ピリヴィジェン 10%点滴静注
5 g/50 mL、10 g/100 mL、20 g/200 mL

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.1　緒言

CSL ベーリング株式会社

目次

略語・略号一覧 3
非臨床試験で使用した IgG 製剤の一覧 4
2.6. 非臨床試験の概要文及び概要表 5
2.6.1. 緒言 5
2.6.1.1. 製品情報 5
2.6.1.2. IgPro10 の非臨床試験 5
2.6.1.3. L-プロリンの非臨床試験 6

略語・略号一覧

略語・略号	英語	日本語
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
CIDP	Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy	慢性炎症性脱髄性多発根神経炎
CSLB	CSL Behring AG, Bern, called ZLB Behring AG before 2007 or ZLB Bioplasma AG before summer 2004	CSL Behring AG, Bern（2007 年以前は ZLB Behring AG、2004 年夏以前は ZLB Bioplasma AG）
EAE	Experimental allergic encephalomyelitis	実験的アレルギー性脳脊髄炎
Fab	Antigen binding fragment of the immunoglobulin molecule	免疫グロブリン分子中の抗原結合部位
Fc	Crystallizable fragment of the immunoglobulin molecule	免疫グロブリン分子中の結晶化可能部位
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
ICH	International Conference on Harmonisation (of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use)	医薬品規制調和国際会議
IgG	Immunoglobulin G	免疫グロブリン G

非臨床試験で使用した IgG 製剤の一覧

製剤	形態	IgG 濃度	L-プロリン	pH	臨床適用経路	販売状況	備考
IgPro10	液状製剤	10%	+	4.8	静脈内投与	海外で販売（販売名：Privigen）	治験薬
IgPro20	液状製剤	20%	+	4.8	皮下投与	本邦（販売名：ハイゼントラ 20%皮下注[*1]）及び海外（販売名：Hizentra）で販売	
サングロポール[*2]（Sandoglobulin）	凍結乾燥製剤	5%	−	6.6	静脈内投与	本邦（販売名：サングロポール）及び海外（販売名：Sandoglobulin）で販売	
Beriglobin P	液状製剤	16%	−	6.8	筋肉内投与 皮下投与	海外で販売（販売名：Beriglobin）	
[redacted]	液状製剤	[redacted]%	+	4.8	皮下投与	[redacted]	
[redacted]	液状製剤	[redacted]%	+	4.8	皮下投与	[redacted]	
Sandoglobulin Liquid	液状製剤	12%	+	5.3	静脈内投与	海外で販売（販売名：Sandoglobulin Liquid）	

*1 ハイゼントラ 20%皮下注 1 g/5 mL、2 g/10 mL、4 g/20 mL（承認番号：22500AMX01830000、22500AMX01831000 及び 22500AMX01832000）
*2 サングロポール点滴静注用 2.5 g（承認番号：22000AMI00003000）

2.6. 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1. 緒言

2.6.1.1. 製品情報

CSL ベーリング（CSLB）社は、新規の多価人免疫グロブリン G（IgG）製剤である IgPro10 を開発した。IgPro10 は調製せずに使用可能な液状製剤であり、慢性炎症性脱髄性多発根神経炎（CIDP）患者を対象に静脈内投与される。

IgPro10 は 10 w/v% IgG 水溶液であり、唯一の添加物として安定化剤である L-プロリンを含有する。本剤の組成は以下のとおりである。

ヒト免疫グロブリン	100 g/L、IgG 含量 98%以上
L-プロリン	250 mmol/L
[redacted]	pH [redacted] 調整用
[redacted]	[redacted]

IgPro10 の詳細な用法・用量は添付文書案に記載する（1.8）。CIDP 患者に対する推奨用量は、導入用量である 2 g/kg/day を 5 日間連日投与後、3 週ごとに 1 g/kg/day を 1~2 日間投与する。IgG として 1 g/kg/day の用量で投与した場合、288 mg/kg の L-プロリンが投与される。治験における IgPro10 の 1 日最大用量は 1 g/kg であり、今回、この投与量が申請に含まれている（2.5 及び 2.7）。

2.6.1.2. IgPro10 の非臨床試験

ヒト免疫グロブリンは生体内に存在するタンパク質であり、CSLB 社等の製造業者により高度に精製された製剤が医薬品として長年にわたって販売されており、その安全性及び忍容性は十分に確立されている。人免疫グロブリン製剤は免疫学的活性を有し、外来物反応性抗体を含むため、人免疫グロブリン製剤を動物モデルで試験することには限界があることは一般的に認められている（McMorrow et al. 1997 ; Tomlinson et al. 1997 ; Watier et al. 1996、ICH S6 (R1)）。

製造工程で使用される試薬及び原料は既知のものであり、添加物の L-プロリンを除き市販の血漿分画製剤に広く使用されており、IgPro10 でも同様にコントロールされている。

したがって、CSLB 社は、IgPro10 については標準的な非臨床試験のすべてを実施するのではなく、また、安定化剤として使用している添加物（L-プロリン）に焦点を当てた非臨床試験を実施することが妥当であると判断した。ただし、IgPro10 については、本製剤の機能（*in vitro* における Fab 及び Fc 機能）に関する検討、GLP 適用のウサギを用いた局所刺激性試験（表 2.6.7-5、試験番号 143.143.482；表 2.6.7-6、試験番号 143.143.552）、ラットを用いた血圧及び実験的アレルギー性脳脊髄炎（EAE）モデルに対する作用を評価した（表 2.6.3-3、試験番号 HYR 01/06；表 2.6.3-2、試験番号 EAR 03/06）。また、ラットを用いた反復投与薬物動態試験についても実施した（表 2.6.5-2、試験番号 PSR 02/06）。IgPro10 の局所刺激性試験では、海外臨床試験 ZLB03_003CR（ITP）で使用した IgPro10 と同一ロットを使用した（表 2.6.1-1）。

