イブグリース皮下注 250mg オートインジェクター
イブグリース皮下注 250mg シリンジ

2.6.1　緒言

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.1　緒言..... 1

2.6.1 緒言

第 2.2 項参照

イブグリース皮下注 250mg オートインジェクター
イブグリース皮下注 250mg シリンジ

2.6.2　薬理試験の概要文

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.2 薬理試験の概要文 1
2.6.2.1 まとめ 2
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 4
2.6.2.2.1 In vitro 試験 4
2.6.2.2.1.1 ヒト IL-13 に対する結合親和性 4
2.6.2.2.1.2 IL-13 の IL-13Rα1 及び IL-13Rα2 への結合に対する作用 7
2.6.2.2.1.3 ヒト赤白血病細胞株の IL-13 誘発 STAT6 リン酸化及び増殖に対する阻害作用 8
2.6.2.2.1.4 ホジキンリンパ腫細胞株の IL-13 誘発増殖に対する阻害作用 10
2.6.2.2.2 In vivo 試験 11
2.6.2.2.2.1 ヒト IL-13 誘発性気道炎症に対する作用 11
2.6.2.3 副次的薬理試験 14
2.6.2.4 安全性薬理試験 14
2.6.2.4.1 心血管系に関する試験 15
2.6.2.4.1.1 In vitro 15
2.6.2.4.1.2 In vivo 15
2.6.2.4.2 中枢神経系に関する試験 15
2.6.2.4.3 呼吸系に関する試験 16
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用 16
2.6.2.6 考察及び結論 16
2.6.2.7 図表 16
2.6.2.8 参考文献 16

2.6.2 薬理試験の概要文

アトピー性皮膚炎（atopic dermatitis：AD）は、遺伝的、環境及び免疫学的因子を要因とする複雑な疾患である（Werfel et al. 2016; Simon et al. 2019）。AD は最もよく見られる慢性皮膚疾患の 1 つであり、多少の地域差はあるものの、最大で成人の 10%に認められ、有病率は増加し続けている（Langan et al. 2020）。

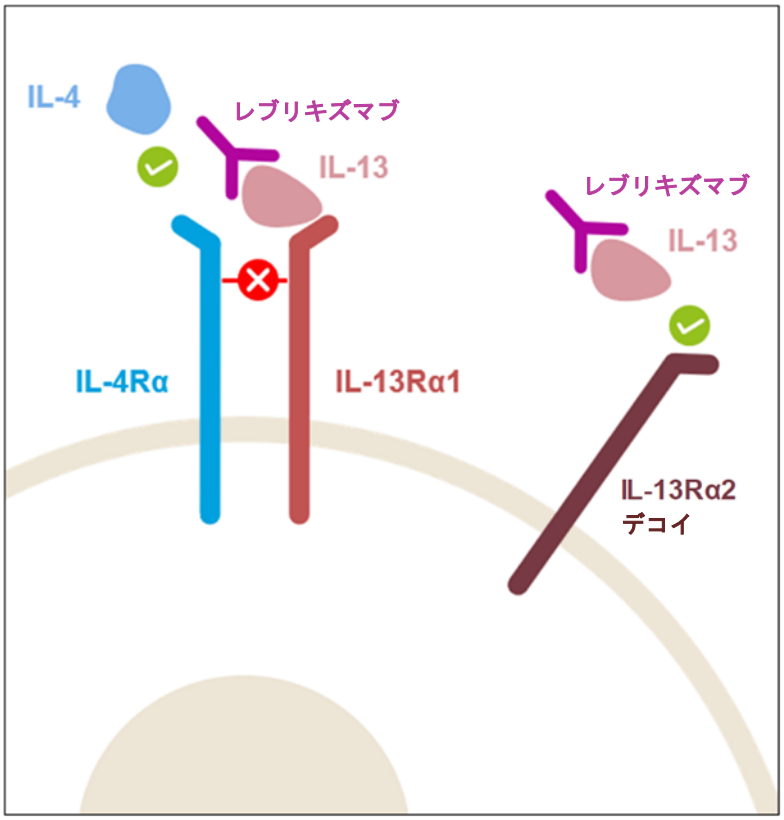
インターロイキン（interleukin：IL）-13 は、2 型ヘルパーT（T helper type 2：Th2）細胞及びナチュラルキラー細胞を含む $CD4^+$細胞並びに肥満細胞、好塩基球、好酸球、及び 2 型自然リンパ球から分泌されるサイトカインであり（Junttila 2018）、皮膚バリア機能障害、皮膚炎症、アレルギー反応、及び苔癬化などの病態を引き起こす AD の中心的な病態生理学的炎症性メディエーターであると考えられている（Brandt and Sivaprasad 2011; Brunner et al. 2017; Buzney et al. 2016）。AD 患者では炎症性皮膚症状と掻痒が同時に生じるため、生活の質が著しく低下する。実際、AD の臨床症状を引き起こす多くの病態生理学的過程に IL-13 が関与していることが多くのエビデンスで示されている。

- IL-13 は IL-4 受容体αサブユニット（IL-4 receptor alpha：IL-4Rα）と IL-13 受容体α1 サブユニット（IL-13 receptor alpha 1：IL-13Rα1）からなる受容体複合体を介してシグナル伝達を行う。遺伝学的試験において、IL-13（Bin and Leung 2016; Brunner et al. 2017; Bieber 2020; Hummelshoj et al. 2003）及び IL-4Rα（Novak et al. 2002）の遺伝子多型が AD 発症リスクと関連している。
- IL-13 は皮膚のケラチノサイトに作用してその分化を抑制し（Cabanillas and Novak 2016; Howell et al. 2008）、T 細胞を AD 病変に浸潤させる T 細胞走化性因子の産生を誘導する（Purwar et al. 2006）とともに、好酸球走化性因子の誘導を介して好酸球の浸潤を引き起こす（Esche et al. 2004）。
- IL-13 はフィラグリン、ロリクリン、及びインボルクリンのダウンレギュレーションを介して上皮の完全性を低下させる（Kim et al. 2008; Bin and Leung 2016）。外部環境に対して最前線で防御を行う上皮バリア機能が低下すると、環境アレルゲンに感作され、それに伴って IgE が増加すると考えられる。IgE 増加は AD 患者全体の最大 80%に認められる（Werfel et al. 2016）。
- IL-13 はコラーゲン産生及びその他の線維化関連タンパク質の誘導を含む線維芽細胞の直接活性化を介して線維化を引き起こす（Gieseck et al. 2018; Nguyen et al. 2020）。
- AD の皮膚病変では IL-13 の発現が増加しており、それが疾患重症度と関連している（Werfel 2016; Pavel 2020）。
- AD 患者の血中では IL-13 発現 T 細胞が増加しており、それが疾患重症度と関連している（Akdis et al. 1999; La Grutta et al. 2005）。
- IL-13 は、神経の活性化を介して掻痒症を誘発する末梢感覚ニューロンを感作する（May and Fung 2015）。

以上のエビデンスから、AD 患者において IL-13 を標的とすることにより臨床効果が得られることが示唆される。

2.6.2.1　まとめ

レブリキズマブ（別称：TNX-650 又は LY3650150）は、安定性を向上させるために Fc 領域に 1 ヵ所の変異を導入した免疫グロブリン（immunoglobulin：Ig）G4 モノクローナル抗体である。レブリキズマブは可溶性ヒト IL-13 に高い親和性で特異的に結合し、その機能活性を中和する。レブリキズマブは、IL-4Rα/IL-13Rα1 受容体複合体を介した IL-13 シグナル伝達を阻害する。本薬は、IL-13 の IL-4Rαへの結合を阻害するが、IL-13 の IL-13Rα1 及び IL-13 受容体α2 サブユニット（IL-13 receptor alpha 2：IL-13Rα2）への結合は阻害しない（図 2.6.2-1）。



レブリキズマブは、IL-13 の IL-4Rαに対する結合部位と重複するエピトープに結合することにより、IL-13Rα1 と IL-4Rαのヘテロ二量体化を抑制し、IL-13 シグナル伝達を阻害する。レブリキズマブは IL-13 の IL-13Rα1 及び IL-13Rα2（デコイ受容体）への結合は阻害しない。

図 2.6.2-1.　レブリキズマブの作用機序

種々の in vitro 試験において、レブリキズマブの IL-13 に対する結合特異性及び親和性、並びに IL-13 シグナル伝達阻害作用を評価した。これらの試験の要約を以下に示す。

- レブリキズマブはヒト IL-13 に特異的に結合することが ELISA（enzyme-linked immunosorbent assay）で確認された（報告書 S-1043）。レブリキズマブはカニクイザルの IL-13 にも結合するが、マウス及びラットの IL-13 には結合しない（報告書 13-0790）ことから、非臨床安全性評価に適した動物種としてカニクイザルを選択することが支持される。
- ヒト及びカニクイザルの IL-13 に対するレブリキズマブの結合親和性を表面プラズモン共鳴（surface plasmon resonance：SPR）分析で測定したところ、レブリキズマブはヒト及びカニ

クイザル両方の IL-13 に高い親和性で結合した（平衡解離定数［equilibrium dissociation constant：K_D］はそれぞれ 31 及び<0.67 pM）（報告書 15-2669）。

