2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

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
AD	Alzheimer's disease	アルツハイマー病
APP	amyloid precursor protein	アミロイド前駆体タンパク質
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
LTP	long-term potentiation	長期増強

2.6.1 緒言

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。可溶性アミロイドβ（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。

表 2.6.1-1 レカネマブの分子情報

JAN:	日本名：レカネマブ（遺伝子組換え） 英名：Lecanemab (Genetical Recombination)
INN:	lecanemab
開発コード:	BAN2401
CAS 索引名:	Immunoglobulin G1, anti-(human β-amyloid protofibril) (human-Mus musculus monoclonal BAN2401 heavy chain), disulfide with human-Mus musculus monoclonal BAN2401 light chain, dimer
分子式:	$C_{6644}H_{10248}N_{1748}O_{2108}S_{46}$ (protein with mature heavy chains and 2x G0F glycosylation)
分子量:	149,704

CAS = Chemical Abstracts Service，INN = 国際一般名，JAN = 日本医薬品一般名称.

アルツハイマー病（AD）は，脳内の 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。脳内 Aβ の蓄積は神経原線維変化の形成や神経変性に先行して起こり，AD の臨床症状が現れる 10 年以上前に脳内アミロイド斑の沈着が始まる。

アミロイド前駆体タンパク質（APP）が酵素によって切断されると，Aβ ペプチドが生成されるが，Aβ ペプチドは正常に折りたたまれずに自己凝集する傾向がある。Aβ ペプチドは，Aβ モノマー，可溶性 Aβ 凝集体（低分子量のオリゴマー，高分子量のプロトフィブリル），不溶性フィブリル等，様々な構造となる（図 2.6.1-1）。可溶性 Aβ 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）。可溶性 Aβ オリゴマー及びプロトフィブリルは，神経細胞，シナプス並びに海馬の長期増強（LTP）等の障害に関与すると考えられている（Hartley et al., 1999; Lambert et al., 1998; Walsh and Selkoe, 2004）。レカネマブは，AD の進行にかかわると考えられる Aβ 凝集体を減少させることにより，神経細胞障害，シナプス機能障害，ミクログリアの活性化及び炎症性変化を抑制して，AD を効果的に治療できると考えられる。

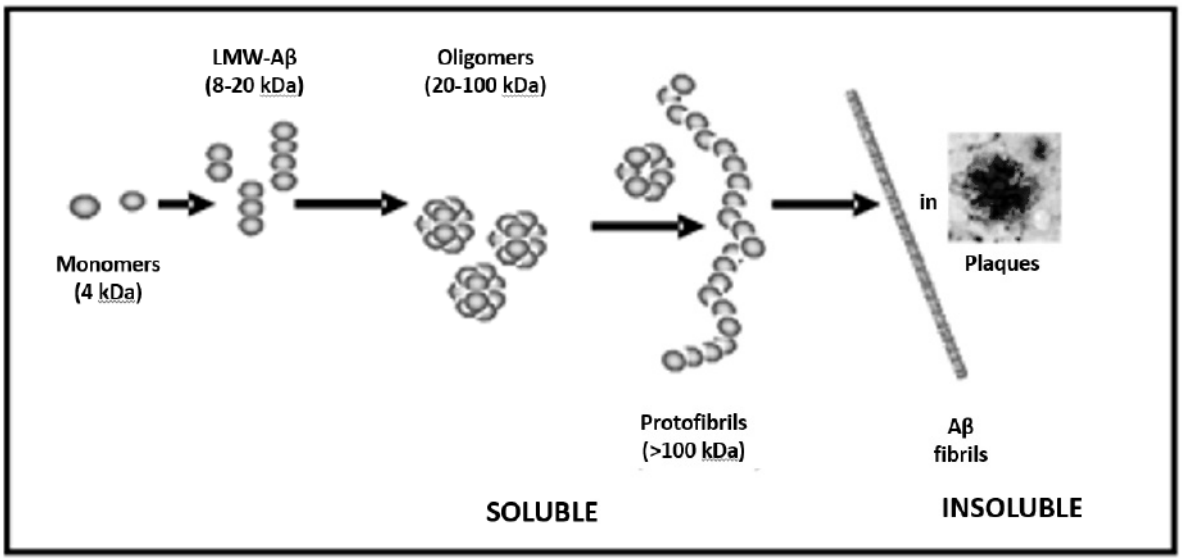


図 2.6.1-1 Aβ モノマーから脳内プラーク中の不溶性 Aβ フィブリルへの構造変化

Aβ = アミロイド β, LMW = low molecular weight.

AD の免疫療法として，Aβ フィブリルの分解や Fc 受容体を介した Aβ 複合体の貪食など，Aβ プラークの沈着に関連した作用が提唱されている（Morgan, 2009）。抗 Aβ 抗体は，AD 患者のシナプス障害を惹き起こす可能性がある Aβ 凝集体を中和できると考えられる。レカネマブは，Aβ モノマーよりもプロトフィブリル（可溶性 Aβ 凝集体）に対する選択性が高いヒト化 IgG1 モノクローナル抗体であり，Aβ 凝集体及びプラークを中和及び除去できると考えられる。

レカネマブは，Aβ モノマーよりもプロトフィブリルに選択的に結合するが，Aβ プラークの主要構成成分である不溶性 Aβ フィブリル及び Aβ プロトフィブリルより分子サイズの小さい可溶性 Aβ 凝集体（オリゴマー）にも結合性を示した。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。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。

In vivo 実験として，AD マウスモデル（APP 遺伝子改変マウス［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，マウスサロゲート抗体 mAb158 の効果を検討した。mAb158 は，レカネマブと同じ相補性決定領域を持ち，in vitro での Aβ プロトフィブリルに対する結合性も同等である。Tg-APP_{ArcSwe} マウスにおいて，mAb158（0.3～10 mg/kg/週）の反復

腹腔内投与により脳内の Aβ プロトフィブリルの減少がみられた。Tg2576 マウスにおいて，mAb158（12 又は 24 mg/kg/週）の反復腹腔内投与により脳内の Aβ プロトフィブリルの減少がみられた。APP^{NL-G-F} マウスにおいて，mAb158（10 又は 30 mg/kg/週）の反復腹腔内投与により脳内の Aβ プロトフィブリルの減少がみられた。いくつかの試験では，脳内の Aβ プラークの減少も確認された。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，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 の治療薬としての作用機序に貢献している可能性が示唆された。

レカネマブは，シナプス障害を惹き起こすと考えられる Aβ プロトフィブリルを中和し，Fc 受容体を介して脳内 Aβ プロトフィブリル，さらには Aβ プラークを除去する可能性がある。これら 2 つの効果により，AD 脳に既に存在する Aβ 蓄積を減少させるとともに，Aβ プロトフィブリルによる神経細胞障害を抑制することができると考えられる。

本薬の効能・効果及び用法・用量は以下のとおりである。

【効能・効果】アルツハイマー病による軽度認知障害及び軽度の認知症の進行抑制
【用法・用量】通常，レカネマブ（遺伝子組換え）として 10 mg/kg を，2 週間に 1 回，約 1 時間かけて点滴静注する

参考文献

Hartley DM, Walsh DM, Ye CP, Diehl T, Vasquez S, Vassilev PM, et al. Protofibrillar intermediates of amyloid β-protein induce acute electrophysiological changes and progressive neurotoxicity in cortical neurons. J Neurosci. 1999;19:8876–84.

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

Lambert MP, Barlow AK, Chromy BA, Edwards C, Freed R, Liosatos M, et al. Diffusible, nonfibrillar ligands derived from $A\beta_{1-42}$ are potent central nervous system neurotoxins. Proc Natl Acad Sci USA. 1998;95:6448–53.

Morgan D. The role of microglia in antibody-mediated clearance of amyloid-beta from the brain. CNS Neurol Disord Drug Targets. 2009;8:7–15.

Walsh DM, Selkoe DJ. Deciphering the molecular basis of memory failure in Alzheimer's disease. Neuron. 2004;44:181–93.

目次

2.6.2 薬理試験の概要文 4
2.6.2.1 まとめ 4
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 6
2.6.2.3 副次的薬理試験 46
2.6.2.4 安全性薬理試験 49
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 50
2.6.2.6 考察及び結論 50
2.6.2.7 図表 53
2.6.2.8 参考文献 53

薬理試験の概要文の略号一覧表

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
Aβ(pE3-42)	pyroglutamate-modified Aβ(3-42)	ピログルタミル化 Aβ(3-42)
ACSF	artificial cerebrospinal fluid	人工脳脊髄液
AD	Alzheimer's disease	アルツハイマー病
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
APP	amyloid precursor protein	アミロイド前駆体タンパク質
BLAST	basic local alignment search tool	—
BLI	biolayer interferometry	バイオレイヤー干渉法
CAA	cerebral amyloid angiopathy	脳アミロイドアンギオパチー
CNS	central nervous system	中枢神経系
CSF	cerebrospinal fluid	脳脊髄液
CV	cardiovascular	心血管
EC_{50}	50% effective concentration	50%有効濃度
ECLIA	electrochemiluminescence immunoassay	電気化学発光免疫測定法
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
Fab	antigen-binding fragment	抗原結合フラグメント
Fab158	Fab of mAb158	mAb158 の抗原結合フラグメント Fab
$F(ab')_2$	antigen-binding fragment	抗原結合フラグメント
$F(ab')_2$-2401	$F(ab')_2$ of lecanemab	レカネマブの抗原結合フラグメント $F(ab')_2$
FcγR	Fcγ receptor	Fcγ 受容体
FcRn	neonatal Fc receptor	胎児性 Fc 受容体
FDG	fluorodeoxyglucose	フルオロデオキシグルコース
fEPSP	field excitatory postsynaptic potential	興奮性シナプス後場電位
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
H/D	hydrogen/deuterium	水素/重水素
HDX-MS	hydrogen-deuterium exchange mass spectrometry	水素-重水素交換質量分析
HMPAO	exametazime	—
IC_{50}	concentration causing a 50% reduction	50%阻害濃度
Ig	immunoglobulin	免疫グロブリン
IL-2	interleukin-2	インターロイキン 2
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
LDH	lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
LTP	long-term potentiation	長期増強

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）
PBMC	peripheral blood mononuclear cell	末梢血単核細胞
PBS	phosphate-buffered saline	リン酸緩衝生理食塩水
PET	positron emission tomography	陽電子放出断層撮影
SEC	size exclusion chromatography	サイズ排除クロマトグラフィー
SI	Stimulation Index	—
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
TBS	θ-burst stimulation	θ バースト刺激
Tg	transgenic	遺伝子改変
THBS1	thrombospondin 1	トロンボスポンジン 1

—該当せず

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

レカネマブ（遺伝子組換え；以下，レカネマブ）をアルツハイマー病（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

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

- Tg-APP_{ArcSwe} マウスにおける Aβ プロトフィブリル量に対する mAb158 の短期及び長期投与の効果
- Tg2576 マウスにおける Aβ プロトフィブリル量に対する 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

In vitro 実験より以下の結果が示された。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。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。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，共に 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。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。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，ヒト免疫グロブリン（Ig）G 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だった。レカネマブはミクログリアへの Aβ プロトフィブリルの取り込み作用を促進したが，この取り込みは Fc 受容体阻害剤で阻害された。

In vivo 実験として，Tg-APP_{ArcSwe}，Tg2576 及び APP^{NL-G-F} マウスを用いて，脳内 Aβ 量及び Aβ プラークに対する mAb158 の効果を検討した。Tg-APP_{ArcSwe} は Arctic 及び Swedish 両方の変異を持つヒト APP 遺伝子を，Tg2576 は Swedish 変異ヒト 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 Aβ プロトフィブリル量の減少がみられた。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 Aβ プロトフィブリル量の減少がみられた。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 Aβ プロトフィブリル量の減少がみられた。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 Aβ プロトフィブリル及び Aβ(x-42)量の減少がみられた。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。他のマウスモノクローナル抗体 rec158 を用いて，マウス脳内 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を検討したが，mAb158 と比較して効果は弱かった。rec158 は mAb158 と比較して抗薬物抗体（ADA）産生が高く，rec158 の血漿中濃度は低かった。そのため，in vivo 薬理試験は主に mAb158 を用いて行った。

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。

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 Aβ プロトフィブリル量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。

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。レカネマブが脳微小出血を惹き起こす可能性を，Tg-APP_{ArcSwe} マウス及び Tg2576 マウスで調べたが，いずれの実験においても，脳微小出血は観察されなかった。

安全性薬理試験

レカネマブの心血管（CV）系，CNS 及び呼吸系への影響は，カニクイザルを用いた週 1 回の静脈内投与（投与用量 5, 15, 50 mg/kg）による 4 週間間歇投与（合計 5 回投与）の毒性試験に組み入れて評価した。レカネマブの CV 系，CNS 及び呼吸系に対する影響は認められなかった。本試験は GLP に準拠して実施した。

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 Aβ プロトフィブリル及び他の Aβ 種に対するレカネマブ及び mAb158 の結合性（添付資料 4.2.1.1.1，試験番号 AD-TR-445［参考］）（添付資料 4.2.1.1.38，試験番号 M22001）（添付資料 4.2.1.1.39，試験番号 M22002）（添付資料 4.2.1.1.2，試験番号 AD-TR-006［参考］）（添付資料 4.2.1.1.3，試験番号 W-20090268［参考］）（添付資料 4.2.1.1.40，試験番号 NCL-1120［参考］）

Aβ プロトフィブリル，フィブリル及び Aβ モノマーに対するレカネマブ及び mAb158 の結合性を ELISA 又は SPR 法で測定した。

（添付資料 4.2.1.1.1，試験番号 AD-TR-445［参考］）

競合 ELISA 実験では，レカネマブ（50 又は 6.3 ng/mL =0.34 又は 0.043 nmol/L）を種々 Aβ（Aβ[1-40]モノマー，Aβ[1-42]オリゴマー，Aβ[1-42]プロトフィブリル及びピログルタミル化 Aβ[3-42]プロトフィブリル；Aβ[pE3-42]プロトフィブリル）とインキュベート後，Aβ プロトフィブリル又は Aβ モノマーをコーティングした ELISA プレートへ移した。プレートに結合した遊離レカネマブをアルカリホスファターゼ標識抗ヒト IgG 抗体で検出した。

SPR 法は，以下の 3 種の設定で行った：（1）レカネマブをセンサーチップに固定化した直接法で Aβ(1-28)モノマーの親和性を測定，（2）抗ヒト抗体を介してレカネマブをセンサーチップに固定化したキャプチャー法で Aβ(1-28)モノマー及び Aβ(1-42)オリゴマーの親和性を測定，（3）Aβ プロトフィブリル又はフィブリルをセンサーチップに固定化し，レカネマブをアナライトとして測定。Aβ(1-28)モノマーは 1:1 結合モデルで解析し，他の Aβ 種は 2 価アナライトモデルで解析した。

Aβ ペプチドを室温でインキュベートし，フィブリルを遠心分離によって沈降後，サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）で上清中の Aβ(1-42)プロトフィブリルをモノマーから分離した。小及び大 Aβ(1-42)プロトフィブリルとして，それぞれ推定サイズ 75～400 kDa 及び 300～5000 kDa のものを用いた。架橋 Aβ(1-42)プロトフィブリル及びオリゴマーは，Aβ(1-42)モノマーを短時間インキュベートし光架橋反応により架橋させた後，SEC で分離して調製した。Aβ(1-40)及び Aβ(1-42)フィブリルは，Aβ ペプチドを 37 ℃ で 48 時間インキュベートして調製した。

競合 ELISA による，Aβ(1-40)モノマー及び大小 Aβ(1-42)プロトフィブリルへの結合性の結果を図 2.6.2-1 に示す。小及び大 Aβ(1-42)プロトフィブリルのレカネマブへの結合親和性は（IC_{50} 値：それぞれ 0.80 及び 0.79 nmol/L），Aβ(1-40)モノマーの結合親和性（IC_{50} 値：>25,000 nmol/L）よりも 30,000 倍以上高かった。SPR 法による，Aβ(1-28)モノマー，小 Aβ(1-42)プロトフィブリル，大 Aβ(1-42)プロトフィブリル，Aβ(1-40)フィブリル及び Aβ(1-42)フィブリルの K_D 値（1:1 結合モデルに適合）又は K_{D1} 値（二価アナライトモデルに適合）は，それぞれ 2290，0.97，0.16，1.33 及び 1.79 nmol/L であった（表 2.6.2-1）。

