# 目次

2.4 非臨床試験の概括評価 ..... 3
2.4.1 非臨床試験計画概略 ..... 3
2.4.1.1 薬理試験 ..... 5
2.4.1.2 薬物動態試験 ..... 6
2.4.1.3 毒性試験 ..... 6
2.4.2 薬理試験 ..... 7
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 ..... 7
2.4.2.2 副次的薬理試験 ..... 8
2.4.2.3 安全性薬理試験 ..... 9
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 ..... 9
2.4.3 薬物動態試験 ..... 9
2.4.3.1 分析法 ..... 9
2.4.3.2 吸収 ..... 9
2.4.3.3 分布 ..... 9
2.4.3.4 代謝 ..... 10
2.4.3.5 排泄 ..... 10
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用 ..... 11
2.4.3.7 その他の薬物動態試験 ..... 11
2.4.4 毒性試験 ..... 11
2.4.4.1 単回投与毒性試験 ..... 11
2.4.4.2 反復投与毒性試験 ..... 11
2.4.4.3 遺伝毒性試験 ..... 12
2.4.4.4 がん原性毒性試験 ..... 12
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 ..... 12
2.4.4.6 局所刺激性試験 ..... 12
2.4.4.7 その他の試験 ..... 12
2.4.5 総括 ..... 13
2.4.5.1 薬理試験 ..... 13
2.4.5.2 薬物動態試験 ..... 13
2.4.5.3 毒性試験 ..... 14
2.4.6 結論 ..... 16
2.4.7 参考文献 ..... 16

**用語の定義**

| 用語 | 定義・解説 |
|---|---|
| ADA | 抗薬物抗体（anti-drug antibody） |
| ADCC | 抗体依存性細胞傷害（antibody-dependent cellular cytotoxicity） |
| ARLG | オートラジオルミノグラフィー（autoradioluminography） |
| AUC | 血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve） |
| BBB | 血液脳関門（blood-brain barrier） |
| CDC | 補体依存性細胞傷害（complement-dependent cytotoxicity） |
| CHO | チャイニーズハムスター卵巣（chinese hamster ovary） |
| $C_{max}$ | 最高血漿中濃度（maximum plasma concentration） |
| CSF | 脳脊髄液（cerebrospinal fluid） |
| DS | デルマタン硫酸（dermatan sulfate） |
| ECL | 電気化学発光（electrochemiluminescence） |
| ERT | 酵素補充療法（enzyme replace therapy） |
| Fc | 免疫グロブリンの結晶化可能フラグメント（fragment crystallizable） |
| FcRn | 胎児性 Fc 受容体（neonatal Fc receptor） |
| FOB | 機能観察総合評価法（functional observational battery） |
| GAG | グリコサミノグリカン（glycosaminoglycan） |
| Hb | ヘモグロビン（hemoglobin） |
| hIDS | ヒトイズロン酸-2-スルファターゼ（human iduronate-2-sulfatase） |
| hIgG | ヒト免疫グロブリン G（human immunoglobulin G） |
| HS | ヘパラン硫酸（heparan sulfate） |
| hTfR | ヒトトランスフェリン受容体 1（human transferrin receptor 1） |
| hTfR KI | ヒトトランスフェリン受容体 1 遺伝子ノックイン（human transferrin receptor 1 gene knock in） |
| hTfR KI/Ids KO マウス | hTfR KI マウスと Ids KO マウスを交配して作出した二重遺伝子改変マウス |
| $^{125}I$ | ヨウ素の放射性同位体（iodine-125） |
| $^{125}I$-JR-141 | $^{125}I$ 標識 JR-141（$^{125}I$-labeled JR-141） |
| $^{125}I$-RP-2703 | $^{125}I$ 標識 RP-2703（$^{125}I$-labeled RP-2703） |
| IAR | 投与関連反応（infusion associated reaction） |
| IDS | イズロン酸-2-スルファターゼ（iduronate-2-sulfatase） |
| Ids KO | イズロン酸-2-スルファターゼ遺伝子ノックアウト（iduronate-2-sulfatase gene knock out） |
| IgG | 免疫グロブリン G（immunoglobulin G） |
| $K_D$ | 解離定数（dissociation constant） |
| KI | ノックイン（knock in） |
| KO | ノックアウト（knock out） |
| LSD | ライソゾーム病（lysosomal storage disease） |
| M6P | マンノース-6-リン酸（mannose-6-phosphate） |
| M6PR | カチオン非依存性マンノース-6-リン酸受容体（cation-independent mannose-6-phosphate receptor） |
| mAb | モノクローナル抗体（monoclonal antibody） |
| MCHC | 平均赤血球ヘモグロビン濃度（mean corpuscular hemoglobin concentration） |
| Ret | 網赤血球（reticulocyte） |
| RP-2703 | JR-141 の抗体部分に変異を入れることで hTfR とカニクイザル TfR にほぼ同等の結合親和性を持たせた分子 |
| TCA | トリクロロ酢酸（trichloroacetic acid） |
| Tf | トランスフェリン（transferrin） |
| TfR | トランスフェリン受容体 1（transferrin receptor 1） |
| TK | トキシコキネティクス（toxicokinetics） |

## 2.4 非臨床試験の概括評価

### 2.4.1 非臨床試験計画概略

JR-141 は、IgG1 をサブクラスとするヒト化抗ヒトトランスフェリン受容体抗体の重鎖の C 末端に、ライソゾーム酵素の一種である hIDS が結合した融合タンパク質であり、CHO 細胞により産生される。JR-141 は、アミノ酸 975 個から成るヒト化抗体重鎖（γ1 鎖）を N 末端側に融合した 2 分子の hIDS 及び 219 個のアミノ酸残基からなる 2 分子のヒト化抗体軽鎖（κ 鎖）で構成されるヘテロ 4 量体である（$C_{11906}H_{18168}N_{3120}O_{3616}S_{70}$：分子量 265110.93）。抗体の Fc 領域に N-結合型糖鎖を 1 本、酵素部分に 8 本の N-結合型糖鎖を有しており、酵素部分のアミノ酸配列は既承認薬のムコ多糖症 II 型治療薬であるイデュルスルファーゼ（商品名：エラプレース点滴静注液 6 mg）と同一である。

