目次

2.6.1　緒言 2
2.6.1.1　名称 2
2.6.1.2　構造 2
2.6.1.3　エフガルチギモドの薬理作用 3
2.6.1.4　効能・効果（案） 4
2.6.1.5　用法・用量（案） 4

表目次

表 2.6.1-1　エフガルチギモドの名称等 2

図目次

図 2.6.1-1　エフガルチギモドの構造 3
図 2.6.1-2　エフガルチギモドの予測アミノ酸配列 3

2.6.1　緒言

胎児性 Fc 受容体（FcRn）阻害薬のエフガルチギモド　アルファ（遺伝子組換え）（以下、エフガルチギモド：開発コード ARGX-113）は、FcRn の天然リガンドであるヒト免疫グロブリン（Ig）G1 抗体 Fc フラグメントであり、FcRn に対する結合親和性が高くなるように設計されている。エフガルチギモドは内因性 IgG の FcRn への結合を競合阻害し、内因性 IgG のリサイクルを阻害して、IgG の分解を促進する。

エフガルチギモド点滴静注製剤（販売名：ウィフガート点滴静注 400mg）は、「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）」の効能・効果で新有効成分含有医薬品として国内で既に承認されている。

エフガルチギモド皮下注製剤は、エフガルチギモド及びボルヒアルロニダーゼ　アルファ（遺伝子組換え）（以下、rHuPH20）を含有する新医療用配合剤である。rHuPH20 は皮下投与したとき配合薬の吸収及び拡散を促進する作用を有し、rHuPH20 を配合することでより多くの液量を皮下投与することができる。rHuPH20 は、別の皮下注配合製剤の有効成分の 1 つとして既に国内で承認されている。本申請の目的は、エフガルチギモド点滴静注製剤と同じ効能又は効果の皮下注製剤の医薬品製造販売承認である。

エフガルチギモドの静脈内投与での非臨床試験結果は、ウィフガート点滴静注 400mg 申請資料で提出済みである。今回の皮下注製剤の製造販売承認申請に際して、新たにエフガルチギモド単独又はエフガルチギモドに rHuPH20 を用時混合して皮下投与したときの非臨床薬物動態、トキシコキネティクス及び毒性試験を実施した。さらに、エフガルチギモド単独で静脈内及び筋肉内投与による局所刺激性試験を実施した。皮下注製剤のデータを補足する目的で、エフガルチギモド単独で静脈内投与による免疫グロブリン大量静注との相互作用試験及び T 細胞依存性抗体産生試験を実施した。さらに、エフガルチギモドの薬理作用での種差を検討するため、エフガルチギモドの薬物動態と総 IgG 濃度との関係を記述したトランスレーショナル母集団薬物動態／薬力学モデルを開発した。

2.6.1.1　名称

エフガルチギモドに関連する名称を表 2.6.1-1 に示す。

表 2.6.1-1　エフガルチギモドの名称等

項目	名称等
医薬品国際一般名称（INN）	efgartigimod alfa
日本医薬品一般的名称（JAN）	エフガルチギモド　アルファ（遺伝子組換え）（日本名） Efgartigimod Alfa (Genetical Recombination)（英名）
企業コード	ARGX-113
化学名	ヒト組換え免疫グロブリン G1 ABDEG™ Fc フラグメント
CAS 登録番号	1821402-21-4

2.6.1.2　構造

エフガルチギモドは、遺伝子組換え IgG1 Fc ドメイン類縁体であり、ヒト IgG1 の 221～447 番目（Eu 番号）のアミノ酸残基に相当する。エフガルチギモドの 32、34、36、213 及び 214 番目のアミノ酸残基はそれぞれ Tyr、Thr、Glu、Lys 及び Phe に置換されている。エフガ

ルチギモドは、チャイニーズハムスター卵巣細胞により産生される。エフガルチギモドは、227 個のアミノ酸残基からなるサブユニット 2 個から構成される糖タンパク質（分子量：約 54000）である。

ABDEG™置換導入部位、ジスルフィド結合及び主な N 結合型糖鎖を図 2.6.1-1 に示す。

エフガルチギモド遺伝子のヌクレオチド配列の翻訳から予測したアミノ酸一次配列を図 2.6.1-2 に示す。

図 2.6.1-1　エフガルチギモドの構造

（左：ペプチド鎖、ABDEG™ 置換導入部位、分子間ジスルフィド結合及び N 結合型糖鎖結合部位、右：分子内ジスルフィド結合及び主な N 結合型糖鎖構造）

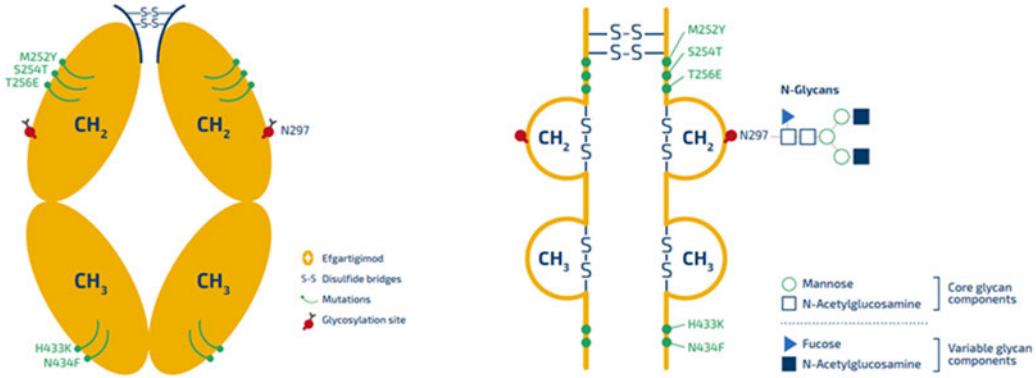


図 2.6.1-2　エフガルチギモドの予測アミノ酸配列

1	(221)	Asp-Lys-Thr-His-Thr-Cys-Pro-Pro-Cys-Pro-Ala-Pro-Glu-Leu-Leu-Gly-Gly-Pro-Ser-Val-	20	(240)
21	(241)	Phe-Leu-Phe-Pro-Pro-Lys-Pro-Lys-Asp-Thr-Leu-Tyr-Ile-Thr-Arg-Glu-Pro-Glu-Val-Thr-	40	(260)
41	(261)	Cys-Val-Val-Val-Asp-Val-Ser-His-Glu-Asp-Pro-Glu-Val-Lys-Phe-Asn-Trp-Tyr-Val-Asp-	60	(280)
61	(281)	Gly-Val-Glu-Val-His-Asn-Ala-Lys-Thr-Lys-Pro-Arg-Glu-Glu-Gln-Tyr-Asn-Ser-Thr-Tyr-	80	(300)
81	(301)	Arg-Val-Val-Ser-Val-Leu-Thr-Val-Leu-His-Gln-Asp-Trp-Leu-Asn-Gly-Lys-Glu-Tyr-Lys-	100	(320)
101	(321)	Cys-Lys-Val-Ser-Asn-Lys-Ala-Leu-Pro-Ala-Pro-Ile-Glu-Lys-Thr-Ile-Ser-Lys-Ala-Lys-	120	(340)
121	(341)	Gly-Gln-Pro-Arg-Glu-Pro-Gln-Val-Tyr-Thr-Leu-Pro-Pro-Ser-Arg-Asp-Glu-Leu-Thr-Lys-	140	(360)
141	(361)	Asn-Gln-Val-Ser-Leu-Thr-Cys-Leu-Val-Lys-Gly-Phe-Tyr-Pro-Ser-Asp-Ile-Ala-Val-Glu-	160	(380)
161	(381)	Trp-Glu-Ser-Asn-Gly-Gln-Pro-Glu-Asn-Asn-Tyr-Lys-Thr-Thr-Pro-Pro-Val-Leu-Asp-Ser-	180	(400)
181	(401)	Asp-Gly-Ser-Phe-Phe-Leu-Tyr-Ser-Lys-Leu-Thr-Val-Asp-Lys-Ser-Arg-Trp-Gln-Gln-Gly-	200	(420)
201	(421)	Asn-Val-Phe-Ser-Cys-Ser-Val-Met-His-Glu-Ala-Leu-Lys-Phe-His-Tyr-Thr-Gln-Lys-Ser-	220	(440)
221	(441)	Leu-Ser-Leu-Ser-Pro-Gly-Lys*	227	(447)

太字下線：ABDEG™ 置換部位
Asn　：N 結合型糖鎖結合部位
Cys　：分子間ジスルフィド結合部位
　　：分子内ジスルフィド結合
*　：多くの場合 Lys は欠損している

2.6.1.3　エフガルチギモドの薬理作用

エフガルチギモドは、FcRn の天然のリガンドであるヒト IgG1 抗体 Fc フラグメントで、一連の修飾（ABDEG™変異）により、pH6.0 及び pH7.4 の両条件下で FcRn に対する結合親

和性が高くなるように設計された FcRn 阻害薬である。エフガルチギモドは内因性 IgG の FcRn への結合を競合阻害し、内因性 IgG のリサイクルを阻害して、IgG 分解を促進する。

総 IgG 及び全ての IgG サブタイプを選択的に減少させるため、FcRn での IgG のリサイクルを阻害することは、IgG 自己抗体による自己免疫疾患に対する合理的な治療戦略である。

2.6.1.4　効能・効果（案）

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）

2.6.1.5　用法・用量（案）

通常、成人には本剤 1 回 5.6mL（エフガルチギモド　アルファ（遺伝子組換え）として 1,008mg 及びボルヒアルロニダーゼ　アルファ（遺伝子組換え）として 11,200 単位）を、1 週間間隔で 4 回皮下投与する。これを 1 サイクルとして、投与を繰り返す。

目次

2.6.2　薬理試験の概要文 4
2.6.2.1　まとめ 4
2.6.2.1.1　エフガルチギモド 4
2.6.2.1.2　rHuPH20 5
2.6.2.2　効力を裏付ける試験 7
2.6.2.2.1　エフガルチギモド 7
2.6.2.2.1.1　カニクイザルでの PK/PD 試験 7
2.6.2.2.2　rHuPH20 の一過性の局所拡散促進作用 8
2.6.2.2.2.1　ヌードマウスにおける rHuPH20 の皮内投与後の拡散促進作用及び皮膚再構築 8
2.6.2.2.2.2　ヌードマウスにおける rHuPH20 の皮内投与による遠位部での拡散促進作用 9
2.6.2.2.2.3　ヌードマウスにおける rHuPH20 の拡散促進作用に対する抗 rHuPH20 抗体の影響 11
2.6.2.2.2.4　Sprague-Dawley ラットにおける rHuPH20 の皮内投与後の投与容量及び緩衝液組成に関連した局所皮膚反応の評価 13
2.6.2.2.2.5　ユカタン系ミニブタにおける hIgG 皮下投与後の皮膚変化の評価 14
2.6.2.2.2.6　ユカタン系ミニブタにおける hIgG 皮下持続投与後のレーザードップラー血流測定による硬結の評価 16
2.6.2.2.2.7　ユカタン系ミニブタにおける hIgG と rHuPH20 の同時皮下持続投与後の投与部位の評価 19
2.6.2.3　副次的薬理試験 21
2.6.2.3.1　エフガルチギモド 21
2.6.2.3.2　rHuPH20 21
2.6.2.4　安全性薬理試験 21
2.6.2.4.1　エフガルチギモド 21
2.6.2.4.2　rHuPH20 21
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験 22
2.6.2.5.1　エフガルチギモド 22
2.6.2.5.2　rHuPH20 26
2.6.2.6　考察及び結論 26
2.6.2.6.1　エフガルチギモド 26
2.6.2.6.1.1　カニクイザルでの PK/PD 試験 26
2.6.2.6.1.2　薬力学的薬物相互作用試験 26
2.6.2.6.2　rHuPH20 26
2.6.2.7　参考文献 28

