TABLE OF CONTENTS

1. 緒言 3
2. 非臨床試験計画 3
3. 参考文献 4

2.6.1 の略号等一覧

略号（略称）	英語	日本語
CRSwNP	Chronic rhinosinusitis with nasal polyps	鼻茸を伴う慢性鼻副鼻腔炎
FcRn	Neonatal Fc receptor	胎児性 Fc 受容体
ICH	International Council for Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
IgG	Immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IL-5	Interleukin-5	インターロイキン-5
mAb	Monoclinal antibody	モノクロ―ナル抗体
PD	Pharmacodynamics	薬理力学
PK	Pharmacokinetics	薬物動態
YTE	Amino acid changes in Fc region of depemokimab	デペモキマブの Fc 領域のアミノ酸置換

1. 緒言

デペモキマブ（遺伝子組換え）（以下、デペモキマブ）はヒトインターロイキン（IL）-5に対して特異的に結合する免疫グロブリンG（IgG）1アロタイプ3（アロタイプG1m3）抗体である。デペモキマブは、ヒト化IgG1モノクロ―ナル抗体（mAb）であり、ヒトIL-5に結合する。デペモキマブは、IL-5に対する親和性を向上させるために、ヌーカラ（メポリズマブ）の[redacted]にアミノ酸変異を導入し作製されている。上記のアミノ酸変異に加えて、デペモキマブの定常領域には、胎児性Fc受容体（FcRn）への結合性を高めるアミノ酸変異（YTE置換）を導入し、in vivoでの半減期を延長させ、低頻度での投与を実現している。

デペモキマブは、血中のIL-5に特異的に結合し、IL-5受容体α鎖へのIL-5の結合を阻害することにより、好酸球の生存及び機能を抑制し、好酸球性炎症を抑制する。そこで、好酸球性の気管支喘息（喘息）及び鼻茸を伴う慢性鼻副鼻腔炎（CRSwNP）に対する長期治療を目的として、デペモキマブの開発に着手した。

デペモキマブは100 mg/mLの防腐剤無添加水溶液として調製した薬液を充填した安全装置付きプレフィルドシリンジ又はオートインジェクター製剤として供給され、臨床使用に際しては1回100 mgを26週間ごとに皮下投与することを予定している。

2. 非臨床試験計画

デペモキマブを用いた非臨床薬理、薬物動態及び毒性試験を実施した。デペモキマブの非臨床試験は、ICH S6(R1)ガイドラインに従って実施した。そのため、デペモキマブの開発において、通常低分子医薬品に対して実施される多くの試験については実施していない。

デペモキマブの効力を裏付ける試験では、ヒト及び種々の動物種のIL-5並びにヒトFcγ受容体、C1q及びFcRnに対する結合親和性、並びにサル及びヒトIL-5で誘導した細胞増殖に対する抑制作用を検討した。また、デペモキマブの血中好酸球への影響を、サルを用いた薬物動態と効力の関係性（PK/PD）を評価するin vivo試験及び毒性試験において検討した。デペモキマブの安全性薬理試験として独立した試験は実施していないが、ICH S6(R1)[ICH, 2011]及びICH S7A[ICH, 2001]に従って、サルを用いた単回及び反復投与毒性試験において安全性薬理評価を実施した。

デペモキマブはIgG1アロタイプG1m3ヒト化抗IL-5 mAbであり、ヒト及びサルIL-5に対して高い結合親和性を示した。また、細胞機能アッセイにおいてデペモキマブはサル及びヒトIL-5で誘導した細胞増殖を抑制した。一方、デペモキマブは、マウス、ラット、ウサギ及びイヌIL-5には結合しなかった。これらのことから、毒性試験で用いる動物種として、デペモキマブに対して薬理作用を示すカニクイザルを選択した。

カニクイザルを用いたデペモキマブの薬物動態試験を実施し、デペモキマブの体内動態を検討した。デペモキマブの分布、代謝及び排泄試験は実施していない。デペモキマブは分子サイズが大きく（149 kD）、天然アミノ酸から構成されるため、非臨床動物種を用いた標準的な分布、代謝及び排泄試験は不要と判断した[ICH, 2011]。

2.6.1. 緒言

デペモキマブの毒性について評価するため、カニクイザルを用いた最長 26 週間反復皮下投与毒性試験を実施した。また、デペモキマブのヒト及びサル組織への結合性について検討するため、交差反応性試験（免疫組織化学的検査）を実施した。

デペモキマブのがん原性について検討するため、ICH S6(R1)に従い、科学的根拠の重要度（weight of evidence）に基づくアプローチ（具体的には、デペモキマブの生物学的特性及び作用機序、オフターゲット作用の有無、並びに毒性及び臨床試験成績等に基づく）により評価した。また、公表文献及び他の IL-5 阻害薬の安全性情報も含め包括的な評価を実施した（2.4 Appendix 2）。

デペモキマブの受胎能、胚・胎児発生、幼若動物に対する毒性及び免疫毒性（寄生虫感染に対する宿主防御）への影響については、メポリズマブ及び SB-264091（マウスで活性を示すラット抗ヒト IL-5 モノクローナル抗体）を用いた非臨床試験成績並びに同じクラスの他の薬物のデータに基づき評価した。

2.6 項に記載した試験はいずれもデペモキマブを用いて実施した。用量及び濃度（血漿中濃度も含む）はいずれもデペモキマブとして表示する。

重要な非臨床試験に用いた被験物質中の不純物プロファイルは、臨床試験で使用又は市販予定のものと同等であることが確認された。非臨床安全性試験に用いたデペモキマブのロット及び不純物含量に関する情報を、2.6.2 及び 2.6.6 の表中に示す。

薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験の詳細については 2.6.2～2.6.7 に示し、概括評価を 2.4 に示す。最終報告書及び公表論文はモジュール 4 に添付する。

3. 参考文献

Guidelines [Not Provided]

ICH S6(R1). Harmonised Tripartite Guideline, 2011. EMA/CHMP/ICH/731268/1998. Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals.

ICH S7A. Harmonised Tripartite Guideline, 2001. CPMP/ICH/539/00. Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals.

TABLE OF CONTENTS

1. まとめ 3
1.1. 非臨床で用いた被験物質 5
2. 効力を裏付ける試験 5
2.1. In vitro 試験 9
多様なアミノ酸変異を導入した抗体ライブラリーによるスクリーニング及び IL-5 による TF-1 細胞増殖アッセイを用いたリード抗体の同定 9
ヒト及びカニクイザル IL-5 への結合 9
非霊長類 IL-5 への結合 10
ヒト Fc ガンマ受容体、C1q 及び FcRn への結合 10
IL-5 による TF-1 細胞増殖に対する作用 11
天然型 IL-5 への結合 12
IL-5 による好酸球の形態変化に対する作用 12
血清中安定性 13
2.2. In vivo 試験 13
カニクイザルを用いた単回投与薬物動態／薬理試験 13
3. 副次的薬理試験 17
4. 安全性薬理試験 17
4.1. In vivo 試験 17
4.2. In vitro 試験 19
4.2.1. QT 間隔への影響 19
5. 薬力学的薬物相互作用試験 21
6. 考察及び結論 21
7. 図表 22
8. 参考文献 22

2.6.2 及び 2.6.3 の略号等一覧

略号（略称）	英語	日本語
C1q	Complement component 1q	補体成分 C1q
CD	Cluster of differentiation (antigen type)	表面抗原分類（抗原型）
CH	Heavy chain constant	重鎖定常領域
ECG	Electrocardiogram	心電図
FcRn	Neonetal Fc receptor	胎児性 Fc 受容体
GLP	Good laboratory practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
GSK3511294	Depemokimab	デペモキマブ
hERG	Human ethet-a-go-go-related gene	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子
IC50	Half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
IL	Interleukin	インターロイキン
IV	Intravenous	静脈内の
KD	Dissociation constant	解離定数
mAb	Monoclonal antibody	モノクロ―ナル抗体
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
SC	Subcutaneous	皮下の
VH	Heavy chain variable	重鎖可変領域
VL	Light chain variable	軽鎖可変領域
YTE	Amino acid changes in Fc region of depemokimab	デペモキマブの Fc 領域のアミノ酸変異

1. まとめ

デペモキマブ（遺伝子組換え）（以下、デペモキマブ）は、ヒトインターロイキン-5（IL-5）に特異的かつ高親和性に結合する遺伝子組換えヒト化モノクローナル抗体（mAb）であり、IL-5 に結合し、細胞表面に発現している IL-5 受容体 α 鎖への IL-5 結合を阻害する。デペモキマブは、既承認のヒト化抗 IL-5 抗体であるヌーカラ（メポリズマブ）を改良して作製した抗体である。抗体の作製過程では抗体親和性成熟技術を用いており、メポリズマブの[redacted]に多様な変異を導入した抗体を発現する酵母のライブラリーから、ヒト IL-5 に対して結合親和性の高い抗体を発現するクローンを単離している。また、定常領域には、胎児性 Fc 受容体（FcRn）への結合性を高める YTE 変異を導入し、in vivo での半減期を延長させ、低頻度での投与を実現している。

