Ropeginterferon alfa-2b
ベスレミ皮下注 250 μg シリンジ
ベスレミ皮下注 500 μg シリンジ

第 2 部 CTD の概要

2.4 非臨床試験の概括評価

ファーマエッセンシアジャパン株式会社

略号一覧表

略語・用語	内容
ADA	抗 P1101 抗体
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血清中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}$	0 時間から無限大時間までの血清中濃度－時間曲線下面積
AUC_{last}	0 時間から最終濃度測定可能時間までの血清中濃度－時間曲線下面積
BUN	血中尿素窒素
BUN/C	血中尿素窒素/クレアチニン比
CHO	チャイニーズハムスター卵巣
CL	クリアランス
CL/F	見かけのクリアランス
C_{max}	最高血清中濃度
CYP	チトクローム P450
ECG	心電図
ELISA	酵素結合免疫吸着測定法
EMA	欧州医薬品庁
ET	本態性血小板血症
FDA	米国食品医薬品庁
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
ICH	医薬品規制調和国際会議
IFN	インターフェロン
MoE	曝露量比
mPEG	メトキシポリエチレングリコール
MPNs	骨髄増殖性腫瘍
mRNA	メッセンジャーリボ核酸
MRT_{last}	0 時間から最終濃度測定可能時間までの平均滞留時間
NOAEL	無毒性量
OAS	2’,5’-オリゴアデニル酸合成酵素
OECD	経済協力開発機構
PEG	ポリエチレングリコール
PK	薬物動態
PD	薬力学
PMDA	独立行政法人医薬品医療機器総合機構
PMF	原発性骨髄線維症
PV	真性多血症
P1101	ropeginterferon alfa-2b; AOP2014
SEC-HPLC	サイズ排除クロマトグラフィー
$t_{1/2}$	終末相消失半減期
TK	トキシコキネティクス
V_z	終末相における分布容積
WHO	世界保健機関
ペグ化 IFNα-2a	ペガシス
ペグ化 IFNα-2b	ペグイントロン

目次

2.4 非臨床試験の概括評価.....1
略号一覧表.....2
目次.....3
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
2.4.2 薬理試験.....6
2.4.2.1 効力を裏付ける薬理試験.....6
2.4.2.2 安全性薬理試験.....7
2.4.2.3 薬力学的薬物相互作用.....8
2.4.2.4 薬理試験の結論.....8
2.4.3 薬物動態試験.....10
2.4.3.1 分析法.....10
2.4.3.2 吸収.....11
2.4.3.3 代謝.....11
2.4.3.4 薬物動態の結論.....12
2.4.4 毒性試験.....12
2.4.4.1 反復投与毒性（重要な試験）.....12
2.4.4.2 ロット比較毒性試験.....13
2.4.4.3 遺伝毒性.....14
2.4.4.4 がん原性.....14
2.4.4.5 生殖発生毒性.....15
2.4.4.6 幼若動物を用いた試験.....15
2.4.4.7 免疫原性.....15
2.4.4.8 局所刺激性.....15
2.4.4.9 その他の毒性試験.....16
2.4.5 総括及び結論.....17
2.4.6 参考文献.....19

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

P1101 は、真性多血症（PV）治療薬として開発中のペグ化プロリンインターフェロン-2b 製剤（ropeginterferon alfa-2b; AOP2014）である。本剤は、IFNα-2b の N 末端にプロリン残基を付加し、当該プロリン残基に共有結合を介して約 40 kDa の二分枝型メトキシポリエチレングリコール（mPEG）を接合させた遺伝子組み換え IFNα-2b 製剤である。本剤の活性本体は IFNα-2b であるが、PEG と接合することで *in vivo* 安定性が改善されている。本剤は 2 週間ごとに月 2 回皮下投与される。100 µg を開始用量とし、患者の状態（効果と忍容性）に応じて最大 500 µg まで増量される。

PV は、血小板増加、白血球増加、赤血球増加、骨髄の線維化などを特徴とするフィラデルフィア染色体陰性の骨髄増殖性腫瘍（MPNs）の病型である。PV の軽度な症状として、頭痛、疲労、浮動性めまい、視力障害、回転性めまい、耳鳴り、そう痒や肢端紅痛症がみられるが、これらは非特異的で、血球数の増加に伴う血液粘度の上昇に関連している。PV では長期間に渡って衰弱が継続し，血栓や出血といった生命の危険な状態に陥る。また、骨髄線維症や二次性の急性骨髄性白血病に進展する可能性のある状態が長期間持続する[Griesshammer, 2015] [Stein, 2015]。

インターフェロン（IFN）α 及びペグ化 IFNα は、1980 年代後半から真性多血症（PV）治療薬として適応外で使用されており、多くの臨床試験により PV に対する治療的アプローチの有効性及び安全性が立証されている[Kiladjian, 2008] [Quintas-Cardama, 2009] [Stauffer Larsen, 2013]。IFNα-2b 又はペグ化 IFNα-2b を活性物質として含有する製品（例えば、それぞれイントロン®又はペグイントロン®）が既に承認されている。これらの製品は、海外では C 型肝炎及び数種類の腫瘍（ヘアリー細胞白血病、悪性黒色腫、濾胞性リンパ腫又は AIDS 関連カポシ肉腫等）治療への適用を有していることから，ヒトの PV 治療における IFNα-2b の安全な投与をサポートする広範囲な非臨床及び臨床データが利用可能である。なお、国内ではペグイントロンが C 型肝炎及び悪性黒色腫の効能又は効果を有している〔ペグイントロン®皮下注用 50 µg/0.5 mL 用添付文書、2021 年 4 月改定（第 2 版）〕。

したがって、P1101 の効力を裏付ける薬力学（PD）試験は P1101 の生物活性を示すことに焦点をあて、それを既承認のペグ化 IFNα-2a（ペガシス®）と比較した。また、一連の安全性薬理試験を実施し、心血管系、中枢神経系及び呼吸器系に対する P1101 の影響を検討した。

P1101 を用いた単独での薬物動態（PK）試験は実施しなかった。カニクイザルを用いた PK／PD 複合試験の一部として P1101 を単回投与後の血清中濃度プロファイルを評価した（2.6.2.2.1 項）。更に、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）下で実施されたカニクイザルを用いた毒性試験の一部として P1101 を反復投与後の PK／トキシコキネティック（TK）評価を行った（2.6.6.3 項）。また、*in vitro* 試験によりシトクロム P450（CYP）分子種に対する P1101 の誘導能及び阻害能を評価した（2.6.4.4.2 項）。

P1101 はバイオ医薬品に分類されることから、ICH S6 (R1)に記載されているバイオテクノロジー応用医薬品の非臨床安全性評価に関する要件及び勧告に基づき、非臨床安全性試験を計画した。

