

2.4 非臨床試験の概括評価

目 次

目 次	2
表 一 覧	2
略号一覧	3
1 緒言	5
2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性	5
3 薬理試験	6
3.1 効力を裏付ける試験	8
3.1.1 結合特性	8
3.1.2 潜在性 T 細胞エピトープの検出	8
3.1.3 <i>In vitro</i> 細胞活性	9
3.1.4 <i>In vivo</i> 薬理活性	10
3.2 副次的薬理試験	12
3.3 安全性薬理試験	13
3.4 薬力学的薬物相互作用試験	13
4 薬物動態試験	13
4.1 吸収	13
5 毒性試験	13
5.1 単回投与毒性試験	14
5.2 反復投与毒性試験	14
5.3 遺伝毒性試験	15
5.4 がん原性試験	15
5.5 生殖発生毒性試験	15
5.6 幼若動物を用いた試験	17
5.7 全身曝露量の比較	17
5.8 局所刺激性試験	18
5.9 その他の毒性試験	18
6 不純物及び分解物	19
7 安全性の総合評価	19
8 結論	21
9 参考文献	23

表 一 覧

Table 5-1	生殖発生毒性試験	16
Table 5-2	毒性試験の無毒性量とヒト臨床用量における曝露量の比較	18

略号一覧

略号	省略していない表現 (英)	省略していない表現 (日)
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
ADCC	antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity	抗体依存性細胞傷害
AUC	area under the drug plasma (serum/blood) concentration-time curve	血漿 (血清/血液) 中薬物濃度-時間曲線下面積
AUC _{0-t}	area under the drug plasma (serum/blood) concentration-time curve (time 0 to t)	血漿 (血清/血液) 中薬物濃度-時間曲線下面積 (時間 0~t)
AUC _{tau}	area under the drug plasma (serum/blood) concentration-time curve (time 0 to the end of the dosing interval tau)	血漿 (血清/血液) 中薬物濃度-時間曲線下面積 (時間 0~投与間隔 tau)
CD	cluster of differentiation	分化抗原群
CDC	complement-dependent cytotoxicity	補体依存性細胞傷害
CIS	clinically isolated syndrome	-
CLL	chronic lymphocytic leukemia	慢性リンパ性白血病
C _{max}	maximal drug plasma (serum/blood) concentration	最高血漿 (血清/血液) 中薬物濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
EAE	experimental autoimmune encephalomyelitis	実験的自己免疫性脳脊髄炎
EFD	embryonic and fetal development study	胚・胎児発生に関する試験
ePPND	enhanced pre and postnatal development study	拡充型出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FEED	fertility and early embryonic development study	受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験
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
HLA	human leukocyte antigen	ヒト白血球抗原
ICH	International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for human use	医薬品規制調和国際会議
Ig	immunoglobulin	免疫グロブリン
K _D	equilibrium dissociation constant	平衡解離定数
KLH	keyhole limpet hemocyanin	キーホールリンペットヘモシアニン
MAPPs	MHC-associated peptide proteomics	-
MHC	major histocompatibility complex	主要組織適合性複合体
MRI	magnetic resonance imaging	磁気共鳴映像法
MS	multiple sclerosis	多発性硬化症
NK	natural killer	ナチュラルキラー
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
PML	progressive multifocal leukoencephalopathy	進行性多巣性白質脳症
PPMS	primary progressive multiple sclerosis	一次性進行型多発性硬化症
RBC	red blood cell	赤血球

略号	省略していない表現 (英)	省略していない表現 (日)
RMS	relapsing multiple sclerosis	再発を伴う多発性硬化症
RRMS	relapsing-remitting multiple sclerosis	再発寛解型多発性硬化症
SPMS	secondary progressive multiple sclerosis	二次性進行型多発性硬化症
Th1	T helper cell 1	1型ヘルパーT細胞
Th17	T helper cell 17	17型ヘルパーT細胞

1 緒言

オフアツムマブ（遺伝子組換え）（開発コード：OMB157）は B 細胞及び一部の T 細胞サブセット表面に発現する CD20 分子エピトープを特異的に認識するヒト型免疫グロブリン（Ig）G1κ モノクローナル抗体である。多発性硬化症（MS）の再発予防及び身体的障害の進行抑制の適応取得を目的にオフアツムマブ皮下投与製剤の開発が進められた。本邦では、オフアツムマブ点滴静注製剤が、アーゼラの商品名で「再発又は難治性の CD20 陽性の慢性リンパ性白血病」の治療薬として承認されている。

MS は中枢神経系（CNS）における炎症性脱髄疾患である。その病態には自己免疫的な機序が関与しており、自己反応性 T 細胞及び B 細胞が重要な役割を担う。オフアツムマブは細胞表面に発現する CD20 に特異的に結合し、補体依存性細胞傷害（CDC）及び抗体依存性細胞傷害（ADCC）により標的細胞を溶解させることで体内から除去し枯渇させる。オフアツムマブは自己反応性 B 細胞及び CD20 陽性 T 細胞を枯渇させることで、MS において自己免疫応答を抑制し炎症性脱髄の形成及び進行を抑制すると期待できる。再発を伴う MS（RMS）患者を対象とした臨床試験において、オフアツムマブの皮下投与により有効性及び安全性が確認されたことから、今回、その治療薬として承認申請を行った。

本概括評価では、新たに実施したオフアツムマブの薬理試験、薬物動態／トキシコキネティクス試験、及び毒性試験の結果から、非臨床試験における有効性及び安全性を総合的に評価した。

2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性

オフアツムマブの非臨床試験（薬理試験、薬物動態／トキシコキネティクス試験、及び毒性試験）はノバルティス社及びノバルティス社と契約した受託研究機関の試験施設で実施した。

先の承認申請において、CD20 陽性の慢性リンパ性白血病（CLL）に対するオフアツムマブの有効性を支持する薬理試験成績が提出され、CLL 患者由来腫瘍細胞及び各種 B 細胞性腫瘍細胞に対する細胞傷害活性、CD20 に対する結合特性、並びに作用機序は評価済みである。また、オフアツムマブの免疫原性の評価として、潜在性 T 細胞エピトープを *in silico* にて解析した試験が提出されている。

本承認申請においては、効力を裏付ける試験として、オフアツムマブの結合特性及び潜在性 T 細胞エピトープについてさらに詳細に検討するため、試験条件を変更して新たに実施した。また、初代培養ヒト B 細胞を用いてオフアツムマブの細胞傷害（CDC 及び ADCC）活性についての *in vitro* 試験を実施した。さらに *in vivo* 試験として、カニクイザルにオフアツムマブを皮下投与したときの末梢血中及び二次リンパ組織における CD20 陽性細胞に対する影響を検討した。また、マウスを用いた *in vivo* の検討として、健常マウス及び実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）マウスに抗マウス CD20 抗体を皮下投与したときの B 細胞溶解作用及び EAE に伴う神経症状の進行抑制効果を検討した。マウス又はヒト化マウスを用いて、抗マウス CD20 抗体又はオフアツムマブを

皮下及び静脈内投与し、これらの抗体製剤の組織分布及び蓄積を検討した。さらに、マウスを用いて一次及び二次免疫反応に対する抗 CD20 抗体の影響を検討した。

オフアツムマブの安全性薬理試験は、医薬品規制調和国際会議 (ICH) S6 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) 及び S7 ガイドライン (安全性薬理試験ガイドライン) に準拠して実施した。先の承認申請時において、心血管系及び腎機能に関する安全性薬理評価を、カニクイザルを用いた反復投与毒性試験の一部として、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 (GLP) に準拠して実施した。本承認申請では、中枢神経系及び呼吸系に関する安全性薬理評価について、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 (FEED) の一部として、GLP に準拠して実施した。

オフアツムマブの薬物動態/トキシコキネティクスは、カニクイザルに臨床投与経路と同じ皮下投与を用いた 2 週間反復毒性試験及び 4 日間反復毒性試験、FEED 試験、拡充型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 (ePPND) で評価した。

主要な毒性試験は、ICH S6 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) 及びその他の安全性に関する ICH ガイドラインに従い、GLP に準拠して実施した。オフアツムマブに関する非臨床毒性試験として、カニクイザルを用いた反復静脈内投与毒性試験 (最長 7 ヶ月投与)、生殖発生毒性試験 [胚及び胎児発生に関する試験 (EFD)]、組織交差反応性試験、局所刺激性試験、及び免疫毒性試験の成績は、先の承認申請時 (アーゼラ点滴静注液) に提出されている (1.13.1-1-CTD2.6.2, 2.6.6)。この際に実施した反復投与毒性試験ではオフアツムマブの投与を 30 分間点滴静脈内投与で実施したため、本適応症を対象とした臨床投与経路である皮下投与との安全性プロファイル及び曝露量を評価するために皮下及び静脈内投与 (2 回投与) によるブリッジング試験を実施した。本承認申請では、オフアツムマブの生殖発生毒性試験 (FEED 試験及び ePPND 試験) を追加実施した。