デペモキマブの効力を裏付ける試験として、一連の in vitro 及び in vivo 試験を実施した。デペモキマブの非臨床試験は ICH S6(R1)[ICH, 2011]に従い計画しており、低分子医薬品に対して通常実施される多くの試験はデペモキマブの評価に適さないと判断した。

デペモキマブは IL-5 に対して特異的に結合することから、主要な生理的機能（心血管系、呼吸系及び中枢神経系など）に対して影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。したがって、ICH S7A[ICH, 2001]及び ICH S6(R1)[ICH, 2011]に従い、独立した安全性薬理試験は実施しなかった。デペモキマブの心血管系に対する影響については、サルを用いた単回皮下投与毒性試験及び 26 週間反復皮下投与毒性試験の結果に基づき評価した。デペモキマブはヒト及びサルの IL-5 のみに結合するため、主要な毒性試験はカニクイザルを用いて実施した。

効力を裏付ける試験は、一般的に科学的妥当性が認められた手法を用いて、GLP の原則に従い実施した。安全性薬理評価を含む毒性試験については、OECD 加盟国において OECD ガイドライン及び GLP に従い実施した。

本承認申請に際して実施した薬理試験成績の要約を以下の項に示す。実施した薬理試験の方法及び結果は、2 項に記載した。非臨床薬理試験結果の考察及び結論は 6 項に記載した。

実施した試験一覧、試験報告書の添付場所及び GLP 適用状況を表 2.1 及び表 4.1 に記載した。安全性薬理評価の概要を 2.6.3 に記載した。本申請に際して試験報告書を添付しなかった試験の一覧及び理由を Appendix 1 に示した。

効力を裏付ける試験

- KinExA を用いた結合平衡除外法で遺伝子組換えヒト IL-5 に対するデペモキマブの結合親和性を検討した結果、KD は 10.5 pM（25°C の測定条件下）であった。SET による測定では、遺伝子組換えカニクイザル IL-5 に対するデペモキマブの結合親和性を 25°C の測定条件下で検討した結果、KD の平均値は定量下限（8.2 pM）未満であった。
- ヒト IL-5 に対するデペモキマブ及びメポリズマブの競合解析を行った結果、IL-5 に対するデペモキマブの結合は、メポリズマブと競合することが示され、両抗体が結合する IL-5 のエピトープは同一又は類似していると考えられた。
- Biacore を用いた SPR で遺伝子組換えヒト及びカニクイザル IL-5 に対するデペモキマブの結合親和性を 37°C の条件下で測定した結果、KD はそれぞれ 39.1 及び 23.9 pM であ

った。遺伝子組換えマウス、ラット、ウサギ又はイヌ IL-5 に対して、デペモキマブは 1 μM の濃度においても結合しなかった。

- ヒト Fcγ 受容体に対する結合親和性を検討した結果、すべてのサブタイプに対してデペモキマブの結合親和性は YTE 変異導入 IgG1 抗体と同程度であった。補体成分 C1q に対するデペモキマブ及び野生型ヒト IgG1 抗体の KD はそれぞれ 750 及び 465 nM であった。デペモキマブの pH6.0 及び pH7.4 における遺伝子組換えヒト FcRn に対する KD は、それぞれ 157 nM 及び 16 μM であり、pH7.4 における KD の方が 100 倍高値であった。
- デペモキマブは、遺伝子組換えヒト及びカニクイザル IL-5 で誘導した TF-1 細胞（ヒト赤白血病細胞株）の増殖を抑制した（IC50 は 3～4 pM）。
- ヒト全血を用いた検討において、ヒト IL-5 で誘発される好酸球の形態変化はデペモキマブの前処置により抑制されたが、この作用は対照抗体［pascolizumab、野生型 IgG1 抗体及び抗 RSV mAb（Fc 無効化変異導入抗体）］の前処置では認められなかった。デペモキマブは CD3/CD28 刺激末梢血単核細胞から遊離した天然型 IL-5 に結合したが、pascolizumab では結合性は認められなかった。
- ヒト及びカニクイザル血清中での安定性を 37℃で 6 週間インキューベーションして検討した結果、デペモキマブはメポリズマブと比べて安定であった。デペモキマブの安定性は一般的な IgG1 mAb と同程度であった。
- カニクイザルにデペモキマブを単回静脈内又は皮下投与した薬物動態／薬理試験において、デペモキマブの 1 mg/kg を静脈内投与した群では、血中好酸球数が 22 週間、投与前値の 50%以下で維持された。血中好酸球数は、投与 7 週に最低値となり、その後、徐々に投与前値までおおむね回復した。デペモキマブの 1 mg/kg を静脈内投与した群の総 IL-5 濃度（遊離型 IL-5 及び薬物結合型 IL-5）は投与後 4 週まで経時的に上昇し、その後約 24 週までプラトーを維持したのち、徐々に低下した。

副次的薬理試験

- 該当する試験は実施していない。

安全性薬理試験

- カニクイザルを用いたデペモキマブの単回皮下投与毒性試験における心電図の測定では、心電図波形及び心電図パラメータの変化は認められなかった。
- カニクイザルの 26 週間反復皮下投与毒性試験では、デペモキマブの 100 mg/kg 群の 6 例中 4 例で、2 回目投与 72 時間後（Week 14）に QTc 延長［媒体群と比較して最大 18 ミリ秒（約 7%）の延長］が認められた。

薬力学的薬物相互作用試験

- デペモキマブは IL-5 に対して高い特異性と親和性を有する mAb であり、その他の分子に作用して影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられるため、薬力学的薬物相互作用を検討する試験は実施していない。

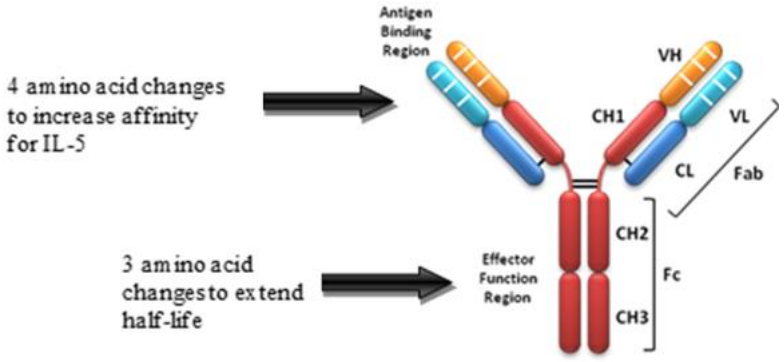
1.1. 非臨床で用いた被験物質

非臨床薬理試験は、IgG1 アロタイプ G1m3 ヒト化抗 IL-5 mAb であるデペモキマブを用いて実施した。デペモキマブは既承認のヒト化抗 IL-5 抗体であるヌーカラ（メポリズマブ）を改良して作製した抗体である。抗体の作製過程では、抗体親和性成熟技術を用いており、メポリズマブの[redacted]に多様な変異を導入した抗体を産生する酵母のライブラリーから、IL-5 に対してより結合親和性の高い抗体を発現するクローンを単離している。デペモキマブはメポリズマブの重鎖に 7 つのアミノ酸変異を導入して作製している（図 1.1）。このうち 4 つの変異は、上記クローンで同定した変異であり、[redacted]（[redacted]）[redacted]の[redacted]（[redacted]及び[redacted]）、[redacted]（[redacted]）及び[redacted]（[redacted]）に導入されている。残り 3 つの変異は、Fc 領域に導入した YTE（M252Y、S254T 及び T256E）変異である。YTE 変異は、抗体の FcRn に対する結合親和性を高め、細胞内に取り込まれた抗体の間質液への再循環を促進させる結果、抗体の血中半減期を延長させることが臨床的に確認されている[Dall'Acqua, 2006; Robbie, 2013]。これらの 7 つの変異導入によりデペモキマブではメポリズマブと比べて薬理活性及び薬物動態学的特性の向上（2.6.4）が認められている。

本項では被験物質及び用量・濃度はデペモキマブとして表示する。

毒性試験で使用したデペモキマブのバッチは、臨床試験で使用したバッチと同じ工程で製造されたものである。安全性薬理評価を実施した毒性試験で使用したバッチと詳細を表 4.2 に示す。また、これらのバッチの不純物プロファイルは、2.6.7. 表 4.1 に示す。

図 1.1 IgG1 抗体の概略構造
（デペモキマブの作製においてメポリズマブのアミノ酸配列に変異を導入した部位）



Key:
C = Constant. H = Heavy. L = Light. V = Variable

2. 効力を裏付ける試験

デペモキマブの効力を裏付ける試験として、一連の in vitro 試験及び in vivo 試験を実施した。In vitro 試験では、デペモキマブを同定したのち、ヒト及び種々の動物種の IL-5 並びにヒト Fcγ 受容体、C1q 及び FcRn に対する結合親和性、並びにサル及びヒト IL-5 で誘導し

