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**）

2.6.1　緒言

アルジェニクスジャパン株式会社

目次

2.6.1.　緒言 3
2.6.1.1.　名称 3
2.6.1.2.　構造 3
2.6.1.3.　エフガルチギモドの薬理作用 4
2.6.1.4.　効能・効果（案） 4
2.6.1.5.　用法・用量（案） 5

表目次

表 2.6.1-1　エフガルチギモドの名称等 3

図目次

図 2.6.1-1　エフガルチギモドの構造 4
図 2.6.1-2　エフガルチギモドの予測アミノ酸配列 4

2.6.1.　緒言

2.6.1.1.　名称

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）に関連する名称を表 2.6.1-1 に示す。

表 2.6.1-1　エフガルチギモドの名称等

項目	名称等
医薬品国際一般名称（INN）	efgartigimod alfa
日本医薬品一般的名称（JAN）	エフガルチギモド　アルファ（遺伝子組換え）（日本名） Efgartigimod Alfa (Genetical Recombination)（英名）
企業コード	ARGX-113
化学名	ヒト組換え免疫グロブリン G1 ABDEG™ Fc フラグメント
CAS 登録番号	1821402-21-4

2.6.1.2.　構造

エフガルチギモドは、遺伝子組換えヒト免疫グロブリン（Ig）G1 Fc ドメイン類縁体であり、ヒト IgG1 の 221～447 番目（Eu 番号）のアミノ酸残基に相当する。エフガルチギモドの 32、34、36、213 及び 214 番目のアミノ酸残基はそれぞれ Tyr、Thr、Glu、Lys 及び Phe に置換されている。エフガルチギモドは、チャイニーズハムスター卵巣細胞により産生される。エフガルチギモドは、227 個のアミノ酸残基からなるサブユニット 2 個から構成される糖タンパク質（分子量：約 54,000）である。

ABDEG™置換導入部位、ジスルフィド結合及び主な N 結合型糖鎖を図 2.6.1-1 に示す。

エフガルチギモド遺伝子のヌクレオチド配列の翻訳から予測したアミノ酸一次配列を図 2.6.1-2 に示す。

図 2.6.1-1　エフガルチギモドの構造

（左：ペプチド鎖、ABDEG™ 置換導入部位、分子間ジスルフィド結合及び N 結合型糖鎖結合部位、右：分子内ジスルフィド結合及び主な N 結合型糖鎖構造）

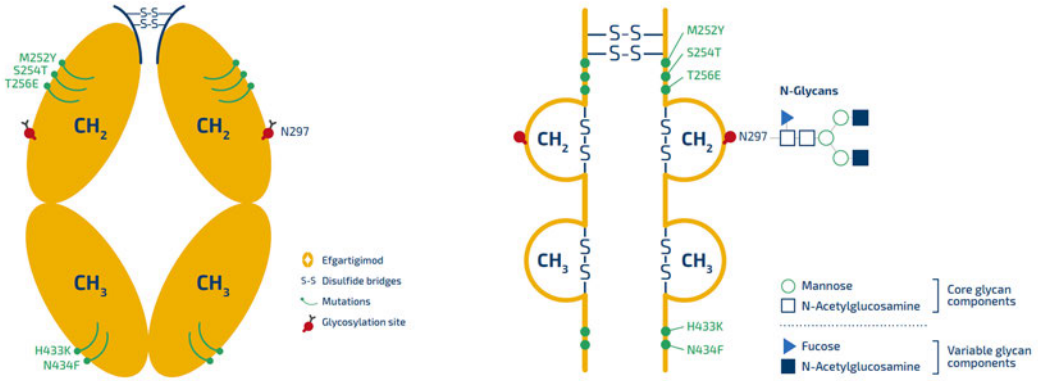


図 2.6.1-2　エフガルチギモドの予測アミノ酸配列

1	(221)	Asp-Lys-Thr-His-Thr-Cys-Pro-Pro-Cys-Pro-Ala-Pro-Glu-Leu-Leu-Gly-Gly-Pro-Ser-Val-	20	(240)
21	(241)	Phe-Leu-Phe-Pro-Pro-Lys-Pro-Lys-Asp-Thr-Leu-Tyr-Ile-Thr-Arg-Glu-Pro-Glu-Val-Thr-	40	(260)
41	(261)	Cys-Val-Val-Val-Asp-Val-Ser-His-Glu-Asp-Pro-Glu-Val-Lys-Phe-Asn-Trp-Tyr-Val-Asp-	60	(280)
61	(281)	Gly-Val-Glu-Val-His-Asn-Ala-Lys-Thr-Lys-Pro-Arg-Glu-Glu-Gln-Tyr-Asn-Ser-Thr-Tyr-	80	(300)
81	(301)	Arg-Val-Val-Ser-Val-Leu-Thr-Val-Leu-His-Gln-Asp-Trp-Leu-Asn-Gly-Lys-Glu-Tyr-Lys-	100	(320)
101	(321)	Cys-Lys-Val-Ser-Asn-Lys-Ala-Leu-Pro-Ala-Pro-Ile-Glu-Lys-Thr-Ile-Ser-Lys-Ala-Lys-	120	(340)
121	(341)	Gly-Gln-Pro-Arg-Glu-Pro-Gln-Val-Tyr-Thr-Leu-Pro-Pro-Ser-Arg-Asp-Glu-Leu-Thr-Lys-	140	(360)
141	(361)	Asn-Gln-Val-Ser-Leu-Thr-Cys-Leu-Val-Lys-Gly-Phe-Tyr-Pro-Ser-Asp-Ile-Ala-Val-Glu-	160	(380)
161	(381)	Trp-Glu-Ser-Asn-Gly-Gln-Pro-Glu-Asn-Asn-Tyr-Lys-Thr-Thr-Pro-Pro-Val-Leu-Asp-Ser-	180	(400)
181	(401)	Asp-Gly-Ser-Phe-Phe-Leu-Tyr-Ser-Lys-Leu-Thr-Val-Asp-Lys-Ser-Arg-Trp-Gln-Gln-Gly-	200	(420)
201	(421)	Asn-Val-Phe-Ser-Cys-Ser-Val-Met-His-Glu-Ala-Leu-Lys-Phe-His-Tyr-Thr-Gln-Lys-Ser-	220	(440)
221	(441)	Leu-Ser-Leu-Ser-Pro-Gly-Lys*	227	(447)

太字下線：ABDEG™ 置換部位
Asn　：N 結合型糖鎖結合部位
Cys　：分子間ジスルフィド結合部位
　　：分子内ジスルフィド結合
*　　：多くの場合 Lys は欠損している

2.6.1.3.　エフガルチギモドの薬理作用

エフガルチギモドは、胎児性 Fc 受容体（FcRn）の天然のリガンドであるヒト IgG1 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。

2.6.1.4.　効能・効果（案）

全身型重症筋無力症

2.6.1.5.　　用法・用量（案）

成人には、エフガルチギモド　アルファ（遺伝子組換え）として 1 回 10 mg/kg（体重）を 1 週間間隔で 4 回 1 時間かけて点滴静注する。これを 1 サイクルとして、症状に応じて、次の治療サイクルを行う。

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）

2.6.2　薬理試験の概要文

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 5
2.6.2. 薬理試験の概要文 7
2.6.2.1. まとめ 7
2.6.2.2. 効力を裏付ける試験 8
2.6.2.2.1. エフガルチギモドの作用機序 8
2.6.2.2.2. In vitro 薬理試験 10
2.6.2.2.2.1. ヒト FcRn への結合親和性 10
2.6.2.2.2.2. エフガルチギモドの各種 FcRn に対する交差反応性 11
2.6.2.2.3. In vivo 薬理試験 14
2.6.2.2.3.1. エフガルチギモドの分子フォーマットの適合性 14
2.6.2.2.3.2. エフガルチギモドの各種動物の内因性 IgG に対する薬理作用 16
2.6.2.2.3.3. 疾患モデル動物でのエフガルチギモドの薬理評価 28
2.6.2.3. 副次的薬理試験 35
2.6.2.3.1. In vitro 試験 35
2.6.2.3.1.1. ADCC 活性及び CDC 活性（In vitro FcγRs 又は C1q との相互作用） 35
2.6.2.3.1.2. In vitro NK 細胞の活性化 36
2.6.2.3.2. エフガルチギモドの特異性 37
2.6.2.4. 安全性薬理試験 39
2.6.2.5. 薬力学的薬物相互作用試験 41
2.6.2.6. 考察及び結論 44
2.6.2.7. 参考文献 47

表目次

表 2.6.2-1　エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのヒト FcRn への結合親和性（SPR）..... 11
表 2.6.2-2　エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのヒト及び各種動物 FcRn への結合親和性（SPR）..... 12
表 2.6.2-3　エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのヒト及び各種動物 FcRn に対する EC_{50}（ELISA）..... 13
表 2.6.2-4　カニクイザルにエフガルチギモド（10、30、50 及び 100 mg/kg ）を単回持続（2 時間）静脈内投与したときの血漿中 IgG 濃度の対照群との相対変化率..... 23
表 2.6.2-5　カニクイザルにエフガルチギモド（3、30 及び 100 mg/kg）を 2 日に 1 回 4 週間反復持続（2 時間）静脈内投与したときの血漿中 IgG 濃度の対照群との相対変化率..... 24
表 2.6.2-6　カニクイザルにエフガルチギモド（10、30 及び 100 mg/kg）を週 1 回 26 週間反復持続（0.5 時間）静脈内投与したときの血漿中 IgG 濃度の対照群との相対変化率..... 26
表 2.6.2-7　エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのヒト FcγRs への結合親和性（ELISA）..... 35
表 2.6.2-8　ラットにエフガルチギモド（10、30 及び 100 mg/kg）を 2 日に 1 回 4 週間反復静脈内投与したときの血漿中アルブミン濃度..... 37
表 2.6.2-9　安全性薬理評価の概要..... 40

図目次

図 2.6.2-1　FcRn を介した IgG のリサイクル..... 9
図 2.6.2-2　エフガルチギモドの作用機序..... 10
図 2.6.2-3　エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのヒト FcRn への結合親和性（ELISA）..... 11
図 2.6.2-4　カニクイザルにエフガルチギモド（70 mg/kg）を単回持続静脈内投与したときの内因性 IgG 濃度の投与前からの変化率..... 16
図 2.6.2-5　マウス及びラットにエフガルチギモド（2、20 及び 100 mg/kg）を単回静脈内投与したときの血清中 IgG 濃度の投与前（Day 0）からの変化率..... 17
図 2.6.2-6　ラットにエフガルチギモド（10、30 及び 100 mg/kg）を 2 日に 1 回 4 週間反復静脈内投与したときの血漿中 IgG 濃度..... 18
図 2.6.2-7　妊娠雌ウサギにエフガルチギモド（0、10、30 及び 100 mg/kg/day）を 22 日間反復静脈内投与したときの血清中 IgG 濃度の妊娠 6 日からの変化率..... 19
図 2.6.2-8　カニクイザルにエフガルチギモド（0、0.2、2、20 又は 200 mg/kg）を単回持続静脈内投与したときの血清中トレーサー抗体濃度の投与前からの変化率..... 20
図 2.6.2-9　カニクイザルにエフガルチギモド（0、0.2、2、20 及び 200 mg/kg）を単回持続静脈内投与したときの血清中 IgG 濃度の投与前からの変化率..... 21

図 2.6.2-10　カニクイザルにエフガルチギモド（20 mg/kg）を 4 日間連続持続静脈内投与したとき及び 4 日に 1 回計 4 回間欠持続静脈内投与したときの血清中 IgG 濃度の投与前（Day 0）からの変化率 22

図 2.6.2-11　カニクイザルにエフガルチギモド（0、3、30 及び 100 mg/kg）を 2 日に 1 回 4 週間反復持続（2 時間）静脈内投与したときの血漿中 IgG 濃度推移 25

図 2.6.2-12　カニクイザルにエフガルチギモド（0、10、30 及び 100 mg/kg）を週 1 回 26 週間反復持続（0.5 時間）静脈内投与したときの血漿中 IgG 濃度推移 27

図 2.6.2-13　MuSK-MG passive transfer モデルマウスにエフガルチギモド（0.5 mg/day）を 6 日間反復腹腔内投与したときの握力の機能評価（試験 2） 29

図 2.6.2-14　ex vivo 横隔膜筋電図試験：MuSK-MG passive transfer モデルマウスにエフガルチギモド（0.5 mg/day）を 6 日間反復腹腔内投与したときの横隔膜での d-ツボクラリン対するテタニー収縮の感受性（試験 2） 30

図 2.6.2-15　MuSK-MG passive transfer モデルマウスにエフガルチギモド（0.5 mg/day）又はヒト野生型 Fc フラグメントを 7 日間反復腹腔内投与したときの握力及び懸垂時間測定による筋の機能評価 31

図 2.6.2-16　AChR-MG passive transfer モデルラットにエフガルチギモド（30 mg/kg）、ヒト野生型 Fc フラグメント、抗ラット FcRn 抗体又は溶媒（PBS）を 2 回腹腔内投与したときの血清中 IgG 濃度の mAb35 投与前 24 時間からの変化率（パイロット試験） 32

図 2.6.2-17　AChR-MG passive transfer モデルラットにエフガルチギモド（30 mg/kg）、ヒト野生型 Fc フラグメント、抗ラット FcRn 抗体又は溶媒（PBS）を 2 回腹腔内投与したときの握力（パイロット試験） 33

図 2.6.2-18　AChR-MG passive transfer モデルラットにエフガルチギモド（50 mg/kg）又は溶媒（PBS）を 2 回腹腔内投与したときの mAb35 投与前 24 時間からの握力の変化率（確認試験） 34

図 2.6.2-19　AChR-MG passive transfer モデルラットにエフガルチギモド（50 mg/kg）又は溶媒（PBS）を 2 回腹腔内投与したときの血清中 IgG 濃度の mAb35 投与前 24 時間からの変化率（確認試験） 34

図 2.6.2-20　エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのヒト C1q への結合親和性（ELISA） 36

図 2.6.2-21　カニクイザルにエフガルチギモド（200 mg/kg）又は溶媒を単回持続（3 時間）静脈内投与したときの血清中 IgA 及び IgM 濃度の投与前からの変化率 38

図 2.6.2-22　Tg32 マウスにエフガルチギモド（20 mg/kg 静脈内）及びヒト IgG（IVIg 2 g/kg 腹腔内）又は PBS を同時又は連続投与したときの血漿中エフガルチギモド濃度推移 42

図 2.6.2-23　Tg32 マウスにエフガルチギモド（20 mg/kg 静脈内）及び IVIg（2 g/kg 腹腔内）又は PBS を同時又は連続投与したときの血漿中ヒト IgG 濃度推移 43

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）
ABDEG	antibody that enhances degradation	–
ABDEG™-hIgG1	a full-length IgG1 antibody with ABDEG™ mutations	ABDEG™変異を有する完全長ヒト IgG1 抗体
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
ARGX-113	Efgartigimod Alfa (Genetical Recombination)	エフガルチギモド アルファ（遺伝子組換え）
C1q	complement protein 1q	補体タンパク 1q
CD	cluster of differentiation	–
CDC	complement-dependent cytotoxicity	補体依存性細胞傷害
CMAP	compound muscle action potential	複合筋活動電位
CNS	central nervous system	中枢神経系
dTC	d-tubocurarine	d-ツボクラリン
EC_{50}	half maximal effective concentration	50%有効濃度
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着検定法
Fab	antigen-binding	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
FOB	functional observational battery	機能観察総合評価法
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
NHance-Fc	an Fc fragment with NHance mutations	NHance 変異を有する Fc フラグメント
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

略語	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
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
LDL	low-density lipoprotein	低密度リポタンパク質
LRP4	low-density lipoprotein (LDL)-receptor related protein 4	LDL 受容体関連タンパク質 4
mAb35	rat anti-AChR antibody	ラット抗 AChR 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
NMJ	neuromuscular junction	神経筋接合部
NOD/SCID	non-obese diabetic/severe combined immunodeficiency	非肥満性糖尿病／重度複合免疫不全症
NZW	New Zealand White	ニュージーランドホワイト
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
SD	standard deviation	標準偏差
SEM	standard error of mean	標準誤差
SPR	surface plasmon resonance	表面プラズモン共鳴
$t_{1/2}$	half-life	半減期

2.6.2.　薬理試験の概要文

2.6.2.1.　まとめ

胎児性 Fc 受容体（FcRn）阻害薬のエフガルチギモド　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、FcRn の天然リガンドであるヒト免疫グロブリン（Ig）G1 抗体 Fc フラグメントであり、FcRn に対する結合親和性が高くなるように設計されている。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 の分解を促進する。エフガルチギモドはアルブミン結合部位とは異なる部位で FcRn に結合するため、アルブミン濃度に影響を及ぼさないと考えられる。さらに、FcRn によるリサイクルは IgG に特異的であるため、エフガルチギモドによる FcRn の阻害は他の Ig の濃度に影響を及ぼさないと考えられる。

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に、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治療で合理的な方法である。エフガルチギモドは、全身型重症筋無力症（gMG）を適応症として開発されている。gMG はまれな慢性の神経筋疾患で、衰弱して生命を脅かすような筋力低下を引き起こす IgG 抗体を介した自己免疫疾患である（2.5 項）。

エフガルチギモドの非臨床試験を、医薬品規制調和国際会議（ICH） M3 及び ICH S6 (R1) に準拠して実施した。薬理試験一覧を 2.6.3.1 項に示す。

エフガルチギモドの FcRn への結合親和性は、天然型 Fc フラグメントに導入された一連の修飾（ABDEG™変異）により増加する（2.6.2.2.1 項）。In vitro 薬理試験では、酸性及び中性で、野生型 Fc フラグメントと比較して、エフガルチギモドのヒト FcRn への結合親和性は増加した（2.6.2.2.2.1 項）。エフガルチギモドの各種 FcRn への結合親和性の比較では、野生型 Fc フラグメントと同様に、ヒト及びカニクイザル FcRn への結合親和性は類似しており、マウス及びラット FcRn への結合親和性はヒト FcRn より高かった。ウサギ FcRn への結合親和性は中性で低かった（2.6.2.2.2.2 項）。各種 FcRn に対するエフガルチギモドの交差反応性試験及び in vivo 薬物動態（PK）／薬力学（PD）解析の結果から、マウス、ラット、ウサギ及びカニクイザルがエフガルチギモドの非臨床開発での評価動物として適切であることが示された（2.6.4 項、2.6.2.2.3.2 項）。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ることから、非臨床薬理試験での主要な評価動物としてカニクイザルを選択した。毒性試験ではラット、ウサギ及びカニクイザルを用いた。

エフガルチギモドの in vivo での特異的 FcRn 阻害による IgG 分解促進作用を、ラット、ウサギ及びカニクイザルの単回投与及び反復投与毒性試験並びに重症筋無力症（MG）疾患モデル動物を用いた試験で評価した（2.6.2.2.3.2 項、2.6.2.2.3.3 項）。カニクイザル及びウサギにエフガルチギモドを反復静脈内投与したとき、血中 IgG 濃度は単回投与したときと比較して持続的に顕著に減少した。

医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を適用した一般毒性試験で、エフガルチギモドは IgA、IgM 及びアルブミン濃度に影響を及ぼさなかった（2.6.2.3.2 項、2.6.6 項）。したがって、エフガルチギモドは FcRn への結合に対してアルブミンと競合しないと考えられた。

In vitro 試験からは、エフガルチギモドによる生理学的免疫機能への悪影響を示唆する結果は得られていない（2.6.2.3.1 項）。エフガルチギモドのヒト Fcγ 受容体（FcγR）又は補体タンパク 1q（C1q）への結合親和性は、ヒト野生型 Fc フラグメントより弱い又は同程度であった。エフガルチギモドによる in vitro でのナチュラルキラー（NK）細胞の顕著な活性化及び in vivo での炎症性サイトカインの急激な誘導は観察されなかった。

筋特異的受容体型チロシンキナーゼ（MuSK）及びアセチルコリン受容体（AChR）MG の疾患モデル動物を用いて、病原性自己抗体を速やかに除去するエフガルチギモドのような FcRn 阻害薬が MG の治療選択肢になり得るかを検証した（2.6.2.2.3.3 項）。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） passive transfer モデルマウスでは、エフガルチギモド群で病原性抗 MuSK 抗体の顕著な減少がみられ、マウスの疾患症状の軽減も同時に観察されたことから、エフガルチギモドによる治療が筋無力症を軽減することを示した。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 モデルラットでもエフガルチギモドは有効性を示し、エフガルチギモド群では溶媒群と比較してラット内因性 IgG 濃度が急速に減少するとともに、臨床スコアが低下し、握力が増加した。このように、マウス及びラット MG 疾患モデルで、エフガルチギモドにより内因性 IgG 濃度が急速に減少するとともに、マウス及びラットの MG 疾患症状が軽減されたことから、in vivo でもエフガルチギモドの作用機序が示された。

エフガルチギモドの安全性薬理試験の心血管系評価はカニクイザルの一般毒性試験の中で、中枢神経系（CNS）及び呼吸器系の評価は PK／安全性薬理試験の中で実施した。エフガルチギモドを 100 mg/kg まで静脈内投与しても、心血管系、CNS、呼吸器系といった生命維持にかかわる部分に対して明らかな影響は観察されなかった（2.6.2.4 項）。

薬力学的薬物相互作用試験では、免疫グロブリン大量静注（IVIg）とエフガルチギモドを同時投与したとき、血漿中 IgG 濃度が減少した。一方、IVIg の 2 日前にエフガルチギモドを投与したときも血漿中 IgG 濃度は減少したが、同時投与のときほど顕著に減少せず血漿中ヒト IgG 濃度は高く維持された（2.6.2.5 項）。

結論として、既存治療で十分な効果が得られない gMG 患者に対して、エフガルチギモドは新規バイオテクノロジー応用医薬品としてアンメットメディカルニーズを満たすと考えられる。エフガルチギモドの非臨床薬理試験結果から、エフガルチギモドは予定している用法・用量において効果的で持続可能かつ安全な治療薬になることが示唆された。

2.6.2.2.　効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1.　エフガルチギモドの作用機序

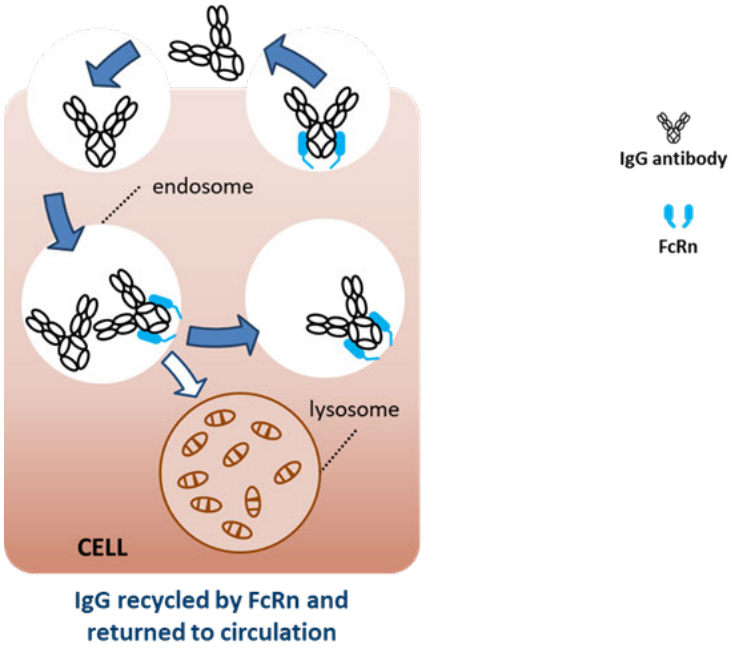
神経筋接合部（NMJ）の疾患である MG は、シナプス後筋終板成分に対する病原性自己抗体の発現を特徴とし、AChR、MuSK 及び低密度リポタンパク質（LDL）受容体関連タンパク質 4（LRP4）に対する自己抗体別にサブグループ化されている（Gilhus, 2015）。検出限界の問題又は NMJ で同定されていない抗原に自己抗体が結合しているために、一部の患者では、自己抗体が同定されていない（Gilhus, 2015）。これらの IgG 自己抗体は神経と筋肉の間の効率的なシグナル伝達を阻害し、筋力低下を誘発する。MG の病理学的メカニズムとして、自己抗体誘導性補体活性化、抗原調節を引き起こす標的タンパク質架橋、リガンド結合部位との競合及び関連タンパク質への結合又は変化を阻害する立体障害など、複数報告されている（Verschuuren, 2013）。

In vivo 及び ex vivo 試験では、AChR-MG 及び MuSK-MG 患者の精製 IgG 画分を投与されたマウスで、筋力低下、麻痺及び呼吸困難などの明らかな筋無力症状と関連した NMJ での機能変化を誘発した（Klooster, 2012、Toyka, 1977）。さらに、臨床では自己抗体濃度と MG の重症度との間に明確な相関が報告されている（Bartoccioni, 2006、Liu, 2010、Masuda, 2012）。自己抗体を急速に減少させる治療法として、血漿交換、免疫吸着療法及び IVIg がある（Liu, 2010、Barth, 2011）。

FcRn は新生児だけでなく生涯にわたって存在し、主に内皮細胞及び骨髄系細胞に発現している。FcRn は IgG の恒常性維持に関与し、全ての IgG サブタイプ（IgG1、IgG2、IgG3 及び

IgG4）のリソソーム分解を抑制してリサイクルする。IgG は FcRn を介したリサイクルにより、FcRn を介してリサイクルされない他の Ig と比較して、半減期（$t_{1/2}$）が長く（IgG ではおよそ 21 日に対して、IgM、IgE、IgA 及び IgD ではおよそ 5～6 日）、血漿中 IgG 濃度は高い（Roopenian, 2007、Ward, 2003、Ghetie, 1996、Junghans, 1996、Pyzik, 2019）。さらに、FcRn はトランスサイトーシスにより、細胞内に IgG 及びアルブミンを取込んだのち血中に放出して IgG 及びアルブミンをリサイクルするが、FcRn の結合部位は IgG とアルブミンで異なる。IgG は細胞に取り込まれ、酸性の初期エンドソーム内で FcRn に結合する。FcRn と結合した IgG は、FcRn と結合しない他の Ig のようにリソソームに取り込まれないため、リソソーム分解されない。FcRn は IgG を細胞表面に輸送し、中性で血中に放出又は他の組織にトランスサイトーシスする（図 2.6.2-1）。

図 2.6.2-1　FcRn を介した IgG のリサイクル



Source: Module 4.3 (Roopenian, 2007)
Fc=fragment, crystallized; FcRn=neonatal Fc receptor; IgG=immunoglobulin G

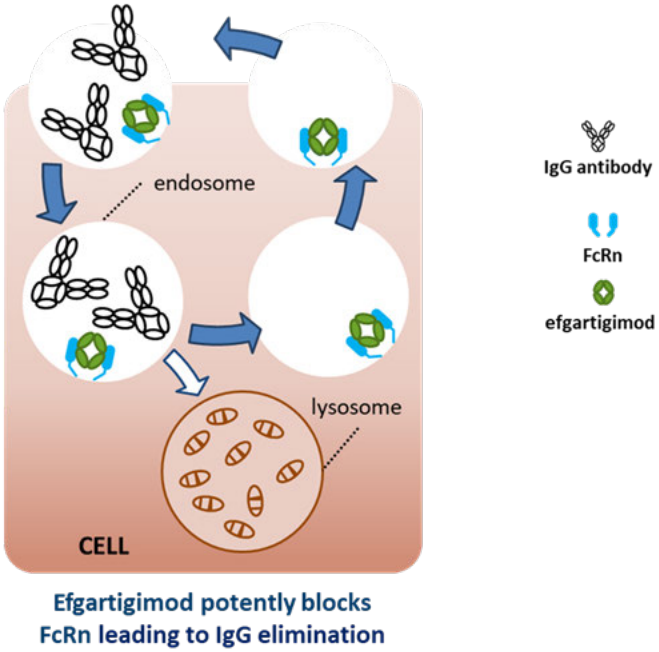
FcRn が IgG の恒常性維持に重要な役割を担っていることから、FcRn を利用した様々な治療戦略が試みられている（Roopenian, 2007、Challa, 2014）。治療用及び診断用 IgG では Fc 領域を修飾して FcRn への結合親和性を変化させ、$t_{1/2}$ の長さを調節することができる。キメラ型 Fc フラグメント融合薬物は血清中の薬物の $t_{1/2}$ を延長し曝露量を増加させるが、FcRn と IgG との結合を阻害すると、内因性 IgG の分解を促進する。FcRn と IgG との結合阻害剤は、MG、免疫性血小板減少症、天疱瘡又は慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチーなどの IgG による自己免疫疾患の治療薬となる可能性が示唆されている。臨床では、これらの疾患の治療に IVIg が実施されており、IgG を大量に静脈内投与することにより FcRn を飽和させ、自己抗体の $t_{1/2}$ を短縮する（Ripellino, 2014）。

エフガルチギモドは、ヒト FcRn に対して結合親和性が高いヒト IgG1 由来 Fc フラグメントであり、天然型 Fc フラグメントの CH2 及び CH3 領域を修飾（M252Y／S254T／T256E／H433K／N434F）して、中性及び酸性で FcRn への結合親和性を高めている。この修飾を

ABDEG™変異と呼ぶ（Vaccaro, 2005）。ABDEG™変異によりエフガルチギモドは、IgG の FcRn への結合を阻害し、IgG のリサイクルを阻害して、IgG の分解を促進する（図 2.6.2-2）。

エフガルチギモドは、FcRn を阻害し IgG による自己免疫疾患患者に発現している IgG 自己抗体を速やかに分解することが期待されており、gMG のような重度の自己免疫疾患の徴候及び症状を軽減するための治療の選択肢の一つとなり得ると考えられる。

図 2.6.2-2　エフガルチギモドの作用機序



Source: Module 4.3 (Ward, 2018)
Fc=fragment, crystallized; FcRn=neonatal Fc receptor; IgG=immunoglobulin G

2.6.2.2.2.　In vitro 薬理試験

2.6.2.2.2.1.　ヒト FcRn への結合親和性

添付資料番号：4.2.1.1-1

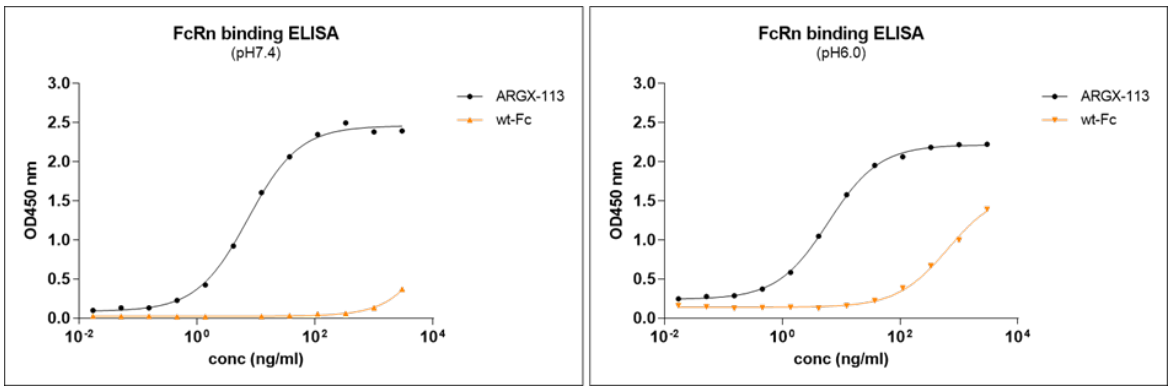
エフガルチギモドのヒト FcRn への結合親和性を、pH 6.0 及び pH 7.4 で酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）及び Biacore T200™による表面プラズモン共鳴（SPR）により測定した（4.2.1.1-1）。主要な試験結果を 2.6.3.2 項に示す。

ELISA では、[redacted] で固相化したマキシソーププレートにビオチン化ヒト FcRn を反応させた後、0.02～3000 ng/mL のエフガルチギモド又はヒト野生型 Fc フラグメントを pH 6.0 及び pH 7.4 で反応させた。3 回以上実験した中から典型的な結果を図 2.6.2-3 に示す。

pH7.4 で IgG の FcRn への結合親和性が低いことから予測されたとおり、pH7.4 でのヒト野生型 Fc フラグメントと FcRn の結合はほとんど認められなかった。一方、エフガルチギモドは pH 7.4 でも FcRn との結合が認められ、50%有効濃度（EC_{50}）は 0.14 nmol/L（7.32 ng/mL）であった。FcRn への結合親和性の増加は pH 6.0 でも認められ、pH 6.0 での EC_{50} はエフガルチギモドで 0.11 nmol/L（6.00 ng/mL）、ヒト野生型 Fc フラグメントはエフガルチギモドのおよそ 100 倍の 13.0 nmol/L（651.7 ng/mL）であった。

ELISA の結果、酸性及び中性のいずれでも、エフガルチギモドはヒト野生型 Fc フラグメントよりもヒト FcRn に対して高い結合親和性を示した。

図 2.6.2-3　エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのヒト FcRn への結合親和性（ELISA）



Source: Module 4.2.1.1-1 (ARGX-NC-074)
ARGX-113=efgartigimod; conc=concentration; ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay; Fc=fragment, crystallized; FcRn=neonatal Fc receptor; OD=optical density; wt=wild-type

エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントの pH 6.0 及び pH 7.4 でのヒト FcRn への結合親和性を SPR で測定し、平衡解離定数（K_d）を求めた（表 2.6.2-1）。pH 7.4 でのエフガルチギモドの K_d は 8.59 nmol/L で高い結合親和性を示したが、ヒト野生型 Fc フラグメントはヒト FcRn に結合しなかった。さらに pH 6.0 でのエフガルチギモドの K_d は 0.35 nmol/L で、ヒト野生型 Fc フラグメントの K_d（28.0 nmol/L）よりもおよそ 100 倍高い結合親和性を示した。

表 2.6.2-1　エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのヒト FcRn への結合親和性（SPR）

pH	Dissociation Constant (K_d)	
	Human Wild-Type Fc (nmol/L)	Efgartigimod (nmol/L)
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; K_d=equilibrium dissociation constant; SPR=surface plasmon resonance
K_d was determined using Biacore T200™ Evaluation Software (version 1.0, GE Healthcare) and calculated using a 1:1 Langmuir binding model.

2.6.2.2.2.2. エフガルチギモドの各種 FcRn に対する交差反応性

添付資料番号：4.2.1.1-1、4.2.1.1-2、4.2.1.1-3

マウス及びヒト FcRn では IgG 及びアルブミンへの結合に大きな種差があることが報告されている。マウス IgG はヒト FcRn に結合しないが、ヒト IgG はマウス IgG よりもマウス FcRn への結合親和性が高い（Ober, 2001、Andersen, 2010）。エフガルチギモドの薬理試験及び毒性試験に際して、動物種間の交差反応性を検討するために、エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのマウス、ラット、ウサギ、ブタ、イヌ、カニクイザル及びヒト

FcRn への結合親和性を、pH 6.0 及び pH 7.4 で Biacore T200™ を用いた SPR により 3 回測定した（4.2.1.1-1、 4.2.1.1-2）。K_d の平均値±標準偏差（SD）を表 2.6.2-2 に示す。主要な試験結果を 2.6.3.2 項に示す。

上記の公知論文での報告と同様に、ヒト野生型 Fc フラグメントでは、pH 6.0 でマウス及びラット FcRn への結合親和性が高かった。エフガルチギモドでは、ヒト FcRn よりもげっ歯類 FcRn に対してより高い結合親和性を示した。ヒト FcRn への結合親和性と比較して、pH 6.0 ではマウス FcRn でおよそ 35 倍、pH 7.4 ではマウス FcRn で 10 倍を超えて高く、ラット FcRn でおよそ 5 倍高い結合親和性を示した。ヒト及びサル FcRn への結合親和性は同程度であった。pH 7.4 でのウサギ FcRn への結合親和性は 0.1 倍未満であった。

表 2.6.2-2　エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのヒト及び各種動物 FcRn への結合親和性（SPR）

Species FcRn	**pH**	**Dissociation constant (K_d±SD)**	
		Human Wild-type Fc (nmol/L)	**Efgartigimod (nmol/L)**
Mouse FcRn	7.4	No binding	0.64±0.11
	6.0	1.04±0.29	0.01±0.01
Rat FcRn	7.4	No binding	1.89±0.35
	6.0	7.54±0.93	0.53±0.11
Rabbit FcRn[a]	7.4	Low binding	301
	6.0	36.0	6.37
Pig FcRn	7.4	No binding	11.7±2.03
	6.0	1.76±0.61	0.35±0.05
Dog FcRn	7.4	No binding	1.74±0.19
	6.0	36.0±13.6	0.19±0.05
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), 4.2.1.1-2 (ARGX-NC-115)
Fc=fragment, crystallized; FcRn=neonatal Fc receptor; K_d=equilibrium dissociation constant; SD=standard deviation; SPR=surface plasmon resonance
[a] A different methodology was followed to determine rabbit FcRn affinity. Corresponding human FcRn affinities in this experiment were 8.63 nmol/L (efgartigimod, pH 6.0), 31.0 nmol/L (efgartigimod, pH 7.4), and 23.0 nmol/L (wild-type Fc, pH 6.0).

SPR と同様に、酸性及び中性でエフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのマウス、ラット、ブタ、イヌ、カニクイザル及びヒト FcRn への結合親和性を ELISA で測定した（4.2.1.1-1）。なお、ウサギ FcRn については検討しなかった。

ELISA で測定したエフガルチギモド及び野生型 Fc フラグメントの各種 FcRn に対する EC_{50} を表 2.6.2-3 に示す。

表 2.6.2-3　エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのヒト及び各種動物 FcRn に対する EC_{50}（ELISA）

Species FcRn	pH	EC_{50}			
		Human Wild-type Fc		Efgartigimod	
		(ng/mL)	(nmol/L)[a]	(ng/mL)	(nmol/L)[a]
Mouse FcRn	7.4	1182	23.6	3.21	0.06
	6.0	4.95	0.10	3.79	0.07
Rat FcRn	7.4	No binding	No binding	3.89	0.07
	6.0	17.2	0.34	3.80	0.07
Rabbit FcRn	7.4	Not performed	Not performed	Not performed	Not performed
	6.0	Not performed	Not performed	Not performed	Not performed
Pig FcRn	7.4	8683	173.7	9.84	0.18
	6.0	16.1	0.32	8.25	0.15
Dog FcRn	7.4	No binding	No binding	4.01	0.07
	6.0	58.5	1.17	5.46	0.10
Cynomolgus monkey FcRn	7.4	No binding	No binding	8.62	0.16
	6.0	1532	30.6	6.68	0.12
Human FcRn [b]	7.4	No binding/no binding	No binding/no binding	7.32/7.00	0.14/0.13
	6.0	652/660	13.0/13.2	6.04/5.67	0.11/0.11

Source: Module 4.2.1.1-1 (ARGX-NC-074)
EC_{50}= half maximal effective concentration; ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay; Fc=fragment, crystallized; FcRn=neonatal Fc receptor
[a] Calculated based on the molecular weight of 53.914 kDa for efgartigimod and 50.000 kDa for wild-type Fc fragment.
[b] Two values for the human FcRn represent independent set of experiments.

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。野生型 Fc フラグメントでもエフガルチギモドと同様の傾向が認められた。ELISA での結果は、上述の SPR での結果と同様であった。

以上の結果をまとめると、エフガルチギモドは野生型 Fc フラグメントと比較して、評価した全ての種の FcRn で結合親和性が高かった。エフガルチギモドのカニクイザル及びヒト FcRn への結合親和性は類似していた。これは、内因性のカニクイザル及びヒト IgG のそれぞれの FcRn への結合親和性が、類似しているという報告と一致している（Abdiche, 2015）。エフガルチギモドのサル及びヒト FcRn への結合親和性は類似しており、一般的にバイオテクノロジー応用医薬品の非臨床薬理試験の評価にサルを用いるのが適していることから、カニクイザルを主要な薬理評価動物として選択した。

さらに、エフガルチギモドの組織交差反応性をヒト及びカニクイザルの組織凍結切片を用いて評価した（4.2.1.1-3）。主要な試験結果を 2.6.3.2 項に示す。

正常なヒト及びカニクイザルの全組織パネルの凍結切片にエフガルチギモド（25 及び 50 µg/mL）を添加し、ビオチン化ロバ抗ヒト IgG 二次抗体プレコンプレックス法を用いてエフガルチギモドの免疫組織化学染色を実施した。ストレプトアビジン–西洋ワサビペルオキシ

ダーゼ複合体及びジアミノベンジジン色素原基質を用いて、エフガルチギモド–二次抗体複合体を可視化した。脾臓の赤脾髄の類洞内の細胞にはFcRnを発現していることが報告されていることから（Latvala, 2017）、ヒト脾臓組織を陽性対照（全細胞の75%～100%結合）とした。全ての陽性対照で濃度依存的に染色強度が増加した。リンパ球ではFcRnが発現しているとの報告がないことから、ヒト脾臓内のリンパ球を陰性対照とした。

エフガルチギモド特異的な染色がヒト及びカニクイザルの複数の組織の内皮細胞及び細胞質で観察され、その強度は軽度（1+から 2+）であった。ヒトでは膀胱粘膜、胃及び小腸粘膜、リンパ節洞組織球並びに脾臓類洞内皮細胞で、カニクイザルでは甲状腺濾胞細胞、リンパ節洞組織球及び脾臓類洞内皮細胞で染色が確認された。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。この文献報告によると、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あった（Latvala, 2017）。さらに、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）。一方、エフガルチギモドでは肝臓及び腎臓に染色は確認されず、全体的にエフガルチギモドによる染色強度は弱かった（4.2.1.1-3）。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）。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。

ヒト及びカニクイザル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。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。さらに、組織交差性試験では、一部組織のFcRnに対する染色性が低かった可能性は否定できないものの、サルを用いた26週間反復投与毒性試験においてエフガルチギモド投与群では薬理作用によると考えられる血漿中のIgGレベルの低下を除き、IgA及びIgMに明らかな変動はみられず、リンパ球イムノフェノタイピング、アルブミン、α1-、α2-及びβ-グロブリンの血中濃度並びに病理組織学的検査にもエフガルチギモド投与に関連すると考えられる明らかな変化は認められていないことから、エフガルチギモドが標的部位以外のエピトープに結合する可能性は低いと考える。

2.6.2.2.3.　In vivo 薬理試験

2.6.2.2.3.1. エフガルチギモドの分子フォーマットの適合性

添付資料番号：4.2.1.1-4

バイオテクノロジー応用医薬品の最適な分子フォーマットを決定するために、FcRnへの結合親和性を高めた分子について、カニクイザルで内因性IgG濃度及び血清中トレーサー抗体濃度に及ぼす影響を評価した（4.2.1.1-4）。NHance変異（H433K及びN434F）は、pH 6.0でのFcRnへの結合親和性が高く（Challa, 2014）、ABDEG™変異（M252Y／S254T／T256E／H433K／N434F）は酸性及び中性で結合親和性が高い（2.6.2.2.2.1項）。試験分子として、NHance変異を有するFcフラグメント（NHance-Fc）、ABDEG™変異を有するFcフラグメント（エフガルチギモド）及びABDEG™変異を有する完全長ヒトIgG1抗体（ABDEG™-hIgG1）を評価した。ABDEG™-hIgG1はカニクイザルには存在しない標的である鶏卵白リゾチームに結合する抗体であるが、ABDEG™変異を有するFcRn阻害薬として評価対象に加えた。

本試験を2部構成で実施した。第1部では、カニクイザル（雌10例）にマウスCD70を標的としカニクイザルCD70には交差反応性を示さない非標的結合ヒトIgG1標識抗体［FR70-hIgG1（トレーサー抗体）］1 mg/kgを急速静脈内投与した。5分後に、カニクイザル（各群2例）にエフガルチギモド7 mg/kg、ABDEG™ -hIgG1 20 mg/kg、NHance-Fc 7 mg/kg、IVIg 2 g/kg又は対照として溶媒［リン酸緩衝生理食塩水（PBS）］を持続静脈内投与した。用量は

およそ等モル量となるように選択し、持続投与時間は 1 時間（IVIg 群は 4 時間）とした。Day -1、Day 1（投与前、持続静脈内投与終了後 5 分、2 及び 6 時間）、Day 2、Day 3、Day 4、Day 5、Day 6、Day 8、Day 10 及び Day 12 に採血した。各時点での血清中トレーサー抗体濃度を測定し、投与開始時の濃度と比較した。

ABDEG™変異分子（エフガルチギモド及び ABDEG™-hIgG1）では、対照群と比較して血清中トレーサー抗体濃度が速やかに減少したが、NHance-Fc では血清中トレーサー抗体濃度に明らかな変動はみられなかった。さらに、エフガルチギモドでは等モル量の ABDEG™-hIgG1 よりも血清中トレーサー抗体濃度が速やかにかつ効果的に減少した。

IVIg 群の最大トレーサー抗体濃度（19.5 μg/mL）は、他の群（22～25 μg/mL）と比較して低かった。IVIg 群の持続投与時間（4 時間）が他の群（1 時間）と比較して長く、採血時点が他の群より 3 時間遅かったことから、IVIg での結果を他の試験分子の結果と比較して解釈することは困難である。

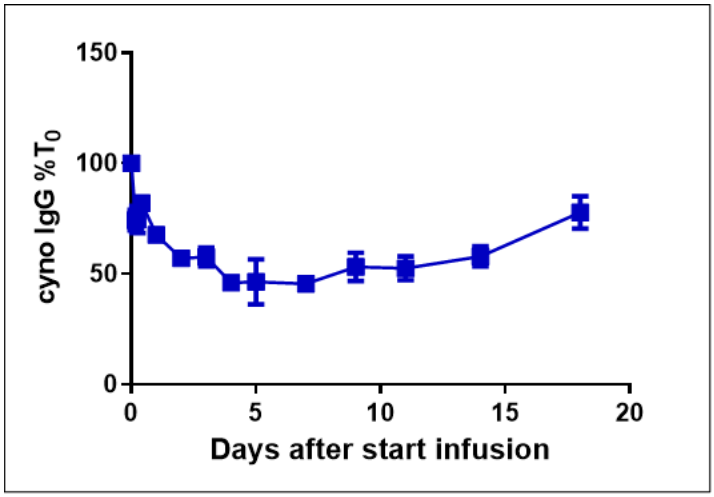
また、総 IgG 濃度を測定した結果、ABDEG™変異を有するエフガルチギモド及び ABDEG™-hIgG1 では内因性 IgG 濃度に差は認められず、同程度まで減少した。エフガルチギモドは抗原結合（Fab）フラグメントを有しておらず ABDEG™-hIgG1 よりも非特異的に結合しにくいと考えられるため、バイオテクノロジー応用医薬品の分子フォーマットとしてエフガルチギモドを選択した。

第 2 部では、第 1 部と同じカニクイザルを用いて、第 1 部の初回投与 2 週間後から試験を開始した。全てのカニクイザルにトレーサー抗体（1 mg/kg）を投与後 48 時間に、第 1 部より 3 倍高い用量の試験分子（エフガルチギモド 20 mg/kg、ABDEG™-hIgG1 60 mg/kg 及び NHance-Fc 20 mg/kg）を持続（4 時間）静脈内投与した。第 1 部の対照群には、溶媒の代わりにエフガルチギモド 70 mg/kg を投与した。IVIg の用量は第 1 部と同じ用量（2 g/kg）で実施した。

エフガルチギモド（70 mg/kg）では、IVIg 及び NHance-Fc よりもトレーサー抗体濃度が速やかにかつ効果的に減少した。エフガルチギモド（70 mg/kg）を持続（4 時間）静脈内投与したとき、溶媒群では内因性 IgG 濃度に変化はみられなかったが、エフガルチギモド（70 mg/kg）では内因性 IgG 濃度は 55%減少した（図 2.6.2-4）。

試験分子だけでなく、トレーサー抗体に対しても抗薬物抗体（ADA）が産生され、特にエフガルチギモド（20 mg/kg）群及び ABDEG™-hIgG1（60 mg/kg）群では、ADA 産生の影響を受けて結果の解釈が困難であったため、これらの群では解析を行わなかった。IVIg 群ではヒト IgG 濃度が高すぎてカニクイザル IgG の定量を妨害したため、カニクイザルの内因性 IgG 濃度を算出できなかった。

図 2.6.2-4　カニクイザルにエフガルチギモド（70 mg/kg）を単回持続静脈内投与したときの内因性 IgG 濃度の投与前からの変化率



Source: Module 4.2.1.1-4 (ARGX-NC-081)
cyno=cynomolgus; IgG=immunoglobulin G; N=number of animals, subjects, or samples; SEM=standard error of mean; T_0=time point predose
Note: N=2 pretreated with tracer antibody FR70-hIgG1; values are displayed as mean±SEM.

2.6.2.2.3.2. エフガルチギモドの各種動物の内因性 IgG に対する薬理作用

エフガルチギモドの作用機序である血中 IgG 濃度を減少させる作用について、マウス及びラット（4.2.1.1-5、4.2.3.2-1）、ウサギ（4.2.2.2-1、4.2.1.1-9）、カニクイザル（4.2.1.1-6、4.2.2.2-2、4.2.3.1-1、4.2.3.2-2、4.2.3.2-3）を用いて評価した。評価した全ての動物種で、内因性 IgG が減少した。主要な試験結果を 2.6.3.2 項に示す。

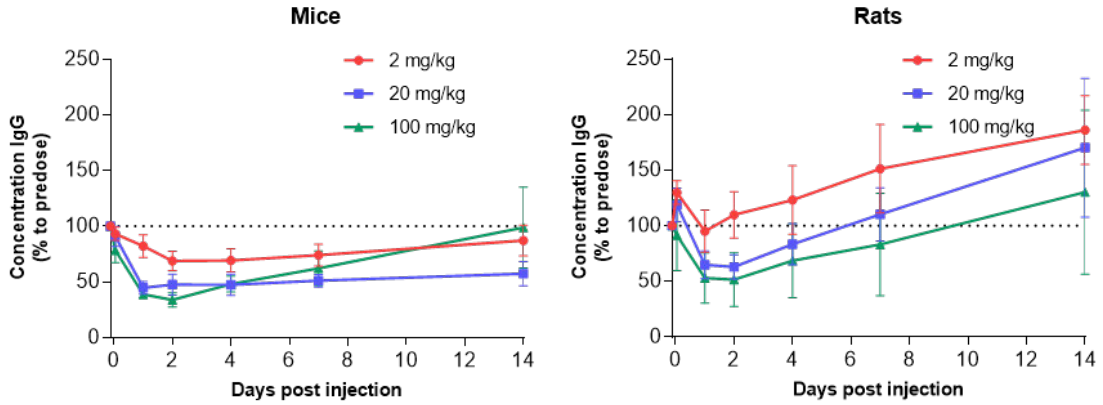
2.6.2.2.3.2.1.　マウス及びラット内因性 IgG に対する薬理作用

添付資料番号：4.2.1.1-5、4.2.3.2-1

エフガルチギモドの作用機序による内因性 IgG への影響を検討するため、GLP 非適用で C57BL/6 雌マウス及び Wistar 雌ラット（各群 4 例）にエフガルチギモド（2、20 及び 100 mg/kg）を単回静脈内投与し、投与後 14 日までの血清中総 IgG 濃度を測定し、血清中 IgG 濃度の投与前（Day 0）からの変化率［平均値±標準誤差（SEM）］を算出した（図 2.6.2-5）。主要な試験結果を 2.6.3.2 項に示す。

マウスでは、2 mg/kg から血清中 IgG 濃度の減少がみられ、20 mg/kg 以上で血清中 IgG 濃度はほぼ一定となった。100 mg/kg では、血清中 IgG 濃度は投与前と比較して最大 66%減少した。一方、ラットでは 2 mg/kg で血清中 IgG 濃度の明らかな変動はみられなかったが、20 及び 100 mg/kg では血清中 IgG 濃度は顕著に減少し、100 mg/kg では投与前と比較して最大 48%減少した。

図 2.6.2-5　マウス及びラットにエフガルチギモド（2、20 及び 100 mg/kg）を単回静脈内投与したときの血清中 IgG 濃度の投与前（Day 0）からの変化率



Source: Module 4.2.1.1-5 (ARGX-NC-076)
IgG=immunoglobulin G; N=number of animals, subjects, or samples; SEM=standard error of mean
Note: N=4/group; values are displayed as mean±SEM.

エフガルチギモドによるラット内因性 IgG 濃度の減少作用は、GLP 適用反復投与毒性試験でも検証した。ラット 4 週間反復静脈内投与毒性試験（4.2.3.2-1）では、Sprague Dawley ラットにエフガルチギモド（10、30 及び 100 mg/kg）又は溶媒を 2 日に 1 回 4 週間、計 15 回反復静脈内投与し、その後 4 週間の回復期間を設定した。サテライト群（雌雄各群 9 例）のラット血漿中 IgG 濃度を測定した。ベースライン、投与期間の各投与前及び回復期間に頻回採血することになるため、サテライト群では 9 例を 3 例ずつ 3 群に分け、回復期間終了時（Day 58）まで、この 3 群をローテーションして採血した。

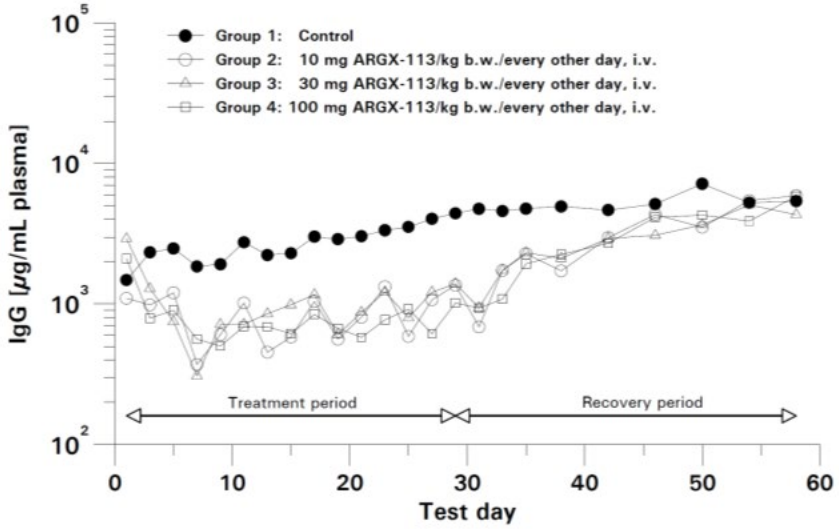
エフガルチギモド（10、30 及び 100 mg/kg）を 2 日に 1 回反復静脈内投与したとき、対照群と比較して全ての投与群で血漿中 IgG 濃度が減少した。雌雄ともにエフガルチギモドの初回投与直後から血漿中 IgG 濃度の減少が認められ、雄では Day 7 及び Day 9 に、雌では Day 7 から Day 13 に減少のピークが認められた。血漿中 IgG 濃度の減少量に用量依存性はみられず、ラットでの血漿中 IgG 濃度の減少作用は 2 日に 1 回 10 mg/kg で最大となることが示唆された。

回復期のラットでは、Day 29 の値と比較して、Day 31 の血漿中 IgG 濃度は低かったが、Day 33 から血漿中 IgG 濃度は増加し始め、4 週間の回復期間終了時には対照群と同程度まで回復した（図 2.6.2-6）。

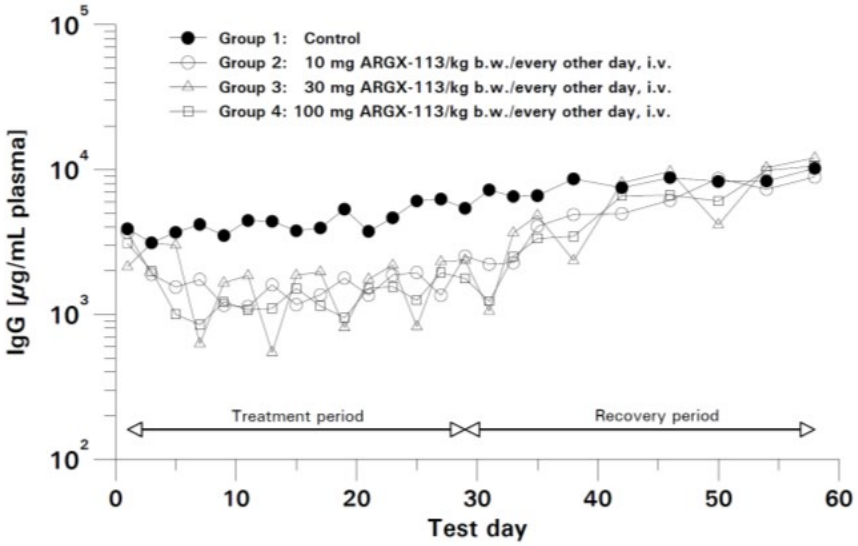
主要な試験結果を 2.6.7.7.A 項に示す。薬理作用に関する結果は、2.6.3.2 項にも示す。

図 2.6.2-6　ラットにエフガルチギモド（10、30 及び 100 mg/kg）を 2 日に 1 回 4 週間反復静脈内投与したときの血漿中 IgG 濃度

Male



Female



Source: Module 4.2.3.2-1 ([redacted]33981)
ARGX-113=efgartigimod; b.w.=body weight; IgG=immunoglobulin G; i.v.=intravenous; N=number of animals, subjects, or samples
Note: N=9/group that is n=3/group per time point. Values are displayed as mean values.

2.6.2.2.3.2.2.　ウサギ内因性 IgG 濃度に対する薬理作用

添付資料番号：4.2.2.2-1、4.2.1.1-9、4.2.3.5.2-3

ウサギの内因性 IgG に対するエフガルチギモドの薬理作用を GLP 非適用試験で評価した（4.2.2.2-1）。ニュージーランドホワイト（NZW）雌ウサギ（各群 3 例）にエフガルチギモド［0（溶媒：PBS）、2、20 及び 100 mg/kg］を単回急速静脈内投与し、Day 1 の投与前（ベースライン）及び投与後 1、24 及び 48 時間並びに Day 5、Day 8 及び Day 15 の血清中 IgG 濃度を測定した。主要な試験結果を 2.6.3.2 項に示す。

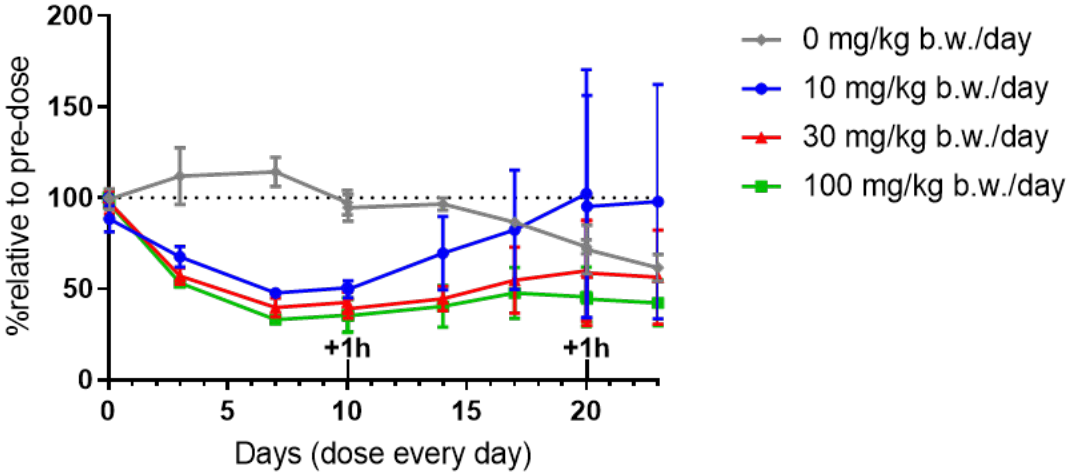
NZW ウサギにエフガルチギモド（20 及び 100 mg/kg）を単回急速静脈内投与したとき、血清中 IgG 濃度は、20 及び 100 mg/kg 群で、投与後 7 日以内にそれぞれ最大 17%及び 36%減少した。マウス及びラットに比べてウサギでエフガルチギモドの血清中 IgG の減少作用が低いのは、エフガルチギモドのウサギ FcRn への結合親和性が中性でマウス及びラット FcRn に比べて低いためと考えられる（2.6.2.2.2.2 項）。

ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験（2.6.6.6.2.2 項）でも、ウサギにエフガルチギモドを 1 日 1 回静脈内投与したときのウサギ血清中 IgG 濃度に対するエフガルチギモドの作用を評価した（4.2.1.1-9、4.2.3.5.2-3）。投与試験は GLP 適用で実施し、血清中 IgG 濃度測定は GLP 非適用で実施した。妊娠雌 NZW ウサギ（各群 3 例）にエフガルチギモド［0（溶媒）、10、30 及び 100 mg/kg/day］を妊娠 6～28 日に 1 日 1 回計 23 回低速静脈内投与した。妊娠 6、16 及び 26 日の投与前及び投与後 1 時間並びに妊娠 9、13、20 及び 23 日の投与前並びに妊娠 29 日に採血した。

主要な試験結果を 2.6.7.11 項に示す。薬理作用に関する結果は、2.6.3.2 項に示す。

図 2.6.2-7 にウサギ血清中 IgG 濃度の投与前（妊娠 6 日）からの変化率を示す。

図 2.6.2-7　妊娠雌ウサギにエフガルチギモド（0、10、30 及び 100 mg/kg/day）を 22 日間反復静脈内投与したときの血清中 IgG 濃度の妊娠 6 日からの変化率



Source: Module 4.2.1.1-9 (ARGX-NC-065)
b.w.=bodyweight; IgG=immunoglobulin G; N=number of animals, subjects, or samples; SEM=standard error of mean
Note: N=3/group; values are displayed as mean±SEM.

ウサギにエフガルチギモドを反復静脈内投与したとき、10 mg/kg 群の 1 例を除いて全ての群で投与期間を通じて、血清中 IgG 濃度の減少が観察された。10、30 及び 100 mg/kg 群での血清中 IgG 濃度の最大減少率は投与前と比較してそれぞれ 53%、62%及び 69%であった。対

照群で妊娠末期に血清中 IgG 濃度の減少が認められたが、これは IgG が母体から胎児へ移行したためと考えられた。

2.6.2.2.3.2.3.　カニクイザル内因性 IgG に対する薬理作用

添付資料番号：4.2.1.1-6、4.2.3.1-1、4.2.3.2-2、4.2.3.2-3、4.2.2.2-2

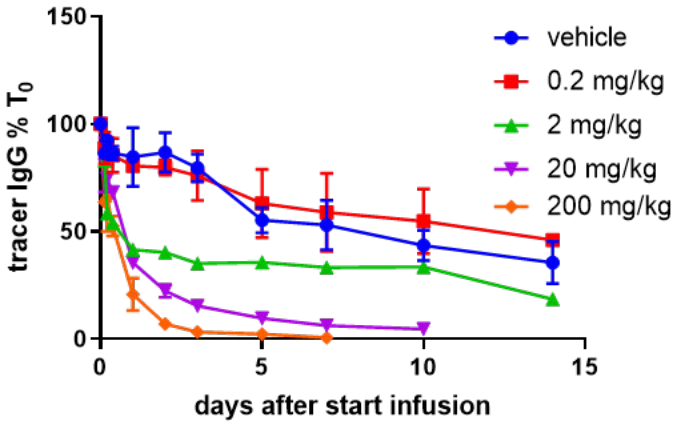
エフガルチギモドの薬理作用である IgG 減少を誘発する用量範囲を決定するため、カニクイザルで GLP 非適用の用量反応試験を実施した（4.2.1.1-6）。本試験結果は、査読付き雑誌にも公表されている（Ulrichts, 2018）。

雌カニクイザル（各群 2 例）にトレーサー抗体（1 mg/kg）を急速静脈内投与し、その 48 時間後にエフガルチギモド（0.2、2、20 及び 200 mg/kg）又は対照として溶媒（PBS）を持続（3 時間）静脈内投与した。エフガルチギモド投与前 3 日（Day -3: トレーサー抗体投与前）、投与前、持続静脈内投与終了直後、2、6、24、48 及び 72 時間後、並びに Day 6、Day 8、Day 11、Day 15、Day 18、Day 22、Day 25 及び Day 29 に採血した。血清中トレーサー抗体及び IgG 濃度を ELISA 法で測定し、ベースライン（エフガルチギモド投与前）からの変化率をそれぞれ図 2.6.2-8 及び図 2.6.2-9 に示した。ADA が産生された Day 18 以降の血清試料については解析しなかった。2 mg/kg 群の 1 例については、トレーサー抗体が検出されなかったため除外した。

主要な結果を 2.6.3.2 項に示す。

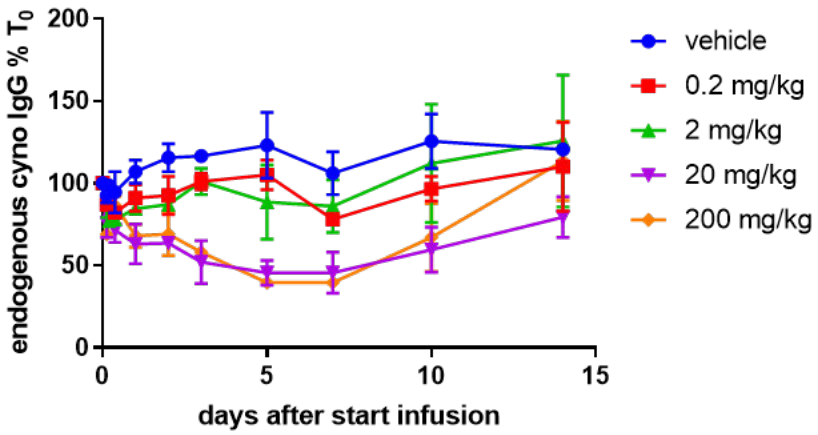
血清中トレーサー抗体濃度に、エフガルチギモド 0.2 mg/kg 群と対照群との比較では明らかな違いはみられなかったが、エフガルチギモド 2、20 及び 200 mg/kg 群では、対照群と比較して明らかに減少した。血清中 IgG 濃度に、エフガルチギモド 0.2 及び 2 mg/kg 群と対照群との比較では明らかな違いはみられなかったが、エフガルチギモド 20 及び 200 mg/kg 群では、対照群と比較して明らかに減少した。エフガルチギモドの薬理作用により、血清中 IgG 濃度の減少率は 20 mg/kg 以上でほぼ最大となり、カニクイザル血清中 IgG 濃度は投与後 5 日に投与前と比較して最大 55%減少した。

図 2.6.2-8　カニクイザルにエフガルチギモド（0、0.2、2、20 又は 200 mg/kg）を単回持続静脈内投与したときの血清中トレーサー抗体濃度の投与前からの変化率



Source: Module 4.2.1.1-6 (ARGX-NC-078)
IgG=immunoglobulin G; N=number of animals, subjects, or samples; SD=standard deviation; T_0=time point predose
Note: N=2/group; except for 2 mg/kg, only values from 1 animal are displayed; values are displayed as mean±SD.

図 2.6.2-9　カニクイザルにエフガルチギモド（0、0.2、2、20 及び 200 mg/kg）を単回持続静脈内投与したときの血清中 IgG 濃度の投与前からの変化率



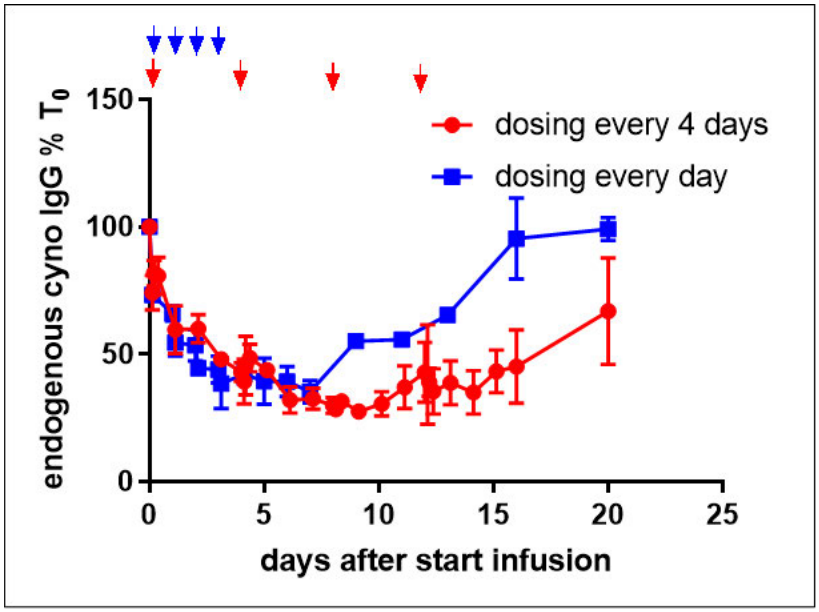
Source: Module 4.2.1.1-6 (ARGX-NC-078)
IgG=immunoglobulin G; N=number of animals, subjects, or samples; SEM=standard error of mean; T_0=time point predose
Note: N=2/group; except for 2 mg/kg, only values from 1 animal are displayed; values are displayed as mean±SEM.

さらに、エフガルチギモドを単回投与後 2、6 及び 24 時間のサイトカインプロファイリングも実施した。対照群と比較して、エフガルチギモドによる炎症性サイトカインの急激な誘導はみられなかった。

エフガルチギモドを単回静脈内投与よりも反復静脈内投与したときに IgG 減少作用が強くなる可能性が考えられたため、次の 2 種類の投与方法によりカニクイザル内因性 IgG への作用を検討した（4.2.1.1-6）。雌カニクイザル（各群 2 例）に、エフガルチギモド（20 mg/kg）を 1 日 1 回 4 日間連続（連続投与）又は 4 日に 1 回計 4 回（間欠投与）反復持続（3 時間）静脈内投与した。連続投与群については、Day 1 から Day 4 は投与前、持続静脈内投与終了直後及び投与後 24 時間、並びに Day 6、Day 7、Day 8、Day 10、Day 12、Day 14、Day 17、Day 21、Day 24、Day 28、Day 31、Day 35、Day 38 及び Day 42 に採血した。間欠投与群については、各投与前、持続静脈内投与終了直後、2、6、24、48 及び 72 時間後、並びに Day 17、Day 21、Day 24、Day 28、Day 31、Day 35、Day 38 及び Day 42 に採血した。血清中 IgG 濃度を ELISA で測定し、投与前の血清中 IgG 濃度を 100%としたときの変化率を図 2.6.2-10 に示した。

連続投与と間欠投与の比較では、投与初期の血清中 IgG 濃度は類似していたが、Day 7 以降に血清中 IgG 濃度に差がみられ、間欠投与では血清中 IgG 濃度が投与前からおよそ 75%減少し、連続投与に比べて減少している期間が持続した。Day 24 以降の血清から ADA が検出されたため、血清中 IgG 濃度を解析しなかった。

図 2.6.2-10　カニクイザルにエフガルチギモド（20 mg/kg）を 4 日間連続持続静脈内投与したとき及び 4 日に 1 回計 4 回間欠持続静脈内投与したときの血清中 IgG 濃度の投与前（Day 0）からの変化率



Source: Module 4.2.1.1-6 (ARGX-NC-078)
cyno=cynomolgus monkeys; IgG=immunoglobulin G; N=number of animals, subjects, or samples; SEM=standard error of mean; T_0=time point predose
Note: N=2/group; values are displayed as mean±SEM.

エフガルチギモドのサル内因性 IgG に対する作用を、カニクイザル GLP 適用単回静脈内投与毒性試験の一環として評価した（4.2.3.1-1）。カニクイザル（雌雄各群 5 例）にエフガルチギモド［0（溶媒；対照群）、10、30、50 及び 100 mg/kg］を単回持続（2 時間）静脈内投与した。主要群（雌雄各群 3 例）は Day 5 に安楽死させた。回復群（雌雄各群 2 例）についてはその後 4 週間の回復期間観察した。主要群では投与前、持続静脈内投与終了直後、Day 3 及び Day 5 に、回復群では Day 7、Day 9、Day 12、Day 15、Day 18、Day 21、Day 25 及び Day 29 に採血し、血漿中 IgG 濃度を測定した。対照群の Day 3、Day 7、Day 15 及び Day 29 の血漿中 IgG 濃度との相対変化率を表 2.6.2-4 に示す。

試験の概要を、2.6.7.5 項に示す。薬理作用に関する結果を、2.6.3.2 項に示した。

表 2.6.2-4　カニクイザルにエフガルチギモド（10、30、50 及び 100 mg/kg ）を単回持続（2 時間）静脈内投与したときの血漿中 IgG 濃度の対照群との相対変化率

Dose (mg/kg)	Sex	IgG (% to control) Day 3	IgG (% to control) Day 7	IgG (% to control) Day 15	IgG (% to control) Day 29
10	M	-42*	-52	-13	-20
10	F	-38**	-31	0	-2
30	M	-48*	-51	+10	-1
30	F	-30	-62	-18	+1
50	M	-45*	-51	-2	+24
50	F	-37**	-42	-27	+9
100	M	-54*	-60	-36	-12
100	F	-50*	-54	-24	-2

Source: Module 4.2.3.1-1 ([redacted]32188)
F=female; IgG=immunoglobulin G; M=male; N=number of animals, subjects, or samples; p=p-value
Note: N=5 or 2/group/sex; values are displayed as mean values.
* p≤0.01 Dunnett test
** p≤0.05 Dunnett test

カニクイザルにエフガルチギモド（10、30、50 及び 100 mg/kg）を単回持続（2 時間）静脈内投与したとき、全ての投与群で対照群と比較して最初の測定時点である Day 3 から血漿中 IgG 濃度の減少がみられ、雌雄ともにほとんどのカニクイザルで Day 7 付近での相対変化率が最も減少した。高用量群で血漿中 IgG 濃度の相対変化率が顕著に減少した。血漿中 IgG 濃度は Day 9 以降から増加し始め、回復期間終了時の Day 29 では完全に回復した。

カニクイザル GLP 適用 4 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-2）での内因性 IgG 濃度に対する作用を評価した。カニクイザル（雌雄各群 5 例）にエフガルチギモド［0（溶媒；対照群）、3、30 及び 100 mg/kg］を 2 日に 1 回 29 日間（計 15 回）反復持続（2 時間）静脈内投与した。主要群（雌雄各群 3 例）のカニクイザルは Day 30 の最終投与後 24 時間に安楽死させた。回復群（雌雄各群 2 例）については、その後 4 週間の回復期間観察した。主要群では各投与前に、回復群では Day 31、Day 33、Day 35、Day 38、Day 42、Day 46、Day 50、Day 54 及び Day 58 に採血し、血漿中 IgG 濃度を測定した。

Day 1、Day 3、Day 5、Day 15 及び Day 29 の血漿中 IgG 濃度を対照群と比較した相対変化率を表 2.6.2-5 に示す。回復期間を含む試験期間での血漿中 IgG 濃度推移を図 2.6.2-11 に示す。試験の概要を、2.6.7.7.B 項に示す。薬理作用に関する結果は、2.6.3.2 項にも示した。

表 2.6.2-5　カニクイザルにエフガルチギモド（3、30 及び 100 mg/kg）を 2 日に 1 回 4 週間反復持続（2 時間）静脈内投与したときの血漿中 IgG 濃度の対照群との相対変化率

Dose (mg/kg)	Sex	IgG (% to control)				
		Day 1	Day 3	Day 5	Day 15	Day 29
3	M	-3	-9	-40*	-53*	-44*
3	F	-6	-23	-46*	-56*	-43
30	M	+1	-20	-44*	-64*	-67*
30	F	-25	-63*	-59*	-75*	-50
100	M	-9	-18	-52*	-64*	-40*
100	F	-3	-54*	-63*	-62*	-45

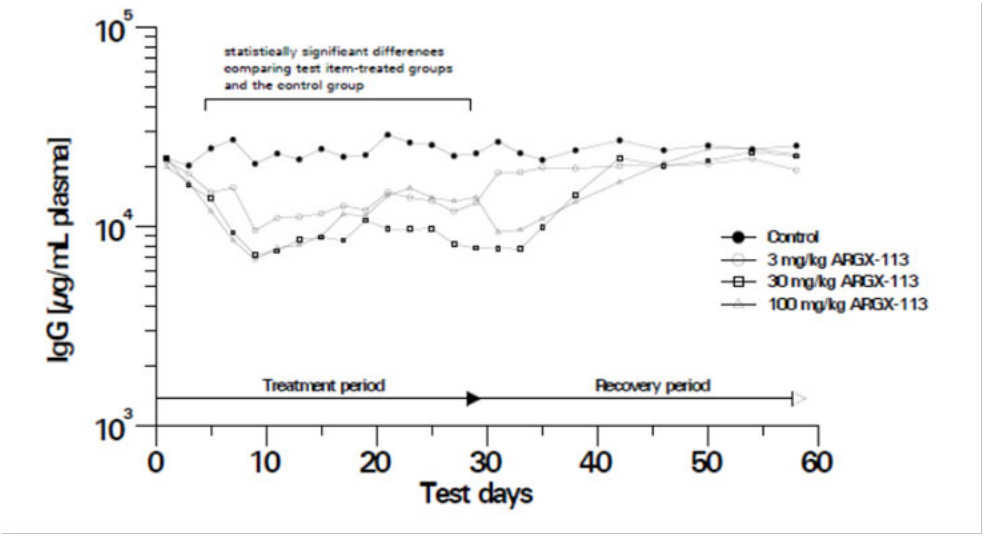
Source: Module 4.2.3.2-2 ([redacted]31554)
F=female; IgG=immunoglobulin G; M=male; N=number of animals, subjects, or samples; p=p-value
Note: N=5/group/sex, values displayed as mean values.
* p≤0.01 Dunnett test

雌雄の全ての投与群で、エフガルチギモドによる血漿中 IgG 濃度の減少がみられ、Day 3（2 回目の投与前）から対照群と比較して顕著な血漿中 IgG 濃度の減少がみられた。

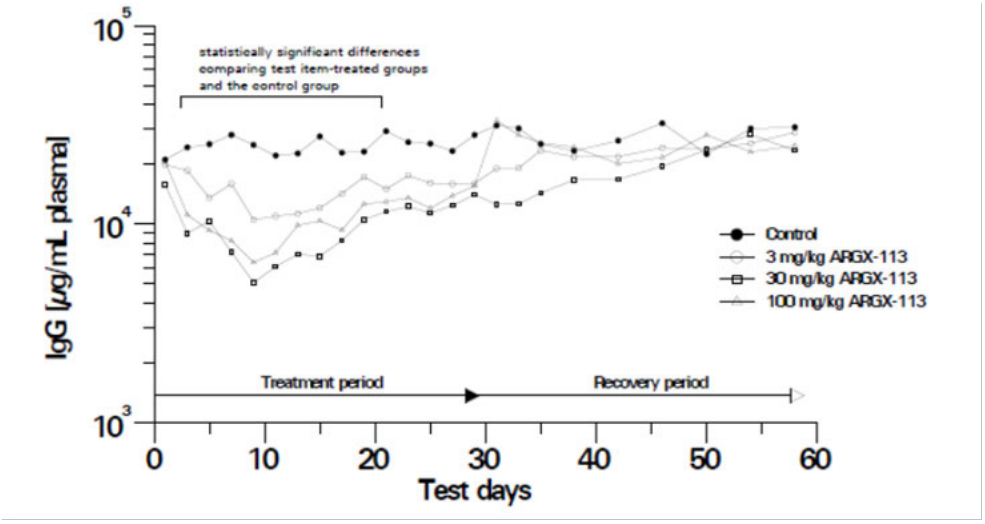
Day 9 に見かけ上の血漿中 IgG 濃度の減少ピークがみられ、その減少は 30 mg/kg 群及び 100 mg/kg 群の雌で顕著であった（図 2.6.2-11）。雌雄とも、血漿中 IgG 濃度は回復期間（Day 30 以降）から増加し始め、回復期間終了時（Day 58）までに回復した。

図 2.6.2-11　カニクイザルにエフガルチギモド（0、3、30 及び 100 mg/kg）を 2 日に 1 回 4 週間反復持続（2 時間）静脈内投与したときの血漿中 IgG 濃度推移

Male



Female



Source: Module 4.2.3.2-2 ([redacted]31554)
ARGX-113=efgartigimod; IgG=immunoglobulin G; N=number of animals, subjects, or samples;
Note: Treatment period: N=5/group, recovery period: N=2/group; 4-week treatment period and 4-week recovery period; values are displayed as mean values.

カニクイザル GLP 適用 26 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-3）での内因性 IgG 濃度に対する作用について評価した。雌雄カニクイザル（各群 6 例）にエフガルチギモド［0（溶媒；対照群）、10、30 及び 100 mg/kg］を週 1 回 26 週間反復持続（0.5 時間）静脈内投与した。最終投与後に、主要群（各群 4 例）を安楽死させた。回復群（各群 2 例）についてはその後 8 週間の回復期間観察した。主要群では各投与前に、回復群では週 1 回採血し、Day 1、Day 8、Day 92 及び Day 183 の血漿中 IgG 濃度を対照群と比較した相対変化率を表 2.6.2-6 に示す。全期間での血漿中 IgG 濃度推移を図 2.6.2-12 に示す。試験の概要を、2.6.7.7.C 項に示す。薬理作用に関する結果は、2.6.3.2 項にも示した。

表 2.6.2-6　カニクイザルにエフガルチギモド（10、30 及び 100 mg/kg）を週 1 回 26 週間反復持続（0.5 時間）静脈内投与したときの血漿中 IgG 濃度の対照群との相対変化率

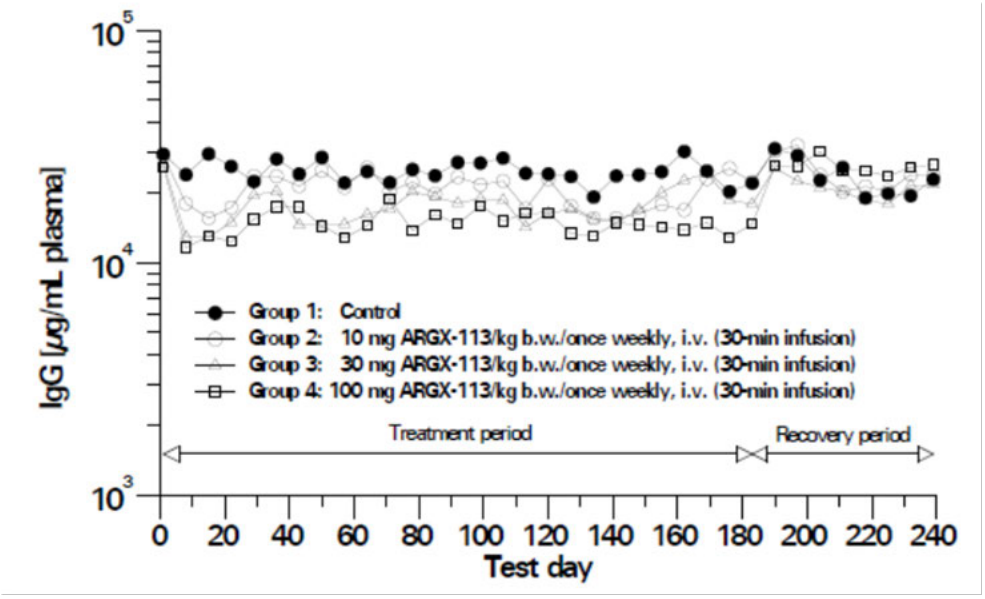
Dose (mg/kg)	Sex	IgG (% to control)			
		Day 1	Day 8	Day 92	Day 183
10	M	-1	-25	-13	+1
10	F	+6	-40*	-18	-14
30	M	-8	-46*	-33	-19
30	F	-7	-58*	-42	-21
100	M	-12	-52*	-46	-33
100	F	-2	-60*	-60**	-37

Source: Module 4.2.3.2-3 ([redacted]33260)
F=female; IgG=immunoglobulin G; M=male; N=number of animals, subjects, or samples; p=p-value
Note: N=6/sex/group, values are displayed as mean values; statistical analysis: ANOVA & Dunnett test.
* p≤0.01 Dunnett test
** p≤0.05 Dunnett test

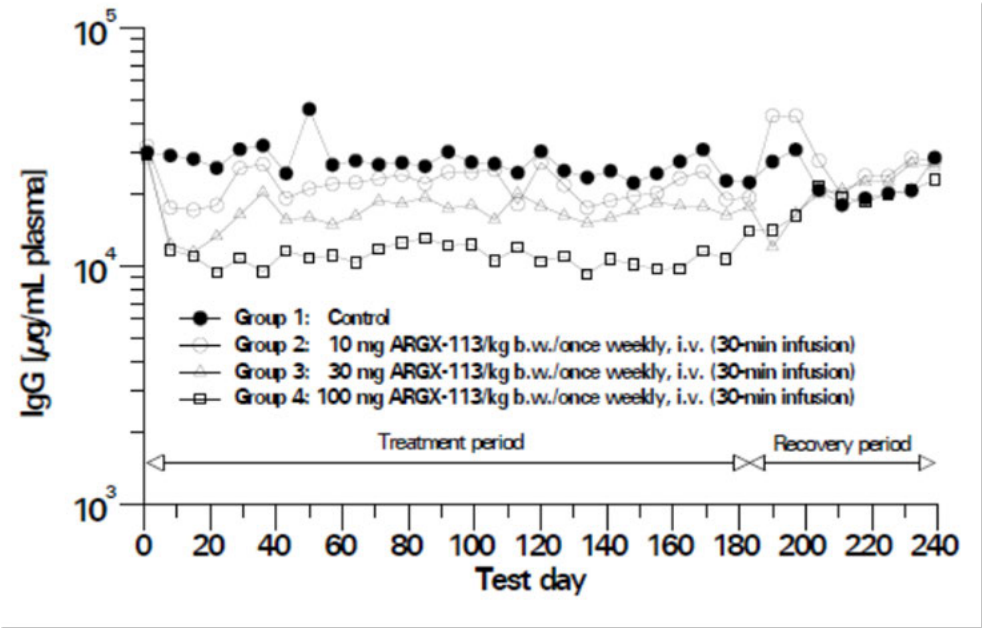
表 2.6.2-6 及び図 2.6.2-12 に示すように、雄の 10 mg/kg 群を除く全ての群で、Day 8（2 回目の投与前）で対照群と比較して IgG 濃度が統計学的に有意に減少し、減少のピークは雄で Day 8 又は Day 15 に、雌では Day 8、Day 15 又は Day 22 にみられた。用量依存性は認められなかったが、100 mg/kg で血漿中 IgG 濃度の減少割合が最も高かった。雌雄ともに血漿中 IgG 濃度は 10 mg/kg では Day 190 から、30 及び 100 mg/kg では Day 204 から増加し始め、8 週間の回復期間終了時に回復した。

図 2.6.2-12　カニクイザルにエフガルチギモド（0、10、30 及び 100 mg/kg）を週 1 回 26 週間反復持続（0.5 時間）静脈内投与したときの血漿中 IgG 濃度推移

Male



Female



Source: Module 4.2.3.2-3 ([redacted]33260)
ARGX-113=efgartigimod; b.w.=body weight; IgG=immunoglobulin G; IV(i.v.)=intravenous; min=minute(s); N=number of animals, subjects, or samples
Note: Treatment period: N=6/group; recovery period: N=2/group; 26-week treatment period and 8-week recovery period; values are displayed as mean values.

エフガルチギモドの開発過程で、産生細胞株[redacted]から産生細胞株[redacted]（市販ロット製造用）に変更した（3.2.S.2.6 項）。両細胞株により産生されたエフガルチギモドでの PK 及び PD の類似性を評価するため、カニクイザルに[redacted]又は[redacted]由来のエフガルチギモ

ド（20 mg/kg）を静脈内投与した（4.2.2.2-2）。血清中エフガルチギモド濃度推移を 2.6.4.3.1.3.1 項に示す。試験の概要を 2.6.3.2 項に示す。

両細胞株由来のエフガルチギモドを静脈内投与したしたとき、血清中 IgG 濃度の相対変化率は両細胞株で類似しており、本試験と同用量である 20 mg/kg をカニクイザルに投与した別の試験（4.2.1.1-6）の結果とも類似していた。

2.6.2.2.3.3. 疾患モデル動物でのエフガルチギモドの薬理評価

2.6.2.2.3.3.1. 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）の passive transfer モデルマウスでの治療効果

添付資料番号：4.2.1.1-7

MG は自己免疫疾患であり、AChR や MuSK のような NMJ 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）。Klooster らは、MuSK-MG 患者の IgG4 分画を passive transfer したマウスで、麻痺や筋力低下などの明らかな筋無力症を誘発することを明らかにした（Klooster, 2012）。ヒト IgGs に対する免疫原性の影響を排除するために、非肥満性糖尿病／重度複合免疫不全症（NOD/SCID）マウスを用いて検討した。抗 MuSK 自己抗体の力価と疾患重症度との間に明確な相関がみられ、抗体の病原性が示された（Bartoccioni, 2006、Niks, 2008）。したがって、MuSK-MG 患者の IgGs を passive transfer したマウスは、MG 治療薬を評価するための疾患関連性の高いモデルであると考えられる。

エフガルチギモドの治療効果を評価するため、MuSK-MG passive transfer モデルマウスを用いて、大学と共同で 2 試験を実施した（4.2.1.1-7）。

試験 1 では、2 ヶ月齢の NOD/SCID 雌マウス（6 例）を順化させ、血漿分離交換法で得た血漿から精製した患者総 IgG（1.84 g/kg）を 1 日 1 回反復腹腔内投与した（Day 0～Day 14）。患者総 IgG 投与後 4 日（Day 4）に、握力及び懸垂時間測定［マウスを乗せた網を反転させ、マウスが網を離すまでの時間（懸垂時間）を最大 180 秒まで計測］を含む筋の機能評価試験で、マウスに筋力低下及び可動性低下のような初期筋無力症の特徴が観察された。その後、Day 4 からエフガルチギモド 1 mg/body 又は溶媒（PBS）を 1 日 1 回反復腹腔内投与し（各群 3 例）、Day 15 に最後の機能評価試験を実施した。Day 0 以降 3 日ごと及び Day 15 又は安楽死させた時点で採血し、PD 評価用の血清とした。試験の概要を、2.6.3.2 項に示す。

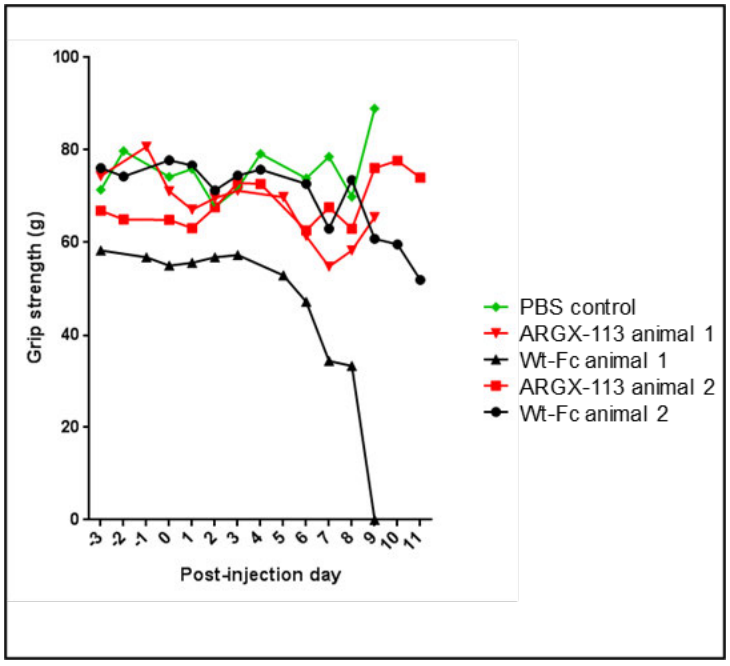
Day 4 のエフガルチギモド投与直後、抗 MuSK 抗体価は、溶媒群と比較してエフガルチギモド群で顕著に減少した。しかし、試験終了時（およそ Day 10）では再び抗 MuSK 抗体価の増加が観察され、エフガルチギモドによる IgG 減少作用は低下した。この理由として、試験期間中に患者総 IgG をマウスに連日大量投与したために FcRn を介したリサイクルが飽和し、FcRn 阻害による IgG 減少作用がみられなかったためと考えられる。

エフガルチギモド群では、溶媒群と比較して病原性抗 MuSK 抗体の顕著な減少に伴い、臨床での疾患症状（Bartoccioni, 2006、Liu, 2010、Yeh, 2007）と同様の症状も軽減した。懸垂時間測定で、溶媒群では急速で明らかな握力の低下及び懸垂時間の減少が試験期間の後期に観察された。一方、エフガルチギモド群では、ほとんどのマウスで初回に落下したあとは握力が安定化し懸垂時間が正常に回復した。さらに、溶媒群では極度の衰弱のため全てのマウスを早期に安楽死させたが、エフガルチギモド群で安楽死させたのは 1 例（動物番号 1）のみであった。動物番号 1 のマウスは、他のマウスに比べて総 IgG 濃度及び抗 MuSK 抗体価の減少割合が最も低く、エフガルチギモドの効果が低かったと示唆された。このように、エフガルチギモドは、MuSK-MG passive transfer モデルマウスに誘発させた MG の病態に関連した病原性自己抗体を減少させた。

試験 2 では、NOD/SCID マウスに MuSK-MG 患者の病原性 IgG4 画分（患者 IgG4: 0.15 g/kg/day）を 1 日 1 回反復腹腔内投与し、前述の患者総 IgG と同様にマウスに MG の疾患症状を誘発させた。病原性 IgG4 画分投与後 5 日（Day 5）に、エフガルチギモド（0.5 mg/body、2 例）又はアイソタイプ対照としてヒト野生型 Fc フラグメント（2 例）を 1 日 1 回反復腹腔内投与した。健康対照群（1 例）には、患者 IgG4 の代わりに PBS を投与した。エフガルチギモド群の 1 例及びヒト野生型 Fc フラグメント群の 1 例については Day 11 まで試験を継続した。しかし、ヒト野生型 Fc フラグメント群の別の 1 例が Day 9 に重篤な症状となり安楽死させたため、対となるエフガルチギモドを投与したマウスの試験も Day 9 で終了した。

マウスに患者 IgG4 を反復腹腔内投与後 5 日に、握力が低下し、筋力低下が認められた（図 2.6.2-13）。ヒト野生型 Fc フラグメント群では、懸垂時間測定のほうが握力測定よりも早期に筋力の低下が認められ、測定方法間でラグタイムが生じた。この理由として、懸垂時間測定ではマウスは懸垂し続ける必要があるが、握力測定では短時間での測定であり、測定方法によって筋肉への負荷が異なるためと考えられた。試験 2 の結果は、試験 1 の結果と同様にエフガルチギモド群では筋無力症の症状を回復させたが、アイソタイプ対照群では試験終了まで筋無力症の症状は持続的に悪化した。

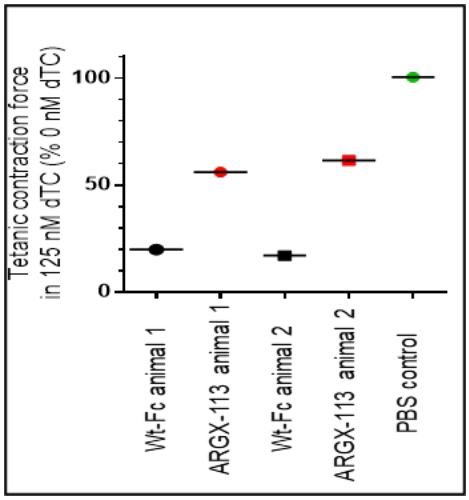
図 2.6.2-13　MuSK-MG passive transfer モデルマウスにエフガルチギモド（0.5 mg/day）を 6 日間反復腹腔内投与したときの握力の機能評価（試験 2）



Source: Module 4.2.1.1-7 (ARGX-NC-079)
ARGX-113=efgartigimod; Fc=fragment, crystallized; MuSK-MG=anti-muscle-specific tyrosine kinase antibody positive myasthenia gravis; PBS=phosphate buffered saline; Wt=wild-type

試験終了後の MuSK-MG passive transfer モデルマウスを用いて ex vivo 横隔膜筋電図試験を実施した。ヒト野生型 Fc フラグメント群ではエフガルチギモド群と比較して、横隔膜に持続的な筋収縮（テタニー収縮）を誘発させたとき、AChR シグナル伝達阻害薬である d-ツボクラリン（dTC；125 nmol/L）に対する感受性が低下した（図 2.6.2-14）。この結果は、エフガルチギモド群では横隔膜の NMJ で機能的な AChR 複合体が多いことを示しており、エフガルチギモド群では全般的に健康状態も良好であった。

図 2.6.2-14　ex vivo 横隔膜筋電図試験：MuSK-MG passive transfer モデルマウスにエフガルチギモド（0.5 mg/day）を 6 日間反復腹腔内投与したときの横隔膜での d-ツボクラリン対するテタニー収縮の感受性（試験 2）

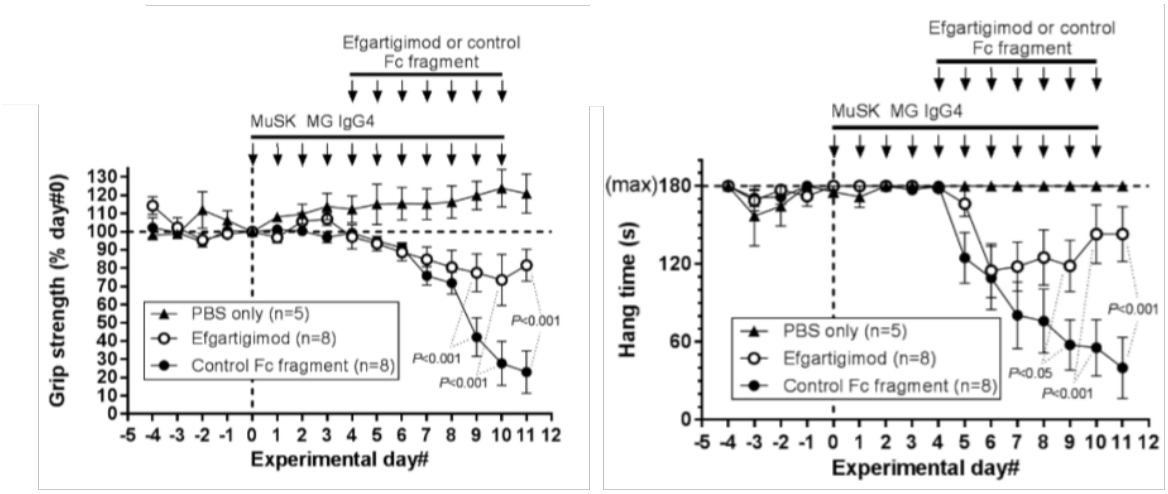


Source: Module 4.2.1.1-7 (ARGX-NC-079)
ARGX-113=efgartigimod; dTC=d-tubocurarine; Fc=fragment, crystallized; MuSK-MG=anti-muscle-specific tyrosine kinase antibody positive myasthenia gravis; PBS=phosphate buffered saline; Wt=wild-type

上述のエフガルチギモドの MuSK-MG passive transfer モデルマウスでの結果は、別の独立した試験でも確認されており、査読付き雑誌（Huijbers, 2019）で発表されている。上述の試験 2 と同様に、Day 0 から雌マウス（16 例）に患者 IgG4（0.1 mg/g）を 1 日 1 回反復腹腔内投与した。Day 4 以降は、マウスにエフガルチギモド（0.5 mg/body、8 例）又はアイソタイプ対照としてヒト野生型 Fc フラグメント（8 例）を投与した。健康対照群（5 例）には、PBS のみ投与した。神経筋の機能評価試験（握力及び懸垂時間測定）を Day 4 から Day 11 の試験終了まで毎日実施した。さらに、Day -2、Day 3 及び Day 11 に採血した。Day 11 にマウスを安楽死させ、左横隔神経による片側横隔膜の収縮力の ex vivo 試験を行った。試験の概要を 2.6.3.2 項に示す。

エフガルチギモド群 8 例中 1 例は早期に筋無力症を発症し、エフガルチギモドの効果が観察されずに Day 10 に死亡した。エフガルチギモド群ではヒト野生型 Fc フラグメント群と比較して、MuSK-MG 患者の IgG4 による進行性の体重減少及び筋無力症の症状の進行を抑制又は軽減した。患者 IgG4 投与初日（Day 0）及び Day 11 でのヒト野生型 Fc フラグメント群の平均体重はそれぞれ 18.4±0.5 g 及び 14.2±0.6 g 並びに平均体重減少率は 22.6±2.9%で、対応のある t 検定で統計学的に有意に減少した（P<0.001）。一方、エフガルチギモド群の平均体重はそれぞれ 18.3±0.5 g 及び 17.1±1.0 g 並びに平均体重減少率は 7.0±4.6%で、統計学的に有意な減少はみられなかった（P=0.16）。さらに、エフガルチギモド群では、筋の機能評価試験（握力及び懸垂時間測定）でヒト野生型 Fc フラグメント群より良好な結果を示した（図 2.6.2-15）。

図 2.6.2-15　MuSK-MG passive transfer モデルマウスにエフガルチギモド（0.5 mg/day）又はヒト野生型 Fc フラグメントを 7 日間反復腹腔内投与したときの握力及び懸垂時間測定による筋の機能評価



Source: Module 4.3 (Huijbers, 2019)
#=number; Fc=fragment, crystallized; IgG4=immunoglobulin G4; max=maximum; MuSK-MG=anti-muscle-specific tyrosine kinase antibody positive myasthenia gravis; n=number of animals, subjects, or samples; p=p-value; PBS=phosphate buffered saline; s=seconds; SEM=standard error of mean
Note: Mean±SEM were calculated; statistical analysis: student's t-test.

これらのマウスの疾患症状の改善は、左ふくらはぎの筋肉で実施した反復神経刺激試験の結果と相関した。最初の複合筋活動電位（CMAP）の絶対値は 25%以上で、反復刺激したときの CMAP の低下は対照群と比較してエフガルチギモド群で明らかに抑制された。このように、エフガルチギモドは、MG の神経生理学的に重要な特徴である CMAP の低下を改善した。エフガルチギモド群でのこれらの in vivo パラメータの改善は、対照群と比較して、試験終了時の抗 MuSK 抗体価の明らかな減少と相関していた。

上述の結果より、エフガルチギモドは MuSK-MG passive transfer モデルマウスの抗 MuSK 抗体価を減少させ、患者由来の病原性抗 MuSK 抗体によって引き起こされる筋無力症の症状を回復させたことから、重症筋無力症患者に対する新たな治療選択肢になりうることが期待される。

2.6.2.2.3.3.2.　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 モデルラットでの治療効果

添付資料番号：4.2.1.1-8

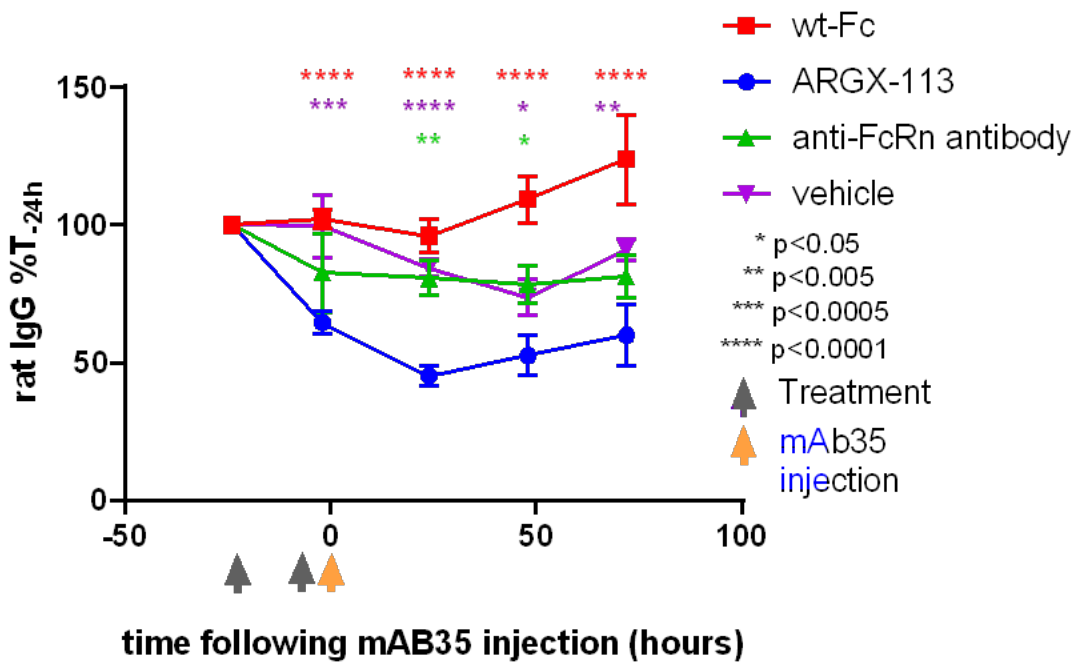
MG の自己抗体は、MuSK （2.6.2.2.3.3.1 項）のような NMJ の必須シグナル伝達タンパク質だけでなく AChR も阻害する。Liu らは、抗ラット FcRn 抗体が MG 疾患モデルラットの疾患症状を改善させることを示した（Liu, 2007）。まずパイロット試験として、AChR-MG passive transfer モデルラットを用いて、エフガルチギモドの治療効果を評価した（4.2.1.1-8）。試験デザインは Liu らによって報告されている方法を参考にした（Liu, 2007）。

Lewis ラット（各群 6 例）に、ラット抗 AChR 抗体［mAb35（rat IgG1）］ 1 mg/kg を腹腔内投与前 2 及び 24 時間に、エフガルチギモド（30 mg/kg）、アイソタイプ対照としてヒト野生型 Fc フラグメント、抗ラット FcRn 抗体又は溶媒（PBS）を腹腔内投与した。mAb35 投与後に急速に疾患症状が誘発されることから、これらの薬物を予防的に投与した。

mAb35 投与後 72 時間まで握力測定及び臨床スコアを評価した。臨床スコアを、0：無症状、1：握力の低下・易疲労性、2：全身虚弱・円背位・体重低下・振戦、3：重症な虚弱・瀕死、4：死亡の 5 段階で評価し、mAb35 投与前 24 時間、投与直後、投与後 6、24、30、48、54 及び 72 時間に実施した。結果を平均値±SEM で表示し、Student の t 検定で統計学的有意性を評価した。臨床スコアの評価時点とは異なる時点で採血し、PD を評価した。

エフガルチギモド群では、ラット血清中 IgG 濃度が急速に減少し、初回投与後 48 時間以内にエフガルチギモド投与前の最大 55%減少した（図 2.6.2-16）。ラット抗 AChR 抗体濃度は測定しなかった。

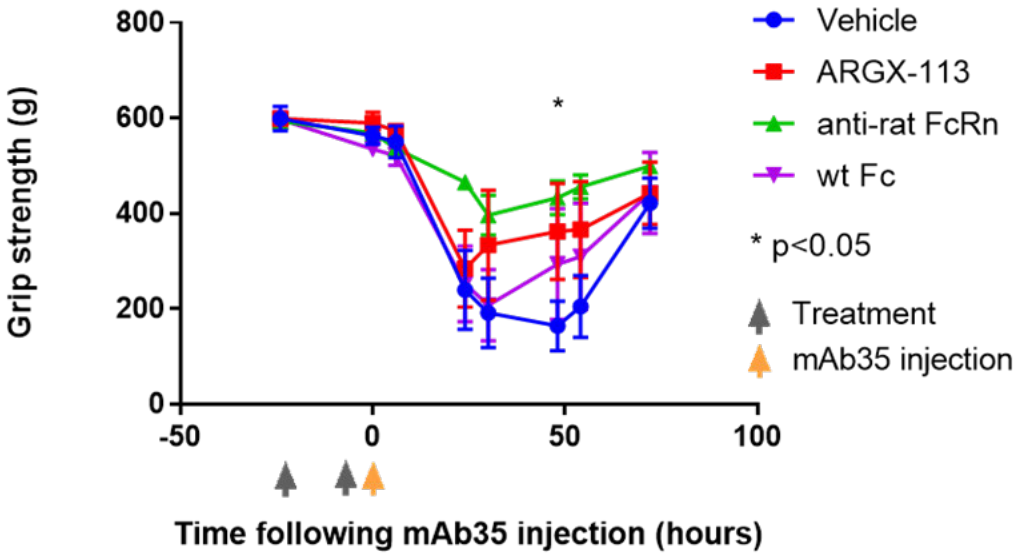
図 2.6.2-16　AChR-MG passive transfer モデルラットにエフガルチギモド（30 mg/kg）、ヒト野生型 Fc フラグメント、抗ラット FcRn 抗体又は溶媒（PBS）を 2 回腹腔内投与したときの血清中 IgG 濃度の mAb35 投与前 24 時間からの変化率（パイロット試験）



Source: Module 4.2.1.1-8 (ARGX-NC-080)
AChR-MG=anti-acetylcholine receptor antibody positive myasthenia gravis; ARGX-113=efgartigimod; Fc=fragment, crystallized; FcRn=neonatal Fc receptor; IgG=immunoglobulin G; mAb35=rat anti-AChR antibody; p=p-value; PBS=phosphate buffered saline; T_{-24h}=predose; wt=wild-type
Note: Statistical analysis: Unpaired t-test (ARGX-113 vs treatment groups).
* p<0.05
** p<0.005
*** p<0.0005
**** p<0.0001

エフガルチギモド群では溶媒群と比較して、臨床スコアが低下し握力が増加した（図 2.6.2-17）。

図 2.6.2-17　AChR-MG passive transfer モデルラットにエフガルチギモド（30 mg/kg）、ヒト野生型 Fc フラグメント、抗ラット FcRn 抗体又は溶媒（PBS）を 2 回腹腔内投与したときの握力（パイロット試験）

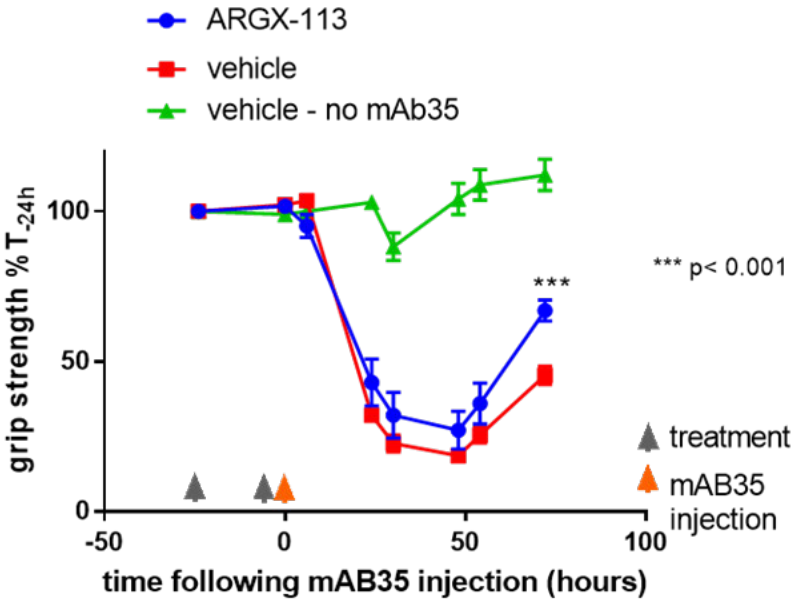


Source: Module 4.2.1.1-8 (ARGX-NC-080)
AChR-MG=anti-acetylcholine receptor antibody positive myasthenia gravis; ARGX-113=efgartigimod; Fc=fragment, crystallized; FcRn=neonatal Fc receptor; mAb35=rat anti-AChR antibody; p=p-value; PBS=phosphate buffered saline; wt Fc=wild-type fragment, crystallized
* p<0.05, statistical analysis (ARGX-113 vs. vehicle)

パイロット試験では、AChR-MG passive transfer モデルラットでのエフガルチギモドの明らかな治療効果を確認できたが、例数が少なく溶媒群との比較で握力及び臨床スコアに統計的に有意な差は認められなかった。次に確認試験として、エフガルチギモド及び溶媒群の 2 群で、Lewis ラットの例数を各群 10 例に増やし、エフガルチギモドを 50 mg/kg に増量して実施した。その他の条件はパイロット試験と同一とした。

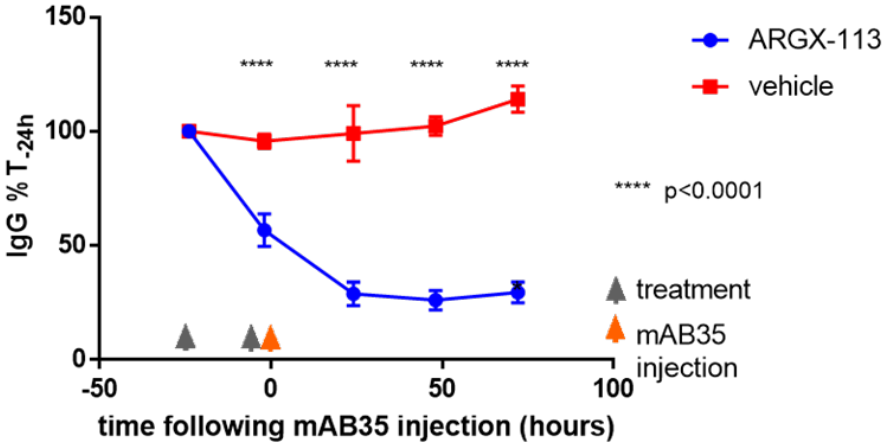
パイロット試験の結果と同様に、エフガルチギモド群では溶媒群と比較して握力及び臨床スコアは統計学的に有意に改善した（図 2.6.2-18）。エフガルチギモド群で認められた疾患症状の改善は内因性 IgG の減少に伴って認められ、エフガルチギモドの薬理作用によるものと考えられた（図 2.6.2-19）。

図 2.6.2-18　AChR-MG passive transfer モデルラットにエフガルチギモド（50 mg/kg）又は溶媒（PBS）を 2 回腹腔内投与したときの mAb35 投与前 24 時間からの握力の変化率（確認試験）



Source: Module 4.2.1.1-8 (ARGX-NC-080)
AChR-MG=anti-acetylcholine receptor antibody positive myasthenia gravis; ARGX-113=efgartigimod; mAb35=rat anti-AChR antibody; p=p-value; PBS=phosphate buffered saline; SEM=standard error of mean; T_{-24h}=time point 24 hours before administration
Note: Values are displayed as mean±SEM.
*** p<0.001, statistical analysis: unpaired t-test.

図 2.6.2-19　AChR-MG passive transfer モデルラットにエフガルチギモド（50 mg/kg）又は溶媒（PBS）を 2 回腹腔内投与したときの血清中 IgG 濃度の mAb35 投与前 24 時間からの変化率（確認試験）



Source: Module 4.2.1.1-8 (ARGX-NC-080)
AChR-MG=anti-acetylcholine receptor antibody positive myasthenia gravis; ARGX-113=efgartigimod; IgG=immunoglobulin G; mAb35=rat anti-AChR antibody; p=p-value; PBS=phosphate buffered saline; SEM=standard error of mean; T_{-24h}=time point 24 hours before administration
Note: Values are displayed as mean±SEM.
**** p<0.0001, statistical analysis: unpaired t-test.

AChR-MG passive transfer モデルラットを用いた本試験の結果及び文献報告（Liu, 2007）を総合的に判断し、エフガルチギモドは病原性自己抗体を速やかに減少させる FcRn 阻害薬として MG 治療の新たな選択肢となり得ると考えられる。

2.6.2.3.　副次的薬理試験

2.6.2.3.1.　In vitro 試験

2.6.2.3.1.1.　ADCC 活性及び CDC 活性（In vitro FcγRs 又は C1q との相互作用）

添付資料番号：4.2.1.1-1

抗体エフェクター機能は、IgG の Fc 領域と FcγR 又は C1q との相互作用を介して作用する。エフガルチギモドはヒト IgG1 由来 Fc フラグメントであるため、FcγR 及び C1q への結合を評価した。Fc 領域を介した抗体エフェクター機能は、抗体依存性細胞傷害（ADCC）、抗体依存性細胞貪食及び補体依存性細胞傷害（CDC）を誘発する経路の活性化又は阻害を誘発することが知られている。FcγR が抗体の Fc 領域に結合し、細胞表面に発現している標的に結合することによってクラスターを形成すると、ADCC が誘発される。この相互作用は細胞傷害性顆粒の放出を導き、細胞を死滅させる。NK 細胞、好中球、単球及びマクロファージが ADCC を誘発する可能性を有するが、FcγRIIIa のみ発現している NK 細胞が主として ADCC に関与していると考えられている（van Erp, 2019）。

さらに、C1q は古典的補体系の最初の成分であり、抗原–抗体複合体に結合して古典的経路を開始させる。この相互作用は CDC に重要である（Thielens, 2017）。

In vitro 試験で、エフガルチギモドとヒト FcγRI（CD64）、FcγRIIa（CD32a）、FcγRIIb（CD32b）及び FcγRIIIa（CD16a）並びに C1q との結合親和性を ELISA で測定し、ヒト野生型 Fc フラグメントとの結合親和性と比較した（4.2.1.1-1）。エフガルチギモドの上述の FcγRs への結合親和性を表 2.6.2-7 に、C1q への結合親和性を図 2.6.2-20 に示す。EC_{50} は結合親和性曲線に基づき算出した。試験の概要を 2.6.3.2 項に示す。

FcγRIIIa 及び FcγRII への結合親和性は、エフガルチギモドではヒト野生型 Fc フラグメントと比較して低かった。高親和性 FcγR である FcγRI への結合親和性は、エフガルチギモドではヒト野生型 Fc フラグメントと比較して同程度かやや低かった。

表 2.6.2-7　エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのヒト FcγRs への結合親和性（ELISA）

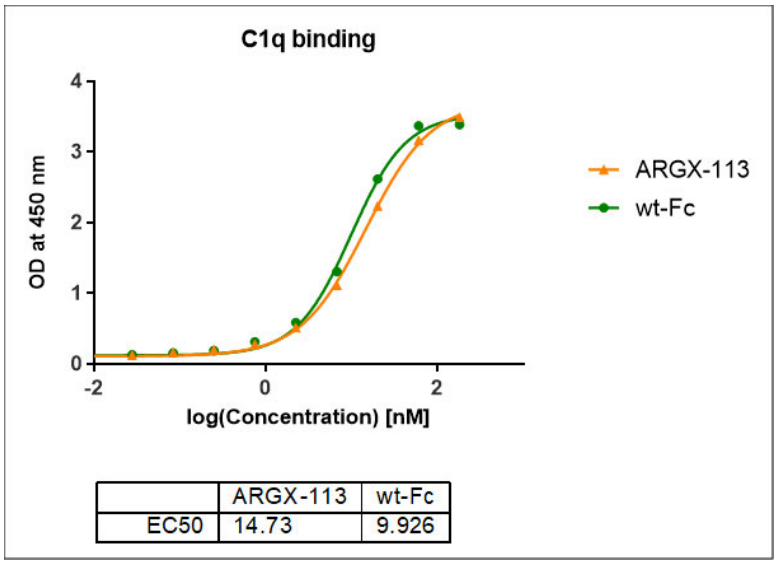
Receptor	EC_{50} (nmol/L)	
	Human Wild-Type Fc	Efgartigimod
hCD16a	15.00	47.71
hCD32a	62.56	232.5
hCD32b	144.7	82 424
hCD64	0.08043	0.1154

Source: Module 4.2.1.1-1 (ARGX-NC-074)
EC_{50}=half maximal effective concentration; ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay; Fc=fragment, crystallized; sFcγRs=Fc gamma receptors
Note: FcγRIIIa=CD16a, FcγRIIa=CD32a, FcγRIIb=CD32b, FcγRI=CD64

C1q は CDC に重要であるため、in vitro でエフガルチギモドの C1q への見かけの結合親和性をヒト野生型 Fc フラグメントと比較した。エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメ

ントの C1q への見かけの EC_{50} はそれぞれ 9.9 及び 14.7 nmol/L で、ヒト野生型 Fc フラグメントと比較してエフガルチギモドでは C1q への結合親和性はわずかに低かった。これらの FcγRs 及び C1q への結合親和性の結果は、公表論文の結果と類似していた（Grevys, 2015）。

図 2.6.2-20　エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントのヒト C1q への結合親和性（ELISA）



Source: Module 4.2.1.1-1 (ARGX-NC-074)
ARGX-113=efgartigimod; C1q=complement protein 1q; EC_{50}=half maximal effective concentration; ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay; log=logarithm; OD=optical density; wt-Fc=wild-type fragment, crystallized

エフガルチギモドは、FcRn 上の天然ヒト IgG1 結合部位に結合するが、抗体エフェクター機能を阻害するために必要な Fab 領域を有していない。Fab 領域は、標的に結合した後、アビディティ及び架橋を介して ADCC 及び CDC を誘発する。エフガルチギモドはヒト野生型 Fc フラグメントと比較して、FcγR 又は 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。

2.6.2.3.1.2. In vitro NK 細胞の活性化

添付資料番号：4.2.1.1-1

NK 細胞は抗体がエフェクター機能を発揮するための必須メディエーターである。そこで、in vitro でエフガルチギモドによる NK 細胞の活性化を評価した（4.2.1.1-1）。

単離した新鮮なヒト NK 細胞 50,000 個を、エフガルチギモド（50 µg/mL）又はヒト野生型 Fc フラグメントとインキュベートした。PBS を陰性対照とし、CD16a への結合親和性が 100 倍を超えて増加した Fc フラグメントを陽性対照とした。CD107a は NK 細胞活性化後に顕著にアップレギュレートされ、NK 細胞を介した溶解及びサイトカイン分泌と相関することが知られている（Alter, 2004）。そこで、CD107a を NK 細胞活性化のマーカーとして、インキュベーション後 4 及び 24 時間の NK 細胞活性を測定した。結果の概要を 2.6.3.2 項に示す。

インキュベーション後 4 及び 24 時間に活性化された NK 細胞の割合は、陽性対照ではおよそ 9%～12%であったが、エフガルチギモド及びヒト野生型 Fc フラグメントでは 0.5%未満であった。

エフガルチギモドは Fab 領域を有しておらず、ヒト野生型 Fc フラグメントと比較して結合親和性が低く、免疫細胞上に発現している FcγR と架橋しないことから、非標的免疫細胞の活性化を誘発しないと考えられる。

2.6.2.3.2.　エフガルチギモドの特異性

添付資料番号：4.2.1.1-4、4.2.1.1-6、4.2.3.1-1、4.2.3.2-1、4.2.3.2-2、 4.2.3.2-3

FcRn への結合は、γ-アイソタイプの Ig のみで、他の Ig アイソタイプと比較して $t_{1/2}$ が長くなる特徴がある（Roopenian, 2007、Waldmann, 1990、Wani, 2006）。したがって、エフガルチギモドが FcRn を介した IgG のリサイクルを阻害しても、IgG 以外の内因性 IgA 及び IgM などには影響を及ぼさないと考えられる。アルブミンは FcRn 分子上の IgG とは異なる結合部位に結合し、IgG と同様に FcRn を介してリサイクルされ（Chaudhury, 2006、Sand, 2015）、FcRn 阻害薬がアルブミンの FcRn 結合を阻害してアルブミンの動態に影響を与えることが報告されている（Ling, 2019、Kiessling, 2017）。そこで、エフガルチギモドが作用機序により内因性 IgG のみを減少させ、内因性 IgA、IgM 及びアルブミンには影響を及ぼさないことを、ラット（4.2.3.2-1）及びカニクイザル（4.2.1.1-4、4.2.1.1-6、4.2.3.1-1、4.2.3.2-2、 4.2.3.2-3）で検討した。ラット及びカニクイザルともに、エフガルチギモドにより内因性 IgG 濃度は減少したが、IgA、IgM 及びアルブミン濃度に明らかな減少はみられなかった。結果の概要は、2.6.3.3 項に示し、個々の試験の概要を下記に示す。

ラット GLP 適用 4 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-1）では、雌雄ラットにエフガルチギモド（10、30 及び 100 mg/kg）又は溶媒（対照群）を 2 日に 1 回 4 週間反復静脈内投与し、血漿中 IgA、IgM 及びアルブミン濃度を測定した。IgA 及び IgM 濃度はサテライト群（雌雄各群 3 例）で、アルブミン濃度は主要群（雌雄各群 10 例）及び回復群（雌雄各群 5 例）で評価した。全ての群で投与前、Day 16 及び Day 30 並びに回復群及びサテライト群ではさらに Day 58 に採血した。血漿中 IgA、IgM 及びアルブミン濃度について、対照群に対する相対的変化率として評価した。試験の概要を、2.6.7.7.A 項に示す。

IgA 及び IgM 抗体価に、エフガルチギモドに関連した変動は認められなかった。血漿中アルブミン濃度は、Day 16 及び Day 30 に全ての用量で対照群と比較して最大 15%増加し、Day 58 に投与前の値まで回復した（表 2.6.2-8）。対照群との差は統計学的に有意であったが、その差は小さく、生物学的な意義は小さいと示唆された。

表 2.6.2-8　ラットにエフガルチギモド（10、30 及び 100 mg/kg）を 2 日に 1 回 4 週間反復静脈内投与したときの血漿中アルブミン濃度

Dose (mg/kg)	Sex	Albumin (% to control)		
		Day 16	Day 30	Day 58
10	M	+14*	+14*	+3
10	F	+15*	+13*	+1
30	M	+14*	+14*	+4
30	F	+15*	+13*	-2
100	M	+14*	+13*	+4
100	F	+13*	+11*	-2

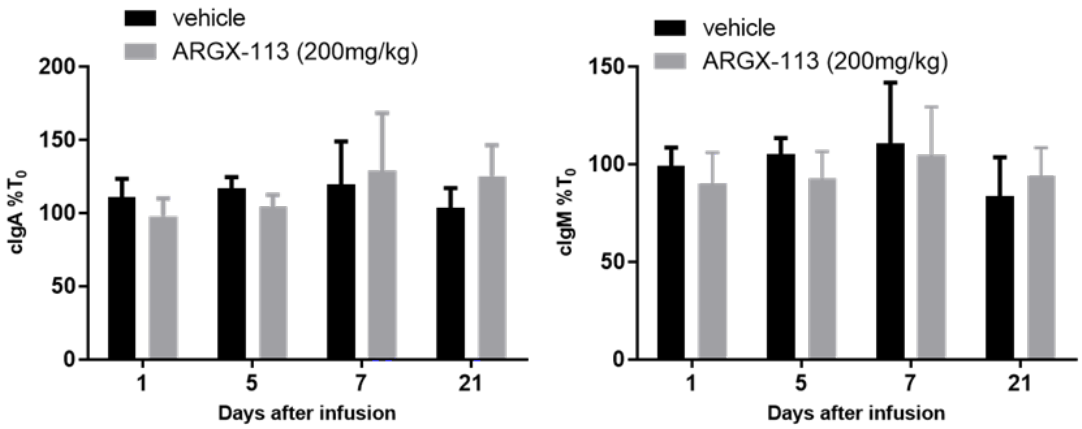
Source: Module 4.2.3.2-1 ([redacted]33981)
F=female; M=male; N=number of animals, subjects, or samples; p=p-value
Note: N=15/group/sex for day 16 and day 30; n=5/group/sex for day 58; values are displayed as mean values.
* p≤0.01 ANOVA & Dunnett test

カニクイザルの内因性 IgA、IgM 及びアルブミン濃度について、GLP 非適用の PD 試験及び GLP 適用試験で評価した。

カニクイザルでのエフガルチギモド、ABDEG™含有ヒト IgG1 及び IVIg の PD 試験で、アルブミン濃度を測定した（2.6.2.2.3.1 項、4.2.1.1-4）。本試験を 2 部構成で実施した。第 1 部では、カニクイザル（各群 2 例）にエフガルチギモド（7 mg/kg）、ABDEG™-hIgG1（20 mg/kg）、NHance-Fc（7 mg/kg）、IVIg（2 g/kg）又は対照群として溶媒（PBS）を持続静脈内投与した。第 2 部では、第 1 部での投与量の 3 倍を投与後 14 日から投与し、溶媒群にはエフガルチギモド（70 mg/kg）を投与した。IVIg 群では投与量を変更しなかった。Day -1、Day 3、Day 17 及び Day 40 にアルブミン濃度を測定した。各投与群と対照群との間に明らかな差はなかった。

雌カニクイザル（各群 2 例）にエフガルチギモド投与前 48 時間にトレーサー抗体（1 mg/kg）を急速静脈内投与したのち、エフガルチギモド（0.2、2、20 及び 200 mg/kg）又は溶媒を単回持続（3 時間）静脈内投与した（4.2.1.1-6）。トレーサー抗体投与前（Day -3）、エフガルチギモド投与前、投与終了直後、投与後 2、6、24、48、72 時間、並びに Day 6、Day 8、Day 11、Day 15、Day 18、Day 22、Day 25 及び Day 29 に採血し、200 mg/kg 群及び溶媒群の血清中 IgA 及び IgM 濃度を測定した。200 mg/kg 群の IgA 及び IgM 濃度の投与前からの変化率（平均値±SD）を図 2.6.2-21 に示す。

図 2.6.2-21　カニクイザルにエフガルチギモド（200 mg/kg）又は溶媒を単回持続（3 時間）静脈内投与したときの血清中 IgA 及び IgM 濃度の投与前からの変化率



Source: Module 4.2.1.1-6 (ARGX-NC-078)
ARGX-113=efgartigimod; cIgA=cynomolgus monkey immunoglobulin A; cIgM=cynomolgus monkey immunoglobulin M; IgA=immunoglobulin A; IgM=immunoglobulin M; N=number of animals, subjects, or samples; SD=standard deviation; T_0=time point predose
Note: N=2/group; values are displayed as mean±SD.

カニクイザル GLP 適用単回投与毒性試験でも、内因性 IgA、IgM 及びアルブミン濃度を評価した（4.2.3.1-1）。カニクイザル（雌雄各群 5 例）に、エフガルチギモド（10、30、50 及び 100 mg/kg）又は溶媒（対照）を持続（2 時間）静脈内投与した。主要群（雌雄各群 3 例）は Day 5 に安楽死させ、他のサルは 4 週間の回復期間観察した。投与前、Day 2 及び Day 5、回復群については Day 29 も採血し、血漿中 IgA、IgM 及び血清中アルブミン濃度を測定し、エフガルチギモド群と対照群を比較して相対的変化率として評価した。試験の概要を、2.6.7.5 項に示す。

全てのエフガルチギモド群で、IgA 及び IgM 抗体価並びにアルブミン濃度には対照群と比較して統計学的に有意な差は認められず、性差もみられなかった。回復期間中も変動しなかった。

カニクイザル GLP 適用 4 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-2）では、カニクイザル（雌雄各群 5 例）に、エフガルチギモド（3、30 及び 100 mg/kg）又は溶媒（対照）を 2 日に 1 回 29 日間反復持続（2 時間）静脈内投与した。主要群（雌雄各群 3 例）は Day 29 に安楽死させ、他のサルは 4 週間の回復期間観察した。投与前、Day 16 及び Day 30、回復群については Day 58 も採血し、血漿中 IgA 及び IgM 並びに血清中アルブミン濃度を測定し、エフガルチギモド群と対照群を比較して相対的変化率として評価した。上述の試験結果と同様に、最高用量の 100 mg/kg までエフガルチギモドを 2 日に 1 回 4 週間反復投与しても、IgA 及び IgM 抗体価並びにアルブミン濃度に影響を及ぼさなかった。試験の概要を、2.6.7.7.B 項に示す。

カニクイザル GLP 適用 26 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-3）でも、内因性 IgA、IgM 及びアルブミン濃度を評価した。カニクイザル（主要群：雌雄各群 4 例、回復群：雌雄各群 2 例）に、エフガルチギモド（10、30 及び 100 mg/kg）又は溶媒（対照群）を週 1 回 26 週間反復持続（0.5 時間）静脈内投与した。主要群は最終投与後に安楽死させ、回復群は 8 週間の回復期間後に安楽死させた。初回投与前、Day 93 及び Day 184、回復群については Day 239 も採血し、血漿中 IgA 及び IgM 並びに血清中アルブミン濃度を測定した。エフガルチギモドを 100 mg/kg まで週 1 回 26 週間反復静脈内投与しても、内因性 IgA、IgM 及びアルブミン濃度に影響を及ぼさなかった。試験の概要を、2.6.7.7.C 項に示す。

上述の結果から、エフガルチギモドはラットで反復静脈内投与 100 mg/kg まで、カニクイザルで単回静脈内投与 200 mg/kg まで及び反復静脈内投与 100 mg/kg まで、内因性 IgA、IgM 及びアルブミン濃度に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.　安全性薬理試験

安全性薬理評価については、ラット及びカニクイザルの GLP 適用単回及び反復投与毒性試験（4.2.3.1-1、4.2.3.2-1、4.2.3.2-2、4.2.3.2-3）並びにカニクイザルの GLP 適用 PK／安全性薬理試験（4.2.1.3-1）の一部として実施した。

安全性薬理試験の評価項目に関する特記すべき所見を、2.6.3.4 項に示した。心血管系機能に対する評価の概要を、カニクイザルを用いた単回投与毒性試験については 2.6.7.5 項に、カニクイザルを用いた 4 及び 26 週間反復投与毒性試験についてはそれぞれ 2.6.7.7.B 項及び 2.6.7.7.C 項に示した。

呼吸器・循環系、体性運動活動及び行動に関する評価を、ラット及びカニクイザルを用いた毒性試験の一部として実施した。心電図、心拍数及び血圧については、カニクイザルを用いた試験で評価した（表 2.6.2-9）。

中枢神経系及び呼吸器系機能に関する評価を、カニクイザルを用いた GLP 適用 5 週間 PK／安全性薬理試験（4.2.1.3-1）で実施した。初回及び最終投与の投与前後に呼吸数を測定した。投与開始前並びに初回及び最終投与時の投与後 5 時間に機能観察総合評価法（FOB）で評価した（表 2.6.2-9）。FOB 試験と同じ時点で体温も測定した。

エフガルチギモドを 2 日に 1 回又は週 1 回 100 mg/kg までは、いずれの試験でも安全性薬理パラメータに関して特記すべき異常は認められなかった。安全域については、2.6.4.3.2 項に示した。

表 2.6.2-9　安全性薬理評価の概要

Study ID	Cageside observations	ECG/heart rate/ blood pressure	FOB	Respiration rate	Body temperature
Rat					
Module 4.2.3.2-1, [redacted]33981[a] (0, 10, 30, 100 mg/kg IV q2d, slow bolus)	Pre- and postdose: Daily until the end of the study	Not performed	Not performed	Part of cage side observations	Not performed
Cynomolgus monkey					
Module 4.2.3.1-1, [redacted]32188[a] (0, 10, 30, 50, 100 mg/kg IV, 2-h infusion)	Pre- and postdose: Daily until the end of the study	D1: predose and ±5 min postdose D29 (recovery animals)	Not performed	Part of cage side observations	Not performed
Module 4.2.3.2-2, [redacted]31554[a] (0, 3, 30, 100 mg/kg IV q2d, 2-h infusion)	Pre- and postdose: Daily until the end of the study	D1 and D29: predose and ±5 min postdose	Not performed	Part of cage side observations	Not performed
Module 4.2.3.2-3, [redacted]33260[a] (0, 10, 30, 100 mg/kg IV q7d, 0.5-h infusion)	Pre- and postdose: Daily until the end of the study	D1, D85, D176: Predose and ±5 min postdose D239 (recovery animals)	Not performed	Part of cage side observations	Not performed
Module 4.2.1.3-1, 0AGX1[b] (0, 10, 30, 100 mg/kg IV q7d, 0.5-h infusion)	Daily	Not performed	D0 D1: 5 hours postdose D29: 5 hours postdose	D1: predose and at the end of infusion D29: predose and at the end of infusion	D0 D1: 5 hours postdose D29: 5 hours postdose

±=approximately; D=study day; ECG=electrocardiogram; FOB=functional observational battery; GLP=good laboratory practice; h=hour; ID=identification; IV=intravenous; min=minutes; q2d=every other day; q7d=once weekly; OECD=Organisation for Economic Co-operation and Development

Note: First day of dosing is day D1. All studies were performed according to GLP principles in OECD member states.

[a] Test facility [redacted], Germany.

[b] Test facility [redacted], France.

2.6.2.5.　薬力学的薬物相互作用試験

添付資料番号：4.2.1.4-1

エフガルチギモドはその作用機序により、IVIg を含む治療用 IgGs の曝露を低下させる可能性がある。エフガルチギモドによる薬物相互作用は、抗体医薬品の FcRn への結合親和性及びエフガルチギモドと抗体医薬品との投与タイミングに依存すると考えられる。ヒト FcRn トランスジェニックマウス（Tg32 マウス）を用いて IVIg とエフガルチギモドの間の PD 的薬物相互作用を評価した。エフガルチギモドと IVIg を同時に投与（同時投与）したときと、エフガルチギモド投与後 2 日に IVIg を投与（連続投与）したときの影響について評価した（4.2.1.4-1）。

Tg32 マウスは、内因性マウス FcRn を発現しておらず、内因性ヒトプロモーターによってヒト FcRn を発現するように修飾されている。したがって、Tg32 マウスはヒト FcRn への結合特性に関するヒトの PK／PD を評価するために適したモデル動物と考えられる。

Tg32 マウスでは、マウス IgG のヒト FcRn への結合親和性が低く、マウス IgG はヒト FcRn によってリサイクルされないため、内因性マウス IgG 濃度が低い。そこで、ヒト内因性 IgG 濃度になるように、Tg32 マウスにエフガルチギモド及び IVIg を投与する 2 日前に、ヒト IgG（200 mg/kg）を静脈内投与した。同時に、respiratory syncytial ウイルス糖タンパク質 F–タンパク質に特異的なヒト IgG1 標識抗体（トレーサー抗体）を（15 mg/kg）を静脈内投与した。

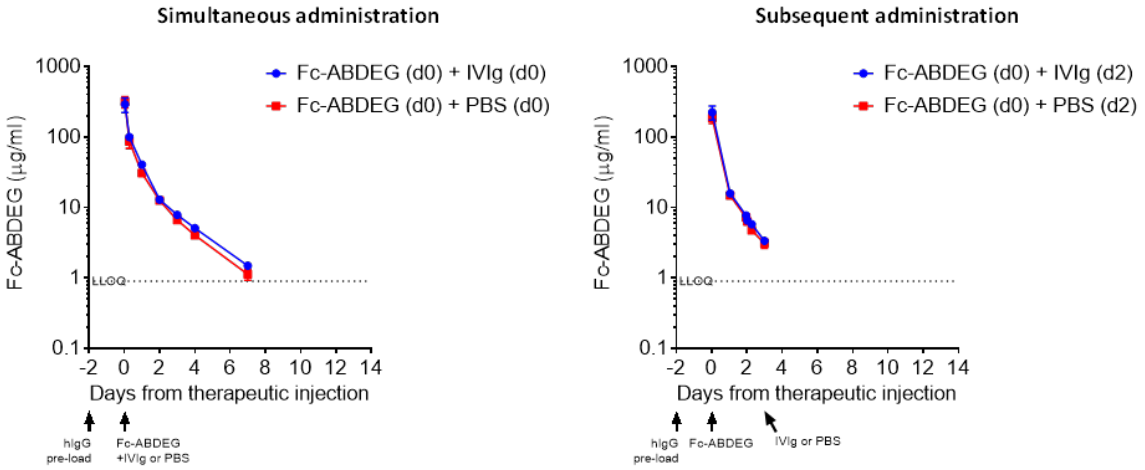
試験 1 では、雄 Tg32 マウス（各群 5 例）にエフガルチギモド（20 mg/kg、静脈内）及びヒト IgG（IVIg 治療用量 2 g/kg、腹腔内）を同時投与した。対照群として、エフガルチギモド又は IVIg のいずれかを溶媒に置き換えた群及びエフガルチギモドをアイソタイプ対照のヒト野生型 Fc フラグメント（20 mg/kg、静脈内）に置き換えた群を設定した。

血漿中エフガルチギモド、ヒト IgG 及びトレーサー抗体濃度を、PK／PD 解析報告書に記載されている試験条件でリガンド結合アッセイにより測定した（4.2.1.4-1）。

試験 2 では、エフガルチギモド投与後 2 日に IVIg を投与（連続投与）したことを除き、試験 1 と同じ条件で実施した。対照群として IVIg を溶媒に置き換えた群及びエフガルチギモドを野生型アイソタイプ対照に置き換えた群を設定した。

試験 1 及び 2 ともに、IVIg 投与はエフガルチギモドの PK に影響を及ぼさなかった（図 2.6.2-22）。

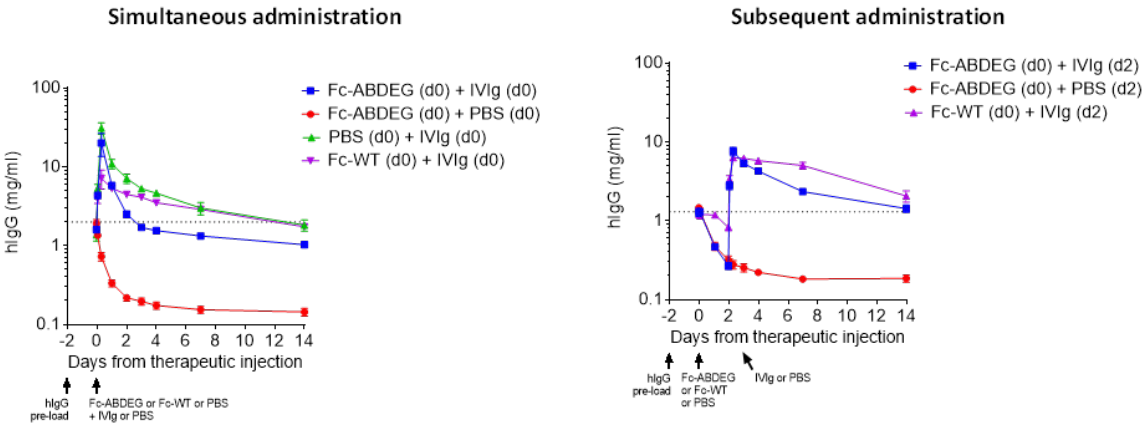
図 2.6.2-22　Tg32 マウスにエフガルチギモド（20 mg/kg 静脈内）及びヒト IgG（IVIg 2 g/kg 腹腔内）又は PBS を同時又は連続投与したときの血漿中エフガルチギモド濃度推移



Source: Module 4.2.1.4-1 (121510_IVFC)
d0=day of (first) therapeutic administration; Fc=fragment, crystallized; Fc-ABDEG=efgartigimod; FcRn=neonatal Fc receptor; hIgG=human immunoglobulin G; IVIg=intravenous immunoglobulin G; LLOQ=lower limit of quantification; N=number of animals, subjects, or samples; PBS=phosphate buffer saline; Tg32=transgenic humanized FcRn (mice); SEM=standard error of mean
Note: N=5; values are displayed as mean±SEM.

Tg32 マウスに IVIg を腹腔内投与したとき、対照群と比較してエフガルチギモド群ではマウス血漿中ヒト IgG 濃度が減少した。エフガルチギモド及び IVIg を同時投与したときは、連続投与したときと比較して IgG 濃度が顕著に減少した（図 2.6.2-23）。同時投与したとき、マウス血漿中ヒト IgG 濃度は急速に減少し、投与後 2～3 日でベースライン付近の濃度に戻った。一方、連続投与したとき、マウス血漿中ヒト IgG 濃度は 12 日間ベースラインより高い濃度を維持し、Day 14 にベースラインに戻った。これらの結果から、エフガルチギモドは、IVIg と同時投与後 2 日以内に IgG 減少作用を強く示すことが示唆された。

図 2.6.2-23　Tg32 マウスにエフガルチギモド（20 mg/kg 静脈内）及び IVIg（2 g/kg 腹腔内）又は PBS を同時又は連続投与したときの血漿中ヒト IgG 濃度推移



Source: Module 4.2.1.4-1 (121510_IVFC)
Fc=fragment, crystallized; Fc-ABDEG=efgartigimod; FcRn=neonatal Fc receptor; hIgG=human immunoglobulin G; IVIg=intravenous immunoglobulin G; N=number of animals, subjects, or samples; PBS=phosphate buffer saline; SEM=standard error of mean; Tg32=transgenic humanized FcRn (mice); WT=wild-type
Note: N=5; d0=day of (first) therapeutic administration; values are displayed as mean±SEM and dotted line represents baseline values.

トレーサー抗体及び内因性マウス IgG2b の解析により、エフガルチギモドが急速に PD 作用を発揮することが示された（4.2.1.4-1）。本試験では、マウス血清中アルブミン濃度も測定した。前述（2.6.2.3.2 項）の結果と同様に、エフガルチギモドはマウス血清中アルブミン濃度に影響を及ぼさなかった。

以上より、エフガルチギモドはその作用機序に基づき、IVIg 及びトレーサー抗体の曝露量に影響を及ぼすことが明らかになった。この相互作用は、IVIg が連続投与された場合は顕著な影響を及ぼさないと考えられるが、同時投与及び連続投与のいずれの場合でもマウス血中に高濃度のヒト IgG が検出された。IVIg はエフガルチギモドの PK に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.6.　　考察及び結論

作用機序

pH 依存的に IgG のリサイクルを阻害することは、病原性 IgG 自己抗体の発現を特徴とする自己免疫疾患の治療戦略となり得ると考えられている。FcRn が IgG をリサイクルすることはよく知られている。酸性及び中性でヒト FcRn への結合親和性を増加させる Fc 変異を導入することにより、エフガルチギモドは FcRn 上の IgG 結合部位に結合し、IgG のリサイクルを阻害する。エフガルチギモドの作用機序及び PD 作用（IgG 減少作用）を実証するため、非臨床薬理試験を実施した。血漿交換など臨床で観察されるような IgG 減少作用と有効性との相関について、疾患モデル動物を用いて評価した。

効力を裏付ける試験

エフガルチギモドのヒト FcRn への結合親和性を in vitro で評価した。ヒト野生型 Fc フラグメントと比較して、エフガルチギモドは中性及び酸性でヒト FcRn への結合親和性が顕著に増加した。エフガルチギモドのげっ歯類（マウス、ラット）及び非げっ歯類（ウサギ、イヌ、ブタ及びカニクイザル）の FcRn との交差反応性についても in vitro で評価した。

エフガルチギモドの各種 FcRn への結合親和性の比較では、ヒト野生型 Fc フラグメントと同様に、ヒト FcRn への結合親和性はカニクイザル FcRn への結合親和性に類似しており、マウス及びラット FcRn への結合親和性はヒト FcRn への結合親和性より高かった（Abdiche, 2015）。ウサギ FcRn への結合親和性は中性で低かった。

各種 FcRn に対するエフガルチギモドの交差反応性試験及び in vivo PK／PD 解析の結果から、マウス、ラット、ウサギ及びカニクイザルがエフガルチギモドの非臨床開発での評価動物として適切であることが示された。カニクイザル IgG 及びヒト IgG の FcRn への結合特性が類似しており、エフガルチギモドではヒト FcRn と同様にカニクイザル FcRn への結合親和性の増加が認められたことから、カニクイザルを非臨床薬理試験、薬物動態試験（2.6.4 項、2.6.5 項）及び毒性試験（2.6.6 項、2.6.7 項）の主要評価動物として選択した。さらに、組織交差反応性試験では、エフガルチギモドは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。

エフガルチギモドの in vivo での特異的 FcRn 阻害による IgG 分解促進作用を明らかにするため、主要な in vivo 薬理試験として一連の用量反応性試験を実施した。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単回又は反復静脈内投与したとき、いずれの種の血中 IgG 濃度も減少した。

マウス、ラット及びウサギにエフガルチギモドを単回静脈内投与したとき、マウス及びラットでは 2 mg/kg で血中 IgG 濃度の減少が観察され、100 mg/kg では投与前と比較してそれぞれ 66%及び 48%減少した。一方、ウサギでは、20 及び 100 mg/kg で投与前と比較してそれぞれ 17%及び 36%しか減少せず、マウス及びラットほど顕著な減少はみられなかった。しかし、ウサギに 10、30 及び 100 mg/kg を 1 日 1 回反復静脈内投与したときは、十分な血中 IgG 濃度の減少がみられた。

カニクイザルにエフガルチギモドを 2 mg/kg 以上単回静脈内投与したとき、溶媒対照と比較してトレーサー抗体及び内因性 IgG が明らかに減少した。内因性 IgG 濃度の減少率はおよそ 20 mg/kg 以上で最大となり、20 mg/kg で投与前と比較して最大 55%減少した。反復静脈内投与したときは、単回投与したときと比較してより顕著に IgG が減少し、減少する期間も延長した。

副次的薬理試験

FcRn 阻害薬であるエフガルチギモドは、IgG を特異的に減少させた。種々の動物で、エフガルチギモドは血漿中 IgA 及び IgM 濃度に対して影響を及ぼさなかったが、IgG 濃度を顕著に減少させた。全ての GLP 適用毒性試験で同様の結果が確認された。アルブミンと IgG は FcRn 上の異なった結合部位に結合することが知られており（Chaudhury, 2006、Sand, 2015）、カニクイザルでの単回及び反復投与毒性試験では、エフガルチギモドによる血清中アルブミン濃度の生物学的に意味のある変動は認められなかった。したがって、エフガルチギモドは IgG 以外の内因性免疫グロブリン及びアルブミンに影響を及ぼさなかった。

その他の探索的 in vitro 試験では、エフガルチギモドによる生理学的免疫機能に悪影響を及ぼす可能性は示唆されていない。エフガルチギモドは Fab 領域を有していない。エフガルチギモドの FcγRs 及び C1q への結合親和性はヒト野生型 Fc フラグメントと比較して同程度以下であることから、ADCC 及び CDC 経路を直接活性化する可能性は低いと考えられる。エフガルチギモドによる in vitro での NK 細胞の顕著な活性化及び in vivo でのカニクイザルでの炎症性サイトカインの急激な誘導は認められなかった。

疾患モデルでの効果

エフガルチギモドのような病原性自己抗体を速やかに除去する FcRn 阻害薬が gMG の治療選択肢になり得るかを検証するため、MG 疾患モデルとして MuSK−MG passive transfer モデルマウス及び AChR−MG passive transfer モデルラットを用いて評価した。いずれの MG 疾患モデルでも、エフガルチギモドは作用機序に基づき IgG 濃度を急速に減少させた。さらに、マウスの MG 疾患モデルでは自己抗体濃度と疾患の重症度に相関がみられ、エフガルチギモドが自己抗体を減少させて疾患症状を軽減させた。したがって、これらの結果はヒト MG 疾患での効果を反映しており、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た。

安全性薬理試験及び薬力学的薬物相互作用試験

エフガルチギモドのラット及びカニクイザル静脈内投与毒性試験の一環として、呼吸器系、循環器系、体性運動活動及び行動、心電図、心拍数並びに血圧への影響を評価した。中枢神経系及び呼吸数への影響は、カニクイザルを用いた PK／安全性薬理試験の一部として評価した。ラット及びカニクイザルにエフガルチギモドの薬効用量を超えた用量である 100 mg/kg で 2 日に 1 回又は週 1 回投与まで投与したが、評価したいずれのパラメータにも影響は認められなかった（2.6.4.3.2 項）。

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。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 PD 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 PD 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。

結論

エフガルチギモドはヒト FcRn への結合親和性が高くなるように設計されており、血中に高濃度存在する内因性 IgG を競合阻害した。エフガルチギモドの FcRn への高い結合親和性が、種々の動物で血中 IgG 抗体を特異的に減少させることが薬理試験により示された。MG 疾患モデル動物で自己抗体が減少し疾患症状が軽減したことから、エフガルチギモドの作用機序によりヒトでも自己抗体減少療法での臨床的観察と一致した有効性を示すことが示唆される。副次的薬理作用は検出されず、安全性薬理評価では心血管系、呼吸器系及び中枢神経系のバイタルサインへの影響は報告されなかった。したがって、これらの薬理試験結果から、エフガルチギモドが MG のような IgG による自己免疫疾患治療のための効果的で持続可能かつ安全な治療薬になることが示唆された。

2.6.2.7.　参考文献

Abdiche YN, Yeung YA, Chaparro-Riggers J, Barman I, Strop P, Chin SM, et al. The neonatal Fc receptor (FcRn) binds independently to both sites of the IgG homodimer with identical affinity. MAbs. 2015;7(2):331-43.

Alter G, Malenfant JM, Altfeld M. CD107a as a functional marker for the identification of natural killer cell activity. J Immunol Methods. 2004;294(1-2):15-22.

Andersen JT, Daba MB, Berntzen G, Michaelsen TE, Sandlie I. Cross-species binding analyses of mouse and human neonatal Fc receptor show dramatic differences in immunoglobulin G and albumin binding. J Biol Chem. 2010;285(7):4826-36.

Barth D, Nabavi Nouri M, Ng E, Nwe P, Bril V. Comparison of IVIg and PLEX in patients with myasthenia gravis. Neurology. 2011;76(23):2017-23.

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.

Challa DK, Velmurugan R, Ober RJ, Ward ES. FcRn: From molecular interactions to regulation of IgG pharmacokinetics and functions. Curr Top Microbiol Immunol. 2014;382:249-72.

Chaudhury C, Brooks CL, Carter DC, Robinson JM, Anderson CL. Albumin binding to FcRn: distinct from the FcRn-IgG interaction. Biochemistry. 2006;45(15):4983-90.

Ghetie V, Hubbard JG, Kim JK, Tsen MF, Lee Y, Ward ES. Abnormally short serum half-lives of IgG in beta 2-microglobulin-deficient mice. Eur J Immunol. 1996;26(3):690-6.

Gilhus NE, Verschuuren JJ. Myasthenia gravis: subgroup classification and therapeutic strategies. Lancet Neurol. 2015;14(10):1023-36.

Grevys A, Bern M, Foss S, Bratlie DB, Moen A, Gunnarsen KS, et al. Fc engineering of human IgG1 for altered binding to the neonatal Fc receptor affects Fc effector functions. J Immunol, 2015;194(11):5497-508.

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.

Junghans RP, Anderson CL. The protection receptor for IgG catabolism is the beta2-microglobulin-containing neonatal intestinal transport receptor. Proc Natl Acad Sci U S A. 1996;93(11):5512-6.

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. Sci Transl Med. 2017;9(414) :eaan1208.

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.

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):1031-39.

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.

Liu L, Garcia AM, Santoro H, Zhang Y, McDonnell K, Dumont J, et al. Amelioration of experimental autoimmune myasthenia gravis in rats by neonatal FcR blockade. J Immunol. 2007;178(8):5390-8.

Masuda T, Motomura M, Utsugisawa K, Nagane Y, Nakata R, Tokuda M, et al. Antibodies against the main immunogenic region of the acetylcholine receptor correlate with disease severity in myasthenia gravis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2012;83(9):935-40.

Niks EH, van Leeuwen Y, Leite MI, Dekker FW, Wintzen AR, Wirtz PW, et al. Clinical fluctuations in MuSK myasthenia gravis are related to antigen-specific IgG4 instead of IgG1. J Neuroimmunol. 2008;195(1-2):151-6.

Ober RJ, Radu CG, Ghetie V, Ward ES. Differences in promiscuity for antibody–FcRn interactions across species: implications for therapeutic antibodies. Int Immunol. 2001;13 (12):1551-9.

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

Ripellino P, Fleetwood T, Cantello R, Comi C. Treatment of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: from molecular bases to practical considerations. Autoimmune Dis. 2014;2014:201657.

Roopenian DC, Akilesh S. FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. Nat Rev Immunol. 2007;7(9):715-25.

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.

Thielens NM, Tedesco F, Bohlson SS, Gaboriaud C, Tenner AJ. C1q: A fresh look upon an old molecule. Mol Immunol. 2017;89:73-83.

Thomas VA, Balthasar JP. Understanding inter-individual variability in monoclonal antibody disposition. Antibodies. 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.

Ulrichts P, Guglietta A, Dreier T, van Bragt T, Hanssens V, Hofman E, et al. Neonatal Fc receptor antagonist efgartigimod safely and sustainably reduces IgGs in humans. J Clin Invest. 2018;128(10):4372-86.

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.

van Erp EA, Luytjes W, Ferwerda G, van Kasteren PB. Fc-mediated antibody effector functions during respiratory syncytial virus infection and disease. Front Immunol. 2019;10:548.

Verschuuren JJ, Huijbers MG, Plomp JJ, Niks EH, Molenaar PC, Martinez-Martinez P, et al. Pathophysiology of myasthenia gravis with antibodies to the acetylcholine receptor, muscle-specific kinase and low-density lipoprotein receptor-related protein 4. Autoimmun Rev. 2013;12(9):918-23.

Waldmann TA, Terry WD. Familial hypercatabolic hypoproteinemia. A disorder of endogenous catabolism of albumin and immunoglobulin. J Clin Invest. 1990;86(6):2093-8.

Wani MA, Haynes LD, Kim J, Bronson CL, Chaudhury C, Mohanty S, et al. Familial hypercatabolic hypoproteinemia caused by deficiency of the neonatal Fc receptor, FcRn, due to a mutant beta2-microglobulin gene. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006;103(13):5084-9.

Ward ES, Ober RJ. Targeting FcRn to generate antibody-based therapeutics. Trends Pharmacol Sci. 2018;39(10):892-904.

Ward ES, Zhou J, Ghetie V, Ober RJ. Evidence to support the cellular mechanism involved in serum IgG homeostasis in humans. Int Immunol. 2003;15(2):187-95.

Yeh JH, Chen WH, Chiu HC, Bai CH. MuSK antibody clearance during serial sessions of plasmapheresis for myasthenia gravis. J Neurol Sci. 2007;263(1-2):191-3.

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**）

2.6.3　薬理試験概要表

アルジェニクスジャパン株式会社

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 9
2.6.3.3.　副次的薬理試験 19
2.6.3.4.　安全性薬理試験 21
2.6.3.5.　薬力学的薬物相互作用試験 23

2.6.3.　薬理試験概要表

2.6.3.1.　薬理試験：一覧表

			Test article: efgartigimod		
Type of study	**Test system**	**Method of administration**	**Testing facility**	**Study number**	**Location**
Primary pharmacodynamics					
In vitro					
In vitro characterization of efgartigimod: • Determination of affinity to human FcRn (ELISA and SPR) including cross-reactivity with FcRn of nonhuman species	Mouse, rat, pig, dog, monkey, human	NA	argenx BVBA, Zwijnaarde, Belgium	ARGX-NC-074	Module 4.2.1.1-1
In vitro characterization of efgartigimod: • Cross-reactivity and affinity to rabbit FcRn	Rabbit	NA	argenx BVBA, Zwijnaarde, Belgium	ARGX-NC-115	Module 4.2.1.1-2
Tissue cross-reactivity using cryosections[a]	Monkey, human	NA	[redacted], United States	20069988	Module 4.2.1.1-3
In vivo					
Effect of ABDEG™-containing IgG1, IVIg and efgartigimod on serum IgG levels[b]	Monkey	IV (1- and 4-hour infusion)	[redacted], Germany; assayed and reported by argenx BVBA, Zwijnaarde, Belgium	ARGX-NC-081	Module 4.2.1.1-4

			Test article: efgartigimod		
Type of study	**Test system**	**Method of administration**	**Testing facility**	**Study number**	**Location**
PK / PD study of efgartigimod after a single IV bolus injection in rodents	Mouse, rat	IV (bolus)	[redacted], [redacted], France; assayed and reported by argenx BVBA, Zwijnaarde, Belgium	ARGX-NC-076	Module 4.2.1.1-5
4-Week toxicity study of efgartigimod including PD readout[ac]	Rat	IV (bolus)	[redacted], Germany	[redacted]33981	Module 4.2.3.2-1
PK / PD study of efgartigimod after a single IV bolus injection in rabbits	Rabbit	IV (bolus)	[redacted], Germany; assayed and reported by argenx BVBA, Zwijnaarde, Belgium	ARGX-NC-043	Module 4.2.2.2-1
Dose-range finding for an embryo-fetal development study in rabbits[a] including PK / PD evaluation and IgG measurements	Rabbit	IV (bolus)	[redacted], Germany; assayed and reported by argenx BVBA, Zwijnaarde, Belgium	ARGX-NC-065 In life: [redacted]35987	Module 4.2.1.1-9 In life: Module 4.2.3.5.2-3
PK / PD study of efgartigimod after a single IV infusion in cynomolgus monkeys[d]	Monkey	IV (3-hour infusion)	[redacted], Germany; assayed and reported by argenx BVBA, Zwijnaarde, Belgium	ARGX-NC-078	Module 4.2.1.1-6

			Test article: efgartigimod		
Type of study	**Test system**	**Method of administration**	**Testing facility**	**Study number**	**Location**
Single-dose toxicity study of efgartigimod including PD readout[ac]	Monkey	IV (2-hour infusion)	[redacted], Germany	[redacted]32188	Module 4.2.3.1-1
4-Week toxicity study of efgartigimod including PD readout[ac]	Monkey	IV (2-hour infusion)	[redacted], Germany	[redacted]31554	Module 4.2.3.2-2
26-Week toxicity study of efgartigimod including PD readout[ac]	Monkey	IV (0.5-hour infusion)	[redacted], Germany	[redacted]33260	Module 4.2.3.2-3
PK / PD study upon single IV and SC administration	Monkey	IV (bolus) SC	[redacted], Germany; assayed and reported by argenx BVBA, Zwijnaarde, Belgium	ARGX-NC-092	Module 4.2.2.2-2
Evaluation of efgartigimod in a MuSK-MG passive transfer model	Mouse	IP	[redacted], the Netherlands; reported by argenx BVBA, Zwijnaarde, Belgium	ARGX-NC-079	Module 4.2.1.1-7
Evaluation of efgartigimod in a MuSK-MG passive transfer model	Mouse	IP	[redacted], the Netherlands	Huijbers, 2019	Module 4.3

			Test article: efgartigimod		
Type of study	**Test system**	**Method of administration**	**Testing facility**	**Study number**	**Location**
Therapeutic evaluation of efgartigimod in a passive rat antibody transfer model for AChR-MG	Rat	IP	[redacted], [redacted], France; reported by argenx BVBA, Zwijnaarde, Belgium	ARGX-NC-080	Module 4.2.1.1-8
Secondary pharmacodynamics					
In vitro					
Interaction with FcγRs or the complement protein C1q; natural killer (NK) cell activation in vitro	Isolated human FCγR and C1q; NK cells	NA	argenx BVBA, Zwijnaarde, Belgium	ARGX-NC-074	Module 4.2.1.1-1
Signs of secondary pharmacology in in vivo studies					
4-Week toxicity study of efgartigimod including PD readout[ac]	Rat	IV	[redacted], Germany	[redacted]33981	Module 4.2.3.2-1
Effect of ABDEG™-containing IgG1, IVIg and efgartigimod on serum IgG levels[b]	Monkey	IV (1-hour infusion)	[redacted], Germany; assayed and reported by argenx BVBA, Zwijnaarde, Belgium	ARGX-NC-081	Module 4.2.1.1-4
PK / PD of efgartigimod after a single IV infusion in cynomolgus monkeys[d]	Monkey	IV infusion	[redacted], Germany; assayed and reported by argenx BVBA, Zwijnaarde, Belgium	ARGX-NC-078	Module 4.2.1.1-6

			Test article: efgartigimod		
Type of study	**Test system**	**Method of administration**	**Testing facility**	**Study number**	**Location**
Single-dose toxicity study of efgartigimod including PD readout[ac]	Monkey	IV (2-hour infusion)	[redacted], Germany	[redacted]32188	Module 4.2.3.1-1
4-Week toxicity study of efgartigimod including PD readout[ac]	Monkey	IV (2-hour infusion)	[redacted], Germany	[redacted]31554	Module 4.2.3.2-2
26-Week toxicity study of efgartigimod including PD readout[ac]	Monkey	IV (0.5-hour infusion)	[redacted], Germany	[redacted]33260	Module 4.2.3.2-3
Safety pharmacology					
Cardiovascular system					
Single-dose toxicity study of efgartigimod including PD readout[ac]	Monkey	IV (2-hour infusion)	[redacted], Germany	[redacted]32188	Module 4.2.3.1-1
4-Week toxicity study of efgartigimod including PD readout[ac]	Monkey	IV (2-hour infusion)	[redacted], Germany	[redacted]31554	Module 4.2.3.2-2
26-Week toxicity study of efgartigimod including PD readout[ac]	Monkey	IV (0.5-hour infusion)	[redacted], Germany	[redacted]33260	Module 4.2.3.2-3

			Test article: efgartigimod		
Type of study	**Test system**	**Method of administration**	**Testing facility**	**Study number**	**Location**
Respiratory system					
5-Week PK study of efgartigimod including respiratory and CNS tolerability[a]	Monkey	IV (0.5-hour infusion)	[redacted], France	0AGX1	Module 4.2.1.3-1
Central nervous system					
5-Week PK study of efgartigimod including respiratory and CNS tolerability[a]	Monkey	IV (0.5-hour infusion)	[redacted], France	0AGX1	Module 4.2.1.3-1
Pharmacodynamic drug interactions					
PK/PD analysis of Fc-ABDEG when combined with IVIg in Tg32 mice[b]	Mouse	IV IP (IVIg)	[redacted], USA	121510_IVFC	Module 4.2.1.4-1

CNS=central nervous system; ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay; Fc=fragment, crystallized; FcRn=neonatal Fc receptor; FcγR=Fc gamma receptor; GLP=Good Laboratory Practice; Ig=immunoglobulin; IP=intraperitoneal; IV=intravenous; IVIg=intravenous immunoglobulin; Musk=muscle-specific tyrosine kinase; NA=not applicable; NK=natural killer; PK=pharmacokinetics; PD=pharmacodynamics; SC=subcutaneous; SPR=surface plasmon resonance

[a] GLP study

[b] Study includes IgG and albumin level measurements and tracer IgG level analysis

[c] Study includes IgG, IgA, IgM, and albumin level measurements

[d] Study includes IgG, IgA, and IgM level measurements and tracer IgG level analysis

2.6.3.2.　効力を裏付ける試験

				Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species/ strain**	**Method of admin.**	**Doses (mg/kg)[a]**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**Study number**
In vitro						
In vitro characterization of efgartigimod: Determination of affinity to human FcRn (ELISA and SPR) including cross-reactivity with FcRn of nonhuman species	Mouse, rat, pig, dog, cynomolgus monkey, human	NA	0.02-3000 ng/mL efgartigimod versus human wild-type Fc	NA	Affinity of efgartigimod was higher for mouse and rat FcRn, whereas efgartigimod had very similar affinities for cynomolgus monkey and pig FcRn when compared to human FcRn binding. Similar results were found for a wild-type Fc fragment. High affinity of efgartigimod for human FcRn at both acidic (pH=6.0) and neutral pH (pH=7.4) compared to wild-type Fc fragment was demonstrated: K_d at pH 6.0: Human 0.35±0.06 nmol/L versus monkey 0.23±0.18 nmol/L K_d at pH 7.4: Human 8.59±1.35 nmol/L versus monkey 14.5±2.77 nmol/L	Module 4.2.1.1-1 ARGX-NC-074

				Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species/ strain**	**Method of admin.**	**Doses (mg/kg)[a]**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**Study number**
In vitro characterization of efgartigimod: Cross-reactivity and affinity to rabbit FcRn	Rabbit/ NZW	NA	25-2000 nmol/L	NA	Affinity of efgartigimod for rabbit FcRn was lower at neutral pH when compared with human FcRn (pH=7.4; K_d=301 nmol/L versus K_d =31.0 nmol/L). Affinities at acid pH were similar (pH=6.0; K_d =6.37 nmol/L for rabbit FcRn and K_d =8.63 nmol/L for human FcRn))	Module 4.2.1.1-2 ARGX-NC-115
Tissue cross-reactivity using cryosections Assessment of binding to target and possible binding to non-target human tissues and tissues of monkeys used for the pre-clinical safety evaluation[b]	Monkey/ cynomolgus, human (full panel of tissues)	NA	0 (vehicle), 25, 50 µg/mL	3 samples (from 3 unique individuals)	Efgartigimod-specific staining was observed. Intensity grade 1+ to 2+ (minimal to mild) was observed in human urinary bladder mucosa, stomach and small intestine mucosa, lymph node sinus histiocytes, and spleen sinusoid endothelial cells as well as in cynomolgus monkey thyroid follicular cells, lymph node sinus histiocytes, and spleen sinusoid endothelial cells.	Module 4.2.1.1-3 20069988

				Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species/ strain**	**Method of admin.**	**Doses (mg/kg)[a]**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**Study number**
In vivo						
Defining the biopharmaceutical format: Effect of ABDEG™-containing IgG1, IVIg and efgartigimod on serum IgG levels in monkeys. PD readout: IgG level measurements as well as tracer IgG level analysis.	Monkey/ cynomolgus	IV (1- or 4- hour infusion for test items; bolus for FR70-hIgG1 tracer)	Phase 1: 0 (PBS), 7 (NHance-Fc), 7 (efgartigimod), 20 (ABDEG™), 2000 (IVIg) Phase 2: 20 (NHance-Fc), 20 or 70 (efgartigimod), 60 (ABDEG™), 2000 (IVIg)	2F	Phase 1: Efgartigimod reduced FR70-hIgG1 levels more efficiently than equimolar amounts of ABDEG™-hIgG1. Endogenous cynomolgus monkey IgG levels were cleared to a similar degree by efgartigimod and ABDEG™-hIgG1. Phase 2: Efgartigimod reduced administered FR70-hIgG1 more rapidly and more efficiently (>95% clearance in 4 days) than IVIg (~75% clearance in 7 days). A single infusion at a dose of 70 mg/kg efgartigimod resulted in a 55% reduction of endogenous IgG levels compared to pre-dose levels. Endogenous IgG levels could not be determined in IVIg-treated animals due to assay interference by IVIg.	Module 4.2.1.1-4 ARGX-NC-081

				Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species/ strain**	**Method of admin.**	**Doses (mg/kg)[a]**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**Study number**
PK/PD study of efgartigimod in rodents. PD readout: Total serum IgG level (14-day follow-up)	Mouse/C57BL/6, Rat/Wistar	IV (bolus)	2, 20, 100	4F	Maximum IgG reduction compared to baseline values of a single dose of efgartigimod was 66% in mice and 48% in rats following administration of 100 mg/kg dose. Dose-related reductions were seen in mice at ≥2 mg/kg and in rats at ≥20 mg/kg. Nadir of the effect could be seen in the first 2 days for all dose groups.	Module 4.2.1.1-5 ARGX-NC-076
4-Week toxicity study of efgartigimod in rats[b] PD readout: Total plasma IgG levels	Rat/Sprague Dawley (Crl:CD (SD))	IV (bolus, dose per approx. 15 sec)	0 (vehicle), 10, 30, 100 q2d for 4 weeks (15 doses), 28-day recovery	Satellite animals: IgG: 9F/9M	A reduction of IgG titers in all treatment groups was observed when compared to control. Peak IgG reduction was observed in males on days 7 or 9 and in females on days 7 to 13. PD effect appears maximal at 10 mg/kg as no dose-dependency was observed for IgG reduction.	Module 4.2.3.2-1 [redacted]33981

				Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species/ strain**	**Method of admin.**	**Doses (mg/kg)[a]**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**Study number**
PK/PD study of efgartigimod after a single IV bolus injection in rabbits PD readout: Total serum IgG level	Rabbit/ NZW	IV (slow bolus, dose per approx. 120 sec)	0 (vehicle), 2, 20, 100	3F	Efgartigimod showed reduced in vivo efficacy in rabbits in comparison to the PD in rabbits. A 20 mg/kg dose resulted in 17% IgG reduction whilst a 100 mg/kg dose reduced serum IgG levels by 36% compared to pre-dose levels. No PD effect was observed with the lower dose. Maximum reduction was achieved within 2 to 4 days postadministration.	Module 4.2.2.2-1 ARGX-NC-043
Dose-range finding of efgartigimod for an embryo-fetal development study in rabbits[b] PD readout: Total serum IgG level	Rabbit/ NZW	IV (slow bolus, dose per approx. 120 sec)	0 (vehicle), 10, 30, 100 q1d from day 6 to day 28 of gestation (23 doses)	3F	Efgartigimod reduced IgG levels up to 69% in the high dose group (100 mg/kg/day) with a maximum effect already at 10 mg/kg/day.	Module 4.2.1.1-9 ARGX-NC-065

				Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species/ strain**	**Method of admin.**	**Doses (mg/kg)[a]**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**Study number**
PK/PD study of efgartigimod in monkeys PD readout: IgG level	Monkey/ cynomolgus	IV (3-hour infusion)	Single dose: 0 (vehicle), 0.2, 2, 20, 200 Repeat dose: 20 (4 doses)	2F	Single dose: Enhanced clearance of tracer IgG (FR70-hIgG1, administered 48 h prior to efgartigimod / vehicle) or endogenous IgG levels was evident for animals dosed at 2, 20 or 200 mg/kg efgartigimod. A maximum PD effect was achieved starting from 20 mg/kg. Single administration of efgartigimod reduced endogenous IgGs by a maximum of approximately 55% on day 5. Repeat dose (every 24 hours for 4 days or once every 4 days on 4 occasions): From serum samples taken over 20 days, dosing efgartigimod once every 4 days resulted in a more profound and longer reduction of IgG levels (75% reduction from baseline values) than after receiving doses of efgartigimod every 24 hours for 4 consecutive days.	Module 4.2.1.1-6 ARGX-NC-078
Effect on cytokines and inflammation markers (IL-6, IL-8, IFN-γ, IL-1ß, IL-10, CRP, haptoglobin, serum amyloid A, prothrombin, α1-antitrypsin)	Monkey/ cynomolgus	IV (3-hour infusion)	Single dose: 0 (vehicle), 0.2, 2, 20, 200	2F	No noteworthy findings.	Module 4.2.1.1-6 ARGX-NC-078

				Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species/ strain**	**Method of admin.**	**Doses (mg/kg)[a]**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**Study number**
PK/PD study of efgartigimod upon single IV and SC administration in monkeys	Monkey/ cynomolgus	IV, 20 mg/mL (dose per approx. 15 sec) SC, 150 mg/mL	20 (old clone [redacted]) 20 (new clone [redacted])	3M	IV treatment with efgartigimod that originated from either clone [redacted] or clone [redacted] showed similar IgG reduction (~50%). SC injection of efgartigimod clone [redacted] resulted in similar IgG reduction as observed following IV injection (both drug substances derived from the same clone). Maximum PD effect was reached after 5 to 7 days with similar results for all groups.	Module 4.2.2.2-2 ARGX-NC-092
Single-dose toxicity study of efgartigimod in monkeys[b] PD readout: Total plasma IgG	Monkey/ cynomolgus	IV (2-hour infusion)	0 (vehicle), 10, 30, 50, 100 followed by 3 or 28 treatment-free days	Main study animals: 3F/3M Recovery animals: 2F/2M	IgG level decreases were seen for all groups when compared to the control group with peak value decreases on day 7 for most of the animals. IgG decrease compared to the control group appeared to be more pronounced in the high dose group and dose dependency more pronounced in male animals.	Module 4.2.3.1-1 [redacted]32188
4-Week toxicity study of efgartigimod in monkeys[b] PD readout: Total plasma IgG	Monkey/ cynomolgus	IV (2-hour infusion)	0 (vehicle), 3, 30, 100 q2d until day 29 (15 doses) followed by 28 treatment-free days	Main study animals: 3F/3M Recovery animals: 2F/2M	IgG level decreases were seen for all groups when compared to the control group. Maximal decrease was seen on day 9 in all dose groups. More pronounced decrease was noted in the mid-dose and high-dose group in female animals.	Module 4.2.3.2-2 [redacted]31554

				Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species/ strain**	**Method of admin.**	**Doses (mg/kg)[a]**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**Study number**
26-Week toxicity study of efgartigimod in monkeys[b] PD readout: Total plasma IgG	Monkey/ cynomolgus	IV (0.5-hour infusion)	0 (vehicle), 10, 30, 100 q7d until day 183 (27 doses) followed by 8 treatment-free weeks	Main study animals: 4F/4M Recovery animals: 2F/2M	Maximum decreases of IgG levels when compared to the control group were observed following administration of efgartigimod on day 8 and 15 for male animals and on day 8, 15, and 22 for female animals. No dose-dependency was noted.	Module 4.2.3.2 [redacted]33260
Evaluation of efgartigimod in a MuSK-MG passive transfer model (injecting total patient IgG and patient IgG4 fraction, purified from plasmapheresis material)	Mouse/ NOD/SCID	IP (therapy started 4 days after starting the injections with patient IgG)	**Study 1:** IgG total fraction: 0 (PBS), 1 mg/mouse.	3F	Injection of 1.84 g/kg/day of MuSK-MG patient IgG induced myasthenic signs and symptoms. **IgG total fraction of MuSK-MG patients:** Reduction in pathogenic anti-MuSK antibodies was observed in efgartigimod-treated mice. Daily treatment was started 4 days after start of daily IP dosing with anti-MuSK IgG fractions. Reduced exposure to anti-MuSK antibodies was paralleled with reduced disease symptoms, as noted in functional assessments (grip strength, mesh test) when compared to control animals up to day 15.	Module 4.2.1.1-7 ARGX-NC-079

				Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species/ strain**	**Method of admin.**	**Doses (mg/kg)[a]**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**Study number**
Evaluation of efgartigimod in a MuSK-MG passive transfer model (injecting total patient IgG and patient IgG4 fraction, purified from plasmapheresis material)	Mouse/ NOD/SCID	IP (therapy started 5 days after starting the injections with patient IgG4)	**Study 2:** IgG4 fraction: efgartigimod 0.5 mg/mouse, 0 (isotype control, wild-type Fc fragment), Control: 0 (PBS)	2F 1F healthy control (PBS)	Injection of 0.15 g/kg/day IgG4 induced myasthenic signs and symptoms. **Pathogenic IgG4 fraction:** Daily efgartigimod treatment from day 5 was able to reverse myasthenic symptoms caused by daily IP dosing of pathogenic anti-MuSK antibodies whilst isotype control animals continued to worsen towards the end of the study (grip strength, inverted mesh). Ex vivo electromyography confirmed the results of these functional assessments.	Module 4.2.1.1-7 ARGX-NC-079
Evaluation of efgartigimod in a MuSK-MG passive transfer model (injecting patient IgG4 fraction, purified from plasmapheresis material)	Mouse/ NOD/SCID	IP (therapy started 4 days after starting the injections with patient IgG4)	IgG4 fraction: efgartigimod 0.5 mg/mouse, 0 (isotype control, wild-type Fc fragment), Control: 0 (PBS) final assessment on day 11.	8F 5F healthy control (PBS)	Injection of 0.1 mg/g/day of MuSK-MG patient IgG4 induced myasthenic signs and symptoms. Daily treatment with efgartigimod 4 days after start of daily IP dosing reduced pathogenic anti-MuSK antibodies as compared to control animals. Reduced exposure to anti-MuSK antibodies was paralleled with reduced disease symptoms, as noted in functional assessments (grip strength, mesh test) when compared to control animals up to day 11.	Module 4.3 Huijbers, 2019

				Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species/ strain**	**Method of admin.**	**Doses (mg/kg)[a]**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**Study number**
Therapeutic evaluation of efgartigimod in a passive rat antibody transfer model for AChR-MG	Rat/Lewis	IP (prophy-lactic therapy started 24 hours and 2 hours before disease induction)	**Pilot phase:** 0 (PBS), 30 efgartigimod or wild type Fc fragment or anti-rat FcRn. **Confirmation phase:** 0 (vehicle), 50 efgartigimod	6F 10F/4F (healthy control)	Injection of 1 mg/kg of mAB35 (anti-AChR antibody) induced myasthenic signs and symptoms. **Pilot phase:** Efgartigimod reduced rat IgG levels (up to 55% reduction versus baseline levels within 48 hours after first injection). Efgartigimod-treated animals also showed reduced clinical score and increased grip strength compared to vehicle-treated rats, both assessed until 72 hours postinjection of rat anti-AChR antibody. **Confirmation phase:** Treatment with efgartigimod resulted in statistically significant functional improved disease score and grip strength compared to vehicle-treated rats, assessed until 72 hours postinjection of rat anti-AChR antibody. These clinical effects were paralleled by reduced endogenous IgG levels.	Module 4.2.1.1-8 ARGX-NC-080

AChR=acetylcholine receptor; CRP=C-reactive protein; ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay; F=female; Fc=fragment, crystallized; FcRn=neonatal Fc receptor; GLP=Good Laboratory Practice; Ig=immunoglobulin; IL=interleukin; IP=intraperitoneal; IV=intravenous; IVIg=intravenous immunoglobulin; K_d=equilibrium dissociation constant; M=male; mAb=monoclonal antibody; Mg=myasthenia gravis; MuSK=muscle-specific tyrosine kinase; NA=not applicable; NOD/SCID=non-obese diabetic/severe combined immunodeficiency; NZW=New Zealand White; PBS=phosphate-buffered saline; PD=pharmacodynamics; PK=pharmacokinetics; q1d= every day; q2d=every other day; q7d=once weekly; SC=subcutaneous; SPR=surface plasmon resonance

[a] Dose in mg/kg unless otherwise specified

[b] GLP study

2.6.3.3.　副次的薬理試験

				Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species/ strain**	**Method of admin.**	**Doses (mg/kg)**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**Study number**
In vitro						
Binding affinity to FCγR (FCγRI, FCγRIIa, FCγRIIb, FCγRIIIa) and C1q	Isolated human FCγR and C1q	NA	0.0033-550 nmol/L (wild-type Fc as control)	NA	Efgartigimod showed lower affinity to FcγRIIa, FcγRIIb, and FcγRIIIa than wild-type Fc. Affinity for FcγRI was not affected by ABDEG™ mutations. Affinity of efgartigimod to C1q was slightly lower compared to wild-type Fc fragment (EC_{50}: 9.93 nmol/L for wild-type Fc and 14.7 nmol/L for efgartigimod).	Module 4.2.1.1-1 ARGX-NC-074
Activation of NK cells	Human NK cells	NA	50 µg/mL	NA	No activation of NK cells.	Module 4.2.1.1-1 ARGX-NC-074
Signs of secondary pharmacology in in vivo studies						
4-Week toxicity study of efgartigimod in rats PD readout: IgA and IgM levels; serum albumin level	Rat/Sprague Dawley (Crl:CD (SD))	IV (dose per approx. 15 sec)	0 (vehicle), 10, 30, 100 q2d for 29 days (15 doses each), followed by 28-day recovery	Satellite animals: IgG: 9F/9M IgA, IgM: 3F/3M Main study animals: Albumin: 10F/10M Recovery animals: Albumin: 5F/5M	IgM and IgA levels were not affected by efgartigimod. Albumin levels were increased (11%-15%) during the treatment period in all efgartigimod-dosed groups compared to vehicle control with no indication for dose-dependency. Increase subsided during the 4-week recovery period.	Module 4.2.3.2-1 [redacted]33981

				Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species/ strain**	**Method of admin.**	**Doses (mg/kg)**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**Study number**
PK/PD of efgartigimod after a single IV infusion in cynomolgus monkeys PD readout: IgA and IgM level analysis	Monkey/ cynomolgus	IV (3-hour infusion)	Single dose: 0 (vehicle), 0.2, 2, 20, 200 Repeat dose: 20 (4 doses each)	2F	No biologically relevant effect on IgA and IgM.	Module 4.2.1.1-6 ARGX-NC-078
Single-dose toxicity study of efgartigimod in monkeys PD readout: IgA and IgM levels; serum albumin level	Monkey/ cynomolgus	IV (2-hour infusion)	0 (vehicle), 10, 30, 50, 100 followed by 3 or 28 treatment-free days	Main study animals: 3F/3M Recovery animals: 2F/2M	No biologically relevant effect on IgA, IgM, and albumin.	Module 4.2.3.1-1 [redacted]32188
4-Week toxicity study of efgartigimod in monkeys PD readout: IgA and IgM levels; serum albumin level	Monkey/ cynomolgus	IV (2-hour infusion)	0 (vehicle), 3, 30, 100 q2d until day 29 (15 doses) followed by 28 treatment-free days	Main study animals: 3F/3M Recovery animals: 2F/2M	No biologically relevant effect on IgA, IgM, and albumin.	Module 4.2.3.2-2 [redacted]31554
26-Week toxicity study of efgartigimod in monkeys PD readout: IgA and IgM levels; serum albumin level	Monkey/ cynomolgus	IV (0.5-hour infusion)	0 (vehicle), 10, 30, 100 q7d until day 183 (27 doses) followed by 8 treatment-free weeks	Main study animals: 4F/4M Recovery animals: 2F/2M	No biologically relevant effect on IgA, IgM, and albumin.	Module 4.2.3.2-3 [redacted]33260

C1q=complement protein 1q; EC_{50}=half maximal effective concentration; F=female; Fc=fragment, crystallized; FCγR=Fc gamma receptor, Ig=Immunoglobulin; IV=intravenous; IVIg=intravenous immunoglobulin; M=male; PBS=phosphate buffered saline; PD=pharmacodynamics; PK=pharmacokinetics; q2d=every other day; q7d=once weekly; NA=not applicable; NK=natural killer; sec=seconds

2.6.3.4.　安全性薬理試験

				Test article: efgartigimod			
Organ systems evaluated	**Species/ strain**	**Method of admin.**	**Doses (mg/kg)[a]**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**GLP compliance**	**Study number**
Central nervous system							
Functional observatory battery	Monkey/ cynomolgus	IV (0.5-hour infusion)	0 (vehicle), 10, 30, 100 (5 doses each)	2F/2M	No noteworthy findings. NOAEL for CNS function: 100 mg/kg q7d	Yes	Module 4.2.1.3-1 0AGX1
Cardiovascular system							
Hemodynamics, ECG	Monkey/ cynomolgus	IV (2-hour infusion)	0 (vehicle), 10, 30, 50, 100 followed by 3 or 28 treatment-free days	Main study animals: 3F/3M Recovery animals: 2F/2M	Within the scope of a single-dose toxicity study of efgartigimod: No noteworthy findings. NOAEL for heart and circulatory function: 100 mg/kg.	Yes	Module 4.2.3.1-1 [redacted]32188
Hemodynamics, ECG	Monkey/ cynomolgus	IV (2-hour infusion)	0 (vehicle), 3, 30, 100 q2d until day 29 (15 doses each) followed by 28 treatment-free days	Main study animals: 3F/3M Recovery animals: 2F/2M	Within the scope of a 4-week toxicity study of efgartigimod: No noteworthy findings. NOAEL for heart and circulatory function: 100 mg/kg q2d.	Yes	Module 4.2.3.2-2 [redacted]31554
Hemodynamics, ECG	Monkey/ cynomolgus	IV (0.5-hour infusion)	0 (vehicle), 10, 30, 100 q7d until day 183 (27 doses each) followed by 8 treatment-free weeks	Main study animals: 4F/4M Recovery animals: 2F/2M	Within the scope of a 26-week toxicity study of efgartigimod: No noteworthy findings. NOAEL for heart and circulatory function: 100 mg/kg q7d.	Yes	Module 4.2.3.2-3 [redacted]33260

				Test article: efgartigimod			
Organ systems evaluated	**Species/ strain**	**Method of admin.**	**Doses (mg/kg)[a]**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**GLP compliance**	**Study number**
Respiratory system							
Respiration rate	Monkey/ cynomolgus	IV (0.5-hour infusion)	0 (vehicle), 10, 30, 100 (5 doses each)	2F/2M	No noteworthy findings. NOAEL for respiratory function: 100 mg/kg q7d	Yes	Module 4.2.1.3-1 0AGX1

CNS=central nervous system; ECG=electrocardiogram; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; IV=intravenous; M=male; NOAEL=no observed adverse effect level; q2d=every other day; q7d=once weekly

[a] Dose in mg/kg unless otherwise specified

2.6.3.5.　薬力学的薬物相互作用試験

				Test article: efgartigimod/IVIg		
Type of study	**Species/strain**	**Method of admin.**	**Doses (mg/kg)**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**Study number**
PK/PD analysis of Fc-ABDEG when combined with IVIg	Mouse/Tg32 (hFcRn-transgenic)	IV (efgartigimod) IP (IVIg)	20 mg/kg (efgartigimod) 2 g/kg (IVIg)	5M	Presence of efgartigimod reduced the exposure to IVIg as compared to the control groups and this effect was more pronounced when dosing efgartigimod and IVIg simultaneously. In this setting IgG levels returned to baseline levels within 2 to 3 days whilst this was only achieved at day 14 (or 12 days after IVIg administration) in animals where efgartigimod administration preceded the IVIg administration by 2 days. In both experiments, treatment with IVIg did not affect the PK profile of efgartigimod.	Module 4.2.1.4-1 121510_IVFC

Fc=fragment, crystalized; hFcRn=humanized neonatal Fc receptor; IgG=immunoglobulin G; IP=intraperitoneal; IV=intravenous; IVIg=intravenous immunoglobulin; M=male; PD=pharmacodynamics; PK=pharmacokinetics