JR-141 の製造販売承認申請にあたり実施した非臨床試験を表 2.4.1-1 に示す。

**表 2.4.1-1 JR-141 の製造販売承認申請にあたり実施した非臨床試験**

| 試験の種類 | 適用基準 | 実施施設 | 記載箇所 |
|---|---|---|---|
| 薬理試験 | | | |
| 効力を裏付ける試験 | | | |
| TfR に対する結合親和性試験 | 信頼性基準 d) | JCR e) | 4.2.1.1.1<br>4.2.1.1.2<br>参考資料<br>4.2.1.1.3 |
| M6P 受容体に対する結合親和性試験 | 信頼性基準 d) | JCR e) | 4.2.1.1.4 |
| 正常ヒト線維芽細胞における細胞内取込み試験 | 信頼性基準 d) | JCR e) | 4.2.1.1.5 |
| hTfR KI/Ids KO マウスにおける JR-141 の 12 週間反復静脈内投与による GAG 減少効果 | 信頼性基準 d) | [redacted] f) | 4.2.1.1.6 |
| hTfR KI/Ids KO マウスを用いた JR-141 の 36 週間反復静脈内投与による薬効評価試験 | 信頼性基準 d) | JCR e)<br>[redacted] f)<br>[redacted] g) | 4.2.1.1.7 |
| 副次的薬理試験 | | | |
| Tf-TfR 結合に対する影響評価試験 | 信頼性基準 d) | JCR e) | 4.2.1.2.1 |
| 抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性試験 | 信頼性基準 d) | JCR e) | 4.2.1.2.2 |
| 補体依存性細胞傷害（CDC）活性試験 | 信頼性基準 d) | JCR e) | 4.2.1.2.3 |
| ヒト FcRn 結合親和性試験 | 信頼性基準 d) | JCR e) | 4.2.1.2.4 |
| 安全性薬理試験 | | | |
| カニクイザルの中枢神経系に及ぼす影響 a), b) | GLP | [redacted] g) | 4.2.3.2.2<br>4.2.3.2.4 |
| カニクイザルの心血管系に及ぼす影響 a) | GLP | [redacted] g) | 4.2.3.2.2 |
| カニクイザルの呼吸系に及ぼす影響 a) | GLP | [redacted] g) | 4.2.3.2.2 |

a)「カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験」に組み込んで実施した。

b)「カニクイザルにおける JR-141 の 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験」に組み込んで実施した。

d) 申請資料の信頼性の基準（薬機法施行規則第 43 条）

e) ＪＣＲファーマ株式会社

f) [redacted]

g) [redacted]

**表 2.4.1-1　JR-141 の製造販売承認申請にあたり実施した非臨床試験（続き）**

| 試験の種類 | 適用基準 | 実施施設 | 記載箇所 |
|---|---|---|---|
| 薬物動態試験 | | | |
| カニクイザルにおける 4 週間反復静脈内投与毒性試験における TK 測定 a) | GLP | [redacted] g) | 4.2.3.2.2 |
| 幼若カニクイザルにおける 4 週間反復静脈内投与毒性試験における TK 測定 c) | GLP | [redacted] g) | 4.2.3.2.3 |
| カニクイザルにおける 26 週間反復静脈内投与毒性試験における TK 測定 b) | GLP | [redacted] g) | 4.2.3.2.4 |
| hTfR KI/Ids KO マウスにおける体内分布試験 | 信頼性基準 d) | JCR e) | 4.2.2.3.1 |
| hTfR KI マウス及びカニクイザルにおける脳組織移行性評価 | 非 GLP | [redacted] g) | 4.2.2.3.2<br>参考資料 |
| カニクイザルにおける単回投与時の体内分布試験（中枢神経系） | 信頼性基準 d) | [redacted] g) | 4.2.2.3.3 |
| カニクイザルにおける単回投与時の体内分布試験（ARLG） | 信頼性基準 d) | [redacted] g) | 4.2.2.3.4 |
| 幼若カニクイザルにおける週 1 回 4 週間反復投与時の体内分布（中枢神経系） c) | 信頼性基準 d) | [redacted] g) | 4.2.3.2.3 |
| カニクイザルにおける週 1 回 26 週間反復投与時の体内分布（中枢神経系） b) | 信頼性基準 d) | [redacted] g) | 4.2.3.2.4 |
| カニクイザルにおける $^{125}$I-JR-141 と $^{125}$I-RP-2703 の体内分布比較検討（ARLG） | 非 GLP | [redacted] g) | 4.2.2.3.5<br>参考資料 |
| カニクイザルにおける胎盤通過性試験 | 信頼性基準 d) | [redacted] g) | 4.2.2.3.6 |
| 毒性試験 | | | |
| カニクイザルにおける RP-2703 の 4 週間反復静脈内投与毒性予備試験 | 非 GLP | [redacted] g) | 4.2.3.2.1 |
| カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 | GLP | [redacted] g) | 4.2.3.2.2 |
| 幼若カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 | GLP | [redacted] g) | 4.2.3.2.3 |
| カニクイザルにおける JR-141 の 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 | GLP | [redacted] g) | 4.2.3.2.4 |
| マウス抗 hTfR 抗体のヒト及びカニクイザル組織交差反応性試験 | 非 GLP | [redacted] g) | 4.2.3.7.7.1 |
| JR-141 のヒト組織交差反応性試験 | GLP | [redacted] g) | 4.2.3.7.7.2 |

a)「カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験」に組み込んで実施した。
b)「カニクイザルにおける JR-141 の 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験」に組み込んで実施した。
c)「幼若カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験」に組み込んで実施した。
d) 申請資料の信頼性の基準（薬機法施行規則第 43 条）
e) ＪＣＲファーマ株式会社
g) [redacted]

非臨床試験では、臨床試験用製剤と同等の品質を有する原薬を被験物質として用いた。*In vivo* 試験では、被験物質を生理食塩液又はリン酸緩衝液にて所定の濃度に希釈し、臨床投与経路である静脈内へ投与した。

評価資料とした効力を裏付ける試験及び薬物動態試験は、「申請資料の信頼性の基準」（医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律施行規則第 43 条）を遵守して実施した。反復投与毒性試験に組み込んで実施した安全性薬理試験は、「安全性薬理試験ガイドラインについて」（平成 13 年 6 月 21 日付 医薬審発第 902 号）を参照し、「医薬品の安全性に関する非臨床

試験の実施の基準に関する省令」（平成 9 年 3 月 26 日付 厚生省令第 21 号）を遵守して実施した。毒性試験は、「「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」（平成 24 年 3 月 23 日付 薬食審査発 0323 第 1 号）を参照し、「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」（平成 9 年 3 月 26 日付 厚生省令第 21 号）を遵守して実施した。幼若カニクイザルにおける反復投与毒性試験については、「「小児用医薬品のための幼若動物を用いた非臨床安全性試験ガイドライン」について」（平成 24 年 10 月 2 日付 薬食審査発 1002 第 5 号）を参照した。また、組織交差反応性試験は、「Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use」（FDA/CBER, 28 February 1997）及び「Guideline on development, production, characterization and specification for monoclonal antibodies and related products」（EMA/CHMP, 21 July 2016）を参照した。

JR-141 の臨床第 I/II 相及び第 III 相試験の実施に必要な毒性試験項目の充足性及び試験計画の妥当性については、独立行政法人医薬品医療機器総合機構との間で実施された[redacted]相談（[redacted]、20[redacted]年[redacted]月[redacted]日）、[redacted]相談（[redacted]、20[redacted]年[redacted]月[redacted]日）及び[redacted]相談（[redacted]、20[redacted]年[redacted]月[redacted]日）において了承された。また、本薬には胎盤通過性が認められないことから、胚・胎児発生に関する試験並びに出生前及び出生後の発生に関する試験を実施しないことについて、[redacted]相談（[redacted]、20[redacted]年[redacted]月[redacted]日）において了承された。