3 薬理試験

MS は、脳・視神経・脊髄といった CNS に病変が多発する炎症性脱髄疾患であり、中枢神経髄鞘を標的とした自己免疫性疾患であると考えられている。MS では中枢神経の炎症により脱髄や軸索の損傷が生じ、神経障害を来す。病変は CNS 内に広く認められることから、臨床症状は視力障害、運動・感覚障害、歩行障害等多岐にわたる ([多発性硬化症・視神経脊髄炎診療ガイドライン 2017](#))。

MS の病型は臨床経過に基づき、clinically isolated syndrome (CIS)、再発寛解型 MS (RRMS)、二次性進行型 MS (SPMS) 及び一次性進行型 MS (PPMS) に分類される。CIS は炎症性脱髄性疾患を示唆する臨床症状を初めて示した段階であり、画像所見において無症候性脱髄病変の多発を認め疾患活動性がみられることから、CIS は将来的に RRMS へと進行する初発段階ととらえられている。RRMS は再発と寛解を繰り返す病型であり、ほとんどの MS 患者が RRMS の経過をたどる。SPMS は再発の有無にかかわらず障害が徐々に進行する病型であり、RRMS 患者の半数が

15～20年の経過で SPMS へ移行する。SPMS に移行した後も再発による急性増悪がみられることもある (Lublin et al. 2014, 多発性硬化症・視神経脊髄炎診療ガイドライン 2017, 厚生労働省診断基準 2015)。PPMS は発症当初から慢性進行性の経過をたどる病型である。MS の再発とは急性炎症性脱髄病変に起因した症状・所見が 24 時間以上持続し、さらにこの急性増悪が繰り返し認められる状態と定義される (多発性硬化症・視神経脊髄炎診療ガイドライン 2017)。RMS には CIS, RRMS 及び再発を伴う SPMS が含まれる (2.5-1.2.1 項)。

MS 再発時の急性炎症性脱髄病巣形成には自己反応性 T 細胞及び B 細胞が中心的な役割を担っている。責任抗原はいまだ不明であるが、末梢において抗原提示細胞から何らかの髄鞘抗原の提示を受けて感作された 1 型ヘルパー T (Th1) 細胞/17 型ヘルパー T (Th17) 細胞が CNS において血管内皮を透過して血管周囲腔に浸潤する。さらに血管周囲腔において末梢血由来の抗原提示細胞から再度抗原提示を受けることで活性化し、中枢神経実質内へ浸潤し、サイトカイン及びケモカインを産生し、ミクログリア等の炎症細胞を動員し炎症性脱髄病巣を形成する。血管周囲腔で活性化された Th1/Th17 細胞はサイトカインやマトリックスメタロプロテアーゼを産生することで血液脳関門を破壊させる (多発性硬化症・視神経脊髄炎診療ガイドライン 2017)。自己反応性 B 細胞は末梢リンパ節において T 細胞に抗原提示して免疫反応を誘導する。また、急性期の CNS 局所では T 細胞に加え B 細胞の浸潤も認められており、B 細胞は血管周囲腔での抗原提示を担う他、CNS 内において炎症性サイトカインを分泌、並びに形質細胞へと分化して自己抗体を産生することで、炎症性脱髄の形成及び悪化に寄与する (Greenfield and Hauser 2018, Jelcic et al. 2018, D'Amico et al. 2019)。これらの自己免疫応答は CIS に至るより早期から開始されていると考えられており、臨床症状を伴わない炎症性脱髄病巣の多発が CIS の段階で認められている (多発性硬化症・視神経脊髄炎診療ガイドライン 2017)。RRMS から SPMS へ移行後も中枢神経局所への自己反応性 T 細胞及び B 細胞浸潤による急性期病巣の形成がみられるが、時間経過に伴い徐々に限局的となり、主として自然免疫系が関与する神経変性が優位に認められるようになる (Antel et al. 2012, Mahad et al. 2015)。

近年、RMS 患者を対象とした臨床試験において抗 CD20 抗体 (リツキシマブ及び ocrelizumab) の治療効果が示されており、自己反応性 B 細胞を標的とした治療が着目されている (リツキシマブ : Hauser et al. 2008, ocrelizumab : Kappos et al. 2011, Hauser et al. 2017)。

オフアツムマブの標的分子である CD20 は 297 アミノ酸からなる非グリコシル化リン酸化タンパク質である。CD20 は主として B 細胞膜に発現し、分化過程のうち未熟な段階である Pre-B 細胞から成熟に至る過程全体で発現が認められるが、形質細胞へ分化するに伴い発現は減少する。形質細胞へ分化すると発現は認められず、また、リンパ系造血幹細胞では発現は認められない (Riley and Sliwkowski 2000)。なお、CD20 は T 細胞でも低レベルで発現している (Pedersen et al. 2002, Greenfield and Hauser 2018)。CD20 は 4 回膜貫通型の構造をとり、その構造からイオンチャネルを形成して細胞内へカルシウムイオンを流入させ、細胞の活性化及び増殖に関与すると考えられている (Li et al. 2003, Polyak et al. 2008, Walshe et al. 2008)。

CD20 は細胞外に大ループ (約 44 アミノ酸) 及び小ループ (約 7 アミノ酸) の構造を有する (Riley and Sliwowski 2000)。既に臨床応用されている抗ヒト CD20 抗体のうち、ヒト/マウス キメラ抗体であるリツキシマブはヒト CD20 の A170 及び P172 (いずれも大ループに存在) を含むエピトープを認識し (Polyak and Deans 2002), ヒト化抗体である ocrelizumab はリツキシマブ とほぼ同一部位の細胞外大ループを認識する (Genovese et al. 2008)。一方、ヒト型抗体である オファツムマブは小ループ及び大ループの一部 (A170 及び P172 より遠位) をエピトープとして 認識する (1.13.1-1-CTD2.6.2-2.3 項)。オフアツムマブはこのエピトープを介して CD20 陽性細胞に結合し、細胞傷害 (CDC 及び ADCC) を誘発して細胞を溶解し、体内から除去し枯渇させる。

以下、オフアツムマブを MS 治療薬として開発することを支持する非臨床薬理試験成績の概要について記載した。なお、実施した試験ではリツキシマブ又は ocrelizumab を対照薬として使用し比較検討した。

3.1 効力を裏付ける試験

3.1.1 結合特性

オフアツムマブはヒト B 細胞に発現する CD20 に結合し、CD20 からの解離はリツキシマブと比べ遅いことが示されている (1.13.1-1-CTD2.6.2-2.1 項, Cheson 2010)。オフアツムマブの結合特性をさらに詳細に検討するため、ヒトバーキットリンパ腫 B 細胞由来株 BJAB を用いて、オフアツムマブ及び ocrelizumab の CD20 との結合及び解離を LigandTracer[®]装置にてリアルタイムに測定した[2.6.2-2.1 項] (Table 2.6.3.1 RD-2019-00356)。その結果、オフアツムマブの平衡解離定数 K_D 値は 167 ± 59 pM (平均値 \pm 標準偏差, 以下同) であり、ocrelizumab は 206 ± 65 pM であった。一般的に K_D 値は 2 つ以上の抗原結合部位を持つ抗体分子全体としての結合の強さを意味するアビディティを示す指標であると考えられている。オフアツムマブの CD20 に対する結合の強さは ocrelizumab と同等であり、その K_D 値は 167 pM と低かったことから、オフアツムマブは CD20 に対し強い結合能を有していると考えられた。

3.1.2 潜在性 T 細胞エピトープの検出

オフアツムマブ、ウステキヌマブ、ocrelizumab 及びアダリムマブの潜在性 T 細胞エピトープを、ヒト樹状細胞による抗原提示機構を応用した MAPPs 技術を用いて検出した[2.6.2-2.2 項] (Table 2.6.3.1 RD-2019-00332)。各薬剤とインキュベーションさせたヒト単球由来樹状細胞から HLA-DR を介して提示された各薬剤由来のペプチド断片を単離し解析した。同定したペプチド断片のアミノ酸配列をクラスター解析した結果、潜在性 T 細胞エピトープとして分類されたクラスター数はウステキヌマブが最も少なく、次いで、ocrelizumab、オフアツムマブの順であり、アダリムマブで最も多かった。

なお、Epibase™を用いた *in silico* 予測法により潜在性 T 細胞エピトープを検出した検討では、オフアツムマブの T 細胞エピトープ数はリツキシマブに比べ少なかった (1.13.1-1-CTD2.6.2-2.4 項)。

