目次

略語・略号一覧 2
2.6.1　緒言 3
2.6.1.1　参考文献 5

略語・略号一覧

略語・略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
IGF	insulin-like growth factor	インスリン様成長因子
IGF-1R	insulin-like growth factor-1 receptor	インスリン様成長因子 1 受容体
IgG1	immunoglobulin G1	免疫グロブリン G1
mAb	monoclonal antibody	モノクローナル抗体
TED	thyroid eye disease	甲状腺眼症
TSHR	thyroid stimulation hormone receptor	甲状腺刺激ホルモン受容体

2.6.1 緒言

テプロツムマブ（遺伝子組換え）（HZN-001、RV 001、R1507、RO4858696 とも表記されている）は、ヒトインスリン様成長因子 1 受容体（IGF-1R）に対する完全ヒト型免疫グロブリン G1（IgG1）モノクローナル抗体（mAb）である。テプロツムマブは、甲状腺眼症（TED）患者の治療を目的として開発しており、2020 年 1 月に米国食品医薬品局により、TEPEZZA®（teprotumumab-trbw）として承認されている。

テプロツムマブのヒト可変領域は、IGF-1R タンパク質（遺伝子組換え）で免疫したトランスジェニック HCo7 マウス由来のハイブリドーマから得た。本抗体は 2 つのヘテロダイマーからなり、それぞれが重鎖及び軽鎖ポリペプチド鎖で構成される。これら 4 本のペプチド鎖はジスルフィド結合で連結されている。本抗体は両重鎖の定常領域に 1 本の糖鎖を有する。マウス骨髄細胞株の SP2/0-Ag14 及びチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞株の CHO-DG44 を用いて、2 種類の安定な抗体産生細胞株を樹立した。現在の製品製剤は CHO 細胞株由来のテプロツムマブである。

IGF-1R は、チロシンキナーゼ共役型細胞表面受容体であり、インスリン受容体と全アミノ酸配列で約 50～60%の相同性を有する（Baserga, Resnicoff, and Dews 1997）。テプロツムマブは、IGF-1R の α サブユニットの細胞外ドメインに高い親和性及び選択性で結合し、天然リガンドであるインスリン様成長因子（IGF）-1 及び IGF-2 の結合を置換した。また、テプロツムマブはこの拮抗作用により、細胞表面 IGF-1R の細胞内への取り込み及び分解を誘導して、細胞表面の IGF-1R タンパク質発現量を減少させる。リガンド（IGF-1 又は IGF-2）が結合して IGF-1R が活性化されると、IGF-1R シグナル伝達は細胞の増殖、分化及び炎症応答に作用する（Khandwala et al. 2000、Ullrich et al. 1986、Li et al. 2018）。テプロツムマブは抗体依存性細胞傷害作用を誘導しない（毒性試験の概要文[2.6.6.8.1]、試験番号[1019288]）。また、テプロツムマブはインスリン受容体に対して交差反応性を示さない（薬理試験の概要文[2.6.2.3.1]、試験番号[1019183]及び薬理試験の概要文[2.6.2.3.2]、試験番号[1019286]）。TED 発症の誘因は十分には解明されていないが、眼窩線維芽細胞の活性化及び増殖が活動性 TED の病態生理で重要であることを示す数多くのエビデンスが示されている（Bahn 2010、Boschi et al. 2005、Smith 2010）。線維芽細胞の活性化は、炎症性サイトカインの放出、免疫細胞の眼窩軟組織（筋肉、間質及び脂肪）への浸潤、細胞外マトリックスの過剰産生、組織の膨張及びリモデリングを誘発する。分子レベルでは、甲状腺刺激ホルモン受容体（TSHR）及び IGF-1R の 2 つの重要なシグナル伝達受容体が TED に関与しており（Bahn 2010、Baldeschi et al. 2007、Smith 2019）、これらは高分子複合体として物理的及び機能的に共役していることが明らかになっている（Kumar et al. 2012、Smith and Hoa 2004、Tsui et al. 2008）。抗 IGF-1R mAb であるテプロツムマブを用いて IGF-1R 機能を抑制すると、TED 患者から分離した自己抗体によって引き起こされるシグナル伝達により眼窩線維芽細胞で特異的に誘発される病態生理応答が阻害された（Hoa et al. 2012、Pritchard et al. 2003、Smith and Hoa 2004）。同様に、眼窩線維芽細胞サブタイプの前駆細胞であり TED の病因として重要な因子である線維化関連細胞の活性化を、テプロツムマブは阻害した（Chen et al. 2014、Chen et al. 2015）。これらの試験結果は、IGF-1R が TED 発症の重要な因子であり、IGF-1R に対するリガン

ド結合が阻害されると活動性 TED の特徴である眼窩炎症、細胞外マトリックスの過剰産生及び組織増殖を誘導する根本原因である免疫学的病因が阻害されることを示している。

包括的なテプロツムマブの非臨床試験を実施し、非臨床試験結果の概要をモジュール 2 に記載した。非臨床試験の報告書はモジュール 4 に掲載した。

本申請資料に示す非臨床試験結果により、TED の治療に使用するテプロツムマブの良好なリスク・ベネフィットプロファイルが支持される。医療従事者及び患者が必要とする非臨床試験結果の情報は、すべて添付文書案に記載している。

2.6.1.1 参考文献

Bahn, R. S. 2010. "Graves' ophthalmopathy." N Engl J Med 362 (8):726-38. doi: 10.1056/NEJMra0905750.

Baldeschi, L., A. Lupetti, P. Vu, I. M. Wakelkamp, M. F. Prummel, and W. M. Wiersinga. 2007. "Reactivation of Graves' orbitopathy after rehabilitative orbital decompression." Ophthalmology 114 (7):1395-402. doi: 10.1016/j.ophtha.2006.10.036.

Baserga, R., M. Resnicoff, and M. Dews. 1997. "The IGF-I receptor and cancer." Endocrine 7 (1):99-102. doi: 10.1007/bf02778073.

Boschi, A., Ch Daumerie, M. Spiritus, C. Beguin, M. Senou, D. Yuksel, M. Duplicy, S. Costagliola, M. Ludgate, and M. C. Many. 2005. "Quantification of cells expressing the thyrotropin receptor in extraocular muscles in thyroid associated orbitopathy." Br J Ophthalmol 89 (6):724-9. doi: 10.1136/bjo.2004.050807.

Chen, H., T. Mester, N. Raychaudhuri, C. Y. Kauh, S. Gupta, T. J. Smith, and R. S. Douglas. 2014. "Teprotumumab, an IGF-1R blocking monoclonal antibody inhibits TSH and IGF-1 action in fibrocytes." J Clin Endocrinol Metab 99 (9):E1635-40. doi: 10.1210/jc.2014-1580.

