1. 緒言

ロザノリキシズマブ（UCB7665）は、胎児性抗体フラグメント（結晶化可能領域）（Fc）受容体（FcRn）に対する遺伝子組換えヒト化免疫グロブリン（Ig）G4P モノクローナル抗体（mAb）である。鎖交換（IgG の重鎖・軽鎖対に解離が生じた後、特異性の異なる IgG4 の同等の重鎖・軽鎖対と再会合すること）の発生を低減するため、IgG4 重鎖配列の 225 番目のセリンをプロリンに変異させ、ヒンジ領域を改変している（図 1-1）。

ロザノリキシズマブは、IgG 自己抗体が病因として関与する全身型重症筋無力症（gMG）を含む自己免疫疾患に対して、症状の悪化に伴い治療のサイクルを繰り返す投与方法で開発を行っている。このような疾患における抗 FcRn 抗体の作用機序は、IgG 全体の減少に伴った病原性自己抗体の除去であり、その結果として、自己免疫疾患患者で有益な効果が得られると考えられる。M2.6.2 に詳述するように、動物を用いた疾患モデルでも、FcRn-IgG 間の相互作用を mAb で阻害することにより、血漿中 IgG 濃度の低下とそれに伴う有益な効果が認められている。gMG の病因としての自己免疫抗体が果たす重要な役割と、その除去が有効な治療法であることの有力なエビデンスについては、M2.5 に詳述した。

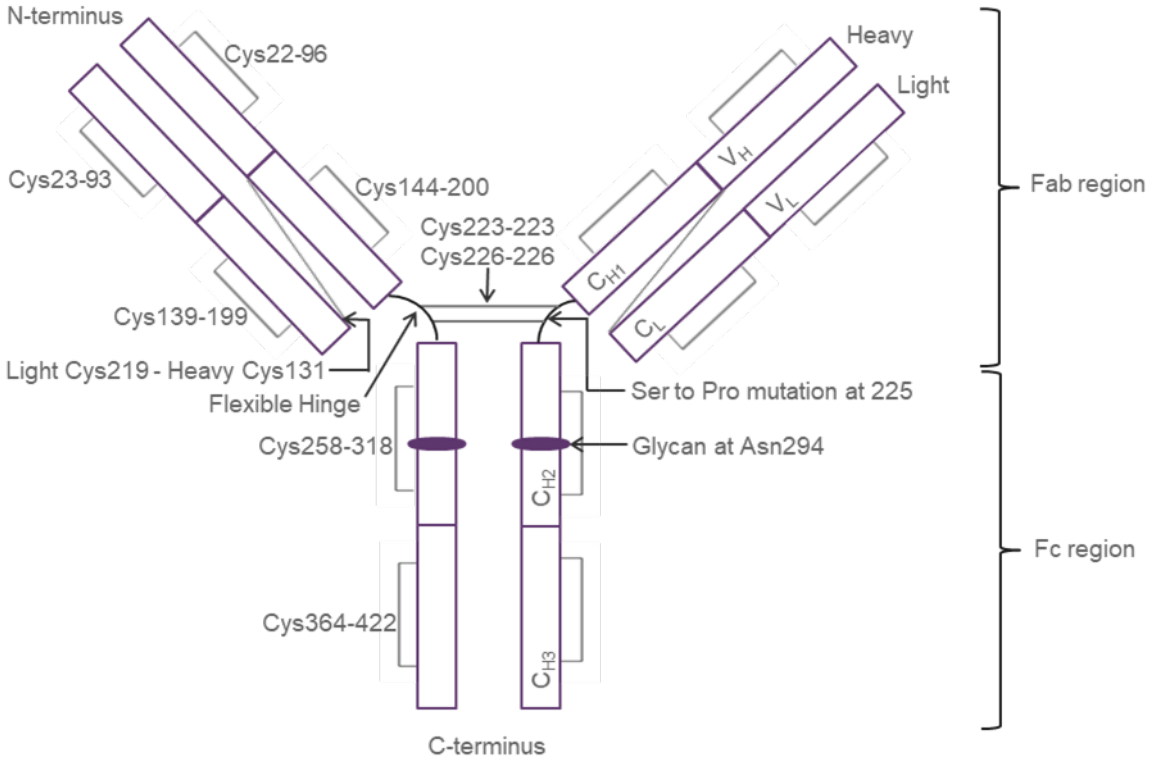
1.1 製品情報

有効成分に関する情報

JAN：	ロザノリキシズマブ（遺伝子組換え） Rozanolixizumab (Genetical Recombination)
INN：	Rozanolixizumab
化学名：	Immunoglobulin G4P, anti-FcRn
成分記号：	UCB7665, A8A
CAS 登録番号：	1584645-37-3
分子式（理論値）：	$C_{6462}H_{9984}N_{1704}O_{2016}S_{44}$ a)
分子量（理論値）：	147846Da

a) タンパク質骨格は、アミノ酸側鎖を含め酸化された状態であるが、翻訳後修飾を受けていない。

図 1-1　ロザノリキシズマブの構造



C_H=重鎖定常領域、C_L=軽鎖定常領域、Fab=抗原結合フラグメント、Fc=結晶性フラグメント、
V_H=重鎖可変領域、V_L=軽鎖可変領域

1.1.1　製剤処方

ロザノリキシズマブ製剤の製剤処方及び製造工程の開発の要約を示す（詳細は、M3.2.S.2.6、M3.2.P.2.2 及び M3.2.P.2.3 に提示）。

開発プログラムを通して用いた異なる製剤間及び製造工程の間をつなぐ同等性／同質性評価を実施した。バイオアベイラビリティ又は生物学的同等性に特化した試験は実施していない。ロザノリキシズマブの薬物動態（PK）、薬力学（PD）及び曝露-反応特性を評価したロザノリキシズマブの臨床薬理プログラムについては、M2.7.2 に詳述した。

臨床開発プログラムでは 2 種類の製剤（注射用液剤及び凍結乾燥製剤）を使用した。市販予定製剤は注射用液剤である。ロザノリキシズマブ製剤の定性的及び定量的組成の詳細については、M3.2.P.1 に示した。

非臨床開発プログラムの中で使用したロザノリキシズマブ原薬及び製剤の概要を表 1-1 に示す。

表 1-1　非臨床開発プログラムの中で使用されたロザノリキシズマブ原薬及び製剤の概要

DP presentation	DP manufacturing process [a)]	DS manufacturing process [a)]	Nominal formulation description	Use
NA [b)]	NA [b)]	Process 1a	140mg/mL protein 30mM histidine 250mM proline 0.03% w/v PS80 pH 5.6	Nonclinical : NCD2447, NCD2448, NCD2617 Clinical Phase 1 : UP0018
NA [b)]	NA [b)]	Process 2	140mg/mL protein 30mM histidine 250mM proline 0.03% w/v PS80 pH 5.6	Nonclinical : NCD2553
Vial, liquid (Extractable volume [redacted] mL)	Process 1 (liquid)	Process 3	140mg/mL protein 30mM histidine 250mM proline 0.03% w/v PS80 pH 5.6	Nonclinical : NCD3001 Clinical Phase 1 : UP0060 Clinical Phase 2 : CIDP01, CIDP04

DP=製剤、DS＝原薬、NA=該当なし、PS80=ポリソルベート 80

a) 製剤の製造工程は M3.2.P.2.3、原薬の製造工程は M3.2.S.2.6 を参照。

b) 原薬をそのまま使用した。

ロザノリキシズマブ原薬に関して、5 種類の製造工程が開発された（Process 1a、1b～4）。

非臨床試験のうち NCD2447 試験、NCD2448 試験及び NCD2617 試験に用いた原薬の製造工程は、Process 1a と呼ばれる。Process 1a で製造された原薬は第 I 相臨床試験にも使用した。第 II 相臨床試験では、Process 1a を部分的に変更した Process 1b で製造された原薬を使用した。Process 2 を用いて製造した原薬は、非臨床試験である NCD2553 試験にのみ使用した。さらに、非臨床試験である NCD3001 試験及び第 II 相臨床試験に用いる原薬の製造工程として、Process 3 を開発した。

なお、gMG 患者及び[redacted]患者を対象とする第 III 相臨床試験に際して、バッチサイズを [redacted] L に拡大した新たな[redacted]（[redacted]、[redacted]）を導入し、併せて製造工程の軽微な変更を行い、Process 4 とした。Process 4 は、市販予定製剤の原薬製造工程である。

異なる Process で製造した原薬間の同等性／同質性評価を実施しており、原薬の製造工程の変更により、製剤の品質、安全性及び有効性に影響を及ぼすような品質プロファイルの変化はないことが確認されている（M3.2.S.2.6）。

ロザノリキシズマブ製剤に関しては、2 種類の製造工程（Process 1 及び Process 2）及び 2 種類のバイアルサイズ（4 mL 及び 2 mL）の製剤が開発された。製剤の製造工程は、「Process 1（液剤）」、「Process 1（凍結乾燥剤）」及び「Process 2（液剤）」と示される。Process 1 と Process 2 で製造した製剤の品質特性を評価し、2 種類の工程で製造した製剤が同等／同質であることが確認されている（Process 1 と Process 2 の相違点は M3.2.P.2 を参照）。

ロザノリキシズマブの市販予定製剤は、140mg/mL の注射用液剤であり、pH5.6 で、原薬（ロザノリキシズマブ）以外に 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、0.03 w/v%ポリソルベート 80 を含む。

本剤は容量 6mL のガラスバイアルに充填し、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て供給される。ロザノリキシズマブ製剤のバイアルには目標容量である [redacted]mL が充填されており、採取容量は [redacted]mL 以上で、表示量である 2mL の投与が可能である。本製剤は 5±3°C で保存する。