#### 2.4.1.1　薬理試験

静脈内へ投与された JR-141 は、末梢組織・臓器では、主に M6PR と TfR を介して細胞内に取り込まれた後、ライソゾームへ運ばれ、蓄積した基質を分解すると考えられる。また、脳毛細血管内皮細胞膜上に発現する TfR を介して、受容体介在性トランスサイトーシスのメカニズムで BBB を通過し、脳実質の細胞に移行して、蓄積した GAG を分解する（2.6.2.6 参照）。そこで、JR-141 の効力を裏付ける試験として、ヒト及びカニクイザル TfR 並びに M6P 受容体に対する結合親和性を解析するとともに、両受容体を介した細胞内取込みを評価した。

ムコ多糖症 II 型患者では、IDS の先天的欠損あるいは異常により、全身の組織・臓器にその基質である HS や DS などの GAG が蓄積することで、様々な症状が引き起こされる。特に、中枢神経症状の発症については、HS が中心的な役割を演じていることが示唆されている（2.6.2.6 参照）。既存のムコ多糖症 II 型の酵素補充療法治療薬であるイデュルスルファーゼ（エラプレース）の薬効薬理試験では、遺伝子改変技術を利用して作製された雄性ヘミ接合体の Ids KO マウスがムコ多糖症 II 型モデル動物として用いられた[1)]。そのため、JR-141 の薬理作用についても、相同組換え法により、エクソン 2～5 を欠失させて作製した Ids KO マウス[2)]を用いて評価することを計画した。しかしながら、本薬の構成分子である抗 hTfR 抗体は、マウスの TfR と反応性を持たないため、中枢神経系に対する JR-141 の薬理作用を Ids KO マウスを用いて評価することはできない。そこで別途、hTfR をノックインした hTfR KI マウスを作製し、Ids KO マウスと交配することで、hTfR を発現するムコ多糖症 II 型モデル動物（hTfR KI/Ids KO マウス）を樹立した[3)]。

本モデル動物は、JR-141 と反応性をもつ hTfR を発現したムコ多糖症 II 型モデル動物であり、中枢神経系や末梢組織に、基質（HS 及び DS）の著しい蓄積が観察された（2.6.2.2.4 及び 2.6.2.2.5 参照）。以上より、本モデル動物を用いることによって、末梢組織における本薬とイデュルスルファーゼの薬理学的性質の比較及び、中枢神経系組織に対する効果について適切に評価できると考

え、一連の薬効試験を実施した。

また、副次的薬理試験として、JR-141 の Tf-TfR 結合に及ぼす影響及び FcRn に対する結合親和性を評価するとともに、JR-141 の抗体部分であるヒト化抗 TfR 抗体の Fc を介したエフェクター機能について、ADCC 活性及び CDC 活性による TfR 発現細胞の傷害作用の有無を確認した。さらに、サルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 26 週間反復静脈内投与毒性試験において、安全性薬理コアバッテリー試験を組み入れ、生命維持に重要な中枢神経系、心血管系及び呼吸系への影響を評価した。

#### 2.4.1.2 薬物動態試験

JR-141 の薬物動態学的及び毒性学的な特性を評価する際の動物種としてカニクイザルを用いることの妥当性を確認するため、hTfR と比較してカニクイザル TfR に対する結合親和性が低下しない復帰変異抗体を hIDS に融合させた RP-2703 を作製し、$^{125}$I-JR-141 と $^{125}$I-RP-2703 のカニクイザルにおける体内分布、血漿及び尿中代謝物分析、並びに尿・糞中排泄に関して、ARLG や放射能濃度測定によって比較評価した。当該結果を受け、JR-141 の非臨床薬物動態試験では、毒性試験で使用した動物種であるカニクイザルを用い、JR-141 単回投与時の血漿及び中枢神経系組織中の薬物濃度推移、並びに $^{125}$I-JR-141 単回投与時の ARLG による全身主要組織への分布をそれぞれ評価した。また、JR-141 反復投与時の血漿中薬物曝露（TK）、並びに中枢神経系組織への移行性は、上述の毒性試験内で評価した。さらに、*in vivo* 薬効薬理試験（2.6.2.2.4 及び 2.6.2.2.5 参照）で使用した hTfR KI/Ids KO マウスを用いて、JR-141 を単回静脈内投与したときの血漿及び組織中薬物濃度をイデュルスルファーゼ群と直接比較した。

JR-141 のヒト化抗体には Fc 領域が含まれることから、胎盤に発現する FcRn を介して胎児へ移行する可能性が考えられた。そこで、妊娠後期のカニクイザルを用いて JR-141 を単回静脈内投与したときの胎盤通過性を評価した。

JR-141 は生体内に存在する糖タンパク質（リソソーム酵素）とヒト化抗体を融合した遺伝子組換え体であり、投与された後は一般的なタンパク質成分と同様にペプチド及びアミノ酸に分解され、通常の生体内代謝プールに入ると考えられることから、「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」（平成 24 年 3 月 23 日 薬食審査発 0323 第 1 号）を勘案し、代謝・排泄に関する試験は参考情報を収集する目的で実施し、評価資料とはしなかった。同様に、哺育母動物に投与した JR-141 が仮に乳汁を介して出生仔に摂取されたとしても、消化管からの吸収はほとんどないと考えられたため、乳汁排泄は評価しなかった。また、薬物相互作用に関する検討は実施しなかった。

#### 2.4.1.3 毒性試験

JR-141 のカニクイザル投与試験に先立ち、本薬のヒトとカニクイザル TfR への結合親和性の差が、カニクイザルにおける毒性試験成績に与える影響について考察するため、RP-2703 をカニクイザルへ投与し、その影響を検討した（2.6.2.2.1 参照）。

本薬の適応症であるムコ多糖症 II 型は X 染色体連鎖の劣性遺伝性疾患であり [4]、新生児期から生涯にわたる投与が予想される。このため、本薬の毒性評価には、技術的に使用可能な 3～5 箇月齢（離乳前）の幼若雄カニクイザルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験、2～4 歳齢（ヒトの小児期から思春期に相当 [5] の雌雄カニクイザルを用いた 26 週間反復静脈内投与毒性試験、及び

性成熟した雌雄カニクイザルを用いた4週間反復静脈内投与毒性試験を実施した。

本薬の雌雄受胎能に及ぼす影響については、性成熟したカニクイザルの4週間反復投与毒性試験において評価した。本薬の胚・胎児発生、並びに、出生前及び出生後の発生に及ぼす影響については、妊娠後期（妊娠139日）のカニクイザルにおいて、本薬を静脈内投与し胎児への移行の有無を検討した結果、胎盤通過性は認められなかったことから、実施しなかった。

また、本薬がヒトに投与された際に、抗 hTfR 抗体特異的な結合反応を示す組織を評価するため、ヒトの全身組織を用い、本薬の組織交差反応性試験を実施した。

## 2.4.2 薬理試験

### 2.4.2.1 効力を裏付ける試験

#### 2.4.2.1.1 TfR に対する結合親和性

JR-141は、脳毛細血管内皮細胞に発現するTfRを介して、受容体介在性トランスサイトーシスのメカニズムでBBBを通過し、脳実質に移行すると考えられることから、ヒト及びカニクイザルTfRに対する結合親和性をバイオレイヤー干渉法で解析した。その結果、JR-141のヒト及びカニクイザルTfRに対する$K_D$は、それぞれ$1.22 \times 10^{-10}$ M及び$8.65 \times 10^{-10}$ Mであった。JR-141は、カニクイザルTfRよりもhTfRに対してやや高い結合親和性を有するものの、いずれの受容体に対しても高い結合親和性を示した。