抗体医薬品が免疫原性を有する場合、抗体医薬品の投与により免疫反応が誘導される。この免疫応答が惹起される機序として、抗体医薬品が樹状細胞等の抗原提示細胞に細胞外抗原として細胞内に取り込まれ、プロセッシングを経た後、そのペプチド断片が HLA-DR 等の MHC クラス II 分子により細胞外へ提示される。このペプチドが免疫原性ヘルパー T 細胞によりエピトープとして認識された場合、ヘルパー T 細胞が活性化し免疫反応が惹起される (Van Walle et al. 2007)。近年、T 細胞エピトープ検出の方法として、*in silico* 予測法及び MAPPs 技術が用いられている。いずれの方法においても、同定されたエピトープが実際に免疫原性ヘルパー T 細胞に認識され、T 細胞活性化作用を誘発するかまでは評価できず、潜在性 T 細胞エピトープとして考慮する必要がある (Van Walle et al. 2007, Karle et al. 2016)。一般的に、抗体医薬品はマウス由来部位を排除しヒト化させるほどヒトに対する免疫原性は低くなる (Ruuls et al. 2008)。オフアツムマブはヒト型抗体であることから、キメラ抗体及びヒト化抗体に比べ免疫原性は低いと推察される。しかしながら、MAPPs 技術を用いた潜在性 T 細胞エピトープ検出の結果、本薬が免疫原性を示す可能性は完全には排除できない。なお、RMS を対象としたオフアツムマブの臨床試験において、抗オフアツムマブ抗体 [抗薬物抗体 (ADA)] 発現率は 2%未満であった。また、ADA 発現によるオフアツムマブの薬物動態、B 細胞動態、及び安全性への影響は確認されていない[2.7.2-4.1 項]。

3.1.3 *In vitro* 細胞活性

MS 病態形成に関わる自己反応性 B 細胞に対するオフアツムマブの細胞傷害活性を評価するため、健常ドナー由来の初代培養ヒト B 細胞を用いた *in vitro* 試験を実施した[2.6.2-2.3 項] (Table 2.6.3.1 RD-2018-00361)。その結果、オフアツムマブは初代培養ヒト B 細胞に対し CDC 及び ADCC を誘発した。オフアツムマブによる細胞傷害活性は CDC の方が高く、CDC の検討では細胞を最大約 80%まで、ADCC の検討では最大約 20%~30%抑制した。リツキシマブ及び ocrelizumab との比較では、オフアツムマブの CDC 活性はリツキシマブ及び ocrelizumab より高く、かつ持続した。一方、オフアツムマブの ADCC 活性はリツキシマブより高く、ocrelizumab と同程度であった。また、バーキットリンパ腫由来細胞株である Raji 細胞を用いた検討においてオフアツムマブはアポトーシス誘発作用を示さなかった。

オフアツムマブは CD20 に対し強い結合能 (K_D 値 167 pM) を示し、リツキシマブに比べ解離が遅い (3.1.1 項)。オフアツムマブの CDC 活性はリツキシマブに比べ補体制御因子である CD55 及び CD59 による抑制を受けにくく (1.13.1-1-CTD2.6.2-2.6.2 項)、CD20 の発現量が低い細胞に対しても活性を示す (1.13.1-1-CTD2.6.2-2.6.4 項, Teeling et al. 2006)。また、リツキシマブ及び ocrelizumab が CD20 の細胞外大ループの一部を認識するのに対し、オフアツムマブは細胞外

小ループ及び大ループの一部を認識する。抗体が誘発する CDC は補体系の活性化により惹起され、標的細胞膜上で補体系の最終産物である膜侵襲複合体が形成され、小孔が穿たれることで標的細胞が溶解する。この CDC 活性は一般的に、標的細胞の形質膜と抗体との距離がより近いほど高く (Cleary et al. 2017), オファツムマブが CD20 に結合したとき、オフアツムマブと形質膜との距離はリツキシマブに比べより近接することが示唆されている (Du et al. 2009, Cheson 2010)。これらのことから、オフアツムマブの CDC 活性が他の抗 CD20 抗体製剤と比べ高くかつ持続するのは、CD20 細胞外大小エピトープに結合したとき標的細胞に近接するため、かつ CD20 に対する結合能は強く CD20 からの解離が遅いためと考えられる。

以上、初代培養ヒト B 細胞に対するオフアツムマブの細胞溶解作用は主として CDC 活性によるものであり、ADCC 活性の程度は低いことが示された。また、オフアツムマブの CDC 活性はリツキシマブ及び ocrelizumab と比べて、高くかつ持続していた。この CDC 活性の差異は、オフアツムマブの CD20 細胞外大小エピトープに対する結合特性に基づくものであり、CD20 に結合したとき標的細胞により近接し、その結合能は強く CD20 からの解離が遅いためであると考えられた。

3.1.4 *In vivo* 薬理活性

3.1.4.1 CD20 陽性細胞溶解作用 (皮下投与, サル及びマウス)

カニクイザルにオフアツムマブを 1 mg/kg の用量で導入投与として初回、初回投与から 7 日目及び 14 日目の計 3 回皮下投与したところ、末梢血中 CD20 陽性 B 細胞及び CD20 陽性 T 細胞数は初回投与から 2 日目より完全に抑制され、21 日目以降より緩やかに回復したが、30 日目までベースラインから約 80% の抑制を示し、作用の持続性が認められた [2.6.2-2.4.1.1 項] (Table 2.6.3.1 RD-2019-00021, Theil et al. 2019)。初回投与から 21 日目に採取した腋窩リンパ節の免疫組織化学の検討では、リンパ濾胞及びその周辺に分布する B 細胞が抑制され、リンパ濾胞ではその分布量は減少し、リンパ濾胞周辺域での分布は完全に抑制された。なお、リンパ濾胞に加え辺縁洞において成熟 B 細胞の分布が残存していた。末梢血中 CD20 陽性 B 細胞及び CD20 陽性 T 細胞並びに腋窩リンパ節における B 細胞は初回投与から 90 日目までにベースラインまで回復していた。リンパ濾胞及び辺縁洞に認められた成熟 B 細胞は、B 細胞枯渇後の回復に重要な役割を担っており、また病原体に対する免疫応答に寄与すると示唆されている (Theil et al. 2019)。

健常マウスに抗マウス CD20 抗体を 20 µg/匹の用量で単回皮下投与し、末梢血、腋窩リンパ節及び脾臓における CD19 陽性 B 細胞を計測したところ、投与後から B 細胞数が速やかに減少し、最大約 80%~100% 抑制し、その後回復した [2.6.2-2.4.1.2 項] (Huck et al. 2019)。二次リンパ組織中の B 細胞サブセット別での測定では、B 細胞サブセットに応じて溶解作用の程度に違いが認められ、リンパ濾胞 B 細胞サブセットに対しては強い溶解作用が認められた。一方、辺縁帯 B 細胞サブセットに対しては作用が弱かった。

3.1.4.2 実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) に対する治療効果 (皮下投与, マウス)

ミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパクを免疫して EAE を惹起させたマウスに、抗マウス CD20 抗体を 20 µg/匹の用量で免疫 1 日後及び 3 日後の計 2 回皮下投与した[2.6.2-2.4.2 項] (Huck et al. 2019)。その結果、抗マウス CD20 抗体により EAE に伴う神経症状の進行が抑制され、神経炎症に対する治療効果が認められた。末梢血及び二次リンパ組織中における CD19 陽性 B 細胞数は、抗 CD20 抗体投与 2 日後に最低値を示し、対照群と比べ 80%以上抑制され、その後回復傾向が認められた。

3.1.4.3 皮下投与後の標的組織への分布及び蓄積 (静脈内投与との比較, マウス)

放射性核種で標識された抗マウス CD20 抗体又はオフアツムマブを健常及び EAE マウス、又はヒト化マウスに皮下投与したところ、静脈内投与と比べ、投与部位の所属リンパ節への抗 CD20 抗体の集積が高いことが示された[2.6.2-2.4.3 項] (Migotto et al. 2019, Torres et al. 2019)。また、EAE マウスでは抗体の CNS 組織への移行が確認された (Migotto et al. 2019)。

3.1.4.4 一次及び二次免疫応答への影響 (皮下投与, マウス)

健常マウスに抗マウス CD20 抗体を 20 µg/匹の用量で皮下投与し、T 細胞依存性及び非依存性の抗原に対する免疫応答への影響について検討したところ、二次リンパ組織において B 細胞溶解作用がみられたが、抗原特異的 IgM 及び IgG 抗体の産生抑制は認められず、免疫応答への影響はなかった (Huck et al. 2019)。