Chen, H., S. J. Shan, T. Mester, Y. H. Wei, and R. S. Douglas. 2015. "TSH-mediated TNFalpha production in human fibrocytes is inhibited by teprotumumab, an IGF-1R antagonist." PLoS One 10 (6):e0130322. doi: 10.1371/journal.pone.0130322.

Hoa, N., S. Tsui, N. F. Afifiyan, A. Sinha Hikim, B. Li, R. S. Douglas, and T. J. Smith. 2012. "Nuclear targeting of IGF-1 receptor in orbital fibroblasts from Graves' disease: apparent role of ADAM17." PLoS One 7 (4):e34173. doi: 10.1371/journal.pone.0034173.

Khandwala, H. M., I. E. McCutcheon, A. Flyvbjerg, and K. E. Friend. 2000. "The effects of insulin-like growth factors on tumorigenesis and neoplastic growth." Endocr Rev 21 (3):215-44. doi: 10.1210/edrv.21.3.0399.

Kumar, S., S. Iyer, H. Bauer, M. Coenen, and R. S. Bahn. 2012. "A stimulatory thyrotropin receptor antibody enhances hyaluronic acid synthesis in Graves' orbital fibroblasts: inhibition by an IGF-I receptor blocking antibody." J Clin Endocrinol Metab 97 (5):1681-7. doi: 10.1210/jc.2011-2890.

Li, J., R. Dong, J. Yu, S. Yi, J. Da, F. Yu, and Y. Zha. 2018. "Inhibitor of IGF1 receptor alleviates the inflammation process in the diabetic kidney mouse model without activating SOCS2." Drug Des Devel Ther 12:2887-96. doi: 10.2147/dddt.S171638.

Pritchard, J., R. Han, N. Horst, W. W. Cruikshank, and T. J. Smith. 2003. "Immunoglobulin activation of T cell chemoattractant expression in fibroblasts from patients with Graves' disease is mediated through the insulin-like growth factor I receptor pathway." J Immunol 170 (12):6348-54.

Smith, T. J. 2010. "Potential role for bone marrow-derived fibrocytes in the orbital fibroblast heterogeneity associated with thyroid-associated ophthalmopathy." Clin Exp Immunol 162 (1):24-31. doi: 10.1111/j.1365-2249.2010.04219.x.

Smith, T. J. 2019. "The insulin-like growth factor-I receptor and its role in thyroid-associated ophthalmopathy." Eye (Lond) 33 (2):200-5. doi: 10.1038/s41433-018-0265-2.

Smith, T. J., and N. Hoa. 2004. "Immunoglobulins from patients with Graves' disease induce hyaluronan synthesis in their orbital fibroblasts through the self-antigen, insulin-like growth factor-I receptor." J Clin Endocrinol Metab 89 (10):5076-80. doi: 10.1210/jc.2004-0716.

Tsui, S., V. Naik, N. Hoa, C. J. Hwang, N. F. Afifiyan, A. Sinha Hikim, A. G. Gianoukakis, R. S. Douglas, and T. J. Smith. 2008. "Evidence for an association between thyroid-stimulating hormone and insulin-like growth factor 1 receptors: a tale of two antigens implicated in Graves' disease." J Immunol 181 (6):4397-405.

Ullrich , A., A. Gray, A. W. Tam, T. Yang-Feng, M. Tsubokawa, C. Collins, W. Henzel, T. Le Bon, S. Kathuria, E. Chen, et al. 1986. "Insulin-like growth factor I receptor primary structure: comparison with insulin receptor suggests structural determinants that define functional specificity." Embo j 5 (10):2503-12.

目次

略語・略号一覧 2
2.6.2　薬理試験の概要文 3
2.6.2.1　まとめ 3
2.6.2.2　効力を裏付ける試験 4
2.6.2.2.1　インスリン様成長因子 1 受容体発現プロファイル 4
2.6.2.2.2　テプロツムマブの in vitro での選択性及び活性 4
2.6.2.2.2.1　結合選択性 4
2.6.2.2.2.2　結合親和性 4
2.6.2.2.2.3　拮抗作用 4
2.6.2.2.2.4　作用機序 5
2.6.2.2.2.5　抗増殖活性 5
2.6.2.2.3　テプロツムマブの in vivo での活性 6
2.6.2.2.4　インスリン様成長因子 1 受容体に対するテプロツムマブの交差反応性 6
2.6.2.2.5　IGF-1R のリン酸化、ユビキチン化及び細胞内への取り込み 7
2.6.2.3　副次的薬理試験 7
2.6.2.3.1　細胞免疫染色と共焦点レーザー顕微鏡を用いたインスリン受容体との交差反応性の評価 8
2.6.2.3.2　競合アッセイ及び発現量減少アッセイを用いたインスリン受容体との交差反応性の評価 8
2.6.2.4　安全性薬理試験 9
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験 9
2.6.2.6　考察及び結論 9
2.6.2.7　図表 10
2.6.2.8　参考文献 11

図目次

図 2.6.2-1　テプロツムマブ（6 mg/kg）単回投与後の IGF-1R 発現量 6

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
3T3-IGF-1R	mouse NIH3T3 fibroblasts overexpressing human IGF-1R	ヒト IGF-1R を過剰発現する NIH3T3 マウス線維芽細胞
3T3-IR	mouse NIH3T3 fibroblasts cells overexpressing human IR	ヒト IR を過剰発現する NIH3T3 マウス線維芽細胞
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
CTD	Common Technical Document	コモン・テクニカル・ドキュメント
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定
FITC	fluorescein isothiocyanate	フルオレセインイソチオシアネート
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IGF	insulin-like growth factor	インスリン様成長因子
IGF-1R	insulin-like growth factor-1 receptor	インスリン様成長因子 1 受容体
IHC	immunohistochemistry	免疫組織化学染色
IR	insulin receptor	インスリン受容体
Kd	dissociation constant	解離定数
mAb	monoclonal antibody	モノクローナル抗体
MAPK	mitogen-activated protein kinase	分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ
PI3K	phosphoinositide 3-kinases	ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ
SPR	surface plasmon resonance	表面プラズモン共鳴
TED	thyroid eye disease	甲状腺眼症
WST	water soluble tetrazolium salts	水溶性テトラゾリウム塩

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

テプロツムマブ（遺伝子組換え）（HZN-001、RV 001 とも表記されている）は、甲状腺眼症（TED）の治療を適応として開発している完全ヒト型抗インスリン様成長因子 1 受容体（IGF-1R）モノクローナル抗体（mAb）である。IGF-1R は、インスリン受容体（IR）と全アミノ酸配列で約 50～60%の相同性を有するチロシンキナーゼ共役型細胞表面受容体である（Schumacher et al. 1991）。IGF-1R は、リガンドであるインスリン様成長因子（IGF）-1 又は IGF-2 の結合によって活性化され、細胞増殖、分化、炎症などの重要な細胞活動を調節する（Khandwala et al. 2000、Li et al. 2018、Ullrich et al. 1986）。

In vitro 及び in vivo 薬理試験を実施し、テプロツムマブの特異性、選択性及び活性を評価した。In vitro 試験では、IGF-1R に対する結合活性及び IGF-1R 機能の不活化を評価した。更に、ヒト IR との交差反応性を評価した。テプロツムマブが IGF-1R 発現量を減少させる活性を in vivo で検討した。すべての非臨床薬理試験の結果の概要表を、CTD [2.6.3]に記載した。非臨床薬理試験の全試験報告書は、モジュール 4 に示した。

ヒト及びカニクイザルの正常組織で類似した IGF-1R 発現プロファイルが認められたが、免疫組織化学染色（IHC）強度にわずかな差異が認められる臓器もあった。膜結合性 IGF-1R の発現（大部分は軽度～中等度の染色強度）が、多くの上皮組織（前立腺、胃、食道、小腸、結腸、胎盤、膵臓、甲状腺、乳腺、子宮内膜、子宮頸部、膀胱、腎臓、扁桃腺、胸腺及び皮膚）で認められた。ヒト及びカニクイザル両方の組織で内皮細胞の細胞質は、IGF-1R 発現に対して弱～中等度陽性に染色された。

テプロツムマブはヒト IGF-1R の α サブユニット細胞外ドメインに高い親和性及び選択性で結合し、天然リガンドである IGF-1 及び IGF-2 両方による活性化を妨げた。テプロツムマブは、IGF-1R に対する部分アゴニスト活性を示さなかった。また、IR に対する親和性を示さなかった。テプロツムマブは IGF-1R に対する結合により、シグナル伝達及び関連する下流シグナル伝達の抑制を示した。更にテプロツムマブは、細胞表面 IGF-1R の細胞内への取り込み及び分解を誘導して、細胞表面の IGF-1R の発現量を減少させた。

サルを用いた 7 週間毒性試験では、投与 1 日目に最大 150 mg/kg のテプロツムマブを投与し、その後 75 mg/kg を週 2 回静脈内投与した。1 日 1 回の一般状態の変化の観察、並びに週 1 回の心拍数、呼吸数、体温測定などの理学的検査及び種々の間隔での心電図検査で、顕著な変化は認められなかった（[2.6.6.3.2]）。同様に、最大 75 mg/kg を週 1 回静脈内投与した毒性試験では、39 週間の投与期間中十分な忍容性が認められた。一般状態の変化の観察、理学的検査（心拍数、呼吸数、体温などのバイタルサインの測定を含む）及び種々の間隔での心電図検査で、中枢神経系、呼吸系及び心血管系に対するテプロツムマブの影響の可能性を示唆する変化は認められなかった（[2.6.7.7]）。

テプロツムマブの非臨床薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 インスリン様成長因子 1 受容体発現プロファイル

試験番号[1033803]、CTD: 4.2.1.1-1

ヒト及びカニクイザルの正常組織で IGF-1R 発現を IHC で評価した。IGF-1R 発現は、ヒト IGF-1R の β 鎖受容体の内部ドメインを認識する G11 ウサギ mAb を使用して Ventana Benchmark XT で検出した。IGF-1R 発現は多くのヒト及びカニクイザル臓器でさまざまな染色強度で検出され、大部分は膜染色として検出されたが、細胞質染色としても検出された。これらの臓器の大部分では、多数の IGF-1R 陽性細胞が認められた。ヒト及びカニクイザルの正常組織で IGF-1R 発現プロファイルは類似したが、一部の臓器では染色強度にわずかな差異が認められた。膜結合性 IGF-1R の発現（大部分は軽度～中等度の染色強度）は、多くの上皮組織（前立腺、胃、食道、小腸、結腸、胎盤、膵臓、甲状腺、乳腺、子宮内膜、子宮頸部、膀胱、腎臓、扁桃腺、胸腺及び皮膚）で認められた。ヒト及びカニクイザル両方の正常組織で内皮細胞の細胞質は、IGF-1R 発現に対して弱～中等度陽性に染色された。

2.6.2.2.2 テプロツムマブの in vitro での選択性及び活性

2.6.2.2.2.1 結合選択性

試験番号[1019200]、CTD: 4.2.1.1-2

免疫蛍光標識と共焦点レーザー顕微鏡を使用して、テプロツムマブの細胞での結合特異性及び選択性をヒト IGF-1R を過剰発現する NIH3T3 マウス線維芽細胞（3T3-IGF-1R）で評価した。フルオレセインイソチオシアネート（FITC）を結合したテプロツムマブは、糸状仮足を形成した細胞膜、膜パッチ及びタンパク質生合成経路（すなわち、小胞体、ゴルジ装置）の IGF-1R に特異的に結合した。テプロツムマブの免疫染色結果は、二重標識試験で、抗ヒト IGF-1R マウス mAb（αIR3）対照による染色結果と一致した。

2.6.2.2.2.2 結合親和性

試験番号[1027532]、CTD: 4.2.1.1-3

試験番号[1019483]、CTD: 4.2.1.1-4

表面プラズモン共鳴（SPR）解析システム（Biacore™）を使用して、テプロツムマブの結合親和性を測定した。テプロツムマブは、高い親和性［平均解離定数（Kd）値は、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞株及び SP2/0 マウス骨髄細胞株由来のテプロツムマブで、それぞれ、2.2 及び 2.4 nmol/L］でヒト IGF-1R の細胞外ドメインに結合した（それぞれ、試験番号 1027532 及び 1019483）。

2.6.2.2.2.3 拮抗作用

試験番号[1019287]、CTD: 4.2.1.1-5

^{125}I-放射性標識 IGF-1 及び IGF-2（ヒト遺伝子組換え、Amersham Biosciences）を用いたリガンド競合アッセイで、テプロツムマブが細胞表面に発現した IGF-1R で両リガンドを置換する活性を

測定した。テプロツムマブは、IGF-1R を発現している HT29 ヒト腫瘍細胞に対する IGF-1 及び IGF-2 の結合を、それぞれ、0.44 ± 0.13 nmol/L（n = 6）及び 0.28 ± 0.33 nmol/L（n = 4）の 50%阻害濃度（IC_{50}）値（平均値 ± 標準偏差）で抑制した。一方、IGF-1R に対する IGF-1 の結合を抑制するが IGF-1R に対する IGF-2 の結合を抑制しないことが知られている対照抗体 αIR-3（Bergmann et al.1995）は、IGF-1R を発現している HT29 ヒト腫瘍細胞に対する IGF-1 の結合を 3.2 ± 1.5 nmol/L（n = 4）の IC_{50} 値（平均値 ± 標準偏差）で置換したが、IGF-2 の結合を置換しなかった。HT29 細胞株よりも IGF-1R が高発現していることが示されている 3T3-IGF-1R 細胞株では、テプロツムマブは、IGF-1 に対して 1.3 nmol/L（n = 6）及び IGF-2 に対して 2.8 nmol/L（n = 4）の IC_{50} 値で両リガンドを置換した。

2.6.2.2.2.4 作用機序

試験番号[1019219]、CTD: 4.2.1.1-6

試験番号[1027507]、CTD: 4.2.1.1-7

テプロツムマブによる IGF-1R 機能の不活性化の作用機序を明らかにするために、テプロツムマブ処理後の H322M ヒト肺癌細胞表面の IGF-1R 量を、フローサイトメトリー解析で経時的に測定した（試験番号 1019219）。1 μg/mL のテプロツムマブで H322M 細胞（1×10^6 細胞/100 μL）を処理すると、約 1 時間で細胞表面の IGF-1R 発現量が急激に減少（50%）することがフローサイトメトリー解析で示された。また、同時に細胞内にテプロツムマブが蓄積することが共焦点レーザー顕微鏡を用いて示された。より高濃度のテプロツムマブ（10 μg/mL）では、細胞表面の IGF-1R のより迅速な発現量減少が認められた。したがって、テプロツムマブが IGF-1R と共に細胞内に取り込まれることが作用機序の一つとして考えられる。

IGF-1 又は IGF-2 リガンドの IGF-1R の α サブユニット細胞外ドメインに対する結合は、細胞内キナーゼドメインの活性化ループ内の 3 つのチロシン残基の自己リン酸化を引き起こす。そこで次に、IGF-1 によるこの自己リン酸化に対するテプロツムマブの影響を評価した（試験番号 1027507）。3T3-IGF-1R 細胞を、12 種類の濃度のテプロツムマブ存在下で、10 nmol/L のヒト IGF-1（ヒト遺伝子組換え）で刺激した。その後 IGF-1R 細胞内キナーゼドメインのチロシン残基のリン酸化量を、IGF-1R を捕捉するためのヒト IGF-1R の α サブユニットに対する mAb 及びリン酸化した受容体の割合を検出するためのリン酸化 IGF-1R に対するウサギポリクローナル抗体を用いたサンドイッチ ELISA 法で測定した。西洋ワサビペルオキシダーゼ酵素を結合したヤギポリクローナル抗（ウサギ抗体）抗体をリン酸化 IGF-1R の定量化に用い、着色性基質を使用して 450 nm の吸収を測定した。テプロツムマブは、IGF-1 リガンドの存在下で 3T3-IGF-1R 細胞の IGF-1R 自己リン酸化を 1 nmol/L の IC_{50} 値で抑制した。

2.6.2.2.2.5 抗増殖活性

試験番号[1019078]、CTD: 4.2.1.1-8

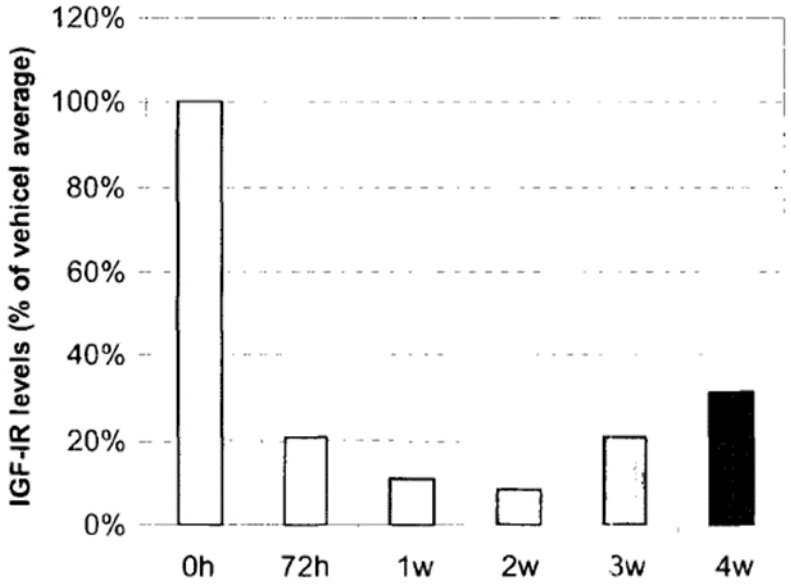
更にテプロツムマブは、IGF-1（10 ng/mL）で刺激した 3T3-IGF-1R 細胞の増殖を、6.93 ± 1.53 nmol/L（n = 8）の IC_{50} 値（平均値 ± 標準偏差）で抑制した（WST 変換アッセイで測定）。

2.6.2.2.3 テプロツムマブの in vivo での活性

試験番号[1014449]、CTD: 4.2.1.1-9

IGF-1R 発現に対するテプロツムマブの in vivo での効果を、p53 変異型細胞である H322M 肺癌細胞異種移植モデルで検討した。H322M 異種移植腫瘍を定着させた雌性 B/c BOM ヌードマウス（4～5 週齢、16～18 g）に 6 mg/kg のテプロツムマブ又は溶媒対照を単回腹腔内投与した。腹腔内投与後 72 時間、1、2、3 及び 4 週間に、動物を安楽死させ、腫瘍を取り出し、腫瘍溶解液の IGF-1R 発現量をウエスタンブロッティングで解析した（n = 3/投与群）。IGF-1R タンパク質の発現量の減少の最下点は、テプロツムマブ投与後 2 週間の動物から採取した腫瘍溶解液で認められ（溶媒対照と比較して約 90%減少）、受容体の発現量は投与後 4 週間でも減少したままであった（テプロツムマブ投与動物から採取した腫瘍試料の受容体発現量は、溶媒投与動物から採取した腫瘍試料で認められた発現量の約 30%であった）（図 2.6.2-1）。一方、血清中テプロツムマブ濃度は、投与 72 時間後の 22,130 ng/mL から 4 週間後では 2687 ng/mL に減少した。

図 2.6.2-1 テプロツムマブ（6 mg/kg）単回投与後の IGF-1R 発現量



Source: Study 1014449
h = hours; w = week
IGF-1R expression analyzed in tumor lysates using western blot analysis (n = 3).

2.6.2.2.4 インスリン様成長因子 1 受容体に対するテプロツムマブの交差反応性

試験番号[1019991]、CTD: 4.2.1.1-10

試験番号[1019598]、CTD: 4.2.1.1-11、試験番号[1027532]、CTD: 4.2.1.1-3

テプロツムマブはマウス及びラット IGF-1R に反応しないため（試験番号 1019991 及び 1019598）、カニクイザル脳組織由来の IGF-1R タンパク質の免疫沈降アッセイに基づき、交差反応性を示す動物種としてカニクイザルを特定した（試験番号 1019598）。SPR 解析（Biacore™）でテプロツムマブは高い親和性でカニクイザル IGF-1R（CHO 細胞由来のテプロツムマブの Kd 値 = 2.5 nmol/L）（試験番号 1027532）に結合することが示され、テプロツムマブのヒト（CHO

細胞由来のテプロツムマブの Kd 値 = 2.2 nmol/L）及びカニクイザルの IGF-1R に対する親和性は同程度であることが示された（試験番号 1027532）（2.6.2.2.2）。

2.6.2.2.5 IGF-1R のリン酸化、ユビキチン化及び細胞内への取り込み

IGF-1R の拮抗により、リン酸化及び増殖促進性キナーゼ経路［ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ（PI3K）及び分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ（MAPK）］を介した関連する下流シグナル伝達が抑制される（Girnita et al. 2014）。更に、リガンド（IGF-1、IGF-2、インスリン又は抗 IGF-1R 抗体）が IGF-1R に結合すると、細胞内への取り込み及び分解又は再利用を介して、細胞表面の IGF-1R 発現量が減少する。IGF-1 の結合による IGF-1R の細胞内への取り込みは、キナーゼ活性を調節する制御機序の一つと考えられる（オン/オフの切り替え）。リガンドが仲介する IGF-1R の細胞内への取り込み及び対応する細胞表面の IGF-1R 発現量の減少は十分に証明されているが、これが生じる正確な機序の詳細は引き続き研究課題であり、リガンドごとに異なる可能性がある。一般的にはリガンドが結合すると、IGF-1R は速やかに自己リン酸化され、ユビキチン化される（Girnita, Girnita and Larsson 2003、Vecchione et al. 2003、Monami, Emiliozzi and Morrione 2008）。IGF-1R のユビキチン化は、エンドサイトーシス小胞に入る前に起こる（Vecchione et al. 2003）。IGF-1R は、クラスリン及びカベオリンの両ルートを介してユビキチン化され、細胞内へ取り込まれることが示されている（Girnita, Girnita and Larsson 2003、Sehat et al. 2008）。リン酸化は IGF-1R のユビキチン化に必要であり、ユビキチン化に先行することを示唆する多数の根拠が示されている（Mao et al. 2011）。

- IGF-1R のキナーゼ ATP ポケット（K1003）に変異を導入すると、受容体のリン酸化応答（Y1131、Y1135 及び Y1136）は欠失し、関連するキナーゼシグナル伝達、その後のユビキチン化（Sehat et al. 2007）、細胞内への取り込み及び分解が妨げられた。
- 抗 IGF-1R 抗体（h10H5）を用いた試験で、抗体が仲介する IGF-1R の細胞内への取り込みには、Y1131、Y1135 及び Y1136 のリン酸化及び K1138 及び K1141 のユビキチン化の両方が必要であることが示された（Mao et al. 2011）。IGF-1 リガンドの結合によっても IGF-1R の同じ部位（K1138 及び K1141）がユビキチン化される。

リガンドの結合による受容体のリン酸化、ユビキチン化及び細胞内への取り込みに関連する生物学的機序の解明は引き続き研究課題であるが、最新のデータは、Y1131、Y1135 及び Y1136 のリン酸化がユビキチン化（K1138 及び K1141）及び細胞内への取り込みに先行することを示している（Girnita et al. 2016、Mao et al. 2011）。

2.6.2.3 副次的薬理試験

IGF-1R と IR は、全アミノ酸配列で 60%の相同性及びチロシンキナーゼドメインでは 84%の相同性を共有している（Wu, Zhu and Robertson 2012）。細胞の免疫染色と共焦点レーザー顕微鏡を用いた評価（試験番号[1019183]）及びヒト IR を過剰発現する NIH3T3 マウス線維芽細胞（3T3-IR）を用いた放射性リガンド結合競合アッセイ（試験番号[1019286]）で、テプロツムマブはヒト IR と比較してヒト IGF-1R に選択的に結合することが確認され、ヒト及びマウス IR とは交差反応しないことが確認された。更にテプロツムマブは、IR 発現量の減少を誘導しなかった。

2.6.2.3.1 細胞免疫染色と共焦点レーザー顕微鏡を用いたインスリン受容体との交差反応性の評価

試験番号[1019183]、CTD: 4.2.1.2-1

3T3-IGF-1R 及び 3T3-IR 細胞を試験モデルシステムとして使用して、テプロツムマブのヒト IGF-1R に対する結合選択性をヒト IR に対する結合と比較した。

ヒト及びマウス由来の IR α 鎖の N 末端アミノ酸配列に特異的に結合するウサギポリクローナル抗体（sc-710）を、マウス及びヒト IR の 3T3-IGF-1R 及び 3T3-IR 細胞内分布を明らかにする指示標識として使用した。3T3-IGF-1R 細胞を sc-710 及びテプロツムマブで二重標識すると、両免疫反応性は、細胞表面及びタンパク質生合成経路（小胞体、ゴルジ装置及びポストゴルジ画分）の膜画分の異なるパッチに認められた。IGF-1R とマウス IR の両方を発現する細胞で、両免疫標識パターンはいずれも有意な重複を示さなかった。更に、テプロツムマブで免疫標識されなかった細胞が sc-710 によって標識され、テプロツムマブがこれらの細胞で内生のマウス IR に反応しないことが示唆された。

次に、3T3-IGF-1R 細胞では発現されないヒト IR に対してテプロツムマブが交差反応性を示す可能性を除外するために、3T3-IR 細胞を用いてテプロツムマブの反応性を検討した。テプロツムマブに対する免疫反応性は 3T3-IR 細胞では認められなかった。一方、sc-710 で二重標識すると、3T3-IR 細胞は強陽性に染色され、マウス IR を内生量発現する周囲の細胞はより弱く染色された。

2.6.2.3.2 競合アッセイ及び発現量減少アッセイを用いたインスリン受容体との交差反応性の評価

試験番号[1019286]、CTD: 4.2.1.2-2

ヒト IR に対するテプロツムマブの反応性を明らかにするため、^{125}I-放射性標識インスリンをリガンドとして用いて 3T3-IR 細胞で放射性リガンド結合競合アッセイを実施した。テプロツムマブ（最終濃度 1 μmol/L）及び ^{125}I-標識インスリンペプチドを含む結合緩衝液 100 μL を 200 μL の細胞懸濁液（1×10^5 細胞/mL）に加え、4℃で 3.5 時間インキュベーションした。2000 rpm で 5 分間遠心分離して細胞を再分離し、上清を除去した。1 mL の結合緩衝液で洗浄した後、細胞を再懸濁した。細胞に結合した放射性ペプチド量を、ガンマカウンターで測定した。テプロツムマブは 1 μmol/L で、インスリンペプチドの細胞に対する結合を有意に抑制しなかった。

