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]

2.6.1　緒言
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
2.6.1.1 緒言 4
2.6.1.1.1 テゼペルマブの一般情報 5
2.6.1.1.1.1 名称 5
2.6.1.1.1.2 一般特性 5
2.6.1.1.1.3 処方 5
2.6.1.1.1.4 安定性 6
2.6.1.1.1.5 構造 6
2.6.1.1.1.6 効能・効果（案）及び用法・用量（案） 6
2.6.1.2 参考文献 6

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
ATC	Anatomical Therapeutic Chemial：解剖治療化学
ATS	American Thoracic Society：米国胸部学会
CCL17	CC chemokine ligand：CC ケモカインリガンド 17
CCL22	CC chemokine ligand：CC ケモカインリガンド 22
ePPND	enhanced Pre- and Post-Natal Development：拡充型出生前及び出生後発生（試験）
ERS	European Respiratory Society：欧州呼吸器学会.
GINA	Global Initiative for Asthma：国際喘息ガイドライン
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
ILC2	Group 2 innate lymphoid cell：2 型自然リンパ球
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
STAT6	Signal transducer and activator of transcription 6：シグナル伝達性転写因子 6
TARC	Thymus and activation-regulated chmokine：胸腺及び活性化制御ケモカイン
TNFα	Tumor necrosis factor α：腫瘍壊死因子 α
TSLP	Thymic stromal lymphopoietin：胸腺間質性リンパ球新生因子
WHO	World Health Organization：世界保健機関

2.6.1.1 緒言

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（抗 TSLP mAb）を開発している。推奨用量は、テゼペルマブ 210 mg を 4 週間毎に 1 回皮下投与する。

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、気道過敏性、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。

重症喘息とは、コントロール不良の喘息となることを回避するために GINA ステップ 4 又は 5 の治療を要する喘息、又は最大限に最適化された治療の順守にもかかわらずコントロール不良である喘息と定義される（GINA 2020）。ERS/ATS ガイドラインでは同じ基準を用いて重症喘息を定義しているが、代替案として、コントロール不良の喘息となることを回避するため前年に投与した全身性コルチコステロイドの 50%以上の用量を必要とする喘息又はこの治療を受けてもコントロールが不良であった喘息と定義されている（Chung et al 2014）。

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、好酸球性喘息患者や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、生物学的製剤療法を受けている重症喘息患者の多くは、治療中にも増悪の発生が続く。このため重症喘息には、治療が困難な喘息表現型を有する患者を含めて広範な患者層に対して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）。上皮細胞由来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、免疫細胞と気道構成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気管支肺胞洗浄液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）。テゼペルマブを用いた臨床開発試験で、抗原吸入曝露に対する即時型及び遅発型の気管支収縮反応がプラセボ群に比較して減弱したことから、TSLP は、即時型の肥満細胞反応及び遅発型反応に関連する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る（Gauvreau et al 2014）。

非臨床試験からは、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。*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。マウス卵白アルブミン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った。

テゼペルマブ（旧称 AMG 157 又は MEDI9929）はヒト TSLP とヘテロ二量体 TSLP 受容体との結合を阻害するヒト IgG2 モノクローナル抗体で、ヒト細胞で TSLP 誘発活性を抑制する。テゼペルマブはヒト又はカニクイザル TSLP に高い親和性で結合し（それぞれの K_D 値は 15.8 pM 又は 32.2 pM）、TSLP 活性化を測定する細胞バイオアッセイでは TSLP の生物活性を強力に中和した。結合及び阻害に関する一連の試験で、テゼペルマブの作用機序は TSLP との結合によるものであることが明らかになった。これらの試験に基づき、安全性薬理試験及び非臨床毒性試験に適切な動物種としてカニクイザルを選択しても差し支えないと判断される。

テゼペルマブの非臨床開発で実施した、薬理試験、薬物動態試験及びカニクイザルを用いた GLP 適用の毒性試験の成績は、それぞれ薬理試験の概要文 2.6.2 項及び薬理試験概要表 2.6.3 項、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、並びに毒性試験の概要文 2.6.6 項及び毒性試験概要表 2.6.7 項に記載した。カニクイザルを用いた 6 カ月間反復皮下投与毒性試験及び静脈内投与による ePPND 試験における無毒性量における曝露量と、最大推奨臨床用量投与時の曝露量の比較により算出した安全域を、非臨床試験の概括評価 2.4 項の表 1 に示している。算出された安全域は、予定適応症である重症喘息の患者における推奨臨床用量、投与経路及び投与スケジュールでのテゼペルマブの使用が適切であるとことを示している。

2.6.1.1.1 テゼペルマブの一般情報

2.6.1.1.1.1 名称

米国一般的名称及び国際一般名は tezepelumab である。WHO に割り当てられたテゼペルマブの ATC 分類コードは R03DX11 である。テゼペルマブの同義語として AMG 157 及び MEDI9929 がある。

2.6.1.1.1.2 一般特性

テゼペルマブは TSLP に対する遺伝子組換えヒト IgG2 モノクローナル抗体である。テゼペルマブは、チャイニーズハムスター卵巣細胞により産生される。テゼペルマブは、448 個のアミノ酸残基からなる H 鎖（γ2 鎖）2 本及び 214 個のアミノ酸残基からなる L 鎖（λ 鎖）2 本で構成される糖タンパク質（分子量：約 147,000）である。

2.6.1.1.1.3 処方

テゼペルマブの処方は 3.2.P.1 項に記載されている。

2.6.1.1.1.4 安定性

テゼペルマブの安定性は 3.2.S.7.1 項及び 3.2.P.8.1 項に記載されている。

2.6.1.1.1.5 構造

テゼペルマブの重鎖及び軽鎖の推定アミノ酸配列は 3.2.S.1.2 項に示している。

2.6.1.1.1.6 効能・効果（案）及び用法・用量（案）

本剤の本邦での医薬品製造販売承認申請における効能・効果（案）及び用法・用量（案）は以下のとおりである。

【効能・効果（案）】

気管支喘息（既存治療によっても喘息症状をコントロールできない重症又は難治の患者に限る）

【用法・用量（案）】

通常、成人及び 12 歳以上の小児にはテゼペルマブ（遺伝子組換え）として 1 回 210 mg を 4 週間隔で皮下に注射する。

2.6.1.2 参考文献

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.

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.

Chung et al 2014

Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, Bush A, Castro M, Sterk PJ, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. Eur Respir J. 2014 Feb;43(2):343-73.

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.

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.

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.

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.

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]

2.6.2　薬理試験の概要文
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 4
2.6.2.1 まとめ 6
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 8
2.6.2.2.1 テゼペルマブの作製 8
2.6.2.2.2 *In vitro* 試験 8
2.6.2.2.2.1 テゼペルマブの競合的結合及び阻害（試験 R20070415） 8
2.6.2.2.2.2 ヒト及びカニクイザルの TSLP 機能的活性に対するテゼペルマブの中和作用（試験 R20070150） 10
2.6.2.2.2.3 全血アッセイにおける TSLP 誘導活性に対するテゼペルマブの抑制作用（試験 R20070151） 12
2.6.2.2.2.4 テゼペルマブのラット TSLP 又はウサギ TSLP との結合（試験 154365） 14
2.6.2.2.2.5 *In vivo* モデルに用いる抗マウス TSLP 抗体 M702（試験 R20080116） 14
2.6.2.2.3 *In vivo* 試験 15
2.6.2.2.3.1 気道炎症モデルマウス 15
2.6.2.2.3.1.1 OVA 誘発性喘息モデルにおける M702 の作用（試験 R20070146） 15
2.6.2.2.3.1.2 TSLP 鼻腔内曝露モデルの TSLP による IL-4Rα 経路に及ぼす影響（試験 R20070148） 17
2.6.2.2.3.2 皮膚炎症モデルマウス 20
2.6.2.2.3.2.1 FITC-CHS モデルマウスの感作誘導期における TSLP による皮膚炎症抑制（試験 R20070147） 20
2.6.2.2.3.2.2 TSLP の皮内投与による 2 型炎症環境の誘導（試験 R20070149） 22
2.6.2.3 副次的薬理試験 23
2.6.2.4 安全性薬理試験 23
2.6.2.4.1 心血管系、呼吸数及び神経行動に対する作用（試験 109453；GLP 適用） 23
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 24
2.6.2.6 考察及び結論 24
2.6.2.7 図表 25
2.6.2.8 参考文献 25

表目次

表 1 テゼペルマブの非臨床薬理試験の一覧 7
表 2 *In vitro* 及び *in vivo* 薬理試験に用いた抗 TSLP モノクローナル抗体 11

図目次

図 1　[redacted] 細胞への ^{125}I-rhTSLP の結合に対する非標識 rhTSLP、マウス抗ヒト TSLPR M505 又はテゼペルマブによる阻害作用 9

図 2　初代培養ヒト樹状細胞オステオプロテゲリンアッセイにおける組換え型ヒト（A）又は組換え型カニクイザル（B）の TSLP に対するテゼペルマブの IC_{50} 値の測定 12

図 3　TSLP 15 pg/mL（A）又は 75 pg/mL（B）で処置した全血に添加したヒト樹状細胞における STAT5 リン酸化に対するテゼペルマブの阻害作用 13

図 4　マウス骨髄由来樹状細胞アッセイによる組換えマウス TSLP に対する M702 の IC_{50} 値の測定 15

図 5　OVA 喘息モデル試験 1（AHR050427OVA）の抗 TSLP 抗体 M702 投与 BALB/c マウスにおけるメタコリン曝露に対する気道過敏性（AHR） 16

図 6　OVA 喘息モデル試験 1（AHR050427OVA）の抗 TSLP 抗体 M702 投与 BALB/c マウスにおける BALF 中の総細胞数及び各細胞成分数 17

図 7　TSLP 鼻腔内曝露した 2 週間後の BALB/c マウスにおける IL-4Rα 又は TSLP に対する抗体投与の BALF 中リンパ球誘導に及ぼす影響 19

図 8　TSLP 鼻腔内曝露の 2 週間後に IL-4Rα 又は TSLP に対する抗体を投与したマウスから採取した肺切片の H&E 染色 20

図 9　感作誘導期又は曝露期のみで投与した M702 の曝露後 24 時間での FITC-CHS に対する作用 22

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
BAF	B cell activating factor：B 細胞活性化因子
BAF/BO3	Mouse BAF BO3 cell line：マウス IL-3 依存性 pro-B（細胞株）
[redacted]	[redacted]
BALF	Bronchoalveolar lavage fluid：気管支肺胞洗浄液
BMDC	Bone marrow-derived dendritic cell：骨髄由来樹状細胞
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
CHS	Contact hypersensitivity：接触過敏症
CHO	Chinese hamster ovary：チャイニーズハムスター卵巣
CIC	Circulating immune complex：血中免疫複合体
cDNA	Complementary deoxyribonucleic acid：相補的デオキシリボ核酸
Cyno	Cynomolgus：カニクイザル
DC	Dendritic cell：樹状細胞
DLN	Draining lymph nodes：所属リンパ節
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay：酵素結合免疫吸着法
FITC	Fluorescein isothiocyanate：フルオレセインイソチオシアネート
GLP	Good Laboratory Practices：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
H&E	Hematoxylin Eosin：ヘマトキシリン・エオジン
Hu	Human：ヒト
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use：医薬品規制調和国際会議
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
JAK	Janus kinase：ヤヌスキナーゼ
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
KO	Knockout：ノックアウト
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
MSA	Mouse serum albumin：マウス血清アルブミン

略語及び専門用語	用語の説明
NMR	Nclear magnetic resonance：磁気共鳴
OPG	Osteoprotegerin：オステオプロテゲリン
OVA	Ovalbumin：卵白アルブミン
PAS	Periodic acid-Schiff：過ヨウ素酸シッフ
PBMC	Peripheral-blood mononuclear cell：末梢血単核細胞
pM	Picomoles per litre：ピコモル毎リットル（pmol/L）
rh	Recombinant human：組換えヒト
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
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
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

2.6.2.1 まとめ

TSLP は、炎症誘発性刺激に反応して産生される上皮細胞由来サイトカインであり、主に樹状細胞及び肥満細胞に作用してアレルギー性炎症反応を誘発する（Gilliet et al 2003、Soumelis et al 2002、Reche et al 2001、Allakhverdi et al 2007）。TSLP は、気道バリア表面で免疫を制御し、下流の炎症プロセス及び気管支の過敏反応性を誘導すると考えられている（Gauvreau et al 2020）。

テゼペルマブ（旧称 AMG157 又は MEDI9929）は抗 TSLP ヒト mAb（IgG2λ）であり、ヒト TSLP に高親和性で結合し、TSLP とヘテロ二量体 TSLP 受容体複合体（ヒト IL-7Rα 鎖及びヒト TSLPR 鎖）との相互作用を阻害する（Park et al 2000、Pandey et al 2000、Verstraete et al 2017）。

非臨床試験により肺の炎症で TSLP が重要な役割を果たしていることが立証された。例を挙げると、肺に TSLP を過剰発現しているトランスジェニックマウスは喘息様気道炎症を発症したが（Zhou et al 2005）、TSLPR 欠損マウスでは OVA 誘導アレルギー性気道炎症が抑制された。これらのモデルから、マウスでは気道炎症の発症には TSLP が必要とされることが示唆された（Al-Shami et al 2005）。また、喘息患者を対象としたトランスレーショナル研究において、濃縮 BALF 中で TSLP タンパク質量が増加していることが明らかになり、TSLP 量は疾患の重症度と相関を示している（Ying et al 2005）。肥満細胞及び ILC2 の TSLP に対する反応性のため、このサイトカインはアレルギー性及び非アレルギー性の刺激に対する自然免疫応答の炎症反応にも寄与している可能性がある（Allakhverdi et al 2007、Camelo et al 2017）。

テゼペルマブに関して実施し、本項に記載した薬理試験は、ヘテロ二量体 TSLP 受容体（IL-7Rα 鎖及び TSLPR 鎖）を発現する細胞に対するテゼペルマブの結合親和性、特異性、効力及び薬力学的作用を明らかにすることを目的とした。ヘテロ二量体 TSLP 受容体は、樹状細胞、肥満細胞、リンパ球、好塩基球及び単球等の種々のヒト細胞に発現することが報告されている。また、ヒト及びカニクイザル双方の TSLP タンパク質に対するテゼペルマブの活性を明らかにし、毒性試験にカニクイザルを用いることの適切性を評価することも目的とした。*In vitro* バイオアッセイで、機能的ヘテロ二量体 TSLP 受容体を安定発現する初代培養細胞及び細胞株に及ぼす、遺伝子組換え型及び天然型のヒト及びカニクイザルの TSLP を介した生物活性を中和するテゼペルマブの効力を明らかにした。マウスモデルを用いた *in vivo* 試験で、肺及び皮膚の炎症に及ぼす TSLP 遮断の生物学的影響を評価した。テゼペルマブはマウスと交差反応性を示さないため、これらの試験ではマウス代替抗 TSLP 抗体（以下、M702 と称す）を用いた（Quentmeier et al 2001、Pandey et al 2000）。

テゼペルマブ及び M702 に関して実施した非臨床薬理試験を表 1 に示す。

表 1　テゼペルマブの非臨床薬理試験の一覧

Study Number (CRO Study Number)	Species/ ROA	Type of Study	Study Title	Testing Facility Location	GLP[a]
In vitro					
R20070415	NA	*In vitro*	Inhibition of ^{125}I-Human TSLP Binding to Cell Surface Expressed Human TSLP Receptor Complex by Unlabelled Human TSLP, Mouse Anti-Human TSLP Receptor M505, or AMG 157	[redacted] Inc. [redacted] USA	No
R20070150	NA	*In vitro*	*In Vitro* Characterization of the Anti-Human TSLP Monoclonal Antibody AMG 157: Recombinant and Native Binding Affinities, IC_{50} Values and Species Cross Reactivity	[redacted] Inc. [redacted] USA	No
154365	NA	*In vitro*	AMG 157 doesn't bind rat and rabbit TSLP	[redacted] Inc. [redacted]	No
R20070151	NA	*In vitro*	Activity of AMG 157 in Whole Blood Assays	[redacted] Inc. [redacted] USA	No
R20080116	NA	*In vitro*	*In Vitro* Characterization of the Anti-Mouse TSLP Surrogate Antibody M702	[redacted] Inc. [redacted] USA	No
In vivo					
R20070146	Mouse / IN and IV	*In vivo*	Treatment with Anti- Mouse TSLP Antibody M702 Inhibits Inflammation Parameters in a Mouse OVA Asthma Model	[redacted] Inc. [redacted] USA	No
R20070148	Mouse / IN	*In vivo*	Intranasal TSLP Instillation Induces Pulmonary Inflammation and is Inhibited by Anti-TSLP mAb M702 and Anti-IL-4Rα mAb, Mu317RaXMu	[redacted] Inc. [redacted] USA	No
R20070147	Mouse / IV and IP	*In vivo*	Effect of M702 in the FITC-Induced Contact Hypersensitivity Response	[redacted] Inc. [redacted] USA	No
R20070149	Mouse / ID	*In vivo*	Effects of Intradermally Injected Murine TSLP Protein into Wild Type, STAT6 Knockout, and IL-4Rα Knockout Mice	[redacted] Inc. [redacted] USA	No
Secondary Pharmacodynamics					
No formal secondary pharmacodynamic studies have been conducted with tezepelumab.					

表 1 テゼペルマブの非臨床薬理試験の一覧

Study Number (CRO Study Number)	Species/ ROA	Type of Study	Study Title	Testing Facility Location	GLP[a]
Safety Pharmacology					
109453 (7555-621)[b]	Cynomolgus Monkeys / IV	*In vivo*	Single-Dose Cardiovascular, Respiratory Rate, and Neurobehavioral Evaluation of AMG 157 Administered by Intravenous Injection to Telemetry-Instrumented Conscious Cynomolgus Monkeys	[redacted] Inc. [redacted], [redacted], USA	Yes

AMG 157 = tezepelumab; FITC = fluorescein isothiocyanate; ID = intradermal; IL = interleukin; IN = intranasal; IV = intravenous; M702 = anti-mouse TSLP monoclonal antibody; NA = Not applicable; ovalbumin = OVA; ROA = route of administration; TSLP = thymic stromal lymphopoietin

a Pivotal nonclinical safety studies were conducted in OECD member countries and in accordance with OECD Test Guidelines and Principles of Good Laboratory Practice (GLP) and relevant International Conference on Harmonisation guidelines.

b CRO Study Number

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 テゼペルマブの作製

ヒト TSLP を中和する IgG2 抗体テゼペルマブは、[redacted]TM マウスの免疫化によって産生された。重鎖及び軽鎖の cDNA 発現配列のクローニングの後、[redacted]を CHO 細胞に導入し、完全抗体を産生する安定細胞株を作製した。臨床開発候補としての薬理学的特性解析に向けてテゼペルマブを選択した。実施した試験には機能特性解析を目的とした *in vitro* バイオアッセイが含まれており、初代培養細胞及び機能性ヘテロ二量体 TSLPR を安定発現する細胞株形質導入細胞株の両者を用い、組換え型及び天然型のヒト及びカニクイザル TSLP の介在する生物活性に対する中和能を評価した。

テゼペルマブの全体の分子量は約 147,000 である。測定されたインタクト質量及びペプチドマップは、DNA 配列に基づき予測されるタンパク質に合致する。テゼペルマブは、約 49.5 kDa の重鎖（IgG2 サブクラス）2 本及び約 22.8 kDa の軽鎖（λ サブクラス）2 本で構成され、ジスルフィド結合により共有結合したヘテロ四量体である。

2.6.2.2.2 *In vitro* 試験

2.6.2.2.2.1 テゼペルマブの競合的結合及び阻害（試験 R20070415）

試験の目的は、TSLP リガンドと受容体の結合を遮断する臨床開発候補テゼペルマブの親和性閾値の最小値を決定することであった。[redacted] 細胞を用いて結合試験を実施し、被験物質の平衡親和性及び競合的阻害定数を決定した。被験物質は非標識 rhTSLP、M505（マウス抗ヒト TSLPR IgG1）及びテゼペルマブ（抗 huTSLP 抗体）であった。マウス M505 抗体はマウスで huTSLPR に対する抗体として作製されており、ヒト TSLP と同じ受容体への結合が可能である。

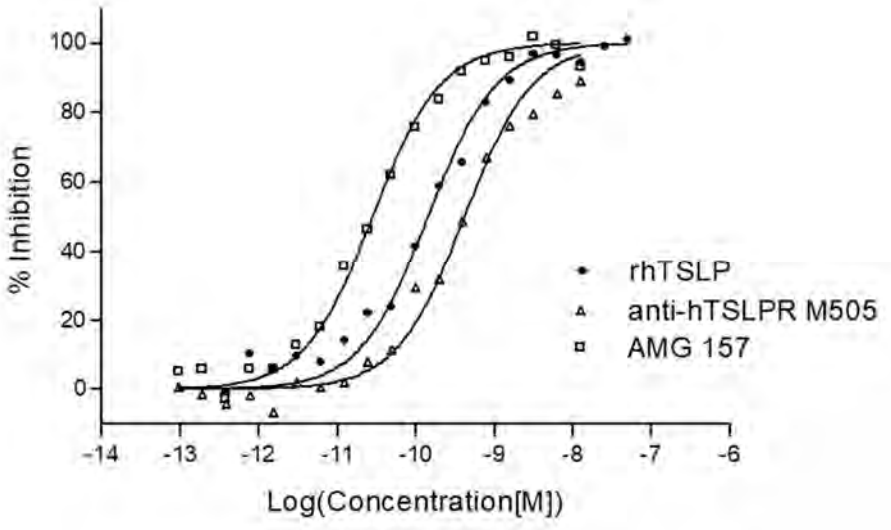
初期の実験により、^{125}I 標識組換えヒト TSLP（^{125}I-rh TSLP）の [redacted] 細胞への結合特性を

確立した。^{125}I-rh TSLP の高親和性の結合が検出され、K_D の平均値は 324 pM（95%信頼区間：261 pM～404 pM）、1 細胞あたりの結合部位数は平均 855（SEM として ± 65）であった。[redacted] の親細胞である BAF 細胞（非形質導入細胞）には、^{125}I-rh TSLP の結合は検出されなかった。平衡阻害定数 K_I の算出には ^{125}I-rh TSLP の平衡解離定数（平均 K_D 値：324 pM、95%信頼区間 261 pM～404 pM）を使用した。

図 1 は、[redacted] 細胞表面に発現したヘテロ二量体 TSLP 受容体への ^{125}I-rh TSLP の結合に対する rhTSLP、M505 及びテゼペルマブによる阻害を示す。これらの阻害曲線の結果に基づき、K_I の平均値は rhTSLP で 157 pM（95%信頼区間：108 pM～227 pM）、M505 で 360 pM（95%信頼区間：310 pM～419 pM）、テゼペルマブで 28.7 pM（95%信頼区間：16 pM～51.7 pM）であった。K_I 値の算出は単一結合部位競合的阻害モデルに基づいた。

この試験でテゼペルマブの動的かつ競合的な結合特性が解析され、TSLP リガンドと受容体の結合を妨害する能力が示された。これによって遮断抗体として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。

図 1　　[redacted] 細胞への ^{125}I-rhTSLP の結合に対する非標識 rhTSLP、マウス抗ヒト TSLPR M505 又はテゼペルマブによる阻害作用



AMG 157 = tezepelumab; [redacted] = mouse B-cell activating factor borate (BO3) cell line stably expressing the functional TSLPR complex which consists of the human TSLPR chain and the human interleukin (IL)-7Ra chain; hTSLPR = human thymic stromal lymphopoietin heterodimeric receptor; rhTSLP = recombinant human thymic stromal lymphopoietin.
Inhibition of ^{125}I-rhTSLP binding to [redacted] cells by unlabeled rhTSLP, mouse anti-hTSLPR M505, or AMG 157. [redacted] cells (1.9 x 106 cells/ 150 µL) were incubated with 28 pM ^{125}I-rhTSLP and varying concentrations of unlabeled rhTSLP, mouse anti-huTSLPR M505, or AMG 157 for 2 hours at 37°C. Minimum and maximum inhibition levels were determined by measuring binding in the absence of any inhibitor and presence of a 1000-fold molar excess of unlabeled rhTSLP, respectively. The continuous curves passing through the data were calculated from a 1-site competitive inhibition equation using a K_D value for ^{125}I-rhTSLP of 372 pM. In this representative experiment (Experiment reference number 85169-13) unlabeled rhTSLP, M505, or AMG 157 inhibited ^{125}I-rhTSLP binding to [redacted] cells with apparent K_Is of 132, 383, and 25.8 pM, respectively. The results of all three experimental runs, and the calculated mean and 95% confidence interval based on all three experiments, are reported in R20070415. n = 1
Source: Study R20070415

2.6.2.2.2.2　ヒト及びカニクイザルの TSLP 機能的活性に対するテゼペルマブの中和作用（試験 R20070150）

この試験で、各種 *in vitro* バイオアッセイを用いて、ヘテロ二量体 TSLP 受容体への TSLP の結合を阻害するテゼペルマブの機能的活性を明らかにした。また、この試験では、毒性試験にカニクイザルを用いることの適切性を決定するため、ヒト及びカニクイザル双方の TSLP タンパク質に対するテゼペルマブの活性を明らかにすることも目的であった。

これらの実験のため、細切したカニクイザル肺生検をヒト TNFα 及びヒト IL-1α で刺激して、天然型 CynoTSLP を誘導し、ELISA 法を用いて定量した。ヒト TNFα 及び IL-1α による天然型 CynoTSLP の誘導は、ヒト TNFα 及び IL-1α がカニクイザル受容体と交叉反応することを示した。HuTSLP は ELISA（R&D Systems）によって定量し、CynoTSLP は同じ ELISA 法を用いて推定した。天然型 CynoTSLP の EC_{50} 値の測定は、BAF:HuTSLPR 増殖試験法における肺培養上清の効力測定によって実施した。TSLP の天然型と組換え型を比較する目的で、この実験のため組換え HuTSLP-HF WT（組換えヒト TSLP-polyHIS-FLAG 野生型タンパク質）と組換え型 CynoTSLP（組換えカニクイザル TSLP-polyHIS-FLAG 野生型タンパク質）を作製した。

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に、初代培養ヒト末梢血骨髄系［CD11c+］樹状細胞、初代培養カニクイザル PBMC 及び[redacted]で試験を実施した。それぞれの阻害試験で使用する TSLP タンパク質の EC_{90} 値を決定した。以下のバイオアッセイを実施した。

(1) ヒトヘテロ二量体 TSLP 受容体を安定発現する BAF 細胞株（[redacted]）の増殖試験法における、TSLP に誘発される増殖の抑制。又はカニクイザル TSLP 受容体複合体発現細胞株（[redacted]）の同様の抑制。定量は[redacted]™ 細胞増殖試験法（[redacted]，米国[redacted]州）を用いて実施した。

(2) 複数のドナーから採取した細胞を用いた初代ヒト CD11+ DC からのヒト又はカニクイザルの TSLP 誘導 OPG 産生の抑制（図 2）。HuOPG 量は ELISA により分析した。

(3) カニクイザル PBMC アッセイ：初代培養カニクイザル PBMC からの CynoTSLP 誘導 CCL22/MDC 産生の抑制。MDC 量は ELISA により分析した。

BAF:HuTSLP 増殖アッセイで、テゼペルマブは組換え型及び天然型のヒト TSLP 誘導活性を抑制し、IC_{50} 値はそれぞれ 37 pM 及び 33 pM であった。OPG 増殖アッセイでは、複数ドナーから採取した検体の試験から測定した IC_{50} 値は 48 pM～442 pM（図 2）の範囲であった。

BAF:HuTSLPR 増殖アッセイで、テゼペルマブは組換え型及び天然型のカニクイザル TSLP 活性を抑制し、IC_{50} 値はそれぞれ 91 pM 及び 582 pM であった。組換え型カニクイザル TSLP を用いたアッセイの IC_{50} 値は、BAF:cynoTSLPR アッセイで 268 pM、初代培養カニクイザル PBMC アッセイで 96 pM 及び初代培養ヒト DC アッセイで 561 pM であった。図 2 に、初代培養ヒト DC 増殖アッセイにおける、組換え型のヒト TSLP 及びカニクイザル TSLP に対するテゼペルマブの IC_{50} 値を示した。CCL22/MDC アッセイで、初代培養カニクイザル PBMC における組換え型カニクイザル TSLP に対するテゼペルマブの IC_{50} 値は 95 pM であった。

Biacore™ 分析により結合親和性を測定した。テゼペルマブはヒト及びカニクイザルの TSLP に高親和性の結合を示し、それぞれの K_D 値は 15.8 pM 及び 32.2 pM であった。一方、テゼペルマ

ブはマウス TSLP には結合を示さなかった。テゼペルマブのマウス TSLP への結合性の欠如は、ELISA ベースアッセイでテゼペルマブはマウス TSLP に交差反応性を示さないことと合致する。結合試験の結果は、マウス TSLP とヒト TSLP との間で配列保存が比較的低いこと（即ちアミノ酸レベルでマウスとヒトの TSLP は 43%一致［Quentmeier et al 2001］）を考慮すると予想通りであった。また、マウス TSLP と交差反応するヒト TSLP 特異的抗体を特定することができなかったため、結果として *in vivo* 試験に用いるマウス代替抗体を作成したことを試験 R20080116 の報告書に記載している。ELIZA を用いた別の試験で、テゼペルマブはラット TSLP 及びウサギ TSLP のいずれにも結合を示さなかった（試験 154365）。

テゼペルマブは、組換え型及び天然型のヒト及びカニクイザル TSLP のいずれに対してもナノモル未満の活性を示した。初代培養細胞及び安定細胞株を用いた検討で、アンタゴニスト抗体として予想された結果が示された、抑制及び増殖に関するデータに基づくと、テゼペルマブに対するアゴニスト反応のエビデンスは認められなかった。テゼペルマブのカニクイザル TSLP との交差反応性で活性の低下が認められたが、活性の低下は 1/10 未満であり、テゼペルマブはヒト及びカニクイザルのいずれの TSLP にも高親和性で結合した。毒性試験で使用されるカニクイザル以外の動物種において結合が認められなかったことと、これらの試験でテゼペルマブはカニクイザル TSLP に対してヒト TSLP と同程度の阻害を示したことから、毒性試験における唯一適した動物種としてカニクイザルを使用することの正当性が明らかになった。

表 2 に非臨床試験に用いた抗 TSLP mAb の結合特性（平衡解離定数、平衡阻害定数及び阻害濃度）を要約した。

表 2　*In vitro* 及び *in vivo* 薬理試験に用いた抗 TSLP モノクローナル抗体

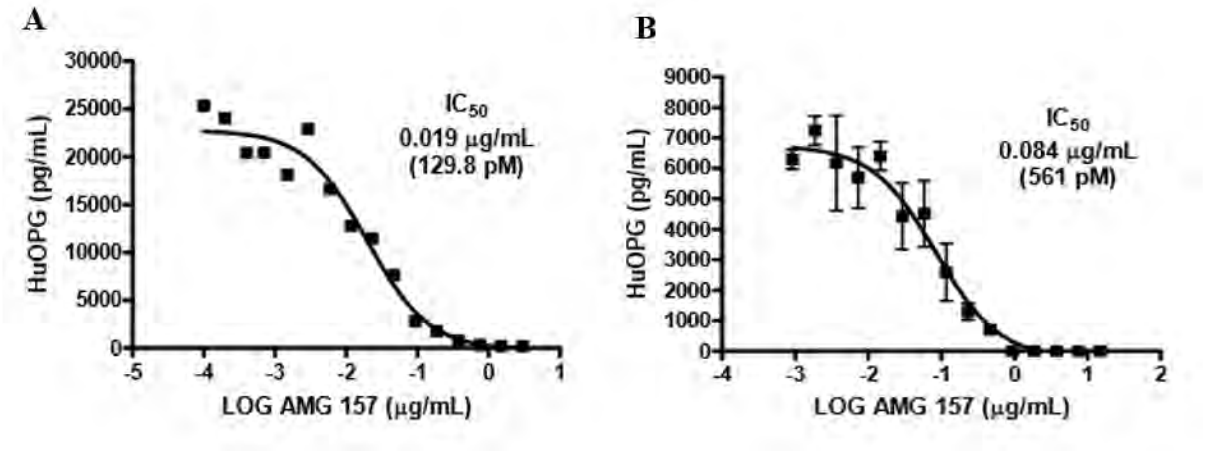
Species	Reagent	Biacore™ (K_D, pM)	^{125}I-TSLP (K_I, pM)	Bioassay DC (IC_{50}, pM)	Bioassay BAF:TSLPR (IC_{50}, pM)	Bioassay Cyno PBMC (IC_{50}, pM)
Mouse	M702	41	ND	229	209	ND
Human Recombinant	tezepelumab	15.8	29	48-442	(Hu) 37 (Cyno) 91	ND
Human Native	tezepelumab	ND	ND	ND	(Hu) 33 (Cyno) 582	ND
Cynomolgus Monkey Recombinant	tezepelumab	32.2	ND	561	268	97-411
Cynomolgus Monkey Native	tezepelumab	ND	ND	ND	(Hu) 33 (Cyno) 82	ND

BAF = B-cell activating factor; Cyno = cynomolgus monkey; DC = dendritic cells; Hu = human; K_D = equilibrium dissociation constant; K_I = equilibrium inhibition constant; IC_{50} = inhibition concentration 50%; M702 = anti-mouse TSLP monoclonal antibody; ND = not determined; PBMC = peripheral blood mononuclear cells; TSLPR = thymic stromal lymphopoietin receptor.

Results of bioassays in BAF cell line are reported as a mean of triplicates from one experiment. Results of bioassays in primary cell based assays are reported as a range due to donor to donor variability when multiple experiments were performed.

Source: Studies R20080116, R20070150

図 2　　初代培養ヒト樹状細胞オステオプロテゲリンアッセイにおける組換え型ヒト（A）又は組換え型カニクイザル（B）の TSLP に対するテゼペルマブの IC_{50} 値の測定



AMG 157 = tezepelumab; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; HuOPG = human osteoprotegerin; IC_{50} = half maximum inhibitory concentration; TSLP = Thymic stromal lymphopoietinPrimary human dendritic cells were incubated with recombinant human (A) or recombinant cynomolgus (B) TSLP for 48 hours in the presence of various concentrations of tezepelumab. Tezepelumab was pre-incubated with 1 ng/mL recombinant human or 3 ng/mL cynomolgus TSLP for 30 minutes at room temperature and then added to dendritic cell cultures for 48 hours. Dendritic cells were used at 1 x 10^5 cells/well. Supernatants were assayed by ELISA for OPG production. Results are expressed as the mean ± standard deviation.

2.6.2.2.2.3　全血アッセイにおける TSLP 誘導活性に対するテゼペルマブの抑制作用（試験 R20070151）

TSLP がヘテロ二量体受容体に結合すると、JAK のリン酸化及び活性化を含む複数のシグナル伝達経路が活性化され、続いて STAT5 を含むシグナル伝達性転写因子の活性が調節される（Zhong et al 2014、Ziegler et al 2013）。STAT5 シグナル伝達経路に対するテゼペルマブの阻害能を用い、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）におけるテゼペルマブの生物活性を確認するとともに、標的結合の指標として扱った。

この試験では初代培養ヒト樹状細胞をヒト全血に添加し、TSLP による STAT5 リン酸化をフローサイトメトリーにより測定した。TSLP は濃度依存的にリン酸化 STAT5 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。

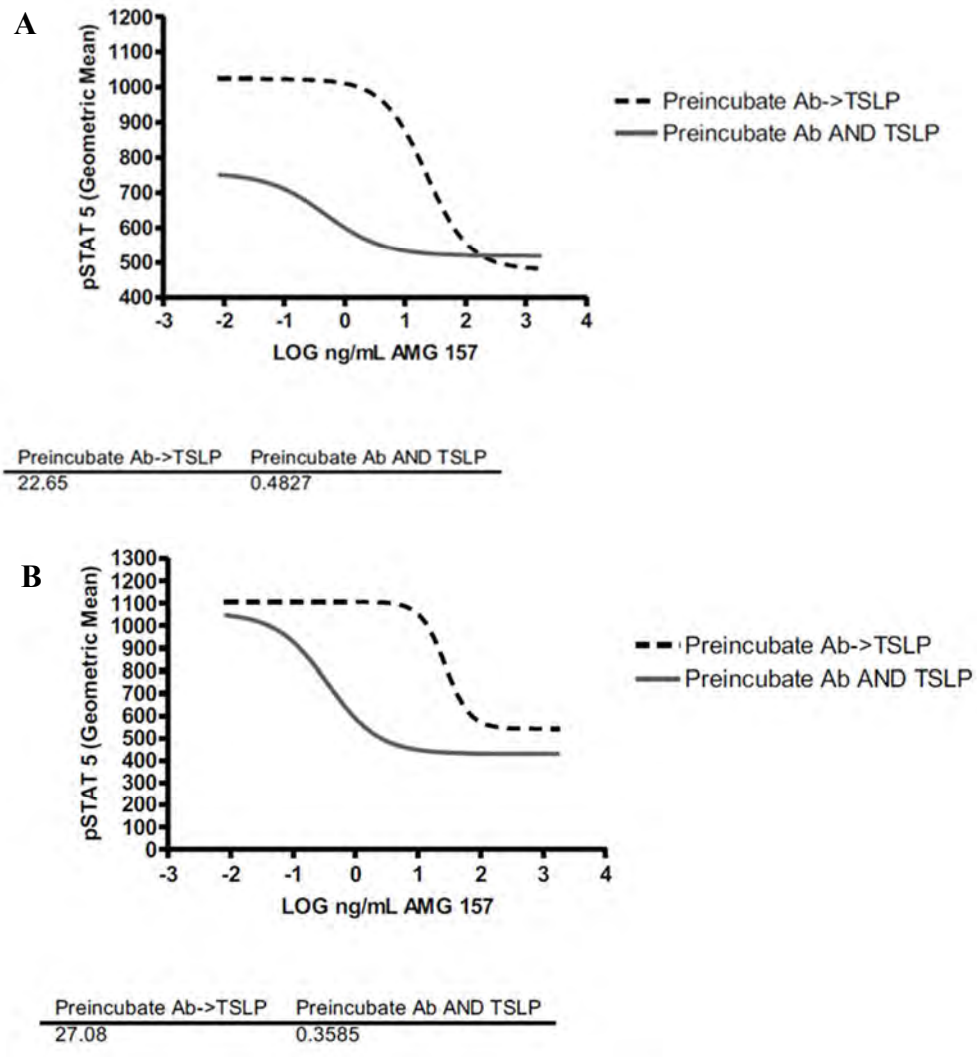
TSLP シグナル伝達に対するテゼペルマブの阻害能の特性を解析するため、2 段階の TSLP 濃度を評価した。TSLP 濃度 15 pg/mL は DC 添加全血中で TSLP に誘発される STAT5 リン酸化の EC_{50} 値に近く、75 pg/mL は濃度-反応曲線の飽和の変曲点に非常に近い。いずれの TSLP 濃度でも、2 種類のプレインキュベーション条件で評価した。

第 1 のプレインキュベーションアプローチとして、樹状細胞添加全血に各種濃度のテゼペルマブを添加し、2 時間後に TSLP で刺激したところ、IC_{50} 値は 15 pg/mL では 22.65 ng/mL、75 pg/mL では 27.08 ng/mL であった（図 3）。第 2 のプレインキュベーション条件では、TSLP とテゼペルマブを混合して複合体（TSLP：テゼペルマブ）を形成させた後、この混合物を樹状細胞添加全血に添加した。TSLPR 結合の阻害の効果はあらかじめ生成されたリガンド：抗体複合体で高いことは予測されるものであるが、実際に第 2 の条件ではリン酸化 STAT5 シグナル伝達に対する IC_{50}

は TSLP 濃度 15 pg/mL のとき 0.48 ng/mL、TSLP 濃度 75 pg/mL のとき 0.36 ng/mL であった（図 3）。

以上のデータから、テゼペルマブが全血の存在下で TSLP に結合し、TSLP タンパク質添加に誘発されるシグナル伝達を阻止することができることが立証されるとともに、TSLP のヘテロ二量体受容体を介したシグナル伝達を阻害することが立証された。

図 3　　TSLP 15 pg/mL（A）又は 75 pg/mL（B）で処置した全血に添加したヒト樹状細胞における STAT5 リン酸化に対するテゼペルマブの阻害作用



Ab = antibody; AMG-157 = tezepelumab; pSTAT 5 = phospho-signal transducer and activator of transcription 5; TSLP = thymic stromal lymphopoietin

Dose response for detection of pSTAT 5 in dendritic cells spiked back into whole blood and treated with 75 pg/mL of TSLP for 15 minutes. A range of tezepelumab (AMG 157) concentrations were added to whole blood for two hours (black dotted line) prior to stimulation with TSLP or the tezepelumab was preincubated with TSLP (15 pg/mL or 75 pg/mL) for two hours prior to complex addition to whole blood (gray line). pSTAT 5 was detected in by FACS. Calculated half maximal inhibition (values expressed as log 10 ng/mL) are shown below the figure.

Source: Study R20070151

2.6.2.2.2.4 テゼペルマブのラット TSLP 又はウサギ TSLP との結合（試験 154365）

テゼペルマブのラット又はウサギの TSLP との結合を ELISA により評価した。この試験では陽性対照としてヒト TSLP を使用した。テゼペルマブのラット TSLP との結合は検出されなかったが、ヒト又はカニクイザル TSLP との結合は容易に検出された。同様に、テゼペルマブのウサギ TSLP との結合は検出されず、ヒト又はカニクイザル TSLP との結合は容易に検出された。

2.6.2.2.2.5 *In vivo* モデルに用いる抗マウス TSLP 抗体 M702（試験 R20080116）

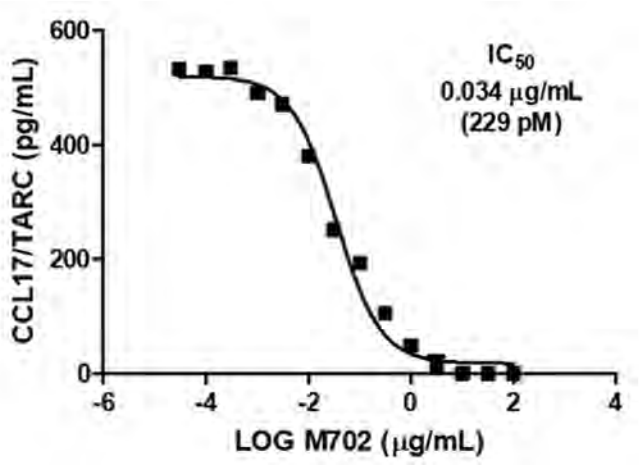
抗マウス TSLP 代替 mAb を用いて、マウス TSLP に対する薬理学的特性を評価した。初期開発中に、テゼペルマブがマウス TSLP に結合しないことが結合実験（試験 154365）で立証されたため、*in vivo* 研究用に抗マウス TSLP 代替 mAb を作製することが必要であった。マウス TSLP に特異的な代替ラット IgG2a 中和抗体（M702）を選択し、特性解析を進めることとした。

試験では、BALB/c マウス大腿骨由来の培養骨髄細胞を用い、FLT3-L 骨髄由来樹状細胞（BMDC）を単離した。精製 M702 は系列希釈により効力測定し、組換えマウス TSLP（rMuTSLP）とともにインキュベートした。TSLP について決定された EC_{90} 値は 10 ng/mL であり、これを阻害活性の算出に使用した。総液量 100 µL 中細胞濃度 2×10^5 cells/well を M702：rMuTSLP 混液に添加し、二酸化炭素濃度 5%の加湿インキュベーター内で 37°C で 48 時間インキュベートした。無細胞上清を回収し、阻害活性を定量した。

マウス TSLP に対する M702 の阻害活性は 2 種類のバイオアッセイにより測定した。TSLP 誘発 BAF:MuTSLPR 増殖アッセイでは、機能的ヘテロ二量体 TSLP 受容体発現マウス BAF:MuTSLPR 細胞の rMuTSLP に誘発される増殖が M702 によって阻害され、IC_{50} 値は 209 pM であった。他方のバイオアッセイでは、TSLP が CCL17/TARC の強力な活性化因子であることを示した過去の研究に基づき、この T2 遊走ケモカインの BMDC による産生を薬力学的マーカーとして使用した（Soumelis et al 2002）。M702 の IC_{50} 値は 229 pM と算出された（図 4）。

M702 は組換えマウス TSLP に結合し、Biacore™ により測定した K_D 値は 41 pM であった。この高い結合親和性に加え、TSLP に誘発される細胞活性に対する M702 の強力な抑制は、M702 が非臨床 *in vivo* 試験に用いるに適切な代替抗体であることを示した。

図 4 マウス骨髄由来樹状細胞アッセイによる組換えマウス TSLP に対する M702 の IC_{50} 値の測定



CCL17/TARC = chemokine (C-C motif) ligand 17/thymus and activation-regulated chemokine; IC_{50} = inhibition concentration 50%; M702 = anti-mouse TSLP monoclonal antibody; TSLP = thymic stromal lymphopoietin
Mouse bone marrow derived DCs were incubated with recombinant mouse TSLP for 48 hours in the presence of various concentrations of M702 that had been pre-incubated with 20 ng/mL recombinant mouse TSLP for 30 minutes at room temperature prior to addition DC cultures. DCs were used at 2 x 10^5 cells/well. Supernatants were assayed by ELISA for CCL17/TARC production. Results are expressed as the mean ± standard deviation .
Source: Study R20080116

2.6.2.2.3 *In vivo* 試験

気道及び皮膚の炎症モデルマウスを用いて、*in vivo* における M702（マウス TSLP を特異的に中和するラット IgG2a 代替抗体）の TSLP に対する抑制作用を検討した。TSLP は炎症との関連が強いため、これらのモデルはテゼペルマブの非臨床での開発にとって興味深いものであった。

2.6.2.2.3.1 気道炎症モデルマウス

2.6.2.2.3.1.1 OVA 誘発性喘息モデルにおける M702 の作用（試験 R20070146）

TSLPR 欠損マウスは発達的及び表現型的には正常であるが、OVA 誘発性喘息モデルマウスで気道炎症反応が顕著に低下する（Zhou et al 2005、Al-Shami et al 2005）。BALB/c マウスの OVA 誘発アレルギー性気道炎症モデルで、予防的及び発作時の投与による試験方法を用いて抗 TSLP 抗体 M702 の作用を検討した。

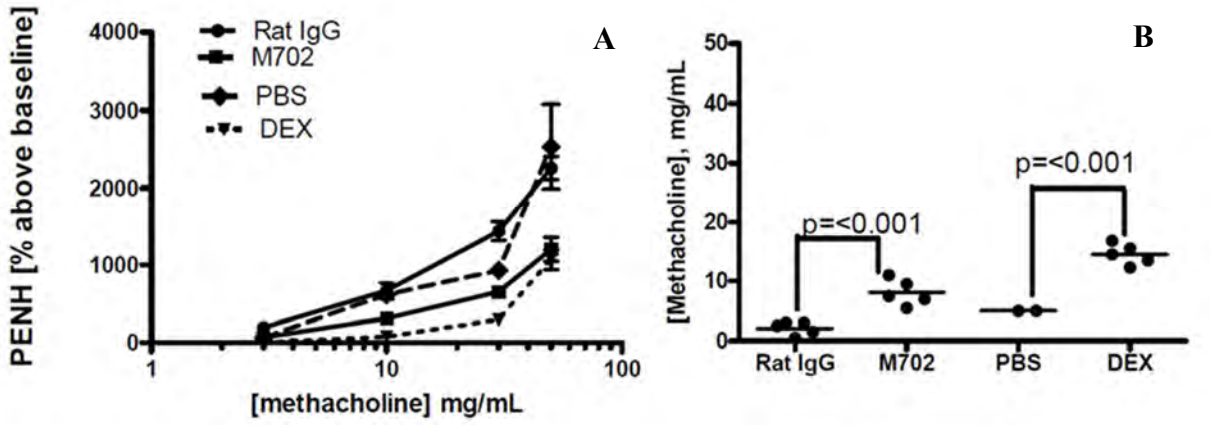
感作誘導中及び OVA 曝露期の前に M702 20 mg/kg を IV 投与したところ（予防投与モデル）、対照群のラット免疫グロブリン G（IgG）投与マウスと比較して BALF 中の細胞数及びメタコリン曝露に対する気道過敏性（AHR）は顕著に抑制された。実験 1 によると、M702 投与後の気道過敏性は PBS、対照抗体ラット IgG 及びデキサメタゾンと比較して変化している（図 5）。同じ対照物質群と比較して M702 群では BALF 中の細胞数（好中球及び好酸球）が明らかに減少した（図 6）。M702 投与マウスの総血清 IgE 値には、対照群のラット IgG 投与マウスとの間に顕著な差は認められなかった。

この実験モデルの抗原曝露期に M702 を投与したとき、11.6 mg/kg の鼻腔内投与ではメタコリン曝露に対する AHR の顕著な抑制が認められたものの、25 mg/kg の IV 投与では認められなかっ

た。鼻腔内 M702 投与マウスの総血清 IgE 濃度及び OVA 特異的血清 IgE 濃度は、鼻腔内ラット IgG 投与マウスと比較して顕著に低かった。M702 IV 投与マウスはラット IgG IV 投与マウスより低い総血清 IgE 濃度を示したものの、この差は有意ではなかった。また、静脈内 M702 投与には、対照ラット IgG 投与と比較して OVA 特異的血清 IgE 値に対する影響はなかった。BALF 中細胞数、BALF 中 IL-5 値及び IL-13 値、肺所属リンパ節培養中サイトカイン産生、総肺炎症スコア、並びに粘液産生には、M702 投与マウスと対照ラット IgG 投与マウスを比較したとき顕著な差は認められなかった。

要約すると、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。M702 投与マウスの総血清 IgE 値には、対照ラット IgG 投与マウスとの間に顕著な差は認められなかった。

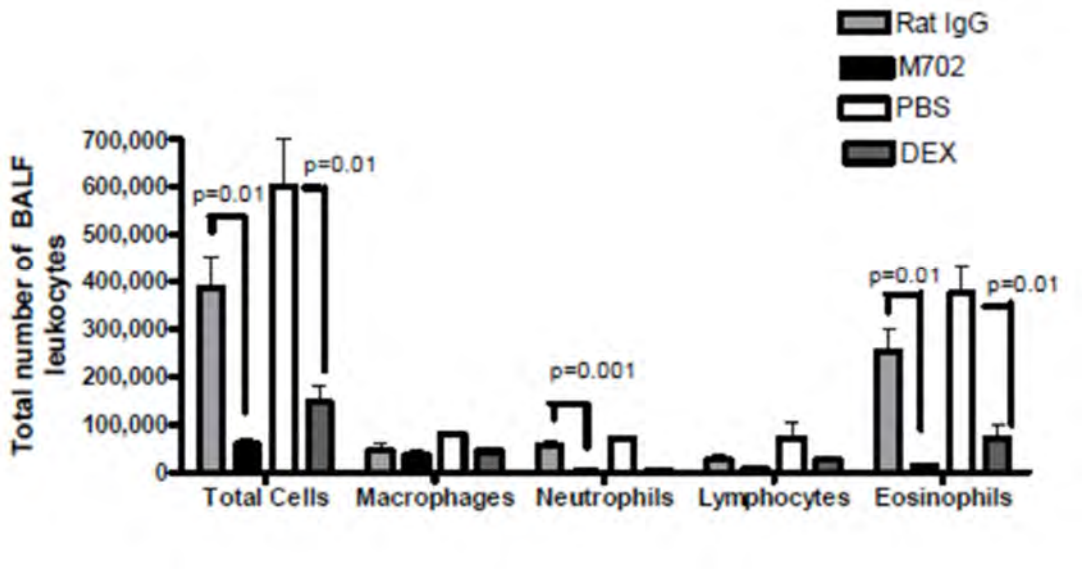
図 5　　OVA 喘息モデル試験 1（AHR050427OVA）の抗 TSLP 抗体 M702 投与 BALB/c マウスにおけるメタコリン曝露に対する気道過敏性（AHR）



IgG = immunoglobulin G; M702 = anti-mouse TSLP monoclonal antibody; OVA = ovalbumin; PBS = phosphate-buffered saline

Mice were primed and challenged with OVA and treated with PBS, Dex, Rat IgG, or M702. Airway responsiveness to methacholine (MCh) was measured 48 hours after the final OVA challenge noninvasively in conscious, unrestrained mice with a whole body plethysmograph ([redacted], [redacted], NY). The readout, PENH, reflects pulmonary resistance. Airway hyperresponsiveness to MCh challenge was measured in individual mice after baseline readings were taken and saline inhalation was performed. Increasing concentrations of MCh, between 3 and 50 mg/mL, were aerosolized for 1 minute each and responses were measured and averaged over a 10 minute period. (A) The degree of bronchoconstriction was expressed as the percentage change in PENH relative to the baseline at each concentration of MCh. Results are expressed as the mean ± standard error of the mean. (B) The amount of methacholine required to induce a response 200% above baseline was calculated for each mouse in each treatment group. Results are expressed as a scatterplot, with the horizontal bar representing the mean. (A and B) In experiment 1 (shown), AHR050425OVA, mice were treated with 400 µg IV injection of M702 prior to each OVA sensitization and prior to the first OVA challenge. IV M702 treatment throughout the OVA sensitization and challenge phases of this OVA asthma model significantly reduced AHR to MCh challenge. Comparisons among groups were performed using a one-way ANOVA and Bonferroni's Multiple Comparison Test using [redacted] ([redacted], Inc., [redacted], [redacted]). $p \leq 0.05$ was considered significant. n = 5 mice/group.

図 6　　OVA 喘息モデル試験 1（AHR050427OVA）の抗 TSLP 抗体 M702 投与 BALB/c マウスにおける BALF 中の総細胞数及び各細胞成分数



IgG = immunoglobulin G; M702 = anti-mouse TSLP monoclonal antibody; OVA = ovalbumin; PBS = phosphate-buffered saline
Mice were primed and challenged with OVA and treated with Rat IgG, (IV 25 mg/kg), M702, (IV 25 mg/kg), PBS (IP) or Dex. IP 20 mg/kg). On Day 6, BAL fluid was collected and differential cell counts were performed manually by counting macrophages, neutrophils, eosinophils and lymphocytes under light microscopy (100 cells counted for each sample). In experiment 1, AHR050425OVA, mice were treated with 400 µg IV injection of M702 prior to each OVA sensitization and prior to the first OVA challenge. M702 treated mice had reduced total BALF cells, and reduced total BALF eosinophils and neutrophils. M702 treated mice also had reduced percentage of eosinophils and neutrophils. Results are expressed as the mean ± standard error of the mean. Comparisons among groups were performed using a one-way ANOVA and Bonferroni's Multiple Comparison Test using [redacted] ([redacted], Inc., [redacted], [redacted]). $p \leq 0.05$ was considered significant. n = 5 mice/group.

2.6.2.2.3.1.2　TSLP 鼻腔内曝露モデルの TSLP による IL-4Rα 経路に及ぼす影響（試験 R20070148）

TSLP の炎症誘発物質としての役割を調査するため TSLP 曝露モデルを作成したところ IL-4Rα 経路を介した表現型が得られ、BALF 及び肺組織中の炎症細胞、杯細胞の過形成並びに BALF 中の CD40 及び VCAM-1 で軽微な増加を示す特徴が認められた。

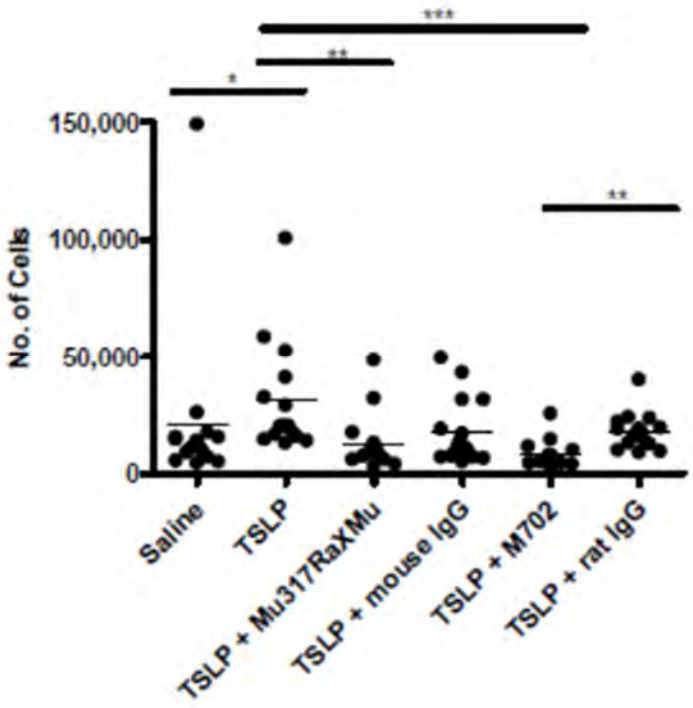
BALB/c マウスに対し、生理食塩液中外因性組換え TSLP 用量 50 µL 又は 1 µL を用い、連日の鼻腔内曝露を 14 日間連続実施した。マウスを群分けし、各群に抗マウス TSLP mAb（M702）、キメラ抗マウス IL-4Rα mAb（Mu317RaXMu）又はアイソタイプ対照（マウス IgG 又はラット IgG）のいずれかを投与した。被験物質投与群及びアイソタイプ対照群のマウスには、50 mg/kg（5 mg/mL）を単回腹腔内投与した。最終曝露の翌日にマウスを屠殺し、BALF 中細胞及び BALF 中分析対象物の変化、肺組織病理及び肺コラーゲン含量を評価した。TSLP による鼻腔内曝露の 2 週間後の BALF リンパ球誘導に対する IL-4Rα mAb 又は M702 投与の影響を図 7 に示す。

TSLP 曝露マウスから採取した BALF 細胞試料の分析により、M702 及び Mu317RaXMu 投与マウスでは対照と比較して顆粒密度の顕著な低下が示された。M702 及び Mu317RaXMu 投与マウスでは TSLP 曝露マウスと比較して好酸球、リンパ球及びマクロファージの数も少ないものの、好中球は TSLP 曝露の影響を受けなかった。外因性 TSLP 曝露により、BALF 中 CD40 及び VCAM の 2 種の分析対象物が顕著に増加した。M702 及び Mu317RaXMu のいずれの投与マウスでも VCAM 値は低かったのに対し、CD40 値は Mu317RaXMu 投与マウスで対照より低く、M702 投与マウスでは対照と変わらなかった。

TSLP 曝露を実施したマウスの肺切片の病理組織学的検査では、一貫して軽度の炎症が認められた。肺切片の H&E 染色の写真の例を図 8 に示す。Mu317RaXMu 投与マウスの肺切片では、対照マウスと比較して単核細胞、肺胞マクロファージ及び好酸球量が減少し、好酸球量の減少が最も顕著であった。M702 及び内因性 TSLP 投与マウスの肺切片では単核細胞及び好酸球が少なく、更に好中球は肺切片中に認められなかった。TSLP 曝露マウスの肺切片の PAS 染色のスコアは、軽度から著明であった。PAS 染色で確認された胚細胞過形成は M702 投与マウス肺では完全に消失しており、Mu317RaXMu 投与マウスでも相当に消失していた。マッソントリクローム染色及びシリウスレッド染色を用い、肺切片の線維化の有無及び程度を評価した。しかし、TSLP 曝露モデルでは線維化の徴候はほとんど認められず、線維化に及ぼす遮断抗体の影響について結論を得ることはできなかった。また、Sircol^{TM} コラーゲンアッセイにより測定した肺コラーゲン含量は TSLP によって変化せず、M702 又は Mu317RaXMu の投与に影響されなかった。この結果は、このモデルで TSLP に誘発される線維化の徴候を示さなかった病理組織学的検査の結果に合致する。

要約すると、抗 TSLP mAb 又は抗 IL-4Rα mAb は BALF 及び肺組織中の炎症細胞の集積を抑制し、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 によって誘導される表現型は IL-4Rα 経路に媒介されており、IL-4Rα 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。

図 7　　TSLP 鼻腔内曝露した 2 週間後の BALB/c マウスにおける IL-4Rα 又は TSLP に対する抗体投与の BALF 中リンパ球誘導に及ぼす影響

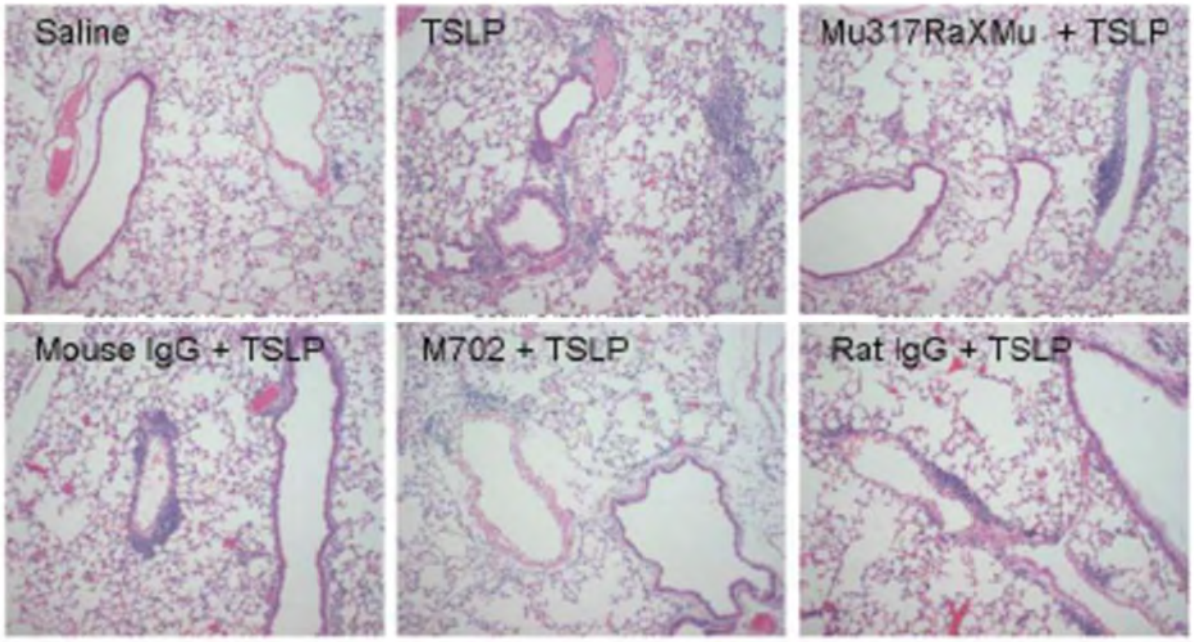


IgG = immunoglobulin G; TSLP = thymic stromal lymphopoietin

BALB/c mice were treated once weekly with IP injection of chimeric anti-mouse IL-4Rα mAb, Mu317RaXMu or rat anti-mouse TSLP mAb M702 and were concurrently challenged with TSLP for two weeks. At harvest, BALF cells were counted and differentiated using an Advia 120 hematology machine. Results are expressed as a scatterplot, with the horizontal bar representing the mean. Statistical significance was determined with a Kruskal-Wallis test followed by a Dunn's Multiple Comparison Test, using a 95% confidence interval.

*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001.

図 8　　TSLP 鼻腔内曝露の 2 週間後に IL-4Rα 又は TSLP に対する抗体を投与したマウスから採取した肺切片の H&E 染色



IgG = immunoglobulin G; TSLP = thymic stromal lymphopoietin
H&E-stained lung tissue sections from BALB/c mice that were treated once weekly with chimeric anti-mouse IL-4Rα mAb, Mu317RaXMu, or rat anti-mouse TSLP mAb, M702, and were concurrently challenged with TSLP for two weeks. One representative photograph from each group is shown at 10X magnification.

2.6.2.2.3.2　皮膚炎症モデルマウス

2.6.2.2.3.2.1　FITC-CHS モデルマウスの感作誘導期における TSLP による皮膚炎症抑制（試験 R20070147）

マウスの CHS モデルを作成し、抗マウス TSLP mAb（M702）のアレルギー性皮膚炎に対する抑制作用を評価した。ハプテンとして T 細胞を介した樹状細胞依存性皮膚炎症を誘導する FITC を用いて FITC モデルを作成した。本モデルの病変は、2 型免疫反応の共通性を考えると、喘息における気道炎症と関連する可能性のあるヒト 2 型炎症と類似性を有する。しかしながら、主として、FITC モデルは、好酸球浸潤、肥満細胞脱顆粒、表皮過形成等のヒトアトピー性皮膚炎を模倣する特徴を示す。この *in vivo* モデルは、皮膚疾患モデルマウスの皮膚における TSLP 阻害による影響を理解することを目的としていた。

皮膚の炎症を誘導するため、雌 C57BL/6 又は BALB/c マウスに抗マウス TSLP 抗体 M702 の 1 日 100 µg 又はアイソタイプ対照 IgG の 1 日 100 µg を Day -1、0 若しくは 1（感作誘導期）又は Day 6 若しくは 7（曝露期）に投与した。感作誘導中、剃毛したマウスの背部に FITC 溶液（0.5% FITC を 1：1 アセトン混液中に希釈）を塗布した。Day 7 に曝露期の開始として、マウスの右耳介に FITC 溶液、左耳介に溶媒を塗布し、耳介厚の変化を算出した。所属リンパ節を摘出し、個々のリンパ節から調製した単細胞浮遊液の細胞計数によって細胞数を測定した。FITC は蛍光マーカーであるため、皮膚からリンパ節に流入した遊走ランゲルハンス細胞及び皮膚樹状細胞

は、所属リンパ節で CD11c+、I-Ab+、FITC+細胞として検出される。試験は C57BL/6 マウスで 2 回、BALB/c マウスで 1 回実施した。

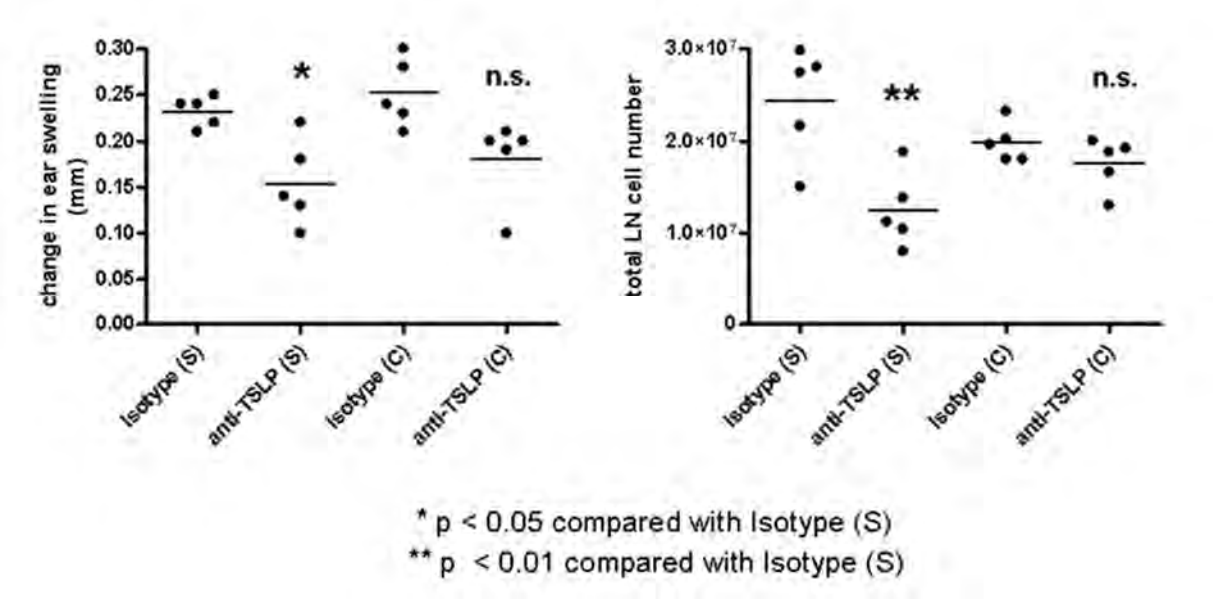
このモデルの感作誘導期には、抗原沈着部位から遊走した FITC 含有樹状細胞によってリンパ節中のナイーブ T 細胞が活性化される。活性化された FITC 特異的 T 細胞はリンパ節から移動し、末梢組織での常在を開始する。曝露期には、2 回目の FITC 適用によって FITC 特異的 T 細胞が皮膚内で活性化され、2 型サイトカイン（IL-4、IL-5 及び IL-13）を産生する。

このモデルは 24 時間以内に生じる遅発型過敏反応を伴い、好中球、好酸球及びマクロファージの流入に起因する耳介腫脹を特徴とする。モデルの感作誘導期と曝露期に抗 TSLP 抗体 M702 を投与したところ（IV、腹腔内の投与経路を問わない）、アイソタイプ対照と比較して、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。この 2 種のマウスの系統間で M702 に対する反応が数値的に異なるのは、BALB/c マウスでは 2 型に偏った免疫応答、C57BL/6 マウスでは 1 型に偏った免疫応答が優先的に生じたためという可能性がある。FITC-CHS の炎症反応は 2 型が介在するものであり、頑健な 2 型応答が期待される BALB/c マウスでは 1 型応答が介在するマウスのモデルと比較して阻害されにくかったのかもしれない。

感作誘導期に C57BL/6 マウスを評価したところ、アイソタイプ対照と比較して耳介腫脹の顕著な抑制も認められた。曝露期のみに投与を受けたマウスでは同様の抑制は認められなかった。このモデルの感作誘導期には、FITC 含有樹状細胞が抗原沈着部位から遊走し、リンパ節中のナイーブ T 細胞を活性化することが予想される。この遊走の証拠を反映して、TSLP 遮断なしの条件では I-Ab+細胞（MHC クラス II のマーカー）の約 50%が FITC+でもあることが確認された。感作誘導又は曝露の直前に M702 を投与したマウスでは、所属リンパ節中の FITC+ I-Ab+細胞数がアイソタイプ対照抗体を投与したマウスより顕著に低かった。しかし、T 細胞プライミング及び増殖を表す総細胞数の減少は、M702 を感作誘導前に投与したときにのみ認められ、これは耳介肥厚により測定される CHS 反応と相関した。感作誘導期又は曝露期のみに M702 又はアイソタイプ対照をともに投与したときの耳介腫脹に対する M702 の影響を図 9 に示す。この試験のデータにより、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 の役割が裏付けられた。適度な T 細胞プライミングがないと CHS 反応は低下する。過去の研究により、TSLP が血中樹状細胞を直接的に活性化するとともに、TNFα 及び IL-1β と協調して皮膚樹状細胞を活性化し、輸入リンパ管への遊走を誘発することが同様に立証されている（Bogiatzi et al 2007、Soumelis et al 2002）。

このモデルにおいて、FITC 特異的 T 細胞の活性化と増殖を阻止し、抗原曝露時の CHS 反応を抑制するには、感作誘導中の TSLP 阻害が必要であった。曝露時の TSLP 阻害によって樹状細胞の所属リンパ節への遊走は阻止されたものの、リンパ節細胞数又は耳介厚に対する顕著な影響はなかった。以上のデータから、TSLP 阻害は FITC 免疫応答の開始に対しては影響するものの、抗原再刺激反応に対しては影響しないと示唆された。

図 9　　感作誘導期又は曝露期のみで投与した M702 の曝露後 24 時間での FITC-CHS に対する作用



M702 = anti-mouse TSLP monoclonal antibody; TSLP = thymic stromal lymphopoietin
Scatterplots showing results from one FITC CHS experiment in C57BL/6 mice, where animals were dosed either at Sensitization only (Days -1, 0, and 1), or at Challenge only (Days 6 and 7). Results are expressed as a scatterplot, with the horizontal bar representing the mean. Change in ear thickness is shown in the left panel, and the corresponding total LN cell number is shown in the right panel. Ear measurements were taken 24 hours after challenge. Each filled circle represents the value from an individual mouse. (S) Indicates dosing at Sensitization; (C) indicates dosing at Challenge. n.s. indicates that the difference between groups was not statistically significant. n = 5 mice/group.

2.6.2.2.3.2.2　TSLP の皮内投与による 2 型炎症環境の誘導（試験 R20070149）

この試験では、TSLP の生物学的経路をさらに理解することを目的として、IL-4Rα KO マウス及び STAT6 KO マウスの 2 種の KO モデルにおいて 2 型炎症の誘導を検討した。STAT6 シグナル伝達は、IL-4/IL-4Rα 経路のメディエータであり、Th2 細胞の分化に必須である。また、STAT6 欠損マウスは抗原誘発気道疾患から保護されている（Akimoto et al 1998、Kuperman et al 1998）。先行試験で、TSLP は、細胞の活性化、増殖、トラフィッキング及び免疫グロブリンクラススイッチ等の反応を媒介する 2 型サイトカイン環境を誘導することが示されている（Zhou et al 2005、Ziegler et al 2013）。

試験では BALB/c 野生型マウス、IL-4Rα KO 又は STAT6 KO マウスに、TSLP 又はマウス血清アルブミン（MSA、対照タンパク質）10 µg を週 3 回、2 週間皮内投与した。投与部位の皮膚を組織学的に解析し、TaqMan™ により mRNA 発現を分析した。所属リンパ節を回収して再刺激し、得られた上清中のサイトカイン及びケモカイン量を *in vitro* で評価した（Linco™ マルチプレックスアレイ）。血清 IgE を測定した。

IL-4Rα KO モデルでは、TSLP の皮内投与によって炎症細胞浸潤が保持されたものの、組織学的検査で線維化は認められなかった。野生型マウスと比較したとき、CCL2/MCP-1 及び CCL3/MIP-1a の mRNA パターンが注射部位で同程度まで増加していた。TSLP 投与野生型マウス

及び IL-4Rα KO マウスの双方で、注射部位における IL-5 mRNA レベルの増加が認められたものの、IL-4Rα KO マウスでより顕著な増加であった。

STAT6 KO マウスにおいて、IL-4 及び CCR8 の mRNA は TSLP を投与した野生型及び STAT6 KO マウスの注射部位で MSA 投与マウスと比較してほぼ同等であった。IL-5 及び IL-13 の mRNA は TSLP を投与した野生型及び STAT6 KO マウスの注射部位で MSA 投与マウスと比較して増加しており、反応の強度は野生型より STAT6 KO マウスで大きかった。

IL-4Rα KO と STAT6 KO 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 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、クラススイッチが起こったことが示唆された。

所属リンパ節細胞の再刺激培養中、TSLP を投与した IL-4Rα KO マウス及び STAT6 KO マウスによるサイトカイン産生は、野生型マウスほど顕著ではなかった。TSLP を投与した野生型マウスでは GM-CSF 及び IL-6 が一貫して増加していたのに対し、IL-4Rα KO 及び STAT6 KO マウスのいずれでも、これらのサイトカインは検出されず、IL-4 及び IL-13 のシグナル伝達がない場合にも存在する可能性のある TSLP の付加的な炎症促進作用が示唆された。

TSLP の皮内注射により、サイトカイン及びケモカイン遺伝子発現の増強を伴う皮膚炎症及び線維化が誘発され、所属リンパ節細胞の再刺激培養における 2 型サイトカイン産生が増加することが確認された。TSLP を投与した STAT6 KO マウスでは、皮膚の炎症細胞浸潤と線維化の両者が認められた。

この試験の結果によると、TSLP に対する応答は部分的に 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ることが示された。STAT6 KO マウスの場合には、TSLP は IL-4Rα KO マウスに認められなかった線維化を誘導し、STAT6 以外の経路を介するシグナル伝達の存在が示唆された。

本概要文で報告した薬理試験は、ヘテロ二量体 TSLP 受容体（IL-7Rα 鎖及び TSLPR 鎖）を発現する細胞に対するテゼペルマブの結合親和性、特異性、効力及び薬理作用の特性を明らかにすることを目的としていた。*In vivo* 試験から、TSLP 遮断により炎症に関与する複数の経路、最も顕著には 2 型炎症に関与する経路を阻害することが示された。

2.6.2.3 副次的薬理試験

テゼペルマブに関する副次的薬理試験を実施しなかった。

2.6.2.4 安全性薬理試験

2.6.2.4.1 心血管系、呼吸数及び神経行動に対する作用（試験 109453；GLP 適用）

テレメトリーシステムを装着した 4 例の雄性カニクイザルを用いた単回投与 GLP 適用安全性薬理試験において、心血管系、呼吸器系及び神経行動学的エンドポイントに対するテゼペルマブの作用を評価した。テゼペルマブ 300 mg/kg を単回 IV 投与した後、心血管機能、呼吸数、神経学的行動及び体温に対して投与に関連した作用は認められなかった。また、カニクイザルを用いた反復投与（最高 300 mg/kg まで 7 日ごとに 1、3 及び 6 カ月間 SC 投与、7 日ごとに 1 カ月間、最高 300 mg/kg まで IV 投与及び 50 mg/kg を 7 日ごとに 6 カ月間 IV 投与）試験（毒性試験の概要文 2.6.6 項参照）として実施した安全性薬理のエンドポイントに関して、中枢神経系（一般状態

の観察及び体温）、呼吸器系（呼吸数）、腎臓機能（尿検査）並びに心血管系（心拍数及び心電図）に対する評価においてテゼペルマブ投与に関連した有害な所見は認められなかった。また、心臓、肺、腎臓等の関連組織の病理組織学検査においてもテゼペルマブ投与に関連した有害な所見は認められなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

テゼペルマブに関する薬力学的薬物相互作用試験を実施しなかった。

2.6.2.6 考察及び結論

テゼペルマブは、ヒト及びカニクイザルの TSLP に高親和性で結合するヒト IgG2 モノクローナル抗体であり、ヘテロ二量体 TSLP 受容体を介するシグナル伝達を阻害する。一連の *in vitro* 試験で、テゼペルマブは遺伝子組換え型及び天然型のヒト TSLP 及びカニクイザル TSLP の生物学的活性を強力に中和することが示された。

テゼペルマブの標的は上皮細胞由来サイトカインである TSLP で、TSLP は樹状細胞（Reche et al 2001、Soumelis et al 2002、Gilliet et al 2003）及び肥満細胞（Allakhverdi et al 2007）に作用してアレルギー性炎症反応を誘導する炎症誘発性刺激に反応して産生される。ヒト組織で TSLP タンパク質発現が増加することは、喘息等のヒト疾患における炎症の発現及び重症度と関連している。

テゼペルマブは、ヒト及びカニクイザルの組換え型及び天然型の TSLP と同程度の効力で交差反応できるので、組織交差反応性試験（試験 108668、毒性試験の概要文 2.6.6.8.1 項参照）と併せて毒性試験に用いる動物としてカニクイザルを選択することになった。テゼペルマブのマウス、ラット及びウサギ TSLP との結合は認められなかった。

X 線結晶構造解析及び NMR 装置による構造解析の結果、TSLP がそのヘテロ二量体受容体との連結によりもたらされるメカニズムが明らかになった（Verstraete et al 2017）。TSLP の受容体との結合は、膜近位 TSLPR（CRLF2 によってコードされる）により TSLP の補足及び転位（再配列）として開始され、その後に JAK-STAT シグナル伝達を介して細胞内炎症を引き起こす IL-7Rα 受容体が動員される。JAK-STAT シグナル伝達は T 細胞の分化及び恒常性の調節に関与している（Mackall et al 2011、Ziegler et al 2013）。本試験から、代替抗 TSLP 抗体を用いて TSLP の結合も明らかになり（テゼペルマブと同じ重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列であると報告されており、Verstraete らの研究室で作製された）、抗 TSLP mAb は TSLP に結合して TSLP の TSLPR との相互作用を阻止し、それによって IL-7Rα 鎖の動員を抑制することが示された。薬理試験（試験 R20070150）の結果から、テゼペルマブの作用機序はヘテロ二量体受容体を介するシグナル伝達の阻害であることがさらに裏付けられた。

ヒト全血における *in vitro* 試験から TSLP を介する STAT5 の活性化が確認され、このシグナル伝達経路を阻害するテゼペルマブの濃度依存的な活性も明らかにされた。

気道炎症（OVA）モデルマウスにおいて、組織学的変化、BALF 中総細胞数及びメタコリン曝露に対する気道過敏性の結果から示されるように、M702 の TSLP 遮断により対照ラット IgG 投与マウスに比較して気道炎症が軽減し、TSLP の薬理学的活性の阻害によって気道疾患の症状を抑制する可能性が示唆された。

TSLP 炎症の生物学的経路を詳しく探索するため、IL-4Rα 及び STAT6 の 2 種類の KO モデルマウスで TSLP の 2 型炎症誘発能を検討した。野生型、STAT6 KO 及び IL-4Rα KO マウスに皮内投

与したマウス TSLP の影響により、TSLP に依存しない IL-4 及び IL-13 の影響が立証され、IL-5 阻害が TSLP 遮断の重要な特性であることが確認された。

炎症を誘発する TSLP の役割は、マウスの接触過敏症モデルで更に裏付けられた。*In vivo* 試験ではマウス TSLP に対する高親和性のマウス抗体 M702 を使用した。接触過敏症のモデルにおける TSLP の機構的役割は、樹状細胞の活性化又は皮膚から所属リンパ節への遊走を促進する因子であり、これによって炎症反応に介在するリンパ節内ナイーブ T 細胞の活性化が減弱する。感作誘導期と曝露期の両方でのモデルの結果から、TSLP 阻害は FITC 免疫応答の開始に対しては影響するものの、抗原再刺激反応に対しては影響しないことが示唆された。

同様に、肺の炎症における TSLP 阻害（マウス抗 TSLP 抗体 M702 の鼻腔内投与）によって気道炎症のパラメータが用量依存的に抑制された。M702 投与マウスの総血清 IgE 濃度及び OVA 特異的血清 IgE 濃度、並びに BALF 中 IL-5 及び IL-13 濃度は、対照ラット IgG 投与マウスと比較して顕著に低かった。BALF 細胞数又は肺所属リンパ節のサイトカイン産生に対する顕著な影響は認められなかった。この試験では気道反応性亢進、並びに炎症及び粘液産生についての病理組織学的スコア判定は評価しなかった。

TSLPR 欠損マウスで表現型又は発達の異常は認められておらず（Carpino et al 2004）、TSLP 欠損マウスで明らかな表現型は認められていない。炎症性腸疾患の最近のモデルでは、蠕虫感染及び大腸炎のモデルマウスにおける消化管恒常性を維持する TSLP の役割が示唆されている（Taylor et al 2009）。

カニクイザルを用いたテゼペルマブに関する GLP 適用安全性薬理試験でテゼペルマブ投与に関連した作用は認められなかった。非臨床（最長 6 カ月まで）及び安全性薬理試験のデータを総合的に勘案すると、喘息等のヒト炎症性疾患の治療薬としてテゼペルマブを開発することを支持するものであった。

2.6.2.7 図表

図表は、本文中の適切な場所に記載した。

2.6.2.8 参考文献

Akimoto et al 1998

Akimoto T, Numata F, Tamura M, Takata Y, Higashida N, Takashi T, et al. Abrogation of bronchial eosinophilic inflammation and airway hyperreactivity in signal transducers and activators of transcription (STAT)6-deficient mice. J Exp Med. 1998 May 4;187(9):1537-42.

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.

Bogiatzi et al 2007

Bogiatzi SI, Fernandez I, Bichet JC, Marloie-Provost MA, Volpe E, Sastre X, et al. Cutting Edge: Proinflammatory and Th2 cytokines synergize to induce thymic stromal lymphopoietin production by human skin keratinocytes. J Immunol. 2007 Mar 15;178(6):3373-7.

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 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.

Kuperman et al 1998

Kuperman D, Schofield B, Wills-Karp M, Grusby MJ. Signal transducer and activator of transcription factor 6 (Stat6)-deficient mice are protected from antigen-induced airway hyperresponsiveness and mucus production. J Exp Med. 1998 Mar 16;187(6):939-48.

Mackall et al 2011

Mackall CL, Fry TJ, Gress RE. Harnessing the biology of IL-7 for therapeutic application. Nat Rev Immunol. 2011 May;11(5):330-42.

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.

Park et al 2000

Park LS, Martin U, Garka K, Gliniak B, Di Santo JP, Muller W, et al. Cloning of the murine thymic stromal lymphopoietin (TSLP) receptor: Formation of a functional heteromeric complex requires interleukin 7 receptor. J Exp Med. 2000 Sep 4;192(5):659-70.

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.

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.

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.

Taylor et al 2009

Taylor BC, Zaph C, Troy AE, Du Y, Guild KJ, Comeau MR, et al. TSLP regulates intestinal immunity and inflammation in mouse models of helminth infection and colitis. J Exp Med. 2009 Mar 16;206(3):655-67.

Verstraete et al 2017

Verstraete K, Peelman F, Braun H, Lopez J, Van Rompaey D, Dansercoer A, et al. Structure and antagonism of the receptor complex mediated by human TSLP in allergy and asthma. Nat Commun. 2017 Apr 3;8:14937.

Ying et al 2005

Ying S, O'Connor B, Ratoff J, Meng Q, Mallett K, Cousins D, et al. Thymic stromal lymphopoietin expression is increased in asthmatic airways and correlates with expression of Th2-attracting chemokines and disease severity. J Immunol. 2005 Jun 15;174(12):8183-90.

Zhong et al 2014

Zhong J, Sharma J, Raju R, Palapetta SM, Prasad TS, Huang TC, et al. TSLP signaling pathway map: a platform for analysis of TSLP-mediated signaling. Database (Oxford). 2014;2014:bau007.

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 et al 2013

Ziegler SF, Roan F, Bell BD, Stoklasek TA, Kitajima M, Han H. The biology of thymic stromal lymphopoietin (TSLP). Adv Pharmacol. 2013;66:129-55.

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]

2.6.3　薬理試験概要表
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
2.6.3.1 薬理試験：一覧表 3
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 5
2.6.3.3 副次的薬理試験 11
2.6.3.4 安全性薬理試験 11
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 11

表目次

表 1 テゼペルマブの薬理試験の一覧表 3
表 2 テゼペルマブの *in vitro* における効力を裏付ける試験 5
表 3 テゼペルマブの *in vivo* における効力を裏付ける試験 8
表 4 テゼペルマブの安全性薬理試験 11

2.6.3.1　　薬理試験：一覧表

テゼペルマブに関する効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験の要約を以下の表に示す。

表 1　　テゼペルマブの薬理試験の一覧表

Study Number (CRO Study Number)	Type of Study	Species/ ROA	Study Title	Testing Facility Location	GLP (Yes/No)	CTD Section
R20070415	*In Vitro*	NA	Inhibition of ^{125}I-Human TSLP Binding to Cell Surface Expressed Human TSLP Receptor Complex by Unlabeled Human TSLP, Mouse Anti-Human TSLP Receptor M505, or AMG 157	[redacted] Inc., [redacted], USA	No	4.2.1.1.1
R20070150	*In Vitro*	NA	*In Vitro* Characterization of the Anti-Human TSLP Monoclonal Antibody AMG 157: Recombinant and Native Binding Affinities, IC_{50} Values and Species Cross Reactivity	[redacted] Inc., [redacted], USA	No	4.2.1.1.2
154365	*In Vitro*	NA	AMG 157 doesn't bind rat and rabbit TSLP	[redacted]	No	4.2.1.1.3
R20070151	*In Vitro*	NA	Activity of AMG 157 in Whole Blood Assays	[redacted] Inc., [redacted], USA	No	4.2.1.1.4
R20080116	*In Vitro*	NA	*In Vitro* Characterization of the Anti-Mouse TSLP Surrogate Antibody M702	[redacted] Inc., [redacted], USA	No	4.2.1.1.5
R20070146	*In Vivo*	Mouse / IN and IV	Treatment with Anti- Mouse TSLP Antibody M702 Inhibits Inflammation Parameters in a Mouse OVA Asthma Model	[redacted] Inc., [redacted], USA	No	4.2.1.1.6
R20070148	*In Vivo*	Mouse / IN	Intranasal TSLP Instillation Induces Pulmonary Inflammation and is Inhibited by Anti-TSLP mAb M702 and Anti-IL-4Rα mAb, Mu317RaXMu	[redacted] Inc., [redacted], USA	No	4.2.1.1.7
R20070147	*In Vivo*	Mouse / IV and IP	Effect of M702 in the FITC-Induced Contact Hypersensitivity Response	[redacted] Inc., [redacted], USA	No	4.2.1.1.8

表 1　　テゼペルマブの薬理試験の一覧表

Study Number (CRO Study Number)	Type of Study	Species/ ROA	Study Title	Testing Facility Location	GLP (Yes/No)	CTD Section
R20070149	*In Vivo*	Mouse / ID	Effects of Intradermally Injected Murine TSLP Protein into Wild Type, STAT6 Knockout, and IL-4Rα Knockout Mice	[redacted] Inc. [redacted], [redacted], USA	No	4.2.1.1.9
Secondary Pharmacodynamics						
No formal secondary pharmacodynamic studies have been conducted with tezepelumab						
Safety Pharmacology						
109453 (7555-621)	*In Vivo*	Cynomolgus Monkeys / IV	Single-Dose Cardiovascular, Respiratory Rate, and Neurobehavioral Evaluation of AMG 157 Administered by Intravenous Injection to Telemetry-Instrumented Conscious Cynomolgus Monkeys	[redacted] Inc. [redacted], [redacted], USA	Yes	4.2.1.3.1

AMG 157 = tezepelumab; FITC = fluorescein isothiocyanate; GLP = Good Laboratory Practice; ID = intradermal; IL = interleukin; IN = intranasal; IV = intravenous; M702 = anti-mouse TSLP monoclonal antibody; mAb = monoclonal antibody; NA = Not applicable; ovalbumin = OVA; ROA = route of administration; STAT = signal transducer and activator of transcription; TSLP = thymic stromal lymphopoietin

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

表 2 テゼペルマブの *in vitro* における効力を裏付ける試験

Study Number	Test System	Test Methods	Noteworthy Findings
R20070415	[redacted] cells. ^{125}I-labeled rhTSLP protein Unlabelled rhTSLP (recombinant human TSLP) protein) Mouse anti-human TSLP receptor IgG1 mAb (M505) Tezepelumab – a human monoclonal antibody immunoglobulin G2λ (previously known as AMG 157 or MEDI9929)	Saturation binding and inhibition curves using radiolabelled ligand (^{125}I-labeled rhTSLP): • Determine the apparent equilibrium binding constant (K_D) of rhTSLP for the human heterodimeric TSLP receptor expressed on the surface of [redacted] cells • To determine the apparent K_I (equilibrium inhibition constant) for ^{125}I-rhTSLP binding to TSLP receptor expressed on the surface of [redacted] cells by (1) unlabeled rhTSLP, (2) mouse anti-human TSLP receptor IgG1 mAb (M505) or (3) tezepelumab.	• ^{125}I-rhTSLP bound to [redacted] cells at 37ºC showed high affinity binding with an apparent K_D of 324 pM (95% CI: 261 pM, 404 pM) and 855 (± SEM 65) sites/cell. • Apparent K_I of unlabeled rhTSLP binding to [redacted] cells was 157 pM (95% CI: 108 pM, 227 pM). The good correlation between the K_D and K_I values indicates that most of the binding activity of rhTSLP for the human heterodimeric TSLP receptor was retained during the iodination procedure. • The inhibition curve and apparent K_I value for M505 inhibition of ^{125}I-rhTSLP binding to [redacted] cells was 360 pM (95% CI: 310 pM, 419 pM); high affinity inhibition suggests good selectivity of rhTSLP binding to the heterodimeric TSLPR. • The inhibition curves and apparent K_I value for tezepelumab inhibition of ^{125}I-rhTSLP binding to [redacted] cells was 28.7 pM (95% CI: 16.0 pM, 51.7 pM), indicating that tezepelumab has good characteristics for inhibiting the binding of rhTSLP to heterodimer TSLP receptor.
R20070150	Primary human dendritic cells, primary cynomolgus PBMCs, and [redacted]).	The neutralizing capacity, cynomolgus cross- reactivity, and binding affinity of the fully human IgG2 anti-human TSLP antibody tezepelumab was determined using (1) a BAF:HuTSLP receptor proliferation assay, (2) a BAF:CynoTSLP receptor proliferation assay, and (3) a	• In the BAF:human TSLP receptor proliferation assay, tezepelumab inhibited recombinant and native human TSLP induced activity with IC_{50} values of 37 pM and 33 pM respectively. • In the primary human dendritic cell assay (using dendritic cells from multiple donors) tezepelumab showed a range of IC_{50} values for recombinant human TSLP inhibition between 48 pM and 442 pM. • In the BAF:human TSLP receptor proliferation assay, tezepelumab inhibited recombinant and native cynomolgus monkey TSLP induced activity with IC_{50} values of 91 and 582 pM, respectively.

表 2　テゼペルマブの *in vitro* における効力を裏付ける試験

Study Number	Test System	Test Methods	Noteworthy Findings
		primary human dendritic cell OPG production assay. Binding affinity was determined using Biacore™ analysis.	• In the BAF:CynoTSLP receptor assay, the primary cynomolgus monkey PBMC, and primary human dendritic cell assays tezepelumab inhibited recombinant cynomolgus monkey TSLP with IC_{50} values of 268 , 96, and 561 pM respectively. • Tezepelumab bound human TSLP with a K_D of 15.8 pM and cynomolgus monkey TSLP with a K_D of 32.2 pM as determined via Biacore™ analysis. No binding of tezepelumab to mouse TSLP was detected. • These experiments demonstrate the sub-nanomolar potency of tezepelumab against both recombinant and native human and cynomolgus TSLP using both primary cells and cell lines. The comparable binding affinities (less than a 10-fold difference in potency) of tezepelumab to human and cynomolgus monkey TSLP support the use of the cynomolgus monkey as a pharmacologically relevant toxicology model for nonclinical safety assessment.
154365	Rat TSLP protein, rabbit TSLP protein, AMG 157 (tezepelumab)	AMG 157 (tezepelumab) binding to rat or rabbit TSLP was evaluated by ELISA.	• Tezepelumab did not bind rat or rabbit TSLP • Human TSLP was included as positive control in the experiment and binding to tezepelumab was readily detected using ELISA.
R20070151	Human dendritic cells	A human whole blood assay was used to demonstrate that tezepelumab (human anti-TSLP mAb) is capable of binding and inhibiting TSLP-induced phosphorylation of signal transducer and activation of transcription (STAT5).	• Stimulations with 15 pg/mL of TSLP were calculated to be half maximally inhibited by 22.65 ng/mL of tezepelumab when preincubated for 2 hours in the whole blood prior to the addition of TSLP. • TSLP:tezepelumab complex preformed prior to its addition to DC spiked whole blood was calculated to be half maximally inhibited by approximately 0.48 ng/mL of antibody. • When STAT5 phosphorylation was induced with TSLP at 75 pg/mL half maximal inhibition was calculated to occur at about 27.08 ng/mL of tezepelumab. Pre-existing complex at this concentration of TSLP were half maximally inhibited at concentrations of tezepelumab calculated to be approximately 0.36 ng/mL.

表 2　　テゼペルマブの *in vitro* における効力を裏付ける試験

Study Number	Test System	Test Methods	Noteworthy Findings
			• Tezepelumab is able to bind TSLP and prevent signal transduction induced by added ligand (TSLP) in *ex vivo* whole blood stimulations indicating that the presence of serum does not impact the ability of tezepelumab to bind to its target and to block signalling.
R20080116	Primary mouse dendritic cell and mouse stable cell line Rat anti-mouse IgG2a TSLP neutralizing antibody (M702)	The neutralizing capacity, and binding affinity of the rat anti-mouse TSLP surrogate antibody M702 was determined using a BAF:MuTSLPR proliferation assay, primary mouse dendritic cell assay and Biacore analysis.	• M702 inhibited recombinant mouse TSLP induced activity in the BAF:MuTSLPR proliferation assay with an IC_{50} value of 209 pM. • In the primary mouse dendritic cell assay, M702 inhibited mouse TSLP with an IC_{50} value of 229 pM. • M702 bound to mouse TSLP with a K_D of 41 pM. • These pharmacodynamic results demonstrated the functional ability of M702 to block TSLP-induced cellular activity. Combined with the determination of high affinity binding of M702 to rMuTSLP, these results demonstrate that M702 is a suitable surrogate antibody for nonclinical *in vivo* studies.

AMG 157 = MEDI9929; [redacted] = [redacted]; BO3 = borate; CI = confidence interval; DC = dendritic cells; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; IC_{50} = half-maximal inhibitory concentration; IgG = immunoglobulin G; IL = interleukin; K_D = equilibrium binding affinity; K_I = equilibrium inhibition constant; M702 = anti-mouse TSLP monoclonal antibody; mAb = monoclonal antibody; mRNA = messenger ribonucleic acid; PBMC = peripheral blood mononuclear cell; rhTSLP = recombinant TSLP; STAT = signal transducer and activator of transcription; TSLP = thymic stromal lymphopoietin; TSLPR = thymic stromal lymphopoietin receptor.

表 3　テゼペルマブの *in vivo* における効力を裏付ける試験

Study Number	Species	Dose/ ROA	Gender/ Number per Group	Noteworthy Findings
R20070146	BALB/c and C57BL/6 mice Mouse ovalbumin (OVA) induced model of asthma	500 µg M702 / IV before each OVA prime and 24 hours prior to first OVA challenge 500 µg M702 / IV 24 hours prior to first OVA challenge 232 and 928 µg M702 / IN 24 hours prior to first OVA challenge and daily before each challenge 10 and 232 µg M702 / IN 24 hours prior to first OVA challenge	Female / 5 -15	• M702 reduced bronchoalveolar lavage (BAL) fluid cellularity and airway hyper-responsiveness when administered IV throughout the OVA priming and OVA challenge phases. • M702 reduced serum IgE concentrations and BALF IL-5 and IL-13 concentrations when administered intranasally (IN) during the OVA challenge phase. • M702 treatment did not affect lung histology or cytokine production by cultured draining lung lymph node cells. • Intranasal treatment with M702 during the OVA challenge phase reduced OVA specific IgE (measured by an OVA specific IgE ELISA kit) and also reduced total serum IgE concentrations (measured by ELISA) in a dose-dependent manner. • Together these data show that inhibition of TSLP with a blocking antibody attenuates signs of allergic inflammation in the mouse OVA model of asthma.
R20070148	BALB/c mice Murine model of pulmonary inflammation	50 mg/kg M702 or anti-IL-4Rα mAb Mu317RaXMu (chimeric anti-mouse IL-4Rα mAb/ IP Days 1 and 8	Female / 15	• Two weeks of TSLP challenge resulted in a phenotype characterized by the presence of increased inflammatory cells in the BALF and lung tissue, the presence of CD40 and VCAM-1 in BALF and goblet cell hyperplasia. • M702 or Mu317RaXMu prevented the accumulation of inflammatory cells in the BALF and lung tissue, and completely (M702) or partially (Mu317RaXMu) inhibited goblet cell hyperplasia. • During the TSLP challenge phase, treatment with Mu317RaXMu, but not M702 reduced CD40 in BALF compared to control. • These results point to the phenotype induced by TSLP as being mediated through the IL-4Rα pathway which can be partially,

表 3　テゼペルマブの *in vivo* における効力を裏付ける試験

Study Number	Species	Dose/ ROA	Gender/ Number per Group	Noteworthy Findings
				but not completely, attenuated by blocking TSLP.
R20070147	BALB/c and C57BL/6 mice A mouse skin model of contact hypersensitivity (CHS)	200 µg M702 / IV Days -1 and 6 100 µg M702 / IP Days 0 and 7 100 µg M702 / IP Days -1, 0, and 1 only or Days 6 and 7 only	Female / 5	• Mice treated with M702 immediately prior to sensitization or challenge had significantly fewer FITC+ I-Ab+ cells in the draining LN than mice treated with isotype control antibody. A reduction in total cell counts, indicative of T cell priming and proliferation, occurred when M702 was administered prior to sensitization and this correlated with the contact hypersensitivity (CHS) response as measured by ear thickness. • M702 administered during both the sensitization and challenge phases resulted in a >50% reduction in ear swelling compared to the isotype control antibody. M702 administered only during the sensitization phase had a significant reduction in ear swelling, while M702 administered only during the challenge phase did not have a significant reduction in ear swelling compared with isotype control, although the total number of cells in the draining lymph node was reduced by 50%. • The study supports a role for TSLP in dendritic cell migration from the skin and subsequent priming of antigen specific T cells in the draining LN. • This model suggests that TSLP blockade impacts the initiation of the FTIC immune response, but not the recall response.
R20070149	BALB/c, IL-4Rα KO or STAT6 KO mice	10 µg TSLP or MSA as a protein control / ID 3 times per week for 2 weeks	Female / 5	• Intradermal injection of TSLP induces skin inflammation and fibrosis accompanied by increased Th2 cytokine and chemokine gene expression and increased Th2 cytokine production by draining lymph node (DLN) cell re-stimulation cultures. • IL- 4Rα KO mice injected with TSLP retained some level of inflammatory infiltrate in the skin but lacked evidence of fibrosis, while STAT6 KO mice injected with TSLP exhibited both inflammatory infiltrate and fibrosis in the skin. • At the mRNA level, CCL2/MCP-1 and CCL3/MIP-1α were increased to the same level in the skin of TSLP injected WT and IL-4-Rα KO mice compared with MSA injected skin. IL-5

表 3　　テゼペルマブの *in vivo* における効力を裏付ける試験

Study Number	Species	Dose/ ROA	Gender/ Number per Group	Noteworthy Findings
				mRNA was increased in the skin of TSLP injected WT and IL-4Rα KO mice, but the increase was even greater in IL-4Rα KO mice. • In the STAT6 KO experiment, IL-4 and CCR8 message was approximately equivalent in the skin of TSLP injected WT and STAT6 KO mice compared with MSA injected.IL-5 and IL-13 mRNA was increased in the skin of TSLP injected WT and STAT6 KO compared with WT or STAT6 KO mice injected with MSA. The magnitude of the response, however, was greater in STAT6 KO mice than in WT. • Genetically deficient mice receiving TSLP exhibited no class switching to produce IgE in serum compared with WT mice injected with TSLP, which produce abundant serum IgE. • In DLN cell re-stimulated cultures, levels of IL-10, IL-4, and IL-5 concentrations were elevated in DLN cells of BALB/c and IL-4Rα KO mice treated with TSLP while IL-10, IL-13, and IL-4 concentrations were elevated in DLN cells of BALB/c and STAT6 KO mice. Cytokine production by DLN cells of IL-4Rα KO mice or STAT6 KO injected with TSLP was not nearly as profound compared to WT. • Immune responses to intradermal TSLP was found to be partially dependent upon IL-4 and IL-13 and that TSLP-induced production of IL-5 was found to be sufficient to reproduce some of the skin inflammation, and in the case of STAT6 KO mice, fibrosis evident in WT mice.

BALF = bronchoalveolar lavage fluid; CCL = chemokine (C-C motif) ligand; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; FITC = fluorescein isothiocyanate; ID = intradermal; IgE = immunoglobulin E; IL = interleukin; IV = intravenous; KO = knock out; M702 = anti-mouse TSLP monoclonal antibody; mAb = monoclonal antibody; MCP = monocyte chemotactic protein; MIP = macrophage inflammatory protein; mRNA = messenger ribonucleic acid; MSA = mouse serum albumin; OVA = ovalbumin; ROA = route of administration; STAT = signal transducer and activator of transcription; TSLP = thymic stromal lymphopoietin; WT = Wild Type.

2.6.3.3 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。

2.6.3.4 安全性薬理試験

表 4 テゼペルマブの安全性薬理試験

Study Number ([redacted] Reference Number)	Species	Dose / ROA	Gender / Number per Group	Noteworthy Findings
109453 (7555-621)	Cynomolgus monkey (telemetry- instrumented conscious)	Day 1: vehicle Day 3: 300 mg/kg tezepelumab / IV	Male / 4	No treatment related mortalities or treatment-related effects on cardiovascular function, respiratory rate, neurological behaviour and body temperature.

IV = intravenous; ROA = route of administration

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

テゼペルマブに関する薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。