臨床使用を支持するために、カニクイザルを用いて P1101 の重要な毒性試験を実施した。また、カニクイザルを用いて 2 つの比較毒性試験を実施し、毒性試験で使用したロットと臨床試験で使用したロットを比較した。ラットを用いた毒性試験（用量設定試験）成績は、毒性試験で使用したロットには毒性学的に重要な不純物が含まれないことを裏付けるが、IFNα-2b はげっ歯類では生物学的に活性を持たないことから、P1101 の安全性評価としての意義は限られる。一方、独立

行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）との[redacted]相談（令和[redacted]年[redacted]月[redacted]日）において、[redacted]との指摘を受け、ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験を実施した。ICH S6 (R1)ガイドラインによると、医薬品に通常実施される範囲及び種類の遺伝毒性はバイオ医薬品には求められないが、P1101 については細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）及び CHO 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験を実施し、遺伝毒性を評価した。また、PMDA との[redacted]相談（令和[redacted]年[redacted]月[redacted]日）結果に基づき、生殖発生毒性評価の一環として、カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験を実施した。

すべての安全性薬理試験、カニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験及びロット比較試験、ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験並びに遺伝毒性試験は、米国連邦規則集 Part 58 の Title 21 に記載されているように米国食品医薬品庁（FDA）の非臨床試験 GLP に準拠して、またカニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令に準拠して実施した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける薬理試験

PV 患者の大部分（96%）において Janus 2 キナーゼの体細胞突然変異（*JAK2V617F*）がみられることから PV は本変異により誘発されると推測されており[Stein, 2015]、患者の多機能性造血幹細胞に本変異が生じると赤血球分化に異常が生じる[Jamieson, 2006]。本変異の他にも、低頻度の突然変異がいくつか発見されているが、本疾患の進行における役割は不明である。*JAK2V617F* がドライバー変異であることは、トランスジェニックマウスモデルにおいて対立遺伝子の一塩基変異のみで PV 疾患の表現型が付与されることから裏付けられている[Mullally, 2010]。突然変異造血幹細胞をマウスに移植すると PV 様疾患の発症がみられたのに対し、既に赤血球系列への分化が決定しているより後期の分化ステージの骨髄性前駆細胞を移植しても PV 様疾患が生じなかったこと[Mullally, 2010]から、突然変異造血幹細胞を特異的な標的にすることにより長期間な治療的恩恵が得られる可能性が示唆される。

PV における IFNα の有用性は広範囲な臨床データに基づいている。PV 患者を用いた多数の試験において、IFNα-2a 又は IFNα-2b の投与により血液学的及び分子レベルでの反応が高率で観察されている[Kiladjian, 2008][Quintas-Cadama, 2009][Stauffer Larsen, 2013]。

PV 治療において IFNα が臨床使用されているが、その作用機序にはいまだ不明な点が残されている。IFN の治療効果は、免疫系刺激作用などの IFNα の広範囲な生物活性を介するという説と共に、突然変異造血系細胞への直接作用も関与しているという説も提唱されている[Kiladjian, 2016]。*JAK2V617* 変異誘発 PV モデルマウスを用いた試験において、マウス IFNα-4 は、長期にわたって存在する変異造血系幹細胞が細胞分裂周期に入ることを誘導したことから、IFNα-4 は異常な造血系幹細胞の赤血球系への分化を促進することが示唆されている[Mullally, 2013]。IFNα は、変異造血系幹細胞の増殖や分化に複合的に作用することにより、異常な幹細胞プールの枯渇を促進するものと考えられる。本マウスモデルは、また、IFNα-2a 治療 PV 患者の一部で認められた *V617F* の遺伝子変異割合（アレルバーデン）の低下や血液学的反応の機序説明にも利用可能である[Kiladjian, 2008]。加えて、マウス IFNα-4 は *V617F* ノックインマウスにおいて、変異細胞のアポトーシスへの感受性を高め、また、正常幹細胞の細胞周期を進行させることにより *JAK2V617* 変異造血系幹細胞でみられる増殖的優位性を排除し、病態の進行を遅延させると考えられている[Hasan, 2013]。

PV 治療における IFNα の作用については既に多くの報告があることから、PV モデルを用いた P1101 の薬効評価試験は実施せず、P1101 の生物活性をカニクイザルで確認し、ペガシス®と比較した（PD／PK 複合試験：4.2.2.2.1 44104-08-242 試験）。

P1101 の 30 mg/mg の皮下投与により、IFNα により誘導され抗ウイルス反応に関与する 2’,5’-オリゴアデニル酸合成酵素（OAS）の血漿活性が誘導された。P1101 及びペガシスによって誘導される OAS 反応の強度及び反応速度は投与 6 日まで同程度であった。その後、ペガシス投与動物の OAS 活性は徐々に低下したのに対して、P1101 投与動物では投与 14 日の試験終了時まで OSA 活性は比較的安定的に持続した。このような全体的な PD 効果の持続性の差は、P1101 の活性成分である IFNα-2b とペガシスの活性成分である IFNα-2a との間の生物活性の違いに起因した。

要約すると、P1101 はカニクイザルにおいて IFN 投与と一致して PD 効果を引き起こし、この効果はペガシスと比較して強度的には同程度であり、持続性はより長かった。また、N 末に導入したプロリンのペグ化により IFNα-2b の生物活性が低下するような影響は受けなかった。

2.4.2.2 安全性薬理試験

安全性薬理試験として、*in vitro* hERG 試験（4.2.1.3.1 Study No.7975-106）、カニクイザルの心血管試験（4.2.1.3.2 Study No.2872-001）並びにラットの CNS 試験及び呼吸器系試験（それぞれ 4.2.1.3.3 Study No.2872/002 及び 4.2.1.3.4 No.2872/004）を実施した。

hERG 試験において、P1101 は、2.5 μM（50 μg/mL）で hERG 電流（テール電流振幅）を正規化対照に比べて 49.9%有意に阻害した。本試験で検討した 0.25 及び 2.5 μM の 2 濃度では、hERG チャンネル阻害作用の 50%阻害濃度（IC_{50}）は算出できなかったが、検討した最高濃度（2.5 μM、50 μg/mL）での阻害率（49.9%、最低値～最高値：42.9%～56.0%）が極めて 50%に近いため、2.5 μM を IC_{50} と仮定した。なお、仮定した IC_{50} は実際の IC_{50} よりも低いことから、この仮定により hERG 電流に対する P1101 の阻害ポテンシャルを過少評価することはないものと考えられる。

患者に皮下投与する P1101 の最高総用量は 500 μg を超えない予定である。最高臨床用量に匹敵する用量（450 μg）を用いた PK が PEGINVERA 臨床試験（2.7.2.2.3.1 項）で検討され、450 μg を皮下投与した患者（5 例）における平均血清 C_{max} は 48.64 ng/mL であった。なお、PEGINVERA 臨床試験（2.7.2.2.3.1 項）において 2 例にさらに高用量の 540 μg を投与したが、C_{max} 及び全身曝露量が 450 μg 投与患者のデータよりも低かったため、PK 解析には使用されなかった。450 μg を投与した患者での平均血清中 C_{max} は、前述の仮定 IC_{50}（2.5 μM：50 μg/mL）の 1/1028 であった。hERG 試験においてはより低濃度の 0.25 μM（5 μg/mL）で 10.8%の hERG 電流阻害作用がみられたが、本濃度と平均血清中 C_{max} の比較で 102.8 倍の安全域が認められた。なお、曝露量比較には遊離血漿中濃度ではなく総血清中薬物濃度を用いたため実際の安全域はより大きいと考えられる。

