目次

略語・略号一覧 2
2.4　非臨床試験の概括評価 4
2.4.1　非臨床試験計画概略 4
2.4.1.1　投与経路及び試験に使用した動物種 4
2.4.1.2　使用した製剤 5
2.4.1.2.1　不純物 5
2.4.2　薬理試験 6
2.4.3　薬物動態試験 8
2.4.4　毒性試験 9
2.4.5　総括及び結論 13
2.4.6　参考文献 15

表目次

表 2.4.4-1　毒性試験一覧 9
表 2.4.4-2　ペグセタコプランを皮下投与したウサギ、サル及びヒトの平均全身曝露量（雌雄合算）の比較 11
表 2.4.4-3　ペグセタコプランの動物とヒトの皮下投与量から算出した PEG40 の総投与量（PEG-Load）の比較 12

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
ADA	anti-drug antibodies	抗薬物抗体
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収、分布、代謝及び排泄
AH50	alternative complement pathway hemolytic activity	第二経路の補体価
AUC	area under the drug concentration-time curve	薬物濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-24}	area under the curve from the time of dosing to 24 hours	0 時間から投与後 24 時間までの薬物濃度-時間曲線下面積
AUC_{week}	area under the curve over a week (i.e., 168h)	0 時間から投与後 1 週間（168 時間）までの薬物濃度-時間曲線下面積
C3 (a/b/c)	complement component 3a/b/c	補体第 3（a/b/c）成分
C5	complement component 5	補体第 5 成分
CH50	total hemolytic complement activity	血清補体価
C_{max}	maximum observed concentration	最高濃度
D5W	5% dextrose solution, USP	5% w/v のデキストロース溶液
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着測定
ePPND	enhanced pre-postnatal development	拡充型出生前及び出生後の発生
GD	gestation day	妊娠日齢
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
hERG	human ether-a-go-go related gene	ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
ITC	isothermal titration calorimetry	等温滴定熱測定
IV	intravenous	静脈内
kDa	kilodaltons	キロダルトン
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
MAC	membrane attack complex	膜侵襲複合体
PEG	polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
PEG40	polyethylene glycol (40kDa nominal molecular weight)	ポリエチレングリコール（名目分子量 40 kDa）
PK	pharmacokinetic	薬物動態
PNH	paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	発作性夜間ヘモグロビン尿症
RP-HPLC	reverse phase high performance liquid chromatography	逆相高速液体クロマトグラフィー
SC	subcutaneous	皮下
SCX-HPLC	strong cation exchange high performance liquid chromatography	強イオン交換高速液体クロマトグラフィー

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
SEC-HPLC	size exclusion chromatography high performance liquid chromatography	サイズ排除クロマトグラフィー高速液体クロマトグラフィー
$t_{1/2}$	half-life	消失半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
TK6	cells derived from human B lymphoblastoid cell line	ヒトリンパ芽球培養細胞
TMDD	target mediated drug disposition	標的介在性の薬物消失
w/v	weight/volume	質量／容量

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

ペグセタコプランを発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）の長期治療用皮下投与製剤として開発するための情報を提供し、臨床試験をサポートするために本薬の効力を裏付ける試験、安全性薬理試験、薬物動態（PK）試験及びトキシコキネティクス（TK）を含む毒性試験を実施した。

APL-1［ペグセタコプランの C3 に対する結合特性を担っている非ポリエチレングリコール（PEG）化ペプチド配列］など、コンプスタチン及びその誘導体にはオフターゲット作用は報告されていない。ペグセタコプランの分子量の約 90%を占める PEG 部分についても生物学的に不活性であることが知られている。ペグセタコプランが薬理作用を示す濃度でオフターゲット作用を誘発する可能性は低い。したがって、ペグセタコプランの副次的薬理試験及びオフターゲット薬理試験は実施しなかった。

非臨床試験は、いくつかの妥当な例外を除いて、医薬品規制調和国際会議（ICH）の最新ガイドライン（薬物動態試験及び一般毒性試験：M3(R2)及び S3、遺伝毒性試験：M3(R2)及び S2(R1)、安全性薬理試験：S7A 及び S7B、並びに生殖発生毒性試験：S5(R3)）に従って選定しデザインした。［17MTX-001 試験］において、本薬はサルの脳内に分布しなかったことから、神経行動学的機能に特化した試験は実施しなかった。毒性試験の一般状態観察で神経行動学的機能の障害を示唆するシグナルは認められなかった。本薬のげっ歯類を用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験は実施していない。ペグセタコプランはヒト及び非ヒト霊長類においてのみ薬理活性を示すことから、げっ歯類を用いた試験は科学的価値のある情報を付加しない。サルは受胎率が低く着床前胚損失率が高い［Chellman et al., 2009、Martin et al., 2009］ため、非ヒト霊長類を多数使用する大規模な試験が必要になることから、このような試験にサルを用いることは適切ではない。サルの反復投与毒性試験で生殖器の病理組織学的検査を実施した結果、雌雄共に本薬の影響は認められなかった。ペグセタコプランは遺伝毒性を示さず、毒性試験で内分泌攪乱物質、細胞周期の変調物質、あるいは炎症誘発性物質のエビデンスがないことから、げっ歯類を用いたがん原性試験は実施していない。補体の阻害が腫瘍の増殖及び転移を抑制する可能性を示唆するエビデンスも蓄積されている［Afshar-Kharghan, 2017］。不純物の安全性評価は、ICH Q3A(R2)及び Q3B(R2)に従って実施した。

