販売名

ウィフガート点滴静注 **400mg**

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 **2** 部（モジュール **2**）

# **2.4**　非臨床試験の概括評価

アルジェニクスジャパン株式会社

# 目次

略語及び用語の定義 3
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 6
2.4.2.1. 効力を裏付ける試験 6
2.4.2.1.1. In vitro 薬理試験 7
2.4.2.1.2. In vivo 薬理試験 8
2.4.2.2. 副次的薬理試験 10
2.4.2.3. 安全性薬理試験 11
2.4.2.4. 薬力学的薬物相互作用 12
2.4.3. 薬物動態試験 12
2.4.3.1. 分析法 13
2.4.3.2. 吸収 13
2.4.3.3. 分布 14
2.4.3.4. 代謝 15
2.4.3.5. 排泄 15
2.4.3.6. 薬物動態学的薬物相互作用試験 15
2.4.3.7. その他の薬物動態試験 16
2.4.3.8. トキシコキネティクスの比較及びヒトでの安全域 16
2.4.4. 毒性試験 16
2.4.4.1. 単回投与毒性試験 18
2.4.4.2. 反復投与毒性試験 18
2.4.4.3. 遺伝毒性試験 20
2.4.4.4. がん原性試験 20
2.4.4.5. 生殖発生毒性試験 20
2.4.4.6. 局所刺激性試験 22
2.4.5. 考察及び結論 23
2.4.6. 参考文献 29

# 表目次

表 2.4-1　エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのカニクイザル及びヒト FcRn への結合親和性 8

## 略語及び用語の定義

| 略語 | 略していない表現（英語） | 略していない表現（日本語） |
|---|---|---|
| $A_{280}$ | absorbance at 280 nm | 波長 280 nm での吸光度 |
| ABDEG | antibody that enhances degradation | – |
| AChR | acetylcholine receptor | アセチルコリン受容体 |
| AChR-MG | anti-acetylcholine receptor antibody positive myasthenia gravis | 抗アセチルコリン受容体抗体陽性重症筋無力症 |
| ADA | anti-drug antibody, antidrug antibody, antidrug antibodies | 抗薬物抗体 |
| ADCC | antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity | 抗体依存性細胞傷害 |
| ALAT | alanine aminotransferase | アラニンアミノトランスフェラーゼ |
| ARGX-113 | Efgartigimod Alfa (Genetical Recombination) | エフガルチギモド　アルファ（遺伝子組換え） |
| AUC | area under the concentration-time curve | 濃度-時間曲線下面積 |
| C1q | complement protein 1q | 補体タンパク 1q |
| CDC | complement-dependent cytotoxicity | 補体依存性細胞傷害 |
| CL | systemic clearance | 全身クリアランス |
| $C_{max}$ | maximum observed serum (plasma) concentration | 最高血清（血漿）中濃度 |
| CYP | cytochrome P450 | チトクローム P450 |
| DNA | deoxyribonucleic acid | デオキシリボ核酸 |
| $EC_{50}$ | half maximal effective concentration | 50%有効濃度 |
| EFD | embryo-fetal development | 胚・胎児発生に関する |
| ELISA | enzyme-linked immunosorbent assay | 酵素結合免疫吸着検定法 |
| EU | endotoxin unit | エンドトキシン単位 |
| Fab | antigen-binding fragment | 抗原結合 |
| Fc | fragment, crystallized | – |
| FcRn | neonatal Fc receptor | 胎児性 Fc 受容体 |
| FcγR | Fc gamma receptor | Fcγ 受容体 |
| FEED | fertility and early embryonic development | 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する |
| FOB | functional observational battery | 機能観察総合評価法 |
| GD | gestation day | 妊娠日齢 |
| 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 |
| gMG | generalized myasthenia gravis | 全身型重症筋無力症 |

| 略語 | 略していない表現（英語） | 略していない表現（日本語） |
|---|---|---|
| GMP | Good Manufacturing Practice | 医薬品の製造管理および品質管理に関する基準 |
| IC | immune complex | 免疫複合体 |
| ICH | International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use | 医薬品規制調和国際会議 |
| Ig | immunoglobulin | 免疫グロブリン |
| ISR | incurred sample reanalysis | – |
| IVIg | intravenous immunoglobulin | 免疫グロブリン大量静注 |
| $K_d$ | equilibrium dissociation constant | 平衡解離定数 |
| LD | lactation day | 授乳日齢 |
| LPS | lipopolysaccharides | リポ多糖類 |
| LUC | large unstained cell(s) | – |
| mAb | monoclonal antibody | モノクローナル抗体 |
| MG | myasthenia gravis | 重症筋無力症 |
| MuSK | muscle-specific tyrosine kinase | 筋特異的受容体型チロシンキナーゼ |
| MuSk-MG | anti-muscle-specific tyrosine kinase antibody positive myasthenia gravis | 抗筋特異的受容体型チロシンキナーゼ抗体陽性重症筋無力症 |
| NK | natural killer | ナチュラルキラー |
| NOAEL | no observed adverse effect level | 無毒性量 |
| OECD | Organisation for Economic Co-operation and Development | 経済協力開発機構 |
| PBS | phosphate buffered saline | リン酸緩衝生理食塩水 |
| PD | pharmacodynamic(s) | 薬力学 |
| PK | pharmacokinetic(s) | 薬物動態、薬物動態学 |
| PPND | pre- and postnatal development | 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する |
| SPR | surface plasmon resonance | 表面プラズモン共鳴 |
| $t_{1/2,eff}$ | effective elimination half-life | 有効消失半減期 |
| $t_{1/2,z}$ | terminal elimination half-life | 終末相消失半減期 |
| TK | toxicokinetic(s) | トキシコキネティクス |
| USP | United States Pharmacopeia | 米国薬局方 |
| $V_{SS}$ | volume of distribution at steady-state | 定常状態での分布容積 |

## 2.4. 非臨床試験の概括評価

### 2.4.1. 非臨床試験計画概略

エフガルチギモド　アルファ（遺伝子組換え）（以下、エフガルチギモド：開発コードARGX-113）は、胎児性 Fc 受容体（FcRn）の天然のリガンドであるヒト免疫グロブリン（Ig）G1 抗体 Fc フラグメントで、一連の修飾（ABDEG™変異）により、pH 6.0 及び pH 7.4 の両条件下で FcRn に対する結合親和性が高くなるように設計された FcRn 阻害薬である。エフガルチギモドは内因性 IgG の FcRn への結合を競合阻害し、内因性 IgG のリサイクルを阻害して、IgG 分解を促進する。

総 IgG 及び全ての IgG サブタイプを選択的に減少させるため、FcRn での IgG のリサイクルを阻害することは、IgG 自己抗体による自己免疫疾患に対する合理的な治療戦略である。病原性 IgG 自己抗体を介した重度の自己免疫疾患の治療薬として期待されているエフガルチギモドを非臨床試験で評価した。エフガルチギモドは、全身型重症筋無力症（gMG）の成人患者への適応を予定している（2.5.1.4 項）。

病原性 IgG を減少させる方法の一つに FcRn を飽和させることが挙げられる（Thomas, 2019、Wang, 2008）。IgG のリサイクルを阻害する FcRn 阻害薬は、他社でも開発中である（Ling, 2019、 Kiessling, 2017）。FcRn 阻害薬は T 細胞及び B 細胞活性を阻害せず、恒常性維持で FcRn に依存しない Ig である IgM 及び IgA 濃度に影響を及ぼさないと考えられる。さらに、エフガルチギモドはアルブミンの FcRn への結合を阻害しないことから、血清アルブミン濃度にも影響を及ぼさない。

自己免疫疾患の既存療法として、免疫グロブリン大量静注（IVIg）がある。IVIg は FcRn 阻害薬と同様の作用機序で、大量の IgG を静脈内投与することにより内因性 IgG の FcRn への結合を競合阻害して有効性を示すと考えられている（Wang, 2008、Ryman, 2017）。

エフガルチギモドの非臨床開発を、医薬品規制調和国際会議（ICH） S6（R1）及び ICH M3（R2）に準じて実施した。さらに、生殖発生毒性試験については ICH S5 に準拠し、一般毒性試験及び薬物動態（PK）試験で実施した安全性薬理評価については ICH S7A に準拠した。全ての主要な非臨床毒性試験（2.6.7.1 項）は、経済協力開発機構（OECD）加盟国内の試験施設で、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従って実施した。

エフガルチギモドの各種 FcRn に対する結合親和性について in vitro 薬理試験で検討した。In vivo 薬理試験では、エフガルチギモドを投与したとき内因性 IgG 濃度が減少したことから、血清中 IgG が薬力学（PD）的バイオマーカーであることが明らかとなった（2.4.2.1.2 項）。

エフガルチギモドの副次的薬理作用の潜在的リスクを評価するため、以下の試験を実施した。

- 抗体が結合すると免疫細胞の活性化又は標的細胞の溶解が促進されることが知られているヒト Fcγ 受容体（FcγR）又は補体タンパク 1q（C1q）へのエフガルチギモドの結合に関する in vitro 試験
- in vitro 組織結合試験（カニクイザル及びヒト）
- in vitro ヒトナチュラルキラー細胞（NK 細胞）の活性化及び一般毒性試験での免疫細胞活性化のモニタリング（2.4.4 項）
- ラット及びカニクイザルでの薬理試験及び一般毒性試験での IgA、IgM 及びアルブミン濃度の測定（2.4.2.2 項、2.4.4 項）

自己免疫疾患に対し期待されているエフガルチギモドの作用機序による有効性について、げっ歯類での抗筋特異的受容体型チロシンキナーゼ抗体陽性重症筋無力症（MuSK-MG）及び抗アセチルコリン受容体抗体陽性重症筋無力症（AChR-MG）passive transfer モデルで検討した（2.4.2.1.2 項）。

ICH S7A で規定されている安全性薬理評価項目については、GLP 適用の PK／安全性薬理試験（呼吸器系及び中枢神経系機能）及び一般毒性試験（心血管系機能）の一部として実施した。これは ICH S6（R1）の規定にも準じると考えられる。安全性薬理評価項目に関して特記すべき異常は認められなかった（2.4.2.3 項）。

エフガルチギモドと IVIg との薬力学的薬物相互作用について、ヒト FcRn トランスジェニックマウスを用いて評価した（2.4.2.4 項）。

エフガルチギモドの PK 試験を、げっ歯類及び非げっ歯類を用いた PK／PD 試験及び毒性試験の一部として実施した。エフガルチギモドはバイオテクノロジー応用医薬品であるため、独立した分布及び代謝に関する試験を実施しなかった。排泄については、限られた条件で探索的試験を実施した（2.4.3.5 項）。

エフガルチギモドと併用薬との薬物動態学的薬物相互作用の可能性について、エフガルチギモドと IVIg 又はトレーサー抗体との非臨床薬力学的薬物相互作用試験の結果及び理論的な考察に基づき評価した（2.4.3.6 項）。

エフガルチギモドの一般毒性について、げっ歯類及び非げっ歯類に単回及び反復投与して評価した（2.4.4.1 項、2.4.4.2 項）。26 週間反復投与毒性試験では 1 動物種のみ選択した。さらに、雌雄受胎能及び着床までの初期胚発生に関する（FEED）試験、胚・胎児発生に関する（EFD）試験、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する（PPND）試験を実施した（2.4.4.5 項）。

生体試料中エフガルチギモド濃度分析法では、GLP 適用のバリデーションを実施又は試験の目的に合わせて分析法の妥当性を確認した。生体試料中エフガルチギモド濃度分析法バリデーションの実施に際し、分析法関連のガイドラインに準拠した。コモン・テクニカル・ドキュメント作成時に実施した最終報告書のレビューで、incurred sample reanalysis （ISR）に関して分析法関連のガイドラインからの軽微な逸脱が 1 点認められたが、確認された逸脱は関連する試験の解釈に影響を及ぼさないと判断した（2.6.4.2.1 項）。

GLP 適用のラット及びカニクイザル単回及び反復投与毒性試験で抗薬物抗体（ADA）の産生について評価するため、バリデートされた ADA 分析法を用いて ADA を測定した（2.4.3.1 項、2.6.4.2.3 項）。

### 2.4.2.　薬理試験

エフガルチギモドの非臨床薬理試験一覧を 2.6.3.1 項に示した。

#### 2.4.2.1.　効力を裏付ける試験

エフガルチギモドは FcRn の Ig 結合部位を効率的に阻害することにより、血中の病原性自己抗体及び IgG 濃度を減少させることが、非臨床薬理試験で明らかとなった。効力を裏付ける試験の概要を 2.6.2.2 項及び 2.6.3.2 項に示した。

FcRn は、IgG の輸送及び恒常性維持に主に関与する多機能分子である。IgG は飲作用により細胞内に取り込まれた後、酸性（pH<6.5）の初期エンドソーム内で、IgG の Fc 領域が FcRn に高い親和性で結合する。この結合により、IgG はリソソーム分解から免れて、細胞表

