第 2 部　CTD の概要

一般名：テゼペルマブ（遺伝子組換え）

版番号：[redacted]

2.4　非臨床試験の概括評価
テゼペルマブ（遺伝子組換え）

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次

標題ページ 1
目次 2
略語及び専門用語一覧表 3
2.4.1 非臨床試験計画概略 5
2.4.2 薬理試験 7
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 7
2.4.2.2 副次的薬理試験 10
2.4.2.3 安全性薬理試験 10
2.4.3 薬物動態試験 10
2.4.3.1 吸収 10
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 薬物動態学的相互作用 11
2.4.4 毒性試験 11
2.4.4.1 動物種選択の根拠及び妥当性 11
2.4.4.2 単回投与毒性 12
2.4.4.3 反復投与毒性 12
2.4.4.4 遺伝毒性試験 13
2.4.4.5 がん原性試験 13
2.4.4.6 生殖発生毒性試験 13
2.4.4.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生 14
2.4.4.6.2 妊娠カニクイザルを用いたテゼペルマブの静脈内投与による 6.5 カ月間の出生後評価を含む母動物、胚・胎児及び出生児毒性（ePPND）試験（試験 108825） 14
2.4.4.7 局所刺激性試験 14
2.4.4.8 その他の毒性試験 14
2.4.4.8.1 テゼペルマブの組織交差反応性試験 14
2.4.4.8.2 免疫毒性試験 15
2.4.5 総括及び結論 15
2.4.6 参考文献 17

表目次

表 1 カニクイザル毒性試験における無毒性量と日本人患者での最大推奨臨床用量における曝露量比較 17

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
ADA	Anti-drug antibody：抗薬物抗体
AUC	Area under the concentration-time curve：血清中濃度－時間曲線下面積
BAF	B cell activating factor：B 細胞活性化因子
BAF/BO3	IL-3-dependent pro-B cell line：IL-3 依存性 pro-B 細胞株
[redacted]	[redacted]
BALF	Bronchoalveolar lavage fluid：気管支肺胞洗浄液
CCL17	CC chemokine ligand 17：CC ケモカインリガンド 17
CCL22	CC chemokine ligand 22：CC ケモカインリガンド 22
CIC	Circulating Immune Complex：血中免疫複合体
C_{max}	Maximum serum concentration：最高血清中濃度
CYP	Cytochrome P450：シトクロム P450
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay：酵素結合免疫吸着法
ePPND	enhanced pre- and post-natal development：拡充型出生前及び出生後発生（試験）
FITC	Fluorescein isothiocyanate：フルオレセインイソチオシアネート
GINA	Global Initiative for Asthma：国際喘息ガイドライン
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
IC_{50}	50% inhibition concentration：50%阻害濃度
ICH	International council for harmonisation of technical requirements for pharmaceuticals for human use：医薬品規制調和国際会議
IgE	Immunoglobulin E：免疫グロブリン E
IgG	Immunoglobulin G：免疫グロブリン G
IL	Interleukin：インターロイキン
IL-4Rα	Interleukin-4 receptor α subunit：インターロイキン-4 受容体 α サブユニット
IL-7Rα	Interleukin-7 receptor α subunit：インターロイキン-7 受容体 α サブユニット
ILC2	Group 2 innate lymphoid cell：2 型自然リンパ球
IV	Intravenous：静脈内
K_D	Equilibrium dissociation constant：平衡解離定数
K_I	Equilibrium inhibition constant：平衡阻害定数
KLH	Keyhole limpet hemocyanin：キーホールリンペットヘモシアニン
mAb	Monoclonal antibody：モノクローナル抗体
MDC	Macrophage-derived chemokine：マクロファージ由来ケモカイン
MRHD	Maximum recommended human dose：最大推奨臨床用量
OECD	Organization for rconomic co-operation and development：経済協力開発機構
OVA	Ovalbumin：卵白アルブミン

略語及び専門用語	用語の説明
PBMC	Peripheral-blood mononuclear cell：末梢血単核細胞
SC	Subcutaneous：皮下
STAT5	Signal Transducer and Activator of Transcription 5：シグナル伝達性転写因子 5
STAT6	Signal Transducer and Activator of Transcription 6：シグナル伝達性転写因子 6
$t_{1/2,z}$	Terminal half-life：終末相消失半減期
TARC	Thymus and activation-regulated chmokine：胸腺及び活性化制御ケモカイン
TCR	Tissue cross-reactivity：組織交差反応
TNFα	Tumor Necrosis Factor α：腫瘍壊死因子 α
TK	Toxicokinetics：トキシコキネティクス
t_{max}	Time to maximum serum concentration：最高血清中濃度到達時間
TSLP	Thymic Stromal Lymphopoietin：胸腺間質性リンパ球新生因子
TSLPR	Thymic Stromal Lymphopoietin Receptor：胸腺間質性リンパ球新生因子受容体

2.4.1　非臨床試験計画概略

アストラゼネカ社は、12 歳以上の重症喘息患者に対する追加維持療法薬としてテゼペルマブ（旧称 AMG 157 又は MEDI9929）を開発している。テゼペルマブは TSLP に直接結合するヒト IgG2λ の mAb である。推奨用量は、テゼペルマブ 210 mg の 1.91 mL（110 mg/mL）を 4 週間ごとに 1 回 SC 投与する。

喘息は慢性の不均一な炎症性気道疾患であり、全世界では約 3.58 億人の患者数と推定されている（GINA 2020）。喘息は、気管支過敏性、不定な症状（喘鳴、息切れ、胸部絞扼感及び咳嗽）並びに不定な呼気気流制限を特徴とする。また、症状と肺機能が悪化するエピソードである増悪も、喘息の特徴である。

既存の治療にもかかわらずコントロール不良である喘息患者では症状の管理が限定的であり、頻繁に増悪し、生活の質は低下している。既承認の生物学的製剤からは重症のアレルギー性喘息患者、好酸球性喘息患者及び／又は経口グルココルチコイド薬を必要とする患者の治療に重要な貢献が得られているものの、既存の生物学的製剤療法に適さない患者がいる。また、生物学的製剤療法に適した患者の多くは、治療中にも増悪の発生が続く。このため重症喘息には、治療が困難な喘息の表現型を示す患者を含めて広範な患者層に有効である治療法を求める明らかなアンメットニーズが存在する。

TSLP は、様々な炎症誘発性刺激（アレルゲン、ウイルス、病原体、浮遊微小粒子、外傷等）に反応して産生される上皮細胞由来サイトカインである。TSLP は、主に樹状細胞、T 細胞、ILC2 及び肥満細胞を介して喘息の病態生理を誘導する重要な要因であると考えられている（Allakhverdi et al 2007、Gauvreau et al 2020、Gilliet et al 2003、Reche et al 2001、Soumelis et al 2002）。ヒト上皮細胞を用いた *in vitro* 試験では、TSLP が樹状細胞に作用を及ぼし、2 型ヘルパーT 細胞の産生を誘導する CCL17/TARC 及び CCL22/MDC の産生を刺激することが立証されている。TSLP に刺激された樹状細胞によってナイーブ T 細胞が 2 型炎症の表現型に向けて分極化し、IL-4、IL-5、IL-13 及び TNFα を産生する（Soumelis et al 2002）。2 型サイトカイン環境では、サイトカインの IL-4 及び IL-13 が B 細胞から IgE 産生細胞へのクラススイッチを誘導し、IL-5 は好酸球の分化及び成熟を誘導する。

また、TSLP は組織中に存在する自然免疫細胞群を活性化又は維持することができる。TSLP は、サイトカイン IL-1 及び TNFα とともに、IgE 非依存的にヒト肥満細胞による 2 型サイトカインの産生増強を強力に刺激することができる（Allakhverdi et al 2007）。TSLP は、肥満細胞からヒスタミン、プロスタグランジン及びロイコトリエンの放出を直接誘発しないと思われるが、TSLP によって形成された 2 型サイトカイン環境では、これらのメディエータの放出を含め、IgE 依存的な肥満細胞の反応を引き起こす可能性がある。そのようなメディエータは、気道平滑筋に及ぼす作用を介して、アレルゲン曝露モデルにおける即時型反応により特徴付けられる気道過敏症の一因となると考えられる（Gauvreau et al 2014）。TSLP はサイトカイン IL-13 及び IL-5 の重要な供給源である ILC2 の生存因子であることを示した研究も報告されている（Camelo et al 2017）。炎症反応上流のサイトカインとして、TSLP の役割は、局所炎症反応に影響を及ぼす様々なアレルギー性及び非アレルギー性の刺激に反応して、免疫細胞と気道構造細胞との間の情報伝達を行うことであると考えられる。

喘息患者を対象としたトランスレーショナル研究では、TSLP タンパク質量の増加が濃縮 BALF 中で検出可能となっており、この量は疾患重症度と相関する（Ying et al 2008）。テゼペルマブ（抗 TSLP mAb）を用いた初期の臨床開発試験で、抗原曝露に対する即時型及び遅発型反応がプラセボ群に比較して減弱したことから、TSLP は、肥満細胞反応及び炎症細胞の気道への浸潤の双方に関与することが示唆された（Gauvreau et al 2014）。

非臨床試験からは、皮膚及び肺の炎症促進における TSLP の機構的な役割について詳しい知見が得られている（薬理試験の概要文 2.6.2 項参照）。*In vivo* 薬理試験によると、IL-4 及び IL-13 の作用から生じるシグナル伝達経路等を含め、気道炎症に関与する複数の経路が TSLP の遮断によって阻害されることが示されている。マウス OVA 誘発アレルギー性気道炎症で確立された喘息様の表現型の軽減に、TSLP 遮断が有効であることが立証されている。STAT6 ノックアウトマウス及び IL-4Rα ノックアウトマウスに TSLP を皮内注射したとき、炎症誘発性の IL-5 の産生が誘導された。マウスの接触過敏反応モデルでは、TSLP の遮断は対照マウスと比較して耳介腫脹の抑制に有効であり、特にこの *in vivo* モデルの感作誘導期内の投与が有効であった。

肺に TSLP を過剰発現するトランスジェニックマウスの非臨床試験で喘息様の気道炎症が証明され（Zhou et al 2005）、TSLP 受容体欠損マウスは OVA 誘発アレルギー性気道炎症から保護されることが示された（Al-Shami et al 2005）。これらのモデルは、TSLP の存在又は TSLP の下流の作用がマウスの気道炎症発現の必要条件であることを示す証拠である（Al-Shami et al 2005）。

In vitro 薬理試験では、テゼペルマブの結合親和性及び特異性の特性を解析し、ヘテロ二量体 TSLP 受容体への TSLP 結合に対するテゼペルマブの阻害能の特性を解析することを目指した。TSLP 遮断の薬力学作用は、ヘテロ二量体 TSLP 受容体（IL-7Rα 鎖及び TSLPR 鎖）を発現する形質導入細胞を用いて検討した。ヒト及びカニクイザル TSLP タンパク質に対するテゼペルマブの活性の特性解析も実施し、毒性試験の対象種としてのカニクイザルの適切性を評価することも、試験の目的であった。これらの試験では初代培養細胞と安定発現細胞株の両者を用い、組換え及び天然ヒト及びカニクイザル TSLP の介在する生物活性に対するテゼペルマブの中和能が立証された。マウスモデルの *in vivo* 試験を実施し、肺及び皮膚の炎症に対する TSLP 遮断の生物学的影響を評価した。マウスでは交差反応性を欠くため、試験では代替抗体である抗マウス TSLP 抗体（M702）を使用した（Quentmeier et al 2001、Pandey et al 2000）。

テゼペルマブがヒト及びカニクイザル TSLP に対してピコモル濃度の親和性で結合し、ヒト及びカニクイザルの TSLP に対してナノモル未満の濃度の中和活性を示すことに基づき、非臨床安全性評価における適切な動物種としてカニクイザルを選択した。テゼペルマブはマウス、ラット又はウサギの TSLP と交差反応を示さなかった。以上から、げっ歯類及びウサギは薬理学的に適切な動物種ではなく、テゼペルマブの薬理学的な毒性評価には、カニクイザルが唯一適切な動物種であると判断された。

テゼペルマブの薬理及び毒性プロファイル特性を明らかにするため、合計 20 の非臨床試験を実施した。全試験のうち 10 試験は非臨床薬理試験であり（代替抗体である抗マウス TSLP mAb の M702 を使用した *in vivo* モデルを含む）、1 試験は安全性薬理試験である。安全性薬理試験の結果は他の非臨床薬理試験の結果と併せて記載している（薬理試験の概要文 2.6.2 項及び薬理試験概要表 2.6.3 項参照）。2 試験は単回投与非臨床薬物動態試験であり（薬物動態試験の概要文 2.6.4 項及び薬物動態試験概要表 2.6.5 項参照）、7 試験は毒性試験である（毒性試験の概要文 2.6.6 項及び毒性試験概要表 2.6.7 項参照）。毒性試験のうち 5 試験では TK の解析も行われた。全ての非臨床安全性試験は GLP 基準に加え、ICH ガイドライン、特に ICH S6(R1)ガイドラインに従って実施した。また、全ての重要な非臨床安全性試験は OECD 加盟国において OECD の GLP ガイドラインにも準拠して実施した。

テゼペルマブの毒性試験パッケージには、GLP 適用の最長 6 カ月間のカニクイザル反復投与毒性試験 4 試験、妊娠カニクイザルを用いた ePPND 試験、ウサギを用いた局所刺激性試験、並びに正常ヒト及びカニクイザル組織パネルを用いた TCR 試験が含まれる。免疫毒性及び雌雄受胎能の間接的な評価は、反復投与毒性試験及び ePPND 試験で行った。

非臨床薬理試験はテゼペルマブの生化学的及び機能的特性を解析するため実施した。その結果、以下のことが明らかとなった。

- IL-7Rα 鎖及びヒト TSLPR 鎖から構成されるヒトヘテロ二量体 TSLP 受容体へのヒト TSLP の結合に対するテゼペルマブの阻害能。
- ヒト及びカニクイザルの TSLP に対するテゼペルマブの高い結合親和性特性、K_D 値はそれぞれ 15.8 pM 及び 32.2 pM。機能性ヒトヘテロ二量体 TSLP 受容体を安定発現するマウス BAF 細胞株、初代培養ヒト樹状細胞及びカニクイザル PBMC における反応で、TSLP に誘発される増殖を抑制するテゼペルマブの効力。
- ラット及びウサギ TSLP に対するテゼペルマブの結合の欠如。
- 全血 *ex vivo* 刺激試験法において TSLP に誘発される STAT5 のシグナル伝達を遮断するテゼペルマブの用量依存的な活性。
- げっ歯類 *in vivo* モデルで代替 TSLP 遮断抗体として使用する抗マウス TSLP 抗体 M702 の結合及び薬力学的阻害特性の適切性。
- マウス OVA モデルにおける気道炎症を抑制する M702 抗体の効力。
- BALF 及び肺組織中炎症細胞集積の確立における鼻腔内投与 TSLP の役割、並びに、杯細胞過形成の減少も含めた、この炎症反応に対する抗 TSLP mAb（M702）又は抗 IL-4Rα mAb（Mu317RaXMu）による軽減。
- FITC 誘発マウス接触過敏症モデルの接触過敏反応における炎症誘発物質としての TSLP の影響、並びにこのモデルの感作誘導期及び曝露期中の M702 抗体による TSLP 遮断の影響。
- 野生型、STAT6 ノックアウト及び IL-4Rα ノックアウトマウスに皮内投与したマウス TSLP タンパク質の影響。TSLP の作用は、IL-4 及び IL-13 に部分的に依存するが、完全には依存しないことが証明された。
- カニクイザルの単回 IV 投与試験で、安全性薬理試験の評価項目（心血管系、呼吸器系及び神経行動）にテゼペルマブが有害作用を及ぼす可能性。

カニクイザルにテゼペルマブを IV 及び SC 投与後の薬物動態特性について、単回投与薬物動態試験 2 試験、反復投与毒性試験 4 試験及び生殖発生毒性試験 1 試験の TK の結果より評価した。

テゼペルマブの毒性評価は GLP 適用の 7 試験（4 つのカニクイザル反復投与毒性試験(最長 6 カ月間)、妊娠カニクイザル ePPND 試験、ウサギ局所刺激性試験並びに正常ヒト及びカニクイザル組織を用いた TCR 試験）で行った。

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

In vitro 薬理試験を実施し、テゼペルマブの結合親和性、特異性及び阻害特性を明らかにした。一連の *in vivo* 試験ではマウスの肺及び皮膚炎症モデルにおける TSLP 遮断の薬理を探索した。薬理学的評価の目的は、（1）テゼペルマブの結合及び阻害特性に基づき、臨床試験の候補物質としての適切性を明示すること、（2）安全性及び毒性試験に向けた動物種選択を裏付けるデータを得ること、及び（3）TSLP シグナル伝達の病理を探索し、TSLP の作用遮断の機構的影響を理解することであった。

薬理試験の概要文及び概要表はそれぞれ 2.6.2 項及び 2.6.3 項に示した。

テゼペルマブの動的及び競合的結合特性は ^{125}I 標識組換えヒト TSLP と、ヒトヘテロ二量体 TSLP 受容体（TSLPR 鎖及び IL-7α 鎖からなる）を発現する、形質導入した BAF 細胞を用いて検討した（試験 R20070415）。この試験では、TSLP のヘテロ二量体受容体への結合に対するテゼペルマブの阻害能が立証され、したがって遮断抗体としての作用機序が確立された。ここに報告されたテゼペルマブの高い親和性の結合の K_D 値（試験 R20070150）と強力な阻害（K_I 値）によって、更なる検討を進める臨床開発候補としてテゼペルマブが適していることが立証された。特に TSLP について決定された高い親和性の平衡結合定数は、テゼペルマブがカニクイザル TSLP よりヒト TSLP に対して強い阻害薬であることを示唆するバイオアッセイデータと一貫性を示した。^{125}I-組換えヒト TSLP の [redacted] 細胞への結合のテゼペルマブによる阻害についての見かけの K_I 値は 28.7 pM（95%信頼区間：16.0 pM～51.7 pM）であり、テゼペルマブが組換えヒト TSLP のヘテロ二量体 TSLP 受容体への結合を強く阻害することが示された。

テゼペルマブはナノモル未満の濃度で TSLP に誘発される活性を機能的に阻害することが複数のバイオアッセイで示された。1 つの試験法では初代培養ヒト末梢血骨髄系［CD11c+］樹状細胞を使用し、別の試験法では初代培養カニクイザル PBMC を使用した。3 番目の試験法では、[redacted]を使用した（試験 R20070415）。同じ報告書内で、テゼペルマブのヒト TSLP、マウス TSLP 及びカニクイザル TSLP への結合が、組換え型及び天然型の TSLP タンパク質を用いて表面プラズモン共鳴法（Biacore™）によって評価された。テゼペルマブはヒト及びカニクイザルの TSLP に高い結合親和性を示し、マウスの TSLP には結合しなかった。テゼペルマブのヒト TSLP に対する結合の K_D 値は 15.8 pM であり、カニクイザル TSLP に対する結合の K_D 値は 32.2 pM であった。Biacore™ 法でテゼペルマブとマウス TSLP との結合が認められなかったことは、ELISA 法でテゼペルマブとマウス TSLP との交差反応性が検出されなかった結果と合致する。試験 R154265 の報告書には、テゼペルマブとラット TSLP 又はウサギ TSLP との結合がないことが示されている。得られている証拠を根拠とし、テゼペルマブがヒト及びカニクイザル TSLP に対してピコモル濃度の親和性で結合し、ナノモル未満の濃度の効力でヒト及びカニクイザルの TSLP の作用を中和したことに基づき、非臨床安全性評価に適切な毒性試験動物種としてカニクイザルを選択した。

ヒト血液から単離した初代培養ヒト樹状細胞（CD11c+及び CD14 low 表現型）を用い、組換えヒト TSLP に誘発される STAT5 リン酸化に対するテゼペルマブの阻害能を検討した（試験 R20070151）。TSLP は用量依存的にリン酸化 STAT5 のシグナル伝達を誘導することが確認され、EC_{50} 値は約 10 pg/mL であった。STAT5 シグナル伝達のテゼペルマブによる阻害を評価するため、2 段階の TSLP 濃度を選択した。TSLP に誘発される STAT5 リン酸化はテゼペルマブの存在下で阻害され、テゼペルマブが TSLP 添加前にヒト樹状細胞とともにプレインキュベートされたか、TSLP とテゼペルマブが樹状細胞培養曝露前に予め添加されていたかどうかを問わなかった。以上のデータにより、*ex vivo* の全血刺激においてテゼペルマブが TSLP に結合することができ、添加リガンド（TSLP）に誘発されたシグナル伝達を阻止することができると立証された。したがって血清が存在してもテゼペルマブが標的に結合し、シグナル伝達を遮断する効力に対する影響はない。

テゼペルマブはマウス TSLP に結合しないため、代替抗体である抗マウス TSLP mAb（M702）のマウス TSLP に関した薬理特性を評価した（試験 R20080116）。M702 は高い親和性で組換えマウス TSLP に結合した（K_D 値：41 pM、Biacore™ により測定）。M702 は TSLP とともにプレインキュベートしたときにも強い中和能を示した。具体的には、TSLP に誘発された骨髄由来マウス樹状細胞からの CCL17/TARC 産生について、IC_{50} 値は 229 pM であった。これらの薬力学試

験結果により、M702 が *in vivo* における非臨床試験で使用するに適した代替抗体であることが立証された。

BALB/c マウスを用いたアレルギー性喘息の OVA モデルにおいて、予防投与及び曝露時投与の両方のプロトコールを用い、抗 TSLP M702 投与の影響を評価した（試験 R20070146）。感作誘導中及び OVA 曝露期の前に M702 20 mg/kg を IV 投与したところ、対照ラット IgG 投与マウスと比較して BALF 中細胞数及びメタコリン曝露に対する気道過敏性が顕著に抑制された。OVA 曝露期に M702 を鼻腔内投与したとき血清 IgE 濃度、並びに BALF 中の IL-5 及び IL-13 濃度も低下した。OVA 曝露期中の M702 の鼻腔内投与によって OVA 特異的 IgE 濃度と総血清 IgE 濃度がいずれも用量依存的に低下した。肺の組織検査又は肺所属リンパ節細胞培養によるサイトカイン産生には、M702 を投与しても影響は認められなかった。以上のデータを総合すると、喘息の OVA モデルで M702 により TSLP を遮断するとアレルギー性炎症の徴候が軽減することを示している。

炎症誘発物質としての TSLP の役割を探索するため、BALB/c マウスの鼻腔内 TSLP チャレンジモデルを確立し、IL-4Rα 経路の介在する表現型を得た（試験 R20070148）。このモデルは BALF 及び肺組織中炎症細胞の若干の増加、杯細胞増生、並びに BALF 中の CD40 及び VCAM-1 の存在を特徴とする。マウス抗 TSLP mAb（M702）及び抗 IL-4Rα mAb（Mu317RaXMu）の 2 種類の遮断物質を使用した。M702 又は Mu317RaXMu は BALF 及び肺組織中の炎症細胞集積を抑制し、杯細胞の増生は完全に（M702）又は部分的に（Mu317RaXMu）抑制された。以上の結果により、TSLP に誘導される表現型は部分的に IL-4Rα 経路に媒介されており、TSLP の遮断によって完全ではないものの部分的に抑制されることが示された。

更に TSLP 遮断の影響を検討する試験で、抗マウス TSLP mAb（M702）による皮膚炎症の軽減をマウスの接触過敏症モデルで評価した（試験 R20070147）。このモデルは皮膚炎症の確立にハプテン FITC を使用し、ヒトのアトピー性皮膚炎と共通点がある。モデルの感作誘導期と曝露期に M702 10 mg/kg を IV、5 mg/kg（100 µg/個体）を腹腔内に投与したところ、24 時間後の炎症反応が C57BL/6 マウスでは約 60%低下し、BALB/c マウスでは 36%低下した。M702 による TSLP 遮断の影響は感作誘導期に最も顕著であり、TSLP 遮断が FITC 免疫応答の開始に影響すると示唆された。M702 を曝露期に投与したとき、FITC 曝露に対する抗原再刺激反応は遮断されなかった。この試験では、このモデルにおける M702 の考え得る作用機序には FITC 感作誘導中の樹状細胞遊走の阻害が介在することも判明した。

TSLP 誘発炎症の生物学的経路を詳しく解明するため、野生型 BALB/c マウス及び 2 種類のノックアウトマウスモデル（IL-4Rα ノックアウト及び STAT6 ノックアウト）で TSLP による 2 型炎症の誘発を評価した（試験 R20070149）。TSLP の皮内注射により、2 型サイトカイン及びケモカイン遺伝子発現を伴う皮膚炎症及び線維化が誘発され、所属リンパ節再刺激培養による 2 型サイトカイン産生が増加することが確認された。なお、IL-4Rα ノックアウトマウスでは、TSLP 投与による皮膚への炎症細胞浸潤が残存していたものの、線維化の徴候は認められなかった。STAT6 ノックアウトマウスでは、TSLP 投与による炎症細胞浸潤及び線維化のいずれも認められた。この試験の結果を総合すると、TSLP 皮内投与に対する免疫応答は部分的に IL-4 及び IL-13 に依存しており、TSLP に誘発される IL-5 産生は皮膚炎症の一部の再現に十分であり、STAT6 ノックアウトマウスの場合には、野生型マウスに認められる線維化の再現に十分であった。IL-4Rα ノックアウトと STAT6 ノックアウトのいずれのモデルでも、TSLP を投与したマウスの血清中で B 細胞のクラススイッチ（IgM 産生から IgE 産生に変換）は認められなかったのに対し、TSLP を投与した野生型マウスでは大量の IgE が産生された。この報告は、公表されている研究の所見、すなわち細胞活性化、増殖、トラフィッキング、免疫グロブリンクラススイッチ等の

様々な反応に介在する広範な 2 型サイトカイン環境を TSLP が誘導するとの所見に合致する（Zhou et al 2005、Ziegler 2012）。

2.4.2.2 副次的薬理試験

テゼペルマブに関する副次的薬理試験は実施しなかった。

2.4.2.3 安全性薬理試験

テゼペルマブの安全性薬理について、カニクイザルに 300 mg/kg を単回 IV 投与した GLP 適用試験で評価した（試験 109453）。テゼペルマブの関連する心血管系機能、呼吸数、体温又は神経学的行動に対する影響は認められなかった。また、カニクイザル反復投与毒性試験（最高 300 mg/kg を 7 日ごとに 1、3 及び 6 カ月間 SC 投与、最高 300 mg/kg を 7 日ごとに 1 カ月間 IV 投与及び 50 mg/kg を 7 日ごとに 6 カ月間 IV 投与）の構成要素として評価した安全性薬理の評価項目について、中枢神経系（一般状態観察）及び体温、呼吸器系（呼吸数）、腎系（尿検査）及び心血管系（心拍数及び心電図評価）に対するテゼペルマブの関連する毒性所見は認められず、脳、心臓、肺、腎臓等の関連組織の組織学的検査でもテゼペルマブ投与の関連する毒性は認められなかった。

2.4.3 薬物動態試験

テゼペルマブの薬物動態及び免疫原性は、カニクイザルにテゼペルマブ最高用量 300 mg/kg を単回及び反復 IV 投与並びに SC 投与した非臨床薬物動態試験及び毒性試験の 7 試験で評価した。7 試験の内訳は、単回 IV 及び SC 投与した薬物動態試験（試験 108662 及び試験 109742）、1 カ月及び 3 カ月間反復 SC 投与毒性試験（試験 108823 及び試験 108448）、1 カ月間反復 IV 投与毒性試験（試験 111874）、6 カ月間反復 IV 及び SC 投与毒性試験（試験 108824）及び ePPND 試験（試験 108825）である。薬物動態試験の概要文及び概要表はそれぞれ 2.6.4 項及び 2.6.5 項に示した。

2.4.3.1 吸収

カニクイザルにテゼペルマブを単回 SC 投与後の薬物動態は 0.1～50 mg/kg の検討用量で線形であった。$t_{1/2,z}$ の平均値の範囲は 10～14 日、t_{max} の中央値は 3～4 日、5 mg/kg SC 投与後のバイオアベイラビリティは約 73%であった。

カニクイザルを用いた 6 カ月間反復投与毒性試験において、週 1 回 50 及び 300 mg/kg SC 投与後の曝露量は概ね用量比例的に増加し、雌雄間の曝露量（2 倍未満）に明らかな性差は認められなかった。6 カ月間反復投与後の累積係数は 50 及び 300 mg/kg 群でそれぞれ 2.44 及び 1.74 であった。血清中テゼペルマブ濃度は 5 カ月間の回復期間中に徐々に低下したが、300 mg/kg SC 投与群では最終日まで全例で血清中テゼペルマブ濃度を測定可能であった。妊娠カニクイザルを用いた母動物、胚・胎児及び出生児毒性試験において、妊娠期間中に週 1 回 50 及び 300 mg/kg IV 投与後の乳汁中テゼペルマブ濃度はいずれの用量でも血清中テゼペルマブ濃度の 1%未満であった。出産後（出生後）の観察期間において、母動物及び出生児におけるテゼペルマブの消失速度は同程度であった。母動物の乳汁中テゼペルマブ濃度が非常に低いことから、テゼペルマブの出生児への移行の大部分は子宮内で生じたと考えられるが、乳汁を介して移行した可能性もある。

6 カ月間反復投与毒性試験で ADA 発現及び血中免疫複合体形成が認められた 1 例（安楽死させた）を除き、テゼペルマブを投与した全ての動物で投与期間を通して生物学的活性を示す血清

中テゼペルマブ濃度が認められた。ADA 発現は投与期間中のテゼペルマブの曝露量に影響しなかった。

2.4.3.2 分布

組織分布に関する試験は実施しなかった。テゼペルマブは IgG のため、細胞外液への分布が大部分を占めると考えられる（Ryman and Meibohm 2017）。カニクイザルに単回 IV 投与後の分布容積は血漿容積と同程度の約 50 mL/kg であり、分布は血管外液に限定されることが示された。

2.4.3.3 代謝

代謝に関する試験は実施しなかった。テゼペルマブは mAb のため、小分子のペプチド及びアミノ酸に分解されると考えられる。テゼペルマブの活性代謝物はないと考えられる。

2.4.3.4 排泄

排泄に関する試験は実施しなかった。テゼペルマブは mAb のため、内因性の IgG と同じ細網内皮系への取り込みにより消失すると考えられる。テゼペルマブの分子量は糸球体ろ過の閾値より大きいため腎排泄はないと考えられる。

2.4.3.5 薬物動態学的相互作用

薬物動態学的相互作用試験は実施しなかった。

テゼペルマブの代謝に CYP 分子種はほとんど関与しないことから、併用薬による代謝への影響に関して薬物動態学的相互作用はないと考えられる。

2.4.4 毒性試験

毒性試験結果の詳細は、毒性試験の概要文 2.6.6 項及び概要表 2.6.7 項に示した。すべての重要な非臨床安全性試験は OECD 加盟国において OECD の試験ガイドライン及び GLP の原則に準拠して、また関連する ICH ガイドライン、特に ICH S6 (R1)、ICH M3 (R2)及び ICH S5 (R2)ガイドラインに準拠した毒性試験群を実施し、テゼペルマブの安全性プロファイルを評価した。

これらのデータにより、6 カ月試験での SC 投与の無毒性量と、210 mg を 4 週間毎に SC 投与する MRHD との間の十分な安全域が確認された。

テゼペルマブの毒性評価は GLP 適用の 7 試験（4 つのカニクイザル反復投与毒性試験(最長 6 カ月間)、妊娠カニクイザル ePPND 試験、ウサギ局所刺激性試験並びに正常ヒト及びカニクイザル組織を用いた TCR 試験）で行った。

2.4.4.1 動物種選択の根拠及び妥当性

テゼペルマブはヒト及びカニクイザルの TSLP に対して高い親和性（K_D 値はそれぞれ 15.8 pM 及び 32.2 pM）で結合し、ヒト及びカニクイザルの TSLP に対して高い中和活性を示すことに基づき、毒性評価に用いる薬理学的に適切な動物種としてカニクイザルを選択した。

テゼペルマブはマウス（試験 R20070150）、ラット又はウサギ（試験 R154365）の TSLP との交差反応を示さなかった。薬理学的に適切な毒性試験動物種の選択を裏付けるために、ヒト及びカニクイザル組織パネルを用いテゼペルマブの TCR 試験を実施した（試験 108668）。正常なヒト及びカニクイザル組織がテゼペルマブにより染色されなかったことは、TSLP が炎症反応中に

上皮細胞に発現する可溶性のタンパク質であることと一致し（Liu 2006、Lee and Ziegler 2007、Al-Shami et al 2004）、カニクイザルが適切な動物種であることを更に裏付けた。また、これらのデータよりげっ歯類は薬理学的に適切な動物種ではないと判断された。したがって、テゼペルマブの薬理学的な毒性発現を検討するためには、カニクイザルが唯一適切な動物種であった。

2.4.4.2　単回投与毒性

テゼペルマブの急性毒性を、カニクイザルを用いた単回 IV 投与による安全性薬理試験（試験 109453）において評価した（2.4.2.3 項参照）。300 mg/kg の単回 IV 投与において、テゼペルマブによる急性毒性の徴候は認められなかった。

2.4.4.3　反復投与毒性

カニクイザルにテゼペルマブを SC 投与では最高 300 mg/kg で 7 日に 1 回、1、3 あるいは 6 カ月間反復投与し、IV 投与では最高 300 mg/kg で 7 日に 1 回、1 カ月間反復投与、あるいは 50 mg/kg で 7 日に 1 回、6 カ月間反復投与した。それぞれの反復投与毒性試験において、各投与経路の無毒性量は検討した最高用量であった。大半の反復投与毒性試験において、300 mg/kg で血清コレステロールの軽微～軽度の減少が認められた。休薬期間中に血清コレステロールに対する影響の回復性が確認された。

3 カ月間反復投与毒性試験において、KLH に対する抗体反応を測定することにより、T 細胞依存性抗体反応を評価した。300 mg/kg において、抗 KLH IgG 抗体価平均値は軽度～中等度に低下した。50 及び 100 mg/kg では、IgG 抗体価が散発的に低下したが、統計的に有意な変化は認められなかった。抗 KLH IgG 抗体価の低下は、感染に関連した変化が本試験では認められなかったため有害ではないと考えられたが、テゼペルマブの薬理作用に起因している可能性が考えられた。その後のカニクイザルを用いた ePPND 試験では、出生児において、KLH 抗体価における類似した変化は認められなかった。

6 カ月間反復 IV 投与毒性試験において、一般状態不良（左後肢の腫脹及び動作減少、左右の後肢皮膚の青色及び赤色変化、両腕の皮膚の赤色変化）のため、50 mg/kg 投与の雌 1 例を試験 156 日目に安楽死させた。この一般状態不良は、ADA 及び CIC の形成による合併症に起因するものと考えられた。試験 156 日目の時点において、安楽死させたこの動物は CIC 陽性であった。試験 57 日目の時点で本薬の活性は低下し、血清中薬物濃度は試験 113 日目には定量限界未満となった。この血清中濃度の低下は、ADA によるクリアランスの上昇によるものと考えられた。臨床病理検査値の変化（赤血球量、血小板数、総タンパク質、アルブミンの中等度減少、並びにフィブリノーゲン及びグロブリンの軽度増加）及び病理組織学的検査所見（急性血管／血管周囲炎症、血栓、出血及び多発表皮梗塞）も CIC 形成に起因するものと考えられた。サルにおけるヒトタンパク質に対する CIC の形成は、ヒトにおける CIC の形成を予測するものではないことから（ICH S6 (R1)ガイドライン）、ヒトのリスク評価において、この CIC 形成は安全性の評価には影響しないと考えられる。6 カ月間反復投与毒性試験におけるすべての生存動物で CIC は陰性であり、類似した所見は認められなかった。

テゼペルマブの生物学的活性の測定には、細胞ベースのバイオアッセイ法を用いた。6 カ月間反復投与毒性試験で安楽死させた ADA 及び CIC を有する動物 1 例を除いて、投与期間を通して、テゼペルマブ投与群のすべての動物で血清中テゼペルマブは測定可能な生物学的活性を示した。ADA が産生されても投与期間中のテゼペルマブ曝露量に対する影響はなく、生存動物のすべてで生物学的活性が維持されていたことから、テゼペルマブの毒性評価に対する影響もなかった。

2.4.4.4　遺伝毒性試験

テゼペルマブはバイオテクノロジー応用の高分子タンパク質製剤であるため、ICH S6 (R1)ガイドラインに従い、遺伝毒性試験は実施していない。

テゼペルマブは高分子タンパクであり、核膜又はミトコンドリア膜を通過して DNA 又は核内の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。テゼペルマブは完全に自然界由来のアミノ酸から成るヒト mAb であり、無機性又は有機合成リンカーあるいはその他のタンパク質でない成分を含有しない。したがって、テゼペルマブが DNA 又は他の染色体物質と直接反応する可能性は極めて低いと考えられる。

2.4.4.5　がん原性試験

IV 又は SC 投与による最長 6 カ月間の反復投与毒性試験において、テゼペルマブはカニクイザルに対し増殖性又は前腫瘍性の変化をもたらさなかった。更に、いずれの毒性試験においても、日和見感染症あるいはリンパ器官の重量又は病理組織に対する影響は認められなかった。したがって、長期投与毒性試験から得られた上記のデータによると、テゼペルマブによって患者において悪性腫瘍の生涯リスクが上昇する懸念は示唆されなかった。テゼペルマブはマウス又はラットの TSLP に結合しないため、テゼペルマブのがん原性リスクを、げっ歯類を用いる 2 年間のがん原性試験により直接評価することはできなかった。同様に、カニクイザルは一般的に *in vivo* におけるがん原性評価に適した動物種とはみなされていない。テゼペルマブに対する直接的な *in vivo* がん原性評価の実施は不可能であるため、別の *in vivo* 試験の実施を検討した。TSLP ノックアウトマウスの使用を検討したが、TSLP-/-マウスから得られたデータにおいて TSLP 欠損は自然発生腫瘍のリスク増加と関連がないことが示唆されている（Reardon et al 2011、KOMP 2016）。TSLP-/-マウスを用いた 18 カ月間の検討において、自然発生の炎症は認められず、TSLP の欠損が自然発生の炎症又は自己免疫をもたらさないことが示された。更に、ノックアウトマウスプロジェクト（KOMP 2016）の表現型研究において使用された TSLP-/-成体マウスでは、触診又は剖検において触知可能な塊及び／又は腫瘤の報告はなかった（Reardon et al 2011）。したがって、TSLP 欠損マウスを用いた追加の非臨床試験によって新たな意義のある情報は得られないものと考えられる。ヒト TSLP のトランスジェニックマウスは作製されていないため、トランスジェニックマウスモデルの使用も困難である。

これまでに得られている TSLP に関する文献情報（クラス・エフェクト、ノックアウトマウスモデル及びヒト遺伝子変異に関する情報等）のレビューに基づいたリスク評価では、テゼペルマブの長期投与によるがん原性の懸念は示唆されていない。更に、動物モデル及びヒトの両方において、TSLP の過剰発現が腫瘍の増殖及び転移の促進に関連しているという多くの報告がある（Barooei et al 2015、Watanabe et al 2015、Xie et al 2015、Lo Kuan and Ziegler 2014）。したがって、テゼペルマブによってみられるような TSLP の阻害は、がんのリスクを増加させるより、むしろ抗腫瘍作用をもたらす可能性がある。利用可能なげっ歯類モデルが限られること、及びテゼペルマブのがん原性に対する懸念がないことを示すエビデンスから、追加の非臨床試験の実施によってリスク評価に対して臨床的に意義のある新たな重要なデータは得られないと判断された。詳細については毒性試験の概要文 2.6.6.5 項を参照のこと。

2.4.4.6　生殖発生毒性試験

TSLPR 欠損（TSLPR-/-）マウスにおいては、発生異常がないことが報告されている。出生児マウスは正常なメンデル比を示し、6～8 週齢の TSLPR ノックアウトマウスは、生存率、成長、発生及び妊孕性において野生型の同腹子と差がなかった（Al-Shami et al 2004）。これら TSLPR 欠

損マウスの生殖能力は、妊娠が成立するために TSLP は必須ではないことを示唆している。しかしながら、*in vitro* 実験では、ヒトの妊娠初期において、TSLP がヒトの絨毛外栄養膜浸潤及び胎盤形成に重要な役割を果たす可能性があることが示唆されている（Wu et al 2010、Munoz-Suano et al 2011）。

2.4.4.6.1　受胎能及び着床までの初期胚発生

GLP 適用の 6 カ月間反復投与毒性試験の一部として、雌の受胎能を間接的に評価したが（性周期、器官重量［卵巣及び子宮］、肉眼的及び病理組織学的検査［卵巣、子宮、子宮頚部、膣及び乳腺］）、テゼペルマブに起因する有害な影響は認められなかった。雄の受胎能も、GLP 適用の 6 カ月間反復投与毒性試験の一部として間接的に評価したが（精液検査、器官重量［前立腺、精巣及び精巣上体］、肉眼的及び病理組織学的検査［前立腺、精嚢、精巣及び精巣上体］）、テゼペルマブ投与に起因する有害な影響は認められなかった。

2.4.4.6.2 妊娠カニクイザルを用いたテゼペルマブの静脈内投与による 6.5 カ月間の出生後評価を含む母動物、胚・胎児及び出生児毒性（ePPND）試験（試験 108825）

ePPND 試験では、妊娠した雌カニクイザルにテゼペルマブを 0、50 又は 300 mg/kg の用量で妊娠約 20 日目から分娩まで IV 投与した。出生後 6.5 カ月まで出生児を評価した。テゼペルマブに関連した影響は、母動物、胎児及び出生児のいずれにも認められなかった。出生後 6.5 カ月間にわたり評価したすべての出生児について、一般状態、体重、出生児測定項目、神経行動学的評価、血液学的パラメータ、末梢血リンパ球の免疫表現型、抗 KLH 液性免疫反応、外表／内臓／骨格検査において、テゼペルマブに関連した変化は認められなかった。本試験における無毒性量は 300 mg/kg であった。

2.4.4.7　局所刺激性試験

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験（試験 108823、108874、108448 及び 108824）及びウサギを用いた局所刺激性試験（試験 109454）において、テゼペルマブ投与部位の肉眼的及び病理組織学的観察により、局所刺激性を評価した。ウサギにおいて、70 mg/部位のテゼペルマブの単回急速 IV 投与による局所的な忍容性は良好であり、局所刺激性は認められなかった。反復投与毒性試験あるいはウサギの局所刺激性試験では、投与部位にテゼペルマブ投与に関連した有害な変化は認められなかった。3 カ月間反復投与毒性試験では、投与期間終了時の病理組織学的検査により、投与動物の被験物質及び KLH の投与部位に、血管周囲の単核球浸潤の軽度の増加が認められた。これらの血管周囲浸潤は発生率／重症度が用量依存的ではなく、休薬期間後のテゼペルマブ投与部位には認められなかった。6 カ月間反復投与毒性試験では、300 mg/kg/回の SC 投与部位の真皮及び／又は皮下組織において、病理組織学的検査により可逆性の軽微～軽度の血管周囲浸潤の発生率増加がみられた。

2.4.4.8　その他の毒性試験

2.4.4.8.1 テゼペルマブの組織交差反応性試験

正常なヒト及びカニクイザル組織の凍結切片を用い、GLP 適用の TCR 試験を実施し、ビオチン標識テゼペルマブ（AMG 157-Bio）の交差反応性を 1 及び 50 μg/mL の濃度で評価した（試験 108668）。検討したヒト又はカニクイザルの組織パネルにおいて、AMG 157-Bio に特異的な染色は検出されなかった。染色が検出されなかった原因は、TSLP は炎症時又は他の生理的プロセス

中に発現するが正常な組織では発現しないためと考えられる。AMG 157-Bio は、陽性対照の TSLP コートビーズを中等度から強度に染色し、陰性対照のヒト血清アルブミンコートビーズを染色せず、組織背景を軽微に染色した。陽性及び陰性対照の結果から、本アッセイ系が適切に機能していることが確認された。

2.4.4.8.2 免疫毒性試験

毒性試験では、最長 6 カ月間テゼペルマブを反復投与された動物における免疫評価（免疫表現型検査［総 T 細胞、ヘルパーT 細胞、細胞傷害性 T 細胞、NK 細胞及び B 細胞集団並びに単球（ePPND 試験のみ）］、血液学的分析、免疫組織の病理学的検査）において、免疫系に対するテゼペルマブ投与に関連した有害作用は認められなかった。前述したように 3 カ月間の反復投与試験においては、T 細胞依存性抗体反応（抗 KLH 抗体）に統計学的に有意な変化が一部で認められたが、その後の ePPND 試験では、出生児において類似した所見は認められなかった。

2.4.5 総括及び結論

ヒト抗 TSLPIgG2 抗体であるテゼペルマブについて、薬理、薬物動態及び毒性に関する一連の非臨床試験において評価し、臨床試験における開発を更に進めることの適切性を判断した。

飽和結合及び阻害実験で測定したテゼペルマブの動的及び競合的結合特性（放射性標識リガンド ^{125}I-組換えヒト TSLP を使用）により、TSLP のヘテロ二量体受容体への結合を強力に阻害するテゼペルマブの効力が立証された。リガンドを遮断する抗体としてのテゼペルマブの作用機序は競合的結合試験で更に確立された。結合試験ではテゼペルマブが高親和性の抗体であることが確認され、Biacore™ 分析により測定したヒト及びカニクイザルの TSLP に対する K_D 値は、それぞれ 15.8 pM 及び 32.2 pM であった。テゼペルマブのヒト TSLP とカニクイザル TSLP に対する結合親和性が同程度であるため（効力の差が 10 倍未満）、薬物動態試験及び安全性を評価する毒性試験に薬理学的に適切な毒性モデルとしてカニクイザルを使用することが支持された。Biacore™ を用いたときテゼペルマブのマウス TSLP への結合は検出されず、ELISA 法を用いたときラット又はウサギ TSLP への結合は検出されなかった。

ヒト末梢血骨髄系［CD11c+］樹状細胞、初代培養カニクイザル PBMC 及び[redacted]の複数のバイオアッセイにおいて、テゼペルマブは TSLP に誘発される活性を機能的に阻害することが示された。天然発現及び人工発現機能性ヘテロ二量体 TSLP 受容体における TSLP の生物活性をモニタリングするため、全血中の試験を実施した。検討した TSLP 濃度範囲全体にわたり、テゼペルマブは添加した TSLP を遮断することができ、血清が存在してもテゼペルマブが標的に結合する能力に対する影響はないことが示された。STAT5 リン酸化により測定した TSLP の下流のシグナル伝達を遮断するテゼペルマブの能力に対しても、血清の影響はなかった。

抗マウス代替抗体 M702 を用い、*in vivo* のマウスの肺及び皮膚炎症モデルを評価したところ、高い親和性の結合と容認できる薬理学的特性が立証された。アレルギー性喘息の OVA 誘発モデルにおいて、M702 はアレルギー性炎症の徴候を抑制することができた。特に、プライミング期及び曝露期に投与したとき、M702 投与動物の BALF 中では、IgG 対照と比較して気道過敏性の抑制及び総白血球数（好中球及び好酸球）の減少が認められた。M702 を OVA 曝露の前に投与したときには、血清中総 IgE、OVA 特異的 IgE が低下し、BALF 中のサイトカイン IL-5 及び IL-13 の濃度が低下した。肺の組織学的検査に変化は認められなかった。公表文献によると、ヘテロ二量体 TSLP 受容体が欠損したマウスは発生及び表現型の上では正常であるものの、マウスの OVA

誘発喘息モデルにおける気道炎症反応が顕著に低下している（Zhou et al 2005、Carpino et al 2004）。

更なる *in vivo* 試験により、肺の炎症誘発における鼻腔内 TSLP の役割が確認された。この曝露モデルでは、抗マウス TSLP mAb である M702 で TSLP を遮断したところ、TSLP に誘発される炎症反応が CD40 を除きすべて抑制された。杯細胞増生の抑制については、M702 はマウス IL-4Rα 遮断物質（Mu317RaXMu）より顕著な作用を示した。以上の所見から、TSLP 炎症に対する反応のすべてではないものの多くには IL-4Rα 経路が介在すると考えられる。

マウスの接触過敏症モデルでは、FITC 免疫応答の開始（プライミング）期及び曝露期の両者において、M702 は耳介厚で測定されるアレルギー性皮膚炎症を抑制すると示された。M702 の影響は開始期に投与したときに最も顕著であった。この試験により、皮膚からの樹状細胞遊走とそれに続く所属リンパ節での抗原特異的 T 細胞のプライミングにおける TSLP の機構的な役割が裏付けられる。BALB/c、IL-4Rα ノックアウト又は STAT6 ノックアウトマウスを用いた TSLP の皮内注射による別の試験では、TSLP に対する免疫応答は部分的に IL-4 及び IL-13 に依存しており、TSLP に誘発される IL-5 産生は、結果として生じた皮膚炎症の一部を再現するには十分であった。STAT6 ノックアウトマウスでは TSLP は皮膚線維化を誘導したが、この試験では、その皮膚表現型のメカニズムを明らかにできなかった。

薬理試験の結果を総合すると、細胞活性化、増殖、トラフィッキング、免疫グロブリンクラススイッチ等の広範囲の反応に介在するサイトカイン環境を TSLP が誘導するとの所見が裏付けられる。テゼペルマブ（又はマウスで使用した M702）による TSLP 遮断は、炎症のシグナル伝達及び細胞の側面を抑制すると示されている。テゼペルマブの作用機序はヒト TSLP との結合であり、ヘテロ二量体 TSLP 受容体との相互作用を阻止し、TSLP に誘発されるヒト細胞の活性を阻害する。

カニクイザルの単回投与安全性薬理試験において、テゼペルマブ 300 mg/kg を単回 IV 投与した後、心血管系、呼吸器系及び神経行動の評価項目には、投与に関連した影響は報告されなかった。また、カニクイザル反復投与毒性試験（SC 投与では最高 300 mg/kg を 7 日ごとに 1 回、1、3 及び 6 カ月間投与、IV 投与では最高 300 mg/kg を 7 日ごとに 1 回、1 カ月間投与又は 50 mg/kg を 7 日ごとに 1 回、6 カ月間投与）の構成要素として評価した安全性薬理に関する評価項目では、テゼペルマブに関連した毒性所見は認められなかった。

テゼペルマブの TSLP への結合特性（ヒト及びカニクイザル TSLP の結合親和性は同程度、マウス、ラット及びウサギ TSLP には結合せず）から、非臨床試験に用いる動物種としてカニクイザルを選択した。カニクイザルにテゼペルマブを単回 SC 投与後の薬物動態は 0.1～50 mg/kg の検討用量で線形であった。$t_{1/2,z}$ の平均値の範囲は約 10～14 日、t_{max} の中央値は 3～4 日、5 mg/kg SC 投与後のバイオアベイラビリティは約 73%であった。カニクイザルを用いた 6 カ月間反復投与毒性試験において、曝露量は 50 及び 300 mg/kg の検討用量で概ね用量比例的に増加し、雌雄間の曝露量（2 倍未満）に明らかな性差は認められなかった。妊娠カニクイザルを用いた ePPND 試験において、50 及び 300 mg/kg 投与後の乳汁中テゼペルマブ濃度はいずれの用量でも血清中テゼペルマブ濃度の 1%未満であった。出産後（出生後）の観察期間において、母動物及び出生児におけるテゼペルマブの消失速度は同程度であった。母動物の乳汁中テゼペルマブ濃度が非常に低いことから、テゼペルマブの出生児への移行の大部分は子宮内で生じたと考えられるが、乳汁を介して移行した可能性もある。

カニクイザル反復投与毒性試験において、テゼペルマブは SC 投与では最高 300 mg/kg の 7 日に 1 回、1、3 及び 6 カ月間投与、IV 投与では最高 300 mg/kg の 7 日に 1 回、1 カ月間投与又は 50 mg/kg の 7 日に 1 回、6 カ月間投与が評価されており、毒性所見は認められていない。それぞ

れの試験において、各投与経路の無毒性量は検討した最高用量であった。大半の反復投与試験では、300 mg/kg 投与で血清コレステロールの軽微～軽度の減少が認められた。血清コレステロールに対する影響は、休薬期間中に回復することが確認された。雌雄の受胎能は、6 カ月反復投与試験の一部として間接的に評価されており、テゼペルマブ投与に起因する有害な影響は認められなかった。ePPND 試験では、妊娠カニクイザルの妊娠初期から分娩まで、テゼペルマブ 50 又は 300 mg/kg を 7 日に 1 回 IV 投与した。母動物の一般状態、妊娠転帰、胚・胎児発生及び 6.5 カ月齢までの出生児発育に対して、テゼペルマブの有害な影響はみられなかった。ePPND 試験における無毒性量は 300 mg/kg の 7 日に 1 回投与であった。これらの非臨床安全性試験データにより、6 カ月間の反復投与毒性試験において得られた SC 投与の無毒性量（300 mg/kg）における曝露量と日本人患者への 4 週間に 1 回の 210 mg SC 投与時（MRHD）の曝露量との間に、十分な安全域が得られている（定常状態での AUC についての約 120 倍、C_{max} について約 114 倍）。IV 投与による ePPND 試験（分娩前の妊娠 139～142 日目の曝露量を用いて計算）での安全域は、日本人患者における MRHD 投与時の定常状態における AUC について約 150 倍、C_{max} については約 229 倍であった。（表 1 参照）。

表 1　カニクイザル毒性試験における無毒性量と日本人患者での最大推奨臨床用量における曝露量比較

SC Maximum Recommended Human Dose (mg)	Human Mean Values at Steady State [a]		6-mo study (108824)[b]		ePPND study (108825)[c]	
	C_{max} (µg/mL)	$AUC_{0\text{-}28d}$ (day µg/mL)	Ratios		Ratios	
			C_{max}[d]	AUC[e]	C_{max}[d]	AUC[e]
210 mg Q4W	46.3	1010	114	120	229	150

AUC = area under the concentration-time curve; C_{max} = maximum observed concentration; C_0 = estimated initial concentration after intravenous administration; ePPND = enhanced pre- and post-natal development (Maternal, Embryo-fetal, and Neonatal); GD = Gestation Day; d = Day; NOAEL = No-Observed-Adverse-Effect-Level; SC = Subcutaneous; IV = intravenous; Q4W = Administered once every 4 weeks; MRHD = Maximum Recommended Human Dose.

[a] Simulated human mean values of C_{max} and AUC (over 4 weeks) at steady state following SC administration of tezepelumab 210 mg Q4W to Japanese asthma patients (Tezepelumab Population PK report, Module 5.3.3.5).

[b] Study 108824 (Day 176) at the SC NOAEL of 300 mg/kg; mean C_{max} = 5260 µg/mL, $AUC_{0\text{-}168hr}$ = 30200 µg*d/mL. A correction factor of 4 was applied to adjust for the difference in dosing frequency between animals (once weekly) and humans (every 4 weeks) to the reported $AUC_{0\text{-}168hr}$ value, resulting in a value of 120800 µg*d/mL used for ratio calculations.

[c] Study 108825 (GD 139-142) at the IV NOAEL of 300 mg/kg; Maternal animal mean C_0 = 10600 µg/mL, $AUC_{0\text{-}168}$ = 38000 µg*d/mL. A correction factor of 4 was applied to adjust for the difference in dosing frequency between animals (once weekly) and humans (every 4 weeks) to the reported AUC0-168 value, resulting in a value of 152000 µg*d/mL used for ratio calculations.

[d] C_{max} ratio calculation: C_{max} = (cynomolgus monkey steady-state C_{max} or C_0)/(human steady-state C_{max}).

[e] AUC ratio calculation: [(steady-state $AUC_{0\text{-}168hr}$ in cynomolgus monkey × 4)/(steady-state $AUC_{0\text{-}28d}$ in humans)].

2.4.6　参考文献

Al-Shami et al 2004

Al-Shami A, Spolski R, Kelly J, Fry T, Schwartzberg PL, Pandey A, et al. A role for thymic stromal lymphopoietin in $CD4^+$ T cell development. J Exp Med. 2004 Jul 19;200(2):159-68.

Al-Shami et al 2005

Al-Shami A, Spolski R, Kelly J, Keane-Myers A, Leonard WJ. A role for TSLP in the development of inflammation in an asthma model. J Exp Med. 2005 Sep 19;202(6):829-39.

Allakhverdi et al 2007

Allakhverdi Z, Comeau MR, Jessup HK, Yoon BR, Brewer A, Chartier S, et al. Thymic stromal lymphopoietin is released by human epithelial cells in response to microbes, trauma, or inflammation and potently activates mast cells. J Exp Med. 2007 Feb 19;204(2):253-8.

Barooei et al 2015

Barooei R, Mahmoudian RA, Abbaszadegan MR, Mansouri A, Gholamin M. Evaluation of thymic stromal lymphopoietin (TSLP) and its correlation with lymphatic metastasis in human gastric cancer. Med Oncol. 2015 Aug;32(8):217.

Camelo et al 2017

Camelo A, Rosignoli G, Ohne Y, Stewart RA, Overed-Sayer C, Sleeman MA, et al. IL-33, IL-25, and TSLP induce a distinct phenotypic and activation profile in human type 2 innate lymphoid cells. Blood Adv. 2017 Apr 11;1(10):577-89.

Carpino et al 2004

Carpino N, Thierfelder WE, Chang MS, Saris C, Turner SJ, Ziegler SF, et al. Absence of an essential role for thymic stromal lymphopoietin receptor in murine B-cell development. Mol Cell Biol. 2004 Mar;24(6):2584-92.

Gauvreau et al 2014

Gauvreau GM, O'Byrne PM, Boulet LP, Wang Y, Cockcroft D, Bigler J, et al. Effects of an anti-TSLP antibody on allergen-induced asthmatic responses. N Engl J Med. 2014 May 29;370(22):2102-10.

Gauvreau et al 2020

Gauvreau GM, Sehmi R, Ambrose CS, Griffiths JM. Thymic stromal lymphopoietin: its role and potential as a therapeutic target in asthma. Expert Opin Ther Targets. 2020 Aug;24(8):777-92.

Gilliet et al 2003

Gilliet M, Soumelis V, Watanabe N, Hanabuchi S, Antonenko S, de Waal-Malefyt R, et al. Human dendritic cells activated by TSLP and CD40L induce proallergic cytotoxic T cells. J Exp Med. 2003 Apr 21;197(8):1059-63.

KOMP 2016

KOMP Phenotyping [Internet]. UC Davis. [cited September 7, 2016]. Available from URL: https://www.kompphenotype.org/summary-tab.php?gene=Tslp&project=komp.

Lee and Ziegler 2007

Lee HC, Ziegler SF. Inducible expression of the proallergic cytokine thymic stromal lymphopoietin in airway epithelial cells is controlled by NFkappaB. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Jan 16;104(3):914-9.

Liu 2006

Liu YJ. Thymic stromal lymphopoietin: master switch for allergic inflammation. J Exp Med. 2006 Feb 20;203(2):269-73.

Lo Kuan and Ziegler 2014

Lo Kuan E, Ziegler SF. Thymic stromal lymphopoietin and cancer. J Immunol. 2014 Nov 1;193(9):4283-8.

Munoz-Suano et al 2011

Munoz-Suano A, Hamilton AB, and Betz AG. Gimme Shelter: the immune system during pregnancy. Immunol Rev. 2011 May;241:20-38.

Pandey et al 2000

Pandey A, Ozaki K, Baumann H, Levin SD, Puel A, Farr AG, et al. Cloning of a receptor subunit required for signaling by thymic stromal lymphopoietin. Nat Immunol. 2000 Jul;1(1):59-64.

Quentmeier et al 2001

Quentmeier H, Drexler HG, Fleckenstein D, Zaborski M, Armstrong A, Sims JE, et al. Cloning of human thymic stromal lymphopoietin (TSLP) and signaling mechanisms leading to proliferation. Leukemia. 2001 Aug;15(8):1286-92.

Reardon et al 2011

Reardon C, Lechmann M, Brüstle A, Gareau MG, Shuman N, Philpott D, et al. Thymic stromal lymphopoetin-induced expression of the endogenous inhibitory enzyme SLPI mediates recovery from colonic inflammation. Immunity. 2011 Aug 26;35(2):223-35.

Reche et al 2001

Reche PA, Soumelis V, Gorman DM, Clifford T, Liu M, Travis M, et al. Human thymic stromal lymphopoietin preferentially stimulates myeloid cells. J Immunol. 2001 Jul 1;167(1):336-43.

Ryman and Meibohm 2017

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

Soumelis et al 2002

Soumelis V, Reche PA, Kanzler H, Yuan W, Edward G, Homey B, et al. Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP. Nat Immunol. 2002 Jul;3(7):673-80.

Watanabe et al 2015

Watanabe J, Saito H, Miyatani K, Ikeguchi M, Umekita Y. TSLP Expression and High Serum TSLP Level Indicate a Poor Prognosis in Gastric Cancer Patients. Yonago Acta Med. 2015 Sep;58(3):137-43.

Wu et al 2010

Wu HX, Guo PF, Jin LP, Liang SS, Li DJ. Functional regulation of thymic stromal lymphopoietin on proliferation and invasion of trophoblasts in human first-trimester pregnancy. Human Reprod. 2010 May;25(5):1146-52.

Xie et al 2015

Xie F, Liu LB, Shang WQ, Chang KK, Meng YH, Mei J, et al. The infiltration and functional regulation of eosinophils induced by TSLP promote the proliferation of cervical cancer cell. Cancer Lett. 2015 Aug 10;364(2):106-17.

Ying et al 2008

Ying S, O'Connor B, Ratoff J, Meng Q, Fang C, Cousins D, et al. Expression and cellular provenance of thymic stromal lymphopoietin and chemokines in patients with severe asthma and chronic obstructive pulmonary disease. J Immunol. 2008 Aug 15;181(4):2790-8.

Zhou et al 2005

Zhou B, Comeau MR, De Smedt T, Liggitt HD, Dahl ME, Lewis DB, et al. Thymic stromal lymphopoietin as a key initiator of allergic airway inflammation in mice. Nat Immunol. 2005 Oct;6(10):1047-53.

Ziegler 2012

Ziegler SF. Thymic stromal lymphopoietin and allergic disease. J Allergy Clin Immunol. 2012 Oct;130(4):845-52.