# レブコビ筋注 2.4mg

# 製造販売承認申請

# 2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

## 2.6.1　緒言

帝人ファーマ株式会社

# 目次

2.6　非臨床試験の概要文 ..... 3
2.6.1　緒言 ..... 3

## 2.6　非臨床試験の概要文

### 2.6.1　緒言

EZN-2279 は、大腸菌より産生される遺伝子組換えウシ ADA の類縁体（rADA）にポリエチレングリコール（PEG）を共有結合させた修飾タンパク質（PEG-rADA）を含む注射剤であり、米国で ADAGEN®の置き換え品として開発された ADA 欠損症のための酵素補充療法剤である。

ADAGEN®は、天然型ウシ腸由来 ADA に PEG を共有結合させた修飾タンパク質（PEG-ADA）を含む注射剤である。ADAGEN®は ADA 欠損症のための酵素補充療法剤として 1990 年に米国で製造販売承認された。ADAGEN®投与により免疫機能の改善、感染のコントロール、発育の回復といった臨床症状の改善が報告されている。また、ADAGEN®には海外での 25 年以上の臨床使用における安全性情報が存在する。

EZN-2279 と ADAGEN®の比較を以下に示す。

- 遺伝子組換えウシ ADA 類縁体のアミノ酸配列は､74 番目アミノ酸残基をシステイン（天然型）からセリンに置換された以外は同一である。
- PEG のリンカーとして、ADAGEN®ではスクシンイミジルスクシナート（SS）リンカーが使用され、EZN-2279 ではより安定なスクシンイミジルカルバメート（SC）リンカーが使用されている。なお、慢性疾患に対する適応で承認されている他のバイオ医薬品でも、同様の SC リンカーを介した PEG の修飾はなされており、PEG の修飾に関連した新たな毒性発現はないことが報告されている。
- 使用された PEG の分子量及び PEG の結合量は同様である。

以上より、EZN-2279 及び ADAGEN®の類似性から、海外で既に承認され臨床で効果が認められている ADAGEN®同様、EZN-2279 も ADA 欠損症患者における有効性が期待できると考えた。

本剤の予定する効能・効果及び用法・用量を表 2.6.1-1 に示した。

**表 2.6.1-1　本剤の効能・効果及び用法・用量（案）**

| 効能・効果 | アデノシンデアミナーゼ欠損症 |
|---|---|
| 用法・用量 | 通常、エラペグアデマーゼ（遺伝子組換え）として 0.2 mg/kg を 1 週間に 1 回筋肉内注射する。なお、患者の状態に応じて適宜増減するが、1 回あたりの最大投与量は 0.3 mg/kg とする。ただし、速やかにアデノシンデアミナーゼ活性を上昇させる必要がある場合には、1 回 0.2 mg/kg を 1 週間に 2 回筋肉内注射することができる。<br>＜用法・用量に関連する使用上の注意＞<br>（1）本剤投与中は、血清中アデノシンデアミナーゼ（ADA）活性値、リンパ球数等の免疫に関する臨床検査値、臨床症状等を定期的に確認し、患者の状態に応じて投与量を調節すること。投与量の調節については、原則として、4 週ごとに検討することとし、1 回あたり 0.033 mg/kg までの範囲で増減すること。<br>（2）通常、本剤の投与は 1 週間に 1 回であるが、免疫不全症状が重度であり、速やかに ADA 活性を上昇させる必要がある場合にのみ、1 回あたりの最大投与量を 0.2 mg/kg とした上で、投与回数を週 2 回（3～4 日に 1 回 : 1 週あたりの最大投与量として 0.4 mg/kg）にすることができる。 |

# レブコビ筋注 2.4mg

# 製造販売承認申請

# 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

帝人ファーマ株式会社

# 目次

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 ..... 6
2.6.2.3　副次的薬理試験 ..... 12
2.6.2.4　安全性薬理試験 ..... 12
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験 ..... 13
2.6.2.6　考察及び結論 ..... 13
2.6.2.7　図表 ..... 13
2.6.2.8　参考文献 ..... 14

**略号一覧表**

| 略号 | 英名 | 日本語 |
|---|---|---|
| ADA | Adenosine deaminase | アデノシンデアミナーゼ |
| rADA | Recombinant adenosine deaminase | 遺伝子組換えアデノシンデアミナーゼ類縁体<br>（天然型ウシ腸由来 ADA の Cys74 が Ser へ置換された ADA） |
| PEG | Polyethylene glycol | ポリエチレングリコール |
| dAXP | Deoxyadenosine nucleotides | dATP（デオキシアデノシン三リン酸）、dADP（デオキシアデノシン二リン酸）、dAMP（デオキシアデノシン一リン酸）の総称 |
| AXP | Adenosine nucleotides | ATP（アデノシン三リン酸）、ADP（アデノシン二リン酸）、AMP（アデノシン一リン酸）の総称 |
| adenosine | adenosine | アデノシン |
| deoxyadenosine | deoxyadenosine | デオキシアデノシン |
| inosine | inosine | イノシン |
| deoxyinosine | deoxyinosine | デオキシイノシン |
| hypoxanthine | hypoxanthine | ヒポキサンチン |
| uric acid | uric acid | 尿酸 |
| TdT | terminal deoxynucleotidyl-transferase | 末端デオキシヌクレオチド転移酵素 |
| BALF | bronchoalveolar lavage fluid | 気管支肺胞洗浄液 |
| HPLC | high performance liquid chromatography | 高速液体クロマトグラフィー |
| SC | Succinimidyl carbamate linker | スクシンイミジルカルバメート |
| SS | Succinimidyl succinate | スクシンイミジルスクシナート |

**略号一覧表（製剤・有効成分）**

| 略号 | 英名 | 日本語・定義 |
|---|---|---|
| ADAGEN® | SS-PEG-ADA,PEG-ADA, PEGylated ADA | 一般名：pegademase bovine<br>米国で承認されている（日本では未承認）の ADA 欠損症治療薬の販売名 |
| EZN-2279 | PEGylated recombinant bovine ADA with SC linker（SC-PEG-rADA）, PEG-rADA | STM-279 の米国の治験成分記号<br>一般名：elapegademase<br>販売名：REVCOVI® |
| STM-279 | PEGylated recombinant bovine ADA with SC linker（SC-PEG-rADA）, PEG-rADA | 日本での治験成分記号<br>一般名:エラペグアデマーゼ（遺伝子組換え）<br>販売名：レブコビ®筋注 2.4mg |
| PEG-ADA | PEGylated bovine ADA with SS linker（SS-PEG-ADA） | ポリエチレングリコール修飾ウシアデノシンデアミナーゼ。<br>ADAGEN®の有効成分。 |
| PEG-rADA | PEGylated recombinant bovine ADA with SC linker（SC-PEG-rADA） | ポリエチレングリコール修飾遺伝子組換えウシアデノシンデアミナーゼ類縁体。<br>STM-279 又は EZN-2279 の有効成分。 |

