目次

1. 非臨床試験計画概略 5
1.1 背景 5
1.2 非臨床試験計画概略 7
2. 薬理試験 10
2.1 効力を裏付ける試験 10
2.1.1 *In vitro* 薬理試験 10
2.1.1.1 結合親和性試験（M2.6.2.2.2.1 項、M2.6.2.2.2.2 項） 10
2.1.1.2 ロザノリキシズマブの *in vitro* 作用機序試験（M2.6.2.2.3.1 項、M2.6.2.2.3.2 項） 11
2.1.2 *In vivo* 薬理試験 12
2.1.2.1 ヒト FcRn を遺伝子導入したマウスを用いた薬理試験（M2.6.2.2.3.3 項） 12
2.1.2.2 マウスを用いた病態モデルにおける効果（M2.6.2.2.3.5 項） 12
2.2 副次的薬理試験（M2.6.2.3 項） 12
2.3 安全性薬理試験（M2.6.2.4 項） 12
2.4 薬力学的薬物相互作用（M2.6.2.5 項） 13
3. 薬物動態試験 13
3.1 分析方法（M2.6.4.2 項） 13
3.2 吸収（M2.6.4） 14
3.3 分布 15
3.4 代謝 15
3.5 排泄 15
3.6 ヒト代謝物に対する全身曝露 15
4. 毒性試験 15
4.1 単回投与毒性試験（M2.6.6.2 項） 15
4.2 反復投与毒性試験 15
4.2.1 カニクイザルにおける 4 週間投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（M2.6.6.3.1 項） 15
4.2.2 カニクイザルにおける 13 週間投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（M2.6.6.3.2 項） 16
4.2.3 カニクイザルにおける 26 週間皮下投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（M2.6.6.3.3 項） 18
4.2.4 アカゲザルにおける 1 週間の毒性試験（M2.6.6.3.4 項） 20
4.3 遺伝毒性試験（M2.6.6.4 項） 20
4.4 がん原性試験（M2.6.6.5 項） 20
4.5 生殖発生毒性試験（M2.6.6.6 項） 21
4.6 局所刺激性試験（M2.6.6.3.1 項、M2.6.6.3.2 項、M2.6.6.3.3 項） 21
4.7 その他の毒性試験 22
4.7.1 組織交差反応性試験（M2.6.6.8.1 項） 22
4.7.2 サイトカイン放出試験（M2.6.6.8.2 項） 22
4.7.3 InTESTine™ モデルを用いたロザノリキシズマブのヒト腸管に対する影響の *ex vivo* 評価（M2.6.6.8.3 項） 22
5. 総括及び結論 23
6. 参考文献 24

表

表 2-1　たん白質間（BIAcore）アッセイを用いた pH 7.4 及び pH 6.0 条件下でのヒト及びカニクイザルの FcRn に対するロザノリキシズマブの親和性 11
表 2-2　細胞表面に発現したヒト及びカニクイザルの FcRn に対するロザノリキシズマブの親和性 11
表 2-3　ヒト又はカニクイザルの FcRn を遺伝子導入した細胞を用いた IgG のリサイクリング及びトランスサイトーシスに対するロザノリキシズマブの 50%阻害濃度（IC_{50}） 12

図

図 1-1　ロザノリキシズマブの構造 5

略語及び名称一覧表

略語（略称）	内容	
ADA	antidrug antibodies	抗薬物抗体
CAD	carcinogenicity assessment document	がん原性評価文書
CNS	central nervous system	中枢神経系
CV	coefficient of variation	変動係数
CVS	cardiovascular system	心血管系
CYP	cytochrome P450	シトクロム P450
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
ECL	electrochemiluminescence	電気化学発光
ePPND	enhanced prenatal and postnatal development	拡充型出生前及び出生後の発生
F	female	雌
Fab′	fragment antigen binding	抗原結合フラグメント
Fc	fragment crystallizable	抗体フラグメント（結晶化可能領域）
FcRn	neonatal Fc receptor	胎児性 Fc 受容体
FIH	First-in-human	ヒト初回投与
FITC	fluorescein isothiocyanate	フルオレセインイソチオシアネート
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HEK	human embryonic kidney cells	ヒト胎児腎臓
hERG	human *ether-a-go-go* related gene	ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子
huTg	human transgenic	ヒト遺伝子導入
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICD	immune complex disease	免疫複合体病
ICH	International Council for Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
Ig	immunoglobulin	免疫グロブリン
ITAM	immunoreceptor tyrosine-based activation motif	免疫受容体チロシン活性化モチーフ
ITIM	immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif	免疫受容体チロシン抑制モチーフ
ITP	immune thrombocytopenia	免疫性血小板減少症
K_D	equilibrium dissociation constant	平衡解離定数
KLH	keyhole limpet hemocyanin	キーホールリンペットヘモシアニン
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー - タンデム質量分析
LGI1	leucine-rich glioma-inactivated 1	ロイシンリッチグリオーマ不活化たん白質 1
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
mAb	monoclonal antibody	モノクローナル抗体
MDCK	Madin-Darby canine kidney	Madin-Darby イヌ腎臓
MG	myasthenia gravis	重症筋無力症
MHC	major histocompatibility complex	主要組織適合遺伝子複合体
MOG	myelin oligodendrocyte glycoprotein	ミエリンオリゴデンドロサイト糖たん白質
MSD	Meso scale discovery	メソスケールディスカバリー
MS/MS	tandem mass spectrometry	タンデム質量分析
NOAEL	no-observed-adverse-effect level	無毒性量

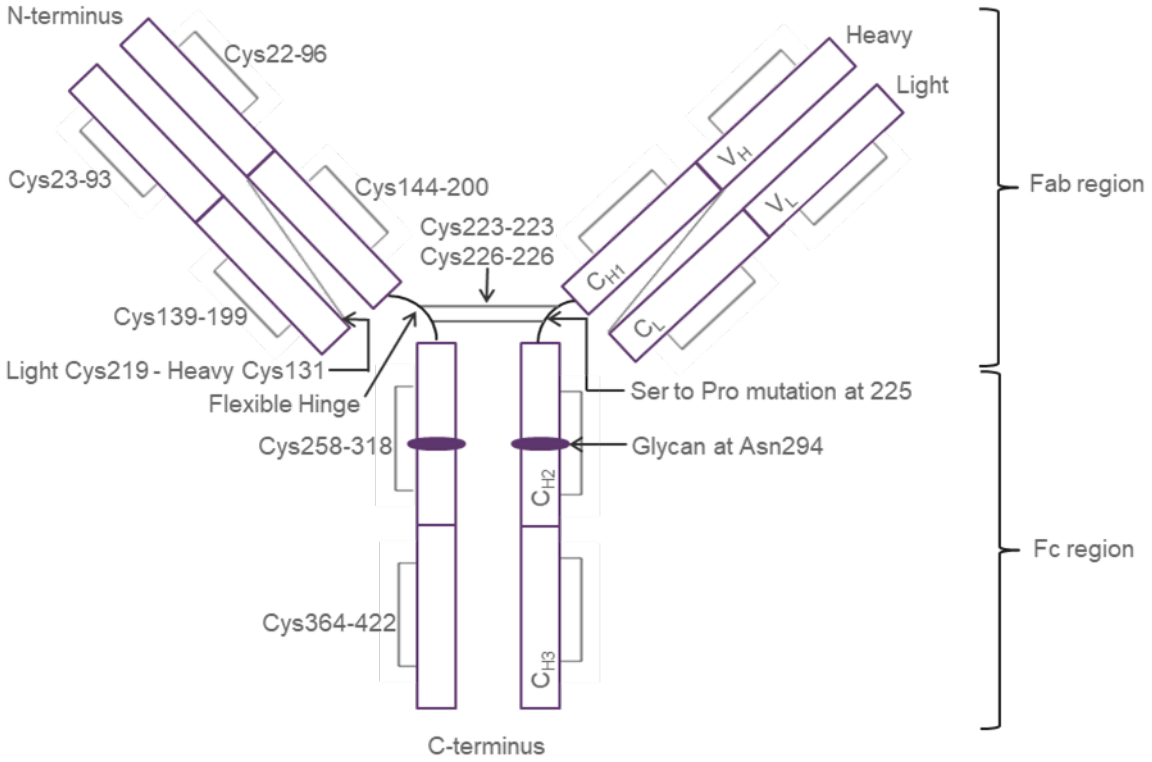
略語（略称）	内容	
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PBS	phosphate-buffered saline	リン酸緩衝食塩液
PD	pharmacodynamics	薬力学
PG	prostaglandin	プロスタグランジン
PK	pharmacokinetics	薬物動態学
PND	post-natal day	生後日数
TDAR	T cell dependent antibody (IgG) response	T 細胞依存性抗体（IgG）応答
TMDD	target mediated drug disposition	標的媒介性薬物動態
ULOQ	upper limit of quantification	定量上限
w/v%	weight per volume percentage	質量対容量百分率

1. 非臨床試験計画概略

1.1 背景

ロザノリキシズマブ（UCB7665）は、ヒト化抗胎児性抗体フラグメント（結晶化可能領域）受容体（FcRn）免疫グロブリン（Ig）G4 モノクローナル抗体（mAb）であり、アルブミンと FcRn との結合を阻害せずに IgG と FcRn との結合を特異的に阻害するようにデザインされた。IgG4 重鎖のヒンジ領域配列の 225 番目のセリン残基をプロリンへ変異させて改変した。それは、抗原結合フラグメント（Fab′）鎖交換（IgG の 2 つの重鎖-軽鎖対の解離後に、特異性の異なる IgG4 重鎖-軽鎖対と再会合すること）を阻止させるためである。ロザノリキシズマブの構造を図 1-1 に示す。ロザノリキシズマブの Fab′ドメインをヒト FcRn（細胞外ドメイン）との複合体として結晶化し、以下の特徴を明らかにした（Smith et al, 2018）。（i）その Fab′の構造は概ね Fab′の典型的構造である。（ii）ヒト FcRn α 鎖との結合部位は IgG の抗体フラグメント（結晶化可能領域）（Fc）ドメインとの結合が知られている部位と重複しており、ロザノリキシズマブが FcRn との結合部位で IgG と FcRn との結合を競合的に阻害する。ロザノリキシズマブは FcRn とアルブミンの結合部位近傍には結合しない。

