目次

2.6.1 緒言 3

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
IL	インターロイキン（interleukin）

2.6.1 緒言

グセルクマブは，ヒト型抗ヒトインターロイキン（IL）-23p19 モノクローナル抗体製剤である。*In vitro* 試験において，グセルクマブはヒト IL-23 を構成する p19 サブユニットに高い特異性及び親和性で結合し，IL-12Rβ1 及び IL-23R で構成される IL-23 受容体複合体への IL-23 の結合を阻害した。また，IL-23 によって活性化されるナチュラルキラー細胞及びヘルパーT 細胞などの免疫担当細胞の細胞内シグナル伝達並びに IL-17A，IL-17F 及び IL-22 の分泌を抑制した。グセルクマブは，日本では既存治療で効果不十分な尋常性乾癬，乾癬性関節炎，膿疱性乾癬，乾癬性紅皮症，掌蹠膿疱症に対して，通常，成人には 1 回 100 mg を初回，4 週後，以降 8 週間隔で皮下投与する用法・用量で承認されている。

本申請は，潰瘍性大腸炎患者に対しグセルクマブの静脈内及び皮下投与による治療を行う適応拡大のための皮下注製剤の医薬品製造販売承認事項一部変更承認申請及び点滴静注製剤の新規承認申請である。

目次

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 3
2.6.2.3 副次的薬理試験 6
2.6.2.4 安全性薬理試験 6
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 6
2.6.2.6 考察及び結論 7
2.6.2.7 図表 7
2.6.2.8 参考文献 8
2.6.3 薬理試験概要表 1

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
AF488	Alexa Fluor 488
CD	cluster of differentiation
FcγR	Fcγ 受容体（Fcγ receptor）
GM-CSF	顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（granulocyte-macrophage colony-stimulating factor）
hIgG1 IC	ヒト IgG1 アイソタイプコントロール（human IgG1 isotype control）
IFNγ	インターフェーロン γ（interferon γ）
Ig	免疫グロブリン（immunoglobulin）
IL	インターロイキン（interleukin）
LALA 変異	L234A 及び L235A 変異
LPS	リポ多糖（lipopolysaccharide）
R848	レシキモド（resiquimod）

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

グセルクマブは，ヒトインターロイキン（IL）-23 の p19 タンパク質サブユニットに結合する完全ヒト型免疫グロブリン（Ig）G1λ モノクローナル抗体（mAb）であり，IL-23 を介した細胞内シグナル伝達や活性化，及びサイトカイン産生を阻害する。グセルクマブは，2018 年 3 月に「既存治療で効果不十分な尋常性乾癬，乾癬性関節炎，膿疱性乾癬，乾癬性紅皮症」を効能・効果として承認され，その後同年 11 月に「既存治療効果不十分な掌蹠膿疱症」が効能・効果に追加された。これら既承認の効能・効果に対する薬理作用は，初回申請時に提出した資料に基づき評価済みである。

本申請は，「中等症から重症の潰瘍性大腸炎」の適応追加にかかる承認申請である。効力を裏付ける試験として，*in vitro* 試験を実施し，グセルクマブの IL-23 産生炎症性単球の表面に発現する Fcγ 受容体 I（FcγRI，別名：CD64）への結合性及び特性について評価した。

Fcγ 受容体（FcγR）は IgG の Fc 部分に結合する細胞表面受容体のクラスである。FcγR1（CD64）を発現する骨髄系細胞は，乾癬，並びに炎症性腸疾患のクローン病及び潰瘍性大腸炎の炎症組織における IL-23 の主要な供給源であることが報告されている（Mehta 2021; Chapuy 2019, 2020）。*In vitro* 試験により，グセルクマブの初代培養ヒト単球上の CD64 への結合能，並びに IL-23 産生炎症性単球上の CD64 への結合能及び当該細胞で産生された IL-23 への結合能を評価した。

In vitro フローサイトメトリー試験において，グセルクマブはインターフェーロン γ（IFNγ）で刺激したヒト CD64 陽性単球に，濃度依存的に結合した。また，単球の CD64 発現量が高いほどグセルクマブの結合率も高かった。