た細胞増殖に対する抑制作用について検討した。In vivo 試験では、毒性試験で使用した動物種であるカニクイザルに対して静脈内投与及び皮下投与を行い、薬物動態と効力との関係性（PK/PD）について評価した。

本承認申請に際して実施した薬理試験成績の要約を以下の項に示す。実施した試験、試験報告書の添付場所及び GLP の適用状況を表 2.1 に記載した。

表 2.1 効力を裏付ける試験一覧

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	Method of Administration	Form	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Identification and selection of depemokimab (Affinity maturation)	Ten yeast libraries were generated containing variants from mepolizumab, then screened for improved affinity for IL-5, then characterized[c]	In vitro	NA	No	GSK	2015N261479	m4.2.1.1
Inhibition of IL-5 induced TF-1 cell proliferation	Human using: Viable TF-1 cells identified using luminescent CellTitre-Glo and Adimab antibody discovery platform	In vitro	A[a,b]	No	GSK	2015N260167	m4.2.1.1
Binding to IL-5	Monkey and human using: -MSD-SET analysis (monkey) -KinExA solution phase affinity analysis (human) -Biacore 4000 (monkey and human) -Competition study used Fortebio Octet RED384 BLI instrument	In vitro	A	No	GSK	2015N258850	m4.2.1.1
Binding to IL 5 orthologues	Mouse, rat, rabbit and dog	In vitro	A	No	GSK	2022N517981	m4.2.1.1
Binding to Fc receptors	Recombinant monkey and human FcRn Recombinant human complement Component C1q/ using the following system: -Surface plasmon resonance with ProteOn and/or BIAcore 2000	In vitro	A	No	GSK	2015N258851 2016N302093	m4.2.1.1
Inhibition of human and cynomolgus IL-5 induced TF1 Cell Proliferation	Monkey and human IL-5 using: Viable TF-1 cells identified using luminescent CellTitre-Glo	In vitro	A	No	GSK	2015N260166	m4.2.1.1

List of Primary Pharmacodynamic Studies Performed with Depemokimab (Continued)

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	Method of Administration	Form	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Native IL-5 binding and cytokine-mediated eosinophil shape change	Supernatant of CD3/CD28-stimulated peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from 6 healthy donors containing native IL-5, binding to depemokimab as measured by ELISA	In vitro	A	No	GSK	2015N260242	m4.2.1.1
Serum stability	Tested in pooled control human and cynomolgus monkey serum	In vitro	A	No	GSK	2015N262583	m4.2.1.1
39 week cynomolgus monkey PK/PD study[d]	Monkey (cynomolgus)	In vivo	A	No	[redacted]	2015N263501 2017N324118 2017N311376 2017N311897 (P31334N)	m4.2.1.1 m4.2.1.1 m4.2.1.1 m4.2.2.2

Key:.
a = Study used depemokimab expressed by yeast, HEK cells and CHO cells.
b = Study compared depemokimab to mepolizumab and another mepolizumab variant (28Y042-7F01-1).
c = Random mutations were generated in the VH and/or VL regions of mepolizumab.
d = n=2/sex/group IV bolus administration, dosed mepolizumab at 1 mg/kg and depemokimab at 0.05 and 1 mg/kg and was observed for 39 weeks. On completion of IV phase, the vehicle group was SC dosed with depemokimab 1 mg/kg and was observed for 11 weeks.

CHO = Chinese hamster ovary. HEK = human embryo kidney.
Fc = Fragment crystallizable region. FcRn = Neonatal Fc receptor.
IL-5 = Interleukin 5. IV = intravenous. PD = Pharmacodynamic. PK = Pharmacokinetic. SC = subcutaneous.
TF-1 = Human erythroleukemia cell line that is proliferatively responsive to IL-5, interleukin-3 or granulocyte-macrophage colony-stimulating factor.

Testing Facility:
[redacted] = [redacted]
GSK = GlaxoSmithKline.

2.1. In vitro 試験

多様なアミノ酸変異を導入した抗体ライブラリーによるスクリーニング及び IL-5 による TF-1 細胞増殖アッセイを用いたリード抗体の同定

メポリズマブ（既承認のヒト化抗 IL-5 mAb）に対して親和性成熟を実施した結果、1 回のサイクルで要件に合致する IL-5 に対する結合親和性の向上したクローンを取得した（2015N261479）。このスクリーニングに供したライブラリーは、合理的設計戦略に基づき、メポリズマブの[redacted]（[redacted]）の[redacted]に低頻度でランダム変異を導入して構築している。この方法を用いた変異導入により、in silico 解析で同定した IL-5 複合体形成に重要な[redacted]のアミノ酸残基の多様性を効率的に向上させている。

IL-5 結合親和性を向上させたメポリズマブ変異体の活性をメポリズマブと比較するために、ヒト IL-5 に対する増殖能を向上させた TF-1 細胞を用い、ヒト IL-5 誘導性細胞増殖に対するメポリズマブ変異体の抑制効果を評価した（2015N260167）。本アッセイでは、メポリズマブ変異体を IL-5 とプレインキュベーション後に TF-1 細胞に添加して 3 日間インキュベーションしたのち、発光試薬 CellTitre-Glo™を用いて生存細胞数を測定した。これらの試験により、デペモキマブのリード抗体（YTE 変異未導入）を産生するクローン（clone 28Y042-7F11-1）を取得した。このリード抗体の Fc 領域に YTE 変異を導入して得られた抗体がデペモキマブである。

ヒト及びカニクイザル IL-5 への結合

ヒト及びカニクイザル IL-5 に対するデペモキマブの結合親和性（KD）を、3 つの方法［結合平衡除外法、溶液平衡滴定法（SET）及び表面プラズモン共鳴法（SPR）］により測定した結果を示す（2015N258850）。デペモキマブは、ヒト IL-5 に対する親和性がメポリズマブよりも 10 倍向上することを目的として得られた抗体であるため、以下の試験で、デペモキマブの結合親和性をメポリズマブと比較した。また、デペモキマブが結合する IL-5 のエピトープがメポリズマブと同一であるかを検討した結果についても示した。

KinExA を用いた結合平衡除外法で遺伝子組換えヒト IL-5 に対するデペモキマブの結合親和性を検討したところ、KD は 10.5 pM（25°C の測定条件下）と算出された（2015N258850）。25°C の測定条件下で測定したメポリズマブの KD は 122.8 pM（Biacore を用いた SPR）であった。

SET による測定では、遺伝子組換えカニクイザル IL-5 に対するデペモキマブの結合親和性を 25°C の測定条件下で検討したところ、KD は 2.2～4 pM の範囲であり、KD の平均は定量下限（LLOQ；8.2 pM）未満であった。

Biacore を用いた SPR で遺伝子組換えヒト及びカニクイザル IL-5 に対するデペモキマブの結合親和性を 37°C の条件下で測定したところ、KD はそれぞれ 39.1 及び 23.9 pM であった。25°C の測定条件下では、抗体の解離速度が遅いため KD を算出できなかった。

バイオレイヤー干渉法により、IL-5 に対するデペモキマブ及びメポリズマブの競合解析を行った結果、IL-5 に対するデペモキマブの結合は、メポリズマブと競合することが示され、両抗体が結合する IL-5 のエピトープは同一又は類似していると考えられた。

非霊長類 IL-5 への結合

遺伝子組換えマウス、ラット、ウサギ及びイヌ IL-5 に対するデペモキマブ（1 μM）の結合能を、Biacore を用いた SPR により測定した。また、ヒト IL-5 に対する結合も同様の方法で測定（ただしデペモキマブの濃度は 6.25、25 及び 100 nM）して比較した（2022N517981）。

デペモキマブは検討したいずれの用量でも遺伝子組換えヒト IL-5 に結合したが、遺伝子組換えマウス、ラット、ウサギ又はイヌ IL-5 に対してデペモキマブは、1 μM の濃度においても結合しなかった。

ヒト Fc ガンマ受容体、C1q 及び FcRn への結合

遺伝子組換えヒト Fcγ 受容体（6 つのサブタイプ）及び補体成分 C1q に対するデペモキマブの結合親和性を、ProteOn システムを用いた SPR により測定した。対照抗体として、野生型ヒト IgG1 抗体及び YTE 変異を導入した IgG1 抗体を用いた。

デペモキマブのヒト Fcγ 受容体に対する結合親和性は、すべてのサブタイプにおいて YTE 変異を導入した IgG1 抗体と同程度であった。これらの YTE 変異導入抗体の遺伝子組換えヒト Fcγ 受容体サブタイプに対する結合親和性を野生型ヒト IgG1 抗体と比較すると、FcγRIIb（CD32b）を除くサブタイプに対する KD は、YTE 変異導入抗体の方が 1.5 倍高値であり、CD32b に対する KD は野生型ヒト IgG1 抗体の方が約 1.4 倍高値であった（2015N258851）。また、補体成分 C1q に対するデペモキマブ及び野生型ヒト IgG1 抗体の KD はそれぞれ 750 及び 465 nM であった。