#### 2.4.2.1.2 M6P 受容体に対する結合親和性

JR-141の細胞内取込みには、TfRに加えてM6P受容体を介した機構が関与すると考えられた。そこで、M6P受容体ドメイン9との相互作用を、表面プラズモン共鳴法で解析することにより、M6P受容体結合親和性を評価した。その結果、JR-141とイデュルスルファーゼはいずれもM6P受容体に対する結合性を示し、その親和性に顕著な差はなかった。

#### 2.4.2.1.3 正常ヒト線維芽細胞における細胞内取込み

正常ヒト線維芽細胞を用い、JR-141の細胞内取込みにおけるM6P受容体及びTfRの寄与について評価した。その結果、JR-141は添加濃度依存的に正常ヒト線維芽細胞内へ取り込まれ、その取込みは過剰量のM6P又は抗hTfR mAb添加により阻害された。このことから、JR-141の細胞内取込みには、TfRを介した経路とM6P受容体を介した経路が存在することが示された。また、M6Pと抗hTfR mAbの同時添加による抑制効果は、各々の単独添加による抑制効果よりも大きかったことから、M6P受容体とTfRが一部協働して細胞取込みに寄与する可能性が示唆された。

#### 2.4.2.1.4 hTfR KI/Ids KO マウスにおける JR-141 の 12 週間反復静脈内投与による GAG 減少効果

ムコ多糖症II型モデルであるhTfR KI/Ids KOマウスに、JR-141を0.5、1、2、5及び10 mg/kg毎週1回、又はイデュルスルファーゼを0.5 mg/kg毎週1回、12週間反復静脈内投与し、CSF、脳、血清、心臓、肝臓及び脾臓中のHS濃度を、またCSFと脳を除いてはDS濃度をそれぞれ測定した。さらに、投与前、投与4、8及び12週目に採尿し、尿中HS及びDS濃度を測定した。その結果、JR-141の投与によってCSFと脳のHS濃度が用量依存的に減少したが、イデュルスルファーゼ投与群では病態コントロール群とほぼ同レベルであり、減少は認められなかった。また、JR-141は、上記末梢組織中のHS及びDS濃度を用量依存的に低下させ、その効果は、1 mg/kg投

与で、イデュルスルファーゼの 0.5 mg/kg 投与と同等以上であった。以上より、JR-141 は、ムコ多糖症 II 型モデルマウスにおいて、中枢神経系に蓄積した HS を分解してその濃度を低下させるとともに、末梢組織に対しては、イデュルスルファーゼ 0.5 mg/kg と酵素分子として同等量(1 mg/kg)を投与した際に、同等以上の基質減少効果を発揮することが示された。

#### 2.4.2.1.5 hTfR KI/Ids KO マウスを用いた JR-141 の 36 週間反復静脈内投与による薬効評価試験

ムコ多糖症 II 型モデルである hTfR KI/Ids KO マウスに、JR-141 を 2 mg/kg 毎週 1 回、4 mg/kg 隔週 1 回、又はイデュルスルファーゼを 0.5 mg/kg 毎週 1 回、36 週間反復静脈内投与し、血清、組織及び CSF 中の基質濃度低下作用を確認するとともに、モリス水迷路試験によって、中枢神経症状（学習能力）に対する薬効を検証した。その結果、JR-141 の投与により、中枢神経系組織における HS 濃度が病態対照群と比較して 60%以上減少し、病態対照群で認められた小脳プルキンエ細胞の空胞変性が抑制された。また、JR-141 投与群の学習能力は野生型マウスと同等であったことから、JR-141 は本疾患モデル動物で認められる学習能力低下の抑制効果を有すると判断された。さらに、末梢組織においても、JR-141 は、イデュルスルファーゼを臨床用量（0.5 mg/kg/週）で投与した場合と同等に HS 及び DS 濃度を減少させ、病理組織学的異常に対する抑制効果を示した。JR-141 を 2 mg/kg 毎週投与した方が、4 mg/kg 隔週投与した場合よりも、中枢神経系組織の基質減少効果はやや強い傾向にあったものの、小脳プルキンエ細胞の空胞変性、及び学習能力低下に対する抑制効果についてはほぼ同等の効果を示した。これらの結果より、JR-141 は、2 mg/kg 毎週、又は 4 mg/kg 隔週の反復静脈内投与により、ムコ多糖症 II 型患者の中枢神経症状に対する改善、又はその発症、進展、増悪を抑制する効果を示し、かつ末梢症状に対して、イデュルスルファーゼと同等の効果を示すものと期待される。

### 2.4.2.2 副次的薬理試験

#### 2.4.2.2.1 Tf の TfR への結合に対する影響

JR-141 は、Tf-TfR 複合体のエンドサイトーシスに相乗りすることにより、細胞内へ取り込まれると推定される。JR-141 の TfR への結合により、Tf の TfR への結合が阻害されると、鉄の細胞内取込みを阻害する可能性が考えられる。このため、Tf の TfR 結合に及ぼす JR-141 の影響を、表面プラズモン共鳴法にて解析した。その結果、JR-141 の TfR 細胞外ドメインへの結合は、Tf の TfR 細胞外ドメインへの結合に対して影響を及ぼさないことが確認された。

#### 2.4.2.2.2 抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性及び補体依存性細胞傷害（CDC）活性

JR-141 のヒト化抗 hTfR 抗体の Fc を介したエフェクター機能について、hTfR を発現する血球系細胞株をターゲット細胞として、ADCC 及び CDC 作用の有無を指標に確認した。その結果、ADCC 及び CDC 活性のいずれも認められなかった。

#### 2.4.2.2.3 ヒト FcRn 結合親和性

JR-141 は、そのヒト化抗 hTfR 抗体部分の Fc を介して FcRn に結合する可能性が考えられる。このため、JR-141 のヒト FcRn 結合親和性を、表面プラズモン共鳴法にて解析した。その結果、JR-141 は、ヒト化抗 hTfR 抗体とほぼ同等の親和性でヒト FcRn に結合することが明らかとなった。

#### 2.4.2.3 安全性薬理試験

JR-141 の心血管系、呼吸系及び中枢神経系に及ぼす影響について、雌雄カニクイザルに JR-141（3、10 及び 30 mg/kg）を週 1 回 4 週間反復静脈内投与（1 時間持続投与）する毒性試験において評価した（2.6.6.3.3 参照）。また、JR-141 の長期間反復投与における中枢神経系に及ぼす影響については、雌雄カニクイザルに JR-141（3、10 及び 30 mg/kg）を週 1 回 26 週間反復静脈内投与（1 時間持続投与）する毒性試験において評価した（2.6.6.3.4 参照）。その結果、JR-141 の 30 mg/kg までの静脈内投与による心血管系、呼吸系及び中枢神経系への影響は認められなかった。

