

半減期法によるヒト neonatal Fc 受容体導入マウスからのヒト
血漿中における抗体濃度推移予測法確立

中村元気

第一章 緒言	1
第一節 Immunoglobulin (抗体) 医薬品治療の重要性	1
第二節 抗体の体内動態	7
第三節 抗体医薬品開発におけるヒト体内動態予測の重要性	12
第四節 本研究の目的	16
第二章 ヒトおよび non-human primates における抗体医薬品線形動態の特徴解明と「半減期法」の提唱	17
第一節 序論	17
第二節 結果	19
2-2-1 ヒトおよび non-human primates における抗体線形 PK の 2-コンパートメントモデル microscopic parameters	19
2-2-2 2-コンパートメントモデルパラメーター値を使用した抗体ヒト PK の simulation	21
2-2-3 ヒトおよび non-human primates における抗体のクリアランス (CL) と消失相半減期 ($t_{1/2\beta}$) の解析	22
2-2-4 ヒトおよび non-human primates における K12、K21 および分布容積に関する解析	24
2-2-5 抗体の血漿中濃度推移における K12 および K21 寄与の解析	25
2-2-6 定常状態分布容積による近似を用いた K10 推定および「半減期法」の提唱	25
2-2-7 Non-human primates (NHP) $t_{1/2\beta}$ によるヒト $t_{1/2\beta}$ 予測および NHP $t_{1/2\beta}$ からのヒト血漿中濃度推移予測法	27
2-2-8 半減期法とシンプリファイドアロメリーの比較	29
第三節 考察	33
第三章 human FcRn Transgenic mouse における抗体医薬品動態の特徴解明	36

第一節 序論	36
第二節 結果	38
3-2-1 hFcRn TgM で検討した抗体のヒトにおける 2-コンパートメントモデル microscopic parameters	38
3-2-2 hFcRn TgM における血漿サンプルの定量系構築	39
3-2-3 hFcRn TgM PK の non-compartment analysis	39
3-2-4 hFcRn TgM PK の 2-コンパートメントモデル解析	43
3-2-5 hFcRn TgM における抗体クリアランス (CL) と消失相半減期 ($t_{1/2\beta}$) の解析	46
第三節 考察	47
第四章 human FcRn transgenic mouse を使用したヒト血漿中濃度 推移予測	49
第一節 序論	49
第二節 結果	50
4-2-1 hFcRn TgM とヒトにおける $t_{1/2\beta}$ の相関	50
4-2-2 hFcRn TgM における $t_{1/2\beta}$ を用いた半減期法によるヒト血漿中濃度推移 予測	51
4-2-3 hFcRn TgM における C_{day7} とヒトにおける $t_{1/2\beta}$ の相関	51
4-2-4 hFcRn TgM における C_{day7} を用いた半減期法によるヒト血漿中濃度推移 予測	52
第三節 考察	54
第五章 本研究の結論及び将来への展望	57
実験の部	61
引用文献	70
謝辞	82

略語一覧

ADCC: antibody-dependent cellular cytotoxicity
ADCP: antibody-dependent cellular phagocytosis
BA: bioavailability
β2M: β2microglobulin
C_{day7}: 投与 7 日後の血漿中濃度
CDC: complement-dependent cytotoxicity
CDR: complementarity determining region
CL: total body clearance
CV: 変動係数
CYP: cytochrome P450
Dedrick plot: species-invariant time method
ECLIA: electrochemiluminescence assay
FcγR: Fc gamma receptor
FcRn: neonatal Fc receptor
Fab: fragment antigen binding
Fc 領域: fragment crystallizable 領域
FDA: 米国食品医薬品局
hFcRn TgM: human FcRn transgenic mouse
H 鎖: Heavy chain:
Homo: human FcRn transgenic mouse (mFcRn^{-/-}. hFcRn Tg +/+)
Hemi: human FcRn transgenic mouse (mFcRn^{-/-}. hFcRn Tg +/-)
ITAM: Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif
ITIM: Immunoreceptor Tyrosine-based inhibitory motif
IVIG: intravenous immunoglobulin
L 鎖: Light chain
Line 32: hFcRn TgM Line 32
Line 276: hFcRn TgM Line 276
MHC: major histocompatibility complex
NCA: non-compartment analysis

NHP: non-human primates

NK 細胞: natural killer 細胞

PBPK: physiological based PK

PD-1: programmed cell death protein 1

PK: 体内動態

PKPD 解析: pharmacokinetics pharmacodynamics 解析

PK profile: 血漿中濃度推移

PMDA: 医薬品医療機器総合機構

QOL: quality of life

RS: respiratory syncytial

$t_{1/2\beta}$: 消失相半減期

T_{max} : 最高血中濃度到達時間

TMDD: target mediated drug disposition

V_{dss} : 定常狀態分布容積

$V_{d\beta}$: 消失相分布容積

第一章 緒言

第一節: Immunoglobulin (抗体) 医薬品治療の重要性

Immunoglobulin (抗体) の構造および機能

植物ではポリフェノール類、魚類・爬虫類などでは毒素に代表される物質を利用して、生体を外敵から守っている。このような生体防御システムについて、顎のある脊椎動物は、細菌・ウイルス・病原性微生物および体に有害な異物を排除する仕組みとして免疫を備えており、この免疫において役割を一部担うのは B 細胞において産生される「Immunoglobulin: 抗体」である (Kelly-Scumpia et al., 2011; Peng et al., 2014)。

B 細胞において、Variable (V 領域)、Diversity (D 領域)、Joining (J 領域)、Constant (C 領域) の gene segment から heavy chain (H 鎖) が構成され、V 領域、J 領域、C 領域の gene segment から light chain (L 鎖) が構成される (Hesslein and Schatz, 2001; Tonegawa, 1983)。脊椎動物であるヒトにおいて、H 鎖と L 鎖は IgG、IgD、IgE、IgA および IgM という 5 つのアイソタイプに組み立てられる。このうちヒトの体内において、最も高濃度で多く存在するのは IgG であり、上市されているほぼ全ての抗体医薬品のアイソタイプは IgG である。IgG は、1 つの fragment crystallizable (Fc 領域) と 2 つの fragment antigen binding (Fab) で構成される (Figure 1-1)。

IgG の Fab は、H 鎖と L 鎖それぞれの V 領域 (VH および VL) から構成されており抗原に結合する。VH と VL は、それぞれ 3 つの complementarity determining region (CDR) と呼ばれる超可変領域が存在し、抗原に結合するアミノ酸の大部分は CDR に含まれている。生体が抗原に暴露されると、抗体産生 B 細胞は体細胞超突然変異 (somatic hypermutation) によって産生抗体の抗原への親和性を高める。B 細胞は、この過程において CDR に変異を入れることで、抗原に対する特異性および親和性を高めた binder を産生する。Somatic hypermutation では V 領域および J 領域に対する変異を導入することで、 $1 \times 10^{12} \sim 10^{15}$ 種類の配列を作成することが可能である (Briney et al., 2019; Glanville et al., 2009)。このようにして脊椎動物は、多様な Fab を持つ抗体の産生を可能としており、任意の外来抗原を認識できる可能性を高めた免疫機能を備えている。

抗体によるターゲットの不活化様式

IgG の Fc は、2 本の H 鎖で構成されており免疫細胞を介した effector 機能を引き起こす。現在までに承認されている抗体医薬品では antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC)、antibody-dependent cellular phagocytosis (ADCP) および complement-dependent cytotoxicity (CDC) を有しているものが存在する。IgG が抗原を発現している標的細胞に対して ADCC/ADCP を引き起こすためには、複数の IgG 分子が effector 細胞に発現している Fc gamma receptor (FcγR) に結合する必要がある (Daeron, 1997)。ADCC は effector 細胞表面に発現している FcγRIIIa と IgG の Fc を介して主に Natural Killer 細胞 (NK 細胞) によって引き起こされる (Bruhns, 2012)。FcγRIIIa は、IgG との結合によって Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif (ITAM) のリン酸化を引き起こし、このシグナルが NK 細胞からパーフォリンやグランザイムを含む細胞傷害性顆粒の分泌を引き起こすことで抗原発現細胞に対して殺作用を示す (Wang et al., 2015)。ADCP は、活性化型 FcγR (FcγRIIa, FcγRIIIa, FcγRIIIb) と抑制型 FcγR (FcγRIIb) を共発現しているマクロファージなどで主に引き起こされる。IgG の Fc が結合すると、活性化型 FcγR は ITAM、抑制型 FcγR は Immunoreceptor Tyrosine-based inhibitory motif (ITIM) のリン酸化を引き起こし、それぞれの FcγR から入るシグナルのバランスによって ADCP は制御されていると考えられている。ADCP では IgG によってオプソニン化されたターゲットをマクロファージなどが貪食することで体内から異物を除去している (Bournazos et al., 2017)。また IgG1 の Fc は、補体である C1q と結合することによって引き起こされるカスケードにおいて、membrane attack protein を構成し、抗体が結合した標的細胞膜に穴を開ける細胞融解によって CDC を引き起こすことも可能である (Reis et al., 2019)。

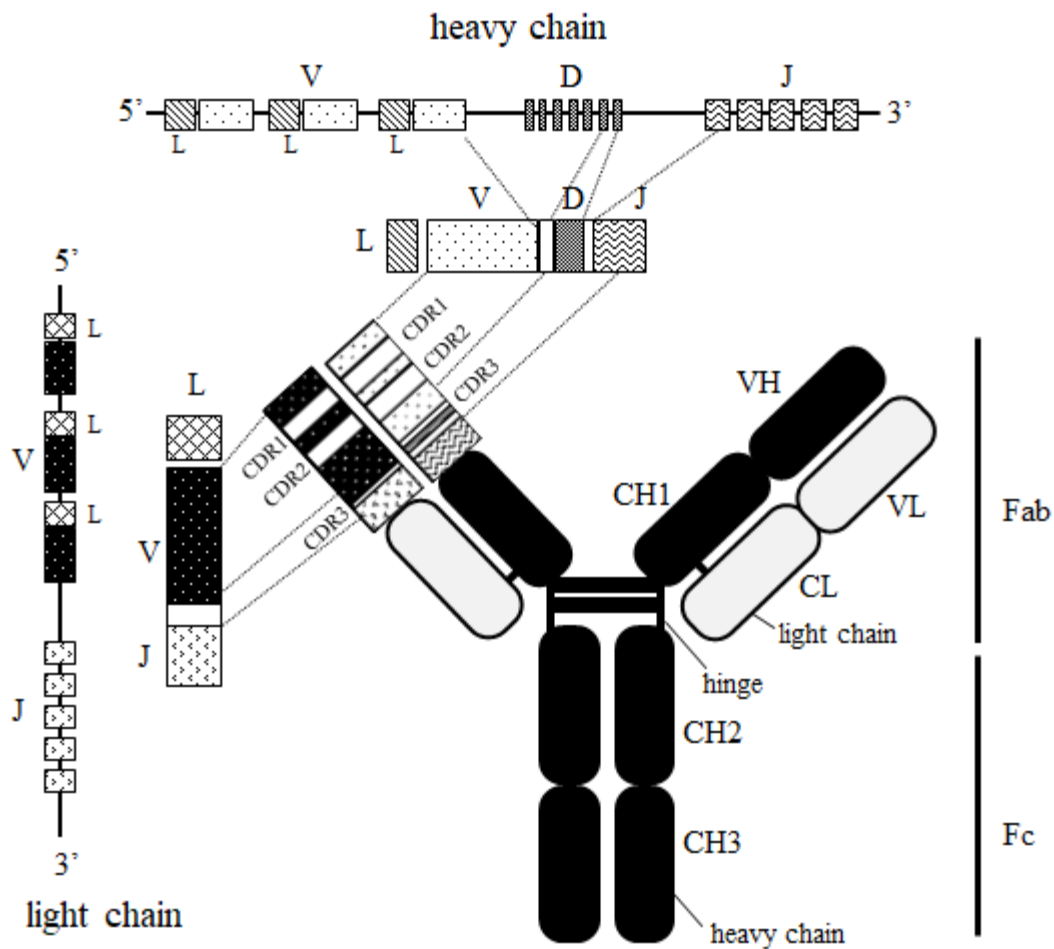


Figure 1-1 Structure of immunoglobulin G (Boyd and Joshi, 2014 から改編)

V: variable region, D: diversity region, J: joining region, CDR: complementary determining region, VH: heavy chain variable domain, VL: light chain variable domain, CH: heavy chain constant domain, CL: light chain constant domain, Fab: fragment antigen binding, Fc: fragment crystallizable.

医薬品としての抗体

世界で初めて医薬品として承認されたモノクローナル IgG は、1985 年に米国食品医薬品局 (FDA) によって承認された OKT3 (Muromonab-CD3) である。モノクローナル IgG が医薬品として承認されたことは、抗体産生 B 細胞と骨髄腫細胞を細胞融合させるハイブリドーマ作成技術により、目的とするモノクローナル IgG の選別と産生が飛躍的に向上したためである (Kohler and Milstein, 1975)。しかしながら、この技術によって産生されるモノクローナル IgG はマウス由来であるため、ヒトに対しては抗原性が強く、ヒトに投与すると中和

抗体による作用の減弱やアナフィラキシーショックが生じる。そのため、本技術にて開発が進められたモノクローナル IgG の医薬品としての利用は限定的であった。

このヒトに対する抗原性の問題は、組換タンパク質作成技術およびトランスジェニック動物作成技術などの進歩によって C 領域ヒト化キメラ抗体や、CDR を除いてヒト化されたヒト化抗体、さらには完全ヒト抗体が作出可能になることで解決された。キメラ抗体の作成方法として、マウス抗体を産生するハイブリドーマからクローニングしたマウス抗体の C 領域に相同組換法によってヒト抗体 C 領域を組み替える方法が挙げられる (Morrison et al., 1984)。ヒト化抗体の作成法として、以下に記載した方法が挙げられる。まず、クローニングされたマウス抗体 V 領域における CDR 配列とヒト抗体における V 領域における固有アミノ酸配列をコードする遺伝子を作成し、ここにヒト C 領域遺伝子を結合させる (Roguska et al., 1994)。次いで、作成した遺伝子をベクターに組み込み、細胞に導入することでヒト化抗体が得られる。完全ヒト抗体の作成法として、ファージディスプレイを用いた方法とトランスジェニックマウスを用いた方法が挙げられる。ファージディスプレイ法は、ウイルスであるファージを利用した方法である (Winter et al., 1994)。抗体の結合部位である VH と VL をリンカーでつないだ single-chain Fv を融合タンパクとして細胞に発現させ、これを材料として選別されたファージに含まれる DNA 配列からアミノ酸を決定することで完全ヒト抗体が得られる。トランスジェニックマウスを用いた方法では、ヒト IgG を産生するマウスから得られる B 細胞を使用し、ハイブリドーマ法で目的とするハイブリドーマをクローニングすることで完全ヒト抗体が取得される (Kellermann and Green, 2002) (Figure 1-2)。

以上のような抗体取得や製造の技術革新によって、近年は抗体医薬品をはじめとするバイオリジック製品の医療における利用の機会が増えてきている。全世界の医薬品売上におけるバイオリジック製品が占める割合は、2010 年には 18%であったが、2018 年には 28%まで増加した。今後もバイオリジック製品の市場はさらに成長すると見込まれており、2024 年には 32%までに増加すると予想されている。2018 年における処方箋薬の売り上げ上位 100 品目を確認すると、バイオリジック製品の売り上げは 1620 億ドルであり、それ以外の製品についての売上は 1430 億ドルであった。さらに、同年にて世界で最も売り上げの高かった医薬品は、抗体医薬品であるヒュミラ (adalimumab) の 205 億ドルであった。以上のように、バイオリジック製品は現代の薬物治療において欠かせないものとなっている (Evaluate, 2019)。

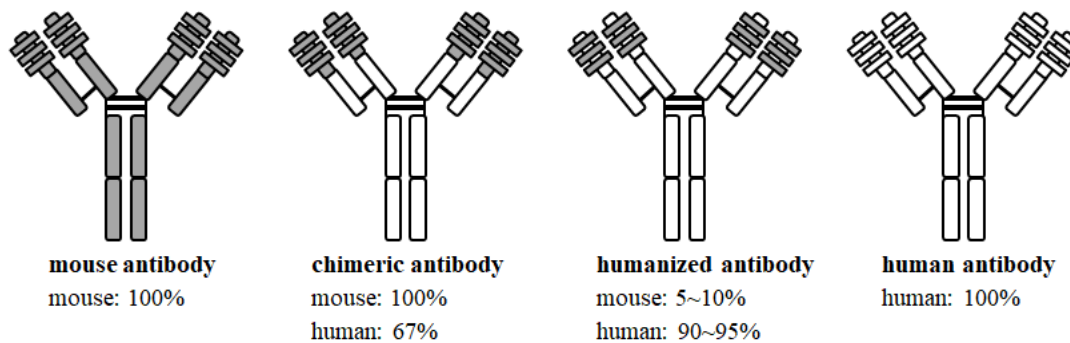


Figure 1-2 Antibody humanization (Dirks and Meibohm, 2010 から改編)

The shaded areas depict molecule fractions of murine origin and the unshaded areas depict those of human origin.

医薬品としての抗体の治療対象疾患領域

医薬品として現在使用されているモノクローナル抗体の多くは、自己免疫疾患や悪性腫瘍に対する治療を対象としており、その他、感染症の治療などにも活用されている (Breedveld, 2000)。

自己免疫疾患領域では、1998年にFDAに承認されたキメラ抗体である *infliximab* と2002年にFDAに承認されたファージディスプレイ法によって世界で初めて創出された完全ヒト抗 $\text{TNF}\alpha$ 抗体である *adalimumab* が代表的である。 $\text{TNF}\alpha$ は、主に活性化された単球とマクロファージによって産生されるサイトカインであり、細胞生存、アポトーシス、炎症反応、細胞分化におけるシグナルパスウェイを活性化する多機能な炎症誘発性サイトカインである。このため、過剰な $\text{TNF}\alpha$ 活性は関節リウマチや乾癬などの炎症性疾患の主な原因の一つとして考えられている。*Infliximab* および *adalimumab* は、ヒト $\text{TNF}\alpha$ に対して高い親和性と選択性を有しており、過剰に発現している $\text{TNF}\alpha$ を中和することで $\text{TNF}\alpha$ 濃度を低下させて炎症性疾患に対して効果を発揮する (エーザイ株式会社, ヒュミラ, 2020; 田辺三菱製薬株式会社, レミケード, 2018)。

FDAから1997年に承認された抗悪性腫瘍薬である *rituximab* は、ヒト $\text{CD}20$ に対するキメラ抗体であり、 $\text{CD}20$ 陽性のB細胞性非ホジキンリンパ腫や、 $\text{CD}20$ 陽性の慢性リンパ性白血病、免疫抑制状態下の $\text{CD}20$ 陽性のB細胞性リンパ増殖性疾患などの治療に用いられている (中外製薬株式会社, リツキサン, 2020)。さらに、programmed cell death protein

1 (PD-1)、PD-1-ligand 1、細胞傷害性 T リンパ球抗原 4 に対するモノクローナル抗体を使用した腫瘍免疫領域での使用が拡大しており、PD-1 に対するヒト化抗体である pembrolizumab が、今後世界にて最も販売される薬になると予想されている (Evaluate, 2019)。

その他の疾患への適応例として、1998 年に FDA に承認されたヒト化抗 respiratory syncytial (RS) ウイルス抗体である palivizumab の、新生児、乳児および幼児における RS ウイルス感染による重篤な下気道疾患の発症抑制を目的としての使用が挙げられる (アッヴィ合同会社, シナジス, 2020)。また、喘息などの呼吸器疾患や、血友病、高コレステロール血症、臓器移植後の急性拒絶反応など、抗体医薬品の適応は幅広くなっている (ファーマ株式会社, ゾレア, 2019; 中外製薬株式会社, ヘムライブラ, 2019)。

このように、抗体が医薬品として幅広く適応されている理由の一つとして、血漿中における抗体の半減期が長いことが挙げられる。この長い血漿中半減期によって、薬物治療実施期間中における抗体医薬品の投与回数を減らすことが可能であり、結果として投薬治療に対する患者の負担が軽減される。この治療に対する負担軽減は、抗体を用いた薬物治療は患者 quality of life (QOL) が高いと言われる要因の一つであるため、今後、新たな抗体医薬品が創出され、様々な疾患に対して使用されていくと思われる。ただし、頻回投与を必要としない抗体医薬品を用いた効果的な治療を達成する上で、体内動態 (PK) を正確に理解した投与計画の立案・遂行が必要とされる。そのため、抗体の PK を理解し、非臨床段階からヒト PK を高い精度で効率的に予測することは、患者満足度の高い薬物治療を実現するための抗体医薬品を新たに創製するために重要である。

第二節:抗体の体内動態

抗体の吸収・分布・代謝・排泄

タンパク質である抗体は分子量が約 150kDa と大きく、親水性が高く、消化管内での安定性が低いことが知られている。そのため、経口などの非侵襲的なルートで投与することが可能な抗体医薬品は、未だ開発されていない (Richter and Jacobsen, 2014)。ただし、静脈内投与だけではなく、抗体は皮下投与および筋肉内投与によっても良好に吸収される。皮下投与として上市されている抗体医薬品のヒトにおける bioavailability (BA) は 60~80% と高いが、投与した全てが循環血中に入るわけではない (Lobo et al., 2004; Zhao et al., 2012)。このことは、投与部位における分解や吸収過程におけるリンパからの消失が原因として考えられているが詳細な機構はまだ解明されていない (Wang et al., 2008)。皮下投与された抗体はゆっくりと全身循環に吸収され、ヒトにおける最高血中濃度到達時間 (T_{max}) は 3~8 日である。この要因として、抗体の大きな分子量のために投与部位から *extracellular matrix* を通過するのに時間がかかることや、リンパ流が遅いためであると考えられている (Richter and Jacobsen, 2014; Zhao et al., 2013)。この皮下への抗体投与は、静脈内への投与と比較して急速な血漿中濃度上昇を抑制できることや、国によっては患者自身で投与可能なことから、薬物治療実施におけるメリットが大きいと考えられている (Hale et al., 2004; Schweighofer and Wendtner, 2010)。

抗体の体内分布について、抗体は高い親水性と約 150kDa という大きな分子量のために、体内における組織への分布は厳しく制限されていることが知られている。報告されているヒトにおける抗体の定常状態分布容積 (V_{dss}) は 50~100 mL/kg であり、血漿 volume である 45 mL/kg とほぼ同等か 2.5 倍程度の大きさである (Dirks and Meibohm, 2010)。従って、抗体の全身分布は血漿と細胞間質に限定されていると考えられ、血漿中抗体濃度はその PK を理解する上で重要と判断される。

抗体は、細胞質に到達できないために化学物質のような cytochrome P450 (CYP) による代謝を受けず、分子量が大きいため腎臓から尿への排泄もない (Christopher, 2000)。このため、抗体の体内からの消失は、タンパク質としてペプチドに分解され、生体内における新たなタンパク合成のエネルギー源として利用される経路で起こっていると考えられている (Wang et al., 2016)。

生体内に投与された抗体は、主に 2 つのメカニズムで消失する (Tabrizi et al., 2006)。1 つ目は投与した抗体に特異的な非線形消失であり、Fab にある CDR がターゲット抗原と結

合することによって引き起こされる (Levy, 1994; Mager, 2006)。このメカニズムは抗原依存的な消失と呼ばれ、主に膜型抗原に対する抗体が膜抗原に結合したまま細胞内に取り込まれ、リソソームで分解されることによって生じる。抗体の体内分布は限定的なことから、抗体がアクセス可能な範囲における膜抗原の発現量は限られているため、臨床で適応される投与量においてしばしば消失の飽和が見られる。そのため、低用量では total body clearance (CL) が大きく、消失の飽和が見られる高用量では CL が小さくなることがある。もう 1 つは非特異的な消失メカニズムで、ピノサイトーシスによる非特異的な取り込みと neonatal Fc receptor (FcRn) によるリサイクリングである (Brambell, 1966; Junghans, 1997; Ober et al., 2004)。FcRn によるリサイクリングはキャパシティが大きく、通常の薬物治療における用量において抗体の PK パラメーターは線形性を示す (Kim et al., 2007)。一方、この FcRn によるリサイクリングのために抗体の消失半減期 ($t_{1/2}$) は長くなり、CL は非常に小さくなる。この動態学的性質は、前述したように、医薬品として抗体を利用する際のメリットである。さらに、この線形 PK を示す非特異的な消失メカニズムは、ターゲットとする抗原に依存しない。そのため、非臨床段階におけるヒト線形 PK の高精度予測は、汎用性があり、様々な疾患領域における新規抗体医薬品の創出に貢献すると期待される。

Neonatal Fc receptor (FcRn) を介した抗体のリサイクリング機構

FcRn は母体と胎児とを隔てる血液胎盤関門において、胎児へ抗体を輸送する受容体として知られていた。この FcRn を欠損 (KO) させた mice を用いた解析などから、抗体の長い半減期に FcRn はリサイクリング機構によって寄与していることが明らかにされている (Brambell, 1966; Ghetie and Ward, 2000; Petkova et al., 2006; Roopenian and Akilesh, 2007; Stern, 1976)。また、FcRn リサイクリング機構は immunoglobulin アイソタイプ間における消失速度の差異を生み出している。IgA や IgE、IgM などの半減期は 2~6 日であるものの、IgG は FcRn を介してリサイクリングされるため、循環血中において 7~22 日と、他のアイソタイプと比較して長い半減期を示すことが知られている (Murphy K, 2008)。

FcRn は α 鎖と β 2microglobulin (β 2M) のヘテロダイマーで構成されている (Kuo et al., 2010)。 α 鎖は、major histocompatibility complex (MHC) class 1 like 分子であり、他の MHC class 1 分子と同様に小胞体から細胞膜表面へ戻り、 β 2M と複合体を形成することで pH 依存的な抗体結合を実現する (Martin et al., 2001)。 β 2M はユビキタスに発現しており、種を越えて機能発現に重要な領域の相同性が高い。事実、ヒトとマウスで比較すると、transmembrane helix および cytoplasmic loop の相動性はそれぞれ 95% および 93% である。

そのため、 α 鎖とヘテロダイマーを構成し、機能発現するという β 2Mの特性は、様々な動物種においてみられる現象と考えられる (Proetzel and Roopenian, 2014)。

FcRn は、IgG の H 鎖における Fc 領域に 2 つの FcRn が同時に結合する (Huber et al., 1993; Sanchez et al., 1999)。FcRn と Fc の結合には前述のように pH 依存性があり、エンドソームにおける pH5-6 では nM オーダーの親和性で強力に結合し、pH7.4 ではほとんど結合しない。この特性のため、IgG の長い半減期は、FcRn との pH 依存的な結合を利用した以下の 3 step によると言える。最初に、循環血中に存在する IgG は非特異的なピノサイトーシスによって血管内皮細胞をはじめとした様々な細胞に取り込まれる (Akilesh et al., 2007)。次に、細胞に取り込まれた IgG はエンドソームにおいて FcRn と結合することで、リソソームにおける分解を回避する (Roopenian and Akilesh, 2007)。最後に、細胞外の生理的な pH である pH7.4 で FcRn と結合していた IgG は乖離し、循環血中にリサイクルされる (Ghetie and Ward, 2000)。このように、FcRn に対する結合と乖離が IgG リサイクリングの本質であり、IgG の pH 依存的な FcRn 結合特性が医薬品としての IgG の血漿中消失半減期に影響を与える要因と言える (Vaccaro et al., 2005)。

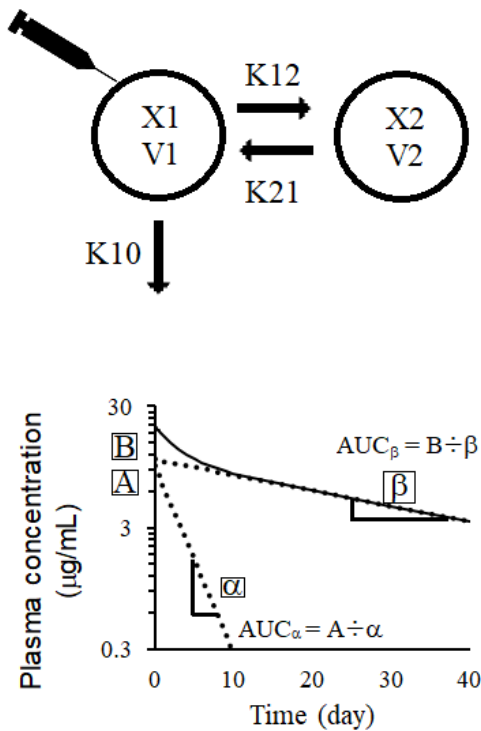
抗体のヒトにおける線形動態

臨床データを活用して抗体の母集団 PK 解析についてまとめた報告において、対象とする疾患や患者集団の違いによらず、27 種類の臨床試験のうち 2 種類を除いて線形 PK は 2-コンパートメントモデルを使用して解析されていた (Dirks and Meibohm, 2010)。前述の 2 種類は 1-コンパートメントモデルで解析が実施されていたものの、両試験は皮下投与時のデータしかないものであった。そのため、皮下投与時の遅い吸収が 2-コンパートメントモデルにおける初期の分布相をマスクしていたためと判断される (Sun et al., 2005; Zhu et al., 2009)。静脈内抗体投与後の血漿中濃度推移 (PK profile) について 3-コンパートメントモデルによる解析が試みられた報告もなされているが、2-コンパートメントモデルと比較して fitting の程度は改善しておらず、パラメーター数の過剰なモデルであったと評価される (Dartois et al., 2007; Ng et al., 2006)。以上から、2-コンパートメントモデルが、ヒトに静脈内投与された抗体の線形 PK を表現する上で、最も適切なモデルであると考えられる。2-コンパートメントモデルにおける分布容積パラメーターとして、セントラルコンパートメントの分布容積を表す V1 とペリフェラルコンパートメントの分布容積を表す V2 がある。抗体投与後のヒトにおけるこれらパラメーターの中央値およびレンジについて、V1 はそれぞれ 3.1 L および 2.4~5.5 L、V2 はそれぞれ 2.8 L および 1.3~6.8 L であることが報告されている。 (Dirks

and Meibohm, 2010)。V1 の値はヒト血漿体積と近似しており、生体内において抗体の分布が厳しく制限されていることを速度論的に裏付けている (Figure 1-4)。

内因性 IgG の CL は、ヒト体重を 70 kg とし、抗体の分布容積と循環血中における内因性 IgG 濃度から見積もると約 3 mL/day/kg (0.21 L/day) である (Waldmann and Strober, 1969)。抗体医薬品としての IgG の CL 値は 2.9~7.1 mL/day/kg (0.2~0.5 L/day) であり、内因性 IgG の CL 値と近い値であった (Dirks and Meibohm, 2010; Wang et al., 2008)。しかしながら、抗体医薬品種ごとに CL 値は異なっており、これは抗体ごとに FcRn や FcγR に対する親和性が異なるためであると考えられる。従って、医薬品としての抗体を市場に出すためには、開発された抗体医薬品ごとに PK の精査を実施することが必要とされる。非臨床段階におけるヒト PK 予測は、安全に臨床試験を進めるための初回投与量だけではなく、患者 QOL 向上に向けた有効用量や想定される投与頻度を設定する上で必要とされる。そのため、精度の高いヒト PK 予測法の確立は極めて重要である。加えて、高い特異性と親和性によって標的抗原を中和する抗体の場合は、その濃度変化が薬効発現に大きく影響することから、CL などの暴露だけでなく PK profile についても正確かつ効率的に予測することが求められる。

Two-compartment model



$$\begin{aligned}\frac{dX1}{dt} &= -K12 \times X1 + K21 \times X2 - K10 \times X1 \\ &= V1 \frac{dC1}{dt}\end{aligned}$$

$$\frac{dX2}{dt} = K12 \times X1 - K21 \times X2$$

$$K21 = \frac{A \times \beta + B \times \alpha}{A + B}$$

$$K12 = \alpha + \beta - K21 - K10$$

$$K10 = \frac{\alpha \times \beta}{K21}$$

$$C = A \times e^{-\alpha t} + B \times e^{-\beta t}$$

Figure 1-4 Two-compartment model

X1: amount in central compartment, X2: amount in peripheral compartment, K10: central elimination rate, K12: central to peripheral distribution rate, K21: peripheral to central distribution rate, V1: distribution volume in central compartment, V2: distribution volume in peripheral compartment, A: first macro constant, B: second macro constant, α : first rate constant, β : second rate constant, AUC_α: exposure in distribution phase, AUC_β: exposure in elimination phase.

第三節:抗体医薬品開発におけるヒト体内動態予測の重要性

抗体のヒト PK 予測

抗体の生体内分布容積は小さく、さらに動物種間においてその分布容積に大きな差異はないため、ヒト PK 予測としては CL 予測に焦点が当てられている。これまでに抗体 PK のヒト予測は、アロメトリーおよび species-invariant time method (Dedrick plot) などのエンピリカルアプローチや target mediated drug disposition (TMDD) モデルおよび physiological based PK (PBPK) モデルなどのメカニスティックアプローチを含めて様々な報告がある (Baxter et al., 1995; Davda et al., 2008; Glassman and Balthasar, 2016; Oitate et al., 2012; Xiang et al., 2013)。抗体のヒト線形 PK 予測では、これら二つのアプローチの中で、エンピリカルアプローチが主に活用されている。

エンピリカルアプローチの一つであるアロメトリーを活用したヒト PK 予測法として、シンプルアロメトリー、シンプルファイドアロメトリー、そして補正率を使用したアロメトリーの 3 種類について取り組まれてきた。シンプルアロメトリーは複数の動物種におけるパラメーター値を体重と相関させることでヒトの PK を予測する方法である。これまでに、マウスやラット、ウサギ、ヒツジ、イヌ、non-human primates (NHP) から得られた値を使用して実施されており (Kelley et al., 2006; Lin et al., 1999; Mahmood, 2009; Vugmeyster et al., 2008)、Ling らは、3 種以上の動物種データを使用したヒト予測の実施を推奨している (Ling et al., 2009)。一方、抗体の線形 PK を支配している FcRn との親和性に種差があることが明らかになってきたことから、NHP のような FcRn との相互作用がヒトと近い動物 1 種のデータから固定した Scaling exponent (べき乗) を使用して予測する手法に変更されていった (Ober et al., 2001; Petkova et al., 2006)。この手法はシンプルファイドアロメトリーと呼ばれており、式 1 にその基本換算式を示した (式 1)。

$$\text{Human parameter} = \text{NHP parameter} \times \left(\frac{\text{Human BW}}{\text{NHP BW}} \right)^{(\text{Scaling exponent}-1)} \quad \text{式 1}$$

BW: Body weight

このシンプルファイドアロメトリーによるヒト PK 予測を 12 種類の抗体を含む 34 種類のタンパク質製剤に適応した結果、NHP 1 種のデータから体重にべき乗として 0.80 を適応することで、CL について実測値と 2 倍以内の差に予測値が収まったのは検討したすべての抗体の 90%であったことが報告された (Wang and Prueksaritanont, 2010)。また、線形 PK を

示す抗体の予測について、NHP データを活用し、べき乗に 0.85 を使用することで精度が高かったことが報告されている (Ling et al., 2009)。さらに、抗原の種類に応じてべき乗を変更することも提案されており、液性抗原および膜抗原に対する抗体のヒト CL 予測については、べき乗にそれぞれ 0.79 および 0.96 を用いることで 2 倍以内の範囲に差異が留まったと報告されている (Oitate et al., 2011)。補正率を使用したアロメトリーは、シンプルアロメトリーによる予測を改善するために、動物種における maximum life span potential や brain weight でさらに補正する方法である (Mahmood, 2009)。しかしながら、この補正には動態変動メカニズムが十分に考慮されていないことが問題点として挙げられる。以上の点から、アロメトリーを活用したヒト PK の予測は、「代入するべき乗値は、複数の論文で近似値が結論付けられており、NHP 1 種のデータからの予測精度が高い」という理由からシンプルファイドアロメトリーを活用することが現在の主流である (Deng et al., 2011)。

アロメトリー以外のエンピリカルアプローチとしては、非臨床動物で得られた PK profile を動物とヒトにおける寿命の違いで補正する Dedrick plot が挙げられる (Dedrick, 1973)。様々な動物種について寿命と体重とは相関することから、体重の種差にべき乗を適応し、PK 予測における時間が関わるパラメーターを動物時間からヒト時間に転換することで予測を実現している (West and Brown, 2005)。NHP のデータを適応した Dedrick plot について、シンプルファイドアロメトリーと同じべき乗を使用した際には、アロメトリーと同じ予測結果となるものの、アロメトリーとは異なり、PK profile の表現が可能である。この特性上、複数用量での反復投与時の暴露を予測することも可能であることから、様々な臨床プロトコールにおける対象薬の暴露と薬効・毒性について考えることができる (Deng et al., 2011; Ling et al., 2009; Oitate et al., 2012)。

PK profile の表現はターゲット抗原が血漿中の液性抗原であり、投与した抗体による抗原の中和が作用機序の場合には特に必要とされる。Gram が報告しているように、投与抗体による中和率の計算には PK profile 予測が必要とされる (Gram, 2016)。さらに、式 2 に記載した膜抗原に対する抗体の占有率 (全抗原の中で抗体が結合している抗原の割合) を考慮すると、血漿中抗体濃度が薬効・毒性に対して直接的な影響を及ぼすと言える (式 2)。

$$\text{膜抗原の占有率(\%)} = \frac{\text{血漿中抗体濃度}}{(\text{血漿中抗体濃度} + \text{親和性})} \times 100 \quad \text{式 2}$$

そのため、時系列的な投与抗体医薬品の薬効・毒性発現を理解する上で、PK profile

予測は大きく貢献する。

これまで述べてきたように、ヒトにおける抗体 PK の線形領域は 2-コンパートメントモデルによって表現可能であり、抗体 PK profile 予測についてシンプリアイドアロメトリーや Dedrick plot の活用にて、高い精度の予測が達成されてきている。そのため、抗体のヒト PK profile 予測として、NHP 1 種のデータを 2-コンパートメントモデルで解析後、得られた速度定数をシンプリアイドアロメトリーによりスケールリングされたパラメーター値を使用した実施例が報告されるようになった (Li et al., 2015; Vugmeyster et al., 2013)。一方、NHP を用いた試験は必要な原料や飼育スペースなどのコストがかかることから効率が悪い。そのため、抗体医薬品創製の効率性を高めるためには、スループットの高い試験系への置換が必要である (Ling et al., 2009)。さらに、動物福祉の観点から NHP の使用は厳しく制限されていることから、げっ歯類などへの代替が必要である。

抗体のヒト PK 予測における non-human primates (NHP) 代替の重要性

現在、NHP を用いたヒト PK 予測が主流であるものの、高コストとそれに伴う試験数の制限などの効率性に問題がある。げっ歯類の代替は、同コストにおける検討項目の幅を広げることが可能であることから、スループット性や試験内容の向上につながると期待される。さらに、動物福祉における Replacement, Refinement, Reduction (3Rs) の観点から、国際的に NHP の使用が制限されてきており、げっ歯類などへの代替について検討する必要性が増している。事実、日本においても環境省の「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準の解説」にて、可能な限り下等な動物への代替を検討すべきであると記されている (National centre for the Replacement Refinement & Reduction of animals in research, 2019; 環境省, 2017)。従って、今後、患者の健康に貢献するような質の高い抗体医薬品の創出を進めていく上で、NHP 以外の動物種を活用した精度の高いヒト PK 予測法の開発が要求されてきている。

抗体の PK に関与する FcRn の相動性はヒトと NHP との間で高く、ヒト FcRn の抗体に対する親和性は NHP FcRn の抗体に対するものと近似していることが知られている。これらを理由として、抗体の線形 PK に関して、NHP データを使用した高精度ヒト PK 予測が実現していると考えられる。げっ歯動物であるマウスの FcRn は、ヒトの FcRn と比較しヒト IgG に対する高い親和性を示す。そのため、マウス FcRn を発現している野生型マウスを活用しても高精度ヒト PK 予測は困難であると言える。この点を解決するげっ歯類モデルとして、マウス FcRn が KO され、ヒト FcRn を発現導入している human FcRn transgenic mouse (hFcRn

TgM) が報告されている (Petkova et al., 2006; Proetzel and Roopenian, 2014)。hFcRn TgM は複数のラインが存在しており、解析によく用いられるラインとして、天然ヒト FcRn のプロモーターを保有している Line 32 と、チキン β アクチンプロモーターを保有している Line 276 が挙げられる (Avery et al., 2016; Haraya et al., 2014; Tam et al., 2013)。

Line 32 の活用例として、Tam らが 7 種類の抗体について PK 予測を行っており、消失 $t_{1/2}$ および CL についてヒトの値とそれぞれ良く相関することを報告している (Tam et al., 2013)。さらに、本 7 種類の抗体 PK 予測について、Line 32 に示された CL 値は NHP の CL 値と比して約 3 倍の高値に留まっていた。このことは、hFcRn TgM にて示される抗体の体内動態は NHP にて示されるものと比較的近似することを示唆しており、マウスと NHP とのハンドリング (解析に使用する際の週齢など) を考慮すると、hFcRn TgM を活用したヒト PK 予測は簡便さと迅速さの観点から NHP を活用したものと比して有意性が高い可能性を示している。Line 276 を活用した例として、線形 PK を示す 9 種類の抗体および Fc fusion の $t_{1/2}$ について Line 276、野生型マウス、そして NHP とヒトとの間で比較されており、Line 276 での $t_{1/2}$ がヒトでの $t_{1/2}$ と最も良く相関した (Haraya et al., 2014)。このことは、Line 276 はヒト PK 予測を行う上で、NHP よりも優位性が高いことを示唆している。さらに、hFcRn TgM の Line 32 で得られた CL について、べき乗に 0.93 を代入したシンプリファイドアロメトリーによって、予測値はヒトで得られる CL 値の 2 倍以内に収まっていることから、本マウスの抗体医薬品のヒト CL 予測における有用性が示唆されている (Avery et al., 2016)。

以上のように、hFcRn TgM を活用した抗体医薬品のヒト体内動態パラメーター予測精度の高さから、本マウスのヒト PK 予測への有用性は高いと判断される。一方、血漿中抗体医薬品濃度推移などの PK profile 予測は、これまでほとんど報告されていない (Betts et al., 2018)。2-コンパートメントモデルで表されるヒト PK profile を表現するには、Figure 1-4 にある分布相と消失相を表す部分を構成する 4 つの定数 (パラメーター) を予測する必要がある。この 4 つのパラメーターは FcRn 以外の生理学的な性質が影響すると考えられており、ヒトと血流が大きく異なるげっ歯類からの 4 種類全てを高精度で予測することは困難であると考えられる。抗体のヒト PK における分布のファクターについて、その高い親水性と大きな分子量によって厳しく制限されていることから、分布の実験的予測は絶対ではないと推察される。このように、個別の抗体医薬品について予測すべきパラメーターを 4 種の中から絞り込み、その絞り込んだパラメーターのみを hFcRn TgM を用いた解析から高精度に予測することが可能であれば、本マウスを活用した現実的なヒト PK profile 予測が実現可能と考えられる。

第四節:本研究の目的

現在は NHP を主に使用したヒト PK 予測にて抗体医薬品の非臨床試験が実施されている。一方、迅速・簡便な高精度ヒト PK profile 予測の実現と、3Rs などの実験動物倫理の問題を考慮すると、げっ歯動物を活用したヒト PK profile 予測法の確立が望まれている。前節までに述べた研究背景などを考慮し、本研究はヒト PK profile 予測法の一つとして、げっ歯類である hFcRn TgM を使用したヒト PK profile 予測法を確立することを目的とした。

第二章では、ヒト PK profile 予測において予測すべきパラメーターの絞りこみを行うため、ヒトと NHP における抗体の線形 PK を 2-コンパートメントモデルで解析し、それぞれの特徴を明らかにした。用いた抗体について半減期が動態学的な特徴として示されたことから、PK profile を表現する方策として新たに「半減期法」を確立した。本半減期法が従来のアロメトリー法の一つ、シンプリファイドアロメトリー法と比して抗体医薬品のヒト PK 予測を行う上で精度として十分かを、NHP $t_{1/2\beta}$ から予測したヒト $t_{1/2\beta}$ を半減期法に適応した profile 予測を行った。第三章では、hFcRn TgM における抗体 PK の動態的特徴を明らかにすることを目的として、入手可能な既承認抗体医薬品について hFcRn TgM で単回 PK 試験を実施した。第四章では hFcRn TgM のデータからのヒト PK profile 予測に向けて、hFcRn TgM から予測されるヒト $t_{1/2\beta}$ を第二章で確立した「半減期法」に適応し、CL について予測精度を評価した。

第二章:ヒトおよび non-human primates における抗体医薬品線形動態の特

徴解明と「半減期法」の提唱

第一節:序論

たんぱく質製剤である抗体医薬品は消化管における安定性が低いために、静脈内投与が主な投与経路である (Richter and Jacobsen, 2014)。それ以外には皮下投与や筋肉内投与が利用されており、投与後数日で T_{max} となる遅い吸収であるが、BA は 50~80%と吸収性は高い (Lobo et al., 2004; Zhao et al., 2012)。抗体は、大きな分子量と高い親水性によって種を問わず体内分布は厳しく制限されているため分布容積は小さい (Dirks and Meibohm, 2010)。また、細胞内に到達できないため CYP による代謝は受けず、大きな分子量のために腎臓からの尿排泄も受けない (Christopher, 2000)。抗体の循環血中からの消失経路は、ピノサイトーシスによる取り込みと FcRn によるリサイクリングによる非特異的な線形 PK と、主に膜抗原への結合と抗体-抗原複合体の細胞への取り込みによる特異的な非線形 PK の 2 種類である (Tabrizi et al., 2006)。このうち、非特異的な線形 PK は、抗体医薬品を開発するうえで疾患領域を問わず全ての抗体で考慮すべき重要な消失経路である (Brambell, 1966; Junghans, 1997; Ober et al., 2004)。これまでに、ヒトにおける線形 PK は、2-コンパートメントモデルで表現できることが報告されている (Dirks and Meibohm, 2010)。

精度の高いヒト PK 予測は、候補化合物の成功確率の見極め、安全に臨床試験を進めるための初回容量設定、ヒトで薬効を示すための適切な投与レジユメ設定において重要である。ケミカルな低分子化合物と同様に、抗体も各抗体固有のヒト PK を示すために、開発候補抗体ごとのヒト PK 予測が必要であると考えられる。抗体 PK のヒト予測については、複数動物種を使用したアロメトリー法が報告されてきたが、ヒト抗体の FcRn への親和性における種差が明らかとなったことから、ヒト FcRn との相動性が高く、さらにヒト抗体に対する親和性がヒト FcRn に近い NHP 1 種の値から固定したべき乗でヒト予測を行うシンプリファイドアロメトリー法が主流となった (Ober et al., 2001; Petkova et al., 2006)。アロメトリー法では CL や V_{dss} といった暴露に関するパラメーターが予測されていたが、薬理作用と PK をつなぐ PKPD 解析には PK profile が必要なために profile 予測法の確立が必要であった。抗体のヒト PK profile 予測法としては Dedrick plot が報告されており、この方法は、NHP データの時間軸をシンプリファイドアロメトリーと同じべき乗でヒト時間にスケーリングする方法であ

る (Deng et al., 2011; Ling et al., 2009; Oitate et al., 2011)。このことから、2-コンパートメントモデルにおける速度定数 (K_{10} , K_{12} , K_{21}) を NHP からシンプリファイドアロメトリーによって予測し、種差の小さい分布容積である V_1 に NHP の値を使用してヒト PK profile 予測が行われるようになった (Li et al., 2015; Vugmeyster et al., 2013)。これまでに報告されているヒト予測法は、ヒトと相関関係が確認できた非臨床モデルからの予測法であり、抗体のヒトにおける動態的な特徴に基づいたヒト PK profile 予測法はこれまでに確立されていない。

本研究においては、ヒト予測で主に使用されている NHP における抗体 PK のデータを収集し、2-コンパートメントモデル解析を実施した。得られたパラメーター値から、ヒト-NHP 間にて、抗体ごとの動態の違いが現れるパラメーターと、ヒトにおける抗体 PK profile に対し寄与が小さいパラメーターを明らかにした。抗体のヒト PK profile を予測する上で必要とされるパラメーターの絞り込みを行ったところ、消失相半減期 ($t_{1/2\beta}$) が各抗体固有の情報であることが示された。この知見を基に、ヒトにおける抗体 PK パラメーターの幾何平均値と各抗体固有の $t_{1/2\beta}$ にて PK profile を表現できる方法、「半減期法」を開発した。この「半減期法」の有用性を提唱するため、抗体医薬品について NHP $t_{1/2\beta}$ から予測したヒト $t_{1/2\beta}$ を半減期法に適応したヒト PK profile 予測の結果と、シンプリファイドアロメトリー法によるヒト PK profile 予測での結果とを比較した。以降、得られた結果を詳述する。

第二節:結果

2-2-1 ヒトおよび non-human primates における抗体線形 PK の 2-コンパートメントモデル microscopic parameters

線形領域における解析に使用したヒトおよび NHP のデータを Table2-1 に示す。ヒトについて 24 抗体の線形 PK 情報を収集し、2-コンパートメントモデルの microscopic parameters (V1、K10、K12、および K21) を得た。同じ抗体について NHP のデータが入手可能であったものはカニクイザルが 14 抗体、アカゲザルが 5 抗体の合計 19 抗体であった。ヒトで得られた V1、K10、K12 および K21 の幾何平均値はそれぞれ、45.1 mL/kg、0.0832 day⁻¹、0.275 day⁻¹ および 0.355 day⁻¹ であり、変動係数 (CV) はそれぞれ、22.6%、57.8%、92.9% および 96.1% であった。NHP で得られた V1、K10、K12 および K21 の幾何平均値はそれぞれ、39.5 mL/kg、0.156 day⁻¹、0.534 day⁻¹ および 0.710 day⁻¹ であり、CV はそれぞれ 27.0%、68.8%、145% および 159% であった。分布容積である V1 はヒトと NHP 共に血漿 volume に近い値が得られ、さらに CV (%) が 30 以下であったことから、抗体間差は小さいことが示唆された。一方で、速度定数である K10、K12 および K21 については CV (%) が 69% 以上であったことから、抗体間差は大きいことが示唆された。また、2-コンパートメントモデル解析から得られた V_{dss} について、ヒトおよび NHP における幾何平均値はそれぞれ、81.0 mL/kg および 71.1 mL であり、CV はそれぞれ 23.8% および 35.3% であった。

Table 2-1 Two-compartment model parameters in human and non-human primates for selected monoclonal antibodies

Parameter	Human					NHP				
	V1	K10	K12	K21	ref	V1	K10	K12	K21	ref
Unit	mL/kg	day ⁻¹	day ⁻¹	day ⁻¹		mL/kg	day ⁻¹	day ⁻¹	day ⁻¹	
Raxibacumab	48.3	0.0521	0.131	0.202	1	42.7	0.125	0.544	0.696	1
Cetuximab	50.2	0.229	0.480	0.533	2	22.8	0.224	10.5	17.7	3
Basiliximab	53.1	0.237	1.12	1.02	4	38.5	0.193	0.471	1.32	5
Siltuximab	64.6	0.0700	0.770	1.82	6	33.6	0.0914	0.356	0.351	7
Infliximab	43.7	0.0892	0.562	0.585	8					
CNTO5825	37.4	0.0596	0.188	0.300	9	35.9	0.174	0.274	0.488	10
Ramucirumab	45.3	0.142	0.381	0.583	11	28.2	0.178	0.454	0.637	11
Pertuzumab	34.9	0.108	0.390	0.482	12	37.3	0.131	0.380	0.389	13
Trastuzumab	47.7	0.103	0.204	0.261	14	34.7	0.228	1.59	0.913	15
Bevacizumab	40.4	0.0833	0.213	0.341	16	41.1	0.139	0.228	0.223	16
Belimumab	38.8	0.151	0.158	0.173	17	46.3	0.143	0.309	0.326	18
Nivolumab	69.9	0.0506	0.111	0.155	19	58.9	0.0615	0.122	0.0902	19
Natalizumab	41.8	0.116	0.624	1.01	20					
Mepolizumab	42.5	0.0638	0.229	0.324	21	38.1	0.0978	1.87	2.37	22
Motabizumab	32.9	0.0766	0.609	0.659	23	53.5	0.225	0.230	0.793	24
Motabizumab-YTE	32.0	0.0194	0.179	0.190	23	59.7	0.0394	0.139	0.383	24
Panitumumab	41.8	0.0620	0.366	0.908	25	28.5	0.346	1.29	2.21	26
Palivizumab	34.5	0.104	0.427	0.326	27	29.4	0.235	0.841	1.21	28
Efalizumab	73.4	0.104	0.478	0.588	29					
Humicade	43.5	0.101	0.194	0.124	30	47.0	0.609	0.700	0.452	31
Canakinumab	56.1	0.0498	0.111	0.131	32	45.6	0.0888	0.229	0.311	32
Vedolizumab	45.6	0.0498	0.0373	0.0717	33					
Tremelimumab	52.8	0.0649	0.112	0.136	34					
Adalimumab	37.9	0.0966	0.525	0.593	35	53.5	0.230	1.05	1.31	35
Geometric mean	45.1	0.0832	0.275	0.355		39.5	0.156	0.534	0.71	
CV(%)	22.6	57.8	92.9	96.1		27.0	68.8	145	159	

Reference

1: (Raxibacumab, 2009), 2: (Fracasso et al., 2007), 3:(Che et al., 2009), 4: (Mentre et al., 1999), 5: (Basiliximab, 2002), 6: (Puchalski et al., 2010), 7: (Wang et al., 2014), 8: (Xu et al., 2008), 9: (van Hartingsveldt et al., 2013), 10: (Nnane et al., 2015), 11: (Ramucirumab, 2015), 12:

(Agus et al., 2005), 13: (Pertuzumab, 2013), 14: (Tokuda et al., 1999), 15: (Ttastuzumab, 2001), 16: (Bevacizumab, 2007), 17: (Belimumab, 2011), 18: (Halpern et al., 2006), 19:(Nivolumab, 2014), 20: (Natalizumab, 2004), 21: (Smith et al., 2011), 22: (Tam et al., 2013), 23: (Robbie et al., 2013), 24: (Zheng et al., 2012), 25: (Rowinsky et al., 2004), 26: (Panitumumab, 2010), 27: (Palivizumab, 2002), 28: (Xiang et al., 2013), 29: (Bauer et al., 1999), 30: (Stephens et al., 1995), 31: (Davda et al., 2008), 32: (Chakraborty et al., 2012), 33: (Vedolizumab, 2013), 34: (Ribas et al., 2005), 35: (Adalimumab, 2008).

2-2-2 2-コンパートメントモデルパラメーター値を使用した抗体ヒト PK の simulation

24 種の抗体について、ヒトで得られた 2-コンパートメントモデルのパラメーター値およびパラメーターの幾何平均値を用いて立式し、用量を 1 mg/kg として急速静脈内投与した際の血漿中濃度推移を simulation した (Figure 2-1)。幾何平均値を用いた simulation において、投与 2 日後では消失相の寄与は 80% であり、分布相が主に寄与しているのは投与 2 日以内と考えられた。各抗体についてヒトパラメーター値にて simulation した際の結果について、投与 2 日後の血漿中濃度は、幾何平均値を使用した simulation 値と比して 2 倍以内の差異に留まった。一方、投与 7 日後、14 日後、及び 28 日後においては、2.18 倍、3.33 倍、7.96 倍の違いに広がった。

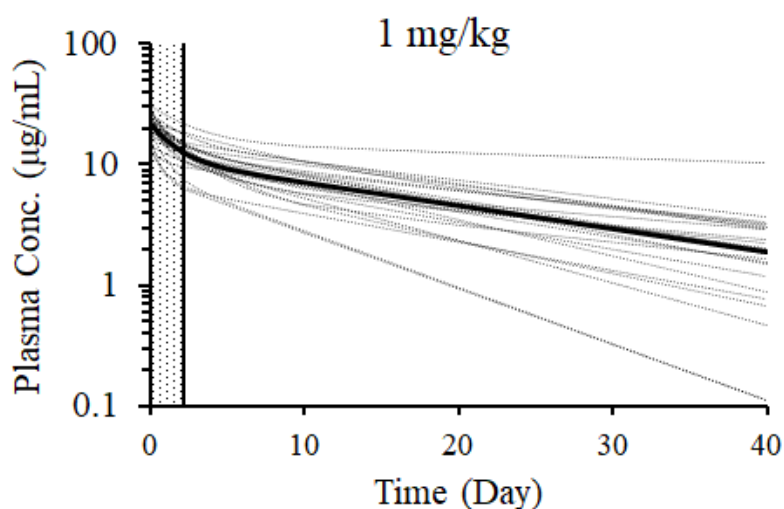


Figure 2-1 Simulated dose-normalized human PK profile for 24 monoclonal antibody
Simulation was conducted using collected two-compartment model parameters in human.

Each monoclonal antibody (dotted lines), human geometric mean values (solid line).

2-2-3 ヒトおよび non-human primates における抗体のクリアランス (CL) と消失相半減期 ($t_{1/2\beta}$) の解析

暴露全体 (AUC_{inf}) に対する分布相 AUC (AUC_{α}) と消失相 AUC (AUC_{β}) の割合を解析した。その結果、ヒトでは belimumab と vedolizumab 以外の AUC_{β} は AUC_{inf} の 80% 以上、NHP では humicade 以外の AUC_{β} は AUC_{inf} の 80% 以上であった。 AUC_{inf} に対する AUC_{β} の割合について、その幾何平均値はヒトおよび NHP において 91.6 および 91.5 であった (Figures 2-2A, B)。CL に主に寄与しているのは消失相であることが示唆されたことから、 $t_{1/2\beta}$ と CL との相関性を解析したところ、ヒト、NHP 共に逆相関を示し、 R^2 はヒトおよび NHP でそれぞれ 0.824 および 0.622 であった (Figures 2-3A, B)。

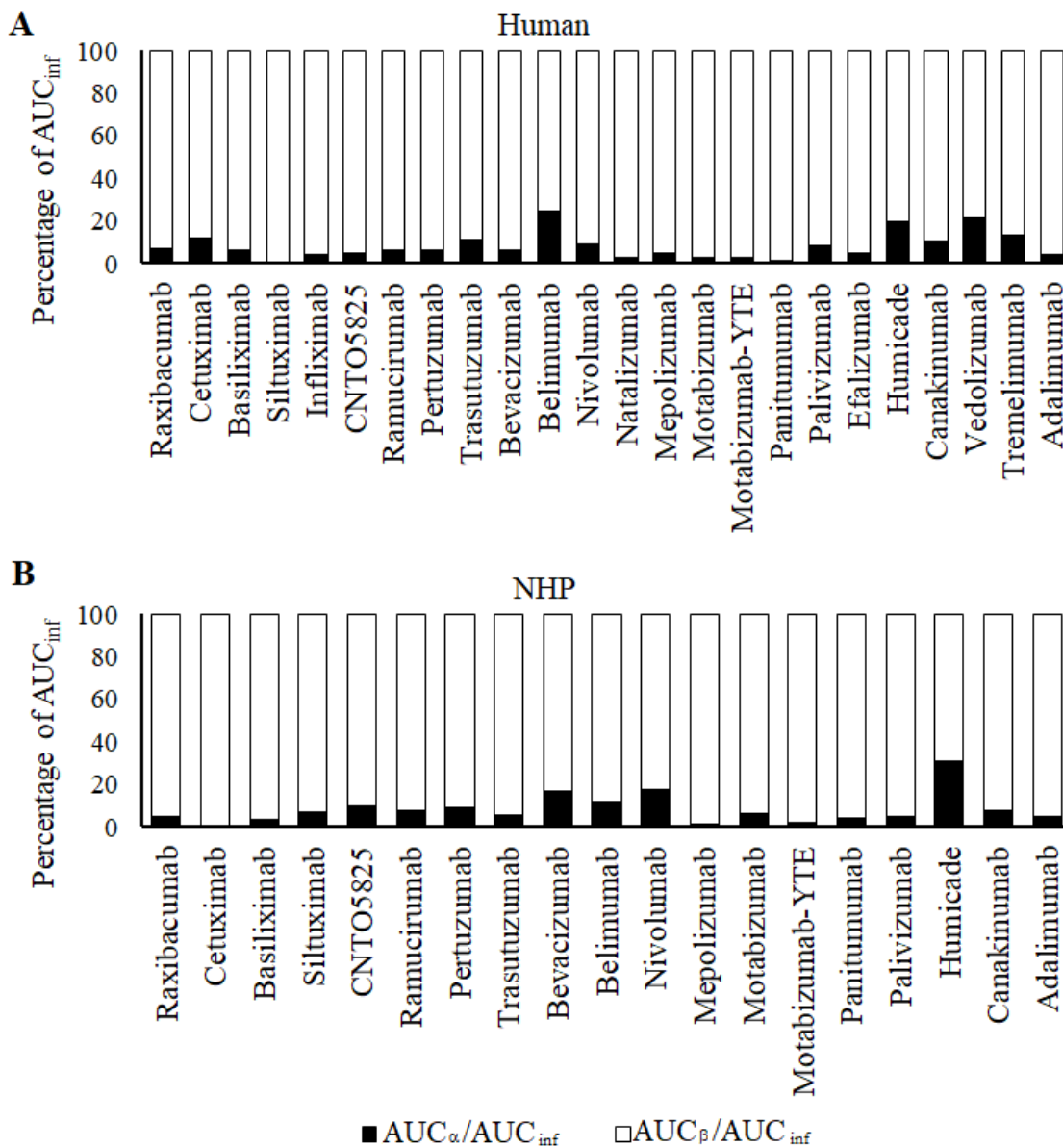


Figure 2-2 Fraction percentages of exposure for the distribution phase (AUC_α) and elimination phase (AUC_β)

Fraction percentages of collected monoclonal antibody in human (A), and non-human primates (B).

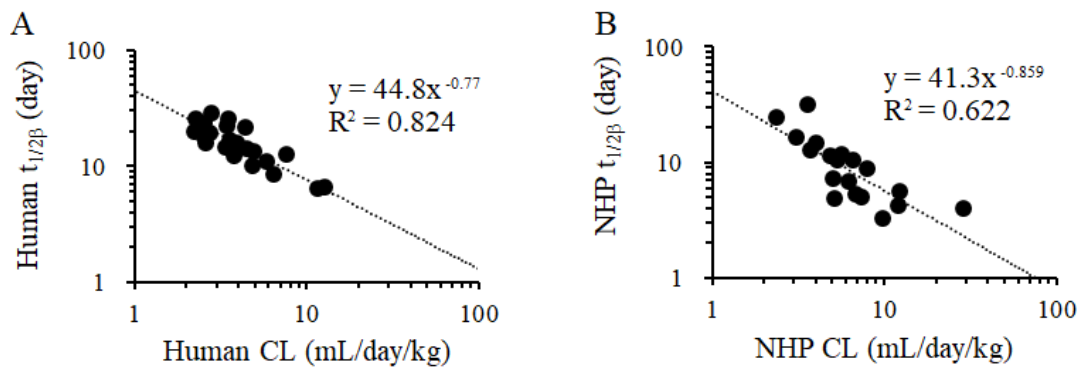


Figure 2-3 Relationship between clearance (CL) and half-life at elimination phase ($t_{1/2\beta}$)
 Each plot represented the collected monoclonal antibody in human (A), and non-human primates (B). The dotted line is the regression (exponential regression) line.

2-2-4 ヒトおよび non-human primates における K12、K21 および分布容積に関する解析

これまでの解析にて K12 および K21 は CV (%) が大きく抗体間差の大きいパラメーターであることが示された。この K12 と K21 について相関性を評価した結果、ヒトおよび NHP においてそれぞれ式 3 および式 4 に示す正の相関が示された (Figure 2-4)。

$$K12 = 1.32 \times K21 (R^2 = 0.665) \cdots \text{Human} \quad \text{式 3}$$

$$K12 = 1.64 \times K21 (R^2 = 0.912) \cdots \text{NHP} \quad \text{式 4}$$

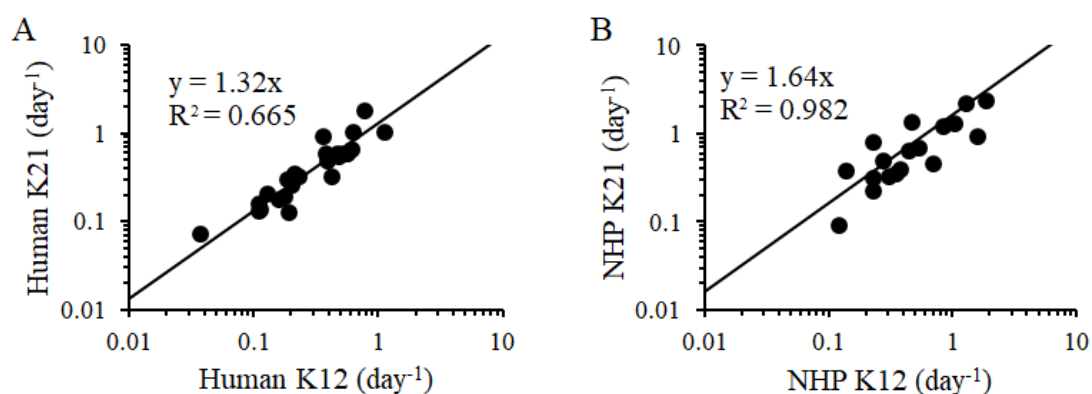


Figure 2-4 Relationship between central to peripheral distribution rate (K12) and peripheral to central distribution rate (K21)

Each plot represented the collected monoclonal antibody in human (A), and non-human primates (B). The solid line is the regression (linear regression) line.

2-2-5 抗体の血漿中濃度推移における K12 および K21 寄与の解析

ヒトに抗体を 1 mg/kg で静脈内単回投与した際の PK profile について、K10 および V1 にヒト幾何平均値を用い、K12 および K21 についてはヒトにおける最大値、最小値もしくは幾何平均値を適応した場合の simulation 結果を示した (Figure 2-5)。各条件における投与 7 日後、14 日後、28 日後における血漿中濃度は、いずれも幾何平均値を使用した計算結果と比較して 2 倍以内の差であり、抗体ヒト PK profile に対する K12 および K21 の寄与は小さいことが示唆された。

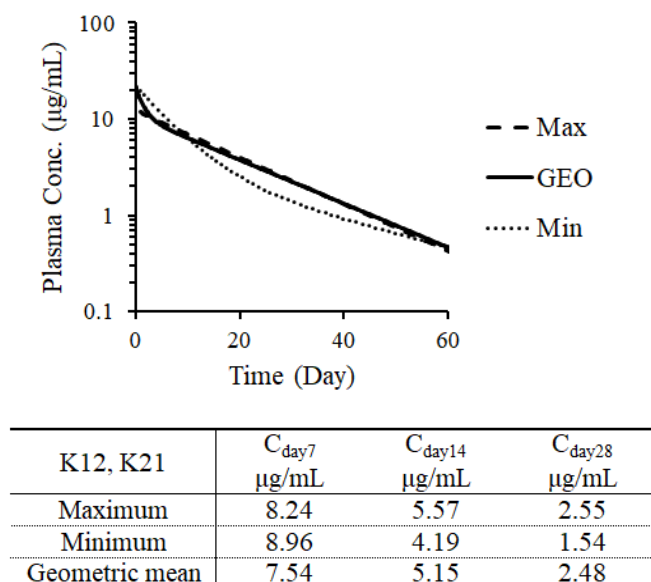


Figure 2-5 Effect of variation in K12 and K21 for PK profile

Predicted PK profile of various values in K12 and K21: geometric mean values (solid line), observed maximum values (dashed line), observed minimum values (dotted line). Other parameters applied human geometric mean values for simulation.

2-2-6 定常状態分布容積による近似を用いた K10 推定および「半減期法」の提唱

ヒトにおける抗体 PK は暴露の大部分が消失相であったことから、Figure 2-6 にて示すよ

うに、消失相分布容積 ($V_{d\beta}$) と定常状態分布容積 (V_{dss}) は近似していた。ここで、2-コンパートメントモデルでは 以下の式が成り立つ (式 5)。

$$K10 = \beta \div V1 \times V_{d\beta} \quad \text{式 5}$$

さらに、 $V_{d\beta}$ と V_{dss} がほぼ等しかったことから、以下の近似式が成り立つと考えられる (式 6)。

$$K10 \approx \beta \div V1 \times V_{dss} \quad \text{式 6}$$

式 6 の確からしさを検証するため、ヒト PK における各抗体の β と $V1$ および V_{dss} の幾何平均値を使用して、各抗体の $K10$ を推定した (Figure 2-7)。なお、 $t_{1/2\beta} = \ln 2 \div \beta$ であることから、 β 値はヒト $t_{1/2\beta}$ から算出した。その結果、算出した推定値は実測値と近似していた。

これまでに明らかになった動態的な特徴から、ヒトにおける各抗体の線形 PK profile は、 $V1$ と $K12$ 、 $K21$ はヒトにおける幾何平均値を使用すると共に、 $K10$ は個別の抗体それぞれについて式 6 から推定値を得ることで、予測可能であることが示唆された。前述のように、 $t_{1/2\beta} = \ln 2 \div \beta$ であることから、対象とする抗体についてヒト $t_{1/2\beta}$ のみ獲得することで、線形 2-コンパートメントモデルにて表現される各抗体の PK profile を予測するための立式が可能と言える。この方法を「半減期法」として提唱する

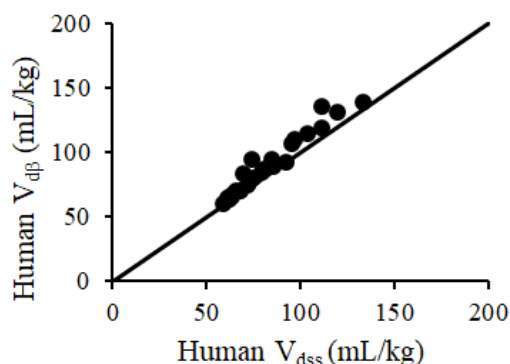


Figure 2-6 Distribution related parameters in human

Distribution volume at steady state (V_{dss}) was plotted against distribution volume at elimination phase ($V_{d\beta}$). Solid line represents the perfect fit.

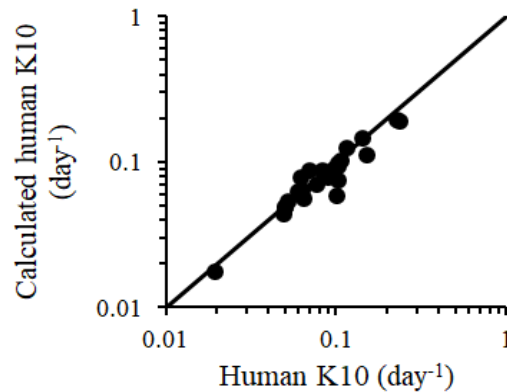


Figure 2-7 Correlation between reported human K10 and calculated human K10

Estimated human K10 values using human $t_{1/2\beta}$ and geometric mean values for V_{dss} and V_1 were plotted against observed values for human K10. Solid line represents the perfect fit.

2-2-7 Non-human primates (NHP) $t_{1/2\beta}$ によるヒト $t_{1/2\beta}$ 予測および NHP $t_{1/2\beta}$ からのヒト血漿中濃度推移予測法

「半減期法」を実施する上で、抗体のヒト $t_{1/2\beta}$ を獲得する方法として、実験動物における抗体 $t_{1/2\beta}$ をアロメトリーにて予測する方法が考えられた。そこで、ヒトと NHP でパラメーター値のそろっている 19 抗体について、べき乗に 0.85 を使用したシンプリファイドアロメトリーで NHP の $t_{1/2\beta}$ から予測したヒト $t_{1/2\beta}$ の予測精度を検討した (Figure 2-8)。その結果、ヒト実測 $t_{1/2\beta}$ と比して予測値が 2 倍以内の誤差に収まったのは 19 抗体のうち 78.9% であり、3 倍以内の誤差に収まったのは 89.5% であった。本結果は、NHP の $t_{1/2\beta}$ からヒトの $t_{1/2\beta}$ を予測することは可能であることを示唆している。Figure 2-9 には、これらの結果を基に確立した、各抗体固有のデータとして NHP $t_{1/2\beta}$ のみを使用し、半減期法にてヒト PK profile を予測するフローを示している。

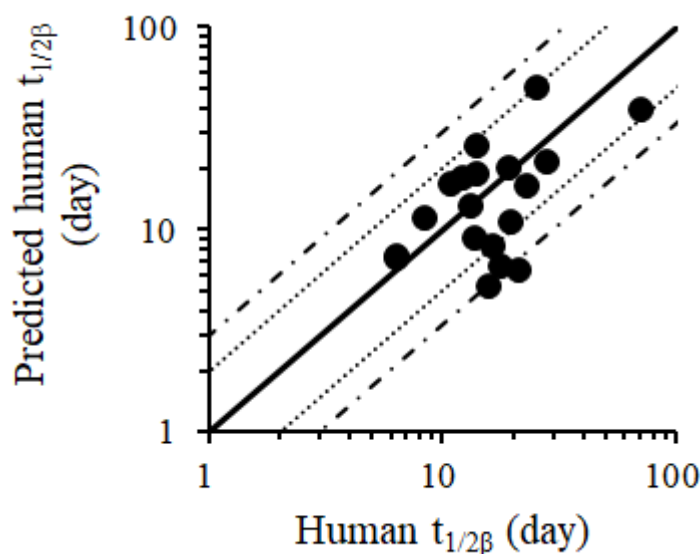
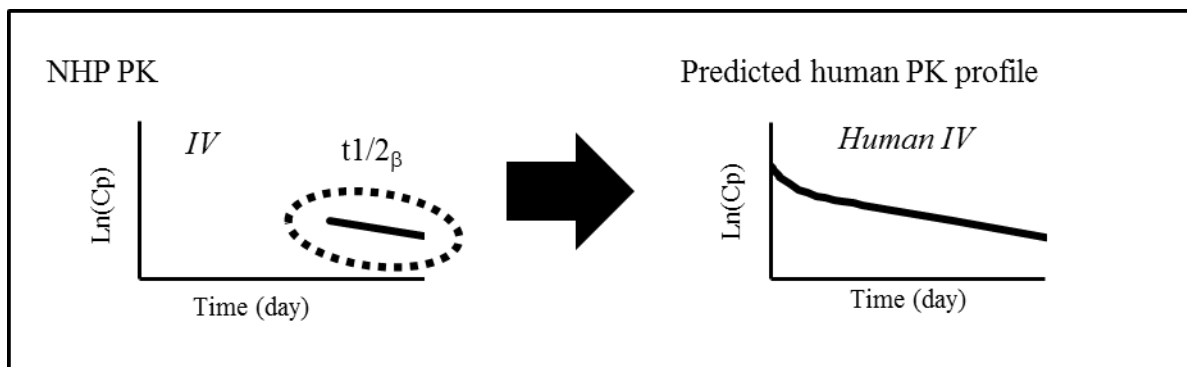


Figure 2-8 Correlation between reported human $t_{1/2\beta}$ and predicted human $t_{1/2\beta}$

Predicted values for human $t_{1/2\beta}$ were plotted against observed values for human $t_{1/2\beta}$. Human $t_{1/2\beta}$ was predicted from NHP data using simplified allometry with the exponent of -0.15 . When body weight was not reported, it was calculated using 70 kg in human, 6 kg in rhesus monkey, and 3.75 kg in cynomolgus monkey. Solid, dotted, and dashed gray lines indicate 100%, 50%–200%, and 33%–300% prediction, respectively. Solid diagonal line represents line of unity. The dotted lines represent two-fold range above and below the line of unity. The dashed lines represent three-fold range above and below the line of unity.



- Human geometric mean is applied to V1, K12, and K21
Human V1 = 45.1 mL/day, Human K12 = 0.275 day⁻¹, Human K21 = 0.355 day⁻¹
- Human β is scaled from NHP β by allometric principal
Human β = NHP β × (Human BW/NHP BW)^{-0.15}
- Human K10 is calculated using scaled β and human geometric mean of V1 and V_{dss}
Human K10 = Human β × (81.0/45.1)

Figure 2-9 Proposed half-life method using only data on $t_{1/2\beta}$ from non-human primates to predict mAb human PK profile

NHP: non-human primate, PK: pharmacokinetics, V1: distribution volume of central compartment, K12: central to peripheral distribution rate, K21: peripheral to central distribution rate, β: elimination rate constant at elimination phase, BW: body weight, K10: central elimination rate, V_{dss}: distribution volume at steady state.

2-2-8 半減期法とシンプリアイドアロメトリーの比較

ヒト K10 について、NHP $t_{1/2\beta}$ からシンプリアイドアロメトリーと半減期法にて得られたヒト K10 と、NHP における K10 からシンプリアイドアロメトリーで予測したヒト K10 を比較することで、半減期法の有用性を検証した (Figure 2-10)。その結果、検討した 19 抗体全てについて、ヒト K10 それぞれの予測値の差は 2 倍以内であった (Figure 2-10)。このことは、NHP の $t_{1/2\beta}$ のみを使用したヒト PK profile は、従来のシンプリアイドアロメトリーによる予測と精度は同等であることを示唆している (Figure 2-11)。

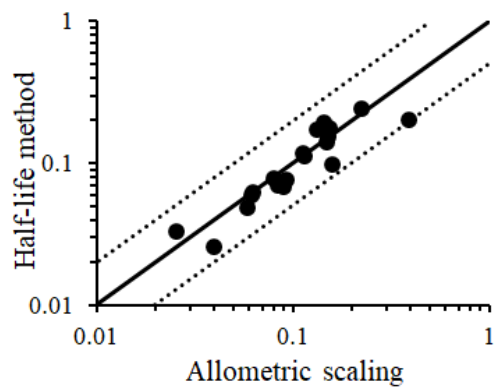
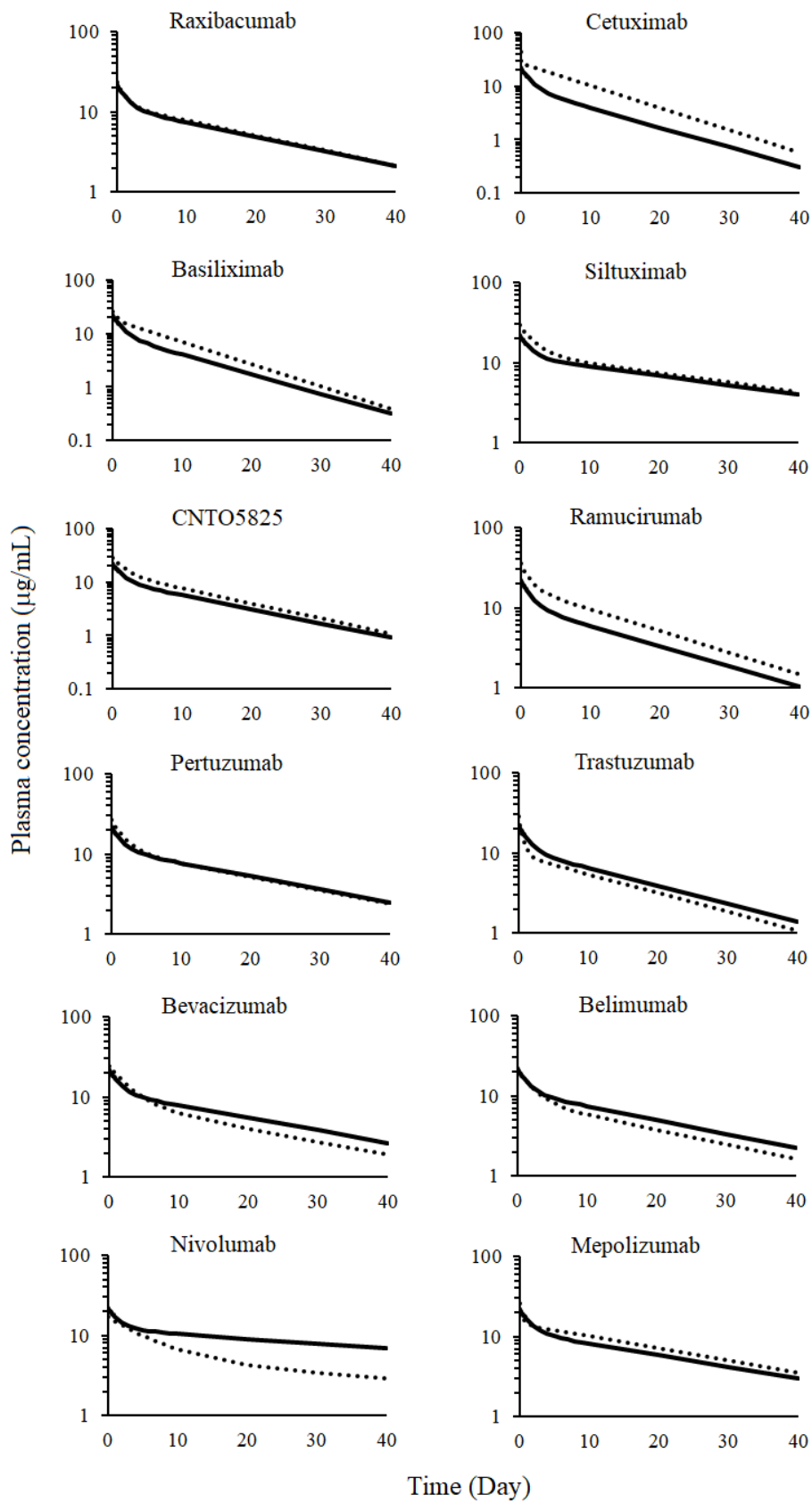


Figure 2-10 Comparison of predicted human K10 (day⁻¹) using half-life method and simplified allometric scaling method

Predicted human K10 by half-life method were plotted against predicted values using allometric scaling method. Solid diagonal line represents line of unity. The dotted lines represent two-fold range above and below the line of unity.



Continued to the next page

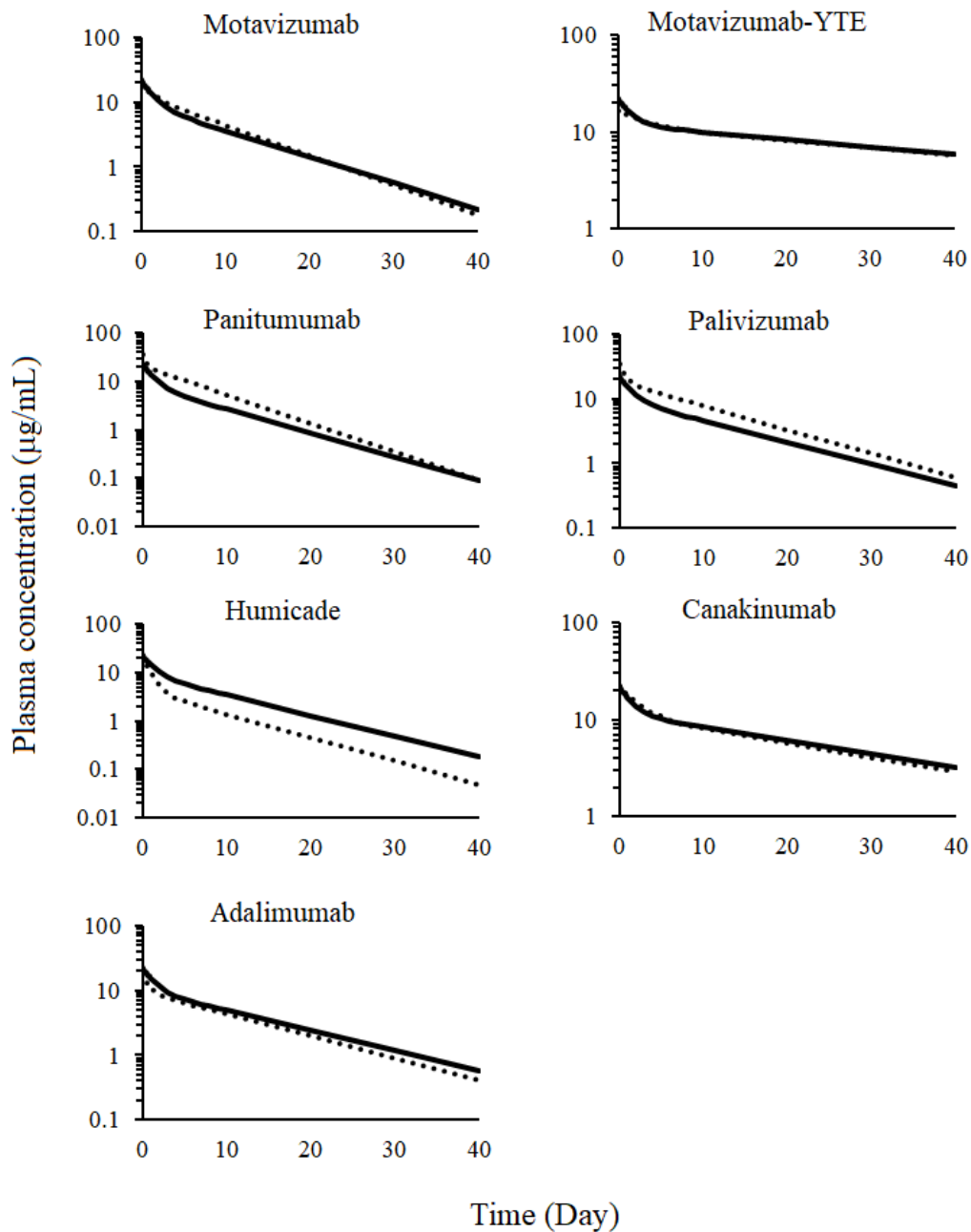


Figure 2-11 Prediction of human plasma concentration–time profile.

Solid lines represent the profile predicted by the half-life method and dotted lines the profile predicted by the two-compartment model analysis with simplified allometric scaling. All simulations were assuming at the dosage of 1 mg/kg.

第三節:考察

本章では、ヒトおよび NHP における 2-コンパートメントモデルで表現される抗体の線形 PK の特徴について明らかにした。明らかとなった特徴から、各抗体固有の $t_{1/2\beta}$ のみからヒト PK profile を表現する「半減期法」を確立し、NHP の $t_{1/2\beta}$ を「半減期法」に適用して行ったヒト PK profile 予測を、従来のシンプリアイドアロメトリーによる予測と比較した。

2-コンパートメントモデル解析の結果、ヒトおよび NHP 共に、分布容積である V_1 は CV (%) が約 20 であった。抗体の定量法として一般的に用いられる ligand binding assay のガイドラインにおいて 20%の定量誤差は許容されており、定量法における誤差と同程度であったことから、分布容積に抗体間差はほとんどないと判断される (European Medicines Agency, 2011)。また、得られた V_1 値も血漿容量と近い値であり、大きな分子量と高い親水性のために抗体の分布は厳しく制限されていると述べている過去の報告とも一致した (Dirks and Meibohm, 2010)。ヒトおよび NHP において AUC_{inf} に対する AUC_{α} と AUC_{β} の寄与率を解析したところ、暴露の大部分は AUC_{β} であり、各抗体の特徴は消失相に現れることが明らかとなった。さらに $t_{1/2\beta}$ を CL に対してプロットした結果は逆相関を示し、暴露の大部分が消失相であることをさらに示唆する。K12 および K21 は CV (%) が大きく抗体間差の大きなパラメーターであったが、この数値間には比例関係が確認され、値の比は抗体によらず一定であった。このことは、下記の式 7 で示される V_{dss} の抗体間差が小さいことと一致した (式 7)。

$$V_{dss} = V_1 + V_1 \times K12 \div K21 \quad \text{式 7}$$

さらに、式 7 を構成している K12 および K21 について、最大値、最小値もしくは幾何平均を適用した PK profile の simulation を行った結果、得られた profile 間に大きな違いはなかった。そのため、抗体の PK profile 予測において、抗体固有の K12 および K21 が simulation に与える影響は小さいことが明らかとなった。さらに、消失相分布容積である $V_{d\beta}$ は定常状態分布容積である V_{dss} と近似し、暴露の大部分が消失相であること、そして分布容積に抗体間差がないことが改めて示唆された。このことから、K10 は式 6 を用いて近似可能と判断される。

さらに、分布容積に抗体間差が小さいことから V_1 および V_{dss} に幾何平均値を適用することで $t_{1/2\beta}$ から K10 を推定できると考えられた。そこで、各抗体のヒトにおける $t_{1/2\beta}$ と V_1 お

よび V_{dss} の幾何平均値を使用して K_{10} を推定したところ、実際の K_{10} と近似した値が得られた。これまでに明らかとなった動態的な特徴から、 V_1 、 K_{21} 、 K_{21} については抗体のヒトにおける幾何平均値を適用し、 K_{10} には各抗体固有のヒトにおける $t_{1/2\beta}$ から算出した K_{10} を使用することでヒト PK profile が表現可能と考えられた。この「半減期法」はヒト $t_{1/2\beta}$ という一つの予測値さえ得られれば、二相性の消失パターンを示す抗体医薬品のヒト PK profile を予測することが可能と考えられた。

K_{10} を含め、ヒトの速度定数は NHP からシンプリアイドアロメトリーで予測できることが報告されているため、べき乗に 0.85 を適応して NHP における $t_{1/2\beta}$ からヒト $t_{1/2\beta}$ 予測を行った (Deng et al., 2011; Ling et al., 2009)。ヒト $t_{1/2\beta}$ 予測について検討した 19 抗体では、実際との 2 倍以内に 78.9% の抗体が入り、3 倍以内に 89.5% 抗体が入った。今回検討したデータセットについてもヒト $t_{1/2\beta}$ は NHP から予測可能であることが確認でき、示された予測精度は、NHP からアロメトリックスケーリングによる検証で過去に報告されているものと近かった (Dong et al., 2011; Oitate et al., 2011; Wang and Prueksaritanont, 2010)。このことから、各抗体における NHP の $t_{1/2\beta}$ から予測したヒト $t_{1/2\beta}$ を半減期法に適応したヒト PK profile 予測を検討した。半減期法によるヒト PK profile 予測では各抗体固有の値として NHP の $t_{1/2\beta}$ のみを使用して予測を行っているが、従来のアロメトリックスケーリングと同等の結果が得られ、この同等性の要因として以下に示す 3 つの理由が考えられた。

1. 分布容積がヒトおよび NHP において抗体間差がないために分布容積にヒト幾何平均値を使用してもほとんど違いがないこと。
2. 暴露の大部分が消失相であるために CL と半減期が逆相関を示し、抗体間差が半減期に現れていること。
3. 速度のパラメーターに同じべき乗を適応していること

これらの解析を通じ、ヒト PK profile 予測は NHP の $t_{1/2\beta}$ のみから、シンプリアイドアロメトリーと半減期法を活用することで予測可能であることが示された。さらに、1 抗体 (Motavizumab-YTE) のみではあるものの、FcRn に対する親和性を高めることにより半減期を従来の IgG よりも長くすることで、患者 QOL の向上を目的とした改変体 (半減期延長改変体) も半減期法での PK profile 予測に成功している。今後、この半減期延長改変体は医薬品としての承認が進むと考えられており、半減期法は本改変体の PK profile 予測にも適応可能である可能性が高い (Robbie et al., 2013)。

今回検討した全ての抗体について、NHP の $t_{1/2\beta}$ から半減期法を使用して予測したヒト

K10 と、NHP の K10 からシンプリアイドアロメトリーによって予測されたヒト K10 の違いは 2 倍以内であったが、予測法間で profile の異なる抗体が 3 つあった。これらは、分布相が 1 日以内で終了する抗体と分布相が 1 週間近く続く抗体であり、半減期法が分布相を考慮していないことが原因として考えられた。

シンプリアイドアロメトリーにて NHP $t_{1/2\beta}$ からヒト $t_{1/2\beta}$ を予測する際に用いる適切なべき乗を確認するため、べき乗として 0.85 もしくは 0.75 を代入して算出されるヒト $t_{1/2\beta}$ を半減期法に適用して得られる PK profile におけるヒト $t_{1/2\beta}$ と実測値と比較した。その結果として、2 倍以内の差で予測できた抗体がべき乗として 0.85 を用いた場合は 84.2%、0.75 を用いた場合は 73.7% であった。そのため、NHP における $t_{1/2\beta}$ のみを使用した半減期法によるヒト PK profile 予測では 0.85 をべき乗に設定することが適切と判断される。

NHP の使用が厳しく制限されている昨今では、動物福祉の 3Rs を考慮する必要がある (National centre for the Replacement Refinement & Reduction of animals in research, 2019; 環境省, 2017)。NHP の $t_{1/2\beta}$ を使用する半減期法によるヒト PK profile 予測は、直接的に NHP の使用数を減らすことはできないが、必要なデータが NHP における $t_{1/2\beta}$ のみのため、薬効試験や毒性試験から半減期が得られる場合は NHP PK を実施する必要はない。また、通常の PK 試験で実施される 1 週間以内に 10 回程の頻回採血は SCAW system においてカテゴリー C に分類されるが、半減期だけであれば週に 1 回のサンプリングでも算出できるために、施設によってはカテゴリー B に分類される試験として実施できる可能性が考えられ、3Rs の refinement にも寄与できると考えられる (Canadian Council on Animal Care Conseil canadien de protection des animaux, 1991)。

2-コンパートメントモデルで表現される抗体の線形ヒト PK profile を予測するには 4 つのパラメーターが必要であったが、半減期法を使用することで $t_{1/2\beta}$ という単一パラメーターから profile 予測が可能であることを示しており、NHP からげっ歯類モデルや in vitro 評価系への代替の可能性が考えられた (Avery et al., 2016; Haraya et al., 2014; Schlothauer et al., 2013; Schoch et al., 2015; Tam et al., 2013)。NHP における試験を実施するためには必要な抗体量が多く、また広い実験スペースも必要であるためにコストがかかり効率も悪い。このため、他の非臨床モデルへの代替は効率的な抗体医薬品開発につながると考えられる。

本章の結論として、各抗体のヒト線形 PK profile は各抗体固有のヒト $t_{1/2\beta}$ のみで表現出来ることが明らかとなった。さらに、NHP における $t_{1/2\beta}$ のみを使用したヒト PK profile 予測は従来の手法と同等の精度であることが示され、本研究を通じて提唱された半減期法の有用性が示唆された。

第三章: human FcRn transgenic mouse における抗体医薬品動態の特徴解明

第一節: 序論

ヒト生体内において抗体の $t_{1/2}$ は約 8~22 日と長いことが知られており、PK は患者にとっての QOL に大きく関わっている (Murphy K, 2008)。このため、QOL の高い抗体医薬品を開発するうえで、抗体 PK を理解することは重要である。抗体の生体内からの消失は、線形 PK を示す非特異的な消失と非線形 PK を示す特異的な消失に分けられ、非特異的な消失は内因性抗体を含めた共通のメカニズムである (Brambell, 1966; Junghans, 1997; Ober et al., 2004)。このため、対象とする疾患領域を問わず非特異的な消失を理解することは重要である。非特異的な消失の実体は、内皮細胞への非特異的なピノサイトーシスによる取り込みと、FcRn によるリサイクリングによるサルベージ機構である (Akilesh et al., 2007; Ghetie and Ward, 2000; Roopenian and Akilesh, 2007)。このうち、FcRn KO mice において抗体の CL が大きくなることから、FcRn によるリサイクリングを理解することが非特異的な消失を評価するうえで特に重要である (Petkova et al., 2006)。このため、非臨床段階において、非臨床モデルを使用してヒトにおける FcRn によるリサイクリングを適切に評価し、高い精度でヒト PK 予測を行うことが、患者にとって QOL の高い抗体医薬品を創生するうえで重要であると考えられる。

野生型マウスは、非臨床段階において最もよく利用されるげっ歯類モデルの一つであるが、ヒト抗体の FcRn に対する親和性には種差があり、マウス FcRn とヒト FcRn では大きく異なるために抗体 PK のヒト予測性は悪い (Ober et al., 2001)。NHP がヒトと FcRn の親和性が近いという理由で抗体のヒト PK 予測において利用されているが、げっ歯類ではヒト FcRn を発現させた hFcRn TgM が利用可能である (Petkova et al., 2006; Proetzel and Roopenian, 2014)。hFcRn TgM は、マウス FcRn が欠損しており、導入されたヒト FcRn 遺伝子のコピー数が 1 つの Hemi と 2 つの Homo が存在する。さらに、プロモーターに hFcRn のプロモーターを持つ Line 32 とチキン β アクチンのプロモーターを持つ Line 276 が存在する。hFcRn TgM を使用した抗体の PK 評価として、Line 276 では Homo においてヒト $t_{1/2}$ との相関性が NHP よりも高いことが報告されている (Haraya et al., 2014)。さらに、Line 32 では Hemi において得られる $t_{1/2}$ がヒト $t_{1/2}$ と相関することが示されており、Homo ではヒト CL との相関

性が NHP よりも高いことが報告されている (Avery et al., 2016; Tam et al., 2013)。これらの報告から、両 Line においてヒト FcRn が適切に機能していると考えられる。一方、hFcRn TgM を活用した抗体のヒト PK profile 予測は、ほとんど報告されていない (Betts et al., 2018)。これまでの報告にある hFcRn TgM の抗体 PK パラメーターとヒトの抗体 PK パラメーターとの相関性を考慮すると、第二章にて提唱した「半減期法」を hFcRn TgM での実験データに適用することで、抗体のヒト PK profile 予測が可能と期待される。一方、hFcRn TgM における抗体の詳細な PK データ解析はなされておらず、適用の現実性は明らかではない。そこで本研究では、hFcRn TgM データを使用した抗体のヒト PK profile 予測が実施可能かを明確にするため、入手可能な既承認抗体医薬品について hFcRn TgM における PK パラメーター解析を行うことを目的とした。

本研究では、NHP と比較して CL の予測性が高いと報告された hFcRn TgM Line 32 の Homo を使用し (Avery et al., 2016)、各抗体を 10 mg/kg の用量で静脈内単回投与を行った。ヒト循環血中には約 15 mg/mL の内因性抗体が存在することが知られており、この血液中環境を模倣するため、試験抗体に加えて intravenous immunoglobulin (IVIG) を 1 g/kg の用量で共投与した。血漿中抗体濃度は新たに構築した抗体定量系、electrochemiluminescence assay (ECLIA) 法にて定量し、得られた経時的な血漿中抗体濃度変化を 2-コンパートメントモデルにて解析することで、hFcRn TgM における試験抗体 PK の特徴を明らかにした。

第二節:結果

3-2-1 hFcRn TgM で検討した抗体のヒトにおける 2-コンパートメントモデル microscopic parameters

Table 3-1 に、本章の検討にて用いた 13 種の抗体医薬品のヒトにおける 2-コンパートメントモデルの既報 microscopic parameters を示す。それぞれの既報 V1、K10、K12 および K21 について、幾何平均値はそれぞれ、39.1 mL/kg、0.0867 day⁻¹、0.204 day⁻¹ および 0.212 day⁻¹ であり、CV はそれぞれ 26.3%、50.3%、99.0% および 132% であった。

Table 3-1 Two-compartment model parameters in human for selected monoclonal antibodies

Parameter	K10	K12	K21	V1	ref
Unit	day ⁻¹	day ⁻¹	day ⁻¹	mL/kg	
Vedolizumab	0.0607	0.513	0.448	33.8	1
Benralizumab	0.0930	0.275	0.245	48.1	2
Romosozumab	0.129	0.555	0.721	33.5	3
Risankizumab	0.0550	0.0455	0.0479	52.0	4
Adalimumab	0.0966	0.525	0.593	37.9	5
Ustekinumab	0.0517	0.132	0.164	40.5	6
Denosumab	0.0305	0.189	0.298	35.0	7
Guselkumab	0.0893	0.166	0.160	51.2	8
Sarilumab	0.125	0.0750	0.0298	23.8	9
Ramucirumab	0.142	0.381	0.583	45.3	5
Belimumab	0.151	0.158	0.173	38.8	5
Dupilumab	0.0837	0.404	0.434	27.0	10
Golimumab	0.128	0.0768	0.0760	57.0	11
Geometric mean	0.0867	0.204	0.212	39.1	
CV(%)	50.3	99.0	132	26.3	

Reference

1: (Vedolizumab, 2018), 2: (Benralizumab, 2018), 3: (Romosozumab, 2019), 4: (Risankizumab, 2019), 5: (Nakamura et al., 2020), 6: (Ustekinumab, 2011), 7: (Denosumab,

2013), 8: (Zhuang et al., 2016), 9: (Xu et al., 2019), 10: (Dupilumab, 2018), 11: (Golimumab, 2011).

3-2-2 hFcRn TgM における血漿サンプルの定量系構築

Table 3-2 は各抗体の定量解析、ECLIA 法の際に用いた抗原と定量上限、下限を示している。血漿中濃度の定量可能な測定レンジは vedolizumab を除いて 0.5 µg/mL ~ 50 µg/mL であった。

Table 3-2 Detection range of selected monoclonal antibody in hFcRn TgM plasma

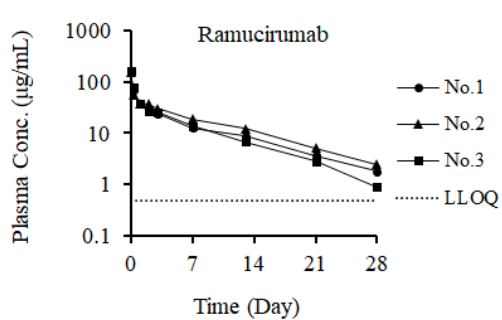
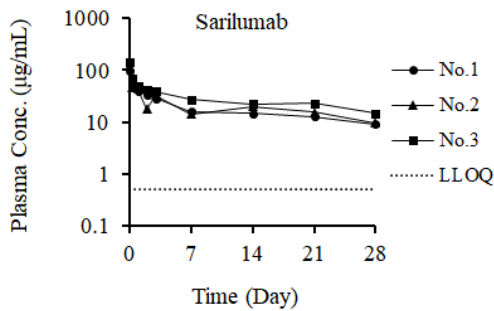
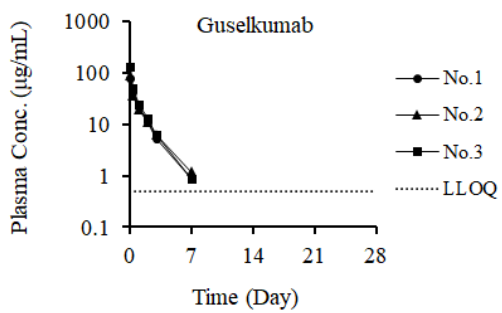
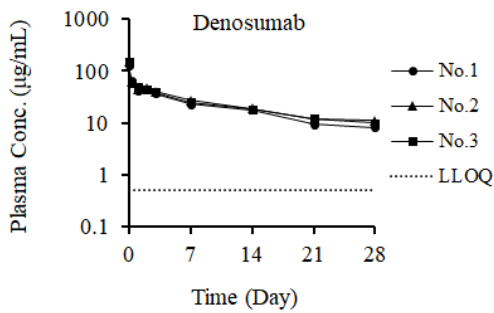
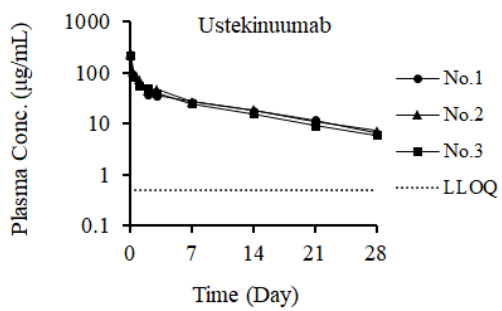
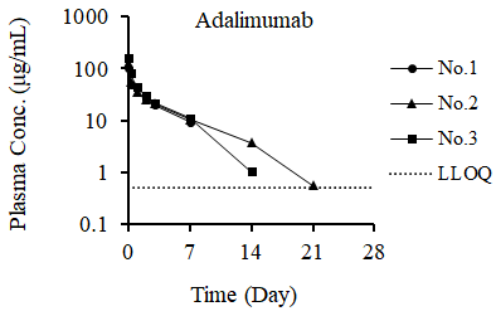
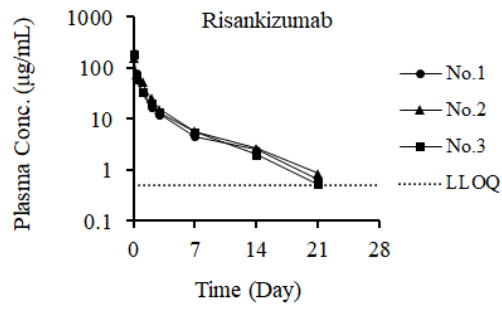
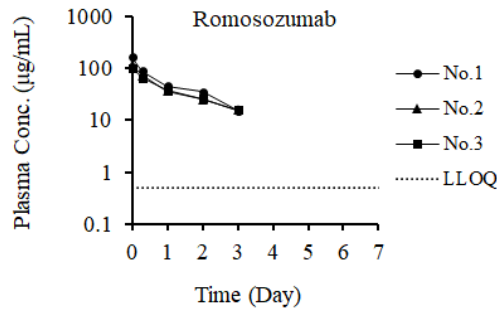
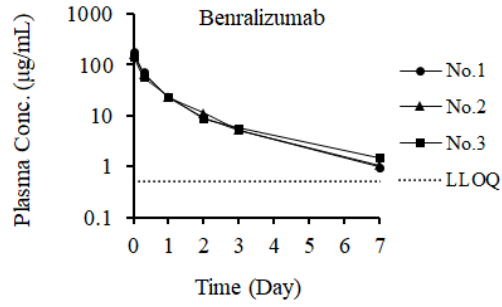
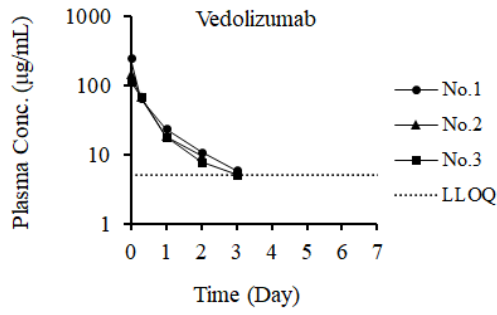
Parameter Unit	Immobilized Antigen	ULOQ µg/mL	LLOQ µg/mL
Vedolizumab	α4β7 integrin	5.00	500
Benralizumab	IL-5R	0.500	50.0
Romosozumab	Sclerostin	0.500	50.0
Risankizumab	IL-23	0.500	50.0
Adalimumab	TNFα	0.500	50.0
Ustekinumab	IL-12	0.500	50.0
Denosumab	RANKL	0.500	50.0
Guselkumab	IL-23	0.500	50.0
Sarilumab	IL-6R	0.500	50.0
Ramucirumab	VEGFR2	0.500	50.0
Belimumab	BLyS	0.500	50.0
Dupilumab	IL-4R	0.500	50.0
Golimumab	TNFα	0.500	50.0

LLOQ: Lower limit of quantification, ULOQ: Upper limit of quantification

3-2-3 hFcRn TgM PK の non-compartment analysis

hFcRn TgM に 10 mg/kg の用量で各抗体を投与した際の血漿中濃度推移を Figure 3-1 に示した。尾静脈から投与後、全ての抗体は二相性の消失を示した。Non-compartment analysis (NCA) から得られた CL、V_{dss} および t_{1/2} の幾何平均値はそれぞれ、38.9

mL/day/kg、197 mL/kg および 4.16 day であり、CV はそれぞれ 98.7%、28.4% および 117% であった (Table 3-3)。



Continued to the next page

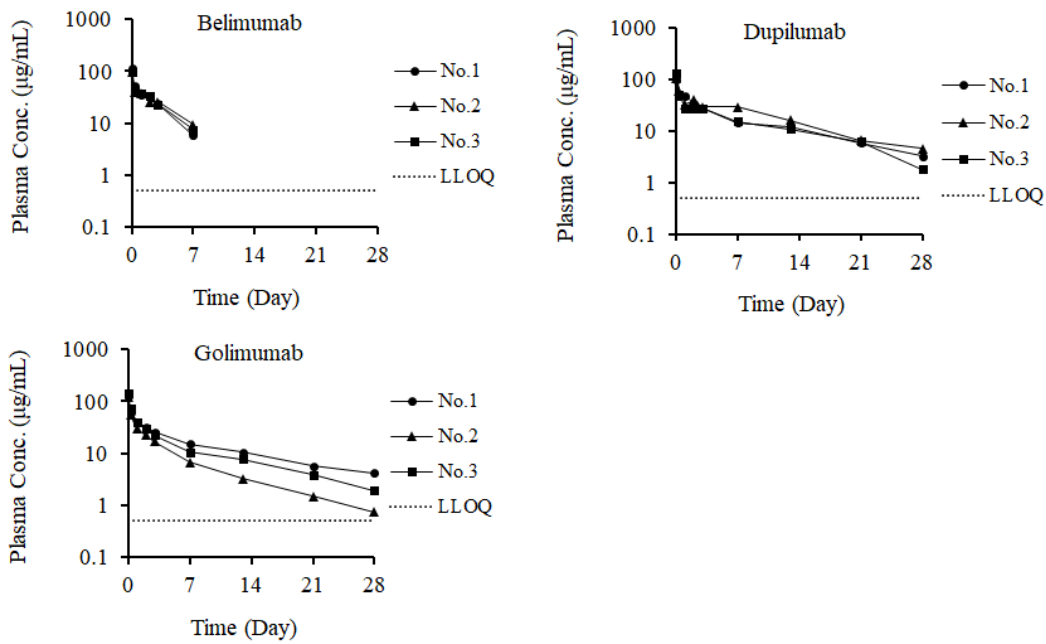


Figure 3-1 The plasma concentration-time profiles of monoclonal antibody following intravenous administration in hFcRn TgM

Each monoclonal antibody was administered at 10mg/kg with intravenous immunoglobulin (1g/kg). LLOQ: Lower limit of quantification. Solid lines represent individual profiles. No represents individual number.

Table 3-3 Pharmacokinetic parameters of non-compartment analysis in hFcRn TgM after intravenous administration

Parameter	CL	V _{dss}	t _{1/2}
Unit	mL/day/kg	mL/kg	day
Vedolizumab	114	123	1.09
Benralizumab	104	151	1.78
Romosozumab	65.2	124	1.40
Risankizumab	49.8	200	4.18
Adalimumab	44.1	189	2.93
Ustekinumab	13.5	187	10.9
Denosumab	12.5	240	14.1
Guselkumab	128	211	1.51
Sarilumab	12.1	291	17.0
Ramucirumab	27.4	225	5.84
Belimumab	50.9	181	2.51
Dupilumab	22.4	238	7.15
Golimumab	33.4	295	8.20
Geometric mean	38.9	197	4.16
CV(%)	98.9	28.4	117

3-2-4 hFcRn TgM PK の 2-コンパートメントモデル解析

静脈内へ抗体を単回投与後の血漿中濃度推移を 2-コンパートメントモデル解析を行うことで得られたパラメーターを Table 3-4 に示した。K10、K12、K21、V1、CL、および V_{dss} の幾何平均値はそれぞれ、0.529 day⁻¹、2.35 day⁻¹、1.51 day⁻¹、73.2 mL/kg、38.8 mL/day/kg および 192 mL/kg であり、CV はそれぞれ 101%、90.0%、111%、22.5%、103% および 28.6% であった。

暴露全体 (AUC_{inf}) に対する分布相 ACU (AUC_α) の割合と消失 AUC (AUC_β) の割合を解析したところ、vedolizumab、benralizumab、risankizumab を除いて AUC_β が 80% 以上寄与していることが示された (Figure 3-2)。K12 および K21 は CV (%) が大きく抗体間差の大きいパラメーターであったものの、2 つの数値は式 8 で示される正の相関が示された (Figure 3-3A)。

$$K21 = 0.837 \times K12 \quad (R^2 = 0.932)$$

式 8

V1 に対して V_{dss} をプロットしたところ相関関係はなく、幾何平均値付近に固まっていた (Figure 3-3B)。

Table 3-4 Pharmacokinetic parameters of two-compartment model analysis in hFcRn TgM after intravenous administration

Parameter	K10	K12	K21	V1	CL	V_{dss}
Unit	day ⁻¹	day ⁻¹	day ⁻¹	mL/kg	mL/day/kg	mL/kg
Vedolizumab	2.12	1.72	1.95	58.4	124	110
Benralizumab	1.55	0.831	0.687	66.7	104	147
Romosozumab	0.825	1.64	2.68	78.6	64.8	127
Risankizumab	0.780	0.846	0.384	63.2	49.3	202
Adalimumab	0.608	2.74	1.98	76.5	46.5	183
Ustekinumab	0.303	2.96	1.07	45.1	13.7	170
Denosumab	0.190	4.01	1.89	67.8	12.9	212
Guselkumab	1.29	2.07	1.79	101	131	219
Sarilumab	0.127	2.67	1.31	86.4	11.0	263
Ramucirumab	0.428	3.04	1.16	63.5	27.1	230
Belimumab	0.571	16.2	14.7	91.4	52.1	192
Dupilumab	0.248	3.28	1.89	88.4	21.9	242
Golimumab	0.346	1.19	0.512	85.8	29.7	285
Geometric mean	0.529	2.35	1.51	73.2	38.8	192
CV(%)	101	90.0	111	22.5	103	28.6

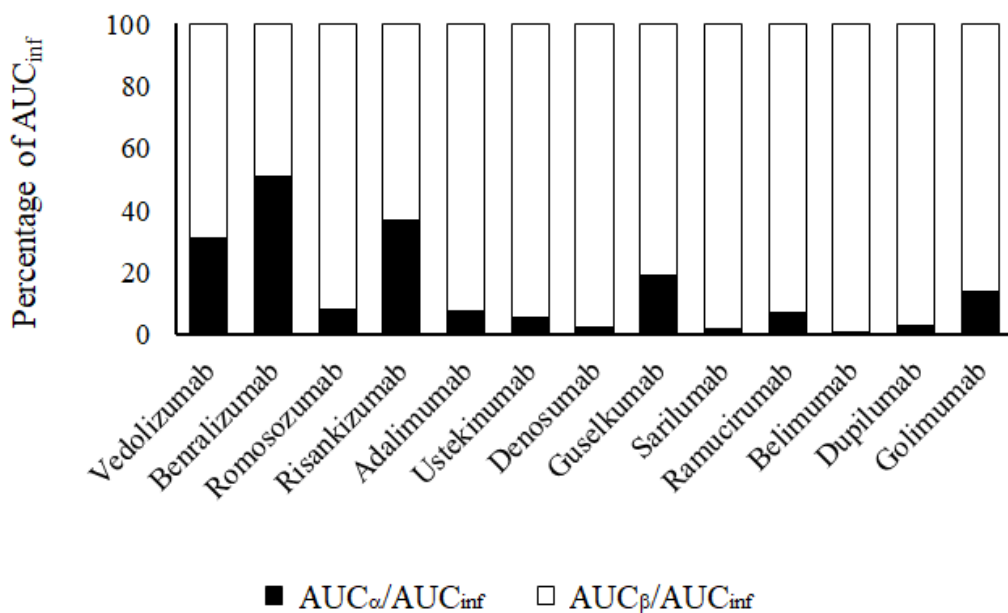


Figure 3-2 Fraction percentages of exposure for the distribution phase (AUC_α) and elimination phase (AUC_β) in hFcRn TgM

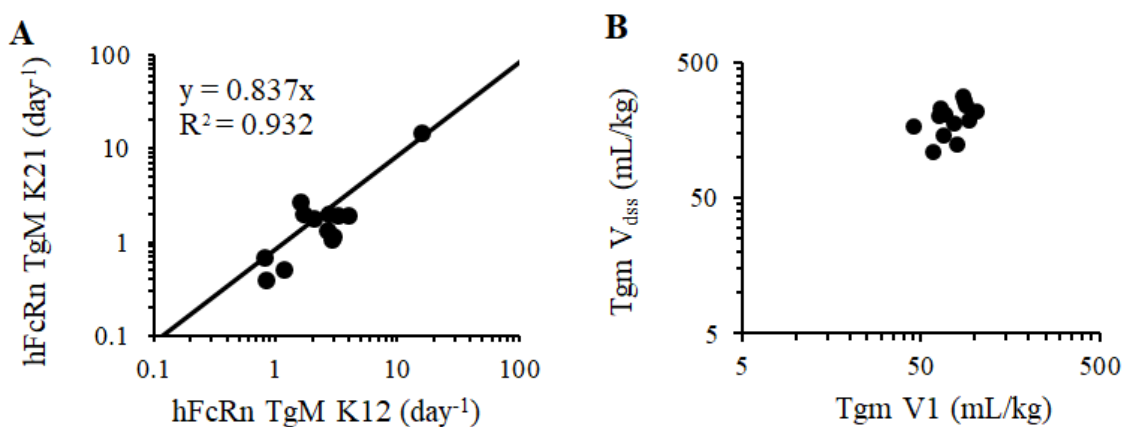


Figure 3-3 Distribution related PK parameter in hFcRn TgM

Central to peripheral distribution rate (K12) were plotted against peripheral to central distribute

on rate (K21) in hFcRn TgM (A). The solid line is the regression (linear regression) line.

Distribution volume at central (V1) were plotted against distribution volume at steady state

(B). Tgm represents hFcRn TgM.

3-2-5 hFcRn TgM における抗体クリアランスと消失相半減期の解析

暴露 AUC の解析から CL に主に寄与しているのは消失相であることが示唆されたことから、消失相半減期である $t_{1/2\beta}$ と CL との相関性を解析した (Figure 3-4)。その結果、 $t_{1/2\beta}$ と CL とは逆相関を示し、 R^2 は 0.924 であった。本結果は、hFcRn TgM における抗体 PK の特徴は $t_{1/2\beta}$ に現れることを示唆している。

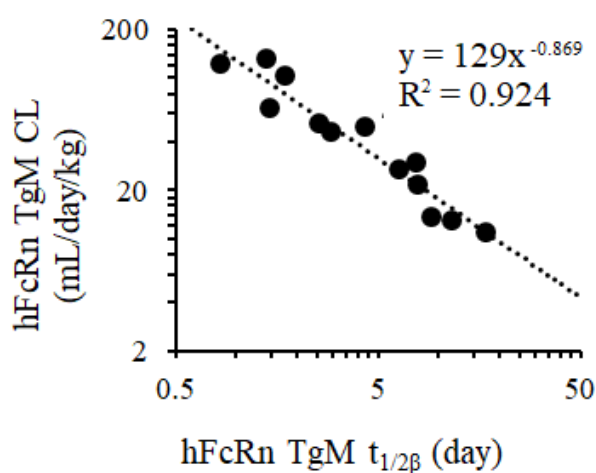


Figure 3-4 Relationship between clearance (CL) and half-life at elimination phase ($t_{1/2\beta}$) in hFcRn TgM.

Half-life at elimination phase were plotted against clearance in hFcRn TgM. The dotted line is the regression (exponential regression) line.

第三節:考察

本章では、半減期法と hFcRn TgM から得たデータとを用いることでヒト PK profile 予測の実行可否を検証するため、日本における 13 種の既承認抗体医薬品の hFcRn TgM における動態的特徴の評価を行った。

hFcRn TgM における動態的特徴を解析するにあたって、承認されている抗体として慢性疾患から悪性腫瘍まで幅広い疾患に対する抗体を選択した。ヒトにおける 2-コンパートメントモデルの microscopic parameter を解析したところ、V1、K10、K12 および K21 の幾何平均値はそれぞれ、39.1 mL/kg、0.0867 day⁻¹、0.204 day⁻¹、0.212 day⁻¹ であり、CV はそれぞれ 26.3%、50.3%、99.0% および 132% であった。これらの値はこれまでに報告されている値および第二章で明らかとなった抗体のヒトパラメーター値と近い値が得られており、hFcRn TgM で検討した抗体は一般的な抗体として検討できていると考えられた (Dirks and Meibohm, 2010)。

本動態解析実施に向け、評価抗体それぞれに対する血漿中濃度測定法の構築を行った。本解析では、評価抗体の 100 倍高い用量で IVIG を共投与しているため、測定に用いる血漿サンプルには大量のヒト IgG が夾雑物として含まれている。そのため、血漿中ヒト抗体濃度としての定量のみでは、投与した抗体医薬品の濃度を把握することはできない。この問題を解決するため、各抗体医薬品に対する抗原を固相化した plate を使用した Ligand binding assay 法による測定を実施した。プレートに固相化した抗原と結合した投与抗体はビオチン標識された抗ヒト抗体で検出するために、共存するヒト IgG によってシグナルのバックグラウンドが高くなる可能性が考えられたことから、検出系として ECLIA 法を使用した (Fichorova et al., 2008)。ECLIA 法ではルテニウムをシグナル基質として利用しているため通常の ELISA で使用されるペルオキシダーゼよりシグナル基質としての特異性が高く、またプレート表面に近接したもののみからシグナルが得られることから、夾雑物を含むサンプルに対してバックグラウンドを抑えることができる。ECLIA 法によって動態評価のために十分な感度の定量系が構築できた。

hFcRn TgM に静脈内投与された抗体は二相性の消失を示し、NCA から得られた t_{1/2} は 1.09~17.0 day の範囲であり、CL については 12.1~128 mL/day/kg の範囲であった。今回の評価で使用した hFcRn TgM は Line 32 Homo であり、同じ Line 32 Homo を使用している報告と比較すると CL が大きかった (Avery et al., 2016)。CL が大きくなった理由としてヒト血中条件を再現する目的で共投与した IVIG による影響が考えられた。血中に大量に

IVIG が存在する場合は FcRn が一部飽和するために、抗体のリサイクル効率が低下して半減期が短くなると考えられる (Tam et al., 2013)。検体間で十分な差が得られるのであれば、IVIG を共投与したほうが評価機関を短くできるのでスループットを高める効果が期待できる。

hFcRn TgM に各種抗体医薬品を単回投与して得られた血漿中濃度推移について 2-コンパートメントモデル解析を実施した。AUC_{inf} に対する AUC_α および AUC_β の割合を評価したところ、80%以上を AUC_β が占める抗体は 13 個中で 10 個であった。従って、適用した抗体医薬品の hFcRn TgM における暴露の大部分は消失相であることが示唆され、この点はヒトおよび NHP における特性と類似していた。また、今回用いた抗体の動態パラメーターとして、K12 と K21 との間には比例関係があること、そして V1 と V_{dss} は抗体間で類似した値であることが示された。これら特徴もまた、ヒトおよび NHP における特徴と一致していた。さらに、抗体投与後の t_{1/2} と CL の逆相関性もまた、ヒトや NHP で見られた特性と同様に示され、hFcRn においても AUC_β の割合が暴露の大部分であり、分布容積の抗体間差が小さいことが示唆された。ヒトおよび NHP においては FcRn によるリサイクリング効果が抗体 PK に反映されていると考えられており、ヒト FcRn が発現している hFcRn TgM においても同様の特徴が保持されており、その結果として抗体 PK 特性が類似したものと判断される。以上の点は、hFcRn TgM の t_{1/2β} から予測したヒト t_{1/2β} を半減期法に適応してヒト PK profile が予測出来る可能性を示唆した。加えて、hFcRn TgM における抗体 PK は分布容積の抗体間差が小さく、分布相の寄与も小さいことから、1 時点の濃度からヒト t_{1/2β} を予測できる可能性についても示された。

結論として、本研究を通じて hFcRn TgM において動的な特徴を決定しているのは消失相における半減期であることが示唆され、この特徴はヒトおよび NHP のものと一致していた。半減期は抗体と FcRn との相互作用の結果として表れているものと考えられるため、hFcRn TgM を用いた抗体 PK 解析結果は、投与抗体とヒト FcRn との相互作用を反映していることが示唆された。そのため、第二章で開発した半減期法に hFcRn TgM を用いた解析データを適用することでヒト PK profile を予測することが可能と期待される。

第四章: human FcRn transgenic mouse を使用したヒト血漿中濃度推移予測

第一節: 序論

これまでのヒト PK profile 予測は、NHP 1 種のデータを使用して実施されており、高い予測精度が達成されている (Ling et al., 2009; Oitate et al., 2011; Wang and Prueksaritanont, 2010)。しかしながら、NHP を用いた解析はコストがかかるだけでなく、高度な実験手技が必要とされる。また動物福祉における 3Rs を考慮すると、抗体医薬品開発において NHP ではなくげっ歯類を用いた非臨床試験への切り替えは急務である (National centre for the Replacement Refinement & Reduction of animals in research, 2019; 環境省, 2017)。さらに、げっ歯類への切り替えは試験規模の拡大に繋がることから、信頼性の高い抗体医薬品創出に繋がる。以上のように、NHP からげっ歯類への抗体医薬品を対象とした PK 試験の切り替えは、医薬品開発業界だけではなく、医師・患者にとっても有益と考えられる。

第三章にて得られた hFcRn TgM における抗体の PK データを用い、まず対象抗体医薬品について hFcRn TgM における $t_{1/2\beta}$ とヒトにおける $t_{1/2\beta}$ との相関性を解析した。得られた線形近似式を用い、hFcRn TgM のデータからヒト $t_{1/2\beta}$ 予測を行った。予測されたヒト $t_{1/2\beta}$ を半減期法に適用し、ヒト PK profile 予測を行い、抗体医薬品のヒト CL について予測値と実測値との比較を行った。さらに、3Rs における Refinement の達成に向けて、hFcRn TgM における投与 7 日後の血漿中抗体医薬品濃度 (C_{day7}) とヒト $t_{1/2\beta}$ との相関を解析し、得られた近似式を用いて hFcRn TgM のデータからヒト $t_{1/2\beta}$ 予測を行った。この予測値を半減期法に適用してヒト PK profile 予測を行い、CL について予測値と実測値との比較を行った。

第二節:結果

4-2-1 hFcRn TgM とヒトにおける $t_{1/2\beta}$ の相関

hFcRn TgM において得られた $t_{1/2\beta}$ をヒト $t_{1/2\beta}$ に対してプロットしたデータを Figure 4-1 に示す。検討した 13 抗体すべてについてプロットした際の線形近似は以下の式 9 にて表された (Figure 4-1A; 式 9)。

$$\text{Human } t_{1/2\beta} = 1.39 \times \text{hFcRn TgM } t_{1/2\beta} + 13.2 \quad (R^2 = 0.409) \quad \text{式 9}$$

AUC_{inf} に対する AUC_{β} の割合が 80% 未満であった vedolizumab、benralizumab および risankizumab を除いた 10 抗体でのプロットにおける線形近似は以下の式 10 で表された (Figure 4-1B; 式 10)。

$$\text{Human } t_{1/2\beta} = 1.89 \times \text{hFcRn TgM } t_{1/2\beta} + 7.18 \quad (R^2 = 0.714) \quad \text{式 10}$$

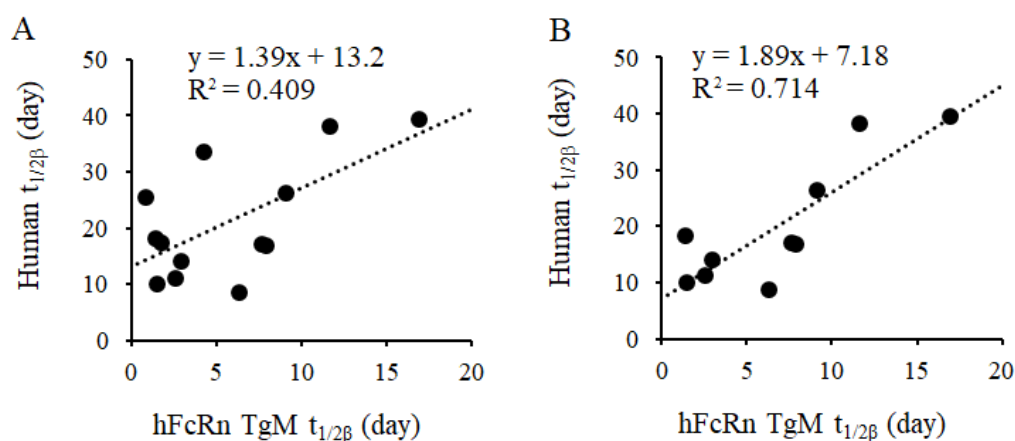


Figure 4-1 Correlation in $t_{1/2\beta}$ between hFcRn TgM and human

Comparison of half-life during elimination phase ($t_{1/2\beta}$) between hFcRn TgM and humans for 13 mAbs (A). Comparison of half-life during elimination phase ($t_{1/2\beta}$) between hFcRn TgM and humans for 10 mAbs. The dotted line is the regression (linear regression) line.

4-2-2 hFcRn TgM における $t_{1/2\beta}$ を用いた半減期法によるヒト血漿中濃度推移予測

ヒト $t_{1/2\beta}$ との相関性の確認された 10 抗体について、hFcRn TgM の $t_{1/2\beta}$ から得られた線形近似式を用いてヒト $t_{1/2\beta}$ を予測した (Figure 4-2)。10 抗体のうち 9 抗体が実際のヒト $t_{1/2\beta}$ から 2 倍以内の差で予測できた。残りの 1 抗体は 2.23 倍の差であり、検討した全ての抗体が 3 倍以内の差で予測可能であることが示された。次に予測したヒト $t_{1/2\beta}$ を半減期法に適用してヒト PK profile 予測を行い、CL について実際のヒトでの値と比較したところ、7 種類の抗体が実測値と予測値との差異が 2 倍以内に収まり、全種の抗体は 3 倍以内の差異に収まった。

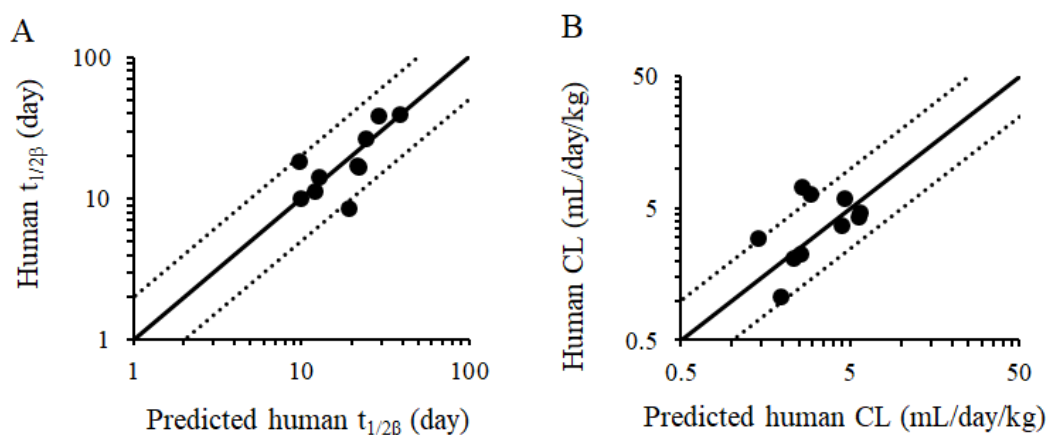


Figure 4-2 Comparison of human PK predicted using $t_{1/2\beta}$ in hFcRn TgM and observed human PK

Predicted values for human half-life during elimination phase ($t_{1/2\beta}$) were plotted against observed values for human $t_{1/2\beta}$ (A). Human $t_{1/2\beta}$ was predicted from hFcRn TgM data using linear regression. Solid diagonal line represents the line of unity. The dotted lines represent two-fold range above and below the line of unity (B). Predicted values for human CL were plotted against observed values. Human CL was predicted from hFcRn TgM data (B). Solid diagonal line represents the line of unity. The dotted lines represent two-fold range above and below the line of unity.

4-2-3 hFcRn TgM における C_{day7} とヒトにおける $t_{1/2\beta}$ の相関

hFcRn TgM において得られた C_{day7} をヒト $t_{1/2\beta}$ に対してプロットしたデータを Figure 4-3

に示す。検討した 13 抗体すべてについてプロットした際の線形近似は以下の式 11 で表された (Figure 4-3A; 式 11)。

$$\text{Human } t_{1/2\beta} = 0.517 \times \text{hFcRn TgM } C_{\text{day7}} + 15.4 \quad (R^2 = 0.199) \quad \text{式 11}$$

AUC_{inf} に対する AUC_β の割合が 80% 未満であった vedolizumab、benralizumab および risankizumab を除いた 10 抗体でのプロットにおける線形近似は以下の式 12 で表された (Figure 4-3B; 式 12)。

$$\text{Human } t_{1/2\beta} = 0.795 \times \text{hFcRn TgM } C_{\text{day7}} + 9.22 \quad (R^2 = 0.425) \quad \text{式 12}$$

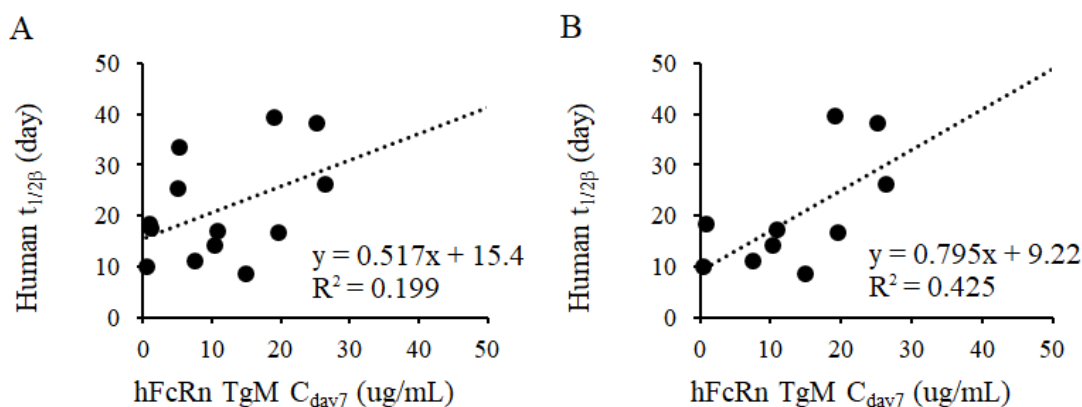


Figure 4-3 Correlation between C_{day7} in hFcRn TgM and t_{1/2β} in humans

Comparison of C_{day7} in hFcRn TgM and half-life at elimination phase (t_{1/2β}) in humans for 13 mAbs (A). Comparison of C_{day7} in hFcRn TgM and half-life at elimination phase (t_{1/2β}) in humans for 10mAbs (B). The dotted line is the regression (linear regression) line.

4-2-4 hFcRn TgM における C_{day7} を用いた半減期法によるヒト PK profile 予測

ヒト t_{1/2β} との相関性について高 R² 値を示した 10 抗体について、hFcRn TgM の C_{day7} から得られた線形近似式を用いてヒト t_{1/2β} を予測した (Figure 4-4)。10 抗体のうち 9 抗体が実際のヒト t_{1/2β} から 2 倍以内の差で予測可能であった。残りの 1 抗体は 2.46 倍の差であり、検討した全ての抗体について実測値との差が 3 倍以内で予測値が得られることが示された。次に予測したヒト t_{1/2β} を半減期法に適用してヒト PK profile 予測を行い、CL につい

て実際のヒトでの値と比較したところ、実測値と予測値との差異が 2 倍以内に 8 種の抗体が収まり、差異が 3 倍以内には検討した全 10 種の抗体が収まった。

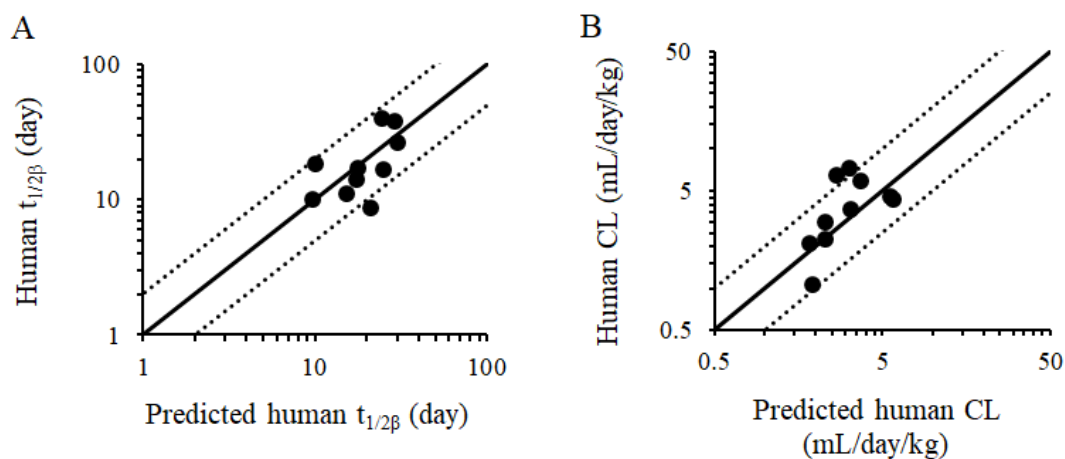


Figure 4-4 Comparison of predicted human PK using $C_{\text{day}7}$ in hFcRn TgM and observed human PK

Predicted values for human half-life at elimination phase ($t_{1/2\beta}$) were plotted against observed values for human $t_{1/2\beta}$ (A). Human $t_{1/2\beta}$ was predicted from hFcRn TgM $C_{\text{day}7}$ data using linear regression. Solid diagonal line represents the line of unity. The dotted lines represent two-fold range above and below the line of unity. Predicted values for human CL were plotted against observed values for human CL (B). Human CL was predicted from hFcRn TgM data. Solid diagonal line represents the line of unity. The dotted lines represent two-fold range above and below the line of unity.

第三節:考察

本章では、hFcRn TgM のデータから予測したヒト $t_{1/2\beta}$ を半減期法に適応したヒト PK profile 予測の妥当性を評価した。さらに、単一データポイントからのヒト PK profile 予測の現実性を明らかにするために、hFcRn TgM への抗体投与7日後の血漿中濃度である C_{day7} を使用したヒト PK profile 予測を行った。

検討した 13 抗体について hFcRn TgM で得られた $t_{1/2\beta}$ と実際のヒト $t_{1/2\beta}$ との相関性は、検討に用いた 13 抗体すべてを適用した際には確認されなかった (Figure 4-1A)。ただし、 AUC_{inf} に対する AUC_{β} の割合が 80% 未満の 3 抗体 (vedolizumab、benralizumab、および risankizumab) を除いたところ相関性が示された (Figure 4-1B)。hFcRn TgM は FcRn 介在リサイクリング機構に影響を受ける抗体の半減期を評価可能な非臨床モデルであると考えられる。 AUC_{β} が暴露の大部分である際には CL は AUC_{β} に依存し、さらに分布容積の小さい特徴を持つ抗体では $t_{1/2\beta}$ に FcRn リサイクリング機能が反映されると考えられる。従って、 AUC_{β} が AUC_{inf} の大部分を構成していない場合は、FcRn によるリサイクリング以外の要因によって $t_{1/2\beta}$ が決定していると考えられる。以上の点から、hFcRn TgM における $t_{1/2\beta}$ を用いたヒト PK 予測を行う際には、 AUC_{inf} に対する AUC_{β} の寄与を確認する必要があると考えられる。 $t_{1/2\beta}$ について hFcRn TgM とヒトとの相関性が示された 10 抗体の線形近似式を用いて hFcRn TgM における $t_{1/2\beta}$ からヒト $t_{1/2\beta}$ を推定した。その結果、9 種の予測 $t_{1/2\beta}$ 値は実測ヒト $t_{1/2\beta}$ 値と 2 倍以内の差に収まり、1 種の予測値も実測値との差は 2.23 倍であった。この予測精度は過去に報告されている精度と同等であり (Avery et al., 2016; Tam et al., 2013)、今回行った解析・予測条件によってヒト $t_{1/2\beta}$ の予測は精度良く実施可能であることが示唆された。

hFcRn TgM の $t_{1/2\beta}$ から推定された抗体医薬品のヒト $t_{1/2\beta}$ を半減期法に適応し、ヒト PK profile を予測すると共に、予測した PK profile から得られた CL とヒト実測 CL とを比較することで精度を検証した (Figure 4-2)。検討した 10 抗体の中で、7 種は予測 CL と実測 CL との差が 2 倍以内に収まり、3 倍以内の差には 10 種すべての抗体が収まった。得られた予測精度は報告されている NHP からの予測精度と比較して同等であると判断されたことから、抗体のヒト線形 PK profile は半減期法を適応することで hFcRn TgM から予測することが可能であることが示唆された (Ling et al., 2009; Oitate et al., 2011; Wang and Prueksaritanont, 2010)。hFcRn TgM における抗体の PK パラメーターは、Line や Homo/Hemi を問わず、ヒト PK パラメーターと相関することが報告されている (Avery et al.,

2016; Haraya et al., 2014; Tam et al., 2013)。半減期法では適切に予測されたヒト $t_{1/2\beta}$ を使用することでヒト PK profile の予測を可能とするため、Line 32 Homo に適用を限定されないと考えられる。動物福祉 3Rs における Replacement としては、より下等な動物で評価することが推奨されている (National centre for the Replacement Refinement & Reduction of animals in research, 2019; 環境省, 2017)。さらに、この試験動物の NHP からの切り替えは、医薬品開発のコスト削減や試験の効率性向上に繋がることから、社会的要求性は極めて高い。hFcRn TgM のデータを用いて行ったヒト PK profile 予測の精度は、NHP のデータを用いて行った予測の精度と同等であるため、NHP からげっ歯類である hFcRn TgM への抗体医薬品の PK 試験への切り替えは現実性が高い。そのため、この hFcRn TgM を用いたヒト PK profile 予測法は、動物愛護に加え、効率的な医薬品開発に繋がるものと期待される。

hFcRn TgM における抗体 PK の特徴として、分布容積が小さいこと、半減期に各抗体の違いが現れることが挙げられる。一般的な抗体の体内動態特性を考慮すると、消失相における 1 時点の濃度からヒト $t_{1/2\beta}$ を予測することが可能と考えられた。この予測が実現することで、半減期法を活用したヒト PK profile 予測まで可能と考えられたことから、消失相における 1 時点の濃度として C_{day7} を使用したヒト PK profile 予測の現実性を検討した。検討した 13 抗体すべての hFcRn TgM で得られた C_{day7} について、ヒト $t_{1/2\beta}$ との相関性は示されず (Figure 4-2A)、 AUC_{inf} に対する AUC_{β} の割合が 70% 未満の 3 抗体 (vedolizumab、benralizumab、および risankizumab) を除いても、 R^2 は改善したものの、相関性は明確に示されなかった (Figure 4-2B)。この理由として、1 時点における濃度のみを採用した場合は、定量法の誤差がダイレクトに影響し、複数時点における濃度から算出する半減期と比較してばらつきが大きくなることが挙げられる。また、 C_{day7} が今回の ECLIA 法においては定量下限値に至っているために濃度としての信頼性が低いためとも考えられる。今後、血漿中抗体濃度測定について質量分析装置などを活用した高感度かつ定量精度の高い手法に切り替えることによって (European Medicines Agency, 2011)、単一時点濃度からの信頼性の高いヒト $t_{1/2\beta}$ 予測が実現可能と考えられる。

hFcRn TgM で得られた C_{day7} とヒト $t_{1/2\beta}$ との明確な相関性は示されなかったものの、得られた線形近似式を用いて C_{day7} からヒト $t_{1/2\beta}$ の予測を行った。その結果、10 抗体のうち 9 種の抗体が 2 倍以内に予測値と実測値との差が収まったことから、半減期法に適応してヒト PK profile 予測を行った。予測されたヒト PK profile から算出された CL について、実測ヒト CL と比較して 2 倍以内の差異であったのは 8 抗体であり、3 倍以内の差には全ての抗体

が収まり、予測精度は NHP の値を使用した予測と同等であることが示唆された。この理由として、抗体 PK は多くの共通する特徴を有していることが挙げられる。そのため、ヒト $t_{1/2\beta}$ との相関性は確認できなかったが良好な精度で予測出来たと考えられた。1 時点濃度からの予測について、検体間で優劣をつける比較については適応が困難と考えられる。ただし、解析対象の抗体がヒトにおける PK profile について一般的な抗体と比して大きく外れた PK profile 特性を示すか否かを検証する目的であれば、本手法は活用できる可能性がある。ヒト PK profile 予測の hFcRn TgM における 1 時点の濃度からの実施は、採血 volume および採血回数の削減に繋がり、結果として非臨床試験の大幅な効率化や 3Rs の refinement の達成に貢献すると考えられる。

結論として、半減期法を適応することで hFcRn TgM のデータから抗体のヒト PK profile 予測は可能であることが示唆された。さらに、抗体医薬品の実測ヒト $t_{1/2\beta}$ と相関関係が示される hFcRn TgM $t_{1/2\beta}$ を用いるだけでなく、hFcRn TgM における C_{day7} のみでもヒト PK profile 予測が可能であることが示唆された。

第五章:本研究の結論及び将来への展望

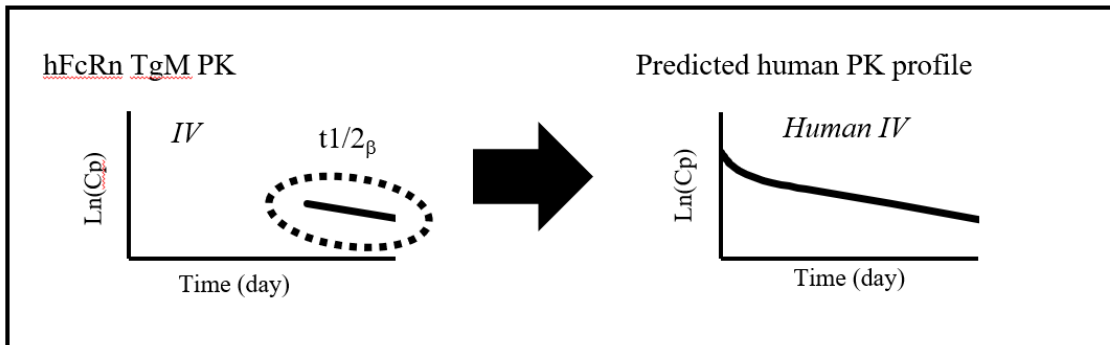
抗体医薬品は幅広い疾患領域の治療に用いられており、今後も新たな抗体医薬品が開発され、医療に貢献すると考えられる。本研究では、抗体医薬品の効率的な開発・創出に向け、ヒト線形 PK profile 予測を行う手法として半減期法を確立した。さらに本法の適用した抗体の PK profile 予測は、NHP における抗体の PK データだけではなく、げっ歯類における抗体の体内動態評価モデル、hFcRn TgM におけるデータを用いても可能であることが示唆された。

第二章では抗体のヒトおよび NHP における動的な特徴を解析した。静脈内への抗体投与後の血漿中濃度推移は 2-コンパートメントモデル (V1、K12、K21 および K10) で表現された。ヒトおよび NHP において分布容積は抗体間でほとんど変わらず、各抗体の動的な違いは $t_{1/2\beta}$ に現れることが明らかとなった。K12 および K21 は幅広い値を示したが 2 つの値は比例関係にあり、比例関係上の数値であれば profile の違いはほとんどないことが示唆された。さらに、分布容積に抗体間差がなく、暴露の大部分が消失相であったことから、 $t_{1/2\beta}$ から K10 は推定可能であることが示唆された。そこで、各抗体固有のパラメータ値として $t_{1/2\beta}$ のみで PK profile を表現する手法として「半減期法」を見出した。NHP における $t_{1/2\beta}$ からシンプリアイドアロメトリーにてヒト $t_{1/2\beta}$ は予測可能であり、NHP $t_{1/2\beta}$ からシンプリアイドアロメトリーと半減期法を活用して得た PK profile は、従来の NHP を用いた手法と同等であることが示唆された。

第三章と第四章の研究を通じ、hFcRn TgM における抗体の PK データを用い、半減期法に適用することで、ヒト PK profile が予測可能であることが示唆された。hFcRn TgM 静脈内に投与された抗体医薬品は二相性の消失を示した。得られた血漿中濃度推移の 2-コンパートメントモデル解析の結果、分布容積に抗体間差はなく、 $t_{1/2\beta}$ に抗体間差が現れることが示され、hFcRn TgM における抗体の動的な特徴はヒトおよび NHP の特徴と一致することが示唆された。hFcRn TgM データを用いた半減期法によるヒト PK profile 予測を行ったところ、被験抗体の静脈内投与後における $t_{1/2\beta}$ について hFcRn TgM とヒトとの間で相関が示され、hFcRn TgM における抗体の $t_{1/2\beta}$ からヒトにおける $t_{1/2\beta}$ を予測出来ることが示唆された。hFcRn TgM データから予測されたヒト $t_{1/2\beta}$ を半減期法に適応してヒト PK profile 予測を行ったところ、NHP データからの予測と同等の精度であることが示された (Figure 5-1)。また、hFcRn TgM における C_{day7} のみを使用したヒト PK profile 予測を行ったところ、NHP からの予測と同等の精度であった。このことは、半減期法を適応することで hFcRn TgM に

における1時点濃度からでもヒトPK profileを予測できる可能性を示唆している (Figure 5-2)。以上の知見は、従来のNHPを用いたヒトPK profile予測を、精度を維持したままげっ歯類モデルであるhFcRn TgMを用いた予測へ切り替えられることを示している。この切り替えは、動物福祉の3Rsに配慮した非臨床試験の実現と、抗体医薬品開発の大幅な効率化に繋がると期待される。

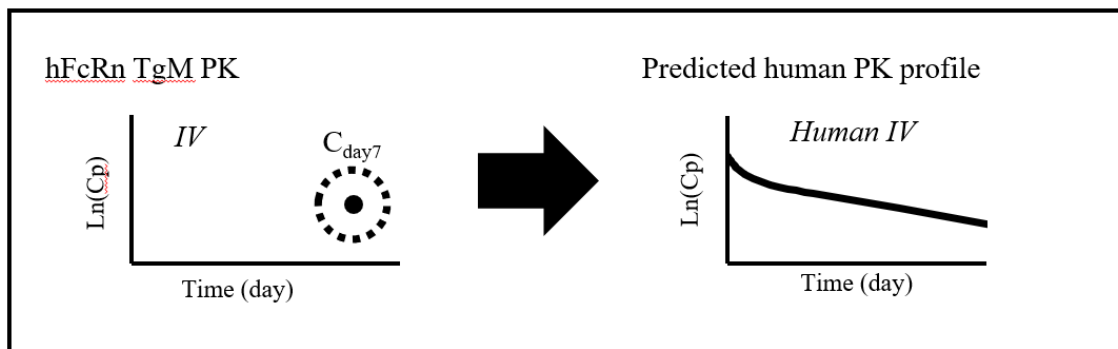
以上、本研究にて得られた成果は抗体医薬品の非臨床段階におけるPK profile評価において効率化と、その結果としての抗体医薬品創出を促すものであり、創薬・医療に貢献するものと期待される。



- Human geometric mean is applied to V_1 , K_{12} , and K_{21}
 $\text{Human } V_1 = 45.1 \text{ mL/day}$, $\text{Human } K_{12} = 0.275 \text{ day}^{-1}$, $\text{Human } K_{21} = 0.355 \text{ day}^{-1}$
- Human β is calculated from $\text{hFcRn TgM } t_{1/2\beta}$ by linear regression
 $\text{Human } t_{1/2\beta} = 1.89 \times \text{hFcRn TgM } t_{1/2\beta} + 7.18$
 $\text{Human } \beta = \text{LN2} / \text{Human } t_{1/2\beta}$
- Human K_{10} is calculated using scaled β and human geometric mean of V_1 and V_{dss}
 $\text{Human } K_{10} \doteq \text{Human } \beta \times (81.0/45.1)$

Figure 5-1 Proposed half-life method using only data on $t_{1/2\beta}$ from hFcRn TgM to predict mAb human PK profile

PK: pharmacokinetics, V_1 : distribution volume of central compartment, K_{12} : central to peripheral distribution rate, K_{21} : peripheral to central distribution rate, β : elimination rate constant at elimination phase, BW: body weight, K_{10} : central elimination rate, V_{dss} : distribution volume at steady state.



- Human geometric mean is applied to V1, K12, and K21
 $\text{Human } V1 = 45.1 \text{ mL/day}$, $\text{Human } K12 = 0.275 \text{ day}^{-1}$, $\text{Human } K21 = 0.355 \text{ day}^{-1}$
- Human β is calculated from hFcRn TgM $C_{\text{day}7}$ by linear regression
 $\text{Human } t1/2_{\beta} = 0.795 \times \text{hFcRn TgM } C_{\text{day}7} + 9.22$
 $\text{Human } \beta = \text{LN}2 / \text{Human } t1/2_{\beta}$
- Human K10 is calculated using scaled β and human geometric mean of V1 and V_{dss}
 $\text{Human } K10 \doteq \text{Human } \beta \times (81.0/45.1)$

Figure 5-2 Proposed half-life method using only data on $C_{\text{day}7}$ from hFcRn TgM to predict mAb human PK profile

PK: pharmacokinetics, V1: distribution volume of central compartment, K12: central to peripheral distribution rate, K21: peripheral to central distribution rate, β : elimination rate constant at elimination phase, BW: body weight, K10: central elimination rate, V_{dss} : distribution volume at steady state.

実験の部

ヒトおよび NHP における抗体医薬品線形動態の特徴解明と「半減期法」の提唱

ヒトおよび NHP における抗体 PK データ収集

FDA (Food and Drug Administration, USA) および PMDA (Pharmaceutical and Medical Devices Agency, Japan) において 2015 年までに承認されている抗体医薬品を中心に調査を実施し、臨床試験段階の抗体についてもヒトと NHP のデータが入手可能なものはデータセットに加えた。ヒトで 24 種類、カニクイザルで 15 種類、アカゲザルで 4 種類の抗体について静脈内投与後の PK データを入手し、調査した抗体および得られた PK パラメーター値を Table 2-1 に示した。2-コンパートメントモデルのパラメーター値が得られない場合は、PK profile のデータを UnGraph UnGraph Version 5.0 (HULINKS, Tokyo, Japan) で読み取り、読み取った値について 2-コンパートメントモデルで解析を行うことでパラメーター値を得た。

PK 解析

2-コンパートメントモデル解析

静脈内投与後の抗体 PK profile は Phoenix WinNonlin version 6.0 (Certara Inc., Princeton NJ, USA) を使用して 2-コンパートメントモデル解析を行った。2-コンパートメントモデルにおける二相性の消失を示す血漿中濃度 (C) は、first macro-constant (A)、second macro-constant (B)、elimination rate constant at distribution phase (α)、および elimination rate constant at elimination phase (β) を用いて以下の式で表現した。

$$C = A \times e^{-\alpha t} + B \times e^{-\beta t} \quad \text{Eq. 1}$$

Central elimination rate (K10)、central to peripheral distribution rate (K12)、peripheral to central distribution rate (K21) および distribution volume at peripheral compartment (V2) は以下の式から算出した。

$$K21 = (A \times \beta + B \times \alpha) \div (A + B) \quad \text{Eq. 2}$$

$$K10 = \alpha \times \beta \div K21 \quad \text{Eq. 3}$$

$$K12 = \alpha + \beta - K21 - K10 \quad \text{Eq. 4}$$

$$V2 = K12 \times V1 \div K21 \quad \text{Eq. 5}$$

Distribution volume in central compartment (V1)、 distribution volume at steady state (V_{dss}) および half-life at elimination phase ($t_{1/2\beta}$) は以下の式から算出した。

$$V1 = Dose \div (A + B) \quad \text{Eq. 6}$$

$$V_{dss} = V1 + V2 \quad \text{Eq. 7}$$

$$t_{1/2\beta} = \ln 2 \div \beta \quad \text{Eq. 8}$$

Area under the curve from 0 to infinity (AUC_{inf})、 area under the curve at distribution phase (AUC_{α}) および area under the curve at elimination phase (AUC_{β}) は以下の式から算出した。

$$AUC_{inf} = AUC_{\alpha} + AUC_{\beta} \quad \text{Eq. 9}$$

$$AUC_{\alpha} = A \div \alpha \quad \text{Eq. 10}$$

$$AUC_{\beta} = B \div \beta \quad \text{Eq. 12}$$

Clearance (CL) および distribution volume at the elimination phase ($V_{d\beta}$) は以下の式から算出した。

$$CL = Dose \div AUC_{inf} \quad \text{Eq. 13}$$

$$V_{d\beta} = CL \div \beta \quad \text{Eq. 14}$$

アロメトリックスケーリングによるNHP 半減期からヒト半減期の予測

NHP の β を Eq. 15 で示したシンプリアイドアロメトリーでスケーリングすることでヒト β を予測した。

$$\text{Predicted } \beta_{human} = \beta_{NHP} \times (BW_{human} \div BW_{NHP})^x \quad \text{Eq. 15}$$

β_{human} および β_{NHP} はヒトおよび NHP における β を示す。 BW_{human} はヒトの体重を示し、 BW_{NHP} はカニクイザルもしくはアカゲザルの体重を示す。Reference に体重の具体的な値が記載されていない場合、ヒトは 70 kg、カニクイザルは 3.75 kg、アカゲザルは 6 kg として計算した。Scaling exponent である x には -0.15 を適応して計算した。

半減期法によるヒト PK profile 予測

半減期法を使用してヒトにおける静脈内投与後の抗体 PK profile を NHP $t_{1/2\beta}$ から予測した。半減期法は、 $V1_{\text{human}}$ 、 V_{dsshuman} 、 $K12_{\text{human}}$ 、 $K21_{\text{human}}$ にヒトにおける幾何平均値を使用して算出する方法であり、それぞれの値は 45.1 mL/kg、81.0 mL/kg、 0.275 day^{-1} および 0.355 day^{-1} とした (Table 2-1)。 $K10_{\text{human}}$ は以下の式から算出した。

$$K10_{\text{human}} = (V_{\text{dsshuman}} \div V1_{\text{human}}) \times \text{Predicted } \beta_{\text{human}} \quad \text{Eq. 16}$$

Predicted β_{human} は Eq. 15 から算出を行い、 V_{dsshuman} はヒトにおける幾何平均値である 81.0 mL/kg とした。

ヒト PK profile の simulation は Eq. 1 に示した 2 コンパートメントモデルで行った。マクロスコピックパラメーターである α 、 β 、 A 、 B とミクロスコピックパラメーターである $K10$ 、 $K12$ 、 $K21$ 、 $V1$ の関係を下記に示した。

$$\alpha = (K10 + K12 + K21 + \sqrt{(K10 + K12 + K21)^2 - 4 \times K21 \times K10}) \div 2 \quad \text{Eq. 17}$$

$$\beta = (K10 + K12 + K21 - \sqrt{(K10 + K12 + K21)^2 - 4 \times K21 \times K10}) \div 2 \quad \text{Eq. 18}$$

$$A = \text{Dose} \times (K21 - \alpha) \div (V1 \times (\beta - \alpha)) \quad \text{Eq. 19}$$

$$B = \text{Dose} \times (K21 - \beta) \div (V1 \times (\alpha - \beta)) \quad \text{Eq. 20}$$

シンプリアイドアロメトリーによるヒト PK profile 予測

NHP における $V1$ 、 $K10$ 、 $K12$ および $K21$ について、Eq. 15 に示した式を使用したスケールリングによってヒトパラメーターの予測値を算出した。Scaling exponent は、 $V1$ には 1.0、 $K10$ 、 $K12$ および $K21$ には -0.15 を使用して計算を行った。得られたヒトパラメーターの予測値から Eq. 1、Eq. 17~Eq. 20 の式を用いて PK profile の simulation を行った。

hFcRn TgM データを半減期法に適応したヒト PK profile 予測

試薬

抗体医薬品

以下の販売名で販売されている医療用抗体医薬品を購入した。

エンタイビオ (vedolizumab)、ファセンラ (benralizumab)、イベニティ (romosozumab)、スキリージ (risankizumab)、ヒュミラ (adalimumab)、ステラーラ (ustekinumab)、プラリア (denosumab)、トレムフィア (guselkumab)、ケブザラ (sarilumab)、サイラムザ (ramucirumab)、ベンリスタ (belimumab)、デュピクセント (dupilumab)、シンポニー (golimumab)

Intravenous immunoglobulin (IVIG) に使用したハイゼントラは CSL Behring K.K. Tokyo, Japan から購入した。

血漿中濃度測定関連試薬

ECLIA プレートへの固相化に使用し integrin $\alpha 4\beta 7$ 、IL5R α 、IL6R α 、BLyS は R&D Systems, McKinley Place, NE から、IL4R α 、IL12、IL23 α 、TNF α 、VEGFR2、RANKL、sclerostin は BioVision, Milpitas, CA から購入した。384-well ECLIA プレート、sTAG-streptavidin および Read buffer T は MESO SCALE DIAGNOSTICS, Rockville, ML から購入した。Biotin 標識抗ヒト IgG は Jackson ImmunoResearch Inc, West Grove, PA から購入した。Phosphate buffered saline containing 0.05% Tween 20 (PBST) および bovine serum albumin (BSA) は Roche Applied Science, Penzberg, Germany から購入した。Block Ace は Dainippon Sumitomo Pharma, Osaka, Japan から購入した。Tris-buffered saline containing 0.05% Tween20 (TBST) は Merck KGaA, Darmstadt, Germany から購入した。

実験動物

使用動物

hFcRn TgM における PK 試験では human FcRn homozygous transgenic mice (line 32) (B6.mFcRn^{-/-}. hFcRn Tg line 32^{+/+} mouse, (Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME) の雄性を

使用した。全ての動物実験は、中外製薬株式会社における Guidelines for the care and Use of laboratory animals に従って実施した (承認番号 19-229)。

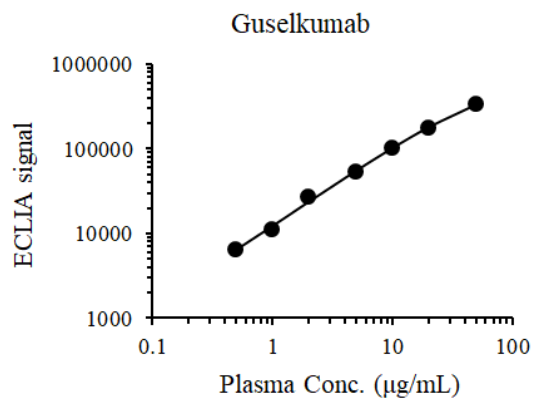
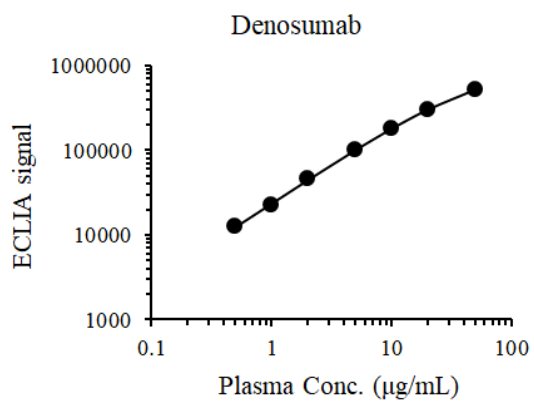
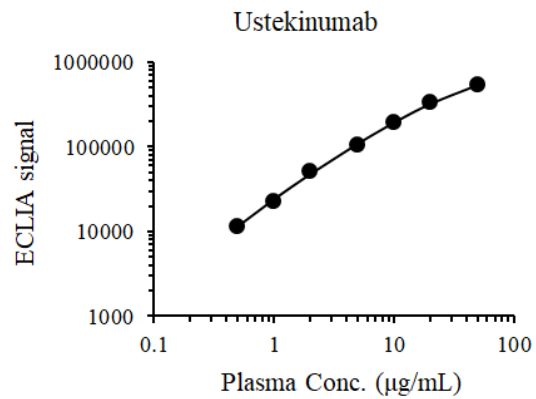
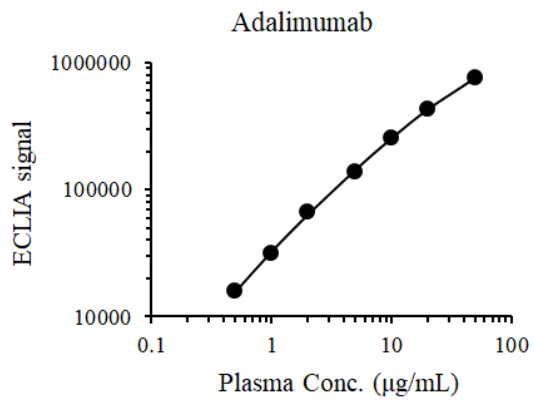
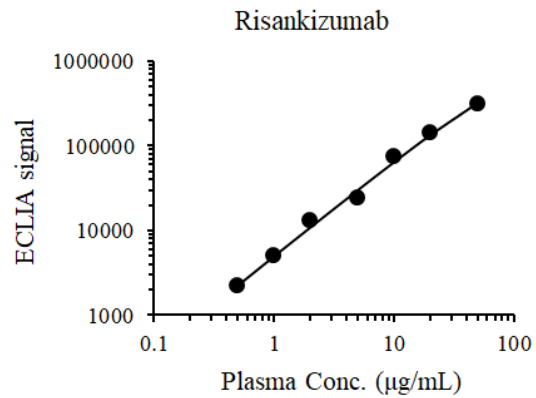
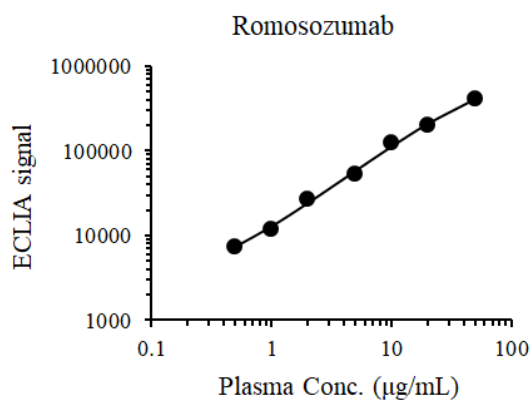
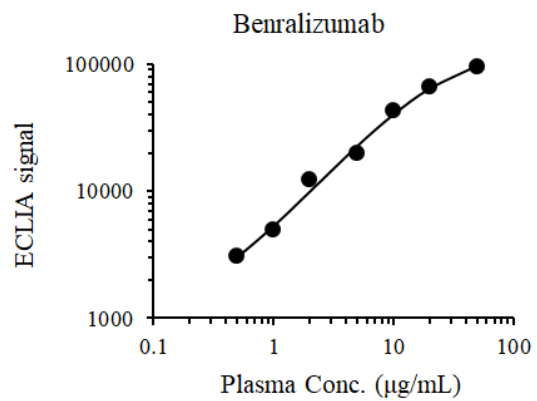
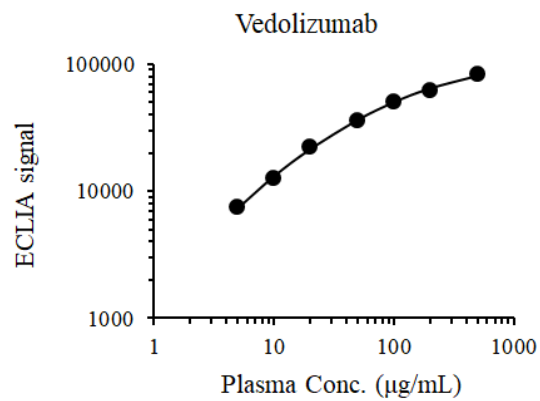
静脈内単回投与試験

各抗体濃度を 1 mg/mL および IVIG 100 mg/mL となるように調製した投与液を hFcRn TgM の尾静脈から 10 mL/kg の volume で急速静脈内投与した (n=3)。投与後 5 分、7 時間、1、2、3、7、13 (or 14)、21、28 日後に頸静脈から血液を採取し、ヘパリン処理したチューブに回収した血液を 20400 g で 10 分間遠心することで測定用血漿を得た。

血漿中濃度測定

ECLIA 法

測定用血漿サンプル中の抗体濃度は ECLIA 法によって測定した。各種抗原を 1 µg/mL の濃度で含有するリン酸溶液を ECLIA プレートに添加し、5°Cで一晩静置することで抗原固相を行った。リン酸溶液を除去してから ECLIA プレートを PBST で洗浄し、0.5%(w/v) BSA および 10% Block Ace を含む TBS-T 溶液 (Blocking buffer) で blocking を行った。Blocking buffer で任意の濃度に調製した標準溶液および blocking buffer で希釈した測定用血漿サンプルを、blocking buffer を除去した ECLIA プレートに添加してから室温で 1 時間静置した。溶液を除去してから PBST で洗浄した ECLIA プレートにビオチン標識抗ヒト抗体溶液を添加してから 1 時間室温で静置した。ビオチン標識抗ヒト抗体溶液を除去してから PBST で洗浄した ECLIA プレートに sTAG-streptavidin 溶液を添加してさらに 1 時間室温で静置した。sTAG-streptavidin 溶液を除去した ECLIA プレートを PBST で洗浄した後に Read buffer T を添加してから Sector Imager S600 (MESO SCALE DIAGNOSTICS, Rockville, ML) でシグナルを検出した。標準溶液のシグナルを Softmax Pro software (Molecular Devices, San Jose, CA) の 4-parameter nonlinear regression program で解析することで標準曲線を作成し (Figure 実-1)、それぞれの抗体で作成した標準曲線から測定用血漿サンプル中の抗体濃度を算出した。



Continued to the next page

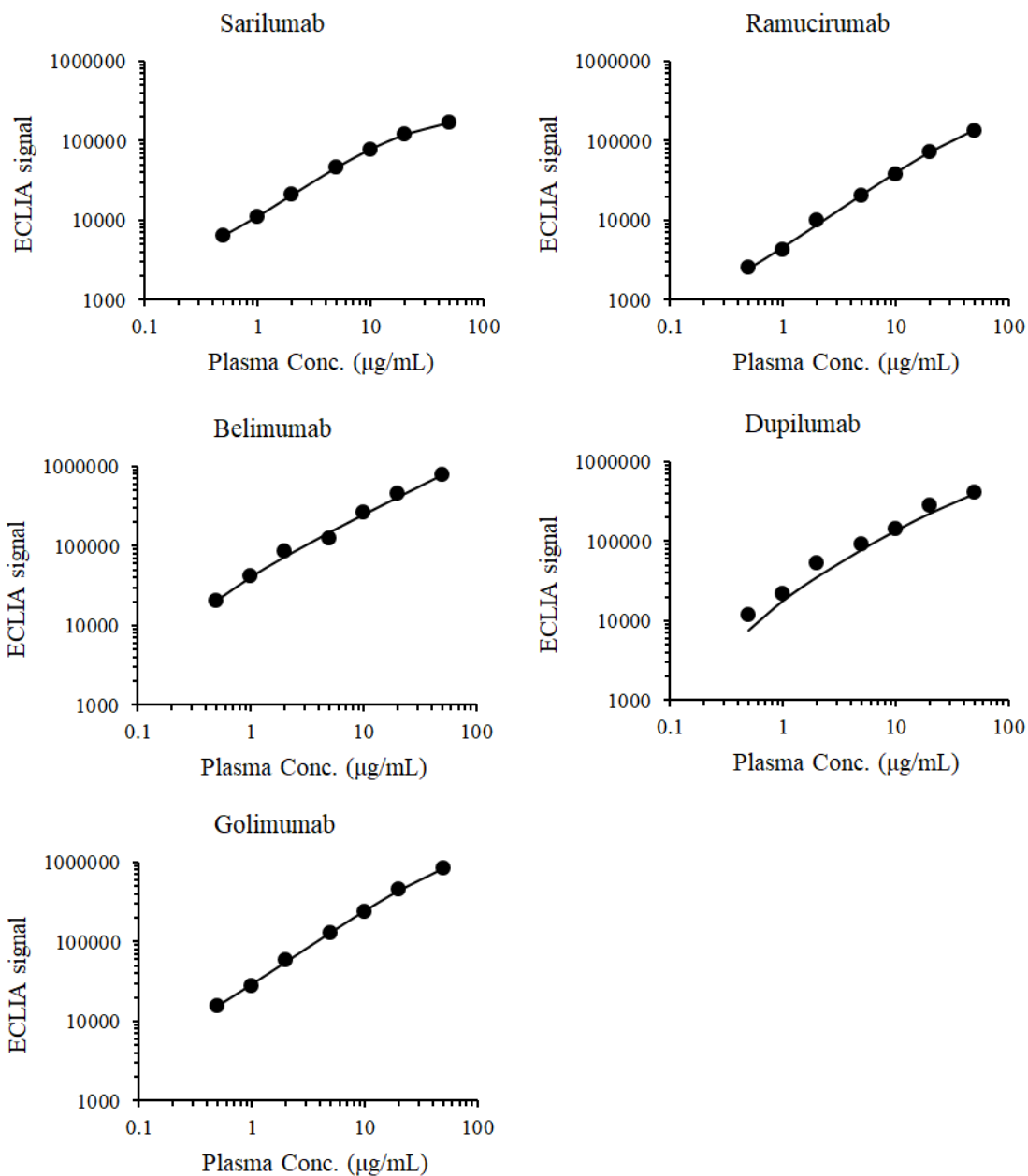


Figure 実-1 Standard curve of selected thirteen monoclonal antibody

Plasma concentration were plotted against ECLIA signal in each monoclonal antibody. The solid line was fitted curve with a 4-parameter logistic.

ヒトにおける抗体 PK データ収集

2019 年までに日本で承認されている 13 種類の抗体医薬品についてデータ収集を行った。

調査した抗体および得られた PK パラメーター値を Table 3-1 に示した。2-コンパートメントモデルのパラメーター値が得られない場合は、PK profile のデータを UnGraph UnGraph Version 5.0 (HULINKS, Tokyo, Japan) で読み取り、読み取った値について2-コンパートメントモデルで解析を行うことでパラメーター値を得た。

PK 解析

2-コンパートメントモデル解析

静脈内投与後の抗体 PK profile は Phoenix WinNonlin version 8.0 (Certara Inc., Princeton NJ, USA) を使用して2コンパートメントモデル解析を行った。計算式は Eq. 1~Eq. 14 で示した式に従った。

***hFcRn TgM* における $t_{1/2\beta}$ を用いた半減期法によるヒト血漿中濃度推移予測**

hFcRn TgM における $t_{1/2\beta}$ を使用した半減期法によるヒト PK profile 予測に適応するヒト $t_{1/2\beta}$ は、10 抗体での線形近似で得られた下記の式を使用して算出した (Figure 4-1B)。

$$\text{Predicted } t_{1/2\beta\text{human}} = 1.87 \times t_{1/2\beta\text{TgM}} + 7.18 \quad \text{Eq. 21}$$

$t_{1/2\beta\text{human}}$ および $t_{1/2\beta\text{TgM}}$ はヒトおよび *hFcRn TgM* における $t_{1/2\beta}$ を示す。

$V_{1\text{human}}$ 、 $K_{12\text{human}}$ 、 $K_{21\text{human}}$ には半減期法で適応するヒトにおける幾何平均値である 45.1 mL/kg、 0.275 day^{-1} 、 0.355 day^{-1} を使用し、 $K_{10\text{human}}$ は以下の式から計算した。

$$\text{Predicted } K_{10\text{human}} = 1.80 \times \ln 2 \div \text{Predicted } t_{1/2\beta\text{human}} \quad \text{Eq. 22}$$

得られたヒトパラメーターの予測値から Eq. 1、Eq. 17~Eq. 20 の式を用いて PK profile の simulation を行った。予測精度を確認するための CL_{human} は以下の式から算出した。

$$CL_{\text{human}} = K_{10\text{human}} \times V_{1\text{human}} \quad \text{Eq. 23}$$

***hFcRn TgM* における C_{day7} を用いた半減期法によるヒト血漿中濃度推移予測**

hFcRn TgM における $C_{\text{day}7}$ を使用した半減期法によるヒト PK profile 予測に適応するヒト $t_{1/2\beta}$ は、10 抗体での線形近似で得られた下記の式を使用して算出した (Figure 4-3B)。

$$\text{Predicted } t_{1/2\beta\text{human}} = 0.795 \times C_{\text{day}7\text{TgM}} + 9.22 \quad \text{Eq. 24}$$

$C_{\text{day}7\text{TgM}}$ は、hFcRn TgM における投与 7 日後の血漿中濃度を示す。

Eq. 24 で得られた predicted $t_{1/2\beta\text{human}}$ を Eq. 22 に適応して predicted $K_{10\text{human}}$ を得た。得られたヒトパラメーターの予測値から Eq. 1、Eq. 17~Eq. 20 の式を用いて PK profile の simulation を行った。予測精度を確認するための CL_{human} は Eq. 23 から算出した。

引用文献

- PMDA. (2001) Trastuzumab. <<http://www.pmda.go.jp/drugs/2001/P200100003/index.html>> accessed 5 January, 2017.
- PMDA. (2002) Basiliximab. <<http://www.pmda.go.jp/drugs/2002/P200200005/index.html>> accessed 5 January, 2017.
- PMDA. (2002) Palivizumab. <<http://www.pmda.go.jp/drugs/2002/P200200010/index.html>> accessed 5 January, 2017.
- FDA. (2004) Natalizumab. <http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2004/125104s000_Natalizumab.cfm> accessed 5 January, 2017
- PMDA. (2007) Bevacizumab. <<http://www.pmda.go.jp/drugs/2007/P200700027/index.html>> accessed 5 January, 2017.
- PMDA. (2008) Adalimumab. <<http://www.pmda.go.jp/drugs/2008/P200800019/index.html>> accessed 5 January, 2017.
- FDA. (2009) Raxibacumab. <<http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/Drugs/AntiInfectiveDrugsAdvisoryCommittee/UCM187312.pdf#search=%27raxibacumab+fda+hgs1021%27>> accessed 5 January, 2017.
- PMDA. (2010) Panitumumab. <<http://www.pmda.go.jp/drugs/2010/P201000024/index.html>> accessed 5 January, 2017.
- FDA. (2011) Belimumab. <http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/125370Orig1s000TOC.cfm> accessed 5 January, 2017.
- PMDA. (2011) Golimumab. <<https://www.pmda.go.jp/drugs/2011/P201100114/index.html>> accessed 12 August, 2020.
- PMDA. (2011) Ustekinumab. <<https://www.pmda.go.jp/drugs/2011/P201100021/index.html>> accessed 12 August, 2020.
- PMDA. (2013) Denosumab. <<https://www.pmda.go.jp/drugs/2013/P201300022/index.html>> accessed 12 August, 2020.
- FDA. (2013) Vedolizumab. <http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/125370Orig1s000TOC.cfm> accessed 12 August, 2020.
- PMDA. (2013) Pertuzumab. <<http://www.pmda.go.jp/drugs/2013/P201300075/index.html>> accessed 5 January, 2017.
- PMDA. (2014) Nivolumab. <<http://www.pmda.go.jp/drugs/2014/P201400114/index.html>> accessed 5 January, 2017.
- PMDA. (2015) Ramucirumab. <<http://www.pmda.go.jp/drugs/2015/P201500028/index.html>> accessed 5 January, 2017.

- PMDA. (2018) Benralizumab. <<https://www.pmda.go.jp/drugs/2018/P20180216003/index.html>> accessed 12 August, 2020.
- PMDA. (2018) Dupilumab. <<https://www.pmda.go.jp/drugs/2018/P20180129001/index.html>> accessed 12 August, 2020.
- PMDA. (2018) Vedolizumab. <<https://www.pmda.go.jp/drugs/2018/P20180713001/index.html>> accessed 12 August, 2020.
- PMDA. (2019) Risankizumab. <<https://www.pmda.go.jp/drugs/2019/P20190329001/index.html>> accessed 12 August, 2020.
- PMDA. (2019) Romosozumab. <<https://www.pmda.go.jp/drugs/2019/P20190122003/index.html>> accessed 12 August, 2020.
- European Medicines Agency (2011) Guideline on bioanalytical method validation. 2011. <http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/08/WC500109686.pdf#search=%27guideline+bioanalytical+validation+july+2011%27>
- Agus DB, Gordon MS, Taylor C, Natale RB, Karlan B, Mendelson DS, Press MF, Allison DE, Sliwkowski MX, Lieberman G, Kelsey SM and Fyfe G (2005) Phase I clinical study of pertuzumab, a novel HER dimerization inhibitor, in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* **23**:2534-2543.
- Akilesh S, Christianson GJ, Roopenian DC and Shaw AS (2007) Neonatal FcR expression in bone marrow-derived cells functions to protect serum IgG from catabolism. *J Immunol* **179**:4580-4588.
- Canadian Council on Animal Care Conseil canadien de protection des animaux (1991) Canadian Council on Animal Care. "Categories of Invasiveness in Animal Experiments." <https://www.ccac.ca/Documents/Standards/Policies/Categories_of_invasiveness.pdf> accessed 16 January, 2020.
- Avery LB, Wang M, Kavosi MS, Joyce A, Kurz JC, Fan YY, Dowty ME, Zhang M, Zhang Y, Cheng A, Hua F, Jones HM, Neubert H, Polzer RJ and O'Hara DM (2016) Utility of a human FcRn transgenic mouse model in drug discovery for early assessment and prediction of human pharmacokinetics of monoclonal antibodies. *MAbs* **8**:1064-1078.
- Bauer RJ, Dedrick RL, White ML, Murray MJ and Garovoy MR (1999) Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of the anti-CD11a antibody hu1124 in human subjects with psoriasis. *J Pharmacokinet Biopharm* **27**:397-420.
- Baxter LT, Zhu H, Mackensen DG, Butler WF and Jain RK (1995) Biodistribution of monoclonal antibodies: scale-up from mouse to human using a physiologically based pharmacokinetic model. *Cancer Res* **55**:4611-4622.

- Betts A, Keunecke A, van Steeg TJ, van der Graaf PH, Avery LB, Jones H and Berkhout J (2018) Linear pharmacokinetic parameters for monoclonal antibodies are similar within a species and across different pharmacological targets: A comparison between human, cynomolgus monkey and hFcRn Tg32 transgenic mouse using a population-modeling approach. *MAbs* **10**:751-764.
- Bonifacio L, Dodds M, Prohaska D, Moss A, Giaccia A, Tabibiazar R and McIntyre G (2020) Target-Mediated Drug Disposition Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model-Informed Dose Selection for the First-in-Human Study of AVB-S6-500. *Clin Transl Sci* **13**:204-211.
- Bournazos S, Wang TT, Dahan R, Maamary J and Ravetch JV (2017) Signaling by Antibodies: Recent Progress. *Annu Rev Immunol* **35**:285-311.
- Boyd SD and Joshi SA (2014) High-Throughput DNA Sequencing Analysis of Antibody Repertoires. *Microbiol Spectr* **2**
- Brambell FW (1966) The transmission of immunity from mother to young and the catabolism of immunoglobulins. *Lancet* **2**:1087-1093.
- Breedveld FC (2000) Therapeutic monoclonal antibodies. *Lancet* **355**:735-740.
- Briney B, Inderbitzin A, Joyce C and Burton DR (2019) Commonality despite exceptional diversity in the baseline human antibody repertoire. *Nature* **566**:393-397.
- Bruhns P (2012) Properties of mouse and human IgG receptors and their contribution to disease models. *Blood* **119**:5640-5649.
- Chakraborty A, Tannenbaum S, Rordorf C, Lowe PJ, Floch D, Gram H and Roy S (2012) Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of canakinumab, a human anti-interleukin-1beta monoclonal antibody. *Clin Pharmacokinet* **51**:e1-18.
- Che J, Wang H, Chen Z, Li X, Hou Y, Shan C and Cheng Y (2009) A new approach for pharmacokinetics of single-dose cetuximab in rhesus monkeys by surface plasmon resonance biosensor. *J Pharm Biomed Anal* **50**:183-188.
- Christopher L (2000) Principles of Renal Physiology.
- Daeron M (1997) Fc receptor biology. *Annu Rev Immunol* **15**:203-234.
- Dartois C, Freyer G, Michallet M, Henin E, You B, Darlavoix I, Vermot-Desroches C, Tranchand B and Girard P (2007) Exposure-effect population model of inolimomab, a monoclonal antibody administered in first-line treatment for acute graft-versus-host disease. *Clin Pharmacokinet* **46**:417-432.
- Davda JP, Jain M, Batra SK, Gwilt PR and Robinson DH (2008) A physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model to characterize and predict the disposition

- of monoclonal antibody CC49 and its single chain Fv constructs. *Int Immunopharmacol* **8**:401-413.
- Dedrick RL (1973) Animal scale-up. *J Pharmacokinet Biopharm* **1**:435-461.
- Deng R, Iyer S, Theil FP, Mortensen DL, Fielder PJ and Prabhu S (2011) Projecting human pharmacokinetics of therapeutic antibodies from nonclinical data: what have we learned? *MAbs* **3**:61-66.
- Dirks NL and Meibohm B (2010) Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. *Clin Pharmacokinet* **49**:633-659.
- Dong JQ, Salinger DH, Endres CJ, Gibbs JP, Hsu CP, Stouch BJ, Hurh E and Gibbs MA (2011) Quantitative prediction of human pharmacokinetics for monoclonal antibodies: retrospective analysis of monkey as a single species for first-in-human prediction. *Clin Pharmacokinet* **50**:131-142.
- Evaluate (2019) ワールドプレビュー2019 2024 年への展望.
< <https://info.evaluate.com/WPJP2019.html#form> >
- Fichorova RN, Richardson-Harman N, Alfano M, Belec L, Carbonneil C, Chen S, Cosentino L, Curtis K, Dezzutti CS, Donoval B, Doncel GF, Donaghay M, Grivel JC, Guzman E, Hayes M, Herold B, Hillier S, Lackman-Smith C, Landay A, Margolis L, Mayer KH, Pasicznyk JM, Pallansch-Cokonis M, Poli G, Reichelderfer P, Roberts P, Rodriguez I, Saidi H, Sassi RR, Shattock R and Cummins JE, Jr. (2008) Biological and technical variables affecting immunoassay recovery of cytokines from human serum and simulated vaginal fluid: a multicenter study. *Anal Chem* **80**:4741-4751.
- Fracasso PM, Burris H, 3rd, Arquette MA, Govindan R, Gao F, Wright LP, Goodner SA, Greco FA, Jones SF, Willcut N, Chodkiewicz C, Pathak A, Springett GM, Simon GR, Sullivan DM, Marcelpoil R, Mayfield SD, Mauro D and Garrett CR (2007) A phase 1 escalating single-dose and weekly fixed-dose study of cetuximab: pharmacokinetic and pharmacodynamic rationale for dosing. *Clin Cancer Res* **13**:986-993.
- Ghetie V and Ward ES (2000) Multiple roles for the major histocompatibility complex class I- related receptor FcRn. *Annu Rev Immunol* **18**:739-766.
- Glanville J, Zhai W, Berka J, Telman D, Huerta G, Mehta GR, Ni I, Mei L, Sundar PD, Day GM, Cox D, Rajpal A and Pons J (2009) Precise determination of the diversity of a combinatorial antibody library gives insight into the human immunoglobulin repertoire. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**:20216-20221.
- Glassman PM and Balthasar JP (2016) Physiologically-based pharmacokinetic modeling to predict the clinical pharmacokinetics of monoclonal antibodies. *J*

- Pharmacokinetic Pharmacodyn* **43**:427-446.
- Gram H (2016) Preclinical characterization and clinical development of ILARIS((R)) (canakinumab) for the treatment of autoinflammatory diseases. *Curr Opin Chem Biol* **32**:1-9.
- Hale G, Rebello P, Brettman LR, Fegan C, Kennedy B, Kimby E, Leach M, Lundin J, Mellstedt H, Moreton P, Rawstron AC, Waldmann H, Osterborg A and Hillmen P (2004) Blood concentrations of alemtuzumab and antiglobulin responses in patients with chronic lymphocytic leukemia following intravenous or subcutaneous routes of administration. *Blood* **104**:948-955.
- Halpern WG, Lappin P, Zanardi T, Cai W, Corcoran M, Zhong J and Baker KP (2006) Chronic administration of belimumab, a BlyS antagonist, decreases tissue and peripheral blood B-lymphocyte populations in cynomolgus monkeys: pharmacokinetic, pharmacodynamic, and toxicologic effects. *Toxicol Sci* **91**:586-599.
- Haraya K, Tachibana T, Nanami M and Ishigai M (2014) Application of human FcRn transgenic mice as a pharmacokinetic screening tool of monoclonal antibody. *Xenobiotica* **44**:1127-1134.
- Hesslein DG and Schatz DG (2001) Factors and forces controlling V(D)J recombination. *Adv Immunol* **78**:169-232.
- Huber AH, Kelley RF, Gastinel LN and Bjorkman PJ (1993) Crystallization and stoichiometry of binding of a complex between a rat intestinal Fc receptor and Fc. *J Mol Biol* **230**:1077-1083.
- Junghans RP (1997) Finally! The Brambell receptor (FcRB). Mediator of transmission of immunity and protection from catabolism for IgG. *Immunol Res* **16**:29-57.
- Kellermann SA and Green LL (2002) Antibody discovery: the use of transgenic mice to generate human monoclonal antibodies for therapeutics. *Curr Opin Biotechnol* **13**:593-597.
- Kelley SK, Gelzleichter T, Xie D, Lee WP, Darbonne WC, Qureshi F, Kissler K, Oflazoglu E and Grewal IS (2006) Preclinical pharmacokinetics, pharmacodynamics, and activity of a humanized anti-CD40 antibody (SGN-40) in rodents and non-human primates. *Br J Pharmacol* **148**:1116-1123.
- Kelly-Scumpia KM, Scumpia PO, Weinstein JS, Delano MJ, Cuenca AG, Nacionales DC, Wynn JL, Lee PY, Kumagai Y, Efron PA, Akira S, Wasserfall C, Atkinson MA and Moldawer LL (2011) B cells enhance early innate immune responses during bacterial sepsis. *J Exp Med* **208**:1673-1682.
- Kim J, Hayton WL, Robinson JM and Anderson CL (2007) Kinetics of FcRn-mediated

- recycling of IgG and albumin in human: pathophysiology and therapeutic implications using a simplified mechanism-based model. *Clin Immunol* **122**:146-155.
- Kohler G and Milstein C (1975) Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* **256**:495-497.
- Kraft TE, Richter WF, Emrich T, Knaupp A, Schuster M, Wolfert A and Kettenberger H (2020) Heparin chromatography as an in vitro predictor for antibody clearance rate through pinocytosis. *MAbs* **12**:1683432.
- Kuo TT, Baker K, Yoshida M, Qiao SW, Aveson VG, Lencer WI and Blumberg RS (2010) Neonatal Fc receptor: from immunity to therapeutics. *J Clin Immunol* **30**:777-789.
- Leach MW, Clarke DO, Dudal S, Han C, Li C, Yang Z, Brennan FR, Bailey WJ, Chen Y, Deslandes A, Loberg LI, Mayawala K, Rogge MC, Todd M and Chemuturi NV (2020) Strategies and Recommendations for Using a Data-Driven and Risk-Based Approach in the Selection of First-in-Human Starting Dose: An International Consortium for Innovation and Quality in Pharmaceutical Development (IQ) Assessment. *Clin Pharmacol Ther.*
- Levy G (1994) Pharmacologic target-mediated drug disposition. *Clin Pharmacol Ther* **56**:248-252.
- Li H, Kock K, Wisler JA, Rees WA, Prince PJ, Reynhardt KO, Hsu H, Yu Z, Borie DC, Salinger DH and Pan WJ (2015) Prediction of clinical pharmacokinetics of AMG 181, a human anti-alpha 4 beta 7 monoclonal antibody for treating inflammatory bowel diseases. *Pharmacol Res Perspect* **3**:e00098.
- Lin YS, Nguyen C, Mendoza JL, Escandon E, Fei D, Meng YG and Modi NB (1999) Preclinical pharmacokinetics, interspecies scaling, and tissue distribution of a humanized monoclonal antibody against vascular endothelial growth factor. *J Pharmacol Exp Ther* **288**:371-378.
- Ling J, Zhou H, Jiao Q and Davis HM (2009) Interspecies scaling of therapeutic monoclonal antibodies: initial look. *J Clin Pharmacol* **49**:1382-1402.
- Lobo ED, Hansen RJ and Balthasar JP (2004) Antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. *J Pharm Sci* **93**:2645-2668.
- Mager DE (2006) Target-mediated drug disposition and dynamics. *Biochem Pharmacol* **72**:1-10.
- Mahmood I (2009) Pharmacokinetic allometric scaling of antibodies: application to the first-in-human dose estimation. *J Pharm Sci* **98**:3850-3861.
- Martin WL, West AP, Jr., Gan L and Bjorkman PJ (2001) Crystal structure at 2.8 Å of an

- FcRn/heterodimeric Fc complex: mechanism of pH-dependent binding. *Mol Cell* **7**:867-877.
- Mentre F, Kovarik J and Gerbeau C (1999) Constructing a prediction interval for time to reach a threshold concentration based on a population pharmacokinetic analysis: an application to basiliximab in renal transplantation. *J Pharmacokinet Biopharm* **27**:213-230.
- Morrison SL, Johnson MJ, Herzenberg LA and Oi VT (1984) Chimeric human antibody molecules: mouse antigen-binding domains with human constant region domains. *Proc Natl Acad Sci U S A* **81**:6851-6855.
- Murphy K TP, Walport M (2008) Janeway's Immunobiology, 7th Edition.
- Nakamura G, Ozeki K, Nagayasu M, Nambu T, Nemoto T and Hosoya KI (2020) Predicting Method for the Human Plasma Concentration-Time Profile of a Monoclonal Antibody from the Half-life of Non-human Primates. *Biological & pharmaceutical bulletin* **43**:823-830.
- Ng CM, Lum BL, Gimenez V, Kelsey S and Allison D (2006) Rationale for fixed dosing of pertuzumab in cancer patients based on population pharmacokinetic analysis. *Pharm Res* **23**:1275-1284.
- Nnane IP, Xu Z, Zhou H and Davis HM (2015) Non-Clinical Pharmacokinetics, Prediction of Human Pharmacokinetics and First-in-Human Dose Selection for CNTO 5825, an Anti-Interleukin-13 Monoclonal Antibody. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* **117**:219-225.
- Ober RJ, Martinez C, Vaccaro C, Zhou J and Ward ES (2004) Visualizing the site and dynamics of IgG salvage by the MHC class I-related receptor, FcRn. *J Immunol* **172**:2021-2029.
- Ober RJ, Radu CG, Ghetie V and Ward ES (2001) Differences in promiscuity for antibody-FcRn interactions across species: implications for therapeutic antibodies. *Int Immunol* **13**:1551-1559.
- Oitate M, Masubuchi N, Ito T, Yabe Y, Karibe T, Aoki T, Murayama N, Kurihara A, Okudaira N and Izumi T (2011) Prediction of human pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies from simple allometry of monkey data. *Drug Metab Pharmacokinet* **26**:423-430.
- Oitate M, Nakayama S, Ito T, Kurihara A, Okudaira N and Izumi T (2012) Prediction of human plasma concentration-time profiles of monoclonal antibodies from monkey data by a species-invariant time method. *Drug Metab Pharmacokinet* **27**:354-359.
- Peng HP, Lee KH, Jian JW and Yang AS (2014) Origins of specificity and affinity in

- antibody-protein interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**:E2656-2665.
- Petkova SB, Akilesh S, Sproule TJ, Christianson GJ, Al Khabbaz H, Brown AC, Presta LG, Meng YG and Roopenian DC (2006) Enhanced half-life of genetically engineered human IgG1 antibodies in a humanized FcRn mouse model: potential application in humorally mediated autoimmune disease. *Int Immunol* **18**:1759-1769.
- Proetzel G and Roopenian DC (2014) Humanized FcRn mouse models for evaluating pharmacokinetics of human IgG antibodies. *Methods* **65**:148-153.
- Puchalski T, Prabhakar U, Jiao Q, Berns B and Davis HM (2010) Pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of an anti-interleukin-6 chimeric monoclonal antibody (siltuximab) in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* **16**:1652-1661.
- Reis ES, Mastellos DC, Hajishengallis G and Lambris JD (2019) New insights into the immune functions of complement. *Nat Rev Immunol* **19**:503-516.
- National centre for the Replacement Refinement & Reduction of animals in research (2019) Responsibility in the use of animals in bioscience research.<
<https://www.nc3rs.org.uk/responsibility-use-animals-bioscience-research>>
accessed 16 December, 2020.
- Ribas A, Camacho LH, Lopez-Berestein G, Pavlov D, Bulanahgui CA, Millham R, Comin-Anduix B, Reuben JM, Seja E, Parker CA, Sharma A, Glaspy JA and Gomez-Navarro J (2005) Antitumor activity in melanoma and anti-self responses in a phase I trial with the anti-cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 monoclonal antibody CP-675,206. *J Clin Oncol* **23**:8968-8977.
- Richter WF and Jacobsen B (2014) Subcutaneous absorption of biotherapeutics: knowns and unknowns. *Drug Metab Dispos* **42**:1881-1889.
- Robbie GJ, Criste R, Dall'acqua WF, Jensen K, Patel NK, Losonsky GA and Griffin MP (2013) A novel investigational Fc-modified humanized monoclonal antibody, motavizumab-YTE, has an extended half-life in healthy adults. *Antimicrob Agents Chemother* **57**:6147-6153.
- Roguska MA, Pedersen JT, Keddy CA, Henry AH, Searle SJ, Lambert JM, Goldmacher VS, Blattler WA, Rees AR and Guild BC (1994) Humanization of murine monoclonal antibodies through variable domain resurfacing. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**:969-973.
- Roopenian DC and Akilesh S (2007) FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. *Nat Rev Immunol* **7**:715-725.
- Rowinsky EK, Schwartz GH, Gollob JA, Thompson JA, Vogelzang NJ, Figlin R,

- Bukowski R, Haas N, Lockbaum P, Li YP, Arends R, Foon KA, Schwab G and Dutcher J (2004) Safety, pharmacokinetics, and activity of ABX-EGF, a fully human anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody in patients with metastatic renal cell cancer. *J Clin Oncol* **22**:3003-3015.
- Sanchez LM, Penny DM and Bjorkman PJ (1999) Stoichiometry of the interaction between the major histocompatibility complex-related Fc receptor and its Fc ligand. *Biochemistry* **38**:9471-9476.
- Schlothauer T, Rueger P, Stracke JO, Hertenberger H, Fingas F, Kling L, Emrich T, Drabner G, Seeber S, Auer J, Koch S and Papadimitriou A (2013) Analytical FcRn affinity chromatography for functional characterization of monoclonal antibodies. *MAbs* **5**:576-586.
- Schoch A, Kettenberger H, Mundigl O, Winter G, Engert J, Heinrich J and Emrich T (2015) Charge-mediated influence of the antibody variable domain on FcRn-dependent pharmacokinetics. *Proc Natl Acad Sci U S A* **112**:5997-6002.
- Schweighofer CD and Wendtner CM (2010) First-line treatment of chronic lymphocytic leukemia: role of alemtuzumab. *Onco Targets Ther* **3**:53-67.
- Smith DA, Minthorn EA and Beerah M (2011) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of mepolizumab, an anti-interleukin-5 monoclonal antibody. *Clin Pharmacokinet* **50**:215-227.
- Stephens S, Emtage S, Vetterlein O, Chaplin L, Bebbington C, Nesbitt A, Sopwith M, Athwal D, Novak C and Bodmer M (1995) Comprehensive pharmacokinetics of a humanized antibody and analysis of residual anti-idiotypic responses. *Immunology* **85**:668-674.
- Stern CM (1976) The materno-foetal transfer of carrier protein sensitivity in the mouse. *Immunology* **30**:443-448.
- Sun YN, Lu JF, Joshi A, Compton P, Kwon P and Bruno RA (2005) Population pharmacokinetics of efalizumab (humanized monoclonal anti-CD11a antibody) following long-term subcutaneous weekly dosing in psoriasis subjects. *J Clin Pharmacol* **45**:468-476.
- Tabrizi MA, Tseng CM and Roskos LK (2006) Elimination mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies. *Drug Discov Today* **11**:81-88.
- Tam SH, McCarthy SG, Brosnan K, Goldberg KM and Scallon BJ (2013) Correlations between pharmacokinetics of IgG antibodies in primates vs. FcRn-transgenic mice reveal a rodent model with predictive capabilities. *MAbs* **5**:397-405.
- Tokuda Y, Watanabe T, Omuro Y, Ando M, Katsumata N, Okumura A, Ohta M, Fujii H, Sasaki Y, Niwa T and Tajima T (1999) Dose escalation and pharmacokinetic

- study of a humanized anti-HER2 monoclonal antibody in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer. *Br J Cancer* **81**:1419-1425.
- Tonegawa S (1983) Somatic generation of antibody diversity. *Nature* **302**:575-581.
- Vaccaro C, Zhou J, Ober RJ and Ward ES (2005) Engineering the Fc region of immunoglobulin G to modulate in vivo antibody levels. *Nat Biotechnol* **23**:1283-1288.
- van Hartingsveldt B, Nnane IP, Bouman-Thio E, Loza MJ, Piantone A, Davis HM and Petty KJ (2013) Safety, tolerability and pharmacokinetics of a human anti-interleukin-13 monoclonal antibody (CNTO 5825) in an ascending single-dose first-in-human study. *Br J Clin Pharmacol* **75**:1289-1298.
- Vugmeyster Y, Rohde C, Perreault M, Gimeno RE and Singh P (2013) Agonistic TAM-163 antibody targeting tyrosine kinase receptor-B: applying mechanistic modeling to enable preclinical to clinical translation and guide clinical trial design. *MAbs* **5**:373-383.
- Vugmeyster Y, Szklut P, Tchistiakova L, Abraham W, Kasaian M and Xu X (2008) Preclinical pharmacokinetics, interspecies scaling, and tissue distribution of humanized monoclonal anti-IL-13 antibodies with different IL-13 neutralization mechanisms. *Int Immunopharmacol* **8**:477-483.
- Waldmann TA and Strober W (1969) Metabolism of immunoglobulins. *Prog Allergy* **13**:1-110.
- Wang J, Iyer S, Fielder PJ, Davis JD and Deng R (2016) Projecting human pharmacokinetics of monoclonal antibodies from nonclinical data: comparative evaluation of prediction approaches in early drug development. *Biopharm Drug Dispos* **37**:51-65.
- Wang W, Erbe AK, Hank JA, Morris ZS and Sondel PM (2015) NK Cell-Mediated Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity in Cancer Immunotherapy. *Front Immunol* **6**:368.
- Wang W and Prueksaritanont T (2010) Prediction of human clearance of therapeutic proteins: simple allometric scaling method revisited. *Biopharm Drug Dispos* **31**:253-263.
- Wang W, Wang EQ and Balthasar JP (2008) Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther* **84**:548-558.
- Wang W, Wang X, Doddareddy R, Fink D, McIntosh T, Davis HM and Zhou H (2014) Mechanistic pharmacokinetic/target engagement/pharmacodynamic (PK/TE/PD) modeling in deciphering interplay between a monoclonal antibody and its soluble target in cynomolgus monkeys. *AAPS J* **16**:129-139.

- West GB and Brown JH (2005) The origin of allometric scaling laws in biology from genomes to ecosystems: towards a quantitative unifying theory of biological structure and organization. *J Exp Biol* **208**:1575-1592.
- Winter G, Griffiths AD, Hawkins RE and Hoogenboom HR (1994) Making antibodies by phage display technology. *Annu Rev Immunol* **12**:433-455.
- Xiang H, Bender BC, Reyes AE, 2nd, Merchant M, Jumbe NL, Romero M, Davancaze T, Nijem I, Mai E, Young J, Peterson A and Damico-Beyer LA (2013) Onartuzumab (MetMab): using nonclinical pharmacokinetic and concentration-effect data to support clinical development. *Clin Cancer Res* **19**:5068-5078.
- Xu C, Su Y, Paccaly A and Kanamaluru V (2019) Population Pharmacokinetics of Sarilumab in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Clin Pharmacokinet* **58**:1455-1467.
- Xu Z, Seitz K, Fasanmade A, Ford J, Williamson P, Xu W, Davis HM and Zhou H (2008) Population pharmacokinetics of infliximab in patients with ankylosing spondylitis. *J Clin Pharmacol* **48**:681-695.
- Zhao L, Ji P, Li Z, Roy P and Sahajwalla CG (2013) The antibody drug absorption following subcutaneous or intramuscular administration and its mathematical description by coupling physiologically based absorption process with the conventional compartment pharmacokinetic model. *J Clin Pharmacol* **53**:314-325.
- Zhao L, Shang EY and Sahajwalla CG (2012) Application of pharmacokinetics-pharmacodynamics/clinical response modeling and simulation for biologics drug development. *J Pharm Sci* **101**:4367-4382.
- Zheng Y, Tesar DB, Benincosa L, Birnbock H, Boswell CA, Bumbaca D, Cowan KJ, Danilenko DM, Daugherty AL, Fielder PJ, Grimm HP, Joshi A, Justies N, Kolaitis G, Lewin-Koh N, Li J, McVay S, O'Mahony J, Otteneder M, Pantze M, Putnam WS, Qiu ZJ, Ruppel J, Singer T, Stauch O, Theil FP, Visich J, Yang J, Ying Y, Khawli LA and Richter WF (2012) Minipig as a potential translatable model for monoclonal antibody pharmacokinetics after intravenous and subcutaneous administration. *MAbs* **4**:243-255.
- Zhu Y, Hu C, Lu M, Liao S, Marini JC, Yohrling J, Yeilding N, Davis HM and Zhou H (2009) Population pharmacokinetic modeling of ustekinumab, a human monoclonal antibody targeting IL-12/23p40, in patients with moderate to severe plaque psoriasis. *J Clin Pharmacol* **49**:162-175.
- Zhuang Y, Calderon C, Marciniak SJ, Jr., Bouman-Thio E, Szapary P, Yang TY, Schantz A, Davis HM, Zhou H and Xu Z (2016) First-in-human study to assess

- guselkumab (anti-IL-23 mAb) pharmacokinetics/safety in healthy subjects and patients with moderate-to-severe psoriasis. *Eur J Clin Pharmacol* **72**:1303-1310.
- アヅヴィ合同会社 (2020) シナジス 医薬品インタビューフォーム.<
<https://image.packageinsert.jp/pdf.php?mode=1&yjcode=6250404A1020>>
accessed 16 December, 2020.
- エーザイ株式会社 (2020) ヒュミラ 医薬品インタビューフォーム.< https://a-connect.abbvie.co.jp/-/media/assets/pdf/products/humira/if_humira.pdf>
accessed 16 December, 2020.
- ファーマ株式会社 ノ (2019) ゴレア 医薬品インタビューフォーム.<
https://file.wuxuwang.com/jpyaopin/300242_2290400G1021_1_XOL_1F.pdf>
accessed 16 December, 2020.
- 環境省 (2017) 実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準の解説.<
https://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/2_data/pamph/h2911.html> accessed
16 December, 2020.
- 中外製薬株式会社 (2019) ヘムライブラ 医薬品インタビューフォーム.<
https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/1/450045_6343451A1025_1_005_1F.pdf> accessed 16 December, 2020.
- 中外製薬株式会社 (2020) リツキササン 医薬品インタビューフォーム.< https://chugai-pharm.jp/content/dam/chugai/product/rit/div/if/doc/rit_if.pdf> accessed 16
December, 2020.
- 田辺三菱製薬株式会社 (2018) レミケード 医薬品インタビューフォーム.<
https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/1/400315_2399402F1026_1_280_1F.pdf> accessed 16 December, 2020.

謝辞

本研究の進行にあたり、終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜りました、富山大学 学術研究部 薬学・和漢系 薬剤学研究室 教授 細谷 健一 先生に深甚なる謝意を示します。

本論文をご精読いただきました、富山大学 学術研究部 薬学・和漢系 医療薬学研究室 教授 藤 秀人 先生に心よりお礼申し上げます。

本論文をご精読いただきました、富山大学 学術研究部 薬学・和漢系 医薬品安全性学研究室 准教授 田口 雅登 先生に心よりお礼申し上げます。

本論文の作成にあたり、終始適切な助言を賜り、また丁寧な指導して下さった、富山大学 学術研究部 薬学・和漢系 薬剤学研究室 助教 赤沼 伸乙 先生に感謝の意を表します。

本研究の遂行について、御指導、御協力を賜りました、中外製薬株式会社 研究本部 創薬 ADMET 研究部 創薬 DMPK2 グループ グループマネージャー 尾関 和久 氏に深謝致します。

薬物動態研究の基本および動態解析について、御指導、御協力を賜りました、加藤 基浩 氏に厚く御礼申し上げます。

抗体医薬品の体内動態における本研究の遂行について、共に研究を遂行するとともに、数多くのご協力を頂きました、中外製薬株式会社社員 武居 宏明 氏、永易 美穂 氏、南部 健 氏、根元 貴行 氏、清川 順平 氏に厚く御礼申し上げます。

本学位論文は、下記の原著論文を基に作成され、富山大学大学院医学薬学教育部に提出されたものである。

1. **Nakamura G**, Ozeki K, Nagayasu M, Nambu T, Nemoto T, Hosoya K: Predicting method for the human plasma concentration-time profile of a monoclonal antibody from the half-life of non-human primates. *Biol. Pharm. Bull.*, 43, 823-830 (2020).
2. **Nakamura G**, Ozeki K, Takesue H, Tabo M, Hosoya K: Prediction of human pharmacokinetics profile of monoclonal antibody using hFcRn transgenic mouse model. *Biol. Pharm. Bull.*, 44, 389-395 (2021).