目次

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 効力を裏付ける試験 6
2.4.2.2 副次的薬理試験 7
2.4.2.3 安全性薬理試験 8
2.4.3 薬物動態試験 8
2.4.4 毒性試験 9
2.4.4.1 単回投与毒性試験 9
2.4.4.2 反復投与毒性試験 9
2.4.4.3 遺伝毒性試験 10
2.4.4.4 がん原性試験 10
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 10
2.4.4.6 局所刺激性試験 10
2.4.4.7 その他の毒性試験 10
2.4.5 総括及び結論 11
2.4.6 参考文献一覧 17

非臨床試験の概括評価の略号一覧表

略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
Aβ	amyloid β	アミロイドβ
Aβ(x-y)	Aβ monomer from amino acid x to y	Aβ のアミノ酸残基 x から y のフラグメント。例）Aβ(1-42)は Aβ のアミノ酸残基 1 から 42 を有するフラグメント
AD	Alzheimer's disease	アルツハイマー病
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
ADCC	antibody-dependent cellular cytotoxicity	抗体依存性細胞障害
ADCP	antibody-dependent cellular phagocytosis	抗体依存性細胞貪食
APP	amyloid precursor protein	アミロイド前駆体タンパク質
$AUC_{(0\text{-}168h)}$	AUC from zero time to 168 hours	投与時から投与後時点 x までの濃度-時間曲線下面積（時点 x; 168 時間，384 時間，672 時間）
$AUC_{(0\text{-}384h)}$	AUC from zero time to 384 hours	
$AUC_{(0\text{-}672h)}$	AUC from zero time to 672 hours	
BLI	biolayer interferometry	バイオレイヤー干渉法
C_{5min}	concentration at 5 minutes after the dose	投与後 5 分における濃度
C_{3h5min}	concentration at 3 hours and 5 minutes	投与後 3 時間 5 分における濃度
CDC	complement-dependent cytotoxicity	補体依存性細胞傷害
CL	total clearance	全身クリアランス
CNS	central nervous system	中枢神経系
C_{max}	maximum observed concentration	最高濃度
CSF	cerebrospinal fluid	脳脊髄液
CV	cardiovascular	心血管
ECL	electrochemiluminescence	電気化学発光
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
F	absolute bioavailability	絶対バイオアベイラビリティ
$F(ab')_2$	antigen-binding fragment	抗原結合フラグメント
FcγR	Fcγ receptor	Fcγ 受容体
FcRn	neonatal Fc receptor	胎児性 Fc 受容体
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
HMPAO	exametazime	—
IC_{50}	concentration causing a 50% reduction	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IMZ	iomazenil	—
k_a	association rate constant	会合速度定数
k_d	dissociation rate constant	解離速度定数
K_D	equilibrium constant	結合平衡定数
LTP	long-term potentiation	長期増強
NK	natural killer	ナチュラルキラー
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量

略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
PK/PD	Pharmacokinetics / pharamcodynamics	—（薬物動態／薬力学）
SD	Sprague Dawley	—（ラット系統名）
SPECT	single positron emission computerized tomography	単一光子放射断層撮影
SPR	surface plasmon resonance	表面プラズモン共鳴
Tg	transgenic	遺伝子改変
Tg-APP$_{ArcSwe}$	strain of Tg mice expressing the human APP gene with the Arctic and Swedish mutations	—
$t_{1/2}$	terminal elimination phase half-life	最終消失半減期
Tg2576	strain of Tg mice expressing the human APP gene with the Swedish mutation	—
THBS1	thrombospondin 1	トロンボスポンジン 1
V_{ss}	volume of distribution at steady state	定常状態の分布容積

—該当せず

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

アルツハイマー病（AD）は，脳内のアミロイド β（Aβ）凝集体を含むアミロイド斑及びタウからなる神経原線維変化の蓄積が病理組織学的な特徴であるが，その病態は完全には解明されていない。AD の発症に Aβ が中心的な役割を果たすという「アミロイド仮説」は，様々な証拠により支持されている。可溶性 Aβ 凝集体（オリゴマー及びプロトフィブリル）量は，Aβ モノマー量及び不溶性 Aβ によるアミロイド斑（プラーク）形成よりも，疾患の重症度と良く相関する可能性が示唆されている（Klein, et al., 2001）。レカネマブ（遺伝子組換え；以下，レカネマブ）は，ヒト化免疫グロブリン G1（IgG1）モノクローナル抗体である。可溶性 Aβ 凝集体（プロトフィブリル）に選択的に結合して Aβ プロトフィブリルのクリアランスを促進し，脳内の神経細胞障害を抑制すると考えられる。

レカネマブを AD 治療薬として開発するため，レカネマブ並びにレカネマブのマウスサロゲート抗体（mAb158 及び rec158）を用いて，以下の in vitro 及び in vivo 実験を行った。In vitro 実験では，酵素免疫測定法（ELISA），表面プラズモン共鳴（SPR）法及びバイオレイヤー干渉法（BLI）により，レカネマブ又は mAb158 と種々Aβ 及び Fcγ 受容体（FcγR）との結合性を検討した。中枢神経系（CNS）培養細胞と Aβ プロトフィブリルとの結合及び反応に対するレカネマブ及び mAb158 の阻害効果も検討した。以下に in vitro 実験の一覧を示す。なお，いくつかの実験において，Aβ プロトフィブリルは，Aβ プロトフィブリルとオリゴマーの混合物を意味する。

- Aβ プロトフィブリル，他の Aβ 種及び Aβ フラグメントへのレカネマブ及び mAb158 の結合性
- Aβ の β シート形成に対するレカネマブ及び mAb158 の効果
- 海馬神経細胞への Aβ プロトフィブリル結合に対するレカネマブ及び mAb158 の効果
- Aβ プロトフィブリル誘発性の神経細胞障害に対するレカネマブ及び mAb158 の効果
- 海馬スライスにおける Aβ オリゴマー誘発性の長期増強（LTP）障害に対するレカネマブの効果
- ヒト及びマウス FcγRI，FcγRII 及び FcγRIII へのレカネマブ及び mAb158 の結合性
- ミクログリア細胞における Aβ プロトフィブリルの取り込みに対するレカネマブの効果
- トロンボスポンジン 1（THBS1）に対するオフターゲット結合の可能性

In vivo 実験として，AD マウスモデル（アミロイド前駆体タンパク質［APP］遺伝子改変［Tg］マウス［Tg2576 及び Tg-APP_{ArcSwe}］並びにノックインマウス［APP^{NL-G-F}］）を用いて，mAb158 及び rec158 の Aβ プロトフィブリル量に対する効果を検討した。以下に in vivo 実験の一覧を示す。

- Tg-APP_{ArcSwe} マウスにおける Aβ プロトフィブリル蓄積に対する mAb158 の短期及び長期投与の効果
- Tg2576 マウスにおける Aβ プロトフィブリル蓄積に対する mAb158 又は rec158 の短期及び長期投与の効果（いくつかの試験では Aβ プラーク形成に対する効果も検討した）
- APP^{NL-G-F} マウスにおける Aβ プロトフィブリル量に対する mAb158 の長期投与の効果（Aβ プラーク形成に対する効果も検討した）

- 老齢 Tg2576 マウスにおける mAb158 投与後の脳機能イメージング
- Tg2576 マウスを用いた恐怖条件付け学習試験における mAb158 長期投与の効果

安全性薬理パラメータに対するレカネマブの影響は，カニクイザルを用いた 4 週間間歇投与（合計 5 回投与）毒性試験中で評価した。

レカネマブ及びレカネマブのマウス IgG2a 相同体（mAb158 及び rec158）を用いて動物での薬物動態（PK）プロファイルを評価した。以下に実施した in vivo PK 試験の一覧を示す。