図 1-1　ロザノリキシズマブの構造



C_H=定常重鎖、C_L=定常軽鎖、Fab=抗原結合フラグメント、Fc=抗体フラグメント（結晶化可能領域）、V_H=可変重鎖、V_L=可変軽鎖

申請者は重症筋無力症（MG）及び病因となる IgG 抗体が関与する他の自己免疫性疾患に対する治療薬として、ロザノリキシズマブの開発を実施している。

主要組織適合遺伝子複合体（MHC）クラスI様たん白質であるFcRnは、FcRnα鎖と非共有結合したβ_2ミクログロブリンから構成されるヘテロダイマーである。FcRnのリガンドであるIgG及びアルブミンは、内皮細胞や造血細胞を含む多様な細胞のエンドソームへ飲細胞運動によって取り込まれた後、FcRnによってサルベージされて、リソゾームに運ばれることなく血漿中に戻される（Roopenian and Akilesh, 2007; Challa et al, 2014; Pyzik et al, 2015; Martins et al, 2016）。このIgGリサイクリング経路が、*in vivo*でIgGが長期の半減期を有することに寄与しており、本リサイクリング経路の阻害は、内因性IgGの分解速度の促進をもたらす。自己免疫を病因とする多数の疾患が知られており、発症機序で直接役割を担い得る自己抗体IgGの産生とこれら疾患は相関があるとされている（Lernmark, 2001; Hayter and Cook, 2012）。MG、免疫性血小板減少症（ITP）、慢性炎症性脱髄性多発神経炎、及びロイシンリッチグリオーマ不活化たん白質1（LGI1）を標的にした自己抗体を介して誘導されるような自己免疫性脳炎がこの例に含まれる。こうした疾患での抗FcRn抗体の作用機序は、総IgGの減少作用の結果として、病因となる自己抗体IgGの除去も誘導され、それは自己免疫疾患患者にメリットを提供することになる。M2.6.2に示すように、mAbを用いたFcRn-IgG相互作用の阻害によって、動物疾患モデルでの血漿中IgG濃度の低下及び有効性がもたらされた。

MGの疾患病状制御において、病因となる自己抗体IgGの重要な役割及びその除去が有効な治療戦略であることを示す様々なエビデンスに関してはM2.5に示した。

非臨床試験で使用したロザノリキシズマブ原薬及び製剤の概要に関してはM2.6.1に示した。

MG患者の治療をサポートするために実施した、すべての*in vivo*非臨床毒性試験（1試験を除く）及び組織交差反応性試験（M2.6.6.3項及びM2.6.6.8.1項）では、140mg/mLのロザノリキシズマブ、30mM L-ヒスチジン／L-ヒスチジン塩酸塩水和物、250mM L-プロリン及び0.03質量対容量百分率（w/v%）ポリソルベート80をpH5.6で含有する調製済みの水溶液としてProcess 1a及びProcess 2で製造したロザノリキシズマブを使用した。Process 3で製造したロザノリキシズマブは拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）に関する試験で使用した。臨床で使用される被験物質のロザノリキシズマブ原薬はProcess 4で製造した（M3.2.S.2.2項）。全製造工程で製造した原薬は[redacted]℃以下で保存した。

非臨床試験で用いたロザノリキシズマブはProcess 3で製造した原薬と同等／同質である（M.3.2.S.2.6項）。バッチ出荷試験及び特性解析試験から作成されたデータにより、Process 3で製造したロザノリキシズマブ原薬はProcess 1a及びProcess 2で製造した原薬と同等／同質の品質特性を持つことを確認した。さらに、Process 3で製造した原薬とProcess 4で製造した原薬の品質について包括的な同等性／同質性評価を実施するため、Process 3及びProcess 4で製造した各原薬バッチについて、物理化学的、生物物理学的及び高次構造試験を実施した。出荷試験結果、安定性試験結果及び特性解析試験（質量分析、一次構造解析、高次構造解析、ヒトFcRnに対する結合速度論的解析等）に関して、Process 4で製造した原薬バッチとProcess 3で製造した原薬バッチは同等／同質とみなされた（M3.2.S.2.6項）。したがって、非臨床試験で使用したバッチ（Process 1a及びProcess 2で製造）はProcess 4で製造したバッチと完全に同等／同質であることが証明された。製造工程間の相違点の詳細はM3.2.S.2.6項に示した。

ロザノリキシズマブの市販予定製剤として、皮下注用製剤を開発した。ロザノリキシズマブ製剤は、ゴム栓で施栓し、プラスチック製のフリップオフキャップ付きアルミニウム製オーバーシールで密封したType Iガラスの6mLバイアル入りの液剤として供給される。バイアル中の液剤（pH 5.6）成分は140mg/mLのロザノリキシズマブ、30mM L-ヒスチジン／L-ヒスチジン塩酸塩水和物、250mM L-プロリン及び0.03 w/v%ポリソルベート80であり、採取容量は[redacted]mLである。製剤の製造工程の詳細はM3.2.P.3.3項に示した。

1.2　非臨床試験計画概略

薬力学（PD）、薬物動態学（PK）及び毒性学の観点からの総合的評価から成る非臨床試験プログラムは MG 及び他の自己免疫疾患の治療をサポートするものである。非臨床試験プログラムは、医薬品規制調和国際会議（ICH）M3（R2）及び S6（R1）ガイドラインの要件に合致している。安全性薬理及び局所刺激性評価を含む、カニクイザルにおける主要な又はそれ以外の反復投与毒性試験、並びにカニクイザル及びヒトの組織の包括的セットへの結合を評価する組織交差反応性試験を、地域及び経済協力開発機構（OECD）の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して、OECD データ相互受け入れ制度に加盟する国々で実施した。

種々の *in vitro* モデル、遺伝子導入マウス及びカニクイザルを用いた *in vivo* モデルで、ロザノリキシズマブの標的結合及び親和性、機能活性並びに血漿中 IgG 量を減少させる PD 活性を評価した。

ロザノリキシズマブの FcRn に対する親和性はヒト IgG に比べ顕著に高いため、ロザノリキシズマブは IgG と FcRn との結合を強力かつ特異的で競合的に阻害した（一方で、アルブミンとの結合は阻害しない）。ロザノリキシズマブはヒト細胞株表面に個々に発現させた多数のヒト細胞膜たん白質の中で FcRn α 鎖と高い選択性を示して結合した（[redacted] 社の技術を用いて評価、2.2 項）。表面プラズモン共鳴アッセイでは、ヒト及びカニクイザル由来の FcRn 精製たん白質に対してロザノリキシズマブは中性及び酸性条件下で高い結合親和性［平衡解離定数（K_D）値 ：約 40～60pM］を示したが、マウス、ラット及びウサギの FcRn との結合親和性は、極めて微弱であった（2.1.1.1 項）。細胞を用いた動態分析でもヒト及びカニクイザル由来の FcRn 遺伝子導入細胞に対して同様の結合親和性を示した（2.1.1.1 項）。

ロザノリキシズマブは FcRn 遺伝子導入 Madin-Darby イヌ腎臓（MDCK）細胞を用いた *in vitro* アッセイで IgG のリサイクリングを阻害する。リサイクリングは頂端側で IgG を培養液から取り込み、その後エクソサイトーシスにより IgG を培養液に戻すことを示す。全例でヒト及びカニクイザルの FcRn に対して同様な活性強度［50%阻害濃度（IC_{50}）値：数 nM］を示した（2.1.1.2 項）。ロザノリキシズマブは *in vitro* で細胞による IgG のトランスサイトーシスも阻害する。トランスサイトーシスは、細胞単層培養で頂端側コンパートメントから基底外側コンパートメントへ IgG が移動することを示す。

こうした *in vitro* の標的結合、親和性及び機能活性試験結果から、ロザノリキシズマブ開発のための毒性試験に用いる薬理学的に適切な唯一の動物種としてカニクイザルの使用が支持される。

ヒト遺伝子導入（huTg）マウスでは、マウスの FcRn 遺伝子をノックアウトし、代わりにヒト FcRn を遺伝子導入して発現させている。これにより、単純なマウス *in vivo* 系でヒト IgG に対するロザノリキシズマブのクリアランス能を評価することができる。この系で、投与したヒト IgG は一般に高濃度が血漿中に維持される。しかし、ロザノリキシズマブを投与した結果、投与用量依存的にヒト IgG のクリアランスが促進され、アルブミン濃度には影響しなかった（2.1.2.1 項）。

FcRn を標的とする mAb は、MG、ITP、皮膚水疱形成疾患やミエリンオリゴデンドロサイト糖たん白質（MOG）誘発脳脊髄炎等の自己免疫疾患のげっ歯類動物モデルで有効性を示してきた（Kasprick et al, 2019; Liu L et al, 2007; Smith et al, 2019; Remlinger et al, 2022）。

安全性薬理試験の評価項目はロザノリキシズマブを 3 日毎に 150mg/kg の用量まで 4 週間及び 13 週間静脈内及び皮下投与した反復投与毒性試験内で評価した。中枢神経系（CNS）、心血管系（CVS）及び呼吸器系に有害作用を示す証跡は示されなかった（2.3 項）。

サルにおけるロザノリキシズマブの PK/PD 戦略は、血漿中 IgG に対する薬理学的効果のエビデンスの提供、ヒト PK/PD への外挿のサポート、並びに毒性試験におけるロザノリキシズマブの曝露量及び薬理学的効果の評価のために策定された（3 項）。雌雄動物において多種類の投与量（5～150mg/kg）での静脈内及び皮下投与による単回投与を含む反復投与試験を実施した。

全般的に、カニクイザルにおける薬物動態は、細胞表面に豊富に存在する FcRn に対して高親和性を示す標的媒介性薬物動態（TMDD）とロザノリキシズマブ自身の薬理作用である FcRn 阻害がロザノリキシズマブ及び内因性 IgG のクリアランスを加速することによる複合的な PK/PD 挙動で特徴づけられる（3.2 項）。その結果、ロザノリキシズマブの薬物動態は投与量比例ではなく、低投与量でより迅速な消失を示す。薬物動態に実質的な性差は観察されなかった。ロザノリキシズマブの薬物動態パラメータの個体間変動は、単回及び反復投与の初期では小さく［変動係数（CV）：<35%］、抗ロザノリキシズマブ抗体が産生される後期の投与では変動が大きくなった。ロザノリキシズマブの投与により血漿中総 IgG 濃度は 45～90%減少する。これはロザノリキシズマブの作用機序と一致した。薬理作用の程度及び持続時間は投与量依存的である。概して、血漿中 IgG 濃度の最低値には投与開始後約 3～7 日以内に達成した。毒性試験では、ほとんどの動物で約 60～80%の血漿中総 IgG 濃度の低下が継続した。投薬中止後、血漿中総 IgG 濃度は約 45 日以内にベースラインに復帰した。

