目次

略語・略号一覧 2
2.6.1　緒言 3

図目次

図 2.6.1-1　ペグセタコプランの化学構造 3

略語・略号一覧

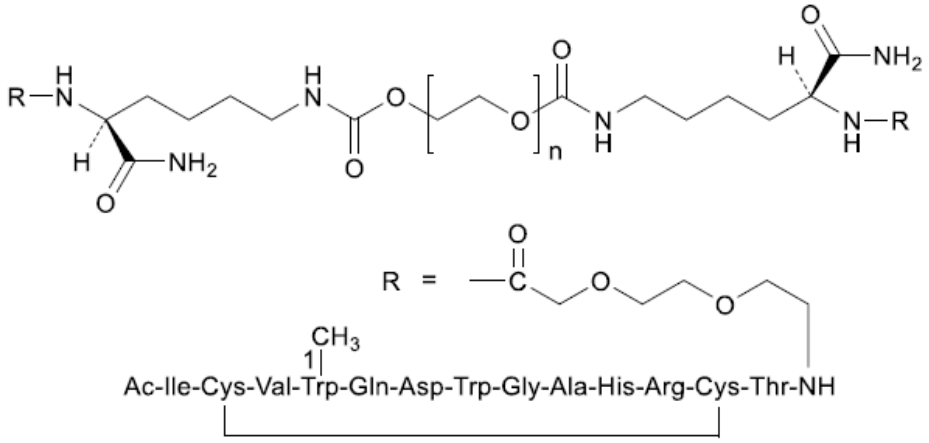
略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
C3(b)	complement component 3/3b	補体第 3(b)成分
kDa	kilodalton	キロダルトン
PEG	polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
PEG40	polyethylene glycol (40 kDa nominal molecular weight)	ポリエチレングリコール（名目分子量 40 kDa）
PNH	paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	発作性夜間ヘモグロビン尿症

2.6.1　緒言

ペグセタコプランの皮下注射用 1080 mg/20 mL 溶液の活性成分は、PEG 化ペプチド（分子量：約 43,500）であり、補体 C3 に結合する 2 本の同一の合成ペプチドが、C 末端リシンアミドの ε-アミノ基を介してポリエチレングリコール（分子量：約 39,600）の両端にそれぞれ結合している。ペプチド部分は 15 個のアミノ酸残基からなる。化学名は *O*,*O*'-ビス[(S^2,S^{12}-シクロ{*N*-アセチル-L-イソロイシル-L-システイニル-L-バリル-1-メチル-L-トリプトフィル-L-グルタミニル-L-α-アスパルチル-L-トリプトフィルグリシル-L-アラニル-L-ヒスチジル-L-アルギニル-L-システイニル-L-スレオニル-2-[2-(2-アミノエトキシ)エトキシ]アセチル-L-リシンアミド})-$N^{6\ 15}$-カルボニル]ポリエチレングリコールである。

分子構造を以下に示す。

図 2.6.1-1　ペグセタコプランの化学構造



nは約800~1100である.

ペグセタコプランのペプチド部分が補体第 3 成分（C3）及び C3b に結合し、補体カスケードを広範に阻害する。本薬のポリエチレングルコール 40（PEG40）部分は、溶解性の改善及び投与後の体内滞留時間の延長をもたらす。

ペグセタコプランは、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）成人患者の治療を適応とする。予定臨床用量は本薬 1080 mg の週 2 回皮下投与である。

目次

略語・略号一覧 3
2.6.2　薬理試験の概要文 4
2.6.2.1　まとめ 4
2.6.2.1.1　補体系の概略 4
2.6.2.1.2　ペグセタコプランの作用機序の概要 4
2.6.2.2　効力を裏付ける試験 5
2.6.2.2.1　*In vitro* 薬理試験 5
2.6.2.2.1.1　ペグセタコプランはヒト C3 及び C3b に結合する［18XTPH-001 試験］ 5
2.6.2.2.1.2　ペグセタコプランの補体阻害活性［19CFPH-001 試験］ 6
2.6.2.2.1.3　ペグセタコプランの種特異性［19CFPH-001 試験］ 7
2.6.2.2.2　*In vivo* 薬理作用 8
2.6.2.2.2.1　カニクイザルを用いたペグセタコプラン静脈内持続投与による *in vivo* 補体活性化阻害作用［16CATX-003 試験］ 8
2.6.2.3　副次的薬理試験 10
2.6.2.4　安全性薬理試験 11
2.6.2.4.1　*In vitro* 安全性薬理試験［13ZTX-001 試験］ 11
2.6.2.4.2　*In vivo* 安全性薬理試験［13CATX005 試験］ 11
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験 13
2.6.2.5.1　C5 阻害剤とペグセタコプランの相互作用 13
2.6.2.6　考察及び結論 13
2.6.2.7　図表 15
2.6.2.8　参考文献 15

表目次

表 2.6.2.1-1　非臨床薬理試験 5
表 2.6.2.4-1　中枢神経系に関する毒性試験のまとめ 12

図目次

図 2.6.2.1-1　補体経路の概要 4
図 2.6.2.2-1　ペグセタコプランは C3 及び C3b に nmol/L 濃度の親和性で結合する 6
図 2.6.2.2-2　ヒト血清において APL-1 及びペグセタコプランは第二経路の補体活性化に対して類似の阻害作用を示す。 7
図 2.6.2.2-3　ペグセタコプランの活性はヒト及び非ヒト霊長類由来の血清に特異的である 8

図 2.6.2.2-4　カニクイザルに 2 日間毎日 60 分間静脈内持続投与した後のペグセタコプランの血清中濃度.....9
図 2.6.2.2-5　カニクイザルに 2 日間毎日 60 分間静脈内持続投与した後のペグセタコプランは補体活性化及び C3 開裂を阻害する.....10

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）
AH50	alternative complement pathway hemolytic activity	第二経路の補体価
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
EC_{50}	half maximal effective concentration	50%効果濃度
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着測定
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
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
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
HPLC-MS/MS	high performance liquid chromatography / tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析
ITC	isothermal titration calorimetry	等温滴定熱測定
kDa	kilodalton	キロダルトン
K_D	dissociation constant	解離定数
MAC	membrane attack complex	膜侵襲複合体
mRNA	messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
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 40kDa）
PK	pharmacokinetic	薬物動態

