サノフィ株式会社

デュピルマブ（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: 39

目　　次

略号と用語の定義 5

1　まとめ 7

2　単回投与毒性試験 11

3　反復投与毒性試験 12

3.1　げっ歯類 12

3.1.1　マウスを用いた試験 12

3.1.1.1　REGN1103 のマウス探索的 5 週間反復皮下投与毒性試験 12

3.2　非げっ歯類 14

3.2.1　サルを用いた試験 14

3.2.1.1　REGN646 のサル探索的 1 ヵ月間反復静脈内持続投与毒性試験 14

3.2.1.2　REGN646 のサル 5 週間反復投与毒性試験及び TK 試験並びに 8 週間回復性試験 15

3.2.1.3　REGN646 のサル 13 週間反復皮下投与毒性試験及び 13 週間回復性試験 17

3.2.1.4　REGN646 のサル 6 ヵ月間反復持続静脈内及び皮下投与毒性試験並びに 3 ヵ月間回復性試験 20

4　遺伝毒性試験 23

5　がん原性試験 24

6　生殖発生毒性試験 25

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 25

6.1.1　REGN1103 のマウス皮下投与受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 25

6.2　サルを用いた胚・胎児発生並びに出生前及び出生後の発生毒性試験 27

6.2.1　REGN646 のサル皮下投与 ePPND 試験並びに 6 ヵ月間出生後評価 27

7 幼若動物を用いた試験 31

8 局所刺激性試験 32

9 その他の毒性試験 33

9.1 デュピルマブと正常ヒト組織パネル及び REGN646 とカニクイザル組織パネルの *ex vivo* 交差反応性試験 33

9.2 その他 33

9.2.1 免疫原性 33

9.2.2 免疫毒性 34

9.2.3 薬物乱用性の評価 34

10 考察及び結論 36

10.1 まとめ 38

参 考 文 献 39

表　目　次

表 1 - 毒性試験プログラム 7

表 2 - サルを用いた GLP 適用反復投与毒性試験における REGN646 曝露量の要約 10

表 3 - マウス探索的 5 週間反復投与毒性試験－特記すべき所見 13

表 4 - マウス探索的 5 週間反復投与毒性試験：REGN1103 $AUC_{0\text{-}168h}$ の群平均値（μg.h/mL） 13

表 5 - サル探索的 1 ヵ月間反復投与毒性試験－特記すべき所見 14

表 6 - サル探索的 1 ヵ月間反復投与毒性試験－TK 及び ADA の要約 15

表 7 - サル 5 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験－特記すべき所見 16

表 8 - サル 5 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験－REGN646 の TK 及び ADA データ 16

表 9 - サル 5 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験－投与期間及び回復期間終了時の平均 REGN646 濃度 17

表 10 - サル 13 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験－特記すべき所見 18

表 11 - サル 13 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験－REGN646 の TK 及び ADA データの要約 19

表 12 - サル 13 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験－投与期間及び回復期間終了時の平均 REGN646 濃度 20

表 13 - サル 6 ヵ月間反復投与毒性試験及び 3 ヵ月間回復性試験－特記すべき所見 21

表 14 - サル 6 ヵ月間反復投与毒性試験及び 3 ヵ月間回復性試験－REGN646 の TK 及び ADA データの要約 22

表 15 - サル 6 ヵ月間反復投与毒性試験及び 3 ヵ月間回復性試験－回復期間中の平均 REGN646 濃度 22

表 16 - マウス皮下投与受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験－特記すべき所見 26

表 17 - マウス皮下投与受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験－TK データの要約 26

表 18 - サル ePPND 試験－胚・胎児死亡率 28

表 19 - サル ePPND 試験－TK パラメータ 29

表 20 - サル ePPND 試験－投与動物の出生児における REGN646 の TK の要約 30

表 21 - デュピルマブ及び REGN646 の組織交差反応性試験－結果の要約 33

略号と用語の定義

ADA:	Anti-drug antibody／抗薬物抗体
AUC:	Area under the concentration-time curve／濃度ー時間曲線下面積
BLQ:	Below limits of quantification／定量限界未満
CHMP:	Committee for Medicinal Products for Human Use／欧州医薬品庁ヒト用医薬品委員会
C_{max}:	Maximum serum concentration／最高血清中濃度
CRP:	C-reactive protein／C 反応性タンパク質
CNS:	Central Nervous Sytsem／中枢神経系
C_{trough}:	Trough serum concentrations／血清中トラフ濃度
BD:	Day after birth／生後日数
ECG:	Electrocardiogram／心電図
EMA:	European Medicines Agency／欧州医薬品庁
ePPND:	Enhanced pre- and postnatal developmental／拡充型出生前及び出生後の発生毒性試験
Fc	Fragment crystallizable region／フラグメント結晶化可能領域
FceRII:	Low-affinity receptor for IgE／IgE の低親和性受容体
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
IC_{90}:	90% inhibitory concentration／90%抑制濃度
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
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-13: Interleukin 13／インターロイキン 13

IL-4: Interleukin 4／インターロイキン 4

IL-4R: Interleukin 4 receptor／インターロイキン 4 受容体

IL-4Rα: Interleukin 4 receptor alpha subunit／インターロイキン 4 受容体 α サブユニット

INN: International nonproprietary name／国際標準名

IV: Intravenous／静脈内

K_D: Equilibrium dissociation constant／平衡解離定数

KDa: Kilodalton／キロダルトン

KLH: Keyhole limpet hemocyanin／スカシガイヘモシアニン

LD: Lactation Day／分娩後日数

NK: Natural killer／ナチュラルキラー

NOAEL: No observed adverse effect level／無毒性量

PND: Postnatal day／生後日数

SC: Subcutaneous／皮下

TARC: Thymus and activation regulated chemokine／胸腺及び活性化制御ケモカイン

TK: Toxicokinetic／トキシコキネティクス

$T_{1/2}$: Half-life／半減期

TK: Toxicokinetic／トキシコキネティクス

$T_{1/2}$: Half-life／半減期

1　まとめ

デュピルマブの毒性試験プログラムのまとめ及び実施した試験の「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）」適用の有無を[Module 2.6.7.1]項に示す。

本資料中では、デュピルマブ（INN 名）の別称として、SAR231893（サノフィ社の名称）及び REGN668（Regeneron 社の名称）も使用する。

デュピルマブは、I 型及び II 型細胞表面受容体複合体が共有するヒトインターロイキン-4 受容体 α（hIL-4Rα）サブユニットに特異的なヒトモノクローナル抗体であり、IL-4Rα への結合を介し、IL-4 及び IL-13 シグナル伝達の両方に対して阻害作用を示す。

In vitro 薬理試験において、デュピルマブは、マウス、カニクイザル、アカゲザル及びコモンマーモセットなどのバイオ医薬品の毒性評価に通常使用するいずれの動物種の IL-4Rα に対しても、十分な相互作用を示さなかった（[Module 2.6.2.2.1.1]項参照）。ラット、ウサギ、イヌ及びミニブタにおける IL-4Rα 外部ドメインの相同性は、ヒトのそれと比較して 64%未満であることから、デュピルマブはこれらの動物種とも毒性評価に十分な相互作用を示さないと推測される。このため、IL-4Rα に対するサル相同抗体（REGN646）及びマウス相同抗体（REGN1103）を用いて、デュピルマブの安全性プロファイルを予測もしくは評価した。

デュピルマブの安全性を裏付けるために実施した毒性試験の一覧を表 1に示す。マウス探索的 5 週間反復投与毒性試験及びサル探索的 1 ヵ月間反復投与毒性試験以外の試験は GLP に従って実施した。

表 1 - 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
反復投与毒性試験[a]			
探索的 5 週間	SC	マウス	REGN1103[b] （0、10、20、100、200 mg/kg、SC）
探索的 1 ヵ月間	IV	サル	REGN646[c] （0、5、25、100 mg/kg、IV）
5 週間及び 8 週間の回復期間	IV	サル	REGN646[c] （0、1、5、25、100 mg/kg、IV）
13 週間及び 13 週間の回復期間	SC	サル	REGN646[c] （0、1、5、25、100 mg/kg、SC）
6 ヵ月間及び 3 ヵ月間の回復期間	IV 及び SC	サル	REGN646[c] （0、25、100 mg/kg、SC；0、25 mg/kg、IV）

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	投与抗体
生殖発生毒性試験[a]			
受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	SC	マウス	REGN1103[b] （0、25、75、200 mg/kg、SC）
拡充型出生前及び出生後の発生毒性（ePPND）試験	SC	サル	REGN646[c] （0、25、100 mg/kg、SC）
その他の試験			
組織交差反応性試験	*Ex vivo*	サル、ヒト	REGN668、REGN646[c] （5、50 µg/mL、*ex vivo* での適用）

SC = 皮下；IV = 静脈内
a 週 1 回（qw）投与
b マウス相同抗体
c サル相同抗体

マウス IL-4Rα に結合する完全マウス相同抗体（IgG1）を作製し、REGN1103 と命名した。*In vitro* 結合解析の結果、REGN1103 のマウス IL-4Rα に対する結合親和性は高く（単量体 IL-4Rα に対する平衡解離定数（K_D）＝86.7 pmol/L）、特異性も高かった（[Module 2.6.2.2.3.2]項参照）。また、REGN1103 は、*ex vivo* での IL-4 刺激による HT-2 細胞増殖の抑制、*in vivo* でのアレルゲン誘発性肺炎マウスモデルにおける 2 型免疫応答の抑制を示した（[Module 2.6.2.2.3.2]及び[Module 2.6.2.2.4.1]項参照）。

サル IL-4Rα に対する相同抗体（REGN646 と命名）は、[redacted]マウスをカニクイザル[redacted]作製されたヒト IgG4 抗体（$IgG4^P$）である。*In vitro* データにより、REGN646 はデュピルマブと同様に IL-4Rα に対して強い活性を示すことが確認された。*In vitro* 結合解析の結果、REGN646 のサル IL-4Rα に対する結合親和性は高く（単量体 IL-4Rα に対する K_D＝2.5 nmol/L、二量体 IL-4Rα に対する K_D＝31 pmol/L）、特異性も高かった（[Module 2.6.2.2.5.2]項参照）。なお、ヒト IgG4（IgG1 ヒンジ置換）であるデュピルマブのヒト可溶型単量体 IL-4Rα に対する結合の K_D は 33 pmol/L、ヒト二量体 IL-4Rα-Fc に対する結合の K_D は 12 pmol/L であった。*In vitro* 及び *ex vivo* 試験により、REGN646 はサル IL-4 のサル IL-4Rα への結合、並びにサル IL-4Rα を介したサル IL-4 及びサル IL-13 の生物学的活性を阻害することが示された（[Module 2.6.2.2.5.5]項参照）。標的分子を介在する薬物動態がみられたことにより、*in vivo* における被験物質と標的との結合が確認された。

REGN646 及び REGN1103 の結合特性及び薬理学的特性に基づき、これらの抗体を、デュピルマブの相同抗体として、それぞれカニクイザル及びマウスを用いた安全性試験に使用した。これらの試験で得られた情報は、生物学的意義のある毒性情報であると考えられる。

毒性試験において、REGN646 及び REGN1103 を、予定臨床投与経路である皮下投与又は静脈内持続投与（最大の曝露量を得るため）により週 1 回（qw）投与した。毒性試験と同時に実施したトキシコキネティクス（TK）評価により、この投与レジメンでの 25 mg/kg/週以上の用量で、全身曝露量が投与間隔を通して維持されることが確認された。サルを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験において、

REGN646 を 25 又は 100 mg/kg/週の用量で qw 投与したときの血清中トラフ濃度（C_{trough}）は、IL-4（0.5 nmol/L）刺激による *ex vivo* 胸腺及び活性化制御ケモカイン（TARC）分泌に対する REGN646 の 90%抑制濃度（IC_{90}：80.3 µg/mL）と比較し、それぞれ 9.3 倍及び 52 倍高かった（[Module 2.6.2.2.5.5]項参照）。これらの曝露量比から、25 及び 100 mg/kg/週の投与においては、IL-4Rα は飽和していると考えられた。これを裏付ける所見として、反復投与毒性試験において、25 mg/kg/週以上の用量での薬物動態に一貫した線形性がみられている。サルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生毒性（ePPND）試験においても、25 mg/kg/週以上の用量で同様の結果が得られた。したがって、25 mg/kg/週以上の用量では、投与期間を通して完全な標的の飽和が維持されていると考えられた。このため、この用量範囲内での REGN646 の毒性情報の解釈において、用量依存性は重要な因子ではないと考えられる。マウスを用いた REGN1103 の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、無毒性量（NOAEL）である 200 mg/kg/週の用量で測定した C_{trough} は、mIL-4 誘導性 T 細胞増殖に対する REGN1103 の IC_{90}（0.89 µg/mL、1 nmol/L mIL-4 の存在下で測定；[Module 2.6.2.2.3.3]項参照）の 2000 倍を上回っていた。サルにおける REGN646 の場合と同様に、これらの大きな曝露量比から、REGN1103 のいくつかの用量では標的が飽和していると考えられる。

REGN1103 をマウスに qw 投与したときの忍容性は、検討した最高用量の 200 mg/kg まで良好であった。生存期間の評価項目（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、器官重量及び病理組織学的検査において、REGN1103 関連の毒性変化は認められなかった。マウスを用いたそれぞれの試験における NOAEL は検討した最高用量であった。

REGN646 をカニクイザルに qw 投与したときの忍容性は、検討した最高用量の 100 mg/kg まで良好であった。生存期間の評価項目（生死、一般状態、体重、摂餌量）、心電図（ECG）、血液生化学的パラメータ（リンパ球サブセットのフェノタイピングを含む）、器官重量及び病理組織学的検査において、REGN646 関連の毒性変化は認められなかった。抗 REGN646 抗体の存在に関連する臨床的及び病理学的な毒性変化はみられず、25 mg/kg/週以上の投与群で REGN646 への持続的な全身曝露量の低下は認められなかった。

いずれの動物種においても、皮下及び静脈内投与部位における被験物質関連の局所刺激性変化や毒性変化はみられなかった。ヒト及びカニクイザルの組織を用いて実施した *ex vivo* 組織交差反応性試験において、被験物質特異的な染色は認められなかった。

REGN646 の TK の特徴は、1～25 mg/kg/週の用量でみられた用量比例性を上回る REGN646 曝露量の増加を伴った非線形の薬物動態であった（標的分子の飽和を下回る濃度での標的分子を介在する薬物動態を反映した可能性がある）。25 mg/kg/週以上の用量における薬物動態は線形であった。25 mg/kg/週以上の投与群のサルでは、消失 $t_{1/2}$ 及び投与間隔に一致して、3～4 倍の REGN646 の蓄積がみられた。25 mg/kg/週未満の投与群のサルでは、REGN646 の蓄積はほとんど又はまったく認められなかった。TK の性差は見られなかった。

サルを用いた GLP 適用反復投与毒性試験の NOAEL における REGN646 の曝露量の要約を表 2に示す。

表 2 - サルを用いた GLP 適用反復投与毒性試験における REGN646 曝露量の要約

	サル 5 週間 REGN646-TX-[redacted]053	サル 13 週間 REGN646-TX-[redacted]056	サル 6 ヵ月間 REGN646-TX-[redacted]004		ePPND REGN646-TX-[redacted]099[c]
NOAEL （mg/kg/週）	100 IV	100 SC	25 IV	100 SC	100 SC
C_{max} (µg/mL)[a]	4554	4482	1479	5318	3156
C_{trough} (µg/mL)[b]	2333	3486	746	4153	2211
AUC (µg•h/mL)[a]	513868	684300	149246	790667	443306

AUC = 濃度ー時間曲線下面積；C_{max} = 最高濃度；NOAEL = 無毒性量；IV = 静脈内持続投与；SC = 皮下投与；ePPND = 拡充型出生前及び出生後の発生毒性試験

a C_{max} 及び AUC 値は最終投与後の薬物濃度／曝露量を反映したものである。

b 最終の qw 投与直前に測定した C_{trough} 値

c 母動物

検討した最高用量である 200 mg/kg/週までの用量において、雌雄のマウスの受胎能には REGN1103 関連の変化は認められなかった。カニクイザルを用いた ePPND では、REGN646 を 100 mg/kg/週までの用量で皮下投与したところ、生殖及び発生のパラメータには毒性変化はみられなかった。

REGN646 及び REGN1103 の毒性試験で得られたデータ並びに IL-4Rα 阻害に関連する利用可能な文献において、デュピルマブの長期投与によるがんリスクの増加を示すエビデンスは認められなかった。この、重要性に基づいた評価（weight of evidence）の結果から、デュピルマブの[redacted]考えられ、欧州医薬品庁ヒト用医薬品委員会（CHMP）及び米国食品医薬品局（FDA）からは[redacted]。

サルの血圧及び ECG には REGN646 関連の変化はみられず、実施したいずれの毒性試験においても、心血管系、呼吸系及び中枢神経系（CNS）の障害に関する機能的及び病理学的エビデンスは認められなかった。

成獣及び幼若サルにおいて、感染症の発現頻度増加、IL-4 濃度及び総免疫グロブリン（IgM、IgG、IgE）濃度の変化、リンパ球サブセットの変化（イムノフェノタイピング）並びに T 細胞依存的抗原反応の変化はみられず、REGN646 の免疫系への影響は認められなかった。

マウス並びにサル及び妊娠サルから得られた出生児の CNS においては、デュピルマブによる依存性及び乱用性のリスクを示唆する機能的及び病理学的変化は認められなかった。

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。

3　反復投与毒性試験

マウス及びサルの IL-4Rα に対する抗体（それぞれ REGN1103 及び REGN646）について、マウスで最長 5 週間、カニクイザルで最長 6 ヵ月間の毒性試験を実施した。数試験において、TK プロファイル、抗 REGN646 抗体（サルのみ）及び免疫毒性パラメータを測定した。独立した安全性薬理試験は実施しなかったが、反復投与毒性試験には CNS、心血管系及び呼吸系に関する評価項目を含めた（[Module 2.6.2.4]項参照）。

3.1　げっ歯類

3.1.1　マウスを用いた試験

3.1.1.1　REGN1103 のマウス探索的 5 週間反復皮下投与毒性試験

[Module 4.2.3.2-1:REGN1103-TX-[redacted]054][Module 2.6.7.6A]

Crl:CD1 (ICR)マウスに、溶媒又は REGN1103（デュピルマブのマウス相同抗体）を、10 又は 100 mg/kg/回の用量で qw（総用量は 10 又は 100 mg/kg/週）又は 2qw（総用量は 20 又は 200 mg/kg/週）、5 週間皮下投与した。主試験の動物数は 1 群雌雄各 10 匹とした。TK 試験の動物数は対照群が雌雄各 9 匹、被験物質投与群は雌雄各 36 匹とし、TK 試験群の動物には主試験の動物と同じ用量を投与した。1 時点につき 1 群雌雄各 3 匹の TK 用動物から採取したデータに基づいて全身曝露量（AUC）を算出した。

評価項目は、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とした。血清サンプルを採取して薬物濃度測定及び TK 解析を実施した。主試験群のマウスは、投与期間終了時に安楽殺して剖検した。器官の重量を測定し、対照群及び高用量群のマウスについては代表的な組織（生殖組織を含む）の病理組織学的検査を実施した。投与に関連する可能性がある所見がみられた組織については、低用量群でも病理組織学的検査を行った。