また，グセルクマブは，ヒト CD64 陽性かつ IL-23 を産生する炎症性単球にも結合し，グセルクマブの結合率は，CD64 発現量と相関した。さらに，CD64 に結合したグセルクマブは，同時に局所的に産生される内因性 IL-23 を捕捉することができ，その程度は細胞表面に結合したグセルクマブの濃度と相関した。これらのデータより，グセルクマブは炎症性単球の細胞表面 CD64 に結合するだけでなく，同細胞から産生される IL-23 も同時に捕捉する能力を有することが確認された。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 初代培養ヒト単球上の CD64 に対するグセルクマブの結合評価

（資料番号 4.2.1.1.1）

初代培養ヒト単球は CD64 を低レベルで恒常的に発現しており，IFNγ のような炎症性刺激後に CD64 の発現はアップレギュレートされる（Guyre 1983; Perussia 1983）。グセルクマブの CD64 への結合を評価するため，ヒト末梢血単核細胞から単球を単離し，CD64 の発現をアップレギュレートするために IFNγ 存在下で一晩培養した。これらの細胞を用いて，フローサイトメトリー法により，Alexa Fluor 488（AF488）で標識したグセルクマブ及び対照抗体［ヒト IgG1 アイソタ

イプコントロール（hIgG1 IC）］，及び IgG1 の Fc ドメインに L234A 及び L235A（LALA）変異を含むグセルクマブの結合を評価した。

グセルクマブ及び野生型 Fc ドメインを有する hIgG1 IC は，IFNγ で刺激した単球に濃度依存的に結合した（図 2.6.2-1）。また，IFNγ で刺激した単球へのグセルクマブの結合が野生型 Fc ドメインに起因することを確認するため，FcγR への IgG 結合を低減させることが報告されている LALA 変異を Fc ドメインに有するグセルクマブを作製して検討したところ（Xu 2000），IFNγ 刺激後の単球への結合は消失した（図 2.6.2-1）。

IFNγ 刺激後のヒト単球に結合したグセルクマブの量は，CD64 の発現量と相関したが，FcγRII（CD16），又は FcγRIII（CD32）の発現量との相関は明らかではなく，ほとんど影響しないと考えられた（図 2.6.2-2）。さらに，ヤギ抗 CD64 ポリクローナル抗体は，IFNγ で刺激した単球へのグセルクマブの結合を濃度依存的に阻害したが，CD32 又は CD16 に特異的な抗体による結合阻害はほとんど認められなかった（図 2.6.2-3）。また，CD64，CD32 及び CD16 抗体のアイソタイプコントロールはグセルクマブの結合を阻害せず，CD64，CD32 及び CD16 の検出に FcγR 染色抗体を用いても AF488 標識グセルクマブの結合に影響しなかった（図 2.6.2-3）。

これらのデータより，グセルクマブの IFNγ 刺激単球への結合は，主にグセルクマブの Fc ドメインと CD64 との相互作用を介して生じることが示された。

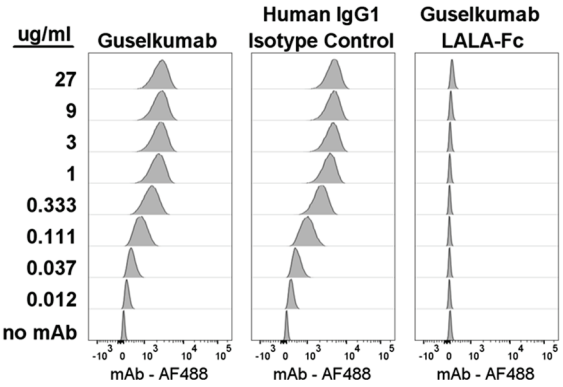


図 2.6.2-1　IFNγ 刺激ヒト単球へのグセルクマブの結合

Monocytes were isolated from human PBMCs and cultured overnight with 50 ng/ml recombinant IFNγ. The IFNγ-primed monocytes were subsequently incubated with a titration of AF488-labeled mAbs including guselkumab, and human IgG1 isotype control, or a version of guselkumab containing L234A, L235A mutations in the Fc domain. Binding of the AF488 labeled mAbs to the IFNγ-primed monocytes was assessed by flow cytometry.

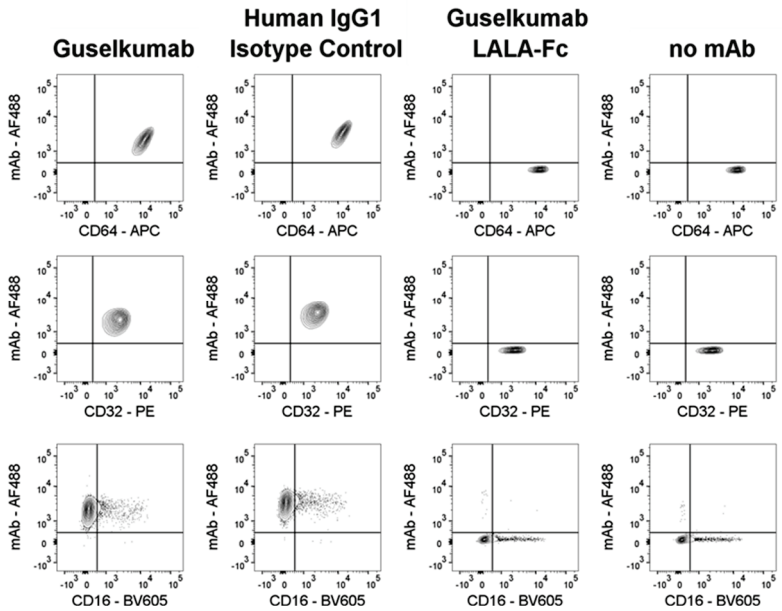


図 2.6.2-2　IFNγ 刺激ヒト単球への結合と CD64，CD32 及び CD16 の発現量

Monocytes were isolated from human PBMCs and cultured overnight with 50 ng/ml recombinant IFNγ. The IFNγ-primed monocytes were subsequently incubated with 1 µg/ml of AF488-labeled mAbs including guselkumab, a human IgG1 isotype control, and a version of guslekumab modified to contain L234A, L235A (LALA) mutations in the Fc domain. Fluorescently labeled antibodies specific to CD64, CD32, and CD16 were used to detect expression level of each type of FcγR. The binding of AF488-labeled mAbs to the IFNγ-primed monocytes, and the correlation of mAb binding with the expression of specific FcγRs was assessed by flow cytometry.

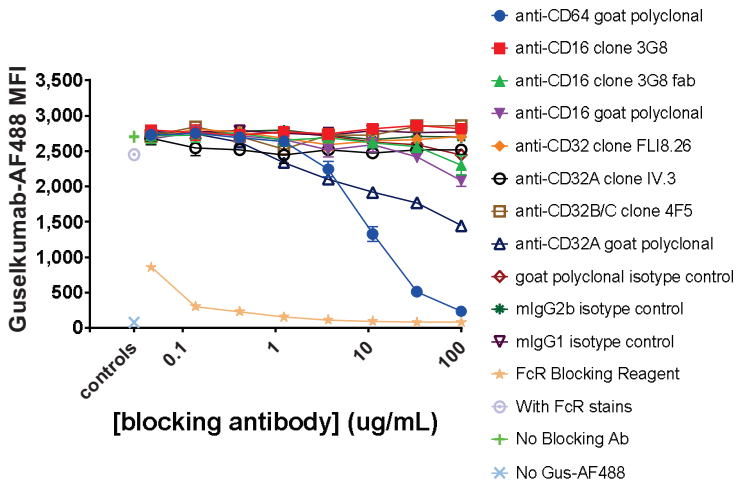


図 2.6.2-3　IFNγ 刺激ヒト単球へのグセルクマブの結合に対する各種抗 FcγR 抗体の阻害作用

Monocytes were isolated from human PBMCs and cultured overnight with 50 ng/ml recombinant IFNγ. The IFNγ-primed monocytes were subsequently incubated with the FcγR blocking antibodies or isotype controls for 30 minutes on ice before addition of 1 µg/ml AF488 labelled guselkumab. The binding of AF488-labeled guselkumab to the IFNγ-primed monocytes was assessed by flow cytometry.