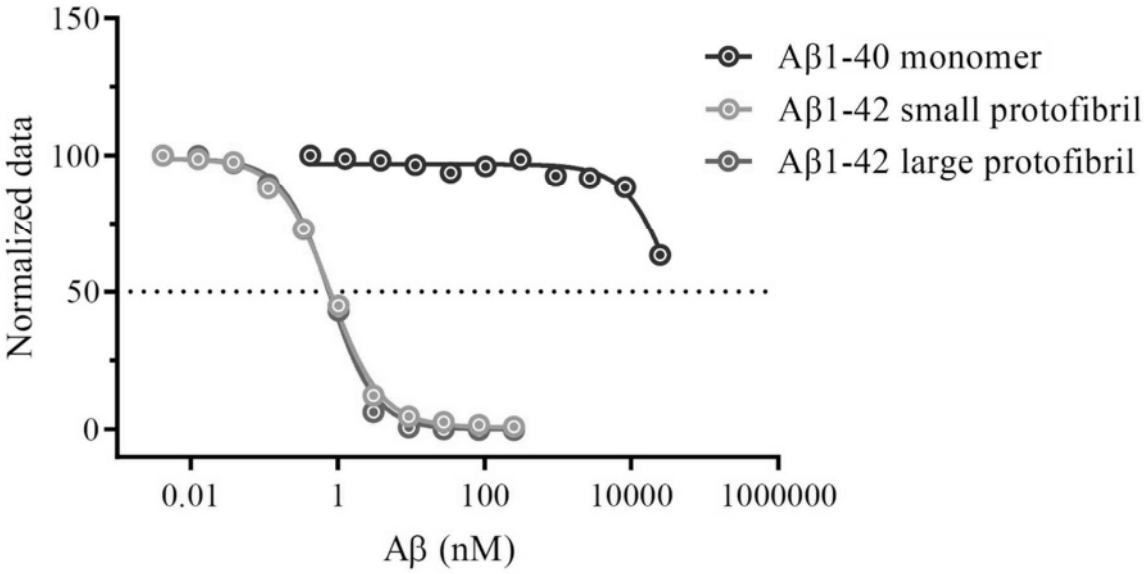


図 2.6.2-1　競合 ELISA による Aβ(1-40)モノマー及び大小 Aβ(1-42)プロトフィブリルに対するレカネマブの結合性測定

それぞれの OD405 からブランクウェルの OD405 を差し引いた後，それぞれ Aβ 最小濃度の OD405 を 100%に換算して Aβ 濃度（Aβ モノマーとして）に対する OD405（%）をプロットした。データはそれぞれ 2 サンプルの平均値を示す。Aβ = アミロイド β，ELISA = 酵素免疫測定法，OD405 = 405 nm における光学密度．出典：添付資料 4.2.1.1.1（AD-TR-445［参考］）

競合 ELISA による，小 Aβ(1-42)プロトフィブリル，架橋 Aβ(1-42)プロトフィブリル及び架橋 Aβ(1-42)オリゴマー（2～3 量体，6～8 量体及び 8～12 量体）への結合性の結果を図 2.6.2-2 に示す。オリゴマーへのレカネマブの結合性は，オリゴマーサイズの増加とともに増加した（2～3 量体，6～8 量体及び 8～12 量体オリゴマーの IC_{50} 値は，それぞれ>437，>40.9 及び 6.09 nmol/L）。最小のオリゴマー（2～3 量体）へのレカネマブの結合性は，プロトフィブリルと比較して弱か

ったが（小プロトフィブリル及び架橋プロトフィブリルの IC_{50} 値は，それぞれ 0.56 及び 1.04 nmol/L），モノマーへの結合性に比較すると強かった。SPR 法による，非架橋 Aβ(1-42)プロトフィブリル，架橋 Aβ(1-42)プロトフィブリル及び架橋 Aβ(1-42)オリゴマー（8～12 量体，6～8 量体及び 2～3 量体）の K_{D1} 値は，それぞれ 1.92，3.02，29.1，67.3 及び 270 nmol/L であった（表 2.6.2-1）。

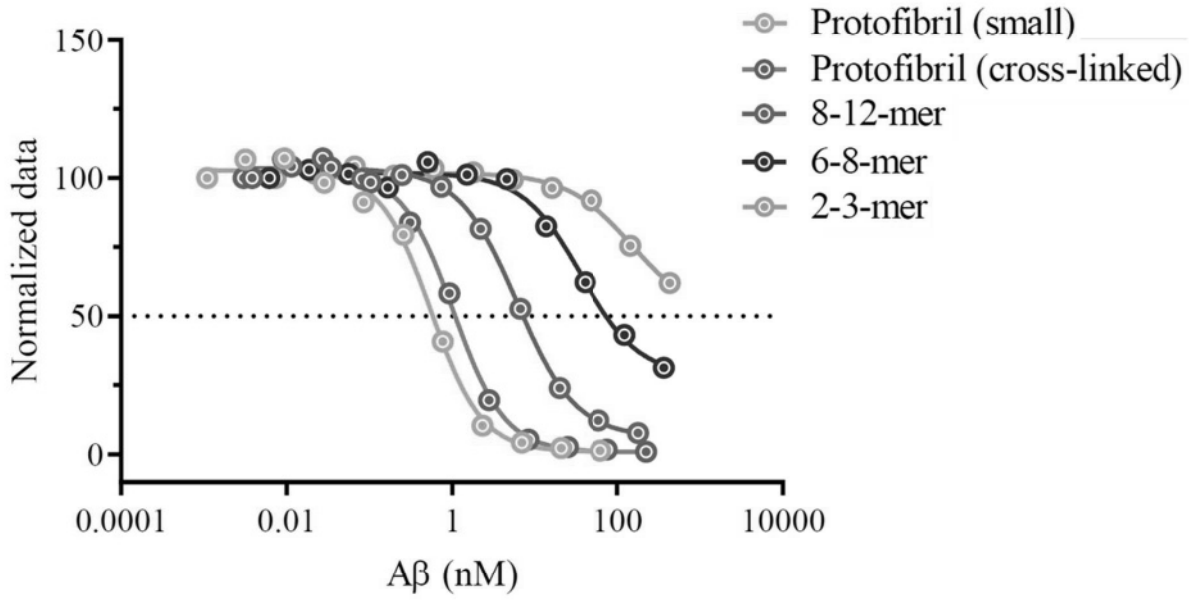


図 2.6.2-2　競合 ELISA による Aβ(1-42)プロトフィブリル及びオリゴマーに対するレカネマブの結合性測定

それぞれの OD405 からブランクウェルの OD405 を差し引いた後，それぞれ Aβ 最小濃度の OD405 を 100%に換算して Aβ 濃度（Aβ モノマーとして）に対する OD405（%）をプロットした。データはそれぞれ 1 サンプルの値を示す。Aβ＝ アミロイド β，ELISA＝ 酵素免疫測定法，OD405 = 405 nm における光学密度．　出典：添付資料 4.2.1.1.1（AD-TR-445［参考］）

Aβ(pE3-42)プロトフィブリルは，Aβ(1-42)プロトフィブリルと同様の方法で調製した。競合 ELISA では，レカネマブは Aβ(pE3-42)プロトフィブリルに結合性を示さなかったが，SPR 法では弱い結合性が確認された（表 2.6.2-1，K_{D1}=232 nmol/L）。

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（表 2.6.2-1）。レカネマブのフィブリルへの結合性は，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。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。

表 2.6.2-1 SPR 法によるレカネマブ，アデュカヌマブ及びガンテネルマブの各種 Aβ への結合性解析

Lecanemab			
Aβ monomer	**k_a ($L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$)**	**k_d (s^{-1})**	**K_D (nmol/L)**
Aβ(1-28) monomer	8.08×10^{4}	1.57×10^{-1}	2290
Aβ complexes	**k_{a1} ($L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$)**	**k_{d1} (s^{-1})**	**K_{D1} (nmol/L)**
Small Aβ(1-42) protofibril	5.32×10^{5}	4.49×10^{-4}	0.97
Large Aβ(1-42) protofibril	7.55×10^{5}	1.09×10^{-4}	0.16
Aβ(1-40) fibril	2.97×10^{5}	3.40×10^{-4}	1.33
Aβ(1-42) fibril	1.53×10^{5}	2.52×10^{-4}	1.79
Non-cross-linked Aβ(1-42) protofibril	8.67×10^{4}	1.63×10^{-4}	1.92
Cross-linked small Aβ(1-42) protofibril	8.37×10^{4}	2.47×10^{-4}	3.02
Cross-linked Aβ(1-42) oligomer, 8～12 量体	4.38×10^{4}	9.88×10^{-4}	29.1
Cross-linked Aβ(1-42) oligomer, 6～8 量体	4.33×10^{4}	2.93×10^{-3}	67.3
Cross-linked Aβ(1-42) oligomer, 2～3 量体	2.61×10^{4}	6.21×10^{-3}	270
Aβ(pE3-42) protofibril	6.55×10^{5}	1.07×10^{-1}	232
Aducanumab			
Aβ monomer	**k_a ($L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$)**	**k_d (s^{-1})**	**K_D (nmol/L)**
Aβ(1-28) monomer	2.03×10^{4}	1.47×10^{-1}	7340
Aβ complexes	**k_{a1} ($L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$)**	**k_{d1} (s^{-1})**	**K_{D1} (nmol/L)**
Small Aβ(1-42) protofibril	2.47×10^{7}	5.21×10^{-2}	2.23
Large Aβ(1-42) protofibril	3.82×10^{7}	2.99×10^{-2}	0.79
Aβ(1-40) fibril	4.82×10^{6}	8.18×10^{-3}	1.83
Aβ(1-42) fibril	2.11×10^{6}	6.19×10^{-3}	3.27
Gantenerumab			
Aβ monomer	**k_a ($L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$)**	**k_d (s^{-1})**	**K_D (nmol/L)**
Aβ(1-28) monomer	3.71×10^{4}	4.79×10^{-2}	1270
Aβ complexes	**k_{a1} ($L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$)**	**k_{d1} (s^{-1})**	**K_{D1} (nmol/L)**
Small Aβ(1-42) protofibril	4.57×10^{5}	2.57×10^{-3}	5.68
Large Aβ(1-42) protofibril	4.03×10^{5}	9.37×10^{-4}	2.51
Aβ(1-40) fibril	2.58×10^{5}	1.37×10^{-4}	0.54
Aβ(1-42) fibril	1.37×10^{5}	9.41×10^{-5}	0.69

Aβ(1-28)モノマーは 1:1 結合モデルで解析し，他の Aβ 種は 2 価アナライトモデルで解析した。
Aβ＝ アミロイドβ，Aβ(pE3-42)＝ ピログルタミル化 Aβ(3-42)，k_a＝ 会合速度定数，k_d＝ 解離速度定数，K_D＝ 結合平衡定数，SPR＝ 表面プラズモン共鳴.
出典：添付資料 4.2.1.1.1（AD-TR-445［参考］）

（添付資料 4.2.1.1.38, 試験番号 M22001）

競合 ELISA により，レカネマブの Aβ プロトフィブリル及びモノマーへの結合親和性を測定した。レカネマブ（30 ng/mL = 0.20 nmol/L）を Aβ(1-42)プロトフィブリル（0.0152～300 nmol/L）又は Aβ(1-40)モノマー（1.52～30,000 nmol/L）と室温で 1 時間インキュベート後，溶液を一部取って Aβ(1-42)をコーティングした 96 ウェルプレートへ移した。プレートを室温で 1 時間インキュベート後に洗浄し，プレート上の Aβ(1-42)に結合した遊離レカネマブをペルオキシダーゼ結合抗ヒト IgG 抗体と TMB 基質で検出した。

競合 ELISA による，Aβ(1-42)プロトフィブリル及び Aβ(1-40)モノマーへの結合性の結果を図 2.6.2-3 に示す。Aβ(1-42)プロトフィブリル及び Aβ(1-40)モノマーのレカネマブへの結合親和性の IC_{50} 値は，それぞれ 3.6 nmol/L（95%信頼区間：2.7～4.8 nmol/L）及び 27,000 nmol/L（95%信頼区

間：13,000～57,000 nmol/L）となった。レカネマブの Aβ(1-40)モノマーへの結合性は，Aβ(1-42)プロトフィブリルへの結合性より 7500 倍弱かった。

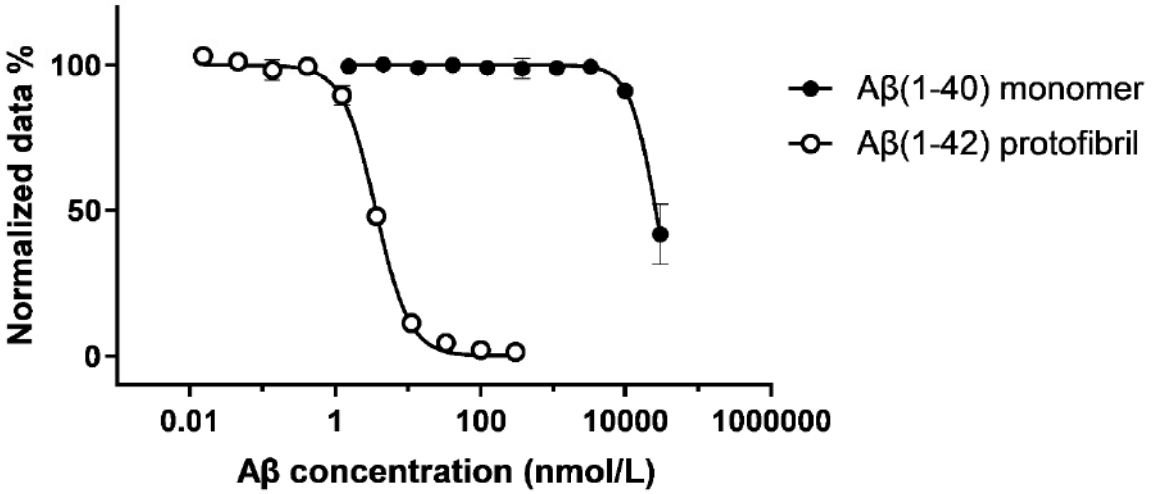


図 2.6.2-3　競合 ELISA による Aβ(1-40)モノマー及び Aβ(1-42)プロトフィブリルに対するレカネマブの結合性測定

それぞれの OD450 からブランクウェルの OD450 を差し引いた後，それぞれ Aβ 非存在下の OD450 を 100%に換算して Aβ 濃度（Aβ モノマーとして）に対する OD450（%）をプロットした。データは 2 重測定の独立した 3 回の実験の平均値±標準誤差を示す。Aβ＝ アミロイド β，ELISA＝ 酵素免疫測定法，OD450 = 450 nm における光学密度. 出典：添付資料 4.2.1.1.38（M22001）

（添付資料 4.2.1.1.39, 試験番号 M22002）

SPR 法により，レカネマブの Aβ プロトフィブリル及びモノマーへの結合性を測定した。Aβ(1-42)プロトフィブリルに対する結合性実験では，Aβ(1-42)プロトフィブリルをセンサー表面にアミンカップリングによって共有結合させて固定化した。レカネマブ溶液（3.18, 6.36, 12.7, 25.4 及び 50.9 nmol/L）をセンサー表面に 90 秒間流して SPR を測定し，その後の 900 秒間も解離性を調べるため SPR を測定した。Aβ(1-40)モノマーに対する結合性実験では，レカネマブをセンサー表面にアミンカップリングによって共有結合させて固定化した。Aβ(1-40)モノマー溶液（625, 1250, 2500, 5000 及び 10,000 nmol/L）をセンサー表面に 120 秒間流して SPR を測定し，その後の 900 秒間も解離性を調べるため SPR を測定した。Aβ(1-42)プロトフィブリルは 2 価アナライトモデルで解析し，Aβ(1-40)モノマーは 1:1 結合モデルで解析した。