#### 2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

該当試験なし

### 2.4.3 薬物動態試験

#### 2.4.3.1 分析法

薬物動態試験における血漿、CSF 又は組織中の JR-141 及びイデュルスルファーゼ濃度は、抗 hIDS 抗体や抗 hIgG 抗体を用いてバリデートされた ECL 法で測定した。検量線試料は、段階希釈した被験物質と各動物種のブランクプールマトリックスを混合して調製した。ECL 装置によって得られた発光シグナルと検量線試料の薬物濃度から 4-parameter 回帰により検量線を作成し、各検体中の薬物濃度を算出した。また、$^{125}$I-JR-141 を用いた体内分布試験では、ガンマーカウンターによる放射能濃度測定、並びに経時的に作製した全身凍結切片のオートラジオルミノグラムから、それぞれ血漿及び組織中濃度を算出した。

#### 2.4.3.2 吸収

性成熟した雌雄カニクイザル（4～8 歳）に JR-141 を 0、3、10 及び 30 mg/kg の用量で週 1 回 4 週間反復静脈内持続投与したときの初回及び最終投与時の血漿中薬物濃度測定により、用量依存的な薬物曝露を確認した。初回投与時と比較して最終投与時の血中濃度推移及び薬物動態パラメータに著しい差は認められなかった。

離乳前の幼若雄カニクイザル（3～5 箇月）に JR-141 を 0、3、10 及び 30 mg/kg の用量で週 1 回 4 週間反復静脈内持続投与したときの初回及び最終投与時の血漿中薬物濃度測定により、用量依存的な薬物曝露を確認した。最終投与時の血漿中薬物濃度は初回投与時と比較して低値傾向を示し、最終投与前に検出された血漿中薬物濃度も極めて低値であった。

雌雄カニクイザル（2～4 歳）に JR-141 を 0、3、10 及び 30 mg/kg の用量で週 1 回 26 週間反復静脈内持続投与したときの初回、13 回及び最終投与時の血漿中薬物濃度推移を評価し、用量依存的な薬物曝露を確認した。抗 JR-141 抗体の産生有無に関わらず、初回投与時と比較して 13 回及び最終投与時の血漿中薬物濃度は低値傾向を示し、最終投与前に検出された血漿中薬物濃度も極めて低値であった。

以上の各 TK 測定成績より、30 mg/kg までの用量で JR-141 を雌雄カニクイザルに週 1 回反復投与したとき、血漿中への蓄積性はなく、薬物動態学的な特性に性差もないと考えられた。

#### 2.4.3.3 分布

雄性 hTfR KI/Ids KO マウスの静脈内に JR-141 を投与したとき、JR-141 が脳組織に分布することが確認された。イデュルスルファーゼ群と比較して、JR-141 群の血漿中薬物濃度は投与後 24 時

間までやや高く推移し、肝臓への分布は低かったものの、心臓及び脾臓への分布はイデュルスルファーゼよりも高かった。なお、イデュルスルファーゼは臨床用量の4倍量（2 mg/kg）を単回静脈内投与してもほとんど脳へ分布しなかった。

JR-141を静脈内投与したhTfR KIマウス又はカニクイザルの組織中薬物濃度測定、免疫組織化学染色及び*in vivo* / *ex vivo*イメージングの各成績より、JR-141が神経細胞を含む脳実質に分布することが確認された。なお、hIDSは臨床用量の2倍量（1 mg/kg）でhTfR KIマウスに単回静脈内投与してもほとんど脳へ分布しなかった。

雄性カニクイザルにJR-141を1及び5 mg/kgの用量で単回静脈内持続投与したとき、用量依存的な血漿中の薬物曝露が確認された。また、CSF及び脳組織中薬物濃度は投与量にほぼ比例した濃度を示し、静脈内投与されたJR-141はカニクイザルの中枢神経系組織へ分布することが確認された。

雌雄カニクイザルに$^{125}$I-JR-141を1 mg/kgの用量で単回静脈内持続投与した際の経時的な血漿中放射能濃度をガンマーカウンターで、投与開始後2～72時間における放射能の組織分布を定量的全身ARLGで、それぞれ評価した。血漿中濃度は投与終了時に$C_{max}$を示した後、経時的に減衰し、その薬物動態学的な特性に性差は認められなかった。また、生殖器を除く組織中放射能の分布に顕著な性差は認められなかった。

JR-141を離乳前の雄性幼若カニクイザル（3～5箇月）に0、3、10又は30 mg/kgの用量で週1回4週間反復静脈内持続投与したとき、10及び30 mg/kg群の最終投与後48時間の中枢神経系組織、並びに30 mg/kg群の1個体のCSFにおいて、それぞれJR-141が検出された。また、2～4歳齢の雌雄カニクイザルに0、3、10又は30 mg/kgの用量で週1回26週間反復静脈内持続投与したとき、最終投与後48時間の中枢神経系組織、並びに同8及び48時間のCSFにおいてJR-141が検出された。これらの結果から、反復投与時の中枢神経系組織への分布が確認された。なお、最終投与後4又は8週間のCSF及び中枢神経系組織中にJR-141は検出されず、中枢神経系組織において蓄積性は認められなかった。

さらに、妊娠後期のカニクイザルにJR-141を10 mg/kgの用量で単回静脈内持続投与した際の胎盤通過性を評価した。投与開始後8及び24時間の臍帯静脈及び臍帯動脈ともに血漿中にJR-141は検出されず、JR-141は胎盤を通過しないことが確認された。

#### 2.4.3.4　代謝

雄性カニクイザルに$^{125}$I-JR-141又は$^{125}$I-RP-2703を単回静脈内持続投与し、投与開始後20分、8及び24時間に採取した血漿中の代謝物分析では、$^{125}$I-JR-141及び$^{125}$I-RP-2703各未変化体、並びに$^{125}$Iを含むペプチド断片が認められた。また、同0～8及び8～24時間の蓄尿中代謝物分析の結果、遊離$^{125}$I又は$^{125}$Iを含むペプチド断片が検出された。血漿中TCA不溶性画分の放射能比率、並びに投与開始後24時間におけるクロマトグラムの比較から、$^{125}$I-RP-2703は$^{125}$I-JR-141より分解を受けやすい傾向が認められたものの、両被験物質の生体内における代謝プロファイルは類似していた。

#### 2.4.3.5　排泄

雄性カニクイザルに$^{125}$I-JR-141及び$^{125}$I-RP-2703を単回静脈内持続投与したときの蓄尿中代謝物分析及び糞尿排泄の結果から、$^{125}$I-JR-141及び$^{125}$I-RP-2703は投与開始後24時間までに投与量

の45%以上が遊離 $^{125}I$ 又は $^{125}I$ を含むペプチド断片として尿中に排泄されると考えられた。なお、いずれの被験物質も糞中にはほとんど排泄されなかった。