表目次

表 2.6.2-1　新たに実施したエフガルチギモドの薬理試験の概要 5
表 2.6.2-2　rHuPH20 の薬理試験の概要 6

表 2.6.2-3　カニクイザルにエフガルチギモドを 20 mg/kg の用量で単回静脈内又は皮下投与したときの血清中総 IgG 濃度の PD パラメータ 7
表 2.6.2-4　試験デザイン（R09109 試験） 11
表 2.6.2-5　平均色素拡散面積 12
表 2.6.2-6　試験デザイン（R09090 試験） 13
表 2.6.2-7　持続投与時の注入圧（11018 試験） 14
表 2.6.2-8　皮膚粘弾性（柔軟性）（11018 試験） 14
表 2.6.2-9　皮膚表面温度（11018 試験） 15
表 2.6.2-10　腫脹の容積及び面積（11018 試験） 15
表 2.6.2-11　投与部位の病理組織学的変化の重篤度の比較（11018 試験） 15
表 2.6.2-12　持続投与中の平均注入圧（11028 試験） 18
表 2.6.2-13　皮膚表面温度（11028 試験） 18
表 2.6.2-14　腫脹の容積及び面積（11028 試験） 18
表 2.6.2-15　投与部位の病理組織学的所見の重篤度の比較（11028 試験） 19

図目次

図 2.6.2-1　色素投与後 5 分における色素拡散及び皮膚再構築 8
図 2.6.2-2　色素投与後 20 分における色素拡散及び皮膚再構築 9
図 2.6.2-3　色素投与後 5 分における色素拡散面積 10
図 2.6.2-4　色素投与後 15 分における色素拡散面積 10
図 2.6.2-5　平均色素拡散面積 12
図 2.6.2-6　持続投与中の皮膚血液潅流量（flux）のベースラインからの変化率（11028 試験） 17
図 2.6.2-7　持続投与中の最小血液潅流量に相当する flux 値の平均発現数（ピクセル）（11028 試験） 17
図 2.6.2-8　持続投与中の注入圧（11125 試験） 19
図 2.6.2-9　持続投与後の腫脹容積（11125 試験） 20
図 2.6.2-10　持続投与後の皮膚粘弾性の変化（11125 試験） 20
図 2.6.2-11　持続投与中の皮膚血流量のベースラインからの変化率（11125 試験） 21
図 2.6.2-12　Tg32 マウスに IVIg 投与後 3 日にエフガルチギモドを投与したときの血漿中エフガルチギモド濃度 23
図 2.6.2-13　Tg32 マウスに IVIg 投与 3 日後にエフガルチギモド又は野生型 Fc アイソタイプ対照を投与したときのマウス血漿中 hIgG 濃度 24
図 2.6.2-14　Tg32 マウス血漿中 hIgG の平均半減期 25

略語及び用語の定義

略語	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
anti-TT	anti-tetanus toxoid	抗破傷風トキソイド
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着法
Fc	fragment, crystallized	–
FcRn	neonatal Fc receptor	胎児性 Fc 受容体
HA	hyaluronic acid/hyaluronan	ヒアルロン酸
hFcRn	human FcRn	ヒト FcRn
hIgG	human immunoglobulin G	ヒト IgG
HSA	human serum albumin	ヒト血清アルブミン
HuLys11	anti-human lysozyme IgG1 antibody	hIgG1 のトレーサー抗体
Ig	immunoglobulin	免疫グロブリン
IVIg	intravenous immunoglobulin	免疫グロブリン大量静注
mFcRn	murine neonatal Fc receptor	マウス FcRn
mIgG	murine IgG	マウス IgG
rHuPH20	recombinant human hyaluronidase PH20 enzyme	ボルヒアルロニダーゼ　アルファ（遺伝子組換え）
PD	pharmacodynamic(s)	薬力学
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
SEM	standard error of the mean	標準誤差
$t_{1/2}$	half-life	半減期
TDAR	T-cell dependent antibody response	T 細胞依存性抗体産生
Tg32	human FcRn transgenic (mice)	hFcRn トランスジェニック（マウス）

2.6.2　薬理試験の概要文

2.6.2.1　まとめ

FcRn阻害薬のエフガルチギモドアルファ（遺伝子組換え）（以下、エフガルチギモド：開発コード ARGX-113）は、FcRn の天然リガンドであるヒト IgG1 抗体 Fc フラグメントであり、FcRn に対する結合親和性が高くなるように設計されている。エフガルチギモドは内因性 IgG の FcRn への結合を競合阻害し、内因性 IgG のリサイクルを阻害して、IgG の分解を促進する。

エフガルチギモド点滴静注製剤（販売名：ウィフガート点滴静注 400mg）は、静脈内投与で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）の効能・効果で新有効成分含有医薬品として国内で既に承認されており、in vitro 薬理試験及び静脈内投与での非臨床薬理試験結果については、ウィフガート点滴静注 400mg 申請資料で提出済みである。

本申請の目的は、皮下投与での全身型重症筋無力症を適応としたエフガルチギモドの医薬品製造販売承認である。エフガルチギモド皮下注製剤はエフガルチギモド及びボルヒアルロニダーゼ　アルファ（遺伝子組換え）（以下、rHuPH20）を含有する新医療用配合剤である。rHuPH20 は皮下投与したとき配合薬の吸収及び拡散を促進する作用を有し、製剤に rHuPH20 を配合することでより多くの液量を皮下投与することができる。rHuPH20 は、別の皮下注配合製剤の有効成分の 1 つとして既に国内で承認されている。

2.6.2.1.1　エフガルチギモド

本申請に際して、エフガルチギモドの皮下投与に関する薬理試験に加え、エフガルチギモドの薬効を支持する静脈内投与試験を実施した。なお、rHuPH20 はエフガルチギモドの薬理作用に影響を与えないと考えられたため、エフガルチギモド単独で非臨床薬理試験を実施した。本申請で追加する非臨床薬理試験を以下に示す。

- カニクイザルにエフガルチギモドを単回皮下投与したときの PK/PD 試験（ARGX-NC-092）：PK の詳細は、2.6.4.3.1.1 に示す。
- hFcRn トランスジェニックマウス（Tg32 マウス）を用いた IVIg とエフガルチギモドを併用したときの PK/PD 試験［試験 3（121510_IVFC_Phase 3）］。試験 1 及び試験 2 の詳細は、ウィフガート点滴静注 400mg 申請資料として提出済みである。
- カニクイザルを用いた 11 週間静脈内投与による T 細胞依存性抗体産生（TDAR）試験を実施した。試験の詳細は、2.6.6.3.1.3（[redacted] 8459761）に示す。

エフガルチギモドの非臨床薬理試験の概要は表 2.6.2-1 に、詳細は 2.6.3 に示す。

表 2.6.2-1　新たに実施したエフガルチギモドの薬理試験の概要

Type of study	Species/ strain	Dose (mg/kg)	Dosing regimen	GLP	Study number	Description PD
Primary pharmacodynamics						
Single-dose PK/PD, compare material from 2 producer clones. Single-dose PK/PD after IV and SC	Monkey/ cynomolgus	20	IV (bolus), single dose or SC injection, 28 days follow-up	No	ARGX-NC-092	2.6.2.2.1.1
Evaluation of TDAR response 11 weeks + 9 weeks recovery	Monkey/ cynomolgus	0, 100	IV slow bolus q7d for 11 weeks	Yes	[redacted] 8459761	2.6.6.3.1.3
Secondary pharmacodynamics						
No additional studies compared to gMG IV submission						
Safety pharmacology						
No additional studies compared to gMG IV submission						
Pharmacodynamic drug interactions						
Exploratory PK/PD when combined with IVIg	Mouse/ Tg32	20	IV (bolus), single dose, 14 days follow-up	No	121510_IVFC_Phase3	2.6.2.5.1

GLP=Good Laboratory Practice; IV=intravenous; IVIg=intravenous immunoglobin; PD=pharmacodynamics; PK=pharmacokinetics; q7d=once weekly; SC=subcutaneous; Tg32=human FcRn transgenic (mice); TDAR=T-cell dependent antibody response.

2.6.2.1.2　rHuPH20

マウス、ラット及びブタを用いた薬理試験の結果から、rHuPH20 は局所において一過性に拡散を促進する酵素であることが示された。rHuPH20 はグリコシル化一本鎖タンパク質であり、ヒアルロン酸（HA）を基質とする。HA は非分岐直鎖グリコサミノグリカンであり、細胞外マトリックスのゲル状構成成分の 1 つである。rHuPH20 は、投与部位の HA を脱重合し、細胞外マトリックスの粘性を一過性に低下させることにより、大容量の液体の浸透を増加し、皮下投与する薬剤の拡散及び吸収を促進する（Bookbinder, 2006）。

HA の構造は動物種間で共通しており、rHuPH20 はマウス、ラット及びブタで薬理活性を示す（Hascall, 2017）。NCr nu/nu マウス及び Sprague Dawley ラットでは、皮内の構造がヒトの皮下スペースと類似しており、皮内投与は色素拡散を可視化しやすいことから、投与経路として皮内投与を選択した。トレーサー色素の拡散を用いた手法は、マウス皮膚でのヒアルロニダーゼの薬理活性の評価法として確立されている（Frost, 2007）。また、ユカタン系ミ

ニブタは、皮膚がヒトと解剖学的に類似しており、臨床相当容量の治療用タンパク質を投与可能な十分な体重及び大きさであることから、皮下投与試験の動物種として選択した（Kang, 2013）。

これらの試験では、皮内でのトリパンブルー色素拡散の評価により、rHuPH20 の投与は局所において一過性に拡散を促進させることが示された。投与部位の組織に rHuPH20 の皮内又は皮下投与による変化はみられなかった。

- マウスに rHuPH20 を皮内投与したところ、用量に応じた色素拡散面積の増大が溶媒対照群と比較して認められた。rHuPH20（4 U）の皮内投与による拡散促進作用は投与 6 時間後まで認められたが、投与 18 時間には皮下組織の拡散バリアの再構築がみられた。
- マウスに rHuPH20（0.04～1200 U）を皮内投与したところ、対側に投与した色素の拡散に影響はみられなかったことから、rHuPH20 の拡散促進作用は局所性であることが示された。
- rHuPH20（80 U）の皮内における拡散促進作用は、事前に静脈内投与した抗 rHuPH20 中和抗体による影響を受けなかった。
- ラットに rHuPH20 を皮内投与後、投与部位の病理組織学的検査を実施したところ、rHuPH20 に関連した局所皮膚反応は認められなかった。
- ブタを用いて、rHuPH20（2240～100000 U）の存在下又は非存在下で大量のヒト免疫グロブリン G（hIgG；50～300 mL）を皮下投与したときの投与部位の皮膚反応を評価した。rHuPH20 の皮下投与により、投与部位の腫脹の軽減、拡散容積の増大、皮膚の柔軟性及び血流量の維持が認められ、大量の hIgG 皮下投与に関連した硬結の発現頻度が低下した。これらの試験の結果から、rHuPH20 投与により、大量の hIgG 投与に伴う投与部位の皮膚の変化及び組織への有害作用が減少することが示された。
- rHuPH20 の薬理試験の概要を表 2.6.2-2 及び 2.6.3 に示す。

表 2.6.2-2　rHuPH20 の薬理試験の概要

Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Report**
Primary Pharmacodynamics [a]			
Dye dispersion/dermal reconstitution	Mouse/NCr nu/nu	ID	R08103
Dye dispersion	Mouse/NCr nu/nu	ID	R09022
Dye dispersion	Mouse/NCr nu/nu	ID	R09109
Local skin reaction assessment	Rat/Sprague Dawley	ID	R09090
Induration assessment	Pig/Yucatan Mini	SC	11018
Induration assessment	Pig/Yucatan Mini	SC	11028

Type of Study	Test System	Method of Administration	Report
Local infusion site evaluation	Pig/Yucatan Mini	SC	11125
Secondary Pharmacodynamics [a]			
Secondary pharmacodynamics studies were not conducted.			
Safety Pharmacology			
Safety pharmacology was assessed as part of the pivotal repeat-dose toxicity studies. A summary of the safety pharmacology findings is provided in the toxicology written summaries (Section 2.6.6).			

Abbreviations: ID = intradermal; SC = subcutaneous.
[a] Primary pharmacodynamics studies were non-GLP.