- Sprague Dawley（SD）ラット及びカニクイザルにレカネマブを単回又は反復投与したときの PK プロファイル
- 雄性カニクイザルにレカネマブを単回皮下又は静脈内投与したときの PK プロファイル
- 雌性 Tg2576 マウスに mAb158 を単回腹腔内投与したときの PK プロファイル
- 雌雄 Tg-APP_{ArcSwe} マウスにそれぞれ rec158 及びレカネマブを単回腹腔内投与したときの PK プロファイル

レカネマブの毒性を評価するため，静脈内投与により SD ラット及びカニクイザルを用いた単回投与毒性試験，カニクイザルを用いた週 1 回投与による 4 週間及び 39 週間間歇投与毒性試験を実施した。局所刺激性については，カニクイザルを用いた皮下投与も評価した。さらに，Tg マウス（Tg-APP_{ArcSwe} 及び Tg2576）にレカネマブのマウス相同抗体である mAb158 を週 1 回最長 18 週間まで間歇腹腔内投与した薬理試験において，脳微小出血の有無を検索するとともに，主要な臓器・組織についても病理組織学的検査を実施した。レカネマブの組織交差反応性については，ラット，サル及びヒトの凍結正常組織パネルを用いて評価した。毒性試験リストを表 2.4-1 に示した。

レカネマブの重要な毒性試験は，いずれも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。さらに，全ての GLP 試験は，化学物質の安全性評価の相互受入可能な経済協力開発機構（OECD）加盟国の試験施設で実施した。

表 2.4-1 毒性試験プログラム

試験の種類と投与期間	投与経路	動物種	投与化合物	GLP の適否
単回投与毒性試験	静脈内 静脈内	SD ラット カニクイザル	レカネマブ レカネマブ	適 [a] 否
反復投与毒性試験 4 週間間歇投与及び 5 週間回復性	静脈内	カニクイザル	レカネマブ	適
39 週間間歇投与及び 13 週間回復性	静脈内	カニクイザル	レカネマブ	適
局所刺激性試験 4 週間	皮下	カニクイザル	レカネマブ	適
その他の試験 交差反応性	(in vitro)	SD ラット，カニクイザル及びヒト組織	レカネマブ	適
薬理試験における病理組織学的検査 [b]	腹腔内	Tg-APP$_{ArcSwe}$ 及び Tg2576 mice	mAb158	否

GLP = Good Laboratory Practice, SD = Sprague Dawley, Tg = transgenic.
a: トキシコキネティクスを除く。
b: 添付資料 4.2.1.1.25（試験番号 AD-TR-009），4.2.1.1.30（試験番号 W-20090277），4.2.1.1.31（試験番号 W-20090276），4.2.1.1.26（試験番号 AD-TR-011），及び 4.2.1.1.33（試験番号 W-20100318）。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 In Vitro 薬理試験

ELISA より，レカネマブ及び mAb158 は高い親和性で Aβ プロトフィブリルに選択的に結合することが示された。非結合状態のレカネマブ及び mAb158 濃度を 50%に減少させる Aβ プロトフィブリル濃度（IC_{50}）は，それぞれ 0.56～3.6 及び 5 nmol/L であり，Aβ モノマーの IC_{50} 値より 1000 倍以上低かった。レカネマブの Aβ 種への親和性は，Aβ プロトフィブリルに対して最も高く，Aβ オリゴマーの 8～12 量体，6～8 量体，2～3 量体と Aβ オリゴマーサイズの降順で低くなった。SPR 法より，レカネマブと mAb158 は，ともに Aβ モノマーからは速く解離するが，Aβ プロトフィブリルからはゆっくり解離することが示された。他の抗 Aβ 抗体（アデュカヌマブ及びガンテネルマブの類似体）と同じ実験条件下で比較したところ，レカネマブは可溶性 Aβ プロトフィブリルに対して最も高い結合性及び選択性を示した。レカネマブのフィブリルに対する親和性は，プロトフィブリルよりも 1.4～11 倍低かった。アデュカヌマブは，レカネマブと同様にプロトフィブリルに対して高い親和性を示したが，速度論的特性は異なっていた：アデュカヌマブは，レカネマブと比較して 2 桁速い会合速度定数（k_{a1}）及び解離速度定数（k_{d1}）を示した。AD 患者脳サンプルにおいても，レカネマブは，Aβ モノマーより高い親和性で Aβ プロトフィブリルに結合した。Aβ ペプチドの N 末端から 2～3 アミノ酸は，レカネマブ結合エピトープの 1 次構造として重要であることが，Aβ の N 末端からアミノ酸を順番に切断した実験から示された。レカネマブ及びレカネマブの抗原結合フラグメント $F(ab')_2$ は，Aβ プロトフィブリルに同様の結合性を示した。レカネマブ及び mAb158 は，Aβ の β シート形成を阻害した。レカネマブ及び mAb158 は，ラット海馬神経細胞の樹状突起スパインへの Aβ プロトフィブリルの結合を阻害し

た。レカネマブは，マウス海馬スライスにおける Aβ オリゴマー誘発 LTP 抑制を回復させた。なお，レカネマブ単独では LTP に影響を与えなかった。レカネマブは，鶏大脳皮質神経細胞及び SH-SY5Y ヒト神経芽腫細胞における Aβ プロトフィブリル誘発細胞死を抑制した。レカネマブは，ヒト IgG と同様にヒト FcγRI 及び FcγRIII に結合性を示したが，ヒト FcγRIIb/c には結合性を示さなかった。マウス FcγRI に対する mAb158 の結合性は，ヒト FcγRI に対するレカネマブの結合性と同程度であった。

2.4.2.1.2 In Vivo 薬理試験

In vivo 実験として，Tg-APP_{ArcSwe}，Tg2576 及び APP^{NL-G-F} マウスを用いて，マウスサロゲート抗体 mAb158 及び rec158 の Aβ プロトフィブリル量に対する効果を検討した。Tg-APP_{ArcSwe} は Arctic 型と Sweden 型両方の変異を持つヒト APP 遺伝子を，Tg2576 は Sweden 型変異 APP 遺伝子を，それぞれ過剰発現する AD マウスモデルである。APP^{NL-G-F} マウスは，APP 遺伝子を過剰発現しないが，Swedish，Arctic 及び Iberian の 3 重変異を持つ APP 遺伝子により，病的な Aβ 量の増加がみられる AD マウスモデルである。Tg-APP_{ArcSwe} マウス（9～16 ヵ月齢）において，mAb158（3～10 mg/kg/週）の 4 週間腹腔内投与後に脳内の Aβ プロトフィブリルの減少がみられた。Tg-APP_{ArcSwe} マウス（12～14 ヵ月齢）において，mAb158（0.3～10 mg/kg/週）の 17 週間腹腔内投与後に脳内の Aβ プロトフィブリルの減少がみられた。Tg2576 マウス（14 ヵ月齢）において，mAb158（24 mg/kg/週）の 2 及び 4 週間腹腔内投与後に脳内の Aβ プロトフィブリルの減少がみられた。Tg2576 マウス（12.5 ヵ月齢）において，mAb158（12 又は 24 mg/kg/週）の 18 週間腹腔内投与後に，脳内の Aβ プロトフィブリル及び Aβ(x-42)の減少がみられた。Tg2576 マウス（12 ヵ月齢）において，mAb158（35 mg/kg/週）の 18 週間腹腔内投与後に脳内 Aβ プロトフィブリル量の減少がみられ，その減少は 12 週間休薬した後でもみられた。APP^{NL-G-F} マウス（6 ヵ月齢）において，mAb158（10 又は 30 mg/kg/週）の 16 週間腹腔内投与後に脳内 Aβ プロトフィブリル，可溶性 Aβ(1-42)及び不溶性 Aβ(1-42)量の減少がみられた。いくつかの試験では，Aβ プラークの減少も確認された。