デペモキマブの pH6.0 及び pH7.4 における遺伝子組換えヒト FcRn に対する結合親和性を Biacore を用いた SPR により測定し、メポリズマブ及び対照抗体である YTE 変異導入 IgG1 抗体の結合親和性と比較した（2016N302093）。デペモキマブのヒト FcRn に対する結合親和性は、いずれの pH 条件下においても YTE 変異導入 IgG1 抗体と同程度であった。pH6.0 でのヒト FcRn に対するデペモキマブの結合親和性は、メポリズマブと比較して約 13 倍高かった（KD は、それぞれ 157 及び 2082 nM）。pH7.4 でのデペモキマブの KD は、16 μM と算出されたが、メポリズマブは、pH7.4 の条件下でヒト FcRn に結合しなかった。デペモキマブの pH7.4 と pH6.0 における KD を比較すると、pH7.4 の方が 100 倍高値であった。以上の結果は、YTE 変異を IgG1 抗体に導入すると FcRn への結合親和性が高まるという公表文献の結果と一致していた[Dall'Acqua, 2006; Finch, 2011]。カニクイザル FcRn に対するデペモキマブ及びメポリズマブの結合親和性についても検討した（pH6.0 及び pH7.4）が、Biacore のセンサーチップに IL-5 を固定化し、メポリズマブ及びデペモキマブを結合させていない参照セルにおいてもカニクイザル FcRn の非特異的な結合が認められたため、KD を算出することができなかった。

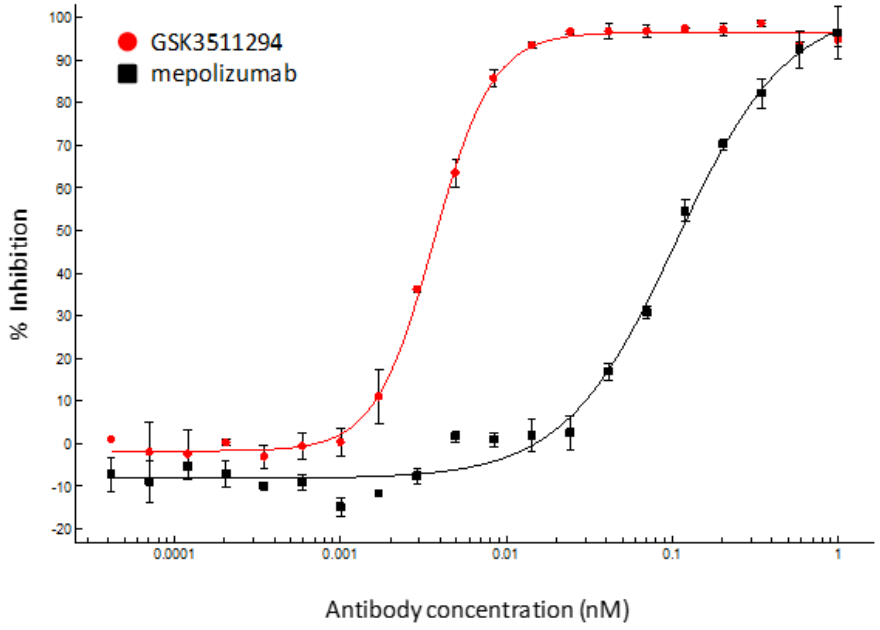
2.6.2. 薬理試験の概要文

IL-5 による TF-1 細胞増殖に対する作用

IL-5 に対する増殖能を向上させた遺伝子改変 TF-1 細胞（ヒト赤白血病細胞株）を用い、ヒト及びカニクイザル IL-5（それぞれ 3 pM）による TF-1 細胞増殖に対するデペモキマブ及びメポリズマブ（それぞれ 0.000042～1 nM）の抑制作用を検討した（2015N260166）。

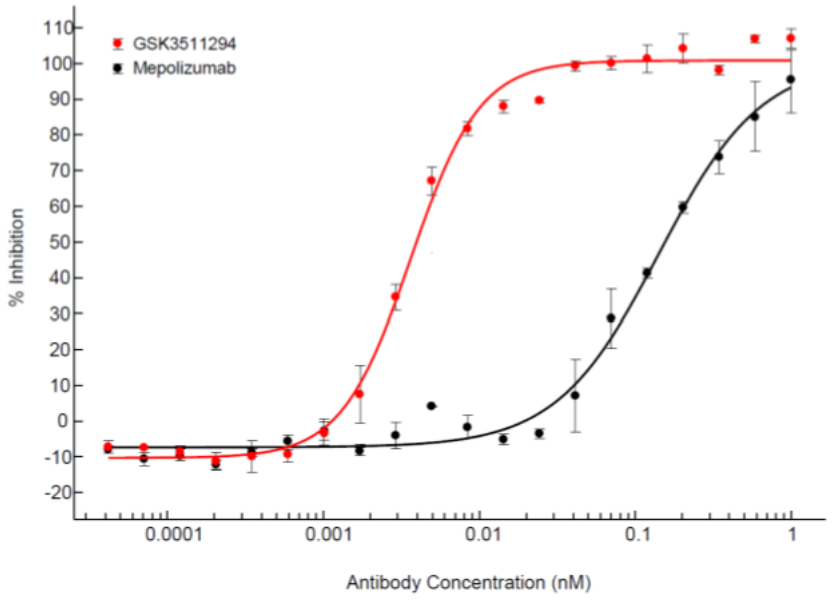
デペモキマブ及びメポリズマブは、遺伝子組換えヒト（図 2.1）及びカニクイザル IL-5（図 2.2）による TF-1 細胞増殖を濃度依存的に抑制した。デペモキマブの作用は、メポリズマブよりも強く、IC50 は 3～4 pM であった。

図 2.1 ヒト IL-5 で誘導した TF-1 細胞増殖に対するデペモキマブ及びメポリズマブの抑制作用



Key:
GSK3511294=depemokimab

図 2.2 カニクイザル IL-5 で誘導した TF-1 細胞増殖に対するデペモキマブ及びメポリズマブの抑制作用



Key:
GSK3511294=depemokimab

天然型 IL-5 への結合

末梢血単核細胞を CD3/CD28 で刺激して培養上清中に IL-5 を遊離させ、それに対するデペモキマブ及びメポリズマブ（それぞれ 1 µg/mL）の結合を ELISA で検出することにより、デペモキマブが天然型 IL-5 に対しても結合するか否かを評価した。対照抗体として抗 IL-4 mAb（pascolizumab）（1 µg/mL）を用いた（2015N260242）。

デペモキマブ及びメポリズマブは CD3/CD28 で刺激した末梢血単核細胞から遊離した天然型 IL-5 に対して結合することが示されたが、pascolizumab の IL-5 に対する結合は検出されなかった。

IL-5 による好酸球の形態変化に対する作用

好酸球は血管内から組織に浸潤して炎症反応を惹起するが、組織への浸潤に先立って形態変化がみられる[Willetts, 2014]。この形態変化は IL-5 によって誘発されることが知られている。そこで、ヒト全血に遺伝子組換えヒト IL-5 を添加した時の好酸球の形態変化に対するデペモキマブの作用を、フローサイトメトリーで前方散乱光シグナルを検出すること（形態変化した好酸球数の増加に応じてシグナルが増加）により評価した。対照抗体として、抗 IL-4 mAb（pascolizumab）、野生型 IgG1 抗体及び抗 RSV mAb（Fc 無効化変異を導入した抗体）を用いた（2015N260242）。

デペモキマブ及びメポリズマブを前処置しておくことで、ヒト IL-5 によって誘発される好酸球の形態変化（前方散乱光シグナルの増加）が抑制されることが示された。一方、いず

れの対照抗体で前処置しても、ヒト IL-5 によって誘発される好酸球の形態変化は抑制されなかった。

血清中安定性

ヒト及びカニクイザル血清中におけるデペモキマブの安定性を MSD 免疫アッセイで評価し、メポリズマブと比較した。プールしたヒト又はカニクイザルの血清でデペモキマブ又はメポリズマブを希釈し、37℃で最長 6 週間インキュベートしたのち、ビオチン標識 IL-5 を固定化したプレートに添加した。その後、ビオチン標識 IL-5 に結合したデペモキマブ又はメポリズマブを、抗ヒト Fc mAb 試薬を用いて検出した（2015N262583）。

デペモキマブは、ヒト及びカニクイザル血清中においてメポリズマブよりも更に安定であることが示された。デペモキマブの安定性は一般的な IgG1 mAb で期待されるものであった。