#### 2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

該当試験なし

#### 2.4.3.7 その他の薬物動態試験

該当試験なし

### 2.4.4 毒性試験

#### 2.4.4.1 単回投与毒性試験

該当試験なし

#### 2.4.4.2 反復投与毒性試験

JR-141 の TfR に対する結合親和性評価より、JR-141 は hTfR と比較してカニクイザル TfR にやや弱い結合親和性を示した（2.6.2.2.1 参照）。このため、カニクイザルを用いた JR-141 の毒性評価に先立ち、カニクイザル TfR に対する結合親和性が JR-141 の hTfR に対する結合親和性とほぼ同等で、かつ、ヒト及びカニクイザル TfR にほぼ同等の結合親和性を有する RP-2703 を用いて、カニクイザルに週 1 回 4 週間反復静脈内投与したときの毒性を検討した（2.6.7.6 参照）。

##### 2.4.4.2.1 カニクイザルにおける RP-2703 の 4 週間反復静脈内投与毒性予備試験

RP-2703 を 30 mg/kg の用量で雌雄各 1 匹のカニクイザル（1～2 歳）に週 1 回 4 週間反復静脈内投与した（計 5 回）。試験期間を通して死亡例は認められず、一般状態、体重、摂餌量、血圧、尿検査、心電図検査、直腸温、FOB、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査において、RP-2703 投与に起因する毒性所見は認められなかった。

##### 2.4.4.2.2 カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

JR-141 を 3、10 及び 30 mg/kg の用量で雌雄各 3 匹（30 mg/kg 投与群は各 5 匹）の性成熟カニクイザルに週 1 回 4 週間反復静脈内投与した（計 5 回）。対照群（雌雄各 5 匹）には媒体を同様に投与した。対照群及び 30 mg/kg 投与群の雌雄各 2 匹を、投与期間終了後の 4 週間回復性試験に供した。試験期間を通して死亡例は認められず、一般状態、体重、摂餌量、血圧、眼科学的検査、尿検査、心電図検査、直腸温、呼吸数、血液ガス、FOB、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査において、JR-141 投与に起因する変化は認められなかった。また、投与部位における病理組織学的検査の結果、局所刺激性は認められなかった。抗 JR-141 抗体の産生が認められたが、薬物曝露量への顕著な影響は認められず、毒性評価への影響はなかったと判断された。以上の結果より、本試験における本薬の無毒性量は雌雄ともに 30 mg/kg と推定された。

##### 2.4.4.2.3 幼若カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

JR-141 を 3、10 及び 30 mg/kg の用量で、離乳前（3～5 箇月）の雄の幼若カニクイザル 3 匹/群（30 mg/kg 投与群は 5 匹）に週 1 回 4 週間反復静脈内投与した（計 5 回）。対照群（雄 5 匹）には媒体を同様に投与した。対照群及び 30 mg/kg 投与群の各 2 匹を、投与期間終了後の 4 週間回復性

試験に供した。試験期間を通して死亡例は認められず、一般状態、体重、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査において、JR-141投与に起因する毒性所見は認められなかった。血液学的検査において、30 mg/kg 群で Hb 及びMCHC の有意な低値、Ret の有意な高値が認められたが、その程度は軽く、その他の赤血球パラメータの変化を伴わないことから、毒性学的には意味の小さい変化であると判断された。また、投与部位における病理組織学的検査の結果、局所刺激性は認められなかった。抗 JR-141 抗体の産生が認められたが、薬物曝露量への顕著な影響は認められず、毒性評価への影響はなかったと判断された。以上の結果より、本試験における本薬の無毒性量は 30 mg/kg と推定された。

#### 2.4.4.2.4 カニクイザルにおける JR-141 の 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

JR-141 を 3、10 及び 30 mg/kg の用量で雌雄各 4 匹/群（30 mg/kg 投与群は各 6 匹）のカニクイザル（2～4 歳）に週 1 回 26 週間反復静脈内投与した（計 27 回）。対照群（雌雄各 6 匹）には媒体を同様に投与した。対照群及び 30 mg/kg 投与群の雌雄各 2 匹を、投与期間終了後の 8 週間回復性試験に供した。試験期間を通して死亡例は認められず、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、尿検査、心電図検査、FOB、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査において、JR-141 投与に起因する変化は認められなかった。また、投与部位における病理組織学的検査の結果、局所刺激性は認められなかった。抗 JR-141 抗体の産生が認められたが、抗体陽性個体と陰性個体ともに、JR-141 投与に起因する変化は認められず、抗体産生による JR-141 の毒性評価への影響はなかったと判断された。以上の結果より、本試験における本薬の無毒性量は雌雄ともに 30 mg/kg と推定された。

### 2.4.4.3 遺伝毒性試験

該当試験なし

### 2.4.4.4 がん原性毒性試験

該当試験なし

### 2.4.4.5 生殖発生毒性試験

該当試験なし

### 2.4.4.6 局所刺激性試験

JR-141 の投与部位における局所刺激性については、上述の各反復投与毒性試験において評価した。その結果、JR-141 の投与部位における局所刺激性は認められなかった。

### 2.4.4.7 その他の試験

#### 2.4.4.7.1 組織交差反応性試験

ヒトとカニクイザルにおける TfR の組織発現プロフィールを比較する目的で、免疫組織化学染色によりマウス抗 hTfR mAb のヒト及びカニクイザル組織交差反応性を評価した。その結果、抗 hTfR mAb のヒト及びカニクイザル組織結合プロフィールは類似し、ヒトとカニクイザルで TfR の組織発現プロフィールは類似すると考えられた。

ヒト組織標本を用いて、JR-141 が結合反応を示す組織を評価した結果、対象としたほとんどの

組織で本薬の結合が認められた。また、骨髄（骨髄細胞）、大脳・小脳（血管内皮）、結腸・回腸（粘膜上皮）、眼（角膜及び結膜上皮）、乳房（腺房細胞、乳管上皮）、肺（肺胞上皮、肺胞マクロファージ）、リンパ節（マクロファージ）、脾臓（赤脾髄）、副甲状腺、胎盤（栄養膜細胞）及び子宮内膜（腺上皮）で、TfR 特異的な比較的強い陽性反応が認められた。

### 2.4.5 総括

#### 2.4.5.1 薬理試験

JR-141 は hTfR に対する結合親和性を有しており、静脈内投与された際には、BBB を構成する脳毛細血管内皮細胞の細胞膜（管腔側）に存在する TfR に結合すると考えられる。TfR に結合した JR-141 は、受容体介在性トランスサイトーシス機構（エンドサイトーシスによる細胞内への取込みとエクソサイトーシスによる細胞外への放出）により脳毛細血管内皮細胞を通過し、基底膜を通過して脳実質側の神経細胞へ運搬されると想定される。また、細胞内への取込みには、TfR を介したエンドサイトーシスに加え、M6PR を介した取込み機構も寄与すると考えられる。

hTfR KI/Ids KO マウスにおける 12 週間反復静脈内投与試験において、イデュルスルファーゼ投与群では脳及び CSF 中の基質濃度の減少は認められなかったが、JR-141 投与群では、脳及び CSF 中の基質濃度の用量依存的な減少が認められた。この結果は、JR-141 が血液中から BBB を通過して脳実質の細胞に移行して、中枢神経系に蓄積した基質を分解したことを示している。また、JR-141 の 2 mg/kg 以上の投与量で、心臓、肝臓、脾臓、尿及び血清中基質について、イデュルスルファーゼの 0.5 mg/kg 投与群と同等以上の減少効果が認められた。

hTfR KI/Ids KO マウスにおける 36 週間反復静脈内投与試験において、JR-141 の 2 mg/kg の毎週投与あるいは 4 mg/kg の隔週投与により、中枢神経系（脳及び CSF）中基質濃度の著明な減少が認められ、モリス水迷路試験において学習能力の低下を抑制した。JR-141 は、脳組織の病理組織学的異常に対する抑制効果も示した。一方、イデュルスルファーゼは、中枢神経系における基質濃度を低下させず、脳組織の変性に対しても抑制効果を示さず、学習能力の低下を抑制しなかった。末梢組織においては、JR-141 はイデュルスルファーゼとほぼ同等の基質減少作用を示した。