以上、サルにオフアツムマブを皮下投与した *in vivo* 試験結果から、オフアツムマブは CD20 陽性細胞溶解作用を示し、その作用には回復性があることが示された。RRMS 患者を対象とした臨床試験 (OMS112831 試験) においても同様にオフアツムマブ休薬後に B 細胞数が回復し (Bar-Or et al. 2018)、また、RMS 患者を対象にオフアツムマブ 20 mg を導入投与として Day 1, Day 7, Day 14, 維持投与として Day 28 以降 4 週ごとに皮下投与したとき、B 細胞の枯渇が維持され、かつ RMS に対する治療効果が示されている (G2301 試験及び G2302 試験, 2.5-3.3.2 項, 2.5-4.4.1 項, 2.5-4.6 項)。オフアツムマブは末梢血中 CD20 陽性 B 細胞数に加え、CD20 陽性 T 細胞数も同様に抑制した。CD20 分子は B 細胞での発現が知られているが、近年、T 細胞にも発現が認められることが報告されている。健康成人の末梢血中 T 細胞における CD20 陽性 T 細胞の割合は約 6% であり、また CD20 陽性 T 細胞での CD20 発現量は低い (Greenfield and Hauser 2018)。MS 患者の末梢血中における CD20 陽性 T 細胞数は健康成人と比べ増加しており、MS 患者の脳脊髄液中にも CD20 陽性 T 細胞が検出されている。MS 患者から採取された CD20 陽性 T 細胞は、髄鞘構成タンパク質であるミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク及びミエリン塩基性タンパクに反応して増殖し、サイトカインを産生する Th1 及び細胞傷害性 T 細胞 1 型の特徴を有していた (von Essen et al. 2019)。オフアツムマブはリツキシマブに比べ、低い CD20 発現量でも CDC を

誘発することが示されている (1.13.1-1-CTD2.6.2-2.6.4 項, [Teeling et al. 2006](#))。このことから、オフアツムマブは B 細胞に加え、CD20 陽性 T 細胞を溶解することで炎症性脱髄の形成及び再発を抑制すると考えられる。

マウスに抗 CD20 抗体を皮下投与した結果、静脈内投与と比べ抗体のリンパ節への蓄積が高かった。一般的に、抗体製剤のような高分子化合物を皮下投与すると、化合物は皮下組織間質を拡散しリンパ管より吸収されると考えられている ([Richter and Jacobsen 2014](#))。化合物はリンパ管を介して所属リンパ節に送達された後、全身循環へ移行する。抗体製剤の皮下組織での拡散は間質成分である膠原繊維の干渉を受け吸収は緩徐であることから、低用量の投与で安定した全身曝露が得られる。このことから、投与経路を皮下にすることで静脈内投与と比べて低用量の投与で持続したオフアツムマブの効果が得られる。MS の炎症性脱髄形成では、オフアツムマブの主要な標的細胞である B 細胞が重要な役割を担っている。自己反応性 B 細胞は末梢リンパ節において T 細胞に対し抗原提示を行い、活性化した T 細胞が CNS 局所に浸潤して病巣を形成する。そのため、オフアツムマブを皮下投与したとき、オフアツムマブは所属リンパ節に優先的に送達され自己反応性 B 細胞に作用すると考えられることから、皮下投与は静脈内投与と比べより適した投与経路である。

マウスに B 細胞溶解作用を示す用量の抗 CD20 抗体を皮下投与したとき、T 細胞依存/非依存性の免疫応答は正常に機能した。二次リンパ組織での辺縁帯 B 細胞サブセットは抗原刺激を受け分化した分化段階後期の成熟 B 細胞であり、病原体に対する免疫応答に重要な役割を担っていると示唆されている ([Huck et al. 2019](#), [Theil et al. 2019](#))。サル及びマウスの検討から、オフアツムマブ及び抗 CD20 抗体は辺縁帯 B 細胞サブセットに対して完全には抑制しないことが示されている。このことから、オフアツムマブにより生体内での B 細胞が枯渇している期間においても、二次リンパ組織に残存する成熟 B 細胞が働くことにより免疫応答が正常に開始されたと考えられる。そのため、オフアツムマブの臨床使用時において病原体の侵入に対する免疫応答は正常に機能し、免疫監視機構は維持されると考えられる。

以上のことから、サルを用いた *in vivo* 試験成績において、オフアツムマブは末梢血中の CD20 陽性 B 細胞及び CD20 陽性 T 細胞を完全に抑制し、二次リンパ組織中の CD20 陽性 B 細胞を減少させた。マウスの検討において、二次リンパ組織への分布及び蓄積は静脈内投与よりも皮下投与の方が高かった。MS におけるオフアツムマブの主要な標的臓器は二次リンパ組織であり、オフアツムマブの皮下投与の有用性が期待できる。また、抗 CD20 抗体は抗原接種により誘導される免疫応答に対し影響を及ぼさなかった。そのため、オフアツムマブ臨床使用下において病原体の侵入に対する免疫応答は正常に開始され、免疫監視機構は維持されると考えられる。

3.2 副次的薬理試験

実施していない。

3.3 安全性薬理試験

オフアツムマブの安全性薬理試験に関するプロファイル（心血管系及び腎機能）は先の承認申請時において評価済みである（1.13.1-1-CTD2.6.2-2.6.2.4 項）。カニクイザルにオフアツムマブを 100 mg/kg 以下の用量で静脈内投与したとき、心血管系及び腎機能に影響は認められなかった。

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、100/20 mg/kg（初期用量／維持用量）までの用量で静脈内投与したとき、中枢神経系を評価するパラメータ（身体検査、神経学的検査、神経行動学的観察）に変化はみられず、本薬投与に関連した脳の病理組織学的変化も認められなかった。また、本薬投与による呼吸数の変化及び肺の病理組織学的変化は認められなかった[2.6.6-6.1 項]。

3.4 薬力学的薬物相互作用試験

実施していない。

4 薬物動態試験

オフアツムマブを静脈内投与したときの薬物動態／トキシコキネティクスは先の承認申請時に評価済みである。分布に関しては新たな試験は実施していない。代謝、排泄、及び薬物動態学的薬物相互作用に関しては、本薬は抗体であることから実施していない（1.13.1-1-CTD2.6.4, [厚生労働省 2012](#)）。

今回、オフアツムマブを皮下投与したときの、薬物動態／トキシコキネティクスを評価した。

4.1 吸収

雌性サルにオフアツムマブを皮下投与したとき、AUC_{0-t} 及び C_{max} はほぼ用量に比例して増加した。皮下投与後のオフアツムマブのバイオアベイラビリティは、約 70%であった（2.6.4-3 項）。既に提出済みの試験結果（1.13.1-1-CTD2.6.4-3.1 項）と同様に、雌雄サルにオフアツムマブを静脈内投与したときの曝露量に明らかな性差は認められなかった。

5 毒性試験

本承認申請では、オフアツムマブの生殖発生毒性試験（FEED 試験及び ePPND 試験）を追加実施した。なお、皮下及び静脈内投与（2 回投与）によるブリッジング試験では、カニクイザルに本適応症を対象とした臨床投与経路である皮下投与時の安全性プロファイル及び曝露量を静脈内投与時と比較した。

先の承認申請時（アーゼラ点滴静注液、毒性試験の概要文）では、安全性薬理試験、反復静脈内投与毒性試験（最長 7 ヶ月投与）、生殖発生毒性試験（EFD 試験）、組織交差反応性試験、局所刺激性試験、及び免疫毒性試験の成績が提出されている。

オフアツムマブは非ヒト霊長類（カニクイザル及びアカゲザル）の CD20 に対して交差反応性を示すが、霊長類以外の動物種（マウス、ラット、ウサギ、イヌ、及びブタ）の CD20 には交差

反応性を示さない。また、カニクイザルには背景データがあること、広範囲の医薬品に対して反応性を示すことから、毒性試験の動物種として選択した。

5.1 単回投与毒性試験

独立した単回投与毒性試験は実施しなかった。

5.2 反復投与毒性試験

先の承認申請時において、カニクイザルを用いた最長 7 ヶ月間の反復静脈内投与毒性試験 (GLP 適用) が実施されているが、本適応症の臨床投与経路である皮下投与を評価するため、皮下及び静脈内投与 (2 回投与) によるブリッジング試験を実施した[2.6.6-3.1 項]。

すべての非臨床試験成績の結果、オフアツムマブの安全性プロファイルは良好であり、カニクイザルに 100 mg/kg までの用量で最長 7 ヶ月間静脈内投与したとき標的外毒性は認められなかった。複数の反復投与毒性試験において、検討したすべての用量 (1.25~100 mg/kg) において、末梢血及びリンパ系器官で急性かつ顕著な CD20 陽性 B 細胞の枯渇がみられ、その結果、リンパ節、パイエル板、及び脾臓で胚中心及び濾胞の萎縮が認められた。好中球、単球、T 細胞、及びナチュラルキラー (NK) 細胞集団にはほとんど変化は認められなかった。本薬投与に関連したキーホールリンペットヘモシアニン (KLH) に対する液性免疫応答の低下が認められたが、休薬後に回復性を示した。細胞性免疫応答への影響は認められなかった。また、感染率の増加は認められなかった。すべての変化について、休薬による用量依存的な回復性が示され、B 細胞数の減少は投与終了後 6 ヶ月以内に投与前値に回復した。静脈内及び皮下投与部位では、明らかな局所刺激性変化は認められなかった。