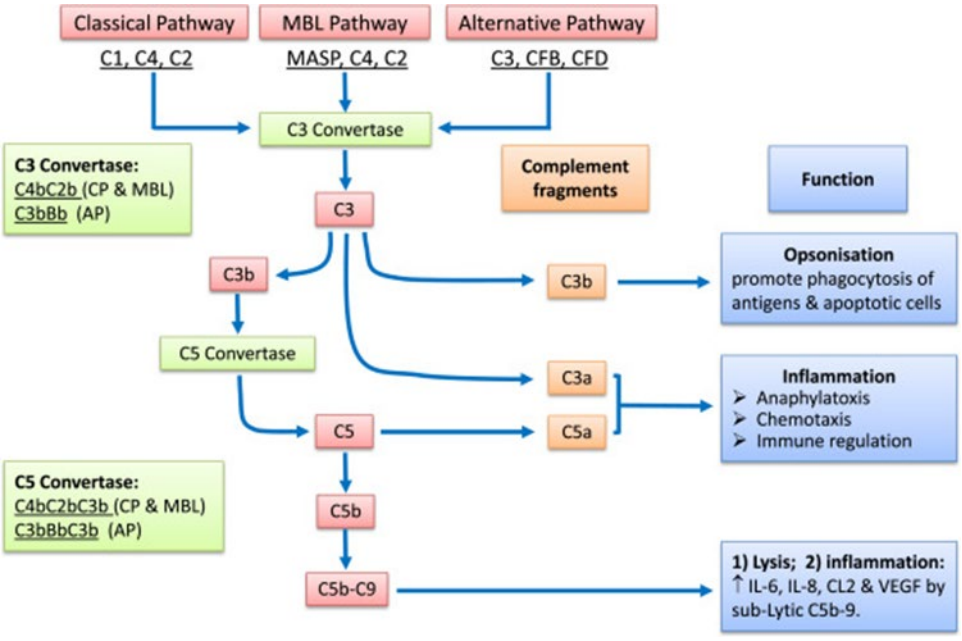
2.6.2　薬理試験の概要文

2.6.2.1　まとめ

2.6.2.1.1　補体系の概略

補体系は自然免疫及び適応免疫の両方にとって重要な構成要素であり、免疫学的監視、炎症及びホメオスタシスに寄与している［Kolev et al., 2014］。3 つの活性化経路、すなわち、古典経路、レクチン経路及び第二経路から成り、各経路の開始によりタンパク質分解酵素複合体［補体第 3 成分（C3）／補体第 5 成分（C5）転換酵素］が生成され、それぞれ C3 及び C5 タンパク質内のタンパク結合を分解する（図 2.6.2.1-1）。補体活性化 3 経路は近位の C3 タンパク質に収束し、タンパク質分解によりエフェクターである C3a 及び C3b を誘導する。C3a フラグメントは免疫細胞上の標的受容体を介して免疫に対する影響を誘導し得るアナフィラトキシンとして機能する一方、C3b フラグメントは食細胞による除去のための病原体実態にタグをつけるオプソニンであり C5 転換酵素の中心的な構成要素でもある。C5 転換酵素が形成されると C5 タンパク質が C5a 及び C5b に開裂し、続いて膜侵襲複合体（MAC）が形成される（図 2.6.2.1-1）。補体系の制御不全は発作性夜間ヘモグロビン尿症［Risitano et al., 2009］を含めて複数の免疫介在性疾患の病因に関与している。

図 2.6.2.1-1　補体経路の概要



出典：［Xu and Chen, 2016］

2.6.2.1.2　ペグセタコプランの作用機序の概要

ペグセタコプランは、ポリエチレングリコール（PEG）直鎖に結合している、2 つの 15 アミノ酸から成る環状合成ペプチドから構成されている。本分子のペプチド領域はコンプスタチン

の誘導体であり、ヒト C3 及び C3b に結合し、その結果補体活性化に対して霊長類に特異的で広範な阻害作用を有することが示されてきた。

等温滴定熱測定（ITC）試験によりペグセタコプランは 15.6 から 21.3 nmol/L 程度の親和性で C3 及び C3b の両方に結合することを示し、*in vitro* の Wieslab アッセイによりペグセタコプランは霊長類マトリックスの古典経路及び第二経路の補体活性を強力に阻害することが確認された。カニクイザルを用いた試験ではペグセタコプランは血清補体価（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）を両方 *in vivo* で阻害することを示した。

In vitro 及び *in vivo* 安全性薬理試験によりペグセタコプランは *in vitro* でヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（hERG）チャネルを阻害しないこと並びにサルに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いことを示した。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。

表 2.6.2.1-1 非臨床薬理試験

試験の種類	試験系	投与方法	試験番号	GLP 適用
Isothermal titration calorimetry (ITC): C3 and C3b proteins	ITC	*In vitro*	18XTPH-001	No
Inhibition of alternative and classical pathway activation	Wieslab complement system alternative and classical assay kits; Eagle Bioscience	*In vitro*	19CFPH-001	No
In vivo pharmacokinetic(PK)/ pharmacodynamics(PD)	Cynomolgus monkeys	Intravenous (IV)	16CATX-003	No
In vitro effect on hERG current (IKr) expressed in HEK 293 cells	Patch-clamp assay	*In vitro*	13ZTX-001	Yes
In vivo telemetered safety pharmacology	Cynomolgus monkeys	Subcutaneous (SC)	13CATX005	Yes