## 2.6.2　薬理試験の概要文

### 2.6.2.1　まとめ

EZN-2279 は、大腸菌より産生される遺伝子組換えウシ ADA の類縁体（rADA）にカルボニル基を介して PEG を共有結合させた修飾タンパク質（PEG-rADA）を含有する無色澄明な液剤である。一方、ウシ腸から抽出した ADA に PEG を付与した製剤は、既に海外で ADAGEN®として製造販売承認を取得している。

ADA はアデノシン、デオキシアデノシンをそれぞれイノシン、デオキシイノシンへ代謝するプリン代謝経路の酵素である［図 2.6.2-1］。ADA 遺伝子の変異により発症する ADA 欠損症では、ADA 酵素の基質やリン酸化した基質（dAXP など）が蓄積し、これらが主に免疫細胞に対して細胞毒として働き［表 2.6.2-1］、進行性に免疫不全を招く[1),2)]。ADA 欠損症のその他の特徴に肺障害があり、一般的に免疫不全によって引き起こされる二次的な病態と考えられているが、ADA 欠損による一次的な病態の可能性も示唆されている[3)]。

ADA 欠損症患者に対し ADAGEN®投与により、免疫機能の改善、感染のコントロール、発育の回復といった臨床症状の改善が認められている[4)]。

EZN-2279 又は ADAGEN®は、欠損した ADA の補充療法として機能し、両薬剤とも PEG を付加することにより生体内からのクリアランスを遅延させ、分解酵素による代謝を低減して薬剤の半減期を延長させる。筋肉内投与された EZN-2279 又は ADAGEN®は、血液を循環し、血液中に蓄積したアデノシン及びデオキシアデノシンを代謝する。これら ADA 基質の細胞内外の平衡化により、細胞内アデノシン及びデオキシアデノシン濃度が正常化され、免疫機能等の改善が図られると考えられる[2),5)]［図 2.6.2-2］。

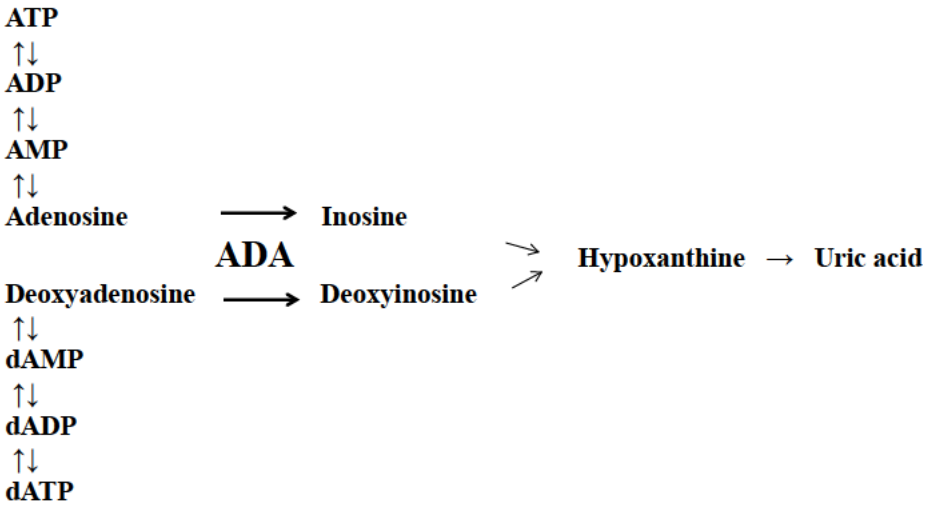



図 2.6.2-1　プリン代謝経路における ADA（参考文献 2 及び 5 より引用、一部改変）

表 2.6.2-1　蓄積した ADA 酵素基質による細胞障害メカニズム（参考文献 1 より引用、一部改変）

| 蓄積した<br>ADA 酵素基質 | ADA 酵素基質蓄積に伴う<br>二次的変化 | 二次的変化に伴う細胞障害を惹起する変化 |
|---|---|---|
| デオキシアデノシン | dATP ↑ | アポトーシス誘導<br>ATP 代謝亢進<br>TdT 産物異常<br>DNA 修復阻害<br>リボヌクレオシド二リン酸レダクターゼ阻害 |
| デオキシアデノシン<br>/アデノシン | AdoHcyase ↓<br>AdoHcy ↑ | メチル基転移阻害 |
| アデノシン | AXP ↑ | ピリミジン合成阻害 |
| | （アデノシン受容体） | シグナル伝達異常 |

AdoHcyase: S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase
AdoHcy: S-adenosyl-L-homocysteine

ADA欠損により増加したデオキシアデノシン及びdATPが、EZN-2279又はADAGEN®により、①、②、③の順で各濃度の適正化が図られる。アデノシン及びATPの各濃度も同様の機序で適正化が図られると考えられる。

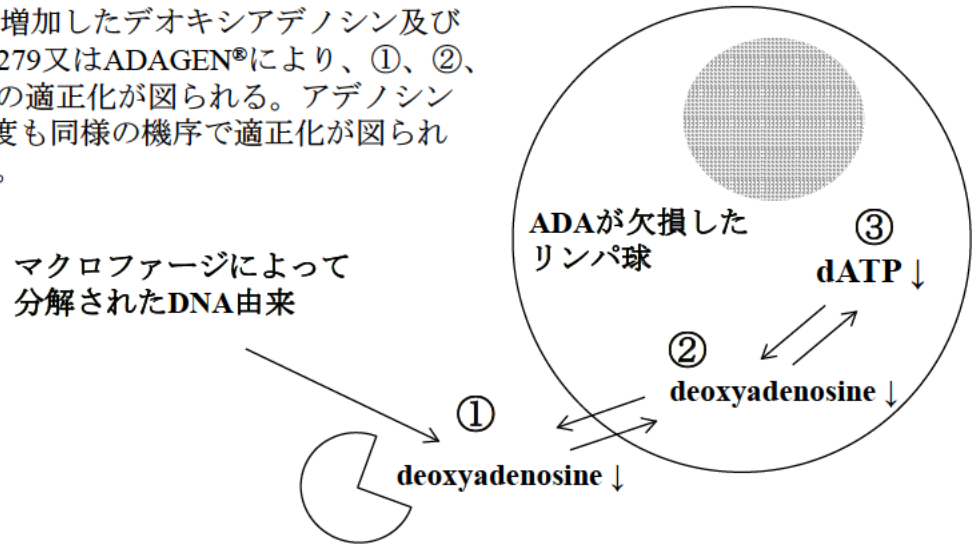



図 2.6.2-2　EZN-2279 又は ADAGEN®による細胞毒解除のメカニズム（参考文献 2 より引用、一部改変）

効力を裏付ける試験として、ADA 欠損（-/-）マウス（以下、ADA 欠損マウス）及び ADA 野生型（+/+）マウス（以下、ADA 野生型マウス）を用いて、EZN-2279 又は ADAGEN®を同じ投与量（それぞれ 5 U）で腹腔内単回投与又は筋肉内反復投与して病態改善効果を検討した。その結果、以下の効果を示した。