抗ロザノリキシズマブ抗体は、PK/PD 試験、並びに 4、13 及び 26 週毒性試験で観察された。一部の動物では、抗薬物抗体（ADA）がロザノリキシズマブの曝露量及び薬理作用の減少に関連していた。これらの影響にかかわらず、大部分の動物で十分な薬理作用がみられた。さらに、ADA 産生は安全性に対して影響していなかった。

ロザノリキシズマブの 150mg/kg を皮下投与したときのバイオアベイラビリティは中等度（約 55～65%）であった。しかしながら、本投与量では FcRn の飽和が吸収に影響を及ぼした可能性が考えられた。

臨床試験におけるロザノリキシズマブの皮下投与及び静脈内投与をサポートするための、カニクイザルを用いた安全性薬理評価項目を含む包括的な毒性試験プログラムは終了している。これには、GLP に準拠した最長 26 週間の反復投与毒性試験（3 日毎に最大 150mg/kg のロザノリキシズマブを皮下投与又は静脈内投与）（4.2.1 項、4.2.2 項、4.2.3 項）、ePPND 試験（4.5 項）、並びにヒト及びカニクイザル組織を用いた組織交差反応性試験（4.7.1 項）などが含まれている。

ヒト初回投与（FIH）試験で認められた急性有害事象（胃腸障害、頭痛、発熱）が、カニクイザルでは安全域が大きく認められなかったことから、アカゲザルに 150mg/kg の用量で静脈内投与した 1 週間の毒性試験を実施し、急性有害事象が検出できるか否か検討した（4.2.4 項）。

さらに、臨床で認められた有害事象を検討するため、*in vitro* 及び *ex vivo* の毒性発現機序試験として、ヒト血液細胞を用いたサイトカイン放出試験（4.7.2 項）及びヒト腸管組織を用いた腸管透過性試験（4.7.3 項）を実施した。

ロザノリキシズマブは、カニクイザル及びアカゲザルを用いた反復投与毒性試験において、良好な忍容性を示した。両系統におけるすべての反復投与毒性試験において、ロザノリキシズマブの薬理作用に起因する無毒性量（NOAEL）は、最高の頻度で投与した最高用量であった。CNS、CVS 及び呼吸器系への有害な影響は認められなかった。アカゲザルは、ヒトで観察された急性毒性変化に対して、カニクイザルより感受性が高いとは言えなかった。性成熟したカニクイザルを用いた GLP 準拠の 26 週間投与毒性試験の一部として評価された受胎能エンドポイントに対し、ロザノリキシズマブは影響を及ぼさなかった。

すべての毒性試験において、薬理学的に関連する血漿中の総 IgG 濃度の顕著な低下（ベースラインから約 70～90%低下）が認められ、それに伴い血清総たん白及び血清グロブリン濃度もわずかに低下した。一方、総 IgM 及び総 IgA（いずれも FcRn と結合しない）濃度については、ロザノリキシズマブに関連する影響は認められなかった。いずれの反復投与毒性試験においても、総 IgG 濃度の低下に起因するロザノリキシズマブに関連する感染症のエビデンスは認められなかった。13 及び 26 週間投与毒性試験において、キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）に対する T 細胞依存性抗体（IgG）応答（TDAR）が評価された。ロザノリキシズマブ投与により、期待される作用機序である抗 KLH IgG 抗体価の低下及び抗 KLH IgG 抗体のクリアランスの増大が認められた（IgM 抗体価には影響なし）。この薬理作用は、ロザノリキシズマブが産生された抗 KLH IgG 抗体のクリアランスを仲介することによるものであり、免疫細胞の数や機能に対する直接的な作用によるものではなく、有害とは考えていない。このことは、イムノフェノタイピングにより決定された血液学的検査における免疫細胞ポピュレーション数、血液及びリンパ系組織中のリンパ球サブポピュレーションの数、あるいは細胞性免疫機能（T 細胞、B 細胞及び抗原提示細胞の二次免疫応答機能）に対する影響がないことから明らかにされた。回復性試験期間中に 3 回目の KLH 投与を行った 26 週間投与毒性試験において、抗 KLH IgG の最大力価は対照群又はカニクイザルの正常な生理的変動の範囲内にあり、影響からの完全な回復性を示している。

ロザノリキシズマブは、FcRn 上の IgG 結合を特異的に阻害し、アルブミン結合を阻害しないよう特別に設計されている。しかし、カニクイザルを用いた 4、13 及び 26 週間投与毒性試験、並びに ePPND 試験において、概してアルブミンのわずかな低下が認められ、これは結合した mAb の立体障害により、アルブミンの FcRn へのアクセスが一部阻害されたためと考えられる。血清カルシウムへの影響は認められず、変化の程度が低いことから、この影響は有害とは考えられなかった。

4、13 及び 26 週間投与毒性試験における 8 週間回復試験期間中に、IgG、総たん白、グロブリン及びアルブミンレベルは完全に回復した。

カニクイザルを用いたすべての反復投与毒性試験において、ロザノリキシズマブの皮下投与により、皮下投与部位における炎症性細胞浸潤の出現頻度と重篤度が上昇したが、これは試験に用いた製剤による程度の弱い局所刺激作用を反映している可能性が示唆された。この影響は回復性試験期間中には回復した。

加えて、13 週間投与毒性試験の投与終了時のみで、ロザノリキシズマブ投与群に脳実質の髄膜浸潤及び血管周囲浸潤が比較的高頻度に認められた。影響がみられたすべての動物では、変化の程度は軽微であり、神経細胞の変性やグリア細胞の反応を伴わず、これらの所見は、被験物質との関連はなく、自然発生的な背景所見と考えられた（Butt et al, 2015）。また、血管周囲の炎症性細胞浸潤や血管周囲浸潤は、他の研究者により、異なる起源を持つカニクイザルの脳で最も一般的な自然発生的所見の一部として報告されている（Chamanza et al, 2010）。脳実質における髄膜浸潤及び血管周囲浸潤が、カニクイザルで観察される自然発生的な背景所見の範疇であり、ロザノリキシズマブの投与に関連しないと考えられる理由の詳細については、M2.6.6.3.2 項に概説している。

26 週間投与毒性試験において、ロザノリキシズマブの免疫原性に起因する免疫複合体病（ICD）が 2 例で発現した。この所見は、ヒトにそのまま適用することはできないが、1 例では有害と考えられた（M2.6.6.3.3 項）。

ヒトとカニクイザルの組織を用いた組織交差反応性試験（4.7.1 項）では、FcRn 発現組織と一致する良好な染色が認められた。

サイトカインの放出は、試験で設定したいずれのフォーマットでも観察されず（4.7.2 項）、FcRn がシグナル伝達のための受容体ではないと考えられていることと一致している。FcRn の C 末端（細胞内）ドメインにはエンドサイトーシスやトラフィッキングに関連すると考えられるモチーフがあるが、他の Fc 受容体の膜貫通シグナル伝達に関連する免疫受容体チロシン活性化モチーフ（ITAM）と免疫受容体チロシン抑制モチーフ（ITIM）が欠如している。これまでの知見より、FcRn がその天然のリガンドである IgG やアルブミンと結合した結果起こる細胞内シグナル伝達については文献上で言及されていない。したがって、FcRn を発現している細胞を直接刺激することによるサイトカイン放出の誘導は低いと考えられた。さらに、ロザノリキシズマブは、Fcγ 受容体との相互作用能力が低下した IgG4P アイソタイプであり、補体カスケードを活性化できず、Fcγ 受容体を介して抗体の Fc 部分と相互作用する細胞によるサイトカイン放出能も強く減少している。

臨床的に観察される消化器系の有害事象の発現機序を検討するために、公表されているウッシングチャンバー法に基づく *ex vivo* の改良型 2 コンパートメントモデルを開発した（4.7.3 項）。ヒト腸管組織（回腸、結腸）を用いて、FIH 試験で使用したロザノリキシズマブのバッチ（システムの頂端側あるいは基底側に添加）が組織の生存率、透過性、組織学的変化に及ぼす影響を明らかにし、プロスタグランジン（PG）、PG 代謝物、及び胃腸障害又は恒常性のバイオマーカーである可能性として文献から特定されたその他のメディエーター（例：ロイコトリエン）を含むエイコサノイド脂質メディエーターの放出に対するロザノリキシズマブを介した変化を評価した。

抗体医薬品では標準的な遺伝毒性試験は不適当であると考えられており、実施していない（4.3 項）。同様に、一般的に抗体医薬品には不適当である標準的な発がん性試験を実施しないことが提案されており、ロザノリキシズマブのがんリスクへの潜在的影響について十分なエビデンスに基づく評価によりがん原性評価文書（CAD）を作成した（4.4 項）。

妊娠中のカニクイザルに 50 又は 150mg/kg の用量で妊娠 20 日から分娩まで 3 日毎に皮下投与した結果、予想されたとおり、IgG 濃度及びグロブリン濃度の低下、アルブミン濃度及び総たん白濃度の低下が認められた。妊娠転帰及び生存児の生後 180（PND180）±1 日までの生後発育に影響がみられなかった。また、死産、途中死亡（切迫屠殺）又は死亡の確認された幼若児に被験物質に関する肉眼的及び病理組織学的変化は観察されなかった。

これまでに実施された包括的な非臨床試験プログラムは、ロザノリキシズマブの臨床開発をサポートする上で十分であると考えられる。

2.　薬理試験

2.1　効力を裏付ける試験

2.1.1　*In vitro* 薬理試験

本項では、たん白質間相互作用及び細胞を用いた評価系による種々の動物種由来の FcRn に対するロザノリキシズマブの親和性の検討並びに、*in vitro* でのロザノリキシズマブの主活性の検討を実施し、その要約を示した。

2.1.1.1　結合親和性試験（M2.6.2.2.2.1 項、M2.6.2.2.2.2 項）

たん白質間動態分析を BIAcore（表面プラズモン共鳴）技術を用いて実施し、表 2-1 にまとめた。ロザノリキシズマブのヒト及びカニクイザルの FcRn に対する親和性（K_D）は pH 7.4 及び pH 6.0 の条件下で類似していた（試験番号 40001829）。本試験では、ロザノリキシズマブはマウス及

