目次

2.4　非臨床試験の概括評価.....5
2.4.1　非臨床試験計画概略.....5
2.4.2　薬理試験.....11
2.4.2.1　効力を裏付ける試験.....11
2.4.2.2　副次的薬理試験.....12
2.4.2.3　安全性薬理試験.....13
2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用.....14
2.4.3　薬物動態試験.....14
2.4.3.1　吸収（血漿中濃度）.....14
2.4.3.2　分布.....15
2.4.3.3　代謝.....16
2.4.3.4　排泄.....16
2.4.3.5　薬物動態学的薬物相互作用.....16
2.4.3.6　その他の薬物動態試験.....16
2.4.4　毒性試験.....16
2.4.4.1　単回投与毒性試験.....16
2.4.4.2　反復投与毒性試験.....17
2.4.4.3　遺伝毒性試験.....19
2.4.4.4　がん原性試験.....19
2.4.4.5　生殖発生毒性試験.....19
2.4.4.6　局所刺激性試験.....19
2.4.4.7　その他の毒性試験.....20
2.4.4.7.1　組織交差反応性試験.....20
2.4.4.7.2　疼痛に関する機序検討試験.....20
2.4.5　総括及び結論.....20
2.4.6　参考文献.....26

略語等一覧

略語	英語	日本語
ADA	Anti-drug antibody	抗薬物抗体
ADCC	Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity	抗体依存性細胞傷害
A/G	Albumin / globulin	アルブミン／グロブリン
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
$AUC_{0\text{-}4h}$	Area under the plasma concentration-time curve from 0 to 4 hours after the completion of dosing	投与終了時から投与終了後 4 時間までの血漿中濃度―時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}48h}$	Area under the plasma concentration-time curve from the start of dosing to 48 hours after the dosing	投与開始（時間 0）から 48 時間までの血漿中濃度―時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}t}$	Area under the plasma concentration-time curve from the start of final dosing to last time point quantitatable	最終投与開始時から，最終的に血漿中濃度が定量可能な時間 (t) までの血漿中濃度―時間曲線下面積
$AUC_{24h\text{-}inf}$	Area under the plasma concentration-time curve from 24 hours after the completion of dosing to infinity	投与終了後 24 時間から無限時間までの血漿中濃度―時間曲線下面積
BLQ	Below the lower limit of quantification	定量下限値未満
BSA	Bovine serum albumin	ウシ血清アルブミン
C_0	Plasma drug concentration at the completion of dosing	投与終了時の血漿中濃度
CDC	Complement-dependent cytotoxicity	補体依存性細胞傷害
CDER	Center for Drug Evaluation and Research	米国 FDA・医薬品評価研究センター
CGRP	Calcitonin gene-related peptide	カルシトニン遺伝子関連ペプチド
CL	Clearance	クリアランス
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
^{51}Cr	^{51}Chromium	クロム 51
ECG	Electrocardiogram	心電図
E:T	Effector cell : Target cell	エフェクター細胞：標的細胞
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法

略語	英語	日本語
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GAH-FITC	Fluorescein isothiocyanate-labelling Goat anti-human antibody	フルオレセイン標識ヤギ抗ヒト抗体
GAH-HRP	Horse radish peroxidase labelling Goat anti-human antibody	ペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ヒト抗体
G-CSF	Granulocyte colony-stimulating factor	顆粒球コロニー刺激因子
GD	Disialoganglioside	ジシアロガングリオシド
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
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor	顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
HNSTD	Highest non-severely toxic dose	重篤な毒性が発現しない最大投与量
HRP	Horse radish peroxidase	ホースラディッシュペルオキシダーゼ
^{125}I	^{125}Iodine	ヨウ素 125
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
ID	Percentage of injected dose	投与放射能量に対する放射能の割合
IgG	Immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IHC	Immunohistochemistry	免疫組織染色法
IL-2	Interleukin-2	インターロイキン-2
^{111}In	^{111}Indium	インジウム 111
Kd	Dissociation constant	解離定数
K_2-EDTA	Dipotassium ethylenediaminetetraacetate	エチレンジアミン四酢酸二カリウム
LLOQ	Lower limit of quantification	定量下限値
M-CSF	Macrophage colony-stimulating factor	マクロファージコロニー刺激因子
MHC	Major histocompatibility complex	主要組織適合遺伝子複合体
NCI	National Cancer Institute	米国国立がん研究所
NK	Natural killer	ナチュラルキラー
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NZW	New Zealand White	－

略語	英語	日本語
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development	経済協力開発機構
PBMC	Peripheral blood mononuclear cell	末梢血単核細胞
PBS	Phosphate buffered saline	リン酸緩衝生理食塩液
PK	Pharmacokinetics	薬物動態
QC	Quality control	－
rhG-CSF	Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor	遺伝子組換え型ヒト顆粒球コロニー刺激因子
rhGM-CSF	Recombinant human granulocyte macrophage colony-stimulating factor	遺伝子組換え型ヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
rhIL-2	Recombinant human interleukin-2	遺伝子組換え型ヒトインターロイキン-2
rmGM-CSF	Recombinant mouse granulocyte macrophage colony-stimulating factor	遺伝子組換え型マウス顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
RPMI	Roswell Park Memorial Institute	－
SCID	Severe combined immunodeficiency	重症複合免疫不全
SD	Sprague-Dawley	－
SDS	Sodium dodecyl sulfate	ドデシル硫酸ナトリウム
SE	Standard error	標準誤差
SEM	Standard error of mean	平均値の標準誤差
SJL	Swiss Jim Lambert	－
$t_{1/2}$	Elimination half-life at terminal phase	終末相半減期
$t_{1/2\alpha}$	Elimination half-life at phase α	α 相半減期
$t_{1/2\beta}$	Elimination half-life at terminal phase β	β 相半減期
TEA	Touch evoked agitation	接触誘発興奮
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
t_{max}	Time to maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
TMB	Tetramethyl benzidine	テトラメチルベンジジン
TRPV1	Transient receptor potential vanilloid subtype 1	－
UTC	United Therapeutics Corporation	－
ULOQ	Upper limit of quantification	定量上限値
Vd	Volume of distribution	分布容積

2.4 非臨床試験の概括評価

ジヌツキシマブ（遺伝子組換え）（ch14.18 とも表記，以下，「ジヌツキシマブ」）は，ヒト神経芽腫細胞表面に発現するジシアロガングリオシド（GD）2 を特異的に認識し結合するマウス抗 GD2 モノクローナル抗体（Mab 14.18 及び 14.G2a）の可変部領域とヒト免疫グロブリン G（IgG1κ）の定常領域からなるマウス-ヒトキメラ型モノクローナル抗体である．

ジヌツキシマブの開発にあたっては，可変領域遺伝子が同一である Mab 14.18 及び 14.G2a で得られた非臨床試験データも含めて評価した．Mab 14.18 は，GD2 を特異的に認識し結合するマウスモノクローナル IgG3 抗体である[1)]．また，14.G2a は，Mab 14.18 の IgG2a アイソタイプスイッチ変異型であり，親抗体と同程度の抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性，補体依存性細胞傷害（CDC）活性及びヌードマウスにおける神経芽腫増殖抑制作用を有する[2)]．なお，後述するように，ch14.18 の結合親和性，結合パターン，*in vitro* 及び *in vivo* 生物学的活性は，Mab 14.18 及び 14.G2a と類似していた．

ジヌツキシマブは，米国国立がん研究所（NCI）により，高リスク神経芽腫の小児患者の治療薬 ch14.18 として約 20 年に渡って開発されてきた．第 III 相試験である ANBL0032（DIV-NB-301）試験で併用療法におけるジヌツキシマブの有効性が確認された後，2010 年 7 月に United Therapeutics Corporation（UTC）が NCI と共同研究開発契約を締結し，ジヌツキシマブの承認申請のための非臨床評価を開始した．そのため，初期の開発段階では NCI が製造した製剤（ch14.18 と表記）を使用し，UTC が開発を開始した以降は UTC が製造した製剤（ジヌツキシマブと表記）を使用している．

2.4.1 非臨床試験計画概略

非臨床試験の一覧を表 2.4.1-1に示した．

表 2.4.1-1　非臨床試験一覧（次頁に続く）

被験物質	試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所	GLP適用
薬理試験							
効力を裏付ける試験							
Mab 14.18	種々の腫瘍に対するMab 14.18の反応性	各種腫瘍組織及び腫瘍細胞株	*In vitro*	NA	Mujoo 1987	4.3-1	非適
Mab 14.18	Mab 14.18の神経芽腫細胞への結合	GD2陽性神経芽腫細胞株：IMR-6，SMS-KCNR，CHP-134，NMB-7，SK-N-AS，SMS-KAN	*In vitro*	NA	Mujoo 1987	4.3-1	非適
ch14.18 又は14.G2a	ch14.18又は14.G2aのメラノーマ細胞への結合	GD2陽性メラノーマ細胞株：M21	*In vitro*	NA	Mueller 1990	4.3-3	非適
Mab 14.18	神経芽腫細胞に対するMab 14.18を介したADCC	GD2陽性神経芽腫細胞株：SMS-KCNR，IMR-6，SK-N-AS	*In vitro*	NA	Mujoo 1987	4.3-1	非適
ch14.18 又は14.G2a	メラノーマ細胞に対するch14.18又は14.G2aを介したADCC	GD2陽性メラノーマ細胞株：M21，A375	*In vitro*	NA	Mueller 1990	4.3-3	非適
ch14.18 又は14.G2a	神経芽腫細胞に対するch14.18又は14.G2aを介したADCC	GD2陽性神経芽腫細胞株：NMB-7，IMR-32	*In vitro*	NA	Barker 1991	4.3-4	非適
ch14.18	メラノーマ細胞に対するch14.18を介したADCC	GD2陽性メラノーマ細胞株：M21	*In vitro*	NA	Kendra 1999	4.3-5	非適
ch14.18	神経芽腫細胞又はメラノーマ細胞に対するch14.18を介したADCC	GD2 陽性神経芽腫細胞株：SK-N-AS GD2陽性メラノーマ細胞株：M21	*In vitro*	NA	Zeng 2005	4.3-6	非適
ch14.18	神経芽腫細胞の増殖におけるch14.18を介したADCC及び好中球の役割	GD2 陽性神経芽腫細胞株：SMS-LHN, SMS-KCN, LA-N-1 GD2陰性神経芽腫細胞株：SK-N-SH	*In vitro*	NA	Chen 2000	4.3-7	非適
ch14.18 又は14.G2a	メラノーマ細胞に対するch14.18又は14.G2aを介したCDC	GD2陽性メラノーマ細胞株：M21，A375	*In vitro*	NA	Mueller 1990	4.3-3	非適
ch14.18	神経芽腫細胞又はメラノーマ細胞に対するch14.18を介したCDC	GD2 陽性神経芽腫細胞株：NXS2, SK-N-AS, Kelly GD2陽性メラノーマ細胞株：M21	*In vitro*	NA	Zeng 2005	4.3-6	非適
Mab 14.18	神経芽腫細胞に対するMab 14.18を介したCDC	GD2 陽性神経芽腫細胞株：SK-N-AS, SMS-KCNR, NMB-7，CHP-134，SMS-KAN，IMR-6	*In vitro*	NA	Mujoo 1987	4.3-1	非適

NA：該当せず

表 2.4.1-1 非臨床試験一覧（続き）

被験物質	試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所	GLP適用
効力を裏付ける試験							
ch14.18	SCIDマウスにおけるch14.18のメラノーマ細胞への結合	C.B.-17 scid/scidマウス GD2陽性メラノーマ細胞株：M21	腹腔内	NA	Kendra 1999	4.3-5	非適
ch14.18	SCIDマウスにおけるch14.18の抗腫瘍活性	C.B.-17 scid/scidマウス GD2陽性メラノーマ細胞株：M21	皮下	NA	Kendra 1999	4.3-5	非適
Mab 14.18	無胸腺マウスにおけるMab 14.18の抗腫瘍活性	BALB/c athymic (nu/nu)マウス GD2陽性神経芽腫細胞株：SK-N-AS	腹腔内	NA	Mujoo 1987	4.3-1	非適
副次的薬理試験							
14.G2a	14.G2aにおける神経組織への結合	SJL マウス	腹腔内	NA	Vriesendorp 1997	4.3-9	非適
		Lewis ラット	静脈内又は腹腔内				
		NZW ウサギ	静脈内				
		ビーグル犬	静脈内				
ch14.18	ch14.18投与による疼痛誘発作用	SD ラット	急速静脈内	NA	Slart 1997	4.3-10	非適
ch14.18又は14.G2a	ch14.18又は14.G2a投与による疼痛誘発作用	SD ラット	急速静脈内	NA	Xiao 1997	4.3-11	非適
14.G2a	14.G2a投与による疼痛誘発作用	SD ラット	急速静脈内又は髄腔内	NA	Sorkin 2002	4.3-12	非適
安全性薬理試験							
ジヌツキシマブ	カニクイザルの安全性薬理試験における用量設定試験	カニクイザル	静脈内	[redacted]（日本）	[redacted]354-004	4.2.1.3-1	非適
ジヌツキシマブ	カニクイザルにおけるジヌツキシマブの心血管及び呼吸系に対する安全性薬理試験	カニクイザル	静脈内	[redacted]（日本）	[redacted]354-005	4.2.1.3-2	適

NA：該当せず

表 2.4.1-1 非臨床試験一覧（続き）

被験物質	試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所	GLP適用
薬物動態試験							
吸収							
ジヌツキシマブ	カニクイザルにおける心血管及び呼吸系に対する安全性薬理試験の血漿中濃度測定試験	カニクイザル	静脈内	[redacted]（日本）	[redacted]354-006	4.2.2.2-1	非適
ジヌツキシマブ	SDラットにおける28日間反復投与毒性試験	SDラット	静脈内	[redacted]（日本）	[redacted]354-003	4.2.2.2-2	適
ジヌツキシマブ	幼若カニクイザルにおける4日間投与忍容性試験	幼若カニクイザル	静脈内	[redacted]（加国）	ch14.18 TOX-001	4.2.2.2-3	非適*
ジヌツキシマブ	幼若カニクイザルにおける5ヵ月間反復投与毒性試験	幼若カニクイザル	静脈内	[redacted]（加国）	ch14.18 TOX-002	4.2.2.2-4	適
分布							
^{125}I標識ch14.18又は^{125}I標識14.G2a	異種移植マウスにおけるch14.18又は14.G2aの分布	athymic (nu/nu) マウス	静脈内	NA	Mueller 1990	4.3-3	非適
^{111}In標識14.G2a	ビーグル犬における14.G2aの消失及び組織分布	ビーグル犬	静脈内	NA	Vriesendorp 1997	4.3-9	非適
毒性試験							
単回投与毒性試験							
ジヌツキシマブ	カニクイザルの安全性薬理試験における用量設定試験	カニクイザル	静脈内	[redacted]（日本）	[redacted]354-004	4.2.3.1-1	非適
反復投与毒性試験							
ジヌツキシマブ	SDラットにおける28日間反復投与毒性試験	SD ラット	静脈内	[redacted]（日本）	[redacted]354-003	4.2.3.2-1	適
ジヌツキシマブ	幼若カニクイザルにおける4日間投与忍容性試験	幼若カニクイザル	静脈内	[redacted]（加国）	ch14.18 TOX-001	4.2.3.2-2	非適
ジヌツキシマブ	幼若カニクイザルにおける5ヵ月間反復投与毒性試験	幼若カニクイザル	静脈内	[redacted]（加国）	ch14.18 TOX-002	4.2.3.2-3	適

[redacted]，NA：該当せず

＊：血漿中濃度測定試験はGLP適用（実施施設：[redacted]社，米国）

表 2.4.1-1 非臨床試験一覧（続き）

被験物質	試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所	GLP適用
その他の毒性試験							
組織交差反応性試験							
ジヌツキシマブ	ヒト小児及び成人における組織交差反応性試験	ヒト小児及び成人組織	*In vitro*	[redacted]（米国）	IM2038	4.2.3.7.7-1	適
ジヌツキシマブ	SDラットにおける組織交差反応性試験	SDラット組織	*In vitro*	[redacted]（米国）	IM2189	4.2.3.7.7-2	適
ジヌツキシマブ	NZWウサギにおける組織交差反応性試験	NZWウサギ組織	*In vitro*	[redacted]（米国）	IM2190	4.2.3.7.7-3	適
ジヌツキシマブ	幼若カニクイザルにおける組織交差反応性試験	幼若カニクイザル組織	*In vitro*	[redacted]（米国）	IM2615	4.2.3.7.7-4	適
疼痛に関する機序検討試験							
14.G2a	SJLマウス，Lewisラット及びNZWウサギにおける単回静脈内又は単回腹腔内投与評価	SJL マウス	腹腔内	NA	Vriesendorp 1997	4.3-9	非適
		Lewis ラット	静脈内又は腹腔内				
		NZW ウサギ	静脈内				
14.G2a	ビーグル犬における5日間反復投与評価	ビーグル犬	静脈内	NA	Vriesendorp 1997	4.3-9	非適
ch14.18	SDラットにおける単回静脈内投与評価	SD ラット	急速静脈内	NA	Slart 1997	4.3-10	非適
ch14.18又は14.G2a	SDラットにおける単回静脈内投与評価	SD ラット	急速静脈内	NA	Xiao 1997	4.3-11	非適
14.G2a	SDラットにおける単回静脈内あるいは髄腔内投与評価	SD ラット	急速静脈内又は髄腔内	NA	Sorkin 2002	4.3-12	非適

[redacted]，NA：該当せず

ch14.18 の薬理作用（効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験）については Mab 14.18 及び 14.G2a も含め公表論文を基に評価した.

カニクイザルの安全性薬理試験における用量設定試験の結果を基にカニクイザルにおける心血管及び呼吸系に対する安全性薬理試験を実施した．カニクイザルにおける心血管及び呼吸系に対する安全性薬理試験は，「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 日付け厚生省令第 21 号）（GLP）に準じて実施した.

薬物動態試験として，ジヌツキシマブの吸収（血漿中濃度）は，Sprague-Dawley（SD）ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験，幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験及び幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験の中のトキシコキネティクス（TK）試験で評価した．これらの試験は，幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験を除き，米国食品医薬品局（FDA），厚生労働省又は経済協力開発機構（OECD）の GLP に準拠して実施した．また，カニクイザルにおける心血管及び呼吸系に対する安全性薬理試験で採取した血漿を用いて，血漿中濃度測定試験を実施した.

ch14.18 及び 14.G2a の分布については公表論文で報告されていることから，公表論文を基に評価した.

代謝試験は，他の外来性タンパク質と同様に，ジヌツキシマブの代謝は，最終的に個々の構成アミノ酸への異化であると予測されることから，不要と考え実施しなかった．排泄試験は，ジヌツキシマブがタンパク質であり，他のタンパク質と同様，推定される消失経路は異化作用を介した低分子ペプチド及び個々のアミノ酸への代謝後に排泄される経路であることから，不要と考え実施しなかった.

