目次

略号一覧表 2
2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画の概要 4
2.4.2 薬理試験 6
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 7
2.4.2.2 副次的薬理作用 7
2.4.2.3 安全性薬理試験 8
2.4.2.3.1 中枢神経系 8
2.4.2.3.2 心血管系 8
2.4.2.3.3 呼吸系 9
2.4.2.4 薬力学的相互作用 9
2.4.3 薬物動態試験 9
2.4.3.1 吸収 9
2.4.3.2 分布 11
2.4.3.3 代謝 11
2.4.3.4 排泄 11
2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用 12
2.4.4 毒性試験 12
2.4.4.1 単回投与毒性試験 12
2.4.4.2 反復投与毒性試験 13
2.4.4.3 遺伝毒性試験 13
2.4.4.4 がん原性試験 13
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 14
2.4.4.6 局所刺激性試験 15
2.4.4.7 その他の毒性試験 15
2.4.4.8 非臨床毒性試験における lanadelumab の安全性マージン 15
2.4.5 総合的な概要及び結論 16
2.4.6 参考文献一覧 19

表

表 2.4.4-1 カニクイザルを用いた非臨床毒性試験における lanadelumab の曝露量及び 安全マージンの要約 16

図

図 2.4.1-1 血漿カリクレイン・キニン系 5

略号一覧表

略号	略していない表現又は説明	
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
ADCC	antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity	抗体依存性細胞傷害
APTT	activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AUC	area under the drug concentration-time curve	濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-last}}$	area under the concentration-time curve from time zero to the last observed concentration	0 時点から最終測定時点までの濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}168}$	area under the concentration-time curve from time zero to 168hr	0 時点から投与後 168 時間までの濃度－時間曲線下面積
C1-INH	C1-inhibitor	C1 インヒビター
CDC	complement-dependent cytotoxicity	補体依存性細胞傷害
CDR	complementary determining region	相補決定領域
cHMWK	cleaved high molecular weight kininogen	切断型高分子キニノーゲン
C_{max}	maximum concentration	最高濃度
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
ECG	electrocardiogram	心電図
ECL	electrochemiluminescent	電気化学発光
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	サンドイッチ酵素免疫測定法
ePPND	enhanced pre- and postnatal development	拡張型出生前及び出生後の発生
Fab	fragment antigen-binding	抗原結合フラグメント
Fc	fragment crystallizable	結晶化可能フラグメント
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
HAE	hereditary angioedema	遺伝性血管性浮腫
hERG	human ether-a-go-go related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HMWK	high molecular weight kininogen	高分子キニノーゲン
HRP	horseradish peroxidase	ホースラディッシュペルオキシダーゼ
HUVEC	human umbilical vein endothelial cells	ヒト臍帯静脈内皮細胞
ICH	International Council for Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
Ind#	individual number	個体番号
IP	intraperitoneal	腹腔内
IV	intravenous	静脈内
IVT	intravitreal	硝子体内（眼内）
K_D	dissociation constant	解離定数
K_i	inhibition constant	阻害定数
mAb	monoclonal antibody	モノクローナル抗体
mRNA	messenger RNA	メッセンジャーRNA
MSD	Meso Scale Discovery	メソスケールディスカバリー（社名）
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現又は説明	
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
pKal	plasma kallikrein	血漿カリクレイン
QTcB	Bazett's corrected QT	Bazett 式による心拍数に対する補正 QT
RLU	relative light unit	平均相対発光量
SC	subcutaneous	皮下
SD	Sprague-Dawley	－
SD	standard deviation	標準偏差
SDS-PAGE	sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis	ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動
SPEAD	solid phase extraction with acid dissociation	酸解離による固相抽出
SPR	surface plasmon resonance	表面プラズモン共鳴
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティク（ス）
T_{max}	time to reach C_{max}	最高濃度到達時間

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画の概要

Lanadelumab（TAK-743、DX-2930 及び SHP643）は、血漿カリクレイン（pKal）を標的とする遺伝子組換え完全ヒト型免疫グロブリン G（IgG）1 κ 軽鎖モノクローナル抗体（mAb）であり、チャイニーズハムスター卵巣細胞で産生される。Lanadelumab は、マウス、ラット、カニクイザル及びヒトの活性型 pKal の蛋白分解活性を強力かつ特異的に阻害する。Lanadelumab は、遺伝性血管性浮腫（HAE）における血管性浮腫発作の抑制薬として開発中であり、臨床予定投与経路は皮下（SC）投与である。

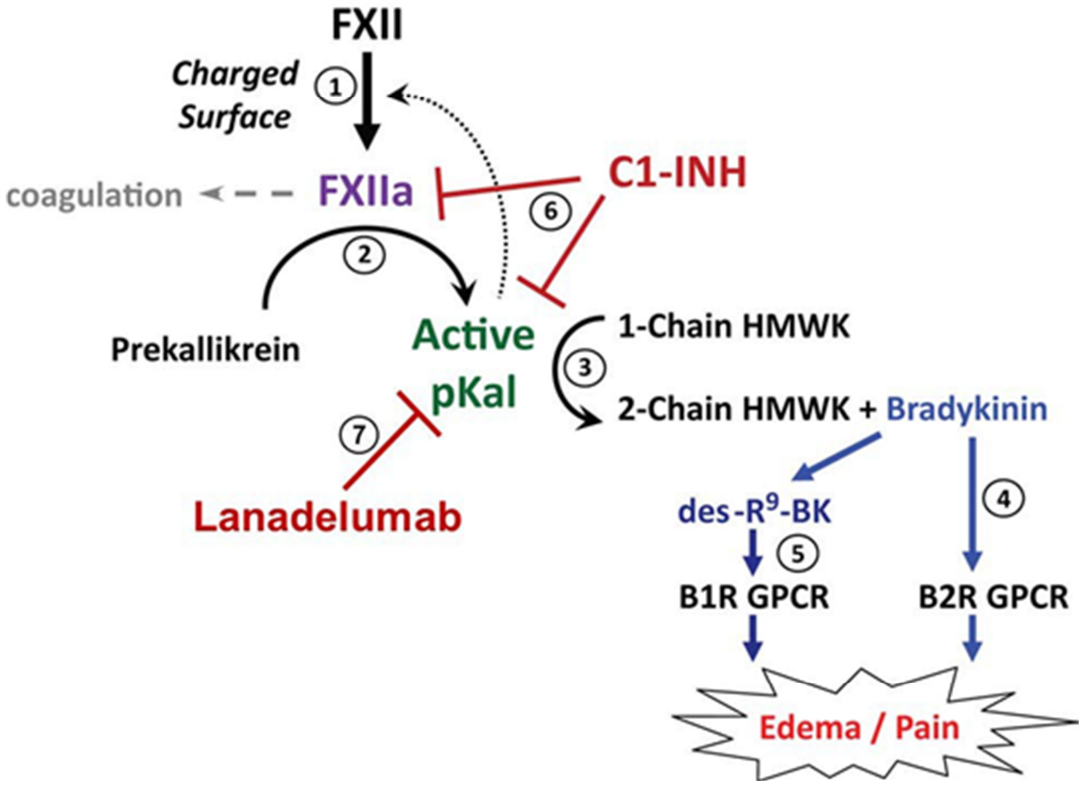
C1 インヒビター（C1-INH）は、pKal 活性の他、C1r、C1s、活性型第 XI 因子及び活性型第 XII 因子などのさまざまなプロテアーゼを制御する[1]。HAE は、C1-INH 遺伝子の変異によって引き起こされる重篤な生命を脅かす疾患であり、重度の衰弱をもたらす。HAE の臨床症状は、顔面、上気道（喉頭）、消化管、四肢及び／又は生殖器の予測できない間欠性の皮下浮腫又は粘膜下浮腫発作として発現する[2][3]。

HAE では、C1-INH 蛋白質の欠失（I 型 HAE）又は機能不全（II 型 HAE）が認められ[3]、カリクレイン・キニン系の調節不全に至る。その結果として生じる pKal 産生の制御不全は、HAE 患者の血管性浮腫発作を起こす重要な病態生理学的異常であると考えられている[4]。

カリクレイン・キニン系（又は接触相）は、凝固第 XII 因子、プレカリクレイン及び高分子キニノーゲン（HMWK）の 3 つの必須蛋白質で構成される。プレカリクレインから pKal の生成に至るカスケードは、第 XII 因子の自己活性化により開始される（図 2.4.1-1）。pKal は HMWK に作用して血管拡張作用を有するブラジキニンを産生し、同時に切断型高分子キニノーゲン（cHMWK）を産生する。ブラジキニンは内皮細胞上のブラジキニン B2 受容体に結合し、血管透過性を更新させることにより、組織の浮腫（腫脹）を引き起こす[5]。

血漿中 cHMWK は、HAE の重要な病理学的マーカーとして、HAE 患者におけるカリクレイン・キニン系活性化のバイオマーカーとなることが報告されている[6]。cHMWK は、pKal の蛋白分解活性により分解される HMWK からブラジキニンと同時に産生される。HAE 患者の血漿中 cHMWK 値は健康人に比べ上昇しており、HAE 患者ではカリクレイン・キニン系が慢性的に活性化していることが示されている[7]。

Lanadelumab は、内因性の C1-INH とは異なり、活性化 pKal による蛋白分解活性を強力かつ特異的に阻害する。また、抗体特有の薬物動態（PK）を有しており、その血漿中からの消失は緩やかである。したがって、Lanadelumab は、強力かつ特異的な pKal の蛋白分解活性の阻害を介してカリクレイン・キニン系の活性化を抑制することにより、HAE 発作の発現を長期的に抑制することが期待される。



出典：Kenniston JA et al. J Biol Chem, 2014;289:23596[8]を改変
BK：ブラジキニン、B1R：ブラジキニン B1 受容体、B2R：ブラジキニン B2 受容体、C1-INH：C1 インヒビター、FXII：第 XII 因子、GPCR：G 蛋白質共役受容体、HAE：遺伝性血管性浮腫、HMWK：高分子キニノーゲン、pKal：血漿カリクレイン、R：アルギニン
備考：血漿カリクレイン・キニン系（又は接触相）の反応は、（1）負に荷電した表面と接触する。（2）酵素前駆体である FXII の自己活性化で開始され、プレカリクレインが活性型 pKal に変換される。（3）この活性型 pKal により HWMK が切断され、切断型 HMWK（2 本鎖 HMWK）及びブラジキニンが産成される。また、pKal はさらに FXII を活性化し（点線矢印）、活性型 FXII は内因系経路を介して凝固反応を惹起する（破線矢印）。（4）ブラジキニンは B2R に結合して活性化する。（5）続いて血漿エキソプロテアーゼによる B1R の des-R^9-ブラジキニンが生成される。（6）活性型 pKal 及び活性型 FXII の内因性阻害因子である C1-INH が欠損した HAE 患者では、カリクレイン・キニン系の調節不全がみられる。（7）Lanadelumab は、プレカリクレインには結合せず、C1-INH の活性低下による HAE における pKal 制御を正常に回復させるように設計された、強力かつ特異的に pKal を阻害する完全ヒト型抗体であり、可逆的な阻害を受ける前に pKal の活性レベルを低下させると考えられる。

図 2.4.1-1　血漿カリクレイン・キニン系

Lanadelumab の開発をサポートする一連の非臨床試験は、医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイダンス S6（R1）及び該当する場合は ICH ガイダンス M3（R2）その他のガイドラインに準拠して実施した。Lanadelumab の開発をサポートするピボタルな毒性試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従って実施した。

効力を裏付ける試験、副次的薬理試験、安全性薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験を含む包括的な非臨床試験プログラムが完了している。ラット及びカニクイザルの pKal に対する阻害定数（K_i）はヒトと同程度であったことから、非臨床試験で使用する主な動物種としてラット及びカニクイザルを選択した（2.4.2.1）。臨床投与経路として SC 投与が予定されていることから、ピボタルな毒性試験は SC 投与で実施した。また、その他の投与経路として、HAE 発作の急性期治療（現時点で臨床試験は未実施）における臨床投与経路の候補である静脈内（IV）持続投与、及び眼科適応の可能性をサポートするための硝子体内（IVT）投与による毒性試験を実施した[9]。

Lanadelumab の薬理作用の検討に際し、in vitro では精製 pKal を用い、ex vivo では特定の接触相活性化物質を添加した血漿を用いて阻害定数（K_i）を測定し、in vivo ではラットを用いたカラゲニン誘発足蹠浮腫モデルを用いて評価した（2.4.2）。中枢神経系、心血管系及び呼吸系に対する作用を評価する安全性薬理評価項目をピボタルな反復投与毒性試験に組み入れた（2.4.2.3）。抗体医薬品などの高分子はヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）イオンチャネルとの相互作用を惹起する可能性はないと考えられたことから、*in vitro* hERG 試験は実施しなかった[10]。一方、カリクレイン・キニン系は炎症、血管拡張、凝固及び疼痛に関与していると考えられることから[11]、ピボタルな反復投与毒性試験において心血管系を含む上述の安全性薬理項目を評価した。

ラット及びカニクイザルから採取した血漿中の lanadelumab 及び抗薬物抗体（ADA）を測定するための、サンドイッチ酵素免疫測定法（ELISA）、酸解離による固相抽出（SPEAD）法及び電気化学発光（ECL）測定法を開発した（2.6.4.2）。

ラット及びカニクイザルを用いて PK／トキシコキネティクス（TK）プロファイルを評価した（2.4.3）。ADA についてはラット及びカニクイザルで、また lanadelumab の乳汁移行はカニクイザルで評価した。蛋白結合、組織分布、代謝、排泄及び薬物相互作用試験は実施しなかった（2.4.3.2、2.4.3.3、2.4.3.4）。

Lanadelumab の非臨床安全性及び忍容性プロファイルを単回投与、反復投与及び生殖発生毒性試験により評価した（2.4.4）。ラットでは ADA の発現率が高く、薬物曝露量が減少したこと、及びラットとカニクイザルの毒性プロファイルが類似していることから、ピボタルな 6 ヵ月間毒性試験に使用する動物種としてカニクイザル 1 種を選択した。反復投与試験の期間は ICH ガイダンス S6（R1）に従い、抗体医薬品の長期適応の裏付けとして十分であると考えられる 6 ヵ月間とした。すべてのピボタルな毒性試験において、標準的な病理組織学的検査を実施した。遺伝毒性試験及びがん原性試験は実施しなかった（2.4.4.3、2.4.4.4）。ICH ガイダンス S5（R2）及び ICH ガイダンス S6（R1）に従い、カニクイザルに適合した試験デザインで生殖発生毒性試験を実施した。受胎能試験では、性成熟した雄及び雌のカニクイザルを用いて受胎能に及ぼす影響を評価した。カニクイザルを用いた拡張型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験では、妊娠及び分娩、胚・胎児発生、生存、成長並びに生後 3 ヵ月までの出生仔の発育に及ぼす影響を評価した。

非臨床試験及び臨床試験に使用した lanadelumab 及び市販後に使用予定の lanadelumab は、製造プロセスの稼働性能、物理化学的構造、生物活性、特性評価及び不純物に関して同等であることが確認されている。非臨床試験では、すべて無菌ろ過した原薬又は製剤を使用した。非臨床毒性評価で使用した lanadelumab の使用ロットの一覧を 2.6.6 に記載した。

2.4.2 薬理試験

pKal は、HAE 治療における重要な標的である[4][12][13]。HAE では、C1-INH が欠損しているため pKal 活性が制御されず、過剰なブラジキニンが遊離される。ブラジキニンは強力な血管拡張作用を有し、HAE に特徴的な症状である限局性の腫脹、炎症及び疼痛を惹起する[12][13][14][15]。したがって、pKal 阻害によるブラジキニン産生量の制御は、HAE に対する合理的な治療戦略である。

Lanadelumab は、ブラジキニンの産生を抑制する非常に強力（K_i : 0.125 nM）かつ特異的な pKal 阻害薬であり、ブラジキニンがブラジキニン B2 受容体に結合することにより発現する血管漏出及び血管腫脹を抑制する[4][8]。また、HAE 発作時に産生される活性 pKal のみを標的として特異的に阻害するため、lanadelumab の有効濃度は血漿中の総プレカリクレイン濃度（約 500 nM）[16]を大きく下回り、活性型 pKal と同程度であると考えられる。さらに、lanadelumab は活性型 pKal に対して特異性を示し、プレカリクレインには作用しないことから、カリクレイン・キニン系が急速に活性化される際に生じる内因性 pKal の活性上昇を完全には抑制しない可能性がある。HAE 患者における pKal の活性に及ぼす lanadelumab の影響を、cHMWK を薬力学的マーカーとして評価した結果、lanadelumab の投与により患者の cHMWK レベルは低下したが、健康被験者よりなお高いレベルであることが示された（2.7.4）。消失半減期が長く有効血漿中濃度を長期間維持可能な lanadelumab により pKal 活性を持続的に制御することは、HAE の病態を管理するための妥当な方法である。

効力を裏付ける一連の in vitro 及び in vivo 試験において、lanadelumab の K_i 値、交差反応性、pKal に対する結合部位、ラット、カニクイザル及びヒト血漿中の生物活性、並びにカラゲニン誘発足蹠浮腫モデルにおける抗炎症作用を評価した。副次的薬理試験では、セリンプロテアーゼに対する特異性、並びに lanadelumab の抗体依存性細胞傷害（ADCC）及び補体依存性細胞傷害（CDC）誘発能を評価した。標準的な安全性薬理評価項目をラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験で評価した。

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

Lanadelumab は、HAE において接触相を過剰に活性化する酵素であるヒト pKal に対して強い阻害活性及び高い特異性を発揮する（K_i : 0.125 nM）。Lanadelumab は、評価した動物種のうちマウス、ラット及びカニクイザルの pKal をナノモル未満の濃度で強力に阻害した。ウサギの pKal に対する lanadelumab の阻害作用はそれほど強力ではなかった（K_i : 14.1 nM）。以上のデータに基づき、lanadelumab が薬理作用を発揮すると考えられるラット（K_i : 0.17 nM）及びカニクイザル（K_i : 0.069 nM）を選択して lanadelumab の安全性プロファイルを評価した。

HAE の非臨床モデルは確立されていないが、炎症反応の評価に用いたブラジキニン媒介性カラゲニン誘発足蹠浮腫モデル[17]は、これまでブラジキニン拮抗薬による浮腫抑制の *in vivo* 評価に用いられている[18]。Lanadelumab はこのモデルにおいて、カラゲニン誘発足蹠反応を用量依存的に抑制した（2.6.2）。また、ラット及びカニクイザル 4 週間 反復 SC 投与毒性試験の血漿を用いた、cHMWK 産生に及ぼす lanadelumab の作用を検討した結果、pKal 阻害を介した cHMWK 産生の用量依存的な抑制が示された。

2.4.2.2 副次的薬理作用

Lanadelumab は特異性の高い pKal 阻害薬であり、患者の血漿中の最高濃度（C_{max}）を超える濃度（1 μM 以上）においても、評価した 20 種類のセリンプロテアーゼのいずれに対しても阻害作用を示さなかった（2.6.2）。特に、lanadelumab が pKal とアミノ酸配列が最も類似するセリンプロテアーゼである活性型第 XI 因子（全長の蛋白質間のアミノ酸配列の類似性は 74%、触媒ドメインの類似性は 82%）を阻害しなかったことは、本抗体の pKal に対する特異性の高さを示している。また、lanadelumab は、pKal とは異なり、接触相によって活性

化されないキニノゲナーゼである組織カリクレインを阻害しなかった[19]。また、lanadelumabはpKalの活性部位に特異的に結合し、接触相活性化物質の非存在下で血漿中を循環するプレカリクレインとは相互作用を示さなかった。本抗体の活性型pKalに対する特異性は、ファージディスプレイ法による遺伝子操作によりpKalに対する親和性を増強させることで得られたものであり、プレカリクレインに結合することなく阻害作用を発揮してpKal活性の制御を改善し、血漿中のプレカリクレイン濃度（約500 nM）をはるかに下回る濃度でHAE発作を抑制する根拠を示した[16]。

Lanadelumabは、in vitroでのADCC及びCDC作用の欠如、並びに表面プラズモン共鳴（SPR）解析でFc受容体に高い結合能を示さないことに加え、pKalは主に血漿中で可溶性の酵素前駆体として循環し、接触相が活性化する際に内皮細胞と可逆的に結合することを考慮すると[20]、lanadelumabはエフェクター機能を惹起しないと考えられる。

2.4.2.3 安全性薬理試験

カリクレイン・キニン系は炎症、血管拡張、凝固及び疼痛に関与する可能性があるため[11]、ラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験で安全性薬理の評価項目を検討した。その結果、lanadelumabは生命維持に重要な機能に対して有害な作用を示さなかった。

2.4.2.3.1 中枢神経系

ラットにlanadelumabを5、25又は50 mg/kgの用量で週1回4週間（計5回）SC投与した場合、中枢神経系機能に対する作用は認められなかった。

2.4.2.3.2 心血管系

カニクイザルに5、25又は50 mg/kgの用量でlanadelumabを週1回4週間（計5回）SC投与した場合、Day 28の心電図（ECG）評価において、50 mg/kgの用量を投与した雄で投与後19～20時間及び21～22時間に統計学的に有意な心拍数の減少が認められ（それぞれ21.5%及び20.6%）、投与後約7～18時間にも統計学的有意差を伴わないものの心拍数の減少が観察された。同一評価期間中に、50 mg/kgの用量を投与した雄では、RR間隔の延長が認められ、この延長は投与後約7時間から始まり、投与後19～20時間及び21～22時間では統計学的に有意であった（それぞれ27.9%及び28.4%）。このRR間隔の延長は心拍数の減少と逆相関の関係にあった。これらの心拍数減少及びRR間隔延長はlanadelumabの投与と関連する可能性があるが、変化の程度が小さいこと、血漿中lanadelumab濃度の持続プロファイルにもかかわらず作用が一過性であること、他のECGパラメータ〔PR、QRS、QT、Bazett式による心拍数に対する補正QT（QTcB）及び波形〕に変化が認められないこと、一般状態所見が認められないこと、さらに心拍数の変化の程度は、試験実施施設で過去に実施したカニクイザル試験における心拍数の背景データベースライン値の2標準偏差以内であったことから、有害ではないと判断した。

その他、5及び25 mg/kg群の雄及び全用量群の雌でECGに対する作用は認められず、いずれの群においても血圧（収縮期血圧、拡張期血圧及び平均血圧）に対する作用は認められなかった。

カニクイザルに lanadelumab を 5、25 又は 50 mg/kg の用量で週 1 回 4 週間（計 5 回）IV 及び週 1 回 6 ヵ月間（計 27 回）SC 投与した場合、評価した心血管系パラメータに対する作用は 50 mg/kg まで認められなかった。

2.4.2.3.3 呼吸系

カニクイザルに lanadelumab を 5、25 又は 50 mg/kg の用量で週 1 回 4 週間（計 5 回）SC 又は IV 投与した場合、呼吸数に対する作用は認められなかった。

2.4.2.4 薬力学的相互作用

Lanadelumab に関して薬力学的相互作用試験は実施していない。

2.4.3 薬物動態試験

ラット(4 週間)及びカニクイザル(4 週間及び 6 ヵ月間)に単回及び反復 SC 投与し、lanadelumab の PK/TK プロファイルを評価した。また、カニクイザルを用いた 4 週間 IV 投与試験で lanadelumab の PK/TK プロファイルを評価した。本項では、PK 試験及び毒性試験で得られたデータの解析結果を示す。

ラット及びカニクイザルに lanadelumab を単回 SC 投与した場合の PK プロファイルは、一般的な IgG mAb の PK プロファイル[21]と同様の特徴を示した。ラットでは投与後 1～4 日、カニクイザルでは投与後 2～3 日で C_{max} に達した。両動物種とも、C_{max} 及び血漿中濃度曲線下面積（AUC）は、用量の増加に伴って増加した。見かけの消失半減期は、ラットで 2～4 日、カニクイザルで 6～13 日であった。カニクイザルに SC 投与した場合の lanadelumab のバイオアベイラビリティは約 66%であった。サルにおける lanadelumab の乳汁移行は低かった（0.20%）。Lanadelumab は IgG1 mAb であり、IgG の異化作用が十分に解明されていることから、ICH ガイダンス S6（R1）に従い、代謝試験は実施しなかった。また、lanadelumab はサイトカイン又はサイトカインを直接調節する因子ではないことから、ヒトにおいて代謝やトランスポーターを介した lanadelumab の薬物動態学的薬物相互作用のリスクは低いと考えられた。ラットでは lanadelumab の免疫原性が高く、反復投与後に曝露量が減少したことから、lanadelumab の毒性評価に用いる動物種としては限界があると考えた。一方、カニクイザルでは、SC 及び IV のいずれの投与経路においても免疫原性は低かった。カニクイザルでは、ADA 陽性を示した多くの個体が、同用量群における ADA 陰性を示した個体と同様の TK プロファイルを示した。

2.4.3.1 吸収

ラット及びカニクイザルのいずれにおいても、SC 又は IV 投与後の曝露量に明らかな性差は認められなかった。

ラットを用いて、SC 投与後の lanadelumab の薬物動態を評価した。ラットに 25 及び 50 mg/kg の用量を単回 SC 投与後の C_{max} 及び 0 時点から最終測定時点までの濃度―時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-last}}$）は用量の増加に伴って増加した。投与後約 1～4 日で C_{max} に達し、見かけの消失半減期は約 2～4 日であった。ラットに 5、25 又は 50 mg/kg の用量を週 1 回 4 週間反復 SC 投与した場合、反復投与した時の lanadelumab の血漿中濃度は、初回投与後に認められた濃

度に比べて低かった。25 及び 50 mg/kg 投与群では、lanadelumab の血漿中濃度は投与回数が増えるに伴って低下した。Lanadelumab はラットで免疫原性が高く、Day 29 における ADA の発現率は 79%であった。また、lanadelumab の用量が高いほど ADA の発現率が高く、また抗体価も高い傾向が認められた。反復投与後の全身曝露量は、ADA の発現と相関し大幅に減少した。5 mg/kg 投与群の雌を除き、Day 21 の曝露量は Day 0 に比べて顕著に低かった。

カニクイザルに lanadelumab を SC 及び IV 投与後の PK/TK プロファイルを評価した。25 及び 50 mg/kg の用量で lanadelumab を SC 投与した場合、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}last}$ は雌雄動物で差がなく、用量に比例して増加した。Lanadelumab の T_{max} は、25 mg/kg では雌雄動物でそれぞれ 60～72 時間、50 mg/kg では雌雄動物いずれも 48 時間であった。見かけの消失半減期は 229～255 時間であり、用量間で同程度であった。SC 投与した場合のバイオアベイラビリティは約 66%であった。Lanadelumab を単回 IV 投与した際のクリアランス及び分布容積は低く、見かけの消失半減期は 19 日間と長かった。

Lanadelumab をカニクイザルに 5、25 又は 50 mg/kg の用量で週 1 回 4 週間 SC 投与し、反復投与したときの TK を検討した。カニクイザルに反復 SC 投与した場合、lanadelumab の血漿中濃度はすべての用量で、Day 21 まで上昇し、その後 Day 28 まで同程度で推移した。Day 0 及び 21 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}last}$ は、雄では用量比をわずかに上回って増加し、雌では用量に比例して増加した。蓄積率は雄で 1～3.7、雌で 1.2～7.4 であった。T_{max} は投与後 8～168 時間の範囲であり、性別、用量又は評価日に関連した明らかな傾向は認められなかった。血漿からの lanadelumab の消失は緩徐で、見かけの消失半減期は、Day 21 の 50 mg/kg 投与群の雄 3 例で 182、215 及び 281 時間（平均 10 日間）、Day 21 の 50 及び 5 mg/kg 投与群の個々の雌で 73 及び 77 時間（約 3 日間）であった。Day 29 の時点で、22 例中 2 例（5 mg/kg 投与群の雌 1 例及び 50 mg/kg 投与群の雄 1 例）が ADA 陽性であった。この 2 例における lanadelumab の全身曝露量は、それぞれの群の他の動物と比較して低く、5 mg/kg 投与群の雌及び 50 mg/kg 投与群の雄の平均曝露量をそれぞれ約 23%及び 54%下回った。

Lanadelumab をカニクイザルに週 1 回 6 ヵ月間 SC 投与した場合、全身曝露量に明らかな性差は認められなかった。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}last}$ は、Week 0 及び 25 のいずれの時点でも 5～50 mg/kg の範囲で用量に比例して増加した。評価したいずれの週でも、T_{max} はすべての用量において 36～114 時間であった。Week 25 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}last}$ は Week 0 に比べて高かった。Lanadelumab の蓄積率は 2.41～3.35 であった。消失相の血漿中 lanadelumab 濃度の減少は緩徐で、ほぼ同程度で推移した。本試験における ADA の発現率は全体的に低く、28 例中 4 例（14%、5 mg/kg 投与群で 2 例及び 50 mg/kg 投与群で 2 例）で ADA の発現が認められたが、明らかな用量依存性は認められなかった。ADA 陽性の 4 例中 3 例では、それぞれの群の他の個体と同様の TK プロファイルを示したが、ADA 陽性の 1 例（5 mg/kg 投与群の雄）では抗体価が高く、全身曝露量が低かったことから、この個体では ADA が lanadelumab の全身曝露量に影響を及ぼした可能性が示された。

IV 投与した際の免疫原性は、SC 投与に比べて低かった。SC 投与による ADA 発現率は、4 週間 SC 反復投与で約 9%（2/22 例、5 及び 50 mg/kg 投与群各 1 例）、6 ヵ月間 SC 反復投与で約 14%（4/28 例、5 及び 50 mg/kg 投与群の各 2 例）に対し、4 週間 IV 投与では約 5%（1/22、50 mg/kg 群の雄）であった。ADA 陽性を示したカニクイザルのほとんどは、それぞれの群の他の動物と同様の TK プロファイルを示した。

カニクイザルを用いた ePPND 試験において、妊娠動物に SC 投与後の母動物及び出生仔の血漿中、並びに母動物の乳汁中の lanadelumab の TK プロファイルを検討した。母動物では、C_{max} 及び 0 時点から投与後 168 時間までの濃度－時間曲線下面積（AUC_{0-168}）は、概ね用量に比例して増加した。反復投与後、母動物で lanadelumab の蓄積が認められ、その比は 2.43～2.79 であり、妊娠 90 日までに定常状態に達した。母動物と出生仔の平均曝露比は 1～2.4 であり、出生仔の曝露量は母動物よりも低いことが示された。生後 7、21 及び 90 日に測定した出生仔の曝露量は、母動物の投与量の増加に伴い増加し、生後 7 日に最大となり、その後 21 及び 90 日に減少した。

母動物の血漿中濃度対乳汁中濃度比は 10 mg/kg 投与群で 576、50 mg/kg 投与群で 514 であったことから、妊娠期の母動物に lanadelumab を SC 投与したとき、分娩後の母動物の血漿中の lanadelumab の約 0.20%が乳汁中に移行することが示された。

母動物及び生存出生仔の両方で ADA を評価した。カニクイザルの母動物及び出生仔では、10 及び 50 mg/kg 投与群のいずれにおいても ADA が検出された。母動物が ADA 陽性である場合、その出生仔も ADA 陽性であった。しかし、ADA の発現率は低く、出生仔の ADA 発現率は 11%であり、母動物の発現率（14%）と同程度であった。妊娠期及び分娩後の母動物及び出生仔における全体的な ADA 発現率は、対照群で約 6%、lanadelumab 投与群では約 13%であった。10 mg/kg の用量を投与した母動物 1 例とその出生仔で曝露量が、同一群の他の動物と比較して顕著に低かったことを除き、全体的に lanadelumab の曝露量に対して ADA の顕著な影響は認められなかった。

2.4.3.2 分布

Lanadelumab は血中で作用を発揮する IgG1 mAb であるため、蛋白結合及び組織分布試験は実施しなかった。カニクイザルに IV 投与した場合、lanadelumab の分布容積は血漿量と同程度であり、IgG mAb で予想される低組織移行性[21]を示した。

2.4.3.3 代謝

ICH ガイダンス S6（R1）に従い、IgG の異化作用が十分に解明されていることから、lanadelumab の代謝試験は実施しなかった。Lanadelumab は IgG1 mAb であるため、他の内因性抗体と同様、肝及び網内系による蛋白分解、標的介在性の消失、非特異的エンドサイトーシスなどを介して代謝される可能性が高い[22]。カニクイザルに lanadelumab を IV 投与した場合の全身クリアランスは低く、IgG mAb で予想される特徴[21]を示した。

2.4.3.4 排泄

Lanadelumab は IgG1 mAb であるため、内因性抗体と同じ経路[22]で排泄される可能性が高い。したがって、lanadelumab の排泄を検討する試験は実施していない。IV 投与後の見かけの消失半減期は、ラットで約 2～4 日、カニクイザルで約 12～19 日であった。

カニクイザルを用いた ePPND 試験において、lanadelumab の乳汁移行を評価した。出生後 7 及び 28 日の乳汁中に lanadelumab が検出された。10 及び 50 mg/kg の用量を投与した際の血漿中濃度/乳汁中濃度比はそれぞれ 576 及び 514 であり、妊娠期間中に母動物に SC 投与した場合、分娩後の母動物血漿の lanadelumab の 0.20%が乳汁中に移行することが示された。

Lanadelumab は IgG1 mAb であり、FcRn 受容体を介して胎盤輸送される IgG サブクラスとして最も効率的に輸送されることが知られている[23]ことから、妊娠中に胎盤を通過する可能性が高い。ePPND 試験では、妊娠期間中に母動物に投与した場合、出生仔で lanadelumab の曝露が認められた。生後 7 日に最も高い曝露が認められたことから、妊娠期間中の胎盤通過による胎仔への移行及び生後の出生仔への乳汁を介した移行があると考えられる。

2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用

Lanadelumab の薬物相互作用の試験は実施していない。Lanadelumab は高分子量の糖蛋白質（IgG1 抗体）であり、サイトカイン又はサイトカインを直接調節する因子ではないことから、ヒトにおける代謝及びトランスポーターを介した薬物動態学的薬物相互作用のリスクは低いと考えられる[24]。

2.4.4 毒性試験

In vitro 薬効評価試験（2.6.2.2）において、ラット及びカニクイザルの pKal に対する阻害定数（K_i）はそれぞれ 0.17 及び 0.069 nM と、ヒト（K_i : 0.125 nM）と同程度であったことから、毒性試験で使用する動物種としてラット及びカニクイザルを選択した。ラットでは ADA の発現率が高く、薬物曝露量が減少したことに加え、ラットとカニクイザルの毒性プロファイルが類似していることから、6 ヵ月間毒性試験に使用する動物種としてカニクイザルを選択した。

毒性試験 SC 投与時の最高用量を 50 mg/kg と設定するにあたり、臨床有効濃度の推定のために以下の 2 点を考慮した。第 1 に、HAE 発作中に生成される pKal の量は 30～110 nM と推定されている[25]。第 2 に、米国で HAE 発作の急性治療薬として承認されており、pKal を阻害する 60 アミノ酸残基からなる遺伝子組換えペプチドである Kalbitor®（ecallantide）の C_{max} は 586 ng/mL（約 80 nM）である[26]。これらから、臨床試験では lanadelumab の有効濃度として約 80 nM（12 µg/mL）を目標として設定した。カニクイザルを用いた最初のピボタルな 4 週間反復投与毒性試験において 50 mg/kg の用量で平均 C_{max} が 1310 µg/mL に達したことから、最初の試験において、臨床最大曝露の少なくとも 10 倍以上の曝露量が達成されたものと考えられた。臨床投与経路として SC 投与が予定されていることから、ピボタルな毒性試験は SC 投与で実施した。また、HAE 発作の急性期治療（現時点で臨床試験は未実施）における臨床投与経路の候補である IV 持続投与における毒性を単回及び 4 週間試験において評価した。その他、眼科適応の可能性をサポートするため、ウサギ及びカニクイザルを用いた IVT 投与試験を実施した。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

ラット及びカニクイザルを用いて、50 mg/kg を最高用量として単回 SC 投与毒性試験を実施した。無毒性量（NOAEL）はいずれの動物種でも 50 mg/kg であった。この他に、異なる施設で製造された、又は濃度の異なる lanadelumab の忍容性及び同等性を評価するための単回 SC 投与毒性試験（2 試験）を実施した。このうち、雌のカニクイザルを用いた試験では、異なる施設で製造された濃度の異なる 2 ロット（それぞれ 100 mg/mL 又は 147 mg/mL）の lanadelumab を 20 mg/kg の用量で投与した。100 mg/mL のロットは、[redacted] 社（旧 [redacted]

[redacted]社）が製造した第 1 相臨床試験（DX-2930-01 及び DX-2930-02）で使用した製剤、147 mg/mL のロットは、第 3 相試験（DX-2930-03 及び DX-2930-04）用の原薬を製造した施設（[redacted]）で製造した原薬である。いずれのロットも忍容性は良好であり、明らかな毒性は認められなかった。また、雄性カニクイザルを用いた試験では、2 種類の濃度（103 mg/mL 及び 207 mg/mL）の lanadelumab を 20 mg/kg の用量で投与した。この試験でも、いずれの投与群も忍容性は良好であり、明らかな毒性は認められなかった。さらに、カニクイザルに lanadelumab を単回 IV 持続投与（約 10 分間）した試験においても、最高用量の 50 mg/kg まで忍容性は良好であった。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

ラット（4 週間 SC 投与、投与開始時点で約 9～10 週齢の動物を使用）及びカニクイザル（4 週間 SC 又は IV 投与及び 6 ヵ月間 SC 投与、投与開始時点で約 2～5 歳の動物を使用）に lanadelumab を 5、25 又は 50 mg/kg の用量で投与した場合の忍容性は良好であり、毒性所見は認められず、すべての試験で各動物種の NOAEL はいずれも 50 mg/kg であった。

ラットに lanadelumab を 4 週間反復投与した場合、高い免疫原性が認められた。Day 29 までに 5 mg/kg 投与群では 65%の動物が、25 及び 50 mg/kg 投与群では 90%を超える動物が ADA 陽性と判定されたことと相関し、ほとんどのラットで lanadelumab の曝露量が大幅に減少し、50 mg/kg における Day 21 の曝露量は Day 0 の曝露量の 1/2～1/100 であった。ADA の発現率が高く、また lanadelumab の曝露量に及ぼす影響を考慮して、その後の試験ではラットを使用せず、ICH ガイダンス S6（R1）に基づき、長期（6 ヵ月間）毒性試験ではカニクイザルを使用した。

ラットでは、週 1 回 4 週間 SC 投与した際に、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の延長が、雄では全投与群（対照群に比べて 10.3%～18.3%）、雌では 25 及び 50 mg/kg 投与群（同 12.1%～15.5%）に認められた。pKal 活性の低下は内因系凝固経路を抑制するため、この APTT の延長は lanadelumab の間接的な薬理作用であり、毒性ではないと考えられた。カニクイザルを用いた反復 SC 投与試験では、APTT への影響は認められなかった。

ラット及びカニクイザルに反復 SC 投与後、溶媒又は lanadelumab 群の投与部位に炎症性細胞浸潤や出血等の病理組織学的所見が認められた。これらは投与操作によるもので lanadelumab に起因しないと考えられる変化、又は回復性が確認された変化であった。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

ICH ガイダンス S6（R1）に従い、lanadelumab の遺伝毒性試験は実施しなかった。Lanadelumab は遺伝子組換え完全ヒト型 IgG1 κ 軽鎖 mAb であり、すべて天然のアミノ酸で構成されており、無機又は合成リンカーや他の非蛋白質部分を含まない。したがって、DNA や他の染色体物質と直接相互作用することはないと考えられる。さらに、その作用機序及び作用部位（pKal を標的とする）に基づくと、遺伝毒性のリスクはないと考えられる。

2.4.4.4 がん原性試験

Lanadelumab のがん原性試験は実施しなかった。ラットでは lanadelumab の免疫原性が高く、反復投与することによりその全身曝露量が顕著に減少したことから、げっ歯類を用いた 2 年

間の試験では、生物学的に意義のあるデータは得られないと考えられた。ヒトに対する lanadelumab のがん原性リスクを、薬理作用、作用機序、文献情報、反復投与毒性試験の結果、並びに lanadelumab 及び急性 HAE 発作治療薬として海外で承認されている Kalbitor®（ecallantide）の臨床成績に基づいた weight of evidence（証拠の重みづけ）アプローチにより評価した。その結果、lanadelumab の発がん性リスクは低いものと考えられた（4.2.3.4.3-1）。

ブラジキニンなどのキニン類は血管透過性、有糸分裂及び増殖を亢進させる他、血管新生を促進する[27][28][29]。キニン産生とは別に、pKal は、latent transforming growth factor-β を活性化することにより、慢性膵炎や膵癌において線維化を促進し[30]、また in vitro では血管平滑筋においてプロテアーゼ活性型受容体の活性化を介して上皮成長因子受容体のトランス活性化を促進することが示されている[31]。さらに、発がんの機序において接触相の関与が推定されることから、活性型第 XII 因子又は pKal の阻害、若しくはキニン受容体拮抗のいずれかを介して接触相を標的とする薬物は発がんを防ぐ可能性がある[32][33]。

米国で急性 HAE 発作を適応症として承認されているアミノ酸 60 残基からなる pKal の遺伝子組換えペプチド阻害薬である Kalbitor®（ecallantide）の 2 年間のラットがん原性試験において、被験物質に関連した腫瘍性所見は認められなかった。また、臨床で 7 年間にわたって Kalbitor®（ecallantide）を投与して pKal を阻害しても発がん性を示すデータは認められなかった。さらに、カニクイザルに lanadelumab を週 1 回 6 ヵ月間投与した場合でも、腫瘍性病変又は前がん病変は認められず、免疫抑制の徴候も認められなかった（4.2.3.2-3）。プレカリクレイン欠損患者の予後は同年齢の健康人と同様であると考えられており、発がんリスクの増加は認められていない[34]。また、これまでの臨床経験では、lanadelumab の投与に関連がない悪性腫瘍（腎部線維肉腫）の再発が DX-2930-04 試験の被験者 1 例に認められたのみであり、本被験者は線維肉腫切除のため外科手術を受け、治験を継続した（2.7.4）。上述のように、lanadelumab の薬理作用又は作用機序に関連した発がんリスクを示すデータはこれまでに確認されていない。以上を総合的に考察し、lanadelumab をヒトに長期投与した場合の発がんリスクは低いものと結論づける。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

受胎能試験では、性成熟したカニクイザル（投与開始時点で雄性動物は約 5～6 歳、雌性動物は約 3～8 歳）に lanadelumab を 10 又は 50 mg/kg の用量で週 1 回 13 週間 SC 投与した。すべての動物が計画剖検時まで生存し、忍容性は良好であった。一般状態、体重、皮膚刺激スコア、臨床病理所見、精子検査（精液試料重量、総精子数、精液中精子濃度、精子運動性（%）及び形態）、精巣サイズ及び月経周期の長さに lanadelumab の投与に関連した影響は認められず、器官重量、肉眼及び病理組織学的検査並びに精子形成ステージの所見にも lanadelumab 起因の影響は認められなかった。無影響量は最高投与量である 50 mg/kg と判断された。

ePPND 試験では、妊娠カニクイザルに lanadelumab を投与した場合の、妊娠及び分娩並びに胚・胎児発生、出生仔の生存、成長及び出生後発生に及ぼす影響を評価した。Lanadelumab をカニクイザルの母動物に 10 又は 50 mg/kg の用量で妊娠 20 日から分娩（妊娠約 162 日）まで週 1 回 SC 投与した場合、死亡例は認められず、母動物及び出生仔の一般状態、体重、体重増加、妊娠期間及び周産期死亡（流産及び死産）、また臨床病理検査に lanadelumab の投与に関連した影響は認められなかった。出生仔の発育・形態、行動・機能、器官重量、剖検

及び病理組織学的検査に lanadelumab の投与に関連した影響は認められず、母動物及び出生仔における忍容性は良好であった。NOAEL は投与した最高用量である 50 mg/kg と考えられた。

2.4.4.6 局所刺激性試験

局所刺激性は反復投与毒性試験で評価した。ラットに週 1 回 4 週間 SC 投与後の病理組織学的検査で、溶媒又は lanadelumab 群の投与部位に出血や炎症性細胞浸潤が認められた。カニクイザルに週 1 回 4 週間又は 6 ヵ月間 SC 投与した場合も、投与終了時に同様の所見が認められた。これらの所見は全体的に軽微～軽度であり、投与操作によるもので lanadelumab に起因しないと考えられる変化、又は回復性が確認された変化であった。

2.4.4.7 その他の毒性試験

正常ヒト組織における lanadelumab の交差反応性を確認することを目的として組織交差反応性試験を実施した。その結果、lanadelumab に特異的な軽微（1+）～軽度（2+）の細胞質陽性像が内皮細胞及び種々の器官の特定の神経組織に認められた。内皮細胞及び神経組織における lanadelumab の特異的染色は、文献で報告されている pKal の染色パターンと一致した[35][36][37]。プレカリクレイン mRNA 及び pKal 蛋白質は、ヒトの脳（神経細胞体、上衣細胞及び下垂体の分泌細胞など）で観察されている[36]。

pKal は、主に不活性型の酵素前駆体であるプレカリクレインとして存在するが、lanadelumab はプレカリクレインに結合しない[8]。これまでの研究から、免疫組織化学用の組織処理過程により ex vivo で接触相が活性化され、pKal が生成されることが示唆されている[37]。したがって、この in vitro 解析結果は lanadelumab の in vivo における組織交差反応性を正確に反映するものではないと考えられる。

眼科適応の可能性を考慮して、ウサギ及びカニクイザルを用いた用量漸増単回 IVT 投与試験を実施し、IVT 投与による最大耐量（MTD）を検討した。その結果、MTD はウサギでは 2 mg/eye、カニクイザルでは低用量として設定した 1 mg/eye 未満と判断された。

2.4.4.8 非臨床毒性試験における lanadelumab の安全性マージン

Lanadelumab の非臨床毒性試験において得られたサルにおける長期（6 ヵ月間）投与後の C_{max} 及び AUC をヒトと比較した結果、ヒトにおける曝露マージンはそれぞれ 22 倍及び 23 倍以上であることが示された。なお、カニクイザルの NOAEL（受胎能試験では無影響量）は各試験とも最高用量の 50 mg/kg であり、いずれの非臨床試験でも毒性所見は認められなかった。

表 2.4.4-1　カニクイザルを用いた非臨床毒性試験における lanadelumab の曝露量及び安全マージンの要約

Type of Study	NOAEL (mg/kg/wk)	C_{max} (µg/mL)	AUC (µg·d/ mL)	Exposure Margins (Study DX-2930-03)					
				150 mg Q4W		300 mg Q4W		300 mg Q2W	
				C_{max}	AUC[a]	C_{max}	AUC[a]	C_{max}	AUC[a]
皮下／4 週 1 回／週、5 回投与	50	1310	6375[b]	109	109	57	58	39	31
皮下／6 ヵ月 1 回／週、27 回投与	50	744	4625[c]	62	79	32	42	22	23
皮下／13 週 1 回／週、受胎能	50	711	4292[d]	59	74	31	39	21	21
皮下／約 20 週 1 回／週、ePPND	50	1110	6625[e]	93	114	48	60	33	32

AUC：血漿中濃度－時間曲線下面積（6 ヵ月及び ePPND 試験は $AUC_{0\text{-}168}$、他の試験は $AUC_{0\text{-}last}$、本表での単位表記は µg·d/mL）、C_{max}：最高濃度、ePPND：拡張型出生前及び出生後の発生、NOAEL：無毒性量、Q2W：2 週に 1 回投与、Q4W：4 週に 1 回投与

(a)　マージンは、臨床での投与レジメンを用いて非臨床での投与レジメンで補正することにより算出した（すなわち、臨床での投与レジメンが 2 週間に 1 回又は月 1 回の場合、非臨床での AUC に 2 又は 4 を乗じてマージンを算出した）。

(b)　Day 21～28

(c)　Day 175～182

(d)　Day 85～92

(e)　妊娠 146 日～153 日

備考：曝露マージンの算出には以下の臨床試験の定常状態における Cmax 及び投与間隔毎の AUC を使用した：
DX-2930-03 試験における 150 mg Q4W 投与群：C_{max}：12 µg/mL、AUC：233 µg·d/mL
DX-2930-03 試験における 300 mg Q4W 投与群：C_{max}：23 µg/mL、AUC：441 µg·d/mL
DX-2930-03 試験における 300 mg Q2W 投与群：C_{max}：34 µg/mL、AUC：408 µg·d/mL

2.4.5 総合的な概要及び結論

Lanadelumab は、pKal を標的とする遺伝子組換え完全ヒト型 IgG1 κ 軽鎖 mAb であり、HAE 患者における血管性浮腫発作の抑制薬として開発中である。本項に記載する非臨床薬理試験、PK 及び毒性試験結果は、HAE 患者に SC 投与した場合の lanadelumab の安全性を適切にサポートするものと考えられた。

Lanadelumab の薬理作用に関して、in vitro では精製 pKal を用い、ex vivo では特定の接触相活性化物質を添加した血漿を用いて K_i 値を測定し、in vivo ではラットを用いたカラゲニン誘発足蹠浮腫モデルを用いて評価した。Lanadelumab はラット、カニクイザル及びヒトの pKal をナノモル未満の K_i 値（それぞれ 0.17、0.069 及び 0.125 nM）で阻害した。接触相を活性化物質で処理した血漿中に産生される pKal 活性のバイオマーカーである cHMWK の阻害を検出するウェスタンブロット法により、lanadelumab を投与したヒト、ラット及びカニクイザルの血漿を用いた ex vivo 試験において、lanadelumab は生物活性を示した。Lanadelumab はラットカラゲニン誘発足踵浮腫モデルで浮腫を抑制した。ラットカラゲニン誘発足踵浮腫モデルにおけるブラジキニンの役割は、ブラジキニン B2 受容体拮抗薬であるイカチバントの薬理活性により実証されている[18]。カラゲニン誘発足踵浮腫は HAE の非臨床モデルではないが、本モデルで認められる浮腫の軽減は、in vivo での lanadelumab による pKal の阻害を介したブラジキニンの産生抑制を反映している。また、ラット及びカニクイザルを用いた 4 週間反復 SC 投与毒性試験では、lanadelumab の薬理作用として、投与した動物の血漿を用いたウェスタンブロット法により、pKal 阻害による cHMWK 産生の用量依存的な低下が認められた。

ラット及びカニクイザルを用いた 4 週間 SC 投与毒性試験並びにカニクイザルを用いた 4 週間 IV 投与及び 6 ヵ月間 SC 投与毒性試験に安全性薬理評価項目（中枢神経系、心血管系及び呼吸系）を組み入れた。ラット及びカニクイザルに lanadelumab を最大 50 mg/kg の用量で週 1 回 4 週間 SC 投与した試験において、ラットの中枢神経系又はカニクイザルの血圧及び呼吸系に対する作用は認められなかった。サルでは、4 週間反復 SC 投与試験において、50 mg/kg 投与群の雄で心拍数の減少及びそれに伴う RR 間隔の延長が認められ、これらは lanadelumab に関連する可能性があると判断された。この作用は軽微であり、他の ECG パラメータに変化が認められないこと、また心拍数の値は試験実施施設で過去に実施した試験の背景データベースライン値の 2 標準偏差以内であったことから、有害ではないと判断された。カニクイザルにおける 4 週間 IV 及び 6 ヵ月間 SC 投与試験では、評価した心血管系パラメータに対する作用は 50 mg/kg まで認められなかった。

Lanadelumab の非臨床 PK/TK 特性は、生殖発生毒性試験を含むすべての非臨床安全性試験において評価した。ラット及びカニクイザルに lanadelumab を単回 SC 投与した場合の PK プロファイルは、一般的な IgG mAb の PK プロファイルと同様の特徴を示した[21]。ラットでは投与後 1～4 日、カニクイザルでは投与後 2～3 日で C_{max} に達した。両動物種とも、C_{max} 及び AUC は、用量の増加に伴って増加した。見かけの消失半減期は、ラットで 2～4 日、カニクイザルで 6～13 日であった。カニクイザルに SC 投与した場合の lanadelumab のバイオアベイラビリティは約 66%であった。

ラットでは lanadelumab の免疫原性が高く、ADA 発現率は投与前が 4%であったのに対し、Day 29 では 79%であった。また、lanadelumab の用量が高いほど ADA の発現率が高く、また抗体価も高い傾向が認められた。反復投与後の全身曝露量は、ADA の発現と相関し大幅に減少した。5 mg/kg 投与群の雌を除き、Day 21 の曝露量は Day 0 に比べて顕著に低かった。ADA の発現率が高いこと及び ADA が lanadelumab の曝露量に及ぼす影響を考慮して、6 ヵ月間毒性試験ではカニクイザルを使用した〔ICH ガイダンス S6（R1）に準拠〕。ラットとは異なり、カニクイザルにおける lanadelumab の ADA 発現率は概して低く、ADA の発現及び抗体価に明確な用量依存性は認められなかった。週 1 回の SC 投与を最長 6 ヵ月間行った場合、ADA 反応を持続的に発現した動物の割合は 9%～14%であった。IV 投与は SC 投与に比べて免疫原性が低く、4 週間の IV 投与後の ADA の発現率は約 5%であった。カニクイザルでは ADA を発現した場合も lanadelumab の曝露量に対する影響は認められなかった。

カニクイザルを用いた ePPND 試験では、IgG1 の挙動と一致して、lanadelumab の乳汁移行性は低く、母動物血漿からの lanadelumab の乳汁移行は約 0.20%であった。出生仔における lanadelumab の曝露量を、生後 7、21 及び 90 日に測定した。出生仔における曝露量は、母動物へ投与した用量に比例して増加し、生後 7 日に最大となった。母動物対出生仔の曝露比は 1～2.4 であった。カニクイザルの出生仔における ADA 発現率は 11%であり、母動物で認められた ADA 発現率（14%）と同程度であった。出生仔の ADA は生後 7 日という早期に検出され、母動物及びその出生仔の間で ADA の発現に関して相関性が認められたことから、母動物から出生仔への ADA の胎盤移行が示唆された。

全般的に、lanadelumab は IgG1 mAb から予想される典型的な PK プロファイルを示した。すなわち、ラット及びカニクイザルでは低クリアランスかつ低分布容積で長い消失半減期を示し、カニクイザルでの SC 投与時のバイオアベイラビリティは良好（約 66%）であった。

カニクイザルにおける lanadelumab の乳汁移行は低かった（0.20%）。ヒトにおいて代謝やトランスポーターを介した lanadelumab の薬物動態学的薬物相互作用のリスクは低いと考えられる。

ラットに lanadelumab を 4 週間 SC 投与した場合、投与した最高用量である 50 mg/kg（NOAEL）でも忍容性は良好であった。また、カニクイザルを用いた 4 週間及び 6 ヵ月間反復投与試験で lanadelumab を最大 50 mg/kg（NOAEL）の用量で SC 又は IV 投与した場合も忍容性は良好であった。Lanadelumab を 4 週間 SC 投与したラットにおいて統計学的に有意な APTT の延長（対照群に比べて最大 18.3%）が認められたが、毒性ではないと考えられた。接触相活性化物質を介した内因系凝固経路の活性化には pKal 活性が必要であるため[38]、APTT の延長は pKal 阻害の間接的な薬理作用と考えられる[39]。APTT アッセイでは pKal 誘発性のフィブリン形成が重要であるが、ラット及びカニクイザルの血液凝固系パラメータに対して lanadelumab は毒性学的に意義のある作用を示さなかった。また、ヒトでは、第 XII 因子やプレカリクレインの欠損が特発性出血や外科手術中の異常出血と関連していないことが明らかになっている[40]。さらに、pKal 活性の低下による APTT の延長は有害な止血とは関連していないことが報告されている[39]。

Lanadelumab は完全ヒト型免疫グロブリン分子であり、その薬理学的作用機序から発がん性のリスクを増大させることはなく、またいずれの非臨床試験においても過形成、前がん病変又は腫瘍性病変を示すデータは認められず、ヒトにおける発がん性のリスクは低いと考えられる。

性成熟した雌雄のカニクイザルを用いた受胎能試験及び妊娠カニクイザルを用いた ePPND 試験において、lanadelumab の生殖発生毒性は認められなかった。

反復 SC 投与毒性試験における注射部位の所見は、投与期間終了時に溶媒対照群と lanadelumab 投与群の両群で認められた出血や炎症性細胞浸潤等の病理組織学的所見のみであり、これらの所見は回復期間中に消失した。

組織交差反応性試験において、内皮細胞及び神経組織における lanadelumab に特異的な染色は、文献で報告されている染色パターンと一致する[35][36][37]。プレカリクレイン mRNA 及び pKal 蛋白質は、ヒトの脳（神経細胞体、上衣細胞及び下垂体の分泌細胞など）で観察されている[36]。pKal は、主に不活性型チモーゲンであるプレカリクレインとして存在するが、プレカリクレインは lanadelumab に結合しない[8]。これまでの研究から、免疫組織化学処理により ex vivo で接触相が活性化され、pKal が生成されることが示唆されている[37]。したがって、この in vitro 解析結果は lanadelumab の in vivo における組織交差反応性を正確に反映するものではないと考えられる。

一連の非臨床開発試験プログラムは、lanadelumab の非臨床プロファイルを詳細かつ包括的に評価するものであり、HAE 治療における lanadelumab の安全な使用を裏付けるものである。カニクイザルを用いた反復投与毒性試験の NOAEL における曝露量と臨床における曝露量の比較より求めた曝露マージンを表 2.4.4-1 に示す。非臨床試験の結果から、ラット及びカニクイザルにおいて lanadelumab は生命維持に重要な機能及び標的器官に有害な作用を及ぼさないことが示された。また、HAE 患者に対する発作抑制薬として安全に使用できることが裏付けられた。

2.4.6 参考文献一覧

[1] Caliezi C, Wuillemin WA, Zeerleder S, Redondo M, Eisele B, Hack CE. C1-Esterase inhibitor: An anti-inflammatory agent and its potential use in the treatment of diseases other than hereditary angioedema. Pharmacol Rev. 2000;52(1):91-112.

[2] Zuraw BL. Hereditary angioedema. N Engl J Med. 2008;359(10):1027-36.

[3] Zuraw BL, Bernstein JA, Lang DM. A focused parameter update: Hereditary angioedema, acquired C1 inhibitor deficiency, and angiotensin-converting enzyme inhibitor–associated angioedema. J Allergy Clin Immunol. 2013,131(6):1491-3.

[4] Zuraw BL, Christiansen SC. HAE pathophysiology and underlying mechanisms. Clinic Rev Allerg Immunol. 2016;51:216-29.

[5] Leeb-Lundberg LMF, Marceau F, Muller-Esterl, Pettibone DJ, Zuraw BL. International Union of Pharmacology. XLV. Classification of the kinin receptor family: from molecular mechanisms to pathophysiological consequences. Pharmacol Rev. 2005;57(1):27-77.

[6] Suffritti C, Zanichelli A, Maggioni L, Bonanni E, Cugno M, Cicardi M. High-molecular-weight kininogen cleavage correlates with disease states in the bradykinin-mediated angioedema due to hereditary C1-inhibitor deficiency. Clin Exp Allergy. 2014;44:1503-14.

[7] Konings J, Cugno M, Suffritti C, Cate HT, Cicardi M, Govers-Riemslag JWP. Ongoing contact activation in patients with hereditary angioedema. PLoS ONE. 2013;8(8):1-9.

[8] Kenniston JA, Faucette RR, Martik D, Comeau SR, Lindberg AP, Kopacz KJ, et al. Inhibition of plasma kallikrein by a highly specific, active site blocking antibody. J Biol Chem. 2014;289 (34):23596-608.

[9] Kita T, Cllermont AC, Murugesan N, Zhou Q, Fujisawa K, Ishibashi T, et al. Plasma kallikrein-kinin system as a VEGF-independent mediator of diabetic macular edema. Diabetes. 2015;64:3588-99.

[10] Rodriguez I, Erdman A, Padhi D, Garnett CE, Zhao H, Targum SL, et al. Electrocardiographic assessment for therapeutic proteins-scientific discussion. Am Heart J. 2010;160(4):627-34.

[11] Colman RW, Schmaier AH. Contact system: A vascular biology modulator with anticoagulant, profibrinolytic, antiadhesive, and proinflammatory attributes. Blood. 1997;90(10):3819-43.

[12] Kaplan AP, Ghebrehiwet B. The plasma bradykinin-forming pathways and its interrelationships with complement. Mol Immunol. 2010;47:2161-9.

[13] Kaplan AP, Joseph K. Pathogenic mechanisms of bradykinin mediated diseases: Dysregulation of an innate inflammatory pathway. Adv Immunol.2014;121:41-89.

[14] Nussberger J, Cugno M, Amstutz C, Cicardi M, Pellacani A, Agostoni A. Plasma bradykinin in angio-oedema. Lancet. 1998;351:1693-7.

[15] Schneider L, Lumry W, Vegh A, Williams AH, Schmalbach T. Critical role of kallikrein in hereditary angioedema pathogenesis: A clinical trial of ecallantide, a novel kallikrein inhibitor. J Allergy Clin Immunol. 2007;120 (2):416-22.

[16] Silverberg M, Reddigari SR, Kaplan AP. The contact system and its disorders. In: Handin RI, Lux SE, Stossel TP (editors). Blood: principles and practice of hematology. J.B. Lippincott Company: Philadelphia (PA). 1995;p.1127-50.

[17] Morris CJ. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. Methods Mol Biol. 2003;225:115-21.
[18] Wirth KJ, Alpermann HG, Satoh R, Inazu M. The bradykinin antagonist hoe 140 Inhibits carrageenan- and thermically induced paw oedema in rats. Agents Actions Suppl. 1992;38(3):428-31.
[19] Waeckel L, Potier L, Richer C, Roussel R, Bouby N, Alhenc-Gelas F. Pathophysiology of genetic deficiency in tissue kallikrein activity in mouse and man. Thromb Haemost. 2013;110(3):476-83.
[20] Joseph K, Kaplan AP. Formation of bradykinin: A major contributor to the innate inflammatory response. Adv Immunol. 2005;86:159-208.
[21] Lobo ED, Hansen RJ, Balthasar JP. Antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. J Pharm Sci. 2004;93(11):2645-68.
[22] Keizer RJ, Huitema ADR, Schellens JHM, Beijnen JH. Clinical pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. Clin Pharmacokinet. 2010;49(8):493-507.
[23] Simister NE, Placental transport of immunoglobulin G. Vaccine. 2003;21:3365-9.
[24] Evers R, Dallas S, Dickmann LJ, Fahmi OA, Kenny JR, Kraynov E, et al. Critical review of preclinical approaches to investigate cytochrome P450–mediated therapeutic protein drug-drug interactions and recommendations for best practices: A white paper. Drug Metab Dispos. 2013;41(9):1598-609.
[25] Kaufman N, Page JD, Pixley RA, Schein R, Schmaier AH, Colman RW, α_2-Macroglobulin-kallikrein complexes detect contact system activation in hereditary angioedema and human sepsis. Blood. 1991;77(12):2660-7
[26] Duffey H, Firszt R. Management of acute attacks of hereditary angioedema: role of ecallantide. J Blood Med. 2015;6:115-23.
[27] Ghebrehiwet B, Kaplan AP, Joseph K, Peerschke EIB. The complement and contact activation systems: partnership in pathogenesis beyond angioedema. Immunol Rev. 2016;274:281-9.
[28] Barki-Harrington L, Daaka Y. Bradykinin induced mitogenesis of androgen independent prostate cancer cells. J Urol. 2001;165:2121-5.
[29] Yu HS, Wang SW, Chang AC, Tai HC, Yeh HI, Lin YM, et al. Bradykinin promotes vascular endothelial growth factor expression and increases angiogenesis in human prostate cancer cells. Biochem Pharmacol. 2014;87;243-53.
[30] Teraoka R, Hara M, Kikuta K, Hirooka Y, Furutani Y, Shimosegawa T, et al. Plasma kallikrein-dependent transforming growth factor-β activation in patients with chronic pancreatitis and pancreatic cancer. Pancreas. 2017;46(3):e20-2.
[31] Abdallah RT, Keum JS, Lee MH, Wang B, Gooz M, Luttrell DK, et al. Plasma kallikrein promotes epidermal growth factor receptor transactivation and signaling in vascular smooth muscle through direct activation of protease-activated receptors. J Biol Chem. 2010;285(45): 35206-15.

[32] Nickel KF, Labberton L, Long AT, Langer F, Fuchs TA, Stavrou EX, et al. The polyphosphate/factor XII pathway in cancer-associated thrombosis: novel perspectives for safe anticoagulation in patients with malignancies. Thromb Res. 2016;141(S2):S4-7.

[33] da Costa PLN, Sirois P, Tannock IF, Chammas R. The role of kinin receptors in cancer and therapeutic opportunities. Cancer Lett. 2014;345:27-38.

[34] Girolami A, Scarparo P, Candeo N, Lombardi AM. Congenital prekallikrein deficiency. Expert Rev Hematol. 2010;3(6):685-95.

[35] Cerf M, Raidoo D, Fink E, Fritz H, Bhoola K. Plasma kallikrein localisation in human blood vessels. Immunopharmacology. 1999;44:75-80.

[36] Cerf ME, Raidoo DM. Immunolocalization of plasma kallikrein in human brain. Metab Brain Dis. 2000;15(4):315-23.

[37] Fink E, Bhoola KD, Snyman C, Neth P, Figueroa CD. Cellular expression of plasma prekallikrein in human tissues. Biol Chem. 2007;388:957-63.

[38] Renne T, Gruber A. Plasma kallikrein: novel functions for an old protease. Thromb Haemost. 2012;107:1012-13.

[39] Schmaier AH. The contact activation and kallikrein/kinin systems: pathophysiologic and physiologic activities. J Thromb Haemost. 2016;14:28-39.

[40] Renne T. The procoagulant and proinflammatory plasma contact system. Semin Immunopathol. 2012;34:31-41.