ミチーガ皮下注用60mgシリンジ

第2部（モジュール2）
CTDの概要（サマリー）

2.4　非臨床試験の概括評価

マルホ株式会社

略号一覧

略号	省略していない表現
AD	Atopic dermatitis：アトピー性皮膚炎
ADA	Anti-drug antibody：抗薬物抗体
ADCC	Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity：抗体依存性細胞傷害
ARLG	Autoradioluminography：オートラジオルミノグラフィー
$AUC_{0\text{-}14d}$	Area under the plasma concentration time curve：投与後0時間から14日までの血漿中濃度時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}28d}$	Area under the plasma concentration time curve：投与後0時間から28日までの血漿中濃度時間曲線下面積
C_{max}	Maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
CL_{total}	Total body clearance：全身クリアランス
CDC	Complement-dependent cytotoxicity：補体依存性細胞傷害
ECLIA	Electrochemiluminescence immunoassay：電気化学発光免疫測定法
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay：酵素結合免疫吸着測定法
ePPND	enhanced Pre- and Postnatal Development：拡充型出生前及び出生後の発生
F	Bioavailability：生物学的利用率
FcγR	Fcγ receptor：Fcγ受容体
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
IgG	Immunoglobulin G：免疫グロブリンG
IL	Interleukin：インターロイキン
IL-31RA	Interleukin 31 receptor A：インターロイキン31レセプターA
JAK	Janus kinase：ヤーヌスキナーゼ
K_D	Dissociation constant：解離定数
LIF	Leukemia Inhibitory Factor：白血球遊走阻止因子
MMP	Matrix metalloproteinase：マトリックスメタロプロテアーゼ
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level：無毒性量
OSM	Oncostatin M：オンコスタチンM
OSMR	Oncostatin M receptor：オンコスタチンM受容体
STAT	Signal transducer and activator of transcription：シグナル伝達性転写因子
TK	Toxicokinetics：トキシコキネティクス
$t_{1/2}$	Elimination half-life：消失半減期
T_{max}	Time to reach maximum plasma concentration：最高血漿中濃度到達時間
Vd_{ss}	Distribution volume in a steady state：定常状態分布容積

目次

頁
2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.1.1 緒言 4
2.4.1.2 薬理試験計画の概略 5
2.4.1.3 薬物動態試験計画の概略 5
2.4.1.4 毒性試験計画の概略 5
2.4.2 薬理試験 5
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 5
2.4.2.1.1 *In vitro*薬理作用 5
2.4.2.1.2 標的組織 6
2.4.2.1.3 *In vivo*薬理作用 6
2.4.2.2 副次的薬理試験 6
2.4.2.3 安全性薬理試験 6
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 7
2.4.3 薬物動態試験 7
2.4.3.1 分析法 7
2.4.3.2 吸収 7
2.4.3.3 分布、代謝及び排泄 7
2.4.4 毒性試験 8
2.4.4.1 単回投与（急性）毒性試験 8
2.4.4.2 反復投与毒性試験 8
2.4.4.3 遺伝毒性試験 8
2.4.4.4 がん原性試験 8
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 8
2.4.4.6 局所刺激性試験 9
2.4.4.7 その他の毒性試験 9
2.4.5 総括及び結論 9
2.4.5.1 有効性に関する考察 9
2.4.5.2 薬物動態に関する考察 10
2.4.5.3 毒性に関する考察 10
2.4.5.4 結論 11
2.4.6 参考文献 11

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

2.4.1.1 緒言

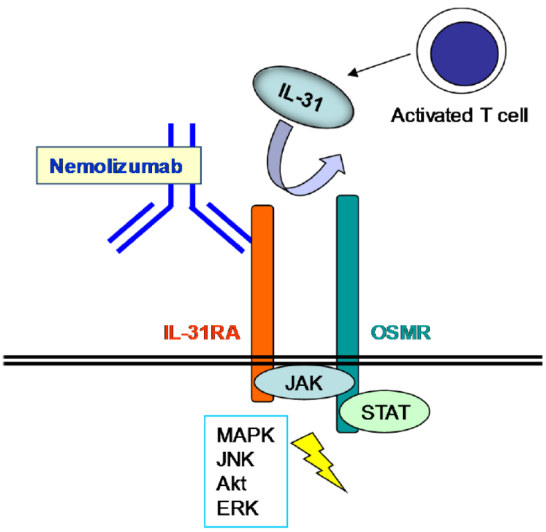
アトピー性皮膚炎（AD）は、増悪・寛解を繰り返す、そう痒のある湿疹を主病変とする慢性炎症性皮膚疾患である。ADの特徴として乾燥、湿疹病変及びそう痒が挙げられるが、特にそう痒は頻繁に睡眠を障害し、患者の生活の質に悪影響を及ぼす[1)]。掻破により皮膚が機械的障害を受けてバリア機能が低下し、表皮を通過して侵入した外来抗原により炎症反応が増強され、itch-scratch-cycleと呼ばれる皮膚炎の悪化及びそう痒の増悪をきたす悪循環を引き起こしている[2)3)]。したがって、そう痒のコントロールは本疾患の治療において重要な役割を果たしている[2)3)]。

インターロイキン（IL）-31は主に活性化したT細胞から産生されるサイトカインであり、その受容体であるIL-31受容体A（IL-31RA）に結合する[4)]。IL-31RAはIL-31と結合した後、オンコスタチンM受容体（OSMR）とヘテロダイマーを形成して下流のヤーヌスキナーゼ（JAK）／シグナル伝達性転写因子（STAT）を活性化し、細胞内へシグナルを伝達する[5)]。IL-31を過剰発現させたトランスジェニックマウスやIL-31を投与したマウスが著しい掻破行動を示すこと[4)]、AD様の症状を自然発症するNC/Ngaマウスの皮膚ではIL-31 mRNA発現が亢進しており、そのmRNA発現と掻破行動が正の相関を示すこと[6)]、AD患者の皮膚生検サンプルでIL-31 mRNA発現が亢進していること[7)8)9)]、AD患者を紫外線照射で治療することにより臨床スコアの改善とともに皮膚のIL-31 mRNA発現の減少が認められること[10)]から、ADのそう痒にIL-31が関与していると考えられている。また、IL-31は各種細胞からのサイトカイン、ケモカイン産生を誘導すること[11)12)13)14)]、フィラグリンなどの皮膚バリア関連分子の発現を低下させること[15)16)17)]から、ADの病態における炎症惹起及び皮膚バリア機能の破綻への関与も示唆されている。

Nemolizumabは中外製薬で創製されたヒト化抗ヒトIL-31RAモノクローナル抗体であり、ADに伴う既存治療で効果不十分なそう痒を対象に開発が進められてきた。NemolizumabはIL-31RAに結合することにより、IL-31の受容体への結合及びそれに続く細胞内へのシグナル伝達を阻害する（図 2.4.1-1）。

非臨床試験として実施した薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験の概要を以下に示す。

図 2.4.1-1 Nemolizumabの作用機序



2.4.1.2 薬理試験計画の概略

NemolizumabがIL-31RAに結合することにより、IL-31の受容体への結合及びそれに続く細胞内へのシグナル伝達を阻害することを*in vitro*で検討した。また、nemolizumabの定常領域を介したエフェクター作用の発現リスクとしてFcγR結合能、C1q結合能、抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性、補体依存性細胞傷害（CDC）活性、及びdirect cell death誘導能を*in vitro*で検討した。Nemolizumabはマウス、ラット及びウサギに交差反応性を示さない[18)]ことから、nemolizumabの*in vivo*試験においては交差反応性を示す動物種であるサルを評価動物として使用し、ADモデルマウスにおける効果はマウスIL-31RAに対する中和抗体であるBM095を用いて検討した。安全性薬理については、カニクイザルを用いた反復皮下投与毒性試験の結果から中枢神経系、呼吸系及び心血管系に及ぼす影響を評価した。なお、薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

2.4.1.3 薬物動態試験計画の概略

Nemolizumabの薬物動態を評価するため、単回及び反復投与試験を実施した。

単回投与試験では、nemolizumabに交差反応性を示し、毒性試験で選択した動物種であるカニクイザルを用いて評価した。投与経路は、静脈内及び臨床投与経路である皮下投与とした。

反復投与の薬物動態は、カニクイザルを用いた13週間間歇皮下投与毒性試験のトキシコキネティクス（TK）パラメータから評価した。

分布に関しては、ヨウ素125で標識したnemolizumabをカニクイザルに単回皮下投与したときの生体試料中の放射能濃度から評価した。胎盤通過及び乳汁移行性は、カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験内で評価した。なお、代謝及び排泄試験はnemolizmabが他のヒト化免疫グロブリンG（IgG）の抗体医薬と同じIgGフレームを有し、代謝及び排泄の経路は内因性のIgGと同様であると判断したことから実施しなかった。

2.4.1.4 毒性試験計画の概略

Nemolizumabを用いた毒性試験として、反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験及び局所刺激性試験を皮下投与により実施した。NemolizumabのIL-31RAへの結合及びIL-31RAを介したIL-31活性に対する*in vitro*及び*in vivo*の中和作用を指標として検討した結果、カニクイザルはnemolizumabの薬理作用を示す動物種であることが確認された。一方、nemolizumabはマウス、ラット及びウサギには交差反応性を示さない[18)]ことから、非臨床安全性評価に適切な動物種としてカニクイザルを選択した。また、ヒト及びカニクイザルの組織切片を用いた組織交差反応性試験を実施した。各試験は、GLP適合試験として実施された。これらに加えて、サイトカイン放出症候群の発症リスクを予測するため、サイトカイン放出に関する*in vitro*試験を、健康成人から得た新鮮な全血を用いて実施した。

2.4.2 薬理試験

効力を裏付ける試験の一覧表を2.6.3.1に示す。

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 *In vitro*薬理作用

Nemolizumabはヒト及びカニクイザルの可溶型IL-31RAに高い親和性をもって結合し、その解離

定数（K_D）はそれぞれ0.374 nmol/L及び0.191 nmol/Lであった。NemolizumabはヒトあるいはカニクイザルのIL-31RAを発現させた組換え細胞へのヒトIL-31あるいはカニクイザルIL-31の結合を濃度依存的に阻害した。また、nemolizumabはヒト及びカニクイザルのIL-31RAとOSMRを発現させた組換え細胞におけるIL-31依存的な細胞増殖を濃度依存的に阻害した。更に、IL-31RAを発現するヒト細胞株（A549細胞）においてIL-31刺激により誘導されるSTAT3のリン酸化を濃度依存的に阻害するとともに、ヒト表皮角化細胞株（HaCaT細胞）においてIL-31刺激により誘導されるIL-6、マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）-1、MMP-3産生及びアポトーシスを濃度依存的に抑制した。

NemolizumabはIL-31RAと相同性を有するgp130を利用するサイトカイン（IL-6及びオンコスタチンM（OSM））のシグナル伝達に対して影響を及ぼさなかったが、白血球遊走阻止因子（LIF）に関しては明確な結論が得られなかった。また、nemolizumabは、定常領域がIgG1であるrituximabに比べて、ヒトFcγ受容体（FcγR）並びにヒト補体C1qに対する結合性は弱かった。更に、ヒトIL-31RAを過剰発現させたA549細胞に対するnemolizumabのADCC活性、CDC活性及びdirect cell death誘導はいずれも認められなかった。

2.4.2.1.2 標的組織

免疫組織化学的染色でAD患者皮膚組織のミラー標本にて神経マーカーであるPGP9.5陽性の神経終末と考えられる部位と同等部にIL-31RA陽性反応が認められ、免疫組織蛍光染色においても同様であった。

2.4.2.1.3 *In vivo*薬理作用

Nemolizumab（静脈内投与）はカニクイザルにおけるIL-31誘発そう痒行動に対して段階的に投与量を増加（3、10、40、60及び100 μg/kg）させると、40 μg/kg以上の投与量で明らかな抑制作用を示した。また、nemolizumab（1 mg/kg、皮下投与）は投与28日後においてIL-31誘発そう痒行動を有意に抑制した。投与56日後においては、抗nemolizumab抗体価が陽性となった個体を含む全例解析ではIL-31誘発そう痒行動に対する有意な抑制作用は認められなかったが、抗nemolizumab抗体価が陽性で血漿中nemolizumab濃度が定量下限未満となった個体を除いた解析では、投与56日後においてもIL-31誘発そう痒行動を有意に抑制した。

また、抗マウスIL-31RA中和抗体（BM095、20 mg/kg）はダニ抗原誘発ADモデルマウスにおいて、掻き動作の総数を低下させるとともに皮膚炎の悪化を抑制した。

2.4.2.2 副次的薬理試験

Nemolizumabの定常領域を介した作用を検討し、効力を裏付ける試験の項（2.4.2.1 ）にまとめて記載した。

2.4.2.3 安全性薬理試験

Nemolizumabの安全性薬理試験は実施しなかったが、カニクイザルを用いた26週間反復皮下投与毒性試験の中で評価した。評価項目は、中枢神経系（神経行動学的機能観察）、心血管系（心電図及び血圧測定）及び呼吸系（呼吸数計数）とした。その結果、反復皮下投与による25 mg/kgまでの用量で、いずれの安全性薬理学的パラメータにも、nemolizumabに関連した異常は認められず、更に病理組織学的検査においても、nemolizumabに関連した異常は認められなかった。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

2.4.3 薬物動態試験

薬物動態試験の一覧表を2.6.5.1に示す。

2.4.3.1 分析法

カニクイザル血漿及び乳汁中nemolizumab濃度測定用に酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）を開発し、バリデーション試験を実施した。単回投与試験に用いた測定法の血漿中濃度測定範囲は8～256 ng/mLであり、間歇皮下投与試験に用いた測定法の血漿中濃度測定範囲は0.05～1.6 µg/mLであった。乳汁中濃度測定範囲は8～256 ng/mLであった。カニクイザル血漿中の抗薬物抗体（ADA）測定用に電気化学発光免疫測定法（ECLIA）及びELISAを開発し、バリデーション試験を実施した。

2.4.3.2 吸収

雄性カニクイザルにnemolizumabを0.04、0.2又は1.0 mg/kgの用量で単回静脈内投与を行い、nemolizumabの薬物動態を評価した。全身クリアランス（CL_{total}）は0.04、0.2及び1.0 mg/kgの用量でそれぞれ0.411、0.147及び0.147 mL/h/kgであり、nemolizumabは0.04 mg/kgと他の投与量間で、薬物動態は非線形性を示した。血漿中nemolizumabの消失半減期（$t_{1/2}$）は、それぞれ3.33、13.6及び14.9日であり、0.2 mg/kg以上の投与量で緩やかな消失を示した。定常状態分布容積（Vd_{ss}）は54.4～71.2 mL/kgであり、組織移行性は低いことが示された。

雄性カニクイザルにnemolizumabを0.04、0.2及び1.0 mg/kgの用量で単回皮下投与を行い、nemolizumabの薬物動態を評価した。最高血漿中濃度（C_{max}）は0.04、0.2及び1.0 mg/kgの用量で、それぞれ0.342、1.97及び9.13 µg/mLであった。血漿中$t_{1/2}$は0.04、0.2及び1.0 mg/kgの用量で、それぞれ3.14、11.5及び12.8日であった。皮下投与時においても0.04 mg/kgと他の投与量間で、薬物動態は非線形性を示した。最高血漿中濃度到達時間（T_{max}）は用量に関係なく3.33～4.33日であり、皮下からの吸収は緩やかであった。生物学的利用率（F）は71.9%～74.6%と良好であった。

雄性及び雌性カニクイザルにnemolizumabを1、5及び25 mg/kgの用量で2週間に1回投与した13週間間歇皮下投与試験におけるTK試料を用いて薬物動態を評価した。初回、4回及び6回投与後において、投与量にほぼ比例したC_{max}及び投与後0時間から14日までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}14d}$）の増加が認められた。初回投与においては薬物動態の性差は認められなかったが、4回及び6回投与後において雌性カニクイザルのC_{max}は雄性カニクイザルの0.7倍～0.9倍であり、$AUC_{0\text{-}14d}$は0.6倍～0.9倍であった。反復投与時の血漿中nemolizumab濃度は投与回数を重ねるごとに増加した。いずれの試験においても薬物動態パラメータの算出はADA陽性個体を除き算出した。

2.4.3.3 分布、代謝及び排泄

雄性カニクイザルに[^{125}I]nemolizumabを1 mg/kgの用量で単回皮下投与し、全身オートラジオルミノグラフィー（ARLG）を用いnemolizumabの体内分布を評価した。放射能濃度は血液で最も高く、また、血液が豊富な組織（肺、肝臓、腎臓など）で比較的高かった。

Nemolizumabの胎盤通過及び乳汁移行性は、カニクイザルを用いたePPND試験内で評価した。生

後7日目における出生児の血漿中nemolizumab濃度は、母動物の血漿中濃度とほぼ同等であり、胎盤を経由して胎児にnemolizumabが移行することが示唆された。乳汁中nemolizumab濃度の血漿中濃度に対する比率は0.2～0.5%（ADA陽性の個体を除く）であり、nemolizumabの乳汁分泌はわずかであった。なお、2.4.1.3 に記載した理由により代謝及び排泄試験は実施しなかった。

2.4.4 毒性試験

毒性試験の一覧表を2.6.6.1に示す。

2.4.4.1 単回投与（急性）毒性試験

急性毒性に関する評価は、13週間反復投与毒性試験（最高用量：25 mg/kg）における初回投与後14日までの観察及び各種検査により行った。死亡は認められず、いずれの検査においても、特筆すべき毒性学的変化は認められなかった。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験では、nemolizumabを2週に1回の投与頻度で13週間（最高用量：25 mg/kg）及び26週間（最高用量：25 mg/kg）投与した。Nemolizumab投与の影響は投与部皮下の反応のみであった。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

ICH-S6(R1)ガイドラインで示されている考え方に従い、遺伝毒性試験は実施しなかった。Nemolizumabは、分子量の大きいヒト化モノクローナル抗体であり、これがDNAや他の染色体成分に直接相互作用するとは考えにくいことから、遺伝毒性に関する懸念は低いと考えられた。

2.4.4.4 がん原性試験

Nemolizumabは6カ月間を超えての使用が想定されることから、ICH S6 (R1)を考慮し、がん原性試験の必要性について検討した。Nemolizumabは、げっ歯類に薬理活性を示さないため、マウス及びラットを用いた標準的な2年間のがん原性試験の実施は不適切である。また、nemolizumabが薬理活性を示すカニクイザルは、がん原性リスクを評価するモデルとしては適切ではないと考えられること、IgGクラスの抗体の構造自体にがん原性のリスクはないこと、カニクイザルを用いた26週までの反復投与毒性試験において増殖性病変や前がん病変は認められず、全身的な免疫機能低下は認められなかったことから、nemolizumabのがん原性に関する懸念は低いと判断し、がん原性試験は実施しなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

受胎能に及ぼす影響については、性成熟したカニクイザルを用いた26週間間歇皮下投与毒性試験において、雌雄生殖器に毒性学的変化は認められなかった。また、月経周期、精子検査、精巣サイズ測定及び生殖器の組織学的検査において、毒性学的変化は認められなかった。

妊娠／授乳期雌動物、胚・胎児発生及び出生児の発育に与える影響について、カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験において検討した。妊娠カニクイザルに、器官形成期の開始から出産まで、出生児には生後35日目から26週間、2週に1回の頻度で間歇皮下投与（最高用量：25 mg/kg）した。母動物、出生児ともにnemolizumab投与の影響は認められなか

った。

2.4.4.6 局所刺激性試験

Nemolizumab溶液（100 mg/mL、0.9 mL/部位）のウサギを用いた単回皮下投与による局所刺激性試験では、投与部位局所に所見は認められなかった。

2.4.4.7 その他の毒性試験

ヒト及びカニクイザルの正常組織の凍結切片を用いて実施した、*in vitro*組織交差反応性試験では、カニクイザル組織とヒト組織で、概ね同様のnemolizumabの特異的反応性がみられた。nemolizumabによるサイトカイン放出に関する*in vitro*試験の結果から、nemolizumabの初回投与時のサイトカイン放出症候群の発症リスクは、高リスク対照薬（alemtuzumabなど）に比べて低いと考えられた。

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 有効性に関する考察

Nemolizumabはヒト及びカニクイザルの可溶型IL-31RAに高い親和性をもって結合し、ヒトあるいはカニクイザルIL-31RAを発現させた組換え細胞へのIL-31の結合を濃度依存的に阻害した。また、nemolizumabはヒト及びカニクイザルのIL-31RAとOSMRを発現させた組換え細胞のIL-31依存的な細胞増殖を濃度依存的に阻害した。更に、IL-31RAを発現するヒト細胞株においてIL-31刺激により誘導されるSTAT3のリン酸化、並びにヒト表皮角化細胞株においてIL-31刺激により誘導されるIL-6、MMP-1、MMP-3産生及びアポトーシスを濃度依存的に抑制した。これらの結果より、nemolizumabはヒト及びカニクイザルのIL-31RAに結合し、IL-31のIL-31RAへの結合を阻害することで、IL-31RAを介したIL-31のシグナル伝達を阻害することが示された。

NemolizumabはIL-31RAと相同性を有するgp130を利用するサイトカイン（IL-6及びOSM）のシグナル伝達に対して影響を及ぼさなかった。

ヒトFcγR及びヒト補体との結合の観点において、nemolizumabが定常領域を介したエフェクター作用を発現するリスクは低いことが示された。更に、nemolizumabのADCC活性、CDC活性及びdirect cell death誘導はいずれも認められなかった。

また、AD患者の皮膚組織の神経終末にIL-31RAの発現が認められたことから、皮膚の神経終末がnemolizumabの標的組織であることが示された。

同一個体のカニクイザルに対してnemolizumab（静脈内投与）の投与用量を段階的に増加させたところ、nemolizumabはIL-31誘発そう痒行動に対して40 μg/kg以上の投与量で明らかな抑制作用を示した。また、nemolizumabは臨床投与経路である皮下投与により、投与28日後においてIL-31誘発そう痒行動を有意に抑制した。更に、抗nemolizumab抗体価が陽性で血漿中nemolizumab濃度が定量下限未満となった個体を除いた解析では、投与56日後においてもIL-31誘発そう痒行動を有意に抑制した。

また、抗マウスIL-31RA中和抗体（BM095）はダニ抗原誘発ADモデルマウスにおいて、掻き動作の総数を低下させるとともに皮膚炎の悪化を抑制した。

以上より、nemolizumabはIL-31RAに結合し、IL-31のIL-31RAへの結合を阻害してIL-31RAを介したIL-31のシグナル伝達を阻害することで、IL-31シグナルによって誘発されるそう痒と皮膚炎の悪化を改善すると考える。

2.4.5.2 薬物動態に関する考察

雄性カニクイザルにnemolizumabを0.04、0.2及び1.0 mg/kgの用量で単回静脈内投与したとき、nemolizumabのCL_{total}は、それぞれ0.411、0.147及び0.147 mL/h/kgであり、薬物動態は非線形性を示した。血漿中$t_{1/2}$は、それぞれ3.33、13.6及び14.9日であり、0.2 mg/kg以上の投与量で緩やかな消失を示した。Vd_{ss}は54.4～71.2 mL/kgであり、組織移行性は低いことが示された。

雄性カニクイザルにnemolizumabを0.04、0.2及び1.0 mg/kgの用量で単回皮下投与したとき、nemolizumabのC_{max}は、それぞれ0.342、1.97及び9.13 μg/mLであった。血漿中$t_{1/2}$は0.04、0.2及び1.0 mg/kgの用量で、それぞれ3.14、11.5及び12.8日であった。静脈内投与時と同様に0.04 mg/kgと他の投与量間で、薬物動態は非線形性を示した。T_{max}は用量に関係なく3.33～4.33日であり、皮下からの吸収は緩やかであった。Fは71.9%～74.6%と良好であった。

雄性及び雌性カニクイザルにnemolizumabを1、5又は25 mg/kgの用量で2週間に1回13週間（計7回）投与したとき、初回、4回及び6回投与後、いずれも投与量にほぼ比例したC_{max}及び$AUC_{0\text{-}14d}$の増加が認められた。初回投与においては薬物動態の性差は認められなかったが、4回及び6回投与後において雌性カニクイザルのC_{max}は雄性カニクイザルの0.7倍～0.9倍であり、$AUC_{0\text{-}14d}$は0.6倍～0.9倍であった。反復投与時の血漿中nemolizumab濃度は投与回数を重ねるごとに増加した。

雄性カニクイザルに[^{125}I]nemolizumabを1 mg/kgの用量で単回皮下投与し、全身ARLGを用い体内分布を評価した。放射能濃度は血液で最も高く、血液以外では血液が豊富な組織（肺、肝臓、腎臓など）で比較的高かった。

カニクイザルにおける生後7日目における出生児の血漿中nemolizumab濃度は、母動物の血漿中濃度とほぼ同様であったことから、nemolizumabは母動物の胎盤を通過して胎児に移行することが示唆された。一方、同時期における乳汁中nemolizumab濃度の血漿中濃度に対する比率は0.4%と非常に低かった。

2.4.5.3 毒性に関する考察

臨床の用法を模した条件（2週間に1回投与）にて実施した、カニクイザルを用いた13週間間歇皮下投与毒性試験及び26週間間歇皮下投与毒性試験では、最高用量の25 mg/kgまで全身性の影響は認められなかった。これらの試験で、主要な生理的機能（中枢神経系、心血管系及び呼吸系）に対する影響を評価したが、nemolizumab投与に関連した影響は認められなかった。拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験において、妊娠カニクイザル（器官形成期の開始から出産まで）に25 mg/kgまでの用量で、2週に1回皮下投与したとき、nemolizumabに関連した毒性学的変化は認められなかった。

アトピー性皮膚炎患者を対象とした第III相比較臨床試験において、臨床推奨用量（60 mg/body）を4週に1回投与したときの曝露量（$AUC_{0\text{-}28d}$：102.30 (μg･day/mL)、初回投与時）は、これらの毒性試験のNOAELにおける初回投与時の全身曝露量（$AUC_{0\text{-}14d}$：45800～58600 (μg･hr/mL)、$AUC_{0\text{-}28d}$に換算すると3817～4883 (μg･day/mL)）の約1/37～1/48であり、十分な安全域が確保されていると判断した。

拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験では、新生カニクイザルに25 mg/kgまでの用量で2週に1回、生後35日目から26週間皮下投与した。nemolizumabに関連した毒性学的変化は認められなかった。

Nemolizumabは、バイオテクノロジー応用医薬品であるため、ICH-S6(R1)ガイドラインの考え方

に従い、遺伝毒性試験及びがん原性試験は実施しなかった。Nemolizumabのがん原性に関する懸念は、反復投与毒性試験やePPND試験の結果などから低いと判断した。

反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験において、免疫原性の評価を実施したが、影響は認められなかった。サイトカイン放出症候群に関わるリスク予測を*in vitro*試験により行った結果、高リスク対照薬（alemtuzumabなど）に比べてサイトカイン放出症候群の発症リスクは低いと考えられた。

ウサギ及びカニクイザルにおいて投与部位局所に対する影響が検討されたが、臨床製剤と同一処方のnemolizumab溶液（最高濃度100 mg/mL）を投与した投与部位局所に所見は認められなかった。

2.4.5.4 結論

以上の非臨床試験成績から、nemolizumabはIL-31シグナルによって誘発されるそう痒と皮膚炎の悪化を改善すると考えられ、全身及び投与部位局所において許容できない安全性上の問題が生じる可能性は低いと考えられることから、アトピー性皮膚炎の治療に有効かつ安全であると考える。

2.4.6 参考文献

1) Zuberbier T, Orlow SJ, Paller AS, Taieb A, Allen R, Hernanz-Hermosa JM, et al. Patient perspectives on the management of atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 2006; 118(1): 226-232.
2) Wahlgren CF. Itch and atopic dermatitis: an overview. J Dermatol. 1999; 26(11): 770-779.
3) Homey B, Steinhoff M, Ruzicka T, Leung DY. Cytokines and chemokines orchestrate atopic skin inflammation. J Allergy Clin Immunol. 2006; 118(1): 178-189.
4) Dillon SR, Sprecher C, Hammond A, Bilsborough J, Rosenfeld-Franklin M, Presnell SR, et al. Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice. Nat Immunol. 2004; 5(7): 752-760.
5) Diveu C, Lak-Hal AH, Froger J, Ravon E, Grimaud L, Barbier F, et al. Predominant expression of the long isoform of GP130-like (GPL) receptor is required for interleukin-31 signaling. Eur Cytokine Netw. 2004; 15(4): 291-302.
6) Takaoka A, Arai I, Sugimoto M, Honma Y, Futaki N, Nakamura A, et al. Involvement of IL-31 on scratching behavior in NC/Nga mice with atopic-like dermatitis. Exp Dermatol. 2006; 15(3): 161-167.
7) Sonkoly E, Muller A, Lauerma AI, Pivarcsi A, Soto H, Kemeny L, et al. IL-31: a new link between T cells and pruritus in atopic skin inflammation. J Allergy Clin Immunol. 2006; 117(2): 411-417.
8) Bilsborough J, Leung DY, Maurer M, Howell M, Boguniewicz M, Yao L, et al. IL-31 is associated with cutaneous lymphocyte antigen-positive skin homing T cells in patients with atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 2006; 117(2): 418-425.
9) Neis MM, Peters B, Dreuw A, Wenzel J, Bieber T, Mauch C, et al. Enhanced expression levels of IL-31 correlate with IL-4 and IL-13 in atopic and allergic contact dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 2006; 118(4): 930-937.
10) Gambichler T, Kreuter A, Tomi NS, Othlinghaus N, Altmeyer P, Skrygan M. Gene expression of cytokines in atopic eczema before and after ultraviolet A1 phototherapy. Br J Dermatol. 2008; 158(5): 1117-1120.
11) Cheung PF, Wong CK, Ho AW, Hu S, Chen DP, Lam CW. Activation of human eosinophils and epidermal keratinocytes by Th2 cytokine IL-31: implication for the immunopathogenesis of atopic dermatitis. Int Immunol. 2010; 22(6): 453-467.

12) Wong CK, Leung KM, Qiu HN, Chow JY, Choi AO, Lam CW. Activation of eosinophils interacting with dermal fibroblasts by pruritogenic cytokine IL-31 and alarmin IL-33: implications in atopic dermatitis. PLoS One. 2012; 7(1): e29815.
13) Horejs-Hoeck J, Schwarz H, Lamprecht S, Maier E, Hainzl S, Schmittner M, et al. Dendritic cells activated by IFN-γ/STAT1 express IL-31 receptor and release proinflammatory mediators upon IL-31 treatment. J Immunol. 2012; 188(11): 5319-5326.
14) Kasraie S, Niebuhr M, Werfel T. Interleukin (IL)-31 induces pro-inflammatory cytokines in human monocytes and macrophages following stimulation with staphylococcal exotoxins. Allergy. 2010; 65(6): 712-721.
15) Hanel KH, Pfaff CM, Cornelissen C, Amann PM, Marquardt Y, Czaja K, et al. Control of the physical and antimicrobial skin barrier by an IL-31-IL-1 signaling network. J Immunol. 2016; 196(8): 3233-3244.
16) Cornelissen C, Marquardt Y, Czaja K, Wenzel J, Frank J, Luscher-Firzlaff J, et al. IL-31 regulates differentiation and filaggrin expression in human organotypic skin models. J Allergy Clin Immunol. 2012; 129(2): 426-433.
17) van Drongelen V, Haisma EM, Out-Luiting JJ, Nibbering PH, El Ghalbzouri A. Reduced filaggrin expression is accompanied by increased Staphylococcus aureus colonization of epidermal skin models. Clin Exp Allergy. 2014; 44(12): 1515-1524.
18) [redacted]. Cross-reactivity of CH5427227 with NR10 (IL-31RA) from mice, rats and rabbits. Final Report. Fuji Gotemba Research Laboratories, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd. 20[redacted]. TOX[redacted]-0198S.