシニューリン阻害薬などが使用されているが、いずれの治療薬も本疾患を全般的かつ完全にコントロールできず、一部の治療薬では、長期使用において安全性の問題がある。

デュピルマブは、IL-4Rαに結合して、IL-4及びIL-13を介したシグナル伝達を阻害する強力な完全ヒトmAbであり、ADの新規治療薬である。デュピルマブは、*in vitro*及び*in vivo*2型炎症動物モデルのいずれにおいても活性を示した。

デュピルマブの*in vitro*評価において、デュピルマブは、hIL-4Rα単量体及び二量体にそれぞれK_D値33 pmol/L及び12 pmol/Lで結合した。デュピルマブは、IL-4で誘導されるB細胞活性化マーカー（CD23）のアップレギュレーション（Ramos Burkitt細胞ではI型受容体を介し、ヒトPBMCではI型又はII型受容体を介した）を強力に阻害した。また、レポーター技術アッセイでは、デュピルマブは、IL-4及びIL-13を介したSTAT6シグナル伝達を阻害し、IL-4及びIL-13で誘導されるヒト全血の2型ケモカインTARC分泌も効果的に阻害した。TARCは、ヒトのアトピー性疾患に非常に関連するケモカインである。さらに、mIL-4及びmIL-4Rα外部ドメインの代わりにhIL-4及びhIL-4Rα外部ドメインを発現する二重ヒト化（*Il4ra*$^{hu/hu}$ *Il4*$^{hu/hu}$）マウスにおいて、デュピルマブは、HDMアレルゲン誘発性肺炎を効果的に抑制した。

デュピルマブは、mIL-4Rαには結合せず、カニクイザル、アカゲザル及びコモンマーモセットのIL-4Rαへの結合親和性は低いことから、これらの動物種を用いた毒性試験（TK評価を含む）のために、マウス相同抗体（REGN1103）及びカニクイザル相同抗体（REGN646）の使用が必要とされた。両相同抗体は、それぞれの動物種のIL-4Rαに結合し、その親和性はデュピルマブのhIL-4Rαに対する親和性と同程度であった。また、動物種特異的な細胞を用いた*in vitro*アッセイにおいて、REGN1103及びREGN646は、I型又はII型受容体を介したIL-4/IL-13シグナル伝達を効果的に阻害したことから、それらを、デュピルマブ相同抗体として、それぞれマウス及びサルを用いた毒性試験で使用することの妥当性が裏付けられた。

デュピルマブに高い結合親和性を示す標的分子を発現しないラット及びサルにおけるデュピルマブの PK プロファイルの特徴として、用量に比例した線形性の PK が認められ、標的分子を介在する消失はみられなかった。静脈内及び皮下投与後の $t_{1/2}$ は類似し、静脈内投与後の $t_{1/2}$ はラットで 4.8～7.0 日、サルで 11.8～17.1 日であった。皮下投与後のバイオアベイラビリティは、ラットで 84.2%、サルで 92.5%以上であり、デュピルマブの PK プロファイルに性差は認められなかった。

カニクイザルに相同抗体である REGN646 を投与したときの PK プロファイルは非線形性を示し、クリアランス及び $t_{1/2}$ に用量依存性があり、二相性の消失推移が認められたが、これらはすべて、飽和を伴う標的分子を介在する消失を表すものであった。REGN646 の β 消失相の $t_{1/2}$ は 7.2～9.1 日であるが、平均 REGN646 濃度約 24 µg/mL を下回ると、標的分子を介在する消失が、消失の主体となり、$t_{1/2}$ は 1.2～2.1 日に短縮した。REGN646 の皮下投与後のバイオアベイラビリティは 70%であり、PK プロファイルに性差は認められなかった。