Tg2576 マウスにおいて，mAb158（50 mg/kg/週）の 12 週間腹腔内投与後に，媒体対照群と比較して，脳内の ^{99m}Tc-exametazime（HMPAO）及び ^{123}I-iomazenil（IMZ）の取り込みの増加がみられたことから，それぞれ局所血流量及び神経細胞の生存性の増加が示唆された。Tg2576 マウスにおける恐怖条件付け学習試験では，mAb158（50 mg/kg/週）の 12 週間腹腔内投与によって，すくみ反応時間を有意に延長する作用はみられなかった。Tg2576 マウスを含む AD モデルマウスは，脳内の Aβ 病理を評価するのに適したモデルであるが，その学習障害が AD 患者での認知障害を再現しているかは不明である。

以上の in vitro 及び in vivo 試験結果より，レカネマブ及び mAb158 は，Aβ プロトフィブリルに選択性が高い抗体であることが確認された。mAb158 が APP-Tg マウス及び APP ノックインマウスの脳内の Aβ プロトフィブリルを減少させたことは，レカネマブが AD 治療薬となり得ることを示唆する。

2.4.2.2 副次的薬理試験

マウス，ラット，サル，健康成人及び AD 患者の血漿を用いて，レカネマブがオフターゲット

へ結合する可能性を調べた。ヒト血漿から免疫沈降した 150 kDa のタンパク質は，トロンボスポンジン 1（THBS1）と同定された。レカネマブの THBS1 への結合平衡定数（K_D）は 4 μmol/L であった。レカネマブの免疫原性リスクは，EpiScreen™の 2 つの ex vivo 実験で評価した。2 つの ex vivo 実験で陽性反応を示した割合は 8%と低かったため，臨床での免疫原性リスクは低いと予測された。

2.4.2.3 安全性薬理試験

レカネマブの安全性薬理評価（心血管［CV］系，CNS 及び呼吸系）は，カニクイザルを用いた週 1 回の静脈内投与による 4 週間間歇投与（合計 5 回投与）毒性試験に組み入れて実施した。レカネマブは 5 から 50 mg/kg の用量において CV 系，CNS 及び呼吸系に対する影響は認められなかった。

2.4.3 薬物動態試験

レカネマブを SD ラット及びカニクイザルに単回あるいは反復投与したときの PK を評価した。また，レカネマブのマウス IgG2a 相同体である mAb158 を Tg2576 マウスに単回投与したときの PK についても検討した。さらに，レカネマブ及びレカネマブの別のマウス IgG2a 相同体である rec158 の Tg-APP_{ArcSwe} マウスにおける PK についても検討した。

ELISA によるマウス血漿及び希釈緩衝液中 mAb158 の濃度測定，並びにカニクイザル血清中レカネマブの濃度測定について定量法バリデーションを行った。希釈緩衝液は，脳脊髄液（CSF）の代用マトリクスとして使用した。mAb158 の定量範囲は，マウス血漿で 0.2～40 μg/mL，希釈緩衝液で 0.002～0.4 μg/mL であった。サル血清中レカネマブの定量範囲は 0.50～100 μg/mL であった。ELISA によるサル血清中 ADA の濃度測定について定量法バリデーションを行い，定量範囲は 0.1～2 μg/mL であった。さらに追加のバリデーションにより，ELISA によるサル血清中レカネマブの濃度測定法及び電気化学発光（ECL）法によるサル血清中 ADA の検出法が構築された。

雌性 Tg2576 マウスに mAb158 を単回腹腔内投与（1，5 及び 15 mg/kg）したときの血漿中濃度は，投与後 4～24 時間で最高値に達した後，56.04～104.74 時間の最終消失半減期（$t_{1/2}$）で消失した。この時の最高濃度（C_{max}）及び投与時から投与後 168 時間までの濃度-時間曲線下面積（$AUC_{(0\text{-}168h)}$）は 1～15 mg/kg の投与量範囲で投与量公比に従って上昇した。CSF 中 mAb158 濃度推移の C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}168h)}$は，1～5 mg/kg の間では投与量公比に従って増加したが，5～15 mg/kg の間では投与量公比未満の増加であった。1，5 及び 15 mg/kg の各投与量において，mAb158 の CSF 中濃度は血漿中濃度に比べ，それぞれ 0.20%～0.81%，0.13%～0.48%及び 0.06%～0.37%であった。

毒性試験において雌雄 SD ラットにレカネマブを単回静脈内投与（10，30 及び 100 mg/kg）したときの血清中濃度推移を検討した。投与後 5 分における濃度（C_{5min}），$AUC_{(0\text{-}384h)}$あるいは $t_{1/2}$ に顕著な性差は認められなかった。C_{5min} 及び $AUC_{(0\text{-}384h)}$は 10～100 mg/kg の投与量範囲で雌雄ともに投与量公比に従って増加し，$t_{1/2}$（207.2～278.1 時間）に投与量の違いによる明確な差は認められなかった。

雄性カニクイザルにレカネマブを単回静脈内投与（5 及び 50 mg/kg）したとき，血清中濃度の

C_{5min}及び$AUC_{(0\text{-}672h)}$は投与量公比に従って増加し，$t_{1/2}$は各投与量でそれぞれ289.3時間及び312.3時間であった。

レカネマブのサルにおけるPKをさらに評価するために，雄性カニクイザルにレカネマブを単回静脈内投与あるいは皮下投与（ともに10 mg/kg）し，血清中濃度を測定した。単回静脈内投与後の血清中レカネマブのPKプロファイルは，低い全身クリアランス（CL：0.189 mL/h/kg）及び小さい定常状態の分布容積（V_{ss}：65.1 mL/kg）を示し，241.4時間の$t_{1/2}$で消失した。単回皮下投与後のレカネマブの血清中濃度は96.0時間で最高値に達し，270.9時間の$t_{1/2}$で消失した。レカネマブの$t_{1/2}$は単回静脈内投与後及び皮下投与後で同等であった。単回皮下投与後の絶対バイオアベイラビリティ（F）は95.9%であった。

毒性試験において雌雄カニクイザルにレカネマブを週1回4週間反復静脈内投与（5，15及び50 mg/kg，合計5回投与）したとき，血清中濃度推移に性差はなく，C_{5min}及び$AUC_{(0\text{-}168h)}$に線形性が認められた。50 mg/kg投与群の最終投与後の$t_{1/2}$は，雄で320時間，雌で417時間であり，週1回投与の投与間隔より長かった。そのため，最終投与時の$AUC_{(0\text{-}168h)}$は初回投与後の値に比べ2.3～2.9倍に増加した。この試験でADAは全ての個体で認められなかった。毒性試験において雌雄カニクイザルにレカネマブを週1回39週間反復静脈内投与（15，50及び100 mg/kg，合計40回投与）したとき，初回投与日，投与92日目及び投与274日目における$AUC_{(0\text{-}168h)}$に性差はなく，雌雄ともにほぼ投与量公比に従って増加した。100 mg/kg投与群における最終投与後の$t_{1/2}$は，雌雄でそれぞれ410時間及び419時間であった。投与92日目における$AUC_{(0\text{-}168h)}$は全ての用量において初回投与時の値と比較して増加した（2.8～3.8倍）が，投与274日目と投与92日目では$AUC_{(0\text{-}168h)}$に差は認められなかった。この試験でADAは全ての個体で認められなかった。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