- EZN-2279 又は ADAGEN®投与によりいずれも血漿中 ADA 活性トラフ値は上昇し、その値はいずれも臨床において ADAGEN®を投薬した時の血漿中 ADA 活性の範囲であった。
- EZN-2279 又は ADAGEN®投与により、BALF 中アデノシン濃度は ADA 野生型マウスよりも低

下し、EZN-2279 と ADAGEN®の投与による抑制は同程度であった。
- 胸腺及び脾臓におけるアデノシン及びデオキシアデノシン濃度は、EZN-2279 又は ADAGEN® 投与により非投与の ADA 野生型マウス程度まで抑制された。更に、胸腺及び脾臓細胞数、両器官重量は、EZN-2279 又は ADAGEN®投与により非投与の ADA 野生型マウス程度まで減少が抑制され、ADAGEN®に比べ EZN-2279 がより強く減少が抑制された。
- EZN-2279 又は ADAGEN®投与により ADA 野生型マウスと同程度までいずれも体重減少が抑制され、生存率が向上した。

以上、ADA 欠損マウスにおいて、EZN-2279 は海外で既に承認され臨床で効果が認められている ADAGEN®と同程度かより強い薬効を示したことから、EZN-2279 は ADA 欠損症患者における有効性が期待できると考えた。

### 2.6.2.2　効力を裏付ける試験

薬理試験では、ADA 欠損マウス及び ADA 野生型マウスを用いた。ADA 欠損マウスの症状を以下に示す[3),6)]。

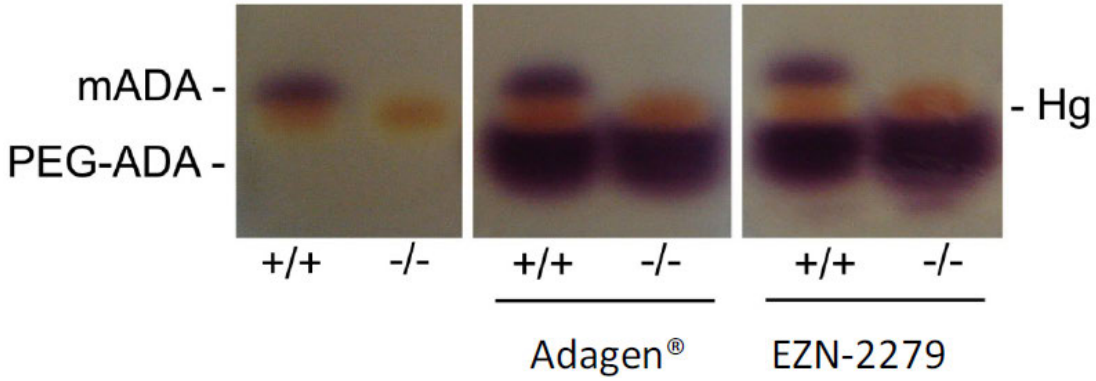
- 主に胸腺及び脾臓において ADA 酵素の基質であるアデノシン、デオキシアデノシンが蓄積し、プリン代謝障害により免疫不全を引き起こす。
- 免疫不全に加え肺障害などを引き起こし、生後約 3～4 週間で死亡する。ADA 欠損マウスでみられる症状は、ADA 欠損症患者の臨床症状と類似しており、ADA 欠損マウスへの ADAGEN® 投与により、プリン代謝障害の改善、胸腺及び脾臓重量の回復、免疫系及び肺障害の正常化、生存率の改善といった効果が報告されている。

以上より、ADA 欠損マウスは、ADAGEN®及び EZN-2279 の有効性を比較検討するのに適切なモデル動物と考えた。

#### 2.6.2.2.1　血中 ADA 活性上昇作用

［概要表 2.6.3.2；報告書 4.2.1.1-1（ADC09005）］

生後 18 日目の ADA 欠損マウス及び ADA 野生型マウスに、EZN-2279 又は ADAGEN®のそれぞれ 5 U を腹腔内に単回投与し、3 日後の生後 21 日目に解剖した。解剖時に血液を採取し、酵素電気泳動を用いて ADA 活性を検討した。その結果、EZN-2279 又は ADAGEN®由来の PEG-ADA が、ADA 欠損マウス及び ADA 野生型マウスの血液サンプルからそれぞれ検出され、その活性は同程度であった［図 2.6.2-3］。以上より、両剤を同量投与したとき、ADA 欠損マウス又は ADA 野生型マウスいずれにおいても ADA 活性が同程度血中に存在することが示唆された。




+/+; ADA 野生型マウス、 -/-; ADA 欠損マウス
PEG-ADA; 薬剤投与由来の ADA、mADA; mouse ADA（個体由来の ADA）

**図 2.6.2-3　ADA 欠損及び ADA 野生型マウスにおける血中 ADA 活性上昇作用（血液サンプルの酵素電気泳動像）**

### 2.6.2.2.2　　血漿中 ADA 活性トラフ値上昇作用

［概要表 2.6.3.2；報告書 4.2.1.1-1（ADC09005）］

生後 1 日目の ADA 欠損マウスに、それぞれ 5 U の EZN-2279 又は ADAGEN®を筋肉内に投与し、その後 4 日ごとに生後 21 日目まで、同様に投与を繰り返した。最終投与の直前に血液を採取し、分光光度法で血漿中 ADA 活性トラフ値を測定した。その結果、EZN-2279 又は ADAGEN®投与によりいずれも血漿中 ADA 活性トラフ値は上昇し、その値はいずれも臨床において ADAGEN®を投薬した時の血漿中 ADA 活性の範囲（20～150 μmol/h/mL）であった［表 2.6.2-2］。なお、EZN-2279 投与時の血漿中 ADA 活性トラフ値が ADAGEN®投与時よりも約 35%高い結果を示したが、統計学的に有意な差ではなかった。

**表 2.6.2-2　ADA 欠損マウスにおける血漿中 ADA 活性トラフ値 上昇作用**

| 群 | 血漿中 ADA 活性トラフ値（μmol/h/mL）[a)] |
|---|---|
| $ADA^{+/+}$マウス、無処置群 | 1.17 ± 0.15 |
| $ADA^{-/-}$マウス、無処置群 | 0.02 ± 0.01 |
| $ADA^{-/-}$マウス、ADAGEN®投与群 | 46.5 ± 8.21 |
| $ADA^{-/-}$マウス、EZN-2279 投与群 | 64.3 ± 7.91 |

