目次

2.4 非臨床試験の概括評価 3
2.4.1 非臨床試験計画概略 3
2.4.1.1 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 4
2.4.2 薬理試験 5
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 5
2.4.2.1.1 *In vitro* 試験 5
2.4.2.1.2 *In vivo* 試験 5
2.4.2.2 副次的薬理試験 6
2.4.2.3 安全性薬理試験 6
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用 6
2.4.3 薬物動態試験 6
2.4.3.1 分析法 6
2.4.3.2 吸収 6
2.4.3.3 分布 7
2.4.3.4 代謝 7
2.4.3.5 排泄 7
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用 7
2.4.3.7 その他の薬物動態試験 7
2.4.4 毒性試験 8
2.4.4.1 単回及び反復投与毒性試験 8
2.4.4.2 遺伝毒性及びがん原性試験 9
2.4.4.3 生殖発生毒性試験 9
2.4.4.4 その他の毒性試験 9
2.4.4.5 毒性試験のまとめ 10
2.4.5 総括及び結論 10

表一覧

表 2.4.1.1-1 非臨床試験で使用した抗 CD20/CD3 TDB 抗体 3

略語一覧

略語	英名	和名
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
AUC	area under the serum concentration-time curve	血清中濃度–時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}7d}$	AUC from 0 to 7 days	投与後7日までの AUC
AUC_{last}	AUC from 0 to time of the last measurable concentration	投与後最終定量可能時間までの AUC
BA	bioavailability	バイオアベイラビリティ
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
CL	clearance	クリアランス
CLL	chronic lymphocytic leukemia	慢性リンパ性白血病
C_{max}	maximum serum concentration	最高血清中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CRS	cytokine release syndrome	サイトカイン放出症候群
DIG	digoxigenin	ジゴキシゲニン
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
Fc	fragment crystallizable	結晶化可能フラグメント
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HRP	horseradish peroxidase	西洋わさびペルオキシダーゼ
NSG	NOD/scid gamma	NSG
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IV	intravenous	静脈内
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development	経済協力開発機構
PBMC	peripheral blood mononuclear cells	末梢血単核球細胞
PD	pharmacodynamic(s)	薬力学
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
SC	subcutaneous	皮下
TDB	T cell–dependent bispecific	T 細胞依存性二重特異性
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
T_{max}	time to reach maximum serum concentration	最高血清中濃度到達時間

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

モスネツズマブ（遺伝子組換え）（別名 BTCT4465A）は，B 細胞上の CD20と T 細胞上の CD3ε 鎖を標的とする新規のヒト化二重特異性抗体［別称：T 細胞依存性二重特異性（TDB）抗体］である。モスネツズマブの CD20陽性の B 細胞性悪性腫瘍に対する新規治療薬としての妥当性を薬理試験，薬物動態試験及び毒性試験にて評価した。

モスネツズマブは，結晶化可能フラグメント（Fc）領域の N297G アミノ酸置換により，Fcγ受容体への結合が最小限であり，Fc を介したエフェクター機能が欠損している。モスネツズマブの生産には，チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた。開発初期には，代替抗体である2H7v16/40G5c を薬理試験，薬物動態試験及び毒性試験で使用した。2H7v16/40G5c はモスネツズマブと同じアミノ酸配列を有するが，Fc 領域に N297G 置換はない。2H7v16/40G5c は大腸菌で産生させたため，糖鎖修飾を受けず，Fc を介したエフェクター機能が著しく低下している。*In vitro* 及び *in vivo* の薬理試験の結果より，モスネツズマブと2H7v16/40G5c は機能的に同等であり，また，カニクイザルにおける薬物動態（PK）及び安全性プロファイルも同等であることが示されている。これらの抗体とは別に初期の薬理試験の一部で，モスネツズマブの薬理作用のコンセプトを検証するために2H7v16/UCHT1v9を使用した。2H7v16/UCHT1v9は，ヒト CD3に結合するが，モスネツズマブと異なりカニクイザル CD3には結合性を示さない特性を持つ。

