

新しい医薬品の毒性評価 - TGN1412の非臨床毒性評価 -

(独)医薬品医療機器総合機構

新薬審査第三部

篠田 和俊

はじめに

この発表は演者の個人的意見に基づくものであり、(独)医薬品医療機器総合機構としての見解を示すものではありません。

本日の内容

TGN1412の非臨床毒性評価

1. ヒト初回投与試験における事故の概要
2. 治験概要書から非臨床試験を検証する
3. ESG最終報告書

TGN1412 Disaster

TGN1412臨床試験の内容

- TeGenero社(独)が開発した抗CD28スーパーアゴニスト抗体
- Boehringer Ingelheim社(独)が製造、販売予定
- CRO Paraxel社(米国)がNorthwick Park Hospitalで実施
- 第 I 相単一施設二重盲検無作為化プラセボ対照比較試験
- 安全性、薬物動態、薬力学、免疫原性の評価
- 静脈内単回投与用量増量試験(2週間観察後に増量)
- 用量(0.1、0.5、2.0、5.0 mg/kg)、点滴静注(2mg/1 mL/分)
- 18～40歳の健常男性、各用量8名(実薬6名、偽薬2名)
- 開始用量(0.1mg/kg)は無毒性量の1/500として設定

TGN1412 Disaster

経緯

2005 /03/11 希少薬指定 (EMEA)
2005 /12/23 治験申請 (MHRA)
2006 /01/27 治験申請承認 (MHRA)
/02/14 Medical Ethic Committeeの承認
/02/22 被験者募集開始
/03/12 被験者8名が試験施設に入院
/03/13 朝8時から投与開始(10分間隔)←プロトコルでは8:00-10:00

	Subjects ⇒	1	2	3	4	5	6
Body weight (Kg)		84.3	68.9	88.5	82.4	72.1	81.8
Dosing							
TGN1412		8.4 mg	6.8 mg	8.8 mg	8.24 mg	7.2 mg	8.2mg
Dosing time		08:00	08:20	08:30	08:40	08:50	09:00

実薬投与群6名が投与直後(50分後～)に発症
(頭痛、嘔吐、呼吸困難、ショック、多臓器不全)
→ **Cytokine release syndrome** (Cytokine Storm)

午後、MHRAは報告を受け、直ちに中止を指示

TGN1412 Disaster

症状の推移

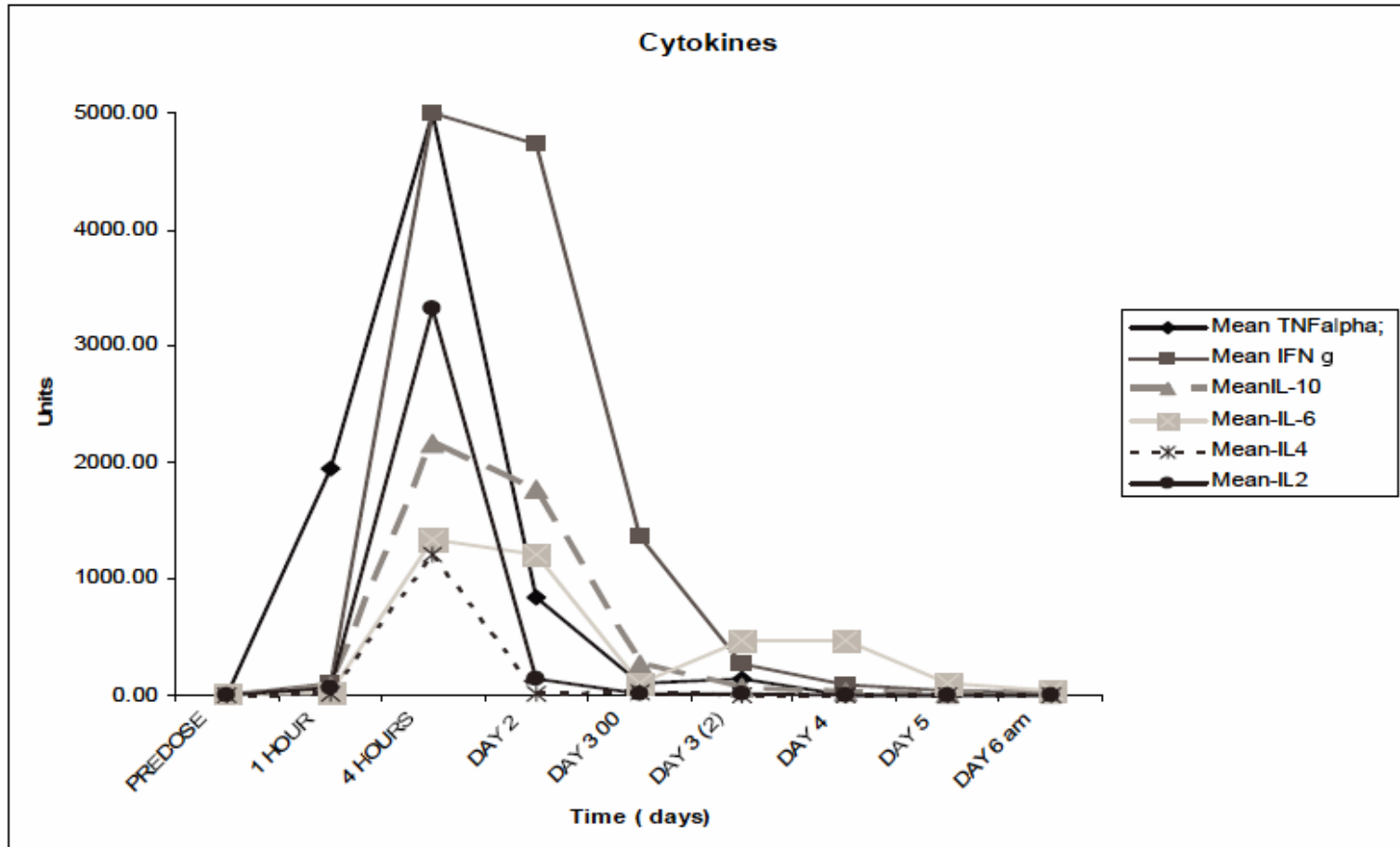
投与後

59分 (58-120分)	: 悪寒
60分 (50-90分)	: 重度の頭痛
77分 (57-95分)	: 腰筋痛
～	: 悪心、嘔吐、下痢、発熱、紅斑
240分 (210-280分)	: 低血圧、頻脈
280分 (240-390分)	: 発熱(39.5-40.0°C)
12時間～	: 低血圧、代謝性アシドーシス、呼吸窮迫 →挿管/人工呼吸→ICUへ
48時間	: 症状改善
30日後	: 落屑

N Engl J Med 355(10), 1018-28, 2006

TGN1412 Disaster

サイトカインの変動



ESG最終報告書

バイオロジクスフォーラム学術集会
(2007/2/16)

TGN1412 Disaster

Cytokine Release Syndrome (CRS)

- 薬物によって活性化されたT細胞から多量のサイトカインが放出されることによって生じる急性の重篤な全身反応
 - 発熱、悪寒・嘔吐・血圧低下、呼吸困難、浮腫、多臓器不全
- 抗体医薬の初回投与後に発生した例がある
 - OKT3(Muromonab: agonistic-antagonistic anti-CD3 antibody)
 - Campath 1H(immunosuppressive humanirized monoclonal antibody of CD52)
 - Rituxan(Rituximab: chimeric anti-CD20 antibody)

TGN1412 Disaster

当初想定された原因

- (1) 過剰投与
- (2) 製品の処方か希釈に誤りがあった
- (3) 何らかの毒物が混入した
- (4) 前臨床の動物ではみられず、ヒトだけに現れる作用があった

→ (1)～(3)は否定された

→ (4)の可能性？

TGN1412 Disaster

治験概要書から前臨床試験を検証する

前臨床試験成績からは予測できなかったのか？



INVESTIGATOR'S BROCHURE

TGN1412
HUMANIZED AGONISTIC ANTI-CD28
MONOCLONAL ANTIBODY

TGN1412 Disaster

結合試験の要約 : 定量的なデータは示されていない

抗体	Jurkat cell line		ラット	マウス	非ヒト霊長類			ヒト
	CD28+	CD28-			PBMC	Human C' ' D loop transplant	アカゲザル	
JJ316	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-
5.11A1	+	-	-	+	n.d.	+	n.d.	+
TGN1112	+	-	-	+	+	+	-	+
TGN1412	+	-	n.d.	+	+	+	n.d.	+

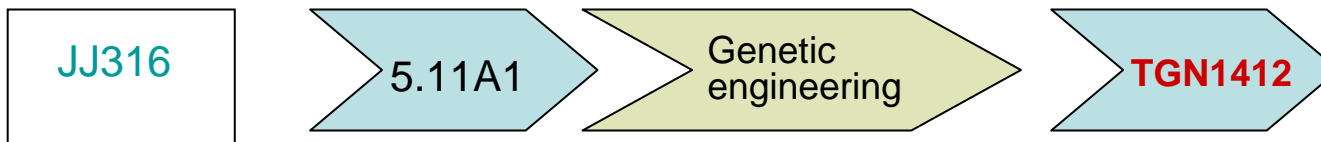
JJ316: マウス 抗-ラット CD28 抗体

5.11A1: マウス 抗-ヒト CD28 抗体

TGN1112: ヒト化 抗ヒト CD28 抗体 (IgG1)

TGN1412: ヒト化 抗ヒトCD28抗体 (IgG4)

n.d: 検討せず



TGN1412 Disaster

安全性薬理試験

心・血管系	実施せず	<ul style="list-style-type: none">・ヒトやカニクイザルの心筋組織と交差反応性なし・カニクイザルの28日反復試験で心電図に異常なし・大動脈・心臓に組織学的に異常なし
呼吸器系	実施せず	<ul style="list-style-type: none">・肺内のリンパ球に陽性（肺実質に交差反応性なし）・カニクイザルの28日試験で関連する臨床症状なし・気管・肺に組織学的に異常なし
中枢	実施せず	<ul style="list-style-type: none">・ヒトやカニクイザルの星状膠細胞に交差反応性あり（脳、脊髄、下垂体）・カニクイザルの28日試験等で関連した影響なし・神経組織(眼、脳、視神経、坐骨神経)に組織学的に異常なし

TGN1412 Disaster

毒性試験

単回投与	実施	<ul style="list-style-type: none">・アカゲザル単回忍容性検討試験(←用量が低い/Non-GLP)・げっ歯類では実施せず(薬理作用がみられない)
反復毒性	実施	<ul style="list-style-type: none">・カニクイザル用量設定試験(Non-GLP)・カニクイザル28日間試験(GLP)
遺伝毒性	実施せず	<ul style="list-style-type: none">・標準的試験法の適用は妥当でない・細胞外で作用するので遺伝毒性を有する可能性なし
がん原性	実施せず	<ul style="list-style-type: none">・げっ歯類でのがん原性試験は妥当でない(種特異性、免疫原性)
生殖発生毒性	実施予定	<ul style="list-style-type: none">・ラット相同抗体あるいはカニクイザルによる試験
局所刺激性	実施	<ul style="list-style-type: none">・カニクイザル28日試験での投与局所の組織学的検査・NZWウサギ(iv、ia、pv)
その他の試験	交差反応性	<ul style="list-style-type: none">・ヒトおよびカニクイザル(栄養膜細胞(ヒト)、子宮上皮(サル))
	免疫毒性	<ul style="list-style-type: none">・カニクイザル28日試験での免疫器官の病理学的検査・カニクイザル28日試験でのFCによるリンパ球のタイピング
	サイトカイン分泌	<ul style="list-style-type: none">・カニクイザル28日試験での測定(IL-2, IL-4, IL-5等)

TGN1412 Disaster

アカゲザル単回忍容性検討試験

用量: 2.5 mg/kg 1頭

検査項目: リンパ節(腋窩、鼠径、腹部)の触診
心臓、肺及び口腔の検査
血液学的パラメータ(Hb、Ht、RBC、Thromb、
白血球分類

結果: 検査項目に異常なし

→ アカゲザルではTGN1412の作用弱い (親和性の差?)

→ 以降の試験ではカニクイザルを用いる

TGN1412 Disaster

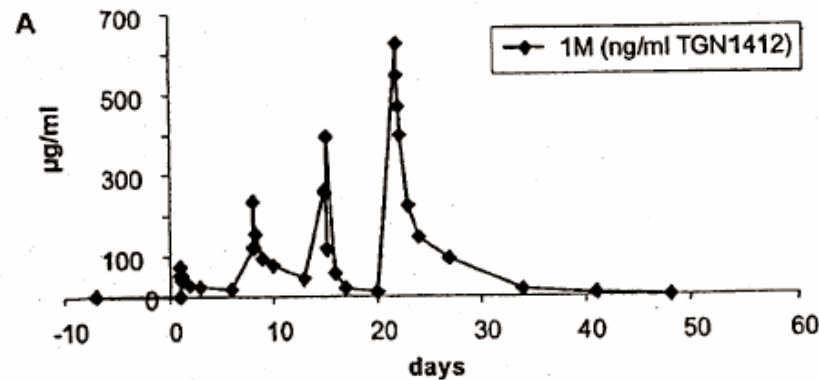
カニクイザルにおける用量設定試験

試験日	用量 (mg/kg)	容量 (mL/kg)	注入速度 (mg/min) ^a	Animal Identification No.
1	5	1	0.4	1M、3F
8	10	2	0.8	1M、3F
15	25	5	2	1M、3F
22	50	10 ^b	4	1M、3F、2M、4F

← 治験開始用量0.1mg/kg
の500倍

回復期間: 26日間

^a 体重を5kgとして換算した(発表者で算出)、^b 投与可能容量

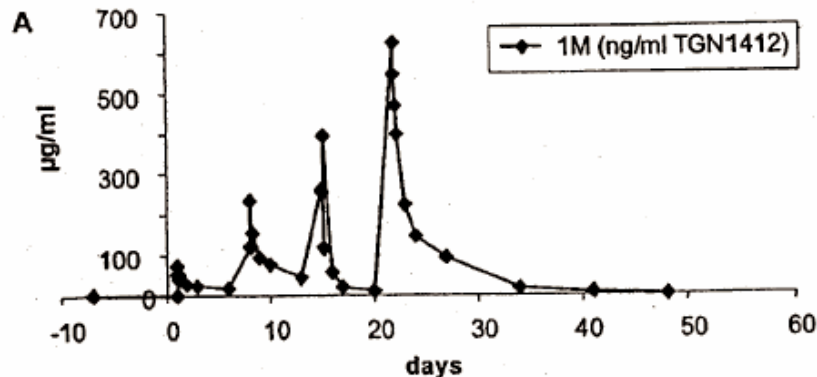


TGN1412 Disaster

カニクイザルにおける用量設定試験

検査項目:リンパ節(腋窩、鼠径、腹部)の触診
心臓、肺及び口腔の検査
血液学的・血液化学的検査パラメータ
剖検、器官重量

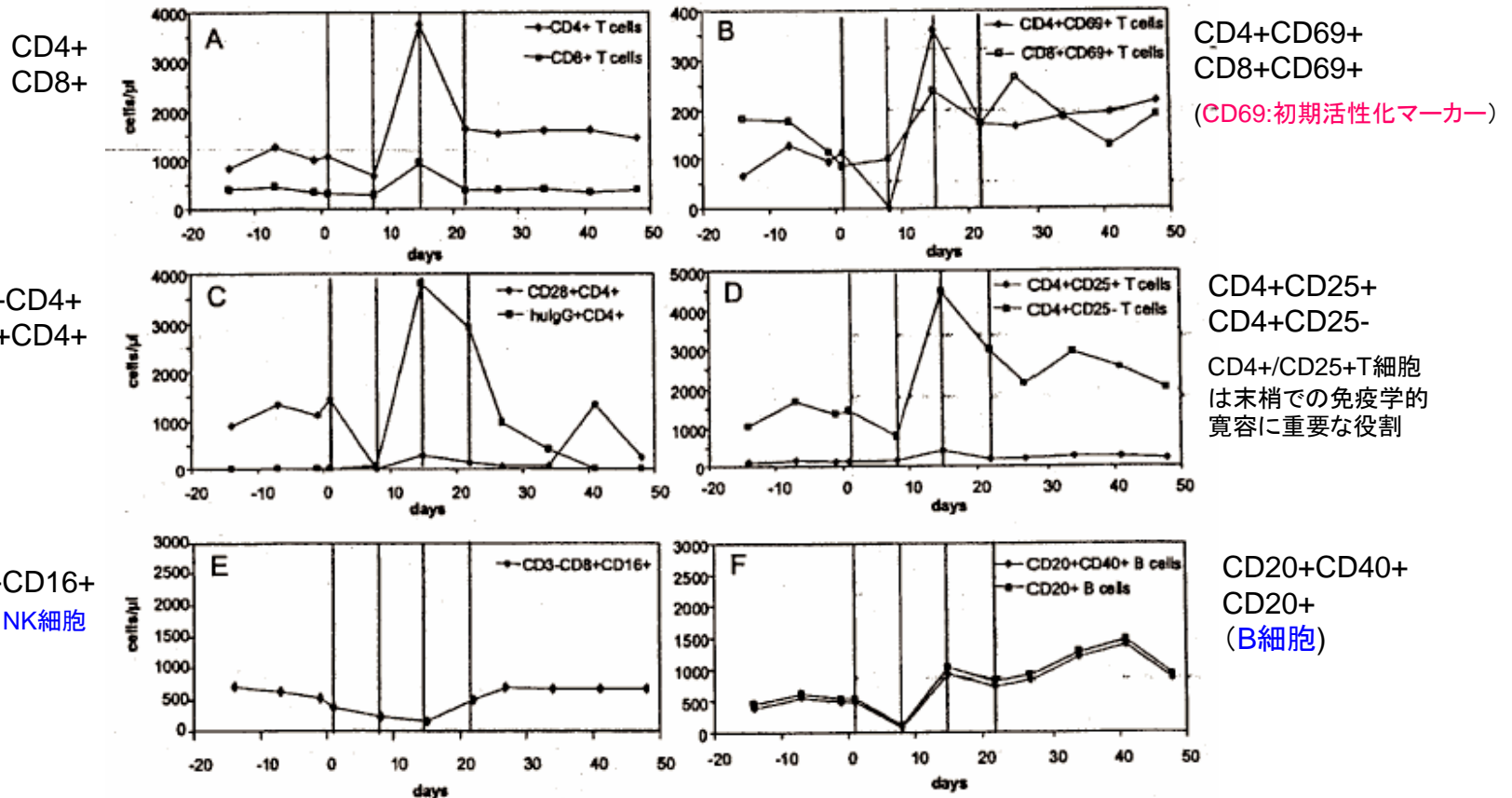
結果: **腋窩及び鼠径リンパ節の腫大(13日~19日)**
その他の検査項目に異常なし



TGN1412 Disaster

カニクイザルにおける用量設定試験

末梢血リンパ球サブセットの解析(♂データ)

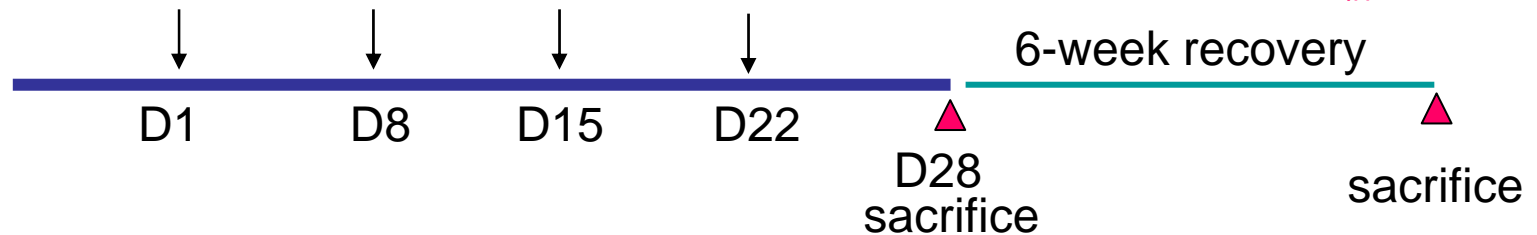


TGN1412 Disaster

カニクイザルの28日間反復(間歇)投与試験

群	用量 (mg/kg)	容量 (mL/kg)	動物数			
			主試験		回復試験	
			雄	雌	雄	雌
媒体対照群	0	10	2	2	3	3
低用量群	5	1	—	—	3	3
高用量群	50	10	2	2	3	3

← 治験開始用量0.1mg/kg
の500倍



検査項目：一般状態、摂餌量、体重、血液学的検査、血液化学的検査、尿検査、眼科学的検査、ECG、投与部位の観察、剖検、器官重量、病理組織学的検査、PK、抗TGN1412抗体の定量

TGN1412 Disaster

カニクイザルの28日間反復(間歇)投与試験

結果: 投与に関連する死亡なし

投与部位の静脈炎・静脈周囲炎、血管周囲及び皮下の出血、尾の皮膚炎、皮下の炎症 (対照群を含む) → 影響ではない
その他は異常なし

治験概要書中へは記載されていないが、IMPDをみると…

投与3日目に5mg/kgの雄1例を切迫殺

→ 感染(*Campylobacter jejuni.*)あり

→ 対照群にも感染例あり、投与との関連性否定

→ CRSによる多臓器不全による瀕死の可能性は?

TGN1412 Disaster

カニクイザルの28日間反復(間歇)投与試験

末梢血リンパ球サブセットの解析 (詳細不明)

- CD8+ T細胞 ↑、CD4+ T細胞 ↑ (雄、5mg/kg)
 - CD25+CD4+CD14- T細胞 ↑ (雄、5mg/kg)
 - NK細胞 ↑ 傾向 (回復期間中、用量・性不明)
 - B細胞 ↑ (雄)
-
- 性差あり
 - 用量相関なし

TGN1412 Disaster

カニクイザルの28日間反復(間歇)投与試験

血清中サイトカインの測定

測定項目: IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、TNF α 、TNF γ

測定時期: pre、1日(2、24時間)、17日(3回投与2日後)、62日(休薬期間後)

Cytokine	ピーク時のサイトカインの測定値 (範囲) pg/mL			
	0 mg/kg	5 mg/kg	50 mg/kg	
IL-2	37 (20-60)	25 (0-84)	100 (25-211)	T, B, NK, LAK細胞、マクロファージ等のプログレッション
IL-4	12 (0-18)	13 (8-18)	17 (0-40)	B細胞からのIgG/IgE分泌亢進 T細胞の分化
IL-5	6 (3-7)	49 (6-139)	107 (11-458)	抗炎症性 B細胞の増殖・分化に関与
IL-6	7 (0-22)	68 (32-101)	128 (24-390)	炎症性 急性期反応/慢性炎症性疾患の発生に関与
TNF- α	20 (11-26)	20 (15-27)	22 (19-26)	腫瘍壊死因子
INF- γ	18 (0-35)	23 (19-32)	33 (17-93)	腫瘍壊死因子

TGN1412 Disaster

カニクイザルの28日間反復(間歇)投与試験

<治験概要書での考察>

「認められた変化は薬理作用によるものである」

→ 無毒性量(NOAEI)=50 mg/kg
(体表面換算ではHED=16mg/kgに相当)

→ 無影響量(NOEL)=<5mg/kg ☆
(体表面換算ではHED=1.6mg/kgに相当)

臨床開始用量=0.1 mg/kg (= NOAEI/500、<NOEL/50)
(= HED/160、<HED/16)

☆ CRSとの関連が疑われる投与2時間後のIL-6の上昇は5mg/kgからみられ、NOELは求まっていない

TGN1412 Disaster

カニクイザルの28日間反復(間歇)投与試験

疑問点

- Q1: カニクイザルのCD28に対するTG1412の親和性/結合性が定量的に明らかにされていない
- Q2: 投与2時間後の、炎症性のIL-6の上昇はCRSを予想させるものでなかったか
- Q3: 用量相関性と性差(薬理作用:雄>雌)について
- Q4: 用量設定について(無影響量が求まっていない)
- Q5: 投与群の切迫殺例について

TGN1412 Disaster

前臨床試験成績の検証

- カニクイザル28日試験のデータは重要な示唆を含む
 - CD28との親和性/結合性は試験の解釈に必須
 - 親和性の強さによっては安全域 <1 の可能性もある
 - CRSの兆候は認められた？
 - 投与2時間後のIL-6の上昇、さらにこの変化についてのNOELは求まっていない
- 試験成績の解釈に問題(懸念)はなかったか？
- 評価に足る十分な試験は実施されていたか？

TGN1412 Disaster

TGN1412:臨床試験最終報告書(MHRA 2006/05/25)

- MHRAの調査官及びドイツ規制当局による調査に加えて、同剤について詳細な検査がなされた
- 臨床試験で使用したバッチの他に、毒性試験で用いられたバッチについても製品検査がなされた
- GCPとの不一致がいくつか特定された
- 本有害事象がTGN1412の製造、製剤設計、希釈、投与における過誤によるものでない
- 現段階では、被験者での重篤な副作用の原因は予期せぬ生物学的反応が最も考えられる
- 本件は非常に複雑な科学的な問題であり、厚生大臣が任命する独立した科学専門家グループが検討する予定である

TGN1412 Disaster

EXPERT SCIENTIFIC GROUP (ESG) ON PHASE ONE CLINICAL TRIALS

TGN1412治験を検証し、特に、以下の医薬品について、初回投与試験におけるヒトの安全性を確保するための提言を行う

- **新規の作用様式を有する生物学的分子**
(Biological molecules with novel mechanisms of action)
- **種特異性が高い作用を有する新規物質**
(New agents with highly species-specific action)
- **免疫系のターゲットに作用する新規薬剤**
(New drugs directed towards immune system targets)

Interim Report: 20th July 2006

Final Report: 30th November 2006

TGN1412 Disaster

ESGの検証

TGN1412の受容体占有率の推定(ABPI/BIA taskforce)

前提

TGN1412[A]+CD28[B]↔ Complex[C]

初回投与量: 0.1mg/kg …①
体重 : 70kg …②
TGN1412分子量: 50,000 …③
血漿量 (血液量): 2.5L (5L) …④
投与前T細胞数: 1.3×10^9 /L血液 …⑤
CD28数/T細胞: 150,000 (文献値)…⑥
解離常数(Kd: [A][B]/[C]): 1.88nM …⑦

CD28占有率の推定

投与直後の血漿中総濃度(A+C): 18.7nM (①,②,③,④から)…⑧
血漿中総CD28濃度(B+C): 0.648nM (④,⑤,⑥,NAから) …⑨
投与直後のTGN1412-CD28複合体の濃度(C): 0.587nM(⑦,⑧,⑨から) …⑩

∴ TGN-1412に占有されたCD28の割合(⑩÷⑨×100) =90.6%

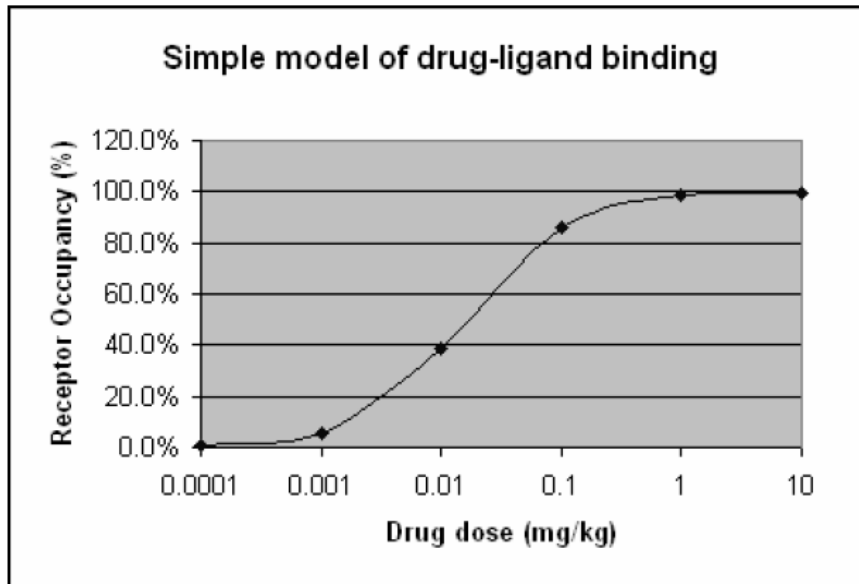
→ 初回投与量(0.1mg/kg)では投与直後に極めて高い受容体占有率(90.6%)を示すことが予想される

TGN1412 Disaster

ESGの検証

TGN1412の受容体占有率の推定(ABPI/BIA taskforce)

$$Ro=1 / (1+Kd[nM]/187[nM/mg/kg] \times Dose[mg/kg])$$



用量 (mg/kg)	CD28受容体占有率
0.1 (事故用量)	約90%
0.01	約40%
0.001	約10%

事故用量ではほぼ最大の薬理的
反応に達していた可能性あり

TGN1412 Disaster

ESGの検証

NIBSC追加検討試験

National Institute for Biological Standards and Control

① Initial cell-based testing of TGN1412

- サイトカイン放出試験(液相)
 - » ヒト末梢血単核球細胞 (PBMC)
 - » ヒト希釈血液
 - » IL-6、TNF α 、IL-8、IL-2、IFN γ 等の測定
- リンパ球増殖試験
 - » フローサイトメトリー解析(液相、固相)

② Follow up cell-based testing of TGN1412

- サイトカイン放出試験(液相、固相)
- リンパ球増殖試験(液相、固相)
- 細胞内サイトカイン染色
- カニクイザルにおける試験(in vivo試験/病理検査実施中)

TGN1412 Disaster

ESGの検証

NIBSC追加検討試験

サイトカイン放出試験(要約)

細胞	TGN1412のウェルでの状態	内皮細胞とのco-culture	サイトカインの変動(IL-6、IL-8、TNF)
PBMC	液相	なし	なし
	wetコート	なし	なし
	dryコート	なし	上昇
	液相	あり	上昇

TGN1412 Disaster

ESGの検証

NIBSC追加検討試験

細胞増殖試験(要約)

細胞	TGN1412のウェルでの状態	抗ヒトFc抗体の有無	リンパ球増殖の有無
PBMC	液相	無	なし
	wetコート	無	なし
	dryコート	無	あり
	液相	有(液相)	なし
	液相	有(dryコート)	あり(著明)

検討濃度: 0.5~1000 μ g/mL

細胞増殖至適濃度: 2~10 μ g/mL (>100 μ g/mLでは反応なし)

ヒト事故用量での予測最大血漿中濃度: 2 μ g/mL

サルNOAEL時のCmax: 約1400 μ g/mL(実測)

→ ヒト事故用量は細胞増殖の至適濃度、サルNOAEL用量では反応消失

TGN1412 Disaster

ESGの検証

NIBSC追加検討試験のまとめ

- 液相ではサイトカイン放出、リンパ球増殖は生じない
- 固相化されたTGN1412、あるいは固相化された抗ヒトFc抗体による **TGN1412の不動化**によってリンパ球増殖を生じる
- In vivoにおいては血管内皮とTGN-1412との接着が重要？
- ヒト臨床試験の**事故用量**はin vitroリンパ球増殖反応の**至適濃度に相当**
- サル**NOAEL時**の血漿濃度でin vitroリンパ球増殖反応**増殖反応は消失**
(用量-反応はBell-shapedか?)

TGN1412 Disaster

ヒト初回投与 (First-in-human)試験
の開始用量を考える

TGN1412 Disaster

臨床試験開始用量の設定

NCEsのfirst-in-human試験での開始用量は最も感受性が高い動物種における反復投与試験のNOAELから求める

バイオ医薬品においては妥当？

- 感受性の種差が大きい
- 毒性は過度の薬理学的作用に起因する
- NOAELから毒性量まで急勾配の用量反応相関
- 治療域が狭い(ことが多い)

→薬理学的活性を示す用量が潜在的な毒性のより感受性の高い指標となる
→NOAELではない、薬理作用を基準とした開始用量とすべきでは

最小予測生物学的影響量:MABEL
(Minimum Anticipated Biological Effect Level)

TGN1412 Disaster

最小予測生物学的影響量：MABELとは
(Minimum Anticipated Biological Effect Level)

The dose or exposure required at **the bottom end of the dose response curve** in man

「ヒトでの用量反応曲線の立ち上がりの用量あるいは濃度」

TGN1412 Disaster

MABELの推定の方法

(例)

- 標的の占有率
- Ex vivoでのヒト組織に対する影響(ヒトの末梢血リンパ球など)
- 動物モデル(妥当性を慎重に検討する必要あり)
- 関連文献のレビュー

TGN1412 Disaster

TGN-1412の開始用量について(実際投与量=0.1mg/kg)

1. FDAガイダンスによる推奨用量(MRSD)

NOAEL=50mg/kg(カニクイザル反復毒性)

HED=50mg/kg ÷ 3.1(体表面換算係数)=16mg/kg

安全係数(デフォルト: × 10)

MRSD=1.6 mg/kg

実際投与用量(0.1mg/kg)の16倍に相当

2. MABELアプローチ

NOEL<0.3mg/kg(相同抗体JJ316による正常/病態ラットでの薬理試験)

至適用量=1~5mg/kg

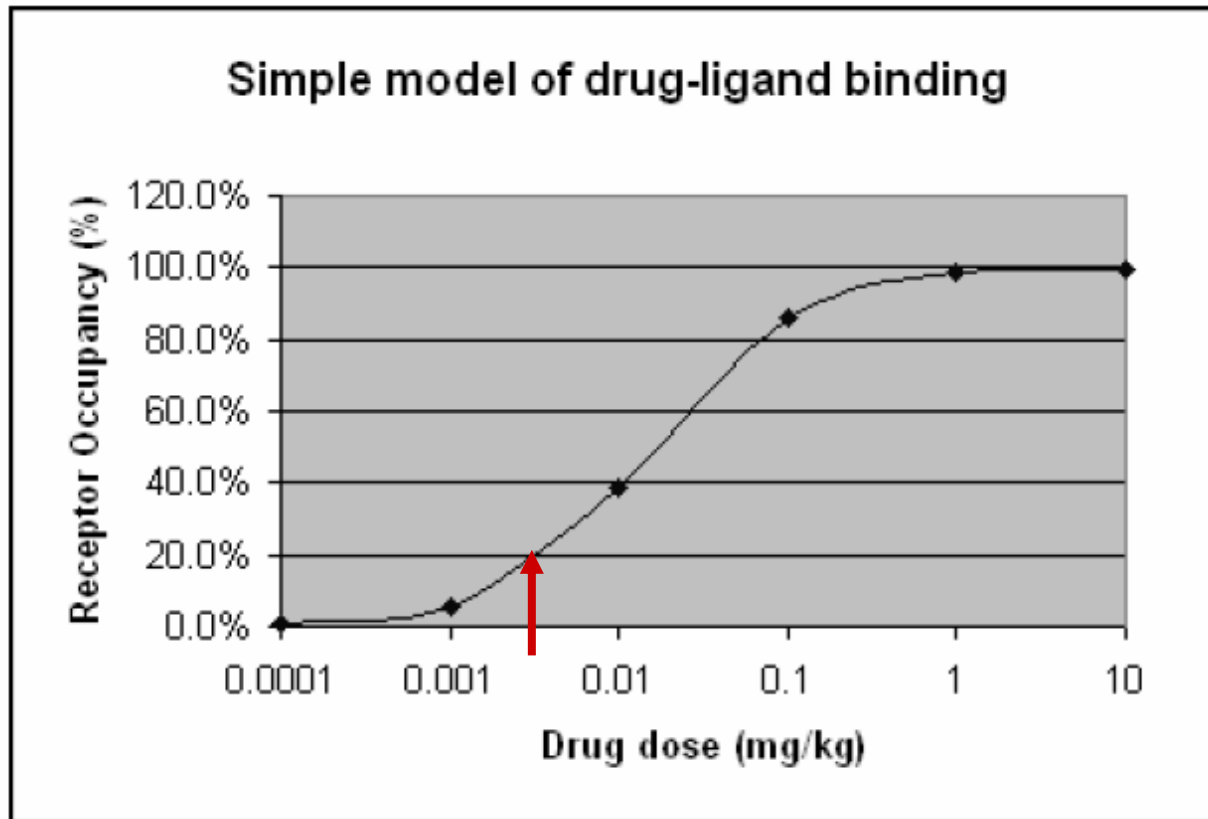
MABEL=0.5mg/kgと仮定し、CPMPのMicrodose試験で推奨されている
Safety Criteria(薬効用量1/100以下)を適用すると

Safety starting dose=0.005mg/kg (=5 μg/kg)

実際投与用量(0.1mg/kg)の1/20に相当

TGN1412 Disaster

開始用量0.05mg/kgの場合の受容体占有率



TGN1412 Disaster

結論(私見)

「非臨床試験成績から、事故を予測し回避できたのではないか」

- 規制試験だけの実施では評価は困難
- ケース・バイ・ケースでの試験実施が必要

ご静聴ありがとうございました。

おわり