サノフィ株式会社

サリルマブ（遺伝子組換え）

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.6 毒性試験の概要文

Total number of pages: 87

目　　次

略号と用語の定義 6

1　まとめ 8

2　単回投与毒性試験 17

3　反復投与毒性試験 17

3.1　げっ歯類 17

3.1.1　CD-1 マウスを用いた探索的 4 週間反復皮下及び静脈内投与毒性試験 17

3.2　非げっ歯類 20

3.2.1　カニクイザルを用いた探索的 4 週間反復静脈内及び皮下投与忍容性試験 20

3.2.2　カニクイザルを用いた 5 週間反復点滴静注毒性試験及び 9 週間回復性試験 23

3.2.3　カニクイザルを用いた 13 週間反復点滴静注毒性試験及び 8 週間回復性試験 27

3.2.4　カニクイザルを用いた 13 週間反復皮下投与毒性試験及び 12 週間回復性試験 33

3.2.5　カニクイザルを用いた 26 週間反復持続静脈内投与毒性試験及び 12 週間回復性試験 38

4　遺伝毒性試験 45

5　がん原性試験 46

6　生殖発生毒性試験 48

6.1　マウスを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 48

6.2　カニクイザルを用いた胚・胎児発生、出生前／出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（ePPND 試験） 51

6.3　幼若動物を用いた試験 58

6.3.1　幼若マウスを用いた探索的 4 週間反復皮下投与毒性試験 58

6.3.2 幼若マウスを用いた 9 週間反復皮下投与毒性試験及び 13 週間回復性試験 59

7 局所刺激性試験 65

8 その他の毒性試験 66

8.1 ヒト及びカニクイザルの組織との組織交差反応性試験 66

8.2 カニクイザルを用いた 13 週間反復皮下投与毒性試験（製剤比較） 68

8.3 免疫原性 72

8.4 免疫毒性 72

8.5 薬物乱用傾向の評価 73

8.6 不純物 74

8.7 溶出物及び浸出物 74

9 考察及び結論 75

9.1 毒性試験に使用した動物種の適切性 75

9.2 サリルマブ及び REGN844 の曝露量 75

9.3 一般毒性 77

9.4 生殖発生毒性 79

9.5 サリルマブの安全性に関するその他の事項 81

9.6 全体のまとめ 82

参 考 文 献 84

表　目　次

表 1 - サリルマブの毒性試験プログラム 9

表 2 - サル反復投与毒性試験（GLP 適用）でみられた主要なサリルマブ関連の変化及び 無毒性量での曝露量の要約 12

表 3 - マウス探索的 4 週間反復投与毒性試験：1 及び 25 日目（皮下）並びに 1 及び 22 日目（静脈内）における REGN844 の TK パラメータ 18

表 4 -マウス探索的 4 週間反復投与毒性試験：雄の平均副腎重量 19

表 5 - サル探索的 4 週間反復投与毒性試験：皮下及び静脈内投与後の血清中サリルマブ濃度 21

表 6 - サル探索的 4 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブの群平均 AUC 推定値 21

表 7 - サル探索的 4 週間反復投与毒性試験：サリルマブ関連の血液学的及び 血液生化学的パラメータの群平均値における減少 22

表 8 - サル 5 週間反復静脈内投与毒性試験：血清中サリルマブ濃度の群平均値及び ADA 陽性動物数 24

表 9 - サル 5 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブの群平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ 推定値 24

表 10 - サル 5 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブ関連の血液学的及び 血液生化学的パラメータの群平均値の減少 26

表 11 - サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブの群平均血清中濃度及び ADA 陽性の動物数 28

表 12 - サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブの群平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ 推定値 28

表 13 - サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブに関連した血液学的及び 血液生化学的パラメータ群平均値の減少 31

表 14 - サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブに関連する可能性のある血液学的 及び血液生化学的パラメータ群平均値の減少 32

表 15 - サル 13 週間反復皮下投与毒性試験：群平均サリルマブ血清トラフ濃度及び ADA 陽性動物数 34

表 16 - サル 13 週間反復皮下投与毒性試験：血液学的及び血液生化学的パラメータにおける サリルマブ関連の群平均値減少 36

表 17 - サル 13 週間反復皮下投与毒性試験：投与部位の病理組織学的所見 37

表 18 - サル 26 週間反復静脈内投与毒性試験：群平均血清中サリルマブ濃度及び ADA 陽性動物数 39

表 19 - サル 26 週間反復静脈内投与毒性試験：群平均サリルマブの $AUC_{0\text{-}168h}$ 推定値 40

表 20 - サル 26 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブに関連した血液学的及び 血液生化学的パラメータの低下 42

表 21 - サル 26 週間反復静脈内投与毒性試験：KLH による抗原感作後の IgM 及び IgG 抗体価 43

表 22 - マウス皮下投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 －REGN844 の平均血清中濃度－ 49

表 23 - サル ePPND 試験：母動物及び新生児における血清中総サリルマブ濃度の群平均値 52

表 24 - サル ePPND 試験：母動物におけるサリルマブの群平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ 値 53

表 25 - サル ePPND 試験：母動物の途中死亡例における主要な所見の要約 54

表 26 - サル ePPND 試験：新生児の途中死亡例における主要な所見の要約 55

表 27 - サル ePPND 試験：胎児／新生児の生存状況の要約 56

表 28 -幼若マウス探索的皮下投与毒性試験：REGN844 の TK パラメータ 59

表 29 -幼若マウス 9 週間反復皮下投与毒性試験：投与期間中の REGN844 の TK パラメータ 60

表 30 -幼若マウス 9 週間反復皮下投与毒性試験 : KLH による抗原感作後の 群平均 IgM 及び IgG カットポイント抗体価 62

表 31 -幼若マウス 9 週間反復皮下投与毒性試験：IgM 及び IgG 血清中濃度の群平均値 63

表 32 - ヒト及びカニクイザルの組織におけるビオチン化サリルマブ染色部位 67

表 33 - サル 13 週間反復皮下投与毒性試験（製剤比較）：サリルマブの群平均 C_{trough} 血清中濃度 69

表 34 -サル 13 週間反復皮下投与毒性試験（製剤比較）：血液学的及び血液生化学的パラメータの 群平均値におけるサリルマブ関連の減少 70

表 35 - サル 13 週間反復皮下投与毒性試験（製剤比較）：注射部位所見の発現頻度 71

略号と用語の定義

A/G ratio:	Albumin/globulin ratio（アルブミン／グロブリン比）
ADA:	Anti-drug (サリルマブ) antibody［抗薬物（サリルマブ）抗体］
ALT:	Alanine transaminase（アラニントランスアミナーゼ）
AST:	Aspartate transaminase（アスパラギン酸トランスアミナーゼ）
AUC:	Area under the concentration-time curve（血清中濃度－時間曲線下面積）
BLQ:	Below limit of quantitation（定量下限未満）
S1* F1:	Cell line [redacted], process [redacted] from [redacted] L bioreactor, formulation 1（細胞株 [redacted]、[redacted] L バイオリアクターからの工程 [redacted]、処方 1）
S4* F3:	Cell line [redacted], process [redacted] from [redacted] L bioreactor, formulation 3（細胞株 [redacted]、[redacted] L バイオリアクターからの工程 [redacted]、処方 3）
CHMP:	Committee for Medicinal Products for Human Use（欧州医薬品庁のヒト用医薬品委員会）
C_{max}:	Maximum serum concentration（最高血清中濃度）
CNS:	Central nervous system（中枢神経系）
CRP:	C-reactive protein（C 反応性タンパク）
C_{trough}:	Trough serum concentrations（トラフ血清中濃度）
DB:	Day after birth（生後日数）
DNA:	Deoxyribonucleic acid（デオキシリボ核酸）
ECG:	Electrocardiogram（心電図）
ePPND:	enhanced pre- and postnatal developmental（拡充型出生前及び出生後の発生毒性）
FACS:	Fluorescence activated cell sorter（蛍光活性化細胞選別）
Fc:	Fragment crystallizable（結晶性フラグメント）
FDA:	Food and Drug Administration（米国食品医薬品局）
GD:	Gestation day（妊娠日）
GLP:	Good Laboratory Practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準）
ICH:	International Conference on Harmonisation of Techincal Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use（日米 EU 医薬品規制調和国際会議）
IgA:	Immunoglobulin A（免疫グロブリン A）
IgE:	Immunoglobulin E（免疫グロブリン E）
IgG:	Immunoglobulin G（免疫グロブリン G）
IgM:	Immunoglobulin M（免疫グロブリン M）
IL-6:	Interleukin 6（インターロイキン 6）

＊新薬承認情報提供時に置換

IL-6Rα:	Interleukin 6 receptor alpha（インターロイキン 6 受容体 α サブユニット）
INN:	International nonproprietary name（国際一般名）
IV:	Intravenous（静脈内）
K_D:	Equilibrium dissociation constant（平衡解離定数）
KLH:	Keyhole limpet hemocyanin（キーホールリンペットヘモシアニン）
LD:	Lactation Day（分娩後日数）
ND:	Not determined（測定せず）
NK:	Natural killer（ナチュラルキラー）
NMDA:	N-methyl-D-aspartate（N-メチル-D-アスパラギン酸）
NOAEL:	No observed adverse effect level（無毒性量）
NOEL:	No observed effect level（無影響量）
PK:	Pharmacokinetic（薬物動態）
PND:	Postnatal day（出生後日数）
pSTAT3:	Tyrosine-phosphorylated Signal Tranducer and Activator of Transcription 3（チロシンリン酸化シグナル伝達兼転写活性化因子 3）
Q2W:	Once every two weeks（2 週に 1 回）
Rec:	Recovery（回復）
REGN844:	Murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-6R（マウス IL-6R に対するマウス相同モノクローナル抗体）
SAA:	Serum amyloid A／血清アミロイド A
SC:	Subcutaneous（皮下）
sIL-6R:	Soluble interleukin 6 receptor（可溶性インターロイキン 6 受容体）
TK:	Toxicokinetic（トキシコキネティクス）
WBC:	White blood cell（白血球）

1　まとめ

本資料において用いるサリルマブ（日本名：JAN）、sarilumab（国際一般名：INN）、REGN88（Regeneron 社の開発番号）、並びに SAR153191 は同一の分子を指す。サリルマブの毒性試験プログラムの概要及びこれらの試験の GLP（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準）適用の有無を本資料に示し（表 1 に要約）、更なるデータを 2.6.7 毒性試験の概要表 [M2.6.7.1] の「プログラム概要」に示す。

サリルマブサリルマブの非臨床安全性評価の動物種として、カニクイザル及び CD-1 マウスを選択した。サリルマブはヒト及びカニクイザルのインターロイキン 6 受容体 α サブユニット（IL-6Rα）に結合し、その平衡解離定数（K_D）はそれぞれ 54 pmol/L 及び 123 pmol/L であった。またマウス IL-6Rα には結合しなかった。サリルマブは、イヌ、ミニブタ、ヒツジ、ウサギ、ハムスター、モルモット、マウス及びラットの末梢血単核細胞にも結合しなかった（[M2.6.2.2.1.1 項]）。これらの薬理試験データから、カニクイザルはサリルマブの安全性評価に適切な動物種であることが示唆された。In vitro 薬理試験においてサリルマブがマウスの IL-6Rα に結合しないことが示されたことから（[M2.6.2.2.1.1 項]）、マウス相同抗体（IgG2a サブクラス）である REGN844 を作製し、インターロイキン 6（IL-6）シグナル伝達阻害が生殖発生の評価項目に及ぼす影響をマウスを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、並びに幼若マウスを用いた毒性試験において検討した。この相同抗体は、サリルマブの Fcγ 受容体ドメインとマッチさせるため、相似のマウス Fc アイソタイプを選択した。In vitro 結合解析により、REGN844 はマウス IL-6Rα に高い親和性で特異的に結合することが示され、その K_D はサリルマブとヒト IL-6Rα との結合における K_D の 4 倍以内であった（[M2.6.2.2.3.2 項]）。REGN844 とサリルマブの in vitro 及び in vivo 薬理学的特性には高度な類似性がみられ、Fc アイソタイプが相似であることから、REGN844 はマウスを用いて生物学／毒性学的に重要な情報を得るために適切であると考えられた。

サリルマブの安全性プロファイルを、カニクイザルを用いた最長 26 週間の反復投与毒性試験並びに拡充型出生前及び出生後の発生毒性（ePPND）試験により評価した。また、ヒト及びカニクイザルの組織を用いた ex vivo 組織交差反応性試験を実施した。成熟 CD-1 マウスを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、並びに幼若 CD-1 マウスに REGN844 を 9 週間反復投与する毒性試験を実施した。すべての重要な試験は GLP に準拠し実施した。重要な毒性試験に加えて、3 つの探索的非 GLP 適用試験（サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験、成熟マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び幼若マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験）も実施した。非臨床安全性評価に使用した毒性試験の一覧を表 1に概説する。

表 1 – サリルマブの毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	投与抗体 （用量は mg/kg/週 又は濃度）
反復投与毒性試験			
探索的 4 週間*（成熟動物）	静脈内及び皮下	マウス	REGN844 (皮下：0, 10, 50, 200 静脈内：25)
探索的 4 週間*	静脈内及び皮下	サル	サリルマブ (皮下：20、静脈内：10)
5 週間及び 9 週間の回復期間	静脈内	サル	サリルマブ (0, 5, 10, 40)
13 週間及び 8 週間の回復期間	静脈内	サル	サリルマブ (0, 1, 10, 50)
13 週間及び 12 週間の回復期間	皮下	サル	サリルマブ (0, 2, 10, 30, 100)
26 週間及び 12 週間の回復期間	静脈内	サル	サリルマブ (0, 0.5, 5, 15, 50)
生殖発生毒性試験			
受胎能及び着床までの初期胚発生	皮下	マウス	REGN844 (0, 20, 50, 200)
拡充型出生前及び出生後の発生毒性	静脈内	サル	サリルマブ (0, 5, 15, 50)
探索的 4 週間*（幼若動物）	皮下	マウス	REGN844 (0, 50, 200)
幼若動物における 9 週間及び 13 週間の回復期間	皮下	マウス	REGN844 (0, 20, 60, 200)
その他の毒性試験			
組織交差反応性	In vitro	ヒト及び サル	ビオチン化サリルマブ (0.5, 20 µg/mL)
13 週間（製剤比較）	皮下	サル	サリルマブ (0, 10, 100)

*** 非 GLP 適用の探索的試験；*を付してない試験は GLP 適用試験**

反復投与毒性試験は、静脈内及び皮下の両投与経路を用いて実施した。非臨床試験で使用した添加剤及びその濃度は、（アルギニンを含まないことを除いて）臨床試験で使用した製剤及び市販用製剤と類似していた。サルを用いた静脈内及び皮下投与試験のいずれにおいても、サリルマブを、[redacted]%精製白糖、[redacted]%ポリソルベート 20 及び[redacted]mmol/L ヒスチジンを含有する pH 6.0 の製剤として投与したが、例外として 13 週間反復皮下投与試験（製剤比較）では、サリルマブを、5%精製白糖、0.2%ポリソルベート 20、[redacted]mmol/L アルギニン及び[redacted]mmol/L ヒスチジンを含有する pH 6.0 の製剤として投与した。後者の製剤は、第 III 相臨床試験で使用した製剤及び市販用製剤と同じである。静脈内投与試験では、

保存溶液を滅菌生理食塩液で希釈して使用した。皮下投与試験では試験に応じて、提供されたサリルマブ製剤をそのまま投与するか又は滅菌生理食塩液もしくはプラセボ溶媒で希釈して使用した。投与容量は、皮下投与では 0.07～0.77 mL/kg、静脈内投与では 2.5～5 mL/kg の範囲であった。

成熟及び幼若マウスを用いた反復皮下及び静脈内投与による毒性試験、並びにマウスを用いた皮下投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験においては、REGN844 を[redacted]%精製白糖、[redacted]%ポリソルベート 20 及び[redacted]mmol/L ヒスチジンを含有する pH 6.0 の製剤として投与した。被験物質保存溶液を同じ添加剤組成の溶媒を用いて希釈し、5～10 mL/kg/回の容量で静脈内及び皮下投与した。

サルを用いたサリルマブの毒性試験では、本剤開発過程において実施した臨床用量と比較し十分な曝露量を得るため、静脈内投与では 50 mg/kg/週を、皮下投与では 100 mg/kg/週をそれぞれ高用量として選択した。26 週間反復静脈内投与毒性試験の高用量である 50 mg/kg/週における曝露量は、サリルマブの 200 mg をヒトに 2 週に 1 回で皮下投与したときの曝露量の約 80 倍であった（[M2.4.5 項] 表 3）。なお、静脈内投与毒性試験では $AUC_{0\text{-}168h}$ を測定したが、週 2 回皮下投与時の $AUC_{0\text{-}168h}$ 値は測定しなかった。皮下投与で得られたデータは、その週の 2 回目投与前（その週の初回投与 96 時間後）におけるトラフ血清中濃度（C_{trough}）であり、一方、静脈内投与では週 1 回静脈内投与後（その週の投与の 168 時間後で次週の投与前）の C_{trough} であった。これらのデータに基づく見かけの定常状態における皮下投与後の C_{trough} から、静脈内投与と比較して良好な曝露量が示唆された。サル PK 試験で確認された 77%以上のバイオアベイラビリティに基づくと、100 mg/kg で週 2 回皮下投与したときの AUC は、50 mg/kg で週 1 回静脈内投与したときの AUC より高いと予想される（[M2.6.4.3.2.1 項]）。すなわち、サルに 100 mg/kg/週で皮下投与（50 mg/kg で週 2 回投与）した時の AUC は、50 mg/kg/週（週 1 回静脈内投与）における AUC にバイオアベイラビリティを乗じた値の 2 倍に匹敵すると予想される。従って、サルにおけるバイオアベイラビリティが 77%以上であることに基づくと、50 mg/kg で週 2 回皮下投与したときの AUC は、50 mg/kg で週 1 回静脈内投与したときの AUC の 1.54 倍以上と推定される。以上のことから、安全性試験で得られたデータを基にサリルマブ臨床試験が実施された。

マウスを用いた REGN844 の皮下投与毒性試験における高用量の 200 mg/kg/週は、マウステレビン油誘発性炎症モデルで得られた有効性データに基づいて設定したものであり、マウス血清アミロイド A（SAA）濃度減少傾向がみられ始める用量（1.5 mg/kg）の約 130 倍であった（[M2.6.2.2.4.1 項]）。

サリルマブをサルに 15～50 mg/kg/週の用量範囲で週 1 回、最長 26 週間反復静脈内投与、及び 30～100 mg/kg/週の用量範囲で最長 13 週間反復皮下投与したときの総サリルマブの曝露量は、投与期間を通じてすべての動物で検出下限を上回って持続した。10 mg/kg/週以下では、総サリルマブへの検出下限を上回る持続的曝露は認められなかった。これは抗薬物（サリルマブ）抗体（ADA）の発現又は標的介在性クリアランスに起因する可能性がある。ADA は、サリルマブの安全性プロファイルに影響を及ぼさなかった。全体として、総サリルマブの曝露量は、5－50 mg/kg/週群間で用量比例的に増加し

た。サルでは反復投与により投与回数に伴う血清中総サリルマブ濃度の増加がみられたが、これは単回投与薬物動態試験におけるサリルマブの半減期（[M2.6.4.3.1 項]、[M2.6.4.3.2.1 項]）及びこれらの試験の投与間隔（週 1 回又は週 2 回）に基づいて予想されるものであった。サルにおける総サリルマブのトキシコキネティクス（TK）には性差はみられなかった。

サル反復投与毒性試験において検討した最高用量におけるサリルマブの忍容性は、最長 26 週間の静脈内投与での 50 mg/kg/週まで又は最長 13 週間の皮下投与での 100 mg/kg/週までにおいて良好であった。サルを用いた GLP 適用の反復投与毒性試験でみられた主要なサリルマブ関連の変化及び無毒性量での曝露量の要約を表 2に示す。サリルマブ関連の主要な変化は、既知の薬理学的作用機序である IL-6 シグナル伝達阻害作用に一致するものであった。免疫系に関連して、一過性で多くは軽微から中等度かつ可逆的又は一部可逆的な好中球絶対数の減少がみられ、キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）を用いた抗原感作において、一次及び二次 IgG 反応がわずかに低下した。血清免疫グロブリン（IgA、IgG、IgE 又は IgM）並びに末梢血リンパ球及び単球には、サリルマブ関連の変化は認められなかった。その他の薬理作用に起因した所見として、一過性で、多くは軽微から中等度、かつ可逆的又は一部可逆的な血清フィブリノゲン又は血清 C 反応性タンパク（CRP）濃度の減少、並びに可逆的な循環血中 IL-6 濃度の上昇が認められた。これらの所見及び一部の試験でみられたサリルマブ投与に関連する可能性があるその他の散発的所見［白血球数、単球数、総タンパク及びアルブミン／グロブリン（A/G）比の減少］は、ばらつきが大きく対照値又は試験前値と同程度であったこと、所見が可逆的／一部可逆的であったこと、また関連する一般状態の変化や病理学的所見がみられなかったことから、毒性変化ではないと判断された。

サリルマブの 13 週間以上の反復静脈内投与試験で、サル 2 例が大腸の感染症（アメーバ症）又は炎症（盲腸結腸炎）により死亡又は安楽殺に至った。これらの中用量群における死亡及び胃腸の感染症／炎症は、発生が散発的であったこと、より曝露量の高い高用量群で類似した所見がみられなかったこと、サリルマブ投与前に胃腸感染による二次的変化の可能性が示唆される既存の炎症（CRP 上昇）が 1 例でみられたこと、並びに各種データの総合的な評価の結果、サリルマブとの関連はないものと判断された。自然発症性の胃腸疾患はマカク属に比較的多い所見であり、大腸でより高頻度に認められる。

静脈内投与後の投与部位には、サリルマブ関連の病理組織学的変化はみられなかった。サルに皮下投与したときの病理組織学的検査で、多くは可逆的な軽微から軽度（1 例では中等度）の血管周囲混合炎症性細胞浸潤が、皮下投与部位に認められた。皮下投与部位にみられたこれらの炎症細胞性浸潤は、濃縮ヒトタンパク質含有成分の皮下投与に対する局所反応を示すもので、毒性変化ではないと判断された。それは多くのサルにおける重症度が軽微から軽度で、用量反応及び組織損傷がみられず、大部分のサルで所見の回復がみられたからである。

表 2－サル反復投与毒性試験（GLP 適用）でみられた主要なサリルマブ関連の変化及び無毒性量での曝露量の要約

試験	5 週間 静脈内	13 週間 静脈内	13 週間 皮下	26 週間 静脈内	13 週間製剤比較 皮下
無毒性量 (mg/kg/週)	40	50	100	50	100
C_{trough} (µg/mL) [a]	504	1160	2460	1780	2682 (S4* F3) [e] 3032 (S1* F1) [e]
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL) [a]	159 500	258 313	ND	381 040	ND
主要な試験の変化 [b]					
被験物質関連の死亡 [c]	-	-	-	-	-
注射部位の反応 [d]	-	-	+ ～+++	-	+
好中球数減少	+ ～+++	+ ～+++	+ ～+++	+ ～+++	+～++
フィブリノゲン濃度減少	+ ～ +++	+～++	+～++	+～++	+～++
C 反応性タンパク濃度減少	+ ～ +++	+～++	+ ～+++	+ ～+++	+
IL-6 濃度増加	ND	ND	ND	+ ～+++	ND
抗原負荷に対する一次及び二次 IgG 反応低下	ND	ND	ND	+	ND

略語：GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準； AUC：血清中濃度－時間曲線下面積；C_{trough}：測定したトラフ濃度；ND：測定せず

[a] 投与期間終了時の無毒性量における曝露量。それぞれの試験の最終採血日における雌雄平均値

[b] 試験中の 1 つ以上の用量でみられた変化（+）又はみられなかった変化（-）；半定量的判定による軽微（+）、軽度（++）及び中等度（+++）

[c] サリルマブ関連と考えられる死亡はみられず、13 週間反復静脈内投与毒性試験の 2 例及び 26 週間反復静脈内投与毒性試験の 2 例のサルの死亡は、事故又は偶発的胃腸感染に起因するものと考えられた。

[d] 注射部位の病理組織学的所見がみられたが、これらの所見はサリルマブの直接作用ではなく、高濃度のヒトタンパク質含有成分による間接的作用によるものと考えられた。

[e] S4* F3 = [redacted]L バイオリアクター及び新たなアルギニン含有調製液で得られた細胞株 [redacted]；S1* F1 = [redacted]L バイオリアクター及び[redacted]調製液で得られた[redacted]の細胞株

先に述べたように、サリルマブはマウスの IL-6Rα には結合しない。このため適切な in vitro 及び in vivo 薬理学的特性を有するマウス相同抗体（REGN844）を作製し、成熟マウスを用いた毒性試験や受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験並びに幼若マウスを用いた毒性試験で IL-6Rα 阻害による影響を検討した。REGN844 は IgG2a サブクラスであり、Fcγ 受容体結合及びエフェクター機能をマッチさせたサリルマブのヒト IgG1 アイソタイプと相似のアイソタイプである。探索的 4 週間反復投与毒性試験の 10 mg/kg/週を上回る用量において、投与期間中に成熟マウスで検出下限を上回る持続的な REGN844 への曝露が認められた。この試験における REGN844 への曝露量は 25～200 mg/kg/週でほぼ用量に比例して増加し、1 日目から 22/25 日目にかけて投与回数に伴う曝露量の増加が認められた。幼若マウスを用いた 9 週間反復投与毒性試験の投与期間中に、検出下限を上回る持続的な REGN844 への曝露が 20 mg/kg/週以上でみられ、この試験における REGN844 の曝露量は 20～200 mg/kg/週で用量

＊新薬承認情報提供時に置換

に比例して増加した。週 1 回皮下投与による C_{trough} はすべての群で 5 回目から 9 回目の投与にかけて増加したことから、反復投与による総 REGN844 の蓄積が示唆された。

GLP 適用の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験実施に先立ち、成熟マウスにおける REGN844 の一般毒性学的プロファイルを評価するため、探索的 4 週間反復投与毒性試験を実施した。この試験において、副腎重量（絶対及び相対）の増加が 50 mg/kg/週以上の皮下投与で用量依存的にみられ、25 mg/kg/週の静脈内投与でも認められたが、副腎重量増加に関連する肉眼的及び病理組織学的所見はみられなかった。したがって、副腎重量の変化は、毒性学的意義はないと判断された。REGN844 の皮下投与に伴って、投与部位の表皮下における混合炎症性細胞浸潤の発現頻度及び重症度が、雌雄ともに 50 mg/kg/週以上で軽度に増加した。組織損傷がみられなかったことから、軽微から軽度の表皮下混合炎症性細胞浸潤は、サルと同じ理由で毒性変化ではないと判断された。

がん原性の評価において、サリルマブを用いた毒性試験及び IL-6/ IL-6Rα シグナル伝達経路の文献評価で得られた科学的根拠の重要度に基づき，サリルマブを長期投与してもがんのリスクは増加しないと結論付けられた。CHMP 及び FDA は科学的根拠の重要度に基づいて協議した結果、サリルマブのがん原性を評価するための更なる非臨床試験の実施は必要ないことで合意した。

IL-6/IL-6 受容体シグナル伝達経路についての文献に基づくと、生殖系に対しての標的ベース（オンターゲット）の毒性はないと判断され、このことはサリルマブ及び REGN844 を用いた生殖発生毒性試験において確認された。雌雄成熟マウスを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において、REGN844 を 200 mg/kg/週まで成熟マウスに皮下投与した。器官重量及び剖検所見、並びに精巣、精巣上体、卵巣及び膣の病理組織学的検査において、REGN844 関連の所見はみられなかった。雌では、サリルマブ関連の病理組織学的所見が子宮に観察された。すなわち 1 つ以上の着床部位変性が、対照群の 24 例中 1 例、50 mg/kg/週群の 24 例中 2 例及び 200 mg/kg/週群の 24 例中 6 例に認められた。しかし、その他の雌雄における生殖指数（交尾率、受胎率及び妊娠率）には被験物質関連の変化はみられなかったことから、200 mg/kg/週群の病理組織学的検査でみられた着床部位変性の発現頻度増加の毒性学的意義は不明である。生殖指数における変化の欠如は、IL-6 ノックアウトマウスに関する文献において、IL-6 ノックアウトマウスには受胎能があり生存同腹児数は正常であると報告されていることに一致する。この文献によると、IL-6 阻害作用のあるモノクローナル抗体を投与したマウスでは、受胎能評価項目の変化も認められなかった。

カニクイザルを用いた ePPND 毒性試験において、サリルマブを 50 mg/kg/週まで雌サルに妊娠 20 日から自然分娩（およそ妊娠 165 日）まで静脈内投与した。母動物の毒性評価を分娩前及び分娩後に実施した。生後約 30 日間の出生児の検査として、標準的な毒性評価項目、出生時の検査、機能発達検査及び形態学的発達検査（X 線画像による骨格検査を含む）を実施した。サリルマブ投与による被験物質関連の変化は母動物にみられず（好中球数、CRP 濃度及びフィブリノゲン濃度の減少はみられなか

った）、新生児への影響も認められなかった。妊娠母動物及び新生児の死亡は、妊娠又は出産の合併症（母動物の過度の膣出血、難産及び骨盤位、分娩時における新生児の外傷及び早産）に起因するものであった。本試験では胚・胎児死亡（自然流産及び子宮内胚・胎児死亡を含む）及び死産がみられたが、サリルマブ群における胚・胎児死亡及び死産の発現頻度は、対照群及び試験実施時の試験施設における背景値と同程度であった。したがって、関節リウマチ患者にサリルマブの 200 mg を 2 週に 1 回皮下投与したときに得られた曝露量を約 84 倍上回る曝露量（AUC）において、胚・胎児発生、妊娠維持及び自然分娩に影響を及ぼさなかった。また、妊娠雌におけるサリルマブへの $AUC_{0\text{-}168h}$ 曝露量は、26 週間反復静脈内投与毒性試験でみられた曝露量と同程度であった。

生後 1 ヵ月の新生児における一般状態、体重、機能的又は骨格所見を含む形態学的発達のパラメータ、血液学的検査、凝固検査、血清生化学的検査、末梢血リンパ球及び単球のイムノフェノタイピング、器官重量、剖検並びに病理組織学的検査において、サリルマブ関連の変化は認められなかった。これらの新生児において、検討したすべての用量で生後約 30 日の剖検までの期間を通じてサリルマブへの曝露がみられた。

幼若マウスを用いた探索的 4 週間反復皮下投与毒性試験において、REGN844 の 200 mg/kg/週までを生後 14 日から投与したところ、毒性変化は認められなかった。9 週間反復投与毒性試験において、幼若マウスに REGN844 の 200 mg/kg/週までを生後 14 日に投与を開始した。REGN844 投与マウスでは、試験を通じて感染症の発現頻度増加はみられず、体重及び摂餌量の変化も認められなかった。投与期間終了時（生後約 78～79 日）、すなわち性成熟した雌雄のマウスの生殖器官に病理組織学的所見はみられなかった。投与期間及び回復期間中に KLH で抗原感作したとき、すべての用量の雄で IgG 反応がわずかに低下した。IgG 反応及び免疫グロブリン濃度におけるこれらの変化は、13 週間の回復期間終了時に回復がみられた。特記すべきこととして、幼若マウスにおける IgG 反応は、対照群よりは低かったものの、継続して明らかに認められた。すべての用量で認められた投与部位及び腋下リンパ節の病理組織学的所見、並びに 60 及び 200 mg/kg/週でみられた大腿骨／胸骨の病理組織学的所見は、REGN844 の全身への影響を示唆するものではなく、投与部位の炎症（タンパク質含有成分の投与又は投与部位の軽度の炎症に起因した自傷による二次的変化）に対する局所反応（リンパ節及び骨髄）と考えられた。これらの病理組織学的所見は、回復期間終了時には回復がみられた。無毒性量は 200 mg/kg/週と判断された。

ビオチン化サリルマブを用いた免疫組織化学的組織交差反応性試験において、ヒト組織におけるサリルマブの染色パターンは、カニクイザルの組織でみられたものと極めて類似していた。特異的な染色は、ほとんどヒト及びサルの組織の細胞質又は細胞質顆粒にのみ検出された。細胞膜染色はいずれのヒト組織にもみられず、サルでは 1 例の乳腺上皮組織のみに認められた。In vivo での無処置細胞における細胞質内への到達可能性には疑問があることから、細胞質及び細胞質顆粒の染色が毒性に関連

する可能性は低い。サリルマブをサルに投与しても毒性変化はみられなかったことから、1 例のサルにみられた乳腺組織の細胞表面染色は毒性学的意義のないものと判断された。

開発中に薬剤製造工程の変更を行ったことから、サル 3 ヵ月間反復皮下投与毒性試験において、初期の製造工程と第 III 相試験のための新たな工程で製造されたサリルマブの比較を行った。この試験の結果により、初期の工程と新たな工程の間で安全性プロファイルは類似していることが示唆された。サリルマブ関連の所見は他の一般毒性試験でみられたものと類似しており、毒性変化ではないと判断された。新たな工程で得られたサリルマブによる平均サリルマブ曝露量（C_{trough}）は、初期の工程で得られたサリルマブによる曝露量より約 15%少なかったが、測定法のばらつき及び TK における個体差に基づくと、この曝露量の低値は生物学的に意味のないものと考えられた。

毒性試験で使用したサリルマブ製剤の品質は、臨床試験用又は市販用のバッチを代表するものであった（[M2.6.7.4]）。

サリルマブの市販用製剤で使用される容器及び施栓系（すべての供給業者からのガラス製針付きシリンジ､プランジャーストッパー及び針キャップ）について実施した溶出物及び浸出物試験において、安全性上の問題点は認められなかった （[M2.3.P.2.4 項]）。

免疫系の評価を、サル 26 週間反復静脈内投与試験で実施した。大部分の毒性試験で好中球数の減少がみられ、26 週間反復投与毒性試験では抗原感作に対する一次及び二次 IgG 反応のわずかな減少が認められた（既知の薬理作用である IL-6 シグナル伝達阻害作用との関連あり）が、感染症や腫瘍プロモーションの発現頻度増加はみられず、末梢血白血球イムノフェノタイプ、リンパ系器官重量及びリンパ系器官の病理組織学的所見といったその他の免疫系パラメータの変化は認められなかったことから、免疫系に対するサリルマブの有害作用はみられなかった。

成熟サル及びサル出生児において、サリルマブの依存性又は乱用傾向を示唆する中枢神経系の変化は認められなかった。サリルマブはモノクローナル抗体であり、IL-6Rα に選択的に結合する。ヒト及びサルの組織を用いた組織交差反応性試験において､中枢神経系の細胞膜の染色は認められなかった。また､動物試験において､中枢神経系に発現して乱用傾向に関連する受容体又はトランスポーター（オピエート性、ドパミン性、ノルアドレナリン性、セロトニン性、NMDA 性、シグマ、GABA 性など）へのサリルマブの結合を示すエビデンスはみられなかった。カニクイザルを用いたサリルマブの 50 mg/kg/週までの 26 週間反復静脈内投与毒性試験、及び 100 mg/kg/週までの 13 週間反復皮下投与毒性試験において、中枢神経系の機能変化及び病理学的変化は認められなかった。これらの試験において、サリルマブに関連した一般状態観察での異常な行動変化や中枢神経系の病理組織学的変化はみられなかった。ePPND 試験においてサリルマブを 50 mg/kg/週まで静脈内投与したところ、妊娠サル及び生後 1 ヵ月まで観察したその出生児において、中枢神経系におけるサリルマブ関連の機能的変化や病理学的

所見は認められなかった。サリルマブを投与した妊娠サルから得られた出生児における機能発達評価（握力、反射及び痛覚）の結果は対照群と類似しており、サリルマブ関連の変化はみられなかった。

反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験の無毒性量は、検討した最高用量に設定された。上記のすべてのデータにより、関節リウマチの治療を目的としたサリルマブの開発は妥当なものと考えられる。

2　単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施しなかった。本剤を用いた反復投与毒性試験において、雌雄のカニクイザルに最大 50 mg/kg（皮下、静脈内）を単回投与した。その結果、死亡例は認められず本薬の忍容性は良好であった。従って、カニクイザルにおける本薬の概略の致死量は、皮下投与、静脈内投与共に 50 mg/kg 超と考えられた。

3　反復投与毒性試験

カニクイザルを用いたサリルマブの反復投与毒性試験を、最長 26 週間の静脈内投与及び最長 13 週間の皮下投与により実施した。それぞれの試験において、TK パラメータ及び ADA プロファイルも検討した。特定の試験では免疫毒性関連パラメータも検討した。また、マウス IL-6Rα に対するマウス相同抗体である REGN844 について、成熟及び幼若マウスを用いた試験を実施した。

3.1　げっ歯類

3.1.1　CD-1 マウスを用いた探索的 4 週間反復皮下及び静脈内投与毒性試験

[DIV1267 試験]、[M2.6.7.6 A]

GLP適用のマウスを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験に先立って、マウスIL-6Rαに対するマウス相同抗体である REGN844 について、マウスを用いた探索的反復投与毒性試験を実施し、毒性及びTKパラメータを評価した。雌雄のCrl:CD1(ICR)マウスに、溶媒又は溶媒を用いたREGN844溶液の 5、25、100 mg/kg/回を週 2 回（10、50、200 mg/kg/週）、3～4 日間隔で 4 週間皮下投与又は 25 mg/kg で週 1 回、4 週間静脈内ボーラス投与した。マウスを主試験群又は TK 群に割り付けた。主試験群は 1 群雌雄各 10 例とした。TK 群は、溶媒対照群では雌雄各 12 例、被験物質の皮下投与群では 1 群雌雄各 24 例、静脈内ボーラス投与群では雌雄各 27 例とし、主試験群と同じ用量及び投与容量で投与を実施した。

検査項目は、生死、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査及び血液生化学的検査であった。TK 測定用の血漿サンプルを採取したが、ADA の評価はしなかった。投与期間終了時に動物を安楽殺して剖検した。器官重量を測定し、対照群、皮下投与の高用量群及び静脈内投与群について、代表的な組織サンプルの病理組織学的検査を実施した。投与関連の可能性がある所見がみられた組織については、低及び中用量群についても病理組織学的検査を行った。

TK パラメータを表 3 に示す。REGN844 投与群の全例で投与期間中に被験物質への曝露が認められた。皮下投与による曝露量（C_{trough} 及び AUC_{0-72h}）は、10－50 mg/kg/週群間で用量比を上回って増加し、50－200 mg/kg/週群間ではほぼ用量に比例して増加した。いずれの群においても、1 日目から 25 日目にかけて投与回数に伴う曝露量の増加がみられた。雌の曝露量は 1 日目には雄をわずかに上回ったが、25 日目には雄をわずかに下回った。静脈内投与による曝露量（C_{trough} 及び AUC_{0-72h}）は、1 日目及び 22 日目のいずれにおいても雌雄で同程度であり、1 日目から 22 日目にかけて投与回数に伴う曝露量の増加が認められた。

表 3－マウス探索的 4 週間反復投与毒性試験：1 及び 25 日目（皮下）並びに 1 及び 22 日目（静脈内）における REGN844 の TK パラメータ

性	用量 (mg/kg/週)	経路	日	C_{trough} (µg/mL) [a]	AUC_{0-72h} (µg.h/mL)
雄	10	皮下	1	9.90	915
	50	皮下	1	106	7654
	200	皮下	1	601	32 622
	25	静脈内	1	83.4	9834
	10	皮下	25	44.4	3472
	50	皮下	25	541	48 881
	200	皮下	25	2149	153 627
	25	静脈内	22	273	26 308
雌	10	皮下	1	8.59	1013
	50	皮下	1	126	8681
	200	皮下	1	658	36 149
	25	静脈内	1	70.0	10 546
	10	皮下	25	17.3	1689
	50	皮下	25	468	38 351
	200	皮下	25	1960	142 036
	25	静脈内	22	204	23 078

[a] C_{trough} = 投与区間内の皮下投与［1 回目（1 日目）及び 8 回目（25 日目）］72 時間後及び静脈内投与［1 回目（1 日目）及び 4 回目（22 日目）］168 時間後にみられた最小濃度

動物数：溶媒対照群は雌雄各 12 例、皮下投与群は 1 群雌雄各 24 例、静脈内ボーラス投与群は雌雄各 27 例

略語：AUC_{0-72h}：0 時間から 72 時間の血清中濃度－時間曲線下面積

全例とも計画安楽殺時まで生存し、REGN844 関連の一般状態の変化も認められなかった。用量に関連した平均体重増加量の減少（対照群と比較して-23%～-35%）が、すべての REGN844 群の雄で 22～29 日目の間にみられた。他の期間における雄の体重増加量は、対照群と同程度であった。最終体重はすべての群の雄で同程度であったことから、この一過性の体重増加量への影響は、毒性学的に意味の

あるものではないと判断された。雌雄の体重及び雌の体重増加量は、対照値と同程度又はそれを上回った。対照群を含めて過剰な飼料の食べこぼしがみられたため、意味のある摂餌量の比較ができなかった。

臨床検査パラメータには、REGN844 関連の変化は認められなかった。

用量依存的な副腎絶対重量（+51%～+125%）及び相対重量（+47%～+115%）の増加が、50 mg/kg/週以上の皮下投与群及び 25 mg/kg/週静脈内投与群の雄にみられた（表 4）。しかし、副腎重量増加に関連する肉眼所見や病理組織学的所見は認められなかった。したがって、副腎重量の変化は毒性変化ではないと判断された。REGN844 関連の病理組織学的所見は、50 mg/kg/週以上の皮下投与群の雌雄にみられた投与部位における混合炎症性細胞浸潤の発現頻度及び重症度におけるわずかな増加のみであった。10 mg/kg/週皮下投与群及び 25 mg/kg/週静脈内投与群では、投与部位における REGN844 関連の所見は認められなかった。組織損傷がみられなかったことから、軽微から軽度の表皮下混合炎症細胞浸潤は毒性変化ではないと判断された。

表 4 –マウス探索的 4 週間反復投与毒性試験：雄の平均副腎重量

雄の副腎	0 mg/kg/週 皮下	10 mg/kg/週 皮下	50 mg/kg/週 皮下	200 mg/kg/週 皮下	25 mg/kg/週 静脈内
絶対重量 (g)	0.00665	0.00714	0.01007	0.01496**	0.01098*
相対重量（体重比）	0.01863	0.01976	0.02743	0.04007**	0.03006*

動物数：1 群雄 10 例
対照群と比較した統計学的有意差：* p ≤ 0.05 及び**p ≤ 0.01（Dunnett 検定）

上記の如く REGN844 をマウスに 10、50、200 mg/kg/週で 4 週間皮下投与又は 25 mg/kg/週で 4 週間静脈内投与したところ、一過性の用量に関連した体重増加量減少がすべての REGN844 群の雄で 22～29 日目にみられ、用量依存的な副腎重量の増加が、50 mg/kg/週以上の皮下投与群及び 25 mg/kg/週静脈内投与群の雄で認められた。また 50 mg/kg/週以上の皮下投与群の雌雄で、混合炎症性細胞浸潤の発現頻度及び重症度のわずかな増加のみが投与部位にみられた。観察されたいずれの変化も、毒性学的意義がないか又は毒性変化ではないと判断された。したがって、皮下投与での 200 mg/kg/週及び静脈内投与での 25 mg/kg/週は、それぞれの投与経路における無毒性量と判断された。無毒性量における AUC 値は、皮下投与では雄で 142 000 µg.h/mL、雌で 154 000 µg.h/mL（25 日目）、静脈内投与では雄で 23 100 µg.h/mL、雌で 26 300 µg.h/mL（22 日目）であった。

3.2　非げっ歯類

3.2.1　カニクイザルを用いた探索的 4 週間反復静脈内及び皮下投与忍容性試験

[IL6R-TX-06029 試験]、 [M2.6.7.6 B]

雌雄のカニクイザル（試験開始時 3～4 歳；カンボジア由来）に、サリルマブを 4 週連続で週 2 回皮下投与、又は週 1 回、持続静脈内投与（約 30 分）した。1 群の動物数は 3 例とした（皮下投与群は雄 2 例／雌 1 例、静脈内投与群は雄 1 例／雌 2 例）。投与用量は、皮下投与は 10 mg/kg/回（1 週間の総用量は 20 mg/kg/週）、静脈内投与は 10 mg/kg/週とした。

検査項目は、生死、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、凝固検査、尿検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査であった。さらにサリルマブ濃度測定用の血液を採取したが、ADA の評価は実施しなかった。

主な血清中サリルマブ濃度を表 5 に示す。投与期間中、全例で検出下限を上回る濃度のサリルマブへの持続的曝露が認められた。皮下投与群では、1 週目の初回投与 64 時間後までに、平均最高血清中濃度（153 µg /mL）がみられた。AUC 曝露量は、試験期間を通じて、皮下投与では約 4 倍、静脈内投与では 1.5 倍に増加した（表 6）。総サリルマブの C_{trough} は、次回の投与前にベースラインに戻らずサリルマブの蓄積が認められた。

表 5 – サル探索的 4 週間反復投与毒性試験：皮下及び静脈内投与後の血清中サリルマブ濃度

試験の週	TK パラメータ	20 mg/kg/週（皮下）(µg/mL) [a,b]	10 mg/kg/週（静脈内）(µg/mL) [a,b]
1 週目（1 回目皮下投与、1 回目静脈内投与）	C_{max}	153	392
	C_{trough}	97.5	104
2 週目（3 回目皮下投与、2 回目静脈内投与）	C_{max}	361	567
	C_{trough}	289	165
3 週目（5 回目皮下投与、3 回目静脈内投与）	C_{max}	447	564
	C_{trough}	373	197
4 週目（7 回目皮下投与、4 回目静脈内投与）	C_{max}	509	534
	C_{trough}	447	303