2.2. In vivo 試験

カニクイザルを用いた単回投与薬物動態／薬理試験

雌雄カニクイザル（n=2/性/群）を用いた薬理試験では、デペモキマブ（0.05 及び 1 mg/kg）、メポリズマブ（1 mg/kg）、対照として媒体［50 mM リン酸緩衝液（pH7.5）］を単回静脈内投与したのち、39 週間にわたり血液を採取し PK 解析、並びに血中好酸球数（2017N311376）及び血清中総 IL-5 濃度（遊離型 IL-5 及び薬物結合型 IL-5）（2015N263501）の測定を実施した。その後、単回静脈内投与試験の媒体対照群に、デペモキマブ（1 mg/kg）を皮下投与し、11 週間にわたり血液を採取し PK 解析を実施した。その結果、デペモキマブの特性（IL-5 に対する高い親和性及び血中半減期の延長）を支持するように、デペモキマブ（1 mg/kg）投与群の血中好酸球数減少作用は、メポリズマブ投与群よりも持続することが示された。血中好酸球数が投与前値の 50%以下を維持した期間を比較すると、デペモキマブ（1 mg/kg）投与群では 22 週間であったのに対し、メポリズマブ投与群では 7 週間であった。デペモキマブ（1 mg/kg）及びメポリズマブ投与群の血中好酸球数の減少は、それぞれ投与 7 週及び 3 週にピークに達し、その後いずれの群でも好酸球数は徐々に投与前値までおおむね回復した（図 2.3）。

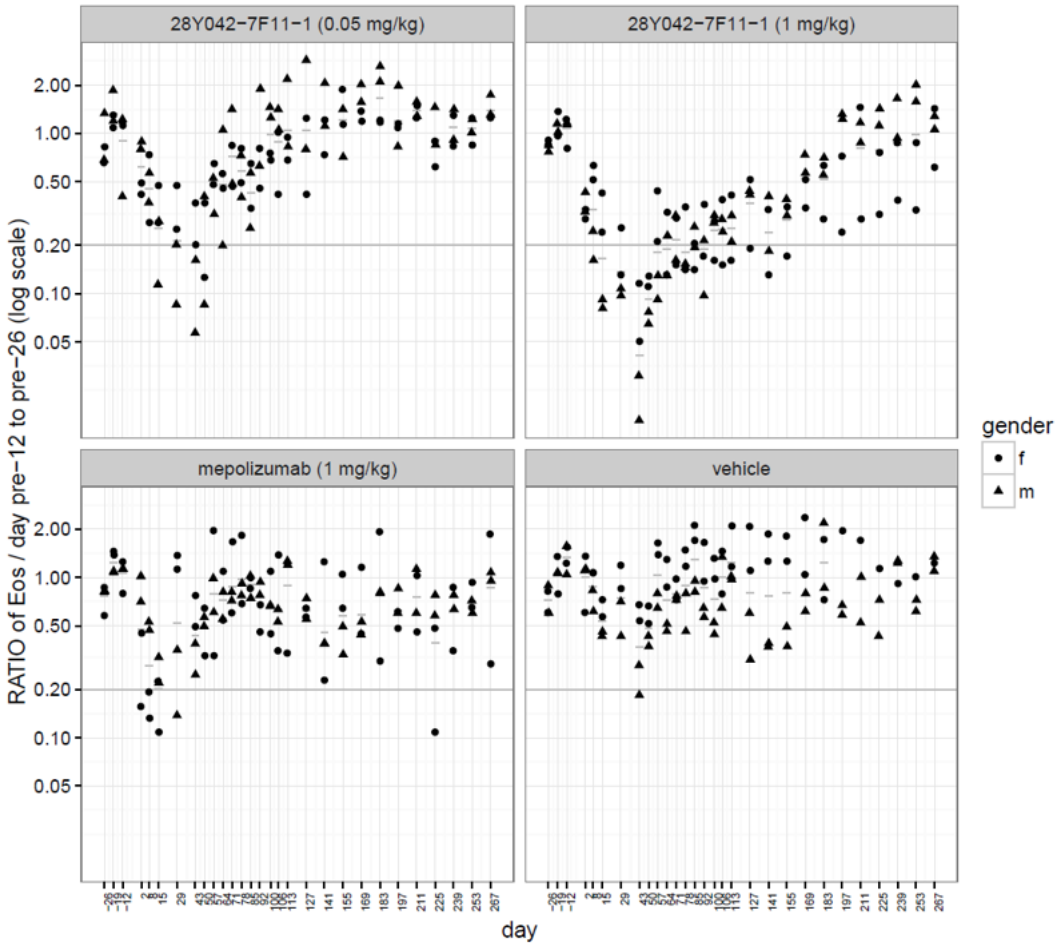
血清中総 IL-5 濃度は、媒体投与群では観察期間を通して一貫して低く、定量下限値（LLOQ ; 9.77 pg/mL）未満であったのに対し、デペモキマブ（0.05 及び 1 mg/kg）及びメポリズマブ投与群では、被験物質投与後、血清中総 IL-5 濃度が経時的に上昇した（いずれの投与群においても投与前は定量下限値未満）。血清中総 IL-5 濃度の上昇速度はデペモキマブ投与群の方が早く、最高濃度もデペモキマブ投与群の方が高かった。デペモキマブ投与群の総 IL-5 濃度は投与後 4 週まで経時的に上昇し、その後約 24 週までプラトーを維持したのち、徐々に低下した。メポリズマブ投与群では 4 週後にピークに達したのち低下に転じ、20 週までに投与前値の濃度まで回復した（図 2.4）。

両投与群でみられたこのような血清中総 IL-5 濃度の挙動（上昇速度、最高濃度及び低下速度）の違いは、被験物質（デペモキマブ又はメポリズマブ）と複合体を形成した IL-5 を

検出していることに関連しておりデペモキマブはメポリズマブよりも IL-5 に対する親和性が高く、半減期が長いことを反映していると考えられた。

カニクイザルにデペモキマブを単回静脈内及び皮下投与した時のノンコンパートメント PK 解析を実施した。得られた PK パラメータは 2.6.4. 表 3.2 に要約したが、図 2.5 にデペモキマブ及びメポリズマブ（それぞれ 1 mg/kg）を単回静脈内投与又はデペモキマブ（1 mg/kg）を単回皮下投与した時の平均血清中濃度の推移を示した。PK 解析の結果、単回静脈内投与した時の血清半減期はデペモキマブ投与群の方が長く（デペモキマブ投与群：24 日、メポリズマブ投与群：11.5 日）、クリアランス速度は、メポリズマブ投与群の方がデペモキマブ投与群よりも 1.8 倍速いことが示された。

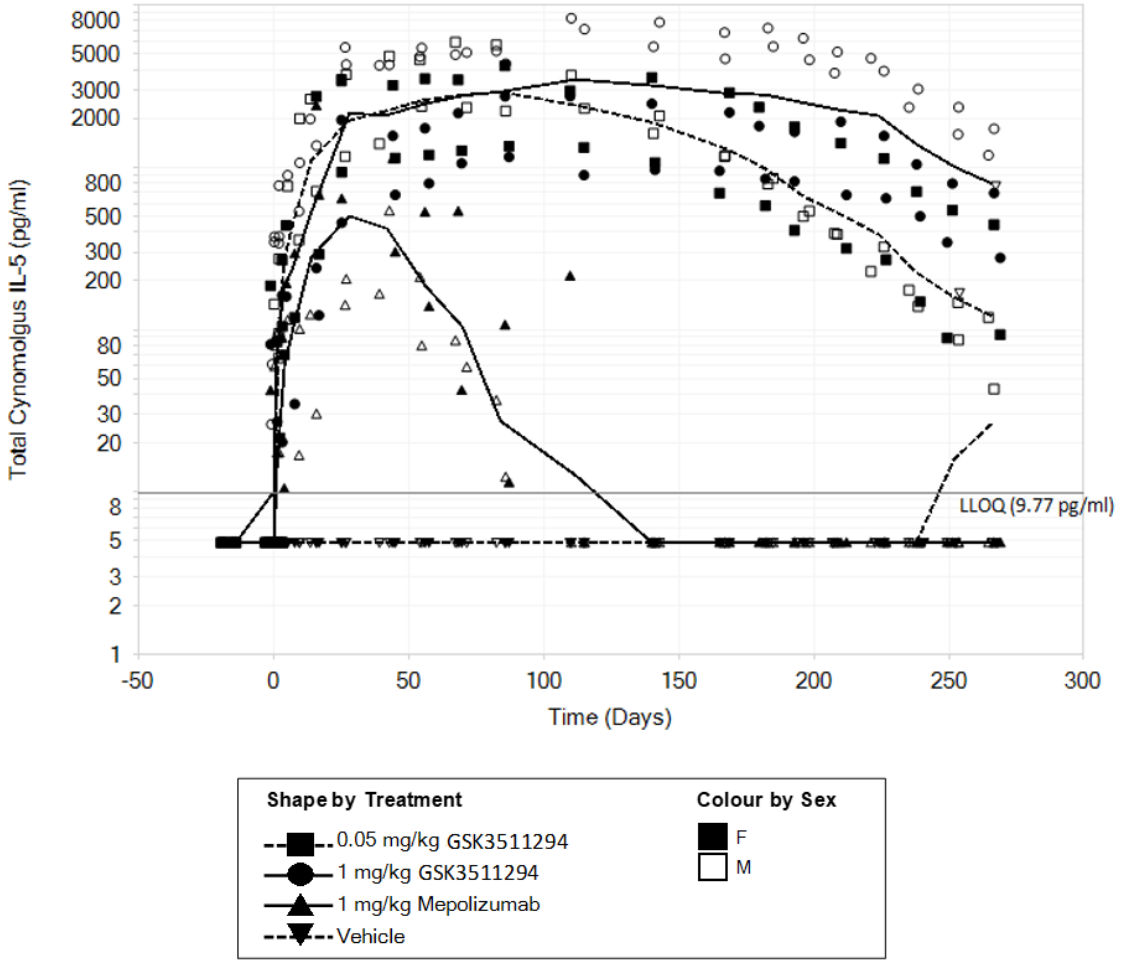
図 2.3 カニクイザルにデペモキマブ及びメポリズマブを単回静脈内投与した時の血中好酸球数の推移



Notes:
The solid horizontal line corresponds to 20% of the average pre-dose blood eosinophil count. Values computed animal-by-animal with overall geometric mean group wise values added as horizontal bars.