Abbreviations: GLP = Good Laboratory Practice; HEK = human embryonic kidney

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

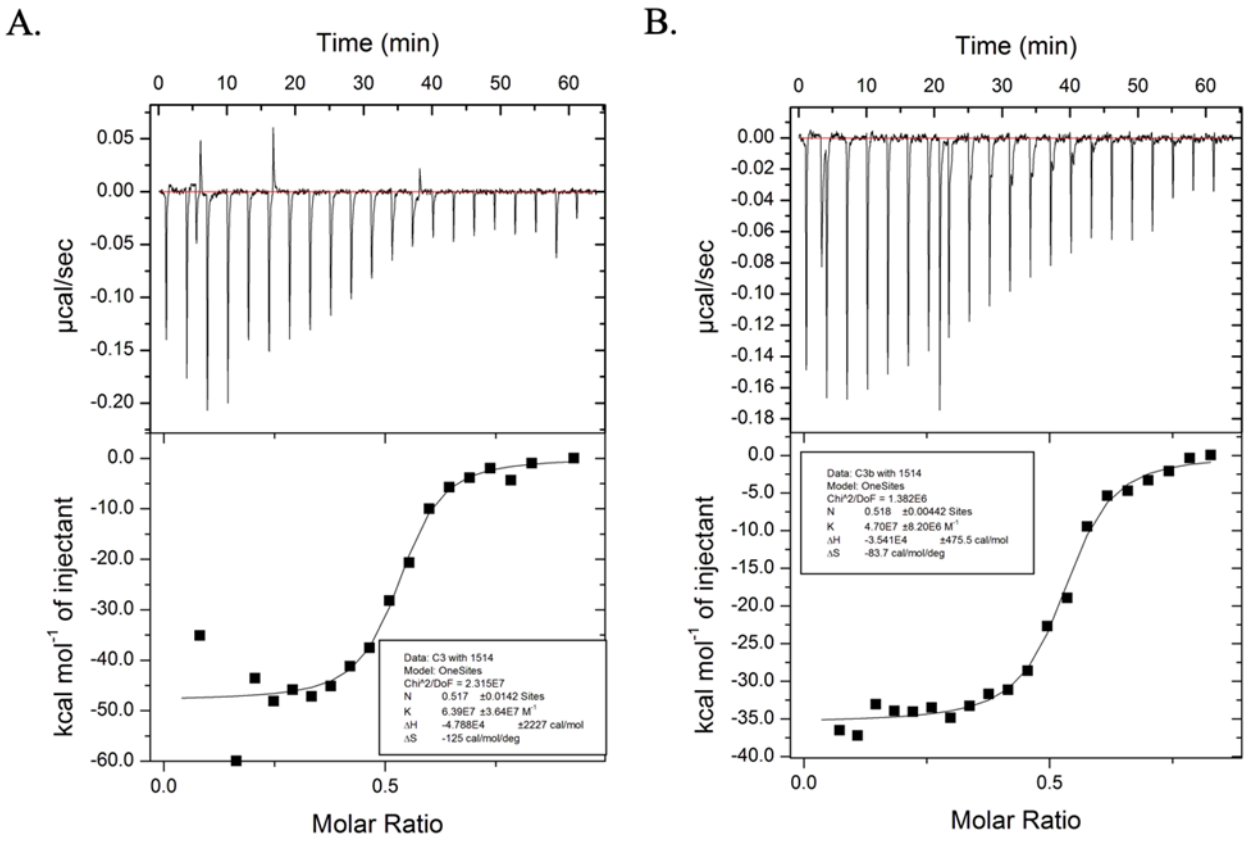
2.6.2.2.1 *In vitro* 薬理試験

2.6.2.2.1.1 ペグセタコプランはヒト C3 及び C3b に結合する［18XTPH-001 試験］

健常ヒト血清由来の C3b 及び C3 へのペグセタコプランの結合は個別に ITC により測定した。ペグセタコプランは透析したヒト C3 タンパク質又はヒト C3b タンパク質と共にチャンバーに注入した。解離定数（K_D）は結合エンタルピーを測定後に算出し、ペグセタコプランは C3 及び C3b に結合し、親和性はそれぞれ 15.6 及び 21.3 nmol/L であることを示した（図 2.6.2.2-1）。

特に、ペグセタコプラン及び C3/C3b との間の結合化学量論値は 0.5 であり、ペグセタコプラン 1 分子に C3 又は C3b の 2 分子、各ペプチドドメインに 1 分子が結合できることを示している。

図 2.6.2.2-1 ペグセタコプランはヒト C3 及び C3b に nmol/L 濃度の親和性で結合する



C.

Ligand	C3 K_D nM	C3 *N*	C3b K_D nM	C3b *N*
Pegcetacoplan	15.6	0.517	21.3	0.518

Representative ITC spectrogram and fit integrated data titrating 20 µmol/L pegcetacoplan into A. 4 µmol/L C3 or B. 4 µmol/L C3b. C. Summary of pegcetacoplan binding to C3 and C3b, 3 separate results for C3 and C3b.

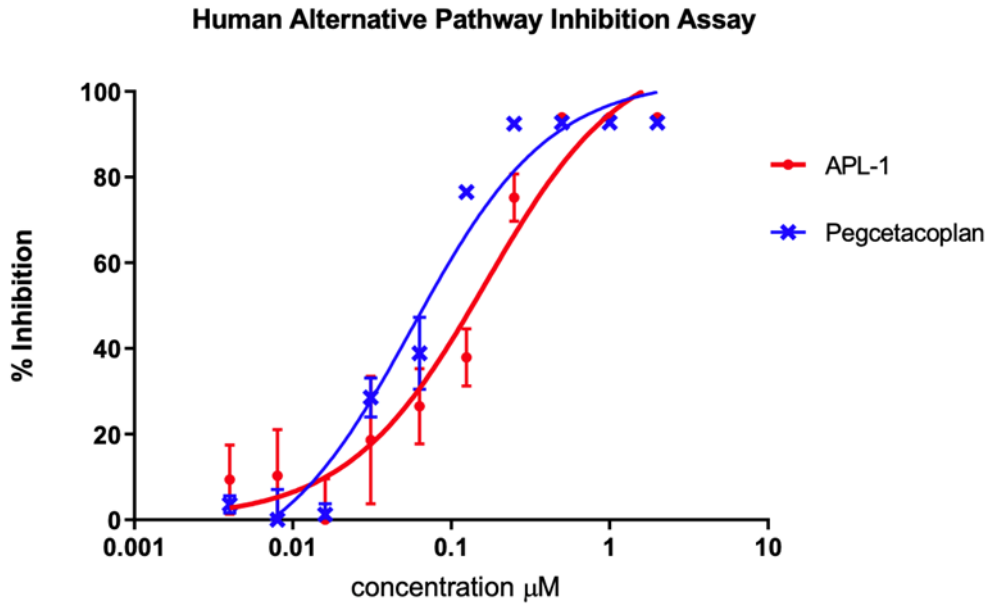
2.6.2.2.1.2 ペグセタコプランの補体阻害活性［19CFPH-001 試験］

ペグセタコプランの *in vitro* 生物活性は酵素結合免疫吸着測定（ELISA）に基づく Wieslab アッセイで評価した。種々の濃度のペグセタコプランと予めインキュベートしたヒト血清を第二補体経路の活性化物質を固定したマイクロウェル内に添加した。補体活性化は末端補体複合体上のネオエピトープである C5b-9 の検出により吸光度として測定した（図 2.6.2.2-2）。

ペグセタコプランの *in vitro* での阻害活性［50%効果濃度（EC_{50}）は約 50 nmol/L］が、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 PEG 化ペプチド配列（図内では APL-1 として表記）に相当するのは注目に値する。このことは、この非 PEG 化ペプチド配列がペグセタ

コプランを形成するのに PEG 化されても活性を僅かに低下する又は全く低下しないことを示している。

図 2.6.2.2-2 ヒト血清において APL-1 及びペグセタコプランは第二経路の補体活性化に対して類似の阻害作用を示す。



	APL-1	Pegcetacoplan
EC50 (uM)	0.1648	0.05695

Quantification of dose-dependent APL-1 and pegcetacoplan inhibition of alternative pathway activation in human serum by lipopolysaccharides (LPS) as measured by the ELISA-based Wieslab assay; all data points in triplicate ± standard error (SE).