毒性試験として，ラット及び幼若サルを用いた反復投与毒性試験並びにヒト及び動物の組織に対する組織交差反応性試験を実施した．独立した単回投与毒性試験は実施していないが，安全性薬理試験として実施したサルにおける用量設定試験成績から単回投与時の毒性を評価した．また，その他の毒性試験として臨床で認められる疼痛の機序を検討するために，14.G2a あるいは ch14.18 を用いて，マウス，ラット及びウサギにおける単回投与試験並びにイヌにおける反復投与試験が実施されている（公表文献）.

ジヌツキシマブは小児での適用を予定していることから，幼若動物を用いた試験としてカニクイザルの 5 ヵ月間反復投与毒性試験を実施した．SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験は，厚生労働省の GLP，「反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正について」（平成 11 年 4 月 5 日付け医薬審第 655 号）（以下，「医薬品規制調和国際会議（ICH）S4A ガイドライン」）及びトキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンスについて（平成 8 年 7 月 2 日付け薬審第 443 号）（以下，「ICH S3A ガイドライン」）に準じて実施した．幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験は，経済協力開発機構（OECD）の GLP に準じて実施した．なお，単回投与時の毒性評価に用いたカニクイザルにおける安全性薬理試験のための用量設定試験は各国の GLP には準拠していない.

ヒト小児及び成人における組織交差反応性試験は，FDA，OECD 及び厚生労働省の GLP に準じて実施した．SD ラットにおける組織交差反応性試験，New Zealand White（NZW）ウサギにおける組織交差反応性試験及び幼若カニクイザルにおける組織交差反応性試験は，FDA の GLP に準じて実施した．

ジヌツキシマブは組換えタンパクであり，デオキシリボ核酸，あるいはほかの染色体物質と直接反応する可能性が極めて低いこと，及び進行がんを適応症として開発中であることから，「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」について（平成 24 年 3 月 23 日付け薬食審査発 0323 第 1 号）（以下，「ICH S6 ガイドライン」）及び「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」（平成 22 年 6 月 4 日付け薬食審査発 0604 第 1 号）（以下，「ICHS9 ガイドライン」）に従って，不要と考え，遺伝毒性試験及びがん原性試験は実施しなかった．

生殖発生毒性試験は，[redacted]また，ヒト胎児において脳，神経幹細胞及び骨髄間葉系幹細胞に GD2 の発現が認められることから胚・胎児に対して有害作用を及ぼす可能性があると考え実施しなかった．なお，本方針については医薬品[redacted]相談（[redacted]，実施日：平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日）にて確認している．

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験において，Mab 14.18 が，神経芽腫，メラノーマ，膠芽腫及び小細胞肺がん患者由来のがん組織あるいは株化がん細胞と結合することが，免疫組織染色法（IHC）及び酵素免疫測定法（ELISA）で確認されている．これらの結果から，Mujoo らは，神経外胚葉を起源とする腫瘍（神経芽腫，メラノーマ及び神経膠腫）を Mab 14.18 が認識して結合すると考察している．さらに Mab 14.18 は，6 種類の GD2 陽性ヒト神経芽腫細胞（IMR-6，SMS-KCNR，CHP-134，NMB-7，SK-N-AS 及び SMS-KAN）全てに結合し，その細胞 1 個あたりの平均結合部位数は 1.1～2.7×10^5 個であった [1)]．また Mueller らは，GD2 陽性 M21 メラノーマ細胞 1 個あたりの ch14.18 又は 14.G2a の結合部位数はそれぞれ 1.5×10^7 個及び 1.4×10^7 個，解離定数（K_d）はそれぞれ 11.2 nmol/L 及び 11.9 nmol/L であり，両抗体は同等の親和性を示すことを報告している [3)]．

ADCC に関しては，ch14.18，14.G2a 及び Mab 14.18 は，GD2 陽性神経芽腫細胞及びメラノーマ細胞の ADCC を誘導することが多くの研究者により報告されている．さらに可溶性サイトカインである遺伝子組換え型ヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（rhGM-CSF）及び遺伝子組換え型ヒトインターロイキン-2（rhIL-2）は，ch14.18 を介した GD2 陽性腫瘍細胞の溶解を促進することから，ch14.18 の抗腫瘍効果を高めるのに有用であると考えられている [1,3-6)]．また，GD2 陽性神経芽腫細胞において，好中球及び末梢血単核細胞（PBMC）は ch14.18 とともに，ADCC を誘導した．さらに，rhGM-CSF が添加されると，エフェクター細胞が好中球のみで ADCC が増強された．好中球において，エフェクター細胞：標的細胞（E:T）比が高く，ch14.18 が高濃度でかつ rhGM-CSF が添加されているとき，GD2 陽性

神経芽腫細胞の増殖がより強く阻害されたが，GD2 陰性神経芽腫細胞では好中球により神経芽腫細胞の増殖が亢進し，ch14.18 による抑制は認められなかった[7]．

ADCC 誘導作用に加えて，ch14.18 は神経芽腫細胞及びメラノーマ細胞に対して，14G2a はメラノーマ細胞に対して，Mab14.18 は神経芽腫細胞に対して，それぞれ CDC を誘導することが報告されている[1, 3, 6]．

重症複合免疫不全マウス（C.B.-17 scid/scid マウス）（以下，「SCID マウス」）の腹腔に 10^7 個の M21 メラノーマ細胞を接種すると，2～3 週間後には最大径 4 mm 程度の小結節が腹膜，腸間膜，横隔膜に認められる．この担がん SCID マウスに 1.0 mg［約 50 mg/kg，以下 kg 当たりの投与量算出は米国 FDA・医薬品評価研究センター（CDER）発行のガイダンス，2005 に基づく］[8] の ch14.18 を腹腔内投与すると，投与 10 時間後には 27%の腫瘍細胞に ch14.18 の結合が認められ，結合レベルは投与 13 時間（58%）と 24 時間後（56%）の時点で一定であった[]．また，0.01，0.1 又は 1.0 mg の ch14.18 を腹腔内投与すると，ch14.18 の結合は投与量に比例して増加した．免疫組織化学的検討において，1.0 mg では ch14.18 は腫瘍細胞 20 個分の深さまで透過したが，0.01 mg では透過は認められなかった．さらに，M21 メラノーマ細胞（10^6 個）を，ch14.18（0.5 mg），PBMC（M21 細胞の 3～30 倍）及び rhIL-2（1,500 U/100 μL）とともに SCID マウスに皮下投与したとき，GD2 陽性メラノーマ腫瘍の増殖が阻害された[5]．

SK-N-AS 神経芽腫細胞を皮下移植したヌードマウス（BALB/c athymic (nu/nu)マウス）（以下，「無胸腺マウス」）に，200 μg（約 10 mg/kg）の Mab 14.18 を反復腹腔内投与したとき，神経芽腫形成の遅延が認められている[1]．

2.4.2.2 副次的薬理試験

副次的薬理試験として，SJL マウス，Lewis ラット，NZW ウサギ及びビーグル犬を用いて神経組織における GD2 の分布を検討するために IHC を実施した．これらの動物の腸間膜神経節及び背根神経節では神経細胞に部分的な GD2 の染色が観察され，小脳顆粒層にも染色が観察された．NZW ウサギ及びビーグル犬の坐骨神経では，多くの神経線維の染色が観察された一方，SJL マウス及び Lewis ラットの坐骨神経では，一部の神経線維のみに染色が観察された．ビーグル犬では迷走神経の神経線維に染色が観察された[9]．

抗 GD2 抗体の疼痛誘発作用を検討した Slart らの実験では，SD ラットに 0.1，1.0，3.0 及び 10.0 mg/kg の ch14.18 を急速静脈内投与したとき，機械的アロディニアが発現した．1.0，3.0 及び 10.0 mg/kg の投与量で認められた機械的アロディニアは，投与後 1 時間以内に発現し，一定に達した後，24～48 時間後でも持続して観察された．この機械的アロディニアの発現に伴って，心拍数増加及び血圧上昇が認められた．Slart らは，これらの所見は，臨床で観察される疼痛に関係している可能性があると述べている[10]．また，Xiao らの試験結果によると，1 mg/kg の ch14.18 及び 14.G2a を急速静脈内投与したとき，機械的アロディニアが投与後 15 分以内に発現し，45～60 分の時点で一定に達したと報告されている．ch14.18 及び 14.G2a を急速静脈内投与すると，背景活動［単離後 30 秒以内に 1 回以上活動電位が発生

すること（＞0.03 Hz）と定義した］が認められた末梢神経のＡδ及びＣ線維の数が，対照群（生理食塩液を急速静脈内投与）及び陰性対照群［IgG2a，コンドロイチン硫酸プロテオグリカン（ヒトメラノーマ細胞及び皮膚のメラニン細胞に特異的に発現）を認識するマウス抗体を急速静脈内投与］と比較して増加した．また，対照群と比較して，ch14.18 及び 14.G2a 投与群ではＡδ線維の平均機械的閾値の有意な低下が見られた．一方，Ｃ線維の平均機械的閾値も低下傾向を示したが，減少は陰性対照群と同程度であった．リドカインを急速静脈内投与したとき，抗 GD2 抗体に関連する背景活動が減少した[11]．Sorkin らの結果によると，1 mg/kg の 14.G2a を SD ラットに急速静脈内投与したとき，投与後 30 分の時点で機械的アロディニアが発現し，一定の状態に達したと報告されている．0.01, 0.05 及び 0.1 ng の 14.G2a を髄腔内投与したとき，3 時間の観察期間を通して機械的アロディニアが発現したが，0.5 ng の投与量では機械的アロディニアの発現が認められなかった．一方，静脈内投与においても髄腔内投与においても 14.G2a により熱アロディニアは発現しなかった．75 μg のカプサイシンを髄腔内に前投与し，0.01 ng の 14.G2a を髄腔内投与した場合に，機械的アロディニアが見られなかった．カプサイシンにより脊髄背側部のカルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）量が半分以下に減少した．Sorkin らは抗 GD2 抗体により惹起される機械的アロディニアは，ペプチド作動性求心線維を介している可能性が高いと推察している[12]．