以上のように、P1101 の hERG チャンネル阻害作用が 2.5 μM で観察されたが、十分な安全域がみられたことから、患者の安全性上、致死性不整脈のリスクはほとんどないものと考えられる。また、P1101 は 40 kDa の巨大なポリエチレングリコール成分が共有結合したタンパク質であり、その大きさのため hERG チャンネルを阻害するとは考え難い。したがって、*in vitro* hERG 試験でみられた結果は、hERG チャンネルとの直接的な相互作用ではなくアーチファクトであると考えられる。

雄性カニクイザルを用いた心血管系安全性薬理試験（4.2.1.3.2 Study 2872-001）において、P1101 を 60 及び 600 μg/kg の用量で静脈内投与した。P1101 の 600 μg/kg の投与で 3/4 例に、60 μg/kg では 1/4 例にそれぞれ体温の一過性の上昇及び心拍数の上昇がみられたが、これらの変化は溶媒投与群でもみられたことから、有害な変化とは評価されなかった。心電図（ECG）パラメータに有害な変化はみられず、QT 間隔の延長も観察されなかった。本安全性薬理試験において PK データは測定しなかったが、カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性試験（4.2.3.2.4 Study 7975-101、2.6.6.3.4 項）で、同程度の用量での P1101 の血清中濃度が測定されている。本毒性試験の投与経路（皮下）は安全性薬理試験（静脈内）とは異なるが、カニクイザルにおける P1101 皮下投与時のバイオアベイラビリティが約 80%と推定されること（2.6.4.4.3 項）を考慮すると、本毒性試験の PK データは安全域の評価に補助的に利用できる。また、本毒性試験には ECG による心機能の評価が含まれており、最高 6.75 mg/kg の投与量まで有害な変化は観察されなかった。動物及びヒトの血清中 P1101 濃度の比較を表 2.4-1 に示した。カニクイザルの血清中濃度はヒトの血清中濃度をはるかに超えており、非常に大きな安全域が示された。なお、カニクイザルとヒト間で P1101 の血漿及び／又は血清タンパク結合に大差はないと予測されるため、遊離血漿中濃度ではなく血清中濃度を使用した。タンパク結合（非結合 P1101 濃度）にたとえ差があったとしても、その大きな安全域により補えるものと考えられる。

表 2.4-1　カニクイザルとヒトの血清中濃度の比較

用量	C_{max} [ng·mL] 雄/雌	曝露量比（Multiple of Exposure）[a] 雄/雌
Day 1 (0.675 mg/kg)	6488/8093	133/166
Day 1 (6.75 mg/kg)	82713/81030	1701/1666

[a] カニクイザルを用いた 4 週間皮下投与毒性における初回投与後の血清中 C_{max} と臨床用量 450 mg 投与後のヒト C_{max} の平均値（C_{max} = 48.64 ng/mL）との比率として算出

ラットにおいて、P1101 の最高 20 mg/kg までの単回皮下投与により、中枢神経系及び体温に有害な影響はみられなかった。同様に、10 mg/kg の単回静脈内投与により、呼吸器系に有害な影響はみられなかった。なお、ヒト IFNα-2b はげっ歯類において生物活性を示さないことから、これらの成績をヒトに外挿することには限界がある。カニクイザルの毒性試験では、最高 6.75 mg/kg までの皮下投与において神経系又は呼吸器系への影響は認められなかった。この知見を支持するものとして、ペグイントロン投与カニクイザルの安全性薬理試験において「中枢神経系（カニクイザル、ラット）・・・呼吸器系（ラット）・・・に対して、本薬では試験に用いた用量において特記すべき事項は認められていない」との記載がある〔ペグイントロン皮下注用 50 μg/0.5 mL 用の審査報告書（平成 16 年 8 月 10 日）、p19)〕。IFN 投与患者においては神経系及び呼吸器系への有害事象が報告されており、これは Module 2.5 で議論されている。また、添付文書の重要な基本的注意欄に呼吸器症状及び精神神経症状発現の際の注意事項が記載されている〔ペグイントロン皮下注用 50 μg/0.5 mL 用添付文書、2021 年 4 月改定（第 2 版)〕。

2.4.2.3　薬力学的薬物相互作用

併用薬剤との相互作用可能性を検討するための薬力学試験は実施しなかった。

2.4.2.4　作用機序

IFNα-2b は、I 型 IFN 受容体（IFNAR1 及び IFNAR2 の複合体）に結合することにより細胞内シグナル伝達経路の Jak/STAT の活性化が起こり、各種細胞に種々の mRNA の転写が誘導され、細胞増殖抑制に関連する IFI-16 や NK 細胞増殖と LAK 活性増強に関連する ISG-15 等の IFN 誘導遺伝子の発現を介して、腫瘍細胞に対する直接的な増殖抑制作用（細胞周期の停止、細胞増殖の抑制、アポトーシスの誘導等）及び間接的な宿主の免疫機能増強作用（NK 細胞、LAK 細胞、細胞傷害性 T 細胞の活性化等）による抗腫瘍作用を示す。また、P1101 はマウスの BA-1 細胞（B 細胞性白血病細胞）及び BA-1 細胞移植マウスを用いて検討した結果、P1101（5μg/mL）皮下投与により STAT1 のリン酸化がみられ、rIFNα同様、アポトーシスを誘導して腫瘍細胞に対する直接的な増殖抑制作用を示した。BA-1 細胞移植マウスにおいて rIFNα よりも優れた腫瘍増殖抑制作用と生存期間延長作用を示したが、その効果には BA-1 細胞における IFNAR1 発現誘導の関与が示唆されている。

IFNαの投与によってマウスの JAK2V617F 陽性血液幹細胞が枯渇する可能性があること [Rao, 2021]、IFNα（本薬も含む）に対する感受性が JAK2V617F を発現した細胞株の方が野生型 JAK2 を発現した細胞株に比して高いこと [Verger, 2018]、本薬を用いた臨床試験においても JAK2V617F 変異量が明らかに減少していることから[Gisslinger, 2020; Edahiro, 2022]、本薬が PV 患者の腫瘍細胞に対する直接的な殺細胞効果と間接的な宿主の免疫増強という複合的機序によって有効性を示