静脈内及び皮下投与後のいずれの投与経路においても、ADA が検出された。低用量 (20 mg/kg まで) では、ADA の発現により一部の個体でオフアツムマブの曝露量が減少し、それに続く薬理活性の消失に伴って血中 CD20 陽性 B 細胞の回復が認められた。なお、少数例において、急性過敏反応、赤血球 (RBC) 量の減少、又は組織中の血管/血管周囲炎症が認められ、本薬の免疫複合体を介した過敏症が示唆された。また、他のヒト化抗 CD20 抗体 (オビヌツズマブ) を投与したサルにおいても同様に免疫複合体を介した過敏症が認められている (Heyen et al. 2014, Leach et al. 2014, Rojko et al. 2014, Kronenberg et al. 2017, Husar et al. 2017)。一般的に、サルの免疫原性反応は、ヒトでの反応に対する予測性が低いことが知られている (Bussiere 2003, van Meer et al. 2013)。

したがって、当該変化はヒト型モノクローナル抗体であるオフアツムマブに曝露されたサル特有に認められる免疫原性による変化と考えられた。以上、すべての反復静脈内投与毒性試験で認められた本薬投与に関連した変化は、薬理作用に一致した CD20 陽性 B 細胞枯渇であった。その他として、免疫調節に対する二次的変化又は異種タンパク質に曝露されたサルの免疫原性反応に関連した変化が認められた。すべての反復静脈内投与毒性試験において、最高用量である

100 mg/kg が無毒性量 (NOAEL) と考えられた。皮下投与後及び静脈内投与後におけるオフアツムマブの安全性プロファイル及び曝露量 (AUC を指標とする) は同程度であった。

5.3 遺伝毒性試験

ICH S6(R1) ガイドラインに基づき、モノクローナル抗体について遺伝毒性試験は必要なく、またオフアツムマブは、デオキシリボ核酸 (DNA) 及び染色体に対する直接的な相互作用はないと考えられることから、遺伝毒性を評価するための試験は実施していない。

5.4 がん原性試験

ICH S6(R1) ガイドラインでは、標準的ながん原性試験は一般的に必要とされないため、オフアツムマブのがん原性試験は実施されていない。

オフアツムマブのがん原性の潜在的リスクを非臨床試験及び臨床試験の成績、並びに他の抗 CD20 抗体の生物学的特性、本薬の作用機序、公知の報告を評価した結果、オフアツムマブが発がんに寄与する形質転換細胞の増殖を示唆する結果は認められず、本薬の発がん性リスクは低いと考えられた[2.6.7-10 項]。

- カニクイザルを用いた 7 ヶ月間反復投与毒性試験では、100 mg/kg までの用量において器官重量増加、組織の過形成及び異形成、細胞増殖、並びにリンパ増殖性等のがん原性リスクの増加は認められない。
- オフアツムマブには、分子構造及び代謝物に関連した遺伝毒性及びがん原性の懸念はない。
- 非臨床及び臨床試験成績に基づいて、B 細胞の枯渇が腫瘍形成及び促進において重要な影響を与えることはない。
- リツキシマブに関する臨床試験成績から、悪性腫瘍のリスク増加はなく、Ocrelizumab については、認められた悪性腫瘍と投薬との関連性は否定できないが、臨床における B 細胞枯渇療法のがん原性リスクは低い。Ocrelizumab が投与された被験者女性 778 名中 6 名でみられた乳癌 (発現率: 0.77%) は、疫学調査から予測される発現割合 (発現率: 0.94 ~ 1.21%) と比較して高くはなく (Kingwell et al. 2012, Nielsen et al. 2006), 非盲検の継続投与試験で発現割合が低下する傾向が認められたことから、臨床的意義はないと考えられた (Gelfand et al. 2017, Wormser et al. 2019)。

5.5 生殖発生毒性試験

オフアツムマブの生殖発生毒性試験の一覧を Table 5-1 に示す。オフアツムマブのカニクイザルを用いた胚及び胎児発生に関する試験成績は、先の承認申請時に提出されている。本承認申請では、オフアツムマブの生殖発生毒性試験 (FEED 試験及び ePPND 試験) を追加実施した。FEED 試験及び ePPND 試験で使用した投与計画は、申請用法用量 (オフアツムマブ 20 mg を導入投与

として Day 1, Day 7, Day 14 に、維持投与として Day 28 以降 4 週ごとに皮下投与) を参考にして設定された。

Table 5-1 生殖発生毒性試験

動物種	試験の種類	投与経路	例数/群	用量 (mg/kg)	投与期間
カニクイザル	FEED	静脈内 (30 分間)	雄 6, 雌 6	0, 10/3, 100/20 ^a	13 週間 (9 回投与)
	EFD ^c	静脈内 (30 分間)	雌 12	0, 20, 100 ^b	妊娠 20~50 日 (5 回投与)
	ePPND	静脈内 (30 分間)	雌 14	0, 10/3, 100/20 ^a	妊娠 20 日から分娩まで (13 回投与)

a: 初期用量の 0, 10, 又は 100 mg/kg で週 1 回 5 週間投与した後、維持用量の 0, 3, 又は 20 mg/kg で 2 週に 1 回投与した。

b: 週 1 回投与

c: アーゼラ点滴静注液承認申請時点で実施済

カニクイザルの FEED 試験では、雌雄の受胎能への影響は認められなかった。カニクイザルの胚・胎児発生に関する試験 (EFD) 試験及び ePPND 試験では、妊娠中の本薬投与による母動物毒性及び催奇形性はみられず、胚・胎児発生及び出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に対する影響は認められなかった。

妊娠中の母動物にオフアツムマブを投与した結果、胎児及び乳児の血中でオフアツムマブが検出されたことから、オフアツムマブの胎盤移行及び胎児への曝露が確認された。EFD 試験の臍帯血検体に 15%, ePPND 試験の乳児では約 40%に ADA が検出された。10/3 mg/kg 群では、ADA の存在により、一部の母動物及びその乳児でオフアツムマブの曝露量が減少し、それに続く薬理活性の消失に伴って血中 CD20 陽性 B 細胞の回復が認められた。

EFD 試験及び ePPND 試験においても、妊娠中における 3~100 mg/kg の用量での投与により、予想される薬理作用の CD20 陽性 B 細胞枯渇が、母動物並びにその胎児及び乳児に認められた。胎児及び乳児では、脾臓重量 (胎児で測定) 及び血中 CD20 陽性 B 細胞の減少が認められた。100 mg/kg 群の胎児では、B 細胞数減少に伴って脾臓重量減少がみられたが、関連した病理組織学的変化は認められなかった。乳児の循環血中 CD20 陽性 B 細胞数は、10/3 mg/kg 群では生後 63 日に、100/20 mg/kg 群では生後 91 日以降に、それぞれ正常値まで回復した。なお、全投薬群ともにリンパ系器官の病理組織学的変化は認められなかった。

ePPND 試験では、10/3 mg/kg 群の乳児に KLH に対する液性免疫応答への影響は認められなかった。100/20 mg/kg 群の乳児では、IgG 値及び KLH 特異的 IgM の減少がみられた。6 ヶ月間の休薬期間後に回復傾向がみられ、それに伴って B 細胞の充実性が認められたことから、メモリー B 細胞の分化が示唆された。

ePPND 試験における 100/20 mg/kg 群の早期死亡した乳児 3 例は、免疫調節に対する二次的変化である感染症に起因した変化の結果と考えられた。感染症に起因した乳児の早期死亡は、

Ocrelizumab の ePPND 試験でも認められている (Ocrelizumab FDA pharmacology review 2016)。また、感染症は B 細胞枯渇療法を含む免疫抑制療法又は免疫調節療法に関連する既知のリスクとして報告されている (Uettwiller et al. 2011)

ePPND 試験では 100/20 mg/kg 群の母動物 1 例で瀕死がみられ、その原因は本薬の免疫原性に起因した重度の両側性糸球体腎症と考えられた。関連した変化として、瀕死例では投与期間中に血中 ADA が認められ、腎臓に軽微な多巣性血管炎症及び急性炎症を示唆する血管内皮細胞に IgM 陽性沈着物が認められた。したがって、ePPND 試験の 100/20 mg/kg 群における 3 例の乳児及び 1 例の母動物の死因は、本薬投与に直接起因するものではないと考えられた。

雌雄の受胎能に関する NOAEL は 100/20 mg/kg と判断された。EFD 試験の NOAEL は、母動物及び胎児のいずれにおいても 100 mg/kg と考えられた。出生前及び出生後の発生における NOAEL (乳児) は 100/20 mg/kg、ePPND 試験では一般毒性 (薬理作用に起因した CD20 陽性 B 細胞の減少) に基づく乳児の NOAEL は 10/3 mg/kg と考えられた。母動物における NOAEL は、100/20 mg/kg と考えられた。