[a] 雌雄の値を併合

[b] 10 mg/kg/回の用量で週 2 回皮下投与；10 mg/kg の用量で週 1 回静脈内投与

動物数：3（皮下投与群は雄 2 例及び雌 1 例、静脈内投与群は雄 1 例及び雌 2 例）

測定法におけるサリルマブの定量下限は 3.13 ng/mL、未希釈血清では 156.5 ng/mL であった

略語： C_{max} = 個々のサルで投与間隔内（皮下投与ではその週の初回投与の 24、48 及び 72 時間後、静脈内投与では投与 5 分後）にみられた最高濃度の平均値；C_{trough} = 個々のサルで投与間隔内（皮下投与ではその週の初回投与の 24、48 及び 72 時間後、静脈内投与では投与 144 時間後）にみられたトラフ濃度の平均値

表 6 – サル探索的 4 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブの群平均 AUC 推定値

週	20 mg/kg/週（皮下）$AUC_{24\text{-}72h}$（µg.h/mL）	10 mg/kg/週（静脈内）$AUC_{0\text{-}168h}$（µg.h/mL）
1	7400 ± 832 [a]	27 300 ± 5380
2	19 900 ± 3030	42 700 ± 5980
3	24 700 ± 7360	51 300 ± 7610
4	29 100 ± 6890	41 900 ± 8350 [b]

値は雌雄を併合した平均値 ± 標準偏差

動物数：1 群 3 例

[a] AUC = 0-72 h

[b] AUC = 0-144 h

略語：$AUC_{24\text{-}72h}$ 又は $AUC_{0\text{-}168h}$：その週の最初の皮下投与後 24～72 時間又はその週の静脈内投与後 0～168 時間における血清中濃度－時間曲線下面積

サリルマブに関連した死亡、一般状態の変化並びに体重及び摂餌量の変化は認められなかった。

サリルマブ関連の変化として、平均好中球数の中等度の減少（平均白血球数の軽微な減少を伴う）及び平均フィブリノゲン濃度の軽度の減少が認められた（表 7）。これらの所見は試験 13 日に認められ、13 日から 28 日にかけてほぼ同程度であったが、28 日には 3 例で変化がやや軽減していた。これらのパラメータには明らかな用量反応はみられず、個々のサルの値は平均値の傾向とほぼ一致していた。IL-6 受容体阻害に関連した既知の生物学的作用に基づくと、好中球数及びフィブリノゲン濃度の減少は、サリルマブの予想される薬理作用である。それに伴う臨床的変化や病理学的変化はみられなかったことから、いずれも毒性変化ではないと判断された。

器官重量、剖検及び病理組織学的検査では、被験物質関連の変化は認められなかった。肝臓ではごく軽度の単核細胞浸潤（血管周囲／類洞）が、20 mg/kg/週群の雌 1 例を除く全例で認められた。この所見は自然発生的と考えられ、試験施設の背景データ及び文献に基づくと、カニクイザルで通常みられる所見であった(1)(2)(3)(4)(5)。

表 7 – サル探索的 4 週間反復投与毒性試験：サリルマブ関連の血液学的及び血液生化学的パラメータの群平均値における減少

パラメータ		20 mg/kg/週 皮下 [a]	10 mg/kg/週 静脈内
白血球数（1000/μL）			
	試験前	13.62	12.88
	13 日目	7.93	9.18
	28 日目	7.60	9.24
好中球数（1000/μL）			
	試験前	7.33	5.33
	13 日目	1.90	1.85
	28 日目	2.03	2.40
血清フィブリノゲン濃度（mg/dL）			
	試験前	243	223
	13 日目	178	190
	28 日目	170	179

[a] 10 mg/kg/回の用量で週 2 回投与
投与期間中の動物数：3（皮下投与 = 雄 2 例及び雌 1 例；静脈内投与= 雄 1 例及び雌 2 例）
試験前 = -1 週目

サリルマブをカニクイザルに 20 mg/kg/週で 4 週間反復皮下投与又は 10 mg/kg/週で 4 週間反復持続静脈内投与したときの忍容性は良好であった。

3.2.2　カニクイザルを用いた 5 週間反復点滴静注毒性試験及び 9 週間回復性試験

[REGN88-TX-06040 試験]、 [M2.6.7.7.A]

雌雄のカニクイザル（試験開始時約 2～3 歳 ; ベトナム由来）に、溶媒又はサリルマブの持続静脈内投与（約 30 分）を、週 1 回、5 週間連続で実施した（1 例当たり計 5 回投与）。1 群の動物数は雌雄各 5 例とした。投与用量は 0、5、10、40 mg/kg/回とした。1 群雌雄各 3 例を 5 週間の投与期間の 1 週間後に計画安楽殺して、主試験群の剖検を実施した。残りの 1 群雌雄各 2 例は、9 週間の回復群に割り付けた。

検査項目は、生死、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査（CRP を含む）、凝固検査、尿検査、ECG 検査、眼科学的検査、血圧、体温、剖検、器官重量、病理組織学的検査（骨髄細胞検査を含む）、血清中サリルマブ濃度及び ADA であった。

主な TK パラメータを（表 8）に示す。5 mg/kg/週群の 1 例及び 10 mg/kg/週群の 3 例を除く全例で、投与期間中に定量下限を上回るサリルマブへの持続的な曝露が認められた。総サリルマブの平均濃度は、投与期間を通じてほぼ用量に比例して増加し、C_{max} は投与 5 分後の時点にみられた。全体として、平均トラフ濃度及び総曝露量（$AUC_{0\text{-}168h}$）は、ほぼ用量に比例して増加した（表 9）。しかし、高用量の 40 mg/kg/週ではやや蓄積が大きかったため、この用量で反復投与したときの平均トラフ濃度及び $AUC_{0\text{-}168h}$ 値は、若干用量比を上回って増加した。これは 5 及び 10 mg/kg/週群における ADA の影響がより大きかったことを反映している可能性もある（下記参照）。40 mg/kg/週群では全例で回復期間中に持続的な曝露がみられたのに対し、5 及び 10 mg/kg/週群で持続的な曝露がみられたのは、それぞれ 4 例中 2 例であった。

ADA に関連する毒性所見は認められなかった。サリルマブ投与群の 30 例中 5 例（5 mg/kg/週群の 2 例及び 10 mg/kg/週群の 3 例）で、ADA が検出された（表 8）。投与期間中に ADA が検出された全例では、それぞれの投与群の ADA が検出されなかった例と比較して血清中サリルマブ濃度も低かった。

表 8－サル 5 週間反復静脈内投与毒性試験：血清中サリルマブ濃度の群平均値及び ADA 陽性動物数

試験日	TK パラメータ (μg/mL) [a]	サリルマブの用量 (mg/kg/週)			
		0	5	10	40
1 週目（1 回目投与）	C_{max}	BLQ	127	280	1180
	C_{trough}	BLQ	27.0	69.5	163
2 週目（2 回目投与）	C_{max}	BLQ	150	327	1290
	C_{trough}	BLQ	42.9	82.9	376
3 週目（3 回目投与）	C_{max}	BLQ	166	324	1380
	C_{trough}	BLQ	49.3	83.8	578
4 週目（4 回目投与）	C_{max}	BLQ	174	300	1710
	C_{trough}	BLQ	60.5	104	600
5 週目（5 回目投与）	C_{max}	BLQ	197	344	1690
	C_{trough}	BLQ	72.3	122	504
13 週目（回復期間終了時）	C	BLQ	0.229	0.512	12.1
投与期間中における ADA 陽性の動物数	**-**	**0/10**	**2/10**	**3/10**	**0/10**
回復期間中における ADA 陽性の動物数	**-**	**0/4**	**0/4**	**1/4**	**0/4**

[a] 雌雄の値を併合

動物数：5 週目までは 1 群雌雄各 5 例で、回復期間中は 1 群雌雄各 2 例

測定法におけるサリルマブの定量下限は 3.13 ng/mL、未希釈血清では 156.5 ng/mL であった

略語：ADA：抗薬物抗体；C_{max} = 投与区間内における最高血清中濃度（投与５分後の値）；C_{trough} = 投与区間内のトラフ血清中濃度（投与約 168 時間後すなわち次回投与前の値）；BLQ：定量下限未満

表 9－サル 5 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブの群平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ 推定値

週	5 mg/kg/週 (μg.h/mL)	10 mg/kg/週 (μg.h/mL)	40 mg/kg/週 (μg.h/mL)
1（1 回目投与）	8720 ± 951	20 400 ± 2320	75 200 ± 12 200
2（2 回目投与）	12 600 ± 3310	26 000 ± 4490	106 000 ± 18 000
3（3 回目投与）	13 800 ± 5340	24 100 ± 13 600	143 000 ± 28 500
4（4 回目投与）	15 300 ± 6880	25 300 ± 18 200	161 000 ± 29 600
5（5 回目投与）	16 800 ± 8030	28 100 ± 19 400	160 000 ± 36 800

値は雌雄を併合した平均値 ± 標準偏差

動物数：1 群雌雄各 5 例

略語：$AUC_{0\text{-}168h}$：0 時間から 168 時間までの血清中濃度－時間曲線下面積

サリルマブ関連の死亡はみられず、一般状態、体重、摂餌量、体温、尿検査、眼科学的検査、心血管系パラメータ（ECG 及び血圧）に異常は認められなかった。

サリルマブ関連の臨床検査値の変化（好中球絶対数、血清フィブリノゲン濃度又は血清 CRP 濃度の減少）が、5 mg/kg/週以上でみられた（表 10 ）。3 種のパラメータのいずれにおいて、明らかな用量関連の変化はみられず、個別値には大きなばらつきが認められ、すべてのサリルマブ投与群の個々の動物で、1 週目又は 4 週目に減少がみられた。0、5、10、40 mg/kg/週群のそれぞれ 0 例、5 例、4 例、2 例において、種々の時点で 1000/μL を下回る好中球数が認められた。回復期間終了時には好中球数及び CRP 濃度減少の部分的な回復がみられたが、上記のように、それぞれのパラメータの個別値には大きなばらつきがみられ、それらの値は、試験前値又は対照値の範囲内であった。フィブリノゲン減少は回復した。

IL-6 受容体阻害に関連する既知の生物学的作用に基づくと、循環血好中球数並びに血清フィブリノゲン及び CRP 濃度の減少はサリルマブ投与により予想される薬理作用であり、それに伴う他の臨床的変化や病理組織学的変化は認められなかった。このため、これらの変化は毒性変化ではないと判断された。

表 10 – サル 5 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブ関連の血液学的及び血液生化学的パラメータの群平均値の減少

パラメータ		サリルマブ (mg/kg/週)			
		0	5	10	40
好中球数（1000/µL）		雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌
	試験前	6.16 / 9.71	6.38 / 8.21	7.94 / 9.26	12.71 / 8.40
	1 週目	4.27 / 4.45	2.35 / 2.36	4.15 / 1.61*	2.29 / 1.93
	4 週目	2.81 / 2.30	1.19 / 2.32	3.50 / 2.65	1.93 / 1.36
	13 週目（回復期間）	2.16 / 1.36	1.18 / 4.19	3.15 / 6.95	2.37 / 2.68
血清フィブリノゲン濃度（mg/dL）					
	試験前	216 / 213	213 / 239	252 / 246	282 / 229
	1 週目	232 / 215	180* / 140**	155** / 167**	160** / 161**
	4 週目	240 / 236	168 / 169**	189 / 199	170 / 179**
	13 週目（回復期間）	224 / 195	239 / 209	189 / 192	193 / 186
血清 CRP 濃度（mg/L）					
	試験前	0.9 / 1.7	1.6 / 2.4	9.5 / 3.0	7.0 / 3.4
	1 週目	1.4 / 1.9	0.4 / 0.4	1.1 / 0.6	1.8 / 0.8
	4 週目	0.7 / 1.6	0.6 / 0.8	4.8 / 1.2	1.3 / 0.9
	13 週目（回復期間）	0.4 / 0.6	1.0 / 0.8	2.3 / 0.4	0.8 / 1.1

動物数：投与期間中は 1 群雌雄各 5 例、回復期間中は 1 群雌雄各 2 例（例外として 40 mg/kg/週群の雌は 1 例）。
値は有効数字 3 桁以下で丸めた
試験前 = -2 週目
Dunnett 検定による対照群と比較した統計学的有意差：* $p \leq 0.05$ 及び** $p \leq 0.01$
略語：CRP：C 反応性タンパク

器官重量、肉眼所見、骨髄細胞検査及び病理組織学的にサリルマブ関連の変化は認められなかった。

5 週間静脈内投与での無毒性量は 40 mg/kg/週であり、この用量での平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ は 160 000 µg.h/mL であった。

3.2.3　カニクイザルを用いた 13 週間反復点滴静注毒性試験及び 8 週間回復性試験

[REGN88-TX-06037 試験]、 [M2.6.7.7.B]

雌雄のカニクイザル（試験開始時約 2～3 歳；ベトナム由来）に、溶媒又はサリルマブの持続静脈内投与（約 30 分）を、週 1 回、13 週間連続で実施した（1 例当たり計 13 回投与）。1 群の動物数は雌雄各 6 例とした。投与用量は 0、1、10、50 mg/kg/週とした。1 群雌雄各 4 例を 13 週間の投与期間終了時に計画安楽殺して主試験群の剖検を行い、残りの 1 群雌雄各 2 例は 8 週間の回復群に割り付けた。

検査項目は、生死、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査（CRP を含む）、凝固検査、尿検査、ECG 検査、眼科学的検査、血圧、体温、器官重量、剖検、病理組織学的検査、血清中サリルマブ濃度及び ADA であった。

10 及び 50 mg/kg/週群の全例で、投与期間中、定量下限を上回る持続的なサリルマブへの曝露がみられた。最初の 2 回の投与後における総サリルマブの平均 C_{trough} は、ほぼ用量に比例して増加した（表 11 ）。0 及び 50 mg/kg/週群における C_{max} は試験を通じて同程度に増加したが、1 mg/kg/週群における C_{max} は反復投与により維持されなかった。1 mg/kg/週群の大多数例では、1 週間の投与間隔終了時に血清中のサリルマブが検出されなかった。曝露量は、1－10 mg/kg/週群間では平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ 値が用量比を顕著に上回って増加したが、10－50 mg/kg/週群間ではほぼ用量に比例していた（表 12 ）。10～50 mg/kg/週群での 1 回目のサリルマブ持続静脈内投与の後、それぞれの持続静脈内投与後の平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ 推定値が増加し、投与区間内の最大曝露量には、50 mg/kg/週群では 11 回目の投与（362 887 µg.h/mL）で、10 mg/kg/週群では 13 回目の投与後（61 550 µg.h/mL）で到達したことから、サリルマブの蓄積が示唆された。対照的に 1 mg/kg/週群では、反復投与によりサリルマブ曝露量が減少した。用量及び投与週を問わず、雌雄における $AUC_{0\text{-}168h}$ 推定値は同程度であった。回復期間中に採取した 10 及び 50 mg/kg/週群のすべてにおいて、総サリルマブが検出された。

ADA の産生に関連する毒性所見は認められなかった。投与期間中及び回復期間中に、1 mg/kg/週群の 12 例中 11 例で ADA が検出された（表 11 ）。ADA が検出された個体におけるサリルマブへの曝露量は ADA が検出されなかった個体に比し低値であったことから、ADA によりサリルマブのクリアランスが増加した可能性がある。10 及び 50 mg/kg/週群では ADA は検出されなかった。

表 11 – サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブの群平均血清中濃度及び ADA 陽性の動物数

試験日	TK パラメータ (µg/mL) [a,b]	サリルマブの用量（mg/kg/週）			
		0	1	10	50
1 週目（1 回目の投与）	C_{max}	BLQ	28.3	262	1140
	C_{trough}	BLQ	0.417	80.0	437
4 週目（4 回目の投与）	C_{max}	BLQ	13.1	393	2710
	C_{trough}	BLQ	BLQ	162	974
8 週目（8 回目の投与）	C_{max}	BLQ	9.62	452	3000
	C_{trough}	BLQ	BLQ	220	1360
10 週目（10 回目の投与）	C_{max}	BLQ	9.44	463	2170
	C_{trough}	BLQ	BLQ	230	1460
13 週目（31 回目の投与）	C_{max}	BLQ	10.2	556	2190
	C_{trough}	BLQ	BLQ	261	1170
21 週目（回復期間終了時）	C	BLQ	BLQ	0.322	139
投与期間中の ADA 陽性動物数	**-**	**0/12**	**11/12**	**0/12**	**0/12**
回復期間中の ADA 陽性動物数	**-**	**0/4**	**3/4**	**0/3**	**0/3**

[a] 他の週の値は試験報告書に記載

[b] 雌雄の値を併合

動物数：13 週目までは 1 群雌雄各 5～6 例、回復期間中は 1 群雌雄各 1～2 例；他の時点のデータは試験報告書に記載
測定法におけるサリルマブの定量下限は 3.13 ng/mL、未希釈血清では 156.5 ng/mL であった

略語： BLQ：定量下限未満； C_{max} = 投与区間内における最高血清中濃度（投与５分後の値）；C_{trough} = 投与区間内のトラフ血清中濃度（投与約 168 時間後すなわち次回投与前の値）

表 12 – サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブの群平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ 推定値

週	1 mg/kg/週 (µg.h/mL)	10 mg/kg/週 (µg.h/mL)	50 mg/kg/週 (µg.h/mL)
1（1 回目の投与）	1484 ± 251	22 177 ± 5402	113 857 ± 12 253
4（4 回目の投与）	390 ± 393	40 277 ± 9253	254 543 ± 52 318
8（8 回目の投与）	305 ± 540	50 039 ± 13 751	324 354 ± 57 826
10（10 回目の投与）	315 ± 578	52 271 ± 11 848	283 042 ± 56 995
13（13 回目の投与）	389 ± 721	61 550 ± 14 459	257 809 ± 49 253

値は雌雄の値を併合した平均値 ± 標準偏差、有効数字 3 桁で示す

動物数：1 群雌雄各 5～6 例；他の時点のデータは試験報告書に記載

略語： $AUC_{0\text{-}168h}$：0 時間から 168 時間までの血清中濃度－時間曲線下面積

試験中、2 例の死亡が認められた。50 mg/kg/週群の雄 1 例（2575 番）の死亡が 31 日目に確認された。この動物の一般状態の変化として、削痩（28～31 日目）、軟便（試験前、22 日目）、赤色物を含む下痢（21 及び 28 日目）、皮膚アトニー（28 日目）、冷触感（28 日目）及び努力性呼吸（29～31 日目）が観察された。この動物では体重減少が 3 週目までに 199 g、4 週目までに 326 g の体重減少がみられた。この動物の死亡は、食欲不振のために与えた栄養補給物の投与過誤によるものと考えられた。関連ある病理組織学的所見として、食道及び気管の炎症、肺の出血並びに周囲組織（大動脈周囲、胸腺周囲など）への局所的侵襲を伴う重度の慢性活動性片側性胸膜炎が認められた。これらは投与過誤に一致するものであった。炎症性細胞残屑内に複屈折を示す異物の断片が認められた。下痢及び食欲不振の理由は不明であった。

10 mg/kg/週群の雌 1 例（2621 番）の死亡が回復期間中の 17 週目（123 日目）に確認され、死因は胃腸アメーバ症と判断された。122 日目までは一般状態に毒性学的変化はみられず、17 週目まで顕著な体重変化は認められなかった。また、13 週目までの臨床検査では特記すべき変化はみられず、この群の他の例とは異なり、13 週目の白血球数及び好中球数は対照値の範囲内であった。この動物の試験前の CRP 値はすべての雌の試験前値の中で最も高く、投与期間中も継続して他の動物より高かったことから、恐らく既存の感染症による既存の二次的な炎症過程があったと考えられた。0 週目の対照群の雌 2 例及び試験前期間中の雄 1 例でも高い CRP 値がみられたが、投与期間中に低下し、これらの例では活動性感染症の徴候は認められなかった。感染した雌の病理組織学的所見として、大腸における多巣性の粘膜潰瘍形成及びそれに伴う炎症、細菌の異常増殖及び多数のアメーバが観察された。小腸及び大腸の粘膜増殖もみられ、その特徴は陰窩の顕著な伸長であった。この変化に伴って肉眼的な腸の肥厚がみられたが、感染症により誘発された炎症による二次的変化と考えられる。試験報告書では、この動物の死亡とサリルマブとの関連性は不明とされたが、上記に考察したデータの科学的根拠の重要度及びサリルマブへの曝露量がより高い高用量群における死亡の欠如に基づくと、この中用量群のサルの死亡は、サリルマブとは関連がないものと判断された。自然発症性の胃腸疾患はマカク属に比較的多い所見であり、大腸でより高頻度に認められる(6)(7)。

生存例の一般状態、体重、摂餌量、体温、尿検査、眼科学的検査及び心血管系パラメータ（ECG 及び血圧）には、サリルマブ関連の変化は認められなかった。

サリルマブ関連の臨床検査値の変化が 1 mg/kg/週以上でみられ、所見として好中球数、フィブリノゲン濃度及び CRP 濃度の減少が認められた。これらの変化は既知の薬理作用である IL-6 シグナル伝達阻害作用に起因するものであり、関連する一般状態の変化や病理学的変化がみられず、投与群における個々の値のばらつきは、試験前及び対照群における個別値の範囲と同程度であったことから、毒性変化ではないと判断された。これらのパラメータの群平均値を表 13 に詳述する。

1 mg/kg/週以上の雌雄の 3 週目又は 13 週目における好中球数の平均値及び一部の個別値は、その試験前値又は対照値より低かった。明らかな用量反応は認められなかった。0、1、10、50 mg/kg/週群のそれぞれ 1 例、2 例、5 例及び 4 例のサルにおける好中球数は、様々な時点で 1000/μL を下回った。これらの減少は大部分の雄で一部回復がみられ、雌では回復が認められた。10 mg/kg/週以上での 3 週目又は 13 週目におけるフィブリノゲン値の平均値及び一部の個別値は、その試験前値及び対照値より低かった。用量反応や時間的変化は認められなかった。これらの減少には回復が認められた。

CRP 濃度には高度のばらつきがみられ平均値の解釈は困難であったが、明らかな用量反応は認められなかった。サリルマブ投与群の個々の動物における値は、全体として 1 週目の初回投与後（試験報告書では 0 週目）の方が試験前より低く、3 週目では 10 mg/kg/週以上で試験前より低かった。13 週目では少数の例外を除いて、対照群を含む全群で試験前よりも低かった。回復期間中は、対照群を含むすべての群で試験前値よりも低く、13 週目と同程度であった。

表 13 – サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブに関連した血液学的及び血液生化学的パラメータ群平均値の減少

パラメータ		サリルマブ (mg/kg/週)			
		0	1	10	50
好中球数（1000/μL）		雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌
	試験前	4.43 / 7.66	4.67 / 3.08	6.20 / 5.54	9.89* / 5.69
	3 週目	4.24 / 3.17	2.09 / 1.81	1.72 / 1.75	3.19 / 2.55
	13 週目	3.01 / 3.21	2.32 / 2.72	1.39 / 2.75	2.54 / 2.03
	21 週目（回復期間）	2.82 / 2.28	1.82 / 6.01	3.16 / 6.55	1.10 / 4.64
血清フィブリノゲン濃度（mg/dL）					
	試験前	191 / 241	177 / 237	248 / 189	202 / 222
	3 週目	222 / 237	211 / 229	174* / 145**	160** / 182*
	13 週目	223 / 262	215 / 223	189 / 164**	184 / 195**
	21 週目（回復期間）	245 / 267	238 / 284	252 / 221	149 / 228
血清 CRP 濃度（ng/mL）					
	試験前	10 389 / 14 411	10 153 / 7878	32 231 / 10 245	10 900 / 13 667
	1 週目	15 255 / 43 619	6280 / 5392	9461 / 4684	4800* / 5771
	3 週目	9699 / 20 688	17 543 / 35 949	3847 / 3974	3214 / 3234
	13 週目	4629 / 8026	3520 / 3417	6567 / 3439	6378 / 3324
	21 週目（回復期間）	6276 / 4739	3115 / 6385	7264 / 2018	2577 / 4192

動物数：投与期間中は 1 群雌雄各 6 例（13 週目に 50 mg/kg/週群の雄が 5 例であったのを除く）
動物数：回復期間中は 1 群雌雄各 2 例（50 mg/kg/週群の雄及び 10 mg/kg/週群の雌が 1 例であったのを除く）
試験前 = -2 週目
Dunnett 検定を用いた対照群との統計学的有意差：* $p \leq 0.05$ 及び** $p \leq 0.01$
注：CRP について、試験報告書では 0 週目を初回投与後の採血とした。上記の表ではこれを 1 週目とした
略語：CRP：C 反応性タンパク

血清グロブリン濃度、アルブミン／グロブリン（A/G）比及び総タンパク濃度の変化は被験物質関連の可能性があるが、これらの変化は程度が小さく生物学的意義はないと判断された。平均値を表 14 に詳述する。50 mg/kg/週群の雌雄における 13 週目のグロブリン値は、対照群よりわずかに（10～11%）低かった。これらの値は回復期間後も引き続き低く、これに伴って A/G 比も回復期間後により高い値がみられた。50 mg/kg/週群の雄における 13 及び 21 週目の総タンパク値は、対照群よりわずかに低かった。

表 14 – サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブに関連する可能性のある血液学的及び血液生化学的パラメータ群平均値の減少

パラメータ		サリルマブ (mg/kg/週)			
		0	1	10	50
血清グロブリン濃度（g/dL）		雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌
	試験前	3.0 / 3.2	3.0 / 3.1	3.2 / 3.2	2.9 / 3.1
	3 週目	2.6 / 2.8	2.9 / 2.8	2.7 / 2.7	2.6 / 2.6
	13 週目	2.8 / 2.9	2.8 / 2.8	2.6 / 2.7	2.5 / 2.6
	21 週目（回復期間）	2.8 / 2.7	2.8 / 3.3	2.9 / 3.4	2.2 / 2.5
A/G 比					
	試験前	1.51 / 1.49	1.51 / 1.55	1.45 / 1.53	1.56 / 1.57
	3 週目	1.60 / 1.54	1.48 / 1.60	1.60 / 1.68	1.61 / 1.72
	13 週目	1.62 / 1.48	1.54 / 1.59	1.77 / 1.70	1.77 / 1.71
	21 週目（回復期間）	1.63 / 1.69	1.66 / 1.46	1.48 / 1.23	2.00 / 1.85
総タンパク濃度（g/dL）					
	試験前	7.4 / 7.9	7.5 / 7.9	7.5 / 8.1	7.3 / 7.8
	3 週目	6.8 / 7.0	7.2 / 7.1	6.9 / 7.3	6.6 / 6.9
	13 週目	7.3 / 7.1	7.2 / 7.2	7.3 / 7.2	6.8 / 6.9
	21 週目（回復期間）	7.2 / 7.2	7.3 / 7.5	7.1 / 6.6	6.6 / 6.9

動物数：投与期間中は 1 群雌雄各 6 例（13 週目に 50 mg/kg/週群の雄が 5 例であったのを除く）
動物数：回復期間中は 1 群雌雄各 2 例（50 mg/kg/週群の雄及び 10 mg/kg/週群の雌が 1 例であったのを除く）
試験前 = -2 週目
対照群と比較して統計学的有意差なし
略語：A/G 比：アルブミン／グロブリン比

器官重量、剖検及び病理組織学的検査においてサリルマブ関連の変化は認められなかった。

13 週間静脈内投与による無毒性量は 50 mg/kg/週であり、この用量での C_{max} は 2190 µg /mL、$AUC_{0\text{-}168h}$ は 257 809 µg.h/mL であった。

3.2.4　カニクイザルを用いた 13 週間反復皮下投与毒性試験及び 12 週間回復性試験

[REGN88-TX-06038 試験]、 [M2.6.7.7 C]

雌雄のカニクイザル（試験開始時約 2～3 歳；ベトナム由来）に、サリルマブを週 2 回、13 週間連続皮下投与した（1 例当たり計 26 回投与）。1 群の動物数は雌雄各 6 例とした。投与用量は 0、1、5、15、50 mg/kg/回（0、2、10、30、100 mg/kg/週）とした。1 群雌雄各 4 例を 13 週間の投与期間終了時に計画安楽殺して主試験群の剖検を行い、残りの 1 群雌雄各 2 例は 12 週間の回復群に割り付けた。

検査項目は、生死、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査（CRP を含む）、凝固検査、尿検査、ECG 検査、眼科学的検査、血圧、体温、器官重量、剖検、病理組織学的検査、血清中サリルマブ濃度及び ADA であった。

30 及び 100 mg/kg/週群の全例で、3 ヵ月の投与期間を通じて定量下限を上回るサリルマブへの曝露量がみられたが、2 及び 10 mg/kg/週群では、血清中濃度の一部の個別値又は群平均値が維持されなかった（特に 11 回目投与後の雌）。平均血清中総サリルマブ C_{trough} は、2－10 mg/kg/週群間及び 10－30 mg/kg/週群間で用量比を上回って増加した（表 15 ）。30－100 mg/kg/週群間では、血清中 C_{trough} はほぼ用量に比例して増加した。回復期間中は、10、30、100 mg/kg/週群の大部分（12 例中 10 例）で総サリルマブへの持続的曝露量が検出されたが、2 mg/kg/週群ではサリルマブは検出されなかった。本試験では AUC 値は算出しなかった。

ADA の産生に関連する毒性所見はみられなかった。投与期間終了時には、ADA が 2 mg/kg/週群の 12 例中 12 例及び 10 mg/kg/週群の 12 例中 4 例で検出されたが、30 及び 100 mg/kg/週群では検出されなかった（表 15）。ADA が検出された個体におけるサリルマブへの曝露量は ADA が検出されなかった個体に比し低値であった。

表 15 – サル 13 週間反復皮下投与毒性試験：群平均サリルマブ血清トラフ濃度及び ADA 陽性動物数

試験週 [a]	TK パラメータ (μg/mL) [b,c]	サリルマブ (mg/kg/週)				
		0	2	10	30	100
1 週目（1 回目投与）	C_{trough}	BLQ	3.94 ± 1.39	32.1 ± 4.67	128 ± 27.0	385 ± 113
4 週目（7 回目投与）	C_{trough}	BLQ	2.73 ± 2.43	94.7 ± 63.5	502 ± 149	1550 ± 304
8 週目（15 回目投与）	C_{trough}	BLQ	BLQ	146 ± 122	613 ± 199	2230 ± 384
12 週目（23 回目投与）	C_{trough}	0.124 ± 0.430 [c]	1.11 ± 1.60	150 ± 114	837 ± 210	2460 ± 438
17 週目（回復期間）	C	BLQ	BLQ	28.5 ± 19.6	131 ± 71.3	373 ± 147
24 週目（回復期間）	C	BLQ	BLQ	0.664 ± 0.500	3.13 ± 4.08	23.1 ± 20.5
投与期間中の ADA 陽性動物数	-	**0/12**	**12/12**	**4/12**	**0/12**	**0/12**
回復期間中の ADA 陽性動物数	-	**0/4**	**4/4**	**0/4**	**0/4**	**0/4**

動物数：13 週目まで 1 群雌雄各 6 例、回復期間中は 1 群雌雄各 2 例
値は雌雄の値を併合した平均値 ± 標準偏差
[a] サルにサリルマブを週 2 回、13 週間連続で皮下投与した（1 例当たり計 26 回投与）
[b] 他の週の値は試験報告書に記載
[c] 1 例の雌における血清中濃度は 1.49 μg/mL であった。定量下限は 0.157 μg/mL であった
C_{trough} = その週の 2 回投与のうちの初回投与 96 時間後のトラフ濃度（その週の 2 回目投与前）
略語：BLQ：定量下限未満

本試験において死亡はみられなかった。一般状態、体重、摂餌量、体温、尿検査、眼科学的検査及び心血管系パラメータ（ECG 検査及び血圧）に、サリルマブ関連の変化は認められなかった。

サリルマブ関連の臨床検査値の変化が 2 mg/kg/週以上でみられた。それらは、サリルマブの薬理作用に起因すると考えられる白血球数、好中球数、フィブリノゲン濃度及び CRP 濃度の減少であった。しかし、これらの変化に関連する一般状態の毒性変化や病理学的所見がみられず、投与群における個別値のばらつきが、試験前及び対照群における個別値の範囲と同程度であったことから、毒性変化ではないと判断された。これらのパラメータの群平均値を表 16 に詳述する。

3 週目又は 13 週目における 10 mg/kg/週以上での白血球数の平均値及び一部の個別値は、雌雄ともに試験前値又は対照値より低かった。明らかな用量反応は認められなかった。白血球数減少は好中球数減少に起因すると考えられた。これらの減少には回復がみられた。

好中球数には雌雄ともに高度のばらつきがみられたが、投与群の値の大部分は試験前値又は対照値の範囲内であった。すべてのサリルマブ投与群における 3 週目又は 13 週目の好中球数の平均値及び個別値は、試験前値又は対照値と比較して低かった。明らかな用量反応は認められなかった。0、2、10、30、100 mg/kg/週群のそれぞれ 1、2、6、3、4 例における好中球数は、種々の時点において 1000/μL を下回った。これらの減少は、21 週目又は 25 週目における回復試験群の検査の一方又は両方において、回復又は回復傾向が認められた。

3 週目又は 13 週目におけるフィブリノゲン濃度の群平均値及び一部の個別値は、すべてのサリルマブ群の雄及び 10 mg/kg/週以上の雌で、対照値及び試験前値よりわずかに低かった。用量反応及び時間的変化は認められなかった。これらの減少は回復した。

CRP 濃度には高度のばらつきがあったため、平均値の解釈が困難であった。個々の個体におけるこれらの値は、概ね試験前よりも 1 週目の初回投与後（試験報告書では 0 週目）の方が低かった。その後、3 週目の濃度は 1 週目よりも高くなったが、13 週目には再び低下した。用量反応は認められなかった。これらの減少は概ね回復したが、試験前の濃度に戻らない場合が多かった。

表 16 – サル 13 週間反復皮下投与毒性試験：血液学的及び血液生化学的パラメータにおける
サリルマブ関連の群平均値減少

パラメータ	サリルマブ (mg/kg/週)				
	0	2	10	30	100
白血球数 (1000/μL)	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌
試験前	8.22 / 8.53	8.73 / 8.37	6.29 / 7.57	8.00 / 9.49	7.64 / 11.13
3 週目	7.85 / 5.38	7.06 / 6.40	5.55 / 4.24	5.11 / 7.05	5.40 / 6.22
13 週目	10.88 / 9.38	8.21 / 9.76	5.66* / 8.18	6.65 / 8.18	5.23* / 9.60
21 週目（回復期間）	11.90 / 7.34	8.76 / 11.59	8.30 / 5.83	7.48 / 5.55	6.30 / 8.50
25 週目（回復期間）	6.22 / 6.21	10.64 / 12.14	10.04 / 7.00	7.74/ 6.46	10.16 / 9.48
好中球数 (1000/μL)					
試験前	3.87 / 4.42	4.06 / 3.82	2.51 / 3.70	3.84 / 5.90	3.79 / 5.83
3 週目	4.36 / 2.88	3.13 / 1.83	1.16 / 1.67	1.71 / 3.49	2.13 / 2.24
13 週目	5.46 / 3.15	4.02 / 2.36	1.14* / 2.60	1.63* / 2.47	1.34* / 3.10
21 週目（回復期間）	6.46 / 2.46	2.76 / 2.97	3.17 / 1.38	4.10 / 0.88	2.03 / 2.46
25 週目（回復期間）	2.57 / 0.80	5.66 / 3.75	1.89 / 0.96	4.14 / 1.73	5.41 / 3.12
血清フィブリノゲン濃度(mg/dL)					
試験前	215 / 209	215 / 207	208 / 215	215 / 196	235 / 173
3 週目	225 / 225	196 / 214	170** / 181*	171** / 169**	195 / 160**
13 週目	225 / 212	223 / 201	180 / 181	197 / 165**	199 / 156**
21 週目（回復期間）	256 / 228	218 / 228	279 / 212	201 / 194	211 / 173
25 週目（回復期間）	245 / 208	221 / 226	244 / 194	217 / 210	230 / 183
血清 CRP 濃度 (ng/mL)					
試験前	6395 / 10 350	16 498 / 4978	10 197 / 10 750	7307 / 12475	10 042 / 10 755
1 週目	9269 / 10 362	8307 / 2378	4403 / 2071	3220 / 3950	5325 / 2816
3 週目	10 938 / 8804	14 708 / 5950	7674 / 5051	6404 / 7494	5262 / 5794
13 週目	6146 / 4992	12 994 / 4925	5642 / 3977	3932 / 4777	6465 / 4780
21 週目（回復期間）	7140 / 5871	9500 / 3060	4948 / 2395	2022 / 7610	8881 / 1231
25 週目（回復期間）	9081 / 5112	10 037 / 2575	3046 / 2479	3131 / 8095	13 221 / 2366

動物数：投与期間中は 1 群雌雄各 5～6 例；回復期間中は 1 群雌雄各 2 例
試験前 = -2 週目
Dunnett 検定を用いた対照群からの統計学的有意差：* $p \leq 0.05$ 及び** $p \leq 0.01$
注：CRP について、試験報告書では 0 週目を初回投与後の採血とした。上記の表ではこれを 1 週目とした。
略語：CRP：C 反応性タンパク

剖検時にサリルマブ関連の器官重量の変化はみられず、肉眼所見は認められなかった。すべてのサリルマブ投与群において、皮下投与部位に軽微から中等度の混合炎症性細胞浸潤が観察された。皮下の病理組織学的所見の発現頻度又は重症度には用量依存性がみられず、回復期間後には完全又は部分的な回復が認められた。皮下投与部位にみられたこれらの炎症性細胞浸潤は、濃縮ヒトタンパク質含有成分の皮下投与に対する局所反応を示すものと考えられた（表 17 ）。

表 17 – サル 13 週間反復皮下投与毒性試験：投与部位の病理組織学的所見

パラメータ	サリルマブ (mg/kg/週)				
	0	2	10	30	100
主試験群投与部位	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌
検査例数	4 / 4	4 / 4	4 / 4	4 /4	4 / 4
血管周囲混合炎症性細胞浸潤	0 / 1	2 / 3	2 / 3	2 / 3	3 / 3
軽微	- / 1	2 / 2	1 / -	2 / 3	3 / 3
軽度	- / -	- / 1	1 / 2	- / -	- / -
中等度	- / -	- / -	- / 1	- / -	- / -
回復群投与部位					
検査例数	2 / 2	2 / 2	2 / 2	2 / 2	2 / 2
血管周囲混合炎症性細胞浸潤	0 / 0	0 / 2	0 / 0	0 / 0	0 / 0
軽微	- / -	- / 2	- / -	- / -	- / -

10 mg/kg/週群の雌 1 例（番号 2705）で、心臓に重度のびまん性亜急性炎症（主にリンパ形質細胞浸潤）がみられた。2 mg/kg/週群の雄 1 例（番号 2700）で、脳に軽微な限局性亜急性炎症（軽度の血管周囲単核細胞浸潤を伴う）が観察された。雌の心臓のギムザ染色及び雄の脳のグラム染色では、原虫や細菌は確認されなかった。心臓及び脳における所見の特徴は、いずれも背景所見として文献に報告されている(1)(2)(3)(8)。これらの所見には用量関連性がみられず、単発性の発現のみであり、その特徴は背景所見として報告されているものと同様であることから、被験物質に関連したものではないと判断された。本試験の他の例でみられた別の心臓（混合炎症細胞浸潤）又は脳（血管周囲単核細胞浸潤及びグリオーシス）の所見は、カニクイザルで通常みられる背景所見に一致するものであり(2)(8)、その発現頻度又は重症度には用量依存性がみられなかったことから、これらの所見も被験物質投与とは無関係であると判断された。

13 週間皮下投与による無毒性量は 100 mg/kg/週（50 mg/kg での週 2 回投与）であり、この用量における 12 週目の平均 C_{trough} は 2460 µg /mL であった。

3.2.5　カニクイザルを用いた 26 週間反復持続静脈内投与毒性試験及び 12 週間回復性試験

[REGN88-TX-08031 試験]、 [M2.6.7.7 D]

雌雄のカニクイザル（試験開始時に約 3～5 歳；ベトナム由来）に、溶媒又はサリルマブを、週 1 回持続静脈内投与（約 30 分間）により 26 週間投与した（1 例当たり計 26 回の投与）。1 群の動物数は雌雄各 6 例とした。投与用量は 0、0.5、5、15、50 mg/kg/週とした。26 週間の投与期間終了時に 1 群雌雄各 4 例を計画安楽殺して主試験群の剖検を行い、残りの 1 群雌雄各 2 例を 12 週間の回復群に割り付けた。

検査項目は、生死、一般状態、体重、摂餌量、ECG 検査、眼科学的検査、血圧、体温、血液学的検査、血液生化学的検査（CRP を含む）、凝固検査、尿検査、器官重量、剖検、病理組織学的検査、血清中サリルマブ濃度及び ADA であった。本試験では、拡充型の免疫毒性評価として、KLH を用いた抗原感作による KLH 特異的 IgM 及び IgG 抗体反応、末梢血白血球イムノフェノタイピング、IL-6 及び内因性免疫グロブリン（IgE、IgG、IgM 及び IgA）血清中濃度測定を実施した。

15 及び 50 mg/kg/週群では、全例で 26 週間の投与期間を通じて定量下限を上回る薬物への曝露がみられたが、0.5 及び 5 mg/kg/週群では、一部の例又は群平均の血清中濃度が維持されなかった。0.5 mg/kg/週群の平均最高濃度は、2 週目の投与後に減少した。5 mg/kg/週以上における総サリルマブの平均 C_{trough} は、ほぼ用量比例的に増加した（表 18）。それぞれの投与後にサリルマブ曝露量（$AUC_{0\text{-}168h}$）を推定した（表 19）。投与群全体で用量比を上回る AUC の増加がみられ、0.5－5 mg/kg/週群間では曝露量が用量比を顕著に上回ったが、5－50 mg/kg/週群間ではほぼ用量に比例していた。その後のそれぞれの投与時において、0.5 mg/kg/週群を除く 5、15 及び 15 mg/kg/週群での曝露量は投与回数に伴って増加がみられた。0.5 mg/kg/週群での平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ は 3 回目投与後に減少した。回復期間中に 5、15、50 mg/kg/週群で血清サンプルを採取した大多数例（11 例中 10 例）では、総サリルマブへの持続的曝露が認められた。12 週間の回復期間中の 0.5 mg/kg/週群では、1 例を除いてサリルマブは検出されなかった。

ADA が、0.5 mg/kg/週群の全例、5 mg/kg/週群の 5 例及び 15 mg/kg/週群の 1 例で検出されたが（表 18）、ADA 産生に関連する毒性所見は認められなかった。50 mg/kg/週群では ADA は検出されなかった。ADA が検出された個体におけるサリルマブの曝露量は ADA が検出されなかった個体に比し低値であった。

表 18 – サル 26 週間反復静脈内投与毒性試験：群平均血清中サリルマブ濃度及び ADA 陽性動物数

試験週 [a]	**TK パラメータ (µg/mL)** [b]	**サリルマブ (mg/kg/週)**				
		0	**0.5**	**5**	**15**	**50**
1 週目（1 回目投与）	C_{max}	BLQ	12.2	145	390	1420
	C_{trough}	BLQ	BLQ	36.3	123	621
4 週目（4 回目投与）	C_{max}	BLQ	6.52	189	668	2490
	C_{trough}	BLQ	BLQ	65.0	341	1300
8 週目（8 回目投与）	C_{max}	BLQ	5.09	213	791	2790
	C_{trough}	BLQ	BLQ	81.6	388	1630
12 週目（12 回目投与）	C_{max}	BLQ	4.87	206	727	2910
	C_{trough}	BLQ	BLQ	75.0	373	1560
17 週目（17 回目投与）	C_{max}	BLQ	5.87	195	728	3290
	C_{trough}	BLQ	BLQ	87.8	383	1650
21 週目（21 回目投与）	C_{max}	BLQ	5.89	197	737	3120
	C_{trough}	BLQ	BLQ	96.8	403	1740
25 週目（25 回目投与）	C_{max}	BLQ	5.06	207	737	3110
	C_{trough}	BLQ	BLQ	102	402	1780
38 週目（回復期間終了時）	C	BLQ	BLQ	0.153	3.11	28.9
投与期間中における ADA 陽性動物数	**-**	**0/12**	**12/12**	**5/12**	**1/12**	**0/12**
回復期間中における ADA 陽性動物数	**-**	**0/4**	**3/3**	**1/4**	**0/3**	**0/4**

動物数：26 週目までは 1 群雌雄各 5～6 例、回復期間中は 1 群雌雄各 1～2 例。定量下限は 0.157 µg/mL であった。

[a] 他の週の値は試験報告書に記載

[b] 雌雄の値を併合

略語：C_{max} = 投与区間内における最高血清中濃度（投与 5 分後の値）；C_{trough} = 投与区間内のトラフ血清中濃度（投与約 168 時間後すなわち次回投与前の値）；BLQ：定量下限未満

表 19 – サル 26 週間反復静脈内投与毒性試験：群平均サリルマブの $AUC_{0\text{-}168h}$ 推定値

週 [a]	0.5 mg/kg/週 (µg.h/mL)	5 mg/kg/週 (µg.h/mL)	15 mg/kg/週 (µg.h/mL)	50 mg/kg/週 (µg.h/mL)
1 週目（1 回目投与）	644 ± 68.6	12 085 ± 2820	32 768 ± 4931	134 247 ± 43 604
4 週目（4 回目投与）	224 ± 154	17 457 ± 9929	72 478 ± 26 914	287 884 ± 32 032
8 週目（8 回目投与）	121 ± 167	20 226 ± 14 306	88 110 ± 15 563	346 473 ± 37 325
12 週目（12 回目投与）	111 ± 172	19 005 ± 13 921	84 096 ± 18 180	343 083 ± 44 355
17 週目（17 回目投与）	149 ± 278	20 142 ± 16 420	83 874 ± 50 884	381 001 ± 81 241
21 週目（21 回目投与）	148 ± 285	21 772 ± 18 134	88 050 ± 49 036	365 375 ± 36 541
25 週目（25 回目投与）	172 ± 289	22 892 ± 19 106	88 634 ± 49 864	381 040 ± 30 323