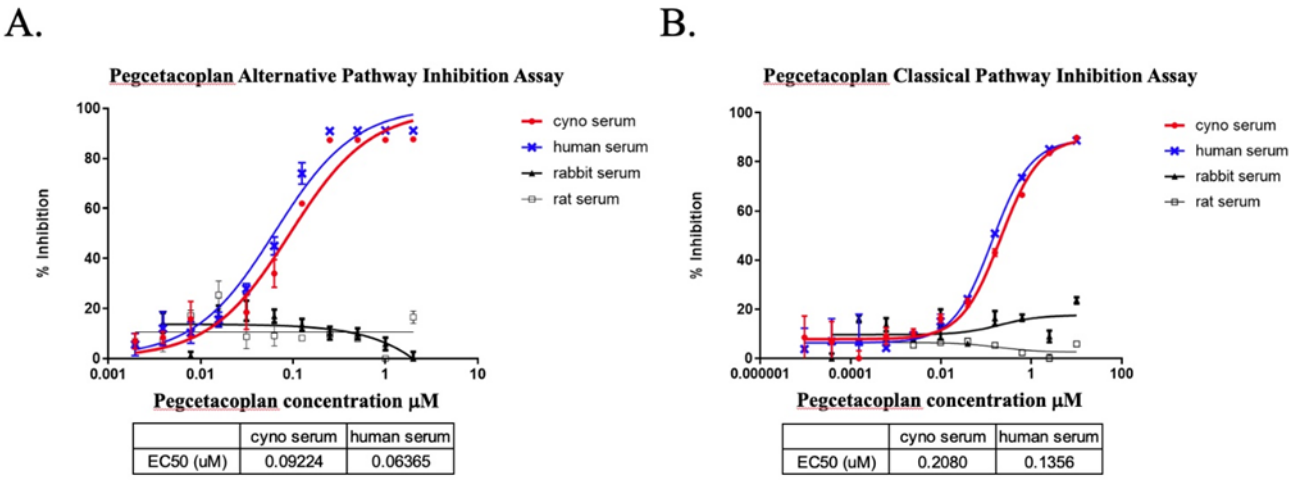
2.6.2.2.1.3 ペグセタコプランの種特異性［19CFPH-001 試験］

コンプスタチンは霊長類に非常に特異的な生物活性を有していることが知られているので、ペグセタコプランの阻害活性を種々の霊長類及び非霊長類由来の血清を用いて古典及び第二補体経路の Wieslab ELISA アッセイで評価した。

種々の濃度のペグセタコプランと予めインキュベートしたヒト、カニクイザル、ウサギ及びラットの血清を古典又は第二補体経路の活性化物質を固定したマイクロウェル内に添加した。ウェル内で血清をインキュベートしている間に一方の補体経路は特異的なコーティングにより活性化し、下流のエフェクターである C5b-9 が形成された。補体活性化は末端補体複合体上のネオエピトープである C5b-9 の検出により吸光度として測定した。

予期したように、ペグセタコプランはヒト及びカニクイザル由来の血清における古典及び第二経路の活性化を濃度依存的に阻害したが、非霊長類由来の血清においていずれの経路の活性化も顕著には阻害しなかった（図 2.6.2.2-3）。

図 2.6.2.2-3 ペグセタコプランの活性はヒト及び非ヒト霊長類由来の血清に特異的である



	cyno serum	human serum
EC50 (uM)	0.09224	0.06365

	cyno serum	human serum
EC50 (uM)	0.2080	0.1356

Quantification of concentration-dependent pegcetacoplan inhibition of A. alternative, and B. classical pathway activation by LPS or human immunoglobulin (Ig)M, respectively, in serum from cynomolgus monkey (cyno), human, rabbit or rat measured by the ELISA-based Wieslab Assay, all data points in triplicate ± SE.

本結果は図 2.6.2.2-2 の結果と一致しており、コンプスタチン誘導体のペグセタコプランは非霊長類で顕著な薬理反応を誘導しないとの結論を支持する。

2.6.2.2.2 *In vivo* 薬理作用

2.6.2.2.1.3 で示したように、ペグセタコプランはコンプスタチンの種選択性［Sahu et al., 2003］を保持している。APL-2 の種特異性に基づき、*in vivo* 薬力学評価はカニクイザルを用いて実施し、げっ歯類を用いた薬理試験は実施しなかった。

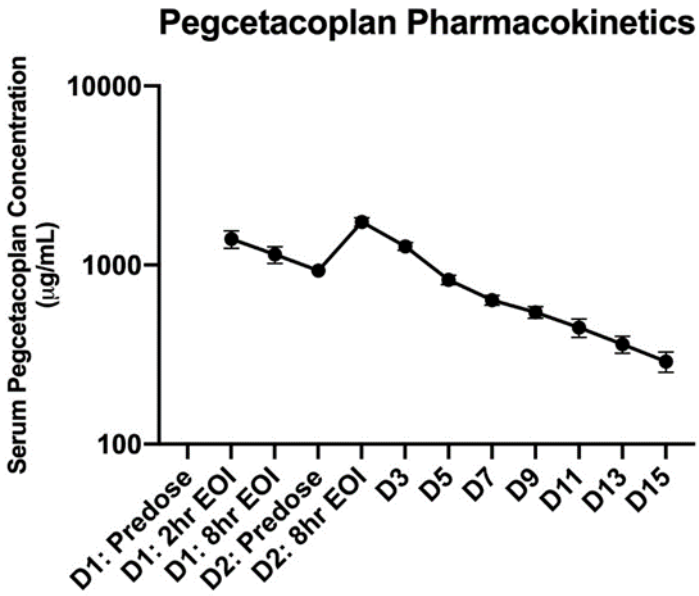
2.6.2.2.2.1 カニクイザルを用いたペグセタコプラン静脈内持続投与による *in vivo* 補体活性化阻害作用［16CATX-003 試験］

ペグセタコプランの薬力学作用を評価するために、毎日 2 日間 84 mg/kg を 60 分間静脈内持続投与した 6 匹の雌カニクイザルを用いて CH50 及び AH50 アッセイ及び C3 開裂産物である C3a 値により補体溶血活性に対する機能を測定した。さらに、C3 値は標的関与のシグナルとしてモニターした。

15 日間の試験期間の第 1 日及び第 2 日の朝にペグセタコプラン 84 mg/kg を 6 匹のカニクイザルへ静脈内投与した。血清中薬物濃度は液体クロマトグラフィータンデム質量分析（HPLC-MS/MS）で測定した。補体溶血活性の定量は投与前値に対する百分率として示し、CH50 及び AH50 アッセイで測定した。CH50 及び AH50 は、それぞれ抗体でコートしたヒツジ赤血球及びウサギ赤血球が細胞表面上の補体活性化により溶血することに基づいた溶血アッセイにより測定した。補体 C3a タンパク質及び C3 タンパク質はそれぞれ ELISA（Quidel）及び SPA Plus 上の比濁免疫アッセイで測定した。2 種類の製剤で実施したが、両群間の薬物動態及び薬理作

用は同等であったので、両群のデータを合わせて本解析を実施した。血清中最高濃度は第 2 日の投与後 8 時間で認められ、第 15 日まで緩やかに濃度は低下した。

図 2.6.2.2-4 カニクイザルに 2 日間毎日 60 分間静脈内持続投与した後のペグセタコプランの血清中濃度

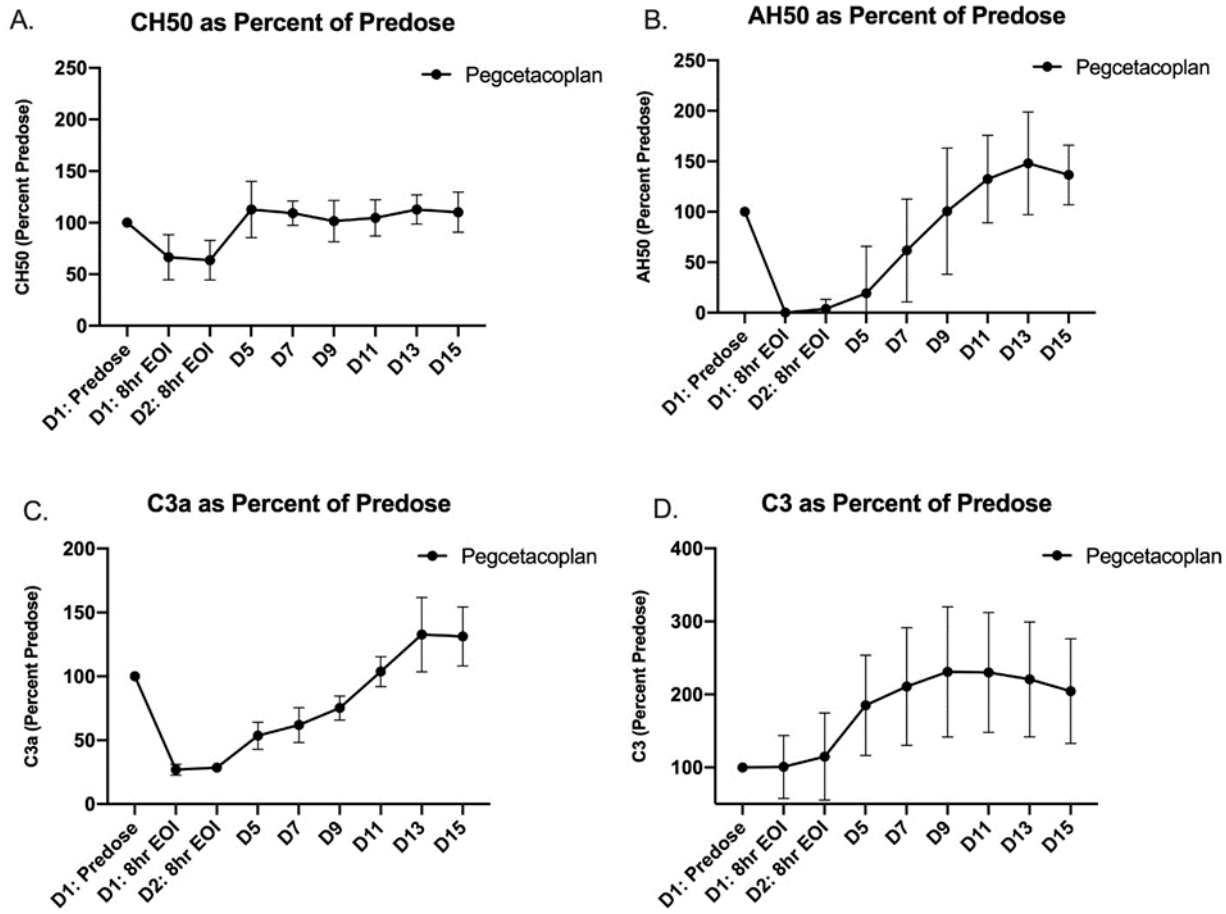


Serum concentrations of pegcetacoplan (µg/mL) were measured longitudinally following IV infusion on Day (D) 1 and Day 2. The quantitation limit of the LC-MS/MS bioanalytical assay was 1.00 µg/mL. Data shown as the mean of N = 6 female animals [±standard deviation (SD)].
Abbreviations: EOI = end of infusion

静脈内持続投与後、血中の C3 値が増加し、C3 開裂産物である C3a 値が減少したことからも明らかなように、ペグセタコプランは C3 に結合した。同時にペグセタコプランは速やかで継続的に AH50 及び CH50 溶血活性を阻害した。CH50 及び AH50 補体溶血アッセイ並びに C3a 値は最初の 48 時間以内に減少し、AH50 及び C3a に対するペグセタコプランの作用は、ベースラインに戻る前に少なくとも投与後 5 日間は継続していた（図 2.6.2.2-5）。こうした結果からこれらの動物において第二経路及び古典経路の補体活性化の両方を広範に阻害することが示された。

ペグセタコプランが全個体ではないが、複数の動物から排泄された後に、僅かであり、統計学的には有意ではないが AH50 及び C3a がベースラインを超えたリバウンドが認められたのは注目に値する。本観察結果は臨床試験で健常人にペグセタコプランを単回静脈内投与した時に認められた結果と合致しており、その臨床試験では有害な臨床結果は認められなかった［APL2-CP-HV-401 試験］。

図 2.6.2.2-5　カニクイザルに 2 日間毎日 60 分間静脈内持続投与した後のペグセタコプランは補体活性化及び C3 開裂を阻害する



A and B. Quantification of complement hemolytic activity (represented as percentage of pre-dose level) by CH50 and AH50 respectively. C. Quantification of complement C3a protein as measured by ELISA (Quidel); and D. Quantification of complement C3 protein as measured by turbidimetric immunoassay on the SPA Plus (Binding Site). Pegcetacoplan (80mg/kg, IV) was administered once on D1 and again on D2. Data shown are normalized to pre-pegcetacoplan dosing values and are the mean of N = 6 female animals (±SD).

CH50: The CH50 is a functional assessment of the overall hemolytic activity of the complement system, with the classical pathway being considered the most active pathway in this assay and the one responsible for most of the observed hemolytic activity. As such, if complement inhibition occurs in the animal, the CH50 will decrease due to the decreased hemolytic activity of the complement system.

AH50: The AH50 assay is a functional measure of the hemolytic activity of the complement system when the classical and lectin C3 convertases are inactivated, leaving intact only the hemolytic activity derived from the alternative pathway. Similar to the CH50, if inhibition of the alternative pathway occurs in the animal, the AH50 will decrease due to the decreased hemolytic activity of the complement system.

C3a: C3a is cleaved from C3 during activation of complement and is an important proinflammatory anaphylatoxin with a relatively short half-life. A decrease in C3a would indicate acute inhibition of C3 cleavage.

C3: The formation of pegcetacoplan:C3 complex is expected to impact PK properties of C3, leading to either an increase (if the drug:C3 complex possesses slower clearance than free C3) or decrease (if the drug:C3 complex possesses faster clearance) in circulating C3.

Abbreviations: EOI = end of infusion

2.6.2.3　副次的薬理試験

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薬理作用は特に評価していない。しかし、APL-1（APL-2 の PEG ペプチドが結合していないドメインでその生物活性に関与してお

り、加齢黄斑変性治療薬として研究されている）を含めて、コンプスタチン及びその誘導体のオフターゲット作用について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 部分は生物学的に不活性であることが知られている。PEG に関連したオフターゲットによる薬理作用は多くの市販されている PEG 化薬剤で認められていない［Ivens et al., 2015］。こうした観察結果、下記 2.6.2.4 で議論したデータ及び結果並びにペグセタコプランのヒト臨床試験で認められた標的の関与及び安全性プロファイルに基づき、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。

2.6.2.4　安全性薬理試験

ペグセタコプラン（及び PEG40 は表示部分で）は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従い *in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施した。具体的には、ペグセタコプランの hERG がエンコードしたイオンチャネルに対する阻害作用の評価試験［13ZTX-001 試験］並びにヒト評価試験の動物種として適切なサルを用いて単回皮下投与による心血管及び呼吸器機能試験［13CATX005 試験］を実施した。

2.6.2.4.1　*In vitro* 安全性薬理試験［13ZTX-001 試験］

ペグセタコプラン又は PEG40 が hERG イオンチャネルを *in vitro* で阻害するか、遺伝子導入して安定的に hERG メッセンジャーリボ核酸（mRNA）を発現しているヒト胎児腎臓（HEK）293 細胞を用いて評価した。その結果、300 µmol/L の濃度範囲までペグセタコプラン及び PEG40 は hERG 電流振幅の減衰とわずかに関連したか又は全く関連が認められなかった。同様の結果はペグセタコプラン及び PEG40 の両者ともヒト血清アルブミンの存在下でも認められた。ペグセタコプランは hERG イオンチャネル阻害活性を有さず、したがって、hERG（I_{Kr}）関連の不整脈リスクを有する可能性は低いと結論付けた。

2.6.2.4.2　*In vivo* 安全性薬理試験［13CATX005 試験］

ペグセタコプラン及び PEG40 の *in vivo* 作用は覚醒下のカニクイザルを用いて遠隔測定法で評価した。サルにおけるペグセタコプランの比較的長期の半減期（約 7.5 日）を考慮すると、ペグセタコプラン投与群間で必要とされるウォッシュアウト期間が長いため、ラテン方格クロスオーバー試験デザインは実用的ではなかった。長期のウォッシュアウト期間を避けつつ、その代わりに十分な匹数の動物を用いて、対照物質（PEG40）及びペグセタコプラン 2 用量における心血管及び呼吸器に対する作用を評価できる複合型デザインを利用した。単回皮下投与したペグセタコプラン（140 mg/kg まで）及び PEG40（112 mg/kg）は体温、血流動態、心電図及び呼吸パラメータに対して影響を及ぼさなかった。中枢神経系に関しては、ペグセタコプランに対する薬理活性を示した動物種であること及び非臨床安全性薬理試験評価で通常用いられる動物種であることから、カニクイザルを本試験用動物種として選択した。さらに、カニクイザ

ルは毒性試験の評価にも用いた。しかし、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。

以下に中枢神経系に関する毒性試験のまとめを示す（表 2.6.2.4-1）。

表 2.6.2.4-1 中枢神経系に関する毒性試験のまとめ

性別及び例数／群	投与経路	投与量 (mg/kg/day)	溶媒	投与期間	測定項目			試験番号
					一般状態 Cage side observations[a]	自発運動量	体温	
M:4	SC	28 ,140	5% dextrose	1 day	Y	N	Y	13CTAX005
M:1 F:1	SC	20	5% dextrose	7 days	Y	N	N	13CATX002[b]
M:3[c] F:3[c]	SC	0, 7, 28, 140	5% dextrose	28 days	Y	N	N	13CATX004
M:3 F:3	SC/iv[d]	0,0.25, 1, 3,42[d]	5% dextrose	28 days[d]	Y	N	N	14CATX002
M:3 F:3	SC	28	5% dextrose	28 days	Y	N	N	14CATX005
M:6 F:6	SC	0, 1, 7, 28	5% dextrose	273 days	Y	N	N	15CATX-004
M:3 F:3	SC	0, 28 Non-degraded Heat-degraded	4.1% sorbitol in 10mM sodium acetate buffer, pH 5.0±0.1	28 days	Y	N	N	19CATX-003
F:5	SC	0[e], 28	5% dextrose	GD 20 to GD 140	Y	N	N	17CATX-001[b]
F:19[f]	SC	0[g], 7, 28	5% dextrose	GD 20-22 until parturition	Y[f]	N	N	18CATX-001

a: not performed with FOB nor Irwin test, b: non-GLP study, c: for recovery study, M:2, F:2, d; intravenously administered 42 mg/kg on day1&15, e: F:3, f: for infants, neurobehavioral test battery was performed on BD7 and BD14: righting, palmar grasp, clasp-grasp, visual following, prone progression, lipsmack orient, oral reflexes (rooting, sucking, snout reflex), eye reflexes (pupil constriction, nystagmus, glabellar tap), moro reflex, negative geotaxis, and buildup (increasing arousal levels in response to manipulation), g: F:20.
GD = gestational day, M = male, F = female, Y = performed, N = not performed.