用量設定試験を除く全ての毒性試験及び安全性薬理試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従って実施した。GLP 試験のすべてのアッセイ（製剤中の薬物濃度、生体液試料及び抗体価の測定）は、各試験の目的に十分な感度を有する適切な方法を用いて実施した。

2.4.1.1　投与経路及び試験に使用した動物種

ペグセタコプランの主要な非臨床試験は、全て予定臨床投与経路（皮下投与）を用いて投与を実施した。一部の試験では、ヒトでの代替曝露経路として本薬の静脈内投与を行った。2.4.2 項に詳細を示すように、ペグセタコプランは薬理学的にヒト及び非ヒト霊長類にのみ活性を有することが示されているため、非臨床試験に使用する主要な動物種としてカニクイザルを選定

した。ウサギは皮下投与部位の忍容性を評価するのに適切な感受性を有すると考えられることから、毒性試験では第二の動物種としてウサギを使用した。

2.4.1.2　使用した製剤

ペグセタコプランの臨床開発では、市販製剤の製造性を改善するために製剤を改良した。非臨床試験及び第 1 相臨床試験には 2 種類の製剤を使用した。5% w/v のデキストロース溶液（D5W）に溶解したペグセタコプラン、及び投与前に D5W（添加剤なし）で 10～150 mg/mL の濃度範囲に再調製した凍結乾燥製剤（120 及び 380 mg／バイアル）を使用した。

ペグセタコプランの製剤開発の概要については、全て［3.2.P.2.2］に記載した。

2.4.1.2.1　不純物

ペグセタコプランには、逆相高速液体クロマトグラフィー（RP-HPLC）、サイズ排除クロマトグラフィー高速液体クロマトグラフィー（SEC-HPLC）及び強イオン交換高速液体クロマトグラフィー（SCX-HPLC）法を用いてプロファイリングされ、特定された 8 種類の不純物（4 種類の工程不純物と 4 種類の分解物）が存在する。毒性試験に使用したロットにおける、ペグセタコプラン原薬中の不純物の許容量を一覧にまとめた。測定法、計算及び結果に関するデータを一覧表としてまとめ、［3.2.S.3.2］に示した。

毒性試験で使用したペグセタコプランのロットは 9 種類あり、20[redacted]年～20[redacted]年の 5 年以上にわたって製造された。初期のロット（ロット番号 原薬ロットA*、原薬ロットB* 及び 原薬ロットC*）は、SCX 及び SEC-HPLC 法が開発される前に製造及び不純物試験が実施されており、これらのロットは製造直後に RP-HPLC 法によるデータを取得した。最近の原薬の 4 ロット（ロット番号 原薬ロットD*、原薬ロットE*、原薬ロットF* 及び 原薬ロットG*）は SCX 及び SEC-HPLC 法の両方が使用可能となった後に製造されたため、原薬ロットD* 及び 原薬ロットE* ロットは SCX 及び SEC-HPLC 法で不純物試験を同時に実施し、許容量を設定したデータは、-20℃で保存した原薬に加えて可能な限り製造日に近い原薬のデータに基づいている。全ロットを製造日から-20℃で凍結保存した。-20℃で保存した原薬の長期保存試験では不純物の量は経時的変化をほとんど示さないことから、製造直後のロットと-20℃で保存したロットでは試験結果に影響しないと考えられえる［3.2.S.7.3 参照］。

サルは薬理学的及び薬物動態学的にヒトと最も関連の深い動物種と考えられていることから、サルの反復投与毒性試験で使用した原薬の不純物量が許容量の設定において最大量と推定された。

不純物A* 及び 不純物F不純物の許容量は、［試験番号 15CATX-004］で非ヒト霊長類に無毒性量の 7 mg/kg/日を投与したときの、各分解物の絶対量（mg/kg に換算した含有量の割合）から算定した。非臨床試験ではペグセタコプランを連日投与したが、第 3 相臨床試験では週 2 回投与した。この違いを埋めるために、1 ヵ月（28 日とする）間の摂取量に基づいて原薬の規格を担保する計算を行った。特定の分解物は、「無毒性量 7 mg/kg ×不純物の含有率× 28 日= 1 ヵ月当たりの不純物摂取量」の計算により、「mg/kg/月」で表す無毒性量における 1 ヵ月当たりの mg/kg 摂取量に変換した。これを「18 mg/kg（ヒトの体重を 60 kg とする）× 8 回投与= 1 ヵ月当たりの摂取量」で表す臨床用量 1080 mg での摂取量「mg/kg/月」と比較した。サルを用いた追加毒性試験［試験番号 19CATX-003］では、熱分解ペグセタコプラン製剤及び非分解製剤をサルに 28 mg/kg/日の用量で 28 日間投与して評価した。試験結果から、熱分解ペグセタコプラン製剤と