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1　エフガルチギモド

2.6.2.2.1.1　カニクイザルでの PK/PD 試験

添付資料番号：4.2.2.2-1（ARGX-NC-092）

カニクイザルにエフガルチギモド単独で 20 mg/kg の用量で単回静脈内又は皮下投与し、PK 及び PD を評価した。PK 試験結果は 2.6.4.3.1.1 に示す。

カニクイザルにエフガルチギモド単独で 20 mg/kg の用量で単回皮下投与したとき、単回静脈内投与したときと同様に血清中総 IgG 濃度の減少がみられた。投与前の血清中総 IgG 濃度を 100%としたとき、静脈内及び皮下投与したときの血清中総 IgG 濃度の最小値の平均はそれぞれ 42.6 及び 52.0%であった。単回静脈内及び皮下投与ともに、エフガルチギモドを投与後 5～7 日に PD 効果が最大となった（表 2.6.2-3）、初回申請時に同じ用量で実施した試験［ウィフガート点滴静注 400mg 申請資料 CTD 4.2.1.1-6（ARGX-NC-078）］結果と同様であった。

表 2.6.2-3　カニクイザルにエフガルチギモドを 20 mg/kg の用量で単回静脈内又は皮下投与したときの血清中総 IgG 濃度の PD パラメータ

Group	Administration	Animal	C_{min} (% to predose)	Average C_{min} (% to predose)	T_{min} (days)
2	Efgartigimod 20 mg/kg IV	C4	46.9	42.6 ± 4.9	7
		C5	37.2		5
		C6	43.8		7
3	Efgartigimod 20 mg/kg SC	C7	37.6	52.0 ± 12.6	5
		C8	57.2		7
		C9	61.2		7

Source: ARGX-NC-092
C_{min}=minimum serum concentration of total IgG levels; IV=intravenous; SC=subcutaneous; T_{min}=time to reach C_{min}

2.6.2.2.2　rHuPH20 の一過性の局所拡散促進作用

2.6.2.2.2.1　ヌードマウスにおける rHuPH20 の皮内投与後の拡散促進作用及び皮膚再構築

添付資料番号：4.2.1.1-1（R08103）

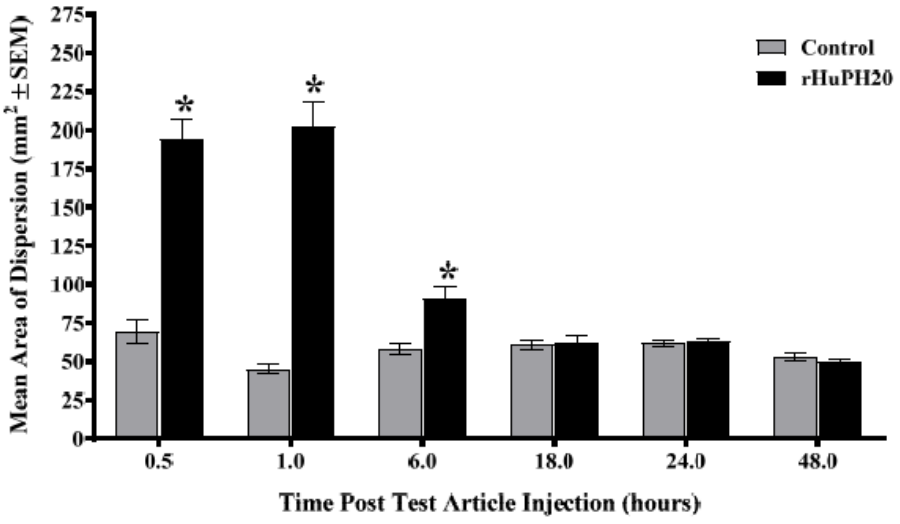
本試験では、rHuPH20 投与後の rHuPH20 の一過性の作用及び皮膚再構築を評価した。

NCr nu/nu マウスに rHuPH20 100 U/mL（4 U）又は溶媒 0.04 mL を左右両側に皮内投与した後、0.5、1、6、18、24 及び 48 時間に 0.4%トリパンブルー色素液 0.04 mL を同部位に皮内投与した。色素投与後 5 及び 20 分に色素の拡散面積を測定し、各時点での溶媒対照群と rHuPH20 投与群との統計学的有意差（$p < 0.05$）を判定するため、t 検定を実施した。

色素投与後 5 分に測定したところ、rHuPH20 投与後 0.5、1 及び 6 時間に色素投与した rHuPH20 投与群の色素拡散面積は各時点の溶媒対照群と比較して有意に増加した（図 2.6.2-1）。色素投与後 20 分に測定したところ、rHuPH20 投与後 0.5 及び 1 時間の rHuPH20 投与群の色素拡散面積は溶媒対照群と比較して有意に増加した（図 2.6.2-2）。色素投与後 5 分及び 20 分のいずれの測定においても、rHuPH20 投与後 18、24 及び 48 時間の色素拡散面積に溶媒対照群と rHuPH20 投与群間で差は認められなかった。

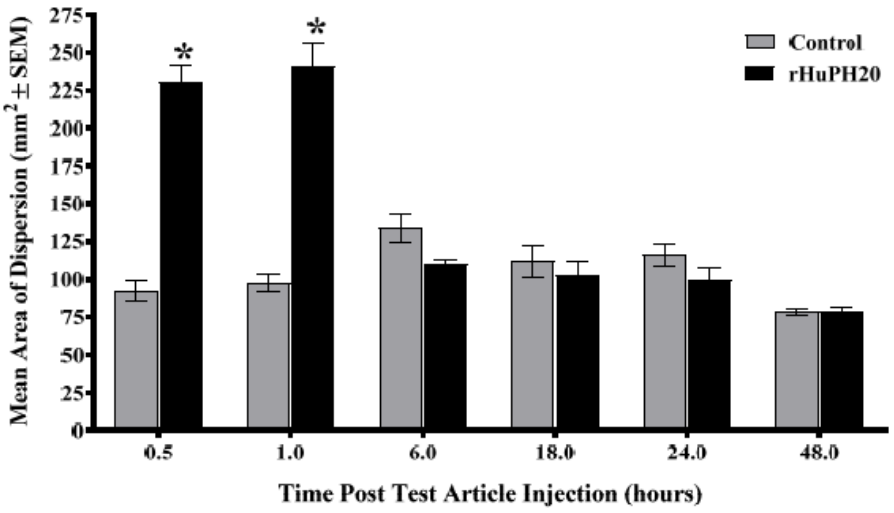
以上、rHuPH20 による局所での拡散促進作用は投与後 6 時間まで認められ、rHuPH20 投与後 18 時間以内に投与部位の皮下組織が再構築すると考えられた。

図 2.6.2-1　色素投与後 5 分における色素拡散及び皮膚再構築



* $p < 0.05$, Control vs. rHuPH20 (t-test)

図 2.6.2-2　色素投与後 20 分における色素拡散及び皮膚再構築



*$p < 0.05$, Control vs. rHuPH20 (t-test)

2.6.2.2.2.2　ヌードマウスにおける rHuPH20 の皮内投与による遠位部での拡散促進作用

添付資料番号：4.2.1.1-2（R09022）

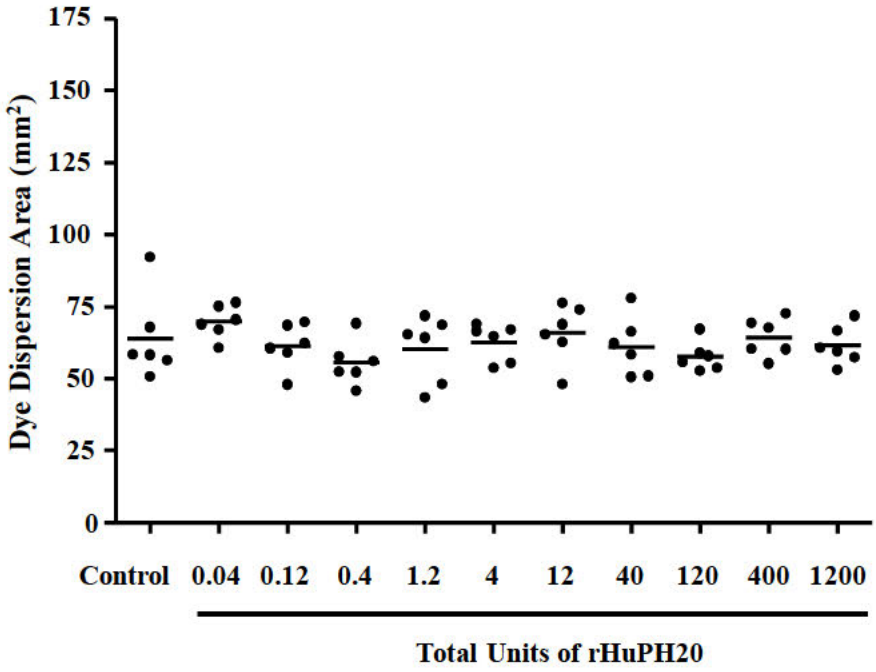
本試験では、マウス色素拡散モデルに rHuPH20 を皮内投与した時の遠位部での拡散促進作用を評価した。NCr nu/nu マウスに、溶媒（10 mmol/L ヒスチジン、130 mmol/L NaCl 及び 1 mg/mL ヒト血清アルブミン[HSA]）又は rHuPH20 1～30000 U/mL（0.04～1200 U）を皮内投与し、投与後 45 分に 0.4%トリパンブルー色素液を対側に皮内投与した。色素投与後 5 分及び 15 分に色素拡散面積を測定し、各群間の統計学的有意差（p <0.05）を調べるため、分散分析を実施した。

色素投与後 5 分に色素拡散面積を測定したところ、溶媒対照群の平均値は 63.89 mm^2 であり、rHuPH20 の 10 用量群の色素拡散面積に差はみられず（平均値：55.54～69.73 mm^2）、色素拡散面積の用量依存的な増加は認められなかった（図 2.6.2-3）。各投与群間で統計学的有意差はみられなかった。

色素投与後 15 分に色素拡散面積を測定したところ、溶媒対照群の平均値は 73.21 mm^2 であり、rHuPH20 投与群の平均値は 61.64～76.15 mm^2 であった（図 2.6.2-4）。溶媒対照群と rHuPH20 投与群間で統計学的有意差はみられなかった。

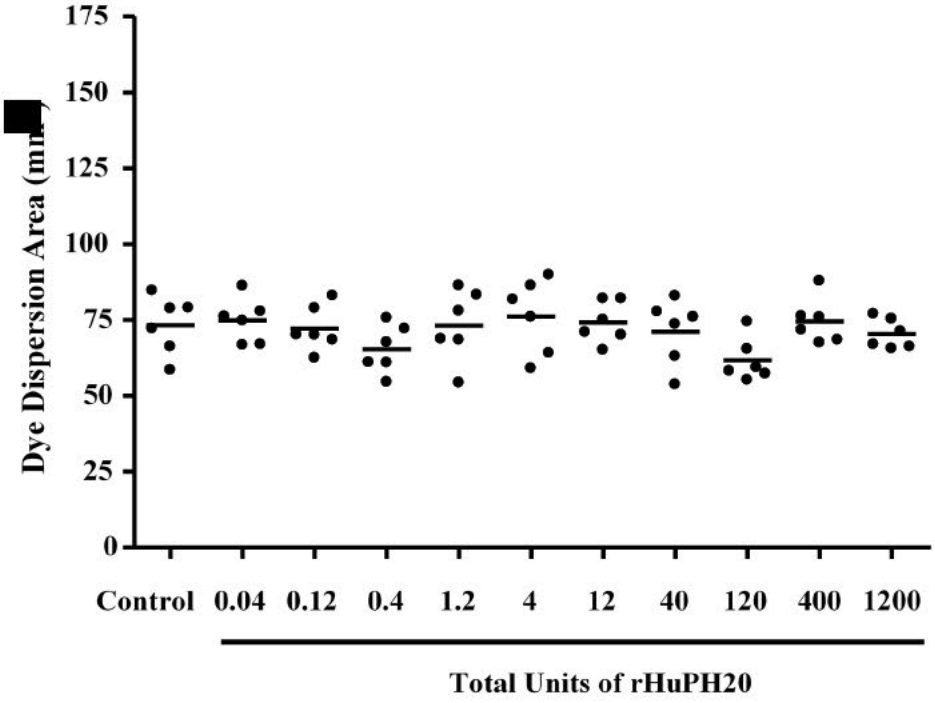
以上、rHuPH20 の皮内投与では、溶媒対照群と比較して、対側に投与したトリパンブルーの色素拡散に影響がみられなかったことから、rHuPH20 の皮膚における拡散促進作用は局所性であることが示された。