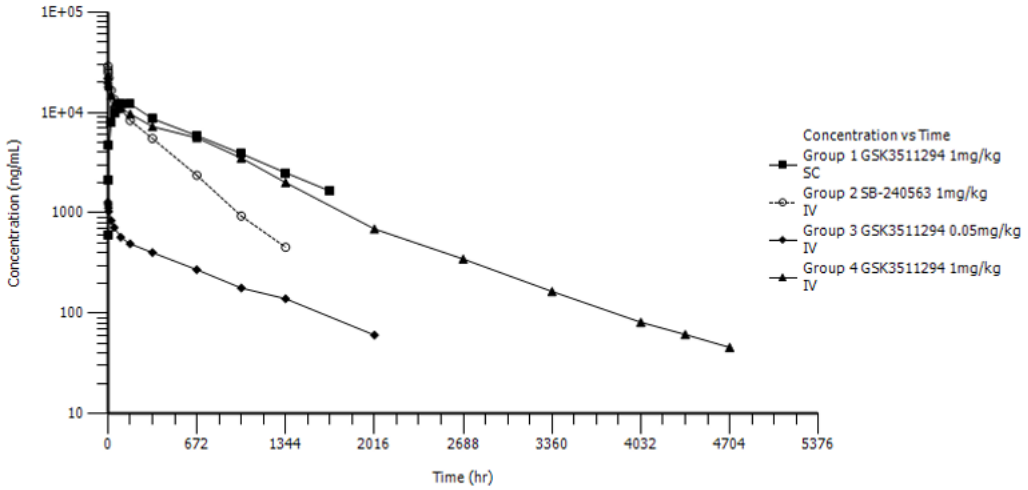
Key:
28Y042-7F11-1 = GSK3511294 (depemokimab).
Eos = Eosinophils.
f = Female. m = Male.
Pre-12 = Pre-does value at Day -12.
Pre-26 = Pre-does value at Day -26.

図 2.4 カニクイザルにデペモキマブ及びメポリズマブを単回静脈内投与した時の血清中総 IL-5 濃度の推移



Key:
f = Female.
IL-5 – Interleukin- 5.
LLOQ = Lower limit of Quantitation.
m = Male.

図 2.5 カニクイザルにデペモキマブ及びメポリズマブを単回静脈内又は皮下投与した時の血清中薬物濃度の推移



Key:
IV = Intravenous.
SC = Subcutaneous.

3. 副次的薬理試験

該当する試験は実施していない。

4. 安全性薬理試験

4.1. In vivo 試験

デペモキマブの心血管系に対する影響に関してはサルを用いた単回皮下投与毒性試験（2.6.6.2）及び 26 週間反復皮下投与毒性試験（2.6.6.3）の中で評価した。実施した試験一覧、試験報告書の添付場所及び GLP 適用状況を表 4.1 に記載した。安全性薬理評価を実施した毒性試験で使用した被験物質のバッチと媒体の情報を表 4.2 に示す。

表 4.1 安全性薬理評価を行った毒性試験一覧

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Cardiovascular assessment from 4-week single dose toxicology study	Monkey (cynomolgus)	3M/3F	SC	A	10, 100	Single	Yes	[redacted]	2016N294646 (P31490G)	m4.2.3.1
Cardiovascular assessment from 26-week repeat dose toxicology study	Monkey (cynomolgus)	3M/3F (2M/2F)[a]	SC	A	10, 100	26 weeks[b]	Yes	[redacted]	2017N319933 (P31488G)	m4.2.3.2

Key:
a = An additional 2M/2F were included as recovery animals to the control and 10 mg/kg dose group.
b=Two doses, administered on Day 1 and Week 14.
A = Humanized mAb depemokimab (GSK3511294).
SC = Subcutaneous.

Testing Facility:
[redacted] = [redacted]
[redacted] = [redacted]

2.6.2. 薬理試験の概要文

デペモキマブは IL-5 に対して特異的に結合することから、デペモキマブの投与により主要な生理的機能（心血管系、呼吸系及び中枢神経系など）に対して影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。デペモキマブの心血管系に対する影響に関しては、サルを用いた単回皮下投与毒性試験（2.6.6.2）及び 26 週間反復皮下投与毒性試験（2.6.6.3）の中で評価した。また、これらの試験で行った一般状態観察において、呼吸系及び中枢神経系への影響を示唆する所見はみられなかった。

単回皮下投与試験

雌雄カニクイザル（n=3/性/群）を用いた単回皮下投与毒性試験では、デペモキマブ（10 及び 100 mg/kg）又は媒体の投与開始前及び投与の 3 週間後に心電図を測定した（いずれも 24 時間測定）。その結果、いずれの用量群においても心電図波形及び心電図パラメータに変化は認められなかった。

26 週間反復皮下投与毒性試験

雌雄カニクイザル（n=3/性/群）を用いた 26 週間反復皮下投与毒性試験では、デペモキマブ（10 及び 100 mg/kg）又は媒体を Day 1 及び Week 14 に、計 2 回投与した。デペモキマブの投与開始前、Week 4 及び Week 14（2 回目投与 72 時間後）に心電図を測定した（いずれも 24 時間測定）。

その結果、100 mg/kg 投与群の 6 例中 4 例で、2 回目投与 72 時間後（Week 14）に QTc 延長［媒体群と比較して最大 18 ミリ秒（約 7%）の延長］が認められた。1 時間ごとに算出した QTc 延長時間の平均値（4 例）は、24 時間（2 時間の馴化期間を含む）を通して同程度であった。QT 間隔以外の心電図パラメータ（PR 間隔、QRS 波及び心拍数）に変化はみられなかった。

10 mg/kg 投与群の Week 4 及び Week 14、並びに 100 mg/kg 投与群の Week 4 における心電図の測定では、いずれの心電図パラメータに対しても変化はみられなかった。したがって 100 mg/kg 投与群の Week 14 にみられた QTc 延長が投薬に関連した所見であるかは不明であった。

4.2. In vitro 試験

4.2.1. QT 間隔への影響

hERG アッセイのような in vitro の電気生理学的試験は、蛋白質の影響を受けることが知られており、バイオテクノロジー応用医薬品の評価には適切ではないと考えられている。また、デペモキマブのような分子量の大きい蛋白質が hERG 阻害の主な原因となる hERG チャネル又はその他の心臓イオンチャネルを阻害する可能性は低いと考えられる[Sanguinetti, 2005; Vargas, 2008]。これらのことから、デペモキマブを用いた心室再分極遅延の可能性を評価する in vitro 電気生理学的試験（hERG アッセイ等）は実施していない。

表 4.2 安全性薬理評価を実施した毒性試験におけるデペモキマブのバッチ一覧及び媒体

Batch or Lot Number(s)	Study Type	Species (Strain)	Form	Duration of Dosing	Report No. (Study No.)	Concentration (mg/mL)	Formulation
[redacted]	Cardiovascular assessment from 4-week single dose toxicology study	Monkey (cynomolgus)	A	Single	2016N294646 (P31490G)	5, 50	1
[redacted][a]	Cardiovascular assessment from 26-week repeat dose toxicology study	Monkey (cynomolgus)	A	26 weeks	2017N319933 (P31488G)	5, 50	2

Note: The manufacturing process used to prepare the nonclinical batches and the batches used in the clinical studies and proposed in the marketed product were comparable [see Module 3, m3.2.S.4.4].

Key:
a = Depemokimab batch [redacted] was sprayed dried from parent batch [redacted] prior to reformulation.

A = Humanized mAb depemokimab.

Formulation Code:
1 = [redacted] 0.05 mM EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid), 0.02% (w/v) polysorbate 80, pH 6.0 ± 0.1.