次に、テプロツムマブが 3T3-IR 細胞で IR に対して細胞表面の受容体発現量の減少を誘導するか、抗ヒト IR mAb（83-14）（GroPep, Australia）を陽性対照として検討した。抗体非存在下（陰性対照）又は 500 nmol/L の濃度のテプロツムマブ若しくは mAb（83-14）（陽性対照）存在下、細胞を 24 時間インキュベーションした。ウエスタンブロッティングで全細胞溶解液の IR 量を測定した。MAb（83-14）は、インキュベーションした 3T3-IR 細胞の IR 発現量を著しく減少させたが、テプロツムマブは陰性対照と比較して IR 発現量の有意な減少を示さなかった。

テプロツムマブは、いくつかの in vivo 腫瘍モデル試験及び Roche 社による臨床試験で評価して

いる。腫瘍を適応症とした臨床開発は、有効性の欠如が原因で中止された。この薬理試験結果は TED 臨床開発には関連しないため、本概要文には記載していない。

2.6.2.4 安全性薬理試験

テプロツムマブは特定の受容体を標的とするバイオテクノロジー応用医薬品であり、進行性難病の治療薬として開発している。テプロツムマブは、ヒト IGF-1R に特異的な分子量 148,000 の完全ヒト型 mAb であり、安全性薬理試験評価は、ICH S6(R1)及び S7A ガイドラインに従い、テプロツムマブの主要な反復投与毒性試験に組み入れた。具体的には、心血管パラメータ（心拍数並びに QT 間隔及び補正 QT 間隔評価などの心電図変数）、呼吸数及び体温を主要な反復投与毒性試験の一環として評価した。

サルを用いた 7 週間毒性試験では、投与 1 日目に最大 150 mg/kg を静脈内投与し、その後 75 mg/kg を週 2 回静脈内投与した。1 日 1 回の一般状態の変化の観察、並びに週 1 回の心拍数、呼吸数、体温測定などの理学的検査及び種々の間隔で測定した心電図検査の安全性薬理試験評価で、顕著な変化は認められなかった。心拍数及び QT 間隔、補正 QT 間隔などの心電図変数は、予定されたすべての測定日（投与前、投与 3 週間目、投与終了時及び回復期間の終了時）で対照群とテプロツムマブ投与群で類似した（試験番号[6131-477]）。同様に、13 週間及び 39 週間毒性試験では、最大 75 mg/kg の週 1 回静脈内投与に対して十分な忍容性が認められた（試験番号[AGD00022]及び[AGD00061]）。一般状態の変化の観察、理学的検査（心拍数、呼吸数、体温などのバイタルサインの測定を含む）及び種々の間隔で測定した心電図検査で、中枢神経系、呼吸系及び心血管系に対してテプロツムマブの影響の可能性を示唆する変化は認められなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

テプロツムマブの非臨床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

テプロツムマブの効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験評価を実施した。

膜結合性 IGF-1R の発現（軽度～中等度の染色強度）が、ヒト及びサル両方の多くの上皮組織（前立腺、胃、食道、小腸、結腸、胎盤、膵臓、甲状腺、乳腺、子宮内膜、子宮頸部、膀胱、腎臓、扁桃腺、胸腺及び皮膚）で認められた。ヒト及びカニクイザル両方の組織で内皮細胞の細胞質は、IGF-1R 発現に対して弱～中等度陽性に染色された。

テプロツムマブはヒト IGF-1R の α サブユニット細胞外ドメインに高い親和性及び選択性で結合し、天然リガンドである IGF-1 及び IGF-2 の両方による活性化を妨げた。テプロツムマブは、IGF-1R に対する部分アゴニスト活性を示さなかった。また、IR に対する親和性を示さなかった。テプロツムマブは IGF-1R に対する結合により、受容体応答及び増殖促進性キナーゼ経路を介した関連する下流シグナル伝達を抑制した。更にテプロツムマブは、細胞表面 IGF-1R の細胞内への取り込み及び分解を誘導して、細胞表面の IGF-1R 発現量を減少させた。

以上、テプロツムマブの非臨床薬理試験及び安全性薬理試験結果は、本抗 IGF-1R mAb 阻害剤の TED の治療での使用を支持する。

2.6.2.7　図表

本文中に示した。

2.6.2.8 参考文献

Bergmann, U., H. Funatomi, M. Yokoyama, H. G. Beger, and M. Korc. 1995. "Insulin-like growth factor I overexpression in human pancreatic cancer: evidence for autocrine and paracrine roles." Cancer Res 55 (10):2007-11.

Girnita, L., A. Girnita, and O. Larsson. 2003. "Mdm2-dependent ubiquitination and degradation of the insulin-like growth factor 1 receptor." Proc Natl Acad Sci U S A 100 (14):8247-52. doi: 10.1073/pnas.1431613100.

Girnita, L., S. I. Takahashi, C. Crudden, T. Fukushima, C. Worrall, H. Furuta, H. Yoshihara, F. Hakuno, and A. Girnita. 2016. "Chapter Seven - When phosphorylation encounters ubiquitination: a balanced perspective on IGF-1R signaling." Prog Mol Biol Transl Sci 141:277-311. doi: 10.1016/bs.pmbts.2016.04.001.

Girnita, L., C. Worrall, S. Takahashi, S. Seregard, and A. Girnita. 2014. "Something old, something new and something borrowed: emerging paradigm of insulin-like growth factor type 1 receptor (IGF-1R) signaling regulation." Cell Mol Life Sci 71 (13):2403-27. doi: 10.1007/s00018-013-1514-y.

Khandwala, H. M., I. E. McCutcheon, A. Flyvbjerg, and K. E. Friend. 2000. "The effects of insulin-like growth factors on tumorigenesis and neoplastic growth." Endocr Rev 21 (3):215-44. doi: 10.1210/edrv.21.3.0399.

Li, J., R. Dong, J. Yu, S. Yi, J. Da, F. Yu, and Y. Zha. 2018. "Inhibitor of IGF1 receptor alleviates the inflammation process in the diabetic kidney mouse model without activating SOCS2." Drug Des Devel Ther 12:2887-96. doi: 10.2147/dddt.S171638.