＊新薬承認情報提供時に置換

非分解ペグセタコプラン製剤との間に意義のある毒性プロファイルの違いは認められなかった［2.6.6.3.8 参照］。

さらに、ペグセタコプラン原薬の 5 ロット（ロット番号 原薬ロットB*、原薬ロットC*、原薬ロットG*、原薬ロットE* 及び 原薬ロットF*）は、それぞれ細菌を用いる復帰突然変異試験（試験番号［13BTX-001］、［14BTX-001］、［19BTX-001］、［19BTX-002］及び［19BTX-003］）を実施し、一様に陰性の結果を得た。

2.4.2　薬理試験

ペグセタコプランは名目分子量 40 キロダルトン（kDa）の直鎖状の PEG 分子の末端に共有結合した 2 つの同一ペンタデカペプチドから成る対称分子である。本分子のペプチド部分は、コンプスタチンの誘導体で、主要な薬理作用をもたらすことが示されており、その作用により霊長類に特異的に補体活性化を広範に阻害する。40 kDa の PEG 分子により本ペプチドの薬物動態的特性が改善され、サルに皮下投与した際の消失半減期（$t_{1/2}$）は延長され、水性溶媒に対する溶解性は増加した。

ペグセタコプランは霊長類の補体第 3 成分（C3）に選択的に結合し、C3 が開裂して C3a 及び C3b となるのを防ぐ。霊長類に対する種特異性は酵素結合免疫吸着測定（ELISA）に基づいた Wieslab 補体阻害アッセイを用いて霊長類由来及び非霊長類由来の血清でペグセタコプランを評価して確認した［19CFPH-001 試験］。

等温滴定熱測定（ITC）試験でペグセタコプランはさらに、C3b にも結合することが示された。C3b は補体 C3 及び補体第 5 成分（C5）タンパク質を開裂させるセリンプロテアーゼである C3 及び C5 転換酵素両方の成分であり、その結果エフェクターを生成する［18XTPH-001 試験］。C3 フラグメントの C3c と複合体を形成している、関連ペプチドの Ac-コンプスタチンの結晶構造により、C3 とのコンプスタチンの結合部位が明らかとなった［Janssen, 2007］。結晶構造に基づいて、コンプスタチンは転換酵素に C3 が結合するのを防止することにより、さらなる補体阻害活性を発揮することが提唱された［Janssen, 2007］。コンプスタチンと C3 との結合類似性に基づいて、ペグセタコプランは同様に転換酵素と C3 との結合を防止する可能性が高い。

ペグセタコプランが *in vitro* で ELISA 法を用いて古典経路及び第二経路の両方の活性化に続く補体活性を阻害することを示した。試験第 1 日及び第 2 日にカニクイザルに 84 mg/kg を静脈内投与した後に、*ex vivo* で血清補体価（CH50、活性のほとんどは古典経路由来）及び第二経路の補体価（AH50）アッセイ、及び C3a 値が試験第 1 日及び第 2 日に低下し、AH50 及び C3a に対する作用は投与後 5 日間持続した［16CATX-003 試験］。同試験において、C3 濃度は上昇し、これは標的介在性の薬物消失（TMDD）PK モデルによると、ペグセタコプランに結合した C3 のクリアランス比が低下したことに起因すると推測した。

PNH は、CD55 及び CD59 が欠損している赤血球クローンに対して補体を介した溶血作用を発揮することにより引き起こされる。CD55 及び CD59 は赤血球表面上に発現し、補体を介した溶血作用を防ぐ。このように、こうした赤血球は C3 フラグメントによるオプソニン化及び膜侵襲複合体（MAC）の形成に特に感受性が高く、補体活性化により容易に溶血することが示されてきた。PNH の病因及び補体系の役割の詳細な情報については［モジュール 2.5］に示した。合わ

せて、上記サル及び *in vitro*／*ex vivo* 系で示したペグセタコプランの薬理学的補体経路阻害特性は、PNH の効果的な治療のために臨床で治療効果を発揮し得る可能性を支持する。

ペグセタコプランの副次的薬理作用又はオフターゲット作用について具体的な評価は実施していない。しかし、コンプスタチンや APL-1 を含むその誘導体にオフターゲット作用の報告はされてこなかった。ペグセタコプランの分子量の約 90%を占める PEG 部分についても生物学的に不活性であることが知られている。ペグセタコプランは薬理作用を発揮する濃度でオフターゲット作用を誘導する可能性は低い。

ペグセタコプランはヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（hERG）がエンコードしたイオンチャンネルを阻害せず、したがって、hERG（IKr）関連の不整脈リスクは有さない［13ZTX-001 試験］。ヒト評価試験の動物種として適切なサルに 140 mg/kg まで単回皮下投与しても心血管系及び呼吸器系機能に影響を与えなかった［13CATX005 試験］。特定の中枢神経系の安全性薬理試験は通常げっ歯類を用いて実施するため、カニクイザルでは実施しなかった（げっ歯類ではペグセタコプランは薬理活性を示さない）。さらに、ペグセタコプランはサルにおいて脳内に分布せず［17MTX-001 試験］、毒性試験での一般状態観察で神経行動学的機能を妨げることを示唆する徴候は認められなかった。生物学的に不活性と認識されている PEG 部分［Ivens, 2015、Schellekens et al., 2013、Webster et al., 2007］並びに毒性試験及び安全性薬理試験でオフターゲットを示唆する兆候が認められないことに基づき、ペグセタコプランは忍容性が良好でオフターゲット作用を伴わない、有効な補体阻害剤であることが示された。

非臨床で薬力学的薬物相互作用試験は現時点まで実施していない。しかし、一連の代謝アッセイにより、ペグセタコプランはヒトシトクロム P450 酵素又は薬物トランスポーターに対して与える影響は小さく、補体系を標的としない薬物との薬力学的及び薬物動態的相互作用はあまり意味がないことが示唆される［2.6.4 参照］。C5 阻害剤であるエクリズマブ及びラブリズマブの薬理作用はヒト C5 に特異的であり、サルも含めて他の動物種に対する補体阻害活性は示されていない。したがって、非臨床試験においてエクリズマブとペグセタコプラン、又はラブリズマブとペグセタコプランとの併用投与で、毒性学的、薬物動態学的及び薬力学的薬物相互作用を効果的に評価する適切な動物モデルは存在しない。

2.4.3　薬物動態試験

ペグセタコプランの吸収、分布及び排泄に関する PK は、カニクイザル［試験番号 17MTX-001、試験番号 13APK-001、試験番号 16CATX-003 及び試験番号 19CAPK-001］を用いて検討した。ペグセタコプランは、非ヒト霊長類及びヒトでのみ薬理活性を示すことが確認されている。ペグセタコプランは、非霊長類では C3 と結合せず、ペグセタコプランと C3 の複合体が血清中の $t_{1/2}$ に影響を及ぼす可能性が高いことから、動物試験の動物種としては、霊長類の方が非霊長類よりも臨床薬物動態学的に重要であることが示唆された。このことから、サルの PK データは、ヒトの PK を予測するものとして妥当であると考えられる。2.4.1.2 項に記載したとおり、非臨床試験で用いたペグセタコプラン製剤（D5W に 10～150 mg/mL の濃度で溶解したペグセタコプラン）は、第 1 相臨床試験（すなわち、ペグセタコプランを D5W に溶解及び凍結乾燥したペグセタコプランを追加の賦形剤なしで D5W に再溶解）で使用したものと同じであった。ペグセタコプランの薬物相互作用の可能性を評価するために、*in vitro* の吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）試験［試験番号 17COTX-001、試験番号 17COTX-003 及び試験番号 17COTX-002］を実施した。また、ペグセタコプランの TK は、サル及びウサギの毒性試験で検討した［2.6.6 参照］。

サルに皮下投与後のペグセタコプランは、速やかに、かつ広範に吸収された（全身バイオアベイラビリティは 85%超と算出された）。皮下投与後のペグセタコプランは、循環血中よりも低濃度で組織に広範に分布したが、脳では検出されず、眼球ではごくわずかに検出された。循環血中のペグセタコプランのクリアランスは、他の PEG 化ペプチドと同様に遅く、単回皮下投与後の比較的長い $t_{1/2}$（約 7.5 日間）と一致した。ペグセタコプランの主な排泄経路は、尿中排泄である。PEG に特有の多分散性のため、ペグセタコプランの分子量は単一ではなく、43.3～47.3 kDa であった。PEG 化部分の腎クリアランスは主に分子量と相関しており、分子量の上限及び下限で製造されたペグセタコプランのロットで PK が異なる可能性が考えられる。しかしながら、ペグセタコプランを投与後の PK パラメータは、40.8～48.8 kDa の分子量範囲で有意差は認められなかったことから、PEG に特有の多分散性が PK に影響を及ぼす可能性は極めて低いことが示唆された［試験番号 19CAPK-001］。サルでペグセタコプランは、胎盤移行及び乳汁中排泄（母動物の血清中濃度の 1%未満）が確認されたが、胎児及び授乳中の乳児が臨床的に意味のある曝露を受ける可能性は低いと考えられる。*In vitro* の ADME 試験（ヒト肝細胞、肝シトクロム P450 酵素及びトランスポータータンパク質）の結果から、臨床的な薬物相互作用が発現する可能性は低いと考えられる。サル毒性試験で本薬の全身曝露量は、0.25～7 mg/kg/日の間で用量比例性が認められ、7 mg/kg/日以上では用量比例性をわずかに下回っており、高用量では蓄積性を示す可能性が考えられた。サルに 7 mg/kg/日以上を投与した時の平均全身曝露量は、PNH 患者での予定治療用量（1,080 mg の週 2 回投与）の平均曝露量の推定値を上回った［2.7.2 参照］。