面へ輸送される。中性付近（およそ pH 7.4）の細胞間隙で、IgG は FcRn 複合体から血中へ放出されリサイクルされる（2.6.2.2.1 項）。

#### 2.4.2.1.1.　In vitro 薬理試験

エフガルチギモドは pH 6.0 及び pH 7.4 の両条件下でヒト FcRn に対する結合親和性が高く、血清中の高濃度の内因性 IgG を効率的に競合阻害する。この作用機序により、エフガルチギモドは IVIg（2 g/kg）よりも低い用量で内因性 IgG を効率的に減少させる（Wang, 2008、Vaccaro, 2005）。

In vitro で FcRn への結合親和性を増加させたいくつかの試験分子の中から、in vivo 試験成績に基づきエフガルチギモドを選択した。

pH 6.0 及び pH 7.4 の両条件下で、エフガルチギモドが野生型 Fc フラグメントと比較してヒト FcRn に対して高い結合親和性を示すことを、酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）及び表面プラズモン共鳴（SPR）の 2 種類の方法により実証した（2.6.2.2.2 項）。SPR での代表的な結果を表 2.4-1 に示した。エフガルチギモドが pH 7.4 でも高い結合親和性を有することから、細胞表面からエフガルチギモドが放出されにくいことが示唆される。公知の論文によると、FcRn に対する結合親和性が高くエフガルチギモドと同様の特性及び変異を有する抗体 MST-HN Abdeg では、野生型 IgG に比べて細胞内に蓄積する傾向があった。このことから、エフガルチギモドは細胞内に隔離されており、血中への効率的なリサイクルは生じないことが示唆される。中性の細胞表面では、内因性 IgG は FcRn に結合できないが、エフガルチギモドは FcRn に結合できるため内因性 IgG と競合しない。pH 7.4 での FcRn への結合親和性が高いことは、FcRn の効率的な阻害に重要であると考えられる（Vaccaro, 2005、Vaccaro, 2006）。

In vitro でマウス、ラット、ウサギ及びカニクイザル FcRn との交差反応性が示され、非臨床試験の評価にこれらの動物を用いることは適切と考えられた。エフガルチギモドのウサギ FcRn への結合親和性は他の種よりも低く、エフガルチギモドの FcRn への結合親和性にわずかな種差が認められた。SPR では、FcRn に対するエフガルチギモドの結合親和性の高さは次の順であった［平衡解離定数（$K_d$）が小さい順］。

pH 6.0：マウス>カニクイザル≒ヒト≒ラット>ウサギ

pH 7.4：マウス>ラット>ヒト≒カニクイザル>>ウサギ

ELISA でも SPR と同様な結果が得られ、エフガルチギモドはヒト FcRn よりもマウス及びラット FcRn に対してより高い結合親和性を示し、ヒト及びサル FcRn への結合親和性は同程度であった（2.6.2.2.2.2 項、表 2.4-1）。

pH 6.0 では、エフガルチギモドのカニクイザル及びヒト FcRn に対する $K_d$ はそれぞれ 0.2 及び 0.4 nmol/L で、カニクイザルとヒトで同程度の結合親和性であった。一方、野生型 Fc フラグメントのカニクイザル及びヒト FcRn に対する $K_d$ はそれぞれ 55 及び 28 nmol/L であったことから、エフガルチギモドは高濃度の IgG 存在下でも FcRn に結合しやすいことが示唆された。

pH 7.4 では、エフガルチギモドのカニクイザル及びヒト FcRn に対する $K_d$ はそれぞれ 15 及び 9 nmol/L で、いずれも pH 6.0 での $K_d$ の 20 倍を超えていた。

**表 2.4-1　エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのカニクイザル及びヒト FcRn への結合親和性**

| Species FcRn | pH | Dissociation constant ($K_d$±SD) | |
|---|---|---|---|
| | | Human wild-type Fc (nmol/L) | Efgartigimod (nmol/L) |
| Cynomolgus monkey FcRn | 7.4 | No binding | 14.5±2.77 |
| | 6.0 | 55.2±23.2 | 0.23±0.18 |
| Human FcRn | 7.4 | No binding | 8.59±1.35 |
| | 6.0 | 28.0±6.20 | 0.35±0.06 |

Source: Module 4.2.1.1-1 (ARGX-NC-074)
Fc=fragment, crystallized; FcRn=neonatal Fc receptor; $K_d$=equilibrium dissociation constant; SD=standard deviation
Note: Surface plasmon resonance measurements.

エフガルチギモドのカニクイザル及びヒト FcRn への結合親和性が類似していたことから、カニクイザルは非臨床試験の評価動物として適切であり、主要な 26 週間反復投与毒性試験ではカニクイザルを選択した。なお、抗体では各種 FcRn への結合親和性又は結合動態のわずかな違いが分布に影響を及ぼすため、PK にわずかな種差が生じることがある（2.4.3.2 項、Datta-Mannan, 2007）。

エフガルチギモドのカニクイザル及びヒト組織への結合を比較評価した組織交差反応性試験（4.2.1.1-3）では、脾臓、腸、膀胱、胃及びリンパ節などの組織の内皮細胞及び細胞質でエフガルチギモドに特異的な染色が認められた。エフガルチギモドの組織結合パターンは、標的である FcRn が内皮細胞及びマクロファージを有する組織に発現しているとの文献報告（Latvala, 2017）と一致していた。文献報告では、最も強い染色がみられるのは肝臓、腸及び脾臓（赤脾髄）のように多くの内皮細胞及びマクロファージを有する組織で（Latvala, 2017）、腎臓にも FcRn が発現していることが報告されている（Pyzik, 2019、Thomas, 2019）。しかし、エフガルチギモドの in vitro 組織交差反応性試験では肝臓及び腎臓では染色は確認されず、全体的に染色強度は弱かった。本法はエフガルチギモドに対する選択性が低く、染色されにくかった可能性がある。なお、腎臓は染色されにくい組織であることが報告されている（Latvala, 2017）。

ヒト及びカニクイザルの組織で結合パターンが類似しており、カニクイザルが非臨床試験の主要評価動物に適していることを支持する結果であった。なお、毒性学的に問題となる非特異的な副次的結合はみられなかった（2.6.2.2.2.2 項）。FcRn の発現は動物種間で高度に保存されているため（Latvala, 2017）、カニクイザル以外の動物での組織結合試験を実施しなかった。

結論として、酸性及び中性の両条件下で、エフガルチギモドの FcRn への結合親和性は、野生型 Fc フラグメントよりも高いことが確認された。In vitro 薬理試験結果から、エフガルチギモドの非臨床試験にはげっ歯類、ウサギ及びサルが適しており、特にカニクイザルが適していた。エフガルチギモドは、標的である FcRn が発現しているカニクイザル及びヒト組織に結合し、標的部位以外のエピトープに結合した徴候はみられなかった。

#### 2.4.2.1.2.　In vivo 薬理試験

FcRn への結合親和性を高めた試験分子について、カニクイザルで内因性 IgG 及びトレーサー抗体に及ぼす影響を評価した（4.2.1.1-4）。エフガルチギモド及び変異分子 ABDEG™-hIgG1 を投与したときの内因性 IgG 濃度の減少率は同程度であった。ただし、エフガルチギ

モドを 70 mg/kg 単回持続（4 時間）静脈内投与したとき、IVIg 及びその他の試験分子に比べトレーサー抗体濃度は速やかに効果的に減少した。

マウス、ラット、ウサギ及びカニクイザルで、エフガルチギモドの in vivo 薬理作用を評価した。マウス、ラット及びカニクイザルでは in vivo 薬理作用として内因性 IgG の減少が観察された。ウサギに単回投与したときは他の動物種と比較して IgG の減少率は低かったが、反復投与したときの IgG の最大減少率は他の動物種と同程度であった（2.6.2.2.3.2 項）。

- マウスにエフガルチギモドを単回静脈内投与したとき、評価した全ての用量（2、20 及び 100 mg/kg）で IgG が減少し、評価した最高用量（100 mg/kg）で投与前と比較して IgG が 66%減少した（4.2.1.1-5）。
- ラットにエフガルチギモドを単回静脈内投与したとき、評価した全ての用量（2、20 及び 100 mg/kg）で IgG が減少したが、2 mg/kg では明らかな変動はみられなかった。評価した最高用量（100 mg/kg）では投与前と比較して IgG が最大 48%減少した（4.2.1.1-5）。
- エフガルチギモドの pH 7.4 でのウサギ FcRn に対する結合親和性は、評価した動物種の中で最も低かった。この in vitro 試験での結果を反映して、ウサギに単回静脈内投与したときの in vivo 薬理作用はマウス及びラットよりも弱く、20 及び 100 mg/kg 静脈内投与したとき、投与前と比較して IgG がそれぞれ 17%及び 36%しか減少しなかった（4.2.2.2-1）。一方、妊娠ウサギを用いた用量設定 EFD 試験（4.2.3.5.2-3）では、1 日 1 回反復静脈内投与することで薬理作用は改善した。評価した全ての用量（10、30、100 mg/kg）で IgG が明らかに減少し、100 mg/kg では投与前と比較して IgG が 69%減少し、他の動物種の薬理作用と同程度だった。
- カニクイザルにエフガルチギモドを単回静脈内投与したとき、20 及び 200 mg/kg で明らかに IgG が減少し、投与前と比較して最大 55%減少した。20 mg/kg 反復投与したとき投与前と比較して IgG がおよそ 75%減少した（4.2.1.1-6）。

非臨床試験では正式な PK／PD 解析を実施しなかったため、in vivo での 50%有効血中濃度（$EC_{50}$）を算出していないが、毒性試験での用量選択に際して薬理作用を示す用量を各動物種で決定した。

エフガルチギモドの投与前からの IgG 減少率に、用量及び反復投与による明らかな違いは認められなかった。ラット 4 週間反復投与毒性試験で、エフガルチギモド群と対照群の IgG 濃度を比較したところ用量依存性はみられず（4.2.3.2-1）、10 mg/kg（2 日に 1 回）反復投与したとき薬理作用が最大又は最大付近になると推定された。同様に、カニクイザル GLP 非適用用量反応試験（4.2.1.1-6）では、20 及び 200 mg/kg 単回投与したとき、投与前と比較して IgG 濃度の減少率は同程度であった。このことは、カニクイザルにエフガルチギモドを 100 mg/kg まで 26 週間（週 1 回）反復投与毒性試験などの毒性試験でも確認された。すなわち、エフガルチギモド群では明らかに用量依存的な IgG 減少作用はみられず、概ね最初の 3 週間以内に IgG 減少率が最大に達したあとは、対照群と比較してさらに減少することはなかった（4.2.3.2-3）。この理由として FcRn の発現量が限られていることが挙げられる（Wang, 2008）。血中エフガルチギモド濃度の増加により FcRn が飽和するとそれ以上は薬理作用を示さず、IgG のリサイクル効率の減少が最大となり IgG 異化率が増加する。FcRn によって IgG がリサイクルされない状況での IgG 異化率は一定であることから、IgG のベースラインはエフガルチギモドの用量に寄らず概ね一定であると示唆される。

In vivo 薬理試験でエフガルチギモドを投与したときの内因性 IgG 濃度の減少は一時的であった（2.6.2.2.3 項）。一般毒性試験で、エフガルチギモドの投与を中止すると IgG 濃度は再び増加し、ラット反復投与毒性試験（4.2.3.2-1）では 28 日間の回復期間並びにカニクイザル

毒性試験（4.2.3.1-1、4.2.3.2-2、4.2.3.2-3）では 4 及び 8 週間の回復期間終了時までに完全に正常値まで回復した。

薬理作用が概ね最大となる用量以上で疾患モデル動物での薬理評価を実施した。作用機序が文献（Vaccaro, 2005、Vaccaro, 2006）で十分説明されており、期待される薬理作用が一貫して確認された（2.6.2.2.3.3 項）ことから、用量設定は適切であったと考えられる。

上記薬理試験での考察は、以下に示すように毒性試験の用量設定を支持している（2.6.7.1 項）：

- ラット 4 週間反復投与毒性試験では 10、30 及び 100 mg/kg を 2 日に 1 回反復静脈内投与した。用量に依存せず Day 7 以降の IgG 濃度の減少率が対照群と比較して 50%～88%であった（2.4.4.2 項）。この結果に基づき、ラット生殖発生毒性試験を 30 及び 100 mg/kg（1 日 1 回）で実施した（2.4.4.5 項）。
- ウサギ生殖発生毒性試験では上述の試験に基づき用量を設定した（2.4.4.5 項）。
- カニクイザル拡張型単回及び反復投与毒性試験を、それぞれ薬効用量範囲の 4 及び 3 用量で実施した。反復投与毒性試験では 2 日に 1 回又は週 1 回の投与頻度で実施した（選択した用量：3、10、30、50、100 mg/kg 静脈内投与、下線を引いた用量は全ての試験で評価）。エフガルチギモド群では対照群と比較して IgG が顕著に減少し、カニクイザルでは選択した全ての用量で薬理作用が確認された（2.4.4.1 項及び 2.4.4.2 項）。

