

〈特集1〉次世代バイオ医薬品の開発ノウハウ～TGN1412、その後

1. 次世代バイオ医薬品の開発にあたっての非臨床・臨床試験について — TGN1412 事故が医薬品開発に与えたインパクト —

山口 照英 石井 明子

国立医薬品食品衛生研究所

要旨

作用の種特異性が高く、動物モデルでの評価が困難なバイオ医薬品では、非臨床試験の結果をもとに臨床適用における有効性・安全性について十分な評価を行うことが困難な場合も多い。ヒト CD28 に対するアゴニスト抗体 TGN1412 の臨床試験では、非臨床試験結果に基づいて行われた用量設定が適切でなかった可能性が指摘されている。従来のバイオ医薬品では不足あるいは欠損している生体内成分の補充療法に用いられるものが主流であったが、最近では、疾患との関連が解明された生体機能分子を標的とする新たなコンセプトに基づいて、生体には存在しない構造を持つ非天然型のタンパク質を医薬品とする研究開発が精力的に進められている。天然型のバイオ医薬品が臨床上、生理的な濃度範囲となるような用量で投与される場合には、いくつかの非臨床試験については必ずしも要求されるわけではないが、非天然型のタンパク質性医薬品では有効性・安全性のプロファイルは未知であるため、非臨床・臨床試験でそれらを明らかにしていかなければならず、開発過程での課題は多い。TGN1412 のように生理的なりガンド以上に強力に T 細胞を活性化し得るような抗体医薬品は特殊な例ではあるものの、今後、疾患関連遺伝子・タンパク質のさらなる解明に伴い、これまでにないコンセプトに基づく分子標的医薬品として、新規な標的を持つ抗体医薬

品や改変型の抗体を含め各種の改変型タンパク質性医薬品など、ヒトに特異的に作用する医薬品が益々多く開発されてくると予想されることから、その安全性や有効性の評価には新たな視点も必要になるであろう。

臨床試験の実施においては被験者の安全性確保が最優先であることは言うまでもないが、患者のもとに可能な限り速やかに医薬品を届けるためには、科学的に妥当と考えられる非臨床試験を実施し、安全性を十分に検証した上で、適切なタイミングで臨床試験に移行することが重要であると考えられる。非臨床試験の有用性と限界を見極めつつ、安全性に最大限の配慮をしながら有用な医薬品の開発を推進するため、我が国においても、医薬品の開発側、規制側、さらには、アカデミアを交えた議論がより一層深められることが望まれる。

1.1. はじめに

抗体医薬品は、標的分子と特異的に、高い親和性をもって結合する。このことが薬効を発揮する上では重要であるが、ヒトタンパク質を標的とする抗体医薬品の場合、非臨床試験で用いられる動物に存在する相同分子との構造上の違い等から標的分子との結合が弱い、あるいは検出されない場合があり、安全性を評価するための非臨床試験系の有用性がしばしば問題となる。標的分子に対する高い特異性は、タンパク質性医薬品（バイオ医薬品：注1）に共通した

特徴であるが、インスリンや成長ホルモンのように補充療法に用いられる古典的なバイオ医薬品は、生体内タンパク質と同一あるいは同等の構造を持つタンパク質として製造されたものであるため、その有効性・安全性のプロファイルは天然のタンパク質の特性をもとに、ほぼ明らかであると考えることができた。しかし、近年開発がさかんなキメラ型抗体、ヒト化抗体、各種の融合タンパク質や改変タンパク質などの天然に存在しない構造を持つタンパク質性医薬品では、有効性・安全性プロファイルが未知であるため、非臨床試験さらには臨床試験を通じて明らかにしていくことが求められる。

バイオ医薬品の非臨床試験における安全性評価では、目的タンパク質の構造の多様性や不均一性、作用発現の動物種特異性、免疫原性など、バイオ医薬品の物性面や作用面での特徴・特殊性からみて、従来の医薬品（特に化学合成医薬品）において実施される定型的な非臨床安全性試験の種類・項目および試験方法をそのまま機械的に適用することは妥当ではなく、従来とは異なる観点や方法で試験を実施すべき場合が多い¹⁾。バイオ医薬品の非臨床試験をどのように行い、ヒトへの投与にあたって安全性を担保していくかについては、これまでも議論が重ねられ、一般原則を記載した国際調和ガイドラインも作成されている²⁾。しかし、過去に例のない惨事となったTGN1412の事故は、作用の種特異性が高いアゴニスト抗体医薬品の評価の難しさを、世界中に強烈に印象づけることとなった。

一般に、化学薬品では、濃度によっては標的分子以外へ作用を示すものも多いことから、有害反応の主な原因がoff-target効果であることが少なくないのに対して、抗体医薬品などのバイオ医薬品では、標的分子との結合特異性が非常に高いため、有害反応の主な原因はon-target効果であるとされている³⁾。すなわち、バイオ医薬品の安全性を考える際には、その生物学的性質や薬理作用に関する十分な理解が必須である。TGN1412の例においても、有害反応の原因

はTGN1412の生物学的な作用にあるとされ、標的分子を介した反応がサイトカイン放出症候群につながったと考えられている⁴⁾。しかし、重篤な例は稀であるが、サイトカイン放出症候群はこれまでに他の抗体医薬品でも生じている^{5,6)}。TGN1412の開発にあたって、過去の知見に基づいてサイトカイン放出症候群の危険はどのように考えられていたであろうか。また、他の抗体医薬品で報告されているサイトカイン放出症候群とはどのような違いがあったのか。

TGN1412の臨床試験に関してはすでに多くの専門家から解説がなされているが、本稿では、バイオ医薬品の特性と品質・安全性確保に関心を寄せている立場から、TGN1412の特性と他の抗体医薬品との比較に基づき、改めてTGN1412の事故を振り返ると共に、TGN1412による有害事象発生の原因検証とその後の議論をもとに欧州医薬品庁から公表された“ヒト初回投与試験におけるリスク要因の同定およびリスク低減のための方策に関するガイドライン”を紹介し、この事故を教訓にした今後の非臨床・臨床試験のあり方を考察する。

1.2. 抗体医薬品とサイトカイン放出症候群

TGN1412に関する各種の資料から、TGN1412の臨床試験で生じたサイトカイン放出症候群は、次のようなものであったと考えられる。

- (1) TGN1412の開発では、過去の知見に基づき、サイトカイン放出症候群発生のリスクに関する配慮はなされていたものの、動物とヒトでの標的分子との親和性の差や反応性の相違が十分考慮されず、CD28の占有率が90%にもなる用量が投与された結果、生理的に制御が可能な範囲を超えてT細胞やエフェクター細胞が活性化され、重度のサイトカイン放出症候群が生じたと推察される。(後述 1.2.1.~1.2.6.参照)
- (2) 臨床試験後に、TGN1412をプレートへ固定化することにより*in vitro*でTGN1412の生物活性を検出できる試験系が確立された。確立された試験法を用いた検討により、ヒトとカニク

イザルのリンパ球では TGN1412 への反応性に相違があり、カニクイザルのリンパ球では TGN1412 単独の刺激では細胞増殖やサイトカイン産生が起こらないことが示された。また、ヒトリンパ球では、TGN1412 の薬理作用である細胞増殖と、有害作用である炎症性サイトカイン放出がほぼ同じ濃度領域で検出された。これらのことから、非臨床試験の段階で TGN1412 の生物活性について、ヒトやサルの細胞を用いた適切な試験系による解析が行われていれば、臨床試験での有害事象発生を予測できた可能性もあると考えられる。(後述 1.2.7.参照)

これらの考察に基づき、T細胞を活性化する作用を持つ抗体医薬品、あるいは、Fc γ 受容体を介してエフェクター細胞を活性化する作用を持つ抗体医薬品では、今後もサイトカイン放出症候群に対する慎重な対応が必要であると考えられる。また、バイオ医薬品の安全性を考える上では、医薬品の生物活性や薬理作用に対する理解を深めることが重要であり、臨床での薬効や毒性を予測するためには、ヒト細胞や組織を用いた試験系の利用・開発が有効であると考えられる。

