目次

略号一覧表 2
2.4 非臨床試験の概括評価 3
2.4.1 非臨床試験計画概略 3
2.4.1.1 MLN0002 SC に含まれる添加剤 3
2.4.1.2 薬理試験 [2] 3
2.4.1.3 薬物動態試験 [3] 5
2.4.1.4 毒性試験 5
2.4.2 薬理試験 [5] 5
2.4.3 薬物動態試験 [6] 7
2.4.4 毒性試験 7
2.4.4.1 単回及び反復投与毒性 [1] 7
2.4.4.2 遺伝毒性 8
2.4.4.3 がん原性 [1] 8
2.4.4.4 生殖発生試験 [1] 8
2.4.4.5 その他の毒性試験 8
2.4.4.5.1 局所忍容性 8
2.4.4.5.2 その他の毒性 9
2.4.4.5.3 幼若動物毒性試験 [1] 9
2.4.5 総括及び結論 9
2.4.6 参考文献一覧 10

略号一覧表

略号	略していない表現	説明
Act-1	murine homologue of MLN0002(vedolizumab)	MLN0002（ベドリズマブ）のマウスホモログ
AUC	area under the concentration-time curve	血中濃度－時間曲線下面積
BLA	Biologics License Application	生物製剤承認申請書
CAS	Chemical Abstracts Service	国際一般名
CD	Crohn's disease	クローン病
CDR	complimentarity-determining region	相補性決定領域
CL	clearance	クリアランス
C_{max}	maximum observed concentration	最高血中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CSR	clinical study report	治験総括報告書
EAE	experimental autoimmune encephalitis	実験的自己免疫性脳脊髄炎
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定（法）
GI	gastrointestinal(ly)	消化管
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
IBD	inflammatory bowel disease	炎症性腸疾患
ICH	International Council for Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
IgG1	immunoglobulin G1	免疫グロブリン G1
IM	intramuscular(ly)	筋肉内
IND	Investigational New Drug	臨床試験実施（申請）
IV	intravenous(ly)	静脈内
mAb	monoclonal antibody	モノクローナル抗体
MAdCAM-1	mucosal addressin cell adhesion molecule-1	粘膜アドレシン細胞接着分子-1
NOAEL	no-observed-adverse-effect level	無毒性量
PAHA	primate antihuman antibody	霊長類（サル）抗ヒト抗体
PD	pharmacodynamic(s)	薬力学
PFS	prefilled syringe	プレフィルドシリンジ
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
Q2W	once every 2 weeks	2 週ごとに 1 回
RAHA	rabbit antihuman antibody	ウサギ抗ヒト抗体
sBLA	supplementary Biologics License Application	生物学的製剤承認一部変更申請
SC	subcutaneous(ly)	皮下
$t_{1/2}$	half-life	半減期
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
TNF-α	tumor necrosis factor-alpha	腫瘍壊死因子-α
Treg	regulatory T lymphocytes	制御性 T 細胞
UC	ulcerative colitis	潰瘍性大腸炎
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule-1	血管細胞接着分子-1
V_{ss}	volume of distribution at steady-state after intravenous administration	定常状態での分布容積

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

MLN0002（ベドリズマブ（遺伝子組換え））は、ヒトリンパ球の $\alpha_4\beta_7$ インテグリンに結合する遺伝子組換えヒト化 IgG1 mAb である。MLN0002 静脈内投与製剤（以下、MLN0002 IV）は、免疫調節薬、副腎皮質ステロイド剤、抗 TNF-α 抗体などによる従来の治療法により効果が得られなかった、中等症から重症の活動期潰瘍性大腸炎（UC）又はクローン病（CD）を有する成人患者の治療薬として、本邦も含め、世界 70 ヵ国以上で販売許可・承認を取得した。承認されている用法・用量では、初回投与後、2 週、6 週に投与し、以降 8 週間隔で MLN0002 として 1 回 300 mg を 30 分以上かけて点滴静脈内投与する。