重症筋無力症（MG）は自己免疫疾患であり、アセチルコリン受容体（AChR）及び筋特異的受容体型チロシンキナーゼ（MuSK）のように、神経筋接合部の必須シグナル伝達タンパク質に対する自己抗体の産生を特徴とする（2.6.2.2.1 項）。MG 患者の精製 IgG 画分又は病原性自己抗体を投与されたマウスで、筋力低下、麻痺及び呼吸困難など MG に特徴的な疾患症状が生じることが明らかにされている（2.6.2.2.3.3 項、Klooster, 2012、Toyka, 1977）。そこで、MuSK-MG passive transfer モデルマウスを用いて、エフガルチギモドが自己抗体濃度を減少させることで MG 疾患症状が改善するかを評価した。MuSK-MG passive transfer モデルマウスにエフガルチギモドを投与したとき、病原性抗 MuSK 抗体はエフガルチギモド群では顕著に減少したが、対照群では減少しなかった。さらに、筋の機能評価試験である握力及び懸垂時間測定では、エフガルチギモドの投与により疾患症状が改善し、反復神経刺激試験の結果とも相関していた（4.2.1.1-7、Huijbers, 2019）。さらに、AChR-MG passive transfer モデルラットにエフガルチギモドを投与したとき、エフガルチギモド群ではラット血清中 IgG 濃度は速やかに減少し、対照群と比較して臨床スコアは低下し、握力は増加した（4.2.1.1-8）。患者で自己抗体が減少すると MG 症状が改善するとの文献報告（Bartoccioni, 2006、Liu, 2010）があることから、これらの疾患モデル動物での結果は臨床でのエフガルチギモドの有効性に反映されると考えられる。疾患モデル動物の結果から、エフガルチギモドは臨床でも FcRn を阻害してヒト IgG 由来自己免疫疾患患者の IgG 自己抗体を減少させ、gMG で治療効果をもたらすことが期待される。

#### 2.4.2.2.　副次的薬理試験

副次的薬理試験については、2.6.2.3 項で考察し、その一覧を 2.6.3.3 項に示した。

抗原結合（Fab）領域は免疫細胞上で標的と結合し FcγR 架橋及びその後の経路の活性化をもたらす。エフガルチギモドは Fab 領域を有していないため、エフェクター機構による抗体依存性細胞傷害（ADCC）を誘発するリスクは低いと考えられた。エフガルチギモドは野生型 Fc フラグメントと比較して FcγRIIIa 及び FcγRII への結合親和性が低かった。エフガルチ

ギモドのヒト FcγR への結合親和性は、野生型と比較して同程度かやや低かった（2.6.2.3.1.1 項）。

In vitro での C1q への結合については、エフガルチギモドは野生型 Fc フラグメントと比較して結合親和性はわずかに低かった（2.6.2.3.1.1 項）。

FcγR は NK 細胞を含む多様なエフェクター細胞上に発現する（Thomas, 2019）。このため、新鮮ヒト細胞を用いて NK 細胞の活性化について評価したところ、エフガルチギモドは野生型 Fc フラグメントと同様に NK 細胞をほとんど活性化しなかった（2.6.2.3.1.2 項）。この結果は GLP 非適用のカニクイザル用量反応試験の結果とも一致しており、エフガルチギモドを投与 2、6 及び 24 時間後の血清中炎症性サイトカイン濃度に変動はみられなかった（4.2.1.1-6）。

また、非臨床薬理試験及び毒性試験ではエフガルチギモド投与によって、副次的に免疫細胞を活性化した徴候はみられなかった（2.4.4 項）。反復投与毒性試験で NK 細胞を含め免疫細胞をモニタリングしたところ、リンパ球イムノフェノタイピングを含む血液学的検査でエフガルチギモドの投与に関連した変動はみられなかった（2.4.4.2 項、2.6.7.7.A 項、2.6.7.7.B 項、2.6.7.7.C 項）。

上述の根拠から、エフガルチギモドを介して補体活性化を含むエフェクター細胞の活性化を生じるリスクは低く、エフガルチギモドを投与したときに ADCC 又は補体依存性細胞傷害（CDC）などの非特異的免疫反応が起こる可能性は低いと示唆された。さらに、Ig 及びアルブミンへの影響も考えられたため、内因性 IgM、IgA 及びアルブミンについて検討した。その結果を以下に示した。

- エフガルチギモドの作用機序により、in vivo 薬理試験及び毒性試験で動物にエフガルチギモドを投与すると内因性 IgG は減少したが、IgM 及び IgA は減少しなかった（2.4.2.1.2 項、2.6.2 項、2.6.6 項）。適応免疫反応で重要な役割を担う IgM 及び IgA の恒常性維持は FcRn に依存しないため、エフガルチギモドによる FcRn 阻害の影響を受けなかったと示唆された。
- アルブミンは IgG と同様に FcRn を介してリサイクルされる。アルブミンと IgG は FcRn 上のそれぞれ異なる結合部位に結合するため、FcRn への結合に対して競合しない（Sand, 2015）。一方、他社の FcRn 阻害薬では、アルブミンの FcRn への結合を阻害しアルブミン濃度を減少させたことが報告されている（Ling, 2019、Kiessling, 2017）。エフガルチギモドのラット及びカニクイザルの一般毒性試験（2.6.7.5 項及び 2.6.7.7.A 項、2.6.7.7.B 項、2.6.7.7.C 項）並びにカニクイザルの薬理試験（2.6.2.3.2 項）で、エフガルチギモドをラットに最高 100 mg/kg、カニクイザルに最高 200 mg/kg の用量で投与しても、血清中アルブミン濃度は影響を受けなかった。

上述の結果をまとめると、ラット及びカニクイザル単回及び反復投与毒性試験を含む in vitro 及び in vivo 試験から、副次的薬理作用は認められなかった。

#### 2.4.2.3.　安全性薬理試験

安全性薬理評価項目の特記すべき所見を 2.6.2.4 項で考察し、その一覧を 2.6.3.4 項に示した。

エフガルチギモドが重要器官に及ぼす影響の検討は、ラット反復投与毒性試験（4.2.3.2-1）並びにカニクイザル拡張型単回及び反復投与毒性試験（4.2.3.1-1、4.2.3.2-2、4.2.3.2-3）での一般状態観察並びに心電図、心拍数及び血圧を含む心血管系検査を用いた一般毒性試験、GLP 適用の 5 週間反復投与 PK／安全性薬理試験（4.2.1.3-1）では、一般状態観察並びに呼吸

器系及び中枢神経系機能に対する影響の有無について評価した。いずれの試験も雌雄動物を用いて実施した。

ラット 4 週間（2 日に 1 回）反復投与毒性試験（4.2.3.2-1）及びカニクイザル拡張型単回投与毒性試験（4.2.3.1-1）、4 週間（2 日に 1 回）反復投与毒性試験（4.2.3.2-2）又は 26 週間（週 1 回）反復投与毒性試験（4.2.3.2-3）では、エフガルチギモドを最高 100 mg/kg まで静脈内投与しても心血管系に対する明らかな影響を及ぼさなかった。カニクイザルに 100 mg/kg まで 5 週間（週 1 回）反復静脈内投与しても、呼吸器系及び中枢神経系機能に影響を及ぼさなかった（4.2.1.3-1）。

エフガルチギモドは標的である FcRn に特異的に結合するバイオテクノロジー応用医薬品であり、いずれの試験でもオフターゲット結合はみられなかった（2.4.2.1.1 項）。

安全性薬理評価での安全域については 2.4.3.8 項に示した。

#### 2.4.2.4.　薬力学的薬物相互作用

ヒト FcRn トランスジェニックマウスを用いて、エフガルチギモドと IVIg 又はヒト IgG1 トレーサー抗体との薬力学的薬物相互作用を評価した（2.6.2.5 項、4.2.1.4-1 ）。IVIg 及びヒト IgG1 トレーサー抗体は生理学的に FcRn へ結合する特性があるため、併用薬として選択した。試験の概要を 2.6.3.5 項に示した。

まず、ヒト FcRn トランスジェニックマウス（Tg32 マウス）にヒト IgG 及びトレーサー抗体を投与した。その 2 日後、エフガルチギモド（20 mg/kg 静脈内投与）及び IVIg（治療用量 2 g/kg、腹腔内投与）又はリン酸緩衝生理食塩水［PBS（対照）］を同時投与あるいはエフガルチギモド投与後 2 日に IVIg 又は PBS を連続投与し、ヒト IgG、トレーサー抗体及びエフガルチギモドの血漿中濃度推移を評価した。

Tg32 マウスにエフガルチギモド及び IVIg を併用投与したとき、投与タイミングにかかわらず、血漿中エフガルチギモド濃度は IVIg の影響を受けなかった。

Tg32 マウスにエフガルチギモドと IVIg を同時投与したとき、ヒト IgG 及びトレーサー抗体濃度が対照群に比べ速やかに減少したことから、エフガルチギモドは IVIg 及びトレーサー抗体のいずれにも影響を及ぼすことが明らかとなった。同時投与では、ヒト IgG 濃度はおよそ 2 日間ベースラインを上回り維持された。連続投与では、ヒト IgG 濃度が 12 日間連続してベースラインを上回っていたことから、エフガルチギモドと IVIg を併用する場合は、エフガルチギモド投与後に間隔を空けて IVIg を投与する方が望ましいことが示唆された。

### 2.4.3.　薬物動態試験

エフガルチギモドを週 1 回、2 日に 1 回又は 1 日 1 回投与したときの PK プロファイルは線形で投与頻度及び反復投与による影響はみられず、血中への蓄積はほとんどなかった。分布及び代謝に関する独立した試験を実施しなかった。排泄については、PK／PD 試験及び毒性試験で尿中エフガルチギモド濃度を探索的に測定した。薬物動態学的薬物相互作用試験については、マウス薬力学的薬物相互作用試験の一部として実施し、独立した試験として実施しなかった（2.6.2.5 項）。エフガルチギモドの PK について 2.6.4.3 項～2.6.4.8 項に、マウス、ラット、ウサギ及びカニクイザルにエフガルチギモドを単回及び反復投与したときの PK 概要を 2.6.5 項に示した。毒性試験でのトキシコキネティクス（TK）概要を 2.6.7.3 項に示した。

#### 2.4.3.1.　分析法

マウス、ラット、ウサギ及びカニクイザル血清中又はカニクイザル尿中エフガルチギモド濃度を、試験の目的に応じて精度管理レベルが異なる定量的 ELISA で測定した。分析法の概要を 2.6.4.2 項及び 2.6.5.2 項に示した。

血清中エフガルチギモド濃度分析法は、エフガルチギモド特異的なエピトープへの結合によりエフガルチギモドを捕捉し、ヒト Fc 配列中に存在するエピトープを認識して検出する方法で、いずれの動物種に対しても同様の ELISA で分析法を開発した。標的である FcRn は細胞内に存在し、血中に可溶性物質として存在しないため、FcRn が ELISA でのエフガルチギモドの分析を妨害することはないと考えられる。

カニクイザル尿中エフガルチギモド濃度分析法は、ヒト Fc 配列に特異的な捕捉及び検出試薬を用いた ELISA である。

ADA 産生により PK が影響を受ける可能性が考えられた。そこで、GLP 適用のラット及びカニクイザル毒性試験で ADA を検出するため、血清中 ADA 分析法をバリデートした（2.6.4.2.3 項）。ADA の分析結果については、2.4.4 項及び 2.6.6 項に示した。

#### 2.4.3.2.　吸収

エフガルチギモドのマウス、ラット、ウサギ及びカニクイザルの PK を評価した。マウス、ラット及びウサギの PK 試験は探索的であり、毒性試験デザインを支持するものであった。エフガルチギモドのカニクイザル及びヒト FcRn への結合特性が類似していることから、PK の考察ではカニクイザルの結果に焦点をおいた。エフガルチギモドの PK 概要を 2.6.4 項に、TK 概要を 2.6.6 項及び 2.6.7.3 項に示した。

ラット、ウサギ及びカニクイザル毒性試験の TK で、エフガルチギモドを単回及び反復静脈内投与したとき、血清中濃度-時間曲線下面積（AUC）及び最高血清中濃度（$C_{max}$）は概ね用量に比例して増加した。急速又は持続静脈内投与後、最初の測定時点での血清中濃度が最も高かった。PK パラメータを解釈する際、試験間で測定時点が異なる場合は PK パラメータを正確に比較ができないことを考慮する必要がある。急速静脈内投与後 1 時間が最初の測定時点である場合、$C_{max}$ は過小評価されていると考えられる。ただし、同一試験内での異なる用量間での PK 比較は可能と考えられた。曝露量に性差はなかった。1 日 1 回、2 日に 1 回及び週 1 回反復静脈内投与したとき、血清中エフガルチギモド濃度の蓄積はほとんど認められなかった。ヒトと関連性の高い動物種であるカニクイザルの PK を以下に示した。

