# TABLE OF CONTENTS

略号一覧表 ..... 2
2.4 非臨床試験の概括評価 ..... 3
1 非臨床試験計画概略 ..... 3
2 薬理試験 ..... 4
3 薬物動態試験 ..... 6
4 毒性試験 ..... 7
5 総括及び結論 ..... 8
6 参考文献 ..... 9

## 略号一覧表

| 略語・用語 | 内容（英語） | 内容（日本語） |
|---|---|---|
| AQP4 | aquaporin-4 | アクアポリン 4 |
| Ab | antibody | 抗体 |
| C5 | complement component 5 | 補体 C5 |
| CNS | central nervous system | 中枢神経系 |
| GFP | green fluorescent protein | 緑色蛍光蛋白質 |
| IgG | immunoglobulin G | 免疫グロブリン G |
| IgM | immunoglobulin M | 免疫グロブリン M |
| NMOSD | neuromyelitis optica spectrum disorder | 視神経脊髄炎スペクトラム障害 |
| mAb | monoclonal antibody | モノクローナル抗体 |

# 2.4 非臨床試験の概括評価

## 1 非臨床試験計画概略

エクリズマブ（h5G1.1-mAb）は、ヒト補体 C5（C5）を認識するマウスモノクローナル抗体（m5G1.1）由来のヒト化モノクローナル抗体（mAb）である。エクリズマブは、C5 と特異的に結合し、補体活性化における C5 から C5a 及び C5b への開裂を阻害する。このように、C5 での補体カスケードの阻害により、炎症誘発メディエーターの放出及び細胞溶解性細孔の形成を阻害する一方で、微生物に対するオプソニン作用及び免疫複合体の除去に不可欠な初期の補体活性化機能は保持される。

エクリズマブ（ソリリス®）は、補体介在性の発作性夜間ヘモグロビン尿症、非典型溶血性尿毒症症候群、及び全身型重症筋無力症の 3 疾患に対する治療薬として、日本、欧州連合、米国、及びカナダを含む多くの国・地域で承認を受けている。

視神経脊髄炎スペクトラム障害（NMOSD）は、主に視神経及び脊髄に関与する、日常生活に障害をもたらす極めて稀な重度の中枢神経系（CNS）の自己免疫性炎症性疾患である。NMOSD 患者の多くは抗アクアポリン 4（AQP4）抗体陽性であり、疾患関連病変部における AQP4 の発現が低下し、NMOSD の診断マーカーである抗 AQP4 抗体が存在する。AQP4 は、CNS のアストロサイトに高発現する水チャネルである。抗 AQP4 抗体は AQP4 に結合し、エンドサイトーシスを介して細胞表面での AQP4 発現をダウンレギュレーションして、最終的にニューロンが消失する過程である補体カスケードの活性化を介して細胞傷害作用を促進する。したがって、エクリズマブによる終末補体活性化及びそれに付随する炎症の阻害は、NMOSD 患者にとってベネフィットをもたらすと考えられた。

非臨床試験に関する情報は、エクリズマブの初回申請時の CTD M2 及び M4 により提出済みである。本非臨床試験の概括評価の Section 2 で述べる補体を介した NMOSD の発生機序における抗 AQP4 抗体の役割を裏付ける実験的研究の公表文献の内容を除き、非臨床データに関する追加情報はない。

臨床評価の結果は、NMOSD の治療に対する生物学的に合理的なアプローチとしてのエクリズマブの作用機序を裏付けるものである。抗 AQP4 抗体陽性の NMOSD 患者 14 例を対象に実施された非盲検医師主導試験において、エクリズマブの 12 ヵ月間投与により年間再発率の中央値は 3（エクリズマブ投与前、範囲 2～4）から 0（エクリズマブ投与後、範囲 0～1、$p < 0.0001$）に低下した（Pittock, 2013）。これらの結果は、NMOSD におけるエクリズマブの治療効果の予備的なエビデンスを示し、抗 AQP4 抗体陽性の NMOSD 患者集団を対象とした第 III 相開発プログラムの開始を促すものであった。

エクリズマブはヒト C5 に対する特異性が高く、ヒト以外のモデルでは C5 と結合せず、C5 の活性を阻害できないことから、NMOSD の非臨床モデルを用いたエクリズマブの検討はこれまで不可能であった。