非臨床試験で使用したこれらの3種類の抗 CD20/CD3 TDB 抗体の概要を表2.4.1.1-1に示した。

表 2.4.1.1-1　非臨床試験で使用した抗 CD20/CD3 TDB 抗体

抗体	特徴	産生細胞	Fc 変異/糖鎖修飾
モスネツズマブ（BTCT4465A）	・ 臨床開発候補品 ・ 抗 CD20半抗体：2H7v16 [a]（ヒト及びカニクイザル CD20に結合） ・ 抗 CD3半抗体：40G5c [b]（ヒト及びカニクイザル CD3に結合）	CHO 細胞	N297G/なし
2H7v16/40G5c	・ モスネツズマブと同等の機能を有する抗体 ・ Fc 領域 N297G 置換以外はモスネツズマブと同じアミノ酸配列 ・ 抗 CD20半抗体：2H7v16 [a] ・ 抗 CD3半抗体：40G5c [b]	大腸菌	なし/なし
2H7v16/UCHT1v9	・ 作用コンセプトを検証するための抗体 ・ 抗 CD20半抗体：2H7v16 [a] ・ 抗 CD3半抗体：UCHT1v9 [b]（ヒト CD3に結合し，カニクイザル CD3には結合しない）	大腸菌	なし/なし

CHO = チャイニーズハムスター卵巣；TDB = T 細胞依存性二重特異性。
[a] Fc 領域に“knob”変異（T366W）を有する。
[b] Fc 領域に“hole”変異（T366S，L368A 及び Y407V）を有する。

臨床試験の実施を支持するための主要な毒性及び安全性薬理試験は，米国食品医薬品局（FDA）の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP，21 CFR Part 58）又は経済協力開発機構（OECD）の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準の原則［C（97）186/Final］に従い，OECD のデータ相互受入れ制度の加盟国において実施された。追加の補助的な毒性試験，薬理試験及び薬物動態試験は，非 GLP 試験として科学的な信頼性をもって実施した。

モスネツズマブの薬理作用を *in vitro* 及び *in vivo* で検討した。*In vitro* では，ヒト B リンパ腫細胞株を用いて，腫瘍細胞の傷害活性，T 細胞の活性化及び増殖，並びにサイトカイン産生を検討した。モスネツズマブ及び2H7v16/40G5c は，ヒト又はカニクイザルの末梢血由来細胞を用いた *in vitro* の試験において，標的への結合親和性及び効力はいずれの試験系でも同程度であった。

ヒト CD20及びヒト CD3ε の二重遺伝子導入マウス（以下，ヒト CD20/CD3導入マウス）及びヒト造血系を再構築し，ヒトのリンパ球を持つ NOD/scid gamma（NSG）マウスを用いて *in vivo* における有効性を評価した。また，ヒト CD20/CD3ε 導入マウス及びカニクイザルを用いた単回及び反復投与試験において，モスネツズマブ及び2H7v16/40G5c の PK，トキシコキネティクス（TK）及び有効性を評価した。

モスネツズマブはげっ歯類の CD3及び CD20には結合しないため，モスネツズマブの毒性及び安全性薬理は，カニクイザルを用いた単回投与及び反復投与（最長26週間）試験で評価した。更に，機能的にモスネツズマブと同等な抗体である2H7v16/40G5c を用いて，中枢神経系（CNS）における病理組織学的所見を明らかにし，臨床における重篤な毒性の回避及びモニタリング戦略を評価するために，最初に実施した4週間の用量設定試験並びに複数の単回及び追加で実施した反復投与探索試験を実施した。カニクイザルでは0.1 mg/kg 未満の用量で高力価かつ高頻度の抗薬物抗体（ADA）の急速な発現が認められたため，ADA 発現を予防するために血液及びリンパ組織中の B 細胞を迅速かつ完全に枯渇させるには，2H7v16/40G5c を用いた予備試験の結果から最初の1週間は1 mg/kg の用量が必要であった。臨床開発の継続を支持するためのより長期の毒性試験を可能にするため，初回用量1 mg/kg を1日目に0.2 mg/kg，2日目に0.8 mg/kg に分割する漸増投与法を評価した。モスネツズマブの4週間探索試験では，この方法により，初回投与に関連した急性毒性を軽減しながら，組織中 B 細胞の迅速な枯渇と ADA 産生の軽減が効果的に得られた。性成熟したカニクイザルを用いた漸増投与法による GLP 適用26週間反復投与毒性試験を実施している。