レカネマブの単回静脈内投与毒性試験では，臨床試験開始当時の最大投与可能用量（SDラット = 100 mg/kg，カニクイザル = 50 mg/kg）までレカネマブの投与に起因した変化は認められなかった。ラットにおいてPKパラメータに明らかな性差は認められなかった。C_{5min}及び$AUC_{(0\text{-}672h)}$は，5～50 mg/kgにかけて投与量の増加に伴い上昇し，半減期は約12～13日であった。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

レカネマブの間歇反復静脈内投与による毒性は，カニクイザルを用いた4週間及び39週試験で評価した。4週間及び39週間間歇反復投与毒性試験いずれにおいても，静脈製剤の低速静脈内投与による1日当たりの最大投与可能用量である100 mg/kg（1日2回投与。投与274日目の投与後3時間5分における濃度（C_{3h5min}）= 4,455 μg/mL及び$AUC_{(0\text{-}168h)}$ = 518,500 μg·h/mL）まで，レカネマブの投与に起因した変化は認められなかった。カニクイザルにおいて，試験期間中にレカネマブに対するADAは検出されなかった。これらの反復投与毒性試験では，脾臓の絶対及び相対重量，及び病理組織学的評価における胚中心の増加（胚中心の大きさ及び数の増加）傾向が認められた。これらの変化は回復性があり，異種タンパク質であるヒト化モノクローナル抗体に対する弱い免疫反応によるものだと考えられた。レカネマブに起因したその他の変化も無く，脾臓の変化も毒性学的な意義は乏しいと考えられることから，カニクイザルにおける

NOEAL は 100 mg/kg 以上と考えられた。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

レカネマブは IgG1 モノクローナル抗体であり，直接遺伝毒性を誘発したり，活性代謝物や遺伝毒性代謝物を形成するとは考えられない。したがって，ICH S6(R1)ガイドラインに基づき，遺伝毒性試験は実施していない。

2.4.4.4 がん原性試験

レカネマブの発がん性リスクについて，ICH S6(R1)ガイドラインの記載を踏まえて以下のように証拠の重み（Weight of Evidence）を考慮し，評価を行った。

レカネマブについて，遺伝毒性の懸念は無く，作用機序（可溶性 Aβ 凝集体のクリアランス促進）と発がん性との関連性，慢性毒性試験における発がん性を疑う病理組織学的な兆候，免疫抑制を示唆する変化は，一切確認されていない。これら証拠の重み（Weight of Evidence）を考慮した評価から，レカネマブがヒトにおける発がん性リスクは極めて低いと考えられた。さらに，レカネマブはげっ歯類に対して免疫原性を示す可能性があることからげっ歯類を用いたがん原性試験からは有益な情報が得られないと考えられ，マウス相同抗体を用いてがん原性試験を実施する意義も低い。したがって，がん原性試験を実施する必要はないと考えた。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

レカネマブの標的となる可溶性アミロイドβ（Aβ）凝集体は通常の生殖発生毒物試験に用いる動物種では検出されない，また，サルを用いた 39 週間反復投与毒性試験において生殖器官への影響がなく，APP の変異あるいはノックアウトマウスにおいて交配や出産が確認されている。さらに，レカネマブの投与対象となる早期 AD 患者は一般的に 50 歳以上と考えられ，女性患者が妊娠能力を有する可能性は低いことから，ICH S6(R1)ガイドラインの記載内容も踏まえ，生殖発生毒性試験は実施していない。

2.4.4.6 局所刺激性試験

レカネマブを静脈内投与した際の局所刺激性は，SD ラット及びカニクイザルの単回静脈内毒性試験，及びカニクイザルにおける 4 週間及び 39 週間の静脈内間歇投与毒性試験で評価した。いずれの用量においても投与部位にレカネマブの局所刺激性を示唆する所見は認められなかった。

さらに，200 mg/mL 濃度のレカネマブをカニクイザルに 1 日 1 回，4 週間にわたり 4 ヵ所の異なる背部に毎日順番に皮下投与を行ったが，局所刺激性は認められなかった。また，ADA は検出されなかった。

2.4.4.7 その他の毒性試験

2.4.4.7.1 抗原性及び免疫毒性

ADA と潜在的な免疫毒性については，カニクイザルを用いた反復投与毒性試験で評価した。カニクイザルへの静脈内あるいは皮下投与において ADA は検出されなかった。脾臓重量及び胚中心の増加傾向が 4 週間及び 39 週間静脈内投与毒性試験で認められたが，これらの変化は，静

脈内投与された異種タンパク質に対する生体の非特異的な適応性の免疫反応であると考えられた。レカネマブ投与に関連したその他の変化が何も認められなかったことを踏まえると，これらの脾臓所見についてヒトへの関連性はほとんどないと考えられた。

2.4.4.7.2 組織交差反応性

レカネマブと SD ラット，カニクイザル，及びヒトの正常組織との交差反応性を検討した。その結果，カニクイザルの下垂体中葉の内分泌細胞（細胞質），腎臓の近位尿細管上皮細胞（細胞質），及び大脳，小脳，脊髄の軟膜及び軟膜下/血管周囲腔に陽性反応がみられた。SD ラットでは，いずれの組織も陽性反応は認められなかった。ヒト正常組織では，大脳の細胞外 Aβ プラーク，神経細胞及びグリア細胞，種々の組織における上皮細胞（細胞質）及び単核細胞（細胞質）及び膵島細胞（細胞質）に陽性反応がみられたが，血管内の血清とは反応しなかった。生体内でモノクローナル抗体が細胞質に達することはないため，細胞質成分に陽性反応がみられたことに毒性学的な意義はないと考えられた。

2.4.4.7.3 薬理試験における病理組織学的検査

レカネマブのオンターゲット毒性を評価するため，マウス相同抗体 mAb158 を投与した Tg-APP_{ArcSwe} 及び Tg2576 マウスについて病理組織学的検査を実施した。Tg-APP_{ArcSwe} マウスに 12 mg/kg を 14 週間あるいは最高 10 mg/kg を 17 週間投与した試験において，脳における微小出血の増加や他の臓器・組織における病理組織学的変化はみられなかった。同様に，Tg2576 マウスに最高 50 mg/kg を 18 週間まで投与（初回/17 回目の暴露は C_{max} = 585/355 μg/mL 及び $AUC_{(0\text{-}168h)}$ = 67,450/40,439 μg·h/mL）し，有意な薬力学的効果（可溶性 Aβ 凝集体の減少）がみられたが，mAb158 の投与に起因する脳微小出血又は脳及び他の臓器・組織における病理組織学的変化はみられなかった。

2.4.4.7.4 依存性

レカネマブは，既知の乱用薬物との化学構造上の，あるいは薬理学的な類似性はなく，医療関係者の管理下で患者に静脈内投与される。レカネマブの半減期は長いため，退薬症候やリバウンド（反跳現象）は起こらないと考えられる。また，非臨床試験や臨床試験において，乱用の可能性を示唆する異常行動は認められなかった。また，一般的にバイオ医薬品は薬物乱用の可能性が低い（de Zafra, et al., 2018）ことも考慮し，レカネマブの薬物依存性試験を実施する必要はないと考えた。