レカネマブと Aβ(1-42)プロトフィブリルの結合性を測定した代表的なセンサーグラムを図 2.6.2-4 に示す。

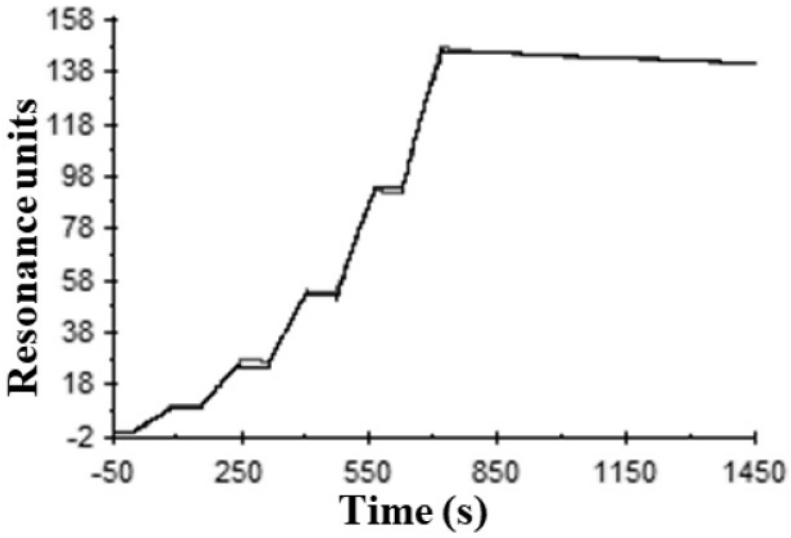


図 2.6.2-4　レカネマブと Aβ(1-42)プロトフィブリルの結合におけるセンサーグラムの代表例

検出されたシグナルを赤で，Biacore Evaluation Software version 1.1 で得られた 2 価アナライトモデルに適合させた理論曲線を黒で示す。反応を縦軸に resonance units で示した。横軸はレカネマブ添加時を 0 秒とした反応時間を示す。出典：添付資料 4.2.1.1.39（M22002）

レカネマブと Aβ(1-40)モノマーの結合性を測定した代表的なセンサーグラムを図 2.6.2-5 に示す。

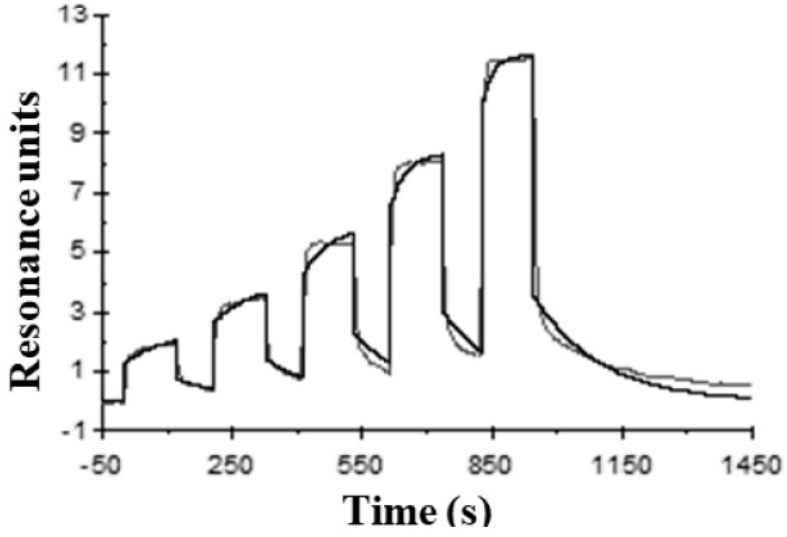


図 2.6.2-5　レカネマブと Aβ(1-40)モノマーの結合におけるセンサーグラムの代表例

検出されたシグナルを赤で，Biacore Evaluation Software version 1.1 で得られた 1:1 結合モデルに適合させた理論曲線を黒で示す。反応を縦軸に resonance units で示した。横軸はレカネマブ添加時を 0 秒とした反応時間を示す。出典：添付資料 4.2.1.1.39（M22002）

表 2.6.2-2 に反応動力学定数を示す。レカネマブはヒト Aβ(1-40)モノマー（k_a: 4.06×10^{3} $L\cdot mol^{-1}\cdot s^{-1}$; k_d: 6.89×10^{-3} s^{-1}）に比較して，ヒト Aβ(1-42)プロトフィブリルに速い結合

（k_{a1}: 7.79×10^{4} $L\cdot mol^{-1}\cdot s^{-1}$）及び遅い解離（$k_{d1}$: 9.05×10^{-5} s^{-1}）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 1.16 及び 1700 nmol/L であった。

表 2.6.2-2 SPR 法によるレカネマブの各種 Aβ への結合性解析

Aβ(1-42) protofibril	**k_{a1} ($L\cdot mol^{-1}\cdot s^{-1}$)**	**k_{d1} (s^{-1})**	**K_{D1} (nmol/L)**
	7.79×10^{4}	9.05×10^{-5}	1.16
Aβ(1-40) monomer	**k_a ($L\cdot mol^{-1}\cdot s^{-1}$)**	**k_d (s^{-1})**	**K_D (nmol/L)**
	4.06×10^{3}	6.89×10^{-3}	1700

Aβ(1-42)プロトフィブリルは 2 価アナライトモデルで解析し Aβ(1-40)モノマーは 1:1 結合モデルで解析した。
Aβ＝ アミロイド β，k_a＝ 会合速度定数，k_d＝ 解離速度定数，K_D＝ 結合平衡定数，SPR＝ 表面プラズモン共鳴.
出典：添付資料 4.2.1.1.39（M22002）

（添付資料 4.2.1.1.2, 試験番号 AD-TR-006［参考］）

競合 ELISA 実験では，レカネマブ及び mAb158 を Aβ モノマー及び Aβ プロトフィブリルとインキュベート後，Aβ をコーティングした ELISA プレートへ移した。プレートに結合したレカネマブ及び mAb158 を，それぞれ西洋ワサビペルオキシダーゼ結合抗ヒト κ 軽鎖抗体及び西洋ワサビペルオキシダーゼ結合抗マウス κ 軽鎖抗体によって検出した。Aβ プロトフィブリルのレカネマブに対する IC_{50} 値は 3.3 nmol/L であり，Aβ モノマー（IC_{50} 値 =3300 nmol/L）より 1000 倍強い結合性を示した。mAb158 も，同様に Aβ プロトフィブリルに対して高い特異性及び結合性を示した（表 2.6.2-3）。

表 2.6.2-3 競合 ELISA によるレカネマブ及び mAb158 の Aβ プロトフィブリル及びモノマーへの結合性実験

Antibody	**IC_{50} (nmol/L)**		**Ratio of IC_{50} values**
	Aβ Protofibril	**Aβ(1-40) Monomer**	
Lecanemab	3.3	3300	1000
mAb158	5	6000	1200

IC_{50}（nmol/L）は Aβ モノマー換算して示した。IC_{50} 値は，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 種の濃度を示す。
Aβ＝ アミロイド β，ELISA＝ 酵素免疫測定法.
出典：添付資料 4.2.1.1.2（AD-TR-006［参考］）

Aβ モノマー及び Aβ プロトフィブリルへのレカネマブ及び mAb158 の結合性を SPR 法によって調べた。Aβ モノマーに対する結合性実験では，レカネマブ又は mAb158 をセンサーチップに固定化し，Aβ(1-40)モノマー溶液をセンサー表面に流した。Aβ プロトフィブリルに対する結合性実験では，Aβ(1-42)プロトフィブリルをセンサーチップに固定化し，レカネマブ又は mAb158 溶液をセンサー表面に流した。Aβ モノマー及びプロトフィブリルの結合性は，それぞれ 1:1 結合モデル及び 2 価アナライトモデルで解析した。レカネマブ及び mAb158 は，同様の k_a 及び k_d

値を示した（表 2.6.2-4）。

表 2.6.2-4 SPR 法によるレカネマブ及び mAb158 の各種 Aβ への結合性解析

Aβ(1-40) monomer	**k_a ($L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$)**	**k_d (s^{-1})**	**K_D (nmol/L)**
Lecanemab	3.8×10^4	0.12	3300
mAb158	3.6×10^4	0.15	4200
Aβ(1-42) protofibril	**k_{a1} ($L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$)**	**k_{d1} (s^{-1})**	**K_{D1} (nmol/L)**
Lecanemab	6.6×10^5	0.0013	—
mAb158	5.1×10^5	0.0032	—

Aβ(1-40)モノマーは 1:1 結合モデルで解析し Aβ(1-42)プロトフィブリルは 2 価アナライトモデルで解析した。
Aβ＝ アミロイドβ，k_a＝ 会合速度定数，k_d＝ 解離速度定数，K_D＝ 結合平衡定数，SPR＝ 表面プラズモン共鳴，—＝ 該当せず.
出典：添付資料 4.2.1.1.2（AD-TR-006［参考］）

（添付資料 4.2.1.1.3, 試験番号 W-20090268［参考］）

mAb158 を使用したサンドイッチ ELISA により，mAb158 の Aβ(1-42)プロトフィブリル（46 量体）及び Aβ(1-42)オリゴマー（3 及び 6 量体）への結合性を測定した。種々濃度の Aβ(1-42)プロトフィブリル及びオリゴマー（3 及び 6 量体）を mAb158 でコーティングされた ELISA プレートに添加し，結合した Aβ 種をビオチン化 mAb158 及びストレプトアビジン結合西洋ワサビペルオキシダーゼで検出した。mAb158 への結合性は Aβ 種のサイズに依存しており，Aβ(1-42)プロトフィブリルで最も高く，Aβ(1-42)オリゴマーの 6 量体，3 量体と降順であった。

（添付資料 4.2.1.1.40, 試験番号 NCL-1120［参考］）

Aβ(1-40)モノマー又はフィブリル存在下での，Aβ(1-42)プロトフィブリルへのレカネマブ及び他の抗 Aβ 抗体（アデュカヌマブ及びガンテネルマブの類似体）の結合性を，競合的な免疫沈降により調べた。

レカネマブ，アデュカヌマブ及びガンテネルマブ（0.00067～0.667 nmol/L）の Aβ(1-42)プロトフィブリル（0.1 nmol/L）への結合性は，Aβ(1-40)モノマー（0.01～10 nmol/L）存在下でも変わらなかった。

レカネマブ（0.00667 nmol/L），アデュカヌマブ（0.667 nmol/L）又はガンテネルマブ（0.0667 nmol/L）の Aβ(1-40)フィブリル（10 及び 100 nmol/L）存在下における Aβ(1-42)プロトフィブリル（0.1 nmol/L）への結合量を測定した。Aβ(1-40)フィブリル非存在下でのレカネマブ，アデュカヌマブ及びガンテネルマブに結合した Aβ(1-42)プロトフィブリル量は，それぞれ 0.015，0.011 及び 0.014 nmol/L であった。Aβ(1-40)フィブリルの 10 及び 100 nmol/L 存在下での Aβ(1-42)プロトフィブリルへの結合量は，それぞれ，レカネマブが 15%及び 70%，アデュカヌマブが 35%及び 76%，ガンテネルマブが 51%及び 75%減少し，レカネマブが最も影響を受けにくかった。

以上より，レカネマブは他の Aβ 種より Aβ プロトフィブリルに対して高い特異性及び結合性を示すことが確認された。mAb158 もレカネマブと同様に Aβ モノマーより Aβ プロトフィブリルに対して高い結合性を示した。

2.6.2.2.1.2 AD 患者脳の Aβ プロトフィブリルへのレカネマブの結合性（添付資料 4.2.1.1.4，試験番号 AD-TR-461［参考］）

AD 患者脳の Aβ プロトフィブリルへのレカネマブ結合性を，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）と比較検討した。

APOE4/4 遺伝子型の 3 人の AD 被験者（AD＃15，AD＃23 及び AD＃24）の可溶性脳抽出物中の Aβ 種への抗体結合性を免疫沈降により調べた。可溶性脳抽出物中には，Aβ モノマー，オリゴマー及びプロトフィブリルが含まれる。各抗体（最高濃度：10,000 ng/mL =68.0 nmol/L レカネマブ，68.5 nmol/L アデュカヌマブ，68.3 nmol/L ガンテネルマブ）を，Aβ をモノマー換算で約 0.025～0.035 nmol/L 含む可溶性脳抽出物と 22 °C で 2 時間インキュベートした。

各抗体と Aβ の複合体を Protein A 磁気ビーズで免疫沈降させ，上清中の Aβ プロトフィブリル量を mAb158 で検出し，免疫沈降された総 Aβ 量を抗 Aβ(17-24)抗体（4G8 クローン）を使用した電気化学発光免疫測定法（ECLIA）によって測定した。

上清中の Aβ プロトフィブリル量（図 2.6.2-6A）並びに免疫沈降された総 Aβ 中の Aβ(x-40)及び Aβ(x-42)量（それぞれ，図 2.6.2-6B 及び C）を示す。

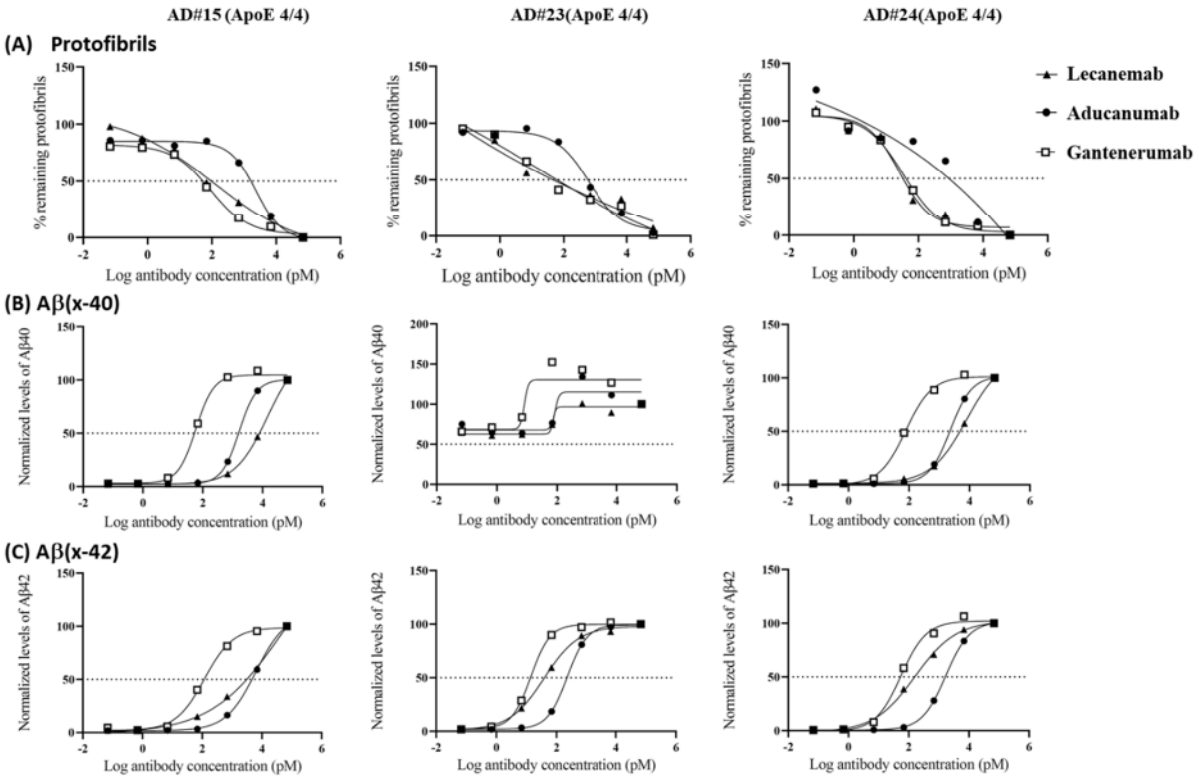


図 2.6.2-6　AD 患者脳由来の可溶性プロトフィブリル，Aβ(x-40)及び Aβ(x-42)に対するレカネマブ，アデュカヌマブ及びガンテネルマブによる免疫沈降実験

3 人の AD 患者脳（AD#15, AD#23 及び AD#24）を用いた。（A）は，未結合プロトフィブリルをコントロール群（Protein A 磁気ビーズのみ）に対する%で示した。（B）及び（C）は，それぞれ結合した Aβ(x-40)及び Aβ(x-42)を，実験した最高濃度の抗体での結合を 100%として%表示した。Aβ＝ アミロイドβ，AD＝ アルツハイマー病．出典：添付資料 4.2.1.1.4（AD-TR-461［参考］）