REGN1103 関連の死亡はみられず、被験物質関連の一般状態の変化も認められなかった。試験期間全体（1～29 日目）を通して、REGN1103 関連の体重増加量減少が、20 mg/kg/週群の雄（-16%）及び 200 mg/kg/週群の雄（-19%）並びに 10 mg/kg/週群の雌（-20%）に認められた。試験中、これらの体重増加量の差に関連する絶対体重の減少や、一般状態の変化並びに臨床検査パラメータ及びその他のいかなる測定パラメータの変化もみられなかったことから、これらは毒性変化ではないと考えられた。

特記すべき所見を表 3に要約する。

表 3 - マウス探索的 5 週間反復投与毒性試験ー特記すべき所見

試験番号/試験期間/GLP 適用の有無	動物種/試験系	REGN1103 の用量（皮下投与）	所見
REGN1103-TX-[redacted]054 5 週間（5 回投与） （非 GLP）	CD-1 マウス	0、10、20、100、200 mg/kg/週	毒性変化でないと考えられる体重増加量減少 NOAEL は 200 mg/kg/週（検討した最高用量）と判断された。

血清中総 REGN1103 測定用の血液サンプルを、投与前並びに 15 日目（投与 3 週目）及び 29 日目（投与 5 週目）の投与 24、48、72、96 及び 168 時間後に採取した。溶媒対照群の血液サンプルは、15 及び 29 日目の投与 48 時間後に採取した。REGN1103 の血清中濃度を ELISA により測定した。いずれの用量においても、5 週間の投与期間を通して、検出可能な REGN1103 の濃度が維持された。qw 又は 2qw 皮下投与により、C_{max} は用量依存的な増加を示し、AUC は用量比例性をわずかに上回って増加した。雌雄間で意味のある曝露量の差は認められなかった。全身曝露量の要約を表 4に示す。

表 4 - マウス探索的 5 週間反復投与毒性試験：REGN1103 $AUC_{0\text{-}168h}$ の群平均値（µg.h/mL）

REGN1103 の用量（mg/kg/週、皮下）	$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg•h/mL)					
	3 週目（15 日目）			5 週目（29 日目）		
	雄	雌	併合	雄	雌	併合
10[a]	15866	9566	12707	20466	13594	17017
20[b]	37104	29400	33264	42924	28566	35760
100[a]	237948	224832	232188	314832	378288	346560
200[b]	404964	387372	396168	484656	423540	454128

AUC = 濃度ー時間曲線下面積
注：提示した TK 値は TK 群で得られた。
a 10 又は 100 mg/kg/回の用量で qw 投与。AUC 値は 0 時間から 168 時間の値を示す。
b 10 又は 100 mg/kg/回の用量で 2qw 投与し、2 回目の投与は初回投与 72 時間後のサンプル採取後に行った。
$AUC_{0\text{-}168h}$ = $AUC_{0\text{-}72h}$（その週の 1 回目投与）+ $AUC_{0\text{-}96h}$（その週の 2 回目投与）

以上、REGN1103 をマウスに 10～200 mg/kg/週の用量で 5 週間皮下投与したときの忍容性は良好であった。したがって、これらの試験条件下において、NOAEL は 200 mg/kg/週（100 mg/kg/回、2qw）と判断された。

3.2 非げっ歯類

3.2.1 サルを用いた試験

3.2.1.1 REGN646 のサル探索的 1 ヵ月間反復静脈内持続投与毒性試験

[Module 4.2.3.2-2: REGN646-TX-[redacted]046][Module2.6.7.6B]

カニクイザルに、REGN646（デュピルマブのサル相同抗体）を、0、5、25 又は 100 mg/kg/週の用量で、qw、4 週間（5 回）にわたり 30 分間静脈内持続投与した。5 及び 25 mg/kg/週群は 1 群雌雄各 1 匹とした。溶媒対照群及び 100 mg/kg/週群は 1 群雄 1 匹とした。

評価項目は、生死、一般状態、体重、体温、血圧、ECG、臨床検査（血液学的検査、凝固検査、血清生化学的検査（C-反応性タンパク質：CRP を含む）、尿検査）、免疫細胞フェノタイピング、IgE 及び IgG 分析、TK 及び抗 REGN646 抗体（ADA）検査、特定の組織の器官重量、剖検及び代表的な組織の病理組織学的検査とした。

被験物質関連の死亡や一般状態の変化はみられず、体重、体温、血圧、ECG 測定値及び臨床検査パラメータ（血液学的検査、凝固検査、血清生化学的検査及び尿検査）には被験物質関連の変化は認められなかった。IgE 及び IgG には REGN646 関連の変化はみられなかった。リンパ球サブセット［B 細胞（$CD20^+$）、総 T 細胞（$CD3^+$）、$T_{Cytotoxic}$ 細胞（$CD3^+/CD8^+$）、$T_{Regulatory}$ 細胞（$CD4^+/CD25^+$）、ナチュラルキラー（NK）細胞（$CD3^-/CD16^+$）］、単球（$CD3^-/CD14^+$）、器官重量、剖検及び病理組織学的検査においても、被験物質関連の変化は認められなかった。

特記すべき所見を表 5に要約する。

表 5 - サル探索的 1 ヵ月間反復投与毒性試験ー特記すべき所見

試験番号/試験期間/GLP 適用の有無	動物種/試験系	REGN646 の用量（静脈内投与）	所見
REGN646-TX-[redacted]046 4 週間（5 回投与） （非 GLP）	カニクイザル	0、5、25、100 mg/kg/週、静脈内	REGN646 関連の毒性変化はみられなかった。 最高血清中濃度は投与終了後 5 分以内に認められた。 ADA は 5 mg/kg/週のみで検出された。 NOAEL は 100 mg/kg/週（検討した最高用量）と判断された。

REGN646 の平均最高濃度はほぼ用量比例性に増加した。25 及び 100 mg/kg の用量で標的の飽和がみられ、これらの群の動物では、試験を通して平均最高薬物濃度の増加が認められた。5 mg/kg/週群では、試験開始後約 2 週間で消失速度が加速したため、被験物質への持続的な曝露量がみられたのは最初の 2 回の投与後のみであった。5 mg/kg/週群では消失の加速に関連して、剖検時に検出可能な濃度の ADA が認められた。REGN646 の 25 及び 100 mg/kg/週群のサルでは、ADA は認められなかった。

TK パラメータの要約を表 6に示す。本試験中に実施した TK 解析の全ての結果を、毒性試験の概要表に示す。

表 6 - サル探索的 1 ヵ月間反復投与毒性試験－TK 及び ADA の要約

REGN646 の用量	C_{max} (µg/mL)[a]		C_{trough} (µg/mL)[b]		ADA[c]
（mg/kg/週、静脈内）	1 週目	5 週目	1 週目	5 週目	投与期間及び回復期間
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0/1
5	166.64	108.59	54.90	0.0	2/2
25	851.42	1351.28	317.99	908.3	0/2
100	3264.11	5865.75	1361.60	3130.64	0/1

C_{max} = 最高濃度；C_{trough} = ある投与区間で投与後にみられた最低血清中濃度；ADA = 抗薬物抗体
注：少数回サンプリング法のため、AUC は算出しなかった。
a C_{max} = C_{5min}；C_{max} として、5 分後の平均濃度を使用した。
b 次回投与の直前に測定した 1 週目の C_{trough}；5 回目投与の 1 週後に測定した 5 週目の C_{trough}
c 投与期間中及び回復期間中の陽性動物数／総動物数

以上のように、サルに REGN646 を 100 mg/kg/週（最高投与量）までの用量で qw、1 ヵ月間静脈内投与したときの忍容性は良好で、毒性変化は認められなかった。

3.2.1.2 REGN646 のサル 5 週間反復投与毒性試験及び TK 試験並びに 8 週間回復性試験

[Module 4.2.3.2-3: REGN646-TX-[redacted]053][Module 2.6.7.7A]

カニクイザルに、REGN646 を 0、1、5、25 又は 100 mg/kg/週の用量で、qw、5 週間連続（5 回）で 30 分間持続静脈内投与した。1 群の動物数は雌雄各 5 匹とした。このうち雌雄各 3 匹は投与期間終了時に安楽殺し、雌雄各 2 匹は最終投与後 8 週間飼育して、被験物質関連の変化の回復性を評価した。

評価項目は、生死、一般状態、体重、眼科学的検査、ECG、血圧、体温、臨床検査（血液学的検査、凝固検査、血清生化学的検査（CPR を含む）及び尿検査）とした。TK 及び ADA 検査用の血液サンプルを投与期間中及び回復期間中に採取した。器官重量、剖検所見及び病理組織学的所見を記録した。

全例とも計画剖検時まで生存した。REGN646 関連の一般状態の変化はみられず、体重、体温、ECG、血圧、眼科学的検査及び臨床検査（血液学的検査、血清生化学的検査、凝固検査及び尿検査）パラメータには変化は認められなかった。

被験物質関連の器官重量の変化はみられず、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。特記すべき所見を表 7に要約する。

表 7 - サル 5 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験－特記すべき所見

試験番号/試験期間/GLP 適用の有無	動物種/試験系	群	所見
REGN646-TX-[redacted]053 5 週間（5 回投与） （GLP）	カニクイザル	0、1、5、25、100 mg/kg/週、静脈内	REGN646 関連の毒性変化はみられなかった。 ADA は 25 mg/kg/週以下の用量で検出された。 NOAEL は 100 mg/kg/週（検討した最高用量）と判断された。

REGN646 への持続的な全身曝露量が、25 mg/kg/週群の 10 匹中 9 匹及び 100 mg/kg/週群の全例で維持された。総 REGN646 の AUC 及び平均最高血清中濃度は、本試験の投与期間を通して用量依存的であった。次回投与前に血清中濃度がベースラインに戻らなかったことから、初回投与後に蓄積が認められた。しかし、この C_{trough} 上昇が維持されたのは REGN646 投与群の 4 群中 2 群のみであり、1 mg/kg/週群の C_{trough} はその後の投与に伴って減少した。TK パラメータの性差は認められなかった。

ADA の発現頻度は用量に逆比例し、100 mg/kg/週群では ADA が検出されず、1 mg/kg/週群では全例で ADA が検出された。ADA が発現したサルでは、それに対応して、血清中 REGN646 濃度が ADA 陰性動物と比較して減少した。ADA の存在に関連する毒性変化はみられず、包括的安全性評価の障害とはならなかった。

8 週間の回復期間終了時（91/92 日目）に、検出可能な REGN646 の濃度が、25 mg/kg/週群の 4 匹中 2 匹及び 100 mg/kg/週群の 4 匹中 4 匹で認められた。25 mg/kg/週未満の群では、回復期間終了時に検出可能な REGN646 の濃度は認められなかった。TK パラメータの要約を表 8及び表 9に示す。

表 8 - サル 5 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験－REGN646 の TK 及び ADA データ

REGN646 の用量（mg/kg/週、IV）	性	平均 C_{max} (μg/mL)[a]		平均 C_{trough} (μg/mL)[b]		平均 AUC_{0-168h} (μg•h/mL)		ADA[c]
		1 週目	5 週目	1 週目	5 週目	1 週目	5 週目	投与期間及び回復期間
1	雄	23.0	10.0	1.67	0.00	1376	347	
	雌	24.7	12.8	1.40	0.00	1486	220	
	全体	23.8	11.4	1.54	0.00	1431	283	10/10
5	雄	111	130	35.9	41.6	9562	9987	
	雌	109	127	31.2	45.8	8817	10202	
	全体	110	129	33.5	43.7	9189	10095	7/10
25	雄	609	975	231	358	55219	85318	
	雌	583	868	218	374	50937	84843	

REGN646 の用量（mg/kg/週、IV）	性	平均 C_{max} (μg/mL)[a]		平均 C_{trough} (μg/mL)[b]		平均 AUC_{0-168h} (μg•h/mL)		ADA[c]
		1 週目	5 週目	1 週目	5 週目	1 週目	5 週目	投与期間及び回復期間
	全体	596	921	225	366	53078	85081	3/10
100	雄	2698	4704	918	2640	232841	545832	
	雌	2776	4404	982	2310	232298	481904	
	全体	2737	4554	950	2470	232569	513868	0/10

IV = 静脈内；C_{max} = 最高濃度；AUC = 濃度ー時間曲線下面積；ADA = 抗 REGN646 抗体；C_{trough} = ある投与区間で投与後にみられた最低血清中濃度

a $C_{max} = C_{5min}$

b 次回投与の直前又は 5 週目の剖検の直前に測定された C_{trough} 値。補完的薬物動態報告書（[Module 4.2.2.7-1: REGN668-MX-[redacted]079]）で算出された値。

c 投与期間中及び回復期間中の陽性動物数／総動物数

表 9 - サル 5 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験ー投与期間及び回復期間終了時の平均 REGN646 濃度

REGN646 の用量（mg/kg/週、静脈内）	平均血清中 REGN646 濃度（μg/mL）				動物数[e]
	投与期間終了時[a]	回復期間中（回復 3 週目）[b]	回復期間中（回復 5 週目）[c]	回復期間終了時（回復 8 週目）[d]	
1	0.0672	BLQ	BLQ	BLQ	0/4
5	43.7	15.2	1.53	BLQ	0/4
25	366	108	52.8	14.5	2/4
100	2576	928	463	171	4/4

BLQ = 定量限界限未満（<0.39 μg/mL）

a 最終投与 168 時間後に相当

b 最終投与 3 週間後に相当

c 最終投与 5 週間後に相当

d 最終投与 8 週間後に相当

e 回復期間終了時に検出可能な濃度がみられた動物の数／回復性試験群の総動物数

毒性変化がみられなかったことから、本試験の NOAEL は検討した最高用量の 100 mg/kg と判断された。NOAEL における 28 日目の AUC_{0-168h} は 513,868 μg•h/mL（雌雄併合）であった。

3.2.1.3 REGN646 のサル 13 週間反復皮下投与毒性試験及び 13 週間回復性試験

[Module 4.2.3.2-4: REGN646-TX-[redacted]056][Module 2.6.7.7B]

カニクイザルに REGN646 を 0、1、5、25 又は 100 mg/kg/週の用量で qw、13 週間連続（14 回）皮下投与した。1 群雌雄各 6 匹のサルを使用した。このうち 1 群雌雄各 4 匹は投与期間終了時に安楽殺し、1 群雌雄各 2 匹は最終投与後 13 週間飼育して、被験物質関連の変化からの回復性を評価した。

評価項目は、生死、一般状態（皮下投与部位の腫脹（浮腫）、紅斑又は注射部位反応の観察を含む）、体重、摂餌量、体温、眼科学的検査、臨床検査（血液学的検査、凝固検査、血清生化学的検査（CPR を含む）及び尿検査）、免疫細胞フェノタイピング、総血中 IgE 及び IgG、ECG 並びに血圧とした。TK 及び ADA 検査用の血液サンプルを投与期間及び回復期間中に採取した。器官重量、剖検所見及び病理組織学的所見を記録した。

全例とも計画剖検時まで生存した。REGN646 関連の一般状態の変化はみられず、体重、摂餌量、眼科学的検査、体温、ECG、血圧、臨床検査及び病理組織学的検査の評価項目において、被験物質関連の変化は認められなかった。対照と比較した IgE 濃度の低下が、REGN646 の標的分子が飽和する用量（25 mg//kg/週以上）を投与された一部のサルにみられた。REGN646 の IgE 低下作用は IL-4Rα 阻害作用に一致すると考えられるが、このパラメータには検査日間及び個体間で大きなばらつきがみられ、REGN646 投与との関係は不明であった。IgE 低下に関連する所見はみられなかったことから、この変化は被験物質関連の可能性はあるものの、毒性変化ではないと考えられた。

REGN646 投与後の末梢血白血球フェノタイピングでは、リンパ球サブセット［B 細胞（$CD3^-/CD20^+$）、B 細胞サブセット（$CD3^-/CD20^+/CD23^+$）、総 T リンパ球（$CD3^+$）、T_{Helper} 細胞（$CD3^+/CD4^+/CD8^-$）、$T_{Cytotoxic}$ 細胞（$CD3^+/CD8^+/CD4^-$）、$T_{Regulatory}$ 細胞（$CD3^+/CD4^+/CD25^+$）、ナチュラルキラー（NK）細胞（$CD3^-/CD20^+/CD23^-$）］及び単球（$CD3^-/CD14^+$及び $CD3^-/CD16^+$）において、投与前ベースライン及び溶媒対照と比較した被験物質関連の変化は示されなかった。

特記すべき所見を表 10に要約する。

表 10 - サル 13 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験－特記すべき所見

試験番号/試験期間/GLP 適用の有無	動物種/試験系	REGN646 の用量	所見
REGN646-TX-[redacted]056 13 週間（14 回） （GLP）	カニクイザル	0、1、5、25、100 mg/kg/週、皮下	・ REGN646 関連の毒性変化はみられなかった。 ・ REGN646 関連の免疫学的変化はみられなかった。 ・ すべての用量で ADA が検出された。 ・ NOAEL は 100 mg/kg/週と判断された。

TK パラメータの要約を表 11及び表 12に示す。

REGN646 の標的分子が飽和する用量（25 mg/kg/週以上）を投与された動物の大半において、投与期間全体を通して REGN646 が検出された（5 mg/kg：4/12 匹；25 mg/kg：11/12 匹；100 mg/kg：12/12 匹）。いずれの投与濃度においても、総 REGN646 曝露量の性差は認められなかった。

REGN646 の平均最高血清中濃度には、本試験の投与期間を通して用量依存性がみられた。5 mg/kg/週以上の用量では、初回投与以降、血清中濃度が次回投与前にベースラインまで戻らず、蓄積が認められた。1 mg/kg 群の C_{trough} は反復投与により減少した。

ADA がすべての群で検出されたが、一部の動物における反応は一過性（100 mg/kg 群の 1 匹）であるか、又は高バックグラウンド値もしくは偽陽性の結果（対照群）の可能性があった。対照群から採取したいずれの血清サンプルにおいても測定可能な REGN646 は検出されなかったことから、対照動物の陽性結果は薬物曝露に起因するものではないと考えられる。ADA の存在に伴ってしばしば血清中 REGN646 濃度の低下がみられたが、REGN646 の 25 mg/kg/週以上を投与された 24 匹中 23 匹の動物では、投与期間を通して全身曝露量が維持された。REGN646 を投与されたサルにおいて、ADA に起因する毒性変化はみられず、包括的な安全性評価の障害とはならなかった。

13 週間の回復期間終了時における血清中総 REGN646 濃度は、1 mg/kg/週及び 5 mg/kg/週群の全例で定量限界を下回ったが、25 mg/kg/週以上の群では全例とも回復期間全体を通して検出可能であった。

表 11 - サル 13 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験－REGN646 の TK 及び ADA データの要約