2.4.5 総括及び結論

In vitro 薬理実験より，レカネマブ及びサロゲートマウス抗体 mAb158 は，ともに Aβ プロトフィブリルに選択的に結合することが示された。レカネマブ及び mAb158 の Aβ プロトフィブリルへの結合の IC_{50} 値は，それぞれ 0.56～3.6 及び 5 nmol/L であり，Aβ モノマーへの結合の IC_{50} 値は 1000 倍以上大きかった。なお，Aβ プロトフィブリルへの結合の IC_{50} 値は，臨床試験 Study BAN2401-A001-101 において 10 mg/kg を隔週で 7 回投与の 24 時間及び 14 日後の CSF 中濃度と概ね符合した。SPR 法より，レカネマブは Aβ(1-40)モノマーに比較して，Aβ(1-42)プロトフィブ

リルに速い結合及び遅い解離を示した。レカネマブの Aβ(1-42)プロトフィブリル及び Aβ(1-40)モノマーに対する K_{D1} 及び K_D 値は，それぞれ 0.16～1.16 及び 1700～3300 nmol/L であった。これらの結果は，レカネマブが Aβ モノマーより Aβ プロトフィブリルに選択性が高いことを示す。レカネマブの Aβ 種への親和性は，Aβ プロトフィブリルに対して最も高く，Aβ オリゴマーの 8～12 量体，6～8 量体，2～3 量体と Aβ オリゴマーサイズの降順で低くなった。Aβ ペプチドの N 末端から 2～3 アミノ酸は，レカネマブ結合エピトープの 1 次構造として重要であることが，Aβ の N 末端からアミノ酸を順番に切断した実験から示された。レカネマブ及びレカネマブの抗原結合フラグメント $F(ab')_2$ は，Aβ プロトフィブリルに同様の結合性を示した。他の抗 Aβ 抗体（アデュカヌマブ及びガンテネルマブの類似体）と同じ実験条件下で比較したところ，レカネマブは可溶性 Aβ プロトフィブリルに対して最も高い結合性及び選択性を示した。アデュカヌマブは，レカネマブと同様にプロトフィブリルに対して高い親和性を示したが，速度論的特性は異なっていた：アデュカヌマブは，レカネマブと比較して 2 桁速い k_{a1} 値及び k_{d1} 値を示した。Selkoe（2019）は，「サイズが小さく拡散性があり細胞障害を与える Aβ オリゴマーの中和には，アデュカヌマブよりもこの抗体の方が効率的であるだろう」と示唆している。

レカネマブ及び mAb158 は，Aβ の β シート形成を阻害した。この結果は，レカネマブ及び mAb158 が Aβ 凝集体の生成を遅らせて Aβ 凝集体による神経毒性作用を阻害する可能性があることを示唆している。レカネマブは，ラット海馬神経細胞の樹状突起スパインへの Aβ プロトフィブリルの結合を阻害した。レカネマブは，マウス海馬スライスにおける Aβ オリゴマー誘発 LTP 抑制を回復させた。なお，レカネマブ単独では LTP に影響を与えなかった。この結果は，レカネマブが AD 患者の学習及び記憶を改善する可能性を示唆する。レカネマブは，鶏大脳皮質神経細胞及び SH-SY5Y ヒト神経芽腫細胞における Aβ プロトフィブリル誘発細胞死を抑制した。これらの結果は，レカネマブが Aβ 凝集体によって誘発される神経細胞障害を抑制し，AD 患者の認知機能低下の進行を遅らせる可能性があることを示唆する。

Tg-APP_{ArcSwe} マウスにおいて，mAb158（3 及び 10 mg/kg/週）及び他のマウスサロゲート抗体 rec158（20 mg/kg/週）の 4 週間投与後の脳の Aβ プロトフィブリル量は，コントロール群と比較して有意に減少した。mAb158 の長期投与（17 週間）実験における Aβ プロトフィブリル量は，0.3 mg/kg/週でコントロール群と比較して有意に減少した。Aβ プロトフィブリル量の減少がみられた時の mAb158 の CSF 中濃度は，mAb158 の Aβ プロトフィブリルに対する in vitro IC_{50} 値と同じレベルであった。

Tg2576 マウスにおいて，mAb158（12, 24, 35 及び 50 mg/kg/週）の 18 週間投与後の脳の Aβ プロトフィブリル量は，コントロール群と比較して有意に減少した。mAb158（35 mg/kg/週）の 18 週間投与の 12 週間休薬後でも，脳の Aβ プロトフィブリル量及び Aβ プラーク面積は，コントロール群と比較して有意に減少していた。mAb158 の 12, 24 及び 35 mg/kg の 18 週間投与により，コントロール群に対して，6E10 陽性 Aβ プラーク（周辺及びコア Aβ プラーク）の減少も観察されたが，チオフラビン S 陽性プラーク（高密度コアプラーク）に変化はみられなかった。これらの結果より，このマウスモデルでは，mAb158 は主に周辺プラークを除去し，コアプラークには作用しないことを示す。

APP^{NL-G-F} マウスにおいて，mAb158（10 及び 30 mg/kg/週）の 16 週間投与後の脳の Aβ プロトフィブリル量は，コントロール群と比較して有意に減少した。mAb158 の 10 及び 30 mg/kg の 16

週間投与により，コントロール群に対して，82E1 陽性 Aβ プラーク（周辺及びコア Aβ プラーク）の減少も観察された。

他のマウスモノクローナル抗体 rec158 の Tg2576 マウス脳内の Aβ プラーク，Aβ プロトフィブリル及びミクログリアへの効果は，mAb158 と比較して弱かった。rec158 は mAb158 と比較して ADA 産生が高く，rec158 の血漿中濃度が低かったためであると考えられる。

老齢 Tg2576 マウスに mAb158（50 mg/kg/週）を 12 週間，腹腔内投与し，^{99m}Tc-HMPAO 単一光子放射断層撮影（SPECT）及び ^{123}I-IMZ SPECT により，それぞれ局所血流量及び神経細胞の生存性を評価した。大脳皮質での ^{99m}Tc-HMPAO の取り込みの増加がみられたことから，局所血流量の増加が示唆された。脳内の ^{123}I-IMZ の取り込みの増加がみられたことから，神経細胞の生存性の増加が示唆された。

Tg2576 マウスにおける恐怖条件付け学習試験では，mAb158（50 mg/kg/週）の 12 週間腹腔内投与によって，すくみ反応時間を有意に延長する作用はみられなかった。

レカネマブがオフターゲットへ結合する可能性を調べた。THBS1 は Aβ の N 末端から 3～8 番目のアミノ酸と配列類似性のある領域を持っているが，Aβ の N 末端から 3～8 番目のアミノ酸はレカネマブの線状エピトープと重複している。THBS1 に対するレカネマブの K_D 値は 4 μmol/L であり，レカネマブに対する Aβ プロトフィブリルの IC_{50}（0.56～3.6 nmol/L）と比較して高濃度であった。ヒト血漿中の THBS1 のレベルは 50～250 ng/mL と報告されているが（Esemuede, et al., 2004），レカネマブの血漿中濃度（10 mg/kg 隔週投与の定常状態での予測 C_{max} 値 280.5 μg/mL）と比較して低いため，THBS1 がレカネマブの体内動態に影響する可能性は低いと考えられる。

レカネマブの免疫原性リスクは，EpiScreen の 2 つの ex vivo 実験で評価した。一般に，両方の試験で陽性となる割合が 10%以上であるタンパク製剤は，臨床で免疫原性となる危険性が高いと考えられるが，レカネマブの陽性率は 8%と低かったため，臨床で免疫原性となる可能性は低いと考えられた。

レカネマブの安全性薬理評価（CV 系，CNS 及び呼吸系）は，カニクイザルを用いた週 1 回の静脈内投与による 4 週間間歇投与（合計 5 回投与）毒性試験に組み入れて実施した。レカネマブは 5 から 50 mg/kg の用量において CV 系，CNS 及び呼吸系に対する影響は認められなかった。