図 2.6.2-3　色素投与後 5 分における色素拡散面積



(Bar denotes the mean; p > 0.05 for all test agent groups when compared with control)

図 2.6.2-4　色素投与後 15 分における色素拡散面積



(Bar denotes the mean; p > 0.05 for all test agent groups when compared with control)

2.6.2.2.2.3　ヌードマウスにおける rHuPH20 の拡散促進作用に対する抗 rHuPH20 抗体の影響

添付資料番号：4.2.1.1-3（R09109）

本試験では、NCr nu/nu マウスを用いたトリパンブルー色素拡散測定により、rHuPH20 の局所拡散促進作用に対する血中抗 rHuPH20 抗体の影響を評価した。

本試験デザインを表 2.6.2-4 に示す。マウスに、ウサギ抗 rHuPH20 抗体 0、1、10 又は 100 µg を尾静脈内投与し、24 時間後に rHuPH20 2000 U/mL（80 U）又は溶媒（PBS）を 0.4%トリパンブルー色素と混合して皮内投与した。rHuPH20 に対する中和抗体陽性対照群（コホート 1）には、あらかじめ rHuPH20 2000 U/mL（80 U）及び色素を混合したウサギ抗 rHuPH20 抗体 37 µg を皮内投与した。色素投与後 5、15 及び 30 分に平均色素拡散面積を測定し、各群間の統計学的有意差（$p < 0.05$）を調べるため、分散分析を実施した。

表 2.6.2-4　試験デザイン（R09109 試験）

Cohort	Dose of Rabbit α-rHuPH20 Antibody (µg)	Route of Administration of Antibody	Test or Control Article	Route of Administration of Test or Control Article	Dose of rHuPH20 (U)
1	37	ID	rHuPH20	ID	80
2	0	IV	Vehicle		N/A
3	100				
4	0		rHuPH20		80
5	1				
6	10				
7	100				

色素単独投与群（コホート 2）及びウサギ抗 rHuPH20 抗体 100 µg 前処置群（rHuPH20 投与なし；コホート 3）では、色素投与後 5 分の色素拡散面積がそれぞれ 40.20 及び 40.05 mm^2 と最も小さく、投与後 30 分の平均色素拡散面積はそれぞれ 68.62 及び 56.89 mm^2 であった（表 2.6.2-5 及び図 2.6.2-5）。rHuPH20 に対する中和抗体陽性対照群（コホート 1）では、色素投与後 5 分及び 30 分の平均色素拡散面積がそれぞれ 41.67 及び 55.89 mm^2 であった。一方、rHuPH20 単独投与群（コホート 4）では、投与後 5 分及び 30 分の平均色素拡散面積がそれぞれ 73.44 及び 114.11 mm^2 と最も大きかった。ウサギ抗 rHuPH20 抗体 1、10 又は 100 µg 前処置群（コホート 5、6 又は 7）では、rHuPH20 の色素拡散促進作用は同様で、色素投与後 5 分の拡散面積はそれぞれ 64.80、70.15、67.25 mm であり、色素投与後 30 分にはそれぞれ 99.47、103.96、91.51 mm^2 に増加した。このように、マウスでは、事前に静脈内投与したウサギ抗 rHuPH20 抗体による色素拡散面積への用量依存的な影響は認められなかった。

分散分析の結果、rHuPH20 に対する中和抗体陽性対照群（コホート 1）、色素単独投与群（コホート 2）及び抗 rHuPH20 抗体 100 µg＋色素投与群（コホート 3）の間に有意差は認められなかった。また、ウサギ抗 rHuPH20 抗体 0、1、10 又は 100 µg を静脈内投与後、rHuPH20 80 U を皮内投与した群（それぞれコホート 4、5、6 又は 7）間では、色素拡散面積に有意差は認められなかった（$p > 0.05$）。対照群（コホート 1～3）と投与群（コホート 4～7）を比較したところ、試験全体を通して色素拡散面積に有意差が認められた。

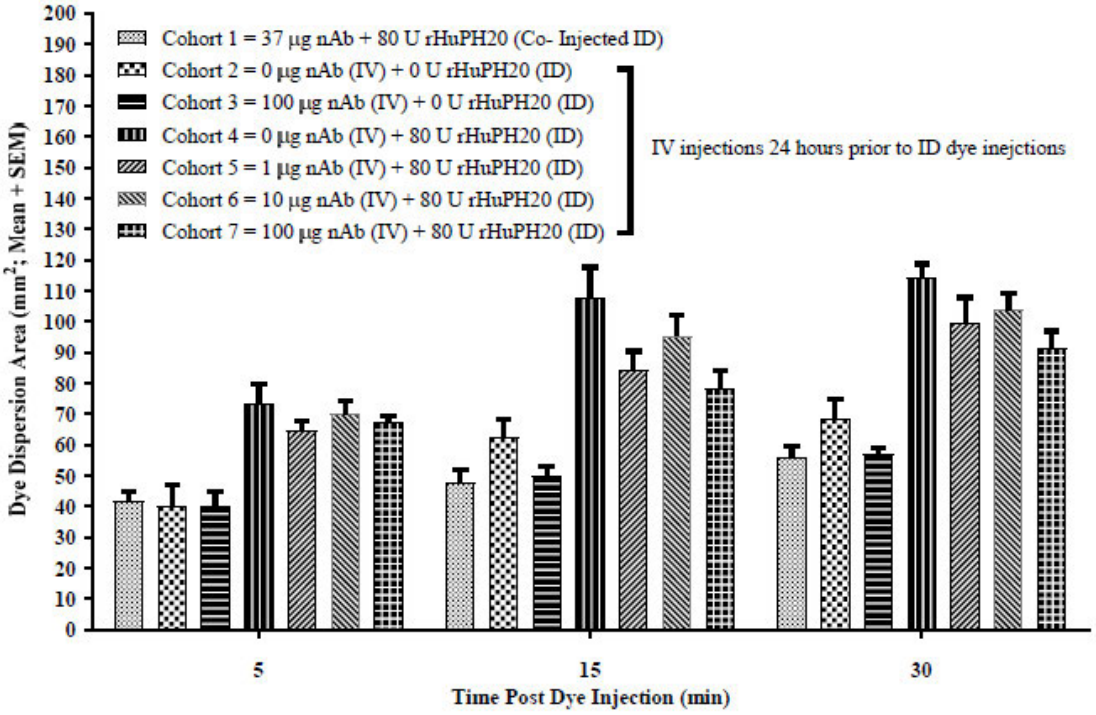
以上、NCr nu/nu マウスでは、rHuPH20 に対する中和抗体を事前に静脈内投与しても、rHuPH20 の拡散促進作用に影響は認められなかった。

表 2.6.2-5　平均色素拡散面積

Cohort	Description	5 Min Mean Area (mm^2 ± SEM)	15 Min Mean Area (mm^2 ± SEM)	30 Min Mean Area (mm^2 ± SEM)
1	37 µg nAb + 80 U rHuPH20 (Co-injected ID)	41.67 ± 3.14	47.46 ± 4.52	55.89 ± 3.78
2	0 µg nAb (IV) + 0 U rHuPH20 (ID)	40.20 ± 6.79	62.42 ± 5.85	68.62 ± 6.07
3	100 µg nAb (IV) + 0 U rHuPH20 (ID)	40.05 ± 4.81	49.97 ± 3.18	56.89 ± 2.28
4*	0 µg nAb (IV) + 80 U rHuPH20 (ID)	73.44 ± 6.38	107.81 ± 9.86	114.11 ± 4.55
5*	1 µg nAb (IV) + 80 U rHuPH20 (ID)	64.80 ± 3.08	84.32 ± 5.96	99.47 ± 8.26
6*	10 µg nAb (IV) + 80 U rHuPH20 (ID)	70.15 ± 4.13	95.32 ± 6.71	103.96 ± 5.25
7*	100 µg nAb (IV) + 80 U rHuPH20 (ID)	67.25 ± 2.15	78.22 ± 5.69	91.51 ± 5.36

(IV injections were administered 24 hours prior to ID dye administration; Cohorts 2-7)
(* $p < 0.05$; experimental groups (Cohorts 4-7) compared to control groups (Cohorts 1-3))

図 2.6.2-5　平均色素拡散面積



2.6.2.2.2.4　Sprague-Dawley ラットにおける rHuPH20 の皮内投与後の投与容量及び緩衝液組成に関連した局所皮膚反応の評価

添付資料番号：4.2.1.1-4（R09090）

本試験では、Sprague-Dawley ラットに rHuPH20 を皮内投与した時の局所皮膚反応性を評価した。ラットに、緩衝液（10 mmol/L ヒスチジン＋130 mmol/L NaCl）を、HSA の非存在下（緩衝液 1）又は存在下（1 mg/mL；緩衝液 2）並びに rHuPH20（10000 U/mL）の非存在下／存在下で、それぞれ 0.05 又は 0.15 mL の容量で投与した。投与後 48 又は 120 時間にラットを剖検し、投与部位の皮膚の病理組織学的検査を実施し、局所皮膚反応を評価した。本試験デザインを表 2.6.2-6 に示す。

表 2.6.2-6　試験デザイン（R09090 試験）

Group #	Test Article	[HSA] (mg/mL)	Injection Volume (mL)	[rHuPH20] (U/mL)
1	Buffer 1	0	0.05	0
2	Buffer 1 + rHuPH20			10000
3	Buffer 1		0.15	0
4	Buffer 1 + rHuPH20			10000
5	Buffer 2	1.0	0.05	0
6	Buffer 2 + rHuPH20			10000
7	Buffer 2		0.15	0
8	Buffer 2 + rHuPH20			10000

投与後 48 時間では、ヒスチジン緩衝液、HSA、rHuPH20 及び投与量に起因した病理組織学的変化は認められなかった。ヒスチジン緩衝液単独の 0.05 mL 群（第 1 群）又は 0.15 mL 群（第 3 群）で、散発的かつ軽微な表皮の潰瘍又はびらんが認められたが、近傍の表皮の上皮細胞過形成を伴う真皮の炎症が注射針の跡と一致していたことから、いずれも皮内投与の手技に関連した変化と考えられた。HSA を含む緩衝液の 0.05 又は 0.15 mL 群（それぞれ第 5 群又は第 7 群）並びに HSA 及び rHuPH20 を含む緩衝液 0.15 mL 群（第 8 群）では、表皮の潰瘍及びびらんを伴わない白血球の混在した滲出性炎症が認められたが、いずれも投与手技によるものと考えられた。

投与後 120 時間においても、ヒスチジン緩衝液、HSA、rHuPH20 及び投与量に起因した病理組織学的変化は認められなかった。ヒスチジン緩衝液単独の 0.15 mL 群（第 3 群）、HSA を含む緩衝液の 0.05 mL 群（第 5 群）並びに HSA 及び rHuPH20 を含む緩衝液 0.15 mL 群（第 8 群）で、散発的かつ軽微な真皮の限局的な炎症が認められたが、発現頻度は投与後 48 時間よりも低かった。いずれも投与手技によるものと考えられた。