1.2　科学的背景

ロザノリキシズマブの抗原結合フラグメント（Fab′）ドメインとヒト FcRn（細胞外ドメイン）の複合体の結晶構造解析では、（i）ロザノリキシズマブの Fab′の構造が概ね Fab′に典型的な構造であること、（ii）ヒト FcRn の α 鎖上のロザノリキシズマブ結合部位が、IgG の Fc ドメインと結合することが確認されている部位と重複しており、ロザノリキシズマブがこの結合部位に対して競合することにより、FcRn への IgG の結合を阻害することが示されている。ロザノリキシズマブは、FcRn のアルブミン結合部位の近傍には結合しない。

1.3　申請する効能又は効果、用法及び用量

【効能又は効果】

全身型重症筋無力症（ステロイド剤又はステロイド剤以外の免疫抑制剤が十分に奏効しない場合に限る）

【用法及び用量】

通常、成人にはロザノリキシズマブ（遺伝子組換え）として下表に示す用量を 1 週間間隔で 6 回皮下注射する。これを 1 サイクルとして、投与を繰り返す。

体重	投与量
50kg 未満	280mg
50kg 以上 70kg 未満	420mg
70kg 以上 100kg 未満	560mg
100kg 以上	840mg

目次

1. まとめ 3
2. 効力を裏付ける試験 4
2.1 概説：胎児性 Fc 受容体の生物学 4
2.2 結合及び親和性試験 6
2.2.1 ヒト及びカニクイザル FcRn に対するロザノリキシズマブの BIAcore 親和性試験（試験番号 40001829） 6
2.2.2 ヒト及びカニクイザル FcRn 遺伝子導入細胞でのロザノリキシズマブの親和性（試験番号 40001836） 7
2.3 作用機序 8
2.3.1 ロザノリキシズマブ及びその FcRn との結合エピトープの発見（Smith et al, 2018） 8
2.3.2 *In vitro* アッセイにおけるヒト及びカニクイザルの IgG 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活性（試験番号 40001834） 9
2.3.3 ヒト FcRn 遺伝子導入マウスを用いたヒト IgG クリアランスに対するロザノリキシズマブの作用（試験番号 40001837） 10
2.3.4 特発性血小板減少性紫斑病マウスモデルでの FcRn 阻害の効果（試験番号 40001842） 11
2.3.5 ミエリンオリゴデンドロサイト糖たん白質（MOG）誘発の脳脊髄炎及び眼神経炎マウスモデルでの FcRn 阻害の効果（試験番号 40001913; Remlinger et al, 2022） 13
3. 副次的薬理試験 14
3.1 ロザノリキシズマブ抗体プロファイリング（試験番号 NCD2637） 14
4. 安全性薬理試験 15
5. 薬力学的薬物相互作用試験 15
6. 考察及び結論 15
7. 図表 16
8. 参考文献 17

表

表 1-1 ロザノリキシズマブの薬理試験一覧 3
表 2-1 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） 7

図

図 2-1 FcRn の IgG リサイクリング機能 5
図 2-2 FcRn による IgG のリサイクリングに対するロザノリキシズマブによる阻害（概念図） 6
図 2-3 ヒト FcRn（A）又はカニクイザル FcRn（B）を遺伝子導入した MDCK 細胞での IgG のリサイクリング 10
図 2-4 ヒト FcRn 遺伝子導入マウスを用いた、IgG 量に対するロザノリキシズマブの作用 11
図 2-5 予防的投与又は治療的投与処方による抗 FcRn 抗体（又は対照マウス IgG1 101.4 又はヒト IVIg）の作用 12
図 2-6 マウスを用いた抗 MOG 抗体により増強した MOG_{33-55}EAE における抗 FcRn 抗体（‘4470）又はアイソタイプコントロール抗体（101.4）投与のクリニカルスコアに対する作用 14

略語及び名称一覧表

略語（略称）	内容	
AChR	acetylcholine receptor	アセチルコリン受容体
AIE	autoimmune encephalitis	自己免疫性脳炎
CDR	complementarity determining region	相補性決定領域
CYP	cytochrome P450	シトクロム P450
ECG	electrocardiography	心電図検査
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
HDX	hydrogen-deuterium exchange	水素―重水素交換
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
hERG	human *ether-a-go-go* related gene	ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子
huTg	human transgenic	ヒト遺伝子導入
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
Ig	immunoglobulin	免疫グロブリン
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
ITP	immune thrombocytopenia	免疫性血小板減少症
IVIg	intravenous immunoglobulin	免疫グロブリン（静注療法）
K_D	equilibrium dissociation constant	平衡解離定数
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
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
MOG-AD	MOG-associated disease	MOG 関連疾患
MSD	mesoscale discovery	メソスケールディスカバリー
OKR	optokinetic reflex	視機性動眼反射
PBS	phosphate-buffered saline	リン酸緩衝食塩液
PDB	protein data bank	たん白質構造データバンク
PEG	polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
SPR	surface plasmon resonance	表面プラズモン共鳴
VH	variable heavy chain	可変重鎖

1.　まとめ

胎児性抗体フラグメント（結晶化可能領域）受容体（FcRn）は、β_2ミクログロブリンと FcRn α鎖から構成されており、種々の細胞、特に内皮細胞、上皮細胞及び単球／マクロファージ等の造血細胞に発現している。ロザノリキシズマブ（UCB7665）は、免疫グロブリン G（IgG）4 クラスのヒト化モノクローナル抗体（mAb）で、FcRn α鎖に特異的に結合する。現在ロザノリキシズマブを重症筋無力症（MG）及び免疫性血小板減少症（ITP）等の自己免疫疾患の治療薬として開発している。ロザノリキシズマブの薬理試験は、毒性試験の動物種選択を裏付けるための結合試験、親和性試験及び作用機序試験に注力して、主に自社の英国研究施設で実施した。これらの試験を表 1-1（及び M2.6.3）にまとめた。

表 1-1　ロザノリキシズマブの薬理試験一覧

表題	主な評価対象及び試験系	報告書番号
効力を裏付ける試験		
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 BIAcore 親和性	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相対的結合親和性の SPR（BIAcore）による評価（*in vitro*）	40001829
ヒト及びカニクイザルの FcRn 遺伝子導入細胞を用いたロザノリキシズマブの親和性	細胞表面に発現させ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のフローサイトメトリーによる評価（*in vitro*）	40001836
In vitro アッセイにおけるヒト及びカニクイザルの IgG 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活性	ヒト及びカニクイザルの FcRn 遺伝子導入細胞での IgG 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能評価（*in vitro*）	40001834
ヒト FcRn 遺伝子導入マウスでのヒト IgG クリアランスに対するロザノリキシズマブの作用	ヒト FcRn 遺伝子導入マウスでのヒト IgG 量に対するロザノリキシズマブの作用評価（*in vivo*）	40001837
特発性血小板減少性紫斑病マウスモデルでの FcRn 阻害の効果	特発性血小板減少性紫斑病マウス疾患モデルでの抗マウス FcRn サロゲート抗体の作用の評価（*in vivo*）	40001842
ミエリンオリゴデンドロサイト糖たん白質（MOG）誘発の脳脊髄炎及び眼神経炎マウスモデルでの FcRn 阻害の効果	MOG 誘発脳脊髄炎及び眼神経炎マウス疾患モデルでの抗マウス FcRn サロゲート抗体の作用の評価（*in vivo*）	40001913
副次的薬理試験		
ロザノリキシズマブ抗体プロファイリング	細胞に発現している 4500 超のたん白質でのオフターゲットスクリーニングによるロザノリキシズマブの FcRn に対する特異性の明示（*in vitro*）	NCD2637
安全性薬理試験		
安全性薬理試験は単独では実施しなかった。安全性薬理作用はカニクイザルを用いた 4 週間及び 13 週間反復静脈内投与及び皮下投与毒性試験内で評価した（NCD2447、NCD2448）。		
薬力学的薬物相互作用試験		
薬力学的薬物相互作用を評価する試験は実施しなかった。		

FcRn=胎児性抗体フラグメント（結晶化可能領域）受容体、IgG=免疫グロブリン G、SPR=表面プラズモン共鳴

ロザノリキシズマブの薬理作用及び薬力学的作用に関して、下記の主な観察結果が認められた。

- ロザノリキシズマブは FcRn を標的としている。FcRn は IgG のリサイクリング受容体であり、IgG が他の血漿たん白質と比較して長い半減期を示すことに寄与している。ロザノリキシズマブは、アルブミンとの相互作用を阻害せずに、IgG と FcRn との相互作用を競合的に阻害するヒト化 IgG4 mAb であり、そのため IgG の代謝を促進する。ロザノリキシズマブは病因となる自己抗体の除去促進が期待されるため、自己免疫疾患の治療に適している。
- ロザノリキシズマブはヒト及びカニクイザルの FcRn と中性及び酸性の pH 条件下に高い親和性で結合するが、マウス、ラット及びウサギの FcRn とは結合するとしても親和性は極めて低い。
- ロザノリキシズマブは、*in vitro* で細胞における IgG のリサイクリング及びトランスサイトーシスを阻害する。その結果、IgG はリソゾームへと移動し分解される。また、*in vivo* でヒト FcRn 遺伝子導入マウスにおいて IgG 減少も引き起こす。カニクイザルの試験でも同様の結果が得られている（M2.6.4）。
- 抗マウス FcRn サロゲート mAb は自己免疫疾患のげっ歯類モデルで有効性を示した。例えば、ラットを用いた MG 実験モデルの公表データでは、抗 FcRn mAb は疾患重篤度の改善と抗アセチルコリン受容体（AChR）抗体量減少の両方を示した（Liu et al, 2007）。申請者のデータでもマウスを用いた ITP 及び MOG 関連疾患（MOG-AD）モデルで抗マウス FcRn mAb（‘4470）の有効性が示されている。
- 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で FcRn α 鎖以外に特異的な結合は認められなかった。