REGN646 用量（mg/kg/週、皮下）	性	平均 C_{max} (µg/mL)		平均 C_{trough} (µg/mL)		平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ (µg•h/mL)		ADA[a]
		1 週目	13 週目	1 週目	13 週目	1 週目	13 週目	投与期間及び回復期間
1	雄	9.70	1.47	3.86	0.580	1120	192	
	雌	7.49	0.00	1.72	0.00	810	0	
	合計	8.59	0.735	2.79	0.00	964	96.0	12/12
5	雄	47.8	157	31.6	69.2	6270	15000	
	雌	52.0	41.7	31.5	30.0	6490	5080	
	合計	49.9	99.4	31.6	49.6	6380	10100	11/12
25	雄	296	1390	227	850	39500	181000	
	雌	255	769	201	615	34800	115000	
	合計	276	1080	214	732	37100	148000	4/12
100	雄	1360	4850	968	3610	174000	708000	
	雌	1430	4500	771	3700	142000	661000	
	合計	1390	4670	870	3650	158000	684000	1/12

C_{max} = 最高濃度；AUC = 濃度－時間曲線下面積；ADA = 抗 REGN646 抗体；C_{trough} = 投与区間内における投与後の最低血清中濃度

値は補完的薬物動態報告書（[Module 4.2.2.7-1: REGN668-MX-[redacted]079]）内で算出した。定量限界を下回る（<0.39 µg/mL、「BLQ」と表示）サンプルについては、ゼロを用いて平均値を算出した。

a 投与期間中及び回復期間中の陽性動物数／総動物数

表 12 - サル 13 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験－投与期間及び回復期間終了時の平均 REGN646 濃度

REGN646 用量（mg/kg/週、皮下）	平均血清中 REGN646 濃度（µg/mL）[e]			動物数[d]
	回復期間開始時（回復 1 週目）[a]	回復期間中期（回復 7 週目）[b]	回復期間終了時（回復 13 週目）[c]	
1	0.000	0.000	0.000	0/4
5	11.8	7.75	0.000	0/4
25	838	166	8.49	4/4
100	4120	1184	257	4/4

a 最終投与 168 時間後に相当
b 最終投与 7 週間後に相当
c 最終投与 13 週間後に相当
d 回復期間終了時に血清中に検出可能な REGN646 の濃度がみられた動物数／回復性試験群の総動物数
e 定量限界を下回る（BLQ）サンプルについては、ゼロを用いて平均値を算出した。

毒性変化がみられなかったことから、本試験の NOAEL は最高用量の 100 mg/kg/週と判断された。NOAEL における 85 日目の平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ は 684,000 µg•h/mL（雌雄併合）であった。

3.2.1.4 REGN646 のサル 6 ヵ月間反復持続静脈内及び皮下投与毒性試験並びに 3 ヵ月間回復性試験

[Module 4.2.3.2-5: REGN646-TX-[redacted]004][Module 2.6.7.7C]

カニクイザルに REGN646 を qw、6 ヵ月間（27 回）、皮下投与（25 又は 100 mg/kg/週）又は 30 分間持続静脈内投与（25 mg/kg/週）した。対照群には 0.9% NaCl を静脈内持続投与した後に溶媒を皮下投与した。25 mg/kg 皮下投与群を雌雄各 4 匹とした以外は、すべての投与群及び対照群の動物数は 1 群雌雄各 6 匹とし、そのうち 4 匹（雌雄各 2 匹）は最終投与後 3 ヵ月飼育して、被験物質関連の変化からの回復性を評価した。

評価項目は、生死、一般状態（投与部位の局所刺激性を含む）、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査（血液学的検査、凝固検査、血漿生化学的検査及び尿検査）、ECG 及び総免疫グロブリン検査（IgM、IgG 及び IgE）とした。免疫系の機能的完全性を、T 細胞依存性抗体産生試験（TDAR）及び末梢免疫細胞のフェノタイピング（B 細胞、T 細胞（$CD3^+/CD4^+$、$CD3^+/CD8^+$）及びナチュラルキラー細胞）により評価した。IL-4 並びに TARC 分泌を評価するための探索的アッセイも実施したが、その結果から結論は得られなかった。TK 及び ADA 評価用の血液サンプルを、投与期間中及び回復期間中に採取した。器官重量、剖検所見及び病理組織学的所見を記録した。

全例とも計画剖検時まで生存した。REGN646 関連の変化は、25 mg/kg/週以上の用量で皮下投与部位にみられた軽微から中等度の血管周囲リンパ球浸潤のみであり、これらは毒性変化ではないと判断された。投与期間中における総免疫グロブリン IgE、IgG 及び IgM の血清中濃度には、検査間及び対

照群を含む各群における個々の動物間で、大きなばらつきが認められた。IgE の変化は IL-4Rα 阻害に一致するものであったが、反応に大きなばらつきがみられたため、これらの結果が REGN646 に起因するか否かを明確に判断することはできなかった。リンパ球サブセットや TDAR アッセイの結果には、被験物質関連の変化は認められなかった。

特記すべき所見を表 13に要約する。

表 13 - サル 6 ヵ月間反復投与毒性試験及び 3 ヵ月間回復性試験－特記すべき所見

試験番号/試験期間/GLP 適用の有無	動物種/試験系	REGN646 の用量	所見
REGN646-TX-[redacted]004 26 週間（27 回） （GLP）	カニクイザル	0、25、100 mg/kg/週、皮下 0、25 mg/kg/週、静脈内	・ REGN646 関連の毒性変化はみられなかった。 ・ REGN646 関連の免疫系機能の変化はみられなかった。 ・ 25 mg/kg/週皮下及び静脈内投与群で ADA が検出された。 ・ NOAEL は、それぞれの投与経路の最高用量である 100 mg/kg/週（皮下）及び 25 mg/kg/週（静脈内）であった。

TK パラメータの要約を表 14及び表 15に示す。

持続的な REGN646 への全身曝露量が、投与期間を通してすべての群で認められた。REGN646 の平均最高濃度（C_{max}）及び全身曝露量（$AUC_{0\text{-}168h}$）は投与回数とともに増加したが、13 回投与後までには定常状態に達した。TK パラメータに性差は認められなかった。

ADA が、25 mg/kg/週皮下投与群の 8 匹中 3 匹、25 mg/kg/週静脈内投与群の 12 匹中 5 匹にみられた。これらの ADA 陽性動物のうち 4 匹では、ADA の存在に伴って血清中 REGN646 の濃度が低下したが、それによる毒性変化はみられず、包括的な安全性評価の障害にはならなかった。ADA 陽性反応が対照群の 12 匹中 6 匹にもみられた理由は不明であるが、アッセイにおける血清の干渉を反映している可能性がある。対照群の動物から採取したいずれの血清においても、測定可能な REGN646 は検出されなかったことから、対照動物でみられた陽性結果は薬物曝露に起因するものではないと考えられる。対照サンプルにおける ADA の検出はこの種のアッセイでは珍しいことではなく、毒性評価の信頼性に影響を及ぼさないと考えられる。

3 ヵ月の回復期間終了時に、検出可能な濃度の REGN646 が、REGN646（25 mg/kg/週静脈内又は 100 mg/kg/週皮下）の投与を受けた 8 匹中 7 匹の動物で認められた。25 mg/kg/週皮下群については回復性の評価を実施しなかった。

表 14 - サル 6 ヵ月間反復投与毒性試験及び 3 ヵ月間回復性試験－REGN646 の TK 及び ADA データの要約

性	群（用量/経路）	C_{max} (µg/mL)		C_{trough} (µg/mL)		$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg•h/mL)		ADA[a]
		1 週目	26 週目	1 週目	26 週目	1 週目	26 週目	投与期間及び回復期間
雄	25 mg/kg/週/SC	298	1110	233	884	41300	164000	
雌		312	768	231	604	43500	116000	
全体		307	941	232	744	42800	140000	3/8
雄	100 mg/kg/週/SC	1200	5280	918	4110	166000	789000	
雌		1380	5360	952	4200	179000	793000	
全体		1290	5320	935	4150	172000	791000	0/12
雄	25 mg/kg/週/IV	715	1630	256	940	60100	177000	
雌		716	1330	252	553	59400	122000	
全体		715	1480	254	746	59700	149000	5/12

SC = 皮下；IV = 静脈内；C_{max} = 最高濃度；AUC = 濃度－時間曲線下面積；ADA = 抗 REGN646 抗体；C_{trough} = 投与区間内における総予後の最低血清中濃度
値は補完的薬物動態報告書（[Module 4.2.2.7-1: REGN668-MX-[redacted]079]）で算出した。
a 投与期間中及び回復期間中の陽性動物数／総動物数

表 15 - サル 6 ヵ月間反復投与毒性試験及び 3 ヵ月間回復性試験－回復期間中の平均 REGN646 濃度

（用量/経路）	平均血清中 REGN646 濃度（µg/mL）				動物数[e]
	190 日目（回復 1 週目）[a]	211 日目（回復 4 週目）[b]	239 日目（回復 8 週目）[c]	274 日目（回復 13 週目）[d]	
25 mg/kg/週/SC	評価せず	評価せず	評価せず	評価せず	NA
100 mg/kg/週/SC	3835	1863	668	188	4/4
25 mg/kg/週/IV	562	287	96.9	17.1	3/4

SC = 皮下；IV = 静脈内；NA = 該当せず
a 最終投与 168 時間後に相当
b 最終投与 4 週間後に相当
c 最終投与 8 週間後に相当
d 最終投与 13 週間後に相当
e 回復期間終了時に検出可能な濃度がみられた動物数／回復性試験群の総動物数

毒性変化がみられなかったことから、本試験の NOAEL は、それぞれの投与経路の最高用量である 100 mg/kg/週皮下及び 25 mg/kg/週静脈内と判断された。NOAEL における 26 週目の平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ は、100 mg/kg/週皮下で 791,000 µg•h/mL、25 mg/kg/週静脈内で 149,000 µg•h/mL（雌雄併合）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には、小分子医薬品について通常実施される標準的な遺伝毒性試験は適用されない（ICH ガイダンス S6(R1)「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」）。すなわち、デュピルマブのようなモノクローナル抗体が DNA や他の染色体物質と直接相互作用することはないと予想されるため、デュピルマブの遺伝毒性試験は実施しなかった。

5　がん原性試験

ICH ガイドライン S6(R1)に従い、デュピルマブのがん原性についての重要性に基づいた評価（weight of evidence）を実施した（[Module 4.2.3.7.7 Amended Carcinogenicity Assessment]参照）。この評価では、IL-4Rα シグナル伝達経路阻害と腫瘍発生との関係についての文献の精査並びに相同抗体 REGN1103 及び REGN646 の非臨床試験で得られた関連データの分析を行い、以下の結論が得られた：

- IL-4Rα 阻害による生物学的影響の可能性に関する公表文献の重要性に基づいた評価（weight of evidence）では、IL-4Rα 阻害とがんリスクの増加とのメカニズム及び、標的関連の因果関係は裏付けられなかった。対照的に IL-4Rα 経路の IL-4/IL-13 活性化には重要な催腫瘍性があり、この経路の阻害は、腫瘍のプロモーション及び増殖のリスクを低下させる可能性がある。
- REGN646 のサルを用いた最長 6 ヵ月間の反復投与毒性試験及び REGN1103 のマウスを用いた 5 週間反復投与毒性試験では、がん原性のリスクを示唆する所見（器官重量、血清生化学的検査、血液学的検査、リンパ球サブセット、免疫グロブリン濃度、病理組織学的所見など）は得られなかった。これらの試験における REGN646 又は REGN1103 の血清中濃度により、IL-4Rα との結合が完全に飽和すると予想された。
- 免疫監視の低下又はがん原性リスクの増加を示唆する REGN646 関連の免疫調節作用は認められなかった。6 ヵ月間反復投与毒性試験の成獣サル並びにサルを用いて実施した ePPND 試験で REGN646 の高用量を投与された母動物の出生児において、白血球サブセット、内因性免疫グロブリン、T 細胞依存性抗原反応（スカシガイヘモシアニン（KLH）による誘発後の一次及び二次 IgG 反応）及びリンパ系器官の病理学的変化に対する REGN646 関連の影響は認められなかった。

以上、REGN646 及び REGN1103 の動物を用いた毒性試験並びに文献精査で得られた重要性に基づいた評価（weight of evidence）の結果、デュピルマブの長期投与によるがんリスクの増加はないと考えられる。FDA、CHMP 及びカナダ保健省は、デュピルマブの[redacted]（[redacted]）[redacted]に同意している。

6　生殖発生毒性試験

IL-4Rα 阻害作用による生殖への影響の有無を検討するため、CD-1 マウスを用いたマウス相同抗体（REGN1103）による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胚・胎児発生並びに出生前／出生後の発生への影響を評価する ePPND 試験を実施した。

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

6.1.1　REGN1103 のマウス皮下投与受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

[Module 4.2.3.5.1-1: REGN1103-TX-[redacted]097][Module 2.6.7.12]

REGN1103（デュピルマブのマウス相同抗体）を、CD-1 マウス（約 9 週齢）に、25、75 又は 200 mg/kg/週の用量で qw 皮下投与した。対照群の動物には溶媒を皮下投与した。マウスを主試験群（1 群雌雄各 24 匹）又は TK 群（対照群は雌雄各 6 匹、REGN1103 群は 1 群雌雄各 36 匹）に割り付けた。TK 群の動物には主試験群と同じ用量で投与を行った。

雄マウスには、溶媒（対照群）又は REGN1103 を、交配前 4 週間及び交配期間を通して qw（9 回）投与した。雌マウスには、溶媒又は REGN1103 を、交配前 2 週間、交配期間及び妊娠初期（妊娠 0～7 日）を通して qw（最少で 4 回）投与した。

評価項目は、生死、一般状態、体重、摂餌量、卵巣及び子宮の検査、妊娠状態、交尾及び受胎能のパラメータ（雌の受胎率、妊娠率、着床前／着床後胚死亡率、性周期）、生殖器官重量（精巣、精巣上体、精嚢、前立腺）、剖検及び病理組織学的検査とした。総血清中 REGN1103 濃度及び TK 評価用の血液サンプルを、雄については 5 回目（29 日目）及び 7 回目（43 日目）投与前に、雌については 3 回目（15 日目）及び 5 回目（29 日目）投与前に採取した。

REGN1103 関連の死亡はみられず、一般状態、体重、体重増加量、摂餌量並びに交尾及び受胎能パラメータの変化は認められなかった。0、25、75 及び 200 mg/kg/週群のそれぞれ 24 匹（100%）、21 匹（87.5%）、22 匹（91.7%）及び 23 匹（95.8%）のマウスに妊娠が認められた。卵巣及び子宮のいずれのパラメータにも、REGN1103 の影響はみられなかった。雌雄の生殖組織には、REGN1103 関連の病理組織学的所見は認められなかった。

特記すべき所見を表 16に要約する。

表 16 - マウス皮下投与受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験－特記すべき所見

試験番号/GLP 適用の有無	動物種/試験系	REGN1103 用量	所見
REGN1103-TX-[redacted]097 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（GLP）	マウス	0、25、75、200 mg/kg/週 SC	REGN1103 関連の変化はみられなかった。 NOEL は 200 mg/kg/週 SC と判断された。

TK パラメータの要約を表 17に示す。

検出可能な REGN1103 の血清中濃度が、すべての REGN1103 投与群でサンプル採取したすべての時点に認められた。これらのデータにより、すべての用量で、雌雄ともに投与期間を通して、被験物質への持続的な曝露が維持されたことが示唆される。サンプル採取したすべての投与時点からの曝露量（AUC）は用量の増加にほぼ比例していたが、例外として 25 mg/kg 群の雌では、サンプル採取したすべての投与時点における補正した AUC 値（AUC/用量）が、他の投与群と比較して低かった。低用量の 25 mg/kg における非線形性は、その薬理学的標的（IL-4Rα）を飽和するのに必要な曝露量を下回る全身曝露量での標的分子を介在する薬物動態を反映している可能性がある。

表 17 - マウス皮下投与受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験－TK データの要約

パラメータ（単位）	性	投与（週）	REGN1103 の用量（mg/kg/週）		
			25	75	200
平均 C_{max} (µg/mL)	雄	5	478	1820	3480
	雌	7	532	1680	3600
		3	312	1100	2950
		5	357	1500	3350
平均 C_{Trough} (µg/mL)[a]	雄	5	347	1270	2170
	雌	7	413	1410	2610
		3	125	648	1710
		5	269	1040	2220
平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ (µg*h/mL)	雄	5	70600	245000	496000
	雌	7	74400	248000	521000
		3	36300	150000	412000
		5	50300	206000	462000

a C_{trough} は補完的薬物動態報告書（[Module 4.2.2.7-1: REGN668-MX-[redacted]079]）において算出した。

6.2　サルを用いた胚・胎児発生並びに出生前及び出生後の発生毒性試験

6.2.1　REGN646 のサル皮下投与 ePPND 試験並びに 6 ヵ月間出生後評価

[Module 4.2.3.5.3-1: REGN646-TX-[redacted]099][Module 2.6.7.14]

妊娠した雌の成獣カニクイザルに、REGN646 を、25 又は 100 mg/kg/週で、妊娠 20 日ごろから分娩まで qw 皮下投与した。対照動物には溶媒を皮下投与した。母動物及び出生児の観察を、分娩後約 6 ヵ月間継続した。1 群の妊娠動物数は 18～20 匹とした。

妊娠期間中の母動物について、一般状態、摂餌量及び体重測定並びに胚・胎児発生状態（超音波検査）を含む妊娠状態の検査を実施した。成獣雌から試験を通して種々の時点で血液サンプルを採取し、臨床検査、リンパ球サブセット検査（フローサイトメトリー）、TK 及び ADA 解析を実施した。妊娠雌を自然分娩させて出生児を得た。母動物の評価を分娩 6 ヵ月後まで継続した。

出生児の神経行動検査及び骨格検査を出生 1 ヵ月以内に実施した。

試験を通して種々の時点で血液サンプルを採取し、TK 及び ADA 解析を実施した。生後の免疫学的検査として、KLH に対する T 細胞依存性抗体産生評価及びフローサイトメトリーによる末梢血リンパ球のフェノタイピングを行った。出生児を生後 180 日ごろ（±2 日）に安楽殺し、外表及び内臓検査並びに剖検を実施した。一部の組織を採取して重量測定してから保存し、特定の組織について病理組織学的検査を行った。生後期間全体を通して、可能な限り出生児をその母動物とともに飼育し、出生児がいなくなった母動物は試験から除外した。

TK の結果を表 19及び表 20に要約する。

検査を行った 25 mg/kg/週群の 13 匹中 11 匹及び 100 mg/kg/週群の 14 匹中 13 匹の動物において、測定可能な REGN646 の濃度が最終投与直前にみられたことから、投与期間を通して曝露量が維持されたと考えられる。25 及び 100 mg/kg/週群の動物で測定した REGN646 の C_{trough} は、IL-4（0.5 nmol/L）刺激性の *ex vivo* TARC 分泌に対する REGN646 の阻害作用の IC_{90}（80.3 µg/mL）と比較して、それぞれ 5.4 倍及び 27.5 倍高かった（[Module 2.6.2.2.5.5]項参照）。このことから、両用量において、標的分子は飽和に達したと考えられる。初回投与後の母動物における平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ 及び C_{max} 推定値は用量に比例して増加し、蓄積も認められた。100 mg/kg/日群の母動物における C_{trough} 推定値は 5 回目、12 回目及び 18 回目投与後で同程度であったことから、5 回目の REGN646 投与までに定常状態に到達したことが示唆された。