以上、投与部位に、ヒスチジン緩衝液、HSA、rHuPH20 及び投与容量に起因する変化は認められなかった。

2.6.2.2.2.5　ユカタン系ミニブタにおける hIgG 皮下投与後の皮膚変化の評価

添付資料番号：4.2.1.1-5（11018）

本試験では、ユカタン系ミニブタに 14 mL の溶媒又は rHuPH20 160 U/mL（計 2240 U）を 2 mL/min の速度で皮下投与した後、10% hIgG 300 mL（計 30 g）を 5 mL/分の速度で皮下持続投与したときの投与部位の皮膚変化への影響を評価した。投与部位の腫脹及び硬結の程度並びに局所の皮膚変化を、皮下投与時の注入圧（インライン圧力トランスデューサーを用いて連続測定）、皮膚粘弾性（Cutometer を用いて投与前後の皮膚の柔軟性を測定）、皮膚表面温度（携帯型赤外線センサーを用いて hIgG 投与前、投与中及び投与後に測定）、腫脹の容積及び面積（デジタルキャリパーを用いて hIgG 投与後に測定）並びに投与部位の病理組織学的検査により評価した（Kang, 2013）。

溶媒又は rHuPH20 の前投与時の平均注入圧はそれぞれ 33.5 及び 29.2 mmHg であった（表 2.6.2-7）。対応のある t 検定を実施した結果、投与群間で有意差（$p < 0.05$）が認められた。溶媒又は rHuPH20 を前投与した後の hIgG 投与中の平均注入圧は、それぞれ 202.6 及び 123.2 mmHg であった（$p < 0.05$）。全持続投与期間（溶媒又は rHuPH20 の前投与＋hIgG 投与）の平均注入圧は、rHuPH20 の前投与により 39%低下した（$p < 0.05$）。

表 2.6.2-7　持続投与時の注入圧（11018 試験）

	Control (mmHg ± SEM)	rHuPH20 (mmHg ± SEM)
Mean Pressure during Initial 14 mL Control and rHuPH20 Infusion	33.5 ± 0.3	29.2 ± 0.1
Mean Pressure during 300 mL IgG Infusion	202.6 ± 0.5	123.2 ± 0.1
Overall Mean Pressure (14 mL of Control/rHuPH20 + 300 mL IgG)	184.9 ± 0.9	113.3 ± 0.5

投与部位の皮膚粘弾性は、Cutometer を用いた柔軟性又は伸長性の測定により評価した（Kang, 2013）。針を留置する前にベースラインの粘弾性を測定し、対応のある t 検定により、溶媒対照群と rHuPH20 投与群間で投与前の皮膚粘弾性に統計学的有意差がないことを確認した。

hIgG 持続投与終了後、投与部位の皮膚の柔軟性の変化を測定したところ、溶媒対照群の平均伸長は 1.2 mm で、柔軟性が 0.3 mm（12.4%）減少した。対照的に、rHuPH20 投与群の平均伸長は 1.6 mm であり、投与部位の柔軟性が 0.2 mm（24.3%）増加した（表 2.6.2-8）。対応のある t 検定により、溶媒対照群と rHuPH20 投与群の投与部位の粘弾性に統計学的有意差（$p < 0.05$）が認められ、溶媒と比較して、rHuPH20 は大量の hIgG 皮下持続投与後も投与局所の皮膚の柔軟性を維持することが示唆された。

表 2.6.2-8　皮膚粘弾性（柔軟性）（11018 試験）

	Control (mm ± SEM)	rHuPH20 (mm ± SEM)
Mean Baseline Extension	1.5 ± 0.2	1.4 ± 0.2
Mean Post-Infusion Extension	1.2 ± 0.1	1.6 ± 0.1
Mean Change in Extension (Baseline to Post-Infusion)	-0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.2

投与部位の皮膚表面温度を、溶媒対照群と rHuPH20 投与群間の差で評価した。hIgG 持続投与前のベースラインの平均温度は、溶媒対照群と rHuPH20 投与群でそれぞれ 34.0 及び 34.1°C であり（表 2.6.2-9）、対応のある t 検定により投与群間で差がないことを確認した。

hIgG 持続投与開始後 30 分及び hIgG 持続投与完了直後（開始後 60 分）に皮膚表面温度を測定した。投与開始後 30 分時点の平均皮膚表面温度は、溶媒対照群で 27.0°C、rHuPH20 投与群で 28.6°C であり、投与完了時では、溶媒対照群で 26.3°C、rHuPH20 投与群で 28.1°C であった。対応のある t 検定の結果、投与開始後 30 分と 60 分の両方の時点で溶媒対照群と rHuPH20 投与群間に有意差（$p < 0.05$）が認められた。投与液は投与開始前に同じ温度で維持されていたが、溶媒対照群では投与部位の皮膚表面温度の大幅な低下が認められた。

表 2.6.2-9　皮膚表面温度（11018 試験）

Time (min)	Control (°C ± SEM)	rHuPH20 (°C ± SEM)
-7 (Baseline)	34.0 ± 0.3	34.1 ± 0.3
30 ($t_{½}$ of IgG Infusion)	27.0 ± 0.4	28.6 ± 0.8
60 (t_{Final} of IgG Infusion)	26.3 ± 0.5	28.1 ± 0.9

hIgG 持続投与完了時に、投与部位の腫脹の容積及び面積をデジタルキャリパーを用いて測定した。rHuPH20 投与群の腫脹の容積及び面積は、溶媒対照群と比較して 82%及び 54%小さかった（表 2.6.2-10）。対応のある t 検定により、rHuPH20 を事前に投与した場合、腫脹の容積及び面積ともに有意（$p < 0.05$）に減少することが示された。

表 2.6.2-10　腫脹の容積及び面積（11018 試験）

Mean	Control	rHuPH20
Volume (mm^3 ± SEM)	326.5 ± 16.5	60.3 ± 21.9
Area (mm^2 ± SEM)	169.0 ± 3.3	77.3 ± 16.6

hIgG 持続投与後 1、4 及び 8 日に投与部位から 5 箇所のパンチ生検検体を採取し、ヘマトキシリン・エオジン染色及びマッソン・トリクローム染色を行い、病理組織学的検査を実施した。投与部位の評価では、溶媒対照群及び rHuPH20 投与群の両群でリンパ管拡張、浮腫、炎症、単核細胞浸潤及び出血が認められた。所見の重篤度は、rHuPH20 投与群に比べて溶媒対照群で投与後 1 及び 4 日に高かった（表 2.6.2-11）。rHuPH20 投与群では投与後 1 日に、溶媒対照群と比較して高度なリンパ管拡張及び軽度な浮腫が認められたが、いずれも投与後 4 日までに速やかに回復した。rHuPH20 投与群で認められたリンパ管拡張は、投与部位での hIgG の拡散促進に関連した変化と考えられる。投与後 8 日では、溶媒対照群と rHuPH20 投与群間で病理組織学的変化に差は認められなかった。

表 2.6.2-11　投与部位の病理組織学的変化の重篤度の比較（11018 試験）

Days Post-Infusion	Sum of Severity Scores		Mean Group Severity Scores	
	Control	rHuPH20	Control	rHuPH20
1	89	67	17.8	13.4
4	59	17	11.8	3.4
8	10	10	2.0	2.0

以上、ユカタン系ミニブタに rHuPH20 を皮下投与したところ、大量の hIgG 皮下持続投与に関連した投与部位への影響（腫脹、硬結並びに注入圧及び皮膚柔軟性の変化）が減少した。

2.6.2.2.2.6　ユカタン系ミニブタにおける hIgG 皮下持続投与後のレーザードップラー血流測定による硬結の評価

添付資料番号：4.2.1.1-6（11028）

本試験では、ユカタン系ミニブタに 14 mL の溶媒又は rHuPH20 160 U/mL（計 2240 U）を 2 mL/min の速度で皮下投与した後、10% hIgG 300 mL（計 30 g）を 5 mL/分の速度で皮下持続投与したときの腫脹及び硬結が投与部位の皮膚血流量へ及ぼす影響を評価した。本試験の主目的は、hIgG の大量持続投与により生じる硬結に伴う皮膚血流量の変化をレーザードップラー血流計を用いて測定することであった。その他に、注入圧測定（インライン圧力トランスデューサーを用いて連続測定）、皮膚表面温度測定（携帯赤外線センサーを用いて hIgG 投与前、投与中及び投与後に測定）、腫脹の容積及び面積の測定（デジタルキャリパーを用いて hIgG 投与後に測定）並びに投与部位の病理組織学的検査を実施した。

レーザードップラーイメージングは皮膚微小循環血流量を連続的かつ非侵製的に測定可能である（Essex, 1991）。血流量の測定値は血液潅流単位（flux、値は 0～l000 の範囲）として表示され、flux 値が大きいほど皮膚の血液潅流量が多いことを意味する。溶媒又は rHuPH20 の前投与前の投与部位の画像をベースラインとし、前投与中及び hIgG 皮下持続投与中に連続的に画像を記録した（Kang, 2012）。全投与期間中の平均 flux 値を算出し、対応のある t 検定により統計学的有意性（$p < 0.05$）を判定した。全投与期間を通じた flux 値のベースラインからの変化率は、溶媒対照群及び rHuPH20 投与群でそれぞれ-13.42%及び-1.6%であり、溶媒対照群と比べて rHuPH20 投与群で有意に低かった（$p < 0.05$）（図 2.6.2-6）。

レーザードップラー画像解析ソフト（[redacted]）を用いると、flux 値（0～l000）を 16 段階に区切ることができ、このうち 0～62.5 flux は血液潅流無し～最小血液潅流量に相当する。全投与期間を通じたこの段階（0～62.5 flux）の flux 値の平均発現数（ピクセル数として算出）は、rHuPH20 投与群で 39.4 ピクセルであったのに対し、溶媒対照群では 270 ピクセルであった（$p < 0.05$）（図 2.6.2-7）

図 2.6.2-6　持続投与中の皮膚血液潅流量（flux）のベースラインからの変化率（11028 試験）

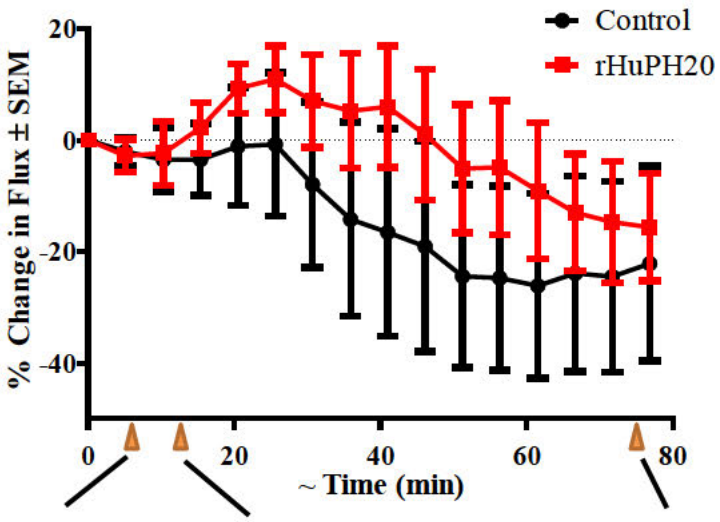
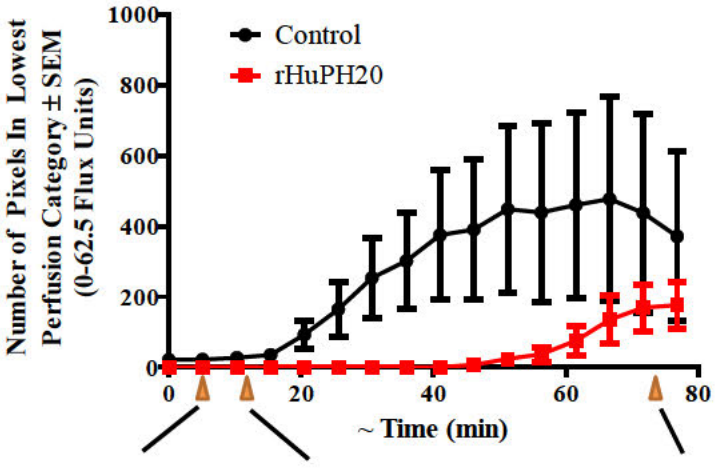


図 2.6.2-7　持続投与中の最小血液潅流量に相当する flux 値の平均発現数（ピクセル）（11028 試験）



溶媒又は rHuPH20 の前投与中並びに hIgG 持続投与中の注入圧を測定し、各投与期間の平均注入圧を算出し、対応のある t 検定により統計学的有意性（$p < 0.05$）を判定した。前投与中の平均注入圧は溶媒対照群で 62.0 mmHg であったのに対し、rHuPH20 投与群では 33.4 mmHg であった（$p < 0.05$）（表 2.6.2-12）。同様に、hIgG 持続投与中の平均注入圧は、溶