その後、PFS に充填された液状の MLN0002 皮下投与製剤（以下、MLN0002 SC）は、UC 又は CD 患者に対する維持療法において自己投与できるよう開発された。MLN0002 SC の投与方法及びその投与量は、Q2W 108 mg の皮下投与である。健康男性被験者に MLN0002 IV を静脈内、筋肉内投与又は皮下投与する第 I 相、非盲検、単回投与、並行群間バイオアベイラビリティ試験（C13010 試験）を開始する前に、MLN0002 IV のウサギを用いた局所忍容性試験を実施した[1]。C13010 試験における単回皮下投与時の PK 及び免疫原性の評価を 2.7.1.2 に示す。

本承認申請は、単回使用のニードルセーフティデバイス付き PFS 又はオートインジェクター付き PFS を用いて投与する液体製剤である MLN0002 SC を支持するものである。MLN0002 SC の安定性向上のため、MLN0002 IV の処方から変更を加えたが、タンパク質の一次構造に影響を及ぼす変更は加えておらず、また生化学的特性及び *in vitro* での機能活性は同等であることが確認されている（2.3.P.2）。したがって MLN0002 IV 承認申請時に提出した MLN0002 IV の非臨床情報がすべて適用可能であると考えられる。MLN0002 SC の組成を 2.3.P.1 に示す。MLN0002 SC に関する追加の非臨床試験は、ウサギで実施した皮下投与局所忍容性試験（4.2.3.6-1）のみである。

2.4.1.1 MLN0002 SC に含まれる添加剤

MLN0002 SC は、PFS に無菌的に充填された単回使用の水性注射剤である。本剤は、160 mg/mL の MLN0002、25 mmol/L クエン酸（6.98 mg/mL クエン酸ナトリウム水和物及び 0.27 mg/mL クエン酸水和物）、50 mmol/L ヒスチジン（5.73 mg/mL L-ヒスチジン及び 2.75 mg/mL L-ヒスチジン塩酸塩水和物）、125 mmol/L L-アルギニン塩酸塩及び 2 mg/mL ポリソルベート 80 を含有し、pH 6.5 である。これらの添加物は、製造及び保存中に MLN0002 を最適な pH 範囲に維持し、処方を安定化させる目的で選択した。MLN0002 SC を開発する際、タンパク質の一次構造に影響を及ぼす変更は加えておらず、また生化学的特性及び *in vitro* での機能活性は同等であることが確認された（2.3.P.2）。

MLN0002 SC に含まれる添加剤はすべて局方に収載されたものであり、新規の添加剤は含まれていない。

2.4.1.2 薬理試験 [2]

本承認申請にあたり新たに実施した薬理試験はない。薬理試験は、$\alpha_4\beta_1$ 及び $\alpha_4\beta_7$ のインテグリンの免疫並びに炎症における役割と機能に関する知見をもとにデザインした。免疫シス

テムは、様々な段階に細分化されており、その中の免疫監視は、各リンパ球サブセットの特定組織への優先的遊走を特徴としている。実際、ナイーブリンパ球は、主に二次リンパ器官を介して再循環するが、分化したメモリーT 細胞は、皮膚、CNS 又は腸管など、抗原に最初に遭遇した組織に優先的に遊走する。すなわち、免疫系が病原体に対しての応答効率を高めるためには、この免疫応答が重要となる。

これまでの作用機序の検討により、$\alpha_4\beta_1$インテグリンを発現するメモリーT リンパ球は $\alpha_4\beta_1$インテグリンと VCAM-1 の強固な接着を介することで CNS、骨髄及び皮膚に優先的に遊走するが、$\alpha_4\beta_7$インテグリンを発現するメモリーT リンパ球は、MAdCAM-1 に強固に接着することで、GI に優先的に遊走することが明らかとなっている。これらのリンパ球遊走機構により、炎症も惹起される。EAE モデルにおいて、抗体又は低分子阻害剤による $\alpha_4\beta_1$インテグリンの阻害によって CNS 炎症の症状及び病理的特徴が改善した。一方、$\alpha_4\beta_7$インテグリンを阻害する mAb を慢性大腸炎サルに投与すると、腸管の炎症活動が減弱し、便の状態も改善した。