2.6.2.2.2　ヒト炎症性単球上の CD64 に対するグセルクマブの結合及び同細胞により産生される IL-23 への同時結合の評価

（資料番号 4.2.1.1.2）

グセルクマブが炎症性単球上の CD64 に結合し，当該細胞が産生した IL-23 を同時に捕捉する能力を評価した。ヒト末梢血から単球を単離し，顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-

CSF）と IFNγ 存在下で 6 日間培養して CD64 陽性の炎症性単球に分化させ，AF488 標識グセルクマブ又は hIgG1 IC の存在下で培養し，Toll 様受容体リガンドであるリポ多糖（LPS）及びレシキモド（R848）で刺激して IL-23 の産生を誘導した。20 時間後細胞を洗浄し，結合した AF488 標識抗体及び捕捉された IL-23 をフローサイトメトリー法で測定した。

グセルクマブ及び hIgG1 IC の結合率は，CD64 発現レベルと相関した（図 2.6.2-4）。さらに，グセルクマブ存在下で培養した単球の細胞表面には産生された IL-23 が結合していることが示され，その程度は細胞表面に結合したグセルクマブ量と相関した（図 2.6.2-4）。一方で，hIgG1 IC 存在下で培養した細胞は IL-23 とは結合しなかった。

これらのデータより，炎症性単球の細胞表面上の CD64 に結合したグセルクマブが，同細胞より産生される IL-23 を同時に捕足する能力が示された。

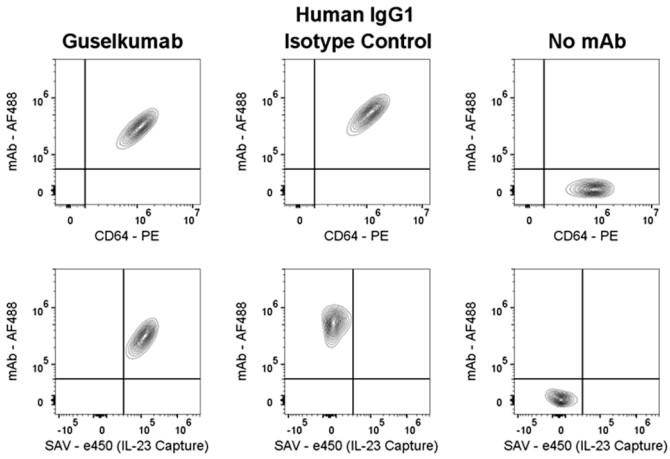


図 2.6.2-4　炎症性単球上の各 mAb 結合と CD64 及び IL-23 発現量

Primary human monocytes were cultured in the presence of GM-CSF and IFNγ for 6 days to differentiate them into inflammatory monocytes. Inflammatory monocytes were subsequently incubated with 0.3 µg/mL AF488-labeled mAbs and stimulated with the toll-like receptor ligands LPS and R848 to promote production of endogenous IL-23. After 20 hours of incubation, cells were washed, and the captured IL-23 was detected by a biotinylated anti–IL-23p40mAb followed by staining with eFlour™ 450-labelled streptavidin. Surface expression of CD64 was detected with a fluorescently labeled antibody specific to CD64. Cells were analyzed by flow cytometry and data plotted to show correlations between CD64 expression, mAb binding, and capture of IL-23.

2.6.2.3　副次的薬理試験

該当資料なし。

2.6.2.4　安全性薬理試験

該当資料なし。

2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし。

2.6.2.6 考察及び結論

グセルクマブは，野生型 Fc ドメインを含む完全ヒト型 IgG1λ 抗体であり，IL-23 の IL23p19 サブユニットに結合し，IL-23 シグナル伝達を阻害する。FcγR は IgG の Fc ドメインに結合する細胞表面受容体の一種であり，FcγR1 である CD64 は単量体 IgG1 抗体に高い親和性で結合できる唯一の FcγR である（Bruhns 2009, 2015）。近年，CD64 陽性骨髄系細胞が炎症組織における IL-23 の供給源として同定された。乾癬患者の病変部皮膚から単離した CD45 陽性細胞のフローサイトメトリー解析により，CD64 を発現する単核食細胞の有意な増加が認められた。これらの CD64 陽性骨髄系細胞では，IL-23p19 陽性細胞が 80%を占めた（Mehta 2021）。同様に，クローン病及び潰瘍性大腸炎の両方に由来する骨髄系細胞のフローサイトメトリー解析により，炎症組織における IL-23 の主要な供給源として CD64 陽性骨髄系細胞が特定された（Chapuy 2019, 2020）。