- ヒト IL-13 の IL-4Rα、IL-13Rα1、及び IL-13Rα2 への結合部位を結晶構造解析で検討したところ、マウスモノクローナル親抗体 228B/C（レブリキズマブと同じ相補性決定領域を有する）との相互作用に重要と特定された IL-13 のアミノ酸残基（[redacted]）は、IL-13Rα1 及び IL-13Rα2 への結合部位とは異なっていた（報告書 10-1290）。ヒト IL-13 に結合させたレブリキズマブ Fab フラグメントの X 線結晶構造から、レブリキズマブは IL-13 の IL-4Rαとの結合部位に結合し、IL-4Rα/IL-13/IL-13Rα1 複合体の形成及びそれを介したシグナル伝達を阻害することが示されている（Ultsch et al. 2013）。
- ELISA において、レブリキズマブは IL-13 の IL-13Rα1 及び IL-13Rα2 への結合を阻害しなかった（報告書 10-1289）。
- ヒト赤白血病細胞株 TF-1 細胞を用いたフローサイトメトリーにおいて、レブリキズマブは、IL-4Rα/IL-13Rα1 受容体複合体の下流シグナル伝達物質であるシグナル伝達兼転写活性化因子 6（signal transducer and activator of transcription 6：STAT6）の IL-13 で誘発されるリン酸化を阻害した（報告書 10-1288）。
- レブリキズマブは、IL-13 で誘発されるヒト赤白血病細胞株 TF-1 細胞（報告書 10-1288）及びホジキンリンパ腫 L-1236 細胞（報告書 S-1044）の増殖を濃度依存的に阻害した。
- レブリキズマブはカニクイザルの IL-13 に反応性を示すが、AD で見られる IL-13 濃度上昇を伴うカニクイザルの AD 病態モデルは確立されていないことから、AD 病態モデルを用いた薬効評価は実施しなかった。
- マウスを用いた炎症モデルにおいて、IL-13 は肺の炎症を促進するのに必要かつ十分であることが示されている（Grünig et al. 1998; Wills Karp et al. 1998; Zhu et al. 1999）。ヒト IL-13 による肺の炎症、リモデリング、及び IL-13Rα2 誘導に対するレブリキズマブの阻害作用を評価したところ、ヒト IL-13 はマウスにおいて肺の病態を誘発し、レブリキズマブはこれを阻害した（報告書 10-2401 A_10-2401 B）。

以上の成績と IL-13 の AD との関連性を示すエビデンスから、レブリキズマブが IL-13 活性を阻害することにより AD に対する治療効果が得られる可能性が示され、臨床試験を実施する根拠が得られた。

また、カニクイザルを用いたレブリキズマブの毒性試験において安全性薬理評価を実施した。レブリキズマブは心血管系、呼吸系、及び中枢神経系に明らかな影響を及ぼさなかった。

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1　In vitro 試験

2.6.2.2.1.1　ヒト IL-13 に対する結合親和性

報告書 S-1043（4.2.1.1.1）：13-0790（4.2.1.1.2）：15-2669（4.2.1.1.3）：10-1290（4.2.1.1.4）

レブリキズマブ及びそのマウス親抗体 228B/C の結合親和性を ELISA で評価した（報告書 S-1043）。ELISA において、遺伝子組換えヒト IL-13 又は IL-4 を捕捉に用いた。これらをコートしたプレートに、段階希釈したレブリキズマブ、228B/C、及び抗 IL-4 モノクローナル抗体を添加した。ホースラディッシュペルオキシダーゼ（horseradish peroxidase：HRP）標識二次抗体を用いて各抗体を検出した。データは 1 回の実験から得られたもので、吸光度測定値 ± 標準偏差で示す。この試験結果から、レブリキズマブ及び 228B/C はヒト IL-13 に結合するが、ヒト IL-4 には結合しない（図 2.6.2-2）ことが示された。

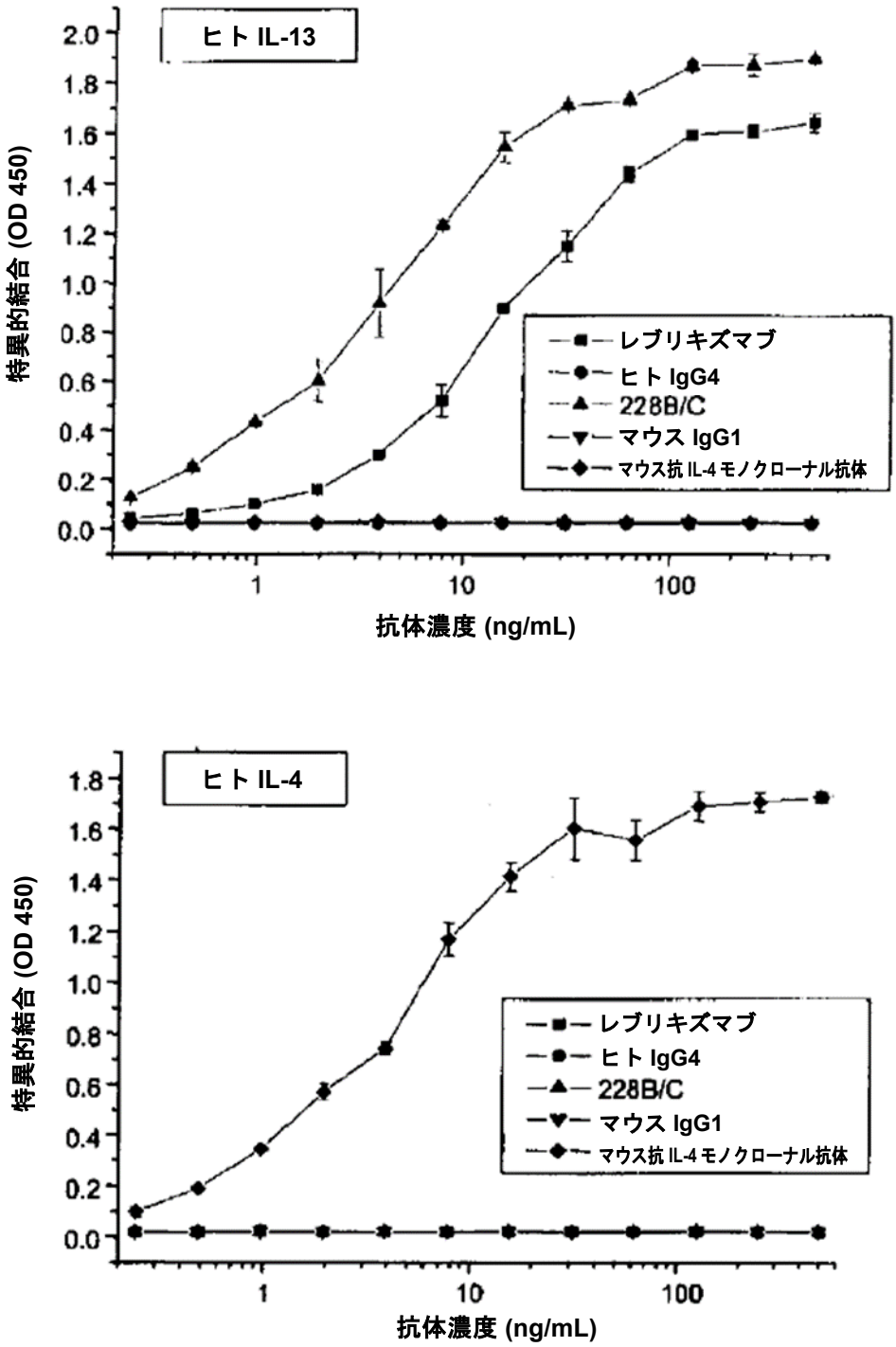


図 2.6.2-2.　レブリキズマブ及び 228B/C のヒト IL-13 及び IL-4 に対する結合能（報告書 S-1043）

レブリキズマブのマウス、ラット、及びヒト IL-13 への交差反応性を ELISA で評価した（報告書 13-0790）。ELISA において、遺伝子組換えマウス、ラット、又はヒトの IL-13 を捕捉に用いた。これらをコートしたプレートに、希釈したレブリキズマブを添加した。HRP 標識ヤギ抗ヒト IgG を加えて検出した。データは 1 回の実験から得られたもので、吸光度測定値 ± 標準偏差で示す。この試験結果から、レブリキズマブはヒト IL-13 に結合するが、マウス及びラットの IL-13 とは交差反応しないことが示された（図 2.6.2-3）。