MLN0002 のヒト $\alpha_4\beta_1$、$\alpha_4\beta_7$、又は $\alpha_E\beta_7$インテグリンとの結合については、それぞれのインテグリンを発現する細胞株を用いて検討した。直接免疫沈降試験により、MLN0002 及び MLN0002 のマウス相同抗体である Act-1 がヒト $\alpha_4\beta_7$インテグリンに特異的に結合することが示された。結合特異性は、さらに飽和結合試験及び競合結合試験で検討し、フローサイトメトリー解析により定量化した。また、MLN0002 の種間交差反応性について、マウス、ラット、モルモット、New Zealand white ウサギ、カニクイザル、アカゲザル及びヒトの全血を MLN0002 及び Act-1 で染色して評価した。加えて、MLN0002 のアゴニスト作用及びエフェクター機能［抗体依存性細胞傷害作用（ADCC）並びに補体依存性細胞傷害作用（CDC）］についても評価した。

$\alpha_4\beta_1$インテグリン及び $\alpha_4\beta_7$インテグリンは、3 種類のリガンド、すなわち MAdCAM-1、VCAM-1 及びフィブロネクチンに結合する。$\alpha_4\beta_1$インテグリン又は $\alpha_4\beta_7$インテグリンと細胞接着分子 MAdCAM-1、VCAM-1 及びフィブロネクチンとの間の接着相互作用に対する MLN0002 及び抗 α_4 抗体の選択性及びその強度について、$\alpha_4\beta_1$ 又は $\alpha_4\beta_7$インテグリンをそれぞれ特異的に発現する細胞株を用いて評価した。

MLN0002 によって細胞接着が阻害される特定の白血球サブタイプと、その逆に MLN0002 によって細胞接着が阻害されない白血球サブタイプを同定するため、ヒト全血における $\alpha_4\beta_7$インテグリンの発現プロファイルについて検討した。この検討には、ヒトの炎症性腸疾患において病原性を示す Th17 細胞やその活性を抑制すると考えられる Treg のサブセットも含まれていた。

非臨床薬理試験において、MLN0002 の薬力学的（PD）作用は、抗体を除去したときに可逆性が認められたため、可逆性の機序について、ヒト全血から精製した CD4 メモリーT リンパ球を用いて *in vitro* で検討した。

複数の *in vivo* モデルを用いて、MLN0002 の薬理作用を検討した。慢性大腸炎を自然発症するワタボウシタマリンに Act-1 を投与し、$\alpha_4\beta_7$インテグリン阻害による抗炎症効果も評価した。アカゲザルの EAE モデルを用いて、MLN0002 が CNS の免疫監視機構に及ぼす潜在的な影響を評価した。またカニクイザルを用いて、経皮誘発試験による全身性 T 細胞依存性免疫応答及び血管内での白血球分画に対する MLN0002 の潜在的影響も評価した。

安全性薬理試験

本申請にあたり新たに実施した安全性薬理試験はない。適切な薬理学的応答を示す動物種を用いた GLP 適用での最長 26 週間の反復投与毒性試験において、MLN0002 IV の消化管系、泌尿器系、呼吸器系、CNS 及び心血管系に及ぼす機能的及び病理的な影響が体系的かつ詳細に評価された。また、心血管系への影響については、別途 MLN0002 IV を投与したカニクイザルを用いた GLP 適用の安全性薬理試験においても評価された。

薬力学的薬物相互作用

MLN0002 はヒト化抗体であり、薬物代謝に影響を及ぼすサイトカインの産生を調節しないことから、薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

2.4.1.3 薬物動態試験 [3]

