トルツ皮下注 80 mg シリンジ
トルツ皮下注 80 mg オートインジェクター

2.6.6　毒性試験の概要文

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.6　毒性試験の概要文 1
2.6.6.1　まとめ 1
2.6.6.2　単回投与毒性試験 3
2.6.6.3　反復投与毒性試験 3
2.6.6.3.1　カニクイザルを用いた 8 週間反復投与毒性試験 4
2.6.6.3.2　カニクイザルを用いた 39 週間反復投与毒性試験 5
2.6.6.4　遺伝毒性試験 6
2.6.6.5　がん原性試験 6
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 7
2.6.6.6.1　雌雄の生殖能に関する試験 7
2.6.6.6.2　胚・胎児発生に関する試験 8
2.6.6.6.3　出生前及び出生後の発生に関する試験 9
2.6.6.7　局所刺激性試験 11
2.6.6.8　その他の毒性試験 11
2.6.6.8.1　免疫原性試験 11
2.6.6.8.2　免疫毒性試験 12
2.6.6.8.3　不純物の評価 12
2.6.6.8.4　組織交差反応性試験 13
2.6.6.8.5　血液適合性試験 13
2.6.6.9　考察及び結論 14
2.6.6.10　図表 15
2.6.6.11　参考文献 15

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

インターロイキン-17A（IL-17A）に対するヒト化免疫グロブリン G4（IgG4）モノクローナル抗体であるイキセキズマブについて毒性評価を行った（表 2.6.6-1 及び表 2.6.7.1）。一連の毒性試験は、モノクローナル抗体の安全性評価として日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）S6(R1) ガイドラインに準じて計画し、試験の一部を除き Good Laboratory Practice（GLP）に準拠して行った。一部の手順（被験物質の品質特性、安定性及び使用時の適合性並びに非標準的パラメータの測定）は GLP 非適用条件下で実施したが、試験の完全性及び結果の解釈に影響を及ぼすものではなかった。なお、動物種選択、用量設定及び投与間隔の妥当性を含む毒性試験計画の詳細については CTD 第 2.4.1 項に記載した。以下に試験計画の概略を示す。

- イキセキズマブはヒト及びカニクイザル IL-17A に同程度の親和性で結合したが、ウサギ IL-17A に対する結合親和性は低く、マウス及びラット IL-17A には結合しなかった（CTD 第 2.6.2.2.1.2 項）。したがって、毒性評価に適切な動物種としてカニクイザルを選択した。
- カニクイザルを用いて、8 週間及び 39 週間反復投与毒性試験、雌雄生殖能に関する試験、胚・胎児発生に関する試験並びに出生前及び出生後の発生に関する試験を実施した。正常なカニクイザル及びヒト組織切片を用いて、組織交差反応性試験を実施した。カニクイザル及びヒトの全血及び血清を用いて、血液適合性試験を実施した。
- 投与経路として、8 週間反復投与毒性試験では、ヒト初回投与臨床試験（I1F-MC-RHAF、以下 RHAF 試験）の投与経路である静脈内を、39 週間反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験では、第 II 相及び第 III 相臨床試験及び申請投与経路である皮下を選択した。
- 投与頻度は、カニクイザルに単回静脈内又は皮下投与したときの消失半減期がそれぞれ 156 時間（約 7 日）及び 246 時間（約 10 日）であったことに基づき、週 1 回とした（CTD 第 2.6.4.3.1 項）。
- カニクイザルを用いたすべての毒性試験で、高用量として 50 mg/kg を設定した。イキセキズマブを皮下投与したときのバイオアベイラビリティは高いと推定され（CTD 第 2.6.4.3.1 項）、50 mg/kg の用量で皮下又は静脈内投与したときの血清中イキセキズマブ濃度は、IL-17A を飽和するために必要なイキセキズマブ濃度の推定値より数桁高いと予測された（CTD 第 2.4.1 項）。また、50 mg/kg はヒト初回投与試験（RHAF 試験）で当初計画された最高用量である 5 mg/kg[1]の 10 倍であった。毒性試験で使用した低用量の 5 又は 0.5 mg/kg での血清中曝露量（AUC）は、臨床試験における曝露量をやや上回るか、又はその範囲内と予想された。

[1] RHAF 試験で最終的に選択した最高用量は 2 mg/kg（カニクイザルにおける最高用量の 25 分の 1）であった。

表 2.6.6-1　　イキセキズマブの毒性試験プログラム

試験の種類、投与期間及び毒性試験番号	用量及び投与経路	動物種
反復投与毒性試験		
8 週間 + 6 週間の休薬期間（6180-918）	0、5、15 及び 50 mg/kg/週 IV	カニクイザル
39 週間 + 16 週間の休薬期間（7608-478）	0、0.5、5 及び 50 mg/kg/週 SC	カニクイザル
生殖発生毒性試験		
雌雄の生殖能、13 週間（20003965）	0 及び 50 mg/kg/週 SC	カニクイザル
胚・胎児発生、妊娠 20～139 日（[redacted]010.15）	0、5 及び 50 mg/kg/週 SC	カニクイザル
出生前及び出生後の発生、妊娠 20 日から分娩まで（20018253）	0、5 及び 50 mg/kg/週 SC	カニクイザル
その他の試験		
組織交差反応性（KTA00027）	Ex vivo	カニクイザル及びヒト
血液適合性（N00024）	In vitro	カニクイザル及びヒト

略語：IV = 静脈内、SC = 皮下

イキセキズマブをカニクイザルに 50 mg/kg までの用量で週 1 回、最長 39 週間投与したときの忍容性は良好であった。いずれの試験においても、皮下投与による投与部位反応以外に投与に関連した毒性変化は認められなかった。主要な成績を以下に要約する。

- 組織交差反応性試験、血液適合性試験並びに Fcγ 受容体及び補体に対する結合試験において、安全性上の懸念は示唆されなかった。
  - カニクイザル及びヒトの正常組織切片において、イキセキズマブの交差反応性結合は認められなかった。
  - イキセキズマブをカニクイザル又はヒトの全血又は血清と混合したとき、問題となるような溶血及び血清凝集は生じなかった。
  - ヒト Fcγ 受容体 I、IIa 及び IIIa 又は補体 Clq へのイキセキズマブの結合は低かったことから、in vivo で Fcγ 受容体又は補体依存性の細胞傷害を引き起こす可能性は低いと考えられた（CTD 第 2.6.2.2.1.6 項）。
- カニクイザルの試験では、1 例で顕著な投与部位反応が見られたことを除いて、投与に関連した全身毒性及び免疫系への有害作用［末梢血リンパ球サブセット解析、ナチュラルキラー（NK）細胞活性及び T 細胞依存性抗体産生を評価］は見られなかった。
  - 39 週間反復投与毒性試験では、すべての用量でイキセキズマブの皮下投与による投与部位反応が散見され、その多くは一過性の軽度な腫脹であり、痂皮又は発赤を伴う場合もあった。50 mg/kg 群の 1 例に顕著で可逆的な投与部位反応が見られ、抗薬物抗体の抗体価が高かったことから、この個体の投与

部位反応には免疫反応の関与が示唆された。

- 39 週間反復投与毒性試験において、5 mg/kg 群（中用量群）の 1 例が試験 20 週に死亡した（原因不明）。すべての毒性試験結果から総合的に判断すると、この死亡がイキセキズマブと関連する可能性は低いと考えられた。

- 心血管系、呼吸系及び中枢神経系の安全性薬理評価を 8 週間及び 39 週間反復投与毒性試験で実施した結果、安全性上の懸念は見られなかった（CTD 第 2.6.2.4 項）。
- 性成熟したカニクイザルに 13 週間反復投与した雌雄の生殖能試験において、精子、性周期及び生殖器官に毒性変化は認められなかった。
- 妊娠カニクイザルを用いた胚・胎児発生試験及び出生前及び出生後の発生試験では、胚・胎児発生及び出生児の生後発育における毒性変化は見られなかった。免疫系の評価項目に重要な変化は見られなかったことから、イキセキズマブは発生・発達過程にある免疫系に影響を及ぼさないことが示唆された。
- 抗薬物抗体産生が確認又は示唆された個体は少数例であり、イキセキズマブ投与群のほとんどの動物がイキセキズマブに持続的に曝露された。カニクイザルにイキセキズマブを 50 mg/kg で投与したときの AUC は、申請する用法及び用量（案）でヒトに投与したときの定常状態における曝露量（平均値）と比較して約 61 倍であり（表 2.6.6-4）、安全域は広かった。
- イキセキズマブの毒性試験結果及び IL-17A の機能に関する公表文献に基づき評価した結果、イキセキズマブの IL-17A 中和作用によるがん原性リスク増加は示唆されなかった（CTD 第 2.6.6.5 項）。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

イキセキズマブの単回投与毒性試験は実施していない。ICH M3(R2) ガイドラインに従い、反復投与毒性試験における初回投与時の毒性及び安全性薬理の結果を評価した。雌雄のカニクイザルに 50 mg/kg までの用量で単回静脈内投与（8 週間反復投与毒性試験：CTD 第 2.6.6.3.1 項）又は単回皮下投与（39 週間反復投与毒性試験：CTD 第 2.6.6.3.2 項）したときの忍容性は良好であり、死亡は見られなかったことから、イキセキズマブの単回投与による急性毒性は弱く、概略の致死量は 50 mg/kg を超える用量と考えられた。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

8 週間及び 39 週間の反復投与毒性試験を、若齢カニクイザルを用いて実施し、トキシコキネティクス（TK）、抗薬物抗体、免疫系への影響及び安全性薬理の評価を行った。いずれの試験にも、回復性試験群をおいた。TK 解析において血清中イキセキズマブ濃度を酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）により測定した（CTD 第 2.6.4.2 項及び 2.6.4.3 項）。血清中の抗薬物抗体は ELISA により測定したが（CTD 第 2.6.4.2 項及び 2.6.4.3 項）、一部の血清試料ではイキセキズマブ濃度が抗薬物抗体の検出に干渉しない許容濃度を上回ったため、抗体価は過小評価された可能性がある。

8 週間反復投与毒性試験は静脈内投与、39 週間反復投与毒性試験では皮下投与で実施した。いずれの試験においても、10 mM クエン酸塩緩衝液（pH 6.0±0.2）、150 mM 塩

化ナトリウム及び 0.02% ポリソルベート 80 を含む注射用水を溶媒として用いた。その組成は臨床試験用製剤と類似の組成であった。イキセキズマブの投与液濃度は 0.25～26.4 mg/mL の範囲であった。

2.6.6.3.1　カニクイザルを用いた 8 週間反復投与毒性試験

（添付資料 4.2.3.2.1、6180-918 試験、表 2.6.7.7A）

雌雄のカニクイザル（2～4 歳）にイキセキズマブを 0、5、15 及び 50 mg/kg の用量（投与容量は 5 mL/kg）で週 1 回、8 週間（計 9 回）静脈内投与し、毒性、TK 及び免疫系への影響を検討するとともに、6 週間の休薬期間における回復性を評価した。心血管系、呼吸系及び中枢神経系への作用についても検討した。投与終了時屠殺群は雌雄各 3 例/群とし、対照群及び 50 mg/kg 群については、別に雌雄各 3 例/群の回復性試験群をおいた。高用量は 50 mg/kg に設定した。この用量はヒト初回投与試験（RHAF 試験）で当初計画された最高用量である 5 mg/kg の 10 倍である。また、この用量を動物に投与後の血清中イキセキズマブ濃度は、血中 IL-17A を飽和するために必要なイキセキズマブ濃度より数桁高いと予測された（CTD 第 2.4.1 項）。低用量は、RHAF 試験で計画された最高用量と同じ 5 mg/kg を設定し、中用量は低用量と高用量のおおよその等比中項の 15 mg/kg とした。

いずれの投与群においても、初回投与後のイキセキズマブの最高血清中濃度（C_{max}）及び AUC は用量にほぼ比例して増加した（CTD 第 2.6.4.3.2 項）。雌雄間で曝露量に明らかな差は認められなかった。いずれの投与群においても投与前（トラフ）濃度は試験 29 日までに定常状態に達し、投与期間を通して曝露は持続した。50 mg/kg において、試験 57 日の C_{max} 及び AUC は初回投与後よりも高値を示し、反復投与による蓄積が示された。50 mg/kg 群における消失半減期は約 290 時間（約 12 日）であった。血清試料中イキセキズマブによる干渉のために正確な分析はできなかったが、いずれの個体も抗薬物抗体は陰性と判定された。また、抗薬物抗体の産生を示唆する血清中イキセキズマブ濃度の低下は認められなかった。

死亡はなく、一般状態観察、神経行動観察、眼科学的検査、体温、呼吸系パラメータ（呼吸数及び深度）、心電図（心拍数、律動、QT 及び補正 QT 間隔を含む）、体重、摂餌量（定性的）、血液生化学的検査、血液学的検査、血液凝固検査及び尿検査、器官重量、剖検並びに投与部位を含む病理組織学的検査、免疫系の評価［末梢血リンパ球サブセット解析（総 T 細胞、ヘルパーT 細胞、細胞傷害性 T 細胞、総 B 細胞及び NK 細胞）並びにキーホールリンペットヘモシアニン（KLH）に対する T 細胞依存性抗体産生（IgG 及び IgM）］において、投与終了時屠殺群・回復性試験群ともに特記すべき変化は認められなかった。

以上、イキセキズマブを 50 mg/kg までの用量でカニクイザルに週 1 回、8 週間静脈内投与したところ、投与に関連した所見は認められなかった。したがって、無毒性量（NOAEL）は 50 mg/kg であった。

2.6.6.3.2　カニクイザルを用いた 39 週間反復投与毒性試験

（添付資料 4.2.3.2.2、7608-478 試験、表 2.6.7.7B）

雌雄のカニクイザル（2～4 歳）にイキセキズマブを 0、0.5、5 及び 50 mg/kg の用量（投与容量は 2 mL/kg、高用量では 1.89 mL/kg）で週 1 回、39 週間（計 39 回）皮下投与し、毒性、TK 及び免疫系への影響を検討するとともに、16 週間の休薬期間における回復性を評価した。投与終了時屠殺群は雌雄各 4 例/群とし、対照群及び 50 mg/kg 群については別に雌雄各 2 例/群の回復性試験群をおいた。高用量の 50 mg/kg は、臨床用量を十分に上回り、かつ血中 IL-17A を飽和させると予測された用量である。低用量は予想臨床用量範囲での曝露量を得るため 0.5 mg/kg に設定し、中用量は低用量と高用量の等比中項の 5 mg/kg とした。

皮下投与後のイキセキズマブの吸収は緩やかであり、最高血清中濃度到達時間（T_{max} 値）は 40～102 時間であった（CTD 第 2.6.4.3.2 項）。初回投与後のイキセキズマブの C_{max} 及び AUC は用量にほぼ比例して増加し、曝露量の性差は認められなかった。投与期間中のトラフ値が反復投与により増加したこと、50 mg/kg 群における試験 267 日の C_{max} 及び AUC が初回投与後よりも高値を示したことから、反復投与による蓄積が示された。50 mg/kg 群における消失半減期は雄で 337 時間（約 14 日）、雌で 188 時間（約 7.8 日）であった。投与期間中に 50 mg/kg 群の雌 2 例で抗薬物抗体の発現が認められ、うち 1 例（回復性試験例）では最終投与日（試験 267 日）に、もう 1 例（顕著な投与部位反応が見られた動物、下記参照）では試験 22 日以降に曝露量の減少が認められた。

5 mg/kg 群の雄 1 例が、試験 140 日（20 回投与後 6 日）に死亡した。死亡前に一般状態における毒性所見及び定性的又は定量的な心電図変化は見られず、臨床検査及び末梢血リンパ球サブセットにも異常所見はなく、寄生虫感染も示唆されなかった。剖検及び病理組織学的検査においても毒性所見は見られなかった。さらに、イキセキズマブ投与群の他の全動物のデータを精査したが、死因は特定できなかった。高用量群を含めすべての用量でこの 1 例の他に死亡はなく、いずれの用量においても死亡に関連するような毒性変化は見られず、さらに、他の試験も含めたすべての毒性試験結果から総合的に判断すると、この死亡がイキセキズマブ投与に関連していた可能性は低いと考えられた（CTD 第 2.6.6.9 項及び 2.4 項）。

投与部位反応が投与群の動物で散見され、その多くは一過性の軽度な腫脹であり、痂皮又は発赤を伴う場合もあった。投与部位反応以外に、投与に関連すると考えられる一般状態の変化は認められなかった。神経行動観察、眼科学的検査、心電図、体重、摂餌量（定性的）、血液生化学的検査、血液学的検査、血液凝固検査、尿検査、器官重量及び免疫系の評価［NK 細胞活性の測定、末梢血リンパ球サブセット解析（総 T 細胞、ヘルパーT 細胞、細胞傷害性 T 細胞、総 B 細胞及び NK 細胞）並びに KLH に対する T 細胞依存性抗体産生（IgG 及び IgM）］において、重要な変化は投与終了時屠殺群・回復性試験群ともに認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、イキセキズマブ投与群の動物に投与部位反応が認められた以外に、投与に関連する所見はなかった。投与部位の病理組織学的検査では炎症、出血及び壊死が認められたが、休薬期間終了時には軽微な炎症が見られたのみであった

ことから、おおむね可逆的であることが示唆された。高用量群の雌 1 例では、顕著な投与部位反応が試験 3 ヵ月からほぼ持続して認められ、試験の経過とともに悪化し、炎症を示唆する臨床検査所見も認められた。この個体では 30 回目の投与（試験 204 日）後に 9 週間休薬したところ、腫脹、発赤及び痂皮形成は回復した。計画剖検の 2 日前にイキセキズマブを再投与したところ、計画剖検時に投与部位の腫脹が見られ、病理組織学的検査における投与部位所見は他の動物より高度であり血管炎も認められた。この 1 例で見られた顕著な投与部位反応は、血清中イキセキズマブ濃度の低下及び抗薬物抗体の高値を伴っていたことから、イキセキズマブに対する免疫反応の関与が示唆された。

以上、イキセキズマブを 50 mg/kg までの用量でカニクイザルに週 1 回、39 週間皮下投与したときの忍容性はおおむね良好であった。50 mg/kg 群の 1 例は毒性と考えられる投与部位反応により投与中断に至ったことから、この個体では最大耐量を超えていたと考えられた。5 mg/kg 群の雄 1 例の死因は不明であったが、イキセキズマブ投与によるものではないと考えられた。したがって、NOAEL は 5 mg/kg と判断した。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

イキセキズマブはモノクローナル抗体であるため、ICH S6(R1) ガイドラインに従い、遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

イキセキズマブはラット及びマウスの IL-17A に結合しないため、げっ歯類を用いたがん原性試験は実施しなかった。薬効薬理試験において、市販されている 2 種のラット抗マウス IL-17A 抗体の特性を解析したが、両抗体は IgG アイソタイプ、IL-17A に対する結合親和性並びにエピトープがイキセキズマブと異なることから、イキセキズマブのサロゲート抗体として両抗体を有効性及び安全性の評価に用いることは適切でないと判断した（CTD 第 2.6.2.2.3 項）。さらに、これらの抗体をマウスに反復投与すると抗薬物抗体が産生され長期投与ができない可能性が考えられた。したがって、このラット抗マウス IL-17A 抗体を用いたがん原性試験を実施しても、科学的に適切なイキセキズマブのがん原性リスク評価はできないと考える。

ICH S6(R1) ガイドラインに従い、イキセキズマブのがん原性に関し、イキセキズマブの毒性試験結果及び標的分子である IL-17A の生体内での機能・役割に関する公表文献に基づき評価した（添付資料 4.2.3.4.3.1）。その結果、イキセキズマブががん原性を有する可能性は低いことが示唆された。以下にその概要を示す。

- イキセキズマブはモノクローナル抗体であり、このような高分子のタンパク質が核内の DNA に直接相互作用するとは考えにくい。また、その代謝経路は小さなペプチド及び各アミノ酸への分解である。したがって、イキセキズマブの構造やその代謝物に関連するがん原性の懸念はない。
- イキセキズマブのカニクイザルを用いた最長 39 週間の反復投与毒性試験では、細胞増殖促進作用及び前癌病変を示す所見は認められなかった。また、カニクイザルの反復投与毒性試験で免疫系への影響を評価したところ、特記すべき変化は認

められなかった。すなわち、リンパ球サブセット（総 T 細胞、ヘルパーT 細胞、細胞傷害性 T 細胞、総 B 細胞及び NK 細胞）に減少又は増加のいずれの変化もなく、NK 細胞活性及び T 細胞依存性抗体産生（IgG 及び IgM、一次免疫応答）への影響並びにリンパ系器官の病理組織学的変化は認められなかった。したがって、イキセキズマブには強力な免疫抑制作用や免疫細胞の増殖促進作用などの免疫毒性はないことが示唆された。さらに、組織交差反応性試験において、イキセキズマブは組織に結合しなかったことから、標的外毒性が生じる可能性は低いと予想された。

- IL-17A と腫瘍形成に関する文献の一部には、IL-17A の抗腫瘍効果を示唆するものもある一方で、多くの公表文献では IL-17A は腫瘍形成を促進する方向に作用することが示されている。すなわち、種々の腫瘍において高レベルの IL-17A が発現しており、IL-17A の発現は転帰が悪いことと関連するとされ、IL-17A は血管新生誘導、炎症性サイトカイン・ケモカインの産生亢進、炎症性細胞の動員及び腫瘍細胞の生存促進作用を有することが示唆されている（Tartour 1999; Kato 2001; Cirée 2004; Numasaki 2003, 2005; Kryczek 2007; Nam 2008; Li 2011; Liu 2011）。さらに、移植腫瘍細胞において、IL-17A 遺伝子又は IL-17 受容体遺伝子ノックダウン又はノックアウトあるいは抗 IL-17A 抗体を用いた研究の多くで腫瘍増殖が抑制されることが報告されている（Nam 2008; Wang 2009; He 2010）。

以上より、イキセキズマブによる IL-17A 中和作用に起因する発がんリスクの増加は示唆されなかった。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

雌雄の生殖能、胚・胎児発生並びに出生前及び出生後の発生へのイキセキズマブの影響を、カニクイザルを用いて検討した。胚・胎児発生に関する試験並びに出生前及び出生後の発生に関する試験では、胎児及び F1 児の免疫系の評価も実施した。ELISA を用いて、血清中イキセキズマブ濃度（3 試験すべて）及び抗薬物抗体（胚・胎児発生に関する試験）を測定した。

投与経路は皮下とした。反復投与毒性試験と同様に、10 mM クエン酸塩緩衝液（pH 6.0±0.2）、150 mM 塩化ナトリウム及び 0.02% ポリソルベート 80 を含む注射用水を溶媒として用いた。投与液濃度は、2.5 又は 25 mg/mL とした。

2.6.6.6.1　雌雄の生殖能に関する試験

（添付資料 4.2.3.5.1.1、20003965 試験、表 2.6.7.12）

性的に成熟した雌雄カニクイザル（雄：5.9～9.0 歳、雌：4.5～6.3 歳、各 6 例/性/群）にイキセキズマブを 0 及び 50 mg/kg の用量（投与容量は 2 mL/kg）で週 1 回、13 週間（計 13 回）皮下投与したときの生殖能への影響を検討した。この投与期間は、カニクイザルにおいて精子形成期間（精巣上体への精子移行を含む）を十分カバーし、かつ性周期 2～3 回をカバーする（Chellman 2009）。イキセキズマブは生殖能への影響を与えな

いと予想されたこと、すなわち、IL-17 欠損マウスは正常に発生し、かつ生殖能が維持されるとの報告があり（Nakae 2002）、また、若齢成熟カニクイザルを用いたイキセキズマブの反復投与毒性試験（CTD 第 2.6.6.3 項）において生殖器官に影響は見られなかったことから、本試験では用量反応性を検討する必要性は低いと考え、1 用量のみで安全性を評価した。用量は、反復投与毒性試験において良好な忍容性を示し、予定臨床用量範囲を十分上回り、また血中 IL-17A を飽和させると予測されたことから 50 mg/kg に設定した。

C_{max} 及び AUC は雌雄で同程度であり、反復投与による曝露量の増加が認められた（CTD 第 2.6.4.3.2 項）。抗薬物抗体の産生を示唆する血清中イキセキズマブ濃度の低下は認められなかった。

一般状態、摂餌量（定性的）、体重、体重増加量、生殖パラメータ（性周期、精子運動能、精子形態、精子濃度及び射精 1 回当たりの精子数）、剖検所見、病理組織学的所見及び雌雄の生殖器官重量のいずれにも投与に関連した変化は認められなかった。

以上、性成熟した雌雄カニクイザルの生殖評価項目における NOAEL は 50 mg/kg であった。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

（添付資料 4.2.3.5.2.1、[redacted]010.15 試験、表 2.6.7.13）

妊娠カニクイザル（12 例/群）にイキセキズマブを 0、5 及び 50 mg/kg の用量（投与容量は 2 mL/kg）で、妊娠 20 日から妊娠 139 日（主要器官形成期から妊娠第 3 三半期中期）まで週 1 回、約 17 週間（計 18 回）にわたり皮下投与した後、妊娠 140～142 日に帝王切開を実施し、免疫系を含めた胚・胎児発生に及ぼす影響を評価した。

母動物について、超音波による妊娠の経過観察を行うとともに、一般状態観察（摂餌量の定性的評価含む）、体重測定、血液学的検査、末梢血リンパ球サブセット解析、TK、抗薬物抗体測定、剖検及び胎盤重量測定を実施した。胎児については、胎児体重測定、胎児の外表、内臓及び骨格検査を実施した。免疫系への影響の有無を評価するため、胎児の血液学的検査及びリンパ球サブセット解析（総 T 細胞、T 細胞サブセット、総 B 細胞及び NK 細胞）並びに胎児リンパ系器官の病理組織学的検査を行った。胎児血清中及び羊水中のイキセキズマブ濃度及び抗薬物抗体も測定した。

血清中イキセキズマブ濃度の増加は用量依存的であり、妊娠 34 日（投与 3 回目）以降、曝露量は定常状態に達した（CTD 第 2.6.4.3.3 項）。帝王切開日において、胎児血清中（臍帯血中）イキセキズマブ濃度は母動物血清中濃度の約 22%（5 mg/kg 群：25%、50 mg/kg 群：18%）であり、胎盤を介した胎児へのイキセキズマブの移行が示された。著しい抗薬物抗体の発現は母動物及び胎児のいずれにおいても認められなかった。

母動物毒性、胚・胎児毒性及び催奇形性を示す所見は見られず、胎児免疫系への影響も認められなかった。5 及び 50 mg/kg 群の母動物各 2 例で、妊娠初期の摂餌量及び体重がわずかに減少し、妊娠のストレスに関連する可能性が考えられたが、いずれの個体も残りの投与期間中には体重増加が見られた。胚・胎児死亡率は 0、5 及び 50 mg/kg 群でそれぞれ 16.7%（2/12 例）、8.3%（1/12 例）及び 8.3%（1/12 例）、早産は 5 mg/kg 群の

1 例（妊娠 139 日に分娩）のみであった。いずれもその発現率は低く、用量関連性も見られず、さらに試験施設の背景データ［妊娠動物 267 例中 39 例の胚・胎児死亡（14.6%）、範囲：0.0%～29.0%、母動物 12 例中 1 例で早産（8.3%）］の範囲内であったことから、自然発生所見であり、イキセキズマブ投与との関連はないと考えられた。高用量（50 mg/kg）群の胎児 11 例中 3 例で臍帯血中の NK 細胞の絶対数及び相対比率の増加が認められた。これら 3 例の胎児における NK 細胞（相対比率）は対照群の胎児の最高値より 1.7～2.8 倍高く、高用量群の群平均 NK 細胞（相対比率）は対照群と比較して約 2 倍であった。しかしながら、群平均値には対照群と比較して統計学的有意差は認められず、高用量群の他の胎児に NK 細胞の増加は見られず、さらにリンパ球サブセットにおいて他に変化はなかったことから、毒性変化ではないと判断した。したがって、カニクイザルの母動物及び胚・胎児発生に関する NOAEL は、いずれも 50 mg/kg であった。

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生に関する試験

（添付資料 4.2.3.5.3.1、20018253 試験、表 2.6.7.14）

妊娠カニクイザル（18 例/群）にイキセキズマブを 0、5 及び 50 mg/kg の用量（投与容量は 2 mL/kg）で、妊娠 20～22 日から分娩まで週 1 回皮下投与し、出生前及び出生後の発生におけるイキセキズマブの影響を評価した。生存児の分娩は妊娠 142～173 日に認められ、総投与回数は 18～22 回であった。母動物については、超音波による妊娠の経過観察、一般状態観察（摂餌量の定性的評価含む）、体重測定、TK（血清中及び乳汁中イキセキズマブ濃度）、血液学的検査及び末梢血リンパ球サブセット解析（総 T 細胞、ヘルパーT 細胞、細胞傷害性 T 細胞、総 B 細胞及び NK 細胞）を実施した。F1 児については生後 6 ヵ月間以上にわたり観察し、健康状態、成長、身体的発達及び神経行動発達、TK、血液学的検査及び免疫系に関する検査［末梢血リンパ球サブセット解析、NK 細胞活性の測定並びに KLH（生後 119 日及び 182 日に注射）に対する T 細胞依存性抗体産生（IgG 及び IgM、一次及び二次応答）］を評価した。生存児を生後 205±2 日に安楽殺した。すべての F1 児について、剖検（外表及び内臓検査を含む）及び病理組織学的検査を実施した。母動物は F1 児の死亡又は安楽殺の後、試験施設のコロニーに戻した。抗薬物抗体測定は実施しなかった。

妊娠動物及び F1 児のいずれにおいても用量依存的な血清中イキセキズマブ濃度の増加が認められた（CTD 第 2.6.4.3.3 項）。乳汁中濃度は分娩後 14 日から分娩後 56 日まで経時的に減少し、その対母動物血清中濃度比は 0.00095～0.0026 であった。5 mg/kg 群と比較して、50 mg/kg 群の血清中イキセキズマブ濃度は母動物では約 10 倍、F1 児（生後 7 日）で約 20 倍であった。F1 児の血清中イキセキズマブ濃度に明らかな性差は認められなかった。血清中イキセキズマブ濃度は、概して分娩後（生後）84 日まで母動物及び F1 児ともに定量可能であり、さらに 50 mg/kg 群では、分娩後（生後）205 日にも母動物 9 例中 3 例及び F1 児 9 例中 5 例で定量可能であった。例外として、5 mg/kg 群の母動物 1 例（妊娠 70 日以降）及びその F1 児の血清中イキセキズマブ濃度は定量下限未満であり、抗薬物抗体産生に起因すると推察された。さらに、他の母動物 2 例（5 及び 50 mg/kg 群

の各 1 例）における血清中イキセキズマブ濃度は、同じ用量群の他の動物より顕著に低かった。しかしながら、試験全体としては、ほとんどの母動物及び F1 児において出生前及び出生後の期間にわたり十分な曝露が確認されたことから、イキセキズマブの毒性は適切に評価されたと考えられた。

投与に関連した母動物毒性は見られず、妊娠中の超音波検査における胎児測定項目及び胚・胎児死亡には投与に関連した影響は認められなかった。胚・胎児死亡率（流産及び死産）は、3 群間で同程度であり［0、5 及び 50 mg/kg 群でそれぞれ 22.2%（4/18 例）、33.3%（6/18 例）及び 22.2%（4/18 例）］、試験施設の背景対照データの範囲内であった［妊娠動物 197 例中 47 例の胚・胎児死亡（23.9%）、範囲：6.7%～38.9%］。胎児及び F1 児の性比並びに生存児分娩までの妊娠期間は、3 群間で同程度であった。

自然分娩により生まれた F1 児は、0、5 及び 50 mg/kg 群でそれぞれ 14、12 及び 14 例であった。このうち、イキセキズマブ投与群の 7 例が、生後 6 日以内に死亡又は安楽殺に至った（表 2.6.6-2）。

表 2.6.6-2　　F1 児死亡

	0 mg/kg (対照)	5 mg/kg	50 mg/kg
出生 F1 児数	14	12	14
F1 児死亡　合計	0	2	5
早産		1	2 [a]
先天異常		1	0
母動物の育児放棄			3 [a]
外傷			1

[a] 早産の F1 児のうち 1 例では、母動物の育児放棄も見られた。

死亡した 7 例中 3 例の F1 児は母動物の育児放棄、すなわち、F1 児を抱かない（拒絶）又は抱き方が不適切であったため F1 児が哺乳できず、里親による哺育を試みたが成功しなかったことによる安楽殺であった（いずれも 50 mg/kg 群）。育児放棄による F1 児死亡の発現頻度は、高用量群で 3/14 例、試験全体では 7.5%（3/40 例）であり、試験施設の背景データ［5.6%（161 例の生産児のうち 9 例が育児放棄による死亡）、範囲：0%～16.7%］から大きく外れる値ではなかった。育児放棄による F1 児死亡のうちの 1 例を含む計 3 例は、早産で生まれた F1 児（142～146 日）であった。これは、施設の背景データにおいて、出生後 1 ヵ月以内に死亡した児の分娩時胎齢が、1 ヵ月以上生存した児と比較し 6 日短い［死亡児：153±14 日（23 例）、生存児：159±6 日（191 例）、16 試験］ことと一致する結果であった。このほか、1 例は生後 1 日に外傷を伴って死亡し、別の 1 例は先天異常（鎖肛）のため安楽殺した。育児放棄以外の F1 児死亡は 0、5 及び 50 mg/kg 群でそれぞれ 0/14 例、2/12 例及び 2/14 例、試験全体の発現頻度は 10%（4/40 例）であり、試験施設の背景データの範囲内［11.2%（161 例の生産児のうち 18 例が死亡）、範囲：0%～20%］であった。死亡 F1 児のいずれにおいても、外表検査、形態測定、心臓の形態検査、内臓の肉眼的及び病理組織学的検査並びに骨格検査に、投与によると考えられる変化は認められなかった。以上より、7 例の F1 児死亡は、いずれもイキセキズマブに起因するものではないと判断した。

生存した F1 児（0、5 及び 50 mg/kg 群でそれぞれ 14、10 及び 9 例）では、一般状態観察、体重、神経行動検査、神経学的検査、外表検査、形態測定、眼科学的検査、呼吸数及び心拍数において、投与に関連した変化は認められなかった。母動物及び F1 児のリンパ球サブセット並びに F1 児の自然免疫及び液性免疫（それぞれ NK 細胞活性及び T 細胞依存性抗体産生により評価）に変化は見られなかった。

F1 児の最終剖検において肉眼所見は見られず、器官重量、形態測定、外表検査、内臓検査、心臓検査及び病理組織学的検査には、投与に関連する変化は認められなかった。さらに、流産又は死産した胎児及び早期死亡 F1 児の検査項目において投与に関連する変化は認められなかった。

以上、イキセキズマブをカニクイザルに妊娠期間を通して分娩まで週 1 回皮下投与したときの忍容性は良好であり、母動物並びに F1 児に関する NOAEL は 50 mg/kg であった。

2.6.6.7　局所刺激性試験

イキセキズマブの皮下投与時の局所刺激性は、反復投与毒性試験の中で評価した。39 週間反復投与毒性試験において、1 例で持続的かつ顕著な投与部位の反応が可逆的に認められた。この個体以外でも投与部位反応が散見されたが、その多くは軽度かつ一過性であった（CTD 第 2.6.6.3.2 項）。

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　免疫原性試験

8 週間及び 39 週間反復投与毒性試験並びに胚・胎児発生に関する試験では抗薬物抗体測定を実施した。雌雄生殖能試験並びに出生前及び出生後の発生に関する試験では、抗薬物抗体測定は行わず、TK に基づく抗体産生の影響の有無を間接的に評価した。

血清試料においてイキセキズマブ濃度が抗薬物抗体の検出に干渉しない許容濃度を上回ることにより、抗体価は過小評価された可能性があるものの、抗薬物抗体を測定した試験のうち、明らかな抗薬物抗体が認められたのは 39 週間反復投与毒性試験の 50 mg/kg 群の 2 例のみであった（CTD 第 2.6.6.3.2 項）。うち 1 例では投与期間中における血清中イキセキズマブ濃度は高用量群の他の動物と同程度であったが、最終投与時点（試験 267 日）にイキセキズマブ濃度の低下が見られ、抗薬物抗体陽性（休薬期間終了時）と判定された。もう 1 例では持続的かつ顕著な投与部位反応が見られ、血清中イキセキズマブ濃度は試験 22 日以降に低下し、抗薬物抗体は高値を示した。このほか、出生前及び出生後の発生に関する試験（抗薬物抗体測定を未実施）において、5 mg/kg 群の 1 例で妊娠 70 日以降の血清中イキセキズマブ濃度が定量下限未満となり、また、5 及び 50 mg/kg 群の他の 1 例ずつで、血清中イキセキズマブ濃度が同用量群の他の個体より顕著に低く、いずれも抗体産生が示唆された。

以上、カニクイザルを用いた 5 試験において、抗薬物抗体産生が確認又は示唆された個体は少数例であった。このうちの 1 例ではイキセキズマブの皮下投与に対する反応性

が特に高く、持続的かつ顕著な投与部位反応が可逆的に認められ、イキセキズマブに対する免疫反応の関与が示唆された。

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

8 週間及び 39 週間反復投与毒性試験（若齢成熟ザル）並びに出生前及び出生後の発生に関する試験（F1 児）では、リンパ球サブセット解析、NK 細胞活性の測定及び KLH に対する T 細胞依存性抗体産生（IgG 及び IgM）を、また、胚・胎児発生試験（妊娠第 3 三半期中期胎児）ではリンパ球サブセット解析を実施し、イキセキズマブの免疫系に対する影響を評価した。いずれの免疫系評価項目においても、投与に関連する毒性変化は認められなかった（CTD 第 2.6.6.3 項及び 2.6.6.6 項）。

2.6.6.8.3 不純物の評価

イキセキズマブ（原薬及び製剤）の規格に設定した目的物質由来不純物の毒性は、イキセキズマブの毒性試験において評価した。毒性試験に用いた各ロットに含まれる不純物プロファイルは表 2.6.7.4 に示した。

イキセキズマブの原薬及び製剤の規格のうち、最も幅の広い規格である製剤の有効期間内の規格で設定された凝集体、純度（[redacted]）及び純度（[redacted]）の量はそれぞれ [redacted]%以下、[redacted]%以上及び [redacted]%以上（CTD 第 3.2.P.5 項）である。これらの不純物の安全域は、カニクイザル 39 週間反復投与毒性試験の高用量（最少毒性量；LOAEL）及び用いた原薬中の不純物量に基づくと、申請する用法及び用量を投与後の推定最大摂取量（イキセキズマブとして 2.67 mg/kg から換算；開始用量 160 mg、体重 60 kg）の 9～16 倍、推定最大曝露量［開始用量 160 mg の後に 80 mg の用量で 2 週に 1 回投与したときの定常状態におけるイキセキズマブの推定最大 $AUC_{0\text{-}168hr}$ の平均値から換算（CTD 第 5.3.3.5.2 項）］の 31～53 倍であった。このように不純物について十分な安全域が得られており、イキセキズマブの一連の毒性試験における毒性プロファイルは良好であったことから、イキセキズマブの原薬及び製剤の目的物質由来不純物について設定した規格は妥当なものと考える（表 2.6.6-3）。

表 2.6.6-3　規格における臨床用量と比較したイキセキズマブ不純物の安全域

種 用量	イキセキズマブ用量 イキセキズマブ曝露量（AUC）	凝集体 規格 [redacted]%以下		純度（[redacted]） 規格 [redacted]%以上 （[redacted]%の不純物）		純度（[redacted]） 規格 [redacted]%以上 （[redacted]%の不純物）	
		用量に基づく安全域 a	AUC に基づく安全域 b	用量に基づく安全域 a	AUC に基づく安全域 b	用量に基づく安全域 a	AUC に基づく安全域 b
ヒト 160 mg の開始用量後に 80 mg Q2W を 12 週間投与	2.67 mg/kg c 2.366 mg•hr/mL d	—	—	—	—	—	—
カニクイザル e 50 mg/kg （LOAEL）	50 mg/kg/週 144 mg•hr/mL f	16 倍	53 倍	12 倍	38 倍	9 倍	31 倍

略語：AUC = 血清中濃度－時間曲線下面積、LOAEL = 最小毒性量、Q2W = 2 週に 1 回
a カニクイザルにおける不純物用量/ヒトにおける不純物用量
b カニクイザルの不純物推定 AUC/ヒトの不純物推定 AUC
c 体重 60 kg に基づく開始用量
d 80 mg の用量で 2 週に 1 回投与したときの定常状態における $AUC_{0\text{-}168hr}$ の平均値（母集団薬物動態モデル解析における推定値；CTD 第 5.3.3.5.2 項）
e カニクイザル 39 週間反復投与毒性試験（7608-478 試験）。使用した原薬（ロット [redacted]）は、凝集体を [redacted]%含有、電気泳動を用いた試験方法による純度（[redacted]）[redacted]%（不純物 [redacted]%）、電気泳動を用いた試験方法による純度（[redacted]）[redacted]%（不純物 [redacted]%）。
f 反復投与後（試験 267 日）の定常状態における $AUC_{0\text{-}168hr}$

2.6.6.8.4　組織交差反応性試験

（添付資料 4.2.3.7.7.1、KTA00027 試験、表 2.6.7.17A）

カニクイザル及びヒトから採取した 35 種類の組織からなる正常組織パネル（凍結切片）を用いて、イキセキズマブの組織交差反応性を検討した。

イキセキズマブを 0.5 及び 2.5 µg/mL の濃度で組織切片に処理した後、組織に結合したイキセキズマブを、ビオチン標識したマウス抗ヒト IgG4 抗体及び色素生成検出試薬を用いて免疫組織化学的に評価した。陽性及び陰性対照を設定することにより、試験系の適切性及び特異性を確認した。

いずれの組織においても、イキセキズマブの特異的な結合は認められなかった。

2.6.6.8.5　血液適合性試験

（添付資料 4.2.3.7.7.2、N00024 試験、表 2.6.7.17B）

カニクイザル及びヒトから採取した全血及び血清を用いて、静脈内注射用イキセキズマブ製剤（5 及び 25 mg/mL の濃度に調製）を、全血と 1：1 の比率で、又は血清と 1：2～1：50 の比率でそれぞれ混合し、イキセキズマブ及びその溶媒による溶血及び血清凝集の有無を評価した。

イキセキズマブによる血清凝集は認められなかった。被験物質関連の変化として、カニクイザル及びヒトの全血で溶血が用量依存的に見られたが、軽微な変化であったことから、イキセキズマブの静脈内投与により溶血が生じる可能性は低く、その意義は低いと考えられた。

2.6.6.9 考察及び結論

カニクイザルを用いて、最長 39 週間の反復投与毒性試験、生殖能に関する試験、胚・胎児発生に関する試験並びに出生前及び出生後の発生に関する試験を実施し、イキセキズマブの毒性、免疫系への影響、安全性薬理及び TK を評価した。イキセキズマブはヒト及びカニクイザルの IL-17A に特異的に結合及び中和することから（CTD 第 2.6.2.2.1 項）、カニクイザルを動物種として選択した。血液適合性試験並びにカニクイザル及びヒトの組織切片を用いた組織交差反応性試験も実施した。これらの試験は GLP 基準に準拠し、ICH S6 (R1)ガイドラインに準じて実施した。さらに、in vitro における Fcγ 受容体及び補体成分との結合も評価した（CTD 第 2.6.2.2.1.6 項）。

血液適合性試験において問題となるような溶血及び血清凝集はなく、組織切片においてイキセキズマブの交差反応性結合は認められなかった。Fcγ 受容体及び補体 C1q へのイキセキズマブの結合は低かった（CTD 第 2.6.2.2.1.6 項）。イキセキズマブを 50 mg/kg までの用量でカニクイザルに週 1 回、皮下又は静脈内投与したときの忍容性はおおむね良好で、心血管系、呼吸系及び中枢神経系に関連する安全性上の懸念は見られず、全身毒性及び免疫系への有害作用は見られなかった。投与に関連する変化は皮下投与部位反応のみであり、その多くは軽度かつ一過性であったが、39 週間反復投与毒性試験の 50 mg/kg 群の 1 例では投与部位反応がほぼ持続的に認められ、毒性と考えられた。イキセキズマブによる生殖器系、胚・胎児発生及び生後の発達（免疫系の発生・発達を含む）への悪影響は認められなかった。細胞増殖促進作用及び前癌病変を示す変化は見られず、さらに公表文献に基づく評価から、イキセキズマブががん原性を示す可能性は低いと考えられた。イキセキズマブを投与した動物（胎児及び出生児を含む）における曝露量は用量にほぼ比例して増加し、試験期間を通して曝露の持続が認められた。抗薬物抗体陽性又は抗薬物抗体の発現を示唆する曝露量の減少を示した動物の発現頻度は低かった。

39 週間反復投与毒性試験において、5 mg/kg 群（中用量群）の 1 例が試験 20 週に死亡した。死亡例及びイキセキズマブ投与群の他の全動物のデータを精査したが、死因は特定できなかった。39 週間反復投与毒性試験並びに出生前及び出生後の発生に関する試験では、他の 36 例にイキセキズマブ 5 mg/kg（15 例）又は 50 mg/kg（21 例）が 20 回以上（20～39 回）投与されている。胚・胎児発生に関する試験では、5 又は 50 mg/kg の用量（11 例/群、計 22 例）が 18 回投与されている。死亡例と同等以上の用量及び期間投与されたこれらの動物におけるイキセキズマブの忍容性は良好であったことから、1 例の死亡が投与に関連していた可能性は低いと考えられる。

毒性試験の NOAEL は、概して最高用量の 50 mg/kg 週 1 回投与であった。39 週間反復投与毒性試験では 50 mg/kg 群の 12 例中 1 例で持続的かつ顕著な投与部位反応が見られたため NOAEL は 5 mg/kg であったが、この 1 例の所見は、イキセキズマブに対する免疫反応を伴っており、ヒトへの関連性は不明であった。また、投与部位反応は臨床において適切にモニタリングが可能である。このことから、安全域は 50 mg/kg［39 週間反復投与毒性試験の最小毒性量（LOAEL）］に基づいて算出した。カニクイザルの 50 mg/kg 投与における全身曝露量（$AUC_{0\text{-}168hr}$）は、臨床最大曝露量（初回に 160 mg を投与し、以後 80 mg を 2 週間隔で投与したときの定常状態における平均値、CTD 第 5.3.3.5.2 項）と

比較して約 61 倍であった（表 2.6.6-4）。なお、160 mg を投与後、あるいは 80 mg を 4 週間隔で投与時の定常状態における $AUC_{0\text{-}168hr}$ はそれぞれ 1.987 及び 1.560 mg•hr/mL であり、より広い安全域（それぞれ 72 及び 92 倍）が推定される。

以上、モノクローナル抗体の非臨床における安全性評価として、イキセキズマブの毒性試験を実施した。一連の毒性試験において標的器官毒性が見られず、十分な安全域が得られていることから、既存治療で効果不十分な尋常性乾癬を有する成人を対象としたイキセキズマブ投与について申請する用法及び用量は妥当なものと考える。

表 2.6.6-4　　臨床用量（初回に 160 mg を皮下投与し、以後 80 mg を 2 週間隔で皮下投与）と比較したイキセキズマブの安全域

種	用量	定常状態の AUC（mg•hr/mL）	安全域 [a]
ヒト	160 mg の開始用量後に 80 mg Q2W	2.366 [b]	―
カニクイザル	50 mg/kg (LOAEL)	144 [c]	61 倍
	5 mg/kg (NOAEL)	15.3 [d]	6.5 倍

略語：AUC = 血清中濃度－時間曲線下面積、LOAEL = 最小毒性量、NOAEL =無毒性量、 Q2W = 2 週に 1 回

[a] カニクイザルの AUC/ヒトの AUC

[b] 80 mg を 2 週間隔で投与したときの定常状態における $AUC_{0\text{-}168hr}$ の平均値（母集団薬物動態モデル解析における推定値；CTD 第 5.3.3.5.2 項）。160 mg を投与後の $AUC_{0\text{-}168hr}$ の平均値及び 80 mg を 4 週間隔で投与時の定常状態における $AUC_{0\text{-}168hr}$ の平均値は、これよりも低いことが予想される。

[c] カニクイザル 39 週間反復投与毒性試験（7608-478 試験）の試験 267 日における定常状態の平均 $AUC_{0\text{-}168hr}$

[d] カニクイザル 39 週間反復投与毒性試験（7608-478 試験）の定常状態の推定 $AUC_{0\text{-}168hr}$（5 mg/kg 群の試験 267 日における AUC は得られていないため、50 mg/kg 反復投与による蓄積の程度を参考に、試験 1 日の AUC を 2.5 倍した）。

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

1. Chellman GJ, Bussiere JL, Makori N, Martin PL, Ooshima Y, Weinbauer GF. Developmental and reproductive toxicology studies in nonhuman primates. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2009;86:446-462.
2. Cirée A, Michel L, Camilleri-Bröet S, Jean Louis F, Oster M, Flageul B, et al. Expression and activity of IL-17 in cutaneous T-cell lymphomas (mycosis fungoides and Sezary syndrome). Int J Cancer. 2004;112:113-120.
3. He D, Li H, Yusuf N, Elmets CA, Li J, Mountz JD, et al. IL-17 promotes tumor development through the induction of tumor promoting microenvironments at tumor sites and myeloid-derived suppressor cells. J Immunol. 2010;184:2281-2288.
4. Kato T, Furumoto H, Ogura T, Onishi Y, Irahara M, Yamano S, et al. Expression of IL-17 mRNA in ovarian cancer. Biochem Biophys Res Commun. 2001;282:735-738.
5. Kryczek I, Wei S, Zou L, Altuwaijri S, Szeliga W, Kolls J, et al. Cutting edge: Th17 and regulatory T cell dynamics and the regulation by IL-2 in the tumor microenvironment. J Immunol. 2007;178:6730-6733.

6. Li J, Lau GK, Chen L, Dong SS, Lan HY, Huang XR, et al. Interleukin 17A promotes hepatocellular carcinoma metastasis via NF-kB induced matrix metalloproteinases 2 and 9 expression. PLoS One. 2011;6:e21816.

7. Liu J, Duan Y, Cheng X, Chen X, Xie W, Long H, et al. IL-17 is associated with poor prognosis and promotes angiogenesis via stimulating VEGF production of cancer cells in colorectal carcinoma. Biochem Biophys Res Commun. 2011;407:348-354.

8. Nakae S, Komiyama Y, Nambu A, Sudo K, Iwase M, Homma I, et al. Antigen-specific T cell sensitization is impaired in IL-17 deficient mice, causing suppression of allergic cellular and humoral responses. Immunity. 2002;17:375-387.

9. Nam JS, Terabe M, Kang MJ, Chae H, Voong N, Yang Y, et al. Transforming growth factor β subverts the immune system into directly promoting tumor growth through interleukin-17. Cancer Res. 2008;68:3915-3923.

10. Numasaki M, Fukushi J, Ono M, Narula SK, Zavodny PJ, Kudo T, et al. Interleukin-17 promotes angiogenesis and tumor growth. Blood. 2003;101:2620-2627.

11. Numasaki M, Watanabe M, Suzuki T, Takahashi H, Nakamura A, McAllister F, et al. IL-17 enhances the net angiogenic activity and in vivo growth of human non-small cell lung cancer in SCID mice through promoting CXCR-2-dependent angiogenesis. J Immunol. 2005;175:6177-6189.

12. Tartour E, Fossiez F, Joyeux I, Galinha A, Gey A, Claret E, et al. Interleukin-17, a T-cell-derived cytokine, promotes tumorigenicity of human cervical tumors in nude mice. Cancer Res. 1999;59:3698-3704.

13. Wang L, Yi T, Kortylewski M, Pardoll DM, Zeng D, Yu H. IL-17 can promote tumor growth through an IL-6-Stat3 signaling pathway. J Exp Med. 2009;206:1457-1464.

トルツ皮下注80 mg シリンジ
トルツ皮下注80 mg オートインジェクター

2.6.7　毒性試験概要表

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary 1
2.6.7.1 Toxicology: Overview 1
2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies 3
2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data 4
2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance 5
2.6.7.5 Single-Dose Toxicity (Not Applicable) 6
2.6.7.6 Repeat-Dose Toxicity: Non-pivotal Studies (Not Applicable) 6
2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity: 8-Week Study in Cynomolgus Monkeys 7
2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity: 39-Week Study in Cynomolgus Monkeys 9
2.6.7.8 Genotoxicity: In Vitro (Not Applicable) 13
2.6.7.9 Genotoxicity: In Vivo (Not Applicable) 13
2.6.7.10 Carcinogenicity (Not Applicable) 13
2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity: Non-pivotal Studies (Not Applicable) 13
2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity: Male and Female Fertility in Cynomolgus Monkeys 14
2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity: Embryo-Fetal Development in Cynomolgus Monkeys 17
2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Pre- and Postnatal Development in Cynomolgus Monkeys 22
2.6.7.15 Studies in Juvenile Animals (Not Applicable) 29
2.6.7.16 Local Tolerance: (Not Applicable) 29
2.6.7.17A Other Toxicity Studies: Tissue Cross Reactivity 30
2.6.7.17B Other Toxicity Studies: Hemolytic Potential and Compatibility with Blood and Sera 31

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary

2.6.7.1 Toxicology: Overview

Type of Study	Species, Strain	Route	Duration of Dosing	Doses/Concentrations	GLP	Testing Facility	Document ID	Location in CTD
Single-Dose Toxicity – Not Applicable								
Repeat-Dose Toxicity								
8-week with 6-week recovery	Monkey, cynomolgus	Intravenous	8 weeks	0, 5, 15, 50 mg/kg/week	Yes	[redacted]	6180-918	4.2.3.2.1
39-week with 16-week recovery	Monkey, cynomolgus	Subcutaneous	39 weeks	0, 0.5, 5, 50 mg/kg/week	Yes	[redacted]	7608-478	4.2.3.2.2
Genotoxicity – Not Applicable								
Carcinogenicity – Not Applicable								
Reproductive and Developmental Toxicity								
Fertility (male and female)	Monkey, cynomolgus	Subcutaneous	13 weeks	0, 50 mg/kg/week	Yes	[redacted]	20003965	4.2.3.5.1.1
Embryo-fetal	Monkey, cynomolgus	Subcutaneous	Gestation Days 20 through 139	0, 5, 50 mg/kg/week	Yes	[redacted]	[redacted].010.15	4.2.3.5.2.1
Pre/postnatal	Monkey, cynomolgus	Subcutaneous	Gestation Day 20-22 until parturition	0, 5, 50 mg/kg/week	Yes	[redacted]	20018253	4.2.3.5.3.1

(Continued)

2.6.7.1 Toxicology: Overview (Continued)

Type of Study	Species, Strain	Route	Duration of Dosing	Doses/Concentrations	GLP	Testing Facility	Document ID	Location in CTD
Local Tolerance – Not Applicable								
Other Toxicity Studies								
Ex vivo tissue cross-reactivity	Human and monkey, cynomolgus	Ex vivo	NA	0.5, 2.5 µg/mL	Yes	[redacted]	KTA00027	4.2.3.7.7.1
In vitro hemolytic potential and compatibility	Human and monkey, cynomolgus	In vitro	NA	0, 5, 25 mg/mL mixed 1:1 with whole blood, and mixed at ratios of 1:2 through 1:50 with serum	Yes	Eli Lilly and Company, Greenfield, Indiana	N00024	4.2.3.7.7.2

Abbreviation: GLP = Good Laboratory Practice, NA = not applicable.

2.6.7.2　Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies

Type of Study	Species, Strain	Route	Doses (mg/kg/week)	GLP	Document ID	Location in CTD
Repeat-dose, 8-week	Monkey, cynomolgus	Intravenous	5, 15, 50	Yes	6180-918	4.2.3.2.1
Repeat-dose, 39-week	Monkey, cynomolgus	Subcutaneous	0.5, 5, 50	Yes	7608-478	4.2.3.2.2
Fertility (male and female)	Monkey, cynomolgus	Subcutaneous	50	Yes	20003965	4.2.3.5.1.1
Embryo-fetal[a]	Monkey, cynomolgus	Subcutaneous	5, 50	Yes	[redacted].010.15	4.2.3.5.2.1
Pre/postnatal[a]	Monkey, cynomolgus	Subcutaneous	5, 50	Yes	20018253	4.2.3.5.3.1

Abbreviation: GLP = Good Laboratory Practice.

[a] Concentrations were measured at limited time points. Therefore, no toxicokinetic parameters were reported.

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data

			C_{max} (µg/mL) and $AUC_{0\text{-}168hr}$ (µg•hr/mL)			
			Monkey, cynomolgus			
	Day of	Route of	C_{max}		$AUC_{0\text{-}168hr}$	
Weekly Dose (mg/kg)	Dose	Administration	M	F	M	F
0.5	1	SC	5.11[a]	4.62[a]	705[a]	615[a]
5	1	IV	104[b]	110[b]	7160[b]	8580[b]
5	1	SC	43.9[a]	45.8[a]	6043[a]	6166[a]
15	1	IV	463[b]	507[b]	30100[b]	35100[b]
50	1	IV	1700[b]	1670[b]	104000[b]	109000[b]
50	1	SC	423[a]	450[a]	57160[a]	58312[a]
50	1	SC	426[c]	456[c]	59995[c]	63398[c]
50	57	IV	2610[d]	1900[d]	241000[d]	180000[d]
50	85	SC	1238[e]	1073[e]	179279[e]	153865[e]
50	267	SC	1215[f]	855[f]	168595[f]	119305[f]

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}168hr}$ = area under the serum concentration-time curve from 0 to 168 hour time point, C_{max} = maximum observed serum concentration, F = female, IV = intravenous, M = male, SC = subcutaneous.

[a] C_{max} and $AUC_{0\text{-}168hr}$ at Day 1 (Study 7608-478).

[b] C_{max} and $AUC_{0\text{-}168hr}$ at Day 1 (Study 6180-918).

[c] C_{max} and $AUC_{0\text{-}168hr}$ at Day 1 (Study 20003965).

[d] C_{max} and $AUC_{0\text{-}168hr}$ at Day 57 (Study 6180-918).

[e] C_{max} and $AUC_{0\text{-}168hr}$ at Day 85 (Study 20003965).

[f] C_{max} and $AUC_{0\text{-}168hr}$ at Day 267 (Study 7608-478).

2.6.7.4　Toxicology: Drug Substance

		Specified Impurity or Purity					
Lot Number	Purity	Total Aggregates	[redacted] Purity ([redacted] CE-SDS)	Purity ([redacted] CE-SDS)	Document ID	Location in CTD	Type of Study
Specification[a]:	[redacted]%	NMT [redacted]%	NLT [redacted]%	NLT [redacted]%	NA		NA
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	NLT [redacted]%	[redacted]	6180-918	4.2.3.2.1	Repeat-dose, 8-week, monkey
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	NLT [redacted]%	[redacted]	KTA00027	4.2.3.7.7.1	Ex vivo tissue cross reactivity
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	NLT [redacted]%	[redacted]	N00024	4.2.3.7.7.2	In vitro hemolytic potential and compatibility
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]	20003965	4.2.3.5.1.1	Fertility, monkey
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	7608-478	4.2.3.2.2	Repeat-dose, 39-week, monkey
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted].010.15	4.2.3.5.2.1	Embryo-fetal, monkey
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	20018253	4.2.3.5.3.1	Pre/postnatal, monkey

Abbreviations: CE-SDS = capillary electrophoresis sodium dodecyl sulfate, NA = not applicable, NLT = not less than, NMT = not more than.

[a] Specifications are provided for drug substance at end of shelf-life.

2.6.7.5　Single-Dose Toxicity (Not Applicable)

2.6.7.6　Repeat-Dose Toxicity: Non-pivotal Studies (Not Applicable)

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity: 8-Week Study in Cynomolgus Monkeys

Report title: A Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Cynomolgus Monkeys Given LY2439821 Once Weekly by Intravenous Injection for 8 Weeks with a 6-Week Recovery

Species/strain: Monkey/cynomolgus
Initial age: approximately 2 to 4 years
Date of first dose: 7 [redacted] 20[redacted]
NOAEL: 50 mg/kg

Duration of dosing: 8 weeks (total of nine doses)
Duration of reversibility: 6 weeks
Route: Intravenous
Vehicle: 10 mM sodium citrate buffer (pH 6.0 ± 0.2) 150 mM sodium chloride 0.2% polysorbate 80, prepared in Sterile Water for Injection, USP]

Document ID: 6180-918
Location in CTD: 4.2.3.2.1
GLP compliance: Yes
Test Article: Ixekizumab

Special features: Safety pharmacology (neurological and respiratory examinations, body temperature, qualitative and quantitative electrocardiograms); immunotoxicity (peripheral blood immunophenotyping [Total T-cells, T-helper cells, T-cytotoxic cells, B-cells, NK cells]; T-cell-dependent antibody response to KLH); immunogenicity

Toxicokinetics

Sample: Monkey serum — Number of animals: 3-6/sex/group
Feeding condition: Fed — Dose frequency: Once weekly — Assay/Method: ELISA/1515

Weekly Dose (mg/kg)	5		15		50	
Sex	M	F	M	F	M	F
Toxicokinetics, Day 1						
C_{max} (µg/mL)	104	110	463	507	1700[a]	1670[a]
(SD)	(1.53)	(14.6)	(73.1)	(87.5)	(262)	(257)
$AUC_{0\text{-}168hr}$ (µg•hr/mL)	7160	8580	30100	35100	104000[a]	109000[a]
(SD)	(359)	(995)	(5370)	(5610)	(11600)	(16700)
Toxicokinetics, Day 57[b]						
C_{max} (µg/mL)	NA	NA	NA	NA	2610[c]	1900[c]
(SD)					(81.4)	(356)
$AUC_{0\text{-}1008hr}$ (µg•hr/mL)	NA	NA	NA	NA	540000[c]	432000[c]
(SD)					(87800)	(66800)
$AUC_{0\text{-}168hr}$ (µg•hr/mL)	NA	NA	NA	NA	241000[c]	180000[c]
(SD)					(25400)	(4000)
Half-life (hr)	NA	NA	NA	NA	303[c]	276[c]
(SD)					(71.6)	(61.5)

(Continued)

2.6.7.7A　Repeat-Dose Toxicity: 8-Week Study in Cynomolgus Monkeys (Concluded)

Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		15		50	
Sex:Number of Animals	M:6[d]	F:6[d]	M:3	F:3	M:3	F:3	M:6[d]	F:6[d]
Noteworthy Findings								
Number died or euthanized moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical signs	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption, qualitative	-	-	-	-	-	-	-	-
Safety pharmacology	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunotoxicity								
Peripheral blood immunophenotyping	-	-	-	-	-	-	-	-
T-cell-dependent antibody response	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunogenicity[e]	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical pathology								
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-

Abbreviations: - = no important findings, $AUC_{0\text{-}1008hr}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 1008 hour time point, $AUC_{0\text{-}168hr}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 168 hour time point, C_{max} = maximum observed concentration, ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, F = female, GLP = Good Laboratory Practice, KLH = keyhole limpet hemocyanin, M = male, NA = not applicable, NK = natural killer, NOAEL = no-observed-adverse-effect level, SD = standard deviation, USP = United States Pharmacopeia.

[a] Number of animals = 6

[b] Serum toxicokinetic samples were not collected after dosing on Day 57 for the 5 and 15 mg/kg dose groups.

[c] Number of animals = 3

[d] The last 3 animals/sex were designated as recovery animals. These animals were dosed with test article or control article for at least 8 weeks, after which dosing was discontinued, and reversibility of any toxicity was assessed after 6 weeks of recovery.

[e] All samples were negative for anti-drug antibodies. Although the presence of high concentrations of LY2439821 in the samples (>10 μg/mL) may have interfered with the accuracy of the immunogenicity assay, the toxicokinetic profiles are not suggestive of the presence of neutralizing anti-drug antibodies.

2.6.7.7B　Repeat-Dose Toxicity: 39-Week Study in Cynomolgus Monkeys

Report title: A Repeat-Dose Toxicity, Toxicokinetic, and Immunotoxicology Study in Cynomolgus Monkeys Given LY2439821 by Subcutaneous Injection Once Weekly for 9 Months with a 4-Month Recovery

Species/strain: Monkey/cynomolgus	Duration of dosing: 39 weeks	Document ID: 7608-478
Initial age: Approximately 2 to 4 years	Duration of reversibility: 16 weeks	Location in CTD: 4.2.3.2.2
Date of first dose: 17[redacted]20[redacted]	Route: Subcutaneous	GLP compliance: Yes
NOAEL: 5 mg/kg	Vehicle: 10 mM sodium citrate buffer, pH 6.0 ± 0.2, 150 mM sodium chloride, 0.02% polysorbate 80, prepared in Sterile Water for Injection, USP	Test Article: Ixekizumab

Special features: Safety pharmacology (neurological examinations, qualitative and quantitative electrocardiograms); immunotoxicity (peripheral blood immunophenotyping [Total T-cells, T-helper cells, T-cytotoxic cells, B-cells, NK cells], T-cell-dependent antibody response to KLH, NK cell cytotoxicity assay); immunogenicity

(Continued)

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity: 39-Week Study in Cynomolgus Monkeys (Continued)

Toxicokinetics

Sample: Monkey serum					Number of animals: 4-6/sex/group		
Feeding condition: Fed	Dose frequency: Once weekly				Assay/Method: ELISA/1515		
Weekly Dose (mg/kg)	0.5		5		50		
Sex	M	F	M	F	M	F	
Toxicokinetics, Day 1							
C_{max} (µg/mL)	5.11	4.62	43.9	45.8	423[a]	450[a]	
(SD)	(0.58)	(0.34)	(5.1)	(3.2)	(59)	(60)	
$AUC_{0\text{-}168hr}$ (µg•hr/mL)	705	615	6043	6166	57160[a]	58312[a]	
(SD)	(89)	(30)	(698)	(268)	(7322)	(4249)	
T_{max} (hr)	96.0	102	72.0	66.0	52.0[a]	40.0[a]	
(SD)	(27.7)	(53)	(0)	(12.0)	(9.8)	(12.4)	
Toxicokinetics, Day 267[b]							
C_{max} (µg/mL)	NA	NA	NA	NA	1215[c]	855[c]	
T_{max} (hr)	NA	NA	NA	NA	48.0[c]	48.0[c]	
$AUC_{0\text{-}t}$ (µg•hr/mL)	NA	NA	NA	NA	518330[c]	233474[c]	
$AUC_{0\text{-}2688hr}$ (µg•hr/mL)	NA	NA	NA	NA	518330[c]	244058[c]	
$AUC_{0\text{-}168hr}$ (µg•hr/mL)	NA	NA	NA	NA	168595[c]	119305[c]	
Half-life (hr)	NA	NA	NA	NA	337[c]	188[c]	

(Continued)

2.6.7.7B　Repeat-Dose Toxicity: 39-Week Study in Cynomolgus Monkeys (Continued)

Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.5		5		50	
Sex:Number of Animals	M:6[d]	F:6[d]	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6[d]	F:6[d]
Noteworthy Findings								
Number died or euthanized moribund[e]	0	0	0	0	1	0	0	0
Clinical signs (n[f])								
Injection sites								
Swollen	0	0	2	0	2	1	1	2
Scabs	1	1	0	0	0	1	0	1
Red skin	0	1	0	0	0	0	0	2
Body weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption, qualitative	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Safety pharmacology	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunotoxicity								
Peripheral blood immunophenotyping	-	-	-	-	-	-	-	-
T-cell-dependent antibody response	-	-	-	-	-	-	-	-
NK cell cytotoxicity assay	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunogenicity (n - recovery animals[g,h)]	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
Clinical pathology								
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology (n[f])								
Injection sites (dosing-phase necropsy)								
Discolored	1	1	0	0	2	1	1	0
Thickened	0	0	0	0	0	0	0	1
Organ weight	-	-	-	-	-	-	-	-

(Continued)

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity: 39-Week Study in Cynomolgus Monkeys (Concluded)

Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.5		5		50	
Sex:Number of Animals	M:6[d]	F:6[d]	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6[d]	F:6[d]
Histopathology (n[f])								
Injection sites (dosing-phase necropsy)								
Inflammation	4	3	2	1	4	4	4	4
Hemorrhage	1	2	0	0	2	2	1	3
Necrosis	0	0	0	0	1	1	0	2
Vasculitis	0	0	0	0	0	0	0	1
Injection sites (recovery-phase necropsy)								
Inflammation	0	0	NA	NA	NA	NA	1	2

Abbreviations: - = no important findings, AUC_{0-t} = area under the concentration-time curve from 0 to t hour time point, $AUC_{0-2688hr}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 2688 hr time point, $AUC_{0-168hr}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 168 hour time point, C_{max} = maximum observed concentration, ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, F = female, GLP = Good Laboratory Practice, KLH = keyhole limpet hemocyanin, M = male, n = number of animals, NA = not applicable, NK = natural killer, NOAEL = no-observed-adverse-effect level, SD = standard deviation, T_{max} = time to maximum concentration, USP = United States Pharmacopeia.

a Number of animals = 6

b Serum toxicokinetic samples were not collected after dosing on Day 267 for the 0.5 and 5 mg/kg dose groups.

c Number of animals = 2

d The last 2 animals/sex were designated as recovery animals. These animals were dosed with test article or control article for at least 39 weeks, after which dosing was discontinued, and reversibility of any toxicity was assessed after 16 weeks of recovery.

e On Day 140, Animal No. I03242 (5-mg/kg male) was found dead. No adverse clinical signs, changes in clinical pathology or immunophenotyping parameters, evidence of parasitic infection, qualitative or quantitative abnormalities during electrocardiographic examinations, or anatomic pathology abnormalities were evident. Cause of death for this animal was not determined. Since no deaths occurred in the 50 mg/kg dose group and no compound-related adverse effects were noted at the 5 or 50 mg/kg dose levels that could account for the death, this death was not attributed to administration of ixekizumab.

f Incidence reflects a finding reported for at least one of the four ixekizumab injection sites (Site A, B, C, or D) for a given animal. For animals where the finding occurred at multiple dose sites, the finding was counted as an incidence of one.

g Animal No. I03265 (50-mg/kg female) from the dosing phase was observed to have high anti-drug antibody titers but could not be evaluated against pretreatment for assignment of treatment-induced immunoreactivity. This animal was placed on a dosing holiday starting on Day 210 due to the severity of the observed injection site changes. The animal was removed from dosing holiday on Day 266, received the final dose administered on study, and was necropsied on Day 268 with the other dosing-phase animals as originally scheduled.

h The presence of ixekizumab in serum samples can interfere with the accuracy of the immunogenicity assay. There is a potential for reporting false negatives or underestimated titers due to the presence of ixekizumab in serum samples from 50-mg/kg animals.

2.6.7.8　Genotoxicity: In Vitro (Not Applicable)

2.6.7.9　Genotoxicity: In Vivo (Not Applicable)

2.6.7.10　Carcinogenicity (Not Applicable)

2.6.7.11　Reproductive and Developmental Toxicity: Non-pivotal Studies (Not Applicable)

2.6.7.12　Reproductive and Developmental Toxicity: Male and Female Fertility in Cynomolgus Monkeys

Report title: A Repeat-Dose Fertility Study in Cynomolgus Monkeys Given LY2439821 by Subcutaneous Injection Once Weekly for 3 Months

Design similar to ICH S6(R1): Yes	Duration of dosing: 13 weeks (males and females)	Document ID: 20003965
Species/strain: Monkey/cynomolgus	Day of mating: NA	Location in CTD: 4.2.3.5.1.1
Initial age: Males, 5.9 to 9.0 years Females, 4.5 to 6.3 years	Day of C-section: NA	GLP compliance: Yes
Date of first dose: 25 [redacted] 20[redacted]	Route: Subcutaneous	Test Article: Ixekizumab
NOAEL: Male and female general toxicity: 50 mg/kg Male and female fertility: 50 mg/kg	Vehicle: 10 mM sodium citrate buffer, pH 6.0 ± 0.2, 150 mM sodium chloride, 0.02% polysorbate 80, prepared in Sterile Water for Injection, USP	

Special features: Sexually mature males and females were assigned to study. Male sperm viability, concentration, and morphology were assessed, and reproductive organs were evaluated histologically. Female menstrual cycles were monitored throughout the study, and reproductive organs were evaluated histologically. Animals were not mated on this study.

(Continued)

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity: Male and Female Fertility in Cynomolgus Monkeys (Continued)

Toxicokinetics		
Sample: Monkey Serum		Number of animals: 6/sex/group (total = 12)
Feeding condition: Fed	Dose frequency: Once weekly	Assay/Method: ELISA/1515
Weekly Dose (mg/kg)	50	50
Sex	M	F
Toxicokinetics, Day 1		
T_{max} (hr)	60.0	48.0
(SD)	(29.4)	(26.3)
C_{max} (µg/mL)	426	456
(SD)	(63.9)	(60.6)
$AUC_{0\text{-}168hr}$ (µg•hr/mL)	59995	63398
(SD)	(10771)	(6686)
C_{max}/Dose ([µg/mL]/[mg/kg/week])	8.52	9.11
(SD)	(1.28)	(1.21)
$AUC_{0\text{-}168hr}$/Dose ([µg•hr/mL]/[mg/kg/week])	1200	1268
(SD)	(215)	(134)
Toxicokinetics, Day 85		
T_{max} (hr)	40.0	36.0
(SD)	(29.1)	(13.1)
C_{max} (µg/mL)	1238	1073
(SD)	(259)	(125)
$AUC_{0\text{-}168hr}$ (µg•hr/mL)	179279	153865
(SD)	(40962)	(18128)
C_{max}/Dose ([µg/mL]/[mg/kg/week])	24.8	21.5
(SD)	(5.18)	(2.50)
$AUC_{0\text{-}168hr}$/Dose ([µg•hr/mL]/[mg/kg/week])	3586	3077
(SD)	(819)	(363)

(Continued)

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity: Male and Female Fertility in Cynomolgus Monkeys (Concluded)

Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control)	0 (Control)	50	50
Sex	M	F	M	F
Number evaluated	6	6	6	6
Number died or euthanized moribund	0	0	0	0
Clinical signs	-	-	-	-
Body weight gain, Days -1 to 91	-	-	-	-
Food consumption, qualitative	-	-	-	-
Mean menstrual cycle	NA	-	NA	-
Sperm motility, week 13	-	NA	-	NA
Sperm count, week 13	-	NA	-	NA
Sperm morphology	-	NA	-	NA
Organ weight to body weight ratio[a]	-	-	-	-
Clinical pathology				
Hematology	-	-	-	-
Clinical biochemistry	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-
Histopathology reproductive tissue	-	-	-	-

Abbreviations: - = no important findings, $AUC_{0\text{-}168hr}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 168 hour time point; C_{max} = maximum observed concentration, ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, F = female, M = male, NA = not applicable, NOAEL = no-observed-adverse-effect level, SD = standard deviation, T_{max} = time to maximum concentration.

[a] Organs weighed were testes, epididymides, prostate, ovaries, and uterus.

[b] Includes cervix, epididymides, mammary gland, ovaries, pituitary, prostate, seminal vesicles, testes, uterus, and vagina.

2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity: Embryo-Fetal Development in Cynomolgus Monkeys

Report title: An Assessment of the Effects of LY2439821 on Embryo-Fetal Development When Administered Weekly by Subcutaneous Injection to Pregnant Cynomolgus Monkeys from Gestation Day 20 through 139

Design similar to ICH S6(R1): Yes

Species/strain: Monkey/cynomolgus

Initial age: 5.7 to 9.8 years old

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

NOAEL: F0 females: 50 mg/kg
F1 EFD: 50 mg/kg

Duration of dosing: Gestation Day 20 through Gestation Day 139 (once weekly dose for 18 weeks)

Day of mating: Gestation Day 0

Day of cesarean section: Gestation Day 140 to 142

Route: Subcutaneous

Vehicle: 10 mM sodium citrate buffer, pH 6.0 ± 0.2, 150 mM sodium chloride, 0.02% polysorbate 80, prepared in Sterile Water for Injection, USP

Document ID: [redacted].010.15

Location in CTD: 4.2.3.5.2.1

GLP compliance: Yes

Test Article: Ixekizumab

Special features: Toxicokinetics (ixekizumab concentrations in maternal and fetal cord serum, and amniotic fluid); immunotoxicity (maternal and fetal peripheral blood immunophenotyping [Total T-cells, T-helper cells, T-cytotoxic cells, B-cells, NK cells]); immunogenicity (dams); fetal lymphoid organ histopathology; immunogenicity (anti-drug antibodies in amniotic fluid and fetal cord blood)

Toxicokinetics	
Sample: Monkey Serum and Amniotic Fluid	Number of animals: 12-13/group
Feeding condition: Fed	Assay/Method: ELISA/1515 (serum and amniotic fluid[a])

(Continued)

2.6.7.13　Reproductive and Developmental Toxicity: Embryo-Fetal Development in Cynomolgus Monkeys (Continued)

	Maternal Serum Concentrations (μg/mL) on Gestation Day[b]									
Weekly	Day 20		Day 34		Day 48		Day 76		Day 139	Cesarean[c]
Dose	0 hr	48 hr	0 hr	48 hr	0 hr	48 hr	0 hr	48 hr	0 hr	
5 mg/kg										
Mean	NC	40.550	57.283	85.383	60.425	89.125	64.425	89.367	66.570	78.655
SD	NC	9.247	5.740	12.880	10.535	17.882	13.686	18.835	15.507	16.579
n[d]	NC	12	12	12	12	12	12	12	10[e,f]	11[e]
50 mg/kg										
Mean	NC	477.333	526.333	1036.000	598.583	1024.750	679.917	1064.583	636.273	835.909
SD	NC	72.188	95.273	354.975	153.456	276.834	209.310	358.448	186.722	202.042
n	NC	12	12	12	12	12	12	12	11[g]	11[g]

(Continued)

2.6.7.13　Reproductive and Developmental Toxicity: Embryo-Fetal Development in Cynomolgus Monkeys (Continued)

	Serum Concentrations at Cesarean Section in Maternal Serum, Fetal Cord Blood and Amniotic Fluid		
	Cesarean Section: Day 140 to 142		
Weekly Dose	Maternal Serum (μg/mL)	Fetal Cord Blood (μg/mL)	Amniotic Fluid (μg/mL)
5 mg/kg			
Mean	78.655	19.973	2.086
SD	16.579	6.690	1.701
n[d]	11[e]	10[e,f]	10[e,f]
50 mg/kg			
Mean	835.909	153.670	13.565
SD	202.042	32.978	12.051
n	11[g]	10[g,h]	10[g,i]

(Continued)

2.6.7.13　Reproductive and Developmental Toxicity: Embryo-Fetal Development in Cynomolgus Monkeys (Continued)

	Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control)	5	50
Dams	Number per group	12	12[d]	12
	Number gravid on Gestation Day 140	10	11	11
	Number died or euthanized moribund	0	0	0
	Clinical signs	-	-	-
	Body weight gain, Gestation Days 19-137	-	-	-
	Food consumption, qualitative	-	-	-
	Immunotoxicity			
	Peripheral blood immunophenotyping	-	-	-
	Immunogenicity	-	-	-
	Hematology	-	-	-
	Gross pathology	-	-	-
Fetuses	Number of fetuses evaluated	10	12[j]	11
	Number delivered prematurely	0	1	0
	Number in utero deaths/stillbirths	2	1	1
	Fetal weight	-	-	-
	Fetal sex ratios	-	-	-
	Fetal anomalies (Number of fetuses examined)	10	12	11
	External/visceral/skeletal abnormalities	0	0	0
	External variation (Number of fetuses)[k]	1	1	1
	Pale	1	0	0
	Foot malrotated and toes curled	0	1	0
	Enlarged scrotal area	0	0	1
	Engorged umbilical cord	0	0	1

(Continued)

2.6.7.13　Reproductive and Developmental Toxicity: Embryo-Fetal Development in Cynomolgus Monkeys (Concluded)

	Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control)	5	50
Fetuses (concluded)	Visceral variation (Number of fetuses)[k]	1	0	1
	Liver left lobe small	1	0	0
	Lung lobes fused	0	0	1
	Skeletal variation (Number of fetuses)[k]	1	3	3
	Ribs extra lumber region	1	3	3
	Number of vertebral centrum with ossified centers (mean)	53.4	53.2	53.7
	Skeletal measurements[l]	-	-	-
	Immunotoxicity			
	Peripheral blood immunophenotyping	-	-	-
	Gross pathology	-	-	-
	Histopathology, lymphoid organs[m]	-	-	-

Abbreviations: - = no important changes, EFD = embryo-fetal development, ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, GLP = Good Laboratory Practice, n = number of animals, NA = not applicable, NC = not calculated, NK = natural killer, NOAEL = no-observed-adverse-effect level, SD = standard deviation, USP = United States Pharmacopeia.

a Method validation was conducted in monkey serum. Amniotic fluid samples were analyzed using the monkey serum method.

b Gestation Day 0 = the middle day of a 3-day mating session.

c Cesarean section performed 24 to 72 hours after the final dose (Days 140 to 142).

d Thirteen monkeys were placed in this group. One monkey was removed from study on Gestation Day 26 because she was determined to be nongravid.

e No samples were collected; Animal 207 delivered a stillborn neonate on Gestation Day 124.

f No samples were collected; Animal 208 delivered a viable neonate on Gestation Day 139.

g No samples collected; Animal 307 was confirmed as having fetal loss on Gestation Day 123.

h Sample from Animal 306 was not analyzed due to inability to collect sufficient sample volume.

i Animal 308 sample was not analyzed and discarded due to sample label discrepancies.

j Includes one fetus evaluated after Cesarean section on Gestation Day 123.

k Individual fetuses may occur in more than one category.

l Skeletal measurements were taken on the humerus, radius, ulna, femur, tibia, and fibula.

m Lymphoid organs evaluated included spleen, thymus, and lymph nodes (mesenteric, axillary, and/or inguinal).

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Pre- and Postnatal Development in Cynomolgus Monkeys

Report title: An Assessment of LY2439821 on Pre- and Postnatal Development When Administered by Subcutaneous Injection Once Weekly to Pregnant Cynomolgus Monkeys

Design similar to ICH S6(R1) :Yes

Species/strain: Monkey/cynomolgus

Initial age: 3.4 to 9.1 years

Date of first dose: 20[redacted]20[redacted]

NOAEL:

F_0 general toxicity and reproduction: 50 mg/kg

F_1 survival, growth and development: 50 mg/kg

Duration of dosing: Gestation Day 20-22 until parturition [approximately Gestation Day 160, maximum 22 doses]

Day of mating: Gestation Day 0

Route: Subcutaneous

Vehicle: 10 mM sodium citrate buffer, pH 6.0 ± 0.2, 150 mM sodium chloride, 0.02% polysorbate 80, prepared in Sterile Water for Injection, USP

Document ID: 20018253

Location in CTD: 4.2.3.5.3.1

GLP compliance: Yes

Test Article: Ixekizumab

Special features: Toxicokinetics (ixekizumab concentrations in maternal milk and maternal and infant serum); immunotoxicity (peripheral blood immunophenotyping in mothers and infants [Total T-cells, T-helper cells, T-cytotoxic cells, B-cells, NK cells]; T-cell-dependent antibody response to KLH, NK cell cytotoxicity assay in infants); infant hematology, neurobehavioral and neurological assessments; immunogenicity (anti-drug antibody samples were collected and discarded without analysis)

Toxicokinetics

Sample: Monkey serum and milk

Feeding condition: Fed	Dose frequency: Once weekly	Assay/Method: ELISA/1515 (Serum) ELISA/non-GLP ELISA-based method 4306 (Milk)

(Continued)

2.6.7.14　Reproductive and Developmental Toxicity: Pre- and Postnatal Development in Cynomolgus Monkeys (Continued)

	Maternal Serum Concentrations (μg/mL) on Gestation Day					
	Day 20-22		Day 70		Day 140	
Weekly Dose	0 hr	48 hr	0 hr	48 hr	0 hr	48 hr
5 mg/kg						
Mean	NA	49.5	60.0	82.2	62.4	79.7
SD	NA	12.8	29.7	35.5	27.8	34.6
n	NA	18	16	16	15	15
50 mg/kg						
Mean	NA	592	683	946	700	967
SD	NA	142	242	285	298	298
n	NA	18	18	18	16	16

	Milk Concentrations (μg/mL) on Postpartum Day			
Weekly Dose	Day 14	Day 28	Day 42	Day 56
5 mg/kg				
Mean	0.0509	0.0206	0.00639	0.00130
SD	0.0280	0.0127	0.00595	0.00179
n	8	9	9	5
50 mg/kg				
Mean	0.290	0.106	0.0432	0.0284
SD	0.190	0.0701	0.0371	0.0430
n	7	8	9	8

(Continued)

2.6.7.14　Reproductive and Developmental Toxicity: Pre- and Postnatal Development in Cynomolgus Monkeys (Continued)

	Maternal Serum Concentrations (μg/mL) on Postpartum Day						
Weekly Dose	Day 7	Day 14	Day 28	Day 42	Day 56	Day 84	Day 205
5 mg/kg							
Mean	44.2	22.8	10.2	3.22	1.32	0.288	0.00
SD	21.3	13.5	5.97	2.00	0.897	0.284	0.00
n	10	10	10	10	10	10	10
50 mg/kg							
Mean	432	281	104	49.1	20.3	4.53	0.0185
SD	231	155	66.5	37.1	13.4	4.96	0.0344
n	9	9	9	9	9	9	9

	Serum Concentrations in Female Infants (μg/mL) on Birth Day						
Weekly Dose	Day 7	Day 14	Day 28	Day 42	Day 56	Day 84	Day 205
5 mg/kg							
Mean	11.7	9.14	4.22	1.70	0.805	0.196	0.00
SD	7.64	5.18	2.41	0.956	0.505	0.159	0.00
n	8	8	8	8	8	8	8
50 mg/kg							
Mean	201	146	65.7	30.2	11.9	3.29	0.00888
SD	89.6	61.7	29.2	15.7	4.54	1.53	0.00541
n	5	5	5	5	5	5	5

(Continued)

2.6.7.14　Reproductive and Developmental Toxicity: Pre- and Postnatal Development in Cynomolgus Monkeys (Continued)

	Serum Concentrations in Male Infants (μg/mL) on Birth Day						
Weekly Dose	Day 7	Day 14	Day 28	Day 42	Day 56	Day 84	Day 205
5 mg/kg							
Mean	15.1	12.8	6.48	2.85	1.45	0.499	0.00
SD	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
n	2	2	2	2	2	2	2
50 mg/kg							
Mean	337	234	95.7	60.0	22.0	6.50	0.0176
SD	179	127	68.7	35.5	14.5	4.94	0.0352
n	4	4	3	3	4	4	4

(Continued)

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Pre- and Postnatal Development in Cynomolgus Monkeys (Continued)

	Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control)	5	50
F_0 Females	Number pregnant	18	18	18
	Number died or euthanized moribund	0	0	0
	Number aborted	2	3	2
	Number of stillbirths	2	3	2
	Maternal rejection	0	0	3
	Clinical signs	-	-	-
	Body weight gain			
	Gestation Days 20/21/22-137	-	-	-
	Postpartum Days 1/2-203	-	-	-
	Food consumption	-	-	-
	Immunotoxicity			
	Peripheral blood immunophenotyping	-	-	-
	Hematology	-	-	-
	Embryo/Fetal measurement during gestation[b]	-	-	-
	Necropsy observations	NA	NA	NA
	Mean duration of gestation (days)	160	158	157
	Abnormal parturition	-	-	-

(Continued)

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Pre- and Postnatal Development in Cynomolgus Monkeys (Continued)

	Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control)	5	50
F_1 Infants	Number of infants delivered	14	12	14
	Number of infant losses	0	2	5[c]
	Clinical signs	-	-	-
	Detailed physical examination	-	-	-
	Body weight Postpartum Day 1/2	-	-	-
	Body weight gain, Postpartum Days 1-203	-	-	-
	Neurobehavioral/Neurological assessment	-	-	-
	Ophthalmology	-	-	-
	Heart rate	-	-	-
	Immunotoxicity			
	Peripheral blood immunophenotyping	-	-	-
	T-cell-dependent antibody response	-	-	-
	Hematology	-	-	-

(Continued)

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Pre- and Postnatal Development in Cynomolgus Monkeys (Concluded)

	Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control)	5	50
F_1 Infants (concluded)	External morphometric measurements[d]	-	-	-
	External anomalies			
	Atresia ani with rectovaginal fistula	0	1	0
	Infant sex ratio on Day 1 (% males)	-	-	-
	Postpartum Day 205 ± 2 evaluations			
	External	-	-	-
	Visceral	-	-	-
	Organ weight	-	-	-
	Histopathology observations	-	-	-
	Skeletal evaluation (early deaths only)	-	-	-

Abbreviations: - = no important findings, ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, GLP = Good Laboratory Practice, KLH = keyhole limpet hemocyanin, n = number of animals, NA = not applicable, NC = not calculated, NK = natural killer, NOAEL = no-observed-adverse-effect level, SD = standard deviation, USP = United States Pharmacopeia.

[a] Infant euthanized due to maternal rejection.

[b] Fetal measurements included crown-rump length, biparietal diameter, head circumference, femur length, and heart rate. These parameters were assessed on multiple days of gestation. There were no adverse effects on any parameter on any day measured.

[c] Three of the 5 infant losses were due to maternal rejection.

[d] External morphometric measurements included crown-rump length, chest circumference, femur length, foot length, biparietal diameter, horizontal head circumference, and anogenital distance. These parameters were assessed on multiple days postpartum. There were no adverse effects on any parameter on any day measured.

2.6.7.15　Studies in Juvenile Animals (Not Applicable)

2.6.7.16　Local Tolerance: (Not Applicable)

Please refer to Table 2.6.7.7.B, Injection sites.

2.6.7.17A　Other Toxicity Studies: Tissue Cross Reactivity

Species Strain	Route	Concentrations	Noteworthy Findings	Document ID (Location in CTD)
Monkey/ cynomolgus, human	Ex vivo	0, 0.5, 2.5 μg/mL	No specific ixekizumab staining was observed in any human or cynomolgus monkey tissues.	KTA00027 (4.2.3.7.7.1)

2.6.7.17B　Other Toxicity Studies: Hemolytic Potential and Compatibility with Blood and Sera

Species Strain	Route	Concentrations	Noteworthy Findings	Document ID (Location in CTD)
Monkey/ cynomolgus, human	In vitro	0, 5, 25 mg/mL mixed 1:1 with whole blood, and mixed at ratios of 1:2 through 1:50 with serum	Ixekizumab did not cause any important changes in hemolysis or serum flocculation when mixed with monkey or human whole blood or serum. Minor, dose-dependent hemolysis occurred in monkey and human whole blood at ixekizumab final concentrations of 2.5 and 12.5 mg/mL. Based on the small magnitude of the change, in vivo hemolysis was considered unlikely at either of these concentrations.	N00024 (4.2.3.7.7.2)