最長 6 ヵ月間の反復投与毒性試験及び 6 ヵ月間の生後観察期間を伴う ePPND 試験では、いずれの器官においても毒性所見は認められなかった。被験物質関連の死亡や一般状態の変化はみられず、体重、体温、血圧、ECG 及び臨床検査（血液学的検査、凝固検査、血清生化学的検査及び尿検査）において被験物質関連の変化は認められなかった。器官重量、臨床検査及び病理学的検査（剖検及び病理組織学的検査）において、被験物質関連の変化はみられなかった。出生児及び成獣の免疫系においても、REGN646 の影響による毒性変化は認められなかった。これはリンパ球サブセットの組成、血清中 IL-4 濃度、総血清中免疫グロブリン（IgE、IgG、IgM）及び TDAR に対する REGN646 の影響の評価に基づくものである。被験物質に関連した感染症の増加はみられず、リンパ球サブセット［B 細胞（$CD20^+$）、総 T 細胞（$CD3^+$）、$T_{Cytotoxic}$ 細胞（$CD3^+/CD8^+$）、$T_{Regulatory}$ 細胞（$CD4^+/CD25^+$）、ナチュラルキラー（NK）細胞（$CD3^-/CD16^+$）］及び単球（$CD3^-/CD14^+$）には、被験物質関連の変化は認められなかった。

これらの毒性試験において、25 mg/kg/週以上の用量では、C_{trough} が標的が飽和する濃度を上回った。25 mg/kg/週以上の用量で静脈内及び皮下投与したとき、REGN646 の血清中濃度が、5～26 週間の投与期間を通して、すべてのサンプル採取時点において大半のサルで検出可能であり、100 mg/kg/週の用量では、最長 12 週間の回復期間を通して、測定可能な REGN646 の濃度が、全例で持続的に認められた。全体として、REGN646 の 1～25 mg/kg/週の用量では、用量比を上回る REGN646 曝露量の増加を伴う非線形の PK がみられたのに対し、25～100 mg/kg/週の用量における PK は概ね線形であった。サルにおいては、25 mg/kg/週以上の用量で、REGN646 の 3～4 倍の蓄積が認められた。サルに 25 mg/kg/週未満の用量で反復投与したとき、REGN646 の蓄積はほとんど又はまったく認められなかった。

カニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験における REGN646 の NOAEL は、検討した最高用量の 25 mg/kg/週 IV 及び 100 mg/kg/週 SC であった。NOAEL の 100 mg/kg における REGN646 の C_{trough} は、*ex vivo* での REGN646 を介した 0.5 nmol/L hIL-4 刺激性 TARC 分泌阻害作用の IC_{90} と比較して約 52 倍高かった（C_{trough} = 4150 µg/mL（[Module 2.6.6.3.2.1.4]項） に対し、IC_{90} = 80.3 µg/mL（[Module 2.6.2.2.5.5]項）。トキシコキネティクスデータにより、NOAEL の用量では、投与期間を通してサルの IL-4Rα が飽和することが示唆された。

カニクイザルを用いて実施した ePPND 試験では、100 mg/kg/週 SC までの用量で、投与期間中に REGN646 関連の毒性変化はみられず、6 ヵ月間の生後観察期間中は、母動物及びその出生児のいずれにおいても毒性変化は認められなかった。妊娠 20 日ごろから分娩までの投与による REGN646 関連の催奇形性はみられず、出生児において REGN646 に関連する発生、行動及び免疫機能の変化は認められなかった。本試験でみられた胚・胎児死亡のパターンは可溶性 IL-4R を投与されたサルでの公表結果に一致するものであり、この変化はその後マウスにおいて再現されなかった(46)。NOAEL は最高用量の 100 mg/kg/週 SC と判断された。6 ヵ月間反復投与毒性試験と同様に、ePPND 試験の NOAEL である 100 mg/kg/週の用量で得られた C_{trough} は、投与期間を通して、*ex vivo* での hIL-4 刺激性 TARC 分泌に対する IC_{90} より 27.4 倍高かったことから、サルの IL4-Rα が持続的（妊娠 20～160 日）に飽和していることが示唆された。