媒対照群及び rHuPH20 投与群でそれぞれ 192.9 及び 136.2 mmHg であり、rHuPH20 投与群で有意に低かった（p <0.05）。

表 2.6.2-12　持続投与中の平均注入圧（11028 試験）

	Control (mmHg ± SEM)	rHuPH20 (mmHg ± SEM)
Mean Pressure during Initial 14 mL Control and rHuPH20 Infusion	62.0 ± 0.4	33.4 ± 0.2
Mean Pressure during 300 mL IgG Infusion	192.9 ± 0.2	136.2 ± 0.1
Overall Mean Pressure (14 mL of Control/rHuPH20 + 300 mL IgG)	179.2 ± 0.7	125.4 ± 0.5

皮膚表面温度を hIgG 持続投与前、投与中及び投与完了後に測定したところ、予想した通り室温の hIgG 液の投与により皮膚表面温度が低下したが、rHuPH20 投与群では溶媒対照群と比較して約 2～3°C 高い傾向が認められた（表 2.6.2-13）。対応のある t 検定を実施した結果、いずれの時点においても統計学的有意差は認められなかった。

表 2.6.2-13　皮膚表面温度（11028 試験）

Time (min)	Control (°C ± SEM)	rHuPH20 (°C ± SEM)
-7 (Baseline)	34.7 ± 0.2	34.8 ± 0.3
30 ($t_{½}$ of IgG Infusion)	26.7 ± 0.7	29.3 ± 1.3
60 (t_{Final} of IgG Infusion)	27.0 ± 0.5	29.1 ± 1.1

hIgG 持続投与後の腫脹の容積及び面積をデジタルキャリパーを用いて測定し、対応のある t 検定により統計学的有意性（p <0.05）を判定した。rHuPH20 投与群では溶媒対照群と比べて腫脹の容積及び面積がそれぞれ 90%及び 70%減少した（p <0.05）（表 2.6.2-14）。

表 2.6.2-14　腫脹の容積及び面積（11028 試験）

Mean	Control	rHuPH20
Volume (mm^3 ± SEM)	112.3 ± 29.1	11.0 ± 7.1
Area (mm^2 ± SEM)	115.9 ± 16.4	35.0 ± 16.9

hIgG 持続投与後 1 及び 4 日に投与部位から 5 箇所のパンチ生検検体を採取し、ヘマトキシリン・エオジン染色及びマッソン・トリクローム染色を行い、病理組織学的検査を実施した。溶媒対照群及び rHuPH20 投与群の両群で、リンパ管拡張、浮腫、炎症及び単核細胞浸潤が認められた。

投与後 1 日では、リンパ管拡張の発現頻度及び重篤度が溶媒対照群と比べて rHuPH20 投与群で高かったが、その他の所見の発現頻度及び重篤度は溶媒対照群と rHuPH20 投与群間で同程度であった。投与後 4 日に炎症は完全に消失した。rHuPH20 投与群では、溶媒対照群と比較して、投与後 1 日と 4 日の重篤度の平均値の減少が顕著で、速やかな回復が認められた（表 2.6.2-15）。

表 2.6.2-15　投与部位の病理組織学的所見の重篤度の比較（11028 試験）

Days Post-Infusion	Sum of Severity Scores		Mean Group Severity Scores	
	Control	rHuPH20	Control	rHuPH20
1	55	67	11.0	13.4
4	42	23	8.4	4.6

以上、ユカタン系ミニブタに rHuPH20 を皮下投与したところ、血液潅流量が正常に維持され、hIgG の大量投与に伴う投与部位への影響（注入圧、腫脹及び硬結）が減少した。

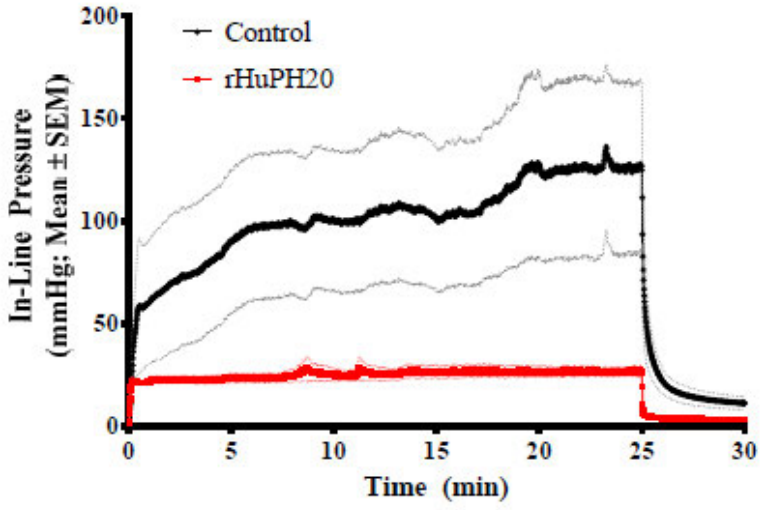
2.6.2.2.2.7　ユカタン系ミニブタにおける hIgG と rHuPH20 の同時皮下持続投与後の投与部位の評価

添付資料番号：4.2.1.1-7（11125）

本試験では、ユカタン系ミニブタに 15% hIgG 50 mL を rHuPH20（2000 U/mL：100000 U）の非存在下及び存在下で皮下持続投与した時の rHuPH20 の hIgG 拡散促進作用を検討するため、持続投与前、投与中又は投与後に、皮膚組織における注入圧、デジタルキャリパーを用いた拡散容積、Cutometer を用いた皮膚粘弾性の変化及びレーザードップラーイメージングを用いた投与部位の皮膚血流量を評価した。

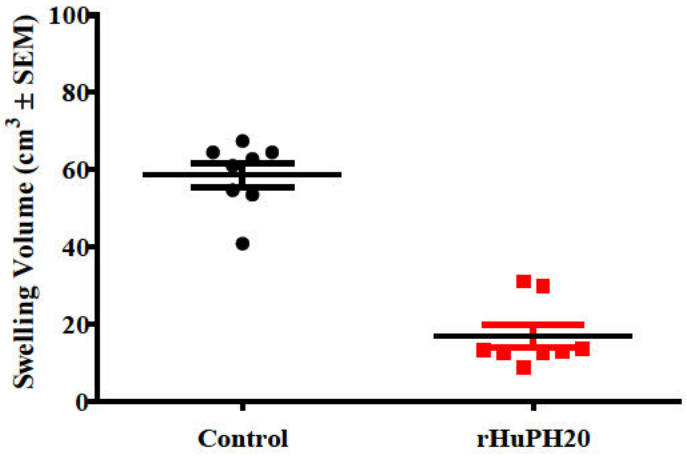
hIgG を rHuPH20 非存在下又は存在下で 2 mL/min の速度で持続投与した。全投与期間を通して平均注入圧を算出し、対応のある t 検定により統計学的有意性（$p < 0.05$）を判定した。溶媒対照群及び rHuPH20 投与群の平均注入圧はそれぞれ 70.3 及び 25.1 mmHg であり、rHuPH20 存在下では 64%低下した（$p < 0.05$）（図 2.6.2-8）。

図 2.6.2-8　持続投与中の注入圧（11125 試験）



持続投与完了後の投与部位の腫脹容積を測定し、対応のある t 検定により統計学的有意性（$p < 0.05$）を判定した。溶媒対照群及び rHuPH20 投与群の平均腫脹容積はそれぞれ 58.7 及び 17.0 cm^3 であり、rHuPH20 存在下では 71%減少した（$p < 0.05$）（図 2.6.2-9）。

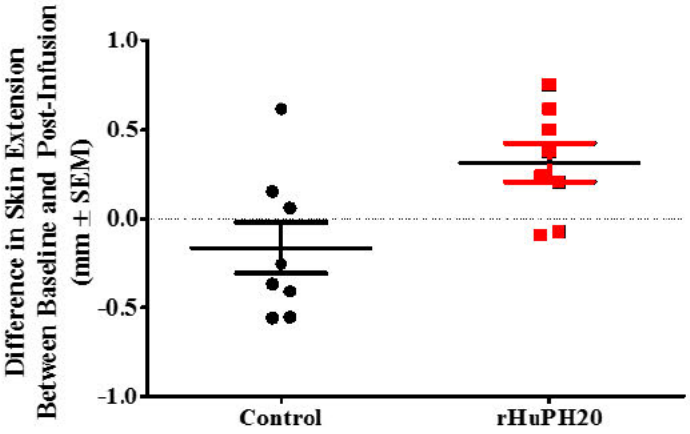
図 2.6.2-9　持続投与後の腫脹容積（11125 試験）



(Bar denotes the mean ± SEM)

持続投与前後の皮膚粘弾性（柔軟性）を Cutometer を用いて測定し、投与前後の変化を算出し、対応のある t 検定により統計学的有意性（$p < 0.05$）を判定した。皮膚粘弾性は、溶媒対照群では平均 0.2 mm 低下したが、rHuPH20 投与群では平均 0.3 mm 上昇し（$p < 0.05$）、皮膚の柔軟性が維持された（図 2.6.2-10）。

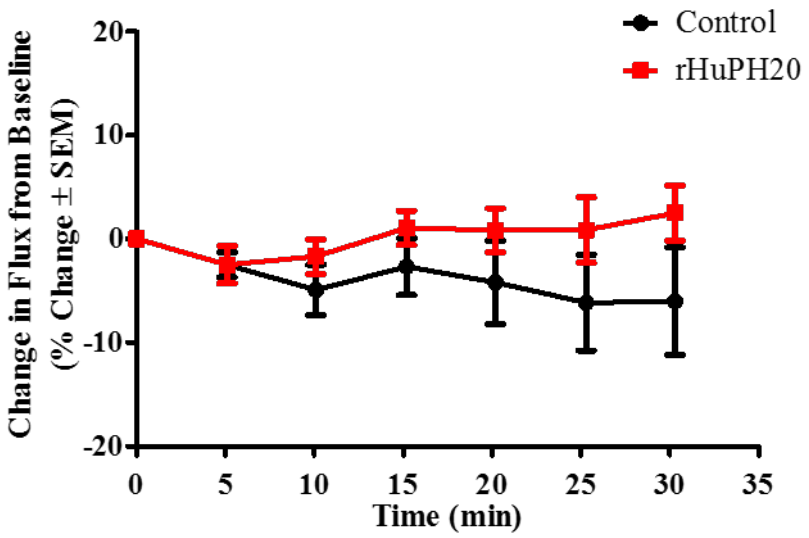
図 2.6.2-10　持続投与後の皮膚粘弾性の変化（11125 試験）



(Bar denotes the mean ± SEM)

持続投与前、投与中及び投与後の皮膚血流量をレーザードップラーイメージングを用いて測定し、投与開始前の血流量をベースラインとして投与期間中の変化率を算出し、対応のある t 検定により統計学的有意性（$p < 0.05$）を判定した。全投与期間を通じた皮膚血流量の平均変化率は、溶媒対照群及び rHuPH20 投与群でそれぞれ-3.8%及び+0.2%であった（$p < 0.05$）（図 2.6.2-11）。

図 2.6.2-11　持続投与中の皮膚血流量のベースラインからの変化率（11125 試験）



以上の結果から、rHuPH20 を皮下投与は、注入圧を低下し、拡散容積を増加させ、皮膚の柔軟性及び血流量を維持することにより、同時投与した 15% hIgG の拡散を促進したと考えられる。

2.6.2.3　副次的薬理試験

2.6.2.3.1　エフガルチギモド

新たな試験は実施していない。

2.6.2.3.2　rHuPH20

該当資料なし。

2.6.2.4　安全性薬理試験

2.6.2.4.1　エフガルチギモド

新たな試験は実施していない。

2.6.2.4.2　rHuPH20

rHuPH20 の独立した安全性薬理試験は実施していないが、カニクイザルを用いた 39 週間反復皮下投与毒性試験（R09050）の中で評価した結果、最高 2 mg/kg/dose の用量で安全性薬理パラメータ（中枢神経系症状、心電図、心拍数、血圧及び呼吸数）に有害作用は認められなかった。本試験の詳細は 2.6.6.3.2.2 に示す。