表 2.6.1-1　IgPro10 の非臨床試験

試験の種類 及び試験番号	動物種	投与期間	投与方法	被験物質 及び対照物質	投与量	GLP 適用 の有無
効力を裏付ける試験 4.2.1.1.1 EAR 03/06	ラット	5 日	反復静脈内投与 反復皮下投与	IgPro10 IgPro20* 生理食塩液	100、200 又は 400 mg/kg	非適用
安全性薬理試験 4.2.1.3.1 HYR 01/06	ラット	1 日	単回 ボーラス静脈内投与	IgPro10 IgPro20* Sandoglobulin Liquid 生理食塩液	250 mg/kg	非適用
反復投与後の吸収 4.2.2.2.1 PSR 02/06	ラット	5 日	反復静脈内投与 反復皮下投与	IgPro10 IgPro20*	100 又は 400 mg/kg	非適用
局所刺激性試験 4.2.3.6.1 143.143.482	ウサギ	8 日（観察期間）	初日に単回投与 静脈内、静脈周囲及び動脈内投与	IgPro10 生理食塩液	ヒト IgG：51.25 mg L-プロリン： 14.4 mg	適用
局所刺激性試験 4.2.3.6.2 143.143.552	ウサギ	4 日（観察期間）	単回皮下投与 単回皮下持続投与	IgPro10 [redacted]* [redacted]* IgPro20* Beriglobin P 添加物溶液（250 mmol/L L-プロリン、pH 4.8） 生理食塩液	最高 2.5 mL/kg（IgPro10 の ヒト IgG： 最高 250 mg/kg、 L-プロリン： 最高 72 mg/kg）	適用

*[redacted]、[redacted] 及び IgPro20 は、IgG 濃度がそれぞれ [redacted]、[redacted] 及び 20%である点を除き、IgPro10 と同等である。

2.6.1.3.　L-プロリンの非臨床試験

前述のとおり、L-プロリンは IgPro10 の唯一の添加物であり、安定化剤として使用されている。L-プロリンは非経口投与製剤の新規添加物ではなく、IgG の市販製剤（ハイゼントラ）の安定化剤、及び栄養輸液製剤の有効成分として既に承認されている。ただし、IgPro10 では L-プロリンの 1 日投与量はこれらの製剤より高い可能性がある。

L-プロリンは非必須アミノ酸であり、タンパク質や通常の食品の成分として広く存在している。食品成分としての L-プロリンの 1 日摂取量は、通常、約 5.2 g である（Proline 2005）。また、L-プロリンは、小児あるいは新生児にも使用される栄養輸液製剤中のアミノ酸の一つである。これらの静脈内投与輸液では、L-プロリンは 1 日最高 216 mg まで投与される（プレアミン-P 注射液、扶桑薬品工業株式会社）。IgPro10 では L-プロリンの 1 日用量は前述の市販製剤より高い場合がある。

そのため、CSLB 社は、免疫グロブリン液体製剤の開発初期及び IgPro10 の開発において、L-プロリンの安全性を検討した。IgPro10 の製剤開発中（[redacted]）、2 種類の添加物候補（グリシン及び L-プロリン）の安定化剤としての妥当性が検討された。これら 2 つの添加物候補を用いたいくつかの非臨床試験を実施した結果、L-プロリンが IgG 二量体の生成を抑制し、製剤の安定性を高める点で優れていたため、最終的に IgPro10 の安定化剤として選択された。

IgG 二量体は、ヒトにおいて一過性の有害事象及び炎症性サイトカインの産生を誘発することが知られている（[redacted]、Spycher et al. 1999）。このため、本非臨床概要においては L-プロリンに焦点を当てた結果と考察を示している。

高用量の L-プロリン（及びグリシン）を評価するため、反復静脈内投与毒性試験、胚・胎児発生に関する静脈内投与試験、薬物動態試験及び神経毒性試験を実施した（表 2.6.1-2）。

表 2.6.1-2　L-プロリンの非臨床試験

試験の種類 及び試験番号	動物種	投与期間	投与方法	被験物質	投与量	GLP 適用の有無
反復投与毒性試験 4.2.3.7.7.1 925/034	ラット	5 日	静脈内投与 7 時間／日	L-プロリン グリシン	L-プロリン： 最高 1449 mg/kg/day グリシン： 最高 945 mg/kg/day	非適用
反復投与毒性試験 4.2.3.7.7.2 925/035	ラット	28 日	静脈内投与 7 時間／日	L-プロリン グリシン	L-プロリン： 最高 1449 mg/kg/day グリシン： 最高 945 mg/kg/day	適用
反復投与毒性試験 4.2.3.7.7.3 668316	イヌ	7 日	静脈内投与 7 時間／日	L-プロリン	L-プロリン： 最高 4350 mg/kg/day	非適用
反復投与毒性試験 4.2.3.7.7.4 668321	イヌ	28 日	静脈内投与 7 時間／日	L-プロリン	L-プロリン： 最高 4350 mg/kg/day	適用
生殖発生毒性試験 （胚・胎児毒性試験） 4.2.3.7.7.9 AA30034	ラット	妊娠 6～17 日	静脈内投与 7 時間／日	L-プロリン グリシン	L-プロリン： 1449 mg/kg/day グリシン： 945 mg/kg/day	適用
神経毒性 （Irwin 試験） 4.2.3.7.7.10 1657/ZLB/02	ラット	5 日	最初の 4 日間：静脈内投与、7 時間／日 5 日目：静脈内投与、約 3 時間／日	L-プロリン グリシン	L-プロリン： 最高 1449 mg/kg/day グリシン： 最高 945 mg/kg/day	適用
神経毒性及び探索的薬物動態試験 4.2.3.7.7.11 PSR 08/06	ラット	単回投与	皮下投与 腹腔内投与	L-プロリン	皮下投与： 2 g/kg 腹腔内投与： 最高 4 g/kg	非適用
幼若動物における神経毒性及び薬物動態試験 4.2.3.7.7.12 PSR 03/07	ラット	単回投与	皮下投与	L-プロリン グリシン	L-プロリン： 1.9 g/kg グリシン： 1.2 g/kg	非適用
幼若動物における神経毒性試験 （Irwin 試験） 4.2.3.7.7.13 PSR 01/07	ラット	5 日（生後 9～13 日）又は 3 日（生後 9、16 及び 23 日）	皮下投与 1 日 2 回	L-プロリン グリシン	L-プロリン： 最高 2×2.0 g/kg/day グリシン： 最高 2×1.3 g/kg/day	非適用
幼若動物における神経毒性試験（水迷路試験） 4.2.3.7.7.13 PSR 01/07 及び 4.2.3.7.7.14 ZLB 06_006	ラット	5 日（生後 9～13 日）又は 3 日（生後 9、16 及び 23 日）	皮下投与 1 日 2 回	L-プロリン グリシン	L-プロリン： 最高 2×2.0 g/kg/day グリシン： 最高 2×1.3 g/kg/day	非適用