分娩後期間中（分娩後 91 日まで）、25 mg/kg/週群の 70%を上回る母動物及び 100 mg/kg/週群の 85%を上回る母動物で、検出可能な血清中 REGN646 濃度が認められた。

25 mg/kg/週群の 8 匹中 6 匹の出生児で、測定可能な濃度の血清中 REGN646 が生後 1 ヵ月（生後 28 日）までみられ、8 匹中 1 匹では生後 91 日まで測定可能な濃度が認められた。100 mg/kg/週群の 12 匹中 11 匹の出生児で、検出可能な濃度の REGN646 が生後 91 日までみられた。いずれの出生児においても、試験終了時（生後 180 日）には、REGN646 は血清中に検出されなかった。

REGN646 への忍容性は良好であった。母動物の死亡はみられず、被験物質関連の一般状態の変化は認められなかった。摂餌量、体重、血液学的検査、凝固検査、血清生化学的検査及びイムノフェノタイピングのパラメータには変化はみられなかった。

超音波による胎児検査及び妊娠日数には、REGN646 関連の変化は認められなかった。

生後期間中に評価を行った出生児では、一般状態、体重、身体検査、出生児測定、神経行動検査、血液学的検査、末梢血リンパ球のイムノフェノタイピング、免疫グロブリン（IgM、IgG 及び IgE）濃度及び骨格検査において、REGN646 関連の変化は認められなかった。出生児における $CD20^+$ B リンパ球、$CD3^+$ T リンパ球及び $CD3^+/CD4^+$ ヘルパーT リンパ球の濃度には大きなばらつきがあり、100 mg/kg 群の 1 匹では、B リンパ球及び T ヘルパーリンパ球の値が背景対照範囲を下回っていた。しかし、これらの低濃度は、生後 91 日目以降はみられず、REGN646 関連の免疫グロブリン濃度の変化を伴わなかったことから、被験物質関連ではなく、毒性変化でもないと考えられる。100 mg/kg/週までの用量で投与を行った母動物の出生児における KLH 抗原への TDAR には、REGN646 関連の変化は認められなかった。剖検所見、器官重量、器官重量比、外表及び内臓の変化並びに病理組織学的所見には、被験物質関連の変化は認められなかった。

全体の胚・胎児死亡率を表 18に示す。群ごとの胚・胎児死亡発現頻度は、溶媒対照群が 20 匹中 5 匹（25%）、REGN646 群が 38 匹中 13 匹（34.2%）（25 mg/kg/週：20 匹中 10 匹（50%）；100 mg/kg/週：18 匹中 3 匹（16.7%））であった。

表 18 - サル ePPND 試験－胚・胎児死亡率

用量（mg/kg/週）	妊娠雌数	胎児死亡の妊娠日	死亡率		
			全体	妊娠第 1 期	妊娠第 3 期
0	20	妊娠 32 日～妊娠 175 日	20 匹中 5 匹 (25%)	20 匹中 2 匹 (10%)	20 匹中 3 匹 (15%)
25	20	妊娠 31 日～妊娠 168 日	20 匹中 10 匹[a] (50%)	20 匹中 3 匹 (15%)	20 匹中 7 匹 (35%)
100	18	妊娠 32 日～妊娠 147 日	18 匹中 3 匹 (16.7%)	18 匹中 2 匹 (11.1%)	18 匹中 1 匹 (5.6%)
25 及び 100 mg/kg/週群を併合	38	妊娠 31 日～妊娠 168 日	38 匹中 13 匹[a] (34.2%)	38 匹中 5 匹 (13.2%)	38 匹中 8 匹 (21.1%)
試験施設の背景対照データ[b]		背景対照発現頻度	267 匹中 60 匹 (22.5%)	268 匹中 21 匹 (7.8%)	302 匹中 41 匹 (13.6%)
		背景対照範囲	6.7～38.9%	0～15.0%	0～28.6%

a 外科的分娩（逆子）のため流産胎児と判断され、生存の可能性が低いとの推測により早期安楽殺（妊娠 125 日）された 1 匹の動物を含む。

b この試験施設で 20[redacted]～20[redacted]年に実施した 17 の ePPND 試験に基づく。

妊娠第 1 期（妊娠 50 日より前）における 25 及び 100 mg/kg/週群の胚・胎児死亡率は溶媒対照群と同程度であり、REGN646 投与群全体の胚・胎児死亡率は、この試験施設で 20[redacted]～20[redacted] 年に実施した 17 の ePPND 試験における胚・胎児死亡率の背景対照範囲内であった（268 匹の妊娠動物のうち 21 匹で胚・胎児死亡（7.8%；範囲 0～15.0%）がみられた）。したがって、これらの胚・胎児死亡は偶発的で被験物質と関連のないものと考えられた。

妊娠第 3 期（妊娠 100 日以降）における 100 mg/kg/週群の胚・胎児死亡率は溶媒対照群と同程度であり、この試験施設における胚・胎児死亡率の背景対照範囲内であった（302 匹の妊娠動物のうち 41 匹で胚・胎児死亡（13.6%；範囲 0～28.6%）がみられた）。妊娠第 3 期における 25 mg/kg/週群の胚・胎児死亡率は対照群より高く、背景対照値の範囲外であったが、REGN646 の標的分子が飽和する用量（25 mg/kg/週以上の用量）を投与された動物の胚・胎児死亡率を合わせると、背景対照範囲内に留まった（21.1%対 0～28.0%）。

出生児死亡の全体的な発現頻度（40 匹中 6 匹；15%）はマカク属について文献で報告された背景データ（10～12%、(1) (2)）に一致しており、この試験施設で実施した類似したデザインでの 17 の ePPND 試験における対照群の妊娠成績（出生児 230 匹のうち 24 匹が死亡（10.4%）：範囲 0～20%）と同程度であった。出生児死亡の原因は、母動物の育児拒否、妊娠 133 日の早産による未熟児又は母動物による帝王切開後の出生児への深刻な傷害であった。これらのデータに加えて、生後期間中のいずれの時点においても他の出生児には被験物質関連の毒性がみられなかったことに基づくと、これらの出生児死亡は出生児又は母動物に対する被験物質の影響に起因するものではないと考えられた。

表 19 - サル ePPND 試験－TK パラメータ

パラメータ（単位）	投与回数	REGN646 の用量（mg/kg/週）	
		25	100
C_{max} (µg/mL)	1	247 ± 41.7	929 ± 200
	18	641 ± 288	3160 ± 948
C_{trough} (µg/mL)	1	223 ± 30.9	774 ± 226
	18	436 ± 291	2210 ± 906
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL)	1	32 400 ± 5190	117 000 ± 29 400
	18	84 800 ± 40 100	443 000 ± 136 000

$AUC_{0\text{-}168h}$ = 0 時間から 168 時間までの濃度－時間曲線下面積；C_{max} = 最高濃度
注：値は平均値 ± SD であり、有効数字 3 桁に丸めた。
N = 13～20/時点

表 20 - サル ePPND 試験－投与動物の出生児における REGN646 の TK の要約

母動物の試験日（出生児の試験日）	用量（mg/kg/週）	REGN646 の血清中濃度（µg/mL）		母動物／出生児の血清中濃度比[a]
		母動物	出生児	
分娩後 14 日（生後 14 日）	25	199 ± 173	167 ± 127	1.2
	100	1370 ± 521	1060 ± 414	1.3
分娩後 28 日（生後 28 日）	25	138 ± 94.4	107 ± 91.7	1.3
	100	914 ± 258	658 ± 330	1.4
分娩後 91 日（生後 91 日）	25	3.85 ± 3.82	BLQ	NC
	100	57.0 ± 46.5	34.5 ± 41.1	1.7
分娩後 180 日（生後 180 日）	25	BLQ	BLQ	NC
	100	BLQ	BLQ	NC

BLQ = 定量限界未満（<0.039 µg/mL）；NC = 算出せず
注：REGN646 最終投与後の値を算出し、平均値 ± SD を報告するとともに、有効数字 3 桁に丸めた。
N = 母動物は 8～13 サンプル、出生児は 7～14 サンプルを評価した。
a 平均母動物濃度を平均出生児濃度で除して算出した。

ADA の発現頻度には用量と逆の関連性がみられた。ADA が、25 mg/kg/週群の母動物 20 匹中 9 匹及び 100 mg/kg/週群の母動物 20 匹中 3 匹にみられた。25 mg/kg/週群の ADA 陽性動物 4 匹及び 100 mg/kg/週群の ADA 陽性動物 1 匹における抗体価は一貫して 1：15000 を上回っており、それに伴って全身 REGN646 濃度の低下が認められた。より低い抗体価がみられた動物では、対応する REGN646 曝露量の低下は認められなかった。ADA 陽性反応は対照群の 20 匹中 8 匹でもみられた。これはアッセイにおける血清の干渉を反映している可能性がある。25 mg/kg/週群の母動物から生まれた 2 匹の出生児及び 100 mg/kg/週群の母動物から生まれた 1 匹の出生児においても ADA が検出された。ADA 関連の毒性は認められなかった。

以上、母動物及び 6 ヵ月間の生後観察期間中の出生児のいずれにおいても、REGN646 関連の毒性変化は認められなかった。評価した出生児の発達、行動及び免疫機能パラメータに関して、毒性変化はみられなかった。本試験の条件下での母動物及び発生毒性に関する NOAEL は、試験最高用量の 100 mg/kg/週と判断された。

7　幼若動物を用いた試験

幼若動物を用いた試験は実施しなかった。カニクイザルを用いて出生後の胚・胎児発生並びに出生前及び出生児の発達に及ぼすREGN646の影響を評価するために実施した試験において、6ヵ月齢までの幼若サルには被験物質関連の変化は認められなかった。

8　局所刺激性試験

反復投与毒性試験における局所刺激性の評価を、静脈内投与群の注入部位及び皮下投与群の注射部位について実施した（肉眼検査及び病理組織学的検査）。静脈内注入部位及び皮下注射部位において、相同抗 IL-4Rα 抗体である REGN646 及び REGN1103 の毒性変化は認められなかった。サルを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験において、REGN646 の反復皮下又は静脈内投与による忍容性は良好であったが、プラセボによる軽度の局所刺激性を反映した可能性を示唆する可逆的な病理組織学的所見及び血管周囲免疫細胞動員が観察された。

9 その他の毒性試験

9.1 デュピルマブと正常ヒト組織パネル及び REGN646 とカニクイザル組織パネルの *ex vivo* 交差反応性試験

[Module 4.2.3.7.7-1: [redacted]00057][Module 2.6.7.17]

ヒト IL-4Rα に対するデュピルマブ及びカニクイザルの同じ標的に対する相同抗体 REGN646 の交差反応性を評価するため、*ex vivo* 組織交差反応性試験を実施した。デュピルマブを正常ヒト組織パネル（36 組織）に、REGN646 を正常カニクイザル組織パネル（36 組織）に、5.0 及び 50.0 µg/mL の濃度（3 ドナー／動物種）で適用した。組換えヒト IL-4R モノマー又は組換えカニクイザル IL-4R モノマーと共有結合させたセファロースクロマトグラフィービーズの切片を、それぞれデュピルマブ及び REGN646 の陽性対照サンプルとして使用した。いずれの実験においても、両方の陽性対照サンプルは、デュピルマブ又は REGN646 のいずれかについて、両方の濃度で、すべての標識ビーズに対して中等度（3+）から顕著（4+）の染色を示した。組換えヒト神経成長因子（NGF）に結合させたセファロースビーズの切片を両被験物質の陰性対照として使用したところ、実験に使用したいずれの濃度においても、デュピルマブ及び REGN646 による染色を示さなかった。デュピルマブ又は REGN646 の代わりに対照物質のヒト IgG4κ で染色した連続切片には特異的染色がみられなかったことから、被験物質染色の特異性が確認された。組織切片の免疫組織化学に関するバリデーションを、抗 CD31（血小板内皮細胞付着分子（PECAM-1））抗体による染色で行った。

特記すべき所見を表 21に要約する。

表 21 - デュピルマブ及び REGN646 の組織交差反応性試験－結果の要約

試験番号（GLP 適用の有無）	試験系/動物種	被験物質濃度	特記すべき所見
[redacted]00057（GLP）	ヒト及びサルの組織	5.0 及び 50.0 µg/mL	評価したヒト及びサルのいずれの組織においても、デュピルマブ及び REGN646 にそれぞれ特異的な染色は認められなかった。

9.2 その他

9.2.1 免疫原性

それぞれの毒性試験において、少数のサルで抗 REGN646 抗体（ADA）が認められた。特に 5 mg/kg/週以下の用量では、一部の例において ADA の存在に関連する REGN646 の消失の加速がみられたが、

ADA の発現による毒性のエビデンスはみられず、包括的な毒性評価に対する ADA の影響は認められなかった。動物における ADA の結果についての詳細な考察を[Module 2.6.4.7] 項に示す。

9.2.2 免疫毒性

サル及びマウスを用いた反復投与毒性試験において、血液学的パラメータの評価及び標準的な病理組織学的検査を実施した。いずれの動物種においても、被験物質関連の血液学的変化は認められなかった。リンパ系器官重量並びに骨髄、脾臓、胸腺、リンパ節及び肝臓の肉眼所見や病理組織学的所見には、REGN646 及び REGN1103 の影響はみられなかった。

特異的な免疫毒性評価項目の検査を、サルを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験（3.2.1.4項）並びにサルを用いた ePPND 試験（6.2.1項）で実施した。

サル 6 ヵ月間反復投与毒性試験では、リンパ球フェノタイプ、TDAR、TARC 放出、血清中総 IgE、IgG 及び IgM 濃度並びに血清中 IL-4 濃度において、REGN646 関連の変化は認められなかった（[Module 4.2.3.2-5: REGN646-TX-[redacted]004][Module 2.6.7.7C]参照）。

サルの ePPND 試験（[Module 4.2.3.5.3-1: REGN646-TX-[redacted]099][Module 2.6.7.14]参照）において、母動物及びその出生児のリンパ球フェノタイプには、REGN646 関連の変化は認められなかった。出生児の免疫組織（肉眼所見及び病理組織学的所見）及び T 細胞依存性抗体産生には、REGN646 関連の変化はみられなかった。

9.2.3 薬物乱用性の評価

動物を用いた毒性試験及び薬理試験を通して、デュピルマブに関する依存性及び乱用性を示唆するエビデンスはみられなかったことから、デュピルマブ及びその相同抗体についての薬物乱用性評価試験は実施しなかった。その理由を以下に詳述する。

デュピルマブは IL-4Rα に結合する組換えヒトモノクローナル抗体 $IgG4^{P}$ アイソタイプである。REGN646 は、サル IL-4Rα に結合する組換えヒトモノクローナル抗体 $IgG4^{P}$ アイソタイプであり、REGN1103 は、マウス IL-4Rα に結合する組換えマウスモノクローナル抗体である。デュピルマブ並びに相同抗体（REGN646 及び REGN1103）の分子量は約 150 kDa であるため、血液脳関門通過の可能性はないと考えられる。血液脳関門は血液から脳への薬物の移動を抑制する。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、脳移行は制限される(3)。このため、類似したモノクローナル抗体についての文献データを考慮すると、脳脊髄液中のデュピルマブ濃度は極めて低いと予想される（血漿中濃度の 1000 分の 1 と推定される）ことから、乱用の可能性は極めて限定的と考えられる(4)。モノクローナル抗体には活性代謝物はなく、規制薬物の前駆物質でもない。一般に、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、内因性の異化を受けることが知られており、また、これらの小ペプチド及びアミノ酸には他の明らかな生物学的活性はないと考えられる。したがって、デュピルマブの代謝経路により、薬物依存性及び乱用性は低いことが示唆される。

デュピルマブ及びその相同抗体はIL-4Rα受容体に選択的に結合し、IL-4及びIL-13には結合しない。これらのモノクローナル抗体が、CNSに発現して薬理活性を媒介する乱用性関連の受容体又はトランスポーター（オピエート、ドパミン系、ノルアドレナリン系、セロトニン系、NMDA系、シグマ、GABA系など）に結合するエビデンスはない。ヒト及びサルの組織を用いた組織交差反応性試験において、CNS組織の膜染色のエビデンスは示されなかった。

REGN646又はREGN1103の非臨床反復投与毒性試験において、マウスに200 mg/kg/週までの用量で5週間皮下投与又はカニクイザルに100 mg/kg/週までの用量での皮下投与若しくは25 mg/kg/週の用量での静脈内投与を6ヵ月間実施したとき、CNSにおける機能的及び病理学的変化は認められなかった。REGN646を100 mg/kg/週までの用量で皮下投与したePPND試験では、妊娠サル及び生後6ヵ月まで観察したその出生児において、被験物質関連の機能的変化やCNSの病理学的所見は認められなかった。REGN646を投与された妊娠サルの出生児についての機能発達評価（正向反射、視覚的追尾、握力、うつ伏せからの姿勢変化、リップスマッキング行動、瞳孔反射、口腔反射、モロ反射及び背地走性）は対照群と同様であり、REGN646関連の変化は認められなかった。6ヵ月間反復投与毒性試験のNOAELである100 mg/kgにおけるREGN646のC_{trough}は、IL-4刺激性の*ex vivo* TARC分泌に対するREGN646の阻害作用のIC_{90}の約52倍であった（4153 µg/mL対80.3 µg/mL、0.5 nmol/LのIL-4の存在下で測定、[Module 2.6.2.2.5.5]項参照）。同様に、ePPND試験のNOAELである100 mg/kgでのC_{trough}は、TARCアッセイにおけるIC_{90}の27.4倍であった（2211 µg/mL対80.3 µg/mL）。

10　考察及び結論

デュピルマブは、ヒト IL-4Rα に対して高い結合親和性（単量体 IL-4Rα に対する K_D は 33 pmol/L、二量体 IL-4Rα に対する K_D は 12 pmol/L）を示すが、カニクイザル、アカゲザル、コモンマーモセット及びマウスなどの一般的に毒性評価に使用される動物種の IL-4Rα に対しては、生理学的意義のある相互作用を示さない。このため、IL-4Rα 阻害による安全性を包括的に評価する目的で、カニクイザル及びマウスの IL-4Rα 外部ドメインに対する相同抗体（それぞれ REGN646 及び REGN1103 と命名）を作製した。REGN646 のサル IL-4 に対する阻害作用の K_D は、2.5 nmol/L（単量体 IL-4Rα）及び 31 pmol/L（二量体 IL-4Rα）である。REGN1103 のマウス IL-4Rα に対する結合の K_D は 86.7 pmol/L（単量体 IL-4Rα）である。REGN1103 については、*ex vivo* でのマウス IL-4 刺激性 HT-2 細胞増殖に対する抑制作用及び *in vivo* でのアレルゲン誘発性肺炎マウスモデルにおける 2 型免疫応答抑制作用も示されている。

IL-4Rα の生物学的役割はヒト、サル及びマウスにおいて同等と予想されるため、REGN646 及び REGN1103 により、それぞれサル及びマウスから外挿された適切な安全性情報が得られると期待される。REGN646 について、カニクイザルを用いた最長 6 ヵ月間の反復投与毒性試験を含む一般毒性試験、カニクイザルを用いた出生前及び出生後の発生毒性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を実施した。REGN1103 を用いて、マウスの受胎能に対する IL-4Rα 阻害の影響を評価した。