以上，抗GD2抗体による末梢神経（主にＡδ及びC線維）の背景活動の増加及び機械的アロディニアの発現はリドカインで抑制されること並びに機械的アロディニアの発現はカプサイシンで完全に遮断されることから，抗GD2抗体により誘発される背景活動の増加及び機械的アロディニアの発現にはペプチド作動性求心性線維の介在が考えられる．

2.4.2.3 安全性薬理試験

カニクイザルの安全性薬理試験における用量設定試験（試験番号：[redacted]354-004）で，10.5 mg/kg/日（126 mg/m^2/日，10.5 mg/kg/日にカニクイザルの体表面積換算 12 を乗じた値）[8] 及び臨床予定用量（17.5 mg/m^2/日）の 10 倍以上に相当する 21 mg/kg/日（252 mg/m^2/日）（N＝2／群）を単回静脈内投与（30 分間の持続注入）した結果，陰茎包皮の腫脹が，10.5 mg/kg/日投与群の 2 例で，投与中又は投与終了直後～投与終了 2 時間後まで認められた．陰部皮膚の赤変化が，10.5 mg/kg/日投与群の 1 例で，投与中のみに認められた．陰茎包皮の腫脹が，21 mg/kg/日投与群の 1 例で，投与中～投与終了 2 時間後まで認められた．陰茎包皮の腫脹及び陰部皮膚の赤変化に用量依存性は認められなかった．また，嘔吐が 21 mg/kg/日投与群の 2 例で，投与終了直後から 30 分の間に発現した．

カニクイザルにおける心血管及び呼吸系に対する安全性薬理試験（試験番号：[redacted]354-005）で，14 mg/kg/日（約 168 mg/m^2/日）（N＝3）のジヌツキシマブを単回静脈内投与（10 時間の持続注入）開始後に心血管系への影響（血圧の上昇及び心拍数の増加）が認められたが，呼吸系への影響は認められず，心電図（ECG）パラメータの変化も認められなかった．

なお，幼若カニクイザルの反復投与毒性試験（試験番号：ch14.18 TOX-001 及び ch14.18 TOX-002）において，円背，振戦，運動性低下及び歩行異常等の中枢神経系（CNS）に関連する一般状態の変化が認められている．

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない．

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 吸収（血漿中濃度）

カニクイザルにおける心血管及び呼吸系に対する安全性薬理試験で採取した血漿を用いて TK を評価した（試験番号：[redacted]354-006）．4～5 歳の雄のカニクイザル（N＝3）に，Day 1 ではプラセボを，Day 3 では 14 mg/kg/日のジヌツキシマブを単回静脈内投与（10 時間の持続注入）した．プラセボ投与開始後 10 時間及びジヌツキシマブの投与開始前の血漿中濃度は，全例で定量下限値未満（BLQ）（263 ng/mL 未満）であった．ジヌツキシマブ投与開始後 5 時間の時点で 151,000 ng/mL を超える血漿中濃度が得られ，投与開始後 24 時間まで 145,000 ng/mL 以上の濃度で維持された．

SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験（試験番号：[redacted]354-003）の TK 測定では，9 週齢の雌雄の SD ラット［本試験：N＝10／群，回復試験：N＝5／群（5 mg/kg/日及び 15 mg/kg/日群を除く），TK 試験：N＝8／群］に 5 mg/kg/日（30 mg/m^2/日，5 mg/kg/日にラットの体表面積換算 6 を乗じた値）[8]，15 mg/kg/日（90 mg/m^2/日）及び 45 mg/kg/日（270 mg/m^2/日）のジヌツキシマブを 4 日間連続静脈内投与（各日 1 時間の持続注入）後 3 日間休薬するサイクルを 4 回繰り返し，回復期間を 6 週間設けた．Day 1（投与初日を Day 1 とした）では，投与終了時の血漿中濃度（C_0）及び投与終了時から投与終了後 4 時間までの血漿中濃度—時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}4h}$）は用量にほぼ比例して増加し，これらの PK パラメータに性差は認められなかった．Day 22（4 サイクル目）では，C_0 及び $AUC_{0\text{-}4h}$ は用量比を上回って増加した．Day 22 のパラメータを Day 1 と比較すると，5 mg/kg/日投与群の C_0 及び $AUC_{0\text{-}4h}$ は雌雄共に著しく減少した．15 mg/kg/日投与群の Day 22 のパラメータは Day 1 と比較して，雌では僅かに減少し，雄では同程度であった．45 mg/kg/日投与群の雌のパラメータは Day 1 と Day 22 でほぼ等しく，雄では Day 22 のパラメータは Day 1 と比較して僅かに増加した．反復投与に伴って認められたこれらの血漿中濃度の減少は，抗薬物抗体（ADA）の産生を示唆していると考えられる．4 サイクル目最終投与終了後（Day 25）の血漿中濃度は，5 mg/kg/日投与群の消失が速く（投与終了後 48 時間で未検出），Day 25 の投与終了後 24 時間から無限時間までの血漿中濃度—時間曲線下面積（$AUC_{24h\text{-}inf}$）及び終末相半減期（$t_{1/2}$）は，15 mg/kg/日投与群と 45 mg/kg/日投与群の間で用量の増加と共に増加した．対照群［プラセボ（20 mmol/L ヒスチジン，150 mmol/L 塩化ナトリウム，0.05%ポリソルベート 20，pH 6.8）を静脈内投与］の血漿中濃度は，全ての測定時点で BLQ（25.0 ng/mL 未満）であった．

幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験（試験番号 : ch14.18 TOX-001）の TK 測定では，17～18 ヵ月齢の雌雄の幼若カニクイザル［本試験 : N＝1／群，回復試験及び TK 試験 : N＝2／群（対照群を除く）］に 3 mg/kg/日（36 mg/m^2/日），10 mg/kg/日（120 mg/m^2/日）及び 30 mg/kg/日（360 mg/m^2/日）のジヌツキシマブを 4 日間静脈内投与（各日 10 時間の持続注入）し，回復期間を 24 日間設けた．最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）は，概して最終投与終了後 0 時間（最終投与開始後 10 時間）であった．最高血漿中濃度（C_{max}）及び投与開始（時間 0）から 48 時間までの血漿中濃度―時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}48h}$）は用量の増加に伴って増加したが，その増加の割合は用量比を下回った．C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}48h}$ に性差は認められなかった．

幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験（試験番号 : ch14.18 TOX-002）の TK 測定では，13～18 ヵ月齢の雌雄の幼若カニクイザル［本試験 : N＝4／群，回復試験 : N＝2／群（3 mg/kg/日群を除く）］に，1 mg/kg/日（12 mg/m^2/日），3 mg/kg/日（36 mg/m^2/日）及び 10 mg/kg/日（120 mg/m^2/日）のジヌツキシマブを，4 日間連続静脈内投与（各日 10 時間の持続注入）し，24 日間休薬するサイクルを 5 回繰り返し，回復期間を 168 日間設けた（投与初日を Day 1 とした）．1 サイクル目（Day 5）において，平均血漿中濃度は用量の増加に伴って増加した．概して血漿中濃度に著しい性差は認められなかったが，10 mg/kg/日投与群の Day 57～Day 117 では雌と比較して雄の血漿中濃度が高かった．2 サイクル目（Day 33）以降において投与サイクルを重ねるごとに，全投与群の平均血漿中濃度の減少傾向が認められた．反復投与に伴う血漿中濃度の減少は，ADA の産生を示唆していると考えられた．反復投与に伴う血漿中濃度の減少により，Day 117 以降における各投与群の PK パラメータは算出不可能あるいは 1 例又は 2 例のみで算出可能であった．

2.4.3.2 分布

2×10^6 個の M21 メラノーマ細胞（GD2 陽性）を皮下注入した 10 日後の雌の異種移植マウスに，3～5 μg（約 0.15～0.25 mg/kg）のヨウ素 125（^{125}I）標識 ch14.18 又は 14.G2a（74 KBq）を側部尾静脈に投与した．投与放射能量に対する血液 1 mL あたりの放射能割合（%）は，投与後 4 時間で約 12～13%であり，投与後 96 時間には約 7%まで減少した．この結果に基づいて，Mueller らは，マウスにおける ch14.18 及び 14.G2a の血液中からの消失は同等であると報告している．腫瘍における投与放射能量に対する組織 1 g あたりの放射能割合（%）は，投与後 24 時間において ch14.18 で 13.5%，14.G2a で 8.2%，投与後 96 時間において ch14.18 で 6.6%，14.G2a で 8.4%であった．全ての組織・臓器（腫瘍を除く）で投与後 24 時間に 1.0～4.2%，96 時間に 0.5～2.5%となり，時間と共に放射能割合の減少が見られた．投与後 24 時間で，他の組織・臓器より，細網内皮系臓器（肺，肝臓及び脾臓）で放射能割合が高く，Mueller らは，これらの臓器が血液からの抗原抗体複合体除去に関与している可能性を報告している．投与後 96 時間で腫瘍／肝臓の放射能割合比は，ch14.18 で 3.7，14.G2a で 5.8 であった．Mueller らはこれらの結果より，この動物種で ch14.18 及び 14.G2a の腫瘍標的能に差はないように見えると報告している [3)]．