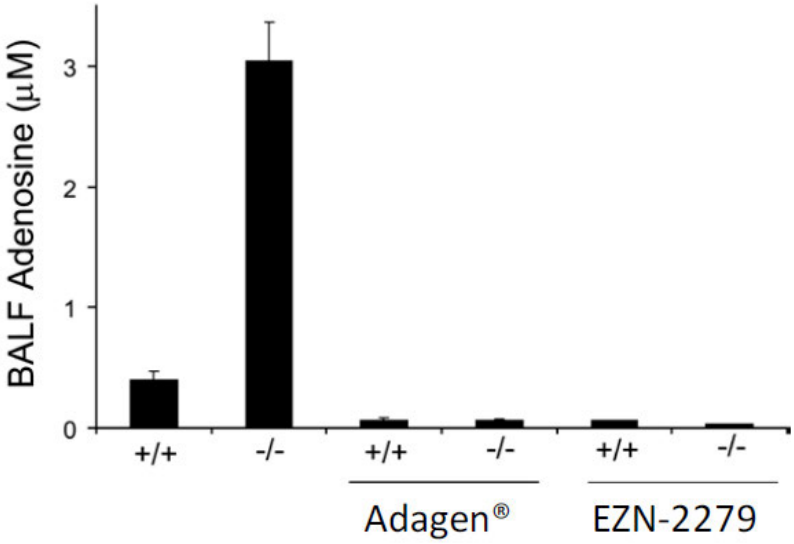
各群 6～8 例
a）：平均値±標準誤差

### 2.6.2.2.3　　BALF 中アデノシン濃度増加抑制作用

［概要表 2.6.3.2；報告書 4.2.1.1-1（ADC09005）］

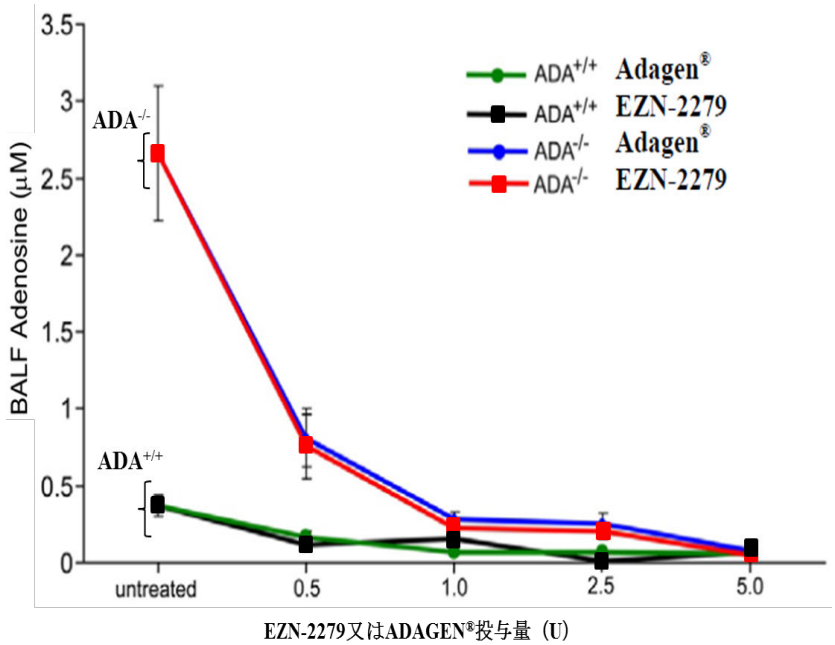
生後 18 日目の ADA 欠損マウス及び ADA 野生型マウスに、それぞれ 5 U の EZN-2279 又は ADAGEN®を腹腔内に単回投与し、生後 21 日目に解剖した。解剖時に BALF を採取し、逆相 HPLC を用いてアデノシン濃度を測定した。その結果、ADA 欠損マウスでは ADA 野生型マウスに比べ、BALF 中アデノシン濃度は増加した。EZN-2279 又は ADAGEN®投与により、BALF 中アデノシン濃度は ADA 野生型マウスよりも低下し、EZN-2279 と ADAGEN®の投与による抑制は同程度であ

った。ADA 野生型マウスにおいても、同様の結果が得られた［図 2.6.2-4］。また、投与量 0.5～5 U の範囲において、EZN-2279 又は ADAGEN®いずれについても同等の BALF 中アデノシン濃度抑制作用の用量依存性が確認された［図 2.6.2-5］。




+/+; ADA 野生型マウス、 -/-; ADA 欠損マウス
BALF Adenosine;BALF 中アデノシン濃度（μM）
平均値±標準誤差、各群 6 例

図 2.6.2-4　ADA 欠損及び ADA 野生型マウスにおける BALF 中アデノシン濃度増加抑制作用



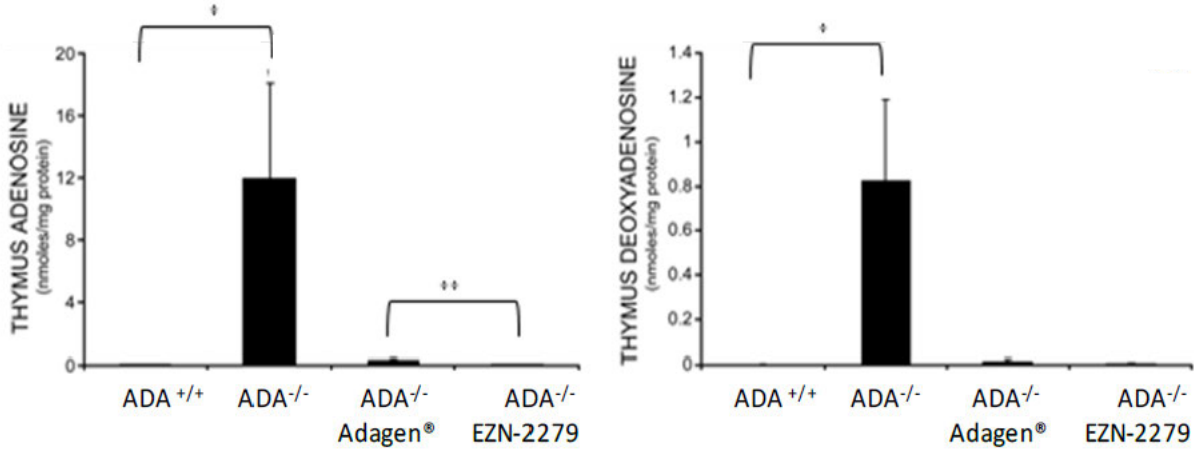

BALF Adenosine;BALF 中アデノシン濃度（μM）
平均値±標準誤差、各群 6 例

図 2.6.2-5　ADA 欠損及び ADA 野生型マウスにおける BALF 中アデノシン濃度増加抑制作用（用量依存性）

### 2.6.2.2.4　胸腺及び脾臓中アデノシン及びデオキシアデノシン濃度、細胞数、器官重量の改善作用

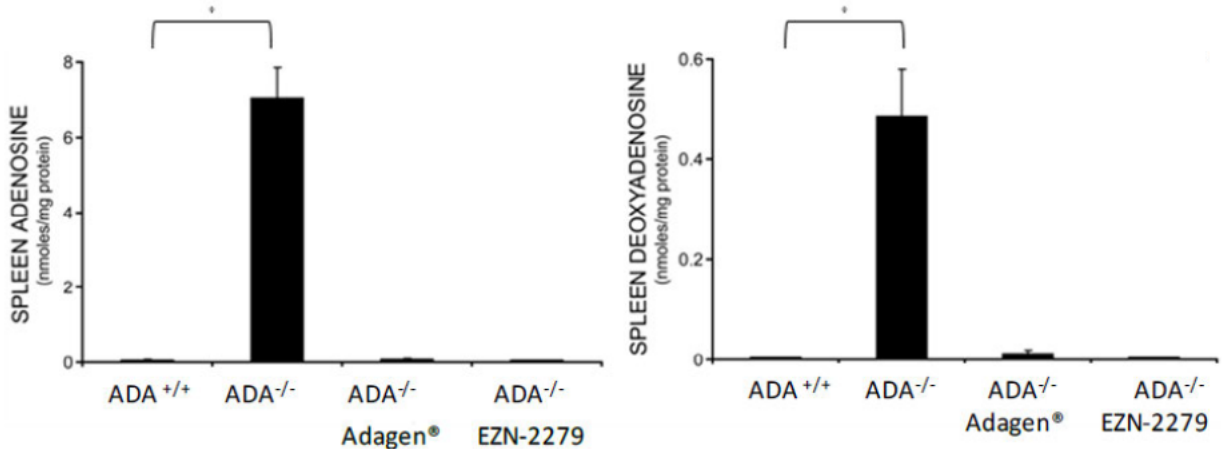
［概要表 2.6.3.2；報告書 4.2.1.1-1（ADC09005）］

生後 1 日目の ADA 欠損マウスに、それぞれ 5 U の EZN-2279 又は ADAGEN®を筋肉内に投与し、その後 4 日ごとに生後 21 日目まで、同様に投与を繰り返した。生後 21 日目に胸腺及び脾臓を採取し、器官重量を測定した。また、胸腺及び脾臓から細胞懸濁液を作製し、血球計算盤を用いてそれぞれの細胞数を測定するとともに、逆相 HPLC を用いてアデノシン及びデオキシアデノシン濃度を測定した。その結果、胸腺及び脾臓におけるアデノシン及びデオキシアデノシン濃度は、ADA 野生型マウスに比べ ADA 欠損マウスで有意に増加し、EZN-2279 又は ADAGEN®投与により非投与の ADA 野生型マウス程度まで抑制された［図 2.6.2-6, 図 2.6.2-7］。更に、胸腺及び脾臓細胞数、両器官重量は ADA 野生型マウスに比べ ADA 欠損マウスで有意に減少し、EZN-2279 又は ADAGEN®投与により非投与の ADA 野生型マウス程度まで減少が抑制され、ADAGEN®に比べ EZN-2279 がより強く減少が抑制された［図 2.6.2-8, 図 2.6.2-9］。



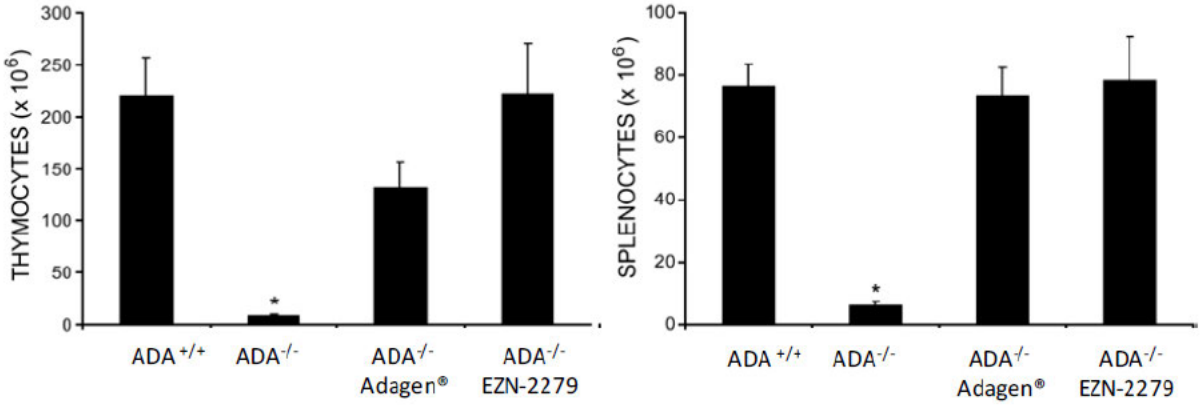

THYMUS ADENOSINE; 胸腺におけるアデノシン濃度（nmol/mg）
THYMUS DEOXYADENOSINE; 胸腺におけるデオキシアデノシン濃度（nmol/mg）
平均値±標準誤差、各群 5～10 例
*：P＜0.05（ADA+/+群に対する Mann-Whitney 検定）
**：P＜0.05（ADA-/- Adagen®群に対する Mann-Whitney 検定）

図 2.6.2-6　ADA 欠損マウス胸腺におけるアデノシン及びデオキシアデノシン濃度増加抑制作用



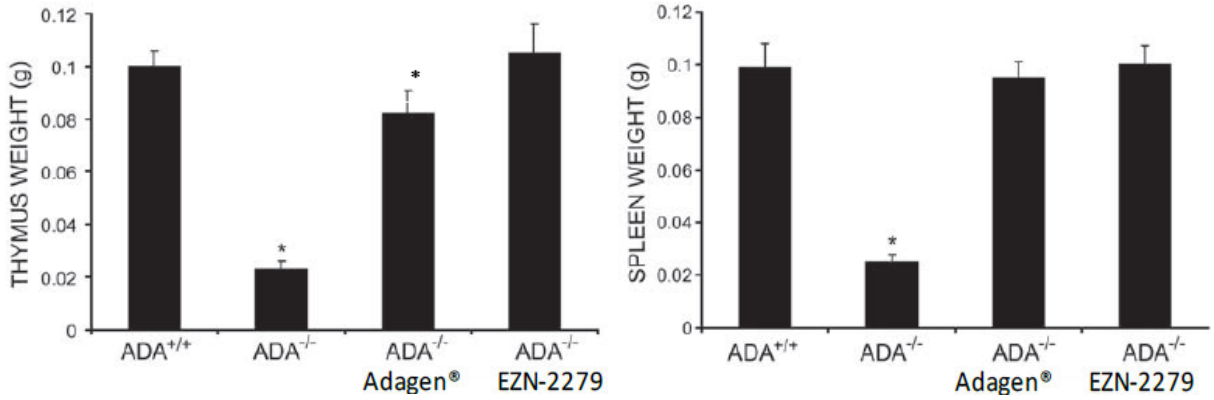

SPLEEN ADENOSINE; 脾臓におけるアデノシン濃度（nmol/mg）
SPLEEN DEOXYADENOSINE; 脾臓におけるデオキシアデノシン濃度（nmol/mg）
平均値±標準誤差、各群 5～10 例
*：P＜0.05（ADA+/+群に対する Mann-Whitney 検定）