本承認申請にあたり新たに実施した薬物動態試験はない。MLN0002 IV の PK、TK 及び PD の評価を含む MLN0002 の PK 試験を、毒性試験で使用された適切な薬理学的応答を示す動物種である New Zealand white ウサギ及びカニクイザルを用いて実施した。RAHA 又は PAHA が MLN0002 の PK に及ぼす影響も評価した。

MLN0002 の濃度は ELISA で測定した。MLN0002 に対する RAHA 又は PAHA を ELISA で測定し、免疫原性について評価した。MLN0002 の PD 作用（未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリンレベル及び MLN0002 の結合レベル）はフローサイトメトリー解析で評価した。MLN0002 の薬理学的プロファイルの *in vivo* 評価には、MLN0002 に対して適切な薬理学的応答を示す動物種であるワタボウシタマリン及びアカゲザルを用いた。またこれらの試験における曝露量及び薬理学的データを評価した。

IV 投与後の V_{ss} はカニクイザルを用いて測定した。出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に及ぼす影響を検討するため、カニクイザルを用いた GLP 適用試験を実施し、乳仔血清中及び母乳中の MLN0002 濃度を評価した。

2.4.1.4 毒性試験

MLN0002 IV の単回・反復投与毒性、がん原性、生殖発生毒性、幼若動物毒性、局所忍容性、免疫原性、免疫毒性、組織交差反応性試験については、適切な薬理学的応答を示す New Zealand white ウサギ及びカニクイザルを用いた包括的な非臨床試験において評価されている [4]。MLN0002 SC 開発のため追加で実施された毒性試験は GLP 適用で実施した Japanese white ウサギを用いた MLN0002 SC の局所忍容性試験のみである。

2.4.2 薬理試験 [5]

本承認申請のために新たに追加した薬理試験はない。MLN0002 は、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンと MAdCAM-1 との相互作用を選択的に拮抗阻害し、腸管選択的な抗炎症作用を示すことが確認されており、本抗体は、消化管以外の組織及び器官の免疫監視機構を損なうことはなかった。一方、ナタリズマブは、複数のインテグリンを阻害することにより腸管だけでなく CNS の免疫監視機能も抑制することから、IBD 治療薬として使用する際は、安全性の面で限界があるとされる。以上のことから MLN0002 は腸管選択的に抗炎症作用を示し、CNS などの消化管

以外の組織において免疫機能低下やそれに伴う感染症のリスクを最小限にすることが期待できる。

薬理学的評価試験の結果、MLN0002 が腸管指向性 $\alpha_4\beta_7$ インテグリンと結合する一方で、$\alpha_4\beta_1$ 又は $\alpha_E\beta_7$ インテグリンと結合しない極めて選択的な拮抗薬であることが示された。

ヒト B リンパ球上及びメモリーCD4 T リンパ球上の $\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する Act-1 及び MLN0002 の結合親和性を評価したところ、両者は類似していることが明らかになった。ウサギ、カニクイザル、アカゲザル及びヒト血液中の $\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する MLN0002 及び Act-1 の結合親和性は 1 nmol/L 以下であった。

MLN0002 は、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンと MAdCAM-1 及び細胞外マトリックスである糖蛋白質であるフィブロネクチンとの結合及び接着に選択的に拮抗し、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンの機能を阻害するが、一方で VCAM-1 との結合には拮抗しない。この選択性が MLN0002 とその他の $\alpha_4\beta_7$ と $\alpha_4\beta_1$ インテグリンを阻害するナタリズマブとの相違点であり、そのため MLN0002 は $\alpha_4\beta_7$－MAdCAM-1 及び $\alpha_4\beta_7$－フィブロネクチン経路に対してのみ阻害作用を発揮する。

MLN0002 はアゴニストではないため、サイトカインの放出を誘発することも、サイトカインの産生を阻害することもなかった。MLN0002 は標的細胞を溶解しないため、*in vitro* で MLN0002 によって阻害された $\alpha_4\beta_7$ インテグリン機能は、MLN0002 を除去して 1 日で部分的に回復し、4 日でほぼ完全に回復した。