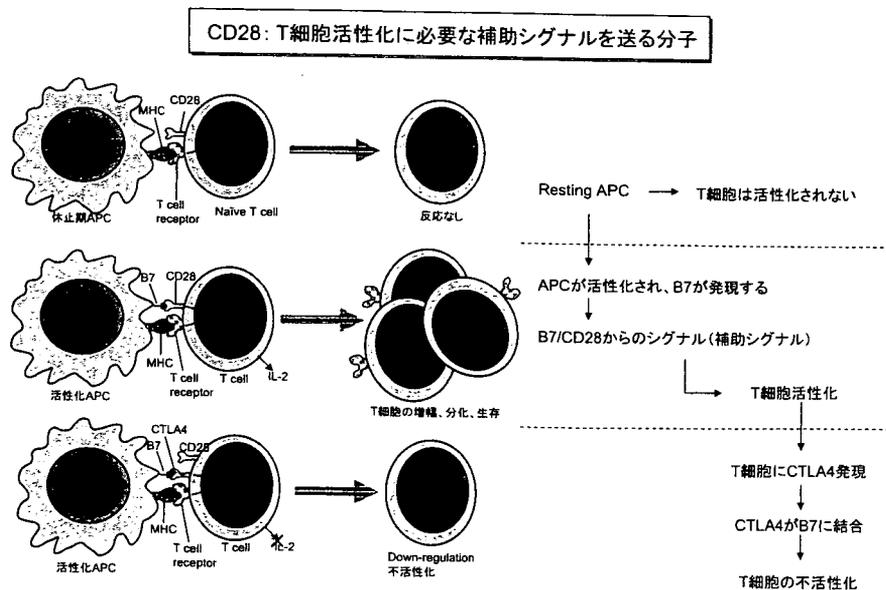
以下に、これらの考察の根拠となる知見を紹介する。

介する。

1.2.1. TGN1412 の特性

TGN1412 は、ヒト化抗ヒト CD28 抗体 (注 2) で、T細胞表面分子 CD28 に結合する。サブクラスは IgG4 (注 3)。T細胞が抗原提示細胞 (APC) から抗原提示を受けて活性化されるには、T細胞受容体 (TCR) が抗原を認識すると共に、抗原提示細胞上の B7 (CD80, CD86) と T細胞上の CD28 が結合し、CD28 を介した補助シグナルが惹起されることが必要である (図 1, 2)⁷⁾。TGN1412 は、アゴニスト活性を持つことが大きな特徴であり、生理的な T細胞活性化経路とは異なり、単独で CD28 を介して T細胞を活性化することができるとされている^{8,9)}。

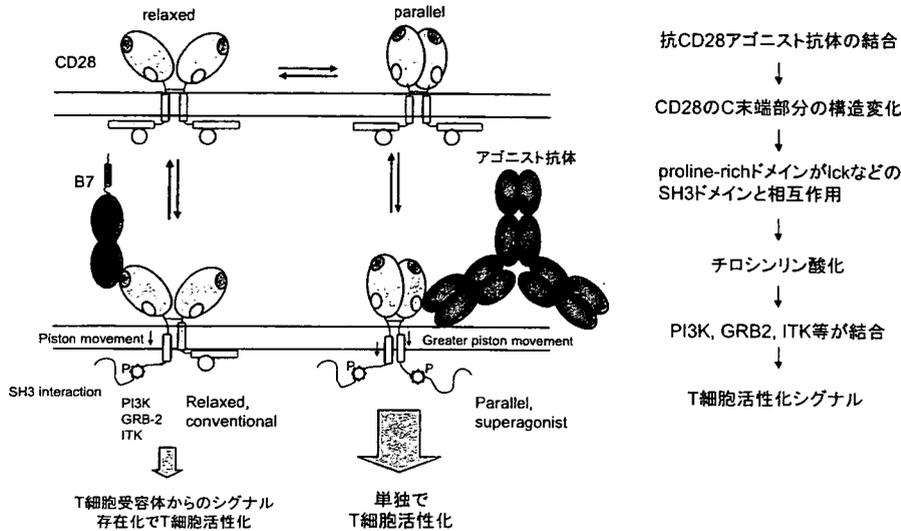
TGN1412 の適応疾患としては、B細胞性慢性リンパ性白血病 (B-CLL) と関節リウマチが考えられていた¹⁰⁾。T細胞の数と機能が低下している B-CLL においては、TGN1412 による T細胞の増殖と活性化の促進、および、CD40/CD40L 経路を介して間接的に B7 の発現を増強することにより、B細胞リンパ腫の抗原提示能を改善し、腫瘍特異的 T細胞の誘導を促すことよって奏功するとされていた。一方、関節リウマチで



<Arlene H et al. New Eng. J. Med. 355, 973, 2006より改変>

図 1

TGN1412によるCD28活性化機構



<Margulies DH J. Exp. Med. 197, 949, 2003より改変>

図 2

CD28 を介した T 細胞活性化のシグナルとしては、生理的リガンドである B7 の結合により CD28 の細胞内ドメインの構造が変化してプロリンリッチドメインが露出し、SH3 ドメインを持つ Lck などの kinase によって CD28 のチロシン残基のリン酸化が起こること、これにより PI3K、Grb-2、Itk など CD28 に結合可能となり、続いて、それぞれの基質のリン酸化やアダプタータンパクとの結合によりシグナルが伝達され、NF- κ B、NFAT、AP-1 などの転写因子の活性化が起こることが知られている (Sharpe AH and Freeman GJ, *Nat. Rev. Immunol.* 2, 116, 2002)。TGN1412 は、B7 と異なり、CD28 の細胞膜貫通部位近傍の C-D ループに結合し、CD28 をクロスリンクすることにより CD28 を活性化することができるとされている (Beyersdorf N. et al. *Ann. Rheum. Dis.*, 64, iv91, 2005)。このときにおこる CD28 の細胞内ドメインの構造変化が B7 が結合したときよりも大きく、Lck 以外の kinase が働くなど、より多くの情報伝達関連タンパク質のアクセスが可能となることにより、TCR からのシグナルがなくても T 細胞を活性化することができると考えられている (Margulies DH, *J. Exp. Med.* 197, 949, 2003)。

は、IL-4、IL-10 などの抗炎症性サイトカインの誘導と、自己反応性 T 細胞をコントロールし得る調節性 T 細胞の増殖により奏功するとされていた。これら、CD28 の活性化により疾患を治療するというコンセプトは新規なものであり、臨床試験を経て、その有用性が示されていくはずであった。

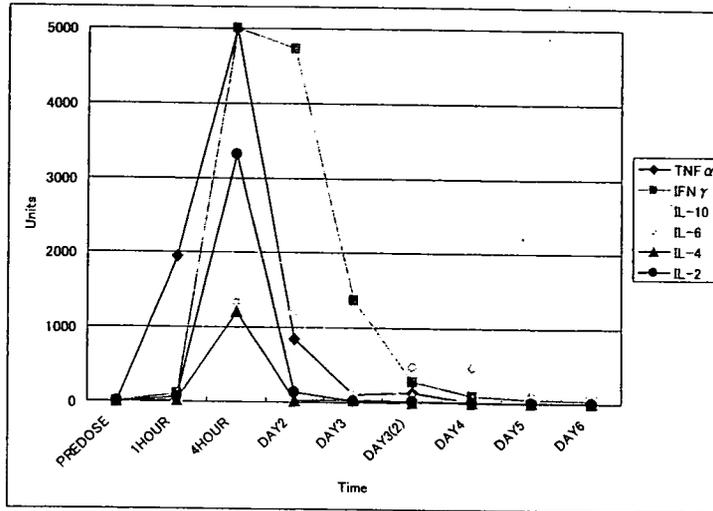
1.2.2. TGN1412 の臨床試験

健康人を対象とした TGN1412 の初回臨床試験は、2006 年 3 月 13 日、ロンドンの Northwick Park 病院で行われた。0.1 mg/kg の TGN1412 を静脈内投与された被験者 6 人全員に重度のサイトカイン放出症候群が生じ、多臓器不全に陥った。症状は極めて重篤であったが、主とし

て免疫抑制を目的とした投薬 (hydrocortisone、methylprednisolone、抗 IL-2 受容体抗体 daclizumab 等) と、血液透析、血漿交換などの処置により救命された¹⁾。

血液検査の結果では、すべての患者で投与 4 時間後までに、TNF α の急激な増加と、それに続く IL-2、IL-6、IL-10、IFN γ 等の増加が認められている (図 3)⁴⁾。サイトカイン放出は、hydrocortisone や methylprednisolone 等の投与により改善され、ほぼ 3 日以内に低値になっている。また、TGN1412 投与直後から重度の血小板減少、リンパ球減少、単球減少が認められており、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 細胞は、投与 24 時間後まで測定限界以下となっている¹⁾。

TGN1412を投与された被験者の血中サイトカイン濃度



<Expert Scientific Group Final Report (P.36)をもとに作成>

図3

表1

臨床試験後に実施されたTGN1412の品質評価

開発企業により定められた規格試験

- 紫外吸光度測定
- エンドトキシン試験(LALゲル化法)
- SDS-ポリアクリルアミド電気泳動
- 等電点電気泳動
- サイズ排除高速液体クロマトグラフィー
- 細胞結合性試験(BIAcore)
- 生菌数試験
- 無菌試験

規格試験以外の試験

- ウサギ発熱性物質試験
- 異常毒性試験(英国薬局方)
- Toxicity Screen (FDA's Forensic Chemistry Centre)

<Expert Scientific Group Final Report (P.40)をもとに作成>

1.2.3. TGN1412 臨床試験の問題

TGN1412の臨床試験後、目的の構造や生物活性を持つタンパク質が作られていたか、汚染物質の混入はなかったか等について、あらためて治験薬の品質を確かめる試験が行われた(注4)(表1)。その結果、試験結果に問題はなく、エンドトキシン、発熱性物質、微生物その他の混

入は認められなかったとされ、事故の原因は、品質特性解析や非臨床試験では予測されなかったTGN1412の生物学的な作用にあったとされた⁴⁾。

非臨床試験結果から予測されなかった有害事象がヒト初回投与試験で生じた原因としては、用量と投与方法が適切でなかった可能性が指摘されている^{12, 13)}。TGN1412の初回臨床投与量は、FDAガイダンス案“Estimating the safe starting dose in clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers”を参考に、最大無毒性量(No Observed Adverse Effect Level: NOAEL)を基準に決定された¹⁰⁾。すなわち、カニクイザルを用いた28日間反復投与実験の高用量群に投与された50 mg/kgをNOAELとし、allometric correction factorとして3.1を用いてhuman equivalent dose (HED)を16 mg/kg、safety factorとして160を用いて、0.1 mg/kgと算出されている。しかし、TGN1412を投与されたカニクイザルでは低用量群、高用量群ともに、炎症性サイトカインIL-6の濃度上昇がみられているため(表2)、これが薬理作用でなく有害作用であると考え、NOAELを50 mg/kgとしたことが適切でなかった可能性も考えられ

表 2

TGN1412を投与されたカニクイザルの血中サイトカイン濃度

Cytokine	Inflammatory type	Mean peak cytokine concentration (range) in pg/ml		
		Control	Low dose (5mg/kg)	High dose (50mg/kg)
IL-2	Pro-inflammatory	37 (20-60)	25 (0-84)	100 (25-211)
IL-4	Anti-inflammatory	12 (0-18)	13 (8-18)	17 (0-40)
IL-5	Anti-inflammatory	6 (3-7)	49 (6-139)	107 (11-458)
IL-6	Pro-inflammatory	7 (0-22)	68 (32-101)	128 (24-390)
TNF α	Pro-inflammatory	20 (11-26)	20 (15-27)	22 (19-26)
IFN γ	Pro-inflammatory	18 (0-35)	23 (19-32)	33 (17-93)

<治験薬概要書 (P.46) , Kenter MJH and Cohen AF *Lancet* 368, 1387, 2006 をもとに作成>

る¹²⁾。さらに、公開された治験薬概要書などにヒトとカニクイザルにおける TGN1412 と CD28 の親和性や反応性の差異に関する記載がないことから、用量設定のための試験系や結果の解釈が妥当でなかった可能性は否定できないであろう。

投与方法に関して、治験計画では、short-term infusion により TGN1412 を投与するとされており、2 mg/ml に希釈した製剤を 1~5 ml/min で投与することとされているため、0.1 mg/kg を体重 70 kg のヒトに投与する場合は、0.7~3.5 分で投与するプロトコールとなっていた¹⁰⁾。一方、カニクイザルを用いた実験では、1 時間以上をかけて点滴静注するプロトコールとなっている¹⁰⁾。非臨床試験と臨床試験で異なる投与方法が採用された理由は不明であるが、抗体医薬品によるサイトカイン放出症候群は、注入速度に依存して起こりやすいことが知られているため¹⁴⁾、投与速度が高すぎたことがサイトカイン放出症候群が起こった原因の一つである可能性も考えられる。

1.2.4. 抗体医薬品の有害反応としてのサイトカイン放出症候群

サイトカイン放出症候群は、抗体医薬品によ

る有害反応の一つとして認識されていたリスクであるが、通常は軽度~中程度であり、抗炎症薬や解熱薬の投与、あるいは、投与量の漸増、投与速度の制限などによりコントロールされている^{5,6)} (注5)。しかし、稀に重度のサイトカイン症候群が生じることがあり、抗 CD3 抗体 Muromonab-CD3、抗 CD20 抗体 Rituximab、抗 CD52 抗体 Alemtuzumab では、サイトカイン放出症候群による死亡例が報告されている^{5,6)}。

抗 CD3 抗体 Muromonab-CD3 により生じるサイトカイン放出症候群には、

- CD3 および Fc γ 受容体との結合を介した T 細胞の活性化
- Fc γ 受容体との結合を介したエフェクター細胞の活性化

の 2 つの機構が関与していると考えられている¹⁵⁻¹⁸⁾。

Muromonab-CD3 は、T 細胞受容体複合体の構成要素である CD3 に結合し、T 細胞受容体をインターナリゼーションさせることにより T 細胞の活性化を抑制するが、CD3 に結合した際、一時的に T 細胞を活性化し、サイトカイン放出を起こすことが知られている¹⁷⁾。すなわち、Muromonab-CD3 は目的外の作用としてアゴニスト活性を併せ持つ抗体であると言える。

Muromonab-CD3はFc部分を介してFc γ 受容体とも結合する。Fc γ 受容体との結合は、CD3のクロスリンクによるT細胞活性化に関与すると共に、Fc γ 受容体を発現しているエフェクター細胞の活性化も引き起こす。活性化されたエフェクター細胞からもサイトカインが放出されるため、T細胞とエフェクター細胞から放出されたサイトカインにより、サイトカイン放出症候群が生じると考えられている。Muromonab-CD3の初回～第3回の投与時には、ほとんど全ての患者でインフルエンザ様症状を示す軽度のサイトカイン放出症候群が起こるとされている。腎移植の急性拒絶反応の臨床試験においては、Muromonab-CD3投与後、サイトカイン放出が関与すると考えられる致死的な肺浮腫が生じた割合は、2%以下であった¹⁹⁾。Muromonab-CD3は臓器移植の際の免疫抑制に用いられるため、他の免疫抑制薬が併用される場合が多いが、methylprednisoloneの前投与を受けなかった患者で、TNF α の上昇がより顕著となる傾向がある²⁰⁾。

一方、抗CD20抗体Rituximabおよび抗CD52抗体Alemtuzumabにより生じるサイトカイン放出症候群には、

-Fc γ 受容体との結合を介したエフェクター細胞の活性化

が関与しているとされている^{21, 22)}。すなわち、活性化されたエフェクター細胞から放出されるサイトカインにより、サイトカイン放出症候群が生じると考えられている。注5に記載したように、これらの医薬品ではサイトカイン放出症候群はinfusion reactionの一因としての位置づけとなっており、infusion reactionが生じた例のうち、どの程度がサイトカイン放出が関与するものかは不明であるが、Rituximabでは発熱等のinfusion reactionが生じる頻度は約90%²³⁾となっている。重篤な例は一部に限られ、Rituximabが米国で上市された1年後の1998年12月に出されたDoctor Letterによると、Rituximabを投与された患者12,000～14,000人のうち、重篤

な (serious) infusion-related eventsが70例で生じ、死亡した8例中7例では初回投与時に重篤な症状が生じたと報告されている。Alemtuzumabでは発熱等のinfusion reactionが生じる頻度は83%²⁴⁾とされ、149人のB細胞慢性白血病患者を対象とした治験では、Grade3～4の有害事象が生じた割合は、発熱については19%、硬直については16%、低血圧については5%とされている。

1.2.5. TGN1412の開発過程で、サイトカイン放出症候群に対する配慮がなされていたか

上記の知見から考えると、

- T細胞を活性化しない
- Fc γ 受容体と結合しない (エフェクター細胞を活性化しない)

ことが、抗体医薬品投与に伴うサイトカイン放出症候群の回避につながると思われる。

TGN1412の薬効発現においてはT細胞を活性化することが重要であるため、T細胞の活性化作用をなくすことはできない。しかし、Muromonab-CD3を投与されたチンパンジーでTNF α とIFN γ を含めた炎症性サイトカインの放出が起こったことが報告されている²⁵⁾のに対して、TGN1412を投与されたカニクイザルではTNF α およびIFN γ の放出が検出されなかったことを根拠として、TGN1412の開発過程では、TGN1412のT細胞活性化作用はサイトカイン放出症候群につながらないと判断されていた¹⁰⁾。

TGN1412の薬効発現においてエフェクター細胞の活性化は不要であるので、Fc γ 受容体との結合はなくてもよいはずである。すなわち、血中半減期が短くなるという問題は生じるが、Fcドメインを持たないF(ab')₂として開発することも一案であったと思われる。しかし、Investigational Medicinal Product Dossierには、TGN1412の生物活性発現には、Fc/Fc受容体を介したCD28のクロスリンクが必要であり、Fc部分を除いたF(ab')₂ではT細胞の増殖が起

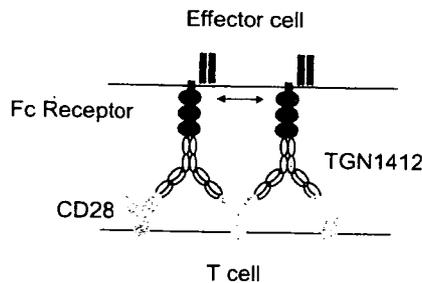
こらなかつたと記載されている (図4)²⁶⁾。

TGN1412の場合、Fcドメインが必須であるとしても、エフェクター細胞の活性化作用は極力ないことが望ましい。この点について、IgGのサブクラスとして、エフェクター活性の低いIgG4を選択している点では、配慮はされていたと考えられる。治験薬概要書には、TGN1412のIgG1バリエーションであるTGN1112とTGN1412について、エフェクター活性を比較した結果が記載されている (図5)。この試験では、サイ

トカイン放出症候群を起こすことが知られているAlemtuzumabをポジティブコントロールとして用いて両抗体のADCC活性とCDC活性が検討されており、TGN1412はADCC活性、CDC活性を示さず、TGN1112はADCC活性を示したと記載されている。一方、薬理活性はTGN1112の方が高かったと記載されている。したがって、目的外の作用であるADCC活性を持たないことを重視して、あえて薬理活性の低いTGN1412を選択したと考えることができる。

TGN1412の生物活性発現におけるFc領域の必要性

Since F(ab)₂ fragments of agonistic anti-CD28 antibodies were not capable to induce a proliferative T cell response, an intact Fc-region appears to be required for TGN1412 biological activity. Experiments with highly purified T cells and Fc-receptor binding studies underlined the notion that cross-linking via Fc-receptor(s) is required for efficient TGN1412-mediated triggering of T cells.



<Investigational Medicinal Product Dossier (P.111)をもとに作成>

図4

TGN1412(IgG4)とTGN1112(IgG1)の活性比較

	標的	サブクラス	CDC hPBMC	ADCC Jurkat CD28+, CD52+	ADCC Jurkat CD28+, CD52-
Alemtuzumab	CD52	IgG1	+	+	-
TGN1112	CD28	IgG1	-	+	+
TGN1412	CD28	IgG4	-	-	-

CDC: 補体依存性細胞障害
ADCC: 抗体依存性細胞障害

アカゲザル リンパ球の活性化 (ex vivo): TGN1112 > TGN1412

<治験薬概要書 (P.30, 36)をもとに作成>

図5

以上のことから考えると、TGN1412の開発過程では、過去の知見に基づいてサイトカイン放出症候群への配慮はなされたものと思われる。ただ、治験薬概要書にある「5 mg/kgのTGN1412を投与されたカニクイザルでのサイトカイン上昇がわずかであったため、第I相臨床試験において、0.1～5.0 mg/kgの用量でサイトカイン放出症候群が起こるとは想定されない。」との記載からは、サルとヒトでTGN1412への応答性に違いがある可能性に関する配慮が感じられず、リスクに対する認識が十分ではなかった可能性が伺われる。また、TGN1412の作用にFc部分が必要であることや、TGN1412を投与された被験者で血中TNF α 濃度が非常に急激な増加を示したことから、サイトカイン放出にはT細胞以外の細胞(エフェクター細胞)も関与していた可能性が考えられる²⁷⁾。

蛇足ながら、Muromonab-CD3、Rituximab、あるいはAlemtuzumabではサイトカイン放出症候群を回避することができるかどうかであるが、Muromonab-CD3の場合は構造改変による回避が可能、Rituximab、Alemtuzumabに関しては回避が難しいと考えられる。Muromonab-CD3の作用においては、CD3およびFc γ 受容体との結合を介したT細胞の活性化やFc γ 受容体との結合を介したエフェクター細胞の活性化は不要であるため、Fc γ 受容体との結合活性を減じた改変体が開発されており、臨床試験でサイトカイン放出症候群の発生頻度を低下させることができたと報告されている¹⁸⁾。一方、RituximabやAlemtuzumabでは、標的細胞を障害することが薬効発現において重要であるため、サイトカイン放出を伴うエフェクター細胞の活性化は薬理作用の一部である。したがって、これらの場合は、抗炎症薬や解熱薬の前投与などにより、放出されたサイトカインの全身への影響を少なくする等の工夫をすることで、対処せざるを得ない。RituximabやAlemtuzumabに限らず、開発中のものを含めて、腫瘍細胞等を標的とする抗体医薬品ではエフェクター細胞の

活性化が重要であることが多いため、そのような抗体医薬品では常にサイトカイン放出症候群に対する注意が必要であると思われる。

1.2.6. TGN1412により生じたサイトカイン放出症候群の特徴

TGN1412で生じたサイトカイン放出症候群で特に際立った特徴は、早期の肺障害と著明なリンパ球減少であるとされている。すべての患者でみられた早い段階からの肺の障害は異常で、肺に特異的な免疫反応が起こった可能性もあり、TGN1412の肺への直接作用とサイトカインの作用があいまって、このような早期の肺障害が起こった可能性も考えられている。また、リンパ球減少は他の抗体医薬品で生じたサイトカイン放出症候群でも見られているが、TGN1412の場合は特に顕著であるとされている。TNF α などのサイトカイン放出が起こる敗血症では、数日にわたってリンパ球が減少する可能性があるが、B細胞とCD4⁺T細胞に特異的であるのに対して、TGN1412投与後は、8時間以内という早い段階でリンパ球減少が起こっていること、CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞、単球のいずれもが減っていることから、サイトカインの影響のみでなく、TGN1412そのものの作用によって、リンパ球の死滅あるいは他の組織への移行などのために、リンパ球減少が生じた可能性も考えられている¹¹⁾。

TGN1412投与後の症状と、他の抗体医薬品の投与で生じた症状を比較すると、急激なTNF α 濃度の上昇、続くIFN γ 、IL-6の上昇、その後の心血管系の症状と播種性血管内凝固は、他の抗体医薬品で生じたサイトカイン放出症候群と共通である一方で、早期の肺障害の他、広汎性の紅斑と後の表皮剥屑、神経系の後遺症、回復後の筋肉痛は、TGN1412に特有であるとされている¹¹⁾。

通常、抗体は血液脳関門を透過しないため、神経系の後遺症との関連は不明であるが、治験薬概要書には、TGN1412の交差反応性を調べ

た結果、ヒトとカニクイザルの脳、脊髄、および下垂体のアストロサイトが染色されたと記されている。この交差反応性の TGN1412 の安全性への影響については、カニクイザルへの反復投与試験で中枢神経系に関する所見が認められなかったことを根拠に、問題はないとされていた。また、この他に、カニクイザルの子宮頸部（上皮細胞）、ヒトの胎盤（栄養膜細胞層）が TGN1412 によって免疫染色されたと記されているが、これらはいずれも結合部位は細胞内であるとされ、*in vivo* では標的とならず、安全性上の懸念事項にはならないとされていた。これまでに得られた情報からは、これらの判断が適切であったか否かは明らかではないが、ヒトの組織・細胞パネルを用いた抗体医薬品の交差反応性の検証は、安全性に関する重要な情報を与え得るため、非臨床試験の一つとして推奨されるものであると考えられる。

1.2.7. 臨床試験後に実施されたヒト細胞を用いた TGN1412 の生物活性評価

初回臨床試験での有害事象発生後、TGN1412 の生物活性について、ヒトおよびカニクイザルのリンパ球を用いた *in vitro* 実験による検証が National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC) により行われ、その途中経過が TGN1412 の事故原因の検証にあたった専門家グループ (Expert Scientific Group) の報告書に記載されると共に⁴⁾、最近、最終結果が論文としても報告された²⁸⁾。NIBSC の検討で明らかになった主な点は、(1) TGN1412 の作用を *in vitro* で検出するには、TeGenero 社で実施されていた方法とは異なり TGN1412 を固定化することが必要で、TGN1412 を固定化した条件下ではヒトリンパ球からのサイトカイン放出とリンパ球の増殖を検出できる、(2) TGN1412 の用量反応曲線はベルシェイプであり、有害事象が生じた臨床試験における血中濃度は、TGN1412 のリンパ球への作用の至適濃度領域であった、(3) カニクイザルのリンパ球では

TGN1412 による細胞増殖やサイトカイン産生が起こらない、ことである。

(1) TGN1412 の固定化

NIBSC の検討では、ヒト末梢血単核球 (Peripheral Blood Mononuclear Cells: PBMC) 懸濁液あるいは希釈したヒト全血に液相の状態では TGN1412 を添加してもサイトカイン放出が認められないものの、①ドライコーティングにより TGN1412 をプレートに固定化、あるいは、②ドライコーティングにより抗 Fc 抗体を固定化したプレートに TGN1412 を添加、または、③血管内皮細胞を播種したプレートに TGN1412 を添加することにより TGN1412 を固定化した条件下では、ヒト PBMC の増殖およびサイトカイン放出が検出され、*in vivo* での反応性を反映した結果が得られている。TeGenero 社では液相の状態では TGN1412 を添加してヒトリンパ球の反応性を調べる試験が行われていたため、その試験法では TGN1412 の生物活性を検出できていなかったと指摘された。リンパ球活性化のために抗体を固定化して使用することが有効であることは、抗 CD3 抗体でも知られている^{29,30)}。

ただし、治験薬概要書には soluble TGN1412 により T 細胞の増殖と活性化が起こると記載されており、両者の記載には相違がみられる。TGN1412 の生物活性については、実験施設間で一定した結果が得られ難く、評価が難しいものである可能性も考えられる。専門家グループの報告書には、ドライコーティングによりクロスリンクの効率がよくなることで反応が検出されやすくなることや、血管内皮細胞等に結合した TGN1412 のみが活性型として作用し、非結合型の TGN1412 が阻害的に働くことが高濃度の TGN1412 で効果が小さいことの原因であるとする仮説が述べられており、NIBSC の検討結果は TGN1412 の性質を理解する上で無理がないものと思われる⁴⁾。

(2) TGN1412 の用量反応曲線

ヒトリンパ球の増殖と IL-2 産生に関する

TGN1412の用量依存性は、至適濃度が2～10 µg/ml (0.4～2 µg/well) で、用量反応曲線はベルシェイプとなっている。2 µg/ml (0.4 µg/well) という濃度は、臨床試験での血中濃度に対応することから、実施された臨床試験では、TGN1412の反応が最も起こりやすい用量が投与されたと考えられる。また、血管内皮細胞とリンパ球の共培養系では、TNF α 、IL-8など炎症性サイトカインの放出が0.1～10 µg/wellの濃度のTGN1412で検出されており、TGN1412の薬理作用であるリンパ球増殖やIL-2産生と、有害作用である炎症性サイトカインの放出がほぼ同じ濃度領域で生じている。つまり、TGN1412の治療用量域と毒性用量域は重なっていると解釈できる。

(3) カニクイザルとヒトの反応性の相違

カニクイザルのリンパ球では、ヒトリンパ球の反応性がみられる条件、すなわちTGN1412を固定化した条件下においても、細胞増殖やIL-2産生が検出されず、カニクイザルのリンパ球に対してTGN1412は十分な作用を持たないことが示された。つまり、カニクイザルはTGN1412の安全性を評価する上で、適切な動物種ではなかったと言えよう。ただし、カニクイザルのリンパ球でもTGN1412によるIL-2受容体の発現増加がみられているため、カニクイザルにおいてもCD28へのTGN1412の結合とCD28からの情報伝達系の活性化は起こっていると考えられている。ヒトとサルでの反応性の差の原因としては、Siglecなどの抑制性分子の有無³¹⁾が関与している可能性等が考えられている。

以上のように、NIBSCで確立されたヒト細胞を用いたTGN1412の*in vitro*評価系では、TGN1412の薬理作用のみならず有害作用も検出することが可能であった。臨床試験が実施される前にこのような試験が行われていれば、ヒトでの有害反応を予測できた可能性も考えられる。今後に向けた考え方として、TGN1412と類似した作用機構を持つ抗体医薬品では、このような抗体のドライコーティングや血管内皮細

胞との共培養系を用いてヒトリンパ球の反応を解析することにより、ヒトでの反応の予測に有用な知見が得られる可能性が考えられる。また、TGN1412とは異なる作用機構を持つ医薬品においても、ヒト細胞/組織を用いた評価系は、ヒトにおける安全性を考える上で、極めて有用な情報を提供し得ると考えられる。

1.2.8. 抗CD28アゴニスト抗体を治療に用いることの妥当性：Abataceptとの比較

生体におけるCD28の役割は複雑である。B7/CD28経路は、病原体に対する免疫応答や自己免疫疾患、移植片の拒絶などにおいて中心的な役割を果たす一方で、免疫応答の制御や末梢でのトレランスの維持にも関わっており、免疫応答において逆の結果につながる補助シグナルと制御性シグナルの両方に関与していることが知られている³²⁾。

TGN1412の適応疾患の一つは関節リウマチであったが、TGN1412とは対照的にCD28経路の阻害作用を持つタンパク質性医薬品Abataceptが2005年に米国で関節リウマチを適用疾患として承認されている。AbataceptはCTLA4-Igとも呼ばれ、T細胞表面に発現するタンパク質CTLA4 (Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen) の細胞外ドメインと抗体のFc部分を融合させた人工タンパク質 (改変型タンパク質) である³³⁾。CTLA4は活性化T細胞表面に発現し、CD28より高い親和性でそのリガンドであるB7に結合することにより、B7/CD28を介したシグナルをとめ、T細胞の活性化を抑制する働きを持つ (図6)。CTLA4とFcの融合タンパク質であるAbataceptは、CTLA4と同様にB7に結合することによりB7/CD28を介したシグナルを阻害し、T細胞の活性化を抑制する。これにより、抗原に対してT細胞が不応答となるため、自己免疫疾患の治療に有効と考えられている。CD28を介したシグナルをONにするのがTGN1412、OFFにするのがAbataceptと考えると両者の働きは逆

TGN1412とAbataceptの比較

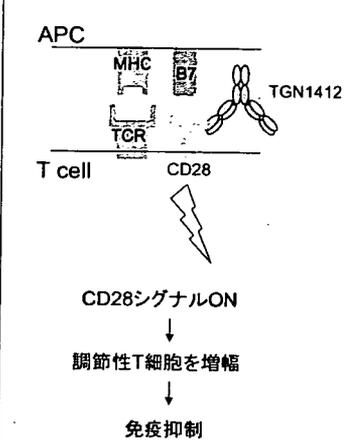
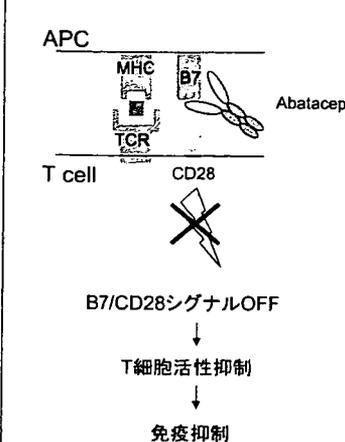
	TGN1412	Abatacept
適応疾患	関節リウマチ	関節リウマチ (2005年FDAより承認)
構造	抗CD28アゴニスト抗体	CTLA4の細胞外領域とFcの融合タンパク質
作用	 <p>APC MHC B7 T cell TCR CD28 TGN1412 CD28シグナルON ↓ 調節性T細胞を増幅 ↓ 免疫抑制</p>	 <p>APC MHC B7 T cell TCR CD28 Abatacept B7/CD28シグナルOFF ↓ T細胞活性抑制 ↓ 免疫抑制</p>

図6

であるが、いずれも関節リウマチを適応疾患としている。

関節リウマチの治療のために、AbataceptによってCD28のシグナルを阻害してT細胞にアナジーを誘導して自己免疫反応を抑制することも、TGN1412によってCD28を活性化し制御性T細胞を誘導して自己免疫反応を抑制することも、理論的には可能であろう。しかし、健康な状態ではバランスが保たれているCD28経路を、医薬品により活性化あるいは抑制の一方のみに調節する際には、どちらの方向に調節をするべきであるか、疾患の状態に応じて、用量と投与時期を慎重に見極める必要がある。このように複雑な作用を持つ分子を標的とするには、病態の理解を深め、個々の患者がどの状態にあるかを見極める診断方法の開発も必要となると思われる。

1.3. TGN1412事故が薬の開発（臨床・非臨床）に与えたインパクト

TGN1412の臨床試験後、英国保健大臣から

任命された専門家グループ（Expert Scientific Group）によって事故原因の検証が行われると共に、製薬企業団体や規制当局においても、非臨床試験から臨床試験への移行にあたって安全性面で特に注意が必要となるのはどのような医薬品か、また、そのようなリスク要因のある医薬品の開発過程では、安全性確保のためにどのような配慮をすべきであるかについて検討が行われ、その結果が表3のような報告書やガイドラインとして公表された。その他にも、多くの意見が科学雑誌に掲載されている。すなわち、TGN1412事故は、免疫系に作用するアゴニスト抗体のような特殊な医薬品では、これまでの方法では安全性確保が難しいことを明確にし、今後それらをどのように評価・開発していくかを議論する契機になったとも言える。

“Early stage clinical taskforce - Joint ABPI/BIA Report”は、英国製薬産業協会と英国バイオインダストリー協会のタスクフォースにより取りまとめられたものであり、ヒト初回臨床投与量を考える際の新たな指標として

表3

TGN1412の臨床試験後に作成された報告書およびガイドライン

タイトル	作成者	発行年月日
Early stage clinical taskforce - Joint ABPI/BIA Report	Association of the British Pharmaceutical Industry (ABPI) / Bioindustry Association (BIA) Taskforce	2006.7.4
Expert scientific group on phase one clinical trials - Interim Report	Expert Scientific Group	2006.7.20
Expert scientific group on phase one clinical trials - Final Report	Expert Scientific Group	2006.11.30
Guideline on requirements for first-in-man clinical trials for potential high-risk medicinal products (DRAFT)	Committee for Medical Products for, Human Use (CHMP), EMEA	2007.3.22
Guideline on strategies to identify and mitigate risks for first-in- human clinical trials with investigational medicinal products	Committee for Medical Products for Human Use (CHMP), EMEA	2007.7.19

MABEL (Minimal Anticipated Biological Effect Level : 最小予測生物学的影響量) が提唱されている³⁾。TGN1412 臨床試験の検証にあたった専門家グループにより作成された“Expert scientific group on phase one clinical trials - Final Report”では、事故原因の調査結果が報告されると共に、リスクの高い医薬品あるいは評価の難しい医薬品の臨床試験において、被験者の安全を確保するための推奨事項がまとめられている⁴⁾。

規制側からの対応として欧州医薬品庁 European Medicines Agency (EMA) からは、TGN1412 の臨床試験で生じた深刻な有害事象を解析、議論した結果をふまえ、2007年3月に、ハイリスク薬のヒト初回投与試験において考慮すべき要件を示したガイドライン案“Guideline on requirements for first-in-man clinical trials for potential high-risk medicinal products” (DRAFT) が公表された³⁴⁾。このガイドライン案に対して、2ヶ月間パブリックコメントが募られ、さらに、2007年6月にはワークショップが開催された。その後、2007年7月に、“Guideline on strategies to identify and mitigate risks for first-in-human clinical trials with investigational medicinal products”

表4

Guideline on strategies to identify and mitigate risks for first-in-human clinical trials with investigational medicinal products

治験薬のヒト初回投与試験におけるリスク要因の同定およびリスクの低減のための方策に関するガイドライン

概要

1. 緒言
2. 適用範囲
3. 法的な位置付け
4. ガイドライン
 - 4.1 リスク要因
 - 4.2 品質
 - 4.3 非臨床試験
 - 4.3.1 動物モデルの妥当性評価
 - 4.3.2 薬力学
 - 4.3.3 薬物動態
 - 4.3.4 安全性薬理
 - 4.3.5 毒性
 - 4.3.6 ヒト初回投与量の算出
 - 4.4 臨床試験
 - 4.4.1 一般的留意事項
 - 4.4.2 プロトコルデザイン
 - 4.4.2.1 ヒト初回投与試験における被験者の選択
 - 4.4.2.2 投与経路および投与速度
 - 4.4.2.3 ヒト初回投与量の算出
 - 4.4.2.4 用量群間を移行する際の注意
 - 4.4.2.5 対照群が変わる際の注意
 - 4.4.2.6 用量の漸増スキーム
 - 4.4.2.7 中止のルールと判断基準
 - 4.4.2.8 有害事象/反応のモニタリング
 - 4.4.3 臨床試験実施施設の設備および人員

として、治験薬のヒト初回投与試験で有害事象が生じるリスクの要因を明らかにし、リスクを低減するための方策を示したガイドラインが定められた(表4)³⁵⁾。

1.3.1. EMAガイドラインの概略

EMAのガイドライン“Guideline on strate-

gies to identify and mitigate risks for first-in-human clinical trials with investigational medicinal products”では、化学薬品および生物薬品をガイドラインの適用対象として、ヒト初回投与試験で有害事象が生じるリスク要因に関する考え方が示されている。そして、品質評価、非臨床試験の実施、初回臨床試験のデザイン等において、リスクを低減あるいはリスクに対処する方法が提示されている。

EMAのガイドラインの中から、

1. リスク要因の同定
2. 品質
3. 非臨床試験：動物モデルの妥当性検証
4. 非臨床・臨床試験：ヒト初回投与量の算出に関する内容を以下に紹介する。

(尚、以下に示す内容は、ガイドラインの概略を読者の方々に伝えるための仮訳であるため、詳しくは全文を通して、原文を参照して頂きたい。)

GUIDELINE ON STRATEGIES TO IDENTIFY AND MITIGATE RISKS FOR FIRST-IN-HUMAN CLINICAL TRIALS WITH INVESTIGATIONAL MEDICINAL PRODUCTS

1. リスクの要因

治験薬のヒトへの初めての使用で生じる得る重篤な有害反応を予測するための方策の一つは、リスク要因を明らかにすることである。(1) 作用機構、(2) 標的の性質、あるいは(3) 動物モデルの妥当性に関して、リスクが高いという知見がある場合、または、これらが不明確な場合には、リスクがあると懸念されるであろう。

開発者は、すべてのヒト初回投与試験に関して、治験申請書の中で下記の判断基準について考察すること。これらの判断基準は、ケースバイケースで考慮されるべきである。

・作用機構

新規な作用機構を持つことで必ずしもリスクが増すわけではないが、考えられる作用機構について、新規性と明らかになっている知見の程度について考慮すること。特異的な標的および標的外分子に対して生じる医薬品の作用の性質と強さ（影響の及ぶ範囲、増幅性、持続性、可逆性）、さらにその下流の反応機構がこれに含まれる。実験により求められた用量反応曲線のタイプと傾き、すなわち、考えられる濃度の範囲で直線性が成り立つか、あるいは非直線性か（最大効果でプラトーとなる、濃度変化以上に反応の変化が大きい、U型、ベル型）、といった特徴が重要である。

例えば、以下のような作用機構には、特に注意が必要であると考えられる。

－複数の情報伝達系に関連する分子を標的として含む作用機構（多様な効果を持つ標的）。

例えば、免疫系にしばしばみられるように、様々な生体反応につながる場合、標的が普遍的に発現している場合など

－生理的なフィードバック機構（例えば、免疫系、血液凝固系）による制御を越えて効果が増幅されるカスケード反応やサイトカイン放出。CD3あるいはCD28アゴニストがその例である。

作用機構に関連したリスク分析を行う際には、次のことも考慮に入れるべきであろう。

－関連する作用機構を持つものがヒトに投与された過去の例

- 薬理作用を介した重篤な毒性発現のリスクに関する動物モデル(トランスジェニック動物、ノックインあるいはノックアウト動物などを含む)での実験結果
- 有効成分の分子構造の新規性。例えば、受容体との相互作用を向上させた新規な改変体

・標的の性質

ヒトにおける標的分子については、詳細に記載すること。作用機構以上に、標的分子の性質自体もヒト初回投与試験におけるリスク要因となり得るため、解析結果に基づき、下記について考察すること。

- ヒトにおける標的分子の構造、組織分布(ヒトの免疫系細胞での発現を含む)、細胞特異性、疾患特異性、機能制御、発現量、下流の反応系への影響を含む生物学的な機能、さらに、それらの個人差や患者と健常人での差に関する知見の程度。
- 可能であれば、適切な動物種あるいはヒトにおける標的分子の遺伝子多型、および医薬品の薬理作用への遺伝子多型の影響。

・動物種とモデルの妥当性

標的分子、標的分子の構造上のホモロジー、分布、情報伝達経路、薬理効果の性質を考慮して、利用可能な動物種とヒトとの比較を行うこと。

治験薬の薬理作用および毒性作用の評価を通じて、利用可能な動物種/モデルの妥当性が疑わしいと考えられた場合は、リスクが増すと考えること。

2. 品質

物理化学的性質および生物薬品の場合の生物学的性質の解析に関して求められる要件は、すべての治験薬に共通である。品質特性は、それ自体がヒト初回投与試験におけるリスクの原因とはなり得ないであろう。しかし、ヒト初回投与試験に先立つリスク評価においては、品質特性も考慮すべきである。

考慮すべき要点は、以下の通り。

・活性と力価の決定

安全な初回投与量を求めるためには、製品の活性や力価を測定する方法が、妥当であり、信頼でき、適格である必要がある。例えば、生物活性を基準として任意の単位で用量が表示され、測定系が適格でない場合や、測定系の信頼性が十分検証されていない場合は、非臨床試験で用いられた用量が正確でなく、安全な用量に関して誤った解釈がなされてしまう可能性がある。したがって、生物活性の測定には、開発の早い段階から標準物質を整備することが重要である。生物薬品では、機能あるいは生物活性を測定するバイオアッセイがない場合は、その正当性を示すこと。

・使用される製品の適格性

非臨床試験に用いられる製品は、ヒト初回投与試験で用いられる製品を体現したものでなければならない。開発の早い段階においても、適切な品質特性解析を行うことが重要である。製品の特性解析においては、不均一性、分解物プロファイル、および工程由来不純物などの評価

を行うこと。薬理活性あるいは毒性を持つ可能性のある不純物には特に注意すること。有効成分および製剤の特性解析を十分に行うために、試験法の妥当性と適格性に特に注意を払うこと。

非臨床試験からヒト初回投与試験に移行する際に、もし製品の品質に違いがあるならば、特に安全性に関して、臨床上、悪影響がないことを十分に保証すること。さらに、開発の初期段階では、製造方法が変更されることがしばしばある。複雑な分子の場合は特に、製法変更により、おそらく特性解析では検出されないものの生物学的性質や臨床効果に影響し得るような微細な変化が有効成分に生じる可能性があるため、注意が必要である。

臨床に関する主要な決定は非臨床データに基づくため、非臨床試験のデータが引き続き有効であることを示すことが重要である。

次のような場合には、ヒト初回投与試験に用いる予定の製品について、追加の非臨床試験が必要となるであろう。

- 非臨床試験用と臨床試験用の製品に品質特性上の相違があり、その違いが臨床効果に悪影響を及ぼす可能性が考えられる場合。
- 製造方法が変更された場合で、生物学的性質の評価を含む製品の特性解析が限られていて、非臨床試験で用いられた製品が臨床試験で用いられる製品を体現していると保証できない場合。

・超低用量の信頼性

指定された処方で、設定された用量どおりの量が投与されることを示すこと。非常に低い用量を調製するために製品を希釈して用いる場合、あるいは、製品が非常に低い用量で供給される場合には、器壁や点滴システムへの吸着のために用量の正確性が低下するリスクがある。その場合、初回臨床投与量の安全性と非臨床の安全性データを過大評価してしまう可能性がある。したがって、適宜、最初に包装された製品と投与システム中の製品の互換性を調べるべきである。

3. 非臨床試験：動物モデルの妥当性の評価

ヒトと動物では、生物学的な反応において、質的および量的な違いが生じるであろう。例えば、標的分子との親和性、標的分子の組織分布、標的との結合に起因する細胞応答、細胞機能の調節機構、代謝経路、生理的バランスが崩れることに対する代償反応などにおける相違である。

ヒト由来細胞と試験に用いる動物種に由来する細胞を比較した *in vitro* 試験で作用に種特異性があることが示された場合は、ヒトの *in vivo* での反応を予測するという点で、その動物種を用いた *in vivo* 評価系の価値は下がるであろう。ただし、ヒト細胞と動物細胞で同様の反応が得られたとしても、*in vivo* で同等の結果が得られることが必ずしも保障されるわけではないことに注意が必要である。

現実的に、種特異性の高い医薬品の動物実験による評価では、以下のような可能性がある。

- ヒトで予想される薬理作用を検出することができない
- 薬物動態および薬力学の解析結果の誤った解釈につながる
- 毒性作用を見出すことができない

知見の重要性に基づいて方針を決定するプロセスでは、*in vivo*, *ex vivo*, *in vitro* のデータを統合して解釈すること。

種特異性の高い医薬品では、ヒトでのリスクを非臨床試験で評価することがより難しいが、種特異性が高いことで必ずしもヒト初回投与試験におけるリスクが増すわけではない。

動物モデルの妥当性を示すためには、下記のような点についてヒトとの比較を行うことが考えられる。

－ 標的分子の発現、分布、一次構造。ただし、標的分子のホモロジーが高いことは、必ずしも同等の効果が得られることを意味しない。

－ 薬力学

- ・ 結合と占有率、必要に応じて細胞のシグナル伝達を含めた機能発現の結果
- ・ 他の機能ドメインがある場合には、動物におけるそのドメインの機能に関するデータ（例：モノクローナル抗体のFc受容体システム）

－ 代謝および他の薬物動態

－ ヒトと動物の組織を用いた交差反応性試験（例：モノクローナル抗体）

適切な動物モデルを探索した過程は詳細に記載し、その妥当性を示すこと。

適切な動物種が存在しない場合は、その動物にとっての相同タンパク質の利用またはヒト型の標的分子を発現させたトランスジェニック動物の利用が唯一の選択であろう。医薬品と標的分子の相互作用によりヒトで予想されるものと同様の生体反応が得られる場合、データはより有用である。ヒト細胞を用いた *in vitro* 評価系の利用により、適切な追加情報が得られる。

用いられたすべてのモデルの妥当性と限界については、注意深く考察し、添付する書類にすべて記載すること。

4. 非臨床・臨床試験：ヒト初回投与量の設定

初回投与量の設定はヒト初回投与試験の被験者の安全確保において、重要な要素である。用量設定には利用可能なすべての情報を考慮し、ケースバイケースの原則に基づいて行わなければならない。原理の異なるいくつかの方法が利用可能である。

一般には、最も感受性の高い適切な動物種を用いて実施された非臨床安全性試験により求められた最大無毒性量 No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) を、allometric factor または薬物動態学的解析に基づいて補正したものが、最も重要な情報となる。適切な投与量は、分子の特性や臨床試験のデザインに応じて、適切な safety factor を用いてさらに補正することにより算出される。

上記1. に従いリスク要因があると考えられた治験薬では、用量設定のためにその他の方法を考慮すべきである。薬力学に関する解析が用量設定のための有用な情報となり得る。MABEL (Minimal Anticipated Biological Effect Level：最小予測生物学的影響量) を用いる方法が推奨される。MABEL は、ヒトで最小限度の生物学的影響が得られると予測される用量である。この方法を用いる場合は、*in vitro* 試験などから明らかになるように、ヒトと動物の間で治験薬の作用機構に関して生じ得る感受性の違いを考慮する必要がある。下記のようにMABELからヒト初回投与量を算出する際には、safety factor を適用し得る。

MABELの算出には、以下のような薬物動態/薬力学 (PK/PD) データから利用可能なすべての *in vitro* および *in vivo* の情報を利用すること。

- i) ヒトおよび適切な動物種由来の標的細胞における *in vitro* での標的分子との結合および占有率

ii) ヒトおよび適切な動物種由来の標的細胞における *in vitro* での用量反応曲線と、適切な動物種における *in vivo* での用量反応

iii) 適切な動物種への薬理量の投与

可能な限り、MABEL算出のために上記データをPK/PDモデルに統合して解析すること。

ヒトで有害反応が生じる可能性をさらに限定するため、MABELからのヒト初回投与量算出には、safety factorが適用される場合もある。その際には、有効成分の新規性、生物活性、作用機構、種特異性の程度、用量反応曲線の形、MABEL算出の不確かさなどのリスク要因を考慮する。用いた safety factor の妥当性を示すこと。

使用した方法（例：NOAEL、MABEL）により算出されたヒト初回投与量が異なる場合は、正当性が示されない限り、最も低い用量を用いること。

がん患者を対象に従来型の細胞毒性を持つ治験薬の試験を行うような特定の状況では、他の方法を取ることも考えられる。

1.3.2. EMEAガイドラインの特徴

このガイドラインは、TGN1412の事故を受けた今後の対策の一環として作成されている。TGN1412事故の検証にあたった専門家グループからの報告書では、

- ・新規な作用機構を持つ生物薬品
- ・種特異性の高い新薬
- ・免疫系に直接作用する新薬

の3種類を、ヒト初回投与試験で有害反応のおこるリスクが高い、あるいは非臨床試験でのリスク評価が難しい医薬品として挙げ、これらハイリスク薬の品質および非臨床・臨床試験に関する推奨事項が述べられていた。EMEAガイドラインもドラフトの段階では、上記3種類に限定してはいないが、リスクの高い医薬品（化学薬品および生物薬品）を適用対象としていた。ドラフトをもとに、パブリックコメントやワークショップを含めた議論を経て策定されたガイドラインでは、すべての化学薬品および生物薬品を適用対象とし、リスク要因として考えるべきことを述べた形となっている。リスクの程度に関する判断基準は、個々の医薬品によって異なる、という意見が採用されたものと思われる。

遺伝子治療薬と細胞治療薬はドラフトの段階から一貫して適用対象外となっている。

EMEAガイドラインでは、ヒト初回投与試験で有害事象の発生が懸念されるのは、作用機構、標的の性質、あるいは動物モデルの妥当性を考えたときに、リスクが高いという知見がある場合、または、それらが明確でない場合、の2通りであるとされた（図7）。このように、非

ヒト初回投与試験で重篤な有害事象が生じるリスクの予測に関するEMEAガイドラインの考え方

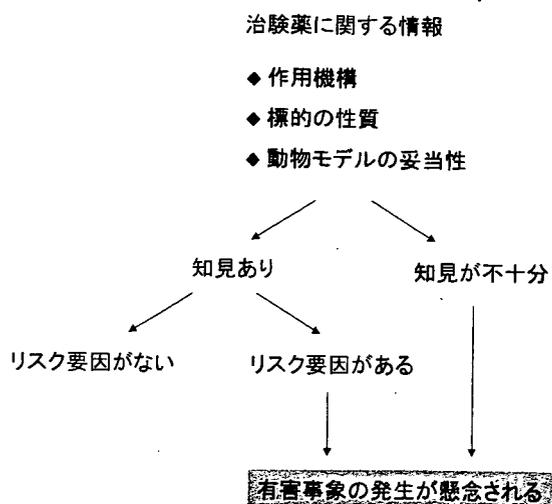


図7

臨床試験から臨床試験への移行に焦点を絞り、ヒト初回投与試験で有害事象が生じるリスク要因に関する考え方を明確に記載した点が EMEA ガイドラインの最も重要な特徴である。

TGN1412 の臨床試験で初回投与量の設定が適切でなかった可能性が高いことを受け、EMEA ガイドラインでは、リスク要因のある医薬品のヒト初回投与量の算出には MABEL を基準とした方法が推奨され、さらに MABEL の算出のための方法が示された。これまで、マイクロドーズ試験のような特殊な場合を除き、臨床投与量は毒性を指標に NOAEL を基準として考えられていたが、リスクの高い医薬品では、薬理作用を基準にヒト初回投与量を算出することを考えるべきであるということが明確に記載されている点も、本ガイドラインの特徴である。

ただし、ヒト初回投与量の設定に MABEL を基準とすることが推奨されるのは、ヒト初回投与試験で有害反応が生じるリスクが高いと考えられる場合であり、すべての治験薬について初回投与量を MABEL 以下とすることが求められているのではない。初回投与量を低く設定することは、臨床試験に必要な被験者数の増加と開発期間の延長につながることも考え、安全性を重視しつつ、個々の医薬品の特性に応じて、最も適切な初回投与量設定を考えるべきであろう。

適切な動物種がない場合の相同タンパク質やトランスジェニック動物の利用について、ICH S6 ガイドラインでは、“should be considered” とされているが、EMEA ガイドラインのドラフトでは、“is strongly recommended” とされた。確定した EMEA ガイドラインでは、“may be the only choice” と、やや表現が弱められている。相同タンパク質やトランスジェニック動物を用いた評価では、有用な情報が得られる場合があるものの、ヒトでの作用を完全に予測し得るものではない等の意見が採用されたものと思われる。TGN1412 の開発過程では、TGN1412 が作製される以前に、マウス抗ラット CD28 抗体 JJ316 (サブクラスは IgG1) を用

いて CD28 アゴニスト抗体の有効性や作用機構が検討されていた。JJ316 は TGN1412 の相同タンパク質であると考えられることもできるが、ラットでは問題となる有害反応が生じていなかったことを考えると、TGN1412 の安全性評価においては、相同タンパク質は有用でなかったと言える。

EMEA ガイドラインでは医薬品の品質に関する留意事項も具体的に記載されている。特に、バイオ医薬品では、医薬品の製造のために細胞を利用すること、有効成分が複雑な構造を持つことなどから、製品の品質が製造工程の影響を受けやすい。すなわち、生産用細胞株、培養条件、精製工程などにより、糖鎖などの修飾部分も含めた最終製品の構造、分解物、不純物プロファイルなどが変動する可能性があり、これらの変化が製品の薬理作用や毒性に影響することも考えられる。有効成分が糖タンパク質である場合は、得られる有効成分が複数の糖鎖構造を持つものの集団であり、構造上の不均一性を示すために、製造工程の変動により特に品質に差が生じやすい。抗体も糖タンパク質であり、糖鎖構造が生物活性に影響することが知られている。その一方で、バイオ医薬品の開発段階では、発現効率や精製効率の向上、混入汚染物質の不活化効率の向上、あるいはコスト削減などのために、製造工程に変更が加えられることが少なくない。基礎研究から非臨床試験、臨床試験と移行するに従い、必要な製品の量も増えるため、スケールアップは必至である。

このような事情を背景に、EMEA ガイドラインでは、非臨床試験で用いられた製品と臨床試験で用いる製品の品質特性に差がないことに注意すべきであること、製造工程に変更が加えられた場合や、製法変更の有無によらず品質特性に差が検出された場合に、臨床試験用の製品を用いた追加の非臨床試験が必要とされる場合があることが明記されている。開発の各段階で製品の品質の一定性を確保するためには、ガイドラインに示されているように、早い段階から

適切な標準物質を作成することが有効であると思われる。

1.3.3. TGN1412のMABEL算出

MABEL (Minimal Anticipated Biological Effect Level) は、ヒトで最小限の生物学的影響が生じると予想される用量、すなわち、ヒトでの用量反応曲線の下限のところに対応する用量であり、ヒト初回投与量をMABEL以下に設定することで、初回臨床試験における有害事象発生を極力避けることができると考えられる(図8)。以下に、専門家グループからの報告書を参考に、TGN1412のMABELについて述べる。

(1) 標的占有率

MABELの算出には、標的占有率が重要な指標の一つとなる。専門家グループからの報告書では、図9に示したとおり、CD28のターンオーバーがない、血液以外への抗体の分布や消失がない、投与後速やかに結合が平衡に達する、という前提のもと、0.1 mg/kgのTGN1412を投与されたヒトでは投与直後のCD28の占有率

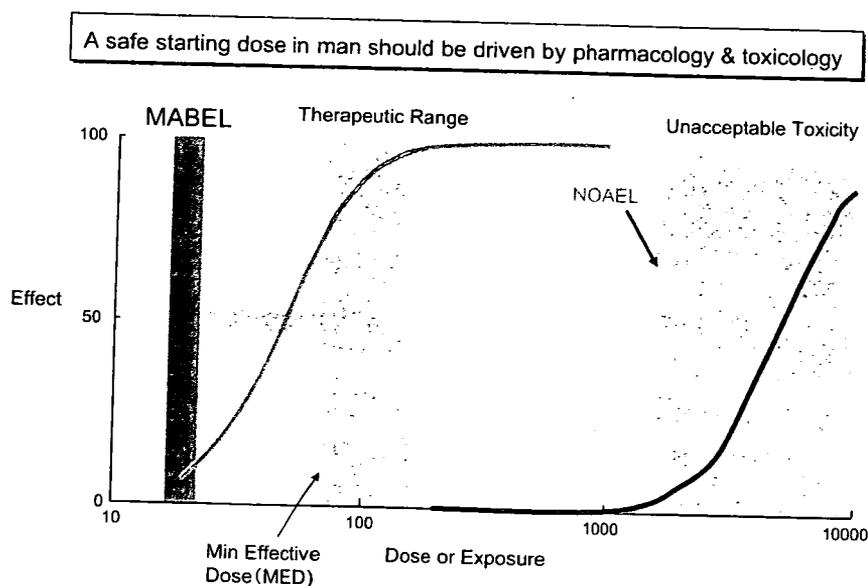
が90.6%になると算出されている。このように高い標的の占有率を示す状態では、薬理作用は最大限に生じていたものと考えられる。TGN1412のようなアゴニスト活性を持つ医薬品では、初期の標的占有率が低いレベルにとどまるよう、用量を設定すべきであろう(図10)。標的占有率が5~10%になるTGN1412の用量は、0.001 mg/kg程度となる⁴⁾。

(2) ヒト細胞を用いた試験の結果

TGN1412と同じ相補性決定領域を持つマウス抗ヒトCD28抗体5A.11を用いた実験では、ヒトT細胞の増殖が認められる最小濃度が0.1 µg/mlであった³⁶⁾。これは、ヒトの血漿の総量を2.5 L、体重を70 kgとすると、約0.0036 mg/kgを投与した時の濃度に対応する。

(3) 動物を用いた試験の結果

マウス抗ラットCD28抗体JJ316を用いた実験では、NOEL (No Observed Effect Level) が< 0.3 mg/kg、薬理活性を示す至適濃度が1~5 mg/kgとされている。したがって、この試験系では、生物学的影響が認められる最小用量は、0.3~1 mg/kgであると考えられる⁴⁾。



EMA Workshop on the Guideline for first-in-man clinical trials for potential high-risk medicinal products. 12 June 2007
Dr. J. Sims (Astra Zeneca) の発表スライドをもとに作成

図8