レカネマブは，アデュカヌマブと比較して AD 患者脳の Aβ プロトフィブリルに高い結合性を示した。可溶性脳抽出物中で，レカネマブはアデュカヌマブと比較して Aβ(x-40)より凝集しやすい Aβ(x-42)の免疫沈降性が高かったという結果は，レカネマブがモノマーより Aβ プロトフィブリルへの選択性が高いという性質を反映していると考えられる。

2.6.2.2.1.3 Aβ におけるレカネマブの結合エピトープ（添付資料 4.2.1.1.5, 試験番号 BR-035 ［参考］）

切断した Aβ ペプチドへのレカネマブの結合性を BLI によって調べた。BLI では，光学センサーに固定化された分子とセンサーに結合した分子との相互作用を調べることができる。

レカネマブ（33 nmol/L）とストレプトアビジンセンサーに固定された 6 種の C 末端ビオチン化ペプチド（Aβ[1-16]，Aβ[2-16]，Aβ[3-16]，Aβ[4-16]，Aβ[5-16]又は Aβ[6-16]）及び 2 種の N 末端ビオチン化ペプチド（Aβ[1-16]又は Aβ[1-42]）への結合速度を BLI でモニターした。

結果を図 2.6.2-7 に示す。レカネマブは，C 末端のビオチン化ペプチドの Aβ(1-16)及び Aβ(2-16)への高い結合性を示した。レカネマブは，C 末端ビオチン化 Aβ(3-16)へ部分的な結合を示したが，他の C 末端ビオチン化ペプチド及び N 末端ビオチン化ペプチドには，ほとんど結合しなかった。

Aβ ペプチドの N 末端からアミノ酸を順番に切断することにより，Aβ 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示された。

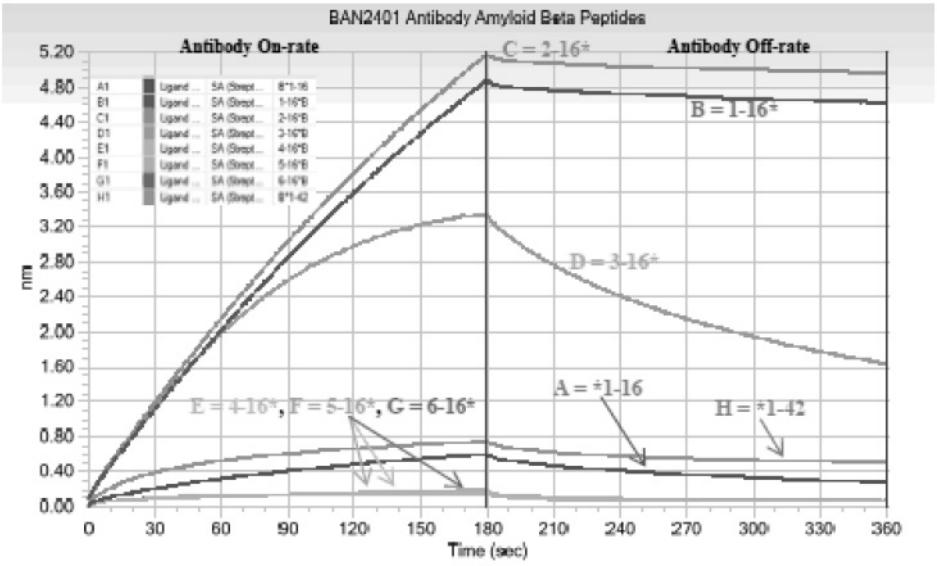


図 2.6.2-7　レカネマブの 8 種のビオチン化 Aβ ペプチドへの結合速度解析

3 分間の結合速度（on-rate）と乖離速度（off-rate）を示す。図は，3 回行った実験の内の 1 回の結果を示す。A は，N 末ビオチン化 Aβ(1-16)を示す。B, C, D, E, F 及び G は，それぞれ C 末ビオチン化 Aβ(1-16), Aβ(2-16), Aβ(3-16), Aβ(4-16), Aβ(5-16)及び Aβ(6-16)を示す。H は，N 末ビオチン化 Aβ(1-42)を示す。アスタリスク（*）は，ビオチン化された位置を示す。Aβ = アミロイド β, BAN2401 = レカネマブ．出典：添付資料 4.2.1.1.5（BR-035［参考］）

2.6.2.2.1.4 レカネマブと Aβ プロトフィブリルの相互作用解析（添付資料 4.2.1.1.41，試験番号 W-20220659［参考］）

レカネマブと結合時の Aβ(1-42)プロトフィブリルの高次構造変化及び特徴を水素-重水素交換質量分析（HDX-MS）で検討した。HDX-MS は，溶液中のタンパク質の高次構造解析に用いられる手法である。

PBS 溶液中の Aβ(1-42)プロトフィブリル及び Aβ(1-40)モノマーの水素/重水素（H/D）交換を調べた結果，N 末端領域（アミノ酸 1～19）及び中間領域（アミノ酸 20～34）は，分子内で比較的高い H/D 交換を示したため，これらの領域が溶媒に曝されていることが示された。レカネマブの存在下では，Aβ(1-42)プロトフィブリルの N 末端及び中間領域の両方の H/D 交換が抑制されたが，Aβ(1-40)モノマーでは N 末端領域のみの H/D 交換が抑制された。これらのことから，以下の 2 つの可能性が示唆された：(1) レカネマブは Aβ(1-42)プロトフィブリルの N 末端及び中間領域の両方からなるコンフォメーションエピトープと相互作用する可能性，(2) レカネマブが Aβ(1-42)プロトフィブリルの N 末端領域に結合して中間領域の構造変化を引き起こす可能性。

2.6.2.2.1.5 mAb158 及びレカネマブの抗原結合フラグメントの Aβ プロトフィブリルに対する結合性（添付資料 4.2.1.1.6，試験番号 AD-TR-085［参考］）

mAb158 の抗原結合フラグメント（Fab158）及びレカネマブの抗原結合フラグメント $F(ab')_2$-2401 の Aβ プロトフィブリルへの結合能を調べた。

Fab158 は，mAb158 をパパインで加水分解して調製した。$F(ab')_2$-2401 は，レカネマブをペプシンで加水分解して調製した。Aβ プロトフィブリル（0.8～50 nmol/L）でコートしたプレートに Fab158（2, 20, 200 nmol/L）又は mAb158（1.3 nmol/L）を加え結合性を ELISA で測定した。また Aβ プロトフィブリル（10 nmol/L）でコートしたプレートに $F(ab')_2$-2401（0.0008～5 nmol/L）又はレカネマブ（0.0008～5 nmol/L）を加え結合性を ELISA で測定した。結合した抗体及びフラグメントは，IgG，$F(ab')_2$ 及び Fab を同様に認識する抗 $F(ab')_2$ 西洋ワサビペルオキシダーゼ試薬で検出して 450nm の光学密度を測定した。その結果，Fab158 の Aβ プロトフィブリルへの結合性は，mAb158 に比べて低かった（図 2.6.2-8A）。一方，$F(ab')_2$-2401 の可溶性 Aβ プロトフィブリルへの結合性は，レカネマブと同程度であった（図 2.6.2-8B）。

以上より，mAb158 及びレカネマブは，Fab 構造より $F(ab')_2$ 構造で Aβ プロトフィブリルに結合性が高いことが示唆された。

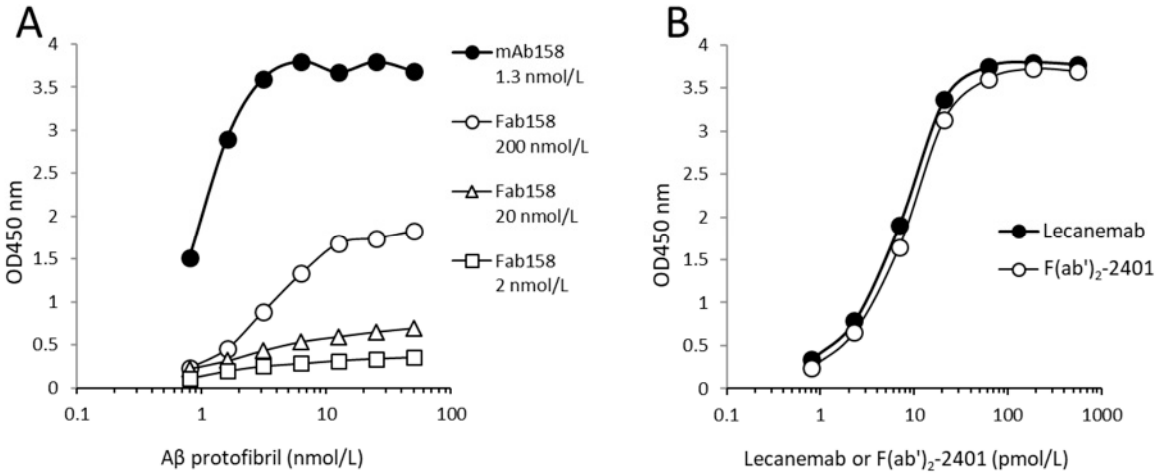


図 2.6.2-8　mAb158 及びレカネマブの抗原結合フラグメントの Aβ プロトフィブリルへの結合

（A）Fab158（2, 20, 200 nmol/L）又は mAb158（1.3 nmol/L）を Aβ プロトフィブリルでコートしたプレートに加えた。（B）レカネマブ又は F(ab')$_2$-2401（0.0008～5 nmol/L）を Aβ プロトフィブリルでコートしたプレートに加えた。Aβ＝ アミロイドβ，Fab158＝mAb158 の抗原結合フラグメント Fab，F(ab')$_2$-2401 ＝ レカネマブの抗原結合フラグメント F(ab')$_2$，OD450 nm＝450 nm における光学密度．　出典：添付資料 4.2.1.1.6（AD-TR-085［参考］）

2.6.2.2.1.6 レカネマブの Fab フラグメントに対する結合性（添付資料 4.2.1.1.7，試験番号 W-20210274［参考］）

レカネマブの Fab フラグメントと Aβ(1-9)ペプチドとの結合性を X 線構造解析によって調べた。

レカネマブの Fab フラグメントと Aβ(1-9)ペプチドを複合体化し，濃縮して結晶化させた。結晶中，同様の全体構造を持つ2つの Fab フラグメントが，非対称ユニットを形成していた。Aβ(1-9)は，非対称ユニットの 2 つの Fab フラグメントの内の 1 つに結合することが確認された。

2.6.2.2.1.7 レカネマブ及び mAb158 の β シート形成阻害作用（添付資料 4.2.1.1.8，試験番号 W-20090273［参考］）

Aβ の β シート形成に対するレカネマブ及び mAb158 の効果を in vitro 実験で調べた。

レカネマブ及び mAb158（100 µg/mL；それぞれ 680 及び 670 nmol/L）を Aβ(1-42)オリゴマー（Aβ モノマー換算で 6.25 µmol/L）及びチオフラビン T（20 µmol/L）と 37 °C でインキュベートし，β シート形成をチオフラビン T の蛍光強度によって測定した。アイソタイプコントロール抗体（100 µg/mL；それぞれヒト IgG1 及びマウス IgG2a）の効果も同様に調べた。

その結果，ヒト IgG1 及びマウス IgG2a はチオフラビン T の蛍光強度の経時的増加に影響しなかったが，レカネマブ及び mAb158 は顕著に抑制した（図 2.6.2-9）。

以上より，レカネマブ及び mAb158 は，Aβ の β シート形成を阻害することが示された。

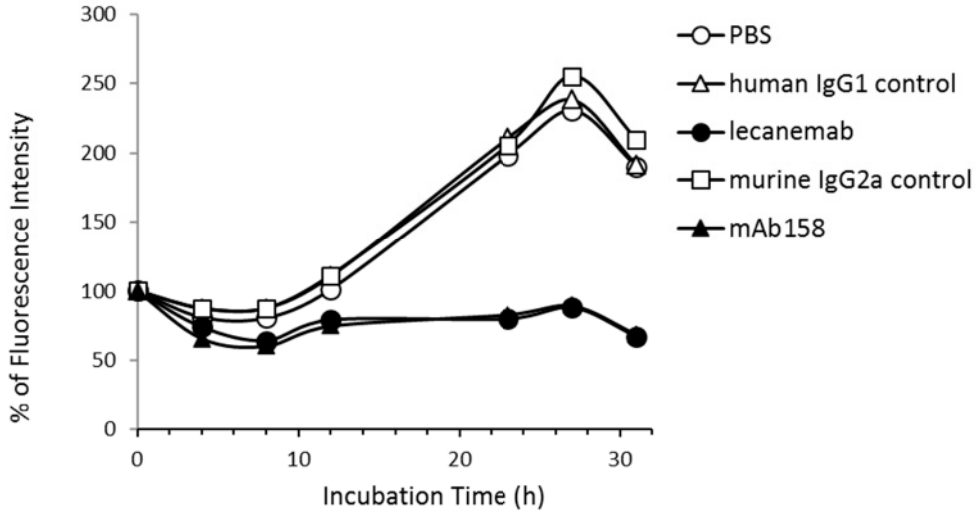


図 2.6.2-9　β シート形成に対するレカネマブ及び mAb158 の効果

0 時間におけるチオフラビン T の蛍光強度を 100%として，それぞれの時間の蛍光強度の百分率を示した。それぞれの値は 4 ウェルの平均値を示す。IgG＝ 免疫グロブリン G，PBS＝ リン酸緩衝生理食塩水.　出典：添付資料 4.2.1.1.8（W-20090273［参考］）

2.6.2.2.1.8 ラット海馬初代培養神経細胞への Aβ プロトフィブリルの結合に対するレカネマブ及び mAb158 の効果（添付資料 4.2.1.1.9，試験番号 W-20090258［参考］）（添付資料 4.2.1.1.10，試験番号 M09007）

AD 患者の脳における Aβ 蓄積が AD の発症と進行に関連することが知られている。Aβ の毒性は，Aβ オリゴマー/プロトフィブリルによると考えられており，神経細胞の樹状突起スパインのようなシナプス後膜部分へ結合してシナプス障害を誘発することが示唆されている（Nilsberth, et al., 2001; Lacor, et al., 2004）。ラット胎児（系統 Wistar，胎生 18 日）の海馬から調製した初代培養神経細胞への Aβ プロトフィブリルの結合を，レカネマブ及び mAb158 が阻害することを確認した。

（添付資料 4.2.1.1.9, 試験番号 W-20090258［参考］）

Aβ(1-42)プロトフィブリル（Aβ モノマー換算で 100 nmol/L）とレカネマブ又は mAb158（10 µg/mL；それぞれ 68 及び 67 nmol/L）を 37 °C の 5% CO_2 雰囲気下で 30 分間インキュベート後，ラット海馬初代培養神経細胞に加えて更に 30 分間インキュベートした。コントロール抗体として，ヒト又はマウス IgG（10 µg/mL）を用いた。Aβ 及び PSD-95（樹状突起スパインのマーカー）は，それぞれ，一次抗体として抗ヒト Aβ ウサギ抗体及び抗 PSD-95 マウスモノクローナル抗体，二次抗体として蛍光色素結合抗ウサギ IgG 抗体及び抗マウス IgG 抗体を用いて視覚化した。PSD-95 陽性領域における Aβ 陽性領域の比率を計算した。その結果，レカネマブ及び mAb158 は，培養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 10 µg/mL で完全に阻害した。なお，ヒト及びマウス IgG は，樹状突起スパインへの Aβ プロトフィブリルの結合を抑制しなかった。

（添付資料 4.2.1.1.10, 試験番号 M09007）

ラット海馬初代培養神経細胞とレカネマブ（0.003～100 μg/mL=0.020～680 nmol/L）を 37 °C の 5% CO_2 雰囲気下で 15 分間インキュベート後，Aβ(1-42)プロトフィブリル（Aβ モノマー換算で 92 nmol/L）を加えて更に 30 分間インキュベートした。コントロール抗体として，ヒト IgG を用いた。Aβ 及び PSD-95 は，上記と同様に視覚化及び分析した。PSD-95 及び Aβ の免疫蛍光画像の典型例を図 2.6.2-10 に示す。レカネマブは，培養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濃度依存的に阻害した。IC_{50} 値は 1.2 μg/mL（8.2 nmol/L；95%信頼区間：0.34～4.4 μg/mL=2.3～30 nmol/L；図 2.6.2-11）となった。なお，ヒト IgG は，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なかった。

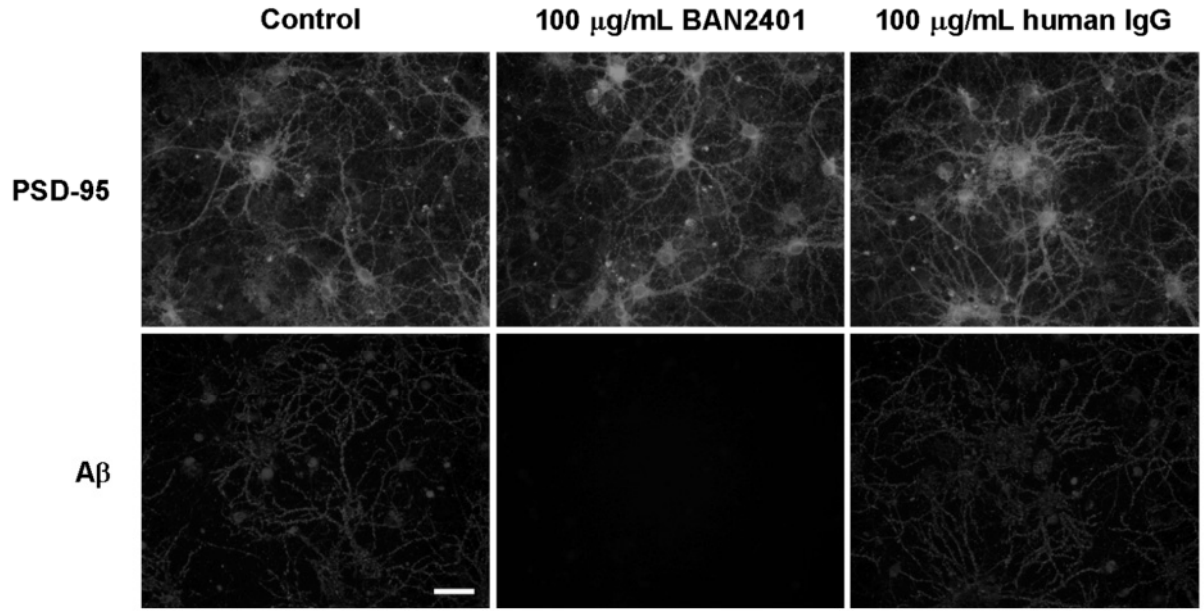


図 2.6.2-10 ラット海馬神経細胞における PSD-95 及び Aβ の免疫蛍光画像

上段：抗 PSD-95（樹状突起スパインのマーカー）抗体の免疫蛍光画像の典型例を示す。
下段：抗 Aβ 抗体の免疫蛍光画像の典型例を示す。
左，中，右は，それぞれ，媒体コントロール，レカネマブ 100 μg/mL，コントロール IgG（100 μg/mL）処置を示す。Aβ = アミロイド β，BAN2401 = レカネマブ，IgG = 免疫グロブリン G.　出典：添付資料 4.2.1.1.10（M09007）

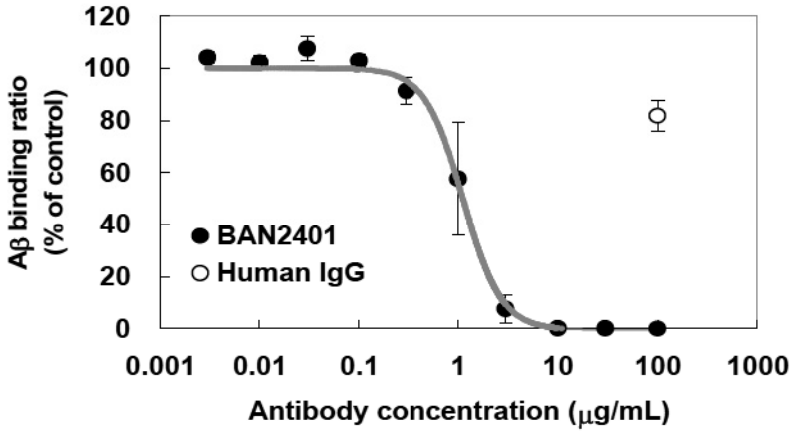


図 2.6.2-11 ラット海馬神経細胞の樹状突起スパインへの Aβ プロトフィブリル結合に対するレカネマブの阻害作用

Aβ の神経細胞への結合は，抗 Aβ 抗体を用いた免疫蛍光染色により検出した。抗 PSD-95（樹状突起スパインのマーカー）抗体を用いて免疫蛍光染色し，PSD-95 陽性領域における Aβ 陽性領域の比率を計算した。データは 3 重測定の独立した 3 回の実験の平均値±標準誤差を示す。Aβ＝ アミロイドβ，BAN2401＝ レカネマブ，IgG＝ 免疫グロブリン G.　出典：添付資料 4.2.1.1.10（M09007）

以上より，レカネマブ及び mAb158 は，Aβ プロトフィブリルによって引き起こされるシナプス障害を抑制する可能性が示唆された。

2.6.2.2.1.9 Aβ 凝集体誘発細胞障害に対するレカネマブの効果（添付資料 4.2.1.1.11，試験番号 CO18660［参考］）

Aβ 凝集体によって誘発される神経細胞の生存率低下に対するレカネマブの保護効果を検討した。神経細胞として，鶏初代培養大脳皮質神経細胞及び SH-SY5Y 細胞を用いた。大脳皮質神経細胞は，鶏胎児（系統 Lohman Brown hybrid，胎生 8 日）の大脳皮質から調製し，0.48×10^5 細胞/ウェルの濃度で 4 日間培養した。Aβ(1-42)は，4 ℃ で 48 時間インキュベートして凝集させた後，実験に用いた。1000 nmol/L の Aβ(1-42)及びレカネマブ（10, 30, 100, 300, 1000, 3000 nmol/L）を 37 ℃ で 30 分間インキュベート後，細胞に加えて更に 144 時間培養した。また，SH-SY5Y 細胞を 0.25×10^5 細胞/ウェルの濃度で培養し，翌日，同様に，1000 nmol/L の Aβ(1-42)及びレカネマブ（10, 30, 100, 300, 1000, 3000 nmol/L）を加え 96 時間培養した。細胞障害は，MTT 試験により評価した。

結果を図 2.6.2-12 に示す。Aβ 凝集体は細胞生存率を約 40%低下させたが，レカネマブはこの低下を抑制した。

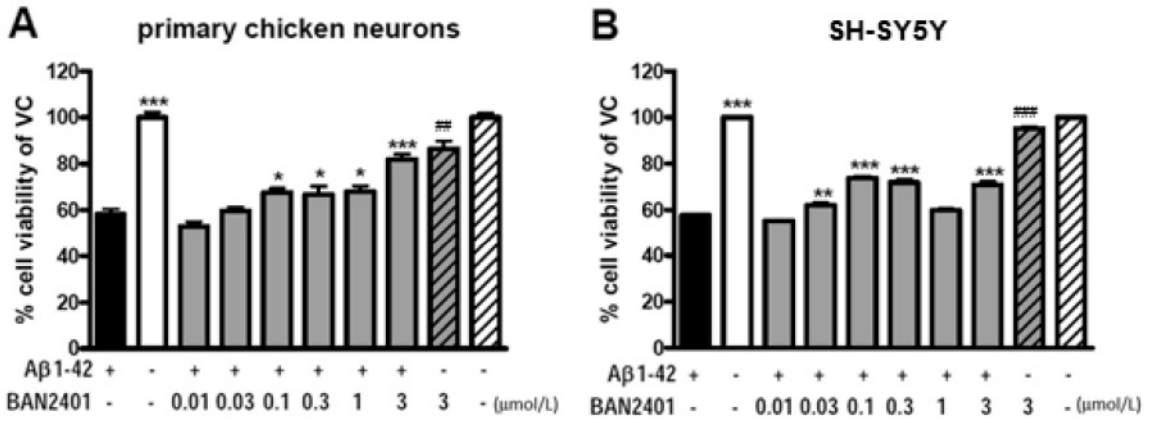


図 2.6.2-12 鶏大脳皮質神経細胞及び SH-SY5Y 細胞における可溶性 Aβ(1-42)凝集体によって誘発される神経細胞の生存率低下に対するレカネマブの保護効果

データは 1 回の実験の 5～6 ウェルの平均値+標準誤差を示す。白棒グラフは，ストライプがない棒グラフの VC を示す。ストライプ付き白棒グラフは，ストライプ付き棒グラフの VC を示す。Aβ＝ アミロイドβ，BAN2401＝ レカネマブ，VC＝ 媒体コントロール． * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001 は Aβ(1-42)処置コントロール群（黒棒グラフ）に対して一元配置分散分析後，Newman-Keuls 多重比較検定により解析した。## P<0.01, ### P<0.001 は VC 群（ストライプ付き白棒グラフ）に対して対応のない t 検定により解析した。　出典：添付資料 4.2.1.1.11（CO18660［参考］）

2.6.2.2.1.10 Aβ プロトフィブリル誘発細胞障害に対するレカネマブの効果（添付資料 4.2.1.1.12, 試験番号 W-20090274［参考］）（添付資料 4.2.1.1.13, 試験番号 M09010［参考］）

Aβ プロトフィブリル誘発神経細胞障害に対するレカネマブ及び mAb158 の効果を，ラット胎児（系統 Sprague-Dawley，胎生 18.5 日）の中隔野から調製した初代培養神経細胞を用いて検討した。

添付資料 4.2.1.1.12 では，神経細胞にレカネマブ（100 又は 300 μg/mL =680 又は 2000 nmol/L）又は mAb158（100 μg/mL =670 nmol/L）を加えて 37 °C で 1 時間インキュベート後，Aβ プロトフィブリル（Aβ モノマー換算で 3000 nmol/L）を加え培養した。2 日後に，細胞障害の指標として細胞外に漏出した乳酸脱水素酵素（LDH）の割合を測定した。レカネマブ及び mAb158 は，Aβ プロトフィブリルによって誘発された LDH の増加を抑制した。しかし，添付資料 4.2.1.1.13 では，レカネマブ（50～1000 μg/mL =340～6800 nmol/L）は，Aβ プロトフィブリル（Aβ モノマー換算で 5500 nmol/L）によって誘発された LDH の増加を抑制しなかった。

以上より，添付資料 4.2.1.1.12 では，レカネマブ及び mAb158 が，Aβ プロトフィブリルによる細胞障害に対して中和抗体として働く可能性が示唆されたものの，添付資料 4.2.1.1.13 では実験結果が再現されなかった。

2.6.2.2.1.11 マウス海馬スライスを用いた Aβ オリゴマー誘発 LTP 障害に対するレカネマブの効果（添付資料 4.2.1.1.14, 試験番号 CO16640［参考］）

学習及び記憶に関連するシナプス可塑性は，LTP と呼ばれるシナプス伝達効率の増強に基づい

てモデル化されている。マウス海馬スライスを用いて，LTP に対するレカネマブの効果を検討した。

マウス（系統 CFLP，3 ヵ月齢）を用いて 350 μm 厚の海馬スライスを調製した。スライスを，酸素雰囲気下，34 °C の人工脳脊髄液（ACSF）中 1.5 mL/min で還流した。オリゴマーを主とする Aβ(1-42)（1000 nmol/L）及びレカネマブ（2, 20 nmol/L）を ACSF に添加し，15 分間安定させた後に θ バースト刺激（TBS；100 Hz, 4 パルスを 5 Hz 間隔で 15 回電気刺激）で LTP を誘導した。

図 2.6.2-13 は TBS 後 85～90 分の興奮性シナプス後場電位（fEPSP）を示す。TBS により LTP が引き起こされ，90 分後の fEPSP は 162.8%であった。Aβ(1-42)を加えたスライスにおける fEPSP は 118.3%であったが，20 nmol/L のレカネマブを添加すると fEPSP は 147.4%に回復した。Aβ(1-42)非存在下，20 nmol/L のレカネマブを添加した場合，LTP に有意な影響を及ぼさなかった（fEPSP：148.9%）。

以上より，レカネマブ（20 nmol/L）は，Aβ(1-42)オリゴマーによる LTP の抑制を回復することが示された。

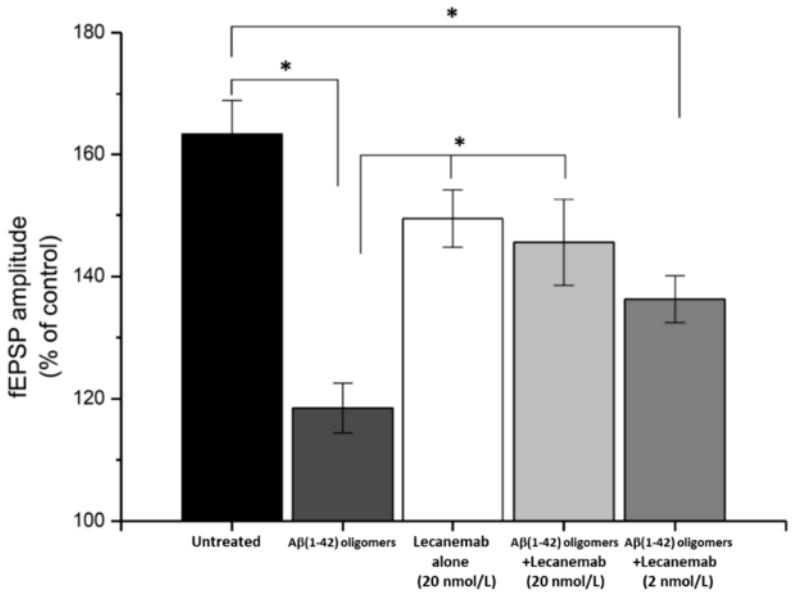


図 2.6.2-13 マウス海馬スライスにおける Aβ(1-42)オリゴマー誘発 LTP 障害に対するレカネマブの効果

15 分間の安定した fEPSP（コントロール：100%）の後，θ バースト刺激により LTP を誘発させた。データは 4～7 スライスにおける θ バースト刺激後 85～90 分の fEPSP（コントロールに対する%）の平均値を示す。1 枚のスライスは，1 例の動物から調製した。Aβ＝ アミロイド β，fEPSP ＝ 興奮性シナプス後場電位，LTP＝ 長期増強．* P<0.05 は一元配置分散分析後，Bonferroni 法により解析した。出典：添付資料 4.2.1.1.14（CO16640［参考］）

2.6.2.2.1.12 レカネマブ及びmAb158のヒト及びマウスFcγRIへの結合性（添付資料4.2.1.1.15, 試験番号 AD-TR-019［参考］）

FcγR は，IgG 抗体の Fc 部位に対する受容体タンパク質である。IgG の FcγRI への結合は，ミクログリア細胞による食作用を活性化することが知られている。そのようなミクログリアの活性化は，Aβ プラークの除去のみならず Aβ 受動免疫療法に関連する脳微小出血への寄与が示唆されている。レカネマブ及び mAb158 のヒト又はマウス FcγRI への結合性を SPR 法及び ELISA により測定した。

SPR 法では，FcγRI をセンサーチップ表面に固定し，センサー表面上にレカネマブ又は mAb158（3.125～200 nmol/L）を流して，1:1 結合モデルで解析した。結果を表 2.6.2-5 に示す。レカネマブと mAb158 は，ヒト FcγRI に対して同様の結合性を示した。一方，レカネマブは mAb158 に比べて，マウス FcγRI に対する結合性が 12 倍弱かった。レカネマブは mAb158 よりマウス FcγRI からの解離がより速いためであると考えられた。

表 2.6.2-5 SPR によるレカネマブ及び mAb158 の FcγRI への結合性解析

Antibody	Human FcγRI			Murine FcγRI		
	k_a ($L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (nmol/L)	k_a ($L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (nmol/L)
Lecanemab	1.2×10^5	0.0022	19	6.3×10^5	0.14	220
mAb158	1.5×10^5	0.0043	31	7.8×10^5	0.015	19

FcγRI をセンサーチップ表面に固定し，センサー表面上にレカネマブ又は mAb158 を流した。
FcγRI = Fcγ 受容体 I，k_a = 会合速度定数，k_d = 解離速度定数，K_D = 結合平衡定数，SPR =表面プラズモン共鳴.
出典：添付資料 4.2.1.1.15（AD-TR-019［参考］）