2.　効力を裏付ける試験

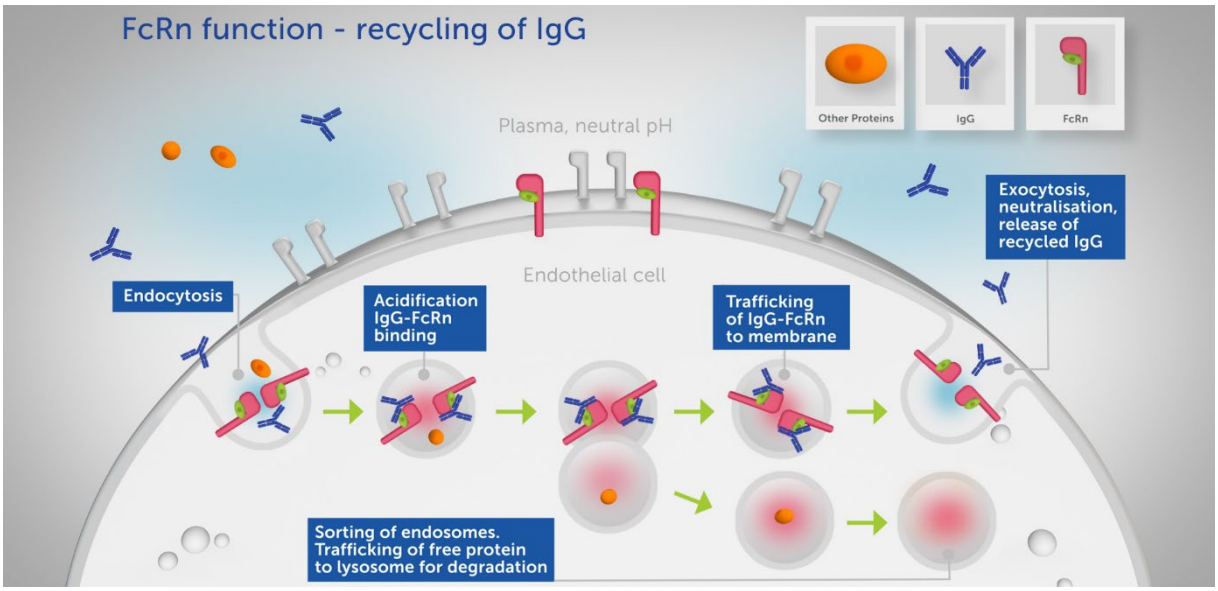
本項では種々の動物種由来の FcRn に対するロザノリキシズマブの親和性をたん白質間相互作用及び細胞を用いた評価系で測定した試験結果、細胞機能測定系及び in vivo 系におけるロザノリキシズマブの作用強度及び活性の試験結果をまとめた。

2.1　概説：胎児性 Fc 受容体の生物学

主要組織適合遺伝子複合体（MHC）クラス I 様 FcRn は、FcRn α 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ることでリソゾームでの分解を免れ、リソゾームから遊離して血漿中に戻される（総説： 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（ヒトで約 3 週間）を有することに寄与している（図 2-1）。本リサイクリング経路の阻害結果として、内因性 IgG の分解速度が促進される。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の産生とこれらの自己免疫疾患は相関があるとされている（Lernmark, 2001; Hayter and Cook, 2012）。ITP や MG 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の除去も誘導され、自己免疫疾患患者にメリットを提供することになる。

複数の報告により、FcRn の阻害により IgG の代謝促進が示されている。先ず、β_2 ミクログロブリンの変異により FcRn の欠損誘導が観察され（Waldmann and Terry, 1990; Wani et al, 2006; Ardeniz et al, 2015）、それにより異化亢進による家族性低たん白血症が誘導され、血漿中 IgG 濃度の低下が認められた。動物モデルでも FcRn 機能の欠損により血漿中 IgG 濃度の低下及び自己免疫疾患に対する耐性が誘導された（Roopenian et al, 2003; Liu et al, 1997; Akilesh et al, 2004; Li et al, 2005）。

図 2-1　FcRn の IgG リサイクリング機能

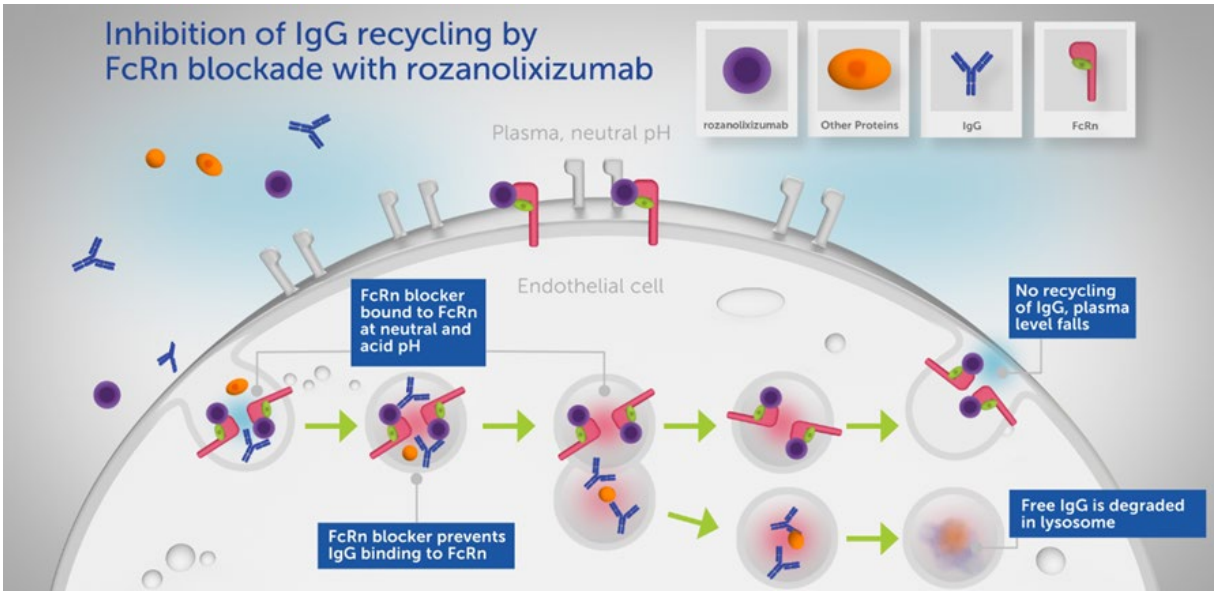


IgG は恒常的に内皮細胞等の細胞内へ飲細胞運動により取り込まれる。細胞内のエンドソーム内酸性環境下で IgG は FcRn と相互作用する。この相互作用によって IgG は細胞表面へリサイクリングされ、細胞表面では中性 pH 下で FcRn は IgG を細胞外の血管へ遊離する。エンドソーム内で FcRn と結合しない他のたん白質はリソゾームへと送達され分解される

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 濃度減少及び有用性へとつながることも示されている。抗ヒト FcRn mAb は、ヒト FcRn 遺伝子導入マウスモデル及び霊長類で血漿中の IgG 濃度を低下させた（Christianson et al, 2012; Nixon et al, 2015; 2.3.3 項; M2.6.4）。FcRn との親和性が正常よりも高く変異した IgG は、正常な親和性を有する IgG と競合する可能性があり、血漿中から他の IgG の消失率を増加させ（Vaccaro et al, 2005）、マウス血清移植関節炎モデルでの疾患改善（Petkova et al, 2006; Patel et al, 2011）が示されてきた。自社の試験結果では、自己抗体でコートされた血小板がマクロファージによって破壊される ITP マウスモデル（2.3.4 項に示す）及び抗体が血液脳関門を通過するときに脳脊髄炎や眼神経炎を誘発する MOG-AD のマウスモデル（2.3.5 項; Remlinger et al, 2022）で、抗マウス FcRn mAb が有効性を示した。さらに、他の研究者による報告では、抗げっ歯類 FcRn 抗体によりラットでの IgG 消失率増加（Getman and Balthasar, 2005）及び受動（抗 AChR 抗体投与）及び能動（AChR 免疫感作）両方を用いたラット MG モデルでの有効性（Liu et al, 2007）が示され、抗 FcRn mAb（1G3）が疾患の重症度及び抗 AChR 抗体レベルの両方を低下させた（Liu et al, 2007）。

図 2-2（概念図）に示すように、ロザノリキシズマブは、IgG4 クラスのヒト化 mAb であり、FcRn に特異的に結合して IgG のリサイクリングを阻害する。ロザノリキシズマブは FcRn を介したアルブミンのリサイクリングには影響しないようにデザインされている。

図 2-2　FcRn による IgG のリサイクリングに対するロザノリキシズマブによる阻害（概念図）



ロザノリキシズマブ（UCB7665）は中性及び酸性 pH 両方の条件下で FcRn に高い親和性で結合する。恒常的に細胞内へ飲細胞運動により取り込まれる IgG はエンドソーム内酸性 pH 下でも FcRn へ結合できないため、リサイクルされずにリソゾームに運ばれ分解される

2.2　結合及び親和性試験

2.2.1　ヒト及びカニクイザル FcRn に対するロザノリキシズマブの BIAcore 親和性試験（試験番号 40001829）

目的：ヒト及びカニクイザルの FcRn に対する相対的親和性を表面プラズモン共鳴（SPR）法（BIAcore）により測定した。

方法：固定化した抗ヒト IgG Fc 特異抗体によりロザノリキシズマブを捕捉し、pH 7.4 又は pH 6.0 でヒト又はカニクイザルの FcRn 濃度を測定した。ロザノリキシズマブ（0.3～0.6μg/mL）を 60 秒間注入して約 100 反応ユニットを達成し、ヒト又はカニクイザル FcRn を 20nM から流速 30μL/分で 300 秒間、捕捉したロザノリキシズマブで FcRn 濃度を測定した後、1200 秒解離させた。同様の試験方法にて pH 6.0 でマウス、ラット及びウサギの FcRn との結合親和性の測定も実施した。