2.4.4 毒性試験

ペグセタコプランで実施した毒性試験を以下の表 2.4.4-1 に示す。New Zealand White（NZW）ウサギ（*Oryctolagus cuniculus*）及びカニクイザル（*Macaca fascicularis*）を用いて、皮下投与による反復投与毒性試験を実施した。毒性試験には、局所刺激性の評価に適した動物種としてウサギを選択した。また、本薬の薬理活性はヒト及び非ヒト霊長類においてのみ認められた［試験番号 19CFPH-001］ことから、毒性試験の動物種としてサルを選択した。7 日間投与試験及び生殖発生毒性試験の予備試験を除き、本薬の毒性試験は現行の GLP 基準に準拠して実施した（表 2.4.4-1）。

表 2.4.4-1 毒性試験一覧

Study type and duration	Study number(s)	Species	Route of administration	Dose level (mg/kg/day)
Repeat-dose toxicity				
7 days	13CATX001	Rabbit	SC	20
7 days	13CATX002	Monkey	SC	20
28 days	13CATX003	Rabbit	SC	7, 28, 140
28 days	14CATX001	Rabbit	SC	0.25, 1, 3
28 days	13CATX004	Monkey	SC	7, 28, 140
28 days	14CATX002	Monkey	SC	0.25, 1, 3
28 days	14CATX-005	Monkey	SC	28
28 days	19CATX-003	Monkey	SC	28
6 months	15CATX-003	Rabbit	SC	1, 7, 28
9 months	15CATX-004	Monkey	SC	1, 7, 28
Genotoxicity				
Ames Assay	13BTX-001	*S. typhimurium* and *E. coli*	*in vitro*	Up to 5000 µg/plate
Ames Assay	14BTX-001	*S. typhimurium* and *E. coli*	*in vitro*	Up to 5000 µg/plate
Ames Assay	19BTX-001	*S. typhimurium* and *E. coli*	*in vitro*	Up to 5000 µg/plate
Ames Assay	19BTX-002	*S. typhimurium* and *E. coli*	*in vitro*	Up to 5000 µg/plate
Ames Assay	19BTX-003	*S. typhimurium* and *E. coli*	*in vitro*	Up to 5000 µg/plate
Micronucleus Assay	13BTX-002	Human TK6 cells	*in vitro*	Up to 500 µg/mL
Micronucleus Assay (2 days)	13BTX-003	Mouse	IV	500, 1000, 2000

表 2.4.4-1 毒性試験一覧

Study type and duration	Study number(s)	Species	Route of administration	Dose level (mg/kg/day)
Reproductive and developmental toxicity				
Pilot prenatal development				
12 days (Gestation Day [GD] 6 through GD17)	15MTX-001	Rat	SC	1, 3.5, 7, 28
13 days (GD6 through GD18)	15MTX-002	Rabbit	SC	1, 3.5, 7, 28
Pilot embryofetal development				
120 days (GD20-50 through GD140)	17CATX-001	Monkey	SC	28
Enhanced pre-postnatal development (ePPND)				
GD20-22 to parturition	18CATX-001	Monkey	SC	7, 28

Abbreviations: ePPND = enhanced pre-postnatal development; GD = gestation day; IV = intravenous; SC = subcutaneous; TK6 = cells derived from human B lymphoblastoid cell line.

ウサギ及びサルにペグセタコプランを 140 mg/kg/日までの用量で連日反復皮下投与した結果、局所的及び全身的に忍容性が良好であった。病理組織学的検査では、本薬投与により両動物種の多数の組織で上皮細胞の空胞化及び空胞化マクロファージの浸潤を誘発した。これらの変化はウサギで 1 mg/kg/日以上、サルでは 7 mg/kg/日以上の用量で認められ、用量依存的に増加する傾向が認められた。28 日間投与試験では、28 日間の休薬期間後にも空胞化の回復は認められなかった。この所見は、1) 同用量のポリエチレングルコール 40（PEG40）のみを投与した動物でも同様の頻度及び程度で発現すること、並びに 2) 病理所見像及び分布が他の長鎖 PEG や市販製品を含む PEG 化タンパク質で報告される影響［Rudmann et al., 2013、Ivens et al., 2015］と深く一致することから、ペグセタコプランの PEG40 成分に起因すると考えられる。空胞化は、長鎖 PEG に対する組織の適応反応と考えられており、細胞の変化、壊死、変性、炎症あるいは身体機能の障害を伴わない限り非有害所見と見なされる［Ivens et al., 2015］。ペグセタコプランの毒性試験では、（腎臓の変性を除いて）空胞化が観察されたどの組織でもこれらの特徴はみられず、機能障害を示唆する異常な臨床症状も観察されなかった。脈絡叢の上皮細胞（上衣細胞）に関しては、神経行動学的な機能障害を示唆する臨床症状が認められなかったことも重要である。したがって、本薬の毒性試験で観察された組織の空胞化は、上皮細胞の変性が認められた腎臓を除いて、非有害所見と考えられる。