グセルクマブは IFNγ で刺激した CD64 陽性単球に濃度依存的に結合した。この結合は野生型グセルクマブの Fc ドメインに依存しており，Fc ドメインに LALA 変異を有するグセルクマブは結合できなかった。また，単球の CD64 発現量とグセルクマブの結合率は，最も強い相関を示した。さらに，CD64 に特異的なヤギポリクローナル抗体は用量依存的にグセルクマブの結合を阻害し，IFNγ で刺激した単球へのグセルクマブの結合をほぼ完全に阻害した。これらのデータは，主にグセルクマブの Fc ドメインと CD64 との相互作用を介して，IFNγ で刺激した単球にグセルクマブが結合することを示している。

グセルクマブは IL-23 産生の炎症性単球にも結合し，グセルクマブの結合率は炎症性単球の表面に発現している CD64 のレベルと相関していた。また，CD64 に結合したグセルクマブは当該細胞から分泌される IL-23 に結合し，その程度は細胞表面に結合したグセルクマブの量と相関した。

これらの試験より，グセルクマブは Fc ドメインを介して炎症性単球上の CD64 と結合し，同細胞から産生される IL-23 を同時に捕捉する能力を有するという作用が確認された。一方で，Fc ドメインに LALA 変異を有するヒト化抗ヒト IL-23p19 モノクローナル抗体のリサンキズマブは CD64 に結合せず，炎症性単球上で IL-23 を捕捉する作用はないことが報告されている（Atreya 2023）。本作用は IgG1 の Fc ドメインが野生型の完全ヒト型 IgG1λ モノクローナル抗体であるグセルクマブに特徴的であると考えられ，炎症組織で IL-23 を中和する可能性を示している。

2.6.2.7 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.2.8 参考文献

Atreya (2023), et al. Guselkumab, an IL-23p19 subunit–specific monoclonal antibody, binds CD64+ myeloid cells and potently neutralises IL-23 produced from the same cells. J Crohns Colitis. 2023;17(Sup1):i634-5.

Bruhns P (2009), et al. Specificity and affinity of human Fcγ receptors and their polymorphic variants for human IgG subclasses. Blood. 2009;113:3716-25.

Bruhns P (2015), et al. Mouse and human FcR effector functions. Immunol Rev. 2015;268:25-51.

Chapuy L (2019), et al. Two distinct colonic CD14^{+} subsets characterized by single-cell RNA profiling in Crohn's disease. Mucosal Immunol. 2019;12:703-19.

Chapuy L (2020), et al. IL-12 and Mucosal CD14+ Monocyte-Like Cells Induce IL-8 in Colonic Memory CD4+ T Cells of Patients With Ulcerative Colitis but not Crohn's Disease. J Crohns Colitis. 2020;14:79-95.

Guyre PM (1983), et al. Recombinant immune interferon increases immunoglobulin G Fc receptors on cultured human mononuclear phagocytes. J Clin Invest. 1983;72:393-7.

Mehta H (2021), et al. Differential Changes in Inflammatory Mononuclear Phagocyte and T-Cell Profiles within Psoriatic Skin during Treatment with Guselkumab vs. Secukinumab. J Invest Dermatol. 2021;141:1707-18.e9.

Perussia B (1983), et al. Immune interferon induces the receptor for monomeric IgG1 on human monocytic and myeloid cells. J Exp Med. 1983;158:1092-113.

Xu D (2000), et al. In vitro characterization of five humanized OKT3 effector function variant antibodies. Cell Immunol. 2000;200:16-26.

Confidential

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test Article: Guselkumab

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Primary Pharmacodynamics					
Flow cytometry assay demonstrating Fc-dependent binding of guselkumab to CD64	IFNγ-primed primary human monocytes	*In vitro*	No	Janssen R&D, San Diego, California, USA	DD24008/ 4.2.1.1.1
Flow cytometry assay demonstrating guselkumab binding to CD64 and simultaneous binding of endogenous locally produced IL-23	IL-23 producing inflammatory human monocytes	*In vitro*	No	Janssen R&D, San Diego, California, USA	DD24009/ 4.2.1.1.2
Secondary Pharmacodynamics					
No studies conducted					
Safety Pharmacology					
No studies conducted					
Pharmacodynamic Drug Interactions					
No studies conducted					

CD64: cluster of differentiation 64; INFγ: interferon gamma; IL-23: interleukin 23

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

詳細は概要文中に記載

2.6.3.3 副次的薬理試験

該当資料なし

2.6.3.4　安全性薬理試験

該当資料なし

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし