

## 第 2 部 CTD の概要

JAN あるいは販売名 :	イダルシズマブ (遺伝子組換え)	
剤形・含量 :	注射剤・50 mg/mL	
文書名 :	2.6.6 毒性試験の概要文	
文書作成日 :	17 August 2016	<b>Page 1 of 25</b>
Proprietary confidential information		
© 2016 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.		
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission		



## 略語一覧及び用語の定義

aPTT	activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AUC	area under the concentration-time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
Bb	biomarker of alternative complement pathway activation	副補体経路活性化バイオマーカー
C3	complement 3	補体因子 3
C3a	complement component 3a (anaphylatoxin)	補体因子 3 の活性型 (アナフィラトキシン)
C3d-CIC	C3d-conjugated circulating immune complex	C3d 結合循環免疫複合体
C4a	complement component 4a	補体因子 4 の活性型
CHO	Chinese Hamster Ovary	チャイニーズハムスター卵巣
CIC	circulating immune complex(es)	循環免疫複合体
C1q-CIC	C1q-conjugated circulating immune complex	C1q 結合循環免疫複合体
C <sub>max</sub>	maximum concentration	最高血漿中濃度
DE	dabigatran etexilate	ダビガトランエテキシラート
dTT	diluted thrombin time	希釈トロンビン時間
ECT	ecarin clotting time	エカリン凝固時間
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
Fab	monoclonal antibody fragment	モノクローナル抗体フラグメント
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品安全性試験実施基準
h	hour	時間
HFI	hereditary fructose intolerance	遺伝性フルクトース不耐症
ICH	International Conference on Harmonization	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IgG	Immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IgM	Immunoglobulin M	免疫グロブリン M
kDa	kiloDalton	キロダルトン
MoE	multiples of exposure	曝露安全域
MCB	master cell bank	マスターセルバンク
nM	nanomolar	ナノモル
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level	無毒性量
PD	pharmacodynamics	薬力学
PDE	permissible daily exposure	一日許容量
PK	pharmacokinetics	薬物動態
QT	qualification threshold	安全性確認の必要な閾値
RIPA	radio-immunoprecipitation assay	放射性免疫沈降法
TCR	tissue cross-reactivity	組織交差反応性
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
WCB	working cell bank	ワーキングセルバンク

## 1. 要約

イダルシズマブ（BI code: BI 655075）はダビガトランに高親和性を有するヒト化モノクローナル抗体フラグメント（Fab）で、ダビガトランに特異的に結合することでその抗凝固作用を中和するように設計されている。イダルシズマブとイダルシズマブ-ダビガトラン複合体の分子量はそれぞれ 47.8 及び 48.3 kDa である。イダルシズマブはダビガトランエテキシラート（DE）による治療中に生命を脅かす出血又は止血困難な出血を発現している若しくは緊急手術／緊急処置を要する患者で、ダビガトランの抗凝固作用を速やかに中和する必要がある場合に適応される。イダルシズマブは一事象対処薬であり、50 mg/mL 製剤 100 mL を用いて予定臨床用量の 5 g を 1 日で静脈内に投与する。

イダルシズマブのヒトにおける安全性を評価するために、一連の一般毒性試験、局所忍容性試験及び組織交差反応性（TCR）試験を ICH ガイドライン S6(R1) 及び M3(R2)に従って実施した。それら非臨床毒性試験の概要を表 1: 1 に示す。また、非臨床毒性試験と 5 g を投与した日本人健康被験者臨床試験 1321.5 [CTD 5.3.4.1-03\_c03026940] と外国人 45~64 歳健康被験者臨床試験 1321.2 [CTD 5.3.4.1-02\_c02742738] で得られた  $C_{max}$  及び AUC の比較も合わせて表 1: 1 に示す。Good Laboratory Practice（GLP）適用試験で用いたイダルシズマブ原薬は臨床試験及び市販予定製剤の原薬と同品質のものであり、市販予定製剤と同じ注射剤を用いて試験を実施した [CTD 2.6.7\_4.B 項]。本概要における DE の投与用量はダビガトランのフリー体換算値で示す。

イダルシズマブの非臨床毒性試験はラット及びサルで実施した。サルを用いた試験では DE との併用投与時の毒性についても評価した。ラットにおけるダビガトランの半減期は約 1 時間であるのに対し [CTD 4.2.3.7.7-05\_U98-2257]，アカゲザル (*Macaca mulatta*) ではダビガトランの半減期が 6 時間であったことから [CTD 4.2.3.7.7-06\_U99-1092]，ダビガトランの半減期が 10 時間であるヒトの安全性評価にアカゲザルは最も適した動物種であると考えられている。また、ヒトと同様にアカゲザルはダビガトランの活性代謝物であるグルクロン酸抱合体を生成するが、ラットでこの代謝物はごく微量しか検出されない [CTD 4.2.2.2-03\_U04-1627]。ヒトとアカゲザルにおけるこれらダビガトラン代謝過程の類似性に加えて、ダビガトランは薬理的、薬力学的、薬物動態学的及び毒性学的見地からアカゲザルで詳細に研究されていることから、アカゲザルをイダルシズマブの非臨床安全性評価に用いる非げっ歯類として選択することには科学的妥当性があるといえる。本申請にあたって実施した非臨床毒性試験においては、動物福祉の観点から研究目的の使用動物数を減らすために、毒性及びトキシコキネティクス（TK）に関する評価に加えて、イダルシズマブを DE と併用投与したときの薬力学的評価及び薬物動態学的評価も合わせて探索した。一般毒性試験では標準的検査項目に加えて抗イダルシズマブ抗体を測定することで、TK、血液凝固並びに免疫複合体の形成・沈着に関する考察の一助とした。また、Food and Drug Administration（FDA）の指示に従って、抗ダビガトラン抗体の生成の有無及びイダルシズマブ投与によって生じる血栓形成促進作用の有無についてもアカゲザルを用いて検討した。

ラット及びサルを用いて、それぞれ単回投与及び用量漸増投与による GLP 非適用毒性試験を実施した。その結果、イダルシズマブの 175 mg/kg 単剤投与はラット及びサルに毒性所見を生じる

ことがなく、また、DE/イダルシズマブの 12/175 mg/kg 併用投与もサルに毒性所見を生じなかった。これらの試験成績によりダビガトランとイダルシズマブの 1:1 の当量関係が推測された。

ラット及びサルを用いた主毒性試験では、反復静脈内ボラス投与最大容量は 10 mL/kg と考えられ被験注射液濃度が 50 mg/mL であることから、最大投与可能用量である 500 mg/kg/日をイダルシズマブの最高用量とした。ラットの 4 週間反復静脈内投与試験、サルの 2 つの 2 回静脈内投与試験及びサルの 2 週間反復静脈内投与試験を GLP 適用毒性試験として実施した。また、それぞれの試験には回復期間を設けた。これらラット及びサルの反復静脈内投与毒性試験で得られたイダルシズマブの 500 mg/kg/日における TK は、イダルシズマブ 5 g 単回投与を受けた外国人 45~64 歳健康被験者における  $C_{max}$  の約 6~9 倍、AUC の約 2~6 倍を示し、イダルシズマブ 2.5 g を短時間内に 2 回投与を受けた日本人健康被験者における  $C_{max}$  の約 5~8 倍、AUC の約 2~5 倍を示した（表 1: 1）。

ラットを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験ではイダルシズマブを 0, 150 及び 500 mg/kg/日で 4 週間にわたり静脈内投与し、その後、4 週間の回復期間を設けた。その結果、イダルシズマブの曝露に反復投与の影響あるいは性差はなく、抗イダルシズマブ抗体が TK に及ぼす影響も認められなかった。また、イダルシズマブあるいは抗イダルシズマブ抗体による血液凝固系への影響はみられず、臨床検査項目あるいは病理組織学的検査で標的臓器毒性は示されなかった。したがって、イダルシズマブの無毒性量（No Observed Adverse Effect Level : NOAEL）は 500 mg/kg/日と判断され、この用量における投与 4 週目の雌雄合わせた  $C_{max}$  は 181500 nM、AUC<sub>0-24</sub> は 107500 nM·h であった。

サルを用いた第一回目の 2 回静脈内投与試験では、DE/イダルシズマブを 0/0, 12/150, 12/500, 0/500 及び 12/0 mg/kg/日で併用投与したときの毒性を評価した。DE あるいは溶媒を Day 1~5 に 5 日間経口投与し、Day 4 と Day 5 の DE あるいは溶媒の経口投与 1.5 時間後にイダルシズマブあるいは溶媒を静脈内投与した。サルは投与期間終了後（Day 6）と 14 日間の回復期間終了後（Day 20）に病理評価に供した。その結果、投与期間終了後に毒性所見はみられなかった。回復期間終了後にも毒性所見はみられなかったが、12/500 mg/kg/日群の雄 1 例（No.157）に異常が認められた。No.157 は血漿中尿素、クレアチニン及び無機リンの増加、血漿中電解質の変動並びに体重減少を呈したことから腎障害が疑われた。No.157 の履歴を調査したところ、試験実施施設に入荷する以前に成長不全が生じていたことが明らかとなり、試験開始前から健康障害が潜在していたことが示された。そのため、これら検査値の意義を明らかにするため第二回目の 2 回静脈内投与試験を第一回目と同じ方法で実施し、腎障害の有無について評価した。その結果、第一回目の試験で観察されたような腎障害を示唆する所見は認められなかった。

サルを用いた 2 週間反復静脈内投与毒性試験では、DE あるいは溶媒を経口投与した 1.5 時間後にイダルシズマブあるいは溶媒を静脈内投与する併用投与を DE/イダルシズマブの用量 0/0, 0/500, 12/150 及び 12/500 mg/kg/日で 2 週間にわたり実施した。その後、4 週間の休薬期間を設け、さらに 3 日間の DE あるいは溶媒の経口投与を実施した。イダルシズマブの投与後に血栓形成促進作用はみられなかった。また、この試験で臨床検査項目あるいは病理組織学的検査で標的臓器毒性は示されなかったことから、サルの第一回目の 2 回静脈内投与試験で雄 1 例に観察された腎障害

を示唆する所見はイダルシズマブあるいは DE/イダルシズマブ投与に起因するものではないと結論された。

サルにおけるイダルシズマブの TK はすべての試験で類似し、反復投与、ダビガトランの有無及び性差の影響はなかった。血漿中ダビガトランとそのグルクロン酸抱合体の総和はイダルシズマブ投与による再分布のために増加したが、抗凝固中和作用は維持された。

抗イダルシズマブ抗体検査ではイダルシズマブ投与開始前に抗体陽性反応を示すサルが少数例みられた（表 9.2: 1）。しかし、たとえ抗 Fab 抗体がイダルシズマブ投与前に既にヒトの血漿中に存在していたとしても、5 g という十分量が投与されることからダビガトランの抗凝固作用に対するイダルシズマブの中和効果には臨床の場では影響がないと考えられる。サルの 2 週間反復静脈内投与試験の投与期間終了時にイダルシズマブ投与により生じた抗イダルシズマブ抗体が検出されたが、イダルシズマブの TK に影響を及ぼさなかった。また、イダルシズマブも抗イダルシズマブ抗体も血液凝固指標に変動を与えなかった。抗ダビガトラン抗体検出検査において、微量のイダルシズマブが抗イダルシズマブ抗体と複合体を形成し、ダビガトランに結合することがイダルシズマブの休薬 15 日後に認められた。このように微量のイダルシズマブが血漿中に維持されたがサルに毒性はみられなかった。したがって、この事象は緊急時にのみイダルシズマブが投与されるヒトへの外挿性はないと考えられる。

サルの 2 週間反復静脈内投与毒性試験で中和抗体検査、抗ダビガトラン抗体の検査、臨床検査、補体検査、DE 再投与後のダビガトラン及び活性代謝物検査、循環免疫複合体検査、並びに腎の免疫組織化学的検査という詳細な検討を実施した結果、DE/イダルシズマブを投与したサルに抗ダビガトラン抗体が産生される可能性は極めて低いと結論付けられた。

サルの 2 週間反復静脈内投与毒性試験におけるイダルシズマブの NOAEL はイダルシズマブ の単剤投与及び DE 12 mg/kg/日との併用投与ともに 500 mg/kg/日であり、投与期間終了時の雌雄合わせたイダルシズマブ の  $C_{max}$  は単剤投与及び DE 併用投与でそれぞれ 174500 及び 172500 nM,  $AUC_{0-24}$  はそれぞれ 202000 及び 202000 nM·h であった。

サルを用いた Pharmacokinetics/Pharmacodynamics (PK/PD) 試験でイダルシズマブを間欠的に 3 相にわたって静脈内投与したところ、第 3 相で 8 例中 1 例のサルに抗イダルシズマブ抗体に起因する過敏症が発現した。同様の過敏症あるいは免疫原性の毒性は、抗イダルシズマブ抗体の産生のいかにかわからず、イダルシズマブを間欠投与したサル、イダルシズマブを単剤あるいは DE と併用で連日反復静脈内投与したラット又はサルに認められなかった。

TCR 試験でイダルシズマブはヒトの組織に結合性を示さなかったことから、ヒトにおいて交差反応性はないものと考えられる。また、ラットやサルの組織においてもイダルシズマブの交差反応性はみられなかった。

イダルシズマブの市販予定製剤は静脈内投与及び血管周囲投与試験で局所忍容性を示し、ヒト血液に *in vitro* で溶血を生じなかった。

以上、イダルシズマブは投与可能最大量でも良好な忍容性を示し、ラットに 4 週間、また、サルに 2 週間連日反復静脈内投与しても毒性所見は認められなかった。これらの非臨床毒性試験成績から、ダビガトランの抗凝固作用を中和するためにイダルシズマブを緊急時にヒトに投与する

際の安全性が裏付けられた。また、イダルシズマブの標的臓器毒性を示す所見は臨床検査あるいは病理組織学的検査で認められなかった。

表 1: 1 イダルシズマブの非臨床毒性試験概要

試験の種類 (GLP 適否)	動物種	DE/イダルシズマブ [mg/kg]	主な成績	Lot 番号	CTD 番号 _資料番号
単回投与 (否)	ラット	0/0, 0/50, 0/175	毒性所見なし	E1739F01	CTD4.2.3.1-01 _U12-3325
4 週間投与 +4 週間回復 (適)	ラット	0/0, 0/150, 0/500 <sup>a</sup>	NOAEL: 0/500 mg/kg/日 MoE C <sub>max</sub> : 6/7, AUC: 2/2	DAB-FTOX-01	CTD4.2.3.2-02 _U12-3327
漸増投与 (否)	サル	0/0, 0/30, 0/90, 0/175, 12/30, 12/90, 12/175	毒性所見なし	E1739F01	CTD4.2.3.2-01 _U12-3326
2 回投与 +2 週間回復 (適)	サル	0/0, 12/150, 12/500, 0/500, 12/0 <sup>b</sup>	NOAEL: 0/500 mg/日 MoE C <sub>max</sub> : 8/9, AUC: 5/6 NOAEL: 12/150 mg/日 MoE C <sub>max</sub> : 2/2, AUC: 1/1	DAB-FTOX-01	CTD4.2.3.2-03 _U12-3328
腎障害検討試験 2 回投与 +2 週間回復 (適)	サル	0/0, 12/500, 0/500 <sup>b</sup>	NOAEL: 0/500 mg/kg/日 MoE C <sub>max</sub> : 5/6, AUC: 4/5 NOAEL: 12/500 mg/kg/日 MoE C <sub>max</sub> : 5/7, AUC: 4/5	DAB-FTOX-02	CTD4.2.3.2-04 _U13-3538
2 週間投与 +4 週間回復 +3 日間 DE 再投 与 (適)	サル	0/0, 12/150, 12/500, 0/500 <sup>c</sup>	NOAEL: 0/500 mg/kg/日 MoE C <sub>max</sub> : 6/7, AUC: 4/5 NOAEL: 12/500 mg/kg/日 MoE C <sub>max</sub> : 5/7, AUC: 4/5	207733	CTD4.2.3.2-05 _n00230533
血管周囲局所忍 容性 (適)	ウサギ	イダルシズマブ/ 0, 5 mg	局所刺激性なし	207733	CTD4.2.3.6-01 _U13-3997
TCR (適)	ヒト, ラット, サル 組織	イダルシズマブ/ 0, 2, 10 µg/mL	交差性なし	DAB-FTOX-01	CTD4.2.3.7.7-01 _U12-3331
溶血性 (否)	ヒト血液	0.5 mL 血液にイダル シズマブ/0, 55 mg/mL で 125 µL	溶血性なし	DAB-FTOX-01	CTD4.2.3.7.7-02 _U12-3289

a: イダルシズマブ を 1 日 1 回静脈内投与。

b: DE 又は溶媒を Day 1-5 に経口投与。Day 4-5 には DE 又は溶媒を経口投与 1.5 時間後にイダルシズマブ を静脈内投与。

c: Day 1-14 に DE 又は溶媒を経口投与し、その 1.5 時間後にイダルシズマブを静脈内投与。Day 43-45 に DE を再投与。

MoE(曝露安全域): 健康被験者を対象に算出(日本人/外国人 45~64 歳)[CTD 5.3.4.1-03\_c03026940/CTD 5.3.4.1-02\_c02742738]

## 2. 単回投与毒性試験

### 2.1 ラットを用いた単回投与毒性試験 [CTD 4.2.3.1-01\_U12-3325]

単回投与毒性を評価する目的と 10 mL/kg の容量がボーラス静脈内投与に適するかどうかを評価する目的で、ラットを用いてイダルシズマブの単回静脈内投与毒性試験を GLP 非適用下で実施した。雌雄 RccHan<sup>TM</sup>:WIST ラット各 10 例/群を用いて、イダルシズマブを 0, 50 及び 175 mg/kg で静脈内に単回ボーラス投与した。イダルシズマブの被験注射用製剤は開発初期の製法処方に従って、50 mM の酢酸ナトリウムと 200 mM のソルビトールからなる緩衝液 (pH 5.5) にイダルシズマブを 17.5 mg/mL で溶解した。この注射用製剤を緩衝液で希釈し、すべてのラットに 10 mL/kg の容量が投与されるように希釈液を調整した。対照群のラットには同じ添加物を含む緩衝液を 10 mL/kg の容量で投与した。主試験群のほかに、対照群には雌雄各 3 例/群、イダルシズマブ投与群には雌雄各 9 例/群からなるサテライト群を設けて TK 評価に供した。投与 48 時間後にラットを剖検した。一般状態、体重、血液学的検査、血液凝固検査、器官重量、剖検、病理組織学的検査において毒性所見はみられなかった。血液生化学的検査ではトリグリセリドが雄の 50 及び 175 mg/kg 群で、それぞれ対照群の 1.5 及び 1.8 倍に増加した。イダルシズマブの血漿中濃度は 50 及び 175 mg/kg 群ともに性差がなく、雌雄合わせた C<sub>max</sub> はそれぞれ 18150 及び 60050 nM, AUC<sub>0-24</sub> はそれぞれ 7105 及び 24050 nM・h であった (表 3.3: 1)。

## 3. 反復投与毒性試験

ラットの 4 週間反復投与毒性試験並びにサル用量漸増静脈内投与毒性試験、2 回静脈内投与毒性試験及び 2 週間反復静脈内投与毒性試験を実施した。その結果、サルの 2 回静脈内投与毒性試験で雄 1 例に腎に関する異常所見がみられ、その毒性学的意義が明らかでなかったことから、同じ試験法でサルの 2 回静脈内投与毒性試験を再度実施し、腎所見に注目して評価した。サルの 2 週間反復静脈内投与毒性試験では、2 週間の DE 経口投与とイダルシズマブ静脈内投与後に設けた 4 週間回復期間に続き、さらに DE を再度 3 日間経口投与した。また、3 相の投与期間からなる PK/PD 試験で観察された過敏症 [CTD 4.2.2.2-04\_U12-3849] についても本章で考察する。

イダルシズマブの市販予定製剤の原薬は Master Cell Bank (MCB\*) 由来の Working Cell Bank で産生されることから、MCB\* 由来の原薬をサルの主毒性試験である 2 週間反復静脈内投与毒性試験で使用した。その他の主毒性試験では初代細胞株を用いた Working Cell Bank (WCB\*) 由来の原薬を使用した。MCB\* は WCB\* の作製に用いた [ ] から作製されている。MCB\* と WCB\* 由来の原薬及び製剤には同等性が証明されており、したがって、毒性試験に使用した被験製剤は市販予定製剤と同品質のものである。

サルの用量漸増静脈内投与毒性試験ではラットの単回静脈内投与毒性試験と同じイダルシズマブの開発初期製剤を投与したが、その他の反復投与毒性試験には、25 mM の酢酸ナトリウム、220 mM のソルビトールと 0.02% のポリソルベート 20 からなる pH 5.5 緩衝液にイダルシズマブを 50 mg/mL で溶解した市販予定製剤を用いた。また、投与容量を 10 mL/kg に調整するために被験製剤を希釈する際には同じ緩衝液を使用した。対照群にはイダルシズマブの被験製剤と等浸透圧

\*: 新薬承認情報提供時に置き換えた

にするために 240 mM のソルビトールで調整した溶解液を投与した。DE は 0.5% ヒドロキシエチルセルロースに懸濁し、10 mL/kg の容量で経口投与した。

### 3.1 ラットを用いた反復静脈内投与毒性試験

#### 3.1.1 ラットを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験 [CTD 4.2.3.2-02\_U12-3327]

ラットを用いた GLP 適用の主毒性試験として 4 週間反復静脈内投与毒性試験を実施し、雌雄 RccHan<sup>TM</sup>:WIST ラット各 15 例/群を用いて、イダルシズマブを 0, 150 及び 500 mg/kg/日で 4 週間にわたり静脈内投与した。対照群と 500 mg/kg/日群には別途雌雄各 10 例/群を配し、4 週間の回復試験に供した。それに加え、対照群には雌雄各 3 例、150 及び 500 mg/kg/日群には雌雄各 9 例/群のサテライト群を設けて TK 評価に用いた。この試験では免疫原性を主試験群、回復群及びサテライト群において評価した。

イダルシズマブの  $C_{max}$  及び  $AUC_{0-24}$  はほぼ用量比例的に増加し、性差はなく、また、反復投与の影響もみられなかった（表 3.3: 1）。

投与期間終了時（Day 28-30）に 150 及び 500 mg/kg/日群のそれぞれ 18/47 例及び 27/48 例に抗イダルシズマブ抗体が検出された（表 9.2: 1）。しかし、TK への影響はなかった。回復期間終了時（Day 57）には 500 mg/kg/日群の 12/20 例に抗イダルシズマブ抗体が検出された。

一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、血液凝固検査、尿検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査にイダルシズマブ投与に起因する毒性所見はみられなかった。血漿中尿素とクレアチニンが雌雄ともにイダルシズマブの用量変化に伴って減少したが、その多くは背景対照値の範囲内にあり、随伴する病理組織学的所見がなかったことから毒性変化とは考えられなかった。

本試験におけるイダルシズマブの NOAEL は 500 mg/kg/日と考えられ、投与期間終了時における雌雄合わせた  $C_{max}$  は 181500 nM、 $AUC_{0-24}$  は 107500 nM·h であった。

### 3.2 サルを用いた反復静脈内投与毒性試験

#### 3.2.1 サルを用いた PK/PD 試験 [CTD 4.2.2.2-04\_U12-3849, CTD 4.2.2.2-05\_U13-3539]

雄アカゲザル 4 例/群を用いて、DE 12 mg/kg/日+イダルシズマブ 30 mg/kg 及び DE 12 mg/kg/日+イダルシズマブ 60 mg/kg の 2 群に 3 相（第 1 相：Day 1-4、第 2 相：Day 8-11、第 3 相：Day 30-33）の投与期間を設けた DE +イダルシズマブの PK/PD 試験を実施した。サルには各投与相で DE を 12 mg/kg/日で 4 日間経口投与し、4 日目の DE 投与後にイダルシズマブを第 1 相（Day 4）及び第 3 相（Day 33）では 30 又は 60 mg/kg で 10 分間静脈内持続投与を 1 回、また、第 2 相（Day 11）では 30 又は 60 mg/kg で 10 分間静脈内持続投与を 1.5 時間間隔で 2 回実施した。つまり、イダルシズマブの最終投与は初回及び 2 回目の投与から、それぞれ 29 日及び 22 日後に実施された。

第 3 相のイダルシズマブ投与中に 30 mg/kg 群の 1 例（動物 No.205）が持続投与開始 7 分後に虚脱に陥った。一方、他の 7 例には異常所見を認めなかった。虚脱に陥った No.205 には呼吸速迫及び頻脈が観察され、可視粘膜は蒼白化した。これらの症状は酸素吸入と補液により緩和したものの、No.205 は依然として正常に復さなかったことから動物福祉の観点より安楽殺を選択した。剖

検では無気肺巣及び下部消化管における暗調内容物が観察され、病理組織学的検査で肺胞内出血と細気管支内出血及び肺胞壁と胸膜の過形成及び線維化がみられた。肺胞壁と胸膜にみられた過形成及び線維化については、即時型過敏症で見られる所見とは異なることから、試験開始前から潜在していた病変と考えられた。サルには同様の病変が慢性炎症性疾患、感染症あるいは寄生虫感染により発生することが報告されている [CTD 4.3-13\_R13-2001]。

第3相 Day 30 の DE 投与前に実施した抗イダルシズマブ抗体測定で、No.205 を含む 6/8 例に抗イダルシズマブ抗体が検出されたが、No.205 における抗イダルシズマブ抗体反応は他の 5 例と同程度であった。これらの成績から、No.205 の症状がイダルシズマブの投与中に発現したことは、サルにヒト化 Fab を繰り返し投与したときに起こり得る抗イダルシズマブ抗体に起因する即時型過敏症を示唆するものと考えられた。出血に関しては、補体の遊離により血管透過性が増したことが考えられた。また、No.205 で予定されていたイダルシズマブ 30 mg/kg は、DE 12 mg/kg 投与で生じる抗凝固作用を完全に中和するには用量が低すぎることに加えて、全量を投与することができなかつたため、DE の抗凝固効果が作用したことで出血がより顕性化した可能性が考えられた。このようにイダルシズマブはヒト化 Fab であることから、3 相に及ぶイダルシズマブの投与が一部のサルを感作させた可能性が示唆された。

### 3.2.2 サルを用いた用量漸増静脈内投与毒性試験 [CTD 4.2.3.2-01\_U12-3326]

雌雄アカゲザル各 1 例/群の対照群、イダルシズマブ単剤投与群及び DE/イダルシズマブ併用投与群の 3 群に 3 相（第 1 相：Day 1-4、第 2 相：Day 15-18 及び第 3 相：Day 29-32）の投与期間を設けた GLP 非適用の用量漸増静脈内投与毒性試験を実施し、GLP 適用 2 回静脈内投与毒性試験の用量設定と、イダルシズマブを DE と併用投与したときの PD 及び TK を検討した。DE/イダルシズマブ併用投与群には DE を投与各相で 4 日間にわたり 12 mg/kg/日で経口投与し、イダルシズマブを Day 4、18 及び 32 の溶媒あるいは DE の経口投与 1.5 時間後に、それぞれ 30、90 及び 175 mg/kg を 10 mL/kg で静脈内にボラス投与した。このように投与群のサルには溶媒/イダルシズマブあるいは DE/イダルシズマブを 2 週間の間隔で計 3 回投与した。試験に供したすべてのサルを最終投与約 48 時間後に剖検した。

イダルシズマブの TK にはイダルシズマブ単剤投与群と DE/イダルシズマブ併用投与群との間に差はみられなかった。イダルシズマブを 30 mg/kg から 90 mg/kg に増量するとダビガトランの AUC<sub>0-24</sub> 及び総ダビガトラン（ダビガトランとダビガトラングルクロン酸抱合体の総計）の AUC<sub>0-24</sub> はそれぞれ約 2 倍及び約 1.5 倍に増加した。しかし、イダルシズマブをさらに 175 mg/kg に増量しても、ダビガトランあるいは総ダビガトランの AUC<sub>0-24</sub> にそれ以上の増加はみられなかった。希釈トロンビン時間（dTT）により検査した結果、ダビガトランの抗凝固作用はイダルシズマブの血漿中モル濃度が総ダビガトランの血漿中モル濃度を上回る時か、あるいはほぼ同じ時に完全に中和された。一方、イダルシズマブ 30 mg/kg の 2 例及び 90 mg/kg の 1 例で、イダルシズマブの血漿中モル濃度が総ダビガトランの血漿中モル濃度を下回ったときにダビガトランの抗凝固作用が再度認められた。いずれの群においても、ダビガトランの抗凝固作用の完全な中和は投与直後に認められた。これら PD 及び TK の詳細は別途記載する [CTD 2.6.4\_3.2 項]。

抗イダルシズマブ抗体は Day 34 にイダルシズマブ単剤投与群の 1 例及び DE/イダルシズマブ併用投与群の 1 例に検出された。しかし、Day 32 のイダルシズマブの TK あるいは dTT 検査値に抗イダルシズマブ抗体による影響はいずれのサルにもみられなかった。ところが、後日実施した抗イダルシズマブ抗体による影響はいずれのサルにもみられなかった。ところが、後日実施した抗イダルシズマブ抗体検査で、ダビガトランの存在下では偽陽性結果が示されることが判明した [CTD 2.6.4\_2.3.2.1 項]。したがって、本試験の DE/イダルシズマブ併用投与群の 1 例における抗イダルシズマブ抗体の結果が偽陽性であった可能性は否定できない。

体重、一般状態、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査において毒性所見はみられなかった。また、サルを用いた DE/イダルシズマブの 3 相投与 PK/PD 試験で 1 例に生じた過敏症は、このイダルシズマブ 30, 90 及び 175 mg/kg の 3 相漸増間欠投与試験ではみられなかった。

以上、イダルシズマブを 30, 90 及び 175 mg/kg でサルに 2 週間間隔で単剤漸増投与あるいは DE と併用漸増投与しても毒性所見はみられなかった。イダルシズマブの 175 mg/kg における単剤漸増投与と DE との併用漸増投与を合わせた  $C_{max}$  は 73700 nM,  $AUC_{0-24}$  は 65200 nM·h であった。

本試験より、イダルシズマブを 10 mL/kg で静脈内ボーラス投与したときの忍容性、及びヒトに DE を最大推奨用量である 150 mg を 1 日 2 回投与したときのダビガトラン血漿中濃度と同等のダビガトラン血漿中濃度が得られるサルへの DE 12 mg/kg 投与に対する忍容性が明らかとなり、イダルシズマブと総ダビガトランの 1:1 化学量論的關係が実証された。これらの試験結果より GLP 適用毒性試験における用量が設定された。

### 3.2.3 サルを用いた 2 回静脈内投与毒性試験 [CTD 4.2.3.2-03\_U12-3328]

雌雄アカゲザル各 3 例/群を用いて、DE/イダルシズマブを 0/0, 12/150, 12/500, 0/500 及び 12/0 mg/kg/日で投与した GLP 適用の 2 回静脈内投与毒性試験を実施した。サルに溶媒あるいは DE 12 mg/kg/日を 5 日間 (Day 1-5) にわたり経口投与し、Day 4 及び 5 の溶媒あるいは DE の経口投与 1.5 時間後に溶媒あるいはイダルシズマブを静脈内投与し、最終投与約 24 時間後に剖検した。対照群、12/500 及び 0/500 mg/kg/日の各群には、さらに雌雄各 2 例のサルを追加して 14 日間の回復試験に供した。

イダルシズマブの TK にはイダルシズマブ単剤投与群と DE/イダルシズマブ併用投与群間、あるいは雌雄間に差はみられなかった。イダルシズマブの  $C_{max}$  及び  $AUC_{0-24}$  は 150 と 500 mg/kg/日群ではほぼ用量比例的に増加した。投与期間終了時に 12/0 mg/kg/日群を含む DE 投与を受けたすべてのサルに抗イダルシズマブ抗体偽陽性が示された (表 9.2: 1)。また、14 日間の回復期間終了時に抗イダルシズマブ抗体は 12/500 及び 0/500 mg/kg/日群の計 8 例中 7 例に検出された。

凝固指標は 12/0 mg/kg/日群の DE 投与後 1.5 時間で延長し、DE 投与後 2.5 時間まで維持された後、総ダビガトランの血漿中濃度の減少に伴って徐々に正常値に回復した。一方、ダビガトランとそのグルクロン酸抱合体の抗凝固作用は 12/150 及び 12/500 mg/kg/日群ともに 1 例の雄 (12/500 mg/kg/日群 : 動物 No.157) を除くすべての例でイダルシズマブ投与直後より完全に中和され、イダルシズマブ投与 24 時間後まで抗凝固作用はみられなかった。イダルシズマブ投与前には抗凝固作用と総ダビガトラン濃度に線形の相関が示されていたが、イダルシズマブ投与後には

高濃度の総ダビガトランが検出されていたにもかかわらず（最大 4200 ng/mL : 8910 nM），抗凝固作用はほとんどの例でベースラインに留まった。これらの成績はほぼすべてのダビガトラン及びそのグルクロン酸抱合体がイダルシズマブと結合したことで不活化されたことを示している。

死亡例は生じなかった。一般状態，体重，眼科学的検査，心電図検査，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検及び病理組織学的検査において毒性所見はみられなかった。また，イダルシズマブの静脈内投与中に毒性所見は認められなかった。

試験成績を個別に評価してみると，12/500 mg/kg/日回復群の雄 No.157 の検査値は他のサルの検査値と明らかに異なっていた。まず，No.157 は試験に供した他のサルに比べて月齢にそぐわない小型で，試験前順化期間に他のサルのように体重が増加しなかった。また，Day 6（投与期間終了翌日）の体重は投与開始前の体重よりも 7%減少し，さらに回復期間終了時には投与開始前の体重よりも 23%減少した。投与期間終了時の血液生化学的検査においては，投与開始前の値と比較して血漿中尿素及びクレアチニンのそれぞれ 17%及び 24%の増加と，血漿中 Na，K 及び Cl のそれぞれ 7%，41%及び 11%の減少が，回復期間終了時の血液生化学的検査においては，投与開始前の値と比較して，血漿中尿素，クレアチニン，トリグリセリド及び無機リンのそれぞれ 442%，108%，187%及び 203%の増加と，血漿中 Na，K 及び Cl のそれぞれ 20%，33%及び 33%の減少がみられた。また，回復期間終了時の尿検査においては血色素が検出され，尿中タンパク濃度は投与開始前と回復期間終了時に正常値を超えた。血漿中の尿素：クレアチニン比を算出したところ尿素の不均衡な増加が示されたことから，これらの変動は腎性あるいは腎後性と考えられた。また，回復期間終了時の血漿中無機リンの増加から急性の尿細管機能不全と考えられ，投与開始前から回復期間終了までの期間に生じた腎機能不全が示唆された。また，尿中タンパク濃度が高いにもかかわらず尿比重は低かった。このように血液生化学的検査値及び尿検査値は腎尿細管障害を示唆したものの，回復期間終了後に実施した病理組織学的検査では，中等度の腎皮質尿細管拡張と尿細管上皮及び尿細管腔の Periodic acid-Schiff 陽性物質が観察されたに過ぎず，いずれも血液生化学的検査成績及び尿検査成績を説明できるものではなかった。さらに，No.157 の腎におけるサルの IgM, IgG, C3 及びヒト Fab について免疫組織化学的に 2 例の対照サルと比較検討したが，No.157 の腎に免疫複合体やヒト Fab はみられなかった。No.157 のトリグリセリドは投与開始前よりも約 3 倍に増加したが，この変動は体重減少と摂餌量低下に起因するものと考えられ，脱毛から推測されるストレスや下痢が変動を来した要因として考えられた。腎の絶対重量は対照値を下回ったが，脳比重量及び体重比重量は対照値の範囲内にあった。No.157 のイダルシズマブの TK には同群のほかの例と大きな差がなく，また，DE の抗凝固作用に対する中和作用については，抗凝固指標である dTT，エカリン凝固時間（ECT），及び活性化部分トロンボプラスチン時間（aPTT）がイダルシズマブの初回投与 24 時間後に延長したが，その他の検査時期においては同群のほかの例と同等の結果を示した。このイダルシズマブ初回投与 24 時間後に再度みられた抗凝固作用は高濃度の総ダビガトランに起因するものであったが，No.157 では DE の体内吸収遅延のために生じたものと推察された。

このように No.157 にみられた所見は，本試験終了時ではイダルシズマブ投与との関連が明らかでなかった。しかし，サルを用いて GLP 適用の DE/イダルシズマブ併用 2 回投与毒性試験を再度

実施して腎への影響を評価した結果 [CTD 4.2.3.2-04\_U13-3538]，本試験で No.157 に生じた他のサルとは全く異なる所見はイダルシズマブ投与に起因するものではなく，No.157 が試験開始前から有していた固有の病変が原因であると結論付けられた。

以上より，イダルシズマブ単剤投与の NOAEL は 500 mg/kg/日と判断され，同用量での雌雄合わせた  $C_{max}$  は 235000 nM， $AUC_{0-24}$  は 223000 nM·h であった。また，DE/イダルシズマブ併用投与の NOAEL は，本試験終了時には 12/500 mg/kg/日群の No.157 をより慎重に考慮して 12/150 mg/kg/日と判断され，同用量での雌雄合わせたイダルシズマブの  $C_{max}$  は 48750 nM， $AUC_{0-24}$  は 49400 nM·h であった。

### 3.2.4 サルを用いた 2 回静脈内投与毒性試験：腎評価 [CTD 4.2.3.2-04\_U13-3538]

アカゲザルを用いた GLP 適用の DE/イダルシズマブ併用 2 回静脈内投与毒性試験 [CTD 4.2.3.2-03\_U12-3328] で腎障害を疑わせる所見がみられたことから，試験群は減じたものの同様の試験法を用いた 2 回目の GLP 適用 DE/イダルシズマブ併用 2 回静脈内投与毒性試験を実施して腎に対する影響を評価した。試験は雌雄アカゲザル各 3 例/群を用いて，DE/イダルシズマブの 0/0，12/500 及び 0/500 mg/kg/日を，1 回目の試験と同様，溶媒あるいは DE 12 mg/kg/日の 5 日間経口投与に加えて，Day 4 及び 5 の溶媒あるいは DE の経口投与 1.5 時間後に溶媒あるいはイダルシズマブを静脈内投与して最終投与約 24 時間後に剖検した。また，雌雄サル各 2 例/群を配して 14 日間の回復試験に供した。

試験期間中に死亡例は生じなかった。一般状態，体重，血液学的検査，血液生化学的検査及び尿検査に毒性所見はみられなかった。また，イダルシズマブの静脈内投与中に特記すべき所見は認められなかった。この試験では腎に対する影響を評価したが，腎に関連する検査指標はすべて基準範囲内にあり，器官重量，剖検あるいは病理組織学的検査においても腎の異常所見は観察されなかった。つまり，1 回目の DE/イダルシズマブ併用 2 回静脈内投与毒性試験 [CTD 4.2.3.2-03\_U12-3328] で 1 例に生じた腎障害を疑わせる所見は 2 回目の DE/イダルシズマブ併用 2 回静脈内投与毒性試験では認められなかった。本試験では新しく開発された抗イダルシズマブ抗体検出法を用いて抗イダルシズマブ抗体の有無を検査したところ，回復期間終了時の検査で DE/イダルシズマブの 0/500 mg/kg/日群の 1/4 例と 12/500 mg/kg/日群の 3/4 例に検出された (表 9.2: 1)。

本試験におけるイダルシズマブ単剤投与の NOAEL は 1 回目の試験と同様 500 mg/kg/日と判断され，同用量での雌雄合わせた  $C_{max}$  は 159500 nM， $AUC_{0-24}$  は 173500 nM·h であった。一方，DE/イダルシズマブ併用投与の NOAEL は 12/500 mg/kg/日であり，同用量での雌雄合わせたイダルシズマブの  $C_{max}$  は 163000 nM， $AUC_{0-24}$  は 171000 nM·h であった。

### 3.2.5 サルを用いた 2 週間反復静脈内投与毒性試験：DE 再投与 [CTD 4.2.3.2-05\_n00230533]

アカゲザルを用いた GLP 適用の 2 週間反復静脈内投与毒性試験を米国 FDA の指示により実施し，1) イダルシズマブの血栓形成促進作用の有無，2) 抗ダビガトラン抗体形成の有無，3) 免疫

複合体の形成及び沈着の有無，について検討した。これらのうち，1) イダルシズマブの血栓形成促進作用は血栓形成のバイオマーカーをイダルシズマブ投与初日に測定して評価した。また，2) 抗ダビガトラン抗体形成及び3) 免疫複合体の形成・沈着については，抗ダビガトラン抗体と抗イダルシズマブ抗体の形成期間として28日間の回復期間を設け，回復期間終了後にDEを3日間にわたり再度投与して，DEの再投与が臨床所見及び補体反応に及ぼす影響について検討するとともに，抗ダビガトラン抗体が存在した場合の免疫複合体の形成と腎糸球体への沈着について評価した。

この試験ではDE/イダルシズマブを0/0，0/500，12/150及び12/500 mg/kg/日で2週間反復静脈内投与し（Day 1-14），その後，28日間の回復期間（Day 15-42）を経てDEを3日間再投与（Day 43-45）した。試験群には溶媒あるいはDE 12 mg/kg/日を14日間経口投与し，溶媒あるいはDE投与1.5時間後に溶媒あるいはイダルシズマブを14日間静脈内投与した。試験各群には，最終投与約24時間後（Day 15）に剖検する雌雄各3例のサルと，28日間の回復期間経過後に溶媒あるいはDEを再度3日間経口投与し，その約24時間後（Day 46）に剖検する雌雄各2例のサルを配した。

死亡例は生じなかった。一般状態，体重，眼科学的検査，心電図検査，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，器官重量，剖検及び病理組織学的検査に毒性所見はみられなかった。また，イダルシズマブの静脈内投与中に特記すべき所見は認められなかった。

イダルシズマブの $C_{max}$ 及び $AUC_{0-24}$ はDay 1及びDay 14ともに150と500 mg/kg/日群間でほぼ用量比例的に増加した。また，雌雄間あるいは12/500と0/500 mg/kg/日群間に差はなく，DE投与あるいは反復投与の影響を受けなかった。

血漿中のダビガトランと総ダビガトラン濃度はイダルシズマブの投与直後に増加した。また，雌雄間あるいは12/150と12/500 mg/kg/日群間に差はなく，反復投与の影響を受けなかった。回復期間経過後にDEを再投与したDay 43の投与1.5時間におけるダビガトラン及び総ダビガトラン濃度は，Day 1における値と比較して低い傾向を示したが，サルにみられる高い日間変動によると考えられた。

ダビガトランとそのグルクロン酸抱合体の抗凝固作用はすべての検査時点でイダルシズマブ投与直後より完全に中和された。イダルシズマブ単剤投与による血液凝固指標の変動はみられなかった。

試験開始前，イダルシズマブの初回投与（Day 1），2週間反復静脈内投与期間終了後（Day 15）及び28日間回復期間+DE 3日間再投与後（Day 46）に測定したDダイマー及びF1+2にはイダルシズマブ投与群と対照群間に差がみられず，したがって，イダルシズマブには血栓形成促進作用はないと結論付けられた。

抗イダルシズマブ抗体は2週間反復静脈内投与期間終了後（Day 15）に12/150 mg/kg/日群の9/10例，12/500 mg/kg/日群の3/10例，及び0/500 mg/kg/日群の3/10例に検出された（表 9.2: 1）が，12/500及び0/500 mg/kg/日群では高濃度のイダルシズマブが抗イダルシズマブ抗体の検出に干渉したことが推測された。一方，抗イダルシズマブ抗体が凝固指標あるいはイダルシズマブのDay 14におけるTKに影響することはなく，DE及びそのグルクロン酸抱合体の抗凝固作用に対するイダルシズマブの中和作用を変化させることもなかった。回復期間終了時（Day 42）にはイダルシズマブを

投与した 12/150, 12/500 及び 0/500 mg/kg/日群の各群 4 例のすべてのサルに抗イダルシズマブ抗体が検出された。

[<sup>3</sup>H]-ダビガトランを用いた放射性免疫沈降法 (RIPA) で抗ダビガトラン抗体を試験開始前, Day 29 及び 42 に測定した [CTD 2.6.4\_2.4.1 項]。ところが, Day 29 に 12/150 mg/kg/日群の 3/4 例, 12/500 mg/kg/日群の 4/4 例, 及び DE を投与していない 0/500 mg/kg/日群の 3/4 例が陽性反応を示した。この予期せぬ成績の要因を探索した結果, Day 42 には消失するか, あるいは減衰するものの, Day 29 ではイダルシズマブ/抗イダルシズマブ抗体の複合体が血中に存在することが明らかとなった。抗イダルシズマブ抗体の反応はポリクローナルであり, イダルシズマブ複合体の一部が [<sup>3</sup>H]-ダビガトランと結合することで RIPA に陽性結果をもたらしたと考えられた。Day 42 に 12/500 mg/kg/日群の 2/4 例にもごく弱い陽性反応が示されたが, やはりイダルシズマブ/抗イダルシズマブ抗体の複合体として存在する微量のイダルシズマブに起因するものであり, 抗ダビガトラン抗体の産生を示すものとは考えられなかった。また, ダビガトランの薬理作用を妨げる中和抗体は Day 29 及び 42 に評価した結果, 12/150 及び 12/500 mg/kg/日群のいずれにもみられなかった。

以上のことから DE 及びイダルシズマブを併用投与してもサルに抗ダビガトラン抗体が産生される可能性は極めて低いと判断された。

試験開始前並びに回復期間を経て DE を再投与する 1 日目 (Day 43) の投与前, 投与 1 及び 6 時間後に補体 Bb, C3a 及び C4a を測定した結果, 0/0, 12/150, 12/500 及び 0/500 mg/kg/日群間に差は認められなかった。また, 一般状態に異常は観察されなかった。

C1q 結合循環免疫複合体 (C1q-CIC) 及び C3d 結合循環免疫複合体 (C3d-CIC) を試験開始前, Day 6, 10, 15 及び 43 に測定した結果, 試験開始前の値, 並びに 0/0 mg/kg/日群の値と比較して 12/150, 12/500 及び 0/500 mg/kg/日群に変動はみられなかった。C1q-CIC は血中で形成されたばかりの IgG を有する免疫複合体で, 補体は未結合である。一方, C3d-CIC は補体を活性化し, 補体因子 3 フラグメントを表面に有することから, 血中を一定時間循環していた免疫複合体を指す。また, Day 15 と 46 に実施した剖検で得られた腎をヒト IgG (イダルシズマブ), サル IgG, サル IgM 及びサル C3 について免疫組織化学的に検査したが, 腎糸球体への沈着程度に 0/0 mg/kg/日群と 12/150, 12/500 及び 0/500 mg/kg/日群との間に差は観察されなかった。したがって, イダルシズマブ投与あるいは DE/イダルシズマブ投与によってサルには免疫複合体の形成, 並びに腎糸球体への免疫複合体沈着は生じないと結論付けられた。ヒト IgG (イダルシズマブ) は Day 15 で 12/150, 12/500 及び 0/500 mg/kg/日群の腎尿細管上皮に検出されたが, 0/0 mg/kg/日群あるいは Day 46 ではいずれの試験群にもみられなかった。

以上, サルにイダルシズマブを 2 週間にわたり 500 mg/kg/日で単剤投与又は DE/イダルシズマブの 12/500 mg/kg/日で併用投与しても臨床的あるいは病理組織学的に標的臓器毒性は認められなかった。イダルシズマブには血栓形成促進作用はなく, 抗ダビガトラン抗体産生あるいは免疫複合体形成も認められなかった。イダルシズマブの NOAEL は単剤投与又は DE 12 mg/kg/日との併用投与のいずれでも 500 mg/kg/日と判断され, 雌雄合わせた投与期間終了時のイダルシズマブの

$C_{\max}$  は DE/イダルシズマブの 0/500 mg/kg/日 で 174500 nM, 12/500 mg/kg/日 で 172500 nM, また,  $AUC_{0-24}$  は 0/500 mg/kg/日 と 12/500 mg/kg/日 とともに 202000 nM·h であった。

### 3.3 トキシコキネティクス

イダルシズマブの TK を表 3.3: 1 に示す。イダルシズマブの  $C_{\max}$  及び  $AUC_{0-24}$  にはラット及びサルともに性差がなく, 反復投与又は抗イダルシズマブ抗体の影響を受けなかった。イダルシズマブを 175 又は 500 mg/kg/日 で投与したときの  $C_{\max}$  はラットとサルでほぼ同様であったが, ラットにおける  $AUC_{0-24}$  はサルの約 1/2 の値を示した。この現象はラットにおけるイダルシズマブの排泄速度がサルよりも速いことに起因する [CTD 2.6.4\_3 項]。ヒトにおけるイダルシズマブの薬物動態学的成績は外国人については臨床試験 1321.2 [CTD 5.3.4.1-02\_c02742738] で, 日本人については臨床試験 1321.5 [CTD 5.3.4.1-03\_c03026940] で検討された。それらの健康成人被験者における成績を表 3.3: 1 に示すとともに, 非臨床毒性試験における NOAEL で得られた成績との比較を表 1: 1 に示す。

## 2.6.6 毒性試験の概要文

## イダルシズマブ（遺伝子組換え）

Proprietary confidential information © 2016 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

表 3.3: 1 イダルシズマブのトキシコキネティクス

試験の種類 [CTD 番号_資料番号]	DE/イダルシズマブ [mg/kg]	性	イダルシズマブ 初回投与			
			質量濃度		モル濃度	
			C <sub>max</sub> (ng/mL)	AUC <sub>0-24</sub> (ng·h/mL)	C <sub>max</sub> (nM)	AUC <sub>0-24</sub> (nM·h)
ラット: 単回 [CTD4.2.3.1-01 _U12-3325]	0/50	雄	845,000	337,000	17,700	7,050
		雌	889,000	342,000	18,600	7,160
	0/175	雄	2,960,000	1,220,000	61,900	25,500
		雌	2,780,000	1,080,000	58,200	22,600
ラット: 4 週間 [CTD4.2.3.2-02 _U12-3327]	0/150	雄	2,530,000	1,300,000	52,900	27,200
		雌	2,560,000	1,260,000	53,600	26,400
	0/500 NOAEL	雄	7,520,000	3,950,000	157,000	82,700
		雌	8,510,000	4,010,000	178,000	83,900
サル: 漸増 <sup>a</sup> [CTD4.2.3.2-01 _U12-3326]	0/30	雄	768,000	559,000	16,100	11,700
		雌	703,000	605,000	14,700	12,700
	12/30	雄	546,000	431,000	11,400	9,020
		雌	560,000	524,000	11,700	11,000
	0/90	雄	1,830,000	1,590,000	38,300	33,300
		雌	1,890,000	1,800,000	39,600	37,700
	12/90	雄	1,600,000	1,450,000	33,500	30,300
		雌	1,570,000	1,670,000	32,900	35,000
	0/175	雄	3,880,000	3,230,000	81,200	67,600
		雌	3,450,000	3,450,000	72,200	72,200
	12/175	雄	3,110,000	2,580,000	65,100	54,000
		雌	3,650,000	3,200,000	76,400	67,000
サル: 2 回 <sup>b</sup> [CTD4.2.3.2-03 _U12-3328]	12/150 NOAEL	雄	2,390,000	2,340,000	50,000	49,000
		雌	2,270,000	2,380,000	47,500	49,800
	12/500	雄	12,400,000	9,710,000	260,000	203,000
		雌	11,900,000	9,750,000	249,000	204,000
	0/500 NOAEL	雄	11,200,000	9,700,000	234,000	203,000
		雌	11,300,000	11,600,000	236,000	243,000
サル: 2 回 <sup>b</sup> [CTD4.2.3.2-04 _U13-3538]	12/500 NOAEL	雄	7,350,000	7,900,000	154,000	165,000
		雌	8,230,000	8,450,000	172,000	177,000
	0/500 NOAEL	雄	7,650,000	8,560,000	160,000	179,000
		雌	7,620,000	8,010,000	159,000	168,000
サル: 2 週間 [CTD4.2.3.2-05 _n00230533]	12/150	雄	2,250,000	2,610,000	52,700	54,600
		雌	2,520,000	2,560,000	52,700	53,600
	12/500 NOAEL	雄	7,670,000	8,690,000	161,000	182,000
		雌	8,040,000	8,700,000	168,000	182,000
	0/500 NOAEL	雄	8,100,000	9,080,000	170,000	190,000
		雌	8,380,000	9,500,000	175,000	199,000
外国人健康被験者 (45~64 歳) イダルシズマブ 5 g [CTD5.3.4.1-02_c02742738]	-	-	-	25,000	37,000	
日本人健康被験者 イダルシズマブ 2.5 g + 2.5 g [CTD5.3.4.1-03_c03026940]	-	-	-	30,100	43,300	

-: 該当なし

a: DE 投与 Day 1-4, 15-18, 29-32 イダルシズマブ投与 Day 4, 18, 32 の DE 投与 1.5 時間後

b: DE 投与 Day 1-5, イダルシズマブ投与 Day 4, 5

#### 4. 遺伝毒性試験

イダルシズマブはチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞により産生されるバイオテクノロジー応用医薬品に該当することから ICH S6 (R1)に従って遺伝毒性試験は実施していない。

#### 5. がん原性試験

イダルシズマブは緊急時にダビガトランの抗凝固作用を中和する必要が生じた際にのみ処方される一事象対処薬であり、その使用は単回投与に限定されるため、ICH S1A でがん原性試験実施対象とされている 6 カ月以上あるいは長期に間欠的に使用する医薬品に該当しない。また、ラット及びサルを用いた毒性試験でがん原性を懸念させる増殖性所見はみられていない。さらに、イダルシズマブ投与に際し患者が医療機器ないしは製剤に長期間接触することもない。したがって、イダルシズマブのがん原性試験は実施していない。

#### 6. 生殖発生毒性試験

イダルシズマブは Fc $\gamma$  を持たない Fab であること、緊急時のみに処方される一事象対処薬であり、原則としてその使用は 1 日限りで 5 g 静脈内投与に限定されること、ICH S6(R1)及び DE の妊婦における使用上の注意喚起などを総合的に判断した結果、イダルシズマブの生殖発生毒性試験は実施していない。

#### 7. 局所忍容性

イダルシズマブの市販予定製剤による局所忍容性を、ラット及びサルを用いた GLP 適用の反復静脈内投与毒性試験と、ウサギを用いた GLP 適用の血管周囲投与試験の注射部位を病理組織学的に検査することで評価した。試験に使用した市販予定製剤は、25 mM の酢酸ナトリウム、220 mM のソルビトールと 0.02%のポリソルベート 20 からなる pH 5.5 の溶液にイダルシズマブを 50 mg/mL で溶解した構成となっている。その結果、いずれの試験においてもイダルシズマブの市販予定製剤による局所刺激性はみられなかった。

イダルシズマブを 50 mg/mL で溶解した市販予定製剤を 10 mL/kg/日で連日投与した GLP 適用反復静脈内投与毒性試験は、ラットで 28 日間及びサルで最長 14 日間の投与期間で実施されており、投与部位を病理組織学的に検査したところ、反復静脈穿刺したことに起因する所見が認められたが、イダルシズマブの市販予定製剤に関連する変化は観察されなかった [CTD 4.2.3.2-02\_U12-3327, CTD 4.2.3.2-03\_U12-3328, CTD 4.2.3.2-04\_U13-3538, CTD 4.2.3.2-05\_n00230533]。

また、血管周囲への刺激性を評価するために実施したウサギの GLP 適用試験では、ニュージーランド白色ウサギの左右耳介の辺縁静脈周囲に、それぞれイダルシズマブの市販予定製剤及び 0.9%生理食塩水を 0.1 mL で注射して投与部位の皮膚観察及び病理組織学的検査を実施した結果、イダルシズマブの市販予定製剤に関連する変化はみられなかった [CTD 4.2.3.6-01\_U13-3997]。

## 8. その他の毒性試験

### 8.1 組織交差反応性試験 [CTD 4.2.3.7.7-01\_U12-3331]

ヒト化 IgG2a Fab であるイダルシズマブのヒト組織への交差反応性を GLP 適用試験で評価した。また、Crl:WI(Han)ラットとアカゲザルの組織についての交差反応性も合わせて評価した。試験ではヒト IgG Fab (HuIgG) を陰性対照物質とし、ラット及びサルのそれぞれ 3 例から得た FDA 及び European Medicines Agency (EMA) のガイドラインで標準とされている組織について、イダルシズマブ (2 及び 10 µg/mL) +G $\alpha$ HuIgG [ヤギの抗ヒト IgG F(ab')<sub>2</sub> ビオチン化 F(ab')<sub>2</sub>]、HuIgG (2 and 10 µg/mL) +G $\alpha$ HuIgG 及びアッセイコントロール (G $\alpha$ HuIgG) により比較評価した。その結果、イダルシズマブに特異的な染色はヒト組織、ラット組織あるいはサル組織のいずれにも認められず、一方、陽性対照標本及び陰性対照標本における染色性は予期されたとおりであった。したがって、イダルシズマブの TCR は極めて低いと判断された。

### 8.2 血液適合性 [CTD 4.2.3.7.7-02\_U12-3289]

0.5 mL のヒト血液を 125 µL のイダルシズマブ市販予定製剤とインキュベーションしても溶血は生じなかった。

## 8.3 規格設定

### 8.3.1 不純物A\* [CTD 4.2.3.7.7-03\_n00236993]

イダルシズマブの製造における精製工程で [redacted] クロマトグラフィーの担体として不純物A\* を用いるため、不純物A\* ( [redacted] 不純物A\* ) が不純物となる可能性がある。

不純物A\* の毒性は [redacted] 社で実施した微生物を用いた復帰突然変異試験及びラットの急性毒性試験により評価した。また、イダルシズマブの原薬に不純物として含まれている不純物A\* は Boehringer Ingelheim 社で実施したラット及びサルの反復投与毒性試験で評価した。

微生物を用いた復帰突然変異試験で不純物A\* に変異原性はみられなかった。ラットを用いた不純物A\* の急性毒性試験成績から Permissible Daily Exposure (PDE) は 65 µg/日と算出された。イダルシズマブはヒトに 1 日に 5 g 投与されるので、不純物A\* の PDE 65 µg/日はイダルシズマブ原薬中の 13 ng/mg に相当する。ラットの 28 日間反復投与毒性試験及びサルの 2 回投与毒性試験におけるイダルシズマブの NOAEL より体重 50 kg の成人に 5 g のイダルシズマブを投与した場合、原薬中の不純物A\* 5 ng/mg での安全性が示された。

## 8.4 溶出物及び抽出物

### 8.4.1 製造設備 [CTD 4.2.3.7.7-04\_n00237442]

イダルシズマブは静脈内投与用に 50 mg/mL の水溶液として製剤化されるヒト化 Fab である。その治療用量は 5 g であり、したがって 100 mL が投与される。イダルシズマブ製剤の製造設備か

\*：新薬承認情報提供時に置き換えた

らの溶出物を検出するための試験が実施され [CTD 3.2.P.2.1\_3.2.7] , 溶出物とイダルシズマブ製剤 100 mL 中の値を PQRI Working Group ガイダンスに従って評価した [CTD 4.3-14\_R14-1312] 。その結果, Class I と Class II 溶出物の値はそれぞれの Qualification Threshold (QT) 以下であったことから, それらの安全性評価は不要と判断した。また, Class III 溶出物は検出されなかった。

#### 8.4.2 容器・施栓系

イダルシズマブの容器・施栓系からの抽出物とバイアル空隙部分における揮発物質の評価は別途記載した [CTD 3.2.P.2.1\_4.2.3.3] 。Flurotec/B2-40 でコーティングしたゴム栓 (D777-1) からの抽出物について検討した。検討試験に用いたゴム栓は, イダルシズマブ市販予定製剤に用いるゴム栓よりわずかに大きい, 同じ成分からなり同じコーティングを施している。抽出物はイダルシズマブを 5 g (50 mg/mL, 100 mL) で投与した場合を想定して PQRI Working Group ガイダンスに従って評価した [CTD 4.3-14\_R14-1312] 。また, バイアルの空隙部分に放出される可能性のある揮発物質についても評価した。その結果, Class II 抽出物・揮発物質の値は QT 以下であった。Class I 揮発物質のうち [REDACTED] 及び [REDACTED] の値は, それぞれの QT の約 2.4 倍及び 6 倍と推定された。しかし, イダルシズマブ市販予定製剤は緊急時に 1 回投与されることを踏まえると, これら [REDACTED] 及び [REDACTED] の値は許容されるものと考えられた。Class I 抽出物の値は QT 以下であった。

#### 8.5 添加剤

イダルシズマブの市販予定製剤には添加剤として D-ソルビトール (220 mM) , 酢酸ナトリウム (25 mM) 及びポリソルベート 20 (0.02%) が含まれる。これらはいずれも長期使用される抗体医薬品などの非経口タンパク製剤に用いられる標準的添加剤であり, いずれの含量も臨床使用するにあたり安全性が確認されている。しかし, D-ソルビトールは遺伝性フルクトース不耐症 (HFI) の患者にとって懸念の対象となり得るため以下に考察する。

##### 8.5.1 D-ソルビトール

イダルシズマブの市販予定製剤には 220 mM, すなわち 40 mg/mL の濃度で D-ソルビトールが添加剤として含まれていることから HFI 患者に安全性の懸念が生じる。HFI は肝, 腎及び腸管の B 型アルドラーゼが欠損するためフルクトースを含む食物に不耐症を示す劣性遺伝性疾患で, その患者数は 20000 人に 1 人といわれている。HFI は新生児にフルクトースを含む離乳食を与えたときに, 低血糖症や代謝性アシドーシスを伴う成長障害, 吐き気, 嘔吐並びに発汗がみられることで発見される [CTD 4.3-11\_R13-1337] 。D-ソルビトールは代謝によってフルクトースを生じるため, HFI 患者には D-ソルビトールを含む食物や医薬品に予防策が必要とされている。成人は成長過程で果物やフルクトース含有食物に接しているために, 自身が HFI であることを周知している。また, HFI の成人にフルクトースあるいは D-ソルビトールを大量に点滴静注すると, 消化管疼痛と低血糖症, 肝不全並びに腎不全を示す臨床病理学的検査成績が報告されている [CTD 4.3-20\_R14-4038] 。

HFI 患者にとって血液生化学的検査成績に異常を来さないフルクトース又は D-ソルビトールの慢性摂取量は 40 mg/kg 以下と規定されている [CTD 4.3-10\_R13-1336, CTD 4.3-12\_R13-1338]。イダルシズマブを 5 g 投与するときの市販予定製剤の投与量は 100 mL であり、D-ソルビトールは 4000 mg 投与されるので、体重 100 kg 以下の成人においては 40 mg/kg を超す D-ソルビトールの投与量となる。一方、HFI を診断するために 200~250 mg/kg のフルクトースを単回静脈内投与して、低血糖症と低リン酸血症をモニターするという方法がとられている [CTD 4.3-07\_R08-4274]。イダルシズマブは緊急時に 5 g が投与されるが、D-ソルビトールの投与量が 200 mg/kg を超すには体重 20 kg 以下の成人が対象となるため、臨床の場で起こることは考えにくい。しかしながら、イダルシズマブ市販予定製剤には D-ソルビトールが含まれていることを各国の規制要件に応じて添付文書に記載して注意喚起する予定である。