値は雌雄を併合した平均値 ± 標準偏差
動物数：1 群雌雄各 5～6 例
[a] 他の週の値は、試験報告書に記載
略語：$AUC_{0\text{-}168h}$：0 時間から 168 時間までの血清中濃度－時間曲線下面積

本試験中に 2 例の死亡が認められた。15 mg/kg/週群の雄 1 例（番号 3927）を 133 日目（19 週目）に瀕死安楽殺した。この個体の体重は試験期間を通じてこの群で最も低く、7 週目以降は試験開始時と比較して体重が減少したのに対し、この群の他の個体ではいずれも体重が増加した（例外として、別の 1 個体で 11 及び 12 週目に一過性かつ軽度の体重減少が認められた）。この雄では 111 日目以降に削痩、食欲不振又は円背位が観察され、84 日目以降に下痢が認められた。投与期間中におけるこの個体の白血球数及び好中球数は、試験前又は対照値の範囲内であった。12 週目に IL-6 濃度が高かったのを除いて、この個体には一般状態や病理所見以外に異常な変化（この群のすべての例でみられたもの以外）は認められなかった。この個体では 12 週目の IgG 濃度が他の個体より低く、試験前値も低かった。抗原感作に対する一次及び二次 IgG 反応は対照群よりわずかに低かったが、この群の他の個体と同程度であった。この個体にみられた関連する病理組織学的所見は大腸の潰瘍形成、出血、粘膜膿瘍形成及び全般的炎症であり、死亡前に観察された下痢、摂餌不良及び体重減少に一致するものであった。この途中死亡は中等度の盲腸結腸炎に起因するものと考えられた。報告書中には、この個体の死亡とサリルマブとの関連性は不明と記載されているが、上記のデータ及び以降の段に記載したデータに基づくと、この中用量群のサルの死亡は、サリルマブにより誘発された感染症に関連したものではないと考えられた。自然発症性の胃腸疾患はマカク属に比較的多い所見であり、大腸でより高頻度に認められる(6)(7)。

また、0.5 mg/kg/週群の雄 1 例（番号 3928）の死亡が 159 日目に確認された。肉眼所見として食道内に異物が認められた。病理組織学的検査では、重度の咽頭拡張並びに咽頭、喉頭や多数の気管支及び細気管支の内腔における異物／植物残屑が観察された。これらの所見はサリルマブ投与との関連のない偶発的な窒息死に一致するものであった。

一般状態、体重、摂餌量、体温、尿検査、眼科学的検査及び心血管系パラメータ（ECG 検査及び血圧）においては、サリルマブ関連の変化は認められなかった。サリルマブ関連の臨床検査値の変化が 5 mg/kg/週以上でみられ、所見としては好中球数及びフィブリノゲン濃度の減少並びに IL-6 濃度の増加であった。しかし、関連する一般状態の変化や病理学的所見がみられなかったこと、又、投与群における個別値のばらつきが試験前及び対照群における個別値の範囲と同程度であったことから、これらの変化は毒性変化ではないと判断された。これらのパラメータにおける群平均値を表 20 に詳述する。

5 mg/kg/週以上の雌雄において、対照値又は試験前値と比し好中球数数減少が認められた。用量反応はみられず、対照値と比較した減少の程度は軽微から中等度であった。5、15、50 mg/kg/週群の各 1 例における好中球数は、1 時点で 1000/μL 未満であった。この減少は回復期間中に回復傾向を示した。

15 mg/kg/週以上の雄及び 5 mg/kg/週以上の雌における 4、12 又は 25 週目のフィブリノゲン濃度にはばらつきがみられたが、個別値には試験前値と比較してやや低い傾向が認められた。明らかな用量反応はみられず、この減少は回復期間中に回復した。

IL-6 濃度には個体間で高度のばらつきが認められた。主に 5 mg/kg/週以上の群の雌雄における 4、12 又は 25 週目の IL-6 濃度は、試験前値又は対照値より高かったが、0.5 mg/kg/週群の雌雄各 1 例においては、試験前値及び対照値の範囲を外れた値が 1 つ以上認められた。この変化の程度には、明らかな用量反応はみられなかった。これらの増加は回復期間終了時に回復した。

表 20 – サル 26 週間反復静脈内投与毒性試験：サリルマブに関連した血液学的及び血液生化学的パラメータの低下

パラメータ		サリルマブ (mg/kg/週)				
		0	0.5	5	15	50
好中球数 (1000/μL)		雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌
	試験前	6.67 / 3.92	3.80 / 5.98	5.02 / 5.17	5.32 / 4.91	5.18 / 6.42
	4 週目	5.06 / 3.77	3.12 / 3.43	2.75 / 2.66	5.26 / 2.64	3.08 / 4.45
	12 週目	3.04 / 4.41	3.34 / 5.03	2.10 / 3.12	3.68 / 2.84	2.31 / 4.05
	25 週目	4.16 / 5.56	3.81 / 4.23	2.97 / 2.43*	2.44 / 2.13**	2.60 / 3.31
	37 週目（回復期間）	3.84 / 5.87	1.70 / 4.64	4.46 / 2.91	5.14 / 3.87	3.63 / 5.30
血清フィブリノゲン濃度 (mg/dL)						
	試験前	214 / 194	232 / 205	220 / 205	243 / 228	250 / 247
	4 週目	240 / 220	263 / 237	213 / 182*	197 / 184*	206 / 202
	12 週目	225 / 205	240 / 217	202 / 171*	200 / 174	199 / 191
	25 週目	230 / 208	228 / 221	204 / 201	195 / 172	209 / 198
	37 週目（回復期間）	255 / 215	250 / 238	256 / 235	201 / 256	287 / 200
血清 IL-6 濃度 (pg/mL)						
	試験前	0.75 / 0.49	1.75 / 5.96 a	1.00 / 1.58	1.78 / 0.69	1.01 / 1.28
	4 週目	7.78 / 5.44	16.67 / 9.18	46.01 / 81.91**	78.69** / 73.45**	63.72* / 37.91
	12 週目	3.18 / 2.66	4.22 / 2.99	19.75 / 30.93	62.39* / 55.17**	42.16 / 30.01
	25 週目	2.69 / 2.06	1.94 / 1.65	9.41 / 12.57	22.63** / 24.56**	26.92** / 15.46*
	37 週目（回復期間）	1.59 / 0.00	0.00 / 0.00	1.83 / 0.00	0.58 / 0.00	1.63 / 6.19

動物数：投与期間中は 1 群雌雄各 5～6 例。回復期間中は、0.5 及び 15 mg/kg/週群で雄各 1 例であったのを除き 1 群雌雄各 2 例

[a] 1 つの高い外れ値があった。

試験前 = 雄では-1 週目、雌では-2 週目

Dunnett 検定を用いた対照群からの統計学的有意差：* p ≤ 0.05 及び **p ≤ 0.01

KLH 抗原感作に対する IgM の平均抗体価並びに一次及び二次 IgG 反応を表 21 に示す。KLH 抗原に対する一次 IgM 反応には、サリルマブ関連の変化は認められなかった。試験中の IgG 抗体価は、試験前の抗体価より高かった。5 mg/kg/週以上における平均の一次及び二次 IgG 値は、同時点の対照値より低かったが、個別値は対照範囲内であった。5 mg/kg/週以上では、大部分の時点における一次及び二次 IgG 反応にわずかな低下がみられ（一部例外あり）、雌の値は雄より低かった。5 mg/kg/週以上での一次反応期間中における平均 IgG 抗体価は、雄で対照値の 87～96%、雌で対照値の 79～88%であ

り、二次反応期間中における平均 IgG 抗体価は、雄で対照値の 80～93%、雌で対照値の 75～88%であった。これらのパラメータの投与前値及び対照値の範囲並びにその他の試験データについての全体的評価に基づくと、これらの IgG 反応低下は有害な変化ではないと判断された。また、血清免疫グロブリン IgA、IgG、IgE 及び IgM 濃度には、サリルマブ関連と考えられる生物学的意義のある変化は認められなかった。

表 21 – サル 26 週間反復静脈内投与毒性試験：KLH による抗原感作後の IgM 及び IgG 抗体価

パラメータ	サリルマブ (mg/kg/週)				
	0	0.5	5	15	50
IgM 抗体価 (Log2 抗体価)	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌
試験前 (-5/-6 日目)	6.797 / 6.944	6.802 / 6.748	5.995 / 6.928	6.020 / 7.136	6.417 / 6.980
一次					
64 日目	8.249 / 8.920	8.652 / 8.664	8.072 / 8.238	7.389 / 8.335	7.207 / 8.390
65 日目	8.383 / 8.830	9.067 / 8.663	8.162 / 8.217	7.643 / 8.457	7.482 / 8.592
66 日目	8.388 / 8.927	8.661 / 9.067	8.065 / 8.354	7.565 / 8.460	7.403 / 8.549
67 日目	8.448 / 8.803	8.917 / 9.051	8.056 / 8.419	7.637 / 8.521	7.496 / 8.516
IgG 抗体価 (Log2 抗体価)					
試験前 (-5/-6 日目)	6.912 / 7.050	6.365 / 6.968	6.609 / 7.005	6.271 / 6.529	6.726 / 7.288
一次					
64 日目	8.843 / 10.212	8.575 / 9.510	7.815 / 8.644**	8.002 / 8.114**	7.822 / 8.217*
65 日目	9.312 / 10.879	9.715 / 10.458	8.580 / 9.212**	8.071 / 8.677**	8.151 / 8.612**
66 日目	10.078 / 11.662	10.492 / 11.610	9.451 / 10.269	9.167 / 9.867*	9.211 / 9.720*
67 日目	10.261 / 11.992	11.432 / 11.980	9.628 / 10.449	9.798 / 10.213*	9.496 / 9.905**
二次					
93 日目	12.280 / 13.745	13.347 / 13.985	10.906 / 10.502**	11.275 / 11.947	10.084 / 10.734**
121 日目	11.233 / 12.349	12.303 / 12.433	10.084 / 9.228**	10.042 / 10.852*	9.155 / 9.904**
156 日目	10.289 / 11.371	10.980 / 11.294	9.152 / 8.638**	9.603 / 9.712	8.363 / 9.234*
177 日目	10.437 / 11.597	11.258 / 11.350	9.142 / 8.653**	9.532 / 9.736*	8.358 / 9.200**

動物数：投与期間中は 1 群雌雄各 5～6 例
Dunnett 検定を用いた対照群からの統計学的有意差：* $p \leq 0.05$ 及び **$p \leq 0.01$
略語： KLH：キーホールリンペットヘモシアニン

フローサイトメトリーでの測定によると、投与期間終了時に、50 mg/kg/週群の一部の雄サルで末梢血ナチュラルキラー（NK）細胞比率の軽微な低下及び単球比率の軽微な増加がみられたが、概ね試験

前値及び対照値における変動の範囲内又は同程度であったことから、毒性学的意義はないと判断された。

器官重量、剖検及び病理組織学的検査では、サリルマブ関連の変化は認められなかった。

カニクイザルに26週間静脈内投与したときの無毒性量は50 mg/kg/週であり、この用量におけるC_{max}は3110 µg /mL、$AUC_{0\text{-}168h}$値は381 040 µg.h/mLであった。

4　遺伝毒性試験

バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床安全性評価に関するガイダンス（ICH S6[R1]）(9)では、通常、医薬品について実施される標準的な遺伝毒性試験は、バイオテクノロジー応用医薬品には適切ではないとされている。サリルマブのようなモノクローナル抗体は、DNA 又はその他の染色体物質と直接相互作用することはないと考えられるため、サリルマブについての遺伝毒性試験は実施しなかった。

5　がん原性試験

バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床安全性評価に関するガイダンス（ICH S6[R1]）(9)に従い、サリルマブを予定している患者集団に長期投与した場合の臨床におけるがん原性の有無を評価した[M4.2.3.7.7　SAR153191 - がん原性リスク評価改訂版]。

サリルマブは IL-6 の受容体である IL-6Rα に特異的なヒト抗体であり、IL-6 を介したシグナル伝達及び IL-6 に媒介される下流の生物学的作用を阻害する。がん原性リスク評価において、IL-6 経路阻害及びその腫瘍発生との関連性の有無に関する詳細な文献調査、サリルマブ（カニクイザルを使用）及び REGN844（マウスを使用）の非臨床試験で得られたデータの解析並びに第 I 相及び第 II 相臨床試験で得られた臨床安全性データの評価を実施し、以下の所見及び結論が得られた。

- 文献による科学的根拠の重要度に基づくと、IL-6 の阻害により p-STAT3 活性化が阻害され、この阻害作用により、腫瘍の成長及び分化並びに様々な種類の腫瘍細胞の増殖が抑制される。p-STAT3 の阻害により免疫抑制因子の発現及び活性も抑制され、それによって腫瘍に対する免疫が増加することも知られている。
- ヒト腫瘍細胞株を用いたサリルマブの in vitro 及び in vivo 試験により、p-STAT3 活性化阻害作用及びヒト腫瘍異種移植片動物モデルにおける腫瘍増殖抑制作用が示された。サリルマブによる p-STAT3 活性化阻害作用及び腫瘍増殖抑制作用に関連して、これらの腫瘍における活性化カスパーゼ 3 の誘導がみられたことから、サリルマブの抗腫瘍効果発現機序にはアポトーシスが関与している可能性が示唆された。
- 一部の文献では、腫瘍免疫に対する IL-6 の役割を示唆するエビデンスに基づき IL-6Rα 阻害による腫瘍形成誘導の可能性が示唆されている。しかしながら、IL-6 シグナル伝達阻害作用が腫瘍形成を促進しないという前述のエビデンスの方が、IL-6 阻害による腫瘍形成誘導についての科学的根拠の重要度よりも上回っている。
- サリルマブのサルを用いた最長 26 週間の一般毒性試験及びマウス IL-6Rα に対する相同抗体（REGN844）のマウスを用いた最長 4 週間の一般毒性試験では、がん原性のリスクを示唆する所見（血液学的検査、血清生化学的検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査の所見など）は認められなかった。サリルマブをサルに静脈内投与したときの曝露量は、ヒトに 200 mg で Q2W 皮下投与したときの曝露量の約 80 倍であった（[M2.4.5 項] 表 3]。これらの曝露量は、サル in vivo において IL-6Rα がサリルマブの結合により完全に飽和する血清中濃度であると予想される。

- がん原性リスクを示唆する免疫抑制作用は認められなかった。好中球数が減少し、KLH を用いた抗原感作により一次及び二次 IgG 反応が非用量関連的かつ軽度の減少を示したが、最長 26 週間の反復投与毒性試験において、免疫系（血液学的パラメータ、IgA、IgE、IgM、イムノフェノタイピング、一次 IgM 反応及びリンパ系器官など）への明らかな影響は認められなかった。好中球数減少は、他の IL-6Rα 阻害剤でもみられている既知の変化であり、免疫調節薬を用いた治療における感染症増加の可能性はリスクとして認知されている。
- 既に上市されている抗 IL-6Rα モノクローナル抗体であるトシリズマブの利用可能な非臨床及び臨床試験関連文献において、がん原性評価のための更なる非臨床試験実施の必要性を示唆するデータは認められなかった。

これらのことから、腫瘍増殖における IL-6Rα 阻害作用に関連した利用可能な in vitro 及び in vivo データについての科学的根拠の重要度並びにサリルマブで特異的にみられた抗腫瘍効果に基づき、サリルマブのがん原性を評価するための更なる非臨床試験は実施しなかった。規制当局との協議において、CHMP 及び FDA は、サリルマブのがん原性を評価するための更なる非臨床試験（動物を用いたがん原性試験）は必要ないことに合意した。

6　生殖発生毒性試験

IL-6Rα 阻害作用による生殖への影響の有無を、CD-1 マウスを用いたマウス相同抗体（REGN844）の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、並びにカニクイザルを用いたサリルマブの胚・胎児発生、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験により評価した。

6.1　マウスを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

[FER0480 試験]、 [M2.6.7.12 A]

REGN844 を用いて、マウスの受胎能及び生殖能に対する IL-6Rα 阻害の有害作用の有無を検討する試験を実施した。この試験では、卵管輸送、着床、初期胚発生及び雄性生殖機能パラメータ（交尾能の変化）に対する影響を評価した。妊娠 14 日に帝王切開を実施し、妊娠及び同腹児パラメータも評価した。

CD-1(ICR) マウスに、溶媒（対照群）又は REGN844 の 20、50 及び 200 mg/kg/週（10、25 及び 100 mg/kg/回での週 2 回投与）を皮下投与した。雄（8 週齢）には、溶媒又は REGN844 を、交配前 4 週間、交配期間中（最長 2 週間）及び剖検前まで投与した。雌（9 週齢）には、溶媒又は REGN844 を、交配前 2 週間、交配期間中（最長 2 週間）及び妊娠初期（妊娠 0～7 日）に投与した。1 群の動物数は雌雄各 24 例とした。

生死確認及び一般状態観察を 1 日 1 回以上実施した。雄については体重を週 2 回測定し、雌については試験相に応じて体重を週 2 回又は週 1 回測定した。摂餌量はほぼ週 2 回測定したが、交配期間中は測定しなかった。REGN844 血清中濃度測定のための血液を雌は妊娠 14 日に、雄は剖検前（最終投与の 2～3 時間後）に採取した。雄の投与は雌の帝王切開が大部分終了するまで行った。交配手順及び週 2 回の固定投与スケジュールのどの時点で雌が妊娠したかに応じて、最終投与の約 7～10 日後に血液サンプルを採取した。

雄を 49 又は 50 日目に安楽殺して剖検した。肉眼所見を記録し、精巣及び精巣上体を固定して病理組織学的検査を実施した。雌を妊娠 14 日に安楽殺して帝王切開を行った。卵巣及び子宮内容物を観察して、妊娠状況及び生殖パラメータを検査した。肉眼所見を記録し、卵巣／卵管、子宮、膣及び子宮頸部を固定して病理組織学的検査を実施した。

試験中に 3 例の死亡が発見された。1 例は対照群の雄（動物番号 013、36 日目の死亡）であり、他の 2 例は 20 mg/kg/週群の雌（動物番号 130、14 日目の死亡）及び 200 mg/kg/週群の雄（動物番号 089、17 日目の死亡）であった。20 mg/kg/週群の雌で 8～11 日目にみられた軽度の摂餌量減少、及び 200 mg/kg/

週群の雄で剖検時に胸腔内に暗赤色ゼラチン様物質が認められたことを除き、一般状態の変化はみられず、体重増加量及び摂餌量は同群の他の個体の範囲内であった。他の個体に明らかな生存中の変化及び剖検所見はみられず、また対照群においても 1 例の死亡が認められていることから、いずれの死亡も REGN844 投与に起因するものではないと判断された。

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、試験実施手順に関連して採血時期に違いがあったことから、雌雄の REGN844 濃度を直接比較することはできなかった。それぞれの性において実施可能な唯一の比較は投与群間の比較である。雄の剖検時の REGN844 血清中濃度は、ほぼ用量に比例して増加した（表 22 ）。20 mg/kg/週から 200 mg/kg/週までの 10 倍の用量増加に対して、雄の血清中濃度は 11.9 倍に増加した。雌の濃度は、50 mg/kg/週から 200 mg/kg/週にかけて用量比を上回る増加を示した。20 mg/kg/週では、妊娠 14 日の大部分のサンプルで、測定可能な REGN844 の濃度は認められなかった。

表 22 - マウス皮下投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験
－REGN844 の平均血清中濃度－

性	採血時期	20 mg/kg/週 [a] (µg/mL)	50 mg/kg/週 [a] (µg/mL)	200 mg/kg/週 [a] (µg/mL)
雄	最終投与の 2～3 時間後	184 ± 48.4	600 ± 115	2190 ± 291
雌	妊娠 14 日 （最終投与の 7～10 日後）	BLQ	9.16 ± 7.29	60.6 ± 28.2 [b]

定量下限は 0.078 µg/mL であった
値は平均値 ± 標準偏差として有効数字 3 桁で示す
動物数：雄は 1 群 10 例、雌は 1 群 20～23 例
[a] 10、25 及び 100 mg/kg/回の用量で週 2 回投与した
[b] 明らかな外れ値は除外した
略語：BLQ = 定量下限未満

試験終了時の生存例では、REGN844 関連の一般状態の変化はみられなかった。雄では、交配前期間中にすべての投与群で、対照群と比較して平均体重増加量の増加が認められた。雌では、妊娠期間中に 50 及び 200 mg/kg/週群で平均体重の増加がみられた。50 及び 200 mg/kg/週群の雌で、妊娠 0～4 日の平均体重増加量が一過性に減少した。50 及び 200 mg/kg/週群の平均体重増加量は、妊娠 4～8 日及び妊娠 8～14 日には増加を示した。これらの平均体重及び平均体重増加量の変化は、毒性変化ではなく生物学的意義はないものと判断された。摂餌量の変化は認められなかった。

雌雄の生殖指数（交尾率、受胎率及び妊娠率）には、REGN844 関連の影響は認められなかった。20 mg/kg/週群の 1 例、50 mg/kg/週群の 2 例及び 200 mg/kg/週群の 2 例を除くすべての雌で妊娠が認められた。着床後胚全損失が 200 mg/kg/週群の雌 1 例（ただし着床数は 1）でみられたが、着床後胚損失

率は、対照群を含めて群間で同程度であった。また、胎児死亡が、50 及び 200 mg/kg/週群のそれぞれ 22 腹中 2 腹にみられた。観察された着床後胚損失率及び胎児死亡は、試験施設の背景値範囲内であったことから、被験物質関連ではないと判断された。雌雄各 50 例のマウス（得られた妊娠動物は 41 例）を用いて背景対照データを得るために実施した受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験における平均着床後胚損失率は 7.1%（範囲：0～50%）であった。背景対照試験における死亡胎児数は、1 腹当たり 0～2 胎児であった（41 腹中 4 腹では 1 死亡胎児、41 腹中 1 腹では 2 死亡胎児）(10)。

器官重量及び剖検所見には、REGN844 関連の変化は認められなかった。精巣、精巣上体、卵巣及び膣には、REGN844 関連の病理組織学的変化はみられなかった。雌では REGN844 関連の病理組織学的所見が子宮に観察された。子宮の病理組織学的検査で、変性を伴う 1 つ以上の着床部位が、対照群の 24 例中 1 例、50 mg/kg/週群の 24 例中 2 例及び 200 mg/kg/週群の 24 例中 6 例に認められた。生殖及び受胎能のパラメータには毒性変化はみられなかったことから、病理組織学的検査において 200 mg/kg/週群でみられた着床部位変性の発現頻度増加の毒性学的意義は不明である。

マウスに REGN844 を 20、50、200 mg/kg/週で皮下投与（10、25、100 mg/kg/回で週 2 回投与）したところ、200 mg/kg/週群の雌の病理組織学的検査で、着床部位変性の発現頻度増加が認められた。一般状態に毒性変化はみられず、雌雄の体重及び摂餌量の変化も認められなかった。生殖及び受胎能のパラメータに変化はみられなかった。生殖及び受胎能のパラメータに変化が認められなかったことから、病理組織学的検査において 200 mg/kg/週群の雌にみられた着床部位変性の毒性学的意義は不明であった。したがって、本試験の無毒性量は 200 mg/kg/週であった。

6.2　カニクイザルを用いた胚・胎児発生、出生前／出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（ePPND 試験）

[REGN88-TX-08030 試験]、 [M2.6.7.14]

本試験の目的は、サリルマブを雌サルに器官形成期開始から自然分娩まで投与して母動物及び出生児を観察し、母動物の妊娠／授乳並びに胎児及び出生児の発生への影響を評価することであった。雌のカニクイザル（妊娠 1 日に 4.2～5.9 歳）を、雄のカニクイザルと 3 日間又は 5 日間のセッションで交配させた。妊娠したサルに、溶媒又はサリルマブの 5、15、50 mg/kg/週を妊娠 20 日から自然分娩（およそ妊娠 165 日）まで、週 1 回、30 分間持続静脈内投与した。合計 48 例（1 群 12 例）の妊娠雌を本試験に割り付けた。母動物及び出生児の観察を分娩後約 1 ヵ月間継続した。

3 日間又は 5 日間の交配セッションの中間日、自然分娩日（母動物）及び出生日（新生児）を、それぞれ妊娠 0 日、分娩後 0 日及び生後 0 日とした。それぞれの試験相における日数はこれらの日から起算した。

すべての妊娠サル（緊急帝王切開を行った 2 例を除く）を自然分娩させ、分娩後 28～32 日間観察した。妊娠 20 日以降の検査項目は、生死、一般状態、妊娠（超音波検査による胚・胎児生存の有無のチェック）、摂餌量、体重、血液学的検査、凝固検査、血清生化学的検査、末梢血リンパ球及び単球のイムノフェノタイピング、血清ホルモン濃度（17β-エストラジオール、プロゲステロン及びプロラクチン）、血清中サリルマブ濃度及び ADA であった。流産、胚・胎児死亡、死産又は新生児死亡がみられた場合は、母動物の観察及び検査を中止した。

自然分娩で得られた新生児の検査項目は、出生時の検査（生死、性別判定及び外表形態観察）、一般状態、体重、機能発達検査（瞳孔反射、耳介反射、疼痛反応、握力検査）及び形態発達検査（外表器官測定及び X 線画像による骨格検査）を測定又は実施すると供に血液学的検査、凝固検査、血清生化学的検査、末梢血リンパ球及び単球のイムノフェノタイピング、血清中サリルマブ濃度並びに ADA であった。

生存する母動物は、瀕死状態でない限り安楽殺は行わなかった。生存するすべての新生児を生後 28～32 日に安楽殺・剖検した。一般状態悪化のみられた母動物及び新生児は、人道的理由により安楽殺・剖検した。死亡が発見された新生児（死産児を含む）の剖検も実施した。

新生児の計画剖検時に器官重量を測定した。剖検したすべての動物から器官及び組織を採取して保存した。死産児を含むすべての自然分娩新生児について、病理組織学的検査を実施した。

TK パラメータの詳細を表 23 及び表 24 に示す。妊娠 42 日における 1 つの例外を除いて、サリルマブ投与群のすべての妊娠雌で、検出可能な薬物濃度が検査したすべての時点で認められた。サリルマブ投与群の平均最高血清中濃度は、用量に比例して増加した。用量の増加に伴った C_{max} の増加に一致する用量に比例した曝露量（$AUC_{0\text{-}168h}$）の増加が、すべての投与群で試験中のすべての採血時において認められた。すべての投与群における血清中サリルマブ濃度は次回投与前にベースラインに戻らなかったことから、反復投与による薬物の蓄積が認められた。これを裏付ける所見として、曝露量（$AUC_{0\text{-}168h}$ 及び C_{max}）推定値はその後の投与により増加した。血清サンプルの分析を行ったすべての投与群の生存新生児において、測定可能なサリルマブ濃度が試験を通じて認められた。新生児から採取したサンプル中のサリルマブ血清中濃度は、その母動物に対する投与量に依存していた。出生児における平均サリルマブ濃度は、用量比例的に増加した。

表 23 - サル ePPND 試験：母動物及び新生児における血清中総サリルマブ濃度の群平均値

日	投与回数	TK パラメータ	5 mg/kg/週 (µg/mL)	15 mg/kg/週 (µg/mL)	50 mg/kg/週 (µg/mL)
母動物					
妊娠 20 日	1	C_{max}	167 ± 29.3	495 ± 141	1624 ± 186
		C_{trough}	49.1 ± 8.16	160 ± 71.5	511 ± 112
妊娠 41 日	4	C_{max}	225 ± 40.6	780 ± 180	2584 ± 338
		C_{trough}	81.4 ± 40.7	306 ± 67.6	1230 ± 191
妊娠 97 日	12	C_{max}	296 ± 59.5	885 ± 92.6	2913 ± 523
		C_{trough}	157 ± 51.9	487 ± 144	1570 ± 300
妊娠 146 日	19	C_{max}	310 ± 63.8	922 ± 112	3049 ± 493
		C_{trough}	152 ± 46.6	622 ± 221	1780 ± 293
分娩後 7 日	-	C	66.9 ± 48.6	311 ± 54.4	1389 ± 389
分娩後 30 日（剖検日）		C	15.7 ± 16.4	154 ± 121	482 ± 119
新生児					
生後 7 日	-	C	54.7 ± 40.9	521 ± 179	1435 ± 630
生後 30 日（剖検日）		C	9.18 ± 7.58	129 ± 32.0	339 ± 215

値は平均値 ± 標準偏差；動物数：母動物は 1 群 7～12 例、新生児は 1 群 5～7 例
定量下限は 0.157 µg/mL であった。
略語： C_{max} = 投与区間内における最高血清中濃度（投与 5 分後の値）；C_{trough} = 投与区間内のトラフ血清中濃度（投与約 168 時間後すなわち次回投与前の値）；-：該当せず

表 24 - サル ePPND 試験：母動物におけるサリルマブの群平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ 値

投与回数	5 mg/kg/週 (µg.h/mL)	15 mg/kg/週 (µg.h/mL)	50 mg/kg/週 (µg.h/mL)
1	14 750 ± 2882	42 491 ± 11 712	141 864 ± 22 721
4	22 885 ± 7775	81 588 ± 19 764	287 524 ± 35 363
12	35 554 ± 8699	110 616 ± 17 991	354 389 ± 58 057
19	37 260 ± 7643	124 845 ± 30 236	396 455 ± 62 297

値は平均値 ± 標準偏差；N = 1 群 7～12 例
略語：$AUC_{0\text{-}168h}$：0 時間から 168 時間の血清中濃度－時間曲線下面積

ADA 産生に伴う毒性所見は認められなかった。ADA が投与前に 4 例の妊娠雌（5 mg/kg/週群の 3 例及び 15 mg/kg/週群の 1 例）で検出された。これらの 4 例のうち、3 例はその他の時点で陰性反応を示した。5 mg/kg/週群の 3 例の妊娠雌（投与前に ADA が検出された雌を含む）で、妊娠期間中に ADA が検出された。また、溶媒対照群の新生児から採取したサンプルにおいて、生後 7 日目に ADA が認められた。サリルマブ投与群の新生児から採取した血清において、ADA は検出されなかった。投与前サンプル及び溶媒対照群から採取したサンプルにおける ADA 陽性反応は、アッセイにおける血清による干渉を反映している可能性がある。5 mg/kg/週群の雌における血清中サリルマブ濃度には、ADA による影響は認められなかった。

対照群、5 mg/kg/週群及び 50 mg/kg/週群における各 1 例の雌が、自然分娩又は緊急帝王切開後 2 日間以内に死亡又は安楽殺に至った。これらの死亡は、いずれも静脈内投与又は薬物に関連するものではないと判断された。更なる詳細について表 25 に要約する。

表 25 - サル ePPND 試験：母動物の途中死亡例における主要な所見の要約

用量 (mg/kg/週)	動物番号	剖検日	主要な所見の要約
0	1	分娩後 0 日（妊娠 172 日）	分娩日の徴候：分娩後 0 日より前には異常所見はみられず。分娩後 0 日に、蒼白、嗜眠だが反応性あり、中等度の膣出血、末期呼吸／喘ぎ、体温低下が認められた。 肉眼所見：分娩に伴う徴候；透明腹水 死因：難産又は分娩時の過度の出血に関連すると考えられた。
5	31	分娩後 2 日（妊娠 154 日に出産）	死亡日の徴候：分娩後 1 日まで異常所見なし。分娩後 2 日に中等度の衰弱及び円背位、胎盤遺残（排出途中）、粘膜褪色、低体温 肉眼所見：今回の出産（妊娠 154 日）に関連する徴候、肺の褪色、大網及び腹腔内器官表面の血液、子宮内腔表面の線維性物質、膣穿孔（直径約 2 cm、頭側部位） 死因：分娩に伴う膣穿孔による過度の出血に起因すると考えられた。
50	81	分娩後 0 日（妊娠 165 日）	分娩日の徴候：妊娠 165 日より前は異常所見なし。妊娠 165 日に骨盤位で分娩。緊急帝王切開を実施した（胎児は死亡）。重度の出血及び膣外傷がみられ、手術からの回復前に安楽殺した。 肉眼所見：帝王切開による縫合線 死因：重度の出血及び膣外傷との関連あり。

死産及び緊急帝王切開（既に自然分娩を開始）を含む平均妊娠期間は、対照群が 159 日（範囲：150～171 日）、5 mg/kg/週群が 160 日（152～166 日）、15 mg/kg/週群が 159 日（155～166 日）、50 mg/kg/週群が 156 日（134～164 日）であった（表 26 ）。これらの範囲は試験施設における 20[redacted] 年から 20[redacted] 年までの背景対照における妊娠期間（130～189 日）(11)の範囲内であったことから、サリルマブ投与の影響はないと考えられた。

対照群、5 mg/kg/週群、15 mg/kg/週群及び 50 mg/kg/週群において、それぞれ新生児 1 例が、生後 3 日以内に死亡又は安楽殺に至った。また、50 mg/kg/週群の新生児 1 例を生後 26 日に安楽殺した。この新生児（番号 75N）は妊娠 134 日に生まれ、早産であった。これらの途中死亡又は安楽殺は、被験物質投与とは関係ないものと判断された。それは死亡又は安楽殺に先立って一般状態の毒性変化がみられなかったこと、生後初期に死亡又は安楽殺に至った 3 例の新生児で脳／髄膜出血がみられたこと（分娩過程における外傷に一致する）、また対照群にもみられたことによるものである。髄膜、脳又は頭蓋骨の出血を含む胎児外傷は、死産の主な原因の 1 つと考えられる(12)。また、早産による全般的な未熟状態に関連した高い死亡率が報告されている。妊娠 140 日以前に生まれた未熟児の死亡率は 66.7%であり、これと比較して妊娠 140 日より後に生まれた新生児の死亡率は 4.3%である(13)。詳細を表 26 に示す。

表 26 - サル ePPND 試験：新生児の途中死亡例における主要な所見の要約

用量 (mg/kg/週)	動物番号	剖検日	主要な所見の要約
0	1N	生後 1 日	出生：妊娠 172 日に自然分娩 臨床所見：母動物が死亡したため、新生児を保育器に移したが死亡した（死亡発見）。 肉眼所見：なし 病理組織学的所見：肺、胃、十二指腸、空腸、精巣の出血、肺浮腫、肝臓の単核細胞浸潤、脾臓うっ血、リンパ濾胞萎縮、胸腺萎縮 死因：不明
5	31N	生後 3 日	出生：妊娠 154 日に自然分娩 臨床所見：母動物が死亡したため、新生児を生後 2 日の朝に保育器に移したが、生後 3 日の朝に嘔吐がみられ、体温が変動し、死亡が発見された。 肉眼所見：脳くも膜下うっ血及び眼周囲出血／眼のうっ血、乳汁による胃及び食道の膨満 病理組織学的所見：脳及び精巣の出血、肺肺胞浮腫及び好中球浸潤、リンパ節萎縮、脾臓リンパ濾胞萎縮、肝臓空胞化及びグリコーゲン減少 死因：出生時の膣通過に伴う外傷に一致するくも膜下うっ血／出血
15	69N	生後 2 日	出生：妊娠 167 日に自然分娩 臨床所見：生後 1 日には毒性徴候はみられず。生後 2 日に活動性低下／嗜眠、発作様活動がみられ死亡した。 肉眼所見：小脳の暗赤色化、肺の点状出血並びに少量の胃及び腸内容物 病理組織学的所見：脳、肺及び精巣の出血、肺肺胞浮腫、脾臓リンパ濾胞萎縮及びうっ血、肝臓空胞化、髄外造血及びグリコーゲン減少、膵臓チモーゲン顆粒減少、腎尿細管上皮空胞化 死因：出生時の膣通過に伴う外傷に一致するうっ血及び出血
50	95N	生後 1 日	出生：妊娠 145 日に自然分娩（早産） 臨床所見：生後 1 日には毒性徴候はみられず。嗜眠、浅呼吸及び生後 0 日からの体重減少がみられたため、安楽殺した。 肉眼所見：中等度の小脳出血、胃及び腸の水様内容物 病理組織学的所見：脳及び食道の出血、リンパ節、肝臓及び腎臓の髄外造血、肝グリコーゲン減少、腎遠位尿細管拡張 死因：出生時の膣通過に伴う外傷に一致する脳出血
50	75N	生後 26 日	出生：妊娠 134 日に自然分娩（早産） 臨床所見：生後 26 日まで毒性徴候はみられず。嗜眠、浅呼吸及び生後 2 日から体重減少がみられ、生後 26 日に瀕死状態になったため安楽殺した。 肉眼所見：胃、空腸及び回腸の黒色内容物 病理組織学的所見：精巣、リンパ節の出血、胸腺萎縮、脾臓のリンパ濾胞萎縮、膵臓チモーゲン顆粒減少 死因：全般的な未発達、特に栄養摂取能及び利用能の未熟に関連すると考えられた。

胎児／新生児の生存状況の要約を表 27 に詳述する。胚・胎児死亡（流産及び子宮内胚・胎児死亡を含む）が、対照群、5 mg/kg/週群、15 mg/kg/週群及び 50 mg/kg/週群で、それぞれ 12 例中 3 例（25%）、12 例中 3 例（25%）、12 例中 4 例（33%）及び 12 例中 3 例（25%）の雌に認められた。これは試験報告書に記載された 20[redacted] 年から 20[redacted] 年までのこの試験施設における胚・胎児死亡率に関する背景対照データ、すなわち 13.9±9.3%（範囲：0.0～33.3%）の範囲内であった。この試験施設での 20[redacted] 年から 20[redacted] 年をカバーする最新の平均値は 16.3±8.1%（範囲：0.0～31.3%）であった(11)。サリルマブ投与による胚・胎児死亡率への影響はみられなかったことから、サリルマブには流産誘発作用はないと判断された。

対照群、5 mg/kg/週群、15 mg/kg/週群及び 50 mg/kg/週群の胚・胎児死亡がみられなかった妊娠動物のうち、それぞれ 9 例中 2 例（22%）、9 例中 1 例（11%）、8 例中 2 例（25%）及び 9 例中 3 例（33%）に死産が認められた。これは試験報告書に記載された 20[redacted] 年から 20[redacted] 年までのこの試験施設における死産に関する背景対照データ、すなわち 13.6±7.9%（範囲：0.0～33.3%）の範囲内であった。この試験施設での 20[redacted] 年から 20[redacted] 年をカバーする最新の平均値は 14.4±9.3%（範囲：0.0～33.3%）であった(11)。サリルマブ群における胚・胎児死亡及び死産の発現頻度は、対照群及び試験施設の背景発現頻度と同程度であったことから、サリルマブは妊娠維持及び自然分娩に影響を及ぼさないと結論された。

表 27 - サル ePPND 試験：胎児／新生児の生存状況の要約

パラメータ	0 mg/kg/週	5 mg/kg/週	15 mg/kg/週	50 mg/kg/週
妊娠雌	12	12	12	12
流産/子宮内死亡	3	3	4	3
死産	2 [a]	1	2	3
新生児死亡（出生後）	1	1	1	2 [b]
生後 30～32 日の計画剖検まで生存した新生児	6	7	5	4

[a] 緊急帝王切開（骨盤位分娩による）により得られた新生児番号 21 をこの計算に含めた。それは緊急帝王切開をしなければ、この新生児は死産児となったと思われるからである。
[b] 新生児死亡として記載したが、新生児番号 75N については、生後 26 日の安楽殺時に多くの生後検査（一般状態観察、体重、TK、血清生化学的検査、出生時検査、形態発達、骨格検査）を実施した。

サリルマブを雌のカニクイザルに静脈内投与したときの忍容性は、いずれの用量においても良好であった。母動物の一般状態観察、体重・摂餌量測定、血液学的検査、凝固検査、血清生化学的検査、蛍光活性化細胞選別（FACS）分析で測定した末梢血リンパ球及び単球のサブセット並びに血清ホルモン濃度（17β-エストラジオール、プロゲステロン及びプロラクチン）では、サリルマブ関連の変化は認められなかった。

生後 1 ヵ月の新生児の一般状態観察、体重、血液学的検査、凝固検査及び血清生化学的検査パラメータにサリルマブ関連の変化は認められなかった。機能発達（反射及び刺激への反応）及び形態発達（肛門生殖突起間距離、胸囲、掌／足長、頭囲、頭部幅、頭臀長、眼間距離、肢長及び尾長）、X 線による骨格検査において、サリルマブ関連の所見は認められなかった。FACS 分析で測定した末梢血リンパ球及び単球のサブセットには、変化がみられなかった。器官重量、剖検及び病理組織学的検査では、サリルマブ関連の変化は認められなかった。

無毒性量は母動物（妊娠期及び授乳期）及び新生児のいずれにおいても 50 mg/kg/週であり、この用量で妊娠雌に週 1 回、19 回投与したときの $AUC_{0\text{-}168h}$ は 396 455 µg.h/mL であった。

6.3　幼若動物を用いた試験

6.3.1　幼若マウスを用いた探索的 4 週間反復皮下投与毒性試験

[JUP0016 試験]、 [M2.6.7.15 A]

幼若動物を用いた毒性試験の主試験実施に先立ち探索的試験を実施した。幼若 CD-1 マウスに、溶媒又は REGN844 の 50 mg/kg/週、50 mg/kg/週（25 mg/kg で週 2 回投与）、200 mg/kg/週又は 200 mg/kg/週（100 mg/kg で週 2 回投与）を皮下投与した。生後 14 日から週 1 回又は週 2 回、4 週間投与した。1 週目及び 4 週目（試験報告書では生後 14 日及び生後 35 日と記載）の血清 REGN844 濃度測定用として、TK 群も設定した。毒性試験用動物は 1 群雌雄各 10 例とした。生後 14 日の TK 用採血は、対照群の雌雄各 9 例及び毒性試験用動物と同じ用量で投与した被験物質群の 1 群雌雄各 54 例について実施した。生後 35 日の TK 用採血は、対照群の雌雄各 3 例及び毒性試験用動物と同用量で投与した被験物質群の 1 群雌雄各 18 例について実施した。

検査項目は生死、一般状態、体重及び摂餌量であった。1 週目及び 4 週目に TK 測定用の血液サンプルを採取した。4 週間の投与期間の終了時にマウスを安楽殺して剖検し、剖検時体重及び肉眼所見を記録した。

1 週目（生後 14 日群）及び 4 週目（生後 35 日群）のすべての投与マウスで、検出可能な濃度の総 REGN844 が、初回投与後に採取したすべてのサンプルを含め認められた。これらのデータから、それぞれの用量で、いずれの投与レジメンにおいても 4 週間の投与期間を通じて、全例で総 REGN844 の持続的な曝露が示唆された。血清中の総 REGN844 曝露量には、性差は認められなかった。$AUC_{0\text{-}168h}$ 値を比較すると、4 週目の投与後における血清の総 REGN844 曝露量は、いずれの投与群においても 1 週目と比較して約 1.9～2.8 倍の増加がみられたことから、本試験の投与期間を通じて総 REGN844 曝露量は反復投与により増加することが示された。週 1 回投与及び週 2 回投与のいずれにおいても、すべての投与日において、総 REGN844 の曝露量は用量の増加に伴って用量比例的に増加した。

週 1 回投与群と週 2 回投与群を比較すると、総 REGN844 曝露量は、投与第 1 週には週 1 回投与の方が最大で 1.3 倍高かったが、最後の投与週では同程度であった。全体として、これらのデータによると REGN844 の週 1 回投与と週 2 回投与で曝露量の顕著な違いは認められなかった。1 週目及び 4 週目の REGN844 の平均 TK パラメータを表 28 に示す。

表 28 -幼若マウス探索的皮下投与毒性試験：REGN844 の TK パラメータ

TK パラメータ	単位	週	50 mg/kg/週（週 1 回）	50 mg/kg/週（週 2 回）[a]	200 mg/kg/週（週 1 回）	200 mg/kg/週（週 2 回）[a]
C_{trough}	µg/mL	1 週目	70.4	91.5	374	508
C_{trough}	µg/mL	4 週目	319	314	1300	2040
$AUC_{0\text{-}168h}$	µg.h/mL	1 週目	30 700	24 400	119 000	104 000
$AUC_{0\text{-}168h}$	µg.h/mL	4 週目	59 100	57 400	283 000	286 000

雌雄の値を併合
動物数：1 週目は 1 時点当たり 1 群雌雄各 9 例、4 週目は 1 時点当たり 1 群雌雄各 3 例
[a] 3～4 日間隔で 2 等分した用量を投与した（25 mg/kg 又は 100 mg/kg を週 2 回投与）
略語： C_{trough} = 投与区間内のトラフ血清中濃度（投与約 168 時間後すなわち次回投与前の値）；$AUC_{0\text{-}168h}$ = 0 時間から 168 時間までの血清中濃度－時間曲線下面積

本試験において死亡はみられず、REGN844 関連の一般状態の変化も認められなかった。平均体重増加量及び摂餌量に、被験物質関連の変化はみられなかった。平均体重増加量及び摂餌量にはいずれもばらつきがみられたが、雌雄とも明らかな用量関連の傾向は認められなかった。いずれの器官においても被験物質関連の肉眼的変化はみられなかった。

REGN844 を、50 mg/kg/週、50 mg/kg/週（25 mg/kg で週 2 回投与）、200 mg/kg/週又は 200 mg/kg/週（100 mg/kg で週 2 回投与）で、マウスに生後 14 日から週 1 回又は週 2 回皮下投与したところ、毒性変化は認められなかった。したがって NOEL は 200 mg/kg/週（週 1 回又は 2 回投与）であり、この用量で週 1 回又は週 2 回投与したときの生後 35 日における REGN844 の AUC 値は、それぞれ 283 000 及び 286 000 µg.h/mL であった。

6.3.2 幼若マウスを用いた 9 週間反復皮下投与毒性試験及び 13 週間回復性試験

[JUV0030 試験]、[M2.6.7.15 B]

