KHK4827

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6　毒性試験の概要文

協和発酵キリン株式会社

CONFIDENTIAL

略号及び用語の定義一覧

略号

略号	略していない用語
C_H	Heavy chain constant region（重鎖定常領域）
IL	Interleukin（インターロイキン）
Ig	Immunoglobulin（免疫グロブリン）
KLH	Keyhole limpet hemocyanin（キーホールリンペットヘモシアニン）
LD_{50}	50% lethal dose（50%致死濃度）
NOAEL	No observed adverse effect level（無毒性量）
PAS	Periodic acid-Schiff（過ヨウ素酸シッフ）
R	Receptor（受容体）
TDAR	T cell dependent antibody reaction（T 細胞依存性の抗体産生）

用語の定義

用語	定義
AUC	血清中薬物濃度―時間曲線下面積
$AUC_{0-\tau}$	投与間隔（τ）での血清中薬物濃度―時間曲線下面積
AUC_{0-168h}	投与後 168 時間までの血清中薬物濃度―時間曲線下面積
C_{max}	最高血清中薬物濃度
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
ICH	医薬品規制調和国際会議

目次

略号及び用語の定義一覧 2
目次 3
2.6.6 毒性試験の概要文 5
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.2 単回投与毒性試験 6
2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 7
2.6.6.3.1 カニクイザル 1 ヵ月間反復皮下又は静脈内投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（試験番号：107059）資料番号：4.2.3.2-1 7
2.6.6.3.2 カニクイザル 3 ヵ月間反復皮下投与毒性試験及び 17 週間回復性試験（試験番号：107713）資料番号：4.2.3.2-2 8
2.6.6.3.3 カニクイザル 6 ヵ月間反復皮下投与毒性試験及び 6 ヵ月間回復性試験（試験番号：107714）資料番号：4.2.3.2-3 9
2.6.6.4 遺伝毒性試験 10
2.6.6.5 がん原性試験　資料番号：参考 4.2.3.4.3-1 10
2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む） 11
2.6.6.6.1 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験（試験番号：106489）資料番号：4.2.3.5.2-1 11
2.6.6.6.2 カニクイザル 6 ヵ月間反復皮下投与毒性試験における雌雄生殖器及び精子機能に対する影響（試験番号：107714）資料番号：4.2.3.2-3 11
2.6.6.6.3 カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験（試験番号：107716）資料番号：4.2.3.5.3-1 12
2.6.6.7 局所刺激性試験 13
2.6.6.7.1 カニクイザル反復投与毒性試験における投与部位に対する局所刺激性（試験番号：107059、107713、107714）資料番号：4.2.3.2-1、4.2.3.2-2、4.2.3.2-3 13
2.6.6.7.2 ウサギを用いた単回皮下投与局所刺激性試験（試験番号：115263）資料番号：4.2.3.6-1 13
2.6.6.8 その他の毒性試験 15
2.6.6.8.1 ヒト、カニクイザル及びウサギの正常組織を用いた組織交差反応性試験（試験番号：105786）資料番号：4.2.3.7.7-1 15
2.6.6.8.2 免疫原性試験 15
2.6.6.8.3 免疫毒性試験 16
2.6.6.8.4 依存性試験 16
2.6.6.8.5 不純物／KHK4827 関連物質の毒性試験 16
2.6.6.8.6 新添加物（L-グルタミン酸）に関する毒性試験 17
2.6.6.8.6.1 単回投与毒性 17
2.6.6.8.6.2 反復投与毒性 17
2.6.6.8.6.3 生殖発生毒性 18
2.6.6.8.6.4 遺伝毒性 18
2.6.6.8.6.5 まとめ 18

2.6.6.9 考察及び結論 18
2.6.6.9.1 投与部位の反応 18
2.6.6.9.2 皮膚（投与部位以外）及び舌の炎症 19
2.6.6.9.3 がん原性のリスク 20
2.6.6.9.4 免疫原性 20
2.6.6.9.5 各毒性試験における無毒性量と臨床用量での全身的曝露量の比較 20
2.6.6.10 図表 20
2.6.6.11 参考文献 21

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

KHK4827 の毒性評価は、バイオ医薬品の安全性試験（S6（R1））、医薬品の生殖発生毒性試験法（S5（R2））及び非臨床安全性試験の実施時期（M3（R2））に関する ICH ガイドラインに従い実施した。KHK4827 はヒト及びカニクイザルのインターロイキン（IL）-17 受容体（R）A に結合し、IL-17A 及び IL-17F により誘導される生物活性に対して同程度の阻害作用を示した（2.6.2.2.7）。一方、KHK4827 はマウス及びラットの IL-17RA には結合しなかった。なお、イヌの IL-17RA への結合性は、陰性対照抗体の非特異的結合により評価できなかった（2.6.2.2.7）。以上より、KHK4827 の毒性試験種としてカニクイザルを選択した。また、KHK4827 はウサギ IL-17RA に結合し、ヒトに比べて弱いながらもウサギ IL-17A の生物活性を阻害したため（2.6.2.2.7）、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験を実施した。しかし、ウサギを用いた上記試験では抗 KHK4827 結合抗体の顕著な産生に伴う KHK4827 の曝露低下や腎毒性が認められたため、KHK4827 の生殖発生毒性を評価する試験種としてウサギは不適当と判断した。市販予定製剤と同等の KHK4827 を用いた局所刺激性の評価はウサギを用いて実施した。すべての *in vivo* 毒性試験は、臨床試験の投与経路と同様に皮下投与を適用し（1 ヵ月間反復投与毒性試験の高用量群には静脈内投与も適用）、投与頻度は週 1 回とした。それぞれの毒性試験の投与用量は、ヒトに対するリスク評価を行うために十分な曝露及び安全域が得られるように設定した。すべての毒性試験（トキシコキネティクス試験を含む）は GLP に準拠して実施した。

実施した KHK4827 の毒性試験の一覧を表 2.6.6.1-1 に記載した。反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験及び組織交差反応性試験の被験物質には、製造方法 1 の KHK4827（KHK4827 濃度：70 mg/mL。媒体組成：[redacted]mmol/L [redacted]%[redacted]w/v[redacted]%[redacted]w/v[redacted] [redacted] pH[redacted]を使用した。局所刺激性試験の被験物質には、製造方法 1 の KHK4827 及び製造方法 2 の KHK4827（KHK4827 濃度：140 mg/mL。媒体組成：10 mmol/L L-グルタミン酸、3%（w/v）L-プロリン、0.01%（w/v）ポリソルベート 20、pH 4.8）を使用した。

表 2.6.6.1-1 毒性試験の一覧

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	GLP
反復投与毒性試験			
1 ヵ月間	皮下/静脈内	カニクイザル	適
3 ヵ月間	皮下	カニクイザル	適
6 ヵ月間	皮下	カニクイザル	適
生殖発生毒性試験			
胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験	皮下	ウサギ	適
拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験	皮下	カニクイザル	適
局所刺激性試験	皮下	ウサギ	適
その他の毒性試験			
組織交差反応性試験	*in vitro*	ヒト、カニクイザル、ウサギ	適

単回投与毒性試験は実施しなかったが、カニクイザルを用いた反復投与毒性試験及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験の初回投与時（最高用量：350 mg/kg）において毒性は認められなかった。

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験では、KHK4827 を週 1 回の投与頻度で 1 ヵ月間（最高用量：350 mg/kg）、3 ヵ月間（最高用量：350 mg/kg）及び 6 ヵ月間（最高用量：90 mg/kg）投与した。KHK4827 はカニクイザルに対して高い忍容性を示し、KHK4827 投与の影響は投与部位の反応と、軽微から軽度の皮膚炎及び舌炎のみであった。

遺伝毒性試験は実施していない。がん原性試験は、KHK4827 がげっ歯類に交差性を示さないことから実施しなかった。これまでに報告されている知見から総合して考えると、KHK4827 が直接的又は間接的にがん原性を示すリスクは低いと考えられた。

性成熟したカニクイザルを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験において、精子機能（運動能、密度及び形態）並びに雄性及び雌性生殖器に対する KHK4827 の影響は 90 mg/kg（最高用量）まで認められなかった。また、妊娠 20 日又は 22 日から分娩までの器官形成期を含む妊娠期間を通して KHK4827 の 90 mg/kg（最高用量）を投与した妊娠カニクイザルにおいて、母動物の毒性及び母体機能、並びに胚・胎児及び生後 6 ヵ月までの出生児の成長・発達（免疫機能を含む）に対する KHK4827 投与の影響は認められなかった。

製造方法 1 の KHK4827（KHK4827 濃度 : 70 mg/mL、非臨床試験及び一部の臨床試験で使用）と、製造方法 2 の KHK4827（KHK4827 濃度：140 mg/mL、大部分の臨床試験で使用、市販予定製剤に使用）の局所刺激性を比較するために、ウサギを用いた単回皮下投与による局所刺激性試験を実施した。その結果、投与部位の局所刺激反応（浮腫及び紅斑）が製造方法 2 の KHK4827 で認められたが、投与後 72 時間には回復傾向が認められた。一方、製造方法 2 と比較して KHK4827 濃度が低い製造方法 1 及び希釈した製造方法 2 の KHK4827（KHK4827 濃度 : 70 mg/mL）の投与部位では局所刺激反応が認められなかった。したがって、製造方法 2 の KHK4827 の投与部位で認められた局所刺激反応は、KHK4827 の薬理作用を反映した変化ではなく投与部位局所へのタンパク量に起因した非特異的な変化と考えられた。

ヒト、カニクイザル及びウサギの正常組織を用いた組織交差反応性試験では、ヒト、カニクイザル及びウサギで類似した組織交差反応性を示した。

すべての毒性試験で、KHK4827 のカニクイザルにおける忍容性は良好であった。KHK4827 投与による影響は投与部位の反応と、皮膚炎及び舌炎であった。皮膚炎及び舌炎は、皮膚及び舌の表面の常在微生物への宿主の免疫調節機能に対して、KHK4827 が薬理作用を示した結果と考えられた。

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験及び拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験の無毒性量（NOAEL）での曝露量は、乾癬患者に KHK4827 を隔週で 210 mg 投与したときの曝露量のそれぞれ 47~111 倍及び 27 倍であり、推定臨床投与量に対し、十分な安全域が確保されていると判断した。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施していない。カニクイザルを用いた反復投与毒性試験及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験の初回投与時（最高用量：350 mg/kg）において急性の毒性変化は認められなかった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

2.6.6.3.1 カニクイザル 1 ヵ月間反復皮下又は静脈内投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（試験番号：107059）資料番号：4.2.3.2-1

カニクイザル（投与開始時 : 2.4~5.6 歳齢）を 5 群に振り分け、雌雄それぞれ 5 匹／群として、各群に媒体又は 25、90 及び 350 mg/kg/回の用量の KHK4827 をそれぞれ皮下投与した。また、KHK4827 を 350 mg/kg/回の用量で静脈内投与する群も設定した。投与容量はいずれも 5 mL/kg とし、週 1 回 1 ヵ月間（計 4 回）反復投与した。各群 3 匹／性を投与期間終了時に、2 匹／性を 13 週間の休薬期間終了後に剖検した。

一般状態観察、体重及び摂餌量測定、身体検査、眼科学的検査、臨床検査、病理学的検査に加えて、心血管系及び呼吸機能に関する安全性薬理評価も当該試験内において併せて実施した。また、トキシコキネティクス解析及び抗 KHK4827 抗体の測定を行った。

すべての群の動物で死亡例は認められなかった。体重、摂餌量、バイタルサイン（心拍数、呼吸数及び体温）、心電図検査、眼科学的検査、臨床検査及び器官重量について KHK4827 投与の影響は認められなかった。

一般状態観察の結果、四肢の皮膚に小領域の痂皮が 350 mg/kg 皮下投与群の雌 2 例並びに 350 mg/kg 静脈内投与群の雄 3 例で認められた。また、身体検査の結果、350 mg/kg 静脈内投与群の雌 1 例で認められた。これらの変化は投与 15 日までに認められ、投与 25 日又は 29 日までにはほとんどの動物において消失していた。更に、350 mg/kg 静脈内投与群の雌 1 例で眼窩周囲や頭部（剖検時の肉眼所見）の痂皮が認められた。類似部位（眼窩周囲や頭部）の皮膚の痂皮は媒体群の雌 1 例でも認められたが、350 mg/kg 群で高頻度に認められた痂皮は KHK4827 投与の影響と考えられた。痂皮が認められた部位の病理組織学的検査では、細菌及び慢性炎症反応を伴い、血漿成分を含む痂皮に覆われた潰瘍が認められた。投与期間中に認められた眼窩周囲や頭部の痂皮は、休薬期間中に回復した。以上、KHK4827 投与で認められた皮膚の病変は限局的かつ軽微であり回復性もみられ、また、動物の一般状態に悪影響を示さないことから、毒性学的意義はないと判断した。

トキシコキネティクスパラメータには雌雄差がなく、皮下投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}168h}$ は用量に比例して増加した。また、初回投与及び 4 回目投与後の $AUC_{0\text{-}168h}$ 比から算出した累積係数（雌雄の平均値）は皮下投与群で 1.47~1.55、静脈内投与群で 1.39 であった。休薬期間では、休薬 50 日ではほぼすべての動物で KHK4827 が検出されたが、休薬 78 日では多くの動物で定量下限未満となり、休薬 102 日にはすべての動物で定量下限未満となった。

KHK4827 投与動物において、抗 KHK4827 結合抗体が投与期間中に 40 例中 3 例（8%）で認められ、そのうち 2 例（67%）で抗 KHK4827 中和抗体が認められた。休薬期間終了時には抗 KHK4827 結合抗体が 16 例中 15 例（94%）で認められ、そのうち 7 例（47%）で抗 KHK4827 中和抗体が認められた。25 mg/kg 群の 2 例及び 90 mg/kg 群の 1 例では抗 KHK4827 抗体によって曝露が低下したが、すべての動物で投与期間を通じて毒性評価に十分な曝露が確認された。