結果：ヒト FcRn に対するロザノリキシズマブの全平均親和性（平衡解離定数：K_D）は pH 7.4 で 55pM（n=14）及び pH 6.0 で 44pM（n=14）であった。カニクイザル FcRn に対するロザノリキシズマブの全平均 K_D は pH 7.4 で 57pM（n=8）及び pH 6.0 で 42pM（n=8）であった。なお、ロザノリキシズマブの平均 K_D はマウス FcRn に対して 107nM、ラット FcRn に対して 99nM であり、ウサギ FcRn に対しての結合は測定不能であった。

結論：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 K_D は pH 6.0 及び pH 7.4 の両方の条件下で非常に類似していた。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（ヒト及びカニクイザルの FcRn の 1/1000 未満）を示し、ウサギ FcRn に対する結合は検出できなかった。こうした試験結果は、ロザノリキシズマブの毒性試験にカニクイザルを用いることを支持している。

2.2.2　ヒト及びカニクイザル FcRn 遺伝子導入細胞でのロザノリキシズマブの親和性（試験番号 40001836）

目的：細胞膜上のヒト及びカニクイザルの FcRn に対する結合特性（及び K_D 算出）を解析した。

方法：ヒト FcRn 及び β_2 ミクログロブリンを発現させた Madin-Darby イヌ腎臓（MDCK）II 細胞（clone 15 及び Blumberg line と呼称される 2 種類のクローン）並びにカニクイザル FcRn 及びヒト β_2 ミクログロブリンを発現させた MDCK II 細胞（Clone 40）を pH 7.4 又は pH 6.0 で 30 分間インキュベーションしてから、Alexa-fluor488 蛍光標識ロザノリキシズマブを添加して 1 時間インキュベーションした（抗体濃度範囲は 0.002～931nM）。洗浄後、細胞をフローサイトメトリーで解析した。非特異的結合を測定するために各抗体のアイソタイプコントロール抗体の滴定も行った。非特異的結合の値を抗 FcRn 抗体の値から差し引き、作成した特異的結合曲線から、one-site binding equation を用いた非線形回帰解析により K_D 値を算出した。

結果：3 回の試験結果から算出された平均 K_D 値を表 2-1 に示す。ヒト FcRn を発現している 2 種類の MDCK II 細胞（Clone 15 及び Blumberg line）を用いた K_D 値は細胞株間で類似の値を示した。この細胞株間では FcRn 発現頻度（部位／細胞）に約 3.5 倍差（Clone 15 が高値）があることから、FcRn の発現頻度は K_D 値に明確な影響を及ぼさないことを示唆している。カニクイザル FcRn を遺伝子導入した MDCK II 細胞（Clone 40）に対する結合の K_D 値はヒト FcRn を遺伝子導入した細胞株の K_D 値に対して 2～3 倍の数値だが、3 回の試験結果において統計学的有意差は確認されなかった。

表 2-1　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）

細胞株	FcRn 由来動物種	FcRn 発現頻度（部位／細胞）	K_D（nM）	
			pH 7.4	pH 6.0
Clone 15	ヒト	4.07×10^5	0.43	0.37
Blumberg line	ヒト	1.42×10^6	0.36	0.39
Clone 40	カニクイザル	2.60×10^6	1.03	1.1

K_D 値（nM）=幾何平均（n=3）。部位／細胞の値は pH 7.4 で実施した試験から算出

結論：細胞表面に発現するヒト FcRn に対するロザノリキシズマブの K_D 値は pH 7.4 及び pH 6.0 の両方で約 0.4nM で、カニクイザル FcRn に対する K_D 値約 1nM よりも約 2 倍親和性が高い値であった。しかし、このような差異は、精製したたん白質間相互作用を評価した BIAcore 試験（2.2.1 項）では認められなかったことから、当該試験結果をもって、種差があるとの結論には至らない。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結合親和性は pH 6.0 及び pH 7.4 いずれでも類似しており、エンドソーム内の酸性条件下と同様に細胞表面でもロザノリキシズマブは両種の FcRn に結合することが示唆された。

2.3　作用機序

2.3.1　ロザノリキシズマブ及びその FcRn との結合エピトープの発見（Smith et al, 2018）

目的：臨床開発候補として適切な親和性、生物活性及び機能的特性を有した抗 FcRn 抗体を同定すると共に、構造的手法［X 線結晶構造解析及び水素―重水素交換（HDX）］を用いて FcRn 分子上のそのエピトープを探索した。

方法：ロザノリキシズマブは以下に示すような手順で作製した。変異型ヒト FcRn（L320A; L321A）とマウス β_2 ミクログロブリンを共発現する NIH3T3 マウス線維芽細胞 1～5×10^7 個を Sprague Dawley ラットに 1、6 及び 9 週目に合計 3 回皮下注射して感作し、15 週目にヒト FcRn 細胞外ドメインを 4 回目の最終免疫として静脈内注射した。ラットの B 細胞は 17 週目に採取した。その後フローサイトメトリー及び SPR を用いて、ヒト FcRn α 鎖に結合し（β_2 ミクログロブリンには結合しない）、ヒト IgG の FcRn との結合を阻害する広範な抗体パネルを同定した。同定した配列ファミリー由来の複数の代表的可変領域をヒスチジン標識ヒト化抗原結合フラグメント（Fab′）としてそれぞれ大腸菌に発現させ、最適なヒト化配列を同定するために、多数の各抗体片を遺伝子工学的に設計し調製した。最高活性を有する抗体候補を同定するために、*in vitro* 細胞機能阻害アッセイ及びヒト FcRn 遺伝子導入マウスモデルを用いた *in vivo* 試験を実施した。抗体候補は Fab′フォーマットを 2×20kDa のポリエチレングリコール（PEG）で PEG 化した。選択した抗ヒト FcRn 分子が大規模生産、製剤化及び長期安定性に適していることを明確にするため、その生物物理学的及び生化学的特性を評価した。ヒト FcRn 上での可変領域 1519、57 片（1519.g57）Fab′ドメインの結合エピトープを同定するため、X 線結晶構造解析及び HDX の両方を用いた。1519.g57 Fab′と複合体を形成しているヒト FcRn（脱グリコシル化された細胞外ドメイン）の結晶化を実現し、その複合体の結晶構造を解明した［たん白質構造データバンク（PDB）エントリー6FGB］。

結果：親和性に基づく FcRn 結合選択基準（pH 6.0 で $K_D \leq 200pM$）を基に、156 の独特な抗体可変領域配列を SPR 及びフローサイトメトリーを用いたスクリーニングで同定した。これは 95 の独特なクロノタイプファミリー［可変重鎖（VH）相補性決定領域（CDR）3 ホモロジーに基づく］を示す。FcRn 結合親和性及びアルブミンとの相互作用ではなく IgG:FcRn 相互作用に対する阻害能に基づき、これらのファミリーから 11 配列を選択し、ヒト化工程に進めた。

ヒト化後に、活性並びに、生物物理学的及び生化学的特性で最適な組み合わせであると考えられた 1519.g57 を開発候補として選択した。ヒト化 IgG4P（Fab アーム変換の傾向を減少させるため、225 番目のセリン残基をプロリンへ置換した変異）アイソタイプとしてサブクローニングにより作製された抗体が UCB7665 であり、後にロザノリキシズマブとして認知されている。

X 線結晶構造解析の結果、1519.g57 Fab′と相互作用する残基は全て FcRn α 鎖内に存在し、IgG-Fc との結合に重要な多くの残基が含まれていることが判明した。このことは、本抗体は単純競合により IgG の結合を阻害することを示している。HDX により 1519.g57 Fab′エピトープとして認定されたペプチドをラット FcRn:Fc の結晶構造上にマッピングすると IgG-Fc の結合部位と重なり合うことが判明した。この結果は X 線結晶構造解析の結果を支持している。ヒト及びカニクイザルの FcRn の配列アラインメントにより FcRn の細胞外ドメインで 98%の同一性が示された。

結論：多数の抗 FcRn 抗体を感作ラットから同定し、最適の親和特性、結合特性及び機能特性を有する候補を段階的にスクリーニングした。最終的にヒト化 IgG4 mAb であるロザノリキシズマブを導き出した。ロザノリキシズマブは FcRn に対して高親和性で、FcRn と IgG との相互作用を強力で競合的に阻害するが FcRn とアルブミンとの相互作用は阻害しない（Smith et al, 2018）。

2.3.2 *In vitro* アッセイにおけるヒト及びカニクイザルの IgG 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活性（試験番号 40001834）

目的：ヒト又はカニクイザルの FcRn を遺伝子導入した細胞内の 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作用を評価した。本試験系において、リサイクリングとは頂端側で 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、トランスサイトーシス（ヒト FcRn 遺伝子導入細胞でのみ実施）とは、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。