出生児の初回サンプル採取時（生後 14 日）において血清中に REGN646 が認められたことから、REGN646 の胎盤通過が証拠づけられた。REGN646 の 25 及び 100 mg/kg/週群の母動物から生まれたそれぞれ 75%及び 100%の出生児で、生後 28 日まで血清中に REGN646 が持続して認められた。

カニクイザルを用いた REGN646 の反復投与毒性試験及び ePPND 試験における ADA の発現率には用量との逆相関がみられ、同じ用量では、ADA 陽性動物での血清中薬物濃度は、ADA 陰性動物よりも低かった。REGN646 の 25 mg/kg/週以上の用量で静脈内又は皮下投与されたサルのうち、ADA がみられたのは 50%未満であった。妊娠サルを用いた ePPND 試験において、30%の母動物が ADA 陽性であった。ADA の存在による REGN646 曝露量の減少は、雄及び非妊娠雌を用いた他の試験でみられた減少と同程度であった。抗 REGN646 抗体の存在により、ADA 陰性動物と比較して、被験物質に関連した臨床的及び病理学的毒性変化の直接的及び間接的な誘発はみられなかったことから、抗 REGN646 抗体の存在は、カニクイザルにおける REGN646 安全性プロファイルを変化させないことが示唆された。また、高用量で得られた曝露量を考慮すると、ADA の存在は IL-4Rα 阻害作用に関する安全性評価の障害とはならなかった。

REGN1103 について、1 つの探索的反復投与毒性試験を、野生型（CD-1）マウスを用いて 200 mg/kg/週までの用量での皮下投与により実施したところ、TK 評価において、すべての動物で、測定可能な REGN1103 の濃度が、投与期間を通して持続的に認められた。REGN1103 の反復皮下投与による毒性変化はみられず、NOAEL は検討した最高用量の 200 mg/kg/週であった。さらに、REGN1103 のマウスを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において、200 mg/kg/週までの用量での皮下投与による交配前、交配中及び交配直後の受胎能への障害はみられず、本試験における雌雄の受胎能に関する NOAEL は 200 mg/kg/週であった。投与期間中、すべてのマウスで REGN1103 の濃度が検出された。REGN1103 への曝露量は 10～20 mg/kg/週の用量では用量比を幾分上回って増加し、25～200 mg/kg/週の用量ではほぼ用量に比例して増加した。

Ex vivo 組織交差反応性試験を、デュピルマブについては正常ヒト組織を用いて、相同抗体の REGN646 については正常カニクイザル組織を用いて実施した。いずれの正常ヒト組織においてもデュピルマブ特異的染色はみられず、いずれの正常カニクイザル組織においても REGN646 特異的染色は認められなかった。

反復投与毒性試験のデータ及びIL-4Rα阻害に関する利用可能な文献により、デュピルマブの長期投与により、がんのリスクは増加しないことが示唆された。規制当局（EMA-CHMP、カナダ保健省及びFDA）との相談の結果、[redacted]との同意を得た。

相同抗体REGN1103及びREGN646のNOAELにおける曝露量比を、それぞれBalb/cマウスを用いた皮下投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験並びにカニクイザルを用いた6ヵ月間反復投与毒性試験について表4に示す。REGN1103の曝露量比は、C_{trough}を*ex vivo* HT-2マウスT細胞バイオアッセイにおけるmIL-4刺激性I型受容体シグナル伝達阻害作用のIC_{90}で除した値であり、REGN646の曝露量比は、C_{trough}を*ex vivo*カニクイザル全血アッセイにおけるhIL-4刺激性TARC分泌阻害作用のIC_{90}で除した値である。両相同抗体の曝露量比を、デュピルマブを300 mg Q2Wの用量でヒトに投与したときの定常状態濃度（R688-AD-1021[Module 5.3.5.1-3]）について算出した曝露量比と比較した。デュピルマブの曝露量比は、ヒトにおける定常状態濃度（C_{ss}）を、ヒト全血を用いた*ex vivo* hIL-4刺激性TARC分泌阻害作用のIC_{90}で除した値である。