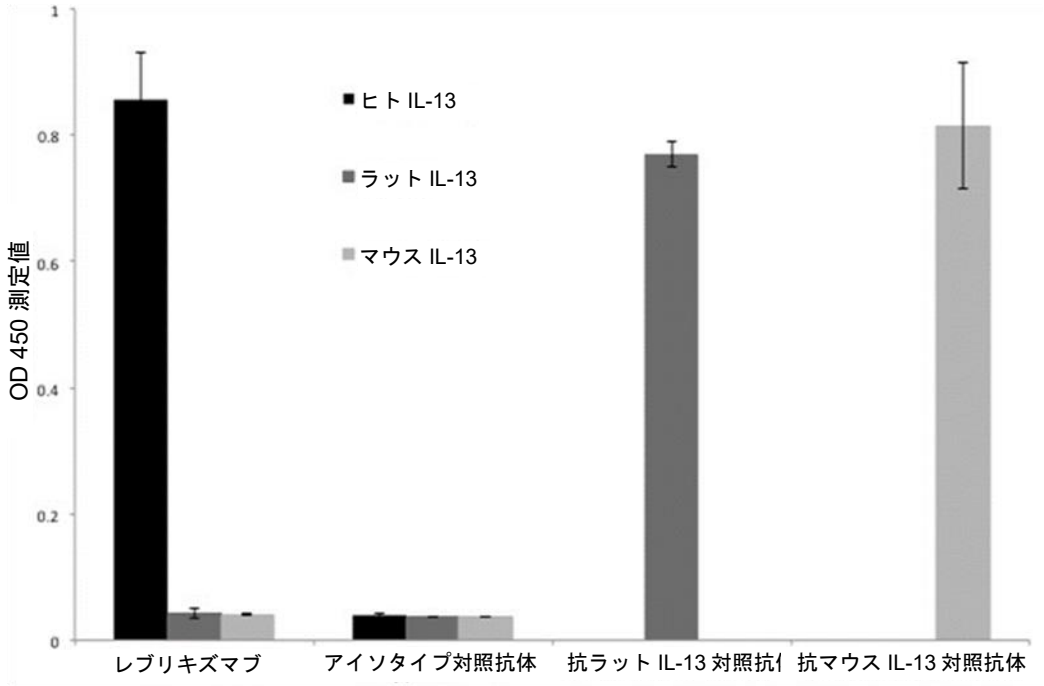


図 2.6.2-3.　レブリキズマブのヒト、ラット及びマウスの IL-13 に対する結合能
（報告書 13-0790）

レブリキズマブのヒト及びカニクイザル IL-13 への結合親和性を、Biacore™装置を用いた SPR 法により評価した（報告書 15-2669）。マウス抗ヒト Fc 抗体をコートした Biacore™チップにレブリキズマブを固定化し、遺伝子組換え IL-13 を分析対象物質として使用した。その結果、レブリキズマブはヒト及びカニクイザルの IL-13 に高い結合親和性を示し、K_D 値はそれぞれ 31 pM 及び 0.67 pM 未満であった（表 2.6.2-1）。

表 2.6.2-1.　レブリキズマブのヒト及びカニクイザルの IL-13 に対する結合速度及び親和性定数

分析対象物質	k_a（$M^{-1}s^{-1}$）	k_d（s^{-1}）	K_D（pM）
ヒト IL-13	$1.07 \pm 0.2 \times 10^6$	$3.3 \pm 0.4 \times 10^{-5}$	31 ± 3
カニクイザル IL-13	$1.50 \pm 0.1 \times 10^7$	$< 1 \times 10^{-5}$ [a]	$< 0.67 \pm 0.06$

略号：IL-13 = インターロイキン 13、k_a = 結合速度定数、k_d = 解離速度定数、K_D = 平衡解離定数（k_d/k_a）
注：結果は代表的な 3 回の実験の平均値及び標準偏差で示す。
[a] Biacore™ T200 装置の検出限界である 10^{-5} s^{-1} 未満であった。

マウスモノクローナル抗体 228B/C はレブリキズマブと同じ相補性決定領域を有する。IL-13 における 228B/C の結合部位を ELISA で検討した（報告書 10-1290）。マウス IL-13 の [redacted]～[redacted] 位のアミノ酸残基をカニクイザル IL-13 の対応する残基（[redacted]）に置換することにより、マウスーサルハイブリッド IL-13 を作製した。ELISA において、マウス、カニクイザル、又はマウスーサルハイブリッドの IL-13 を捕捉に用い、検出には HRP 標識 228B/C を使用した。この試験結果から、228B/C はカニクイザル IL-13 及びマウスーサルハイブリッド IL-13 に結合するが、マウス IL-13 には結合しないことが示され、IL-13 における 228B/C の結合エピトープが [redacted] 配

列であることが示唆された。これらのアミノ酸残基はヒトとカニクイザルの IL-13 間で保存されている。

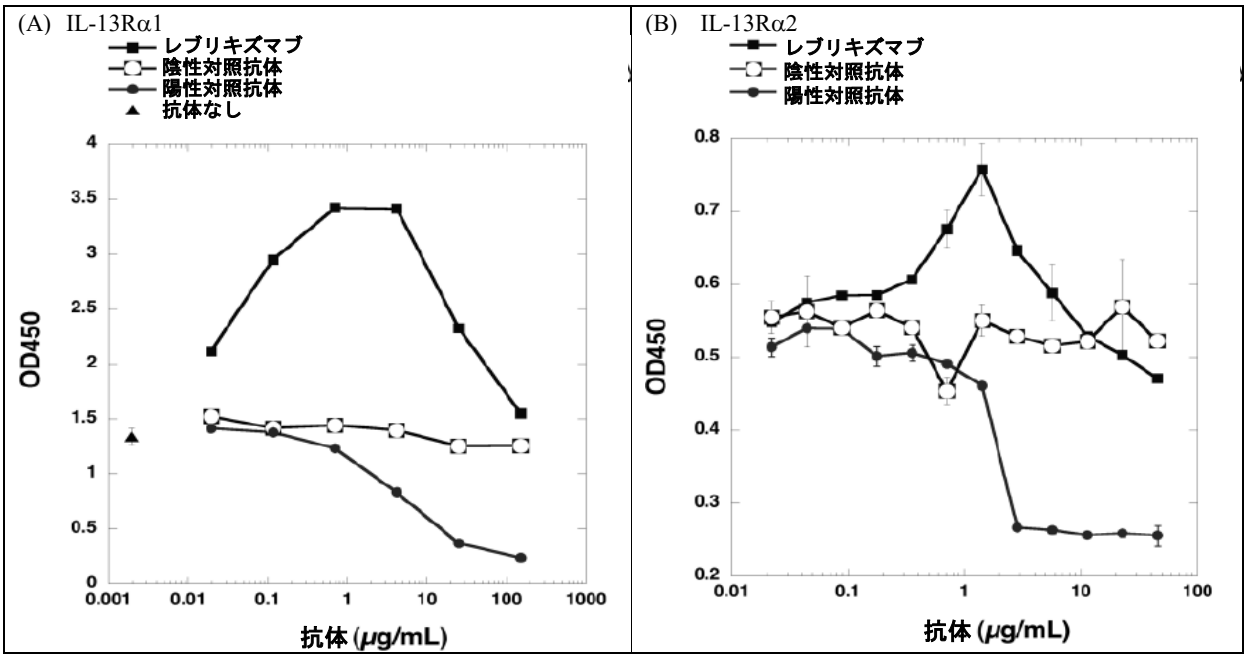
ヒト IL-13 の IL-4Rα、IL-13Rα1、及び IL-13Rα2 への結合部位を結晶構造解析で検討した（報告書 10-1290）。その結果、228B/C（及びレブリキズマブ）との相互作用に重要と特定された IL-13 のアミノ酸残基（[redacted]）は、IL-13Rα1 及び IL-13Rα2 への結合部位とは異なっていた。ヒト IL-13 に結合させたレブリキズマブ Fab フラグメントの X 線結晶構造から、レブリキズマブは IL-13 の IL-4Rαとの結合部位に結合し、IL-4Rα/IL-13/IL-13Rα1 複合体の形成及びそれを介したシグナル伝達を阻害することが示されている（Ultsch et al. 2013）。

2.6.2.2.1.2　IL-13 の IL-13Rα1 及び IL-13Rα2 への結合に対する作用

報告書 10-1289（4.2.1.1.5）

ヒト IL-13 の IL-13Rα1 及び IL-13Rα2 への結合に対するレブリキズマブの作用を ELISA で評価した（報告書 10-1289）。本試験において、IL-13Rα1-Fc タンパク質又は IL-13Rα2-Fc タンパク質を捕捉に用いた。これらをコートしたプレートに、段階希釈したレブリキズマブを、ビオチン標識したヒト IL-13（btn-IL-13）とインキュベートした後に添加した。検出にはストレプトアビジン HRP を用いた。データは 1 回の実験から得られたもので、吸光度測定値 ± 標準偏差で示す。この試験結果から、レブリキズマブは IL-13 の IL-13Rα1 及び IL-13Rα2 への結合を阻害しないことが示された（図 2.6.2-4）。btn-IL-13 の結合曲線は阻害とは逆の様相を示し、レブリキズマブの中間濃度で IL-13Rα1 及び IL-13Rα2 への結合が増加した。この結果は、レブリキズマブの 10 µg/mL 未満の濃度では 2:1 の btn-IL-13：レブリキズマブ複合体が形成され、この複合体が IL-13Rα1 及び IL-13Rα2 に結合するため、btn-IL-13 の IL-13Rα1 及び IL-13Rα2 への結合が増加したことを反映していると解釈される。一方、レブリキズマブの濃度が 10 µg/mL を超えると、btn-IL-13 がレブリキズマブによって飽和されるため、1:1 の btn-IL-13：レブリキズマブ複合体が形成され、btn-IL-13 の IL-13Rα1 及び IL-13Rα2 への結合が減少したと考えられる。

レブリキズマブは IL-4Rα/IL-13Rα1 受容体複合体を介した IL-13 シグナル伝達を阻害することから、レブリキズマブは IL-13 の IL-4Rαへの結合を阻害すると考えられた。これを裏付けるものとして、レブリキズマブの Fab フラグメントとヒト IL-13 との複合体の結晶構造から、IL-13 におけるレブリキズマブの結合部位が、IL-13 における IL-4Rαの結合部位と重複していることが示されている（Ultsch et al. 2013）。