5.6 幼若動物を用いた試験

幼若動物を用いた毒性試験は実施しなかった。

5.7 全身曝露量の比較

カニクイザルを用いた毒性試験の NOAEL における曝露量とヒト曝露量との比較を Table 5-2 に示す。申請用法用量 (オフアツムマブ 20 mg を導入投与として Day 1, Day 7, Day 14 に、維持投与として Day 28 以降 4 週ごとに皮下投与) で投与したとき、ヒトの定常状態における平均全身曝露量は AUC_{tau} : 483.4 µg·h/mL, C_{max} : 1.425 µg/mL であった。

カニクイザルを用いた皮下及び静脈内投与 (2 回投与) による反復投与毒性試験の NOAEL は、高用量の 100 mg/kg と考えられた。サルにおける全身曝露量 (AUC 及び C_{max}) はほぼ用量に比例して増加し、静脈内投与では顕著な性差は認められなかった。100 mg/kg の用量で皮下投与したときのバイオアベイラビリティは約 70% であり、この用量での静脈内投与後及び皮下投与後における曝露量は同程度であった。なお、2 週間皮下及び静脈内投与毒性試験では、臨床試験の維持投与期における投与間隔 (4 週間) に比べて短期間であったが、投与間隔の補正 (倍率の適用) は実施しなかった。

受胎能、出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する NOAEL は、高用量の 100/20 mg/kg と考えられ、この用量での AUC を指標とした安全域は 160 倍以上であった。ePPND 試験の一般毒性 (薬理作用に起因した CD20 陽性 B 細胞の減少) に基づく NOAEL (乳児) は 10/3 mg/kg と考えられた。NOAEL (乳児) における曝露量の安全域は 22 以上であった。

Table 5-2 毒性試験の無毒性量とヒト臨床用量における曝露量の比較

試験の種類	NOAEL (mg/kg)	性	AUC0-t ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	Cmax ($\mu\text{g/mL}$)	曝露量比 ^a	
					AUCtau	Cmax
2週間 (皮下)	100	雌	274000 / 753000 ^b	1510	570 / 1600	1100
2週間 (静脈内)	100	雌	392000 / 1005000 ^b	3270	810 / 2100	2300
FEED (静脈内)	100/20 ^c	雄	162000 / 312000 ^d	1340	340 / 650	940
		雌	124000 / 251000 ^d	1090	260 / 520	770
ePPND (静脈内)	10/3 ^c	雌 ^e	10500 / 16900 ^g	90	22 / 35	63
	100/20 ^c	雌 ^f	77900 / 111000 ^g	733	160 / 230	510

Source: Table 2.6.7.7A-CD2007/01024/00, Table 2.6.7.12-1670402, Table 2.6.7.14-1670033

a: 毒性試験の NOAEL における曝露量 / 申請用量用法におけるヒトの曝露量 (AUCtau : 483.4 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$, Cmax : 1.425 $\mu\text{g/mL}$)

b: 2週間試験 : 平均 AUC0-312h / AUC0-t (定量可能な最終時点まで)

c: 初期用量 (10 又は 100 mg/kg) を週 1 回 5 週間投与し, 続いて維持用量 (3 又は 20 mg/kg) を 2 週に 1 回投与した。

d: FEED 試験 : 平均 AUC0-168h / AUC0-t (定量可能な最終時点まで)

e: 乳児の一般毒性 (薬理作用に起因した CD20 陽性 B 細胞の減少) に基づく NOAEL

f: 母動物及び出生前 / 出生後の発生に関する NOAEL

g: ePPND 試験 : 平均 AUC0-168h / AUC0-336h

5.8 局所刺激性試験

独立した局所刺激性試験は実施しなかった。皮下及び静脈内投与部位の局所刺激性は、反復投与毒性試験の一環として、オフアツムマブの 100 mg/kg までの用量で実施した結果、明らかな局所刺激性は認められなかった[2.6.6-3.1 項]。

5.9 その他の毒性試験

カニクイザルを用いた組織交差反応性試験の成績は、先の承認申請時に提出されている。ヒト組織交差反応性試験において、オフアツムマブは B 細胞 (リンパ系器官内及び上皮組織に存在) のみに結合することが確認されたことから、本薬はヒトに対して標的外毒性を示さないと考えられた。

ICH S6(R1)ガイドラインに従い、免疫原性反応を先の承認申請時に提出された主要な反復投与毒性試験及び ePPND 試験成績から評価した。

カニクイザルの中枢神経系検査に本薬投与に関連した変化は認められなかった (3.3 項)。また、既知の乱用薬物と化学的及び薬理的に類似していないこと、刺激作用、抑うつ作用、カンナビノイド作用、及びオピオイド作用を生じないと考えられることから、依存性を評価する試験は実施しなかった。

6 不純物及び分解物

製剤は、オートインジェクターに組み込まれたプレフィルドシリンジに充填された注射液である。目的物質関連物質及び不純物を含めた抗体の特性は、既承認のアーゼラ点滴静注液 100 mg（承認番号 22500AMX00879000）及びアーゼラ点滴静注液 1000 mg（承認番号 22500AMX00880000）の原薬オフアツムマブ（遺伝子組換え）と同様である。

使用した非臨床試験用及び臨床試験用ロットの同等性／同質性、並びに市販予定の原薬及び製剤の同等性／同質性が確認されている。工程を通して、製造工程由来不純物が一貫して適正なレベルまで除去されていることが示されている。また、毒性試験による安全性確認が必要と考えられる新たな目的物質関連物質は認められなかった。

7 安全性の総合評価

本承認申請では、適応追加に伴いオフアツムマブの生殖発生毒性試験（受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、拡充型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）を実施した。先の承認申請時では、安全性薬理試験、反復静脈内投与毒性試験（最長 7 ヶ月投与）、生殖発生毒性試験（胚及び胎児発生に関する試験）、組織交差反応性試験、局所刺激性試験、及び免疫毒性試験の成績が提出されている。

カニクイザルを用いた安全性薬理試験では、3～100 mg/kg の用量で投与したとき、中枢神経系、心血管系、呼吸系及び腎機能に関する安全性薬理評価項目に影響は認められなかった。

カニクイザルを用いた皮下及び静脈内投与（2 回投与）によるブリッジング試験では、本薬投与に関連した変化は、薬理作用に一致した CD20 陽性 B 細胞枯渇であった。皮下投与後及び静脈内投与後におけるオフアツムマブの安全性プロファイル及び曝露量は同程度であった。したがって、先の承認申請時に実施した静脈内投与による毒性試験成績に基づいて、皮下投与時の毒性も評価可能と考えられた。静脈内及び皮下投与部位では、明らかな局所刺激性変化は認められなかった。オフアツムマブを皮下投与したとき、オフアツムマブのリンパ節への分布及び蓄積は静脈内投与と比べ高いことが示されているが（[Richter and Jacobsen 2014](#), [Torres et al. 2019](#)），高用量を投与したときの薬理作用に関連する変化は静脈内及び皮下投与のいずれも同程度であった。

公知の報告に基づき、オフアツムマブのがん原性の潜在的リスクを評価した結果、がん原性のリスクは低いと考えられた。

カニクイザルの FEED 試験では、雌雄の受胎能への影響は認められなかった。カニクイザルの ePPND 試験及び EFD 試験では、妊娠中の本薬投与による母動物毒性及び催奇形性はみられず、胚及び胎児発生、出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に対する影響は認められなかった。

妊娠サルへのオフアツムマブ投与では、予想される薬理作用である CD20 陽性 B 細胞の枯渇が、母動物並びにその胎児及び乳児で認められ、それに伴って 100 mg/kg では胎児の脾臓重量の減少（関連する病理組織学的変化はなし）が、100/20 mg/kg では乳児の KLH に対する液性免疫応答の低下が認められた。これらの変化はいずれも回復傾向を示した。その他の免疫細胞集団への影

響は認められなかった。100/20 mg/kg 群の乳児 3 例における早期死亡は、免疫調節による二次的な感染症（関連する病理組織学的変化を伴う）が原因と考えられた。乳児における一般毒性（薬理作用に起因した CD20 陽性 B 細胞の減少）に基づく NOAEL を、申請用法用量（オフアツムマブ 20 mg を導入投与として Day 1, Day 7, Day 14 に、維持投与として Day 28 以降 4 週ごとに皮下投与）における曝露量と比較したときの AUC に基づく安全域は、22 倍以上であった。また、感染症は B 細胞枯渇療法を含む免疫抑制療法又は免疫調節療法に関連する既知のリスクとして報告されている（Uettwiller et al. 2011）。