表4に示したように、NOAELの200 mg/kg/週におけるREGN1103の曝露量比は、*ex vivo*のIC_{90}と比較して2713倍であった。同様に、6ヵ月間反復投与毒性試験のNOAELである100 mg/kg/週におけるREGN646の曝露量比は、カニクイザル全血アッセイにおける*ex vivo*のIC_{90}と比較して52倍であった。臨床試験の16週目（113日目）における定常状態のデュピルマブ平均血清中濃度（C_{ss}）は、2例の異なるドナーについてのヒト全血アッセイにおけるデュピルマブを介したhIL-4刺激性TARC分泌阻害作用に関する*ex vivo*のIC_{90}範囲を143～384倍上回った。これらの曝露量比により、毒性試験及びヒト被験者のいずれにおいても、抗体濃度は標的が飽和した濃度を明らかに上回っていることが確認された。

相同抗体を臨床開発候補品と比較する場合には、薬物濃度又は曝露量を用いた一般的な安全域の算出は不適切である。相同タンパク質は一般に定量的なリスク評価には有用でないが、有害性の確認には適している（ICH S6(R1)第2部の2.3）。この観点において、相同抗体を用いた試験は、デュピルマブの定量的リスク評価を目的としたものではなく、むしろ重要な点は、毒性試験において両方の相同抗体により受容体結合が飽和に達し、それが維持されたことである。このことにより、デュピルマブのIL-4Rα阻害作用が最大となる用量において、定性的安全性評価が可能になる。

表 4 - ヒト試験におけるデュピルマブ曝露量比と相同抗体曝露量比の要約

動物種	試験の種類 （投与期間及び投与経路）	REGN646 又は REGN1103 の NOAEL （mg/kg/週）	動物における曝露量[a] C_{trough}/IC_{90}	ヒトにおける曝露量[b] C_{ss}/IC_{90}
カニクイザル	REGN646 の 6 ヵ月間反復皮下投与毒性試験及び 3 ヵ月間回復性試験	100	52	143～384
Balb/c マウス	REGN1103 の皮下投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	200	2713	

a 動物の曝露量 : 26 週目のカニクイザルにおける NOAEL での平均 C_{trough} と、カニクイザル全血を用いた *ex vivo* での REGN646 を介した hIL-4 刺激性 TARC 分泌阻害作用の IC_{90} との比較。NOAEL での雌及び雄の Balb/c マウスにおけるそれぞれ 5 週目及び 7 週目の平均 C_{trough} と、*ex vivo* HT-2 マウス細胞アッセイにおける REGN1103 を介した mIL-4 I 型受容体シグナル伝達阻害作用の IC_{90} との比較。

b ヒトの曝露量：ヒトにおける定常状態（C_{ss}）濃度（16 週目、113 日目）と、ヒト全血を用いた *ex vivo* でのデュピルマブを介した hIL-4 刺激性 TARC 分泌阻害作用の IC_{90}（2 例のドナーのアッセイ範囲）との比較。

以上、相同抗体の最大標的結合において、IL-4Rα 阻害作用に関する安全性上の問題点は示されなかった。デュピルマブ 並びに相同抗体 REGN1103 及び REGN646 について、適切な ICH 及び国際ガイダンスに従って実施した非臨床試験で得られたデータに基づくと、臨床試験の実施は妥当なものと考えられ、これらのデータはデュピルマブ の承認申請をサポートするものである。

6 参考文献一覧

1. Eichenfield LF, Tom WL, Chamlin SL, Feldman SR, Hanifin JM, Simpson EL, et al. Guidelines of care for the management of atopic dermatitis: section 1. Diagnosis and assessment of atopic dermatitis. J Am Acad Dermatol. 2014;70(2):338-51.
2. Siegfried EC, Herbert AA. Diagnosis of atopic dermatitis: mimics, overlaps, and complications. J Clin Med. 2015; 4(5):884-917.
3. Howell MD, Parker ML, Mustelin T, Ranade K. Past, present, and future for biologic intervention in atopic dermatitis. Allergy. 2015; 70(8):887-96.
4. Ring J, Alomar A, Bieber T, Deleuran M, Fink-Wagner A, Gelmetti C, et al. Guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) part I. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2012; 26(8):1045-60.
5. Ring J, Alomar A, Bieber T, Deleuran M, Fink-Wagner A, Gelmetti C, et al. Guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) part II. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2012; 26(9):1176-93.
6. Lubbe J, Friedlander SF, Cribier B, Morren MA, Garcia-Diez A, Gelmetti C, et al. Safety, efficacy, and dosage of 1% pimecrolimus cream for the treatment of atopic dermatitis in daily practice. Am J Dermatol. 2006; 7(2):121-31.
7. Frankel HC, Qureshi AA. Comparative effectiveness of topical calcineurin inhibitors in adult patients with atopic dermatitis. Am J Clin Dermatol. 2012;13(2):113-23.
8. Arkwright PD, Motala C, Subramanian H, Spergel J, Schneider LC, Wollenberg A. Atopic dermatitis working group of the allergic skin diseases committee of the AAAAI. J Allergy Clin Immunol Pract. 2013;1(2):142-51.
9. Darsow U, Wollenberg A, Simon D, Taieb A, Werfel T, Oranje A, et al. Difficult to control atopic dermatitis. World Allergy Organ J. 2013;6(1):6.
10. Zuberbier T, Orlow SJ, Paller AS, Taieb A, Allen R, Hernanz-Hermosa JM, et al. Patient perspectives on the management of atopic dermatitis. J Allery Clin Immunol. 2006; 118(1):226-32.
11. Schiffner R, Schiffner-Rohe J, Landthaler M, Stolz W. Treatment of atopic dermatitis and impact on quality of life: a review with emphasis on topical non-corticosteroids. Pharmacoeconomics. 2003; 21(3): 159-79.
12. Ellison JA, Patel L, Ray DW, David TJ, Clayton PE. Hypothalamic-pituitary-adrenal function and glucocorticoid sensitivity in atopic dermatitis. Pediatrics. 2000;105(4 Pt 1):794-9.
13. Gandhi NA, Bennett BL, Graham NM, Pirozzi G, Stahl N, Yancopoulos GD. Targeting Key Proximal Drivers of Type 2 Inflammation in Disease. Nat Rev Drug Discov. 2016;15(1):35-50.
14. Hamilton JD, Suarez-Farinas M, Dhingra N, Cardinale I, Li X, Kostic A, et al. Dupilumab improves the molecular signature in skin of patients with moderate-to-severe atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 2014; 134(6):1293-300.

15. Mochizuki M, Bartels J, Mallet AI, Christophers, E, Schroder JM. IL-4 induces eotaxin: a possible mechanism of selective eosinophil recruitment in helminth infection and atopy. J Immunol. 1998; 160(1):60-8.
16. Rosenberg HF, Phipps S, Foster PS. Eosinophil trafficking in allergy and asthma. J Allergy Clin Immunol. 2007; 119(6): 1303-10.
17. Rothman P, Lutzker S, Cook W, Coffman R, Alt FW. Mitogen plus interleukin 4 induction of C epsilon transcripts in B lymphoid cells. J Exp Med. 1988; 168(6): 2385-9.
18. Lebman DA, Coffmann RL. Interleukin 4 causes isotype switching to IgE in T cell-stimulated clonal B cell cultures. J Exp Med. 1988; 168(3):853-62.
19. Kuhn R, Rajewsky K, Muller W. Generation and analysis of interleukin-4 deficient mice. Science. 1991; 254(5032): 707-10.
20. Moon HB, Severinson E, Heusser C, Johansson SG, Möller G, Persson U. Regulation of IgG1 and IgE Synthesis by Interleukin 4 in Mouse B Cells. Scand J Immunol. 1989; 30(3):355-61.
21. Punnonen J, Aversa G, Cocks BG, McKenzie AN, Menon S, Zurawski G, et al. Interleukin 13 induces interleukin 4-independent IgG4 and IgE synthesis and CD23 expression by human B cells. Proc Natl Acad Sci USA. 1993; 90(8):3730-4.
22. Gauchat JF, Lebman DA, Coffman RL, Gascan H, de Vries JE. Structure and expression of germline ε transcripts in human B cells induced by interleukin 4 to switch IgE production. J Exp Med. 1990; 172(2): 463-73.
23. Gascan H, Gauchat JF, Roncarolo MG, Yssel H, Spits H, de Vries JE. Human B cell clones can be induced to proliferate and switch to IgE and IgG4 synthesis by interleukin 4 and a signal provided by activated CD4+ T cell clones. J Exp Med. 1991; 173(3): 747-50.
24. Humbert M, Corrigan CJ, Kimmitt P, Till SJ, Kay AB, Durham SR. Relationship between IL-4 and IL-5 mRNA expression and disease severity in atopic asthma. Am J Respir Crit Care Med. 1997; 156(3 Pt 1): 704-8.
25. Tazawa T, Sugiura H, Sugiura Y, Uehara M. Relative importance of IL-4 and IL-13 in lesional skin of atopic dermatitis. Arch Dermatol Res. 2004; 295(11): 459-64.
26. Howell MD, Kim BE, Gao P, Grant AV, Boguniewicz M, Debenedetto A, et al. Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin skin expression. J Allergy Clin Immunol. 2007; 120(1):150-5.
27. Kim BE, Leung DY, Boguniewicz M, Howell MD. Loricrin and incolucrin expression is down-regulated by Th2 cytokines through STAT-6. Clin Immunol. 2008; 126(3):332-7.
28. Hajoui O, Zheng H, Guay J, Letuve S, Fawaz LM, Mazer BD. Regulation of IL-13 receptor alpha 1 expression and signaling on human tonsillar B-lymphocyte subsets. J Allergy Clin Immunol. 2007; 120(6): 1425-32.

29. Junttila IS, Mizukami K, Dickensheets H, Meier-Schellersheim M, Yamane H, Donnelly RP, Paul WE. Tuning sensitivity to IL-4 and IL-13: differential expression of IL-4Rα, IL-13Rα1, and γc regulates relative cytokine sensitivity. J Exp Med. 2008; 205(11): 2595-608.
30. Hershey GKK, Friedrich MF, Esswein LA, Thomas ML, Chatila TA. The association of atopy with a gain-of-function mutation in the alpha subunit of the interleukin-4 receptor. N Engl J Med. 1997; 337(24): 1720-5.
31. Kruse S, Japha T, Tender M, Sparholt SH, Forster J, Kuehr J. et al. The polymorphisms S503P and Q576R in the interleukin-4 receptor alpha gene are associated with atopy and influence the signal transduction. Immunology. 1999; 96(3): 365-71.
32. Risma KA, Wang N, Andrews RP, Cunningham CM, Ericksen MB, Bernstein JA, et al. V75R576 IL-4 receptor alpha is associated with allergic asthma and enhanced IL-4 receptor function. J Immunol. 2002; 169(3): 1604-10.
33. Loza MJ, McCall CE, Li L, Isaacs WB, Xu J, Chang BL. Assembly of inflammation-related genes for pathway focused genetic analysis. PLoS ONE. 2007; 2(10): e1035.
34. Noben-Trauth N, Shultz LD, Brombacher F, Urban JF Jr, Gu H, Paul WE. An interleukin 4 (IL-4)-independent pathway for CD4+ T cell IL-4 production is revealed in IL-4 receptor-deficient mice. Proc Natl Acad Sci USA. 1997; 94(20): 10838-43.
35. Barner M, Mohrs M, Brombacher F, Kopf M. Differences between IL-4R alpha-deficient and IL-4-deficient mice reveal a role for IL-13 in the regulation of Th2 responses. Curr Biol. 1998;8(11):669-72.
36. McKenzie GJ, Emson CL, Bell SE, Anderson S, Fallon P, Zurawski G, et al. Impaired development of Th2 cells in IL-13-deficient mice. Immunity. 1998; 9(3): 423-32.
37. Fish SC, Donaldson DD, Goldman SJ, Williams CM, Kasaian MT. IgE generation and mast cell effector function in mice deficient in IL-4 and IL-13. J Immunol. 2005;174(12):7716-24.
38. Macdonald LE, Karow M, Stevens S, Auerbach W, Poueymirou WT, Yasenchak J, et al, Precise and in situ genetic humanization of 6Mb of mouse immunoglobulin genes. Proc Natl Acad Sci USA. 2014; 111(14):5147-52.
39. Murphy AJ, Macdonald LE, Stevens S, Karow M, Dore AT, Pobursky K, et al. Mice with megabase humanization of their immunoglobulin genes generate antibodies as efficiently as normal mice. Proc Natl Acad Sci USA. 2014; 111(14):5153-8.
40. Lee GR, Flavell RA. Transgenic mice which overproduce Th2 cytokines develop spontaneous atopic dermatitis and asthma. Int Immunol. 2004; 16(8): 1155-60.
41. Hurst SD, Muchamuel T, Gorman DM, Gilbert JM, Clifford T, et al. New IL-17 family members promote Th1 or Th2 responses in the lung: in vivo function of the novel cytokine IL-25. J Immunol. 2002; 169(1): 443-53.

42. Kane SV, Acquah LA. Placental transport of immunoglobulins: A clinical review for gastroenterologists who prescribe therapeutic monoclonal antibodies to women during conception and pregnancy. Am J Gastroenterol. 2009; 104: 228-33.
43. Pentsuk N, van der Laan JW. An interspecies comparison of placental antibody transfer: New insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies. Birth Defects Res. (Part B) 2009; 86: 328-44.
44. Stengel JZ, Arnold HL. Is infliximab safe to use while breastfeeding? World J Gastroenterol. 2008; 14(19): 3085-7.
45. Vasiliauskas EA, Church JA, Silverman N, Barry M, Targan SR, Dubinsky MC. Case report: evidence for transplacental transfer of maternally administered infliximab to the newborn. Clin Gastroenterol Hepatol. 2006; 4(10): 1255-8.
46. Carlock LL, Cowan LA, Oneda S, Hoberman A, Wang DD, Hanna R, et al. A comparison of effects on reproduction and neonatal development in cynomolgus monkeys given human soluble IL-4R and mice given murine soluble IL-4R. Regul Toxicol Pharmacol 2009;53(3):226-34.
47. Gardin JF, Jerome CP, Jayo MJ, Weaver DS. Maternal factors affecting reproduction in a breeding colony of cynomolgus macaques (Macaca fascicularis). Lab Animal Sci. 1989;39(3): 205-12.
48. Hird DW, Henrickxon RV, Hendrickx AG. Infant mortality in Macaca mulatta: Neonatal and post-neonatal mortality at the California primate research center, 1968-1972: A retrospective study. J Med Primatol. 1975; 4: 8-22.

7 付録

7.1 付録 1-データ欠損の理由

Module 4 の項	理由
薬理試験	
4.2.1.3 安全性薬理試験	独立した安全性薬理試験は実施しなかった。カニクイザルを用いた反復投与毒性試験の一部として、心血管系、呼吸系及び中枢神経系の評価を実施した。
4.2.1.4 薬力学的薬物相互作用	非臨床薬力学的薬物相互作用試験では、有用な結果が得られないと考えられたため、これら試験を実施しなかった。
薬物動態	
4.2.2.3 分布	モノクローナル抗体医薬品の場合、規制要件で組織分布試験の実施は求められていないことから、デュピルマブでこれらの試験は実施していない[a]。 REGN646 の妊娠中の全身曝露量及び胎盤通過については、妊娠カニクイザルを用いた 4.2.3.5.2「胚・胎児発生に関する試験」、及び 4.2.3.5.3「出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験」で評価した。
4.2.2.4 代謝	モノクローナル抗体医薬品の場合、小さなペプチド及び個々のアミノ酸に分解されると予想され、代謝経路が概ね理解されていることから、日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン S6 (R1) に準じて、従来型の代謝試験は実施していない[a]。
4.2.2.5 排泄	モノクローナル抗体医薬品の場合、これらの抗体はアミノ酸に分解され、内因性アミノ酸プールに入り、内因性タンパク質に組み込まれると予想される。したがって、排泄試験は実施していない[a]。
4.2.2.6 薬物動態学的薬物相互作用	モノクローナル抗体医薬品は P450 などによる代謝又は薬物トランスポーターによる輸送を受けないため，生物薬品と併用薬との薬物動態学的相互作用の可能性は限定的と考えられることから、薬物動態学的薬物相互作用試験は実施しなかった。
毒性試験	
4.2.3.1 単回投与毒性試験	モノクローナル抗体についての単回投与毒性に関する所見はまれであるため、最初の毒性試験は反復投与毒性試験とした。単回投与毒性の評価は、これらの試験において初回投与後に実施可能である。
4.2.3.3 遺伝毒性試験 4.2.3.3.1 *In vitro* 4.2.3.3.2 *In vivo*	モノクローナル抗体が細胞に入って DNA に結合することはないと予想される。このため、遺伝毒性試験は実施しなかった。[a]
4.2.3.4 がん原性試験 4.2.3.4.1 長期試験 4.2.3.4.2 短期又は中期試験 4.2.3.4.3 その他の試験	動物を用いた REGN646 の毒性試験及び IL-4/IL-13 阻害に関する文献データの重要性に基づく評価（weight-of-evidence review）により、デュピルマブを長期投与してもがんのリスクは増加しないとの結論が裏付けられたため、がん原性試験は実施しなかった。また、動物を用いたがん原性試験は、CHMP 及び FDA により[redacted]。

Module 4 の項	理由
4.2.3.5.2 胚・胎児発生に関する試験 4.2.3.5.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験	別の試験を実施したが、胚・胎児毒性や出生前及び出生後の発生並びに母体の機能への毒性の評価は、複合試験デザインのサルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生毒性試験で実施した。
4.2.3.6 局所刺激性試験	通常の局所刺激性試験は実施しなかった。局所刺激性の評価は、反復投与毒性試験において、投与動物の静脈内持続投与部位及び皮下投与部位の検査（肉眼観察及び病理組織学的検査）により実施した。静脈内持続投与部位及び皮下投与部位のいずれにおいても、被験物質関連の毒性所見は認められなかった。
4.2.3.7.1 抗原性試験 4.2.3.7.3 機序解明試験 4.2.3.7.4 依存性試験 4.2.3.7.5 代謝物の試験 4.2.3.7.6 不純物の試験	これらの試験により、さらなる検討が必要と考えられる所見が一般毒性試験でみられなかったこと、またデュピルマブはバイオ治療薬であることから、これらの試験は実施しなかった。

a 日米 EU 医薬品規制調査国際会議ガイドライン「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価 S6(R1)」に基づく