2.4.1.1 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準

米国 FDA の GLP（21 CFR Part 58）又は OECD の GLP［C（97）186/Final］に準拠して，OECD のデータ相互受入れ制度の加盟国において，モスネツズマブのカニクイザルを用いた単回投与毒性試験及び26週間反復投与毒性試験並びに組織交差反応性試験が実施された。更に，カニクイザルを用いた非 GLP 毒性試験として，反復投与用量設定試験，漸増投与法を評価する反復投与試験，探索的試験4試験及びヒト末梢血単核球細胞（PBMC）を用いた *in vitro* アッセイを含む6試験を実施した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 *In vitro* 試験

モスネツズマブ，2H7v16/40G5c 又は2H7v16/UCHT1v9の生物学的活性及び作用機序を検討した。主要な結果を以下に示す。

- 2H7v16/UCHT1v9 はヒトリンパ腫細胞株 BJAB に対して濃度依存的に細胞傷害活性を示した。この活性は CD3 陽性 T 細胞の存在下においてのみ発揮された。また，完全長の 2H7v16/UCHT1v9 と F(ab´)2 断片は同等の細胞傷害活性を示したことから，Fc 領域は活性に不要であった。
- 2H7v16/UCHT1v9 は標的となる CD20 陽性 B 細胞存在下で CD4 陽性 T 細胞及び CD8 陽性 T 細胞を活性化し，CD20 陽性 B 細胞を傷害する T 細胞を動員した。同濃度の 2H7v16/UCHT1v9 では，CD4 陽性 T 細胞と比較して CD8 陽性 T 細胞の方が多くのグランザイム B 発現及びパーフォリン産生を示した。
- 2H7v16/UCHT1v9 は CD20 発現量が低いリツキシマブ非感受性の細胞株，ヒト末梢血液由来 B 細胞及び慢性リンパ性白血病（CLL）患者由来の初代培養 B 細胞など，CD20 発現量が様々な種類のヒト B 細胞に対し細胞傷害活性を示した。
- 抗 CD3 抗体であるクローン 40G5c はヒト及びカニクイザルの CD3ε 抗原に対し同等の一価の結合親和性を示した。2H7v16/40G5c はヒト及びカニクイザルの PBMC に対し，同等の細胞傷害活性を示した。
- 2H7v16/40G5c は，抗 CD20 抗体（リツキシマブ-DANA，Fc 依存性のエフェクター機能を消失させたリツキシマブ改変体）やデキサメタゾン存在下で細胞傷害活性を示した。
- モスネツズマブ及び 2H7v16/40G5c はヒト PBMC を用いた *in vitro* 試験において同等の B 細胞傷害活性及び T 細胞活性化を示した。
- モスネツズマブは標的となる CD20 陽性 B 細胞の濃度に依存して，T 細胞活性化及び増殖並びにサイトカイン産生を誘導した。CD20 陽性 B 細胞の非存在下では T 細胞活性化及びサイトカイン産生は認められなかった。
- モスネツズマブはヒト Fc 受容体（FcγRIA，FcγRIIA，FcγRIIB 及び FcγRIIIA）に対する結合性をほとんど示さなかった。

2.4.2.1.2 *In vivo* 試験

ヒト CD20/CD3導入マウス，ヒト化 NSG マウス及びカニクイザルを用いて，モスネツズマブ及び機能的に同等な2H7v16/40G5c の作用機序と薬理効果を検証した。

- ヒト CD20/CD3 導入マウス，NSG マウス及びカニクイザルの末梢血液及びリンパ組織において強力かつ用量依存的な B 細胞枯渇効果を示した。
- ヒト CD20/CD3 導入マウス，NSG マウス及びカニクイザルの末梢血液及びリンパ組織中の CD8 陽性 T 細胞及び CD4 陽性 T 細胞の一過性かつ用量依存性の活性化並びにサイトカイン産生が認められた。T 細胞活性化とサイトカイン産生は初回投与直後に検出され，以降の投与では減少又は認められなくなった。
- 抗 CD20/抗 CD3 抗体投与直後に末梢血中の T 細胞が一過性に減少し，3～7 日後に回復した。これは活性化に伴う T 細胞の辺縁趨向，再分配，その後の増殖と拡大に起因するとみられる。マウスの末梢血やリンパ組織の T 細胞数が一旦増殖後にベースラインを下回るのは，活性化に伴う細胞死が原因であると考えられる。カニクイザルでは T 細胞数はほぼベースラインまで戻った。

2.4.2.2 副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施していない。

2.4.2.3 安全性薬理試験

安全性薬理評価（心血管系，呼吸系及び神経系）を，単回投与GLP毒性試験及び漸増投与法を用いた4週間非 GLP 毒性試験等に組み込んだ。結果として，サイトカインに関連する低血圧，心拍数及び体温の上昇並びに痙攣の1件を除き，その他の所見は認められなかった。

2.4.2.4 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。

2.4.3 薬物動態試験

モスネツズマブの臨床開発を裏付けるため，ヒト CD20/CD3導入マウス及びカニクイザルを用いて，モスネツズマブ及び2H7v16/40G5c の PK，TK 及び薬力学（PD）特性を評価した。

2.4.3.1 分析法

マウス及びカニクイザル血清中のモスネツズマブ及び2H7v16/40G5c の濃度測定には，サンドイッチ酵素免疫測定法（ELISA）を用いた。本測定法では，捕捉用[redacted]，検出用抗体として西洋わさびペルオキシダーゼ（HRP）標識ヤギ抗ヒト免疫グロブリン G（IgG）抗体をそれぞれ用いた。

カニクイザル血清中のモスネツズマブ及び2H7v16/40G5c に対する ADA の検出及び特性解析には，ブリッジング ELISA を用いた。本測定法では，ビオチン及びジゴキシゲニン（DIG）標識したモスネツズマブ又は2H7v16/40G5c を用いて免疫複合体を形成し，これらをニュートラビジン又はストレプトアビジンでコーティングしたプレート上に捕捉し，HRP 標識マウス抗 DIG 抗体によって検出した。

2.4.3.2 吸収

PK 及び TK の結果を以下に要約する。

- ヒト CD20/CD3 導入マウスに単回静脈内（IV）投与したとき，モスネツズマブ及び2H7v16/40G5c の PK 及び PD 特性は同様であった。このことは，血清中濃度推移及びパラメータが類似しており，血液及び組織中の B 細胞枯渇効果も同程度であることから示された。
- カニクイザルを用いた単回 IV 投与試験において，曝露量は 0.001～1 mg/kg の用量増加に伴って増加し，特に低用量では速やかなクリアランス（CL）が認められた。これは，標的細胞である B 細胞及び T 細胞がいずれも存在する場合，非特異的 CL と比較して，標的介在性 CL の寄与が大きいことに起因すると考えられた。
- カニクイザルを用いた反復 IV 投与試験では，0.01～1 mg/kg の用量範囲において，2H7v16/40G5c の用量依存的な PK が認められた。また，ADA の影響が少ない 1 mg/kg の用量において，反復投与により曝露量が増加した。これは，B 細胞が枯渇し，T 細胞が最初に活性化及び増殖した後にベースライン値に戻ったことで，最終的に標的介在性 CL が低下したためと考えられた。
- 2 つのモスネツズマブ反復投与試験では，1 mg/kg の初回 IV 投与を Day 1（0.2 mg/kg）と Day 2（0.8 mg/kg）に分割する漸増投与法を用いた。この投与方法は，急性サイトカイ

ン関連毒性を最小限に抑え，一方で組織 B 細胞を急速に枯渇させることから，カニクイザルを用いた長期毒性試験における ADA の発現を軽減するのに有用であった。

- 25 日間パイロット用量漸増 IV 投与試験において，すべての動物で Day 25 までモスネツズマブの曝露が維持された。0.3 mg/kg 群の 1 例のみに持続的な ADA が認められたが，曝露量への影響は軽微であった。
- 26 週間 GLP 毒性用量漸増 IV 投与試験では，Day 1 に 0.2 mg/kg，Day 2 に 0.8 mg/kg のモスネツズマブを 1 時間かけて IV 投与し，その後の試験期間は 0.1 mg/kg 又は 0.5 mg/kg を週 1 回投与した。0.1 mg/kg 群の生存動物 7 例中 4 例及び 0.5 mg/kg 群の生存動物 7 例中 7 例では，試験期間を通して曝露が維持された。0.1 mg/kg 群の 8 例中 5 例及び 0.5 mg/kg 群の 8 例中 4 例で ADA が検出された。0.1 mg/kg 群の ADA 陽性動物における曝露量は ADA 陰性動物より低いと考えられたが，0.5 mg/kg 群の ADA 陽性動物における曝露量は一貫した影響を受けなかった。