Mao, Y., Y. Shang, V. C. Pham, J. A. Ernst, J. R. Lill, S. J. Scales, and J. Zha. 2011. "Polyubiquitination of insulin-like growth factor I receptor (IGF-IR) activation loop promotes antibody-induced receptor internalization and down-regulation." J Biol Chem 286 (48):41852-61. doi: 10.1074/jbc.M111.288514.

Monami, G., V. Emiliozzi, and A. Morrione. 2008. "Grb10/Nedd4-mediated multiubiquitination of the insulin-like growth factor receptor regulates receptor internalization." J Cell Physiol 216 (2):426-37. doi: 10.1002/jcp.21405.

Schumacher, R., L. Mosthaf, J. Schlessinger, D. Brandenburg, and A. Ullrich. 1991. "Insulin and insulin-like growth factor-1 binding specificity is determined by distinct regions of their cognate receptors." J Biol Chem 266 (29):19288-95.

Sehat, B., S. Andersson, L. Girnita, and O. Larsson. 2008. "Identification of c-Cbl as a new ligase for insulin-like growth factor-I receptor with distinct roles from Mdm2 in receptor ubiquitination and endocytosis." Cancer Res 68 (14):5669-77. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6364.

Sehat, B., S. Andersson, R. Vasilcanu, L. Girnita, and O. Larsson. 2007. "Role of ubiquitination in IGF-1 receptor signaling and degradation." PLoS One 2 (4):e340. doi: 10.1371/journal.pone.0000340.

Ullrich, A., A. Gray, A. W. Tam, T. Yang-Feng, M. Tsubokawa, C. Collins, W. Henzel, T. Le Bon, S. Kathuria, E. Chen, and et al. 1986. "Insulin-like growth factor I receptor primary structure: comparison with insulin receptor suggests structural determinants that define functional specificity." Embo j 5 (10):2503-12.

Vecchione, A., A. Marchese, P. Henry, D. Rotin, and A. Morrione. 2003. "The Grb10/Nedd4 complex regulates ligand-induced ubiquitination and stability of the insulin-like growth factor I receptor." Mol Cell Biol 23 (9):3363-72. doi: 10.1128/mcb.23.9.3363-3372.2003.

Wu, Y. C., M. Zhu, and D. M. Robertson. 2012. "Novel nuclear localization and potential function of insulin-like growth factor-1 receptor/insulin receptor hybrid in corneal epithelial cells." PLoS One 7 (8):e42483. doi: 10.1371/journal.pone.0042483.

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.....7
2.6.3.4　安全性薬理試験.....8
2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験.....9

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test Article: Teprotumumab

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Primary Pharmacodynamics					
Comparison of IGF-1R expression in formalin fixed normal human and cynomolgus monkey tissues	In vitro tissue studies	In vitro study	[redacted] Germany	[1033803]	4.2.1.1-1
Anti-IGF-1R by immunocytochemistry and confocal microscopy	Labeling of surface expressed IGF-1R by anti-IGF-1R	In vitro study	[redacted] Germany	[1019200]	4.2.1.1-2
Affinity for cynomolgus and human IGF-1R	In vitro studies Biacore™	In vitro study	[redacted] Germany	[1027532]	4.2.1.1-3
Affinity of anti-IGF-1R to IGF-1R	Recombinant IGF-1R Biacore™	In vitro study	[redacted] Germany	[1019483]	4.2.1.1-4
Inhibition of ligand binding to IGF-1R by teprotumumab	In vitro studies Radioactive ligand competition	In vitro study	[redacted] Germany	[1019287]	4.2.1.1-5
Downmodulation of surface IGF-1R by human anti-IGF-1R antibody in H322M cells	In vitro tumor cells	In vitro study	[redacted] Germany	[1019219]	4.2.1.1-6
Teprotumumab inhibits IGF-1R autophosphorylation	Mouse fibroblast cells expressing human IGF-1R (3T3-IGF1R)	In vitro study	[redacted] Germany	[1027507]	4.2.1.1-7
Inhibition of IGF-1 mediated proliferation	In vitro tumor cells	In vitro study	[redacted] Germany	[1019078]	4.2.1.1-8

Test Article: Teprotumumab

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Downmodulation of IGF-1R expression on H322M lung tumor xenografts	Xenograft model of H322M tumor	In vivo study	[redacted] German	[1014449]	4.2.1.1-9
Cross -reactivity of anti-IGF-1R with IGF-1R from mouse and rat	Rat and mouse tissue homogenates	In vitro study	[redacted] German	[1019991]	4.2.1.1-10
Cynomolgus monkey as IGF-1R cross-reactive species for teprotumumab	In vitro tissue studies	In vitro study	[redacted] German	[1019598]	4.2.1.1-11
Secondary Pharmacodynamics					
Lack of cross-reactivity of human anti-IGF-1R antibody to human insulin receptor (IR)	In vitro cell based studies	In vitro study	[redacted] Germany	[1019183]	4.2.1.2-1
Cross-reactivity of anti-IGF-1R with human insulin receptor (IR)	Radioactive ligand competition assay	In vitro study	[redacted] Germany	[1019286]	4.2.1.2-2

CTD = Common Technical Document; IGF = insulin-like growth factor; IGF-1R = insulin-like growth factor-1 receptor; IR = insulin receptor

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

Test Article: Teprotumumab

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Concentration/ Dose Level	Noteworthy Findings	Study Number/ Location in CTD
Comparison of IGF-1R expression in formalin fixed normal human and cynomolgus monkey tissues	Human and cynomolgus monkey tissues	In vitro study	NA	IGF-1R expression was evaluated in human and cynomolgus monkey tissues via immunohistochemistry with an anti-IGF-1R (G11) rabbit mAb. IGF-1R expression was detected in many human and cynomolgus monkey organs predominantly as a membrane staining, in many epithelia: prostate, stomach, esophagus, small intestine, colon, placenta, pancreas, thyroid, mammary gland, endometrium, cervix, urinary bladder, kidney, tonsil, thymus, and skin. There was a similar IGF-1R expression profile in normal human and normal cynomolgus tissues with slight deviations of the staining intensity in some organs.	[1033803] 4.2.1.1-1
Anti-IGF-1R by immunocytochemistry and confocal microscopy	3T3-IGF-1R cell	In vitro study	NA	FITC-coupled teprotumumab specifically bound to the IGF-1R on the 3T3-IGF-1R cell surface in filopodia, membrane patches, and within the biosynthetic pathway (i.e., endoplasmic reticulum, Golgi apparatus). The staining aligned with the signal obtained using the reference mouse mAb directed against the human IGF-1R (αIR3).	[1019200] 4.2.1.1-2
Affinity for cynomolgus and human IGF-1R	Recombinant IGF-1R (human, monkey)	In vitro study	NA	SPR analysis using a Biacore™ instrument showed that teprotumumab from CHO cells binds to human and cynomolgus monkey IGF-1R protein with high affinity. The Kd values for human and cynomolgus monkey IGF-1R proteins were found to be 2.2 and 2.5 inmol/L, respectively.	[1027532] 4.2.1.1-3
Affinity of anti-IGF-1R to IGF-1R	Recombinant IGF-1R (human)	In vitro study	NA	SPR analysis using a Biacore™ instrument showed that teprotumumab from SP2/0 cells binds to human IGF-1R protein with high affinity (Kd value of 2.4 nmol/L).	[1019483] 4.2.1.1-4

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Concentration/ Dose Level	Noteworthy Findings	Study Number/ Location in CTD
Inhibition of ligand binding to IGF-1R by teprotumumab	HT29 cells 3T3-IGF-1R cells	In vitro study	NA	Teprotumumab inhibits both IGF-1 and IGF-2 binding to IGF-1R-expressing HT29 and 3T3-IGF-1R cells. IC_{50} values for binding on HT29 cells were 0.44 and 0.28 nmol/L for IGF-1 and IGF-2, respectively, and IC_{50} values on 3T3-IGF-1R cells were 1.3 and 2.8 nmol/L for IGF-1 and IGF-2, respectively.	[1019287] 4.2.1.1-5
Downmodulation of surface IGF-1R by human anti-IGF-1R antibody in H322M cells	H322M cells	In vitro study	0.1-10 μg/mL	Treatment of H322M lung cancer cells with teprotumumab 1 μg/mL induced a rapid decrease (50%) in cell surface IGF-1R in approximately 1 hour, as measured by flow cytometry. Concurrent accumulation of intracellular teprotumumab was demonstrated using confocal laser scanning microscopy.	[1019219] 4.2.1.1-6
Teprotummab inhibits IGF-1R autophosphorylation	3T3-IGF-1R cells	In vitro study	NA	Treatment of 3T3-IGF-1R cells with increasing concentrations teprotumumab reduced the levels of IGF-1-induced IGF-1R protein phosphorylation as determined by sandwich ELISA. Teprotumumab had an IC_{50} value of 1 nmol/L.	[1027507] 4.2.1.1-7
Inhibition of IGF-1 mediated proliferation	3T3-IGF-1R cells	In vitro study	NA	Teprotumumab inhibited proliferation of 3T3-IGF-1R cells stimulated with 10 ng/mL IGF-1 with a mean ± SD IC_{50} value of 6.93 ± 1.53 nmol/L (n = 8).	[1019078] 4.2.1.1-8
Downmodulation of IGF-1R expression on H322M lung tumor xenografts	Female B/c Bom nude mice xenograft model with H322M tumor cells	intraperitoneal	6 mg/kg	Following a single administration of 6 mg/kg of teprotumumab, IGF-1R protein levels in the tumor were reduced for at least 4 weeks. At the 4-week time point, the levels of IGF-1R in the tumor were ~30% of the levels observed in animals treated with the vehicle control (n = 3).	[1014449] 4.2.1.1-9
Cross-reactivity of anti-IGF-1R with IGF-1R from mouse and rat	Rat and mouse tissue homogenates	In vitro study	NA	Teprotumumab did not recognize mouse or rat IGF-1R protein. Teprotumumab also did not block IGF-1 binding to rat astrocytes that express rat IGF-1R protein.	[1019991] 4.2.1.1-10

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Concentration/ Dose Level	Noteworthy Findings	Study Number/ Location in CTD
Cynomolgus monkey as IGF-1R cross-reactive species for teprotumumab	Mouse, rat, marmoset monkey, cynomolgus monkey tissues HT29 cells Cynomolgus kidney cells	In vitro study	NA	Teprotumumab did not cross react with IGF-1R from mouse, rat or marmoset monkey but did cross-react to IGF-1R from cynomolgus monkey. The IC_{50} values for binding of ^{125}I-IGF-1 to human HT29 cells and cynomolgus kidney cells (n = 2) were 0.49 and 0.63 nmol/L, respectively. The 95% confidence intervals for the IC_{50} values were found to be completely overlapping between the 2 species and therefore the small difference in IC_{50} values is not statistically significant.	[1019598] 4.2.1.1-11

CTD = Common Technical Document; 3T3-IGF-1R= mouse NIH3T3 fibroblasts overexpressing human IGF-1R; CHO = Chinese hamster ovary; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; FITC = fluorescein isothiocyanate; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; IGF = insulin-like growth factor; IGF-1R = insulin-like growth factor-1 receptor; Kd = dissociation constant; mAb = monoclonal antibody; NA = not applicable; SD = standard deviation; SP2/0 = murine myeloid cells; SPR = surface plasmon resonance

2.6.3.3 副次的薬理試験

Test Article: Teprotumumab

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Concentration/ Dose Level	Noteworthy Findings	Study Number/ Location in CTD
Lack of cross-reactivity of human anti-IGF-1R antibody to human insulin receptor (IR)	3T3-IR cells	In vitro study	NA	Immunofluorescence study demonstrated that teprotumumab does not bind to cells that express the mouse or human IR but do not express IGF-1R. These data suggest that teprotumumab does not cross-react with IR protein from human or mouse.	[1019183] 4.2.1.2-1
Cross-reactivity of anti-IGF-1R with human insulin receptor (IR)	3T3-IR cells	In vitro study	1 μmol/L	Teprotumumab did not block radiolabeled insulin from bind to IR. Specifically, at 1 μmol/L (a concentration that is > 2000-fold the IC_{50} value for IGF-1 binding to the IGF-1R) teprotumumab caused less than 1% reduction in radiolabeled insulin binding. In a separate experiment, teprotumumab did not induce downregulation of IR (~1% reduction observed). The control antibody, an anti-IR antibody, reduced IR cell surface protein levels by 91%. These results confirm the high specificity of teprotumumab for the IGF-1R versus the IR.	[1019286] 4.2.1.2-2

CTD = Common Technical Document; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; IGF = insulin-like growth factor; IGF-1R = insulin-like growth factor-1 receptor; IR = insulin receptor; NA = not applicable

2.6.3.4 安全性薬理試験

ICH S6(R1)に基づき、テプロツムマブの独立したコアバッテリー安全性薬理試験は実施しなかった。心血管系、呼吸系及び中枢神経系の評価を反復投与毒性試験の一環として評価した（試験番号[6131-477]、試験番号[AGD00022]、試験番号[AGD00061]）。75 mg/kg/投与（評価した最高用量）まで、一般状態の変化の観察、呼吸数及び心電図に変化は認められなかった。

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

テプロツムマブの非臨床薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。