びラットの FcRn に対して非常に弱い結合を示し、ウサギ FcRn に対する結合は検出できなかった。

表 2-1　たん白質間（BIAcore）アッセイを用いた pH 7.4 及び pH 6.0 条件下でのヒト及びカニクイザルの FcRn に対するロザノリキシズマブの親和性

FcRn 由来動物種	K_D pH 7.4	K_D pH 6.0
ヒト	55pM	44pM
カニクイザル	57pM	42pM

FcRn=胎児性抗体フラグメント（結晶化可能領域）受容体、K_D=平衡解離定数
ヒトのデータは 14 回の試験結果平均、カニクイザルのデータは 8 回の試験結果平均

ヒト又はカニクイザル由来の FcRn 遺伝子導入細胞を用いて、ロザノリキシズマブの親和性を評価した（試験番号 40001836）。ヒト又はカニクイザルの FcRn を発現させた MDCK 細胞と広範囲の濃度で蛍光標識ロザノリキシズマブをインキュベートし、フローサイトメトリーで解析した。細胞表面に発現しているヒト FcRn に対するロザノリキシズマブの親和性はカニクイザル FcRn と比較して約 2 倍強かった（表 2-2）。

表 2-2　細胞表面に発現したヒト及びカニクイザルの FcRn に対するロザノリキシズマブの親和性

	K_D	
FcRn 由来動物種（細胞株）	pH 7.4	pH 6.0
ヒト（clone 15）	0.43nM	0.37nM
カニクイザル（clone 40）	1.03nM	1.1nM

FcRn=胎児性抗体フラグメント（結晶化可能領域）受容体、K_D=平衡解離定数
全データは 3 回の試験結果平均

2.1.1.2　ロザノリキシズマブの *in vitro* 作用機序試験（M2.6.2.2.3.1 項、M2.6.2.2.3.2 項）

ロザノリキシズマブは FcRn と IgG との結合を競合的に阻害するが、FcRn とアルブミンとの結合は阻害しない活性能に基づき選択された。構造データにより、IgG の Fc が結合する領域と重なる領域にロザノリキシズマブが結合することが確認された（Smith et al, 2018）。

ヒト又はカニクイザルの FcRn を遺伝子導入した MDCK 細胞を用いて、IgG のリサイクリング及びトランスサイトーシスに対するロザノリキシズマブの阻害活性能を *in vitro* で評価した（試験番号 40001834）。これらアッセイでは、リサイクリングは頂端側で IgG を培養液から取り込み、その後エクソサイトーシスにより IgG を培養液に戻すことを指し、一方、トランスサイトーシスは、細胞単層培養で頂端側コンパートメントから基底外側コンパートメントへ IgG が移動することを指す。ヒト及びカニクイザルの FcRn を遺伝子導入した細胞でのヒト IgG のリサイクリングをロザノリキシズマブは強力に阻害し、ヒト FcRn を遺伝子導入した細胞でのヒト IgG のトランスサイトーシスを強力に阻害した（表 2-3）。

表 2-3　ヒト又はカニクイザルの FcRn を遺伝子導入した細胞を用いた IgG のリサイクリング及びトランスサイトーシスに対するロザノリキシズマブの 50%阻害濃度（IC_{50}）

	IC_{50}	
FcRn 由来動物種	リサイクリング	トランスサイトーシス
ヒト	0.41nM	1.14nM
カニクイザル	0.98nM	実施せず

FcRn=胎児性抗体フラグメント（結晶化可能領域）受容体、IC_{50}=50%阻害濃度、IgG=免疫グロブリン G
ヒトのデータは 4 回の実験結果平均、カニクイザルのデータは 6 回の実験結果平均

2.1.2　*In vivo* 薬理試験

2.1.2.1　ヒト FcRn を遺伝子導入したマウスを用いた薬理試験（M2.6.2.2.3.3 項）

マウス FcRn 遺伝子をノックアウトし、ヒト FcRn を遺伝子導入したマウスを用いて *in vivo* モデルでのロザノリキシズマブの IgG クリアランスに対する作用を評価した（試験番号 40001837）。マウスにポリクローナルヒト IgG を投与後、ロザノリキシズマブを投与し、経時的に血中のヒト IgG 濃度を測定した。リン酸緩衝食塩液（PBS）投与対照群と比較して、ロザノリキシズマブ投与によりヒト IgG のクリアランスは用量依存的かつ統計学的に有意に促進された。

こうした試験結果は、カニクイザルで示された PD と直接リンクする。カニクイザルの PD ではロザノリキシズマブにより用量依存的な IgG の濃度減少が認められ、3 項の PK/PD/ADA 総合評価で考察を示した。

2.1.2.2　マウスを用いた病態モデルにおける効果（M2.6.2.2.3.5 項）

ロザノリキシズマブはマウス FcRn と交差反応しないので、自己免疫疾患マウスモデルでの評価のために、対応する抗マウスサロゲート FcRn mAb（‘4470）を準備した。

MOG 関連疾患マウスモデルで、‘4470 はクリニカルスコア、脱髄及び炎症性マクロファージ浸潤を統計学的に有意に減少させた。さらに、‘4470 は視覚機能を保持し、視神経炎を予防した（試験番号 40001913）。病因となる自己抗体の末梢からの除去によって、自己抗体の血液脳関門通過及び脳脊髄液への移行を減少させ、脳炎誘導を防ぐとのコンセプトはこれらの試験結果により支持される。

2.2　副次的薬理試験（M2.6.2.3 項）

[redacted] 社の技術を用いてヒト胎児腎臓（HEK）293 細胞表面上に発現している 4500 超のヒト細胞膜たん白質に対するオフターゲットスクリーニングの結果、非特異的なオフターゲット結合は認められず、対象標的である FcRn 受容体 α 鎖に対するロザノリキシズマブの高い結合特異性が示された。

2.3　安全性薬理試験（M2.6.2.4 項）

ロザノリキシズマブの特性及び特異性からイオンチャネルとの相互作用の可能性は示されない。したがって、電気生理学的な試験は実施しなかった。

さらに mAb は細胞質基質に直接アクセスせず、またヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（hERG）によりエンコードされるカリウムチャネルに結合するには大きすぎる。したがっ

て、QT 間隔延長及び不整脈をもたらす活動電位延長をロザノリキシズマブが誘導することは予期されない。また、ロザノリキシズマブはヒト化 IgG4 mAb で高分子であることから、ICH S7B に示されているように、*in vitro* hERG アッセイの実施に意義はないと考える。

In vivo 安全性薬理試験の評価項目は、ロザノリキシズマブを 3 日毎に 150mg/kg の用量まで 4 週間及び 13 週間の静脈内及び皮下投与反復投与毒性試験内で評価した（M2.6.6.3.1 項及び M2.6.6.3.2 項）。心電図検査、血圧検査、呼吸数及び呼吸深度測定並びに中枢神経系機能の観察（霊長類用に改変した機能観察総合評価法）は全個体で投与前及び試験期間中少なくとも 1 回は実施した。いずれの試験の、いずれの測定時点及び投与量においても、測定した安全性薬理試験の全評価項目で、ロザノリキシズマブ投与に起因すると考えられる有害作用は認められなかった。

2.4　薬力学的薬物相互作用（M2.6.2.5 項）

シトクロム P450（CYP）活性に関して低分子との相互作用は限定される又は相互作用しないと予期されるため、薬力学的薬物相互作用の非臨床試験は実施しなかった。ロザノリキシズマブは低分子薬の代謝又は排泄に寄与する酵素やプロセス（例えば、CYP 酵素、胆汁中排泄や腎排泄）と直接相互作用することは予期されない。治療用たん白質の薬力学的作用の結果、一般的にサイトカインやサイトカイン調節剤が CYP 酵素の発現やその安定性に影響することによって、低分子薬の薬物動態の変化が（被害として）起こることは、これまで報告されている（Ferri et al, 2016）。ロザノリキシズマブはサイトカインを標的としておらず、上記に示すような機序で薬物相互作用を誘導する可能性は低いと予想される。

高分子量薬物間の潜在的相互作用の観点からは、FcRn に依存してリサイクリングされるような、Fc 含有バイオ医薬品及び他の IgG 抗体のクリアランスを促進する作用をロザノリキシズマブが有する可能性がある。

3.　薬物動態試験

ロザノリキシズマブはヒト及びサルの FcRn に特異的に結合するので、非臨床薬物動態試験はカニクイザル及びアカゲザルで実施した。総合的アプローチとしてサルにおける薬物動態評価を提示するため、薬物動態及び薬力学の関係並びに薬物動態及び薬力学に対する ADA 産生の影響について検討し、本項及び M2.6.4 で要約する。静脈内及び皮下投与で単回投与を含む反復投与試験を実施した。雌雄動物において広範囲の投与量で検討した。総ロザノリキシズマブ濃度及び遊離ロザノリキシズマブ濃度の薬物動態をすべての試験で評価した。しかしながら、一部の動物での ADA の中和作用による遊離ロザノリキシズマブ濃度の低下を除けば、両方の分析結果は類似しているため遊離体の薬物動態結果のみを記載した。

3.1　分析方法（M2.6.4.2 項）

定量下限（LLOQ）が 0.31μg/mL、定量上限（ULOQ）が 20μg/mL である適切な heterogeneous メソスケールディスカバリー（MSD）アッセイを使用して PK/PD 試験の血漿中遊離ロザノリキシズマブ濃度を測定したのち（M2.6.4.8.2.1 項）、4、13 及び 26 週 GLP 毒性試験に適用するため GLP 適合性をバリデートした（M2.6.4.8.2.3～8.2.5 項）。ロザノリキシズマブは、biotinylated FcRn を固定化した MSD プレートで捕捉し、市販のヤギ抗ヒト κ 鎖抗体に sulfo-TAG を結合した自家調製抗体で検出した。電気化学発光（ECL）信号は、試料中ロザノリキシズマブ量に比例した。

十分な科学的客観性を満たす目的に適合した方法である LLOQ が 0.14units/mL、ULOQ が 100units/mL である homogenous MSD アッセイは、PK/PD 試験の半定量的血漿中 ADA 測定に使用したのちに（M2.6.4.8.2.1 項）、4、13 及び 26 週 GLP 毒性試験に適用するためにバリデートした（M2.6.4.8.2.3～8.2.5 項）。アッセイに使用した検量線には、同一抗原結合ドメイン配列を持つ抗 FcRn mAb を投与したカニクイザルから採取したポリクローナル ADA をプールして使用した。試料は、biotinylated ロザノリキシズマブ及び sulfo-TAG 結合ロザノリキシズマブと一晩混合した。抗ロザノリキシズマブ抗体は結合試薬と複合体を形成させて streptavidin MSD プレートに固定化した。アッセイ範囲（≥0.137units/mL）の試料は抗ロザノリキシズマブ抗体陽性とみなした。ECL シグナルは試料中 ADA に比例し、ガイダンスでは 1unit/mL が 1μg/mL に相当する。

LLOQ が 0.1023mg/mL、ULOQ が 15.345mg/mL である目的に適合した液体クロマトグラフィー - タンデム質量分析（LC-MS/MS）法を使用して、PK/PD、4、13 及び 26 週 GLP 毒性試験の血漿中総 IgG 濃度を測定した。内部標準（同位体標識 IgG ペプチド）と混合した試料は、変性させてトリプシン消化した。消化した試料は、希釈して得られたシグネチャーペプチドをエレクトロスプレータンデム質量分析（MS/MS）計を検出器とした逆相液体クロマトグラフィーで分析した。

3.2　吸収（M2.6.4）

一般に、ロザノリキシズマブの薬物動態は、霊長類の細胞表面に豊富に存在する標的に対して高親和性を有するヒト mAb の動態（TMDD）と一致している。ロザノリキシズマブの薬物動態は、自身の薬理作用、すなわち FcRn 阻害がロザノリキシズマブの非特異的（FcRn 介在）クリアランスを加速することによりさらなる影響を受ける可能性がある。そのため、他の典型的な mAb と比較して迅速にロザノリキシズマブが消失し、30mg/kg 静脈内投与後 6 日以内に血漿中濃度が定量限界を下回った。ロザノリキシズマブは FcRn との結合が飽和するまで投与量に対する曝露量が比例性を超えて増加し、事実上非線形クリアランスを示す。予想した通り、セントラルコンパートメントの分布容積は初期分布が血漿容積に制限される高分子と一致する。

ロザノリキシズマブの薬物動態を雌雄動物で評価したところ、本質的な差はみられなかった。

ロザノリキシズマブ投与は、その作用機序に合致して血漿中総 IgG 濃度を低下させる。薬理作用の程度及び持続時間は投与量及び投与方法に依存する。血漿中総 IgG 濃度は、投与後迅速に減少して約 7～10 日以内に最小濃度に達する。観察された最大の影響はベースライン濃度から約 75%減少で、30mg/kg 単回静脈内投与でみられた。3 日毎 50 又は 150mg/kg 反復投与したとき、大多数の動物で血漿中総 IgG 濃度が持続的に低下した。

抗ロザノリキシズマブ抗体の存在は、アカゲザルで実施した短期間の試験（NCD2617、M2.6.4.8.2.2 項）を除き、すべての既報試験で評価した。ADA 産生は中等度から高度であり、4、13 及び 26 週毒性試験においてロザノリキシズマブ投与動物の 19/26、35/44 及び 9/14 が ADA 陽性を示した（NCD2447、NCD2448、NCD2553、M2.6.4.8.2.3～8.2.5 項）。PK/PD 試験（8274072、M2.6.4.8.2.1 項）においても抗ロザノリキシズマブ抗体を検討したが、本モジュールに記載した同試験の単回投与群の結果に影響を及ぼした可能性は低いと考えられた。ロザノリキシズマブ曝露又は薬理作用の減少と抗ロザノリキシズマブ抗体との間の関連性は一貫していなかった。

3.3　分布

ロザノリキシズマブの分布試験は実施しなかった。

3.4　代謝

ロザノリキシズマブは mAb でありその構成アミノ酸に分解されるため、ICH S6（R1）ガイドラインに従いロザノリキシズマブの代謝試験は実施しなかった。

3.5　排泄

ロザノリキシズマブの排泄試験は実施しなかった。一般に、ロザノリキシズマブのようなモノクローナル抗体の消失は、細胞への非特異的又は標的媒介性の取り込みとそれに続くリソソームにおける構成アミノ酸への分解に基づいている。ロザノリキシズマブの胆汁又は尿への排泄はほとんど無いと考えられる。

3.6　ヒト代謝物に対する全身曝露

ロザノリキシズマブは mAb であり、ヒト特異的代謝物は認められない。

4.　毒性試験

4.1　単回投与毒性試験（M2.6.6.2 項）

ロザノリキシズマブの単回投与毒性試験は実施していない。最高用量 150mg/kg で実施したカニクイザルにおけるロザノリキシズマブの反復皮下及び静脈内投与毒性試験（4、13 及び 26 週間）において、死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、凝固系、血液学的及び尿パラメータ、心血管系検査、呼吸器系パラメータ及び神経行動学的観察にロザノリキシズマブによる影響は認められなかった。以上のことから、ロザノリキシズマブの皮下及び静脈内投与における概略の致死量は、150mg/kg より高いと考えられた。

4.2　反復投与毒性試験

反復投与毒性試験における投与量は、内因性 IgG が最大に低下し、PK/PD 試験で認められた ADA による PK 及び PD への影響を最小限にするように選択した（M2.6.4.8.2.1 項）。投与経路は、ヒトでの治療時に想定される投与経路を選択した。

4.2.1　カニクイザルにおける 4 週間投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（M2.6.6.3.1 項）

この GLP 適用試験では、雌雄カニクイザルにロザノリキシズマブを 3 日毎に 4 週間、50 及び 150mg/kg で皮下投与し、150mg/kg で静脈内に投与して、8 週間の回復性試験を設けた。対照群の動物には溶媒を 3 日毎に皮下投与した。

ロザノリキシズマブの血漿中濃度で示されるとおり、ロザノリキシズマブを投与したすべての動物は被験物質に曝露された（M2.6.4.8.2.3 項）。試験期間中、ADA の産生により一部の動物では曝露量が徐々に減少した。ロザノリキシズマブ投与に起因する死亡、一般状態、体重及び推定摂餌量に変化は観察されなかった。眼科学的検査、心血管系パラメータ、呼吸器系パラメータ、神経行動学的観察にロザノリキシズマブに関連する影響は認められなかった。凝固系、血液学的検査、尿

検査、血液及びリンパ系器官のイムノフェノタイピングにロザノリキシズマブに関連する影響はみられなかった。総 IgG 濃度の低下による感染増大のエビデンスはなく、フィブリノーゲン、ハプトグロビンなどの急性期たん白質への影響は認められなかった。総 IgM 及び総 IgA 濃度、器官重量並びに病理組織学的検査について、ロザノリキシズマブに関連する影響は観察されなかった。

50 及び 150mg/kg の両投与量群のすべての動物で、血漿中の総 IgG 濃度の顕著な低下（ベースラインから約 75～90%低下）が認められ、その影響は Day 10 頃に最大となり、ロザノリキシズマブは両投与量群において *in vivo* でカニクイザルの FcRn に結合してその活性を阻害することが示された。投与期間中、大部分の動物で最大の薬理作用が維持された。薬理作用の消失は、ロザノリキシズマブ濃度の減少と ADA の存在に関連しており、血漿中 IgG 濃度のベースラインへのリバウンドにより証明された。IgG 濃度は 8 週間の回復性試験終了までに回復した。

投与第 1 週及び 4 週には、ロザノリキシズマブによる全投与群の総たん白、グロブリン及びアルブミンの低下が観察された。8 週間の回復性試験終了時までにすべてのパラメータが回復した。総たん白及びグロブリンの低下は、総 IgG 濃度の顕著な低下による可能性が考えられた。ロザノリキシズマブは、FcRn の IgG 結合部位のみを阻害し、アルブミン結合部位を阻害しないよう特別に設計されている。しかし、一般的に観察されるアルブミンの軽度な低下は、結合した mAb の立体障害により、アルブミンの FcRn へのアクセスが阻害されたためと考えられる。

ロザノリキシズマブ投与群の一部動物では、リンパ節の腫大が肉眼的に観察された。病理組織学的検査では、150mg/kg の皮下及び静脈内投与群の一部の動物において、被験物質の非特異的な免疫刺激作用によるとみなされるリンパ節過形成が認められた。50 及び 150mg/kg の皮下投与群では、皮下投与部位における炎症性細胞浸潤の出現頻度及び重篤度が上昇し、ロザノリキシズマブの製剤による弱い局所刺激作用を反映している可能性が示唆された。

以上より、ロザノリキシズマブを投与量 150mg/kg まで雌雄カニクイザルに 3 日毎に 4 週間、皮下又は静脈内投与した結果、良好な忍容性を示した。ロザノリキシズマブに関連する唯一の所見は、IgG、アルブミン、グロブリン及び総たん白の低下であり、これらの所見はすべて被験物質の薬理作用の結果であり、許容範囲内であり、毒性ではないと考えられた。変化は 8 週間の回復性試験終了までに完全に回復した。本試験条件下における NOAEL は、皮下及び静脈内投与した場合の高用量の 150mg/kg であった。

4.2.2　カニクイザルにおける 13 週間投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（M2.6.6.3.2 項）

GLP 適用下の本試験では、雌雄カニクイザルを用いて 5 群を設け、溶媒を皮下ボーラス、ロザノリキシズマブを 50mg/kg 又は 150mg/kg で皮下ボーラス、あるいは 150mg/kg を静脈内ボーラスで 3 日毎に 13 週間投与したのち（合計で 30 回投与）、8 週間の回復性試験期間を設定した。残り 1 群には、ロザノリキシズマブを 150mg/kg で第 1 週、第 6 週及び第 10 週の各週に 2 回（3 日毎に 1 回）皮下投与し、臨床での投与レジメンを想定しロザノリキシズマブを間歇投与した場合の安全性を検討した。

本試験における検査項目は、4 週間投与毒性試験で実施したものと同一であるが、さらに免疫機能検査［KLH の一次免疫及び二次免疫での T 細胞依存性抗体価（IgM 及び IgG）に対するロザノリキシズマブ投与の影響］、免疫組織化学検査、透過型電子顕微鏡検査、血清サイトカイン測定、並びに補体活性化マーカーの測定（ADA による免疫賦活作用の更なる探索検討のため）を実施した。

ロザノリキシズマブの血漿中濃度で示されるとおり、ロザノリキシズマブを投与したすべての動物は被験物質に曝露された（M2.6.4.8.2.4 項）。試験期間中、一部動物の曝露量が ADA 産生と一致して徐々に減少した。