Vriesendorp らはビーグル犬におけるインジウム 111（^{111}In）標識 14.G2a の消失及び組織分布を検討した．^{111}In 標識 14.G2a の 2 mg（55.5 MBq）を単回静脈内投与した 2 mg 投与群と，^{111}In 標識 14.G2a の 2 mg を静脈内投与し，非標識の 14.G2a を 5 日間で反復静脈内投与（合計 200 mg 投与）した 202 mg 投与群を比較した．2 mg 投与群及び 202 mg 投与群の肝臓での投与放射能量に対する放射能の割合（ID）（%）は，それぞれ 46%又は 53%であったが，それと比較して尿中の ID（%）は低かった（それぞれ 4%及び 7%）．組織分布の結果，2 mg 投与群と比較して，202 mg 投与群の全てのリンパ節（腸間膜リンパ節，膝窩リンパ節，扁桃腺など）で，高い 14.G2a 取り込み（組織／筋肉比）が見られた．特に腸間膜リンパ節でその比が高かった．202 mg 投与群の肝臓で特に高い 14.G2a の取り込み（組織／筋肉比）が認められた．CNS 組織（大脳皮質及び小脳）の組織／筋肉比は約 0.3 であり，それ以外の組織・臓器における取り込み比と比較して，約 1/10 と低値であった．一方，血液脳関門の存在しない下垂体の組織／筋肉比は 5 であった．Vriesendorp らは，この違いは血液脳関門の存在の有無によるものと考えている．末梢神経系（腕神経叢，迷走神経，馬尾神経，坐骨神経及び頸部神経節）の 14.G2a 取り込み（組織／筋肉比）は，CNS 組織に比較して 2～7 倍高かった[9]．

2.4.3.3 代謝

代謝試験は実施していない．他の外来性タンパク質と同様に，ジヌツキシマブの代謝は，最終的に個々の構成アミノ酸への異化であると予測されるため，不要と考える．

2.4.3.4 排泄

排泄試験は実施していない．ジヌツキシマブはタンパク質であり，他のタンパク質同様，推定される消失経路は異化作用を介した低分子ペプチド及び個々のアミノ酸への代謝後に排泄される経路であるため，不要と考える．

2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用

薬物動態学的薬物相互作用試験は実施していない．

2.4.3.6 その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施していない．

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

独立した単回投与毒性試験は実施していないが，カニクイザルにおける心血管及び呼吸系に対する安全性薬理試験のための用量設定試験の結果で評価した．本試験では，カニクイザル（各群雄 2 例）にジヌツキシマブを 10.5 mg/kg/日又は 21 mg/kg/日の用量で 30 分間静脈内投与した．その結果，陰茎包皮の腫脹が，10.5 mg/kg/日投与群の 2 例で，投与中又は投与

終了直後～投与終了2時間後まで認められた．陰部皮膚の赤変化が，10.5 mg/kg/日投与群の1例で，投与中のみに認められた．陰茎包皮の腫脹が，21 mg/kg/日投与群の1例で，投与中～投与終了 2 時間後まで認められた．陰茎包皮の腫脹及び陰部皮膚の赤変化に用量依存性は認められなかった．また，嘔吐が21 mg/kg/日投与群の2例で，投与終了直後から30分の間に発現した．

カニクイザルの安全性薬理試験における用量設定試験並びにSDラットにおける28日間反復投与毒性試験，幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験及び幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験の初回投与から次回投与までにおいて，ジヌツキシマブに関連した死亡は認められず忍容性は良好であった．よってカニクイザル，ラット，幼若カニクイザルの概略の致死量はそれぞれ21 mg/kg/日超，45 mg/kg/日超，30 mg/kg/日超であると考えられた．

2.4.4.2 反復投与毒性試験

SDラットにおける28日間反復投与毒性試験（試験番号：[redacted]354-003）では，5 mg/kg/日，15 mg/kg/日及び45 mg/kg/日のジヌツキシマブを4日間連続静脈内投与後3日間休薬するサイクルを4回繰り返し，その後6週間の回復期間を設けた．その結果，投与期間中及び回復期間中に死亡は認められなかった．一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，尿検査及び肉眼的観察でジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．肝臓毒性として，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST），アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT），アルカリフォスファターゼ（ALP）及びコレステロールの増加，肝臓の小葉中心性うっ血，クッパー細胞の増加や肥大，肝細胞の核の大小不同及び肝細胞壊死並びに肝臓重量の増加などが用量相関的に観察された．また，病理組織学的検査の肝細胞の有糸分裂像の増加，肝細胞のびまん性の好塩基性変化及び中心静脈周囲・小葉間の線維化が認められた．その他，赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少，網状赤血球（%）の増加，肝臓，脾臓の髄外造血及び骨髄での造血亢進などが認められた．投与期間に認められた主な所見は，小葉中心性うっ血及び中心静脈周囲・小葉間の線維化を除き，回復期間に回復又は回復傾向にあった．免疫表現型検査で CD3 陰性 NKR-P1A 陽性細胞の増加が 15 mg/kg/日投与群及び45 mg/kg/日投与群で認められたが，この増加はジヌツキシマブの薬理作用を反映しているものと考えられた．また，ADA 産生を示唆する所見として，脾臓の白脾髄での胚中心数の増加が，45 mg/kg/日投与群の雄並びに15 mg/kg/日投与群及び45 mg/kg/日投与群の雌で認められた．さらにTKではDay 22で，Day 1と比較して，5 mg/kg/日投与群でC_0及び$AUC_{0\text{-}4h}$が著しく減少し，15 mg/kg/日投与群の雌は僅かに減少し，15 mg/kg/日投与群の雄及び45 mg/kg/日投与群の雌ではほぼ等しく，並びに45 mg/kg/日投与群の雄では僅かな増加が認められた．

以上の結果から，本試験で無毒性量（NOAEL）は求められず，NOAELは5 mg/kg/日を下回ると考えられた．

幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験（試験番号：ch14.18 TOX-001）では，3 mg/kg/日，10 mg/kg/日及び 30 mg/kg/日のジヌツキシマブを 4 日間連続投与（カテーテル回復術のため 1 日休薬した動物については，5 日間のうち 4 日投与）し，その後 24 日間の回復期間を設けた．その結果，投与期間中及び回復期間中に死亡は認められず，眼科学的検査，心電図，神経学的評価，神経伝導速度及び尿検査でジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．一般状態では円背，振戦，運動性低下，歩行異常，散瞳，皮膚の赤変化などが認められた．神経毒性として，背根神経節の神経線維変性及び神経細胞壊死などが認められた．さらに回復期間終了後には，延髄，背索，坐骨神経，脛骨神経，腓骨神経，腓腹神経，足底神経，後肢，前肢などに神経線維変性が認められ，投与期間終了後に認められていた背根神経節の神経線維変性も認められたため，その回復性を確認できなかった．その他，病理組織学的検査の肝臓の胆管周囲混合細胞浸潤，心臓の混合細胞（主に好酸球）の炎症，脳の白質内グリオーシス及び灰白質の血管や血管周囲の炎症，気管，膵臓及び腸間膜などの付属リンパ節での好酸球浸潤や好酸球性肉芽腫，投与部位の血管や血管周囲の炎症などが認められた．これらの所見は回復期間終了後には回復または程度の減弱が認められ，回復性を確認できた．TK の結果，$AUC_{0\text{-}48h}$ に性差は認められなかった．$AUC_{0\text{-}48h}$ は用量に比例し増加したが，その増加の割合は用量比を下回った．

以上の結果から，本試験の NOAEL は求められず，NOAEL は 3 mg/kg/日を下回ると考えられた．

幼若カニクイザルにおける5ヵ月間反復投与毒性試験（試験番号：ch14.18 TOX-002）では，1 mg/kg/日，3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日のジヌツキシマブを4日間連続静脈内投与し，24日間休薬するサイクルを5回繰り返し，回復期間を168日間設けた．その結果，ジヌツキシマブに関連した死亡は認められず，眼科学的検査，心電図，神経学的評価，尿検査，血液生化学的検査及び器官重量にジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．一般状態の変化として，円背，振戦，運動性低下，歩行異常，散瞳，皮膚の赤変化などが認められた．神経系に，用量相関性の病理組織学的所見が観察された．延髄，脊髄，坐骨神経，腓腹神経，脛骨神経，腓骨神経，足底神経及び背根神経節の神経線維変性，背根神経節の神経細胞変性及び随伴増殖，坐骨神経，腓腹神経，脛骨神経，腓骨神経，足底神経，腰部背根神経節及び脳の白質における泡沫状組織球浸潤，坐骨神経及び脛骨神経における単核細胞浸潤などが投与期間終了後に認められた．これらの変化は，168日間の回復期間終了時に回復あるいはその傾向が認められた．TKでDay 5において平均血漿中濃度はほぼ用量に比例して増加したが，2サイクル目（Day 33）以降に反復投与に伴う血漿中濃度の減少が認められ，ADA産生が示唆された．

以上の結果から，本試験のNOAELは求められず，NOAELは1 mg/kg/日を下回ると考えられた．また，重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は10 mg/kg/日と判断された．

2.4.4.3 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験は実施していない．ジヌツキシマブは組換えタンパクであり，デオキシリボ核酸，あるいはほかの染色体物質と直接反応する可能性が極めて低いと考えられることから，不要と考える．

2.4.4.4 がん原性試験

がん原性試験は実施していない．ジヌツキシマブは，進行がんを適応症として開発中であるため不要と考える．

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

以下の理由から生殖発生毒性試験は実施していない．

1. [redacted]
2. 本剤の標的である GD2 は，ヒト胎児において脳，神経幹細胞及び骨髄間葉系幹細胞に発現が認められること，IgG1 抗体である本剤は，胎盤を通過すると考えられること，並びに胎児の血液脳関門は発達が未熟であることを踏まえると，本剤は胚・胎児に対して有害作用を及ぼす可能性が考えられること．

この内容は医薬品[redacted]相談（[redacted]，実施日：平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日）において確認されている．

なお，SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験，幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験及び幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験において，雌雄の生殖器に臓器重量の変動あるいは病理組織学的変化は認められなかった．

2.4.4.6 局所刺激性試験

局所刺激性は SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験，幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験及び幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験の成績から評価した．SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験及び幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験で，投与部位の病理組織学的所見に，対照群［プラセボ（20 mmol/L ヒスチジン，150 mmol/L 塩化ナトリウム，0.05%ポリソルベート 20，pH 6.8）を静脈内投与］と投与群との間で差は認められなかった．幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験の病理組織学的検査で，投与部位の血管や血管周囲の炎症が 30 mg/kg/日投与群の雄及び 10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．しかし，これらの所見は幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験で対照群も含め認められていること，また 30 mg/kg/日投与群の雄で認められた投与部位の血管や血管周囲の炎症は，血栓形成を伴っていたことを考えあわせ，カテーテル留置に関与した変化であると判断した．

以上の結果から，ジヌツキシマブに局所刺激性はないと考えられた．

2.4.4.7 その他の毒性試験

2.4.4.7.1 組織交差反応性試験

ヒト小児及び成人組織（試験番号：IM2038），SD ラット（試験番号：IM2189），NZW ウサギ（試験番号：IM2190）並びに幼若カニクイザル（試験番号：IM2615）における組織交差反応性試験の染色結果は，既報の GD2 発現部位とおおむね一致したが，一部分で既報の GD2 発現部位と一致しない染色が認められた．この一部分で認められた組織要素の染色は，報告されていない GD2 発現部位又は GD2 に密接に関連する別のエピトープとの交差反応性である可能性が考えられた．

2.4.4.7.2 疼痛に関する機序検討試験

疼痛の機序に関する非臨床試験として，マウス，ラット，ウサギ及びイヌを用いた試験が報告されている[9-12]．14.G2a を SJL マウス，Lewis ラット又は NZW ウサギに，単回静脈内又は腹腔内投与したとき，ニューロパチーを示す一般状態，電気生理学的又は組織学的所見は認められなかった．IHC では，14.G2a の小脳顆粒層，腸間膜神経節及び背根神経節の神経節細胞，坐骨神経線維への結合が全ての動物種で認められた．ビーグル犬の 202 mg 投与群では，2 mg 投与群及び陰性対照群（非特異的なマウス全長 IgG を静脈内投与）比較して，遠位運動振幅が有意に減少した．ビーグル犬でも IHC において小脳顆粒層，迷走神経及び多くの坐骨神経線維が 14.G2a で陽性に染色された．しかし，2 mg 及び 202 mg 投与群において，坐骨神経，迷走神経，腕神経叢，腰仙部神経根，腓腹神経，頸部神経節及び腸間膜神経節における脱髄，軸索変性又は炎症等の病理組織学的異常は認められず，運動振幅減少の原因は不明であった[9]．

また，別の3件の報告において，ch14.18又は14.G2aを0.1～10.0 mg/kgの用量で静脈内投与，又は0.01～0.1 ngの用量で髄腔内投与したとき，機械的アロディニアが速やかかつ持続的に発現した．アロディニアに伴い，末梢神経のA δ及びC線維の背景活動が増加した．この神経活動はリドカインで抑制され，カプサイシンで完全に遮断されたことから，ジヌツキシマブで誘導される疼痛反応にペプチド作動性求心線維が関与していることが示された．これらのデータを総合すると，臨床でのジヌツキシマブの投与に伴う疼痛は，ジヌツキシマブが末梢神経又はミエリンあるいはその両方におけるGD2抗原と反応することによって刺激された機械的アロディニアである可能性が示唆される[10-12]．

2.4.5 総括及び結論

効力を裏付ける試験において，Mujoo らは，神経外胚葉を起源とする腫瘍（神経芽腫，メラノーマ及び神経膠腫）を Mab 14.18 が認識して結合すると報告している．さらに Mab 14.18 は，6 種類の GD2 陽性ヒト神経芽腫細胞（IMR-6，SMS-KCNR，CHP-134，NMB-7，SK-N-AS 及び SMS-KAN）全てに結合し，その細胞 1 個あたりの平均結合部位数は 1.1～2.7×10^5 個であった[1]．また Mueller らは， GD2 陽性 M21 メラノーマ細胞 1 個あたりの ch14.18 又

は 14.G2a の結合部位数はそれぞれ 1.5×10^7 個及び 1.4×10^7 個，解離定数（K_d）はそれぞれ 11.2 nmol/L 及び 11.9 nmol/L であり，両抗体は同等の親和性を示すことを報告している[3)]．

ch14.18，14.G2a 又は Mab 14.18 の ADCC 誘導作用に関しては多くの研究がされており，GD2 陽性神経芽腫細胞及びメラノーマ細胞の ADCC が誘導されることが明らかとなっている．さらに可溶性サイトカインである rhGM-CSF 及び rhIL-2 は，ch14.18 を介した GD2 陽性腫瘍細胞の溶解を促進することから，ch14.18 の抗腫瘍効果を高めるのに有用であると考えられている[1, 3-6)]．また Chen らは，GD2 陽性神経芽腫細胞の ADCC が，ch14.18 存在下で，好中球及び PBMC の作用により誘導されることを明らかにした．さらに，rhGM-CSF が添加されることにより，好中球では ADCC の増強が認められた．好中球において，E:T 比が高く，ch14.18 が高濃度でかつ rhGM-CSF が添加されているとき，GD2 陽性神経芽腫細胞では増殖が阻害されたが，GD2 陰性神経芽腫細胞では神経芽腫細胞の増殖が促進された[7)]．

ADCC 誘導作用に加えて，ch14.18 は神経芽腫細胞及びメラノーマ細胞に対して，14G2a はメラノーマ細胞に対して，Mab14.18 は神経芽腫細胞に対して，それぞれ CDC を誘導することが報告されている[1, 3, 6)]．

Kendra らによれば，担がん SCID マウスの腹腔に 10^7 個の M21 メラノーマ細胞を接種すると，2～3 週間後には最大径 4 mm 程度の小結節が腹膜，腸間膜，横隔膜に認められる．この担がん SCID マウスに 1.0 mg（約 50 mg/kg）の ch14.18 を腹腔内投与すると，投与 10 時間後には 27%の腫瘍細胞に ch14.18 の結合が認められ，結合レベルは投与 13 時間（58%）と 24 時間後（56%）の時点で一定であった[5)]．また，0.01，0.1 又は 1.0 mg（約 0.5，5 又は 50 mg/kg）の ch14.18 を腹腔内投与すると，ch14.18 の結合は投与量に比例して増加した．免疫組織化学的検討において，1.0 mg では ch14.18 は腫瘍細胞 20 個分の深さまで透過したが，0.01 mg では透過は認められなかった．さらに，M21 メラノーマ細胞（10^6 個）を，ch14.18（0.5 mg），PBMC（M21 細胞の 3～30 倍）及び rhIL-2（1,500 U/100 μL）とともに SCID マウスに皮下投与したとき，GD2 陽性メラノーマ腫瘍の増殖が阻害された[5)]．

Mujoo らは，神経芽腫細胞を皮下移植した無胸腺マウスに，200 μg（約 10 mg/kg）の Mab 14.18 を反復腹腔内投与したとき，神経芽腫腫瘍の形成が遅延したと報告している[1)]．

副次的薬理試験において，SJL マウス，Lewis ラット，NZW ウサギ及びビーグル犬を用いて神経組織における GD2 の分布を検討するために IHC を実施した．これらの動物の腸間膜神経節及び背根神経節では神経細胞に部分的な GD2 の染色が観察され，小脳顆粒層にも染色が観察された．NZW ウサギ及びビーグル犬の坐骨神経では，多くの神経線維の染色が観察された一方，SJL マウス及び Lewis ラットの坐骨神経では，一部の神経線維のみに染色が観察された．ビーグル犬では迷走神経の神経線維に染色が観察された[9)]．Slart らの結果では，SD ラットに 0.1，1.0，3.0 及び 10.0 mg/kg の ch14.18 を急速静脈内投与したとき，投与後 1 時間以内に機械的アロディニアが発現し，一定に達して，24～48 時間後でも持続していた．この機械的アロディニアの発現に伴って，心拍数増加及び血圧上昇が認められた．これらの所見は，臨床で観察される疼痛に関係している可能性があると考察している[10)]．Xiao らの結果では，1 mg/kg の ch14.18 及び 14.G2a を急速静脈内投与したとき，機械的アロディ