MLN0002 の生理学的活性は消化管に対して選択的である。慢性大腸炎を自然発症したワタボウシタマリンに Act-1 を投与すると、腸管の炎症活動性が改善し、糞便の質も改善した。対照的にアカゲザルの EAE モデルでは、MLN0002 は CNS の炎症には影響せず、また、経皮誘発試験における全身性免疫応答にも影響しなかった。これらの結果により、MLN0002 の腸管選択的な免疫調節作用機序が裏付けられた。

リンパ球は、血管系と末梢組織との間で再循環する。すなわち、リンパ球は、血管系から遊出して末梢組織で免疫監視する一方で、リンパ管及び胸管を経由して最終的に血管系に再合流する。リンパ球の末梢組織から血管系への再合流を遮断せずに、インテグリン拮抗薬で血管系からの遊出を遮断すると、結果的に血管内にリンパ球が蓄積する。一部の白血球は、$\alpha_4\beta_1$ 又は $\alpha_4\beta_7$ のインテグリンいずれかしか発現せず、両方のインテグリンを発現しないものも存在するため、MLN0002 による薬力学的作用は、$\alpha_4\beta_1$ 及び $\alpha_4\beta_7$ インテグリンの両方を阻害する抗体より選択性が高い。サルにおいて細静脈からの白血球の血管外遊出を遮断すると、血管内の白血球増加が観察されたが、MLN0002 が影響を及ぼした白血球は $\alpha_4\beta_1$ 及び $\alpha_4\beta_7$ インテグリンの両方を阻害する抗体よりもはるかに少なかった。組織の免疫監視機構が機能するためには細静脈からの白血球の血管外遊出が必要であるが、MLN0002 は、$\alpha_4\beta_1$ 及び $\alpha_4\beta_7$ インテグリンの両方を阻害する抗体よりも免疫監視機構の阻害の程度が小さいと考えられた。実際に MLN0002 は、多発性硬化症の霊長類モデルであるアカゲザル EAE において、CNS の免疫監視機構を阻害しなかった。対照的に、$\alpha_4\beta_1$ 及び $\alpha_4\beta_7$ の両方を阻害する抗体であるナタリズマブは、CNS の免疫監視機構を遮断し、EAE の発現を予防した。

GLP 適用のウサギ及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験及び心血管系に関する安全性薬理試験の結果、MLN0002 IV は 100 mg/kg の用量において、消化管系、泌尿器系、呼吸器系、CNS 系及び心血管系の機能的又は病理的な有害作用を示さなかった。100 mg/kg 投与

時の C_{max}（5,260 μg/mL）は、ヒトに MLN0002 300 mg を単回静脈内点滴投与したとき（第 3 相試験における用量）の幾何平均 C_{max}（126.5 μg/mL）の約 42 倍相当であった。

2.4.3 薬物動態試験 [6]

本承認申請のために新たに追加した PK 試験はない。

MLN0002 IV の PK、TK 及び PD プロファイルについて、MLN0002 の毒性試験で選択した、薬理学的に応答する 2 種の動物種（NZW ウサギ及びカニクイザル）を使用し、*in vivo* 試験を通じて評価した。サルに MLN0002 を投与したときの PK は、CL が低く（0.180～0.266 mL/hr/kg）、IV 投与後の V_{ss} が小さく（80.7～88.3 mL/kg）、$t_{1/2}$ が長い（336～362 時間）という mAb の典型的な特徴を示した。ウサギ及びサルにおいて、MLN0002 は 10～100 mg/kg の用量範囲で概ね線形的な PK を示した。