幼若 CD-1 マウスに生後 14 日から 9 週間、溶媒又は REGN844 の 20、60 又は 200 mg/kg/週を週 1 回皮下投与した。主試験群（毒性試験）は 1 群雌雄各 18 例とし、13 週間回復性試験群は 1 群雌雄各 6 例とした。免疫毒性の評価項目を 1 群雌雄各 12 例からなる 3 つのサテライト群で評価した。TK 評価を溶媒対照群は雌雄各 6 例、REGN844 群は 1 群雌雄各 21 例からなる別のサテライト群で実施した。免疫毒性及び TK のサテライト群には、溶媒又は被験物質を毒性試験群のマウスと同用量投与した。

検査項目は、生死、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血清生化学的検査、器官重量、剖検、病理組織学的検査及び血清 REGN844 濃度であった。この試験では、免疫毒性評価として、KLH に対する T 細胞依存的抗体反応（TDAR：IgM 及び IgG 抗体反応）、末梢血、脾臓及び腸間膜リンパ節のイムノフェノタイピング並びに IgM 及び IgG の血清中濃度測定も実施した。

定量下限を上回る総 REGN844 への持続的曝露が、投与期間を通じてすべての用量で雌雄ともに認められ、また 13 週間の回復期間終了時に 200 mg/kg/週群の雄でみられた（平均値は 0.644 µg/mL）。投与期間中の TK パラメータの要約を、以下の表 29 に詳述する。全体として、標的飽和用量で週 1 回投与したときの総 REGN844 の動態は線形であり、週 1 回、9 週間皮下投与したとき、20～200 mg/kg/週の用量間で用量に比例していた。200 mg/kg/週での週 1 回、8 週間皮下投与により定常状態に達した。週 1 回皮下投与したときの 20、60、200 mg/kg/週群における C_{trough} は、5 回目から 9 回目の投与にかけて、それぞれ 2.3 倍、2.9 倍及び 1.4 倍に増加したことから、反復投与による総 REGN844 の蓄積が示唆された。T_{max} は 20 mg/kg/週群では 24 時間、60 及び 200 mg/kg/週群では 72 時間であった。REGN844 曝露量には顕著な性差は認められなかった。

表 29 -幼若マウス 9 週間反復皮下投与毒性試験：投与期間中の REGN844 の TK パラメータ

TK パラメータ	単位	用量	20 mg/kg/週	60 mg/kg/週	200 mg/kg/週
C_{trough}	µg/mL	5 週	82.8	293	1380
C_{trough}	µg/mL	8 週	149	591	2130
C_{trough}	µg/mL	9 週	188	854	1940
C_{max}	µg/mL	9 週	296	1040	2670
$AUC_{0\text{-}168h}$	µg.h/mL	9 週	40 700	156 000	381 000

雌雄の値を併合
動物数：9 週目は 1 群雌雄各 16～18 例（1 時点当たり 1 群雌雄各 2～3 例）；5 及び 8 週目は 1 群雌雄各 2～3 例
略語： $AUC_{0\text{-}168h}$ = 0 時間から 168 時間までの血清中濃度－時間曲線下面積；C_{trough} = 投与区間終了時（168 時間）の薬物濃度；C_{max} = 最高血清中濃度
定量下限 = 0.078 µg/mL

REGN844 に関連すると考えられる死亡は認められなかった。試験中、雄 4 例、雌 1 例の死亡がみられた。この 5 例のうち免疫毒性サブグループに割り付けられた雄 2 例の死亡は、回復期間中の採血処置（対照群の 54 番は回復 10 日目、20 mg/kg/週群の 117 番は回復 5 日目）による眼の外傷に関連すると考えられた。残りの 3 例は TK 群であり、同様に回復期間中に死亡した（20 mg/kg/週群の雄 140 番は回復 3 日目に、雌 542 番は回復 4 日目に死亡。60 mg/kg/週群の雄 218 番は回復 7 日目に死亡）。60 mg/kg/週群の雄は、回復 7 日目にこの TK 群の残りの動物とともに安楽殺する途中で死亡したが、死因は確認されなかった。20 mg/kg/週群の残り 2 例については剖検を実施しなかった。

軽微から軽度の頸部（投与部位）のびらん／損傷を除いて、REGN844 関連の一般状態の変化は認められず、感染症増加のエビデンスはみられなかった。平均体重増加量、摂餌量及び眼科学的検査に被験物質関連の変化は認められなかった。また、血液学的及び血液生化学的パラメータに被験物質関連の変化はみられず、器官重量の変化も認められなかった。

KLH に対する TDAR の評価では、雌雄ともに IgM 抗体価における REGN844 関連の変化は認められなかった（表 30 ）。投与期間中に測定した雄の IgG 抗体価は、3 用量のいずれにおいても対照群と比較してわずかに低かったが、雌では低下が認められなかった。しかし、特筆すべきこととして、すべての投与群における反応は依然として十分なものと考えられた。回復期間中における REGN844 投与群の雄の抗 KLH IgG 抗体価は、最初は対照群の抗体価と比較してわずかに低かったが、回復期間終了時には対照群の抗体価と同程度であった。この試験の結果により、用量に関連した免疫機能への影響はないと考えられた。雄にみられた IgG 抗体価低下は雌には認められず、用量依存性もみられなかったことから、IgG 抗体価の正常変動範囲内の変化と考えられた。

表 30 -幼若マウス 9 週間反復皮下投与毒性試験：KLH による抗原感作後の
群平均 IgM 及び IgG カットポイント抗体価

パラメータ	REGN844 (mg/kg/週)			
	0	20	60	200
IgM 抗体価（KLHM）	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌
投与期間				
35 日目	521 / 335	199*[a] / 274	280 / 283	218*[a] / 322
42 日目	1262 / 1828	1301 / 2004	1528 / 1896	1858 / 2468
50 日目	799 / 1322	445 / 899	573 / 692*	505 / 1146
回復期間				
76 日目	406 / 436	414 / <447	<528 / <860	483 / <220
83 日目	1723 / 3181	2710 / 2421	1407 / <842	1577 / <1168
91 日目	771 / 1430	1207 / 1066	<829 / 1115	2396 / 1061
IgG 抗体価（KLHG）				
投与期間				
35 日目	596 / 367	<194 / 326	460 / 339	295 / 329
42 日目	11276 / 9519	5569 / 11282	5800 / 11722	3672 / 14581
50 日目	27 594 / 51 041	8233*[a] / 35152	12014 / 29 250	8947*[a] / 41 194
回復期間				
76 日目	381 / 693	382 / <350	<427 / <828	<398 / <226
83 日目	16 593 / 14 430	9093 / 22 346	6752 / 3946	2640 / <6878
91 日目	19 471 / 37 447	28 395 / 32 139	16 306 / 27 836	19 793 / 33 287

動物数：投与 35 及び 42 日目並びに回復 76 及び 83 日目は雌雄各 5～6 例、投与 50 日目及び回復 91 日目は 10～12 例

Dunnett 検定による対照群と比較した統計学的有意差：* $p \leq 0.05$

[a] 順位変換データ

結果は Covance Laboratories, Harrogate により開発された ELISA カットポイント滴定法により得られた。結果は、それぞれのサンプルが背景カットポイントに到達するのに必要な希釈として報告した。

略語： KLH：キーホールリンペットヘモシアニン

血液、脾臓及び腸間膜リンパ節から採取したサンプルについてイムノフェノタイピングを実施した。軽度の変化が一部の細胞サブセットにみられたが［血液及び脾臓における総 T 細胞及びヘルパーT 細胞のわずかな減少、B 細胞のわずかな増加（血液、脾臓）又は減少（リンパ節）、血液及び脾臓における NK 細胞のわずかな減少又は増加、脾臓及びリンパ節における単球のわずかな増加又は減少など］、これらの変化は REGN844 との関連はないと判断された。これらの変化には高度の群間及び個体内のばらつきがあり、投与群の値は背景値の範囲と大幅に重複していること、変化は一方の性のみにみら

れ、用量反応がみられないことから、これらの軽度の変化は REGN844 に関連するものではなく、毒性学的意義はないものと判断された。

REGN844 の投与により、60 及び 200 mg/kg/週群の雌雄で中等度の用量依存的な循環血中 IgG 濃度の増加が認められた（表 31 ）。回復 4 日目に 200 mg/kg/週群の雌で軽度の濃度増加がみられたのを除き、REGN844 関連の IgM 濃度の変化は認められなかった。対照群及び REGN844 投与群の IgM 値の範囲は重複しており、平均値に一貫した傾向はみられなかった。血清 IgG 濃度の増加は、用いた ELISA アッセイの特異性の欠如と、試験で投与した REGN844 が高用量であったことに起因すると考えられた。すなわち、全血清 IgG 測定値は、血清に存在した内因性マウス IgG 濃度と REGN844（マウス IgG2a 抗体）濃度を加えたものである（REGN844 は、本 ELISA アッセイにおいて交差反応を示した）。これにより、IgG 濃度の増加は、IL-6R の阻害の結果ではなく、アッセイのアーチファクトであると考えられた。これは、回復 4 日目に IgG 濃度が用量依存性に増加すること、REGN844 が回復期に消失した時、IgG 濃度がベースラインに戻ることと一致している。IgM 及び IgG 濃度の軽度の増加は、回復期間終了時には回復が認められた。

表 31 -幼若マウス 9 週間反復皮下投与毒性試験：IgM 及び IgG 血清中濃度の群平均値

パラメータ	REGN844 (mg/kg/週)			
	0	20	60	200
IgM 濃度 (g/L)	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌
回復期間				
4 日目	0.17 / 0.17	0.17 / 0.18	0.15 / 0.22	0.21 / 0.35*
91 日目	0.23 / 0.37	0.24 / 0.30	0.14 / 0.26	0.23 / 0.34
IgG 濃度 (g/L)				
回復期間				
4 日目	0.80 / 1.01	1.06 / 1.02	2.11*** / 2.01**	4.14*** / 3.95***
91 日目	2.34 / 1.68	3.15 / 1.45	1.68 / 2.22	2.29 / 2.03

動物数：雌雄各 6 例
Dunnett 検定による対照群と比較した統計学的有意差：* p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01, *** p ≤ 0.001

肉眼所見として、投与部位（頸部皮下）皮膚の脱毛又はびらんが、200 mg/kg/週群の雄 4 例で観察された。投与部位の腫瘤及びびらんが、200 mg/kg/週群の雌 1 例で認められた。腋下リンパ節の腫大又は赤色化が、200 mg/kg/週群の雄 2 例及び雌 3 例にみられ、その他の投与群にも散見された。これらの所見に関連して病理組織学的所見が認められた。

病理組織学的検査では、投与部位、腋下リンパ節並びに大腿骨及び胸骨の骨髄に所見がみられた。投与部位では、表皮下及び真皮の炎症の発現頻度又は重症度における軽微から中等度の増加が、60 又は 200 mg/kg/週群の雄及びすべての投与群の雌に認められた。これは被験物質による直接的な刺激性変化ではなく、タンパク質含有成分の注入又は軽度の炎症に対する自傷による二次的な局所反応に一致するものであった。腋下リンパ節では、軽微から軽度のリンパ組織過形成が 60 又は 200 mg/kg/週群の雄にみられ、軽度のリンパ組織過形成がすべての投与群の雌に認められた。一部の動物では腋下リンパ節の炎症（200 mg/kg/週群の雌 1 例）及び色素沈着（60 及び 200 mg/kg/週群）も観察された。腋下リンパ節の所見は投与部位の炎症に対する局所反応と考えられた。それはこのリンパ節が体幹及び頸部（上腕リンパ節を介し）からの排出に関与するからである。大腿骨及び胸骨の骨髄における造血の軽微な増加が、200 mg/kg/週群の雄並びに 60 及び 200 mg/kg/週群の雌に認められた。これらの所見は投与部位の局所炎症に関連するもので、血液リンパ細網系に対する全身作用のエビデンスではないと考えられた。投与期間終了時（生後 78～79 日目）にマウスが性成熟したとき、雌雄の生殖器官には病理組織学的所見は認められなかった。13 週間の回復期間終了時に、主試験群の剖検でみられた変化には回復がみられたことから、これらの所見は本試験において毒性変化ではないと判断された。

REGN844 を 20、60 及び 200 mg/kg/週で幼若マウスに生後 14 日目から 9 週間投与したところ、良好な忍容性がみられ、毒性変化と考えられる所見は認められなかった。試験を通じて体重及び摂餌量の変化はみられなかった。検討した一部の免疫パラメータに非毒性的な所見がみられ、病理組織学的所見は REGN844 の直接作用によるものではなく、タンパク質含有成分の皮下投与又は自傷に関連するものと考えられた。投与期間終了時（生後 78～79 日目）にマウスが性成熟したとき、雌雄の生殖器官には病理組織学的所見は認められなかった。無毒性量は 200 mg/kg/週と判断された。この用量における $AUC_{0\text{-}168h}$ は 381 000 µg.h/mL であった。

7　局所刺激性試験

局所刺激性の評価は、カニクイザルを用いた反復投与毒性試験に組み込んで、持続静脈内投与部位及び皮下投与部位の肉眼的及び病理組織学的検査により実施した。持続静脈内投与によるサリルマブ投与関連の所見は認められなかった。サルの 3 ヵ月間反復皮下投与毒性試験では、非毒性的な投与部位の所見が観察された。サリルマブを投与したサルの真皮又は表皮下において、軽微から中等度の血管周囲混合炎症性細胞浸潤が観察された。その発現頻度又は重症度には用量依存性はみられず、12 週間の回復期間により、これらの所見は部分的に回復した。皮下投与部位にみられたこれらの炎症性浸潤は、サリルマブの薬理作用に関連したものではなく、濃縮タンパク質含有成分の皮下投与に対する局所反応を示すものと考えられた。

マウスにおける REGN844 関連の病理組織学的所見は、50 mg/kg/週以上で皮下投与部位にみられた混合炎症性細胞浸潤の発現頻度及び重症度における軽度の増加のみであった。10 mg/kg/週での皮下投与及び 25 mg/kg/週での静脈内投与では、投与部位における REGN844 関連の所見はみられなかった。組織損傷がなかったことから、これらの軽微から軽度の表皮下における混合炎症性細胞浸潤は毒性変化ではないと判断された。

8　その他の毒性試験

サリルマブの検討中の他の適応症をサポートするため、[redacted]、[redacted]mg/月[redacted]週[redacted]試験を実施した。[redacted]、[redacted]、[redacted]mg/[redacted]、[redacted]、[redacted]日目[redacted]。この試験は、関節リウマチを適応症とした承認申請をサポートするには適切でないことから、この試験で得られたデータは本資料中には記載せず、更なる考察は行わない。

8.1　ヒト及びカニクイザルの組織との組織交差反応性試験

[REGN88-TX-06036 試験]、[M2.6.7.17 A]

免疫組織化学的組織交差反応性試験において、ビオチン化サリルマブを、正常なヒト及びカニクイザルの組織の凍結切片（1 組織当たり 3 例のドナー）に、2 濃度（0.5 µg/mL 及び 20 µg/mL）で適用し、顕微鏡検査を実施した。サリルマブ染色の特異性及び試験の再現性を確認するため、陽性対照（遺伝子組換え hIL-6Rα セファロース結合ビーズ及びクローン病結腸の凍結切片）及び陰性対照（遺伝子組換え hIL-4 セファロース結合ビーズ凍結切片）を設定した。検討したヒト及びカニクイザルの組織パネルにおいて、ビオチン化サリルマブに特異的な染色が認められた。

ヒト及びカニクイザルの組織におけるビオチン化サリルマブに特異的な染色部位を表 32 に示す。

表 32 - ヒト及びカニクイザルの組織におけるビオチン化サリルマブ染色部位

染色部位	ヒト	カニクイザル
細胞膜染色 - 乳腺上皮のみ	-	+
種々の上皮- 細胞質又は細胞質顆粒：副腎皮質上皮、肺細気管支上皮、眼結膜粘膜、消化管（食道、胃、小腸及び結腸）の粘膜又は腺、肝臓胆管、腎尿細管及び集合管、乳管、卵管、上皮小体、前立腺、下垂体、尿管、膀胱、唾液腺の導管及び腺、甲状腺、扁桃、子宮内膜腺	+	+
種々の上皮- 細胞質又は細胞質顆粒：胎盤栄養芽細胞上皮、子宮内膜表面、子宮頸部、皮膚附属腺上皮、唾液腺の腺	+	-
種々の上皮- 細胞質又は細胞質顆粒：眼腺粘膜、乳腺腺上皮、大脳脈絡叢上皮、膵臓腺房導管細胞及び島細胞、胎盤羊膜上皮、尿道前立腺部上皮	-	+
生殖（精細管）上皮 - 細胞質顆粒：精巣	+	+
神経細胞 - 細胞質（核周部）又は細胞質顆粒：脳（大脳及び小脳）、脊髄、消化管（結腸、小腸、胃）	+	+
神経細胞 - 細胞質又は細胞質顆粒：消化管（食道）、前立腺	-	+
脳の神経膠細胞 - 細胞質又は細胞質顆粒：小脳	+	+
脳の神経膠細胞 - 細胞質顆粒：大脳（皮質）	-	+
神経上皮 - 細胞質：眼（網膜）	+	+
単核白血球 - 細胞質又は細胞質顆粒：消化管（食道）、脾臓、胸腺、扁桃	+	+
単核白血球 - 細胞質又は細胞質顆粒：前立腺	+	-
単核白血球 - 細胞質又は細胞質顆粒：消化管（結腸、小腸、胃の GALT）、肺の BALT、リンパ節、末梢神経、膀胱	-	+
脂肪細胞 - 細胞質又は細胞質顆粒：消化管（食道）	+	+
脂肪細胞 - 細胞質又は細胞質顆粒：副腎、胸腺、甲状腺、尿管	-	+
横紋筋線維 - 細胞質又は細胞質横紋：心臓（横紋筋線維）	+	+
横紋筋線維 - 細胞質又は細胞質横紋：消化管［食道（横紋骨格筋線維）］	+	-
横紋筋線維 - 細胞質又は細胞質横紋：眼 – （横紋骨格筋線維）	-	+
平滑筋線維 - 細胞質顆粒：横紋骨格筋の血管系	-	+
神経線維 - 細胞質顆粒：末梢神経の軸索	+	+
神経線維網 - 顆粒状：神経性下垂体	+	+
神経線維網 - 顆粒状：脊髄灰白質	+	-
精巣 - 細胞質：精子細胞尾部	-	+
卵巣 - 細胞質及び細胞質顆粒：卵母細胞	-	+

略語：+：染色がみられた；-：染色がみられず；GALT：腸関連リンパ組織；BALT：気管支関連リンパ組織

サリルマブ特異的染色は、すべてのヒト組織構成要素の細胞質又は顆粒のみにみられ、細胞内小胞に存在する IL-6R への結合を示している可能性がある。細胞膜の染色は、試験計画書に記載したいずれのヒト組織にもみられず、1 例のカニクイザルドナーの乳腺上皮のみに認められた。試験報告書では、細胞質及び細胞質顆粒染色の毒性学的意義は不明とされているが、in vivo での無処置細胞における細胞質部位への到達可能性には疑問があることから、毒性学的意義は低いと判断される。ヒト組織におけるビオチン化サリルマブの染色パターンは、カニクイザル組織でみられたものと極めて類似していたことから、これらのデータと in vitro 及び in vivo 薬理データを合わせると、カニクイザルをサリルマブの in vivo 毒性試験での適切な動物モデルとして使用することは妥当と考えられた。

8.2　カニクイザルを用いた 13 週間反復皮下投与毒性試験（製剤比較）

[REGN88-TX-09053 試験] 、[M2.6.7.17 B]

この試験の目的は、第 III 相臨床試験で使用するために新たな工程で製造されたサリルマブの安全性プロファイルを、初期工程で製造及び製剤化され、過去の非臨床試験及び第 I 相臨床試験で使用されたサリルマブとの比較により評価することであった。初期の S1* F1 工程では、細胞株 [redacted] 及び [redacted] L バイオリアクターで製造したサリルマブを、[redacted] mmol/L ヒスチジン、[redacted] %ポリソルベート 20 及び [redacted] %精製白糖を用いて pH 6.0 に調製した。新たな S4* F3 工程では、細胞株 [redacted] 及び [redacted] L バイオリアクターで製造したサリルマブを、[redacted] mmol/L ヒスチジン、[redacted] %ポリソルベート 20、[redacted] mmol/L アルギニン及び [redacted] %精製白糖を用いて pH 6.0 に調製した。なお、試験報告書において S1* F1 は [redacted] 又は S1•F1、S4* F3 は [redacted] 又は S4•F3 と表記されている。

雌雄のカニクイザルに、S4* F3 用溶媒（対照群）、S4* F3 の 10 及び 100 mg/kg/週（5 及び 50 mg/kg で週 2 回）あるいは S1* F1 の 100 mg/kg/週（50 mg/kg で週 2 回）を 13 週間皮下投与した（合計 26 回投与）。これらの用量は先に実施したサル 13 週間反復皮下投与毒性試験の中及び高用量群と同じであり（[REGN88-TX-06038 試験] 、[M2.6.7.7 C] 参照）、今回の比較に適切と考えられた。1 群の動物数は雌雄各 4 例とした。

検査項目は、生死、一般状態、体重、摂餌量、ECG 検査、眼科学的検査、血圧、体温、血液学的検査、血清生化学的検査（CRP を含む）、凝固検査、尿検査、器官重量、剖検、病理組織学的検査、血清中サリルマブ濃度及び ADA であった。

雌雄間で明らかなサリルマブ曝露量の差は認められなかった。その後の薬物投与の継続により、全体に曝露量はすべてのサリルマブ投与群で増加したことから、サリルマブの蓄積があったことが示唆された（表 33 ）。S4* F3 の 10 及び 100 mg/kg/週での血清中濃度は、ほぼ用量に比例して増加した。

＊新薬承認情報提供時に置換

また、S4* F3 の 100 mg/kg/週における平均 C_{trough} は、S1* F1 の 100 mg/kg/週で算出した推定曝露量と比較して、平均で約 15%低かった（個々の週では 7～26%の範囲で低かった）。測定のばらつき及び TK における個体差を鑑みると、この曝露量低下には生物学的意味はないと判断された。

表 33 - サル 13 週間反復皮下投与毒性試験（製剤比較）：サリルマブの群平均 C_{trough} 血清中濃度

週 [a]	10 mg/kg/週 S4* F3 (µg/mL)	100 mg/kg/週 S4* F3 (µg/mL)	100 mg/kg/週 S1* F1 (µg/mL)
1（1 回目投与）	39.7 ± 14.1	425 ± 34.5	562 ± 111
2（3 回目投与）	123 ± 21.2	1136 ± 111	1544 ± 296
3（5 回目投与）	151 ± 68.3	1606 ± 283	1720 ± 289
4（7 回目投与）	185 ± 86.2	1875 ± 365	2241 ± 541
6（11 回目投与）	246 ± 132	2128 ± 410	2710 ± 363
8（15 回目投与）	329 ± 263	2530 ± 532	2976 ± 452
10（19 回目投与）	271 ± 143	2746 ± 628	3071 ± 357
12（23 回目投与）	284 ± 135	2681 ± 802	3031 ± 511

値は雌雄を併合した平均値 ± 標準偏差。
動物数：1 群雌雄各 4 例
[a] C_{trough} は、評価した週における 2 回の投与のうち初回投与の 96 時間後（2 回目投与前）に測定された
略語：S1* F1：細胞株 [redacted]、工程 [redacted]、処方 1； S4* F3：細胞株 [redacted]、工程 [redacted]、処方 3

ADA の産生に関連する毒性所見は認められなかった。S4* F3 の 10 mg/kg/週群では、8 例中 2 例が試験中に ADA 陽性反応を示した。この 2 例のうち、雄は 2 週目に ADA 陽性であり、雌は 9 週目に ADA 陽性であった。いずれの動物においても、この ADA 陽性反応は試験の残りの期間を通じて持続した。雄では ADA により血清中サリルマブ濃度が低下した。S1* F1 又は S4* F3 のいずれにおいても、100 mg/kg/週群では ADA は認められなかった。

すべてのサルが計画剖検時まで生存した。一般状態観察、体重・摂餌量測定、体温、血圧、ECG、眼科学的検査及び尿検査、サリルマブ関連の変化はみられなかった。

先の反復投与毒性試験と同様に、サリルマブ投与群で 4 及び 12 週目に、試験前値又は対照群と比較して好中球数及びフィブリノゲン濃度の平均値又は個別値の軽度の減少が認められた。平均値を表 34 に詳述する。好中球数の減少が 3 投与群の雄にみられたが、用量関連性はなく、それに伴う感染症は認められなかった。白血球数の減少が好中球数の減少に関連して生じた可能性があり、これらの値にはやはりばらつきが認められた。フィブリノゲン濃度の減少が、10 mg/kg/週群の雌及び 100 mg/kg/週群の雌雄にみられた。いずれのパラメータにおいても、S1* F1 と S4* F3 の 100 mg/kg/週群の間での意味のある違いは、雌雄ともに認められなかった。変化の程度が小さかったこと、背景値内の範囲で

＊新薬承認情報提供時に置換

あったこと、また既知の薬理作用であるIL-6シグナル伝達阻害作用に関連したものであったことから、これらの好中球数及びフィブリノゲン濃度低下の所見は、毒性変化ではないと判断された。CRP値には高度のばらつきがみられ、4例が背景値の範囲をわずかに下回ったのみであった。CRPの低値は生物学的に意義のないものと判断された。尿中ケトンの存在は、血清グルコース濃度に大きな変化がなく、薬物関連の体重減少がみられず、対照群でも散発的な増加がみられたことから毒性学的意義のないものと判断された。試験報告書で報告されたいずれの血液生化学的パラメータ（グロブリン、A/G比など）の変化も、偶発的変化又はこの系統及び齢のサルで予想される自然発生的な変化に一致するものであり、被験物質との関連はないと判断された。

表 34 -サル 13 週間反復皮下投与毒性試験（製剤比較）：血液学的及び血液生化学的パラメータの群平均値におけるサリルマブ関連の減少

パラメータ		サリルマブ (mg/kg/週)			
		0 [a]	10 (S4* F3)	100 (S4* F3)	100 (S1* F1)
白血球数 (1000/µL)		雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌
	試験前	14.12 / 12.02	12.01 / 14.70	13.29 / 15.04	9.30 / 19.99**
	4 週目	11.35 / 7.98	6.71* / 5.75	8.32 / 8.98	6.65* / 8.79
	12 週目	8.48 / 6.31	9.32 / 5.26	8.05 / 8.11	7.32 / 8.32
好中球数 (1000/µL)					
	試験前	5.38 / 5.43	4.20 / 9.88	5.17 / 7.91	2.87 / 13.01**
	4 週目	6.80 / 2.42	1.74** / 1.54	2.44** / 2.08	1.96** / 2.26
	12 週目	3.70 / 2.52	5.17 / 1.96	3.57 / 3.92	2.01 / 3.39
血清フィブリノゲン濃度 (mg/dL)					
	試験前	223 / 202	225 / 194	216 / 205	200 / 191
	4 週目	199 / 218	230 / 166*	177 / 169*	171 / 172*
	12 週目	219 / 213	209 / 163**	174 / 163**	165* / 159**
C 反応性タンパク (mg/L)					
	試験前	64.4 / 64.0	36.0 / 34.2	47.8 / 47.9	24.5 / 37.3
	4 週目	13.3 / 7.1	9.9 / 5.3	11.6 / 5.3	9.1 / 7.4
	12 週目	17.2 / 14.3	10.9 / 6.3	11.6 / 9.3	8.4 / 11.2

動物数：1 群雌雄各 4 例
[a] 対照群では S4* F3 群の溶媒を使用した。
Dunnett 検定を用いた対照群との統計学的有意差：* p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01

剖検時の器官重量及び肉眼所見には、サリルマブ関連の変化は認められなかった。下記の投与部位における病理組織学的所見を除くと、被験物質関連の病理組織学的所見はみられなかった。サリルマ

＊新薬承認情報提供時に置換

ブ投与部位の病理組織学的所見として、表皮下の軽微な血管周囲単核細胞浸潤が、S4* F3 及び S1* F1 の 100 mg/kg/週群でみられ、S4* F3 の 10 mg/kg/週群の雄 1 例にも認められた（表 35 ）。これらの所見は毒性変化ではないと判断された。先の 13 週間反復皮下投与毒性試験（3.2.4項）でみられたのと同様に、皮下投与部位にみられたこれらの炎症性所見は、濃縮ヒトタンパク質含有成分の皮下投与に対する非特異的な局所免疫反応を示すものと考えられた。

表 35 - サル 13 週間反復皮下投与毒性試験（製剤比較）：注射部位所見の発現頻度

パラメータ	サリルマブ (mg/kg/週)			
	0 [a]	10 (S4* F3)	100 (S4* F3)	100 (S1* F1)
投与部位	雄/雌	雄/雌	雄/雌	雄/雌
検査した投与部位	4 / 4	4 / 4	4 / 4	4 / 4
軽微な血管周囲単核細胞浸潤	0 / 0	1 / 0	3 / 2	3 / 4

[a] 対照群では S4* F3 群の溶媒を使用した。

サリルマブ投与と関連がないと考えられる所見として、副腎皮質腺腫が S1* F1 の 100 mg/kg/週群の雄 1 例に認められた。その他の個体には副腎の前腫瘍性変化はみられず、サリルマブについて実施した最長 26 週間の他の毒性試験では皮質腺腫は認められていない。副腎皮質腺腫はカニクイザル及びその他のマカク属における自然発生腫瘍として報告されており(14)(15)(16)(17)(18)、いくつかの委託研究機関のデータベース及び発表において、9 件認められている（[M4.2.3.7.7 SAR153191 - がん原性リスク評価改訂版] 参照）。

したがって、1 例にみられたこの所見は偶発的なものであり、サリルマブ投与との関連はないものと判断された。

S4* F3 を 10 及び 100 mg/kg/週で、S1* F1 を 100 mg/kg/週で、それぞれカニクイザルに 13 週間皮下投与したときのサリルマブ関連の所見は、他の一般毒性試験でみられたものと同様であり、毒性変化ではないと判断された。S4* F3 及び S1* F1 の 100 mg/kg/週群における安全性プロファイルは類似していた。

＊新薬承認情報提供時に置換

8.3 免疫原性

ADA の産生が、サルを用いたそれぞれの毒性試験で認められた。サルにおける ADA 産生は、15 mg/kg/週以下で認められた。15 mg/kg/週を上回る用量で ADA がみられなかったのは、高用量における免疫寛容を反映している可能性あるいは循環血中の高い薬物濃度により ADA アッセイが干渉された可能性が考えられる。ADA 産生とサリルマブの曝露量減少に関連がみられたが、毒性変化との関連は認められなかった。動物における ADA 産生についての詳細な考察を[M2.6.4.7 項]に示す。

8.4 免疫毒性

サルを用いた反復投与毒性試験において、標準的な血液学的パラメータの検査及び標準的な病理組織学的検査を実施した。サリルマブ投与により、既知の薬理作用である IL-6R 阻害に関連すると考えられる好中球数減少がみられ、これに伴って総白血球数の減少が散見されたが、試験間で再現性は認められなかった。同様に 13 週間反復静脈内投与毒性試験（3.2.3項）では、投与関連の可能性がある血清グロブリンの減少がみられたが、他の 13 週間反復投与毒性試験及び 26 週間反復投与毒性試験では再現されなかった。骨髄、脾臓、胸腺、リンパ節又は肝臓には、サリルマブ関連の器官重量の変化や病理組織学的所見は認められなかった。大腸の感染症又は炎症に関連して 2 例の死亡がみられたが、偶発的なものと考えられた（3.2.3項、3.2.5項）。

特異的な免疫毒性の評価項目を、サルを用いた 26 週間反復投与毒性試験（3.2.5項）並びにサルを用いた ePPND 毒性試験（6.2項）の妊娠雌及び新生児で評価した。26 週間反復静脈内投与毒性試験では、KLH 抗原に対する一次 IgM 反応で、TDAR におけるサリルマブ関連の変化は認められなかった。5 mg/kg/週以上では、雌雄のサルにおける一次及び二次 IgG 反応の軽度の減少が大部分の検査日にみられ（一部例外あり）、減少は雌が雄より大きかった。IgG 反応におけるこれらの減少は、変化が軽微で対照値の範囲に近く、関連する病理組織学的所見や毒性所見はみられなかったことから毒性変化ではないと判断された。本試験では、サリルマブ投与に起因する内因性の IgA、IgG、IgE 及び IgM 免疫グロブリンの変化は認められなかった。末梢血白血球サブセット及び単球を評価する FACS 解析では、サリルマブ関連の変化は示されなかった。

ePPND 試験では、妊娠サルに 100 mg/kg/週までで皮下投与したとき、妊娠雌及び新生児のいずれにおいても、フローサイトメトリーで測定した末梢血白血球サブセットにおけるサリルマブ関連の変化はみられなかった（6.2項）。新生児について検査したいずれの免疫器官においても、サリルマブ関連の病理学的変化は認められなかった。

マウスでは、REGN844 を用いてマウス IL-6 シグナル伝達を阻害した。9 週間反復投与毒性試験において、幼若マウスに REGN844 の 200 mg/kg/週までを生後 14 日から皮下投与したところ、良好な忍容性がみられ、観察されたいずれの変化も毒性変化ではないと判断された。これらのマウスにおいて感染症増加のエビデンスは認められなかった。投与期間及び回復期間初期に、KLH により抗原感作した雄マウスの IgG 濃度において、わずかな反応の低下がみられた。

成熟サルでサリルマブによる IgG 反応低下がみられたが全般的な IgG 反応が健全であったのと同様に、幼若マウスにおける IgG 反応も健全なものであった。また、病理組織学的変化がみられたが、これは投与部位の炎症（タンパク質含有成分の投与又は投与部位の軽度の炎症に起因した自傷による二次的変化）に対する局所反応と考えられた。これらの変化は、いずれも 13 週間の回復期間により回復した。したがって、幼若マウスに REGN844 を 200 mg/kg/週までで投与して IL-6R を阻害しても、免疫系において毒性学的意義のある変化はみられないと結論された。

8.5 薬物乱用傾向の評価

全般的に、動物を用いた毒性試験及び薬理試験では、サリルマブの依存性及び乱用傾向を示唆するエビデンスはみられなかったことから、サリルマブの薬物乱用傾向を評価するための独立した試験は実施しなかった。その理由を以下に述べる。

サリルマブは、IL-6Rα に結合する遺伝子組換えヒトモノクローナル抗体 IgG1 アイソタイプである。本薬の分子量は約 150 kDa であるため、影響を及ぼす程度に血液脳関門を通過する可能性は低いと考えられる。血液脳関門は、血液から脳への薬物の移動を阻害する。一般に、治療薬分子が脂溶性で分子量が 400～600 Da 未満である場合を除いて、脳移行は限定的である(19)。このため、類似したモノクローナル抗体（IgG1）についての文献データを考慮すると、脳脊髄液中のサリルマブの濃度は極めて低いと予想される（血漿中濃度の 1000 分の 1 未満と推定される）ことから、乱用傾向の可能性は極めて限定的と考えられる(20)。モノクローナル抗体には活性代謝物はなく、確認された規制原薬の前駆物質ではない。一般的に認識されていることとして、モノクローナル抗体は分解により代謝されて小ペプチド及び個々のアミノ酸になり、内因性の異化に続く。また、これらの小ペプチド及びアミノ酸には他の問題となる生物活性はない。したがって、サリルマブの代謝経路を考慮すると、薬物依存性の可能性及び乱用傾向は低いと考えられる。

サリルマブは IL-6Rα 受容体に選択的に結合し、IL-6 には結合しない。本薬が、CNS に発現して乱用傾向に関連する受容体又はトランスポーター（オピエート、ドパミン性、ノルアドレナリン性、セロトニン性、NMDA 性、シグマ、GABA 性など）に結合して、薬理活性を媒介するとのエビデンスはない。ヒト及びサルの組織を用いた組織交差反応性試験では、CNS 組織の細胞膜に結合するというエ

ビデンスは示されなかった。脳及び脊髄のニューロン及び神経膠細胞にみられた細胞質及び細胞質顆粒の染色の毒性学的意義は無視しうるものと考えられた。それは in vivo においては正常な細胞の細胞質に到達する可能性に疑問があるからである。

サリルマブの反復投与毒性試験において、カニクイザルに 50 mg/kg/週までを 26 週間静脈内投与したとき、または 100 mg/kg/週までを 13 週間皮下投与した結果、一般状態観察においてサリルマブに関連した CNS の機能的変化を示唆する異常行動や CNS 組織の病理学的変化は認められなかった。ePPND 試験においてサリルマブの 50 mg/kg/週までを静脈内投与したところ、妊娠サル及び生後 1 ヵ月まで観察した出生児において、CNS の機能的変化や病理学的所見は認められなかった。また、出生児についての機能発達検査（握力検査、瞳孔反射、耳介反射及び疼痛感覚検査）の結果は対照群と同様であり、サリルマブ関連の変化はみられなかった。26 週間反復静脈内投与毒性試験及び静脈内投与 ePPND 試験の無毒性量である 50 mg/kg/週におけるサリルマブの曝露量は、リウマチ患者にサリルマブを 200 mg で Q2W 皮下投与したときの曝露量と比較して、それぞれ約 80 倍及び約 84 倍であった。

反復投与毒性試験において 4 例のサルが瀕死状態となり、その後、死亡又は人道的理由による安楽殺に至った。これらの動物の瀕死状態の原因は、いずれの場合も事故又は偶発的な消化管感染によるものであった。活動性低下、努力性呼吸、下痢、冷触感、食欲不振及び円背位といった CNS 関連の可能性がある一般状態の変化は、これらの動物の状態悪化による二次的な変化と考えられ、サリルマブ投与との関連はないと判断された。

8.6 不純物

毒性試験で使用したサリルマブ製剤の品質は、臨床試験用又は市販用バッチの品質を代表するものであった（[M2.6.7.4]参照）。

8.7 溶出物及び浸出物

サリルマブの市販用製剤で使用される容器及び施栓系すべての供給業者からのガラス製針付きシリンジ、プランジャーストッパー及び針キャップについて実施した溶出物及び浸出物試験において、安全性上の問題点は認められなかった（容器及び施栓系[M2.3.P.2.4 項]）。

9　考察及び結論

サリルマブの安全性プロファイルを、カニクイザルを用いた最長26週間の反復投与毒性試験、ePPND試験並びにヒト及びカニクイザルの組織を用いた組織交差反応性試験により評価した。また、マウスIL-6Rαに対するマウス相同抗体であるREGN844について、成熟CD-1マウスを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験並びに幼若マウスを用いた9週間反復投与毒性試験を実施した。すべての重要な試験はGLPに準拠して実施した。重要な毒性試験に加えて、3つの探索的非GLP適用試験（サルを用いた4週間反復投与毒性試験、成熟マウスを用いた4週間反復投与毒性試験及び幼若マウスを用いた4週間反復投与毒性試験）も実施した。

9.1　毒性試験に使用した動物種の適切性

サリルマブはin vitroにおいてカニクイザルのIL-6Rαに対して高い親和性を示すことから、カニクイザルはサリルマブの毒性試験における適切な動物種であることが示された（[M2.6.2.2.1.1項]参照）。ダブルヒト化 *Il6*$^{hu/hu}$ *Il6ra*$^{hu/hu}$ マウスにおいて、サリルマブはテレビン油誘発性急性炎症モデルでSAA増加を阻害し（[M2.6.2.2.2.1項]参照）、毒性試験ではサリルマブを投与したサルにおいて、薬理作用であるIL-6シグナル伝達阻害に一致する薬力学的作用が認められた。サリルマブは、毒性試験で一般的に使用される他の動物種のIL-6Rαと結合しなかった。In vitro薬理試験において、サリルマブとマウスのIL-6Rαとの相互作用が十分でないことが示されたため、マウス相同抗体のREGN844を作製した。In vitro結合解析により、REGN844はマウスIL-6Rαに、サリルマブとヒトIL-6Rαの結合と同程度の高い親和性で特異的に結合することが示された（K_DはサリルマブとヒトIL-6Rαとの結合の4倍以内）（[M2.6.2.2.3.2項]参照）。In vivoにおいて、REGN844はマウスのテレビン油誘発性急性炎症モデルで血清アミロイドA（SAA）増加を阻害し、コラーゲン誘発性関節炎モデルで関節炎症及び骨びらんを抑制した（[M2.6.2.2.4.1項]参照）。このため、IL-6Rα阻害による生殖発生毒性を検討するため、マウスを用いたREGN844の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験並びに幼若動物の毒性試験を実施した。REGN844はin vitro及びin vivoにおいてサリルマブと極めて類似した薬理学的特性を示したことから、REGN844をマウスに用いることにより、サリルマブの危険性確認のための生物学的に重要な毒性情報が得られると予想された。

9.2　サリルマブ及びREGN844の曝露量

サルを用いたサリルマブの毒性試験では、開発中に用いる臨床用量と比較して十分な曝露量を得るため、高用量として静脈内投与では50 mg/kg/週、皮下投与では100 mg/kg/週を設定した。高用量の50

mg/kg/週で静脈内投与したときの曝露量は、サリルマブをヒトに 200 mg で Q2W 皮下投与したときの曝露量の約 80 倍であった（[M2.4..5 項]表 3 参照）。

静脈内投与毒性試験では $AUC_{0\text{-}168h}$ を測定したが、サルに週 2 回皮下投与したときの $AUC_{0\text{-}168h}$ は測定しなかった。皮下投与で得られたデータは、その週の 2 回目投与前（初回投与 96 時間後）における C_{trough} であり、一方、静脈内投与では、週 1 回静脈投与後（その週の投与の 168 時間後で次週の投与前）の C_{trough} であった。これらのデータに基づく見かけの定常状態における皮下投与後の C_{trough} から、静脈内投与と比較して良好な曝露量が示唆された。サルの PK 試験でみられた 77%以上のバイオアベイラビリティに基づくと、100 mg/kg で週 2 回皮下投与したときの AUC は、50 mg/kg で週 1 回静脈内投与したときの AUC より高いと予想される（[M2.6.4.3.2.1 項] 参照）。すなわちサルの高用量において、100 mg/kg/週の皮下投与（50 mg/kg で週 2 回投与）による AUC は、50 mg/kg/週の静脈内投与（週 1 回投与）の AUC に、バイオアベイラビリティを乗じた値の 2 倍に匹敵すると予想される。サルにおけるバイオアベイラビリティが 77%以上であることに基づくと、50 mg/kg で週 2 回皮下投与したときの AUC は、50 mg/kg で週 1 回静脈内投与したときの AUC の 1.54 倍以上と推定される。マウスを用いた REGN844 の皮下投与毒性試験における高用量の 200 mg/kg/週は、マウステレビン油誘発性炎症モデルで得られた有効性データに基づいて設定したものであり、マウス SAA 濃度減少がみられる用量（1.5 mg/kg）の約 130 倍であった（[M2.6.2.2.4.1 項] 参照）。このことから、毒性試験で使用した用量において、サリルマブの安全性プロファイルは適切に評価されたと考えられる。

サリルマブをサルに週 1 回、15～50 mg/kg/週で最長 26 週間反復静脈内投与、及び 30～100 mg/kg/週で最長 13 週間反復皮下投与したときの総サリルマブの血清曝露量は、投与期間を通じてすべての動物で検出下限を上回って持続し、これらの試験でみられた IL-6 経路阻害に関連する薬力学的変化に基づくと、薬理活性を有するレベルであったと考えられた。10 mg/kg/週以下では、検出下限を上回る総サリルマブへの持続的曝露は認められなかった。これは ADA の発現又は標的介在性クリアランスに起因する可能性がある。ADA の産生は、サリルマブの安全性プロファイルに影響を及ぼさなかった。全体として、総サリルマブの曝露量は 5～50 mg/kg/週の静脈内投与、30 及び 100 mg/kg/週の皮下投与により用量比例的に増加した。サルでは反復投与による全サリルマブの曝露量の投与回数に伴う増加がみられたが、これは単回投与薬物動態試験におけるサリルマブの半減期及びこれらの試験の投与間隔（週 1 回又は週に 2 回）に基づいて予想されるものであった。サル血清における総サリルマブの TK には性差はみられなかったことから、データは雌雄を併合した平均値として示した。

ADA の産生が、サルを用いたそれぞれの毒性試験で認められた。サルにおける ADA 産生は、15 mg/kg/週以下で認められた。15 mg/kg/週を上回る用量で ADA 産生がみられなかったのは、高い循環血中サリルマブ濃度による免疫寛容の誘導を反映している可能性がある。それは回復性試験群の動物において、回復期間終了時にサリルマブ濃度が低レベルに達した後も、ADA が検出されなかったからである。また、ADA 産生の欠如の原因として、循環血中の高い薬物濃度により ADA アッセイが干渉された可

能性も考えられる。ADA 産生とサリルマブへの曝露量減少に関連がみられたが、毒性変化との関連は認められなかった。

探索的 4 週間反復投与毒性試験において、大部分の成熟マウスで持続的な REGN844 への曝露が認められた。REGN844 の曝露量は、50～200 mg/kg/週での皮下投与により用量比例的に増加した。幼若マウスを用いた探索的試験及び成熟マウスを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において、週 1 回又は週 2 回、最長 4 週間投与したときの REGN844 の曝露量は同程度であった。幼若マウスを用いた 9 週間反復皮下投与毒性試験において、REGN844 を生後 14 日から投与したとき、総 REGN844 への持続的曝露がすべての用量で投与期間中にみられ、13 週間の回復期間終了時にも 200 mg/kg/週群の雄で認められた。全体として、標的飽和用量の 20～200 mg/kg/週で週 1 回、9 週間皮下投与したときの総 REGN844 の動態は、線形かつ用量比例的であった。200 mg/kg/週の週 1 回、8 週間皮下投与により、定常状態に到達した。週 1 回皮下投与したときの C_{trough} は、20、60 及び 200 mg/kg/週群で 5 回目から 9 回目の投与にかけて増加したことから、反復投与による総 REGN844 の蓄積が示唆された。曝露量の顕著な性差は認められなかった。

9.3　一般毒性

サルを用いた反復投与毒性試験において、サリルマブの 50 mg/kg/週までを最長 26 週間静脈内投与又は 100 mg/kg/週までを最長 13 週間投与したとき、検討した最高用量における忍容性は良好であった。サリルマブ関連の主な変化は、既知の薬理作用機序である IL-6 経路阻害に一致するものであり、既に述べた理由により毒性変化ではないと判断された。免疫系に関連して、多くは軽微から中等度かつ可逆的又は一部可逆的な好中球絶対数減少、並びに KLH による抗原感作後の一次及び二次 IgG 反応のわずかな低下が認められた。薬理作用を介したその他の所見として、一過性で多くは軽微から中等度かつ可逆的又は一部可逆的な血清フィブリノゲン又は血清 CRP 濃度の減少並びに可逆的な循環血中 IL-6 濃度上昇がみられた。皮下投与部位の病理組織学的検査において、多くは可逆的で軽微から中等度の非毒性的な炎症性細胞浸潤が観察された。皮下投与部位にみられたこれらの非毒性的炎症性細胞浸潤は、サリルマブの薬理作用に関連するものではなく、濃縮したヒトタンパク質含有成分の皮下投与に対する非特異的な局所免疫反応を示すものと考えられた。

IL-6 はヒト、げっ歯類及びカニクイザルにおいて、炎症状態下で好中球増多症を誘発することが示されている(21)(22)(23)。サルにおいてサリルマブの IL-6Rα 阻害作用により、好中球絶対数が減少した。好中球絶対数減少は IL-6 シグナル伝達阻害作用を有するモノクローナル抗体における既知の臨床作用であり(24)(25)(26)、サルの関節炎モデルに IL-6 阻害剤を投与したときに発現する(23)。この変化の作用機序として可能性があるのは、IL-6 がセレクチン（L-セレクチン）及びその好中球上におけるリガンド（PSGL/CD162）の発現を減少させることにより生じる組織プールから血液への好中球流入の誘

導である。これらのセレクチン及びリガンドは、内皮細胞上での好中球のテザリング（結合）及びローリング（回転）をコントロールすることが知られている (27)(23)(28)。L-セレクチン及び CD162 の発現に対する IL-6 の影響は、いずれも IL-6 により誘導される炎症性サイトカイン IL-8 及び GM-CSF を間接的に媒介することで示された。

抗 IL-8 モノクローナル抗体又は抗 IL-6 モノクローナル抗体（トシリズマブ）は、ヒト好中球における CD162 発現抑制作用を示したことから、CD162 の調節及びその後の好中球トラフィッキングにおけるこれらのメディエーターの役割が確認された(23)。また、薬物動態／薬力学モデリングにより観察された好中球減少と非結合性の可溶性 IL-6R の抑制との関係が示された(29)。サルにおいてサリルマブにより観察された好中球数減少は、詳細な作用機序は不明であるものの、本薬の臨床作用及び既知の薬理作用である IL-6 シグナル伝達阻害作用に一致するものである。

フィブリノゲンは凝固因子であり、IL-6 のような炎症性サイトカインにより増加する急性期反応物質である。in vitro において、IL-6R シグナル伝達経路で重要な役割を果たす膜横断糖タンパクである糖タンパク 130（gp130）を抗体で阻害すると、IL-6 刺激によるフィブリノゲン産生が減少する(30)。このことからサリルマブ投与によるフィブリノゲンの基礎的な濃度の減少は予想外ではなかった。しかしながら、臨床試験においてトシリズマブによりフィブリノゲン濃度の減少が誘発されたにも関わらず(25)(31)、凝固異常はみられていない。

IL-6 は in vivo 及び in vitro のいずれにおいても CRP の主要な誘導物質であることが示されており(32)、STAT3 を含む複合体を介して CRP 転写活性化に関与することが示されている(32)(33)(34)。予想通り、関節リウマチ及びキャッスルマン病といった慢性炎症性疾患の治療において、IL-6 をモノクローナル抗体で阻害すると血清 CRP 濃度が正常化又は減少した(31)(35)(36)。

IL-6R 阻害剤投与による循環血中 IL-6 濃度の増加は、IL-6R を介した IL-6 消費が阻害された結果と考えられ、やはり予想される薬理作用であり、臨床及びサルにおいて認められている(31)(37)(38)。

サリルマブを投与したサルにみられた抗原感作後の IgG 反応のわずかな低下も、予想外ではない。IL-6 は活性化 B 細胞における抗体産生を促進するとともに、CD4+ T 細胞に直接作用してそのエフェクター機能を決定する(39)(40)(41)(42)。IL-6 ノックアウトマウスでは、T 細胞依存性抗原による免疫により IgG サブクラスの濃度が減少したことから、IL-6 はこれらの免疫グロブリンサブクラスを産生する形質細胞の誘導又は維持において中心的な役割を果たすことが示唆される(43)。また、B 細胞による抗体産生は、IL-6 刺激後の IL-21 産生増加を介して CD4+ T 細胞により間接的に促進されることが示されている(44)。IL-6R 阻害剤を投与した関節リウマチ患者において、IgG 産生 B 細胞の減少及びそれに対応する血清 IgG 濃度減少がみられており(45)、全身性エリテマトーデス患者では血清 IgG 濃度減少（正常範囲内に留まった）が認められている(46)。CD4+ T 細胞と B 細胞の間の既知の相互作用及び

他の IL-6R 阻害剤の臨床データがあることから、サルでサリルマブ投与によりみられた一次及び二次 IgG 反応のわずかな低下は、文献に一致するものであった。これらの低値に伴う病理組織学的変化や有害な影響は認められなかった。

サリルマブの反復投与毒性試験において、血小板数及び血液凝固パラメータ（プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間）に変化はみられず、肝機能に関連するパラメータ（AST、ALT、ALP、総ビリルビン、総コレステロール、トリグリセリド、器官重量、病理組織学的検査）の変化も認められなかった。

9.4　生殖発生毒性

IL-6/IL-6 受容体シグナル伝達経路に関する文献に基づくと、生殖系へのオンターゲット毒性はないと予想される。IL-6 はマウスの胚発生を通じて種々の組織に発現する多面的サイトカインであり、顕著な IL-6 発現は母体脱落膜、初期胚及び胎盤栄養芽細胞に認められる(47)。IL-6 転写は、8 細胞胚において早くも検出される(48)。しかしながら、ホモ接合の IL-6 ノックアウトマウスには完全な生存性があり、同腹児数は正常である。さらに、IL-6 欠失に関してホモ接合の胚の着床において、異常な変化は示されなかった。ホモ接合の IL-6 ノックアウトマウスは正常な大きさで正常に発達する。IL-6 ノックアウトマウスでは雌雄の受胎能における変化のエビデンスはなく、同腹児数は正常である(49) (50)(51)。IL-6 経路阻害に使用されるその他のモノクローナル抗体も、雌雄マウスの受胎能に特記すべき影響を及ぼさなかった(52)。

生殖発生毒性試験におけるサリルマブ及びマウス特異的相同抗体（REGN844）の結果は、上記の文献情報に一致するものであった。カニクイザルを用いた ePPND 毒性試験において、サリルマブを 50 mg/kg/週まで妊娠雌サルに投与（妊娠 20 日からおよそ妊娠 165 日まで）したところ、胚・胎児の変化は誘発されなかった。本試験では胚・胎児死亡（流産及び子宮内胚・胎児死亡を含む）及び死産がみられたものの、サリルマブ群におけるこれらの胚・胎児死亡及び死産の発現頻度は、対照群及び試験施設の背景発現頻度データと類似していた。したがって、サリルマブは妊娠維持及び自然分娩のいずれにも影響を及ぼさないと結論された。

また、サル ePPND 試験の新生児では、生後 1 ヵ月間の一般状態観察、体重、機能発達及び骨格所見を含む形態発達のパラメータ、血液凝固検査、血清生化学的検査、末梢血リンパ球及び単球のイムノフェノタイピング、器官重量、剖検並びに病理組織学的検査において、サリルマブ関連の変化は認められなかった。ePPND 試験では、サル新生児は次に述べる理由から子宮内及び生後 30 日までサリルマブに曝露されたと考えられる。1）サル胎児への IgG の移行は第 2 トリメスター開始時にみられること(53)、2）胎児／新生児の IgG 濃度は母動物の IgG 濃度に近づくこと(53)(54)（本試験のサリルマブ

投与の場合に認められた）及び 3）サリルマブの半減期は長いこと。サリルマブで催奇形性の所見がみられなかったことは、IL-6 阻害に関する文献上の知見に一致するものである (50)(51)(49)(52)。およそ妊娠 20 日に投与を開始したサルの ePPND 試験における 19 回目投与後の母動物における平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ 値は、50 mg/kg/週群で 396 455 µg.h/mL であり、これは関節リウマチ患者にサリルマブを 200 mg で Q2W 皮下投与したときの AUC 曝露量の約 84 倍に相当する（[M2.4..5 項] 表 3 参照）。

先に述べたように、in vitro 薬理試験において、サリルマブはマウス IL-6Rα に結合しないことが示された。このため、適切な生化学的特性及び活性を伴ったマウス IL-6Rα に対する相同抗体（REGN844）を作製し、マウスにおける IL-6Rα 阻害の影響を検討した。マウスを用いた REGN844 の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験を実施する前に、探索的マウス 4 週間反復投与毒性試験を実施し、マウスにおける REGN844 の一般毒性学的な安全性プロファイルを評価した。この試験では、50 mg/kg/週以上の皮下投与群及び 25 mg/kg/週静脈内投与群において、用量に依存した副腎重量（絶対及び相対）の増加が認められたが、剖検及び病理組織学的検査では副腎重量増加に関連する変化はみられなかった。したがって、副腎重量の変化は毒性変化ではないと判断された。50 mg/kg/週以上の皮下投与群の雌雄では、REGN844 の皮下投与により、投与部位の表皮下における混合炎症性細胞浸潤の発現頻度及び重症度がわずかに増加した。組織損傷はみられなかったことから、この軽微から軽度の表皮下における混合炎症性細胞浸潤は毒性変化ではないと判断された。試験の結果に基づき、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の用量として 200 mg/kg/週を設定した。

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において、マウスに REGN844 の 200 mg/kg/週（100 mg/kg を 3～4 日ごとに交配前、交配中及び交尾直後まで投与）までを投与したところ、雌雄の生殖指数（交尾率、受胎率及び妊娠率）には、薬物関連の変化は認められなかった。病理組織学的検査において着床部位変性を伴う雌の発現頻度が 200 mg/kg/週で増加したが、生殖及び受胎能のパラメータに変化がみられなかったことから、この所見の毒性学的な意義は不明であった。

上記の如く、サル（サリルマブ）及びマウス（REGN844）を用いて実施したこれらの非臨床試験に基づくと、ヒトの生殖パラメータ及び催奇形性に関するリスクは低いものと考えられる。ePPND 試験では、いかなるパラメータにもサリルマブの影響はみられなかった。子宮内でサリルマブに曝露し、生後も血中にサリルマブが認められた生後 1 ヵ月の新生児において、免疫系にサリルマブ関連の形態学的変化は認められなかった。新生児の免疫系に対する影響がないことを裏付けるものとして、IL-6R に対するモノクローナル抗体を投与したマウスの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験においても、KLH に対する TDAR に生物学的意義のある変化はみられなかったことがあげられる (52)。

9 週間反復投与毒性試験において、幼若マウスに REGN844 の 200 mg/kg/週までを生後 14 日より皮下投与した。試験を通じて体重及び摂餌量の変化はみられず、感染症増加の徴候も認められなかった。

また、投与期間終了時のおよそ生後78～79日にマウスが性成熟したとき、雌雄の生殖器官にはREGN844関連の病理組織学的所見はみられなかった。投与期間及び回復期間初期のKLHによる抗原感作後に、すべての投与群の雄でIgG濃度におけるわずかな反応低下がみられたが、これらはいずれも13週間の回復期間終了時に回復が認められた。病理組織学的所見がすべての用量で投与部位及び腋下リンパ節に、60又は200 mg/kg/週で大腿骨／胸骨の骨髄に観察されたが、これらはREGN844の全身作用を示唆するものではなく、投与部位の炎症（タンパク質含有成分の投与又は投与部位の軽度の炎症に起因した自傷による二次的変化）に対する局所反応（リンパ節及び骨髄）に関連するものと考えられた。

文献では、抗体を用いて生後22～79日の幼若マウスのIL-6Rを阻害したところ、性成熟並びに免疫系及び骨格系の発達において生物学的に重要な変化は示されなかったと報告されている(55)。この試験では末梢血Tリンパ球数の減少傾向がみられたものの、抗原特異的IgG/IgM抗体の濃度は正常であったことから、これらのマウスの免疫機能は十分であることが示唆された。IL-6R阻害による幼若動物の発達への影響はないと結論された。したがって、妊娠期間の大部分（妊娠22日から自然分娩まで）にサリルマブを投与した雌ザルから生まれた新生児の生後期間に得られたデータ、及びREGN844を投与した幼若マウスのデータ、並びにIL-6Rに対する他のモノクローナル抗体で得られたデータ(52) (55)に基づくと、免疫系パラメータを含めこれらの動物の発達には毒性学的意義のある影響はないことが示唆された。

9.5　サリルマブの安全性に関するその他の事項

がん原性の評価において、サリルマブの動物を用いた毒性試験及びIL-6阻害についての文献評価で得られた科学的根拠の重要度に基づくと，サリルマブを長期投与してもがんのリスクは増加しないことが示唆された。CHMPあるいはFDAとの協議において、サリルマブのがん原性を評価するための更なる非臨床試験（及び動物を用いたがん原性試験）は必要ないことが合意された。

ヒト及びカニクイザルの組織を用いたビオチン化サリルマブによる組織交差反応性試験の結果、ヒト組織におけるビオチン化サリルマブの染色パターンは、カニクイザルの組織でみられたものと極めて類似していた。さらに、in vitro及びin vivo薬理試験のデータに基づくと、カニクイザルはサリルマブのin vivo毒性を検討するための適切な動物種であると考えられた。

サリルマブの2つの製造工程（古いS1* F1工程と新たなS4* F3工程）で得られた製剤を比較するためのサル13週間反復投与毒性試験で認められたサリルマブ関連の所見は、他の一般毒性試験でみられたものと類似しており、毒性変化ではないと判断された。100 mg/kg/週におけるS4* F3及びS1* F1の安全性プロファイルは同様であった。

＊新薬承認情報提供時に置換

非臨床毒性試験プログラムで評価した免疫系のパラメータに対するサリルマブの有害作用及び生物学的意義のある影響は認められなかった。すなわち、サルにおいて感染症の発現頻度増加はなく、リンパ系器官の病理組織学的所見はみられず、末梢血白血球イムノフェノタイピング及び血清免疫グロブリン濃度における変化は認められなかった。薬理作用に基づく好中球数の減少並びにT細胞依存性抗原感作に対する一次及び二次IgG反応のわずかな低下はみられたものの、これらの所見は上記の理由により毒性変化ではないと判断された（9.3項）。同様に9週間反復投与毒性試験において、幼若マウスにREGN844の200 mg/kg/週までを生後14日から皮下投与したところ、忍容性は良好で感染症増加のエビデンスは認められなかった。この試験でみられた変化（雄では軽度の低下はみられたが継続して認められたIgG反応並びにタンパク質含有成分の投与又は自傷に関連すると考えられる病理組織学的変化）は、いずれも毒性変化ではないと判断された。これらの変化はいずれも13週間の回復期間後には回復が認められた。したがって、REGN844によりIL-6Rを阻害しても、幼若マウスの免疫系には毒性学的意義のある変化はみられないと結論された。

カニクイザルの中枢神経系パラメータ及びサリルマブを投与した妊娠サルの出生児には、依存性及び乱用傾向を示唆するサリルマブ関連の機能的変化や病理学的所見は認められなかった。

サリルマブの市販用製剤で使用される容器及び施栓系（すべての供給業者からのガラス製針付きシリンジ､プランジャーストッパー及び針キャップ）について実施した溶出物及び浸出物試験において、安全性上の問題点は認められなかった。

9.6　全体のまとめ

サリルマブ及びREGN844を用いて実施した非臨床試験は適切なICH及び国際ガイダンスに基づくものであり、臨床試験プログラムの実施並びに販売承認申請をサポートするものでもある。サルを用いたサリルマブの毒性試験では､薬理作用を介した軽微から中等度の好中球数､フィブリノゲン濃度、CRP濃度並びに一次及び二次IgG反応の減少、及びIL-6濃度増加が認められた。これらの所見は回復により回復又は部分的な回復を示した。これらの変化はいずれも変化の程度が小さく、試験前値／対照値と比較してパラメータのばらつきがみられ、試験動物の全般的健康状態への影響が認められず、関連する病理学的所見を伴わなかったことから、毒性変化ではないと判断された。

サル（サリルマブ）の長期毒性試験及びマウス（REGN844）の短期毒性試験において、サリルマブに関連した細胞増殖亢進や腫瘍発現頻度の増加のエビデンスはみられず､IL-6/ IL-6Rα経路についての文献で得られた科学的根拠の重要度の評価において、がん原性のリスク増加は示唆されなかった。

IL-6Rα 阻害によるマウスの受胎能評価項目への有害作用はみられず、いずれの試験においてもサリルマブに関連した生殖器官の病理学的変化は認められなかった。子宮内でサリルマブに曝露し、生後 1 ヵ月後も血中にサリルマブが認められたサル ePPND 試験において、免疫系を含めた胎児の成長又は発達に対する有害作用は認められなかった。

幼若マウスに REGN844 を生後 14 日から性成熟まで投与したところ、試験を通じて体重及び摂餌量の変化はみられず、感染症増加の徴候も認められなかった。また、投与期間終了時に雌雄の生殖器官の病理組織学的所見はみられず、免疫系パラメータに軽度の変化が認められたものの、毒性学的意義はないと判断された。投与部位、腋下リンパ節及び大腿骨／胸骨骨髄にみられた病理組織学的変化は、REGN844 の全身作用によるものではなく、投与部位の炎症（タンパク質含有成分の投与又は投与部位の軽度の炎症に起因した自傷による二次的変化）に対する局所反応と考えられた。すべての所見は 13 週間の回復期間終了時に回復がみられた。したがって無毒性量は、反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験で検討した最高用量と判断された。

サルを用いた一般毒性試験の無毒性量における動物の曝露量と、臨床試験で患者にみられた曝露量との比較を、非臨床試験の概括評価に示した（[M2.4..5 項] 表 3 参照）。動物とヒトの AUC を比較したところ、5 週間、13 週間及び 26 週間反復投与毒性試験の無毒性量で得られた平均曝露量は、関節リウマチ患者にサリルマブを 200 mg で Q2W 投与したときの集団 PK 推定曝露量で得られた AUC 曝露量の約 34～80 倍であった。

参 考 文 献

1. Sato J, Doi T, Kanno T, Wako Y, Tsuchitani M, and Narama I. Histopathology of incidental findings in cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis) used in toxicity studies. J Toxicol Pathol. 2012; 25: 63-101.
2. Chamanza R, Marxfeld HA, Blanco AI, Naylor SW, and Bradley AE. Incidences and range of spontaneous findings in control cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis) used in toxicity studies. Toxicologic Pathology. 2010; 38: 642-57.
3. Drevon-Gaillot E, Perron-Lepage MF, Clement C, and Burnett, R. A review of background findings in cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis) from three different geographical origins. Experimental and Toxicologic Pathology. 2006; 58: 77-88.
4. Foster JR. Spontaneous and drug-induced hepatic pathology of the laboratory beagle dog, the cynomolgus macaque and the marmoset. Toxicologic Pathology. 2005; 33: 63-74.
5. Ito T, Chatani F, Sasaki S, Ando T, and Miyajima H. Spontaneous lesions in cynomolgus monkeys used in toxicity studies. Exp Anim. 1992; 41: 455-69.
6. Rubio CA and Hubbard GB. Chronic colitis in Macaca fascicularis: similarities with chronic colitis in humans. In Vivo. 2002;16: 191-5.
7. Holmberg CA, Leininger R, Wheeldon E, Slater D, Henrickson R, and Anderson J. Clinicopathological studies of gastrointestinal disease in macaques. Vet Pathol. 1982; 19(suppl 7): 163-70.
8. Chamanza R, Parry NMA, Rogerson P, Nicol JR, and Bradley AE. Spontaneous lesions of the cardiovascular system in purpose-bred laboratory nonhuman primates. Toxicologic Pathology. 2006; 34: 357-63.
9. International Conference on Harmonisation (ICH) Guideline: ICH guideline S6 (R1) – preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals. 16 Jul 1997. (Addendum, June 2011).
10. DeLise A. Historical control - oral fertility study in mice. 09Sep2010. Sanofi report number FER0485.
11. [redacted]historical control data in cynomolgus monkeys: Pregnancy loss, stillbirth, and infant loss. 20[redacted]1.
12. Sesbuppha W, Chantip S, Dick Jr EJ, Schlabritz-Loutsevich NE, Guardao-Mendoza R, Butler SD, et al. Stillbirths in Macaca fascicularis. J Med Primatol. 2008; 37: 169-72.
13. Hendrie TA, Peterson PE, Short JJ, Tarantal AF, Rothgarn E, Hendrie MI, et al. Frequency of Prenatal Loss in a Macaque Breeding Colony. American Journal of Primatology. 1996; 40: 41-53.
14. Kaspareit J, Friederichs-Gromoll S, and Habermann G. Spontaneous tumours observed in laboratory primates during a 20-year period (1992-2012). Poster presented at the 12th FELASA SECAL Congress, Barcelona, Spain. 10-13Jun2013.
15. Kaspareit J, Friderichs-Gromoll S, Buse E, Habermann G. Spontaneous neoplasms observed in cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis) during a 15 year period. Experimental and Toxicologic Pathology. 2007; 59: 163-69.

16. McClure HM. Neoplastic diseases in nonhuman primates: Literature review and observations in an autopsy series of 2176 animals. In The Comparative Pathology of Zoo Animals. Mantali, RS and Migaki G, Eds. Smithsonian Institution Press, Washington DC. 1980; p. 549-65.
17. Lowenstine, LJ. Chapter 53: Neoplasms and proliferative disorders in nonhuman primates. In Primates - the road to self-sustaining populations. Benirschke K editor. Springer-Verlag, New York, NY. 1986; p.781-814.
18. Squire, RA, Goodman DG, Valerio MG, Fredrickson TN, Strandurg JD, Evitt MH, et al. Chapter 12: Tumors. In Pathology of Laboratory Animals, Vol. II. Benirschke BK, Garner FM, and Jones TC Eds. Springer-Verlag, New York, NY. 1978; p. 1232-5 & Table 12.18.
19. Jones AR and Shusta EV. Blood –brain barrier transport of therapeutics via receptor-mediation. Pharm Res. 2007; 24:1759-71.
20. Tabrizi M, Bornstein GG, and Suria H. Biodistribution mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies in health and disease. AAPS J. 2010; 12: 33-43.
21. Eyles JL, Hickey MJ, Norman MU, Croker BA, Roberts AW, Drake, SF, et al. A key role for G-CSF-induced neutrophil production and trafficking during inflammatory arthritis. Blood 2008;112: 5193–201.
22. Wipke BT and Allen PM. Essential role of neutrophils in the initiation and progression of a murine model of rheumatoid arthritis. J. Immunol. 2001; 167: 1601-8.
23. Hashizume M, Higuchi Y, Uchiyama Y, and Mihara M. IL-6 plays an essential role in neutrophilia under inflammation. Cytokine 2011; 54: 92-9.
24. Schiff MH, Kremer JM, Jahreis A, Vernon E, Isaacs JD, and van Vollenhoven RF. Integrated safety in tocilizumab clinical trials. Arthritis Research & Therapy. 2011; 13: (R141.) 1-13.
25. Illei GG, Shirota Y, Yarboro CH, Daruwalla J, Tackey E, Takada K, et al. Tocilizumab in systemic lupus erythematosus - data on safety, preliminary efficacy, and impact on circulating plasma cells from an open-label phase I dosage-escalation study. Arthritis Rheum. 2010; 62: 542-52.
26. Emery P, Keystone E, Tony HP, Cantagrel A, van Vollenhoven R, Sanchez A, et al. IL-6 receptor inhibition with tocilizumab improves treatment outcomes in patients with rheumatoid arthritis refractory to anti-tumour necrosis factor biologicals: results from a 24-week multicentre randomised placebo-controlled trial. Ann Rheum Dis. 2008; 67: 1516–23.
27. Suwa T, Hogg JC, Quinlan KB, and Van Eeden SF. The effect of interleukin-6 on L-selectin levels on polymorphonuclear leukocytes. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2002; 283: H879-84.
28. Springer, TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. Cell. 1994; 76: 301–14.
29. Gibiansky L and Frey N. Linking interleukin-6 receptor blockade with tocilizumab and its hematological effects using a modeling approach. J Pharmacokinet Pharmacodyn. 2012; 39: 5-16.

30. Taga T, Narazaki M, Yasukawa K, Saito T, Miki D, Hamaguchi M, et al. Functional inhibition of hematopoietic and neurotrophic cytokines by blocking the interleukin 6 signal transducer gp130. Proc Natl Acad Sci. 1992; 89: 10998-1001.
31. Galeotti C, Boucheron A, Guillaume S, and Kone-Paut I. Sustained remission of multicentric Castleman Disease in children treated with tocilizumab, an anti-interleukin-6 receptor antibody. Mol Cancer Ther. 2012; 11: 1623-26.
32. Volanakis JE. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. Molecular Immunology. 2001; 38: 189-97.
33. Zhang D, Sun M, Samols D, and Kushner I. STAT3 participates in transcriptional activation of the C-reactive protein gene by interleukin-6. J Biol Chem. 1996; 271: 9503–9.
34. Nishikawa T, Hagihara K, Serada S, Isobe T, Matsumura A, Song J, et al. Transcriptional complex formation of c-Fos, STAT3, and hepatocyte NF-1 alpha is essential for cytokine-driven C-reactive protein gene expression. Journal of Immunology. 2008; 180: 3492–501.
35. Nishimoto N, Yoshizaki K, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with humanized anti-interleukin-6 receptor antibody: a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. Arthritis Rheum. 2004; 50: 1761–69.
36. Nishimoto N, Kanakura Y, Aozasa K, Johkoh T, Nakamura M, Nakano S, et al. Humanized anti-interleukin-6 receptor antibody treatment of multicentric Castleman disease. Blood. 2005; 106: 2627–32.
37. Nishimoto N, Terao K, Mima T, Nakahara H, Takagi N, and Kakehi T. Mechanisms and pathologic significances in increase in serum interleukin-6 (IL-6) and soluble IL-6 receptor after administration of an anti–IL-6 receptor antibody, tocilizumab, in patients with rheumatoid arthritis and Castleman disease. Blood. 2008; 112: 3959-64.
38. Uchiyama Y, Yoshida H, Koike N, Hayakawa N, Sugita A, Nishimura T, and Mihara M. Anti-IL-6 receptor antibody increases blood IL-6 level via the blockade of IL-6 clearance, but not via the induction of IL-6 production. International Immunopharmacology. 2008; 8: 1595-601.
39. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. Nature. 1986; 324:73–6.
40. Muraguchi A, Hirano T, Tang B, Matsuda T, Horii Y, Nakajima K, et al. The essential role of B cell stimulatory factor 2 (BSF-2/IL-6) for the terminal differentiation of B cells. J Exp Med. 1988; 167: 332–44.
41. Dienz O and Rincon M. The effects of IL-6 on CD4 T cell responses. Clin Immunol. 2009; 130: 27-33.
42. Zhu J and Paul WE. CD4 T cells: fates, functions, and faults. Blood. 2008; 112: 1557-69.
43. Kopf M, Herren S, Wiles MV, Pepys MB, and Kosco-Vilbois MH. Interleukin 6 influences germinal center development and antibody production via a contribution of C3 complement component. J Exp Med. 1998; 188: 1895–906.

44. Dienz O, Eaton SM, Bond JP, Neveu W, Moquin D, Noubade R, et al. The induction of antibody production by IL-6 is indirectly mediated by IL-21 produced by CD4 T cells. J Exp Med. 2009; 206: 69–78.
45. Roll P, Muhammad K, Schumann M, Kleinert S, Einsele H, Dorner T, and Tony H-P. In vivo effects of the anti-interleukin-6 receptor inhibitor tocilizumab on the B cell compartment. Arthritis & Rheumatism. 2011; 63: 1255-64.
46. Shirota Y, Yarboro C, Fischer R, Pham T-H, Lipsky P, and Illei GG. Impact of anti-interleuin-6 receptor blockade on circulating T and B cell subsets in patients with systemic lupus erythematosus. Ann Rheum Dis. 2013; 72: 118-28.
47. Lee FD. The role of interleukin-6 in development. Dev Biol. 1992; 151: 331-38.
48. Rothstein JL, Johnson D, DeLoia JA, Skowronski J, Solter D, and Knowles B. Gene expression during preimplantation mouse development. Genes Dev. 1992; 6: 1190-201.
49. Poli V and Maritano D. Chapter 13: IL-6 Knockout Mice. In Contemporary Immunology: Cytokine Knockouts, 2nd ed. Fantuzzi G. editor. Humana Press, Inc. Totowa, NJ. 2003; p. 213-35.
50. Kopf M, Baumann H, Freer G, Freudenberg M, Lamers M, Kishimoto T, et al. Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice. Nature. 1994; 368: 339-42.
51. Poli V, Balena R, Fattori E, Markatos A, Yamamoto M, Tanaka H, et al. Interleukin-6 deficient mice are protected from bone loss caused by estrogen depletion. EMBO J. 1994; 13: 1189–96.
52. Sakurai T, Takai R, Burgin H, Ishihara K, Sakamoto Y, Amano J, et al. The effects of interleukin-6 signal blockade on fertility, embryo-fetal development, and immunization in vivo. Birth Defects Res (Part B). 2012; 95: 304–17.
53. Pentšuk N and van der Laan JW. An interspecies comparison of placental antibody transfer: new insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies. Birth Defects Research (Part B). 2009; 86: 328–44.
54. Coe CL, Lubach GR, and Izard KM. Progressive improvement in the transfer of maternal antibody across the order primates. Am J Primatol. 1994; 32: 51-5.
55. Sakurai T, Takai R, Burgin H, Shioda A, Sakamoto Y, Amano J, et al. The effects of interleukin-6 signal blockade on immune system, reproductive and skeletal development in juvenile mice. Birth Defects Research (Part B). 2013; 98: 170-82.

サリルマブ（遺伝子組換え）

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.7 毒性試験概要表

Total number of pages: 81

目　　次

1　毒性試験一覧表 4
2　トキシコキネティクス試験の一覧表 7
3　トキシコキネティクス試験成績の一覧 9
4　毒性試験使用ロット 26
5　単回投与毒性試験 28
6　反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験 29
7　反復投与毒性試験 31
8　In vitro 遺伝毒性試験 55
9　In vivo 遺伝毒性試験 55
10　がん原性試験 55
11　生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験 55
12　生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 56
13　生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験 62
14　生殖発生毒性試験－出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 63
15　新生児を用いた試験 67
16　局所刺激性試験 74
17　その他の毒性試験 75

表　目　次

表 2.6.7.1 - Toxicology tabulated summary - overview - study program 4
表 2.6.7.2 - Overview of toxicokinetics studies 7
表 2.6.7.3 A - Overview of toxicokinetics Data (AUC) 9
表 2.6.7.3 B - Overview of toxicokinetics Data (AUC) across species 16
表 2.6.7.3 C - Overview of toxicokinetics Data (C_{trough}) 17
表 2.6.7.4 - Toxicology drug substance/drug product 26
表 2.6.7.6 A - Repeat-Dose Toxicity - Nonpivotal Studies – 4-week IV and SC mouse study 29
表 2.6.7.6 B - Repeat-Dose Toxicity - Nonpivotal Studies – 4-week IV and SC monkey study 30
表 2.6.7.7 A - Repeat-Dose Toxicity - 5-week IV monkey study with a 9-week recovery 32
表 2.6.7.7 B - Repeat-Dose Toxicity – 13-week IV monkey study with an 8-week recovery 36
表 2.6.7.7 C - Repeat-Dose Toxicity – 13-week SC monkey study with a 12-week recovery 43
表 2.6.7.7 D - Repeat-Dose Toxicity – 26-week IV monkey study with a 12-week recovery 48
表 2.6.7.12 A - Reproductive and Developmental Toxicity – Fertility and Embrionic development to implantation 56
表 2.6.7.14 - Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Pre- and Post-natal development, including maternal function 64
表 2.6.7.15 A - Study in juvenile animals – 4-week exploratory SC mouse study 68
表 2.6.7.15 B - Study in juvenile animals – 9-week SC mouse study with a 13-week recovery 69
表 2.6.7.17 A - Other Toxicity Studies – Tissue cross-reactivity study 75
表 2.6.7.17 B - Other Toxicity Studies – 13-week SC comparability monkey study 76

1　毒性試験一覧表

表 2.6.7.1 - Toxicology tabulated summary - overview - study program

Test Article: Sarilumab or REGN844 [a]

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses & mAb [b] (mg/kg/week)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity – not applicable							
Repeat-Dose Toxicity							
Mouse (CD1(ICR))	IV and SC	4 weeks	IV: 25 SC: 0, 10, 50 or 200 (0, 5, 25, or 100 administered 2x weekly) REGN844	No	sanofi-aventis U.S. Inc., Malvern, PA, USA	[DIV1267] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.2-1 4.2.3.2-7
Monkey (cynomolgus)	IV and SC	4 weeks	IV: 10 SC: 20 (10 mg/kg administered 2x weekly) sarilumab	No	[redacted], USA	[IL6R-TX-06029] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.2-2 4.2.3.2-7
Monkey (cynomolgus)	IV	5 weeks	0, 5, 10, 40 sarilumab	Yes	[redacted], USA	[REGN88-TX-06040] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.2-3 4.2.3.2-7
Monkey (cynomolgus)	IV	13 weeks	0, 1, 10, 50 sarilumab	Yes	[redacted], USA	[REGN88-TX-06037] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.2-4 4.2.3.2-7
Monkey (cynomolgus)	SC	13 weeks	0, 2, 10, 30, 100 (0, 1, 5, 15, 50 administered 2x weekly) sarilumab	Yes	[redacted], USA	[REGN88-TX-06038] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.2-5 4.2.3.2-7
Monkey (cynomolgus)	IV	6 month	0, 0.5, 5, 15, 50 sarilumab	Yes	[redacted], USA	[REGN88-TX-08031] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.2-6 4.2.3.2-7
Genotoxicity – not applicable							

Abbreviations: IV: intravenous; SC: subcutaneous; mAb: monoclonal antibody

[a] REGN844, a murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-6Rα

[b] Unless otherwise specified, for repeat-dose toxicity studies, the highest NOAEL (no-observed-adverse-effect-level) is underlined

NOTE: Doses were administered once weekly unless noted otherwise.

表 2.6.7.1 - Toxicology tabulated summary - overview - study program (continued)

Test Article: Sarilumab or REGN844 [a]

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses & mAb [b] (mg/kg/week)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Carcinogenicity - not applicable							
Fertility and Early Embryonic Development							
Mouse (CD-1(ICR))	SC	M: 7.5 weeks F: 4 weeks	0, 20, 50, 200 (0, 10, 25, 100 administered 2x weekly) REGN844	Yes	sanofi-aventis U.S. Inc., Bridgewater, NJ, USA	[FER0480]	4.2.3.5.1-1
Embryo-Fetal Development - not applicable							
Pre- and Post-Natal Development, Including Maternal Function							
Monkey (cynomolgus)	IV	From GD 20 to natural delivery (approximately GD165)	0, 5, 15, 50 sarilumab	Yes	[redacted], USA	[REGN88-TX-08030] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.5.3-1 4.2.3.2-7
Juvenile Toxicity							
Mouse (CD-1(ICR))	SC	4 weeks	0, 50, 200 (single weekly doses of 0, 50, 200 or twice weekly at 25 and 100) REGN844	No	[redacted], UK	[JUP0016] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.5.4-1 4.2.3.2-7
Mouse (CD-1(ICR))	SC	9 weeks	0, 20, 60, 200 REGN844	Yes	[redacted], UK	[JUV0030]	4.2.3.5.4-2

Abbreviations: IV: intravenous; SC: subcutaneous; mAb: monoclonal antibody

[a] REGN844, a murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-6Rα

[b] Unless otherwise specified, for repeat-dose toxicity studies, the highest NOAEL (no-observed-adverse-effect-level) is underlined

NOTE: Doses were administered once weekly unless noted otherwise.

表 2.6.7.1 - Toxicology tabulated summary - overview - study program (continued)

Test Article: Sarilumab or REGN844 [a]

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses & mAb [b] (mg/kg/week)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Local Tolerance - not applicable							
Other Toxicity Studies							
Monkey (cynomolgus) and normal human tissues	in vitro	NA	0.5 µg/mL and 20 µg/mL biotinylated sarilumab	Yes	[redacted] USA	[REGN88-TX-06036]	4.2.3.7.7-1
Monkey (cynomolgus)	SC	13 weeks	0, 10, 100, 100 [c] (0, 5 , 50, 50 administered twice weekly) sarilumab	Yes	[redacted] USA	[REGN88-TX-09053] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.7.7-2 4.2.3.2-7

Abbreviations: SC: subcutaneous; NA: not applicable; mAb: monoclonal antibody

[a] REGN844, a murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-6Rα

[b] Unless otherwise specified, for repeat-dose toxicity studies, the highest NOAEL (no-observed-adverse-effect-level) is underlined.

[c] the test article was derived from 2 different cell lines, manufacturing processes, and used different formulations. These are described as P1 (original process using cell line 1 and formulation 1 [S1* F1]) and P3 (newer process using cell line 2 and formulation 3 [S4* F3]). Dosage levels were 10 mg/kg/week of sarilumab using the [redacted] process, 100 mg/kg/week using the [redacted] process, and 100 mg/kg/week using the [redacted] process. The control group received the [redacted] vehicle. Doses were administered as 5, 50 and 50 mg/kg twice weekly.

NOTE: Doses were administered once weekly unless noted otherwise.

＊新薬承認情報提供時に置換

2　トキシコキネティクス試験の一覧表

表 2.6.7.2 - Overview of toxicokinetics studies

Test Article: Sarilumab or REGN844 [a]

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses & mAb (mg/kg/week)	GLP Compliance	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity – not applicable						
Repeat-Dose Toxicity						
4-week study [b]	Mouse	IV and SC	IV: 25 SC: 0, 10, 50 or 200 (0, 5, 25, or 100 administered 2x weekly) REGN844	No	[DIV1267] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.2-1 4.2.3.2-7
4-week study [b]	Monkey	IV and SC	IV: 10 SC: 20 (10 administered 2x weekly) sarilumab	No	[IL6R-TX-06029] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.2-2 4.2.3.2-7
5-week study	Monkey	IV	0, 5, 10, 40 sarilumab	Yes	[REGN88-TX-06040] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.2-3 4.2.3.2-7
13-week study	Monkey	IV	0, 1, 10, 50 sarilumab	Yes	[REGN88-TX-06037] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.2-4 4.2.3.2-7
13-week study [b]	Monkey	SC	0, 2, 10, 30, 100 (0, 1, 5, 15, 50 administered 2x weekly) sarilumab	Yes	[REGN88-TX-06038] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.2-5 4.2.3.2-7
26-week study	Monkey	IV	0, 0.5, 5, 15, 50 sarilumab	Yes	[REGN88-TX-08031] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.2-6 4.2.3.2-7
Genotoxicity – not applicable						
Carcinogenicity – not applicable						

Abbreviations: IV: intravenous; SC: subcutaneous; mAb: monoclonal antibody

[a] REGN844, a murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-6Rα , [b] C_{trough} calculated for SC-dosed animals is presented in Section 3 (Table 2.6.7.3 C).

NOTE: Doses were administered once weekly unless noted otherwise

表 2.6.7.2 - Overview of toxicokinetics studies (continued)

Test Article: Sarilumab or REGN844 [a]

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses & mAb (mg/kg/week)	GLP Compliance	Study Number	Location
Reproductive and Developmental Toxicity						
Fertility [b]	Mouse	SC	0, 20, 50, 200 (0, 10, 25, 100 administered twice weekly) REGN844	Yes	[FER0480]	4.2.3.5.1-1
Pre- and post-natal Development	Monkey	IV	0, 5, 15, 50 sarilumab	Yes	[REGN88-TX-08030] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.5.3-1 4.2.3.2-7
Juvenile Toxicity						
4-week study [b]	Mouse	SC	0, 50, 200 (as single weekly doses of 0, 50 and 200 or twice weekly at 25 and 100) REGN844	No	[JUP0016] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.5.4-1 4.2.3.2-7
9-week study [b]	Mouse	SC	0, 20, 60, 200 REGN844	Yes	[JUV0030]	4.2.3.5.4-2
Local Tolerance - not applicable						
Other Toxicity Studies						
13-week study [b]	Monkey	SC	0, 10, 100, 100 [c] (0, 5 , 50, 50 administered twice weekly) sarilumab	Yes	[REGN88-TX-09053] [REGN88-MX-14095]	4.3.2.7.7-1 4.2.3.2-7

Abbreviations: IV: intravenous; SC: subcutaneous; mAb: monoclonal antibody

[a] REGN844, a murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-6Rα

[b] C_{trough} calculated for SC-dosed animals is presented in Section 3 (Table 2.6.7.3 C).

[c] the test article was derived from 2 different cell lines, manufacturing processes, and used different formulations. These are described as P1 (original process using cell line 1 and formulation 1 [S1* F1]) and P3 (newer process using cell line 2 and formulation 3 [S4* F3]). Dosage levels were 10 mg/kg/week of sarilumab using the [redacted] process, 100 mg/kg/week using the [redacted] process, and 100 mg/kg/week using the [redacted] process. The control group received the [redacted] vehicle. Doses were administered as 5, 50 and 50 mg/kg twice weekly.

NOTE: Doses were administered once weekly unless noted otherwise.

＊新薬承認情報提供時に置換

3　トキシコキネティクス試験成績の一覧

表 2.6.7.3 A - Overview of toxicokinetics Data (AUC)

Test Article: REGN844 [a]

Species/ Strain [Study No.]	Mouse/Crl:CD1(ICR) [b] [DIV1267], [REGN88-MX-14095]				Mouse/CD-1(ICR) [c] [FER0480]		Mouse/CD-1(ICR) [d] [JUP0016], [REGN88-MX-14095]				Mouse/Crl:CD1(ICR) [e] [JUV0030]	
Dose (mg/kg/week)	Day 1 (Dose 1)		Day 22 (Dose 4) (IV) Day 25 (Dose 8) (SC)		2 to 3 h after last dose	GD14 (7 days after last dose)	PND14 (Dose 1)		PND35 (Dose 4 - IV) (Dose 7 – SC)		PND70 (Dose 9)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
10 (5 x2 SC) [f]	915	1010	3470	1690	-	-	-	-	-	-	-	-
20 (SC)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	44 000	36 400
20 (10 x2 SC) [f]	-	-	-	-	_ [c]	_ [c]	-	-	-	-	-	-
25 (IV)	9830	10 500	26 300	23 100	-	-	-	-	-	-	-	-
50 (25 x2 IV) [f]	-	-	-	-	_ [c]	_ [c]	-	-	-	-	-	-
50 (SC)	-	-	-	-	-	-	33 200	28 200	57 200	61 000	-	-
50 (25 x 2 SC) [f]	7650	8680	48 900	38 400	-	-	26 900	21 800	52 200	62 600	-	-
60 (SC)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	167 000	146 000
200 (100 x2 IV) [f]	-	-	-	-	_ [c]	_ [c]	-	-	-	-	-	-
200 (SC)	-	-	-	-	-	-	102 000	106 000	260 000	311 000	381 000	382 000
200 (100 x2 SC)[f]	32 600	36 100	154 000	142 000	-	-	123 000	115 000	295 000	270 000	-	-

Abbreviations: M: male; F: female; AUC: area under the time-concentration curve; IV: intravenous; SC: subcutaneous; -: not evaluated in this study; BLQ: below the limit of quantitation; GD: gestation day; PND: post-natal day

[a] REGN844, a murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-6Rα, [b] $AUC_{0\text{-}72h}$ (µg.h/mL); N=3

[c] Only serum concentration (µg/mL) were reported for this study. At 2 to 3 hours after last dose, mean concentrations (N=10) were 184, 600, and 2187 µg/mL at 10, 25, and 100 mg/kg/week, respectively. At 7 days after the last dose (GD14), mean serum concentrations (N=21-23) were BLQ, 9.16, and 60.6 (excluding apparent outlier) µg/mL at 10, 25, and 100 mg/kg/week, respectively.

[d] $AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL); N= 9/group/timepoint (PND14) and N=3/group/timepoint (PND35), [e] $AUC_{0\text{-}T}$ (µg.h/mL); N= 2 or 3/sex/group/timepoint, [f] Doses were administered twice weekly

NOTE: Doses were administered once weekly unless noted otherwise.

表 2.6.7.3 A - Overview of toxicokinetics Data (AUC) (continued)

Test Article: Sarilumab

Species/ Strain [Study No.]	Monkey/cynomolgus [a] [IL6R-TX-06029], [REGN88-MX-14095]							
Dose (mg/kg/week)	Day 1 (Dose 1)		Day 8 (Dose 3)		Day 15 (Dose 5)		Day 22 (Dose 7)	
	M	F	M	F	M	F	M	F
10 (IV)	26 200	27 800	40 300	43 900	60 000	46 900	32 500	46 600
20 (SC) [b]	7650	6920	19 400	20 900	26 100	21 700	28 600	30 100

Abbreviations: M: male; F: female; AUC: area under the time-concentration curve; IV: intravenous; SC: subcutaneous; -: not evaluated in this study

[a] $AUC_{0\text{-}72h}$ (µg.h/mL) for SC Dose 1; $AUC_{24\text{-}72h}$ (µg.h/mL) for SC Doses 3, 5, and 7; $AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL) for IV Doses 1 to 7; N=1 or 2

[b] Administered as 10 mg/kg twice weekly

NOTE: Doses were administered once weekly unless noted otherwise

表 2.6.7.3 A - Overview of toxicokinetics Data (AUC) (continued)

Test Article: Sarilumab

Species/ Strain [Study No.]	Monkey/cynomolgus [a] [REGN88-TX-06040], [REGN88-MX-14095]									
Dose (mg/kg/week)	Day 1 (Dose 1)		Day 8 (Dose 2)		Day 15 (Dose 3)		Day 22 (Dose 4)		Day 29 (Dose 5)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
5 (IV)	8420	9020	13 300	11 900	15 700	11 900	18 400	12 200	20 000	13 600
10 (IV)	20 000	20 800	26 000	26 100	21 000	27 100	23 700	27 000	24 900	31 200
40 (IV)	72 600	77 700	96 100	117 000	131 000	154 000	149 000	173 000	150 000	169 000

Abbreviations: M: male; F: female; AUC: area under the time-concentration curve; IV: intravenous

[a] $AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL); N=5

NOTE: Doses were administered once weekly

表 2.6.7.3 A - Overview of toxicokinetics Data (AUC) (continued)

Test Article: Sarilumab

Species/ Strain [Study No.]	Monkey/cynomolgus [a] [REGN88-TX-06037], [REGN88-MX-14095]													
Dose (mg/kg/week)	Day 0 [b] (Dose 1)		Day 7 (Dose 2)		Day 14 (Dose 3)		Day 21 (Dose 4)		Day 28 (Dose 5)		Day 35 (Dose 6)		Day 42 (Dose 7)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
1 (IV)	1347	1622	1374	1640	684	438	446	334	362	284	435	269	146	379
10 (IV)	20 833	23 521	29 745	33 607	33 412	39 706	34 103	46 452	40 024	53 187	38 038	51 909	40 645	53 369
50 (IV)	112 736	114 978	178 325	201 047	214 000	259 608	220 224	288 861	205 021	247 834	273 298	338 148	264 275	340 414

Dose (mg/kg/week)	Day 49 (Dose 8)		Day 56 (Dose 9)		Day 63 (Dose 10)		Day 70 (Dose 11)		Day 77 (Dose 12)		Day 84 (Dose 13)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
1 (IV)	270	341	307	341	293	336	343	240	255	405	393	384
10 (IV)	41 666	58 413	52 799	62 692	46 794	57 748	45 237	59 535	50 740	64 770	56 448	66 652
50 (IV)	281 564	360 013	256 973	245 964	238 553	320 117	295 637	418 929	306 790	389 111	263 856	252 770

Abbreviations: M: male; F: female; AUC: area under the time-concentration curve; IV: intravenous

[a] $AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL); N=6

[b] Day 0 equals the first day of dosing

NOTE: Doses were administered once weekly

表 2.6.7.3 A - Overview of toxicokinetics Data (AUC) (continued)

Test Article: Sarilumab

Species/ Strain [Study No.]	Monkey/cynomolgus [a] [REGN88-TX-08031], [REGN88-MX-14095]									
Dose (mg/kg/week)	Day 0 [b] (Dose 1)		Day 7 (Dose 2)		Day 14 (Dose 3)		Day 21 (Dose 4)		Day 49 (Dose 8)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
0.5 (IV)	662	626	730	721	498	392	272	176	167	75.0
5 (IV)	13 026	11 144	15 888	15 944	13 299	18 247	12 957	21 958	13 074	27 379
15 (IV)	33 213	32 324	56 097	49 272	59 677	61 516	70 522	74 433	90 207	86 012
50 (IV)	122 907	145 587	191 531	195 781	235 261	268 267	281 110	294 658	339 369	353 578

Dose (mg/kg/week)	Day 77 (Dose 12)		Day 112 (Dose 17)		Day 140 (Dose 21)		Day 168 (Dose 25)	
	M	F	M	F	M	F	M	F
0.5 (IV)	172	49.7	172	49.7	259	37.8	338	33.1
5 (IV)	13 142	24 868	13 142	24 868	13 581	29 962	14 685	31 098
15 (IV)	84 210	83 983	84 210	83 983	106 226	72 903	109 469	71 272
50 (IV)	318 124	368 043	318 124	368 043	343 358	387 392	371 194	390 886

Abbreviations: M: male; F: female; AUC: area under the time-concentration curve; IV: intravenous

[a] $AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL); N=7 to 12

[b] Day 0 equals the first day of dosing

NOTE: Doses were administered once weekly unless noted otherwise.

表 2.6.7.3 A - Overview of toxicokinetics Data (AUC) (continued)

Test Article: Sarilumab

Species/ Strain [Study No.]	Monkey / cynomolgus [a] [REGN88-TX-08030], [REGN88-MX-14095]			
Dose (mg/kg/week)	GD20 (Dose 1)	GD41 (Dose 4)	GD97 (Dose 12)	GD146 (Dose 19)
	F	F	F	F
5 (IV)	14 750	22 885	35 554	37 260
15 (IV)	42 491	81 588	110 616	124 845
50 (IV)	141 864	287 524	354 389	396 455

Abbreviations: F: female; AUC: area under the time-concentration curve; IV: intravenous; GD: gestation day

[a] $AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL); N=7 to 12

NOTE: Doses were administered once weekly unless noted otherwise.

表 2.6.7.3 A - Overview of toxicokinetics Data (AUC) (continued)

Test Article: Sarilumab

Species/ Strain [Study No.]	Monkey/cynomolgus [a] [REGN88-TX-09053], [REGN88-MX-14095]									
Dose (mg/kg/week)	Week 0 [b] (Dose 2)		Week 1 (Dose 4)		Week 2 (Dose 6)		Week 3 (Dose 8)		Week 5 (Dose 12)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
10 (SC) [c d]	1498	1711	3554	3345	3424	4470	4055	5454	5334	6828
100 (SC) [c d]	15 078	15 168	31 830	31 950	40 710	40 950	46 470	49 350	51 750	60 750
100 (SC) [c e]	20 511	17 154	44 580	35 220	43 350	46 980	60 870	59 100	69 060	71 310

Dose (mg/kg/week)	Week 7 (Dose 16)		Week 9 (Dose 20)		Week 11 (Dose 24)	
	M	F	M	F	M	F
10 (SC) [c d]	7176	7185	6914	7797	5904	7533
100 (SC) [c d]	59 760	67 770	61 200	72 540	59 100	75 000
100 (SC) [c e]	70 650	78 870	72 810	81 930	74 640	75 990

Abbreviations: M: male; F: female; AUC: area under the time-concentration curve; SC: subcutaneous injection

[a] $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg.h/mL); N=4; calculations were made using the blood samples collected at approximately 24 hours after the second weekly dose

[b] Week 0 equals the first week of dosing

[c] doses of 5 or 50 were administered twice weekly

[d] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] (S4* F3)

[e] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] (S1* F1)

＊新薬承認情報提供時に置換

表 2.6.7.3 B - Overview of toxicokinetics Data (AUC) across species

Test Article: Sarilumab

Species/ Strain (Study No.)	Monkey/ cynomolgus [a] [REGN88-TX-06040], [REGN88-MX-14095]				Monkey/cynomolgus [a] [REGN88-TX-06037], [REGN88-MX-14095]				Monkey/cynomolgus [a] [REGN88-TX-08031], [REGN88-MX-14095]				Monkey / cynomolgus [a] [REGN88-TX-08030], [REGN88-MX-14095]	
Dose (mg/kg/week)	Day 1 (Dose 1) [b]		Day 29 (Dose 5) [b]		Day 0 (Dose 1) [cd]		Day 84 (Dose 13) [c]		Day 0 (Dose 1) [cd]		Day 168 (Dose 25) [c]		GD20 (Dose 1) [e]	GD146 (Dose 19) [e]
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
0.5 (IV)	-	-	-	-	-	-	-	-	662	626	338	33.1	-	-
1 (IV)	-	-	-	-	1347	1622	393	384	-	-	-	-	-	-
5 (IV)	8420	9020	20 000	13 600	-	-	-	-	13 026	11 144	14 685	31 098	14 750	37 260
10 (IV)	20 000	20 800	24 900	31 200	20 833	23 521	56 448	66 652	-	-	-	-	-	-
15 (IV)	-	-	-	-	-	-	-	-	33 213	32 324	109 469	71 272	42 491	124 845
40 (IV)	72 600	77 700	150 000	169 000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50 (IV)	-	-	-	-	112 736	114 978	263 856	252 770	122 907	145 587	371 194	390 886	141 864	396 455

	Human
Dose (mg Q2W)	Population PK Data [f]
150 (SC)	5040
200 (SC)	9504

Abbreviations: M: male; F: female; AUC: area under the concentration-time curve; IV: intravenous; GD: gestation day

[a] For purposes of comparison across species, data from the 5-week, 13-week, 26-week, and ePPND IV toxicology studies (first and last timepoints) are presented here. Data collected from all timepoints for these studies are presented earlier in this Section 3.

[b] $AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL); N=5 [c] $AUC_{0\text{-}168h}$ µg.h/mL; N=6 [d] Day 0 equals the first day of dosing [e] $AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL); N=7 to 12

[f] Rheumatoid arthritis patient Population PK values for predicted AUC0-τ (0-14 days) following SC administration of 150 mg Q2W and 200 mg Q2W are 210 and 396 mg.day/L, respective

2.7.2 Summary of Clinical Pharmacology Studies [M2.7.2.3.1]). Values are presented as µg.h/mL; conversion to µg.h/mL = mg.day/L X 24

表 2.6.7.3 C - Overview of toxicokinetics Data (C_{trough})

Test Article: REGN844 [a]

Species/ Strain [Study No.]	Mouse/Crl:CD1(ICR) [b] [DIV1267], [REGN88-MX-14095]						Mouse/CD-1(ICR) [c] [JUP0016], [REGN88-MX-14095]			
Dose (mg/kg/week)	Day 1 (Dose 1)		Day 22 (Dose 4) (IV)		Day 25 (Dose 8) (SC)		PND14 (Dose 1)		PND35 (Dose 4 - IV) (Dose 7 – SC)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
10 (SC) [d]	9.90	8.59	-	-	44.4	17.3	-	-	-	-
25 (IV)	83.4	70.0	273	204	-	-	-	-	-	-
50 (SC)	-	-	-	-	-	-	82.5	58.2	322	316
50 (SC) [e]	106	126	-	-	541	468	83.2	99.8	299	328
200 (SC)	-	-	-	-	-	-	436	311	1250	1360
200 (SC) [f]	601	658	2149	1960	-	-	491	524	1900	2190

Abbreviations: M: male; F: female; IV: intravenous; SC: subcutaneous; C_{trough}: observed minimum concentration in serum after a dose during interval

[a] REGN844, a murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-6Rα

[b] C_{trough} (µg/mL); N=3; In the SC groups, C_{trough} values correspond to trough concentrations at 72h following dose administration. In the IV group, C_{trough} values correspond to trough concentration at 168h following dose administration.

[c] C_{trough} (µg/mL); N=9 (PND14) or N=3 (PND35); C_{trough} values correspond to trough concentration at 168h following dose administration

[d] Administered as 5 mg/kg twice weekly

[e] Administered as 25 mg/kg twice weekly

[f] Administered as 100 mg/kg twice weekly

NOTE: Doses were administered once weekly unless noted otherwise.

表 2.6.7.3 C - Overview of toxicokinetics Data (C_{trough}) (continued)

Test Article: REGN844 [a]

Species/ Strain [Study No.]	Mouse/CD-1(ICR) [b] [JUV0030]					
Dose (mg/kg/week)	PND42 (Dose 5)		PND63 (Dose 8)		PND70 (Dose 9)	
	M	F	M	F	M	F
20 (SC)	103	62.4	187	110	214	163
60 (SC)	170	416	675	536	881	826
200 (SC)	1560	1190	2270	1980	2140	1750

Abbreviations: M: male; F: female; SC: subcutaneous; C_{trough}: observed minimum concentration in serum after a dose during interval; PND: post-natal day

[a] REGN844, a murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-6Rα

[b] C_{trough} (µg/mL); N=2or 3/sex/timepoint; C_{trough} values correspond to trough concentration at 168h following dose administration.

NOTE: Doses were administered once weekly.

表 2.6.7.3 C - Overview of toxicokinetics Data (C_{trough}) (continued)

Test Article: Sarilumab

Species/ Strain [Study No.]	Monkey/cynomolgus [a] [IL6R-TX-06029], [REGN88-MX-14095]							
Dose (mg/kg/week)	Day 1 (Dose 1)		Day 8 (Dose 3)		Day 15 (Dose 5)		Day 22 (Dose 7)	
	M	F	M	F	M	F	M	F
10 (IV)	102	104	167	164	260	166	401	254
20 (SC) [b]	91.7	109	284	301	388	341	438	464

Abbreviations: M: male; F: female; IV: intravenous; SC: subcutaneous

[a] C_{trough}: observed minimum concentration in serum after a dose during interval; N=1 or 2

[b] Administered as 10 mg/kg twice weekly

NOTE: Doses were administered once weekly unless noted otherwise.

表 2.6.7.3 C - Overview of toxicokinetics Data (C_{trough}) (continued)

Test Article: Sarilumab

Species/ Strain [Study No.]	Monkey/cynomolgus [a] [REGN88-TX-06040], [REGN88-MX-14095]									
Dose (mg/kg/week)	Day 1 (Dose 1)		Day 8 (Dose 2)		Day 15 (Dose 3)		Day 22 (Dose 4)		Day 29 (Dose 5)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
5 (IV)	25.4	28.7	47.1	38.7	57.9	40.8	72.7	48.2	87.7	56.8
10 (IV)	65.5	73.6	82.3	83.5	74.1	93.4	98.8	109	113	130
40 (IV)	200	127	233	520	466	689	530	670	475	533

Abbreviations: M: male; F: female; C_{trough}: observed minimum concentration in serum after a dose during interval; IV: intravenous

[a] C_{trough} (µg/mL); N=5

NOTE: Doses were administered once weekly

表 2.6.7.3 C - Overview of toxicokinetics Data (C_{trough}) (continued)

Test Article: Sarilumab

Species/ Strain [Study No.]	Monkey/cynomolgus [a] [REGN88-TX-06037], [REGN88-MX-14095]													
Dose (mg/kg/week)	Day 0 [b] (Dose 1)		Day 7 (Dose 2)		Day 14 (Dose 3)		Day 21 (Dose 4)		Day 28 (Dose 5)		Day 35 (Dose 6)		Day 42 (Dose 7)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
1 (IV)	0.436	0.398	0.228	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
10 (IV)	66.4	93.6	104	124	119	166	128	196	159	221	153	221	158	242
50 (IV)	421	453	730	806	822	1260	860	1090	1010	1230	1240	1500	1140	1600

Dose (mg/kg/week)	Day 49 (Dose 8)		Day 56 (Dose 9)		Day 63 (Dose 10)		Day 70 (Dose 11)		Day 77 Dose 12)		Day 84 (Dose 13)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
1 (IV)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
10 (IV)	166	275	208	245	183	276	195	268	238	307	240	281
50 (IV)	1130	1550	942	1150	1300	1600	1350	1950	1330	1620	1040	1280

Abbreviations: M: male; F: female; C_{trough}: observed minimum concentration in serum after a dose during interval; IV: intravenous; BLQ: below the limit of quantitation (0.157 µg/mL)

[a] C_{trough} (µg/mL); N=6

[b] Day 0 equals the first day of dosing

NOTE: Doses were administered once weekly

表 2.6.7.3 C - Overview of toxicokinetics Data (C_{trough}) (continued)

Test Article: Sarilumab

Species/ Strain [Study No.]	Monkey/cynomolgus [a] [REGN88-TX-06038], [REGN88-MX-14095]															
Dose (mg/kg/week)	Week 0 [b] (Dose 1)		Week 1 (Dose 3)		Week 2 (Dose 5)		Week 3 (Dose 7)		Week 5 (Dose 11)		Week 7 (Dose 15)		Week 9 (Dose 19)		Week 11 (Dose 23)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
2 (SC)	4.02	3.85	8.30	9.98	3.77	5.08	2.32	3.13	1.23	0.444	1.05	BLQ	1.23	BLQ	1.80	BLQ
10 (SC)	33.7	30.5	87.8	66.8	80.4	66.5	114	75.1	142	85.3	195	97.7	183	99.0	204	95.4
30 (SC)	137	120	303	302	488	362	550	454	774	465	676	549	823	578	963	711
100 (SC)	410	360	986	1090	1360	1270	1560	1540	2170	1800	2110	2350	2290	2400	2560	2360

Abbreviations: M: male; F: female; SC: subcutaneous injection; AUC: area under the time-concentration curve; BLQ: below the limit of quantitation (0.157 µg/mL), C_{max}: observed maximum concentration

[a] C_{trough} (µg/mL) values correspond to the trough concentrations at 96h following first biweekly dose; sampling time was at 24h of each week, AUC and C_{max} were not calculated for this study; N=6

[b] Week 0 equals the first week of dosing

Note: Doses of 1, 5, 15, 50 mg/kg were administered twice weekly.

表 2.6.7.3 C - Overview of toxicokinetics Data (C_{trough}) (continued)

Test Article: Sarilumab

Species/ Strain [Study No.]	Monkey/cynomolgus [a] [REGN88-TX-08031], [REGN88-MX-14095]									
Dose (mg/kg/week)	Day 0 [b] (Dose 1)		Day 7 (Dose 2)		Day 14 (Dose 3)		Day 21 (Dose 4)		Day 49 (Dose 8)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
0.5 (IV)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
5 (IV)	39.3	33.3	37.9	56.9	37.6	69.3	42.2	87.7	50.0	113
15 (IV)	129	117	237	209	226	238	340	342	405	372
50 (IV)	468	774	806	849	1060	1250	1260	1340	1570	1690

Dose (mg/kg/week)	Day 77 (Dose 12)		Day 112 (Dose 17)		Day 140 (Dose 21)		Day 168 (Dose 25)	
	M	F	M	F	M	F	M	F
0.5 (IV)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
5 (IV)	47.6	102	56.8	119	57.8	136	58.3	145
15 (IV)	358	387	467	313	485	336	495	325
50 (IV)	4880	1650	1550	1750	1610	1870	1670	1890

Abbreviations: M: male; F: female; C_{trough}: observed minimum concentration in serum after a dose during interval; IV: intravenous; BLQ: below the limit of quantitation (0.157 µg/mL)

[a] C_{trough} (µg/mL); N=6

[b] Day 0 equals the first day of dosing

NOTE: Doses were administered once weekly

表 2.6.7.3 C - Overview of toxicokinetics Data (C_{trough}) (continued)

Test Article: Sarilumab

Species/ Strain [Study No.]	Monkey/cynomolgus [a] [REGN88-TX-08030], [REGN88-MX-14095]			
Dose (mg/kg/week)	**GD20 (Dose 1)**	**GD41 (Dose 4)**	**GD97 (Dose 12)**	**GD146 (Dose 19)**
	F	**F**	**F**	**F**
5 (IV)	49.1	81.4 (N=9)	157 (N=9)	152 (N=8)
15 (IV)	160	306 (N=10)	487 (N=8)	622 (N=8)
50 (IV)	511	1230 (N=9)	1570 (N=9)	1780 (N=7)

Abbreviations: F: female; C_{trough}: observed minimum concentration in serum after a dose during interval; IV: intravenous; GD: gestation day

[a] C_{trough} (µg/mL); N=7 to 12

NOTE: Doses were administered once weekly

表 2.6.7.3 C - Overview of toxicokinetics Data (C_{trough}) (continued)

Test Article: Sarilumab

Species/ Strain [Study No.]	Monkey/cynomolgus [a] [REGN88-TX-09053], [REGN88-MX-14095]									
Dose (mg/kg/week)	Week 0 [b] (Dose 1)		Week 1 (Dose 3)		Week 2 (Dose 5)		Week 3 (Dose 7)		Week 5 (Dose 11)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
10 (SC) [c d]	33.6	45.8	121	125	121	181	162	209	220	273
100 (SC) [c d]	410	439	1073	1200	1600	1613	1838	1913	1938	2318
100 (SC) [c e]	602	522	1748	1340	1688	1753	2175	2308	2638	2783

Daily Dose (mg/kg/week)	Week 7 (Dose 15)		Week 9 (Dose 19)		Week 11 (Dose 23)	
	M	F	M	F	M	F
10 (SC) [c d]	364	294	253	290	235	332
100 (SC) [c d]	2375	2685	2523	2970	2298	3065
100 (SC) [c e]	2845	3108	2923	3220	3055	3008

Abbreviations: M: male; F: female; C_{trough}: trough concentrations at 96 hours following first biweekly dose; SC: subcutaneous injection

[a] C_{trough} (µg/mL); N=4; calculations were made using the blood samples collected at approximately 96 hours after the first weekly dose

[b] Week 0 equals the first week of dosing [c] doses of 5 and 50 were administered twice weekly [d] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] formulation (S4* F3)

[e] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] formulation (S1* F1)

＊新薬承認情報提供時に置換

4　毒性試験使用ロット

表 2.6.7.4 - Toxicology drug substance/drug product

Test Article: Sarilumab and REGN844 [a]

Batch No. & mAb	Total Protein Content (mg/mL)	Purity (%)			Study No.	Type of Study	Location
		By SDS-PAGE Reduced	By SE- HPLC	By SDS-PAGE Non-Reduced			
[redacted] (REGN844) [a]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]	[DIV1267]	4-week IV and SC mouse	4.2.3.2-1
[redacted] (REGN844) [a]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]	[DIV1267]	4-week IV and SC mouse	4.2.3.2-1
					[FER0480]	SC mouse fertility	4.2.3.5.1-1
					[JUP0016]	4-week SC mouse juvenile toxicity	4.2.3.5.4-1
	[redacted] [b]	[redacted]	[redacted]% [b]	[redacted]	[JUV0030]	9-week SC mouse juvenile toxicity	4.2.3.5.4-2
[redacted] (sarilumab)	[redacted]	>[redacted]%	[redacted]% [redacted] [redacted]	>[redacted]%	[IL6R-TX-06029]	4-week IV and SC monkey	4.2.3.2-2
[redacted] (sarilumab)	[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[REGN88-TX-06040]	5-week IV monkey	4.2.3.2-3
[redacted] (sarilumab)	[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]	[REGN88-TX-06037]	13-week IV monkey	4.2.3.2-4
					[REGN88-TX-06038]	13-week SC monkey	4.2.3.2-5
[redacted] (sarilumab)	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[REGN88-TX-08031]	26-week IV monkey	4.2.3.2-6

Abbreviations: IV: intravenous; SC: subcutaneous; SDS-PAGE: sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis; SE-HPLC: size exclusion high-performance liquid chromatography; [redacted]

[a] REGN844, a murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-6Rα

[b] end of study stability results available in final report

表 2.6.7.3.4 - Toxicology drug substance/drug product (continued)

Test Article: sarilumab

Batch No.	Total Protein Content (mg/mL)	Purity (%)			Study No.	Type of Study	Location
		By SDS-PAGE Reduced	By SE- HPLC	By SDS-PAGE Non-Reduced			
[redacted] (sarilumab)	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[REGN88-TX-08030]	IV monkey pre- and post-natal development	4.2.3.5.3-1
[redacted][a] (sarilumab)	[redacted]	[redacted]	[redacted]% [b]	>[redacted]%	[REGN88-TX-06036]	in vitro cross-reactivity study	4.2.3.7.7-1
[redacted][ac] (sarilumab)	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[REGN88-TX-09053]	13-week comparability SC monkey	4.2.3.7.7-2
[redacted][ad] (sarilumab)	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[REGN88-TX-09053]	13-week comparability SC monkey	4.2.3.7.7-2

Abbreviations: SDS-PAGE: sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis; SE-HPLC: size exclusion high-performance liquid chromatography; [redacted] CE-SDS: capillary electrophoresis sodium dodecyl sulfate; SC: subcutaneous

[a] end of study stability results available in final report

[b] analytical SEC (Size Exclusion Chromatography)

[c] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] formulation (S4* F3)

[d] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] (S1* F1)

＊新薬承認情報提供時に置換

5　単回投与毒性試験

Not applicable.

6 反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験

表 2.6.7.6 A - Repeat-Dose Toxicity - Nonpivotal Studies – 4-week IV and SC mouse study

Test Article: REGN844 [a]

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/ dose)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg/week)	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Mouse / CD1(ICR)	IV and SC (reconstituted composition: [redacted]% sucrose, [redacted]% polysorbate 20, [redacted] mmol/L histidine, pH 6.0 / solution)	4 weeks	IV: 25 SC: 0, 10, 50 or 200 (0, 5, 25, or 100 administered 2x weekly)	**Main study**: 10M / 10F **Toxicokinetic study:** IV: 27M / 27F receiving REGN844 SC: 12M / 12F in the control group and 24M / 24F receiving REGN844	IV: 25 SC: 200	Dose-related decreases (-23 to -35%) in body weight gain of males from all REGN844 groups during Days 22-29 and dose-dependent increases in adrenal weight in males at ≥25 mg/kg/week were noted; however, there were no macroscopic or microscopic correlates. Subcutaneous administration of REGN844 was associated with a slight increase in the incidence and severity of mixed inflammatory cell infiltrates at the injection site in both genders at ≥50 mg/kg/week. None of the observed effects were considered toxicologically meaningful or adverse. The corresponding AUC at the NOAELs were 142 000 to 154 000 µg.h/mL for the subcutaneous route (Day 25) and 23 100 to 26 300 µg.h/mL for the intravenous route (Day 22).	[DIV1267] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.2-1 4.2.3.2-7

Abbreviations: NOAEL: no-observed-adverse-effect-level, M: male, F: female, IV: intravenous. SC: subcutaneous; AUC: area under the time-concentration curve.

NOTE: Doses were administered once weekly for IV and twice weekly for SC

[a] REGN844, a murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-6Rα

表 2.6.7.6 B - Repeat-Dose Toxicity - Nonpivotal Studies – 4-week IV and SC monkey study

Test Article: sarilumab

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/ dose)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg/week)	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Monkey/ cynomolgus	IV and SC (0.9% Sodium Chloride for Injection, USP / solution)	4 weeks	IV: 10 (once weekly) SC: 20 (10 mg/kg administered 2x weekly)	IV: 1M / 2F SC: 2M / 1F	IV: 10 SC: 20	No unscheduled deaths occurred during this study and no test article-related effects on clinical observations, food consumption, body weights, urinalysis, serum chemistry, macroscopic pathology, organ weights, or histopathology were noted. A minimal decrease in neutrophil count and fibrinogen concentration was noted on Day 13 and had progressed on Day 28, and substantial systemic exposure to sarilumab by both routes of administration was confirmed.	[IL6R-TX-06029] [REGN88-MX-14095]	4.2.3.2-2 4.2.3.2-7

Abbreviations: NOAEL: no-observed-adverse-effect-level, M: male, F: female, IV: intravenous. SC: subcutaneous

.

7　反復投与毒性試験

表 2.6.7.7 A - Repeat-Dose Toxicity - 5-week IV monkey study with a 9-week recovery

Report Title: A 4-week intravenous infusion study of REGN88 (anti-Interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by a 9-week recovery period [a]									
Species/Strain: Monkey/cynomolgus			**Duration of Dosing:** 5 weeks [a]			**Test Article:** sarilumab			
Initial Age: approximately 2 to 3 years			**Duration of Post-Dose:** 9 weeks			**Study No.:** [REGN88-TX-06040], [REGN88-MX-14095]			
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]			**Method of Administration:** IV infusion (once weekly)			**Location:** 4.2.3.2-3, 4.2.3.2-7			
Vehicle/Formulation: reconstituted with 0.9% sodium chloride for injection, USP / [redacted]% sucrose, [redacted]% polysorbate 20, [redacted] mmol/L histidine, pH 6.0						**GLP Compliance:** Yes			
Special Features: 3 animals/sex/group were euthanized one week following 5 weeks of once weekly dose administration; the remaining 2 animals/sex/group were euthanized following an approximate 9-week nondosing (recovery) period.									
No Observed Adverse Effect Level: 40 mg/kg/week									
Dose (mg/kg/week)		**0 (Vehicle)**		**5**		**10**		**40**	
Number of Animals on Study		**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Toxicokinetics:									
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL)	Day 1 (Dose 1)	NA	NA	8420	9020	20 000	20 800	72 600	77 700
	Day 8 (Dose 2)	NA	NA	13 300	11 900	26 000	26 100	96 100	117 000
	Day 15 (Dose 3)	NA	NA	15 700	11 900	21 000	27 100	131 000	154 000
	Day 22 (Dose 4)	NA	NA	18 400	12 200	23 700	27 000	149 000	173 000
	Day 29 (Dose 5)	NA	NA	20 000	13 600	24 900	31 200	150 000	169 000
C_{max} (µg/mL)	Day 1 (Dose 1)	NA	NA	137	116	288	272	980	1370
	Day 8 (Dose 2)	NA	NA	156	144	307	347	1200	1380
	Day 15 (Dose 3)	NA	NA	180	152	302	346	1290	1480
	Day 22 (Dose 4)	NA	NA	195	153	290	309	1500	1930
	Day 29 (Dose 5)	NA	NA	223	171	304	383	1580	1810
C_{trough} (µg/mL)	Day 1 (Dose 1)	NA	NA	25.4	28.7	65.5	73.6	200	127
	Day 8 (Dose 2)	NA	NA	47.1	38.7	82.3	83.5	233	520
	Day 15 (Dose 3)	NA	NA	57.9	40.8	74.1	93.4	466	689
	Day 22 (Dose 4)	NA	NA	72.7	48.2	98.8	109	530	670
	Day 29 (Dose 5)	NA	NA	87.7	56.8	113	130	475	533
Additional Information: N= 5/sex/group/timepoint for toxicokinetic analysis of sarilumab; the lower limit of quantitation was 0.157 µg/mL.									

Abbreviations: M: male, F: female; AUC: area under the time-concentration curve: C_{max}: observed maximum concentration during a dosing interval; C_{trough}: observed minimum concentration in serum after a dose during interval; NA: not applicable, [a] Although study title indicates a 4-week study, the dosing regimen was a total of 5 doses administered once weekly.

表 2.6.7.7 A - Repeat-Dose Toxicity - 5-week IV monkey study with a 9-week recovery (continued)

Report Title: A 4-week intravenous infusion study of REGN88 (anti-Interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by a 9-week recovery period [a]									
Dose (mg/kg/week)			**0 (Vehicle)**		**5**		**10**		**40**	
Number of Animals on Study			**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Mean Serum Concentration (µg/mL)										
Dose 1	- Day 1	0 h post dose	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0656
	- Day 1	5 min post dose	0.000	0.000	137	116	275	272	980	1373
Dose 2	- Day 8	0 h post dose	0.000	0.000	25.4	28.7	65.5	73.6	200	127
	- Day 8	5 min post dose	0.000	0.000	153	144	307	347	1204	1371
Dose 3	- Day 15	0 h post dose	0.000	0.000	47.1	38.7	82.3	83.5	233	536
	- Day 15	5 min post dose	0.000	0.000	180	152	302	346	1186	1482
Dose 4	- Day 22	0 h post dose	0.000	0.000	57.9	40.8	74.2	93.4	466	789
	- Day 22	5 min post dose	0.000	0.000	194	153	290	309	1492	1599
Dose 5	- Day 29	0 h post dose	0.000	0.000	72.7	48.2	98.8	109	530	670
	- Day 29	5 min post dose	0.000	0.000	223	171	304	383	1400	1746
Primary necropsy			0.000	0.000	87.7	56.8	113	130	579	782
Recovery necropsy			0.000	0.000	0.00	0.457	1.02	0.000	5.96	18.3
Additional Information: N= 5/sex/group/timepoint for toxicokinetic analysis of sarilumab through Day 29; N=2/sex/group in recovery; the lower limit of quantitation was 0.157 µg/mL.										

Abbreviations: M: male; F: female

[a] Although study title indicates a 4-week study, the dosing regimen was a total of 5 doses administered once weekly.

表 2.6.7.7 A - Repeat-Dose Toxicity - 5-week IV monkey study with a 9-week recovery (continued)

Report Title: A 4-week intravenous infusion study of REGN88 (anti-Interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by a 9-week recovery period [a]								
Dose (mg/kg/week)	**0 (Vehicle)**		**5**		**10**		**40**	
Number of Animals on Study	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Anti--sarilumab Antibodies (+ / total number analyzed)								
Day 1	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 4	0 / 5
Day 8	0 / 1	0 / 3	0 / 3	0 / 2	0 / 2	0 / 1	0 / 0	0 / 0
Day 15	0 / 2	0 / 3	0 / 3	0 / 2	**2 / 2**	0 / 1	0 / 0	0 / 0
Day 22	0 / 1	0 / 3	0 / 3	**1 / 2**	**2 / 2**	**1 / 1**	0 / 0	0 / 0
Day 29	0 / 2	0 / 3	0 / 3	**1 / 2**	**2 / 2**	**1 / 1**	0 / 0	0 / 0
Necropsy (Primary)	0 / 5	0 / 5	0 / 5	**2 / 5**	**2 / 5**	**1 / 4**	0 / 5	0 / 5
Week 4 (Recovery)	0 / 1	0 / 2	0 / 1	0 / 0	0 / 0	**1 / 1**	0 / 0	0 / 0
Necropsy (Recovery)	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	**1 / 2**	0 / 1	0 / 2
Noteworthy Findings:								
Died or Killed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Hematology								
Neutrophil [b]								
Week -2	6.16 x10^3/µL	9.71 x10^3/µL	+3.6%	-15.4%	+28.9%	-4.6%	+106.3%	-13.5%
Week 1	4.27 x10^3/µL	4.45 x10^3/µL	-45.0%	-47.0%	-2.8%	-63.8% *	-46.4%	-56.6%
Week 4	2.81 x10^3/µL	2.30 x10^3/µL	-57.7%	+0.9%	+24.6%	+15.2%	-31.3%	-40.9%
Week 13 [c] (Recovery)	2.16 x10^3/µL	1.36 x10^3/µL	-45.4%	+208.1%	+45.8%	+411.0%	+9.7%	+97.1% [d]

Abbreviations: M: male, F: female; +: number positive

[a] Although study title indicates a 4-week study, the dosing regimen was a total of 5 doses administered once weekly.

[b] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical difference is based on actual data (not percent differences); N=5 unless indicated otherwise.

[c] N=2 [d] N=1 Statistically significant from control (*p≤0.05; Dunnett's test)

表 2.6.7.7 A - Repeat-Dose Toxicity - 5-week IV monkey study with a 9-week recovery (continued)

Report Title: A 4-week intravenous infusion study of REGN88 (anti-Interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by a 9-week recovery period [a]								
Dose (mg/kg/week)	**0 (Vehicle)**		**5**		**10**		**40**	
Number of Animals on Study	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Coagulation								
Fibrinogen [b]								
Week -2	215.6 mg/dL	213.0 mg/dL	-1.2%	+12.1%	+16.8%	+15.3%	+30.6%	+7.5%
Week 1	231.8 mg/dL	215.2 mg/dL	-22.3% *	-35.1% **	-33.0% **	-22.2% **	-31.0% **	-25.4% **
Week 4	240.0 mg/dL	236.2 mg/dL	-30.1%	-28.6% **	-21.3%	-15.9%	-29.2%	-24.3% **
Week 13 [c] (Recovery)	223.5 mg/dL	195.0 mg/dL	+6.7%	+6.9%	-15.7%	-1.8%	-13.9%	-4.6%
Special Chemistry								
C-reactive Protein [b]								
Week -2	0.9 mg/L	1.7 mg/L	+77.8%	+41.2%	+955.6%	+76.5%	+677.8%	+100.0%
Week 1	1.4 mg/L	1.9 mg/L	-71.4%	-78.9%	-21.4%	-68.4%	+28.6%	-57.9%
Week 4	0.7 mg/L	1.6 mg/L	-14.3%	-50.0%	+585.7%	+25.0%	+85.7%	-43.8%
Week 13 [c] (Recovery)	0.4 mg/L	0.6 mg/L	+150.0%	+33.3%	+475.0%	+33.3%	+100.0%	+83.3%
Conclusion: Based on the results of this study, administration of sarilumab via intravenous infusion for approximately 30 minutes to cynomolgus monkeys once weekly for 5 consecutive weeks was well tolerated. The NOAEL for intravenous infusion (approximately 30 minutes) of sarilumab to cynomolgus monkeys once weekly for 5 consecutive weeks was 40 mg/kg/week.								

Abbreviations: M: male; F: female; NOAEL: no observed adverse effect level

[a] Although study title indicates a 4-week study, the dosing regimen was a total of 5 doses administered once weekly.

[b] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical difference is based on actual data (not percent differences); N=5 unless indicated otherwise.

[c] N=2

Statistically significant from control (*p≤0.05; **p≤0.01 Dunnett's test)

表 2.6.7.7 B - Repeat-Dose Toxicity – 13-week IV monkey study with an 8-week recovery

Report Title: A 13-week intravenous infusion study of REGN88 (anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by an 8-week recovery period								
Species/Strain: Monkey/cynomolgus		**Duration of Dosing:** 13 weeks				**Test Article:** sarilumab		
Initial Age: 2 to 3 years		**Duration of Post-Dose:** 8 weeks				**Study No.:** [REGN88-TX-06037], [REGN88-MX-14095]		
Date of First Dose: M: [redacted] 20[redacted]; F: [redacted] 20[redacted]		**Method of Administration:** IV infusion (once weekly)				**Location:** 4.2.3.2-4, 4.2.3.2-7		
Vehicle/Formulation: reconstituted with 0.9% sodium chloride for injection, USP / [redacted]% sucrose, [redacted]% polysorbate 20, [redacted] mmol/L histidine, pH 6.0						**GLP Compliance:** Yes		
Special Features: 4 animals/sex/group were euthanized one week following 13 weeks of once weekly dose administration; the remaining 1 to 2 animals/sex/group were euthanized following an approximate 8-week nondosing (recovery) period.								
No Observed Adverse Effect Level: 50 mg/kg/week								
Dose (mg/kg/week)		**0 (Vehicle)**		**1**		**10**		**50**	
Number of Animals on Study		**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Toxicokinetics:									
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL)	Day 0 [a] (Dose 1)	NA	NA	1347	1622	20 833	23 521	112 736	114 978
	Day 7 (Dose 2)	NA	NA	1374	1640	29 745	33 607	178 325	201 047
	Day 14 (Dose 3)	NA	NA	684	438	33 412	39 706	214 000	259 608
	Day 21 (Dose 4)	NA	NA	446	334	34 103	46 452	220 224	288 861
	Day 28 (Dose 5)	NA	NA	362	284	40 024	53 187	205 021	247 834
	Day 35 (Dose 6)	NA	NA	435	269	38 038	51 909	273 298	338 148
	Day 42 (Dose 7)	NA	NA	146	379	40 645	53 369	264 275	340 414
	Day 49 (Dose 8)	NA	NA	270	341	41 666	58 413	281 564	360 013
	Day 56 (Dose 9)	NA	NA	307	341	52 799	62 292	256 973	245 964
	Day 63 (Dose 10)	NA	NA	293	336	46 794	57 748	238 553	320 117
	Day 70 (Dose 11)	NA	NA	343	240	45 237	59 535	295 637	418 929
	Day 77 (Dose 12)	NA	NA	255	405	50 740	64 770	306 790	389 111
	Day 84 (Dose 13)	NA	NA	393	384	56 448	66 652	263 856	252 770
Additional Information: N= 5 to 6/sex/group/timepoint for toxicokinetic analysis of sarilumab; the lower limit of quantitation was 0.157 µg/mL.									

Abbreviations: M: male; F: female; IV: intravenous; AUC: area under the time-concentration curve; NA: not applicable

[a] Day 0 equals the first day of dosing

表 2.6.7.7 B - Repeat-Dose Toxicity – 13-week IV monkey study with an 8-week recovery (continued)

Report Title: A 13-week intravenous infusion study of REGN88 (anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by an 8-week recovery period									
Dose (mg/kg/week)		**0 (Vehicle)**		**1**		**10**		**50**	
Number of Animals on Study		**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
C_{max} (µg/mL)	Day 0 [a] (Dose 1)	NA	NA	27.1	29.4	270	255	921	1370
	Day 7 (Dose 2)	NA	NA	23.2	29.7	324	344	1790	2080
	Day 14 (Dose 3)	NA	NA	19.8	14.9	344	400	2210	2290
	Day 21 (Dose 4)	NA	NA	14.7	11.6	369	417	2340	3080
	Day 28 (Dose 5)	NA	NA	12.5	8.87	372	511	2030	1750
	Day 35 (Dose 6)	NA	NA	9.99	9.20	373	505	2550	3100
	Day 42 (Dose 7)	NA	NA	9.97	11.1	414	464	2660	2840
	Day 49 (Dose 8)	NA	NA	9.77	9.47	406	498	2900	3080
	Day 56 (Dose 9)	NA	NA	9.07	9.19	433	560	2420	1920
	Day 63 (Dose 10)	NA	NA	8.79	10.1	435	490	1970	2340
	Day 70 (Dose 11)	NA	NA	8.30	7.71	439	539	2690	3250
	Day 77 (Dose 12)	NA	NA	8.70	11.0	446	542	2680	3100
	Day 84 (Dose 13)	NA	NA	9.35	11.1	537	575	2400	2020
C_{trough} (µg/mL) [b]	Day 0 [a] (Dose 1)	NA	NA	0.436	0.398	66.4	93.6	421	453
	Day 7 (Dose 2)	NA	NA	0.228	BLQ	104	124	730	806
	Day 14 (Dose 3)	NA	NA	BLQ	BLQ	119	166	822	1260
	Day 21 (Dose 4)	NA	NA	BLQ	BLQ	128	196	860	1090
	Day 28 (Dose 5)	NA	NA	BLQ	BLQ	159	221	1010	1230
	Day 35 (Dose 6)	NA	NA	BLQ	BLQ	153	221	1240	1500
	Day 42 (Dose 7)	NA	NA	BLQ	BLQ	158	242	1140	1600
	Day 49 (Dose 8)	NA	NA	BLQ	BLQ	166	275	1130	1550
	Day 56 (Dose 9)	NA	NA	BLQ	BLQ	208	245	942	1150
	Day 63 (Dose 10)	NA	NA	BLQ	BLQ	183	276	1300	1600
	Day 70 (Dose 11)	NA	NA	BLQ	BLQ	195	268	1350	1950
	Day 77 (Dose 12)	NA	NA	BLQ	BLQ	238	307	1330	1620
	Day 84 (Dose 13)	NA	NA	BLQ	BLQ	240	281	1040	1280
Additional Information: N=5 to 6/sex/group/timepoint for toxicokinetic analysis of sarilumab; the lower limit of quantitation was 0.157 µg/mL.									

Abbreviations: M: male; F: female; C_{max}: observed maximum concentration; NA: not applicable; BLQ: below the limit of quantitation; $C_{through}$: observed minimum concentration in serum after a dose during a dosing interval [a] Day 0 equals the first day of dosing [b] C_{trough} (µg/mL); N=6 **NOTE:** Doses were administered once weekly

表 2.6.7.7 B - Repeat-Dose Toxicity – 13-week IV monkey study with an 8-week recovery (continued)

Report Title: A 13-week intravenous infusion study of REGN88 (anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by an 8-week recovery period								
Dose (mg/kg/week)	**0 (Vehicle)**		**1**		**10**		**50**	
Number of Animals on Study	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Anti-sarilumab antibody (+ / total number analyzed)								
Day 0	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6
Day 7	NA	NA	0 / 6	0 / 5	NA	NA	NA	NA
Day 14	NA	NA	**2 / 6**	**3 / 5**	NA	NA	NA	NA
Day 21	NA	NA	**5 / 6**	**5 / 5**	NA	NA	NA	NA
Day 35	0 / 6	0 / 6	**5 / 6**	**5 / 6**	0 / 6	0 / 6	0 / 5	0 / 6
Day 49	NA	NA	**6 / 6**	**5 / 5**	NA	NA	NA	NA
Day 63	NA	NA	**6 / 6**	**5 / 5**	NA	NA	NA	NA
Day 77	0 / 6	0 / 6	**6 / 6**	**5 / 6**	0 / 6	0 / 6	0 / 5	0 / 6
Week 13 (Necropsy)	0 / 6	0 / 6	**6 / 6**	**5 / 6**	0 / 6	0 / 6	0 / 5	0 / 6
Week 17 (Recovery)	NA	NA	**1 / 2**	**2 / 2**	NA	NA	NA	NA
Week 21 (Recovery)	0 / 2	0 / 2	**1 / 2**	**2 / 2**	0 / 2	0 / 1	0 / 1	0 / 2

Abbreviations: M: male; F: female; NA: not analyzed; +: number positive
NOTE: Doses were administered once weekly

表 2.6.7.7 B - Repeat-Dose Toxicity – 13-week IV monkey study with an 8-week recovery (continued)

Report Title: A 13-week intravenous infusion study of REGN88 (anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by an 8-week recovery period									
Dose (mg/kg/week)		**0 (Vehicle)**		**1**		**10**		**50**	
Number of Animals on Study		**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Mean serum concentrations (µg/mL)									
Day 0	0 hour	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	5 min	0.000	0.000	27.1	29.4	268	250	915	1367
	24 hour	0.000	0.000	11.8	14.8	153	165	854	788
Day 7	0 hour	0.000	0.000	0.436	0.398	66.4	93.6	421	453
	5 min	0.000	0.000	23.2	29.7	324	344	1788	2082
	24 hour	0.000	0.000	12.9	15.2	219	246	1245	1408
Day 14	0 hour	0.000	0.000	0.228	0.146	104	124	730	806
	5 min	0.000	0.000	19.8	14.9	344	400	2212	2290
	24 hour	0.000	0.000	5.25	3.01	247	274	1530	1675
Day 21	0 hour	0.000	0.000	0.0900	0.097	119	166	822	1273
	5 min	0.000	0.000	14.7	11.6	369	417	2338	3082
	24 hour	0.000	0.000	3.16	2.25	244	326	1553	2068
Day 28	0 hour	0.000	0.000	0.0710	0.0862	128	196	860	1089
	5 min	0.000	0.000	12.5	8.87	372	511	2027	1677
	24 hour	0.000	0.000	2.47	2.05	288	371	1558	1660
Day 35	0 hour	0.000	0.000	0.0718	0.0873	159	221	1023	1228
	5 min	0.000	0.000	10.0	9.20	373	505	2546	3100
	24 hour	0.000	0.000	1.71	1.82	268	357	1832	2305
Day 42	0 hour	0.000	0.000	2.38	0.0965	153	221	1237	1495
	5 min	0.000	0.000	10.0	1.11	414	463	2662	2842
	24 hour	0.000	0.000	0.164	2.85	290	362	1744	2275
Additional Information: N= 5 to 6/sex/group/timepoint for toxicokinetic analysis of sarilumab; the lower limit of quantitation was 0.157 µg/mL.									

Abbreviations: M: male; F: female **NOTE:** Doses were administered once weekly

表 2.6.7.7 B - Repeat-Dose Toxicity – 13-week IV monkey study with an 8-week recovery (continued)

Report Title: A 13-week intravenous infusion study of REGN88 (anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by an 8-week recovery period									
Dose (mg/kg/week)		**0 (Vehicle)**		**1**		**10**		**50**	
Number of Animals on Study		**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Mean serum concentrations (µg/mL) (continued)									
Day 49	0 hour	0.000	0.000	0.160	0.105	158	242	1194	1603
	5 min	0.000	0.000	9.77	9.47	406	498	2904	3078
	24 hour	0.000	0.000	1.65	2.62	296	390	1970	2525
Day 56	0 hour	0.000	0.000	0.205	0.109	166	275	1131	1545
	5 min	0.000	0.000	9.07	9.19	368	560	2424	1917
	24 hour	0.000	0.000	2.14	2.65	399	453	1908	1668
Day 63	0 hour	0.000	0.000	0.258	0.119	208	245	942	1151
	5 min	0.000	0.000	8.79	10.1	435	490	1974	2138
	24 hour	0.000	0.000	2.03	2.47	338	381	1412	1783
Day 70	0 hour	0.000	0.000	0.242	0.114	183	276	1339	2012
	5 min	0.000	0.000	8.30	7.71	439	539	2690	3075
	24 hour	0.000	0.000	2.65	1.64	310	403	1982	2877
Day 77	0 hour	0.000	0.000	0.298	0.148	195	268	1348	1953
	5 min	0.000	0.000	8.70	11.0	446	542	2680	3025
	24 hour	0.000	0.000	1.60	3.12	333	432	2134	2812
Day 84	0 hour	0.000	0.000	0.230	0.157	242	307	1328	1623
	5 min	0.000	0.000	9.35	1.11	468	575	2400	2013
	24 hour	0.000	0.000	3.10	2.87	400	471	1908	1590
Week 13	Necropsy	0.000	0.000	0.298	0.154	240	281	1041	1320
Week 17	Recovery	0.000	0.000	0.000	0.000	5.63	12.2	616	449
Week 21	Recovery	0.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.467	205	106
Additional Information: N= 5 to 6/sex/group/timepoint for toxicokinetic analysis of sarilumab through Week 13; N=1 to 2/sex/group during the recovery period; the lower limit of quantitation was 0.157 µg/mL.									

Abbreviations: M: male; F: female
NOTE: Doses were administered once weekly

表 2.6.7.7 B - Repeat-Dose Toxicity – 13-week IV monkey study with an 8-week recovery (continued)

Report Title: A 13-week intravenous infusion study of REGN88 (anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by an 8-week recovery period								
Dose (mg/kg/week)	**0 (Vehicle)**		**1**		**10**		**50**	
Number of Animals on Study	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Noteworthy Findings:								
Died or Killed Moribund	0	0	0	0	0	1 [a]	1 [b]	0
Hematology								
Neutrophil [c]								
Week -2	4.43 x10³/µL	7.66 x10³/µL	+5.4%	-59.8%	+40.0%	-27.7%	+123.3% *	-25.7%
Week 3	4.24 x10³/µL	3.17 x10³/µL	-50.7%	-42.9%	-59.4%	-44.8%	-24.8%	-19.6%
Week 13	3.01 x10³/µL	3.21 x10³/µL	-22.9%	-15.3%	-53.8%	-14.3%	-15.6% [e]	-36.8%
Week 21 [d] (Recovery)	2.82 x10³/µL	2.28 x10³/µL	-35.5%	+163.6%	+12.1%	+191.7% [f]	-61.0% [f]	+103.5%
Coagulation								
Fibrinogen [c]								
Week -2	191.3 mg/dL	241.3 mg/dL	-7.6%	-1.7%	+29.8%	-21.8%	+5.5%	-8.1%
Week 3	221.5 mg/dL	237.0 mg/dL	-4.6%	-3.5%	-21.7% *	-38.7% **	-27.7% **	-23.3% *
Week 13	222.7 mg/dL	261.5 mg/dL	-3.5%	-14.9%	-15.2%	-37.5% **	-17.6% [e]	-25.4% **
Week 21 [d] (Recovery)	245.0 mg/dL	267.0 mg/dL	-3.1%	+6.2%	+2.9%	-17.2% [f]	-39.2% [f]	-14.8%
Serum Chemistry								
Globulin [c]								
Week -2	3.0 g/dL	3.2 g/dL	0.0	-3.1%	+6.7%	0.0	-3.3%	-3.1%
Week 3	2.6 g/dL	2.8 g/dL	+11.5%	0.0	+3.8 %	-3.6%	0.0	-7.1%
Week 13	2.8 g/dL	2.9 g/dL	0.0	-3.4%	-7.1 %	-6.9%	-10.7% [e]	-10.3%
Week 21 [d] (Recovery)	2.8 g/dL	2.7 g/dL	0.0	+22.2%	+3.6 %	+25.9% [f]	-21.4% [f]	-7.4%

Abbreviations: M: male, F: female

[a] found dead during the recovery period (Day 123). The cause of death was determined to be gastrointestinal amoebiasis and was not considered related to sarilumab

[b] found dead prior to primary necropsy (Day 31) due to gavage error following administration of supportive care for inappetence and not related to sarilumab

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent difference); N=6 unless indicated otherwise.

[d] N=2 [e] N=5 [f] N=1 Statistically significant from control (*p≤0.05; **p≤0.01 Dunnett's test)

表 2.6.7.7 B - Repeat-Dose Toxicity – 13-week IV monkey study with an 8-week recovery (continued)

Report Title: A 13-week intravenous infusion study of REGN88 (anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by an 8-week recovery period								
Dose (mg/kg/week)	**0 (Vehicle)**		**1**		**10**		**50**	
Number of Animals on Study	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Serum Chemistry (continued)								
Total Protein [a]								
Week -2	7.4 g/dL	7.9 g/dL	+1.4%	0	+1.4%	+2.5%	-1.4%	-1.3%
Week 3	6.8 g/dL	7.0 g/dL	+5.9%	+1.4%	+6.9%	+4.3%	-2.9%	-1.4%
Week 13	7.3 g/dL	7.1 g/dL	-1.4%	+1.4%	0	+1.4%	-6.8% [c]	-2.8%
Week 21 [b] (Recovery)	7.2 g/dL	7.2 g/dL	+1.4%	+4.2%	-1.4%	+5.6% [d]	-8.3% [d]	-4.2%
A/G ratio [a]								
Week -2	1.51	1.49	0	+4.0%	-4.0%	+2.7%	+3.3%	+5.4%
Week 3	1.60	1.54	-7.5%	+3.9%	0	+9.1%	+0.6%	+11.7%
Week 13	1.62	1.48	-4.9%	+7.4%	+9.3%	+14.9%	+9.3% [c]	+15.5%
Week 21 [b] (Recovery)	1.63	1.69	+1.8%	-13.6%	-9.2%	-27.2% [d]	+22.7% [d]	+9.5%
Special Chemistry								
C-reactive Protein [a]								
Week -2	10389.3 ng/mL	14411.1 ng/mL	-2.3%	-45.3%	+210.2%	-28.9%	+4.9%	-5.2%
Week 0	15254.8 ng/mL	43618.5 ng/mL	-58.8%	-87.6%	-38.0%	-89.3%	-68.5% *	-86.8%
Week 3	9698.7 ng/mL	20688.4 ng/mL	+80.9%	+73.8%	-60.3%	-80.8%	-66.9%	-84.4%
Week 13	4629.2 ng/mL	8025.6 ng/mL	-24.0%	-57.4%	+41.9%	-57.1%	+37.8% [c]	-58.6%
Week 21 [b] (Recovery)	6276.4 ng/mL	4739.0 ng/mL	-50.4%	+34.7%	+15.7%	-57.4% [d]	-58.9% [d]	-11.5%
Conclusion: Administration of sarilumab via intravenous infusion for approximately 30 minutes to cynomolgus monkeys once weekly for 13 consecutive weeks was well tolerated. There were nonadverse test article-related effects on neutrophil counts, fibrinogen and C-reactive protein and possible (minor) test article-related effects on serum globulin, A/G ratios and total protein. There were no target organs identified. Based on these results, the NOAEL was 50 mg/kg/week								

Abbreviations: M: male, F: female; NOAEL: no observed adverse effect level

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent difference); N=6 unless indicated otherwise.
[b] N=2 [c] N=5 [d] N=1
Statistically significant from control (*p≤0.05; Dunnett's test)

表 2.6.7.7 C - Repeat-Dose Toxicity – 13-week SC monkey study with a 12-week recovery

Report Title: A 13-week subcutaneous injection study of REGN88 (anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by a 12-week recovery period										
Species/Strain: Monkey / cynomolgus		**Duration of Dosing:** 13 weeks				**Test Article:** sarilumab				
Initial Age: 2 to 3 years		**Duration of Post-Dose:** 12 weeks				**Study No.:** [REGN88-TX-06038], [REGN88-MX-14095]				
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (M); [redacted] 20[redacted] (F)		**Method of Administration:** SC (twice weekly)				**Location:** 4.2.3.2-5, 4.2.3.2-7				
Vehicle/Formulation: reconstituted with 0.9% sodium chloride for injection / [redacted]% sucrose, [redacted]% polysorbate 20, [redacted] mmol/L histidine, pH 6.0						**GLP Compliance:** Yes				
Special Features: Following dose administration, 4 animals/sex/group were euthanized at the end of the dosing phase. The remaining 2 animals/sex/group were maintained for a 12-week treatment-free recovery phase.										
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/week (50 mg/kg twice weekly)										
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)		**0 (Vehicle)**		**2 (1)**		**10 (5)**		**30 (15)**		**100 (50)**
Number of Animals on Study		**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Toxicokinetics:										
C_{trough} (µg/mL) [a]	Week 0 [b] (Dose 1)	NA	NA	4.02	3.85	33.7	30.5	137	120	410	360
	Week 1 (Dose 3)	NA	NA	8.30	9.98	87.8	66.8	303	302	986	1090
	Week 2 (Dose 5)	NA	NA	3.77	5.08	80.4	66.5	488	362	1360	1270
	Week 3 (Dose 7)	NA	NA	2.32	3.13	114	75.1	550	454	1560	1540
	Week 5 (Dose 11)	NA	NA	1.23	0.444	142	85.3	774	465	2170	1800
	Week 7 (Dose 15)	NA	NA	1.05	BLQ	195	97.7	676	549	2110	2350
	Week 9 (Dose 19)	NA	NA	1.23	BLQ	183	99.0	823	578	2290	2400
	Week 11 (Dose 23)	NA	NA	1.80	BLQ	204	95.4	963	711	2560	2360
Additional Information: N= 6/sex/group/timepoint for toxicokinetic analyses of sarilumab; the lower limit of quantitation was 0.157 µg/mL.										

Abbreviations: M: male; F: female; SC: subcutaneous; NA: not applicable; BLQ: below the limit of quantification; C_{trough}: trough concentrations at 96 hours following first biweekly dose

[a] AUC and C_{max} were not calculated for this study

[b] Week 0 equals the first week of dosing

表 2.6.7.7 C - Repeat-Dose Toxicity – 13-week SC monkey study with a 12-week recovery (continued)

Report Title: A 13-week subcutaneous injection study of REGN88 (anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by a 12-week recovery period										
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)	**0 (Vehicle)**		**2 (1)**		**10 (5)**		**30 (15)**		**100 (50)**	
Number of Animals on Study	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Toxicokinetics: Mean serum concentrations (µg/mL) [a]										
Week 0	0.943	0	9.02	9.27	61.8	51.9	314	209	672	761
Week 1	0	0	13.0	14.3	86.2	84.2	509	362	1266	1313
Week 2	0	0	7.36	10.3	113	83.2	565	488	1710	1528
Week 3	0	0	4.68	5.40	128	83.5	772	519	2035	1865
Week 5	0	0	2.98	1.92	238	93.9	826	635	2172	2352
Week 7	0	0	2.13	1.29	215	105	894	681	2488	2913
Week 9	0	0	3.25	1.31	215	110	1030	725	2543	2887
Week 11	0	0	3.91	1.43	223	104	1052	796	2623	2843
Week 13 (Primary Necropsy)	0	0	0.812	0.0340	140	72.2	727	630	1900	2330
Week 17 (Recovery)	0	0	0	0	32.9	24.2	137	125	299	447
Week 21 (Recovery)	0	0	0	0	2.22	1.65	19.3	13.2	58.2	135
Week 24 (Recovery)	0	0	0	0	0.723	0.605	4.86	1.39	11.2	35.0
Additional Information: N= 6/sex/group/timepoint for toxicokinetic analyses of sarilumab; the lower limit of quantitation was 0.157 µg/mL.										

Abbreviations: M: male; F: female

[a] Mean serum concentrations at 24 hours after dosing for Weeks 0-11; AUC and C_{max} were not calculated for this study.

表 2.6.7.7 C - Repeat-Dose Toxicity – 13-week SC monkey study with a 12-week recovery (continued)

Report Title: A 13-week subcutaneous injection study of REGN88 (anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by a 12-week recovery period										
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)	**0 (Vehicle)**		**2 (1)**		**10 (5)**		**30 (15)**		**100 (50)**	
Number of Animals on Study	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Anti-sarilumab antibody (+ / total number analyzed)										
Week 0	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 5	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6
Week 1	NA	NA	0 / 6	0 / 6	0 / 1	0 / 4	NA	NA	NA	NA
Week 2	0 / 6	0 / 6	**2 / 6**	**1 / 6**	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6
Week 3	NA	NA	**5 / 6**	**3 / 6**	**1 / 1**	**2 / 4**	NA	NA	NA	NA
Week 5	0 / 6	0 / 6	**6 / 6**	**6 / 6**	**1 / 6**	**2 / 6**	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6
Week 7	NA	NA	**6 / 6**	**6 / 6**	**1 / 1**	**4 / 4**	NA	NA	NA	NA
Week 9	0 / 6	0 / 6	**6 / 6**	**6 / 6**	**1 / 6**	**2 / 6**	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6
Week 11	0 / 6	0 / 6	**6 / 6**	**6 / 6**	**1 / 6**	**3 / 6**	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6
Week 13 (Primary Necropsy)	0 / 6	0 / 6	**6 / 6**	**6 / 6**	**1 / 6**	**3 / 6**	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6
Week 17 (Recovery)	0 / 2	0 / 2	**2 / 2**	**2 / 2**	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2
Week 21 (Recovery)	0 / 2	0 / 2	**2 / 2**	**2 / 2**	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2
Week 24 (Recovery)	0 / 2	0 / 2	**2 / 2**	**2 / 2**	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2

Abbreviations: M: male; F: female; NA: not analyzed; +: number positive

表 2.6.7.7 C - Repeat-Dose Toxicity – 13-week SC monkey study with a 12-week recovery (continued)

Report Title: A 13-week subcutaneous injection study of REGN88 (anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by a 12-week recovery period										
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)	**0 (Vehicle)**		**2 (1)**		**10 (5)**		**30 (15)**		**100 (50)**	
Number of Animals on Study	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Died or Killed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hematology										
WBC Absolute [a]										
Week -2	8.22 x10³/µL	8.53 x10³/µL	+6.2%	-1.9%	-23.5%	-11.3%	-2.7%	+11.3%	-7.1%	+30.5%
Week 3	7.85 x10³/µL	5.38 x10³/µL	-10.1%	+19.0%	-29.3%	-21.2%	-34.9%	+31.0%	-31.2%	+15.6%
Week 13	10.88 x10³/µL	9.38 x10³/µL	-24.5%	+4.1%	-48.0% *	-12.8%	-38.9%	-12.8%	-51.9% *	+2.3%
Week 21 (Recovery)	11.90 x10³/µL	7.34 x10³/µL	-26.4%	+57.9%	-30.3%	-20.6%	-37.1%	-24.4%	-47.1%	+15.8%
Week 25 (Recovery)	6.22 x10³/µL	6.21 x10³/µL	+71.1%	+95.5%	+61.4%	+12.7%	+24.4%	+4.0%	+63.3%	+52.7%
Neutrophil Absolute [a]										
Week -2	3.87 x10³/µL	4.42 x10³/µL	+4.9%	-13.6%	-35.1%	-16.3%	-0.8%	+33.5%	-2.1%	+31.9%
Week 3	4.36 x10³/µL	2.88 x10³/µL	-28.2%	-36.5%	-73.4%	-42.0%	-60.8%	+21.2%	-51.1%	-22.2%
Week 13	5.46 x10³/µL	3.15 x10³/µL	-26.4%	-25.1%	-79.1% *	-17.5%	-70.1% *	-21.6%	-75.5% *	-1.6%
Week 21 (Recovery)	6.46 x10³/µL	2.46 x10³/µL	-57.3%	+20.7%	-50.9%	-43.9%	-36.5%	-64.2%	-68.6%	0
Week 25 (Recovery)	2.57 x10³/µL	0.80 x10³/µL	+120.2%	+368.8%	-26.5%	+20.0%	+61.1%	+116.3%	+110.5%	+290.0%
Coagulation										
Fibrinogen[a]										
Week -2	215 mg/dL	209.2 mg/dL	0	-0.9%	-3.3%	+2.5%	0	-6.5%	+9.3%	-17.3%
Week 3	225 mg/dL	225.4 mg/dL	-12.9%	-5.0%	-24.4% **	-19.9% *	-24.0% **	-24.9% **	-13.3%	-29.1% **
Week 13	225 mg/dL	212.3 mg/dL	-0.9%	-5.2%	-20.0%	-14.6%	-12.4%	-22.4% **	-11.6%	-26.6% **
Week 21 (Recovery)	256 mg/dL	227.5 mg/dL	-14.8%	0	+9.0%	-7.0%	-21.5%	-14.9%	-17.6%	-24.0%
Week 25 (Recovery)	245 mg/dL	208.5 mg/dL	-9.8%	+8.2%	-0.4%	-7.2%	-11.4%	+0.5%	-6.1%	-12.2%

Abbreviations: M: male, F: female

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical difference is based on actual data (not percent differences). N=5 to 6 for Weeks -2 to 13; N=2 for Weeks 21 and 25 (Recovery), Statistically significant from control (*p≤0.05; **p≤0.01 Dunnett's test)

表 2.6.7.7 C - Repeat-Dose Toxicity – 13-week SC monkey study with a 12-week recovery (continued)

Report Title: A 13-week subcutaneous injection study of REGN88 (anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody) in cynomolgus monkeys followed by a 12-week recovery period										
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)	**0 (Vehicle)**		**2 (1)**		**10 (5)**		**30 (15)**		**100 (50)**	
Number of Animals on Study	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Special chemistry										
C-reactive protein [a]										
Week -2	6395.2 ng/mL	10350.0 ng/mL	+158.0%	-51.9%	+59.4%	+3.9%	+14.3%	+20.5%	+57.0%	+3.9%
Week 0	9268.9 ng/mL	10362.0 ng/mL	-10.4%	-77.0%	-52.5%	-80.0%	-65.3%	-61.9%	-42.6%	-72.8%
Week 3	10937.6 ng/mL	8803.9 ng/mL	+34.5%	-32.4%	-29.8%	-42.6%	-41.5%	-14.9%	-51.9%	-34.2%
Week 13	6146.2 ng/mL	4991.9 ng/mL	+111.4%	-1.3%	-8.2%	-20.3%	-36.0%	-4.3%	+5.2%	-4.2%
Week 21 (Recovery)	7140.4 ng/mL	5870.8 ng/mL	+33.1%	-47.9%	-30.7%	-59.2%	-71.7%	+29.6%	+24.4%	-79.0%
Week 25 (Recovery)	9080.7 ng/mL	5112.2 ng/mL	+10.5%	-49.6%	-66.5%	-51.5%	-65.5%	+58.4%	+45.6%	-53.7%
Histopathology										
No. examined (end of dosing period)	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**
- **Injection sites:** Infiltrate, mixed inflammatory cell, perivascular	0	1	2	3	2	3	2	3	3	3
(minimal to moderate) Minimal	0	1	2	2	1	0	2	3	3	3
Mild	0	0	0	1	1	2	0	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
- **Brain**: inflammation, subacute (minimal) [b]	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
- **Heart**: Inflammation, subacute (severe) [b]	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
No. examined (end of recovery)	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**
- Injection sites: Infiltrate, mixed inflammatory cell, perivascular	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
(minimal) Minimal	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
Conclusion: The no-observed-adverse-effect level (NOAEL) for subcutaneous injection of sarilumab to cynomolgus monkeys twice weekly for 13 consecutive weeks was 100 mg/kg/week (50 mg/kg twice weekly).										

Abbreviations: M: male, F: female

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical difference is based on actual data (not percent differences). N=6 for Weeks -2 to 13; N=2 for Weeks 21 and 25 (Recovery), [b] These findings were not considered to be test article-related because they were not dose related and occurred only in single animals.

表 2.6.7.7 D - Repeat-Dose Toxicity – 26-week IV monkey study with a 12-week recovery

Report Title: Report Title: A 6-month once weekly 30-minute intravenous infusion study of REGN88 in cynomolgus monkeys followed by a 12-week recovery period		
Species/Strain: Monkey / cynomolgus	**Duration of Dosing:** 26 weeks	**Test Article:** sarilumab
Initial Age: 3 to 5 years	**Duration of Post-Dose:** 12 weeks	**Study No.:** [REGN88-TX-08031], [REGN88-MX-14095]
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (M); [redacted] 20[redacted] (F)	**Method of Administration:** IV (once weekly)	**Location:** 4.2.3.2-6, 4.2.3.2-7
Vehicle/Formulation: reconstituted with 0.9% sodium chloride for injection, USP / [redacted]% sucrose, [redacted]% polysorbate 20, [redacted] mmol/L histidine, pH 6.0		**GLP Compliance:** Yes
Special Features: KLH formulations were administered via intramuscular injection (bolus) to all animals at a dose level of 2 mg on study Days 57 and 85 (within 24 hours of the previous day's dose). 4 animals/sex/group were euthanized 1 week following 26 weeks of once weekly dose administration; the remaining ≤2 animals/sex/group were euthanized following the 12-week nondosing (recovery) period.		
No Observed Adverse Effect Level: 50 mg/kg/week		

Dose (mg/kg/week)	**0 (Vehicle)**		**0.5**		**5**		**15**		**50**	
Number of Animals on Study	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Toxicokinetics:										
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL)										
Day 0 [a] (Dose 1)	NA	NA	662	626	13 026	11 144	33 213	32 324	122 907	145 587
Day 7 (Dose 2)	NA	NA	730	721	15 888	15 944	56 097	49 272	191 531	195 781
Day 14 (Dose 3)	NA	NA	498	392	13 299	18 247	59 677	61 516	235 261	268 267
Day 21 (Dose 4)	NA	NA	272	176	12 957	21 958	70 522	74 433	281 110	294 658
Day 49 (Dose 8)	NA	NA	167	75.0	13 074	27 379	90 207	86 012	339 369	353 578
Day 77 (Dose 12)	NA	NA	172	49.7	13 142	24 868	84 210	83 983	318 124	368 043
Day 112 (Dose 17)	NA	NA	250	46.7	13 898	26 387	102 482	68 367	346 023	415 979
Day 140 (Dose 21)	NA	NA	259	37.8	13 581	29 962	106 226	72 903	343 358	387 392
Day 168 (Dose 25)	NA	NA	338	33.1	14 685	31 098	109 469	71 272	371 194	390 886

Additional Information: N= 6/sex/group/timepoint for toxicokinetic analysis of sarilumab; the lower limit of quantitation was 0.157 µg/mL.

Abbreviations: IV: intravenous; M: male; F: female; KLH: Keyhole Limpet Hemocyanin; USP: United States Pharmacopeia; AUC: area under the time-concentration curve; NA: not applicable

[a] Day 0 equals the first day of dosing

表 2.6.7.7 D - Repeat-Dose Toxicity – 26-week IV monkey study with a 12-week recovery (continued)

Report Title: Report Title: A 6-month once weekly 30-minute intravenous infusion study of REGN88 in cynomolgus monkeys followed by a 12-week recovery period											
Dose (mg/kg/week)		**0 (Vehicle)**		**0.5**		**5**		**15**		**50**	
Number of Animals on Study		**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
C_{max} (µg/mL)	Day 0 [a] (Dose 1)	NA	NA	12.8	11.5	155	136	345	435	1380	1460
	Day 7 (Dose 2)	NA	NA	13.4	12.0	179	160	518	447	1900	1860
	Day 14 (Dose 3)	NA	NA	11.1	10.1	178	179	561	513	2100	2200
	Day 21 (Dose 4)	NA	NA	7.33	5.71	176	202	666	671	2500	2480
	Day 49 (Dose 8)	NA	NA	6.02	4.17	171	255	785	798	2780	2810
	Day 77 (Dose 12)	NA	NA	6.04	3.71	166	247	755	699	2840	2970
	Day 112 (Dose 17)	NA	NA	8.08	3.66	164	226	839	635	2930	3650
	Day 140 (Dose 21)	NA	NA	8.88	2.89	151	243	900	601	2960	3280
	Day 168 (Dose 25)	NA	NA	8.08	2.55	159	255	907	596	3020	3200
C_{trough} (µg/mL)	Day 0 [a] (Dose 1)	NA	NA	BLQ	BLQ	39.3	33.3	129	117	468	774
	Day 7 (Dose 2)	NA	NA	BLQ	BLQ	37.9	56.9	237	209	806	849
	Day 14 (Dose 3)	NA	NA	BLQ	BLQ	37.6	69.3	226	238	1060	1250
	Day 21 (Dose 4)	NA	NA	BLQ	BLQ	42.2	87.7	340	342	1260	1340
	Day 49 (Dose 8)	NA	NA	BLQ	BLQ	50.0	113	405	372	1570	1690
	Day 77 (Dose 12)	NA	NA	BLQ	BLQ	47.6	102	358	387	4880	1650
	Day 112 (Dose 17)	NA	NA	BLQ	BLQ	56.8	119	467	313	1550	1750
	Day 140 (Dose 21)	NA	NA	BLQ	BLQ	57.8	136	485	336	1610	1870
	Day 168 (Dose 25)	NA	NA	BLQ	BLQ	58.3	145	495	325	1670	1890
Additional Information: N= 6/sex/group/timepoint for toxicokinetic analysis of sarilumab; the lower limit of quantitation was 0.157 µg/mL.											

Abbreviations: M: male; F: female; NA: not applicable; C_{max}: maximum concentration; C_{trough}: observed minimum concentration in serum after a dose during a dosing interval; BLQ: below limit of quantitation

[a] Day 0 equals the first day of dosing

表 2.6.7.7 D - Repeat-Dose Toxicity – 26-week IV monkey study with a 12-week recovery (continued)

Report Title: Report Title: A 6-month once weekly 30-minute intravenous infusion study of REGN88 in cynomolgus monkeys followed by a 12-week recovery period										
Dose (mg/kg/week)	**0 (Vehicle)**		**0.5**		**5**		**15**		**50**	
Number of Animals on Study	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Mean Serum Concentrations (µg/mL) [a]										
Day 0 [b] (Dose 1)	0.000	0.000	6.07	5.83	100	85.1	236	223	868	881
Day 7(Dose 2)	0.000	0.000	6.81	7.05	132	118	400	345	1322	1340
Day 14 (Dose 3)	0.000	0.000	4.35	3.35	101	133	443	456	1597	1813
Day 21 (Dose 4)	0.000	0.000	2.20	1.33	93.1	158	471	502	1915	2008
Day 49 (Dose 8)	0.000	0.000	0.949	0.403	88.5	193	622	592	2305	2365
Day 77 (Dose 12)	0.000	0.000	1.01	0.0622	92.1	173	589	569	2118	2547
Day 112 (Dose 17)	0.000	0.000	1.46	0.0337	93.5	180	701	464	2375	2935
Day 140 (Dose 21)	0.000	0.000	1.46	0.0378	90.7	206	697	495	2288	2547
Day 168 (Dose 25)	0.000	0.000	2.57	0.0303	102	206	711	486	2563	2578
Necropsy (Primary)	0.000	0.000	0.314	0.000	69.7	134	544	377	1640	1882
Week 6 (Recovery)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.580	1.66	110	29.8	216	385
Necropsy (Recovery)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0905	0.215	7.00	1.16	9.63	48.2

Abbreviations: M: male; F: female

[a] Mean serum concentrations at 24 hours after dosing

[b] Day 0 equals the first day of dosing

表 2.6.7.7 D - Repeat-Dose Toxicity – 26-week IV monkey study with a 12-week recovery (continued)

Report Title: Report Title: A 6-month once weekly 30-minute intravenous infusion study of REGN88 in cynomolgus monkeys followed by a 12-week recovery period										
Dose (mg/kg/week)	**0 (Vehicle)**		**0.5**		**5**		**15**		**50**	
Number of Animals on Study	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Anti-sarilumab antibody (+ / total number analyzed)										
Day 0 (Dose 1)	0 / 6	0 / 6	0 / 6	**1 / 6**	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6
Day 7 (Dose 2)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Day 14 (Dose 3)	0 / 6	0 / 6	**4 / 6**	**6 / 6**	**3 / 6**	0 / 6	**1 / 6**	0 / 6	0 / 6	0 / 6
Day 21 (Dose 4)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Day 49 (Dose 8)	0 / 2	NA	**3 / 3**	NA	**2 / 4**	NA	0 / 3	NA	0 / 2	NA
Day 77 (Dose 12)	0 / 2	NA	**3 / 3**	NA	**3 / 4**	NA	0 / 3	NA	0 / 2	NA
Day 112 (Dose 17)	0 / 2	NA	**3 / 3**	NA	**3 / 4**	NA	0 / 3	NA	0 / 2	NA
Day 140 (Dose 21)	0 / 2	NA	**3 / 3**	NA	**3 / 4**	NA	0 / 3	NA	0 / 2	NA
Day 168 (Dose 25)	0 / 2	NA	**3 / 3**	NA	**3 / 4**	NA	0 / 3	NA	0 / 2	NA
Necropsy (Recovery)	0 / 6	0 / 6	**5 / 5**	**6 / 6**	**4 / 6**	**1 / 6**	0 / 5	0 / 6	0 / 6	0 / 6
Necropsy (Recovery)	0 / 2	0 / 2	**1 / 1**	**2 / 2**	**1 / 2**	0 / 2	0 / 1	0 / 2	0 / 2	0 / 2

Abbreviations: M: male; F: female; NA: not analyzed; +: number positive

表 2.6.7.7 D - Repeat-Dose Toxicity – 26-week IV monkey study with a 12-week recovery (continued)

Report Title: Report Title: A 6-month once weekly 30-minute intravenous infusion study of REGN88 in cynomolgus monkeys followed by a 12-week recovery period											
Dose (mg/kg/week)		**0 (Vehicle)**		**0.5**		**5**		**15**		**50**	
Number of Animals on Study		**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Died or Killed Moribund		0	0	0	0	1 [a]	0	1 [b]	0	0	0
Hematology											
Neutrophil	Week -1/-2 [d]	6.67 x10³/µL	3.92 x10³/µL	-43.0%	+52.6%	-24.7%	+31.9%	-20.2%	+25.3%	-22.3%	+63.8%
Absolute [c]	Week 4	5.06 x10³/µL	3.77 x10³/µL	-38.3%	-9.0%	-45.7%	-29.4%	+4.0%	-30.0%	-39.1%	+18.0%
	Week 12	3.04 x10³/µL	4.41 x10³/µL	+9.9%	+14.1%	-30.9%	-29.3%	+21.1%	-35.6%	-24.0%	-8.2%
	Week 25	4.16 x10³/µL	5.56 x10³/µL	-8.4%	-23.9%	-28.6%	-56.3% *	-41.3%	-61.7% **	-37.5%	-40.5%
	(Recovery) Week 37	3.84 x10³/µL	5.87 x10³/µL	-55.7%	-21.0%	+16.1%	-50.4%	+33.9%	-34.1%	-5.5%	-9.7%
Coagulation											
Fibrinogen [c]	Week -1/-2 [d]	214.0 mg/dL	194.3 mg/dL	+8.3%	+5.6%	+2.7%	+5.6%	+13.3%	+17.2%	+16.7%	+27.3%
	Week 4	240.3 mg/dL	220.3 mg/dL	+9.4%	+7.5%	-11.3%	-17.4% *	-18.0%	-16.7% *	-14.4%	-8.5%
	Week 12	225.3 mg/dL	205.0 mg/dL	+6.7%	+5.6%	-10.3%	-16.8% *	-11.5%	-15.3%	-11.9%	-7.1%
	Week 25	229.7 mg/dL	208.2 mg/dL	-0.8%	+6.0%	-11.1%	-3.5%	-15.2%	-17.2%	-9.2%	-5.1%
	(Recovery) Week 37	255.0 mg/dL	214.5 mg/dL	-2.0%	+10.7%	+0.4%	+9.6%	-21.2%	+19.1%	+12.5%	-6.8%

Abbreviations: M: male; F: female

[a] one male (No. 3928) found dead on Day 159. Macroscopic observations included foreign material in the esophagus as well as microscopic observations of severe pharyngeal dilatation and foreign material/plant debris within the lumen of the pharynx, larynx, and numerous bronchi and bronchioles. These findings were consistent with an accidental choking death (aspiration) and unrelated to sarilumab exposure.

[b] one male (No. 3927) was euthanized in extremis on Day 133. Pertinent microscopic findings included ulceration, hemorrhage, mucosal abscessation, and generalized inflammation of the large intestine, consistent with the reported antemortem clinical signs of diarrhea, poor food consumption, and body weight loss. These findings were consistent with intestinal infection (typhlocolitis) and not considered related to sarilumab exposure.

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical difference is based on actual data (not percent differences). N=5 or 6 for Weeks -1/-2 to 25; N=1 or 2 for Week 37 (Recovery)

[d] Week -1 for males; Week -2 for females

Statistically significant from control (*p≤0.05; **p≤0.01; Dunnett's test)

表 2.6.7.7 D - Repeat-Dose Toxicity – 26-week IV monkey study with a 12-week recovery (continued)

Report Title: Report Title: A 6-month once weekly 30-minute intravenous infusion study of REGN88 in cynomolgus monkeys followed by a 12-week recovery period											
Dose (mg/kg/week)		**0 (Vehicle)**		**0.5**		**5**		**15**		**50**	
Number of Animals on Study		**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Special Chemistry Values											
C-reactive protein [a]	Week -1/-2 [b]	6.0 mg/L	5.3 mg/L	+25.0%	+109.4%	+75.0%	+147.2%	+63.3%	+158.5%	+15.0%	+22.6%
	Week 4	12.5 mg/L	10.7 mg/L	+115.2%	+146.7%	+21.6%	-60.7%	-68.0%	-57.9%	-65.6%	-71.0%
	Week 12	17.6 mg/L	19.2 mg/L	-9.1%	+7.3%	+61.9%	-46.9%	-71.6%	-51.0%	-71.6%	-55.2%
	Week 25	15.7 mg/L	9.4 mg/L	-13.4%	+21.3%	+37.6%	+50.0%	-36.3%	+9.6%	-54.8%	-19.1%
(Recovery)	Week 37	10.4 mg/L	4.5 mg/L	+115.4%	+86.7%	+27.9%	+340.0%	+137.5%	+726.7%	+23.1%	+137.8%
IL-6 [a]	Week -1/-2 [b]	0.75 pg/mL	0.49 pg/mL	+133.3%	+1116.3%	+33.3%	+222.4%	+137.3%	+40.8%	+34.7%	+161.2%
	Week 4	7.78 pg/mL	5.44 pg/mL	+114.3%	+68.8%	+491.4%	+1405.7% **	+911.4% **	+1250.2% **	+719.0% *	+596.9%
	Week 12	3.18 pg/mL	2.66 pg/mL	+32.7%	+12.4%	+521.1%	+1062.8%	+1861.9% *	+1974.1% **	+1225.8%	+1028.2%
	Week 25	2.69 pg/mL	2.06 pg/mL	-27.9%	-19.9%	+249.8%	+510.2%	+741.3% **	+1092.2% **	+900.7% **	+650.5% *
(Recovery)	Week 37	1.59 pg/mL	0.00 pg/mL	-100.0%	NA	+15.1%	NA	-63.5%	NA	+2.5%	NA
Immunotoxicity											
Primary IgG titer [c]	Day -5/-6	6.912 Log 2	7.050 Log 2	-7.9%	-1.2%	-4.4%	-0.6%	-9.3%	-7.4%	-2.7%	-3.4%
	Day 64	8.843 Log 2	10.212 Log 2	-3.0%	-6.9%	-11.6%	-15.4% **	-9.5%	-20.5% **	-11.6%	-19.5% *
	Day 65	9.312 Log 2	10.879 Log 2	+4.3%	-3.9%	-7.9%	-15.3% **	-13.3%	-20.2% **	-12.5%	-20.8% **
	Day 66	10.078 Log 2	11.662 Log 2	+4.1%	-0.5%	-6.2%	-11.9%	-9.0%	-15.4% *	-8.6%	-16.7% *
	Day 67	10.261 Log 2	11.992 Log 2	+11.4%	-0.1%	-6.2%	-12.9%	-4.5%	-14.8% *	-7.5%	-17.4% **
Secondary IgG titer [c]	Day 93	12.280 Log 2	13.745 Log 2	+8.7%	+1.8%	-11.2%	-23.6% **	-8.2%	-13.1%	-17.9%	-21.9% **
	Day 121	11.233 Log 2	12.349 Log 2	+9.5%	+0.7%	-10.2%	-25.3% **	-10.6%	-12.1% *	-18.5%	-19.8% **
	Day 156	10.289 Log 2	11.371 Log 2	+6.7%	-0.7%	-11.1%	-24.0% **	-6.7%	-14.6%	-18.7%	-18.8% *
	Day 177	10.437 Log 2	11.597 Log 2	+7.9%	-2.1%	-12.4%	-25.4% **	-8.7%	-16.1% *	-19.9%	-20.7% **

Abbreviations: M: male; F: female

a For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical difference is based on actual data (not percent differences). N=5 or 6 for Weeks -2 to 25; N=1 or 2 for Week 37 (Recovery).

b Week -1 for males; Week -2 for females.

c For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical difference is based on actual data (not percent differences). N= 6 for Primary IgG titer; N= 5 or 6 for Secondary IgG titer

Statistically significant from control (*p≤0.05; **p≤0.01; Dunnett's test)

表 2.6.7.7 D - Repeat-Dose Toxicity – 26-week IV monkey study with a 12-week recovery (continued)

Report Title: Report Title: A 6-month once weekly 30-minute intravenous infusion study of REGN88 in cynomolgus monkeys followed by a 12-week recovery period										
Dose (mg/kg/week)	**0 (Vehicle)**		**0.5**		**5**		**15**		**50**	
Number of Animals on Study	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Peripheral Blood Immunophenotypic Analysis [a]										
NK Cells (%) [b]										
Day -12/-13	7.13 ± 1.50	6.24 ± 1.01	7.83 ± 1.79	11.00 ± 2.69	6.25 ± 1.33	7.06 ± 1.59	9.80 ± 2.82	11.71 ± 1.84	7.90 ± 2.22	6.84 ± 0.94
Day -5/-6	5.55 ± 0.47	7.26 ± 1.05	6.52 ± 0.95	8.60 ± 2.22	7.41 ± 1.33	7.66 ± 2.11	6.74 ± 0.82	11.61 ± 1.44	8.71 ± 1.59	6.17 ± 0.90
Day 92	7.26 ± 1.00	7.63 ± 1.62	5.58 ± 0.92	7.52 ± 1.65	7.69 ± 1.07	6.19 ± 1.46	7.03 ± 0.94	10.04 ± 2.19	5.86 ± 0.59	5.77 ± 0.66
Day 176	5.03 ± 0.47	4.80 ± 0.66	3.97 ± 0.53	5.48 ± 1.16	6.16 ± 0.37	5.66 ± 1.13	4.56 ± 0.86	8.19 ± 1.56	2.30 ± 0.40**	4.64 ± 0.49
Day 260 [c]	6.94	8.41	10.00	8.23	4.64	8.72	3.78	12.32	13.04	4.32
Monocytes (%) [d]										
Day -12/-13	46.00 ± 11.37	59.68 ± 6.15	62.38 ± 3.93	61.07 ± 3.52	58.42 ± 3.45	68.45 ± 3.42	63.43 ± 3.65	63.43 ± 8.54	63.93 ± 4.49	66.52 ± 4.91
Day -5/-6	59.12 ± 5.04	56.83 ± 3.71	58.05 ± 3.11	54.50 ± 4.99	62.03 ± 1.99	63.65 ± 4.19	58.10 ± 4.34	55.65 ± 5.66	64.85 ± 4.10	59.82 ± 1.65
Day 92	58.52 ± 4.26	56.15 ± 4.11	64.22 ± 3.82	60.65 ± 2.76	62.07 ± 3.69	70.73 ± 4.74	60.92 ± 3.22	52.83 ± 4.78	73.58 ± 2.51	65.90 ± 4.38
Day 176	55.23 ± 3.33	62.75 ± 3.42	68.24 ± 3.92	61.10 ± 2.46	65.65 ± 4.10	66.73 ± 3.61	64.74 ± 2.97	52.12 ± 2.59	74.12 ± 4.89**	60.75 ± 5.91
Day 260 [c]	68.65	59.75	72.30	64.30	64.50	74.25	86.90	74.45	75.60	69.90
Conclusion: Based on the results of this study, effects of sarilumab administered via intravenous infusion (30 minutes) to cynomolgus monkeys once weekly for 6 months was observed at dose levels of 5, 15, and 50 mg/kg/week as evidenced by higher Interleukin-6 values and slightly lower primary and secondary IgG responses to KLH administration. The higher Interleukin-6 values were an expected, non-adverse pharmacologic effect of test article administration. A trend toward minimally to slightly lower mean neutrophil counts and fibrinogen values were noted at 5, 15, and 50 mg/kg group without a dose response; these effects resolved during the 12-week recovery period. The no-observed-adverse-effect level (NOAEL) was considered to be 50 mg/kg/week, the highest dose level administered.										

Abbreviations: M: males; F: females; SE: Standard error of mean

[a] Changes in natural killer cell and monocyte populations were not considered toxicologically significant.

[b] CD3-/CD16+; Values (mean ± SE) represent the actual surface marker counts derived from each individual animal (N=5 or 6); values are based on % of gated lymphocytes from peripheral blood

[c] N=1 or 2; mean values, [d] CD3-/CD14+; values (mean ± SE) represent the actual surface marker counts derived from each individual animal (N=5 or 6); values are based on % of gated monocytes from peripheral blood, Statistically significant from control (**p≤0.01; Dunnett's test)

8 In vitro 遺伝毒性試験

Not applicable.

9 In vivo 遺伝毒性試験

Not applicable.

10 がん原性試験

Not applicable.

11 生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験

Not applicable.

12　生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

表 2.6.7.12 A - Reproductive and Developmental Toxicity – Fertility and Embrionic development to implantation

Report Title: SAR153191 (REGN88): Subcutaneous fertility study in mice with REGN844				
Species/Strain: Mouse / CD-1(ICR)	**Duration of Dosing:** M: 7.5 weeks; F: 4 weeks		**Test Article:** REGN844 [a]	
Initial Age: M: 8 weeks; F: 9 weeks	**Day of Mating:** GD0		**Study No.:** [FER0480]	
Date of First Dose: M: [redacted] 20[redacted]; F: [redacted] 20[redacted]	**Day of C-Section:** [redacted] 20[redacted] to [redacted] 20[redacted]		**Location:** 4.2.3.5.1-1	
Vehicle/Formulation: [redacted]% sucrose, [redacted]% polysorbate 20, [redacted]mmol/L histidine, pH 6.0 / solution	**Method of Administration:** SC (twice weekly)		**GLP Compliance:** Yes	
Special Features: NA				
No Observed Adverse Effect Level: 200 mg/kg/week (100 mg/kg twice weekly)				
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)	**0 (Vehicle)**	**20 (10)**	**50 (25)**	**200 (100)**
Toxicokinetics: Mean Serum Concentrations (µg/mL)				
Males (sample taken 2 to 3 hours after the last dose)	BLQ	184	600	2187
Females (sample taken approximately 7 days after the last dose - GD14)	BLQ	BLQ	9.16	60.6 [b]
MALES:				
Number of Males on Study	**24**	**24**	**24**	**24**
No. Died or Sacrificed Moribund	1 (Day 36) [c]	0	0	1 (Day 17) [c]
Clinical Observations	-	-	-	-
Additional Information: N= 10/group (males)and N=20-23/ group (females) for toxicokinetic analysis of sarilumab; the lower limit of quantitation was <0.0780 µg/mL.				

Abbreviations: M: male, F: female, GD: gestation day; BLQ: Below Limit of Quantification (<0.0780 µg/mL); NA: not applicable; -: no sarilumab-related findings

[a] REGN844, a murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-6Rα

[b] values excludes apparent outlier

[c] In the absence of overt clinical signs and macroscopic findings, and with a death in the control group, the deaths in the sarilumab-treated groups were not attributed to compound administration.

表 2.6.7.12 A - Reproductive and Developmental Toxicity – Fertility and Embrionic development to implantation (continued)

Report Title: SAR153191 (REGN88): Subcutaneous fertility study in mice with REGN844				
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)	**0 (Vehicle)**	**20 (10)**	**50 (25)**	**200 (100)**
MALES (continued):				
Body weight gain (g) - pre-cohabitation				
Day 0 to 3	+0.44	+0.64	+0.26	+0.77
Day 3 to 7	-0.31	-0.10	+0.27	+0.44
Day 7 to 10	+0.76	+0.94	+1.04	+0.93
Day 10 to 14	+0.13	+0.18	+0.03	+0.18
Day 14 to 17	+0.33	+0.50	+0.55	+0.40
Day 17 to 21	+0.20	+0.03	+0.18	+0.32
Day 21 to 24	+0.96	+0.72	+0.88	+0.69
Day 24 to 28	+0.55	+0.73	+0.36	+0.66
Body weight gain (g) - post-cohabitation				
Day 31 to 35	+0.20	+0.44	+0.29	-0.18
Day 35 to 38	-0.45	-0.40	-0.24	+0.12
Day 38 to 42	+0.08	+0.46	+0.17	-0.44
Day 42 to 45	+0.99	+0.95	+1.11	+1.41
Day 45 to 49	-0.43	-0.40	-0.80	-0.56

表 2.6.7.12 A - Reproductive and Developmental Toxicity – Fertility and Embrionic development to implantation (continued)

Report Title: SAR153191 (REGN88): Subcutaneous fertility study in mice with REGN844				
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)	**0 (Vehicle)**	**20 (10)**	**50 (25)**	**200 (100)**
FEMALES:				
Number of Females on Study	**24**	**24**	**24**	**24**
No. Died or Killed Moribund	0	1 (Day 14) *a*	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Male and Female Fertility and Mating Performance				
Number of cohabitated pairs *b*	24	23	24	24
Number of mated females	24	23	24	24
Number of pregnant females	24	22	22	22
Delay (days ± SD) before mating (excluding not mated)	3.4 ± 3.8	3.3 ± 3.6	2.7 ± 2.7	2.0 ± 1.2
% Mated / cohabitated	100	100	100	100
% Pregnant / mated	100	95.7	91.7	91.7
% Pregnant / cohabitated	100	95.7	91.7	91.7
Body weight gain (g) - pre-cohabitation				
Day 0 to 3	+0.34	+1.49	+1.30	+2.05
Day 3 to 7	-0.26	-0.20	-0.20	-0.18
Day 7 to 10	+0.60	+0.82	+0.33	+0.60
Day 10 to 14	+0.33	-0.01	+0.38	+0.13
Body weight gain (g) - gestation				
Day 0 to 4	+2.35	+2.25	+2.00	+2.09
Day 4 to 8	+3.16	+3.08	+3.90	+3.59
Day 8 to 14	+11.65	+11.71	+12.99	+13.16

Abbreviations: -: no sarilumab-related findings, *a* In the absence of overt clinical signs and macroscopic findings, and with a death in the control group (male), the deaths in the sarilumab-treated groups were not attributed to compound administration. *b* surviving to mating or to end of cohabitation period

表 2.6.7.12 A - Reproductive and Developmental Toxicity – Fertility and Embrionic development to implantation (continued)

Report Title: SAR153191 (REGN88): Subcutaneous fertility study in mice with REGN844				
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)	**0 (Vehicle)**	**20 (10)**	**50 (25)**	**200 (100)**
FEMALES (continued):				
Number of Females on Study	**24**	**24**	**24**	**24**
Mean Body Weight - pre-cohabitation [a]				
Day 0	24.37 g	-4.39%	-2.95%	-7.55% [bc]
Day 3	24.71 g	+0.28%	+0.97%	-0.53% [bc]
Day 7	24.45 g	+0.57%	+1.23%	-0.16% [bc]
Day 10	25.04 g	+1.48%	+0.16%	-0.12% [bc]
Day 14	25.38 g	+0.08%	+0.32%	-0.95% [bc]
Mean Body Weight - gestation [a]				
Day 0	25.57 g (N=22)	+0.78% [b] (N=20)	+2.11% [d] (N=21)	+0.08% [cd] (N=21)
Day 4	27.92 g (N=22)	+0.36% [b] (N=20)	+0.72% [d] (N=21)	-0.86% [cd] (N=21)
Day 8	31.09 g (N=22)	+0.03% [b] (N=20)	+2.99% [d] (N=21)	+0.55% [cd] (N=21)
Day 14	42.73 g (N=22)	+0.19% [b] (N=20)	+5.34% [d] (N=21)	+3.96% [cd] (N=21)

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical difference is based on actual data (not percent differences); N=24 unless indicated otherwise.

[b] No significant trend through dose level by linear response test

[c] No significant trend through dose level by average response test

[d] Significant trend (p≤0.05) through dose level by linear response test

表 2.6.7.12 A - Reproductive and Developmental Toxicity – Fertility and Embrionic development to implantation (continued)

Report Title: SAR153191 (REGN88): Subcutaneous fertility study in mice with REGN844				
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)	**0 (Vehicle)**	**20 (10)**	**50 (25)**	**200 (100)**
FEMALES (continued):				
Macroscopic observations – terminal necropsy				
No. Pregnant with live fetuses	24	22	22	21
No. total implantation loss	0	0	0	1
No. mated – nonpregnant	0	1	2	2
Macroscopic observations – unscheduled death				
No. noncohabitated	0	1	0	0
Cesarean section data (excluding females with total litter loss) (mean per litter ± SD):				
No. Evaluated	**22**	**20**	**21**	**22**
Corpora lutea	13.8 ± 2.5	13.5 ± 2.1	14.7 ± 1.6	14.3 ± 1.5
Pre-implantation loss (absolute)	0.2 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.4	0.0 ± 0.2
Pre-implantation loss (% corpora lutea)	1.5 ± 3.3	1.4 ± 2.9	0.9 ± 2.2	0.3 ± 1.5
Implantation sites	13.5 ± 2.4	13.3 ± 2.0	14.5 ± 1.4	14.2 ± 1.4
Post implantation loss – absolute resorptions - early	0.5 ± 0.8	0.9 ± 1.4	0.5 ± 0.9	0.3 ± 0.5
Post implantation loss – absolute resorptions - late	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Post implantation loss – absolute dead	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.4
Post implantation loss – absolute total	0.45 ± 0.80	0.90 ± 1.37	0.62 ± 0.92	0.43 ± 0.60
Post implantation loss – % implantations	3.0 ± 5.0	6.8 ± 11.0	4.2 ± 6.2	3.0 ± 4.2
Live fetuses – absolute [b]	13.1 ± 2.2	12.4 ± 2.3	13.9 ± 1.5	13.8 ± 1.5
Live fetuses - % implantation	97.0 ± 5.0	93.2 ± 11.0	95.8 ± 6.2	97.0 ± 4.2

Abbreviations: SD: standard deviation

表 2.6.7.12 A - Reproductive and Developmental Toxicity – Fertility and Embrionic development to implantation (continued)

Report Title: SAR153191 (REGN88): Subcutaneous fertility study in mice with REGN844				
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)	**0 (Vehicle)**	**20 (10)**	**50 (25)**	**200 (100)**
FEMALES (continued):				
Cesarean section data (including females with total litter loss) (mean per litter ± SD)				
No. Evaluated	**22**	**20**	**21**	**22**
Corpora lutea	13.8 ± 2.5	13.5 ± 2.1	14.7 ± 1.6	13.7 ± 3.2
Pre implantation loss (absolute)	0.2 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.4	0.0 ± 0.2
Pre implantation loss (% corpora lutea) [a]	1.5 ± 3.3	1.4 ± 2.9	0.9 ± 2.2	0.3 ± 1.4
Implantation sites [a]	13.5 ± 2.4	13.3 ± 2.0	14.5 ± 1.4	13.6 ± 3.2
Post implantation loss – absolute resorptions - early	0.5 ± 0.8	0.9 ± 1.4	0.5 ± 0.9	0.3 ± 0.5
Post implantation loss – absolute resorptions - late	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Post implantation loss – absolute dead	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.4
Post implantation loss – absolute total [b]	0.45 ± 0.80	0.90 ± 1.37	0.62 ± 0.92	0.45 ± 0.60
Post implantation loss – % implantations	3.0 ± 5.0	6.8 ± 11.0	4.2 ± 6.2	7.4 ± 21.1
Live fetuses – absolute [b]	13.1 ± 2.2	12.4 ± 2.3	13.9 ± 1.5	13.2 ± 3.3
Live fetuses - % implantation [b]	97.0 ± 5.0	93.2 ± 11.0	95.8 ± 6.2	92.6 ± 21.1
Microscopic findings – terminal necropsy (including deaths)				
Uterus - No. examined	**24**	**24**	**24**	**24**
implantation sites	23	22	19	20
degeneration: implantation site	1	0	2	6
Conclusions: Twice weekly subcutaneous administration of 10, 25 or 100 mg/kg of REGN844 to mice (20, 50 or 200 mg/kg/week) resulted in an increased incidence of mice with implantation site degeneration at 200 mg/kg/week. There were no clinical signs and no effects on male or female body weight, food consumption, or reproductive and fertility parameters. In the absence of any effect on reproductive and fertility parameters, the toxicological significance of the degeneration of implantation sites observed microscopically in females at 200 mg/kg/week is not known. Therefore, under these study conditions, the No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) for fertility and reproductive performance in males and females was 200 mg/kg/week (100 mg/kg twice weekly).				

Abbreviations: SD: standard deviation

[a] analysis stratified by number of corpora lutea [b] analysis stratified by number of implantation sites

13　生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験

Not applicable.

14　生殖発生毒性試験－出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

表 2.6.7.14 - Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Pre- and Post-natal development, including maternal function

Report Title: Study of the effects of REGN88 on embryo-fetal development and pre- and post-natal development when administered weekly by intravenous infusion to pregnant cynomolgus monkeys						
Species/Strain: Monkey / cynomolgus		**Duration of Dosing:** up to 22 doses (GD20 through parturition – approximately GD165)			**Test Article:** sarilumab	
Initial Age: 4.2 to 5.9 years		**Day of Mating:** Day 0			**Study No.:** [REGN88-TX-08030], [REGN88-MX-14095]	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (GD20)		**Method of Administration:** IV (once weekly)			**Location:** 4.2.3.5.3-1, 4.2.3.2-7	
Special Features: None		**Vehicle/Formulation:** [redacted]% sucrose, [redacted]% polysorbate 20, and [redacted] mmol/L histidine, pH 6.0 / solution			**GLP Compliance:** Yes	
Litters Culled/Not Culled: Not culled		**Day of Necropsy:** [redacted] 20[redacted]				
No Observed Adverse Effect Level: 50 mg/kg/week in F_0 maternal and F_1 infant development						
Dose (mg/kg/week)			**0 (Vehicle)**	**5**	**15**	**50**
F_0 Females	**Toxicokinetics:**					
	AUC_{0-168h} (µg.h/mL)	GD20 (Dose 1)	NA	14 750	42 491	141 864 (N=11)
		GD41 (Dose 4)	NA	22 885 (N=9)	81 588 (N=8)	287 524 (N=9)
		GD97 (Dose 12)	NA	35 554 (N=9)	110 616 (N=8)	354 389 (N=9)
		GD146 (Dose 19)	NA	37 260 (N=8)	124 845 (N=8)	396 455 (N=7)
	C_{max} (µg/mL)	GD20 (Dose 1)	NA	167	495	1624 (N=11)
		GD41 (Dose 4)	NA	225 (N=9)	780 (N=8)	2584 (N=9)
		GD97 (Dose 12)	NA	296 (N=9)	885 (N=8)	2913 (N=9)
		GD146 (Dose 19)	NA	310 (N=9)	922 (N=8)	3049 (N=7)
	C_{trough} (µg/mL)	GD20 (Dose 1)	NA	49.1	160	511
		GD41 (Dose 4)	NA	81.4 (N=9)	306 (N=10)	1230 (N=9)
		GD97 (Dose 12)	NA	157 (N=9)	487 (N=8)	1570 (N=9)
		GD146 (Dose 19)	NA	152 (N=8)	622 (N=8)	1780 (N=7)
	Mean Serum Concentration (µg/mL)					
		LD7	BLQ	66.9	311	1389
		LD30	BLQ	15.7	154	482
Additional Information: N= 12/group/timepoint for toxicokinetic analysis of sarilumab unless indicated otherwise; the lower limit of quantitation was 0.157 µg/mL.						

Abbreviations: GD: gestation day; NA: not applicable as the samples were below the limit of quantitation (< 0.157 µg/mL); F_0: maternal females; AUC: area under the time-concentration curve; C_{max}: observed maximum concentration during a dosing interval; C_{trough}: observed minimum concentration in serum after a dose during a dosing interval; BLQ: below limit of quantitation; LD: lactation day

表 2.6.7.14 - Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Pre- and Post-natal development, including maternal function (continued)

Report Title: Study of the effects of REGN88 on embryo-fetal development and pre- and post-natal development when administered weekly by intravenous infusion to pregnant cynomolgus monkeys					
Dose (mg/kg/week)		**0 (Vehicle)**	**5**	**15**	**50**
F_0 Females (continued)	**Anti-sarilumab antibody (+ / total number analyzed)**				
	GD20 (Predose)	0/12	3/12	1/12	0/12
	GD41	0/12 [a]	3/12 [d]	0/12 [e]	0/12 [h]
	GD97	0/11 [b]	1/9	0/10 [f]	0/9
	GD146	0/9	0/9	0/8	0/7
	LD7	0/8 [c]	0/8	0/7 [g]	0/9 [i]
	Necropsy	0/6	0/7	0/6	0/5 [j]

Abbreviations: GD: gestation day; LD: lactation day; +: number positive

[a] Sample collected on GD31 for Animal No. 13

[b] Sample collected on GD50 for Animal No. 5 and GD52 for Animal No. 17

[c] Sample collected on LD3 for Animal No. 21

[d] Sample collected on GD38 for Animal No. 35, GD27 for Animal No. 39, and GD34 for Animal No. 47

[e] Sample collected on GD39 for Animal No. 57 and GD31 for Animal No. 61

[f] Sample collected on GD44 for Animal No. 49 and Animal No. 65 aborted

[g] Sample collected on LD3 for Animal Nos. 63 and 69

[h] Sample collected on GD38 for Animal Nos. 85 and 87 and GD 24 for Animal No. 93

[i] Sample collected on GD165 for Animal No. 81 and LD24 for Animal No. 95

[j] Sample collected on LD26 for Animal No. 75

表 2.6.7.14 - Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Pre- and Post-natal development, including maternal function (continued)

Report Title: Study of the effects of REGN88 on embryo-fetal development and pre- and post-natal development when administered weekly by intravenous infusion to pregnant cynomolgus monkeys						
Dose (mg/kg/week)			**0 (Vehicle)**	**5**	**15**	**50**
F_0 Females (continued)	**No. Pregnant**		12	12	12	12
	No. Died or Sacrificed Moribund		1 [a]	1 [b]	0	1 [c]
	Mean Duration of Gestation (Days ± SD)		159 ± 6	160 ± 5	159 ± 4	156 ± 10
	No. Abortions / in utero death (%)		3/12 (25.0%)	3/12 (25.0%)	4/12 (33.3%)	3/12 (25.0%)
	No. Stillbirths (%)		2/9 (22.2%) [d]	1/9 (11.1%)	2/8 (25.0%)	3/9 (33.3%)
	No. Total Pregnancy Loss (%)		5/12 (41.7%)	4/12 (33.3%)	6/12 (50.0%)	6/12 (50.0%)
	No with Premature /Preterm birth		0	0	0	2 (GD135 and GD144)
	Clinical Observations		-	-	-	-
	Necropsy Observations		-	-	-	-
F_1 Infants	**Serum Concentration of Sarilumab [e] (µg/mL)**	DB7	BLQ	54.7	521	1435
		DB30	BLQ	9.18	129	339
	Anti-Sarilumab Antibody (+ / total number analyzed)	DB7	1/6	0/7	0/5	0/5
		DB30	0/6	0/7	0/5	0/4
	No. Neonate Death Post Birth		1	1	1	2 [f]
	Infants Surviving to Scheduled Necropsy on DB30 to 32		6	7	5	4
	Clinical observations		-	-	-	-
Conclusion: Under the conditions of this study, a No-Observed-Adverse-Effect- Level (NOAEL) is 50 mg/kg/week dose in both maternal animals and F1 neonates.						

Abbreviations: GD: gestation day; SD: standard deviation; -: no sarilumab-related findings; +: number positive; BLQ = Below Limit of Quantitation (< 0.157 µg/mL); DB: day after birth

[a] Death occurred on LD0 (the day of delivery), following delivery of a live infant on GD172. Although a definitive cause of death was not determined, dystocia and/or excessive bleeding at delivery, most likely contributed to the death of this animal. This death was not considered to be related to vehicle treatment or to study procedures.

[b] Death occurred on LD2 following delivery of a live infant on GD154. The death was not considered to be test article-related and was likely the result of excessive bleeding from delivery-associated vaginal perforation.

[c] Euthanized on LD0 (the day of delivery). On GD165, the animal was found to be delivering in a breech position. An emergency cesarean section was performed, and a dead fetus was retrieved. Due to severe bleeding and vaginal trauma from the breech birth, the animal was euthanized.

[d] Infant No. 21 delivered by emergency cesarean section (due to breech delivery) was included in this calculation because this infant would have been delivered stillborn if the cesarean section was not performed.

[e] Toxicokinetic calculations were not performed as only 2 timepoints were collected in the neonates

[f] Although listed as neonate death, most postnatal evaluations were performed on infant No. 75N that was euthanized on DB26 (clinical signs, body weight, TK, serum chemistry, birth examinations, morphological development, skeletal evaluations)

15　新生児を用いた試験

表 2.6.7.15 A - Study in juvenile animals – 4-week exploratory SC mouse study

Report Title: SAR153191/REGN88: Exploratory subcutaneous 4-week toxicity study in the juvenile mouse with REGN844										
Species/Strain: Mouse / CD-1(ICR)			**Duration of Dosing:** 4 weeks (PND14 to 38)				**Test Article:** REGN844 [a]			
Initial Age: PND14			**Duration of Post-Dose:** NA				**Study No.:** [JUP0016], [REGN88-MX-14095]			
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]			**Method of Administration:** SC (once or twice weekly)				**Location:** 4.2.3.5.4-1, 4.2.3.2-7			
Vehicle/Formulation: [redacted]% sucrose, [redacted]% polysorbate 20, and [redacted]mmol/L histidine, pH 6.0 / solution							**GLP Compliance:** No			
Special Features: Additional mice (9/sex/control group and 54/sex/group in the REGN844-treated groups for PND14 and 3/sex/control group and 18/sex/group in the REGN844-treated groups for PND35) were maintained for toxicokinetic investigations only										
No Observed Effect Level: 200 mg/kg/week (200 mg/kg administered once weekly, or 100 mg/kg administered twice per week)										
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)	**0 (Vehicle)**		**50**		**50 (25) [b]**		**200**		**200 (100) [b]**	
Number of Animals – Main Study	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Toxicokinetics:										
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL)										
PND14 (Dose 1)	BLQ	BLQ	33 200	28 200	26 900	21 800	123 000	115 000	102 000	106 000
PND35 (Dose 4 IV; Dose 7 SC)	BLQ	BLQ	57 200	61 000	52 200	62 600	295 000	270 000	260 000	311 000
C_{max} (µg/mL)										
PND14 – 0h post dose (Dose 1)	BLQ	BLQ	287	283	151	149	1200	1150	646	583
PND14 – 72h post dose (Dose 1)	BLQ	BLQ	NA	NA	293	180	NA	NA	883	1100
PND35 – 0h post dose (Dose 4 IV; Dose 7 SC)	BLQ	BLQ	398	472	359	381	2560	1870	1440	1530
PND35 – 72h post dose (Dose 4 IV; Dose 7 SC)	BLQ	BLQ	NA	NA	302	449	NA	NA	1900	2430
C_{trough} (µg/mL)										
PND14 [c] (Dose 1)	BLQ	BLQ	82.5	58.2	83.2	99.8	436	311	491	524
PND35 [c] (Dose 4 IV; Dose 7 SC)	BLQ	BLQ	322	316	299	328	1250	1360	1900	2190
Noteworthy Findings:										
Died or Killed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical observations, body weight, food consumption, macroscopic observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Additional Information: N= 9/sex/group/timepoint (PND14) and N=3/sex/group/timepoint (PND35) for toxicokinetic analysis of REGN844; the lower limit of quantitation was <0.078 µg/mL.										
Conclusion: The subcutaneous administration of REGN844 once weekly or twice weekly from PND14 to mice at doses of 50 mg/kg/week, 50 mg/kg/week dosed at 25 mg/kg twice weekly, 200 mg/kg/week or 200 mg/kg/week dosed at 100 mg/kg twice weekly resulted in no adverse effects. Therefore, under these study conditions, the dose of 200 mg/kg/week (administered once weekly or at 100 mg/kg twice weekly) was considered to be a No Observed Effect Level.										

Abbreviations: M: male; F: female; NA: not applicable; AUC: area under the time-concentration curve; C_{max}: maximum concentration; C_{trough}: observed minimum concentration in serum after a dose during a dosing interval ; PND: post natal day; BLQ = below the level of quantitation (<0.078 µg/mL); - : no noteworthy findings

[a] REGN844, a murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-6Rα [b] dosed twice per week [c] 168 hours after the first injection during a dosing week of PND14 or PND35

表 2.6.7.15 B - Study in juvenile animals – 9-week SC mouse study with a 13-week recovery

Report Title: REGN844: 9-week subcutaneous toxicity study in the juvenile mouse followed by a 13-week recovery period									
Species/Strain: Mouse / CD-1(ICR)			**Duration of Dosing:** 9 weeks				**Test Article:** REGN844 [a]		
Initial Age: PND14			**Duration of Post-Dose:** 13 weeks				**Study No.:** [JUV0030]		
Date of First Dose: [redacted]			**Method of Administration:** SC (once weekly)				**Location:** 4.2.3.5.4-2		
Vehicle/Formulation: [redacted]% sucrose, [redacted]% polysorbate 20, and [redacted]mmol/L histidine, pH 6.0 / solution							**GLP Compliance:** Yes		
Special Features: Main study animals (18 animals/sex/group) were assigned to the toxicity group; 6/sex/group were sampled for hematology and clinical chemistry on PND37 and then were discarded. Additional animals were assigned to subgroups and received the same dosing regimen as the main study animals: a recovery subgroup (6/sex/group) was assigned to a 13-week (treatment-free) recovery period; TDAR subgroup (12 animals/sex/group); a TDAR recovery subgroup (12 animals /sex/group); an immunotoxicity subgroup (12 animals/sex/group); and a toxicokinetic subgroup (6/sex/control and 21/sex/REGN844-treated groups).									
No Observed Adverse Effect Level: 200 mg/kg/week									
Dose - mg/kg/week		**0 (Vehicle)**		**20**		**60**		**200**	
Number of Animals (Main Study)		**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**
Toxicokinetics:									
$AUC_{0\text{-}T}$ (µg.h/mL)	PND70 (Dose 9)	BLQ	BLQ	44 000	36 400	167 000	146 000	381 000	382 000
C_{max} (µg/mL)	PND70 (Dose 9)	BLQ	BLQ	326	300	1160	1040	2820	2880
C_{trough} (µg/mL)	PND42 (Dose 5)	BLQ	BLQ	103	62.4	170	416	1560	1190
	PND63 (Dose 8)	BLQ	BLQ	187	110	675	536	2270	1980
	PND70 (Dose 9)	BLQ	BLQ	214	163	881	826	2140	1750
Additional Information: N=2 to 3/sex/group/timepoint for toxicokinetic analysis of REGN844; the lower limit of quantitation was <0.078 µg/mL.									

Abbreviations: M: male; F: female; PND: post-natal day; SC: subcutaneous; TDAR: T cell-dependent antibody response; AUC: area under the time-concentration curve; C_{max}: maximum concentration; C_{trough}: observed minimum concentration in serum at the end of the dosing interval (168 h after dosing interval); BLQ = below the level of quantitation (<0.078 µg/mL)

[a] REGN844, a murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-6Rα

表 2.6.7.15 B - Study in juvenile animals – 9-week SC mouse study with a 13-week recovery (continued)

Report Title: REGN844: 9-week subcutaneous toxicity study in the juvenile mouse followed by a 13-week recovery period								
Dose - mg/kg/week	**0 (Vehicle)**		**20**		**60**		**200**	
Number of Animals (Main Study)	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**
Noteworthy Findings:								
Died or Killed Moribund	1 (Rec Day 10) [a]	0	1 (Rec Day 5) [a] 1 (Rec Day 3) *b*	1 (Rec Day 3) *b*	1 (Rec Day 7) *c*	0	0	0
Clinical observations								
Neck (Injection site) – sores/lesions (minimal to moderate) *d*	0	1	1	0	0	0	5	2
No noteworthy findings were observed in body weight, food consumption, ophthalmology, hematology, clinical chemistry, and organ weights								
Immunotoxicity (concentration) *e*								
IgG Recovery Day 4 (PND74)	0.80 g/L	1.01 g/L	+32.5%	+0.99%	+164% ***	+99.0% **	+418% ***	+291% ***
Recovery Day 91 (PND161)	2.34 g/L	1.68 g/L	+34.6%	-13.7%	-28.2%	+32.1%	-2.14%	+20.8%
IgM Recovery Day 4 (PND74)	0.17 g/L	0.17 g/L	0%	+5.9%	-11.8%	+29.4%	+23.5%	+106% *
Recovery Day 91 (PND161)	0.23 g/L	0.37 g/L	+4.4%	-18.9%	-39.1%	-29.7%	0%	-8.11%
Immunotoxicity (titer response to KLH) *f*								
IgG titer (KLHG) Day 35	596	367	<194	326	460	339	295	329
Day 42	11 276	9519	5569	11 282	5800	11 722	3672	14 581
Day 50	27 594	51 041	8233 * *g*	35 152	12 014	29 250	8947* *g*	41 194
Recovery Day 76	381	693	382	<350	<427	<828	<398	<226
Recovery Day 83	16 593	14 430	9093	22 346	6752	3946	2640	<6878
Recovery Day 91	19 471	37 447	28 395	32 139	16 306	27 836	19 793	33 287

Abbreviations: M: male; F: female; Rec: recovery; PND: post-natal day; KLH: Keyhole limpet hemocyanin

a from the immunotoxicity subgroup; sacrificed due to eye trauma from bleeding procedure *b* from the toxicokinetic subgroup; no cause of death established as no necropsy was performed

c from the toxicokinetic subgroup; no cause of death established; animal died after final bleed but before scheduled euthanasia *d* N=24

e For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical difference is based on actual data (not percent differences); N= 6

f cut-point titers after antigen challenge by KLH (actual values); N=5 to 6 on Days 35, 42, 76, and 83; N=10 to 12 on Days 50 and 91 *g* rank transformed data

Statistically significant from control (*p≤0.05; **p≤0.01; ***p≤0.001; ANOVA and Dunnett's test)

表 2.6.7.15 B - Study in juvenile animals – 9-week SC mouse study with a 13-week recovery (continued)

Report Title: REGN844: 9-week subcutaneous toxicity study in the juvenile mouse followed by a 13-week recovery period								
Dose - mg/kg/week	**0 (Vehicle)**		**20**		**60**		**200**	
Number of Animals (Main Study)	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**
Immunotoxicity (titer response to KLH) [a] (continued)								
IgM titer (KLHM) Day 35	521	335	199 * [b]	274	280	283	218 * [b]	322
Day 42	1262	1828	1303	2004	1528	1896	1858	2468
Day 50	799	1322	445	899	573	692 *	505	1146
Recovery Day 76	406	436	414	<447	<528	<860	483	<220
Recovery Day 83	1723	3181	2710	2421	1407	<842	1577	<1168
Recovery Day 91	771	1430	1207	1066	<829	1115	2396	1061
Macroscopic Observations (Terminal Necropsy)								
axillary lymph node – No. evaluated	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
large	1	0	0	0	0	0	2	1
red	1	0	0	1	1	1	0	2
skin/subcutis – No. evaluated	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
sore	0	0	0	0	0	0	1	0

Abbreviations: M: male; F: female; KLH: Keyhole limpet hemocyanin

[a] cut-point titers after antigen challenge by KLH (actual values); N=5 to 6 on Days 35, 42, 76, and 83; N=10 to 12 on Days 50 and 91

[b] rank transformed data

Statistically significant from control (*p≤0.05; **p≤0.01; ***p≤0.001; ANOVA and Dunnett's test)

表 2.6.7.15 B - Study in juvenile animals – 9-week SC mouse study with a 13-week recovery (continued)

Report Title: REGN844: 9-week subcutaneous toxicity study in the juvenile mouse followed by a 13-week recovery period								
Dose - mg/kg/week	**0 (Vehicle)**		**20**		**60**		**200**	
Number of Animals (Main Study)	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**
Macroscopic Observations (Terminal Necropsy) (continued)								
subcutaneous, neck – No. evaluated	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
fur loss	0	0	0	0	0	0	1	0
mass	0	0	0	0	0	0	0	1
red area	0	0	1	0	0	0	0	0
red focus	0	0	0	1	1	0	0	0
sore	0	0	0	0	0	0	3	1
Macroscopic Observations (Recovery Necropsy)								
axillary lymph node – No. evaluated	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**
large	0	0	1	0	0	0	0	0
red	0	1	0	2	0	1	0	0
skin/subcutis – No. evaluated	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**
fur loss	0	0	0	0	1	0	0	0
mass	0	0	0	0	1	0	0	0
sore	0	0	1	0	0	0	0	0
Histopathology LM (Terminal Necropsy)								
Femoral bone marrow – No. examined	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
increased hemopoiesis (minimal)	0	0	0	0	0	2	3	4
Sternal bone marrow – No. examined	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
increased hemopoiesis (minimal)	0	0	0	0	0	2	3	4

Abbreviations: M: male; F: female; LM: light microscopy

表 2.6.7.15 B - Study in juvenile animals – 9-week SC mouse study with a 13-week recovery (continued)

Report Title: REGN844: 9-week subcutaneous toxicity study in the juvenile mouse followed by a 13-week recovery period								
Dose - mg/kg/week	**0 (Vehicle)**		**20**		**60**		**200**	
Number of Animals (Main Study)	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**
Histopathology LM (Terminal Necropsy) (continued)								
Subcutaneous neck – No. examined	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
inflammation, subcutis (minimal to slight)	1	1	0	2	1	5	3	11
inflammation, dermis (minimal to moderate)	1	1	1	1	1	3	3	1
Axillary lymph node – No. examined	**11**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
lymphoid hyperplasia (minimal to slight)	4	2	4	7	6	8	8	9
pigment (minimal)	0	0	0	0	1	1	0	3
inflammation (minimal to slight)	0	0	0	0	0	0	0	2
Histopathology LM (Recovery Necropsy)								
Subcutaneous neck – No. examined	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**
inflammation, subcutis (minimal)	0	0	0	0	0	0	0	1
inflammation, dermis (minimal)	0	0	1	1	0	0	0	0
Axillary lymph node – No. examined	**6**	**6**	**6**	**5**	**6**	**6**	**6**	**6**
lymphoid hyperplasia (minimal)	2	1	1	1	0	1	0	0
pigment (minimal)	0	0	0	1	0	0	0	0
inflammation (minimal)	0	0	1	0	0	0	0	0
Conclusion: NOAEL was 200 mg/kg/week.								

Abbreviations: M: male; F: female; LM: light microscopy; NOAEL: no observed adverse effect level.

16　局所刺激性試験

Not applicable.

17　その他の毒性試験

表 2.6.7.17 A - Other Toxicity Studies – Tissue cross-reactivity study

Test Article: sarilumab

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Concentration	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Monkey (cynomolgus) and normal human tissues	in vitro	NA	0.5 µg/mL and 20 µg/mL biotinylated sarilumab	3 donors per tissue	Sarilumab-specific staining was only of the cytoplasm and/or cytoplasmic granules in all human tissue elements, and may represent binding to IL-6R residing in intracellular vesicles. Membrane staining was not observed in any of the human protocol tissues and was only observed in the mammary gland epithelium in one cynomolgus monkey donor. Although the potential toxicological consequences of cytoplasmic and cytoplasmic granular staining are called uncertain in the study report, the toxicological consequences are considered low as the accessibility of cytoplasmic sites is questionable in intact cells in vivo. The staining pattern of sarilumab-bio in human tissues was very similar to that noted in cynomolgus monkey tissues; therefore, these data, in conjunction with in vitro and in vivo pharmacology data support the use of the cynomolgus monkey as a relevant animal model for in vivo toxicology testing with sarilumab.	[REGN88-TX-06036]	4.2.3.7.7-1

Abbreviations: NA: not applicable

表 2.6.7.17 B - Other Toxicity Studies – 13-week SC comparability monkey study

Report Title: A 13-week bridging subcutaneous toxicity study of REGN88 in cynomolgus monkeys								
Species/Strain: Monkey / cynomolgus			**Duration of Dosing:** 13 weeks			**Test Article:** sarilumab		
Initial Age: approximately 2.7 years			**Duration of Post-Dose:** NA			**Study No.:** [REGN88-TX-09053], [REGN88-MX-14095]		
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (M); [redacted] 20[redacted] (F)			**Method of Administration:** SC (twice weekly)			**Location:** 4.2.3.7.7-2 , 4.2.3.2-7		
Vehicle/Formulation: Test Article 1 (S4* F3): aqueous buffered solution containing [redacted] mmol/L histidine, 0.2% PS20, [redacted] mmol/L arginine, 5% sucrose at pH 6.0; Test Article 2 (S1* F1): [redacted] mmol/L histidine, [redacted]% PS20, [redacted]% sucrose at pH 6.0						**GLP Compliance:** Yes		
Special Features: the purpose of this study was to evaluate and compare potential adverse effects of sarilumab manufactured by and formulated with the original process ([redacted]) compared to the newer process ([redacted]). The [redacted] process utilized the original cell line and formulation (S1* F1). The [redacted] process utilized the new cell line and new formulation (S4* F3).								
No Observed Adverse Effect Level: ND								
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)	**0 (Vehicle) [a]**		**10 (5) [b]**		**100 (50) [b]**		**100 (50) [c]**	
Number of Animals on Study	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Toxicokinetics:								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg.h /mL) [d] Week 0 [e] (Dose 2)	NA	NA	1498	1711	15 078	15 168	20 511	17 154
Week 1 (Dose 4)	NA	NA	3554	3345	31 830	31 950	44 580	35 220
Week 3 (Dose 6)	NA	NA	3424	4470	40 710	40 950	43 350	46 980
Week 5 (Dose 8)	NA	NA	4055	5454	46 470	49 350	60 870	59 100
Week 7 (Dose 12)	NA	NA	5334	6828	51 750	60 750	69 060	71 310
Week 9 (Dose 16)	NA	NA	7176	7185	59 760	67 770	70 650	78 870
Week 11 (Dose 20)	NA	NA	6914	7797	61 200	72 540	72 810	81 930
Necropsy (Dose 24)	NA	NA	5904	7533	59 100	75 000	74 640	75 990
Additional Information: N= 4/sex/group/timepoint for toxicokinetic analysis of sarilumab; the lower limit of quantitation was <0.157 µg/mL.								

Abbreviations: M: male; F: female; AUC: area under the time-concentration curve; NA: not applicable; ND: not determined;; PS: polysorbate

[a] [redacted] manufacturing process – Vehicle Product

[b] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] formulation (referred to as S4* F3 or as noted in the study report, S4F3)

[c] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] formulation (referred to as S1* F1 or as noted in the study report, S1F1)

[d] AUC calculations were made using the blood samples collected at approximately 24 hours after the second weekly dose

[e] Week 0 equals the first week of dosing

＊新薬承認情報提供時に置換

表 2.6.7.17 B - Other Toxicity Studies – 13-week SC comparability monkey study (continued)

Report Title: A 13-week bridging subcutaneous toxicity study of REGN88 in cynomolgus monkeys									
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)		**0 (Vehicle) [a]**		**10 (5) [b]**		**100 (50) [b]**		**100 (50) [c]**	
Number of Animals on Study		**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
C_{trough} (µg/mL) [d]	Week 0 [e] (Dose 1)	NA	NA	33.6	45.8	410	439	602	522
	Week 1 (Dose 3)	NA	NA	121	125	1073	1200	1748	1340
	Week 3 (Dose 5)	NA	NA	121	181	1600	1613	1688	1753
	Week 5 (Dose 7)	NA	NA	162	209	1838	1913	2175	2308
	Week 7 (Dose 11)	NA	NA	220	273	1938	2318	2638	2783
	Week 9 (Dose 15)	NA	NA	364	294	2375	2685	2845	3108
	Week 11 (Dose 19)	NA	NA	253	290	2523	2970	2923	3220
	Necropsy (Dose 23)	NA	NA	235	332	2298	3065	3055	3008
Additional Information: N= 4/sex/group/timepoint for toxicokinetic analysis of sarilumab; the lower limit of quantitation was <0.157 µg/mL.									

Abbreviations: M: male; F: female; NA: not applicable; C_{trough}: trough concentrations at 96 hours following first biweekly dose; PS: polysorbate

[a] [redacted] manufacturing process – Vehicle Product

[b] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] formulation (referred to as S4* F3 or as noted in the study report, S4-F3)

[c] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] formulation (referred to as S1* F1 or as noted in the study report, S1-F1)

[d] C_{trough} calculations were made using the blood samples collected at approximately 96 hours after the first weekly dose

[e] Week 0 equals the first week of dosing

＊新薬承認情報提供時に置換

表 2.6.7.17 B - Other Toxicity Studies – 13-week SC comparability monkey study (continued)

Report Title: A 13-week bridging subcutaneous toxicity study of REGN88 in cynomolgus monkeys									
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)		0 (Vehicle) [a]		10 (5) [b]		100 (50) [b]		100 (50) [c]	
Number of Animals on Study		M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Mean Serum Concentrations (µg/mL)									
Dose 2	Week 0 [d] 0 hr	BLQ	BLQ	33.6	45.8	410	439	602	522
	Week 0 [d] 24 hr	BLQ	BLQ	91.3	96.8	846	825	1107	908
Dose 4	Week 1 0 hr	BLQ	BLQ	121	125	1073	1200	1748	1340
	Week 1 24 hr	BLQ	BLQ	175	154	1580	1463	1968	1595
Dose 6	Week 2 0 hr	BLQ	BLQ	121	181	1600	1613	1688	1753
	Week 2 24 hr	BLQ	BLQ	165	191	1793	1800	1925	2163
Dose 8	Week 3 0 hr	BLQ	BLQ	162	209	1838	1913	2175	2308
	Week 3 24 hr	BLQ	BLQ	176	246	2035	2200	2898	2618
Dose 12	Week 5 0 hr	BLQ	BLQ	220	273	1938	2318	2638	2783
	Week 5 24 hr	BLQ	BLQ	225	296	2375	2745	3118	3160
Dose 16	Week 7 0 hr	BLQ	BLQ	364	294	2375	2685	2845	3108
	Week 7 24 hr	BLQ	BLQ	234	305	2605	2963	3043	3465
Dose 20	Week 9 0 hr	BLQ	BLQ	253	290	2523	2970	2923	3220
	Week 9 24 hr	BLQ	BLQ	323	360	2578	3075	3145	3608
Dose 24	Week 11 0 hr	BLQ	BLQ	235	332	2298	3065	3055	3008
	Week 11 24 hr	BLQ	BLQ	257	296	2628	3185	3165	3325
	Necropsy	BLQ	BLQ	279	369	2580	3283	3113	3298
Additional Information: N= 4/sex/group/timepoint for toxicokinetic analysis of sarilumab. Below level of quantitation was <0.157 µg/mL.									

Abbreviations: M: male; F: female; BLQ: below limit of quantitation

[a] [redacted] manufacturing process – Vehicle Product

[b] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] formulation (referred to as S4* F3 or as noted in the study report, S4F3)

[c] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] formulation (referred to as S1* F1 or as noted in the study report, S1F1)

[d] Week 0 equals the first week of dosing

＊新薬承認情報提供時に置換

表 2.6.7.17 B - Other Toxicity Studies – 13-week SC comparability monkey study (continued)

Report Title: A 13-week bridging subcutaneous toxicity study of REGN88 in cynomolgus monkeys									
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)		**0 (Vehicle) [a]**		**10 (5) [b]**		**100 (50) [c]**		**100 (50) [c]**	
Number of Animals on Study		**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Anti-sarilumab antibody (+ / total number analyzed)									
Dose 0	Pretest	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
Dose 2	Week 0 [d]	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
Dose 4	Week 1	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
Dose 6	Week 2	0 / 4	0 / 4	**1 / 4**	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
Dose 8	Week 3	0 / 4	0 / 4	**1 / 4**	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
Dose 12	Week 5	0 / 4	0 / 4	**1 / 4**	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
Dose 16	Week 7	0 / 4	0 / 4	**1 / 4**	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
Dose 20	Week 9	0 / 4	0 / 4	**1 / 4**	**1 / 4**	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
Dose 24	Week 11	0 / 4	0 / 4	**1 / 4**	**1 / 4**	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
Week 13	Necropsy	0 / 4	0 / 4	**1 / 4**	**1 / 4**	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4

Abbreviations: M: male; F: female; +: number positive

[a] [redacted] manufacturing process – Vehicle Product

[b] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] formulation (referred to as S4* F3 or as noted in the study report, S4*F3)

[c] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] formulation (referred to as S1* F1 or as noted in the study report, S1*F1)

[d] Week 0 equals the first week of dosing

＊新薬承認情報提供時に置換

表 2.6.7.17 B - Other Toxicity Studies – 13-week SC comparability monkey study (continued)

Report Title: A 13-week bridging subcutaneous toxicity study of REGN88 in cynomolgus monkeys								
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)	**0 (Vehicle) [a]**		**10 (5) [b]**		**100 (50) [b]**		**100 (50) [c]**	
Number of Animals on Study	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings:								
Died or Killed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Hematology								
White Blood Cells [d]								
Week -3	14.12 x10³/µL	12.02 x10³/µL	-14.9%	+22.3%	-5.9%	+25.1%	-34.1%	+66.3% **
Week 4	11.35 x10³/µL	7.98 x10³/µL	-40.9% *	-27.9%	-26.7%	+12.5%	-41.4% *	+10.2%
Week 12	8.48 x10³/µL	6.31 x10³/µL	+9.9%	-16.6%	-5.1%	+28.5%	-13.7%	+31.9%
Neutrophils [d]								
Week -3	5.38 x10³/µL	5.43 x10³/µL	-21.9%	+82.0%	-3.9%	+45.7%	-46.7%	+139.6% **
Week 4	6.80 x10³/µL	2.42 x10³/µL	-74.4% **	-36.4%	-64.1% **	-14.0%	-71.2% **	-6.6%
Week 12	3.70 x10³/µL	2.52 x10³/µL	+39.7%	-22.2%	-3.5%	+55.6%	-45.7%	+34.5%
Coagulation								
Fibrinogen [d]								
Week -3	223.0 mg/dL	201.8 mg/dL	+0.9%	-4.0%	-3.4%	+1.5%	-10.3%	-5.4%
Week 4	198.8 mg/dL	218.3 mg/dL	+15.7%	-24.0%*	-11.2%	-22.6%*	-14.1%	-21.4%*
Week 12	219.0 mg/dL	213.3 mg/dL	-4.4%	-23.8%**	-20.4%	-23.4%**	-24.7%*	-25.3%**

Abbreviations: M: male, F: female

[a] [redacted] manufacturing process – Vehicle Product

[b] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] formulation (referred to as S4* F3 or as noted in the study report, S4F3)

[c] [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] formulation (referred to as S1* F1 or as noted in the study report, S1F1)

[d] For controls, group means (x10³/µL) are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical difference is based on actual data (not percent differences). N=4
Statistically significant from control (*≤0.05; ** ≤0.01; Dunnett's test)

＊新薬承認情報提供時に置換

表 2.6.7.17 B - Other Toxicity Studies – 13-week SC comparability monkey study (continued)

Report Title: A 13-week bridging subcutaneous toxicity study of REGN88 in cynomolgus monkeys								
Dose - mg/kg/week (mg/kg twice weekly)	**0 (Vehicle) [a]**		**10 (5) [b]**		**100 (50) [b]**		**100 (50) [c]**	
Number of Animals on Study	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Special Chemistry								
C-reactive Protein [d]								
Week -3	64.4 mg/L	64.0 mg/L	-44.1%	-46.6%	-25.8%	-25.2%	-62.0%	-41.7%
Week 4	13.3 mg/L	7.1 mg/L	-25.6%	-25.4%	-12.8%	-25.4%	-31.6%	+4.2%
Week 12	17.2 mg/L	14.3 mg/L	-36.6%	-55.9%	-32.6%	-35.0%	-51.2%	-21.7%
Histopathology (LM)								
No. examined	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**
Injection sites: - Infiltrate, mononuclear, perivascular (minimal)	0	0	1	0	3	2	3	4
Adrenal cortex - adenoma (benign)	0	0	0	0	0	0	1	0
Conclusion: Administration of 50 mg/kg twice weekly of [redacted] or [redacted] processes did not produce any test article-related findings that were considered adverse, and the toxicity profile was considered comparable between the 2 groups.								

Abbreviations: M: male, F: female

a [redacted] manufacturing process – Vehicle Product

b [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] formulation (referred to as S4* F3 or as noted in the study report, S4*F3)

c [redacted] manufacturing process: utilizes [redacted] formulation (referred to as S1* F1 or as noted in the study report, S1*F1)

d For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical difference is based on actual data (not percent differences). N=4
Statistically significant from control (*≤0.05; ** ≤0.01; Dunnett's test)

＊新薬承認情報提供時に置換