ニアが投与後 15 分以内に発現し，45～60 分の時点で一定に達した．ch14.18 及び 14.G2a を急速静脈内投与すると，背景活動が認められた末梢神経の Aδ及び C 線維の数が，対照群及び陰性対照群と比較して増加した．また，対照群と比較して，ch14.18 及び 14.G2a 投与群で Aδ線維の平均機械的閾値の有意な低下が認められた．一方，C 線維の平均機械的閾値も減少傾向を示し，減少の程度は陰性対照群と同等であった．リドカインを急速静脈内投与したとき，抗 GD2 抗体に関連する背景活動が減少した．Xiao らは，これらの結果から，抗 GD2 抗体が一次求心線維の背景活動を増加させ機械的閾値を低下させること及びリドカインが抗 GD2 抗体により発現するアロディニアの治療薬として有用である可能性を述べている[11]．Sorkin らの結果では，1 mg/kg の 14.G2a を急速静脈内投与したとき，30 分の時点で機械的アロディニアが発現し，一定に達していた．0.01，0.05 及び 0.1 ng の 14.G2a を髄腔内投与したとき，3 時間の観察期間を通して機械的アロディニアが認められたが，0.5 ng の投与量では機械的アロディニアの発現は認められなかった．一方，静脈内投与においても髄腔内投与においても 14.G2a により熱アロディニアは発現しなかった．また，75 µg のカプサイシンを前投与し，0.01 ng の 14.G2a を髄腔内投与すると，50%後肢逃避閾値の低下が認められなかったことから，機械的アロディニアの発現がカプサイシンにより抑制されたと考えられる．事実，カプサイシンの前投与により脊髄背側部の CGRP の組織 1 g 当たりの平均値が減少したことを，Sorkin らは報告している．すなわち，抗 GD2 抗体により誘発される機械的アロディニアは，ペプチド作動性求心線維を介している可能性があると考えられる[12]．

カニクイザルの安全性薬理試験における用量設定試験の結果，陰茎包皮の腫脹が，10.5 mg/kg/日投与群の2例で，投与中又は投与終了直後～投与終了2時間後まで認められた．陰部皮膚の赤変化が，10.5 mg/kg/日投与群の1例で，投与中のみに認められた．陰茎包皮の腫脹が，21 mg/kg/日投与群の1例で，投与中～投与終了2時間後まで認められた．陰茎包皮の腫脹及び陰部皮膚の赤変化に用量依存性は認められなかった．また，嘔吐が21 mg/kg/日投与群の2例で，投与終了直後から30分の間に発現した．

カニクイザルにおける心血管及び呼吸系に対する安全性薬理試験で，14 mg/kg/日のジヌツキシマブを単回静脈内投与開始後に心血管系への影響（血圧上昇及び心拍数の増加）が認められたが，呼吸系への影響は認められなかった．ECG パラメータに変化は認められなかった．

Sorkin らは，C6 補体欠損 SD ラット（C6 の上流にある C3a 又は C5a の産生に影響はない）又は C5a 補体受容体アンタゴニスト前投与 SD ラットに，ch14.18 を 1 mg/kg 投与したところ，機械的アロディニアが減少するか又は完全に消失したと述べている．このことから，ch14.18 により発現する機械的アロディニアが補体系カスケードの活性化により惹起される可能性を指摘している[13]．

すなわち，ジヌツキシマブにより誘発される疼痛は，主に薬理作用の延長であると思われる．

PK 試験のうちジヌツキシマブ血漿中濃度に関しては，カニクイザルにプラセボ投与開始後 10 時間及びジヌツキシマブ投与開始前の血漿中濃度は，全例で BLQ（263 ng/mL 未満）

であった．ジヌツキシマブ投与開始後 5 時間の時点で 151,000 ng/mL を超える血漿中濃度が得られ，投与開始後 24 時間まで 145,000 ng/mL 以上の濃度で維持された．

ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験の TK 測定では，雌雄の SD ラットに 5 mg/kg/日，15 mg/kg/日及び 45 mg/kg/日のジヌツキシマブを 4 日間連続静脈内投与（各日 1 時間の持続注入）後 3 日間休薬するサイクルを 4 回繰り返し，回復期間を 6 週間設けた．Day 1（1 サイクル目）における C_0 及び $AUC_{0\text{-}4h}$ は用量にほぼ比例して増加し，これらの PK パラメータに性差は認められなかった．Day 22（4 サイクル目）における C_0 及び $AUC_{0\text{-}4h}$ は用量比を上回る増加を示した．1 サイクル目と比較すると，4 サイクル目では，5 mg/kg/日投与群で C_0 及び $AUC_{0\text{-}4h}$ が著しく減少した．15 mg/kg/日投与群の 4 サイクル目の PK パラメータは，1 サイクル目と比較して雌では僅かに減少し，雄は同程度であった．45 mg/kg/日投与群の雌ではほぼ等しく，雄では 4 サイクル目で僅かに増加した．反復投与に伴う血漿中濃度の減少は，ADA の産生を示唆していると考えられた．

雌雄の幼若カニクイザルを用いた 4 日間投与忍容性試験の TK 測定では，3 mg/kg/日，10 mg/kg/日及び 30 mg/kg/日のジヌツキシマブを 4 日間静脈内投与（各日 10 時間の持続注入）し，回復期間を 24 日間設けた．TK 評価の結果，t_{max} は概して最終投与終了後 0 時間（最終投与開始後 10 時間）であり，$AUC_{0\text{-}48h}$ は用量の増加に伴って増加したが，その増加の割合は用量比を下回った．C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}48h}$ に性差は認められなかった．

雌雄の幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験の TK 測定では 1 mg/kg/日，3 mg/kg/日及び 10 mg/kg/日のジヌツキシマブを，4 日間連続静脈内投与（各日 10 時間の持続注入）し，24 日間休薬するサイクルを 5 回繰り返し，回復期間を 168 日間設けた．TK 評価の結果，1 サイクル目（Day 5）において，平均血漿中濃度は用量の増加に伴って増加した．概して血漿中濃度に著しい性差は認められなかったが，10 mg/kg/日投与群の Day 57～Day 117 では雌と比較して雄の血漿中濃度が高かった．2 サイクル目（Day 33）以降において投与サイクルを重ねるごとに，全投与群の平均血漿中濃度の減少傾向が認められた．反復投与に伴う血漿中濃度の減少は，ADA の産生を示唆していると考えられた．

分布に関しては，異種移植マウスにおける ch14.18 又は 14.G2a の分布及びビーグル犬における 14.G2a の消失及び組織分布の論文が報告されている．

雌の異種移植マウスの側部尾静脈に 3～5 μg（74 KBq）の ^{125}I 標識 ch14.18 又は 14.G2a を投与したときの結果から，Mueller らは，この動物で ch14.18 及び 14.G2a は血液中から同様に消失すると報告している．組織（1 g）中の放射能量は，両抗体共に腫瘍中が最も高かった（最大で投与放射能量の 13.5%）．腫瘍以外の組織・臓器では，時間と共に放射能割合の減少が見られた．投与後 24 時間で，他の組織・臓器より，細網内皮系臓器（肺，肝臓及び脾臓）で放射能割合が高く，Mueller らは，これらの臓器が血液からの抗原抗体複合体除去に関与している可能性を報告している．投与後 96 時間の腫瘍／肝臓の放射能割合の結果から，Mueller らは，この動物で ch14.18 及び 14.G2a の腫瘍標的能に差はないように見えると報告している[3)]．

ビーグル犬に ^{111}In 標識 14.G2a を投与したとき，2 mg 投与群及び 202 mg 投与群の尿中の ID（%）は肝臓の ID（%）と比較して低かった．14.G2a の組織取り込み比（組織／筋肉比）は，2 mg 投与群と比較して，202 mg 投与群の全てのリンパ節（腸間膜リンパ節，膝窩リンパ節，扁桃腺など）で高く，特に腸間膜リンパ節で高かった．その他，202 mg 投与群の肝臓で特に高い組織／筋肉比が見られた．CNS 組織（大脳皮質及び小脳）の組織／筋肉比（約 0.3）は，それ以外の組織・臓器での取り込み比と比べ，約 1/10 であった．一方，血液脳関門の存在しない下垂体の取り込み比は 5 であった．Vriesendorp らは，この違いは血液脳関門の存在有無によるものと考えている．末梢神経系（腕神経叢，迷走神経，馬尾神経，坐骨神経及び頸部神経節）の取り込み比は，CNS 組織に比べて 2〜7 倍高かった [9]．

ジヌツキシマブの単回投与毒性及び反復投与毒性所見を以下に要約する．カニクイザルの安全性薬理試験における用量設定試験では，各群雄 2 例にジヌツキシマブを 10.5 mg/kg/日又は 21 mg/kg/日の用量で 30 分間静脈内投与した．観察及び評価項目は一般状態のみとし，投与レジメンの忍容性を判断した．陰茎包皮の腫脹が，10.5 mg/kg/日投与群の 2 例で，投与中又は投与終了直後〜投与終了 2 時間後まで認められた．陰部皮膚の赤変化が，10.5 mg/kg/日投与群の 1 例で，投与中のみに認められた．陰茎包皮の腫脹が，21 mg/kg/日投与群の 1 例で，投与中〜投与終了 2 時間後まで認められた．陰茎包皮の腫脹及び陰部皮膚の赤変化に用量依存性は認められなかった．また，嘔吐が 21 mg/kg/日投与群の 2 例で，投与終了直後から 30 分の間に発現した．

SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験では，5 mg/kg/日，15 mg/kg/日及び 45 mg/kg/日のジヌツキシマブを 4 日間連続静脈内投与後 3 日間休薬するサイクルを 4 回繰り返し，その後 6 週間の回復期間を設けた．その結果，投与期間中及び回復期間中に死亡は認められなかった．一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，尿検査及び肉眼的観察でジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．肝臓毒性として，AST，ALT，ALP 及びコレステロールの増加，肝臓の小葉中心性うっ血，クッパー細胞の増加や肥大，肝細胞の核の大小不同及び肝細胞壊死並びに肝臓重量の増加などが用量相関的に観察された．また，病理組織学的検査の肝細胞の有糸分裂像の増加，肝細胞のびまん性の好塩基性変化及び中心静脈周囲・小葉間の線維化が認められた．その他，赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少，網状赤血球（%）の増加，肝臓，脾臓の髄外造血及び骨髄での造血亢進などが認められた．投与期間に認められた主な所見（小葉中心性うっ血及び中心静脈周囲・小葉間の線維化を除く）は，回復期間に回復又は回復傾向にあった．免疫表現型検査で CD3 陰性 NKR-P1A 陽性細胞の増加が 15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群で認められたが，この増加はジヌツキシマブの薬理作用を反映しているものと考えられた．また，ADA 産生を示唆する所見として，脾臓の白脾髄での胚中心数の増加が，45 mg/kg/日投与群の雄並びに 15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雌で認められた．さらに TK では Day 22 で，Day 1 と比較して，5 mg/kg/日投与群で C_0 及び $AUC_{0\text{-}4h}$ が著しく減少し，15 mg/kg/日投与群の雌は僅かに減少し，15 mg/kg/日投与群の雄及び 45 mg/kg/日投与群の雌ではほぼ等しく，並びに 45 mg/kg/日投与群の雄では僅かな増加が認められた．

以上の結果から，本試験で NOAEL は求められず，NOAEL は 5 mg/kg/日を下回ると考えられた．

幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験では，3 mg/kg/日，10 mg/kg/日及び 30 mg/kg/日のジヌツキシマブを 4 日間連続投与（カテーテル回復術のため 1 日休薬した動物については 5 日間のうち 4 日投与）し，その後 24 日間の回復期間を設けた．その結果，投与期間中及び回復期間中に死亡は認められず，眼科学的検査，心電図，神経学的評価，神経伝導速度及び尿検査でジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．一般状態では円背，振戦，運動性低下，歩行異常，散瞳，皮膚の赤変化などが認められた．神経毒性として，背根神経節の神経線維変性及び神経細胞壊死などが認められた．さらに回復期間終了後には，延髄，背索，坐骨神経，脛骨神経，腓骨神経，腓腹神経，足底神経，後肢，前肢などに神経線維変性が認められ，投与期間終了後に認められていた背根神経節の神経線維変性も認められたため，その回復性を確認できなかった．その他，病理組織学的検査の肝臓の胆管周囲混合細胞浸潤，心臓の混合細胞（主に好酸球）の炎症，脳の白質内グリオーシス及び灰白質の血管や血管周囲の炎症，気管，膵臓及び腸間膜などの付属リンパ節での好酸球浸潤や好酸球性肉芽腫，投与部位の血管や血管周囲の炎症などが認められた．これらの所見は回復期間終了後には回復または程度の減弱が認められ，回復性を確認できた．TK の結果，$AUC_{0\text{-}48h}$ に性差は認められなかった．$AUC_{0\text{-}48h}$ は用量に比例し増加したが，その増加の割合は用量比を下回った．

以上の結果から，本試験の NOAEL は求められず，NOAEL は 3 mg/kg/日を下回ると考えられた．

幼若カニクイザルにおける5ヵ月間反復投与毒性試験において，ジヌツキシマブに関連した死亡は認められず，眼科学的検査，心電図，神経学的評価，尿検査，血液生化学的検査及び器官重量にジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．一般状態の変化として，円背，振戦，運動性低下，歩行異常，散瞳，皮膚の赤変化などが認められた．神経系に，用量相関性の病理組織学的所見が観察された．延髄，脊髄，坐骨神経，腓腹神経，脛骨神経，腓骨神経，足底神経及び背根神経節の神経線維変性，背根神経節の神経細胞変性及び随伴増殖，坐骨神経，腓腹神経，脛骨神経，腓骨神経，足底神経，腰部背根神経節及び脳の白質における泡沫状組織球浸潤，坐骨神経及び脛骨神経における単核細胞浸潤などが投与期間終了後に認められた．これらの変化は，168日間の回復期間終了時に回復あるいはその傾向が認められた．TKでDay 5において平均血漿中濃度はほぼ用量に比例して増加したが，2サイクル目（Day 33）以降に反復投与に伴う血漿中濃度の減少が認められ，ADA産生が示唆された．

以上の結果から，本試験のNOAELは求められず，NOAELは1 mg/kg/日を下回ると考えられた．また，HNSTDは10 mg/kg/日と判断された．

国内臨床試験（第I/IIa相試験）においては，高リスク神経芽腫を対象に，米国での標準的治療である顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）（sargramostim），インターロイキン-2（IL-2）（aldesleukin）を交互に併用するジヌツキシマブ免疫療法を参考にした．

第I/IIa相試験として，IL-2製剤として国内既承認のテセロイキン（遺伝子組み換え）（イムネース®）を，また，GM-CSF製剤の代替としてマクロファージコロニー刺激因子（M-CSF）製剤のミリモスチム（[redacted]）（ミリモスチムを使用した療法をM療法とする）及び顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）製剤のフィルグラスチム（遺伝子組換え）（グラン®）［フィルグラスチム（遺伝子組換え）を使用した療法をG療法とする］を使用し，ジヌツキシマブとIL-2及びM-CSF及びG-CSFを交互使用する2つのレジメン（M療法とG療法）での安全性と臨床効果を検討した．HNSTDにおけるジヌツキシマブ平均血漿中濃度（1サイクル目Day 5：雄380±109 μg/mL，雌312±79.5 μg/mL）は，国内第I/IIa相試験（第I相試験部分）における，初回投与（17.5 mg/m^2/日）開始82～92時間後に認められた最高平均血漿中濃度（G療法：16.7±2.75 μg/mL）の約19倍から23倍に相当した．

組織交差反応性試験の結果，ジヌツキシマブの結合プロファイルは，ヒトを含むいずれの種においても，既報のGD2の発現部位とおおむね一致したことから，SDラット及びカニクイザルがジヌツキシマブの非臨床評価に適切な動物種であると考えられた．

臨床で認められる疼痛の機序を検討するために，14.G2aあるいはch14.18を用いて，マウス，ラット及びウサギにおける単回投与試験並びにイヌにおける反復投与試験が実施されている[9-12]．総じて，ジヌツキシマブ投与に伴う疼痛は，末梢神経又はミエリンあるいはその両方におけるGD2抗原へのジヌツキシマブの結合によって刺激された機械的アロディニアの誘導が原因であることが示唆された．

2.4.6 参考文献

1) Mujoo, K., Cheresh, D.A., Yang, H.M., et al. Disialoganglioside G_{D2} on human neuroblastoma cells: target antigen for monoclonal antibody-mediated cytolysis and suppression of tumor growth. Cancer Res. 1987, 47(4), 1098-1104.
2) Mujoo, K., Kipps, T.J., Yang, H.M., et al. Functional properties and effect on growth suppression of human neuroblastoma tumors by isotype switch variants of monoclonal antiganglioside G_{D2} antibody 14.18. Cancer Res. 1989, 49(11), 2857-2861.
3) Mueller, B.M., Romerdahl, C.A., Gillies, S.D., et al. Enhancement of antibody-dependent cytotoxicity with a chimeric anti-GD2 antibody. J Immunol. 1990, 144(4), 1382-1386.
4) Barker, E., Mueller, B.M., Handgretinger, R., et al. Effect of a chimeric anti-ganglioside G_{D2} antibody on cell-mediated lysis of human neuroblastoma cells. Cancer Res. 1991, 51(1), 144-149.
5) Kendra, K., Malkovska, V., Allen, M., et al. In vivo binding and antitumor activity of ch14.18. J Immunother. 1999, 22(5), 423-430.
6) Zeng, Y., Fest, S., Kunert, R., et al. Anti-neuroblastoma effect of ch14.18 antibody produced in CHO cells is mediated by NK-cells in mice. Mol Immunol. 2005, 42(11), 1311-1319.

7） Chen, R.L., Reynolds, C.P., Seeger, R.C. Neutrophils are cytotoxic and growth-inhibiting for neuroblastoma cells with an anti-GD2 antibody but, without cytotoxicity, can be growth-stimulating. Cancer Immunol Immunother. 2000, 48(11), 603-612.

8） Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry: Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. 2005, 1-27.

9） Vriesendorp, F.J., Quadri, S.M., Flynn, R.E., et al. Preclinical analysis of radiolabeled anti-GD2 immunoglobulin G. Cancer. 1997, 80(12 Suppl), 2642-2649.

10） Slart, R., Yu, A.L., Yaksh, T.L., et al. An animal model of pain produced by systemic administration of an immunotherapeutic anti-ganglioside antibody. Pain. 1997, 69(1-2), 119-125.

11） Xiao, W.H., Yu, A.L., Sorkin, L.S. Electrophysiological characteristics of primary afferent fibers after systemic administration of anti-GD2 ganglioside antibody. Pain. 1997, 69(1-2), 145-151.

12） Sorkin, L.S., Yu, A.L., Junger, H., et al. Antibody directed against GD_2 produces mechanical allodynia, but not thermal hyperalgesia when administered systemically or intrathecally despite its dependence on capsaicin sensitive afferents. Brain Res. 2002, 930(1-2), 67-74.

13） Sorkin, L.S., Otto, M., Baldwin III, W.M., et al. Anti-GD_2 with an FC point mutation reduces complement fixation and decreases antibody-induced allodynia. Pain. 2010, 149(1), 135-142.