ELISA でも FcγRI に対する結合性を確認した。ヒト又はマウス FcγRI を固定した ELISA プレートにレカネマブ又は mAb158 を加え，直接 ELISA により結合性を測定した。測定は，レカネマブ又は mAb158 にビオチン化した可溶性 Aβ(1-42)凝集体を結合させ，ストレプトアビジン結合西洋ワサビペルオキシダーゼと TMB 基質を用いて測定した。その結果，レカネマブと mAb158 は，ヒト FcγRI に対して同等の結合性を示した。レカネマブは mAb158 に比べて，マウス FcγRI に対する結合性が 16 倍弱かった。

以上から，SPR 法及び ELISA において，レカネマブはヒト FcγRI に対して mAb158 と同様の結合性を持つが，マウス FcγRI に対しては mAb158 よりも結合性が低いことが示された。

2.6.2.2.1.13 レカネマブのヒト FcγRI，FcγRII 及び FcγRIII への結合性（添付資料 4.2.1.1.16, 試験番号 BR-034［参考］）

ヒト FcγRI，IIb/c 及び IIIa/b に対するレカネマブの結合性を BLI により評価した。

ヒト組換え型 His タグ Fc 受容体タンパクをセンサーに固定し，結合するレカネマブ（25, 50 µg/mL =170, 340 nmol/L）又はヒトコントロール IgG（25, 50 µg/mL）を BLI で測定した。ヒトコントロール IgG には全てのアイソタイプが含まれているが，レカネマブは IgG1 であるため，2 濃度のレカネマブ及び IgG を用いて結合を比較した。

その結果，レカネマブのヒト FcγRI に対する K_D 値（25 及び 50 µg/mL の K_D 値は，それぞれ 8.56 及び 7.33 nmol/L）及びヒト FcγRIIIa/b に対する K_D 値（25 及び 50 µg/mL の K_D 値は，それぞれ 49.9 及び 42.1 nmol/L）は，ヒトコントロール IgG のヒト FcγRI に対する K_D 値（25 及び 50 µg/mL の K_D 値は，それぞれ 18.3 及び 31.8 nmol/L）及びヒト FcγRIIIa/b に対する K_D 値（25 及び 50 µg/mL の K_D 値は，それぞれ 23.3 及び 19.5 nmol/L）と同様であった。レカネマブのヒト FcγRIIb/c の結合性は検出感度以下であった。

Aβ の N 末端をエピトープとする抗体では，一般に Fc 受容体を介する Aβ のクリアランスに FcγRI 及び FcγRIII がかかわることが知られている（Bard, et al., 2000; Bard, et al., 2003）。レカネマブも N 末端エピトープ抗体である。レカネマブは，FcγRI 及び FcγRIII に高い結合性を示すことから，Fc 受容体を介した Aβ クリアランスを促進する可能性を示唆する。

2.6.2.2.1.14 レカネマブのヒト胎児性 Fc 受容体への結合性（添付資料 4.2.1.1.17，試験番号 AD-TR-058［参考］）

レカネマブのヒト胎児性 Fc 受容体（FcRn）への結合性を SPR 法により測定した。

ヒト FcRn をセンサーチップ表面に固定し，センサー表面上にレカネマブ（30～4000 nmol/L）を pH6 又は pH7.4 で流した。pH6 では，K_D 値 0.64 µmol/L の比較的強い結合性が観察された。pH7.4 では，特異的であるが弱い結合性が観察された。

2.6.2.2.1.15 ミクログリアによる Aβ クリアランスにおけるレカネマブの効果（添付資料 4.2.1.1.18，試験番号 AD-TR-123［参考］）（添付資料 4.2.1.1.19，試験番号 LMS 0432-02-26207［参考］）

レカネマブが Fc 受容体を介して Aβ 除去を促進するという可能性を確認するため，EOC 20 マウスミクログリア細胞及び AD 患者のミクログリア細胞を用いて Aβ プロトフィブリルの取り込みを測定した。

EOC 20 細胞（添付資料 4.2.1.1.18，試験番号 AD-TR-123［参考］）

FcγR ブロッカーである Fc block™（2.5 µg/mL）の存在下又は非存在下で，Aβ プロトフィブリル（100 nmol/L）とレカネマブ（0.078～10 µg/mL =0.53～68 nmol/L）をインキュベート後，EOC 20 細胞に加えた。2 時間インキュベート後に培地を取り除き，細胞を可溶化して細胞内の Aβ を ELISA で定量した。

その結果，レカネマブは EOC 20 細胞における Aβ プロトフィブリルの取り込みを濃度依存的に増加させた（図 2.6.2-14）。レカネマブの Fc 受容体を介する Aβ プロトフィブリル取り込みの 50%有効濃度（EC_{50}）は，0.257 µg/mL（1.7 nmol/L）であった（総 Aβ プロトフィブリル取り込み［図 2.6.2-14●］から Fc block 存在下でも取り込まれた Aβ プロトフィブリル［図 2.6.2-14■］を除いたグラフ［図 2.6.2-14▲］より算出）。

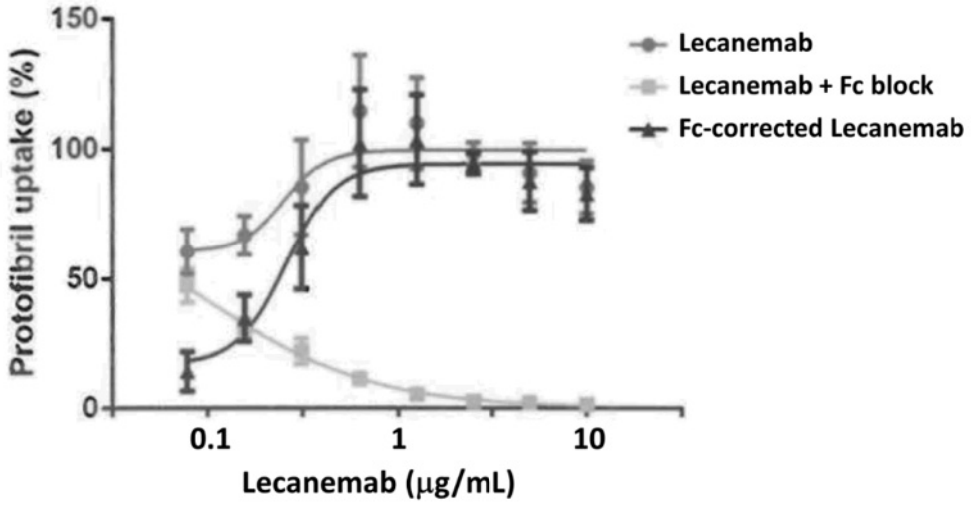


図 2.6.2-14 EOC 20 細胞への Aβ プロトフィブリル取り込みに対するレカネマブの効果

レカネマブ処置群のシグモイド曲線の頂点を 100%とし，ブランクウェルを 0%とした。●（Lecanemab）は，レカネマブ存在下のスカベンジャー及び Fcγ 受容体を介する Aβ プロトフィブリル取り込み（%）を示す。■（Lecanemab + Fc block）は，レカネマブ及び Fc block 存在下の抗体非依存性であるスカベンジャー受容体を介する Aβ プロトフィブリル取り込み（%）を示す。▲（Fc-corrected Lecanemab）は，レカネマブ存在下の総 Aβ プロトフィブリル取り込みからスカベンジャー受容体を介するものを除いた取り込み（%）を示す。データは 2 実験のそれぞれ 3 又は 4 ウェルで合計 7 又は 8 ウェルの平均値±標準偏差を示す。Aβ = アミロイド β. 出典：添付資料 4.2.1.1.18（AD-TR-123［参考］）

AD 患者ミクログリア培養細胞（添付資料 4.2.1.1.19, 試験番号 LMS 0432-02-26207［参考］）

Aβ プロトフィブリル（1 ng/mL =0.224 nmol/L）を等モルのレカネマブの存在下又は非存在下，室温で 15 分間置いた。AD 患者のミクログリアを Fc block の存在下又は非存在下，30 分間培養した。これらを混合し，さらに 12 時間培養後に細胞を可溶化して細胞内の Aβ を ELISA で定量した。

その結果を図 2.6.2-15 に示す。内在性の Aβ 量はほとんど影響のないレベルであった。ミクログリアに Aβ プロトフィブリルを加えると 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。

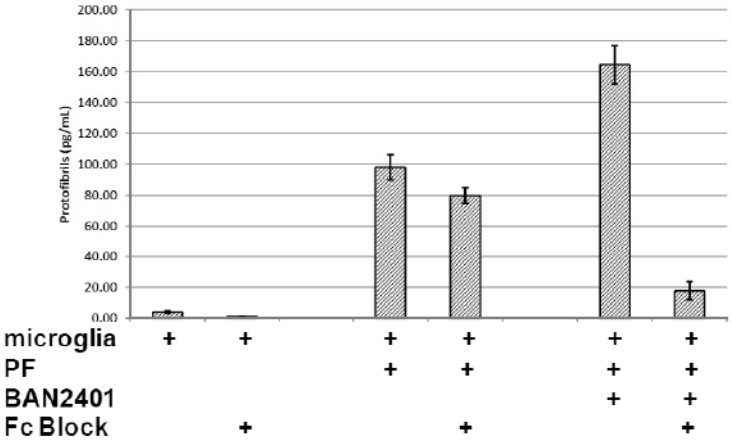


図 2.6.2-15 AD 患者脳由来ミクログリア細胞による Aβ プロトフィブリル取り込みに対するレカネマブの効果

左：Fc block の存在又は非存在下の媒体コントロール群
中：Fc block の存在又は非存在下の Aβ プロトフィブリル群
右：Fc block の存在又は非存在下の Aβ プロトフィブリル及びレカネマブ群
データは 3 ウェルの平均値±標準誤差を示す。Aβ＝ アミロイドβ，AD＝ アルツハイマー病，BAN2401＝ レカネマブ，PF＝Aβ プロトフィブリル． 出典：添付資料 4.2.1.1.19（LMS 0432-02-26207［参考］）

2.6.2.2.2 In Vivo 薬理試験

家族性 AD にかかわる変異遺伝子を過剰発現する Tg マウスは，加齢に伴い AD 様の病態（びまん性 Aβ 沈着，Aβ プラーク及びグリオーシス等）を呈し，抗 Aβ 抗体等の AD 治療薬の評価に広く用いられている（Götz, et al., 2004; Dodart and May, 2005; Wilcock and Colton, 2008）。ただし，これらのマウスでは，神経原線維変化を形成する対らせん状線維はみられず，明らかな神経細胞死もみられない。

In vivo 試験において，Tg-APP$_{ArcSwe}$ 及び Tg2576 マウスを用いて mAb158 の効果を評価した。Tg2576 マウスは Swedish 変異（K670N/M671L）を持つヒト APP 遺伝子を過剰発現し，生後 9 から 12 ヵ月頃に顕著な Aβ プラーク形成を示す AD マウスモデルである（Hsiao, et al., 1996; Kawarabayashi, et al., 2001; Terai, et al., 2001）。Swedish 変異は APP の β サイトでの切断を促進する。Tg-APP$_{ArcSwe}$ マウスは Swedish 及び Arctic 変異（E693G）を併せ持つヒト APP 遺伝子を過剰発現し，生後 5～6 ヵ月齢で Aβ プラークを形成する（Lord, et al., 2006）。Arctic 変異は in vitro 試験において Aβ プロトフィブリルの形成を促進する。

APP^{NL-G-F} マウスを用いた mAb158 の評価も行った。APP^{NL-G-F} マウスは，APP 遺伝子をノックインした AD マウスモデルである。APP ノックインマウスは APP の過剰発現による影響を除くことができる第 2 世代の AD マウスモデルとして開発されてきた（Nilsson, et al., 2014）。APP^{NL-G-F} マウスでは，内在性マウス *App* に Swedish，Arctic 及び Iberian（I716F）の 3 重変異並びに Aβ 配列のヒト化が導入されている。Iberian 変異は Aβ の C 末端 42 位での γ 切断を促進して Aβ42/Aβ40 比を増加させる。APP^{NL-G-F} マウスは，生後 6 ヵ月以前から Aβ プラークを形成する（Nilsson, et al., 2014; Sasaguri, et al., 2017）。

2.6.2.2.2.1 Tg-APP$_{ArcSwe}$ マウスにおける Aβ プロトフィブリルに対する mAb158 の効果

2.6.2.2.2.1.1 短期投与実験（添付資料 4.2.1.1.20，試験番号 AD-TR-008［参考］）（添付資料 4.2.1.1.21，試験番号 AD-TR-014［参考］）（添付資料 4.2.1.1.22，試験番号 AD-TR-010［参考］）

（添付資料 4.2.1.1.20，試験番号 AD-TR-008［参考］）

mAb158 の適切な投与条件を調べるために，Tg-APP$_{ArcSwe}$ マウス（雌雄，10～14 ヵ月齢，2～7 例/群）に mAb158 を 10 mg/kg の用量で，1 日 1 回を 1 日又は 4 日間の静脈内投与，並びに 1 週間 1 回を 4 週間の腹腔内投与を行った。静脈内投与及び腹腔内投与の最終投与から，それぞれ 24 時間及び 7 日間後の脳内の Aβ プロトフィブリル量をサンドイッチ ELISA で測定した。

その結果，1 日 1 回の 1 日又は 4 日間の静脈内投与では脳内の Aβ プロトフィブリル量は変わらなかったが，1 週間 1 回の 4 週間の腹腔内投与では無処置群に対して Aβ プロトフィブリル量に約 40%の減少がみられた。

（添付資料 4.2.1.1.21，試験番号 AD-TR-014［参考］）

mAb158 投与後の Aβ プロトフィブリル量の時間変化を調べるために，Tg-APP$_{ArcSwe}$ マウス（12 ヵ月齢，4～7 例/群）に mAb158（10 mg/kg/週）を 4 週間，腹腔内投与した。コントロール群は，リン酸緩衝生理食塩水（PBS）を投与した。最終投与から 24 時間又は 7 日後の脳内及び脳脊髄液（CSF）中の Aβ プロトフィブリル量をサンドイッチ ELISA で測定した。

その結果，最終投与から 24 時間後及び 7 日後の脳内及び CSF 中の Aβ プロトフィブリル量は，それぞれコントロール群に対して有意な減少を示した。なお，最終投与から 24 時間後及び 7 日後の CSF 中の mAb158 濃度は，それぞれ 427.6 及び 288.8 ng/mL であった。

（添付資料 4.2.1.1.22，試験番号 AD-TR-010［参考］）

mAb158 の有効用量を検討するために，Tg-APP$_{ArcSwe}$ マウス（雌雄，9～16 ヵ月齢，6 例/群）に mAb158（1，3 及び 10mg/kg/週）を 4 週間，腹腔内投与した。コントロール群は，PBS を投与した。最終投与から 7 日後の脳内 Aβ プロトフィブリル量をサンドイッチ ELISA で測定した。

その結果，mAb158 の 3 及び 10 mg/kg 投与群の脳内 Aβ プロトフィブリル量は，コントロール群に対して有意な減少を示した。

表 2.6.2-6 Tg-APP$_{ArcSwe}$ マウスにおける mAb158 の 4 週間反復投与後の脳内 Aβ プロトフィブリル量に対する効果

Treatment	Dose (mg/kg/week)	Brain Aβ-Protofibril Level (nmol/L)	% of Control
PBS	0	0.631±0.152	100
mAb158	1	0.471±0.133	74.6
mAb158	3	0.257±0.036*	40.7
mAb158	10	0.193±0.057*	30.6

脳サンプル中の Aβ プロトフィブリル濃度（nmol/L）は Aβ モノマー換算して示した。
データは平均値±標準誤差を示す（n=6）。mAb158 又は PBS を 1 週間 1 回で 4 週間，マウスに腹腔内投与した。最終投与から 7 日後に脳を摘出した。
Aβ＝ アミロイドβ，PBS＝ リン酸緩衝生理食塩水.
* P<0.05 は PBS 処置群に対して Kruskal−Wallis 検定後，Mann–Whitney 検定により解析した。
出典：添付資料 4.2.1.1.22（AD-TR-010［参考］）