2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験

2.6.2.5.1　エフガルチギモド

添付資料番号：4.2.1.4-1（121510_IVFC_Phase 3）

エフガルチギモドに IVIg を含む治療用 IgGs を併用したとき、エフガルチギモドの薬理作用により IVIg を含む治療用 IgGs の曝露を低下させる可能性がある。エフガルチギモドによる薬力学的薬物相互作用は、抗体医薬品の FcRn への結合親和性及びエフガルチギモドと抗体医薬品との投与タイミングに依存すると考えられる。hFcRn トランスジェニックマウス（Tg32 マウス）を用いて IVIg とエフガルチギモドの間の薬力学的薬物相互作用を評価した。エフガルチギモドと IVIg を同時に投与したとき（試験 1：同時投与）及びエフガルチギモド投与後 2 日に IVIg を投与したとき（試験 2：連続投与）の結果は、ウィフガート点滴静注 400mg 申請資料 CTD 2.6.2.5 で提出済みである。

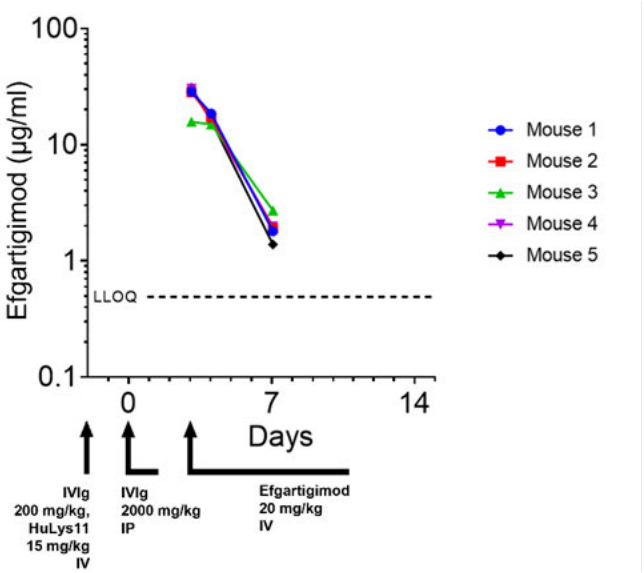
今回新たに、IVIg 投与後 3 日にエフガルチギモドを投与したとき（試験 3）の影響を評価した（121510_IVFC_Phase 3）。Tg32 マウスは内因性 mFcRn を発現しておらず、内因性ヒトプロモーターによって駆動する hFcRn を発現するように改変されている。したがって、Tg32 マウスは、FcRn 結合に関するヒト PK/PD を反映するモデルと考えられる。

Tg32 マウスでは、mIgG のヒト FcRn への結合親和性が低く、mIgG は hFcRn によってリサイクルされないため、内因性 mIgG 濃度が低い。そこで、マウス血漿中 hIgG 濃度のベースラインがヒト血中で観察される濃度になるように、Tg32 マウスに IVIg 投与前 2 日に、hIgG（200 mg/kg）を静脈内投与した。同時に、hIgG1 のトレーサー抗体である HuLys11（15 mg/kg）を静脈内投与した。

試験 3 では、雄 Tg32 マウス（n=5）に hIgG（IVIg 2 g/kg、腹腔内）投与後 3 日にエフガルチギモド（20 mg/kg、静脈内）を投与した。対照群として、雄 Tg32 マウス（n=5）に hIgG（IVIg 2 g/kg、腹腔内）投与後 3 日に、野生型 Fc アイソタイプ対照（20 mg/kg、静脈内）を投与した。血漿中エフガルチギモド、hIgG、HuLys11、IVIg に含まれている anti-TT 抗体及びマウス血清アルブミンを ELISA アッセイにより測定した。

Tg32 マウスに IVIg 投与後 3 日にエフガルチギモド 20 mg/kg を静脈内投与したとき（試験 3）のエフガルチギモドの $t_{1/2}$ は 25.5±2.5 時間で、エフガルチギモドと IVIg を同時に投与したとき（試験 1：同時投与）の $t_{1/2}$（32.4±0.6 時間）及びエフガルチギモド投与後 2 日に IVIg を投与したとき（試験 2：連続投与）の $t_{1/2}$（20.5±1.7 時間）の範囲内であった。試験 1 及び 2 と同様に、試験 3 でも IVIg 投与はエフガルチギモドの PK プロファイルに影響を及ぼさなかった（図 2.6.2-12）。

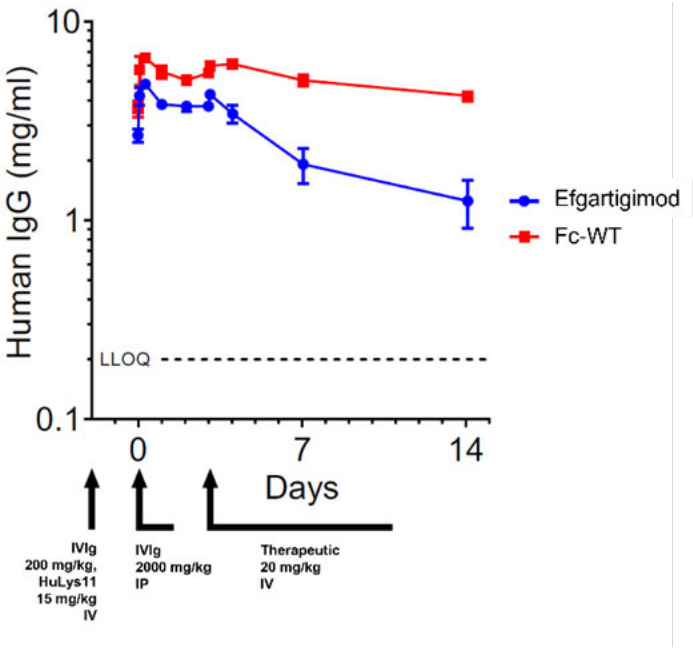
図 2.6.2-12　Tg32 マウスに IVIg 投与後 3 日にエフガルチギモドを投与したときの血漿中エフガルチギモド濃度



Source: 121510_IVFC_Phase 3
HuLys11=anti-human lysozyme IgG1 antibody; IP=intraperitoneal; IV=intravenous; IVIg=intravenous immunoglobulin; LLOQ=lower limit of quantification (0.5 µg/mL); Tg32=human FcRn transgenic (mice)
Notes: N=5
Tg32 mice were reconstituted with hIgG (IVIg, 200 mg/kg) and HuLys11 (15 mg/kg) (both IV) on day −2. They received a therapeutic dose of IVIg (2000 mg/kg, IP) on day 0, followed by efgartigimod (20 mg/kg, IV) on day 3, as indicated.
Individual mouse plasma concentration-time curves for efgartigimod (µg/mL) where each point represents the average of 3 ELISA replicates.

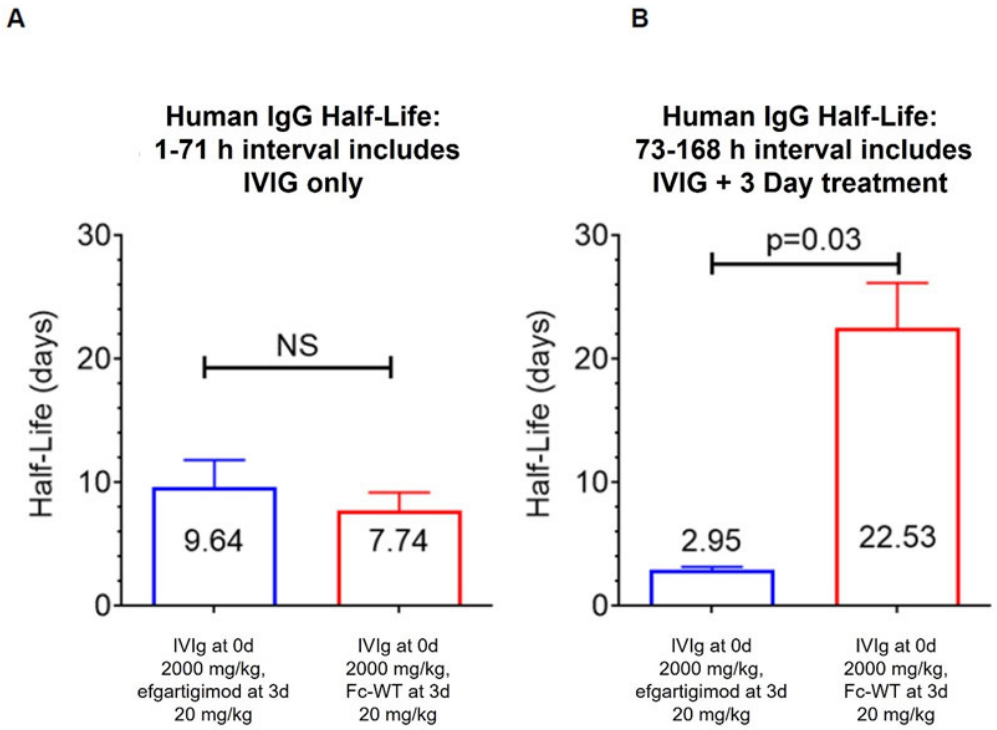
Tg32 マウスに IVIg 投与後 3 日にエフガルチギモド（20 mg/kg）又は野生型 Fc アイソタイプ対照を投与したときの血漿中 hIgG 濃度を図 2.6.2-13 に示す。エフガルチギモド又は野生型 Fc アイソタイプ対照の投与前 3 日間（試験期間 1～71 時間）の hIgG の半減期はエフガルチギモド群と対照群で同様であった。一方、エフガルチギモド又は野生型 Fc アイソタイプ対照を投与後 2～3 日（試験期間 73～168 時間）では、エフガルチギモド群では対照群と比べて hIgG の半減期は有意に短縮した（図 2.6.2-14）。

図 2.6.2-13　Tg32 マウスに IVIg 投与 3 日後にエフガルチギモド又は野生型 Fc アイソタイプ対照を投与したときのマウス血漿中 hIgG 濃度



Source: 121510_IVFC_Phase 3
Fc=fragment, crystallized; hIgG=human immunoglobulin G; HuLys11= anti-human lysozyme IgG1 antibody; IP=intraperitoneal; IV=intravenous; IVIg=intravenous immunoglobulin; LLOQ=lower limit of quantitation (200 µg/mL); SEM=standard error of mean; Tg32= human FcRn transgenic (mice) ; WT=wild-type
Notes: N=5/group; values are displayed as mean±SEM
Tg32 mice were reconstituted with hIgG (IVIg, 200 mg/kg) and HuLys11 (15 mg/kg) (both IV) on day −2. They received a therapeutic dose of IVIg (2000 mg/kg, IP) on day 0, followed by efgartigimod (20 mg/kg, IV) or isotype control (Fc-WT, 20 mg/kg, IV) on day 3, as indicated.
Average plasma concentrations of hIgG (mg/mL) after treatment with efgartigimod or an isotype control (Fc-WT).

図 2.6.2-14　Tg32 マウス血漿中 hIgG の平均半減期



Source: 121510_IVFC_Phase 3
Fc=fragment, crystallized; hIgG=human immunoglobulin G; HuLys11=anti-human lysozyme; IP=intraperitoneal; IV=intravenous; IVIg=intravenous immunoglobulin; NS=not statistically significant; SEM=standard error of mean; Tg32= human FcRn transgenic (mice); WT=wild-type
Notes: N=4 in efgartigimod arm; N=3 in isotype control arm. Data are displayed as mean±SEM
Tg32 mice were reconstituted with hIgG (200 mg/kg, IV) and HuLys11 (15 mg/kg, IV) 2 days prior to therapeutic treatment with IVIg (2000 mg/kg).
A) The 1-71 hour time interval includes only the response upon therapeutic IVIg treatment at day 0 (2000 mg/kg, IP).
B) The 73-168 hour time interval adds in the treatment with efgartigimod (20 mg/kg, IV) or isotype control (Fc-WT) (20 mg/kg, IV).