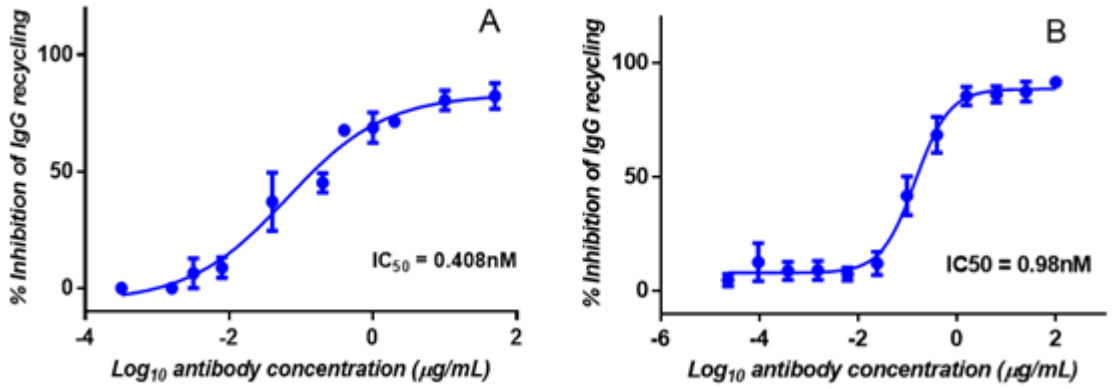
方法：リサイクリングアッセイでは、酸性緩衝液中（pH 5.9）でビオチン化ヒト IgG（1μg/mL）とヒト FcRn を発現させた MDCK 細胞（clone 15）又はカニクイザルの FcRn を発現させた MDCK 細胞（clone 40）を種々濃度のロザノリキシズマブの存在下又は非存在下で FcRn と結合させるためにインキュベートした。60 分後、過剰な抗体を除去し、中性緩衝液（pH 7.2）中でインキュベートして、表面に曝露し結合している IgG を上清中に遊離させた［メソスケールディスカバリー（MSD）法を用いて定量］。トランスサイトーシスアッセイでは、ヒト FcRn 遺伝子導入した MDCK 細胞が単層を形成するまで培養し、頂端側コンパートメントの pH を pH 5.9 に調整し、基底外側コンパートメントの pH を pH 7.2 に調整した。頂端側コンパートメント上の細胞はビオチン化ヒト IgG 1μg/mL と種々濃度のロザノリキシズマブの存在下又は非存在下で 3 時間インキュベートした。その後、基底外側培養液中の総 IgG 量を MSD 法で測定した。

結果：MDCK 細胞に発現したヒト又はカニクイザルの FcRn による IgG リサイクリングに対するロザノリキシズマブの作用を図 2-3 に示す。ロザノリキシズマブによる IgG リサイクリングの阻害が示され、ヒト及びカニクイザルの FcRn に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）値はそれぞれ、0.408nM 及び 0.980nM であった。

ヒト FcRn 遺伝子導入した MDCK 細胞内での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のヒト IgG のトランスサイトーシスもロザノリキシズマブにより阻害され、IC_{50} 値は 1.14nM（n=4）であった。

結論：ロザノリキシズマブはヒト FcRn 遺伝子導入細胞でヒト IgG のリサイクリング及びトランスサイトーシスを強力に阻害し、カニクイザル FcRn 遺伝子導入細胞でヒト IgG のリサイクリングを強力に阻害し、いずれも数 nM の IC_{50} 値を示した。また、ヒト及びカニクイザルのいずれの FcRn を用いた場合においても、ロザノリキシズマブが FcRn 機能に対して同様の活性阻害を示した本試験結果は、ロザノリキシズマブの非臨床毒性試験として、カニクイザルの使用を支持している。

図 2-3　ヒト FcRn（A）又はカニクイザル FcRn（B）を遺伝子導入した MDCK 細胞での IgG のリサイクリング



実験回数：A は n=4、B は n=6。算術平均±標準誤差を示す。

2.3.3　ヒト FcRn 遺伝子導入マウスを用いたヒト IgG クリアランスに対するロザノリキシズマブの作用（試験番号 40001837）

目的：ヒト遺伝子導入（huTg）マウスを用いてロザノリキシズマブのヒト IgG 量に対する減少活性について評価した。

方法：バリデーション試験では、マウス FcRn 遺伝子をノックアウトし、ヒト FcRn 遺伝子を導入した huTg マウスに、野生型ヒトポリクローナル IgG、野生型ヒトモノクローナル IgG（P17）、又は FcRn との Fc 介在性結合しないように変異させたヒトモノクローナル IgG（P146）のいずれか 200mg/kg を試験開始時（T=0）に静脈内投与した。投与後 168 時間まで種々の経過時間で採血し、血清サンプルは液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC-MS/MS）で解析し、経時的に IgG 量を測定した。ロザノリキシズマブを評価する試験では、マウスに野生型ヒトポリクローナル IgG 500mg/kg を Day1 に静脈内投与し、ロザノリキシズマブ 10、30、及び 100mg/kg を Day2 に静脈内投与した。リン酸緩衝食塩液（PBS）を投与した対照群も設定した。投与後 192 時間まで種々の経過時間で血清サンプルを採取し、IgG 量を LC-MS/MS で定量した。また、IgG1 型のロザノリキシズマブと臨床で評価している IgG4 アイソタイプとの比較も行った。

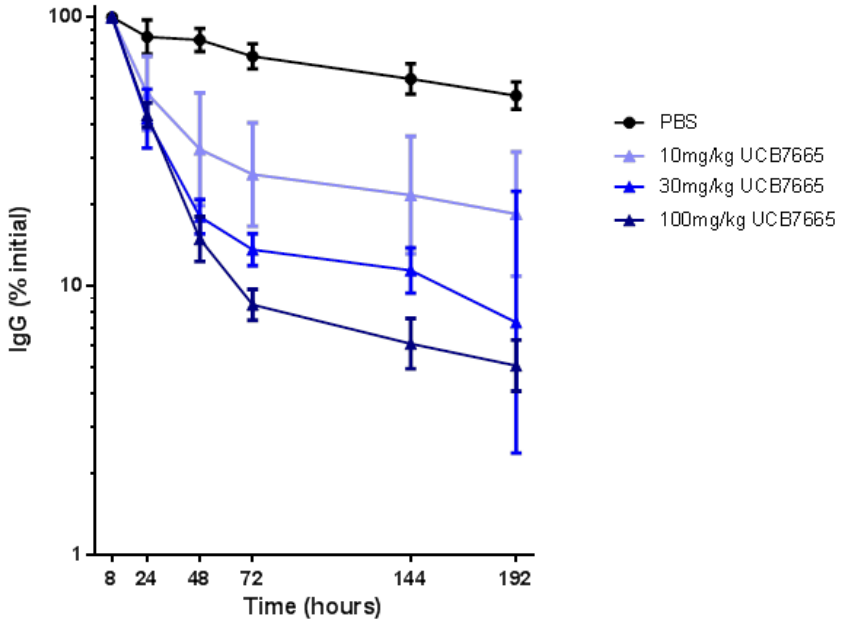
結果：バリデーション試験では、血清中のヒトポリクローナル IgG 量及び野生型ヒトモノクローナル IgG（P17; FcRn への結合能を保持）量は経過時間を通じて高値を維持した。一方、FcRn と結合しない変異型ヒトモノクローナル IgG（P146）は、血清内から急速に消失した。この結果から huTg マウスの FcRn は機能しており、IgG がリサイクルされることが裏付けられた。PBS 投与と比較してロザノリキシズマブ投与により、ヒト IgG のクリアランスが用量依存的に促進された（図 2-4）。

PBS 投与群とロザノリキシズマブ投与群の IgG 量には投与後 24 時間から有意差（$p<0.01$、一元配置分散分析、Tukey 事後検定）が認められ、試験終了時まで継続した。

ロザノリキシズマブの IgG4 型と IgG1 型との比較試験では、経過時間を通じて同様な IgG 減少が認められた。PBS 対照群と比較して、いずれの投与量のロザノリキシズマブ投与群及びいずれの試験においてもヒト血清アルブミン量に有意な差は認められなかった。

結論：PBS 投与対照群と比較して、IgG1 型及び IgG4 型のいずれのロザノリキシズマブ投与によっても、用量依存的で統計学的に有意な IgG クリアランスの促進が認められた。検討したいずれの投与量でも血清アルブミンに対するロザノリキシズマブの影響は認められなかった。本結果は、カニクイザル及びヒト（M2.7.2）で観察された薬力学的作用とよく相関していた。

図 2-4　ヒト FcRn 遺伝子導入マウスを用いた、IgG 量に対するロザノリキシズマブの作用



ヒト IgG を Day1 に静脈内投与した。ロザノリキシズマブ（UCB7665）又は PBS を Day2 に静脈内投与した。最初の血液サンプルは抗体投与の 24 時間前に採取し、抗体投与後 8、24、72、144 及び 192 時間に採取した。ヒト IgG 量は LC-MS/MS で定量した。結果はベースラインの IgG 量に対する百分率で表示し、幾何平均±95%信頼区間として示した。1 群当たり、n=4～6 例。全時点は抗体投与後の時間を示す

2.3.4　特発性血小板減少性紫斑病マウスモデルでの FcRn 阻害の効果（試験番号 40001842）

目的：ITP のマウスモデルを用いて抗マウス FcRn mAb の有効性を評価した。

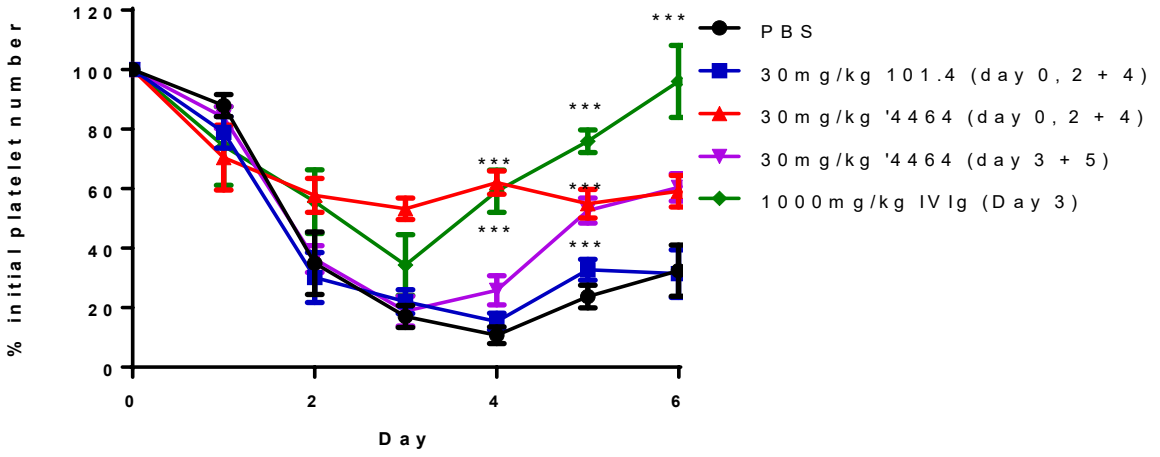
方法：キメラウサギ抗マウス FcRn mAb、‘4470 を C57BL/6 マウスに 10、30 及び 100mg/kg の用量で静脈内投与した後のマウス IgG のクリアランスを測定した。血小板減少症モデルでは、血小板抗原であるマウス CD41 に対する抗体を使用した。その抗体で血小板をオプソニン化（又はコート）して食細胞により貪食されるようにした。抗 CD41 抗体を含有するミニポンプを Day0 に BALB/c マウス皮下に移植し、24 時間毎に約 1μg の抗体を供給した。マウスに予防的投与（Day0、2 及び 4 に投与）又は治療的投与（Day3 及び 5 に投与）として 30mg/kg の用量の‘4464（‘4470 と類似の親和性を有する完全マウス化抗マウス FcRn mAb）、アイソタイプコントロール抗体（101.4）（予防的投与のみ）又は 1000mg/kg の用量の免疫グロブリン（IVIg）（Day3 のみ投与）を静脈内投与した。血小板数はフローサイトメトリーによって、投与開始前及び試験期間を通して毎日測定した。追加の試験では、マウスに全抗体を治療的（Day3 及び 5）に投与する以外は同様に処置

し、30 及び 100mg/kg の用量の‘4464 を投与して評価した。統計学的有意差は一元配置分散分析及び Sidaks 事後検定により解析した。

結果：キメラウサギ抗マウス抗体‘4470 を野生型マウスに 30 又は 100mg/kg 単回投与すると IgG 濃度が最大 70～75%減少した。一方、10mg/kg 単回投与群では約 50%の減少が見られた。この IgG の減少は、投与後 48 時間までに最小値に到達し、その後血漿中 IgG 濃度が回復して Day22 までに投与前の濃度となったことが判明した。血小板減少試験では、PBS 投与又はアイソタイプコントロール抗体（101.4）投与によって、Day3 までに血小板数が 70～80%減少した後、回復した（図 2-5）。‘4464 を用いた予防的投与及び治療的投与のいずれの場合も血漿中血小板数の回復が誘導され、アイソタイプコントロール抗体である 101.4 で達成した回復よりも勝っていた。Day3 及び 5 に投与した場合では、‘4464 の Day5 の血小板減少回復作用は 101.4 及び PBS 投与対照群よりも有意（$p<0.05$）に優れていた。Day0、2 及び 4 に投与した場合では、‘4464 の Day4 及び 5 の血小板減少回復作用は PBS 投与対照群よりも有意（$p<0.05$）に優れていた。予防的又は治療的投与のいずれの投与方法においても、‘4464 の有効性は、30 倍高用量（1000mg/kg）の陽性対照 IVIg（Day3 に投与）の有効性に接近した。2 番目の試験で、100mg/kg の用量の‘4464 の治療的投与では、1000mg/kg の用量の IVIg と同程度の有効性を示した。

結論：抗マウス FcRn mAb である‘4464 はマウス ITP モデルで有効性を示し、予防的又は治療的投与のいずれの投与方法を用いても血小板数を保持することができた。

図 2-5　予防的投与又は治療的投与処方による抗 FcRn 抗体（又は対照マウス IgG1 101.4 又はヒト IVIg）の作用



抗 CD41 抗体を含有したミニポンプを Day0 に BALB/c マウスへ皮下移植した（1 日当たり約 1μg の抗体量）。マウスに予防的投与（Day0、2 及び 4 に投与）又は治療的投与（Day3 及び 5 に投与）処方を用いて 30mg/kg の用量の‘4464、アイソタイプコントロール抗体（101.4）又は 1000mg/kg の IVIg を静脈内投与した（1 群当たり n=5～6）。血小板数はフローサイトメトリーによって、投与開始前及び試験期間を通して毎日測定した。*** $p<0.05$、一元配置分散分析及び Sidaks 事後検定により解析した。エラーバーは標準誤差を示す

2.3.5 ミエリンオリゴデンドロサイト糖たん白質（MOG）誘発の脳脊髄炎及び眼神経炎マウスモデルでの FcRn 阻害の効果（試験番号 40001913; Remlinger et al, 2022）

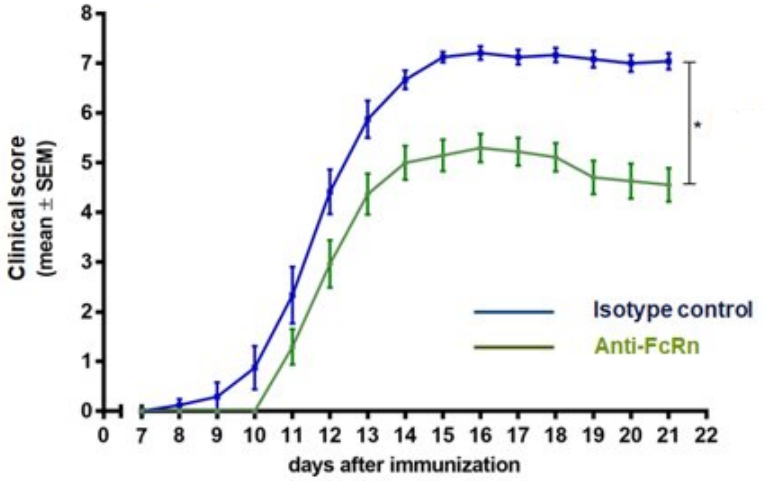
目的：脳脊髄炎及び眼神経炎のマウスモデルを用いて抗マウス FcRn mAb の有効性を評価した。

方法：Day0 に MOG_{33-55} たん白質（2mg/mL 溶液で 50μg）を C57BL/6 マウスの両臀部に皮下投与して感作し、Day10 に抗 MOG mAb（8-18C5）を 10mg/kg の用量でマウスに静脈内投与した。マウスには抗 FcRn mAb（‘4470）又はアイソタイプコントロール抗体（101.4）を 30mg/kg の用量で Day7、10 及び 13 に腹腔内投与し、クリニカルスコアを経時的に測定した。クリニカルスコアの評価は、歩行障害、不全対まひ及び対まひ等の中間段階を含めて、0（健常）から 10（死亡）までの 11 段階評価により実施した。脱髄及び炎症細胞浸潤を評価するために試験終了時に脊髄の組織学的検査を実施した。視機性動眼反射（OKR）を用いて視覚機能の測定も投与開始前及び試験終了時に実施した。

結果：本モデルでは、MOG_{33-55} たん白質で感作した後に抗 MOG mAb（8-18C5）を投与した結果、MOG_{33-55} たん白質感作のみの場合と比較して臨床経過は重篤化を示した。試験終了時のクリニカルスコアはアイソタイプコントロール抗体投与群で 7.04（標準誤差 0.16）であった。スコア 8 で安楽殺が必要であることを考えると、本試験プロトコールにより重篤な疾病経過が誘導されるのは明白である。抗 FcRn mAb ‘4470 を Day7、10 及び 13 に投与した結果、アイソタイプコントロール抗体 101.4 投与時と比較して統計学的に有意なクリニカルスコアの低下［試験終了時の平均スコア 4.56（標準誤差 0.33）、p=0.03］が認められた（図 2-6）。‘4470 を投与したマウスでは、101.4 を投与したマウスと比較して試験終了時の脱髄化脊髄白質及び Mac3 陽性炎症性マクロファージの浸潤の両方が統計学的に有意に減少していた（$p<0.0001$）。101.4 を投与したマウスでは視覚機能（OKR）が投与前と比較して試験終了時に統計学的に有意に低下した（p=0.024）。一方、‘4470 を投与したマウスでは視覚機能低減は認められなかった。

結論：血液脳関門を病因となる自己抗体が通過して脳脊髄炎を誘導するマウスモデルで、アイソタイプコントロール抗体投与と比較して FcRn 阻害によって、疾病経過を通してクリニカルスコアが統計学的に有意な低下を示した。同時に脊髄の組織学的検査において脱髄化及びマクロファージ浸潤の両方が統計学的に有意に減少した。さらに、投与開始前及び試験終了時に測定した場合に、101.4 を投与したマウスと比較して‘4470 を投与したマウスでは視覚機能が保持され、統計学的に有意であった。

図 2-6　マウスを用いた抗 MOG 抗体により増強した MOG_{33-55}EAE における抗 FcRn 抗体（‘4470）又はアイソタイプコントロール抗体（101.4）投与のクリニカルスコアに対する作用



EAE=実験的自己免疫性脳脊髄炎、MOG=ミエリンオリゴデンドロサイト糖たん白質、SEM=標準誤差
Day0 に MOG_{33-55} たん白質をマウスに皮下投与して感作し、Day10 に抗 MOG 抗体（8-18C5、10mg/kg）をマウスに静脈内投与した。マウスには抗 FcRn mAb（‘4470；緑線）又はアイソタイプコントロール抗体（101.4；青線）を 30mg/kg の用量で Day7、10 及び 13 に腹腔内投与し、クリニカルスコアを経時的に測定した。n＝独立した試験 3 回、マンホイットニー検定を用いた、疾病の発症から全日の平均の統計解析：* p=0.03

3.　副次的薬理試験

本項ではロザノリキシズマブの潜在的なオフターゲットへの結合能を評価した試験の結果をまとめた。

3.1　ロザノリキシズマブ抗体プロファイリング（試験番号 NCD2637）

目的：[redacted] 社の技術を用いてヒト胎児腎臓（HEK）293 細胞表面上に発現させた 4500 超のヒト細胞膜たん白質に対するオフターゲット結合能を評価した。

方法：4552 種のヒトたん白質を HEK293 細胞表面上に発現させ、固定化後に 20μg/mL の濃度のロザノリキシズマブとインキュベーションした。各たん白質について 2 回試験を繰り返した。結合の検出は Alexa-fluor647 蛍光標識抗ヒト Fc 抗体を用いて実施した。結合が認められたたん白質をアイソタイプコントロール及び陽性コントロール（CTLA4、CD86 が標的）を用いた試験で再評価した。

結果：初期評価で 20 種類のたん白質との結合が検出されたが、再現性がないもの、非特異的なもの及び信ぴょう性のないものを除くとロザノリキシズマブと明確に特異的に結合するたん白質は 3 種類となった。これらは強力な結合を示した FcRn、c-CBL（E3-ユビキチンリガーゼ）、及び弱い結合を示した CD99L2 であった。異なる CD99L2 アイソフォームの配列解析に基づき、CD99L2 との弱い結合はアーティファクトであると判断した。さらに、2 種類のアプローチを用いた c-CBL 調査の結果、ロザノリキシズマブと c-CBL の相互作用は、生物学的に関連のある相互作用ではなく、細胞の固定ステップにより誘導されたスクリーングプラットフォームのアーティファクトであると示された。c-CBL は細胞内たん白質なので、細胞表面には通常発現していない。

結論：4500 超のヒト細胞膜たん白質に対する試験結果により、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。

4.　安全性薬理試験

主要な器官系に対するロザノリキシズマブの直接的な影響は予期されていない。さらに、mAb は直接的に細胞質基質へ侵入せず、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）によりコードされるカリウムチャネル（心室心筋活動電位の再分極で重要な役割を担うことで知られている）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 IgG4mAb で高分子であることから、医薬品規制調和国際会議ガイドライン 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。

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（ECG）は、投与前及び各投与期間中の 2 週間で投与後 2 時間に全個体で実施した。ECG から QRS 複合波間隔、PR 間隔、RR 間隔、QT 間隔及び心拍数のデータを得た。さらに、高解像度オシレーション法によって血圧測定を実施した。全個体の呼吸数及び呼吸深度については投与前に 2 回及び投与後 2 時間に試験期間中少なくとも 1 回は測定した。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）は投与前に 1 回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、いずれの投与量及び測定時点おいても、測定した全パラメータで、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。

5.　薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用の非臨床試験は実施しなかった。mAb として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、シトクロム P450（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。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、他の IgG 抗体及び Fc 含有バイオ医薬品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が、正式な試験は計画していない。特に必要な場合は、バイオ医薬品の投与時期を、ロザノリキシズマブ投与とずらすなどの方法も考えられる。

6.　考察及び結論

ロザノリキシズマブの開発をサポートするために実施した薬理試験の概要を示した。

ロザノリキシズマブは FcRn を標的としている。FcRn は IgG のリサイクリング受容体であり、IgG の半減期が他の血漿たん白質と比較して長期化されることに寄与している。ロザノリキシズマブは FcRn を阻害する mAb であり、そのため IgG の異化を促進する。ロザノリキシズマブは病因となる自己抗体の除去をも促進することから、自己免疫疾患の治療に有用である。

ロザノリキシズマブは広範な抗体スクリーニングから同定され、アルブミンには作用せず、FcRn と IgG との結合を競合的に阻害する活性強度に基づき選定した。SPR 試験では、FcRn たん白質とロザノリキシズマブとのたん白質間相互作用を測定しており、ロザノリキシズマブはヒト及びカニクイザルの FcRn の両者と中性及び酸性 pH 条件下で高い結合親和性（40～50pM 前後）を示し

た。しかし、ロザノリキシズマブはマウス、ラット及びウサギの FcRn とは極めて微弱な結合親和性しか示さなかった。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 を遺伝子導入した細胞に対してロザノリキシズマブは同様の結合親和性を示した。こうした試験結果から、ロザノリキシズマブ開発をサポートする毒性試験に用いる動物種としてカニクイザルの使用が支持される。

ロザノリキシズマブは FcRn 遺伝子導入 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。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。全ての試験でヒト及びカニクイザルの FcRn の両方に対してロザノリキシズマブは同様の活性（約 1nM）を示した。

huTg マウスでは、マウスの FcRn 遺伝子をノックアウトし、代わりに遺伝子導入してヒト FcRn を発現させている。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削減能を評価することができる。ロザノリキシズマブ非存在下のこの系で、投与したヒト IgG は一般に高濃度が維持される。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た。一方、ロザノリキシズマブを投与した huTg マウスのアルブミン量に影響は認められなかった。こうした結果はカニクイザルで評価した IgG 量に対するロザノリキシズマブの評価結果と一致していた（M2.6.4）。

MG、ITP、ロイシンリッチグリオーマ不活化たん白質 1（LGI1）自己免疫性脳炎（AIE）及び MOG-AD 等の自己免疫疾患でのロザノリキシズマブの評価を検討している。*In vivo* の ITP マウスモデルで、血小板細胞表面抗原（CD41）に対する抗体を用いて血小板をオプソニン化して、食作用により血小板が除去される試験を実施した。本試験モデルで、抗マウス FcRn サロゲート抗体は有効性を示し、ITP 患者の治療に頻繁に使用される IVIg と同程度の有効性を適切な用量で示した。LGI1 AIE 及び MOG-AD の両疾患では、脳脊髄液中抗体の力価よりも血中自己抗体力価は非常に高く、血液脳関門を通過した自己抗体が脳炎を誘発する。したがって、MOG 誘発疾患のマウスモデルで FcRn 阻害によって有効性が示された結果は、ロザノリキシズマブの有効性を示唆する興味深い知見であると考える。

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、FcRn 以外に特異的な結合は認められず、ロザノリキシズマブの高い標的特異性が確認された。

結論として、動物種間の交差反応性、親和性、生物活性及び機能的特性に関連した非臨床薬理試験評価により、ロザノリキシズマブの毒性試験評価用動物種としてカニクイザルを使用すること及びヒト臨床試験でロザノリキシズマブを開発することが支持された。

7. 図表

図表は本文中に示した。

8. 参考文献

Akilesh S, Petkova S, Sproule TJ, Shaffer DJ, Christianson GJ, Roopenian D. The MHC class I-like Fc receptor promotes humorally mediated autoimmune disease. J Clin Invest. 2004;113:1328-33.

Ardeniz Ö, Unger S, Onay H, Ammann S, Keck C, Cianga C et al. β_2-Microglobulin deficiency causes a complex immunodeficiency of the innate and adaptive immune system. J Allergy Clin Immunol. 2015;136:392-401.

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.

Christianson GJ, Sun VZ, Akilesh S, Pesavento E, Proetzel G, Roopenian, DC. Monoclonal antibodies directed against human FcRn and their applications. MAbs. 2012;4:208-16.

Getman KE and Balthasar JP. Pharmacokinetic effects of 4C9, an anti-FcRn antibody, in rats: implication for the use of FcRn inhibitors for the treatment of humoral autoimmune and alloimmune conditions. J Pharm Sci. 2005;94:718-29.

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

Lernmark Å. Autoimmune diseases: are markers ready for prediction? J Clin Invest. 2001;108:1091-6.

Li N, Zhao M, Hilario-Vargas J, Prisayanh P, Warren S, Diaz LA, et al. Complete FcRn dependence for intravenous Ig therapy in autoimmune skin blistering diseases. J Clin Invest. 2005;115:3440-50.

Liu Z, Roopenian DC, Zhou X, Christianson GJ, Diaz LA, Sedmak DD, et al. β_2-microglobulin-deficient mice are resistant to bullous pemphigoid. J Exp Med. 1997;186:777-83.

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.

Martins JP, Kennedy PJ, Santos HA, Barrias C, Sarmento B. A comprehensive review of the neonatal receptor and its application in drug discovery. Pharmacol Ther. 2016;161:22-39.

Nixon AE, Chen J, Sexton DJ, Muruganandam A, Bitonti AJ, Dumont J, et al. Fully human monoclonal antibody inhibitors of the neonatal Fc receptor reduce circulating IgG in non-human primates. Front Immunol. 2015;6:article 176.

Patel DA, Puig-Canto A, Challa DK, Perez Montoyo H, Ober RJ, Ward ES. Neonatal Fc receptor blockade by Fc engineering ameliorates arthritis in a murine model. J Immunol. 2011;187:1015-22.

Petkova SB, Akilesh S, Sproule TJ, Christianson GJ, Al Khabbaz H, Brown AC, et al. Enhanced half-life of genetically engineered human IgG1 antibodies in a humanized FcRn mouse model: potential application in humorally mediated autoimmune disease. Int Immunol. 2006;18:1759-69.

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. Nature Reviews Immunol. 2007;7:715-25.

Roopenian DC, Christianson GJ, Sproule TJ, Brown AC, Akilesh S, Jung N, et al. The MHC class I-like IgG receptor controls perinatal IgG transport, IgG homeostasis, and fate of IgG-Fc-coupled drugs. J Immunol. 2003;170:3528-33.

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.
Vaccaro C, Zhou J, Ober RJ, Ward ES. Engineering the Fc region of immunoglobulin G to modulate *in vivo* antibody levels. Nat Biotechnol. 2005;23:1283-8.
Waldmann TA and Terry WD. Familial hypercatabolic hypoproteinemia. J Clin Invest. 1990;86:2093-8.
Wani MA, Haynes LD, Kim J, Bronson CL, Chaudhury C, Mohanty S, et al. Familial hypercatabolic hypoproteinemia caused by deficiency of the neonatal Fc receptor, FcRn, due to a mutant β_2-microglobulin gene. Proc Natl Acad Sci USA. 2006;103:5084-9.