陽性対照抗体にはヒト IL-13 に結合し IL-13 のヒト IL-13Rα1 への結合を阻害する抗体を、陰性対照抗体にはヒト CD20 に結合する抗体をそれぞれ用いた（A）。
陽性対照抗体にはヒト IL-13 に結合し IL-13 のヒト IL-13Rα2への結合を阻害する抗体を、陰性対照抗体にはヒト IL-4 に結合する抗体をそれぞれ用いた（B）。

図 2.6.2-4.　IL-13 の IL-13Rα1 及び IL-13Rα2 への結合に対するレブリキズマブの作用
（報告書 10-1289）

2.6.2.2.1.3　ヒト赤白血病細胞株の IL-13 誘発 STAT6 リン酸化及び増殖に対する阻害作用

報告書 10-1288（4.2.1.1.6）

IL-13 刺激に反応することが示されている増殖因子依存性ヒト赤白血病細胞株 TF-1 細胞（Kitamura et al. 1989; McKenzie et al. 1993）を用いたフローサイトメトリーにより、IL-4Rα/IL-13Rα1 受容体複合体を介した IL-13 シグナル伝達に対するレブリキズマブの阻害能を評価した（報告書 10-1288）。マウス抗ヒト IL-13Rα2 抗体を用いた評価において、非刺激時及び IL-13 刺激時のいずれにおいても TF-1 細胞表面に IL-13Rα2 の発現は認められなかった。

本試験（報告書 10-1288）において、2 μg/mL のヒト IL-13 を 2 μg/mL のレブリキズマブ又は 2 μg/mL のアイソタイプ対照抗体とともにプレインキュベートした後、TF-1 細胞に添加してインキュベートした。次に、細胞を Alexa Fluor 647 標識マウス抗 STAT6 抗体で染色し、リン酸化 STAT6 を有する細胞をフローサイトメトリーで解析した。IL-4Rα/IL-13Rα1 受容体複合体を介した IL-13 シグナル伝達により STAT6 タンパク質がリン酸化される（Hershey 2003）。ヒト IL-13 と対照抗体で処理した TF-1 細胞においてリン酸化 STAT6 が検出された。一方、ヒト IL-13 とレブリキズマブで処理した TF-1 細胞ではリン酸化 STAT6 は検出されなかった（図 2.6.2-5）。これらの結果から、レブリキズマブは TF-1 細胞において IL-13 による STAT6 のリン酸化を阻害することが示された。

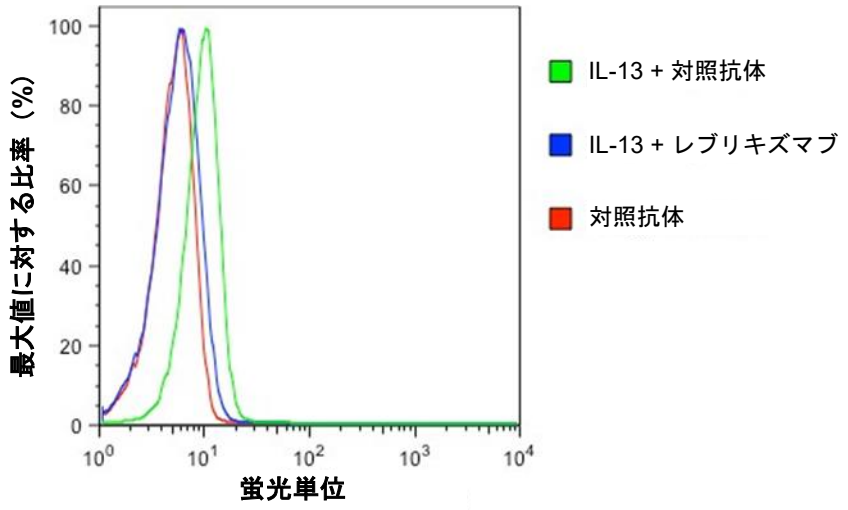


図 2.6.2-5.　TF-1 細胞の IL-13 誘発 STAT6 リン酸化に対するレブリキズマブの阻害作用
（報告書 10-1288）

IL-4Rα/IL-13Rα1 受容体複合体を介して引き起こされる IL-13 誘発 TF-1 細胞増殖（Kioi et al. 2006）に対するレブリキズマブの作用も評価した。本試験（報告書 10-1288）において、ヒト IL-13 を、段階希釈したレブリキズマブ又はアイソタイプ対照抗体とともにプレインキュベートした後、TF-1 細胞に添加してインキュベートした。^{3}H-チミジンの細胞内への取り込みを指標に IL-13 誘発 TF-1 細胞の増殖を測定した。データは 1 回の実験から得られたもので、カウント毎分 ± 標準偏差で示す。レブリキズマブは TF-1 細胞の IL-13 誘発増殖を濃度依存的に阻害したが、対照抗体は作用を示さなかった（図 2.6.2-6）。本試験の結果から、レブリキズマブは IL-13 誘発 TF-1 細胞増殖を阻害することが示された。

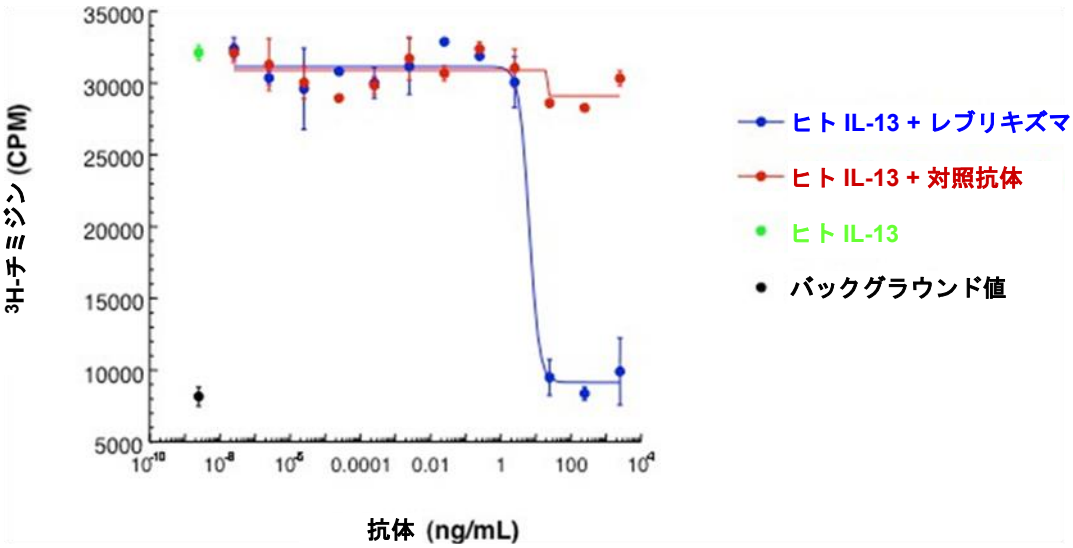


図 2.6.2-6.　TF-1 細胞の IL-13 誘発増殖に対するレブリキズマブの阻害作用
（報告書 10-1288）

2.6.2.2.1.4　ホジキンリンパ腫細胞株の IL-13 誘発増殖に対する阻害作用

報告書 S-1044（4.2.1.1.7）

IL-13 はホジキン細胞において内因性増殖因子として作用することが報告されている（Kapp et al. 1999; Skinnider et al. 2002）。IL-13 を介したホジキンリンパ腫細胞株 L-1236 の増殖に対するレブリキズマブ及び 228B/C の作用を評価した。本試験において、段階希釈したレブリキズマブ、228B/C、及び 2 つのアイソタイプ対照抗体を、播種した細胞に添加した（報告書 S-1044）。4～5 日間インキュベートした後、MTS テトラゾリウム塩を用いる CellTiter96 増殖アッセイキットにより細胞増殖を測定した。データは 1 回の実験から得られたもので、対照に対する比率（%）±標準偏差で示す。レブリキズマブ及び 228B/C はいずれも L-1236 細胞の IL-13 誘発増殖を濃度依存的に阻害したが、対照抗体は作用を示さなかった（図 2.6.2-7）。本試験の結果から、レブリキズマブ及び 228B/C は IL-13 誘発ホジキンリンパ腫細胞増殖を阻害することが示された。