副次的薬理試験結果から、JR-141 の TfR 細胞外ドメインへの結合は Tf の TfR 細胞外ドメインへの結合に対し影響を及ぼさないことが確認された。また、FcRn に対する結合性は有するものの、妊娠カニクイザルにおける胎盤通過性は認められなかった（2.6.4.4.8 参照）。さらに、JR-141 のヒト化抗 hTfR 抗体の Fc を介したエフェクター機能（CDC 及び ADCC）も認められなかった。これらに加え、安全性薬理試験において、JR-141 の 30 mg/kg までの静脈内投与による心血管系、呼吸系及び中枢神経系への影響は認められなかったことから、安全性上の懸念も小さいと考えられた。

以上の各試験成績より、ムコ多糖症 II 型患者において、JR-141 を週 1 回又は隔週 1 回の反復静脈内投与により、中枢神経系組織に蓄積した HS を減少させ、中枢神経症状を改善又は抑制する効果が期待できると考えられた。また、末梢組織に対してはイデュルスルファーゼとほぼ同等の効果が期待される。

#### 2.4.5.2 薬物動態試験

JR-141 の薬物動態学的及び毒性学的な特性を評価する際の動物種としてカニクイザルを用いることの妥当性を確認するため、カニクイザル TfR に対する結合親和性が低下しない RP-2703 を作製し、カニクイザルにおける薬物動態学的な特性（全身分布、代謝及び排泄）を JR-141 と比較評

価した。その結果、TfR に対する結合親和性の種差は、血漿中薬物曝露、中枢神経系を含む全身組織への分布、代謝及び排泄等に顕著な影響を及ぼさないことが確認された（2.6.4.4.7 参照）。また、薬効薬理試験で用いた動物種である hTfR KI/Ids KO マウス体内分布試験の成績から、脳を含む主要組織への JR-141 の移行性が確認された（2.6.4.4.1 参照）。一方、ムコ多糖症 II 型に対する既承認薬であるイデュルスルファーゼは脳組織への明確な分布はみられず、中枢神経系症状に対する改善効果の有無（2.6.2.2.4 及び 2.6.2.2.5 参照）との相関性が認められた。上記の薬物動態試験の各成績から、ヒトにおける JR-141 の薬物動態学的な特性を予見するための動物種としてカニクイザル及び hTfR KI/Ids KO マウスを用いること、また毒性試験における動物種としてカニクイザルを用いて評価することは、それぞれ妥当と考えられた。

JR-141 をカニクイザルへ単回静脈内持続投与したときの薬物曝露量は、投与量比をやや上回る比率で増加したが、直線回帰したときの投与量と薬物曝露の関係には線形性が認められ、著しい性差もなかった。

カニクイザル及び hTfR KI/Ids KO マウスを用いた体内分布試験の各成績において、静脈内投与された JR-141 は中枢神経系組織へ移行することが確認され、ムコ多糖症 II 型患者が呈する中枢神経症状への改善効果が期待された。また、これらの試験成績より、末梢の臨床上重要な組織への分布も既存治療薬であるイデュルスルファーゼに劣らないと考えられた。

JR-141 のヒト化抗体には Fc 領域が含まれ、静脈内投与された JR-141 が胎盤に発現する FcRn を介して胎児へ移行する可能性が考えられたため、妊娠後期のカニクイザルを用いて胎盤通過性を評価した。10 mg/kg を単回静脈内持続投与した後の臍帯静脈及び臍帯動脈の血漿中に JR-141 は検出されず、JR-141 は胎盤を通過しないことが確認された（2.6.4.4.8 参照）。また、JR-141 の代謝及び排泄に関する情報を取得するため、雄性カニクイザルに $^{125}$I-JR-141 を単回静脈内持続投与した後の血漿及び蓄尿中の代謝物、並びに糞尿排泄を評価した成績から、投与開始後 24 時間までに投与量の 45%以上が遊離 $^{125}$I 又は $^{125}$I を含むペプチド断片として尿中に排泄されると考えられた（2.6.4.4.7 参照）。

幼若及び 2～4 歳齢のカニクイザルに対して JR-141 を反復投与した各毒性試験内において中枢神経系組織の薬物濃度を測定した結果、最終投与後 48 時間のカニクイザル脳、脊髄又は CSF への JR-141 の分布が確認された（2.6.4.4.5 及び 2.6.4.4.6 参照）。高用量群の回復後の剖検時点（最終投与後 4 又は 8 週間）において JR-141 は検出されなかったことから、カニクイザルに 30 mg/kg までの用量で週 1 回 26 週間反復投与しても、中枢神経系組織に JR-141 が蓄積することはないと考えられる。さらに、各反復投与毒性試験の TK 結果において、血漿中への薬物の蓄積や薬物動態学的な特性に性差も認められなかったことから、新生児や小児を含むムコ多糖症 II 型患者に JR-141 が予定臨床用量で週 1 回反復静脈内投与されたとき、JR-141 が血漿、末梢及び中枢神経系組織に蓄積することによるリスクはないと推測された。

#### 2.4.5.3 毒性試験

JR-141 の非臨床安全性評価に用いる動物種の選定について、本薬は、げっ歯類の TfR に結合しないがカニクイザルの TfR には結合する。また、本薬のヒト及びカニクイザル TfR に対する結合親和性には差が認められるが、その差は本薬の薬物動態学的及び毒性学的な特性には明らかな影響を与えないと考えられた（2.6.4.4.7 及び 2.6.6.3.1 参照）。以上より、本薬の毒性評価にはカニクイザルを用いた。