RAHA 及び PAHA が動物の MLN0002 への曝露に影響を及ぼすか否かを判定するため、RAHA 及び PAHA を測定し、MLN0002 IV の免疫原性を評価した。ヒト化 mAb について予測されるように、MLN0002 は動物において免疫原性を示し、高用量ほど抗体価が低かった。全体的に、RAHA 及び PAHA の発現率は、単回及び反復投与試験全体、並びに用量全体を通じてばらつきが見られた。低用量（10 mg/kg）及び中用量（30 mg/kg）を投与した動物の一部で、PK 及び PD に対する RAHA/PAHA の中和作用が見られたが、中和作用が見られなかった動物では、持続的な $\alpha_4\beta_7$ 飽和が認められた。最高用量（100 mg/kg IV）では、RAHA/PAHA は MLN0002 の PK 又は PD に対してほとんど作用しなかった。この用量（NOAEL）では、反復投与毒性試験で用いたほぼすべての動物において、投与期間及び休薬期間全体を通じて、標的である $\alpha_4\beta_7$ の持続的飽和が維持され、十分な曝露及び PD 作用が達成された。

妊娠中のカニクイザルに MLN0002 IV を投与したところ、分娩 28 日後まで MLN0002 が母乳中にわずかに検出された。また、妊娠中のサルに MLN0002 IV を投与したところ、乳児の血清中に MLN0002 がわずかに検出されが、血清中の MLN0002 の移行経路は母乳摂取ではなく、主として経胎盤移行と考えられた。

サルにおける NOAEL である MLN0002 100 mg/kg を IV 投与した時の曝露量は、ヒトの臨床用量である MLN0002 300 mg を IV 投与した時と比較すると、C_{max} では約 42 倍、AUC では約 31 倍であった。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回及び反復投与毒性 [1]

MLN0002 IV を用いた単回及び反復投与毒性試験の結果、最大 100 mg/kg までの用量で忍容性は良好であった。

カニクイザルを用いた GLP 適用の 13 週間及び 26 週間反復投与毒性試験並びに心血管系に関する単回投与安全性薬理試験において、機能的及び病理学的に評価したところ、MLN0002 は消化管系、泌尿器系、呼吸器系、CNS 及び心血管系に対する有害な作用を示さなかった。パイエル板（GALT）の軽微～軽度の萎縮、及び陰窩上皮における β_7 インテグリン発現白血球の軽微～軽度の減少が観察されたが、これらは MLN0002 による $\alpha_4\beta_7$－MAdCAM-1 結合拮抗作用によって腸管への末梢リンパ球の遊走が抑制されたことによるものと考えられた。上記変化については、カニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験でその回復性が評価され、

約 12 週間の休薬期間後、パイエル板におけるリンパ球減少がみられたのは 100 mg/kg 群の動物 4 匹のうち 1 匹であった。これらの GLP 適用の毒性試験において、全身性の免疫抑制を示唆する変化は認められなかった。動物への投与期間は 26 週間（6 ヵ月間）（2 週ごとに 1 回の持続静注）のみであったが、末梢リンパ球の $\alpha_4\beta_7$ インテグリンは、100 mg/kg 群のすべての動物で 12 週間の休薬期間を通して完全に飽和しており、有効な曝露期間は 9 ヵ月に達した。以上のように、MLN0002 による $\alpha_4\beta_7$－MAdCAM-1 結合の特異的拮抗作用によって、腸管選択的に薬理学的作用に起因した変化が認められることが示された。

2.4.4.2 遺伝毒性

本薬は生物学的製剤であるため、遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.4.4.3 がん原性 [1]