すと考えられる。

2.4.2.5 薬理試験の結論

PV 治療における IFNα 使用の妥当性は豊富な臨床データから裏付けられている。その作用機序についてはこれまでに十分理解されてはいないものの、現在の知見からは、免疫刺激作用及び異常幹細胞の除去作用が治療効果に寄与しているという説が提唱されている。P1101 はカニクイザルに皮下投与後に活性を示し、ペガシスと同程度の効力でより長い持続性な効果を発揮する。P1101 の安全性薬理試験成績及び既承認の同種同効薬の非臨床データから、対象患者集団への P1101 の投与の安全性が支持された。

2.4.3 薬物動態試験

P1101 を用いた単独での薬物動態（PK）試験は実施しなかった。P1101 を単回投与後の血清中濃度プロファイルは、カニクイザルを用いた PK／PD 複合試験の一部として検討し、ペガシスのそれと比較した（4.2.2.2.1 Study No. 44104-08-242）。その結果を 2.6.2.2.1 項に示す。更に、反復投与後の PK／TK 評価は、カニクイザルを用いた 4 週間反復皮下投与毒性試験（4.2.3.2.4 Study No. 7975-101）及びカニクイザルを用いた 14 日間反復皮下投与によるロット比較毒性試験（4.2.3.2.5 Study No. 44103-08-300 及び 4.2.3.2.6 Study No. 7975-107）の一部としても検討し、それらの結果を 2.6.6.3.項に示した。P1101 の代謝に関する試験は実施しなかったが、CYP 分子種に対する P1101 の誘導能及び阻害能を *in vitro* 試験により評価した。

2.4.3.1 分析法

カニクイザルの血清中における P1101 濃度の定量及び抗 P1101 抗体（ADA）検出を目的とした免疫学的測定法のバリデーションを実施した。また、P1101 製剤を分析するために、それぞれサイズ排除クロマトグラフィー（SEC-HPLC）及び紫外吸光光度法に基づく分析法のバリデーションを行った。

上述の PK／PD 試験及び毒性試験における PK 又は TK 評価及び免疫原性評価のための生体試料分析、並びに P1101 製剤の分析は GLP 非適用下で実施された。なお、GLP 非適合であったことが、得られたデータの品質あるいは試験全体の信頼性に影響を及ぼすことはなかったと判断されている。分析法の詳細は 2.6.4.2 項を参照のこと。

カニクイザルの血清中 P1101 濃度を定量するための酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）のバリデーション報告書（4.2.2.1.1 Study No. MV 44108-08-18）に記載された結果は、本分析法により十分な真度、精度〔分析単位内（併行）精度及び分析単位間（室内再現）精度〕、希釈直線性（希釈の妥当性）、特異性、選択性、感度（範囲及び定量限界）及び安定性をもって測定できることを示している。したがって、本測定系はカニクイザルの血清中 P1101 濃度の検出及び定量法として妥当であると判断された。

カニクイザルの血清中抗 P1101 抗体を定性的に測定するためのスクリーニングアッセイに用いた ELISA 法（バリデーション試験報告書 4.2.2.1.2 Study No. MV 44108-08-19）は、十分な分析単位内及び分析単位間精度を示した。抗体陽性検体と陰性検体を判定するために、フローティングカットオフ値を設定した。本分析法は、カニクイザルの血清中抗 P1101 抗体を検出する目的に合致しており、かつ適していると考えられた。

また、カニクイザルの血清中中和抗体を定性的に測定するために、バリデーションされていない「細胞を用いた抗ウイルス中和バイオアッセイ」を世界保健機関（WHO）のプロトコール[WHO, 2003]に従って使用した。この方法で得られた測定結果は、補助的なデータと見なされる。

hERG アッセイに用いた P1101 製剤を分析するために、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC-HPLC）法のバリデーションを行った（4.2.2.1.3 Study No. PEC-V0002）。その結果、本分析法の十分な直線性、感度、真度及び精度が示された。

カニクイザルを用いた毒性試験における P1101 投与製剤を分析するために、紫外吸光光度法によるタンパク濃度の分析法バリデーションを実施した（4.2.2.1.4 Study No. PEC-V0004）。その結果、十分な直線性、真度及び精度が示された。本分析法は、投与製剤中のタンパク濃度を定量する目的に合致しており、かつ適していると考えられた。

2.4.3.2 吸収

カニクイザルを用いた PK／PD 複合試験（2.6.2.2.1 項参照）において P1101 又は既承認のペグ化インターフェロン α-2a であるペガシス®を 30 μg/kg の用量で単回皮下投与したとき、両薬剤の PK プロファイルは同様であり、血清中濃度の測定値に基づき得られた最高血清中濃度（C_{max}）、0 時間から無限大時間までの血清中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0-\infty}$）、0 時間から最終濃度測定可能時間までの平均滞留時間（MRT_{last}）、 終末相消失半減期（$t_{1/2}$）あるいは見かけのクリアランス（CL/F）などの PK パラメータの差は 20%以下であった。P1101 の C_{max} は 332.57 ± 22.94 ng/mL であり、投与後 33 ± 13.3 時間に到達した。血清中の曝露量〔0 時間から最終濃度測定可能時間までの血清中濃度－時間曲線下面積（AUC_{last}）〕は 56883.49 ± 3333.57 hr•ng/mL であった。$t_{1/2}$ 及び MRT_{last} は、それぞれ 66.06 ± 7.90 時間及び 120.87 ± 1.15 時間であった。また、P1101 を 30 μg/kg の用量で静脈内投与したときの終末相における分布容積（V_z）は 37.29 ± 4.54 mL/kg であり、P1101 が血管内コンパートメントに限局して分布することを示している。また、クリアランス（CL）は、0.41 ± 0.036 mL/hr/kg であった。P1101 を 30 及び 300 μg/kg の用量で皮下投与したときのバイオアベイラビリティを静脈内投与に対する相対値として算出すると、それぞれ 80%及び 42%であり、これらの値は既承認のペグ化インターフェロン α-2b であるペグイントロン®で報告されている数値（57~89%）[McDonald, 2010]のほぼ範囲内であった。ただし、抗薬物抗体が産生していた場合には PK プロファイルが影響を受けるため、これらのバイオアベイラビリティの値は正確でない可能性がある。

更に、カニクイザルを用いた 4 週間反復皮下投与毒性試験における PK／TK 評価から得られた主な知見は以下のとおりであった（2.6.6.3.4 項参照）。

- サルに P1101 を初回皮下投与したとき、全身曝露量パラメータ（C_{max} 及び AUC）は雌雄間で同様であった。
- 初回皮下投与したとき、C_{max} 及び AUC は用量に比例して増加した（線形性）。
- 反復投与後に全身曝露量パラメータが低下し、抗 P1101 抗体（中和抗体）の産生による影響が示唆された。

2.4.3.3 代謝

P1101 の活性部分であり、PEG に結合しているインターフェロン α-2b 分子はバイオテクノロジーを応用して産生されたヒト型タンパク質である。ICH S6 (R1)ガイドライン[ICH S6(R1) Guideline, 2011]に従い、タンパク質の代謝が小さなペプチド及びアミノ酸への分解であることは良く分かっていることから、P1101 の代謝を検討する試験は実施しなかった。

CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の酵素活性並びにメッセンジャーリボ核酸（mRNA）発現量について、P1101 の誘導能を 3 名のドナー由来のヒト初代培養肝細胞を用いて評価した（4.2.2.4.1 Study No. RD-S1909-12）。また、9 種類の CYP 分子種（CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A4）に対する P1101 の直接的及び時間依存的な阻害能についてもヒト肝ミクロソームを用いて評価した（4.2.2.4.2 Study No. 8417-482 及び 4.2.2.4.3 Study No. 8417-483）。これらの in vitro 試験の結果、P1101 は CYP2A6 に対して時間依存的な阻害作用を示す可能性が示唆されたことを除き、検討した CYP 分子種に対して誘導作用及び阻害作用を示さなかった（2.6.4.4.2 項参照）。

2.4.3.4 薬物動態の結論

カニクイザルに皮下投与したときのバイオアベイラビリティ、曝露量及び *in vivo* における安定性の観点から P1101 は良好な PK 特性を示し、毒性試験でこの動物種を選択したことの妥当性及び臨床における安全な使用が裏付けられた。

2.4.4 毒性試験

ラット（4.2.3.2.2 Study No. 7975-100、4.2.3.2.1 Study No. 511-20060035）及びカニクイザル（4.2.3.2.3 Study No. 7975-102）を用いて、P1101 の毒性評価を行った。ラット予備試験において、ヒトインターフェロンの生物学的活性はみられなかったことから、げっ歯類を用いた試験の意義は限定的で、非げっ歯類でのみ毒性評価を行うことは妥当と考えられた。当該ラット予備試験により、毒性学的に問題のある不純物がないことが示された。一方、PMDA との[redacted]相談（令和[redacted]年[redacted]月[redacted]日）において、[redacted]との指摘を受け、ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験を実施した。

カニクイザルの選択は、予備試験及び PD／PK 複合試験（4.2.2.2.1 Study No. 44104-08-242）の成績により裏付けられている。すなわち、観察された影響、OAS 活性の誘導又は赤血球量の減少は IFNα 活性を反映していた。

毒性試験では、P1101 の市販予定製剤を用い、臨床投与経路である皮下投与を採用した。重要な毒性試験で採用した投与期間は臨床における長期使用を満たしていないが、抗薬物抗体及び中和抗体が顕著に誘導されることから、最大可能投与期間として 4 週間を採用した。曝露を最大化するために、投与頻度は臨床における投与頻度（2 週間に 1 回）を超える約 3～4 日に 1 回とした。カニクイザルを用いた 2 つの 14 日間反復投与毒性比較試験で、毒性試験に使用した P1101 のロットと新規の生産株を用いて製造した 2 つの臨床用ロットを比較した。すべての GLP 毒性試験において、肉眼的及び病理組織学的に投与部位の局所刺激性を評価した。

ICH S6 (R1)ガイドラインによると、医薬品に通常実施される範囲及び種類の遺伝毒性はバイオ医薬品には求められないが、P1101 については細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）及び CHO 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験を実施し、遺伝毒性を評価した。また、PMDA との[redacted]相談（令和[redacted]年[redacted]月[redacted]日）結果に基づき、生殖発生毒性評価の一環として、カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験を実施した。

2.4.4.1 反復投与毒性（重要な試験）

ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2.1 Study No. 511-20060035）では、P1101 をヒト最大用量の 78 倍の高用量（4 mg/kg）まで週 1 回 13 週間投与した結果、臨床症状、体重、摂餌量、血液学的検査、生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検、病理組織学的検査において、新規のペグ部分を含め被験物質に関連した変化は認められなかった。投与部位に剖検及び病理組織学的所見がみられたが、溶媒対照群と比べ程度及び頻度に差はなく、また回復性が認められた。本試験における無毒性量（NOAEL）は 4 mg/kg と判断された。

重要な反復投与毒性試験（4.2.3.2.4 Study No. 7975-101)において、雌雄カニクイザルに P1101 を 0、0.675、2 及び 6.75 mg/kg の用量で 1、4、8、11、15、18、22 及び 24 日目に反復皮下投与した。対照群には溶媒（8.0 mg/mL 塩化ナトリウム、0.05 mg/mL ポリソルベート 80、10 mg/mL ベンジルアルコール、1.58 mg/mL 酢酸ナトリウム無水物及び 0.05 mg/mL 酢酸を含む水溶液、pH 6.0 ± 0.5）を投与した。投与期間の 29 日目又は 4 週間の回復期間終了後に動物を屠殺した。

投与に関連した臨床症状、眼又は心電図の所見は認められなかった。被験物質に起因する所見は非有害性で可逆的であった。最も顕著な影響として食欲減退及びごく軽度の体重減少がみられた。2 及び 6.75 mg/kg 群で赤血球量の減少傾向が認められた。投与期間の 13 日目にすべての用量で一過性の網状赤血球数の減少がみられたが、29 日目には回復した。血小板数の減少及び APTT の延長がすべての用量で認められ、変化は高用量群で最も顕著であった。平均血清総蛋白、アルブミン及びカルシウムがすべての用量で一過性に減少したが、高及び低用量群の雌を除き、29 日目には対照群と同程度であった。9 日目の尿検査において、すべての用量群の雄並びに高及び低用量群の雌でケトン尿が認められた。

上記所見は非 GLP 又はロット比較毒性試験でも同様に認められることから、P1101 の影響と考えられる。既承認インターフェロン（IFN）α-2b 製剤（ペグイントロン®又はイントロン®A）の毒性試験においても、摂餌量及び体重の減少、赤血球量及び血小板数の変化並びに APTT の延長がみられたことからも、上記所見が P1101 の影響であることが裏付けられる。

剖検所見又は臓器重量の変化は認められなかった。病理組織学検査においても顕著な所見はみられなかった。被験物質投与群の動物の投与部位に白血球浸潤の増加が認められたが、肉眼的に確認できる皮膚刺激性はなかった。白血球浸潤は 4 週間の回復期間終了時に多くの動物で回復又は軽減し、高用量群動物 2 例に軽微な変化がみられたのみであった。回復期間終了時にその他の投与に関連した所見は認められなかった。

カニクイザルにおける P1101 に対する顕著な液性免疫応答として、すべての用量で 4 週間の投与期間終了時に抗薬物抗体の誘導が認められた。非バリデート細胞ベースアッセイを用いた検査で、すべての P1101 投与群で中和抗体も検出された。

1 回目の皮下投与（1 日目）後の PK プロファイルは各用量の雌雄間で類似していた。C_{max} 及び AUC は投与量に比例して線形性に増加した。P1101 に免疫原性が認められたが、全身曝露は投与期間を通して認められた。免疫応答による最初の血漿 P1101 濃度の減少は、5 回目（15 日目）の投与以降にみられた。相関して、24 日目の最終投与後に測定した C_{max} 及び曝露量は 1 日目に比べ顕著に減少した。