以上より、当該試験で認められた皮膚の病変は毒性学的意義のない変化と判断し、NOAEL は皮下投与、静脈内投与ともに 350 mg/kg/週と判断した。また、NOAEL での C_{max} は皮下投与群で 2400 μg/mL、静脈内投与群で 10100 μg/mL、NOAEL での $AUC_{0\text{-}168h}$ は皮下投与群で 325000 μg·h/mL、静脈内投与群で 782000 μg·h/mL であった。

2.6.6.3.2 カニクイザル 3 ヵ月間反復皮下投与毒性試験及び 17 週間回復性試験（試験番号：107713）資料番号：4.2.3.2-2

カニクイザル（3~5 歳齢）を 4 群に振り分け、雌雄それぞれ 6 匹／群として、各群に媒体又は 25、90 及び 350 mg/kg/回の用量の KHK4827 を皮下投与した。投与容量はいずれも 4.9 mL/kg とし、週 1 回 3 ヵ月間（計 14 回）反復投与した。各群 4 匹／性を投与期間終了時に、2 匹／性を 17 週間の休薬期間終了後に剖検した。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、身体検査、バイタルサイン（呼吸数、心拍数、体温）、眼科学的検査、心電図、血圧測定、臨床検査及び病理学的検査を実施した。また、トキシコキネティクス解析及び抗 KHK4827 抗体の測定を行った。

すべての群の動物で死亡例は認められなかった。体重、摂餌量、バイタルサイン、血圧、心電図検査、眼科学的検査、臨床検査、リンパ球サブセット解析及び器官重量において KHK4827 投与の影響は認められなかった。

一般状態観察の結果、350 mg/kg 群の投与部位において投与 64 日から小型で局所的な組織の腫脹及び痂皮が認められ、投与期間終了時の身体検査では 350 mg/kg 群の雌 1 例で投与部位の膿瘍が認められた。また、投与期間終了時の剖検では、350 mg/kg 群の投与部位の色調変化（赤色、暗赤色、黄褐色）、肥厚及び痂皮の発現頻度が増加し、病理組織学的検査では軽度から重度の亜急性から慢性の組織球性の炎症が認められた。同様の投与部位での病理組織学的所見は軽微ながら 90 mg/kg 群の雌雄各 2 例で認められたが、これらの動物の一般状態観察では該当する所見は確認されなかった。投与部位の所見は休薬期間終了時までに回復又は回復性がみられた。350 mg/kg 群の投与部位の反応は病変の重症度から毒性と考えられたが、90 mg/kg 群の当該所見は軽微な変化であり、一般状態観察では異常が確認できないことから毒性学的意義はないと判断した。

投与期間終了時の剖検では、上述した投与部位の変化に加えて KHK4827 投与群において痂皮が認められ、病理組織学的検査では軽微な亜急性の炎症を伴う表皮肥厚（過角化）が低頻度で認められたが、休薬期間終了時には認められなかった。当該所見の発現頻度に用量相関性がみられず偶発所見と考えられた。

トキシコキネティクスパラメータに雌雄差は認められなかった。$AUC_{0\text{-}168h}$ 及び C_{max} は用量にほぼ比例して増加した。KHK4827 投与群の初回投与及び投与 78 日後の $AUC_{0\text{-}168h}$ 比から算出した累積係数（雌雄の平均値）は 1.44~1.93 であった。投与期間中において、25 mg/kg 群の 4 例で抗 KHK4827 抗体による曝露低下が認められたが、AUC 及び C_{max} の平均値に明らかな影響は認められなかった。これらの結果から、当該試験の動物は毒性評価に十分な曝露が確保されたと考えられた。25 mg/kg 群において、血清中 KHK4827 濃度は休薬 120 日、148 日及び 176 日で定量下限未満であった。90 mg/kg 群において、KHK4827 は休薬 120 日では検出されたが、休薬 148 日及び 176 日ではほとんどの動物で定量下限未満であった。350 mg/kg 群において、KHK4827 は休薬 120 日及び 148 日ではすべての動物で検出されたが、休薬 176 日ではすべての動物で定量下限未満であった。

KHK4827 投与動物で、抗 KHK4827 結合抗体が投与期間に 36 例中 4 例（11%）で検出され、そのうち 3 例（75%）で抗 KHK4827 中和抗体が認められた。これらの動物はすべて 25 mg/kg 群であった。休薬期間には、KHK4827 投与動物の全例で抗 KHK4827 結合抗体が検出され、そのうち 4 例（33%）で抗 KHK4827 中和抗体が認められた。

以上より、350 mg/kg 群において重度の組織球性の炎症を伴う投与部位の反応が認められたことから、NOAEL は 90 mg/kg/週と判断した。また、NOAEL での C_{max} は 1180 µg/mL、$AUC_{0\text{-}168h}$ は 159000 µg·h/mL であった。

2.6.6.3.3 カニクイザル 6 ヵ月間反復皮下投与毒性試験及び 6 ヵ月間回復性試験（試験番号：107714）資料番号：4.2.3.2-3

カニクイザル（4.7~7.6 歳齢）を 4 群に振り分け、媒体又は 10、25 及び 90 mg/kg/回の用量の KHK4827 を、雌雄それぞれ 6 匹／群（媒体群及び 90 mg/kg 群）又は 4 匹／群（10 及び 25 mg/kg 群）に皮下投与した。投与容量はいずれも 1.29 mL/kg とし、週 1 回 6 ヵ月間（計 27 回）反復投与した。投与期間終了時に各群 4 匹／性を剖検した。また、媒体群及び 90 mg/kg 群については 2 匹／性を 6 ヵ月間の休薬期間終了時に剖検した。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、身体検査、バイタルサイン（呼吸数、心拍数、体温）、眼科学的検査、心電図、臨床検査、キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）を用いた T 細胞依存性の抗体産生（TDAR：抗 KLH 免疫グロブリン（Ig）M 抗体及び IgG 抗体測定を含む）、精子検査及び病理学的検査（過ヨウ素酸シッフ（PAS）染色、グラム染色、グロコット染色標本の検査を含む）を実施した。また、トキシコキネティクス解析及び抗 KHK4827 抗体の測定を実施した。

すべての群の動物で死亡例は認められなかった。体重、摂餌量、バイタルサイン、心電図検査、眼科学的検査、TDAR 及び器官重量において KHK4827 投与の影響は認められなかった。また、精子の運動能、密度及び形態に KHK4827 投与の影響は認められなかった。

一般状態観察では、発赤及びドライスキンの発現頻度の増加が 25 mg/kg 群の雄 1 例及び雌 3 例、並びに 90 mg/kg 群の雌雄各 3 例で認められ、KHK4827 投与に関連した変化と考えられた。また、身体検査においても発赤、紅斑及びドライスキンが認められた。発赤及びドライスキンは、投与 57 日に認められた 1 例以外の動物では、投与期間の後期（投与 92 日以降）に出現し、ほとんどの発現部位は口や鼻の周囲、腹部、鼠径部及び後肢、並びに胸部、腋窩、前肢であった。これらの症状観察で認められた所見は、剖検時に低頻度で認められた落屑、痂皮又は色調変化（赤色）と関連性が示された。

病理組織学的検査では、媒体群と比較して胸部及び腋窩の表皮肥厚（過角化）の頻度の増加及び程度の増悪（軽微から軽度）が認められた。また、特殊染色（PAS 染色、グラム染色、グロコット染色）の結果、常在微生物（酵母及び細菌）の異常増殖やリンパ球浸潤を特徴とする表在性の皮膚炎（軽微から軽度）を伴う例も認められた。これらの組織所見は、一般状態観察で発赤及びドライスキンの発現頻度の増加が確認された動物で認められたが、一般状態観察での所見が認められなった 25 mg/kg 群の雄 2 例及び 90 mg/kg 群の雌 2 例でも同様の病理変化が認められた。これらの皮膚病変は、休薬期間中に除々に縮小し、休薬期間終了時には病理学的にも異常は認められなかったことから、回復性のある変化と考えられた。上述した皮膚所見に加えて、リンパ球浸潤を主体とし、マクロファージや好中球の浸潤を伴う表在性の舌炎が認められた。媒体群と比較して雌の 10 mg/kg 以上の群で軽微な舌炎が高頻度に認められ、雄の 90 mg/kg 群では病変の程度が強くなっていた（軽微から軽度）。また、特殊染色（PAS 染色、グロコット染色）の結果、25 mg/kg の雌雄各 1 例及び 90 mg/kg 群の雄 1 例で舌の角質層に菌糸体が認められた。舌炎の発現頻度及び程度は休薬期間終了時点では媒体群と同等であった。また、媒体群と比較して 25 mg/kg 以上の雌及び 90 mg/kg 群の雄の投与部位で慢性活動性炎症の発現頻度の増加及び程度の増悪（軽微から軽度）が認められたが、休薬期間終了時には認められなかった。更に、90 mg/kg 群で胸骨骨髄中の骨髄細胞の増加（軽微から軽度）が認められ、この変化は皮膚の炎症に対する二次的な反応と考えられた。休薬期間終了時には、骨髄細胞の増加は認められなかった。当該試験の皮膚及び舌の炎症は、IL-17 シグナル経路を介した常在微生物叢に対する宿主の免疫調節機能に対して、KHK4827 が薬理作用を及ぼした結果と考えられた。

臨床検査では、軽度から中等度の好中球数の増加が 90 mg/kg 群で投与期間終了時に認められた。この変化は皮膚、舌及び投与部位の病理組織学的検査で認められた炎症と関連した変化と考えられ、休薬期間終了時には回復した。

トキシコキネティクスパラメータには雌雄差がなく、皮下投与時の $AUC_{0\text{-}168h}$ は用量にほぼ比例して増加した。KHK4827 投与群の投与 92 日及び 176 日の初回投与に対する $AUC_{0\text{-}168h}$ 比から算出した累積係数（雌雄の平均値）は、それぞれ 1.34~1.96、1.74~2.44 であった。投与期間において、抗 KHK4827 抗体に陽性を示す 10 mg/kg 群の 4 例、25 mg/kg 群の 2 例、90 mg/kg 群の 1 例で抗 KHK4827 抗体による曝露低下が認められたが、25 及び 90 mg/kg 群での曝露低下はわずかであった。これらの結果から、当該試験の動物は毒性評価に十分な曝露が確保されたと考えられた。休薬 70 日には、90 mg/kg 群の 4 例の血清中 KHK4827 濃度が定量下限未満となった。

投与期間及び休薬期間の抗体測定の結果から、KHK4827 投与動物の 28 例中 12 例（43%）で抗 KHK4827 結合抗体が検出され、そのうち 9 例（75%）で抗 KHK4827 中和抗体が検出された。投与期間には、抗 KHK4827 結合抗体が 10 mg/kg 群の 8 例中 4 例（50%）、25 mg/kg 群の 8 例中 2 例（25%）、90 mg/kg 群の 12 例中 4 例（33%）で検出され、これらの動物のうち抗 KHK4827 中和抗体が 10 mg/kg 群の 4 例中 3 例（75%）、25 mg/kg 群の 2 例中 1 例（50%）、90 mg/kg 群の 4 例中 1 例（25%）で認められた。休薬期間に、抗 KHK4827 結合抗体や抗 KHK4827 中和抗体が 90 mg/kg 群の 4 例中 4 例で検出された。

投与期間に、媒体群の 12 例中 5 例（42%）で抗 KHK4827 結合抗体が検出されたが、抗 KHK4827 中和抗体は全例で検出されなかった。また、休薬期間に、媒体群の 4 例中 1 例（25%）で抗 KHK4827 結合抗体が認められ、この動物では抗 KHK4827 中和抗体が検出された。しかし、すべての測定時点において媒体を投与した動物の血清サンプルから KHK4827 は検出されなかった。したがって、当該試験では KHK4827 投与の影響を評価できていると判断した。

KHK4827 投与の影響と考えられた変化は限局した軽微な皮膚所見であり、また動物の全身状態に影響を与えないことから、毒性学的意義はないと判断し、NOAEL は 90 mg/kg/週とした。NOAEL での C_{max} は 1090 μg/mL、$AUC_{0\text{-}168h}$ は 137000 μg·h/mL であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

KHK4827 は自然に存在するアミノ酸から構成されたモノクローナル抗体であり、無機物又は合成有機物のリンカーや非タンパク質の部分は含まれていない。したがって、KHK4827 が DNA やその他の染色体物質に直接作用する可能性は極めて低い。ICH S6（R1）に従って、遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.5 がん原性試験 資料番号：参考 4.2.3.4.3-1

KHK4827 は 6 ヵ月間を超えて連続的に用いられることが想定されていることから、ICH S6（R1）を考慮し、がん原性試験の必要性について検討した。一般的にがん原性リスクを評価するための標準的な手法としてマウス及びラットを用いた 2 年間のがん原性試験が用いられるが、KHK4827 はげっ歯類に生物学的作用を示さないため、これらの試験を実施することができない。また、KHK4827 が生物活性を示す非ヒト霊長類はがん原性リスクを評価するモデルとしては適切ではないと考えられている。以上のことから KHK4827 のがん原性リスクを評価するための非臨床試験は実施しなかった。

KHK4827 のがん原性（発がん性及び悪性腫瘍増悪）のリスクは、文献情報、KHK4827 のカニクイザルを用いた反復投与毒性試験（免疫機能評価を含む）及び臨床試験の結果をもとに評

価した。IL-17 シグナル経路の腫瘍増殖及び転移との関係、並びに腫瘍形成促進作用又は抗腫瘍作用について文献情報に基づき検討し、KHK4827 の薬理作用ががん原性リスクを有する可能性について考察した。なお、KHK4827 のがん原性リスクの検討結果及び考察の詳細は、参考 4.2.3.4.3-1 に記載した。

IL-17 及び IL-17RA は様々なヒト腫瘍組織の腫瘍浸潤リンパ球、炎症細胞、間質細胞等で発現が上昇しており、多くの報告では IL-17 シグナル経路は主に炎症性サイトカインや血管新生促進因子の産生増加を伴い腫瘍形成に対して促進的に働くことが報告されている。また、IL-17 シグナル経路の阻害により抗腫瘍作用を示すことから、KHK4827 が腫瘍形成に対して抑制的に作用する可能性が示唆される。一方、一部の報告では特定の条件下で IL-17 シグナル経路が腫瘍形成抑制作用を有することも報告されており、IL-17 シグナル阻害により腫瘍形成が促進される可能性も示唆される。

KHK4827 のカニクイザルを用いた 6 ヵ月までの反復投与毒性試験において増殖性病変や前がん病変は認められず、全身的な免疫機能低下は認められなかった。この結果は、KHK4827 は免疫調節薬であり免疫抑制薬ではないこと、IL-17F や IL-17RA の遺伝子変異を有するヒトでがん発症リスクの増加は認められず、同様に IL-17 遺伝子欠損マウスでも腫瘍発生の増加は確認されていない。また、KHK4827 の臨床試験において、がん原性のリスクは示唆されなかった。

以上より、KHK4827 のがん原性リスクは低いと判断した。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験において、KHK4827 に対する免疫原性に起因した毒性及び曝露低下が認められたため、ウサギは生殖発生毒性の評価動物として不適切と判断した。したがって、KHK4827 の生殖発生毒性はカニクイザルで評価した。

2.6.6.6.1 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験（試験番号：106489）資料番号：4.2.3.5.2-1

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定のために、妊娠したニュージーランド白色種ウサギに KHK4827 を皮下投与した。

妊娠ウサギ（各群 7 匹）に、媒体又は 25、90 及び 350 mg/kg の用量の KHK4827 を妊娠第 7 及び 14 日に皮下投与した。投与容量は 5 mL/kg として 2 ヵ所に分けて投与した。剖検は妊娠第 29 日に実施した。

妊娠第 14 日に 350 mg/kg 群の 1 例で母動物の死亡が認められた。妊娠第 23 及び 25 日にそれぞれ 25 及び 90 mg/kg 群の各 1 例で流産が認められ、剖検を行った。母動物の死亡及び流産の原因として、媒体群及び KHK4827 投与群の腎臓で認められた慢性腎障害や抗 KHK4827 抗体産生に起因した腎臓での免疫複合体沈着が考えられた。ほかのウサギは計画殺まで生存した。

KHK4827 を投与したウサギでは、器官形成時期における抗 KHK4827 抗体産生による KHK4827 の曝露低下、並びに腎臓での免疫複合体の沈着及び腎障害が認められたため、KHK4827 の生殖発生毒性を評価する動物種としてウサギは適切ではないと判断した。

2.6.6.6.2 カニクイザル 6 ヵ月間反復皮下投与毒性試験における雌雄生殖器及び精子機能に対する影響（試験番号：107714）資料番号：4.2.3.2-3

性成熟したカニクイザルを用いた 6 ヵ月間反復皮下投与毒性試験（最高用量：90 mg/kg)で、雄性及び雌性生殖器の器官重量及び病理組織学的検査、並びに精子機能（運動能、密度、形態）

において KHK4827 投与の影響は認められなかった。以上の結果から、雌雄受胎能に対する NOAEL は 90 mg/kg/週と判断した。

2.6.6.6.3 カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験（試験番号：107716）資料番号：4.2.3.5.3-1

妊娠カニクイザル（各群 16~19 例）に、媒体又は KHK4827 の 25 及び 90 mg/kg を、1.3 mL/kg の投与容量で、妊娠第 20~22 日より妊娠終了時まで週 1 回（計 19~22 回）皮下投与した。妊娠期間中、母動物の一般状態観察、摂餌量、体重及び超音波検査（妊娠の確認及び胎児検査）、トキシコキネティクス解析及び抗 KHK4827 抗体検査を実施した。分娩／出生後の約 6 ヵ月間には、母動物及び出生児の一般状態観察、体重並びに摂餌量（母動物のみ）の検査を実施し、出生児については血液学的検査、トキシコキネティクス解析及び抗 KHK4827 抗体検査を実施した。また、出生児の免疫機能評価として、TDAR（抗 KLH IgM 抗体及び IgG 抗体測定を含む）及びリンパ球サブセット解析を実施した。また、出生後 1 ヵ月間の外表、骨格及び行動検査を実施した。出生児は出生後約 180 日で安楽死させ、外表及び内臓の検査、剖検並びに器官重量測定を行った。

母動物において死亡例は認められず、一般状態観察、摂餌量及び体重に KHK4827 投与の影響は認められなかった。また、妊娠期間中の胎児の超音波検査において KHK4827 投与の影響は認められなかった。

KHK4827 投与群における胚及び胎児の損失は媒体群と同程度であった。

媒体群の 18 例中 11 例（61%）、25 mg/kg 群の 19 例中 11 例（58%）、90 mg/kg 群の 16 例中 13 例（81%）で正常分娩による出生児が得られた。25 mg/kg 群の 1 例では、帝王切開により出生児を摘出した。出生後 28 日までに 25 mg/kg 群の 1 例及び 90 mg/kg 群の 3 例の出生児が死亡した。出生後 28 日までの出生児の死亡頻度（全動物の 36 例中 4 例（11%）、KHK4827 投与動物の 25 例中 4 例（16%））は、マカク属のサルにおける背景データ（10~12%）（Gardin et al, 1989; Hird et al, 1975）及び同施設で実施された拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験の背景値（8 試験分、発生頻度：[redacted]、発生率（範囲）：[redacted]と同程度であった。出生児の死亡は、いずれも育児放棄、臍帯腐敗、未熟児出産等によるもので KHK4827 投与と関連しない死因によるものと考えられ、25 及び 90 mg/kg 群のほかの出生児において KHK4827 投与に関連した毒性変化が認められないことから、出生児の死亡は KHK4827 の母動物及び出生児に対する影響ではないと考えられた。

生存出生児では、出生後の観察期間中の一般状態観察、体重、身体検査、幼児期検査、神経行動学的検査、血液学的検査、リンパ球サブセット解析及び骨格検査において、KHK4827 投与による影響は認められず、カニクイザルの出生児の正常な成長・発達の範囲内であった。液性免疫機能においては、いずれの群の出生児においても抗 KLH IgM 及び IgG 産生に対する KHK4827 投与の影響は認められず、出生児では適切な一次免疫応答（出生後 138±2 日）と二次免疫応答（出生後 152±2 日）が認められた。更に、出生後約 180 日での剖検、体重測定、器官重量測定（絶対重量及び相対重量）、身体測定、外表、内臓及び心臓検査並びに病理組織学的検査において、KHK4827 投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

母動物においては、分娩後の母子関係、一般状態観察、摂餌量及び体重において、KHK4827 投与の影響は認められなかった。

母動物では、25 mg/kg 群で分娩後 14 日まで、90 mg/kg 群で分娩後 28 日まで血清中 KHK4827 濃度は測定可能であった。初回及び 18 回目投与後の KHK4827 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}168h}$ は投与用量

に比例して増加した。乳汁中の KHK4827 は 90 mg/kg 群の分娩後 14 日においてのみ検出され、血清から乳汁への KHK4827 移行率（乳汁中 KHK4827 濃度/血清中 KHK4827 濃度）は 0.0981%であった。出生児の血清中 KHK4827 濃度は、個体差が大きく、生後 14 日では 25 mg/kg 群の 4 例及び 90 mg/kg 群の 9 例で、生後 28 日では 90 mg/kg 群の 7 例で測定可能であった。

KHK4827 投与群の母動物の 35 例中 24 例（69%）で、抗 KHK4827 結合抗体が投与期間及び分娩後の少なくとも 1 時点で検出された。また、そのうち 7 例（29%）で抗 KHK4827 中和抗体が検出された。抗 KHK4827 抗体による血清中 KHK4827 濃度の低下が、25 mg/kg 群の 3 例で認められたが、90 mg/kg 群では認められなかった。いずれの KHK4827 投与群の母動物においても、投与期間を通じて毒性評価を実施するのに十分な曝露が得られた。KHK4827 投与群の母動物から産まれた出生児の 21 例中 6 例（29%）で抗 KHK4827 抗体が検出され、そのうち 2 例（33%）で中和抗体が検出された。抗 KHK4827 結合抗体が検出された出生児の母動物の全例で抗 KHK4827 結合抗体が検出された。

媒体群において、母動物の 18 例中 8 例（44%）で抗 KHK4827 結合抗体が投与期間及び分娩後の少なくとも 1 時点で検出され、7 例では近接した 2 時点以上で検出された。そのうち 1 例では抗 KHK4827 中和抗体が検出された。媒体群の出生児の 11 例中 5 例（45%）で抗 KHK4827 結合抗体が検出され、いずれも抗 KHK4827 抗体が検出された母動物から生まれた出生児であった。母動物の 1 例では妊娠 20 日の 1 時点（投与後 120 時間）のみでトキシコキネティクス解析のために採取された血清から KHK4827 が検出されたが、妊娠 20 及び 32 日に抗 KHK4827 結合抗体は検出されず、その後、流産したために試験から除外した。したがって、抗 KHK4827 結合抗体が検出され評価に用いた媒体群の動物では KHK4827 は検出されなかったため、当該試験では KHK4827 投与の影響を評価できていると考えられた。

当該試験での母動物の毒性及び母体機能、胎児及び出生児の発達に対する NOAEL は 90 mg/kg/週と判断した。

2.6.6.7 局所刺激性試験

2.6.6.7.1 カニクイザル反復投与毒性試験における投与部位に対する局所刺激性（試験番号：107059、107713、107714）資料番号：4.2.3.2-1、4.2.3.2-2、4.2.3.2-3

KHK4827 の反復皮下投与による投与部位に対する局所刺激性は、製造方法 1 の KHK4827 を用いて実施した反復皮下投与毒性試験の中で評価した。カニクイザルを用いた 1 ヵ月間反復皮下投与又は静脈内投与毒性試験では、投与部位において KHK4827 投与に関連した変化は認められなかった。3 ヵ月間反復皮下投与毒性試験の 90 及び 350 mg/kg 群の投与部位において、投与後 64 日から痂皮、腫脹及び膿瘍（350 mg/kg 群の雌 1 例）が認められ、病理組織所見として亜急性から慢性の組織球性の炎症（軽度から重度）が認められた。また、6 ヵ月間反復皮下投与毒性試験では 25（雌のみ）及び 90 mg/kg 群の投与部位において、媒体群と比較して慢性の活動性炎症の頻度の増加及び程度（軽微から軽度）の増悪が認められた。上記 2 試験で認められた投与部位の反応は、休薬期間中に回復又は消失した。

2.6.6.7.2 ウサギを用いた単回皮下投与局所刺激性試験（試験番号：115263）資料番号：4.2.3.6-1

KHK4827 は、開発過程における製造方法の変更により KHK4827 濃度、添加剤及び pH が異なる 2 種類の製剤が存在する（3.2.S.2.6）。製造方法 1 の KHK4827 はすべての非臨床毒性試験の

被験物質であり、一部の海外臨床試験で使用された。製造方法 2 の KHK4827 はすべての国内臨床試験及び大部分の海外臨床試験で使用されており、市販予定製剤に使用される。

当該試験は、製造方法 1 と製造方法 2 の KHK4827 の局所刺激性を比較するために実施した。

3 匹のニュージーランド白色種ウサギを用いて、各動物の背部 3 ヵ所（肩甲骨間付近、背部中心付近、腰部）に製造方法 1、製造方法 2 又は希釈した製造方法 2 の各 KHK4827 投与液（組成は表 2.6.6.7.2-1 を参照）をそれぞれ 1 ヵ所につき 1.0 mL/投与部位の投与容量で単回皮下投与した。

表 2.6.6.7.2-1　KHK4827 投与液の組成

投与液	KHK4827 濃度	添加剤及び pH
製造方法 1 の KHK4827	70 mg/mL	[redacted] mmol/L [redacted]、[redacted]% (w/v) [redacted]、[redacted]% (w/v) [redacted]、pH [redacted]
製造方法 2 の KHK4827	140 mg/mL	10 mmol/L L-グルタミン酸、3% (w/v) L-プロリン、0.01% (w/v) ポリソルベート 20、pH 4.8
希釈した製造方法 2 の KHK4827	70 mg/mL	製造方法 2 の KHK4827 と媒体 a) の同量混合

a）媒体：[redacted]mmol/L[redacted]、[redacted]% [redacted]w/v[redacted]、[redacted]% [redacted]w/v[redacted]、pH[redacted]

KHK4827 刺激に対する忍容性は、臨床症状、体重、投与部位の局所刺激反応とその程度、並びに投与部位の肉眼及び組織学的検査の結果に基づき判断した。投与部位の局所刺激反応は、浮腫（腫脹）及び紅斑（発赤）を Draize 法に従って 5 段階の重症度スコアで評価し、変化した皮膚範囲の大きさを計測した。

すべての動物は剖検時まで生存し、KHK4827 の投与に起因した一般状態の変化及び体重に対する影響は認められなかった。

各 KHK4827 投与液の投与部位における局所刺激反応を表 2.6.6.7.2-2 に示す。

表 2.6.6.7.2-2　投与部位の局所刺激反応

		重症度スコア a)								
投与液名		製造方法 1 の KHK4827			製造方法 2 の KHK4827			希釈した製造方法 2 の KHK4827		
個体番号		F00032	F00033	F00034	F00032	F00033	F00034	F00032	F00033	F00034
浮腫	投与後 1 時間	0	0	0	3	3	4	0	0	0
	投与後 4 時間	0	0	0	3	3	3	0	0	0
	投与後 24 時間	0	0	0	2	2	4	0	0	0
	投与後 48 時間	0	0	0	2	1	3	0	0	0
	投与後 72 時間	0	0	0	1	1	3	0	0	0
紅斑	投与後 1 時間	0	0	0	1	1	0	0	0	0
	投与後 4 時間	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	投与後 24 時間	0	0	0	2	1	0	0	0	0
	投与後 48 時間	0	0	0	1	1	0	0	0	0
	投与後 72 時間	0	0	0	0	1	0	0	0	0

a）浮腫の重症度スコア　0 : none, 1 : very slight, 2 : slight, 3 : moderate, 4 : severe
紅斑の重症度スコア　0 : none, 1 : very slight, 2 : well-defined, 3 : moderate to severe, 4 : severe

製造方法 1 及び希釈した製造方法 2 の KHK4827 では、投与部位の局所刺激反応は認められなかった。一方、タンパク濃度が最も高い製造方法 2 の KHK4827 では投与部位の局所刺激反応が認められた。製造方法 2 の KHK4827 の局所刺激反応の重症度スコアは、浮腫と紅斑のどちらも投与後 24 時間以内に最大となり、投与後 72 時間では回復傾向が認められた。また、投与 4 日に採取した投与部位の病理組織学的検査では、いずれの KHK4827 投与液の投与部位でも同程度の皮下投与操作による組織所見（出血、線維化、筋線維の変性及び再生、マクロファージ浸潤）が認められた。

以上より、製造方法 2 の KHK4827 の投与部位で認められた局所刺激反応は、KHK4827 の薬理作用を反映した変化ではなく投与部位局所への投与タンパク量に起因した非特異的な変化であると考えられた。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 ヒト、カニクイザル及びウサギの正常組織を用いた組織交差反応性試験（試験番号：105786）資料番号：4.2.3.7.7-1

ヒト、カニクイザル及びウサギの正常組織に対する交差反応性を評価するために、ヒト、カニクイザル及びウサギの凍結切片を材料として、ビオチン標識 KHK4827 を用いて免疫組織化学染色を実施した。

陽性細胞の種類や存在部位、染色の強度はヒト、カニクイザル及びウサギともに類似していた。ヒト、カニクイザル及びウサギのいずれでも、様々な組織中の常在性及び浸潤した単核細胞及び樹状細胞（形態学的にリンパ球、クッパー細胞を含むマクロファージ、組織球及び樹状細胞に一致した細胞）の細胞膜、細胞質及び細胞質内顆粒、表皮又は粘膜上皮の基底膜並びに毛包上皮細胞の細胞膜及び細胞質内顆粒に対して特異的な陽性反応が認められた。更に、すべての動物種の様々な組織中の固有及び血管の平滑筋細胞及び筋線維芽細胞の細胞質内フィラメント及び顆粒においてもビオチン標識 KHK4827 の特異的陽性反応が認められた。しかし、KHK4827 は生体内において細胞内成分まで到達するとは考えにくいため、筋細胞や筋線維芽細胞に対する反応は生体内では生じない生物学的に意義のないものと考えられた。当該試験で検出された KHK4827 の特異的陽性反応は既に報告されている IL-17R の発現部位とおおむね一致していると考えられた（Miossec et al, 2009）。

2.6.6.8.2 免疫原性試験

単独で免疫原性を評価するための試験は実施していないが、カニクイザルを用いた毒性試験（1 ヵ月間反復皮下又は静脈内投与毒性試験、3 及び 6 ヵ月間反復皮下投与毒性試験、拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験）において、抗 KHK4827 抗体を測定し、免疫原性を評価した。これらの試験では、投与期間に KHK4827 を投与した動物の 29%（139 例中 41 例）で抗 KHK4827 結合抗体が検出され、そのうち 41%（41 例中 17 例）の動物で抗 KHK4827 中和抗体が検出された。反復投与毒性試験の休薬期間に、KHK4827 を投与した動物の 97%（32 例中 31 例）で抗 KHK4827 結合抗体が検出され、そのうち 48%（31 例中 15 例）の動物で抗 KHK4827 中和抗体が検出された。拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験では、KHK4827 を投与した母動物から生まれた出生児の 29%（21 例中 6 例）で抗 KHK4827 結合抗体が検出され、そのうち 33%（6 例中 2 例）の出生児で抗 KHK4827 中和抗体が検出された。カニクイザルでは全身的曝露量に対する抗 KHK4827 抗体の顕著な影響は低用量群に限定されており、毒性評価は十分可能であった。

薬物動態を明らかにする目的で実施したカニクイザル単回静脈内及び皮下投与の試験（2.6.4.3.1）において、抗 KHK4827 結合抗体は 15 例中 10 例（67%）で検出され、そのうち 20%（10 例中 2 例）で抗 KHK4827 中和抗体が検出された。

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験では、KHK4827 を投与した動物の 95%（20 例中 19 例）で抗 KHK4827 結合抗体が検出され、KHK4827 が急速にクリアランスされ、血清中 KHK4827 濃度の低下が認められた。

2.6.6.8.3 免疫毒性試験

単独で免疫毒性を評価するための試験は実施していないが、カニクイザルを用いた反復投与毒性試験の剖検、器官重量測定（胸腺、脾臓）及び病理組織学的検査において免疫系の器官（骨髄、胸腺、脾臓、リンパ節、腸管関連リンパ組織）に異常所見は認められなかった。また、カニクイザルを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験及び拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験（出生児）においてリンパ球サブセット解析を実施し、カニクイザルを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験及び拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験（出生児）において TDAR 評価を実施した。いずれの試験の評価でも、リンパ球サブセット及び外来抗原（KLH）に対する TDAR に対する影響は認められず、KHK4827 は免疫の恒常性や機能に影響を与えないと考えられた。

2.6.6.8.4 依存性試験

依存性試験は実施していないが、KHK4827 の臨床試験において、薬物乱用や悪用につながるリスクを示唆する症状は観察されていない。また、KHK4827 はほかの抗体と同様に血液脳関門をほとんど通過しないと考えられる。カニクイザルを用いた 1、3 及び 6 ヵ月間反復投与毒性試験では、臨床推奨用量（210 mg を 2 週に 1 回）の最大 387 倍（初回投与時）及び最大 537 倍（最終投与時）の曝露（C_{max}）であったが、神経行動学的な作用は認められなかった。また、KHK4827 の作用機序からは薬物乱用や悪用のリスクを有する可能性は想定されず、KHK4827 と同様に IL-17 シグナル経路に対して抑制的に作用する他剤［セクキヌマブ（コセンティクス®）、ウステキヌマブ（ステラーラ®）、イキセキズマブ］の臨床試験において神経行動学的な作用は報告されていない（Leonardi et al, 2012; McInnes et al, 2013; Genovese et al, 2014; Langley et al, 2014; Langley et al, 2015; Griffiths et al, 2015; Xiong et al, 2015）。

2.6.6.8.5 不純物／KHK4827 関連物質の毒性試験

KHK4827 目的物質関連物質として、2 アミノ酸置換を含む変異体（[redacted]）がある。この関連物質は、毒性試験及び臨床試験で使用された製造方法 1 の KHK4827 のすべてのロットに低レベルで含まれている。KHK4827 市販予定製剤に含まれる KD バリアントの安全性について、カニクイザルを用いた 1、3 及び 6 ヵ月間反復投与毒性試験での投与量と比較した。

カニクイザルを用いた 6 ヵ月間反復皮下投与試験は被験物質として KD バリアントを [redacted]%含む KHK4827（DS Lot No.[redacted]）を用いて実施しており、週 1 回で 10、25 及び 90 mg/kg の用量の KHK4827 を皮下投与したことから、当該試験の NOAEL である 90 mg/kg/週における KD バリアントの投与量は [redacted]mg/kg/週に相当する。

製造方法 2 の原薬における KD バリアントの出荷規格値は [redacted]%に設定されたが、これまでに実施した臨床試験で使用された製造方法 2 の原薬の KD バリアントの含有率は [redacted]%であった。210 mg の KHK4827 を投与された被験者（平均体重：90.47 kg）における KD バリアント投与量は最大で [redacted]mg/kg（KD バリアント [redacted]%含有）であり、体重 60 kg の被験者の場合の KD バリアント投与量は最大 [redacted]mg/kg に相当する。

市販予定製剤に用いる原薬の KD バリアント含量は [redacted]%以下に制御される予定である。臨床推奨用量の 210 mg の KHK4827 市販予定製剤を体重 60 kg のヒトに投与した場合の KD バリアント投与量は最大（[redacted]%）で [redacted]mg/kg に相当すると考えられる。臨床で推定される KD バリアント

の最大投与量は、カニクイザルの 6 ヵ月間反復皮下投与試験で安全性が確認された NOAEL における KD バリアント投与量（[redacted]mg/kg/週）の範囲内である。

したがって、KHK4827 市販予定製剤に最大 [redacted]%で含まれる KD バリアントによって、新たな毒性が発現するリスクはないと考えられた。

2.6.6.8.6 新添加物（L-グルタミン酸）に関する毒性試験

KHK4827 市販予定製剤は添加物として L-グルタミン酸（分子量：147.13）を 30 mmol/L の濃度で含有しており、臨床推奨用量（210 mg）における L-グルタミン酸の 1 日あたりの最大投与量は 6.5 mg となる。L-グルタミン酸を添加物として含有し、皮下投与で使用される既承認薬として、メトトレプチン皮下注用 11.25 mg（メトトレプチン皮下注用 11.25 mg 添付文書, 2013）及びフィルグラスチム BS 注 75、150 及び 300 μg シリンジ「サンド」（フィルグラスチム BS 注シリンジ 添付文書, 2014）が存在する。しかし、KHK4827 の臨床推奨用量（210 mg）に含まれる L-グルタミン酸の 1 日あたりの最大投与量（6.5 mg）は、上記の既承認薬に含まれる L-グルタミン酸の 1 日あたりの最大投与量（3.3 mg）[a]を超えている。KHK4827 に含まれる L-グルタミン酸は新添加物に該当することから、公表文献をもとに L-グルタミン酸の安全性（単回投与毒性、反復投与毒性、生殖発生毒性、遺伝毒性）を評価した。なお、L-グルタミン酸は有効成分として静脈内投与での使用実績が豊富であり、パレプラス輸液（パレプラス輸液 添付文書, 2014）では 1 日あたり最大 750 mg [b]の L-グルタミン酸が静脈内投与されている。また、ヒトが 1 日に摂取する食事性タンパク質由来の総アミノ酸量のうち約 20%が L-グルタミン酸で吸収率は 40%とされていることから、食事性タンパク質のすべてがアミノ酸となると仮定した場合、タンパク質の平均 1 日摂取量が 70.8 g であり、食事性タンパク質からの L-グルタミン酸の吸収量は約 6 g と推定される（食品安全委員会, 2008）。これらの医薬品や食物から投与又は摂取される L-グルタミン酸量は、1 日に投与される KHK4827 に含まれる L-グルタミン酸量（6.5 mg）と比べてはるかに多いことが知られている。

a: 日本人の男性平均体表面積 1.7 m^2 とし、フィルグラスチム BS 注 150 μg シリンジ「サンド」（L-グルタミン酸 0.736 mg を含む）を 400 μg/m^2 投与した場合に含まれる L-グルタミン酸の量
b: パレプラス輸液を 2500 mL 静脈内投与した場合に含まれる L-グルタミン酸の量

2.6.6.8.6.1 単回投与毒性

マウス、ラット及びウサギに L-グルタミン酸を単回経口投与したときの 50%致死濃度（LD_{50}）は、それぞれ 12961~19200 mg/kg、16600 mg/kg 及び 2300 mg/kg 以上であった（The 31st Meeting of the JECFA, 1987; 食品安全委員会, 2008）。

2.6.6.8.6.2 反復投与毒性

雄性マウスに L-グルタミン酸を 0、1500 及び 6000 mg/kg/日（各群 100 匹、媒体群 200 匹）の投与量で 715 日間混餌投与した結果、媒体群に比べていずれの群でも死亡率、血液学的検査、病理組織学的検査及び腫瘍発生率に有意な差は認められなかった（Ebert, 1979B; 食品安全委員会, 2008）。

また、12 週齢の雌雄ラットに L-グルタミン酸を 0、50 及び 200 mg/kg/日（各群 35 匹又は 40 匹、対照群 61 匹）の投与量で 2 年間混餌投与した結果、体重、摂餌量、一般行動、生存率、血液学的検査、器官重量、病理組織学的検査及び腫瘍発生率において、対照群との間に有意な差は認められなかった（Ebert, 1979A; 食品安全委員会, 2008）。

2.6.6.8.6.3 生殖発生毒性

雌性ラットに L-グルタミン酸を 0 及び 1000 mg/kg/日の投与量で、交配前 3 日から妊娠期間中に混餌投与し吸収胚数、生存胎児数、胎児体重並びに胎児の内臓及び骨格を検査した。その結果いずれの検査においても L-グルタミン酸の影響は認められなかった（McColl et al, 1965; 食品安全委員会, 2008）。

2.6.6.8.6.4 遺伝毒性

細菌（*S. typhimurium* TA94、TA97、TA98、TA100、TA102、TA2637）を用いた復帰突然変異試験（最高濃度 2000 µg/plate）では、S9mix の有無に関わらず、遺伝毒性は陰性であった（石館ら, 1985; 石館ら, 1991）。細菌（*S. typhimurium* TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100）を用いた復帰突然変異試験（1.25%、2.5%、5.0%（w/v））、酵母（*S. cerevisiae* D4）を用いた変異原性試験（1.25%、2.5%、5.0%（w/v））では、いずれも S9mix の有無に関わらず、遺伝毒性は陰性であった（Litton Bionetics, Inc, 1977）。S9 mix 非存在下で行われたチャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞株を用いた染色体異常試験（最高濃度 2000 µg/mL）は陰性であった（石館ら, 1985; 祖父尼ら, 1999）。

2.6.6.8.6.5 まとめ

L-グルタミン酸は、経口又は混餌投与による単回及び反復毒性試験において KHK4827 市販予定製剤に含まれる L-グルタミン酸の 1 日あたりの最大投与量（6.5 mg）に比べてはるかに高い投与量まで毒性が認められず、生殖発生毒性及び遺伝毒性も認められなかった。また、1 日に摂取する食事性タンパク質由来の L-グルタミン酸の吸収量や、輸液等の有効成分としての L-グルタミン酸の静脈内投与による 1 日あたりの最大投与量は、KHK4827 市販予定製剤に添加物として含まれる L-グルタミン酸の 1 日あたりの投与量に比べて十分に高かった。以上より、KHK4827 市販予定製剤 210 mg の皮下投与に含まれる L-グルタミン酸の 1 日あたりの最大投与量 6.5 mg の安全性は確認されていると判断した。

2.6.6.9 考察及び結論

KHK4827 の毒性評価として、ICH ガイドライン及び各種ガイダンスに従い、医薬品の製造販売承認申請に必要な試験を実施し、KHK4827 の安全性を評価した。KHK4827 はヒト及びカニクイザルの IL-17RA に結合し、ヒト及びカニクイザルの IL-17A 及び IL-17F により誘導される生物活性に対して同程度の阻害作用を示すことから、毒性試験の動物種としてカニクイザルを選択した。局所刺激性試験にはウサギを用いた。被験物質として、反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験及びその他の毒性試験では製造方法 1 の KHK4827 を使用し、ウサギを用いた局所刺激性試験では製造方法 1 の KHK4827 及び製造方法 2 の KHK4827 を使用した。

2.6.6.9.1 投与部位の反応

カニクイザルを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験において、350 mg/kg 群で投与部位の腫脹及び痂皮、膿瘍が認められ、病理組織学的検査では軽度から重度の組織球性の炎症が確認された。上記変化は、休薬期間中に回復性を示したが、変化の重症度から毒性変化と判断した。一方、90 mg/kg 群の投与部位では、病理組織学的検査において軽微な組織球性の炎症が認められたのみであった。上記変化は程度が軽く、一般状態観察で異常が認められないことから毒性学的意義はないと判断した。6 ヵ月間反復投与毒性試験においては、一般状態観察で投与部位の異常所見は認められなかった。病理組織学的検査では媒体群と比較して 25 mg/kg 群以上の雌と

90 mg/kg 群の雄で慢性の活動性炎症が認められたが、程度が軽くいずれも休薬期間中に回復しており毒性学的意義はないと判断した。3 ヵ月及び 6 ヵ月間反復投与毒性試験の 90 mg/kg 群で認められた投与部位の反応を比較すると、投与期間が長期になることで投与部位の炎症が重篤化することはないと考えられた。

また、非臨床毒性試験に使用した製造方法 1 の KHK4827 と、大部分の臨床試験で使用しており市販予定製剤に使用する製造方法 2 の KHK4827 の局所刺激性を比較するために、ウサギを用いた単回皮下投与による局所刺激性試験を実施した。その結果、製造方法 1 の KHK4827（KHK4827 濃度：70 mg/mL）及び媒体で製造方法 2 の KHK4827 を希釈した投与液（KHK4827 濃度：70 mg/mL）の投与部位では局所刺激反応は認められなかった。一方、タンパク濃度が高い製造方法 2 の KHK4827（KHK4827 濃度：140 mg/mL）の投与部位では、投与後 1 時間から浮腫及び紅斑が認められたが、投与後 72 時間では症状が軽減した。以上から、製造方法 1 と製造方法 2 の KHK4827 の局所刺激反応の違いは、投与部位局所へのタンパク量に起因したものと考えられた。

上記試験で認められた KHK4827 に起因した投与部位の反応は、3 ヵ月間反復投与毒性試験の 350 mg/kg 群で認められた変化を除き重篤なものではなかった。また、350 mg/kg 群の変化も含めていずれの変化も回復性が認められた。更に、製造方法 2 の KHK4827 を使用した臨床試験において注射部位反応が報告されているが、回復することが確認されている。以上のことから、臨床において局所刺激性が大きな問題となることはないと考えられた。

2.6.6.9.2 皮膚（投与部位以外）及び舌の炎症

6 ヵ月間反復投与毒性試験の 25 mg/kg 以上の群で皮膚の発赤、紅斑、ドライスキンが認められ、病理組織学的検査では表皮肥厚（過角化）及び常在微生物（酵母及び細菌）の異常増殖やリンパ球浸潤を特徴とする表在性の皮膚炎が認められた。10 mg/kg 以上の群の舌の病理組織学的検査では、リンパ球、マクロファージや好中球の浸潤を伴う表在性の舌炎が認められ、25 mg/kg 以上の群では舌の角質層に菌糸体を伴う例が認められた。宿主の微生物に対する免疫機能の調節には IL-17RA を介したシグナルが関与していることから（2.6.2.3.5.3、参考 4.2.1.2-8）、表在性に認められた皮膚及び舌における炎症反応は、IL-17 シグナル経路を介した宿主の免疫調節機能に対して KHK4827 が薬理作用を及ぼした結果と考えられた。3 ヵ月間反復投与毒性試験の投与期間終了時の剖検で認められた低頻度の皮膚病変［亜急性の炎症を伴った表皮肥厚（過角化）］は、6 ヵ月間反復投与毒性試験で認められた皮膚病変と類似していることから、6 ヵ月間反復投与毒性試験で認められた皮膚病変の初期段階の可能性が考えられた。一方、1 ヵ月間反復投与毒性試験で認められた皮膚所見（主に四肢に認められる潰瘍や細菌を伴った小型の痂皮）については、6 ヵ月間反復投与毒性試験での皮膚病変の特徴（発現開始時期が投与後 3 ヵ月以降で、酵母や細菌の増加を伴う発赤及びドライスキン）とは異なることから、KHK4827 の薬理作用に起因した変化である可能性は低いと考えられた。

上述した表在性に認められた皮膚炎及び舌炎は、いずれも程度が軽く限局した所見であり、休薬期間中に回復又は回復性を示したことから、毒性学的意義はないと判断した。なお、カニクイザルを用いた反復投与毒性試験において、リンパ球サブセット解析及び TDAR 評価を実施したが、いずれの評価においても KHK4827 の影響は認められなかった。

2.6.6.9.3 がん原性のリスク

KHK4827 のがん原性のリスクは、免疫抑制作用の評価を含めた反復投与毒性試験の結果と文献情報をもとに総合的に評価した。反復投与毒性試験では増殖性病変や前がん病変は認められず、多くの文献情報が内因性 IL-17 を介したシグナルの阻害作用が腫瘍形成に働く可能性は低いことを示唆していることから、KHK4827 のがん原性リスクは低いと考えられた。

2.6.6.9.4 免疫原性

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験において KHK4827 の免疫原性を評価した結果、KHK4827 を投与した多数の動物で抗 KHK4827 結合抗体が検出され、一部の動物で抗 KHK4827 中和抗体が検出された。しかし、上記毒性試験の各種検査において、抗 KHK4827 抗体産生に起因したと考えられる影響は認められなかった。一方、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験では、免疫原性に起因した腎臓への免疫複合体の沈着が認められた。一般的に非臨床試験で認められた免疫原性に関連した変化はヒトへの外挿性が低いと考えられている（Ponce et al, 2009）。また、KHK4827 を用いた臨床試験において抗 KHK4827 抗体の産生頻度は非常に低く、腎臓への影響も報告されていない。したがって、KHK4827 の免疫原性による腎臓への影響はウサギ特有の変化と考えられ、臨床での安全性上のリスクになる可能性は低いと考えられた。

2.6.6.9.5 各毒性試験における無毒性量と臨床用量での全身的曝露量の比較

カニクイザルを用いた 1 ヵ月間反復皮下又は静脈内投与毒性試験の NOAEL は 350 mg/kg/週、3 ヵ月間及び 6 ヵ月間反復皮下投与毒性試験の NOAEL は 90 mg/kg/週と考えられた。また、カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験での母動物の毒性及び母体機能、胎児及び出生児の発達に対する NOAEL は 90 mg/kg/週と考えられた。

各毒性試験の NOAEL における全身的曝露量（表 2.6.6.9.5-1 を参照）は、乾癬患者を対象とした臨床試験において臨床推奨用量（210 mg）を隔週投与したときの曝露量と比較して 27~111 倍高く（AUC 比）、臨床推奨用量に比べて十分な安全域が確保されていると判断した。

表 2.6.6.9.5-1 各毒性試験における無毒性量と臨床推奨用量の全身的曝露量の比

投与期間	試験番号	無毒性量（mg/kg/週）	無毒性量での $AUC_{0\text{-}168h}$[a]（μg·h/mL）	無毒性量と臨床推奨用量（210 mg）の AUC 比[b]
1 ヵ月	107059	350	325000	111
3 ヵ月	107713	90	159000	55
6 ヵ月	107714	90[c]	137000	47
妊娠 20 日又は 22 日から分娩まで	107716	90	77500	27

a: 最終皮下投与時の $AUC_{0\text{-}168h}$（μg·h/mL）の平均値
b: 20120102 試験で 2 週に 1 回の頻度で 210 mg の KHK4827 を投与した乾癬患者の Week10~12 の血清中 KHK4827 濃度推移から算出した平均 $AUC_{0\text{-}\tau}$: 243（μg·day/mL）を用いた。
c: 一般毒性及び雌雄受胎能に関する無毒性量
AUC 比: [（$AUC_{0\text{-}168h}$/24）/ヒト $AUC_{0\text{-}\tau}$]×2*
*: 投与頻度の違い（ヒトは 2 週に 1 回、毒性試験では週 1 回）を補正する係数。

2.6.6.10 図表

図表は本文中の適切な箇所に記載した。

2.6.6.11 参考文献

Ebert, 1979A
Ebert AG. The dietary administration of L-monosodium glutamate, DL-monosodium glutamate, DL-monosodium glutamate and L-glutamic acid to rats. Toxicol Lett. 1979;3:71-8.

Ebert, 1979B
Ebert AG. The dietary administration of monosodium glutamate or glutamic acid to C-57 black mice for two years. Toxicol Lett. 1979;3:65-70.

フィルグラスチム BS 注シリンジ 添付文書, 2014
フィルグラスチム BS 注 75 μg, 150 μg, 300 μg シリンジ「サンド」[添付文書]. 山形, 日本: サンド株式会社;2014 年 11 月（第 2 版）.

食品安全委員会, 2008
食品安全委員会. 添加物評価書 L-グルタミン酸アンモニウム. 府食第 277 号; 2008 年 3 月.

Gardin et al, 1989
Gardin JF, Jerome CP, Jayo MJ, Weaver DS. Maternal factors affecting reproduction in a breeding colony of cynomolgus macaques (Macaca fascicularis). Lab Anim Sci. 1989;39:205-12.

Genovese et al, 2014
Genovese MC, Greenwald M, Cho CS, Berman A, Jin L, Cameron GS, et al. A phase II randomized study of subcutaneous ixekizumab, an anti-interleukin-17 monoclonal antibody, in rheumatoid arthritis patients who were naive to biologic agents or had an inadequate response to tumor necrosis factor inhibitors. Arthritis Rheumatol. 2014;66:1693-704.

Griffiths et al, 2015
Griffiths CE, Reich K, Lebwohl M, van de Kerkhof P, Paul C, Menter A, et al. Comparison of ixekizumab with etanercept or placebo in moderate-to-severe psoriasis (UNCOVER-2 and UNCOVER-3): results from two phase 3 randomised trials. Lancet. 2015:S0140-6736(15)60125-8.

Hird et al, 1975
Hird DW, Henrickson RV, Hendrickx AG. Infant mortality in *Macaca mulatta*: neonatal and post-neonatal mortality at the California Primate Research Center, 1968-1972. A retrospective study. J Med Primatol. 1975;4:8-22.

石館ら, 1985
石館基, 祖父尼俊雄, 吉川邦衛. トキシコロジーフォーラム 食品添加物の変異原性試験成績(その 5). 日本: サイエンスフォーラム; 1984. p.634-43.

石館ら, 1991
石館基, 能美健彦, 松井道子. 微生物を用いる変異原性試験データ集. 東京, 日本: LIC; 1991. p.293-4.

Langley et al, 2014
Langley RG, Elewski BE, Lebwohl M, Reich K, Griffiths CE, Papp K, et al. Secukinumab in plaque psoriasis-results of two phase 3 trials. N Engl J Med. 2014;371:326-38.

Langley et al, 2015
Langley RG, Lebwohl M, Krueger GG, Szapary PO, Wasfi Y, Chan D, et al. Long-term efficacy and safety of ustekinumab, with and without dosing adjustment, in patients with moderate-to-severe psoriasis: results from the PHOENIX 2 study through 5 years of follow-up. Br J Dermatol. 2015;172(5):1371-83.

Leonardi et al, 2012
Leonardi C, Matheson R, Zachariae C, Cameron G, Li L, Edson-Heredia E, et al. Anti-interleukin-17 monoclonal antibody ixekizumab in chronic plaque psoriasis. N Engl J Med. 2012;366:1190-9.

Litton Bionetics, Inc, 1977
Litton Bionetics, Inc.. Mutagenic Evaluation of compound. FDA 75-65 L-Glutamic Acid, FCC. National Technical Information Service. PB-266 889. 1977.

McColl et al, 1965
McColl JD, Globus M, Robinson S. An attempted reversal of thalidomide embryopathy in the rat by glutamine. Can J Physiol Pharmacol. 1965;43:69-73.

McInnes et al, 2013
McInnes IB, Kavanaugh A, Gottlieb AB, Puig L, Rahman P, Ritchlin C, et al. Efficacy and safety of ustekinumab in patients with active psoriatic arthritis: 1 year results of the phase 3, multicentre, double-blind, placebo-controlled PSUMMIT 1 trial. Lancet. 2013;382:780-9.

メトレレプチン皮下注用 11.25 mg 添付文書, 2013
メトレレプチン皮下注用 11.25 mg [添付文書]. 大阪, 日本: シオノギ製薬; 2013 年 3 月（第 1 版）.

Miossec et al, 2009
Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. N Engl J Med. 2009;361:888-98.

パレプラス輸液 添付文書, 2014
パレプラス輸液 [添付文書]. 東京, 日本: エイワイファーマ株式会社; 2014 年 12 月（第 1 版）.

Ponce et al, 2009
Ponce R, Abad L, Amaravadi L, Gelzleichter T, Gore E, Green J, et al. Immunogenicity of biologically-derived therapeutics: Assessment and interpretation of nonclinical safety studies. Regul Toxicol Pharmacol. 2009;54:164-82.

祖父尼ら, 1999
祖父尼俊雄, 林真, 松岡厚子. 染色体異常試験データ集.（1998 年版）東京, 日本: LIC; 1999. p.258.

The 31st Meeting of the JECFA, 1987
The 31st Meeting of the JECFA. Toxicological evaluation of certain food additives. WHO Food Additives Series 22.1987;97-182

Xiong et al, 2015
Xiong HZ, Gu JY, He ZG, Chen WJ, Zhang X, Wang JY, et al. Efficacy and safety of secukinumab in the treatment of moderate to severe plaque psoriasis: a meta-analysis of randomized controlled trials. Int J Clin Exp Med. 2015;8(3):3156-72.

KHK4827

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.7　毒性試験概要表

協和発酵キリン株式会社

CONFIDENTIAL

目次

目次 2
2.6.7 毒性試験概要表 3
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 3
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 4
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 5
2.6.7.4 毒性試験：使用ロット 6
2.6.7.5 単回投与毒性試験 7
2.6.7.6 反復投与毒性試験－重要な試験以外の試験 7
2.6.7.7 反復投与毒性試験 8
2.6.7.7.1 カニクイザルを用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験（1/5） 8
2.6.7.7.2 カニクイザルを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験（1/5） 13
2.6.7.7.3 カニクイザルを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験（1/6） 18
2.6.7.8 遺伝毒性試験：*In vitro* 24
2.6.7.9 遺伝毒性試験：*In vivo* 24
2.6.7.10 がん原性試験 24
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 25
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 26
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 26
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験（1/4） 27
2.6.7.15 新生児を用いた試験 31
2.6.7.16 局所刺激性試験 32
2.6.7.17 その他の毒性試験 33

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: KHK4827

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study No. (CRO Study No.)	Location
Repeat-dose Toxicity	Monkey/Cynomolgus	SC/IV	Once weekly, 1 month	SC: 0, 25, 90, 350 IV: 350	Yes	[redacted]	107059 ([redacted]-509)	4.2.3.2-1
Repeat-dose Toxicity	Monkey/Cynomolgus	SC	Once weekly, 3 months	0, 25, 90, 350	Yes	[redacted]	107713 ([redacted]-613)	4.2.3.2-2
Repeat-dose Toxicity	Monkey/Cynomolgus	SC	Once weekly, 6 months	0, 10, 25, 90	Yes	[redacted]	107714 ([redacted]-725)	4.2.3.2-3
Dose Range-finding Developmental Embryo-fetal Toxicity	Rabbit/NZW	SC	GD 7 and 14	0, 25, 90, 350	Yes	[redacted]	106489 ([redacted]00548)	4.2.3.5.2-1
Enhanced Pre- and Postnatal Development	Monkey/Cynomolgus	SC	Once weekly, GD 20-22 through parturition	0, 25, 90	Yes	[redacted]	107716 ([redacted]00570)	4.2.3.5.3-1
Local Tolerance	Rabbit/NZW	SC	Single injection, 3 sites	1 mL/injection site: 70 mg/mL[b], 140 mg/mL[c], 70 mg/mL[c]	Yes	[redacted]	115263 ([redacted]780)	4.2.3.6-1
Tissue Cross-Reactivity	Monkey/Cynomolgus, Human, Rabbit/NZW	*In vitro*	NA	2 or 20 µg/mL	Yes	[redacted]	105786 ([redacted]1439)	4.2.3.7.7-1

CRO = contract research organization , GD = gestation day, GLP = good laboratory practices, IV = intravenous, NZW = New Zealand White, SC = subcutaneous, NA = not applicable

a Unless otherwise specified; NOAEL underlined if applicable

b In [redacted] mmol/L [redacted], [redacted]% (w/v) [redacted], [redacted], [redacted]% (w/v) [redacted] pH [redacted]

c In 10 mmol/L L-glutamate, 3% (w/v) L-proline, and 0.01% (w/v) polysorbate 20; pH 4.8

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study No. (CRO Study No.)	Location
Repeat-dose Toxicity	Monkey/Cynomolgus	SC/IV	SC: 0, 25, 90, 350 IV: 350	Yes	107059 ([redacted]-509)	4.2.3.2-1
Repeat-dose Toxicity	Monkey/Cynomolgus	SC	0, 25, 90, 350	Yes	107713 ([redacted]-613)	4.2.3.2-2
Repeat-dose Toxicity	Monkey/Cynomolgus	SC	0, 10, 25, 90	Yes	107714 ([redacted]-725)	4.2.3.2-3
Dose Range-finding Developmental Embryo-fetal Toxicity	Rabbit/NZW	SC	0, 25, 90, 350	Yes	106489 ([redacted]00548)	4.2.3.5.2-1
Enhanced Pre- and Postnatal Development	Monkey/Cynomolgus	SC	0, 25, 90	Yes	107716 ([redacted]00570)	4.2.3.5.3-1

CRO = contract research organization, GLP = good laboratory practices, IV = intravenous, NZW = New Zealand White, SC = subcutaneous

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

	Toxicokinetic/Pharmacokinetic Parameters – Mean					
	AUC_{0-t} (µg·h/mL)			C_{max} (µg/mL)		
	Monkey/Cynomolgus			Monkey/Cynomolgus		
Dose[a] (mg/kg)	Male	Female	Human[b,c]	Male	Female	Human[b]
3.5 (SC)	NA	NA	5832	NA	NA	18.8
10 (SC)	11700[d]	10300[d]	NA	84.0[d]	68.8[d]	NA
25 (SC)	31800[e]	32000[e]	NA	220[e]	230[e]	NA
	26500[f]	41500[f]		182[f]	284[f]	
	55500[d]	21900[d]		442[d]	179[d]	
	NA[g]	19000[g]		NA[g]	141[g]	
90 (SC)	106000[e]	98700[e]	NA	762[e]	761[e]	NA
	175000[f]	143000[f]		1280[f]	1080[f]	
	172000[d]	103000[d]		1280[d]	895[d]	
	NA[g]	77500[g]		NA[g]	634[g]	
350 (SC)	311000[e]	338000[e]	NA	2300[e]	2510[e]	NA
	551000[f]	506000[f]		4150[f]	4050[f]	
350 (IV)	917000[e]	647000[e]	NA	11900[e]	8320[e]	NA

AUC_{0-t} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantified concentration, NA = not applicable, SC = subcutaneous, IV = intravenous

a Doses administered once weekly to cynomolgus monkeys and once every 2 weeks to humans

b Based on a body weight of 60 kg, a human dose of 3.5 mg/kg is equivalent to a dose of 210 mg. Human steady state pharmacokinetic parameters of KHK4827 at week 10 following SC administration every 2 weeks to psoriasis patients (Study 20120102).

c Human AUC conversion to obtain values in µg·h/mL: $AUC_{0-\tau}$ [µg·day/mL]* 24

d Study 107714, 6-month SC toxicity study in the cynomolgus monkey

e Study 107059, 1-month SC/IV toxicity study in the cynomolgus monkey

f Study 107713, 3-month SC toxicity study in the cynomolgus monkey

g Study 107716, enhanced pre- and postnatal development study in the cynomolgus monkey

2.6.7.4 毒性試験：使用ロット

DP Lot #	Purity (%)[a]	DS Lot #	Study No. (CRO Study No.)	Type of Study
[redacted]	[redacted]	[redacted]	107059 ([redacted]-509)	1-mo SC/IV Tox in Cyno Monkey
			107713 ([redacted]-613)	3-mo SC Tox in Cyno Monkey
			107714 ([redacted]-725)	6-mo SC Tox in Cyno Monkey
			107714 ([redacted]-725)	6-mo SC Tox in Cyno Monkey
			106489 ([redacted]00548)	Dose Range-finding EFD in Rabbit
			107716 ([redacted]00570)	Enhanced PPND in Cyno Monkey
			115263 ([redacted]780)	Local Tolerance in Rabbit
			115263 ([redacted]780)	Local Tolerance in Rabbit
			105786 ([redacted]1439)	Tissue Cross-Reactivity in Human, Monkey, and Rabbit

CRO = contract research organization, Cyno = cynomolgus, DS = drug substance, EFD = embryo-fetal development, IV = intravenous, NA = not applicable, NS = not supplied, PPND = pre- and postnatal development; SC = subcutaneous, Tox = toxicity

a Purity measured by [redacted]

b Batch numbers [redacted] and [redacted], as listed in the 107716 Study Report, Section 7.4 Test and Control Article, were derived from DP Lot # [redacted].

c No placebo fill lot number was supplied for this KHK4827 fill lot number. The placebo was listed as [redacted] mmol/L [redacted] %(w/v) [redacted] %(w/v) [redacted] pH [redacted] in the study report.

2.6.7.5　単回投与毒性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.6　反復投与毒性試験 – 重要な試験以外の試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.7 反復投与毒性試験

2.6.7.7.1 カニクイザルを用いた１ヵ月間反復投与毒性試験（1/5）

Study Title: 1-Month Subcutaneous and Intravenous Injecton Toxicity Study with AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery

Test Article: KHK4827
Location in CTD: 4.2.3.2-1
Study Number: 107059

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Initial Age: M: 2.4 to 4 years, F: 3.7 to 5.6 years

Duration of Dosing: Once weekly for 4 weeks
Duration of Postdose: 13 weeks

CRO Study No. [redacted]-509

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: SC or IV
Vehicle/Formulation: [redacted] mmol/L [redacted] %(w/v) [redacted] %(w/v) [redacted] pH [redacted]

GLP Compliance: Yes

Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: 350 mg/kg

Weekly Dose (mg/kg)	0 SC		25 SC		90 SC		350 SC		350 IV	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M:5	F:5
Toxicokinetics										
Mean $AUC_{0\text{-}168h}$ (µg·h/mL)										
Day 1	BLQ	BLQ	21300	20100	70000	70400	213000	212000	677000	462000
Day 22	BLQ	BLQ	31800	32000	106000	98700	311000	338000	917000	647000
Mean C_{max} (µg/mL)										
Day 1	BLQ	BLQ	158	152	503	541	1640	1710	8730	5810
Day 22	BLQ	BLQ	220	230	762	761	2300	2510	11900	8320

AUC = area under the serum drug concentration-time curve, BLQ = below the limit of quantification, C_{max} = maximum serum concentration, CRO = contract research organization, F = female, GLP = good laboratory practices, IV = intravenous, M = male, SC = subcutaneous

2.6.7.7.1 カニクイザルを用いた１ヵ月間反復投与毒性試験（2/5）

Study Title: 1-Month Subcutaneous and Intravenous Injecton Toxicity Study with AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery									Test Article: KHK4827 Location in CTD: 4.2.3.2-1 Study Number: 107059	
Weekly Dose (mg/kg)	0 SC		25 SC		90 SC		350 SC		350 IV	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M:5	F:5
Antibody analysis										
Dosing Phase										
Anti-KHK4827 binding antibodies: % (incidence)	0 (0/10)		20 (2/10)		10 (1/10)		0 (0/10)		0 (0/10)	
Anti-KHK4827 neutralizing antibodies: % (incidence)	NA		50 (1/2)		100 (1/1)		NA		NA	
Recovery Phase										
Anti-KHK4827 binding antibodies: % (incidence)	0 (0/4)		100 (4/4)		100 (4/4)		100 (4/4)		75 (3/4)	
Anti-KHK4827 neutralizing antibodies: % (incidence)	NA		75 (3/4)		50 (2/4)		50 (2/4)		0 (0/3)	

F = female, IV = intravenous, M = male, NA = not applicable (not evaluated), SC = subcutaneous

2.6.7.7.1 カニクイザルを用いた１ヵ月間反復投与毒性試験 (3/5)

Study Title: 1-Month Subcutaneous and Intravenous Injecton Toxicity Study with AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery

Test Article: KHK4827
Location in CTD: 4.2.3.2-1
Study Number: 107059

Weekly Dose (mg/kg)	0 SC		25 SC		90 SC		350 SC		350 IV	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M:5	F:5
Noteworthy Findings										
Died or Euthanized Moribund [a]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations [b]										
Broken skin [c]	1(1)	0	0	0	0	0	0	2(5)	3(7)	0
Scab(s)	0	1(4)	0	0	0	0	0	0	1(3)	2(2)
Physical Examination [b]										
Broken skin [c]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1(1)
Vital Signs	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- No noteworthy findings, F = female, IV = intravenous, M = male, SC = subcutaneous
a Incidence
b Data presented as: total number animals affected (total number of observations)
c It means area of small focal or multifocal crusts.

2.6.7.7.1 カニクイザルを用いた１ヵ月間反復投与毒性試験（4/5）

Study Title: 1-Month Subcutaneous and Intravenous Injecton Toxicity Study with AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery

Test Article: KHK4827
Location in CTD: 4.2.3.2-1
Study Number: 107059

Weekly Dose (mg/kg)	0 SC		25 SC		90 SC		350 SC		350 IV	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M:5	F:5
Terminal Procedures, Week 4										
Number Evaluated	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology [a]										
Skin/Subcutis, Crusted	1	0	0	0	0	0	0	1	2	1
Histopathology [a]										
Skin										
Inflammation, Chronic-Active										
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Ulcer										
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Colony, Bacterial, marked	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Superficial Crust, slight	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1
Fibrosis, Dermis, moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

- No noteworthy findings, F = female, IV = intravenous, M = male, SC = subcutaneous
a Incidence

2.6.7.7.1 カニクイザルを用いた１ヵ月間反復投与毒性試験（5/5）

Study Title: 1-Month Subcutaneous and Intravenous Injecton Toxicity Study with AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery

Test Article: KHK4827
Location in CTD: 4.2.3.2-1
Study Number: 107059

Weekly Dose (mg/kg)	0 SC		25 SC		90 SC		350 SC		350 IV	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M:5	F:5
Postdose Evaluation (Recovery)										
Number of Animals	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Clinical Observations [a]										
Broken Skin	0	0	0	0	0	0	1(4)	1(3)	1(4)	2(2)
Scab(s)	0	0	0	0	1(2)	0	1(9)	0	0	0
Gross Pathology [b]										
Skin/Subcutis, crusted	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Histopathology [b]										
Skin										
Inflammation, Chronic-Active, minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1[c]	NA	NA	NA
Ulcer, minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1[c]	NA	NA	NA
Superficial Crust, moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1[c]	NA	NA	NA

F = female, IV = intravenous, M = male, NA = not applicable (not evaluated), SC = subcutaneous

a Data presented as: total number animals affected (total number of observations)

b Incidence

c One animal with skin gross lesion was evaluated.

2.6.7.7.2 カニクイザルを用いた３ヵ月間反復投与毒性試験（1/5）

Report Title: 3 Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 17 Week Treatment-Free Phase

Test Article: KHK4827
Location in CTD: 4.2.3.2-2
Study Number: 107713

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Initial Age: 3 to 5 years

Duration of Dosing: Once weekly for 3 months
Duration of Postdose: 17 weeks

CRO Study No. [redacted]-613

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: SC
Vehicle/Formulation: [redacted] mmol/L [redacted] %(w/v) [redacted] %(w/v) [redacted] pH [redacted]

GLP Compliance: Yes

Special Features: peripheral blood immunophenotyping, blood pressure
No Observed Adverse Effect Level: 90 mg/kg

Weekly Dose (mg/kg)	0		25		90		350	
Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Toxicokinetics:								
Mean $AUC_{0\text{-}168h}$ (µg·h/mL)								
Day 1	BLQ	BLQ	22300	24500	88600	74500	340000	303000
Day 78	BLQ	BLQ	26500	41500	175000	143000	551000	506000
Mean C_{max} (µg/mL)								
Day 1	BLQ	BLQ	164	184	659	567	2570	2400
Day 78	BLQ	BLQ	182	284	1280	1080	4150	4050

AUC = area under the serum drug concentration-time curve, BLQ = below the limit of quantification, C_{max} = maximum serum concentration, CRO = contract research organization, F = female, GLP = Good Laboratory Practices, M = male, SC = subcutaneous

2.6.7.7.2 カニクイザルを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験（2/5）

Report Title: 3 Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 17 Week Treatment-Free Phase							Test Article: KHK4827 Location in CTD: 4.2.3.2-2 Study Number: 107713	
Weekly Dose (mg/kg)	0		25		90		350	
Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Antibody analysis								
Dosing Phase								
Anti-KHK4827 binding antibodies: % (incidence)	0 (0/12)		33 (4/12)		0 (0/12)		0 (0/12)	
Anti-KHK4827 neutralizing antibodies: % (incidence)	NA		75 (3/4)		NA		NA	
Recovery Phase								
Anti-KHK4827 binding antibodies: % (incidence)	0 (0/4)		100[a] (4/4)		100 (4/4)		100 (4/4)	
Anti-KHK4827 neutralizing antibodies: % (incidence)	NA		75[a] (3/4)		0 (0/4)		25 (1/4)	

F = female, M = male, NA = not applicable (not evaluated)

a 2 animals also had binding and neutralizing antibodies during the dosing phase.

2.6.7.7.2 カニクイザルを用いた３ヵ月間反復投与毒性試験（3/5）

Report Title: 3 Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 17 Week Treatment-Free Phase							Test Article: KHK4827 Location in CTD: 4.2.3.2-2 Study Number: 107713	
Weekly Dose (mg/kg)	0		25		90		350	
Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund [a]	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations [b]								
Scab(s), Dose Site	0	0	0	0	0	0	1(4)	4(7)
Tissue Mass, Dose Site	0	0	0	0	0	0	2(4)	4(10)
Physical Examination/Vet Exam [b]								
Abscess, Injection Site	0	0	0	0	0	0	0	1(1)
Vital Signs	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunophenotyping	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

- No noteworthy findings, F = female, M = male

a Incidence

b Data presented as: total number animals affected (total number of observations)

2.6.7.7.2 カニクイザルを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験（4/5）

Report Title: 3 Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 17 Week Treatment-Free Phase

Test Article: KHK4827
Location in CTD: 4.2.3.2-2
Study Number: 107713

Weekly Dose (mg/kg)	0		25		90		350	
Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Terminal Procedures, 3 Month								
Number Evaluated	4	4	4	4	4	4	4	4
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology [a]								
Subcutaneous site (injection site)								
Crusted	0	0	0	0	0	0	0	1
Discolored (red/dark red/tan)	2	2	0	0	1	1	3	3
Thickened	0	0	0	0	0	0	1	1
Skin/Subcutis, Crusted	0	0	1	0	0	0	0	1
Histopathology [a]								
Subcutaneous site (injection site)								
Inflammation, histiocytic, subacute to chronic								
Minimal	0	0	0	0	2	2	0	0
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	3
Marked	0	0	0	0	0	0	1	1
Skin/Subcutis								
Acanthosis/ Hyperkeratosis								
Slight	0	0	0	1	0	1	0	0
Moderate	0	0	0	0	1	0	1	0
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Inflammation, Subacute, minimal	0	0	0	1	1	1	1	1

- No noteworthy findings, F = female, M = male
a Incidence

2.6.7.7.2 カニクイザルを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験（5/5）

Report Title: 3 Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 17 Week Treatment-Free Phase							Test Article: KHK4827 Location in CTD: 4.2.3.2-2 Study Number: 107713	
Weekly Dose (mg/kg)	0		25		90		350	
Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Postdose Evaluation (Recovery)								
Number of Animals	2	2	2	2	2	2	2	2
Clinical Observations [a]								
Tissue Mass, Dose Site	0	0	0	0	0	0	0	2(2)
Scab(s), Dose Site	0	0	0	0	0	0	1(5)	2(2)
Scar, Dose Site	0	0	0	0	0	0	0	2(19)
Histopathology [b]								
Subcutaneous site (injection site)								
Inflammation, histiocytic, chronic, minimal	0	0	0	0	0	0	1	0

F = female, M = male

a Data presented as: total number animals affected (total number of observations)

b Incidence

2.6.7.7.3 カニクイザルを用いた６ヵ月間反復投与毒性試験（1/6）

Report Title: 6-Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 6-Month Treatment-Free Phase

Test Article: KHK4827
Location in CTD: 4.2.3.2-3
Study Number: 107714

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Initial Age: 4.7 to 7.6 years
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing: Once weekly for 6 months
Duration of Postdose: 6 months
Method of Administration: SC
Vehicle/Formulation: [redacted]mmol/L[redacted]%(w/v)[redacted]%(w/v)[redacted]pH[redacted]

CRO Study No. [redacted]-725

GLP Compliance: Yes

Special Features: Anti-KLH IgM response, Anti-KLH IgG response; male reproductive assessment (sperm motility, density, morphology)
No Observed Adverse Effect Level: 90 mg/kg

Weekly Dose (mg/kg)	0		10		25		90	
Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
Toxicokinetics:								
Mean $AUC_{0\text{-}168h}$ (µg·h/mL)								
Day 1	BLQ	BLQ	6930	6720	20800	21100	56900	58000
Day 92	BLQ	BLQ	9360	7440	36100	27200	128000	88200
Day 176	BLQ	BLQ	11700	10300	55500	21900	172000	103000
Mean C_{max} (µg/mL)								
Day 1	BLQ	BLQ	53.2	52.1	150	157	426	449
Day 92	BLQ	BLQ	70.4	49.8	287	217	918	710
Day 176	BLQ	BLQ	84.0	68.8	442	179	1280	895

AUC = area under the serum drug concentration-time curve, BLQ = below the limit of quantification, C_{max} = maximum serum concentration, CRO = contract research organization, F = female, GLP = good laboratory practices, M = male, SC = subcutaneous

2.6.7.7.3 カニクイザルを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験（2/6）

Report Title: 6-Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 6-Month Treatment-Free Phase							Test Article: KHK4827 Location in CTD: 4.2.3.2-3 Study Number: 107714	
Weekly Dose (mg/kg)	0		10		25		90	
Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
Antibody analysis								
Dosing Phase								
Anti-KHK4827 binding antibodies: % (incidence)	42 (5/12)		50 (4/8)		25 (2/8)		33 (4/12)	
Anti-KHK4827 neutralizing antibodies: % (incidence)	0 (0/5)		75 (3/4)		50 (1/2)		25 (1/4)	
Recovery Phase								
Anti-KHK4827 binding antibodies: % (incidence)	25[a] (1/4)		NA		NA		100[a] (4/4)	
Anti-KHK4827 neutralizing antibodies: % (incidence)	100[a] (1/1)		NA		NA		100[a] (4/4)	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund[b]	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations[c]								
Dry Skin	1(1)	0	0	0	1(18)	1(9)	1(3)	2(21)
Red Skin	0	0	1(1)	0	1(2)	2(15)	3(79)	3(22)
Physical Examination[c]								
Dry Skin	0	0	0	0	1(2)	2(10)	2(6)	2(12)
Red Skin	0	0	0	0	1(1)	1(2)	0	0

- No noteworthy findings, F = female, M = male, NA = not applicable (not evaluated)

a 1 animal at 0 mg/kg, and 2 animals at 90 mg/kg, had binding antibodies during both phases, but neutralizing antibodies during the recovery phase only.

b Incidence

c Data presented as: total number animals affected (total number of observations); Lesions affecting the dose site and periorbital region are not recorded here (periorbital lesions are interpreted to be related to trauma and not to administration of KHK4827; dose site findings are of a different etiology).

2.6.7.7.3 カニクイザルを用いた６ヵ月間反復投与毒性試験（3/6）

Report Title: 6-Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 6-Month Treatment-Free Phase

Test Article: KHK4827
Location in CTD: 4.2.3.2-3
Study Number: 107714

Weekly Dose (mg/kg)	0		10		25		90	
Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
Veterinary Examination [a]								
Erythema	1(2)	0	0	1(3)	1(3)	3(22)	3(27)	3(13)
Total Skin Changes [b]	2(3)	0	1(1)	1(3)	2(26)	4(58)	3(115)	3(68)
Vital Signs	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-KLH IgM Response	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-KLH IgG Response	-	-	-	-	-	-	-	-
Male Reproductive Assessment	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA
Hematology								
Neutrophils (x 10^3/µL)								
Predose Day 17	6.00	6.65	6.85	8.30	6.36	7.45	6.87	8.70
Predose Day 23	6.60	5.09	5.67	6.36	9.39	6.68	6.83	10.26
Day 184	4.95	4.28	4.94	4.54	6.88	4.77	8.32	10.66
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

- No noteworthy findings, F = female, M = male, NA = not applicable (not evaluated)

a Data presented as: total number animals affected (total number of observations); Lesions affecting the dose site and periorbital region are not recorded here (periorbital lesions are interpreted to be related to trauma and not to administration of KHK4827; dose site findings are of a different etiology).

b Total number of animals with clinical observations and/or physical/vet examination skin findings including dry skin, red skin, and/or erythema. Data presented as: total number animals affected (total number of observations).

2.6.7.7.3 カニクイザルを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験（4/6）

Report Title: 6-Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 6-Month Treatment-Free Phase							Test Article: KHK4827 Location in CTD: 4.2.3.2-3 Study Number: 107714	
Weekly Dose (mg/kg)	0		10		25		90	
Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
Terminal Procedures, 6 Month								
Number Evaluated	4	4	4	4	4	4	4	4
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology [a]								
Skin/Subcutis								
Crusted	0	0	0	0	0	0	0	1
Discolored (red)	0	0	0	0	0	0	2	0
Scaly	0	0	0	0	1	0	0	0
Histopathology [a]								
Skin								
Dermatitis, superficial, lymphocytic								
Minimal	1	1	1	2	3	2	0	3
Minimal-Slight [b]	0	0	0	0	0	1	1	1
Slight	0	0	0	0	1	1	1	0
Acanthosis/Hyperkeratosis								
Minimal	1	0	1	1	2	0	0	1
Minimal-Slight [b]	0	0	0	0	1	2	0	1
Slight	0	0	0	0	1	1	2	1
Yeast/Bacteria, superficial, increased								
Present	0	0	0	0	4	3	2	2

- No noteworthy findings, F = female, M = male

a Incidence

b When 2 sections of skin were evaluated, minimal to slight = minimal in one section, slight in the other section

2.6.7.7.3 カニクイザルを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験（5/6）

Report Title: 6-Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 6-Month Treatment-Free Phase							Test Article: KHK4827 Location in CTD: 4.2.3.2-3 Study Number: 107714	
Weekly Dose (mg/kg)	0		10		25		90	
Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
Terminal Procedures, 6 Month								
Number Evaluated	4	4	4	4	4	4	4	4
Histopathology [a]								
Tongue								
Glossitis, submucosal								
Minimal	4	1	4	3	4	4	1	4
Slight	0	0	0	0	0	0	3	0
Yeast, intracorneal								
Present	0	0	0	0	1	1	1	0
Injection Site								
Inflammation, chronic/active								
Minimal	3	0	1	1	2	2	4	2
Slight	0	0	1	1	0	2	0	1
Marrow, Sternum								
Hypercellularity, myeloid								
Minimal	3	4	4	2	4	3	0	0
Slight	0	0	0	0	0	0	4	4

F = female, M = male

a Incidence

2.6.7.7.3 カニクイザルを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験（6/6）

Report Title: 6-Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMG 827 in Cynomolgus Monkeys with a 6-Month Treatment-Free Phase							Test Article: KHK4827 Location in CTD: 4.2.3.2-3 Study Number: 107714	
Weekly Dose (mg/kg)	0		10		25		90	
Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
Postdose Evaluation (Recovery)								
Number Evaluated	2	2	0	0	0	0	2	2
Clinical Observations [a]								
Red Skin	0	0	NA	NA	NA	NA	1(15)	1(26)
Dry skin	0	0	NA	NA	NA	NA	1(15)	1(78)
Physical Examination [a]								
Red Skin	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
Dry Skin	0	0	NA	NA	NA	NA	1(6)	1(9)
Veterinary Examination [a]								
Erythema	0	0	NA	NA	NA	NA	1(13)	1(14)
Total Skin Changes [b]	0	0	NA	NA	NA	NA	1(49)	1(127)

F = female, M = male, NA = not applicable (not evaluated)

a Data presented as: total number animals affected (total number of observations); Lesions affecting the dose site and periorbital region are not recorded here (periorbital lesions are interpreted to be related to trauma and not to administration of KHK4827; dose site findings are of a different etiology).

b Total number of animals with clinical observations and/or physical/vet examination skin findings including dry skin, red skin, and/or erythema. Data presented as: total number animals affected (total number of observations).

2.6.7.8 遺伝毒性試験：*In vitro*

該当する試験は実施していない。

2.6.7.9 遺伝毒性試験：*In vivo*

該当する試験は実施していない。

2.6.7.10 がん原性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg)	No. per Group	Noteworthy Findings	Location in CTD Study Number CRO Study Number (GLP status)
Rabbit/ Hra:(NZW)SPF	SC ([redacted] mmol/L [redacted], [redacted]% [redacted], [redacted]% [redacted] pH [redacted]	GD 7, 14	0, 25, 90, 350	7F	Mortality: One doe at 350 mg/kg found dead on GD 14; 2 does, 1 each at 25 and 90 mg/kg, aborted and were euthanized on GDs 23 and 25, respectively. Attributed to pre-existing renal injury and ADA-associated renal immune complex deposition. ≥ 25 mg/kg: In the kidneys of does, ADA-associated glomerular changes (immune complex deposition). ≥ 90 mg/kg: Reduced fetal body weights (combined, male and female). During the postdose period, body weight loss in does with associated absolute and relative reduced feed consumption values. Effects on body weight may have been secondary to immune-mediated injury in the does. Anti-KHK4827 binding antibodies developed in 95% of rabbits administered KHK4827, and were associated with lower serum concentrations and exposure through the period of organogenesis at 25 and 90 mg/kg.	4.2.3.5.2-1 106489 [redacted]00548 (GLP)

ADA = anti-drug antibody, GD = gestation day, F = female, GLP = good laboratory practices, NZW = New Zealand White, SC = subcutaneous, SPF = specific pathogen free

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験（1/4）

Report Title: Maternal, Embryo-fetal, and Neonatal Toxicity Study of AMG 827 Administered by Subcutaneous Injection to Pregnant Cynomolgus Monkeys with 6-Month Postnatal Evaluation			Test Article: KHK4827 Location in CTD: 4.2.3.5.3-1 Study No. 107716
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus (Chinese origin)		Duration of Dosing: GD 20 to 22 to parturition (normal length gestation 160 ± 10 days)	
Initial Age: 6.4 to 9.9 years		Day of Mating: Enrolled after pregnancy confirmation	Charles River Laboratories CRO Study No. [redacted]00570
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]			
Special Features: Infants: Anti-KLH IgM and IgG antibody response, flow cytometry for lymphocyte phenotyping		Method of Administration: SC, once weekly	
No Observed Adverse Effect Level: Adults: 90 mg/kg Neonates: 90 mg/kg Infants: 90 mg/kg		Vehicle/Formulation: [redacted]mmol/L[redacted], [redacted]%[redacted], [redacted]%[redacted]pH[redacted]	GLP Compliance: GLP

Weekly Maternal Dose (mg/kg)		0	25	90
Adults:	Toxicokinetics: mean $AUC_{0\text{-}168}$ (µg·h/mL)			
	GD 20 to 22 (1st dose)	BLQ [a]	25300	84600
	GD 139 to 141 (18th dose)	BLQ	19000	77500
	Antibody Analysis			
	Anti-KHK4827 binding antibodies % (incidence)	44 (8/18)	68 (13/19)	69 (11/16)
	Anti-KHK4827 neutralizing antibodies % (incidence)	13 (1/8)	38 (5/13)	18 (2/11)

BLQ = below the limit of quantification, GD = gestation day, GLP = good laboratory practices, SC = subcutaneous

a One animal had measurable drug concentrations 120 hours after the first dose, but was BLQ at all other timepoints after the 1st and 18th doses.

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験（2/4）

Report Title: Maternal, Embryo-fetal, and Neonatal Toxicity Study of AMG 827 Administered by Subcutaneous Injection to Pregnant Cynomolgus Monkeys with 6-Month Postnatal Evaluation				Test Article: KHK4827 Location in CTD: 4.2.3.5.3-1 Study No. 107716
Weekly Maternal Dose (mg/kg)		0	25	90
Adults:	KHK4827 Milk : Maternal Serum Ratios (Mean Milk Concentration [ng/mL]: Incidence) [a]			
	PPD 14	NA	NA	0.0981% (80.7: 5)
	PPD 28	NA	NA	NA
	PPD 91	NA	NA	NA
	Died or euthanized moribund	0	0	0
	Number Pregnant	18	19	16
	Embryonic or Fetal Loss: n (%) [b]			
	First Trimester (< GD 50):	2 (11.1)	3 (15.8)	0 (0)
	Second Trimester (GD 50 to 99)	0 (0)	1 (5.3)	0 (0)
	Third Trimester (≥ GD 100)	5 (27.8)	3 (15.8)	3 (18.8)
	Number Live Deliveries: n (%) [c]	11 (61)	12 (63)	13 (81)
	Mean Duration of Gestation (days)	154	159	156
	Clinical observations (gestation and postpartum)	-	-	-
	Body weight (gestation and postpartum)	-	-	-
	Food consumption (qualitative) (gestation and postpartum)	-	-	-

- No noteworthy finding, GD = gestation day, NA = not applicable, PPD = postpartum day

a Maternal serum : milk ratios are NA when concentrations of KHK4827 in serum and/or milk were BLQ.

b No embryonic or fetal losses were related to KHK4827.

c All delivered by natural birth except 1 infant at 25 mg/kg, delivered by cesarean section.

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験（3/4）

Report Title: Maternal, Embryo-fetal, and Neonatal Toxicity Study of AMG 827 Administered by Subcutaneous Injection to Pregnant Cynomolgus Monkeys with 6-Month Postnatal Evaluation				Test Article: KHK4827 Location in CTD: 4.2.3.5.3-1 Study No. 107716
Weekly Maternal Dose (mg/kg)		0	25	90
Neonates and/or Infants:	Toxicokinetics: mean concentration (µg/mL) (incidence)			
	BD 14	BLQ (0)	14.1 (4/11) [a]	108 (9/9)
	BD 28	BLQ (0)	BLQ (0)	31.1 (7/9) [a]
	BD 91	BLQ (0)	BLQ (0)	BLQ (0)
	BD 180	BLQ (0)	BLQ (0)	BLQ (0)
	Antibody Analysis			
	Anti-KHK4827 binding antibodies	45 (5/11)	36 (4/11)	20 (2/10)
	Anti-KHK4827 neutralizing antibodies % (incidence)	0 (0/5)	50 (2/4)	0 (0/2)
	Neonatal Deaths: n (%) [b]	0 (0)	1 (8)	3 (23)
	Sex Ratio (male/female)	-	-	-
	Clinical Observations	-	-	-
	Body weight	-	-	-
	Physical examination	-	-	-
	Muscle tone and neurobehavioral assessments	-	-	-
	External assessment	-	-	-
	Morphometric measurements	-	-	-
	Skeletal evaluation (radiographs)	-	-	-
	Hematology	-	-	-
	Anti-KLH IgM and IgG antibody response	-	-	-
	Lymphocyte Phenotyping	-	-	-
	Teratologic evaluation (External/visceral/heart evaluation)	-	-	-
	Gross necropsy	-	-	-
	Organ weights	-	-	-
	Histopathology (lymphoid tissue [c])	-	-	-

- No noteworthy finding, BD = birth day, BLQ = below the limit of quantification, IgG = immunoglobulin G, IgM = immunoglobulin M, KLH = keyhole limpet hemocyanin

a The values below the lower limit of quantification were regarded as 0 µg/mL for calculation of means.

b Neonatal deaths were attributed to maternal rejection, umbilical septicemia, and/or premature birth and were considered unrelated to KHK4827.

c Bone marrow, thymus, spleen and lymph node only

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験（4/4）

Report Title: Maternal, Embryo-fetal, and Neonatal Toxicity Study of AMG 827 Administered by Subcutaneous Injection to Pregnant Cynomolgus Monkeys with 6-Month Postnatal Evaluation				Test Article: KHK4827 Location in CTD: 4.2.3.5.3-1 Study No. 107716
Weekly Maternal Dose (mg/kg)		0	25	90
Embryos and/or Fetuses: Aborted fetuses, stillborn infants, and/or early death infants:	External fetal measurements (by ultrasound)	-	-	-
	Placental and umbilical cord gross evaluation	-	-	-
	Body weight	-	-	-
	Fetal measurements	-	-	-
	Skeletal evaluation (radiographs)	-	-	-

- No noteworthy findings

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.16 局所刺激性試験

Species/ Strain	Method of Administration	Doses	Sex and No. Per Group	Noteworthy Findings	Location in CTD Study Number (CRO Study Number) (GLP Status)
Rabbit/NZW	SC	Test Article 1: KHK4827, [redacted] mg/mL, 1 mL dose volume/injection site; formulated in [redacted] mmol/L [redacted], [redacted]% (w/v) [redacted], [redacted]% (w/v) [redacted] pH [redacted]. Test Article 2: KHK4827, 140 mg/mL, 1 mL dose volume/injection site; formulated in 10 mmol/L L-glutamate, 3% (w/v) L-proline, and 0.01% (w/v) polysorbate 20; pH 4.8. Test Article 3: KHK4827, 70 mg/mL, [50:50 dilution of KHK4827 (Test Article 2) and Placebo Drug Product[a]] 1 mL dose volume/injection site	3M total; each rabbit received all 3 test articles at the same time, but in different locations.	Test Article 2 was associated with non-adverse variable edema and erythema at the injection site (attributed to increased protein load) with no associated tissue damage, the severity of which decreased over the 72 hour postdose period. There were no local injection site irritation observations for Test Articles 1 and 3. Microscopic changes for Test Articles 1, 2, and 3 were consistent with procedural damage.	4.2.3.6-1 115263 ([redacted]780) (GLP)

GLP = Good laboratory practices, M = male, NZW = New Zealand White, SC = subcutaneous

a Placebo Drug Product: [redacted] mmol/L [redacted], [redacted]% (w/v) [redacted]% (w/v) [redacted] pH [redacted].

2.6.7.17 その他の毒性試験

Test Model	Species/Strain	Method of Administration	Concentration (µg/mL)	Noteworthy Findings	Location in CTD Study Number CRO Study Number (GLP Status)
Tissue Cross-reactivity	Human, cynomolgus monkey, and rabbit tissue panel	Application to cryosections	2 and 20 (with biotin-conjugated KHK4827)	Observed staining was generally consistent with reported sites of IL-17 receptor expression. In all species tested, staining of: • membrane, cytoplasm, and cytoplasmic granules in resident and/or migrating mononuclear/dendritic cells • basement membrane of the epidermis and mucosal epithelium • membrane and cytoplasmic granules of hair follicle epithelial cells Staining of cytoplasmic filaments/granules and cytoplasm (but not membrane) in: • intrinsic and/or vascular smooth myocytes and myofibroblasts • striated skeletal muscle • cardiac myocytes (monkey, rabbit only) Because of its size, KHK4827 is not expected to access the cytoplasmic compartment; therefore, binding to intracellular elements is considered irrelevant to safety assessment.	4.2.3.7.7-1 105786 [redacted]1439 (GLP)

GLP = good laboratory practices