# 目次

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表 ..... 3
2.6.1 緒言 ..... 3
2.6.1.1 JR-141 の構造 ..... 3
2.6.1.2 JR-141 の薬理学的特性 ..... 3
2.6.1.3 臨床適用及び用法・用量 ..... 4
2.6.1.4 参考文献 ..... 4

**用語の定義**

| 用語 | 定義・解説 |
|---|---|
| BBB | 血液脳関門（blood-brain barrier） |
| CHO | チャイニーズハムスター卵巣（chinese hamster ovary） |
| Fc | 免疫グロブリンの結晶化可能フラグメント（fragment crystallizable） |
| GAG | グリコサミノグリカン（glycosaminoglycan） |
| hIDS | ヒトイズロン酸-2-スルファターゼ（human iduronate-2-sulfatase） |
| 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 |
| IgG1 | 免疫グロブリン G1（immunoglobulin G1） |
| KI | ノックイン（knock in） |
| KO | ノックアウト（knock out） |
| M6P | マンノース-6-リン酸（mannose-6-phosphate） |
| TfR | トランスフェリン受容体 1（transferrin receptor 1） |

## 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 JR-141 の構造

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。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ヒト化抗体軽鎖（κ 鎖）2 分子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）（図 1）。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、その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。

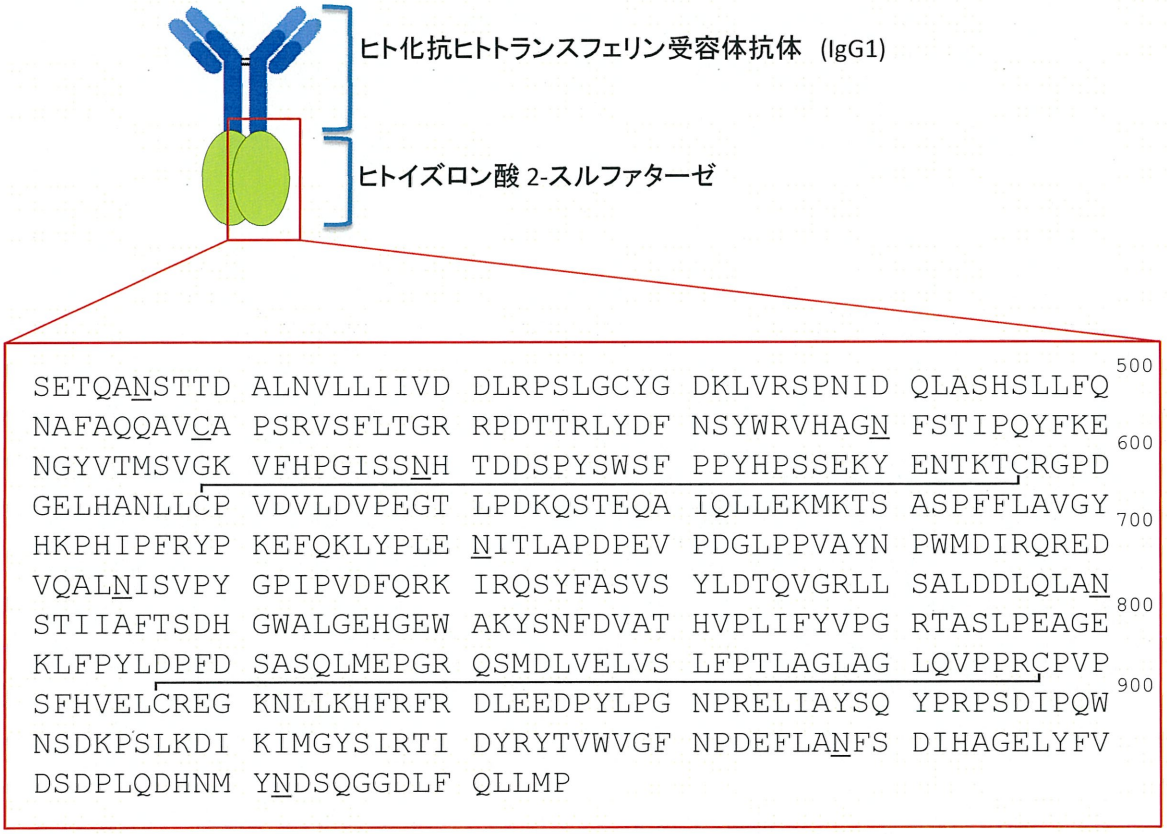



**図 1 JR-141 のヒトイズロン酸-2-スルファターゼ（hIDS）部分のアミノ酸配列**

#### 2.6.1.2 JR-141 の薬理学的特性

ムコ多糖症 II 型患者では、hIDS の基質である GAG が全身の臓器中に蓄積し、中枢神経障害、心筋症、呼吸不全、肝脾腫、骨関節障害など様々な症状が認められる [1)]。静脈内投与された JR-141 は、末梢組織・臓器では主に M6P 受容体及び TfR を介して細胞内に取込まれてライソゾームに移行し、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 [2)] で BBB を通過し脳実質に移行し、神

経細胞においてもその薬効を発揮すると想定される。そこで、本薬の薬理試験では、M6P 受容体及び TfR に対する結合親和性、両受容体を介した細胞内取込みを解析した。また、ムコ多糖症 II 型のモデル動物である hTfR KI/Ids KO マウス [3] の血清、末梢組織・臓器、中枢神経系組織における GAG 減少効果を評価した。その結果、JR-141 は M6P 受容体及び TfR に対する結合親和性を有し、両受容体を介して細胞内に取り込まれることが示された。更に、hTfR KI/Ids KO マウスの静脈内に反復投与することによって中枢神経系を含む全身の組織・臓器中に蓄積した GAG を減少させ、学習能力の低下を抑制した。

### 2.6.1.3 臨床適用及び用法・用量

本剤には以下の【効能・効果】及び【用法・用量】が予定されている。

【効能・効果】

ムコ多糖症 II 型

【用法・用量】

通常、パビナフスプ アルファ（遺伝子組換え）として、1 回体重 1 kg あたり 2.0 mg を週 1 回、点滴静注する。

### 2.6.1.4 参考文献

1) 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.

2) Jones AR, Shusta EV. Blood-brain barrier transport of therapeutics via receptor-mediation. Pharm Res. 2007; 24(9): 1759-71.

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.

# 目次

2.6.2 薬理試験の概要文 ..... 4
2.6.2.1 まとめ ..... 4
2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験 ..... 4
2.6.2.1.1.1 TfR に対する結合親和性 ..... 4
2.6.2.1.1.2 M6P 受容体に対する結合親和性 ..... 4
2.6.2.1.1.3 正常ヒト線維芽細胞における細胞内取込み ..... 4
2.6.2.1.1.4 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 ..... 5
2.6.2.1.1.5 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 ..... 5
2.6.2.1.2 副次的薬理試験 ..... 5
2.6.2.1.2.1 Tf の TfR への結合に対する影響 ..... 5
2.6.2.1.2.2 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 ..... 6
2.6.2.1.2.3 ヒト FcRn 結合親和性 ..... 6
2.6.2.1.3 安全性薬理試験 ..... 6
2.6.2.1.4 薬力学的薬物相互作用試験 ..... 6
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 ..... 6
2.6.2.2.1 JR-141 のヒト及びカニクイザル TfR に対する結合親和性 ..... 6
2.6.2.2.2 M6P 受容体に対する結合親和性 ..... 7
2.6.2.2.3 正常ヒト線維芽細胞における細胞内取込み ..... 8
2.6.2.2.4 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 ..... 9
2.6.2.2.5 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 ..... 16
2.6.2.3 副次的薬理試験 ..... 25
2.6.2.3.1 hTf の hTfR への結合に対する影響 ..... 25
2.6.2.3.2 抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性 ..... 25
2.6.2.3.3 補体依存性細胞傷害（CDC）活性 ..... 27
2.6.2.3.4 ヒト FcRn 結合親和性 ..... 28
2.6.2.4 安全性薬理試験 ..... 29
2.6.2.4.1 心血管系に及ぼす影響 ..... 29
2.6.2.4.2 呼吸系に及ぼす影響 ..... 29
2.6.2.4.3 中枢神経系に及ぼす影響 ..... 30
2.6.2.4.3.1 カニクイザルにおける 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 ..... 30
2.6.2.4.3.2 カニクイザルにおける 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 ..... 30
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 ..... 30
2.6.2.6 考察及び結論 ..... 30
2.6.2.6.1 全身症状に対する効果 ..... 30
2.6.2.6.2 TfR を介した BBB 通過の想定機序 ..... 31

2.6.2.6.3 中枢神経系に対する効果 ..... 32
2.6.2.6.4 中枢神経症状発症の誘因とその改善について ..... 32
2.6.2.6.5 安全性について ..... 34
2.6.2.6.6 結論 ..... 34
2.6.2.7 図表 ..... 34
2.6.2.8 参考文献 ..... 35

## 用語の定義

| 用語 | 定義・解説 |
|---|---|
| ADCC | 抗体依存性細胞傷害（antibody-dependent cellular cytotoxicity） |
| BBB | 血液脳関門（blood-brain barrier） |
| CCRF-CEM | ヒト急性Tリンパ球性白血病由来細胞株（Human acute lymphocytic leukemia cell line） |
| CDC | 補体依存性細胞傷害（complement-dependent cytotoxicity） |
| 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） |
| 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） |
| HE | ヘマトキシリン及びエオジン（hematoxylin and eosin） |
| HEL92.1.7 | ヒト赤芽球性白血病由来細胞株（human erythroleukemia cell line） |
| hIDS | ヒトイズロン酸-2-スルファターゼ（human iduronate-2-sulfatase） |
| hIgG1 | ヒト免疫グロブリンG1（human immunoglobulin G1） |
| HS | ヘパラン硫酸（heparan sulfate） |
| hTf | ヒトトランスフェリン（human transferrin） |
| 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 |
| 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） |
| K562 | ヒト慢性骨髄性白血病由来細胞株（human myelogenous leukemia cell line） |
| $K_D$ | 解離定数（dissociation constant） |
| KI | ノックイン（knock in） |
| KO | ノックアウト（knock out） |
| $k_{off}$ | 解離速度定数（dissociation rate constant） |
| $k_{on}$ | 結合速度定数（association rate constant） |
| LC/MS/MS | 液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析（liquid chromatography/tandem mass spectrometry） |
| 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） |
| pAb | ポリクローナル抗体（polyclonal antibody） |
| $PaCO_2$ | 動脈血二酸化炭素分圧（partial pressure of arterial carbon dioxide） |
| $PaO_2$ | 動脈血酸素分圧（partial pressure of arterial oxygen） |
| 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 |
| RU | レゾナンスユニット（resonance unit） |
| 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） |

## 2.6.2 薬理試験の概要文

### 2.6.2.1 まとめ

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[1]でBBBを通過し、脳実質に移行すると考えられる。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[2]。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[3]。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[4]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ので、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[5]、Ids KOマウスと交配することで、hTfR KI/Ids KOマウスを樹立した[5]。

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。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を適切に評価できると考え、一連の薬効試験を実施した。

#### 2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験

##### 2.6.2.1.1.1 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$1.22\times10^{-10}$ mol/L及び$8.65\times10^{-10}$ mol/L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。

##### 2.6.2.1.1.2 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。

##### 2.6.2.1.1.3 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。

#### 2.6.2.1.1.4 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、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 の投与で、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、中枢神経系組織に蓄積した 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。

#### 2.6.2.1.1.5 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（学習能力低下）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/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。

### 2.6.2.1.2 副次的薬理試験

#### 2.6.2.1.2.1 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。

#### 2.6.2.1.2.2 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。

#### 2.6.2.1.2.3 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。

#### 2.6.2.1.3 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。

#### 2.6.2.1.4 薬力学的薬物相互作用試験

該当試験なし。

### 2.6.2.2 効力を裏付ける試験

#### 2.6.2.2.1 JR-141 のヒト及びカニクイザル TfR に対する結合親和性

添付資料 4.2.1.1.1、4.2.1.1.3 及び 4.2.1.1.2（参考資料）

JR-141 は、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[1)]で BBB を通過し、脳実質に移行すると考えられることから、hTfR に対する結合親和性を評価した。また、毒性試験に用いたカニクイザルの TfR に対する結合親和性についても評価した。

JR-141 はカニクイザル TfR に対し、hTfR よりもやや低い結合親和性を示したため、ヒトとカニクイザル TfR に対してほぼ同等の結合親和性を示す変異抗体を作製した。この変異抗体に hIDS を融合した RP-2703 について、ヒト及びカニクイザル TfR 結合親和性を評価した。

1) 試験材料及び試験方法

被験物質：JR-141（ロット番号：[redacted]）

RP-2703（ロット番号：[redacted]）

JR-141 又は RP-2703 と、hTfR 又はカニクイザル TfR 細胞外ドメインとの相互作用を、バイオレイヤー干渉法で解析することにより、JR-141 と RP-2703 のヒト及びカニクイザル TfR に対する結

合親和性を評価した。

2) 試験成績

JR-141 の hTfR に対する $k_{on}$ は $8.23\times10^{5}$ (1/Ms)、$k_{off}$ は $1.01\times10^{-4}$ (1/s)、$K_D$ は $1.22\times10^{-10}$ mol/L であった（表 2.6.2-1 参照）。また、JR-141 はカニクイザル TfR に対しても結合性を示し、その $k_{on}$ は $3.76\times10^{5}$ (1/Ms)、$k_{off}$ は $3.26\times10^{-4}$ (1/s)、$K_D$ は $8.65\times10^{-10}$ mol/L であった（表 2.6.2-1 参照）。

RP-2703 の hTfR に対する $k_{on}$ は $9.30\times10^{5}$ (1/Ms)、$k_{off}$ は $4.35\times10^{-5}$ (1/s)、$K_D$ は $4.68\times10^{-11}$ mol/L であった（表 2.6.2-1 参照）。また、RP-2703 はカニクイザル TfR に対しても結合性を示し、その $k_{on}$ は $5.19\times10^{5}$ (1/Ms)、$k_{off}$ は $2.03\times10^{-5}$ (1/s)、$K_D$ は $3.91\times10^{-11}$ mol/L であった（表 2.6.2-1 参照）。

3) 結論

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 $1.22\times10^{-10}$ mol/L 及び $8.65\times10^{-10}$ mol/L 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。また、RP-2703 のヒト及びカニクイザル TfR に対する $K_D$ は、それぞれ $4.68\times10^{-11}$ mol/L 及び $3.91\times10^{-11}$ mol/L であり、RP-2703 の両受容体に対する結合親和性はほぼ同等で、また、JR-141 のヒト TfR に対する結合親和性と比べ顕著な差はなかった。

**表 2.6.2-1 JR-141 及び RP-2703 の TfR 細胞外ドメインに対する結合カイネティクスパラメータ**

| 被験物質 | TfR の由来動物 | $k_{on}$ (1/Ms) | $k_{off}$ (1/s) | $K_D$ (mol/L) |
|---|---|---|---|---|
| JR-141 | ヒト | $8.23\times10^{5}$ | $1.01\times10^{-4}$ | $1.22\times10^{-10}$ |
| | カニクイザル | $3.76\times10^{5}$ | $3.26\times10^{-4}$ | $8.65\times10^{-10}$ |
| RP-2703[a)] | ヒト | $9.30\times10^{5}$ | $4.35\times10^{-5}$ | $4.68\times10^{-11}$ |
| | カニクイザル | $5.19\times10^{5}$ | $2.03\times10^{-5}$ | $3.91\times10^{-11}$ |

平均値（n=3）
a) n=1

### 2.6.2.2.2 M6P 受容体に対する結合親和性

添付資料 4.2.1.1.4

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ため、M6P 受容体に対する結合親和性を評価した。

1) 試験材料及び試験方法

被験物質：JR-141（ロット番号：[redacted]）

イデュルスルファーゼ（ロット番号：[redacted]）

JR-141 又はイデュルスルファーゼと 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、各被験物質の M6P 受容体結合親和性を評価した。

2) 試験成績

JR-141 及びイデュルスルファーゼは M6P 受容体に対する結合性を示し、$K_D$ はそれぞれ $9.22\times10^{-9}$ mol/L、$4.08\times10^{-9}$ mol/L であった（表 2.6.2-2 参照）。