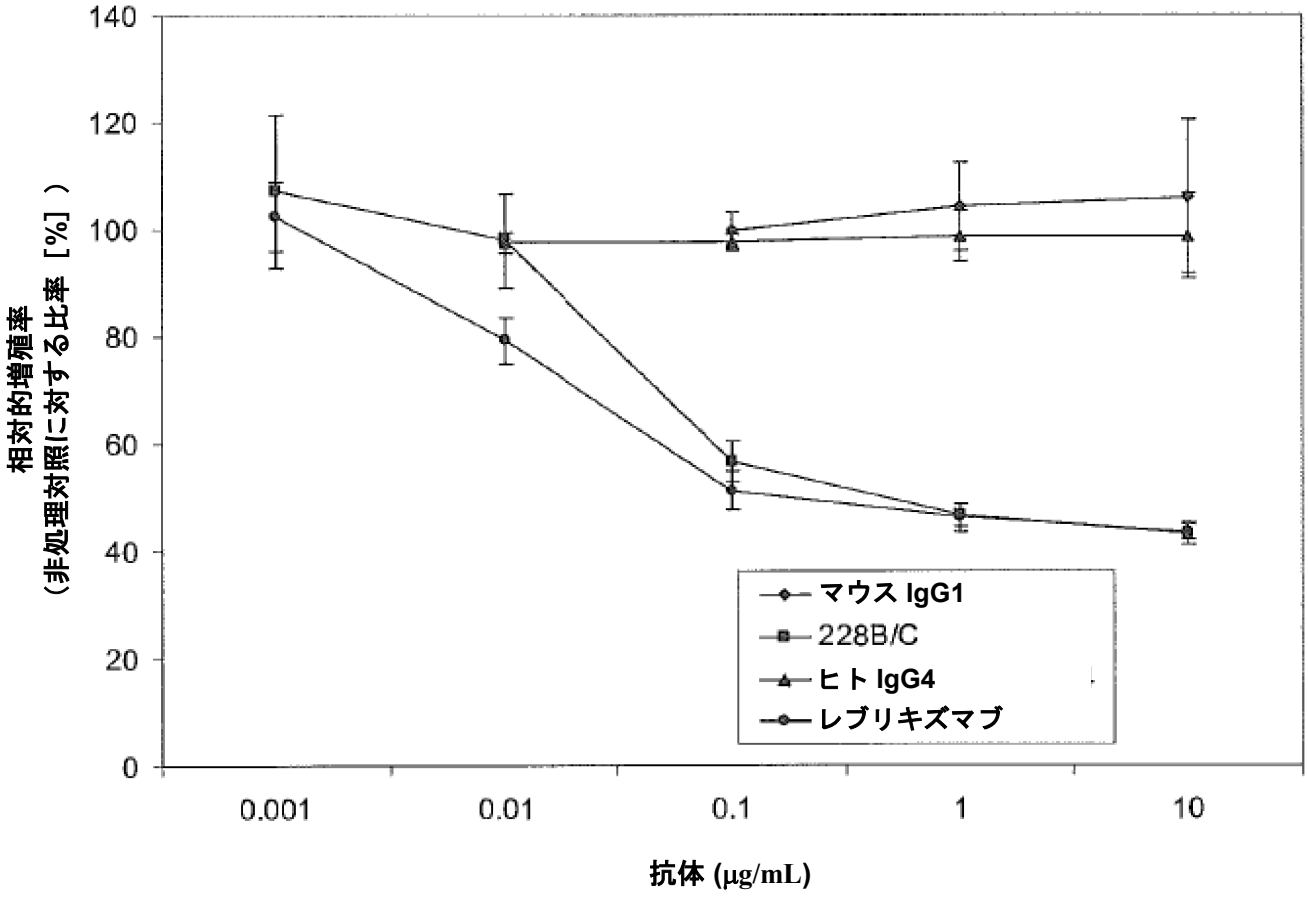


図 2.6.2-7.　L-1236 細胞の IL-13 誘発増殖に対するレブリキズマブ及び 228B/C の阻害作用（報告書 S-1044）

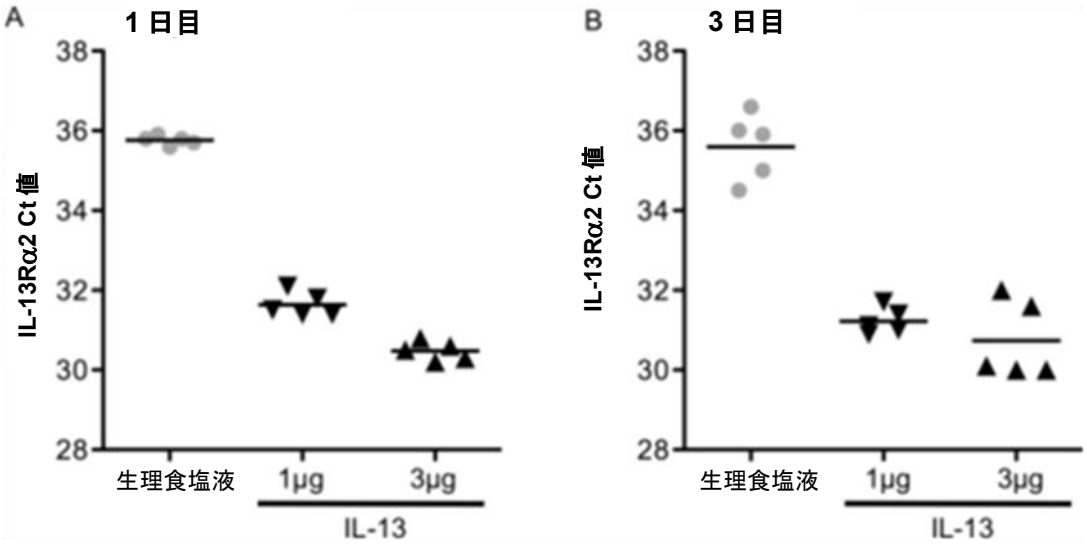
2.6.2.2.2　In vivo 試験

2.6.2.2.2.1　ヒト IL-13 誘発性気道炎症に対する作用

報告書 10-2401 A_10-2401 B（4.2.1.1.8）

IL-13 誘発性肺炎症を誘発するヒト IL-13 の至適用量を検討すること及びレブリキズマブの最適な投与時点を検討することを目的として、10-2401 B 試験を実施した。本試験において、1 群 5 例からなる 6 群の C57BL/6 マウスを使用した。マウスに生理食塩液並びに 1 及び 3 μg のヒト IL-13 を単回（0 日目）あるいは 3 日間（0、1、2 日目）にわたり鼻腔内（intranasal：IN）注入し、最終注入 1 日後（それぞれ 1 または 3 日目）にマウスを安楽殺した。IL-13 によって IL-13Rα2 発現が誘導されることから、肺ホモジネートを採取して定量的ポリメラーゼ連鎖反応（quantitative polymerase chain reaction：qPCR）で IL-13Rα2 発現を測定した。

その結果、1 又は 3 μg のヒト IL-13 の単回 IN 注入 24 時間後に、IL-13Rα2 発現の強力な上昇が認められた。ヒト IL-13 を反復注入すると IL-13Rα2 発現が 3 日目まで維持された（図 2.6.2-8）。IL-13Rα2 発現レベルは、IL-13 の 2 つの用量間で同程度であったことから、10-2401 A 試験で使用するヒト IL-13 は 1 μg に設定した。また、レブリキズマブの投与はヒト IL-13 注入 1 日後に開始することとした。



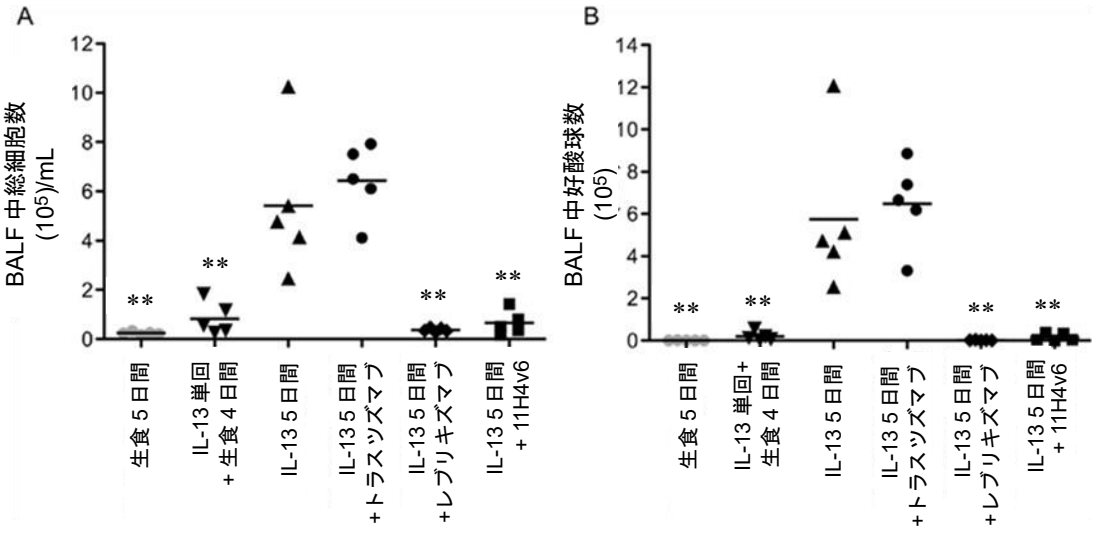
散布図の各点は個別値を、横線は群平均値をそれぞれ示す。Ct（Cycle Threshold）値は陽性結果が得られるまでの遺伝子増幅のサイクル数であり、数値が小さいほど標的遺伝子の数が多いことを意味する。