他の静脈注射用人免疫グロブリン製剤である Sandoglobulin Liquid の開発中に、数種のアミノ酸及びニコチンアミド混合液を用いた毒性試験が実施され、L-プロリンの毒性が検討された。ヨーロッパで以前市販されていた Sandoglobulin Liquid は、L-プロリン等の 3 種類の添加物（以下、添加物 8 と略す）を含有していた。当該製剤投与による L-プロリン投与量は最高 115 mg/kg/day であった。L-プロリンの遺伝毒性データは、混合添加物である「添加物 8」（L-プロリン：120 mmol/L、L-イソロイシン：[redacted] mmol/L、ニコチンアミド：[redacted] mmol/L）の 1 成分として実施した試験から得られた（表 2.6.1-3）。

表 2.6.1-3　Sandoglobulin Liquid 開発中に実施した L-プロリンの遺伝毒性試験

試験の種類 及び試験番号	動物種／試験系	投与期間	投与方法	投与量	GLP 適用 の有無
変異原性試験 4.2.3.7.7.5 22196	Ames 試験	–	–	L-プロリン：最高 69 µg/plate	適用
変異原性試験 4.2.3.7.7.6 49196	Ames 試験	–	–	L-プロリン：最高 6900 µg/plate	適用
遺伝毒性試験 4.2.3.7.7.7 CLE 1554/3-D5140	チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いる染色体異常試験	–	–	L-プロリン：最高 14.22 mmol/L （1.637 mg/mL）	適用
遺伝毒性試験 4.2.3.7.7.8 CLE 1554/4-D5140	マウス骨髄の小核試験	5 日	ボーラス静脈内投与	L-プロリン：最高 276 mg/kg/day	適用

L-プロリンは「添加物 8」（L-プロリン 120 mmol/L、L-イソロイシン [redacted] mmol/L 及びニコチンアミド [redacted] mmol/L を含有する pH [redacted] の溶液）の 1 成分として評価した。

3 種類の添加物は代謝経路が知られており、これらの添加物間の相互作用は低いことから、上記の試験データは L-プロリンを単一の添加物として試験したものと同様と考えられる。これらの試験の結果及び所見は、L-プロリンに焦点を当てて、本非臨床概要に示した。

すべての非臨床試験で使用された L-プロリンは、ヨーロッパ薬局方／アメリカ薬局方に準拠したものであった。Sandoglobulin Liquid の開発初期に「添加物 8」を用いて実施された試験のロットを除き、L-プロリンの全ロットは同一の製造業者から入手し、臨床試験用 IgPro10 の製造に使用されたロットと同様、CSLB 社により品質が保証された。

毒性試験では、予定されている臨床用法（静脈内投与）と同一の投与経路が選択された。また、添付文書案に規定された臨床用法に準じて、成熟動物を用いて実施された大部分の試験では 1 日の投与時間を 7 時間とした（1.8）。

静脈注射用人免疫グロブリン製剤は長期間にわたり連日投与されることがなく、L-プロリンの半減期が短いこと及び海外の臨床使用情報に基づき、L-プロリンの反復投与毒性試験の期間は最長で 4 週間が適切であると判断した。

表 2.6.1-2 及び表 2.6.1-3 に記載した主要な毒性試験は GLP 適用下で実施し、表 2.6.1-2 に記載したその他の試験は GLP 非適用下で実施した。また、L-プロリンの薬理学的及び毒性学的

特性に関して広範な文献調査を実施した。文献調査で得られた主な所見、並びに IgPro10 の添加物使用及び毒性試験プログラムに関する結論は各項に記載する。

ピリヴィジェン 10%点滴静注
5 g/50 mL、10 g/100 mL、20 g/200 mL

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

CSL ベーリング株式会社

目次

略語・略号一覧 3
2.6.2. 薬理試験の概要文 4
2.6.2.1. まとめ 4
2.6.2.2. 効力を裏付ける試験 4
2.6.2.2.1. 実験的アレルギー性脳脊髄炎に対する効果 5
2.6.2.3. 副次的薬理試験 8
2.6.2.4. 安全性薬理試験 8
2.6.2.4.1. ラット血圧に対する Sandoglobulin Liquid、IgPro10 及び IgPro20 の影響 8
2.6.2.4.2. 文献情報 10
2.6.2.5. 薬力学的薬物相互作用試験 11
2.6.2.6. 考察及び結論 11

略語・略号一覧

略語・略号	英語	日本語
CIDP	Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy	慢性炎症性脱髄性多発根神経炎
EAE	Experimental allergic encephalomyelitis	実験的アレルギー性脳脊髄炎
Fab	Antigen binding fragment of the immunoglobulin molecule	免疫グロブリン分子中の抗原結合部位
Fc	Crystallizable fragment of the immunoglobulin molecule	免疫グロブリン分子中の結晶化可能部位
HBs	Hepatitis B surface	B 型肝炎ウイルス表面（抗原）
IgG	Immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IL	Interleukin	インターロイキン
IVIG	Immunoglobulin for intravenous administration	静脈注射用人免疫グロブリン
TNF	Tumor necrosis factor	腫瘍壊死因子