結論として、摂餌量、体重及び血液学的検査・生化学的検査における非有害性の投与の影響がみられたのみであったことから、雌雄のカニクイザルに 1 日 1 回、計 8 回断続的に 4 週間皮下投与し、その後 4 週間回復期間を設けた反復投与毒性試験における NOAEL は 6.75 mg/kg であった。

重要な試験と同じ用量（0.675、2 及び 6.75 mg/kg）をカニクイザルに最初の 4 回のみ同様に断続投与した非重要試験における NOAEL は 2 mg/kg 未満であった。これら 2 つの試験における所見は類似していたことから、NOAEL の相違は、重要な試験における所見を 4 週間の回復期間後の可逆性を考慮して評価したことによると考えられた。

2.4.4.2 ロット比較毒性試験

2 つの比較毒性試験（4.2.3.2.5 Study No. 44103-08-300 及び 4.2.3.2.6 Study No. 7975-107)を実施した結果、毒性試験に使用したロット及び新規の生産株と製造プロセスを用いて製造し臨床試験に使用した 2 つのロット間で、結果に差は認められなかった。4.2.3.2.5 Study No. 44103-08-300 で特記すべき例外がわずかにみられたこと以外、全般的に比較試験の所見は重要な試験の所見と類似していた。P1101 を 6.75 mg/kg の用量で 4 回皮下投与したとき、血圧及び体温の低下がみられた。肝臓及び腎臓機能への影響（ALT、AST、BUN 及び BUN/C の増加、並びに総蛋白、アルブミン及びグロブリンの減少）がみられたが、関連する病理組織学所見は認められなかった。剖検で胸腺

重量の減少が認められ、病理組織学検査におけるびまん性萎縮と相関していた。病理組織学的検査で、脳の血管周囲単核細胞浸潤及び肺の混合細胞浸潤が被験物質投与群動物にのみ認められ、対照群ではみられなかったことから投与に関連した影響と考えられた。これらの浸潤性所見は、重要な試験で同じ用量（6.75 mg/kg）を投与した動物には認められなかったことから、比較試験で用いた動物のバッチに特異的な所見である可能性が考えられた。比較試験では、明らかな液性免疫応答が認められたものの、中和抗体は検出されなかった。この違いは、重要な試験に比べ比較試験では投与期間及び観察期間が短かった（14 日 vs 28 日）ことによると考えられた。重要な試験では、抗薬物抗体が 14 日に発現した後、2 週間遅れて最初の中和抗体検出が確認されている。

2.4.4.3 遺伝毒性

ICH S6 (R1)に記載されているように、バイオ医薬品の遺伝毒性試験は必要ではないが、2 つの *in vitro* 試験（Ames 試験及び CHO 細胞を用いた染色体異常試験）を実施し、P1101 の変異原性及び染色体異常誘発性を検討した（4.2.3.3.1.1 Study No. 7975-104 及び 4.2.3.3.1.2 Study No. 7975-105）。

これらの試験は OECD 471 及び OECD 473 ガイドラインに従い、GLP 条件下で実施した。Ames 試験の結果は陰性であり、P1101 は DNA 又は他の染色体構成物と直接的に相互作用する可能性はないと考えられた。しかしながら、P1101 を代謝活性化の条件下で培養 CHO 細胞と短期間インキュベーションした結果、染色体異常の増加が認められた。染色体異常を有する細胞の頻度は、対照群（1.5%）に比べ、795（23.3%）及び 1190（17.0%）μg/mL で有意に増加した。これらの高濃度では浮遊細胞が認められたことから、観察された染色体異常は細胞毒性に関連する可能性が考えられた。代謝活性化の非存在下では、短期又は長期インキュベーションのいずれにおいても染色体異常頻度の増加はみられなかった。以上のことから、本試験における染色体異常頻度の増加は非 DNA 障害遺伝毒性によると考えられる。

更に、タンパク質は代謝活性化に用いる CYP 450 酵素ではなく、プロテアーゼによって代謝される。また、IFNα-2b 製剤及びペグ IFN 製剤には一貫して遺伝毒性や染色体異常誘発性は認められていない。ICH S6 (R1)ガイドラインでも述べられているように、大量のタンパク質を処理した結果、解釈不能な結果が得られた可能性が考えられる。なお、ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2.1 Study No. 511-20060035）で実施した末梢血小核検査において 0.4 - 4 mg/kg 群雌雄ともに対照群と比較して多染性赤血球（PCE）並びに小核を含む PCE 頻度に投与による影響は認められなかったことから、P1101 の染色体に対する遺伝毒性誘発性はないもの判断した。

2.4.4.4 がん原性

最初のインターフェロン製剤（IFNβ-1b、ベタフェロン®）に対する欧州医薬品庁（EMA）の販売承認は 1995 年に与えられた。ペグ化 IFNα-2b は 2000 年以降販売されている。したがって、ヒトにおけるインターフェロンの市販後使用経験は豊富である。これまでに IFNα にがん原性又は腫瘍促進性の懸念はない。実際、既承認 IFNα-2a/2b 製剤は有毛細胞白血病、悪性黒色腫、濾胞性リンパ腫、慢性骨髄性白血病及び AIDS 関連性カポジ肉腫など数種の癌の治療に適応されている。

ICH S6 ガイドラインによると、医薬品について通常実施されるがん原性試験はバイオ医薬品には適用されない。更に、P1101 については以下のことが強調される：

- 復帰突然変異試験（Ames）における変異原性は認められず、直接的な DNA への作用はない
- CHO 培養細胞による染色体異常試験の非代謝活性化（直接法）では染色体異常は認められないが、3 時間の代謝活性化では、異常頻度の増加が高用量群で認められる。20 時間代謝活性

化では異常頻度はみられない
- 広範な有糸分裂促進性はない
- 13 週間反復投与試験における末梢血小核検査の結果、多染性赤血球（PCE）並びに小核を含む PCE 頻度は対照群と差が認められない
- 非臨床及び臨床成績から、免疫抑制作用ではなく、むしろ免疫刺激作用が示唆される
- DNA 代謝や増殖調整を介した間接的な反応はないと考えられる
- P1101 の作用は酵素/ホルモン作用と関連しないので、間接的に遺伝毒性を誘発する可能性はない
- 求電子反応は推定されない
- 内因性ヒトタンパク質に類似しているため、がん原性はないと考えられる
- 生物学的作用がないこと及び中和抗体が形成されることから、げっ歯類を用いたがん原性試験は適切ではない

以上のことから、P1101 のがん原性試験は必要ではないと結論される。この結論は前述のガイドライン及び他の既承認インターフェロン製剤の非臨床試験にも沿うものと考えられる。

2.4.4.5 生殖発生毒性

PMDA との[redacted]相談（令和[redacted]年[redacted]月[redacted]日）結果に基づき、生殖発生毒性評価の一環として、カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験を実施した（4.2.3.5.2.1 Study No. SBL462-004）。妊娠カニクイザルの器官形成期（妊娠 20～48 日）に週 2 回の頻度で P1101 を皮下投与した結果、摂餌量及び体重減少、並びに流産及び胚・胎児死亡が 0.675 mg/kg 及び 2 mg/kg で認められたことから、親動物の一般毒性及び生殖機能に対する NOAEL は 0.67 mg/kg 未満と判断された。胎児の生存、発生及び異常発現頻度に被験物質に関連した変化はみられなかったことから、胎児に対する NOAEL は 2 mg/kg と判断された。IFNα-2b（イントロン®A）はアカゲザルにおいて流産を促進することが示されている。ペグイントロン®又はイントロン®A の雌カニクイザルへの投与は卵巣機能を抑制し、血清エストラジオール及びプロゲステロンのピーク濃度を低下させる[Enright, 2009]。また、用量依存性の月経周期不規則化は投与中止後に回復する。ヒト IFNα-2b を有効成分とする点で、P1101 は前述の既承認製剤と同じであることから、雌の生殖機能へ類似の影響を及ぼすと考えられる。P1101 を投与する患者には、適切な避妊法を用いることを助言されるべきである。

2.4.4.6 幼若動物を用いた試験

P1101 は小児患者における使用には適応されないため、幼若動物を用いた試験は意義がないと考えられる。

2.4.4.7 免疫原性

カニクイザルを用いた GLP 毒性試験において、液性免疫応答の解析を行った。重要な毒性試験において、P1101 を 0.675、2 及び 6.75 mg/kg の用量で皮下投与した結果、4 週間の投与期間終了時までに抗薬物抗体及び中和抗体の一貫した誘導が認められ、被験物質の免疫原性が示唆された。

2.4.4.8 局所刺激性

P1101 について単独の局所刺激性試験は実施しなかった。GLP 反復投与毒性試験（4.2.3.2.1 Study

No. 511-20060035、4.2.3.2.4 Study No.7975-101、4.2.3.2.5 Study No.44103-08-300 及び 4.2.3.2.6 Study No.7975-107）において、上市予定製剤及び投与経路を用いて局所刺激性を評価した。ラット及びカニクイザルを用いた反復皮下投与毒性試験において、軽度の刺激反応が本薬群で注射部位に認められたが、これは製剤緩衝液によるものと考えられた。

2.4.4.9 その他の毒性試験

P1101 について、その他の毒性試験は実施しなかった。

2.4.5 総括及び結論

PV 治療薬としての P1101（活性成分として IFNα-2b を含有する薬剤）の使用は、IFNα を用いた広範囲な臨床経験からサポートされている。

現在までのところ、PV 治療の第一選択薬として日常的に採用されているわけではないが、IFNα は、PV を発症させる突然変異造血幹細胞を選択的に除去できる唯一の治療薬である[Kiladjian, 2008][Quintas-Cadama, 2009][Hasan, 2013][Mullally, 2010]。PV 治療における IFNα の作用については既に多くの報告があることから PV モデルを用いた P1101 の薬効評価は実施せず、その作用をカニクイザルを用いてペガシス®と比較したところ、P1101 の生物活性及び薬力学的性質はペガシス®に類似していた。

安全性薬理試験において、P1101 を臨床使用するにあたり特に懸念となる影響は認められなかった。

臨床投与経路（皮下投与）及び上市予定製剤を用いた毒性試験において、最高 6.75 mg/kg の用量で反復投与した結果、重篤な有害作用は認められなかった。主要な所見としてごく軽度の体重減少、食欲衰退、赤血球量、網状赤血球数及び血小板数の減少、APTT 延長、平均血清総蛋白、アルブミン及びカルシウムの減少、並びにケトン尿が認められたが、いずれも軽度で有害ではない変化であり、4 週間の回復期間終了後に回復性が認められた。

カニクイザルを用いた毒性試験における NOAEL のヒト最高用量に対する安全域を表 2.4-2 に示す。

表 2.4-2 カニクイザルを用いた毒性試験における NOAEL のヒト最高用量に対する安全域

反復投与毒性試験	非 GLP 試験 (Study No. 7975-102)	GLP 試験 (Study No. 7975-101)
NOAEL	2 mg/kg	6.75 mg/kg
ヒト等価用量 a)	0.645 mg/kg	2.18 mg/kg
ヒト最高投与量	500 µg、7.1 µg/kg（体重 70 kg と仮定）	
安全域（ヒト等価用量/ヒト最高投与量）	90.85	307.04

a) 体表面積に基づきアロメトリックスケーリング係数（3.1）を適用

重要な毒性試験の投与期間は、患者における P1101 の慢性使用（2 週間に 1 回、6 ヵ月超の投与期間）を満たしていないが、カニクイザルでは中和抗体が誘導されるため 4 週間を超える試験は実施できない。動物に抗薬物抗体が誘導される前の曝露量を最大化するために、毒性試験では P1101 を 3～4 日ごとに 8 回投与した。重要な毒性試験である、カニクイザルを用いた 4 週間反復皮下投与毒性試験の全身曝露量と臨床曝露量（最高曝露量、5.3.5.2.2 Study No. P1101-2010; PEGINVERA-PV Study）の比較を表 2.4-3 に示す。450 µg/患者（5 例）の用量（体重 70 kg で 6.43 µg/kg に相当）において、平均 C_{max} は 48.64 ng/mL、AUC_{0-t} は 552.57 h•ng/mL であった。

表 2.4-3　カニクイザルの NOAEL における曝露量と臨床曝露量の比較

投与日	NOAEL C_{max} [ng/mL]	MoE [a)]	NOAEL AUC_{0-t} [h•ng/mL]	MoE [a)]
1 日目 雄/雌	82713 / 81030	1701 / 1666	4517087 / 4716740	8175 / 8536
24 日目 雄/雌	31296 / 44561	643 / 916	789175 / 2549419	1428 / 4614

[a)] 曝露量比（MoE）：重要な毒性試験の NOAEL（6.75 mg/kg）における曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-t}）の臨床用量 450 µg におけるヒトの最高曝露量（C_{max}：48.64 ng/mL、AUC_{0-t}：552.57 h•ng/mL）に対する比

カニクイザルの NOAEL における C_{max} 及び AUC_{0-t} は患者に比べ非常に大きく、ヒト用量 450 µg に対する安全域は大きかった。患者に最大用量（500 µg）を投与した場合も大きな安全域が見込まれる。

PMDA との[redacted]相談（令和[redacted]年[redacted]月[redacted]日）において、[redacted]との指摘を受け、ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験を実施した。P1101 をヒト最大用量の 78 倍の高用量（4 mg/kg）まで週 1 回 13 週間投与した結果、臨床症状、体重、摂餌量、血液学的検査、生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検、病理組織学的検査において、ペグ部分を含め被験物質に関連した変化は認められなかった。投与部位に剖検及び病理組織学的所見がみられたが、溶媒対照群と比べ程度及び頻度に差はなく、また回復性が認められた。本試験における NOAEL は 4 mg/kg と判断された。