2 = Spray dried drug substance: containing: 45% active GSK3511294, 45% trehalose, 5.6% arginine HCl, 0.9% histidine, 1.0% histidine HCl, 0.3% methionine, 0.004% EDTA, 0.05% polysorbate 80 and 2.5% water] was reconstituted to prepare a reconstituted stock solution, nominal 60 mg/mL in 292 mM trehalose, 100 mM arginine, 40 mM histidine, 8 mM methionine, 0.04 mM EDTA, 0.02% (w/v) polysorbate 80, pH 6.0 ± 0.5, diluted with vehicle (292 mM trehalose, 100 mM arginine, 4 0mM histidine, 8 mM methionine, 0.05 mM EDTA, 0.02% (w/v) polysorbate 80, pH 6.0 ± 0.1).

5. 薬力学的薬物相互作用試験

デペモキマブは IL-5 に対して高い特異性と親和性を有する mAb であり、その他の分子に作用して影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられるため、薬力学的薬物相互作用を検討する試験は実施していない。

6. 考察及び結論

デペモキマブは、メポリズマブの重鎖に 7 つのアミノ酸変異を導入したヒト化抗 IL-5 mAb である。7 つのアミノ酸変異のうち、4 つのアミノ酸変異を重鎖[redacted]に、3 つのアミノ酸変異（YTE）を Fc 領域に導入した。デペモキマブは、上記のアミノ酸変異を導入することにより、メポリズマブと比較してヒト IL-5 に対する親和性が向上すること及び血中半減期が延長することが示され、これによりメポリズマブよりも低頻度での投与を実現している。また、これらの変異を導入することによって、デペモキマブの安全性がメポリズマブ等の既存の IL-5 を標的とした抗体製剤の安全性プロファイルと異なる可能性は低く、臨床試験でみられた安全性プロファイルはメポリズマブと同様であった。

薬理作用を検討した in vitro 試験において、デペモキマブは、ヒト IL-5 に対して高親和性（KD: 10.5 pM）で結合することが示された。組換えマウス、ラット、ウサギ及びイヌ IL-5 には結合しなかった。ヒト及びカニクイザル IL-5 による TF-1 細胞の増殖を強力かつ濃度依存的に阻害することが示された。In vivo 試験では、カニクイザルへのデペモキマブ（1 mg/kg）の単回静脈内投与により、血中好酸球の減少がみられ、血中好酸球数が投与前値の 50%以下を維持した期間は 22 週間であった。

デペモキマブを用いた独立した安全性薬理試験は実施しなかった。サ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において、心血管系に対するデペモキマブの皮下投与による影響を評価した。単回皮下投与毒性試験では、デペモキマブ（10 及び 100 mg/kg）又は媒体の投与開始前及び投与の 3 週間後に心電図を測定した（それぞれ 24 時間の測定）ところ、いずれの用量群においても心電図波形に異常はみられなかった。26 週間反復皮下投与毒性試験では、デペモキマブ（10 及び 100 mg/kg）又は媒体を Day 1 及び Week 14 に投与し（計 2 回）、投与開始前、Week 4 及び Week 14（2 回目投与 72 時間後）に心電図を測定した（それぞれ 24 時間の測定）。その結果、100 mg/kg 投与群の 6 例中 4 例で、2 回目投与 72 時間後（Week 14）に QTc 延長［媒体群と比較して最大 18 ミリ秒（約 7%）の延長］が認められた。QT 間隔以外の心電図パラメータ（PR 間隔、QRS 波及び心拍数）に変化はみられなかった。

上記のように、26 週間反復投与毒性試験の 100 mg/kg 投与群の 6 例中 4 例で QTc 延長がみられたが、QTc の変化の程度が小さいこと、サルの無影響量と臨床用量の Cmax との間に十分なマージンがあること（2.6.6. 表 9.2）、デペモキマブはヒト又はサルの心臓組織に対して結合しないこと、心臓のイオンチャネルの mAb がアクセス可能なドメインには、デペモキマブが結合する IL-5 のエピトープ配列と類似した配列はないこと、デペモキマブはヒト IL-5 に特異的に結合すること、デペモキマブのような分子量（149 kDa）の大きい蛋白質

が hERG チャネル等のイオンチャネルを阻害する可能性は低いと考えられること[Vargas, 2008]を考慮すると、ヒトに予定臨床用量を投与した時に QTc 延長が発現する可能性は低いと考えられる。

なお、これまでに実施した臨床試験において、デペモキマブの心電図パラメータへの影響は認められていない。

7. 図表

図表は本文中に記載した。

8. 参考文献

Dall'Acqua W et al. Properties of Human IgG1s Engineered for Enhanced Binding to the Neonatal Fc Receptor (FcRn). J Biological Chemistry, 2006;281:23514-24.

Finch DK, Sleeman MA, Moisan J, Ferraro F, Botterell S, Campbell J, Cochrane D, Cruwys S, England E, Lane S, Rendall E, Sinha M, Walker C, Rees G, Bowen MA, Schneider A, Liang M, Faggioni R, Fung M, Mallinder PR, Wilkinson T, Kolbeck R, Vaughan T, Lowe DC. Whole-molecule antibody engineering: generation of a high-affinity anti-IL-6 antibody with extended pharmacokinetics. J Molec Biol, 2011;411(4):791-807.

Robbie, GJ, Criste R, Dall'acqua WF, et al. A novel investigational Fc-modified humanized monoclonal antibody, motavizumab-YTE, has an extended half-life in healthy adults. *Antimicrob Agents Chemother*., 2013;57: 6147-53.

Sanguinetti MC, Chen J, Fernandez D, Kamiya K, Mitcheson J and Sanchez-Chapula JA. Physicochemical basis for binding and voltage-dependent block of hERG channels by structurally diverse drugs. In: The hERG Cardiac Potassium Channel: Structure, Function, and Drug-Induced Long QT Syndrome. West Sussex:J Wiley & Sons, 2005:159-70.

Vargas HM, Bass AS, Breidenbach A, Feldman HS, Gintant GA, Harmer AR et al. Scientific review and recommendations on preclinical cardiovascular safety evaluation of biologics. J Pharmacol Toxicol Methods, 2008;58:72-6.

Willetts L., Ochkur S.I., Jacobsen E.A., Lee J.J., Lacy P., Eosinophil shape change and secretion. Eosinophils: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, 2014; 1178. 111-128.

Guidelines [Not Provided]

ICH S6(R1). Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals. Harmonised Tripartite Guideline, 2011. EMA/CHMP/ICH/731268/1998.

ICH S7A. Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals, 2001. CPMP/ICH/539/00.

Appendix 1 ADDITIONAL INFORMATION

Early screening assays undertaken to identify pharmacological targets of opportunity, and GSK internal/status reports, have not been included in this listing of additional information. However, this information has been reviewed within GSK and is considered not to affect the safety evaluation of depemokimab.

The following reports have been reviewed within GlaxoSmithKline (GSK) and the information is considered to have no bearing on safety. These reports are not included in the study listing tables for the following reasons:

Table A1.1 List of Studies Conducted with Depemokimab that are not Included in this Submission

Report No. (Study No.)	Title	Reason for Exclusion from Study Listing Tables
2015N266355_00	Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of GSK3511294 and SB-240563 Following a Single Intravenous Administration and Pharmacokinetics of GSK3511294 Following a Single Subcutaneous Administration in Cynomolgus Monkeys	Interim report superseded by final report version _01

デペモキマブ

2.6.3. 薬理試験概要表

1. PHARMACOLOGY: OVERVIEW FOR DEPEMOKIMAB

Table 1.1 List of Primary Pharmacodynamic Studies Performed with Depemokimab

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	Method of Administration	Form	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Identification and selection of GSK3511294 (Affinity maturation)	Ten yeast libraries were generated containing variants derived from mepolizumab, then screened for improved affinity for IL-5, then characterized[c]	In vitro	NA	No	GSK	2015N261479	m4.2.1.1
Inhibition of IL-5 induced TF-1 cell proliferation	Human/using the following system: Viable TF-1 cells identified using luminescent CellTitre-Glo and Adimab antibody discovery platform	In vitro	A[a,b]	No	GSK	2015N260167	m4.2.1.1
Binding to IL-5	Monkey and human/ using the following systems: -MSD-SET analysis (monkey) -KinExA solution phase affinity analysis (human) -Biacore 4000 (monkey and human) -Competition study used Fortebio Octet RED384 BLI instrument	In vitro	A	No	GSK	2015N258850	m4.2.1.1
Binding to IL-5 orthologues	Mouse, rat, rabbit and dog	In vitro	A	No	GSK	2022N517981	m4.2.1.1
Binding to Fc receptors	Recombinant monkey and human FcRn Recombinant human complement Component C1q/ using the following system: -Surface plasmon resonance with ProteOn and/or BIAcore 2000	In vitro	A	No	GSK	2015N258851 2016N302093	m4.2.1.1
Inhibition of human and cynomolgus IL-5 induced TF1 Cell Proliferation	Monkey and human IL-5 using: Viable TF-1 cells identified using luminescent CellTitre-Glo	In vitro	A	No	GSK	2015N260166	m4.2.1.1

List of Primary Pharmacodynamic Studies Performed with GSK3511294 (Continued)

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	Method of Administration	Form	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Native IL-5 binding and cytokine-mediated eosinophil shape change	Supernatant of CD3/CD28-stimulated peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from 6 healthy donors containing native IL-5, binding to depemokimab as measured by ELISA	In vitro	A	No	GSK	2015N260242	m4.2.1.1
Serum stability	Tested in pooled control human and cynomolgus monkey serum	In vitro	A	No	GSK	2015N262583	m4.2.1.1
39 week cynomolgus monkey PK/PD study[d]	Monkey (cynomolgus)	In vivo	A	No	[redacted]	2017N311376 2015N263501 2017N324118 2017N311897 (P31334N)	m4.2.1.1 m4.2.1.1 m4.2.1.1 m4.2.2.2

Key:
a = Study used depemokimab expressed by yeast, HEK cells and CHO cells.
b = Study compared depemokimab to mepolizumab and another mepolizumab variant (28Y042-7F01-1).
c = Random mutations were generated in the VH and/or VL regions of mepolizumab.
d = n=2/sex/group IV bolus administration, dosed mepolizumab at 1 mg/kg and depemokimab at 0.05 and 1 mg/kg and was observed for 39 weeks. On completion of IV phase, the vehicle group was SC dosed with depemokimab 1 mg/kg and was observed for 11 weeks.