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

現時点まで非臨床の薬力学的薬物相互作用試験は実施されていない。しかし、一連の代謝アッセイによりペグセタコプランがヒトシトクロム 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］。臨床では、ペグセタコプランは C5 阻害剤であるエクリズマブが同時に処方されている患者に投与されてきた。エクリズマブは補体溶血活性に対する強い阻害作用を有する。補体系の活性に対するエクリズマブとペグセタコプランの相互作用に関する議論は［2.7.2］に示した。

2.6.2.5.1 C5 阻害剤とペグセタコプランの相互作用

ペグセタコプランと C5 阻害剤の併用、すなわち、市販のモノクローナル抗体であるエクリズマブ及びラブリズマブとの併用は動物で評価していない。2.6.2.2.1.3 で言及したように、ペグセタコプランは霊長類のみに薬理学的活性を示す。一方、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。サル C5 へ結合能を示す抗 C5 モノクローナル抗体を標識投与量で使用しても、エクリズマブ及びラブリズマブの実際の臨床薬理作用の評価に対する限定的な妥当性しか得られない。

生物学的にペグセタコプランはヒト C3 及び C3b タンパク質に結合し、それによって C3 レベルで補体経路を阻害し、C5 の開裂及び MAC の形成等、全下流経路のエフェクター機能を防ぐ。したがって、高用量のペグセタコプランは効果的に C3 及び C5 両方の開裂を防ぐなど、C5 への直接的な阻害が不要となる方法で補体経路に対する広範な制御を発揮する。そのため、ペグセタコプランの高用量（140 mg/kg/日、28 日間投与）での毒性評価には効果的に C3 及び C5 の両方の開裂を阻害することも含まれていると考えられる。本投与量で過剰な補体阻害に関連した有害作用は認められず、C3 及び C5 阻害剤を臨床用量で併用しても追加の毒性作用が惹起される可能性は低いことが示唆される。

臨床では、ペグセタコプランは C5 阻害剤のエクリズマブと併用して 1 年間を超えて処方されてきた［モジュール 2.5］。ペグセタコプランとエクリズマブとの相互作用に関連する安全性に関する臨床所見は認められていない。

薬物動態（PK）分析［2.7.2］に基づき、エクリズマブとの併用はペグセタコプランの PK パラメータに統計学的に有意な影響を示さないことが推定された。

2.6.2.6 考察及び結論

ペグセタコプランの生物活性ペプチドドメインはコンプスタチンに基づいており、コンプスタチンは 13 アミノ酸から成る環状ペプチドで、ヒト C3b に対するペプチドリガンドを見つけ

るために実施したファージディスプレイ試験により 1990 年代に発見された［Sahu et al., 1996］。コンプスタチンは C3、C3b 及び C3c に結合し、補体活性化を *in vitro* で阻害することが示された。本生物活性は霊長類の血清に特異的に制限されていることも確認された［Sahu et al., 2003］。

2007 年に C3 のコンプスタチン結合領域は C3c と ac-コンプスタチンの複合体の結晶構造により同定された［Janssen et al., 2007］。本結合領域は C3、C3b、C3c に存在し、C3d といった他の C3 フラグメントには存在しないことが確認されている。結晶構造から C3c の Gly-345、His-392、Pro-393、Leu-454 及び Arg-459 のアミノ酸残基は全て広範囲にわたって根本との相互作用に関与していることが判明した。これらのアミノ酸残基は霊長類の C3 では保存されているが、他のほ乳類では保存されておらず、コンプスタチンの補体阻害特性で観察された種特異性を支持する［Janssen et al., 2007］。

ペグセタコプランはヒト C3 及び C3b に結合する PEG 化されたペプチドで、霊長類の補体系を選択的に阻害する。こうした広範な結合特性により、補体経路の異なる点を阻害することによる複数の活性化経路の補体阻害をもたらす。カニクイザルを用いた試験により、補体活性化産物の C3a の減少が測定されているように、ペグセタコプランは第二経路及び古典経路の補体溶血活性及び C3 開裂を阻害した。特に、ペグセタコプラン投与により循環血中の C3 量が増加しており、本薬の標的である C3 が本薬の薬効へ関与していることが確認された。また、C3 ペグセタコプラン複合体の一部である C3 のクリアランス率低下が示唆された。

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。また、市販されている複数の PEG 化薬剤でオフターゲット作用は認められていない［Ivens et al., 2015］。したがって、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と考えられてきた。

ペグセタコプランには hERG イオンチャネル阻害機構の作用はなく、hERG（I_{Kr}）関連の不整脈発生リスクは想定されない。同様に、単回皮下投与のペグセタコプラン（140 mg/kg まで）及び PEG40（112 mg/kg）は、体温、血流動態、心電図及び呼吸パラメータに影響を及ぼさなかった。特定の神経行動学的機能の試験は実施しなかった。しかし、ペグセタコプランはサルの脳へは分布せず［17MTX-001 試験］、毒性試験プログラムを通じた一般状態の所見から、神経行動学的機能を妨げる事を示唆する所見は認められないことが判明した。上記に示した薬理試験結果から、ペグセタコプランは霊長類において古典経路及び第二経路の補体活性を阻害するのに効果的な補体 C3/C3b 結合剤であり、心血管系への有害な作用を有する顕著なリスクはない。

現在まで非臨床の薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。しかし、一連の代謝アッセイでヒトシトクロム P450 酵素又は薬物トランスポーターに影響を与える可能性は低く、補体系を標的としていない薬剤との薬力学的薬物相互作用及び薬物動態学的薬物相互作用はあまり意味がないことが示唆される［2.6.4］。C5 阻害剤であるエクリズマブ及びラブリズマブはヒト C5 に特異的であり、サルを含めて他の種では薬理活性を示さない、したがって、非臨床条件で

エクリズマブ又はラブリズマブとペグセタコプランを併用投与して毒性、薬物動態及び薬理作用での相互作用を効果的に評価するための適切な動物モデルは存在しない。

2.6.2.7 図表

図表は本文中に示した。

2.6.2.8 参考文献

Ivens IA, Achanzar W, Baumann A, et al. PEGylated biopharmaceuticals: current experience and considerations for nonclinical development. Toxicol Pathol. 2015; 43(7): 959-83. doi: 10.1177/0192623315591171.

Janssen BJ, et al. Structure of compstatin in complex with complement component C3c reveals a new mechanism of complement inhibition. J Biol Chem. 2007;282(40):29241-7.

Kolev M, Le Friec G, Kemper C. Complement-tapping into new sites and effector systems. Nat Rev Immunol. 2014;14(12):811-20. doi: 10.1038/nri3761.

Risitano AM, Notaro R, Marando, L, et al. Complement fraction 3 binding on erythrocytes as additional mechanism of disease in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients treated by eculizumab. Blood. 2009;113(17):4094-100. doi: 10.1182/blood-2008-11-189944.