2.6.2.2.2.1.2 長期投与実験（添付資料 4.2.1.1.23, 試験番号 AD-TR-007［参考］）（添付資料 4.2.1.1.24, 試験番号 AD-TR-070［参考］）（添付資料 4.2.1.1.25, 試験番号 AD-TR-009［参考］）（添付資料 4.2.1.1.26, 試験番号 AD-TR-011［参考］）

（添付資料 4.2.1.1.23, 試験番号 AD-TR-007［参考］）

mAb158 の長期投与効果を検討するために，Tg-APP$_{ArcSwe}$ マウス（雌雄，9～10 ヵ月齢，8～10 例/群）に mAb158（12 mg/kg/週）を 18 週間，腹腔内投与した。コントロール群は，PBS を投与した。最終投与から 1～3 日後の脳内 Aβ プロトフィブリル量をサンドイッチ ELISA で測定した。

その結果，コントロール群に比べて，mAb158 投与群の脳内の Aβ プロトフィブリル量に有意な減少（–76%）がみられた。

（添付資料 4.2.1.1.24, 試験番号 AD-TR-070［参考］）

mAb158 の長期投与効果を検討するために，Tg-APP$_{ArcSwe}$ マウス（雌雄，12～14 か月齢，8～9 例/群）に mAb158（10 mg/kg/週）を 13 週間，腹腔内投与した。コントロール群は，PBS を投与した。最終投与から 7 日後の血漿中の Aβ(1-40)量，並びに脳内の Aβ プロトフィブリル量，総 Aβ(1-40)量及び総 Aβ(1-42)量を，それぞれの ELISA で測定した。

その結果，mAb158 投与の前後で，血漿中の Aβ(1-40)量に有意な変化はなかった。脳内の Aβ プロトフィブリル量はコントロール群に比べて有意に約 60%減少した。脳内の総 Aβ(1-40)量及び総 Aβ(1-42)量はコントロール群に比べて有意に約 40%減少した。mAb158 投与による顕著な ADA 産生はみられなかった。実験終了時の血漿中の mAb158 濃度は，86 µg/mL であった。

（添付資料 4.2.1.1.25, 試験番号 AD-TR-009［参考］）

老齢マウスでの効果を検討するため，Tg-APP$_{ArcSwe}$ マウス（雌雄，18～24 ヵ月齢，7～11 例/群）に，mAb158（12 mg/kg/週）を 14 週間，腹腔内投与した。コントロール群は，PBS を投与した。最終投与から 7 日後の脳内 Aβ プロトフィブリル量をサンドイッチ ELISA で測定した。また，可溶性総 Aβ(x-40)量及び総 Aβ(x-42)量もそれぞれの ELISA により測定した。

その結果，mAb158 投与により脳内の Aβ プロトフィブリル量はコントロール群に比べて 52%減少した。また，可溶性総 Aβ(x-42)量はコントロール群に比べて 56%の減少がみられたが，可溶性総 Aβ(x-40)量には変化がなかった。

（添付資料 4.2.1.1.26, 試験番号 AD-TR-011［参考］）

mAb158 低用量の効果を調べるため，Tg-APP$_{ArcSwe}$ マウス（雌雄，12～14 ヵ月齢，2～7 例/群）に，mAb158（0.3, 1, 3, 10 mg/kg/週）を 17 週間，腹腔内投与した。コントロール群は，PBS を投与した。最終投与から 7 日後の脳内 Aβ プロトフィブリル量，可溶性 Aβ(x-40)量及び Aβ(1-42)量，並びに CSF 中の Aβ プロトフィブリル量，Aβ(1-40)量及び Aβ(1-42)量をそれぞれの ELISA により測定した。

その結果，0.3 mg/kg 以上の mAb158 投与で脳内 Aβ プロトフィブリル量の減少が確認された。CSF 中の Aβ プロトフィブリル量の減少は，10 mg/kg で確認された。また，脳内の可溶性 Aβ(x-40)量及び Aβ(1-42)量，並びに CSF 中の Aβ(1-40)量及び Aβ(1-42)量には変化がなかった。なお，mAb158（0.3, 1, 3, 10 mg/kg/週）最終投与から 7 日後の CSF 中の mAb158 濃度は，それぞれ 27, 102, 493 及び 1300 ng/mL であった。

表 2.6.2-7 Tg-APP$_{ArcSwe}$ マウスにおける低用量 mAb158 の 17 週間反復投与後の脳内 Aβ プロトフィブリル量に対する効果

Treatment	Dose (mg/kg/week)	Aβ-Protofibril Level (nmol/L) (% of Control)	
		Brain	CSF
PBS	0	0.735±0.047 (100)	0.040±0.003 (100)
mAb158	0.3	0.532±0.048* (72)	0.050±0.011 (125)
mAb158	1	0.495±0.038** (67)	0.020±0.007 (51)
mAb158	3	0.337±0.034*** (46)	0.022±0.004 (56)
mAb158	10	0.366±0.061*** (50)	0.006±0.003* (15)

脳サンプル中の Aβ プロトフィブリル濃度（nmol/L）は Aβ モノマー換算して示した。
データは平均値±標準誤差を示す（n=5～7，ただし 10 mg/kg/週群は n=3）。mAb158 又は PBS を 1 週間 1 回で 17 週間，マウスに腹腔内投与した。
Aβ＝ アミロイドβ，CSF＝ 脳脊髄液，PBS＝ リン酸緩衝生理食塩水.
* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001 は PBS 処置群に対して一元配置分散分析後，Tukey−Kramer 多重比較検定により解析した。
出典：添付資料 4.2.1.1.26（AD-TR-011［参考］）

2.6.2.2.2.2 Tg2576 マウスにおける Aβ プロトフィブリルに対する mAb158 の効果

2.6.2.2.2.2.1 短期（4 週間）及び長期（18 週間）投与実験（添付資料 4.2.1.1.27，試験番号 AD-TR-443［参考］）

脳内 Aβ プロトフィブリル，Aβ(x-38)，Aβ(x-40)及び Aβ(x-42)量に対する mAb158 の効果を検討した。Tg2576 マウス（雌，12 ヵ月齢，11～17 例/群）に，mAb158（35 mg/kg/週）を 4 又は 18 週間，腹腔内投与した。コントロール群は，PBS を投与した。採血は投与前と初回投与の 7, 14, 21, 28, 42, 56, 70, 84, 98 及び 112 日後（それぞれ投与 7 日後のトラフ）に行い，血漿中の mAb158 及び ADA 濃度を測定した。最終投与から 7 日後の左半脳を使用して mAb158 暴露量を ELISA で測定し，Aβプロトフィブリル，Aβ(x-38)，Aβ(x-40)及びAβ(x-42)量をそれぞれECLIA で測定した。右半脳はパラフィン包埋して切片を作製し，抗ヒト Aβ(1-16)モノクローナル抗体（クローン：6E10，Aβ 陽性プラークの染色; Huttunen, et al., 2010），チオフラビン S（高密度コアプラークの染色; Huttunen, et al., 2010）及び DAPI（核 DNA 染色）を用いて染色した。大脳皮質におけるプラークを画像解析により定量した。

血漿（図 2.6.2-16）及び脳（図 2.6.2-17）における mAb158 の平均暴露量は，個体間のばらつきはあるが，4 週間と 18 週間で同程度であった。mAb158 の脳内対血漿中濃度比は，4 及び 18 週間でそれぞれ 0.12%及び 0.09%であった。

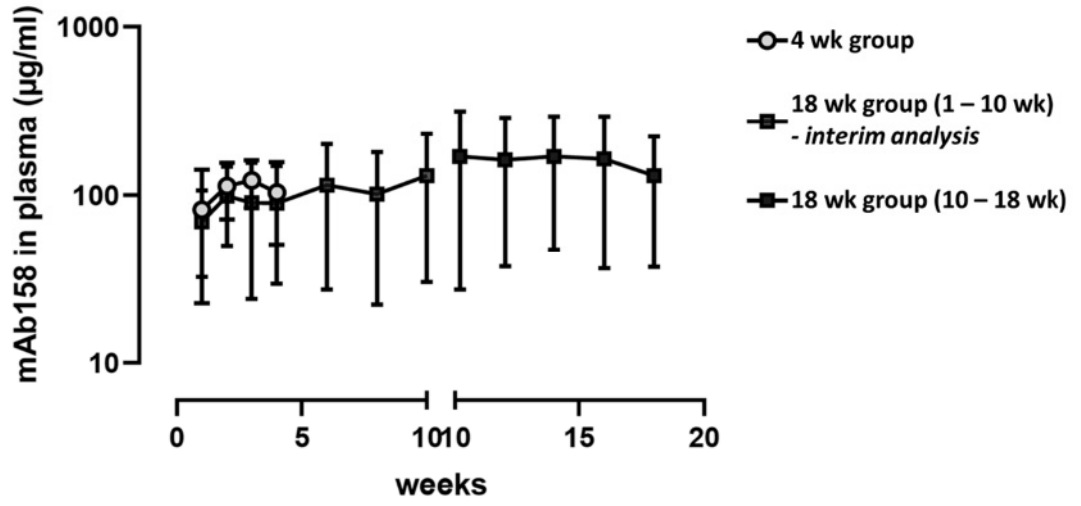


図 2.6.2-16 Tg2576 マウスにおける血漿中 mAb158 暴露量

mAb158 の血漿中濃度（トラフ値：投与 7 日後で次の投与の 1 時間前）を示す。データは平均値±標準偏差を示す（n=11～17）。mAb158 を 35 mg/kg で 1 週間 1 回で 4 又は 18 週間，Tg2576 マウスに腹腔内投与した。出典：添付資料 4.2.1.1.27（AD-TR-443［参考］）

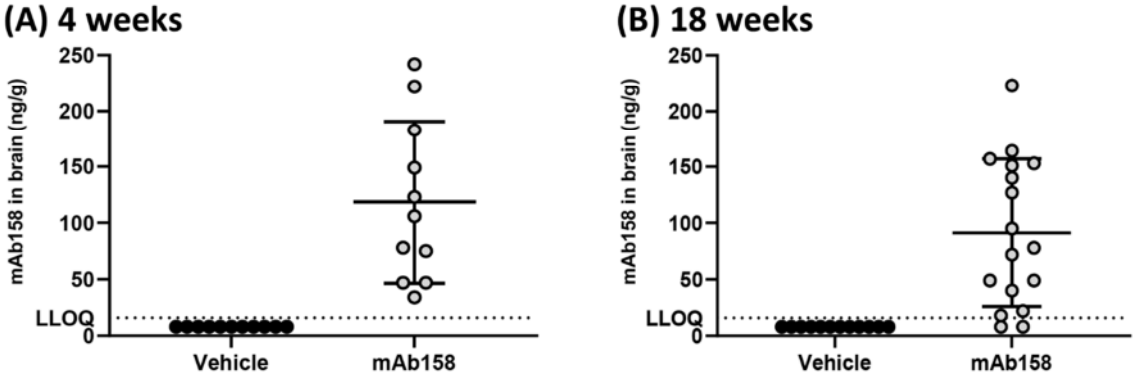


図 2.6.2-17 Tg2576 マウスにおける脳内 mAb158 暴露量

mAb158（35 mg/kg）又は媒体（PBS）を 1 週間 1 回で（A）4 週間又は（B）18 週間腹腔内投与 7 日後の mAb158 の脳内濃度を示す。LLOQ (16 ng/g)より小さい値は，LLOQ の 1/2（8 ng/g）とした。平均値±標準偏差（n=11～17）をバーで示す。LLOQ＝ 定量下限，PBS＝ リン酸緩衝生理食塩水. 出典：添付資料 4.2.1.1.27（AD-TR-443［参考］）

mAb158 を 4 又は 18 週間投与した後の Aβ プロトフィブリル量に対する効果を調べた。PBS 投与のコントロール群において，脳内 Aβ プロトフィブリル量は，13 ヵ月齢（4 週間投与）から 16.5 ヵ月齢（18 週間投与）まで加齢とともに 8 倍に増加した。脳内 Aβ プロトフィブリル量は，4 及び 18 週間の mAb158 投与により，コントロール群と比較して，それぞれ 62%（P<0.001）及び 87%（P<0.0001）減少した。ADA 陽性マウスは，mAb158 の 4 及び 18 週間投与後，それぞれ 1 例/11 例及び 6 例/17 例で観察された（図 2.6.2-18 の赤丸）。ADA の有無による 18 週間投与群の血漿中及び脳内 mAb158 暴露量に統計的有意差はなく，本試験の結果に ADA の有無による影響はなかった。

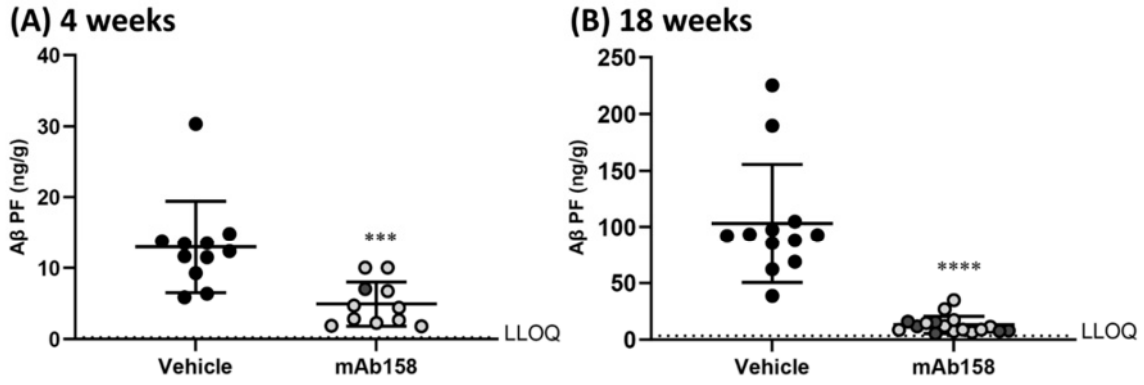


図 2.6.2-18 Tg2576 マウスの脳内 Aβ プロトフィブリル量に対する mAb158 の効果

mAb158（35 mg/kg）又は媒体（PBS）を 1 週間 1 回で（A）4 週間又は（B）18 週間腹腔内投与 7 日後の脳内 Aβ プロトフィブリル量を示す。平均値±標準偏差（n=11～17）をバーで示す。赤丸は ADA 陽性個体を示す。Aβ＝ アミロイドβ，ADA＝ 抗薬物抗体，LLOQ＝ 定量下限，PBS＝ リン酸緩衝生理食塩水，PF＝ プロトフィブリル． *** P<0.001, **** P<0.0001 は対数変換後，媒体群に対して対応のない t 検定により解析した。出典：添付資料 4.2.1.1.27（AD-TR-443［参考］）

脳内の総可溶性及び不溶性ヒト Aβ(x-38)，Aβ(x-40)及び Aβ(x-42)量も測定した（図 2.6.2-19）。Tg2576 マウスにおける 18 週間の mAb158 投与により，可溶性及び不溶性 Aβ(x-42)量は，コントロール群と比較して，それぞれ 39%（P<0.01）及び 31%（P<0.001）減少した。