死亡例はみられず、一般状態観察、体重変動、推定摂餌量、眼科学的検査、心血管系検査、呼吸器系パラメータ、神経行動学的観察、凝固系検査、血液学的検査、尿検査、イムノフェノタイピング、血清サイトカイン、血清補体にロザノリキシズマブによる影響はみられなかった。総 IgG 濃度の低下により、感染増大のエビデンスは認められなかった。フィブリノーゲン、ハプトグロビンのような急性期たん白質に影響はなく、総 IgM、総 IgA、器官重量及び病理組織学的検査に対してロザノリキシズマブによる影響は認められなかった。ADA 産生に関連する毒性所見はみられなかった。腎臓皮質の透過型電子顕微鏡検査及び免疫組織化学検査では、ADA 陽性動物に免疫複合体は検出されなかった。

血清総たん白及び血清グロブリンの低下を伴って、全動物で総 IgG 濃度の低下が認められ、最大の低下はベースラインに対して通常 80%の範囲であり、4 週間投与毒性試験（M2.6.4.8.2.3 項）での観察結果と同様であった。投与期間中、大部分の動物は IgG 濃度の低下を維持したが、投与中止後約 40 日にはベースラインに戻った。一部動物では、PD 喪失（ベースラインから変化率：50%未満）のエビデンスがいくつかあったが、数例の ADA 陽性動物では明確な PD 作用が認められており、ADA と PD との間に厳密な一致はみられなかった。間歇投与した動物において、血漿中 IgG 濃度は各投与間隔後にはベースラインから最低で約 50～80%低下したが、休薬期間中にはベースラインまで戻った。ベースラインへの復帰率にかなりの変動がみられ、特に 2 回目及び 3 回目の投与間隔後に顕著であった。これは全体的に ADA 産生と関連するのではないかと考えられた。

4 週間投与毒性試験で観察された所見と同様、有害ではなく、完全に可逆的なわずかなアルブミンの低下が認められたが、電解質のいずれの変化も伴わなかった。

3 日毎にロザノリキシズマブを投与した動物での TDAR の検討において、抗 KLH IgG 抗体価の低下（IgM 抗体反応には影響なし）が認められた。第 1 週、第 6 週及び第 10 週にのみ、150mg/kg を 3 日毎に皮下投与した動物では影響が顕著ではなかった。抗 KLH IgG 抗体価の低下は、産生された抗 KLH IgG 抗体のロザノリキシズマブによるクリアランスに起因し、ロザノリキシズマブの免疫細胞数又は細胞性免疫機能に対する直接的な影響に起因しないため、この薬理学的作用は有害ではないと考えられた。

脳実質での軽微な髄膜浸潤及び血管周囲浸潤が観察されたが、グリア細胞の活性化や神経細胞傷害は認められなかった。M2.6.6.3.2 項で詳細に考察したとおり、これらの脳の所見は、カニクイザルで観察される自然発生的な背景所見の範囲に含まれると考えられ、ロザノリキシズマブ投与には関係しないと推測される。

ロザノリキシズマブは、4 週間投与毒性試験で観察された所見と同様、皮下投与部位に軽微から顕著な炎症を引き起こした。この炎症の出現頻度及び重篤度は用量依存的ではなく、投与頻度の増多と共に明らかに増加した。この炎症は、8 週間の休薬期間中に完全に回復した。

本試験における NOAEL は、ロザノリキシズマブを 3 日毎に皮下及び静脈内投与した高用量の 150mg/kg と考えられた。

4.2.3　カニクイザルにおける 26 週間皮下投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（M2.6.6.3.3 項）

本試験は、性成熟した雄ザル 11 例及び雌ザル 13 例を用いて実施した。ロザノリキシズマブは雄 6 例、雌 8 例の動物に 26 週間投与し、対照群には雌雄各 5 例に溶媒を投与した。雌 1 例（動物 18660F）は PD 作用を急速に消失し、第 9 週に選択的に安楽死させた。この雌動物は第 10 週以降に同一投与群の他の雌 2 例に置き換えた。そのため、これら雌 2 例は試験開始日が遅れた。回復性試験では、1 群当たり雌雄各 2 例を設定した。

ロザノリキシズマブを 150mg/kg の用量で雌雄カニクイザルに皮下投与すると、全動物はロザノリキシズマブに曝露された（M2.6.4.8.2.5 項）。対照群の動物から採血した全検体において、遊離ロザノリキシズマブ濃度は定量下限未満であった。Day 1、第 13 週目及び第 26 週目に 150mg/kg を投与後、72 時間（投与間隔）以内に全身循環系から完全には消失しなかった。投与量 150mg/kg で第 13 週目及び第 26 週目の皮下投与により、第 1 週と比較して血漿中に若干の蓄積が認められた。遊離ロザノリキシズマブの血漿中濃度及び TK パラメータに明らかな性差は認められなかった。

血漿中総 IgG 濃度は逆相液体クロマトグラフィーと MS/MS を組み合わせた測定法により測定し、ほとんどの動物で大幅な低下（ベースラインと比較して約 75～90%低下）を示した（M2.6.4.8.2.5 項）。しかし、動物 2 例は、第 1 週に予想されたロザノリキシズマブへの曝露及び PD 作用（総 IgG の血漿中濃度の顕著な低下）を示したものの、投与後半にロザノリキシズマブ曝露の減少が確認された。動物 2 例のうち 1 例（動物 18660F）は、PD 作用の消失を主な理由に第 9 週に安楽死させた。その他の 1 例は、目的とする PD 作用を維持していた。この動物は、第 7 週以降、スクリーニングアッセイで明らかな ADA 陽性を示した。ADA が陽性であったその他の動物はすべて陽性の程度は低く、ADA 陰性動物と同程度のロザノリキシズマブ曝露量が確認された。第 9 週に安楽死させた動物はスクリーニングアッセイで ADA 陽性を示さなかった。この動物において標識ロザノリキシズマブとポリクローナル ADA の反応に対するロザノリキシズマブの緩衝作用により、見かけ上シグナルが検出できなかった可能性がある。免疫組織化学検査により、この動物の組織中に ADA とロザノリキシズマブとの免疫複合体が確認された。

すべての動物は、予定された剖検まで生存した（主動物は Day 183 に剖検、第 9 週に安楽死させた動物は Day 60 に剖検）。本試験では用量相関的な病的状態及び死亡は認められなかった。一般状態観察、体重、摂餌量、体温、眼科学的検査、血液学的検査、凝固系パラメータ、尿検査、血液のイムノフェノタイピング、サイトカイン、組織イムノフェノタイピング及び器官重量において、ロザノリキシズマブに関連した影響は認められなかった。ロザノリキシズマブに関連した感染は認められなかった。すべての所見は、これまでに実施した反復投与毒性試験の成績と一致していた。

血液生化学的検査では、ロザノリキシズマブに関連する IgG 濃度の大幅な低下が認められ、この変化は被験物質の薬理作用として予想された。総 IgM 及び総 IgA 濃度にはロザノリキシズマブに関連する影響はみられなかった。加えて、4 及び 13 週間投与毒性試験における所見と一致して、ロザノリキシズマブ投与群の動物において、被験物質に関連する総たん白、グロブリン及びアルブミンのわずかで可逆的な低下が観察された。

ロザノリキシズマブを投与した雌 2 例の血液で、第 5 週に補体分割産物 C3a の上昇が検出された。これら 2 例中 1 例では、試験期間中に高レベルの ADA が産生され、ロザノリキシズマブの血漿中濃度の減少と関連していた。ロザノリキシズマブはそれ自体に補体活性化能のない IgG4 抗体である一方、抗体医薬品と ADA の複合体はきわめて効果的に補体系を活性化させる（Porter and Reid, 1979）。

イムノフェノタイピングでは、血液、骨髄、腋窩リンパ節、脾臓の免疫細胞の絶対数及び相対数に対する被験物質の関連する影響は、4 及び 13 週間反復投与毒性試験におけるものと同様に認められなかった。

ロザノリキシズマブの薬理学的作用機序から IgG 抗体の選択的なクリアランス加速が予想されるとおり、KLH に対する 1 次抗体応答後の IgG 抗体価のピークは、ロザノリキシズマブ投与群の全動物で強力に抑制された。両群のほぼ全動物において、KLH に対する頑健な二次（リコール）応答（抗 KLH IgG 抗体）が観察された。しかし、ロザノリキシズマブの薬理学的作用機序から予想されるとおり、ロザノリキシズマブ投与群では 2 回目の免疫後の IgG 抗体価のピークが対照群と比較して速やかに低下したことから、抗体の除去が促進されることが示唆された。 IgM は FcRn によりリサイクルされないため、KLH に対する IgM 抗体応答は対照群とロザノリキシズマブ投与群で同程度であった。回復性試験期間中の KLH の感作により、すべての IgG 抗体価ピークが対照群又はこの動物種の正常な生理的変動の範囲内にあり、完全に回復していた。

雌雄の生殖に関する評価項目（雄では精液重量、精子数、精子運動性、形態学的検査、雌では月経周期、卵巣又は子宮の成熟状態）への影響は認められなかった。

ロザノリキシズマブ投与動物では、器官重量への影響はみられず、顕著な肉眼的所見も認められなかった。動物 2 例における病理組織学的検査の結果、全身及び動物 1 例では肺と腎臓に、他の動物 1 例では肺、肝臓、盲腸及び心臓に血管周囲の炎症性細胞浸潤が認められ、いずれも鼠径リンパ節と腋窩リンパ節の全体的なリンパ球数の増加を伴っていた。8 週間の休薬期間後では、回復性試験動物に被験物質に関連した肉眼的所見及び病理組織学的所見は認められず、投与期間中に観察された所見からの完全な回復性又は可逆性が示唆された。

動物 1 例の肺の病理組織学的所見について、関連する臨床病理パラメータへの影響は認められなかったが、全体的な変化の程度の大きさから有害と判断された。炎症性細胞浸潤は単核細胞が主体であり、中型の細動脈又は細静脈の外膜内部／周辺に局在する傾向にあったが、時折、浸潤が全層に及び、中膜及び内膜にもみられることがあった。これらの病変は、該当する器官及び他の器官では自然発生的所見や一般的な偶発的所見と考えられる他の「炎症性細胞浸潤」とは異なっていた（Chamanza et al, 2010）。このような自然発生的所見は、対照群及び投与群の全動物に観察され、特に血管系に関連するものではなかった。

