サノフィ株式会社

スチムリマブ（遺伝子組換え）

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.4 非臨床試験の概括評価

Total number of pages: 29

目　　次

2.4 非臨床試験の概括評価 1

目　　次 2

表　目　次 4

図　目　次 4

略号と用語の定義 5

1　　非臨床試験計画概略 7

1.1　　CAD の病態における C1s の役割に関する背景の要約 7

1.2　　試験計画 9

2　　薬理試験 11

2.1　　効果を裏付ける試験 11

2.2　　安全性薬理試験 14

3　　薬物動態試験 15

3.1　　分析方法 15

3.2　　雄のカニクイザルにおけるスチムリマブの単回投与 PK 16

3.3　　雄のカニクイザルにおけるスチムリマブの反復投与 PK 16

4　　毒性試験 18

4.1　　反復投与毒性試験 18

4.2　　遺伝毒性試験 19

4.3　　がん原性試験 20

4.4　　生殖発生毒性試験 20

4.5　　局所刺激性試験 21

4.6 その他の毒性試験 21
4.6.1 組織交差反応性 21
4.6.2 自己免疫の評価 21
4.6.3 免疫原性リスク 22
4.6.4 薬物乱用性 22
4.7 潜在的な毒性学的問題点に関する評価 22
4.7.1 免疫系の評価 22
5 総括及び結論 24
6 参考文献一覧 27
7 付録 28
7.1 付録 1 – 試験を実施しなかった理由 28

表　目　次

表 1 - ヒト補体系におけるスチムリマブ及び TNT003 の薬理学的特性 12
表 2 - スチムリマブの種交差反応性 12
表 3 - スチムリマブをサルに静脈内（IV）投与したときの PK 及び TK を評価する非臨床試験 15
表 4 - GLP 適用試験におけるスチムリマブのための TK 及び ADA アッセイ方法 16
表 5 - スチムリマブの毒性プログラム 18
表 6 - サルを用いた GLP 適用反復投与毒性試験の NOAEL におけるスチムリマブの曝露量 19
表 7 - サルを用いた GLP 適用 ePPND 試験の NOAEL におけるスチムリマブの曝露量 21
表 8 - 予定治療用量（6.5 g 又は 7.5 g）をヒトに投与したときの曝露量と比較した スチムリマブの曝露量比（AUC） 25
表 9 - 予定治療用量（6.5 g 又は 7.5 g）をヒトに投与したときの曝露量と比較した スチムリマブの曝露量比（C_{max}） 26

図　目　次

図 1 - 3 つの補体活性化経路（重要な分解産物とそれぞれの生理学的作用） 8

略号と用語の定義

ADA：	抗薬物抗体（anti-drug antibodies）
AIHA：	自己免疫性溶血性貧血（autoimmune hemolytic anemia）
AUC_{last}：	最終時点まで外挿した濃度ー時間曲線下面積（area under the concentration-time curve extrapolated to last time point）
AP：	第 2 経路（alternative pathway）
BP：	水疱性類天疱瘡（bullous pemphigoid）
C_{max}：	最高濃度（maximum concentration）
C1q：	補体第 1 成分 q サブコンポーネント（complement component 1, q subcomponent）
C1r：	補体第 1 成分 r サブコンポーネント（complement component 1, r subcomponent）
C1s：	補体第 1 成分 s サブコンポーネント（complement component 1, s subcomponent）
CA：	寒冷凝集素（cold agglutinin）
CAD：	寒冷凝集素症（cold agglutinin disease）
CP：	古典的補体経路（classical complement pathway）
CR3：	補体受容体 3（complement receptor 3）
dsDNA：	二本鎖 DNA（double stranded DNA）
EAC：	早期アポトーシス細胞（early apoptotic cell）
ELISA：	酵素結合免疫吸着測定法（enzyme-linked immunosorbent assay）
ENA：	可溶性核抗原（extractable nuclear antigen）
ePPND：	拡充型出生前及び出生後の発生（enhanced pre- and postnatal development）
EVH：	血管外溶血（extravascular hemolysis）
IC_{50}：	50%阻害濃度（half-maximal inhibitory concentration）
IC_{90}：	90%反応阻害濃度（inhibitory concentration where the response is reduced 90%）
ICH：	医薬品規制調和国際会議（International Conference on Harmonization）
IgG2a：	免疫グロブリン G サブクラス 2a（immunoglobulin G, subclass 2a）
IgG4：	免疫グロブリン G サブクラス 4（ immunoglobulin G , subclass 4）
IgM：	免疫グロブリン M（immunoglobulin M）
ITP：	免疫性血小板減少性紫斑病（immune thrombocytopenic purpura）
IV：	静脈内（intravenous）
IVH：	血管内溶血（intravascular hemolysis）
LP：	レクチン経路（lectin pathway）
mAb：	モノクローナル抗体（monoclonal antibody）

NHS：	正常ヒト血清（normal human serum）
p.c.：	交尾確認後（post coitum）
PD：	薬力学（pharmacodynamic(s)）
PK：	薬物動態（pharmacokinetic(s)）
RBC：	赤血球（red blood cell）
TK：	トキシコキネティクス（toxicokinetic(s)）

1　非臨床試験計画概略

本項には、古典的補体経路（CP）特異的セリンプロテアーゼである補体第 1 成分 s サブコンポーネント（C1s）を標的として CP を阻害するヒト化免疫グロブリン G（IgG）サブクラス 4（IgG4）モノクローナル抗体（mAb）スチムリマブの非臨床試験計画概略及び非臨床試験プログラムを要約する。希少疾患である寒冷凝集素症（CAD）における溶血の治療薬として開発しているスチムリマブ製剤は、50 mg/mL のスチムリマブを含有する無菌液剤である。スチムリマブの予定される投与レジメンは、6.5g（体重 39kg 以上 75kg 未満の患者）又は 7.5g（体重 75kg 以上の患者）を最初の 2 回は週 1 回（0 日目及び 7 日目）、その後は 2 週間に 1 回、静脈内（IV）投与する。スチムリマブは標的結合が最大となっても CP 阻害に関する安全性上の懸念は認められず、非臨床試験結果は、スチムリマブの臨床開発の実施及び承認申請を支持するものであった。CAD、免疫性血小板減少性紫斑病（ITP）、水疱性類天疱瘡（BP）及び患者の病原性自己抗体により CP 活性化が誘発されるその他の疾患といった、CP が病態生理に重要な役割を果たす疾患へのスチムリマブの使用をサポートするため、スチムリマブの薬理、薬物体内動態及び非臨床安全性プロファイルを評価した。薬理、薬物動態（PK）及び毒性試験の詳細な結果は、それぞれ Module 2.6.2 薬理試験の概要文、Module 2.6.4 薬物動態試験の概要文及び Module 2.6.6 毒性試験の概要文に示し、考察を行った。名称は本項を通してスチムリマブ（又は sutimlimab）を使用しているが、本申請資料及び裏付けとなる試験報告書では BIVV009 又は TNT009 も用いている。非臨床毒性試験プログラムは、医薬品規制調和国際会議（ICH）の企業向けガイダンス ICH S6(R1)「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」（2012 年）に準拠しており、必要に応じて、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を遵守して実施した。

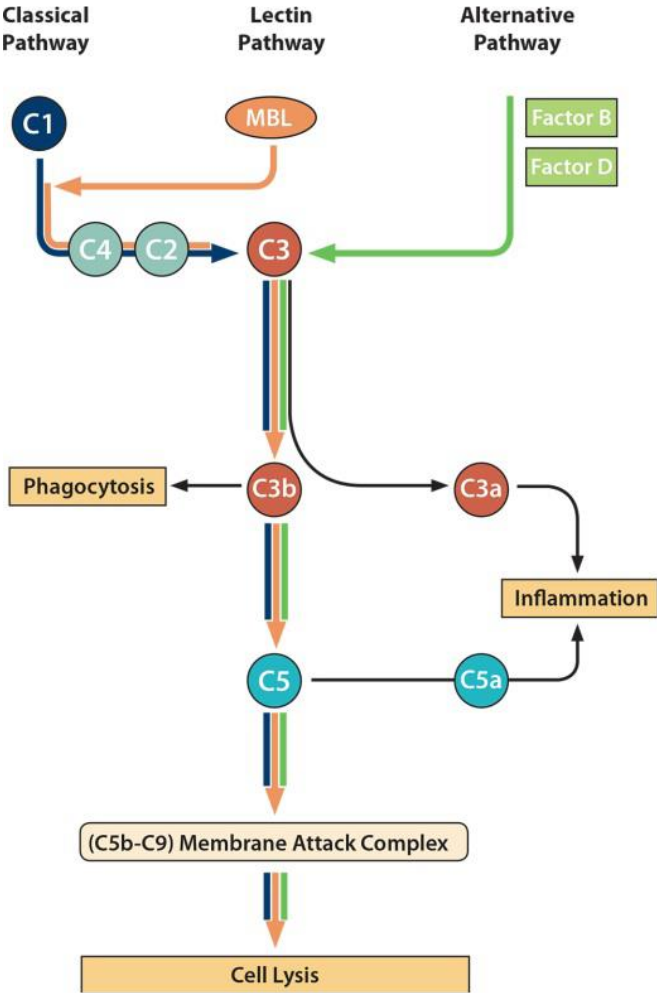
1.1　CAD の病態における C1s の役割に関する背景の要約

補体系は、30 種類を超える可溶性及び膜結合性血漿タンパク質のネットワークで構成されており、活性化すると病原体のクリアランスに関わる酵素カスケードを生じる。したがって、補体は液性免疫を媒介する自然免疫系の一部であると考えられる。補体基質が分解されると、アナフィラトキシン（エフェクター免疫細胞を活性化し、炎症部位に遊走させる）及びオプソニン（これが沈着した細胞及び粒子の食作用による取込みの誘導に関与する）といった多数の産物が生成される。補体成分にはカスケードの活性化及び伝播に関与するタンパク質だけでなく、活性を低下させる可溶性及び膜結合性の両方の制御物質も含まれる。最終的に、白血球の表面に発現している受容体がカスケードの分解産物に結合し、免疫細胞のエフェクター機能の調節に重要な役割を果たす。

補体は 3 種類の活性化経路、すなわち CP、第 2 経路（AP）及びレクチン経路（LP）がある（図 1）。各経路は、経路特異的なタンパク質の活性化により、互いに独立して惹起される。C1 複合体は、C1q サブユニット及び 2 種類のセリンプロテアーゼ（C1r 及び C1s）からなる多量体タンパ

ク質である。C1q はこの C1 複合体のセンサーであり、リガンドを認識するとコンフォメーションが変化して C1r の自己活性化を引き起こす。活性化 C1r は、続いて C1s（CP の最初の可溶性基質である C4 の分解及びそれに続く酵素カスケードの伝播に関与するプロテアーゼ）を分解する。C1 複合体は外来物質及び循環免疫複合体（CIC）への結合により活性化されるパターン認識受容体として作用するため、自然免疫系と適応免疫系の懸け橋となっている。CIC のクリアランスは C1 複合体の恒常性維持機能であるが、病原性抗体により引き起こされる多くの自己免疫及び炎症病態で異常な経路活性化が認められている。

図 1 - 3 つの補体活性化経路（重要な分解産物とそれぞれの生理学的作用）



補体成分が血漿中グロブリンタンパク質に占める割合は約 5%であることから、赤血球（RBC）及び血小板といった循環血中細胞は細胞表面に補体が沈着しやすい。これが特にあてはまるのは、補体結合性自己抗体の存在により CP が活性化されて疾患活動性が亢進している自己免疫疾患の場合である。

CADは、免疫グロブリンM（IgM）誘発性CP活性化により引き起こされる自己免疫性溶血性貧血（AIHA）の一種である(1)(2)(3)(4)(5)(6)。CADはAIHAの全症例の約15%を占める(3)。本疾患は、RBC細胞表面タンパク質であるI抗原に結合する寒冷凝集素（CA）と呼ばれる自己抗体の存在を特徴とする。この自己抗体は温度範囲に応じてRBCに結合し、より温度が低いとI抗原と反応する。CAは一般的にIgMアイソタイプであるため、CPの強力な活性化因子である。オプソニンフラグメントであるC3b及びC4bが生成してRBCに沈着すると、補体が沈着したRBCが、肝臓の常在マクロファージであるクッパー細胞の表面の補体受容体を介して貪食される。単核食細胞系細胞によるこのRBC破壊は血管外溶血（EVH）として知られており、CAD患者における貧血の主な原因である(7)。また強い免疫反応が生じているなどの特定の条件下で補体の最終カスケードが活性化されると、RBC表面に膜侵襲複合体が形成され、血管内溶血（IVH）が引き起こされる。

現時点で既承認のCAD治療薬はない。CADはステロイド及び脾臓摘出のいずれの治療でも効果が認められず、現在のところ対症療法（寒冷への曝露を避ける、必要に応じて輸血）及び免疫抑制療法（リツキシマブの単独投与又はフルダラビン若しくはベンダムスチンとの併用投与など）のみで管理されている。TNT003（スチムリマブのマウス前駆抗体）を用いたヒト*in vitro*試験において、CAD患者血清に曝露したRBCの補体沈着、溶解及び貪食がC1s阻害によって抑制されることが示されている(8)。

1.2　試験計画

スチムリマブがmAbとして*in vitro*でCPの活性を阻害し、*in vivo*の補体疾患モデルで有効性を示すことを確認することを目的として試験を計画した。

カニクイザルを用いたGLP非適用の単回及び反復IVボーラス投与試験で血清中総スチムリマブのPKプロファイルを評価した。カニクイザルにおけるトキシコキネティクス（TK）の評価は、スチムリマブの全身曝露量を評価したGLP適用反復投与毒性試験の一部として行った。GLP非適用PK及び毒性試験はすべてGLPの一般原則に従って実施しており、試験実施中に記録された逸脱はいずれも軽度で、試験の完全性及び結果の解釈に悪影響を及ぼさなかったと判断された。薬理試験はいずれも試験施設内の手続き及び手順に従って実施し、結果の信頼性及び解釈に影響を及ぼした可能性のある不測の事態はなかった。独立したGLP適用安全性薬理試験は実施しておらず、心血管系、呼吸系及び中枢神経系の評価は、カニクイザルを用いたGLP適用反復投与毒性試験の一部として実施した。この方法はICHのガイダンス（ICH S6(R1)）と合致している。

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験（5週間、26週間）では、臨床投与経路を反映させるとともにスチムリマブの曝露量を最大にするため、投与経路として点滴静注を使用した。毒性試験では、投与した用量における最高濃度（C_{max}）が*ex vivo*セルベースアッセイで得られた90%反応阻害濃度（IC_{90}）よりもはるかに高かったことから、標的が飽和していたことが裏付けられた。また、毒性試験でスチムリマブの抗薬物抗体（ADA）の抗体価を測定し、スチムリマブ曝露量に対するADAの影響及びADA産生に伴う毒性の有無を評価した。カニクイザルを用いてスチムリマブの拡充型出生前

及び出生後の発生に関する（ePPND）試験を実施した。最後に、スチムリマブの *in vitro* 種交差反応性試験、正常ヒト組織を用いた *ex vivo* 組織交差反応性試験、及び *in vitro* 免疫原性試験を実施した。

スチムリマブのがん原性を評価する非臨床試験は特に必要ないと判断した。動物を用いた毒性試験及び CP 及び C1s サブコンポーネント阻害に関する文献の科学的な重要度に基づく評価により、スチムリマブはがんのリスクを増加させないと考えられた。

2 薬理試験

薬理試験プログラムは、生化学アッセイ及び *in vitro* 補体活性化アッセイを用いてスチムリマブの特異性、選択性及び効力を評価することを目的として計画した。生化学結合アッセイ及び補体活性化アッセイの両方で種特異性が認められ、これらの試験を用いて *in vivo* 薬物動態、薬理及び毒性試験に適した動物種を選択した。また、患者の検体及び関連する標的細胞型を用いた試験を実施し、CP 阻害による疾患病態発生メカニズムへの影響を評価した。自己免疫及び感染症治療薬の殺菌作用における CP 阻害の役割を検討する試験も実施した（Module [2.6.2] 薬理試験の概要文参照）。

2.1 効果を裏付ける試験

スチムリマブは、CP 特異的セリンプロテアーゼである C1s に結合してこれを阻害するヒト化 IgG4 mAb である。スチムリマブは、患者の病原性自己抗体により誘発される CP 活性化（CAD 及び ITP を含む）の治療薬として開発されている。

この開発過程においてスチムリマブは TNT009 及び BIVV009 と称されていた。スチムリマブはマウス IgG サブクラス 2a（IgG2a）抗ヒト C1s mAb である TNT003 を元に作製されており、TNT003 と同程度の C1s 結合親和性及び抗 C1s 活性を有している。したがって、スチムリマブの *in vitro* 薬理評価にはスチムリマブ及び TNT003 の両方を使用した。正常ヒト血清（NHS）又はヒト CP タンパク質を用いた *in vitro* 試験において、スチムリマブはヒト C1s に高い親和性（10^{-10} mol/L レベル）及び特異性を有し、血清中 CP 活性を強力（50%阻害濃度［IC_{50}］は 0.3 µg/mL）かつ完全（100%）に阻害するが、AP 及び LP 活性は阻害しないことが示された（表 1）。

カニクイザル（*Macaca fascicularis*）におけるスチムリマブの C1s への結合親和性（10^{-10} mol/L レベル）及び薬理活性はヒトと同程度であった。イヌ、ミニブタ、ウサギ、ラット、マウス及びモルモットでは、スチムリマブ及び TNT003 の C1s 結合能及び血清中 CP 介在性溶血抑制作用のいずれかが認められなかった。一方、サルでは、スチムリマブはヒトと同程度の C1s 結合能（ヒト及びサル共に 10^{-10} mol/L レベル）及び 1.34%血清中 CP 介在性溶血抑制作用（IC_{50} 値はヒト及びサル共に 0.21 µg/mL）を示した（表 2）。以上のことから、カニクイザルが薬理学的に適した唯一の動物種と特定された。

表 1 - ヒト補体系におけるスチムリマブ及び TNT003 の薬理学的特性

mAb	活性型 C1s K_D (mol/L)	CP 活性 IC_{50}	最大 CP 阻害率	AP 活性	LP 活性
TNT003	5.898×10^{-10}	1.3×10^{-9} mol/L（0.22 µg/mL）	100%	阻害せず	阻害せず
スチムリマブ	2.624×10^{-10}	1.9×10^{-9} mol/L（0.34 µg/mL）	100%	阻害せず	阻害せず

略号：AP=第 2 経路、C1s=補体第 1 成分 s サブコンポーネント、CP=古典的補体経路、IC_{50}=50%阻害濃度、K_D=平衡解離定数、LP=レクチン経路
出典： TN-[redacted]08、TN-[redacted]13、TN-[redacted]13A 試験報告書

表 2 - スチムリマブの種交差反応性

種	C1s への結合 EC_{50} (mol/L)	1.34%血清中溶血 IC_{50} (µg/mL)
ヒト	2.6×10^{-10}	0.21
カニクイザル	1.6×10^{-10}	0.21
イヌ	測定せず	抑制なし [a]
ミニブタ	測定せず	抑制なし
ウサギ	測定せず	抑制なし [a]
ラット	2.2×10^{-9}	試験最高濃度（100 µg/mL）で部分的抑制
マウス	結合なし	測定せず
モルモット	測定せず	抑制なし

略号：C1s=補体第 1 成分 s サブコンポーネント、EC_{50}=50%有効濃度、IC_{50}=50%阻害濃度
a 10%血清で試験した
出典： TN-[redacted]09、TN-[redacted]09A、TN-[redacted]09 Amendment 2 試験報告書

CAD 患者の検体を用いた *in vitro* 試験において、CP 活性を阻害すると RBC 膜への C3 フラグメントの沈着（オプソニン化）及びマクロファージによるオプソニン化 RBC の貪食（EVH 過程のサロゲート）が抑制された。同様に、*in vivo* で IVH を誘発する C5b-9（膜侵襲複合体）形成及び細胞溶解も CP 阻害によって抑制された。これらのデータを総合すると、スチムリマブは CAD に伴う溶血の EVH 及び IVH 両方のメカニズムを阻害する可能性が示唆された。

ITP 患者の検体及び血小板を用いて実施した同様の試験において、ITP 患者の血小板特異的抗原に対する自己抗体は、血小板表面における補体沈着を誘発することが示唆された。重要なこととして、*ex vivo* C4d 沈着能と *in vivo* 血小板減少との間に相関がみられたことから、CP 活性が ITP 患者における血小板破壊に寄与している可能性を示すエビデンスが得られた。これらの結果から、スチムリマブ

は、ITP 患者の血小板への C4d フラグメントの沈着を抑制することにより、血小板減少を抑制する可能性もあることが示唆された。

BP 患者の血清を用いた試験において、BP 患者の血清中 BP 自己抗体により CP が活性化し、その結果、真皮表皮接合部に補体フラグメントが沈着することを示すエビデンスが得られた。さらに、この経路が活性化すると、白血球の遊走及び接着を誘発するアナフィラトキシンが産生され、補体活性化部位で催炎症性メディエーターが放出される。これらの結果から、スチムリマブは BP 患者に臨床効果を示す可能性があることが示唆された。

最後に、感作された移植レシピエントの検体を用いた単一抗原ビーズアッセイにおいて、HLA クラス I 及びクラス II 抗原に対する抗 HLA 抗体により補体沈着が誘発され、これらはスチムリマブ及び TNT003 で抑制されることを示すエビデンスが得られた。この試験において、C1 の下流で抗 HLA 抗体誘発性補体活性化を阻害するには、抗 C1s 抗体が非常に効果的であることが示された。これらの結果から、感作された移植レシピエントにおける補体介在性組織障害の治療又は予防にスチムリマブを使用できるか否かを検討することを目的として臨床試験を計画する根拠が得られた。

これらの結果を総合すると、スチムリマブは CAD における EVH 及び IVH の両方並びに ITP における血小板減少を抑制する可能性を有することが示唆された。さらに、CP 活性化阻害剤は、BP 及び抗体関連型拒絶反応（AMR）のような補体が活性化している自己免疫障害の治療に有用である可能性が示唆される。

正常な CP 活性は、「自己」抗原に対して免疫反応が起こる自己免疫疾患の予防に関与していると考えられている。自己抗原への異常な曝露が生じる原因の 1 つはアポトーシス細胞残屑と考えられる。CP は、補体フラグメント（C1q を含む）によるオプソニン化（エフェロサイトーシスとして知られる過程である早期アポトーシス細胞［EAC］の貪食クリアランスを促進する）を介したアポトーシス細胞のクリアランスに関与している。CP 成分が遺伝的に欠損している患者は、ループス様自己免疫症候群を発症する傾向がある。CP 活性の遺伝的欠損によりエフェロサイトーシス機能が低下し、それによって自己抗原への異常な曝露が生じて免疫寛容が破綻し、自己免疫が生じると考えられる。*In vitro* 自己免疫試験において、TNT003 は EAC への C1q 沈着を抑制しないことが示された。さらに、TNT003 は、EAC のエフェロサイトーシスによる望ましい免疫抑制作用も抑制しなかった。これらの結果から、そのヒト化抗体であるスチムリマブでも、CP 介在性疾患を有する患者において C1q 沈着及び EAC のエフェロサイトーシスに影響を及ぼさず、CP の遺伝的欠損患者でみられる自己免疫のリスクを低下させる可能性が示唆された。

補体は侵入病原体に対する自然免疫防御において重要な役割を果たしているため、C5 段階で終末補体を阻害すると感染リスクが上昇する。CP を阻害したときの髄膜炎菌及び肺炎球菌への感染リスクを評価するため、特徴が十分に明らかになっており C1s を特異的に阻害する別のマウス mAb の TNT005 を用いた試験を実施した。TNT005 は、スチムリマブの *in vitro* で用いられた濃度と同程度の濃度で、*in vitro* での C1s プロテアーゼ活性を特異的に阻害し、CP を完全に阻害した。得られたデータから、特異的抗莢膜抗体を含む全血での髄膜炎菌及び肺炎球菌の殺菌作用は CP を阻害しても抑制

されないことが示唆された。C1s 阻害剤の投与を受けている患者では、髄膜炎菌及び肺炎球菌の莢膜結合型ワクチンによりこれらの菌への感染リスクを低下させることができる可能性が考えられる。

2.2 安全性薬理試験

特異的補体 C1s 阻害剤としてのスチムリマブの作用機序に基づき、心血管系、呼吸系及び中枢神経系への影響の有無を検討するための独立した安全性薬理試験は実施しなかった。これは、ICH S6(R1)及び ICH S7A において、モノクローナル抗体医薬品の開発では安全性薬理評価項目の心血管系、中枢神経系及び呼吸系パラメータを、ヒト以外の霊長類を用いた反復投与毒性試験の一部として評価することが推奨されていることと一致している。

心血管系の評価（心電図、心拍数）は、サルを用いた 5 及び 26 週間反復投与毒性試験（[TN-[redacted]05]及び [TN-[redacted]16]試験）で実施した。呼吸系及び中枢神経系への影響は、一般状態の観察で間接的に評価した。全体として、これらの試験において 180 mg/kg までの用量で週 1 回 26 週間投与したとき、心血管系、呼吸系及び神経系機能にスチムリマブに関連した影響は認められなかった（Module [2.6.6] 毒性試験の概要文参照）。

3 薬物動態試験

カニクイザルを用いた単回及び反復投与試験において、5～180 mg/kg の用量範囲でスチムリマブの薬物動態（PK）及びトキシコキネティクス（TK）を調べた。

これまでに実施した非臨床 PK 及び TK 評価を表 3 に要約し、Module [2.6.5]、非臨床薬物動態試験概要表に示す。

表 3 - スチムリマブをサルに静脈内（IV）投与したときの PK 及び TK を評価する非臨床試験

試験の種類	用量 (mg/kg)	GLP 適用の有無	試験番号
単回投与 PK/PD	5、10 及び 30	非適用	[TN-[redacted]01]/[TN-[redacted]01-PK]
単回投与 PK/PD	30、45 及び 60	非適用	[TN-[redacted]02]/[TN-[redacted]02-PK]
反復投与 PK/PD	60 及び 100	非適用	[TN-[redacted]03]/[TN-[redacted]03-PK]
毒性：5 週間（TK/PD）	30、60 及び 100	適用	[TN-[redacted]05]
毒性：26 週間（TK/PD）	60 及び 180	適用	[TN-[redacted]16]
拡充型出生前及び出生後の発生（TK）	60 及び 180	適用	[T-BV009-1]

略号：PD=薬力学、TK=トキシコキネティクス

3.1 分析方法

スチムリマブの濃度を、血清（5 週間、26 週間、ePPND）又は乳汁（ePPND）の検体中で測定した。スチムリマブに対する抗体を、血清検体中で評価した。カニクイザルにおける GLP 適用試験のため、表 4 に示すプレートベースの酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）を用いたこれらの方法をバリデートした。カニクイザルを用いた IV 投与による 5 週間反復投与毒性試験（[TN-[redacted]05]試験）、26 週間反復投与毒性試験（[TN-[redacted]16]試験）及び ePPND 試験[T-BV009-1]のためのこのアッセイの GLP バリデーションを報告書[TN-[redacted]07] 及び [TN-[redacted]15]に記述する。ePPND 試験[T-BV009-1]のための乳汁中アッセイの GLP バリデーションを報告書[AR164-C1110-17-0183]に記述する。カニクイザルを用いた IV 投与による 5 週間反復投与毒性試験（[TN-[redacted]05]試験）、26 週間反復投与毒性試験（[TN-[redacted]16]試験）及び ePPND 試験[T-BV009-1]のためのスチムリマブに対する抗体の GLP バリデーションを、それぞれ報告書[TN-[redacted]08]及び[AR5701]に記述する。

表 4 - GLP 適用試験におけるスチムリマブのための TK 及び ADA アッセイ方法

試験の種類	動物種	報告書番号	GLP 適用の有無
TK 測定法のバリデーション	カニクイザル	[TN-[redacted]07] [TN-[redacted]15] [AR164-C1110-17-0183]	GLP 適用
ADA 測定法のバリデーション	カニクイザル	[TN-[redacted]08] [AR5701]	GLP 適用

3.2 雄のカニクイザルにおけるスチムリマブの単回投与 PK

5～60 mg/kg の用量で単回 IV ボーラス投与したときの最高濃度（C_{max}）は、用量の増加に伴って増加した。30 mg/kg の用量での最終相の消失半減期（$t_{1/2}$）は約 18～25 時間であった。最終時点まで外挿した濃度－時間曲線下面積（AUC_{last}）に基づく曝露量も、用量の増加に伴って増加した。

スチムリマブの全体的プロファイル及び最終相体内動態には用量の影響がみられ、用量の増加に伴ってクリアランス（CL）が減少し、$t_{1/2}$ が延長した（Module [2.6.4] 非臨床薬物動態試験の概要文、Module [2.6.5] 非臨床薬物動態試験概要表、[TN-[redacted]01]及び[TN-[redacted]02]試験参照）。

3.3 雄のカニクイザルにおけるスチムリマブの反復投与 PK

30～180 mg/kg の用量で週 1 回投与したときのスチムリマブへの曝露量は、用量の増加に伴って増加した。CL 及び $t_{1/2}$ には用量関連性があると考えられ、スチムリマブの用量増加に伴って CL は減少し、$t_{1/2}$ は延長した。スチムリマブの平均 C_{max} 及び AUC における性差は 2 倍未満であり、生物学的意義はないと考えられた。母乳中及び乳児血清中におけるスチムリマブ濃度は、60 及び 180 mg/kg/週の用量で検出限界未満であった。抗薬物抗体（ADA）が検出された動物には PK プロファイルの変化があると考えられ、ADA が検出されなかった動物と比較して濃度減少がより速やかであった。しかし、ADA が検出された日以降のこれらの動物を除外しても、全体の結論は変わらなかった。

スチムリマブの PK プロファイルは多くの mAb に典型的なものであり、注入終了後に用量依存的な C_{max} がみられ、続いて持続的な曝露量が認められた。スチムリマブを IV 投与したとき、低用量（30 mg/kg 以下）では速やかに最高濃度に達した後で速やかなクリアランスがみられ、より高い用量ではより持続的な最終相曝露量とともにより緩やかな全身クリアランスが認められた。スチムリマブの曝露量パラメータ（C_{max} 及び AUC）は、比較的低い用量では用量比例性を示したが、より高い用量では用量比を上回る曝露量の増加が認められた。スチムリマブの PK に対する標的分子を介した消失の影響はより低い用量（30 mg/kg 以下）の方がより高い用量（30 mg/kg 超）より大きいと考えられた。高用量ではスチムリマブの濃度が循環血中 C1s の濃度を超えた可能性があり、全身性 CL メカニズムの飽和が生じたと考えられる。これはスチムリマブ濃度が 100 µg/mL を上回る場合に認められた（Module [2.6.4]、Module [2.6.5]、[TN-[redacted]03]、[TN-[redacted]05]、[TN-[redacted]06]及び[T-BV009-01]試験参照）。

In vivo PD 試験において、*in vitro* 試験で観察されたのと同様に、スチムリマブは急峻な濃度－阻害反応曲線を示すことが確認された。*In vivo* 血清中 CP 活性阻害作用に関するスチムリマブの IC_{90} 値は 22.3 µg/mL であった（Module [2.6.6]）。これは *in vivo* PK/PD 試験において確認され、5 mg/kg 以上のすべての用量でスチムリマブによる速やかかつ完全な血清中 CP 活性阻害作用が認められた。血清中 CP 阻害作用の持続時間には用量依存性がみられ、用量の増加に伴って血清中 CP 阻害作用の持続時間が延長した。

4 毒性試験

医薬品開発に関する ICH ガイドラインに従い、IV 投与したスチムリマブの毒性プロファイルを、カニクイザルを用いた最長 26 週間の反復投与毒性試験並びに ePPND 試験（3 か月間の出生後評価を含む）において検討した。さらに、正常ヒト組織を用いたスチムリマブの *ex vivo* 組織交差反応性試験を実施した。探索的 *in vitro* 試験として T 細胞増殖アッセイを実施し、スチムリマブの免疫原性を評価した。また、標的とする補体の阻害に関連し、自己免疫能についての総合評価も実施した。非臨床安全性評価に用いた試験の一覧及びその GLP 適用の有無を表 5 に示す。

表 5 - スチムリマブの毒性プログラム

試験の種類及び期間（GLP 適用の有無）	投与量 [a] (mg/kg/週)	投与経路	投与頻度	動物種	試験番号
反復投与毒性					
5 週間 IV 投与毒性及び 8 週間回復（GLP 適用）	0、30、60、**100**	IV	週 1 回、5 週間連続	カニクイザル	[TN-[redacted]05]
26 週間 IV 投与毒性及び 8 週間回復（GLP 適用）	0、60、**180**	IV	週 1 回、26 週間連続	カニクイザル	[TN-[redacted]16]
生殖発生毒性					
拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験（3 か月間の出生後評価を含む）（GLP 適用）	0、60、**180**	IV	交尾確認後 20 日に初回投与、以後分娩まで週 1 回投与	カニクイザル	[T-BV009-01]
その他の毒性					
正常ヒト組織との交差反応性試験（GLP 適用）	NA	*Ex vivo*	NA	ヒト組織	[TN-[redacted]06]
自己免疫評価（CIC、抗 ENA 抗体及び抗 dsDNA 抗体）[b]（GLP 非適用）	0、30、60、100	*Ex vivo*	週 1 回、5 週間連続	カニクイザル	[TN-[redacted]01]
免疫原性（GLP 非適用）	NA	*In vitro*	NA	ヒト細胞	[TN-[redacted]02]

略号：抗 ENA=可溶性核抗原に対する抗体、抗 dsDNA=抗二本鎖 DNA、CIC=循環免疫複合体、GLP=医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、IV=静脈内、NA=適用せず

a NOAEL 用量を太字で示す。

b TN-[redacted]05 試験の検体。

4.1 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において、スチムリマブを 180 mg/kg/週までの用量で最長 26 週間点滴 IV 投与したときの忍容性は良好であった（Module 2.6.6、[3 項]参照）。被験物質に関連

する死亡及び一般状態所見はなく、また体重、摂餌量、パルスオキシメトリー、体温、呼吸数、心拍数、眼科学的検査、神経学的検査、ECG 評価、臨床病理学的パラメータ（血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）において、被験物質に関連する影響はなかった。器官重量、剖検及び病理組織学的評価において、被験物質に関連する影響はなかった。スチムリマブの PD による CP 活性阻害がヒト以外の霊長類でみられた。スチムリマブの PD プロファイルは濃度依存的であり、急峻な濃度－阻害反応曲線を示した。検討したすべての用量で、CP 活性は完全又はほぼ完全に阻害され、用量の増加とともに阻害発現期間が長くなった。スチムリマブを介した C1s 及び CP 活性の阻害に関する PD 閾値は明白であった。すなわち、循環血中濃度が 20 µg/mL を超えると C1s が完全に阻害されたが、この濃度を下回ると CP 活性が速やかに回復した。CIC-C1q 濃度、血清中抗 ENA IgG 抗体濃度及び血清中抗 dsDNA IgG 抗体濃度のような自己免疫パラメータにおいて、スチムリマブに関連する変化は認められなかった。

スチムリマブの免疫原性は軽微であった。ADA 抗体価は各週の投与前に上昇し、投与 5 分後に低下した。血清中 ADA がスチムリマブの血清中濃度あるいはスチムリマブを介した血清中 CP 活性阻害に及ぼす影響は極めて小さかった。回復試験群の ADA 抗体価は全例でベースラインレベル（10 以下）であった。ADA に関連する毒性所見はなかった。スチムリマブの各試験における無毒性量（NOAEL）での全身曝露量を表 6 に示す。

表 6 - サルを用いた GLP 適用反復投与毒性試験の NOAEL におけるスチムリマブの曝露量

TK パラメータ	5 週間 IV[ab]	26 週間 IV[ab]
NOAEL (mg/kg/週)	**100**	**180**
C_{max} (µg/mL)	2930 / 3050	14 900 / 7800
AUC (µg•h/mL)[c]	246 000 / 217 000	575 000 / 281 000

略号：AUC=濃度－時間曲線下面積、C_{max}=最高血清中濃度、GLP=医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、IV=静脈内点滴投与、NOAEL=無毒性量

a TK パラメータの値は雄／雌として示す。

b TK パラメータの値は、5 週間 IV 試験では 29 日目、26 週間 IV 試験では 176 日目の値を示す。

c TK 用検体採取間隔での AUC。5 週間試験は 0～145 時間、26 週間試験は 0～48.5 時間。

4.2 遺伝毒性試験

スチムリマブの遺伝毒性評価は実施していない（Module 2.6.6、[4 項]参照）。スチムリマブは分子量が大きい（約 145 kDa）ことから、そのままの分子として細胞膜や核膜を通過し、DNA と直接相互作用することはないと考えられた。ICH S6 (R1)ガイダンスに従うと、このようなクラス／大きさ、作用機序を有する分子の遺伝毒性試験は適切でないと考えられた。

4.3 がん原性試験

スチムリマブのような高分子量モノクローナル抗体を患者に投与した後に遺伝子傷害が生じる可能性は極めて低い(9)。ICH S6 (R1)ガイダンスに従い、スチムリマブのがん原性について科学的な重要度に基づく（weight-of-evidence）評価を実施した。この評価の一環として、古典的補体経路（CP）のC1s 阻害、及びこの阻害と腫瘍増殖との関連性について詳細な文献調査を行った。また、スチムリマブの非臨床試験から得られた関連データの解析を実施した（Module 2.6.6、[5 項]参照）。CP の阻害が及ぼす生物学的影響に関する公表文献を調査したところ、C1s 阻害とがんのリスク増加との間に関連する因果関係は認められなかった。サルを用いた最長 26 週間の一般毒性試験において、腫瘍性病変及びスチムリマブに関連する非腫瘍性の増殖病変は認められなかった。さらに、スチムリマブをサルに最長 26 週間曝露してもがん原性リスクを示す所見（器官重量、血液生化学的検査、血液学的検査、病理組織学的検査の所見）は発現しなかった。これらの試験期間中の血清中スチムリマブ濃度は、CP を最大限阻害する濃度であると予測された。サルを用いた 26 週間反復投与毒性試験で、免疫監視の障害及び免疫抑制の徴候は認められなかった。すなわち、臨床感染率の増加、血液学的検査での毒性所見、スチムリマブに関連するリンパ系組織の変化はなかった。以上、スチムリマブの非臨床毒性試験及び文献調査による科学的な重要度（weight-of-evidence）に基づく評価から、スチムリマブを長期投与してもがんのリスクは増加しないと考えられた。

4.4 生殖発生毒性試験

妊娠カニクイザルを用いてスチムリマブの ePPND 試験（3 か月間の出生後評価を含む）を実施した（Module 2.6.6、[6 項]参照）。妊娠カニクイザルに対し、交尾確認後（p.c.） 約 20 日から分娩までスチムリマブを 0、60 又は 180 mg/kg/週の用量で IV 投与した。母動物毒性は認められなかった。投与期間を通じて、スチムリマブは目標飽和濃度で全身曝露量を維持した。母動物におけるスチムリマブの忍容性は良好で、死亡あるいは被験物質に関連する一般状態所見は認められなかった。摂餌量、体重、血液学的検査及び血液凝固系検査への影響はなかった。180 mg/kg/週群の母動物で、交尾確認後 146 日にグロブリン濃度の毒性ではない軽微な増加（+17%）及びこれに関連するアルブミン：グロブリン比の軽微な減少（-22%）がみられた。

胎児のパラメータ、妊娠期間、流産又は死産において、スチムリマブに関連する影響はなかった。出生児を生後 3 か月間評価したところ、一般状態観察、体重、出生児の握力、身体検査、出生児のサイズ、神経行動学的評価、血液学的パラメータ及び骨格評価において、被験物質に関連する変化はなかった。剖検、器官重量、器官重量比、外表検査、内臓検査及び病理組織学的検査において、スチムリマブに関連する所見は認められなかった。

スチムリマブに関連する CP 活性阻害は、母動物では認められたが出生児では認められなかった。自己免疫のパラメータである抗 ENA IgG 及び抗 dsDNA IgG において、スチムリマブに関連する明らかな変化は母動物及び出生児ともに認められなかった。CIC-C1q 濃度において、母動物では被験物質に関連する変化はなかったが、出生児については結論づけられなかった。

ePPND 試験の NOAEL における全身曝露量を表 7 に示す。

結論として、妊娠中のカニクイザル母動物においてスチムリマブに関連する毒性作用は認められず、分娩後／生後 3 か月間の観察期間中に母動物及び出生児への影響は認められなかった。出生児の発達及び行動パラメータにおいて、試験期間中のどの時点でも毒性作用は認められなかった。本試験条件下で、母動物及び出生児の発達に関する NOAEL は、最高投与量である 180 mg/kg/週と考えられた。

表 7 - サルを用いた GLP 適用 ePPND 試験の NOAEL におけるスチムリマブの曝露量

TK パラメータ	ePPND IV[a]
NOAEL (mg/kg/週)	**180**
C_{max} (µg/mL)	8110
$AUC_{0\text{-}48.5h}$ (µg•h/mL)	313 000

略号：AUC=濃度－時間曲線下面積、C_{max}=最高血清中濃度、ePPND=拡充型出生前及び出生後の発生、GLP=医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、IV=静脈内点滴投与、NOAEL=無毒性量

a TK パラメータは交尾確認後 146 日の値を示す。

4.5 局所刺激性試験

スチムリマブの局所刺激性（投与部位）について、28 日間及び 26 週間反復投与毒性試験の中で評価した（Module2.6.6、[7 項]参照）。これらの試験において、被験物質に関連する投与部位所見は認められなかった。

4.6 その他の毒性試験

4.6.1 組織交差反応性

3 名の正常ヒトドナーから得られた標準的な組織パネル（40 組織）を用いて *ex vivo* 組織交差反応性試験を実施し、スチムリマブの結合能を評価した。スチムリマブは活性化 C1s と不活性化 C1s の両方を認識するため、評価組織の大部分で C1s に特異的な免疫染色が認められた。この染色パターンは、あらゆる組織で高濃度に存在する正常かつ一般的な血漿タンパク質である C1s で予想されるパターンである。組織中で免疫染色された部位は、組織や細胞の表面ではなく主に血管系（血漿）及び細胞外間隙（マトリクス）の内部である。このパターンは交差反応性（C1s 以外のタンパク質を認識）を示すものではなく、毒性学的な懸念及び安全性上の懸念は認められない。

4.6.2 自己免疫の評価

ヒトにおける遺伝性補体欠損症と自己免疫疾患の早期発症との関連についての文献エビデンスがある(10)。この潜在的リスクに対処するため、26 週間反復投与毒性試験及び ePPND 試験で自己免疫のリスクに関するマーカー（抗 dsDNA IgG 及び抗 ENA IgG）を測定した。また毒性試験では CIC-C1q 濃度も測定し、補体を介したオプソニン作用及び免疫複合体クリアランス経路が保持されているか評

価した。5 週間反復投与毒性試験では 100 mg/kg/週まで、26 週間反復投与毒性試験及び ePPND 試験では 180 mg/kg/週までの用量で、スチムリマブに関連する抗 dsDNA IgG、抗 ENA IgG 及び CIC-C1q 濃度の変化はなかった。

4.6.3 免疫原性リスク

タンパク質製剤に対する CD4+ T 細胞の反応を定量することにより、臨床的に意義のある T 細胞への免疫原性を予測しうるモデルを用いて、スチムリマブの免疫原性リスクを評価した。健康ドナー20 名から得た T 細胞を用いたところ、陽性反応がみられなかったことから、スチムリマブの免疫原性は低いことが示された。

4.6.4 薬物乱用性

スチムリマブに関連するカニクイザル中枢神経系への影響はなく、非臨床毒性試験及び薬理試験においてスチムリマブの依存性及び薬物乱用性を示唆する所見はなかった。

4.7 潜在的な毒性学的問題点に関する評価

スチムリマブで意図されている薬理作用である CP の C1s への結合及び阻害に基づき、スチムリマブが免疫系に及ぼす影響についての利用可能な非臨床データを評価し以下に示す。

4.7.1 免疫系の評価

スチムリマブは自然免疫系の特異的阻害薬であることから、この抗体の免疫学的安全性プロファイリングの一環として、3 つの懸念について評価した。第一に、CP の抑制と同時に、過度の薬理作用による毒性が免疫系に発現しないかを評価した。第二に、ヒトにおける遺伝性補体欠損症と自己免疫疾患（全身性エリテマトーデス等）の早期発症との関連に関する文献報告(10)をふまえ、スチムリマブに関連する自己免疫パラメータの変化について評価した。第三に、スチムリマブの免疫原性（患者において、中和性又は交差反応性の免疫反応が生じる可能性）をプロファイリングした。

薬理作用に関連する免疫系への毒性作用について、ヒト以外の霊長類にスチムリマブの 180 mg/kg/週までの用量を 26 週間 IV 投与する毒性試験の中で評価した。その結果、反復投与毒性試験及び ePPND 試験で、免疫学的毒性作用は認められなかった。これらの評価として、感染率増加の徴候に関する一般状態観察、従来の血液学的検査、一部のリンパ系組織の器官重量測定並びに免疫細胞及びリンパ系組織の病理組織学的評価を実施した。スチムリマブに関連した免疫系への毒性変化はなかったことから、免疫系への毒性作用が生じるリスクは低いと考えられた。

スチムリマブに関連した免疫系への直接的な阻害作用に加え、免疫応答亢進の徴候（薬物ータンパク質付加体）についても評価した。ヒトにおける遺伝性補体欠損症と自己免疫疾患の早期発症との関連が報告されている(10)。この潜在的リスクに対処するため、スチムリマブの毒性試験で自己免疫のリスクに関するマーカー（抗 dsDNA IgG 及び抗 ENA IgG）を測定した。さらに、補体を介したオプソニン作用及び免疫複合体クリアランス経路の保持について評価するため CIC-C1q 濃度も測定し

た。26 週間反復投与毒性試験及び ePPND 試験でスチムリマブを投与したところ、抗 dsDNA IgG、抗 ENA IgG 及び CIC-C1q の濃度においてスチムリマブに関連する変化はなかった。

スチムリマブ（ヒト IgG4 アイソタイプ）の免疫原性について、*ex vivo* T 細胞増殖アッセイを用いて評価した。このアッセイは、タンパク質製剤に対する CD4+ T 細胞の反応を定量することにより、臨床的に意義のある免疫原性を予測するものであった。この結果、陽性反応がみられなかったことから、スチムリマブの免疫原性は低いことが示された。

以上のことから、スチムリマブは直接的（C1s の阻害を介して）又は間接的（全身の免疫機能を変動させることで）のいずれによっても免疫系に毒性作用を及ぼすことはないと考えられた。

5　総括及び結論

CAD は、IgM が誘導する CP 活性化により生じる自己免疫性溶血性貧血（AIHA）の一種である(1)(2)(3)(4)(5)(6)。この疾患は、赤血球（RBC）の細胞表面タンパク質である I 抗原に結合する、CA と呼ばれる自己抗体の存在を特徴とする。オプソニン化フラグメントである C3b 及び C4b が生成及び沈着した結果、補体で被覆された RBC はクッパー細胞（肝固有マクロファージ）表面の補体受容体を介して貪食される。強い免疫応答が起きる等の特定の条件下では、終末補体経路が活性化された結果 RBC 表面に膜侵襲複合体が形成され、溶血に至る。現在承認されている CAD の治療薬はない。ステロイド投与及び脾臓摘出術は CAD に対する効果がなく、現在の管理方法は対症療法（低温を避ける、必要に応じて輸血）あるいは免疫毒性療法（フルダラビン又はベンダムスチンの併用下又は非併用下でリツキシマブ投与）のみである。

スチムリマブは、CP 内の C1s を標的とし、この経路を阻害するヒト化 IgG4 mAb である。補体の阻害は、様々な血液疾患に対する安全かつ有効な治療法であることが明らかにされている。

スチムリマブ濃度と CP 活性阻害との PK/PD 関連性を検討するため、カニクイザルを用いた *in vivo* 単回投与及び反復投与試験を実施した。*In vivo* PD 検討試験から、スチムリマブは急峻な濃度－反応曲線を示すことが明らかにされた。*In vivo* での血清中 CP 活性阻害作用に関するスチムリマブの IC_{90} 値は 22.3 µg/mL であった（Module [2.6.6] 参照）。これは *in vivo* PK/PD 試験においても確認され、5 mg/kg 以上の用量でスチムリマブによる速やかかつ完全な血清中 CP 活性阻害作用が認められた。血清中 CP 活性阻害の持続時間には用量依存性がみられ、用量の増加により持続時間が延長した。

スチムリマブは 180 mg/kg/週までの用量で、5 週間及び 26 週間の投与期間を通じてすべての検体採取時点で血清から検出可能であった。曝露量（C_{max} 及び AUC）はおおむね用量依存的に増加した。

最長 26 週間の反復投与毒性試験、及び 3 か月間の出生後評価を含む ePPND 試験において、いずれの器官にも毒性学的所見はみられなかった。被験物質に関連する死亡及び一般状態所見はなく、体重、摂餌量、体温、呼吸数、心拍数、パルスオキシメトリー（血中酸素飽和度）、神経学的検査、心電図評価、臨床病理学的パラメータ（血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）において、被験物質に関連する影響はなかった。器官重量、臨床病理学的検査及び病理組織学的評価項目（剖検及び病理組織学的所見）において、被験物質に関連する影響はなかった。

カニクイザルを用いた ePPND 毒性試験において、スチムリマブに関連する妊娠動物への毒性作用は 180 mg/kg/週までの用量でみられず、分娩後／生後 3 か月間の観察期間中に母動物及び出生児への毒性作用は認められなかった。交尾確認の約 20 日後から分娩までの期間投与してもスチムリマブに関連する催奇形性は認められず、出生児の発達及び行動においてスチムリマブに関連する変化はなかった。スチムリマブに関連する CP 活性阻害は、母動物では認められたが出生児では認められなかった。自己免疫のパラメータ（抗 ENA IgG 及び抗 dsDNA IgG）において、スチムリマブに関連する明らかな変化は母動物及び出生児ともに認められなかった。CIC-C1q 濃度において、母動物では被験物質に関連する変化はなかったが、出生児については結論づけられなかった。母動物、胎児及び出生児の NOAEL は、最高投与量である 180 mg/kg/週と考えられた。

スチムリマブの免疫原性は概して軽微であった。ADA が検出された動物では PK プロファイルが変化し、ADA が検出されなかった動物よりも速やかに濃度が減少した。反復投与試験及び ePPND 試験において、血清中 ADA の存在がスチムリマブを介した血清中 CP 活性阻害に及ぼす影響は軽微であった。ADA に関連する毒性所見は認められなかった。

正常ヒト組織を用いたスチムリマブの *ex vivo* 組織交差反応性試験を実施した。スチムリマブに対する特異的染色のパターンは、あらゆる組織で高濃度に存在する正常かつ一般的な血漿タンパク質である C1s で予想されるパターンに一致していた。組織中で免疫染色された部位は、組織や細胞の表面ではなく主に血管系（血漿）及び細胞外間隙（マトリクス）の内部であった。

反復投与毒性試験のデータ及び CP 阻害に関する利用可能な文献から、スチムリマブを長期投与してもがんのリスクは増加しないと考えられた。

スチムリマブの分子量（145 kDa）、反復投与毒性試験及び ePPND 試験の成熟サル並びに ePPND 試験の出生児において一般状態観察で異常行動の所見がみられず、中枢神経系組織の解剖病理学的検査で異常所見がなかったことから、スチムリマブの薬物乱用性がみられる可能性は極めて低いとの結論が裏付けられる。さらに、26 週間反復投与毒性試験での C_{max}（11700 µg/mL）は、*in vivo* 試験でのスチムリマブを介した CP 活性阻害の IC_{90} 値（22.3 µg/mL）を十分上回った。

重要な *in vivo* 毒性試験と、臨床で 6.5 g 又は 7.5 g の用量を毎週投与したときの曝露量を比較したスチムリマブの曝露量比を表 8 及び表 9 に要約する。

表 8 - 予定治療用量（6.5 g 又は 7.5 g）をヒトに投与したときの曝露量と比較したスチムリマブの曝露量比（AUC）

動物種	試験の種類	性別	NOAEL (mg/kg/週)	AUC (µg•h/mL)	曝露量比 [a]	
					ヒトへの投与量 (6.5 g)	ヒトへの投与量 (7.5 g)
カニクイザル	26 週間反復投与	MF	180	2 060 000[b]	2.6	3.6
カニクイザル	ePPND	F	180	1 670 000[c]	2.1	2.9

略号：AUC=濃度－時間曲線下面積、F=雌、M=雄、NOAEL=無毒性量

a 動物の NOAEL での血清中スチムリマブ曝露量（AUC）と、被験者に治療用量を投与したときに予想される AUC（体重 75 kg 未満のヒトに 6.5 g を投与したときには 799676 µg•h/mL、体重 75 kg 以上のヒトに 7.5 g を投与したときには 576652 µg•h/mL）とを比較。臨床試験である BIVV009-01 試験（パート A、B 及び C）、BIVV009-02 試験、BIVV009-05 試験及び BIVV009-03 試験パート A のデータに基づくシミュレーション値（POH0756）を示す。

b 176 日目の定常状態における平均 $AUC_{0\text{-}168h}$。

c 交尾確認後 146 日の母動物における $AUC_{0\text{-}168h}$。

表 9 - 予定治療用量（6.5 g 又は 7.5 g）をヒトに投与したときの曝露量と比較した
スチムリマブの曝露量比（C_{max}）

動物種	試験の種類	性別	NOAEL (mg/kg/週)	C_{max} (µg/mL)	曝露量比 [a]	
					ヒトへの投与量 (6.5 g)	ヒトへの投与量 (7.5 g)
カニクイザル	26 週間反復投与	MF	180	11 700[b]	3.6	4.3
カニクイザル	ePPND	F	180	8 110[c]	2.5	3.0

略号：**C_{max}**=最高血清中濃度、F=雌、M=雄、NOAEL=無毒性量

[a] 動物の NOAEL での血清中スチムリマブ曝露量（C_{max}）と、被験者に治療用量を投与したときの C_{max}（体重 75 kg 未満のヒトに 6.5 g を投与したときには 3228 µg/mL、体重 75 kg 以上のヒトに 7.5 g を投与したときには 2747 µg/mL）とを比較。臨床試験である BIVV009-03 試験パート A のデータに基づく。

[b] 176 日目の定常状態における C_{max}。

[c] 交尾確認後 146 日の母動物における C_{max}。

結論として、スチムリマブは薬理作用が最大となる条件下でも古典的補体経路阻害に関する安全上の懸念を示さなかった。スチムリマブの非臨床試験のデータは臨床プログラムの実施を裏付けるものであり、このデータから本薬の承認申請が支持される。すべての試験は、該当する ICH ガイダンス及び国際ガイダンスに従って実施された。

6 参考文献一覧

1. Berentsen S, Beiske K, Tjonnfjord GE. Primary chronic cold agglutinin disease: an update on pathogenesis, clinical features and therapy. Hematology. 2007; 12:361-70.
2. Petz LD. Cold antibody autoimmune hemolytic anemias. Blood Rev. 2008; 22:1-15.
3. Berentsen S. How I manage cold agglutinin disease. Br. J. Haematol. 2011; 153:309-17.
4. Swiecicki PL, Hegerova LT, Gertz MA. Cold agglutinin disease. Blood. 2013; 122:1114-21.
5. Arthold C, Skrabs C, Mitterbauer-Hohendanner G, Thalhammer R, Simonitsch-Klupp I, Panzer S, et al. Cold antibody autoimmune hemolytic anemia and lymphoproliferative disorders: a retrospective study of 20 patients including clinical, hematological, and molecular findings. Wien Klin. Wochenschr. 2014; 126:376-82.
6. Berentsen S. Complement, cold agglutinins, and therapy. Blood. 2014; 123:4010-2.
7. Frank MM, Atkinson JP, Gadek J. Cold agglutinins and cold-agglutinin disease. Annu. Rev. Med. 1977; 28:291-8.
8. Shi J, Rose EL, Singh A, Hussain S, Stagliano NE, Parry GC, et al. TNT003, an inhibitor of the serine protease C1s, prevents complement activation induced by cold agglutinins. Blood. 2014; 123:4015-22.
9. Gocke E, Albertini S, Brendler-Schwaab S, Muller L, Suter W, Wurgler FE. Genotoxicity testing of biotechnology-derived products. Report of a GUM task force. Gesellschaft fur Umweltmutationsforschung. Mutat. Res. 1999; 436:137-56.
10. Dragon-Durey MA, Quartier P, Fremeaux-Bacchi V, Blouin J, de Barace C, Prieur AM, et al. Molecular basis of a selective C1s deficiency associated with early onset multiple autoimmune diseases. J. Immunol. 2001; 166: 7612-6.

7 付録

7.1 付録 1 – 試験を実施しなかった理由

CTD の項	理由
4.2.1 薬理試験	
4.2.1.3 安全性薬理試験	独立した安全性薬理試験は実施しなかった。心血管系、呼吸系及び中枢神経系の評価は、カニクイザルを用いた反復投与毒性試験の一部として実施した。
4.2.1.4 薬力学的薬物相互作用	非臨床薬力学的薬物相互作用試験は、有用なデータが得られないと考えられたため、実施しなかった。
4.2.2 薬物動態	
4.2.2.5 排泄	モノクローナル抗体は排泄により消失しないと予想される。このため、排泄試験は実施しなかった。[a]
4.2.2.6 薬物動態学的薬物相互作用	モノクローナル抗体は一般に標的特異性が高く、タンパク質／酵素系との相互作用がないため、薬物相互作用は生じないと予想されることから、PK 相互作用試験は実施しなかった。
4.2.3 毒性試験	
4.2.3.1 単回投与毒性試験	モノクローナル抗体で急性毒性所見がみられることはまれであるため、最初の毒性試験として反復投与試験を実施した。これらの試験の初回投与後に急性毒性の評価を実施することが可能である。
4.2.3.3 遺伝毒性試験	
4.2.3.3.1 *In vitro* 試験	モノクローナル抗体が細胞内に入り、DNA に結合することはないと予想される。したがって、遺伝毒性試験は実施しなかった。[a]
4.2.3.3.2 *In vivo* 試験	
4.2.3.4 がん原性試験	
4.2.3.4.1 長期試験	動物を用いたスチムリマブの毒性試験及び古典的補体経路阻害に関する文献データの科学的な重要度（weight-of -evidence）に基づいた評価から、スチムリマブを長期投与してもがんのリスクは増加しないとの結論が裏付けられたため、がん原性試験は実施しなかった。
4.2.3.4.2 短期又は中期試験	
4.2.3.4.3 その他の試験	
4.2.3.5 生殖発生毒性試験	
4.2.3.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	反復投与試験で、いずれの雌雄生殖器にも被験物質に関連する変化は認められなかった。
4.2.3.5.2 胚及び胎児発生に関する試験	胚・胎児毒性は、サルを用いた拡充型出生前／出生後発生毒性試験の中で評価した。被験物質に関連する胚・胎児毒性は認められなかったため、追加の非臨床試験を実施する必要はなかった。
4.2.3.5.4 新生児又は幼若動物を用いた試験	サルを用いた拡充型出生前／出生後発生毒性試験の中で、妊娠期間中に目標飽和量のスチムリマブを投与された個体からの出生児を、最長で生後 3 か月まで追跡した。被験物質に関連する所見がなかったことから、幼若動物を用いた試験は実施しなかった。

CTD の項	理由
4.2.3.7 その他の毒性試験	
4.2.3.7.1 抗原性試験	一般毒性試験において、試験結果の解釈を補助するため左記の試験が必要となる所見はみられず、あるいはスチムリマブは生物学的製剤であることから、左記の試験は実施しなかった。
4.2.3.7.2 免疫毒性試験	
4.2.3.7.3 毒性発現の機序に関する試験	
4.2.3.7.4 依存性試験	
4.2.3.7.5 代謝物の毒性試験	
4.2.3.7.6 不純物の毒性試験	

a 医薬品規制調和国際会議ガイドライン S6 (R1)「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」に基づく根拠