- カニクイザルに皮下（SC）投与したときの最高血清中濃度（C_{max}）は，2H7v16/40G5c を IV ボーラス（約 30 秒～1 分）投与したときと比較して約 80%低下し，モスネツズマブを IV 持続（1 時間）投与したときと比較して 72%低下した。SC 投与後のモスネツズマブ及び 2H7v16/40G5c の最高血清中濃度到達時間（T_{max}）は，いずれも 24 時間であった。
- カニクイザルに SC 投与したときのモスネツズマブ及び 2H7v16/40G5c のバイオアベイラビリティ（BA）は 60～75%であった。
- カニクイザルでは，単回又は反復投与後に，特に不完全な B 細胞枯渇が観察された 1 mg/kg 未満の用量で，モスネツズマブ及び 2H7v16/40G5c に対する高頻度な ADA 反応及び高い抗体価が検出された。ADA の存在は，特に 2 回目投与後に，モスネツズマブ及び 2H7v16/40G5c の血清中濃度に影響を及ぼすと考えられた。

2.4.3.3　分布

モスネツズマブを用いた定型的な *in vivo* での組織分布試験は実施していない（2.6.4 薬物動態試験の概要文，2.6.4.4項参照）。

2.4.3.4　代謝

モスネツズマブを用いた代謝試験は実施していない（2.6.4 薬物動態試験の概要文，2.6.4.5項参照）。

2.4.3.5　排泄

モスネツズマブを用いた排泄試験は実施していない（2.6.4 薬物動態試験の概要文，2.6.4.6項参照）。

2.4.3.6　薬物動態学的薬物相互作用

モスネツズマブを用いた非臨床の薬物動態学的薬物相互作用試験は実施していない（2.6.4 薬物動態試験の概要文，2.6.4.7項参照）。

2.4.3.7　その他の薬物動態試験

臨床試験で用いた2つの原薬製造工程（v0.1及び v0.2）に由来するモスネツズマブ製剤（モスネツズマブ v0.1由来製剤及び v0.2由来製剤）をカニクイザルに投与し，PK を比較した。単回 IV 持続投与後のモスネツズマブ v0.1由来製剤群及びモスネツズマブ v0.2由来製剤群の PK パラメータ（C_{max}，投与後7日までの血清中濃度-時間曲線下面積［$AUC_{0\text{-}7d}$］及び0時間から最終定量可能時間までの血清中濃度-時間曲線下面積［AUC_{last}］）の幾何平均値の比及び90%信頼区間は，事前に規定した生物学的同等性の基準（70～143%）の範囲内であったことから，モス

ネツズマブ v0.1由来製剤とモスネツズマブ v0.2由来製剤の間に統計学的に有意な PK の差はないことが示唆された。また，モスネツズマブ v0.1由来製剤とモスネツズマブ v0.2由来製剤の PD 特性は類似しており，血液中及び組織中の B 細胞枯渇効果は同程度であった。

2.4.4 毒性試験

モスネツズマブの非臨床毒性試験は，再発性又は難治性及び未治療の B 細胞性悪性腫瘍に対するモスネツズマブの静脈内投与又は皮下投与を支持するために，医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン，特に，ICH S6（「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」について，薬食審査発0323第1号 平成24年3月23日）及び ICH S9（抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインについて，薬食審査発0604第1号 平成22年6月4日）に記載された原則に基づいてデザインされた。

カニクイザルに1 mg/kg 未満の用量でモスネツズマブ又は2H7v16/40G5c を投与したところ，ADA の高発現率及び高力価が認められ，速やかな薬物クリアランス及び PD 効果の消失が認められた。ヒト初回投与臨床試験を裏付けるため，ICH S9ガイダンスに従い，ADA の影響を考慮して，カニクイザルを用いてモスネツズマブの GLP 単回投与毒性及び安全性薬理試験を実施した。2H7v16/40G5c の静脈内及び/又は皮下投与による複数の単回投与試験及び4週間（非 GLP）パイロット試験及び探索的試験，ヒト及びカニクイザル組織を用いた組織交差反応性試験（GLP 適用），並びにヒト及びカニクイザルの PBMC におけるサイトカイン放出評価をモスネツズマブを用いて実施した。

2.4.4.1 単回及び反復投与毒性試験

2H7v16/40G5c を用いた初期の試験の結果から，カニクイザルにおける ADA 発現を抑制し，長期試験で薬物曝露を維持するためには，血液及びリンパ組織中の B 細胞を迅速かつ完全に枯渇させるために，最初の1週間以内に1 mg/kg の用量を投与する必要があった。モスネツズマブ 1 mg/kg の初回静脈内投与に伴うサイトカイン放出症候群（CRS）様の急性毒性を最小限に抑えるため，漸増投与法（1日目に0.2 mg/kg，2日目に0.8 mg/kg）をモスネツズマブの4週間探索試験で評価した。このアプローチにより，CRS のような急性毒性を軽減しながら，組織 B 細胞を効果的に急速に減少させ，ADA 発現を軽減することができた。その後，性成熟したカニクイザルを用いた漸増投与法による26週間反復投与毒性試験（GLP 適用）を実施した。性成熟したカニクイザルを用いた26週間反復投与毒性試験の一部として，雌雄の生殖能を評価した。

カニクイザルを用いて実施した毒性試験の主要な結果を以下に示す。

- モスネツズマブ又は2H7v16/40G5c の静脈内又は皮下投与により，循環血中及びリンパ組織中の持続的な B 細胞枯渇の薬理作用が誘導されたが，休薬により回復した。更に，モスネツズマブ又は2H7v16/40G5c は一過性の T 細胞活性化，サイトカイン放出及び循環血中 T 細胞の減少を誘発し，その後，細胞の遊走及び再分布に起因する回復がみられたが，これらはすべて主に初回投与に限られていた。
- IV 投与後の主なモスネツズマブ又は2H7v16/40G5c 関連毒性はサイトカイン放出に起因するものであり，臨床症状（嘔吐，下痢，活動性低下/円背位），低血圧，頻脈，発熱，凝固系の軽微な活性化を伴う急性期反応と一致する炎症の指標，並びにサイトカインを介した肝細胞損傷に起因すると考えられるアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）/アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）の軽度な増加を伴う軽微または軽度の肝細胞変性及び肝細胞単細胞壊死が認められた。いずれの所見も一過性であり，概して初回投与時に限定的であった。
- モスネツズマブ又は2H7v16/40G5c の投与に伴い，病理組織学的検査で軽度から中等度の血管/血管周囲の炎症細胞浸潤が認められ，主に CNS に（単回又は反復投与後）及び全身にも（26週間試験では，短期試験と比較して重症度が低かった）認められた。炎症性浸潤は可逆的であり，ニューロン損傷のエビデンスはなかった。生存中の神経学的所

見は，4週間試験の動物1例における痙攣の発現のみであった。このときの最高血清中濃度（C_{max}）及び血清中濃度–時間曲線下面積（AUC）の曝露量は，第 I/Ib 相試験（GO29781試験）で同程度の期間にわたってモスネツズマブを投与された患者の曝露量のそれぞれ約50倍及び20倍であった。いずれの毒性試験においても，長期投与後にもその他の神経学的異常は認められなかった。

- 26週間反復投与毒性試験では，病理組織学的検査で上部尿路感染及び腸感染が認められ，2例が瀕死状態となり早期安楽死に至った。感染に対する感受性の増加は，モスネツズマブの薬理作用である長期にわたる B 細胞枯渇に続発したものと考えられた。
- 器官重量，剖検及び病理組織学的検査では，雌雄の生殖器にモスネツズマブに関連した影響は認められなかった。
- 反復投与試験では，皮下投与によりサイトカイン放出が効果的に減少し，CRS 様の急性毒性が最小限に抑えられ，血管/血管周囲浸潤の発現率が低下したが，B 細胞の枯渇に影響を及ぼさなかった。SC 投与の全般的な安全性プロファイルの改善は，IV 投与動物と比較して SC 投与動物で C_{max} が低下して T_{max} が遅延し，その後サイトカイン放出が減少したことによる可能性があり，このことは，SC 投与が臨床においてモスネツズマブに関連する毒性を軽減する実行可能な方法であることを示唆している。

2.4.4.2 遺伝毒性及びがん原性試験

ICH S6(R1)ガイドラインに準拠し，遺伝毒性は実施しなかった。ICH S6(R1)及び S9ガイダンスに従い，予定されている適応症に対するがん原性試験は実施しなかった。

2.4.4.3 生殖発生毒性試験

ICH S9ガイダンスに準拠して，本薬の胚・胎児発生に関する試験，並びに出生前及び出生後の発生に関する試験は実施していない。性成熟したカニクイザルを用いた26週間反復投与毒性試験の一部として，雌雄の生殖機能を評価した。評価には器官重量，雌雄生殖器の剖検及び病理組織検査（雄では精子形成の定性的評価，雌では月経周期の一般的な時期の評価）を含めた。雌雄の生殖能評価では，モスネツズマブに関連した影響は認められなかった。

発生への潜在的な影響に関する重み付けに基づいた（WOE）リスク評価を実施した。妊娠第1三半期における抗体の胎盤通過性が低いこと，モスネツズマブの作用機序及び入手可能なデータ，並びに申請者が所有する他の抗 CD20抗体（例：リツキシマブ（遺伝子組換え），オビヌツズマブ（遺伝子組換え），オクレリズマブ［Ocrevus ® 米国添付文書（USPI）］）のデータに基づくと，催奇形性のリスクは低いと考えられる。妊娠していない動物を用いたモスネツズマブの試験では，オクレリズマブで示されているように，母動物における長期の B 細胞枯渇が日和見感染のリスクを増加させ，胎児死亡に至る可能性があることが示されている。モスネツズマブ投与に伴う一過性の CRS も妊娠に有害な可能性がある。

2.4.4.4 その他の毒性試験

組織交差反応性試験を実施したが，特異的な組織結合を評価し，モスネツズマブのオフターゲット結合の可能性をスクリーニングするための頑健で再現性のある正確な免疫組織化学染色（IHC）を開発することはできなかった。

ヒト PBMC を用いた *in vitro* 試験を実施し，ヒト初回投与用量選択のための *in vitro* 活性を評価するとともに，モスネツズマブの製造において低レベルで生成される可能性がある製品関連変異体である抗 CD3ホモ二量体の潜在的影響を評価した。様々な濃度の抗 CD3ホモ二量体を含むモスネツズマブ（最高臨床用量60 mg の C_{max} 値に相当する濃度まで）を添加したとき，抗 CD3ホモ二量体は最大5%までモスネツズマブによる T 細胞活性化又はサイトカイン放出を有意に増強しなかった。更に，B 細胞傷害活性により測定したモスネツズマブの有効活性は，こ

れらのレベルの抗 CD3ホモ二量体による影響を受けなかった。これらのデータは，抗 CD3ホモ二量体抗体の管理戦略を裏付けるものである（2.3.P.5.6項）。

証拠の重み付けアプローチ評価によりモスネツズマブの乱用の可能性は非常に低いと考えられたことから，更なる非臨床評価は実施しなかった。

2.4.4.5 毒性試験のまとめ

総合すると，毒性試験から得られたデータにより，モスネツズマブの安全性プロファイルの包括的な特徴が明らかになった。臨床的安全性及び有効性データとともに，モスネツズマブは B 細胞性血液悪性腫瘍患者の治療薬として良好なベネフィット・リスクプロファイルを示した。

2.4.5 総括及び結論

モスネツズマブは *in vitro* 及び *in vivo* において，T 細胞の活性化及びサイトカイン産生，並びに B 細胞傷害効果を示した。

カニクイザルを用いた非臨床試験で特定された重要な安全性上のリスクには，投与後の CRS 様の毒性（主に初回投与時に限定される），可逆的な血管/血管周囲の炎症性細胞浸潤（主に中枢神経系に認められ，その他の器官への浸潤はまれである），長期投与後の持続的な B 細胞枯渇による易感染性などがある。いずれの所見も薬理作用に起因する変化と一致しており，モニタリング可能かつ管理可能であると考えられた。

非臨床探索的試験では，SC 投与により C_{max} 低下及び T_{max} の遅延が認められ，また IV 増量によりサイトカイン放出を抑制し，急性毒性及び/又は CNS 所見のような CRS を軽減できることが示唆された。しかし，カニクイザルにおける急速な ADA 発現を軽減するために，投与開始後1週間以内に高用量を投与して循環血中及び組織中の B 細胞を枯渇させる必要があったことから，SC 投与により低用量から漸増する投与方法を評価することは困難であった。

以上，モスネツズマブの薬効薬理，薬物動態及び安全性に関する特性は，B 細胞に起因する濾胞性リンパ腫の新規治療薬としてのモスネツズマブの妥当性を支持するものであった。