3) 結論

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。

表 2.6.2-2 M6P 受容体ドメイン 9 に対する各被験物質の結合親和性

| 被験物質 | $K_D$ (mol/L) |
|---|---|
| JR-141 | $9.22\times10^{-9}$ |
| イデュルスルファーゼ | $4.08\times10^{-9}$ |

平均値（n=3）

### 2.6.2.2.3 正常ヒト線維芽細胞における細胞内取込み

添付資料 4.2.1.1.5

JR-141 の細胞内取込みには、M6PR 及び TfR を介した取込み機構が関与すると考えられた。このため、正常ヒト線維芽細胞を用い、細胞内取込みにおける M6PR 及び TfR の寄与について評価した。

1) 試験材料及び試験方法

被験物質：JR-141（ロット番号：[redacted]）

終濃度 0.2、2、20 及び 200 μg/mL の JR-141 を、正常ヒト線維芽細胞（$2\times10^4$ 個/250 μL/ウェル）に添加し、37°C、5% $CO_2$ 条件下で 2、6 及び 20 時間培養後、抗 hIDS 抗体を用いた ECL 法により、細胞内に取り込まれた JR-141 量を測定した。

また、JR-141 の細胞内取込みにおける M6PR 及び TfR の寄与度を評価するため、終濃度 20 μg/mL の JR-141 に、過剰量となる 10 nmol/L の M6P 及び 400 μg/mL のヒト化抗 hTfR mAb を、それぞれ単独、又は同時に添加する各阻害条件についても上記培養条件下で評価した。

2) 試験成績

JR-141 は、添加濃度依存的に正常ヒト線維芽細胞内に取り込まれた（図 2.6.2-1 参照）。M6P、ヒト化抗 hTfR mAb、又はそれらの同時添加により、JR-141 の細胞内への取込みは抑制された（図 2.6.2-2 参照）。

3) 結論

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 添加により抑制された。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 M6PR 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、M6PR と TfR が一部協働して細胞内取込みに寄与する可能性が示唆された。

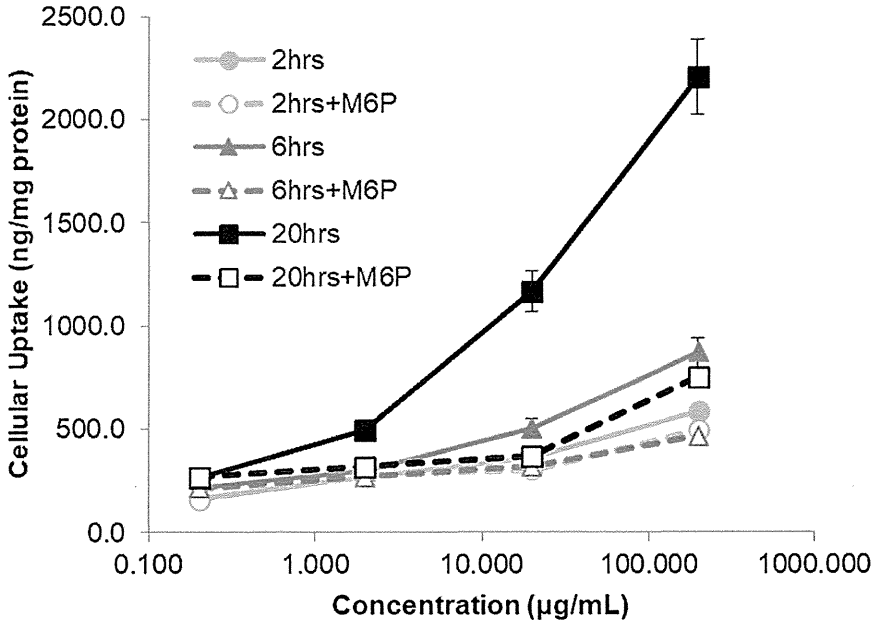



図 2.6.2-1 正常ヒト線維芽細胞への JR-141 の取込み

平均値±標準偏差（n=3）

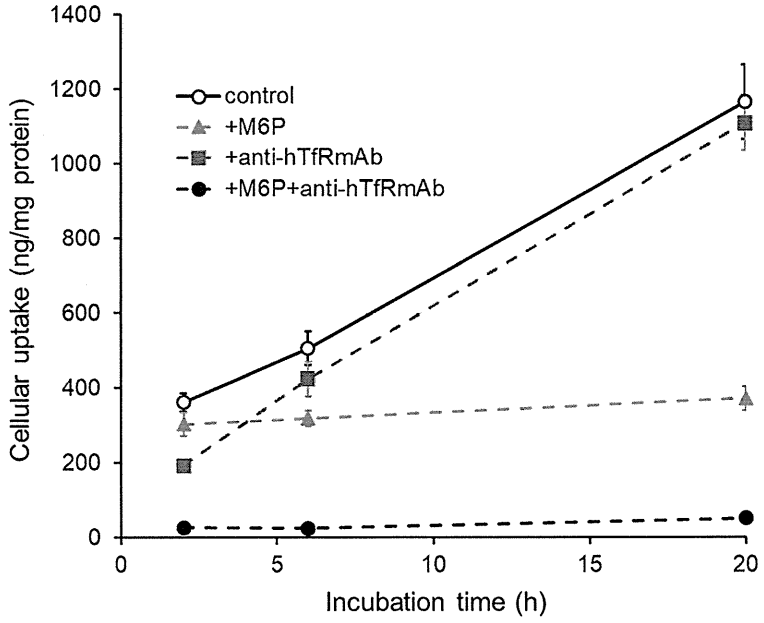



図 2.6.2-2 正常ヒト線維芽細胞への取込みに対する TfR 及び M6P 受容体の寄与

2.6.2.2.4 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

添付資料 4.2.1.1.6

1) 試験材料及び試験方法

被験物質：JR-141（ロット番号：[redacted]）

使用動物：hTfR KI/Ids KO マウス、野生型マウス、12 週齢（投与開始時）、雄 5 匹/群

投与：JR-141 を 0.5、1、2、5 及び 10 mg/kg の用量で週 1 回 12 週間反復静脈内投与した。対照としてイデュルスルファーゼをその臨床用量 0.5 mg/kg で、病態対照群には媒体を週 1 回 12 週間反復静脈内投与した。また、無処置の野生型マウスを正常対照群に設定した。

評価：最終投与から 1 週間後に組織（脳、心臓、肝臓及び脾臓）、CSF、血清及び血漿を採取し、肝臓の湿重量、脳及び CSF 中 HS 濃度、心臓、肝臓、脾臓及び血清中 HS 及び DS 濃度、並びに血漿中の抗 JR-141 抗体及び抗 IDS 抗体を測定した。また、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。HS 及び DS は LC/MS/MS 法にて定量した。

2) 試験成績

(1) 肝臓湿重量に対する作用（図 2.6.2-3 参照）

野生型群と比較して病態対照群で有意な肝臓湿重量の増加が認められ、JR-141 及びイデュルスルファーゼの投与により、有意な肝臓湿重量の減少効果が認められた。JR-141 の肝湿重量減少効果は、全ての用量群で、イデュルスルファーゼ 0.5 mg/kg 投与群と有意な差は認められなかった。

(2) CSF 及び脳中 HS 濃度に対する作用（図 2.6.2-4 及び図 2.6.2-5 参照）

JR-141 投与群において、病態対照群と比較して、CSF 及び脳中 HS 濃度の用量依存的な減少効果が認められた。一方、イデュルスルファーゼ投与群では、CSF 及び脳中 HS 濃度の減少は認められなかった。

(3) 末梢組織、尿及び血清中 HS 及び DS 濃度に対する作用（図 2.6.2-6～図 2.6.2-13 参照）

JR-141 投与群において、病態対照群と比較して心臓、肝臓、脾臓、尿並びに血清中の HS 及び DS 濃度の用量依存的な減少効果が認められた。心臓、血清並びに尿中の HS 及び DS 濃度は、JR-141 の 1 mg/kg 以上の用量で、イデュルスルファーゼ 0.5 mg/kg 投与群と同等以上の減少効果が認められた。肝臓並びに脾臓中の HS 及び DS 濃度については、JR-141 の 0.5 mg/kg 以上の用量で、イデュルスルファーゼ 0.5 mg/kg 投与群と同等以上の減少効果が認められた。

(4) 抗体産生及び IAR の発生

JR-141 0.5 mg/kg 投与群において、5 例中 2 例で抗 JR-141 抗体及び抗 IDS 抗体産生が認められた。JR-141 1.0 mg/kg 投与群では、5 例中 2 例で抗 JR-141 抗体産生が認められ、内 1 例で抗 IDS 抗体産生が認められた。JR-141 2.0 mg/kg 投与群では、5 例中 2 例で抗 IDS 抗体産生が認められた。抗 JR-141 抗体と抗 IDS 抗体のいずれも陽性の個体では、他の個体と比較して、JR-141 による HS 及び DS 減少効果が減弱する傾向がみられた。投与期間を通して、抗体陰性個体及び陽性個体共に、IAR は認められなかった。

3) 結論

hTfR KI/Ids KO マウスへ、JR-141 を 0.5～10 mg/kg の用量で週 1 回 12 週間反復静脈内投与することにより、末梢組織だけでなく、中枢神経系組織でも、HS 蓄積に対する減少効果が認められた。一方で、イデュルスルファーゼは、中枢神経系組織の HS 蓄積に対しては無効であった。末梢組織中の HS 及び DS 濃度に対して、JR-141 は、心臓、血清及び尿では 1 mg/kg 以上、肝臓及び脾臓では 0.5 mg/kg 以上の用量で、イデュルスルファーゼ 0.5 mg/kg 投与群と同等以上の減少効果を示

した。

JR-141 投与群の一部では抗薬物抗体の産生が認められ、抗体陽性個体では基質減少効果の減弱傾向がみられた。一方、投与期間を通して、いずれの個体でも IAR は認められなかった。

以上の結果より、JR-141 は、ムコ多糖症 II 型患者において、0.5 mg/kg 以上の用量で週 1 回反復静脈内投与することにより、脳及び末梢組織に蓄積した HS 及び DS を減少させることが期待され、末梢組織に対しては、JR-141 の 1 mg/kg 以上の用量でイデュルスルファーゼと比べ同等以上の基質減少効果を期待できると考えられた。

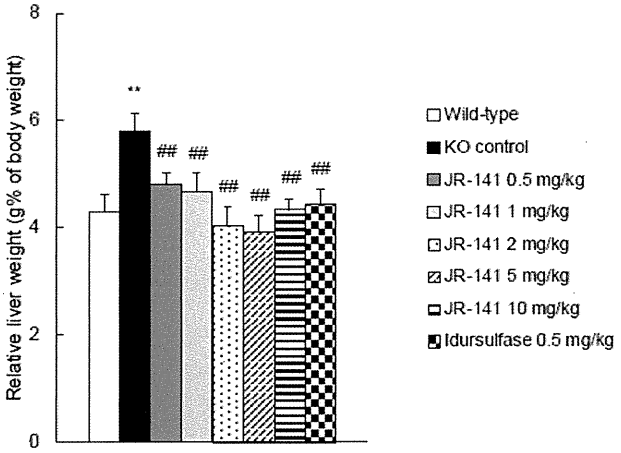



図 2.6.2-3 JR-141 の肝臓湿重量に対する作用

平均値±標準偏差（n=5）
**: p<0.01 正常対照群（Wild-type）との比較
##: p<0.01 病態対照群（KO control）との比較
（Tukey-kramer 検定）

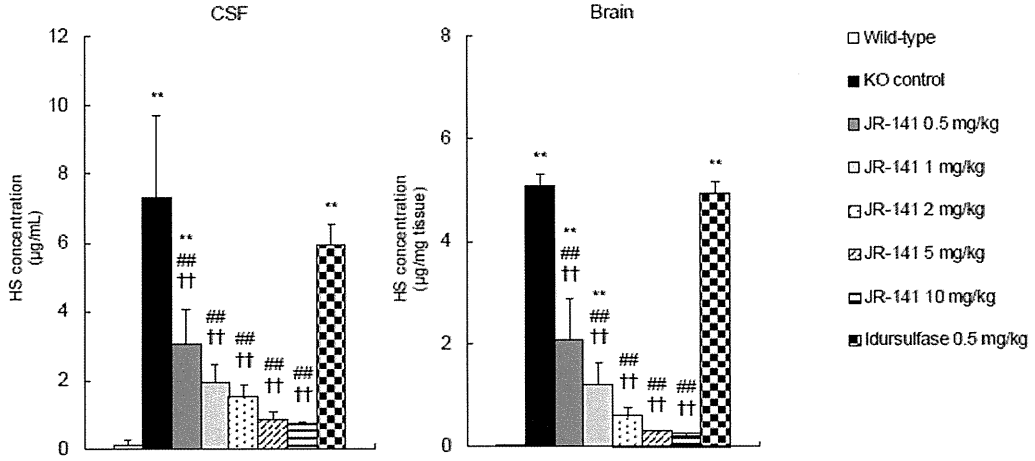



図 2.6.2-4 CSF 及び脳中 HS に対する JR-141 の作用

平均値±標準偏差（n=5）
**: p<0.01 正常対照群（Wild-type）との比較
##: p<0.01 病態対照群（KO control）との比較
††: p<0.01 イデュルスルファーゼ投与群（Idursulfase）との比較
（Tukey-kramer 検定）

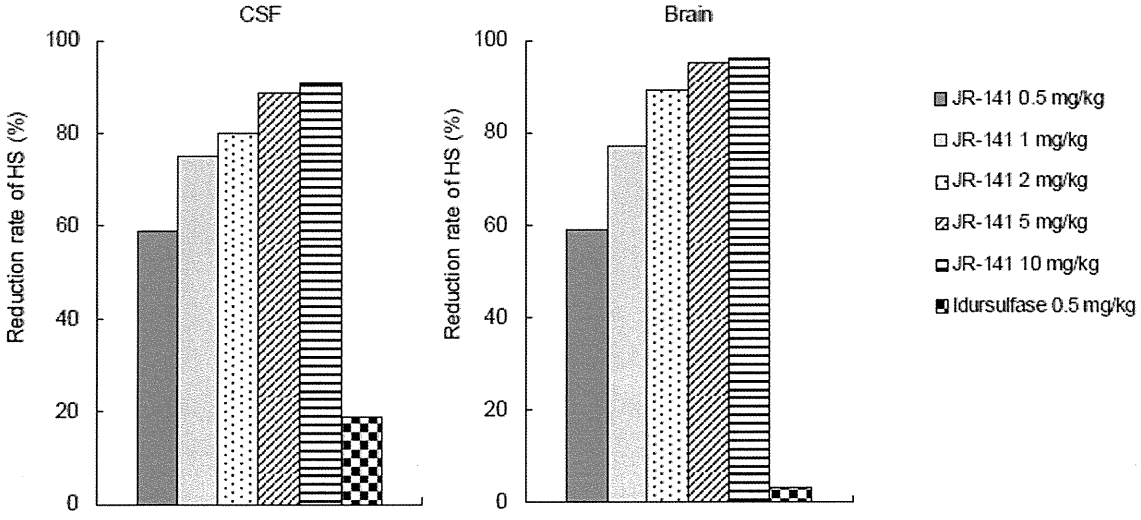



図 2.6.2-5 CSF 及び脳中 HS 濃度の減少率

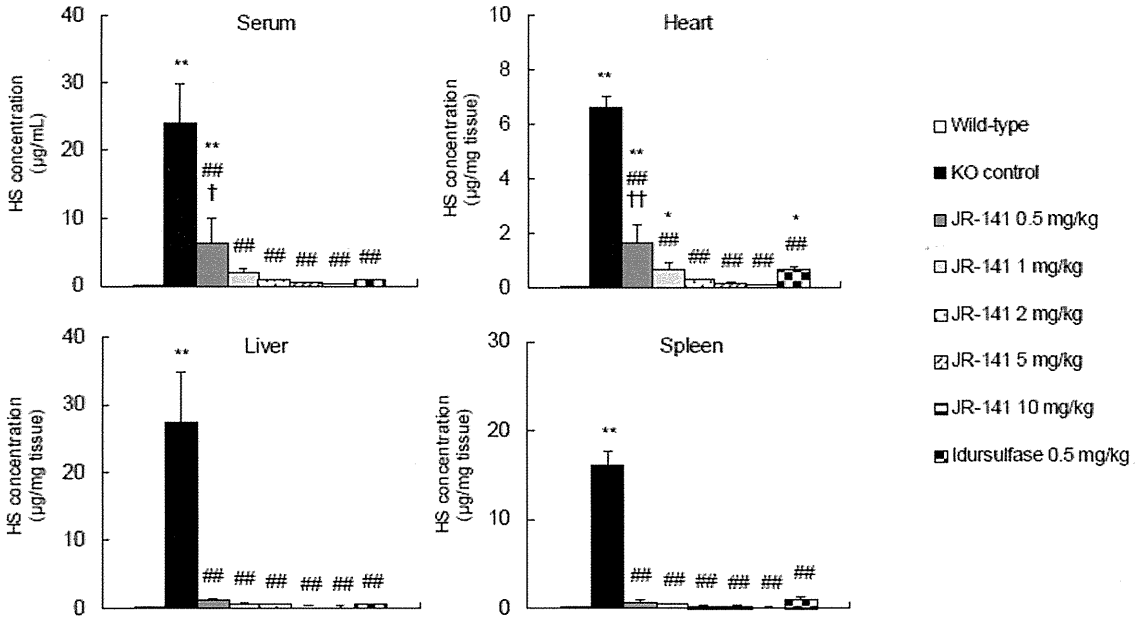



図 2.6.2-6 血清及び末梢組織中 HS 濃度

平均値±標準偏差（n=5）
*: p<0.05、**: p<0.01 正常対照群（Wild-type）との比較
##: p<0.01 病態対照群（KO control）との比較
†: p<0.05、††: p<0.01 イデュルスルファーゼ投与群（Idursulfase）との比較
（Tukey-kramer 検定）