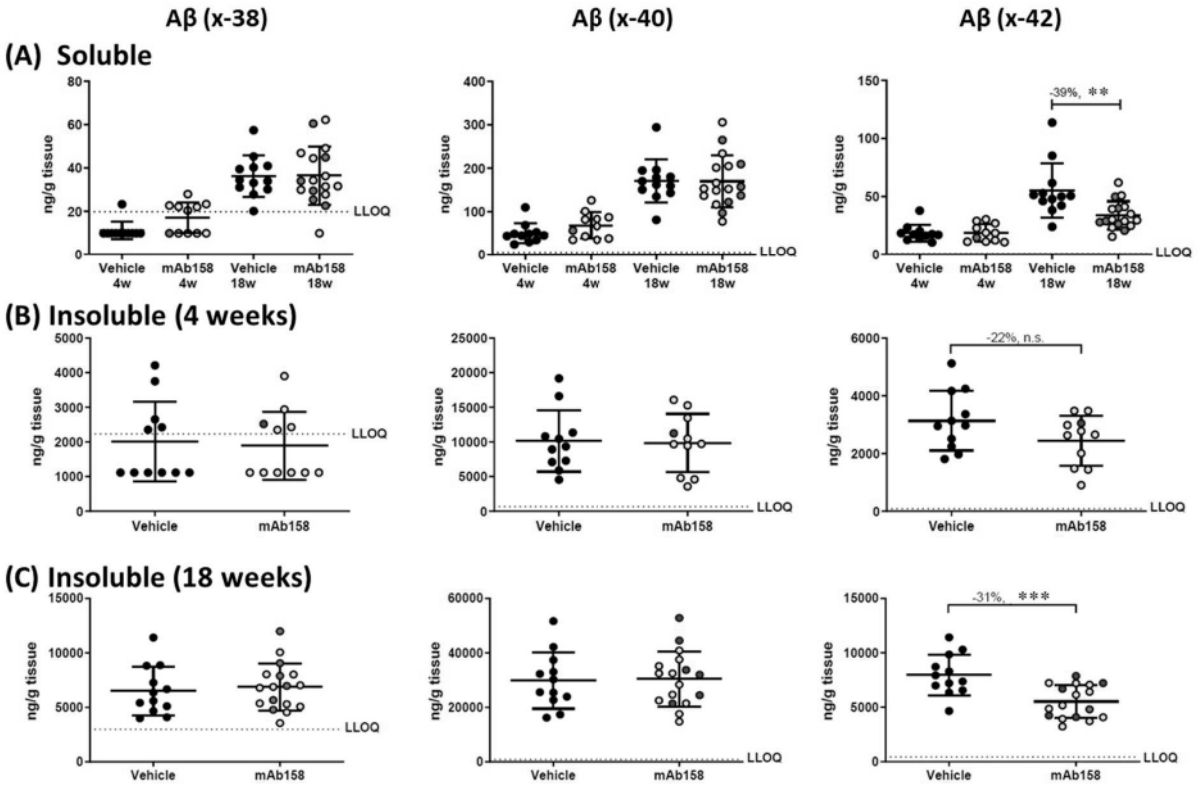


図 2.6.2-19 Tg2576 マウスの脳内の可溶性及び不溶性 Aβ 量に対する mAb158 の効果

mAb158（35 mg/kg）又は媒体（PBS）を，（A）4 週間又は 18 週間腹腔内投与後の脳内総可溶性 Aβ(x-38), Aβ(x-40)及び Aβ(x-42)量，（B）4 週間又は（C）18 週間腹腔内投与後の脳内不溶性 Aβ(x-38), Aβ(x-40)及び Aβ(x-42)量を示す。可溶性及び不溶性 Aβ(x-38)の LLOQ（それぞれ 19.8 及び 2232 ng/g）より小さい値は，LLOQ の 1/2（それぞれ 9.9 及び 1116 ng/g）とした。平均値±標準偏差（n=11～17）をバーで示す。赤丸は ADA 陽性個体を示す。Aβ = アミロイド β，ADA = 抗薬物抗体，Aβ(x-38) = Aβ のアミノ酸残基 x から 38 のフラグメント，Aβ(x-40) = Aβ のアミノ酸残基 x から 40 のフラグメント，Aβ(x-42) = Aβ のアミノ酸残基 x から 42 のフラグメント，LLOQ = 定量下限，n.s. = 有意差なし，PBS = リン酸緩衝生理食塩水． ** P<0.01, *** P<0.001 は媒体群に対して対応のない t 検定により解析した（グラフ A の統計解析は対数変換して行った）。出典：添付資料 4.2.1.1.27（AD-TR-443［参考］）

図 2.6.2-20A に示すように，mAb158 の 4 又は 18 週間投与後の大脳皮質を用いて，6E10 陽性の Aβ プラークを定量した。コントロール群の総シグナル（面積及び密度）は，4 週間投与と比較して 18 週間投与で高いことから，13 ヵ月（4 週間投与）から 16.5 ヵ月（18 週間投与）の間にプラークが増加していることが示された。18 週間の mAb158 投与により，6E10 陽性 Aβ プラークは，コントロール群と比較して，面積及び密度で，それぞれ 56%及び 66%（P<0.0001）減少したが，4 週間の mAb158 投与群には有意差はみられなかった。一方，図 2.6.2-20B に示すように，mAb158 の 4 又は 18 週間投与により，高密度コアプラーク（チオフラビン S 陽性）には有意な影響はみられなかった。以上より，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が示された。

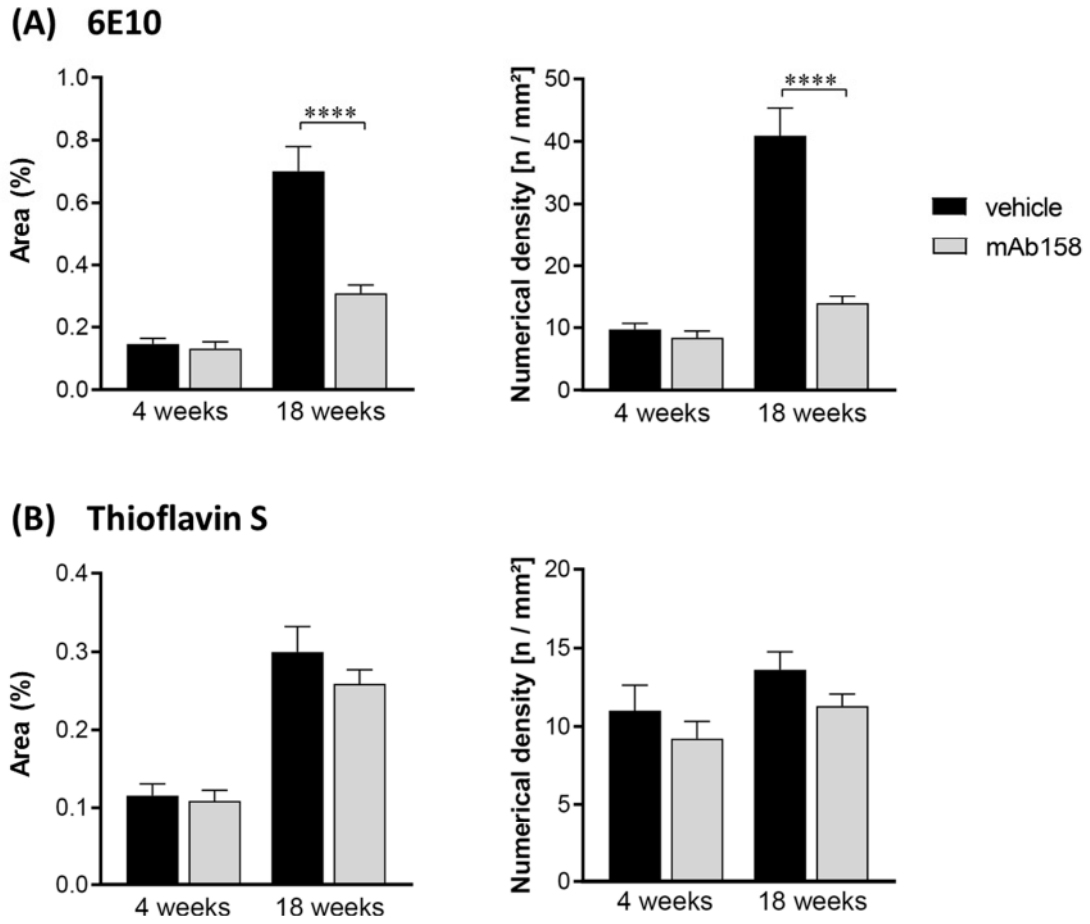


図 2.6.2-20 Tg2576 マウスの大脳皮質における 6E10 及びチオフラビン S 陽性プラークの面積及び密度に対する mAb158 の効果

mAb158（35 mg/kg）又は媒体（PBS）を 4 週間又は 18 週間腹腔内投与後の大脳皮質の（A）6E10 及び（B）チオフラビン S 陽性の面積及び密度を定量した。データは，平均値+標準誤差（n=11～17）を示す。6E10＝ 抗ヒト Aβ(1-16)モノクローナル抗体，Aβ＝ アミロイドβ，PBS＝ リン酸緩衝生理食塩水． **** P<0.0001 は対数変換後，媒体群に対して対応のない t 検定により解析した。
出典：添付資料 4.2.1.1.27（AD-TR-443［参考］）

6E10 陽性の Aβ プラークの大きさと蛍光強度の分析より，大きさ及び強度が高い Aβ プラークには mAb158 の効果が弱いことが示された（図 2.6.2-21）。mAb158 投与により，大きさが 300 μm^2 未満又は強度が 500 au 未満のプラークの減少がみられた。

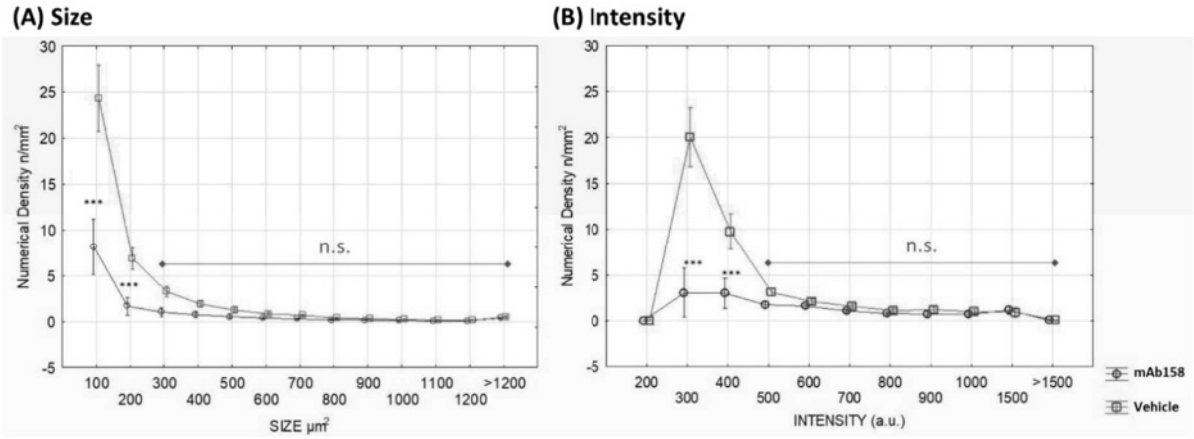


図 2.6.2-21 Tg2576 マウスの大脳皮質における 6E10 陽性 Aβ プラークの大きさと強度に対する mAb158 の効果

mAb158（35 mg/kg）又は媒体（PBS）を 18 週間腹腔内投与後の大脳皮質の（A）6E10 陽性プラークのサイズ及び（B）蛍光強度分布を示す。データは，最小二乗平均±95% CI（n=12 又は 17）を示す。蛍光強度（a.u.）は，閾値以上の蛍光強度となったピクセルの平均値を示す。6E10＝ 抗ヒト Aβ(1-16)モノクローナル抗体，Aβ＝ アミロイドβ，PBS＝ リン酸緩衝生理食塩水.
*** *P*<0.001 は媒体群に対して混合モデルを用いた反復測定分散分析後，HSD 検定により解析した。出典：添付資料 4.2.1.1.27（AD-TR-443［参考］）

2.6.2.2.2.2 短期投与実験（添付資料 4.2.1.1.28，試験番号 W-20090278［参考］）（添付資料 4.2.1.1.29，試験番号 W-20100295［参考］）

（添付資料 4.2.1.1.28，試験番号 W-20090278［参考］）

mAb158 の適切な投与期間を調べるために，Tg2576 マウス（雌，14 ヵ月齢，6 例/群）に mAb158 を 24 mg/kg/週の用量で，1～4 週間の腹腔内投与を行った。コントロール群は，PBS を投与した。最終投与から 7 日後の脳内の Aβ プロトフィブリル量を ELISA で測定した。mAb158 の血漿中及び脳内濃度は ECLIA で測定した。

2 及び 4 週間の mAb158 投与により，脳内 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 1～4 週間投与における脳内対血漿中濃度比は，0.09%～0.21%であった。

表 2.6.2-8 Tg2576 マウスの脳内 Aβ プロトフィブリル量に対する投与期間の影響

Treatment	Duration		
	1 Week	2 Weeks	4 Weeks
PBS	0.507±0.081	0.469±0.046	0.590±0.049
mAb158 (24 mg/kg/week)	0.419±0.045	0.338±0.021*	0.434±0.032*

データは 450 nm における光学密度（平均値±標準誤差，n=6）を示す。
mAb158 又は PBS を 1 週間 1 回でマウスに腹腔内投与した。
Aβ＝ アミロイドβ，PBS＝ リン酸緩衝生理食塩水.
* *P*<0.05 は PBS 処置群に対して対応のない *t* 検定により解析した。
出典：添付資料 4.2.1.1.28（W-20090278［参考］）

（添付資料 4.2.1.1.29, 試験番号 W-20100295［参考］）

老齢 Tg2576 マウスにおける mAb158 の 4 週間投与の効果を検討した。Tg2576 マウス（雌，20 ヵ月齢，18～34 例/群）に，mAb158（24 mg/kg/週）を 4 週間，腹腔内投与した。コントロール群は，PBS を投与した。最終投与の 24 時間後に脳を摘出し，Aβ プロトフィブリル，Aβ(1-40)，Aβ(1-42)，Aβ(x-40)及び Aβ(x-42)量をそれぞれの ELISA によって測定した。

mAb158 投与により，脳内 Aβ プロトフィブリル量は，コントロール群と比較して約 30%減少したが，統計学的に有意な結果ではなかった。また，Aβ(1-40)，Aβ(1-42)，Aβ(x-40)及び Aβ(x-42)量に変化はなかった。

表 2.6.2-9 Tg2576 マウスの脳内 Aβ プロトフィブリル量に対する mAb158 の 4 週間反復投与効果

Treatment	Brain Aβ-Protofibril Level (nmol/L)	% of Control
PBS	22.2±4.0	100
mAb158 (24 mg/kg/week)	15.8±2.0	71.3

データは平均値±標準誤差を示す（PBS 群, n=18; mAb158 群, n=34）。
Aβ プロトフィブリル濃度（nmol/L）は Aβ モノマー換算して示した。mAb158 又は PBS を 1 週間 1 回で 4 週間，マウスに腹腔内投与した。
Aβ＝ アミロイド β，PBS＝ リン酸緩衝生理食塩水.
出典：添付資料 4.2.1.1.29（W-20100295［参考］）

2.6.2.2.2.3 長期投与実験（添付資料 4.2.1.1.30, 試験番号 W-20090277［参考］）（添付資料 4.2.1.1.31, 試験番号 W-20090276［参考］）（添付資料 4.2.1.1.32, 試験番号 NSEA2014-015［参考］）（添付資料 4.2.1.1.33, 試験番号 W-20100318［参考］）（添付資料 4.2.1.1.42, 試験番号 NCL-1065［参考］）

（添付資料 4.2.1.1.30, 試験番号 W-20090277［参考］）

若い Tg2576 マウス（雌，4 ヵ月齢，14～15 例/群）に，mAb158（3, 6 及び 12 mg/kg/週）を 18 週間，腹腔内投与した。生後 4 ヵ月の Tg2576 マウスでは有意な Aβ プラークは観察されないため，この試験は予防的効果の位置づけとなる。コントロール群は，PBS を投与した。最終投与の 5 日後に脳（14～15 例/群）及び CSF（6～11 例/群）を採取し，Aβ プロトフィブリルを ELISA によって測定した。

その結果，全ての用量で脳内 Aβ プロトフィブリル量の有意な減少が観察されたが，CSF 中の Aβ プロトフィブリル量に有意な変化はなかった。

（添付資料 4.2.1.1.31, 試験番号 W-20090276［参考］）

Tg2576 マウス（雌，12.5 ヵ月齢，20 例/群）に，mAb158（12 及び 24 mg/kg/週）を 18 週間，腹腔内投与した。コントロール群は，PBS 又はコントロール IgG（24 mg/kg/週）を投与した。最終投与の 5 日後に脳を摘出し，Aβ プロトフィブリル，Aβ(x-40)及び Aβ(x-42)量をそれぞれの ELISA によって測定した。さらに，Aβ プラークを免疫組織化学的染色等により測定した。

その結果，mAb158 の 12 及び 24 mg/kg 投与群ともにコントロール群に対して，脳内 Aβ プロトフィブリル量が減少した（表 2.6.2-10）。さらに，脳内可溶性及び不溶性 Aβ(x-42)量ともに，