図 2.6.2-8.　ヒト IL-13 の鼻腔内注入後 1 及び 3 日目のマウス肺における IL-13Rα2 の発現（10-2401 B 試験）

ヒト IL-13 誘発性肺炎症に対するレブリキズマブの作用を 10-2401 A 試験で評価した。本試験において、1 群 5 例からなる 6 群の C57BL/6 マウスを使用した。マウスに生理食塩液を 5 日間連日 IN 注入、1 μg のヒト IL-13 を単回 IN 注入した後に生理食塩液を 4 日間連日 IN 注入、1 μg のヒト IL-13 を 5 日間連日 IN 注入、1 μg のヒト IL-13 を 5 日間連日 IN 注入するとともにそれぞれ陰性対照抗体トラスツズマブ、レブリキズマブ、又は 11H4v6 を 12.5 mg/kg の用量で IL-13 投与開始 1 日後から 4 日間連日腹腔内投与した。11H4v6 は、IL-13 と IL-13Rα1 及び IL-13Rα2 との相互作用をいずれも阻害する抗ヒト IL-13 モノクローナル抗体である。L-13 及び抗体の最終投与 3

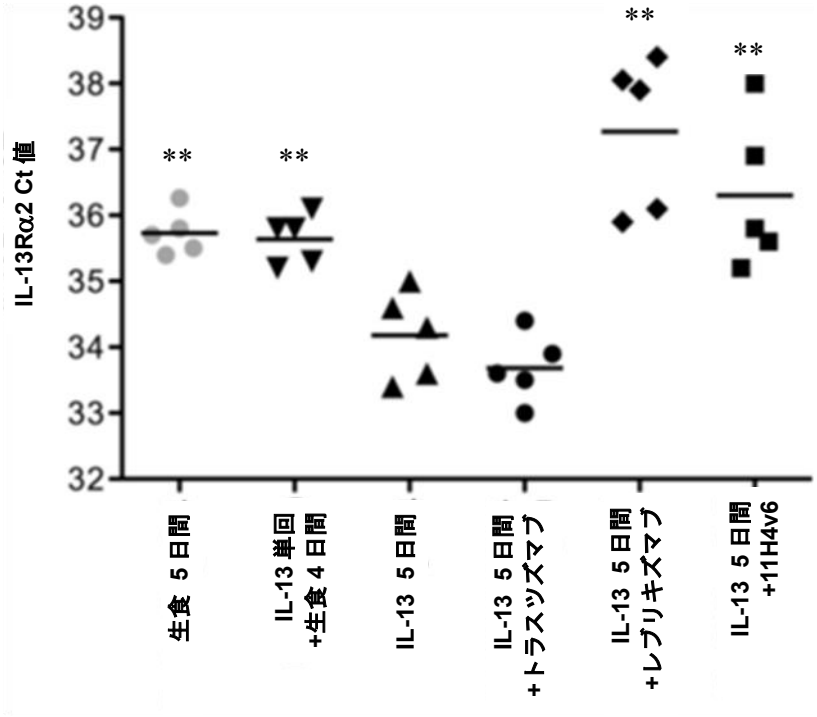
日後に動物を安楽殺した。気管支肺胞洗浄液（bronchoalveolar lavage fluid：BALF）検体を採取して総細胞数及び好酸球数を標準的な臨床検査法で測定し、形質転換増殖因子-β1（transforming growth factor-β1：TGFβ1）濃度を市販の ELISA キットで測定した。肺ホモジネートを用いて IL-13Rα2 発現を qPCR で評価した。

その結果、マウスにヒト IL-13 を IN 注入すると BALF 中に炎症性細胞が動員され（図 2.6.2-9）、肺における IL-13Rα2 発現が上昇し（図 2.6.2-10）、BALF 中 TGFβ1 濃度が上昇する（図 2.6.2-11）ことが示された。



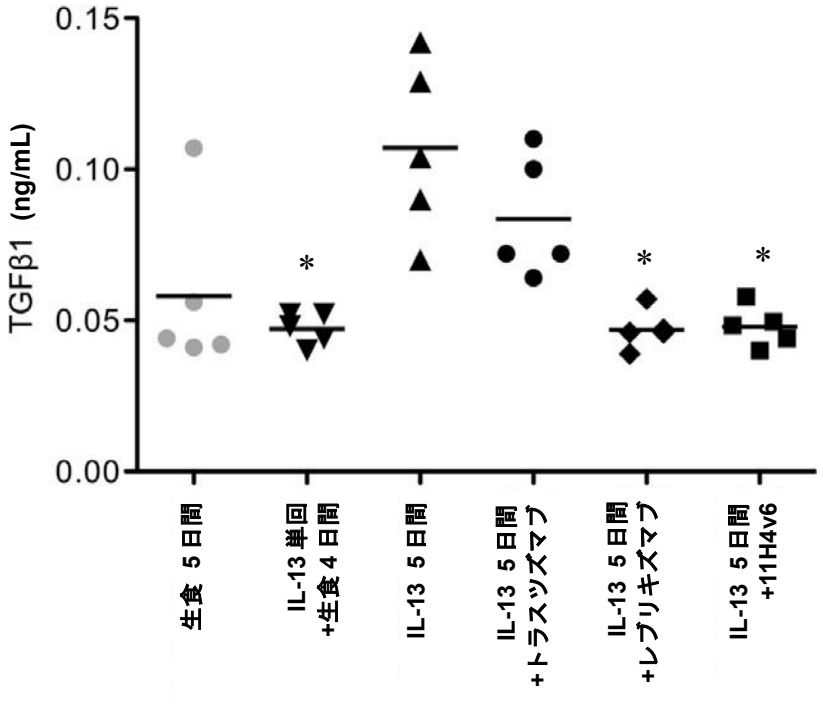
注：生理食塩液（生食）又はヒト IL-13 を注入し、トラスツズマブ（陰性対照抗体）、レブリキズマブ、又は 11H4v6 を投与したマウスから最終投与 3 日後に BALF 検体を採取し、BALF 中総細胞数（A）又は BALF 中好酸球数（B）を測定した。散布図の点は個別値を、横線は群平均値を示す。すべてのパラメータについて、Dunnett 多重比較検定を用いてトラスツズマブ対照群と比較した。** p<0.01。

図 2.6.2-9.　IL-13 誘導性 BALF 中総細胞数及び好酸球数増加に対するレブリキズマブの作用（10-2401 A 試験）



注：生理食塩液（生食）又はヒト IL-13 を注入し、トラスツズマブ（陰性対照抗体）、レブリキズマブ、又は 11H4v6 を投与したマウスから最終投与 3 日後に肺ホモジネートを採取し、IL-13Rα2 の mRNA レベルを qPCR で測定した。Ct（Cycle Threshold）値は陽性結果が得られるまでの遺伝子増幅のサイクル数であり、数値が小さいほど標的遺伝子の数が多いことを意味する。散布図の点は Ct 値の個別値を、横線は群平均値を示す。すべてのパラメータについて、Dunnett 多重比較検定を用いてトラスツズマブ対照群と比較した。** p<0.01。

図 2.6.2-10.　IL-13 誘導性肺 IL-13Rα2 発現量増加に対するレブリキズマブの作用
（10-2401 A 試験）



注：生理食塩液（生食）又はヒト IL-13 を注入し、トラスツズマブ（陰性対照抗体）、レブリキズマブ、又は 11H4v6 を投与したマウスから最終投与 3 日後に BALF 検体を採取し、TGFβ1 濃度を ELISA で測定した。散布図の点は個別値を、横線は群平均値を示す。すべてのパラメータについて、Dunnett 多重比較検定を用いてトラスツズマブ対照群と比較した。* $p<0.05$。

図 2.6.2-11.　IL-13 誘導性 BALF 中 TGFβ1 濃度上昇に対するレブリキズマブの作用（10-2401 A 試験）

ヒト IL-13 を注入したマウスにレブリキズマブ又は 11H4v6 を投与すると、炎症性細胞が減少し、IL-13Rα2 発現及び TGFβ1 濃度が低下した。レブリキズマブと 11H4v6 の IL-13 に対する結合エピトープは異なっているにもかかわらず、両者の阻害作用に大きな差は認められなかった。

以上の結果から、マウスにヒト IL-13 を IN 注入すると肺の病態が誘発され、ヒト IL-13 による in vivo での変化がレブリキズマブにより阻害されることが示された。

2.6.2.3　副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施していない。

2.6.2.4　安全性薬理試験

レブリキズマブについて、独立した in vivo 安全性薬理試験は実施しなかったが、カニクイザルを用いた毒性試験で安全性薬理評価を行った。これらの試験は、医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use：ICH）S6 (R1) 及び S7A ガイドラインに従い、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice：GLP）の規制を遵守して実施した。個々の試験デザインの詳細は、CTD 第 2.6.6 項に記載する。

毒性試験で得られた心血管系、呼吸系、及び中枢神経系に関する安全性薬理データを以下に要約する。レブリキズマブはこれらの器官系に有害な影響を示さなかった。

また、hERG イオンチャネル電流に対するレブリキズマブの影響を検討する in vitro 試験を実施した。この試験は GLP 規制を遵守し、当時の規制ガイダンスに基づいて実施したが、その後、モノクローナル抗体の催不整脈リスクの評価には hERG アッセイは適切ではないことが認識されている（Vargas et al. 2008）。

2.6.2.4.1 心血管系に関する試験

2.6.2.4.1.1 In vitro

報告書 TXPK-1059（4.2.1.3.1）

hERG イオンチャネル電流に対するレブリキズマブの影響を検討する in vitro 試験を実施した。パッチクランプ法を用いてレブリキズマブを 0.2 及び 6.0 mg/mL の濃度で評価したところ、hERG 阻害作用は認められなかった。