カニクイザルの血清中エフガルチギモド濃度推移から、有効消失半減期（$t_{1/2,eff}$）及び終末相消失半減期（$t_{1/2,z}$）を算出した。終末相の総曝露量への寄与はわずかであり、$t_{1/2,eff}$ の方がエフガルチギモドの消失及び蓄積との関連性が高いと考えられる。カニクイザルの $t_{1/2,eff}$ はおよそ 16～45 時間で、$t_{1/2,z}$ は非常に長くほとんどで 100 時間を超えていた。この長い終末相が総曝露量（AUC）に占める割合は低く、薬理作用には影響しないと考えられた。カニクイザルの全身クリアランス（CL）は 2～4 mL/h/kg で、代表的なモノクローナル抗体（mAb）で報告されているカニクイザルの CL［1.1 mL/h/kg（Datta-Mannan, 2007）］のおよそ 2～3 倍であった。用量及び反復投与による CL の変動は認められなかった。反復投与しても血清中エフガルチギモド濃度の蓄積はほとんど認められなかった。

エフガルチギモドの PK に顕著な種差や性差はみられず、カニクイザルの PK では明らかな試験間差もみられなかった。しかし、エフガルチギモドは pH 6.0 及び pH 7.4 の両条件下で FcRn に対する結合親和性にわずかな種差が存在する。エフガルチギモドは pH 7.4 でウサギ FcRn への結合親和性が他の種よりも低いため、in vivo で最大薬理作用を示した用量は他の種よりも高かった（2.4.2.1.2 項）。一方、用量で標準化したウサギの曝露量は他の動物と比較

して高値であった。エフガルチギモドはウサギ FcRn への結合親和性が他の動物種よりも低いため、血中に多くエフガルチギモドが存在していることが示唆された。ただしこれらの種差は小さく、結果の解釈には影響を及ぼさなかった。

カニクイザルに最終投与後、長期間にわたり採血し、定量感度が高い分析法でエフガルチギモドを測定したとき、薬理活性濃度に満たない低濃度のエフガルチギモドの長い終末相が観察された（4.2.2.2-2、4.2.3.2-2、4.2.3.2-3）。このような長い終末相は種特異的である可能性があり、FcRn から血中に放出されるエフガルチギモドを反映していると考えられる。終末相では血清中エフガルチギモド濃度は低く蓄積性に寄与せず、薬理作用も示さないと考えられることから、長い終末相の意義は小さいと考えられた。

### 2.4.3.3.　分布

エフガルチギモドはバイオテクノロジー応用医薬品であることから、ICH S6（R1）ガイドラインに準じて、エフガルチギモドの独立した分布試験を実施しなかった。

エフガルチギモドは一般的な mAb と同様の分布を示すと考えられる。エフガルチギモドの分布の特徴として、以下が考えられる。

- エフガルチギモドの分子量（およそ 54 kDa）は、mAb の分子量（150 kDa）に比べて小さく、カニクイザルの定常状態での分布容積（$V_{SS}$）は 126 mL/kg で血液量を超える。このことから、エフガルチギモドは血流量の多い臓器及び組織間液に分布することが示唆される。
- エフガルチギモドは治療用 mAb と比較して pH7.4 でも FcRn への結合親和性が高いため、投与後は大部分が FcRn を発現している組織に分布すると考えられる（2.6.4.4 項）。

エフガルチギモドの大半は、内皮細胞及び常在マクロファージを有する組織に存在する標的タンパク質である FcRn に結合すると考えられる（Latvala, 2017）。2.4.2.1.1 項で述べたように、エフガルチギモドのヒト及びカニクイザルでの in vitro 組織結合試験では、標的受容体である FcRn 以外のタンパク質には結合しないことが示唆された（2.6.3.2 項、4.2.1.1-3）。

エフガルチギモドの胎児又は出生児への曝露量については評価していないため、見かけの胎児／母動物分布比は明らかとなっていない。ただし、治療用 mAb を含む抗体は FcRn に結合して胎盤を通過し、能動輸送されることが知られている（Pentsuk, 2009）。pH 7.4 では胚及び胎児の血流へ移行したエフガルチギモドは FcRn から解離しにくく作用を示さない可能性があるが、mAb と同様に胚及び胎児がエフガルチギモドに曝露される可能性を想定しておく必要がある。したがって、mAb のように Fc 領域を有するバイオテクノロジー応用医薬品と同様に、ヒト妊娠第 2 三半期及び妊娠第 3 三半期に、エフガルチギモドが胎盤を通過し、胎児に移行する可能性を除外できない。

脳及び精巣など、血液脳関門及び血液精巣関門を有する組織への分布については評価していない。mAb の脳／血液濃度比は 0.01 以下で、エフガルチギモドも mAb と同様の分布を示すと考えられる。したがって、エフガルチギモドは血液脳関門を通過しにくいことが期待される（Ryman, 2017）。ラット及びカニクイザルの一般毒性試験でこれらの臓器の病理学的及び病理組織学的変化は観察されなかった。さらに、ラット FEED 試験では、雄ラットで不妊症の徴候は観察されなかった。カニクイザル PK／安全性薬理試験では、中枢神経系機能への影響はみられなかった（2.6.7.12 項、2.6.3.4 項）。

#### 2.4.3.4.　代謝

エフガルチギモドはバイオテクノロジー応用医薬品であるため独立した代謝試験を実施していない。エフガルチギモドは異化されて小さなペプチド及び各アミノ酸に分解され、ヒト内因性 IgG と同様の経路で排泄又はリサイクルされると考えられる（2.6.4.5 項）。

エフガルチギモドは pH 6.0 だけでなく pH 7.4 でも FcRn に対して高い結合親和性を有する（表 2.4-1）。しかし、細胞表面での受容体への結合又は受容体からの放出を制御する動態は明らかとなっていない。エフガルチギモドは FcRn に結合した後、一部が単独又は FcRn と結合した状態でリソソーム分解を受けると考えられる。FcRn と結合したエフガルチギモドのリソソーム分解については検討しておらず異化率は明らかとなっていない。しかし、リソソーム分解を介した異化がエフガルチギモドの主要な消失経路であると考えられる。

#### 2.4.3.5.　排泄

抗体は排泄又は異化のいずれかにより消失する。エフガルチギモドの分子量はおよそ 54 kDa であるため、腎糸球体濾過される可能性がある。カニクイザルに静脈内投与した探索的試験では尿中に低濃度のエフガルチギモドが検出されたことから、エフガルチギモド又はその分解産物の一部が腎排泄されることが示された。しかし、ろ過されたエフガルチギモドが、FcRn が発現している腎近位尿細管で異化又はリサイクルされる可能性については除外できない（2.6.4.6 項、Pyzik, 2019）。主な試験の概要を 2.6.5.13.A 項及び 2.6.5.13.B 項に示した。

エフガルチギモドの乳汁排泄に関する試験を実施していない。PPND 試験では、エフガルチギモドに関連した毒性徴候は認められなかった（2.4.4.5 項、2.6.7.14 項）。血清 TK データを 2.6.7.3 項に示した。Fc を有する抗体及び抗体フラグメントの乳汁排泄については公知の論文で報告されており、ヒト IgG は出産初日に乳汁に排泄されやすいが、その排泄量はごくわずか又はほとんど排泄されない。mAb の乳汁排泄も、IgG と同様にごくわずかである（Pentsuk, 2009）。したがって、少量のエフガルチギモドがヒト乳汁中に排泄される可能性を除外できない。

エフガルチギモドの腎排泄及びその他の消失経路の正確な寄与率は明らかとなっていないが、ごく一部のエフガルチギモドがリソソーム分解を免れ、終末相で薬理活性濃度に満たない低濃度のエフガルチギモドが血中から検出された。週 1 回反復投与（2.4.3.2 項）及び高用量を 1 日 1 回反復投与した生殖発生毒性試験（2.6.6.6 項）では反復投与による蓄積がほとんどなかったため、終末相で検出されたエフガルチギモドは薬理作用に寄与しないと考えられた。

結論として、エフガルチギモドは非臨床動物種の血清から速やかに消失した。飲作用に続くリソソーム分解が、エフガルチギモドの主要な消失経路であると考えられる。わずかに腎排泄が認められたが、その意義は小さいと考えられた。

#### 2.4.3.6.　薬物動態学的薬物相互作用試験

薬物動態学的薬物相互作用に関する独立した試験は実施していない。エフガルチギモドは、トランスポーター及び代謝酵素に結合せず、それらの発現及び機能に影響を及ぼさないと考えられる（2.6.4.7 項）。エフガルチギモドはサイトカイン濃度にも影響を及ぼさない（2.4.2.2 項）ため、チトクローム P450（CYP）の発現及び低分子薬の代謝にも影響を及ぼさないと考えられる。ただし、エフガルチギモドの作用機序に起因して、治療用 mAb 又は IVIg の PK に影響を及ぼす可能性を除外できないため、Tg32 マウスにエフガルチギモド及びヒト IgG1 トレーサー抗体又は IVIg を順に投与したときの PK を評価した（2.4.2.4 項及び 2.6.2.5 項）。

エフガルチギモドと併用される低分子薬との薬物動態学的薬物相互作用の可能性は低いと考えられるが、エフガルチギモドが mAb 又は IVIg の PK に影響を及ぼす可能性を除外できないと考えられる。

#### 2.4.3.7.　その他の薬物動態試験

その他の PK 試験を実施していない。

#### 2.4.3.8.　トキシコキネティクスの比較及びヒトでの安全域

エフガルチギモドの毒性試験での曝露量（$C_{max}$ 及び AUC）及びヒトでの安全域を 2.6.4.3.2 項に示した。

用量で標準化した週あたりの曝露量は動物種間で類似しており、種差は小さかった。曝露量が最も高かったのはウサギで、次いでサル及びラットであった。曝露量は動物の大きさの順ではなかった。これは、エフガルチギモドの血清 PK には代謝よりも標的結合特性の方が重要であることを示している。

エフガルチギモドのカニクイザル及びヒト FcRn への結合特性が類似していることから、サルがヒトと関連性の高い動物種と考えられる。用量で標準化した曝露量の比較では、AUC はヒトでカニクイザルより 1.3～2 倍高かったが、$C_{max}$ は概ね同等であった。カニクイザルにエフガルチギモドを無毒性量（NOAEL）である 100 mg/kg で 26 週間（週 1 回）反復静脈内投与したときの曝露量を、ヒトにエフガルチギモドを 10 mg/kg で週 1 回反復静脈内投与したときの曝露量と比較したヒトの安全域は、$C_{max}$ 及び AUC 比でそれぞれおよそ 13 及び 8 倍であった（2.4.4.2 項、2.6.4.3.2 項）。

安全性薬理評価項目ではいずれの試験でも所見がみられなかったため、検討した最高用量での $C_{max}$ に基づき安全域を算出した。心血管系の忍容性をラット及びカニクイザルで評価したところ、安全域はそれぞれ 24 及び 7 倍以上であった（2.6.2.4 項、2.6.4.3.2 項）。中枢神経系及び呼吸器系機能に対する影響は、ケージサイド観察の一部として評価した。カニクイザル PK／安全性薬理試験（4.2.1.3-1）では機能観察総合評価法（FOB）及び呼吸数の測定により評価し、安全域は 14 倍であった（2.4.2.3 項）。

生殖発生毒性試験での曝露量に基づき、ヒトの安全域を算出した（2.6.4 項）。雌雄ラット FEED 試験（4.2.3.5.1-1）での安全域は、$C_{max}$ 比で 13 倍以上、AUC 比で 12 倍以上であった。ラット及びウサギ EFD 試験（4.2.3.5.2-2、4.2.3.5.2-4）での安全域は、$C_{max}$ 比で 10 倍以上、AUC 比で 8 倍以上であった。さらに、ラット PPND 試験（4.2.3.5.3-1）での安全域は、$C_{max}$ 比で 15 倍、AUC 比で 13 倍であった（2.4.4.5 項）。

毒性徴候が認められない NOAEL での曝露量から算出したこれらの安全域は、バイオテクノロジー応用医薬品として適切であると考えられる。

### 2.4.4.　毒性試験

エフガルチギモドの静脈内投与毒性試験を実施した。げっ歯類としてラットを、非げっ歯類としてウサギ及びカニクイザルを適切な評価動物として選択した。毒性試験概要を 2.6.6 項表 2.6.6-1 及び 2.6.7.1 項に示した。

毒性試験において高用量を高頻度で投与したパイロットバッチ（[redacted]）で、米国薬局方（USP） 30 の勧告を上回るエンドトキシンが含まれていた（2.6.7.4 項）。エンドトキシン量の許容基準はヒトに使用する際の要件を満たすよう設定されており、非臨床試験での投与