CHO = Chinese hamster ovary. HEK = human embryo kidney.
Fc = Fragment crystallizable region. FcRn = Neonatal Fc receptor.
IL-5 = Interleukin 5. IV = intravenous.
PD = Pharmacodynamic. PK = Pharmacokinetic. SC = subcutaneous.
TF-1 = Human erythroleukemia cell line that is proliferatively responsive to IL-5, interleukin-3 or granulocyte-macrophage colony-stimulating factor.

Testing Facility:
[redacted] = [redacted]
GSK = GlaxoSmithKline.

2.6.3. 薬理試験概要表

Table 1.2 List of Secondary Pharmacodynamic Studies Performed with Depemokimab

No secondary pharmacodynamic studies have been performed with depemokimab.

2.6.3. 薬理試験概要表

Table 1.3 List of Safety Pharmacology Studies Performed with Depemokimab

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Cardiovascular assessment from 4-week single dose toxicology study	Monkey (cynomolgus)	3M/3F	SC	A	10, 100	Single	Yes	[redacted]	2016N294646 (P31490G)	m4.2.3.1
Cardiovascular assessment from 26-week repeat dose toxicology study	Monkey (cynomolgus)	3M/3F (2M/2F)[a]	SC	A	10, 100	26 weeks[b]	Yes	[redacted]	2017N319933 (P31488G)	m4.2.3.2

Key:
a = An additional 2M/2F were included as recovery animals to the control and 10 mg/kg dose group.
b=Two doses, administered on Day 1 and Week 14.
A = Humanized mAb GSK3511294.
SC = Subcutaneous.

Testing Facility:
[redacted] = [redacted]
[redacted] = [redacted]

Table 1.4 List of Pharmacodynamic Drug Interaction Studies Performed with Depemokimab

No pharmacodynamic drug interactions studies have been performed with depemokimab.

2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Table 2.1 Primary Pharmacology Studies with Depemokimab

Type of Study	Noteworthy Findings	GLP Compliant	Report No. (Study No.)
Depemokimab identification and selection	This report describes and summarizes the affinity maturation process performed on the parental monoclonal antibody mepolizumab that resulted in the identification of depemokimab.	No	2015N261479
TF-1 cell assay screen	The TF-1 cells proliferate in response to stimulation with the cytokine, human interleukin-5 (IL-5) and the TF-1 cell assay was used to measure the ability of the affinity matured mepolizumab variants to inhibit IL-5 induced proliferation of the TF-1 cells.	No	2015N260167
Binding to human and monkey IL-5	The affinity of depemokimab to human IL-5 at 25°C by KinExA solution phase affinity analysis was 10.5 pM (range 0.88-31.97pM). The affinity of depemokimab to human and cynomolgus IL-5 at 37°C is 39.13 and 23.9 pM respectively.	No	2015N258850
Binding to IL-5 orthologues	Depemokimab bound to human IL-5 as expected, but does not bind to mouse, rat, rabbit or dog IL-5. There was no binding signal detected above the level of the non-specific binding for any of these proteins even though they were used at a 10-fold higher concentration than the human IL-5.	No	2022N517981
Binding to Fc receptors	The binding of depemokimab to human Fc gamma receptors was found to be comparable to the YTE containing control antibody (approximately 1.5-fold reduced compared to that of the human IgG1 wildtype control). Depemokimab was also found to have a reduced affinity compared to the human IgG1 wildtype control for complement component C1q (750 nM and 465 nM respectively). Depemokimab has approximately a 3-fold improved affinity for human neonatal receptor at pH 6.0 compared to the human IgG1 wildtype control (130 and 359 nM respectively) and also binds with low affinity at pH 7.4 (2650 nM) whilst the wildtype control has no detectable binding to FcRn at this pH. (ProteOn).	No	2015N258851
Binding to Fc receptors	Depemokimab had an affinity of approximately 157 nM for human FcRn at pH 6.0. (BiaCore).	No	2016N302093

Primary Pharmacology Studies with Depemokimab (Continued)

Type of Study	Noteworthy Findings	GLP Compliant	Report No. (Study No.)
Inhibition of IL-5 induced TF-1 cell proliferation	Treatment with depemokimab when tested at 1 nM – 0.042 pM, caused a dose dependent inhibition of TF-1 cell proliferation induced by 3 pM of human and cynomolgus IL-5.	No	2015N260166
Native IL-5 binding and cytokine-mediated eosinophil shape change	Native IL-5, in the supernatant of CD3/CD28-stimulated peripheral blood mononuclear cells (PBMCs), bound to depemokimab in an ELISA. In whole blood, from six different healthy donors, depemokimab inhibited recombinant IL-5-mediated eosinophil shape change.	No	2015N260242
Serum stability	The in vitro stability of depemokimab is as expected for a typical IgG1 monoclonal antibody.	No	2015N262583
39-week cynomolgus monkey study	Depemokimab and mepolizumab were given to cynomolgus monkeys (2/sex/group) at 0, 0.05 (depemokimab only) and 1 mg/kg by single intravenous (bolus) administration; the animals were then observed for 39 weeks (final timepoint). On completion of the intravenous phase, Group 1 (vehicle-treated) animals were administered depemokimab (1 mg/kg) by subcutaneous injection and were observed for a further 11 weeks. There were no test article-related clinical signs observed in any animal receiving either depemokimab or mepolizumab. Suppression of eosinophil levels was observed following administration of the treatment groups, this response was anticipated following administration of the anti-IL-5 antibodies. Results obtained from all time points assessed demonstrate an increase in total IL-5 post dose with depemokimab as the drug complexes with IL-5. The total IL-5 level then declines, initially in the mepolizumab treated monkeys and at the latter time points for the depemokimab treated monkeys.	No	2017N311376 (P31334N) 2015N263501 (P31334N)

Key:
ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay.
FcRn = Neonatal Fc receptor.
IgG = Immunoglobulin G. IL-5 = Interleukin-5.

3.　SECONDARY PHARMACODYNAMICS

No secondary pharmacodynamic studies have been performed with depemokimab.

4. SAFETY PHARMACOLOGY

Table 4.1 Safety Pharmacology Studies with Depemokimab

Type of Study	Noteworthy Findings	GLP Compliant	Report No. (Study No.)
Reparatory/ Cardiovascular	ECG were monitored at doses up to 100 mg/kg in monkeys, and no evidence of test article-induced electrocardiographic waveform abnormalities was noted. In the 26-week study, following 2 SC administrations of depemokimab (3 months apart) increases in QTc in 4 out of 6 animals at 100 mg/kg/dose during Week 14 (72 hours after the second dose) were observed. The changes were present at a similar magnitude for the duration of the monitoring period (24 hours) including the 2-hour acclimation period. A maximum increase in the baseline-adjusted mean QTc value, for the 4 animals, relative to the vehicle control value was 18 ms, or an increase of approximately 7 % of the mean absolute vehicle control value. The magnitude of change was similar when expressed relative to pre-test values. Doses of 10 or 100 mg/kg/dose did not produce any test item-related effects on PR and QRS durations. Similar findings were not observed in animals given 10 mg/kg/dose or during Week 4 in animals given 100 mg/kg/dose on the 26-week study; nor were they observed on the 4-week single dose study at up to 3 weeks post dose. For full tabulated summaries of 4- and 26-week toxicity reports in monkey see m2.6.7 Toxicology Tabulated Summary, Table 5.1 and Table 6.1, respectively.	Yes Yes	2016N294646 4-week (P31490G) 2017N319933 26-week (P31488G)

Note: Standalone in vivo safety pharmacology studies were not conducted with depemokimab. Evaluations of potential cardiovascular effects were performed in the 4-week single and 26-week repeat dose subcutaneous (SC) toxicology studies.

5. PHARMACODYNAMIC DRUG INTERACTIONS

No pharmacodynamic drug interactions studies have been performed with depemokimab.