病理組織学的検査でペグセタコプラン投与と関連する尿細管変性が認められ、ウサギ及びサルで腎臓の空胞化した領域に変化した上皮細胞が配列する尿細管変性が観察された。空胞化した上皮細胞の位置関係から、尿細管変性は PEG の組織内濃度が局所的に極端に上昇したことに対する反応であることが示唆される。他の組織で見られる空胞化とは異なり、この腎臓の退行性変化は有害所見と考えられるが、用量制限毒性のレベルには至らなかった。サルでは尿細管変性は軽微かつ非進行性で、28 mg/kg/日の 1 ヵ月間投与後には軽微であり、長期投与毒性試験でも同様であった。28 日間投与試験では、28 日間の休薬期間後にも尿細管変性の回復は認められなかった。いずれの動物種でも、腎機能障害のマーカーである血清尿素窒素及びクレアチニ

ンには、尿細管変性に相応する上昇は認められなかった。ウサギの長期投与毒性試験では、全ての用量で尿細管変性が認められた。サルの無毒性量は 7 mg/kg/日（試験終了時の平均 C_{max} は 970 µg/mL、平均 AUC_{0-24} は 21,950 µg•h/mL）であり、臨床曝露量に対してそれぞれ 1.45 倍及び 1.42 倍に相当する。

表 2.4.4-2 ペグセタコプランを皮下投与したウサギ、サル及びヒトの平均全身曝露量（雌雄合算）の比較

Species	Study Number	Study Duration	Dose (mg/kg/day)	C_{max} [a] (µg/mL)	AUC_{0-24} [b] (µg•h/mL)	Ratio of animal to human exposure [c]	
						C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24} (µg•h/mL)
Rabbit	15CATX-003	6 months	1	45	993	0.06	0.06
			7	310	6980	0.46	0.45
			28	934	21,500	1.39	1.39
	13CATX 003	1 month	140 [d]	2890	66,250	4.31	4.27
Monkey	15CATX-004	9 months	1	179	4035	0.27	0.26
			7	**970**	**21,950**	**1.45**	**1.42**
			28	2000	45,150	2.98	2.91
	13CATX 004	1 month	140 [d]	4175	94,400	6.22	6.09
	18CATX-001	4 months [e] (Pre-postnatal)	**7**	**896**	**20,500**	**1.34**	**1.32**
			28	1930	44,300	2.88	2.86
Human	APL2-302	A maximum of approximately 72 weeks	1080 mg twice weekly	671 [f]	15,506 [g]	-	

Abbreviations: - = not applicable; GD = gestation day; NOAEL = no observed adverse effect level; PNH = paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.

Bold text denotes NOAEL doses in animals.

a) C_{max} observed after final dose.
b) AUC_{0-24} observed after final dose; results flagged as less than 3 quantifiable concentrations postdose included in calculations.
c) Calculated from end-of-study data from animals dosed once daily and from Phase 3 data (including Study APL2-302 at Week 16 in PNH patients dosed 1080 mg twice weekly).
d) Highest dose tested in repeat-dose toxicity studies.
e) Data on GD 111 (last timepoint in study with full sampling profile).
f) C_{max} at steady state estimated from Population PK analysis Module 5.3.3.5 (including data from Study APL2-302 at Week 16 in PNH patients dosed 1080 mg twice weekly).
g) AUC_{0-24} at steady state estimated from Population PK analysis (including data from Study APL2-302 at Week 16 in PNH patients dosed 1080 mg twice weekly); Estimated AUC_{week} at steady state (108,541 µg•h/mL) divided by 7 to obtain AUC_{0-24} exposure at steady state.

PEG 化タンパク質製剤の安全性評価において、曝露量の比較で考慮すべき他の指標は、薬物の PEG 成分として投与される PEG の総投与量（PEG-Load）である［CHMP, 2012］。ペグセタコプランの PEG 成分は、薬物の分子量の約 91.5%（91.3～91.7%の範囲）に相当する。毒性試験で投与したペグセタコプランの投与量と、PNH 患者の治療用量から算出した PEG の 1 ヵ月当たりの総投与量を、以下の表 2.4.4-3 で比較した。毒性試験における 140 mg/kg/日のペグセタコプラン投与は、PEG の 1 ヵ月当たりの総投与量が臨床用量の 29 倍以上に相当し、腎臓で病理組織学的に軽微～軽度までの尿細管変性を発現した。28 mg/kg/日の投与は、PEG の 1 ヵ月当たりの総

投与量が臨床用量の 5 倍以上に相当し、サルの 9 ヵ月間投与試験で腎臓の尿細管変性の程度は軽微に留まり、用量制限毒性のレベルには至らなかった。

表 2.4.4-3 ペグセタコプランの動物とヒトの皮下投与量から算出した PEG40 の総投与量（PEG-Load）の比較

Species	Pegcetacoplan Dose (mg/kg/day)	PEG40 Dose (mg/kg/day) [a]	PEG Doses per month	PEG-Load (mg/kg/month)	Animal:Human PEG-Load Ratio
Rabbit, monkey	0.25	0.23	30	6.90	0.05
Rabbit, monkey	1	0.92		27.6	0.21
Rabbit, monkey	3	2.75		82.5	0.63
Rabbit, monkey	7	6.41		192	1.45
	28	25.6		768	5.82
	140	128		3840	29.1
Human	1080 mg twice weekly [b]	16.5 [c]	8	132	-

Abbreviations: - = not applicable; PEG = polyethylene glycol; PNH = paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.
a) Corrected for percentage of the PEG moiety in pegcetacoplan (approximately 91.5%).
b) The intended therapeutic dose and regimen in PNH patients.
c) Assuming human body weight of 60 kg.

ラット、ウサギ及びサルを用いた生殖発生毒性試験において、ペグセタコプランは胚・胎児発生に影響を及ぼさなかった。サルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生毒性（ePPND）試験では、高用量（28 mg/kg/日）のペグセタコプラン投与により流産及び死産の増加が認められた。これは本薬の薬理作用から予想された変化ではなかった。これまでのエビデンスから、補体カスケードの制御が妊娠維持に有益であることが示唆される［Regal et al., 2015］。ePPND 試験の無毒性量は 7 mg/kg/日（妊娠 111 日の平均 C_{max} は 896 µg/mL、平均 $AUC_{0\text{-}24}$ は 20,500 µg•h/mL）であり、臨床曝露量に対してそれぞれ 1.34 倍及び 1.32 倍に相当する。

ペグセタコプランは毒性試験で局所的な忍容性が良好であった。一般症状観察、肉眼的及び病理組織学的検査で、皮下投与部位の反応は観察されなかった。

ペグセタコプランの免疫毒性の可能性を考慮すると、補体が侵入した細菌の迅速な除去に必須であることはよく知られており、C5 阻害薬によるヒトの髄膜炎菌性敗血症のリスクはすでに報告されている。しかし、ペグセタコプランが C5 阻害薬と同じ細菌感染のリスクを有することは確認されていない。主要な臨床試験である APL2-302 試験の薬理学的データから、ペグセタコプランの単剤療法は、補体系全体の溶血活性を古典経路及び第二経路の両方から、エクリズマブの単剤療法と比較して低値まで下方制御することが示されており［2.7.2 参照］、細菌感染に対する免疫機能は維持されると考えられる。ペグセタコプランの PEG 成分に関しては、長鎖 PEG と PEG 化薬剤（抗炎症剤又は免疫調節剤としてデザインされ、意図されたものを除く）はいずれも、宿主防御の低下は認められない。臨床試験で免疫関連の有害事象は認められなかった［2.7.4 参照］。毒性試験で感染症の所見は認められなかった。サルでは、臨床病理学的パラメータ（血清中タンパク濃度及び白血球数）に変化はなく、主要な免疫系器官（リンパ節、脾臓及び胸腺）に免疫系の攪乱を示す病理組織学的変化も認められなかった。ウサギでは、一貫した臨床病理学的変化や病理組織学的所見は認められなかった。

血清中抗薬物抗体（ADA）測定の結果から、ペグセタコプランはウサギに対して軽度～中等度の抗原性を示すが、ヒトに近い動物種のサルではほとんど抗原性を示さなかった。

2.4.5 総括及び結論

ペグセタコプランは PEG 化されたペプチドで、*in vitro* で古典経路及び第二経路の活性化に続く補体活性化を阻害する。ペグセタコプランは C3 及び C3b に結合し、コンプスタチン誘導体の古典経路及び第二経路の活性化に対するヒト及び非ヒト霊長類に特異的な阻害活性を保持しているが、非 PEG 化ペプチドと比較して $t_{1/2}$ が延長し水溶性が増加している。ペグセタコプランは古典経路及び第二経路の補体活性化を阻害し、その結果、補体活性化タンパク質の C3a が減少することから、C3 の開裂が減少していることを示し、また、C3 が増加することから、C3 のクリアランスの減少をもたらす標的関与を示している。毒性試験及び安全性薬理試験でオフターゲットの薬理作用を示唆する所見が認められないこと、並びに APL-1 を含むコンプスタチンやその誘導体に関する報告に基づき、ペグセタコプランは選択的な補体阻害薬であることが示された。したがって、ペグセタコプランの副次的薬理試験及びオフターゲット薬理試験は実施しなかった。薬力学的薬物相互作用に関しては、*in vitro* の ADME 試験（肝シトクロム P450 及びトランスポータータンパク質）により、臨床的薬物相互作用に対する影響は小さいことが示唆された。

ペグセタコプランをサル（薬理学的にヒトと関連する動物種）に皮下投与後の吸収は、速やかに、かつ広範であり、全身バイオアベイラビリティは 85%超と推定された。皮下投与後のペグセタコプランは、循環血中よりも低濃度で組織に広範に分布したが、脳では検出されず、眼球ではごくわずかに検出された。ペグセタコプランの PK は、典型的な PEG 化ペプチドと同様であり、非 PEG 化ペプチドと比較して *in vivo* 試験では長い $t_{1/2}$ と遅いクリアランスを示す。ペグセタコプランの主な排泄経路は、尿中排泄である。サルでペグセタコプランは、胎盤移行性及び乳汁中排泄（母動物の平均 C_{max}（1,770 µg/mL）の 1%未満）が確認された。*In vitro* の ADME 試験（ヒト肝細胞、肝シトクロム 450 酵素及びトランスポータータンパク質）の結果から、臨床で薬物相互作用が発現する可能性は低いと考えられる。