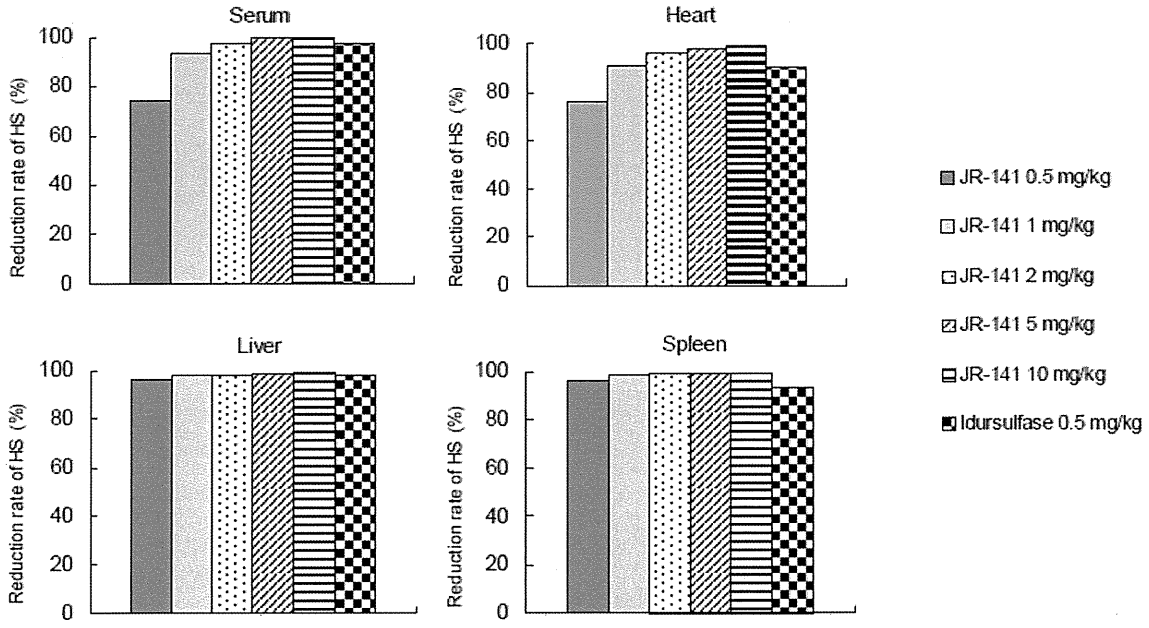



図 2.6.2-7 血清及び末梢組織中 HS 濃度の減少率

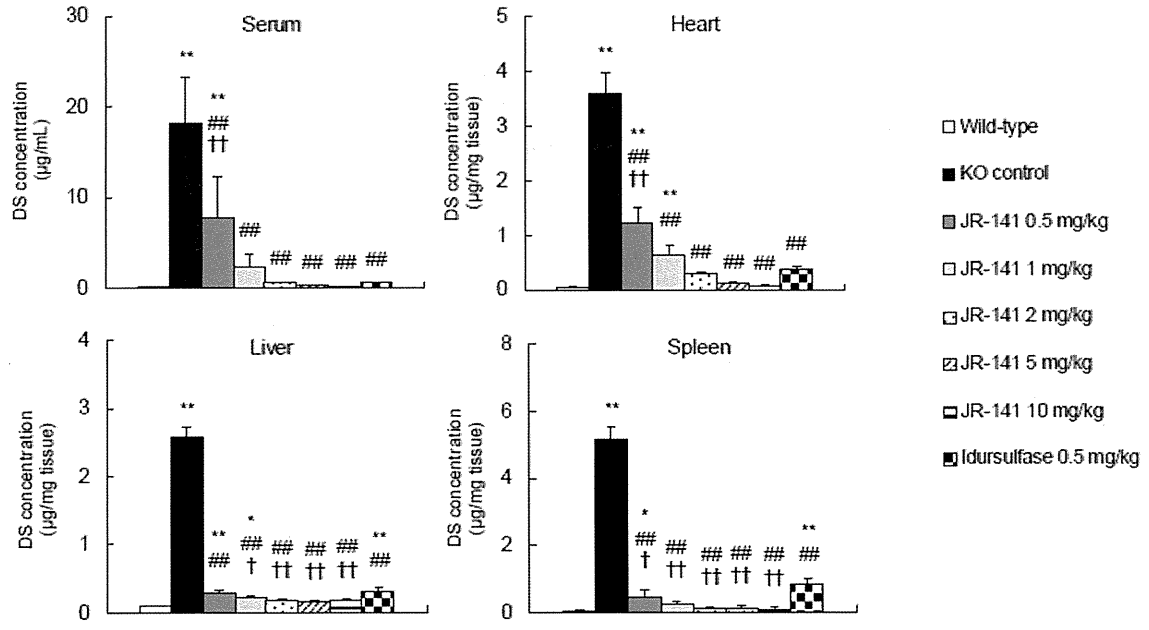



図 2.6.2-8 血清及び末梢組織中 DS 濃度

平均値±標準偏差（n=5）
*: p<0.05、**: p<0.01 正常対照群（Wild-type）との比較
##: p<0.01 病態対照群（KO control）との比較
†: p<0.05、††: p<0.01 イデュルスルファーゼ投与群（Idursulfase）との比較
（Tukey-kramer 検定）

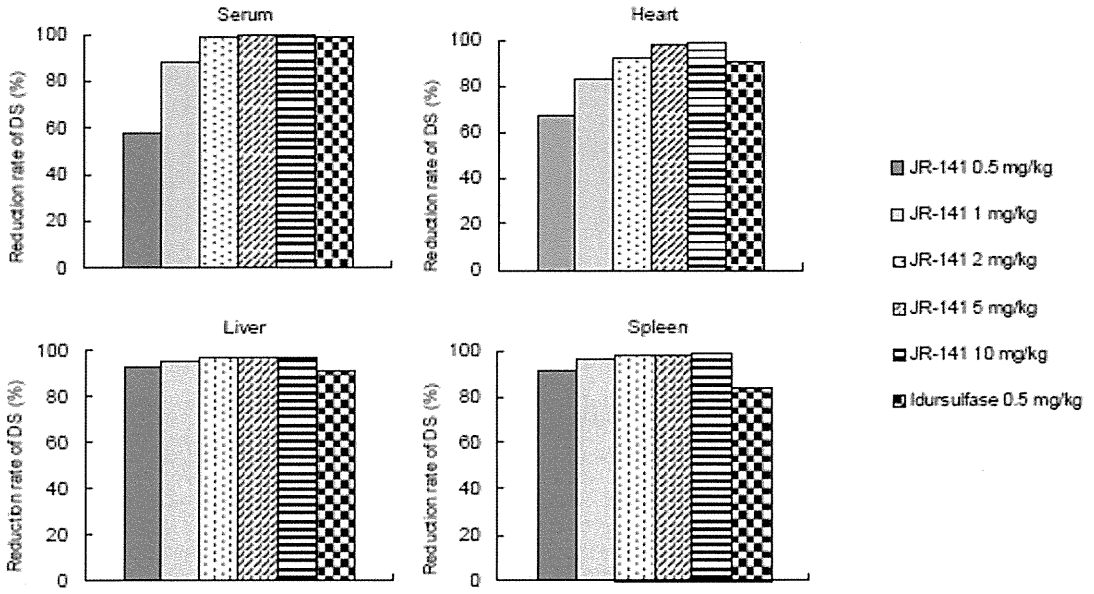



図 2.6.2-9 血清及び末梢組織中 DS 濃度の減少率

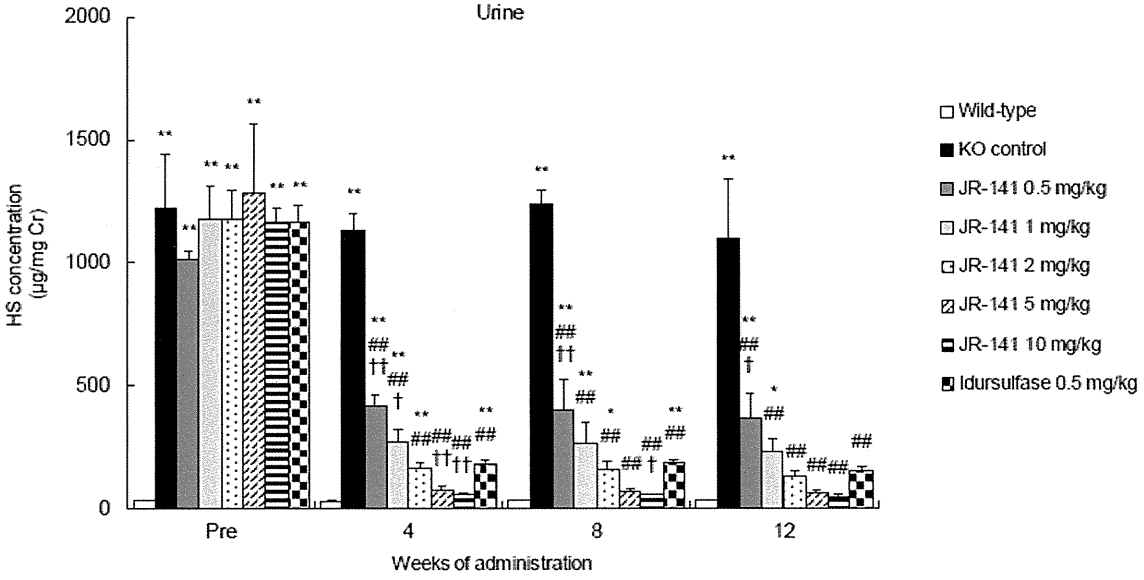



図 2.6.2-10 尿中 HS 濃度

平均値±標準偏差（n=5）
*: p<0.05、**: p<0.01 正常対照群（Wild-type）との比較
##: p<0.01 病態対照群（KO control）との比較
†: p<0.05、††: p<0.01 イデュルスルファーゼ投与群（Idursulfase）との比較
（Tukey-kramer 検定）

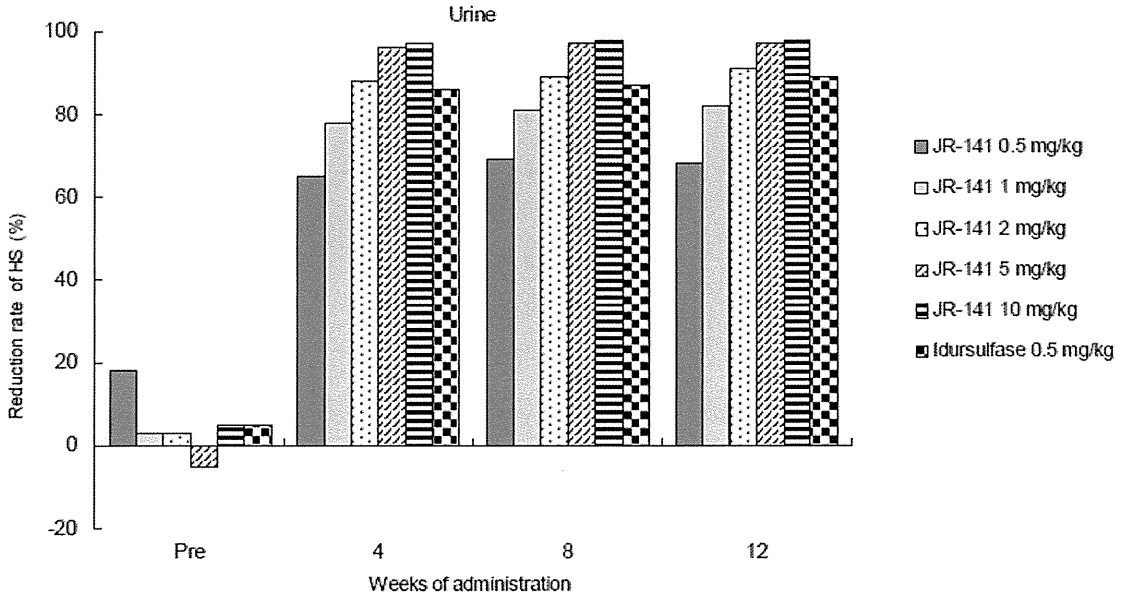



図 2.6.2-11 尿中 HS 濃度の減少率

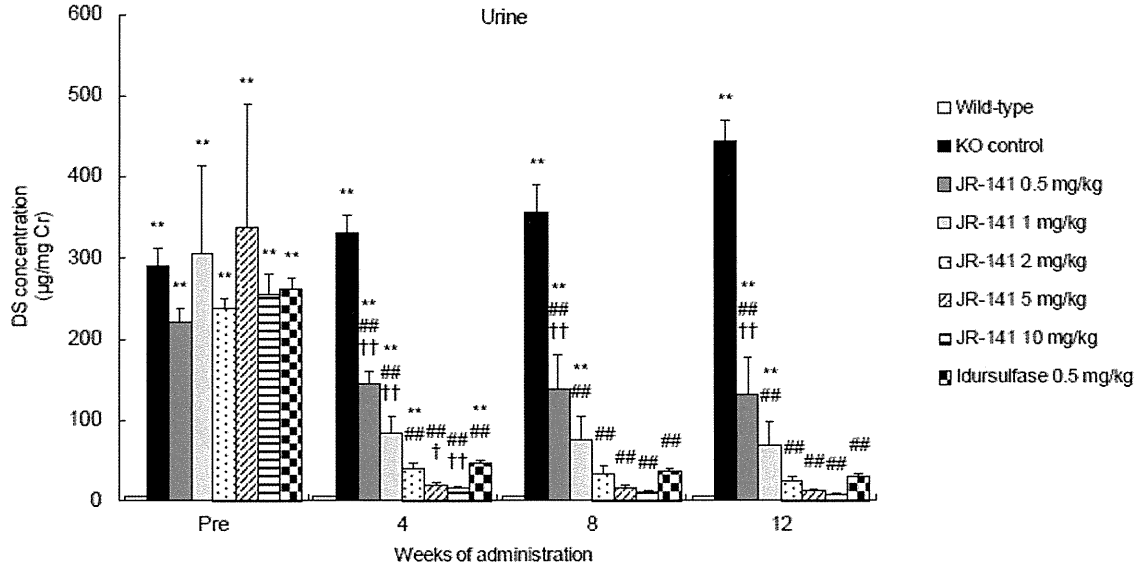



図 2.6.2-12 尿中 DS 濃度

平均値±標準偏差（n=5）
*: p<0.05、**: p<0.01 正常対照群（Wild-type）との比較
##: p<0.01 病態対照群（KO control）との比較
†: p<0.05、††: p<0.01 イデュルスルファーゼ投与群（Idurusulfase）との比較
（Tukey-kramer 検定）

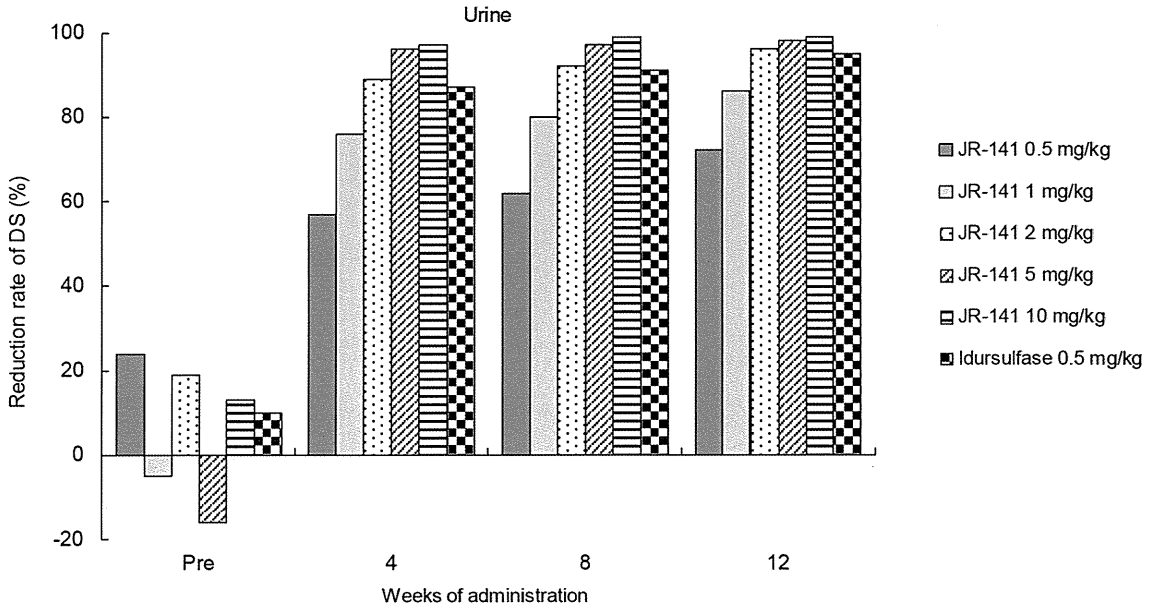



図 2.6.2-13 尿中 DS 濃度の減少率

### 2.6.2.2.5 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

添付資料 4.2.1.1.7

1) 試験材料及び試験方法

被験物質：JR-141（ロット番号：[redacted]）

使用動物：hTfR KI/Ids KO マウス、野生型マウス、10 週齢（投与開始時）、雄 15 匹/群

投与：JR-141 を 2 mg/kg の用量で週 1 回（毎週）、又は 4 mg/kg の用量で 2 週 1 回（隔週）36 週間反復静脈内投与した。対照としてイデュルスルファーゼをその臨床用量 0.5 mg/kg で、病態対照群には媒体を週 1 回 36 週間反復静脈内投与した。また、無処置の野生型マウスを正常対照群に設定した。

評価：

(1) モリス水迷路試験による学習能力評価

投与 36 週間目に、モリス水迷路試験による学習能力評価を実施した。透明のアクリル樹脂製プラットホームを水面下 2 cm に設置した円形プール（直径：120 cm、水深：18 cm）へ、マウスの頭をプールの壁に向けて入水させ、プラットホームに到達するまでの時間（goal latency：秒）を測定した（測定時間は最大 90 秒、5 日間連続で 1 日 3 回測定）。なお、各測定は 1 時間以上の間隔で行った。

(2) 肝臓重量に対する効果及び組織中基質減少効果の評価並びに抗体産生の評価

最終投与から 1 週間後（隔週投与群は、最終投与から 2 週間後）に、各群 5 匹ずつ（病態対照群は 4 匹）CSF、血清、脳、心臓、肝臓及び脾臓を採取した。採取した CSF、血清及び組織について、LC/MS/MS 法にて HS 及び DS（CSF と脳では HS のみ）濃度を測定した。なお、肝臓については、採取後に湿重量を測定し、マウスの体重に対する肝臓の湿重量比を算出した。正常対照群以外では血漿も採取し、Bridging ECL 法にて、抗 JR-141 抗体及び抗ヒト IDS 抗体を測定した。

(3) 病理組織学的評価

最終投与から1週間後に、各群10匹ずつ（ただし、病態対照群は8匹、イデュルスルファーゼ投与群は7匹）生理食塩液で全身灌流後、脳、肝臓、脾臓及び心臓を採取して10%中性緩衝ホルマリンに浸漬した。これらの組織を定法に従いパラフィン包埋し、HE染色標本を作製して病理組織学的検査を実施した。

2) 試験成績

(1) モリス水迷路試験による学習能力評価（図 2.6.2-14 参照）

正常対照群では、プラットホームへの到達時間（goal latency）が日毎に短縮し、病態対照群では短縮しなかったことから、本試験が学習能力の評価に利用できる試験系であることが示された。JR-141 投与群では、2 mg/kg 毎週及び 4 mg/kg 隔週投与群の両群で、プラットホームへの到達時間が正常対照群と同等に短縮し、長期静脈内投与による学習能力の低下が抑制された。JR-141 を投与した2群間で、到達時間の有意な差はなかった。一方、イデュルスルファーゼ投与群では、病態対照群と比較して、プラットホームへの到達時間の短縮は認められなかった。

(2) 肝臓重量に対する作用（図 2.6.2-15 参照）

全ての群間で肝臓重量の有意な差は認められなかった。

(3) 脳及び CSF 中 HS 濃度に対する作用（図 2.6.2-16 及び図 2.6.2-17 参照）

病態対照群と比較して、JR-141 投与群において、脳及び CSF 中 HS 濃度の有意な減少効果が認められ、その減少効果は 2 mg/kg 毎週投与群の方が 4 mg/kg 隔週投与群よりやや強い傾向がみられた。一方、イデュルスルファーゼ投与群では脳及び CSF 中 HS 濃度の減少は認められなかった。

(4) 末梢組織及び血清中 HS 及び DS 濃度に対する作用（図 2.6.2-18～図 2.6.2-21 参照）

病態対照群と比較して、JR-141 投与群において、心臓、肝臓、脾臓並びに血清中 HS 及び DS 濃度の有意な減少効果が認められ、その減少効果は、2 mg/kg 毎週投与群と、4 mg/kg 隔週投与群の間で有意差はなかった。JR-141 の 2 mg/kg 毎週投与群及び 4 mg/kg 隔週投与群の両群で、イデュルスルファーゼ投与群とほぼ同等の減少効果が認められた。

(5) 抗体産生及び IAR の発生

JR-141 2 mg/kg 毎週投与群において抗体を測定した 5 例中 1 例で、抗ヒト IDS 抗体産生が認められた。JR-141 4 mg/kg 隔週投与群では、5 例中 1 例で抗 JR-141 抗体及び抗ヒト IDS 抗体産生が認められた。イデュルスルファーゼ投与群では、5 例中 2 例で抗 JR-141 抗体産生が、5 例中 1 例で抗ヒト IDS 抗体産生が認められた。これらの抗体陽性個体では、抗体陰性個体と比較して、HS 及び DS 減少効果の減弱は認められなかった。

IAR に関しては、病態対照群では全 15 例中 2 例で、JR-141 の 2 mg/kg 毎週投与群では全 15 例中 4 例で、JR-141 の 4 mg/kg 隔週投与群では全 15 例中 2 例で、イデュルスルファーゼ投与群では全 15 例中 8 例で認められた。

(6) 病理組織学的検査（表 2.6.2-3 参照）

脳：正常対照群（全 10 例）では、自然発症性の所見（1 例に軽微な鉱質沈着）以外に異常所見は認められなかった。病態対照群（全 8 例）では、全例で小脳プルキンエ細胞に中等度の空胞変性が認められた。JR-141 投与群では、2 mg/kg 毎週投与群（全 10 例）及

び 4 mg/kg 隔週投与群（全 10 例）の両群で共に 1 例ずつ、正常対照群で見られた軽微な鉱質沈着が認められた。一方で、小脳プルキンエ細胞の空胞変性は、それぞれ 5 例と 7 例で認められたものの軽微であった。イデュルスルファーゼ投与群（全 7 例）では、全例で病態対照群と同程度の小脳プルキンエ細胞の空胞変性が認められ、1 例で延髄における好酸性物質の軽微な沈着が認められた。

末梢組織：正常対照群では、自然発症性の所見（肝臓全例で小葉性の脂肪化、3 例で軽度の単核細胞浸潤、脾臓 1 例で髄外造血の軽度亢進）以外に異常所見は認められなかった。病態対照群では、正常対照群で見られた自然発症性の所見の他、肝臓及び脾臓で、全例にマクロファージの腫大が認められた。さらに心臓では、全例で心室心筋細胞の中等度の空胞化、泡沫細胞浸潤と炎症性細胞浸潤が認められ、3 例で線維化が認められた。また、全例で大動脈弁間質細胞の軽微な腫大が認められ、6 例で肺動脈弁間質細胞の軽微な腫大が認められた。さらに、全例で三尖弁間質細胞と僧帽弁間質細胞の腫大が認められた。JR-141 の 2 mg/kg 毎週投与群及び 4 mg/kg 隔週投与群の脾臓及び心臓では異常所見は認められず、肝臓においても正常対照群で認められた自然発症性の所見以外に異常所見は認められなかった。イデュルスルファーゼ投与群では、肝臓 1 例でマクロファージの軽微な腫大が認められたことを除いて、自然発症性の所見以外の異常所見は認められなかった。

3) 結論

hTfR KI/Ids KO マウスへ、JR-141 を 2 mg/kg 毎週、又は 4 mg/kg 隔週で 36 週間反復静脈内投与することにより、末梢組織の HS 及び DS 蓄積、中枢神経系組織の HS 蓄積に対する減少効果が認められ、モリス水迷路試験において病態対照群で認められた学習能力の低下が抑制された。また、病態対照群の脳及び末梢組織で認められた病理組織学的異常が抑制された。

一方、イデュルスルファーゼ投与群では、末梢組織における HS 及び DS 濃度の減少効果と病理組織学的異常の抑制効果が認められたが、中枢神経系組織の HS 蓄積及び病理組織学的異常に対しては無効であり、学習能力低下に対する抑制効果も認められなかった。

中枢神経系組織の HS 濃度に対しては、JR-141 の 2 mg/kg 毎週投与群の方が、4 mg/kg 隔週投与群よりやや強い減少作用を示したものの、病理組織学的異常に対する抑制効果及び学習能力の低下に対する抑制効果は、両群で差は認められなかった。また、血清及び末梢組織中の HS 及び DS 濃度に対しては、JR-141 の 2 mg/kg 毎週投与群及び 4 mg/kg 隔週投与群共に、イデュルスルファーゼ投与群とほぼ同等の減少効果を示し、JR-141 の用法用量の違いによる明らかな差は認められなかった。

以上の結果より、JR-141 は、ムコ多糖症 II 型患者において、週 1 回又は隔週 1 回の反復静脈内投与により、中枢神経系に蓄積した HS を減少させ、中枢神経症状を改善、又はその発症、進展、増悪を抑制する効果が期待できると考えられた。末梢組織に対しては、JR-141 の 2 mg/kg 毎週、又は 4 mg/kg 隔週投与により、イデュルスルファーゼとほぼ同等の効果が期待される。

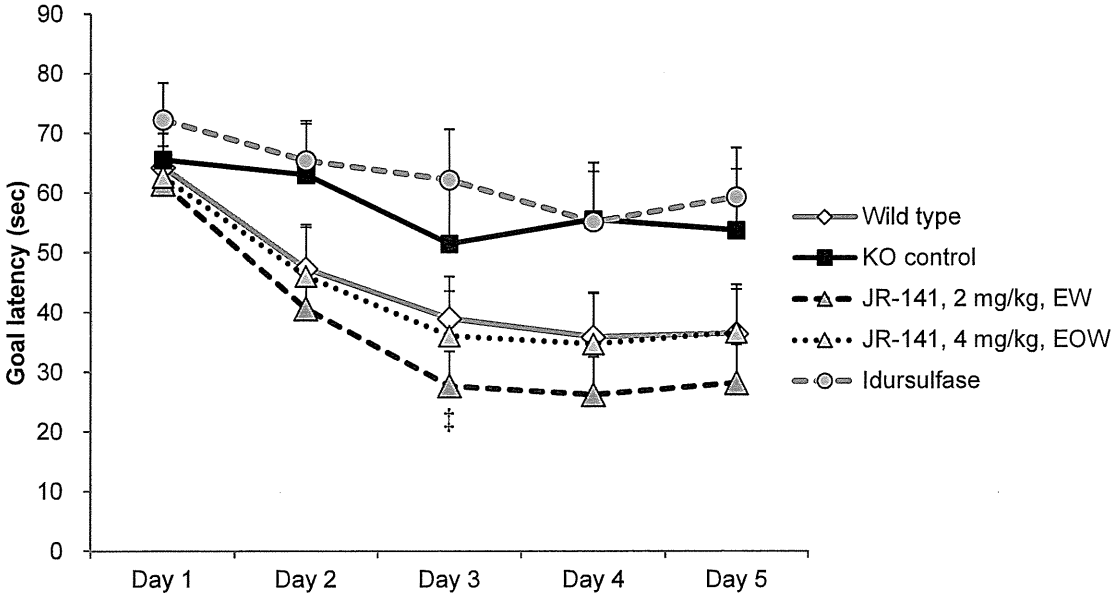



図 2.6.2-14 hTfR KI/Ids KO マウスにおける学習能力低下に対する効果

平均値+標準誤差（n=15、病態対照群及びイデュルスルファーゼ群は n=12）
Wild type: 正常対照群、KO control: 病態対照群、EW: every week（毎週投与群）、EOW: every other week（隔週投与群）、Idursulfase: イデュルスルファーゼ投与群
‡: $p<0.05$ イデュルスルファーゼ投与群との比較
（Tukey-kramer 検定）

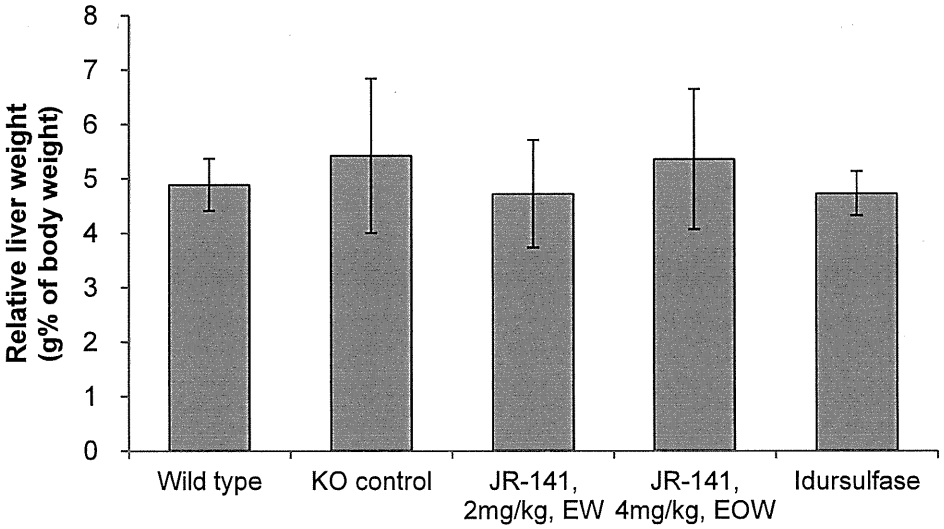



図 2.6.2-15 hTfR KI/Ids KO マウスにおける肝臓湿重量に対する効果

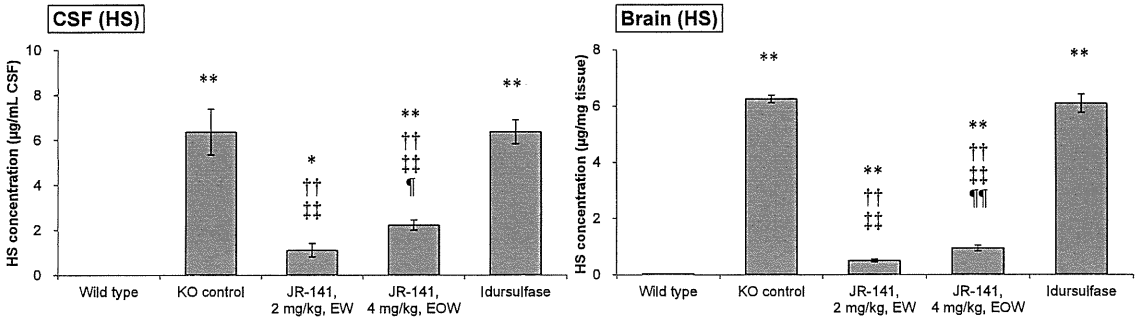



図 2.6.2-16 CSF 及び脳中 HS 濃度減少効果

平均値±標準偏差（n=4 又は 5）
Wild type: 正常対照群、KO control: 病態対照群、EW: every week（毎週投与群）、EOW: every other week（隔週投与群）、Idursulfase: イデュルスルファーゼ投与群
*: $p<0.05$、**: $p<0.01$ 正常対照群との比較
††: $p<0.01$ 病態対照群投与群との比較
‡‡: $p<0.01$ イデュルスルファーゼ投与群との比較
¶: $p<0.05$、¶¶: $p<0.01$ JR-141 2 mg/kg 投与群との比較
（Tukey-kramer 検定）