遺伝毒性試験の結果、P1101 は Ames 試験で陰性であったが、培養 CHO 細胞を代謝活性化存在下で短期間インキュベーションしたとき、染色体異常が増加した。しかしながら、この結果は細胞毒性による染色体異常の擬陽性増加であると考えられた。

PMDA との[redacted]相談（令和[redacted]年[redacted]月[redacted]日）結果に基づき、生殖発生毒性評価の一環として、カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験を実施した。妊娠カニクイザルの器官形成期（妊娠 20～48 日）に週 2 回の頻度で P1101 を皮下投与した結果、摂餌量及び体重減少、並びに流産及び胚・胎児死亡が 0.675 mg/kg 及び 2 mg/kg で認められたことから、親動物の一般毒性及び生殖機能に対する NOAEL は 0.67 mg/kg 未満と判断された。胎児の生存、発生及び異常発現頻度に被験物質に関連した変化はみられなかったことから、胎児に対する NOAEL は 2 mg/kg と判断された。IFNα-2b（イントロン®A）はアカゲザルにおいて流産を促進することが示されている。ペグイントロン®又はイントロン®A の雌カニクイザルへの投与は卵巣機能を抑制し、血清エストラジオール及びプロゲステロンのピーク濃度を低下させる[Enright, 2009]。また、用量依存性の月経周期不規則化は投与中止後に回復する。ヒト IFNα-2b を有効成分とする点で、P1101 は前述の既承認製剤と同じであることから、雌の生殖機能へ類似の影響を及ぼすと考えられる。P1101 を投与する患者には、適切な避妊法を用いることを助言されるべきである。

以上、P1101 の非臨床試験の結果、ヒトに最大予定用量（500 µg）まで使用することを妨げる特異的なリスクは特定されなかった。

2.4.6 参考文献

1) Edahiro Y, Ohishi K, Gotoh A, Takenaka K, Shibayama H, Shimizu T, et al. Efficacy and safety of ropeginterferon alfa-2b in Japanese patients with polycythemia vera: an open-label, single-arm, phase 2 study. Int J Hematol. 2022;116(2):215-27.
2) Enright BP, Compton DR, Collins N, Davis T, McIntyre BS. Comparative effects of interferon alpha-2b and pegylated interferon alpha-2b on menstrual cycles and ovarian hormones in cynomolgus monkeys. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2009;86(1):29-39.
3) Gisslinger H, Zagrijtschuk O, Buxhofer-Ausch V, Thaler J, Schloegl E, Gastl GA, et al. Ropeginterferon alfa-2b, a novel IFNα-2b, induces high response rates with low toxicity in patients with polycythemia vera. Blood. 2015;126(15):1762-9.
4) Gisslinger H, Klade C, Georgiev P, Krochmalczyk D, Gercheva-Kyuchukova L, Egyed M, et al. Ropeginterferon alfa-2b versus standard therapy for polycythaemia vera (PROUD-PV and CONTINUATION-PV): a randomised, non-inferiority, phase 3 trial and its extension study. Lancet Haematol. 2020;7(3):e196-e208.
5) Griesshammer M, Gisslinger H, Mesa R. Current and future treatment options for polycythemia vera. Ann Hematol. 2015;94(6):901-10.
6) Hasan S, Lacout C, Marty C, Cuingnet M, Solary E, Vainchenker W, et al. JAK2V617F expression in mice amplifies early hematopoietic cells and gives them a competitive advantage that is hampered by IFNα. Blood. 2013;122(8):1464-77.
7) Jamieson CH, Gotlib J, Durocher JA, Chao MP, Mariappan MR, Lay M, et al. The JAK2 V617F mutation occurs in hematopoietic stem cells in polycythemia vera and predisposes toward erythroid differentiation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006;103(16):6224-9.
8) Kiladjian JJ, Cassinat B, Chevret S, Turlure P, Cambier N, Roussel M, et al. Pegylated interferon-alfa-2a induces complete hematologic and molecular responses with low toxicity in polycythemia vera. Blood. 2008;112(8):3065-72.
9) Kiladjian JJ, Giraudier S, Cassinat B. Interferon-alpha for the therapy of myeloproliferative neoplasms: targeting the malignant clone. Leukemia. 2016;30(4):776-81.
10) Stauffer Larsen T, Iversen KF, Hansen E, Mathiasen AB, Marcher C, Frederiksen M, et al. Long term molecular responses in a cohort of Danish patients with essential thrombocythemia, polycythemia vera and myelofibrosis treated with recombinant interferon alpha. Leuk Res. 2013;37(9):1041-5.
11) Mullally A, Bruedigam C, Poveromo L, Heidel FH, Purdon A, Vu T, et al. Depletion of Jak2V617F myeloproliferative neoplasm-propagating stem cells by interferon-α in a murine model of polycythemia vera. Blood. 2013;121(18):3692-702.
12) Mullally A, Lane SW, Ball B, Megerdichian C, Okabe R, Al-Shahrour F, et al. Physiological Jak2V617F expression causes a lethal myeloproliferative neoplasm with differential effects on hematopoietic stem and progenitor cells. Cancer Cell. 2010;17(6):584-96.
13) Quintás-Cardama A, Kantarjian H, Manshouri T, Luthra R, Estrov Z, Pierce S, et al. Pegylated interferon alfa-2a yields high rates of hematologic and molecular response in patients with advanced essential thrombocythemia and polycythemia vera. J Clin Oncol. 2009;27(32):5418-24.
14) Stein BL, Oh ST, Berenzon D, Hobbs GS, Kremyanskaya M, Rampal RK, et al. Polycythemia Vera: An Appraisal of the Biology and Management 10 Years After the Discovery of JAK2 V617F. J Clin Oncol.

2015;33(33):3953-60.

15) McDonald TA, Zepeda ML, Tomlinson MJ, Bee WH, Ivens IA. Subcutaneous administration of biotherapeutics: current experience in animal models. Curr Opin Mol Ther. 2010;12(4):461-70.

16) Verger E, Soret-Dulphy J, Maslah N, Roy L, Rey J, Ghrieb Z, et al. Ropeginterferon alpha-2b targets JAK2V617F-positive polycythemia vera cells in vitro and in vivo. Blood Cancer J. 2018;8(10):94.

17) ICH S6 (R1) Guideline: Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals; July 1997. https://www.pmda.go.jp/files/000156471.pdf （参照 2023-01-11）

18) World Health Organization. Expert Committee on Biological Standardization, Geneva, 17 to 21 November 2003. A Recommendation from the Standards Committee of the International Society for Interferon and Cytokine Research to Adopt a Standard Method for the Calculation and Reporting of the Results of Interferon Neutralizing Antibody Tests. WHO/BS/03.1980. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/68496/WHO_BS_03.1980.pdf?sequence=1&isAllowed=y (参照 2023-01-11)