図 2.6.2-7　ADA 欠損マウス脾臓におけるアデノシン及びデオキシアデノシン濃度増加抑制作用




THYMOCYTES; 胸腺細胞数（x $10^6$）
SPLENOCYTES; 脾臓細胞数（x $10^6$）
平均値±標準誤差、各群 5～8 例
*：P＜0.05（ADA+/+群に対する Mann-Whitney 検定）

図 2.6.2-8　ADA 欠損マウス胸腺及び脾臓における細胞数減少抑制作用



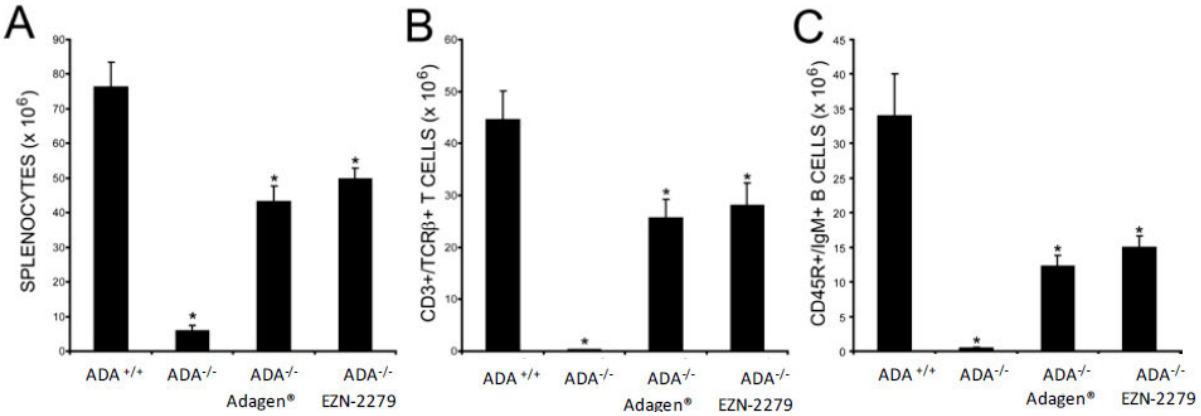

THYMUS WEIGHT; 胸腺重量（g）
SPLEEN WEIGHT; 脾臓重量（g）
平均値±標準誤差、各群 7～10 例
*：P＜0.05（ADA+/+群に対する Student の t 検定）

**図 2.6.2-9　ADA 欠損マウス胸腺及び脾臓重量減少抑制作用**

### 2.6.2.2.5　　脾臓における脾臓細胞数、T 及び B 細胞数の減少抑制作用

［概要表 2.6.3.2；報告書 4.2.1.1-1（ADC09005）］

生後 1 日目の ADA 欠損マウスに、それぞれ 5 U の EZN-2279 又は ADAGEN®を筋肉内に投与し、その後 4 日ごと、生後 20 日目から週 1 回、6 週齢まで、同様に投与を繰り返した。最終投与後、胸腺及び脾臓を採取し、細胞懸濁液を作製して血球計算盤を用いて脾臓細胞数を測定した。また、T 細胞の表面マーカーとして CD3 及び TCRβ、B 細胞の表面マーカーとして CD45R 及び IgM を指標として、フローサイトメトリーにより T 及び B 細胞の割合を測定した。その結果、ADA 野生型マウスに比べ ADA 欠損マウスにおいて脾臓細胞数、脾臓 T 及び B 細胞数が有意に減少し、EZN-2279 又は ADAGEN®投与により細胞数の減少が抑制され、その程度は EZN-2279 と ADAGEN®で同程度であった［図 2.6.2-10］。



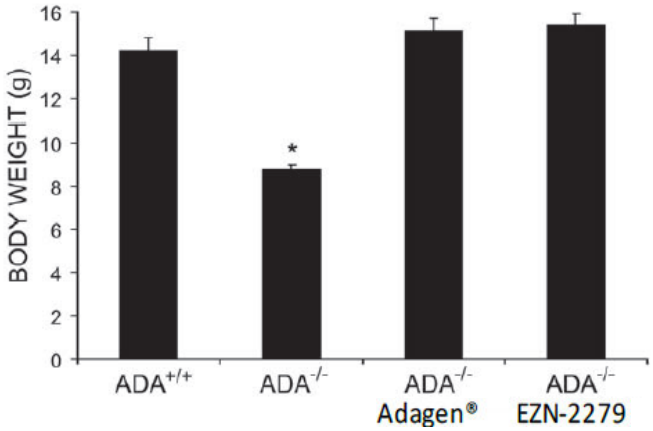

A; 脾臓細胞数、B; 脾臓における T 細胞数、C; 脾臓における B 細胞数（いずれも×$10^6$）
平均値±標準誤差、各群 3～8 例　　ADA 野生型及び欠損マウスの T 及び B 細胞数は文献 [3]から引用
*：P＜0.05（ADA+/+群に対する Student の t 検定）
*：P＜0.05（ADA+/+群に対する Student の t 検定）

**図 2.6.2-10　ADA 欠損マウス脾臓における脾臓細胞数、T 及び B 細胞数の減少抑制作用**

### 2.6.2.2.6　　体重減少抑制作用

［概要表 2.6.3.2；報告書 4.2.1.1-1（ADC09005）］

生後 1 日目の ADA 欠損マウスに、それぞれ 5 U の EZN-2279 又は ADAGEN®を筋肉内に投与し、その後 4 日ごとに生後 21 日目まで、同様に投与を繰り返した。その結果、ADA 野生型マウスに比べ ADA 欠損マウスでは、体重の減少が観察されたが、EZN-2279 又は ADAGEN®投与により、ADA 欠損マウスで観察される有意な体重減少が認められず、ADA 野生型マウスの体重といずれも同程度に維持された［図 2.6.2-11］。