2.6.2. 薬理試験の概要文

2.6.2.1.　まとめ

IgPro10 の有効成分は、ヒトの正常な多価免疫グロブリン G（IgG）である。IgPro10 の製造工程を通して、IgG 分子は正常な構造及び機能を保持している。また、ヒト血漿中の IgG サブクラスの分布及び抗体のスペクトルが維持されている。L-プロリンは IgPro10 の唯一の添加物であり、安定化剤として使用されている。

効力を裏付ける *in vitro* 薬理試験により、IgPro10 が正常な Fab 機能及び Fc 機能を有することが示された。これには [redacted] 種の抗体の特異性（Fab 機能）を検討する試験、及び [redacted] 種の Fc 機能を検討する試験（[redacted]）を用いた（[redacted]）。ラット実験的アレルギー性脳脊髄炎（EAE）モデルに対する IgPro10 の効果を静脈内投与によって検討した結果、EAE の症状発現が抑制され、死亡率が低下した（2.6.2.2.1.1、EAR 03/06 試験）。

Bleeker らは、静脈注射用人免疫グロブリン（IVIG）製剤の血管に対する作用を評価するための高感度かつ再現性のある麻酔下ラットモデルを報告しており（Bleeker et al. 1987）、本モデルでの血圧低下の持続時間及び程度は IgG の二量体及び凝集体に関連があると考えられた。HYR 01/06 試験において、本モデルを用いて IgPro10 の影響を検討した。ラットに IgPro10 をボーラス静脈内投与したとき、血圧低下作用に関する IgPro10 の忍容性は良好であった。血圧変化は中等度であり、欧州で以前市販されていた IVIG 製剤と同程度であった（2.6.2.4.1、試験番号 HYR 01/06）。

本ラットモデルでの降圧効果は IVIG 製剤の IgG 二量体含量と相関しており、また、健康人被験者に静脈注射用人免疫グロブリン製剤を投与したときの一過性の有害事象の発現及び血清中での一過性の炎症性サイトカイン上昇と相関していることが示された（2.6.2.4.2.1、Spycher et al. 1999）。IgG 二量体の影響は用量依存的であり、[redacted] を [redacted] にすることにより IVIG 製剤投与時に IgG 二量体によって誘発される有害事象が減少した。これに基づき、IgPro10 中の [redacted] を [redacted] に管理することとした（[redacted]）。

Teschner らは、10%IVIG の開発製剤を既承認製剤と比較した安全性薬理試験を報告した（2.6.2.4.2.2、Teschner et al. 2007）。自然発症高血圧ラットにおけるアナフィラキシー様反応の結果としての血圧低下作用、麻酔下モルモットにおける気管支痙攣作用、及び麻酔下ウサギにおける血栓形成をそれぞれ検討した。また、ビーグル犬を用いて心血管系、呼吸器系及び凝固系への影響を検討した。その結果、重要かつ意義のあるアナフィラキシー様反応は認められず、用いた製剤いずれにおいても呼吸器系への重大な影響や播種性血管内凝固は観察されなかった。

2.6.2.2.　効力を裏付ける試験

免疫グロブリン製剤は臨床使用を通して、その安全性及び有効性が十分に確立されている。したがって、新規の免疫グロブリン製剤に必要な非臨床評価は限定的であると考えられる。ま

た、動物モデルを用いた人免疫グロブリン製剤の試験では、これらの製剤が外来物反応性抗体を含むため、ヒトに外挿できない作用が動物で誘発される可能性があることから、非臨床試験の意義は限定的である。そのため、IgPro10 の機能を検討するための *in vitro* 試験に加えて、IgPro10 の期待される治療効果を示す 1 つの動物試験（ラット EAE モデル）のみを実施した。

IgPro10 に含有されている IgG は正常な Fc 及び Fab 領域を保有しており、それぞれの生物学的機能を発揮している。IgPro10 の Fab 及び Fc 機能は *in vitro* 試験によって確認された。

Fab 機能は、固相酵素免疫測定法（抗 HBs、[redacted]、肺炎球菌細胞壁多糖抗体、抗インフルエンザ菌 B 型、[redacted]）、[redacted]、ネフェロメトリー（抗ストレプトリジン）、又はバイオアッセイ（抗ジフテリア毒素、抗ポリオ）等によって評価した。IgG の主要な [redacted] つの Fc 機能（[redacted]）は、*in vitro* アッセイによって評価した。[redacted]による[redacted]は、[redacted]が[redacted]することを利用した[redacted]を用いて測定した。[redacted]は、[redacted]を用いた[redacted]（[redacted]）によって測定した。本法では IgPro10 が[redacted]と反応することを利用し、[redacted]を評価する。

Fab 及び Fc 機能の検査結果は [redacted] に示す。

2.6.2.2.1. 実験的アレルギー性脳脊髄炎に対する効果

2.6.2.2.1.1. ラット実験的アレルギー性脳脊髄炎（EAE）に対する静脈注射用人免疫グロブリン製剤 IgPro10 の治療効果

表 2.6.3-2、4.2.1.1.1 における試験報告書（試験番号 EAR 03/06）

実験的アレルギー性脳脊髄炎（EAE）は、中枢神経系の自己免疫性脱髄疾患であるヒト多発性硬化症の動物モデルである。免疫グロブリンが EAE に有効であることが報告されている（Achiron et al. 2000；Kroez et al. 2003）。

ラット EAE モデルでは、モルモットのミエリン（脊髄）をアジュバントと共にラットに注射することによって、ミエリン塩基性タンパク質に対する自然免疫寛容を破綻させる。これにより自己免疫反応が誘導され、中枢神経系の脱髄が惹起される。ミエリン鞘の破壊に伴い、症状として進行性の麻痺が発現するため、これをスコア化して追跡評価する。

EAE の転帰に対する IgPro10 及び IgPro20 の効果を評価した。IgPro20 は日本では「ハイゼントラ 20%皮下注」の名称で承認されている。

本試験ではプラセボを対照とし、70 例の Lewis 系雌ラットを各群 10 例、7 群に分けた。

被験物質として IgPro10（ロット番号 [redacted]）及び IgPro20（ロット番号 [redacted]）、プラセボ対照として生理食塩液を使用した。

被験物質の投与量：

IgPro10：100 mg/kg、200 mg/kg、400 mg/kg

IgPro20：100 mg/kg、200 mg/kg、400 mg/kg

被験物質は 1 日 1 回、5 日間連日投与した（Day 1～5）。IgPro10 は 5.0 mL/kg の容量でボーラス静脈内投与し、IgPro20 及びプラセボは 2.5 mL/kg の容量でボーラス皮下投与した。

Day 0 に、モルモット脊髄凍結乾燥品（Wiga 社製）10 mg を蒸留水 0.1 mL に懸濁し、完全 Freund アジュバント 0.1 mL と混合し 4 分割してラット皮下に注射し、さらに百日咳毒素 400 ng/mL を静脈内注射して EAE を惹起した。すべてのラットの中枢神経系障害の徴候を 35 日間にわたって毎日観察した。観察された症状を以下の基準で 0 から 4 までスコア付けした。

スコア 0：症状なし、　スコア 1：弛緩した尾及び後肢の麻痺、　スコア 2：前肢は動くが、側臥位、　スコア 3：四肢麻痺、　スコア 4：死亡

スコアの合計値を主要評価項目とし、EAE の発症率、症状発現までの時間、死亡までの時間及び死亡率を副次的評価項目とした。

<u>結果</u>

IgPro10 を静脈内投与後、Day 35 までのラット EAE の症状の経過を図 2.6.2-1 に示す。プラセボ投与群では Day 8 頃から症状の発現が始まり、経時的に症状が進行し死亡に至った。IgPro10 の 3 用量群いずれにおいても、EAE の症状スコアは観察期間を通してプラセボ投与群より低値を示した。また、主要評価項目の結果を表 2.6.2-1 に示す。いずれの IgG 投与群でも、プラセボ投与群と比較してスコア合計値（主要評価項目）が低値を示したが、100 mg/kg 投与群ではプラセボ群と比較して統計学的有意差は認められなかった（t 検定）。静脈内投与（IgPro10）と皮下投与（IgPro20）間での特筆すべき差異は認められなかった。

図 2.6.2-1　IgPro10 静脈内投与後の EAE 症状の経過

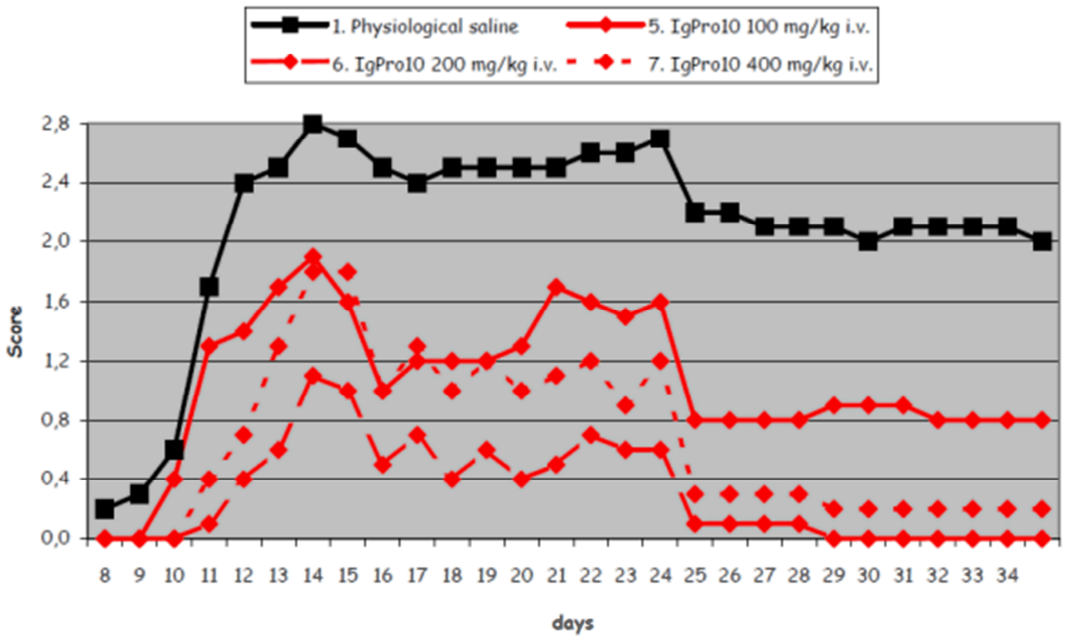


表 2.6.2-1　ラット EAE における主要評価項目の結果

投与群		スコア合計値（Day 35 時点）
プラセボ		59.1 ± 37.3
IgPro10、静脈内投与	100 mg/kg	29.7 ± 26.5
	200 mg/kg	8.6 ± 7.4
	400 mg/kg	18.5 ± 9.7
IgPro20、皮下投与	100 mg/kg	27.4 ± 24.9
	200 mg/kg	27.3 ± 21.8
	400 mg/kg	26.4 ± 24.2

IgPro20 の 100 mg/kg 皮下投与群の 2 例及び IgPro10 の 200 mg/kg 静脈内投与群の 3 例を除き、その他のラットはすべて EAE を発症した。EAE 発症率の変動は、本動物モデルの特性に起因すると考えられた。対照群の死亡率は 50%であったが、すべての IgG 投与群の死亡率は対照群より低値を示した。IgPro10 の 200 及び 400 mg/kg 静脈内投与群では死亡はみられず、IgPro20 の 200 及び 400 mg/kg 皮下投与群ではそれぞれ 10 例中 1 例が死亡したのみであった。200 及び 400 mg/kg 投与群では症状発現までの時間が延長し、また、すべての IgG 投与群でスコア 2 又は 3 に達するまでの時間も延長した。しかし、用量依存性は認められなかった。2 種の投与経路及び被験物質間に特筆すべき差異は認められなかった。

結論

100、200 又は 400 mg/kg の IgPro10 静脈内投与により、EAE の症状の発現が抑制され、死亡率の低下が認められた。

2.6.2.3.　副次的薬理試験

IgPro10 の新規の製造工程において精製方法が重点的に改善されたが、複数の生化学的アッセイ法で示されているように、活性成分である IgG は自然の状態を保持している。また、2.6.2.2 に記載したように、動物モデルを用いた人免疫グロブリン製剤の試験では、外来物反応性抗体を含むため、ヒトに外挿できない作用が動物で誘発される可能性があることから、試験の意義は限定的である。したがって、IgPro10 の副次的薬理試験は実施しなかった。

2.6.2.4.　安全性薬理試験

2.6.2.4.1.　ラット血圧に対する Sandoglobulin Liquid、IgPro10 及び IgPro20 の影響

表 2.6.3-3、4.2.1.3.1 における試験報告書（試験番号 HYR 01/06）

Bleeker ら（Bleeker et al. 1987）の知見に基づいてラットを用いた試験を実施した。Bleeker らは、人免疫グロブリン製剤を麻酔下ラットにボーラス静脈内投与し、血圧を測定した。標準的な筋肉注射用免疫グロブリン製剤は、重度かつ持続時間の長い血圧低下を惹起し、この変化には IgG 二量体及び凝集体が関連していると考えられた。本ラットモデルは、従来の *in vitro* アッセイ法では予測できなかった IVIG 製剤の血管に対する作用を観察するための、高感度かつ再現性のあるモデルであることが示された。したがって、IgPro10（1 ロット）の血圧低下作用を、IgPro20（2 ロット）、Sandoglobulin Liquid（欧州で以前市販されていた 12%IVIG）及び生理食塩液と比較し評価するために本モデルを使用した。試験の第 1 の目的は投与後 3 時間の観察期間での平均動脈圧の最小値を求めることであり、第 2 の目的は収縮期及び拡張期動脈圧、並びにそれらの最小値に到達するまでの時間を求めることであった。

体重 216～303 g の 6～8 週齢 CD 系雌ラット 24 例を 1 群 4～5 例、5 群に分けた。IgG 投与群は、IgPro10 投与群（投与容量 2.5 mL/kg）、Sandoglobulin Liquid 投与群（投与容量 2.08 mL/kg）及び IgPro20 投与群（2 ロット；投与容量 1.25 mL/kg）とし、それぞれ IgG として 250 mg/kg をボーラス静脈内投与した。対照群の 4 例には生理食塩液 2.0 mL/kg をボーラス静脈内投与した。

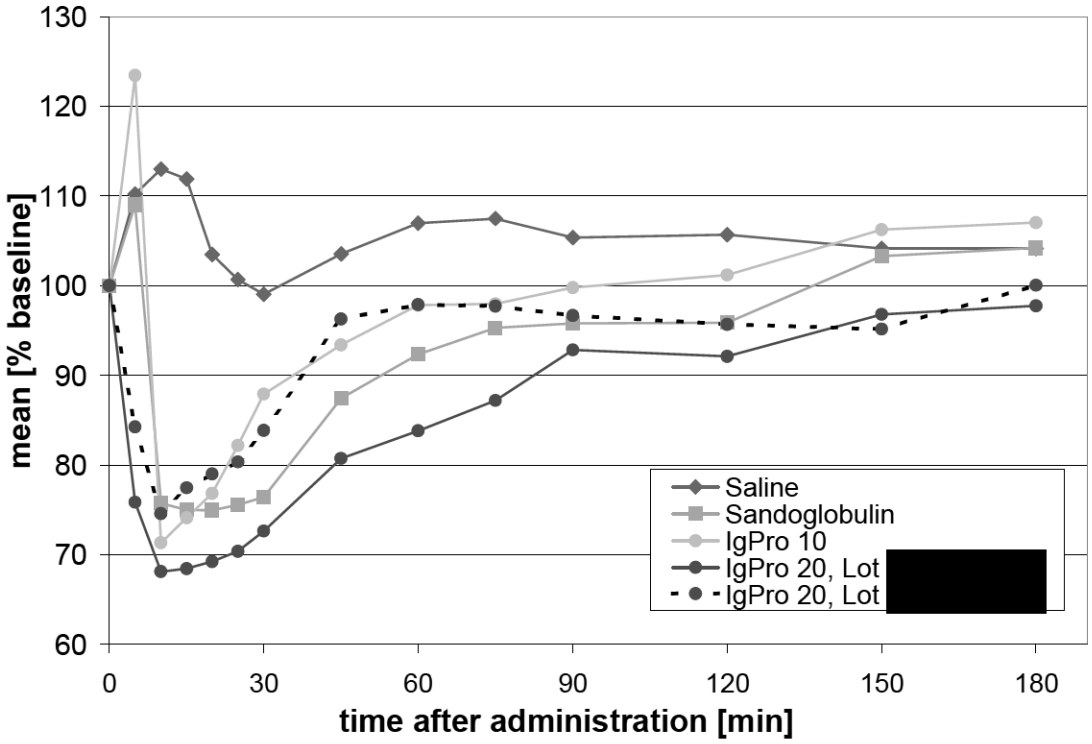
被験物質：
IgPro10、ロット番号：[redacted]
IgPro20、ロット番号：[redacted]
Sandoglobulin Liquid、ロット番号：[redacted]
生理食塩液

血圧は頸動脈圧を観血的方法で測定した。血圧データは各動物の投与前血圧を 100%とした場合の百分比に変換した。

結果

陽性対照の Sandoglobulin Liquid 投与群では、生理食塩液対照群の約 70%の平均動脈圧を示し、血圧が中等度に低下した。IgPro10 投与群及び IgPro20（ロット番号 [redacted]）投与群では同程度に血圧が低下し、Sandoglobulin Liquid との差異は認められなかった。2 番目のロットの IgPro20 投与群ではそれよりわずかに強い血圧低下がみられたが、本モデルの変動の範囲内であった。注目すべき変化として、生理食塩液、IgPro10 及び Sandoglobulin Liquid 投与群で投与直後に一過性の血圧上昇が観察された。この影響は投与容量によるものと考えられ、IgPro10（投与容量 2.5 mL/kg）で最大、Sandoglobulin Liquid（投与容量 2.08 mL/kg）及び生理食塩液（投与容量 2.0 mL/kg）で中等度であり、IgPro20（投与容量 1.25 mL/kg）では認められなかった。平均血圧の経時変化を図 2.6.2-2 に示す。

図 2.6.2-2　ラットにおける IgG 製剤静脈内投与後の平均動脈圧の経時変化



結論

本試験成績より、血圧への影響に関して IgPro10 の忍容性は良好であると結論づけられた。IgPro10 により惹起された血圧低下は中等度であり、以前市販されていた製剤 Sandoglobulin

Liquid と同程度であった。投与直後の一過性の血圧上昇は IgPro10 で最大であったが、この影響は投与容量（IgPro10 の場合、2.5 mL/kg）で説明可能と考えられた。

2.6.2.4.2.　文献情報

IVIG の開発製剤を対象とした安全性薬理試験の結果が公表されている。

2.6.2.4.2.1.　忍容性が良好な液状静脈注射用人免疫グロブリン製剤は IgG 二量体含量が低い

公表論文：Spycher et al. 1999

健康人被験者から同意取得後、0.4 g/kg の IVIG 液体製剤を標準的方法により静脈内投与した。症状のスコア及び臨床検査値によって忍容性を評価した。本臨床試験のデータを、使用した製剤の IgG 二量体濃度及び前記の方法（Bleeker et al. 1987）に従って測定したラット降圧効果と比較した。

IVIG 製剤の投与により被験者の血清中の炎症性サイトカイン濃度が一過性に上昇し、これは症状スコアと相関性を示した。腫瘍壊死因子（TNF）α 濃度の上昇に続いてインターロイキン（IL）-6 及び IL-8 濃度が上昇した。投与開始直後に総白血球数が一過性に減少し、特に TNFα 濃度の上昇と並行して単球の比率の低下が認められた。

被験者での TNFα ピーク濃度（又は単球の比率の低下）は、ラットでの IVIG 製剤による血圧低下度と正の相関を示し、また、IVIG 製剤中の IgG 二量体の割合（%）と正の相関を示した。

IVIG 製剤中の IgG 二量体含量及びラットでの血圧低下度は、IVIG 製剤をヒトに投与するときの有害事象予測の指標になると結論づけられた。

当該公表論文（Spycher et al. 1999）の試験に使用した製剤の製造方法と IgG 二量体による作用との間に関連性は認められなかったため、IgPro10 を用いたそれ以上の試験は必要ないと CSL ベーリング社は判断した。IgPro10 中の [redacted] を [redacted] に管理することとした（[redacted]）。

2.6.2.4.2.2.　最新の製造工程で高度に精製された新規の液状静脈注射用人免疫グロブリン製剤（10%静脈注射用人免疫グロブリン製剤）

公表論文：Teschner et al. 2007

10%IVIG の開発製剤 3 ロットについて、安全性薬理パラメータを主として市販の IVIG 製剤である Gammagard SD（バクスター、現バクスアルタ）と比較した。

麻酔下の自然発症高血圧ラットに、10%IVIG の開発製剤及び Gammagard SD をいずれも 1 g/kg の用量でボーラス動脈内投与し、血圧への影響を検討した。血圧値は本論文には記載されておらず、新規製剤で惹起された血圧低下は、市販の IVIG 製剤と同程度であったことのみ記述されている。本ラットモデルでの血圧低下は、アナフィラキシー様反応の指標として使用された。

アナフィラキシー様反応陽性を 30%以上の平均動脈圧低下が 1 分以上持続した場合と定義し、陽性回数を測定したところ、投与群間に差は認められなかった。

アナフィラキシー様反応は結果として肺膨張圧を上昇させるが、そのようなアナフィラキシー様反応誘発物質に対する感受性が知られているモルモットを用いて、気管支攣縮を検討した。アナフィラキシー様反応陽性を 30%以上の肺膨張圧上昇が 1 分以上持続する場合と定義し、陽性回数を測定した。10%IVIG の開発製剤の投与後にそのような反応は観察されなかった。

ウサギに異なるロットの 10%IVIG の開発製剤 500 mg/kg、陰性対照物質及び陽性対照物質を投与し、血栓形成を半定量的なスコア化により評価した。10%IVIG の開発製剤を投与されたウサギでは、2 を超すスコア（数個の中型血栓又は多数の小型血栓）を示さず、開発製剤が血栓形成を誘発するリスクは低いと考えられた。

また、10%IVIG の開発製剤について、呼吸器パラメータを含む生命維持に必要な機能に対する影響をイヌで検討した。その結果、10%IVIG の開発製剤 500 mg/kg を投与した麻酔下イヌの 12 例中 1 例、及び市販製剤の同用量を投与した 4 例中 1 例のイヌにおいて呼吸器への影響が認められた。筋肉注射用免疫グロブリン製剤は投与量 50 mg/kg で陽性対照薬として使われた（本論文ではデータ記載なし）。本論文では呼吸器への影響は詳述されていないが、呼吸機能は（並びに同時に検討した心血管機能及び播種性血管内凝固についても）2 製剤間で差がないと結論づけられた。

要約すると、非臨床モデルでは新規の IVIG 製剤は市販製剤と比較して優れた安全性プロファイルを有すると結論づけられた。

2.6.2.5.　薬力学的薬物相互作用試験

人免疫グロブリン製剤は、生ワクチンの効果を減弱させるおそれがあることが既に知られており、「相互作用（併用注意）」として、IVIG 製剤の添付文書に記載されている。添付文書の「適用上の注意」には、人免疫グロブリン製剤は調製時に、他の製剤との混注は避けることと記載されている。ヒト IgG の重大な薬力学的薬物相互作用は報告されておらず、IgPro10 に関しても薬力学的薬物相互作用は予測されない。また、L-プロリンは、生体内変化の経路から判断して他の薬剤との相互作用は予測されない。以上のことから、特定の非臨床薬物相互作用試験は実施しなかった。L-プロリンは、IgG の完全性及び全機能に影響を与えることなく、イディオタイプ－抗イディオタイプ抗体の単量体－二量体平衡を単量体優位の方向に変化させる（[redacted]）。

2.6.2.6.　考察及び結論

IgPro10 は高度に精製された IVIG 製剤である。IgPro10 は、免疫化学的方法又はバイオアッセイ法を用いた抗体機能（Fab 機能）の測定によって示されているように、広範囲の特異抗体を正常状態で含有している。また、慢性炎症性脱髄性多発根神経炎（CIDP）に関与すると考え

られる主要な [redacted] 種の Fc 機能（[redacted]）を測定する *in vitro* アッセイ法によって、IgPro10 が正常な Fc 機能を有することが確認された。IgPro10 はラット EAE の症状発現を抑制し、死亡率を低下させた。ラット EAE モデルにおける IgPro10 の効果、及び既承認の IVIG 製剤の CIDP に対する臨床的効果に基づき、IgPro10 の CIDP に対する臨床的効果が期待できる。

ラットを用いて、IgPro10 のボーラス静脈内投与後の血圧低下作用について検討した。その結果、IgPro10 の忍容性は良好であり、血圧変化は中等度にとどまり従来の IVIG 製剤と同程度であった。この結果は、2 種の IVIG 製剤を比較した安全性薬理試験の文献データと一致しており、予測できない変化は認められなかった。

ピリヴィジェン 10%点滴静注
5 g/50 mL、10 g/100 mL、20 g/200 mL

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

CSL ベーリング株式会社

目次

2.6.3. 薬理試験概要表 3
2.6.3.1. 薬理試験：一覧表 3
2.6.3.2. 効力を裏付ける試験 4
2.6.3.3. 副次的薬理試験 5
2.6.3.4. 安全性薬理試験 6
2.6.3.5. 薬力学的薬物相互作用試験 7

2.6.3. 薬理試験概要表

2.6.3.1.　薬理試験：一覧表

表 2.6.3-1　薬理試験：一覧表

被験物質：IgPro10

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location	
					Vol.	Section
Primary Pharmacodynamics	Rats	i.v.	CSL Behring GmbH	EAR 03/06		4.2.1.1.1
Secondary Pharmacodynamics	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		n.a.
Safety Pharmacology	Rats	i.v.	CSL Behring GmbH	HYR 01/06		4.2.1.3.1
Pharmacodynamic Drug Interactions	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		n.a.

n.a.: study not performed by CSLB as justified below and in section 2.6.2

2.6.3.2.　効力を裏付ける試験

表 2.6.3-2　効力を裏付ける試験（EAR 03/06）

報告書表題：ラット実験的アレルギー性脳脊髄炎（EAE）に対する皮下注射用人免疫グロブリン製剤 IgPro20 の治療効果

被験物質：IgPro10

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain and Body Weight	Method of Administration	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number Location in CTD: 4.2.1.1.1
Signs of CNS deterioration and observed symptoms	Rat [redacted] 173-215 g	**IgPro10:** i.v. bolus on 5 consecutive days **Vehicle and IgPro20:** s.c. bolus on 5 consecutive days	**Vehicle:** Physiological saline, 2.5 mL/kg bw **Test Article I:** **IgPro10** batch no. [redacted] 100, 200 and 400 mg/kg bw (5.0 mL/kg bw) **Test Article II:** **IgPro20** batch no. [redacted] 100, 200 and 400 mg/kg bw (2.5 mL/kg bw)	70F (7 groups of 10 animals)	IgPro20 and IgPro10 decreased the sum of scores of CNS deterioration and observed symptoms at 100, 200 and 400 mg/kg bw doses.　In all IgG treatment groups, a lower sum of scores was observed than in the vehicle group. Mortality was lowered and only 1/10 animals died after 200 or 400 mg/kg bw IgPro20 and no animals died after application of 200 or 400 mg/kg bw IgPro10. Onset of symptoms was prolonged at the 200 and 400 mg/kg bw of IgPro20 and IgPro10; time to reach mid-scores was prolonged, too, in the IgPro20 and IgPro10 groups.	No	EAR 03/06
Conclusion: IgPro10 treatment in doses of 100, 200 or 400 mg/kg bw attenuated the development of symptoms of EAE and led to a lower mortality.							

2.6.3.3.　副次的薬理試験

IgPro10 の副次的薬理試験は実施しなかった。

2.6.3.4.　安全性薬理試験

表 2.6.3-3　安全性薬理試験（HYR 01/06）

報告書表題：ラット血圧に対する Sandoglobulin Liquid、IgPro10 及び IgPro20 の影響

被験物質：IgPro10

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain and Body Weight	Method of Administration	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number Location in CTD: 4.2.1.3.1
Mean arterial blood pressure, during 3 hours after application of test articles	Rat [redacted] 216-303 g	Single dose i.v. bolus	**Vehicle:** Physiological saline, 2.0 mL/kg bw **Test Article I:** **IgPro10** batch no. [redacted] 250 mg/kg bw (2.5 mL/kg bw) **Test Article II:** **IgPro20** batch no. [redacted] 250 mg/kg bw (1.25 mL/kg bw) **Test article III**: **IgPro20** batch no. [redacted] 250 mg/kg bw (1.25 mL/kg bw) **Test article IV:** **Sandoglobulin Liquid** batch no. [redacted] 250 mg/kg bw (2.08 mL/kg bw)	24F (4 groups of 5 animals, 1 group of 4 animals)	Test article I: short drop of mean arterial blood pressure to 71% of baseline 10 min after i.v. bolus Test articles I and IV and vehicle: short-lived rise in blood pressure immediately upon injection	No	HYR 01/06
Conclusion: IgPro10 and two lots of IgPro20 were well tolerated with regard to the hypotension evoked. Hypotension was only moderate and in the same order of magnitude as caused by Sandoglobulin Liquid, an IVIG previously marketed in several countries.							

2.6.3.5.　薬力学的薬物相互作用試験

IgPro10 の薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。