血管周囲性細胞浸潤が炎症（促進）性 ICD に起因するものであることが様々なデータにより明示されている（Heyen et al, 2014）。有害な肺の所見が認められた動物では、PD 作用の完全消失、ロザノリキシズマブの曝露量の大幅低下と共に投与 5 週に全身 C3a 濃度が上昇したことから、ADA に関与した免疫複合体が形成されたことが示唆される。同様に、曝露量の減少を示したもう一方の動物では、高レベルの ADA が認められた。この動物は、血液中に C3a 濃度の一過性上昇も示し、ADA とロザノリキシズマブの免疫複合体による補体活性化が示唆された。

免疫組織化学的検討により、免疫複合体の組織への沈着と補体成分の固定について評価した。肺所見が観察された動物の組織では血管壁にロザノリキシズマブ-ADA 複合体が検出され、もう一方の動物では肝臓のクッパー細胞や類洞内皮細胞の多くに検出され、大量の循環免疫複合体がこれらの細胞により処理されたことが示された。したがって、これらの動物の組織で組織学的に認められた血管周囲の炎症性細胞浸潤は、免疫複合体の形成と沈着、及び補体の活性化に関連した炎症（促進）性刺激に起因すると考えられた。

4 及び 13 週間投与毒性試験と同様に、ロザノリキシズマブを 150mg/kg で皮下投与した動物では、投与部位に免疫細胞の浸潤が認められた。これらの変化は、被験物質／たん白質の皮下沈着に対する非特異的な免疫反応であり、有害ではないと考えられた。

以上より、カニクイザルにロザノリキシズマブを 150mg/kg で 3 日毎に 26 週間皮下投与した結果、忍容性は良好であり、1 例の病理組織学的所見を除き、ロザノリキシズマブに関連する有害所見は認められなかった。ロザノリキシズマブを投与した雌 1 例の肺における病理組織学的所見（炎症性細胞の血管周囲浸潤）は有害と考えられた。しかし、この所見は、免疫複合体（ロザノリキシズマブ-ADA 複合体）の形成及び沈着、並びに補体活性化に関連する炎症（促進）性刺激により引き起こされるものである。本試験では、ロザノリキシズマブの薬理作用及び標的外作用に関連する有害な所見が認められなかったことから、薬理作用に起因する NOAEL は、3 日毎に 26 週間皮下投与した場合の 150mg/kg であった。

4.2.4　アカゲザルにおける 1 週間の毒性試験（M2.6.6.3.4 項）

FIH 試験では、ロザノリキシズマブの単回静脈内投与後に急性有害事象（下痢、嘔吐、頭痛及び発熱）が報告されている。ロザノリキシズマブのエピトープ領域で、ヒト及びカニクイザルと 100%の配列同一性を有するアカゲザルは、これらの急性症状に対して感受性を有するか否かを検討するため、ロザノリキシズマブを 150mg/kg の用量で Day 1 及び Day 4 に静脈内投与した 1 週間の毒性試験を GLP 非適用下で実施した。

すべての動物がロザノリキシズマブに適切に曝露され（M2.6.4.8.2.2 項）、予測された薬理作用が観察されたが（Day 7 で IgG の血漿中濃度がベースラインから約 70%低下）、ヒトで報告された有害事象に類似する毒性症状は認められなかった。これらの結果より、アカゲザルは、ヒトでの用量よりもかなり高い投与量でも、ヒトの急性有害事象に対して感受性を有さないことが示された。

4.3　遺伝毒性試験（M2.6.6.4 項）

ロザノリキシズマブは、天然の非修飾アミノ酸からなる IgG4 アイソタイプの mAb であり、化学的リンカーやキレーターのいずれも含まない。ロザノリキシズマブの作製方法は mAb に典型的なものであり、反応性物質は使用されない。ロザノリキシズマブは、細胞表面の FcRn に結合することにより作用し、細胞に直接的な変異原性を示すエビデンスはない。mAb は、細胞の細胞質及び核に到達しないため、デオキシリボ核酸（DNA）と直接相互作用せず、DNA の完全性を変化させたり、細胞周期に影響を及ぼすことはないため、遺伝毒性を示さないと考えられる。これらの理由から、またバイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価の ICH S6（R1）ガイドラインに従い、遺伝毒性試験を実施する予定はない。

4.4　がん原性試験（M2.6.6.5 項）

がん原性試験については包括的な CAD を作成の上、20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日に FDA に対し、試験実施の免除申請を行った結果、20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日に了承された。

従来のがん原性試験は、次の理由からロザノリキシズマブには適切とは考えられない。

- IgG4 の化学構造そのものは発がん性リスクを示さない。

- ロザノリキシズマブはヒト型 mAb であり、げっ歯類では薬理活性がなく、カニクイザルを用いるがん原性試験は実施が困難である。
- 非臨床試験モデルにおける現在までに得られている文献のエビデンスに基づく評価より、FcRn の阻害は腫瘍促進のリスク増加を示唆するものではない。
- 非臨床試験モデルは、免疫調節生物製剤の発がんリスクに関する情報提供に不向きであることが証明されており、既に知られていることに加えて、更に有用な情報を提供するものではないと考えられる。

結論として、開発候補化合物（霊長類に特有）及びげっ歯類のサロゲート抗体を使用しても、既存のデータ情報が変わるということでもなく、患者へのリスクコミュニケーションが変わる可能性もないため、更なる検討は行わない予定である。医薬品安全性監視活動を通じて、悪性腫瘍に関する有害事象をモニタリングする予定である。

ロザノリキシズマブの標準的なげっ歯類のがん原性試験は有益ではないため、実施の必要はないと考えている。

4.5　生殖発生毒性試験（M2.6.6.6 項）

受胎能に関する評価項目は、性成熟したカニクイザルを用いた 26 週間の皮下投与毒性試験の一部として検討した。ロザノリキシズマブを 150mg/kg の用量で 3 日毎に 26 週間皮下投与したとき、雌雄の受胎能パラメータ（例えば、雄では精液・精巣検査、雌では月経周期）、並びに生殖器官の病理組織学的評価に影響は認められなかった。

ICH S6（R1）及び M3（R2）ガイドラインで推奨されているカニクイザルを用いた ePPND 試験（M2.6.6.6.2 項）では、ロザノリキシズマブを 50 又は 150mg/kg の用量で妊娠 20 日から分娩まで 3 日毎に妊娠カニクイザルに皮下投与した結果、予想されたとおり、IgG レベルの低下、並びにグロブリン、アルブミン及び総たん白の低下が観察された。妊娠転帰及び生存児の PND180±1 日までの生後発育に影響は認められなかった。死産、途中死亡例（切迫屠殺）、出生児死亡例にロザノリキシズマブに関連した肉眼的及び顕微鏡的変化は観察されなかった。高用量群の親動物から生まれた児の出生時の IgG レベルは非常に低かった。これは、FcRn 阻害の結果として予想された変化である。

幼若動物を用いた毒性試験は実施していない。

4.6　局所刺激性試験（M2.6.6.3.1 項、M2.6.6.3.2 項、M2.6.6.3.3 項）

ロザノリキシズマブについて、特定の局所刺激性試験は実施していないが、カニクイザルを用いた 4、13 及び 26 週間の反復投与毒性試験の一部として局所刺激性を評価した。ロザノリキシズマブは、皮下投与部位に軽微から顕著な炎症を引き起こした。この炎症の出現頻度及び重篤度は、用量依存的ではなく、投与回数増加に伴い上昇した。この炎症は 8 週間の回復性試験期間内に完全に回復した。被験物質投与動物の投与部位反応は、一般状態及び臨床病理パラメータに関連する変化はみられず、有害ではないと考えられた。

4.7　その他の毒性試験

4.7.1　組織交差反応性試験（M2.6.6.8.1 項）

mAb の製造及び試験に関するガイドライン（EMEA/CHMP/BWP/157653/2007）に従い、標準的なヒト及び霊長類組織パネルを用いて、GLP に準拠したロザノリキシズマブの組織交差反応性試験を実施した。

ヒトドナー及びカニクイザルの新鮮な凍結組織に対するロザノリキシズマブの結合性について、フルオレセインイソチオシアネート（FITC）を結合したロザノリキシズマブと FITC を検出する系を用いた免疫組織化学的検査の染色手法により評価した。胎盤組織は FcRn 特異的染色の陽性対照として使用された。ヒトとカニクイザル組織へのロザノリキシズマブの結合性は概ね類似性が高く、染色が主に観察されたのは FcRn 発現が確認されている細胞であった。ロザノリキシズマブによるヒトとカニクイザルの組織の染色性が極めて類似していたことから、カニクイザルでの薬理及び毒性所見は、ヒトとの関連性が高いことが裏付けられた。

FIH 試験における急性有害事象として胃腸障害、頭痛及び発熱が認められたが、カニクイザルではこれらの症状は認められず十分な安全域が確保されていた。そこで、ヒトとカニクイザルの組織染色の相違による毒性変化の違いをより詳細に検討するため、消化管及び脳の組織を対象とした組織交差反応性追加試験を実施した。その結果、特異的な免疫組織化学的シグナルの量にわずかな（動物）種差が認められたが、質的に差はなかった。しかし、このような量的な差は、カニクイザルとヒトの間で観察された毒性学的な種差の原因になるとは考えにくい。

4.7.2　サイトカイン放出試験（M2.6.6.8.2 項）

FcRn はシグナル伝達モチーフを含有せず、これまでの知見より、FcRn がその天然リガンドである IgG 又はアルブミンと結合した結果生じる細胞内シグナル伝達については文献上で言及されていない。したがって、FcRn を発現する細胞を直接刺激することによるサイトカイン放出の誘導は低いと考えられた。さらに、ロザノリキシズマブは、Fcγ 受容体との相互作用能力が低下した IgG4 アイソタイプであり、Fcγ 受容体を介して抗体の Fc 部分と相互作用する細胞によるサイトカイン放出能も強く減少している。

ロザノリキシズマブは様々な異なる *in vitro* フォーマットでもサイトカイン放出を示さなかったため、*in vivo* でのサイトカイン放出の可能性は極めて低いと考えられた。