正常なヒト及びカニクイザルの組織のパネルを用いた組織交差反応性試験においてデュピルマブ及び REGN646 の評価を行ったところ、抗体特異的な組織染色は認められなかった。本試験においては、適切な陽性及び陰性対照サンプルを含めることにより、アッセイの妥当性が確認された。

サルを用いて実施した毒性試験において、25 mg/kg/週を上回る用量で、投与の間隔を通して持続的な全身曝露量が認められた（[Module 2.6.4]項参照）。これらの試験における REGN646 の C_{trough} は、一貫して *ex vivo* における IC_{90} の 80.3 µg/mL を上回る値を維持したことから、*in vivo* では 25 mg/kg/週以上の用量でサルの IL-4Rα が飽和していることが示唆された。TARC の IL-4 誘導性増加に対する REGN646 の阻害作用を測定した *ex vivo* サル血液アッセイにおいて IC_{90} を算出した([Module 4.2.1.1-2])。最長 6 ヵ月間の反復投与毒性試験及び ePPND 試験で得られた結果により、REGN646 は幼若動物及び成獣の免疫系に影響を及ぼさないことが示された。これはリンパ球サブセットの組成、血清中 IL-4 濃度、総血清免疫グロブリン（IgE、IgG、IgM）及び TDAR に対する REGN646 の影響の評価に基づくものである。

REGN646 の TK の特徴は 25 mg/kg/週以上の用量での線形動態であり、これらの用量での標的分子の飽和を反映した可能性がある。用量比を上回る REGN646 曝露量の増加が、REGN646 の 1～25 mg/kg/週の用量で認められた（1 mg/kg/週用量では標的分子が飽和に達しておらず、標的分子を介在する薬物動態を反映した可能性がある）。25 mg/kg/週以上の用量で REGN646 の 3～4 倍の蓄積がみられ、消失 $t_{1/2}$ 及び投与間隔に一致していた。25 mg/kg/週未満の用量では、サルにおける REGN646 の蓄積はほとんど又はまったく認められなかった。TK の性差はみられなかった。

サルを用いた GLP 適用の反復投与毒性試験において、REGN646 を 1、5、25 及び 100 mg/kg の用量で qw、連続静脈内又は皮下投与したときの影響を評価した。一般状態では REGN646 関連の毒性変化はみられず、体重、摂餌量、体温、ECG、血圧、眼科学的検査、血液学的検査（リンパ球サブセットのフェノタイピング及び免疫グロブリン濃度を含む）、血清生化学的検査（CRP を含む）、凝固検査、尿検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査においても、毒性変化は認められなかった。静脈内注入部位及び皮下注射部位において、REGN646 による毒性変化はみられなかった。それぞれの反復投与毒性試験の NOAEL は、検討した最高用量（最大で 6 ヵ月間反復投与毒性試験における 100 mg/kg/週皮下及び 25 mg/kg/週静脈内）であった。5 mg/kg/週以下の用量では ADA の存在により全身曝露量が減少したが、それに関連する毒性変化は認められなかった。25 mg/kg/週以上の投与群の動物における全身曝露量は投与期間を通して高レベルに維持され、反復投与による蓄積が認められた。

反復投与毒性試験で得られたデータ及び IL-4Rα 阻害に関連する文献から、デュピルマブの長期投与によるがんリスクの増加はないと考えられる。規制当局との相談により、CHMP 及び FDA は、[redacted]（[redacted]）[redacted]同意した。

雌雄のマウスを用いて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いて、REGN1103 関連の死亡はみられず、REGN1103 関連の一般状態の変化、体重及び摂餌量の変化並びに剖検所見及び病理組織学的所見は認められなかった。交尾、受胎能、性周期、胚の生存及び雄性生殖能（器官重量）の評価において、REGN1103 関連の変化はみられなかった。いずれの投与群においても、REGN1103 への持続的曝露量が投与期間を通して維持された。本試験の NOEL は検討した最高用量の 200 mg/kg/週であった。

サルを用いた ePPND 試験において、母動物及び 6 ヵ月齢まで観察した出生児への REGN646 の忍容性は良好であった。いずれの評価項目においても、REGN646 関連の所見（母動物、胎児及び出生児）は認められなかった。また、REGN646 を投与された雌サルから生まれた出生児の一般状態、臨床検査、リンパ系組織の病理組織学的検査及び末梢リンパ球イムノフェノタイピングにおいて、REGN646 関連の免疫機能障害のエビデンスはみられなかった。T 細胞依存性抗体産生アッセイを用いて評価した二次的免疫応答に対する REGN646 への出生前曝露の影響は認められなかった。標的分子の飽和する用量の REGN646 を投与された動物における全体的な胚・胎児死亡率は、試験施設の対照動物でみられた胚・胎児死亡率（バックグラウンドデータ）の範囲内であった。出生児の成長及び発達は、カニクイザル出生児の正常範囲内であった。両群の大部分の出生児（85%超）で生後 28 日の血清中に測定可能な濃度の REGN646 がみられ、生後 91 日には 100 mg/kg/週群の出生児で測定可能な濃度が認められたことから、出生児は妊娠中及び初期生後期間において REGN646 に曝露されていた。以上より、母動物及びその出生児における NOAEL は 100 mg/kg/週皮下であった。

10.1　まとめ

デュピルマブの相同抗体である REGN646（サル）及び REGN1103（マウス）を用いてカニクイザルにおける一般毒性試験、ePPND 試験並びにマウスにおける受胎能及び着床までの初期胚試験を実施し、デュピルマブの安全性プロファイルを検討した。

REGN646 をサルに qw、最長 6 ヵ月間投与したところ、有害な薬理学的変化や毒性変化は認められなかった。サルを用いた ePPND 試験において免疫パラメータ（母動物、胎児及び出生児）、胎児の成長及び発達に対する有害作用はみられなかった。同様に、マウスにおいても、REGN1103 に関連する受胎能パラメータ、生殖能及び胚生存性の変化は認められなかった。IL-4Rα 阻害に関連する利用可能な文献からの重要性に基づいた評価（weight of evidence）並びに REGN1103 及び REGN646 について実施した動物試験の結果より、デュピルマブ長期投与によるがんリスクの増加はないと考えられる。

サルにおいては、抗 REGN646 抗体の存在に関連する毒性変化はみられなかった。また、25 mg/kg/週以上の用量では REGN646 への持続的全身曝露量は低下しなかった。

以上より、マウス及びサルを用いた反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験において、デュピルマブと同程度の効力を有する抗 IL-4Rα 相同抗体により、IL-4Rα が飽和すると考えられる濃度で曝露した時、被験物質関連の毒性変化は認められなかった。

参 考 文 献

1. Gardin JF, Jerome CP, Jayo MJ, Weaver DS. Maternal factors affecting reproduction in a breeding colony of cynomolgus macaques (Macaca fascicularis). Lab Animal Sci. 1989; 39(3): 205-12.
2. Hird DW, Henrickxon RV, Hendrickx AG. Infant mortality in Macaca mulatta: Neonatal and post-neonatal mortality at the California primate research center, 1968-1972: A retrospective study. J Med Primatol. 1975; 4: 8-22.
3. Jones AR, Shusta EV. Blood –brain barrier transport of therapeutics via receptormediation. Pharm Res 2007; 24(9):1759-71.
4. Tabrizi M, Bornstein GG, Suria H. Biodistribution mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies in health and disease. AAPS J 2010; 12(1): 33-43.

サノフィ株式会社

デュピルマブ（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: 45

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 6
3 トキシコキネティクス試験成績の一覧 8
4 毒性試験使用ロット 15
5 単回投与毒性試験 17
6 反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験 18
7 反復投与毒性試験 20
8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 27
9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 28
10 がん原性試験 29
11 生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験 30
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 31
13 生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験 36
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 37
15 幼若動物を用いた試験 43
16 局所刺激性試験 44
17 その他の毒性試験 45

表　目　次

表 2.6.7.1A - tabulated summary – overview - study program 4
表 2.6.7.2A - Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies 6
表 2.6.7.3A - Toxicokinetics – Overview of toxicokinetics Data 8
表 2.6.7.3B - Toxicokinetics – Overview of toxicokinetics Data 10
表 2.6.7.4A- Toxicology drug substance/drug product 15
表 2.6.7.6A - Repeat-Dose Toxicity - Nonpivotal Studies– 5-Week SC Mouse Study 18
表 2.6.7.6B - Repeat-Dose Toxicity - Nonpivotal Studies – 1-Month IV Monkey Study 19
表 2.6.7.7A - Repeat-Dose Toxicity – 5-Week IV Monkey Study with a 8-week Recovery 20
表 2.6.7.7B - Repeat-Dose Toxicity – 13-Week SC Monkey Study with a 13-Week Recovery 22
表 2.6.7.7C - Repeat-Dose Toxicity – 6-Month SC and IV Monkey Study with a 3-Month Recovery 24
表 2.6.7.12 - Reproductive and Developmental Toxicity - Fertility and Early Embryonic, Development to Implantation 31
表 2.6.7.14 - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Postnatal, Development, Including Maternal Function 37
表 2.6.7.17 - Other Toxicity Studies - Tissue Cross Reactivity Study 45

1　毒性試験一覧表

表 2.6.7.1A - tabulated summary – overview - study program

Test Article: REGN1103 or REGN646 [a]

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [b] (mg/kg/week)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity – Not applicable							
Repeat-Dose Toxicity							
Mouse (Crl:CD1 (ICR))	SC	5 weeks	0, 10, 20, 100, 200 REGN1103	No	sanofi-aventis U.S. Inc., Bridgewater, NJ, USA	REGN1103-TX-[redacted]054	[4.2.3.2-1]
Monkey (cynomolgus)	IV	4 weeks	0, 5, 25, 100 REGN646	No	[redacted], USA	REGN646-TX-[redacted]046	[4.2.3.2-2]
Monkey (cynomolgus)	IV	5 weeks	0, 1, 5, 25, 100 REGN646	Yes	[redacted], USA	REGN646-TX-[redacted]053	[4.2.3.2-3]
Monkey (cynomolgus)	SC	13 weeks	0, 1, 5, 25, 100 REGN646	Yes	[redacted], USA	REGN646-TX-[redacted]056	[4.2.3.2-4]
Monkey (cynomolgus)	IV, SC	26 weeks	IV: 0, 25 SC: 0, 25, 100 REGN646	Yes	sanofi-aventis recherché & développement, Montpellier, France	REGN646-TX-[redacted]004	[4.2.3.2-5]

Abbreviations: SC: subcutaneous injection; IV: intravenous infusion; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; NOEL: no-observed-effect level

[a] REGN1103: murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-4Rα; REGN646: monkey surrogate monoclonal antibody against monkey IL-4Rα.

[b] Unless otherwise specified, the highest NOAEL or NOEL is underlined.

表 2.6.7.1A - tabulated summary – overview - study program (continued)

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [b] (mg/kg/week)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Genotoxicity – Not applicable							
Carcinogenicity – Not applicable							
Fertility and Early Embryonic Development							
Mouse (Crl:CD1 (ICR))	SC	M: 4 weeks before cohab, during cohab, and through day before euthanasia F: 2 weeks before cohab, during cohab, and through GD7	0, 25, 75, <u>200</u> REGN1103	Yes	[redacted], USA	REGN1103-TX-[redacted]097	[4.2.3.5.1-1]
Embryo-Fetal Development – Not applicable							
Prenatal and Postnatal Development – Not applicable							
Monkey (cynomolgus)	SC	GD20 through parturition	0, 25, <u>100</u> REGN646	Yes	[redacted], USA	REGN646-TX-[redacted]099	[4.2.3.5.3-1]
Juvenile Studies – Not applicable							
Local Tolerance – Not applicable							
Other Toxicity Studies – Not applicable							
Monkey (cynomolgus) and human tissues (tissue cross-reactivity study)	In vitro	NA	5.0 and 50.0 µg/mL REGN646, dupilumab	Yes	[redacted], USA	[redacted]00057	[4.2.3.7.7-1]

Abbreviations: SC: subcutaneous injection; M: male; F: female; cohab: cohabitation; GD: gestation day; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; NOEL: no-observed-effect level

[b] Unless otherwise specified, the highest NOAEL or NOEL is underlined.

2　トキシコキネティクス試験の一覧表

表 2.6.7.2A - Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies

Test Article: REGN1103 or REGN646 [a]

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/dose)	GLP Compliance	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity – Not applicable						
Repeat-Dose Toxicity						
5-week study	Mouse	SC	0, 10, 20, 100, 200 REGN1103	No	REGN1103-TX-[redacted]054	[4.2.3.2-1]
5-week study	Monkey	IV	0, 1, 5, 25, 100 REGN646	Yes	REGN646-TX-[redacted]053	[4.2.3.2-3]
13-week study	Monkey	SC	0, 1, 5, 25, 100 REGN646	Yes	REGN646-TX-[redacted]056	[4.2.3.2-4]
26-week study	Monkey	IV, SC	IV: 0, 25 SC: 0, 25, 100 REGN646	Yes	REGN646-TX-[redacted]004	[4.2.3.2-5]
Genotoxicity – Not applicable						
Carcinogenicity – Not applicable						

Abbreviations: SC: subcutaneous injection; IV: intravenous infusion

[a] REGN1103: murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-4Rα; REGN646: monkey surrogate monoclonal antibody against monkey IL-4Rα.

表 2.6.7.2A - Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies (continued)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/dose)	GLP Compliance	Study Number	Location
Reproductive and Developmental Toxicity						
Fertility	Mouse	SC	0, 25, 75, 200 REGN1103	Yes	REGN1103-TX-[redacted]097	[4.2.3.5.1-1]
Prenatal and postnatal development	Monkey	SC	0, 25, 100 REGN646	Yes	REGN646-TX-[redacted]099	[4.2.3.5.3-1]
Juvenile Studies – Not applicable						
Local Tolerance – Not applicable						
Other Toxicity Studies – Not applicable						

Abbreviations: SC: subcutaneous injection

3　トキシコキネティクス試験成績の一覧

表 2.6.7.3A - Toxicokinetics – Overview of toxicokinetics Data

Test article: REGN1103

Species/Strain [Study No.]	Mouse (Crl:CD1 (ICR)) - AUC (µg•h/mL) [4.2.3.2-1]: REGN1103-TX-[redacted]054											
Dose (SC) (mg/kg/week)	AUC (µg•h/mL) - Weekly administration				AUC (µg•h/mL) Biweekly administration							
	Dose 3 [b]		Dose 5 [b]		Dose 5 [c]		Dose 6 [b]		Dose 9 [c]		Dose 10 [b]	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
10	15900	9570	20500	13600	-	-	-	-	-	-	-	-
20 [a]	-	-	-	-	16400	143000	37100	29400	18500	19600	42900	28600
100	238000	225000	315000	378000	-	-	-	-	-	-	-	-
200 [a]	-	-	-	-	187000	187000	405000	387000	223000	201000	485000	424000
Mean Trough Values (µg/mL)[d]												
10	74.3	22.3	80.5	83.9	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	173	112	242	248	202	183	261	286
100	1510	996	1810	1680	-	-	-	-	-	-	-	-
200	-	-	-	-	2440	1690	2590	2373	2300	2790	2900	2610

Abbreviations: M: male; F: female; AUC: area under the concentration-time curve; SC: subcutaneous injection; -: no value

Note: Terminal serum samples were collected from 3 mice per time point pre-dose and 24, 48, 72, 96 and 168 h after dosing. For the 20 and 200 mg/kg/week groups, the 72 h sample was collected prior to the 2nd weekly dose and the 96 h and 168 h samples were collected 48 h and 96 h, respectively, after the 2nd weekly dose.

[a] Mice received a 10 or 100 mg/kg injection twice a week for a weekly dose of 20 or 200 mg/kg/week, respectively

[b] $AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL), [c] $AUC_{0\text{-}72h}$ (µg.h/mL), [d] C_{trough} measured immediately prior to the subsequent dose or at necropsy

Values in table taken from supplemental pharmacokinetic report [4.2.2.7-1]: REGN668-MX-[redacted]079

表 2.6.7.3A - Toxicokinetics – Overview of toxicokinetics Data (continued)

Species/Strain [Study No.]	Mouse (Crl:CD1 (ICR)) - AUC (µg•h/mL) [4.2.3.5.1-1]: REGN1103-TX-[redacted]097					
Dose (SC) (mg/kg/week)	Dose 3[a]		Dose 5[a]		Dose 7[a]	
	M	F	M	F	M	F
25	-	36300	70600	50300	74400	-
75	-	150000	245000	206000	248000	-
200	-	412000	496000	462000	521000	-
Mean Trough Values (µg/mL)[b]						
25	-	141	338	197	399	-
75	-	564	1350	722	1360	-
200	-	1580	2260	2180	2060	-

Abbreviations: M: male; F: female; AUC: area under the concentration-time curve; SC: subcutaneous injection; -: no value

Note: Blood samples for toxicokinetic analysis were collected from 3 mice/sex/time point prior to the 5th and 7th doses for males, prior to the 3rd and 5th doses for females; samples were collected prior to dose administration and 24, 48, 72, 96 and 168 hours postdose.

[a] $AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL); N=24 sex/group

[b] C_{trough} measured immediately prior to subsequent dose or at necropsy

Values in table taken from supplemental pharmacokinetic report [4.2.2.7-1]: REGN668-MX-[redacted]079

表 2.6.7.3B - Toxicokinetics – Overview of toxicokinetics Data

Test article: REGN646

Species/Strain [Study No.]	Monkey/Cynomolgus [AUC (µg•h/mL)] [4.2.3.2-3]: REGN646-TX-[redacted]053									
Dose (IV) (mg/kg/dose)	Dose 1 [a]		Dose 2 [a]		Dose 3 [a]		Dose 4 [a]		Dose 5 [a]	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
1	1380	1490	1390	1300	579	527	413	387	347	220
5	9560	8820	12900	12500	10600	9630	9740	9500	9990	10200
25	55200	50900	81000	73000	85300	87900	82900	86300	85300	84800
100	233000	232000	354000	312000	445000	417000	505000	479000	546000	482000
Mean Trough Values (µg/mL)[b]										
1	1.67	1.4	0.933	0.28	BLQ	0.39	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
5	35.9	31.2	41.3	39.7	28.7	35.0	36.1	40.0	41.6	45.8
25	231	218	339	314	310	352	337	331	358	374
100	918	982	1660	1370	2160	1960	2380	2280	2640	2310

Abbreviations: M: male; F: female; IV: intravenous infusion; AUC_{all}: area under the concentration-time curve from time 0h to 168h

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

[b] C_{trough} measured immediately prior to the subsequent dose or at necropsy for Dose 5

Values in table taken from supplemental pharmacokinetic report [4.2.2.7-1]: REGN668-MX-[redacted]079

表 2.6.7.3B - Toxicokinetics – Overview of toxicokinetics Data (continued)

Species/Strain [Study No.]	Monkey/Cynomolgus - AUC (µg•h/mL) [4.2.3.2-4]: REGN646-TX-[redacted]056									
Dose (SC) (mg/kg/dose)	Dose 1 [a]		Dose 3 [a]		Dose 5 [a]		Dose 7 [a]		Dose 9 [a]	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
1	1120	810	562	343	497	116	348	85	205	38
5	6270	6490	8020	7880	7040	4520	7540	4390	7950	5060
25	39500	34800	96300	65200	116000	52200	138000	68800	159000	86900
100	174000	142000	310000	318000	357000	468000	471000	551000	521000	581000
Mean Trough Values (µg/mL)[b]										
1	3.82	1.72	1.81	0.397	2.16	BLQ	0.420	BLQ	0.630	BLQ
5	31.6	31.5	27.0	17.1	27.9	18.2	32.7	23.4	37.2	23.7
25	227	201	523	251	638	251	775	359	802	439
100	968	771	1340	1650	1860	2630	2580	3030	2720	2920

Abbreviations: M: male; F: female; SC: subcutaneous injection; AUC_{all}: area under the concentration-time curve from time 0h to 168h

[a] AUC_{all} (AUC_{0-168h}) µg.h/mL; N = 6/sex/group

[b] C_{trough} measured immediately prior to the subsequent dose or at necropsy for Dose 13

Values in table taken from supplemental pharmacokinetic report [4.2.2.7-1]: REGN668-MX-[redacted]079

表 2.6.7.3B - Toxicokinetics – Overview of toxicokinetics Data (continued)

Species/Strain [Study No.]	Monkey/Cynomolgus - AUC (µg•h/mL) [4.2.3.2-4]: REGN646-TX-[redacted]056 cont.			
Dose (SC) (mg/kg/dose)	Dose 11 [a]		Dose 13 [a]	
	M	F	M	F
1	218	2	192	0
5	20100	5310	15000	5080
25	160000	104000	181000	11500
100	635000	578000	708000	661000
Mean Trough Values (µg/mL)[b]				
1	0.625	BLQ	0.580	BLQ
5	142	28	69.2	30
25	871	550	850	615
100	3340	2930	3610	3700

Abbreviations: M: male; F: female; SC: subcutaneous injection; AUC_{all}: area under the concentration-time curve from time 0h to 168h

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

[b] C_{trough} measured immediately prior to the subsequent dose or at necropsy for Dose 13

Values in table taken from supplemental pharmacokinetic report [4.2.2.7-1]: REGN668-MX-[redacted]079

表 2.6.7.3B - Toxicokinetics – Overview of toxicokinetics Data (continued)

Species/Strain [Study No.]	Monkey/Cynomolgus [AUC (µg•h/mL)] [4.2.3.2-5]: REGN646-TX-[redacted]004							
Dose (mg/kg/dose)	Dose 1 [a]		Dose 5 [a]		Dose 13 [a]		Dose 26 [a]	
	M	F	M	F	M	F	M	F
25 (IV) [b]	60100	59400	119000	57700	184000	89900	177000	122000
25 (SC) [c]	41300	43500	116000	65000	159000	99800	164000	116000
100 (SC) [b]	166000	179000	679000	510000	785000	690000	789000	793000
Mean Trough Values (µg/mL)[d]								
25 (IV) [b]	256	252	610	180	864	372	940	553
25 (SC) [c]	233	231	593	323	828	520	884	604
100 (SC) [b]	918	952	3600	2670	4250	3560	4110	4200

Abbreviations: M: male; F: female; IV: intravenous infusion; SC: subcutaneous injection; $AUC_{0\text{-}168h}$: area under the concentration-time curve from time 0h to 168h

[a] $AUC_{0\text{-}168h}$ µg.h/mL

[b] N = 6/sex/group

[c] N = 4/sex/group

[d] C_{trough} measured immediately prior to the subsequent dose or at necropsy for Dose 13

Values in table taken from supplemental pharmacokinetic report [4.2.2.7-1]: REGN668-MX-[redacted]079

表 2.6.7.3B - Toxicokinetics – Overview of toxicokinetics Data (continued)

Species/Strain [Study No.]	Monkey/Cynomolgus [AUC (µg•h/mL)] [4.2.3.5.3-1]: REGN646-TX[redacted]099			
Dose (SC) (mg/kg/dose)	Dose 1 [a]		Dose 18 [a]	
	F		F	
25	32363		84799	
100	116582		443306	
Mean Trough Values (µg/mL)[b]				
	Dose 1	Dose 5	Dose 12	Dose 18
25	223	183	176	436
100	774	1909	2431	2211

Abbreviations: F: female; SC: subcutaneous injection; $AUC_{0\text{-}168h}$: area under the concentration-time curve from time 0h to 168h

[a] $AUC_{0\text{-}168h}$ µg.h/mL; N = 20/group

[b] C_{trough} measured immediately prior to the subsequent dose or 168 hours after dosing

4　毒性試験使用ロット

表 2.6.7.4A- Toxicology drug substance/drug product

Test Article: REGN1103 [a] or REGN646 [a] or REGN668

Batch No.	Total Protein Content (mg/mL)	% Purity			Study Number	Type of Study	Location
		By [redacted]	By [redacted]	By CE-SDS Non-reduced			
[redacted] [b]	29.1	NP	96.4	NP	REGN1103-TX-[redacted]054	5-week SC mouse	[4.2.3.2-1]
[redacted] [c]	30.8	NP	99.2	NP	REGN1103-TX-[redacted]097	SC fertility mouse	[4.2.3.5.1-1]
Lot No. [redacted] [d]	25.4	>90	99.0	>90 [e]	REGN646-TX-[redacted]046	1-month IV monkey	[4.2.3.2-2]
Lot No. [redacted] [f]	25.4	NP	98.9	NP	REGN646-TX-[redacted]053	5-week IV monkey	[4.2.3.2-3]
Lot No. [redacted] [g]	23.8	100	93.6	NP	REGN646-TX-[redacted]056	13-week SC monkey	[4.2.3.2-4]

Abbreviations: IV: intravenous infusion; SC: subcutaneous injection; [redacted] CE-SDS: capillary electrophoresis sodium dodecyl sulfate; NP: not performed

[a] REGN1103: murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-4Rα; REGN646: monkey surrogate monoclonal antibody against monkey IL-4Rα.

[b] Values are from Summary of Analysis of batch lot # [redacted] signed [redacted] 20[redacted].

[c] Values are from Summary of Analysis of batch lot # [redacted] signed [redacted] 20[redacted].

[d] Values are from Summary of Analysis of batch lot # [redacted] signed [redacted] 20[redacted].

[e] by [redacted].

[f] Values are from Summary of Analysis of drug product [redacted] signed [redacted] 20[redacted]; vials containing drug product [redacted] were labelled with a batch lot number of [redacted] for this toxicology study.

[g] Values are from Summary of Analysis of drug product [redacted] signed [redacted] 20[redacted]; vials containing drug product [redacted] were labelled with a batch lot number of [redacted] for this toxicology study.

表 2.6.7.4A- Toxicology drug substance/drug product (continued)

Batch No.	Total Protein Content (mg/mL)	% Purity			Study Number	Type of Study	Location
		By [redacted]	By [redacted]	By CE-SDS Non-reduced			
Lot No. [redacted] [h]	25.9	100.0	98.4	NP	REGN646-TX-[redacted]004	26-week IV and SC monkey	[4.2.3.2-5]
Lot No. [redacted] [i]	26.2	97.0	97.9	NP			
Lot No. [redacted] [j]	26.0	100.0	94.3	NP	REGN646-TX-[redacted]099	enhanced pre and postnatal monkey	[4.2.3.5.3-1]
Lot No. [redacted] [j]	26.0	100.0	97.2	NP			
Lot No. [redacted] [k]	26.1	99.2	97.3	NP			
Lot No. [redacted] [k]	26.2	98.4	97.8	NP			
Lot No. [redacted] [l]	4.4	100	92.7	NP	[redacted]00057	ex vivo cross reactivity monkey and human tissues	[4.2.3.7.7-1]
Lot No. [redacted] [m]	4.8	100	95.0	NP			

Abbreviations: IV: intravenous infusion; SC: subcutaneous injection; [redacted] CE-SDS: capillary electrophoresis sodium dodecyl sulfate; NP: not performed

[h] Values are from Summary of Analysis of drug product [redacted] signed [redacted] 20[redacted]; vials containing drug product [redacted] were labelled with a batch lot number of [redacted] for this toxicology study.

[i] Values are from Summary of Analysis of drug product [redacted] signed [redacted] 20[redacted]; vials containing drug product [redacted] were labelled with a batch lot number of [redacted] for this toxicology study.

[j] Values are from Summary of Analysis of drug product [redacted] signed [redacted] 20[redacted]; vials containing drug product [redacted] were labelled with a batch lot numbers of [redacted] or [redacted] for this toxicology study.

[k] Values are from Summary of Analysis of drug product [redacted] signed [redacted] 20[redacted]; vials containing drug product [redacted] were labelled with a batch lot numbers of [redacted] for this toxicology study.

[l] Values are from Summary of Analysis of batch lot number [redacted] signed [redacted] 20[redacted]; test article is REGN646.

[m] Values are from Summary of Analysis of batch lot number [redacted] signed [redacted] 20[redacted]; test article is REGN668.

5　単回投与毒性試験

該当なし

6　反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験

表 2.6.7.6A - Repeat-Dose Toxicity - Nonpivotal Studies- 5-Week SC Mouse Study

Test article: REGN1103 [a]

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses [b] (mg/kg/week)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/dose)	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Mouse / Crl:CD1 (ICR)	SC ([redacted]% (w/v) sucrose, [redacted]% [redacted], pH [redacted])	5 weeks	0, 10, 20, 100, 200	**Main study:** 10M/10F **TK study**: 9M/9F at 0 36M/36F at 10, 20, 100, 200	200	There was no mortality or test article-related clinical signs. No REGN1103-related hematology, clinical chemistry, organ weights, macroscopic observations, and microscopic findings were observed. Decreased mean body weight gain that was not considered toxicologically significant or adverse was noted for ≥20 mg/kg/week males and 10 mg/kg/week females. There was substantial exposure to REGN1103 at all dose levels during the dosing period. Maximal serum concentrations (C_{max}) of REGN1103 increased in a dose-dependent manner and increased with repeat dose administration. Exposure (AUC_{0-168h}) increased in a greater than dose-proportional manner, and increased with repeat-dose administration. The AUC_{0-168h} at the NOAEL were 484656 and 423540 h*µg/mL for male and female mice, respectively.	REGN1103-TX-[redacted]054	[4.2.3.2-1]

Abbreviations: NOAEL: no-observed-adverse-effect level; SC: subcutaneous injection; M: male; F: female; TK: toxicokinetics; AUC: area under the time-concentration curve

[a] REGN1103, a murine surrogate monoclonal antibody against mouse IL-4Rα

[b] Doses of 10 or 100 mg/kg/dose were administered either once weekly (total dose of 10 or 100 mg/kg/week) or twice weekly (total dose of 20 or 200 mg/kg/week).

表 2.6.7.6B - Repeat-Dose Toxicity - Nonpivotal Studies – 1-Month IV Monkey Study

Test article: REGN646 [a]

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/ dose)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/dose)	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Monkey/ cynomolgus	IV (~30 min infusion) (0.9% Sodium chloride for injection, USP / solution)	4 weeks	0, 5, 25, 100 (administered weekly)	1M at 0,100 1M/1F at 5, 25	100	All animals survived to scheduled necropsy. No test article-related clinical observations or effects on body weights, hematology, serum chemistry, urinalysis, electrocardiography, blood pressure and body temperature were observed. No REGN646-related changes in organ weights, macroscopic observations or microscopic findings were observed. No REGN646-related change in total lymphocyte, B cell, T cell, T-cytotoxic, T-regulatory and natural killer cell numbers was observed. A dose-dependent increase in T-helper cell number was observed for males. There were anti-drug antibodies evident at the NOAEL dosage of 100 mg/kg/dose.	REGN646-TX-[redacted] 046	[4.2.3.2-2]

Abbreviations: NOAEL: no-observed-adverse-effect level; M: male; F: female; IV: intravenous infusion
[a] REGN646, a monkey surrogate monoclonal antibody against monkey IL-4Rα

7　反復投与毒性試験

表 2.6.7.7A - Repeat-Dose Toxicity – 5-Week IV Monkey Study with a 8-week Recovery

Report Title: A 5-week (once-weekly) 30-minute intravenous infusion toxicity and toxicokinetic study of REGN646 with an 8-week recovery period in cynomolgus monkeys											
Species/Strain: Monkey / cynomolgus			**Duration of Dosing:** 5 weeks (once weekly)				**Test Article:** REGN646				
Initial Age: 2 to 4 years			**Duration of Recovery Period:** 8 weeks				**Study No.** REGN646-TX-[redacted]053				
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (males) [redacted] 20[redacted] (females)			**Method of Administration:** IV infusion (~30 minutes)				**Location:** [4.2.3.2-3]				
Vehicle/Formulation: reconstituted with 0.9% sodium chloride for injection, USP / ([redacted] mM acetate, [redacted] mM L-histidine, [redacted]% [redacted] (w/v), and [redacted]% sucrose (w/v), pH [redacted])							**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 8-week non-dosing (recovery) period.											
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/week, IV											
Dose (mg/kg/week)		**0 (Vehicle)**		**1.0**		**5.0**		**25**		**100**	
Number of Animals (Main study)		**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Toxicokinetics:											
AUC_{all} (µg.h/mL) [a]	Dose 1	BLQ	BLQ	1376	1486	9562	8817	55219	50937	232841	232298
	Dose 2	BLQ	BLQ	1390	1295	12921	12468	81033	72996	354078	311838
	Dose 3	BLQ	BLQ	579	527	10609	9625	85323	87903	445311	416510
	Dose 4	BLQ	BLQ	413	387	9742	9497	82892	86275	505068	479424
	Dose 5	BLQ	BLQ	347	220	9987	10202	85318	84843	545832	481904
C_{max} (µg/mL) [b]	Dose 1	BLQ	BLQ	23.0	24.7	111	109	609	583	2698	2776
	Dose 2	BLQ	BLQ	24.9	23.2	148	148	832	754	3776	3070
	Dose 3	BLQ	BLQ	16.8	17.9	143	145	917	855	4078	3714
	Dose 4	BLQ	BLQ	13.4	14.2	137	121	962	920	4518	4322
	Dose 5	BLQ	BLQ	10.0	12.8	130	127	975	868	4704	4404

Abbreviations: M: male; F: female; IV: intravenous infusion; AUC_{all}: area under the curve calculated using the trapezoidal method; C_{max}: maximum concentration; BLQ: below the limit of quantitation

[a] Area under the concentration-time curve (AUC_{all}) from 0h to 168h

[b] C_{max} equals REGN646 levels at 5 min after dosing.

表 2.6.7.7A - Repeat-Dose Toxicity – 5-Week IV Monkey Study with a 8-week Recovery (continued)

Report Title: A 5-week (once-weekly) 30-minute intravenous infusion toxicity and toxicokinetic study of REGN646 with an 8-week recovery period in cynomolgus monkeys (continued)										
Daily Dose (mg/kg/dose)	**0 (Vehicle)**		**1.0**		**5.0**		**25**		**100**	
Number of Animals (Main study)	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Anti-REGN646 antibody (+/total)										
Day 0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Day 7	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Day 14	0/5	0/5	5/5	5/5	3/5	4/5	1/5	0/5	0/5	0/5
Day 35 (necropsy)	0/5	0/5	5/5	5/5	2/5	2/5	2/5	1/5	0/5	0/5
Day 91/92 (recovery necropsy)	0/2	0/2	2/2	2/2	1/2	1/2	1/2	1/2	0/2	0/2
Additional information: N = 5/sex/group/timepoint for toxicokinetic analyses of REGN646; lower limit of quantitation was 0.39 µg/mL; There were no test article-related findings noted for the following parameters: mortality, clinical observations, body weight or body weight gain, body temperature, ophthalmic observations, heart rate, blood pressure (diastolic, systolic, mean arterial), electrocardiogram parameters (wave form and rhythm), hematology, serum chemistry, coagulation or urinalysis parameters, organ weights, macroscopic observations, and microscopic findings.										
Conclusion: The no-observed-adverse-effect level (NOAEL) for this study was 100 mg/kg/week (IV).										

Abbreviations: M: male; F: female; IV: intravenous infusion; +: number of samples positive

表 2.6.7.7B - Repeat-Dose Toxicity – 13-Week SC Monkey Study with a 13-Week Recovery

Report Title: A 13-week subcutaneous toxicity study with REGN646 in cynomolgus monkeys followed by a 13-week recovery phase											
Species/Strain: Monkey / cynomolgus		**Duration of Dosing:** 13 weeks (once weekly) [a]				**Test Article:** REGN646					
Initial Age: 2.5 to 3.9 years		**Duration of Recovery Period:** 13 weeks				**Study No.** REGN646-TX-[redacted]056					
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		**Method of Administration:** SC Injection				**Location:** [4.2.3.2-4]					
Vehicle/Formulation: reconstituted with 0.9% sodium chloride for injection, USP / ([redacted] mM acetate, [redacted] mM L-histidine, [redacted]% [redacted] (w/v), and [redacted]% sucrose (w/v), pH [redacted])						**GLP Compliance:** Yes					
Special Features: 4 animals/sex/group were euthanized one week following 13 weeks of once weekly dose administration; the remaining 2 animals/sex/group were euthanized following an approximate 13-week non-dosing (recovery) period.											
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/week, SC											
Dose (mg/kg/week)		**0 (Vehicle)**		**1.0**		**5.0**		**25**		**100**	
Number of Animals (Main study)		**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**
Toxicokinetics:											
AUC_{all} (µg.h/mL) [b]	Dose 1	BLQ	BLQ	1118	810	6274	6492	39454	34816	173800	142156
	Dose 3	BLQ	BLQ	562	343	8018	7877	96262	65158	310128	317694
	Dose 5	BLQ	BLQ	497	116	7043	4520	116020	52227	356540	468206
	Dose 7	BLQ	BLQ	348	85	7543	4385	138246	68786	470530	550720
	Dose 9	BLQ	BLQ	205	38	7948	5060	159390	86867	520980	580980
	Dose 11	BLQ	BLQ	218	2	20065	5314	160352	104089	634520	577712
	Dose 13	BLQ	BLQ	192	0	15039	5076	181362	114559	707900	660700
C_{max} (µg/mL) [c]	Dose 1	BLQ	BLQ	9.15	7.16	47.6	48.5	290	241	1264	1169
	Dose 3	BLQ	BLQ	4.81	4.22	67.4	74.7	622	489	2172	2189
	Dose 5	BLQ	BLQ	3.67	1.25	58.4	32.8	739	360	2488	3238
	Dose 7	BLQ	BLQ	3.13	0.935	49.5	29.1	884	460	3098	3603
	Dose 9	BLQ	BLQ	1.70	0.447	71.9	35.2	1111	575	3305	3863
	Dose 11	BLQ	BLQ	1.92	0.0915	164	34.9	1036	674	4023	3543
	Dose 13	BLQ	BLQ	1.47	BLQ	175	41.6	1327	761	4793	4170
Additional information: N = 6/sex/group/timepoint for toxicokinetic analyses of REGN646; lower limit of quantitation was 0.39 µg/mL											

Abbreviations: M: male; F: female; SC: subcutaneous injection; AUC_{all}: area under the curve calculated using the trapezoidal method; C_{max}: mean maximum concentration; BLQ: below the limit of quantitation

[a] Although the study title indicates a 13-week study, the dosing regimen was a total of 14 doses administered once weekly

[b] Area under the concentration-time curve (AUC_{all}) from 0h to 168h

[c] C_{max} equals REGN646 levels at 24-48 h after dosing at 1 mg/kg, 24-168 h at 5 mg/kg, and 24-72 h at 25 and 100 mg/kg.

表 2.6.7.7B – Repeat-Dose Toxicity – 13-Week SC Monkey Study with a 13-Week Recovery (continued)

Report Title: A 13-week subcutaneous toxicity study with REGN646 in cynomolgus monkeys followed by a 13-week recovery phase (continued) [a]										
Daily Dose (mg/kg/dose)	**0 (Vehicle)**		**1.0**		**5.0**		**25**		**100**	
Number of Animals (Main study)	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**
Anti-REGN646 antibody (+/total)										
Day 1	0/6	0/6	0/6	0/6	1/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Day 29	0/6	1/6	6/6	6/6	4/6	6/6	0/6	3/6	1/6	0/6
Day 57	3/6	3/6	6/6	6/6	2/6	5/6	0/6	2/6	0/6	0/6
Day 92 (necropsy)	3/6	4/6	6/6	6/6	3/6	5/6	0/6	1/6	0/6	0/6
Recovery necropsy	1/2	1/2	2/2	2/2	2/2	1/2	0/2	2/2	0/2	0/2
Clinical Chemistry										
Serum IgE (ng/mL) [b]										
Predose (Day -10)	5.37	6.54	9.13	4.28	5.27	8.87	6.56	7.02	12.86	3.54
Day 4	14.50	11.19	18.10	7.63	12.28	17.53	12.64	12.82	21.42	9.86
Day 46	46.68	50.94	61.46	41.02	38.37	62.68	26.91	49.64	33.35	23.92*
Day 94	1.71	1.35	3.81	2.10	2.77	5.74	0.34	0.63	2.28	0.00*
Recovery Day 39 [c]	0.29	0.30	0.99	0.86	0.52	0.59	0.29	0.00	0.11	0.00
Recovery Day 92 [c]	5.75	0.49	1.08	2.39	2.07	2.26	0.51	1.36	1.29	0.00
Additional information: There were no test article-related findings noted for the following parameters: mortality, clinical observations, body weight or body weight gain, food consumption, body temperature, ophthalmic observations, blood pressure (diastolic, systolic, mean arterial), electrocardiogram parameters, hematology, serum chemistry, coagulation or urinalysis parameters, immunophenotyping, total serum IgG, organ weights, macroscopic observations, and microscopic findings.										
Conclusion: The no-observed-adverse-effect level (NOAEL) for this study was 100 mg/kg/week (SC).										

Abbreviations: M: male; F: female; SC: subcutaneous injection; +: number of samples positive

[a] Although the study title indicates a 13-week study, the dosing regimen was a total of 14 doses administered once weekly

[b] Statistically significantly different from the control group: *p ≤ 0.05; ANOVA [and Dunnett's test if applicable]); N=6 animals/sex/group.

[c] No statistical analysis; N=2 animals/sex/group

表 2.6.7.7C - Repeat-Dose Toxicity – 6-Month SC and IV Monkey Study with a 3-Month Recovery

Report Title: 6-Month intravenous infusion and subcutaneous toxicity study of REGN646 in cynomolgus monkeys with a 3-month recovery period								
Species/Strain: Monkey / cynomolgus		**Duration of Dosing:** 26 weeks (once weekly) [a]			**Test Article:** REGN646			
Initial Age: 2.7 to 3.2 years		**Duration of Recovery Period:** 3 months			**Study No.** REGN646-TX-[redacted]004			
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (males) [redacted] 20[redacted] (females)		**Method of Administration:** IV infusion (~30 minutes) or SC injection			**Location:** [4.2.3.2-5]			
Vehicle/Formulation: reconstituted with 0.9% sodium chloride for injection, USP / ([redacted] mM acetate, [redacted] mM L-histidine, [redacted]% [redacted] (w/v), and [redacted]% sucrose (w/v))					**GLP Compliance:** Yes			
Special Features: 4 animals/sex/group were euthanized one week following 26 weeks of once weekly dose administration; the remaining 2 animals/sex in the 0, 100 (SC), and 25 (IV) groups were euthanized following an approximate 3-month non-dosing (recovery) period.								
No Observed Adverse Effect Level: 25 mg/kg/week, IV; 100 mg/kg/week, SC								
Dose (mg/kg/week)		**0 (SC, IV) [b]**		**25 (SC)**		**100 (SC)**		**25 (IV)**	
Number of Animals (Main study)		**M:6**	**F:6**	**M:4**	**F:4**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**
Toxicokinetics									
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL) [c]	Dose 1	BLQ	BLQ	41250	43525	165667	178667	60117	59367
	Dose 5	BLQ	BLQ	116125	65010	678667	510167	119000	57717
	Dose 13	BLQ	BLQ	158625	99760	784833	690000	184312	89937
	Dose 26	BLQ	BLQ	163750	115511	788500	792833	176597	121895
C_{max} (µg/mL) [d]	Dose 1	BLQ	BLQ	298	312	1201	1377	715	716
	Dose 5	BLQ	BLQ	816	482	4692	3527	1219	935
	Dose 13	BLQ	BLQ	1068	676	5343	4638	1534	1193
	Dose 26	BLQ	BLQ	1113	768	5280	5355	1633	1326
Additional information: N=4 or 6/sex/group/timepoint for toxicokinetic analyses of REGN646; lower limit of quantitation was 0.039 µg/mL									

Abbreviations: M: male; F: female; SC: subcutaneous injection; IV: intravenous infusion; $AUC_{0\text{-}168h}$: area under the curve calculated using the trapezoidal method; C_{max}: maximum concentration; BLQ: below the limit of quantitation

[a] Although the study title indicates a 6-month study, the dosing regimen was a total of 27 doses administered once weekly

[b] Control articles: Vehicle for the SC route; 0.9% NaCl for the IV route.

[c] Area under the concentration-time curve from 0h to 168h

[d] C_{max} equals REGN646 levels at 30-48 h after dosing at 25 mg/kg SC, 36-52 h at 100 mg/kg SC, and 0.583 h at 25 mg/kg IV.

表 2.6.7.7C - Repeat-Dose Toxicity– 6-Month IV and SC Monkey Study with a 3-Month Recovery (continued)

Report Title: 6-Month intravenous infusion and subcutaneous toxicity study of REGN646 in cynomolgus monkeys with a 3-month recovery period (continued) [a]								
Daily Dose (mg/kg/dose)	**0 (SC,IV)** [b]		**25 (SC)**		**100 (SC)**		**25 (IV)**	
Number of Animals (Main study)	**M:6**	**F:6**	**M:4**	**F:4**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**
Anti-REGN646 antibody (+/total)								
Day 1	0/6	0/6	0/4	0/4	0/6	0/6	0/6	0/6
Day 29	1/6	0/6	1/4	2/4	0/6	0/6	1/6	4/6
Day 85	2/6	0/6	0/4	2/4	0/6	0/6	1/6	3/6
Day 176	4/6	2/6	0/4	1/4	0/6	0/6	1/6	3/6
Day 239 (Recovery)	2/2	0/2	NR	NR	0/2	0/2	0/2	1/2
Day 274 (Recovery)	2/2	0/2	NR	NR	0/2	0/2	0/2	1/2
Histopathology (LM)								
No. examined (end of dosing period)	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**
- Injection site A (right abdominal skin)								
Hypodermis multifocal perivascular lymphocytic infiltrates								
Grade 1 [c]	0	0	1	1	0	1	0	0
Grade 2 [c]	0	0	0	0	4	0	0	0
- with plasma cells	0	0	0	1	4	1	0	0
- with lymphoblasts/lymphoid follicles	0	0	0	0	1	0	0	0
- Injection site B (left abdominal skin)								
Hypodermis multifocal perivascular lymphocytic infiltrates								
Grade 1 [c]	1	0	1	1	0	0	0	0
Grade 2 [c]	0	0	0	1	3	0	0	0
Grade 3 [c]	0	0	0	0	1	1	0	0
- with plasma cells	0	0	0	2	3	1	0	0
- with lymphoblasts/lymphoid follicles	0	0	0	2	1	1	0	0

Abbreviations: M: male; F: female; SC: subcutaneous injection; IV: intravenous infusion; +: number of samples positive; LM: light microscopy; NR: No Recovery

[a] Although the study title indicates a 6-month study, the dosing regimen was a total of 27 doses administered once weekly

[b] Control articles: Vehicle for the SC route; 0.9% NaCl for the IV route.

[c] Severity scale: Grade 1: minimal; Grade 2: slight; Grade 3: moderate

表 2.6.7.7C - Repeat-Dose Toxicity– 6-Month IV and SC Monkey Study with a 3-Month Recovery (continued)

Report Title: 6-Month intravenous infusion and subcutaneous toxicity study of REGN646 in cynomolgus monkeys with a 3-month recovery period (continued) [a]								
Daily Dose (mg/kg/dose)	**0 (SC,IV)** [b]		**25 (SC)**		**100 (SC)**		**25 (IV)**	
Number of Animals (Main study)	**M:6**	**F:6**	**M:4**	**F:4**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**
Histopathology (LM)								
No. examined (end of recovery period)	**2**	**2**	**0**	**0**	**2**	**2**	**2**	**2**
- Injection site A (right abdominal skin)								
Hypodermis multifocal perivascular lymphocytic infiltrates								
Grade 1 [c]	0	0	NA	NA	2	1	0	0
- with plasma cells	0	0	NA	NA	1	1	0	0
- with lymphoblasts/lymphoid follicles	0	0	NA	NA	1	0	0	0
- Injection site B (left abdominal skin)								
Hypodermis multifocal perivascular lymphocytic infiltrates								
Grade 1 [c]	0	0	NA	NA	1	0	0	0
Additional information: There were no test article-related findings noted for the following parameters: mortality, clinical observations, body weight or body weight gain, food consumption, local tolerance at injection sites, ophthalmic observations, electrocardiogram parameters, hematology, serum chemistry, coagulation or urinalysis parameters, immunophenotyping, total serum IgM, IgG and IgE, serum IL-4, T-cell dependent antibody response, organ weights, and macroscopic observations.								
Conclusion: The no-observed-adverse-effect levels (NOAELs) for this study were 100 mg/kg/week (SC) and 25 mg/kg/week (IV).								

Abbreviations: M: male; F: female; SC: subcutaneous injection; IV: intravenous infusion; LM: light microscopy; NA: not applicable

[a] Although the study title indicates a 6-month study, the dosing regimen was a total of 27 doses administered once weekly

[b] Control articles: Vehicle for the SC route; 0.9% NaCl for the IV route.

[c] Severity scale: Grade 1: minimal

8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

該当なし

9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

該当なし

10　がん原性試験

該当なし

11　生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験

該当なし

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 - Reproductive and Developmental Toxicity - Fertility and Early Embryonic, Development to Implantation

Report Title: SAR231893 (REGN668): Subcutaneous fertility study in mice with REGN1103								
Species/Strain: Mouse / Crl:CD1 (ICR)			**Duration of Dosing:** M: 9 weeks; F: 6 weeks		**Test Article:** REGN1103			
Initial Age: M: 9 weeks; F: 9 weeks			**Day of Mating:** GD0		**Study No.** REGN1103-TX-[redacted]097			
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (males) 20[redacted] (females)			**Day of C-Section:** [redacted] - [redacted] 20[redacted]		**Location:** [4.2.3.5.1-1]			
Vehicle/Formulation: reconstituted with 0.9% sodium chloride for injection, USP / ([redacted] mM acetate, [redacted] mM L-histidine, [redacted] mM L-arginine HCL, [redacted]% [redacted] (w/v), and [redacted]% sucrose (w/v), pH [redacted])			**Method of Administration:** SC injection		**GLP Compliance:** Yes			
Special Features: 24 animals/sex/group. Males were dosed once weekly beginning 28 days before cohabitation, during cohabitation (up to 20 days) and continuing through the day before euthanasia. Females were dosed once weekly beginning 14 days before cohabitation, during cohabitation (up to 20 days) and continuing until gestation day (GD) 7.								
No Observed Effect Level: 200 mg/kg/week, SC								
Dose - mg/kg/week (once weekly)		**0 (Vehicle)**		**25**		**75**		**200**	
Number of Animals (Main study)		**M:24**	**F:24**	**M:24**	**F:24**	**M:24**	**F:24**	**M:24**	**F:24**
Toxicokinetics									
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL) [a]	Dose 3	NA	BLQ	NA	36300	NA	150000	NA	412000
	Dose 5	BLQ	BLQ	70600	50300	245000	206000	496000	462000
	Dose 7	BLQ	NA	74400	NA	248000	NA	521000	NA
C_{max} (µg/mL) [b]	Dose 3	NA	BLQ	NA	312	NA	1095	NA	2950
	Dose 5	BLQ	BLQ	478	357	1823	1503	3480	3353
	Dose 7	BLQ	NA	532	NA	1677	NA	3603	NA
Additional information: N = 6/sex in the control group and 36/sex in each REGN1103-treated group for toxicokinetic analyses of REGN1103 (N = 3/sex per time point); lower limit of quantitation was 0.039 µg/mL									

Abbreviations: M: male; F: female; SC: subcutaneous injection; GD: gestation day; NA: not applicable; $AUC_{0\text{-}168h}$: area under the curve calculated using the trapezoidal method; C_{max}: maximum concentration; BLQ: below the limit of quantitation

[a] Area under the concentration-time curve from 0h to 168h

[b] C_{max} equals REGN1103 levels at 48 h (M) and 48-72 h (F) after dosing at 25 mg/kg SC, 48 h (M) and 24 h (F) at 75 mg/kg SC, and 24 h (M) and 48-72 h (F) at 200 mg/kg SC.

表 2.6.7.12 - Reproductive and Developmental Toxicity - Fertility and Early Embryonic, Development to Implantation (continued)

Report Title: SAR231893 (REGN668): Subcutaneous fertility study in mice with REGN1103 (continued)				
Dose - mg/kg/week (once weekly)	**0 (Vehicle)**	**25**	**75**	**200**
MALES:				
Number of males on Study	24	24	24	24
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight change (g) - precohabitation				
Days 1-4	+0.9	+0.8	+0.5	+0.6
Days 4-8	+0.9	+0.5	+0.7	+0.6
Days 8-11	+0.3	+0.4	+0.2	+0.8**
Days 11-15	+0.8	+0.4	+0.4	+0.4
Days 15-18	-0.3	+0.0	+0.0	+0.0
Days 18-22	+0.7	+0.8	+1.0	+0.9
Days 22-25	+0.3	+1.0**	+0.3	-0.2*
Body Weight change (g) – post-cohabitation				
Days 36-39	+0.1 [a]	+0.2 [a]	+0.2	+0.3 [a]
Days 39-43	+0.3 [a]	+0.4 [a]	+0.1	+0.2 [a]
Days 43-46	+0.4 [a]	+0.5 [a]	+0.6	+0.5 [a]
Days 46-50	+0.8 [a]	+0.5	+0.5*	+0.4 [a**]
Days 50-53	+0.0	+0.1	+0.4*	+0.4*
Days 53-57	+0.7	+0.5	+0.6	+0.5
Days 57-60	+0.7	+1.3**	+1.1*	+1.3**
Days 60-63	+0.9	+0.8	+0.2**	+0.1**

Abbreviations: g: grams; -: no REGN1103-related sign

[a] Excludes values for mice that were in cohabitation during this interval

* Significantly different from the control group value ($p \leq 0.05$).

** Significantly different from the control group value ($p \leq 0.01$).

表 2.6.7.12 - Reproductive and Developmental Toxicity - Fertility and Early Embryonic, Development to Implantation (continued)

Report Title: SAR231893 (REGN668): Subcutaneous fertility study in mice with REGN1103 (continued)				
Dose - mg/kg/week (once weekly)	**0 (Vehicle)**	**25**	**75**	**200**
FEMALES:				
Number of females on Study	24	24	24	24
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Male and Female Fertility and Mating Performance				
Number of cohabitated pairs [a]	24	24	24	24
Number of mated females	24	24	24	24
Number of pregnant females	24	21	22	23
Delay (days ± SD) before mating (excluding noted mated)	3.3 ± 3.8	2.3 ± 2.1	2.5 ± 1.8	2.7 ± 1.2
Mating index (% Mated / cohabitated)	100	100	100	100
Pregnancy index (% Pregnant / mated)	100	87.5	91.7	95.8
Fertility index (% Pregnant / cohabited)	100	87.5	91.7	95.8
Females:				
Body Weight change (g) - precohabitation				
Days 1-4	+0.8	+1.7**	+2.9**	+0.3*
Days 4-8	+0.0	-0.9**	-2.0**	+0.4
Days 8-11	-0.2	-0.1	+0.7*	-0.2
Days 11-15	+0.6	+0.2	+0.5	+0.4
Body Weight change (g) – gestation				
Days 0-4	+1.7 [b]	+1.2 [b]	+1.4	+1.7 [b]
Days 4-8	+2.4 [b]	+2.4 [b]	+2.8	+2.4 [b]
Days 8-11	+4.5 [b]	+4.4 [b]	+4.3	+4.7 [b]
Days 11-14	+7.6 [b]	+7.3 [b]	+7.5	+7.6 [b]

Abbreviations: g: grams; -: no REGN1103-related sign

[a] Surviving to mating or to the end of the cohabitation period.

[b] Excludes values for mice that did not have a confirmed mating date.

* Significantly different from the control group value (p≤0.05).

**Significantly different from the control group value (p≤0.01).

表 2.6.7.12 - Reproductive and Developmental Toxicity - Fertility and Early Embryonic, Development to Implantation (continued)

Report Title: SAR231893 (REGN668): Subcutaneous fertility study in mice with REGN1103 (continued)				
Dose - mg/kg/week (once weekly)	**0 (Vehicle)**	**25**	**75**	**200**
Females (continued):				
Macroscopic observations – terminal necropsy				
No. Pregnant with live fetuses	24	21	22	23
No. total implantation loss	0	0	0	0
No. mated - nonpregnant	0	3	2	1
Cesarean section data (mean per litter ± SD)				
No. Evaluated	**24** [a]	**21** [a]	**22**	**22** [b]
Corpora lutea	13.8 ± 1.9	13.5 ± 2.2	12.9 ± 2.2	13.4 ± 1.3
% Pre-implantation loss [c]	5.6 ± 15.2	1.8 ± 3.9	1.3 ± 3.4	1.5 ± 3.5
Litter size				
Viable embryos	12.0 ± 2.9	12.4 ± 2.0	12.1 ± 2.2	12.6 ± 1.3
Nonviable embryos	1.1 ± 1.7	0.8 ± 1.1	0.6 ± 1.4	0.5 ± 0.6
Implantation sites	13.2 ±2.7	13.2 ± 1.9	12.7 ± 2.1	13.2 ± 1.1
% Post implantation loss [d]	8.2 ± 12.1	5.7 ± 8.0	4.4 ± 11.0	4.2 ± 4.5
% Nonviable embryos / litter	8.2 ± 12.1	5.7 ± 8.0	4.4 ± 11.0	4.2 ± 4.5
Dams with nonviable embryos (N [%])	10 (41.7)	9 (42.8)	6 (27.3)	11 (50.0)
Dams with viable embryos (N [%])	24 (100.0)	21 (100.0)	22 (100.0)	22 (100.0)
Placentae appeared normal (N[%])	24 (100.0)	21 (100.0)	22 (100.0)	22 (100.0)

Abbreviations: SD: Standard deviation;

[a] Includes values for dams that did not have a confirmed mating date.

[b] Excludes values for dam 6091, which did not have a confirmed mating date and was euthanized after delivering 13 live pups on Day 40 of study (estimated Day 18 of gestation).

[c] % Preimplantation loss = [(Number of corpora lutea – number of implantations) / Number of corpora lutea] x 100

[d] % Postimplantation loss = [(Number of implantations – number of live fetuses) / number of implantations] x 100

表 2.6.7.12 - Reproductive and Developmental Toxicity - Fertility and Early Embryonic, Development to Implantation (continued)

Report Title: SAR231893 (REGN668): Subcutaneous fertility study in mice with REGN1103 (continued)				
Dose - mg/kg/week (once weekly)	**0 (Vehicle)**	**25**	**75**	**200**
Microscopic findings – terminal necropsy				
Uterus – No. examined	**24**	**0**	**0**	**24**
Normal	18	-	-	21
Hemorrhage, unilateral, focal	3	-	-	1
Inflammation, chronic-active, unilateral, focal	0	-	-	1
Infiltration, mononuclear cell, lamina propria, bilateral, diffuse	1	-	-	1
Infiltration, mononuclear cell, lamina propria, unilateral, diffuse	2	-	-	1
Conclusions: Once weekly subcutaneous administration of REGN1103 to adult male and female mice at 25, 75, or 200 mg/kg/week did not result in any test article-related mortality, clinical signs, body weight or food consumption, macroscopic observations or microscopic findings. There were no REGN1103-related effects on mating, fertility, estrous cycling, embryo survival or any of the male reproductive assessments (organ weights). Therefore, under these study conditions, the paternal and maternal no-observed-effect level (NOEL) was 200 mg/kg/week. The NOEL for fertility, reproductive performance, and embryo viability was 200 mg/kg/week.				

Abbreviations: -: tissue not evaluated

[a] Includes values for dams that did not have a confirmed mating date.

[b] Excludes values for dam 6091, which did not have a confirmed mating date and was euthanized after delivering 13 live pups on Day 40 of study (estimated Day 18 of gestation).

[c] % Preimplantation loss = [(Number of corpora lutea – number of implantations) / Number of corpora lutea] x 100

[d] % Postimplantation loss = [(Number of implantations – number of live fetuses) / number of implantations] x 100

13　生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験

該当なし

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 Postnatal, Development, Including Maternal Function

Report Title: Enhanced pre-postnatal toxicity study of REGN646 administered by subcutaneous injection to pregnant cynomolgus monkeys with 6-months postnatal evaluation				
Species/Strain: Monkey / cynomolgus		**Duration of Dosing:** up to 21 doses (~GD20-22 through parturition – GD160)	**Test Article:** REGN646	
Initial Age: 4.2 to 12.3 years (mean age = 5.4 years)		**Day of Mating:** Day 0	**Study No.** REGN646-TX-[redacted]099	
Date of First Dose: [redacted]20[redacted]		**Method of Administration:** SC injection	**Location:** [4.2.3.5.3-1]	
Litters Culled/Not Culled: Not culled		**Vehicle/Formulation:** reconstituted with 0.9% sodium chloride for injection, USP / ([redacted] mM acetate, [redacted] mM L-histidine, [redacted]% [redacted] (w/v), and [redacted]% sucrose (w/v), pH [redacted])	**GLP Compliance:** Yes	
Special Features: None		**Day of Necropsy:** [redacted]20[redacted]		
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/week, SC in F_0 maternal and F_1 infant development				
Dose - mg/kg/week (once weekly)		**0 (Vehicle)**	**25**	**100**
Number of Animals		**20**	**20**	**18[a]**
F_0 Females	**Toxicokinetics**			
	AUC_{0-168h} (µg.h/mL)[b] GD20-22 (Dose 1)	BLQ	32363	116582
	GD139-141 (Dose 18)	BLQ	84799	443306
	C_{max} (µg/mL) GD20-22 (Dose 1)	BLQ	247	929
	GD139-141 (Dose 18)	BLQ	641	3156
	C_{trough} (µg/mL) GD20-22 (Dose 1)	BLQ	223	774
	GD48-50 (Dose 5)	BLQ	183	1909
	GD97-99 (Dose 12)	BLQ	176	2431
	GD139-141 (Dose 18)	BLQ	436	2211
Additional information: Lower limit of quantitation was 0.39 µg/mL				

Abbreviations: F_0: Maternal females; F_1: Infants; SC: subcutaneous injection; GD: Gestation day; AUC_{0-168h}: area under the curve calculated using the trapezoidal method; C_{max}: maximum concentration; C_{trough}: observed minimum concentration in serum after a dose during a dosing interval; BLQ: below the limit of quantitation

[a] Two adult females enrolled on study were not pregnant at the time of enrollment, and therefore, were excluded from the study.

[b] Area under the concentration-time curve from 0h to 168h

表 2.6.7.14 - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Postnatal, Development, Including Maternal Function (continued)

Report Title: Enhanced pre-postnatal toxicity study of REGN646 administered by subcutaneous injection to pregnant cynomolgus monkeys with 6-months postnatal evaluation (continued)				
Dose - mg/kg/week (once weekly)		**0 (Vehicle)**	**25**	**100**
F_0 Females	**Anti-REGN646 antibody (+ / total number analyzed)**			
	GD20-22 (Dose 1)	0/20	0/20	0/20
	GD48-50 (Dose 5)	1/20 [a]	5/20 [g]	1/20 [n]
	GD97-99 (Dose 12)	4/18 [b]	5/17 [h]	0/17 [op]
	GD139-141 (Dose 18)	5/18 [bc]	5/17 [hi]	1/16 [qr]
	PPD28	5/17 [de]	4/14 [jk]	1/14 [st]
	PPD91	4/14 [f]	3/8 [m]	2/12 [u]
	PPD180-182	3/14 [f]	5/8 [m]	3/12 [u]

Abbreviations: F_0: Maternal females; SC: subcutaneous injection; GD: Gestation day; PPD: Post-partum day

[a] Sample collected on GD34 for Animal No. 1514 and 1518.

[b] No sample collected for Animal No. 1514 and 1518.

[c] Sample collected on GD132 for Animal No. 1502.

[d] No sample collected for Animal No. 1502, 1514, and 1518.

[e] Sample collected on GD175 for Animal No. 1501, GD162 for Animal No. 1511, and PPD29 for Animal No. 1519

[f] No sample collected for Animal No. 1501, 1502, 1511, 1514, 1518, and 1519

[g] Sample collected on GD34 for Animal No. 2502 and 2015, GD32 for Animal No. 2506

[h] No sample collected for Animal No. 2502, 2506, and 2515

[I] Sample collected on GD127 for Animal No. 2505, and GD125 for Animal No. 2509 and 2510.

[j] No sample collected for Animal No. 2502, 2505, 2506, 2509, 2510, and 2515

[k] Sample collected on GD159 for Animal No. 2503, PPD9 for Animal No. 2508, GD162 for Animal No. 2513, GD168 for Animal No. 2516, GD175 for Animal No. 2517, and GD165 for Animal No. 2518.

[m] No sample collected for Animal No. 2502, 2503, 2505, 2506, 2508, 2509, 2510, 2513, 2515, 2516, 2517, and 2518

[n] Sample collected on GD35 for Animal No. 3509, 3513, and 3520, and GD49 for Animal No. 3514.

[o] No sample collected for Animal No. 3509, 3513, and 3520.

[p] Sample collected on GD50 for Animal No. 3514.

[q] No sample collected for Animal No. 3509, 3513, 3514, and 3520.

[r] Sample collected on PPD1 for Animal No. 3512.

[s] No sample collected for Animal No. 3501, 3509, 3512, 3513, 3514, and 3520.

[t] Sample collected on GD147 for Animal No. 3503, and PPD14 for Animal No. 3518.

[u] No sample collected for Animal No. 3501, 3503, 3509, 3512, 3513, 3514, 3518, and 3520.

表 2.6.7.14 - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Postnatal, Development, Including Maternal Function (continued)

Report Title: Enhanced pre-postnatal toxicity study of REGN646 administered by subcutaneous injection to pregnant cynomolgus monkeys with 6-months postnatal evaluation (continued)				
Dose - mg/kg/week (once weekly)		**0 (Vehicle)**	**25**	**100**
F_0 Females	**No. Pregnant**	20	20	18
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0
	Mean Duration of Gestation (Days ± SD)	160 ± 11	157 ± 15	157 ± 9
	No. Infants delivered by natural birth	15	10 [a]	15
	No. Abortions / in utero death (percent)	3/20 (15.0%)	6/20 (30.0%)	2/18 (11.1%)
	No. Stillbirths (percent)	2/17 (11.8%)	4/14 (28.6%)	1/16 (6.3%)
	No. Total Pregnancy Loss (percent)	5/20 (25.0%)	10/20 (50.0%)	3/18 (16.7%)
	No. with Premature / Preterm birth	0	0	1 (GD133)
	Clinical Observations	-	-	-
	Necropsy observations	-	-	-
F_1 Infants	**Serum concentration of REGN646 (µg/mL)**			
	DB14	BLQ	167	1056
	DB28	BLQ	107	658
	DB91	BLQ	BLQ	34.5
	DB180	BLQ	BLQ	BLQ
	Anti-REGN646 antibody (+ / total number analyzed)			
	BD28	4/15 [b]	1/8	0/14 [ef]
	BD91	4/14 [c]	1/6 [d]	1/12 [g]
	DB180-182	3/14 [c]	2/8	1/12 [g]
	No. Neonate Death Post Birth	1	2	2
	Infant sex ratio (M/F)	7/8	5/5	8/7
	Infants Surviving to Scheduled Necropsy (BD180-182)	14	8	12
	Clinical Observations (Birth to DB180-182)	-	-	-

Abbreviations: F0: Maternal females; F1: Infants; SD: Standard deviation; DB: Days after birth; -: no REGN646-related findings; BLQ: Below limit of quantitation (< 0.39 µg/mL)
Note: Fetal loss prior to GD140 were considered abortions and loses after GD140 were considered stillbirths.
[a] Includes one infant (No. 2171, Adult Female No. 2517) that was delivered by C-section
[b] Sample collected on BD23 for Infant No. 1191.
[c] No sample collected for Infant No. 1191.
[d] No sample collected for Infant No. 2016 and 2201.
[e] Sample collected on BD3 for Infant No. 3011 and BD14 for Infant No. 3186.
[f] No sample collected for Infant No. 3106.
[g] No sample collected for Infant No. 3011 and 3186.

表 2.6.7.14 - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Postnatal, Development, Including Maternal Function (continued)

Report Title: Enhanced pre-postnatal toxicity study of REGN646 administered by subcutaneous injection to pregnant cynomolgus monkeys with 6-months postnatal evaluation (continued)				
Dose - mg/kg/week (once weekly)		**0 (Vehicle)**	**25**	**100**
F_1 Infants	**Neonatal muscle tone (DB1)**	-	-	-
	Neurobehavorial assessment (including palmar grasp, eye reflexes, moro reflex, build-up, righting reflex, prone progression, clasp/grasp reflex, visual following, sucking, rooting, snout reflex, negative geotaxis,glabellar tap, lipsmack orient)			
	DB3	-	-	-
	DB7	-	-	-
	DB14	-	-	-
	Flow Cytometry (lymphocyte subset analysis) (Mean ± SD per µL)			
	B lymphocytes (CD20+)			
	DB28	1298.79 ± 786.62	969.17 ± 644.25	769.17 ± 495.43
	DB91	2456.50 ± 1028.98	1885.67 ± 473.56	2198.08 ± 1364.11
	DB180-182	1824.93 ± 558.00	1999.75 ± 812.49	2156.00 ± 1142.30
	T lymphocytes (CD3+)			
	DB28	3181.57 ± 823.66	2881.17 ± 538.65	2675.58 ± 1368.73
	DB91	5248.64 ± 1362.09	4466.00 ± 1056.01	4628.42 ± 2130.91
	DB180-182	4975.71 ± 1865.14	6216.50 ± 2626.00	4442.08 ± 1821.01
	T-helper lymphocytes (CD3+/CD4+)			
	DB28	2445.57 ± 596.02	2262.00 ± 487.82	2033.75 ± 1016.14
	DB91	3678.00 ± 941.74	3176.33 ± 824.14	3124.33 ± 1458.20
	DB180-182	3323.79 ± 1298.07	4171.50 ± 1593.70	2769.00 ± 1216.95
	T-cytotoxic lymphocytes (CD3+/CD8+)			
	DB28	668.79 ± 253.13	565.83 ± 58.92	593.83 ± 338.21
	DB91	1406.07 ± 592.86	1158.50 ± 345.14	1342.33 ± 642.51
	DB180-182	1474.21 ± 592.74	1832.00 ± 891.89	1514.08 ± 560.80
	Natural-killer cells (CD3-/CD16+)			
	DB28	241.93 ± 193.95	101.83 ± 44.66	120.25 ± 52.22
	DB91	182.14 ± 113.69	135.17 ± 100.65	181.08 ± 93.32
	DB180-182	180.71 ± 138.19	159.13 ± 48.3	153.08 ± 80.43

Abbreviations: F1: Infants; SD: Standard deviation; DB: Days after birth; -: no REGN646-related findings

表 2.6.7.14 - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Postnatal, Development, Including Maternal Function (continued)

Report Title: Enhanced pre-postnatal toxicity study of REGN646 administered by subcutaneous injection to pregnant cynomolgus monkeys with 6-months postnatal evaluation (continued)				
Dose - mg/kg/week (once weekly)		**0 (Vehicle)**	**25**	**100**
F_1 Infants	**T-Dependent Antibody Response [a]**			
	Anti-KLH IgG (Mean ± SD µg/mL)			
	DB70	1528 ± 310	1599 ± 195	1588 ± 435
	DB120	1752 ± 370	1707 ± 277	1737 ± 821
	DB145 ± 2 days	685 ± 107	878 ± 284	831 ± 772
	DB148 ± 2 days	1394 ± 457	2567 ± 644	1313 ± 608
	DB152 ± 2 days [b]	1914 ± 833	3362 ± 1167	1689 ± 983
	DB159 ± 2 days	6378 ± 3060	5677 ± 2101	4775 ± 2975
	DB166 ± 2 days	6466 ± 2932	7124 ± 3566	4169 ± 2321
	DB173 ± 2 days	5244 ± 2428	5249 ± 1693	3875 ± 2445
	DB180 ± 2 days	3571 ± 1892	4704 ± 1697	2784 ± 1120
	Anti-KLH IgM (Mean ± SD µg/mL)			
	DB70	147 ± 55	134 ± 46	166 ± 80
	DB120	225 ± 56	208 ± 75	310 ± 130
	DB145 ± 2 days	226 ± 24	212 ± 26	223 ± 36
	DB148 ± 2 days	244 ± 26	248 ± 52	249 ± 45
	DB152 ± 2 days [b]	252 ± 35	256 ± 58	246 ± 47
	DB159 ± 2 days	365 ± 100	341 ± 81	344 ± 58
	DB166 ± 2 days	351 ± 120	319 ± 66	332 ± 59
	DB173 ± 2 days	349 ± 125	332 ± 83	311 ± 67
	DB180 ± 2 days	284 ± 64	300 ± 63	480 ± 102
	Body weight (g) DB1/2	320.21	349.17	330.16
	DB28	421.09	436.98	414.39
	DB56	553.76	562.31	535.30
	DB91	727.56	759.49	712.52
	DB133	944.20	1010.59	931.71
	DB175	1130.16	1198.65	1117.73

Abbreviations: F_1: Infants; SD: Standard deviation; DB: Days after birth; KLH: Keyhole limpet hemocyanin

[a] 1st KLH immunization was on BD138 ± 2 days and the 2nd KLH immunization was on BD152 ± 2 days.

[b] Samples collected before 2nd KLH injection

表 2.6.7.14 - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Postnatal, Development, Including Maternal Function (continued)

Report Title: Enhanced pre-postnatal toxicity study of REGN646 administered by subcutaneous injection to pregnant cynomolgus monkeys with 6-months postnatal evaluation (continued)				
Dose - mg/kg/week (once weekly)		**0 (Vehicle)**	**25**	**100**
F_1 Infants	**Body weight change (%)** Birth to DB175	252.9%	243.3%	238.5%
	Hematology	-	-	-
	Coagulation	-	-	-
	Serum chemistry	-	-	-
	Morphological development (Birth to DB180 ± 2)			
	Crown-rump length	-	-	-
	Chest circumference	-	-	-
	Biparietal diameter	-	-	-
	Femur length (right & left)	-	-	-
	Foot length (right & left)	-	-	-
	Male anogenital distance	-	-	-
	Female anogenital distance	-	-	-
	Occipitofrontal diameter	-	-	-
	Horizontal head circumference	-	-	-
	External abnormalities	-	-	-
	Visceral abnormalities	-	-	-
	Skeletal abnormalities	-	-	-
	Gross pathology	-	-	-
	Organ weight (absolute and % relative to body weight and brain weight)	-	-	-
	Histopathology	-	-	-
Conclusion: No REGN646-related adverse effects (maternal, fetal, or infants) when 25 or 100 mg/kg of REGN646 was administered via weekly subcutaneous injection to female cynomolgus monkeys from the start of organogenesis (GD20) through parturition. Data from hematology, flow cytometry, anti-KLH IgM or IgG responses (TDAR), and histopathologic observations of lymphoid tissues indicated that the immune system was unaffected in infants born to female monkeys administered REGN646 at both the dose levels. Under the conditions of this study the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) for maternal and developmental toxicity was considered to be 100 mg/kg/week, the highest administered dose.				

Abbreviations: F_1: Infants; DB: Days after birth; GD: Gestation day; -: no REGN646-related findings

15　幼若動物を用いた試験

幼若動物を用いた試験は実施していないが、出生前及び出生後胚胎児及び新生児への本薬週 1 回皮下投与による影響は生殖発生毒性試験－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において評価した[Module 2.6.7.14]。

16　局所刺激性試験

反復投与毒性試験において評価した［Module 2.6.7.7］。

17　その他の毒性試験

表 2.6.7.17 - Other Toxicity Studies - Tissue Cross Reactivity Study

Test Articles: Dupilumab (REGN688) and REGN646

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (µg/mL)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Monkey/cynomolgus; Human tissues	In vitro	NA	5.0 and 50.0 REGN668 REGN646	3 donors per tissue	No test article (REGN668 or REGN646)-specific staining was observed to any normal human or cynomolgus monkey tissues evaluated. Scattered individual cells in some tissues that stained with either test article (REGN668 or REGN646) and/or control article (human IgG4, kappa) were considered to be nonspecific background staining.	[redacted]00057	[4.2.3.7.7-1]

Abbreviations: NA: not applicable; NOAEL: no-observed-adverse-effect level.