Sahu A, et al. Compstatin, a peptide inhibitor of complement, exhibits species-specific binding to complement component C3. Mol Immunol. 2003;39(10):557-66.

Sahu A, Kay BK, Lambris JD. Inhibition of human complement by a C3-binding peptide isolated from a phage-displayed random peptide library. J Immunol. 1996;157:884-91.

Xu H, Chen M.Targeting the complement system for the management of retinal inflammatory and degenerative diseases. Eur J Pharmacol. 2016;787:94-104. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.03.001.

目次

2.6.3　薬理試験概要表....2
2.6.3.1　薬理試験：一覧表....2
2.6.3.2　効力を裏付ける試験....4
2.6.3.3　副次的薬理試験....6
2.6.3.4　安全性薬理試験....7
2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験....8

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test Article: Pegcetacoplan (APL-2)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	CTD Location
Primary Pharmacodynamics					
Isothermal titration calorimetry: C3 and C3b proteins	Isothermal titration calorimetry	*In vitro*	[redacted], USA	18XTPH-001	4.2.1.1-1
Inhibition of the alternative and classical pathways of complement activation	Wieslab complement system alternative pathway kit; Eagle Bioscience; Wieslab complement system classical pathway kit; Eagle Bioscience	*In vitro*	[redacted], USA	19CFPH-001	4.2.1.1-2
Pharmacokinetics and pharmacodynamics following two intermittent 1-hour intravenous infusions	Cynomolgus monkeys	IV	[redacted] USA	16CATX-003	4.2.2.7-1
Secondary Pharmacodynamics					
Secondary pharmacodynamics studies have not been conducted					

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	CTD Location
Safety Pharmacology					
In vitro effect on hERG current (IKr) expressed in HEK 293 cells[a)]	Patch-clamp assay	*In vitro*	[redacted] USA	13ZTX-001	4.2.1.3-1
Cardiovascular and respiratory safety pharmacology assessment[a)]	Cynomolgus monkeys	SC	[redacted] USA	13CATX005	4.2.1.3-2
Pharmacodynamic Drug Interactions					
Pharmacodynamic drug interaction studies have not been conducted					

a) The study contains a GLP compliance statement.

Abbreviations: C3/3b = complement component 3/3b; [redacted] = [redacted]; CTD = common technical document; GLP = Good Laboratory Practice; HEK = human embryonic kidney; hERG = human ether-a-go-go-related gene; IV = intravenous; SC = subcutaneous.

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

Test Article: Pegcetacoplan (APL-2)

Type of Study / Study Title	Species / Strain Matrix (where appropriate)	Method of Admin.	Doses / Concentrations	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Isothermal titration calorimetry: C3 and C3b proteins	Pegcetacoplan (APi1514)	*In vitro*	20 or 40 µmol/L working concentrations	N/A	Pegcetacoplan (APi1514) was determined to bind both human C3 (K_D 15.6 nmol/L) and human C3b (K_D 21.3 nmol/L) proteins with nanomolar affinities.	18XTPH-001
Inhibition of the alternative and classical pathways of complement activation	Serum from: Monkey / Cynomolgus, Rat / SD Rabbit / NZW Human	*In vitro*	Alternative pathway: 0.002 – 2 µmol/L Classical pathway: 9.5×10^{-6} – 10 µmol/L	N/A	Pegcetacoplan showed potent inhibition in monkey and human serum of alternative and classical pathways activation. However, a lack of inhibition was observed in rat and rabbit serum. Pegcetacoplan was shown to have inhibitory activity following classical and alternative pathways activation with EC_{50}'s of 136 nmol/L and 64 nmol/L respectively in human serum.	19CFPH-001

Type of Study / Study Title	Species / Strain Matrix (where appropriate)	Method of Admin.	Doses / Concentrations	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Pharmacokinetics and pharmacodynamics following two intermittent 1-hour intravenous infusions	Monkey / Cynomolgus	IV (60 minute infusion)	84 mg/kg (Day 1 and Day 2)	Female / 6	After IV infusion(s), pegcetacoplan bound to C3, as evidenced by increased C3 levels in blood and decreased levels of the C3 breakdown product C3a. Concurrently, pegcetacoplan rapidly and consistently inhibited AH50 and CH50 hemolytic activity. CH50 and AH50 complement hemolytic assays and C3a levels decreased within the first 48 hours, with the effect of pegcetacoplan on AH50 and C3a persisting at least 5 days post-dose before returning towards baseline thereafter.	16CATX-003

APi1514 = Pegcetacoplan for study 18XTPH-001

Abbreviations: AH50 = alternative complement pathway hemolytic activity; CH50 = total hemolytic complement activity; C3/3b = complement component 3/3b; EC = effective concentration; IV = intravenous; N/A = Not applicable; NZW = New Zealand White; SD = Sprague Dawley; K_D = dissociation constant.

2.6.3.3　副次的薬理試験

実施せず。

2.6.3.4 安全性薬理試験

Test Article: Pegcetacoplan (APL-2)

Organ Systems Evaluated	Species / Strain	Method of Admin.	Dose	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number
hERG / Patch clamp	HEK 293 cells	*In vitro*	Pegcetacoplan: 1-300 µmol/L PEG40: 1-300 µmol/L	Pegcetacoplan: 5 or 6 replicates PEG40: 5 or 6 replicates	Little or no reduction in hERG current amplitude over a concentration range of 1 µmol/L to 300 µmol/L.	Yes	13ZTX-001
Cardiovascular system	Monkey / Cynomolgus	SC	Pegcetacoplan: 28, 140 mg/kg PEG40: 112 mg/kg	Male / 4 per Pegcetacoplan group; Male / 8 for PEG40 group	There were no test article related changes in hemodynamic or electrocardiographic parameters.	Yes	13CATX005
Respiratory system					There were no test article related changes in respiratory parameters.		
Central nerve system							
No specific CNS safety pharmacology studies were performed in cynomolgus monkeys, since that is normally performed in rodents (in which pegcetacoplan is not pharmacologically active). Clinical observations throughout the toxicology program revealed no signal to suggest disturbed neurobehavioral function (13CATX005, 13CATX002, 13CATX004, 14CATX002, 14CATX-005, 15CATX-004, 19CATX-003, 17CATX-001, 18CATX-001). The experimental conditions and noteworthy findings of each toxicological study are summarized in 2.6.7							

Abbreviations: GLP = Good Laboratory Practice; HEK = human embryonic kidney; hERG = human ether-a-go-go gene; PEG40 = polyethylene glycol 40; SC = subcutaneous.

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

実施せず。