4.7.3　InTESTine™ モデルを用いたロザノリキシズマブのヒト腸管に対する影響の *ex vivo* 評価（M2.6.6.8.3 項）

FIH 試験で観察された消化器の有害事象を検討するため、[redacted]（[redacted]）が開発した、ウッシングチャンバー法に基づく *ex vivo* の改良型 2 コンパートメントモデルを使用した。ヒト腸管組織（回腸、結腸）を用いて、FIH 試験で使用したロザノリキシズマブのバッチ（システムの頂端側あるいは基底側に添加）が組織の生存率、透過性及び組織学的変化に及ぼす影響を評価すると共に、消化器障害又はホメオスタシスのバイオマーカーである可能性が文献に報告されている一連のエイコサノイド脂質メディエーター［PG、PG 代謝物、及びその他のメディエーター（例：ロイコトリエン）］の放出に対し、ロザノリキシズマブを介した変化を評価した。

収集したデータより、臨床的に意味のあるロザノリキシズマブ濃度（10 及び 100μg/mL）で検討した場合、アイソタイプ（IgG4）対照抗体（100μg/mL）と比較して、ヒト消化器組織に重要な変化を引き起こさないことが示された。

5. 総括及び結論

ロザノリキシズマブの結合特異性及び薬理活性の特性は種々の *in vitro* 及び *in vivo* 試験で明らかとなった。*In vitro* たん白質間結合アッセイ及び細胞を用いた試験で、ロザノリキシズマブはヒト FcRn に対してヒト IgG よりも高親和性及び特異的な結合を示した。ロザノリキシズマブは FcRn へのアルブミンの結合を阻害せずに、IgG 結合に対する競合的な結合阻害を示した。また、ヒト細胞を用いた *in vitro* 細胞機能アッセイでは、ロザノリキシズマブは IgG のリサイクリング及びトランスサイトーシスに対する阻害作用を示した。ヒト FcRn 遺伝子導入マウスモデルでは、ロザノリキシズマブは血漿中 IgG のクリアランスを用量依存的に促進した。Retrogenix 社の評価系でヒト細胞株表面上に個々に発現している多数のヒト細胞膜たん白質のうち、ロザノリキシズマブは FcRn の α 鎖に高特異的な結合を示した。

ロザノリキシズマブの薬理及び毒性試験に使用する動物としてカニクイザルを選択した理由は、ヒトとサルの FcRn の機能活性が類似しており、ロザノリキシズマブのヒトとカニクイザルの FcRn に対する結合及び阻害活性が同等であり、げっ歯類及びウサギの FcRn にロザノリキシズマブが結合しないためである。

ロザノリキシズマブの曝露量と血漿中 IgG 濃度に対する PD 効果との関係について、カニクイザルを用いて、静脈内及び皮下で 5～150mg/kg の用量で単回及び反復投与して検討した。ロザノリキシズマブは、血漿中 IgG 濃度を用量及び曝露量に関連して明確に低下させ、悪影響を伴わずに 45～90%低下させた。また、アルブミンに対しては、一貫性のあるもしくは用量相関的な影響は認められなかった。

ロザノリキシズマブの毒性評価は、GLP に準拠したカニクイザルにおける 26 週間までの反復投与毒性試験、及びヒトとカニクイザルの組織を用いた *in vitro* 組織交差反応性試験で実施された。総 IgG の血漿中濃度は、高用量では約 60～90%低下した。ロザノリキシズマブは 150mg/kg の用量で長期に皮下投与したときに良好な忍容性を示した。また、薬理作用に起因する悪影響や標的外毒性は観察されなかった。毒性試験における NOAEL は、3 日毎に皮下及び静脈内投与した場合で 150mg/kg（試験した最高用量及び投与頻度）であった。

26 週間毒性試験での動物 1 例で、唯一有害と考えられる肺の病理組織学的所見が認められた。この血管周囲の炎症性細胞浸潤という顕微鏡的所見は、免疫複合体（ロザノリキシズマブ-ADA 複合体）の形成と沈着及び補体活性化に関連した炎症（促進）性刺激に起因したものであった。

組織交差反応性試験では、ロザノリキシズマブのヒトとカニクイザルの両組織への結合性は類似しており、主に FcRn 発現が知られている細胞に期待された染色が観察された。

臨床で観察される急性症状（胃腸障害、頭痛、発熱）に対する感受性が、アカゲザルとカニクイザルで異なる可能性を検証するため、アカゲザル（FcRn α 鎖のロザノリキシズマブのエピトープ領域のアミノ酸配列がカニクイザル及びヒトと共通）を用いて 1 週間の毒性試験を実施した。ロザノリキシズマブを 150mg/kg で Day 1 及び Day 4 に静脈内投与したところ、臨床で観察された症状に相応する毒性学的所見はなく、血漿中 IgG 濃度が約 70%低下するという期待される薬理効果

が得られた（NOAEL：150mg/kg）ことから、アカゲザルは臨床で観察される急性症状に対してカニクイザルより感受性が高いとは考えられない。

ロザノリキシズマブがヒト血液中のサイトカイン放出を刺激する可能性について、様々な異なる *in vitro* 条件下で評価した。その結果、いずれもヒト血中サイトカインの放出誘導に対する安全性リスクは示されなかった。

FIH 試験で認められた消化器系の有害事象を検討するために、ヒト腸管組織（回腸、結腸）を用いた *ex vivo* の改良型 2 コンパートメントモデルを使用した。FIH 試験で使用したロザノリキシズマブのバッチが組織の生存率、透過性及び組織学的変化に及ぼす影響を評価すると共に、消化器障害又はホメオスタシスのバイオマーカーの可能性がある一連のエイコサノイド脂質メディエーター放出に対するロザノリキシズマブに起因する変化を評価した。試験データからは、臨床的に意味のあるロザノリキシズマブ濃度では、ヒト消化器組織に及ぼす明らかな変化は認められなかった。

カニクイザルを用いた ePPND 試験を実施した。ロザノリキシズマブを 50 又は 150mg/kg の用量で妊娠 20 日から分娩まで 3 日毎に妊娠カニクイザルに皮下投与した結果、予想どおり、母動物に IgG の低下及びアルブミンのわずかな低下が観察された。胎児発生への影響は認められなかった。また、妊娠転帰及び生存児の PND180±1 までの生後発育については、免疫細胞のフェノタイピング及び TDAR を含めて影響は認められなかった。高用量群の親動物から生まれた児の出生時の IgG レベルは FcRn 阻害により非常に低かった。出生前後の胚損失率は本試験で予想される頻度であり、死産、途中死亡例（切迫屠殺）、出生児死亡例にロザノリキシズマブに関連した肉眼的及び顕微鏡的変化は観察されなかった。当該試験成績に基づき、NOAEL は 3 日毎に投与した 150mg/kg と考えられた。

包括的な CAD を作成した。標準的なげっ歯類のがん原性試験は有益ではないため、ロザノリキシズマブについて実施の必要はないと考えている。

これまでに実施した包括的な非臨床試験プログラムは、ロザノリキシズマブの臨床開発をサポートする上で十分であると考えられる。

6.　参考文献

Butt MT, Whitney KM, Davis W, Akella S, Parker S, Foley GL. Microscopic background changes in brains of cynomolgus monkeys. Toxicol Pathol. 2015;43:513-8.

Challa DK, Velmurugan R, Ober RJ, Sally Ward E. FcRn: from molecular interactions to regulation of IgG pharmacokinetics and functions. Curr Top Microbiol Immunol. 2014;382:249-72.

Chamanza R, Marxfeld HA, Blanco AI, Naylor SW, Bradley AE. Incidences and range of spontaneous findings in control cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) used in toxicity studies. Toxicol Pathol. 2010;38:642-57.

EMEA/CHMP/BWP/157653/2007 Guideline on production and quality control of monoclonal antibodies and related substances 2007.

Ferri N, Bellosta S, Baldessin L, Boccia D, Racagni G, Corsini A. Pharmacokinetics interactions of monoclonal antibodies. Pharmacol Res. 2016;111:592-9.

Hayter SM and Cook MC. Updated assessment of the prevalence, spectrum and case definition of autoimmune disease. Autoimmun Rev. 2012;11:754-65.

Heyen JR, Rojko J, Evans M, Brown TP, Bobrowski WF, Vitsky A, et al. Characterization, biomarkers, and reversibility of a monoclonal antibody-induced immune complex disease in cynomolgus monkeys (*Macaca*

fascicularis). Toxicol Pathol. 2014;42:765-73.
ICH M3 (R2) Guidance on Non-clinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals. December 2009.
ICH S6 (R1) Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-derived Pharmaceuticals. June 2011.
ICH S7B The Non-Clinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals. May 2005.
Kasprick A, Hofrichter M, Smith B, Ward P, Bieber K, Shock A, et al. Treatment with anti-neonatal Fc receptor (FcRn) antibody ameliorates experimental epidermolysis bullosa acquisita in mice. Br J Pharmacol. 2020;177:2381-92.
Lernmark Å. Autoimmune diseases: are markers ready for prediction? J Clin Invest. 2001;108:1091-6.
Liu L, Garcia AM, Santoro H, Zhang Y, McDonnell K, Dumont J, et al. Amelioration of experimental autoimmune myasthenia gravis in rats by neonatal FcR blockade. J Immunol. 2007;178:5390-8.
Porter RR, Reid KB. Activation of the complement system by antibody-antigen complexes: The classical pathway. Adv Protein Chem. 1979;33:1-71.
Martins JP, Kennedy PJ, Santos HA, Barrias C, Sarmento B. A comprehensive review of the neonatal Fc receptor and its application in drug discovery. Pharmacol Ther. 2016;161:22-39.
Pyzik M, Rath T, Lencer WI, Baker K, Blumberg RS. FcRn: the architect behind the immune and nonimmune functions of IgG and albumin. J Immunol. 2015;194:4595-603.
Remlinger J, Madarasz A, Guse K, Hoepner R, Bagnoud M, Meli I, et al. Antineonatal Fc receptor antibody treatment ameliorates MOG-IgG-associated experimental autoimmune encephalomyelitis. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm. 2022;9:e1134.
Roopenian DC and Akilesh S. FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. Nat Rev Immunol. 2007;7:715-25.
Smith B, Christodoulou L, Clargo A, Eddleston A, Greenslade K, Lightwood D, et al. Generation of two high affinity anti-mouse FcRn antibodies: Inhibition of IgG recycling in wild type mice and effect in a mouse model of immune thrombocytopenia. Int Immunopharmacol. 2019;66:362-5.
Smith B, Kiessling A, Lledo-Garcia R, Dixon KL, Christodoulou L, Catley MC, et al. Generation and characterization of a high affinity anti-human FcRn antibody, rozanolixizumab, and the effects of different molecular formats on the reduction of plasma IgG concentration. MAbs. 2018;10:1111-30.