したがって、ピボタル試験である NMO-ECU-301 試験は、最初の非盲検医師主導試験（Pittock, 2013）から得た臨床データに基づき、NMOSD 患者を対象にエクリズマブの有効性、安全性及び薬物動態学的／薬力学的特性を更に明らかにするようデザインされた。NMO-ECU-301 試験の開始及び NMOSD 患者の治療に対するエクリズマブの承認事項一部変更承認申請の裏付けとなる非臨床薬理試験、薬物動態試験、又は毒性試験の追加実施は不要と判断した。

## 2 薬理試験

非臨床薬理試験を含む非臨床試験に関する全データパッケージは、エクリズマブの初回申請時の CTD M2 及び M4 により提出済みである。本項では、補体が関与する NMOSD の発生機序における抗 AQP4 抗体の役割を裏付ける試験の公表文献の内容について述べる。

NMOSD 患者では、疾患関連の病変は AQP4 発現の低下及び抗 AQP4 抗体の存在を特徴とする。初期及び急性期の NMOSD に関連する炎症病変の免疫染色では、免疫グロブリンの密な沈着及び補体活性化生成物が認められ、免疫グロブリン M（IgM）及び C9、並びに膜貫通する血管周囲の AQP4 の欠落を呈するロゼット状の染色パターンが認められる。これらの所見は補体依存性細胞傷害又は抗体依存性細胞傷害を示唆するものであり、抗 AQP4 抗体が水チャネル蛋白質の分解又はダウンレギュレーションを誘導し、最終的にアストロサイトを傷害する可能性が示された（Misu, 2007; Roemer, 2007）。

複数の *in vitro* 試験の結果から、NMOSD 患者の血清免疫グロブリン G（IgG）は AQP4 を発現する細胞膜に選択的な病理作用を有することが示されている。また、抗 AQP4 抗体を AQP4 発現細胞に直接添加することで補体活性化が認められた。NMOSD 患者の血清と活性化ヒト補体の存在下では、AQP4 を発現する HEK293 細胞の細胞膜に C9 が明瞭に確認されたが、疾患特異的な血清の非存在下、熱不活性化されたヒト補体の存在下、及び緑色蛍光蛋白質（GFP）ベクターをトランスフェクトした対照細胞では確認されなかった。これらのデータは、NMOSD 患者の血清が、補体カスケードを活性化する抗 AQP4 抗体を含有することを示す。更なる解析では、抗 AQP4 抗体陽性の被験患者のヒト IgG サブクラスでは、ヒトでの主要な補体活性化 IgG サブクラスである IgG1 のみが陽性であることが示された（Hinson, 2007）。

Sabater らは、上記の所見を支持し、アストロサイトの初代培養において、血清反応陽性 NMOSD 患者の血清検体では、血清反応陰性 NMOSD 及び多発性硬化症を有する患者の検体と比較して、細胞膜が破壊されたことによる細胞死の指標である乳酸脱水素酵素の放出量が有意に増加することを示した（Sabater, 2009）。本研究は、抗 AQP4 抗体依存性の補体を介したアストロサイトの細胞死が疾患の進行の重要な促進要因であることを示唆した（Sabater, 2009）。後続研究（Hinson, 2009）では、NMOSD 発作の重症度と NMOSD 患者の血清中 AQP4 発現細胞の補体介在性損傷の程度との間に、統計学的に有意な関連性を示した。しかし、抗 AQP4 抗体価と NMOSD 発作の重症度との間に統計学的に有意な関連性は認められなかった。これらの結果は、抗 AQP4 抗体の AQP4 発現細胞への結合が補体カスケードを活性化し、白血球の遊走、AQP4 特異的な標的細胞の破壊、及び不可逆的な神経学的損傷に至るという仮説を更に裏付けるものである。

Saadoun らによって実施された研究では、マウスに NMOSD 患者由来 IgG とヒト補体を混注すると NMOSD 様病変が発現することを示した。注入後 12 時間以内に、AQP4 発現の顕著な消失、グリア細胞の浮腫、ミエリン崩壊、及び軸索損傷が認められた。注入後 7 日目には、広範な炎症性細胞浸潤、活性化された補体成分の血管周囲への沈着、広範な脱髄、AQP4 発現の消失、反応性アストロサイトの消失、及び神経細胞死が認められた。これらの組織学的特徴は NMOSD 患者でみられた組織学的特徴と同様である。抗 AQP4 抗体及びヒト補体によって誘導された上記の組織学的変化は、AQP4 非存在下のマウスでは再現されなかった。さらに、補体 C1 阻害剤は炎症を顕著に抑制し、抗 AQP4 抗体とヒト補体によって生じる脱髄から野生型マウスを保護した。以上のデータは、疾患の進行には 3 つの重要な要素（抗 AQP4 抗体、AQP4 発現アストロサイトの存在、及び補体カスケードの活性化）が大きく寄与することを示し、補体活性化の阻害がヒトでの NMOSD の CNS 損傷を効果的に制限し、有望な治療法となる可能性があることが示唆された

（Saadoun, 2010）。

上記の研究と一致する結果として、Asavapanumas らは新たな NMOSD 移入モデルについて述べている。ヒト抗 AQP4 抗体の腹腔内投与によって血清陽性としたラットの脳実質を 28G 針で一時的に穿刺した。針による脳内損傷後 5 日以内に、針通過部周辺に脱髄を伴う AQP4 及びグリア線維性酸性蛋白の消失、顆粒球とマクロファージの浸潤、活性化した補体の中心静脈内への沈着、及び血液脳関門破壊などの NMOSD の確かな病態が観察された（Asavapanumas, 2014）。

## 3　薬物動態試験

該当なし。

## 4　毒性試験

該当なし。

## 5 総括及び結論

公表された複数の実験的研究により、抗 AQP4 抗体のアストロサイトへの結合を介した補体活性化が NMOSD における CNS 炎症とアストロサイト傷害の主要な決定因子であることが示されている。

エクリズマブはヒト C5 に対する特異性が高く、ヒト以外のモデルでは C5 と結合せず、C5 の活性を阻害できないことから、NMOSD の非臨床モデルを用いたエクリズマブの検討はこれまで不可能であった。

終末補体活性化の阻害が NMOSD において使用可能な治療法となることが臨床的に示されている。先に述べた抗 AQP4 抗体陽性の NMOSD 患者 14 例を対象としたエクリズマブの非盲検医師主導試験において、エクリズマブの 12 ヵ月間投与により年間再発率の中央値は 3（エクリズマブ投与前、範囲 2～4）から 0（エクリズマブ投与後、範囲 0～1、$p < 0.0001$）に低下した（Pittock, 2013）。これらの結果は、抗 AQP4 抗体陽性の NMOSD 患者を対象としたエクリズマブの第 III 相開発プログラムから得たデータによって実証されている。NMOSD 患者の治療に対するエクリズマブの承認事項一部変更承認申請の裏付けとなるピボタル試験である ECU-NMO-301 試験の結果及び継続試験である ECU-NMO-302 試験の中間解析について、本申請の M2.5 及び M2.7 に示す。

## 6 参考文献

Asavapanumas N, Verkman AS. Neuromyelitis optica pathology in rats following intraperitoneal injection of NMO-IgG and intracerebral needle injury. Acta Neuropathol Commun. 2014;2:48.

Hinson SR, McKeon A, Fryer JP, Apiwattanakul M, Lennon VA, Pittock SJ. Prediction of neuromyelitis optica attack severity by quantitation of complement-mediated injury to aquaporin-4–expressing cells. Arch Neurol. 2009;66(9):1164-1167.

Hinson SR, Pittock SJ, Lucchinetti CF, et al. Pathogenic potential of IgG binding to water channel extracellular domain in neuromyelitis optica. Neurology. 2007;69(24):2221-2231.

Misu T, Fujihara K, Kakita A, et al. Loss of aquaporin 4 in lesions of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. Brain. 2007;130(Pt 5):1224-1234.

Pittock SJ, Lennon VA, McKeon A, et al. Eculizumab in AQP4-IgG-positive relapsing neuromyelitis optica spectrum disorders: an open-label pilot study. Lancet Neurol. 2013;12(6):554-562.

Roemer SF, Parisi JE, Lennon VA, et al. Pattern-specific loss of aquaporin-4 immunoreactivity distinguishes neuromyelitis optica from multiple sclerosis. Brain. 2007;130(5):1194-1205.

Saadoun S, Waters P, Bell BA, Vincent A, Verkman AS, Papadopoulos MC. Intra-cerebral injection of neuromyelitis optica immunoglobulin G and human complement produces neuromyelitis optica lesions in mice. Brain. 2010;133(Pt 2):349-361.

Sabater L, Giralt A, Boronat A, et al. Cytotoxic effect of neuromyelitis optica antibody (NMO-IgG) to astrocytes: an in vitro study. J Neuroimmunol. 2009;215(1-2):31-35.