本薬の適応症であるムコ多糖症 II 型は X 染色体連鎖の劣性遺伝性疾患であり[4]、新生児期から生涯にわたる投与が予想される。このため、本薬の毒性評価には、技術的に使用可能な 3～5 箇月齢（離乳前）の雄幼若カニクイザルを用いた 4 週間反復静脈内投与試験（3、10 及び 30 mg/kg を週 1 回投与）、2～4 歳齢（ヒトの小児期から思春期に相当[5]）の雌雄カニクイザルを用いた 26 週間反復静脈内投与試験（3、10 及び 30 mg/kg を週 1 回投与）、及び性成熟した 4～8 歳齢の雌雄カニクイザルを用いた 4 週間反復静脈内投与試験（3、10 及び 30 mg/kg を週 1 回投与）を実施した。その結果、性成熟サルを用いた 4 週間反復静脈内投与試験及び 2～4 歳齢の雌雄カニクイザルを用いた 26 週間反復投与試験では、投与に関連すると判断された変化は認められなかったが、離乳前の幼若サルを用いた 4 週間反復投与試験では、投与との関連性が否定できない変化として、30 mg/kg 群で Hb 及び MCHC の有意な低値、Ret の有意な高値が認められた。その他の検査項目において投与に関連した変化は認められなかった。幼若サルにおける 4 週間反復投与試験の 30 mg/kg 群で認められた Hb 及び MCHC の有意な低値、並びに Ret の有意な高値については、投与との関連性が否定できないものの、その程度は軽く、赤血球やヘマトクリットの明らかな変化を伴わないことから、毒性学的には意味の小さい変化であると判断された。以上の反復投与毒性試験における本薬の無毒性量は 30 mg/kg（週 1 回、4 週間又は 26 週間投与）と推定された。

本邦で実施したムコ多糖症 II 型患者に対する第 I/II 相臨床試験における最高投与量 2 mg/kg 群の薬物曝露量（2.7.2.2.1 参照）と比較して、JR-141 をカニクイザルへ静脈内投与したときの薬物曝露量には十分な安全域（AUC で約 94～212 倍、$C_{max}$ で約 45～65 倍）が認められたことから（2.6.6.9 参照）、毒性試験における JR-141 の最高投与量は「「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」（平成 24 年 3 月 23 日付 薬食審査発 0323 第 1 号）で求められている曝露レベルを充足しており、妥当な設定であると判断された。

本薬の免疫原性について、カニクイザルの反復投与毒性試験では、高頻度で ADA 陽性個体が認められたが、投与中又は投与後に IAR は認められなかった。現在までに臨床使用されている LSD 酵素製剤の主要な有害事象は、ADA 産生に関連すると考えられる IAR であり、これは LSD の ERT において通常認められるものである[6]。本薬は動物に対しては異種タンパク質であることから、本薬の動物試験成績より免疫原性に関連するヒトでの安全性リスクを予測することは困難であるが、JR-141 の臨床使用に際しては、ADA が産生され得ることに留意し、投与中に IAR が認められた際には、投与速度の調節や、投与の中止などの措置が必要と考えられる。また、必要に応じて、適切な薬剤処置（副腎皮質ホルモン剤、抗ヒスタミン剤等）を施すことが重要と考えられる[7]。

本薬の生殖発生毒性について、性成熟したカニクイザルの 4 週間反復投与毒性試験において、雌雄生殖器官の器官重量及び病理組織学的検査で本薬投与の影響は認められず、本薬は雌雄の受胎能に影響を及ぼさないと考えられた。また、霊長類では、胎盤に FcRn が発現する妊娠後期に母体に投与された抗体医薬品は胎児に移行する可能性が高いことが知られていることから[8]、妊娠後期（妊娠 139 日）のカニクイザルに本薬を静脈内投与し胎児への移行の有無を試験した。その結果、本薬の胎盤通過性は認められなかったことから（2.6.4.4.8 参照）、本薬投与により胚・胎児発生へ悪影響を及ぼすリスクは非常に低いと判断された。

以上の安全性試験成績より、本薬の臨床使用に際しては、用法・用量を遵守することにより、重篤な有害事象が発現するリスクは非常に低いと考えられる。しかしながら、抗体が産生された

場合には、LSD の ERT において通常認められる IAR が発生する可能性が考えられることから、本薬投与に際しては、抗体検査を定期的に実施し、さらに、IAR の発現が認められた場合には、適切な対処が必要と考えられる。

### 2.4.6 結論

各種の薬理試験及び薬物動態試験より、JR-141 は静脈内に投与された際に、末梢組織では M6P 受容体や TfR を介して細胞内に取り込まれ、蓄積した基質を分解することによって、組織・器官の機能を回復させ全身症状を改善すると推測される。また、JR-141 は脳毛細血管内皮細胞に発現する TfR を介して BBB を通過することで中枢神経系に到達し、神経細胞等に蓄積した基質を分解してその機能を改善すると考えられる。その結果、ムコ多糖症 II 型でみられる全身症状を改善するとともに、中枢神経障害も改善、又はその発症、進展、増悪を抑制することが期待される。

各種毒性試験において、JR-141 はカニクイザルに 30 mg/kg までの用量で投与に関連した毒性所見を認めず、これらの試験内で実施した安全性薬理試験において、心血管系、中枢神経系又は呼吸系に対して影響を及ぼさなかった。また、反復投与による血漿及び中枢神経系組織への本薬の蓄積も認められなかった。副次的薬理試験においても、Tf の TfR への結合を阻害せず、抗体 Fc 領域を介した ADCC 及び CDC 活性による細胞傷害性を示さず、FcRn に対する結合性を示したものの、胎盤通過性は認められなかった。これらの成績より、JR-141 のムコ多糖症 II 型患者に対する臨床使用において、投与に関連した重大な副作用が発現する可能性は低いと考えられた。

以上の非臨床試験成績より、JR-141 はムコ多糖症 II 型患者に対して、静脈内投与することにより、全身症状のみならず中枢神経症状に対しても有効な治療薬であり、さらには、安全性上の懸念も少ないことが期待される。

### 2.4.7 参考文献


1) Garcia AR, DaCosta JM, Pan J, Muenzer J, Lamsa JC. Preclinical dose ranging studies for enzyme replacement therapy with idursulfase in a knock-out mouse model of MPS II. Mol Genet Metab. 2007; 91(2): 183-90.

2) JCR001 Completion Report, [redacted]

3) Sonoda H, Morimoto H, Yoden E, Koshimura Y, Kinoshita M, Golovina G, et al. A blood-brain-barrier-penetrating anti-human transferrin receptor antibody fusion protein for neuronopathic mucopolysaccharidosis II. Mol Ther. 2018; 26(5): 1366-74.

4) Wraith JE, Scarpa M, Beck M, Bodamer OA, De Meirleir L, Guffon N, et al. Mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome): a clinical review and recommendations for treatment in the era of enzyme replacement therapy. Eur J Pediatr. 2008; 167(3): 267-77.

5) Beck MJ, Padgett EL, Bowman CJ, Wilson DT, Kaufman LE, Varsho BJ, et al. Nonclinical juvenile toxicity testing. III. Design considerations for nonclinical juvenile toxicity studies. In: Developmental and reproductive toxicology: a practical approach. (Hood RD ed): Boca Raton: CRC Press; 2006: 274-80.

6) Ohashi T. Enzyme replacement therapy for lysosomal storage diseases. Pediatr Endocrinol Rev. 2012; 10 Suppl 1: 26-34.

7) Tomatsu S, Montano AM, Molano ACS, Rowan D, Hintze JP, Carvalho CG, et al. Enzyme replacement therapy for lysosomal storage doseases. In: Neurochemistry of metabolic diseases. (Surendran S ed.): Nova Science Publishers, Inc; 2011: 1-31.

8) 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 B Dev Reprod

Toxicol. 2009; 86: 328-44.