臨床試験成績に基づくと、オフアツムマブの皮下投与により感染症のリスクが高まる傾向はみられなかった。しかしながら、本剤投与後の B 細胞枯渇による全身的な免疫調整及び免疫監視機能の低下を考慮すると、進行性多巣性白質脳症（PML）や B 型肝炎ウイルスの再活性化を含む日和見感染が発現する可能性を否定できない。したがって、添付文書案では、本剤投与中は PML を示唆する臨床的徴候、磁気共鳴映像法（MRI）所見に注意し、PML が疑われる場合は本剤の投与を中断すること、及び B 型肝炎ウイルスの再活性化による肝炎が発現するおそれがあるため、本剤の投与開始前に B 型肝炎ウイルス感染の有無を確認することを注意喚起した[2.5-6.3 項]。

静脈内及び皮下投与後のいずれの投与経路においても、ADA が検出された。本薬に対する免疫原性の結果として、一部のサルでオフアツムマブの薬理活性の低下及び免疫複合体を介した過敏症が認められた。サルの免疫原性反応は、ヒトでの反応に対する予測性が低いと報告されている（Bussiere 2003, van Meer et al. 2013）。したがって、当該変化はヒト型モノクローナル抗体であるオフアツムマブに曝露されたサル特有に認められる免疫原性による変化であり、ヒトに免疫原性が発現する可能性は比較的低いと考えられた。RMS 患者を対象とした臨床試験では、ADA の発現率は非常に低く（発現率 2%未満）、その発現も一過性であった。G2301 試験、G2302 試験、G1301 試験、及び G2102 試験におけるすべての ADA 陽性検体について中和抗体を評価したところ、陰性であることが確認された。また、いずれの被験者においても ADA 陽性がオフアツムマブの薬物動態、B 細胞動態、及び安全性に及ぼす影響は認められなかった[2.7.2-4.1 項]。

オフアツムマブのサルにおける毒性プロファイルは、他の抗 CD20 抗体 [リツキシマブ (MabThera SmPC), Ocrelizumab (Ocrelizumab FDA pharmacology review 2016), Obinutuzumab (Obinutuzumab FDA pharmacology review 2013, Husar et al. 2017)] の毒性プロファイルと同様であったが、本薬の薬効量は低いため、オフアツムマブの安全域は高いと考えられた。

カニクイザルにおける生殖発生毒性試験において、妊娠中の本薬投与による母動物毒性及び催奇形性はみられず、胚・胎児発生及び出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に対する影響は認められなかった。しかし、妊娠中の本薬投与により胎児の B 細胞に影響が、出生児については感染リスク及び免疫への影響が増加する可能性がある。臨床試験成績に基づくと、G2301 試験及び G2302 試験における妊娠例で、胎児異常又は新生児の先天異常は報告されていない[2.5-5.9.4 項]。添付文書案の「9.4 生殖能を有する患者」で妊娠可能な女性に対しては、本剤投与中及び本剤最終投与後 6 ヶ月間は適切な避妊法を用いるよう注意喚起した。

8 結論

オフアツムマブ（遺伝子組換え）は CD20 分子エピトープを特異的に認識するヒト型免疫グロブリン（Ig）G1κ モノクローナル抗体である。オフアツムマブは B 細胞及び一部の T 細胞サブセット表面に発現したヒト CD20 分子上の大小の細胞外ループの一部をエピトープとして認識して細胞に結合し、補体依存性細胞傷害（CDC）及び抗体依存性細胞傷害（ADCC）を誘発して細胞を溶解し、体内から除去し枯渇させる。これにより、末梢及び CNS 病巣において自己反応性 B 細胞及び T 細胞の免疫応答が抑制され、炎症性脱髄の形成及び進行が抑制されることにより、多発性硬化症（MS）の再発及び進行を抑制し治療効果を示すと期待される。

健常ドナー由来の初代培養ヒト B 細胞を用いた *in vitro* 試験において、オフアツムマブは CDC 及び ADCC を誘発した。オフアツムマブの細胞溶解作用は主として CDC 活性によるものであり、ADCC 活性の程度は CDC 活性と比べて低い。また、オフアツムマブの CDC 活性はリツキシマブ及び ocrelizumab と比べ高く、かつ持続することが示された。これは他の抗 CD20 抗体製剤に比べオフアツムマブが細胞膜により近接して CD20 に結合するため、かつ、CD20 からの解離が遅いためと考えられた。また、オフアツムマブの CDC 活性は標的細胞での CD20 発現量に影響を受けにくい。サルにオフアツムマブ（1 mg/kg）を導入投与として計 3 回皮下投与し、末梢血中又は二次リンパ組織における CD20 陽性細胞を評価した結果、CD20 陽性 B 細胞及び CD20 陽性 T 細胞が速やかかつ強力に抑制され、その後ベースラインまで回復した。CD20 陽性 T 細胞における CD20 発現量は低いことが知られているが、オフアツムマブはリツキシマブに比べ低い CD20 発現量でも CDC を誘発する。MS における炎症性脱髄形成において、B 細胞のみならず CD20 陽性 T 細胞も重要な役割を担うことから、オフアツムマブは B 細胞に加え、CD20 陽性 T 細胞を溶解することで炎症性脱髄の形成及び再発を抑制すると考えられる。マウスにおいて、抗 CD20 抗体の皮下投与後の組織分布及び蓄積を静脈内投与と比較して検討した結果、皮下投与では静脈内投与と比べ、抗 CD20 抗体のリンパ節への蓄積が高かった。一般的に、抗体製剤のような高分子化合物を皮下投与した場合、投与後の拡散及び吸収は緩徐である。したがって、投与経路を皮下とすることで静脈内投与と比べて低用量の投与で持続したオフアツムマブの効果が得られると考えられる。また、MS 病態形成に重要な役割を担う自己反応性 B 細胞は二次リンパ組織において T 細胞に抗原提示を行う。そのため、オフアツムマブを皮下投与したとき、オフアツムマブは所属リンパ節に優先的に送達され自己反応性 B 細胞に作用すると考えられることから、MS 治療においてオフアツムマブの皮下投与は静脈内投与と比べより適した投与経路である。マウスを用いて免疫応答への抗 CD20 抗体の影響を検討した結果、抗 CD20 抗体は抗原接種により誘導される免疫応答に対し影響を及ぼさなかった。二次リンパ組織での辺縁帯 B 細胞サブセットは病原体に対する免疫応答に重要な役割を担っており、オフアツムマブはこの辺縁帯 B 細胞サブセットに対して完全には抑制しないことが示されている。このことから、オフアツムマブの臨床使用時において病原体の侵入に対する免疫応答は正常に機能し、免疫監視機構は維持されると考えられる。

雌性サルにオフアツムマブを皮下投与したとき、AUC_{0-t} 及び C_{max} はほぼ用量に比例して増加した。皮下投与後のオフアツムマブのバイオアベイラビリティは、約 70%であった。雌雄サルにオフアツムマブを静脈内投与したとき、曝露量に明らかな性差は認められなかった。本薬はヒト型 IgG1 モノクローナル抗体であり、カニクイザルを用いた反復静脈内投与試験における本薬の分布容積の結果から本薬の組織移行性は低いと考えられている。サルの胚・胎児発生に関する試験及び拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験により、オフアツムマブは胎盤を通過すると考えられた。

非臨床安全性試験成績では、高用量で薬理作用である末梢血及びリンパ系器官中 B 細胞の枯渇、並びに免疫調節による二次的な液性免疫応答の低下以外の変化は認められていない。

以上、一連の非臨床試験成績から、多発性硬化症に対するオフアツムマブの有効性及び安全性が確認され、その治療薬として添付文書に規定した用法及び用量で本薬を使用することは支持されると判断した。