2.6.2.4.1.2 In vivo

報告書 07-1510（4.2.3.2.1）：07-1330（4.2.3.2.2）：07-1186（4.2.3.2.3）：10-2290（4.2.3.5.1.2）

サルを用いた 6 週間、13 週間、及び 9 ヵ月間反復投与毒性試験（それぞれ報告書 07-1510、07-1330、及び 07-1186）において、心電図の定期的なモニタリングを行った。レブリキズマブを 25 mg/kg までの用量で週 1 回静脈内（intravenous：IV）又は皮下投与（subcutaneous：SC）した。

- 心電図を各試験の投与前期間及び投与の最終週並びに中間の時点（13 週間試験の 4 週目、9 ヵ月間試験の約 3 及び 6 ヵ月目）に測定した。
- 全体として、心電図波形、心拍数、及び心電図間隔に投与に関連する明らかな変化は認められなかった。

雄の成獣カニクイザルを用いた受胎能試験（報告書 10-2290）において、心拍数のモニタリング及び心臓の聴診を獣医による定期的な身体検査の一部として実施した。この試験では、レブリキズマブを 5 及び 25 mg/kg の用量で週 1 回 3 ヵ月間 SC 投与した。

- 身体検査を投与 1 及び 12 週目並びに 20 週間の回復期間の最終週に実施した。
- レブリキズマブに起因する心血管系の所見は認められなかった。

2.6.2.4.2 中枢神経系に関する試験

報告書 10-2290（4.2.3.5.1.2）

雄の成獣カニクイザルを用いた受胎能試験の一部として、神経学的検査、神経行動評価及び体温測定を実施した。この試験では、レブリキズマブを 5 及び 25 mg/kg の用量で週 1 回 3 ヵ月間 SC 投与した。

- 神経学的検査及び神経行動評価は、投与前期間に 1 回、投与の 1 週目（神経学的検査のみ）及び 12 週目、並びに 20 週間の回復期間の最終週に実施した。
- 獣医による神経学的検査として、全身感覚運動、大脳反射（瞳孔、眼輪筋、及び角膜）、及び脊髄反射（膝蓋骨及び肛門）を評価した。また、体温測定も、定期的な身体測定の一部と

して実施した。

- 神経行動への影響の有無の評価には、改良した標準的機能観察総合評価法（Irwin 1968）を使用し、末梢及び中枢神経系両方への影響を評価した。
- レブリキズマブに起因する神経学的所見及び神経行動所見は認められなかった。

2.6.2.4.3　呼吸系に関する試験

報告書 10-2290（4.2.3.5.1.2）

雄の成獣カニクイザルを用いた受胎能試験において、獣医による定期的な身体検査の一部として呼吸数のモニタリング及び肺の聴診を実施した。この試験では、レブリキズマブを 5 及び 25 mg/kg の用量で週 1 回 3 ヵ月間 SC 投与した。

- 身体検査を投与 1 及び 12 週目並びに 20 週間の回復期間の最終週に実施した。
- レブリキズマブに起因する呼吸系の所見は認められなかった。

2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

2.6.2.6　考察及び結論

レブリキズマブは、非ヒト霊長類及びヒトの IL-13 に強力に結合する高親和性 IgG4 モノクローナル抗体である。レブリキズマブは IL-13 に結合することにより、IL-4Rα/IL-13Rα1 受容体複合体の形成及びそれを介したシグナル伝達を阻害する。レブリキズマブは IL-13 で誘発される STAT6 のリン酸化を阻害した。また、レブリキズマブは、IL-13 で誘発される TF-1 細胞及びホジキンリンパ腫 L-1236 細胞の増殖を濃度依存的に阻害した。マウスモデルにおいて、レブリキズマブは、ヒト IL-13 で誘発される肺の炎症及び IL-13Rα2 発現を阻害した。

カニクイザルを用いたレブリキズマブの毒性試験で安全性薬理評価項目を評価したところ、心血管系、呼吸系、及び中枢神経系に、投与に関連する明らかな機能的影響は認められなかった。

2.6.2.7　図表

図表は適切な項に記載した。

2.6.2.8　参考文献

Akdis CA, Akdis, M, Simon D, et al. T cells and T cell-derived cytokines as pathogenic factors in the nonallergic form of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol*. 1999;113(4):628-634.

Bieber T. Interleukin-13: Targeting an underestimated cytokine in atopic dermatitis. *Allergy* 2020;75(1):54-62.

Bin L, Leung DYM. Genetic and epigenetic studies of atopic dermatitis. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2016;12:52.

Brandt EB, Sivaprasad U. Th2 cytokines and atopic dermatitis. *J Clin Cell Immunol*. 2011;2(3).

Brunner PM, Guttman-Yassky E, Leung DYM. The immunology of atopic dermatitis and its reversibility with broad-spectrum and targeted therapies. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139:S65-76.

Buzney CD, Gottlieb AB, Rosmarin D. Asthma and atopic dermatitis: a review of targeted inhibition of interleukin-4 and interleukin-13 as therapy for atopic disease. *J Drugs Dermatol*. 2016;15:165-171.

Cabanillas B, Novak N. Atopic dermatitis and filaggrin. *Current Opin in Immunol*. 2016;42:1-8.

Esche C, de Benedetto A, Beck LA. Keratinocytes in atopic dermatitis: inflammatory signals. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2004;4:276-284.

Gieseck RL III, Wilson MS, Wynn TA. Type 2 immunity in tissue repair and fibrosis. *Nature Rev Immunol*. 2018;18(1):62-76.

Grünig G, Warnock M, Wakil AE, et al. Requirement for IL-13 independently of IL-4 in experimental asthma. *Science*. 1998;282(5397):2261-2263.

Hershey GK. IL-13 receptors and signaling pathways: an evolving web. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(4):677-690.

Howell MD, Fairchild HR, Kim BE, et al. Th2 cytokines act on S100/A11 to downregulate keratinocyte differentiation. *J Invest Dermatol*. 2008;128(9):2248-2258.

Hummelshoj T, Bodtger U, Datta P, et al. Association between an interleukin-13 promoter polymorphism and atopy. *Eur J. Immunogenet*. 2003;30(5):355-359.

Irwin S. Comprehensive observational assessment: 1a. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioural and physiologic state of the mouse. *Psychopharmacologia*. 1968;13:222-257.

Junttila IS. Tuning the cytokine responses: an update on interleukin (IL)-4 and IL-13 receptor complexes. *Front Immunol*. 2018;9:888.

Kapp U, Yeh WC, Patterson B, et al. Interleukin 13 is secreted by and stimulates the growth of Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *J Exp Med*. 1999;189(12):1939-1945.

Kim BE, Leung DYM, Boguniewicz M, Howell MD. Loricrin and involucrin expression is down-regulated by Th2 cytokines through STAT-6. *Clin Immunol*. 2008;126(3):332-337.

Kioi M, Seetharam S, Puri RK. N-linked glycosylation of IL-13R alpha2 is essential for optimal IL-13 inhibitory activity. *FASEB J*. 2006;20(13):2378-2380.

Kitamura T, Tange T, Terasawa T, et al. Establishment and characterization of a unique human cell line that proliferates dependently on GM-CSF, IL-3, or erythropoietin. *J Cell Physiol*. 1989;140(2):323-334.

La Grutta S, Richiusa P, Pizzolanti G, et al. CD4(+) IL-13(+) cells in peripheral blood well correlates with the severity of atopic dermatitis in children. *Allergy*. 2005;60(3):391-395.

Langan SM, Irvine AD, Weidinger S. Atopic dermatitis. *Lancet.* 2020;396(10247):345-360.

May RD, Fung M. Strategies targeting the IL-4/IL-13 axes in disease. *Cytokine*. 2015;75:89-116.

McKenzie AN, Culpepper JA, de Waal Malefyt R, et al. Interleukin 13, a T-cell-derived cytokine that regulates human monocyte and B-cell function. *Proc Natl Acad Sci U.S.A*. 1993;90(8):3735-3739.

Nguyen JK, Austin E, Huang A, et al. The IL-4/IL-13 axis in skin fibrosis and scarring: mechanistic concepts and therapeutic targets. *Arch Dermatol Res*. 2020;312(2):81-92.

Novak N, Kruse S, Kraft S, et al. Dichotomic nature of atopic dermatitis reflected by combined analysis of monocyte immunophenotyping and single nucleotide polymorphisms of the interleukin-4/interleukin-13 receptor gene: the dichotomy of extrinsic and intrinsic atopic dermatitis. *J Invest Dermatol*. 2002;119(4):870-875.

Pavel AB, Zhou L, Diaz A, et al. The proteomic skin profile of moderate-to-severe atopic dermatitis patients shows an inflammatory signature. *J. Am Acad Dermatol*. 2020;82(3):690-699.

Purwar R, Werfel T, Wittmann M. IL-13-stimulated human keratinocytes preferentially attract CD4+CCR4+ T cells: possible role in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol*. 2006;126(5):1043-1051.

Simon D, Wollenberg A, Renz H, Simon H-U. Atopic Dermatitis: Collegium Internationale Allergologicum (CIA) Update 2019. *Int Arch Allergy Immunol*. 2019;178(3):207-218.

Skinnider BF, Kapp U, Mak TW. The role of interleukin 13 in classical Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2002;43(6):1203-1210.

Ultsch M, Bevers J, Nakamura G, et al. Structural basis of signaling blockade by anti-IL-13 antibody lebrikizumab. *J Mol Biol*. 2013;425(8):1330-1339.

Vargas HM, Bass AS, Breidenbach A, et al. Scientific review and recommendations on preclinical cardiovascular safety evaluation of biologics. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2008;58(2):72-76

Werfel T, Allam J-P, Biedermann T, et. al. Cellular and molecular immunologic mechanisms in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(2):336-349.

Wills-Karp M, Luyimbazi J, Xu X, et al. Interleukin-13: central mediator of allergic asthma. *Science*. 1998;282(5397):2258-2261.

Zhu Z, Homer RJ, Wang Z, et al. Pulmonary expression of interleukin-13 causes inflammation, mucus hypersecretion, subepithelial fibrosis, physiologic abnormalities, and eotaxin production. *J Clin Invest*. 1999;103(6):779-788.

イブグリース皮下注 250mg オートインジェクター
イブグリース皮下注 250mg シリンジ

2.6.3　薬理試験概要表

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.3. Pharmacology Tabulated Summary 1
2.6.3.1. Pharmacology: Overview 1
2.6.3.2. Primary Pharmacodynamics 3
2.6.3.3. Secondary Pharmacodynamics 3
2.6.3.4. Safety Pharmacology 4
2.6.3.5. Pharmacodynamic Drug Interactions 5

2.6.3. Pharmacology Tabulated Summary

Note: Lebrikizumab is also referred to as MILR1444A or TNX-650 in the tables and study reports.

2.6.3.1. Pharmacology: Overview

Table 2.6.3.1–1. Overview of Pharmacology Studies

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Document ID	Section #
Primary Pharmacodynamics					
Reactivity of TNX-650 and 228B/C	Recombinant human, mouse, cynomolgus monkey IL-13 and human IL-4	In vitro	[redacted] USA	S-1043	4.2.1.1.1
Binding activity	Recombinant human, rat and mouse IL-13	In vitro	[redacted] USA	13-0790	4.2.1.1.2
Binding kinetic and affinity constants measurement	Recombinant human and cynomolgus IL-13	In vitro	[redacted] USA	15-2669	4.2.1.1.3
Binding epitope assessment	Recombinant mouse IL-13	In vitro	[redacted] USA	10-1290	4.2.1.1.4
Binding assay	Recombinant human IL-13	In vitro	[redacted] USA	10-1289	4.2.1.1.5
Signaling effect	Recombinant human IL-13	In vitro	[redacted] USA	10-1288	4.2.1.1.6
Autocrine proliferation mechanism	Hodgkin lymphoma cell line	In vitro	[redacted] USA	S-1044	4.2.1.1.7
Effects on human IL-13 induced airway inflammation, remodeling, and IL-13Rα2 induction time course	C57BL/6 mice	In vivo	[redacted] USA	10-2401 A_10-2401 B	4.2.1.1.8

(continued)

Table 2.6.3.1–1. Overview of Pharmacology Studies (Concluded)

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Document ID	Section #
Secondary Pharmacodynamics					
Not applicable					
Safety Pharmacology					
hERG Ion Channel[a]	HEK 293 cells transfected with hERG clone	In vitro	[redacted] USA	TXPK-1059	4.2.1.3.1
Cardiovascular[a]	Monkey, Cynomolgus	IV injection	[redacted] USA	07-1186	4.2.3.2.3
Cardiovascular[a]	Monkey, Cynomolgus	SC injection	[redacted] USA	07-1330	4.2.3.2.2
Cardiovascular[a]	Monkey, Cynomolgus	IV injection	[redacted] USA	07-1510	4.2.3.2.1
Cardiovascular[a]	Monkey, Cynomolgus	SC injection	[redacted] Germany	10-2290	4.2.3.5.1.2
Central Nervous System[a]	Monkey, Cynomolgus	SC injection	[redacted] Germany	10-2290	4.2.3.5.1.2
Respiratory System[a]	Monkey, Cynomolgus	SC injection	[redacted] Germany	10-2290	4.2.3.5.1.2
Pharmacodynamic Drug Interactions					
Not applicable					

Abbreviations: GLP = Good Laboratory Practice; HEK = human embryonic kidney; hERG = human ether-à-go-go-related gene; IV = intravenous; SC = subcutaneous.

[a] Contains a GLP compliance statement.

2.6.3.2. Primary Pharmacodynamics

Refer to Section 2.6.2 (Pharmacology Written Summary).

2.6.3.3. Secondary Pharmacodynamics

Not applicable.

2.6.3.4. Safety Pharmacology

Table 2.6.3.4–1. Safety Pharmacology Studies

Organ Systems Evaluated	Species, Strain	Route	Test Article(s) Doses or Concentrations[a]	Sex #/Group	Noteworthy Findings	GLP	Document ID
Cardiovascular Ion Channel Effects (in vitro)	HEK 293 cells transfected with hERG clone	In vitro	0 mg/mL[b] 0.2 mg/mL 6.0 mg/mL	3 cells/group	$IC_{50} \geq 6$ mg/mL	Yes	TXPK-1059
Cardiovascular Effects (in vivo)[c,d]	Monkey, Cynomolgus	IV injection	0 mg/kg[e] 1.0 mg/kg 5.0 mg/kg 25.0 mg/kg	Male/4[c] Female/4[c]	No TA-related ECG findings were noted. NOAEL = 25 mg/kg	Yes	07-1186
Cardiovascular Effects (in vivo)[f,g]	Monkey, Cynomolgus	SC injection	0 mg/kg[h] 5.0 mg/kg 25.0 mg/kg	Male/3[f] Female/3[f]	No TA-related ECG findings were noted. NOEL = 25 mg/kg	Yes	07-1330
Cardiovascular Effects (in vivo)[i,j]	Monkey, Cynomolgus	IV injection	0 mg/kg[k] 0.95 mg/kg 4.90 mg/kg 22.57 mg/kg	Male/3[i] Female/3[i]	No TA-related ECG findings were noted. NOEL = 22.57 mg/kg	Yes	07-1510
Cardiovascular Effects (in vivo)[l,m]	Monkey, Cynomolgus	SC injection	0 mg/kg[n] 5.0 mg/kg 25.0 mg/kg	Male/6[l]	No TA-related heart rate findings were noted. NOAEL = 25 mg/kg	Yes	10-2290
Central Nervous System Effects (in vivo)[l,m]	Monkey, Cynomolgus	SC injection	0 mg/kg[n] 5.0 mg/kg 25.0 mg/kg	Male/6[l]	No TA-related neurological, neurobehavioral, or body temperature observations were noted. NOAEL = 25 mg/kg	Yes	10-2290
Respiratory System Effects (in vivo)[l,m]	Monkey, Cynomolgus	SC injection	0 mg/kg[n] 5.0 mg/kg 25.0 mg/kg	Male/6[l]	No TA-related respiratory observations were noted. NOAEL = 25 mg/kg	Yes	10-2290

(continued)

Table 2.6.3.4–1. Safety Pharmacology Studies (Concluded)

Abbreviations: # = number; ATP = adenosine triphosphate; ECG = electrocardiogram; EGTA = egtazic acid; HEK = human embryonic kidney; HEPES = 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid; hERG = human ether-à-go-go-related gene; IC_{50} = half maximal inhibitory concentration; IV = intravenous; NOAEL = no-observed-adverse-effect level; NOEL = no-observed-effect level; SC = subcutaneous; TA = test article.

[a] Single dose unless specified otherwise.

[b] Custom HEPES-buffered physiological saline (HB-PS) solution (composition in mM): potassium aspartate, 130; $MgCl_2$, 5; EGTA, 5; ATP, 4; HEPES, 10; pH adjusted to 7.2 with KOH.

[c] A 9-month IV toxicity study with a 3-month interim sacrifice. A subgroup of monkeys (4/sex/dose) was given 0, 1, 5, or 25 mg/kg for 3 months and sacrificed.

[d] Surface ECGs collected predose, Month 3, Day 175, and Day 266.

[e] 0.9% saline.

[f] A 13-week toxicity study. A subgroup of monkeys (2/sex/dose) was given 5 mg/kg for 4 consecutive weeks and sacrificed after a 10-week recovery period.

[g] Surface ECGs collected predose, Week 4, and Week 13.

[h] Control article.

[i] A 6-week IV toxicity study. Groups 1 through 4 were given a slow-push IV injection once weekly for 6 weeks, while Groups 5 and 6 (2/sex/group) were given a slow-push IV injection once on Day 1 to evaluate the toxicokinetics. All animals were sacrificed on Day 43.

[j] Surface ECGs were collected predose and Day 42.

[k] Control article (sterile phosphate buffered saline with sucrose and Polysorbate 80 at pH 7).

[l] A 13-week study on male fertility, followed by a 20-week recovery period. A subgroup of monkeys (4/dose) was sacrificed at Week 13; the remaining monkeys (2/dose) were sacrificed after a 20-week period of recovery.

[m] Neurological examinations, body temperature, heart and lung auscultation, heart rate, and respiratory rate were conducted predose, Week 1, Week 12, and Week 20. Neurobehavioral observations were conducted predose, Week 12, and Week 20.

[n] Control article.

2.6.3.5. Pharmacodynamic Drug Interactions

Not applicable.