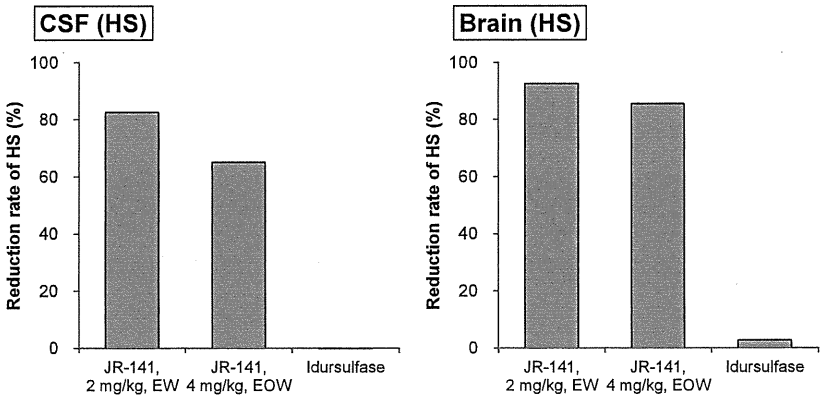



図 2.6.2-17 CSF 及び脳中 HS 濃度減少率

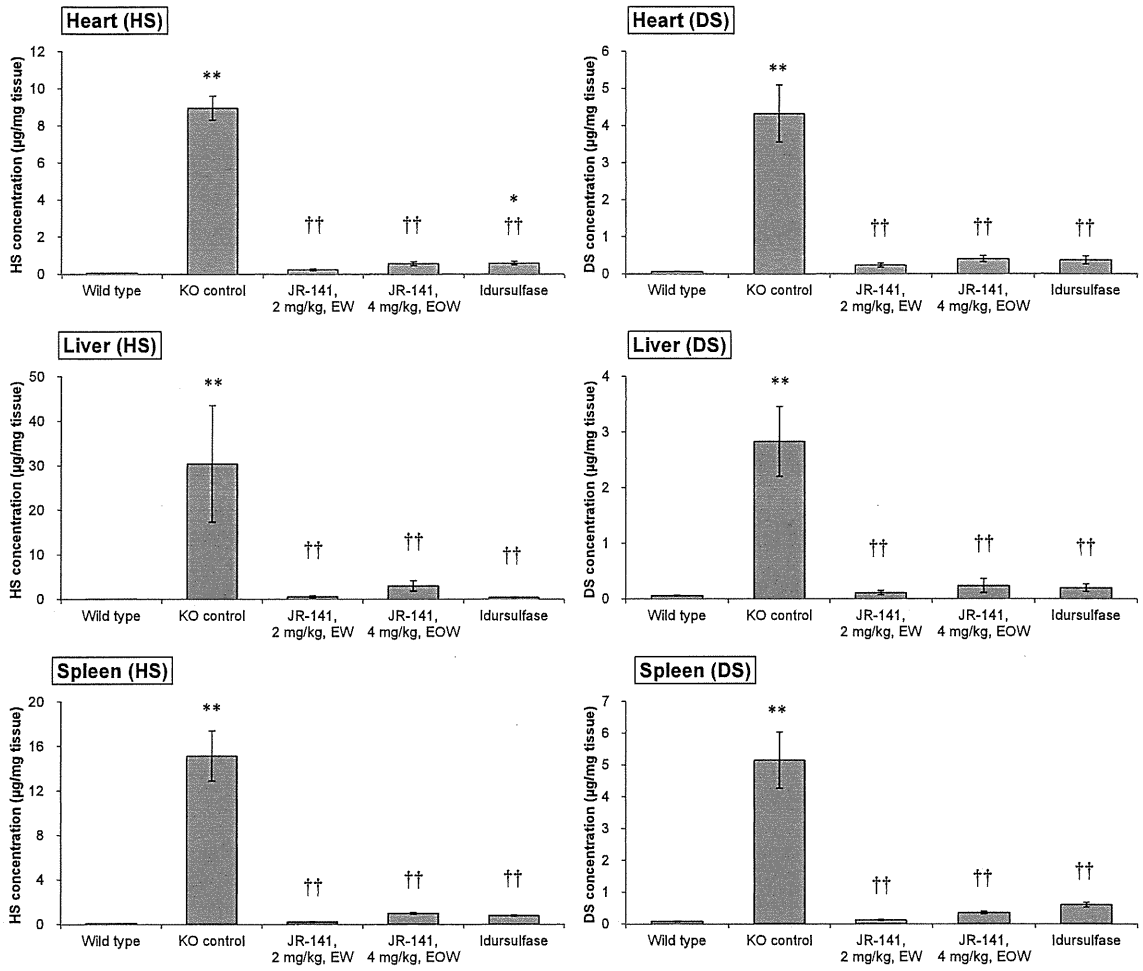



図 2.6.2-18 末梢組織中 HS 及び DS 濃度減少効果

平均値±標準偏差（n=4 又は 5）
Wild type: 正常対照群、KO control: 病態対照群、EW: every week（毎週投与群）、EOW: every other week（隔週投与群）、Idursulfase: イデュルスルファーゼ投与群
*: $p<0.05$、**: $p<0.01$ 正常対照群との比較
††: $p<0.01$ 病態対照群投与群との比較
（Tukey-kramer 検定）

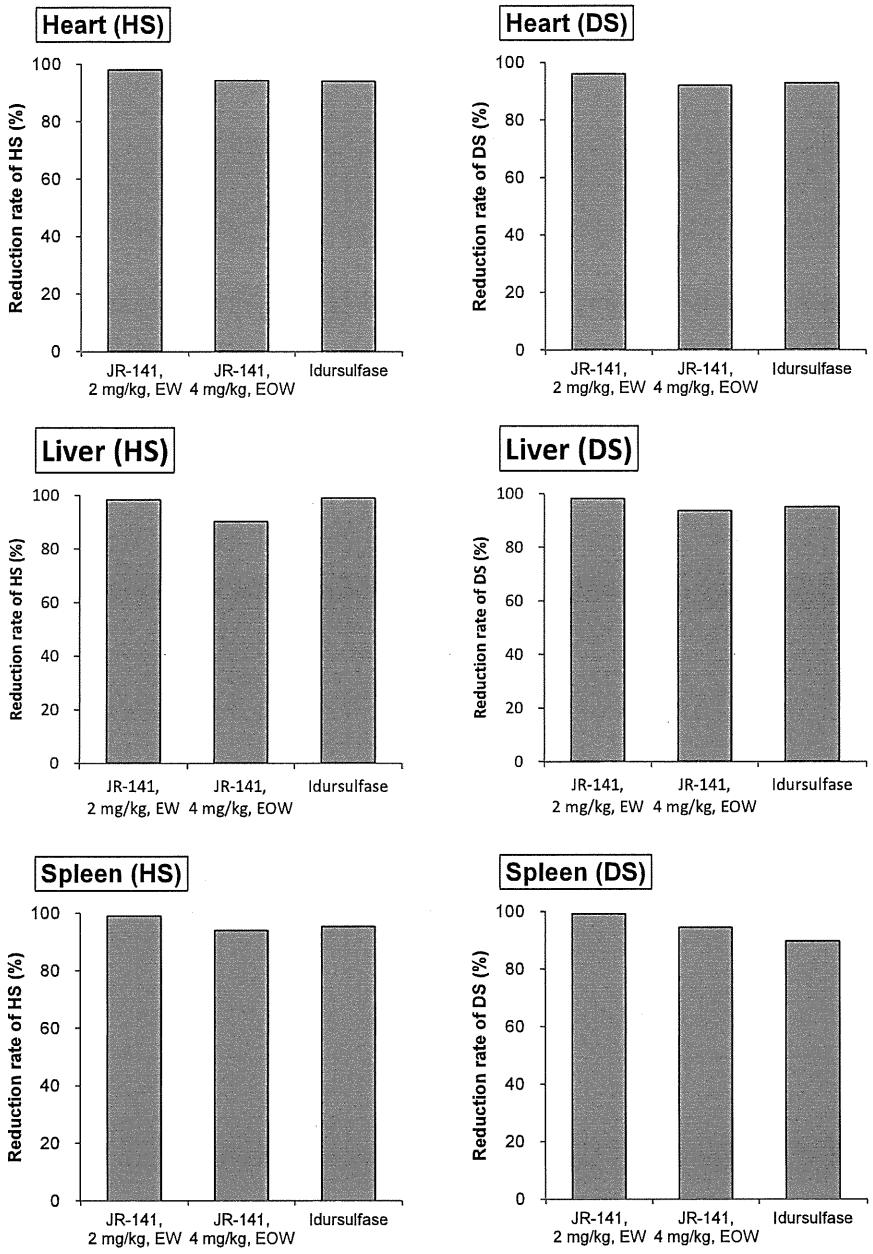



図 2.6.2-19 末梢組織中 HS 及び DS 濃度の減少率

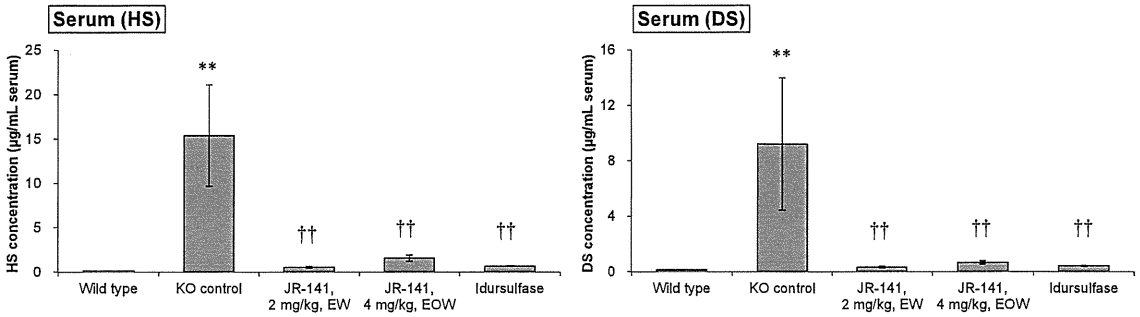



図 2.6.2-20 血清中 HS 及び DS 濃度の減少効果

平均値±標準偏差（n=4 又は 5）
Wild type: 正常対照群、KO control: 病態対照群、EW: every week（毎週投与群）、EOW: every other week（隔週投与群）、Idursulfase: イデュルスルファーゼ投与群
**: $p<0.01$ 正常対照群との比較
††: $p<0.01$ 病態対照群投与群との比較
（Tukey-kramer 検定）

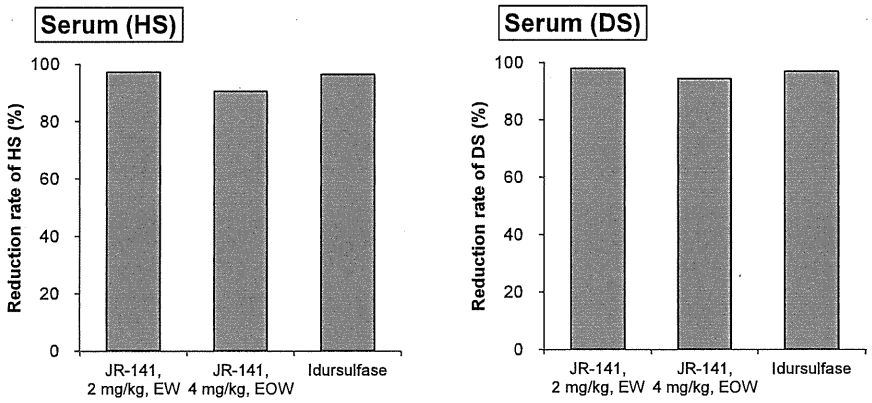



図 2.6.2-21 血清中 HS 及び DS 濃度減少率

## 表 2.6.2-3 病理組織学的検査結果

| Organ | Findings | Wild type | | | | | KO control | | | | | JR-141 2 mg/kg, EW | | | | | JR-141 4 mg/kg, EOW | | | | | Idursulfase | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | - | ± | + | ++ | +++ | - | ± | + | ++ | +++ | - | ± | + | ++ | +++ | - | ± | + | ++ | +++ | - | ± | + | ++ | +++ |
| Liver | Swelling, macrophage | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 3 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | Fatty change, centrilobular | 0 | 0 | 1 | 9 | 0 | 4 | 2 | 1 | 0 | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 | 0 | 3 | 2 | 1 | 4 | 0 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 |
| | Infiltration, mononuclear | 7 | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 3 | 0 | 2 | 0 | 6 | 2 | 1 | 1 | 0 | 4 | 3 | 1 | 2 | 0 | 4 | 0 | 1 | 2 | 0 |
| Spleen | Swelling, macrophage, red pulp | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Hematopoiesis, extramedullar, increased | 9 | 0 | 1 | 0 | 0 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Brain | Vacuolization, Purkinje cell, cerebellum | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 | 5 | 5 | 0 | 0 | 0 | 3 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 |
| | Deposition, eosinophilic material, medulla oblongata | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | Mineralization | 9 | 1 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 1 | 0 | 0 | 0 | 9 | 1 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Heart | Vacuolization, myocardium, atrium | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vacuolization, myocardium, ventricle | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 1 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Infiltration, foamy cell | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 5 | 1 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Infiltration, inflammatory cell | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 1 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Fibrosis | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 2 | 1 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Swelling, interstitial cell, aortic valve | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Swelling, interstitial cell, pulmonary valve | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 6 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Swelling, interstitial cell, tricuspid (right atrioventricular) valve | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 2 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Swelling, interstitial cell, mitral (left atrioventricular) valve | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 2 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |

n=10（病態対照群は n=8、イデュルスルファーゼ投与群は n=7）
Wild type: 正常対照群、KO control: 病態対照群、EW: every week（毎週投与群）、EOW: every other week（隔週投与群）、Idursulfase: イデュルスルファーゼ投与群
-：所見なし
±：軽微
+：軽度
++：中等度
+++：重度

### 2.6.2.3 副次的薬理試験

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。このため、JR-141 の TfR への結合により、Tf の TfR への結合が阻害され、鉄の細胞内取込が障害される可能性が考えられる。そこで、Tf の TfR 結合に及ぼす JR-141 の影響を確認した。また、JR-141 の抗体部分であるヒト化抗 hTfR mAb の Fc を介したエフェクター機能について、ADCC 及び CDC による TfR 発現細胞の傷害作用の有無を確認した。

#### 2.6.2.3.1 hTf の hTfR への結合に対する影響

添付資料 4.2.1.2.1

1) 試験材料及び試験方法

被験物質： JR-141（ロット番号：[redacted]）
抗 hTfR mAb（JR-141 で用いたヒト化抗 hTfR mAb の親抗体）
抗 hTfR pAb（陽性対照）
hIgG1（陰性対照）

過剰量の各被験物質共存下（100 nmol/L）又は非共存下における hTfR 細胞外ドメインと hTf（200 nmol/L）の相互作用を表面プラズモン共鳴法で解析した。なお、hTfR 細胞外ドメインは hTf 添加前に各被験物質を結合飽和させた状態とした。

2) 試験成績

JR-141、hIgG1、抗 hTfR mAb 又は抗 hTfR pAb の添加／非添加条件下における hTf の hTfR への結合レスポンスの差（相対結合レスポンス：RU）は、それぞれ 348.1±4.7、339.8±1.0、362.8±1.5 及び 133.9±0.5 であった（表 2.6.2-4 参照）。陰性対照である hIgG1 添加の相対結合レスポンスを 100%としたとき、JR-141、抗 hTfR mAb 又は抗 hTfR pAb（陽性対照）添加時の相対結合レスポンス比は、それぞれ 102%、107%及び 39.4%であった（表 2.6.2-4 参照）。

3) 結論

JR-141 及び抗 hTfR mAb が TfR に結合しても、内因性リガンドである Tf と TfR の結合は阻害されないことが示された。

**表 2.6.2-4 各被験物質添加条件下における hTf と hTfR 細胞外ドメインの結合**

| 被験物質 | 相対結合レスポンス(RU)[a)] | 相対結合レスポンス比 |
|---|---|---|
| hIgG1 (陰性対照) | 339.8±1.0 | 100% |
| JR-141 | 348.1±4.7 | 102% |
| 抗 hTfR mAb | 362.8±1.5 | 107% |
| 抗 hTfR pAb (陽性対照) | 133.9±0.5 | 39.4% |

a) 平均値±標準偏差（n=3）

#### 2.6.2.3.2 抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性

添付資料 4.2.1.2.2

1) 試験材料及び試験方法

被験物質： JR-141（ロット番号：[redacted]）
ヒト化抗 hTfR mAb#hu459（JR-141 の抗体部分）

ターゲット細胞： CCRF-CEM 細胞、K562 細胞、HEL92.1.7 細胞

ADCC 活性は ADCC Reporter Bioassays, Core Kit (Promega)を使用して評価した。96-well plate に

ターゲット細胞（hTfR 発現細胞）を $1\times10^4$ 個/well で播種し、JR-141（終濃度：0.0183～120 μg/mL）又はヒト化抗 hTfR mAb#hu459（終濃度：0.00914～60 μg/mL）を添加後、キット添付のエフェクター細胞を加えて 6 時間培養した。化学発光プレートリーダーによりルシフェラーゼ活性を測定し、その誘導倍率を指標として ADCC 活性を評価した。

2)　試験成績

JR-141 及びヒト化抗 TfR mAb#hu459 添加時のルシフェラーゼ誘導率は、CCRF-CEM 細胞でそれぞれ 1.0～1.2 倍及び 1.0～2.9 倍（図 2.6.2-22 参照）、K562 細胞でそれぞれ 1.0～1.2 倍及び 1.1～2.6 倍（図 2.6.2-23 参照）、また HEL92.1.7 細胞ではそれぞれ 1.0～1.2 倍及び 1.1～2.8 倍（図 2.6.2-24 参照）であった。

3)　結論

JR-141 及びヒト化抗 TfR mAb#hu459 は、試験に用いたターゲット細胞に対し、ADCC 活性を示さなかった。

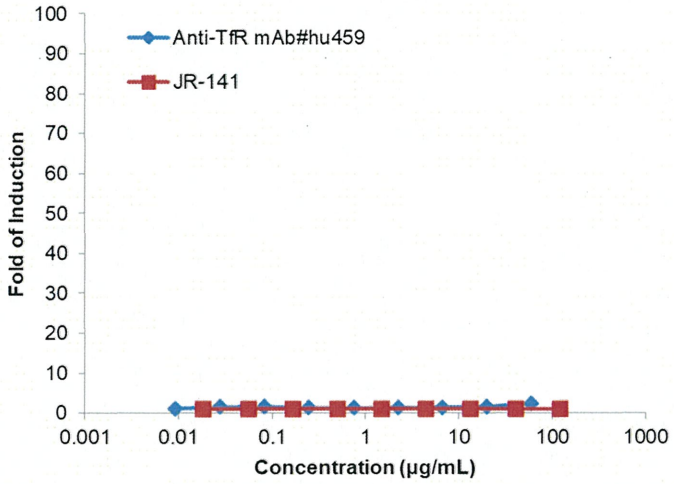



図 2.6.2-22　CCRF-CEM 細胞に対する ADCC 活性の評価

平均値（n = 3 wells × 3 plates）

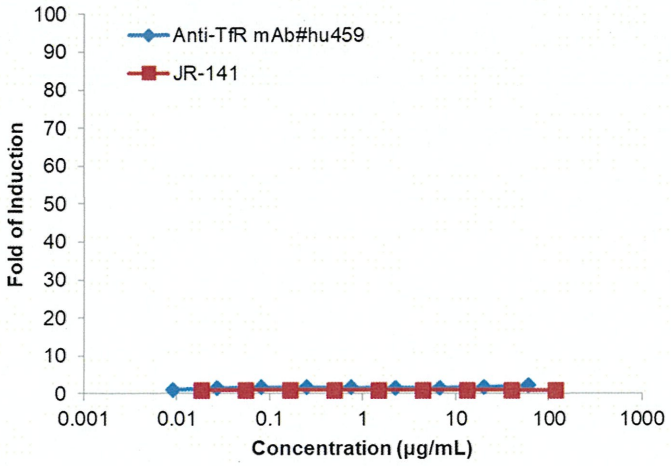



図 2.6.2-23 K562 細胞に対する ADCC 活性の評価

平均値（n = 3 wells × 3 plates）

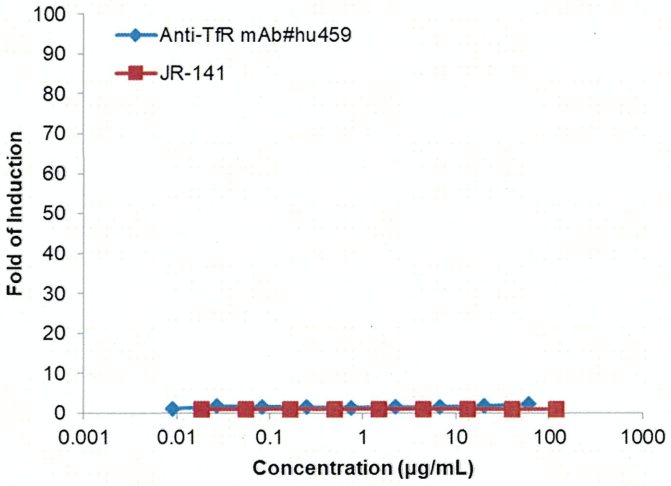



図 2.6.2-24 HEL92.1.7 細胞に対する ADCC 活性の評価

平均値（n = 3 wells × 3 plates）

### 2.6.2.3.3 補体依存性細胞傷害（CDC）活性

添付資料 4.2.1.2.3

1) 試験材料及び試験方法

被験物質： JR-141（ロット番号：[redacted]）

ヒト化抗 hTfR mAb#hu459（JR-141 の抗体部分）

ターゲット細胞： CCRF-CEM 細胞

96-well plate にターゲット細胞（hTfR 発現細胞）を $5\times10^4$ 個/well で播種し、JR-141（終濃度：0.0244～100 μg/mL）又はヒト化抗 TfR mAb#hu459（終濃度：0.0134～55.0 μg/mL）を添加後、終濃度 10%のヒト血清を加え、4 時間培養した。培養上清中のプロテアーゼ活性を指標として、細胞傷害活性を評価した。

2) 試験成績

JR-141 は CCRF-CEM 細胞（図 2.6.2-25 参照）に対してほとんど細胞傷害活性を示さなかった（細胞溶解率：0.4～2.3%）。一方、ヒト化抗 TfR mAb は 13.8 μg/mL で最大の細胞傷害活性を示し、細胞傷害率は 66.8%であった。

3) 結論

ヒト化抗 TfR mAb#hu459 は、添加濃度依存的にターゲット細胞（CCRF-CEM 細胞）を溶解したが、JR-141 では細胞溶解はほとんど認められなかった。本結果より、JR-141 においては、ヒト化抗 TfR mAb 重鎖 C 末端への hIDS の融合により、CDC 活性が失われたと考えられた。

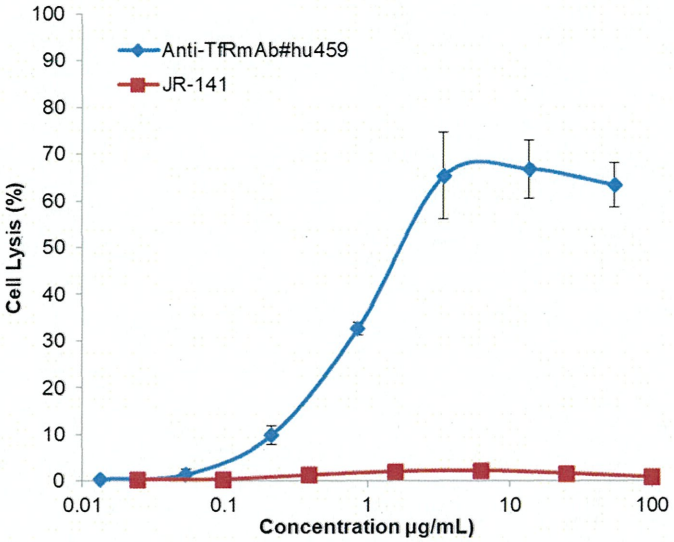



図 2.6.2-25 CCRF-CEM 細胞に対する CDC 活性の評価

平均値±標準偏差（n = 3 wells × 3 plates）

### 2.6.2.3.4 ヒト FcRn 結合親和性

添付資料 4.2.1.2.4

1) 試験材料及び試験方法

被験物質：JR-141（ロット番号：[redacted]）

ヒト化抗 hTfR mAb#hu459（JR-141 の抗体部分）

JR-141 又はヒト化抗 hTfR mAb#hu459 と FcRn 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、両被験物質の FcRn 結合親和性を評価した。

2) 試験成績

JR-141 及びヒト化抗 hTfR mAb#hu459 は FcRn に対する結合性を示し、$K_D$ はそれぞれ $1.80\times10^{-6}$ mol/L、$1.64\times10^{-6}$ mol/L であった（表 2.6.2-5 参照）。

3) 結論

JR-141 とヒト化抗 hTfR mAb#hu459 はいずれも FcRn に対する結合性を示し、両者の親和性に差はなかった。

表 2.6.2-5 FcRn に対する各被験物質の結合親和性

| 被験物質 | $K_D$ (mol/L) |
|---|---|
| JR-141 | $1.80\times10^{-6}$ |
| ヒト化抗 hTfR mAb#hu459 | $1.64\times10^{-6}$ |

### 2.6.2.4 安全性薬理試験

JR-141 の心血管系、呼吸系並びに中枢神経系に及ぼす影響については、「カニクイザルにおける 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験」(4.2.3.2.2 参照) において評価した。また、JR-141 の長期間反復投与による中枢神経系に及ぼす影響については「カニクイザルにおける 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験」(4.2.3.2.4 参照) において評価した。

#### 2.6.2.4.1 心血管系に及ぼす影響

添付資料 4.2.3.2.2

1) 試験方法

雌雄カニクイザルに媒体 (対照) 及び 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、馴化期間 (初回投与前 10 又は 9 日)、3 回目投与日及び回復期間 (最終投与後 17 日) にそれぞれ 3 回 (投与日の投与終了後 2、6 及び 24 時間相当時刻)、ホルター心電計 (体外ジャケット式テレメトリーシステム) にて心電図 (心拍数、PR 間隔、QRS 持続時間、QT 間隔及び Bazett 補正 QT 間隔) を、また、各検査日の投与終了後 2～6 時間相当時刻に血圧 (拡張期及び収縮期血圧) をそれぞれ測定した。

2) 試験成績

全ての投与群で、いずれの評価時点及び項目においても対照群と比較して有意な変化はなく、JR-141 の 30 mg/kg までの反復静脈内投与による心血管系への影響はみられなかった。

3) 結論

JR-141 の 30 mg/kg までの反復静脈内投与による心血管系への影響はないと考えられた。

#### 2.6.2.4.2 呼吸系に及ぼす影響

添付資料 4.2.3.2.2

1) 試験方法

雌雄カニクイザルに媒体 (対照) 及び 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、馴化期間 (初回投与前 10 又は 9 日)、3 回目投与日及び回復期間 (最終投与後 17 日) の投与終了後 2～6 時間、もしくはその相当時刻に呼吸数に及ぼす影響を評価した。

また、馴化期間 (初回投与前 7 又は 6 日)、2 回目投与日 (投与終了後 2 及び 4 時間) 及び回復期間 (最終投与後 29 日) に動脈血を採血し、血液ガス分圧 ($PaO_2$、$PaCO_2$、pH 及びヘモグロビン酸素飽和度) を分析した。

2) 試験成績

全ての投与群で、いずれの評価時点及び項目においても対照群と比較して有意な変化はなく、JR-141 の 30 mg/kg までの反復静脈内投与による呼吸系への影響はみられなかった。

3) 結論

JR-141 の 30 mg/kg までの反復静脈内投与による呼吸系への影響はないと考えられた。

#### 2.6.2.4.3 中枢神経系に及ぼす影響

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

添付資料 4.2.3.2.2

1) 試験方法

雌雄カニクイザルに媒体（対照）及び 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、馴化期間（初回投与前 4 日）、4 回目投与日及び回復期間（最終投与後 22 日）の投与終了後 2 時間、もしくはその相当時刻に FOB により、一般症状、運動量、行動、感覚／運動反射反応及び外部刺激への反応に及ぼす影響を評価した。また、直腸温は「心血管系に及ぼす影響（2.6.2.4.1 参照）」における各検査日の投与終了後 2～6 時間相当時刻に、電子体温計を用いて無麻酔下で評価した。

2) 試験成績

全ての投与群で、いずれの評価時点及び項目においても対照群と比較して有意な変化はなく、JR-141 の 30 mg/kg までの反復静脈内投与による一般症状、運動量、行動、感覚／運動反射反応及び外部刺激への反応、並びに体温に対する影響はみられなかった。

3) 結論

JR-141 の 30 mg/kg までの反復静脈内投与による中枢神経系への影響はないと考えられた。

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

添付資料 4.2.3.2.4

1) 試験方法

雌雄カニクイザルに媒体（対照）及び 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、馴化期間（初回投与前 18 日）、25 回目投与時及び回復期間（最終投与後 51 日）の投与終了後 2 時間、もしくはその相当時刻に FOB により、一般症状、運動量、行動、感覚／運動反射反応及び外部刺激への反応に及ぼす影響を評価した。

2) 試験成績

全ての投与群で、全評価時点及び項目において対照群と比較して有意な変化はなく、JR-141 の 30 mg/kg までの反復静脈内投与による一般症状、運動量、行動、感覚／運動反射反応及び外部刺激への反応に対する影響はみられなかった。

3) 結論

JR-141 の 30 mg/kg までの 26 週間反復静脈内投与による中枢神経系への影響はないと考えられた。

### 2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当試験なし。

### 2.6.2.6 考察及び結論

#### 2.6.2.6.1 全身症状に対する効果

JR-141 は、M6PR 及び hTfR に対する結合親和性を有し、両受容体を介して正常ヒト線維芽細胞内へ取り込まれたことから、細胞内への取込みには、M6PR を介した取込み機構に加え、TfR を

介した機構も寄与すると考えられる。ムコ多糖症 II 型のモデル動物である 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、JR-141 投与群では、心臓、肝臓、脾臓の HS 及び DS 濃度の減少が認められた。その効果は、1 mg/kg 以上の用量で、イデュルスルファーゼの臨床用量である 0.5 mg/kg 投与群と同等以上であった。また、病態対照群で認められた肝臓湿重量の増加は、JR-141 投与群、イデュルスルファーゼ投与群ともに有意に抑制された。同マウスに JR-141 を 36 週間静脈内反復投与した試験では、12 週間反復投与試験と同様に、末梢組織中の HS 及び DS 濃度の減少効果が確認され、さらにムコ多糖症 II 型の病態に起因する末梢組織の細胞腫大や空胞化等の病理組織学的変化に対し、抑制効果が認められた。これらの結果より、JR-141 は、病態モデルマウスでの末梢組織に対する薬効が認められることから、臨床における全身症状への効果が期待される。

#### 2.6.2.6.2 TfR を介した BBB 通過の想定機序

JR-141 は hTfR に対する結合親和性を有することから、静脈内投与された際に、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 に結合し、以下に説明するように、受容体介在性トランスサイトーシスのメカニズムで脳実質へ移行すると推定している。

TfR に結合した JR-141 は、Tf 輸送に相乗りして、通常の受容体結合タンパク質と同様にエンドサイトーシス機構で細胞内に取り込まれると考えられる。すなわち、細胞膜から生じた小胞中に取り込まれて初期エンドソームに入り、後期エンドソームに送られる。エンドソーム内では pH が低下するので、JR-141 の一部は TfR から解離する可能性がある。また、後期エンドソーム内部の小胞では輸送された膜タンパク質の分解が生じることから、TfR の細胞外領域の分解（shedding）、または本薬の IgG 領域の消化が起こって、この段階で本薬または本薬の酵素部分が受容体から遊離する可能性もある。遊離した本薬の少なくとも一部は、その後、エクソサイトーシス経路によって反管腔側に放出され（トランスサイトーシス機構）、さらに基底膜を通過して脳実質側の神経細胞へ運搬されると考えている。

TfR を介した Tf の輸送は双方向性であるため、一旦反管腔側に輸送された JR-141 が再度 TfR に結合して逆行性のトランスサイトーシスによって血中に戻されることも考えられる。しかし、本薬の IgG 領域が消化されていれば TfR に結合できないことと、shedding された TfR に結合したまま遊離した本薬は立体的に TfR と結合することが困難なことから、インタクトな状態で遊離した JR-141 の一部が再度 TfR に結合したとしても、逆行性に輸送される割合は大きくないと思われる。

また、JR-141 が 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、受容体のリサイクリング機構へ影響する可能性については以下のように考えている。脳毛細血管内皮細胞における TfR の挙動に関しては、リサイクリング機構とトランスサイトーシス機構のどちらが優位なのかを明らかにした報告はなく、一部の TfR は本薬が結合したままリサイクリングされている可能性がある。しかしながら、小胞輸送の制御部位は膜タンパク質の細胞質内ドメインであるため、細胞外領域に結合している本薬がリサイクリング機構に影響している可能性は低いと考えられる。カニクイザルを用いた毒性試験において、赤血球パラメータ及び鉄代謝関連のパラメータに毒性学的に重要と考えられる変化はなかったこと（2.6.6.3 参照）から、リサイクリング機構に影響があったとしてもごく軽微であると判断している。

なお、JR-141 が通過する可能性のある生体内の関門組織は、血液脳関門以外に、網膜、精巣、

胸腺、脳脊髄液、胆汁及び胎盤等の臓器及び生体液と、血液の間に存在することが知られている。このうち、胎盤通過性については、「カニクイザルにおける胎盤通過性試験（2.6.4.4.8 参照）」において否定されている。その他の関門組織については、静脈内投与された JR-141 が実質側に移行する可能性はあるが、各毒性試験において安全性上懸念される所見は得られていないことから（2.6.6 参照）、毒性学的リスクを伴う影響はないと考える。

#### 2.6.2.6.3 中枢神経系に対する効果

ムコ多糖症 II 型のモデル動物である 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。

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（脳と CSF）中基質濃度の著明な減少が認められ、脳組織の病理組織学的異常に対する抑制効果が示された。さらに、モリス水迷路試験において、病態モデルマウスで観察された学習能力の低下が、JR-141 の投与によって抑制された。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。これらの事実は、JR-141 が末梢組織で薬効を発揮するだけではなく、中枢神経系に到達して、蓄積した基質を分解することによって神経変性を抑制し、結果的に神経症状の発症又は進展を抑制したことを示唆している。

#### 2.6.2.6.4 中枢神経症状発症の誘因とその改善について

神経細胞のライソゾーム内に病的に蓄積した基質は、ライソゾームの増大と機能不全を引き起こし、本来、分解・排除されるべきタンパク質等が残存することや、破綻したライソゾームから種々の酵素が漏出することによって正常な細胞機能を阻害し細胞死を招く。しかしながら、神経変性はこのような単純な原因で生じるだけでなく、軸索輸送の変化、オートファジー経路の異常、カルシウム蓄積や小胞体機能の変質など、神経細胞に生じる二次的な変化と関連する現象であるとも考えられる[6),7)]。また、ライソゾーム病の臨床像は多岐に渡り、ムコ多糖症に限っても多様な症状を呈することから、各病型特有の病態形成機構が存在することが推定される。実際に、ムコ多糖症では、病型によって蓄積する基質が異なり、HS が蓄積する I 型、II 型、III 型及び VII 型でのみ中枢神経症状が認められる[8)]。このことは、蓄積するムコ多糖類の中でも、特に HS が中枢神経症状発症において中心的な役割を演じていることを示唆している。

HS は結合組織や細胞膜に多く存在し、シグナル伝達や、成長因子、サイトカイン類の分布など様々な生理反応に関与している。例えば、Wnt シグナルの異常は神経疾患に関与していると考えられているが[9)]、HS は Wnt の co-receptor として機能していることが示唆されている[10)]。また、HS 鎖を伸長させる酵素である EXT1 の遺伝子異常が脳の形態形成異常を引き起こし[11)]、精神発達遅滞の原因となる可能性が示唆されている[12)]。さらに、HS の硫酸基を修飾する酵素である NDST1 の遺伝子変異によって、知的障害が生じることが報告されている[13)]。これらの知見は、HS 代謝の異常が神経細胞におけるシグナル伝達を障害し、その結果、中枢神経症状を引き起こす可能性を

示唆している。

また、HS が蓄積すると、二次的にガングリオシドの蓄積を招くことが知られており[14]、ある種のムコ多糖症モデルマウスの脳ではガングリオシドが異常蓄積する[15]。ガングリオシドは、発生過程で樹状突起の形成に影響するため、その異常蓄積はシナプスの機能異常を引き起こす可能性がある。実際に、GM2 ガングリオシドの蓄積は、テイサックス病やサンドホフ病患者の神経細胞死を誘引することが示唆されている[16]。さらに、HS の蓄積に伴って、タウタンパク質の異常リン酸化が生じることが、ムコ多糖症 IIIB 型モデルマウスで報告されている[17]。このように、HS の蓄積は、脳内で種々の生物反応に間接的に影響を及ぼす結果、中枢神経障害を誘発している可能性がある。

HS の蓄積と中枢神経症状の関係は、ムコ多糖症 II 型患者においても示されており、知的障害のある患者では、知的障害のない患者と比較して、CSF 中の HS 濃度が高いことが報告されている[18),19)]。また、JR-141 の第 I/II 相試験[20)]においても、投与前の CSF 中 HS 濃度は、知的障害のある患者で高かった（知的障害あり：5895±1260 ng/mL、n=6、知的障害なし：3632±809 ng/mL、n=5）。さらに、第 II/III 相試験（2.5.4.3.2.1.1 参照）においても同様の結果が得られている（知的障害を伴う重症型：6716±2658.7 ng/mL、n=20、知的障害が軽度もしくは知的障害を伴わない軽症型：4207.5±1098.1 ng/mL、n=8）。これらの結果は、中枢神経症状発症における HS の役割の重要性を支持すると同時に、CSF 中の HS がムコ多糖症 II 型を含むムコ多糖症の中枢神経症状を反映するバイオマーカーとなる可能性を示している。ムコ多糖症 II 型モデルマウスを用いた 12 週間及び 36 週間静脈内反復投与試験において、CSF 中 HS 濃度は血清中 HS 濃度とは相関しないが、脳中 HS 濃度と良く相関すること（図 2.6.2-26 参照）、及び CFS 中 HS 濃度が減少した個体でのみ学習能力の低下が抑制された事実（2.6.2.2.5 参照）も、病態と治療効果を反映するバイオマーカーとしての CSF 中 HS の意義を裏付ける結果であると考えられる。なお、JR-141 の第 I/II 相試験及び第 II/III 相試験（2.5.4 参照）では、全ての被験者で CSF 中 HS 濃度の低下が認められており、JR-141 はヒトにおいても、中枢神経系に到達して、蓄積した基質を分解することによって神経細胞の変性を抑止又は改善し、中枢神経症状の発症又は進展を抑制する効果が期待される。

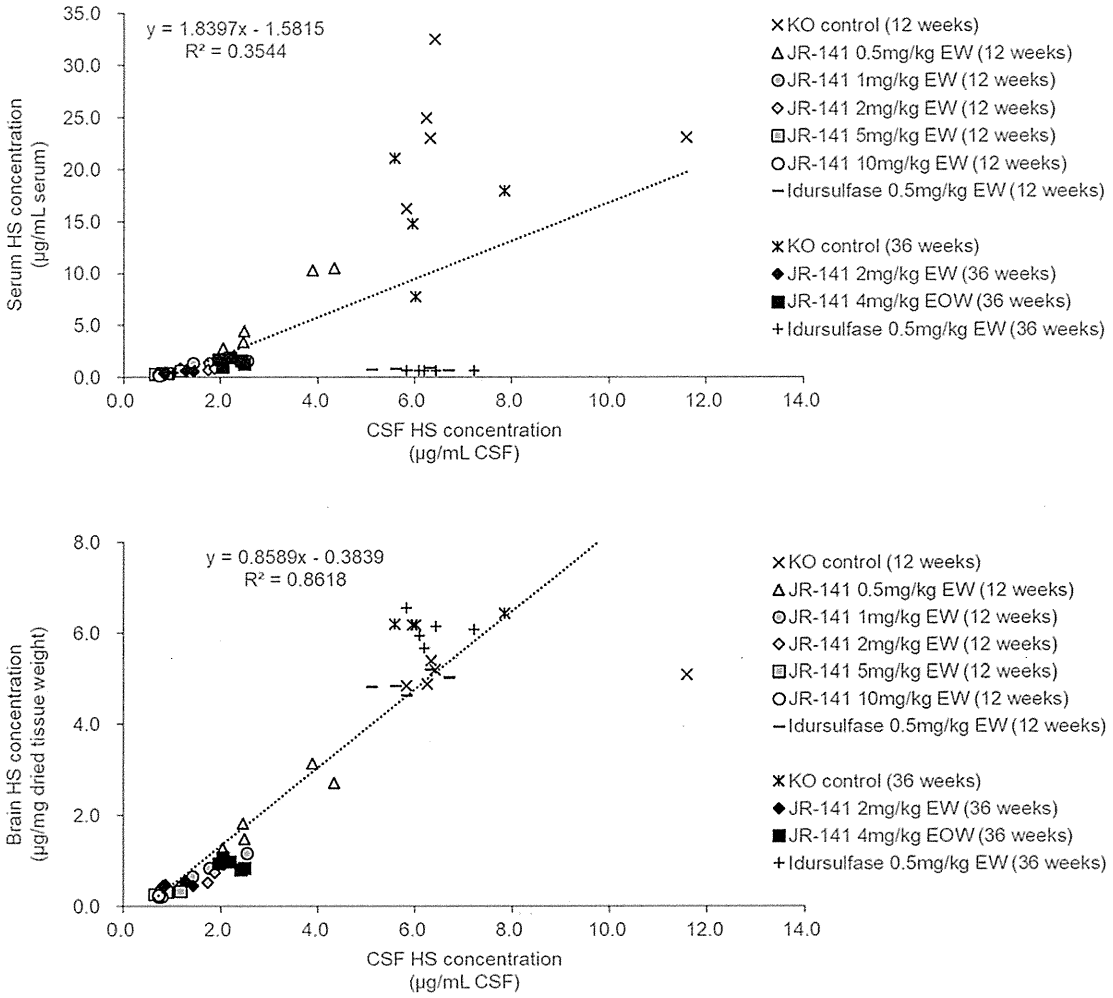



図 2.6.2-26 血清中又は脳中 HS 濃度と CSF 中 HS 濃度との相関

### 2.6.2.6.5 安全性について

安全性の観点からは、JR-141 の抗体 Fc 領域を介した ADCC/CDC 活性による細胞傷害性や、Tf を介した鉄の輸送阻害に関連した重大な副作用、生命維持に重要な心血管系、呼吸系及び中枢神経系機能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。なお、抗薬物抗体産生に起因すると考えられる IAR の発生については、動物試験成績からヒトでの安全性リスクを予見することは困難であると考えられることから、臨床において注意深く観察し、評価することが重要と考えられる。

### 2.6.2.6.6 結論

各薬理試験成績より、ムコ多糖症 II 型患者において、JR-141 を週 1 回静脈内投与することにより、中枢神経系障害の発症又は進展を抑制する効果が期待され、全身症状に対してはイデュルスルファーゼと同等の効果が得られると考えられる。

### 2.6.2.7 図表

図表は本文中の適切な箇所に記載した。

### 2.6.2.8 参考文献


1) Jones AR, Shusta EV. Blood-brain barrier transport of therapeutics via receptor-mediation. Pharm Res. 2007; 24(9): 1759-71.

2) 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.

3) 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.

4) JCR001 Completion Report, [redacted]

5) 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.

6) Bellettato CM, Scarpa M. Pathophysiology of neuropathic lysosomal storage disorders. J Inherit Metab Dis. 2010; 33(4): 347-62.

7) Sato Y, Okuyama T. Novel enzyme replacement therapies for neuropathic mucopolysaccharidoses. Int J Mol Sci. 2020, 21(2). pii: E400.

8) Bigger BW, Begley DJ, Virgintino D, Pshezhetsky AV. Anatomical changes and pathophysiology of the brain in mucopolysaccharidosis disorders. Mol Genet Metab. 2018; 125(4): 322-31.

9) Miyaoka T, Seno H, Ishino H. Increased expression of Wnt-1 in schizophrenic brains. Schizophr Res. 1999; 38(1): 1-6.

10) Lin X. Functions of heparan sulfate proteoglycans in cell signaling during development. Development. 2004; 131(24): 6009-21.

11) Inatani M, Irie F, Plump AS, Tessier-Lavigne M, Yamaguchi Y. Mammalian brain morphogenesis and midline axon guidance require heparan sulfate. Science. 2003; 302(5647): 1044-6.

12) Wuyts W, Roland D, Lüdecke HJ, Wauters J, Foulon M, Van Hul W, et al. Multiple exostoses, mental retardation, hypertrichosis, and brain abnormalities in a boy with a de novo 8q2 submicroscopic interstitial deletion. Am J Med Genet. 2002; 113(4): 326-32.

13) Reuter MS, Musante L, Hu H, Diederich S, Sticht H, Ekici AB, et al. NDST1 missense mutations in autosomal recessive intellectual disability. Am J Med Genet A. 2014; 164A(11): 2753-63.

14) McGlynn R, Dobrenis K, Walkley SU. Differential subcellular localization of cholesterol, gangliosides, and glycosaminoglycans in murine models of mucopolysaccharide storage disorders. J Comp Neurol. 2004; 480(4): 415-26.

15) Constantopoulos G, Iqbal K, Dekaban AS. Mucopolysaccharidosis types IH, IS, II, and IIIA: glycosaminoglycans and lipids of isolated brain cells and other fractions from autopsied tissues. J Neurochem. 1980; 34(6): 1399-411.

16) Huang JQ, Trasler JM, Igdoura S, Michaud J, Hanai N, Gravel RA. Apoptotic cell death in mouse models of GM2 gangliosidosis and observations on human Tay-Sachs and Sandhoff diseases. Hum Mol Genet. 1997; 6(11): 1879-85.

17) Ohmi K, Kudo LC, Ryazantsev S, Zhao HZ, Karsten SL, Neufeld EF. Sanfilippo syndrome type B, a lysosomal storage disease, is also a tauopathy. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009; 106(20): 8332-7.