9 参考文献

- [Antel J, Antel S, Caramanos Z, et al. (2012)] Primary progressive multiple sclerosis: part of the MS disease spectrum or separate disease entity? *Acta Neuropathol*; 123(5): 627-38.
- [Bar-Or A, Grove RA, Austin DJ, et al. (2018)] Subcutaneous ofatumumab in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: The MIRROR study. *Neurology*; 90(20):e1805-14.
- [Bussiere JL (2003)] Animal models as indicators of immunogenicity of therapeutic proteins in humans. *Dev Biol*; 112:135-9.
- [Cheson BD (2010)] Ofatumumab, a novel anti-CD20 monoclonal antibody for the treatment of B-cell malignancies. *J Clin Oncol*; 28(21):3525-30.
- [Cleary KLS, Chan HTC, James S, et al. (2017)] Antibody distance from the cell membrane regulates antibody effector mechanisms. *J Immunol*; 198(10):3999-4011.
- [D'Amico E, Zanghi A, Gastaldi M, et al. (2019)] Placing CD20-targeted B cell depletion in multiple sclerosis therapeutic scenario: present and future perspectives. *Autoimmun Rev*; 18(7):665-72.
- [Du J, Yang H, Guo Y, et al. (2009)] Structure of the Fab fragment of therapeutic antibody ofatumumab provides insights into the recognition mechanism with CD20. *Mol Immunol*; 46(11-12):2419-23.
- [Gelfand JM, Cree BAC, Hauser SL (2017)] Ocrelizumab and other CD20+ B-Cell-depleting therapies in multiple sclerosis. *Neurotherapeutics*; 14(4):835-41.
- [Genovese MC, Kaine JL, Lowenstein MB, et al. (2008)] Ocrelizumab, a humanized anti-CD20 monoclonal antibody, in the treatment of patients with rheumatoid arthritis: a phase I/II randomized, blinded, placebo-controlled, dose-ranging study. *Arthritis Rheum*; 58(9):2652-61.
- [Greenfield AL and Hauser SL (2018)] B-cell therapy for multiple sclerosis: entering an era. *Ann Neurol*; 83(1):13-26.
- [Hauser SL, Bar-Or A, Comi G, et al. (2017)] Ocrelizumab versus interferon beta-1a in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*; 376(3):221-34.
- [Hauser SL, Waubant E, Arnold DL, et al. (2008)] B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N Engl J Med*; 358(7):676-88.
- [Heyen JR, Rojko J, Evans M, et al. (2014)] Characterization, biomarkers, and reversibility of a monoclonal antibody-induced immune complex disease in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Toxicol Pathol*; 42(4):765-73.
- [Huck C, Leppert D, Wegert V, et al. (2019)] Low-dose subcutaneous anti-CD20 treatment depletes disease relevant B cell subsets and attenuates neuroinflammation. *J Neuroimmune Pharmacol*; 14(4):709-19.
- [Husar E, Solonets M, Kuhlmann O, et al. (2017)] Hypersensitivity reactions to obinutuzumab in cynomolgus monkeys and relevance to humans. *Toxicol Pathol*; 45(5):676-86.
- [Jelcic I, Al Nimer F, Wang J, et al. (2018)] Memory B cells activate brain-homing, autoreactive CD4⁺ T cells in multiple sclerosis. *Cell*; 175(1):85-100.
- [Kappos L, Li D, Calabresi PA, et al. (2011)] Ocrelizumab in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase 2, randomised, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet*; 378(9805):1779-87.
- [Karle A, Spindeldreher S, Kolbinger F (2016)] Secukinumab, a novel anti-IL-17A antibody, shows low immunogenicity potential in human in vitro assays comparable to other marketed biotherapeutics with low clinical immunogenicity. *MAbs*; 8(3):536-50.

[Kingwell E, Bajdik C, Phillips N, et al. (2012)] Cancer risk in multiple sclerosis: findings from British Columbia, Canada. *Brain*; 135(Pt 10):2973-9.

[Kronenberg S, Husar E, Schubert C, et al. (2017)] Comparative assessment of immune complex-mediated hypersensitivity reactions with biotherapeutics in the non-human primate: Critical parameters, safety and lessons for future studies. *Regul Toxicol Pharmacol*; 88:125-37.

[Leach MW, Rottman JB, Hock MB, et al. (2014)] Immunogenicity/hypersensitivity of biologics. *Toxicol Pathol*; 42(1):293-300.

[Li H, Ayer LM, Lytton J, et al. (2003)] Store-operated cation entry mediated by CD20 in membrane rafts. *J Biol Chem*; 278(43):42427-34.

[Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, et al. (2014)] Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology*; 83(3):278-86.

MabThera summary of product characteristics (SmPC) Available from:
<https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/mabthera-epar-product-information_en.pdf> (Accessed August 2019).

[Mahad DH, Trapp BD, Lassmann H (2015)] Pathological mechanisms in progressive multiple sclerosis. *Lancet Neurol*; 14(2):183-93.

[Migotto MA, Mardon K, Orian J, et al. (2019)] Efficient distribution of a novel zirconium-89 labeled anti-cd20 antibody following subcutaneous and intravenous administration in control and experimental autoimmune encephalomyelitis-variant mice. *Front Immunol*; 10:2437.

[Nielsen NM, Rostgaard K, Rasmussen S, et al. (2006)] Cancer risk among patients with multiple sclerosis: a population-based register study. *Int J Cancer*; 118(4):979-84.

Obinutuzumab FDA pharmacology review (2013) GAZYVA (obinutuzumab), Center for Drug Evaluation and Research, application no. 125486Orig1s000 Pharmacology Review(s), 2013, BLA 125486, Food and Drug Administration, Division of Hematology Oncology Toxicology. Available from:
<https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2013/125486Orig1s000PharmR.pdf> (Accessed August 2019).

Ocrelizumab FDA pharmacology review (2016) Ocrelizumab, Center for Drug Evaluation and Research, application no. 761053Orig1s000 Pharmacology Review(s), 2016, BLA 761053, Food and Drug Administration, Division of Neurology Products. Available from:
<https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2017/761053Orig1s000PharmR.pdf> (Accessed 12 Mar 2019).

[Pedersen IM, Buhl AM, Klausen P, et al. (2002)] The chimeric anti-CD20 antibody rituximab induces apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells through a p38 mitogen activated protein-kinase-dependent mechanism. *Blood*; 99(4):1314-9.

[Polyak MJ and Deans JP (2002)] Alanine-170 and proline-172 are critical determinants for extracellular CD20 epitopes; heterogeneity in the fine specificity of CD20 monoclonal antibodies is defined by additional requirements imposed by both amino acid sequence and quaternary structure. *Blood*; 99(9):3256-62.

[Polyak MJ, Li H, Shariat N, et al. (2008)] CD20 homo-oligomers physically associate with the B cell antigen receptor. Dissociation upon receptor engagement and recruitment of phosphoproteins and calmodulin-binding proteins. *J Biol Chem*; 283(27):18545-52.

[Richter WF and Jacobsen B (2014)] Subcutaneous absorption of biotherapeutics: knowns and unknowns. *Drug Metab Dispos*; 42(11):1881-9.

[Riley JK and Sliwkowski MX (2000)] CD20: a gene in search of a function. *Semin Oncol*; 27(6 Suppl 12):17-24.

[Rojko JL, Evans MG, Price SA, et al. (2014)] Formation, clearance, deposition, pathogenicity, and identification of biopharmaceutical-related immune complexes: review and case studies. *Toxicol Pathol*; 42(4):725-64.

[Ruuls SR, Lammerts van Bueren JJ, van de Winkel JG, et al. (2008)] Novel human antibody therapeutics: the age of the Umabs. *Biotechnol J*; 3(9-10):1157-71.

[Teeling JL, Mackus WJ, Wiegman LJ, et al. (2006)] The biological activity of human CD20 monoclonal antibodies is linked to unique epitopes on CD20. *J Immunol*; 177(1):362-71.

[Theil D, Smith P, Huck C, et al. (2019)] Imaging mass cytometry and single-cell genomics reveal differential depletion and repletion of B-cell populations following ofatumumab treatment in cynomolgus monkeys. *Front Immunol*; 10:1340.

[Torres JB, Sealey M, Kneuer R, et al. (2019)] Distribution and efficacy of ofatumumab and ocrelizumab in humanized-CD20 mice following subcutaneous or intravenous administration(P2.2-052)[abstract]. *Neurology*; 92 (15 Suppl) P2.2-052.

[Uettwiller F, Rigal E, Hoarau C (2011)] Infections associated with monoclonal antibody and fusion protein therapy in humans. *MAbs*; 3(5):461-6.

[van Meer PJ, Kooijman M, Brinks V, et al. (2013)] Immunogenicity of mAbs in non-human primates during nonclinical safety assessment. *MAbs*; 5(5):810-6.

[Van Walle I, Gansemans Y, Parren PW, et al. (2007)] Immunogenicity screening in protein drug development. *Expert Opin Biol Ther*; 7(3):405-18.

[von Essen MR, Ammitzbøll C, Hansen RH, et al. (2019)] Proinflammatory CD20⁺ T cells in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Brain*; 142(1):120-32.

[Walshe CA, Beers SA, French RR, et al. (2008)] Induction of cytosolic calcium flux by CD20 is dependent upon B Cell antigen receptor signaling. *J Biol Chem*; 283(25):16971-84.

[Wormser D, Evershed J, Ferreira G, et al. (2019)] VERISMO: A post-marketing safety study to determine the incidence of all malignancies and breast cancer in patients with multiple sclerosis treated with Ocrelizumab.

厚生労働省 (2012) 「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」について：薬食審査発 0323 第 1 号：2012 年 3 月 23 日 (Internet) Available from: <<https://www.pmda.go.jp/files/000156471.pdf>> (Accessed 28 Mar 2020)

厚生労働省診断基準 (2015) 13 多発性硬化症／視神経脊髄炎 概要，診断基準等 (Internet) Available from: <<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000062437.html>> (Accessed 3 Jun 2020)

多発性硬化症・視神経脊髄炎診療ガイドライン (2017) 「多発性硬化症・視神経脊髄炎診療ガイドライン」作成委員会編. 多発性硬化症・視神経脊髄炎診療ガイドライン 2017. 東京; 医学書院 (Internet) Available from: <https://www.neurology-jp.org/guidelinem/koukasyo_onm_2017.html> (Accessed 3 Jun 2020)