## 9. 考察

イダルシズマブの非臨床毒性試験を ICH S6 (R1) に準拠して実施した。イダルシズマブ又は DE/イダルシズマブをラットに 4 週間及びサルに 2 週間にわたり連日投与しても、体重、一般状態、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、器官重量及び病理組織学的検査に毒性所見は生じなかった。また、サルの心電図検査でも毒性所見はみられなかった。ダビガトラン及びイダルシズマブは主に腎を介して排泄されるため、腎については特に注意を払って評価したが、ラットにもサルにも腎毒性を示唆する所見は認められなかった。腎に関する所見は 9.1 項でさらに詳細に考察する。

サルに DE を投与したときに血液凝固指標が延長した。そして、サルで DE 投与によって生じた抗凝固作用は、イダルシズマブ投与によって予想通りに中和された。毒性試験に用いたイダルシズマブの用量で DE がもたらす抗凝固作用に対する中和作用がみられ、イダルシズマブ投与 24 時間後における血液凝固指標は正常範囲に回復した。

ラット 4 週間及びサル 2 週間反復静脈内投与毒性試験におけるイダルシズマブの  $C_{max}$  及び AUC は、イダルシズマブの 5 g 単回投与を受けた外国人 45~64 歳健康被験者あるいはイダルシズマブの 2.5 g を短時間内に 2 回投与を受けた日本人健康被験者における  $C_{max}$  の 6 倍以上、AUC の 2 倍以上を示したことからその毒性評価に適切なものと考えられた (表 1: 1)。また、ダビガトラン及び総ダビガトランの血中濃度は DE の最大推奨臨床用量 300 mg/日 (150 mg 1 日 2 回) を投与したヒトの血中濃度に匹敵する値を示した。

イダルシズマブあるいは抗イダルシズマブ抗体の存在下で、ラット及びサルの凝固指標には変動がみられなかった。さらに、サルにおいてイダルシズマブに血栓形成促進作用は認められなかった。

抗イダルシズマブ抗体はラット及びサルに検出されたが、いずれもイダルシズマブの TK に影響を与えることはなかった。これはイダルシズマブの投与量が十分であったためと考えられる。抗イダルシズマブ抗体の影響として捉えられる所見として、イダルシズマブを間欠的に投与したサルの 1 例に観察された過敏症が挙げられる。この所見については 9.2 項で考察する。

サルに抗ダビガトラン抗体が産生される可能性は極めて低いと判断された。

## 9.1 腎への影響

ダビガトラン及びイダルシズマブは主に腎を介して排泄されるため、腎の安全性には特に注意して評価した。その結果、ラット及びサルにおいてイダルシズマブの単剤投与あるいは DE との併用投与によっても腎障害を示す所見は認められなかった。

ラットの 4 週間反復静脈内投与毒性試験及びサルの 2 週間反復静脈内投与毒性試験では腎に関するバイオマーカーに変動はみられなかった。サルの第一回目の 2 回静脈内投与毒性試験で雄 1 例に腎関連バイオマーカーの変化がみられたが、腎評価を目的として実施したサルの第二回目の 2 回静脈内投与毒性試験、あるいはサルの 2 週間反復静脈内投与毒性試験では同様の所見が生じなかったことから、第一回目の 2 回静脈内投与毒性試験で雄 1 例に観察された所見は DE あるいはイダルシズマブ投与に起因するものではないと結論付けられた。また、ラットではイダルシズマブを 150 及び 500 mg/kg/日で 4 週間、あるいはサルではイダルシズマブを 500 mg/kg/日又は DE/イダルシズマブを 12/500 mg/kg/日で 2 週間投与しても腎に病理組織学的変化は生じなかった。

サルを用いた 2 週間反復静脈内投与毒性試験 [CTD 4.2.3.2-05\_n00230533] において、免疫組織化学的検査によりイダルシズマブ投与 24 時間以内にはイダルシズマブの染色反応が腎近位尿細管上皮にみられたものの休薬期間後には消失した。この腎におけるイダルシズマブの染色反応は形態も部位も全身循環から腎糸球体濾過によって速やかに排泄された後、近位尿細管で再吸収・異化される IgG Fab 分子の特徴を示すものであった [CTD 4.3-18\_R14-1441]。この過程でタンパクはライソゾームで分解されてアミノ酸やペプチドとなり再利用される。イダルシズマブがダビガトランあるいはダビガトラングルクロン酸抱合体と結合している時には、上記過程においてこれらの複合体よりイダルシズマブ、ダビガトランあるいはダビガトラングルクロン酸抱合体が近位尿細管上皮内で遊離し、その結果生じる毒性が懸念される。しかし、サルにイダルシズマブを DE の存在下で 2 週間連続投与しても腎障害を示唆する所見は認められなかった。以上より、ダビガトランの抗凝固作用を中和するためにイダルシズマブをヒトに投与した際に腎障害が生じる可能性は極めて低いと判断される。

## 9.2 免疫原性

イダルシズマブはヒト化 Fab であることからラット及びサルに静脈内投与することで抗体が産生されることは予期されうる。抗イダルシズマブ抗体はラットあるいはサルのいずれの TK にも影響を与えず、試験成績評価の障害にもならなかった。GLP 適用毒性試験で抗イダルシズマブ抗体が検出された頻度を表 9.2: 1 に示す。サルを用いた PK/PD 試験において、イダルシズマブを約 1 カ月間に間欠的に 3 回静脈内持続投与したところ、過敏症と考えられる症状が発現した。イダルシズマブを単剤又は DE との併用で間欠的にあるいは連日反復投与したサルに急性輸液反応あるいは他の免疫原性を示唆する所見は認められなかった。

この PK/PD 試験では、投与第 3 相のイダルシズマブ静脈内持続投与中に 8 例中 1 例（動物 No.205）のサルが虚脱に陥った。No.205 は 1 週間間隔の 2 回静脈内持続投与と 22 日間休薬期間の投与スケジュールによりヒト化 Fab に感作されたと考えられた。No.205 は抗イダルシズマブ抗体に陽性

反応を示したが、他の7例中5例にも陽性反応が認められ、しかも、それらの反応程度はNo.205とほぼ同じであった。臨床症状の発症時期は抗イダルシズマブ抗体に起因する即時型過敏症を示唆するものであった。No.205では病理組織学的検査で肺胞内出血と細気管支内出血がみられた。補体の遊離は血管透過性を高める。さらに、サルにおいてDE 12 mg/kg投与で生じる抗凝固作用を完全に中和するにはイダルシズマブ 30 mg/kgは十分量でない上に、No.205には予定されていたイダルシズマブ 30 mg/kgの全量を投与することができなかったことを踏まえると、ダビガトランの抗凝固作用が持続したことで出血がより顕性化したものと考えられた。健康成人被験者が二度のイダルシズマブ投与を受けた事例が少なく、また、患者での事例がないことから、No.205に生じた過敏症のヒトへの外挿性については必ずしも明らかでないが、イダルシズマブのヒトにおける免疫原性は総じて低いと考えられる。

サルにイダルシズマブを単剤で、又はDE/イダルシズマブを併用で2週間にわたり投与しても病理組織学的検査で腎糸球体に免疫複合体は認められず、C3d-CICに変動はなかった。これらの成績から、ヒトにおいて抗イダルシズマブ抗体がイダルシズマブ投与前に産生されていても、あるいは投与後に産生されても、その免疫複合体が組織に沈着する可能性は低いと考えられる。

DE/イダルシズマブを併用投与したサルに抗ダビガトラン抗体が産生される可能性は極めて低いと判断された。ダビガトランがイダルシズマブに結合することでハプテンとして機能し、抗体産生を促すことを考慮したが、ダビガトランの機能検査、抗ダビガトラン抗体測定、DE再投与後の補体測定、循環血中免疫複合体測定及び免疫組織化学的な免疫複合体沈着検査結果から、その作用は認められなかった。したがって、ヒトで抗ダビガトラン抗体が産生される可能性は非常に低いと考えられる。

表 9.2: 1 GLP 適用試験における抗イダルシズマブ抗体検出頻度

試験 [CTD 番号_資料番号]	用量 [mg/kg] DE イダルシズマブ	抗イダルシズマブ抗体反応陽性動物数				測定方法 a
		投与前	投与期間中	投与期間 終了時	回復期間 終了時	
ラット 4週間+4週間回復 [CTD4.2.3.2-02_U12-3327]	0/0	10/169	1/6	9/35	1/20	BBM-12 -1004
	0/150		4/17	18/47	na	
	0/500		8/18	27/48	12/20	
サル 2回+2週間回復 [CTD4.2.3.2-03_U12-3328]	0/0	6/42	-	4/10	1/4	BBM-12 -1002
	12/150		-	6/6 <sup>b</sup>	na	
	12/500		-	10/10 <sup>b</sup>	4/4	
	0/500		-	0/10	3/4	
	12/0		-	6/6 <sup>c</sup>	na	
サル/腎検討 2回+2週間回復 [CTD4.2.3.2-04_U13-3538]	0/0	2/30	-	-	0/4	BBM-13 -1001
	0/500		-	-	1/4	
	12/500		-	-	3/4	
サル 2週間+4週間回復 +DE 再投与 [CTD4.2.3.2-05_n00230533]	0/0	3/40	-	1/10	0/4	BBM-13 -1001
	0/500		-	3/10 <sup>d</sup>	4/4	
	12/150		-	9/10	4/4	
	12/500		-	3/10 <sup>d</sup>	4/4	

na: 該当なし      -: 測定せず

a: Cut-point を~5% false positive rate としてスクリーニング検査を実施

b: 血漿中ダビガトランがアッセイ系に干渉した可能性あり。測定サンプルはイダルシズマブの初回投与 2 日後に採取されたことから false positive と判断。

c: イダルシズマブは投与されていないことからダビガトランによるアッセイ系への干渉がもたらす false positive と判断。

d: 検出頻度は高濃度のイダルシズマブの影響あり。

## 10. 結論

イダルシズマブは DE による治療中に生命を脅かす出血又は止血困難な出血を発現している、若しくは、緊急手術/緊急処置を要する患者で、ダビガトランの抗凝固作用を速やかに中和する必要が生じた際に適用される一事象対処薬であり、5 g を 1 日で静脈内に投与する。

イダルシズマブの毒性試験ではラット及びサルを用いてイダルシズマブの毒性を包括的に評価するとともに DE を併用投与したときの毒性をサルで評価した。ラットの 4 週間反復静脈内投与毒性試験及びサルの 2 週間反復静脈内投与毒性試験で得られた NOAEL は健康日本成人被験者と比較し、C<sub>max</sub> 及び AUC のそれぞれで約 6 倍及び約 2~4 倍の曝露安全域を示し、予定臨床用量における日本人での安全性が確保された。いずれの毒性試験でも臨床検査項目あるいは病理組織学的に標的臓器毒性は認められず、TCR 検査において、イダルシズマブはヒト組織に結合しないことが明らかとなった。市販予定製剤は静脈内及び血管周囲投与に忍容性を示し、ヒト血液に溶血を生じなかった。また、市販予定製剤の賦形剤はヒトにおいて安全性があると判断された。しかし、市販予定製剤に含まれるソルビトールの量については各国の規制要件に従って添付文書で注意喚起する予定である。動物でみられた抗イダルシズマブ抗体産生はヒトに外挿される事象ではなく、

さらに、抗イダルシズマブ抗体はラットあるいはサルに毒性を惹起しなかった。イダルシズマブを投与したサルにおいて、抗ダビガトラン抗体が産生される可能性は極めて低いと判断された。

以上の毒性試験成績より、ヒトにおけるイダルシズマブ使用時の安全性が裏付けられたと判断される。

## 第 2 部 CTD の概要

JAN あるいは販売名 :	イダルシズマブ (遺伝子組換え)
剤形・含量 :	注射剤・50 mg/mL
文書名 :	2.6.7 毒性試験概要表
文書作成日 :	25 November 2015
<b>Page 1 of 38</b>	
<b>Proprietary confidential information</b> © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved. This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission	

## 目次

目次	2
1.A 毒性試験：一覧	3
2.A トキシコキネティクス：試験の一覧	5
3.A 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	6
4.A 毒性試験：原薬・製剤規格	10
4.B 毒性試験：使用バッチ	12
5.A 単回投与毒性試験	13
6.A 反復投与毒性試験	14
7.A 反復投与毒性試験	17
7.B 反復投与毒性試験	20
7.C 反復投与毒性試験	23
7.D 反復投与毒性試験	26
8. 遺伝毒性試験: <i>In Vitro</i>	29
9. 遺伝毒性試験: <i>In Vivo</i>	30
10. がん原性試験	31
11. 生殖発生毒性試験	32
12. 生殖発生毒性試験	33
13. 生殖発生毒性試験	34
14. 生殖発生毒性試験	35
15. 幼若動物を用いた試験	36
16. 局所忍容性	37
17. その他の試験	38

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

1.A 毒性試験：一覽

Test Article: Idarucizumab and Dabigatran etexilate

Type of Study	Species/ Strain	Route	Duration of Dosing	Doses <sup>a</sup> [mg/kg]	GLP	Testing Facility	CTD No. Document No.
Single-Dose Toxicity	Rat/	Ida:	1 day	0, 50, 175	No	-UK	CTD4.2.3.1-01
	RccHan <sup>TM</sup> ; WJST	intravenous					_U12-3325
Repeat-Dose Toxicity, 4-week with 4-week reversibility	Rat/	Ida:	4 weeks	0, 150, 500	Yes	-UK	CTD4.2.3.2-02
	RccHan <sup>TM</sup> ; WJST	intravenous					_U12-3327
Repeat-Dose Toxicity, escalating dose	Monkey/ Rhesus	DE:oral Ida: intravenous	Group D 1-3 DE	1 2 3 0 0 12	No	-UK	CTD4.2.3.2-01
			D 4 DE/Ida	0/0 0/30 12/30			_U12-3326
			D 15-17 DE	0 0 12			
			D 18 DE/Ida	0/0 0/90 12/90			
			D29-31 DE	0 0 12			
			D 32 DE/Ida	0/0 0/175 12/175			
Repeat-Dose Toxicity, 2-day with 2-week reversibility	Monkey/ Rhesus	DE: oral Ida: intravenous	Group D 1-3 DE	1 2 3 4 5 0 12 12 0 12	Yes	-UK	CTD4.2.3.2-03
			D 4-5 DE/Ida	0/0 12/150 12/500 0/500 12/0			_U12-3328
Repeat-Dose Toxicity, 2-day with 2-week reversibility, renal focus	Monkey/ Rhesus	DE: oral Ida: intravenous	Group D 1-3 DE	1 2 3 0 0 12	Yes	-UK	CTD4.2.3.2-04
			D 4-5 DE/Ida	0/0 0/500 12/500			_U13-3538
Repeat-Dose Toxicity, 2-week with 4-week reversibility and 3-day DE re-administration	Monkey/ Rhesus	DE: oral Ida: intravenous	Group D 1-14 DE/Ida	1 2 3 4 0/0 0/500 12/150 12/500	Yes	-UK	CTD4.2.3.2-05
			D 43-45 DE	+0 +0 +12 +12			_n00230533

D: Day DE: dabigatran etexilate Ida: idarucizumab -UK: [REDACTED], UK

a: For Repeat-Dose Toxicity, the NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) is underlined. No NOAEL is designated for non-GLP studies.

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

1.A 毒性試験：一覧  
(続き)

Test Article: Idarucizumab and Dabigatran etexilate

Type of Study	Species/Strain Tissue	Test System	Duration of Dosing	Doses/Concentrations	GLP	Testing Facility	CTD No. Document No.
Local Tolerance	Rabbit/NZW	perivenous	once	0, 5 mg	Yes	██████████	CTD4.2.3.6-01 U13-3997
Tissue Cross-Reactivity	Human, Monkey/Rhesus, Rat/Crl:WI(Han)	<i>in vitro</i>	not applicable	0, 2, 10 µg/mL	Yes	██████████	CTD4.2.3.7-01 _U12-3331
Hemocompatibility	Human whole blood	<i>in vitro</i>	not applicable	125 µL of 0, 55 mg/mL	No	██████████	CTD4.2.3.7-02 _U12-3289

NZW: New Zealand White

██████████, USA

██████████ USA

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

2.A トキシコキネティクス：試験の一覧

Test Article: Idarucizumab and Dabigatran etexilate

Type of Study	Species/ Strain	Route	Duration of Dosing	Doses <sup>a</sup> [mg/kg]	GLP	Testing Facility	CTD No. Document No.
Single-Dose Toxicity	Rat/	Ida:	1 day	0, 50, 175	No	-UK	CTD4.2.3.1-01
	RccHan <sup>TM</sup> ; WJST	intravenous					_U12-3325
Repeat-Dose Toxicity, 4-week with 4-week reversibility	Rat/	Ida:	4 weeks	0, 150, 500	Yes	-UK	CTD4.2.3.2-02
	RccHan <sup>TM</sup> ; WJST	intravenous					_U12-3327
Repeat-Dose Toxicity, escalating dose	Monkey/ Rhesus	DE:oral Ida: intravenous	Group	1 2 3	No	-UK	CTD4.2.3.2-01
			D 1-3 DE	0 0 12			_U12-3326
			D 4 DE/Ida	0/0 0/30 12/30			
			D 15-17 DE	0 0 12			
			D 18 DE/Ida D29-31 DE	0/0 0/90 12/90 0 0 12			
		D 32 DE/Ida	0/0 0/175 12/175				
Repeat-Dose Toxicity, 2-day with 2-week reversibility	Monkey/ Rhesus	DE: oral Ida: intravenous	Group	1 2 3 4 5	Yes	-UK	CTD4.2.3.2-03
			D 1-3 DE	0 12 12 0 12			_U12-3328
Repeat-Dose Toxicity, 2-day with 2-week reversibility, renal focus	Monkey/ Rhesus	DE: oral Ida: intravenous	Group	1 2 3 4	Yes	-UK	CTD4.2.3.2-04
			D 1-3 DE	0 0 12			_U13-3538
Repeat-Dose Toxicity, 2-week with 4-week reversibility and 3-day DE re-administration	Monkey/ Rhesus	DE: oral Ida: intravenous	Group	1 2 3 4	Yes	-UK	CTD4.2.3.2-05
			D 1-14 DE/Ida D 43-45 DE	0/0 +0 0/500 +12 12/150 +12 12/500 +12			_n00230533

D: Day DE: dabigatran etexilate Ida: idarucizumab -UK: XXXXXXXXXX UK  
a: For Repeat-Dose Toxicity, the NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) is underlined. No NOAEL is designated for non-GLP studies.

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

3.A 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

**Test Article:** Idarucizumab and Dabigatran etexilate

Summary of Mean Idarucizumab AUC<sub>0-24</sub> (nM·h) in Toxicology Studies, Compared to Geometric Mean AUC<sub>0-∞</sub> (nM·h) in Humans

DE/IDA [mg/kg]	Rat/RccHan™:WIST		Monkey/Rhesus		Human
	Male	Female	Male	Female	
0/30			11,700 <sup>d</sup>	12,700 <sup>d</sup>	
12/30			9,020 <sup>d</sup>	11,000 <sup>d</sup>	
0/90			33,300 <sup>d</sup>	37,700 <sup>d</sup>	
12/90			30,300 <sup>d</sup>	35,000 <sup>d</sup>	
8.8/100 <sup>f</sup>					37,000 <sup>g</sup> , 43,900 <sup>h</sup>
6/100 <sup>f</sup>					53,100 <sup>i</sup>
4.4/100 <sup>f</sup>					43,300 <sup>j</sup>
0/150	24,700 <sup>a</sup>	27,800 <sup>a</sup>			
12/150			49,000 <sup>b</sup>	49,800 <sup>b</sup>	
			61,700 <sup>e</sup>	51,700 <sup>e</sup>	
0/175			67,600 <sup>d</sup>	72,200 <sup>d</sup>	
12/175			54,000 <sup>d</sup>	67,000 <sup>d</sup>	
0/500	106,000 <sup>a</sup>	109,000 <sup>a</sup>	203,000 <sup>b</sup>	243,000 <sup>b</sup>	
			179,000 <sup>c</sup>	168,000 <sup>c</sup>	
			188,000 <sup>e</sup>	216,000 <sup>e</sup>	
12/500			203,000 <sup>b</sup>	204,000 <sup>b</sup>	
			165,000 <sup>c</sup>	177,000 <sup>c</sup>	
			208,000 <sup>e</sup>	196,000 <sup>e</sup>	

DE: dabigatran etexilate IDA: idarucizumab HV: healthy volunteers b.i.d.=twice a day

a: 4-week toxicity study in rats (CTD4.2.3.2-02\_U12-3327) b: 2-dose toxicity study in monkeys (CTD4.2.3.2-03\_U12-3328) c: 2-dose toxicity study in monkeys, renal focus (CTD4.2.3.2-04\_U13-3538)

d: Escalating dose study in monkeys (CTD4.2.3.2-01\_U12-3326) e: 2-week toxicity study in monkeys (CTD4.2.3.2-05\_n00230533) f: Human dose levels calculated based on 50 kg human.

g: 1321.2 (CTD5.3.4.1-02\_c02742738), 45 – 64 year old non-Japanese HV. DE administered orally at 220 mg b.i.d.; IDA administered intravenously at 5000 mg 2 hours later.

h: 1321.2 (CTD5.3.4.1-02\_c02742738), elderly non-Japanese HV. DE administered orally at 220 mg b.i.d.; IDA administered intravenously at 5000 mg 2 hours later.

i: 1321.2 (CTD5.3.4.1-02\_c02742738), non-Japanese HV with mild renal impairment. DE administered orally at 150 mg b.i.d.; IDA administered intravenously at 5000 mg 2 hours later.

j: 1321.5 (CTD 5.3.4.1-03\_c03026940), Japanese HV. DE administered orally at 220 mg. IDA administered intravenously at 2500 mg b.i.d. 2 hours later.

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

3.A 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  
(続き)

Test Article: Idarucizumab and Dabigatran etexilate

Summary of Mean Idarucizumab C<sub>max</sub> (nM) in Toxicology Studies, Compared to Geometric Mean C<sub>max</sub> (nM) in Humans

DE/IDA [mg/kg]	Rat/RecHan™:WIST		Monkey/Rhesus		Human
	Male	Female	Male	Female	
0/30			16,100 <sup>d</sup>	14,700 <sup>d</sup>	
12/30			11,400 <sup>d</sup>	11,700 <sup>d</sup>	
0/90			38,300 <sup>d</sup>	39,600 <sup>d</sup>	
12/90			33,500 <sup>d</sup>	32,900 <sup>d</sup>	
8.8/100 <sup>f</sup>					25,000 <sup>g</sup> , 28,300 <sup>h</sup>
6/100 <sup>f</sup>					32,100 <sup>i</sup>
4.4/100 <sup>f</sup>					30,100 <sup>j</sup>
0/150	33,300 <sup>a,k</sup>	51,500 <sup>a</sup>			
12/150			50,000 <sup>b</sup> 59,600 <sup>c</sup>	47,500 <sup>b</sup> 49,000 <sup>c</sup>	
0/175			81,200 <sup>d</sup>	72,200 <sup>d</sup>	
12/175			65,100 <sup>d</sup>	76,400 <sup>d</sup>	
0/500	197,000 <sup>a</sup>	166,000 <sup>a</sup>	234,000 <sup>b</sup> 160,000 <sup>c</sup> 163,000 <sup>e</sup>	236,000 <sup>b</sup> 159,000 <sup>c</sup> 186,000 <sup>e</sup>	
12/500			260,000 <sup>b</sup> 154,000 <sup>c</sup> 181,000 <sup>e</sup>	249,000 <sup>b</sup> 172,000 <sup>c</sup> 164,000 <sup>e</sup>	

DE: dabigatran etexilate IDA: idarucizumab HV: healthy volunteers b.i.d.=twice a day  
a: 4-week toxicity study in rats (CTD4.2.3.2-02\_U12-3327) b: 2-dose toxicity study in monkeys (CTD4.2.3.2-03\_U12-3328) c: 2-dose toxicity study in monkeys, renal focus (CTD4.2.3.2-04\_U13-3538)  
d: Escalating dose study in monkeys (CTD4.2.3.2-01\_U12-3326) e: 2-week toxicity study in monkeys (CTD4.2.3.2-05\_n00230533) f: Human dose levels calculated based on 50 kg human.  
g: 1321.2 (CTD5.3.4.1-02\_c02742738), 45 – 64 year old non-Japanese HV. DE administered orally at 220 mg b.i.d.; IDA administered intravenously at 5000 mg 2 hours later.  
h: 1321.2 (CTD5.3.4.1-02\_c02742738), elderly non-Japanese HV. DE administered orally at 220 mg b.i.d.; IDA administered intravenously at 5000 mg 2 hours later.  
i: 1321.2 (CTD5.3.4.1-02\_c02742738), non-Japanese HV with mild renal impairment. DE administered orally at 150 mg b.i.d.; IDA administered intravenously at 5000 mg 2 hours later.  
j: 1321.5 (CTD 5.3.4.1-03\_c03026940), Japanese HV. DE administered orally at 220 mg. IDA administered intravenously at 2500 mg b.i.d. 2 hours later.  
k: This C<sub>max</sub> value on Day 28 was underestimated due to delay of sampling for the first sample after an IV injection. (CTD4.2.3.2-02\_U12-3327)

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

3.A 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  
(続き)

**Test Article:** Idarucizumab and Dabigatran etexilate

Summary of Mean Sum Dabigatran AUC<sub>0-24</sub> (nM·h) in Toxicology Studies, Compared to Geometric Mean AUC<sub>0-26,ss</sub> (nM·h) in Humans

DE/IDA [mg/kg]	Monkey, Rhesus		Human <sup>f</sup>
	Male	Female	
12/0	6,830 <sup>b</sup>	2,440 <sup>b</sup>	
12/30	9,350 <sup>a</sup>	7,490 <sup>a</sup>	
12/90	14,600 <sup>a</sup>	11,100 <sup>a</sup>	
8.8/100 <sup>c</sup>			10,800 <sup>g</sup> , 12,800 <sup>h</sup>
6/100 <sup>c</sup>			10,700 <sup>i</sup>
4.4/100 <sup>c</sup>			10,300 <sup>j</sup>
12/150	5,300 <sup>b</sup> 7,020 <sup>d</sup>	6,340 <sup>b</sup> 5,200 <sup>d</sup>	
12/175	11,900 <sup>a</sup>	15,800 <sup>a</sup>	
12/500	6,530 <sup>b</sup> 8,440 <sup>c</sup> 8,060 <sup>d</sup>	3,710 <sup>b</sup> 8,440 <sup>c</sup> 7,550 <sup>d</sup>	

DE: dabigatran etexilate

IDA: idarucizumab

HV: healthy volunteers

b.i.d.=twice a day

- a: Escalating dose study in monkeys (CTD4.2.3.2-01\_U12-3326) b: 2-dose toxicity study in monkeys (CTD4.2.3.2-03\_U12-3328)  
c: 2-dose toxicity study in monkeys, renal focus (CTD4.2.3.2-04\_U13-3538) d: 2-week toxicity study in monkeys (CTD4.2.3.2-05\_n00230533)  
e: Human dose levels calculated based on 50 kg human. f: Data were converted from ng/mL to nM using the conversion factor 2.1208.  
g: 1321.2 (CTD5.3.4.1-02\_c02742738), 45 – 64 year old non-Japanese HV. DE administered orally at 220 mg b.i.d.; IDA administered intravenously at 5000 mg 2 hours later.  
h: 1321.2 (CTD5.3.4.1-02\_c02742738), elderly non-Japanese HV. DE administered orally at 220 mg b.i.d.; IDA administered intravenously at 5000 mg 2 hours later.  
i: 1321.2 (CTD5.3.4.1-02\_c02742738), non-Japanese HV with mild renal impairment. DE administered orally at 150 mg b.i.d.; IDA administered intravenously at 5000 mg 2 hours later.  
j: 1321.5 (CTD 5.3.4.1-03\_c03026940), Japanese HV. DE administered orally at 220 mg. IDA administered intravenously at 2500 mg b.i.d. 2 hours later.

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

3.A 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  
(続き)

Test Article: Idarucizumab and Dabigatran etexilate

Summary of Mean Sum Dabigatran C<sub>max</sub> (nM) in Toxicology Studies, Compared to Geometric Mean C<sub>max,ss</sub> (nM) in Humans

DE/IDA [mg/kg]	Monkey, Rhesus		Human <sup>f</sup>
	Male	Female	
12/0	1,220 <sup>b</sup>	375 <sup>b</sup>	
12/30	2,840 <sup>a</sup>	2,570 <sup>a</sup>	
12/90	2,860 <sup>a</sup>	4,030 <sup>a</sup>	
8.8/100 <sup>c</sup>			2,840 <sup>g</sup> , 3,180 <sup>h</sup>
6/100 <sup>c</sup>			2,460 <sup>i</sup>
4.4/100 <sup>c</sup>			2,670 <sup>j</sup>
12/150	2,140 <sup>b</sup> 2,010 <sup>d</sup>	2,270 <sup>b</sup> 1,510 <sup>d</sup>	
12/175	2,610 <sup>a</sup>	6,150 <sup>a</sup>	
12/500	1,720 <sup>b</sup> 2,400 <sup>c</sup> 1,190 <sup>d</sup>	730 <sup>b</sup> 3,010 <sup>c</sup> 1,220 <sup>d</sup>	

DE: dabigatran etexilate

IDA: idarucizumab

HV: healthy volunteers

b.i.d.=twice a day

a: Escalating dose study in monkeys (CTD4.2.3.2-01\_U12-3326)

b: 2-dose toxicity study in monkeys (CTD4.2.3.2-03\_U12-3328)

c: 2-dose toxicity study in monkeys, renal focus (CTD4.2.3.2-04\_U13-3538)

d: 2-week toxicity study in monkeys (CTD4.2.3.2-05\_r00230533)

e: Human dose levels calculated based on 50 kg human.

f: Data were converted from ng/mL to nM using the conversion factor 2.1208.

g: 1321.2 (CTD5.3.4.1-02\_c02742738), 45 – 64 year old non-Japanese HV. DE administered orally at 220 mg b.i.d.; IDA administered intravenously at 5000 mg 2 hours later.

h: 1321.2 (CTD5.3.4.1-02\_c02742738), elderly non-Japanese HV. DE administered orally at 220 mg b.i.d.; IDA administered intravenously at 5000 mg 2 hours later.

i: 1321.2 (CTD5.3.4.1-02\_c02742738), non-Japanese HV with mild renal impairment. DE administered orally at 150 mg b.i.d.; IDA administered intravenously at 5000 mg 2 hours later.

j: 1321.5 (CTD 5.3.4.1-03\_c03026940), Japanese HV. DE administered orally at 220 mg. IDA administered intravenously at 2500 mg b.i.d. 2 hours later.

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

4.A 毒性試験：原薬・製剤規格

Test Article: Idarucizumab

Drug Product (Drug substance) Batch No.	Protein concentration [mg/mL]	不純物 <sup>a</sup> [ng/mg]	HCP <sup>b</sup> [U/mg]	Fab main peak <sup>c</sup> (%)	Pre-Fab <sup>c</sup> (%)	HMWC <sup>c</sup> (%)	Study Information
							CTD No._ Document No. Type of Study
<b>Proposed Specifications</b>							
Drug Substance	45.0–55.0	≤ 13	≤ 50	≥ 93.5	≤ 6.4	≤ 2.3	
Drug Product	45.0–55.0	-	-	≥ 93.2	≤ 7.4	≤ 2.9	
<b>Found Values</b>							
E1739F01	17.5	- <sup>d</sup>	- <sup>d</sup>	- <sup>d</sup>	- <sup>d</sup>	- <sup>d</sup>	CTD4.2.3.1-01_U12-3325 Single dose toxicity in rats CTD4.2.3.2-01_U12-3326 Escalating dose toxicity in monkeys
DAB-FTOX-01 (Pool of 11P0060, 11P0083, 6001326, EngRun2, 94607, 94609, 94613)	50.5	1	< 2	96.0	3.1 <sup>e</sup>	0.6 <sup>e</sup>	CTD4.2.3.2-02_U12-3327 4-week intravenous toxicity in rats CTD4.2.3.2-03_U12-3328 2-dose intravenous toxicity in monkeys CTD4.2.3.7-01_U12-3331 Tissue cross-reactivity CTD4.2.3.7-02_U12-3289 <i>In vitro</i> hemolysis
DAB-FTOX-02 (FR-111511)	50.6	< 0.3	< 2	96.2	3.1 <sup>e</sup>	0.3 <sup>e</sup>	CTD4.2.3.2-04_U13-3538 2-dose intravenous toxicity in monkeys, renal focus
207733 (10800001)	49.7	< 1	< 2, < 1 <sup>f</sup>	96.2	2.9	0.2	CTD4.2.3.2-05_n00230533 2-week intravenous toxicity in monkeys CTD4.2.3.6-01_U13-3997 Perivascular local tolerance in rabbits

a: 不純物<sup>A</sup>\*

b: HCP = host cell protein, measured by CHOP [redacted]; 1 unit (U) corresponds to 1 ng of the HCP standard.

c: Fab main peak, Pre-Fab and high molecular weight compounds (HMWC) measured by [redacted]. Pre-Fab consists of variants, primarily due to Trp oxidation.

HMWC include aggregates.

d: Early development material; batch was not tested for these product attributes.

e: Not reported on CoA for these batches.

f: Generic and process-specific, respectively.

\*: 新薬承認情報提供時に置き換えた

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

4.A 毒性試験：原薬・製剤規格

(続き)

Test Article: Idarucizumab

Proposed Specifications	Main Peak <sup>a</sup> (%)	Light chain <sup>a</sup> (%)	LMW <sup>a</sup> (%)	Sum of heavy and light chain <sup>b</sup> (%)	Study Information
	≥ 97.6	≤ 1.9	≤ 2.2	≥ 98.5	
	≥ 95.8	≤ 2.3	≤ 2.5	≥ 97.0	
Drug Product (Drug substance) Batch No.	CTD No._ Document No. Type of Study				
E1739F01	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	CTD4.2.3.1-01_U12-3325 Single dose toxicity in rats CTD4.2.3.2-01_U12-3326 Escalating dose toxicity in monkeys
DAB-FTOX-01 (Pool of 11P0060, 11P0083, 6001326 EngRun2, 94607, 94609, 94613)	98.9	0.8 <sup>d</sup>	NC	99.7	CTD4.2.3.2-02_U12-3327 4-week intravenous toxicity in rats CTD4.2.3.2-03_U12-3328 2-dose intravenous toxicity in monkeys CTD4.2.3.7-01_U12-3331 Tissue cross-reactivity CTD4.2.3.7-02_U12-3289 <i>In vitro</i> hemolysis
DAB-FTOX-02 (FR-111511)	99.0	0.7 <sup>d</sup>	NC	99.7	CTD4.2.3.2-04_U13-3538 2-dose intravenous toxicity in monkeys, renal focus
207733 (10800001)	98.8	0.8	1.0	99.8	CTD4.2.3.2-05_n00230533 2-week intravenous toxicity in monkeys CTD4.2.3.6-01_U13-3997 Perivascular local tolerance in rabbits

a: Main peak, light chain, and low molecular weight (LMW) compounds measured by CGE non-reduced. The latter measurement was not calculated (NC) for several batches used in toxicology.

b: Sum of heavy and light chain measured by CGE reduced.

c: Early development material; batch was not tested for these product attributes

d: Not reported on CoA for these batches.

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

4.B 毒性試験：使用バッチ

Test Article: Idarucizumab

Drug Product (Drug substance) Batch No.	Batch information			Study Information		
	Site <sup>a</sup>	Scale	Cell Bank <sup>b</sup>	Formulation <sup>c</sup>	GLP	CTD No._ Document No. Type of Study
E1739F01	BIP	200 L	SCB*	50 mM sodium acetate 200 mM sorbitol, pH 5.5	No No	CTD4.2.3.1-01_U12-3325 Single dose toxicity in rats CTD4.2.3.2-01_U12-3326 Escalating dose toxicity in monkeys
DAB-FTOX-01 (Pooled lots of 11P0060, 11P0083, 6001326 EngRun 2, 94607, 94609, 94613)	BIFI/ BIP	80, 100, 500 and 2000 L, pooled	WCB*	commercial	Yes Yes Yes No	CTD4.2.3.2-02_U12-3327 4-week intravenous toxicity in rats CTD4.2.3.2-03_U12-3328 2-dose intravenous toxicity in monkeys CTD4.2.3.7-01_U12-3331 Tissue cross-reactivity CTD4.2.3.7-02_U12-3289 <i>In vitro</i> hemolysis
DAB-FTOX-02 (FR-111511)	BIFI	2000 L	WCB*	commercial	Yes	CTD4.2.3.2-04_U13-3538 2-dose intravenous toxicity in monkeys, renal focus
207733 (10800001)	BIP	12000 L	MCB*	commercial	Yes Yes	CTD4.2.3.2-05_p00230533 2-week intravenous toxicity in monkeys CTD4.2.3.6-01_U13-3997 Perivascular local tolerance in rabbits

a: BIFI = BI Fremont, CA, USA; BIP = BI BioPharm, Biberach, Germany.

b: SCB = safety cell bank, MCB = master cell bank, WBC = working cell bank. MCB\* and MCB\* were derived from SCB\* , with MCB\* coming from a subclone of SCB\* that was designated SCB\* . WCB\* was derived from MCB\* and WCB\* was derived from MCB\* . Commercial cell bank is WCB\* .

c: Proposed commercial formation: 50 mg/mL idarucizumab, 25 mM sodium acetate, 220 mM sorbitol, 0.02% polysorbate 20, pH 5.5

\*:新薬承認情報提供時に置き換えた

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

5.A 単回投与毒性試験

Title: Single Dose Study by Intravenous Bolus

Test Article: Idarucizumab

<u>Species/ Strain</u>	<u>Method of Administration (Vehicle/Formulation)</u>	<u>Doses [mg/kg]</u>	<u>Gender and No. per Group</u>	<u>Observed Maximum Non- Lethal Dose [mg/kg]</u>	<u>Approximate Lethal Dose [mg/kg]</u>	<u>Noteworthy Findings<sup>a</sup></u>	<u>GLP Compliance</u>	<u>CTD No. Document No.</u>
Rat/ RccHan™: WIST	Intravenous, bolus (50 mM Na acetate and 200 mM sorbitol, pH 5.5)	0, 50, 175 (10 mL/kg)	Main: 10/sex TK satellite: 3-9/sex	175	Not determined	50: C <sub>max</sub> : 18,150 nM AUC <sub>0-24</sub> : 7,105 nM·h  175: C <sub>max</sub> : 60,050 nM AUC <sub>0-24</sub> : 24,050 nM·h	No	CTD4.2.3.1-01 _U12-3325
Increased triglycerides at 50 and 175 mg/kg								

a: Study was designed to determine tolerance of dose volume of 10 mL/kg and toxicity of intravenous dose and included body weight, food consumption, clinical pathology, toxicokinetics, organ weights, and macro- and microscopic examination of tissues.

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

6.A 反復投与毒性試験

**Title:** Exploratory Study in Rhesus Monkeys **Test Articles:** Dabigatran etexilate and Idarucizumab

**Species/Strain:** Monkey/ Rhesus **Duration of Dosing:** see special features **CTD No.** CTD 4.2.3.2-01

**Initial Age:** 3-4 years **Duration of Postdose:** not applicable **Document No:** U12-3326

**Date of First Dose:** 08 August 2011 **Method of Administration:** Oral gavage (dabigatran) and intravenous (bolus) administration (BI 655075)

**Vehicle/Formulation:** Oral vehicle: 0.5% hydroxyethylcellulose **GLP Compliance:** No  
IV vehicle: 50 mM sodium acetate, 200 mM sorbitol, pH 5.5

**Special Features:** Dabigatran etexilate dosing occurred on Days 1 to 4, 15 to 18, and 29 to 32. BI 655075 dosing occurred on Days 4, 18, and 32 at 90 minutes after oral administration of vehicle or dabigatran etexilate. All other days were drug-free. Dabigatran etexilate dose levels are expressed as free form. Necropsy on Day 34.

**Conclusion:** BI 655075 was well tolerated with no clear signs of toxicity observed when administered at dose levels up to 175 mg/kg/occasion alone or in combination with dabigatran etexilate at 12 mg/kg/occasion. Complete neutralization of anticoagulation effect of dabigatran was observed immediately after BI 655075 administration at these dose levels, with the maximal effect of BI 655075 on 12 mg/kg dabigatran etexilate and sum dabigatran exposure attained at an intravenous dose of approximately 90 mg/kg BI 655075.

Dabigatran etexilate (mg/kg/day)	0	0	12
BI 655075 (mg/kg/occasion)	0	30/90/175 <sup>a</sup>	30/90/175 <sup>a</sup>
Number of Animals:	M:1	M:1	M:1
Toxicokinetics:	F:1	F:1	F:1
Idarucizumab			
AUC <sub>0-24</sub> (nM·h)	bq	11,700	12,700
Day 4	bq	33,300	37,700
Day 18	bq	67,600	72,200
Day 32	bq	16,100	14,700
C <sub>max</sub> (nM)	bq	38,300	39,600
Day 4	bq	81,200	72,200
Day 18	bq		
Day 32	bq		
			9,020
			30,300
			54,000
			11,400
			33,500
			65,100
			11,000
			35,000
			67,000
			11,700
			32,900
			76,400

a: BI 655075 dose levels on Day 4/Day 18/Day 32  
bq: below the lower limit of quantitation



Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

6.A 反復投与毒性試験

Document No.: U12-3326 (Continued)

Test Article: Dabigatran etexilate and Idarucizumab

Dabigatran etexilate (mg/kg/day) BI 655075 (mg/kg/occasion)	Number of Animals:	Day	0		12	
			M:1	F:1	M:1	F:1
Idarucizumab ADA:	Day 4		Negative	Putative positive <sup>b</sup>	Negative	Putative positive <sup>b</sup>
	Day 34		Negative	Negative	Putative positive	Putative positive
Coagulation: dTT (seconds):	Day 4	1.5h <sup>c</sup>	28.0	26.4	26.0	44.4
		1.67h <sup>d</sup>	27.4	26.4	27.0	26.6
Day 18		1.5h <sup>c</sup>	25.9	24.3	26.9	51.6
		1.67h <sup>d</sup>	25.5	28.4	24.8	26.9
Day 32		1.5h <sup>c</sup>	26.6	28.3	25.7	79.7
		1.67h <sup>d</sup>	28.2	28.1	29.8	24.6
Body weight:			-	-	-	-
Clinical signs:			-	-	-	-
Haematology:			-	-	-	-
Blood chemistry:			-	-	-	-
Organ weight:			-	-	-	-
Necropsy:			-	-	-	-
Histopathology:			-	-	-	-

a: BI 655075 dose levels on Day 4/Day 18/Day 32      b: likely false positive      c: 1.5h post-dose of vehicle/dabigatran etexilate (pre-dose of idarucizumab)  
d: at the end of idarucizumab dose      -: no noteworthy findings      dTT: diluted thrombin time

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7.A 反復投与毒性試験

**Title:** Toxicity Study by Intravenous Administration to Han Wistar Rats for 4 Weeks Followed by a 4 Week Recovery Period **Test Article:** Idarucizumab

**Species/Strain:** Rat/RceHan™.WIST **Duration of Dosing:** 4 weeks **CTD No.:** CTD 4.2.3.2-02

**Initial Age:** 48 to 54 Days **Duration of Postdose:** 4 weeks **Document No.:** U12-3327

**Date of First Dose:** 31 January 2012 **Method of Administration:** Intravenous (bolus) **GLP Compliance:** Yes

**Vehicle/Formulation:** Dilution Buffer (25 mM acetate, 240 mM sorbitol, and 0.02% polysorbate 20, pH 5.5);  
BI 655075 formulation (25 mM acetate, 220 mM sorbitol, and 0.02% polysorbate 20, pH 5.5)

**Special Features:** Modified Irwin screen performed on 6 males/group on Day 1 at 1 and 24 hours post-dose.

**Conclusion:** The high-dose of 500 mg/kg/day was the no observed adverse effect level (NOAEL). Changes were observed in clinical pathology parameters and thymus weight at 150 and 500 mg/kg/day, but were considered non-adverse due to a lack of corresponding histopathology changes.

Idarucizumab (mg/kg/day)	0			150			500		
	M: 15+10			M: 15			M: 15+10		
<b>Number of Animals: main + recovery group</b>									
Toxicokinetics	AUC <sub>0-24</sub> (nM·h)	Day 1	bq	Day 1	27,200	26,400	Day 1	82,700	83,900
		Day 28	bq	Day 28	24,700	27,800	Day 28	106,000	109,000
	C <sub>max</sub> (nM)	Day 1	bq	Day 1	52,900	53,600	Day 1	157,000	178,000
		Day 28	bq	Day 28	33,300 <sup>a</sup>	51,500	Day 28	197,000	166,000
	t <sub>max</sub> (h)	Day 1	bq	Day 1	0.05	0.05	Day 1	0.05	0.05
		Day 28	bq	Day 28	0.05	0.05	Day 28	0.05	0.05

a: C<sub>max</sub> underestimated for males at 150 mg/kg due to delayed sampling.

bq: below the lower limit of quantitation

nd: not determined





Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7.B 反復投与毒性試験

**Title:** Toxicity Study by Intravenous Administration to Rhesus Monkeys for 2 Days  
Followed by A 2 Week Recovery Period

**Test Article:** Dabigatran etexilate and Idarucizumab

**Species/Strain:** Monkey/ Rhesus  
**Duration of Dosing:** Dabigatran etexilate: Day 1-5 CTD No.: CTD 4.2.3.2-03  
Idarucizumab: Day 4 and 5

**Initial Age:** approximately 36 to 41 months  
**Duration of Postdose:** 14 Days  
**Document No.:** U12-3328

**Date of First Dose:** 02 and 09 March 2012  
**Method of Administration:** Dabigatran etexilate: Oral (gavage), Idarucizumab: Intravenous (bolus)

**Vehicle/Formulation:** BI 655075 dilution buffer (25 mM acetate, 240 mM sorbitol, 0.02% polysorbate 20, pH 5.5); BI 655075  
(25 mM acetate, 220 mM sorbitol, 0.02% polysorbate 20, pH 5.5)  
Oral vehicle (0.5% hydroxyethylcellulose)  
**GLP Compliance:** Yes

**Special Features:** The systemic toxic potential and toxicokinetics of BI 655075 was assessed with and without oral dabigatran etexilate administration

**Conclusion:** Due to the uncertain findings observed in one animal at 500/12 mg/kg BI 655075/DE, the NOAEL was judged to be 150/12 mg/kg BI 655075/ dabigatran etexilate.

Dabigatran etexilate (mg/kg/day)	<u>0</u>	<u>12</u>	<u>12</u>	<u>0</u>	<u>12</u>
BI 655075 (mg/kg/occasion)	<u>0</u>	<u>150</u>	<u>500</u>	<u>500</u>	<u>0</u>
Number of Animals: main + recovery group	<u>3±2</u>	<u>3±2</u>	<u>3±2</u>	<u>3±2</u>	<u>3±0</u>
Toxicokinetics: Day 4	<u>M:</u>	<u>F:</u>	<u>M:</u>	<u>F:</u>	<u>M:</u>
Idarucizumab	<u>3±2</u>	<u>3±2</u>	<u>3±2</u>	<u>3±2</u>	<u>3±0</u>
	<u>F:</u>	<u>3±0</u>	<u>3±2</u>	<u>3±2</u>	<u>3±0</u>
AUC <sub>0-24</sub> (nM·h)	bq	49,000	203,000	203,000	bq
C <sub>max</sub> (nM)	bq	50,000	260,000	249,000	bq
t <sub>max</sub> (h)	bq	1.67	1.67	1.67	bq
Dabigatran / Sum dabigtran					
AUC <sub>0-24</sub> (nM·h)	bq	2,480 / 5,300	3,270 / 6,340	1,950 / 3,710	bq <sup>a</sup> 952 / 6,830
C <sub>max</sub> (nM)	bq	628 / 2,140	738 / 2,270	231 / 730	bq <sup>a</sup> 240 / 1,220
t <sub>max</sub> (h)	bq	1.67 / 1.67	1.67 / 1.67	3.50 / 1.67	bq <sup>a</sup> 1.67 / 1.50

a: detected in one animal at one time point

bq: below the lower limit of quantitation

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7.B 反復投与毒性試験

Document No.: U12-3328 (Continued)

Test Article: Dabigatran etexilate and Idarucizumab

Dabigatran etexilate (mg/kg/day)	0	12	12	12	12	12
BI 655075 (mg/kg/occasion)	0	150	500	500	500	0
Dosing Phase						
Number of Animals:	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
main + recovery group						
Died or sacrificed moribund:						
Idarucizumab ADA Putative Positive: Day 6	3	1	3	5	0	3
Coagulation:						
dTT (seconds):	Day 4	1.5h <sup>a</sup>	30.9	31.1	59.6	58.8
		1.67h <sup>b</sup>	31.2	31.1	31.3	31.0
		24 h <sup>c</sup>	30.8	31.2	31.8	31.3
aPTT (seconds):	Day 4	1.5h <sup>a</sup>	23.3	23.1	35.3	41.1
		1.67h <sup>b</sup>	22.6	23.8	21.8	22.8
		24 h <sup>c</sup>	23.4	22.3	21.2	21.8
ECT (seconds):	Day 4	1.5h <sup>a</sup>	45.8	45.6	100.1	108
		1.67h <sup>b</sup>	45.1	45.9	46.1	48.4
		24 h <sup>c</sup>	44.8	44.3	46.3	48.1
Clinical signs:						
Body weight:						
Ophthalmology:						
Electrocardiography:						
Haematology:						
Blood Chemistry:						
Urinalysis:						
Pathology:						
Number of Animals:	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Organ weight:						
Necropsy:						
Histopathology:						

-: no noteworthy findings nd: not determined a: 1.5h post-dose of vehicle/dabigatran etexilate (pre-dose of idarucizumab) b: at the end of idarucizumab dose  
c: 24h post-dose of vehicle/dabigatran etexilate dTT: diluted thrombin time aPTT: activated partial thromboplastin time ECT: ecarin clotting time  
d: One male (#157) exhibited decreased body weight, increased plasma urea, creatinine, and decreased plasma Na, K and Cl when compared with pre-treatment values.

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7.B 反復投与毒性試験

Document No.: U12-3328 (Continued)

Test Article: Dabigatran etexilate and Idarucizumab

Dabigatran etexilate (mg/kg/day)	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>12</u>	<u>12</u>	<u>0</u>	<u>12</u>	<u>0</u>	<u>12</u>	<u>0</u>
BI 655075 (mg/kg/occasion)	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>150</u>	<u>500</u>	<u>500</u>	<u>500</u>	<u>500</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
Recovery Phase									
Number of Animals:	<u>M: 2</u>	<u>F: 2</u>	<u>M: 0</u>	<u>F: 0</u>	<u>M: 2</u>	<u>F: 2</u>	<u>M: 2</u>	<u>F: 2</u>	<u>M: 0</u>
Idarucizumab ADA Putative Positive: Day 20	1	0			2	2	1	2	
Coagulation:									
dTT (seconds): Day 20	30.9	28.3	nd	nd	31.1	31.9	30.8	30.9	nd
aPTT (seconds): Day 20	23.2	21.0	nd	nd	28.6	22.6	22.3	21.4	nd
ECT (seconds): Day 20	47.5	47.6	nd	nd	49.8	45.8	47.7	43.2	nd
Died or sacrificed moribund:	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical signs:	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight:	-	-	-	-	<sup>a</sup>	-	-	-	-
Ophthalmology:	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology:	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Chemistry:	-	-	-	-	<sup>a</sup>	-	-	-	-
Urinalysis:	-	-	-	-	<sup>a</sup>	-	-	-	-
Pathology:	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of Animals:	<u>M: 2</u>	<u>F: 2</u>	<u>M: 0</u>	<u>F: 0</u>	<u>M: 2</u>	<u>F: 2</u>	<u>M: 2</u>	<u>F: 2</u>	<u>M: 0</u>
Organ weight:	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Necropsy:	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:	-	-	-	-	<sup>a</sup>	-	-	-	-

-: no noteworthy findings

a: One male (#157) exhibited decreased body weight over the course of study, increased plasma urea, creatinine, triglycerides, phosphorus, and decreased plasma Na, K and Cl when compared with pre-treatment values. Also #157 showed low specific gravity, high protein, presence of blood in urinalyses. Microscopic evaluation of kidneys revealed bilateral cortical tubule dilatation and PAS positive material in the tubule lumens with PAS-positive droplets in occasional cortical tubule epithelial cells.

dTT: diluted thrombin time

aPTT: activated partial thromboplastin time

ECT: ecarin clotting time



Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7.C 反復投与毒性試験

Document No.: U13-3538 (Continued)

Test Article: Dabigatran etexilate and Idarucizumab

Dabigatran etexilate (mg/kg/day)		<u>0</u>	<u>0</u>	<u>12</u>
BI 655075 (mg/kg/occasion)		<u>0</u>	<u>500</u>	<u>500</u>
<b>Dosing Phase</b>				
Number of Animals: main + recovery group		<u>M: 3 +2</u>	<u>M: 3+2</u>	<u>F: 3+2</u>
Died or sacrificed moribund:		1 <sup>a</sup>	-	-
<b>Coagulation:</b>				
dTT (seconds):	Day 4	31.6	33.5	33.2
		1.5h <sup>b</sup>	33.0	73.3
		1.67h <sup>c</sup>	33.8	31.6
		24 h <sup>d</sup>	33.9	32.7
aPTT (seconds):	Day 4	32.4	33.9	32.8
		1.5h <sup>b</sup>	23.5	22.3
		1.67h <sup>c</sup>	22.8	24.9
		24 h <sup>d</sup>	21.6	21.4
ECT (seconds):	Day 4	47.0	44.0	46.2
		1.5h <sup>b</sup>	47.9	50.9
		1.67h <sup>c</sup>	50.5	44.6
		24 h <sup>d</sup>	45.2	-
Clinical signs:		-	-	-
Body weight:		-	-	-
Hematology:		-	-	-
Blood Chemistry:		-	-	-
Urinalysis:		-	-	-
Pathology:		-	-	-
Number of Animals:		<u>M: 2</u>	<u>F: 3</u>	<u>F: 3</u>
Organ weight: Kidney		-	-	-
Necropsy: Kidney		-	-	-
Histopathology: Kidney		-	-	-

-: no noteworthy findings nd: not determined a: One male was euthanized during pre-treatment on animal welfare grounds.

b: 1.5h post-dose of vehicle/dabigatran etexilate (pre-dose of idarucizumab) c: at the end of idarucizumab dose d: 24h post-dose of vehicle/dabigatran etexilate

dTT: diluted thrombin time aPTT: activated partial thromboplastin time ECT: ecarin clotting time

## 2.6.7 毒性試験概要表

## イダルシズマブ (遺伝子組換え)

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 7.C 反復投与毒性試験

Document No.: U13-3538 (Continued)

Test Article: Dabigatran etexilate and Idarucizumab

Dabigatran etexilate (mg/kg/day)	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>12</u>
BI 655075 (mg/kg/occasion)	<u>0</u>	<u>500</u>	<u>500</u>	<u>500</u>
<b>Recovery Phase</b>				
No. of Animals:	<u>M: 2</u>	<u>F: 2</u>	<u>M: 2</u>	<u>F: 2</u>
Idarucizumab ADA Putative Positive: Day 20	0	0	0	2
<b>Coagulation:</b>				
dTT (seconds): Day 20	31.5	32.0	31.5	31.0
aPTT (seconds): Day 20	21.0	21.2	19.8	21.4
ECT (seconds): Day 20	47.6	48.5	47.6	46.9
Clinical signs:	-	-	-	-
Body weight:	-	-	-	-
Hematology:	-	-	-	-
Blood Chemistry:	-	-	-	-
Urinalysis:	-	-	-	-
Pathology:	-	-	-	-
Number of Animals:	<u>M: 2</u>	<u>F: 2</u>	<u>M: 2</u>	<u>F: 2</u>
Organ weight: Kidney	-	-	-	-
Necropsy: Kidney	-	-	-	-
Histopathology: Kidney	-	-	-	-

-: no noteworthy findings

dTT: diluted thrombin time aPTT: activated partial thromboplastin time ECT: ecarin clotting time

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7.D 反復投与毒性試験

**Title:** Toxicity Study by Intravenous and Oral Gavage Administration to Rhesus Monkeys for 14 Days Followed by a 4 Week Recovery Period and Dabigatran Etexilate Re-Administration **Test Article:** Dabigatran etexilate and Idarucizumab

**Species/Strain:** Monkey/Rhesus **Duration of Dosing:** Dabigatran etexilate: 2 weeks / 3 days **CTD No.:** CTD 4.2.3.2-05  
**Initial Age:** 40-47 months **Duration of Postdose:** Idarucizumab: 2 weeks  
**Date of First Dose:** 03 and 17 January 2014 **Method of Administration:** Dabigatran etexilate: Oral (gavage), Idarucizumab: Intravenous (bolus)  
**Vehicle/Formulation:** Oral vehicle: 0.5% hydroxyethylcellulose **GLP** Yes  
 Intravenous vehicle: BI 655075 vehicle was 25 mM acetate, 220 mM sorbitol, 0.02% polysorbate 20, pH 5.5; **Compliance:**  
 Placebo buffer was identical with exception of 240 mM sorbitol.

**Special Features:** Dabigatran etexilate was dosed at 12 mg/kg/day for 3 days after the 4-week recovery period.  
**Conclusion:** No toxicity was observed in rhesus monkeys following 14 daily treatments with intravenous BI 655075 with and without oral dabigatran etexilate. There were no findings that would indicate prothrombotic activity of BI 655075, a clear potential for formation of anti-dabigatran antibodies or potential for immune complex formation and deposition after exposure to BI 655075:dabigatran or BI 655075:dabigatran acyl glucuronide complexes. The No Observed Adverse Effect level was judged to be 500 mg/kg/day for BI 655075, either alone or in combination with 12 mg/kg/day dabigatran etexilate.

Dabigatran etexilate (mg/kg/day)	0	0	12	12
BI 655075 (mg/kg/occasion)	0	500	150	500
Number of Animals	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
<b>Toxicokinetics: Day 14</b>				
Idarucizumab				
AUC <sub>0-24</sub> (nM·h)	bq	188,000	61,700	208,000
C <sub>max</sub> (nM)	bq	163,000	59,600	181,000
t <sub>max</sub> (h)	bq	1.67	1.67	1.67
Dabigatran / Sum dabigatran				
AUC <sub>0-24</sub> (nM·h)	bq	bq	2,400/7,020	1,860/5,200
C <sub>max</sub> (nM)	bq	bq	322/2,010	269/1,510
t <sub>max</sub> (h)	bq	bq	1.67/1.67	1.67/1.67

bq: below the lower limit of quantitation



Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7.D 反復投与毒性試験

Document No.: n00230533 (Continued)

Test Article: Dabigatran etexilate and Idarucizumab

		<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>12</u>	<u>12</u>
		<u>500</u>	<u>500</u>	<u>500</u>	<u>500</u>	<u>500</u>	<u>500</u>
Dabigatran etexilate (mg/kg/day)							
BI 655075 (mg/kg/occasion)							
<b>Recovery Phase</b>							
<b>Number of Animals</b>		<b>M:2</b>	<b>F:2</b>	<b>M:2</b>	<b>F:2</b>	<b>M:2</b>	<b>F:2</b>
Idarucizumab ADA Putative Positive: Day 42		0	0	2	2	2	2
Circulating Immune Complexes: Day 43		-	-	-	-	-	-
Complement (Bb, C3a and C4a): Day 43		-	-	-	-	-	-
Thrombosis (D-dimer and F1+2):		-	-	-	-	-	-
<b>Coagulation:</b>							
dTT (seconds): Day 43		29.6	31.0	31.8	29.3	29.1	29.6
aPTT (seconds): Day 43		22.3	22.2	22.6	23.2	22.5	21.7
ECT (seconds): Day 43		42.9	41.5	42.0	43.3	41.9	41.5
Dabigatran ADA:							
Day 29		0	0	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>
Day 42		0	0	0	0	0	2 <sup>a</sup>
<b>Neutralizing dabigatran ADA:</b>							
Day 29		0	0	0	1	0	0
Day 42		0	0	0	1	0	0
<b>Clinical signs:</b>							
<b>Body weight:</b>							
<b>Ophthalmology:</b>							
<b>Electrocardiography:</b>							
<b>Haematology:</b>							
<b>Blood Chemistry:</b>							
<b>Urinalysis:</b>							
<b>Pathology:</b>							
<b>Number of Animals:</b>		<b>M:2</b>	<b>F:2</b>	<b>M:2</b>	<b>F:2</b>	<b>M:2</b>	<b>F:2</b>
<b>Organ weight:</b>		-	-	-	-	-	-
<b>Necropsy:</b>		-	-	-	-	-	-
<b>Histopathology:</b>		-	-	-	-	-	-
<b>Immunohistochemistry:</b>		-	-	-	-	-	-

a: false positive

dTT: diluted thrombin time

aPTT: activated partial thromboplastin time

ECT: ecarin clotting time

8. 遺伝毒性試験: *In Vitro*

Studies specifically addressing *in vitro* genotoxicity have not been conducted.

9. 遺伝毒性試験: *In Vivo*

Studies specifically addressing *in vivo* genotoxicity have not been conducted.

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

10. がん原性試験

Studies specifically addressing carcinogenicity have not been conducted.

11. 生殖発生毒性試験

Non-pivotal studies specifically addressing reproductive and developmental toxicity have not been conducted.

12. 生殖発生毒性試験

Studies specifically addressing effects on fertility and early embryonic development to implantation have not been conducted.

13. 生殖発生毒性試験

Studies specifically addressing effects on embryo-fetal development have not been conducted.

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

14. 生殖発生毒性試験

Studies specifically addressing effects on pre- and postnatal development, including maternal function have not been conducted.

15. 幼若動物を用いた試験

Studies specifically addressing toxicity in juvenile animals have not been conducted.

## 2.6.7 毒性試験概要表

## イダルシズマブ (遺伝子組換え)

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 16. 局所忍容性

**Test Article:** Idarucizumab

<u>Species/Strain</u>	<u>Method of Administration</u>	<u>Doses</u>	<u>Gender and No. per Group</u>	<u>Noteworthy Findings</u>	<u>GLP Compliance</u>	<u>CTD No. Document No.</u>
Rabbit/ New Zealand White <sup>a</sup>	Perivenous injection <sup>b</sup>	0 (saline) 5 mg (Ida)	3 males	None <sup>c</sup>	Yes	CTD4.2.3.6-01_U13-3997

a: 19 weeks initial age

b: Single dose followed by 96 hour postdose observation period. The left ear received idarucizumab (0.1 mL), whereas the right ear received the saline control article (0.1 mL) for comparison.

c: Administration of idarucizumab was well tolerated, with no local or systemic effects (i.e., no dermal, clinical, macroscopic or microscopic observations, and no body weight effects).

Proprietary confidential information © 2015 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

17. その他の試験

Test Article: Idarucizumab

<u>Type of Study</u>	<u>Tissue</u>	<u>Test System</u>	<u>Concentration</u>	<u>Noteworthy Findings</u>	<u>GLP Compliance</u>	<u>CTD No. Document No.</u>
<b>Tissue cross-reactivity</b>	Human, Monkey/Rhesus, Rat/Crl:WI(Han)	<i>in vitro</i>	0, 2, 10 µg/mL	No test article staining of any tissue elements was observed in the human, rhesus monkey, or Crl:WI(Han) rat tissue panels examined.	Yes	CTD4.2.3.7.7-01_U12-3331
<b>Hemocompatibility</b>	Human whole blood	<i>in vitro</i>	125 µL of 0, 55 mg/mL	No test article effects on hemocompatibility with human blood.	No	CTD4.2.3.7.7-02_U12-3289