量及び投与頻度は考慮していなかった。この点は、影響を受けた試験の解釈に影響を及ぼした（2.4.4.1 項、2.4.4.2 項及び 2.4.5 項）。

エフガルチギモドの開発期間中、産生細胞株を [redacted] から [redacted] に変更した。[redacted] は現在、エフガルチギモドの市販用原薬バッチの生産に使用されている。これらの産生細胞株由来の原薬バッチの同等性については 3.2.S.2.6 項に詳述した。両産生細胞株由来のエフガルチギモドをカニクイザルに単回静脈内投与したときの PK プロファイルを比較したところ、エフガルチギモドの血清中濃度推移及び PK パラメータに明らかな差はなかった（2.6.4.3.1.3.1 項）。毒性試験では両産生細胞株由来のエフガルチギモドを用い、エフガルチギモド原薬バッチを含む毒性試験で使用した被験物質に関する情報を 2.6.7.4 項に要約した。

静脈内投与用エフガルチギモドは、エフガルチギモド、リン酸二水素ナトリウム一水和物、無水リン酸二ナトリウム、塩化ナトリウム、L-アルギニン塩酸塩、ポリソルベート 80 及び注射用水を含む（2.3.P.1.2 項）。添加剤はすべて公定書に収載されており、静脈内投与用エフガルチギモド製剤の処方に導入した新規添加剤については 2.3.A.3 項に記載した。これらの添加剤を申請する量でヒトに非経口投与することは十分実証されている（2.3.A.3 項）。

エフガルチギモドは、毒性試験に使用した動物種の FcRn に対する in vitro 結合親和性が pH 6.0 及び pH 7.4 の両条件下で野生型 Fc フラグメントと比較して高く（2.4.2.1.1 項）、in vivo 薬理作用として IgG を減少させた（2.4.2.1.2 項）ことから、選択した動物種の妥当性が示された。さらに in vitro 組織結合試験では、ヒト及びカニクイザルで組織への結合パターンが類似しており、カニクイザルが非臨床試験の主要評価動物に適していることを支持していた。FcRn の発現は動物種間で高度に保存されているため、ラット及びウサギでの組織結合試験を実施しなかった（2.4.2.1.1 項）。

毒性試験では、薬理作用が十分確認でき、ヒトでの安全域が適切となる用量を選択した。主要なカニクイザル 26 週間反復投与毒性試験で選択した週 1 回の投与頻度は、臨床の用法を反映している。動物試験でのエフガルチギモドの投与経路は、予定適応症でのヒトへの投与経路として計画されている静脈内投与とした。

ラット、ウサギ及びカニクイザルでのエフガルチギモドの最高用量は 100 mg/kg とし、静脈内投与とした。ラット、ウサギ及びカニクイザルを用いたエフガルチギモドの単回投与試験では、それぞれ 20、100 及び 20 mg/kg を投与したとき血中 IgG 濃度の減少率が概ね最大となり薬理作用が認められた。ウサギに単回投与したときは血中 IgG 濃度の減少率が小さく、マウス及びラットほど顕著な減少は認められなかったが、10 mg/kg 以上のエフガルチギモドを 1 日 1 回反復投与したときは顕著な血中 IgG 濃度の減少がみられ、評価した全ての動物種で概ね最大の薬理作用が認められた（2.4.2.1.2 項）。エフガルチギモドによる血中 IgG 濃度の最大減少率は、用量及び投与頻度に依存せず、頭打ちとなった（2.4.2.1.2 項）。

4 週間反復投与毒性試験で 100 mg/kg までの用量のエフガルチギモドを 2 日に 1 回反復静脈内投与したとき、及び生殖発生毒性試験で持続的に高い曝露量を確保するため 1 日 1 回反復静脈内投与したとき、血清中エフガルチギモド濃度の蓄積はみられないかごく軽微であった（2.4.3 項）。技術的に投与可能な最大用量である 100 mg/kg を反復静脈内投与することにより、評価した全ての動物種で十分な曝露量が得られた。

主要なカニクイザル 26 週間反復静脈内投与毒性試験での投与頻度は週 1 回で、臨床での投与頻度を反映させた（2.6.6.3 項）。ヒトに 10 mg/kg を週 1 回反復静脈内投与したときの曝露量（$C_{max}$ 及び AUC）と比較するため、毒性試験の曝露量を用量で標準化した（2.6.4.3.2 項）。ヒトと動物での曝露量を比較して安全域を算出したところ、いずれの動物種でも十分な安全域が確保された（2.4.3.8 項）。

カニクイザル 26 週間反復投与毒性試験で 6 例に ADA 産生による血清中エフガルチギモド濃度の減少がみられた以外は、投与期間中の PK 及び PD パラメータに免疫原性によると思われる明らかな影響はみられなかった（2.4.4.2 項）。

### 2.4.4.1.　単回投与毒性試験

GLP 適用のサル拡張型単回投与毒性試験では、雌雄カニクイザルに 0、10、30、50 及び 100 mg/kg を投与した。エフガルチギモド（パイロットバッチ [redacted]）又は溶媒（0.9%生理食塩水）を 2 時間かけて単回持続静脈内投与し、3 日間休薬（主試験）又は 28 日間休薬（回復期間）して観察した（2.6.6.2.1 項、4.2.3.1-1）。特記すべき試験成績は 2.6.7.5 項に要約した。

本試験では、まず単回持続静脈内投与後の投与部位の局所刺激性、総 IgG など薬理関連項目及び TK パラメータについてのデータを収集し、反復投与毒性試験実施のための情報を得た。

エフガルチギモドを 100 mg/kg まで単回投与したところ、局所及び全身の忍容性は良好であった。投与部位の病理組織学的検査所見は可逆性であり、使用したパイロットバッチに含まれていたエンドトキシンに起因する変化であると考えられた（2.4.4.6 項）。全ての投与群で対照群と比較して内因性 IgG の減少が認められ、エフガルチギモドの薬理作用に関連した変動であると考えられた。IgG の減少は可逆性であり、続いて実施された反復投与毒性試験でも同様に確認された。さらにエフガルチギモドの作用機序から予想されたとおり、IgM、IgA 及びアルブミンの濃度には影響を及ぼさないことが確認された（2.4.2.2 項）。また、グロブリンの減少に伴いアルブミン／グロブリン比は増加した。投与部位の局所反応は可逆性であった。エフガルチギモドの NOAEL は最高用量である 100 mg/kg であった。

### 2.4.4.2.　反復投与毒性試験

反復投与毒性試験では、ラットで最長 4 週間及びカニクイザルで最長 26 週間、最大 100 mg/kg を静脈内投与した。主要なカニクイザル 26 週間反復投与毒性試験で選択した週 1 回の投与頻度は臨床の用法を反映している。反復投与毒性試験の結果から、ヒトへの使用に際し安全性上懸念される影響は認められなかった。

反復投与毒性試験の成績は 2.6.6.3 項に示した。血清中エフガルチギモド濃度の TK を含む特記すべき試験成績については 2.6.7.7.A 項、2.6.7.7.B 項及び 2.6.7.7.C 項に要約した。

全ての反復投与毒性試験で一貫した所見が認められた。これらはエフガルチギモドの薬理作用に関連した内因性 IgG の可逆的な減少と、これに関連するグロブリン減少であった。アルブミン濃度は影響を受けなかった。その他の所見についてはすべて再現性がなく、エフガルチギモド投与に直接関連しないと考えられ、臨床で安全性上の懸念となる変化ではなかった。

ラット及びカニクイザル 4 週間（2 日に 1 回）反復投与毒性試験を実施した（4.2.3.2-1、4.2.3.2-2）。ラット及びカニクイザルともに、高用量群（100 mg/kg）で異常が認められたことから NOAEL は 30 mg/kg とした。ただし、以下に考察するとおり認められた所見には種差があり、ヒトへの外挿可能性は低いと考えられたことから、いずれも適切な動物種と結論した。26 週間反復投与毒性試験では、エフガルチギモドの FcRn への結合特性が最もヒトに類似しているカニクイザルを選択した（2.4.2.1.1 項）。

ラット 4 週間（2 日に 1 回）反復投与毒性試験で、エフガルチギモド 100 mg/kg を投与したとき、可逆的な軽微～軽度のクッパー細胞の肥大／増加が認められたが、肝臓の血液生化学的検査、血液学的検査及びリンパ球イムノフェノタイピングにはエフガルチギモド投与の影

響は認められなかった。このクッパー細胞の肥大／増加がエフガルチギモド投与に起因する可能性は否定できないが、この所見に対する直接的な原因は不明である（2.6.6.9 項）。不明である。エフガルチギモドがエフェクター細胞を活性化させる可能性は非常に低く、in vitro ではヒト野生型 Fc フラグメントと比較して、C1q への結合親和性が同程度以下であったことから、ADCC 及び CDC に関わる経路を直接活性化する可能性は低いと考えられる。クッパー細胞は粒子状の異物、化学物質及び変性した細胞含有物に応答して肥大／増加が生じることが知られている（Thomas, 2019）。ラットでは免疫複合体（IC）の沈着や関連する病理変化を伴わずに IC が形成される場合には、クッパー細胞が関与することが報告されている（Rojko, 2014）。本試験では ADA 産生が認められたため（2.6.6.3.1 項）、IC の形成とクッパー細胞による IC 除去が生じている可能性がある。クッパー細胞の肝小葉内分布は均一ではないため、部位の違いによって帯状の過形成の印象を与える可能性も考えられる（Kiyotoshi, 1982）。ラットでは、クッパー細胞の自然発生性の肥大／増加はまれであり、高用量のバイオテクノロジー応用医薬品を反復投与後の病理組織学的検査所見に関する文献報告は少ない。本試験の実施施設においても背景データの多くがヒト以外の霊長類から得たものであった。

カニクイザル 4 週間（2 日に 1 回）反復投与毒性試験では、30 mg/kg 以上の群で、large unstained cell（LUC）数［総白血球数に対する割合（%）又は×10E3/μL］が増加した。また、最高用量群（100 mg/kg）では血清アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALAT）の軽度で可逆的な増加がみられ、これに関連して肝臓に可逆的な病理組織学的変化（炎症性細胞浸潤を伴う肝細胞の細胞質変化及び変性）が認められた。LUC は活性化されたリンパ球及び単球を反映しており、免疫活性化の指標として解釈することができ、LUC の増加は一般的に認められる変動ではない。リンパ球イムノフェノタイピングを含むその他の免疫マーカーにおいてエフガルチギモド投与の影響は認められなかった。これらの所見は、被験物質中に含まれていたエンドトキシンに起因している可能性が考えられる。1 回の投与におけるエンドトキシン量は少量（約 3 ng/kg）であるが、15 回の投与によって過度の反応が生じた可能性がある。リポ多糖類（LPS）を 10 μg/kg 以上の用量でカニクイザルに単回静脈内投与すると同様の影響が生じることが知られている（Picha, 2004）。ヒト以外の霊長類に LPS を長期投与した研究報告はないが、げっ歯類にエンドトキシンを低用量で頻回投与すると、肝障害を伴う慢性炎症状態が促進することが知られている（Brown, 2019、Lindros, 2005）。肝障害の程度は関与する LPS の種類に大きく依存し、マウスの場合、特定の LPS では「エンドトキシントレランス」がみられず炎症が弱まらないことが報告されている（Brown, 2019）。

4 週間反復投与毒性試験の試験デザインには、主要なサイトカインの測定及び体温などの LPS 評価に必要な生理学的評価項目が含まれていなかったため、LPS の影響を正確に評価することは困難であるが、既知の LPS の影響と類似していること及びその後実施したカニクイザル 26 週間反復投与毒性試験ではこの影響がみられなかったことから、製剤中のエンドトキシンが肝毒性を引き起こしたと考えられる。

主要なカニクイザル 26 週間（週 1 回）反復投与毒性試験（4.2.3.2-3）では、雌雄カニクイザルにエフガルチギモドを 10、30 及び 100 mg/kg の用量で持続（0.5 時間）静脈内投与（1 例あたり計 27 回）し、忍容性は良好であった。ALAT 又はその他の肝特異的生化学パラメータは、エフガルチギモド群と対照群で同等であった。血液学的検査及びリンパ球イムノフェノタイピングにおいて変化はみられなかった。3 例（10 及び 100 mg/kg 群）で腸炎が発現したが、発現率が低く、用量依存性がなく、カニクイザルでの背景病変であることが既知であったため自然発生性であると考えられた。消化管感染は、IgA が関与する消化管粘膜の免疫機構及び関連する細胞反応により制御されるが、これらはいずれもエフガルチギモドの薬理作用による影響を受けない（Pabst, 2020）。さらに、エフガルチギモドの臨床試験で下痢及び消化管感染リスクは認められていない（2.5 項）。26 週間の投与期間及び 8 週間の回復期間の終了時にエフガルチギモド投与に関連する剖検時の肉眼的又は病理組織学的変化は認めら

れなかった。全ての試験群で ADA を評価した。低用量群の 4 例及び中用量群の 2 例で、Day 15 以降に ADA 濃度の増加に伴い血清中エフガルチギモド濃度の減少がみられたことを除き、投与期間を通じて一貫した曝露が得られた。26 週間反復投与毒性試験で、ISR に関する分析法関連ガイドラインからの軽微な逸脱が 1 点のみ認められたが、詳細な検討の結果、確認された逸脱は試験の解釈に影響を及ぼさないと判断した（2.6.4.2.1 項）。

カニクイザルを用いた本試験での NOAEL は最高用量である 100 mg/kg（週 1 回）であった。エフガルチギモドの安全域は十分確保されており、バイオテクノロジー応用医薬品のヒトへの投与を支持している（2.4.3.8 項）。

#### 2.4.4.3.　遺伝毒性試験

エフガルチギモドはバイオテクノロジー応用医薬品であるため、遺伝毒性試験を実施しなかった。

#### 2.4.4.4.　がん原性試験

がん原性試験を実施していない。エフガルチギモドの作用機序からがん原性は想定されず、カニクイザル 26 週間反復投与毒性試験での NOAEL（100 mg/kg 週 1 回）でヒト曝露量を上回る曝露量で前腫瘍性又は腫瘍性病変がみられなかったことから、エフガルチギモドのがん原性試験を実施しなかった。

#### 2.4.4.5.　生殖発生毒性試験

FEED（雌雄）、EFD 及び PPND 試験を、げっ歯類としてラット及び非げっ歯類としてウサギで実施した。各試験については 2.6.6.6 項に、これらの試験の試験成績を以下に記載した。

- ラット FEED 試験：2.6.7.12 項、4.2.3.5.1-1
- ラット EFD 試験：2.6.7.13.A 項、4.2.3.5.2-2
- ウサギ EFD 試験：2.6.7.13.B 項、4.2.3.5.2-4
- ラット PPND 試験：2.6.7.14 項、4.2.3.5.3-1

GLP 適用試験の開始前に、GLP 非適用の用量設定試験を 2 試験実施し、妊娠動物でのエフガルチギモドに対する忍容性を確認した（2.6.7.11 項、4.2.3.5.2-1、4.2.3.5.2-3）。

全ての生殖発生毒性試験で、投与期間にわたり曝露が確認された。TK 解析で ADA 産生を示唆する明らかな影響がみられなかったため、生殖発生毒性試験では ADA の測定を実施しなかった。

ラット及びウサギは、バイオテクノロジー応用医薬品の評価を含め一般的に生殖発生毒性試験に用いられている。FcRn は動物種間で高度に保存されており、ラット及びウサギともに FcRn が発現していることが知られている（Latvala, 2017、Pentsuk, 2009）。両動物種ともに妊娠後半期中に FcRn を発現し、IgG が胎盤を通過して胎児へ移行することが知られているが、ラットではウサギ又はヒトに比べて胎児に移行する IgG 量は少ない（Latvala, 2017、Pentsuk, 2009）。エフガルチギモドの生殖発生毒性試験では、ラット及びウサギを適切な種として選択した（2.4.2.1.1 項及び 2.4.2.1.2 項）。エフガルチギモドのウサギ FcRn への結合親和性は他の種よりも低く、100 mg/kg 未満を単回投与したとき薬理作用が弱かったが、反復投与することで明らかな薬理作用が認められた（2.4.2.1.2 項）。ウサギ胚・胎児発生毒性試験の用量設定試験（4.2.3.5.2-3）の結果から、妊娠ウサギに対して 1 日 1 回の投与頻度は許容できるものであった。エフガルチギモドの曝露量及び安全域は全ての評価した動物種でウサギが最も高

かった。ウサギ血中エフガルチギモド濃度が他の動物と比較して高かった理由として、pH 7.4 でのウサギ FcRn への結合親和性が低いため、血中により多くエフガルチギモドが存在していた可能性が示唆された（2.4.3.2 項）。

エフガルチギモドをラット及びウサギに反復投与するとほぼ最大の薬理作用を示すが、エフガルチギモドはウサギ FcRn よりもラット FcRn への結合親和性が高いことから、エフガルチギモドの EFD 試験には、ラットがより感受性の高い動物種であると考えられる。さらに、ヒトを含む動物種のうち、ラットは器官形成期に FcRn を介して IgG の胎児への移行が生じる可能性がある唯一の動物種である（DeSesso, 2012）。

以上の知見から、ラットはエフガルチギモドの FEED 試験、EFD 試験及び PPND 試験に最も適した動物種であると判断した。また、GLP 適用のラット 4 週間反復投与毒性試験の病理組織学的検査結果では生殖器官に異常はみられなかった（4.2.3.2-1）。

ラット FEED 試験（4.2.3.5.1-1）では、エフガルチギモド［0（溶媒）、30 及び 100 mg/kg/日］を 1 日 1 回反復静脈内投与した。雄ラットには交配前 4 週間から Day 42 又は Day 43 まで、雌ラットには交配前 2 週間から妊娠日齢 7 日（GD7）まで投与した。雌雄ともにいずれの群でも局所又は全身性の毒性徴候及びエフガルチギモド投与に関連すると考えられる早期死亡はみられなかった。検討した雌雄受胎能パラメータ、すなわち受胎率及び全般の生殖パラメータ（吸収胚率、着床前及び着床後胚損失率、黄体数、着床数、吸収胚数及び胎児数）に影響はみられなかった。

ラット及びウサギ EFD 試験を実施した。2.4.2.1.2 項及び 2.4.4 項の結果に基づき 1 日 1 回投与を選択した。

ラット EFD 試験（4.2.3.5.2-2）では、エフガルチギモド（最高 100 mg/kg/日）を GD6 から GD17 まで母動物に 1 日 1 回反復静脈内投与したとき、全般の生殖パラメータ（着床数、吸収胚数及び胎児数）にエフガルチギモド投与に起因したと考えられる影響は認められなかった。さらに、死亡胎児、奇形、変異又は発達遅滞も認められなかった。

ウサギ EFD 試験（4.2.3.5.2-4）では、エフガルチギモド（最高 100 mg/kg/日）を GD6 から GD28 まで母動物に 1 日 1 回反復静脈内投与したとき、生殖パラメータ（着床数、吸収胚数及び胎児数）にエフガルチギモド投与に起因したと考えられる影響は認められなかった。さらに、死亡胎児、奇形、変異又は発達遅滞も認められなかった。エフガルチギモド投与例で用量に依存しない（低及び高用量群）流産が 3 例みられたが、当該試験施設の背景データの範囲内であったことから自然発生性であると判断した。*Eimeria stiedae* に感染すると、ウサギ消化管で IgA を介した免疫機能及び関連する細胞反応が惹起されるが（Pabst, 2020）、これらの反応はエフガルチギモドの薬理作用とは関連しない。

ラット PPND 試験（4.2.3.5.3-1）では、妊娠／哺育ラット及び胎児と出生児の発生及び成長に対するエフガルチギモドの潜在的影響を評価した。交配させた雌ラットにエフガルチギモド（最高 100 mg/kg/日）を GD6 から授乳日齢 21 日（LD21）まで 1 日 1 回反復静脈内投与した。母動物の死亡率、一般状態観察、体重及び摂餌量、並びに F1 及び F2 世代の死亡率、形態異常、機能の発達又は成長について観察した。エフガルチギモド群の F0 世代及び F1 世代で対照群と比較して出生率及び受胎率に軽度な低下がみられたが、孤発的な発現であり、既存の背景データの範囲内であったことから自然発生性の所見であると考えられた。F0 母動物の 1 例が GD21 に死亡して発見されたが、エフガルチギモド投与には関連しないと考えられた。また、F1 出生児 1 例に失調性歩行がみられたが、孤発性の発現であり、背景データの範囲内であり、発現の状況に一貫性がなく、また用量にも依存しなかったことから、偶発的な所見であると考えられた。したがって、エフガルチギモドは母動物の妊娠期間、出生率又は

哺育に影響していなかった。F1 又は F2 世代出生児の出生前及び出生後の発生及び成長に対してもエフガルチギモド投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

生殖発生毒性試験では、胎児への曝露量を評価しなかったことから、エフガルチギモドの見かけ上の胎児／母動物分布比は不明である。ただし、Pentsuk ら（2009）の研究結果から、エフガルチギモドは FcRn を介した機序により一定量が胎盤を通過すると示唆される。Ex vivo の胎盤モデルで、HN 変異体（pH 6.0 での FcRn への結合親和性が高く、pH 7.4 での FcRn への結合親和性が低い分子）は対照の抗体と比較してわずかに多く胎盤を通過し胎児に移行することが報告されている（Vaccaro, 2006）。しかし、エフガルチギモドは pH 7.4 でも FcRn への結合親和性が高いため、HN 変異体と比較して胎児側で FcRn からのエフガルチギモドの放出は少ない可能性が考えられる。結論として、エフガルチギモドが他の治療用抗体又は抗体フラグメントと同様の割合で胎盤を通過する可能性を除外できないと考えられる。エフガルチギモドの乳汁中濃度及び乳児による乳汁を介した曝露については検討していない。2.4.3.5 項で考察したように、乳汁中に低濃度のエフガルチギモドが存在し、乳児が授乳により体内にエフガルチギモドを取り込む可能性を除外できないが（Pentsuk, 2009）、ラット PPND 試験では LD21 まで投与を継続しても F1 出生児の出生後の発育にエフガルチギモド投与による影響はみられなかった。

結論として、生殖発生毒性試験ではラット及びウサギを選択したが、エフガルチギモドの薬理作用に対する感受性はラットの方が高いと考えられた。曝露を最大化するため、エフガルチギモドを 1 日 1 回反復投与しても、ラット及びウサギの忍容性は良好であった。TK データから、全投与期間を通じて雄及び母動物がエフガルチギモドに曝露されたことが示された。出生児及び乳汁中のエフガルチギモド濃度は測定しなかった。エフガルチギモドの胎盤移行や乳汁排泄の可能性を除外できないが、胚・胎児発生及び出生後の発生へのエフガルチギモド投与の影響はみられなかった。NOAEL は、検討した全ての生殖発生毒性試験で最高用量である 100 mg/kg/日であった。ラット及びウサギの安全域は $C_{max}$ 比で 10～20 倍、AUC 比で 8～62 倍であった。以上のように、エフガルチギモドはラット及びウサギで催奇形性を示さず、さらにラットでは雌雄受胎能及び出生前及び出生後の F1 動物の発生並びに成長に有害な影響を及ぼさなかった。

#### 2.4.4.6.　局所刺激性試験

単回及び反復投与毒性試験の一環として局所刺激性を検討した。これらの試験では、エフガルチギモドを 20 mg/mL 溶液（25 mmol/L リン酸ナトリウム、100 mmol/L 塩化ナトリウム、150 mmol/L アルギニン、0.02%ポリソルベート 80、pH 6.7）として調製した後、0.9%生理食塩液で希釈して適切な希釈倍率にして試験に使用した。この調整液は臨床で使用するものと同一であった。エンドトキシン含量の低い医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準（GMP）適用バッチを用いた試験は、ラットでは 4 週間反復投与毒性試験、カニクイザルでは 26 週間反復投与毒性試験であった（2.6.6.7 項、2.6.7.4 項）。皮下投与の可能性を裏づけるために開発されたエフガルチギモドの皮下投与製剤を用いたウサギ局所刺激性試験から補足データが得られた（2.6.7.16 項、4.2.3.6-1）。

ラット 4 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-1）及びカニクイザル 26 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-3）では GMP バッチ [redacted] のエフガルチギモドを使用し、最高用量の 100 mg/kg をそれぞれ急速及び 0.5 時間持続静脈内投与した。ラット及びカニクイザルにそれぞれ計 15 及び 27 回反復投与したが、投与部位に局所刺激性を示唆する異常は認められなかった。

カニクイザル拡張型単回投与毒性試験（4.2.3.1-1）及び 4 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-2）ではパイロットバッチ [redacted] を用いて 2 時間持続静脈内投与したとき、投与部位に可逆的かつ軽度～中等度の変化がみられたが、エフガルチギモド中に含まれていたエンドトキシン

に起因する影響と考えられた。すなわち、パイロットバッチ [redacted] は GMP バッチに比べエンドトキシン濃度が [redacted] 倍以上高値（[redacted] EU/mg $A_{280}$ タンパク質）であった。LPS によって、皮下投与部位の組織の血管閉塞を含む炎症性の病理組織学的変化が生じることが知られており（Yokochi, 1989、Piguet, 1993）、静脈穿刺時に投与液が一部漏出した可能性がある。さらに、GMP バッチ [redacted] を使用したラット 4 週間反復投与毒性試験及びカニクイザル 26 週間反復投与毒性試験では、投与部位に局所刺激性を示唆する異常は認められなかったことから、GMP バッチのエフガルチギモド製剤を静脈内投与する臨床使用で局所刺激性が発現する懸念はないと考えている。

ウサギ局所刺激性試験（4.2.3.6-1）では、エフガルチギモド（150 mg/mL、皮下投与製剤）を静脈内、誤投与の可能性がある経路（動脈内、静脈周囲）並びに皮下及び筋肉内に投与した。対照（調製用緩衝液）と比べて局所刺激性に差は認められなかった。

上述の結果から、25 mmol/L リン酸ナトリウム、100 mmol/L 塩化ナトリウム、150 mmol/L アルギニン及び 0.02%ポリソルベート 80 を含むエフガルチギモドの静脈内投与用製剤（pH 6.7）をヒトに持続静脈内投与しても局所刺激性が発現するリスクは低いと考えられる。

### 2.4.5.　考察及び結論

エフガルチギモドは FcRn に結合して FcRn を飽和させ、病原性 IgG のクリアランスを増加させることで自己免疫を軽減する。エフガルチギモドのような FcRn 阻害薬は T 細胞及び B 細胞活性を阻害せず、恒常性維持で FcRn に依存しない Ig である IgM 及び IgA 濃度に影響を及ぼさない。さらに、アルブミンの FcRn への結合を阻害しないことから、血清中アルブミン濃度にも影響を及ぼさない。FcRn は動物種間で広く保存されている標的であり（Latvala, 2017、Pentsuk, 2009）、ヒトとの関連性も確認されたため、非臨床開発プログラムで複数の動物種でエフガルチギモドを評価した。

<u>薬理試験</u>

マウス、ラット、ウサギ及びカニクイザルでエフガルチギモドの薬理作用を評価した。pH 6.0 及び pH 7.4 でのエフガルチギモドの各種 FcRn への結合親和性は、野生型 Fc フラグメントと比較して高かった（2.4.2.1.1 項）。評価した全ての種で、主要な薬理作用として内因性 IgG が減少した。エフガルチギモドのカニクイザル及びヒト FcRn への結合特性が類似していることから、ヒトに関連性のある動物種はカニクイザルであると考えられた（2.4.2.1.1 項）。ウサギでは FcRn への結合親和性が他の動物種と比較して低く、単回静脈内投与したときは薬理作用を示したのは高用量の 100 mg/kg のみであったが、1 日 1 回反復静脈内投与したときは 10 及び 30 mg/kg でも薬理作用が認められた（2.4.2.1.2 項）。ウサギでも薬理作用が認められたことから、ウサギも適切な動物種であると考えられたが、ウサギの試験結果については、エフガルチギモドの FcRn への結合親和性がより高いラットの結果と合わせて解釈すべきである（2.4.4.5 項）。

PK／PD 試験（2.4.2.1.2 項）並びに単回及び反復投与毒性試験（2.4.4 項）を含む、げっ歯類及び非げっ歯類を用いた一連の非臨床試験で、期待する in vivo での薬理作用として内因性 IgG 又はトレーサー抗体の減少が確認された。エフガルチギモドをマウス、ラット、ウサギ及びカニクイザルに投与したとき、いずれの種でも IgG 濃度が減少し、投与を中止すると IgG 濃度はベースラインに戻った。エフガルチギモドを 2 mg/kg 以上で反復静脈内投与すると、大部分の動物種で薬理作用（内因性 IgG 又はトレーサーIgG の減少）を示した（2.4.2.1.2 項及び 2.4.4 項）。さらに、公知の論文でも報告されている MG 疾患モデルマウス及びラットにエフガルチギモドを投与したとき、自己抗体が減少し MG 疾患症状が軽減した（2.4.2.1.2 項）。

したがって、in vitro での作用機序（pH 6.0 及び pH 7.4 での FcRn への高い結合親和性）から予測された薬理作用が、げっ歯類及び非げっ歯類の in vivo 試験でも確認された。さらにげっ歯類の MG 疾患モデルでも薬理作用による有効性が確認されたことから、エフガルチギモドは MG に対する治療選択肢になり得ると考えられる。gMG 患者を対象としたエフガルチギモドの臨床試験で、IgG 濃度の減少及び MG 疾患症状の軽減が認められた（2.5 項）ことにより、非臨床モデルでの予測性が確認された。

エフガルチギモドの副次的薬理作用による潜在的リスクについて、in vitro 試験（2.4.2.2 項）及び GLP 適用 in vitro 組織結合試験（2.4.2.1.1 項）で評価した。ADCC 又は CDC を誘発するためには、エフェクター機能を阻害するための Fab 領域が必要であるが、エフガルチギモドは Fab 領域を有していない。さらにエフガルチギモドの Fc フラグメントに ABDEG™変異が導入されていることで、エフェクター機能を活性化せず、ADCC 又は CDC を誘発する可能性は低いと考えられる。また、エフガルチギモドの C1q 又は FcγR への結合は野生型フラグメントと同程度以下であった。ヒト初代培養細胞では、野生型 IgG のバックグラウンドレベルを上回るような NK 細胞の活性化はみられなかった。ヒト及びカニクイザルの組織を用いた組織結合試験では、オフターゲット結合は認められなかった（2.4.2.1 項）。さらに、GLP 適用毒性試験で、エフガルチギモドによる ADCC 及び CDC の誘発、過剰な薬理作用並びにオフターゲット結合による毒性徴候はみられなかった（2.4.2.2 項及び 2.4.4 項）。

IgG 以外の Ig は恒常性維持で FcRn 結合に依存しないため、エフガルチギモドは IgG 以外の Ig 濃度に影響を及ぼさないことが推定された。実際に一般毒性試験で Ig を測定したところ、エフガルチギモドは IgM 及び IgA 濃度に影響を及ぼさなかった（2.4.4 項）。血清中アルブミンも FcRn を介してリサイクルされることから、FcRn を標的とする mAb は血清中アルブミンの恒常性維持に影響を及ぼすとの報告がある（Ling, 2019、Kiessling, 2017、Sand, 2015）。アルブミンは、内因性物質及び多くの薬物にとって血中での重要な担体であり、血中アルブミン濃度に影響を及ぼすことは望ましくない（Sand, 2015）。そこで、単回及び反復投与一般毒性試験で血中アルブミン濃度を測定したところ、エフガルチギモドを 100 mg/kg まで投与しても血中アルブミン濃度は影響を受けなかったことから（2.4.4 項）、エフガルチギモドはアルブミンの FcRn への結合を阻害せず、アルブミンの恒常性維持及び機能を損なうことはないと考えられた。

さらに、エフガルチギモドによる免疫調節の徴候は、以下に示すような限定的で予期されるものであった。

- 内因性 IgG 濃度には種差があるが、一般毒性試験での血中 IgG 濃度の投与前からの最大減少率は用量に依存せず一定の範囲であった（2.4.2.1.2 項及び 2.4.4 項）。
- エフガルチギモドは、内因性 IgM 及び IgA 濃度に影響を及ぼさなかった。
- 一般毒性試験のリンパ球イムノフェノタイピングを含む血液学的検査でエフガルチギモドの投与に関連した変動はみられなかった（2.4.4 項）。

毒性試験でエフガルチギモドに関連した明らかな毒性徴候は認められなかった。すなわち、毒性試験では偶発的又は低頻度で状態悪化がみられたが、感染症に関連した変化であり、エフガルチギモドの薬理作用である IgG の減少に起因するものではない。カニクイザル 26 週間反復投与毒性試験では、感染症に起因すると思われる下痢が 3 例に認められた（2.4.4.2 項）。ウサギ EFD 試験では流産が 3 例で認められ、感染症が原因である可能性を除外できなかった（2.4.4.5 項）。いずれの事象もこれらの動物種で一般的に観察される消化管感染症であった。IgA は消化管での粘膜免疫を調節しているが、IgA はエフガルチギモドの薬理作用による影響を受けない。

安全性薬理評価では、エフガルチギモドは中枢神経系、心血管系及び呼吸器系機能に有害な影響を及ぼさないことが明らかとなった（2.4.2.3 項）。また、毒性試験でもエフガルチギモドに関連した有害な徴候は認められなかった。

ヒト FcRn トランスジェニックマウスを用いて、エフガルチギモドと IVIg 又はヒト IgG1 トレーサー抗体との薬力学的薬物相互作用を評価した（2.4.2.4 項）。エフガルチギモドと IVIg 又はトレーサー抗体を併用投与したとき、血中エフガルチギモド濃度は IVIg 及びトレーサー抗体により影響を受けなかった。一方、エフガルチギモドと IVIg を同時投与したときは、エフガルチギモドは IVIg の薬理作用に影響を及ぼし、血中ヒト IgG 濃度が減少した。しかし、エフガルチギモド投与 2 日後に IVIg を投与したとき血中 IgG 濃度は維持され、エフガルチギモドは同時投与したときほど IVIg の薬理作用に影響を及ぼさなかった。ヒト FcRn トランスジェニックマウスとヒトで FcRn の発現が異なっており（Li, 2018）、異化率にも種差がある。さらに、各薬物が FcRn 上で競合するため、各薬物の臨床での曝露量及び FcRn への結合親和性を考慮する必要があることから、この結果を定量的にヒトに外挿することは困難である。

薬物動態試験

マウス、ラット、ウサギ及びカニクイザルを用いて、単回及び反復投与試験でエフガルチギモドの PK を評価した（2.4.3 項）。

非臨床試験で用いた血清中エフガルチギモド濃度分析法は ELISA で、エフガルチギモド特異的エピトープを標的とする捕捉試薬を用いた（2.4.3.1 項）。尿中エフガルチギモド濃度分析については探索的に実施した。

GLP 適用の毒性試験での血清中エフガルチギモド濃度分析法は、関連するガイドラインに従いバリデーションを実施した。ISR に関して分析法関連ガイドラインからの軽微な逸脱が 1 点のみ認められたが、確認された逸脱は関連する試験の解釈に影響を及ぼさないと判断した（2.6.4.2.1 項）。ヒト血清中エフガルチギモド濃度分析法については、非臨床と同様の ELISA で開発し、バリデーションを実施した（2.7.1.1.2 項）。

ラット及びカニクイザルの一般毒性試験の TK 測定では、バリデートされた ADA 分析法を用いた。生殖発生毒性試験の TK プロファイルに ADA の影響がみられなかったため、生殖発生毒性試験では血清中 ADA 濃度測定を実施しなかった（2.4.4.5 項）。

異なる種間で全身曝露量を比較した。エフガルチギモドの PK は検討した全ての種で類似していたが、FcRn の結合特性に起因すると思われるわずかな違いがみられた（2.4.3.2 項）。エフガルチギモドを薬理活性のある用量範囲で静脈内投与したとき、PK パラメータは線形で反復投与による影響はみられなかった。血中への蓄積はほとんどなく、性差はみられなかった。

評価した動物種の中で最もヒトに類似していると考えられたカニクイザルで主に PK を評価した（2.4.3.2 項）。エフガルチギモドの PK は一般的な mAb と同様の特徴を有すると考えられる。エフガルチギモドの分子量（およそ 54 kDa）は、mAb の分子量（150 kDa）に比べて小さく、pH 6.0 だけでなく pH 7.4 でも FcRn への結合親和性が高い特性から、エフガルチギモドは FcRn が発現している組織に分布しやすい。

消失半減期は、短い $t_{1/2,eff}$（19～45 時間）及び終末相の長い $t_{1/2,z}$（曝露量のごくわずかしか寄与しないため薬理学的に関連しない）の 2 種類が認められた。カニクイザルの CL は 2～4 mL/h/kg でカニクイザルの mAb で報告されている値より大きく、用量及び反復投与による影響はなかった。エフガルチギモドを単回投与したときの $V_{SS}$ は 126 mL/kg で血液量を超えていることから、抗体フラグメントであるエフガルチギモドは血流量の多い臓器及び組織間液に分布することが示唆される（2.4.3.3 項）。

エフガルチギモドはタンパク質であるため、飲作用に続くリソソーム分解が主要な消失経路であると推定される。少量ではあるがエフガルチギモドが尿中に排泄された。

エフガルチギモドの非臨床動物での静脈内投与毒性試験での TK から十分な曝露量が得られ、適切な安全域が確保された。エフガルチギモドを技術的に投与可能な用量を 1 日 1 回反復投与したとき軽微な蓄積がみられた。カニクイザル 26 週間反復投与毒性試験では、投与頻度が臨床と同じ週 1 回であることから、ヒトでの安全域の評価にはカニクイザルが最適と考えられた。カニクイザルに 100 mg/kg（NOAEL）を週 1 回反復静脈内投与したときの曝露量は、ヒトに 10 mg/kg を週 1 回反復静脈内投与したときの曝露量と比較して、安全域は $C_{max}$ 及び AUC 比でそれぞれおよそ 13 及び 8 倍で、ヒトへの投与を支持するのに十分であると考えられた。

Tg32 マウスにエフガルチギモド及びヒト IgG1 トレーサー抗体又は IVIg を併用したとき、血漿中エフガルチギモド濃度は影響を受けなかったが、エフガルチギモドはトレーサー抗体及び IVIg に影響を及ぼした。エフガルチギモドと併用される低分子薬との間に薬物動態学的薬物相互作用が起こる可能性は低いと考えられるが、投与条件によっては治療用 mAb 又は IVIg の PK に影響を及ぼす可能性を除外できない（2.4.3.6 項）。

毒性試験

ラット 4 週間並びにカニクイザル拡張型単回、4 及び 26 週間反復投与毒性試験でエフガルチギモドの全身毒性を評価した結果、エフガルチギモドの臨床使用で安全性上の問題となる毒性徴候は認められなかった。

ラット及びカニクイザル 4 週間反復投与毒性試験で、高用量で回復性の所見がみられたが、エフガルチギモド投与との関連性は不明であった。ラットでは可逆的で、軽微～軽度のクッパー細胞の肥大／増加がみられた。ラットでは免疫原性に関連する反応にクッパー細胞が関与することが知られており、さらに、ラットの 4 週間反復投与毒性試験では、肝臓機能に異常は認められなかったことから、この所見の意義は不明である（2.4.4.2 項）。カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験の所見は、26 週間反復投与毒性試験では再現されなかったことから、エフガルチギモド原薬のパイロットバッチ（[redacted]）に含まれるエンドトキシンに起因した変化であると考えられ、エフガルチギモドの臨床用製剤を治療用量で使用する際には、これらの所見がヒトで生じる可能性は低いと考えられる。実際に、エフガルチギモドの臨床試験では肝毒性のリスクは報告されていない（2.5 項）。パイロットバッチを用いたカニクイザル 4 週間反復投与毒性試験の NOAEL は中用量の 30 mg/kg（2 日に 1 回）であったが、GMP バッチを用いたカニクイザル 26 週間反復投与毒性試験では、検討した最高用量である 100 mg/kg（週 1 回）まで毒性徴候は認められず、NOAEL は 100 mg/kg（週 1 回）であった（2.4.4.2 項）。

ラット及びカニクイザルの一般毒性試験では ADA が検出されたが、血中に ADA が存在した場合でもデータの解釈を妨げるものではなかった。カニクイザル 26 週間反復投与毒性試験の NOAEL である 100 mg/kg （週 1 回）に基づく安全域は $C_{max}$ 比で約 13 倍、AUC 比で約 8 倍であった（2.4.3.8 項）。

エフガルチギモドはバイオテクノロジー応用医薬品であり、デオキシリボ核酸（DNA）又はその他の染色体関連物質と直接相互作用することはないと考えられるため、遺伝毒性試験を実施しなかった（2.4.4.3 項）。さらに、エフガルチギモドの作用機序からがん原性は想定されず、カニクイザル 26 週間反復投与毒性試験の NOAEL での曝露量が臨床曝露量を超えていたにもかかわらず前腫瘍性又は腫瘍性病変がみられなかったことから、がん原性試験を実施しなかった（2.4.4.4 項）。

FEED 試験、EFD 試験及び PPND 試験では、ラット及びウサギ（EFD 試験のみ）にエフガルチギモドを 1 日 1 回反復急速静脈内投与した（2.4.4.5 項）。エフガルチギモドは高用量の 100 mg/kg/日までラット及びウサギに催奇形性を示さず、ラットでは雄雌受胎能及び出生前及び出生後の発育に有害な影響を及ぼさなかった。エフガルチギモドの胎盤移行及び乳汁排泄については検討しなかったが、公知の文献情報に基づき考察した（2.4.3.3 項及び 2.4.3.5 項）。明らかな状態悪化又は出生児数の減少の報告はなかった。エフガルチギモドの投与により母動物で IgG 濃度が低下したことから、出生時の胎児中 IgG 濃度も減少する可能性を除外できないが、一連の生殖発生毒性試験の結果、エフガルチギモドを投与しても母動物及び出生児に有害な影響は認められなかった。

エフガルチギモド製剤を非臨床試験で用いた動物種に静脈内投与したときの局所刺激性は許容できるものであった。

結論

エフガルチギモドはヒト FcRn に対する結合親和性が高くなるように設計されており、高濃度に存在する血清中の内因性 IgG を効率的に減少させた。エフガルチギモドの FcRn への結合特性を in vitro 薬理試験で評価し、作用機序から期待される薬理作用である内因性 IgG の減少を in vivo 薬理試験で評価した。IgG の減少率はエフガルチギモドの用量の増加に伴い最大に達したあと概ね一定となった。MG のモデルマウス及びラットにエフガルチギモドを投与したとき、自己抗体を減少させ疾患症状を軽減させたことから、エフガルチギモドは gMG に対する治療選択肢になり得ると考えられる。

ラット（最長 4 週間）及びカニクイザル（最長 26 週間）で実施した単回及び反復投与毒性試験で、エフガルチギモドの局所及び全身毒性の可能性について評価した結果、臨床使用に際し安全性の懸念に繋がるような局所及び全身性の毒性徴候は認められなかった。安全性薬理評価項目については、ラット及びカニクイザルの一般毒性試験並びに PK／安全性薬理試験で評価し、心血管系、呼吸器系及び中枢神経系機能への影響はなかった。毒性試験では、エフガルチギモドの薬理作用に関連した内因性 IgG の減少、並びにこれに関連したグロブリンの減少及びアルブミン／グロブリン比の増加が認められた。一方、IgM、IgA 及びアルブミン濃度に明らかな減少はみられなかった。カニクイザル 26 週間反復投与毒性試験での NOAEL は 100 mg/kg（週 1 回投与）で、ヒトでの安全域は $C_{max}$ 比でおよそ 13 倍、AUC 比でおよそ 8 倍であり、臨床使用に際し、十分な安全域が確保されていると考えている。

ラット及びウサギの生殖発生毒性試験ではエフガルチギモドは催奇形性を示さず、ラット雌雄受胎能及び出生前及び出生後の発育に有害な影響を及ぼさなかった。

エフガルチギモドの乳汁排泄に関する試験を実施していない。Fc を有する抗体及び抗体フラグメントの乳汁排泄については公知の論文で報告されており、ヒトでは IgG の乳汁排泄量はごくわずか又はほとんど排泄されない（Pentsuk, 2009）。したがって、少量のエフガルチギモドがヒト乳汁中に排泄される可能性は除外できないが、排泄されてもごく微量であると推定される。

エフガルチギモドの作用機序に基づくと、妊娠期及び授乳期にエフガルチギモドを母動物に投与したとき、母動物の抗体濃度が減少すると推定されるが、胎児及び新生児でも IgG 濃度が減少する可能性がある。しかし、毒性試験で母動物及び出生児にエフガルチギモドに関連した毒性徴候はみられなかった。

エフガルチギモドと併用される低分子薬との間に薬物動態学的薬物相互作用が起こる可能性は低いと考えられるが、投与条件によっては治療用 mAb 又は IVIg の PK に影響を及ぼす可能性を除外できない。

結論として、in vitro 及び in vivo 非臨床試験から、エフガルチギモドの作用機序が実証された。エフガルチギモドは標的である FcRn に対する選択性が高く、有害な副次的薬理作用の徴候はなかった。エフガルチギモドの薬理作用として、in vivo で内因性 IgG の減少及びこれに関連するグロブリンの減少が示されたが、アルブミンには影響しなかった。ヒトへの使用が危惧されるような特記すべき毒性徴候は認められなかった。エフガルチギモドの安全域はヒトへの投与を支持するのに十分であると考えられた。

### 2.4.6.　参考文献

Bartoccioni E, Scuderi F, Minicuci GM, Marino M, Ciaraffa F, Evoli A. Anti-MuSK antibodies: correlation with myasthenia gravis severity. Neurology. 2006;67(3):505-7.

Brown GC. The endotoxin hypothesis of neurodegeneration. J Neuroinflammation. 2019;16(1):180.

Datta-Mannan A, Witcher DR, Tang Y, Watkins J, Wroblewski VJ. Monoclonal antibody clearance. Impact of modulating the interaction of IgG with the neonatal Fc receptor. J Biol Chem. 2007;282(3):1709-17.

DeSesso JM, Williams AL, Ahuja A, Bowman CJ, Hurtt ME. The placenta, transfer of immunoglobulins, and safety assessment of biopharmaceuticals in pregnancy. Crit Rev Toxicol. 2012;42(3):185-210.

Huijbers MG, Plomp JJ, van Es IE, Fillié-Grijpma YE, Kamar-Al Majidi S, Ulrichts P, et al. Efgartigimod improves muscle weakness in a mouse model for muscle-specific kinase myasthenia gravis. Exp Neurol. 2019;317:133-43.

Kiessling P, Lledo-Garcia R, Watanabe S, Langdon G, Tran D, Bari M, et al. The FcRn inhibitor rozanolixizumab reduces human serum IgG concentration: A randomized phase 1 study [published correction appears in Sci Transl Med. 2017;9(419)]. Sci Transl Med. 2017;9(414).

Kiyotoshi S. Kupffer cell hyperplasia in rats intoxicated by carbon tetrachloride as demonstrated by scanning electron microscopy. Gastroenterol Jpn. 1982;17(5):422-9.

Klooster R, Plomp JJ, Huijbers MG, Niks EH, Straasheijm KR, Detmers FJ, et al. Muscle-specific kinase myasthenia gravis IgG4 autoantibodies cause severe neuromuscular junction dysfunction in mice. Brain. 2012;135(Pt 4):1081-101.

Latvala S, Jacobsen B, Otteneder MB, Herrmann A, Kronenberg S. Distribution of FcRn across species and tissues. J Histochem Cytochem. 2017;65(6):321-33.

Li T, Balthasar JP. FcRn expression in wildtype mice, transgenic mice, and in human tissues. Biomolecules. 2018;8(4):115.

Lindros KO, Järveläinen HA. Chronic systemic endotoxin exposure: An animal model in experimental hepatic encephalopathy. Metab Brain Dis. 2005;20(4):393-8.

Ling LE, Hillson JL, Tiessen RG, Bosje T, van Iersel MP, Nix DJ, et al. M281, an anti-FcRn antibody: Pharmacodynamics, pharmacokinetics, and safety across the full range of IgG reduction in a first-in-human study. Clin Pharmacol Ther. 2019;105(4):1031-9.

Liu JF, Wang WX, Xue J, Zhao CB, You HZ, Lu JH, et al. Comparing the autoantibody levels and clinical efficacy of double filtration plasmapheresis, immunoadsorption, and intravenous immunoglobulin for the treatment of late-onset myasthenia gravis. Ther Apher Dial. 2010;14(2):153-60.

Pabst O, Slack E. IgA and the intestinal microbiota: The importance of being specific. Mucosal Immunol. 2020;13(1):12-21.

Pentsuk N, van der Laan JW. An interspecies comparison of placental antibody transfer: New insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2009;86(4):328-44.

Picha KM, Tam SH, Khandekar VS, Soderman AR, Martin EC, Jordan RE, et al. Effects of lipopolysaccharide on toxicologically important endpoints in cynomolgus macaques. Preclinica. 2004;2(6):427-34.

Piguet PF, Vesin C, Ryser JE, Senaldi G, Grau GE, Tacchini-Cottier F. An effector role for platelets in systemic and local lipopolysaccharide-induced toxicity in mice, mediated by a CD11a- and CD54-dependent interaction with endothelium. Infect Immun. 1993;61(10):4182-7.

Pyzik M, Sand KMK, Hubbard JJ, Andersen JT, Sandlie I, Blumberg RS. The neonatal Fc receptor (FcRn): A misnomer? Front Immunol. 2019;10:1540.

Rojko JL, Evans MG, Price SA, Han B, Waine G, DeWitte M, et al. Formation, clearance, deposition, pathogenicity, and identification of biopharmaceutical-related immune complexes: Review and case studies. Toxicol Pathol. 2014;42(4):725-64.

Ryman JT, Meibohm B. Pharmacokinetics of monoclonal antibodies. CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol. 2017;6(9):576-88.

Sand KM, Bern M, Nilsen J, Noordzij HT, Sandlie I, Andersen JT. Unraveling the interaction between FcRn and albumin: Opportunities for design of albumin-based therapeutics. Front Immunol. 2015;5:682.

Thomas VA, Balthasar JP. Understanding inter-individual variability in monoclonal antibody disposition. Antibodies (Basel). 2019;8(4):56.

Toyka KV, Drachman DB, Griffin DE, Pestronk A, Winkelstein JA, Fishbeck KH, et al. Myasthenia gravis. Study of humoral immune mechanisms by passive transfer to mice. N Engl J Med. 1977;296(3):125-31.

Vaccaro C, Bawdon R, Wanjie S, Ober RJ, Ward ES. Divergent activities of an engineered antibody in murine and human systems have implications for therapeutic antibodies. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006;103(49):18709-14.

Vaccaro C, Zhou J, Ober RJ, Ward ES. Engineering the Fc region of immunoglobulin G to modulate in vivo antibody levels. Nat Biotechnol. 2005;23(10):1283-8.

Wang W, Wang EQ, Balthasar JP. Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. Clin Pharmacol Ther. 2008;84(5):548-58.

Yokochi T, Inoue Y, Miyadai T, Kimura Y, Ito H, Kato N. A possible correlation between histological changes in regional subcutaneous tissue induced by bacterial lipopolysaccharides and their adjuvant activities. Microbiol Immunol. 1989;33(9):747-60.