毒性試験において、ウサギ及びサルに 140 mg/kg/日までの用量で反復皮下投与したとき、忍容性が良好であり投与部位の反応は認められなかった。28 日間又は長期投与後に認められた主な所見は、非可逆的な尿細管変性（有害所見と判断した）、及び病理組織学的検査で多数の組織に認められた非可逆的な細胞の空胞化（本薬の PEG40 成分に対する適応性変化と考えられ、有害所見ではないと判断した）であった。サルの尿細管変性に関する無毒性量は 7 mg/kg/日（C_{max} 及び AUC は臨床曝露量に対して、それぞれ 1.45 倍及び 1.42 倍に相当）であった。28 mg/kg/日の用量で認められた尿細管変性は軽微かつ非進行性であった（PEG の 1 ヵ月当たりの総投与量は臨床用量の 5 倍以上に相当する）。

ペグセタコプランはウサギで軽度～中等度の抗原性を示したが、サルではほとんど抗原性を示さなかった。遺伝毒性試験の陰性結果から、ペグセタコプランは遺伝毒性のリスクがないことが示され、安全性薬理試験では、本薬は hERG［急速活性型遅延整流カリウムイオン電流（IKr)］チャネルを阻害せず、心血管系及び呼吸器系に急性の機能障害を引き起こさないことが

示された。毒性試験での一般状態観察で神経行動学的機能を妨げることを示唆する徴候は認められなかった。

ペグセタコプランはラット、ウサギ及びサルの胚・胎児発生に影響を及ぼさなかったが、28 mg/kg/日の皮下投与によりサルで流産及び死産の増加が認められた。補体カスケードの制御は妊娠維持に有益であることが認識されており、これは本薬の薬理作用から予測される変化とは考えられない。流産及び死産に関する無毒性量は 7 mg/kg/日（平均 C_{max} は 896 µg/mL、平均 $AUC_{0\text{-}24}$ は 20,500 µg•h/mL）であり、臨床曝露量に対してそれぞれ 1.34 倍及び 1.32 倍に相当する。

動物試験で認められた腎臓の軽微な尿細管変性は、ヒトに対する意義は不明である。これまでに蓄積したペグセタコプランの臨床的安全性データでは、腎機能障害を示唆するシグナルは検出されていない。ポピュレーション PK 解析［APL-EX20-CP-002 試験、参照］により、健康成人及び成人 PNH 患者において、腎機能は本薬の PK パラメータに統計学的に有意な影響を及ぼさないことが示された。

サルで観察された流産及び死産の増加は、臨床的関連性は不明である。ペグセタコプランは遺伝毒性を示さず（変異原性も染色体異常誘発性も示さない）、動物試験では催奇形性は認められなかった。

結論として、非臨床試験によりペグセタコプランの毒性学的特性を明らかにした。非臨床試験の成績に基づき、ペグセタコプランは有効かつ選択的な補体阻害薬であり、週 2 回投与に適した $t_{1/2}$ 及び水溶性を有し、PNH の長期治療に臨床的なベネフィットをもたらす可能性がある。

2.4.6 参考文献

Afshar-Kharghan V. The role of the complement system in cancer. J. Clin. Invest. 2017, 127(3): 780-789.

Chellman GJ, Bussiere JL, Makori N, et al. Developmental and reproductive toxicology studies in nonhuman primates. Birth Defects Res. (Part B) 2009; 86: 446-462.

CHMP Safety Working Party of the European Medicines Agency. CHMP Safety Working Party's response to the PDCO regarding the use of PEGylated drug products in the paediatric population. November 16, 2012. EMA/CHMP/SWP/647258/2012.

Ivens IA, Achanzar W, Baumann A, et al. PEGylated biopharmaceuticals: current experience and considerations for nonclinical development. Toxicol. Pathol. 2015; 43: 959-983.

Janssen BJC, Halff EF, Lambris JD, et al. Structure of compstatin in complex with complement component C3c reveals a new mechanism of complement inhibition. J. Biol. Chem. 2007; 282(40): 29241-29247.

Martin PL, Breslin W, Rocca M, et al. Considerations in assessing the developmental and reproductive toxicity potential of biopharmaceuticals. Birth Defects Res. (Part B) 2009; 86: 176-203.

Regal JF, Gilbert JS, Burwick RM. The complement system and adverse pregnancy outcomes. Mol. Immunol. 2015; 67(1): 56-70.

Rudmann DG, Alston JT, Hanson JC, et al. High molecular weight polyethylene glycol cellular distribution and PEG-associated cytoplasmic vacuolation is molecular weight dependent and does not require conjugation to proteins. Toxicol Pathol. 2013; 41: 970-983.

Schellekens H, Hennink WE, Brinks V. The immunogenicity of polyethylene glycol: Facts and fiction. Pharm. Res. 2013, 30: 1729-1734.

Webster R, Didler E, Harris P, et al. PEGylated proteins: Evaluation of their safety in the absence of definitive metabolism studies. Drug Metab. Disp. 2007, 35: 9-16.