雌性 Tg2576 マウスに mAb158 を単回腹腔内投与（1，5 及び 15 mg/kg）したときの mAb158 の血漿中及び CSF 中濃度は，それぞれ 1～15 mg/kg 及び 1～5 mg/kg の投与量範囲で線形の PK を示した。mAb158 の CSF 中濃度は血漿中濃度に比べ 0.06%～0.81%の範囲であり，投与量に関係なくおおむね一定であった。これらの値は Aβ を標的とする抗体を含む他のモノクローナル抗体で報告されている値と近似していた（Wang, et al., 2008; Nitsch and Hock, 2008）。

毒性試験において雌雄 SD ラットにレカネマブを単回静脈内投与（10，30 及び 100 mg/kg）したときの血清中濃度の C_{5min}，$AUC_{(0\text{-}384h)}$及び $t_{1/2}$ に顕著な性差は認められなかった。C_{5min} 及び $AUC_{(0\text{-}384h)}$は 10～100 mg/kg の投与量範囲で雌雄ともに投与量公比に従って増加し，$t_{1/2}$（207.2～278.1 時間）に投与量の違いによる明確な差は認められなかった。

雄性カニクイザルにレカネマブを単回静脈内投与（5 及び 50 mg/kg）したとき，血清中濃度の C_{5min} 及び $AUC_{(0\text{-}672h)}$は投与量公比に従って増加し，$t_{1/2}$ は各投与量でそれぞれ 289.3 時間（12.1 日）及び 312.3 時間（13.0 日）であった。

雄性カニクイザルにレカネマブを単回静脈内投与あるいは皮下投与（ともに 10 mg/kg）し，レ

カネマブのサルにおける PK をさらに評価した。単回静脈内投与後の血清中レカネマブの PK プロファイルは，低い CL（0.189 mL/h/kg）及び小さい V_{ss}（65.1 mL/kg）を示し，241.4 時間（10.1 日）の $t_{1/2}$ で消失した。単回皮下投与後のレカネマブの血清中濃度は 96.0 時間で最高値に達し，270.9 時間（11.3 日）の $t_{1/2}$ で消失した。レカネマブの $t_{1/2}$ は単回静脈内投与後及び皮下投与後で同等であり，単回皮下投与後の F は 95.9%であった。

毒性試験において雌雄カニクイザルにレカネマブを週 1 回反復静脈内投与（5～100 mg/kg）したとき，血清中濃度推移に性差はなく，線形性が認められた。$t_{1/2}$ は 320～419 時間であり，週 1 回投与の投与間隔より長かったため，レカネマブの蓄積性（初回投与時に比べて 2.3～3.8 倍増加）が観察された。この試験の中で ADA はいずれの個体でも検出されなかった。

101 試験（BAN2401-A001-101）の単回投与漸増試験コホートでのレカネマブの血清中 $t_{1/2}$ は 85.2～163 時間の範囲であった。マウス，ラット及びカニクイザルにおける mAb158／レカネマブの $t_{1/2}$ は，他のモノクローナル抗体で報告されている値の範囲内であった。

レカネマブの比較的短いヒト $t_{1/2}$ にかかわる特性について in vitro で検討した。フィブリノーゲンなどの凝固に関与する血漿タンパク質及び血球へのレカネマブの分配は限定的であり，ヒトにおけるレカネマブの短い $t_{1/2}$ は，血漿タンパク質への結合又は血球への移行性に起因する可能性がないことが示唆された。

IgG 抗体の長い血清中半減期は，胎児性 Fc 受容体（FcRn）に起因するとされている（Deng, et al., 2012）。IgG 抗体と FcRn の相互作用は pH に依存しており，pH 6 では IgG 抗体が FcRn に結合し，pH 7.4 では受容体から解離する。pH 6 での高い結合親和性だけでなく，pH 7.4 での低い結合親和性も IgG 抗体の全身クリアランスを低下させる可能性がある（Deng, et al., 2010）。ヒト FcRn とレカネマブの間の比較的高い親和性が pH 6 で観察され，レカネマブと FcRn の間の低いが特異的な相互作用が pH 7.4 で観察された。これらのことが，レカネマブの短い血清中半減期の要因になっている可能性が推察された。

レカネマブの代謝及び排泄に関する試験は実施していない。内因性 IgG はリソソームにおいてペプチド及びアミノ酸に分解され，排出されることが報告されている（Roopenian et al., 2007; Wang et al., 2008）。よって，レカネマブも同様に，ペプチド及びアミノ酸に分解され，排泄されると考えられる。また，IgG は乳汁中に排泄されるとの報告があることから（Van de Perre, 2003; Palmeira et al., 2009），レカネマブも乳汁中に排泄されると考えられる。

レカネマブの胎盤通過性の試験は実施していないが，IgG は FcRn に結合し，胎盤を通過することが報告されていることから（Roopenian et al., 2007; Palmeira et al., 2012），FcRn に結合するレカネマブも胎盤を通過し胎児に移行する可能性がある。

SD ラットを用いた単回投与毒性試験では，試験実施当時の最大投与可能用量である 100 mg/kg においてもレカネマブによる変化は認められなかった（C_{5min} = 2,358 µg/mL 及び $AUC_{(0\text{-}384h)}$ = 202,525 µg·h/mL）。カニクイザルの静脈内投与による単回投与，4 週間及び 39 週間間歇投与毒性試験では，低速静脈内投与の 1 日当たり（bis in die）の最大投与用量である 100 mg/kg においてもレカネマブ投与に起因した毒性は認められなかった（投与 274 日目の C_{3h5min} = 4,455 µg/mL 及び $AUC_{(0\text{-}168h)}$ = 518,500 µg·h/mL）。レカネマブを静脈内あるいは皮下に反復投与しても，投与部位に局所刺激性による変化は認められず，ADA も検出されなかった。カニクイザルの静脈内投与による 4 週間又は 39 週間間歇投与毒性試験において脾臓における重量

の増加傾向及び病理組織学的評価における胚中心の増加が認められたが，13 週間の休薬により回復性が確認され，異種タンパク質であるヒト化モノクローナル抗体に対する弱い免疫反応によるものだと考えられた。胚中心の増加は，免疫原性をもつ外来タンパク質に対する典型的な適応性反応で，抗原に反応した B 細胞の増殖を示すものである（Greaves, 1990; Rogers, et al., 2006）。今回サルでみられた免疫反応はヒトでの ADA 産生を示唆するものではなく，ヒトにおける安全性への懸念はないと考えられた。レカネマブに起因したその他の変化も無く，脾臓の変化も毒性学的な意義は乏しいと考えられることから，カニクイザルにおける NOEAL は 100 mg/kg 以上と考えられた。

レカネマブとヒトの正常組織との交差反応性試験において，大脳の細胞外 Aβ プラーク，神経細胞及びグリア細胞，種々の組織における上皮細胞，単核細胞及び膵島細胞が陽性を示した。これらの陽性反応は，大脳の Aβ プラークを除き，細胞質内あるいは細胞質内顆粒においてみられた。生体内ではモノクローナル抗体が細胞質内に到達することはないため，これら陽性反応の毒性学的な意義はないと考えられた（Hall, et al.,2008）。

レカネマブのオンターゲット毒性を評価するため，mAb158 を投与した Tg-APP_{ArcSwe} 及び Tg2576 マウスについて病理組織学的検査を実施した。Tg-APP_{ArcSwe} マウスに 12 mg/kg を 14 週間あるいは最高 10 mg/kg を 17 週間投与した試験において，脳における微小出血の増加や他の臓器・組織における病理組織学的変化はみられなかった。同様に，Tg2576 マウスに最高 50 mg/kg を 18 週間まで投与（初回/17 回目の暴露は C_{max} = 585/355 µg/mL 及び $AUC_{(0\text{-}168h)}$ = 67,450/40,439 µg·h/mL）し，有意な薬力学的効果（可溶性 Aβ 凝集体の減少）がみられたが，mAb158 の投与に起因する脳微小出血又は脳及び他の臓器・組織における病理組織学的変化はみられなかった。同様の薬理作用を有する他の抗 Aβ モノクローナル抗体では，脳において微小出血，炎症性変化，ミクログリア細胞活性化などが報告されているが，mAb158 を投与した試験においては，いずれも認められなかった（Racke, et al., 2005; Wilcock and Colton, 2009; Thakker, et al., 2009; Zago et al., 2013; Pankiewicz et al., 2017）。

ラット単回投与毒性試験，サル 39 週間投与毒性試験，Tg マウス 18 週間投与薬理試験について，臨床用量（10 mg/kg，2 週間隔）に対する安全域のまとめを表 2.4-2 に示す。

表 2.4-2 臨床用量に対する安全域

投与期間，動物種	投与化合物	無毒性量 (mg/kg)	AUC (µg·h/mL)	AUC の安全域 [a]	C_{max} (µg/mL)	C_{max} の安全域 [a]
単回，SD ラット	レカネマブ	100	202,525[b]	5	2358[c]	7
39 週間，カニクイザル	レカネマブ	100	518,500[d]	27	4455[e]	14
18 週間，Tg2576 マウス	mAb158[f]	50	40,439[g]	2	356[h]	1

$AUC_{(0\text{-}\tau)}$ = AUC over the dosing interval on multiple dosing, $AUC_{(0\text{-}x)}$ = AUC from zero time to fixed timepoint x, C_{5min}, = concentration at 5 minutes, C_{3h5min}, = concentration at 3 hours and 5 minutes, mAb = monoclonal antibody, C_{max} = maximum observed concentration, NOAEL = no observed adverse effect level.

a: 臨床用量（10 mg/kg，2 週間隔）の定常時の C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}\tau)}$（それぞれ 307 µg·h/mL 及び 37,700 µg·h/mL [試験番号 BAN2401-A001-101 参照，添付資料 5.3.4.2.1]）から算出した。

b: $AUC_{(0\text{-}384h)}$ の雌雄平均値。

c: C_{5min} の雌雄平均値。

d:　$AUC_{(0\text{-}168h)}$ の雌雄平均値。カニクイザルの毒性試験は週 1 回の投与であったため，カニクイザルの AUC を 2 倍として，ヒトと同じ期間での安全域を計算した。
e:　投与 274 日の C_{3h5min} の雌雄平均値。
f:　レカネマブのマウス相同抗体。
g:　17 回目投与の $AUC_{(0\text{-}168h)}$ の平均値。Tg2576 マウスの薬理試験は週 1 回の投与であったため，Tg2576 マウスの AUC を 2 倍として，ヒトと同じ期間での安全域を計算した。
h:　17 回目投与の C_{max} の平均値。
出典：　添付資料 4.2.3.1.1（試験番号 S09060），4.2.3.2.2（試験番号 B100068），4.2.1.1.33（試験番号 W-20100318）。

（エフェクター機能）

レカネマブの作用機序におけるエフェクター機能の役割について以下に述べる。抗体依存性細胞傷害（ADCC）及び補体依存性細胞傷害（CDC）の評価は，以下の理由により実施していない：1）レカネマブは標的細胞ではなく可溶性 Aβ 種と結合する，2）ADCC 又は CDC を介した毒性を示唆する臨床所見はなかった，3）レカネマブは高密度コアプラーク（チオフラビン S 陽性）に影響しなかった（2.6.2 項参照）。

In vitro 薬理試験より，レカネマブは Fc 受容体を介した抗体依存性細胞貪食（ADCP）により Aβ クリアランスを促進する可能性が示唆されており（2.6.2 項参照），以下に要約を記載する。レカネマブは，IgG と同様にヒト FcγRI 及び FcγRIII に結合性を示したが，ヒト FcγRIIb/c には示さなかった。IgG の FcγRI への結合は，ミクログリアによる食作用を活性化することが知られている。Fc を介した Aβ 除去作用には FcγRI 及び FcγRIII が関与するが，これはレカネマブのような Aβ の N 末端をエピトープとする抗体に共通の特徴であることが知られている（Bard, et al., 2000; Bard, et al., 2003）。AD 患者ミクログリア培養細胞に Aβ プロトフィブリルを添加すると Aβ が取り込まれたが，その取り込みは Fc 受容体阻害剤で阻害されなかった。レカネマブ存在下では，さらに Aβ の取り込みが増加し，その取り込みは Fc 受容体阻害剤でほとんど阻害された。この結果は，レカネマブによる Aβ 取り込みは Fc 受容体を介すること，レカネマブは Fc 受容体を介さない Aβ 取り込みを Fc 受容体を介する取り込みにシフトさせる可能性を示唆する。以上より，可溶性 Aβ 凝集体のオプソニン化とそれに続くミクログリアによる食作用が，レカネマブの AD 治療薬としての作用機序に大きく貢献している可能性が示唆された。

ヒトのミクログリアは，FcγRI，FcγRIIa，FcγRIIIa の 3 つの活性化型 FcγR の全てを発現し，アミロイド斑との結合により FcγR の発現が増加することが知られている。FcγR を介した Aβ 凝集体の ADCP は複数の抗 Aβ 抗体で報告されているが，どの FcγR サブタイプが最も重要であるかは明らかにされていない（Adolfsson, et al, 2012; Sevigny, et al, 2016）。ナチュラルキラー（NK）細胞依存性の ADCC 活性は，抗体の標的，抗体の作用機序，関連する免疫エフェクター細胞が動員されているかなど考慮する必要があるが，レカネマブは非細胞標的である可溶性 Aβ と優先的に結合するため ADCC を惹き起こす可能性は低いと考えられる。また，一般的にレカネマブのような IgG1 抗体の Fc 領域は補体成分 C1q に対する親和性が低く，CDC は誘発されないと考えられる（Kellner,et al., 2017; Wang et al., 2020）。C1q に IgG が結合した場合でも，単量体 IgG は補体カスケードの活性化を開始することができない（Feinstein, et al, 1986）。補体活性化には，IgG が細胞表面の C1q と高い親和性で結合して 6 量体を形成する必要があるため（Diebolder et al.,

2014; Strasser, et al., 2019），レカネマブによる CDC は誘発されないと考えられる。臨床試験及び非臨床試験におけるエビデンスより，レカネマブによる Fc を介した細胞毒性のリスクは想定されない。エフェクター機能にかかわる作用については，適切な分析管理により，レカネマブバッチの一貫性を確保している。

結論として，in vitro 薬理試験より，レカネマブ及びマウスサロゲート抗体 mAb158 は，Aβ プロトフィブリルに対する強力で選択的な抗体であり，Aβ の凝集を阻害すること，Aβ 凝集体によって誘発される神経細胞の生存率低下を部分的に抑制すること，AD 患者ミクログリアにおける Aβ 凝集体の取り込みを促進することが示された。In vivo 薬理試験より，mAb158 は，APP-Tg マウス及び APP ノックインマウスの脳内の Aβ プロトフィブリル及び Aβ プラークを減少させることが示された。

レカネマブの PK の特徴を SD ラット及びカニクイザルを用いて評価し，レカネマブ，mAb158 又は rec158 の PK の特徴を野生型マウス及び Tg マウスを用いて評価した。これらの試験結果は，動物におけるレカネマブの薬物動態特性，PK/PD の関係性，並びに適応症におけるヒトのリスク査定のために暴露に基づく安全性マージンを評価する上で適切であり，十分なものであると考えられた。

レカネマブは SD ラットを用いた単回静脈内投与毒性試験，カニクイザルを用いた 39 週間までの静脈内反復投与毒性試験，カニクイザルを用いた 4 週間の皮下局所刺激性試験，あるいは Tg マウス（Tg-APP$_{ArcSwe}$ 及び Tg2576）を用いた 18 週間までの反復投与の薬理試験において，毒性を示さなかった。Tg2576 マウスでは，mAb158 の 50 mg/kg 群において有意な薬力学的効果（可溶性 Aβ 凝集体のクリアランス促進）がみられたが，mAb158 の投与に起因する脳微小出血又は脳及び他の臓器・組織における病理組織学的変化はみられなかった。以上の毒性評価は，承認申請に必要な非臨床安全性評価項目を満たし，レカネマブが AD 適応の承認を受けるのに十分なものであると考えられた。

2.4.6 参考文献一覧

Adolfsson O, Pihlgren M, Toni N, Varisco Y, Buccarello AL, Antoniello K, et al. An effector-reduced anti-β-amyloid (Aβ) antibody with unique Aβ binding properties promotes neuroprotection and glial engulfment of Aβ. J Neurosci. 2012;32:9677–89.

Bard F, Barbour R, Cannon C, Carretto R, Fox M, Games D, et al. Epitope and isotype specificities of antibodies to β-amyloid peptide for protection against Alzheimer's disease-like neuropathology. Proc Natl Acad Sci USA. 2003;100:2023–8.

Bard F, Cannon C, Barbour R, Burke RL, Games D, Grajeda H, et al. Peripherally administered antibodies against amyloid β-peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. Nat Med. 2000;6:916–9.

Deng R, Jin F, Prabhu S, Iyer S. Monoclonal antibodies: what are the pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations for drug development? Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2012;8:141–

60.

Deng R, Loyet KM, Lien S, Iyer S, DeForge LE, Theil F-P, et al. Pharmacokinetics of humanized monoclonal anti-tumor necrosis factor-α antibody and its neonatal Fc receptor variants in mice and cynomolgus monkeys. Drug Metab Dispos. 2010;38:600–5.

de Zafra CLZ, Markgraf CG, Compton, DR, Hudzik TJ. Abuse liability assessment for biologic drugs – all molecules are not created equal. Regul Toxicol Pharmacol. 2018;92:165–72.

Diebolder CA, Beurskens FJ, de Jong RN, Koning RI, Strumane K, Lindorfer MA, et al. Complement is activated by IgG hexamers assembled at the cell surface. Science. 2014;343:1260–3.

Esemuede N, Lee T, Pierre-Paul D, Sumpio BE, Gahtan V. The role of thrombospondin-1 in human disease. J Surg Res. 2004;122:135–42.

Feinstein A, Richardson N, Taussig MJ. Immunoglobulin flexibility in complement activation. Immunol Today. 1986;7:169–74.

Greaves P. Histopathology of preclinical toxicity studies. Interpretation and relevance in drug safety evaluation. Third ed. New York: Elsevier; 1990. p. 122.

Hall W, Price-Schiavi S, Wicks J, Rojko J. Tissue cross-reactivity studies for monoclonal antibodies: predictive value and use for selection of relevant animal species for toxicity testing. In: Cavagnaro JA, editor. Preclinical safety evaluation of biopharmaceuticals: A science-based approach to facilitating clinical trials. New York: Wiley-Interscience; 2008. p. 208–40.

Kellner C, Otte A, Cappuzzello E, Klausz K, Peipp M. Modulating cytotoxic effector functions by Fc engineering to improve cancer therapy. Transfus Med. Hemother. 2017;44:327–36.

Klein WL, Krafft GA, Finch CE. Targeting small Aβ oligomers: the solution to an Alzheimer's disease conundrum? Trends Neurosci. 2001;24:219–24.

Nitsch RM, Hock C. Targeting β-amyloid pathology in Alzheimer's disease with Aβ immunotherapy. Neurotherapeutics. 2008;5:415–20.

Palmeira P, Costa-Carvalho BT, Arslanian C, Pontes GN, Nagao AT, Carneiro-Sampaio MMS. Transfer of antibodies across the placenta and in breast milk from mothers on intravenous immunoglobulin. Pediatr Allergy Immunol. 2009;20:528–35.

Palmeira P, Quinello C, Silveira-Lessa AL, Zago CA, Carneiro-Sampaio M. IgG placental transfer in healthy and pathological pregnancies. Clin Dev Immunol. 2012;2012:985646.

Pankiewicz JE, Baquero-Buitrago J, Sanchez S, Lopez-Contreras J, Kim J, Sullivan PM, et al. APOE genotype differentially modulates effects of anti-Aβ, passive immunization in APP transgenic mice. Mol Neurodegener. 2017;12:12.

Racke MM, Boone LI, Hepburn DL, Parsadainian M, Bryan MT, Ness DK, et al. Exacerbation of cerebral amyloid angiopathy-associated microhemorrhage in amyloid precursor protein transgenic mice by immunotherapy is dependent on antibody recognition of deposited forms of amyloid β. J Neurosci. 2005;25:629–36.

Rogers J, Li R, Mastroeni D, Grover A, Leonard B, Ahern G, et al. Peripheral clearance of amyloid β peptide by complement C3-dependent adherence to erythrocytes. Neurobiol Aging. 2006;27:1733–9.

Roopenian DC, Akilesh S. FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. Nat Rev Immunol. 2007;7:715–25.

Selkoe DJ. Alzheimer disease and aducanumab: adjusting our approach. Nat Rev Neurol. 2019;15:365-6.

Sevigny J, Chiao P, Bussière T, Weinreb PH, Williams L, Maier M, et al. The antibody aducanumab reduces Aβ plaques in Alzheimer's disease. Nature. 2016;537:50–6.

Strasser J, de Jong RN, Beurskens FJ, Wang G, Heck AJR, Schuurman J, et al. Unraveling the macromolecular pathways of IgG oligomerization and complement activation on antigenic surfaces. Nano. Lett. 2019;19:4787–96.

Thakker DR, Weatherspoon MR, Harrison J, Keene TE, Lane DS, Kaemmerer WF, et al. Intracerebroventicular amyloid-beta antibodies reduce cerebral amyloid angiopathy and associated micro-hemorrhages in aged Tg2576 mice. Proc Natl Acad Sci USA. 2009;106:4501–6.

Van de Perre P. Transfer of antibody via mother's milk. Vaccine. 2003;21:3374–6.

Wang B, Yang C, Jin X, Du Q, Wu H, Dall'Acqua W, et al. Regulation of antibody-mediated complement-dependent cytotoxicity by modulating the intrinsic affinity and binding valency of IgG for target antigen. MAbs. 2020;12:1690959.

Wang W, Wang EQ, Balthasar JP. Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. Clin Pharmacol Ther. 2008;84:548–58.

Wilcock DM, Colton CA. Immunotherapy, vascular pathology, and microhemorrhages in transgenic mice. CNS Neurol Disord Drug Targets. 2009;8:50–64.

Zago W, Schroeter S, Guido T, Khan K, Seubert P, Yednock T, et al. Vascular alterations in PDAPP mice after anti-Aβ immunotherapy: Implications for amyloid-related imaging abnormalities. Alzheimers

Dement. 2013;9:S105–15.