目次

1. 薬理試験：一覧表 2
2. 効力を裏付ける試験 3
3. 副次的薬理試験 7
4. 安全性薬理試験 7
5. 薬力学的薬物相互作用試験 7

1. 薬理試験：一覧表

被験物質：ロザノリキシズマブ

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
効力を裏付ける試験					
In vitro 薬理試験					
Protein-protein based affinity of UCB7665 against human and cynomolgus monkey FcRn using surface plasmon resonance (BIAcore)	*in vitro*	N/A	UCB	40001829	4.2.1.1
Cell-based affinity of UCB7665 on cells transfected with human and cynomolgus monkey FcRn using flow cytometry	*in vitro*	N/A	UCB	40001836	4.2.1.1
Activity of UCB7665 in *in vitro* assays of IgG recycling and transcytosis using cells transfected with human or cynomolgus monkey FcRn	*in vitro*	N/A	UCB	40001834	4.2.1.1
In vivo 薬理試験					
The effect of UCB7665 on the clearance of human IgG in the human FcRn transgenic mouse	*in vivo*	iv	UCB	40001837	4.2.1.1
The effect of FcRn blockade in a mouse disease model of idiopathic thrombocytopenic purpura using a surrogate monoclonal antibody (anti-mouse FcRn)	*in vivo*、抗マウス FcRn サロゲートモノクローナル抗体（mAb）	iv	UCB	40001842	4.2.1.1
The effects of FcRn blockade in a mouse model of myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG)-induced encephalomyelitis and optic neuritis	*in vivo*、抗マウス FcRn サロゲート mAb	ip	[redacted] 及び UCB	40001913	4.2.1.1
副次的薬理試験					
A Retrogenix off-target screen of >4500 proteins expressed in cells to assess the specificity of UCB7665 for FcRn	*in vitro*	N/A	[redacted]	NCD2637	4.2.1.2
安全性薬理試験：単独の安全性薬理試験はロザノリキシズマブでは実施せず					
代謝物、立体異性体及び不純物の薬理試験：実施せず					
薬力学的薬物相互作用試験：実施せず					

N/A=該当せず、FcRn=胎児性抗体フラグメント（結晶化可能領域）受容体、IgG=免疫グロブリン G、iv=静脈内投与、ip=腹腔内投与、mAb=モノクローナル抗体、MOG=ミエリンオリゴデンドロサイト糖たん白質、UCB7665=ロザノリキシズマブ

2. 効力を裏付ける試験

被験物質：ロザノリキシズマブ

表題	試験系	投与方法	投与量	特記すべき所見	試験番号
Affinity of UCB7665 against human and cynomolgus monkey FcRn	表面プラズモン共鳴（BIAcore）を用いたたん白質間相互作用に基づくヒト及びカニクイザルの FcRn とロザノリキシズマブとの結合親和性	N/A (*in vitro*)	ヒト及びカニクイザルの FcRn：0.3～0.6µg/mL（約 100RU 補捉できる用量） 他の動物種の FcRn：1.5µg/mL（約 200RU 補捉できる用量）	ロザノリキシズマブはヒト及びカニクイザルの FcRn に対して同程度の結合親和性を示した。pH 7.4 における K_D 値は、ヒトで 55pM、カニクイザルで 57pM、pH 6.0 における K_D 値は、ヒトで 44pM、カニクイザルで 42pM。 マウス及びラットの FcRn に対するロザノリキシズマブの親和性は、ヒト及びカニクイザルの FcRn に対する親和性の 1/1000 未満を示した。ウサギの FcRn に対する結合親和性は検出されなかった。	40001829
Cell-based affinity of UCB7665 on cells transfected with human and cynomolgus monkey FcRn	ヒト及びカニクイザルの FcRn 遺伝子導入 Madin-Darby イヌ腎臓（MDCK）II 細胞	N/A (*in vitro*)	0.002～931nM	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 K_D 値はそれぞれ約 0.4nM 及び約 1nM で、pH 6.0 及び pH 7.4 で同様の値を示した。このことは、ロザノリキシズマブはエンドソームの酸性環境下と同様に細胞表面でも FcRn と結合することを示唆している。	40001836

表題	試験系	投与方法	投与量	特記すべき所見	試験番号
Activity of UCB7665 in *in vitro* assays of human and cynomolgus monkey IgG recycling and transcytosis	ヒト及びカニクイザルの FcRn 遺伝子導入 Madin-Darby イヌ腎臓（MDCK）細胞	N/A (*in vitro*)	IgG リサイクリングアッセイ ヒト FcRn 遺伝子導入細胞：0.00032～50μg/mL、カニクイザル FcRn 遺伝子導入細胞：0.000023～100μg/mL IgG トランスサイトーシスアッセイ ヒト FcRn 遺伝子導入細胞：0.00032～10μg/mL	ヒト IgG のリサイクリング及びトランスサイトーシスをそれぞれ IC_{50} 値約 0.4nM 及び約 1.1nM で阻害した。 カニクイザル FcRn によるヒト IgG のリサイクリングを IC_{50} 値 0.98nM で阻害した。	40001834
The effect of UCB7665 on the clearance of human IgG in the human FcRn transgenic mouse	ヒト FcRn 遺伝子導入マウス	iv	試験 1：10、30、及び 100mg/kg ロザノリキシズマブ IgG4 試験 2：10、30、及び 100mg/kg ロザノリキシズマブ IgG1 10、30、及び 100mg/kg ロザノリキシズマブ IgG4	IgG1 型及び IgG4 型のロザノリキシズマブ投与によって、用量依存的で有意なヒト IgG のクリアランス促進が認められたが、血清アルブミン量に対する影響は認められなかった。	40001837

表題	試験系	投与方法	投与量	特記すべき所見	試験番号
The effect of FcRn blockade in a mouse model of idiopathic thrombocytopenic purpura	免疫性血小板減少症（ITP）マウス疾患モデル	iv	IgG クリアランス試験： 0、10、30 及び 100mg/kg ‘4470 ITP 試験 1： PBS、Day 0、2 及び 4 30mg/kg 101.4、Day 0、2 及び 4 1000mg/kg IVIg、Day 3 30mg/kg ‘4464、Day 0、2 及び 4 30mg/kg ‘4464、Day 3 及び 5 ITP 試験 2： PBS、Day 3 及び 5 100mg/kg 101.4、Day 3 及び 5 1000mg/kg IVIg、Day 3 100mg/kg ‘4464、Day 3 及び 5 30mg/kg ‘4464、Day 3 及び 5	野生型マウスにおいて抗マウス FcRn 抗体（‘4470）は用量依存的に IgG のクリアランスを促進した。 さらに、ITP マウスモデルでの FcRn 阻害は抗体の予防的投与時に血小板数の保持に有効で、抗体の治療的投与時に血小板数の回復促進に有効であった。 抗 FcRn 抗体（‘4464）100mg/kg を治療的に投与した結果、同一測定時点で IVIg 1000mg/kg と同程度の血小板数の回復が認められた。	40001842

表題	試験系	投与方法	投与量	特記すべき所見	試験番号
The effects of FcRn blockade in a mouse model of myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG)-induced encephalomyelitis and optic neuritis	MOG 誘発脳脊髄炎及び眼神経炎マウス疾患モデル	ip	30mg/kg 抗 FcRn mAb（‘4470）又は IgG アイソタイプコントロール抗体（101.4）、感作後 7、10 及び 13 日	疾病経過を通じて‘4470 はアイソタイプコントロール抗体（101.4）と比較して統計学的に有意なクリニカルスコアの低下（P=0.03[a]）を示し、脊髄組織の病理組織学的検査では脱髄及びマクロファージ浸潤の両方で統計学的に有意な減少（p<0.0001[a]）を示した。 さらに、視機性動眼反射（OKR）を用いて投与開始前及び試験終了時に測定した視覚機能は、アイソタイプコントロール抗体（101.4）と比較して‘4470 の方が保持され、その差は統計学的に有意であった（p=0.005[a]）。	40001913

N/A=該当せず、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、iv=静脈内投与、IVIg=免疫グロブリン（静注療法）、ip=腹腔内投与、ITP=免疫性血小板減少症、K_D=平衡解離定数、mAb=モノクローナル抗体、MDCK=Madin-Darby イヌ腎臓、MOG=ミエリンオリゴデンドロサイト糖たん白質、OKR=視機性動眼反射、PBS=リン酸緩衝食塩液、UCB7665=ロザノリキシズマブ

[a] マンホイットニー検定

3. 副次的薬理試験

被験物質：ロザノリキシズマブ

表題	試験系	投与方法	投与量	特記すべき所見	試験番号
A Retrogenix off-target screen of >4500 proteins expressed in cells to assess the specificity of UCB7665 for FcRn	HEK293 細胞に個々に発現されたヒト細胞膜たん白質	N/A(*in vitro*)	20µg/mL	4500 超のヒト細胞膜たん白質に対する試験結果により、ロザノリキシズマブの意図する標的である FcRn 受容体 α 鎖への結合に対する高特異性が示された。	NCD2637

FcRn=胎児性抗体フラグメント（結晶化可能領域）受容体、HEK=ヒト胎児腎臓、N/A=該当せず、UCB7665=ロザノリキシズマブ

4. 安全性薬理試験

被験物質：ロザノリキシズマブ

単独の安全性薬理試験は実施しなかった。安全性薬理試験の評価パラメータは、アジア起源のカニクイザルを用いた 4 週間及び 13 週間の反復静脈内投与及び皮下投与毒性試験内で評価した。サルにロザノリキシズマブを 150mg/kg の用量まで 3 日毎に静脈内及び皮下投与した（M.2.6.6.3.1 項及び M2.6.6.3.2 項）。

- 心電図検査（ECG）は全個体、投与前及び各投与期間中 2 週間で投与後 2 時間の時点で 4 週間及び 13 週間投与毒性試験で実施した。ECG から QRS 複合波間隔、PR 間隔、RR 間隔、QT 間隔及び心拍数のデータを得た。さらに、高解像度オシレーション法によって血圧測定を実施した。
- 全個体の呼吸数及び呼吸深度は投与前に 2 回及び試験期間中少なくとも 1 回は投与後 2 時間に測定した。
- 中枢神経系の観察（霊長類用に変更した機能観察総合評価法）は投与前に 1 回及び試験期間中少なくとも 1 回は実施した。

いずれの試験の投与量及び測定時点においても、測定した全パラメータで、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。

5. 薬力学的薬物相互作用試験

実施せず。