げっ歯類は MLN0002 に対して薬理学的に応答しないため、従来のがん原性リスク評価試験（げっ歯類を用いたバイオアッセイ）は MLN0002 には適用できない。MLN0002 のがん原性評価は、まず、$\alpha_4\beta_7$ を発現する血液由来のヒト腫瘍を特定し、同腫瘍に対する Act-1 の作用を評価することで実施された。Act-1 は、*in vitro* において $\alpha_4\beta_7$ インテグリンを発現するヒト血液由来腫瘍細胞の細胞増殖又は細胞死のいずれにも影響を及ぼさなかった。また、MLN0002 は $\alpha_4\beta_7$ インテグリンを発現するヒト白血球において、サイトカイン産生、活性化、細胞増殖及び／又は細胞死など、発癌に関連する可能性がある因子にも影響を及ぼさなかった。反復投与毒性試験では過形成などの前癌病変の有無も評価された。NZW ウサギを用いた 3 ヵ月間の反復投与毒性試験において、リンパ組織の過形成が観察されたが、これはヒト以外の動物種にヒト化 mAb を注入したことに伴う免疫原性（抗原刺激）に起因するものと考えられた。また、GLP 適用の毒性試験では、全身性免疫抑制を示唆する所見は認められなかった。

2.4.4.4 生殖発生試験 [1]

MLN0002 IV は、最高用量である 100 mg/kg を静脈内投与した場合も、NZW ウサギにおける胚・胎児発生及びカニクイザルにおける出生前後発生に影響を及ぼさなかった。

2.4.4.5 その他の毒性試験

2.4.4.5.1 局所忍容性

NZW ウサギ及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験において MLN0002 IV の静脈内投与による局所刺激性は認められなかった[1]。NZW ウサギに MLN0002 IV を皮下及び筋肉内投与した場合においても、重大な刺激作用は生じなかった[1]。

MLN0002 SC の単回皮下投与局所忍容性試験を、ウサギを用いて実施した（4.2.3.6-1）。試験のデザイン及び結果の詳細は 2.6.6 及び 2.6.7.16 に記載した。ウサギに生理食塩水、溶媒、MLN0002 SC 各 1 mL を、腹部のそれぞれ離れた場所に投与した。投与 2 又は 14 日後（各時点 4 匹）にウサギを安楽殺し評価したところ、皮下投与部位に臨床的に意義のある所見又は有害な組織学的変化は認められなかった。本製剤の忍容性は良好であると判断した。

2.4.4.5.2 その他の毒性

中和抗体の影響を評価するために、免疫原性（RAHA/PAHA の存在及び濃度）を毒性試験の一部として評価した。全般的に、静脈内投与後の RAHA/PAHA の発現率は投与量と反比例関係にあり、低用量（10 mg/kg）及び中用量（30 mg/kg）で中和作用が見られたが、最大用量（100 mg/kg）では作用はほとんど見られなかった[1]。RAHA/PAHA による中和作用が見られなかった動物では $\alpha_4\beta_7$ に対する持続的な結合飽和が反復投与毒性試験の投与期間及び休薬期間を通じて維持された[1]。

カニクイザルを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び免疫毒性試験で実施された末梢血のイムノフェノタイピング、T 細胞依存性抗体反応（TDAR）及びナチュラルキラー（NK）細胞活性検査により、MLN0002 は全身性の獲得又は自然免疫応答に影響しないことが示された[1]。

MLN0002 はヒト化 mAb であるため、ICH ガイドライン S10 に従い、光毒性評価は実施しなかった。

2.4.4.5.3 幼若動物毒性試験 [1]

幼若カニクイザル（試験開始時に 11～15 ヵ月齢）を用いた MLN0002 IV の 13 週間反復投与毒性試験において、最大 100 mg/kg の用量まで、有害な作用は認められなかった。

2.4.5 総括及び結論

MLN0002 の作用機序及び薬理学的プロファイルの包括的な評価を *in vitro* 及び *in vivo* において行った。これらの試験により、MLN0002 は腸管指向性の $\alpha_4\beta_7$ インテグリンに特異的に結合する選択性の高い拮抗薬であり、MAdCAM-1 を介した細胞接着を阻害し、消化管に選択的な薬力学的作用をもたらすことが示された。ウサギ及びサルにおいて、MLN0002 の PK、TK、PD プロファイルは十分に評価された。MLN0002 は多くの mAb 製剤と同様の PK を示し、$t_{1/2}$ が長く、CL が低く、V_{ss} が低かった。MLN0002 は、試験した動物種において明確な薬理活性を示した。非臨床試験を総括すると、最大 100 mg/kg の MLN0002 IV（臨床試験において、300 mg を単回静脈内点滴投与した際の C_{max} 及び AUC の平均値のそれぞれ約 42 倍及び 31 倍の曝露量）の忍容性は良好であった。ウサギを用いた局所忍容性試験の結果、MLN0002 の持続静注又は皮下投与後において重大な局所刺激性は認められなかった。最大 100 mg/kg の MLN0002 IV を投与した際、カニクイザルの心電図、心拍数又は平均動脈圧に対する影響は見られなかった。さらに、これらの用量において胚・胎児毒性（妊娠ウサギ）、出生前後毒性（カニクイザル）又は免疫毒性（カニクイザル）のエビデンスも認められなかった。薬理学的に応答する動物種（サル及びウサギ）における MLN0002 IV の無毒性量は、100 mg/kg であった。

妊娠中のカニクイザルに妊娠期間中の大部分にわたり MLN0002 を投与したところ、最高 6 ヵ月齢の乳仔において催奇形性又は出生前後発生への影響は認められなかった。MLN0002 の 100 mg/kg（MLN0002 IV におけるヒト推奨用量の約 25 倍）を 2 週ごとに 1 回投与したカニクイザル 11 匹のうち 3 匹において、分娩 28 日後に MLN0002 が母乳中にわずかに（300 µg/L 未満）検出されたが、10 mg/kg を投与した動物では検出されなかった。欧州で実施した他の

2 試験（非企業主導試験）では、IBD を有する母親の母乳中に低濃度の MLN0002（それぞれ 0.480 µg/mL 未満及び 0.318 µg/mL 以下）が認められた[7][8]。

幼若カニクイザルにおける MLN0002 IV の忍容性は良好であり、無毒性量は最大投与量である 100 mg/kg であった。

MLN0002 SC で追加したウサギを用いた GLP 適用の局所忍容性試験（2.6.6 及び 2.6.7.16 に示す）において、本製剤の忍容性は良好であり、ヒトにおける使用が安全であることが示唆された。MLN0002 SC の製剤上の変更は本タンパク質の一次構造に影響を与えず、生化学的特性及び *in vitro* での機能活性は MLN0002 IV と同等であることが示された（2.3.P.2）。なお MLN0002 SC に含まれる添加剤はすべて局方に収載されたものであり、新規の添加物は含まれていない。したがって MLN0002 IV の非臨床情報はすべて本承認申請に適用可能と考えられる。以上のように、新たに実施した局所忍容性試験は、MLN0002 IV 開発プログラムで実施された非臨床試験と合わせて、MLN0002 SC の承認申請を支持するものである。

2.4.6 参考文献一覧

[1] エンタイビオ点滴静注用 300mg 製造販売承認申請添付資料 CTD2.4.4.
[2] エンタイビオ点滴静注用 300mg 製造販売承認申請添付資料 CTD2.4.1.1.
[3] エンタイビオ点滴静注用 300mg 製造販売承認申請添付資料 CTD2.4.1.2.
[4] エンタイビオ点滴静注用 300mg 製造販売承認申請添付資料 CTD2.4.1.3.
[5] エンタイビオ点滴静注用 300mg 製造販売承認申請添付資料 CTD2.4.2.
[6] エンタイビオ点滴静注用 300mg 製造販売承認申請添付資料 CTD2.4.3.
[7] Lahat A, Shitrit AB, Naftali T, Milgrom Y, Elyakim R, Goldin E, et al. Vedolizumab levels in breast milk of nursing mothers with inflammatory bowel disease. J Crohns Colitis. 2018;12(1):120-3.
[8] Julsgaard M, Kjeldsen J, Bibby BM, Brock B, Baumgart DC. Vedolizumab concentrations in the breast milk of nursing mothers with inflammatory bowel disease. Gastroenterology. 2018;154(3):752-754.