マウス血漿中 hIgG 濃度に対するエフガルチギモドの PD 効果に加えて、血漿中 HuLys11、IVIg に含まれている anti-TT 抗体及びマウス血清アルブミン濃度も測定した。

HuLys11 及び anti-TT 抗体の PK/PD 解析結果からも、エフガルチギモドの PD 効果が確認された。IVIg 投与したとき（試験期間 1～71 時間）のエフガルチギモド群及び対照群の HuLys11 の半減期はそれぞれ 1.6±0.3 及び 2.1±0.2 日で、Tg32 マウスのベースラインでの HuLys11 の半減期（背景データ：8.8±0.6 日）と比較して短縮した。Day 3 にエフガルチギモド又は野生型 Fc アイソタイプ対照を投与したとき、試験期間 73～96 時間の HuLys11 の半減期がエフガルチギモド群では 0.34±0.01 日、対照群では 3.3±0.4 日で、エフガルチギモド群では対照群と比較して HuLys11 の半減期を有意に短縮した。anti-TT 抗体も HuLys11 と同様に、エフガルチギモド群では対照群と比較して anti-TT の半減期が有意に短縮した。

試験 3 でマウス血清アルブミン濃度にエフガルチギモドの影響は認められず、試験 1 及び 2（ウィフガート点滴静注 400mg 申請資料 CTD 2.6.2.5）と同様の結果であった。

以上を要約すると、Tg32 マウスに IVIg 投与後 3 日にエフガルチギモドを投与したとき、血漿中 hIgG、HuLys11 及び抗 TT 抗体に対して PD 効果が観察され、いずれの PD 効果もエフガルチギモドの薬理作用によると考えられた。

2.6.2.5.2 rHuPH20

該当資料なし。

2.6.2.6 考察及び結論

2.6.2.6.1 エフガルチギモド

2.6.2.6.1.1 カニクイザルでの PK/PD 試験

カニクイザルにエフガルチギモド単独で 20 mg/kg の用量で単回皮下投与したとき、単回静脈内投与したときと同様に血清中総 IgG 濃度の減少がみられた。いずれの投与経路でもエフガルチギモド投与後 5～7 日に PD 効果が最大となった。この試験結果より、エフガルチギモドは皮下投与でも十分な薬理作用が得られることが示された。

2.6.2.6.1.2 薬力学的薬物相互作用試験

Tg32 マウスに IVIg 投与後 3 日にエフガルチギモドを投与したとき、エフガルチギモドの薬理作用によりマウスの hIgG 曝露量はわずかに減少した。試験 1 及び 2 の結果（ウィフガート点滴静注 400mg 申請資料）に加えて今回実施した試験 3 の結果は、IVIg 投与後のどのタイミングでもエフガルチギモドによる治療を開始できることを示唆している。さらに、エフガルチギモドで治療した患者のレスキュー療法として IVIg を用いることが可能であると考えられた。

2.6.2.6.2 rHuPH20

マウス、ラット及びブタを用いた薬理試験の結果から、rHuPH20 は局所において一過性に拡散を促進する酵素であり、治療薬の皮下投与を容易にすることが示された。

マウスを用いた一連の薬理試験では、rHuPH20 の皮内投与により、投与局所において色素の拡散の用量依存的な増加が認められた。色素拡散の増加は投与後 6 時間までみられたが、皮下組織の拡散バリアの再構築により投与後 18 時間には認められなかったことから、一過性の作用であることが示された。ヒアルロン酸の体内でのターンオーバーは速やかで、皮膚での半減期は 15～20 時間であること（Fraser, 1981; Fraser, 1997; Jadin, 2014; Laurent, 1991）、皮下の細胞外マトリックスは 24～48 時間以内に再生されることが報告されており（Bywaters, 1951）、マウスでの結果と一致している。rHuPH20 は、高用量においても、対側に投与した色素の拡散を増加しなかった。また、マウスにウサギ抗 rHuPH20 抗体を静脈内投与しても、rHuPH20 の皮内拡散促進作用に影響はみられなかった。

ラットに rHuPH20 を皮内投与後、投与部位の病理組織学的検査を実施したところ、rHuPH20 に関連した皮膚反応は認められなかった。

ブタでは、rHuPH20投与により、投与部位の腫脹の軽減、拡散容積の増大、皮膚の柔軟性及び血流量の維持が認められ、大量の hIgG の皮下投与に関連した硬結の発現頻度が低下した。

以上、rHuPH20の非臨床薬理試験の結果は、rHuPH20が局所において一過性の拡散促進作用を有することを示し、皮下投与する薬剤の拡散を促進する配合剤としての使用を支持するものと考えられた。

2.6.2.7　参考文献

Bookbinder LH, Hofer A, Haller MF, Zepeda ML, Keller G-A, Lim JE, Edgington TS, Shepard HM, Patton JS, Frost GI. A recombinant human enzyme for enhance interstitial transport of therapeutics. J Controlled Release (2006) 114:230-241.

Bywaters EG, Holborow EJ, Keech MK. Reconstitution of the dermal barrier to dye spread after hyaluronidase injection. Br Med J (1951) 2(4741):1178-1183.

Essex TJ, Byrne PO. A laser Doppler scanner for imaging blood flow in skin. J Biomed Eng (1991) 13(3):189-194.

Fraser JRE, Laurent TC, Pertoft H, Baxter E. Plasma clearance, tissue distribution and metabolism of hyaluronic acid injected intravenously in the rabbit. Biochem J (1981) 200:415-424.

Fraser JRE, Laurent TC, Laurent UBG. Hyaluronan: its nature, distribution, functions, and turnover. J Internal Medicine (1997) 242:27-33.

Frost GI. Recombinant human hyaluronidase (rHuPH20): an enabling platform for subcutaneous drug and fluid administration. Expert Opin Drug Deliv (2007) 4(4):427 440.

Hascall V, Esko JD. Hyaluronan. In: Varki A, Cummings RD, Esko JD, Stanley P, Hart GW, Aebi M, Darvill AG, Kinoshita T, Packer NH, Prestegard JH, Schnaar RL, Seeberger PH. editors. Essentials of Glycobiology. 3rd edition. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2015-2017. Chapter 16.

Jadin L, Huang L, Wei G, Zhao Q, Gelb AB, Frost GI, Jiang P, Shepard HM. Characterization of a novel recombinant hyaluronan binding protein for tissue hyaluronan detection. J Histochem Cytochem (2014) 62(9):672-83.

Kang DW, Jadin L, Nekoroski T, Drake FH, Zepeda ML. Recombinant human hyaluronidase PH20 (rHuPH20) facilitates subcutaneous infusions of large volumes of immunoglobulin in a swine model. Drug Deliv and Transl Res (2012) 2(4):254-264.

Kang DW, Oh DA, Fu GY, Anderson JM, Zepeda ML. Porcine model to evaluate tissue tolerability associated with subcutaneous delivery of protein. J Pharm and Tox Methods (2013) 67:140-147.

Laurent UBG, Reed RK. Turnover of hyaluronan in the tissues. Adv Drug Deliv Rev (1991) 7(2):237-256.

目次

2.6.3　薬理試験概要表 2
2.6.3.1　薬理試験：一覧表 2
2.6.3.2　効力を裏付ける試験 4
2.6.3.3　副次的薬理試験 4
2.6.3.4　安全性薬理試験 4
2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験 5

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

			Test article: efgartigimod		
Type of study	**Test system**	**Method of administration**	**Testing facility**	**Study number**	**Location**
Primary pharmacodynamics					
A single-dose PK/PD study evaluating the PK behavior of efgartigimod after a SC injection in cynomolgus monkey	Cynomolgus Monkey	IV (bolus) or SC	[redacted], Germany; assayed and reported by argenx BV, Zwijnaarde, Belgium	ARGX-NC-092	4.2.2.2-1
Secondary pharmacodynamics					
No update					
Safety pharmacology					
No update					
Pharmacodynamic drug interactions					
PK/PD analysis of efgartigimod when combined with IVIg in Tg32 mice [a]	Mouse	IV (bolus) IP (IVIg)	[redacted], USA	121510_IVFC_ Phase 3	4.2.1.4-1

IP=intraperitoneal; IV=intravenous; IVIg=intravenous immunoglobulin; PD=pharmacodynamics; PK=pharmacokinetics; SC=subcutaneous; Tg32= human FcRn transgenic (mice)
Note: [redacted] is formerly known as [redacted], Germany.
a) Study includes IgG and albumin level measurements and tracer IgG level analysis

Overview **Test Article: rHuPH20**					
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Halozyme Report**	**Location**
Primary Pharmacodynamics					
Dye dispersion / dermal reconstitution	Mice/NCr nu/nu	ID	Halozyme	R08103	4.2.1.1-1
Dye dispersion	Mice/NCr nu/nu	ID	Halozyme	R09022	4.2.1.1-2
Dye dispersion	Mice/NCr nu/nu	ID	Halozyme	R09109	4.2.1.1-3
Local skin reaction assessment	Rat/Sprague-Dawley	ID	Halozyme	R09090	4.2.1.1-4
Induration assessment	Pig/Yucatan Mini	SC	Halozyme	11018	4.2.1.1-5
Induration assessment	Pig/Yucatan Mini	SC	Halozyme	11028	4.2.1.1-6
Local infusion site evaluation	Pig/Yucatan Mini	SC	Halozyme	11125	4.2.1.1-7
Secondary Pharmacodynamics					
Secondary pharmacodynamics studies were not conducted.					
Safety Pharmacology					
Safety pharmacology was assessed as part of the 39-week repeat-dose toxicity study in cynomolgus monkeys (Halozyme Report R09050) . Details of this study is provided in the toxicology written summaries (Section 2.6.6).					

Abbreviations: ID = intradermal; IV = intravenous; SC = subcutaneous

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

				Test article: efgartigimod		
Type of Study	**Species/ Strain**	**Method of Administration**	**Doses (mg/kg)**	**Sex and Number per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
A single-dose PK/PD study evaluating the PK behavior of efgartigimod after a SC injection	Cynomolgus monkey	IV (dose per approx. 15 sec) or SC	IV (bolus): 20 mg/kg SC: 20 mg/kg	3M	SC injection of efgartigimod resulted in similar IgG reduction as observed following IV injection (both drug substances derived from the same clone). Maximum PD effect was reached after 5 to 7 days with similar results for all groups.	ARGX-NC-092

approx.=approximately; Ig=immunoglobulin; IV=intravenous(ly); M=male; PD=pharmacodynamics; PK=pharmacokinetics; SC=subcutaneous; sec=second(s).

rHuPH20 の効力を裏付ける試験の詳細は 2.6.2 に示す。

2.6.3.3　副次的薬理試験

エフガルチギモドについては新たな試験は実施していない。

rHuPH20 については該当資料なし。

2.6.3.4　安全性薬理試験

エフガルチギモドについては新たな試験は実施していない。

rHuPH20 の安全性薬理評価はカニクイザルを用いた 39 週間反復皮下投与毒性試験（R09050）の中で実施した。結果の概略は 2.6.2 に示す。

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

				Test article: efgartigimod		
Type of Study	**Species/ Strain**	**Method of Administration**	**Doses (mg/kg)**	**Sex and Number per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
PK/PD analysis of efgartigimod when combined with IVIg in Tg32 mice	Mouse/Tg32	IP (IVIg) IV efgartigimod or IV Fc-WT isotype control	2000 mg/kg 20 mg/kg 20 mg/kg	5M	In mice receiving efgartigimod three days after IVIg, human IgG and tracer antibody concentrations decreased faster compared to mice receiving Fc-control within 2-3 days after IVIg.	121510_IVFC_ Phase 3

IgG=immunoglobulin gamma; IP=intraperitoneal(ly); IV=intravenous(ly); IVIg=intravenous immunoglobulin; M=male; PD=pharmacodynamics; PK=pharmacokinetics; Tg32= human FcRn transgenic (mice); WT=wild-type.

rHuPH20 については該当資料なし。