BODY WEIGHT; 体重
平均値±標準誤差、各群 14～21 例
*：P < 0.05（ADA+/+群に対する Student の t 検定）

図 2.6.2-11　ADA 欠損マウスにおける体重減少抑制作用

### 2.6.2.2.7　　生存率改善作用

［概要表 2.6.3.2；報告書 4.2.1.1-1（ADC09005）］

生後 1 日目の ADA 欠損マウスに、それぞれ 5 U の EZN-2279 又は ADAGEN®を筋肉内に投与し、その後 4 日ごと、生後 20 日目から週 1 回、6 週齢まで、同様に投与を繰り返して生存率を比較検討した。その結果、通常生後約 3～4 週間で死亡するのに対し[6]、EZN-2279、ADAGEN®投与によりそれぞれ 6 例中 6 例及び 5 例が生後 6 週齢まで生存し、いずれも生存率が向上した。

### 2.6.2.3　　副次的薬理試験

該当する試験は実施していない。

### 2.6.2.4　　安全性薬理試験

以下の理由から、EZN-2279 の安全性薬理学的に重大なリスクはないと考えたため、追加評価としての安全性薬理試験は実施しなかった。

- ラット及びイヌにおける 4 週間反復投与及び 4 週間回復性試験では、中枢神経系及び呼吸器系

に変化は認められなかった。
- イヌにおける4週間反復投与及び4週間回復性試験では心電図検査にて変化は認められなかった。

ADAGEN®については、1986年以降、海外で185名のADA欠損症患者に対する使用実績があり、主要な生理的機能に対する副作用は報告されていない[7),8)]。

### 2.6.2.5　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。

### 2.6.2.6　考察及び結論

効力を裏付ける試験として、ADA欠損マウスを用いて、EZN-2279又はADAGEN®を同じ投与量（それぞれ5 U）で腹腔内単回投与又は筋肉内反復投与して病態改善効果を検討した。その結果、以下の効果を示した。

- EZN-2279又はADAGEN®投与によりいずれも血漿中ADA活性トラフ値は上昇し、その値はいずれも臨床においてADAGEN®を投薬した時の血漿中ADA活性の範囲であった。
- EZN-2279又はADAGEN®投与により、BALF中アデノシン濃度はADA野生型マウスよりも低下し、EZN-2279とADAGEN®の投与による抑制は同程度であった。
- 胸腺及び脾臓におけるアデノシン及びデオキシアデノシン濃度は、EZN-2279又はADAGEN®投与により非投与のADA野生型マウス程度まで抑制された。更に、胸腺及び脾臓細胞数、両器官重量は、EZN-2279又はADAGEN®投与により非投与のADA野生型マウス程度まで減少が抑制され、ADAGEN®に比べEZN-2279がより強く減少が抑制された。
- EZN-2279又はADAGEN®投与によりADA野生型マウスと同程度までいずれも体重減少が抑制され、生存率が向上した。

以上、ADA欠損マウスにおいて、EZN-2279は海外で既に承認され臨床で効果が認められているADAGEN®と同程度かより強い薬効を示したことから、EZN-2279はADA欠損症患者における有効性が期待できると考えた。

### 2.6.2.7　図表

図表は本文中に示した。

### 2.6.2.8　参考文献

1）Hershfield MS. Combined immune deficiencies due to purine enzyme defects. In: Immunologic Disorders in Infants & Children. 5th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2004:480-504. 5.4-14

2）Hershfield MS, Mitchell BS. Immunodeficiency diseases caused by adenosine deaminase deficiency and purine nucleoside phosphorylase deficiency. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 7th ed. NY: McGraw-Hill; 1995:1725-1768. 5.4-17

3）Blackburn MR, Aldrich M, Volmer JB, Chen W, Zhong H, Kelly S, et al. The use of enzyme therapy to regulate the metabolic and phenotypic consequences of adenosine deaminase deficiency in mice. J Biol Chem. 2000b; 275: 32114-32121. 4.3-6

4）Booth C, Gaspar HB. Pegademase bovine (PEG-ADA) for the treatment of infants and children with severe combined immunodeficiency (SCID). Biologics.2009; 3: 349-358. 5.4-6

5）Sauer AV, Brigida I, Carriglio N, Aiuti A. Autoimmune dysregulation and purine metabolism in adenosine deaminase deficiency. Front Immunol. 2012; 3: 265. 4.3-7

6）Blackburn MR, Volmer JB, Thrasher JL, Zhong H, Crosby JR, Lee JJ, et al. Metabolic consequences of adenosine deaminase deficiency in mice are associated with defects in alveogenesis, pulmonary inflammation, and airway obstruction. J Exp Med 2000a; 192: 159-170. 4.3-8

7）ADAGEN® Package Insert 4.3-2

8）Gaspar HB, Aiuti A, Porta F, Candotti F, Hershfield MS, Notarangelo LD. How I treat ADA deficiency. Blood.2009; 114: 3524-3532. 5.4-9

# レブコビ筋注 2.4mg

# 製造販売承認申請

# 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

帝人ファーマ株式会社

# 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 ..... 6
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 ..... 6

## 2.6.3 薬理試験概要表

### 2.6.3.1 薬理試験：一覧表

| 試験の種類 | 試験系 | 投与方法 | 実施施設 | 試験番号 | 報告書番号 |
|---|---|---|---|---|---|
| 効力を裏付ける試験 | | | | | |
| 血中 ADA 活性上昇作用 | ADA 欠損（-/-）マウス | 腹腔内投与 | [redacted] USA | ADC09005 | ［4.2.1.1-1］ |
| 血漿中 ADA 活性トラフ値上昇作用 | ADA 欠損（-/-）マウス | 筋肉内投与 | [redacted] USA | ADC09005 | ［4.2.1.1-1］ |
| BALF 中アデノシン濃度増加抑制作用 | ADA 欠損（-/-）マウス | 腹腔内投与 | [redacted] USA | ADC09005 | ［4.2.1.1-1］ |
| 胸腺及び脾臓中アデノシン及びデオキシアデノシン濃度、細胞数、器官重量の改善作用 | ADA 欠損（-/-）マウス | 筋肉内投与 | [redacted] USA | ADC09005 | ［4.2.1.1-1］ |
| 脾臓における脾臓細胞数、T 及び B 細胞数の減少抑制作用 | ADA 欠損（-/-）マウス | 筋肉内投与 | [redacted] USA | ADC09005 | ［4.2.1.1-1］ |
| 体重減少抑制作用 | ADA 欠損（-/-）マウス | 筋肉内投与 | [redacted] USA | ADC09005 | ［4.2.1.1-1］ |
| 生存率改善作用 | ADA 欠損（-/-）マウス | 筋肉内投与 | [redacted] USA | ADC09005 | ［4.2.1.1-1］ |

## 2.6.3.2 効力を裏付ける試験

| 試験内容 | 動物種・系統／試料 | 試験方法 | 投与量／濃度 | 動物数／群 | 特筆すべき所見 | 試験番号 | 報告書番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 血中 ADA 活性上昇作用 | ADA 欠損（-/-）マウス | 生後 18 日目の ADA 欠損マウス及び ADA 野生型マウスに、EZN-2279 又は ADAGEN®のそれぞれ 5 U を腹腔内に単回投与し、3 日後の生後 21 日目に解剖した。解剖時に血液を採取し、酵素電気泳動を用いて ADA 活性を検討した。 | 5 U | 6 例／群 | EZN-2279 又は ADAGEN® 由来の PEG-ADA が、ADA 欠損マウス及び ADA 野生型マウスの血液サンプルからそれぞれ検出され、その活性は同程度であった。 | ADC09005 | ［4.2.1.1-1］ |
| 血漿中 ADA 活性トラフ値上昇作用 | ADA 欠損（-/-）マウス | 生後 1 日目の ADA 欠損マウスに、それぞれ 5 U の EZN-2279 又は ADAGEN®を筋肉内に投与し、その後 4 日ごとに生後 21 日目まで、同様に投与を繰り返した。最終投与の直前に血液を採取し、分光光度法で血漿中 ADA 活性トラフ値を測定した。 | 5 U | 6-8 例／群 | EZN-2279 又は ADAGEN®投与によりいずれも血漿中 ADA 活性トラフ値は上昇し、その値はいずれも臨床において ADAGEN®を投薬した時の血漿中 ADA 活性の範囲（20～150 μmol/h/mL）であった。なお、EZN-2279 投与時の血漿中 ADA 活性トラフ値が ADAGEN®投与時よりも約 35%高い結果を示したが、統計学的に有意な差ではなかった。 | ADC09005 | ［4.2.1.1-1］ |
| BALF 中アデノシン濃度増加抑制作用 | ADA 欠損（-/-）マウス | 生後 18 日目の ADA 欠損マウス及び ADA 野生型マウスに、それぞれ 5 U の EZN-2279 又は ADAGEN®を腹腔内に単回投与し、生後 21 日目に解剖した。解剖時に BALF を採取し、逆相 HPLC を用いてアデノシン濃度を測定した。 | 5 U | 6 例／群 | ADA 欠損マウスでは ADA 野生型マウスに比べ、BALF 中アデノシン濃度は増加した。EZN-2279 又は ADAGEN®投与により、BALF 中アデノシン濃度は ADA 野生型マウスよりも低下し、EZN-2279 と ADAGEN®の投与による抑制は同程度であった。ADA 野生型マウスにおいても、同様の結果が得られた。また、投与量 0.5～5 U の範囲において、EZN-2279 又は ADAGEN®いずれについても同等の BALF 中アデノシン濃度抑制作用の用量依存性が確認された。 | ADC09005 | ［4.2.1.1-1］ |

## 2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

| 試験内容 | 動物種・系統／試料 | 試験方法 | 投与量／濃度 | 動物数／群 | 特筆すべき所見 | 試験番号 | 報告書番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 胸腺及び脾臓中アデノシン及びデオキシアデノシン濃度、細胞数、器官重量の改善作用 | ADA 欠損（-/-）マウス | 生後 1 日目の ADA 欠損マウスに、それぞれ 5 U の EZN-2279 又は ADAGEN®を筋肉内に投与し、その後 4 日ごとに生後 21 日目まで、同様に投与を繰り返した。生後 21 日目に胸腺及び脾臓を採取し、器官重量を測定した。また、胸腺及び脾臓から細胞懸濁液を作製し、血球計算盤を用いてそれぞれの細胞数を測定するとともに、逆相 HPLC を用いてアデノシン及びデオキシアデノシン濃度を測定した。 | 5 U | 5-10 例／群 | 胸腺及び脾臓におけるアデノシン及びデオキシアデノシン濃度は、ADA 野生型マウスに比べ ADA 欠損マウスで有意に増加し、EZN-2279 又は ADAGEN®投与により非投与の ADA 野生型マウス程度まで抑制された。更に、胸腺及び脾臓細胞数、両器官重量は ADA 野生型マウスに比べ ADA 欠損マウスで有意に減少し、EZN-2279 又は ADAGEN®投与により非投与の ADA 野生型マウス程度まで減少が抑制され、ADAGEN®に比べ EZN-2279 がより強く減少が抑制された。 | ADC09005 | ［4.2.1.1-1］ |
| 脾臓における脾臓細胞数、T 及び B 細胞数の減少抑制作用 | ADA 欠損（-/-）マウス | 生後 20 日目の ADA 欠損マウスに、それぞれ 5 U の EZN-2279 又は ADAGEN®を筋肉内に投与し、その後週 1 回、6 週齢まで、同様に投与を繰り返した。最終投与後、胸腺及び脾臓を採取し、細胞懸濁液を作製して血球計算盤を用いて脾臓細胞数を測定した。また、T 細胞の表面マーカーとして CD3 及び TCRβ、B 細胞の表面マーカーとして CD45R 及び IgM を指標として、フローサイトメトリーにより T 及び B 細胞の割合を測定した。 | 5 U | 5-6 例／群 | ADA 野生型マウスに比べ ADA 欠損マウスにおいて脾臓細胞数、脾臓 T 及び B 細胞数が有意に減少し、EZN-2279 又は ADAGEN®投与により細胞数の減少が抑制され、その程度は EZN-2279 と ADAGEN®で同程度であった。 | ADC09005 | ［4.2.1.1-1］ |
| 体重減少抑制作用 | ADA 欠損（-/-）マウス | 生後 1 日目の ADA 欠損マウスに、それぞれ 5 U の EZN-2279 又は ADAGEN®を筋肉内に投与し、その後 4 日ごとに生後 21 日目まで、同様に投与を繰り返した。 | 5 U | 14-21 例／群 | ADA 野生型マウスに比べ ADA 欠損マウスでは、体重の減少が観察されたが、EZN-2279 又は ADAGEN®投与により、ADA 欠損マウスで観察される有意な体重減少が認められず、ADA 野生型マウスの体重といずれも同程度に維持された。 | ADC09005 | ［4.2.1.1-1］ |
| 生存率改善作用 | ADA 欠損（-/-）マウス | 生後 20 日目の ADA 欠損マウスに、それぞれ 5 U の EZN-2279 又は ADAGEN®を筋肉内に投与し、その後週 1 回、6 週齢まで、同様に投与を繰り返して生存率を比較検討した。 | 5 U | 6 例／群 | 通常生後約 3～4 週間で死亡するのに対し、EZN-2279、ADAGEN®投与によりそれぞれ 6 例中 6 例及び 5 例が生後 6 週齢まで生存し、いずれも生存率が向上した。 | ADC09005 | ［4.2.1.1-1］ |

### 2.6.3.3 副次的薬理試験

該当する試験は実施していない。

### 2.6.3.4 安全性薬理試験

該当する試験は実施していない。

### 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。