18) Hendriksz CJ, Muenzer J, Vanderver A, Davis JM, Burton BK, Mendelsohn NJ, et al. Levels of glycosaminoglycans in the cerebrospinal fluid of healthy young adults, surrogate-normal children, and Hunter syndrome patients with and without cognitive impairment. Mol Genet Metab Rep. 2015; 5: 103-106.

19) Hendriksz CJ, Muenzer J, Burton BK, Pan L, Wang N, Naimy H, et al. A cerebrospinal fluid collection study in pediatric and adult patients with Hunter syndrome. J Inborn Errors Mtab Screen. DOI: 10.1177/2326409815595821

20) Okuyama T, Eto Y, Sakai N, Minami K, Yamamoto T, Sonoda H, et al. Iduronate-2-Sulfatase with

Anti-human Transferrin Receptor Antibody for Neuropathic Mucopolysaccharidosis II: A Phase 1/2 Trial. Mol Ther. 2019; 27(2): 456-64.

# 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
2.6.3.2.1 TfR に対する結合親和性試験 ..... 4
2.6.3.2.2 M6P 受容体に対する結合親和性試験 ..... 5
2.6.3.2.3 正常ヒト線維芽細胞における細胞内取込み試験 ..... 5
2.6.3.2.4 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 ..... 6
2.6.3.2.5 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 ..... 7
2.6.3.3 副次的薬理試験 ..... 8
2.6.3.3.1 hTf の hTfR への結合に対する影響 ..... 8
2.6.3.3.2 抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性試験 ..... 8
2.6.3.3.3 補体依存性細胞傷害（CDC）活性試験 ..... 9
2.6.3.3.4 ヒト FcRn 結合親和性試験 ..... 9
2.6.3.4 安全性薬理試験 ..... 10
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 ..... 10

## 用語の定義

| 用語 | 定義・解説 |
|---|---|
| ADCC | 抗体依存性細胞傷害（antibody-dependent cellular cytotoxicity） |
| CCRF-CEM | ヒト急性Tリンパ球性白血病由来細胞株（Human acute lymphocytic leukemia cell line） |
| CDC | 補体依存性細胞傷害（complement-dependent cytotoxicity） |
| CSF | 脳脊髄液（cerebrospinal fluid） |
| FcRn | 胎児性Fc受容体（neonatal Fc receptor） |
| GAG | グリコサミノグリカン（glycosaminoglycan） |
| HEL92.1.7 | ヒト赤芽球性白血病由来細胞株（human erythroleukemia cell line） |
| hIgG1 | ヒト免疫グロブリンG1（human immunoglobulin G1） |
| hTf | ヒトトランスフェリン（human transferrin） |
| 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 |
| 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） |
| K562 | ヒト慢性骨髄性白血病由来細胞株（human myelogenous leukemia cell line） |
| $K_D$ | 解離定数（dissociation constant） |
| KI | ノックイン（knock in） |
| KO | ノックアウト（knock out） |
| $k_{off}$ | 解離速度定数（dissociation rate constant） |
| $k_{on}$ | 結合速度定数（association rate constant） |
| M6P | マンノース-6-リン酸（mannose-6-phosphate） |
| mAb | モノクローナル抗体（monoclonal antibody） |
| pAb | ポリクローナル抗体（polyclonal antibody） |
| 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 |
| RU | レゾナンスユニット（resonance unit） |
| TfR | トランスフェリン受容体1（transferrin receptor 1） |

## 2.6.3 薬理試験概要表

### 2.6.3.1 薬理試験：一覧表

被験物質：JR-141

| Type of Study | Test System/Species and Strain | Route of Administration | Test Facility | Study Number | Described Location in CTD |
|---|---|---|---|---|---|
| Binding affinity against TfR | Biolayer interferometry | *in vitro* | JCR[a)] | [redacted] | 4.2.1.1.1<br>4.2.1.1.2<br>(参考資料)<br>4.2.1.1.3 |
| Binding affinity against M6P receptor | Surface plasmon resonance | *in vitro* | JCR[a)] | [redacted] | 4.2.1.1.4 |
| Cellular uptake | Normal human fibroblasts | *in vitro* | JCR[a)] | [redacted] | 4.2.1.1.5 |
| 12-week repeated dose efficacy study | hTfR KI/Ids KO mouse | Intravenous | [redacted][b)]<br>[redacted][c)] | [redacted] | 4.2.1.1.6 |
| 36-week repeated dose efficacy study | hTfR KI/Ids KO mouse | Intravenous | JCR[a)]<br>[redacted][c)]<br>[redacted][b)] | [redacted] | 4.2.1.1.7 |
| Effect on transferrin-transferrin receptor binding | Surface plasmon resonance | *in vitro* | JCR[a)] | [redacted] | 4.2.1.2.1 |
| Antibody-dependent cellular cytotoxicity | CCRF-CEM, K562, HEL92.1.7 | *in vitro* | JCR[a)] | [redacted] | 4.2.1.2.2 |
| Complement-dependent cytotoxicity | CCRF-CEM | *in vitro* | JCR[a)] | [redacted] | 4.2.1.2.3 |
| Binding affinity against FcRn | Surface plasmon resonance | *in vitro* | JCR[a)] | [redacted] | 4.2.1.2.4 |
| 4-week repeated dose toxicity study | Cynomolgus monkey | Intravenous | [redacted][c)] | [redacted] | 4.2.3.2.2 |
| 26-week repeated dose toxicity study | Cynomolgus monkey | Intravenous | [redacted][c)] | [redacted] | 4.2.3.2.4 |

a) JCR Pharamceuticals Co., Ltd.
b) [redacted]
c) [redacted]

## 2.6.3.2 効力を裏付ける試験

### 2.6.3.2.1 TfR に対する結合親和性試験

報告書の題名：

JR-141 原薬（ロット番号 [redacted]）の品質試験

Kinetic Analysis of Binding Interaction between JR-141 and Cynomolgus Monkey Transferrin Receptor

Kinetic Analysis of Binding Interaction between RP-2703 and Human/Cynomolgus Monkey Transferrin Receptor

被験物質：JR-141, RP-2703

試験系： バイオレイヤー干渉法

試験番号：[redacted], [redacted], [redacted]

投与方法： *in vitro*

CTD における記載箇所：4.2.1.1.1, 4.2.1.1.2（参考資料）, 4.2.1.1.3

| Test Article | Lot Number | Origin of TfR | Result | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | $k_{on}$ (1/Ms) | $k_{off}$ (1/s) | $K_D$ (M) |
| JR-141[a)] | [redacted] | Human | $8.23\times10^{5}$ | $1.01\times10^{-4}$ | $1.22\times10^{-10}$ |
| | | Cynomolgus monkey | $3.76\times10^{5}$ | $3.26\times10^{-4}$ | $8.65\times10^{-10}$ |
| RP-2703[b)] | [redacted] | Human | $9.30\times10^{5}$ | $4.35\times10^{-5}$ | $4.68\times10^{-11}$ |
| | | Cynomolgus monkey | $5.19\times10^{5}$ | $2.03\times10^{-5}$ | $3.91\times10^{-11}$ |

a) Mean of three independent experiments

b) 1 試行の値

### 2.6.3.2.2 M6P 受容体に対する結合親和性試験

報告書の題名： Kinetic Analysis of Binding Interaction between JR-141/RP-2702 and Mannose 6-phosphate Receptor

被験物質： JR-141

試験系： 表面プラズモン共鳴法

試験番号： [redacted]

投与方法： *in vitro*

CTD における記載箇所： 4.2.1.1.4

| Test Article | Lot Number | Result |
|---|---|---|
| | | $K_D$ (M) |
| JR-141 | [redacted] | $9.22\times10^{-9}$ |
| Idursulfase | [redacted] | $4.08\times10^{-9}$ |

### 2.6.3.2.3 正常ヒト線維芽細胞における細胞内取込み試験

報告書の題名： Cell uptake assay of JR-141 in normal human fibroblasts

被験物質： JR-141

試験系： 正常ヒト線維芽細胞

試験番号： [redacted]

投与方法： *in vitro*

CTD における記載箇所： 4.2.1.1.5

| Test Article | Lot Number | Concentration (nmol/L) | Noteworthy Findings |
|---|---|---|---|
| JR-141 | [redacted] | 0.2~200<br>(Common ratio: 10) | - JR-141 was dose-dependently incorporated into the cells.<br>- Addition of M6P (10 nmol/L) to the culture inhibited the cellular uptake.<br>- Addition of humanized anti-hTfR mAb#459 (400 μg/mL) to the culture inhibited the cellular uptake.<br>- Inhibitory effect of combination of M6P and humanized anti-hTfR mAb#459 was much greater than that of either alone. |

### 2.6.3.2.4 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

報告書の題名：Effects of 12-Week Repeated Intravenous Administration of JR-141 on Glycosaminoglycan Concentrations in the Urine, Tissues and Cerebrospinal Fluid in Human Transferrin-receptor Knock-in/Iduronate-2-sulfatase Gene Knock-out Mice

被験物質： JR-141

試験系： hTfR KI/Ids KO マウス

試験番号： [redacted]

投与方法： 静脈内

CTD における記載箇所： 4.2.1.1.6

| Test Article | Lot Number | Dose and Route of Administration | Frequency and Duration of Dosing | Noteworthy Findings |
|---|---|---|---|---|
| JR-141 | [redacted] | 0.5, 1, 2, 5, 10 mg/kg Intravenous | Once every week for 12 weeks | - JR-141 dose-dependently decreased GAG concentration in the CSF, brain, peripheral tissues, serum, and urine.<br>- GAG decreasing effect of 1 and 2 mg/kg of JR-141 was equivalent to that of 0.5 mg/kg idursulfase. |
| Idursulfase | [redacted] | 0.5 mg/kg Intravenous | Once every week for 12 weeks | - Idursulfase decreased GAG concentration in the peripheral tissues, serum, and urine, but not in the CSF and brain. |

## 2.6.3.2.5 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

報告書の題名：Effects of JR-141 on Glycosaminoglycan Concentrations, Central Nervous System Disorder and Pathological Changes by 36-Week Repeated Intravenous Administration in Human Transferrin-receptor Knock-in/Iduronate-2-sulfatase Gene Knock-out Mice

被験物質： JR-141

試験系： hTfR KI/Ids KO マウス

試験番号： [redacted]

投与方法： 静脈内

CTD における記載箇所： 4.2.1.1.7

| Test Article | Lot Number | Dose and Route of Administration | Frequency and Duration of Dosing | Noteworthy Findings |
|---|---|---|---|---|
| JR-141 | [redacted] | 2 or 4 mg/kg<br>Intravenous | Once every week (2 mg/kg) or once every other week (4 mg/kg) for 36 weeks | - JR-141 decreased GAG concentration in the CSF, brain, peripheral tissues, and serum.<br>- JR-141 suppressed histopathological abnormalities observed in the disease control mice.<br>- JR-141 suppressed reduction of learning ability.<br>- JR-141 decreased substrate concentration in the peripheral tissues at the level similar to idursulfase. |
| Idursulfase | [redacted] | 0.5 mg/kg<br>Intravenous | Once every week for 36 weeks | - Idursulfase decreased substrate concentration in the peripheral tissues, and serum.<br>- Idursulfase did not decrease substrate concentration in the CSF and brain.<br>- Idursulfase did not exert any effects on histopathological abnormalities in the brain and reduction of learning ability. |

## 2.6.3.3 副次的薬理試験

### 2.6.3.3.1 hTf の hTfR への結合に対する影響

報告書の題名： Evaluation of Inhibitory Effect of JR-141 on Transferrin/Transferrin Receptor Binding　被験物質： JR-141

試験系： 表面プラズモン共鳴法　試験番号： [redacted]

投与方法： *in vitro*　CTD における記載箇所： 4.2.1.2.1

| Test Article | Lot Number | Concentration (nmol/L) | hTf concentration (nmol/L) | Result | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Relative binding response (RU)[a] | Ratio |
| hIgG1 (negative control) | | 100 | 200 | 339.8±1.0 | 100% |
| JR-141 | [redacted] | 100 | | 348.1±4.7 | 102% |
| Anti-hTfR mAb#459hu (parent antibody of humanized anti-hTfRmAb used in JR-141) | | 100 | | 362.8±1.5 | 107% |
| Anti-hTfR pAb (positive control) | | 100 | | 133.9±0.5 | 39.4% |

a) Mean ± S.D. of three independent experiments

### 2.6.3.3.2 抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性試験

報告書の題名： Evaluation of Antibody-dependent Cellular Cytotoxicity of JR-141　被験物質： JR-141

試験系： CCRF-CEM, K562, HEL92.1.7（ターゲット細胞）　試験番号： [redacted]

投与方法： *in vitro*　CTD における記載箇所： 4.2.1.2.2

| Test Article | Lot Number | Concentration (μg/mL) | Result[a] | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | CCRF-CEM | K562 | HEL92.1.7 |
| JR-141 | [redacted] | 0.0183~120 (common ratio: 3) | 1.1~1.2 | 1.0~1.2 | 1.0~1.2 |
| Anti-hTfR mAb#hu459 (parent antibody of humanized anti-hTfRmAb used in JR-141) | | 0.00914~60 (common ratio: 3) | 1.0~2.9 | 1.0~2.6 | 1.1~2.8 |

a) Induction ratio (folds) to the luciferase activity of the effector cells in the absence of the target cells

### 2.6.3.3.3 補体依存性細胞傷害（CDC）活性試験

報告書の題名： Evaluation of Complement-dependent Cellular Cytotoxicity of JR-141
被験物質： JR-141
試験系： CCRF-CEM（ターゲット細胞）
試験番号： [redacted]
投与方法： *in vitro*
CTD における記載箇所： 4.2.1.2.3

| Test Article | Lot Number | Concentration (μg/mL) | Result[a)] |
|---|---|---|---|
| JR-141 | [redacted] | 0.0244~100 (common ratio: 4) | 2.3 |
| Anti-hTfR mAb#hu459 (parent antibody of humanized anti-hTfRmAb used in JR-141) | | 0.0134~55.0 (common ration: 4) | 66.8 |

a) Maximum cytotoxicity rate (%)

### 2.6.3.3.4 ヒト FcRn 結合親和性試験

報告書の題名： Kinetic Analysis of Binding Interaction between JR-141 and Neonatal Fc Receptor (FcRn)
被験物質： JR-141
試験系： 表面プラズモン共鳴法
試験番号： [redacted]
投与方法： *in vitro*
CTD における記載箇所： 4.2.1.2.4

| Test Article | Lot Number | Result |
|---|---|---|
| | | $K_D$ ($\times 10^{-6}$M) |
| JR-141 | [redacted] | 1.80 |
| Anti-hTfR mAb#hu459 (parent antibody of humanized anti-hTfRmAb used in JR-141) | | 1.64 |

### 2.6.3.4 安全性薬理試験

報告書の題名： A 4-Week Intermittent Intravenous Dose Toxicity Study of JR-141 in Cynomolgus Monkeys Followed by a 4-Week Recovery Period
A 26-Week Intermittent Intravenous Dose Toxicity Study of JR-141 in Cynomolgus Monkeys Followed by an 8-Week Recovery Period

被験物質： JR-141

試験系： カニクイザル

試験番号： [redacted],
[redacted]

投与方法： 静脈内

CTD における記載箇所： 4.2.3.2.2, 4.2.3.2.4

| Test Article | Species | Route of administration | Dose (mg/kg/week) | Duration of Dosing (weeks) | Sex and Animal Number/group | Test Item | Noteworthy findings |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| JR-141 | Cynomolgus monkey (4~8 years of age) | Intravenous | 3, 10, 30 | 4 | 3 animals, both male and female/group (3, 10 mg/kg)<br>5 animals, both male and female/group (30 mg/kg) | Cardiovascular system | No |
| | | | | | | Respiratory system | No |
| | | | | | | Central nervous system | No |
| | Cynomolgus monkey (2~4 years of age) | Intravenous | 3, 10, 30 | 26 | 4 animals, both male and female/group (3, 10 mg/kg)<br>6 animals, both male and female/group (30 mg/kg) | Central nervous system | No |

### 2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし