トラロキヌマブ（遺伝子組換え）

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.4　非臨床試験の概括評価

レオ　ファーマ株式会社

目次

1　非臨床試験計画概略 4
2　薬理試験 8
2.1　効力を裏付ける試験 8
2.2　副次的薬理試験 10
2.3　安全性薬理試験 11
2.4　薬力学的薬物相互作用 11
3　薬物動態試験 11
3.1　分析方法 12
3.2　吸収 12
3.3　分布 12
3.4　代謝 12
3.5　排泄 12
3.6　薬物動態学的薬物相互作用 12
4　毒性試験 13
4.1　単回投与毒性試験 13
4.2　反復投与毒性試験 13
4.3　遺伝毒性試験 14
4.4　がん原性試験 14
4.5　生殖発生毒性試験 15
4.6　幼若動物を用いた試験 16
4.7　局所刺激性試験 16
4.8　その他の毒性試験 17
5　総括及び結論 19
6　引用文献 21

表目次

表 2.4 - 1　トラロキヌマブの非臨床毒性試験一覧 6
表 2.4 - 2　トラロキヌマブのカニクイザルを用いた主要毒性試験における曝露量比 14
表 2.4 - 3　毒性試験で用いられたトラロキヌマブ原薬一覧 18

図目次

図 2.4 - 1　IL-13 によるシグナル伝達 4

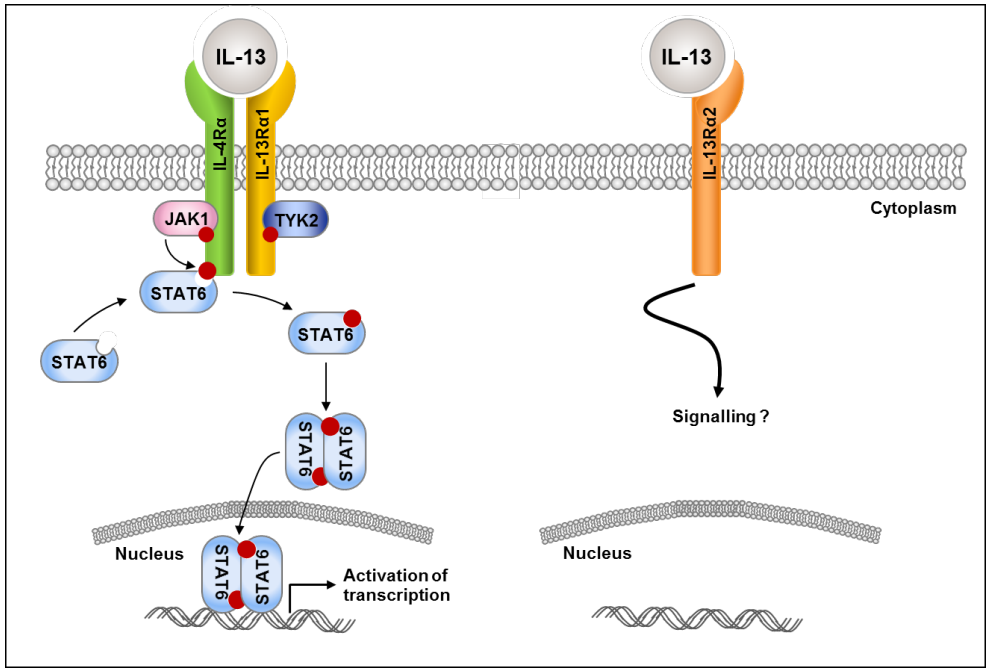
略号一覧

記号	日本語	英語
AD	アトピー性皮膚炎	Atopic Dermatitis
ADA	抗薬物抗体	Anti-Drug Antibody
AUC	血清中濃度-時間曲線下面積	Area Under the Time-Serum Concentration Curve
ePPND 試験	拡充型出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験	Enhanced Pre- and Postnatal Development
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準	Good Laboratory Practice
ICH	医薬品規制調和国際会議	International Council for Harmonisation
Ig	免疫グロブリン	Immunoglobulin
IL	インターロイキン	Interleukin
IL-13R	IL-13 受容体	Il-13 Receptor
KLH	キーホールリンペットヘモシアニン	Keyhole Limpet Hemocyanin
MCP-1	CCL-2 とも呼ばれる	Monocyte Chemotactic
NOAEL	無毒性量	No Observed Adverse Effect Level
NOEL	無影響量	No Observed Effect Level
TDAR	T 細胞依存性抗体産生	T-cell Dependent Antibody Response
TF-1	ヒト赤白血病細胞株	Human Erythroleukemic Cell Line
TK	トキシコキネティクス	Toxicokinetics

1　非臨床試験計画概略

トラロキヌマブは，免疫グロブリン（Ig）G4（λ軽鎖）のヒトモノクローナル抗体である。糖鎖を含む分子量は約 147,000 ダルトン（Da）で，それぞれ約 49,400 Da で同一な 2 本の重鎖とそれぞれ約 22,600 Da で同一な 2 本の軽鎖で構成される。トラロキヌマブは，各重鎖 Fc 領域の Asn-299 に 1 つの N 結合型糖鎖付加部位を有している。トラロキヌマブの糖鎖は，主にフコシル化二分岐複合体である。トラロキヌマブの開発コード名は CAT-354 である。

トラロキヌマブは，ヒトインターロイキン（IL）-13 に特異的に結合し，IL-13 と IL-13 受容体（IL-13R）α1 及び IL-13Rα2 との相互作用を抑制する。IL-13 は IL-13Rα1 に結合した後，IL-4Rα とヘテロ二量体となり受容体複合体を形成し，ヤヌスキナーゼ／シグナル伝達性転写因子（JAK/STAT）経路を介してシグナル伝達する（Hershey, 2003）（図 2.4 - 1）。また IL-13 は，細胞内シグナル伝達モチーフが欠失しデコイ受容体と考えられている IL-13Rα2 と結合する（Donaldson et al, 1998; Wood et al, 2003; Zheng et al, 2008; Sivaprasad et al, 2010）。しかし一部の研究では，IL-13Rα2 が炎症誘発性シグナルを伝達する受容体である可能性が示唆されている（Fichtner-Feigl et al, 2006; Chen et al, 2013; He et al, 2013; Tripp et al, 2017）。



Binding of IL-13 to IL-13Rα1 induces heterodimerization with IL-4Rα. This dimerization activates JAK1 and TYK2 that are responsible for phosphorylation of STAT-6. Phosphorylated STAT-6 dimerizes and migrates from the cytosol to the nucleus, where it activates gene transcription. IL-13 can also bind to the IL-13Rα2 chain. Abbreviations: IL, interleukin; JAK, Janus kinase; STAT6, signal transducer and activator of transcription 6; TYK2, tyrosine kinase 2.

図 2.4 - 1　IL-13 によるシグナル伝達

IL-13 は，2 型免疫反応における主要なサイトカインであり，アトピー性皮膚炎（AD）の発症において重要な役割を果たす各種細胞種に対して作用する。IL-13 は，主に 2 型ヘルパーT 細胞及び 2 型自然リンパ球により産生されるが，その他の免疫細胞でも産生される（Hijnen et al, 2013; Salimi et al, 2013; Mashiko et al, 2017）。IL-13 受容体は多くの非免疫細胞及び免疫細胞で発現

しているが，T 細胞では発現していない。標的細胞における IL-13 の作用により，AD を発症させる表皮バリアの破壊，アレルギー反応及び炎症が引き起こされる。

AD 患者の病変がない皮膚及び健康人の皮膚と比較し，急性及び慢性いずれの AD でも患者の皮膚病変で IL-13 の発現が上昇している（Tsoi et al, 2019; Hamid et al, 1996; Tazawa et al, 2004; Gittler et al, 2012）。AD 患者では皮膚に加え，血清及び血漿でも IL-13 の発現レベルが上昇している（Lee et al,2016; Brunner et al, 2017）。さらに，IL-13 を産生する $CD4^+$及び $CD8^+$T 細胞は，健康人と比較して AD 患者の末梢血で増加し，疾患の重症度と相関している（La Grutta et al, 2005; Teraki et al, 2013）。

トラロキヌマブの非臨床開発は，バイオ医薬品に関する医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン S6R1 及び M3R2 などにしたがって実施した。薬理試験の多くを Cambridge Antibody Technologies（英国）又は [redacted]（米国）で実施し，一部を LEO Pharma A/S（デンマーク）で追加した。薬物動態試験並びに毒性試験を米国又は英国の医薬品開発受託施設で実施した。おもな毒性試験とトキシコキネティクス（TK）解析は，米国食品医薬品局及び経済協力開発機構の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を遵守して実施した。非臨床試験で用いたトラロキヌマブ原薬を表 2.4 - 3 に示す。

トラロキヌマブは，ヒト又はカニクイザル IL-13 による TF-1（ヒト赤白血病細胞株）の細胞増殖を同程度の効力で抑制する（ヒトとカニクイザル IL-13 に対する 50%抑制濃度は，それぞれ 1.1 と 1.7 nmol/L）（2.6.2.2 項）ことから，薬理，薬物動態及び毒性試験では主にカニクイザルを用いた。

<u>薬理試験</u>

トラロキヌマブの非臨床薬理試験として，各種 in vitro 試験並びにマウス及びカニクイザルモデル用いた in vivo 試験からなる効力を裏付ける試験（2.6.2.2 項）及び副次的薬理試験（2.6.2.3 項）を実施し，安全性薬理評価項目に対するトラロキヌマブの影響をカニクイザルを用いた反復投与毒性試験で評価した（2.6.2.4 項）。

トラロキヌマブは，マウス IL-13 に対して交差反応性を示さないため，マウス代替抗体（CAT-352）を用いた in vivo マウスモデルでの検討を試みたが，CAT-352 はマウス IL-13 を抑制しなかった。そこで，in vivo マウスモデルではヒト IL-13 を用いて炎症を惹起した。In vivo 薬理試験ではマウスに加えカニクイザルのアレルギーモデルを用いた。副次的薬理試験の一環として，感染症リスクに関してトラロキヌマブ投与により標的とは関係なく意図しない影響が生じる可能性について，公表文献及び毒性試験データを総合的に評価し，科学的根拠の重みづけに基づき分析した。独立した安全性薬理試験は実施せず，カニクイザルにトラロキヌマブを 28 日間，13 及び 26 週間投与した反復投与毒性試験で中枢神経系，心血管系及び呼吸系に対する影響を検討した。

<u>薬物動態</u>

トラロキヌマブの薬物動態試験として，ブタ回虫感受性のカニクイザルを用い単回静脈内投与後の薬物動態を検討した（2.6.4.3.1 項）。また，トラロキヌマブを反復投与したときの TK について毒性試験で評価した。

毒性

トラロキヌマブについて実施した非臨床毒性試験を表 2.4 - 1 に示す。反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験は，静脈内又は皮下投与により実施し，市販後投与経路である皮下投与では最長 13 週間の反復投与試験及び受（授）胎能に関する試験を実施した。投与頻度は週 1 回とした。投与用量は，動物における曝露量と臨床曝露量を比較したとき十分なマージンが得られるように設定した。

表 2.4 - 1　トラロキヌマブの非臨床毒性試験一覧

Type of Study	Duration (Study Number)	Species/ Strain	ROA	GLP Compliance
Repeat-dose toxicity	28 days (1348/053)	Cynomolgus monkey	IV	Yes
	13 weeks (1348/058)	Cynomolgus monkey	IV	Yes
	26 weeks (509615)	Cynomolgus monkey	IV	Yes
	28 days (513066)	Male Cynomolgus monkey	SC	Yes
	13 weeks (514981)	Cynomolgus monkey	SC	Yes
Fertility	13 weeks (2843-005)	Male cynomolgus monkey (sexually mature)	SC	Yes
Fertility	3 menstrual cycles (2843-006)	Female cynomolgus monkey (sexually mature)	SC	Yes
Pilot Embryo-fetal Development	GD20-GD48 ([redacted].200.07)	Cynomolgus monkey	IV	Yes
Pre- and Postnatal Development	GD20-GD160 ([redacted].200.15)	Cynomolgus monkey	IV	Yes
Pre- and Postnatal Development	GD20-22 to GD160 (20054081)	Cynomolgus monkey	IV	Yes
Local tolerance	Single dose (513286)	Male New Zealand White rabbits	SC	Yes
Tissue Cross-reactivity	NA (001/02)	Human (in vitro)	NA	No
Tissue Cross-reactivity	NA (530762)	Human (in vitro)	NA	Yes

GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; NA = not applicable; ROA = route of administration; SC = subcutaneous

トラロキヌマブの毒性試験として，カニクイザルを用いて 28 日間（静脈内又は皮下），13 週間（静脈内又は皮下）及び 26 週間（静脈内）の反復投与毒性試験を実施した。静脈内投与試験では 100 mg/kg まで投与し，皮下投与試験では 300 mg まで投与した。皮下投与試験では臨床試験と同じ製剤を用いた。反復投与毒性試験では免疫毒性及び免疫原性についても評価した。局所刺激性については反復投与試験で投与部位を評価したのに加え，ウサギを用いて単回皮下投与試験を実施した。生殖発生毒性試験として，成熟雌雄カニクイザルを用いて受（授）胎能試験を実施し，免疫毒性（T 細胞依存性抗体反応：TDAR）も評価した。また，妊娠カニクイザルを用い

た胚・胎児発生に関する試験の予備試験及び拡充型出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する毒性試験（ePPND 試験）を 2 試験実施した。最初の ePPND 試験では出生児を出生後 1 ヵ月まで，次の試験では出生後 6 ヵ月まで観察し，免疫機能検査及び免疫系の病理組織学的検査を実施した。トラロキヌマブは，げっ歯類の IL-13 を抑制しないため，がん原性試験は実施せず，発がんリスクについて包括的に評価した。正常ヒト組織を用いて組織交差反応性試験を実施した。

非臨床試験で得られたおもな結果及び結論

- トラロキヌマブは，ヒト IL-13 に高い親和性（解離定数：Kd = 58 pmol/L）で結合し，IL-13 とその 2 つの受容体（IL-13Rα1 及び IL-13Rα2）との相互作用を抑制するヒトモノクローナル抗体である。
- トラロキヌマブは，AD に関連するヒト表皮由来の細胞などを用いた in vitro 試験で IL-13 の生物活性を抑制した。
- トラロキヌマブは，カニクイザル IL-13 の作用をヒト IL-13 に対するのと同程度に抑制したが，マウス IL-13 の作用を抑制しなかった。
- 抗マウス IL-13 抗体は，マウス炎症モデルで予想通りの作用を示さなかったため，その後の開発に用いなかった。
- トラロキヌマブは，ヒト IL-13 により炎症を惹起した in vivo マウスモデルで薬理活性を示した。
- トラロキヌマブは，in vivo カニクイザルアレルギーモデルで薬理活性を示した。
- トラロキヌマブは，反復投与毒性試験及び ePPND 試験の中で評価した安全性薬理試験パラメータ（中枢神経系，心血管系及び呼吸系）に影響を及ぼさなかった。
- カニクイザルでのトラロキヌマブの薬物動態は，ほぼ線形で明らかな性差は認められなかった。
- カニクイザルでのトラロキヌマブの分布容積及びクリアランスは，標的との結合がその消失に寄与しないヒト IgG4 で予測されるものであった。
- 反復投与後に一定以上の蓄積及び TK の時間依存的な変化はなかった。
- トラロキヌマブの 300 mg までをカニクイザルに週 1 回最長で 13 週間皮下投与した又は 100 mg/kg までを週 1 回最長で 26 週間静脈内投与した反復投与毒性試験では，トラロキヌマブの忍容性は高かった。これらの試験の無影響量（NOEL）での血清中濃度-時間曲線下面積（AUC）は，ヒトに 300 mg を 2 週間ごとに皮下投与したときの曝露量より静脈内投与の場合 35 倍，皮下投与の場合 55 倍高かった。
- 反復投与毒性試験では毒性学的に意義のある変化はなかった。
- 26 週間静脈内反復投与試験で末梢血を用いた免疫表現型検査を実施したが，トラロキヌマブによる影響はなかった。
- 反復投与毒性試験の一部でトラロキヌマブの抗薬物抗体（ADA）が検出されたが，それによる有害作用やトラロキヌマブの曝露量に対する影響はなかった。したがって，これらの ADA が試験の解釈に影響を及ぼしたとは考えられない。

- 反復投与毒性試験で投与部位の観察及び病理組織学的検査を実施したところ，トラロキヌマブの局所忍容性は高かった。また，ウサギに単回皮下投与した局所刺激性試験では毒性変化はなかった。
- 成熟雌雄カニクイザルを用いた受（授）胎能に関する試験で，雄では 600 mg まで精子パラメータ（密度，運動能及び形態学的検査）に，雌では 350 mg まで月経周期に影響なく，雌雄とも生殖器官に影響はなかった。
- カニクイザルを用いた 2 つの ePPND 試験（1 つは出生後 6 ヵ月まで観察した）で，妊娠，胚・胎児並びに出生児の成長・発達に影響はなく，TDAR 及び末梢血を用いた免疫表現型検査により評価した出生児の免疫機能にも影響はなかった。
    - 無毒性量（NOAEL）は，母動物及び出生児共に検討した用量のうち高用量（週 1 回 100 mg/kg）で，そのときの母動物の曝露量は，ヒトに 300 mg を 2 週間ごとに皮下投与したときの曝露量より 25 倍高かった。
    - 出生後 1 ヵ月まで観察した ePPND 試験で，平均妊娠期間が対照群で 160 日だったのに対し 100 mg/kg 群で 155 日とわずかに短かったが，2 例を除き試験実施施設の背景値内であり，同じ用量を用いた出生後 6 ヵ月まで観察した試験では差がなかったため，本所見は偶発的なものと判断した。
    - 母動物へのトラロキヌマブ投与による可能性が考えられる所見として，組織球浸潤が出生児の脾臓で認められた。この変化の頻度と重篤度は対照群と比較して増加していたものの，全体的にみて頻度と重篤度は低いことから，毒性学的に意義のある変化とは考えなかった。
    - 出生児では出生後 91 日までトラロキヌマブが検出され，少数ではあるが 180 日まで認められた例もあったことから，トラロキヌマブは胎盤を通過することが確認された。
    - 一部の母動物及び出生児で ADA が検出されたが，それによる有害作用やトラロキヌマブの曝露に対する影響はなかった。
- トラロキヌマブは，げっ歯類の IL-13 を抑制しないため，がん原性試験は実施しなかった。トラロキヌマブの発がんリスクを科学的根拠の重みづけに基づくアプローチで評価したところ，これまでに蓄積された知見は，トラロキヌマブによる直接的又は間接的な発がん性リスクは極めて低いことを示唆している。
- 正常ヒト組織を用いた組織交差反応性試験でトラロキヌマブの結合は認められず，IL-13 は主な組織では発現していないという報告と一致していた。すなわち，トラロキヌマブの標的以外への意味のある結合は確認されなかった。

2 薬理試験

2.1 効力を裏付ける試験

トラロキヌマブは，IL-13 に高い親和性で結合し，IL-13 とその 2 つの受容体（IL-13Rα1 及び IL-13Rα2）との相互作用をいずれも抑制した（CAT354Rp006; RIA354-049）。トラロキヌマブ

は，以下のヒト由来細胞で IL-13 の生物活性を濃度依存的に抑制した：表皮角化細胞（REP-HND-2019-02），分化表皮角化細胞（REP- HND-2019-03），皮膚線維芽細胞（REP-HND-2019-04），内皮細胞（CAT354Rp006），末梢血単核細胞（CAT354Rp039），B 細胞（CAT354Rp029），顆粒球（CAT354Rp042），気管支平滑筋細胞（CAT354Rp025）及び肺線維芽細胞（CAT354Rp006）。

正常な皮膚バリアに必要な表皮バリア蛋白質（フィラグリン，フィラグリン 2 及びロリクリン），極長鎖脂肪酸延長酵素 3 並びに抗菌ペプチド（β-ディフェンシン 4A）は IL-13 によりそれらの遺伝子発現が低下するが，トラロキヌマブはそれらを抑制した。NTRK1（そう痒及び角化細胞の過剰増殖反応を仲介するとされている神経成長因子受容体をコードする遺伝子）は IL-13 によりその発現が誘導されるが，トラロキヌマブはそれを抑制した。角化細胞へのシグナル伝達及び炎症性サイトカイン産生を促進するペリオスチンは IL-13 によりその遺伝子発現が誘導されるが，トラロキヌマブはそれを抑制した。CC ケモカイン（CCL）-2/MCP-1，CCL-11/エオタキシン-1 及び CCL-26/エオタキシン-3 は IL-13 により産生が誘導されるが，トラロキヌマブはそれらを抑制した。免疫細胞の動員及び遊走に関与している VCAM-1（血管細胞接着分子）は IL-13 により発現が増加するが，トラロキヌマブはそれを抑制した。トラロキヌマブは，好酸球の皮膚への動員を促進する上記 CC ケモカインの産生を抑制することに加え，好酸球の形態変化を抑制したことから，好酸球の活性化も抑制する可能性が示唆された。トラロキヌマブは，IL-13 による B 細胞での IgE 産生を抑制した。以上の in vitro 試験から，トラロキヌマブは，皮膚バリア損傷や炎症反応などの AD の病態に関与する IL-13 の作用を抑制しうることが示された。

トラロキヌマブの特異性を明らかにするため，IL-4 による反応に対するトラロキヌマブの作用を以下のヒト由来細胞を用いて検討した：表皮角化細胞（REP-HND-2019-02），分化表皮角化細胞（REP-HND-2019-03），皮膚線維芽細胞（REP-HND-2019-04），内皮細胞（CAT354Rp006），B 細胞（CAT354Rp029），末梢血単核細胞（CAT354Rp039）及び気管支平滑筋細胞（CAT354Rp025）。トラロキヌマブは，いずれのヒト由来細胞でも IL-4 による反応を抑制しなかった。

以上のように，効力を裏付ける in vitro 試験では，トラロキヌマブの高い親和性，特異性及び効力が，AD の病態に関与するヒト表皮由来細胞をはじめとするさまざまな評価系を用いて示された。

In vivo 非臨床試験で用いる動物種を検討するため，げっ歯類と霊長類の IL-13 に対するトラロキヌマブの活性を検討した（CAT354Rp006）。TF-1 の細胞増殖を指標に，カニクイザル又はマウス IL-13 に対するトラロキヌマブの交差反応性を評価した。トラロキヌマブは，ヒト IL-13 に対するのと同程度の効力でカニクイザル IL-13 の作用を抑制した。しかし，トラロキヌマブは，マウス IL-13 による TF-1 の細胞増殖を抑制しなかった。

効力を裏付ける in vivo 試験では，マウス及びカニクイザルを用いたが，上記結果に基づき，マウスを用いた試験では，ヒト IL-13 によりマウスに惹起される炎症を指標とした。ヒト IL-13 をマウスに作成した空気嚢内に投与して炎症を惹起したモデルで，トラロキヌマブは総白血球及び好酸球の浸潤を抑制した（CAT354Rp037）。また，マウスの気管内に投与したヒト IL-13 で肺に炎症を惹起したモデルで，トラロキヌマブは気道過敏及び好酸球浸潤を抑制した

（CAT354Rp043）。さらに，ブタ回虫感受性カニクイザルで，トラロキヌマブは肺機能を改善し，抗原プライミング及び好酸球浸潤を抑制した（CAT354Rp038）。

以上の結果は，トラロキヌマブが IL-13 の作用を抑制することにより，AD 患者に治療上のベネフィットをもたらす可能性を示唆している。

2.2　副次的薬理試験

本項では，気管支平滑筋細胞を用いた in vitro 試験結果と，感染症リスク及び Fc エフェクター機能に関する評価について述べる。

ヒト気管支平滑筋細胞におけるカルシウム動員

初代培養ヒト気管支平滑筋細胞に IL-13 又は IL-4 を適用すると，収縮性アゴニストのヒスタミンによる Ca^{2+}シグナルが増強された。トラロキヌマブは，IL-13 による Ca^{2+}シグナルの増強を有意に抑制した（CAT354Rp025）。

感染リスク

トラロキヌマブの標的は免疫系の機能に関与していることから，その投与により感染リスクが増大する可能性がある。その可能性を評価するため，免疫毒性を評価した反復投与毒性試験成績及び 2020 年 1 月末までの公表論文から，科学的根拠の重みづけに基づき分析した（4.2.3.7.7-1 項，報告書番号：eDoc-000739212）。

カニクイザルにトラロキヌマブの 100 mg/kg までを週 1 回最長 26 週間静脈内投与又は 300 mg までを週 1 回最長 13 週間皮下投与した反復投与毒性試験並びに 600 mg までを週 1 回 13 週間皮下投与した受（授）胎能に関する試験では，以下のように免疫毒性及び感染リスクを示す結果は得られなかった。

- いずれの試験でも投与による感染症は認められなかった。
- 血液学的検査及びリンパ球サブセットに関する免疫表現型検査で，投与による変化はなかった。
- リンパ器官，骨髄及びその他の組織に毒性学的に意味のある組織学的所見はなかった。
- 免疫毒性を検討する手法の一つであるキーホールリンペットヘモシアニン（KLH）に対する TDAR を検討した結果，免疫機能への影響は認められなかった。

公表されている非臨床試験成績で，IL-13 及び IL-4 の発現減少が寄生生物に対する宿主反応に悪影響を及ぼすとして，ヒトでの蠕虫感染に関する安全性リスクが示唆されている。IL-13 及び IL-4 は，蠕虫などの寄生虫に対する 2 型免疫反応で中心的な役割を果たしていることから，蠕虫感染は想定されるリスクで，同様に 2 型免疫反応を標的とするその他のモノクローナル抗体（抗 IL-4 抗体のデュピルマブ，抗 IL-5 抗体のメポリズマブ及び抗 IgE 抗体のオマリズマブ）の添付文書にも記載されている（デュピルマブ；メポリズマブ；オマリズマブ）。他に IL-13 経路の抑制による感染リスクに関して文献上確認できる情報はなかった。

以上のように，科学的根拠の重みづけに基づき，IL-13 及び IL-4 を阻害することによる蠕虫感染に対する潜在的な安全性リスクが想定されたが，その他の感染リスクの増加を示す知見は認められなかった。臨床試験で得られた安全性データに基づく検討は 2.7.4.2.1.6 項に記載した。

Fc エフェクター機能

トラロキヌマブは IgG4 抗体であるため，抗体依存性細胞傷害（ADCC），補体依存性細胞傷害（CDC）などの Fc エフェクター機能は低いと考えられる（Davies et al, 2015）。さらに，トラロキヌマブは可溶性 IL-13 サイトカインを標的とする抗 IL-13 モノクローナル抗体であり，受容体に結合した IL-13 には結合しないことから，ADCC 及び CDC 活性を有するとは考えにくい。膜結合型の IL-13 についての報告はない。トラロキヌマブの Fcγ RI，Fcγ RIIA，Fcγ RIIB 及び Fcγ RIIIA に対する結合能を検討したデータでは， Fcγ R に結合する可能性はほとんどないことが示されている（3.2.S.3.1 項）。

2.3　安全性薬理試験

トラロキヌマブの安全性薬理パラメータをカニクイザルを用いた反復投与毒性試験内で評価した（1348/053; 1348/058; 509615; 514981）。カニクイザルにトラロキヌマブの 100 mg/kg までを週 1 回 28 日間，13 又は 26 週間投与した反復投与毒性試験では，中枢神経系，心血管系及び呼吸系にトラロキヌマブによる影響はなかった。また，妊娠中にトラロキヌマブ投与を受けた母動物の出生児で神経行動学的検査を実施したところ，影響はなかった。さらに，これらの試験の病理組織学的検査で中枢神経系，心血管系及び呼吸系の器官でトラロキヌマブによる変化はなかった。

一般に，モノクローナル抗体のような高分子はその大きさから細胞膜を透過しにくく，また，その特異性からヒト ether-a-go-go 関連遺伝子がコードするカリウムチャネルと相互作用するとは考えにくいとされていることから（Vargas HM et al.2008），トラロキヌマブの当該試験は実施しなかった。

2.4　薬力学的薬物相互作用

トラロキヌマブの薬力学的薬物相互作用に関する非臨床試験は実施しなかった。

3　薬物動態試験

カニクイザルを用いて検討したトラロキヌマブの薬物動態及び TK に関する主な特徴を以下に要約する。

- トラロキヌマブは，週 1 回の静脈内投与では 10～100 mg/kg，週 1 回の皮下投与では 75～300 mg の範囲で用量に比例して曝露量が増加し，線形の薬物動態を示した。
- 他のモノクローナル抗体同様トラロキヌマブの分布容積は小さく，血管外分布は限定的であった（CAT354Rp034）。
- トラロキヌマブの反復投与後に一定以上の蓄積，性差及び TK の時間依存的な変化はなかった（1348/053; 1348/058; 509615; 513066; 514981）
- トラロキヌマブの半減期は，皮下投与後では 10.9～17.4 日間（514981; 2843-005）で静脈内投与後では 6.7～17.4 日間（1348/053; 1348/058）であった。
- トラロキヌマブを投与した母動物の出生児で血清中にトラロキヌマブが検出され，そのレベルは母動物と同程度以上であった。したがって，トラロキヌマブは母体循環から胎盤を通過して胎児循環に移行した（[redacted]200.07; [redacted]200.15; 20054081）。
- トラロキヌマブの曝露量に影響を及ぼす ADA 産生は認められなかった。

3.1　分析方法

カニクイザル血清中の遊離トラロキヌマブをビオチン化抗イディオタイプ抗体又は組換えヒト IL-13 のいずれかにより捕捉し，バリデートした酵素免疫測定（ELISA）法によりその血清中濃度を求めた。これらの方法の定量下限は最も小さいもので 10 ng/mL であった。

カニクイザル血清中のトラロキヌマブに対する ADA の測定には，当初 ELISA を用いた。その後，感度がより高く薬物による干渉が小さい電気化学発光法を Meso Scale Discovery プラットフォームを用い開発しバリデートした。

3.2　吸収

トラロキヌマブの吸収を検討するための独立した試験は実施せず，反復投与毒性試験で実施した TK により評価した。

3.3　分布

トラロキヌマブの分布を検討するための独立した試験は実施しなかった。IgG 抗体はその分子サイズのため血清から組織への拡散分布は限定的である。トラロキヌマブを単回静脈内投与したときの分布容積は 85.0 mL/kg で血管外分布は限定的であった（CAT354Rp034）。また，生殖発生毒性試験で，トラロキヌマブが胎盤を通過し胎児循環に入ることが確認されている（[redacted].200.07; [redacted].200.15; 20054081）。

3.4　代謝

トラロキヌマブはモノクローナル抗体であり通常の異化作用により小ペプチド及び個々のアミノ酸に分解されると考えられることから，ICH ガイドライン S6R1 にしたがい，低分子医薬品で実施されるような生体内変化を調べる試験は実施しなかった。

3.5　排泄

トラロキヌマブはモノクローナル抗体であり，その分子サイズから通常の経路で排泄されず（Keizer et al, 2010），内因性免疫グロブリンと同様に小ペプチド及び個々のアミノ酸に分解されると考えられることから，独立した排泄試験は実施しなかった。

非臨床試験ではトラロキヌマブの乳汁への排泄を検討していないが，ヒト IgG は乳汁中に移行することが知られている。

3.6　薬物動態学的薬物相互作用

トラロキヌマブが他の医薬品と直接相互作用するとは考えにくいため，薬物動態学的薬物相互作用を検討する試験は実施しなかった。しかし，AD は，炎症性サイトカインの上昇を伴い，慢性炎症ではサイトカインの上昇がシトクロム P450 の産生に影響する可能性があるため，AD の病態が他の薬物の薬物動態に影響を与える可能性がある。この可能性については今後臨床試験（LP0162-1342）で明らかにする。

4　毒性試験

トラロキヌマブの忍容性はいずれの試験でも高かった。カニクイザルにトラロキヌマブを 100 mg/kg まで週 1 回 26 週間反復静脈内投与したとき又は 300 mg まで週 1 回 13 週間反復皮下投与したとき毒性変化はなく，静脈内投与と皮下投与間で毒性プロファイルに差はなかった。

成熟雌雄カニクイザルを用いた受（授）胎能に関する 2 試験で，雄では 600 mg まで，雌では 350 mg まで皮下投与したとき毒性変化はなかった。妊娠カニクイザルにトラロキヌマブを 100 mg/kg まで週 1 回静脈内投与した胚・胎児発生に関する試験の予備試験及び 2 つの ePPND 試験でも毒性変化はなかった。

ウサギを用いた局所刺激性試験では，局所の毒性変化はなかった。

トラロキヌマブはげっ歯類の IL-13 を抑制しないため，がん原性試験は実施しなかったが，これまでに蓄積された知見に基づくと，トラロキヌマブが直接的又は間接的に発がん性を示す可能性は無視しうると考えられた。

毒性試験でのトラロキヌマブの NOEL 又は NOAEL は，検討したうちの高用量であり，そのときの曝露量は，ヒトに 300 mg を 2 週間ごとに皮下投与したときの曝露量の 25 倍以上で（表 2.4 - 2），ICH ガイドライン S6R1 で推奨されている 10 倍より十分大きかった。

以上より，トラロキヌマブの非臨床安全性試験結果は，臨床使用時の安全性に特段の懸念はないことを示している。

4.1　単回投与毒性試験

独立した単回投与毒性試験は実施しなかったが，カニクイザルを用いた反復投与毒性試験でトラロキヌマブ 100 mg/kg までの初回静脈内投与後に急性毒性は認められなかった。

4.2　反復投与毒性試験

カニクイザルにトラロキヌマブの 100 mg/kg までを週 1 回 28 日間（1348/053），13 週間（1348/058）又は 26 週間（509615）静脈内投与したとき，毒性変化は認められず，忍容性は高かった。同様に，225 mg までを週 1 回 28 日間（雄のみ）（513066）又は約 100 mg/kg に相当する 300 mg までを週 1 回 13 週間（514981）皮下投与したとき，毒性変化はなかった。いずれの試験も NOEL は高用量であった。

免疫毒性を評価するため，26 週間反復投与試験で免疫表現型検査を実施し，また受（授）胎能に関する試験（2843-005; 2843-006）では TDAR を評価した結果，トラロキヌマブによる影響はなかった。

一部の試験で様々な頻度で ADA が検出されたが，トラロキヌマブの曝露量及び毒性プロファイルに影響はなかった。ADA が検出されたいずれの個体も投与期間を通してトラロキヌマブの曝露量は測定可能であり，毒性評価が可能であった。

表 2.4 - 2 トラロキヌマブのカニクイザルを用いた主要毒性試験における曝露量比

Human dose (mg)	Human mean values at steady state[e]		28-day study IV (1348/053)[a]		13-week study SC (514981)[b]		26-week study IV (509615)[c]		ePPND study IV (20054081)[d]	
	Cmax (µg/mL)	AUC (µg*day/mL)	Ratios[f]		Ratios[f]		Ratios[f]		Ratios[f]	
			C_{max}	AUC	C_{max}	AUC	C_{max}	AUC	C_{max}	AUC
300	105.5	1646.8	42	27	84	55	31	35	37	25

AUC = Area under the concentration-time curve; Cmax = maximum observed concentration; ePPND = enhanced pre- and postnatal development; GD = gestation day; NOAEL = no observed adverse effect level; IV = intravenous; SC = subcutaneous

[a] M4.2.3.2-1 Study 1348/053 (Week 4) at the NOAEL of 100 mg/kg; mean (male and female) Cmax = 4412 µg/mL, mean male and female AUC_{0-144} = 451422 µg*h/mL = 18809 µg*day/mL (change of unit from hour to day by dividing with 24). Change of AUC_{0-144} to AUC_{0-336}: 18809 µg*day/mL * 14/6 = 43888 µg*day/mL

[b] M4.2.3.2-5 Study 514981 (Week 13) at the NOAEL of 300 mg/animal; mean (male and female) Cmax = 8850 µg/mL, mean male and female AUC_{0-144} = 38800 µg*day/mL. Change of AUC_{0-144} to AUC_{0-336}: 38800 µg*day/mL * 14/6 = 90533 µg*day/mL

[c] M4.2.3.2-3 Study 509615 (Week 26) at the NOAEL of 100 mg/kg; mean (male and female) Cmax = 3307 µg/mL, mean male and female AUC_{0-168} = 686268 µg*h/mL = 28595 µg*day/mL (change of unit from hour to day by dividing with 24). Change of AUC_{0-168} to AUC_{0-336}: 28595 µg*day/mL * 14/7 = 57190 µg*day/mL

[d] M4.2.3.5.3-3 & -4 Study 20054081 (GD132-134) at the NOAEL of 100 mg/kg; mean (male and female) Cmax = 3940 µg/mL, mean male and female $AUC_{0-7\ days}$ = 20300 µg*day/mL. Change of AUC_{0-168} to AUC_{0-336}: 20300 µg*day/mL * 14/7 = 40600 µg*day/mL

[e] Japanese serum concentrations at steady state (week 14-16) in ECZTRA 1 trial (M2.7.2 Appendix 3)

[f] Ratio calculations: Cmax = (cynomolgus monkey steady state Cmax)/(human steady state Cmax). AUC = (cynomolgus monkey steady state AUC)/(human steady state AUC).

4.3 遺伝毒性試験

トラロキヌマブは，天然型アミノ酸からなるモノクローナル抗体であり，無機又は有機化合物の[redacted]や[redacted]を持たない。また，その物理化学的特性から，トラロキヌマブが無傷の細胞膜及び核膜を通過するとは考えられず，そのため，トラロキヌマブが DNA や他の染色体構造に直接作用する可能性は非常に低い。したがって，ICH ガイドライン S6R1 にしたがい，遺伝毒性試験を実施しなかった。

4.4 がん原性試験

トラロキヌマブは，モノクローナル抗体でげっ歯類では薬理活性を示さず，薬理活性を示すカニクイザルではその寿命の長さから動物倫理の観点及び試験実施の現実性を考慮し，がん原性試験を実施しなかった。しかしながら，ICH ガイドライン S6R1 にしたがい，反復投与毒性試験成績及び 2020 年 1 月末までに公表されている知見に基づき，トラロキヌマブが発がん性を有する可能性を総合的に評価した（4.2.3.7.7-2 項，報告書番号：eDoc-000738813）。この科学的根拠の重みづけに基づくアプローチは，欧州連合（EMA, 2014），フィンランド（FIMEA, 2012），米国（FDA, 2011），カナダ（Health Canada, 2014）及びスペイン（AEMPS, 2012）の各規制当局により同意が得られている。結論を以下にまとめた。

- トラロキヌマブの分子構造，代謝物又は製造方法から推定される遺伝毒性及び発がん性の懸念はない。

- 公表文献の体系的レビューでは，悪性腫瘍に関わる安全性上のリスクを示唆する非臨床データは特定されず，臨床試験でも IL-13 単独又は IL-13 と IL-4 を共に阻害することにより悪性腫瘍のリスクが上昇するとの知見は存在しなかった。
- カニクイザルに 100 mg/kg までのトラロキヌマブを週 1 回，最長 6 ヵ月間静脈内投与又は最長 3 ヵ月間皮下投与した反復投与毒性試験では，組織重量の増加，組織の肥大又は異形成，炎症，細胞の増殖又はリンパ増殖性の変化などの発がん性リスクの上昇を疑わせる所見はなかった。トラロキヌマブによる免疫毒性は認められず，免疫監視機構の低下又は発がんリスクの上昇は示されなかった。トラロキヌマブにより白血球サブセットは変化せず，KLH に対する TDAR とリンパ器官の病理組織学的変化に影響しなかった。
- 抗 IL-4Rα抗体であるデュピルマブが、本邦並びに EU 及び米国でアトピー性皮膚炎に対する治療薬として承認されている。デュピルマブには約 5 年の臨床使用経験があるが、悪性腫瘍のリスクが上昇するとの報告はない。

以上の結果は，トラロキヌマブが分子標的免疫調節薬であり一般的な免疫抑制薬ではないことを示している。これまでの臨床経験に基づくと，トラロキヌマブ投与を受けた被験者で発がんリスクが上昇するという結果は得られていない。現在までの科学的根拠の重みづけに基づく評価の結果，トラロキヌマブ投与により対象患者集団で発がん性リスクが上昇する懸念はないことが示唆された。

4.5　生殖発生毒性試験

トラロキヌマブの生殖発生毒性試験として以下の 5 試験を実施した：成熟雌雄カニクイザルを用いた受（授）胎能に関する 2 試験，妊娠カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験の予備試験，カニクイザルを用いた 2 つの ePPND 試験（最初の試験では出生後 1 ヵ月まで，次の試験では出生後 6 ヵ月まで観察）。これらの試験でトラロキヌマブによる生殖発生毒性は認められなかった。

妊娠初期のマウス及びヒトで IL-13 の発現が認められ，脱落膜内への栄養膜細胞の侵入に関与していると考えられているが，IL-13 欠損マウス（McKenzie et al, 1998），IL-4/IL-13 欠損マウス（McKenzie et al, 1999），STAT6 欠損マウス（Kaplan et al, 1996）及び IL-4/IL-5/IL-9/IL-13 欠損マウス（Fallon et al, 2002）が生殖能を有することから，妊娠の成立，おそらく着床及び初期の胚発生に IL-13 は必要ないものと考えられる。

受（授）胎能

成熟雄カニクイザルにトラロキヌマブを 600 mg まで週 1 回 13 週間皮下投与したところ，生殖器官の重量，病理組織学検査及び精子パラメータ（運動能，密度及び形態学的検査）に影響はなかった（2843-005）。また，成熟雌カニクイザルに 350 mg まで週 1 回 3 連続月経周期を超える期間皮下投与したところ，生殖器官の重量，病理組織学検査及び月経周期に影響はなかった（2843-006）。

胚・胎児及び出生後の発生

胚・胎児発生に関する試験の予備試験（[redacted].200.07）では，妊娠カニクイザルにトラロキヌマブの 100 mg/kg までを週 1 回妊娠 20 日～48 日まで投与し，妊娠 100 日に帝王切開し胎児を検査した。胎児血清中のトラロキヌマブ濃度は，母動物の血清中濃度の 53%～363%であり，トラロキヌマブが胎盤を通過したことが示された。母動物及び胚・胎児のすべての評価項目でトラロキヌマブによる影響はなかった。

ePPND 試験の 2 試験は，両試験とも週 1 回妊娠 20～22 日から自然分娩（およそ妊娠 160 日）までトラロキヌマブを 0，30 又は 100 mg/kg 静脈内投与した。最初の試験（[redacted].200.15）では出生児を出生後 1 ヵ月まで観察し，出生児検査，一般症状，体重，機能的及び形態学的発達，眼科的検査，臓器重量，骨格検査，剖検，ADA 及び TK を評価項目とした。次の試験（20054081）では出生児を出生後 6 ヵ月まで観察し，最初の試験の評価項目に加え出生児に対してリンパ球サブセット解析（免疫表現型検査）及び KLH に対する TDAR など免疫学的検査を実施した。また，骨髄，心臓，肺，リンパ節，脾臓及び胸腺の病理組織学的検査を実施した。いずれの試験でも母動物及び出生児にトラロキヌマブによる毒性変化はなかった。最初の試験では，高用量（100 mg/kg）群で妊娠期間のわずかに短縮し出生児体重が減少したが，低用量群及び同一用量を用いた次の試験ではこれらの変化は認められなかった。次の試験ではトラロキヌマブ投与群の出生児で脾臓に組織球浸潤が認められ，その頻度と重篤度は対照群と比較して増加していた。対照群の出生児には空胞化組織球の軽微で散発的な浸潤が認められた。高用量群の出生児 3 例の脾臓で軽微でびまん性の浸潤が認められ，低用量群の出生児 1 例の脾臓に軽度の組織球浸潤があった。この変化はトラロキヌマブ投与による可能性が考えられたが，全体的に頻度と重篤度が低いことから，毒性学的に意義のある変化とは考えなかった。トラロキヌマブ投与によると考えられるその他の変化はなく，妊娠期間，胚・胎児損失，免疫学的及び神経行動学的検査で出生児に影響はなかった。したがって，2 つの ePPND 試験での母動物及び出生児に関する NOAEL は，共に高用量である 100 mg/kg と判断した。

2 試験目の ePPND 試験ではすべてのトラロキヌマブ投与群で妊娠期間中に血清中トラロキヌマブが検出され，分娩後 91 日まで概ね検出可能で，分娩後 180 ± 2 日には概ね検出下限付近となった（20054081）。出生児では出生後 91 日まで概ね検出可能であり，出生後 180 ± 2 日にはほとんどが検出限界未満となり，100 mg/kg 群の 2 例でのみ検出可能であった。分娩後 91 日（出生後 91 日）の出生児の曝露量に対する母動物の曝露量の比は，30 及び 100 mg/kg 群でそれぞれ 0.539 及び 0.143 であり，出生児における曝露量の方が高かった。

4.6　幼若動物を用いた試験

本申請での対象患者は成人であるため，幼若動物を用いた試験は実施しなかった。

4.7　局所刺激性試験

ウサギを用いた局所刺激性試験で，トラロキヌマブの 150 mg/mL（臨床製剤と等しい処方）を異なる投与容量で 1 mL まで単回皮下投与したところ，全身又は局所の毒性変化はなかった（513286）。同様に，カニクイザルを用いた反復静脈内又は皮下投与毒性試験で，トラロキヌマブの局所忍容性は高かった。

4.8　その他の毒性試験

組織交差反応性

正常ヒト組織の凍結切片を用いトラロキヌマブの組織交差反応性を検討したところ，トラロキヌマブの結合は認められず，標的以外への意味のある結合は確認されなかった。このことは，ヒト主要組織では蛋白質レベルで IL-13 の発現は報告されていないことと一致する。

免疫原性

カニクイザルを用いた以下の試験で ADA の有無を評価した：13 週間静脈内反復投与試験（1348/058），26 週間静脈内反復投与試験（509615），13 週間皮下反復投与試験（514981），受（授）胎能に関する試験（雄：2843-005; 雌：2843-006），胚・胎児発生に関する試験の予備試験（[redacted].200.07），ePPND 試験（[redacted].200.15; 20054081）。13 週間静脈内投与試験では，トラロキヌマブ投与群の 26 例のうち 4 例で休薬期間に ADA が検出されたが，対照群でも ADA が同程度検出された。13 週間皮下反復投与毒性試験でも対照群及びトラロキヌマブ投与群で ADA が検出された。26 週間静脈内反復投与毒性試験では，ADA 測定対象となった検体で ADA の存在を確定できなかった。胚・胎児発生に関する試験の予備試験（静脈内投与）及び雄授胎能に関する試験（皮下投与）では ADA は検出されなかった。雌受胎能に関する試験（皮下投与）及び 1 試験目の ePPND 試験（静脈内投与）では ADA 陽性の動物がそれぞれ 1 例認められた。2 試験目の ePPND 試験（静脈内投与）では母動物及び出生児で対照群を含めた 3 群間で同様に ADA が低頻度で検出された。この ePPND 試験で ADA が対照群で検出された原因は不明だが，分析方法が一因と考えられる。分析方法のバリデーションによると疑陽性の発生率は 5%で，確認のための再分析が実施されていない。以上より，投与経路が ADA 産生に影響するとは考えられず，またいずれの試験でも ADA によるトラロキヌマブの曝露量への影響や毒性変化はなかった。臨床試験結果を踏まえた考察は 2.5.3.5 項を参照されたい。

免疫毒性試験

トラロキヌマブの免疫毒性を検討した試験のいずれにおいても免疫系の統合性又は機能への影響はなかった。胸腺及び脾臓の組織重量並びに病理組織学的検査を以下の試験で実施したところトラロキヌマブによる影響はなかった：最長 26 週間までの反復静脈内投与毒性試験（1348/053; 1348/058; 509615），4 週間（513066）及び 13 週間（514981）反復皮下投与毒性試験及び 2 試験目の ePPND 試験（20054081）。26 週間反復投与毒性試験では 4，13 又は 26 週目に末梢血の免疫表現型検査を実施したが影響はなかった。受（授）胎能に関する試験では KLH に対する TDAR に影響はなかった。2 試験目の ePPND 試験では末梢血の免疫表現型検査で母動物及び出生児のいずれにも影響はなかった。また，トラロキヌマブ投与を受けた母動物の出生児で KLH に対する TDAR に影響はなかった。

同等性・同質性評価

トラロキヌマブ原薬は，哺乳類 GS-NS0 発現系を用いて製造される。組換え DNA 技術により NS0 細胞はヒト IgG4 モノクローナル抗体であるトラロキヌマブを発現するように設計されている。

トラロキヌマブは，開発過程で 7 種の製法で製造され，これらの製法のうち 6 製法で製造された原薬が毒性試験に用いられた。第 3 相臨床試験では[redacted]に採用される予定の製法 7 から得たトラロキヌマブが用いられた。毒性試験に用いた原薬のバッチ番号を表 2.4 - 3 に示す。品質特性を検討した同等性・同質性試験により各種製法で生産された原薬は同等・同質であると判断されている（3.2.S.2.6.3.4 項参照）。各製法及び製法間の違いについては 3.2.S.2.6.3 項に記載した。

したがって，毒性試験に用いた原薬バッチは臨床試験用バッチと同等・同質と考えられ，一部の静脈内投与試験を除き製造販売用と同じ処方が用いられた。

物理的化学的性質及び生物学的性質の同等性・同質性が証明されていることから ICH ガイドライン Q5E に基づき，同等性・同質性を評価するための非臨床試験は不要と判断した。

表 2.4 - 3　毒性試験で用いられたトラロキヌマブ原薬一覧

Type of Study	**Study Number**	**Bulk Drug Substance Lot Number(s) (Concentration)**	**Process number**
Repeat-dose toxicity	1348/053	[redacted] (9.68 mg/mL)	1
	1348/058	[redacted] (9.68 mg/mL) [redacted] (9.59 mg/mL) [redacted] (10.1 mg/mL)	1 1 1
	509615	[redacted] (47.4 mg/mL) [redacted] (49.2 mg/mL)	3 3
	513066	Batch No. [redacted] (151.0 mg/mL)	5
	514981	Batch No. [redacted] (151.0 mg/mL)	5
Reproductive and developmental toxicity	[redacted].200.07	Batch No. [redacted] (49.9 mg/mL)	4
	[redacted].200.15	Batch No. [redacted] (51.6 mg/mL) Batch No. [redacted] (49.9 mg/mL)	4 4
	2843-005	Batch No. [redacted] (150.0 mg/mL) Batch No. [redacted] (163.0 mg/mL)	6 6
	2843-006	Batch No. [redacted] (150.0 mg/mL) Batch No. [redacted] (163.0 mg/mL)	6 6
	20054081	Batch No. [redacted] (148.0 mg/mL)	7
Local tolerance	513286	Batch [redacted] (151.0 mg/mL)	5

不純物・類縁物質に関する試験

トラロキヌマブはバイオテクノロジー応用医薬品であり，不純物に関する試験は実施しなかった。トラロキヌマブの製造工程由来不純物については 3.2.S.3.2.2 項で，目的物質由来不純物については 3.2.S.3.2.1 項及び 3.2.S.2.6.5 項で検討されている。3.2.S.4.5 項の規格及び試験法の妥当性で議論したように，製剤の安定性及び出荷規格でトラロキヌマブのフラグメントと総不純物がヒトに曝露されたときの安全性は、反復投与毒性試験によって裏付けられている。毒性試験に用いた原薬バッチの概要は 2.6.7.4 項にまとめた。

5　総括及び結論

非臨床試験で得られたおもな結果及び結論を以下に示す。

- トラロキヌマブは，IL-13 に高い親和性（Kd = 58 pmol/L）で結合し，IL-13 とその 2 つの受容体（IL-13Rα1 及び IL-13Rα2）との相互作用を抑制するヒトモノクローナル抗体である。
- トラロキヌマブは，AD に関連するヒト表皮由来の細胞などを用いた in vitro 試験で IL-13 の生物活性を抑制した。
- トラロキヌマブは，カニクイザル IL-13 の作用をヒト IL-13 に対するのと同程度に抑制したが，マウス IL-13 の作用を抑制しなかった。
- 抗マウス IL-13 抗体は，マウス炎症モデルで予想通りの作用を示さなかったため，その後の開発に用いなかった。
- トラロキヌマブは，ヒト IL-13 により炎症を惹起した in vivo マウスモデルで薬理活性を示した。
- トラロキヌマブは，in vivo カニクイザルアレルギーモデルで薬理活性を示した。
- トラロキヌマブは，反復投与毒性試験及び ePPND 試験の中で評価した安全性薬理試験パラメータ（中枢神経系，心血管系及び呼吸系）に影響を及ぼさなかった。
- カニクイザルでのトラロキヌマブの薬物動態は，ほぼ線形で明らかな性差は認められなかった。
- カニクイザルでのトラロキヌマブの分布容積及びクリアランスは，標的との結合がその消失に寄与しないヒト IgG4 で予測されるものであった。
- 反復投与後に一定以上の蓄積及び TK の時間依存的な変化はなかった。
- トラロキヌマブの 300 mg までをカニクイザルに週 1 回最長で 13 週間皮下投与した又は 100 mg/kg までを週 1 回最長で 26 週間静脈内投与した反復投与毒性試験では，トラロキヌマブの忍容性は高かった。これらの試験の NOEL での AUC は，ヒトに 300 mg を 2 週間ごとに皮下投与したときの曝露量より静脈内投与の場合 35 倍，皮下投与の場合 55 倍高かった。
- 反復投与毒性試験では毒性学的に意義のある変化はなかった。
- 26 週間静脈内反復投与試験で末梢血を用いた免疫表現型検査を実施したが，トラロキヌマブによる影響はなかった。
- 反復投与毒性試験の一部で ADA が検出されたが，それによる有害作用やトラロキヌマブの曝露量に対する影響はなかった。したがって，これらの ADA が試験の解釈に影響を及ぼしたとは考えられない。
- 反復投与毒性試験で投与部位の観察及び病理組織学的検査を実施したところ，トラロキヌマブの局所忍容性は高かった。また，ウサギに単回皮下投与した局所刺激性試験では毒性変化はなかった。

- 成熟雌雄カニクイザルを用いた受（授）胎能に関する試験で，雄では 600 mg まで精子パラメータ（密度，運動能及び形態学的検査）に，雌では 350 mg まで月経周期に影響なく，雌雄とも生殖器官に影響はなかった。
- カニクイザルを用いた 2 つの ePPND 試験（1 つは出生後 180 日まで観察期間とした）で，妊娠，胚・胎児並びに出生児の成長・発達に影響はなく，TDAR 及び末梢血を用いた免疫表現型検査により評価した出生児の免疫機能にも影響はなかった。
  - NOAEL は，母動物及び出生児共に検討した用量のうち高用量（週 1 回 100 mg/kg）で，そのときの母動物の曝露量は，ヒトに 300 mg を 2 週間ごとに皮下投与したときの曝露量より 25 倍高かった。
  - 出生後 1 ヵ月まで観察した ePPND 試験で，平均妊娠期間が対照群で 160 日だったのに対し 100 mg/kg 群で 155 日とわずかに短かったが，2 例を除き試験実施施設の背景値内であり，同じ用量を用いた出生後 6 ヵ月まで観察した試験では差がなかったため，本所見は偶発的なものと判断した。
  - 母動物へのトラロキヌマブ投与による可能性が考えられる所見として，組織球浸潤が出生児の脾臓で認められた。この変化の頻度と重篤度は対照群と比較して増加していたものの，全体的にみて頻度と重篤度は低いことから，毒性学的に意義のある変化とは考えなかった。
  - 出生児では出生後 91 日までトラロキヌマブが検出され，少数ではあるが 180 日まで認められた例もあったことから，トラロキヌマブは胎盤を通過することが確認された。
  - 一部の母動物及び出生児で ADA が検出されたが，それによる有害作用やトラロキヌマブの曝露に対する影響はなかった。
- トラロキヌマブは，げっ歯類の IL-13 を抑制しないため，がん原性試験は実施しなかった。トラロキヌマブの発がんリスクを科学的根拠の重みづけに基づくアプローチで評価したところ，これまでに蓄積された知見は，トラロキヌマブによる直接的又は間接的な発がん性リスクは極めて低いことを示唆している。
- 正常ヒト組織を用いた組織交差反応性試験でトラロキヌマブの結合は認められず，IL-13 は主な組織では発現していないという報告と一致していた。すなわち，トラロキヌマブの標的以外への意味のある結合は確認されなかった。

トラロキヌマブは，AD に関連するヒト表皮由来の細胞種をはじめとするさまざまな培養細胞を用いた試験で，ヒト IL-13 の作用を強力に抑制し，同程度の効力でカニクイザル IL-13 の作用を抑制したことから，非臨床試験では主にカニクイザルを用いた。トラロキヌマブは，カニクイザルの in vivo モデルで有効性を示した。

トラロキヌマブの毒性試験を，主要な試験は GLP 適用下で ICH ガイドライン S6R1 及び M3R2 をはじめとする規制ガイダンスにしたがい実施したところ，トラロキヌマブの忍容性は高く，局所及び全身に毒性変化は認められなかった。トラロキヌマブの臨床投与経路は皮下投与であるた

め，13 週間反復投与毒性試験を皮下投与でも実施したところ，静脈内投与試験と毒性学的プロファイルに違いはなかった。

毒性試験の投与頻度は週 1 回とし，いずれの試験でも TK により投与期間を通して十分な曝露が確認された。投与用量は，動物が十分曝露されヒトの推定曝露量と比較して適切なマージンが推定される量として設定した。

トラロキヌマブの非臨床試験から得られた毒性プロファイルは，ヒトでの安全性リスクが低いことを示しており，毒性試験の NOEL 又は NOAEL と臨床推定曝露量との間に十分なマージンが得られている（表 2.4 - 2）。実際，トラロキヌマブは，臨床試験で AD 患者に有効であることが示されており，健康被験者又は AD 患者を対象とした試験で許容可能な安全性が示されている（2.5 項）。

トラロキヌマブの類薬としてはデュピルマブが本邦において承認されている（デュピルマブ審査報告書）。デュピルマブは，IL-4Rα に対する抗体であるため IL-13 によるシグナル伝達も阻害する。デュピルマブは，マウス及びサルの IL-4Rα には実質上結合しないため，これら動物の相同抗体が非臨床安全性評価に用いられた。相同抗体を 26 週間まで反復投与した毒性試験では，毒性学的に意義のある所見は認められず，良好な忍容性を示した。科学的根拠の重みづけに基づく評価で，がん原性リスクの増加は認められず，サル又はマウスの相同抗体を用いた生殖発生毒性試験においても毒性所見が認められなかったとされている。

以上より，トラロキヌマブは，既存治療で効果不十分な AD を効能又は効果として，予定する用法及び用量（初回に 600 mg を皮下投与し，その後は 1 回 300 mg を 2 週間隔で皮下投与する）で用いられるとき有用であることが期待される。

6　引用文献

AEMPS. Scientific Advice, minutes dated 31 October 2012.

Baverel PG et al. Pharmacokinetics of tralokinumab in adolescents with asthma: implications for future dosing. Br J Clin Pharmacol. 2015; 80: 1337-1349

Brunner PM et al. The atopic dermatitis blood signature is characterized by increases in inflammatory and cardiovascular risk proteins . Sci Rep 2017;7:Article number: 8707

Chen W et al. IL-13 receptor a2 contributes to development of experimental allergic asthma. J Allergy Clin Immunol 2013;132(4):951-958

Davies AM et al. Human IgG4: a structural perspective. Immunol Rev 2015;268:139– 159

Donaldson DD et al. The Murine IL-13 Receptor alpha2: Molecular Cloning, Characterization, and Comparison with Murine IL-13 Receptor alpha1. J Immunol 1998; 161:2317-2324

EMA. Scientific Advice, minutes dated 20 February 2014

Fallon PG et al. IL-4 induces characteristic Th2 responses even in the combined absence of IL-5, IL-9, and IL-13. Immunity. 2002 Jul;17(1):7-17.

FDA. Comments to Pharmacolog/Toxicology review, facsimile dated 12 August 2011

Fichtner-Feigl S et al. IL-13 signaling through the IL-13alpha2 receptor is involved in induction of TGF-beta1 production and fibrosis Nat Med 2006;12(1):99-106

FIMEA. Scientific Advice, minutes from meeting 15 October 2012.

Gittler JK et al. Progressive activation of TH2/TH22 cytokines and selective epidermal proteins characterizes acute and chronic atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 2012; 130: 1344-54

Hamid Q et al. In vivo expression of IL-12 and IL-13 in atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol 1996; 98: 225-31

He CH et al. Chitinase 3-like 1 Regulates Cellular and Tissue Responses via IL-13 Receptor α2. Cell Rep. 2013; 4(4): 830–841

Health Canada. End of Phase 2 meeting minutes, dated 27 June 2014

Hershey GKK et al. IL-13 receptors and signaling pathways: An evolving web. J Allergy Clin Immunol. 2003; 111: 677-90

Hijnen D et al. CD8+ T Cells in the Lesional Skin of Atopic Dermatitis and Psoriasis Patients Are an Important Source of IFN-gamma, IL-13, IL-17, and IL-22. J Invest Dermatol 2013; 133: 973–979

Kaplan MH et al. Stat6 is required for mediating responses to IL-4 and for development of Th2 cells. Immunity. 1996 Mar;4(3):313-9.

Keizer RJ et al. Clinical Pharmacokinetics of Therapeutic Monoclonal Antibodies. Clin Pharmacokinet 2010; 49(8): 493-507

La Grutta S et al. CD4+IL-13+ cells in peripheral blood well correlates with the severity of atopic dermatitis in children. Allergy. 2005; 60: 391-395

Lee E et al. Atopic dermatitis phenotype with early onset and high serum IL-13 is linked to the new development of bronchial hyperresponsiveness in school children. Allergy 2016; 71: 692–700

Mashiko S et al. Increased frequencies of basophils, type 2 innate lymphoid cells and Th2 cells in skin of patients with atopic dermatitis but not psoriasis. J Dermatol Sci 2017;88:167-174

McKenzie GJ et al. Impaired development of Th2 cells in IL-13-deficient mice. Immunity. 1998;9(3):423-32.

McKenzie GJ et al. Simultaneous disruption of interleukin (IL)-4 and IL-13 defines individual roles in T helper cell type 2-mediatedresponses. J Exp Med. 1999 May 17;189(10):1565-72.

Salimi M et al. A role for IL-25 and IL-33–driven type-2 innate lymphoid cells in atopic dermatitis. J Exp Med 2013;210 (13):2939-2950

Sivaprasad U et al. IL-13Ralpha2 Has a Protective Role in a Mouse Model of Cutaneous Inflammation. J Immunol 2010; 185:6802-6808

Tazawa T et al. Relative importance of IL-4 and IL-13 in lesional skin of atopic dermatitis Arch Dermatol Res 2004;295(11):459-64

Teraki Y et al. IL-13/IL-22–coproducing T cells, a novel subset, are increased in atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 2013; 132(4): 971-974

Tripp CS et al. RPC4046, A Novel Anti-interleukin-13 Antibody, Blocks IL-13 Binding to IL-13 a1 and a2 Receptors: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Dose-Escalation First-in-Human Study. Adv Ther 2017;34:1364–1381

Tsoi et al. Atopic dermatitis is an IL-13 dominant disease with greater molecular heterogeneity compared to psoriasis. J Invest Dermatol. 2019 Jan 11; [Epub ahead of print]

Vargas HM et al. Scientific review and recommendations on preclinical cardiovascular safety evaluation of biologics. J Pharmacol Toxicol Methods. 2008; 58: 72-76

Wood N et al. Enhanced Interleukin (IL)-13 Responses in Mice Lacking IL-13 Receptor alpha-2. J exp med. 2003; 197(6): 703-709

Zheng T et al. IL-13 Receptor alpha2 Selectively Inhibits IL-13-Induced Responses in the Murine Lung. J Immunol 2008;180:522-529

オマリズマブ添付文書. 2021 年 8 月改訂（第 3 版）
(https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuDetail/ResultDataSetPDF/300242_2290400D1033_1_13)

デュピルマブ添付文書. 2020 年 11 月改訂（第 3 版）
(https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuDetail/ResultDataSetPDF/780069_4490405G1024_1_08)

デュピルマブ審査報告書. 2017 年 10 月 26 日
(https://www.pmda.go.jp/drugs/2018/P20180129001/780069000_23000AMX00015_A100_1.pdf)

メポリズマブ添付文書. 2020 年 3 月改訂（第 1 版）
(https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuDetail/ResultDataSetPDF/340278_2290401D1020_1_04)